



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MORFOTECNOLOGIA

MARÍLIA GABRIELA MUNIZ ARRUDA

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E HEPATOTÓXICA DO EXTRATO ETANÓLICO DOS
FRUTOS DE *MORINDA CITRIFOLIA* LINN. EM MODELOS EXPERIMENTAIS**

Recife

2019

MARÍLIA GABRIELA MUNIZ ARRUDA

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E HEPATOTÓXICA DO EXTRATO ETANÓLICO DOS
FRUTOS DE *MORINDA CITRIFOLIA* LINN. EM MODELOS EXPERIMENTAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia do Departamento de Histologia e Embriologia do Centro de Biociência da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Morfotecnologia.

Área de Concentração: Morfologia e Métodos Clássicos e Avançados.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ivone Antonia de Souza

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Roberta Jeane Bezerra Jorge

Recife

2019

Catálogo na fonte
Elaine C Barroso (CRB4/1728)

Arruda, Marília Gabriela Muniz

Avaliação fitoquímica e hepatotóxica do extrato etanólico dos frutos de *Morinda citrifolia* Linn. em modelos experimentais / Marília Gabriela Muniz Arruda- 2019.

66 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Ivone Antonia de Souza

Coorientadora: Roberta Jeane Bezerra Jorge

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia. Recife, 2019.

Inclui referências e anexo

1. Plantas medicinais 2. Noni 3. Toxicidade I. Souza, Ivone Antonia de (orient.) II. Jorge, Roberta Jeane Bezerra (coorient.) III. Título

615.321

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2019-383

MARÍLIA GABRIELA MUNIZ ARRUDA

**AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E HEPATOTÓXICA DO EXTRATO ETANÓLICO DOS
FRUTOS DE *MORINDA CITRIFOLIA* LINN. EM MODELOS EXPERIMENTAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia do Departamento de Histologia e Embriologia do Centro de Biociência da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Morfotecnologia.

Aprovada em: 30/08/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Ivone Antonia de Souza (Orientadora/Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Eliete Cavalcanti da Silva (Membro Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr^o. René Duarte Martins (Membro Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Jane Sheila Higino (Membro Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente e infinitamente a Deus, por nunca ter me abandonado, por nunca permitir que eu abandone minha fé e por nunca ter me deixado fraquejar e desistir. Sei que o Senhor tem um plano em minha vida e que, quando me sinto muito aflita posso orar e entregar minha vida em suas mãos. Pelos inúmeros motivos que tenho a agradecer, hoje agradeço por ter colocado em meu destino mais essa conquista.

A meus pais que sempre me educaram e me moldaram de maneira correta, que me ensinaram a subir na vida e alcançar meus objetivos sem precisar me colocar acima de ninguém e não tentando ser melhor que outros e sim, melhor que eu mesma a cada dia. Principalmente a minha mãe, que é uma guerreira, que me ajuda a construir essa escada em cada tijolo que precisa ser colocado, que não me deixa desistir, me dando força e apoio em tudo que faço. A minha irmã, que na minha vida representa tudo e que por ela busco sempre o melhor em minha vida, para que possa ser pra ela um exemplo e motivo de orgulho. A minha sobrinha que tanto amo, que mesmo ainda pequena me dá forças para continuar lutando e tentando ser uma pessoa melhor, para que no amanhã eu possa ser seu espelho. A minha avó Suzete, por sempre me apoiar, me dando conselhos, incentivos e pela fé inabalável sempre me entregando ao Senhor.

A Marcela Albuquerque, que me incentiva a não desistir mesmo quando as coisas parecem não ter uma luz, pela amizade que vai além dos muros da universidade, por sempre me ajudar a ser uma pessoa melhor, me dando conselhos e sempre querendo meu bem, me ajudando em todos os experimentos realizados, me aguento mesmo quando não estou bem. A minha amiga Ana Patrícia, pelas conversas, apoio e ajuda nessa caminhada.

A minha orientadora Ivone Antonia de Souza, por ter aberto as portas do laboratório, por ter me dado essa oportunidade e confiança, por ser essa orientadora amiga, pelos conselhos dados, obrigada por ser essa pessoa tão maravilhosa, importante e tão singular em minha vida.

A minha coorientadora Roberta Jeane Bezerra Jorge, pela confiança dada, por ter aberto as portas do laboratório, pelas oportunidades que me deu, por estar

Presente nessa caminhada, na primeira porta que fechou não me deixou desistir, sempre dando apoio para ir além.

A professora Vitorina Rhen, pelo apoio, conversas, incentivos e conselhos, por ser esse anjo tão importante em minha vida. Agradeço a Danielle Feijó por ter me apresentado lá no começo da graduação a disciplina de plantas medicinais, dando incentivos para chegar até aqui.

Aos meus colaboradores Maria Carolina Accioly, Ana Mendonça, Alexandre Gomes (*In memoriam*) e Alex Salviano por toda a dedicação com este trabalho e empenho.

A meu amigo Romulo Dantas, pela força, apoio e ajuda. Aos meus amigos José Wellington, Fátima Rodrigues, Yhasminie e Nabuêr pelas conversas, apoio e incentivos dado no decorrer do mestrado.

Aos meus amigos do laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental (LAFAC), pelo apoio dado, em especial a Marcilene, Emanuelle e Niédja, por sempre estarem disponíveis nos experimentos a serem realizados.

Finalizo deixando o meu muito obrigada a todos que participaram e contribuíram direta e indiretamente, para a conclusão desse trabalho e com ele, podendo acrescentar informações na Ciência.

RESUMO

O Brasil é considerado o maior representante em Biodiversidade do mundo. Entre as espécies botânicas encontradas no país, muitas são compostas por metabólicos com propriedades bioativas comumente utilizadas na medicina popular, para tratamento ou cura de algumas doenças. Nota-se que nos últimos anos houve um aumento significativo no interesse de indústrias farmacêuticas na produção de novos fármacos, a partir de pesquisas com plantas medicinais que apresentam resultados promissores no campo da Saúde Humana. Entre as espécies que vem sendo utilizadas, *Morinda citrifolia* Linn. conhecida popularmente como “noni”, embora seja uma planta nativa do Sudeste da Ásia, é bastante adaptada ao território brasileiro, distribuída em diversas partes do país, principalmente na região Nordeste. Utilizada para tratamento de algumas doenças como diabetes, hipertensão, artrite, antimicrobiano, anti-inflamatório, antioxidante, entre outros. O presente estudo investigou o efeito hepatotóxico do extrato etanólico de *Morinda citrifolia* em camundongos Swiss, com o objetivo de contribuir com investigações futuras que busquem o potencial biológico da referida espécie botânica. Para os ensaios, os frutos frescos foram coletados no município de Limoeiro – PE. Após a coleta foram lavados, descascados, fatiados e triturados junto as sementes para a obtenção do extrato etanólico bruto de *Morinda citrifolia*. O perfil Fitoquímico foi realizado a partir da Cromatografia em Camada Delgada (CCD), onde foram encontrados como metabólicos, alcaloides, antraquinonas, derivados Antracênicos, mono, sesqui e diterpenos. Posteriormente foi realizado a citotoxicidade do extrato utilizando *Artemia salina*, onde foi comprovado que o extrato nas concentrações de 1500, 750, 500, 250 e 125 µg/ mL, teve uma CL₅₀ > que 1085,6 µg/ mL, na avaliação da citotoxicidade em linhagem celular RAW 264.7, foi comprovado que o extrato etanólico teve uma CC₅₀ > 200 µg/ mL, na avaliação da toxicidade realizado através de *Biomphalaria glabrata*, o extrato etanólico do “noni” não foi tóxico em nenhuma das concentrações testadas. A Toxicidade Aguda seguiu a OECD 423, o teste foi realizado com camundongos Swiss, os animais foram observados durante 14 dias, com peso, água e ração controlada, no 15º dia os animais foram anestesiados e realizado a punção cardíaca para os parâmetros hematológico e bioquímicos. O teste de Hepatotoxicidade foi realizado com camundongos Swiss, teve duração de 10 dias, onde foram administrados salina, paracetamol e extrato

etanólico de *M. citrifolia* durante 8 dias, no 10º dia os animais foram anestesiados, realizado punção cardíaca para avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos, eutanasiados e realizado a retirada dos órgãos para análise histopatológica. Os resultados encontrados a partir dos experimentos realizados demonstraram que o extrato etanólico de *M. citrifolia* não apresentou toxicidade estatisticamente significativa nas doses e concentrações testadas.

Palavras-chave: Noni. Plantas medicinais. Toxicidade.

ABSTRACT

Brazil is considered the largest representative in biodiversity in the world. Among the botanical species found in the country, many are composed of metabolic with bioactive properties commonly used in folk medicine to treat or cure some diseases. It is noted that in recent years there has been a significant increase in the interest of pharmaceutical industries in the production of new drugs, from research with medicinal plants that show promising results in the field of Human Health. Among the species being used, *Morinda citrifolia* Linn. Known popularly as “noni”, although it is a native plant of Southeast Asia, it is quite adapted to the Brazilian territory, distributed in several parts of the country, mainly in the Northeast region. Used to treat some diseases such as diabetes, hypertension, arthritis, antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant, among others. The present study investigated the hepatotoxic effect of the ethanolic extract of *Morinda citrifolia* in Swiss mice, with the purpose of contributing to future investigations that seek the biological potential of this botanical species. For the trials, fresh fruits were collected in the city of Limoeiro - PE. After collection they were washed, peeled, sliced and ground together to obtain the crude ethanolic extract of *Morinda citrifolia*. The phytochemical profile was performed from the Thin Layer Chromatography (CCD), where they were found as metabolic, alkaloids, anthraquinones, anthracenic derivatives, mono, sesqui and diterpenes. Subsequently, the cytotoxicity of the extract was performed using *Artemia salina*, where it was proven that the extract at concentrations of 1500, 750, 500, 250 and 125 $\mu\text{g} / \text{mL}$, had a $\text{LC}_{50} > 1085.6 \mu\text{g} / \text{mL}$, in the evaluation of cytotoxicity in In the RAW 264.7 cell line, the ethanolic extract was found to have a $\text{CC}_{50} > 200 \mu\text{g} / \text{mL}$. In the toxicity assessment performed by *Biomphalaria glabrata*, the noni ethanolic extract was non-toxic at any of the concentrations tested. Acute Toxicity followed OECD 423, the test was performed with Swiss mice, the animals were observed for 14 days, with weight, water and controlled ration. On the 15th day the animals were anesthetized and cardiac puncture for hematological and biochemical parameters. The Hepatotoxicity test was performed with Swiss mice, lasted 10 days, where saline, paracetamol and ethanolic extract of *M. citrifolia* were administered for 8 days. biochemical, euthanized and organ withdrawal for histopathological analysis. The results from the experiments showed

that the ethanolic extract of *M. citrifolia* did not present statistically significant toxicity at the tested doses and concentrations.

Keywords: Noni. Medicinal plants. Toxicity

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	Exsicata depositada no IPA.....	29
Figura 2-	Fruto de <i>Morinda citrifolia</i> e obtenção do extrato etanólico dos frutos.....	30
Figura 3-	Representação do ensaio de letalidade com náuplios de <i>Artemia salina</i>	33
Figura 4-	Desenho experimental da divisão dos grupos da Hepatotoxicidade.....	36
Figura 5-	Ensaio de Toxicidade de <i>Morinda citrifolia</i> sobre <i>Biomphalaria glabrata</i>	43
Figura 6-	Imagens Histológicas dos Fígados do teste de Hepatotoxicidade.....	50
Gráfico 1-	Peso do Fígado dos grupos após a eutanásia.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Atividade farmacológica de <i>Morinda citrifolia</i>	19
Tabela 2-	Estudos da ação toxicológica de <i>Morinda citrifolia</i>	23
Tabela 3-	Sistemas e reveladores utilizados na prospecção fitoquímica por Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	31
Tabela 4-	Triagem fitoquímica em Cromatografia em Camada Delgada (CCD)...	39
Tabela 5-	Contagem do teste da citotoxicidade realizado em triplicata de náuplios de <i>A. salina</i> após 24 h de exposição ao extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> e grupo controle com água salina (pH 8-9).....	40
Tabela 6-	Teste citotoxicidade frente a Linhagem Celular RAW 264.7 exposto ao extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i>	42
Tabela 7-	Principais reações comportamentais relacionadas a dose de 2000 mg/kg administrada na avaliação da toxicidade aguda do extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i>	44
Tabela 8-	Ganho de peso e consumo de água e ração dos animais tratados na dose de 2000 mg/kg do extrato etanólico de <i>Morinda citrifolia</i> , no ensaio de toxicidade aguda.....	45
Tabela 9-	Parâmetro Hematológico e Bioquímico da Toxicidade Aguda.....	47
Tabela 10-	Parâmetro Hematológico e Bioquímico da Hepatotoxicidade.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Microgramas
µL	Microlitros
µm	Micrometros
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
CHCM	Concentração de Hemograma Corpuscular média
CL ₅₀	Concentração Letal em 50% dos indivíduos
DMSO	Dimetilsulfóxido
DL ₅₀	Dose Letal em 50% dos indivíduos
g	Gramas
GC	Grupo Controle
GT	Grupo Tratado
h	Horas
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HE	Hematoxilina Eosina
IPA	Instituto Agrônômico de Pernambuco
Kg	Quilograma
L	Litros
mg	Miligramas
NAPBQI	N-acetil-p-benzoquinoneina
OECD	Organization for Economic Co-operation and development
OMS	Organização Mundial de Saúde
VCM	Volume Corpuscular Médio
v. o.	Via Oral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.2	OBJETIVOS.....	17
1.2.1	Objetivo Geral.....	17
1.2.2	Objetivos Específicos.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.2	METABOLISMO DO FÍGADO.....	18
2.3	FARMACOTERAPIA DE <i>MORINDA CITRIFOLIA</i>	19
2.4	TOXICIDADE DE <i>MORINDA CITRIFOLIA</i>	22
2.5	TOXICIDADE DE MEDICAMENTOS.....	23
2.6	USO DE PLANTAS MEDICINAIS.....	25
2.7	TOXICIDADE DE PLANTAS MEDICINAIS.....	26
2.8	<i>MORINDA CITRIFOLIA</i>	28
3	MATERIAL E MÉTODO.....	29
3.1	MATERIAL BOTÂNICO.....	29
3.2	OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO.....	29
3.3	PERFIL FITOQUÍMICO.....	30
3.4	CITOTOXICIDADE FRENTE A NÁUPLIOS DE <i>ARTEMIA SALINA</i>	32
3.5	CITOTOXICIDADE EM LINHAGEM CELULAR RAW 264.7.....	33
3.6	TOXICIDADE DE <i>MORINDA CITRIFOLIA</i> SOBRE A <i>BIOMPHALARIA GLABRATA</i>	33
3.7	ANIMAIS.....	34
3.8	TOXICIDADE AGUDA E DETERMINAÇÃO DA DL ₅₀	34
3.9	AVALIAÇÃO DA HEPATOTOXICIDADE.....	35
3.10	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS.....	36
3.11	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA.....	36
3.12	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
4.1	AVALIAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO.....	38

4.2	AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE FRENTE A NÁUPLIOS DE <i>ARTEMIA SALINA</i>	40
4.3	AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM LINHAGEM CELULAR RAW264.7.....	41
4.4	AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE <i>MORINDA CITRIFOLIA</i> SOBRE A <i>BIOMPHALARIA GLABRATA</i>	42
4.5	AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DETERMINAÇÃO DA DL ₅₀	43
4.6	AVALIAÇÃO DA HEPATOTOXICIDADE.....	45
4.7	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS.....	47
4.8	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA.....	49
5	CONCLUSÃO	51
	REFERENCIAS	52
ANEXO A	CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	66

1 INTRODUÇÃO

Uma das principais doenças relacionadas ao fígado é a cirrose, que pode ser causada devido a uma série de fatores, entre eles o uso abusivo do álcool, hepatites, doença de Wilson e alguns medicamentos como o Isoniazida, Nitrofurantoina, amiodarona, diclofenaco e o Metotrexato quando utilizados a longo prazo ou de forma inadequada (CHAGAS et al., 2018). A maioria desses fármacos podem afetar diretamente o funcionamento do fígado, aumentando os níveis de enzimas hepáticas, podendo levar ao aparecimento de lesões inclusive assintomáticas (CORNEJO, et al., 2013).

