

ATIVIDADE CITOTÓXICA DO EXTRATO AQUOSO DE *Morinda citrifolia* (RUBIACEAE)

Laísa Maria de Resende CASTRO 01(1); Lucas Pinheiro DIAS 02 (2); Taciana Oliveira de SOUSA 03 (3) George Laylson da Silva OLIVEIRA 04 (4)

- (1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI, e-mail: laisarecastro@hotmail.com
- (2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI, e-mail: lpinheirodias@gmail.com
- (3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI, e-mail: tacisousa@gmail.com
- (4) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI, e-mail: georgenota10@hotmail.com

RESUMO

A *Morinda citrifolia* Linn pertence à família Rubiaceae apresenta aproximadamente 500 gêneros, e aproximadamente 7000 espécies, sendo encontradas em todo o mundo. Estudos científicos acumulados até os dias atuais têm revelado e confirmado algumas das atividades biológicas da Noni descritas como: atividade antioxidante, antiinflamatória, analgésica, antibacteriana, antitumoral, entre outros. Este trabalho visa à avaliação de ações citotóxicas de extrato aquoso da folha do noni (*Morinda citrifolia* Linn), para indicar possíveis relações antitumorais na utilização deste extrato, já que a maioria dos trabalhos com esta espécie se dá com a avaliação fitoterápica do fruto. Foi utilizado 5,75mg/ml ou 5750µL/ml de extrato das folhas de *Morinda citrifolia*, para obter os valores de DL₅₀, foi utilizada a análise PROBIT, através do software SPSS® com 95 % de índice de confiança. A DL₅₀ foi obtida através do gráfico da quantidade de indivíduos mortos em função do logaritmo da dose testada. Feita a análise de Próbitos com o software SSPS®, encontrou-se um valor de DL₅₀ igual a 585,6 µg/mL, sendo o valor inferior à DL₅₀ > 1000 ppm, é considerada tóxica. De acordo com os dados, o extrato aquoso de *Morinda citrifolia* apresentou uma boa toxicidade frente a *Artemia Salina*, necessitando de trabalhos posteriores para confirmar a atividade antitumoral da folha do noni.

Palavras-chave: *Morinda citrifolia*, teste citotóxico, *artemia salina*

1. INTRODUÇÃO

A *Morinda citrifolia* Linn é uma tradicional planta medicinal popular que tem sido usada por mais de 2000 anos pelos povos polinésios. A planta é originária do sudeste da Ásia e, subsequentemente, foi distribuída por vários viajantes colonizadores das ilhas do pacífico e/ou através do oceano e outros animais como pássaros até estas ilhas.

Esta planta é muito conhecida como Noni, e tem sido utilizado como alimento, bebida, medicamento e para tingimento de tecidos. De acordo com o uso na medicina tradicional e popular, entre as enfermidades e afecções mais tratadas encontram-se: alergia, artrite, asma, câncer, depressão, diabetes, hipertensão, distúrbios menstruais, musculares, obesidade, úlceras gástricas, dores de cabeça, inibição sexual, insônia, depressão, estresse, problemas respiratórios, AIDS, esclerose múltipla e dependência de drogas (MÜLLER, 2007).

A planta pertence à família Rubiaceae de folhas permanentes, de pequeno a médio porte. A árvore frequentemente cresce em regiões costeiras ao nível do mar e em áreas florestais com cerca de 400 metros acima do nível do mar. Desenvolve-se bem em solos vulcânicos ricos em minerais, apesar de também se desenvolverem em solos arenosos ou muito úmidos (WANG, 2001).

Este trabalho visa à avaliação de ações citotóxicas de extrato aquoso da folha do noni (*Morinda citrifolia* Linn), para indicar possíveis relações antitumorais na utilização deste extrato, já que a maioria dos trabalhos com esta espécie se dá com a avaliação fitoterápica do fruto.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A família Rubiaceae apresenta aproximadamente 500 gêneros, e aproximadamente 7.000 espécies, sendo encontradas em todo o mundo, tanto nas regiões frígidas como nas zonas temperadas e tropicais, apresentando hábitos variados, podem ser encontradas na forma de: ervas, arbustos, subarbustos e trepadeiras (MÜLLER, 2007).

