

Nociceção térmica em Ratos Tratados com Polpa e Extrato Etanólico de Noni (*Morinda citrifolia L.*)

Thermal Nociception in Rats Treated with Pulp and Extract of Noni Ethanolic (morinda citrifolia l.)

Bruna Teixeira Vidal¹, Priscila Drudi dos Santos², Halbannara Louyse de Pádua Teixeira³, Wataro Nelson Ogawa⁴, Katiénne Brito Marcelino⁵

¹ Estudante de medicina, Universidade de Gurupi.

E-mail: brunatvidal@unirg.edu.br

²Bacharel em farmácia, Universidade de Gurupi

³Bacharel em farmácia, Central de Abastecimento Farmacêutico .

⁴ Bacharel em Ciências Biológicas, Modalidade Médica, FMRP-USP, Doutor em Ciências Biomédicas, FMRP-USP, Professor Titular III da Universidade de Gurupi.

⁵ Médica, Universidade de Gurupi.

RESUMO

O tratamento para alívio de dores tem foco principal no uso de medicamentos antinociceptivos, porém o acervo atual de fármacos não é suficiente e muitos apresentam efeitos colaterais e reações adversas que levam a impossibilidade do seu uso crônico. Com base nessa problemática, esse artigo objetiva avaliar um suposto efeito antinociceptivo da *Morinda citrifolia L* em ratos utilizando ensaios de placa quente (PQ), avaliando o tempo de latência (TL) nos grupos: controle (C); extrato etanólico da polpa (EEP) do noni; extrato da polpa (EP) *in natura* do noni; ácido ascórbico (AA); diazepam (D); morfina (M) e a associação diazepam-morfina (DM). Nos experimentos pós-30 min com EEP e EP, houve aumento parcial no TL com EEP igual ao observado pós-20 min com EP. No intervalo de 30 a 40 min, ocorreu moderada tolerância ao estímulo térmico com EP que declinou após 40 min, evidenciando tendência antinociceptiva. O grupo AA mostrou efeito nociceptivo durante os primeiros 30 min e aos 40 min mostrou efeito semelhante ao EP neste mesmo tempo, indicando uma moderada ação antinociceptiva. Os resultados sugerem tendência de que ambos EEP e EP possuem efeitos antinociceptivos, embora não significativos, quando comparados ao C, tendo o EP esse efeito pouco mais acentuado.

Palavras-chave: Nociceptividade. Morinda. Placa Quente.

ABSTRACT

The treatment for pain relief is mainly focus on using antinociceptive drugs. However, the current collection isn't enough and many have side effects and adverse reactions that precludes their chronic use. Based on this problem, the article's aims to evaluate a supposed antinociceptive effect of *Morinda citrifolia L* in rats using hot plate assays (HPA) observing the latency time (LT) in the following groups: control (C); ethanolic pulp extract (EPE) and pulp extract (PE), *in natura*, both of noni; ascorbic acid (AA); diazepam (D); morphine (M) and association diazepam-morphine (DM). In the post-30 min experiments with EPE and PE, there was a partial increase in TL with EPE equal to that observed after 20 min with PE. In t 30 to 40 min, there was moderate tolerance to the thermal stimulus with PE that declined after 40 min, showing an antinociceptive tendency. The AA group showed a nociceptive effect at 30 and at 40 min it showed a similar effect to the PE at the same time, indicating a moderate antinociceptive action. The results suggest a tendency that both EPE and PE have antinociceptive effects, although not significant, when compared to C, with PE having this effect a little more pronounced.

Keywords: Nociceptive. Morinda. Hot plate

1. INTRODUÇÃO

Há um amplo acervo de fármacos no mercado para tratar a dor, porém são insuficientes e muitos dotados de efeitos colaterais e reações adversas, que impossibilitam a administração de forma crônica; por exemplos, os opiáceos como a morfina e os benzodiazepínicos causam tolerância e dependência^{3,4}. Por isso, é necessário pesquisar novos medicamentos para a cura ou alívio da dor utilizando as como plantas fontes potenciais de efeitos antinociceptivos, haja vista o uso de fitoterápicos desde os primórdios da humanidade, assim, com o objetivo de buscar novos conhecimentos, novas matérias primas e desafios, obteve-se da natureza fontes de inspiração e de aquisição^{1,2,4,5}.

A *Morinda citrifolia* L., conhecida por noni, pertence à família das *Rubiaceae*, originária do sudoeste da Ásia, possui diversas atividades biológicas com supostas ações antibacteriana, hipoglicemiante, adstringente, anti-inflamatória, hipotensora, antioxidante, antitumoral, antiestressora e ansiolítica⁹, além de propriedades antifúngica, anti-helmíntica e analgésica^{9,6,8,9,7}. Com o crescente interesse da comunidade científica pela noni., alguns dos efeitos terapêuticos populares vem sendo evidenciados¹⁰, gerando expectativas desta planta possuir um arsenal de efeitos benéficos. Estudos *in vitro* e *in vivo* em modelos animais, tem demonstrado efeitos na eliminação de radicais livres, combate ao estresse oxidativo, antimutagenicidade, ação anticarcinoma, bloqueador de lipoproteína de baixa densidade (LDL), anti-inflamatório, depurativo, estimulador do sistema imunológico, controlador da atividade celular, ajustador de colesterol e atividade anticlastogênica¹¹.

