

Scientific Electronic Archives

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 12 (1)

February 2019

Article link

<http://www.seasinop.com.br/revista/index.php?journal=SEA&page=article&op=view&path%5B%5D=631&path%5B%5D=pdf>

Included in DOAJ, AGRIS, Latindex, Journal TOCs, CORE, Discoursio Open Science, Science Gate, GFAR, CIARDRING, Academic Journals Database and NTHRYS Technologies, Portal de Periódicos CAPES.



Avaliação da atividade antimutagênica e citotóxica da *Morinda citrifolia* Linn. (Noni)

Evaluation of the antimutagenic and cytotoxic activity of *Morinda citrifolia* Linn. (Noni)

B. H. B. Martins¹, W. M. Tominaga¹, L. Castoldi¹, E. A. Camargo², D. L. Pereira¹, E. M. J. Lisboa¹, L. R. Albiero¹, J. B. Ferreira¹, N. Melchiros¹, M. M. Sugui¹

¹Universidade Federal do Mato Grosso – Câmpus Sinop

²Universidade Estadual Paulista- Câmpus Botucatu

Author for correspondence: masugui@hotmail.com

Resumo. O estudo teve como objetivo avaliar o potencial antimutagênico/mutagênico do extrato aquoso *in natura* do noni através do Teste do Micronúcleo *in vivo* e investigar o possível efeito tóxico do noni através do Teste de Citotoxicidade *in vitro*. Os animais (6 animais/grupo) foram tratados por 15 dias consecutivos com extrato aquoso (via gavagem) e no 15º dia receberam intraperitonealmente ciclofosfamida (CPA, 25 mg/Kg), sendo sacrificados 24 horas após o tratamento para avaliação da frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados (MNPCE). As células de ovário de hamster chinês (CHO) foram incubadas com o extrato aquoso do noni nas concentrações de 50, 200, 1000, 2500 e 5000 µg/mL por 3 horas e as células de Tumor Ascítico de Ehrlich (TAE), utilizando concentrações de 1,0; 0,5 e 0,25 mg/mL do extrato do noni, incubadas por 24 horas. Após, foi realizado o teste de viabilidade celular com azul de tripan, experimento realizado em triplicata. Os resultados obtidos mostram que o pré-tratamento com o extrato aquoso do noni, sob as condições testadas, reduziu significativamente a frequência de MNPCE ($p < 0,001$) induzida pela CPA, quando comparado com o grupo controle positivo. O grupo tratado somente com o noni não revelou efeito mutagênico. As diferentes concentrações do extrato aquoso do noni não apresentaram efeito tóxico em células CHO e TAE quando comparado com o grupo controle, ou seja, há possibilidade de proliferação celular, quando em exposição com o noni, nas condições testadas. Assim, para garantir a segurança do uso do noni, futuros estudos devem ser realizados para verificar o mecanismo de ação dos compostos isolados do extrato aquoso na prevenção de danos ao DNA.

Palavras-chave: Antimutagenicidade, DNA, citotoxicidade e *Morinda citrifolia*.

Abstract. The aim of the study was to evaluate the antimutagenic/mutagenic potential of aqueous extract of the noni through the Micronucleus Test *in vivo* and to investigate the possible toxic effect of noni through the *in vitro* Cytotoxicity Test. The animals (6 animals/group) were treated for 15 consecutive days with aqueous extract (via gavage) and on day 15th were given intraperitoneally cyclophosphamide (CPA, 25 mg/Kg) and sacrificed 24 hours after treatment for evaluate of erythrocyte frequency micronucleated polychromatic (MNPCE). The chinese hamster ovary (CHO) cells were incubated with aqueous extract of noni at the concentrations of 50, 200, 1000, 2500 and 5000 µg/ml for 3 hours and Ehrlich ascitic tumor cells (TAE) using concentrations of 1.0; 0.5 and 0.25 mg/ml of the noni extract, incubated for 24 hours. After treatment, the cell viability test was performed with tripan blue, in triplicate. The results showed that pretreatment with aqueous extract of noni, under the conditions tested, significantly reduced the frequency of MNPCE ($p < 0,001$) induced by CPA, when compared to the positive control group. The group treated only with noni showed no mutagenic effect. The different concentrations of the noni aqueous extract showed no toxic effect on CHO and TAE cells when compared to the control group, that is, there is a possibility of cell proliferation when exposed to noni under the conditions tested. Thus, to ensure safety of noni use, future studies should be performed to verify the mechanism of action of the isolated compounds of the aqueous extract in the prevention of DNA damage.

