



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

GABRIELA CAVALCANTE DA SILVA

***Morinda citrifolia* L. – INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA DAS
PROPRIEDADES BIOLÓGICAS COM BASE NO USO
POPULAR**

RECIFE-PE

2015

GABRIELA CAVALCANTE DA SILVA

***Morinda citrifolia* L. – INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA DAS
PROPRIEDADES BIOLÓGICAS COM BASE NO USO
POPULAR**

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

Área de Concentração: Avaliação e Obtenção de Produtos Naturais e Bioativos

Orientadora: Prof^a Dr^a Ivone Antônia de Souza

RECIFE-PE

2015

Catálogo na Publicação
Bibliotecária: Adelaide Lima, CRB4-647

S586m Silva, Gabriela Cavalcante da.
Morinda Citrifolia L. – investigação científica das propriedades biológicas com base no uso popular / Gabriela Cavalcante da Silva. – Recife: O autor, 2015.
77 f.: il.; tab.; quad.; graf.; 30 cm.

Orientadora: Ivone Antônia de Souza.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2015.
Inclui referências e anexo.

1. Morinda citrifolia. 2. Toxicidade. 3. Neoplasias. 4. Infecção. I. Souza, Ivone Antônia de (Orientadora). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2015)

GABRIELA CAVALCANTE DA SILVA

***Morinda citrifolia* L. – INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA DAS
PROPRIEDADES BIOLÓGICAS COM BASE NO USO
POPULAR**

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

Aprovado em: 28/05/2015

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Ivone Antônia de Souza (Orientador/Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Profª Drª Elba Lúcia Cavalcanti Amorim (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Profª Drª Jane Sheila Higino (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof^a. Dr^a. Vânia Pinheiro Ramos

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Farias

VICE CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Dalci José Brondani

COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley

VICE-COORDENADOR DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Lima Leite

Aos meus pais, Gilberto Amaro da Silva e Maria Cavalcante da Silva, pelo amor incondicional, pelos valores de vida transmitidos e por sempre acreditarem e depositarem esperanças em mim. Vocês sempre serão espelho em minha vida!

AGRADECIMENTOS

Agradeço à DEUS, por tudo que ele me proporciona afastando-me do mal, iluminando meus caminhos e mostrando as pessoas certas.

À minha família, minha base, por me acolher e me aguentar nos momentos tensos.

À todos amigos e familiares que me fizeram companhia nas diversas viagens à Recife.

À minha Orientadora, Prof^a. Dr^a. Ivone Antônia de Souza, pela confiança, amizade, paciência, incentivo, compreensão e respeito dispensados a mim na realização deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental pela colaboração e suporte durante a realização dos experimentos.

À amiga irmã Conceição, pela paciência de escutar todos os desabafos e pela assistência tanto acadêmica como pessoal.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Às Professoras membros da banca examinadora Prof^a. Dr^a. Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim e Prof^a. Dr^a. Jane Sheila Higino.

RESUMO

Morinda citrifolia Linn. é um arbusto de pequeno porte, que embora originado do sudoeste da Ásia e Austrália detêm poder de adaptação nas mais diversas condições geográficas e climáticas, o suco do fruto é utilizada para diversos fins terapêuticos. Considerando a preocupação com a frequente resistência microbiana principalmente em pacientes imunocomprometidos, além da alta incidência de neoplasias e baixa especificidade dos antineoplásicos disponíveis objetivou-se a triagem fitoquímica, investigação da toxicidade; propriedades antimicrobianas e antitumorais do extrato etanólico de *Morinda citrifolia* L. A avaliação da toxicidade seguiu a metodologia da Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (OECD 423), a triagem fitoquímica foi realizada em cromatografia de camada delgada, a microdiluição em placa de 96 poços, com posterior revelação com resaruzina foi utilizada para os ensaios antimicrobianos e a atividade antitumoral foi investigada *in vivo* frente ao Carcinoma de Ehrlich e ao Sarcoma 180. Os alcalóides, importante classe de metabólitos secundários, não foram detectados no extrato, por outro lado flavonóides, triterpenos, cumarinas e taninos foram detectados. Apesar da observação de reações de excitabilidade do SNC no screaming hipocrático, o estudo histopatológico dos fígados e rins dos animais só apresentaram leves sinais de toxicidade na dose de 5000 mg/kg, nesta mesma dose o animais apresentaram redução de peso. A mensuração de marcadores bioquímicos e hematológicos não apresentaram variação significativa entre os grupos teste e controle. Não houve óbito em nenhuma das doses nas vias de administração testadas, assim o extrato apresentou $DL_{50} > 5000$ mg/kg, tanto pela via oral quanto pela intraperitoneal sendo considerado como não tóxico e pertencente a classe 5, segundo a GHS: Globally Harmonized Classification System. No teste antimicrobiano em relação às bactérias, as cepas Gram positivas foram mais sensíveis que as Gram negativas, cepas de *Staphylococcus aureus* foram inibidas na dose de 512 µg/mL, já as de *Pseudomonas aeruginosa* foram inibidas na dose de 1024 µg/mL. A maioria das cepas de leveduras foram sensíveis; o fungo filamentoso *Aspergillus niger* não apresentou sensibilidade nas doses testadas. A inibição do crescimento tumoral frente ao Carcinoma de Ehrlich foi mais proeminente na dose 200mg/kg/ip com percentual de inibição de 83,91%, por outro lado frente ao Sarcoma 180 o maior potencial de inibição foi detectado na dose de 100 mg/kg/ip com percentual de 85,86%. Assim conclui-se que o extrato etanólico de *Morinda citrifolia* possui baixa toxicidade, e resultados promissores como antimicrobiano e agente antitumoral, representando fonte promissora para isolamento de protótipos de novos fármacos para tais finalidades.

Palavras-chave: *Morinda citrifolia*. Toxicidade. Neoplasias. Infecção

ABSTRACT

Morinda citrifolia Linn. is a small shrub, which though originated from Southeast Asia and Australia hold power of adaptation in diverse geographic and climatic conditions, the fruit juice is used for various therapeutic purposes. Given the concern about the frequent microbial resistance especially in immunocompromised patients, in addition to the high incidence of cancer and low specificity of available antineoplastic drugs aimed to phytochemical screening, investigation of toxicity; antimicrobial and antitumor properties of ethanol extract of *Morinda citrifolia* L. The evaluation of the toxicity followed the methodology of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD 423), the phytochemical screening was carried out in thin layer chromatography, in 96 well microdilution plate with subsequent development with resaruzina was used for antimicrobial testing and antitumor activity was investigated *in vivo* against Ehrlich carcinoma and sarcoma 180. Alkaloids, important class of secondary metabolites were not detected in the extract, moreover flavonoids, triterpenes, coumarins and tannins were detected. Despite the observation of excitability of reactions on the Nervous system in the Hippocratic screening, histopathological study of animal livers and kidneys showed only slight signs of toxicity at the dose of 5000 mg / kg, in the same dose the animals showed weight reduction. The measurement of biochemical and hematological markers not showed significant variation between test and control groups. No deaths occurred in any of the doses tested routes of administration, thus the extract showed LD₅₀ > 5000 mg / kg, both orally and by intraperitoneal being considered not toxic and belonging to class 5, according to the GHS: Globally Harmonized Classification System . The antimicrobial testing against bacteria, Gram-positive strains were more sensitive than Gram-negative, *Staphylococcus aureus* were inhibited at a dose of 512 µg/mL, the *Pseudomonas aeruginosa* have been inhibited in a dose of 1024 µg/mL. Most yeast strains were sensitive; the filamentous fungus *Aspergillus niger* showed no sensitivity in the tested doses. The inhibition of tumor growth compared to Ehrlich carcinoma was more prominent in the dose 200 mg/kg/ip with inhibition percentage of 83.91%, on the other hand against Sarcoma 180 the greatest potential inhibition was detected at the dose of 100 mg/kg/ip with a percentage of 85.86%. Therefore it is concluded that the ethanol extract *Morinda citrifolia* has low toxicity, and promising results as an antimicrobial and antitumor agent and promising source for isolation of new drugs prototypes for such purposes.

Keywords: *Morinda citrifolia*. Toxicity. Neoplasms. Infection

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estimativa de incidência do câncer de acordo com sexo e localização primária para os anos 2014/2015	20
Figura 2	– Arbusto jovem de <i>Morinda citrifolia</i> L.	25
Figura 3	– Presença do fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. em vários estágios de maturação no mesmo galho.	26
Figura 4	– Distribuição geográfica da <i>Morinda citrifolia</i> L. e suas variedades	27
Figura 5	– Triagem Fitoquímica do extrato etanólico do fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L.	39
Figura 6	– Comparação da variação média dos pesos (em g) dos animais no ensaio de toxicidade aguda com extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.	47
Figura 7	– Histopatologia de fígados e rins dos camundongos no teste de toxicidade aguda oral e intraperitoneal do extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> no aumento de 400x	49
Figura 8	– Comparação dos percentuais de Inibição Tumoral (%) e peso dos tumores (g) em animais portadores de Carcinoma de Ehrlich segundo tratamento	52
Figura 9	– Comparação dos percentuais de Inibição Tumoral (TW%) e peso dos tumores em animais portadores de Sarcoma 180 segundo tratamento	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Substâncias e reagentes utilizados na cromatografia de camada delgada	34
Tabela 2	– Concentração Inibitória Mínima- CIM ($\mu\text{g/mL}$) do extrato etanólico do fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L. sobre cepas bacterianas	41
Tabela 3	– Concentração Inibitória Mínima- CIM ($\mu\text{g/mL}$) do extrato etanólico do fruto de <i>Morinda citrifolia</i> L sobre cepas fúngicas	42
Tabela 4	– Principais reações comportamentais relacionadas às doses administradas na avaliação da toxicidade aguda do extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.	45
Tabela 5	– Ganho de peso e hábitos fisiológicos (consumo de água/ração) nos animais tratados com diferentes doses no extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L. em ensaio de toxicidade aguda	47
Tabela 6	– Média e erro padrão dos resultados bioquímicos e hematológicos dos animais segundo os grupos de tratamento da toxicidade aguda	50
Tabela 7	– Média e erro padrão dos pesos do tumores; pesos do animais e a relação PT/PA segundos os grupos de tratamento em animais portadores de Carcinoma de Ehrlich segundo tratamento	51
Tabela 8	– Média e erro padrão dos pesos do tumores; pesos do animais e a relação PT/PA segundo os grupos de tratamento em animais portadores de Sarcoma 180	52
Tabela 9	– Média e erro padrão dos resultados bioquímicos e hematológicos dos animais portadores de Carcinoma de Ehrlich segundo os grupos de tratamento	55
Tabela 10	– Média e erro padrão dos resultados bioquímicos e hematológicos dos animais portadores de Sarcoma 180 segundo os grupos de tratamento	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL	—	Microlitro
ALT	—	Alanina transaminase
ANVISA	—	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AST	—	Aspartato transaminase
ATCC	—	American Type Culture Collection
C1	—	Animais portadores de carcinoma tratados com 100mg/kg/vo de extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.
C2	—	Animais portadores de carcinoma tratados com 200mg/kg/ip de extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.
C3	—	Animais portadores de carcinoma tratados com 100mg/kg/vo de extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.
C4	—	Animais portadores de carcinoma tratados com 200mg/kg/ip de extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.
Cc	—	Animais portadores de carcinoma tratados solução salina – Grupo controle
CCD	—	Cromatografia em camada delgada
CHCM	—	Concentração hemoglobínica corpuscular
CIM	—	Concentração inibitória mínima
CN	—	Caldo Nutriente
Cp	—	Animais portadores de carcinoma tratados com Metotrexato 10 mg/kg/ip
DL₅₀	—	Dose letal em 50% dos indivíduos
EDTA	—	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EEMC	—	Extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.
FDA	—	Food and Drug Administration
G1	—	Grupo de animais da toxicidade aguda tratado com 2000 mg/kg/vo de de extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.
G2	—	Grupo de animais da toxicidade aguda tratado com 5000 mg/kg/ip de de extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.
G3	—	Grupo de animais da toxicidade aguda tratado com 2000 mg/kg/vo de de extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.

G4	—	Grupo de animais da toxicidade aguda tratado com 5000 mg/kg/ip de de extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.
Gc	—	Grupo de animais controle da toxicidade aguda
HCM	—	Hemoglonia corpuscular média
INCA	—	Instituto Nacional do Câncer
OECD	—	Organisation for Economic Co-operation and Development
OMS	—	Organização Mundial de Saúde
Rpm	—	Rotações por minuto
S1	—	Animais portadores de sarcoma tratados com 100mg/kg/vo de extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.
S2	—	Animais portadores de sarcoma tratados com 200mg/kg/ip de extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.
S3	—	Animais portadores de sarcoma tratados com 100mg/kg/vo de extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.
S4	—	Animais portadores de sarcoma tratados com 100mg/kg/ip de extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> L.
Sc	—	Animais portadores de sarcoma tratados solução salina – Grupo controle
Sp	—	Animais portadores de carcinoma tratados com 5-Fluoracil 25 mg/kg/ip
TNJ	—	Tahitian Noni Juice
UFC	—	Unidades formadoras de colônias
UI	—	Unidades Internacionais
VCM	—	Volume corpuscular médio
Vip	—	Via intraperitoneal
Vo	—	Via oral
WHO	—	World Health Organization

SUMÁRIO

1. Introdução	14
2. Revisão de literatura.....	17
2.1 Toxicidade e segurança dos Produtos naturais.....	17
2.2 Produtos naturais e terapia anticâncer.....	19
2.3 Produtos naturais e antibioticoterapia.....	22
2.4 <i>Morinda citrifolia</i> L.....	24
2.4.1 Origem, distribuição e aspectos botânicos.....	24
2.4.2 Toxicidade e segurança.....	27
2.4.3 Potencial farmacológico.....	29
3. Objetivos.....	32
3.1 Objetivo geral.....	32
3.2 Objetivos específicos.....	32
4. Materiais e Métodos.....	33
4.1 Material botânico.....	33
4.2 Preparação do extrato.....	33
4.3 Análise do perfil fitoquímico.....	33
4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana.....	34
4.4.1 Micro-organismos.....	34
4.4.2 Determinação da concentração inibitória mínima.....	35
4.5 Avaliação da toxicidade aguda e DL ₅₀	36
4.5.1 Animais.....	36
4.5.2 Parâmetros hematológicos e bioquímicos.....	36
4.5.3 Análise histopatológica.....	37
4.6 Avaliação da atividade antitumoral.....	37
4.6.1 Animais.....	37
4.6.2 Implante da massa tumoral.....	37
4.7 Análise estatística.....	38
5. Resultados e Discussão.....	39
5.1 Triagem do perfil fitoquímico e potencial antimicrobiano.....	39
5.2 Avaliação da Toxicidade Aguda e Determinação da DL ₅₀	44
5.3 Efeito antitumoral do extrato de <i>Morinda citrifolia</i> L.....	50
6. Conclusões.....	59
Referências.....	60
Anexo.....	77
Anexo – Parecer do Comitê de Ética em Experimentação Animal.....	77

1. INTRODUÇÃO

O uso e o conhecimento das propriedades medicinais de espécies vegetais é considerada a primeira forma de tratamento utilizada pelo homem confundindo-se com sua própria história (NOVAIS et al., 2003; CARVALHO; SILVEIRA, 2017; BADKE et al, 2011). Embora em realidades diferentes a busca da medicina popular é crescente tanto em países desenvolvidos com em desenvolvimento, no primeiro a população faz tal busca como medicina complementar ou alternativa, no segundo, uma vez que o acesso a medicamentos é precário essa busca torna-se a fonte principal de tratamento (WHO, 2011).

Tais espécies vegetais são consideradas potenciais fontes de moléculas que servem de protótipo de novos medicamentos que podem ser utilizados para diversas enfermidades, entre elas destacam-se sobretudo o câncer e as infecções. Em se tratando do câncer, a busca de novas moléculas é motivada pela necessidade de fármacos que consigam equilibrar de maneira positiva potência, toxicidade, seletividade e efeitos secundários; do mesmo modo correlacionando as infecções como causa de prolongamento de internações hospitalares, aumento na morbidade e mortalidade, além da resistência desenvolvida por parte dos microorganismos frente aos antibióticos disponíveis, almeja-se a descoberta de novas moléculas com atividade muito superior às existentes para viabilizar a utilização de pequenas doses e terem o papel de mais uma opção de tratamento (PEREIRA et al, 2004, CABRERA; GÓMEZ; ZÚÑIGA, 2007; BRANDÃO et al, 2010). A busca por novos agentes terapêuticos contra os processos infecciosos e neoplasias se faz urgente para o mercado mundial também quando se considera o aspecto financeiro global já que a produção de fitoterápicos ou de medicamentos derivados de vegetais é viabilizada pelo o uso sustentável de fontes renováveis, podendo desta forma propiciar a criação compostos mais acessíveis para a população (SI-YUAN et al., 2010).

Atualmente se presencia a revalorização, por parte da indústria farmacêutica, da natureza como fonte potencial de novos fármacos (TAUFER; FERRAÇO; RIBEIRO, 2006; ALMEIDA; PINTO, 2011). No Brasil a pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos à partir de espécies vegetais visa não apenas menores custos, como também uma alternativa de superar a dependência externa visto que

majoritariamente os fármacos aqui comercializados são advindos de importações ou produções multinacionais (BENINI et al., 2010).

Sob a ótica molecular os produtos naturais, possuem mais centros quirais, menos heteroátomos, átomos de menor massa molecular e sistemas de anel mais variados quando comparados aos compostos sintéticos, o que garante maior probabilidade de atividade biológica (PAN, 2013). Quando não eficaz por si só as substâncias naturais podem ser aproveitados como protótipos, que com o aprimoramento podem ter otimização de estabilidade, propriedade farmacocinéticas, diminuição de efeitos colaterais, entre outros (ORTHOLAND; GANESAN, 2004).

Embora seja crescente o número de espécies vegetais do Brasil ou que aqui são cultivadas, que tiveram suas propriedades medicinais e tóxicas elucidadas, existem diversas espécies as quais ainda não foram contempladas com estudos de investigação terapêutica ou toxicológica, e que podem ser promissoras no desenvolvimento de novos medicamentos (MARTINS-RAMOS; BORTOLUZZI; MANTOVANI, 2010).

A utilização da *Morinda citrifolia* L. data de mais de 2000 anos pelos povos polinésios e com o tempo algumas atividades farmacológicas vinheram à tona como por exemplo, antioxidante, antitumoral, anti-inflamatória, analgésica, antimicrobiana, imunomoduladora (ATKINSON, 1956; YOUNOS et al., 1990; DITTMAR, 1993; McKOY; THOMAS; SIMOM, 2002; PAWLUS; KINGHORN, 2007). Encontra-se plantios de *Morinda citrifolia* L. no Nordeste do Brasil, principalmente nos estados de Sergipe e Ceará, além de também em outros estados como Acre, São Paulo e Minas Gerais, embora tenha cultivo difundido, há poucos trabalhos realizados com a planta no país (CORREIA et al., 2011).

O efeito terapêutico ou tóxico de produtos obtidos naturalmente se deve a presença dos metabólitos secundários produzidos por plantas, bactérias, protozoários e animais são repostas a estímulos externos dentre os quais pode-se citar infecções, competição, mudança nutricional e predação (PESSOA et al., 2006). Tratando-se de espécies vegetais, entre outros fatores que interagem para a produção de metabólitos secundário estão a sazonalidade, índice pluviométrico, radiação UV, composição atmosférica, altitude, temperatura além da idade do vegetal e constituintes do solo, contudo uma mesma espécie vegetal pode

apresentar mudança na produção de metabólitos secundários de acordo com o seu local de cultivo (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Assim, torna-se imprescindível estudar a composição do fruto cultivado em diferentes partes do Brasil, bem como a avaliação do seu potencial biológico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O embasamento teórico referente à toxicidade e aplicações terapêuticas de produtos naturais está descrito a seguir.

2.1 Toxicidade e segurança dos produtos naturais

Paracelsos (1493-1541) observou e introduziu o conceito de que todas as substâncias são tóxicas e que a dose é quem diferencia o medicamento de um agente tóxico. O mesmo pode ser definido como toda substância que em dose suficiente provoca desestabilização do organismo, como enfermidades, e até a morte. A maioria dos consumidores de produtos de origem natural são motivados, além dos custos menores, pela prerrogativa de que tais produtos são isentos de toxicidade e efeitos adversos, desconhecendo que a toxicidade; efeitos adversos e colaterais; interações com outras drogas ou alimentos e até os produtos de sua biotransformação demandam problemas de saúde pública bem como são causas frequentes de internações hospitalares (LANGMAN; KAPUR, 2006; BALBINO; DIAS, 2010).

