



Ano II, Volume II, Numero I

Janeiro – Junho de 2011

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE AMOSTRAS DE FRUTO DO NONI (*Morinda citrifolia* L. - Rubiaceae) VENDIDAS EM FEIRAS LIVRES DE SÃO LUÍS, MARANHÃO.

Luiz Mário da Silva Silveira¹; Roberto Sigfrido Gallegos Olea²; Luís Henrique Bastos Gonçalves³; Paloma Ferreira dos Santos⁴.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi realizar a prospecção de atividade antibacteriana de extratos de frutos do noni (*Morinda citrifolia* L.) obtidos de cinco feiras de São Luís, Maranhão. Extratos hidroalcoólicos do fruto do noni foram preparados por maceração e submetidos à avaliação da atividade antibacteriana, através do método de difusão em ágar pela técnica de poço e a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pelo método de diluição em caldo, utilizando uma cepa padrão ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus*. O halo de inibição formado na avaliação de atividade antibacteriana variou de 13,7 a 21,5 mm. O valor de CIM dos extratos do fruto do noni variou de 125 a 500 µg/mL. Concluiu-se que os extratos de frutos do noni revelaram atividade antibacteriana e que quatro das cinco amostras testadas, obtidas de diferentes feiras, não apresentaram diferenças significativas quanto à atividade antibacteriana.

Palavras-chave: *Morinda citrifolia*; noni; atividade antibacteriana.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF NONI FRUIT SAMPLES (*Morinda citrifolia* L. - Rubiaceae) SOLD AT FREE MARKETS OF SÃO LUÍS, MARANHÃO.

ABSTRACT

The aim of this work was to assess antibacterial activity of noni fruit extracts (*Morinda citrifolia* L.) obtained from five free markets in São Luis, Maranhão. Hydroalcoholic extracts of noni fruit had been prepared by maceration and submitted to the antibacterial activity by the agar well diffusion method. The minimal inhibitory concentration (MIC) was determined by the macro-dilution technique. For this assessment, a strain ATCC 25923 of *Staphylococcus aureus* was used. The inhibition halo formed ranged from 13.7 to 21.5 mm. The MIC values ranged from 125 to 500 mg/mL. The conclusion was that noni fruit extracts showed antibacterial activity and no significant difference in the antibacterial activity of four samples obtained from different free market was observed.

Key-words: *Morinda citrifolia*; noni; antibacterial activity.

1. Mestre em Química Analítica - Curso de Farmácia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

2. Doutor em Química Orgânica - Curso de Química, UFMA.

3. Mestre em Ciências da Saúde - Curso de Farmácia, Instituto Florence de Ensino Superior.

4. Discente do Curso de Farmácia do Instituto Florence de Ensino Superior.

Correspondência: Rua 02, Q-05, C-05, Residencial Itaguará II – Cohatrac. São Luís (MA). CEP 65052-116.

Email: luizmariosilveira@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais para o tratamento das doenças vem ocorrendo desde os primórdios da civilização. O desenvolvimento de metodologias de isolamento de substâncias ativas tem tornado possível a identificação de substâncias em amostras complexas como os extratos vegetais. Deste modo, ressurgiu o interesse por compostos de origem vegetal que pudessem ser utilizados como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos (1-2).

As plantas medicinais representam a principal matéria-prima utilizada para a síntese de drogas, além de serem utilizadas como agentes terapêuticos. O consumo de plantas é supervalorizado no uso tradicional com base nos seus benefícios medicinais. Dessa forma, torna-se imprescindível o conhecimento sobre a dose e a parte empregada da planta, além de suas propriedades terapêuticas, pois existem plantas que são altamente tóxicas, mesmo em pequenas doses (3-9).

A feira livre é uma fonte praticamente inexplorada de investigações etnobotânicas que podem fornecer informações da maior importância para o conhecimento da diversidade, manejo e universo cultural de populações marginalizadas (10).

As feiras livres e os mercados constituem um espaço privilegiado de expressão da cultura de um povo no que tange ao seu patrimônio etnobotânico, uma vez que um grande número de informações encontra-se lá, disponível, de forma centralizada, subjacente a um ambiente de trocas

culturais intensas (11).

O fruto do noni (*Morinda citrifolia* L.) tornou-se uma promessa de cura para diversos tipos de doenças, que vão desde uma simples hipertensão arterial a tumores malignos; suscita até mesmo a cura de síndromes, ainda incuráveis como a AIDS e outras doenças virais (2,12).

Há estudos referenciando o noni como um medicamento natural apesar de muitos dos efeitos não estarem comprovados cientificamente; alguns citam casos de hepatite e até casos de necessidade de transplante de fígado relacionado com o uso indiscriminado do vegetal (13-17).

