

EFEITO GENOTÓXICO *IN VITRO* DO EXTRATO AQUOSO DE *LUFFA OPERCULATA* SOBRE CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGUE PERIFÉRICO¹

GENOTOXIC EFFECT IN VITRO OF AQUEOUS EXTRACT OF LUFFA OPERCULATA ABOUT PERIPHERAL CELLS IN BLOOD MONONUCLEAR¹

Matheus Dellaméa Baldissera², Priscila Marquezan Copetti²,

Pablo Sebastian Britto de Oliveira² e Michele Rorato Sagrillo³

RESUMO

Mundialmente, um grande número de plantas medicinais é consumido pela população para a terapia de diversas patologias. Ensaios de genotoxicidade com plantas têm aumentado concomitantemente com a utilização abusiva de plantas medicinais de uso terapêutico pela população. Entretanto, a maioria destas espécies vegetais não foi suficientemente avaliada quanto à presença de compostos com potencial mutagênico em sua composição. Neste trabalho, objetivou-se avaliar o potencial genotóxico *in vitro* do extrato aquoso de *Luffa operculata* e determinar o potencial sequestrador de radicais DPPH, a fim de determinar a concentração segura para consumo humano. Para a realização dos ensaios, foram testadas as concentrações de 1, 5, 10, 50, 100, 500 e 1000µg/mL. Foram avaliados o número de metáfases e quebras cromossômicas, assim como o percentual de atividade sequestradora de radicais DPPH. Na concentração de 1µg/mL, foi observada a ausência de quebras cromossômicas. Todas as concentrações testadas apresentaram atividade sequestradora de radicais DPPH, possuindo maior atividade na concentração 1000µg/mL. Com isso, foi verificado que a concentração de 1µg/mL não possui efeito mutagênico sobre células mononucleares de sangue periférico *in vitro*, sendo assim, considerada a dose segura a nível cromossômico.

Palavras-chave: instabilidades cromossômicas, metáfases, plantas medicinais, DPPH.

ABSTRACT

Worldwide a large number of medicinal plants is consumed by people for the therapy of various pathologies. Genotoxicity tests with plants have increased concomitantly with the misuse of medicinal plants for therapeutic use by the population. However, most of these species has not been sufficiently evaluated for the presence of compounds with mutagenic potential in its composition. This work aimed to evaluate the _genotoxic in vitro potential of the aqueous extract of Luffaoperculata and determine the potential kidnapper of DPPH radical in order to determine a safe concentration for human consumption. Concentrations of 1, 5, 10, 50, 100, 500 and 1000µg / mL were tested. The number of metaphases and chromosome breaks, as well as the percentage of DPPH radical kidnapping activity were evaluated. At the concentration of 1mg / ml, the absence of chromosome breakage was observed. All concentrations tested showed DPPH radical kidnapping activitywith a greater activity in the concentration 1000µg / mL. Thus, it was found that the concentration of 1mg / ml has no mutagenic effect on peripheral blood mononuclear cells in vitro, therefore, it is considered a safe dose at the chromosomal level.

Keywords: *chromosomal instability, metaphase, medicinal plants, DPPH.*

¹ Trabalho de Iniciação Científica.

² Acadêmicos do Curso de Biomedicina - Centro Universitário Franciscano. E-mail: matheusd.biomed@yahoo.com.br

³ Orientadora - Centro Universitário Franciscano.

INTRODUÇÃO

Planta medicinal é uma planta silvestre ou cultivada, utilizada tradicionalmente como remédio na terapia a diferentes enfermidades. Segundo a Organização Mundial da Saúde (2002), é todo e qualquer vegetal contendo substâncias que possam ser utilizadas para prevenir, aliviar, tratar ou curar processos fisiológicos ou patológicos. As plantas medicinais são utilizadas pela sociedade desde as primeiras civilizações e, então, baseado em experiências adquiridas em observar animais, os quais faziam uso de plantas quando enfermos, o homem foi aprimorando seu conhecimento sobre as propriedades de diferentes tipos vegetais (TESKE; TRENTINE, 2001).