Tanto o uso como também o estudo de plantas medicinais comprovou ao longo dos anos que várias espécies são constituídas de substâncias potencialmente perigosas, por esta razão devem ser utilizadas respeitando-se os riscos toxicológicos (VEIGA-JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Para tanto os estudos toxicológicos de xenobióticos visam tanto garantir a segurança do homem dos possíveis efeitos negativos, como estabelecer limites seguros para novos agentes e avaliar a aplicabilidade da nova substância, podendo assim contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos (HODGSON, 2004).

Substâncias como o apiol, safrol, liganas, alcalóides pirrolizidínicos, alguns tipos de terpenos, saponinas, lactonas, furanocumarinas, além de ácido oxálico, nitrato, ácido erúico estão presentes em várias plantas medicinais e são intimamente ligadas a eventos antinutricionais, hepatotóxicos, dermatites, complicações renais e atividades genotóxica e citotóxica (CAPASSO et al., 2000; MORTELMANS; ZEIGER, 2000; VEIGA-JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

As substâncias de origem natural representam maior diversidade química dentre as principais fontes fornecedoras de protótipos para novos fármacos (HARVEY, 2008), e representaram grande contribuição dentre os fármacos aprovados de 1981

à 2006 pelo FDA (NEWMAN; CRAGG, 2007). Aproximadamente 57,7% dos fármacos aprovados pelo Food and Drug Administration (FDA), são baseados em produtos naturais (OJIMA, 2008), em se tratando de vendas cerca de metade dos 20 medicamentos mais vendidos tem origem natural (BARREIRO, BOLZANI, 2009). Referindo-se ao tratamento para doenças infecciosas 68,3% dos antimicrobianos foram inspirados em produtos naturais, da mesma forma 79,8% dos antitumorais também são derivado de substâncias naturais (CRAGG, GROTHAUS, NEWMAN, 2009).

Como contribuição dos produtos naturais para a terapêutica podemos citar, o potente analgésico morfina; a salicina, que contribuiu para o desenvolvimento do ácido acetilsalicílico; a quinina, a qual foi guia para vários antimaláricos, o cardiotônico digoxina, o anticancerígenos paclitaxel, vincristina e vimblastina, além da galantamina para tratamento de Alzheimer, entre outros (VIEGAS-JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006; BUTLER, 2008). Em parte propiciado pelo advento de tecnologias como a química combinatória, os produtos naturais experimentaram declínio em pesquisas, por parte das indústrias farmacêuticas, entre os anos 1990 – 2000s (BAKER et al., 2007), embora na realidade o sucesso foi limitado, uma vez que apenas molécula obtida por química combinatória que atingiu o mercado, o sorafenib (NEWMAN; CRAGG, 2007; HARVEY, 2008).

Em 2008, um manual da Organização Mundial de Saúde dispondo das normas técnicas para ensaios clínicos com fitoterápicos, foi adotado pelo Ministério da Saúde, o que contribuiu para determinação de quais plantas e fitoterápicos apresentavam efetividade e segurança para o uso clínico (BRASIL, 2008). A toxicidade e a segurança de determinada substância química estão relacionadas com sua concentração e tempo de permanência e/ou exposição, contudo os testes de toxicidade são ferramenta para avaliação dos possíveis efeitos adversos de forma padronizada, em condições replicáveis (SILVERIA, 2007). Dentre espécies relacionadas com eventos tóxicos podemos destacar o mastruço (*Chenopodium ambrosioides* L.); a trombetaireira (*Datura suaveolens* Humb. & Bopl ex Wild); jurubeba (*Solanum paniculatum* L.); arnica (*Arnica montana* L.); cáscara sagrada (*Rhamnus ourshiana* C); arruda (*Ruta graveolens*) e confrei (*Symphytum officinale* L.) (VEIGA JR.; PINTO; MACIEL, 2005).

2.2 Produtos naturais e terapia anticâncer

Há mais de cem tipos e subtipos de câncer, os quais podem ser encontrados nos mais diversos órgãos; caracterizando-se sobretudo pela instabilidade genética e alta capacidade de multiplicação. A auto-suficiência em sinais de crescimento; independência a inibição de fatores de crescimento; inibição da apoptose; invasão à tecidos e metástase podem ser citadas como características resultantes da soma de mutações ocorridas em nível celular. De forma evolutiva a massa tumoral passou a contar com o suporte de células estromais, adquirir estratégia para não detecção imunológica e capacidade de angiogênese (LUO et al., 2009; HANAHAN; WEINBERG, 2011).

As mutações ocorridas como resultados de erros na replicação do DNA, que pode ser facilitados por fatores como: químicos, físicos, hormonais, biológicos, são atuantes no processo de carcinogênese, este compreende quatro etapas, dentre elas a iniciação, que compreende as mudanças genéticas a nível de DNA; promoção, que engloba as mudanças genéticas adicionais como por exemplo a maior expressão de oncogenes e menor de genes supressores e de reparo de DNA; conversão para malignidade, caracterizada pela expressão de fenótipos malignos; e a progressão tumoral que pode caracterizar-se pela metástase (KUMMAR; ABBAS; FAUSTO, 2004; WEINBERG, 2008). Os tecidos acometidos por neoplasias vão perdendo função, uma vez que as células cancerosas são menos especializadas que suas correspondentes e fazem a substituição das mesmas (ALMEIDA et al., 2005).

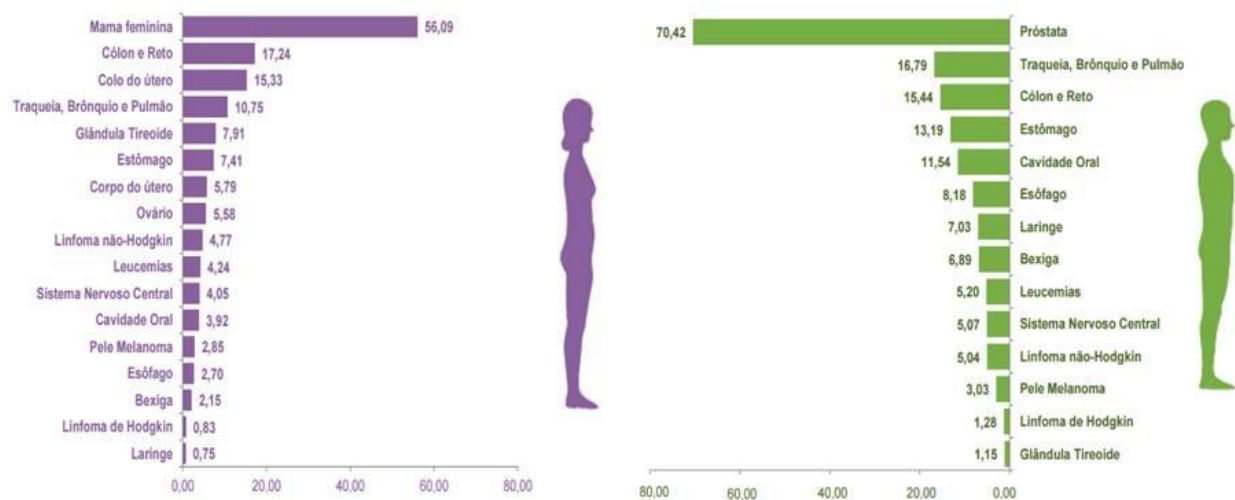
Além da resistência a mecanismos de apoptose e aos sinais antiproliferativos, as células cancerígenas apresentam desregulação metabólica comparando-se com células normais, resultando em comprometimento da homeostase do tecido (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Basicamente o câncer é classificado como doença resultante de mutações em proto-oncogenes e/ou genes supressores tumorais, sendo desenvolvida por alterações em vias de sinalização celular (OUYANG et al., 2012). Atualmente vem consolidando-se a idéia da origem policlonal do câncer, uma vez que o mesmo caracteriza-se por um tecido complexo constituído por vários tipos celulares diferentes interagindo, as quais durante a progressão podem sofrer novas mutações em células individuais e estas podem continuar a proliferar e formar clones sustentando a premissa de heterogeneidade intratumoral, sendo assim cada um dos

diferentes clones podem interagir de maneira diferente com o tratamento (GERLINGER et al., 2012; LANDAU et al., 2013).

Os tumores malignos são responsáveis por um número crescente de pacientes pelo mundo, representando a segunda maior causa de morte no país, perdendo apenas para o grupo de doença cardiovasculares (SRIVASTAVA et al., 2005). Estimativa para os anos 2014/2015 revelam 580 mil novos casos da doença no Brasil, a figura 1 demonstra a taxa bruta de incidência de acordo com sexo e localização primária (INCA, 2014). Para 2020, a incidência está prevista de superar 15 milhões, totalizando cerca de 60% dos casos novos irão se concentrar em regiões menos desenvolvidas (SANTOS et al., 2012; INCA, 2014).

Figura 1 – Estimativa de incidência do câncer de acordo com sexo e localização primária para os anos 2014/2015



Fonte: INCA, 2014

Entre outras, a morte celular pode enveredar pela apoptose, necrose, autofagia ou catástrofe mitótica, tais vias podem interagir na eliminação de células cancerígenas e constituem via de atuação de drogas antitumorais já que para a manutenção da homeostase a taxa de proliferação deve manter o equilíbrio com a taxa de morte celular (KROEMER et al., 2009; JAIN et al., 2013).

Ainda que a ressecção cirúrgica dos tumores, radioterapia, quimioterapia além de terapia adjuvantes como a associação de anticorpos monoclonais, os quais compõe a terapêutica frente ao câncer, promovem resultados promissores para alguns tipo de cânceres, existem vários tumores que não respondem aos protocolos clínicos, debilitando a eficácia do tratamento (KUMMAR, ABBAS, FAUSTO, 2004).

Assim há a necessidade de se fomentar a busca por terapêuticos que possam possibilitar chances reais para o controle da doenças, além de redução da morbidade, fácil administração e efeitos colaterais insignificantes (COSTA-LOTUFO et al., 2010).

Antes do século XIX havia exclusividade das plantas medicinais e extratos vegetais como recursos terapêuticos. A tendência de isolar princípios ativos iniciou-se depois do século XX (GROTHERY, 1998; CHENG; LEUNG; LEUNG, 2003). Cerca de 80% da população mundial recorre á produtos vegetais para a terapêutica de desconfortos (CAETANO et al., 2002).

Os metabólitos secundários que alcaçam alvos terapêuticos humanos, resultam de defesas químicas que os vegetais utilizam para competir por espaço e se defender de herbívoros e patógenos, tal fato explica a diversidade química destes compostos. O estudo dos mecanismos de atuação destes metabólitos nos alvos e o isolamento dos mesmos são considerados prioridades na farmacologia (FERREIRA; PINTO, 2010; CRAGG; NEWMAN, 2013).

A introdução do primeiro antineoplásico de origem natural ocorreu no tratamento de um paciente com tumor de Wilms metastático em 1954, quando Faber utilizou um antibiótico extraído de cultivo de uma espécie de *Streptomyces*, denominado de Actinomicina D, tal fato despertou o até então desconhecido interesse do meio científico por essa área (COSTA-LOTUFO et al., 2010). Muitos dos compostos naturais antineoplásicos foram identificados através da etnofarmacologia (BAILLY, 2009).

Embora a maioria dos quimioterápicos terem sido selecionados devido ao potencial de antiproliferação celular, é crescente a identificação de moléculas promissoras com atividades específica contra alguns mecanismos metabólicos da célula tumoral, inibição da neovascularização tumoral, indução da rediferenciação celular ou estimulação da apoptose (COSTA-LOTUFO et al., 2010).

Em função da grandiosa biodiversidade do Brasil existe um potencial enorme para a descoberta de novos protótipos à antineoplásicos, uma minoria dos vegetais superiores tiveram análise de constituintes com atividade antineoplásica, assim grande número de moléculas ainda estão por elucidar. Para a ampliação e fomentação dessas descobertas o conhecimento de novos alvos terapêuticos bem como o esforço multidisciplinar se faz necessário, afim de se obter a otimização molecular fazendo uso por exemplo de técnicas de síntese, química combinatória e

bioquímica (PESSOA et al, 2006). A cancerologia experimental, que foi impulsionada após a constatação que os animais desenvolvem câncer por motivos semelhante aos humanos, é relevante para o estudo de processos neoplásicos (QI; XU, 2006). Alguns agentes antineoplásicos naturais promissores ou neles baseados estão em fase clínica da pesquisa, entre eles podemos citar o flavopiridol e combrestastina A4 fosfato (KAPOOR, 2013).

2.3 Produtos naturais e antibioticoterapia

As doenças infecciosas praticamente evoluíram juntamente com as espécies as quais hospedam os agentes etiológicos das infecções, atualmente ainda há grande incidência dessas enfermidades observadas há cem anos atrás. O ramo da microbiologia tornou aparente esses patógenos que antes eram desconhecidos (WASSENAAR, 2011).

Identificadas pela primeira vez por van Leeuwenhock em 1670 com o advento do microscópio, as bactérias são seres unicelulares, que apenas foram relacionadas como agentes causadores de infecção e identificadas no século XIX. Em 1910 Paul Ehrlich desenvolveu o salvarsan, primeiro antibiótico de origem sintética, destinado contra sífilis. Outro agente antibiótico surgiu apenas em 1934, proflavina, este foi muito utilizado durante a Segunda Guerra Mundial em infecções de feridas profundas. A partir da descoberta do protossil, por Gerhard Domagk que serviu de protótipo para a classe das sulfonamidas, foi que introduziu-se os primeiros antimicrobianos sistêmicos (PATRICK, 2005).

O número de compostos antibióticos com mecanismo de ação alternativo em estudos pré-clínicos, declinou significativamente, tal número se estreita mais em se tratando de moléculas eficazes para microrganismos Gram negativos (PAYNE et al., 2007).

Dentre os mais antigos fármacos utilizados na antibioticoterapia oriundos de espécies vegetais destaca-se o Quinino, a partir da árvore Cinchona, com ação antimalárica, desta em 1820 foi isolada a quinina; como também a Emetina útil nas amebíases, obtida da raiz da Ipecacuanha, usada pelos indígenas para diarreia (SIMÕES et al, 2004).

As bactérias caracterizam-se de rápida multiplicação e alta capacidade de adaptação; sofrem mutações constantes e trocam material genético entre si. A resistência bacteriana é tida por alguns autores como um evento ecológico visando

uma adaptação frente à presença de antibióticos no meio no qual está inserida (DEMAIN, 2002; WOODFORD, 2005; FERNANDES, 2006).

Atualmente a resistência ocorre em ambientes variados, diferentemente do século XIX, onde ocorria predominantemente em ambientes hospitalares. Como fatores contribuintes correlaciona-se um inapropriado uso de antibióticos, más condições de higiene, o aumento de pacientes imunocomprometidos e a demora no diagnóstico das infecções (FERNANDES, 2006). Compreende-se que a resistência a antibióticos é algo de caráter inevitável e irreversível, daí parte-se a premissa de que os antibióticos que lideram as vendas hoje em dia se tornem obsoletos (SILVEIRA et al, 2007).

Os metabólitos secundários de espécies vegetais contribuem para a descoberta de novos agentes antimicrobianos, podendo até atuar inativando mecanismos de resistência bacteriana à fármacos como as bombas de efluxo (GIBBONS, 2004; LEWIS; AUSUBEL, 2006). Podem atuar ainda como potencializadores da atividade de outros antibióticos que encontram-se limitados, ou como atenuantes de virulência através da modulação do sistema imune (GONZÁLEZ-LAMOTHE et al., 2009). Em algumas pesquisas os terpenos tem sido apontados como detentores de atividade antimicrobiana, podendo agir na integridade da membrana celular (GREAY; HAMMER, 2011; QIU et al., 2011).

A decisão terapêutica sobre eventual prescrição de antibióticos deve fundamentar-se em real indicação, e a seleção dos mesmos deve levar em conta os malefícios da aplicação inadequada de fármacos (ZIMERMAN, 2010). Organismos obtidos de novos ecossistemas tem tendência a desenvolver uma gama de moléculas com diversidade química, as quais são responsáveis de interagir com os alvos moleculares nos microrganismos patógenos (CLARDY; WALSH, 2004; WALSH; FISCHBACH, 2010). A busca por produtos antimicrobianos de origem natural, explorando sobretudo a biodiversidade, contribui para acelerar o processo de descoberta de novos antibióticos, o que tem importância no cenário que presenciamos de rápido desenvolvimento de resistência antimicrobiana (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

As altas taxas de resistência microbiana, o declínio de novos agentes antimicrobianos aprovados por órgãos competentes, a necessidade de mecanismos de ação alternativos podem ser consideradas como razões motivadoras para a

urgência de novos antibióticos (PAYNE et al., 2007; LUZHETSKYY; PELZER; BECHTHOLD, 2007; COATES; HU, 2007).

Sendo assim, é indiscutível a necessidade de estudo tanto toxicológico como farmacológicos de plantas medicinais, almejando além de descobrir, classificar como segura novas alternativas terapêuticas para o tratamento tanto de processos infecciosos como de neoplasias.

2.4 *Morinda citrifolia* L.

As características, segurança e os principais usos da espécie *Morinda citrifolia* L. estão dispostos à seguir

2.4.1 Origem, distribuição e aspectos botânicos

O vegetal *Morinda citrifolia* L. possui porte arbustivo-arbóreo (figura 2), de crescimento ereto, composto de uma ou mais hastes principais, possuindo lenho de coloração amarelada variando entre 3 a 10 m de altura; seus galhos jovens são angulares e com estrias, suas folhas são elípticas, opostas, com margens onduladas, apresentando 10 à 40 cm de comprimento e 5 a 17 de largura; as inflorescências apresentam-se em capítulos solitários, em número de 2 a 3 por axila, sendo de pedúnculo glabro de 1 a 3 cm. Suas flores são pequenas, brancas, tubulares unem-se basalmente e apresentam corola branca e carnosa, composto de cinco lóbulos com cálice esverdeado com cinco estames com anteras enroladas em seu ápice, onde produzem pólen, ficando agrupadas no pedúnculo do fruto. Este, popularmente conhecido como Noni, pós colheita, apresenta odor forte e desagradável semelhante ao ácido butílico, podem atingir 3 a 10 cm de comprimento, apresentam-se ovais, carnosos, ligeiramente enrugados, com uma coloração que varia entre verde, quando encontram-se firmes, ao amarelo semi-translúcido, quando a consistência torna-se macia e o odor butílico se intensifica (CHAN-BLANCO et al., 2006; CORREIA, 2010).

A classificação botânica da *Morinda citrifolia* consiste em: Reino: Plantae - Divisão: Magnoliophyta - Classe: Magnoliopsida - Ordem: Gentianales - Família: Rubiaceae - Gênero: *Morinda* - Espécie: *citrifolia* - Nome científico: *Morinda citrifolia*

L. (MULLER, 2007), o nome *Morinda* é derivado do latim: *Morus*, amora, e *indicus*, indiana, em alusão a semelhança como o fruto da *Morus alba*, já a semelhança de suas folhagens com algumas espécies de citrus culminou no nome *citrifolia* (NELSON, 2006).

Figura 2 - Arbusto jovem de *Morinda citrifolia* L.



Fonte: Arquivo pessoal, SILVA, G.C.

Pertencendo à família *Rubiaceae*, a qual é a quarta maior família botânica entre as angiospermas com 550 gêneros e 9000 espécies, das quais 2000 são encontradas no Brasil; e originária do sudoeste da Ásia, *Morinda citrifolia* L. teve seu cultivo e consumo amplamente difundido tanto por ser uma rica fonte de nutrientes e propriedades fitoterápicas como também por sua fácil adaptação, uma vez que pode ser cultivado e consegue sobreviver em tipos de solos diversos e severos como terrenos rochosos, arenosos, costeiros e vulcânicos. As cascas dos frutos apresentam rachaduras formadas pelos ovários de cada flor, no interior de cada fruto existem centenas de sementes marrom-avermelhadas, sendo que a frutificação ocorre o ano todo. A maioria das rubiáceas são própria de regiões quentes, como os trópicos, além da *Morinda citrifolia* L., tal família vegetal é conhecida devido a outra espécie de impacto: o café (*Coffea arábica*) (OLIVEIRA, 2009; SILVA, 2010).