O uso popular e o bem estar atribuídos ao noni fazem com que a indústria explore comercialmente os produtos de *Morinda citrifolia*, muitas vezes sem comprovação científica. Existem casos que evidenciam possíveis propriedades tóxicas do noni, que não podem ser negligenciados. Portanto, o uso deve ser racional a fim de evitar eventos indesejáveis, e que apenas os benefícios dos produtos da planta sejam amplamente explorados no tratamento de doenças e recuperação da saúde (2).

O noni não possui histórico de consumo no Brasil e, portanto, a comercialização de qualquer alimento contendo esse ingrediente só será permitida após a comprovação de sua segurança de uso e registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), conforme determinam a Resolução nº 16/1999 e a Resolução RDC nº 278/2005, respectivamente. Ressalta-se que de acordo com o artigo 56 do Decreto-Lei nº 986/69 os produtos com finalidade terapêutica ou medicamentosa não são

considerados alimentos (18). No entanto sabe-se que o suco ainda é comercializado clandestinamente e que o interesse por seus possíveis benefícios é crescente (19).

Neste trabalho objetivou-se realizar a prospecção de atividade antibacteriana do fruto do noni obtidas de diferentes feiras de São Luís, Maranhão, com a perspectiva de avaliar a variabilidade do efeito antibacteriano do fruto da planta em estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico

Os frutos da planta noni utilizados neste trabalho foram obtidos de cinco feiras de grande circulação da cidade de São Luís - MA, no mês de fevereiro de 2011. As amostras foram obtidas dos vendedores através do nome popular da planta e separadas de acordo com o ponto de coleta.

Preparação dos extratos

Após a chegada dos frutos do noni ao Laboratório de Fitofármacos do Instituto Florence de Ensino Superior (IFES), foram lavados para eliminação de sujidades, cortadas em partes menores, pesado cerca de 200 g e colocadas em frascos de boca larga. Logo em seguida prepararam-se os extratos por maceração utilizando álcool etílico 92° GL como solvente extrator.

Os cinco extratos foram mantidos em maceração por sete dias, com agitação diária. Após o período de extração, os mesmos foram filtrados através de gaze e concentrados para redução do volume.

Atividade antibacteriana

A avaliação da atividade antibacteriana dos extratos foi realizada pelo método de difusão em ágar, técnica do poço e a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) através do método de diluição em caldo.

Cepa padrão

A cepa padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 foi obtida a partir de cultura estoque mantida no Laboratório de Microbiologia do Laboratório Central de Saúde Pública do Maranhão (LACEN).

Preparo dos extratos para atividade antibacteriana

Os extratos do fruto do noni tiveram os volumes reduzidos até eliminação do solvente. Cerca de 50 mg da massa obtida foi ressuspensa em uma mistura de dimetilsulfóxido (DMSO) e água destilada estéril, na proporção de 1:1, perfazendo um volume total de 10 mL.

Método de difusão em ágar, técnica do poço

Para a metodologia de difusão em ágar, técnica em poço, em cada placa de Petri de 90 mm, contendo uma camada solidificada de aproximadamente 20 mL de ágar Mueller-Hinton, foram feitos assepticamente seis poços de 8 mm de diâmetro (20).

Esta técnica foi conduzida da seguinte maneira: as placas contendo ágar Mueller-Hinton preparadas antecipadamente foram retiradas da geladeira até atingir a temperatura ambiente. Fizeram-se seis poços de 8 mm de diâmetro com o auxílio de um tubo de ensaio estéril,

pressionando o bocal do tubo contra o ágar, retirando a parte do ágar para ser descartado, formando assim o poço. Com um swab estéril, o inóculo bacteriano com turvação 0,5 da escala de MacFarland foi distribuído uniformemente sobre a superfície do ágar, deixadas em repouso em temperatura ambiente, por aproximadamente 3 minutos. Dispensou-se em cada poço devidamente identificado, e com o auxílio de uma pipeta automática, 100 µL do controle de solvente e de cada uma das amostras da planta em estudo. As placas foram incubadas em estufa a 35°C por 24 horas. Mediu-se em milímetros o halo de inibição do crescimento, utilizando régua milimetrada. Os testes foram realizados em duplicata e em dias diferentes.

Determinação da concentração inibitória mínima

Em uma série de cinco tubos de ensaio rosqueados estéreis, foi feita uma diluição sucessiva na razão de 1:2, partindo-se de uma concentração de 1.000 µg/mL da amostra, resultando, nos demais tubos, concentrações de 500, 250, 125 e 62,5 µg/mL. A cada 4 mL de extrato foi acrescentado 4 mL de caldo BHI e 0,2 mL da suspensão bacteriana. Para se descartar a influência do solvente foi utilizado um tubo controle contendo 4 mL da mistura DMSO-água e 4 mL do caldo BHI.

