

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
**CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE**  
**UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE**  
**CURSO DE BACHARELADO EM NUTRIÇÃO**

**ALANA NATALÍCIA VASCONCELOS DE ARAÚJO**

**INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E  
ANTI-INFLAMATÓRIA DO NONI EM RATOS WISTAR**

**CUITÉ/PB**

**2015**

ALANA NATALÍCIA VASCONCELOS DE ARAÚJO

**INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DO  
NONI EM RATOS WISTAR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição, da Unidade Acadêmica de Saúde, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção de título de Bacharel em Nutrição, com linha específica em Nutrição Experimental.

Orientadora: Prof. Dra. Camila Carolina de Menezes Patrício Santos.

Coorientadora: Prof. Dra. Juliana Késsia Barbosa Soares.

CUITÉ/PB

2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE  
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

A663i Araújo, Alana Natalícia Vasconcelos de.

Investigação da atividade entinociceptiva e anti-inflamatória do noni em ratos wistar. / Alana Natalícia Vasconcelos de Araújo. – Cuité: CES, 2015.

55 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Nutrição) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2015.

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Camila Carolina de Menezes Patrício Santos.

Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Juliana Késsia Soares Barbosa.

1. Atividade analgésica. 2. Morinda Citrifolia Linn. 3. Teste de formalina. I. Título.

ALANA NATALÍCIA VASCONCELOS DE ARAÚJO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição, da Unidade Acadêmica de Saúde, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção de título de Bacharel em Nutrição, com linha específica em Nutrição Experimental.

Aprovado em \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dra. Camila Carolina de Menezes Patrício Santos  
Universidade Federal de Campina Grande  
Orientadora

---

Prof. Dra. Flávia Negromonte Souto Maior  
Universidade Federal de Campina Grande  
Examinadora

---

Prof. Msc. Raphaela Araújo Veloso Rodrigues  
Universidade Federal de Campina Grande  
Examinadora

CUITÉ/PB

2015

A minha mãe, **Maria Brito de Vasconcelos**, anjo transformado em mulher. Contigo aprendi que cada obstáculo pode ser transformado em orgulhosas realizações!

## AGRADECIMENTOS

Ao **meu criador**, pela vida, pelas bênçãos e pela proteção. Este trabalho é a concretização de um sonho, e tem as mãos dele do início ao fim. Agradeço a ele por estar sempre ao meu lado, me dando força e cuidando de mim dia após dia.

Aos meus pais, **Iraildo Araújo Oliveira** e **Maria Brito de Vasconcelos**. Esta conquista também é de vocês!!! Vocês que me ensinaram os valores pessoais e sempre me incentivaram e apoiaram na busca da realização deste sonho, que de muito se privaram para que eu chegasse até aqui. Obrigado por todo carinho que sempre me dedicaram, aqui vai o meu amor e reconhecimento eternos.

As minhas irmãs **Alaine Juliana Vasconcelos da Silva** e **Aline Karoline Vasconcelos de Araújo**. Se hoje cheguei até aqui, foi porque pude contar com vocês, pessoas únicas e especiais. Obrigado pelas demonstrações de afeto e amizade, me incentivando em todos os momentos da minha vida.

Ao meu amor, **Adaiano Farias**, pelo amor e carinho em todos os momentos, pela amizade e companheirismo que me proporciona cada dia que passa, e pela paciência em me acompanhar, ouvir e compreender.

A minha querida orientadora, **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Camila Carolina de Menezes Patrício Santos**, por ter-me acolhido e orientado durante este período importante da minha vida, e de quem adquiri um grande aprendizado. Grandes mestres tem a capacidade de não só transmitir, mas dividir o conhecimento com seus alunos, e a senhora faz isso com excelência.

A minha querida **Co-orientadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Juliana Késsia Barbosa Soares**, seu vasto conhecimento sobre tantos temas e em fazer pesquisas são inspiradores para mim! Agradeço por toda contribuição em minha pesquisa, sem ela não seria possível realizar o experimento com excelência.

As minhas queridas amigas de curso: **Amanda, Cardinally, Janaína, Raquel, Roana e Wilândia** que participaram diretamente da minha formação acadêmica, com quem tive a oportunidade de compartilhar tantos trabalhos em grupo, e cuja amizade e companheirismo foram de extrema importância para a conclusão deste curso. Mais que amigas, vocês são minhas irmãs.

A minha companheira de biotério, **Nuclecia Caetano**, por todo esforço e dedicação em ajudar na pesquisa.

Ao **Jaciel Galdino Melo**, pelo cuidado com os animais do biotério, sempre ajudando na realização dos testes, sendo uma peça fundamental do biotério.

A todos do Biotério, que sempre demonstraram vontade em ajudar, cada um com sua participação nessa conquista.

Muito obrigado a todos por participarem desse momento tão importante. Peço a Deus que os recompense à altura.

“Os que esperam no Senhor, adquirirão sempre novas forças, tomarão asas como de águia, correrão e não fatigarão, andarão e não desfalecerão.”

Isaías 40:31



## RESUMO

ARAÚJO, A. N. V. **Investigação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do noni em ratos Wistar**. 2015. 55f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2015.

A *Morinda citrifolia* Linn é uma espécie largamente usada como recurso terapêutico para o tratamento de várias doenças. A essa planta tem sido atribuídas diversas atividades farmacológicas como: antioxidante, antitumoral, anti-inflamatória, antimicrobiana, dentre outras. Embora muitas das atividades descritas tenham sido observadas em diferentes partes da planta, o seu fruto, conhecido popularmente como noni, tem se destacado, pois são tidos como portadores de várias propriedades nutracêuticas. O presente trabalho teve como objetivo investigar a atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do noni em ratos wistar. Para tal constatação foi realizado o teste da formalina e a medida do edema da pata. Os animais foram divididos em quatro grupos: o grupo experimental e o grupo controle, os quais receberam o extrato aquoso do noni e água destilada por via oral, respectivamente, durante 20 dias; e os grupos padrões para o teste que receberam morfina e indometacina por via intraperitoneal apenas no dia da realização do teste. Os resultados foram analisados no programa Graph Pad Prism e foram considerados significativos quando o  $p < 0,05$ . No teste de formalina o tratamento com o extrato do noni na dose de 75 mg/kg reduziu de forma significativa ( $p < 0,01$ ) a 1ª fase (74,3%) e a 2ª fase (44,9%). Na avaliação do edema de pata, não ocorreu diferença significativa entre os grupos. Portanto, este trabalho demonstrou que o noni apresentou atividades antinociceptiva e inflamatória significativas, sugerindo um envolvimento do sistema opióide em seu mecanismo de ação, e não apresentou atividade anti-edematogênica significativa através do edema de pata.

**Palavras-chaves:** *Morinda citrifolia* Linn. Teste da formalina. Atividade analgésica.

## ABSTRACT

ARAÚJO, A. N. V. **Investigation of the antinociceptive and anti-inflammatory activity of noni in Wistar rats.** 2015. 55f. Work Completion of Course (Graduation in Nutrition) - Federal University of Campina Grande, Cuité, 2015.

The *Morinda citrifolia* is a species widely used as a therapeutic tool for the treatment of various diseases. To this plant has been assigned several pharmacological activities such as: antioxidant, antitumor, anti-inflammatory, antimicrobial, among others. Although many of the described activities have been observed in different parts of the plant, its fruit, popularly known as noni, has been highlighted, because they are taken as having several nutraceutical properties. This study aimed to investigate the antinociceptive and anti-inflammatory activity of noni in wistar rats. For this observation was performed the formalin test and measurement of paw edema. The animals were divided into four groups: experimental group and the control group which received the aqueous noni extract and distilled water by the oral route, respectively, for 20 days; and the standards groups for the test which received morphine and indomethacin intraperitoneally only on the day of testing. The results were analyzed in Graph Pad Prism program and were considered significant when  $p < 0,05$ . In the formalin test treatment with Noni extract at a dose of 75 mg/kg significantly reduced ( $p < 0.01$ ) at 1st phase (74.3%) and the 2nd phase (44.9%). In the evaluation of paw edema was no significant difference between groups. Therefore, this study demonstrated that noni presented antinociceptive and inflammatory significant activities, suggesting an involvement of the opioid system in its mechanism of action, and did not showed anti-endema significant activity through the paw edema.

**Keywords:** *Morinda citrifolia* Linn. Formalin test. Analgesic activity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - <i>Morinda citrifolia</i> Linn. (A) folhas, frutos verdes e maduros; (B) arbusto em seu habitat de origem.....	23
<b>Figura 2</b> - Caixa de Observação.....	34
<b>Figura 3</b> - Paquímetro.....	35

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1 -</b>	Efeito do noni, indometacina e morfina na primeira fase do teste da formalina em ratos.....	37
<b>Gráfico 2 -</b>	Efeito do noni, indometacina e morfina na segunda fase do teste da formalina em ratos.....	38
<b>Gráfico 3 -</b>	Efeito do noni, indometacina e morfina na medida do edema de pata.....	38

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>a. c.</b>	Antes de Cristo
<b>d. c.</b>	Depois de Cristo
<b>cm</b>	Centímetro
<b>e.p.m.</b>	Erro padrão da média
<b>g</b>	Gramas
<b>h</b>	Hora
<b>kg</b>	Quilogramas
<b>m</b>	Metros
<b>mL</b>	Mililitros
<b>mg/kg</b>	Miligrama por quilograma
<b>v.o.</b>	Via oral
<b>i.p.</b>	Via intraperitoneal

## LISTA DE SIGLAS

<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>CEUA</b>	Comissão de Ética no Uso de Animais
<b>LANEX</b>	Laboratório de Nutrição Experimental
<b>TNJ</b>	TAHITIAN NONI® Juice
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde.