A fruta de noni contém 90 % de água e elementos essenciais de matéria seca, fibras alimentares e proteínas^{13,7}. São encontrados os carboidratos em grande quantidade com teores variáveis de sacarose, frutose e de glicose^{12,13,14}. A taxa de proteína no fruto equivale a 11,3 % de matéria seca encontrada no suco, sendo os aminoácidos prevalentes o ácido aspártico, ácido glutâmico e isoleucina¹⁵. As vitaminas encontradas em maior quantidade no noni são a vitamina A e a vitamina C, o que sinaliza um efeito antioxidante¹³. O noni possui 8,4 % de minerais na matéria seca, no qual os principais constituintes são: potássio, enxofre, cálcio e fósforo, além das vitaminas dominantes encontradas no fruto (ácido ascórbico e a provitamina A). O fruto de noni possui aproximadamente 160 compostos fitoquímicos identificados, sendo os mais conhecidos os fenólicos, ácidos orgânicos e os alcaloides. Os compostos fenólicos foram relatados como o maior grupo de micronutrientes,

sendo os mais importantes: a rutina, asperulosídeo e a escopoletina^{12,13}. Os flavonoides são as lignanas, cumarinas, iridóides, antraquinonas, polissacarídeos, esteróis, ácidos graxos e terpenóides^{12,16,17}. O noni oferece cerca de 11,9 g/L de glicose e 8,2 g/L de frutose e os aminoácidos prevalentes são o ácido aspártico, ácido glutâmico e a isoleucina¹⁵.

O noni é um suplemento alimentar atestado pela Organização Mundial de Saúde e, no Brasil, passou a ser consumida indiscriminadamente por suas possíveis propriedades terapêuticas. As indicações são diversas e é ingerido pela população devido as “propriedades milagrosas”, além do crescente interesse e forte apelo comercial pelos produtos contidos nesta planta, preferencialmente o suco^{18,19}, porém a ANVISA proíbe a comercialização do noni como fitoterápico, devido à insuficiência de evidências científicas comprobatórias e conhecimento ainda parcial dos efeitos toxicológicos. O suco fresco do noni é obtido por constrictão de suas frutas e também se costuma ferver os frutos por um tempo, além de que compostos adocicados são agregados ao fruto para mascarar o sabor amargo, beneficiando desse modo a comercialização^{18,19}. O extrato de noni também é consumido combinados com frequência com algum suco de outra fruta ou com água. Dentre outras formas de uso, encontra-se o chá do fruto seco, servido quente ou gelado, associados a açúcar, mel ou limão adicionados para mascarar o sabor e odor forte do suco.

Mediante o apresentado acima, justifica-se a importância de se averiguar uma das propriedades terapêuticas atribuídas ao noni que é a de possuir ação antinociceptiva. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o índice nociceptivo em ratos tratados com polpa *in natura* e extrato etanólico de noni, em modelo de ensaios em placa quente, tendo como estímulo térmico limiar a temperatura de 55 °C.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo de caráter experimental utilizando modelo animal avaliando o índice de algesia por estímulo térmico em ensaios de placa quente (*hot plate*), realizado no laboratório de Fisiologia e Biofísica da Universidade de Gurupi (UnirG), no qual foram utilizados 55 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) procedentes do Biotério da UnirG. O peso corporal médio foi 300 ± 25 g com idade de três meses, mantidos por sete dias no laboratório de Fisiologia para se habituarem ao novo ambiente, armazenados em caixas de material polipropileno 41 x 34 x 16 cm forradas com palha de arroz e livre acesso à ração e água proveniente da torneira. O ambiente teve ciclo claro/escuro com período de

12 horas para não interferir no ciclo circadiano. Foram colocados quatro animais em cada caixa com higienização a cada dois dias e divididos aleatoriamente em sete grupos, no qual receberam um pré-tratamento durante uma semana. Grupo 1: Controle (C, 13 ratos) - tratamento durante sete dias com água destilada, via gavagem; Grupo 2: Extrato Etanólico da Polpa de Noni (EEP, 4 ratos) - tratamento durante sete dias com EEP, via gavagem; Grupo 3: Extrato da Polpa de Noni *in natura* (EP, 9 ratos) - tratamento durante sete dias com EP, via gavagem; Grupo 4: Ácido Ascórbico (AA, 10 ratos) - tratamento durante sete dias com AA, via gavagem; Grupo 5: Morfina (M, 11 ratos) - tratamento durante sete dias com água destilada, via gavagem e, após medir a latência basal média, aplicou-se M (i.p); Grupo 6: Diazepam (D, 4 ratos) - tratamento durante sete dias com água destilada, via gavagem e, após medir latência basal média, aplicou-se D (i.p); Grupo 7: Associação Diazepam + Morfina (DM, 4 ratos) - tratamento durante sete dias com água destilada, via gavagem e, após medir a latência basal média, aplicou-se D (i.p) + M (i.p). Os protocolos utilizados foram aprovados pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal (CEUA) desta instituição (UnirG) sob o protocolo número 017.