Além de considerada uma espécie com detentora de grande resistência e com boa longevidade, *Morinda citrifolia* L. começa a produzir seus primeiros frutos no primeiro ano de vida, que apesar de apresentarem tamanho inferior já podem ser coletados, contudo a maioria dos produtores, para certificarem-se que a planta crescerá mais forte, não realizam a colheita. Pode-se observar na planta adulta frutos em vários estágios de maturação (figura 3), uma vez que quando iniciada a fase de produção esta torna-se constante. (CHAN-BLANCO et al., 2006).

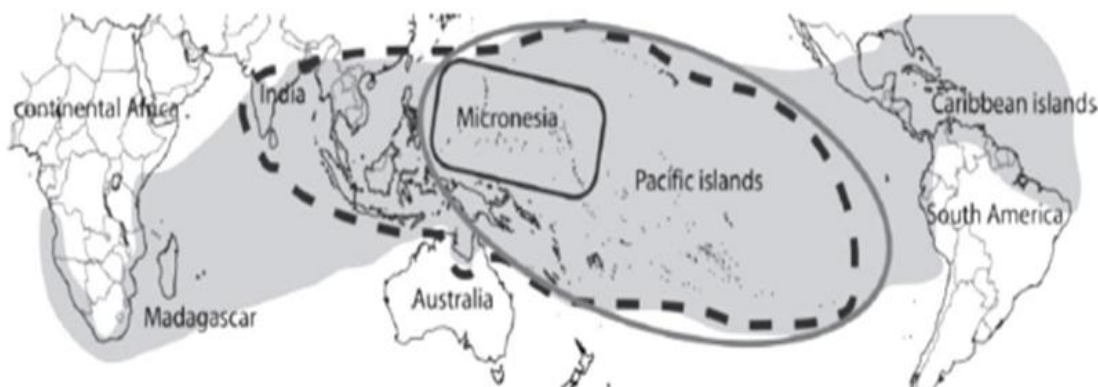
Figura 3 - Presença do fruto de *Morinda citrifolia* L. em vários estágio de maturação no mesmo galho



Fonte: Arquivo pessoal, SILVA, G.C.

A dispersão trans-oceânica de suas sementes flutuantes, autopolinização e sua capacidade de produção de flores e frutos o ano todo são apontados como causas da distribuição pantropical do vegetal (SILVA, 2010). São relatadas três variedades de *Morinda citrifolia* (figura 4), a mais conhecida e distribuída pelo mundo é a *Morinda citrifolia* var. *citrifolia*, essa possui frutos maiores, folhas mais elípticas, já *Morinda citrifolia* var. *bracteata* e *Morinda citrifolia* var. *potteri* tem frutos menores e são encontradas predominantemente na Indonésia (NELSON, 2005; RAZAFIMANDIMBISON et al., 2010).

Figura 4 - Distribuição geográfica da *Morinda citrifolia* L. e suas variedades.



Área cinza engloba a distribuição da *M. citrifolia* var. *citrifolia*, a linha tracejada a distribuição de *M. citrifolia* var. *bracteata*, a linha cinza a *M. citrifolia* var. *potteri* e a linha preta, possui frutos pequenos de *M. citrifolia* var. *citrifolia*.

FONTE: RAZAFIMANDIMBISON et al., 2010.

Casca, raiz, folhas e principalmente o fruto são utilizadas a mais de 2000 anos na Polinésia. Já foram registradas como remédios herbais mais de 40 combinações com tais partes da planta (BUI et al., 2006; LIU, 2007). Uma variedade de fitoquímicos já foram identificados no vegetal, os que se apresentaram como maior grupo foram os compostos fenólicos, ácidos orgânicos e alcalóides (WANG; SU, 2001; BUI et al, 2006).

O que impulsionou a transformação da planta medicinal *Morinda citrifolia* L. em suplemento alimentar comercializado foi uma publicação em 1985, na qual o autor afirmou que na referida espécie haveria um alcalóide responsável pelas ações medicinais do suco dos frutos, nomeado xeronina (HEINICKE, 1985). Tais ações medicinais receberam grande popularidade e hoje são vendidos mundialmente via internet como suplemente alimentar (POTTERAT; HAMBURGER, 2007).

2.4.2 Toxicidade e segurança

A associação do suco de *Morinda citrifolia* Linn. a outros sucos de frutos, dos quais mais frequentes são: uva, laranja, maracujá; é uma ferramenta para mascarar as propriedades organolépticas desagradáveis que lhe são peculiares (NASCIMENTO, 2012).

Enquanto que a vigilância sanitária levanta dúvidas sobre a segurança dos produtos derivados de *Morinda citrifolia* L., e sua comercialização foi proibida, através do informe técnico nº 25, de maio de 2007 (BRASIL, 2007), a União Europeia permite o processamento e a mistura do fruto com outros em produtos industrializados como por exemplo, doces, produtos derivados de cereais, bebidas nutricionais, geleias, condimentos, etc (WEST, et al, 2011a).

Não foram observados efeitos citotóxicos contra a espécie *Artemia salina* e nenhum efeito genotóxico com a utilização do extrato etanólico das sementes de *Morinda citrifolia* L., além disso apresentou efeito antioxidante *in vitro* (West et al. 2012). O tratamento com o extrato aquoso do vegetal não alterou parâmetros de toxicidade reprodutiva experimentada em ratas wistar, porém demonstrou um atraso na ossificação dos fetos (MARQUES et al., 2010). O extrato aquoso do fruto de *Morinda citrifolia* L. provoca efeitos adversos sobre a prenhez de ratas em doses de 7,5 mg/kg, tal efeito foi correlacionado com as atividades antiestrogênica, antiangiogênica e inibidora da COX-2. (MULLER et al., 2007).

Por apresentar cerca de 56 mg/L de potássio, a dose diária a ser ingerida por pessoas com problema renais deve ser controlada e acompanhada por médicos, uma vez que tais pessoas podem desenvolver hipercalemia. (MUELLER et al., 1999). Alguns casos de destaque como de hepatotoxicidade onde foram relacionados ao consumo do suco *Morinda citrifolia* L. Em 2005, na Áustria, foi relatado o primeiro caso, tratando-se de um homem de 45 anos com aumento nas transaminases indicando hepatotoxicidade a qual foi confirmada com biópsia hepática, com a interrupção do consumo os níveis das transaminases normalizaram (MILLONIG et al. 2005); uma mulher de 62 anos também foi diagnóstica com hepatite aguda, quatro anos antes havia sido tratada com fludarabina para tratamento de leucemia, porém durante esse período de tempo a função hepática estava normalizada e cerca de dois meses antes assumiu ter consumido 2 litros de Tahitian Noni®, sendo assim alguns autores consideraram provável a relação de causalidade entre o consumo de *Morinda citrifolia* L. e a doença hepática (STADLBAUER et al. 2005).

Outro relato abordou um rapaz de 14 anos com elevação nas transaminases e na bilirrubina, a biópsia hepática relatou hepatite aguda com inflamação portal e necrose periportal, sem agravantes de ingestão de álcool, medicamentos e outros tipos de drogas. Após dois meses de cessação de ingestão o quadro foi

normalizado. Existe literatura refutando a hepatotoxicidade de noni, porém a maioria desses artigos foram escritos por pesquisadores da Tahitian Noni® (YU et al., 2008).

2.4.3 Potencial farmacológico

O grande consumo do suco de *Morinda citrifolia* L. tem sido relacionado à sua eficácia na prevenção de doenças ligadas ao estilo de vida: diabetes, hipertensão e arteriosclerose (KAMIYA et al., 2010). Há uma diversidade de pesquisas quer seja *in vivo* ou *in vitro*, de extratos ou substâncias isoladas relacionando as atividades biológicas deste vegetal, tais pesquisas tem confirmado algumas das propriedades pertencentes a planta segundo a medicina popular (PAWLUS; KINGHORN, 2007).

Além de considerada fonte de vitamina C e compostos fenólicos, metabólitos aos quais se atribuem a ação antioxidante; a cumarina também presente no fruto justifica a atividade anticoagulante, vasodilatadora, espamolítica e antitrombótica (IKEDA et al., 2009, CORREIA, 2010). Atividade antiespasmódica e vasodilatadora foi verificada em extrato das raízes da espécie e concluiu-se que é mediada por bloqueio dos canais de cálcio voltagem dependentes, a este extrato também reportou efeito antidislipêmico (SAR-UR et al., 2010).

Propriedades antioxidantes tem sendo atribuídas a dois iridóides, e alguns polifenóis pertencentes à frutos deste espécie vegetal, como cumarinas, flavonóides e ácidos fenólicos, demonstrando significativa capacidade de eliminação de radicais livres (DUSSOSSOY et al., 2011). Considerado com um dos principais constituintes fitoquímicos da *Morinda citrifolia* L., o ácido Desacetil Asperuloside, contribui para a atividade antioxidante do suco de noni uma vez que aumentou a atividade da enzima superóxido dismutase de forma dose dependente em ratas wistar (MA, et al., 2013).

O extrato etanólico do fruto, bem como suas frações clorofórmicas e do acetato de etila demonstraram efeitos positivos na diminuição da memória causada por escopolamina, devido sua ação atenuando o estresse oxidativo e a atividade das acetilcolinesterases, além de aumentar o fluxo sanguíneo cerebral (PACHAURI et al., 2012).

A atividade antipsicótica do vegetal foi sugerida em experimento utilizando o extrato metanólico, no qual ocorreu diminuição do comportamento estereotipado induzido por metanfetamina, bem como o comportamento de escalada na gaiola induzido por apomorfina e o tempo de escalada de forma dose dependente (PANDY; NARASINGAM; MOHAMED, 2012). Do mesmo modo, também apresentou efeitos

ansiolíticos e sedativos, devido sua afinidade com o ácido gama-aminobutírico, um importante neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central (DENG et al., 2007).

Em estudo investigando a influencia do suco do fruto no desenvolvimento do tumor mamário e progressão de metástase em camundongos; verificou-se habilidade de inibição tumoral em animais tomando o equivalente da dose recomendada para seres humanos (aprox.. 90 mL/dia). Além disso o tratamento por 30 dias resultou em alterações na ramificação, nos níveis de progesterona e ciclo estral (CLAFSHENKEL et al., 2012).

Embora limitadas, há evidência de que o suco de *Morinda citrifolia* L. é eficiente no tratamento de gripe e influenza (BASAR et al., 2010; GILANI et al., 2010). Devido a melhoria do estresse induzido por diminuição de fluxo de sangue no giro dentado hipocampal apresentou efeito protetor cerebral frente a prejuízos de funções cognitivas (MUTO et al., 2010). Eficácia contra a artrite também foi demonstrada, agindo tanto na diminuição da dor como prevenindo a destruição das articulações (BASAR et al., 2010).

Cepas de bactérias Gram positivas e Gram negativas apresentaram sensibilidade frente a iridóide isolado do fruto (BRETT et al., 2012). Componentes hidrossolúveis do fruto tem valor terapêutico frente a candidíases uma vez que atua sobre a morfologia da *Candida albicans* (BANERJEE et al., 2006; USHA et al., 2010). O extrato alcoólico das folhas apresentou atividade *in vitro* frente ao *Ascaris lumbricoides* (KHUNTIA et al., 2010). O suco do fruto oriundo do Tahiti promoveu hepatoproteção contra a toxicidade aguda do tetracloreto de carbono (CCL₄) ou streptozotocin (MIAN-YING et al., 2008; NAYAK et al., 2011).

Atividade anti-tumoral frente ao carcinoma de Lewis em experimento com ratos, foi observada em polissacarídeos presente no suco de *Morinda citrifolia* L., observou-se que tal inibição tumoral se deu principalmente pela estimulação do sistema imunológico (HIRAZUMI; FURUSAWA, 1999). Antraquinonas isoladas das raízes demonstraram inibição tumoral favorável contra o câncer em animais, dentre tais antraquinonas, o composto morindona exibiu melhor índice, sugerindo que as raízes do vegetal pode ser considerada um alimento funcional com potencial anticancerígeno (KAMIYA et al. 2010).

Embora muitas atividades tenham sido relatadas, diversos estudos para comprovação científica dos efeitos farmacológicos descritos foram realizados com

um dos produtos comerciais mais conhecidos o TAHITIAN NONI JUICE (TNJ) (EFSA, 2009).

Embora programas de desenvolvimento moderno de drogas a partir de compostos isolados seja requerido, publicações científicas indicam a presença de compostos nutricionais e funcionais na espécie vegetal, tendo como isolados mais importantes o dammacanthal e alguns outros compostos fenólicos; porém o atual estado de conhecimento sobre o mesmo ainda é considerado insatisfatório, assim a compreensão fitoquímica, toxicidade, investigação bioatividade, mecanismos de ação e triagens clínicas ainda são requeridas afim de prover dados suficientes (SINGH, 2012).

3. OBJETIVOS

Os objetivos que norteiam o presente trabalho foram classificados em geral e específicos e encontram-se decritos abaixo

3.1 Geral

Determinação do perfil fitoquímico e avaliação biológica de *Morinda citrifolia* L.

3.2 Específicos

- ✓ Obtenção do extrato etanólico de *Morinda citrifolia* L.;
- ✓ Investigar o perfil fitoquímico da espécie *Morinda citrifolia* L.;
- ✓ Avaliar a toxicidade aguda por via oral e intraperitoneal e determinar a DL₅₀ com o extrato etanólico de *Morinda citrifolia* L. em camundongos albinos swiss (*Mus musculus*);
- ✓ Análise dos parâmetros hematológicos e bioquímicos com a administração do extrato etanólico de *Morinda citrifolia* L.;
- ✓ Avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *Morinda citrifolia* L. frente às cepas de bactérias e fungos;
- ✓ Determinar o efeito da administração do extrato etanólico de *Morinda citrifolia* L. quanto à inibição do Sarcoma 180 e Carcinoma de Erlich em camundongos albinos swiss (*Mus musculus*) pelas vias oral e intraperitoneal.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e métodos empregados na parte experimental do presente estudo estão descritos a seguir.

4.1 Material botânico

Os frutos frescos de *Morinda citrifolia* L. foram coletados em fevereiro de 2014 no município de Bezerros, Pernambuco, Brasil latitude -8.24154246, longitude -35.76054788, elevação 501 m, a exsicata da espécie vegetal foi identificada e depositada no herbário Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco, sob número 78155.

4.2 Preparação do extrato

Após lavagem em água esterilizada e de secagem em estufa na temperatura 40°C com circulação e renovação de ar durante sete dias; os frutos foram fatiados e as sementes extraídas. O extrato etanólico *Morinda citrifolia* L. **EEMC** foi obtido a partir da maceração de 500g da polpa em 1000 mL de etanol em temperatura ambiente, após 7 dias foi filtrado para a extração de resíduos da planta, tal filtrado foi concentrado em rotaevaporador até a obtenção de um melaço e armazenado em geladeira à 4°C e com a proteção de luz até a administração nos animais.

4.3 Análise do Perfil Fitoquímico

A análise cromatográfica, para pesquisa de grupos de metabólitos de interesse farmacológico, foi realizada por cromatografia em camada delgada, utilizando placas prontas de gel de sílica 60 Merck, nas quais foram aplicadas 15µL do extratos previamente preparado, selecionando os sistemas de desenvolvimento e os reveladores de acordo com as moléculas a serem pesquisadas seguido metodologia de Wagner; Bladt, (1996) e Matos (1997), as quais tem seus padrões reveladores, fases móveis e proporções resumidas na tabela 1.

Tabela 1 – Susbstâncias e reagentes utilizados na cromatografia de camada delgada

Metabólitos	Padrões	Tabela de testes Fitoquímicos		
		Reveladores	Fase Móvel	Proporção
Alcalóides	Escopolamina	Dragendorff	Tolueno – Acetato de Etila – Dietamina	70:20:10
Triterpenos	Lupeol	Liberman-Burchard	Tolueno-Clorofórmio - Etanol	40:40:10
Flavonóides	Quercetina	NEU	Acetato de Etila – Ác. Fórmico – Ác. Acético glacial - Água	100:11:11:26
Cumarinas	Ác. Cumárico	KOH – ETOH 10%	Tolueno - Éter	1:01
Taninos	Ácido tânico	Cloreto férrico 1%	Clorofórmio – Metanol - Água	65:30:05

4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

O protocolo experimental para atividade antimicrobiana está diposto a seguir.

4.4.1 Micro-organismos

Foram incluídas cepas de bactérias: *Staphylococcus aureus* ATCC- 13150, M-177 e LM-197; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC- 9027 e P-03; leveduras: *Candida albicans* ATCC-76645 e LM-106; *Candida tropicalis* ATCC-13803 e LM-6; *Candida krusei* LM- 656 e LM- 978; e fungos filamentosos *Aspergillus flavus* LM-118 e *Aspergillus niger* LM-108; as quais foram adquiridas no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, Laboratório de Micologia e de Microbiologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba e mantidas em meios de cultura apropriados, Agar Nutriente- AN para bactérias e Agar Sabouraud Dextrose- ASD para fungos (DIFCO LABORATORIES/France/USA) e conservadas à 4 °C e à 35 °C.

A suspensão dos microrganismos foi preparada conforme o tubo 0.5 da Escala McFarland, ajustada através de leitura espectrofotométrica (Leitz-Photometer

340-800), para 90% T (530 nm), correspondendo, aproximadamente, a 10^6 UFC/mL (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACECK; GREEGER, 2000; NCCLS, 2000).

4.4.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A determinação da CIM foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas contendo 96 cavidades com fundo em forma de “U” e em duplicata. Em cada orifício da placa, foi adicionado 100 µL do CN - Caldo Nutriente (para bactérias) e meio líquido RPMI (para leveduras e fungos filamentosos) duplamente concentrado. Posteriormente, 100 µL do produto solubilizado, também duplamente concentrado, foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de 1024 µg/mL até 32 µg/mL, de modo que, na primeira linha da placa se encontrará a maior concentração e na última, a menor concentração. Por fim, foram adicionados 10 µL do inóculo dos micro-organismos nas cavidades, onde cada coluna da placa referiu-se, especificamente, a uma cepa. Foi feito controle de crescimento do micro-organismo no meio de cultura; com cloranfenicol (100 µg/mL) para bactérias, nistatina (100 UI/mL) para leveduras e fluconazol (100 µg/mL) para fungos filamentosos, adquiridos comercialmente da SIGMA-ALDRICH®. As placas foram incubadas à 35°C por 24 – 72 horas para os ensaios com bactérias e leveduras; e a temperatura ambiente (28-30 °C) por 7-10 dias para fungos filamentosos. Após 24 h de incubação, foi adicionado 20 µL de solução do corante resazurina a 0,01 % (INLAB), reconhecido como um indicador colorimétrico de óxido-redução (MANN; MARKAN, 1998). A mudança de coloração do corante (azul para vermelho), considerou-se como indicador de crescimento microbiano, e considerada como CIM, a menor concentração do produto capaz de inibir o crescimento das cepas bacterianas usadas nos ensaios, já a CIM do produto sobre as cepas fúngicas, foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento microbiano verificado nas cavidades, quando comparado com o crescimento controle.

Os ensaios foram realizados em duplicata e o resultado expresso pela média geométrica dos valores de CIM obtidas nos dois ensaios (CLEELAND; SQUIRES, 1991; ELOFF, 1998; SOUZA et al., 2007). A atividade antimicrobiana dos produtos foi interpretada e considerada ativa ou não, conforme os seguintes critérios: 50-500

$\mu\text{g/mL}$ = forte/ótima atividade; 600-1500 $\mu\text{g/mL}$ = moderada atividade; >acima de 1500 $\mu\text{g/mL}$ = fraca atividade ou produto inativo (SARTORATTO et al., 2004; HOUGHTON et al.; 2007).

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

Segue o delineamento experimental da toxicidade aguda.

4.5.1 Animais

Foram utilizados camundongos albinos Swiss machos (*Mus musculus*), com aproximadamente 60 dias de idade e pesos entre 30 e 40g, os quais foram mantidos em condições controladas de iluminação (ciclo claro/escuro de 12 hora cada) e temperatura de 25 $\pm$ 3°C, em gaiolas de polipropileno, receberam alimentação específica e água *ad libitum*. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Centro de Ciências Biológicas da UFPE, sob o processo nº 23076.039925/2014-76 (ANEXO A).

A avaliação da toxicidade aguda foi realizada segundo a metodologia da Organização para Cooperação e Desenvolvimento (OECD 423). Os animais foram observados individualmente após a administração por 30 minutos, periodicamente durante as primeiras 24 horas e diariamente por um período de quatorze dias, sendo monitorados o peso e consumo de água e ração (OECD, 2001).