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Por centro
±	Mais ou menos
°C	Graus Celsius
®	Marca registrada
<b>B</b>	Beta
<b>K</b>	Kappa
<b>µL</b>	Microlitros
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Íon cálcio
<b>AINE</b>	Antiinflamatório não-esteroidal
<b>CCl<sub>4</sub></b>	Tetracloroeto de carbono
<b>CGRPP</b>	Gene da calcitonina
<b>COX</b>	Ciclooxygenase
<b>COX-1</b>	Ciclooxygenase-1
<b>COX-2</b>	Ciclooxygenase-2
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>IF-γ</b>	Interferon-gama
<b>IL-1β</b>	Interleucina -1β
<b>IL-1</b>	Interleucina-1
<b>IL-6</b>	Interleucina-6
<b>K<sup>+</sup></b>	Íon potássio
<b>McLTP<sub>1</sub></b>	<i>Morinda citrifolia Lipid Transfer Protein</i>
<b>nº</b>	Número
<b>•NO</b>	<i>Nitric Oxide</i> : Óxido nítrico
<b>R\$</b>	Real
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>SAR</b>	<i>Superoxide Anion Radical</i> : radicais ânions superóxido
<b>US\$</b>	<i>United States dollar</i> : dólar Americano
<b>TNF-α</b>	Fator de necrose tumoral-α

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	19
2.1 OBJETIVO GERAL.....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	20
3.1 PLANTAS MEDICINAIS.....	20
3.2 <i>Morinda citrifolia</i> Linn.....	22
<b>3.2.1 Considerações Gerais</b> .....	22
<b>3.2.2 Classificação Botânica</b> .....	22
<b>3.2.3 Constituição Química da Planta</b> .....	24
<b>3.2.4 Potencial Farmacológico da <i>M. citrifolia</i> Linn</b> .....	25
3.3 INFLAMAÇÃO E DOR.....	27
<b>3.3.1 Analgesia</b> .....	29
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	32
4.1 MATERIAL BOTÂNICO.....	32
4.2 ANIMAIS.....	32
<b>4.2.1 Condições Experimentais</b> .....	33
4.3 SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS.....	33
4.4 EQUIPAMENTOS.....	34
<b>4.4.1 Caixa de Observação para o Teste da Formalina</b> .....	34
<b>4.4.2 Paquímetro</b> .....	34
4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA.....	35



<b>4.5.1 Teste da Formalina.....</b>	<b>35</b>
<b>4.5.2 Medida do Edema de Pata.....</b>	<b>36</b>
<b>4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....</b>	<b>36</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
<b>5.1 EFEITO DO NONI NO TESTE DA FORMALINA.....</b>	<b>37</b>
<b>5.2 EFEITO DO NONI NA MEDIDA DO EDEMA DE PATA.....</b>	<b>38</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>39</b>
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>44</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>55</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A exposição do organismo a estímulos danosos conduz uma sensação desagradável chamada dor. Desde seus primórdios, o homem vem utilizando os mais variados recursos, destinados a evitar e combater a dor, sendo esta uma das grandes preocupações da humanidade. A dor é um elemento crucial da homeostase e seu objetivo inicial é alertar sobre estímulos que podem provocar lesão tecidual, permitindo que mecanismos de defesa ou fuga sejam adotados (MILLAN, 1999; JULIUS; BASBAUM, 2001).

As duas principais classes de analgésicos utilizados na atualidade para o tratamento da dor são os opióides (HOSKIN; HANKS, 1991) e os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) (CASHMAN, 1996). O uso destes medicamentos, embora eficazes, apresenta vários efeitos adversos, que representa um fator limitante para o sucesso da terapia analgésica convencional.

Tanto a comunidade médica quanto a indústria farmacêutica, tem buscado meios para tratar a dor, pois apesar da diversidade de substâncias e do progresso no desenvolvimento das terapias de controle da dor, ainda há uma necessidade urgente de analgésicos potentes e eficazes, com menos efeitos adversos, principalmente para o tratamento da dor crônica. Diante desse quadro, inúmeros pesquisadores, em todo mundo, tem voltado seu interesse para a descoberta e validação do uso de novos agentes farmacologicamente ativos a partir de plantas, que possam ser similares à morfina, sem os seus efeitos colaterais e com baixo custo (CALIXTO et al., 2000).

As plantas medicinais exercem um papel significativo na medicina moderna, ofertando drogas de elevado valor terapêutico e difíceis de serem obtidas via síntese química. As ervas proporcionam compostos que podem ser ligeiramente alterados, tornando-os mais ativos ou menos tóxicos. E ainda, as fontes naturais podem ser utilizadas para a aquisição de fármacos com ação similar a dos compostos originais (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1996; TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

Mundialmente difundida, a *Morinda citrifolia* Linn, conhecida popularmente como noni, tem sido utilizada como medicamento pelos povos polinésios durante séculos. Praticamente toda a planta (raiz, folhas, frutos) pode ser utilizada no

tratamento de doenças, sob diferentes formas por várias comunidades do mundo (CHAN-BLANCO et al, 2006).

A *M. citrifolia* Linn pertence à família Rubiaceae, originária do sudoeste da Ásia e seu cultivo e uso tem se dispersado rapidamente por várias partes do Brasil, não apenas por ser abundante em nutrientes, mas devido às propriedades nutracêuticas conferidas à planta e a sua facilidade de adaptação (NELSON, 2006; NASCIMENTO, 2012).

Com base no uso dos povos polinésios, alguns estudos presentes na literatura tiveram como finalidade estudar as propriedades medicinais do noni, incluindo as atividades antioxidantes, anti-inflamatória, antitumoral e anti-helmíntica (WANG et al., 2002). Apesar da literatura científica sobre essa espécie vegetal ser ampla, a quantidade de publicações que avaliaram seus possíveis efeitos farmacológicos e usos terapêuticos ainda é limitada.

Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar se o extrato aquoso do fruto da *M. citrifolia*, possui atividade antinociceptiva e anti-inflamatória, através do teste de formalina e edema de pata em ratos wistar. Este trabalho busca contribuir com a ciência, aumentando o conhecimento sobre os efeitos psicofarmacológicos do fruto, o qual poderá ser um importante candidato ao desenvolvimento de um novo medicamento.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato aquoso do fruto da *Morinda citrifolia* em ratos wistar.

### 2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar o efeito antinociceptivo e anti-inflamatório do extrato aquoso do fruto da *M. citrifolia* por meio do teste da formalina em ratos;
- Investigar o efeito anti-inflamatório por meio do teste do edema de pata.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 PLANTAS MEDICINAIS

O homem faz o uso das plantas medicinais desde os primórdios da civilização, sendo uma das mais antigas formas de prática medicinal. O registro mais antigo que evidencia o uso de produtos vegetais data de 3000 a. c., no qual na Índia hinos Vedas eram cantados em louvor às plantas. A humanidade, por meio da observação da natureza, aprendeu a utilizar as plantas para a alimentação, confecção de moradia e utensílios, vestuário e remédios (SAAD et al., 2009).

Certamente, o conhecimento sobre as propriedades das plantas em culturas tradicionais foi através de um processo de tentativa e erro ao longo dos séculos. Sendo assim, o homem primitivo passou a distinguir que um vegetal palatável servia como alimento, mas outro poderia não alimentar, mas ser útil para aliviar ou curar doenças, ou ainda ser tóxico. Por meio deste conhecimento, as curas mais importantes foram repassadas verbalmente de uma geração para outra, sendo acumulados ao longo do tempo, fazendo parte da cultura popular (BENDAZZOLI, 2000; GURIB-FAKIM, 2006).

A arte de curar passou por muitas etapas na sua evolução; um traço característico das culturas da antiguidade era associar a medicina e o uso de plantas à feitiçaria e superstição. As ideias cosmológicas e mágicas permeavam a prática médica, o que pela ausência de conhecimento científico para explicar e prever as ações curativas das plantas. Um exemplo de tais conceitos era associar a aparência das plantas com suas propriedades medicinais, por exemplo, sucos vermelhos eram associados com sangue e menstruação e certas raízes foram categorizadas com a forma feminina da fertilidade (GURIB-FAKIM, 2006; SAAD et al., 2009).

O processo de extração dos princípios ativos de plantas iniciou-se a partir do isolamento da morfina da *Papaver somniferum* em 1803, pelo farmacêutico Friedrich Wilhelm Adam Sattürner. A partir de então, tornou-se possível obter substâncias puras, como por exemplo, a quinina e a quinidina obtidas da *Cinchona* spp, em 1819, e a atropina da *Atropa belladonna*, em 1831, que passaram a ser usadas em substituição aos extratos vegetais (SCHULZ; HÄNSEL; TYLER, 2001; TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

A partir da segunda metade do século XX, a medicina alopática obteve grande evolução, e as drogas sintéticas passaram a assumir o cenário mundial. Não obstante, foram registrados variados procedimentos clínicos tradicionais utilizando plantas medicinais, mantendo a tradição de seu uso. O conhecimento popular, associado com a existência de dificuldades no atendimento em centros de saúde, na realização de exames e no acesso aos medicamentos, contribui para a utilização das plantas pelas populações dos países em desenvolvimento até os dias atuais (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2005).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), devido à pobreza extrema e à falta de acesso à medicina moderna, cerca de 80% da população dos países em desenvolvimento dependem essencialmente das plantas, no que se refere à atenção primária à saúde. Mas algumas plantas têm sido estudadas cientificamente para a avaliação da sua qualidade, segurança e eficácia. É nesse cenário social que as plantas medicinais e os fitoterápicos atuam como importantes agentes terapêuticos (CALIXTO, 2005).

Os medicamentos a base de ervas estão sendo largamente utilizados em diversos países. O mercado mundial de fitoterápicos representa cerca de US\$ 43 bilhões por ano. Somente nos Estados Unidos, este mercado representa US\$ 5 bilhões anualmente, constituindo o setor que mais cresce no mercado farmacêutico norte-americano. Por exemplo, na África cerca de 80% da população dependem do uso destes medicamentos, os quais representam uma alternativa frente ao alto custo das drogas sintéticas (ASCHWANDEN, 2001).

A participação do Brasil no mercado internacional de plantas medicinais é bastante significativa. Segundo dados da Carteira de Comércio Exterior, o Brasil exportou no ano de 1984 um valor estimado de US\$ 20 milhões em produtos naturais obtidos de plantas, e de novembro de 2003 a outubro de 2006 o segmento de fitoterápicos faturou aproximadamente R\$ 2 bilhões. A utilização da flora medicinal no Brasil está relacionada, em sua maior parte, à coleta extensiva e extrativa de material silvestre' (NEVES, 2001; FREITAS, 2007).

O uso popular, ou mesmo tradicional, de ervas tem sido expressivo em diversas populações, porém não são suficientes para confirmar as plantas medicinais como medicamentos eficazes e seguros. O seu uso medicamentoso deverá ser embasado em experimentos comprobatórios, avaliando os parâmetros de

segurança, os quais não são observados pela utilização popular dessas plantas (OLIVEIRA et al., 2013).

### 3.2 *Morinda citrifolia* Linn

#### 3.2.1 Considerações Gerais

A *Morinda citrifolia* Linn é uma planta conhecida popularmente como noni, sendo originária do Sudeste da Ásia e Austrália, sendo distribuída em toda a região do Pacífico, principalmente nas ilhas da Polinésia Francesa, estando entre as plantas que os colonizadores polinésios do Havaí carregavam nas suas viagens em canoas, porque apreciavam a sua utilização como medicamento e corantes (NELSON, 2001).