A quantidade de efeitos colaterais relacionados ao uso desses fármacos tem levado a um aumento considerável no interesse de estudos com plantas medicinais. Sabe-se que no Brasil esse uso está fortemente ligado as influências culturais, principalmente a indígena, embora os avanços em pesquisas sejam notáveis ainda há muito a ser estudado, principalmente pelo país ser detentor da maior biodiversidade do mundo (BRITO et al., 2009). Contudo vale salientar a importância dos testes toxicológicos em pesquisas com plantas, tendo em vista que algumas podem apresentar toxicidade, causando efeitos nocivos no funcionamento do organismo (VEIGA-JUNIOR & MELLO, 2008).

O Brasil, devido a seu amplo território e sua rica biodiversidade apresenta um vasto potencial medicinal a ser explorado. Em destaque, a região Nordeste possui uma forte cultura popular de utilização de plantas medicinais. Entretanto, apesar do vasto conhecimento sobre essas espécies, apenas um pequeno percentual tem sido estudadas (SALTOS et al., 2016).

Rubiaceae, é considerada a quarta maior família dentre as angiospermas, compreende cerca de 611 gêneros e 13.143 espécies (DAVIS et al. 2009). A família é caracterizada por apresentar hábito arbustivo, com distribuição cosmopolita (JARDIM E DELPRETE 2012). O gênero *Morinda* compreende cerca de 40 espécies, distribuídas principalmente na região pantropical (KESONBUAA E CHANTARANOBHAI, 2013).

Uma espécie da família *Rubiaceae* que vem despertando o interesse de pesquisadores é a *Morinda citrifolia* Linn. na qual já foram identificados mais de cem metabólitos (CORREIA et al. 2011). Seus efeitos estão relacionados à atividade

antibacteriana, antioxidante, antiviral, antifúngica, antitumoral, anti-helmíntica, analgésica, antiinflamatória, hipotensora e imunoestimulante (PAWLUS; KINGHORN, 2007).

M. citrifolia é encontrada no Nordeste do Brasil, principalmente nos estados de Sergipe, Ceará e Pernambuco, além de outros estados como Acre, São Paulo e Minas Gerais, embora tenha cultivo difundido, há poucos trabalhos de toxicidade realizados com a planta no país (CORREIA et al., 2011).

Embora estudos etnobotânicos tenham sido realizados a respeito das propriedades biológicas relacionadas ao uso popular da espécie, até o momento não se tem estudos científicos que atestem a segurança do uso, principalmente dos frutos. A partir disso o presente estudo visa identificar os constituintes químicos e avaliar uma possível hepatotoxicidade do extrato etanólico do fruto de *M. citrifolia* em modelos experimentais *in vivo*.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Investigar os efeitos tóxicos e hepatotóxico do extrato etanólico dos frutos de *Morinda citrifolia* em camundongos Swiss.

1.1.2 Objetivos Específicos

- ✓ Realizar a prospecção fitoquímica do extrato etanólico do fruto de *Morinda citrifolia* Linn;
- ✓ Avaliar a CL₅₀ frente a náuplios de *Artemia salina* e Células de RAW;
- ✓ Analisar a toxicidade frente a *Biomphalaria glabrata*;
- ✓ Avaliar a toxicidade aguda por via oral (v. o.) e determinar a DL₅₀ com o extrato etanólico de *Morinda citrifolia* em camundongos Swiss;
- ✓ Investigar a hepatotoxicidade do extrato etanólico de *Morinda citrifolia* sobre camundongos Swiss;
- ✓ Avaliar os parâmetros hematológicos e bioquímicos com a administração do extrato etanólico de *Morinda citrifolia* Linn.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.2 METABOLISMO DO FÍGADO

O fígado é o segundo maior órgão do corpo, no qual os nutrientes absorvidos no trato digestivo são processados e armazenados para a utilização de outros órgãos. A posição do fígado no sistema circulatório é ideal para captar, transformar e acumular metabolitos, para a neutralização e eliminação de substâncias tóxicas e síntese de proteínas plasmáticas (GONÇALVES et al., 2010; JESUS et al., 2014). No tecido hepático tem-se a presença de enzimas que, ao serem dosadas na circulação periférica, são considerados marcadores de função e auxilia no diagnóstico e identificação de risco de ocorrência de doenças. Enzimas como: aminotransferases, fosfatase alcalina, gamaglutamiltranspeptidase, desidrogenase láctica podem ser utilizadas como triagem básica de disfunção hepática (JESUS et al., 2014).

O órgão possui cor vermelho acastanhado e é recoberto por uma fina e forte cápsula de tecido conjuntivo. No corpo humano, pesa em torno de 1500 g e situa-se no lado direito do corpo, com sua superfície superior convexa adaptada a 24 superfície inferior do diafragma em forma de cúpula (CORMACK, 1994). O fígado possui diversas funções metabólicas e bioquímicas essenciais como: metabolismos de carboidratos, lipídios, proteínas, fatores de coagulação, excreção de medicamentos, toxinas e metabólitos; formação e eliminação da bile, é um órgão com grande capacidade de regeneração (CALAMARI, 2011).

Como os diversos órgãos, o fígado é composto por parênquima e estroma. Onde o parênquima é formado por células epiteliais de origem endodérmica, denominadas células hepáticas chamadas de hepatócitos que se agrupam em placas interconectadas, conhecidas por lóbulos hepáticos. Em regiões nas periferias dos lóbulos existe tecido conjuntivo, vasos linfáticos, ductos biliares, nervos e vasos sanguíneos, denominado de espaço porta. A veia porta contém sangue proveniente do trato digestivo, pâncreas e baço. Os espaços entre os cordões de hepatócitos contêm capilares, chamados de sinusóides hepáticos. Na periferia desses sinusóides, encontram-se macrófagos fixos do fígado, conhecidos por células de Kupffer. Essas células são fagocitárias e possuem funções específicas de metabolizar eritrócitos envelhecidos, digerir hemoglobina e secretar proteínas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; CORMACK, 1994). Os hepatócitos frequentemente podem armazenar glicose

e lipídeos na forma de glicogênio e triglicerídeos, em quantidades que variam de acordo com o ritmo circadiano e estado nutricional do organismo. Logo, o fígado contribui para manutenção da glicemia sanguínea e, conseqüentemente, da homeostasia do organismo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

2.3 FARMACOTERAPIA DE *MORINDA CITRIFOLIA*

A grande utilização do consumo de *M. citrifolia* vem sendo relacionada à sua eficácia na prevenção de doenças como diabetes, hipertensão, arteriosclerose, atividades antioxidante, anti-inflamatória, analgésica, imunoglobuladora, antibacteriana, antitumoral, antivirais, antifúngicos, hipotensor, entre outros (KRISHNAIAH et al., 2013; MANDUKHAIL; AZIZ e GILANI, 2010; POTTERAT e HAMBURGER, 2007; MOMPIÉ et al., 2014; FERRADAS; ABANTO e REYES, 2014; PANDY et al., 2014; SONG; FENGJUAN e WANG, 2015). Existe uma diversidade de pesquisas *in vivo* e *in vitro*, de extratos e de substâncias isoladas relacionando as atividades biológicas deste vegetal. Algumas pesquisas já vem confirmando propriedades pertencentes a planta de acordo com a medicina popular (PAWLUS; KINGHORN, 2007).

Estudos realizado por Brett e colaboradores (2012) com cepas de bactérias Gram positivas e Gram negativas apresentaram sensibilidade frente ao isolado do fruto. O extrato etanólico do fruto promoveu hepatoproteção em experimentos de toxicidade aguda (MIAN-YING et al., 2008; NAYAK et al., 2011).

Em relação à atividade antifúngica, estudo realizado por Goun et al. (2003), mostrou inibição no crescimento de *Candida albicans*, o qual foi utilizado o extrato etanólico do fruto de *M. citrifolia* nas concentrações de 30 mg/mL e 40 mg/mL. Outros estudos foram realizados para comprovar sua importância farmacológica como mostra a tabela 1.

Tabela 1- Atividade farmacológica de *Morinda citrifolia*.

Parte da Planta	Extrato	Modelo Experimental	Concentrações e Doses	Resultados	Referências

Folhas Frescas	Extrato Aquoso	Edema da orelha, em ratos albinos machos.	10 µl em cada orelha.	Os resultados mostraram uma redução significativa do edema sendo eficaz como atividade anti-inflamatória.	ÁLVAREZ et al., 2014.
Folhas Frescas	Extrato Aquoso	Células de macrófagos raw 264.7.	Dose de 750 µg/mL.	A secreção de TNF-α e IL-1β do camundongo em culturas de células de macrófagos RAW 264.7 tratadas com extrato de <i>M. Citrifolia</i> mostrou uma inibição significativa a secreção de TNF-α a partir de macrófagos induzidos por LPS, sendo eficaz contra doenças inflamatórias.	SARAPH ANCHOTI WITTHAY A e SRIPALA KIT, 2015.
Folhas Secas	Extrato Metanólico	Células e vírus Huh7.5; Células e plasmídeo pfl-j6/ jfh1.	20,6 µg/mL.	Os extratos apresentaram resultados positivos contra o vírus da hepatite c.	RATNOG LIK et al., 2014.
Folhas Frescas	Extrato Aquoso	Células do dente pré-molar, com pacientes de idades entre 17 a 25 anos.	0,025%, 0,625%, 1,25%, 2,5%, e 5%).	Foi observado uma regeneração de osso e tecido periodontal.	BOONAN ANTANA SARN et al., 2014.
Folhas Secas	Extrato Etanólico	Fungos <i>metarhizium anisopliae</i> contra o vetor da malária, <i>anopheles stephensi</i> .	500 mg/mL.	A planta e os fungos são promissores agentes larvicidas e pupicidal contra vetor da malária.	KOVENDAN et al., 2014.
Folhas e Sementes	Extrato Hidroetanólico e frações de hexano, clorofórmio e acetato de etila.	Cepas de <i>Escherichia coli</i> (atcc 113-3) <i>Estaphylococcus aureus</i> (atcc29737) e 3 cepas selvagens de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>escherichia coli</i> e <i>candida sp.</i> .	100mg/mL	Todos os extratos de <i>M. Citrifolia</i> (noni) tiveram atividade antimicrobiana contra as cepas estudadas.	MOMPIÉ et al., 2014.

Frutos Maduro	Extrato Aquoso	<i>Candida albicans</i> .	1000 µg, 500 µg, 250 µg e 100 µg.	Efeito dose dependente para <i>cândida albicans</i> .	BARANI et al., 2014.
Fruto	Extrato etanólico	Estresse oxidativo acetilcolinesterase (ache) no modelo de amnésia induzida por escopolamina em ratos albino wistar.	10 mL/ kg por 1h.	O mecanismo de ação de <i>M. citrifolia</i> contra a perda de memória se deu pela sua ação no fluxo sanguíneo central e na na atividade acetilcolinesterase frete aos modelos de amnésia induzida por escopolamina.	PACHAURI et al., 2012
Fruto	Extrato Metanólico	Ratos albino wistar.	200 e 400 mg/kg.	Aumento significativo na memória de curto prazo e memória de longo, aumento nos níveis de serotonina e dopamina.	MURALIDHARN et al., 2010.
Fruto	Extrato Aquoso	Cepas <i>streptococcus mutans</i> MTCC 497, <i>streptococcus mitis</i> MTCC 2696.	1000 µg/ mL	<i>M. Citrifolia</i> tem um efeito inibitório sobre estreptococos orais.	KUMARA SAMY et al., 2014.
Fruto	Extrato Aquoso	Ensaio experimental não randomizado - homens, e mulheres de 18 a 45 anos; ratos wistar.	Dose 200 ml para humanos e 0,5 g/kg para animais.	O extrato aquoso apresentou uma atividade contra acidez estomacal e um aumento na absorção da ranitidina.	NIMA et al., 2012.
Fruto	Extrato Metanólico	Camundongos albinos Swiss	500 g e 750 mg/kg	O extrato apresentou uma ação antiosteoporose.	SHIRWAIKAR et al., 2011.
Fruto	Extrato Etanólico	Células de melanoma b16-f10, cepas de <i>staphylococcus aureus</i> e <i>escherichia coli</i> .	Na atividade antitumoral foi utilizado doses de 10mg / mL, para atividade antimicrobiana com <i>staphylococcus aureus</i> doses de 1 mg/mL, e 10 mg / ml	O extrato etanólico dos frutos de <i>M. citrifolia</i> , diminuiu a atividade celular e inibiu 45% da taxa da proliferação de células de melanoma b16-f10, foi eficaz na atividade antimicrobiana ao inibir os dois	CANDIDA et al., 2014.

			para <i>escherichia coli</i> .	microorganismos estudados.	
Raiz	Extrato metanólico/ Butanólico	Meoh, buoh (3 g / kg), damnacantal (10-100 mg/kg foi misturado e administrado).	Edema de pata com ratos.	O extrato da raiz do noni indicou uma ação antinociceptiva e anti-inflamatória, sendo o isolado do extrato (Damnacanthal) o possível o princípio ativo.	OKUSAD A et al., 2011.

Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2019.

2.4 TOXICIDADE DE *MORINDA CITRIFOLIA*

Apesar da literatura científica sobre essa espécie vegetal ser ampla, especialmente quando se trata dos possíveis efeitos farmacológicos e usos terapêuticos, a quantidade de publicações que avaliaram sua segurança é limitada (WEST et al., 2009). Em 2007 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) liberou um informe, que posteriormente, em 2008 passou por sua última atualização, intitulado: Esclarecimentos sobre a comercialização do suco de fruta Noni (*M. citrifolia*), que adverte:

“Com o intuito de proteger e promover a saúde da população, os produtos contendo Noni não devem ser comercializados no Brasil como alimento até que os requisitos legais que exigem a comprovação de sua segurança de uso e registro sejam atendidos (ANVISA, 2008)”.

Para a publicação do decreto, a ANVISA teve como base artigos com relatos de casos de pacientes hospitalizados com algum grau de problemas hepáticos, os quais foram associados ao consumo do suco de Noni ou das populares garrafadas, nas quais duas ou mais ervas são combinadas e consumidas de forma indiscriminada. Os pacientes eram apontados com quadros de hepatite idiossincrática (ocasionada pelo consumo de droga ou composto tóxico). A ANVISA tomou como embasamento teórico seis trabalhos, onde dois consumiram apenas o “noni” (MILLONING, STADLMANN e VOGEL, 2005; YU et al., 2011).

Nos demais estudos apresentados pela ANVISA, os pacientes com problemas no fígado tiveram alterações hepáticas devido ao alto consumo de paracetamol, uso

de fludarabina, consumo de Interferon beta (IFN- β) e uso de fenobarbital (STADLBAUER et al., 2005; YUCE et al. 2006, MRZLJAK et al., 2013).

Os autores corroboram que os efeitos hepatotóxicos encontrados podem ser associados ao consumo do “noni”, porém, advertem que existe uma grande possibilidade de que os efeitos possam ser ocasionados por um sinergismo entre a presença de doenças ou consumo de drogas alopáticas. Apesar do grande potencial econômico de *M. citrifolia* e de seus extratos serem alvos de especulações por apresentarem propriedades biologicamente ativas, não há uma intensa pesquisa acerca do assunto quanto a sua toxicidade (Tabela 2).

Tabela 2- Estudos da ação toxicológica de *Morinda citrifolia*.

Extrato	Dose/ Concentração	Modelo	Resultados	Referências
Fruto triturado com sementes	1500 $\mu\text{g/ml}$ por 24 h 10ml/kg de rato	Linhagens de células hepáticas humanas e em ratos.	O extrato do noni não apresentou atividade tóxica para a linhagem HEP G2.	West et al., 2009a.
Fruto triturado com sementes	150 $\mu\text{g/ml}$, por via oral.	Linhagens de células HEPG2 em ratos.	O noni não exibiu toxicidade nas células HEPG2.	West et al., 2009b.
Infusão dos frutos	Dose 1 g/250 ml de H_2O deionizada durante 10 min.	DNA de <i>E. coli</i> em ratos fêmeas/machos.	O teste oral demonstrou que a infusão das folhas não foi tóxico.	West et al., 2011.
Extrato aquoso das folhas	Dose de 2,5% do Extrato.	Produção e atividade da Fosfatase alcalina	A atividade enzimática não foi prejudicada nem diminuída, mas foi potencializada de 3-4 vezes.	Boonantan et al., 2014.

Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2019.

2.4 TOXICIDADE DE MEDICAMENTOS

- **Paracetamol**

Diversas são as formas de intoxicação existentes, sejam por agrotóxicos, plantas, animais peçonhentos, mas entretanto, as intoxicações por medicamentos ocupam o topo desta lista, sendo principalmente por crianças e adolescentes entre 0 a 15 anos. Isso ocorre devido à facilidade de acesso aos medicamentos e ao uso irracional. O paracetamol está na classe dos medicamentos anti-inflamatórios não esteroidais (AINE's) que pertencem a uma classe que está presente em casos de intoxicação, destacando-se como o mais relevante, devido suas características hepatotóxicas por ser um metabólito instável (WITTER et al., 2016; FELDKIRCHER, 2014; JUNIOR, 2011).

O paracetamol, também reconhecido como acetaminofeno, é utilizado para fins anestésicos e antitérmicos, é um derivado do N-acetil-P-aminofenol e foi desenvolvido em 1852. É um dos medicamentos mais utilizados, com ou sem prescrição médica, tendo ação analgésica, alta ação contra febre e baixa ação anti-inflamatória quando comparado com os demais AINES (MUHLBAUER, 2016; TERRES, 2015). É o principal medicamento responsável pela falência hepática e ao alto índice de mortes nos últimos anos e, mesmo assim é vendido sem prescrição médica. Quando tomado de forma correta, seguindo as indicações da bula e do médico, torna-se um medicamento seguro e eficaz, mas que precisa de maiores cuidados quanto à dose a ser administrada (ALMEIDA, 2011; MEIRA et al., 2013).

A dosagem tóxica do Paracetamol são de duas a três vezes a mais da sua dose terapêutica máxima que é de 3 g por dia. O não saber da população sobre este fato, tem aumentado significativamente o número de intoxicações por altas doses dessa droga, já que não há grande diferença entre a dose terapêutica e a dose tóxica (JUNIOR, 2011). No Brasil existe normas a serem seguidas sobre o setor toxicológico, mas não há um sistema de registro de agravos relacionados aos medicamentos, que contribua com o cumprimento de vigilância, portanto, é de extrema importância que haja uma atenção profissional especializada, que possa conscientizar o consumidor sobre os verdadeiros riscos do medicamento (GANDOLFI, ANDRADE, 2006).

- **Nimesulida**

Diariamente mais de 30 milhões de pessoas fazem uso de anti-inflamatórios não esteroidais, (AINES) sem nenhum tipo de prescrição médica dentre eles: ibuprofeno, diclofenaco, meloxicam, e nimesulida (SILVA e LOURENÇO 2014). Dentre esses

citados o mais comum e o mais utilizado entre as pessoas que se automedicam é o nimesulida. De acordo com Silva e Lourenço (2014) medicamentos como estes são facilmente adquiridos e estão à venda nas prateleiras das farmácias.

A nimesulida é um fármaco utilizado como anti-inflamatório que atua no combate a problemas de inflamações agudas ou crônicas e nos tratamentos de processos inflamatórios pós-cirúrgicos. Estudos realizados por Araújo (2012) mostrou que esse medicamento apresenta uma alta toxicidade quando usado de maneira indiscriminada, causando toxicidade hepática, problemas gastrointestinais e toxicidade renal.

2.5 USO DE PLANTAS MEDICINAIS

O uso de plantas medicinais representa um importante recurso para tratamento, cura e prevenção de doenças, muitas vezes é orientado pelo conjunto de conhecimentos acumulados, trazidos da relação direta dos indivíduos com o meio ambiente (CEOLIN et al., 2011).

O Brasil possui uma vasta diversidade genética de espécies vegetais e o conhecimento empírico passado entre gerações, colaborou para que o homem aprendesse a cultivar e usar essas plantas, e a partir desse conhecimento é possível desenvolver pesquisas científicas capazes de comprovar suas propriedades medicinais garantindo seu uso seguro (LOPES et al., 2013; CARNEIRO et al., 2014; CAVALCANTE; SILVA, 2014).

As plantas medicinais são utilizadas para tratamentos ou prevenção de algumas enfermidades, são consideradas uma das formas mais antigas e mais práticas já utilizadas na medicina popular (OLIVEIRA e MENINI NETO, 2012; ALVES e POVH, 2013), têm sido a principal base para a formulação de novos medicamentos em todo o mundo, em consequência, os produtos naturais representam mais de 50% de todos os medicamentos em uso clínico no mundo (KRISHNAIAH et al., 2011; FAKIM, 2006). Mesmo com os avanços da medicina moderna e das drogas sintéticas, o consumo de plantas medicinais ainda é frequente (SILVA et al., 2015).

Nas comunidades tradicionais a indicação do uso de plantas com potencial terapêutico é bastante difundida, mesmo não tendo o conhecimento necessário para o uso dessas plantas, ainda assim, se torna menos tóxica quando comparado com os medicamentos alopáticos (BAPTISTEL et al., 2014; MARTINS; ARLET, 2016).

O papel comprovado pelas plantas medicinais sobre a saúde, estimula as indústrias farmacêuticas a investirem em mais pesquisas em busca de novos fármacos, principalmente os de fontes naturais. Os medicamentos sintéticos ainda é o recurso terapêutico mais utilizado quando comparado às plantas medicinais, mas a procura por terapias alternativas vem tendo um acréscimo significativo (VENCATO et al., 2016).

Os medicamentos à base de produtos naturais vem apresentando uma melhor relação custo/benefício em comparação aos medicamentos sintéticos, ressaltando alguns aspectos, como, uma baixa toxicidade, menor custo de produção e obtenção de um produto mais acessível (ASSIS et al., 2015; REBOCHO, 2015). Segundo Duarte e Pasa (2016), os estudos etnobotânicos é a base para descobertas de novos medicamentos naturais, transformando o saber popular em científico.

2.6 TOXICIDADE DE PLANTAS MEDICINAIS

As plantas medicinais e os fitoterápicos são alternativas na medicina tradicional. Segundo dados do Ministério da Saúde, divulgados no Portal Brasil, houve um aumento na busca de tratamentos à base de plantas medicinais ou fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS). No ano de 2013, aproximadamente 6 mil pessoas procuravam farmácias ou atenção básica buscando este tipo de tratamento, em 2015 esse número ultrapassou as expectativas onde cerca de 16 mil pessoas faziam uso dessa medida terapêutica (BRASIL, 2016).

A toxicologia nos informa que toda substância pode ser considerada um veneno e que nem tudo que é natural é seguro, os principais problemas ocasionados ao uso de plantas medicinais é a dose, é a ideia do “que vem da natureza não faz mal”, excluindo a possibilidade de uma planta causar reação adversa ou até mesmo efeitos tóxicos (RATES, 2014). Vários fatores estão relacionados como, às condições de exposição, como via de administração (oral, respiratória, dérmica, parenteral), moduladores de absorção (presença de alimentos, por exemplo) e frequência de exposição (dose única ou doses repetidas), podem influenciar na toxicidade de uma substância em um determinado organismo, conhecer a segurança do uso de substâncias químicas e naturais, através de avaliação da toxicidade é fundamental para saúde humana e ambiental (BARROS E DAVINO, 2008).

Conhecimento terapêutico e análise farmacológica sucedidos de plantas medicinais, na forma de extratos ou frações, muitas vezes tem como base a etnobotânica e a etnofarmacologia, onde buscam entender as relações do homem com as plantas (ROCHA et al., 2015). Logo, da mesma forma que a partir do uso tradicional são pensados estudos para comprovação da eficiência terapêutica, é indispensável a realização de estudos de avaliação de segurança de uso dos extratos oriundos de plantas. Embora o consenso popular acredite que por provir da natureza estes produtos possam ser seguros, existe a possibilidade de reações adversas que pode ser provocadas por substâncias químicas sintetizadas pela planta medicinal, quanto pela presença de contaminantes utilizados nas preparações fitoterápicas (TUROLLA E NASCIMENTO, 2006).

Os efeitos adversos que pode acontecer através das plantas medicinais são intrínsecos ou extrínsecos. Quando o efeito adverso ocorre em decorrência da espécie utilizada como, superdosagem ou interações com outras substâncias, este é chamado efeito adverso intrínseco. Quando ocorre erros de identificação botânica da espécie em uso, contaminação (agrotóxicos, metais pesados), falta de padronização no preparo da amostra, são fatores que podem ocasionar os efeitos adversos extrínsecos (SOUZA, 2017).

A realização da avaliação toxicológica de uma planta, tanto na forma de extrato ou frações, tem como objetivo de determinar a capacidade dos mesmos em causar menos injúrias ao organismo, por meio da administração de forma aguda ou repetida da amostra. Essas injúrias podem ser comprovadas através de avaliação comportamental, análise de consumo de água e ração, alteração do peso corporal durante o experimento, avaliações dos órgãos internos, assim como determinações bioquímicas e hematológicas. Através desses parâmetros é possível diagnosticar a influência da amostra nos testes realizados, além de permitir o prognóstico de possíveis efeitos tóxicos em outros organismos (OECD, 2018).

Segundo Rang e colaboradores (2016), afirma que tanto as plantas medicinais como produtos naturais, são ricas fontes de insumos renováveis para desenvolvimento de fármacos e toda essa gama de possibilidades de eficácia farmacológica precisa passar por uma avaliação do seu potencial tóxico, antes de introduzir-se na medicina terapêutica de humanos e animais.

2.7 MORINDA CITRIFOLIA

Morinda citrifolia é uma planta exótica vinda da Ásia, podendo medir de 3 a 10 metros de comprimento (Figura 1) e pertence à família Rubiaceae (NELSON, 2001; NUNES, 2009). Seu gênero deriva de duas palavras em latim, *morus* (amora) e *indicus* (Índia), devido à semelhança do seu fruto com a amora verdadeira (*Morus alba*). Historicamente, o “noni” vem sendo utilizado pelos Polinésios à quase 2.000 anos (CORREIA et al., 2011). Segundo Pimentel et al. (2016), *M. citrifolia* ganha destaque por ser uma planta medicinal importante pelo seu uso popular como antineoplásico, antibacteriana, antiviral, antifúngica, antitumoral, antihelmíntica, analgésica, antiinflamatória, hipotensora e imunoestimulante.

Estudos realizados, indicam que a planta foi catalogada pelo pesquisador Linnaeus, mas a mesma foi mantida em sigilo por cerca de 200 anos. No ano de 2005, a divulgação sobre *M. citrifolia* atingiu proporções globais, passando a ser conhecida em todo o mundo (NELSON e ELEVITCH, 2006). Todas as partes da planta, são utilizadas por possuir propriedades medicinais, as sementes são utilizadas como laxante (CORREIA, 2010), as folhas são utilizadas para o tratamento de inflamações externas e para aliviar a dor. A casca é usada como adstringentes, bem como parte do tratamento da malária. A raiz possui propriedades hipotensoras. As essências florais são utilizadas para aliviar as inflamações dos olhos. O fruto com suas inúmeras especulações de ações farmacêuticas, é a parte mais valiosa da planta utilizado como antiulcerogenico, hipertensão, reumatismo, estimulante, infecções intestinais, tuberculose e tumores do tipo sarcoma (SILVA et al., 2014).

Sendo identificado cerca cem compostos fitoquímicos, variando a composição química de acordo com a parte da planta analisada, foram encontrados principalmente compostos fenólicos e alcaloides (YANG et al., 2010). Entre os componentes fenólicos, os mais importantes são as antraquinonas que constituem o grupo das quinonas naturais, que são substâncias fenólicas derivadas da dicetona e antraceno, apresentando significativamente as atividades biológicas. Os derivados das antraquinonas são solúveis em água ou em álcool (SANTOS et al., 2008). Os compostos fenólicos identificados representam o maior grupo de micronutrientes funcionais encontrados no suco de “noni” (WANGE e SU, 2001).

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 MATERIAL BOTÂNICO

Foram coletados frutos da espécie *M. citrifolia* Linn., na cidade do Limoeiro, Agreste do Estado de Pernambuco, Brasil, latitude 07° 52' 29" e Longitude 35° 27' 01", no mês de Janeiro de 2018. Uma exsicata da planta foi confeccionada e depositada no Herbário do Instituto de Agrônomo de Pernambuco (IPA), sob o número 92381 (Figura 2).

Figura 1- Exsicata depositada no Ipa.



Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2019.

3.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO

Após lavagem em água destilada, os frutos foram descascados, fatiados juntamente com as sementes e triturados, foi adicionado etanol. Após esse processo foi levado a mesa agitadora e agitado por 24 h, posteriormente 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 (Figura 2).

Figura 2- Fruto de *Morinda citrifolia* e obtenção do extrato etanólico dos frutos.



A: Coleta do material botânico; B: Preparação do extrato etanólico de *M. citrifolia* no rotaevaporador; C: Extrato bruto final de *M. citrifolia*.

Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2018.

3.3 PERFIL FITOQUÍMICO

A presença dos principais grupos de metabólitos secundários no extrato etanólico de *M. citrifolia*, foi analisada através de Cromatografia de Camada Delgada (CCD) utilizando placas de sílica gel F254 (ALUGRAM® 818131, Macherey-Nagel, Alemanha) em diferentes sistemas de solventes. A aplicação da amostra foi realizada com o auxílio de um tubo capilar. Um extremo do capilar ficou na superfície da fase estacionária (placa cromatográfica). Para o desenvolvimento da placa foram utilizados como solventes o clorofórmio: metanol (9:1); Cloroformio: metanol: água (6,5:3,0:0,5). Os cromatogramas foram obtidos através de uma técnica de ascensão, na qual a placa foi imersa até uma profundidade de aproximadamente 0,5 cm no solvente de desenvolvimento em um frasco de vidro (cuba cromatográfica). Para cada solvente foi utilizado uma cuba cromatográfica. Em seguida, as placas foram retiradas e levadas a secagem, e aplicada os agentes reveladores. Foi verificada a presença ou ausência de alcaloides, antocianinas, antraquinonas, compostos fenólicos, Cumarinas, derivados Antracênicos, Lignanas, terpenos, Naftoquinonas, saponinas, taninos e xantinas (Tabela 3).

Tabela 3- Sistemas e reveladores utilizados na prospecção fitoquímica por Cromatografia em Camada Delgada.

