



TRIAGEM FITOQUÍMICA E ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E TOXICIDADE DAS FOLHAS E DOS FRUTOS DE *MORINDA CITRIFOLIA* L. (“NONI”)

**Phytochemical screening and study of antioxidant activity and toxicity of leaves and
fruits of *Morinda citrifolia* L. (“Noni”)**

Nathália Lucca Silva^{1*}; Aline Aparecida Lemos Santos¹; Ana Rhúbia Corrêa Oliveira¹;
Mariele de Souza Santos¹; Ricardo Oliveira Silva¹; Késsia Oliveira Silva¹

¹Centro Universitário Una Bom Despacho, Bom Despacho - MG, Brasil

*Autor para Correspondência: nathaliasilva@prof.una.br

RESUMO

Morinda citrifolia (“Noni”), pertencente à família Rubiaceae é originária do Sudoeste da Ásia e vem se introduzindo no Brasil devido ao seu potencial fitoterápico. O “Noni” apresenta uso popular em inflamações, tumores, dores, diabetes, dentre outros. Porém, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) proibiu a comercialização de produtos que contenha qualquer componente derivado da planta “Noni” em sua formulação, devido à ausência de confirmação da segurança e eficácia da planta. O estudo visa identificar metabólitos secundários através de triagem fitoquímica, avaliar atividade antioxidante e determinar toxicidade de folhas e frutos de “Noni” contribuindo assim com estudos sobre a toxicidade desta planta. A atividade antioxidante é avaliada método de redução do radical livre DPPH (2,2Difenil-1-picrilhidrazila) e o potencial tóxico através do teste da *Artemia salina*. A análise fitoquímica mostrou a presença de taninos condensados, esteroides/triterpenóides e alcaloides nas folhas e flavonoides e alcaloides nos frutos. Os extratos apresentaram capacidade de sequestrar o radical DPPH, demonstrando maior



atividade antioxidante nas folhas em relação aos frutos. No teste de toxicidade de *A. salina* os extratos dos frutos apresentaram baixa toxicidade com CL_{50} de $562,32\mu\text{g/mL}$, e toxicidade moderada para o extrato das folhas com CL_{50} $436,52\mu\text{g/mL}$. Apesar da necessidade de maiores estudos para a liberação do uso em humanos, este trabalho contribui com dados para conferir segurança a alimentos que contenham “Noni” em sua composição.

Palavras-Chave: Noni. *Artemia salina*. Análise Fitoquímica. DPPH.

ABSTRACT

Morinda citrifolia (“Noni”), Rubiaceae family, originates from Southeast Asia and has been introduced in Brazil due to its herbal potential. “Noni” have been traditionally used to in inflammation, tumors, pain, diabetes, among others. However, the *Agência Nacional de Vigilância Sanitária* (ANVISA) prohibited the sale of products that contain any component derived from the “Noni” in their formulation, due to the lack of confirmation of the safety and efficacy of the plant. The study aims to identify secondary metabolites through phytochemical screening, evaluate antioxidant activity and determine toxicity of “Noni” leaves and fruits, thus contributing to studies on the toxicity of this plant. The antioxidant activity is evaluated by the DPPH free radical reduction method (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) and the toxic potential through the *Artemia salina* test. Phytochemical analysis showed the presence of condensed tannins, steroids/triterpenoids and alkaloids in leaves and flavonoids and alkaloids in fruits. The extracts were able to scavenge the DPPH radical, demonstrating greater antioxidant activity in leaves compared to fruits. In the *A. salina* toxicity test, the fruit extracts showed low toxicity with LC_{50} of $562.32\mu\text{g/mL}$, and moderate toxicity for the leaf extract with LC_{50} of $436.52\mu\text{g/mL}$. Despite the need for further studies for the release of use in humans, this work contributes with data to provide safety to foods containing “Noni” in their composition.

Keywords: Noni. *Artemia salina*. Phytochemical screening. DPPH.



INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais teve um aumento expressivo nos últimos anos devido à evolução da ciência e do avanço tecnológico, sendo notável o seu uso na área da saúde, por serem de baixo custo, fácil acesso e aceitabilidade (CHAN-BLANCO *et al.*, 2006).

Morinda citrifolia L. popularmente conhecida como “Noni”, pertencente à família Rubiaceae, é uma espécie vegetal originária do Sudoeste da Ásia, sendo atualmente cultivada na Polinésia, Índia, Caribe, América do Norte e América Central (SILVA *et al.*, 2016). O cultivo de *M. citrifolia* é relatado nos estados do Acre, São Paulo, Minas Gerais, Pará, Sergipe, Ceará, dentre outros (CORREIA *et al.*, 2011).