Recentemente, o seu fruto tem sido alvo de investigações relativas às suas propriedades nutracêuticas. Como resultado dessa reputação, o seu consumo é atualmente elevado, não apenas nos países produtores, mas também nos Estados Unidos, Japão e Europa (CHAN-BLANCO et al., 2006).

O noni é uma planta popular, cujas propriedades terapêuticas são descritas há mais de 2000 anos, principalmente devido ao seu largo uso pelos povos da Polinésia. Os derivados do noni têm sido utilizados como medicamentos, alimentos, bebidas e para tingimento de tecidos. Em consonância com o uso da medicina tradicional e popular, entre as doenças mais tratadas encontram-se: alergias, artrite, asma, câncer, depressão, diabetes, digestão, aumento de energia, doenças do coração, problemas renais, menstruais, mentais, musculares, obesidade, dor de cabeça, inibição sexual, perda de sono, estresse, AIDS, esclerose múltipla e dependência de drogas (DIXON; MCMILLEN; ETKIN, 1999; WANG et al., 2002; LAVAUT, N.; LAVAUT, J., 2003).

#### 3.2.2 Classificação Botânica

- ✓ Reino: Plantae
- ✓ Divisão: Magnoliophyta
- ✓ Classe: Magnoliopsida

- ✓ Ordem: Gentianales
- ✓ Família: Rubiaceae
- ✓ Gênero: *Morinda*
- ✓ Espécie: *M. citrifolia*
- ✓ Nome científico: *Morinda citrifolia* Linn



**Figura 1** – *Morinda citrifolia* Linn. (A) folhas, frutos verdes e maduros; (B) arbusto em seu habitat de origem.

Fonte: Nelson, 2006.

A planta *Morinda citrifolia* ainda é conhecida popularmente como: *Indian Mulberry*, *Ba Ji Tian*, *Nono or Nonu*, *Cheese Fruit*, *Nhau*, dependendo da cultura de cada lugar (WANG et al., 2002).

A *Morinda citrifolia* é um arbusto perene, que mede de 3 a 6 metros de altura, que por muitas vezes apoia-se em outras árvores como um cipó. A planta apresenta variações na sua estrutura quanto à forma, tamanho do fruto, tamanho da folha e morfologia, palatabilidade, odor da fruta madura, e número de sementes por fruto. Frequentemente, cresce em regiões costeiras ao nível do mar e em áreas florestais com cerca de 1 a 800 m acima do nível do mar, sendo conhecido por ser tolerante a uma ampla variedade de solos, com uma notável capacidade de sobreviver em ambientes hostis (NELSON, 2006).



As folhas possuem coloração verde brilhante, são elípticas, opostas e com margens onduladas, medindo de 10 a 30 cm de comprimento. As flores são pequenas e brancas, e em seguida, amarelas com formato tubular. Os frutos são ovoides, cobertos por secções em formato poligonal, atingindo um comprimento de 12 cm. O fruto imaturo é duro e tem cor verde brilhante. Após a maturação, torna-se macio e amarelado ou branco translúcido, exalando um odor forte desagradável, decorrente da presença do ácido butírico (POTTERAT; HAMBURGER, 2007).

A planta é apontada como uma espécie muito resistente e de boa longevidade. Começa a produzir seus primeiros frutos com aproximadamente um ano de cultivo. Além disso, após ter começado a produção de frutos, ela se torna frequente, produzindo o ano inteiro. Quando é cultivada exposta ao sol e sem a presença de ventos frios, raramente é infectada por doenças ou atacada por insetos (CHAN-BLANCO et al., 2006). No Brasil é bastante recente a tentativa de cultivo do noni, o qual é realizado empiricamente por pessoas que trouxeram algumas sementes do Caribe ou da Polinésia e se tornaram vendedores de sementes e mudas; as informações técnico-científicas sobre o cultivo da planta no Brasil são praticamente inexistentes, tendo relatos de plantio nos estados do Acre, São Paulo, Pará, Sergipe e Ceará (VASCONCELOS; MIRANDA; SOUSA, 2014).

As partes mais utilizadas da planta são: frutos, folhas, cascas, tronco e raízes, envolvidos em combinações de quase 40 remédios de ervas conhecidas e registradas. O período de florescência compreende de novembro a fevereiro, sendo as partes da planta coletadas em diferentes épocas do ano: as raízes são coletadas no inverno, os frutos no verão e as folhas na primavera (WANG et al., 2002).

### **3.2.3 Constituição Química da Planta**

Diversas substâncias fitoquímicas já foram identificadas na *Morinda citrifolia*. A busca por novos constituintes se deu por todas as partes da planta, desde as folhas até a raiz, cada uma apresentando uma composição química diferente. Cerca de 200 compostos foram identificados nas diversas partes da planta, e a maioria dos nutrientes pertencem ao grupo dos compostos fenólicos, ácidos orgânicos e alcaloides (WANG; SU, 2001).

O fruto é constituído por 90% de água e os principais componentes da matéria seca parecem ser os sólidos solúveis, fibras dietéticas e proteínas. A composição protéica no suco do noni corresponde a aproximadamente 11,3% do seu peso seco, e os principais aminoácidos encontrados são o ácido aspártico, ácido glutâmico e isoleucina. Foram identificados minerais como o potássio, enxofre, cálcio e fósforo, que representam 8,4% da matéria seca (CHUNHIENG, 2003). As principais vitaminas encontradas no fruto são o ácido ascórbico (MORTON, 1992; SHOVIC; WHISTLER, 2001) e a pró-vitamina A (DIXON; MCMILLEN; ETKIN, 1999; CHAN-BLANCO et al., 2006).

Em investigações fitoquímicas iniciais da *M. citrifolia*, as raízes apresentaram um amplo espectro de antraquinonas, tais como rubiadin, damnacanthal e alizarin-1-dimethyl ether, derivados naphthoquinone e esteróis; vários iridoids, glicosídeos flavonóides e triterpenos foram relatados a partir das folhas. No fruto, várias classes de metabólitos têm sido descritos, incluindo polissacárideos, ácidos graxos glicosídeos, iridoídes, antraquinonas, cumarinas, lignanas, flavonóides, fitoesteróis, carotenóides, e uma variedade de constituintes voláteis incluindo monoterpenos, ácidos graxos de cadeia curta e ésteres de ácido graxo (POTTERAT; HAMBURGUER, 2007). Heinicke (1985) e Solomon (1999) referiram à presença de um novo componente no fruto noni, a proxeronina: que seria o precursor da xeronina, um alcalóide que interage com proteínas humanas, melhorando a sua funcionalidade. Estes autores atribuem a maioria de todos os efeitos benéficos do noni à xeronina. Entretanto, a caracterização bioquímica e o método usado para purificação não foram publicados (CHAN-BLANCO et al., 2006).

#### **3.2.4 Potencial Farmacológico da *M. citrifolia* Linn**

Tal como supracitado, a *Morinda citrifolia* tem sido utilizada para o tratamento de diversas enfermidades na medicina popular polinesiana há mais de 2000 anos. A essa espécie tem sido atribuídas diversas atividades biológicas, tais como: atividade antioxidante (WANG et al., 2001), anti-inflamatória (MCKOY et al., 2002), analgésica (YOUNOS et al., 1990), imunomoduladora (HIRAZUMI; FURUSAWA, 1999), antibacteriana (ATKINSON, 1956), antitumoral (WANG; SU, 2001), entre outros.

Os efeitos medicinais do noni foram divulgados para o mundo principalmente a partir de 1995, quando o suco foi processado, registrado como TAHITIAN NONI® Juice comercializado por uma empresa norte americana – *Morinda Inc.* e sua companhia filial *Tahitian Noni International* (MÜLLER, 2007).

Foi descrito que o noni inibe o crescimento de certas bactérias, como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morgaii*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella* e *Shigella*. O resultado encontrado estaria associado à presença de compostos fenólicos como acubin, L-asperuloside, alizarin, scopoletin e outras antraquinonas (ATKINSON, 1956).

A ação imunomodulatória foi estudada por Hirazumi e Furusawa (1999) em modelo de carcinoma pulmonar peritoneal de Lewis em camundongos. Foi observado que a administração terapêutica de TNJ ativou as células do exsudato peritoneal e assim aumentou o tempo de sobrevivência dos camundongos. Também foi observado que o TNJ foi capaz de estimular a liberação de inúmeros mediadores de células efectoras murinas, incluindo fator alfa de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), interferon gama (IFN- $\gamma$ ), óxido nítrico ( $\bullet$ NO) entre outros.

Wang e Su (2001) sugeriram que o TNJ possui efeito preventivo contra a formação de tumores originados no DNA celular, concluindo que o suco pode contribuir na prevenção dos estágios iniciais de câncer.

O primeiro caso de hepatotoxicidade relacionado ao consumo de suco do fruto da *Morinda citrifolia* ocorreu na Áustria, onde um homem de 45 anos foi encaminhado ao hospital da Universidade Médica de Insbrueque, apresentando níveis elevados de transaminases. Através da anamnese e dos exames descartou-se a possibilidade de causas patológicas estarem aumentando as transaminases. Depois, o paciente admitiu que estava ingerindo diariamente, nas últimas semanas, um copo de suco do noni. O relato sugeriu uma reação de hepatotoxicidade, o que foi confirmado por uma biopsia hepática. Com a interrupção imediata do consumo do produto, em um mês os níveis de transaminases do paciente estavam normalizados (MILLONIG et al., 2005).

Devido à ausência de estudos conclusivos acerca da segurança do noni e das suas propriedades terapêuticas, a ANVISA liberou em 29 de maio de 2007 o informe técnico nº 25, referente à área de alimentos, que intitulou-se: Esclarecimentos sobre

a comercialização do suco de fruta noni (*Morinda citrifolia*). Neste documento a ANVISA adverte (ANVISA, 2007):

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.

A *Morinda citrifolia* Linn apresenta um elevado potencial terapêutico, porém a literatura ainda é escassa em pesquisas feitas com animais, para confirmar os benefícios atribuídos à planta. Sendo assim, a pesquisa de moléculas com atividade anti-inflamatória e antinociceptiva aumentaria o interesse pelo fruto, o qual pode levar à obtenção de moléculas bioativas, tornando-o um fitoterápico de baixo custo para o tratamento de diversas enfermidades.