Keywords: Antimutagenicity, DNA, cytotoxicity and *Morinda citrifolia*.

Introdução

O estudo e a determinação de compostos medicinais ativos que podem ser usados de forma

segura é uma prática extremamente relevante para o homem. Tais compostos são identificados em partes diversas das plantas, em especial os frutos.

No entanto, o seu uso indevido pode trazer riscos e, dessa forma são necessários estudos e testes que certifiquem sua segurança.

Algumas plantas são ditas como quimiopreventivas, porém muitas delas podem simultaneamente causar genotoxicidade, a qual possui grande relação com o desenvolvimento de diversos tipos de câncer, que podem gerar riscos potenciais à saúde humana (Jiménez et al., 2005).

Entre as plantas medicinais, popularmente conhecidas como quimiopreventivas, está a *Morinda citrifolia* Linn. Descoberta pelos polinésios, vulgarmente chamada de noni, um arbusto originário do Sudeste Asiático e uma planta medicinal folclórica tradicional usada a mais de 2000 anos na Polinésia. Além do efeito antitumor, também tem sido relatado alguns efeitos terapêuticos e valores nutricionais provindos do noni (Wang et al., 2002).

A *Morinda citrifolia* contém vários componentes medicinais ativos com efeitos terapêuticos. Experimentos laboratoriais *in vitro* e *in vivo* com suco, extratos e componentes biológicos isolados do noni, demonstraram que o mesmo pode conferir benefícios à saúde no combate a radicais livres, propriedades anticâncer e antiinflamatória e estimulação do sistema imune (Yang et al., 2007, Palu et al., 2008).

Embora os efeitos farmacológicos e o uso terapêutico do noni foram relatados em estudos científicos, o mecanismo de ação para cada terapêutica ainda não foi elucidado claramente, assim como os efeitos adversos (West et al., 2006; Palu et al., 2009). Portanto, a segurança do seu uso pela população ainda não foi comprovada.

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008), 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, conforme determinam a Resolução nº. 16/1999 e a Resolução RDC nº. 278/2005, respectivamente.

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo determinar o possível potencial antimutagênico/mutagênico do extrato aquoso *in natura* da *M. citrifolia* (noni) *in vivo*, assim como o potencial tóxico da fruta *in vitro*.

Métodos

Sistema teste

In vivo: Foram utilizados camundongos Swiss machos, com 6 semanas de idade, peso médio de 25g, obtidos do Biotério Central da UFMT/Cuiabá. Durante todo o período experimental, os animais permaneceram no Biotério do LiPeQ/UFMT/Sinop, sob condições controladas de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa ($55 \pm 10\%$), ciclo de luz (12 horas claro/escuro), exaustão e recebendo ração comercial peletizada e água filtrada *ad libitum*. O período de aclimação foi de 2 semanas e nessa fase os animais passaram por inspeção diária de viabilidade.

In vitro: Células de ovário de hamster chinês (CHO) com ciclo de 12h, foram cultivadas em meio Ham's F10 (Cultilab, Campinas – SP, Brasil), suplementado com 15% de soro bovino fetal (Cultilab, Campinas – SP, Brasil) e antibióticos (0,1 mg/mL de estreptomicina e 0,06 mg/mL de penicilina) e incubadas a 37°C e 5% de CO_2 (Salvadori et al., 1994). Células de Tumor Ascítico de Ehrlich (TAE) foram obtidas de um animal contendo a forma ascítica do tumor, através da realização de lavado peritoneal com 20 mL de PBS estéril. Posteriormente, as suspensões celulares foram centrifugadas a 1500 rpm por 10 minutos e ressuspendidas em 1 mL de meio de cultura RPMI 1640 (Cultilab, Campinas – SP, Brasil), suplementado com 20% de soro bovino fetal.

Agente químico

A Ciclofosfamida (CPA, Baxter) foi diluída em solução salina 0,9% e administrada aos animais intraperitonealmente, na concentração de 25 mg/Kg p.c. de acordo com Delmanto et al. (2001).

Noni (*M. citrifolia* L.)