2.1 Critérios De Inclusão E Exclusão

Foram incluídos no estudo um total de 60 ratos clinicamente saudáveis de ambos os gêneros. Foram excluídos 5 animais que não responderam ao estímulo térmico dentro de um intervalo de 30 segundos e aqueles que se acidentaram com os procedimentos manuais, por exemplo, de gavagens e de translocação.

2.2 Aparato De Placa Quente

O aparelho consiste de paredes retangulares de vidro (Figura 1) com 24 cm de diâmetro assentados em uma superfície metálica. O conjunto é posicionado no interior de um banho-maria termostatizado acoplado a termômetro digital.

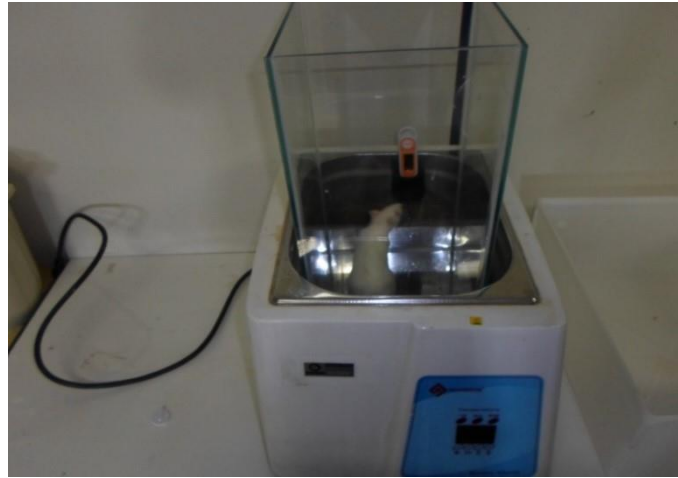


Figura 1. Aparato de *hot plate* utilizado nos experimentos (Fonte: Arquivo pessoal, foto original, laboratório de Fisiologia, Gurupi – TO).

2.3 Sensibilidade Térmica (Teste *Hot Plate*)

Antes dos testes, cada rato foi previamente adaptado ao aparato sem o estímulo térmico por cinco minutos, para evitar o viés do estresse de manipulação e do ambiente, sabidamente fatores antinociceptivos que poderiam mascarar o tempo de latência (TL) de respostas aos fármacos de interesse neste estudo. Os animais dos grupos de 1 a 7 tratados durante uma semana, no sétimo dia foram submetidos aos ensaios na placa quente. Após serem posicionados na placa quente na temperatura do banho de 55 °C aferido por um termômetro digital, foram mensurados o TL com cronômetro digital de resposta de reação limiar como saltitar ou lambe das patas, quando imediatamente foram retirados do aparato para evitar possíveis lesões teciduais²⁰. A média de três TL intercaladas de três minutos foi considerada como tempo basal para cada animal (Tempo Basal Médio = TBM) e a média de três TL entre os ensaios a qualquer tempo foi denominado TM. Os TL foram mensurados nos intervalos subsequentes de 10, 20, 30 e 40 minutos após a administração aguda das substâncias nas mesmas dosagens utilizadas cronicamente para vitamina C (gavagem), polpa de noni *in natura* (gavagem) e extrato etanólico do noni (gavagem). Para a morfina (i.p), diazepam (i.p) e associação de diazepam e morfina (i.p) foram utilizadas doses agudas de 3 mg/kg. O tempo de 30 segundos foi fixado para prevenir injúrias teciduais aos animais, sendo que ratos com TL acima deste valor foram descartados, segundo o delineamento e protocolo experimental pré-estipulado²¹.

2.4 Extrato Etanólico Da Polpa De Noni

O fruto *M. citrifolia L.* foi coletado, lavado, descascado, depois retirado a polpa com auxílio de peneira para separar da semente e submetido à secagem em estufa a 45 °C por sete dias. O material vegetal seco e estabilizado foi pulverizado com moedor manual e, em seguida, retirado 50 g da amostra o qual foi macerada em 500 mL de etanol e mantida por sete dias à temperatura ambiente e depois filtrada no papel Whatman (Figura 2). A evaporação do solvente foi a vácuo em aparelho evaporador rotativo (Roa evaporador) que resultou no extrato etanólico de *M. citrifolia L.*²².

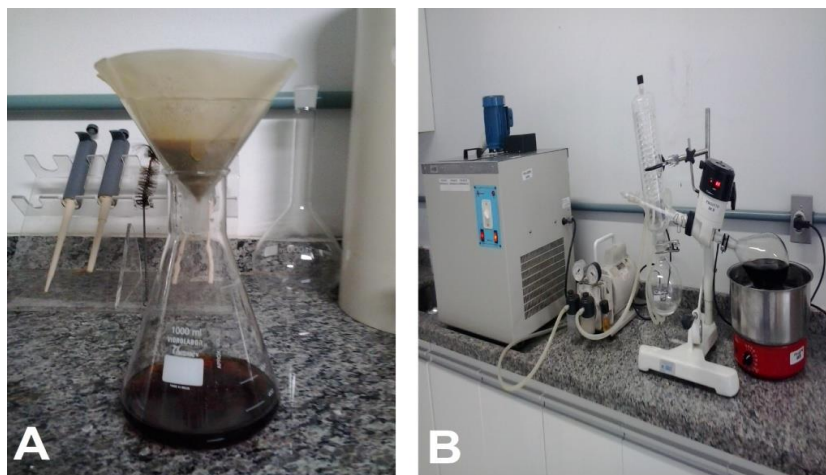


Figura 2. A) Filtragem do Extrato Etanólico da polpa do fruto *Morinda citrifolia L.* antes de ir para o Rota evaporador; B) Aparelho Rota evaporador. (Fonte: Arquivo pessoal, fotos originais, laboratório de Fito-química, Ambulatório-UnirG, Gurupi – TO).

