

ANÁLISE DO EFEITO ANSIOLÍTICO DE EXTRATO DE FRUTOS DE NONI (*Morinda citrifolia* L.) USANDO MODELO ANIMAL

COSTA, Ana Karolyne Silva¹
ALMEIDA, Hatus da Silva¹
FRAZÃO, Caio Túlio Vale¹
NEVES, Luciano Leal¹
OLIVEIRA, Eliaquim Ribeiro de¹
ROCHA, Gabriela de Mendonça¹
BESSA, Nelita Gonçalves Faria de²
OGAWA, Wataro Nelson³

RESUMO

Introdução: Os transtornos de ansiedade consistem em um grupo de agravos de importância para a saúde. Estudos com espécies vegetais vêm sendo realizados na perspectiva de constituir tratamento alternativo. Há relatos de efeitos benéficos atribuídos ao noni (*M. citrifolia*), inclusive ansiolítico, porém, como são poucas as informações, este se encontra vetado pela ANVISA para fins terapêuticos. A experimentação com modelo animal é útil neste contexto e o Labirinto em Cruz Elevado (LCE) é usado para analisar o

¹ Acadêmicos do Curso de Medicina, Centro Universitário UnirG, Gurupi (TO). Email: anakarolynesc@hotmail.com.

² Doutora em Biologia e Ecologia Tropical, UA/UFT, Docente do curso de Medicina do Centro Universitário UnirG.

³ Doutor em Ciências Biomédicas, FMRP-USP, Docente do curso de Medicina do Centro Universitário UnirG.

efeito ansiolítico. Projeto aprovado pelo CEUA-UNIRG (Protocolo nº017). Objetivo: Avaliar em roedores o isolamento social como fator ansiogênico no LCE e o noni como ansiolítico. Materiais e método: Durante 21 dias foram usados três grupos de ratas Wistar: grupo C (controle, n=4) numa mesma caixa em convívio social; grupo IS (n=4) isoladas cada qual numa caixa; e grupo ISN (n=4), igualmente isoladas e tratadas com extrato de noni 10%. As sessões foram filmadas por 5 minutos para posterior análise da atividade exploratória avaliada pelos tempos (T%) e frequências de entrada (F%) no braço aberto e na região central do LCE. Resultados: T% e F% nos braços abertos foram menores nos grupos IS e ISN comparados ao grupo C, porém não significativos ($P>0,05$). Na região central, T% e F% foram maiores nos grupos C e ISN relacionados a IS, sugerindo tendência da ação ansiolítica do noni, embora não significativo ($P>0,05$). Conclusão: O isolamento social é um fator ansiogênico e a ação do noni sugere propriedade ansiolítica nas condições avaliadas.

Palavras-chave: Noni; ansiedade; ratas; produtos naturais.

ANALYSIS OF EFFECT ANXIOLYTIC OF EXTRACT OF NONI FRUIT (*Morinda citrifolia* L.) USING ANIMAL MODEL

ABSTRACT

Introduction: Anxiety disorders are a group of diseases of importance to health. Studies of plant species have been conducted with a objective to provide alternative treatment. There are reports of beneficial effects attributed to noni (*M. citrifolia*), including ansiolytic, however, how are little information, this one is vetoed by ANVISA for therapeutic purposes. Experimentation with animal model is useful in this contexto and the elevated plus maze (EPM) is used to

analyze the effect anxiolytic. Project approved by CEUA-UNIRG (Protocol n°017). Objective: Assess social isolation in rodents as anxiogenic factor in EPM and noni as anxiolytic. Materials and methods: For 21 days were used three groups of rats females Wistar: group C (control, n=4), in the same box in social living together; group IS (n=4) isolated each in a box; and group ISN (n=4) also isolated and treated with noni extract 10%. The sessions were filmed for 5 minutes for further analysis of the exploratory activity assessed by time (T%) and input frequencies (F%) in the open arm and central of EPM. Results: T% and F% in the open arms were lower in groups IS and ISN compared to the group C, but not significant ($P>0,05$). In the central region, T% and F% were higher in groups C and ISN related to IS, suggesting trend of anxiolytic action of noni, although not significant ($P>0,05$). Conclusion: Social isolation is a factor anxiogenic and the action of noni suggests anxiolytic property at the evaluated conditions.

Key Words: Noni; anxiety; female rats; natural products.