### 3.3 INFLAMAÇÃO E DOR

A inflamação é um conjunto complexo de interações entre fatores solúveis e células, e que pode surgir em qualquer tecido, em resposta a lesões traumáticas, infecciosas, isquêmicas, tóxicas ou autoimunes; é uma resposta de defesa natural do organismo. Normalmente, o processo culmina em recuperação e cura, no entanto, se não ocorrer de forma apropriada, a inflamação pode levar a dano tecidual persistente, envolvendo leucócitos, linfócitos e colágeno (NATHAN, 2002). Acredita-se que o primeiro a definir o conceito da inflamação tenha sido o romano Aulus Cornelius Celsus (30 a. c. - 36 d. c.), há quase 2.000 anos. Segundo ele, os quatro sinais cardinais clássicos da inflamação são: *rubore* (vermelhidão), *calore* (aquecimento), *dolore* (dor), e *tumore* (edema). A estes sinais, Galeno, médico da Antigüidade, segundo alguns autores, ou Virchow, segundo outros, no século XIX, acrescentou um quinto sinal, a perda de função (*functio lesae*) da parte afetada (NATHAN, 2002; BECHARA; SZABÓ, 2006).

A inflamação gera uma resposta protetora, em que há a destruição, diluição e neutralização dos agentes nocivos. Ela coloca em movimento os eventos que cicatrizam e reparam os sítios de lesão. Sem a inflamação, as infecções avançariam sem controle e as feridas jamais cicatrizariam (KUMAR et al., 2008).

O processo inflamatório caracteriza-se por (1) vasodilatação dos vasos sanguíneos da área afetada, principalmente capilares e arteríolas, com consequente aumento do fluxo sanguíneo local; (2) aumento da permeabilidade dos capilares, permitindo o extravasamento de plasma para os espaços intersticiais; (3) coagulação do líquido nos espaços intersticiais, devido à quantidade excessiva de fibrinogênio e outras proteínas que saíram dos capilares; (4) migração de grande quantidade de granulócitos e monócitos para os tecidos e (5) dilatação das células teciduais (GUYTON; HALL, 2006).

A inflamação pode ser aguda ou crônica. A inflamação aguda é de início rápido e de curta duração, e caracteriza-se pela exsudação de líquidos e proteínas plasmáticas e um acúmulo de leucócitos. A inflamação crônica é de duração mais longa e é caracterizada pelo influxo de linfócitos, macrófagos e fibrose (KUMAR et al., 2008).

Durante a resposta inflamatória aguda, ocorre o processo de quimiotaxia, quando os leucócitos migram em direção ao local onde o processo inflamatório está acontecendo. Essas células desempenham papel importante no desenvolvimento do processo inflamatório mediante a liberação de mediadores que amplificam a reação inflamatória, como as citocinas, destacando-se a interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ). Estas produzem muitas das respostas pro-inflamatórias, incluindo indução de febre, mobilização e ativação de leucócitos polimorfonucleares, indução das enzimas ciclooxigenase e lipoxigenase, elevação na expressão de moléculas de adesão, entre outras (CARVALHO; LEMÔNICA, 1998; CALIXTO et al., 2004).

A dor pode ser apontada mais como um sinal de alerta da inflamação, do que um evento realmente participativo neste processo. Segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (*International Association for the Study of Pain – IASP*), a dor é definida como sendo “uma experiência sensorial e emocional, associada com um dano tecidual real ou potencial”. A dor tem papel fisiológico e funciona como uma sinalização para percepção de algo que está ameaçando a integridade dos tecidos, incitando o surgimento de respostas reflexas e comportamentais coordenadas, com o objetivo de manter o dano tecidual o mais controlado possível (CHAPMAN; GRAVIN, 1999; MILLAN, 1999; WOOLF, 2000; ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK, 2004).

A sensação dolorosa envolve dois componentes: um que discrimina o estímulo doloroso em relação ao tempo, espaço e intensidade, responsável pela mensuração do estímulo nocivo, chamado de perceptivo-discriminativo (componente sensorial); e um componente aversivo-cognitivo-motivacional (componente motivacional), que atribui emoções à experiência dolorosa, sendo responsável pelas diferentes respostas comportamentais à dor (MELZACK, 1975; CASEY, 2000; ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK, 2004).

A dor pode ser classificada como aguda ou crônica. A dor aguda é uma resposta fisiológica normal, caracterizada por ser pontual, delimitada e que desaparece após cessar o estímulo causador. A dor crônica, por sua vez, persiste por um longo período de tempo, sendo associada a alterações fisiológicas crônicas e mudanças no padrão de transmissão neuronal (LENT, 2010; ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK, 2004).

Torna-se importante distinguirmos entre dois termos: dor e nocicepção. Enquanto a nocicepção refere-se aos processos neurais de codificação e processamento de estímulos nocivos, ou seja, é um processo puramente fisiológico; a dor compreende a percepção da nocicepção, juntamente com um componente subjetivo emocional (ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK, 2004; LOESER; TREEDE, 2008). A nocicepção consiste na recepção dos estímulos pelos receptores da dor (nociceptores) que codificam sinais para fornecer informações ao sistema nervoso central (SNC) da existência do agente causal da dor (JULIUS; BASBAUM, 2001).

Os nociceptores são terminações nervosas livres, distribuídas em todos os tecidos e órgãos, como nas camadas superficiais da pele, na parede que reveste a luz dos órgãos, no parênquima de órgãos sólidos, nas paredes das artérias e veias, nos ossos, nas articulações, exceto no tecido nervoso (GUYTON; HALL, 2006; LENT, 2010).

### **3.3.1 Analgesia**

Analgesia é a palavra utilizada para denominar a atenuação ou o fim da sensação dolorosa, sem ocorrer a perda da consciência. Os medicamentos capazes de causar analgesia são designados por analgésicos, os quais são divididos em três

grupos: analgésicos periféricos, fármacos adjuvantes e os analgésicos de ação central (BRAINER-LIMA, 1997; ALMEIDA; OLIVEIRA, 2006).

Os analgésicos periféricos são representados pelos AINEs, que possuem propriedade analgésica, antitérmica e anti-inflamatória. Seu mecanismo de ação consiste na inibição das enzimas ciclooxigenases (COX) que converte o ácido araquidônico em prostaglandinas e tromboxanos, os quais medeiam o processo inflamatório (FITZGERALD; PATRONO, 2001; FLOWER, 2003). Os AINEs não causam dependência psíquica, mas podem provocar modificações gástricas, hepáticas e renais, reações alérgicas e alterações hematológicas (SAKATA; GOZZANI, 1994).

A indometacina é um fármaco pertencente à categoria do AINEs, apresentando potente ação anti-inflamatória, além de ação analgésica e antipirética. É utilizada em doenças articulares, sendo também indicada em situações não inflamatórias, como doenças degenerativas das articulações, cólicas, febre e dor de cabeça. A sua ação anti-inflamatória, assim como da maioria dos AINEs, parece ser mediada tanto pela inibição da COX, quanto pela inibição da migração de leucócitos polimorfonucleares. Devido a seu efeito inibitório sobre a COX-1, a indometacina apresenta importantes efeitos adversos, restringindo seu uso a doenças inflamatórias severas, e sua toxicidade pode provocar ulcerações, perfurações e hemorragias no trato gastrointestinal (JACOBS; BIJLSMA, 1997; PESKAR, 2001; ROBERTS II; MORROW, 2001).

Os fármacos adjuvantes são utilizados como analgésicos, para tratar dores neuropáticas em pacientes que respondem mal aos analgésicos convencionais. Esse grupo inclui: (1) antidepressivos tricíclicos (imipramina e amitriptilina), que inibem a recaptção da noradrenalina, atuando centralmente; (2) anticonvulsivantes (carbamazepina, gabapentina e fenitoína) que atuam sobre os canais de sódio dependentes de voltagem; (3) anestésicos locais (lidocaína), que bloqueiam descargas espontâneas de terminações nervosas sensitivas lesadas (RANG et al., 2007; BENEDITO, 2009).

Os analgésicos centrais possuem como principal representante os opióides, que são usados para o tratamento da dor moderada a severa (HANKS et al., 2001). O termo opióide se aplica a qualquer substância natural, semi-sintética ou sintética que reage com os receptores opióides, como agonista ou antagonista (MARTIN,

1983). Sua ação envolve a ativação de três receptores opióides ( $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\kappa$ ) localizados tanto em nível central como periférico. Estes receptores são acoplados à proteína  $G_i/o$  que inibem a ativação de canais de  $Ca^{2+}$  e facilitam a abertura dos canais de  $K^+$ , promovendo a hiperpolarização da célula, bloqueando, assim, a liberação dos neurotransmissores (MACHELSKA, 2007).

A morfina é o analgésico opióide padrão, contra o qual os outros são medidos, sendo o mais disponível em uma ampla variedade de formulações (HANKS et al., 2001). É utilizada como anestésico ou para o tratamento da dor crônica sob estrita supervisão, pois pode induzir um alto grau de dependência, além de tolerância (MOORE, 2009).

De acordo com Kissin (2010), de 1960 a 2009, foram introduzidos no mercado 59 medicamentos identificados como analgésicos, os quais ainda permanecem em uso. A morfina e a aspirina merecem destaque entre os fármacos, pois foram lançadas no mercado há mais de um século, e continuam a dominar as publicações em revistas biomédicas. Devido à ineficácia em diversas áreas e aos efeitos adversos, tem servido como impulso para a pesquisa e o desenvolvimento de novos analgésicos.



## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MATERIAL BOTÂNICO

O material de estudo, o extrato aquoso do Noni, foi obtido a partir do fruto da *Morinda citrifolia*, proveniente da região do brejo paraibano. A extração foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba.

O processo consistiu na retirada das sementes, utilizando-se apenas a casca e a polpa. Após a pesagem, o fruto foi cortado em pequenos pedaços e então congelado. Por fim, foi colocado no liofilizador para secar completamente. O liofilizado foi pesado para ser obtido o rendimento e subsequente preparo do material na dose determinada.

A dose de tratamento do fruto da *Morinda citrifolia* foi baseada na dose terapêutica recomendada para humanos, que é 500 mg/dia para o extrato de noni, considerando um adulto de 70kg (7,143mg/kg/dia) (MÜLLER, et al. 2007). Assim, a dose utilizada nesta investigação foi de 75 mg/kg/dia (dose terapêutica x 10). O extrato do noni foi dissolvido em água destilada como veículo, administrado por gavagem em um volume de 1 mL/dia, durante 20 dias.

### 4.2 ANIMAIS

No presente estudo, foram utilizados ratos machos, albinos da linhagem Wistar, pesando entre  $250 \pm 50$ g, com aproximadamente, 2 meses de idade, provenientes do Biotério da Universidade Federal do Pernambuco. Os animais foram alojados no Laboratório de Nutrição Experimental (LANEX) do Centro de Educação e Saúde (CES) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – Campus Cuité-PB, mantidos em gaiolas de polietileno, sob condições monitoradas de temperatura ( $22 \pm 1$  °C), com livre acesso a uma dieta controlada à base de ração tipo pellets e água *ad libitum*, disponível em garrafas de polietileno com bicos de inox. Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara de 6h00 as 18h00.