Para o preparo da solução foram pesados 13 g do Extrato Etanólico da Polpa de Noni, dissolvidos em 10 mL de água destilada resultando em concentração de 1300 mg/mL. Para fins de padronização, considerou-se o peso corporal médio de 350 g e cada rato do grupo recebeu via gavagem 0,3 mL/dia do extrato preparado durante período de 7 dias.

2.5 Extrato Da Polpa *In Natura* Do Noni

Os frutos da *Morinda citrifolia L.* foram coletados ainda verde-amarelados no quintal de uma residência localizado no município de Gurupi-TO. Após 3 dias em exposição à temperatura ambiente, os frutos atingiram o estado de maturação com cor amarelo-esbranquiçado. Após lavagem com água destilada, foram descascados e com auxílio de

uma peneira espremida para separar a polpa da semente sendo a polpa pesada e armazenada em geladeira até o preparo das soluções descritas a seguir.



Figura 3. Momento da preparação do extrato da polpa de noni. (Fonte: Arquivo pessoal, fotos originais, laboratório de Fisiologia -UnirG, Gurupi – TO).

2. 6 Solução De Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico (AA) foi adquirido na Farmácia de Manipulação Farmogral (Gurupi-TO). Para o preparo da solução, pesou-se 80 mg de AA dissolvido em 20 mL de água destilada, obtendo concentração de 4 mg/mL. Os ratos receberam cada qual 0,5 mL desta solução via gavagem / dia durante 7 dias.

2. 7 Preparo Das Amostras Para Titulação Pelo Método De Tilmans

A dosagem da vitamina C pelo método de Tilmans, usado tanto para a polpa *in natura* quanto para o extrato etanólico do noni, foi adaptado como se segue: a) solução de extração: Pesou-se 15 g de ácido metafosfórico que foram dissolvidos em água destilada, em seguida misturada com 40 mL de ácido acético glacial e completada para 1000 mL em balão volumétrico. Depois a solução foi filtrada em papel Whatman, colocada em frasco âmbar e armazenada em geladeira; b) solução titulante: Pesou-se 1000 mg de 2,6 diclorofenol-indofenol e 210 mg de bicarbonato de sódio, no qual foram dissolvidos em água destilada e a mistura completada para balão volumétrico de 1000 mL. A solução foi filtrada em papel Whatman, colocada em frasco âmbar e armazenada na geladeira; c) solução padrão de AA 1 mg/mL: Foram pesados 25 mg de AA e diluído em 25 mL de água destilada. Essa solução foi armazenada em frasco âmbar e usada rapidamente nas titulações, já que

o AA é instável e fotossensível. Uma solução foi preparada (1:1) a partir de 50 mL de cada amostra (polpa *in natura* ou extrato etanólico do noni) + 50 mL da solução de extração. Posteriormente foram preenchidos 10 tubos de ensaio com alíquotas de 10 mL em cada tubo e os mesmos centrifugados durante 15 minutos a 2000 rpm. Colocou-se no Erlenmeyer 0,5 mL do sobrenadante + 6,5 mL da solução de extração. A titulação foi realizada com a solução titulante (2,6 diclorofenol-indofenol) na bureta até atingir o ponto de viragem, ou seja, até a solução titulada apresentar uma coloração rósea por mais de 5 segundos e o volume usado do titulante foi anotado para cálculos posteriores. O conteúdo de vitamina C da polpa *in natura* e do extrato etanólico do noni, foi determinado a partir da média das titulações referente à solução padrão de AA, sendo o valor expresso em mg/100 g de polpa ou extrato. Para cada 100 g da polpa *in natura* obteve-se 181,2 mg de AA, sendo que 2,2 g da polpa equivale a 4 mg de AA. Partindo deste resultado, pesou-se 55 g da polpa a qual foi diluída em 25 mL de água destilada. Os ratos receberam, portanto, via gavagem, uma dose estimada de 2 mg de AA em 0,5 mL da solução (4 mg/mL) / dia durante 7 dias.

2.8 Metodologia De Análise Dos Dados

Para a análise e descrição dos dados amostrais, foram utilizadas as medidas de tendência central (médias amostrais) e de variabilidade (desvio padrão) inerentes às amostras, além das estimativas dos coeficientes de variação amostrais. O programa *Microsoft Office Excel/2007* foi utilizado nesta parte do tratamento estatístico e na confecção de gráficos. A segunda parte do tratamento estatístico correspondeu à análise inferencial dos dados obtidos, sendo a normalidade e a homocedasticidade submetidas aos testes Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente e delineou-se o tipo de teste como sendo paramétrico com ANOVA de uma via, *Post hoc* Tukey para comparações múltiplas. Foram considerados eventos significativos todas as probabilidades menores que 0,05. O programa utilizado para a análise inferencial foi o *Assistat*, versão 7.7 beta.