1. INTRODUÇÃO

Os estudos envolvendo espécies vegetais objetivam subsidiar políticas públicas relativas à popularização do uso de plantas medicinais e fitoterápico, porém, sendo necessário subsídio científico associado ao conhecimento tradicional, com vistas ao uso seguro e eficaz. Desta forma, é relevante o desenvolvimento de novos estudos envolvendo extratos das espécies vegetais exóticas, muitas vezes ainda pouco conhecidas no Brasil, especialmente relacionadas às atividades ansiolíticas e fitotóxicas. A experimentação com modelo animal é útil neste contexto e o Labirinto em Cruz Elevado (LCE) pode ser usado para analisar o efeito ansiolítico. Parte-se do princípio que a privação social parece afetar miríade de emoções em animais e humanos induzindo nestes, por sua vez, variadas mudanças comportamentais (COSTA et al.; 2014).

Esse modelo LCE é constituído por um aparato elevado a 50 cm do chão, com dois braços abertos, conjugados a dois fechados com paredes laterais e coberturas. O LCE foi validado por Handley e Mithani

(1984) a partir do proposto originalmente por Montgomery (1955), com o objetivo de avaliar aspectos de ansiedade em roedores, baseado na atividade exploratória natural e aversão destes por ambientes abertos e desconhecidos (PAWLUS; KINGSHORN, 2007). É um dos modelos animais clássicos usados para testar efeitos ansiolíticos, uma vez que os transtornos de ansiedade consistem em um grupo de agravos de grande importância para a saúde individual e pública com alta prevalência, onde atualmente estima-se que menos de 50% dos pacientes apresentam uma remissão total da sintomatologia pelos usos das medicações convencionais, indicando a necessidade de continuidade da pesquisa pré-clínica e clínica nesse campo (ANDREATTI; BOERNGEM-LACERDA; ZORZETTO-FILHO, 2001).

Estudos com espécies vegetais vêm sendo realizados na perspectiva de constituir medicamento alternativo, porém, com a preocupação relativa ao uso seguro e eficaz. Com relação à *Morinda citrifolia* L., espécie exótica no Brasil e comumente conhecida como noni, mais de 200 fitoquímicos foram

identificados com vistas à verificação dos seus efeitos terapêuticos, tais como flavonoides, polissacarídeos, glicosídeos, antraquinonas, triterpenos (Chan-Blanco et al., 2006; Pawlus; Kingshorn, 2007) em diferentes partes dessa planta, incluindo os frutos, sendo tradicionalmente usada como remédio popular para muitas doenças tais como a diabetes, a hipertensão e cancro (POTTERAT; HAMBURGER, 2007; CHAN-BLANCO et al., 2006; SANG et al., 2002). *É uma planta muito empregada, especialmente pelos povos polinésios há mais de 2000 anos, devido a sua ampla variedade de efeitos terapêuticos, incluindo relatos para dor de cabeça, febre, artrite, gengivite, distúrbios respiratórios, infecções, tuberculose e diabetes* (SERAFINI, DA SILVA e ARAUJO, 2011). Há relatos também de uma variedade de efeitos benéficos

2. MATERIAIS E MÉTODO

O estudo foi realizado no Laboratório de Fisiologia e Biofísica do Centro Universitário UnirG, Gurupi-TO, sendo os animais (ratas Wistar) da experimentação solicitados e provenientes do Biotério Central/UnirG. O estudo foi submetido

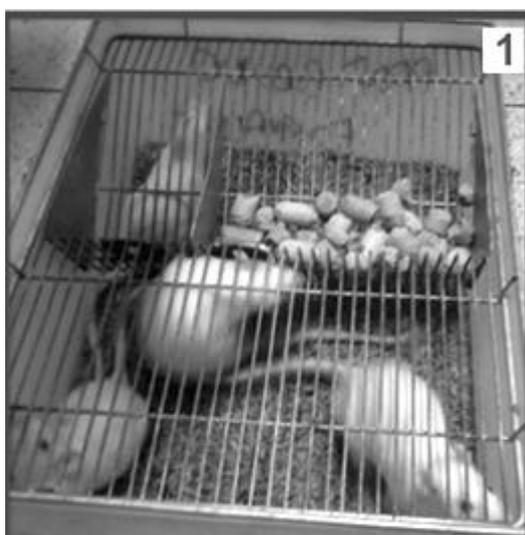
atribuídos ao noni, inclusive ansiolítico, porém, como são poucas as informações sobre sua composição química (POTTERAT e HAMBURGER, 2007; CHAN-BLANCO et al., 2006; KAMIYA et al., 2004; WANG et al., 1999), este produto natural encontra-se vetado pela ANVISA para fins terapêuticos. Há necessidade de mais evidência científica comprobatória da sua eficácia e segurança, necessários para a indicação de uso popular, sendo poucos estudos sobre os efeitos toxicológicos e ansiolíticos.