#### 4.2.1 Condições Experimentais

Todos os experimentos foram executados no período compreendido entre 12h00 e 17h00, sendo os animais utilizados uma única vez e, após os experimentos, eutanasiados por deslocamento cervical. Os observadores foram os mesmos em todos os experimentos, para evitar possíveis interferências durante a observação dos parâmetros.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) - Campus Cuité. Todos os procedimentos experimentais foram analisados e previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFCG, sob o protocolo CEP nº 244/2015 (Anexo A).

O bem-estar dos animais no laboratório foi levado em consideração, de modo que o estresse dos animais experimentais foi minimizado ao máximo. Esta preocupação ocorreu antes, durante e ao final dos experimentos, obedecendo aos Princípios Éticos em Pesquisa Animal, de acordo com a Lei nº 11.794/08.

#### 4.3 SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS

- Água Destilada;
- Bicarbonato de Sódio (Farmax);
- Cloridrato de Morfina (Sigma – E.U.A.);
- Formaldeído 37% (Vetec – Brasil);
- Extrato aquoso do fruto da *Morinda citrifolia*;
- Indometacina (Sigma – E.U.A.);
- Soro Fisiológico Injetável 0,9% (Sanobiol).

A preparação das doses de indometacina, morfina e formalina foi realizada minutos antes de sua utilização: a indometacina foi dissolvida em uma solução de soro fisiológico e bicarbonato de sódio (20 mL de soro para 1 g de bicarbonato), a morfina e formalina foram dissolvidas em água destilada, utilizando-se concentrações decimais de forma a possibilitar a injeção intraperitoneal de 0,1

mL/100 g de peso do animal, com a exceção da formalina que foi injetada, por via intraplantar, sempre na quantidade de 50  $\mu$ L.

#### 4.4 EQUIPAMENTOS

##### 4.4.1 Caixa de Observação para o Teste da Formalina

Este aparato consiste numa caixa triangular em ângulo de 45°, com os lados e altura medindo 30 cm cada, sendo duas paredes formadas por espelho e uma de vidro transparente, que possibilita ao observador um maior campo de visão (Figura 2).



**Figura 2** – Caixa de Observação.

Fonte: Laboratório de Nutrição Experimental, LANEX/UFCG (2014).

##### 4.4.2 Paquímetro

O modelo de aparato utilizado foi o Paquímetro Analógico em Metal 6 com Graduação em Milímetros e Polegadas, modelo 1945, do fabricante Western. Trata-se de uma régua graduada, com capacidade máxima para medir até 16 cm ou 6 polegadas; com encosto fixo, sobre a qual desliza um cursor. O paquímetro possui dois bicos de medição, sendo um ligado à escala e o outro ao cursor (Figura 3).



**Figura 3** – Paquímetro.

Fonte: Laboratório de Nutrição Experimental, LANEX/UFCG (2014).

## 4.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA

### 4.5.1 Teste da Formalina

O teste consiste na injeção de uma solução de formalina a 3%, na região intraplantar da pata posterior direita do rato, o que leva à estimulação dos nociceptores. O tempo que o animal dispender lambendo a pata injetada é apontado como indicativo de resposta nociceptiva. São observadas duas fases: a primeira fase, que normalmente ocorre nos cinco primeiros minutos após a injeção da formalina, levando a uma resposta neurogênica; em seguida há um período de descanso (interfase) de aproximadamente 10 minutos caracterizada por mecanismos inibitórios da dor; e a segunda fase (15-30 minutos) é conhecida principalmente por uma resposta inflamatória (DUBUISSON; DENNIS, 1977; HUNSKAAR; FASMAR; HOLE, 1987; WHEELER-ACETO; PORRECA; COWAN, 1990; VAZ et al., 1996).

Foram utilizados quatro grupos (n=8), dos quais dois receberam por meio de gavagem, os seguintes pré-tratamentos: o grupo controle recebeu 1 mL/dia de água destilada e o grupo noni recebeu 1 mL/dia do extrato aquoso do noni, durante 20 dias. Os outros dois grupos receberam morfina e indometacina no último dia de tratamento, por via intraperitoneal na dose de 0,1 ml/100 g de peso animal, sendo estas duas últimas, drogas padrões. No 20º dia, os quatro grupos receberam 50 µL de solução de formalina 3% (que consiste em 1,2% de formaldeído em solução salina), que foi injetada na região intraplantar da pata posterior direita dos ratos, e

imediatamente foram colocados nas caixas de observação, sendo então registrado o tempo total de lambida da pata que recebeu a formalina durante 5 minutos (1ª fase). Após um período de 10 minutos, novamente contabilizou-se o parâmetro citado por mais 15 minutos (2ª fase).

#### 4.5.2 Medida do Edema de Pata

Ao final do teste da formalina, foi realizada a aferição da medida do edema de pata dos quatros grupos de ratos, sendo medido na base da pata traseira direita, utilizando-se um paquímetro (PETRICEVIC; WANEK; DENKO, 1978; GUIDON et al., 2007). Este teste tem sido frequentemente utilizado para avaliar o efeito anti-edematogênico de produtos naturais (THOMAZZI et al., 2010), gerando uma resposta inflamatória, que é normalmente quantificada pelo aumento no tamanho da pata (edema) (MORRIS, 2003).

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando-se o teste de Análise de Variância (ANOVA) com uma classificação (one-way). Os valores estão expressos em média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m.), sendo os resultados considerados significativos quando apresentarem  $p < 0,05$ . Foi realizado o Teste de Dunnet e o Teste t Student como pós-testes.

Os dados numéricos foram aplicados no programa estatístico Graph Pad Prism, versão 5.02 (GraphPad Software Incorporated, San Diego, USA).

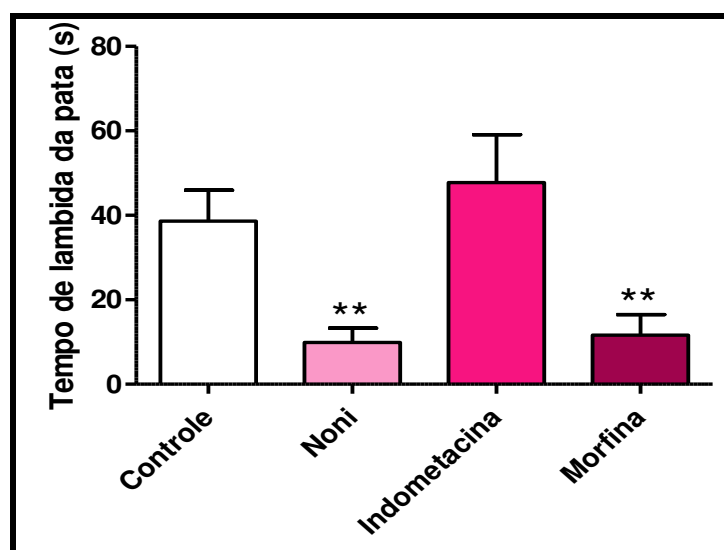
A percentagem de inibição foi determinada usando a seguinte fórmula (REANMONGKOL et al., 1994):

$$\% \text{ inibição} = 100 \times (\text{controle} - \text{experimental}) / \text{controle}$$

## 5 RESULTADOS

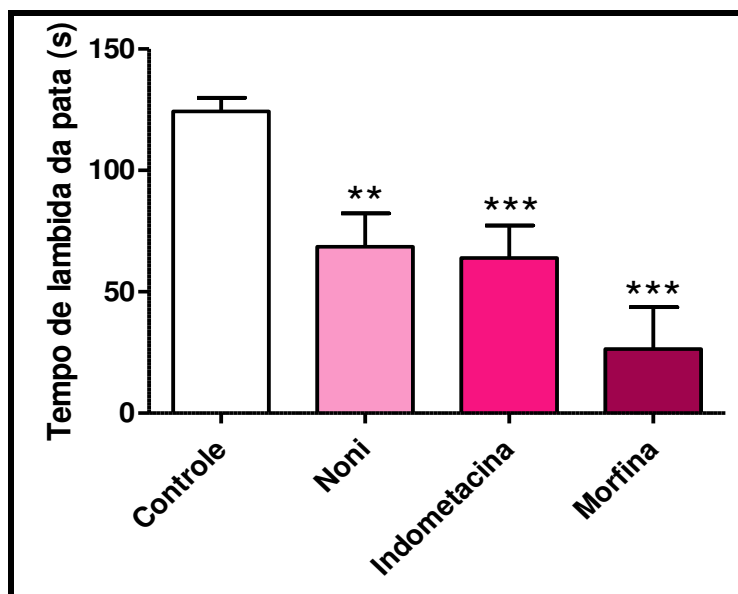
### 5.1 EFEITO DO NONI NO TESTE DA FORMALINA

Os resultados obtidos durante a primeira fase do teste da formalina podem ser observados no gráfico 1. Os ratos tratados com noni apresentaram uma diminuição significativa no tempo de lambida da pata, com valor de inibição de 74,3% ( $9,9 \pm 7,3$ ) em relação ao grupo controle ( $38,6 \pm 7,3$ ). A indometacina não foi capaz de reduzir este parâmetro ( $47,8 \pm 11,4$ ), mas a morfina diminuiu significativamente, apresentando 69,9% ( $11,6 \pm 4,9$ ) de inibição.



**Gráfico 1** - Efeito do noni, indometacina e morfina na primeira fase do teste da formalina em ratos. Valores expressos em média  $\pm$  e.p.m. ( $n=8$ ). \*\* $p<0,01$  vs controle (ANOVA "one-way" seguido pelo Dunnet / teste t de Student).

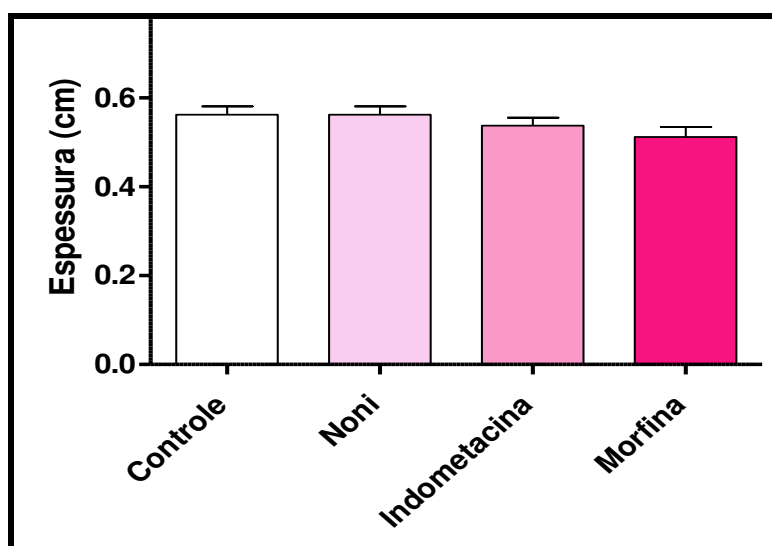
Na segunda fase do teste da formalina (Gráfico 2), o noni apresentou 44,9% ( $68,5 \pm 13,8$ ) de inibição do tempo de lambida da pata em relação ao grupo controle ( $124,3 \pm 5,7$ ). Os grupos tratados com indometacina e morfina também reduziram significativamente este parâmetro, com 48,6% ( $63,9 \pm 13,4$ ) e 78,8% ( $26,3 \pm 17,2$ ) de inibição, respectivamente.