Em relação às suas características botânicas, sabe-se que é um arbusto com 3-10 metros de altura, com flores pequenas, brancas e tubulares e há muitos séculos é utilizada popularmente como planta medicinal devido a seu efeito terapêutico com a capacidade de tratar ou curar vários tipos de enfermidades como dores em geral, inflamações, hipercolesterolemia, alergias, artrite, depressão, diabetes, hipertensão, insônia, estresse, problemas respiratórios e tumores (SILVA *et al.*, 2016). A literatura relata estudos farmacológicos para a espécie, como: ação antibactericida, analgésico, antioxidante, anti-inflamatório, atividade cardiovascular e ação anticancerígena. Esses efeitos benéficos da fruta podem ser resultados de certos componentes identificados no fruto, como alcaloides, antraquinonas e substâncias antioxidantes (BECHELENI *et al.*, 2017; BASAR *et al.*, 2010, CHAN-BLANCO *et al.*, 2006).

O fruto apresenta formato ovalado, suculento e possui várias sementes. A casca é uma película fina, facilmente retirada, quando maduro. Antes do seu amadurecimento sua casca apresenta coloração esverdeada e quando maduro a cor da casca torna-se amarela esbranquiçada. Considerando a polpa, ocorre mudança de coloração, passando da cor branca para a cor amarela, à medida que o fruto amadurece. Também é perceptível um aroma forte característico de seu amadurecimento (VEIGA *et al.*, 2005).

As folhas são simples, elípticas e opostas, com margens onduladas, possuindo coloração verde brilhante na face superior e opaca na inferior (SCOT & ELEVITCH, 2006;



Wang, 2002). Apresenta-se de diferentes tamanhos em um mesmo galho e quando jovens possuem largura bem inferior quando comparada com a folha adulta (WANG, 2002).

Mais de 100 metabólitos secundários já foram identificados na fruta. As estruturas destes são classificadas como flavonoides, ligninas, iridoïdes, cumarinas, antraquinonas, polissacarídeos, terpenos, esteróis e ácidos graxos (DENG & WEST, 2011). Compostos biológicos, além dos acima citados, trissacarídeos, ésteres de ácidos graxos, escopoletina, vitaminas e minerais tem sido isolados da fruta, raízes, sendo que nas folhas se destacam aminoácidos, antraquinonas, glicosídeos, compostos fenólicos, resinas, ácido ursólico, com ações terapêuticas nas desordens do açúcar e formação de coágulo no sangue, queimaduras e ferimentos na pele (DENG & WEST, 2011; YANG *et al.*, 2010).

Devido às propriedades medicinais descritas, encontra-se a venda da fruta em feiras e mercados, assim como o consumo em forma de suco da fruta “Noni”. O interesse por seus possíveis benefícios é crescente, diante disso, a planta em estudo pode ser importante na produção de novos fitoterápicos, assim como atuar por meio da redução de radicais livres e inibição da peroxidação lipídica, o que pode contribuir para a prevenção ou redução do desenvolvimento de patologias associadas ao estresse oxidativo (SOUSA, VIEIRA & SILVA, 2011). Porém, devido a controvérsias e a ausência de estudos concretos que confirmem a segurança e a eficácia da utilização do fruto de *M. citrifolia*, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou uma nota, informando que estaria proibida a comercialização de produtos que contenha qualquer componente derivado da planta *M. citrifolia* em sua formulação (BRASIL, 2007).

Segundo a ANVISA, a comercialização só será permitida após a comprovação de sua segurança de uso e registro, conforme determina a Resolução nº 16/1999 e a Resolução RDC nº 278/2005, respectivamente. Ressalta-se que de acordo com o artigo 56 do Decreto-lei nº 986/69 os produtos com finalidade terapêutica ou medicamentosa não são considerados alimentos (BRASIL, 1969; BRASIL, 1999; BRASIL, 2005;).

O presente estudo teve como objetivo identificar os componentes químicos através da triagem fitoquímica, avaliar a ação antioxidante utilizando o extrato etanólico das folhas



e frutos da espécie de *M. citrifolia*, pelo método de redução do radical livre DPPH e determinar o potencial tóxico através do teste da *Artemia salina* (TAS).

MATERIAL E MÉTODOS

As folhas e os frutos *in natura* de *M. citrifolia* foram coletados na cidade de Pará de Minas – MG, Brasil (19° 51' 36" S e 44° 36' 28" O), local onde se obteve fácil acesso a planta, sendo segregados por separação e seleção manual. As folhas foram lavadas e colocadas em estufa para secagem em temperatura de 40°C. Posteriormente foram trituradas, pesadas 87,5g e imersas em álcool etílico 92,8° INPM (96° GL), para preparação do extrato etanólico por maceração durante um período de sete dias. Os frutos maduros foram processados manualmente, sendo separadas casca, polpa e semente, em seguida a polpa foi pesada e colocada no mesmo solvente na proporção de 7,020g de polpa em 1L de álcool etílico, macerados por um período de 15 dias. Sendo posteriormente submetidas à secagem em estufa. O rendimento do extrato do fruto *M. citrifolia* foi de 63,52%, e o do extrato da folha foi de 44,83%. Esta pesquisa também possui registro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado na Plataforma SisGen (Registro nº AE72AD1)

Triagem Fitoquímica das folhas e dos frutos de *Morinda citrifolia*

Realizaram-se ensaios fitoquímicos dos extratos etanólicos das folhas e dos frutos de *M. citrifolia* para avaliar a presença das principais classes de metabólitos secundários sendo elas: cumarinas, saponinas, taninos, flavonoides, esteroides/triterpenoides, alcaloides e quinonas, caracterizada por reações químicas que resultam no desenvolvimento de coloração, precipitação e espumas (SARAIVA *et al.*, 2018).