Devido à intensidade na cor do material analisado, o que alterava discretamente a coloração do meio, dificultando a leitura visual dos resultados, foi adicionado 0,2 mL de cloridrato de trifeniltetrazólio (CTT) 2% (21).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos testes de prospecção de atividade antibacteriana das cinco amostras do fruto do noni encontram-se ilustrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Determinação de atividade antibacteriana de extratos hidroalcoólicos de frutos do noni frente à cepa padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pelo método de difusão em ágar, técnica do poço.

Amostra	Média ± DP (mm)
01	19,5 ± 2,1
02	21,5 ± 2,1
03	20,5 ± 0,7
04	13,7 ± 2,1
05	21,0 ± 2,8

DP= Desvio Padrão

Na avaliação da atividade antibacteriana utilizando o método de difusão em ágar, foi colocado em cada poço o equivalente a 500 µg de extrato (22). Os extratos do fruto do noni apresentaram inibição bacteriana, com formação de halos variando de 13,7 a 21,5 mm.

Atividade antimicrobiana do noni já tem sido registrada na literatura. Estudos têm demonstrado que o noni inibiu o crescimento de certas bactérias *in vitro*, tais como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella* e *Shigella*, acreditando-se que este efeito seja provavelmente devido a presença de antraquinonas, entre outras substâncias (19, 23).

Diante da comprovação de atividade antibacteriana de frutos do noni pelo método de difusão em ágar, partiu-se para a determinação da concentração inibitória mínima do material vegetal estudado, através do método de diluição em caldo. Os resultados encontram-se ilustrados

na Tabela 2.

Tabela 2 – Determinação da concentração inibitória mínima de extratos hidroalcoólico de frutos do noni frente à cepa padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pelo método de diluição em caldo.

Amostra	$\mu\text{g/mL}$
01	250
02	125
03	125
04	500
05	125

O método de diluição em caldo foi aplicado para a obtenção dos valores de CIM. A CIM foi considerada como a menor concentração da amostra onde não se observou a formação de coloração vermelha quando da adição de CTT 2%. Este reagente foi utilizado em virtude da dificuldade que se tem na visualização de turvação do meio quando se empregam extratos que, via de regra, são intensamente corados. A atividade de uma planta é considerada favorável quando esta apresenta valor de CIM menor que 1.000 $\mu\text{g/mL}$ (24). Todos os extratos avaliados apresentaram valor de CIM variando de 125 a 500 $\mu\text{g/mL}$. O potencial de atividade antibacteriana de extrato de planta pode ser determinado a partir de seus valores de CIM.

Embora este trabalho tenha investigado a atividade antibacteriana *in vitro*, os resultados substanciam os dados já registrados na literatura, bem como o uso etnofarmacológico do fruto da planta. Entretanto, há de se considerar que se utilizou neste trabalho cepa padrão de ATCC, não se levando em consideração cepas de isolados clínicos que apresentam mecanismos de resistência a antimicrobianos já estabelecidos. Além disso, deve-se considerar que o

vegetal pode apresentar variação na sua composição de constituintes ativos, dependendo de diversos fatores, o que pode representar também variação na efetividade biológica. Como mostrado na Tabela 1, o mais baixo valor de halo de inibição do extrato do fruto do noni foi verificado na amostra 04, o que foi confirmado através da concentração inibitória mínima, revelando valor de CIM de 500 $\mu\text{g/mL}$. As outras amostras não mostraram diferenças significativas.

A comprovação laboratorial dos extratos de fruto de noni quanto ao seu potencial antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* permitiu ampliar as informações a respeito dessa espécie vegetal. A utilização de plantas no tratamento de doenças é uma prática muito comum, principalmente nos países subdesenvolvidos, onde a população de baixa renda não tem acesso imediato ao serviço de saúde pública. A avaliação da atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de fruto de noni mostrou que este extrato possui atividade frente à cepa padrão de *Staphylococcus aureus*. Com base no valor de CIM obtido, nos extratos vegetais estudados, o potencial de inibição bacteriana observado foi apenas moderado. Todavia, deve-se ter cautela quando do uso de plantas para fins terapêuticos, principalmente quando se desconhece os riscos para a saúde.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Turolla MSR, Nascimento ES. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 2006; 42(2): 289-306.