As plantas simbolizaram, durante séculos, a exclusiva fonte de agentes terapêuticos para o homem. Com o desenvolvimento e aprimoramento do emprego de recursos naturais, o homem passou a adquirir informações sobre o uso de plantas com fins medicinais. Seu uso empírico era seguido de análise, mesmo que rústica, dos sinais e sintomas que surgiam após seu consumo (DI STASI, 1996). Os vegetais apresentam substâncias químicas com propriedades terapêuticas, que atuam no organismo causando-lhes algum efeito, onde profissionais especializados convertem substâncias encontradas nas plantas, denominadas, princípio ativo, em fármacos para o tratamento e profilaxia de diversas patologias que acometem os seres humanos e animais (RIBEIRO et al., 2004). Com isso, visando a soluções de diversas doenças, o consumo de plantas medicinais tornou-se cada vez mais difundido e empregado nos dias atuais, pois o conceito de “natural” fez com que este tipo de recurso terapêutico passasse a ser utilizado de forma ampla e discriminada, baseando-se em suposições que produtos desta origem não causariam danos e, conseqüentemente, não representaria perigo à saúde dos consumidores (DI STASI, 1996; MENGUE et al., 2001). A planta medicinal aplicada a medicamentos é considerada xenobiótico ao organismo, e os produtos de sua biotransformação são tóxicos, não possuindo apenas ação imediata e correlacionada a sua ingestão, e sim efeitos que em longo prazo, de forma assintomática, podem acarretar um quadro clínico severo (LAPA et al., 2004).

A *Luffa operculata* é uma planta trepadeira, de caule ramificado, que mede até dez metros de comprimento. Seus frutos são ovoides ou fusiformes, de superfície rugosa e conteúdo esponjoso, medindo, aproximadamente, cinco centímetros de comprimento e pesando em torno de um grama (VASQUES et al., 1986). *L. operculata* é nativa das Américas Central e do Sul, encontrada em áreas do Equador, Brasil, Colômbia e da Guatemala, onde é cultivada em escala comercial. No Brasil, cresce em vastas regiões do Norte e Nordeste e nos estados de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais e São Paulo. Em nosso país, é tradicionalmente conhecida como bucha, bucha dos paulistas, bucheira, buchinha do norte e cabaçinha (VASQUES et al., 1986; SALVIANO, 1992; LORENZI; MATOS, 2008). *L. operculata* é empregada no tratamento de laringites, febre, doenças herpéticas, ascite, doenças oculares, sífilis, icterícia e tinea. Acredita-se ainda que ela possua propriedades diurética, emética, mucolítica, sudorífica, vermífuga e expectorante (MATOS, 1979; VASQUES et al., 1986; CACERES, 1996; BROCK; DU-

ARTE; NAKASHIMA, 2003). No tratamento específico de rinosinusites, *L. operculata* talvez seja o fitoterápico mais utilizado no Brasil para este fim (MATOS, 1979). Além disso, ela é adicionada como componente em medicações homeopáticas e alopáticas produzidas na Europa, América do Norte e Brasil, usadas na terapêutica de inflamações nas vias aéreas superiores (WEISER et al., 1999). Conforme Sousa Neto (2006), ainda não há dados científicos esclarecedores que viabilize de fato a utilização dessa planta medicinal nas doenças nasossinusiais, com eficácia e segurança validadas.

De acordo com alguns usuários, a administração sob a forma de inalação, além de causar irritações severas, provoca hemorragia nasal. Nos casos de intoxicação, através da ingestão de chás preparados com o fruto, foram relatados náuseas, vômitos, diarreia, cólica e dor de cabeça (SCHVARTZMAN, 1992; SCHENKEL et al., 2004). Em estudos experimentais, outras espécies do mesmo gênero foram testadas e evidenciaram atividade inibidora de síntese proteica, embriotóxica e abortiva em animais tratados (NGAI et al., 1992, 1993).