4.5.2 Parâmetros hematológicos e bioquímicos

Ao final do período de observação os animais foram pesados, amostras sanguíneas coletadas por punção cardíaca após anestesia sendo alocados em dois tubos, um com EDTA para análise hematológica de eritrócitos, leucócitos, hemoglobina e índices hematimétricos como, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e outro com gel separador, o qual foi centrifugado por 10 minutos a 3500 rpm, para obtenção do soro destinado às análises bioquímicas tais como: uréia, creatinina, transaminases e fosfatase alcalina, depois foram sacrificados em câmara de CO_2 .

4.5.3 Análise histopatológica

Após sacrificados foi procedida incisão cirúrgica no animais que se estende do peito até o abdômen para a retirada dos rins e fígado. Os órgãos foram lavados e fixados em formaldeído a 10% durante 24 horas, posteriormente lavados com água destilada e processada em concentrações crescentes de álcool (70%, 80%, 90% e 100%) de água, embebidas em parafina e coradas para a técnica Hematocilina-eosina (HE) para análise microscópica subsequente (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

4.6 Atividade Antitumoral

O protocolo experimental para evidenciação do efeito antitumoral está descrito a seguir.

4.6.1 Animais

Para investigação da atividade antitumoral, foram utilizados camundongos albinos Swiss machos (*Mus musculus*), com aproximadamente 60 dias de idade e pesos entre 30 e 40g, divididos em grupos de seis. Estes animais foram mantidos em condições controladas de iluminação (ciclo claro/escuro de 12 hora cada) e temperatura de 25 $\pm$ 3°C, em gaiolas de polipropileno, receberam alimentação específica e água *ad libitum*.

4.6.2 Implante da massa tumoral

Para o transplante dos tumores (Carcinoma de Ehrlich e Sarcoma 180) e as células tumorais foram retiradas de animal doador com oito dias de implantação, através da aspiração da forma ascítica e foram introduzidas nos animais receptores, por via subcutânea na região subaxilar, numa concentração de 25×10^6 células/mL. Após quarenta e oito horas de implante, os animais foram divididos em grupos (n= 6) e tratados por 7 dias com; Cc: Solução salina 0,9%/vo, Cp: Metotrexato 10 mg/kg/ip; C1: EEMC 100mg/kg/vo, C2: EEMC 200mg/kg/vo; C3: EEMC 100mg/kg/ip e C4: 200 mg/kg/ip para o teste frente a linhagem de Carcinoma de Ehrlich e Sc: solução salina 0,9%/vo; Sp: 5-Fluoracil 25 mg/kg/ip; S1: EEMC 100mg/kg/vo; S2: EEMC 200mg/kg/vo; S3: EEMC 100mg/kg/ip e S4: 200 mg/kg/ip) para o teste frente a linhagem do Sarcoma 180. No oitavo os animais foram pesados e amostras sanguíneas coletadas por punção cardíaca após anestesia para análises

hematológicas e bioquímicas; logo após os tumores foram extirpados, pesados e a porcentagem de inibição tumoral calculada segundo a equação:

$$TWI\% = \frac{C - T}{C} \cdot 100$$

Onde:

TWI% = % de inibição tumoral

C = media dos pesos dos tumores dos animais do grupo controle

T = média do pesos dos tumores dos animais do grupo teste

Os ensaios foram realizados conforme adaptação de metodologia descrita por Stock; Clarck; Philips, (1955); Geran et al., (1972) e Koniyaama; Funayama, (1992).

4.7 Análise estatística

A média e o desvio padrão foram avaliados no software Prisma, por análise de variância (ANOVA) mediante o teste “t” de Student, considerando-se significativo os valores para um valor $p < 0,05$ (MORETTIN, 2010).

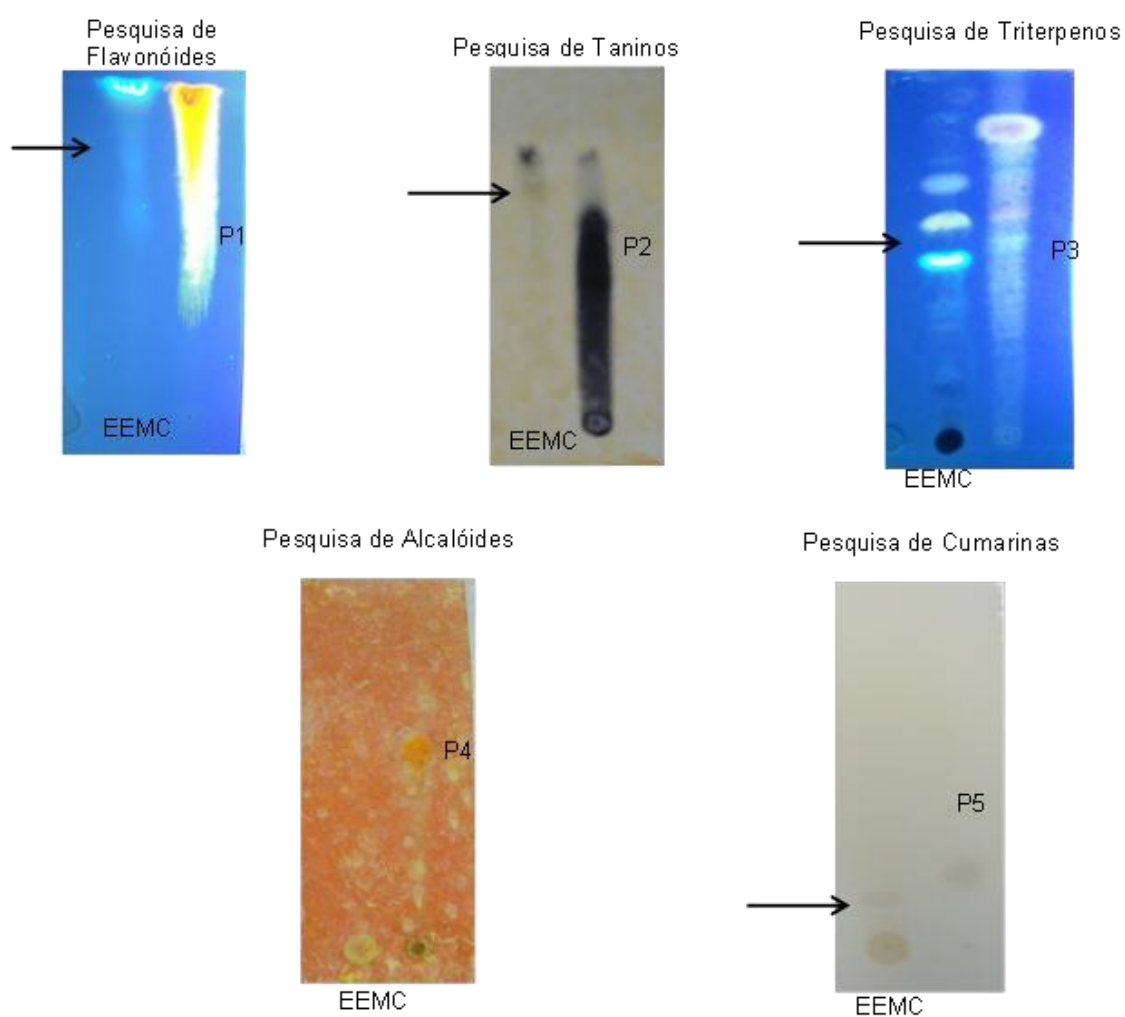
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados obtidos, foi realizada criteriosa discussão sobre as possíveis consequências dos achados científicos.

5.1 Triagem do perfil fitoquímico e potencial antimicrobino

Dos cinco grandes grupos de metabólitos secundários de interesse farmacológico pesquisados apenas não foi detectada a presença de alcalóides no EEMC (figura 5).

Figura 5 - Triagem Fitoquímica do extrato etanólico do fruto de *Morinda citrifolia* L



EEMC- Extrato etanólico de *Morinda citrifolia*; P1- Quercetina; P2- Ácido tânico; P3- Lupeol; P4- Escopolamina; P5- Ácido cumárico.

O conhecimento da composição química das plantas aplicada na medicina popular envolve o estudo de interações do organismo com os efeitos das inúmeras classes de compostos e moléculas que podem existir numa única planta (TOLEDO et al, 2003), torna-se desejável a elucidação uma vez que contribui para abertura de novas fontes de diversas moléculas do metabolismo secundário do vegetal as quais podem ser utilizados como precursores de síntese (AKROUT et al, 2010). O conhecimento dos fitocomponentes bioativos é de importância no sentido de prever o valor medicinal da espécie vegetal em questão (VEERMUTHU; MUNIAPPAN; SAVARIMUTHU, 2006).

A triagem fitoquímica preliminar possibilitou a identificação de classes de metabólitos secundários de interesse farmacológico no extrato, bem como a percepção que as condições climáticas e do solo contribuíram para possíveis modificações na presença de tais metabólitos visto que a espécie vegetal em questão tem larga distribuição geográfica. A não detecção de alcalóides no EEMC em estudo; diverge dos trabalhos de Ramesh et al, (2012), o qual detectou alcalóides em extratos etanólicos dos frutos de *Morinda citrifolia* L. em todos os estágio de maturação. Alcalóides também foram detectados em extratos de outras partes da planta como caule e folha (SAHOO et al, 2012).

O fomento para a busca de agentes antimicrobianos mais baratos, eficientes e sobretudo acessíveis, parte da crescente resistência antimicrobiana apresentada pelas mais diversas cepas de microorganismos e da habilidade das espécies vegetais produzirem uma variedade de compostos com propriedades terapêuticas conhecidas (RAMAPPA; MAHADEVAN, 2011; NATHEER et. al., 2012).

O EEMC na concentração de 1024 µg/mL, inibiu todas as cepas bacterianas, já na concentração de 512 µg/mL, duas cepas de *S. aureus* foram sensíveis ao extrato, (tabela 2).

Tabela 2- Concentração Inibitória Mínima- CIM ($\mu\text{g/mL}$) do extrato etanólico do fruto de *Morinda citrifolia* L. sobre cepas bacterianas

Extrato $\mu\text{g/mL}$	<i>S. aureus</i> ATCC -13150	<i>S. aureus</i> M-177	<i>P. aeruginosa</i> ATCC -9027	<i>P. aeruginosa</i> ATCC -P-03
1024	-	-	-	-
512	-	-	+	+
256	+	+	+	+
128	+	+	+	+
64	+	+	+	+
32	+	+	+	+
Micro-organismo	+	+	+	+
Cloranfenicol	-	+	-	-
Nistatina/fluconazol	+	+	+	+

-: Não houve crescimento do micro-organismo +: Crescimento do micro-organismo

O extrato demonstrou atividade maior frente as cepas Gram positivas em comparação às cepas Gram negativas utilizadas no presente estudo, segundo Hassan; Fan, (2005), devido a permeabilidade da parede celular ou da membrana, majoritariamente cepas de bactérias Gram positivas são mais sensíveis à extratos vegetais em comparação com as Gram negativas. Em acordo com nossos resultados o extrato de *Morinda citrifolia* L., oriundo da Polinésia francesa, rico em iridóides com concentração de 0,8 mg/mL se mostrou eficiente frente a cepas de *C. albicans* e *S. aureus*. A cepa de *C. albicans* foi a mais sensível (WEST et al., 2012). Extrato etanólico do fruto de *Morinda citrifolia* L., proveniente da Índia, obteve atividade promissoras frente às *S. aureus* e *P. aeruginosa*, com concentração inibitória mínima de 12,5 mg/mL (NATHEER et. al., 2012).

Relata-se que a prevalência de *Staphylococcus aureus* é influenciada pela idade, doença subjacentes, raça, certos comportamentos e o ambiente no qual a pessoa está inserida; cepas de *S. aureus* oportunistas vem tornando-se cada vez mais predominantes não só em hospitais como também em comunidades, o que

configura um desafio para a pesquisadores (SCHIJFFELLEN et al., 2010; KHATTAK et al., 2015). Nossos resultados discordam dos achados de Sundar et al. (2011), que não encontraram resultados positivos frente as cepas de *S. aureus* para o extrato do fruto de *Morinda citrifolia* L., utilizando solventes como metanol, clorofórmio e acetona, fatores como polaridade dos metabólitos responsáveis pela ação juntamente com a polaridade dos solventes, além das condições climáticas as quais o vegetal estaca exposto possivelmente influenciaram tal resultado.

Também foi observado que na concentração de 512 µg/mL, houve a inibição do crescimento de cinco (63 %) das leveduras e fungos filamentosos incluídos no ensaio (tabela 3), porém cepa de *A. niger* foi resistente. Os resultados com o controle nistatina (leveduras) e fluconazol (fungos filamentosos) mostram que, cinco cepas (66 %) foram sensíveis a tais antifúngicos.

Tabela 3- Concentração Inibitória Mínima- CIM (µg/mL) do extrato etanólico do fruto de *Morinda citrifolia* L. sobre cepas fungicas

EEMC µg/mL	<i>C. albicans</i> ATCC -76645	<i>C. albicans</i> LM-106	<i>C. tropicalis</i> TCC -13803	<i>C. tropicalis</i> LM-6	<i>C. krusei</i> LM-656	<i>C. krusei</i> LM -978	<i>A. flavus</i> LM-714	<i>A. niger</i> LM -108
1024	-	-	-	-	-	-	-	+
512	-	-	-	+	-	-	+	+
256	+	+	+	+	+	+	+	+
128	+	+	+	+	+	+	+	+
64	+	+	+	+	+	+	+	+
32		+	+	+	+	+	+	+
Micro-organismo	+	+	+	+	+	+	+	+
Nistatina/Fluconazol	+	+	-	-	+	-	-	-

-: não houve crescimento do micro-organismo +: crescimento do micro-organismo

Apesar de integrar a microbiota normal bucal, gastrointestinal e vaginal, as infecções fúngicas pelo gênero *Candida* tem crescido desde 1980, e tendo como principal alvo pacientes imunocomprometidos (ARENDRUP et al., 2005; SHAO et al., 2007; ESPINEL-INGROFF et al., 2009). O gênero é composto por 17 espécies das quais as mais relatadas à infecções são *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* and *Candida krusei* (PFALLER et al., 2007). A cepa de *C. albicans* demonstrou sensibilidade frente ao EEMC, com inibição do seu crescimento a partir da dose de 512 µg/mL, tal sensibilidade corroborou com Jainkittivong et al. (2009), encontraram inibição frente à cepas de *C. albicans*, pela ação do extrato aquoso do fruto nas concentrações de 50 mg/mL e 60 mg/mL em teste de diluição em tubos e também com Kumar et. al., (2010) utilizando extrato de etanólico de folhas.

Divergindo do presente estudo, a atividade promissora frente à cepas de *A.niger* foi obtida com extrato etanólico, metanólico, acetato de etila e clorofórmico do fruto maduro (RAMESH et al., 2012). Tal atividade também foi encontrada no etanólico das folhas exibiu áreas de inibição satisfatórias frente à cepas do fungo filamentoso *A. niger* (NEVI; KRISHMA, 2013).

Sahoo et al., (2012) obtiveram resultados satisfatórios do extrato do caule e folhas frente às cepas de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* e *A. niger*, utilizando extratos metanólico e clorofórmico, na triagem fitoquímica os alcalóides se faziam presentes tanto nas folhas como no caule dos dois tipos de extratos. Em contrapartida os taninos não foram detectados no extrato clorofórmico.

Taninos já foram relatados como inibidores potenciais de algumas enzimas hidrolíticas, como por exemplo, as enzimas proteolíticas largamente utilizada por patógenos vegetais (ABOABA; EFUWAPE, 2001), tais metabólitos possivelmente podem ter responsabilidade no efeito antimicrobiano do extrato. Rahman et al., (2010) descreve que compostos químicos como glicosídeos, saponinas, flavonóides, triterpenos alcalóides, possuem potencial antimicrobiano, dos quais o extrato em estudo reportou presença da maioria, com exceção do alcalóides. A diferença das concentrações inibitórias mínimas entre os estudos realizados com o mesmos tipos de cepas pode entre outras causas está relacionados com a variação geográfica e climática na qual a espécies vegetais se desenvolveram.

Os resultados obtidos nos ensaios de atividade antimicrobiana do EEMC nas concentrações de 1024 e 512 µg/mL, frente a cepas de bactérias e fungos

demonstrou uma moderada atividade antimicrobiana (600-1500 µg/mL= moderada atividade) conforme os critérios adotados por Sartoratto et al., (2004) e Houghton et al.; (2007).

5.2 Avaliação da Toxicidade Aguda e Determinação da DL₅₀

Apesar de alguns reações comportamentais importantes terem sido detectadas no screening hipocrático (tabela 4), não houveram mortes após o período de 14 dias, nem na dose de 2000 mg/Kg e nem na de 5000 mg/Kg, com isso a DL₅₀ foi considerada como sendo DL₅₀ > 5000 mg/kg, sendo o extrato considerado de baixa toxicidade aguda tanto oral como intraperitoneal, de acordo com o critério da GHS (Globally Harmonized Classification System) o extrato pertence a classe 5 (composto com toxicidade aguda muito baixa ou não tóxico). West et al, (2006), Chearskul et al, (2004), encontraram os valores de DL₅₀ intraperitoneal para extratos aquoso e alcoólico como sendo 7500 mg/kg e 3500 mg/kg, respectivamente.

A realização do procedimento com dose de 5000 mg/Kg foi realizado conforme orientação da OECD e justificado mediante a ausência de mortalidade na dose de 2000 mg/kg, a ausência de toxicidade na estudo histopatológico, a não verificação de alterações significantes de marcadores bioquímico e hematológicos e ao relatos de casos de hepatotoxicidade em humanos.

Na administração oral na dose de 2000mg/kg observou-se um período inicial de excitação; com o surgimento de reações como aumento da frequência cardíaca e respiratória, ereção de cauda, movimentos estereotipado e de vibrissas (tabela 4); discordando de ensaio realizado por Nakanishi et al, (1965), no qual tais reações foram ausentes; seguido por uma fase depressora com a exibição de sinais como fotofobia, e prostração, fenômenos estes que se mostraram mais acentuados na dose de 5000mg/kg; provavelmente os compostos do extrato promoveram liberação e/ou inibição da receptação de neurotransmissores excitatórios, o que aumenta a concentração dos mesmos na fenda sináptica e a probabilidade de interação com o receptores específicos.

Tabela 4. Principais reações comportamentais relacionadas as doses administradas na avaliação da toxicidade aguda do extrato etanólico de *Morinda citrifolia* L.

Ações/Parâmetros	G1	G2	G3	G4
ESTIMULANTES DO SNC				
Agitação	++	+++	+++	+++
Agressividade	++	+++	+	+
Aumento da frequência respiratória	++	+++	++	+++
Convulsões	+	++	-	-
Ereção de cauda	++	+++	++	+++
Expansão do pavilhão auricular	+	++	+	+++
Exoftalmia	+	++	+	++
Marcha em monobloco	+	++	++	+++
Movimento circular	+	++	+	++
Movimento estereotipado	+++	+++	+	++
Movimento de vibrissas	++	+++	+	++
Ondulação de cauda	+	+	++	++
Piloereção	+	+	+	+
Postura de ataque	-	+	-	-
Postura em garra	+++	+++	-	-
Tremores finos/ grosseiros	-	+	+	++
Taquicardia	++	+++	++	+++
Salto	+	-	-	-
DEPRESSORES DO SNC				
Abaixamento do trem posterior	++	+++	+	+
Inversão de marcha	++	++	+	++
Prostração	+	+	++	+++
Fotofobia	+	++	+	++
SNA				
Contorções	-	-	++	+++
Distensão abdominal	+	++	++	+++
Diurese	+	+	-	+
Espasmos musculares	+	+	+++	+++
Excreção	-	+	-	+
Palidez	+	++	++	+++
Postura estática	+	++	++	+++
Reação de fuga	++	+++	+	++
Refluxo	+	++	-	-
Edema de fúculo	++	+++	+	++
Hipertrofia testicular	+	+	++	++
Óbitos	0	0	0	0

Gc– Controle; G1: EEMC 2000 mg/kg/vo; G2: EEMC 2000 mg/kg/ip; G3: 5000 mg/kg/vo e G4 5000 mg/kg/ip

(-) Ausência; (+) Presença leve; (++) Presença moderada; (+++) Presença Acentuada

*Adaptada de Malone, (1977).