As frutas foram adquiridas junto a um centro de vendas de comércio informal no município de Sinop/MT, Brasil. A polpa do noni foi obtida através da fricção da fruta sem a casca em uma peneira plástica de 13 cm retirando-se as sementes. Em seguida o extrato aquoso foi armazenado congelado e descongelado em banho-maria a 30°C , no momento da gavagem.

Para o teste *in vitro* o extrato aquoso passou pela bomba de hidrovácuo para a extração da água e dissecador antes de ser utilizado nas concentrações testadas. Foram utilizadas concentrações de 5000, 2500, 1000, 200 e 50 $\mu\text{g/mL}$ do extrato em CHO e concentrações de 1,0, 0,5 e 0,25 mg/mL do extrato em TAE.

Teste do micronúcleo *in vivo*

A obtenção e preparo das lâminas de eritrócitos de medula óssea para avaliação da frequência de micronúcleo (MN) seguiram a metodologia proposta por MacGregor et al. (1987). Para cada animal duas lâminas foram preparadas e codificadas em teste cego. Analisou-se 2000 eritrócitos policromáticos (PCEs) por animal em microscópio de luz (1000/lâmina), com aumento de 1000 vezes (imersão) para o registro da frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados (PCEMNs).

Delineamento Experimental: os animais foram divididos em 4 grupos com 6 animais cada, conforme descritos a seguir:

Grupo 1: Grupo controle negativo. Os animais foram tratados com água, via gavagem, durante todo período experimental. No 15º dia os animais foram tratados, por via intraperitoneal, com NaCl 0,9% (0,1mL/10g p.c.) e sacrificados 24 horas após o tratamento para obtenção de células de medula

óssea.

Grupo 2: Grupo controle positivo. Os animais foram tratados com água, via gavagem, durante todo período experimental. No 15º dia os animais foram tratados, por via intraperitoneal, com CPA (25 mg/kg p.c) e sacrificados 24 horas após o tratamento para obtenção de células de medula óssea.

Grupo 3: Grupo tratado a com o suco da polpa do noni, via gavagem, durante todo o período experimental. No 15º dia os animais receberam tratamento intraperitoneal com CPA (25 mg/kg p.c.) e sacrificados 24 horas após o tratamento obtenção de células da medula óssea.

Grupo 4: Grupo tratado somente com o suco da polpa do noni, via gavagem, durante todo o período experimental. No 15º dia os animais receberam tratamento intraperitoneal com NaCl 0,9% (0,1mL/10g p.c.) e sacrificados 24 horas após o tratamento obtenção de células da medula óssea.

Teste de citotoxicidade

O efeito citotóxico do extrato do noni foi avaliado pelo Teste de Viabilidade Celular, utilizando o corante azul de tripan de acordo com Sugui (2006). Foram plaqueadas $0,25 \times 10^6$ /mL células de CHO por concentração testada (50, 200, 1000, 2500 e 5000 µg/mL) e 4×10^6 /mL células de TAE por concentração testada (1,0; 0,5 e 0,25 mg/mL). O extrato do noni foi incubado por 3 horas em CHO e 24 horas em TAE a 5% de CO₂, 37º C. Após foram misturados 30 µL de cada suspensão celular com 30 µL do corante azul de tripan e a viabilidade foi contada em câmara de Neubauer. Células não viáveis coram-se de azul e o teste foi realizado em triplicata.

Análise estatística

A frequência de células micronucleadas nos diferentes grupos experimentais foi comparada pelo

teste qui-quadrado (Pereira, 1991). A porcentagem de redução na frequência de MN foi calculada de acordo com Manoharan e Banerjee (1985) e Water et al. (1990), através da fórmula:

$$\% \text{ de redução} = \frac{\text{MN em A} - \text{MN em B}}{\text{MN em A} - \text{MN em C}} \times 100$$

Onde A= grupo tratado com CPA (controle positivo); B= grupo tratado com noni mais CPA e C= grupo tratado com NaCl 0,9% (controle negativo)

Os dados obtidos no teste de citotoxicidade foram avaliados pelo teste de Análise de Variância (ANOVA), seguido pelo teste de médias Tukey, sendo consideradas as diferenças com $p < 0,05$ (Software Graphpad Instat, San Diego, Califórnia – USA).