2. Marques NFQ. Avaliação teratológica da exposição da *Morinda citrifolia* Linn em ratas wistar. [Dissertação]. Curitiba: Setor de Ciências Biológicas - Universidade Federal do Paraná; 2009.
3. Brito DRB. Avaliação da atividade anti-helmíntica de *Morinda citrifolia* (noni) em aves poedeiras naturalmente infectadas. [Dissertação]. Teresina: Área de Concentração em Sanidade e Reprodução Animal - Universidade Federal do Piauí; 2008.
4. Dusossoy E, Brat P, Bony E, Boudart F, Poucheret P, Mertz C et al. Characterization, anti-oxidative and anti-inflammatory effects of Costa Rican noni juice (*Morinda citrifolia* L.). *Journal of Ethnopharmacology* 2011; 133(1): 108115.
5. Lv L, Chen H, Ho CT, Sang S. Chemical components of the roots of Noni (*Morinda citrifolia*) and their cytotoxic effects. *Fitoterapia* 2011; 82(4): 704-8.
6. Nayak BS, Sandiford S, Maxwell A. Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. leaf. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2009; 6(3): 351–356.
7. Silva JJM. Adubação orgânica e mineral de noni: desempenho agrônômico, nutrição da planta, qualidade de fruto e de suco. [Tese] Areia. Universidade Federal da Paraíba; 2010.
8. Wang MY, Anderson G, Nowicki D, Jensen J. Hepatic protection by noni fruit juice against CCl₄-induced chronic liver damage in female SD rats. *Plant Foods for Human Nutrition* 2008; 63(3): 141–145.
9. Wang MY, Hurn J, Peng L, Nowicki D, Anderson G. A multigeneration reproductive and developmental safety evaluation of authentic *Morinda citrifolia* (noni) juice. *The Journal of Toxicological Sciences* 2011; 36(1): 81-85.
10. Azevedo VM, Krueel VSF. Plantas medicinais e ritualísticas vendidas em feiras livres no Município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil: estudo de caso nas zonas Norte e Sul. *Acta Botanica Brasileira* 2007; 21(2): 263-275.
11. Arjona FBS, Montezuma RCM, Silva IM. Aspectos etnobotânicos e biogeografia de espécies medicinais e/ou rituais comercializadas no mercado de Madureira, RJ. *Caminhos de Geografia* 2007; 8(23): 41-50.
12. McClatchey W. From Polynesian healers to health food stores: changing perspectives of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae). *Integrative Cancer Therapies* 2002; 1(2): 110-120.
13. Millonig G, Stadlmann S, Vogel W. Herbal hepatotoxicity: acute hepatitis caused by a noni preparation (*Morinda citrifolia*). *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2005; 17(4): 445-447.
14. Pawlus AD, Su BN, Keller WJ, Kinghorn AD. An anthraquinone with potent quinone reductase inducing activity and other constituents of the fruits of *Morinda citrifolia* (noni). *Journal of Natural Products* 2005; 68 (12): 1720-1722.
15. Stadlbauer V, Fickert P, Lackner C, Schmerlaib J, Krisper P, Trauner M et al. Hepatotoxicity of noni juice: Report of two cases. *World Journal of Gastroenterology* 2005; 11(30): 4758-4760.

16. Yüce B, Gülberg V, Diebold J, Gerbes AL. Hepatitis induced by noni juice from *Morinda citrifolia*: A rare cause of hepatotoxicity or the tip of the iceberg? *Digestion* 2006; 73: 167-170.
17. Franchi LP, Guimarães NN, Lehmann M, Andrade HHR, Cunha KS. Ausência de efeito tóxico-genético de *Morinda citrifolia* (noni) em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. *Revista Eletrônica de Farmácia* 2008; 5(3): 46-53.
18. Brasil. 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 do suco de noni. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/25_290507.htm> Acesso em: 06 maio 2010.
19. Correia ALS. Maceração enzimática da polpa de noni (*Morinda citrifolia* L.). [Dissertação]. Fortaleza: Centro de Ciências Agrárias – Universidade Federal do Ceará; 2010.
20. Silveira LMS, Gallegos Olea RS, Mesquita JS, Cruz ALN, Mendes JC. Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. *Revista Brasileira de Farmácia* 2009; 90(2): 124-128.
21. Silveira LMS, Rosas LS, Gallegos Olea RS, Gonçalves EC, Fonseca Junior DC. Atividade antibacteriana de extrato de gervão frente cepas de *Staphylococcus aureus* oxacilina-sensíveis e oxacilina-resistentes isoladas de amostras biológicas. *Revista Brasileira de Análises Clínicas* 2007; 39(4): 299-301.
22. Silva GS. Investigação fitoquímica e microbiológica da espécie *Ananas erectifolius* (Carauá). *Revista Científica da UFPA* 2001; 1: 1-5.
23. Müller JC. Toxicidade reprodutiva de *Morinda citrifolia* Linn. [Dissertação]. Curitiba: Setor de Ciências Biológicas - Universidade Federal do Paraná; 2007.
24. Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DAG, Nakamura CV, Dias Filho DP et al. Screening of plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2002; 97(7): 1027-1031.

Recebido em: Julho/2011

Aceito em: Setembro/2011