3. RESULTADOS

A Figura 4 resume todos os resultados obtidos neste trabalho. O critério adotado foi de expressar os dados de latência como médias de **TM/TBM**, onde **TM** representa a

latência média nos intervalos decorridos de 10, 20, 30 e 40 minutos e **TBM** é o tempo basal médio antes da aplicação aguda das substâncias. O teste estatístico de ANOVA, seguido do teste múltiplo de Tukey, aplicado aos dados no intervalo de 30 minutos, não mostrou diferença significativa entre os grupos C, EEP, EP, AA, M e D, porém no grupo DM teve significância ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Por essa razão, a discussão dos resultados irá seguir utilizando conceito de tendências e não de significâncias estatísticas. Vale ressaltar também que foi estabelecido como critério o limiar nociceptivo $TM/TBM = 1$. A variabilidade de cada grupo (desvio padrão ou erro padrão da média) foram omitidos no gráfico para uma melhor visualização dos resultados.

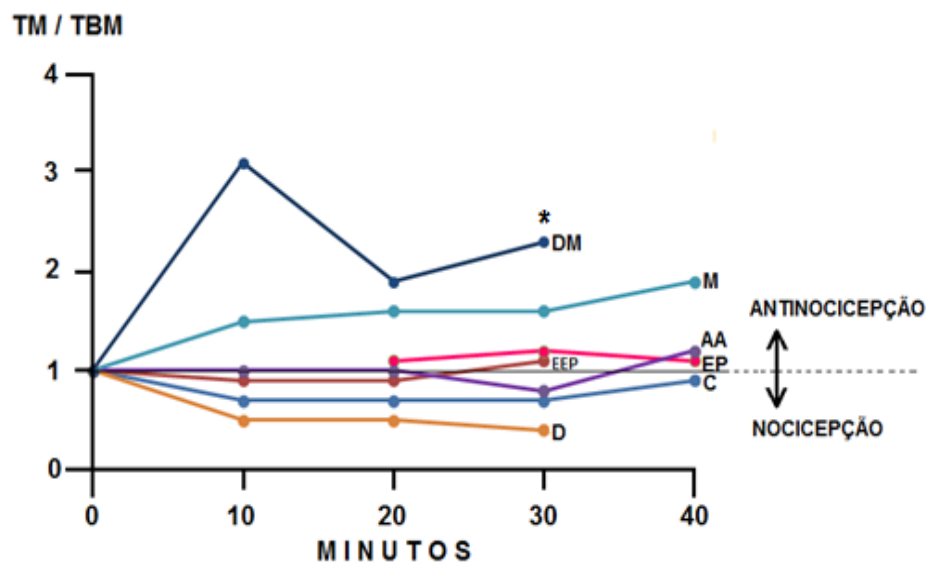


Figura 4. Razão entre as latências TM/TBM. Acima de 1, considera-se um efeito antinociceptivo, abaixo de 1 efeito nociceptivo. *Significativo, $p = 0,0004$.

O grupo controle (C) mostrou efeito nociceptivo até 30 minutos, atingindo valor próximo de 1 em 40 minutos, um possível um efeito decorrente de estresse. No grupo EEP, efeito nociceptivo até 20 minutos e, em 30 minutos, efeito levemente antinociceptivo semelhante ao apresentado pelos grupos EP e AA aos 40 minutos. No grupo EP, efeito antinociceptivo moderado foi notado em um intervalo de 20 minutos (de 20 a 40 minutos). No grupo M um notável efeito antinociceptivo foi observado ao longo de 40 minutos e, no grupo D, um notável efeito nociceptivo foi observado ao longo de 30 minutos, o qual foi bloqueado significativamente pela morfina na associação (DM).

O efeito do extrato aquoso de raízes da *Morinda citrifolia* L. foi analisado por meio dos testes de ensaio em placa quente a 56 ± 1 °C e de contorções abdominais induzido por ácido acético em camundongos evidenciando uma ação antinociceptiva²², sendo o extrato aquoso administrado 30 minutos antes dos testes hot plate nas doses de 100, 200, 400, 800 e 1600 mg/kg (i.p). O grupo controle recebeu salina (i.p) e o grupo que validou o teste recebeu 4,6 mg/kg de morfina (i.p). No teste de contorções abdominais, o extrato de raízes da *Morinda citrifolia* L. nas doses de 800 e 1600 mg/kg, diminuiu significativamente o número de contorções evidenciando efeito antinociceptivo. No teste hot plate, o extrato evidenciou um aumento na latência de maneira dose-dependente. A morfina aumentou significativamente a latência de resposta e o efeito do extrato na dose de 1600 mg/kg foi semelhante ao efeito da morfina demonstrando assim que o noni tem ação antinociceptiva²⁰.