A *Morinda citrifolia* (Figura 1) cresce tanto em florestas, como em terrenos rochosos ou arenosos. É tolerante a solos salinos e certas condições de seca. É, portanto, encontrada numa grande variedade de habitat: terrenos vulcânicos ou mesmo em terra calcária. Pode crescer até 9m de altura, e tem folhas largas, simples, de verde escuro, com veias vincadas. A planta apresenta flores e frutos durante todo o ano, sendo as flores pequenas e brancas; os frutos contêm muitas sementes, e tem um forte odor. Os galhos jovens são angulares e observam-se ranhuras (estrias). As folhas são elípticas, opostas e com margens onduladas, possuindo coloração verde brilhante na face superior e opaca na inferior (MÜLLER, 2007).



Figura 1: *Morinda citrifolia*

A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. No início da década de 1990, a

Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (AKERELE, 1993 *apud* BRITO & FERNANDES, 2008).

Estudos científicos acumulados até os dias atuais têm revelado e confirmado algumas das atividades biológicas da Noni descritas como: atividade antioxidante, antiinflamatória, analgésica, antibacteriana, antitumoral, entre outros.

No entanto, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) levanta dúvidas sobre a finalidade e a segurança no consumo de *Morinda citrifolia* (noni), devido diversos relatos de casos devidamente publicados em revistas científicas indexadas sobre a associação do consumo do suco deste vegetal a casos de toxicidade hepática. Por conta disso, a ANVISA proibiu a comercialização de produtos contendo noni no Brasil até que os requisitos legais que comprovem de sua segurança de uso sejam atendidos.

Nessas condições, verificam-se mais publicações científicas sobre esta espécie vegetal, avaliando suas atividades fitoterápicas.

É bastante importante a realização de bioensaios para determinações de citotoxicidade, dentre esses bioensaios, têm-se a toxicidade sobre *A. salina* (Figura 2), que é um microcrustáceo de água salgada comumente usada como alimento para peixes. A simplicidade com que pode ser manuseado, a rapidez dos ensaios e o baixo custo favorece a sua utilização rotineira em diversos estudos, além do que, tais ensaios de letalidade são muito utilizados em análises preliminares de toxicidade geral. As *A. salinas* têm tamanho e coloração variadas, que vão do rosa pálido ao avermelhado, branco ou esverdeado (NASCIMENTO et al., 2008).



Figura 3 – *Artemia salina* Leach.

3. DESCRIÇÃO DA PROPOSTA

Este trabalho é o início de uma pesquisa sobre a folha do noni (*Morinda citrifolia*), sendo uma pesquisa voluntária de alunos e professores do IFPI, com o objetivo de certificar as atividades biológicas deste vegetal.

O teste de citotoxicidade frente *Artemia salina* foi o primeiro teste realizado da pesquisa, para analisar toxicidade do extrato da folha noni, já que é um teste simples e rápido, e pode servir como método de triagem para o posterior estudo fitoquímico de plantas medicinais.

O ensaio de toxicidade aguda com *Artemia* sp é um teste rápido, de baixo custo, eficiente e que requer uma pequena quantidade de amostra (2 – 20 mg). A simplicidade desse teste, que não requer métodos assépticos, nem equipamentos especiais, favorece sua utilização rotineira, podendo ser desenvolvido no próprio laboratório (SIQUEIRA et al., 1998).

4. METODOLOGIA

4.1 Preparação do extrato aquoso

As folhas de *Morinda citrifolia* (noni) foram coletadas em bairros de Teresina-PI. Após a coleta, o material ainda fresco, foi macerado, pesando 30g, adicionou 150 ml de água destilada, agitou essa solução no agitador por 1 hora, depois centrifugou por 2 minutos com rotação de 4700 ppm. Filtra o extrato e realiza a gravimetria, sendo utilizado 5,75mg/ml ou 5750µL/ml de extrato.

4.2. Teste citotóxico frente *Artemia salina*

Artemia sp é um crustáceo da ordem Anostraca (sem carapaça) que vive em lagos de água salgada e salinas de todo o mundo, estando adaptada para sobrevivência em corpos de água que sofrem grandes variações sazonais, podendo tolerar salinidades que flutuam de 3,5 a 70 ‰.

O teste de toxicidade frente à *Artemia salina* realizado segundo a metodologia de Meyer et al. (1982) com algumas alterações. Foram transferidos aproximadamente 10 larvas de *Artemia* para 15 tubos de ensaio, já que o teste foi feito em triplicata, contendo solução salina e o respectivo extrato/fração a ser testado em cinco concentrações (100µg/ml; 200µg/ml; 400µg/ml; 800 µg/ml; 1000 µg/ml), sendo feito controle positivo, também em triplicata apenas com solução salina e as *Artemias* (NASCIMENTO et al., 2008).