Inicialmente, preparou-se a solução padrão dos extratos das folhas e dos frutos, pesaram-se 0,02g de cada amostra, as mesmas foram solubilizadas em etanol P.A a fim de se obter uma solução com a concentração final de 2mg/mL.



Para o teste das cumarinas e saponinas colocou-se 100 μ L de cada amostra em tubos de ensaio separados e adicionou-se 500 μ L de água destilada. Para detecção de cumarinas foram adicionadas cinco gotas de solução de hidróxido de sódio (*NaOH*) a 1mol/L, agitando-se suavemente para observar a confirmação positiva caso ocorra mudança de coloração para amarelo. Para detecção de saponinas agitou-se vigorosamente os tubos de ensaio por um minuto para observar a formação de espuma, que se formada caracteriza o teste como positivo.

Para determinação de taninos, flavonoides e esteroides/triterpenoides foram pesados 1mg das amostras secas e adicionadas em tubos de ensaio distintos acrescentando 500 μ L de água destilada. Na detecção de taninos seis gotas de cloreto de ferro (*FeCl₃*) a 2% foram adicionadas e homogeneizadas vigorosamente. A confirmação positiva é constatada com base na formação de precipitado. Para detecção de flavonoides foram adicionadas treze gotas de ácido sulfúrico (*H₂SO₄*) P.A, homogeneizadas cuidadosamente. A confirmação se baseia na alteração da coloração inicial para amarelo, laranja ou vermelho. Para o teste de esteroides/triterpenoides, adicionou-se 1mL de anidrido acético (*C₄H₆O₃*) e 1mL de ácido sulfúrico (*H₂SO₄*) cuidadosamente, sem agitar. A confirmação visual do resultado baseia-se na formação de um halo interfásico roxo.

Para detecção de alcaloides, colocou-se 500 μ L da solução em um tubo de ensaio, adicionou-se três gotas de solução dragendorff e homogeneizou. A confirmação visual do resultado baseia-se na formação imediata de precipitado ou turvação.

Para determinação de quinonas adicionou-se 1000 μ L da solução em tubo de ensaio, acrescentou-se 5mL de clorofórmio e homogeneizou suavemente, posteriormente ficando em repouso por 15 minutos. Recolheu-se a fase clorofórmica transferindo-a para um tubo de ensaio com 1mL de solução aquosa de hidróxido de sódio a 5%, o aparecimento da coloração roxo, indica-se presença de quinonas.

Atividade sequestradora do radical DPPH

A atividade antioxidante foi avaliada através do método de sequestro de radicais livres DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazila), realizada em espectrofotômetro de UV-Vis



(WILLIAMS *et al.*, 1995; BURDA & OLESSZEK, 2001). Foram utilizadas diluições seriadas a partir da solução de DPPH 0,002% p/v. Preparou-se uma solução de 1000 μ g/mL dos extratos obtidos a partir das folhas e dos frutos de *M. citrifolia*, sendo realizadas diluições seriadas nas concentrações 500, 250, 100 e 50 μ g/mL. As soluções foram homogeneizadas no aparelho vórtex e mantidas em local protegido da luz por um período de 30 minutos em temperatura ambiente (25°C). Posteriormente as amostras obtidas foram levadas ao espectrofotômetro uv-vis, onde foram realizadas as leituras da absorbância no comprimento de onda de 517 nm. O antioxidante BHT (2,6-Di-terc-butil-4-metilfenol) foi utilizado como composto de referência nas doses de 100, 250 e 500 μ g/mL.

Toxicidade sobre *Artemia salina* (TAS)

O teste de bioatividade da *A. salina* permite a avaliação da toxicidade de compostos com atividade biológica. É um método de bioensaio simples, confiável, rápido e de baixo custo para testar letalidade de extratos vegetais (MCLAUGHLIN & ROGERS, 1998).

Os cistos foram colocados em um aquário com água salina (38g/L, pH = 8-9), por um período de 48 horas. Assim, em 24 horas de incubação os mesmos eclodiram (Estágio Náuplio I), e mais 24 horas posteriores (Estágio Náuplio II) foram retiradas para o ensaio. Foram realizadas diluições seriadas dos extratos das folhas e dos frutos de *M. citrifolia* com as seguintes concentrações: 1000, 500, 250 e 125mg/mL adicionados em tubos de ensaio, assim como controle positivo (peróxido de hidrogênio nas concentrações de 54 x 10⁻³, 27 x 10⁻³ e 13,5 x 10⁻³mol/L) e controle negativo (solução aquosa de sal marinho sintético 38g/L). Dez larvas de *A. salina* foram transferidas para cada tubo e 24 horas posteriores as larvas mortas foram contabilizadas. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Para a análise dos dados, obtenção das CL₅₀ e respectivos intervalos de confiança foi utilizado o método Probitos de análise (FINNEY, 1974).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Triagem fitoquímica das folhas e dos frutos

Através da análise fitoquímica dos extratos etanólicos obtidos das folhas e dos frutos de *M. citrifolia*, evidencia-se a presença nas folhas de: taninos condensados, esteroides/triterpenoides e alcaloides. E nos frutos encontra-se flavonoides e alcaloides (Tabela 1), os quais podem apresentar atividades farmacológicas.