4. DISCUSSÃO

Classifica-se a dor conforme o tipo de lesão e mediadores químicos envolvidos em: Neurogênica (quando a lesão é no tecido neuronal), neuropática (quando há disfunção de um nervo), psicogênica (intercorre por fatores psicológicos) e nociceptiva (quando há estimulação dos nociceptores). Pode ser aguda, ocorre quando se tem uma lesão tecidual, que ativa os nociceptores e desaparece rapidamente, antes da recuperação do tecido lesionado, ou crônica, que causa sofrimento e até mesmo incapacidade, induzida por lesão tecidual ou por doença que transcende o tempo de recuperação do organismo^{23,24}.

Os modelos experimentais utilizando animais são essenciais para a descoberta de novos fármacos e/ou fitoterápicos para uma melhor compreensão das vias antinociceptivas, uma vez que os fármacos só podem ser comercializados depois de comprovada a sua eficácia e segurança, por meio de ensaios farmacológicos clínicos. Os principais modelos experimentais utilizados para avaliar a atividade antinociceptiva de produtos naturais²⁶, são: 1) Contorção abdominal induzida por ácido acético, um modelo químico fundamentado na contagem de contorções abdominais, acompanhado de torção do tronco e extensão de membros posteriores, como resultado da irritação peritoneal causado pela injeção de ácido acético 0,9 %²⁷; 2) Teste da formalina, no qual avaliam a eficácia dos agentes antinociceptivos^{28, 29}. Este modelo utiliza a lesão tecidual induzida pela injeção subcutânea de formalina na pata traseira do animal e contagem do número de elevações destas patas²⁸;

3) Teste de Randall-Selitto, utilizado para avaliar a hipernocicepção, baseado na indução de hiperalgesia na pata do animal por meio de pressão crescente³⁰; 4) Teste de Von Frey, utilizado para avaliar a sensibilidade do tecido, após receber estímulos mecânicos³¹; 5) Teste de retirada da cauda, o qual tem como estímulo nociceptivo a aplicação de uma fonte de calor na cauda do animal, promovendo uma ação de retirada²⁶; 6) Teste da placa quente (*hot plate*), que utiliza a temperatura como agente nociceptivo²⁶.

O método *hot plate* foi idealizado e descrito inicialmente como modelo experimental específico para avaliar substâncias de ação analgésica com efeito central¹⁹. Em testes utilizando estímulos químicos que levam à dor e respectivas respostas avaliadas por meio de contorções, por exemplo, abdominais ou de retirada de pata ou de cauda, o uso de analgésicos centrais e periféricos atuam pela inibição do número de respostas provocadas pelos estímulos químicos, porém, em testes *hot plate* tendo a temperatura como estímulo do limiar nociceptivo, apenas os analgésicos de ação central efetivamente aumentam o tempo de latências das respostas^{21,26}.

A literatura mostra que o extrato aquoso das folhas de *Morinda citrifolia* L. (EAFM), tem atividade antioxidante, reduz a migração leucocitária e o comportamento nociceptivo^{22,34,35}, o qual foi avaliado através do método de indução de contorções pelo ácido acético 0,9% (10 mL/kg) de solução de ácido acético em camundongos³⁴, onde diferentes grupos receberam EAFM nas doses de 100, 200 e 400 mg/kg (v.o) e a droga de referência foi a morfina na dose de 3 mg/kg ou ácido acetilsalicílico na dose de 200 mg/kg em salina, 60 minutos antes da administração do ácido acético, onde o número de contorções foi observado 15 minutos depois da injeção. O número de contorções abdominais foi menor no grupo que recebeu EAFM comparado ao controle de maneira dose-dependente. O grupo que recebeu 400 mg/kg de EAFM comparado com o controle, foi significativo e semelhante ao grupo morfina e ácido acetilsalicílico, mostrando atividade antinociceptiva³⁴.

As propriedades analgésicas do suco de noni industrializado de marca TNJ foram analisadas em camundongos nas concentrações de 5%, 10% e 20% por dez dias de tratamento, utilizando o método de contorção abdominal⁹, sendo o número de contorções abdominais registrados 15 min após a injeção de tartarato de potássio. Foi observada uma redução porcentual de 82,3 %, 74,5 %, e 64,3 % nas proporções de 20 %, 10 %, e 5 %

respectivamente do grupo TNJ comparado ao do controle. Esses dados evidenciam que o suco de noni TNJ possui propriedade analgésica de maneira dose-dependente⁹.

Outro estudo utilizou o ensaio *hot plate* à temperatura de 55 °C em ratos tratados por sete dias com 20 % de um produto placebo, 10 % e 20 % de TNJ e o grupo controle. Na 1ª fase do teste, o suco TNJ a 10 % e a 20 % aumentou o tempo de latência em 276 % e 419 %, respectivamente, comparado ao grupo placebo. Na 2ª fase do teste, o tempo de latência do grupo TNJ a 10 % foi de 161 % e a 20 % de 212 % maior em relação ao grupo placebo. Sendo assim, o TNJ aumentou a tolerância dos animais ao estímulo térmico indicando uma significativa atividade antinociceptiva⁹.

Os resultados do nosso estudo não corroboram com os que foram obtidos nos estudos acima do ponto de vista de significância estatística. Porém, nos experimentos conduzidos com o EEP e EP no tempo de 30 minutos e do EP no tempo de 20 minutos, evidenciou-se um aumento parcial na tolerância ao estímulo térmico, sendo que a latência no grupo EP continuou a aumentar no intervalo de 30 minutos a 40 minutos no qual houve um leve declínio, ainda assim o grupo EP mostrou uma tendência antinociceptiva quando comparado com o grupo controle que mostrou resposta nociceptiva em todos os intervalos de tempo no decorrer dos experimentos.