Diante deste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar em modelagem animal o isolamento social como fator ansiogênico na atividade exploratória no LCE e a espécie vegetal *M. citrifolia* (noni) como fator ansiolítico.

e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UnirG; parecer nº017). Foram utilizados três grupos amostrais de ratas Wistar divididas em: grupo C (controle, n=4) em uma caixa em convívio social, por 21 dias, recebendo dieta padrão com 300 mL

de água e 100g de ração (Figura 1); grupo IS (n=4) isoladas cada qual em uma caixa, por 21 dias, com dieta padrão de 300 mL de água e 100g de ração e grupo ISN (n=4), igualmente

Figura 1. Isolamento de ratas Wistar em caixa única, Grupo C (controle, n=4).

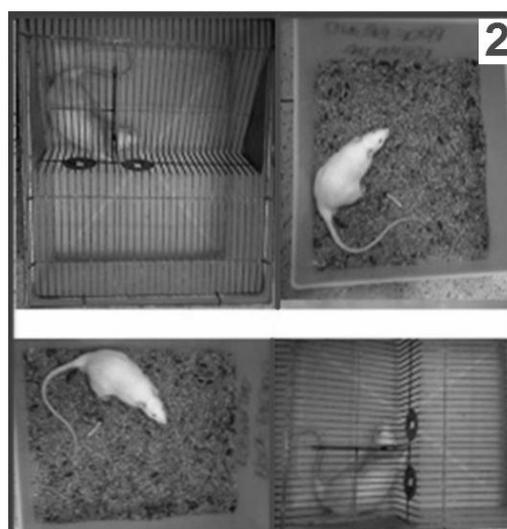


Fonte: Elaborada pelos autores.

No LCE (Figura 3), as sessões foram filmadas por 5 minutos para posterior análise utilizando o programa plusMZ, sendo a atividade exploratória

isoladas e tratadas com extrato de noni 10% isento de conservantes, adicionados em 300 mL de água e 100g de ração, por 21 dias (Figura 2).

Figura 2. Isolamento de ratas Wistar em caixa, Grupo IS (n=4) em dieta padrão e Grupo ISN (n=4) tratado com suco de noni a 10%.



Fonte: Elaborada pelos autores.

associada aos tempos de permanência (T%) e frequência de entradas (F%) das ratas nos braços abertos e na região central do LCE.



Figura 3: Ratas submetidas ao Labirinto em Cruz Elevado (LCE).

Os dados foram analisados com a técnica de ANOVA (Assistat 7.7 beta) inteiramente casualizado e probabilidades menores que 0,05 considerados níveis significativos. As inferências sobre a relação entre

possíveis associações dos constituintes fitoquímicos do noni e o efeito ansiolítico foram realizadas apenas de forma exploratória, a partir de registros científicos anteriores.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando que o LCE é baseado na aversão de roedores por espaços abertos levando ao comportamento denominado "tigmotaxia", que envolve a afinidade por áreas fechadas (PAWLUS, KINGSHORN, 2007). Observou-se no presente estudo que o grupo C

explorou o ambiente aberto dentro dos padrões encontrados na literatura, no entanto o grupo IS não explorou o ambiente aberto conforme esperado e já corroborado em outros estudos. O grupo ISN explorou o ambiente aberto, embora pouco quando comparado ao grupo C (Tabela 1).

Tabela 1: Porcentagens do tempo nos braços abertos (%TA), tempo no centro (%TC), frequência nos braços abertos (%FA) e frequência no centro (%FC), dos diferentes grupos.

	Grupo C	Grupo IS	Grupo ISN
%TA	1,7 ± 1,7	0	0
%TC	1,8 ± 1,5	0,40 ± 0,17	2,0 ± 0,9
%FA	3,8 ± 3,8	0	0
%FC	24,8 ± 14,3	0	27,1 ± 12,8