TABELA 1: Identificação dos metabólitos secundários nos extratos obtidos a partir das folhas e dos frutos da *Morinda citrifolia*.

| Metabólitos | Resultado / Folhas | Resultado / Frutos |
|---------------------------|--------------------|--------------------|
| Cumarinas | - | - |
| Saponinas | - | - |
| Taninos | + | - |
| Flavonoides | - | + |
| Esteroides/triterpenoides | + | - |
| Alcaloides | + | + |
| Quinonas | - | - |

Legenda: +: detectado; -: não detectado.

Fonte: acervo pessoal, 2019.

De acordo com o ensaio utilizado para detecção das classes de metabólitos ativos, não foram detectadas as cumarinas, saponinas, flavonoides e quinonas nos extratos das folhas e cumarinas, saponinas, taninos, esteroides/triterpenóides e quinonas nos extratos dos frutos. Entretanto, resultados negativos obtidos na pesquisa, não denotam necessariamente ausência, podendo a quantidade dos mesmos ser insuficientes para detecção no método utilizado (BRUM *et al.*, 2011).

No estudo de Silva e colaboradores (2016), foram identificados cumarinas, taninos condensados e antraquinonas no extrato do fruto, porém esses metabólitos não foram encontrados nesse estudo (SILVA *et al.*, 2016). Na análise fitoquímica feita em folhas secas de *M. citrifolia* relatadas por Pena (2009), obteve-se a presença de terpenos, flavonoides e



antraquinonas, o que difere do encontrado nesse estudo, ressaltando que somente a presença de terpenos foi correspondente ao mesmo (PENA, 2009). Estudos conduzidos por Faria e colaboradores (2014), confirmam a presença de alcaloides e flavonoides no fruto maduro de *M. citrifolia* (FARIA *et al.*, 2014).

Sampaio (2010) relata que a caracterização fitoquímica completa do fruto *M. citrifolia* ainda não foi totalmente elucidada, no entanto estudos mostram a presença de compostos fenólicos, caracterizando maior grupo de micronutrientes funcionais encontrados em diversas partes da planta e no fruto (SAMPAIO, 2010). Segundo Deng (2011) a sua grande maioria encontra-se na forma das antraquinonas, porém apenas traços destes são encontrados nos frutos (DENG, 2011).

No trabalho descrito por Reyes (2007) no extrato etanólico e aquoso do fruto foram detectados a presença de quinonas livres e esteróides e ausência de taninos, flavonoides, alcaloides e saponinas pelo teste da espuma (REYES, 2007). No entanto, outras pesquisas afirmam a presença de alcaloides, antraquinonas, flavonoides e cumarinas corroborando com os resultados apresentados no presente trabalho (HEINICKE, 1985.; PALACIOS, 2004).

Deve-se levar em consideração os eventuais fatores que podem influenciar nos resultados, tais como, temperatura de armazenamento, minerais presentes no solo (Yang, 2006), condições de coleta, estabilização e época de cultivo (GOBBO-NETO & LOPES, 2007), que pode levar a prováveis alterações na identificação da presença de metabólitos, visto que a *M. citrifolia* tem ampla distribuição geográfica (SILVA, 2015).

Atividade antioxidante das folhas e dos frutos

A figura 1 evidencia os resultados obtidos pelo método DPPH, onde se avaliou-se o potencial antioxidante de cada extrato obtido dos extratos etanólicos das folhas e dos frutos de *M. Citrifolia*.

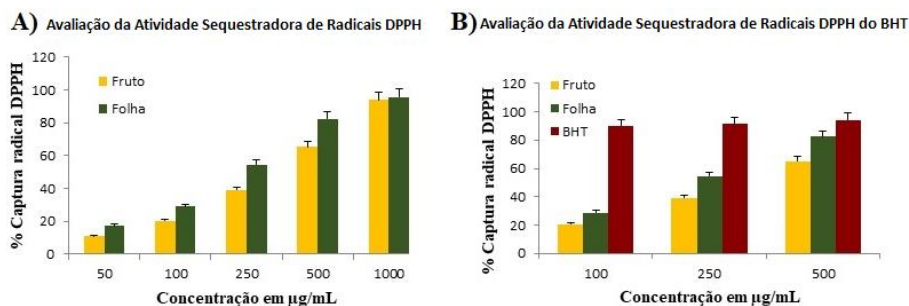


Figura 1: A) Percentual de captura de radical DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazila) em extratos de *M. citrifolia*. B) Percentual de captura de radical DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazila) em extratos de *M. citrifolia* comparado ao BHT (2,6-Di-terc-butil-4-metilfenol).