O grupo AA mostrou resposta nociceptiva durante os primeiros 30 minutos e, aos 40 minutos teve efeito semelhante ao EP neste mesmo intervalo, indicando uma moderada ação antinociceptiva possivelmente por sua ação antiestressora e ansiolítica. O grupo diazepam (D) teve efeito hipernociceptivo conforme era esperado, possivelmente devido à sua ação farmacológica gabaérgica inibitória mediada pelo receptor GABA_A e, assim, bloqueando a via descendente a nível central reduzindo os níveis de noradrenalina, adrenalina, dopamina e de serotonina. O grupo morfina (M) teve ação farmacológica antinociceptiva em todos os intervalos de tempo, cujo efeito também já era esperado por ação mediada por receptores opioides. No grupo associação Diazepam+Morfina (DM), observa-se claramente o efeito por si só hipernociceptivo do diazepam sendo bloqueado pela morfina, promovendo assim uma significativa ação antinociceptiva da morfina.

Apesar da metodologia *hot plate* ser a mesma utilizada por alguns dos autores acima citados, as dosagens e vias de administração foram diferentes, o que pode justificar em parte a discrepância dos resultados, principalmente no que se refere aos resultados estatísticos dos dados obtidos neste estudo. Deve-se relevar também que o noni, apesar

de algumas evidências levantadas por alguns autores a favor do seu uso como um produto fitoterápico, incluindo as controvérsias no entorno do imbróglgio levantado por alguns outros autores, até prova definitiva em contrário, pelo conjunto dos resultados obtidos em nossos estudos, podemos classificar o noni no mínimo dentro da família de plantas adaptógenas.

O noni, ao atuar como agente adaptógeno e com efeito antiestresse a nível central^{9,36}, pode também diminuir a liberação de endorfinas e, assim, evitar que o quadro de auto-analgesia seja instalado, uma vez que há evidências que corroboram esta hipótese, pois animais pré-tratados com adaptógenos e, em seguida submetidos a um protocolo de estresse agudo, respondem a um estímulo nociceptivo com índice semelhante à resposta manifestada por animais controle que não foram estressados, o que sugere que as concentrações de opioides endógenos de animais estressados podem se encontrar próximas das concentrações basais encontradas em animais controle.

Os mecanismos de ação central subjacentes do quadro de dor, estresse e ansiedade combinados, conduzem a interações complexas a nível de neurotransmissores, hormonais e vias neurais ainda não inteiramente esclarecidos com muitas lacunas obscuras ainda a serem explorados, o que alavanca pesquisas com expectativas para futuros projetos dentro destas linhas investigativas em separado ou associados.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas nossas condições experimentais e específicas empregadas neste trabalho, os resultados obtidos sugerem que o extrato etanólico da polpa e o da polpa *in natura* do noni, possuem efeitos antinociceptivos em resposta a estímulo térmico, tendo a polpa *in natura* efeito pouco mais elevado, embora não significativos do ponto de vista estatístico.

REFERÊNCIAS

- ¹ Viegas CJ, Bolzani VS. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. Química Nova. v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.
- ² Calixto JB. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). Brazilian Journal of Medical and Biological Research. v. 33, n. 2, p. 179 –189, 2000.

-
- ³ Calixto JB, Beirith A.; Ferreira J, Santos AR, Filho VC, Yunes RA. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. *Phytotherapy research: PTR*. v. 14, n. 6, p. 401-418, 2000.
- ⁴ Calixto JB, Scheidt C, Otuki M, Santos AR. Biological activity of plants extracts: novel analgesic drugs. *Expert Opinion on Emerging Drugs* . v. 6, n. 2, p. 261- 279, 2001.
- ⁵ Calixto JB, Yunes RA Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos, 2001.
- ⁶ Calixto JB, Campos MM, Otuki MF, Santos AR. Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part II. Modulation of pro-inflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules. *Planta Medica*. v. 70, n. 2, p. 93-103, 2004.
- ⁷ Salomón Izquierdo S, López Hernández OD, García CM, González Sanabria ML, Fusté Moreno V. Desarrollo de una tecnología para la obtención de extracto acuoso de hojas de *Morinda citrifolia* L. (noni). *Revista Cubana de Plantas Medicinales.*, v. 14, n. 2, p. 1-8, 2009.
- ⁸ Rivera A, Cedillo L, Hernández F, Castillo V, Sánchez A, Castañeda D. Bioactive constituents in ethanolic extract leaves and fruit juice of *Morinda citrifolia*. *Annals of Biological Research.*, v. 3, n. 2, p. 1044-1049, 2012.
- ⁹ Kalandakanond-Thongsong S, Charoenphandhu J. Anxiolytic-like Effects of Noni juice (*Morinda citrifolia* L.) on the Respective Changes of Neurotransmitters in Rat Brain in the Elevated Plus-maze Test. *Thai Journal of Veterinary Medicine.*, v. 42, n. 3, p. 275. Set, 2012.
- ¹⁰ Wang MY. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in noni research. *Acta Pharmacologica Sinica*, v. 23, n. 12, p. 1127-1141, 2002.
- ¹¹ Barbosa AF, Costa IC, Zucolotto SM, Giordani RB. *Morinda citrifolia*: fatos e riscos sobre o uso do noni. *Revista Fitos, Rio de Janeiro, Vol. 11(2)*, 119-249, 2017.
- ¹² Sousa A. Evaluation of noni (*Morinda citrifolia*) volatile profile by dynamic headspace and gas chromatography-mass spectrometry. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30, n. 3, p. 641-644, jul/set, 2010.
- ¹³ Chan-Blanco Y, Vaillan F, Perez AM, Reynes M, Brillouet J, Brat P. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. *J. Food Comp. Anal.*, v. 19, n. 6-7, p. 645-654, sept./nov. 2006.
- ¹⁴ Jensen CJ, West BJ, Ogden RV, Story SP. 2005. A method for freeze concentrating *Morinda citrifolia*. *United States Patent*. V. 6, p. 354.
- ¹⁵ Chunhieng T. Développement de nouveaux nutraceutiques à partir de graines et fruits d'origine tropicale: application a la noix du Brésil *Bertholettia excelsa* et au fruit de Cambodge *Morinda Citrifolia*. 2003. 181 f. Thèse (Docteur es Procédés biotechnologiques et alimentaires) – Centro de Sciences, Université de Nancy, France, 2003.