Já é conhecido que os roedores exploram os dois tipos de braço, porém entra e permanece mais tempo nos braços fechados. Considera-se a porcentagem da preferência (entradas e tempo gasto) pelos braços abertos e pelos fechados um índice

relativamente confiável de ansiedade. A redução de ansiedade no LCE é indicada por um aumento na porcentagem de tempo despendido nos braços abertos (tempo nos braços abertos e região central), e um aumento na frequência nos braços

abertos (frequência em braços abertos e no centro) (PELLOW et al.; 1985; PAWLUS; KINGSHORN, 2007). Assim, os resultados obtidos mostram que o tempo de permanência (T%) e a frequência (F%) nos braços abertos foram menores nos grupos IS e ISN comparados aos valores obtidos no grupo C, ou seja, as cobaias evitaram as áreas abertas e limitaram os movimentos para espaços fechados ou

para as bordas de um espaço demarcado, porém não significativos ($P>0,05$). Na análise da região central do LCE, T% (Figura 4) e F% (Figura 5) foram maiores nos grupos C e ISN em relação a IS, sugerindo uma tendência de aumento exploratório no grupo ISN possivelmente por ação do noni reduzindo a ansiedade desses roedores, embora não significativo ($P>0,05$).

Figura 4: Gráfico das porcentagens do tempo nos braços abertos (%TA) e do tempo no centro (%TC), dos diferentes grupos.

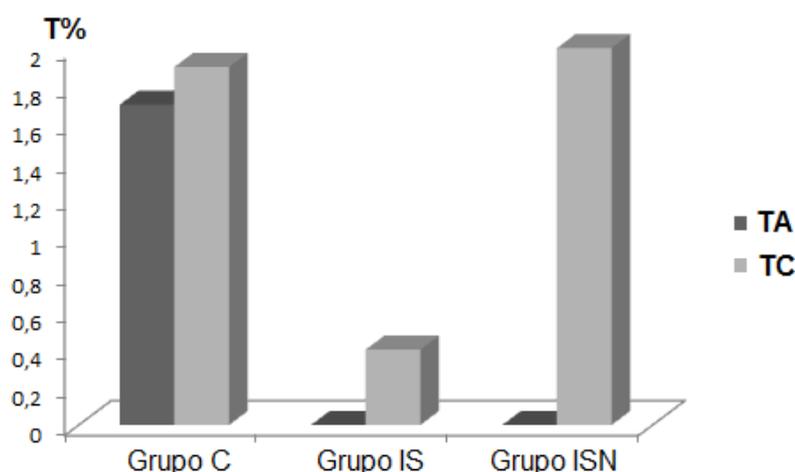
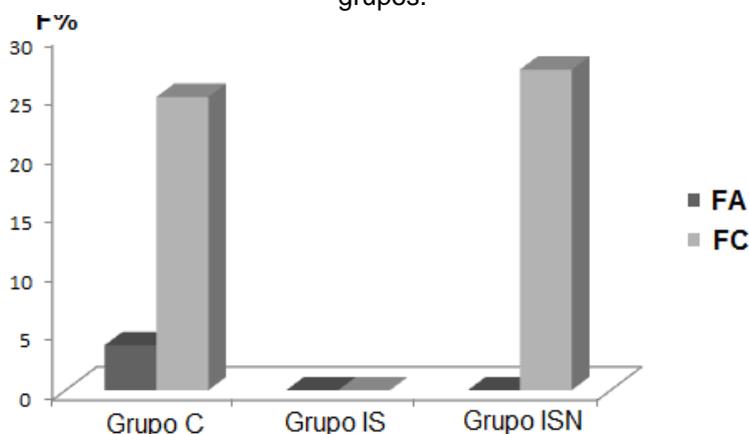


Figura 5: Gráfico das porcentagens da frequência nos braços abertos (%FA) e da frequência no centro (%FC), dos diferentes grupos.



Isto pode ser indicativo de que ativos fitoquímicos do fruto do noni

venham a exercer ação inibidora da ansiedade em roedores, levando em

conta que o agente ansiolítico reduz a ansiedade, exerce efeito calmante e possui pouco ou nenhum efeito sobre as funções motoras ou mentais, podendo atenuar o comportamento defensivo e assim promover a desinibição comportamental. Em estudos de prospecção fitoquímicos, usando extrato do fruto de noni, foi verificada a presença de constituintes como alcaloide, que tem atividade cardiotônica, glicerídeos cardíacos e esteróides atuando no controle de arritmias cardíacas; terpenosfenol,