Em 1995 Brand-Willams e seus colaboradores desenvolveram o método DPPH, que tem como princípio a redução do radical DPPH por antioxidantes, na região do visível de comprimento de onda de 517 nm. Este método está fundamentado na mudança da coloração de uma solução composta por radicais DPPH de cor violeta quando adicionadas substâncias antioxidantes que podem doar um átomo de hidrogênio, mudando sua coloração para amarelo límpido (BRAND-WILLAMS, CUVELIER & BERSET, 1995; HUANG, OU & PRIOR, 2005).

Conforme descrito na Figura 1, todos os extratos apresentaram capacidade de sequestrar o radical DPPH, sendo que em concentrações mais elevadas essa capacidade encontra-se mais acentuada, o que corrobora com resultados descritos por Costa, *et al.*,(2013), que mostra maior atividade antioxidante do fruto de *M. citrifolia* a partir de maiores concentrações (COSTA *et al.*, 2013). Sevalho e Rocha (2017) relatam capacidade antioxidante também para as folhas (SEVALHO & ROCHA, 2017). O antioxidante BHT apresentou poder sequestrador de radicais DPPH de 90,00, 91,37 e 94,19% nas doses de 100, 250 e 500µg/mL respectivamente (Figura 1).

No estudo de Palioto (2015) os flavonoides encontrados foram relevantes, já que alguns desses compostos possuem uma atividade anticarcinogênica, antioxidante e anti-inflamatória. Um destaque do grupo dos flavonoides encontrado na fruta cultivada no Brasil,



foi a antocianina, que tem efeito antioxidante, propriedades anti-inflamatórias, estimula a secreção da insulina e previne a hiperglicemia. Os terpenos como carotenoides, também encontrados, somados com as vitaminas têm efeitos antioxidantes e modulam o metabolismo carcinogênico, além de aumentar a resposta imune, o que torna ainda mais relevante a identificação da presença dos flavonoides encontradas nos frutos e terpenos nas folhas (PALIOTO, 2015).

Burke *et al.*, (2005) sugerem que o consumo de antioxidantes pode trazer benefícios a saúde através da proteção contra a formação de radicais livres (BURKE, CURRAN-CELENTANO & WENZEL, 2005). Chan-Blanco *et al.*, (2007) relata em seu estudo a capacidade antioxidante de *M. citrifolia* de $8\pm 0,4\mu\text{mol}$ (CHAN-BLANCO *et al.*, 2007). A atividade antioxidante de *M. citrifolia* encontrada de $6,27\pm 0,15\mu\text{mol}$, estando esta concentração muito próxima dos valores encontrados em uva $7,0\pm 0,3\mu\text{mol}$ e açaí $6,9\pm 0,2\mu\text{mol}$, que destaca o elevado potencial antioxidante deste fruto (KUSKOSKI, *et al.*, 2006).

De acordo com Sies e Stahl (1995) a caracterização de um bom antioxidante está na sua capacidade de ter uma ótima atuação sobre os radicais livres mesmo que em baixas concentrações. Na menor concentração, tanto as folhas quanto os frutos, apresentaram capacidade de sequestrar o radical DPPH, porém as folhas apresentaram maior atividade nesta concentração (SIES & STAHL 1995).

O teor de compostos fenólicos como flavonoides e taninos está diretamente relacionado à atividade antioxidante (VIEIRA *et al.*, 2011, PESSUTO *et al.*, 2009), o que se confirma pela presença dessas classes de metabólitos no teste de triagem fitoquímica no extrato das folhas (taninos detectados) e frutos (flavonoides detectados).

Toxicidade sobre *Artemia salina* (TAS)

Artemia salina Leach, conhecido popularmente como camarão de água salgada (MICHAEL *et al.* 1956) é um microcrustáceo do ramo *Arthropoda*, classe *Crustaceae*. Utilizando o procedimento descrito por Meyer *et al.*, (1982) foram encontrados valores que conferem a toxicidade frente a *A. salina*, sendo considerada tóxica pela Organização



Mundial de Saúde (OMS), substâncias que apresentem em toxicidade aguda oral valores de CL_{50} menores que $1000\mu\text{g/mL}$ em *A. salina* (MEYER *et al.*, 1982).

Os frutos e as folhas de *M. citrifolia* apresentaram uma CL_{50} igual a 562,34 e 463,52 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. O controle positivo com peróxido de hidrogênio apresentou uma CL_{50} igual a $27 \times 10^{-3}\text{mol/L}$, e o controle negativo todas as larvas de *A. salina* sobreviveram.

O grau de toxicidade e a concentração letal média CL_{50} em extratos de vegetais acima de $1000\mu\text{g/mL}$ são considerados atóxicos, baixa toxicidade em concentrações acima de $500\mu\text{g/mL}$, moderada entre 100 a $500\mu\text{g/mL}$ e muito tóxico quando CL_{50} for inferior a $100\mu\text{g/mL}$.

Os extratos de *M. citrifolia* apresentaram baixa toxicidade para *A. salina* com CL_{50} de 562,32 $\mu\text{g/mL}$ do extrato dos frutos e toxicidade moderada para o extrato das folhas que apresentou CL_{50} 436,52 $\mu\text{g/mL}$.