METABÓLITOS	SISTEMA ELUENTE	PADRÃO	REVELADOR
Alcaloides gerais	Tolueno: acetato de etila: Dietilamina (70:20:10)		Dragendorff
Antocianinas	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26)	Azul de metileno	Vanilina sulfúrica 10 min a 100°C
Antraquinonas	Éter de petróleo: acetato de etila: ácido fórmico (75:25:1)		Ácido fosfomolibdico
Compostos Fenólicos	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26)	Quercetina	Folan
Cumarinas	Tolueno: éter (1:1 saturado com ácido acético 10%)		Vanilina sulfúrica 10 min a 100°C
Derivados Antracênicos	Acetato de etila: metanol: água (100:13, 5:10)		Vanilina sulfúrica 10 min a 100°C
Lignanas	Clorofórmio: metanol: água (70:30:4)		Vanilina fosfórica 5-10 min a 100°C
Mono, sesqui e diterpenos	Tolueno: acetato de etila (93:7)	Timol	Vanilina Sulfúrica 10 min a 100°C
Naftoquinonas	Tolueno – ácido fórmico (99:1)		KOH etanólico 10%
Saponinas	Clorofórmio: ácido acético: metanol: água (64:32:12:8)	Saponina	Vanilina Sulfúrica 10 min a 100°C
Taninos Condensados	Acetato de etila: ácido acético glacial: ácido fórmico: água (100:11:11:26)	Catequina	Vanilina clorídrica 5-10 min a 100°C
Taninos Hidrolisáveis	n-Butanol: acetona: tampão fosfato pH 5,0 (40:50:10)	Ácido gálico	Cloreto férrico
Triterpenos e Esteroides	Acetato de etila: ácido acético glacial: ácido fórmico: água (100:11:11:26)	Lupeol	Lieberman-Burchard 5-10 min a 110°C

Xantinas	n-Butanol: acetona: tampão fosfato pH 5,0 (40:50:10)	Cafeína	Dragendorff

Fonte: SILVA, A. G. 2018

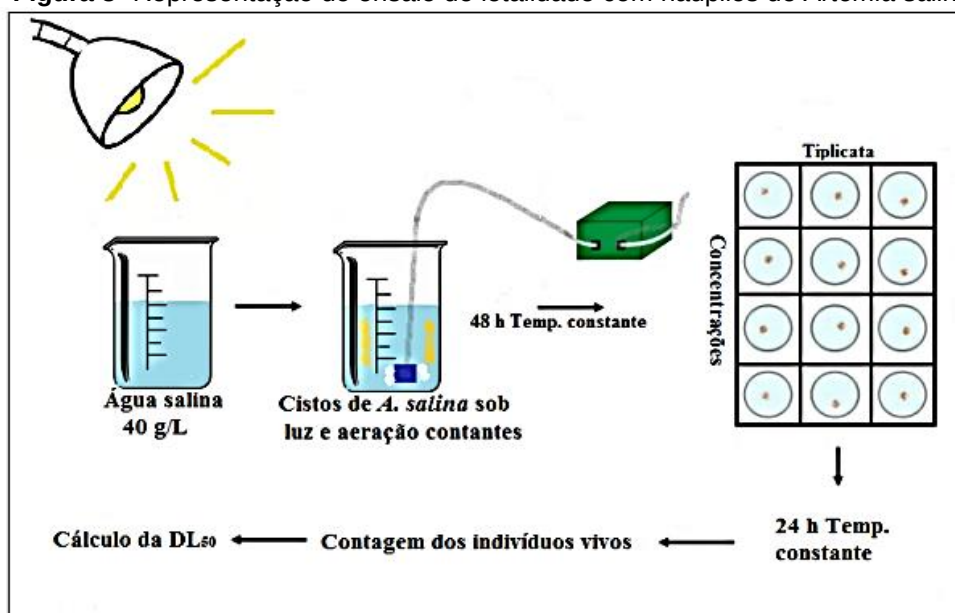
3.4 CITOTOXICIDADE FRENTE A NÁUPLIOS DE *ARTEMIA SALINA*

Artemia salina Leach é um microcrustáceo da ordem Anostraca (sem carapaça) existente em lagos de água salgada e salinas de todo o mundo, pertencente à subclasse Brachiopoda, que se caracteriza pelas quantidades de apêndices achatados na região torácica (NASCIMENTO, 2012).

O teste foi realizado através da adaptação da metodologia de Meyer et al. (1982). A execução deste teste se deu conforme a figura 2. Os cistos de *Artemia salina* foram colocados para eclodir em uma solução de água e sal marinho à uma concentração de 40 g/L. A solução salina (pH 8-9) foi filtrada, 1L foi utilizado para a eclosão dos ovos (100 mg) e o restante utilizada para preparo das diluições das amostras a serem testadas. A eclosão dos ovos se deu em temperatura ambiente e sob luz de 100 W por um período de 48h. O teste foi realizado em triplicata, contendo solução salina (pH 8-9) e o extrato etanólico de *M. citrifolia* como grupo tratado, testado nas seguintes concentrações: 1500 µg/ml; 750 µg/ml; 500 µg/ml; 250 µg/ml; 125 µg/ml, O controle negativo (0 mg mL⁻¹) foi preparado utilizando apenas água salina (pH 8-9).

Após o preparo das soluções, 10 náuplios foram coletados com uma micropipeta e transferidos para os tubos nos quais estavam presentes o extrato nas diferentes concentrações. Os tubos foram deixados em temperatura ambiente por 24 horas. Passado este período, estes foram analisados para registrar a quantidade de larvas vivas. O número de larvas vivas em relação ao aumento da concentração do extrato foram utilizados para calcular os valores da DL₅₀ (NASCIMENTO, 2012).

Figura 3- Representação do ensaio de letalidade com náuplios de *Artemia salina*.



Fonte: BORGES, 2016.

3.5 CITOTOXICIDADE EM LINHAGEM CELULAR RAW 264.7

O ensaio foi realizado no laboratório de Imunopatologia e Biologia Molecular, no Departamento de Imunologia, no Instituto Aggeu Magalhães (IAM/ FIOCRUZ/ PE), foram utilizados macrófagos murinos da linhagem RAW 264.7. O teste de MTT foi realizado em placa de 96 poços, as células foram cultivadas em estufa (37°C, 5% CO₂) e posteriormente foram tratadas com o extrato vegetal etanólico de *M. citrifolia* em diferentes concentrações (200, 100, 50, 25, 12.5 e 6.25 µg/mL.) e incubadas por 1 h, a 37°C, na presença de 5% de CO₂. Após a dissolução do precipitado com DMSO (0,2 µg/mL) para solubilizar os cristais de formazan, foi realizada a leitura das placa em espectrofotômetro de placas a 595 nm e em seguida, mensurados a CL₅₀ (concentração letal capaz de inibir 50% do crescimento celular) e seus respectivos intervalos de confiança (CC 95%) calculados a partir de regressão não-linear utilizando o programa Prisma versão 7.0 (GraphPad, Intuitive Software for Science, San Diego, CA).

3.6 TOXICIDADE DE *MORINDA CITRIFOLIA* SOBRE A *BIOMPHALARIA GLABRATA*

O teste foi realizado no Laboratório de Radiobiologia do Departamento de Biofísica–UFPE, os moluscos não infectados foram mantidos em aquários plásticos com água filtrada e/ou decolorinada, pH em torno de 7.0, a temperatura de (25 °C) e alimentados com “alface” fresca (*Lactuca sativa* L.).

Para os testes da atividade moluscicida, foi utilizado uma população de 90 caramujos e mantido em isolamento durante 5 dias para confirmar a maturidade sexual. Grupos de cinco caramujos (n=5) em triplicata foram transferidos para mini aquários de 500 mL, onde foram tratados com o extrato etanólico de *M. citrifolia* durante 48 h, nas concentrações de 500, 250 e 125 µg/mL. Após o período de exposição os moluscos foram lavados e mantidos em água filtrada sem tratamento, sendo transferidos para um aquário limpo, onde foram monitorados quanto a mortalidade (o critério de morte adotado foi a retração dos moluscos para dentro das suas conchas ou a liberação da hemolinfa) e maturação sexual durante 8 dias, sendo a dose letal e subletais registradas para posterior análise morfológica celular e tecidual (SILVA et al., 2008).

3.7 ANIMAIS

Para os experimentos da Toxicidade aguda e Hepatotoxicidade foram utilizados camundongos fêmeas *Swiss*, pesando entre 25-30g, com 60 dias de idade, procedentes do biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), aclimatados à temperatura de $22 \pm 2^\circ \text{C}$, em ciclo claro/escuro recebendo água e comida *ad libitum*. Todos os experimentos desenvolvidos estão de acordo com as leis brasileiras para uso de animais e submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal da Universidade Federal de Pernambuco sob o protocolo de nº 23076.023007/2018-59.

3.8 TOXICIDADE AGUDA E DETERMINAÇÃO DA DL₅₀

Os testes de toxicidade aguda permitem determinar a dose letal média de uma substância. Segundo a OECD (2011) a DL₅₀ corresponde a dose da substância que se estima que cause a morte de 50% dos animais da pesquisa, é calculada estatisticamente com base nos resultados obtidos nos testes e seu valor é expresso

em termos de peso da substância teste por unidade de peso do animal testado (mg/kg). A toxicidade aguda foi avaliada de acordo com a diretriz 423 da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 2011). Os camundongos *Swiss* foram separados em dois grupos, denominados Grupo Tratado (GT) e Grupo Controle (GC), cada um com três camundongos fêmeas. Para acompanhamento, os animais foram marcados. Os animais de GT receberam, por via oral (v. o.), uma dose única de extrato etanólico de *M. citrifolia* (1mL/100 g do peso), correspondendo a uma dose de 2000 mg/kg, como preconizado pelo protocolo experimental Guideline 423 da OECD (2011), para o teste de toxicidade oral aguda. Os animais de GC receberam por v.o. uma dose única de 1mL/100g de peso em solução de cloreto de sódio 0,9%. Os animais sofreram privação da alimentação por duas horas antes do experimento ser iniciado e por mais duas horas após a administração do extrato etanólico de *M. citrifolia* e da solução de cloreto de sódio 0,9%.

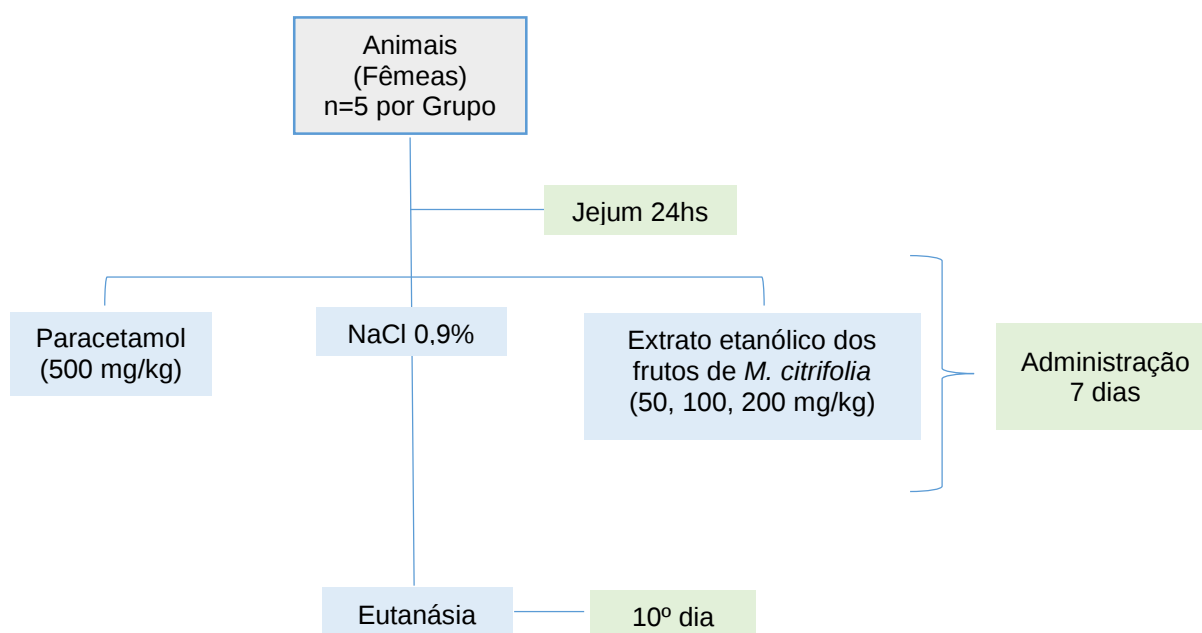
Foram realizadas observações comportamentais sistemáticas para avaliar o screening hipocrático que fornece uma estimativa geral da toxicidade da substância sobre o estado consciente e disposição geral do animal, atividade e coordenação do sistema motor, reflexos e atividades sobre o sistema nervoso central e sobre o sistema nervoso autônomo (MALONE & ROBICHAUD, 1983). Parâmetros (como: agitação, agressividade, convulsões, saltos, contorção, diurese, palidez, posição trem posterior, reflexo endireitamento, força para agarrar, ataxia, reflexo auricular, reflexo corneal, tremores, convulsões, hipnose, anestesia, lacrimação, ptose, micção, defecação, piloereção, hipotermia, respiração, cianose, hiperemia, morte) foram avaliados no tempo de 15 min, 30 min, 1 h, 2 h e 4 h após a administração e, a partir de então, diariamente, até o décimo quarto dia. O período total de observação após administração da dose única foram de 14 dias.

3.9 AVALIAÇÃO DA HEPATOTOXICIDADE

Os camundongos foram divididos em 5 grupos experimentais (Figura 3), submetidos a um jejum de 24 horas, posteriormente pré-tratados por via oral com Paracetamol de 500mg/kg como controle positivo, solução NaCl 0,9% para o controle negativo e o extrato etanólico de frutos de *M. citrifolia* nas doses de 200, 100 e 50 mg/kg. Os animais receberam esses compostos durante 7 dias consecutivos. No 8º, 9º e 10º dia os camundongos não receberam nenhum veículo. Durante os 10 dias do

experimento os animais foram pesados, com ração e água controlada. No 10º dia, os animais foram pesados, anestesiados, o sangue foi coletado por punção cardíaca para estudos dos parâmetros hematológicos e bioquímicos, em seguida foram eutanasiados e os órgãos removidos para estudos histopatológicos (JAESCHKE et al., 2013; CHEN; KONG, 2012; MARQUES et al., 2013).

Figura 4- Desenho experimental da divisão dos grupos da Hepatotoxicidade.



Fonte: ARRUDA, M.G. M. 2019.

3.10 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS

Ao final do período de observação da toxicidade aguda e da hepatotoxicidade os animais foram pesados, amostras de sangue foram coletadas através da punção cardíaca, no momento da eutanásia, em dois tubos, um com EDTA (heparinizados), para as análises hematológicas das séries vermelha (eritrograma) e branca (leucograma), o outro tubo com gel separador para as análises bioquímicas, o qual foi centrifugado por 10 minutos a 3500 rpm, para a obtenção do soro para a avaliação da uréia, creatinina, AST, TGO, TGP e ALT (SILVA, et al., 2005).

3.11 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Após o experimento da hepatotoxicidade as amostras de fígados foram retiradas e fixadas na solução de formol a 10%, por 24 horas, após esse período preservados em uma solução de álcool a 70%. Estes materiais foram submetidos à técnica de inclusão em parafina, cortados em um micrótomo com espessura de 5 μ m, os cortes obtidos serão transferidos para lâminas histológicas untadas previamente com albumina e levados para estufa para colagem e secagem. Após 24 horas, o material foi submetido a técnica de coloração utilizando Hematoxilina-Eosina (HE) para análises em microscopia óptica (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

3.12 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.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO

Conforme os dados registrados na tabela 4, a partir dos testes realizados foram encontrados, no extrato etanólico do “Noni”, os seguintes metabólitos secundários: etanólico, antraquinonas, antracênicos e terpenos, além desses os autores Oliveira e colaboradores (2013), Lima e Lima (2013), ao analisar o extrato etanólico do fruto “noni” determinou a existência de taninos, triterpenos, alcaloides e flavonoides. Faria e colaboradores (2014), ao realizar o estudo fitoquímico do fruto verde e maduro do noni, utilizando extrato hidroalcólico, identificou a presença de taninos, flavonóides, antraquinonas conjugadas, saponinas, cumarinas e alcaloides. Nayak, Sandiford, Maxwell (2009) e Mota (2012) determinaram a presença de fenóis, alcalóides, esteróis, triterpenos, saponinas e ácidos carboxílicos em extrato etanólico da folha do “noni”.

Segundo Deng, West e Jensen (2010), a variação fitoquímica de uma mesma espécie analisada poder ser justificada dependendo da parte da planta está sendo estudada, bem como, o local que o material vegetal é cultivado.

Segundo Toledo et al. (2003), o conhecimento dos compostos químicos das plantas aplicada na medicina popular envolve o estudo das interações dos organismos com os efeitos das inúmeras classes dos compostos que podem existir numa única planta, torna-se desejável o esclarecimento que contribua para abertura de novas fontes de diversas moléculas do metabolismo secundário do vegetal podendo ser utilizados como precursores de síntese. O conhecimento dos fitocomponentes é de importância no sentido de predizer o valor medicinal da espécie vegetal em questão (SAHOO et al., 2012).

A triagem fitoquímica possibilitou a identificação de classes de metabólitos secundários de interesse farmacológico no extrato do noni, a não detecção de flavonóides no extrato etanólico de *M. citrifolia* em estudo, diverge dos trabalhos de Ramesh et al., (2012), o qual detectou flavonóides em extratos etanólicos dos frutos de *Morinda citrifolia* em todos os estágio de maturação. Flavonóides também foram detectados em extratos de outras partes da planta como caule e folha (SAHOO, 2012).