Após 24 horas de contato, contam-se os animais mortos. Para obter os valores de DL₅₀, foi utilizada a análise PROBIT, através do software SPSS® com 95 % de índice de confiança. A DL₅₀ foi obtida através do gráfico da quantidade de indivíduos mortos em função do logaritmo da dose testada.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com o teste de toxicidade frente *Artemia salina* do extrato aquoso da *Morinda citrifolia* Linn. está descrita na Tabela 1.

Tabela 1 – Contagem de *A. salina* mortas após 24 h de exposição ao extrato aquoso de *Morinda citrifolia*

| Concentração do extrato µg/ml | Quantidade de <i>A. salina</i> expostos | Quantidade de <i>A. salina</i> mortas |
|-------------------------------|---|---------------------------------------|
| 100 | 30 | 1 |
| 200 | 30 | 9 |
| 400 | 30 | 10 |
| 800 | 30 | 21 |
| 1000 | 30 | 17 |

Quanto menor o valor de DL₅₀, mais tóxico é o composto frente a um organismo-teste, e maior é sua atividade citotóxica, sugerindo maior potencial como antitumoral. McLaughlin et. al. (1998) relatam que esse ensaio tem boa correlação com atividade citotóxica em alguns tumores humanos sólidos.

Não houve morte de nenhuma *A. salina* no teste controle, o que mostra que o solvente utilizado é inofensivo a este microcrustáceo, e as mortes foi resultante unicamente da ação do extrato aquoso de *Morinda citrifolia*.

O teste com *A. salina* é utilizado para indicar o potencial citotóxico de extratos e substâncias quando apresenta alta letalidade (RAMOS et al. 2007), e o extrato aquoso de *Morinda citrifolia* apresentou uma boa citotoxicidade.

Feita a análise de Próbitos com o software SSPS®, com os dados presentes na Tabela 1, encontrou-se um valor de DL₅₀ igual a 585,6 µg/mL, sendo o valor inferior à DL₅₀ > 1000 ppm, é considerada tóxica.

6. Considerações Finais

Segundo a literatura, existem dados que o fruto do noni (*Morinda citrifolia*) apresenta relação tumoral, e com este resultado percebe-se que a folha também, apresenta boa citotoxicidade e possíveis relações antitumorais.

Além disso, faz-se necessário também, o isolamento também dos compostos metabólicos, sendo este um trabalho preliminar, necessitando de resultados complementares para confirmar o mesmo.

REFERÊNCIAS

BRITO, Danilo Rodrigues Barros & FERNANDES, Rozeverter. Moreno. **Avaliação Da Atividade Anti-Helmíntica Da Morinda Citrifolia (Noni), Em Aves Poedeiras Naturalmente Infectadas**. Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí. Teresina –Piauí . 2008

NASCIMENTO, J. E.; MELO, A. F. M.; LIMA E SILVA, T. C.; VERAS FILHO, J.; SANTOS, E. M., ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C.; **Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larva de Artemia salina Leach. de três espécies medicinais do gênero Phyllanthus (Phyllanthaceae)**. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., v. 29, n.2, p. 145-150, 2008.

MÜLLER, Juliane Centeno. **Toxicidade Reprodutiva Da Morinda citrifolia Linn**. Dissertação de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Paraná – UFPR. Curitiba – PR. 2007

MCLAUGHLIN JL, ROGERS LL, ANDERSON JE. **The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals**, Drug Information Journal 32: 513-524. 1998

RAMOS, Diovany Doffinger; CARDOSO, Claudia Andréa Lima; YAMAMOTO, Natanael Takeo. **Avaliação do potencial citotóxico e atividade antioxidante em Campomanesia adamantium (Cambess.) O.Berg (Myrtaceae)**. Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 774-776, jul. 2007

SIQUEIRA JM, Bomm MD, PEREIRA NFG, GARCEZ WS, Boaventura MAD. **Estudo Fitoquímico de Unonopsis lindmanii –Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a Artemia salina Leach**. Revista Química Nova 21. 1998.

WANG, M. Y.; SU, C. **Cancer preventive effect of Morinda citrifolia (noni)**. Annals of the New York Academy of Sciences, v.952, p.161-168, 2001.