A análise fitoquímica de *L. operculata* revela a presença de glicosídeos, saponina, esteroides livres, fenóis, ácidos orgânicos e resina, bem como há a ausência de taninos e flavonoides. Na resina são encontrados elaterina A, cucurbitacinas B e D e isocucurbitacina B (MATOS, 1979). Também são encontrados em menor quantidade buchicina, buchina e luffanina (alcaloides), citrulina, metacarboxifenilalanina e luperosídeos (CACERES, 1996; SOUSA NETO, 2006).

Toda alteração do material genético de uma célula, que não resulta de segregação ou recombinação, é denominada mutação. Quando não letal para a própria célula, pode propagar-se pelo corpo em crescimento ou transmitir-se a prole (MONTELEONE-NETO; CASTILLA; LOPEZ-CAMELO, 1991). Esta mutação, espontânea ou induzida, pode levar a um processo carcinogênico no indivíduo, em que uma gama de fatores externos como agentes químicos, físicos e biológicos, dependendo do estilo de vida (tabagismo, etilismo, nutrição) podem influenciar os níveis de alterações cromossômicas nos indivíduos (MAJOR; JAKAB; TOMPA, 1998). O aumento do número de aberrações cromossômicas é de suma importância para o processo de carcinogênese, pois a vasta maioria dos tumores contém uma variedade de tipos de mutações cromossômicas. Devido ao fato de que as mutações e o processo tumoral estão intimamente ligados, são recomendados testes citogenéticos de detecção de mutagenicidade para seleção de novos agentes farmacológicos, para serem avaliados quanto seu potencial mutagênico e/ou carcinogênico (HAGMAR et al., 1998).

Com isso, o objetivo neste trabalho foi investigar o caráter genotóxico do extrato aquoso de *L. operculata* sobre células mononucleares de sangue periférico *in vitro*, a nível cromossômico, avaliando a influência do extrato sobre o ciclo celular e a presença ou ausência de instabilidades cromossômicas e determinar a atividade sequestradora de radicais DPPH, uma vez que ele fornece, dentre as concentrações testadas, a faixa de atividade antioxidante.

MATERIAL E MÉTODOS

L. operculata foi adquirida da Farmácia e Laboratório Homeopático Cruz Vermelha (Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil). O extrato foi preparado conforme Simões et al. (2004). A planta foi triturada e o pó obtido foi homogeneizado em água destilada e aquecido por 30 minutos a 72°C. O material foi filtrado e liofilizado a -18°C e 13,3 Pa. O extrato liofilizado foi armazenado em frasco âmbar a -18°C até sua utilização. Para avaliação da atividade sequestradora de radicais DPPH, índice mitótico e genotoxicidade, foram utilizadas as concentrações de 1, 5, 10, 50, 100, 500 e 1000µg/mL.