Os sinais depressores normalmente quando surgem sugerem fadiga neuronal a qual ocorre normalmente após uma fase excitatória que pode ser decorrente de um esgotamento parcial dos neurotransmissores excitatórios, outra hipótese pode ser a biotransformação dos compostos do extrato gerando uma substância depressora ou ainda biotransformação inativando os compostos excitatórios (SILVA, 2006; BLOOM, 2006). Nosso resultado não corrobora também com ensaio realizado em ratos com extrato do fruto proveniente do Taiti na dose 15 000mg/Kg, onde os animais não apresentaram sinais de toxicidade e nem mudanças comportamentais (PRODUCT SAFETY LABS, 2000). Do mesmo modo West et al (2011b) não verificou sintomas de toxicidade em ensaio subagudo realizado com extrato das sementes e de frutos em ratos.

Na via intraperitoneal antes do início da fase excitatória, houve uma transitória fase de prostração, com manutenção de postura estática por parte dos animais, após essa fase iniciou-se o período excitatório, com diferença notável, da via oral, pela presença de distensão abdominal com posterior contorções; tais sinais tornaram-se mais acentuados na dose de 5000 mg/kg e são indicativos cólicas e ainda podem ser considerados determinantes para a fase de prostração inicial. Após fase de estimulação os animais voltaram a estado depressor com surgimento de fotofobia, hipotermia e sonolência. Apesar dos sinais estimulantes estarem presentes nas duas vias de administração foram bem mais acentuados por a via oral. Importante ressaltar que na primeira hora de observação não houve evacuação que na dose de 2000 mg/kg pelas duas vias de administração possivelmente algum composto gerou diminuição da motilidade intestinal.

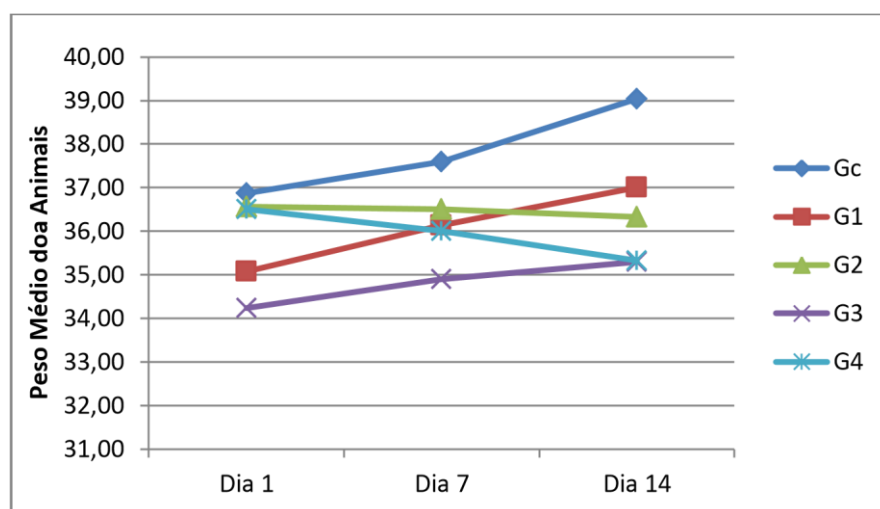
Os animais tratados não apresentaram alterações significativas no consumo de água e alimentos (tabela 5), porém apenas houve diminuição na variação de peso dos grupos aumento de peso no grupo G2 – 5000 mg/kg/vo e G4 - 5000 mg/kg/ip (figura 6).

Tabela 5 - Ganho de peso e hábitos fisiológicos (consumo de água/ração) nos animais tratados com diferentes doses no extrato etanólico de *Morinda citrifolia* L., em ensaio de toxicidade aguda.

Grupos	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Diferença de peso (g)	Consumo de água (mL)	Consumo de ração (g)
Gc	36,87 ± 1,05	39,03 ± 0,45	2,17 ± 0,45a	30,75 ± 0,15	12,49 ± 0,25
G1	35,07 ± 2,78	37,0 ± 3,06	1,93 ± 0,54a	29,8 ± 0,30	12,04 ± 0,11
G2	36,57 ± 2,05	36,33 ± 3,25	-0,23 ± 1,46a	30,3 ± 0,40	11,67 ± 0,33
G3	34,23 ± 2,15	35,30 ± 2,14	1,07 ± 0,03a	31,0 ± 0,20	12,28 ± 0,46
G4	36,5 ± 1,76	35,33 ± 1,46	-1,17 ± 0,54b	31,20 ± 0,49	11,12 ± 0,21
p-valor ¹			0,040	0,139	0,113

Gc– Controle; G1: EEMC 2000 mg/kg/vo; G2: EEMC 5000 mg/kg/vo; G3: 2000 mg/kg/ip e G4 5000 mg/kg/ip

Figura 6 – Comparação da variação média dos pesos (em g) dos animais no ensaio de toxicidade aguda com extrato etanólico de *Morinda citrifolia* L.



Grupos: Gc– Controle; G1: EEMC 2000 mg/kg/vo; G2: EEMC 5000 mg/kg/vo; G3: 2000 mg/kg/ip e G4 5000 mg/kg/ip

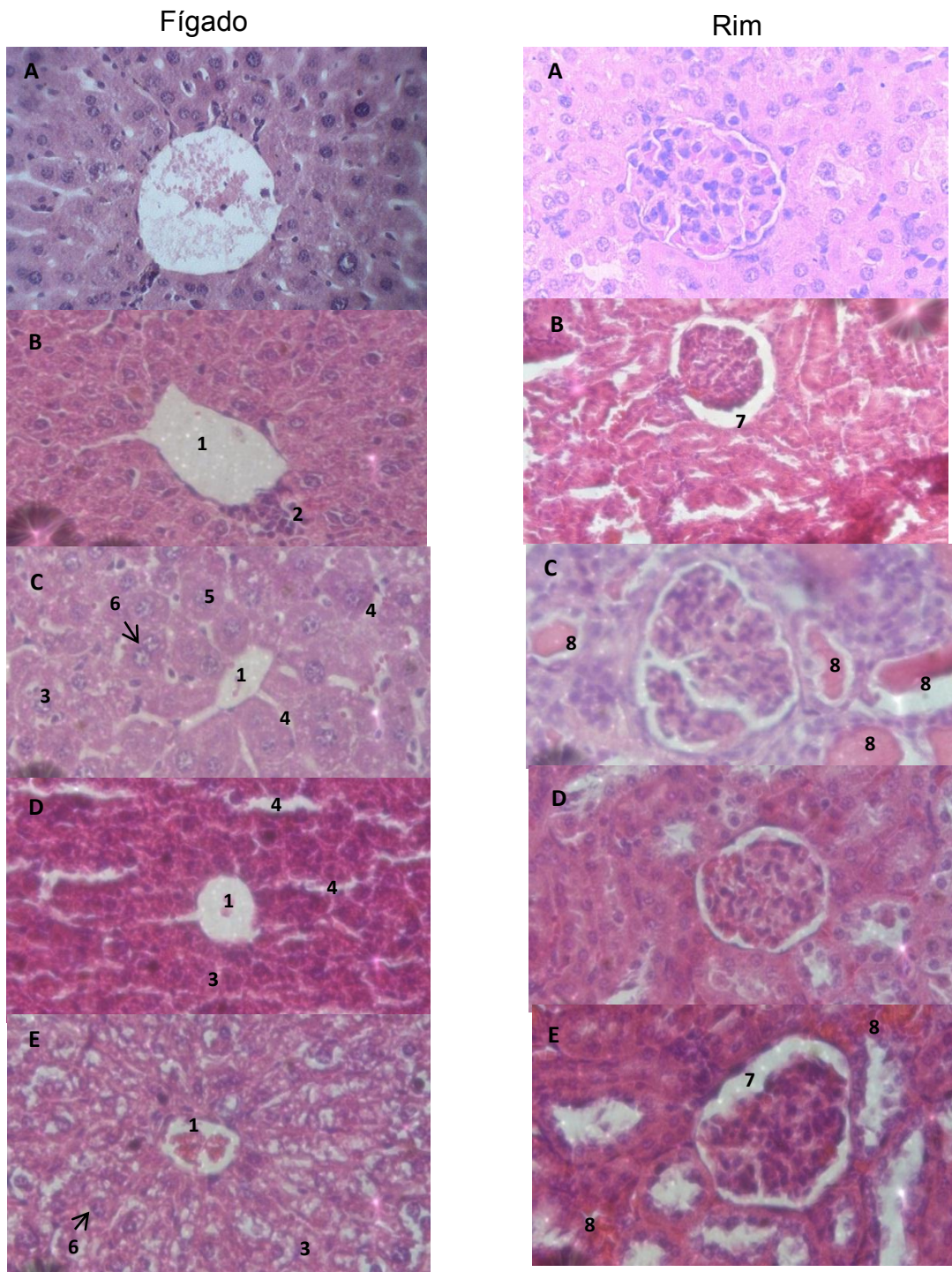
Os grupos de 2000 mg/kg apresentou uma variação ganho de peso de $1,93 \pm 0,54$ e $1,07 \pm 0,03$, par os grupos G1 e G3. Como o consumo de água e ração não apresentaram alteração estatística entre os grupos, provavelmente a diminuição de peso dos animais dos grupos G2 e G4 pode ser associação ao o não aproveitamento dos nutrientes pelo metabolismo do animal quanto tratados com a

maior dose. Em teste subagudo com o extrato da referida espécie vegetal não foi observado diminuição de pesos dos animais testados (WEST et al, 2011b).

Na análise macroscópica, os órgãos permaneceram inalterados no que concerne ao aspecto, cor, tamanho e textura. Já a análise microscópica dos fígados do grupo G1 apresentou, pouco infiltrado inflamatório, espaço porta, cordões de hepatócitos e sinuzóides bem conservados, os rins verificou-se aumento do espaço interglomerular e túbulos renais bem conservados, o grupo G2 apresentou fígados com hipocromia nuclear, aumento e desarranjo do cordões de hepatócitos, os rins apresentou aumento do espaço interglomerular e presença de substância amorfa no lúmen dos túbulos renais, o grupo G3 apresentou fígado e rins bem conservados, o grupo G4 apresentou fígados com vacuolização citoplasmática e desarranjo dos cordões de hepatócitos enquanto que os rins apresentaram-se bem conservados (figura 7).

As alterações histopatológicas microscópicas no fígado observadas apenas nos grupos G2 e G4, não foram acompanhadas por alterações nas mensurações de AST e ALT (tabela 6), em relação ao grupo controle. A presença de substância amorfa nos túbulos renais do grupo 2 também não refletiu em alterações na mensuração de marcadores renais como a uréia e creatinina (tabela 6), possivelmente o provável dano hepático e renal não foi suficiente para alterar marcadores plasmáticos, não provocando prejuízos drásticos à função hepática e renal. Em consoância com o presente estudo Largato et al, (2013) não detectaram alterações significantes dos marcadores bioquímicos.

Figura 7. Histopatologia de fígados e rins dos camudongos do teste de toxicidade oral e intraperitoneal do extrato etanólico de *Morinda citrifolia* L. no aumento de 400 x



A- Animais do frupo Gc; B- Animais do grupo G1- 2000 mg/kg/vo; C- Animais do grupo G2- 5000 mg/kg/vo; D- Animais do grupo G3-2000 mg/kg/ip; E- Animais do grupo G4- 5000 mg/kg/ip; 1- Veia centro-lobular; 2- Infiltrado leucocitário; 3- Desarranjo dos cordões de hepatócitos; 4- Dilatação dos sinusóides; 5- Hipocromia nuclear; 6- Vacuolização nuclear; 7- Dilatação do espaço periglomerular; 8- Deposição de material protéico nos túbulos renais.

Em relação ao eritrograma apenas no grupo G2 apresentou diminuição significativa do VCM em relação ao controle (tabela 6), o que se deve a diminuição tanto das hemácias como do hematócrito. Foi expresso uma leucopenia dos grupos tratados em relação ao grupo controle, embora não estatisticamente representados; o que sugere que o tratamento com o EEMC pode deixar os animais imunocomprometidos. Diminuição da série branca também foi notada em ensaio de toxicidade subcrônica utilizando ratos em doses diária de 2000 e 5000 mg/kg (ROSLY et al, 2011).

Tabela 6 - Médias e Erro padrão dos resultados bioquímicos e hematológicos dos animais segundo os grupos de tratamento da toxicidade aguda

	Grupos					p-valor ¹
	Gc	G1	G2	G3	G4	
Uréia	57,0 ± 5,0	67,5 ± 0,5	54,0 ± 6,0	56,0 ± 6,0	64,0 ± 4,0	0,338
Creatinina	0,4 ± 0,1	0,55 ± 0,25	0,65 ± 0,05	0,45 ± 0,15	0,6 ± 0,1	0,739
AST	113,0 ± 5,0	138,5 ± 1,5	153,0 ± 33	104,5 ± 12,5	109,0 ± 9,0	0,384
ALT	64 ± 1,0	73 ± 2,0	77,0 ± 1,0	68,5 ± 5,5	70,0 ± 1,0	0,117
Fosfatase	153,5 ± 4,5	161,5 ± 16,5	166,5 ± 1,5	155,0 ± 3,0	159,5 ± 3,5	0,782
Hemácias	7,5 ± 0,5	6,5 ± 2,5	4,5 ± 1,5	5,5 ± 0,5	7,0 ± 0,0	0,571
Hematócrito	37,5 ± 4,5	33,0 ± 13,0	21,5 ± 7,5	28,0 ± 1,0	36,0 ± 1,0	0,545
Hemoglobina	12,5 ± 1,5	11,5 ± 3,5	8,0 ± 3,0	9,5 ± 0,5	12,5 ± 0,5	0,563
VCM	51,0 ± 1,0 a	52,5 ± 0,5 a	45,5 ± 0,5 b	50,0 ± 0,0 a	51,5 ± 0,5 a	0,002*
HCM	17,5 ± 0,5	18,5 ± 0,5	16,0 ± 1,0	17,5 ± 0,5	17,0 ± 0,0	0,186
CHCM	34,0 ± 0,0	35,5 ± 2,5	35,0 ± 2,0	35,5 ± 0,5	33,5 ± 0,5	0,813
Leucócitos	8,3 ± 0,42	5,4 ± 2	4,9 ± 0,8	4,35 ± 0,75	4,6 ± 0,1	0,190

Gc– Controle; G1: EEMC 2000 mg/kg/vo; G2: EEMC 5000 mg/kg/vo; G3: 2000 mg/kg/ip e G4 5000 mg/kg/ip

1-P-valor da ANOVA; * Estatisticamente significante; Valores na mesma linha seguidos de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente (p>0,05) Teste Tukey

5.3 Efeito antitumoral do extrato de *Morinda citrifolia* L.

Há algum tempo o uso de produtos naturais como agentes antitumorais está em processo de crescimento, com incorporação à medicina alopática, uma vez que algumas das drogas empregadas atualmente na quimioterapia foram isoladas de espécies vegetais, portanto a pesquisa de produtos naturais ainda é uma estratégia bem sucedida na busca de novos medicamentos para terapia anticâncer (COSTA-LOTUFO et al., 2005; BEZERRA et al., 2008). Tanto o Sarcoma 180 como o Carcinoma de Ehrlich são linhagens de tumores de origem murina largamente

utilizadas em pesquisas de atividade antitumoral *in vivo* (LEE et. al., 2003; KINTZIOS, 2004).

A busca de agentes seletivos torna-se importante devido a não especificidade dos vários quimioterápicos, que acabam promovendo dano às células saudáveis além de que por muitas vezes estes não conseguem alcançar as células hipóxicas dos tumores sólidos; o que possivelmente explica o fato da busca por terapias complementares, como plantas medicinais, pelos pacientes portadores de neoplasias, as quais atuam como adjuvantes ao tratamento principal (SANTOS; ELISABETSKY, 1999; CASILETH; DENG, 2004; ALMEIDA et. al. 2005). Aproximadamente 69% as drogas antitumorais aprovadas ou foram produtos naturais ou foram desenvolvidos baseadas em conhecimento popular entre os anos de 1980 e 2002 (FENG et. al., 2011). O metotrexato e o 5-Fluorouracil aqui utilizados como droga padrão, para as linhagens de Carcinoma de Ehrlich e Sarcoma 180 respectivamente tem importante papel na terapia de algumas tipos de cânceres.

O peso dos tumores e a relação entre o peso do tumor e o peso médio dos animais (PT/PA) portadores de Carcinoma de Ehrlich apresentaram diminuição estatisticamente significativa nos grupos C2, C3 e C4 com relação ao grupo Cc (tabela 7). Considerando os animais portadores de Sarcoma 180 todos os grupos tratados demonstraram diminuição significativa em relação ao grupo Sc, no que se refere ao peso dos tumores e a relação entre o peso do tumor e o peso médio dos animais (PT/PA) mostra a tabela 8.

Tabela 7 – Média e erro padrão dos pesos dos tumores; pesos dos animais e a relação PT/PA segundo os grupos de tratamento em animais portadores de Carcinoma de Ehrlich

GRUPO	PT	PA	PT/PA
Cc	1,827 ± 0,147 a	39,519 ± 0,982	0,046 ± 0,004 a
Cp	0,148 ± 0,019 b	37,1 ± 0,987	0,003 ± 0,0004 b
C1	1,163 ± 0,371 a	40,915 ± 0,682	0,028 ± 0,009 a
C2	0,510 ± 0,095 b	38,767 ± 1,605	0,013 ± 0,003 b
C3	0,358 ± 0,078 b	40,038 ± 1,334	0,009 ± 0,002 b
C4	0,294 ± 0,209 b	37,054 ± 2,053	0,009 ± 0,006 b
p-valor¹	0,000*	0,268	0,000*

Cc: Solução salina, Cp: Metotrexato 10 mg/kg/ip; C1: EEMC 100mg/kg/vo, C2: EEMC 200mg/kg/vo; C3: EEMC 100mg/kg/ip e C4: 200 mg/kg/ip (n=6/grupos)

1-P-valor da ANOVA; * Estatisticamente significativa; Valores na mesma coluna seguidos de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente (p>0,05) Teste Tukey

Tabela 8 – Média e erro padrão dos pesos dos tumores; pesos dos animais e a relação PT/PA segundo os grupos de tratamento em animais portadores de Sarcoma.

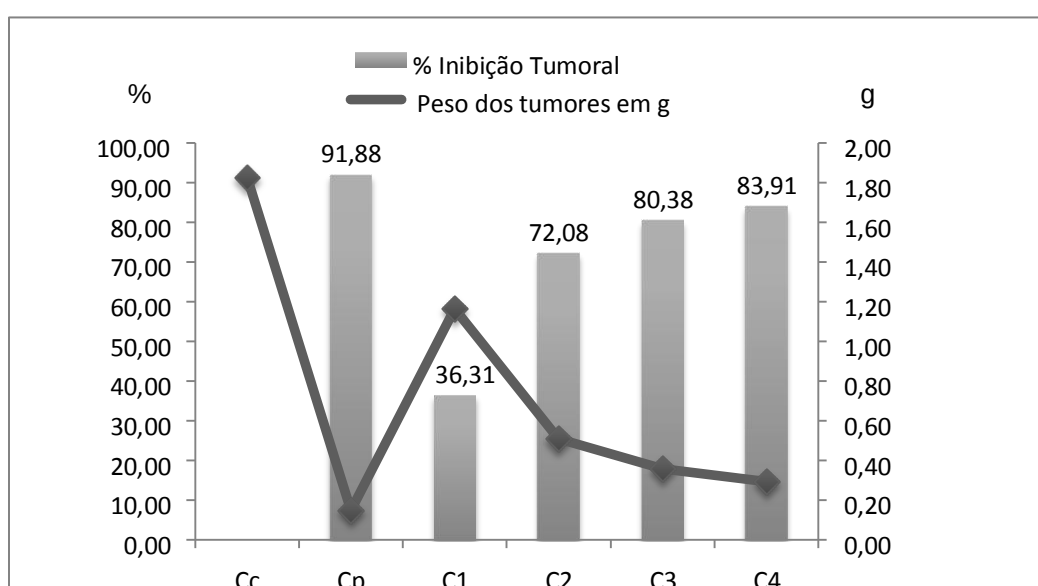
GRUPO	PT	PA	PT/PA
Sc	3,565 ± 0,526 a	46,917 ± 1,336 a	0,078 ± 0,013 a
Sp	0,4966 ± 0,017 b	39,63 ± 0,40 b	0,012 ± 0,0005 b
S1	0,924 ± 0,269 b	41,267 ± 1,825 b	0,022 ± 0,006 b
S2	0,683 ± 0,166 b	43,421 ± 1,242 b	0,016 ± 0,004 b
S3	0,504 ± 0,123 b	43,219 ± 1,036 b	0,012 ± 0,003 b
<u>S4</u>	<u>0,695 ± 0,268 b</u>	<u>45,400 ± 0,756 b</u>	<u>0,015 ± 0,006 b</u>
p-valor¹	0,000***	0,012***	0,000***

Sc: Solução salina, Sp: 5-Fluoracil 25 mg/kg/ip; S1: EEMC 100mg/kg/vo, S2: EEMC 200mg/kg/vo; S3: EEMC 100mg/kg/ip e S4: 200 mg/kg/ip (n=6/grupos)

P-valor da ANOVA; * Estatisticamente significante; Valores na mesma coluna seguidos de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente (p>0,05) Teste Tukey

De acordo com gráfico 01 o maior percentual de inibição para o Carcinoma Ehrlich foi 83,91% no grupo C4 com a dose 200 mg/kg/ip, quando comparado com o grupo Cc. O grupo C3 com a dose 100 mg/kg/ip apresentou TW% de 80,41%, enquanto que o grupo C1 na dose de 100 mg/kg/vo foi capaz de inibir apenas em 36,34% o crescimento tumoral.