**Gráfico 2** - Efeito do noni, indometacina e morfina na segunda fase do teste da formalina em ratos. Valores expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=8). \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 vs controle (ANOVA “one-way” seguido pelo Dunnett / teste t de Student).

## 5.2 EFEITO DO NONI NA MEDIDA DO EDEMA DE PATA

Na análise da medida do edema de pata não houve diferença significativa entre os grupos (Gráfico 3).



**Gráfico 3** - Efeito do noni, indometacina e morfina na medida do edema de pata. Valores expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=8). p<0,05 vs controle (ANOVA “one-way” seguido pelo teste Dunnett / de Student)

## 6 DISCUSSÃO

As plantas medicinais têm sido bastante utilizadas na medicina moderna como terapia complementar. Isto está relacionado com a grande diversidade de plantas que muitos países possuem, assim como, com a facilidade de obtenção e o baixo custo, bem como à ampla variedade de metabólitos secundários presentes nas ervas que possuem várias atividades biológicas (FARNSWORTH et al., 1985; SIMÕES; SPITZER, 2004).

A literatura tem apresentado numerosos estudos sobre a composição química das diferentes partes da *M. citrifolia* Linn. Esses estudos têm revelado que a planta apresenta compostos com potencial biológico ativo, confirmando algumas das atividades biológicas descritas pelos povos polinésios (PAWLUS; KINGHORN, 2007). Muitas das propriedades terapêuticas até então relatadas sobre a planta têm sido associadas a diferentes metabólitos secundários. Um levantamento bibliográfico realizado nos últimos 10 anos por Sampaio (2010) revelou 19 metabólitos secundários isolados da espécie *Morinda citrifolia* Linn, que possuem atividade biológica confirmada.

Tendo em vista que estudos tem relatado a existência de atividades analgésica e anti-inflamatória para diferentes partes da planta (BASAR et al., 2010; OKUSADA et al., 2011), o objetivo desse estudo foi investigar as possíveis atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do fruto da *Morinda citrifolia*, através de uma metodologia *in vivo*. A via de administração adotada para o estudo do noni foi a via oral (v.o.), por ser de fácil procedimento e por reproduzir a principal maneira de uso da população.

A dor pode ser caracterizada no animal por meio do estímulo nociceptivo (sensorial). O uso de diferentes estímulos nociceptivos, assim como a estereotipia da gênese dos sinais e sintomas da inflamação, são úteis na avaliação de uma droga, pois revela a verdadeira natureza antinociceptiva e anti-inflamatória da substância, através da produção do fenômeno doloroso e inflamatório com diferentes características no animal (ARAÚJO, 2007; LAPA et al., 2007).

Para investigar o efeito antinociceptivo e anti-inflamatório do noni, foi utilizado o teste da formalina, que é o modelo de dor clínica mais validado. Compreende um modelo bifásico de comportamento, usado para verificar a resposta do animal a uma



dor contínua, gerada por injúria tecidual (BHANDARE et al., 2010), produzida pela injeção intraplantar de formalina na pata posterior direita do rato, sendo avaliado o tempo que o animal permanece lambendo a pata injetada. Este teste é caracterizado por apresentar duas fases distintas: uma primeira denominada de fase neurogênica e uma posterior ou tardia denominada de fase inflamatória. A primeira fase (0-5 min) começa imediatamente após a injeção de formalina e possui curta duração, resultando provavelmente, da estimulação direta dos nociceptores, causada pela ativação das fibras C. Esta fase, denominada fase neurogênica, caracterizada pela liberação de mediadores como serotonina, substância P, cininas, histamina e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP). Em seguida, há um período de interfase (5-15 min), que é caracterizado pela ativação dos mecanismos endógenos da antinocicepção (nesse período, o parâmetro não é contabilizado). Na sequência, ocorre uma segunda fase (15-30 min), denominada de fase inflamatória, sendo mais duradoura e persistente, levando à formação e/ou liberações de mediadores como citocinas, eicosanóides, cininas, glutamato e óxido nítrico (COLLIER et al., 1968; LE BARS; GOZARIU; CADDEN, 2001; CHICHORRO et al., 2004; TASSORELLI et al., 2006; GONÇALVES et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2008; ARAÚJO et al., 2009; QUINTANS-JÚNIOR et al., 2011).

É descrito na literatura que drogas que atuam centralmente, tais como os analgésicos opióides, apresentam efeitos tanto na nocicepção de ação central (1ª fase), como na nocicepção de ação periférica (2ª fase), pois atuam bloqueando a sequência de transdução nociceptiva via SNC. Já as drogas de ação periférica, como os AINES, apenas exercem efeitos na nocicepção inflamatória desencadeada na 2ª fase do teste (SHIBATA et al., 1989; FISCHER et al., 2008).

Os resultados do presente trabalho mostram que o noni suprimiu ambas as fases no teste da formalina (Gráfico 1 e 2), sendo o efeito mais pronunciado na 1ª fase, na qual, apresentou uma inibição do parâmetro em 74,3%, o que sugere que o noni possui ação analgésica central, não sendo descartados mecanismo periféricos, podendo estar associado a um efeito anti-inflamatório. Além disso, foi demonstrado que a morfina (droga padrão – analgésico opióide) inibiu ambas as fases (69,9% e 78,8%, respectivamente), enquanto que a indometacina (droga padrão – AINE) inibiu apenas a 2ª fase (48,6%). Tais resultados corroboram o estudo realizado por Campos (2013), no qual ratos tratados por via oral e intraperitoneal com 8 mg/kg da

proteína isolada da semente da *Morinda citrifolia* (McLTP1), em um único dia, reduziu de forma significativa ambas as fases (1ª fase - 51,18% i.p. e 32,74% v.o.; 2ª fase - 77,99% i.p. e 65,12% v.o.), porém a inibição foi mais pronunciada na fase inflamatória, podendo estar relacionada com a diferente constituição química das partes da planta.

O teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético é outro protocolo experimental de nocicepção, sendo extensivamente utilizado como ferramenta para a avaliação de novos agentes com propriedades analgésicas e/ou antiinflamatórias (COLLIER et al., 1968). A atividade analgésica da *Morinda citrifolia* foi estudada por Younos et al. (1990), em camundongos. O extrato aquoso liofilizado das raízes da planta administrado em doses de 800mg/kg via intraperitoneal, reduziu significativamente o número de contorções abdominais. Esse efeito foi antagonizado por naloxona o que indicou um efeito central tipo morfínico, apoiando os resultados da presente pesquisa.

O teste da placa quente também é utilizado para avaliar a nocicepção, sendo um teste sensível e específico para determinar drogas com atividade no SNC, como os analgésicos opióides (NEMIROVSKY et al., 2001; SULAIMAN et al., 2009; ONG et al., 2011), ao passo que analgésicos que atuam periféricamente são inativos (SRINIVASAN et al., 2003; SHI et al., 2011). Através deste teste, Basar et al. (2010) ofereceu aos ratos 10% de purê concentrado do noni na água dos ratos durante 4 dias. O resultado mostrou que o noni reduziu a sensibilidade à dor comparativamente com o tramadol (analgésico central).

Investigando a atividade inibitória de enzimas ciclooxigenase (COX-1 e COX-2) do TNJ in vitro, Su et al. (2001) demonstraram que houve inibição seletiva nessas enzimas. Suas atividades foram comparadas com alguns anti-inflamatórios tradicionais não esteroidais (AINES), como a aspirina, indometacina e um inibidor seletivo da COX-2, o celecoxibe. Os resultados mostraram que a seletividade para a inibição da COX-2 do TNJ é comparável com aquela do celecoxibe e sem efeitos colaterais.

O edema de pata é outro método utilizado para analisar os processos inflamatórios, assim como a atividade de fármacos com propriedades anti-inflamatórias (CAMPOS, 2013). O edema inflamatório ocorre através da interação entre substâncias que aumentam a permeabilidade vascular, como a histamina e a

bradicinina, com mediadores que causam tão somente vasodilatação, como é o caso das prostaglandinas E<sub>2</sub>. Apesar de estes últimos serem incapazes de induzir edema por si só, eles aperfeiçoam a atuação de outros mediadores, aumentando o aporte sanguíneo e, conseqüentemente, a pressão de perfusão nas vênulas da região inflamada (LAPA et al., 2007). Neste estudo, o edema de pata foi medido logo após o teste de formalina, não obtendo diferença significativa entre os grupos experimentais.

McKoy, Thomas e Simon (2002), demonstraram que o extrato aquoso do suco do noni inibiu o edema de pata em ratos induzido por carragenina, quando administrado intraperitonealmente. As doses de 10 e 200 mg/kg do extrato, também foram capazes de reduzir o edema de pata induzido por bradicinina. Evidenciando o poder anti-inflamatório do fruto, Campos (2013) analisou o edema de pata induzido pela Carragenina em camundongos. O tratamento intraperitoneal e oral com a proteína isolada da semente da *Morinda citrifolia* (McLTP1) na dose de 8mg/kg, inibiu a formação do edema em 42,30% e 38,46%, respectivamente. Tais achados diferem do presente estudo.

Dessa forma, é necessário avaliar o edema de pata em horários diferentes após o teste de formalina, a fim de esclarecer a porcentagem de inibição da formação do edema pelo noni.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados obtidos no presente estudo, fica evidente que o noni:

- Apresentou atividade antinociceptiva, tanto em nível central como periférico, evidenciada nos modelos animais utilizados, sugerindo um envolvimento do sistema opióide em seu mecanismo de ação.
- Não apresentou atividade anti-edematogênica significativa através do edema de pata induzido pela formalina.