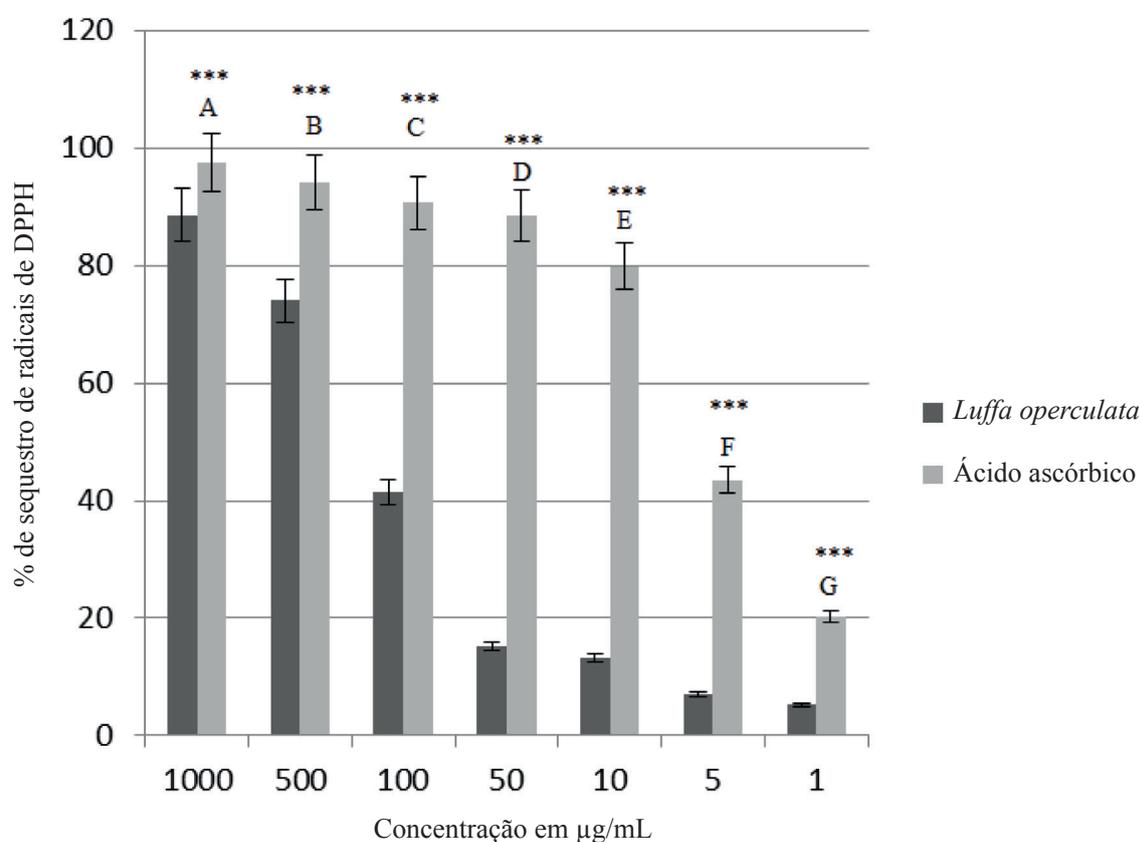
A capacidade de sequestro de radicais DPPH foi avaliada através do método descrito por Choi et al. (2002). As diferentes concentrações foram diluídas em etanol absoluto, com volume final de 2,5mL, e misturadas com 1mL de DPPH 0,3mm. As amostras foram deixadas durante 30 minutos no escuro e à temperatura ambiente, e a absorbância medida em espectrofotômetro em comprimento de onda de 518nm. Como controle foi utilizado uma solução de 2,5mL de etanol absoluto e 1mL de DPPH. As concentrações do extrato sem o DPPH correspondem ao branco. O etanol foi utilizado para calibrar o espectrofotômetro. O teste foi realizado em triplicata e o cálculo da atividade antioxidante seguiu a equação: % inibição = $100 - [(absorbância da amostra - absorbância do controle) \times 100] / absorbância do controle$. O percentual de decréscimo na absorbância foi medido para cada concentração e a capacidade de sequestrar radicais DPPH foi calculada com base no decréscimo da absorbância observada. Para comparar os resultados, foi aplicada a mesma metodologia para o ácido ascórbico, escolhido devido sua potente atividade antioxidante. Os resultados foram expressos em média e desvio padrão seguido de análise de variância (ANOVA) de uma via *post hoc Tukey*, com auxílio do programa SPSS v.20.0 (*Statistical Package for the Social Sciences*). Valores com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente diferentes, onde a significância é indicada por * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, e *** $p < 0,001$.

Para determinação do potencial genotóxico, foi coletada amostra de sangue periférico de um voluntário homem, saudável, com 19 anos, não fumante, não etilista e sem uso crônico de medicação. A amostra foi coletada por punção venosa, com uso de Vacutainer (BD Diagnostics, Plymouth, Reino Unido) em tubos heparinizados de 8mL. Foi utilizado o meio de cultura RPMI 1640, suplementado com 10% de soro fetal bovino, 1% de penicilina/estreptomicina e 200µL de fitoemaglutinina. As células foram mantidas em suspensão em estufa a 37°C e 5% CO₂ durante 72 horas. Após 72 horas, foram avaliados o índice mitótico e a presença de instabilidades cromossômicas, segundo protocolo descrito por Boligon et al. (2012). Todas as concentrações foram feitas em triplicatas.