West *et al.*, (2009) conduziu testes (*in vitro*) em células hepáticas humanas de linhagem celular HepG2, para avaliar mais pontualmente o potencial hepatotóxico do suco do fruto de *M. citrifolia*, o suco não diminuiu a viabilidade das células HepG2 ou induziu o acúmulo de lipídios neutros, também não foram observadas alterações histopatológicas ou evidências de resposta à dose em medições de química hematológica e clínica, incluindo testes de função hepática, presumindo ser controverso que o consumo do suco da fruta *M. citrifolia* possa causar efeitos adversos ao fígado (WEST *et al.*, 2009).

Segundo Bibra (2003) em alguns resultados de estudos foram relatados casos de hepatotoxicidade, sugeridos pelo consumo do suco do fruto. Essa possível toxicidade causou alterações nas enzimas hepáticas de uma das participantes do estudo sobre a segurança do consumo do suco. Por esse motivo e por falta de estudos relacionados com a toxicidade não se podem negligenciar os possíveis danos que o consumo do suco supostamente pode causar no organismo humano (BIBRA, 2003).

Millonig, *et al.*,(2005) sugeriram que os efeitos hepatotóxicos observados poderiam ser causados por antraquinonas (MILLONIG, STADLMANN & WOLFGANG, 2005). Com isso, a identificação de antraquinonas cuja presença era atribuída somente às raízes e folhas



da planta, gerou estudos recentes que têm identificado novos constituintes nos frutos de *M. citrifolia*, sobre os quais existem poucas informações toxicológicas (SILVA *et al.*, 2016; AKIHISA *et al.*, 2007; PAWLUS *et al.*, 2005; KAMIYA *et al.*, 2005).

Para Chan-Blanco *et al.*, (2006), embora estudos tivessem demonstrado que a fruta tem propriedades antibióticas e antioxidantes (*in vitro*), ainda não há evidências científicas que suportam os valores nutricionais e medicinais em humanos (CHAN-BLANCO *et al.*, 2007). Assim, as evidências científicas avaliadas até o momento não comprovam a segurança dos produtos contendo *M. citrifolia* para uso como alimento. Portanto, com o intuito de proteger e promover a saúde da população, os produtos contendo *M. citrifolia* não devem ser comercializados no Brasil como alimento até que os requisitos legais que exigem a comprovação de sua segurança de uso sejam atendidos.

Silva (2015) demonstrou através de resultados obtidos em CL_{50} , tanto via oral, como via intraperitoneal, em camundongos *Swiss* machos, para os extratos dos frutos de *M. citrifolia* considerada $> 5000\text{mg/Kg}$ o que o caracteriza como seguro. No entanto, estudos realizados por Mohamad e colaboradores (2016) demonstraram efeito hepatotóxico em fígados de camundongos devido ao uso crônico de extrato aquoso de *M. citrifolia* (SILVA, 2015).

No presente estudo constatou-se que a CL_{50} tanto nos extratos das folhas quanto dos frutos de *M. citrifolia* nas concentrações de 500, 250 e 125mg/mL foram inferiores a 50% da população de *A. salina*. Nas concentrações de 1000mg/mL no extrato das folhas a taxa de mortalidade da larva foi de 100% e no extrato dos frutos de 70%, demonstrando neste teste toxicidade para *A. salina* apenas nas concentrações de 1000mg/mL. Deste modo conclui-se que os extratos apresentaram uma toxicidade baixa à moderada frente à *A. Salina*.

A moderada toxicidade do extrato das folhas do *M. citrifolia*, encontrada através do teste da *A. Salina*, sugere que a presença de alcaloides pode estar diretamente ligada a esse resultado, tendo em vista não ter identificado a presença de antraquinonas neste estudo, o que em vários estudos atribuem a ocorrência de toxicidade (Mohamad *et al.*, 2016), uma vez que alcaloides tenham como mecanismo de ação a capacidade de desestabilizar membranas biológicas (HYACIENTH & ALMEIDA, 2015).



Contudo, mesmo apresentando estudos que indicam a baixa toxicidade de *M. citrifolia* a ANVISA até o presente momento não considera que as evidências científicas sejam suficientes para comprovar a segurança de produtos alimentícios que contenham *M. citrifolia* em sua composição.

CONCLUSÕES

Nos ensaios fitoquímicos a única classe de metabólitos presente tanto nas folhas quanto nos frutos foram os alcaloides, o qual possivelmente é responsável pela ação antioxidante, assim como os esteroides/triterpenoides e taninos encontrados nas folhas e flavonoides encontrados nos frutos. Porém estudos mais detalhados se fazem necessários para avaliar quais estruturas possuem esta ação e quais estruturas são responsáveis por possíveis efeitos de toxicidade leve a moderada nas larvas de *A. salina*.

Os extratos etanólicos das folhas e dos frutos de *M. citrifolia* apresentaram capacidade de sequestrar radicais livres, no entanto, o extrato etanólico das folhas apresentou esta capacidade mais acentuada em relação ao extrato etanólico dos frutos, obtendo menor consumo de DPPH. Dessa forma, se faz necessário avaliar os extratos em ensaios mais específicos, a fim de identificar isoladamente compostos para definir os principais metabólitos secundários responsáveis pela atividade antioxidante.