Estes resultados contribuem para as informações sobre as atividades analgésica e anti-inflamatória do noni, uma vez que foi estudado o fruto, parte mais usada pela população. Além disso, incentivam a realização de estudos farmacodinâmicos, farmacocinéticos, de toxicidade e clínicos da planta *Morinda citrifolia*, para a validação de seu uso no tratamento da dor e da inflamação.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Informe técnico nº 25, de 29 de maio de 2007. **Esclarecimentos sobre as avaliações de segurança realizadas de produtos contendo *Morinda Citrifolia*, também conhecida como Noni**. Disponível em:

<[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/25\\_290507.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/25_290507.htm)>. Acesso em: 02 janeiro 2015.

ALMEIDA, R. N.; OLIVEIRA, T. M. L. Triagem farmacológica comportamental. In: ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap. 11, p. 131-137.

ALMEIDA, T. F.; ROIZENBLATT, S.; TUFIK, S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. **Brain Research**, v. 1000, n. 1-2, p. 40-56, 2004. ALONSO, J. R. **Tratado de Fitomedicina: Bases clínicas y farmacológicas**. 1. ed. Buenos Aires: ISIS EDICIONES, 1998.

ARAÚJO, F. L. O. **Estudo dos efeitos antinociceptivos e antiinflamatórios de (o-metil)-n-benzoil tiramina (riparina I) de *Aniba riparia* (Nees) Mez (Lauraceae) em camundongos**. 124f. 2007. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

ARAÚJO, F. L. O.; MELO, C. T. V.; ROCHA, N. F. M.; MOURA, B. A.; LEITE, C. P.; AMARAL, J. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; GUTIERREZ, S. J. C.; VASCONCELOS, S. M. M.; VIANA, G. S. B.; SOUSA, F. C. F. Antinociceptive effects of (O-methyl)-N-benzoyl tyramine (riparin I) from *Aniba riparia* (Nees) Mez (Lauraceae) in mice. **Naunyn-Schmied. Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 380, p. 337-344, 2009.

ASCHWANDEN, C. **Herbs for health, but how safe are they?** Bull World Health Organ, Geneva, v. 79, n. 7, p. 691-692, 2001.

ATKINSON, N. Antibacterial substances from flowering plants. 3. Antibacterial activity of dried Australian plants by rapid direct plate test. **Australian Journal of Experimental Biology**, v. 34, p. 17-26, 1956.

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

BECHARA, G. H.; SZABÓ, M. P. J. **Processo inflamatório**. 1. Alterações Vasculares e Mediação Química. Disponível em: <[http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/patologia/GERVASIOHENRIQUEBECHARA/inflam\\_aspectosvasculares2006.pdf](http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/patologia/GERVASIOHENRIQUEBECHARA/inflam_aspectosvasculares2006.pdf)>. Acesso em: 03 janeiro 2015.

BENDEZZOLI, W. S. Fitomedicamentos: perspectivas de resgate de uma terapia histórica. **O Mundo da Saúde**, v. 24, n. 2, p. 123-126, 2009.

BENEDITO, R. B. **Efeito antinociceptivo do monoterpeno (S)-(-)-álcool perílico em camundongos**. 2009. 85f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal de João Pessoa, João Pessoa, 2009.

BHANDARE, A. M.; KSHIRSAGAR, A. D.; VYAWAHARE, N. S.; HADAMBAR, A. A.; THORVE, V. S. Potential analgesic, anti-inflammatory and antioxidant activities of hydroalcoholic extract of *Areca catechu* L. nut. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 3412-3417, 2010.

BRAINER-LIMA, P. T. Opióides e receptores de membrana celular. Revisão atualizada. **Neurobiologia**, v. 4, p. 149-158, 1997.

CALIXTO, J. B.; BEIRITH, A.; FERREIRA, J.; SANTOS, A. R. S.; FILHO, V. C.; YUNES, R. A. Naturally occurring antinociceptive substance from plants. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 401-418, 2000.

CALIXTO, J. B.; CAMPOS, M. M. OTUKI, M. F.; SANTOS, A. R. S. Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part II: Modulation of Pro-Inflammatory Cytokines, Chemokines and Adhesion Molecules. **Planta Medica**, v. 70, p. 93-103, 2004.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 131-134, 2005.

CAMPOS, D. C. O. **Isolamento de um princípio ativo de natureza proteica de sementes de *Morinda citrifolia* L. com potencial para alívio da inflamação e da dor**. 2013. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2013.

CASEY, K. L. The imaging of pain: background and rationale, In: CASEY, K.L.; BUSHNELL, M.C. **Pain Imaging**, 2000, p. 1-29.

CASHMAN, J. N. The mechanisms of action of NSAIDs in analgesia. **Drugs**, v. 52, p. 13-23, 1996.

CARVALHO, W. A.; LEMÔNICA, L. Mecanismos Celulares e Moleculares da Dor Inflamatória. Modulação Periférica e Avanços Terapêuticos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 48, p. 137-158, 1998.

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.

CHAPMAN, C. R.; GAVRIN, J. Suffering: the contributions of persistent pain. **The Lancet**, v. 353, n. 9171, p. 2233-2237, 1999.

CHICHORRO, J.G.; LORENZETTI, B.B.; ZAMPRONIO, A.R. Involvement of bradykinin, cytokines, sympathetic amines and prostaglandins in formalin-induced orofacial nociception in rats. **British Journal of Pharmacology**, v.141, p.1175-1184, 2004.

CHUNHIENG, T. **Développement de nouveaux neutraceutiques à partir de grains et fruits d' origine tropicale: application a la noix du Brésil *Bertholettia excels* et au fruit de *Camboje Morinda citrifolia***. 2003. 181f. These (Docteur es Procédés Biotechnologiques et Alimentaires) – Université de Nancy, Lorraine, 2003.

COLLIER, H. O. J.; DINNEEN, J. C.; JOHNSON, C. A.; SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. **British Journal of Pharmacological Chemotherapy**, v. 32, p. 295-310, 1968.

DIXON, A. R.; MCMILLEN, H.; ETKIN, N. L.; Ferment this: the transformation of Noni, a traditional Polynesian medicine (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae). **Economic Botany**, v. 53, p. 51-68, 1999.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S. G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brainstem stimulation in rats and cats. **Pain**, v. 4, p. 161-174, 1977.

FARNSWORTH, N. R.; AKERELE, O.; BINGEL, A. S.; SOEJARTO, D. D.; GUO, Z. Medicinal plants in therapy. **Bulletin World Health Organization**, v. 63, n. 6, p. 965-981, 1985.

FISCHER, L. G.; SANTOS, D.; SERAFIN, C.; MALHEIROS, A.; DELLE MONACHE, F.; DELLE MONACHE, G.; CECHINEL FILHO, V.; SOUZA, M. M. Further Antinociceptive Properties of Extracts and Phenolic Compounds from *Plinia glomerata* (Myrtaceae) Leaves. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 2, p. 235-239, 2008.

FITZGERALD, G. A.; PATRONO, C. The Coxibs, Selective Inhibitors of Cyclooxygenase-2. **New England Journal of Medicine**, v. 345, p. 433-442, 2001.

FLOWER, R. J. The development of COX2 inhibitors. **Nature Reviews Drug Discovery**. v. 2, n. 3, p. 179-191, 2003.

FREITAS, A. **Estrutura de mercado do segmento de fitoterápicos no contexto atual da indústria farmacêutica brasileira**. Ministério da Saúde, 2007. Disponível em: <[http://www.biofitoamazon.com.br/componentes/tabs\\_download.php?Cod=72](http://www.biofitoamazon.com.br/componentes/tabs_download.php?Cod=72)>. Acesso em: 22 fevereiro 2015.

GONÇALVES, J. C. R.; OLIVEIRA, F. S.; BENEDITO R. B.; SOUSA, D. P.; ALMEIDA, R. N.; ARAÚJO, D. A. M. Antinociceptive activity of (-)-carvone: evidence of association with decreased peripheral nerve excitability. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 5, p. 1017-1020, 2008.

GUINDON, J.; DESROCHES, J.; BEAULIEU, P. The antinociceptive effects of intraplantar injections of 2-arachidonoyl glycerol are mediated by cannabinoid CB2 receptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 150, n. 6, p. 693-701, 2007.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1-93, 2006.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. 1152p.

HANKS G. W.; CONNO, F.; CHERNY, N.; HANNA, M.; KALSO, E.; MCQUAY, H. J.; MERCADANTE, S.; MEYNADIER, J.; POULAIN, P.; RIPAMONTI, C.; RADBRUCH, L.; CASAS, J. R.; SAWE, J.; TWYXCROSS, R. G.; VENTAFRIDDA, V. Morphine and alternative opioids in cancer pain: the EAPC recommendations. **British Journal of Cancer**, v. 84, n. 5, p. 587-593, 2001.

HEINICKE, R. M. The pharmacologically active ingredient of noni. **Pacific Tropical Botanical Garden Bulletin**, v. 15, n. 1, p. 10-14, 1985.



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

HOSKIN, P. J.; HANKS, G. W. Opioid agonist-antagonist drugs in acute and chronic pain states. **Drugs**, v. 41, p. 326-344, 1991.

HUNSKAAR, S.; FASMAR, O. B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, p. 69-76, 1985.

JACOBS, J. W. G.; BIJLSMA, J. W. J. NSAIDS: a critical appraisal. **Netherlands Journal of Medicine**, v. 51, p. 198-204, 1997.

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, p. 203-210, 2001.

KISSIN, I. The development of new analgesics over the past 50 Years: a lack of real breakthrough drugs. **Anesthesia and Analgesia**, v. 110, p. 780-789, 2010.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; MITCHEL, R. N. Inflamação Aguda e Crônica. In: \_\_\_\_\_ **Robbins, Patologia Básica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. Cap. 2.

LAPA, A. J. et al. Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais. In: Reunião da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência – SBPC, 59., 2007, Belém. **Livro...** Belém: SBPC, 2007.

LAVAUT, N. E. G.; LAVAUT, J. A. G. *Morinda citrifolia* Linn: potencialidades para su utilización em la salud humana. **Revista Cubana de Farmácia**, v. 37, p. 1, 2003.

LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. W. Animal Models of Nociception. **Pharmacological Reviews**, v. 53, p. 597-652, 2001.

LENT, R. **Cem bilhões de neurônios**: conceitos fundamentais de neurociência. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2010. 786p.

LOESER, J. D.; TREEDE, R. D. The Kyoto of IASP Basic Pain Terminology. **Pain**, v. 137, p. 473-477, 2008.

MACHELSKA, H. Targeting of opioid-producing leukocytes for pain control. **Neuropeptides**, v. 41, p. 355-363, 2007.

MARTIN, W. R. Pharmacology of opioids. **Pharmacological Reviews**, v. 35, n. 4, p. 283-323, 1983.