RESULTADOS

Na figura 1, está apresentada a atividade *scavenger in vitro* do extrato aquoso de *L. operculata* em diferentes concentrações. Observa-se que o percentual *scavenger* aumentou com o aumento da concentração do extrato aquoso até atingir, aproximadamente, a atividade *scavenger* máxima do padrão ácido ascórbico. O extrato apresentou atividade *scavenger* em todas as concentrações testadas. As concentrações de 1,5, 10, 50, 100, 500 e 1000 μ g/mL apresentaram as atividades de 5,24 \pm 1,23; 6,98 \pm 2,54; 13,67 \pm 2,26; 15,13 \pm 0,91; 41,51 \pm 1,18; 74 \pm 0,8 e 88,57 \pm 1 por cento, respectivamente.

Figura 1 - Atividade de *sequestro* de radicais pelo extrato aquoso de *L. operculata* sobre os radicais DPPH, usando ácido ascórbico como padrão. Médias seguidas da mesma letra não apresentam significância para $P < 0,05$ entre as diferentes concentrações.



Na tabela 1, está apresentado o potencial genotóxico do extrato aquoso de *L. operculata* em diferentes concentrações. Observa-se que com a diminuição da concentração de extrato, aumenta-se o número de metáfases, apresentando como dose segura a concentração de 1 μ g/mL, devido ao maior número de metáfases em relação às concentrações maiores, e ausência de quebras cromossômicas. As concentrações de 1000 a 50 μ g/mL possuem alta genotoxicidade, pois apresentam número inferior de metáfases em relação ao controle com dano induzido com peróxido de hidrogênio.

Tabela 1 - Instabilidade cromossômica frente aos tratamentos com diferentes concentrações de *L. operculata*.

Concentração (µg/mL)	Número de metáfases normais	Número de metáfases com Quebras Cromossômicas
Controle	150±3	-
Controle de dano	-	60±3
1000	-	-
500	-	-
100	-	-
50	-	-
10	15±3	5±3
5	30±3	15±3
1	135±3	-

Resultados expressos por média ± DP.

DISCUSSÃO

Chama-nos atenção a escassez de estudos clínicos com *L. operculata*, uma vez que é de grande consumo pela população para o tratamento de sinusites (ADLER, 1999). Este estudo demonstrou a ação genotóxica do extrato aquoso de *L. operculata*, *in vitro*, sobre células mononucleares de sangue periférico. O extrato testado possui como componentes majoritários, as cucurbitacinas, que são triterpenos tetracíclicos altamente oxigenados, conhecidas por suas propriedades tóxicas e terapêuticas (HEGNAUER, 1989). A ação genotóxica deste extrato pode ser elucidada através da toxicidade do composto cucurbitacina, que de acordo com Arisawa et al. (1997), Fang et al. (1984) e Dang et al. (1994) possuem elevada toxicidade.

Estudos realizados por Vasques et al. (1986) ratificam o resultado obtido neste trabalho, pois testes tóxico-farmacológicos realizados em camundongos estimaram que a dose tóxica de extrato para seres humanos correspondia a 75mg/kg. A DL50 para ratos (dose letal para 50% dos animais testados) gira em torno de 170mg/kg. Com isso, foi calculado que aproximadamente pouco mais de um grama de extrato seria capaz de matar um homem de 70kg (LORENZI; MATOS, 2008). Os resultados obtidos neste estudo foram diferentes aos encontrados por Salviano (1992), por meio dos quais o autor discute o possível mecanismo de ação dos constituintes de *L. operculata* para o tratamento de congestão nasal, em que ele cita que os frutos da buchinha apresentariam propriedades colinérgicas e histaminérgicas, os quais provocam vasodilatação da mucosa nasal e aumento do movimento ciliar, bem como a expulsão do muco. Entretanto, o mesmo autor discute a ausência do risco à saúde humana pela utilização desta planta, tendo esta conclusão questionável, onde foi utilizado um produto comercial fomentado pelo produtor, em que os dados toxicológicos na literatura são menosprezados no artigo. Em estudo realizado por Menon- Miyake et al. (2005), ao avaliar o efeito do extrato aquoso de *L. operculata* sobre o epitélio do palato de rãs, foi verificado que a infusão nas concentrações de 60mg/L; 600mg/L

e 1200mg/L promoveram alterações na estrutura epitelial *ex vivo* da mucosa respiratória, demonstrando lesões histológicas causadas pela inalação ou instilação nasal do extrato.