Tabela 4- Triagem fitoquímica em Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Cromatografia em Camada Delgada (CCD)				
METABÓLITOS	SISTEMA ELUENTE	PADRÃO	REVELADOR	EXTRATO ETANÓLICO
Alcaloides gerais	Tolueno: acetato de etila: Dietilamina (70:20:10)		Dragendorff	++
Antocianinas	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26)	Azul de metileno	Vanilina sulfúrica 10 min a 100°C	-
Antraquinonas	Éter de petróleo: acetato de etila: ácido fórmico (75:25:1)		Ácido fosfomolibdico	+
Compostos Fenólicos	Acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26)	Quercetina	Folan	-
Cumarinas	Tolueno: éter (1:1 saturado com ácido acético 10%)		Vanilina sulfúrica 10 min a 100°C	-
Derivados Antracênicos	Acetato de etila: metanol: água (100:13,5:10)		Vanilina sulfúrica 10 min a 100°C	+
Lignanas	Clorofórmio: metanol: água (70:30:4)		Vanilina fosfórica 5-10 min a 100°C	-
Mono, sesqui e diterpenos	Tolueno: acetato de etila (93:7)	Timol	Vanilina Sulfúrica 10 min a 100°C	+
Naftoquinonas	Tolueno – ácido fórmico (99:1)		KOH etanólico 10%	-
Saponinas	Clorofórmio: ácido acético: metanol: água (64:32:12:8)	Saponina	Vanilina Sulfúrica 10 min a 100°C	-

Taninos Condensados	Acetato de etila: ácido acético glacial: ácido fórmico: água (100:11:11:26)	Catequina	Vanilina clorídrica 5-10 min a 100°C	-
Taninos Hidrolisáveis	n-Butanol: acetona: tampão fosfato pH 5,0 (40:50:10)	Ácido gálico	Cloreto férrico	-
Triterpenos e Esteroides	Acetato de etila: ácido acético glacial: ácido fórmico: água (100:11:11:26)	Lupeol	Lieberman-Burchard 5-10 min a 110°C	-
Xantinas	n-Butanol: acetona: tampão fosfato pH 5,0 (40:50:10)	Cafeína	Dragendorff	-

Legenda: (+++) forte; (++) médio; (+) fraco; (-) ausente.

Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2018.

4.2 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE FRENTE A NÁUPLIOS DE *ARTEMIA SALINA*

O efeito tóxico avaliado nesse bioensaio consiste na perda da capacidade das larvas de se movimentarem após 48h de incubação com as amostras a serem testadas, os resultados obtidos com teste de toxicidade frente a náuplios de *Artemia salina* do extrato etanólico de *M. citrifolia* está descrita na tabela 5.

Tabela 5- Contagem do teste da citotoxicidade realizado em triplicata de náuplios de *A. salina* após 24 h de exposição ao extrato etanólico de *Morinda citrifolia* e grupo controle com água salina (pH 8-9).

Concentração do extrato µg/ml	Concentração do controle µg/ml	Quantidade de Náuplios de <i>A. salina</i> expostas ao extrato	Quantidade de Náuplios de <i>A. salina</i> expostas ao controle	Quantidade de Náuplios de <i>A. salina</i> mortas no grupo do extrato	Quantidade de Náuplios de <i>A. salina</i> mortas no grupo controle
1500	1500	30	30	24	0
750	750	30	30	6	0
500	500	30	30	2	0
,250	250	30	30	0	0
125	125	30	30	0	0

Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2018.

Quanto menor o valor de CL_{50} , mais tóxico é o composto frente a um organismo-teste, e maior é sua atividade citotóxica. McLaughlin et al., (1998) relatam que esse ensaio tem boa correlação com atividade citotóxica em alguns tumores humanos sólidos.

O resultado mostra que não houve morte de nenhum náuplios de *A. salina* no teste controle, mostrando que o solvente utilizado é inofensivo a este microcrustáceo, e as mortes foram resultante unicamente da ação do extrato etanólico de *Morinda citrifolia*.

Segundo Ramos e colaboradores (2014), o teste com *A. salina* é utilizado para indicar o potencial citotóxico de extratos e substâncias quando apresenta alta letalidade e o extrato etanólico de *Morinda citrifolia* apresentou uma boa citotoxicidade.

Feita a análise através do programa de PROBIT, com os dados presentes na tabela 6, encontrou-se um valor de CL_{50} igual a $1085,6 \mu\text{g/mL}^{-1}$, com 95% de confiança e $p < 0,05$, o que, segundo os critérios estabelecidos por Meyer et al., (1982), indica que o extrato não tem toxicidade, nesse caso, o ensaio de letalidade permite a avaliação da toxicidade aguda e, portanto, é considerado como bioensaio preliminar no estudo de compostos com potencial de atividade biológica, sendo aceito pela comunidade científica (ARPORSANSUNWAN; PUNJANON, 2006). A classificação do extrato seguiu os critérios estabelecidos por Meyer et al. (1982).

4.3 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE EM LINHAGEM CELULAR RAW 264.7

'''

Com base nos resultados obtidos a partir das concentrações do extrato etanólico de *M. citrifolia* (200, 100, 50, 25, 12.5 e 6.25 $\mu\text{g/mL}$) utilizando o método MTT, apresentou uma $CL_{50} > 200$, ou seja, não apresentou citotoxicidade nas concentrações testadas (Tabela 6).

Testes de citotoxicidade realizado por Arpornsuwan e Punjanin (2006), em diferentes culturas de células (BHK e Vero) e linhagens cancerígenas (Hep 2, MCF 7 e LAN 5) tratadas com extrato etanólico dos frutos de *M. citrifolia* apresentou 100% de viabilidade nas células Vero, sendo semelhante aos resultados encontrados nas células BHK e Hep 2, que se mantiveram 94% e 87% de viabilidade, a partir de uma concentração de 0,1 mg/mL, sendo tóxica em células LAN 5 e MCF 7.

Estudos realizados por Saraphanchotiwitthaya e Sripalakit (2015), utilizando o extrato aquoso das folhas de *M. citrifolia*, demonstrou eficiência terapêutica em processos inflamatórios testados em Células de macrófagos RAW 264.7.

Tabela 6- Teste citotoxicidade frente a Linhagem Celular RAW 264.7 exposto ao extrato etanólico de *Morinda citrifolia*.

Extrato etanólico de <i>M. citrifolia</i> (µg/mL)	CC ₅₀ (µg/mL)
200	>200
100	117,4
50	115,5
25	110,9
12.5	108,2
6.25	104

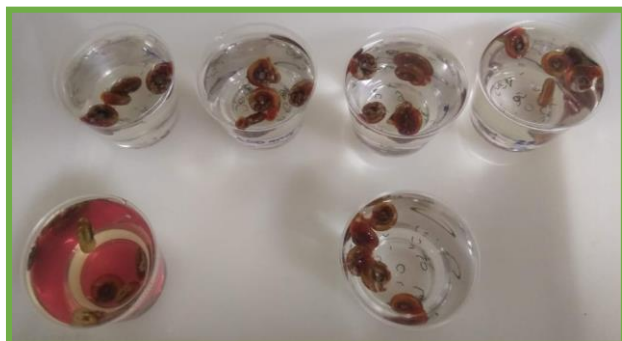
Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2019.

4.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE *MORINDA CITRIFOLIA* SOBRE A *BIOMPHALARIA GLABRATA*

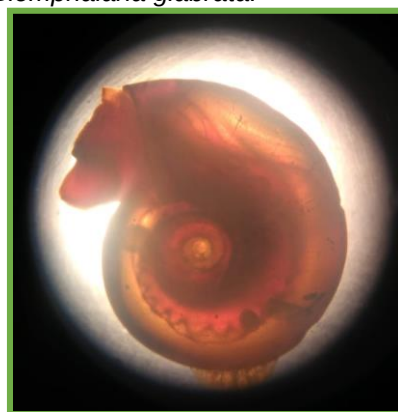
No experimento com caramujos adultos foi utilizado como controle, niclosamida a 3 mg/mL⁻¹, houve mortalidade em 24h de todos os caramujos adultos avaliados neste grupo. A niclosamida é o único moluscicida sintético empregado, que tem como principal desvantagem sua ação letal (RUG; RUPPEL, 2000; CORREIA et al., 2006).

Já, nos grupos com o extrato etanólico de *M. citrifolia*, todos os caramujos adultos mantiveram 100% de viabilidade até o fim do experimento, mostrando que o extrato não é tóxico (Figura 4). Segundo Rocha (2009), em ensaios realizados da família Rubiaceae mostrou que o extrato bruto e as frações das folhas e do caule de *Tocoyena selloana*, na concentração de 100 ppm, não causou a mortalidade dos caramujos, sendo portanto, considerados inativos frente ao caramujo *Biomphalaria glabrata*, comprovando que a família não tem efeito tóxico.

Figura 5- Ensaio de Toxicidade de *Morinda citrifolia* sobre a *Biomphalaria glabrata*.



Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2019.



4.5 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DETERMINAÇÃO DA DL₅₀

Após os experimentos os resultados apontam que não houve toxicidade, apesar dos animais terem apresentados comportamentos importantes detectadas no screening hipocrático (Tabela 7), não houve mortes nos 14 dias de observações na dose de 2000 mg/kg, nem alteração quanto ao peso corporal, com isso a DL₅₀ foi considerada como sendo DL₅₀ > 5000 mg/Kg, logo, o extrato foi considerado de baixa toxicidade de acordo com o critério da GHS (Globally Harmonized Classification System) o extrato pertence a classe 5 (composto com toxicidade aguda baixa ou não tóxico).

Na administração na dose de 2000 mg/kg foi observado um período de reações como ereção da cauda, movimentos estereotipado, movimentos da vibrissas, postura de ataque, refluxo, aumento da frequência cardíaca e respiratória, discordando do ensaio realizado por Nakanishi et al., (1965), no qual tais reações foram ausentes. Os sinais depressores quando surgem sugerem fadiga neuronal ocorre normalmente após uma fase excitatória que pode ser decorrente de um esgotamento parcial dos neurotransmissores, outra hipótese pode ser a biotransformação dos compostos do extrato ou ainda uma biotransformação inativando os compostos excitatórios (SILVA; RODRIGUES, 2014). Testes realizado por West et al., (2011) não verificou sintomas de toxicidade em ensaio subagudo realizado com o extrato das sementes e de frutos em ratos.

Tabela 7- Principais reações comportamentais relacionadas a dose de 2000 mg/kg administrada na avaliação da toxicidade aguda do extrato etanólico de *Morinda citrifolia*.

Ações / Parâmetros	GC	GT
ESTIMULANTES DO SNC		
Agitação	++	++
Agressividade	++	++
Aumento da frequência respiratória	++	++
Convulsões	-	-
Ereção de cauda	++	+++
Expansão do pavilhão auricular	+	++
Exoftalmia	-	-
Marcha em monobloco	+	++
Movimento circular	+	++
Movimento esteriotipado	+++	+++
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	+	++
Hipertrofia testicular	-	-
Óbitos	0	0

GC– Grupo Controle; GT: Grupo Tratado (EEMC 2000 mg/kg/vo); (-) Ausência; (+) Presença leve; (++) Presença moderada; (+++) Presença Acentuada. *Adaptada de Malone, (1977).

Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2018.

Apesar dos sinais estimulantes estarem presentes é importante ressaltar que na primeira hora de observação não houve evacuação, logo pode-se dizer que o composto não gerou aumento da motilidade intestinal. Os animais tratados não apresentaram alterações significativas no consumo de água e alimentos como mostrado na tabela 8.

O resultado corrobora também com o ensaio realizado em ratos com extrato etanólico dos frutos proveniente do Taiti na dose 5000mg/Kg, onde os animais não apresentaram sinais de toxicidade e nem mudanças comportamentais, como também não foram a óbitos (PRODUCT SAFETY LABS, 2000).

No grupo tratado com o extrato na dose de 2000 mg/kg apresentou uma variação de peso de $1,93 \pm 0,54$, o consumo da água e da ração não apresentaram alteração estatística entre os dois grupos. Segundo West et al (2011), testes subagudo com o extrato da mesma espécie vegetal não foi observado diminuição de peso nos animais.

Tabela 8- Ganho de peso e consumo de água e ração dos animais tratados na dose de 2000 mg/kg do extrato etanólico de *Morinda citrifolia*, no ensaio de toxicidade aguda.

Grupos	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Diferença de peso (g)	Consumo de água (mL)	Consumo de ração (g)
Gc	$36,87 \pm 1,05$	$39,03 \pm 0,45$	$2,17 \pm 0,45$	$30,75 \pm 0,15$	$12,49 \pm 0,25$
GT	$35,07 \pm 2,78$	$37,0 \pm 3,06$	$1,93 \pm 0,54$	$29,8 \pm 0,30$	$12,04 \pm 0,11$
p-valor ¹			0,04	0,139	0,113

Gc: Controle; GT: Tratado com 2000 mg/kg

Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2018.

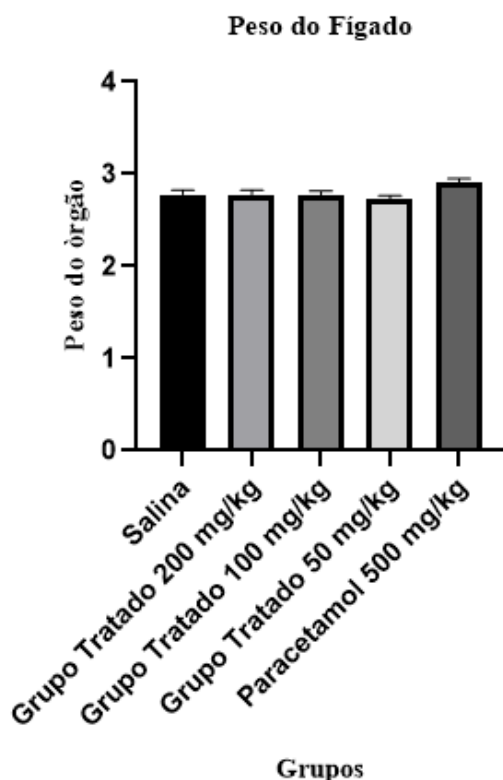
4.6 AVALIAÇÃO DA HEPATOTOXICIDADE

Os grupos do extrato etanólico de *M. citrifolia* nas doses de 200, 100 e 50 mg/kg, foi comparado com o grupo salina e do Paracetamol de 500 mg/kg, com o intuito de investigar se o extrato irá causar toxicidade no fígado, a qual ficou comprovada que não houve nenhuma patologia.

Os resultados dos ensaios realizados nos grupos com o extrato etanólico de *M. citrifolia* não apresentaram diferença significativa, quando comparados aos resultados do grupo com salina demonstrando que o extrato não exerceu nenhum efeito direto sobre o fígado. Os grupos do extrato etanólico foi comparado com o grupo do

Paracetamol de 500 mg/kg, o qual comprovou que o extrato não causou danos hepáticos, diferentemente do grupo do Paracetamol, onde foi possível observar inflamações hepáticas. Todos os animais sobreviveram até o 10º dia, não foi observado modificações quanto ao peso e cor do fígado do grupo do extrato etanólico de *M. citrifolia* (Gráfico 1).

Gráfico 1- Peso do Fígado dos grupos após a eutanásia.



Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2019.

Sabe-se que as sobredoses de paracetamol são as causas mais comuns de insuficiência aguda hepática e a principal causa de lesão hepática crônica o que muitas vezes exige transplante hepático, o tratamento e o diagnóstico precoce são indispensáveis para solucionar o problema. O tratamento inicial segue os mesmos parâmetros utilizados pelas overdoses comuns, lavagens gástrica, que diminui a absorção do paracetamol, devendo ser realizada 2 h após a ingestão (BLOOM, 2006; SEBEN et al., 2010; BRUTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

O uso indiscriminado de plantas medicinais para o tratamento de doenças pode ser favorável à saúde, desde que o usuário tenha conhecimento de sua finalidade, riscos e benefícios, visto que o fato de tratar-se de um composto de origem natural não elimina a potencialidade tóxica do mesmo (LOPES; MATHEUS, 2012). Apesar da ausência de estudos mais aprofundados visando esclarecer questões referentes à

hepatotoxicidade causada pelo consumo de “Noni”, alguns casos clínicos de hepatite aguda, relatados em hospitais, correlacionam-se com o consumo recorrente de algum tipo de preparo indiscriminado da planta (HEISLER et al., 2012; FERREIRA; SILVEIRA, 2004).

Estudos realizados por Milloning, Stadlmann e Vogel (2005), apontam que os efeitos hepatotóxicos podem estar associados ao consumo da planta, porém, os problemas hepáticos podem ser ocasionados por algum sinergismo entre a presença de doenças e o consumo de drogas alopáticas.