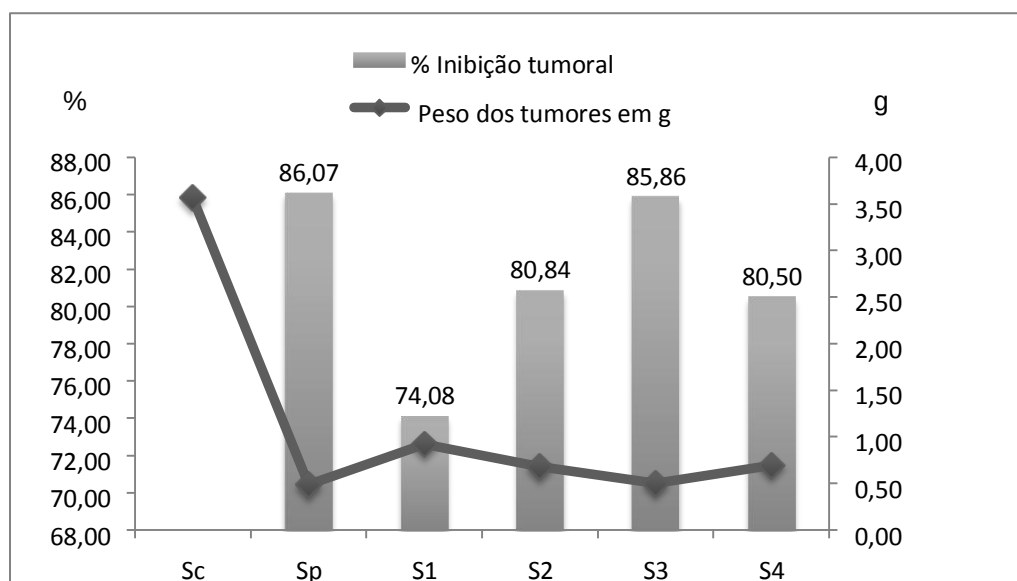
Figura 8 - Comparação dos percentuais de Inibição Tumoral (%) e pesos dos tumores (g) em animais portadores de Carcinoma de Ehrlich segundo tratamento



Animais tratados com Cc: Solução salina, Cp: Metotrexato 10 mg/kg/ip; C1: EEMC 100mg/kg/vo, C2: EEMC 200mg/kg/vo; C3: EEMC 100mg/kg/ip e C4: 200 mg/kg/ip (n=6/grupos)

De acordo com o gráfico da figura 9, o maior percentual de inibição para o Sarcoma 180 foi de 85,86% no grupo S3 com a dose 100 mg/kg/ip, quando comparado com o grupo controle. O grupo S4 apresentou TW% de 80,50%, o grupo S2 apresentou TW% de 80,84%, enquanto que o grupo S1 na dose 100 mg/kg/vo foi capaz de inibir em 74,08% o crescimento do tumoral.

Figura 9 – Comparação dos percentuais de Inibição Tumoral (TW%) e pesos dos tumores em animais portadores de Sarcoma 180 segundo tratamento



Animais tratados com Sc: Solução salina, Sp: 5-Fluoracil 25 mg/kg/ip; S1: EEMC 100mg/kg/vo, S2: EEMC 200mg/kg/vo; S3: EEMC 100mg/kg/ip e S4: 200 mg/kg/ip (n=6/grupos)

Os pesos dos tumores mostraram diminuição de forma dose dependente frente a linhagem de Carcinoma de Ehrlich tanto por via oral como por via intraperitoneal em relação ao grupo controle, sendo significativa estatisticamente nos grupos C2, C3 e C4, a taxa de inibição tumoral foi mais expressiva no grupo C4: 200 mg/kg/ip representado TW% 83,91%, o que reflete considerável inibição quando comparada ao grupo padrão Cp: Metotrexato 10 mg/kg/ip, que teve TW% 91,88%.

Já frente a linhagem de Sarcoma 180 todos os grupos tiveram o pesos dos tumores estatisticamente diminuídos em relação ao grupo controle, porém na via intraperitoneal não demonstrou a relação de dose dependência, tanto no peso dos tumores como na inibição tumoral TW%, uma vez que o grupo S3: EEMC 100mg/kg/ip teve TW% de 85,86% e o grupo S4: 200 mg/kg/ip com TW% de

80,50%; apesar da necessidade do conhecimento do mecanismo de ação para a compreensão da diminuição do efeito com maior dose por via intraperitoneal, pode-se sugerir que a estimulação prolongada dos receptores aos compostos do extrato pode ter gerado um efeito de refratariedade, no qual há uma hiporregulação do número de receptores devido a presença de agonistas em níveis excessivos, tal hiporregulação é mediada pela fosforilação dos receptores por cinases específicas, as quais promovem desacoplamento da proteína G e/ou interiorização dos mesmos (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2007). Entretanto os resultados foram bastante promissores visto que a TW% do grupo Sp: 5-Fluoracil 25 mg/kg/ip foi de 86,07%.

A toxicidade nos pacientes em uso de quimioterapia é mensurada principalmente através da avaliação do hemograma completo, provas de função hepática e renal. O fígado e o rim são os órgãos de detoxificação e excreção mais importantes e ambos muito sensíveis à drogas quimioterápicas (BEZERRA et al., 2008). Com a lesão hepática os hepatócitos podem extravasar em quantidades superiores enzimas citoplasmáticas como a AST aspartato aminotransferase e ALT alanina aminotransferase (HENRY, 2008).

Sintetizada pelo fígado a uréia é produto do metabolismo dos aminoácidos, que em condições normais é filtrada pelo glomérulo e reabsorvida nos ductos coletores junto com a água, considerando que é sintetizada pelo fígado uma hepatopatia avançada pode-se traduzir em concentração plasmática reduzida de tal marcador, já uma disfunção renal pode-se traduzir em elevação de tal metabólito (GARCIA; KANAAN, 2008). A creatinina é o produto de degradação da creatina, quando este perde água espontaneamente, uma vez formada não é reutilizada e sofre filtração glomerular, porém diferentemente da uréia ela não é absorvida. Assim alterações no limiar da creatinina plasmática reflete alterações principalmente da filtração glomerular e função renal como um todo (HENRY, 2008).

Dentre as avaliações hematológicas e bioquímicas, no ensaio antitumoral frente a linhagem de Carcinoma de Ehrlich, o parâmetro AST apresentou aumento significativo nos grupos C1, C2 e C4 em relação ao controle (tabela 9), o que se refletiu no parâmetro ALT apenas nos grupos C1 e C2 com médias $178,0 \pm 9,00$ e $189,50 \pm 5,50$ respectivamente, sugerindo uma possível sobrecarga hepática com o tratamento principalmente pela via oral. Por outro lado a variação aceitável de uréia e creatinina, em todos os grupos tratados, dão indícios que a função renal não sofreu alterações. Nos indivíduos portadores de Sarcoma 180 os marcadores bioquímicos

de função hepática e renal não apresentaram alterações significativas nos grupos tratados em relação ao controle, sendo assim não influenciados pela terapia (tabela 10).

Tabela 9 – Média e erro padrão dos resultados bioquímicos e hematológicos dos animais portadores de Carcinoma de Ehrlich segundo os grupos de tratamento.

	Grupos						p
	Cc	Cp	C1	C2	C3	C4	
Uréia	35,35 ± 4,35	38,30 ± 0,40	35,40 ± 2,40	59,50 ± 5,50	50,50 ± 2,50	56,5 ± 18,50	0,595
Creatinina	1,70 ± 0,20	1,87 ± 0,08	1,20 ± 0,30	2,20 ± 0,30	1,25 ± 0,25	2,35 ± 0,85	0,361
AST	138,0 ± 3,90a	121,5 ± 3,5 a	282 ± 6,00 b	370,50 ± 5,50 b	246 ± 8,00a	288 ± 10,0b	0,000
ALT	114,85± 9,15a	79,75± 1,95a	178,0 ± 9,00 b	189,50 ± 5,50 b	84,00 ± 3,00 a	102,0 ± 5,0 a	0,000
Hemácias	7,55 ± 0,45	8,23 ± 0,24	9,45 ± 2,02	9,10 ± 0,30	8,06 ± 0,19	6,06 ± 0,71	0,252
Ht	42,00 ± 2,00	44,50 ± 1,40	52,00 ± 12,00	47,65 ± 0,35	40,30 ± 0,70	31,50 ± 2,50	0,232
Hg	13,60 ± 1,00	15,55 ± 0,75	8,65 ± 4,75	13,05 ± 0,35	14,20 ± 0,40	10,45 ± 0,45	0,291
VCM	55,67 ± 0,66	54,03 ± 0,09	54,78 ± 1,02	52,43 ± 2,11	50,04 ± 0,28	52,21 ± 1,99	0,147
HCM	18,00 ± 0,26	18,87 ± 0,35	10,71 ± 7,31	21,12 ± 5,90	17,63 ± 0,09	17,40 ± 1,30	0,815
CHCM	32,34 ± 0,84	34,93 ± 0,59	19,80 ± 13,71	27,38 ± 0,53	35,23 ± 0,38	33,27 ± 1,22	0,440
Leucócitos	10,80 ± 6,80	8,60 ± 1,00	6,40 ± 3,70	6,70 ± 0,60	8,50 ± 2,10	4,10 ± 0,10	0,778

Cc: Solução salina, Cp: Metotrexato 10 mg/kg/ip; C1: EEMC 100mg/kg/vo, C2: EEMC 200mg/kg/vo; C3: EEMC 100mg/kg/ip e C4: 200 mg/kg/ip (n=6/grupos)

1-P-valor da ANOVA; * Estatisticamente significante; Valores na mesma linha seguidos de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente (p>0,05) Teste Tukey

Em relação aos resultados bioquímicos e hematológicos dos animais portadores de Sarcoma 180 as medidas de VCM não apresentaram diferença estatística em relação ao grupo Sc, por outro lado o grupos S2, S3 e S4 diminuiram significativamente seus valores comparando-se ao grupo Sp (p=0,037). O grupo S1 e S2 apresentaram uma diminuição significativa no índice HCM (p=0,012) em relação ao grupo Sc com médias de 15,83 ± 0,24 e 14,97 ± 0,30 respectivamente.

Tabela 10 – Média e erro padrão dos resultados bioquímicos e hematológicos dos animais portadores de Sarcoma 180 segundo os grupos de tratamento.

	Grupos						p
	Sc	Sp	S1	S2	S3	S4	
Uréia	57,33 ± 3,18	61,96 ± 0,99	53,12 ± 1,02	62,67 ± 4,10	59,50 ± 0,50	59,50 ± 0,28	0,062
Creatinina	1,30 ± 0,35	1,41 ± 0,01	3,53 ± 1,12	1,47 ± 0,38	1,50 ± 0,50	1,30 ± 0,11	0,153
AST	320,00 ± 86,93	271,66 ± 10,37	353,00 ± 96,88	262,67 ± 64,67	431,00 ± 25,00	176,00 ± 9,23	0,332
ALT	122,33 ± 63,36	107,3 ± 1,55	106,75 ± 30,59	86,00 ± 18,04	165,00 ± 21,00	155,00 ± 4,61	0,435
Hemácias	5,40 ± 0,22	6,07 ± 0,07	5,80 ± 0,77	6,63 ± 0,22	6,29 ± 1,13	6,85 ± 0,68	0,634
Ht	31,40 ± 0,30	35,03 ± 0,82	31,30 ± 4,70	34,70 ± 1,56	33,73 ± 5,67	36,93 ± 3,64	0,833
Hg	9,50 ± 0,37	10,56 ± 0,40	9,20 ± 1,25	9,93 ± 0,22	9,86 ± 1,75	10,60 ± 1,05	0,897
VCM	57,95 ± 2,42	57,67 ± 0,94 a	53,73 ± 1,22	52,30 ± 0,70 b	53,83 ± 0,78 b	53,90 ± 0,46b	0,037
HCM	17,59 ± 0,28 a	17,41 ± 0,74 a	15,83 ± 0,24 b	14,97 ± 0,30 b	15,63 ± 0,22 a	15,43 ± 0,15a	0,012
CHCM	30,28 ± 1,47	30,17 ± 1,06	29,47 ± 0,55	28,63 ± 0,93	29,07 ± 0,47	28,67 ± 0,07	0,656
Leucócitos	4,77 ± 0,23	3,87 ± 0,20	7,97 ± 1,82	12,47 ± 1,30	6,47 ± 2,70	9,90 ± 3,37	0,077

Sc: Solução salina, Sp: 5-Fluoracil 25 mg/kg/ip; S1: EEMC 100mg/kg/vo, S2: EEMC 200mg/kg/vo; S3: EEMC 100mg/kg/ip e S4: 200 mg/kg/ip (n=6/grupos)

1-P-valor da ANOVA; * Estatisticamente significante; Valores na mesma linha seguidos de letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente (p>0,05) Teste Tukey

Dentre as anormalidades sanguíneas de portadores de neoplasias podemos citar a diminuição nos níveis de hemácias e hemoglobina, os quais podem ser consequência de reações imunológicas, supressão da hematopoiese induzida pelo tratamento, produção insuficiente de eritropoietina pelos rins ou supressão intrínseca da medula óssea (ZUCKERMAN, 1998). A influência negativa do tumor pode ser recompensada pela presença do tratamento eficaz, não produzindo toxicidade frente células sanguíneas e à hematopoiese como todo. Padrões de eritrograma dos animais portadores de Carcinoma de Ehrlich, por exemplo concentração de hemácias e hemoglobina, mantiveram os níveis em relação ao grupo controle Cc, refletindo que tais parâmetros não foram influenciados. Em se tratando do leucograma, apesar de não significativo estatisticamente, houve uma leucopenia maior no grupos tratados em relação ao grupo controle, o que propicia uma maior vulnerabilidade dos animais em termos de imunocompetência (tabela 9). Os animais portadores de Sarcoma 180 apresentaram leve aumento série eritrocitária nos grupos tratados em reação ao controle, mesmo que não significativo estatisticamente tal fato pode explicar diminuição estatisticamente significativa do parâmetro HCM para os grupos S1 e S2 em relação ao controle Sc, e do parâmetro VCM nos grupos

S2, S3 e S4 em relação ao padrão Sp (tabela 10). De forma distinta aos animais portadores de Carcinoma de Ehrlich, os portadores de Sarcoma 180, apresentaram leucocitose em relação ao grupo controle, a qual pode sugerir uma melhora da imunocompetência.

A presença de massa tumoral é um fator estimulante para a proliferação de leucócitos (SATO et al, 2005; LINS et al, 2009) outra desvantagem das terapias quimioterápicas convencionais é que estas induzem a leucopenia a qual consequentemente deixa o paciente mais vulnerável à infecções, como possíveis causas pode-se citar a involução de órgãos como o baço e timo (BEZERRA et al, 2008).

Singh et al (2013) ao realizar avaliação frente a linhagem Carcinoma de Ehrlich também encontrou resultados promissores utilizando produto liofilizado comercial do fruto de *Morinda citrifolia* L. nas doses de 250 e 500 mg/kg por 14 dias, no qual observou-se diminuição do peso e volumes dos tumores de animais tratados, além disso conseguiu restaurar os níveis de hemoglobina e hemácias comparado ao controle, conferindo ação protetiva dos sistema hematopoiético, apesar de um tempo maior de tratamento o resultando esta em consonância com o do presente estudo no que diz respeito ao peso dos tumores. Taskin et al, (2009) através de ensaio antiproliferativo utilizando células de carcinoma ascítico de Ehrlich concluiu que a inibição se deve tanto a supressão da proliferação como a ativação da apoptose.

Hirazumi; Furusawa (1999) e Furusawa et al.,(2003) encontram resultados promissores no tratamento do Sarcoma ascítico, como aumento do tempo de vida e índice de cura, ao se combinar uma fração polissacarídica de *Morinda citrifolia* L. com alguns imunomoduladores como, interleucinas 4 e 10, interferon gama (IFN- γ) e drogas quimioterápicas como vimcristina e etoposídeo e 5-FU. Composto isolados de *Morinda citrifolia* L. como o Damnacanthol, alizarin e morindone, mostraram atividade frente ao câncer de pulmão e sarcoma (PATIL et. al., 2013). Alcalóides, flavonóides e seus derivados encontrados na maioria de famílias vegetais estão constantemente relacionados à propriedades antitumorais, bem como os taninos, os quais são compostos fenólicos estão também relacionados com a prevenção, outras classes citadas como promissoras na terapia anticâncer

são cumarinas, antraquinonas, triterpenos e óleos essenciais (PATIL et. al., 2013). Alguns destes compostos agem principalmente na supressão da resposta inflamatória deixada pela transformação, hiperproliferação e iniciação do processo de carcinogênese o que pode culminar na supressão de etapas finais como angiogênese e metástase (BAHONOT et. al., 2011), foram encontrados no EEMC classes como flavonóides, taninos, triterpenos e cumarinas.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo podemos concluir que:

- ✓ As condições climáticas e de solo influenciaram na presença de metabólitos secundários, uma vez que os alcalóides não foram detectados no extrato dos frutos utilizados no presente estudo, enquanto que em frutos de outras regiões tais metabólitos estiveram presentes, de modo que será interessante futuras investigações quantitativas em processos cromatográficos refinados;
- ✓ Os resultados obtidos nos ensaios de atividade antimicrobiana do EEMC nas concentrações de 1024 e 512 µg/mL, frente a cepas de bactérias e fungos demonstrou uma moderada atividade antimicrobiana; assim o extrato da fruta de *Morinda citrifolia* L., pode ser uma fonte de descoberta moléculas com potencial terapêutico antimicrobiano, sendo requeridos o isolamento, identificação e elucidação do mecanismo de ação;
- ✓ A DL₅₀ tanto por via oral como por via intraperitoneal do EEMC foi considerada como > 5000 mg/kg, traduzindo-se como seguro, entretanto os sinais histológicos e a perda de peso dos animais na maior dose deverão ser monitorados em ensaios de toxicidade subaguda e subcrônica;
- ✓ O tratamento com EEMC mostrou-se eficaz na inibição do crescimento tumoral em animais portadores de Carcinoma de Ehrlich e Sarcoma 180, fazendo-se necessários testes aprofundados para elucidar o possível mecanismo de inibição e também maior avaliação quanto ao custo benefício no que no que concerne ao monitoramento das taxas de função hepáticas na linhagem do Carcinoma e as taxas da série leucocitária nas duas linhagens;
- ✓ Os resultados encontrados nas atividades biológicas foram promissores ainda que o grupo de alcalóides, os quais são referenciados como detentores de diversas propriedades terapêuticas, não foi detectado.