Através do perfil fitoquímico, foi observada a presença de compostos fenólicos, estes com capacidade antioxidante reconhecida, podendo justificar a alta capacidade de sequestro de radicais DPPH apresentado pela espécie vegetal. De acordo com o Brand – Willians, Cuvelier e Berset (1995), estes compostos são amplamente distribuídos pela natureza, fazendo parte de um vasto número de vegetais, agindo como antioxidantes pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons. Estes compostos, uma vez que impede a ação de radicais livres, acabam por proteger moléculas de DNA, podendo vir a abortar o desenvolvimento de alguns tipos de câncer.

CONCLUSÃO

Tendo em vista que informações tóxico-farmacológicas do extrato aquoso de *L. operculata* apresentavam divergências entre o caráter terapêutico e toxicológico, por meio deste trabalho veio a apresentou-se a concentração segura de extrato para consumo humano. Com isso, concluímos que a concentração de 1µg/mL não causou mutagenicidade em células mononucleares de sangue periférico em humanos.

Todas as concentrações testadas apresentaram atividade sequestradora de radicais DPPH, devido principalmente aos compostos fenólicos já identificados no extrato, os quais apresentam reconhecido caráter antioxidante.

As concentrações de 5, 10, 50, 100, 500 e 1000µg/mL, apesar de apresentarem alto potencial de sequestro de radicais DPPH, mostraram-se genotóxicas, demonstrando que o excesso de compostos antioxidantes acaba por causar efeitos pró - oxidantes, processo este denominado hormese, levando a produção de radicais livres e conseqüentemente a danos nas células expostas a estas concentrações.

Estudos adicionais devem ser realizados na concentração de 1µg/mL, para comprovar efeitos terapêuticos, visto que esta dose testada *in vitro* não apresenta efeitos mutagênicos em células mononucleares de sangue periférico, bem como testar os compostos majoritários do extrato a fim de encontrar a dose segura de seus constituintes, assim como ensaios biológicos.

REFERÊNCIAS

ADLER, M. Efficacy and safety of a fixed - combination homeopathic therapy for sinusitis. **Advances in Therapy**, v. 16, n. 2, p. 103-111, 1999.

ARISAWA, M. et al. Citotoxy principles from *Chrysopenium flagelliferum*. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 35, n. 2, p. 141-143, 1997.

BOLIGON, A. A. et al. Protective effects of extracts and flavonoids isolated from *Scutia buxifolia* Reissek against chromosome damage in human lymphocytes exposed to hydrogen peroxide. **Molecules**, v. 17, n. 10, p. 5757-5769, 2012.

BRAND - WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel - Wissenschaft Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.

BROCK, A. C. K.; DUARTE, M. R.; NAKASHIMA, T. Estudo morfo-anatômico e abordagem fitoquímica de frutos e sementes de *Luffa operculata* (L.) Cogn., Cucurbitaceae. **Vis. Acad. Curit**, v. 4, n. 1, p. 31-37, 2003.

CACERES, A. **Plantas de uso medicinal en Guatemala**. Guatemala: Editorial Universitária, Universidad de San Carlos de Guatemala, p. 402, 1996.

CHOI, C. W. et al. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant Science**, v. 63, p. 1161-1168, 2002.

DANG, G.; RODE, B.M.; STUPPNER, H. Quantitative electronic structure - activity relationship (QESAR) of natural cytotoxic compounds: maytansinoids, quassinoids and cucurbitacins. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 5-6, p. 331-350, 1994.

DI STASI, L. C. **Conceitos básicos na pesquisa de plantas medicinais**. São Paulo: UNESP, p. 23-27, 1996.