West, Jensen e Westendorf (2006), também relatam que o extrato etanólico do fruto da mesma é incapaz de causar hepatotoxicidade, demonstrando que em suas raízes contém uma mínima quantidade de antraquinonas, não causando também toxicidade hepática.

4.7 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS

Foi realizada a contagem de plaquetas e de hemácias, a determinação do hematócrito, da hemoglobina, do VCM-volume corpuscular médio, da HCM-hemoglobina corpuscular média, e da CHCM-concentração da hemoglobina corpuscular média, TGO, TGP (Tabela 9). No leucograma contaram-se os leucócitos e fez-se a contagem da diferenciação celular. Essas determinações foram realizadas no analisador celular COBAS ARGOS 50 ROCHE.

Tabela 9- Parâmetro Hematológico e Bioquímico da Toxicidade Aguda

	Grupo Controle (salina)	Grupo do Extrato (2000 mg/kg)	p-valor ¹
Uréia	61,95 ± 0,99	63,60 ± 4,00	0,060
Creatinina	1,40 ± 0,01	1,46 ± 0,38	0,149
Hemácias	6,07 ± 0,06	6,63 ± 0,22	0,632
VCM	57,67 ± 0,94	52,30 ± 0,70	0,025
HCM	17,51 ± 0,74	14,97 ± 0,30	0,013
CHCM	28,63 ± 0,93	30,17 ± 1,06	0,655
Leucócitos	3,87 ± 0,20	12,46 ± 1,30	0,076

TGO	18,00 ± 0,26	18,87 ± 0,35	0,813
TGP	13,60 ± 1,00	13,59 ± 0,35	0,290

Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2019.

Em relação ao eritrograma dos testes de toxicidade aguda, foi possível observar nos GC e GT os animais não apresentaram diferenças significativas nos resultados hematológicos e bioquímicos principalmente no TGO e TGP.

Os resultados apresentados corroboram com os encontrados de testes realizados por Mancebo e colaboradores (2002) com o extrato etanólico dos frutos de *M. citrifolia*, nos quais os resultados não mostraram significância entre as alterações nos valores de TGO e TGP.

Tabela 10- Parâmetro Hematológico e Bioquímico da Hepatotoxicidade.

	Paracetamol	Salina	Extrato (200 mg/kg)	Extrato (100 mg/kg)	Extrato (50 mg/kg)	p- valor 1
Uréia	57,33 ± 3,16	61,96 ± 0,98	62,67 ± 4,10	59,50 ± 0,50	59,50 ± 0,28	0,062
Creatinina	1,30 ± 0,35	1,41 ± 0,01	1,47 ± 0,38	1,50 ± 0,50	1,30 ± 0,11	0,152
Hemácias	5,40 ± 0,22	6,07 ± 0,06	6,63 ± 0,22	6,29 ± 1,13	6,85 ± 0,68	0,634
VCM	57,95 ± 2,42	57,67± 0,94	52,30 ± 0,70	53,83 ± 0,78	53,90±0,46	0,027
HCM	17,59 ± 0,28	17,51 ± 0,74	14,97 ± 0,30	15,63 ± 0,22	15,43 ± 0,14	0,012
CHCM	30,28 ± 1,47	30,17 ± 1,06	28,63 ± 0,93	29,07 ± 0,47	28,67 ± 0,07	0,656
Leucócitos	4,77 ± 0,23	3,87 ± 0,20	12,46 ± 1,30	6,46 ± 2,70	9,90 ± 3,37	0,077
TGO	21,12 ±5,90	18,87 ± 0,35	18,00 ± 0,26	17,63 ± 0,09	17,40 ± 1,30	0,815
TGP	15,55 ± 0,75	13,60 ± 1,00	13,05 ± 0,35	13,20 ± 0,40	13,45 ± 0,45	0,291

Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2019.

No eritrograma do testes da hepatotoxicidade, foi possível observar nos GC e GT os animais não apresentaram alterações nas análises hematológicas e bioquímicas principalmente no TGO e TGP.

Um trabalho apresentado por Wang e colaboradores (2008) após uma análise de hepatotoxicidade no qual o extrato etanólico de *M. citrifolia* não foi tóxico, posteriormente os autores buscaram avaliar o efeito hepatoprotetor do consumo de “Noni” em modelo murino, a partir da injúria provocada por tetracloreto de carbono (CCL4), no qual foi possível comprovar que o extrato etanólico do “noni” não causa hepatotoxicidade nem danos ao fígado. Com essa experimentação o autor citado demonstrou que o “Noni” foi capaz de reduzir os valores de TGO e TGP que estavam aumentados devido a injúria hepática provocada.

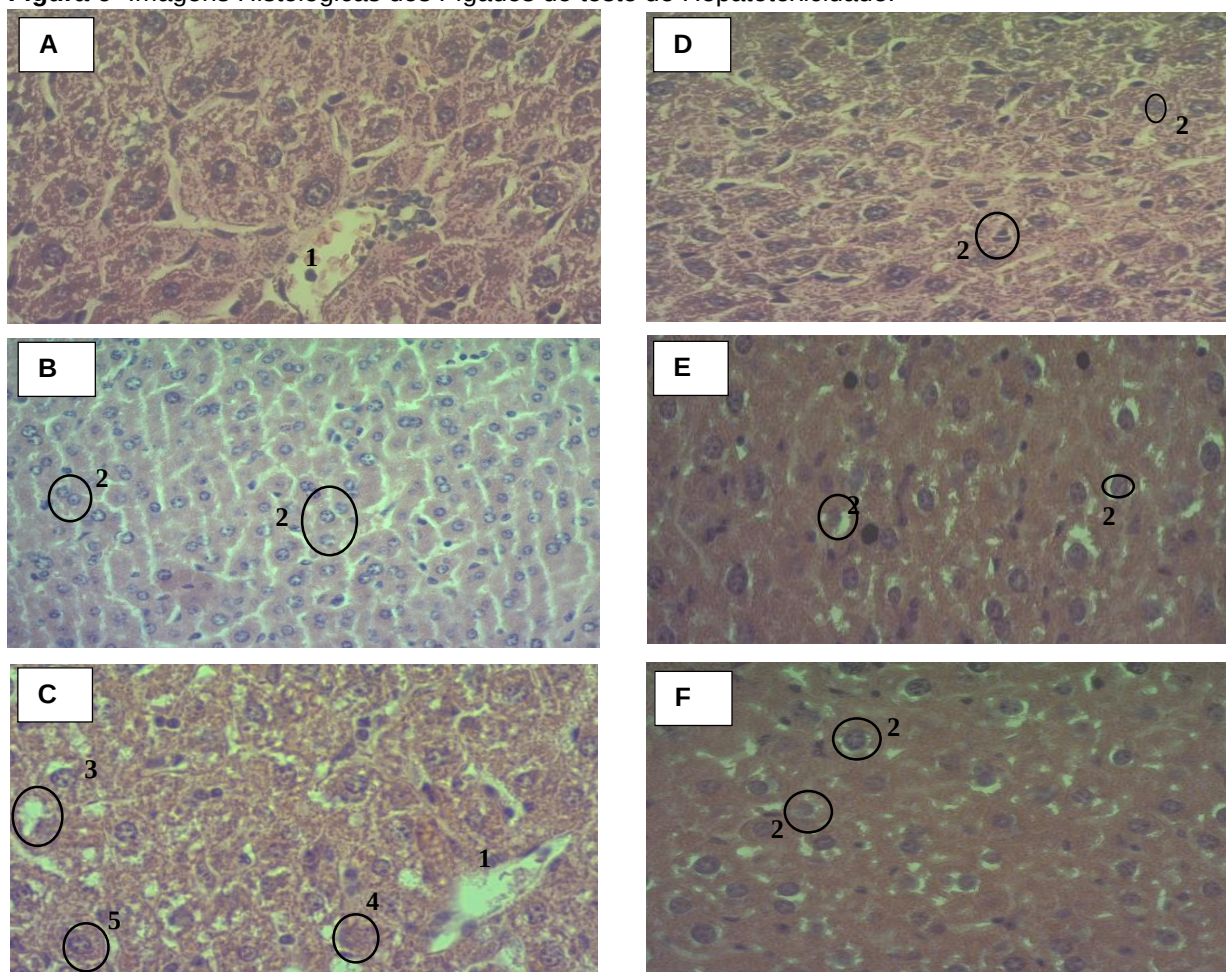
4.8 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Na análise macroscópica, os órgãos permaneceram inalterados na cor, aspecto, tamanho, peso e textura tanto na toxicidade aguda como na hepatotoxicidade. Nas avaliações microscópicas dos fígados da hepatotoxicidade, não houve modificação no grupo controle com salina, não apresentando inflamação quando comparado com o grupo do Paracetamol de 500 mg/kg, pois apresentou desarranjos do cordão de hepatócitos e hipocromia nuclear. Já nas análises realizadas nos grupos tratados nas doses de 200; 100 e 50 mg/kg com *M. citrifolia* não houve modificações no espaço porta, cordões de hepatócitos e sinuzóides, comprovando que o extrato utilizado não causou danos hepáticos (Figura 5). Estudos realizados por Monma e colaboradores (2015), as análises realizadas do tecido hepático dos animais, mostrou que não houve diferença significativa tanto no GC, quanto no GT com o “noni”.

Estudos realizados utilizando modelos animais foram testados por Chang, Lin e colaboradores (2013), com a finalidade de comprovar a segurança do consumo de *M. citrifolia*. Nesses modelos foram utilizados compostos que promoviam problemas no tecido hepático como tetracloreto de carbono (CCL4) utilizado em dose única e doses múltiplas, consumo excessivo de álcool e dieta com alto índice de gordura. Nesses trabalhos, o consumo do “noni” apresentou efeito hepatoprotetor, com redução dos valores enzimáticos hepáticos, perfis lipídicos e melhora das respostas inflamatórias, não mostrando nenhum dano tecidual quando visto na microscopia (LIN et al., 2013).

Trabalhos realizados por West, Su e Jesen (2009) utilizaram modelo animal com roedores e uma linhagem de células hepáticas *in vitro*, o qual foi comprovado que o “noni” não exerceu atividade tóxica nesses testes, apontando que poderia ser consumido de forma segura e que casos de hepatotoxicidade não poderiam ser atribuídos ao consumo de *M. citrifolia*.

Figura 6- Imagens Histológicas dos Fígados do teste de Hepatotoxicidade.



A-Grupo Controle da Salina; B- Grupo Controle Silimarina de 25 mg/kg; C- Grupo Controle do Paracetamol 500mg/kg; D- Grupo Tratado 200 mg/kg; E- Grupo Tratado 100 mg/kg; F- Grupo Tratado 50 mg/kg; 1- Veia centro-lobular; 2- Infiltração leucocitária; 3- Dilatação dos sinusóides; 4- Desarranjo dos cordões de hepatócitos; 5- Hipocronia nuclear.

Fonte: ARRUDA, M. G. M. 2019.

5 CONCLUSÃO

O extrato etanólico de *M. citrifolia* não exibiu citotoxicidade frente a Linhagem Celular RAW 264.7, tendo uma $CC_{50} > 200 \mu\text{g/ mL}$, também, ficou confirmado no teste de citotoxicidade frente a *Artemia salina*, tendo como $CL_{50} > 1085,6 \mu\text{g/ mL}$.

Não houve toxicidade frente ao caramujo *Biomphalaria glabrata* onde não houve morte dos mesmos, a toxicidade aguda seguiu a OECD 2011, onde o extrato etanólico não apresentou ser tóxico na maior dose (2000 mg/kg), como também, não houve toxicidade no modelo testado para a hepatotoxicidade, não alterando os parâmetros hematológicos e bioquímicos principalmente no TGO e TGP.

Dessa forma, o extrato etanólico dos frutos de *M. citrifolia* não foi tóxico em nenhum modelo testado, podendo ser relacionado à concentração utilizada em cada experimento, considerando como seguro o uso do mesmo.

REFERENCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Informe Técnico nº. 25, de 29 de maio de 2007, atualizado em 18 de junho de 2008. **Esclarecimentos sobre as avaliações de segurança realizadas de produtos contendo *Morinda Citrifolia*, também conhecida como Noni**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/25_290507.htm. Acesso em: 19 de set. de 2019.

ALLAMARI, C. V. Fígado: como avaliar esse órgão tão importante. **Artigo técnico**, 2011.

ALMEIDA, V. **Educação em Hannah Arendt**. 1ªed. São Paulo: Cortez, 2011.

ÁLVAREZ L, VÁZQUEZ AIF, RODRÍGUEZ CFJM, DELGADO NG, SUÁREZ HRC, RODRÍGUEZ ZM.; SUARÉZ, H. R. C.; RODRÍGUEZ, M. Z.; HORMAZA, I. M.; AMADORL, C. V. Preclinical validation of the topical anti-inflammatory effect of five medicinal plants. **Rev. Cubana de Plantas Medicinales**. v. 1, p. 40-50, 2014.

ALVES, G. S. P.; POVH, J. A. Estudo etnobotânico de plantas medicinais na comunidade de Santa Rita, Ituiutaba – MG. **Rev. Biotemas**. v. 26, p. 34-41, 2013.

ARAUJO, M. A. R. Hepatotoxicidade associada à nimesulida. **Rev. Bras Farm**. v. 3, p. 283-289, 2012.

ARPORNSUNWAN, T.; PUNJANON, T. Tumor Cell – Selective antiproliferative effect of the extract from *Morinda citrifolia* fruits. **Phytotherapy research**. v. 20, p. 515 – 517, 2006.

ASSIS, M. A.; MORELLI, A.; FRANCISCO, V.; PIMENTA, F. P. Grupos de pesquisa e sua produção científica sobre plantas medicinais: um estudo exploratório no Estado do Rio de Janeiro. **Rev. Fitos**. v.9, p. 1-72, 2015.

BAPTISTEL, A. C.; COUTINHO, J. M. C. P.; LINS NETO, E. M. F.; MONTEIRO, J. M. Plantas medicinais utilizadas na Comunidade Santo Antônio, Currais, Sul do Piauí: um enfoque etnobotânico. **Rev. Bras. Plantas Med**. v. 16, p. 2014.

BARANI, K.; MANIPAL, S.; PRABU, D.; AHMED, A.; ADUSUMILLI, P.; JEEVIKA, C. Anti-fungal activity of *Morinda citrifolia* (noni) extracts against *Candida albicans*: An in vitro study. **Indian Journal of Dental Research**. v. 2, p. 188-190, 2014.

BARBOSA, A. F.; COSTA, I. C. M.; ZUCOLOTTI, S. M.; GIORDANI, R. B. *Morinda citrifolia*: Facts and Risks About the use of noni. **Rev. Fitos.** v. 11, p. 1 – 12, 2017.

BARBOSA, M.R.; ZAPPI, D.; TAYLOR, C.; CABRAL, E.; JARDIM, J.G.; PEREIRA, M.S.; CALIÓ, M.F.; PESSOA, M.C.R.; SALAS, R.; SOUZA, E.B.; DI MAIO, F.R.; MACIAS, L.; ANUNCIAÇÃO, E.A. DA; GERMANO FILHO, P.; OLIVEIRA, J.A.; BRUNIERA, C.P.; M. GOMES; DE TONI, K.; FIRENS, M. 2015. *Rubiaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB210>> Acesso em: 17set. 2018.

BARG, D. G. **Plantas tóxicas**. São Paulo: Faculdade de Ciências da Saúde de São Paulo, Curso de Fitoterapia; 2004.

BARROS, S. B. M.; DAVINO, S. C. Avaliação da Toxicidade. **Fundamentos de Toxicologia**. 3ªed. São Paulo: Atheneu Editora. p. 59–70, 2008.

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. v. 1, p. 330-331, 2006.

BOONANANTANASARN, K.; JANEBOODIN, K.; SUPPAKPATANA, P.; ARAYAPISIT, T.; RODSUTTHI, J. A.; CHUNHABUNDIT, P.; BOONANUNTANASARN, S.; SRIPAIROITHIKOON, W. *Morinda citrifolia* leaves enhance osteogenic differentiation and mineralization of human periodontal ligament cells. **Dental Materials Journal**. v. 5, p. 157-165, 2014.

BOONANANTANASARN, K.; JANEBOODIN, K.; SUPPAKPATANA, P.; ARAYAPISIT, T.; RODSUTTHI, J. A.; CHUNHABUNDIT, P. *Morinda citrifolia* leaves enhance osteogenic differentiation and mineralization of human periodontal ligament cells. **Dental Materials Journal**. v. 5, p. 157–165, 2014.