MCKOY, M. G.; THOMAS, E. A.; SIMON, O. R. Preliminary Investigation of the Anti-inflammatory Properties of an Aqueous Extract from *Morinda citrifolia* (Noni). **Proceedings of the Western Pharmacology Society**, v. 45, p. 76-78, 2002.

MELZACK, R. The McGill pain questionnaire: major properties and scoring methods. **Pain**, v. 1, n. 3, p. 277- 299, 1975.

MILLAN, M. J. The induction of pain: na integrative review. **Progress in Neurobiology**, v. 57, n.1, p. 1-164, 1999.

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

MOORE, N. D. In search of an ideal analgesic for common acute pain. **Acute Pain**, v. 11, p. 129-137, 2009.

MORRIS, C. J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. **Methods in Molecular Biology**, v. 225, p. 115-121, 2003.

MORTON, J. F. The ocean-going Noni, or Indian mulberry (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae) and some of its "colourful" relatives. **Ecological Botony**, v. 46, n. 3, p. 241-256, 1992.

MÜLLER, J. C. **Toxicidade Reprodutiva da *Morinda citrifolia* Linn.** 2007. 103f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

NASCIMENTO, L. C. S. **Caracterização Centesimal, Composição Química e Atividade Antioxidante do Noni (*Morinda Citrifolia* L.) Cultivado no Município de Zé Doca-MA.** 2012. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio De Janeiro, Seropédica, 2012.  
NATHAN, C. Points of control in inflammation: Review articles. **Natura**, v. 420, p. 846-852, 2002.

NELSON, S. C. Noni cultivation in Hawaii. **Fruit and Nuts**, n .4, p. 1-4, 2001.

NELSON, S. C. *Morinda citrifolia* L. (noni). In: ELEVITCH, C. R. **Traditional Trees of Pacific Islands: Their Culture, Environment, and Use**. Holualoa: Permanent Agriculture Resources, 2006. p. 513-530.

NEVES, M. C. M. **Plantas medicinais: diagnóstico e gestão**. Brasília: IBAMA, v. 35, 2001. 52p.

NEMIROVSKY, A.; CHEN, L.; ZELMAN, V.; JURNA, I. The antinociceptive effect of the combination of spinal morphine with systemic morphine or buprenorphine. **Anesthesia and analgesia**, v. 93, p. 197-203, 2001.

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 CHCl<sub>3</sub>-soluble phase and its main active component, damnacanthal, isolated from the root of *Morinda citrifolia*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 34, n. 1, p. 103-107, 2011.

OLIVEIRA, F. S.; SOUSA, D. P.; ALMEIDA, R. N. Antinociceptive effect of hydroxydihydrocarvone. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.31, p.588-591, 2008.

OLIVEIRA, A. C. B.; OLIVEIRA, A. P.; GUIMARÃES, A. L.; R. A.; SILVA, F. S.; REIS, S. A. G. B., RIBEIRO, L. A. A.; ALMEIDA, J. R. G. S. Avaliação Toxicológica pré-clínica do chá das folhas de *Morus nigra* L. (Moraceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, n. 2, p. 244-249, 2013.

ONG, H. M.; MOHAMAD, A. S.; MAKHTAR, N. A.,; KHALID, M. H.; KHALID, S.; PERIMAL, E. K.; MASTUKI, S. N.; ZAKARIA, Z. A.; LAJIS, N.; ISRAF, D. A.; SULAIMAN, M. R. Antinociceptive activity of methanolic extract of *Acmella uliginosa* (Sw.) Cass. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, p. 227-233, 2011.

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, n. 3, p. 1587-1609, 2007.  
PESKAR, B. M. Role of cyclooxygenase isoforms in gastric mucosal defence. **Journal of Physiology-Paris**, v. 95, p. 3-9, 2001.  
PETRICEVIC, M.; WANEK, K.; DENKO, C. W. A new mechanical method for measuring rat paw edema. **Pharmacology**, v. 16, n. 3, p. 153-158, 1978.

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

QUINTANS-JÚNIOR, L.; GUIMARÃES, A. G.; SANTANA, M. T.; ARAÚJO, B. E. S.; MOREIRA, F. V.; BONJARDIM, L. R.; ARAÚJO, A. A. S.; SIQUEIRA, J. S.; ANTONIOLLI, A. R.; BOTELHO, M. A.; ALMEIDA, J. R. G. S.; SANTOS, M. R. V. Citral reduces nociceptive and inflammatory response in rodents. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 3, 2011.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. **Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 605.

REANMONGKOL, W.; MATSUMOTO, K.; WATANABE, H.; SUBHADHIRASAKUL, S.; SAKAI, S. I. Antinociceptive and antipyretic effects of alkaloids extracted from the stem bark of *Hunteria zeylanica*. **Biological Pharmaceutical Bulletin**, v. 17, p. 1345-50, 1994.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**. Baltimore: Willians & Wilkins, 1996. p.1-14.

ROBBERS II, L. J.; MORROW, J. D. Anagesic-antipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. GILMAN, A. G. **Goodman e Gilman's: The Pharmacocological Basis of Therapeutics**. 10 ed. New York: Mcgraw-Hill, 2001. Cap. 27.

SAAD, G. A.; LÉDA, P. H. O.; SÁ, I. M.; SEIXLACK, A. C. C. Histórico da fitoterapia. In: \_\_\_\_\_. **Fitoterapia conteporânea: tradição e ciência na prática clínica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. Cap. 2.

SAKATA, R. K.; GOZZANI, J. L. Fisiopatologia da dor. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 51, p. 3-11, 1994.

SAMPAIO, C. G. **Estudo químico bioguiado das sementes de *Morinda citrifolia* Linn (NONI) e sua aplicações**. 2010. 136f. Dissertação de Mestrado (Mestre em Química Orgânica) – Universidade Federal do Céara, Fortaleza, 2010.

SCHULZ, V.; HÄNSEL, R.; TYLER, V. E. Medicinal plants, phytomedicines, and phytotherapy. In: \_\_\_\_\_. **Rational phytotherapy: a physician's guide to herbal medicine**. 4.ed. Berlin: Springer, 2001. Cap.1.

SHI, G.; ZHAO, M.; ZHAO, Q.; HUANG, Y.; CHEN, Y. Mechanisms involved in the antinociception of petroleum ether fraction from the EtOH extract of *Chrysanthemum indicum* in mice. **Phytomedicine**, v. 18, p. 609-616, 2011.

SHIBATA, M.; OHKUBO, T.; TAKAHASHI, H.; INOKI, R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. **Pain**, v. 38, p. 347-352, 1989.

SHOVIC, A. C., WHISTLER, W. A. Food sources of provitamin A and vitamin C in the American Pacific. **Tropical Science**, v. 41, 199-202, 2001.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2004. Cap. 18.

SRINIVASAN, K.; MURUGANANDAN, S.; LAL, J.; CHANDRA, S.; TANDAN, S. K.; RAVIPRAKASH, V.; KUMAR, D. Antinociceptive and antipyretic activities of *Pongamia pinnata* leaves. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 259-264, 2003.

SOLOMON, N. **The Noni phenomenon**: Discover the powerful tropical healer that fights cancer, lowers high blood pressure and relieves chronic pain. Utah: Direct Source Publishing, 1999. 296p.

SU, C.; WANG, M. Y.; NOWICKI, D.; JENSEN J.; ANDERSON, G. Selective COX-2 inhibition of *Morinda citrifolia* (Noni) *in vitro*. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ANNUAL THE EICOSANOIDS AND OTHER BIOACTIVE LIPIDS IN CANCER, INFLAMMATION AND RELATED DISEASE, 7., 2001, Nashville. **Poster**. Nashville: [s.n.], 2001.

SULAIMAN, M. R.; HUSSAIN, M. K.; ZAKARIA, Z. A.; SOMCHIT, M. N.; MOIN, S.; MOHAMAD, A. S.; ISRAF, D. A. Evaluation of the antinociceptive activity of *Ficus deltoidea* aqueous extract. **Fitoterapia**, v. 79, p. 557-561, 2008.

TASSORELLI, C.; GRECO, R.; WANG, D.; SANDRINI, G.; NAPPI, G. Prostaglandins, glutamate and nitric oxide synthase mediate nitroglycerin-induced hyperalgesia in the formalin test. **European Journal of Pharmacology**, v. 534, n. 1-3, p. 103-107, 2006.

THOMAZZI, S. M.; SILVA, C. B.; SILVEIRA, D. C.; VASCONCELOS, C. L.; LIRA, A. F.; CAMBUI, E. V.; ESTEVAM, C. S.; ANTONIOLII, A. R. Antinociceptive and anti-

inflammatory activities of *Bowdichia virgilioides* (sucupira). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 451-456, 2010.

TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, p. 289-306, 2006.

VASCONCELOS, R. S.; MIRANDA, F. R.; SOUSA, J. A. Desenvolvimento vegetativo do noni (*Morinda citrifolia* L.) sob diferentes sistemas e lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, 2014.

VAZ, Z. R.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Antinociceptive action of 2-(4-bromobenzoyl)-3-methyl-4,6-dimethoxy benzofuran, a novel xanthoxyline derivative on chemical and thermal models of nociceptive in mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 278, p. 304-312, 1996.

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

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.

WANG, M. Y.; WEST, B. J.; JENSEN, C. J.; NOWICKI, D.; SU, C.; PALU, A. K.; ANDERSON, G. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 23, n. 12, p. 1127-1141, 2002.

WHEELER-ACETO, H.; PORRECA, F.; COWAN, A. The rat paw formalin test: comparison of noxious agents. **Pain**, v. 40, p. 229-238, 1990.

WOOLF, C. J. Pain. **Neurobiological Disease**, v. 7, n. 5, p. 504-510, 2000.

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

## **ANEXO**

ANEXO A – Declaração do Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Campina Grande

	<p><b>UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE</b> CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL</p> <p>Comitê de Ética em Pesquisa</p>	
<p><b>DECLARAÇÃO</b></p>		
<p>Declaro a quem possa interessar que Sra. CAMILA CAROLINA DE MENEZES PATRÍCIO SANTOS, deu entrada via eletrônica em processo para apreciação de projeto de pesquisa, como coordenadora deste, visando parecer consubstanciado, junto ao CEP/CSTR/UFCG. O projeto "ATIVIDADE ANTINOCEPTIVA, ANTIINFLAMATORIA E COMPORTAMENTAL DE RATOS SUPLEMENTADOS COM O FRUTO DA MORINDA CITRIFOLIA." O referido projeto tem Nº de protocolo CEP 244/2015.</p>		
<p>Patos, 13 Fevereiro de 2015.</p>		
<p>Atenciosamente</p>		
<p>Thiago Oliveira Secretário do CEP cep@cstr.ufcg.edu.br</p>		