REFERÊNCIAS

- BOABA, O. O.; EFUWAPE, B. M. Antibacterial properties of some Nigerian species. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 13, p. 183-188, 2001.
- AKROUT, E. I.; JANI, H.; ZAMMOURI, T.; MIGHRI, H.; NEFFATI, M. Phytochemical screening and mineral contents of annual plants growing wild in the southern of Tunisia. **Journal of Phytology**, v. 2, n. 1, p. 034–040, 2010.
- ALMEIDA, M. R.; PINTO, A. C. Uma breve história da química Brasileira. **Ciência e Cultura**, v. 63, n. 1, 2011.
- ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: Uma introdução. **Química Nova**, v. 28, p. 118-129, 2005.
- ARENDRUP, M. C.; FUURSTED, K.; GAHRN-HANSEN, B.; JENSEN, I. M.; KNUDSEN, J. D.; LUNDGREN, B.; SCHONHEYDER, H. C.; TVEDE, M. Seminal surveillance of fungemia in Denmark: notably high rates of fungemia and numbers of isolates with reduced azole susceptibility. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, p. 4434–4440, 2005.
- ATKINSON, N. Antibacterial substances from flowering plants. 3. Antibacterial activity of dried Australian plants by rapid direct plate test. **Australian Journal of Experimental Biology**, v. 34, p. 17-26, 1956.
- BADKE, M. R.; BUDÓ, M. L. D.; SILVA, F. M.; RESSEL, L. B. Plantas medicinais na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery (impr.)**, v. 15, n. 1, 2011.
- BAILLY, C. Ready for a comeback of natural products in oncology. **Biochemical Pharmacology**, v. 77, n. 9, p. 1447-57, 2009.
- BAKER, D. D.; CHU, M.; OZA, U.; RAJGARHIA, V. The value of natural products to future pharmaceutical discovery. **Natural Products Report**, v. 24, p. 1225-1244, 2007.
- BALBINO, E. E.; DIAS, M. F. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 992-1000, 2010.
- BANERJEE, S.; JOHNSON, A. D.; CSISZAR, K.; WANSLEY, D. L.; MCGEADY, P. An extract of *Morinda citrifolia* interferes with the serum-induced formation of filamentous structures in *Candida albicans* and inhibits germination of *Aspergillus*

nidulans. The **American Journal of Chinese Medicine**, v. 34, n. 3, p. 503- 509, 2006.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v.32, n.3, p.679-688, 2009.

BASAR, S.; UHLENHUT, K.; HOGGER, P.; SCHONE, F.; WESTENDORF, J. Analgesic and antiinflammatory activity of *Morinda citrifolia* L. (Noni) fruit. **Phytotherapy Research**, v. 24, n. 1, p. 38-42, 2010.

BENINI, P. C.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; KLAIS, E. C.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINE, R. M.; STANGARLIN, J. R.; TOLENTINO JÚNIOR, J. B. Efeito in vitro do óleo essencial e extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 4, p. 677-683, 2010.

BEZERRA, D. P.; DE CASTRO, F. O.; ALVES, A. P.; PESSOA, C.; DEMORAUS, M. O.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A.; ELMIRO, F. J.; DE ALENCAR, N. M.; MESQUITA, R. O.; LIMA, M. W.; COSTA-LOTUFO, L. V. In vitro na in vivo antitumor effect of 5-FU combined with piplartine and piperine. **Journal of Applied Toxicology**, v. 28, p. 156-63, 2008.

BHANOT, A.; SHARMA, R.; NOOLVI, M. Natural sources as potential anti-cancer agents: A review, **International Journal of Phytotherapy**, v. 3, p. 9-26, 2011.

BLOOM, F. E. Neurotransmission and the central nervous system. In: Goodman & Gilman. (Org.). **Pharmacological Basis of Therapeutics**. 11 ed. New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2006. p. 330-331.

BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. P.; COUTO, R. D.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVIS, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**, v. 33, n. 06, 2010.

BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). Informe técnico nº 25, de 29 de maio de 2007. Esclarecimentos sobre as avaliações de segurança realizadas de produtos contendo *Morinda citrifolia*, também conhecida como do suco de noni. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/25_290507.ht>

BRASIL. Ministério da Saúde. Instruções operacionais necessárias para a condução de ensaios com Fitoterápicos / Ministério da Saúde, Organização Mundial da Saúde. – Brasília : Ministério da Saúde, 2008.

BRETT, J. W.; STEPHEN, K. P.; SHIXIN, D.; ALFA, K. P. Antimicrobial Activity of an Iridoid Rich Extract from *Morinda citrifolia* Fruit. **Current Research Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 1, p. 52-54, 2012.

BRUNTON, I. I.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. Goodman & Gilman – As bases farmacológicas da terapêutica. 11ª Edição. Rio de Janeiro: McGrawHill, 2007

BUI, A. K. T.; BAUC, A.; PETTOLINO, F. Polysaccharide composition of noni fruit juice of *Morinda citrifolia*. **Phytochemistry**, v. 67, p. 1271-1275, 2006.

BUTLER, M. S. Natural products to drugs: natural product-derived compounds in clinical trials. **Natural Products Reports**, v. 25, n. 3, p.475-516, 2008.

CABRERA, C. E.; GÓMEZ, R. F.; ZÚÑIGA, A. E. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. **Colombia Médica**, v.38, n. 2, 2007.

CAETANO, N.; SARAIVA, A.; PEREIRA, R.; CARVALHO, D.; PIMENTEL, M. C. B.; MAIA, M. B.S. Determinação de atividades antimicrobianas de plantas de uso popular como anti-inflamatório. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, supl. 1, p. 132-135, 2002.

CAPASSO, R.; IZZO, A. A.; PINTO, L.; BIFULCO, T.; VITOBELLO, C.; MASCOLO, N. Phytotherapy and quality of herbal medicine. **Fitoterapia**, v. 71, p. 58-65, 2000.

CARVALHO, A. C. B.; SILVEIRA, D.. Drogas vegetais: uma antiga nova forma de utilização de plantas medicinais. **Brasília Médica**, v. 47, n. 2, 2010.

CASSILETH, B. R.; DENG, G. Complementary and alternative therapies for cancer. **Oncologist**, v. 9, n. 1, p. 80-9, 2004.

CHAN-BLANCO, Y.; VAILLANT, F.; PEREZ, A. M.; REYNES, M.; BRILLOUET, J. M.; BRAT, P. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 645-654, 2006.

CHEARSKUL S,KOOPTIWUT S, CHATCHAWALVANIT S,ONREABROI S, CHURINTRAPUN M, SARALAMP P, SOONTHORNCHAREONNON N. *Morinda citrifolia* has very weak estrogenic activity *in vivo*. **Thai Journal of Physiological Sciences**, v. 17, n. 1, p.22–9, 2004.

CHENG, K. F.; LEUNG, K. S.; LEUNG, P. C. Interactions between modern and Chinese medicinal drugs: a general review. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 2, n. 31, p. 163-169, 2003.

CLAFSHENKEL, W. P.; KING, T. L.; KOTLARCZYK, M. P.; CLINE, J. M.; FOSTER, W. G.; DAVIS, V. L.; WITT-ENDERBY, P. A. *Morinda citrifolia* (Noni) Juice Augments Mammary Gland Differentiation and Reduces Mammary Tumor Growth in Mice Expressing the Unactivated c-*erbB2* Transgene. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, Article ID 487423, 15 pages, 2012.

CLARDY, J.; WALSH, C. Lessons from natural molecules. **Nature**, v. 16, n.432, p. 829-37, 2004.

CLEELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials "in vitro" and in experimental animal infections. **Antibiotics in Laboratory Medicine**, v. 3, p. 739-787, 1991.

COATES, A. R. M.; HU, Y. Novel approaches to developing new antibiotics for bacterial infections. **British Journal of Pharmacology**, v. 152, p. 1147-1154, 2007.

CORREIA, A. A. da S. **Maceração Enzimática da Polpa de noni (*Morinda citrifolia* L.)**. 2010. 105 fl. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2010.

CORREIA, A. A. S.; GONZAGA, M. L. C.; AQUINO, A. D.; SOUZA, P. H. M.; FIGUEIREDO, R. W.; MAIA, G. A. Caracterização Química e Físico-química de polpa de noni (*Morinda citrifolia* L.) cultivado no estado do Ceará. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n.04, p. 606-615, 2011.

COSTA-LOTUFO, L. V.; KHAN, M T. H.; ATHER, A.; WILKE, D. V.; JIMENEZ, P. C.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. Studies of anticâncer potential of plants used in Bangladeshi solk medicine. **Journal of ethnopharmacology**, v. 999, p.. 21-30, 2005.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N. N., MADEIRA, S. V. F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, p.47-58, 2010.

CRAGG, G. M.; GROTHAUS, P. G.; NEWMAN, D. J. Impact of natural products on Developing New Anti-Cancer Agents. **Chemical Reviews**, v. 109, p. 3012-2043, 2009.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1830, n. 6, p. 3670-95, 2013.

DEMAIN, A. L. Prescription for an ailing pharmaceutical industry. **Nature Biotechnology**, v. 20, p. 331, 2002.

DENG, S.; WEST, B. J.; PALU, A. K.; ZHOU, B. N.; JENSEN, C. J. Noni as an anxiolytic and sedative: A mechanism involving its gammaaminobutyric acidergic effects. **Phytomedicine**. v. 14, n. 7-8, p. 517-22, 2007.

DEVI, C. H. K.; KRISHNA, D. G. Phytochemical Screening, Antibacterial, Antifungal and Anthelmintic Activity of *Morinda citrifolia* Stem. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 1, 2013.

DITTMAR, A. *Morinda citrifolia* L: Use in indigenous Samoan medicine. **Journal of Herbs and Medicinal Plants**. v.1, n. 3, 1993.

DUSSOSSOY, E.; BRAT, P.; BONY, E.; BOUDARD, F.; POUCHERET, P.; MERTZ, C.; GIAIMIS, J.; MICHEL, A. Characterization, anti-oxidative and anti-inflammatory effects of Costa Rican noni juice (*Morinda citrifolia* L.). **Journal of ethnopharmacology**, v. 133, n. 1, p.108-15, 2011.

ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Planta Medica**, v. 64, p. 711-713, 1998.

[EFSA] European Food Safety Authority. 2009. Opinion on a request from the Commission related to the safety of noni juice (juice of the fruits of *Morinda citrifolia*). EFSA J 376:1–12.

ESPINEL-INGROFF, A.; CANTON, E.; PEMAN, J.; RINALDI, M. G. AND FOTHERGILL, A. W. Comparison of 24-hour and 48-hour voriconazole MICs as determined by the Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution method (M27–A3 document) in three laboratories: results obtained with 2,162 clinical isolates of *Candida* spp. and other yeasts. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, p. 2766–2771, 2009.

FENG, Y.; WANG, N.; ZHU, M.; FENG, Y.; LI, H.; TSAO, S. Recent Progress on Anticancer Candidates in Patents of Herbal Medicinal Products Recent Patents on Food. **Nutrition & Agriculture**, v. 3, p. 30-48, 2011.

FERNANDES, P. Antibacterial discovery and development--the failure of success? **Nature Biotechnology**. v. 24, n. 12, p. 1497-503, 2006.

FERREIRA, V. F.; PINTO, A. C. A fitoterapia no mundo atual. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1829, 2010.

FURUSAWA, E.; HIRAZUMI, A.; STORY, S.; JENSEN, J. Antitumour potential of a polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (Noni) on sarcoma 180 ascites tumour in mice. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 10, p.1158-64, 2003.

GARCIA, M. A. T.; KANAAN, S. **Bioquímica clínica**. Editora Atheneu, Rio de Janeiro, 2008.

GERAN, R. I.; SCHMCH, A. M.; ABBOT, B. J.; GREENBERG, N. H.; MACDONALD, M. M. Protocols for screening chemical agents and natural-products against animal tumors and other biological systems. **Cancer Chemotherapy Reports**, v. 2, n. 3, 1972.

GERLINGER, M.; ROWAN, A. J.; HORSWELL, S.; LARKIN, J. ENDESFELDER, D. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. **The New England Medicine**, v. 366, p. 883-892, 2012.

GHS 2005. A Guide to The Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (GHS). Disponible on: <http://www.osha.gov/dsg/hazcom/ghsguideoct05.pdf>, accessed in Feb 2014.

GIBBONS, S. Anti-staphylococcal plant natural products. **Natural Products Reports**, v. 21, p. 263-277, 2004.

GILANI, S. A.; FUJII, Y.; SHINWARI, Z. K.; ADNAN, M.; KIKUCHI, A.; WATANABE, K. N. Phytotoxic studies of medicinal plant species of Pakistan. **Pakistan Journal of Botany**, v. 42, n. 2, p. 987-996, 2010.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.2, p. 374-81, 2007.

GONZÁLEZ-LAMOTHE, R.; MITCHELL, G.; GATTUSO, M.; DIARRA, M. S.; MALOUIN, F.; BOUARAB, K. Plant antimicrobial agents and their effects on plant and human pathogens. **International Journal of Molecular Sciences**, v.10, n.8, p. 3400-19, 2009.

GREAY, S. J.; HAMMER, K. A. Recent developments in the bioactivity of mono- and diterpenes: anticancer and antimicrobial activity. **Phytochemistry Reviews**, v. 123, p. 1-6, 2011.

GROTHEY, A. Use of alternative medicine in oncology patients. **The Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v. 123, n. 31/32, p. 923-929, 1998.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

HADACEK, F. GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analyses**, v. 11, p. 137-147, 2000.

HANAHAHAN, D.; WEUNBERG, R. A. Hallmarks of câncer: the next generation. **Cell**, v.144, n.5, p.646-674, 2011.

HARVEY, A. L. Natural Product in Drug Discovery. **Drug Discovery Today**, v.13, n.19/20, p.894-901, 2008.

HASSAN, O.; FAN, L.S. The anti-oxidation potential of polyphenol extract from cocoa leaves on mechanically deboned chicken meat (MDCM) LWT – **Food Science and Technology**, v. 38, n. 4, p. 315-321, 2005.

HEINICKE, R. M. The pharmacologically active ingredient of Noni. **Bulletin of the National Tropical Botanical Garden**, v. 15, p. 10–14, 1985.

HENRY, J. B. **Diagnóstico clínico e tratamento por métodos laboratoriais**. 20 ed. Barueri, SP:Manole, 2008.

HIRAZUMI, A.; FURUSAWA, E. An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) with antitumour activity. **Phytotherapy Research**, v. 13, n. 5, p. 380-387, 1999.

HODGSON, E. Introduction to toxicology. In: Hodgson, E. **Modern toxicology**. 3^a ed., John Wiley & Sons. 2004.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, p.391-400, 2007.

IKEDA, R.; WADA, M.; NISHIGAKI, T. NAKASHIMA, K. Quantification of coumarin derivatives in Noni (*Morinda citrifolia*) and their contribution of quenching effect on reactive oxygen species. **Food Chemistry**. v.113, p. 1169–1172, 2009.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. (Brasil). **Estimativas de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: http://www.saude.sp.gov.br/resources/ses/perfil/gestor/homepage/outros-destaques/estimativa-de-incidencia-de-cancer-2014/estimativa_cancer_24042014.pdf. Acesso em: 25 nov. 2014.

JAIN, M. V.; PACZULLA, A. M.; KLONISCH, T.; DIMGBA, F. N.; RAO, S. B.; ROBERG, K.; LOS, M. Interconnections between apoptotic, atophagic and necrotic pathway: implication for câncer therapy development. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 1, n. 17, p. 12-19, 2013.

JAINKITTIVONG, A.; BUTSARAKAMRUHA, T.; LANGLAIS, R. P. Antifungal activity of *Morinda citrifolia* fruit extract against *Candida albicans*. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 108, n. 3, p. 394-8, 2009.

JUNQUEIRA, L.C.U.; CARNEIRO, J. Histologia Básica. 11^a Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KAMIYA, K.; HAMABE, W.; TOKUYAMA, S.; HIRANO, K.; SATAKE, T.; YONEZAWA, Y.K.; YOSHIDA, H.; MIZUSHINA, Y. Inhibitory effect of anthraquinones isolated from the Noni (*Morinda citrifolia*) root on animal A-, B- and Y-families of DNA polymerases and human cancer cell proliferation. **Food Chemistry**, v. 118, p. 725–730, 2010.

KAPOOR, S. Combretastatin A4 and its emerging antineoplastic effects. **Surgery**, v. 153, n. 6, p. 881, 2013.

KHATTAK, S. U.; BACHA, N.; LUTFULLAH, G.; BAKHT, J.; ALI, S.; ALI, J.; KHAN, A, A. Study of the genetic traits associated with antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from skin wards of Khyber Pakhtunkhwa, **Pakistan. Asian Pacific Journal Tropical Diseases**, v. 5, n. 5, p. 393-398, 2015.

KHUNTIA, T. K.; PANDA, D. S.; NANDA, U. N.; KHUNTIA, S. Evaluation of antibacterial, antifungal and anthelmintic activity of *Morinda citrifolia* L. (Noni). **Int. J. Pharm.Tech. Res.** v. 2, n. 2, p.1030-1032, 2010.

KINTZIOS, S. E. What do we know about cancer and its therapy. In: Kintzios SE, Barberaki MG (Editors), **Plants that fight cancer**. Boca Raton: CRC Press; p 1-14, 2004.

KOMIYAMA, K.; FUNAYAMA, S. Antitumor agentes. In: OMURA, S. (edt). The search for bioactive compounds from microrganusms, New York: Spriger-Verlag, p. 79-97, 1992.

KROEMER, G.; GALLUZZI, L.; VANDENABEELE, P.; ABRAMS, J.; ALNEMRI, E. S.; BAEHRECKE, E. H.; BLAGOSKLONNY, M. V.; EL-DEIRY, W. S.; GOLSTEIN, P.; GREEN, D. R.; HENGARTNER, M.; KNIGHT, R. A.; KUMAR, S.; LIPTON, S. A.; MALORNI, W.; NUÑEZ, G.; PETER, M. E.; TSCHOPP, J.; YUAN, J.; PIACENTINI, M.; ZHIVOTOVSKY, B.; MELINO, G. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. **Cell Death & Differentiation**, v. 16, p. 3-11, 2009.

KUMMAR, V.; ABBAS, A.; FAUSTO, N.; Robbins & Cotran – Pathology Basis of Disease, 7a. ed., WB Saunders: China, 2004.

KUMAR, K.T., PANDA, D. S., NANDA, U. N., KHUNTIA, S. Evaluation of antibacterial, antifungal and anthelmintic activity of *Morinda citrifolia* L. (Noni). **International Journal PharmTech, Research**, v. 2, n. 2, p. 1030-1032, 2010.

LANDAU, D. A.; CARTER, S. L.; STOJANOV, P.; MCKENNA, A.; STEVENSON, K. Evolution and impact of subclonal mutattions in chronic lymphocytic leucemia. **Cell**, v. 152, n. 4, p. 714-726, 2013.

LANGMAN, L. J.; KAPUR, B. M. Toxicology: then and now. **Clinical Biochemistry**, v. 39, n. 5, p. 498-510, 2006.

LAGARTO A, BUENO V, MERINO N, PILOTO J, VALDES O, APARICIO G, BELLMA A, COURET M, VEGA Y. Safety evaluation of Morinda citrifolia (noni) leaves extract: assessment of genotoxicity, oral short term and subchronic toxicity. *Journal Intercultural Ethnopharmacology*, v. 2, n. 1, p. 15-22, 2013

LEE, Y.L.; KIM, H. J.; LEE, M. S.; KIM, J. M.; HAN, J. S.; HONG, E. K.; KNWON, M. S.; LEE, M; J. Oral administration of agaricus blazei (H1 strain) inhibited tumor growth in a sarcoma 189 inoculation model. **Experimental Animal**, v. 52, p. 371-375, 2003.

LEWIS, K.; AUSUBEL, F. M. Prospects for plant-derived antibacterials. **Nature Biotechnology**, v. 24, p. 1504-7, 2006.

LINS, K. O.; BEZERRA, D. P.; ALVES, A. P.; ALENCAR, N. M.; LIMA, M. W.; TORRES, V. M.; FARIAS, W. R.; PESSOA, C.; DE MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V. Antitumor properties of a sulfated polysaccharide from the red seaweed *Champia feldmannii* (Diaz-Pifferer). **Journal of Applied Toxicology**, v. 29, n. 1, p. 20-6, 2009.

LIU, C. Extraction and characterization of antioxidant compositions from fermented fruit of *Morinda citrifolia* (Noni). **Agricultural Sciences in China**, v.6, n.12, p. 1494-1501, 2007.

LUO, J.; OLIMINI, L.; ELLEDGE, S. J. Principle of Cancer Therapy: Oncogene and Non-oncogene Addiction. **Cell**, v. 136, p. 823-837, 2009

LUZHETSKYY, A.; PELZER, S.; BECHTHOLD, A. The future of natural products as a source of new antibiotics. **Current Opinion in Investigational Drugs**, v. 8, p. 608-13, 2007.

MA, D. L.; CHEN, M.; SU, C. X. and WEST, B. J. *In Vivo* Antioxidant Activity of Deacetylasperulosidic Acid in Noni. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2013, p. 804-54, 2013.

MALONE, M. H.; ROBICHAUD. R. C. A hippocratic screening for pure or drug materials. **Lloydia**, v.25, p.23-53, 1962.

MANN, C. M.; MARKHAM, J. L. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.84, p.538-544, 1998.

MARQUES, N. F.; MARQUES, A. P.; IWANO, A. L.; GOLIN, M.; DE-CARVALHO, R. R.; PAUMGARTTEN, F.J.; DALSENTER, P.R. Delayed ossification in Wistar rats induced by *Morinda citrifolia* L. exposure during pregnancy. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 128, n. 1, p. 85-91, 2010.