BORGES, P. M. O. **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TÓXICA E DO PERFIL FITOQUÍMICO DE COSTUS SPICATUS E JATROPHA MULTIFIDA**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso - Licenciatura em Química - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – Goiás, 2016.

BRASIL. Guia para a Condução de Estudos não Clínicos de Toxicologia e Segurança Farmacológica Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos. Gerência de Avaliação de Segurança e Eficácia - GESEF. Brasília: **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**; 2ª ed. p.48, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, p. 60, 2013.

BREMER, B. e ERIKSSON, T. Time Tree of Rubiaceae: Phylogeny and Dating the Family, Subfamilies, and Tribes. **International Journal of Plant Sciences**. v. 6, p. 766–793, 2009.

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, p. 52-54, 2012.

BRITO, V.F.S; DANTAS, I.C.; DANTAS, D.S. **Plantas medicinais utilizadas pela comissão de mulheres na zona rural no município de Lagoa Seca-PB**. v.3, p. 406-425, 2009.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman e Gilman**. 12° ed, São Paulo: AMGH; 2012.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. Histologia básica. 11. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**. p. 524, 2008.

CALIXTO, J. B.; Efficacy, safety, quality, control, marketing and regulatory guidelines for medicines (phytotherapeutic agents). **Braz Journal Med Biol Res**. v. 33, p. 179-189, 2000.

CANDIDA T, FRANÇA JP, CHAVES AL, LOPES FA, GAIBA S, SACRAMENTO CK, FERREIRA, L. M.; FRANÇA, L. P. Evaluation of antitumoral and antimicrobial activity of *Morinda citrifolia* L. grown in Southeast Brazil. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 2, p. 10-14, 2014.

CAPASSO, R. et al. Phytotherapy and quality of herbal medicines. **Fitoterapia**, v. 71, p. 58- 65, 2000.

CARNEIRO, F. M.; SILVA, M. J. P.; BORGES, L. L.; ALBERNAZ, L. C.; COSTA, J. D. P. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Rev. Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais –UEG/Câmpus de Iporá**. v.3, p.44-75, 2014.

CARVALHO, W. L.; MAIOLI, M. A.; MENDES, L. C. N. Mecanismos da intoxicação do fígado de rato causada pelo gossipol, **Pesq. Vet. Bras**. v. 1 p. 340, 2013.

CAVALCANTE, A. C. P.; SILVA, A. G. Levantamento etnobotânica e utilização de plantas medicinais na comunidade Moura, Bananeiras-PB. **REMOA**. v. 14, p. 3225 – 3230, 2014.

CEOLIN, T.; HECK, M. R.; BARBIERI, R. L.; SWARTZ, E.; MUNIZ, R. M.; PILON, C. N. Medicinal Plants: knowledge transmission in families of ecological farmers in souther Rio Grande do Sul. **Rev. Esc Enferm**. v. 1, p. 47-54, 2011.

CHAGAS, A.G.M.; HOLANDA, C.S.; TARGINO, M.F.B.; LEAL, L.H.S.; SANTOS, C.R.B. Aspectos clínicos da cirrose hepática causada por medicamentos. **Rev. Mostra científica Bio Medicina**, v.3,p. 13-17, 2018.

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.

CHANG, Y. Y., LIN, Y. L.; YANG, D. J.; LIU, C. W.; HSU, C. L.; TZANG, B. S.; CHEN, Y. C. Hepatoprotection of Noni Juice Against Chronic Alcohol Consumption: Lipid Homeostases, Antioxidation, Alcohol Clearance and Anti-Inflammation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.64, p. 11016-11024, 2013.

CHEN, C.; KONG, A. N. Dietary cancer-chemopreventive compounds: from signaling and gene expression to pharmacological effects. **Trends in Pharmacological Science**. Amsterdam, v. 26, p. 318-326, 2012.

CORMACK, D. H. Histologia. 9. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**. p. 570, 1994.

CORNEJO, X.; MACIEL, J. R.; MARQUES, J.S.; NETO, R.L.S. & COSTA-E-SILVA, M.B. Capparaceae. In: **Lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2013.

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. C.; SOUZA, P. H. M.; MAIA, G. A. Caracterização Química e Físico-Química da Polpa do Noni (*Morinda citrifolia*) Cultivado no Estado do Ceará. **Rev. Alimentos e Nutrição**. v. 22 p. 609-615, 2011.

CORREIA, A. A. S.; GONZAGA, M. L. C.; AQUINO, A. C.; SOUZA, P. H. M.; FIGUEIREDO, R. W.; MAIA, G. A. Caracterização química e físico-química da polpa do noni (*Morinda citrifolia*) cultivado no estado do Ceará. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, p. 609- 615, 2011.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; PESSOA, C. Casearin X exhibits cytotoxic effects in leukemia cells triggered by apoptosis. **Chem Biol Interact**. v. 188, p. 497-504, 2010.

DAVIS, A.; GOVAERTS, R.; BRIDSON, D.M.; RUHSAM, M.; MOAT, J. e BRUMMITT, N. A. A Global assessment of Distribution, Diversity, Endemism and Taxonomic effort in Rubiaceae. **Annals of Missouri Botanical Garden**. v. 1, p. 68-78, 2009.

DELPRETE, P. G. e JARDIM, J. G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. **Rodriguésia**. v. 63, p. 101-128, 2012.

DENG, S.; WEST, B. J.; JENSEN, C. J. A quantitative comparison of phytochemical components in global noni fruits and their commercial products. In: **Elsevier**. v. 122, p. 267–270, 2010.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: verdades e mentiras: o que os usuários e os profissionais de saúde precisam saber**. São Paulo: Editora UNESP; 2007.

DIAS, R. K.; MENDONÇA, A. C. A. M.; SILVA, M. A. P. Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological aspects Rubiaceae species in Brazil. **Rev. Cubana de Plantas Mediciniais**. v. 1, p. 140-156, 2013.

DUARTE, G. S. D.; PASA, M. C. Agrobiodiversidade e a etnobotânica na comunidade São Benedito, Poconé, Mato Grosso, Brasil. **INTERAÇÕES**. v. 17, p. 247-256, 2016.

FAKIM, A. G. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, p. 1–93, 2006.

FARIA, W. C. S.; BETT, S. C.; SANTOS, C. G. B. dos; BRASIL, A. S.; GAUTO, R. F.; SELHORST, A. M.; BESERRA, S.; OLIVEIRA, A. P. de. Caracterização físico-química e análise fitoquímica preliminar do fruto noni (*Morinda citrifolia* L.) produzido na cidade de cuiabá–mt. **Rev. Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v. 8, p. 11 – 14, 2014.

FELDKIRCHER, K. C. G. Intoxicação medicamentosa em animais peçonhentos. **Rev. Científica de Medicina Veterinária**. v. 1, p. 14-18, 2014.

FERRADAS, M. C.; ABANTO, A. S. A.; REYES, S. G. R. Efecto Analgésico Postexodoncia Simple Del Extrato de *Morinda citrifolia* (Noni): Ensayo Clínico Aleatorizado de Grupos em Paralelo. **International Journal of Odontostomatology**. v. 3, p. 433-438, 2014.

FERREIRA, C. T.; SILVEIRA, T. R. Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção. **Rev. Brasileira de Epidemiologia**. v. 7, p. 473-487, 2004.

GANDOLFI, E.; ANDRADE, M. Eventos toxicológicos relacionados a medicamentos no estado de São Paulo. **Rev. da Saúde Pública**. v. 40, p. 1056-1064, 2006.

GHS 2005. **A Guide to The Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (GHS)**. Disponível em:
<<http://www.osha.gov/dsg/hazcom/ghsguideoct05.pdf>> Acesso em: 19 de set. 2018.

GONÇALVES, F. M.; RIBEIRO, E. M.; MONTAGNER, P.; LOPES, M. S.; ANCIUTI, M. A.; GENTILINI, F. P.; PINO, F. A, B, D.; CORRÊA, M. N. Níveis Séricos de Enzimas Hepáticas em Poedeiras Comerciais no Pré-Pico e Pico de Produção de Ovos. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 38, p. 311-314, 2010.

GOUN, E.; CUNNINGHAM, G.; CHU, D.; NGUYEN, C.; MILES, D. Antibacterial and antifungal activity of Indonesian ethnomedical plants. **Fitoterapia**. v. 6, p. 592-596, 2003.

GOVAERTS, R.; RUHSAM, M.; ANDERSON, L.; ROBBRECHT, E.; BRIDSON, D.; DAVIS, A.;

SCHANZER, I. & SONKÉ, B. World checklist of Rubiaceae. **The board of trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew**. v. 2, p. 364-370, 2016.

HEISLER, E. V.; BADKE, M. R.; ANDRADE, A.; RODRIGUES, M. G. S. Saber popular sobre a utilização da planta *Anredera cordifolia* (folha gorda). **Texto Contexto Florianópolis**. v.21, p. 937-944, 2012.

JAESCHKE, D. P.; TESSARO, I. C.; MARCZAK, L. D. F. Degradation kinetics of anthocyanins in acerola pulp: Comparison between ohmic and conventional heat treatment. **Food Chemistry**. v.136, p.853-857, 2013.

JARDIM, J.G. E DELPRETE, P.G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae. **Rodriguésia**. v. 1, p.101-128, 2012.

JESUS, G. C.; SOUSA, H. H. B. A.; BARCELOS, R. S. S. Principais Patologias e Biomarcadores das Alterações Hepáticas. **Estudos**. v.41, p. 525-537, 2014.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A. e STEVENS, P. F. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3 ed. Artmed, Porto Alegre. 2009.

JÚNIOR, E. V. M.; Situações que favorecem ou reduzem a hepatotoxicidade pelo acetaminofen (uso de álcool, faixa etária e uso de outras medicações). **Rev. Suplemento Hepatotoxicidade**, São Paulo-SP, v. 30, p. 30-31, 2011.

KESONBUAA, W.; CHANTARANOTHAI, P. The genus *Morinda* (Rubiaceae) in Thailand.

KOVENDAN, K.; SHANTHAKUMARB, S. P.; PRASEEJAC, C.; KUMARA, P. M.; MURUGANA, K.; VINCENTD, S. Mosquitocidal properties of *Morinda citrifolia* L. (Noni) (Family: Rubiaceae) leaf extract and *Metarhizium anisopliae* against malaria vector, *Anopheles stephensi* Liston. (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. v. 4, p. 173-180, 2014.

KRISHNAIAH, D.; BONO, A.; SARBATLY, R.; ANISUZZAMAN, S. M. Antioxidant activity and total phenolic content of an isolated *Morinda citrifolia* L. methanolic extract from Poly-ethersulphone (PES) membrane separator. **Journal of King Saud University – Engineering Sciences**. v. 1, p. 1-5, 2013.

KRISHNAIAH, D.; SARBATLY, R.; NITHTYANANDAM, R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. **Food and Bioproducts Processing**. v. 89, p. 217–233, 2011.

KUMARASAMY, B.; MANIPAL, S.; DURAISAMY, P.; AHMED, A.; MOHANAGANESH, S.; JEEVIKA, C. Role of Aqueous Extract of *Morinda Citrifolia* (Indian Noni) Ripe Fruits In Inhibiting Dental Caries-Causing *Streptococcus Mutans* and *Streptococcus mitis*, **Journal of Dentistry of Tehran University of Medical Sciences**. v. 6, p. 703-710, 2014.

LIMA, C. R. de; LIMA, R. A. Identificação de metabólitos secundários presentes no extrato etanólico dos frutos verdes e maduros de *morinda citrifolia* L. **Saúde e Pesquisa**. v. 6, p. 439–446, 2013.

LIN, Y. L.; CHANG, Y. Y.; YANG, D. J.; TZANG, B. S.; CHEN, Y. C. Beneficial Effects of Noni (*Morinda citrifolia* L) Juice on Livers of High-Fat Dietary Hamstes. **Food Chemistry**. v. 140, p. 31-38, 2013.

LOPES, J.; MATHEUS, M. E. Risco de hepatotoxicidade do paracetamol (Acetaminofem). **Rev. Bras Farm.** v4, p. 411-414, 2012.

LOPES, M. I.; LOPES, R. C.; FONSECA, R. R.; SANTOS, S. C. L.; NEVES, A. P. M.; OLIVEIRA, J. D.; PAULA, M. M. X.; PAIVA, A. C. C.; SANTOS, J. O. G. Uso racional de Plantas Medicinais: Um Resgate Popular na Região do Vale do Assu –RN. **INTESA**. v.7, p. 12 -18, 2013.

MALONE, M.H.; ROBICHAUD, R. C. The pharmacological evaluation of natura products - General and specific approaches to screening ethnopharmaceuticals. **J Ethnopharmacol**. v. 8, p. 127-147, 193.

MANCEBO, A.; SCULL, I.; GONZÁLEZ, Y.; ARTEAGA, M. E.; FUENTES, D.; HERNÁNDEZ, O.; CORREA, M. Ensayo de toxicidade a dosis repetidas (28 días) por vía oral del extracto acuoso de *Morinda citrifolia* em ratas Sprague Dawley. **Rev. de Toxicologia**. v.19, p.73-18, 2002.

MANDUKHAIL, S. R.; AZIZ, N.; GILANI, A. Studies on antidyslipidemic effects of *Morinda citrifolia* (Noni) fruit, leaves and root extracts. **Lipids in Health and Disease**. v.9, p. 1-6, 2010.

MARCUS, D. M.; GROLLMAN, A. P. Botanical medicines - The need for new regulations. *N Engl. J Med*. v.347, p. 2073-6, 2002.

MARIANO, G. R. C. **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE PRÉ-CLÍNICA AGUDA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO BRUTO DAS SEMENTES DE *Vatairea guianensis* (AUBLET)**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Amapá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. 2012.

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, p. 85-91, 2013.

MARTINS, M. C.; GARLET T. M. B. Desenvolvendo e divulgando o conhecimento sobre plantas medicinais. **REGET**. v. 20, p.438-448, 2016.

MATOSO, LEONARDO MAGELA LOPES et al. As Características e a Utilização do Noni (*Morinda Citrifolia*). **Ciência & Desenvolvimento - Rev. Eletrônica da FAINOR**, v. 6, p. 42- 50, 2013.

MCLAUGHLIN, J. L, MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B; NICHOLS, D. E. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Rev. Brasileira de Planta Medicinal**. v. 45, p. 31- 34, 1998.

MEIRA, C.; SILVA, R. C.; MOYANO, M.; MORAIS, N.; LAGUNA, P.; NERY, F.; PINTO, A. Paracetamol: para além da toxicidade hepática. **Associação Cuidados Intermédios Médicos**, v.2, p.26-31, 2013.

MELONI, N. J.; LARANJEIRA, R. Custo social e de saúde do consumo do álcool. **Rev. Bras Psiquiatr.** v. 1, p. 7-10, 2004.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAN, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., Mcl. AUGHLIN, J. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medical Plant Research**, v. 45, n.1, p. 31-34, 1982.

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, p. 59-63, 2008.

MILLONIG, G.; STADLMANN, S.; VOGEL, W. Herbal Hepatotoxicity: Acute Hepatitis Caused by a Noni Preparation (Morinda citrifolia). **European Journal of Gastroenterology e Hepatology**. v.17, p. 445-447, 2005.

MILLONIG, G.; STADLMANN, S.; VOGEL, W. Herbal Hepatotoxicity: Acute Hepatitis Caused by a Noni Preparation (Morinda citrifolia). **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**. v.17, p. 445-447, 2005.

MOMPIÉ, A. C.; SANCHEZ, I. M. P.; CUNHANUNE, C. L. C.; LORENTE, C. P.; AGUILAI, F. C. Evaluation of the antimicrobial activity of extracts from leaves and seeds of Morinda citrifolia L. (noni). **Rev. Cubana de Plantas Medicinales**. v. 1, p. 374-382, 2014.

MONMA, C. A.; SILVA, N. N.; NEOTTI, T.; COUTINHO, V. A. G.; BRITO, R. B.; DOMINGUES, R. J. S.; RIBEIRO, N. A. B. Estudo piloto: análise do fígado de ratos submetidos ao alcoolismo crônico experimental e tratados com Morinda citrifolia (noni). **Rev Pan-Amaz Saude**. v.6, p. 11-18, 2015.