-
- ¹⁶ Deng S. *et al.* Lipoxygenase inhibitory constituents of the fruits of noni (*Morinda citrifolia*) collected in Tahiti. *J. Nat. Prod.*, v. 70, p. 859-862, 2007.
- ¹⁷ Pawlus AD, Kinghorn AD. Review of the ethnobotany, chemistry, biological activity and safety of the botanical dietary supplement *Morinda citrifolia* (noni). *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 59, p. 1587-1609, 2007
- ¹⁸ Silva LR. Caracterização do fruto de *Morinda citrifolia* L. (noni). *Revista Cubana de Plantas Medicinales, Ciudad de la Habana*, v. 17, n. 1, p. 93-100, mar. 2012.
- ¹⁹ Bramorski, A. Total polyphenol content and antioxidant activity of commercial Noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and its components. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.*, v. 46, n. 4, p. 651-656, out./dez., 2010.
- ²⁰ Benedito, RB. *Efeito antinociceptivo do monoterpene (S)-(-)-Álcool perílico em camundongos*. 2009. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
- ²¹ Almeida FRC, Oliveira FS. Avaliação de drogas analgésicas de ação central. In: ALMEIDA, R.N. *Psicofarmacologia: fundamentos práticos*, 1ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap 17, p. 179-188
- ²² Brito DRR. Avaliação da atividade anti-helmíntica da *Morinda citrifolia* (noni), em aves poedeiras naturalmente infectadas. 2008. 62 f. Dissertação (Mestrado em ciência Animal) – Universidade Federal do Piauí, Piauí, 2008.
- ²³ Julius D; Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. 13 ed. *Nature*, (6852): p. 203-210, 2001.
- ²⁴ Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol*, v. 66, n. 6, p. 355-474, 2002.
- ²⁶ Silva JC. Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão. *Rev. Bras. Farm*, v. 94, n. 1, p. 18-23, 2013.
- ²⁷ Whittle BA. Release of a kinin by intraperitoneal injection of chemical agents in mice. *J Neuropharmacol*, v.3, p. 369 – 378, 1964.
- ²⁸ Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *V.4*, n.2, p.161-74, 1977
- ²⁹ Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain, v.30, n.1, p.103 – 14, 1987.
- ³⁰ Randolph BC, Peters, M.A. Analgesic effectiveness of Rev. Bras. Farm. 94 (1): 18-23, 2013
Silva et al. ketorolac compared to meperidine in the rat formalin test. *Anesth Prog.*, v.44, n.1, p.11 – 16, 1997.

- ³¹ Randall LO, Selitto J.J. A method for measurement of analgesic activity of inflamed tissue. Arch Int Pharmacodyn Ther, v. 111, n.4, p. 409 – 419, 1957.
- ³² Le Bars, D; Gozariu, M; Cadden, SW. Animal models of nociception. Pharmacol Rev., v.53, n. 4, p. 597 – 652, 2001.
- ³³ Younos, C. Analgesic and Behavioural Effects of *Morinda citrifolia* Planta Med., v. 56, p. 430-434,1990.
- ³⁴ Punjanon T, Nandhasri P. Analgesic Effect of the Alcoholic Extract from the Fruits of *Morinda citrifolia*. Acta Hort., v. 04, n. 678, p. 102-106, 2005.
- ³⁵ Serafini MR, Santos RC, Guimarães AG, Santos JP, Santos AD, Alves IA, et al. *Morinda citrifolia* Linn. Leaf extract possesses antioxidant activities and reduces nociceptive behavior and leukocyte migration. Journal of Medicinal Food. 2011;
- ³⁶ Teixeira HLP, Ogawa WN. Efeito do suco de noni (*morinda citrifolia* L.) em ratos submetidos a estresse por imobilização. Monografia TCC do Curso de Farmácia, Centro Universitário UnirG, 2015.