Diante da importância que tem alcançado os estudos sobre as propriedades medicinais do fruto *M. citrifolia*, sugere-se que seu uso seja feito com cautela, visto que existem poucos testes realizados em humanos, uma vez que foram relatados possíveis casos de toxicidade por casualidade, também deve-se atentar a proibição da comercialização pela ANVISA que aponta a falta de estudos sistemáticos e que os estudos existentes não são suficientes para conferir segurança a alimentos que contenham *M. citrifolia* em sua composição. O estudo proposto mostra que a CL₅₀ em doses de até 500mg/mL são seguras para a larva *A. salina*. Por conseguinte é essencial a realização de pesquisas que avaliem mais benefícios que esta planta pode trazer à saúde dos consumidores, bem como atestar sua segurança frente ao organismo humano.



Assim, o presente trabalho contribui de forma inédita com dados para continuar estudos para avaliar a segurança do uso de *M. citrifolia* (“Noni”) para a população frente à sua possível toxicidade.

REFERÊNCIAS

AKIHISA, T. *et al.* Anti-inflammatory and potential cancer chemopreventive constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **Journal of Natural Products**, n. 70, p. 754-757, 2007.

AMARANTE, C. B. *et al.* Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia*). **Acta amazonica**, v. 41, p. 431-434, 2011.

BARBOSA, A. F. *et al.* *Morinda citrifolia*: fatos e riscos sobre o uso do noni. **Revista Fitos**, v. 11(2), p. 119-249, 2017.

BASAR, S. *et al.* Analgesic and antiinflammatory activity of *Morinda citrifolia* L. (Noni) fruit. **Phytotherapy research**. V. 24, p. 38–42, 2010.

BECHELENI, F. R. *et al.* IMPORTÂNCIA DO CONSUMO DE NONI (*Morinda citrifolia* Linn) PARA A SAÚDE. **Jornal Faculdade Ciências da Vida**. Faculdade Ciências da Vida, v. 4, n. 1, 2017.

BIBRA-TNO. Report on a clinical study “A single center, double-blind, three dose level, parallel group, placebo-controlled safety study with Tahitian Noni juice in healthy subjects”. **International Study**, 2003.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28 (1), p. 25-30, 1995.

BRASIL. Decreto-lei nº 986, de 21 de outubro de 1969. **ANVISA**, 1969.

BRASIL. Resolução nº 16, de 30 de abril de 1999. **ANVISA**, 1999.

BRASIL. Resolução RDC nº 278, de 22 de setembro de 2005. **ANVISA**, 2005.

BRASIL. Informe Técnico n. 25, de maio de 2007. **ANVISA**, 2007.



BRUM, S. S. *et al.* Esterificação de ácidos graxos utilizando zircônia sulfatada e compósitos carvão ativado/zircônia sulfatada como catalisadores. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1511-1516, 2011.

BURDA, S.; OLESSZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 49(6), p.2774-9, 2001.

BURKE, J. D.; CURRAN-CELENTANO, J.; WENZEL, A. J. Diet and serum carotenoid concentrations affect. **Journal of Nutrition**, v. 135, p. 1208-1214, 2005.

CHAN-BLANCO, Y. *et al.* The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. **Journal of Food Composition and Analysis**, n. 19, p. 645-654, 2006.

CHAN-BLANCO, Y. The ripening and aging of noni fruits (*Morinda citrifolia* L.): microbiological flora and antioxidant compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 1710-1716, 2007.

CORREIA, A. A. *et al.* Caracterização química e físico-química da polpa de noni (*Morinda citrifolia*) cultivado no Estado do Ceará. **Revista Alimentos e Nutrição**, v. 22, p. 609-615, 2011.

COSTA, A. B. *et al.* Atividade antioxidante da polpa, casca e sementes do noni (*Morinda citrifolia* Linn). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 345-354, 2013.

DENG, S. *et al.* Lipoxygenase inhibitory constituents of the fruits of Noni (*Morinda citrifolia*) collected in Tahiti. **Journal of Natural Products**, n. 70, p. 859-852, 2007.

DENG, S.; WEST, J. B. Nutrient and phytochemical analyses of processed noni puree. **Food Research International**, v. 44, ago. 2011.

FARIA, V. C. *et al.* CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR DO FRUTO NONI (*Morinda citrifolia* L.) PRODUZIDO NA CIDADE DE CUIABÁ – MT. **Revista Brasileira de Tecnologia**, Ponta Grossa Paraná, v. 8, n. 1, p. 1208-1215, 2014.

FINNEY, D. J. Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve. **Cambridge: Cambridge University Press**, n. 3^a, p. 333, 1974.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. PLANTAS MEDICINAIS: FATORES DE INFLUÊNCIA NO CONTEÚDO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS. **Química Nova**, Ribeirão Preto, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.



HEINICKE, R. M. The pharmacologically active ingredient of Noni. **Excerpts from Pacific Tropical Botanical Garden Bulletin**, v. 15 (1), 1985.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841-1846, 2005.