MONTE, S. M.; LONGATO, L.; TONG, M.; DENUCCI, S.; WANDS, J. R. The liver-brains axis of alcohol-mediated neurodegeneration role of toxic lipids. **Int J Environ Res Public Health**. v. 7, p. 55-75, 2009.

MORI, H.; ARAI, T.; HIROTA, K.; ISCHII, H.; ENDO, N.; KEISUKE, M.; FUKUDA, K. Effects of 6-formylpterin, a xanthine oxidase inhibitor and a superoxide scavenger, on production of nitric oxide in RAW 264.7 macrophages. **Biochim Biophys Acta**. v. 1474, p.93-9, 2000.

MOTA, M. D.; GUEDES, A. S.; SILVA, L. C. R. C.; LOPES, M. V.; SOUZA, M. P. C.; BARROS, W. M. E. B. **Triagem fitoquímica e potencial antioxidante da espécie morinda citrifolia I**. In: Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil. Rio Grande do Sul: UFRGS, 2012.

MUHLBAUER, M. Paracetamol, um AINE particular. **Ciência Atual**. v.2, p 2-10, 2016.

MURALIDHARAN, P.; SRIKANTH, J. Anti Epileptic Activity of *Morinda Citrifolia* Linn Fruit Extract. **E-Journal of Chemistry**. v. 2, p. 12-16, 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 e pharmaceutical bulletin**. v. 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.

NAYAK, B. S.; SANDIFORD, S.; MAXWELL, A. Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of morinda citrifolia l. leaf. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v. 6, p. 351–356, 2009.

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.11, p. 175-293, 2011.

NELSON, S. C. Noni cultivation in Hawaii. College of Tropical Agriculture and Human Resources (CTAHR). **Rev. Hawaii**. v. 4, p. 1-4, 2001.

NELSON, S. C.; ELEVICTH, C.R. Noni the complete guide for consumers and growers, Halualoa. Hawaii: **Permanent Agriculture Resources**. v. 13, p. 104, 2006.

NIMA, S.; KASIWONG, S.; RIDTITID, W.; THAENMANEE, N.; MAHATTANADUL, S. Gastrokinetic activity of *Morinda citrifolia* aqueous fruit extract and its possible mechanism of action in human and rat models. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 2, p. 54-61, 2012.

NUNES, J. C.; CAVALCANTE, L. F.; REBEQUI, A. M., NETO, A. J. L., DINIZ, A. A.; SILVA, J. J. M.; BREHM, M. A.S. Formação de mudas de Noni sob irrigação com águas salinas e biofertilizante bovino no solo. **Rev. Engenharia Ambiental**. Espirito Santo do Pinhal. v. 6, p. 451-463, 2009.

OECD Guideline for the testing of chemicals 423 – **Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method**, 2011.

OECD. Organização de Cooperação e de Desenvolvimento Econômico. Guideline 408: Guideline for the testing of chemicals: Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents. Paris: **OECD**; 2018.

OKUSADA, K.; NAKAMOTO, K.; NISHIDA, M.; FUJITA-HAMABE, W.; KAMIYA, K.; MIZUSHINA, Y.; SATAKE, T.; TOKUYAMA, S. The Antinociceptive and Anti-inflammatory Action of the CHCl₃-Soluble Phase and Its Main Active Component, Damnacanthol, Isolated from the Root of *Morinda citrifolia*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**. v. 1, p. 103-107, 2011.

OLIVEIRA, D. M. C.; FERREIRA, L. R.; TAVARES-MARTINS, A. C. C. **Triagem de cinco espécies de plantas medicinais usadas na Amazônia através da análise de secreção de histamina**. Tese (Doutorado) — Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.

OLIVEIRA, E.R.; MENINI NETO, L. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pelos moradores do povoado de Manejo. **Rev. Brasileira de Plantas Medicinais**, v.14, p.311-320, 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 Ethnopharmacology**, v. 1, p. 34-41, 2012.

PANDY, V.; NARASINGAM. M.; KUNASEGARAN, T.; MURUGAN, D. D.; MOHAMED, Z. Effect of Noni (*Morinda citrifolia* Linn.) Fruit and Its Bioactive Principles Scopoletin and Rutin on Rat Vas Deferens Contractility: An Ex Vivo Study, **The Scientific World Journal**. v. 14, p. 1-11, 2014.

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.

PEREIRA, Z. V., CARVALHO-OKANO, R. M. & GARCIA, F.C.P. Rubiaceae Juss. da Reserva Florestal Mata do Paraíso, Viçosa, MG, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. v. 1, p. 207-224, 2006.

PIMENTEL, D. D. Uso de Noni por pacientes oncológicos. **Rev. Saúde e Ciência**, v. 5, p. 37-44, 2016.

POTTERAT, O.; HAMBURGER, M. *Morinda citrifolia* (Noni) Fruit- Phytochemistry, Pharmacology, Safety. **Planta Médica**. v. 3, p. 91-99, 2007.

QUEIROZ, A. P. G. et al. Inter-relação entre doença periodontal, diabetes e obesidade. **Journal Brazilian Society of Periodontology**. v. 21, p. 16-21, 2011.

RAJ, A. J.; BISWAKARMA, S.; PALA, N. A.; SHUKLA, G.; VINEETA, A.; KUMAR, M.; CHAKRAVARTY S.; BUSSMANN, R. W. Indigenous uses of ethnomedicinal plants among forest-dependent communities of Northern Bengal, India. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**. v. 14, p. 1–28, 2018.

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, p.473–476, 2012.

RAMOS, D. D.; CARDOSO, LIMA, C. A.; YAMAMOTO, N. T. Avaliação do potencial citotóxico e atividade antioxidante em *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O.Berg (Myrtaceae). **Ver. Brasileira de Biociências**. v. 5, p. 774-776, 2014.

RANG, H. P.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. *Farmacologia*. 8th ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**; 2016.

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Rev. Bras Farmacogn**. v.11, p. 57- 69, 2014.

RATNOGLIK, S. L.; AOKI, C.; SUDARMONO, P.; KOMOTO, M.; DENG, L.; SHOJI, I.; FUCHINO, H.; HOTTA, H. Antiviral activity of extracts from *Morinda citrifolia* leaves and chlorophyll catabolites, pheophorbide a and pyropheophorbide a, against hepatitis C virus. **Microbiology and Immunology**. v. 3, p. 188-198, 2014.

RATNOGLIK, S. L.; AOKI, C.; SUDARMONO, P.; KOMOTO, M.; DENG, L.; SHOJI, I.; FUCHINO, H.; HOTTA, H. Antiviral activity of extracts from *Morinda citrifolia* leaves and chlorophyll catabolites, pheophorbide a and pyropheophorbide a, against hepatitis C virus. **Microbiology and Immunology**. v. 3, p. 188-198, 2014.

REBOCHO, A. M. C. Z. T. **Produção de plantas medicinais para a indústria farmacêutica** 2015. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) –Instituto Superior em Ciências da Saúde Egas Moniz. Monte de Caparica, Almada, Portugal. 2015.

ROBBRECHT, E. Monographic and sistematic studies in Rubiaceae. **National Botanic Garden of Belgium**, v. 1, p. 311, 2014.

ROCHA, J. A.; BOSCOLO, O. H.; FERNANDES, L. R. R. M. V. Etnobotânica: um instrumento para valorização e identificação de potenciais de proteção do conhecimento tradicional. **Interações**, v. 16, p. 67–74, 2015.

ROCHA, M. O. Dissertação: **ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES MOLUSCÍCIDA E LARVICÍDICA DE *Tocoyena sellona* K. Schum. (RUBIACEAE)**, universidade Federal do Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, 2009.

RUG, M.; RUPPEL, A. Toxic activities of the plant *Jatropha curcas* against intermediate snail hosts and larvae of schistosomes. **Trop Med Int Health**. v. 5, p. 423-430, 2000.

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.

SALTOS, R. V. A.; SALTOS, R. V. A.; VÁSQUEZ, T. E. R.; LAZO, J. A.; BANGUERA, D. V.; GUAYASAMÍN, D. R.; VARGAS, J. K. A.; PEÑAS, I. V. The use of medicinal plants by rural populations of the Pastaza province in the Ecuadorian Amazon. **Acta Amazonica**, v. 46, p. 355–366, 2016.

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. **Rev. Brasileira de Cancerologia**. v. 1, p. 2-29, 2008.

SARAPHANCHOTIWITTHAYA A, SRIPALAKIT P. Anti-inflammatory effect of Morinda citrifolia leaf extract on macrophage RAW 264.7 cells. **Science Asia**. v. 1, p. 5-11, 2015.

SCHINONI, M. I. Fisiologia Hepática. **Gaz. méd.** Bahia, p 5-9, 2006.

SEBBEN, V. C.; LUGCH, R. W.; SCHIINKER, C. S.; ARBO, M. D.; VIANA, R. L. Validação de metodologia analítica e estudo de estabilidade para quantificação sérica de paracetamol. **Bras Patol Med Lab**. v. 2, p. 143-148, 2010.

SERAFINI, M. R.; SANTOS, R. C.; GUIMARÃES, A. G.; SANTOS, J. P. A.; ANTOS, D. C.; ALVES, I. A.; GELAIN, D. P.; NOGUEIRA, P. C. L.; QUINTANS-JÚNIOR, BONJARDIM, L. R.; ARAÚJO, A. A. S. Morinda citrifolia Linn leaf extract possesses antioxidant activities and reduces nociceptive behavior and leukocyte migration. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, p. 1159-1166, 2011.

SHIRWAIKAR, A.; KAMARIYA, Y.; PATEL, B.; NANDA, S.; PARMAR, V.; KHAN, S. Methanol extract of the Fruits of Morinda citrifolia Linn., Restores Bone Loss in Ovariectomized Rats. **International Journal of Pharmacology**. v. 4, p. 446-454, 2011.

SILVA, A. S.; FIGUEIREDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M.; LIMA, E. E. Avaliação da composição físico-químico da coroa-defrade. **Bio Terra**. v. 5, p. 1-8, 2005.

SILVA, D.; SILVA, M. E. T.; MANRIQUE, J. L. R.; MACIEL, F. O.; MALOSSO, M, G. Micropropagação de Noni. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer -Goiânia, v.10, p.1307, 2014.

SILVA, L. A. F.; RODRIGUES, A. M. S. Automedicação entre estudantes de cursos da área de saúde. **Rev. Bras Farm**. v. 3, p. 961–975, 2014.

SILVA, M. G.; LOURENÇO, E. E. Uso indiscriminado de anti-inflamatórios em Goiânia - GO e Bela Vista - GO. **Rev. Cient ITPAC**. v. 4, p. 1-7, 2014.

SILVA, N. F. S.; COGO, J.; WIEPIESKI, C. C. P.; LAVERDE, JR. Bioensaio de atividade moluscicida adaptado para a avaliação de extratos de plantas medicinais. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar**. v. 11, p. 179-181, 2008.

SILVA, P. H; BARROS, M. S.; OLIVEIRA, Y. R.; ABREU, M. C.A etnobotânica e as plantas medicinais sob a perspectiva da valorização do conhecimento tradicional e da conservação ambiental. **Rev. de Ciências Ambientais**. v.9, p.67-86, 2015.

SONG, B.; FENGJUAN, W.; WANG, W. Effect of aqueous extract from Morinda officinalis F. C. how on microwaveinduced hypothalamic-pituitary-testis axis impairment in male Sprague-Dawley Rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v. 4, 1-10, 2015.

SOUZA, V. H. S. **Avaliação da toxicidade não clínica de extrato e vouacapanos oriundos dos frutos da espécie Pterodonpubescens Benth** [tese]. Piracicaba:

Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas; 2017.

SOUZA, V.C. e LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3 ed, Instituto Plantarum, Nova Odessa. Souza, V.C. e Lorenzi, H. Plantarum, Nova Odessa. 2012.

TERRES, D. R. Potencial toxicológico de medicamentos de venda livre: ênfase no paracetamol. **Facider Rev. Científica**. v. 8, p. 1-15, 2015.

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

TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Rev. Bras Ciênc Farm**. v. 42, p. 289-306, 2014.

VEIGA-JUNIOR V. F.; MELLO J. C. P. As monografias sobre plantas medicinais. **Rev. Bras Farmacogn**. v.18, p. 464-471, 2008.

VENCATO, I.; SILVA, F. M.; OLIVEIRA, C. M. A.; KATO, L.; TANAKA, C. M. A.; SILVA, C. C.; SABINO, JR. **Acta Crystallogre**. v. 62, p. 429-430, 2016.
WANG, M. Y.; ANDERSON, G.; NOWICKI, D.; JENSEN, J. Hepatic Protection by Noni Fruit Juice Against CCL(4) – Induced Chronic Liver Damage in Female SD Rats. **Plant Food for Human Nutrition**. v.63, p. 141-145, 2008.

WANG, M. Y.; ANDERSON, G.; NOWICKI, D.; JENSEN, J. Hepatic Protection by Noni Fruit Juice Against CCL(4) – Induced Chronic Liver Damage in Female SD Rats. **Plant Food for Human Nutrition**. v.63, p. 141-145, 2008.

WANG, M. Y.; SU, C. Cancer Preventive Effect of Morinda citrifolia (Noni). **Ann N Y Acad Sci**. v. 95, p.161-168, 2001.

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

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**. v. 4, p. 303-307, 2011.

WEST, B. J.; JENSEN, J. C.; WESTENDORF, J. Noni juice is not hepatotoxic. **World Journal of Gastroenterology**, v. 12, p. 3616- 3619, 2006.

WEST, B. J.; SU, C. X.; JENSEN, C. J. Hepatotoxicity and sub chronic toxicity tests of Morinda citrifolia (Noni) Fruit. **The Journal of Toxicological Sciences**. v. 34, p. 581- 585, 2009.

WEST, B. J.; SU, C. X.; JENSEN, C. J. Hepatotoxicity and sub chronic toxicity tests of *Morinda citrifolia* (noni) fruit. J.Stage. **The Journal of Toxicological Sciences**. v. 5, p. 581-85, 2009 a.

WEST, B. J.; WHITE, L. D.; JENSEN, C. J.; PALU, A. K. A Double-blind clinical safety study of noni fruit juice. **Pacific Health Dialog**. v. 2, p. 21-32, 2009b.

WITTER, A. A.; MEDEIROS, A. I. S. R.; TEIXEIRA, L. M.; BARBOSA, M. G. M.; SANTOS, S. P.; MARQUES, R. B. Intoxicação medicamentosa em crianças: uma revisão de literatura. **Rev. inter**. v.3, p. 64-72, 2016.

YANG, J.; GADI, R.; PAULINO, R.; THOMSON, T. Total phenolics, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder as affected by illumination during storage. **Food Chemistry**, v. 122, p. 627-632, 2010.

YU, E. L.; SIVAGNAMAM, M.; ELLIS, L.; HUANG, J. S. Acute Hepatotoxicity after Ingestion of *Morinda citrifolia* (Noni Berry) Juice in a 14-year-old Boy **Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition**. v. 52, p. 222-224, fed., 2011.

ZAPPI, D.; JARDIM, J.; SOUZA, E. B.; DI MAIO, F. R.; BARBOSA, M. R.; VALENTE, A. S. M.; MONTEIRO, N. P. Rubiaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2018.

ANEXO A- Parecer do Comitê de Ética em Experimentação Animal



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50740-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: 2126-8842
ceua@ufpe.br

Recife, 16 de outubro de 2019

Ofício nº 85/19

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. Ivone Antonia de Souza**

Departamento de Antibióticos

Centro de Biociências

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 23076.023007/2018-59

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação fitoquímica e hepatotóxica do extrato etanólico dos frutos de Morinda citrifolia Linn. em modelos experimentais**", registrado com o nº 23076.023007/2018-59 sob a responsabilidade de **Prof. Ivone Antonia de Souza** o que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 24/09/2019.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Julho/2018 a março/ 2020
Espécie/linhagem/raça	Camundongo heterogenico
Nº de animais	36
Peso/Idade	25-30g/ 08 semanas
Sexo	Femea (36)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Antibioticos da UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Departamento de Antibioticos da UFPE

Atenciosamente,

Prof. Sebastião R. F. Silva



Vice-Presidente CEUA/UFPE

SIAPE 2345691