4. CONCLUSÃO

Notou-se que o isolamento social foi um fator ansiogênico e que o noni (*Morinda Citrifolia* L.) interfere no comportamento de roedores, o que sugere propriedade ansiolítica nas condições avaliadas. No LCE o animal oscila entre o instinto exploratório e o medo de explorar o ambiente, sendo a ansiedade o produto deste conflito. Portanto, acredita-se que esta é uma espécie vegetal com potencial de mais

flavonoides e taninos, que agem como anticancerígenos; e os alcalóides que são analgésicos, além dos terpenoides. (ASSI, 2015; NAGALINGAN, SASIKUMAR, CHERIAN, 2012; KRISHNAIAH et al., 2012). Cerca de 200 fitoquímicos foram identificados e isolados de diferentes partes do *M. Citrifolia*, mas sua composição fitoquímica completa ainda não foi totalmente relatada na literatura científica (ANUGWEJE, 2015).

estudos, especialmente pela popularização do uso nos últimos anos no Brasil. Para posteriores pesquisas sugere-se aumentar o tamanho da amostra, atentar-se ao ciclo circadiano dos roedores e atender ao período de adaptação dos ratos por sete dias antes do início do experimento, com divisão de grupos por sorteio aleatório, minimizando os possíveis vieses do presente estudo.

AGRADECIMENTOS

À professora *Maria Denise Rabuske-UnirG* e a empresa *Yurisawa Distribuidora - Castanhal - PA* pelo fornecimento do extrato do fruto de noni.

REFERÊNCIAS

ASSI, A.R et al. *Morinda citrifolia* (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials. **Arabian Journal of Chemistry**. In Press, 2015.p.4-17

ANDREATINI, R; ROSELI BOERNGEN-LACERDA, R.; ZORZETTO FILHO, D. Tratamento farmacológico do transtorno de ansiedade generalizada: perspectivas futuras. **Rev Bras Psiquiatr**. v. 23., n.4. p.233-42. 2001.

ANUGWEJE, K.C. Micronutrient and phytochemical screening of a commercial *Morinda citrifolia* juice and a popular blackcurrant fruit juice commonly used by Athletes in Nigeria. **World Rural Obser.**, v.7 n.1. 2015. pp. 40–48

COSTA, A.K.S et al. Efeito do Noni (*Morinda Citrifolia* L.) em Ratos Submetidos a Isolamento Social Avaliados no Labirinto em Cruz Elevado. I Congresso Internacional Médico Acadêmico do Maranhão, 2014. v. 01, n. 01. p.6 (**Anais...**). 2014.

CHAN-BLANCO, Y. et al. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): a review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. **Journal Food Composition Analysis**, v. 19, n. 6-7, p. 645-654, 2006.

KAMIYA, K. et al. Chemical constituents of *Morinda citrifolia* fruits inhibit copper-induced low-density lipoprotein oxidation. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 19, p. 5843-5848, 2004.

KRISHNAIAH et al. Phytochemical constituents and activities of *Morinda citrifolia* L. In: Venketeshwer (Ed.), *Phytochemicals – A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. **InTech**. 2012.

MATOSO, L. As características e a utilização do noni (*Morinda Citrifolia* L.). **C&D-Revista Eletrônica da Fainor**, Vitória da Conquista, v.6, n.1, p.42-50, jan./jun. 2013.

NAGALINGAN, S.; S.C. SASIKUMAR, CHERIAN, K.M. Extracion and preliminary phytochemical screening of active compounds in *Morinda citrifolia*. **Asian Journal Farmaceutical and Clinical Research**. v.5, supl 2, 2012.

PAWLUS A.D, KINGSHORN D.A. Review of the ethnobotany, chemistry, biological. Activity and safety of the botanical dietary supplement *Morinda citrifolia* (noni). **J. Pharm Pharmacol**. 59:1587-609, 2007.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S.E.; BRILEY, M. Validation of open: close mazes in the elevated plus-maze as a measure of anxiety in therat. **Journal of Neuroscience Methods**, v.14, p.149-167, 1985.

POTTERAT, O.; HAMBURGER, M. *Morinda citrifolia* (noni) fruit: phytochemistry, pharmacology, safety. **Planta Medica**, v. 73, n. 3, p. 191-199, 2007.

SANG, S. et al. **Chemical components in noni fruits and leaves** (*Morinda citrifolia* L.). Washington: ACS Publications, 2002. p. 134-150 (ACS Symposium Series, 803).

SERAFINI, M., DA SILVA, G., ARAUJO, A. Prospecção tecnológica: morinda citrifolia e indústria farmacêutica. **GEINTEC - Gestão, Inovação e Tecnologias**. São Cristovão-SE. v.1, n.1, p.22-31. 2011.

WANG, M. et al. Novel trisaccharide fatty acid ester identified from the fruits of *Morinda citrifolia* (noni). **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 480-4882, 1999.

Recebido em:20/06/2016
Aprovado em:08/08/2016