MARTINS-RAMOS, D.; BORTOLUZZI, R.L.C.; MANTOVANI, A. Plantas medicinais de um remascente de Floresta Ombrófila Mista Altomontana, Urupema, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.12, n.3, p.380-397, 2010.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 2 ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.

MCKOY, M. L.; THOMAS, E. A.; SIMON, O. R. Preliminary investigation of the anti-inflammatory properties of an aqueous extract from *Morinda citrifolia* (noni). **Proceedings of the Western Pharmacology Society**, v. 45, p. 76–78, 2002.

MIAN-YING, W.; DIANE, N.; GARY, A.; JARAKAE, J.; BRETT, W. Liver protective effects of *Morinda citrifolia* (Noni). **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 63, n. 2, p. 59-63, 2008.

MILLONIG, G.; SYLVIA, S.; WOLFGANG, V. Herbal hepatotoxicity: acute hepatitis caused by a Noni preparation (*Morinda citrifolia*). *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, v. 17 (4), p. 445-447, 2005.

MORETTIN, L.G. **Estatística Básica**: Probabilidade e Inferência. n. .1., v. 1. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2010. p.376.

MORTELMANS, K.; ZEIGER, E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. **Mutation Research**, v. 455, n. 1-2, p. 29-60, 2000.

MUELLER, B. A.; SCOTT, M. K.; SOWINSKI, K. M.; PRAG, K.A. Noni Juice (*Morinda citrifolia*): Hidden Potential for Hyperkalemia? University School of Pharmacy and Pharmacal Sciences. **Case Reports**. Editorial, p. 330, 1999.

MULLER, J. C. **Toxicidade reprodutiva da *Morinda citrifolia* Linn.** 2007. 103p. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade de Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

MUTO, J.; HOSUNG, L.; UWAYA, A.; ISAMI, F.; OHNO, M.; MIKAMI, T. *Morinda citrifolia* fruit reduces stress-induced impairment of cognitive function accompanied by vasculature improvement in mice. **Physiology & Behavior**, v. 101, n. 2, p. 211-7, 2010.

NAKANISHI, K.; SASAKI, S.; KIANG, A. K.; GOH, J.; KAKISAWA, H.; OHASHI, M.; GOTO, M.; WATANABE, J.; YOKOTANI, H.; MATSUMURA, C.; TOGASHI, M. Phytochemical survey of Malaysian plants preliminary chemical and pharmacological screening. **Chemical & pharmaceutical bulletin**, v. 13, n. 7, p. 882-90, 1965.

NASCIMENTO, L. C. S. **Caracterização centesimal, composição química e atividade antioxidante do noni (*Morinda Citrifolia* L.) cultivado no Município de Zé Doca-MA**. 2012. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

NATHEER, S. E.; EKAR, C.; AMUTHARAJ, P.; ABDULRAHMAN, M. S.; FERROZ KHAN, K. Evaluation of antibacterial activity of *Morinda citrifolia*, *Vitex trifolia* and *Chromolaena odorata*. *African journal of pharmacy and pharmacology*, v. 6, n. 11, p. 783-788, 2012.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS-NCCLS. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**. 7 ed. Villanova. PA: NCCLS, 2000.

NAYAK; B. S.; MARSHALL, J. R.; ISITOR, G.; ADOGWA, A. Hypoglycemic and hepatoprotective activity of fermented fruit juice of *Morinda citrifolia* (Noni) in diabetic rats. **Journal Evidence Based Complementary Alternative. Medicine** v. 2011, p. 175-293, 2011.

NELSON, S.C. *Morinda citrifolia* L.: Rubiaceae Coffee family. Permanent Agriculture Resources (PAR), HI 96725 USA. 2006. Disponível em: <http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/downloads/morinda_species_profile.pdf>. Acesso em: 10 de set 2014.

NELSON, S.C. Noni seeds handling and seedling production. Fruits and nuts. Cooperative extension service/CTAHR, University of Hawaii at Mānoa. 2005 Disponível em: <http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/downloads/FN10.pdf>. Acesso em: 01 de Ago de 2014)

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as source as new drug over the last 25 year. **Journal of Natural Products**, v.70, p.461-477, 2007.

NICOLAOU, K. C.; CHEN, J. S.; DALBY, S. M. From nature to the laboratory and into the clinic. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.17, p.2290-2303, 2009.

NOVAIS, T. S.; COSTA J. FO.; DAVID J. P. L.; DAVID J. M.; QUEIROZ L. P.; FRANÇA F.; GIULIETTI A. M.; SOARES, M. B. P.; SANTOS R. R. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 5-8, 2003.

OECD Guideline for the testing of chemicals 423 – **Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method** (2001).

OJIMA, I. Modern Natural Products Chemistry and Drug Discovery. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.51, n.9, p.2587-2588, 2008.

OLIVEIRA, P. L. **Contribuição ao estudo de espécies da família Rubiaceae: Fitoquímica da espécie *Amaioua guianensis* Aubl.** Goiânia: UFG, 2009. Dissertação (Mestrado em Química), Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, 2009.

ORTHOLAND, J. Y.; GANESAN, A. Natural products and combinatorial chemistry: back to the future. **Current Opinion in Chemical Biology**. v. 8, n. 3, p. 271-80, 2004.

OUYANG, B.; BAXTER, C. S.; LAM, H. M.; YERAMANENI, S.; LEVIN, L.; HAYNES, E.; HO, S. M. Hypomethylation of dual specificity phosphatase 22 promoter correlates with duration of service in firefighters and is inducible by low-dose benzo[a]pyrene. **Journal of Occupational and Environmental Medicine**. v. 54, p. 774–80, 2012.

PACHAURI; S.D.; TOTA, S.; KHANDELWAL, K.; VERMA, P. R.; NATH, C.; HANIF, K.; SHUKLA, R.; SAXENA, J. K.; DWIVEDI, A. K. Protective effect of fruits of *Morinda citrifolia* L. on scopolamine induced memory impairment in mice: a behavioral, biochemical and cerebral blood flow study. **Journal of ethnopharmacol.** v. 139, n. 1, p. 34-4, 2012.

PAN, L.; CHAI, H-B.; KINGHORN, A. D. Discovery of new anticancer agents from higher plants. **Frontiers in bioscience (Scholar edition)**, v. 4, p. 142-156, 2013.

PANDY, V.; NARASINGAM, M.; MOHAMED, Z. Antipsychotic-like activity of noni (*Morinda citrifolia* Linn.) in mice. **BMC Complement Altern Med**. v. 19, n. 12, p. 186, 2012.

PATIL, S. D.; CHAUDHARI, M. A.; SAPKALE, P. V.; CHAUDHARI, R. B. A recent review on anticancer herbal drugs. **Journal of Drug Discovery and Therapeutics**, v. 1, n. 6, 77-84, 2013.

PATRICK, G. L.; **An Introduction to Medicinal Chemistry**. 3rd Ed, Oxford University Press, New York, 2005 (ou 4th Ed., 2009).

PAWLUS, A.D.; KINGHORN, A.D. Review of ethnobotany, chemistry, biological activity and safety of the botanical dietary supplement *Morinda citrifolia* (noni), **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 59, p. 1587-1609, 2007.

PAYNE, J. D.; JACKSON, E. D.; HOSCHEIDT, S.; LEE RYAN, L.; JACOBS, W. J.; LYNN NADEL, L. Stress administered prior to encoding impairs neutral but enhances emotional long-term episodic memories. **Learning and Memory**. v.14, n. 12, p. 861–868, 2007.

PEREIRA, R. S.; SUMITA, T. C.; FURLAN, M. R.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Revista de Saúde Pública**, v. 8, n.2, 2004.

PESSOA, C.; COSTA-LOTUFO, L. V.; LEYVA, A.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. Anticancer potencial of Northeast Brazilian plants. **Advances in Phytomedicine**, v. 2, p. 197-211, 2006.

PFALLER, M. A.; MESSER, S. A.; HOLLIS, R. J.; BOYKEN, L.; TENDOLKAR, S.; KROEGER, J. AND DIEKEMA, D. J. Variation in susceptibility of bloodstream isolates of *Candida glabrata* to fluconazole according to patient age and geographic location in the United States in 2001 to 2007. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, p.3185–3190, 2009.

POTTERAT, O.; HAMBURGER, M. *Morinda citrifolia* (Noni) Fruit – Phytochemistry, Pharmacology, Safety. **Planta Médica**, v. 73, p. 191-199, 2007.

Product Safety Labs. 2000. Guinea pig antigenicity study. Tahitian Noni puree, Tahitian Noni juice, and Tahitian Noni concentrate. East Brunswick, N.J.: Eurofins Scientific, Inc..

QI, L.; XU, Z. *In vivo* antitumor activity of chitosan nanoparticles. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, p. 4243-4245, 2006.

QIU, J.; ZHANG, X.; LUO, M.; LI, H.; DONG, J.; WANG, J.; LENG, B.; WANG, X.; FENG, H.; REN, W.; DENG, X. Subinhibitory concentrations of perilla oil affect the expression of secreted virulence factor genes in *Staphylococcus aureus*. **PLoS ONE**, v.6, n.1, 2011.

RAHMAN, P. K.; PASIRAYI, G.; AUGER, V.; ALI, Z. Production of rhamnolipid biosurfactants by *Pseudomonas aeruginosa* DS10-129 in a microfluidic bioreactor. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 55, n. 1, p. 45-52, 2010.

RAMAPPA, R.; MAHADEVAN, G. D. *In Vitro* antimicrobial activity of various plant latex against resistant human pathogens. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 4, p. 70-72, 2011.

RAMESH, S.; RADHAKRISHNAN, M.; ANBURAJ, R.; ELANGOMATHAVAN, R.; PATHARAJAN, S. Physicochemical, phytochemical and antimicrobial studies on *Morinda citrifolia* L. fruits at different maturity stages. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 5, p.473–476, 2012.

RAZAFIMANDIMBISON, S. G.; McDOWELL, T. D.; HALFORD, D. A.; BREMER, B. Origin of the pantropical and nutriceutical *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae): comments on its distribution range and circumscription. **Journal of Biogeography**, n.37, p. 520-529, 2010.

ROBBINS, S.S.; CONTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N.; ASTER, J.C. **Patologia: bases patológicas das doenças**. Rio de Janeiro: Elsevier, 8a ed., 2010.

ROSLY, S. M.; SHANMUGAVELU, S.; MURUGAIYAH, M.; HADIJAH, H.; TARMIZI, A. S.; NORIDAYUSNI, Y.; SUBRAMANIAM, K. Subchronic Oral Toxicity Study of *Morinda citrifolia* (Mengkudu) in Sprague Dawley Rats. *Pertanika Journal Tropical Agricultural Sciences*, v. 34, n. 2, p. 341 – 349, 2011.

SAF-UR, R. M.; NAUMAN, A.; ANWARUL-HASSAN, G. Studies on antidyslipidemic effects of *Morinda citrifolia* (Noni) fruit, leaves and root extracts. **Lipids in Health and Disease**, v. 9, p. 88-94, 2010.

SAHOO, T.K.; SAHOO, L.; SARANGI, L. N.; PANDA, S. K.; PANDA, H. K. Prevalence, isolation, characterisation and antibiogram study of pathogenic *Escherichia coli* from different poultry farms of Odisha. **Journal of Advanced Veterinary Research**, v.2, p.169-172, 2012.

SANTOS, M. A. C.; ELISABETSKY, E. "Ethnopharmacology as a tool for the selection of medicinal plants for screening antitumour activity," **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 2, n. 1, p. 7–17, 1999.

SANTOS, R. A.; PORTUGAL, F. B.; FELIX, J. D.; SANTOS, P. M. O.; SIQUEIRA, M. M. Avaliação Epidemiológica de Pacientes com Câncer no Trato Aerodigestivo Superior: Relevância dos Fatores de Risco Álcool e Tabaco. **Revista Brasileira de Cancerologia**. v. 58, v. 1, p. 2-29, 2012.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELENA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, 2004.

SATO, D. Y.; WAL, R.; OLIVEIRA, C. C.; CATTANEO, R. I.; MALVEZZI, M.; GABARDO, J.; BUCHI, D. F. Histopathological and immunophenotyping studies on normal and sarcoma 180-bearing mice treated with a complex homeopathic medication. **Homeopathy**, v. 94, n. 1, p. 26-32, 2005.

SCHIJFFELLEN, M. J.; BOEL, C. H.; VAN STRIJP, J. A.; FLUIT, A. C. Whole genome analysis of a livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 isolate from a case of human endocarditis. **BMC Genomics**, v.11, p. 376, 2010.

SHAO, L. C.; SHENG, C. Q.; ZHANG, W. N. Recent advances in the study of antifungal lead compounds with new chemical scaffolds. **Yao Xue Xue Bao**, v. 42, p. 1129–1136, 2007.

SILVA, E. C. B. **Avaliação biológica da *Caesalpinia echinata* Lam. Fabaceae-Caesalpinoideae. Usos e riscos**. 2006. Recife. 116 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Pernambuco. Recife.

SILVA, J. J. M. **Adubação Orgânica e Mineral de noni: Desempenho agrônomo, nutrição da planta, qualidade de fruto e de suco**. 2010. 104p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2010.

SILVEIRA, R. M. **Bioensaios de toxicidade e organismos bioindicador com instrumento para a caracterização ambiental do Rio Itajaí-Mirim, SC**. Dissertação de (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, SC, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognóia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. Da UFSC, 2004.

SINGH, D. R. *Morinda citrifolia* L. (Noni): A review of the scientific validation for its nutritional and therapeutic properties. **Journal of Diabetes and Endocrinology**, v. 3, n. 6, p. 77-91, 2012.

SINGH, H.; BANERJEE, S.; KARAN, S. CHATTERJEE, T. K. Evaluation of anticancer activity of Andaman freeze dried powdered *Morinda citrifolia* L. fruit against Ehrlich Ascites Carcinoma (EAC) cell induced liquid and solid tumor in Swiss Albino mice. **JPR:BioMedRx: An International Journal**, v. 1, n. 6, p. 567-573, 2013.

SI-YUAN P.; SHAN P.; ZHI-LING Y.; DIK-LUNG M.; SI-BAO C.; WANG-FUN F.; YI-FAN H.; KAM-MING K. New Perspectives on Innovative Drug Discovery: An Overview. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 3, p. 450 - 471, 2010.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. **Food Control**, v. 18, n. 5, p. 409-413, 2007.

SRIVASTAVA, V.; NEGI, J. K.; GUPTA, M.; KHANUJA, S. P. S. Plant-based anticancer molecules: a chemical and biological profile of some important leads. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.13, p.5892-5908, 2005.

STADLBAUER, V.; FICKERT, P.; LACKNER, C.; SCHMERLAIB, J.; KRISPER, P.; TRAUNER, M.; STAUBER, R. E. Hepatotoxicity of NONI juice: Report of two cases. **World Journal of Gastroenterology**, v. 11 (30), p. 4758-4760, 2005.

STOCK, C. C.; CLARCK, D. A.; PHILIPS, F. D. Sarcoma 180 – inhibitor screening date. *Cancer Research*, n. 2, p. 2-3, 1955.

SUNDAR, J.; SINGH, D.R.; JEYAKUMAR, S.; KUNDU, A.; DE, A.K. Antibacterial activity in solventextract of different parts of *Morinda citrifolia* plant. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 8, p. 1404-1407, 2011.

TAŞKIN, EI.; AKGÜN-DAR, K.; KAPUCU, A.; OSAŇ, E.; DOĞRUMAN, H.; ERALTAN, H.; ULUKAYA, E. Apoptosis-inducing effects of *Morinda citrifolia* L. and doxorubicin on the Ehrlich ascites tumor in Balb-c mice. **Cell Biochemistry and Function**, v. 27, n. 8, p. 542-6, 2009.

TAUFNER, C. F.; FERRAÇO, E. B.; RIBEIRO, L. F. Uso de plantas medicinais como alternativa fitoterápica nas unidades de saúde pública de Santa Tereza e Marilândia, ES. **Natureza on line**, v. 4, n. 1, p. 30-39, 2006.

The World Medicines Situation. Traditional medicines: global situations, issues, and challenges. Genebra, **World Health Organization**, 2011, disponível em: <http://www.who.int/medicines/areas/policy/world_medicines_situation/WMS_ch18_wTraditionalMed.pdf>. Acesso em 29 out. 2014.

TOLEDO, A. C. O.; HIRATA, L. L.; DA CRUZ, M.; BUFFON, M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Revista Lecta**, v. 21, n. 1, p. 7-13, 2003.

USHA, R.; SANGEETHA, S.; PALANISWAMY, M. Antimicrobial activity of a rarely known species, *Morinda citrifolia* L. **Ethnobotanical Leaflets**. v. 14; p. 306-311, 2010.

VEERMUTHU, D.; MUNIAPPAN, A.; SAVARIMUTHU, I. Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamilnadu, India. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 6, p. 35, 2006.

VIEGAS-JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. The natural products and the modern medicinal chemistry. **Química Nova**, v.29, n.2, p.326-337, 2006.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis & A thin layer chromatography atlas**. 2 ed. Berlim: Springer, 1996

WALSH, C. T.; FISCHBACH, M. A. Natural products version 2.0: connecting genes to molecules. **Journal of the American Chemical Society**, v.132, n.8, p. 2469-93, 2010

WANG, M. Y.; SU, C. Cancer Preventive Effect of *Morinda citrifolia* (Noni). **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 952, p. 161 – 168, 2001.

WASSENAAR, T. M.. **Bacteria. The Benign, the Bad, and the beautiful**. 1a Ed., New Jersey: Wiley-Blackwell, 2011.

WEINBERG, R. A. **A Biologia do Câncer**. Artmed, Porto Alegre, 864p., 2008.

WEST, B.J., C.J. JENSEN, J. Westendorf and L.D. White, 2006. A safety review of noni fruit juice. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 8, p. 100-106, 2006.

WEST, B. J.; DENG, S.; JENSEN, J. Nutrient and phytochemical analyses of processed noni puree. **Food Research International**, v. 44, p. 2295-2301, 2011a.

WEST, B. J.; JENSEN, C. J.; PALU, A.K.; DENG, S. Toxicity and Antioxidant Tests of *Morinda citrifolia* (noni) Seed Extract. *Advance Journal of Food Science and Technology* 3(4): 303-307, 2011b.

WEST B. J., PALMER S. K., DENG S., PALU A. K. Antimicrobial Activity of an Iridoid Rich Extract from *Morinda citrifolia* Fruit. **Current Research Journal of Biological Science**, v 4, n. 1, p. 52-54, 2012.

WOODFORD, N. Biological counterstrike: antibiotic resistance mechanisms of Gram-positive cocci. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 11, s. 3, p. 2-21, 2005.

YOUNOS, C.; ROLLAND, A.; FLEURENTIN, J.; LANHERS, M. C.; MISSLIN, R.; MORTIER, F. Analgesic and Behavioral effects of *Morinda citrifolia*. **Planta Medica** v. 56, p. 430 – 434, 1990.

YU, H.; LI, S.; HUANG, M.; HO, C. Antiinflammatory Constituents in Noni (*Morinda citrifolia*) Fruits. **American Chemical Society**, v. 987, p. 179-190, 2008.

ZHANG, J. T. New drugs derived from medicinal plants. **Therapie**. v. 57, n. 2, p.137-50, 2002.

ZIMERMAN, R. A. Uso indiscriminado de antimicrobianos e resistência microbiana. **Uso Racional de Medicamentos: Temas Selecionados**. n. 3, p. 1-15, 2010.

ZUCKERMAN, K. S. Hematopoietic abnormalitie in patients withn cancer. **Cancer Control**, v. 5, p. 6-11, 1998.

ANEXO

Parecer do Comitê de Ética em Experimentação Animal



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br

Recife, 11 de novembro de 2014.

Ofício nº 69/14

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof.^a Ivone Antônia de Souza**
Departamento de Antibióticos - CCB
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.039925/2014-76

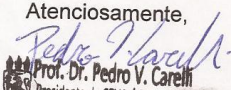
Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, "**Morinda citrifolia – Investigação científica de suas propriedades com base na sua utilização no mercado.**"

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério; Animais: camundongos;
linhagem Swiss; Sexo: machos e fêmeas; Idade: 60 dias; Peso:
25-35g; Número de animais previsto no protocolo: 120.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Pedro V. Carelli
Presidente da CEUA / CCB - UFPE
UFPE SIAPE 1801584

CCB: Integrar para desenvolver