FANG, X. et al. Plant anticancer agents, XXXIV. Cucurbitacins from *Elaeocarpus dolichostylus*. **Journal of Natural products**, v. 47, n. 6, p. 988-993, 1984.

HAGMAR, L. S. et al. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: A report from European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). **Cancer Research**, v. 58, p. 4117-4121, 1998.

HEGNAUER, R. *Chemotaxonomie der Pflanzen*. **Basel: Birkhauser**, v. 8, n. 2, p. 363-375, 1989.

LAPA, A. J. et al. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS e Ed. da UFSC, p. 247-262, 2004.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 544, 2008.

MAJOR, J.; JAKAB, M. G.; TOMPA, A. Genotoxicological monitoring of 157 subjects living in the green belts, inner town or near chemical industrial estates in Greater Budapest agglomeration, Hungary. **Mutation Research**, v. 412, p. 9-16, 1998.

MATOS, F. J. A Farmacognosia de *Luffa operculata* cogn. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 60, n. 9, p. 69-76, 1979.

MENGUE, S. S.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P. Uso de plantas medicinais na gravidez, In: SANSEVERINO, M. T. V.; SPRITZER, D. T.; SCHULER - FACCINI, L. **Manual de teratogênese**. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, p. 423-450, 2001.

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

MONTELEONE-NETO, R.; CASTILLA, E. E.; LOPEZ-CAMELO J. S. Reconhecimento do efeito teratogênico sobre o homem. In: RABELLO-GAY, M. N.; RODRIGUES M.; MONTELEONE-NETO R. eds. **Mutagênese, carcinogênese e teratogênese: métodos e critérios de avaliação**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética; 1991. p. 197-217, 1991.

NGAI, T. B.; CHAN, W. Y.; YEUNG, H. W. Proteins with abortifacient, ribosome - inactivating, immunomodulatory, antitumor and anti - AIDS activities from Cucurbitaceae plants. **Genetics Pharmacological**, v. 23, p. 197-207, 1992.

NGAI, T. B.; CHAN, W. Y.; YEUNG, H. W. The ribosome - inactivating, cytotoxic and abortifacient activities from seeds of *Luffa cylindrica* Roem. (Cucurbitaceae). **Biochim. Int**, v. 27, p. 197-207, 1993.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Medicina tradicional: potencial e necessidades crescentes. **Policy perspectives on medicines**, Genebra, n. 2, p. 1-6, 2002.

RIBEIRO, M. et al. **Taraxacum officinale Weber (dente-de-leão): uma revisão das propriedades e potencialidades medicinais**. Maringá: Apadec, 2004.

SALVIANO, P. A. Revisão sobre o uso terapêutico da *Luffa operculata* (L.) Cogniaux (cabaçinha). **Revista Brasileira de Medicina**, v. 49, n. 9, p. 672- 674, 1992.

SCHVARTSMAN, S. **Plantas venenosas e animais peçonhentos**. 2 ed. Sarvier, São Paulo, p. 288, 1992.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem natural e o desenvolvimento. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS e Ed. Da UFCS, p. 371-400, 2004.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS e Ed. da UFSC, p. 247-262, 2004.

SOUSA NETO, P. S. ***Luffa operculata* – mecanismo de ação no epitélio respiratório e eficácia terapêutica no tratamento clínico das rinosinusites: revisão sistemática**. 2006, p. 39. Dissertação - Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, 2006.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium**: compêndio de fitoterapia. 4. ed. Curitiba: Herbarium, Laboratório Botânico, 2001.

VASQUES, C. A. V. et al. Revisão farmacognóstica da cabacinha (*Luffa operculata* Cogn.). **F. Med (BR)**, v. 3, n. 93, p. 185- 187, 1986.

WEISER, M.; GEGENHEIMER, L. H.; KLEIN, P. A randomized equivalence trial comparing the efficacy and safety of *Luffa* comp. - Heel nasal spray with cromolyn sodium spray the treatment of seasonal allergic rhinitis. **Forsch Komplementarmed**, v. 3, n. 6, p. 142-148, 1999.