HYACIENTH, D. C.; ALMEIDA, S. S. Estudo fitoquímico, toxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antibacteriana de *Pseudoxandra cuspidata* Maas. **Biota Amazônia**, Macapá, v. 5, n. 4, p. 4-7, out. 2015.

KAMIYA, K. *et al.* New anthraquinone and iridoid from the fruits of *Morinda citrifolia*. **Chem Pharm. Bull**, 2005, n. 53, p. 1597-1599.

KUSKOSKI, E. M. *et al.* Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 7-8 2006.

LIN, C. F. *et al.* Lignans and anthraquinones from the fruits of *Morinda citrifolia*. **Natural Product Research**, v. 21, p. 1119-1204, 2007.

MCLAUGHLIN, J. L.; ROGERS, L. L. The use of biological assays to evaluate botanicals. **Drug Information Journal**, New York, v. 32, p. 513-524, 1998.

MEYER, B. N. *et al.* A convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medical Plant Research**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MICHAEL, A. S., THOMPSON, C. G., ABRAMOVITZ. *Artemia salina* as a test organism for bioassay. **Science**, v. 123, p. 464, 1956.

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

MOHAMAD SHALAN, N.A.A., MUSTAPHA, N.M., MOHAMED, S., Chronic toxicity evaluation of *Morinda citrifolia* fruit and leaf in mice, **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 2016. doi: 10.1016/j.yrtph.2016.11.022

NASCIMENTO, L. C. Caracterização Centesimal, Composição Química e Atividade Antioxidante do Noni (*Morinda citrifolia* L.) Cultivado no Município de Zé Doca-MA. **Instituto de tecnologia programa de pós-graduação em ciência e tecnologia de alimentos**, Seropédica, jun. 2012.



PALACIOS, M. Poder curativo e y nutricional del noni “La fruta milagrosa”. **Lima: Ed. Miguel Ángel**, n. 2, p. 198, 2004.

PALIOTO, G. F. Composição centesimal, compostos bioativos e atividade antioxidante de frutos de *Morinda citrifolia* Linn (noni) cultivados no Paraná. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 59-66, 2015.

PAWLUS, A. D. *et al.* An anthraquinone with potent quinine reductase-inducing activity and other constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). **Journal of Natural Products**, v. 68, p. 1720-1722, 2005.

PENA, G. Metabolitos secundarios en los extractos secos de *Passiflora incarnata* L., *Matricaria recutita* L. y *Morinda citrifolia* L. **Revista Cubana Plantas Medicinales**, v. 14, n. 2, 2009.

PESSUTO, M. B. *et al.* Atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. **Química Nova**, v. 32 (2), 2009.

REYES, L. F. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1254-1268, 2007.

SAMOYLENKO, V. *et al.* New constituents from Noni (*Morinda citrifolia*) Fruit Juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 54, p. 6398-6402, 2006.

SAMPAIO, C. G. Estudo químico bioguiado das sementes de *Morinda citrifolia* Linn (NONI) e suas aplicações. **Dissertação (Mestrado em Química na área Química Orgânica) Centro de Ciências, Departamento de Química Orgânica da Universidade Federal do Ceará**. Fortaleza, p. 105. 2010.

SARAIVA, L. C. *et al.* Triagem fitoquímica das folhas de *Moringa oleifera*. **Boletim Informativo Geum**, v. 9, p. 12-19, jun. 2018.

SCOT, N. C.; ELEVITCH, R. C. Noni: The complete guide for consumers and grovers. **Holualoa: Permanet Agriculture Resources**, 2006.

SEVALHO, E. S.; ROCHA, W. C. Potencial antioxidante dos diferentes extratos de *Morinda citrifolia* por TLC-DPPH. **Revista Conexão Ciência**, Coari, v. 12, n. 1, p. 72-77, abr. 2017.

SIES, H.; STAHL, W. itamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.



SILVA *et al.* ANÁLISE FITOQUÍMICA E ENSAIO TOXICOLÓGICO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Morinda citrifolia* (NONI). **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 19, n.1, 2016

SILVA, G. C. *Morinda citrifolia* L. – Investigação científica das propriedades biológicas com base no uso popular. **UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**. Pernambuco. 2015.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L. M.; SILVA, A. O. Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, p. 554-559, 2011.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, Araraquara, v. 27, p. 1-7, ago. 2006.

VEIGA, R. F. A. *et al.* Noni: Frutífera medicinal em introdução e aclimatação no Brasil. **O Agrônomo**, Campinas, v. 57 (1), 2005.

VIEIRA, L. M. *et al.* FENÓLICOS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 888-897, Setembro 2011.

WANG, M. Y. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 23, p. 1127-1141, 2002.

WEST, B. J.; SU, C. X.; JENSEN, C. J. Hepatotoxicity and sub chronic toxicity tests of *Morindacitrifolia* (noni) fruit. **The Journal of Toxicological Sciences**, n. 34, 2009.

WILLIAMS, B. W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, Massy, v. 28, p. 25-30, 1995.

YANG, J. *et al.* 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 (3), p. 627-632, 2010.

YANG, J. *et al.* Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing and storage. **Food Chemistry**, v. 102 (1), p. 302-308, 2007.