Princípios Éticos

Essa pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA/UFMT) e foi aprovada dentro dos princípios éticos e da legislação vigente, sob o número de protocolo 23708.780795/12-8.

Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta o efeito da *Morinda citrifolia* (noni) sobre danos no DNA, quimicamente induzidos pela ciclofosfamida (CPA), em camundongos pré-tratados com o extrato aquoso do noni. Os resultados mostram que o grupo tratado com o extrato aquoso do noni e a ciclofosfamida, polpa + CPA, reduziram significativamente ($p < 0,001$) a frequência de micronúcleos em eritrócitos policromáticos de medula óssea, quando comparados com o grupo controle positivo. O grupo tratado somente com a polpa do noni não apresentou potencial mutagênico quando comparado com o grupo controle negativo.

Tabela 1- Frequência de MNPCEs em medula óssea de camundongos Swiss machos após pré-tratamento com extrato aquoso do noni e CPA.

Tratamentos	Número de células analisadas	MNPCEs		% de Redução
		No.	%	
Água + NaCl 0,9% ^a	12.000	54	0,45	
Água + CPA (25mg/Kg) ^b	12.000	238	1,98	
Polpa + CPA (25mg/Kg)	12.000	98*	0,82	76*
Polpa + NaCl 0,9%	10.982 ^c	46	0,42	

^a Controle negativo; ^b Controle positivo; ^c Células insuficientes na amostragem; $p < 0,001$

Apesar de a *M. citrifolia* possuir diversos efeitos biológicos na prevenção de diversas doenças, devido a suas propriedades nutricionais e terapêuticas, estudos na área de quimioprevenção do câncer são relevantes. Sabe-se que os vegetais e frutas possuem classes de agentes fitoquímicos com diversas ações terapêuticas, como efeitos antioxidantes, antimutagênicos e anticarcinogênicos (Kusamran et al., 1998).

Neste contexto, Kusamran et al. (1998) avaliaram a atividade antimutagênica da *M. citrifolia* (noni) em camundongos e identificaram atividade protetora contra um agente clastogênico de ação indireta.

Kupradinun et al. (2011) observaram efeito anticlastogênico da *M. citrifolia* contra os agentes mitomicina C e ciclofosfamida através do Teste do Micronúcleo em reticulócitos de sangue periférico de camundongos, identificando o potencial

quimioprotetor da fruta. Do mesmo modo, porém em outro sistema teste, Palioto et al. (2009) observaram o efeito antimutagênico do suco *in natura* do noni no sistema *methG1* em *Aspergillus nidulans*, pela diminuição da frequência de mutação espontânea ou induzida quando comparado com os grupos controles.

Wang et al. (2002) relataram o efeito protetor do noni no estágio de iniciação do processo carcinogênico de mama e fígado, induzidos por agentes órgãos-alvo específicos *in vivo*. Wang e Su (2001) sugerem que o noni previne a formação de adutos de DNA na etapa de iniciação da carcinogênese e que a atividade antioxidante de compostos do noni provavelmente contribua para a prevenção do câncer.

Alguns constituintes químicos da *M. citrifolia*, responsáveis por atividades biológicas na prevenção e inibição do câncer, são citados na literatura (Furusawa et al., 2003; Jensen et al., 2003; Samoylenko et al., 2006; Brown, 2012). A atividade protetora do DNA pode estar associada aos grupos fenóis, presentes nas flavonas, que conferem ação antioxidante, agindo como potenciais agentes antimutagênicos (Ferreira, 2009). Dussossoy et al. (2011) identificaram além dos compostos fenólicos, os iridóides, presentes no suco do noni que também estão relacionados à propriedade antioxidante.

Segundo Lavaut & Lavaut (2003), outro componente fundamental é o damnacantal que possui uma atividade sobre o sistema imune. Este composto ativa as células-T que destroem células tumorais, possivelmente apresenta atividade anticancerígena.

Assim, os resultados obtidos da avaliação do efeito modulador da *M. citrifolia* L. (noni) sobre a clastogenicidade induzida pelo agente alquilante CPA *in vivo*, nas condições experimentais utilizadas, sugerem que o extrato aquoso do noni possui compostos que reduzem significativamente a frequência de células micronucleadas da medula óssea de camundongos *Swiss* machos.

Diante de estudos controversos sobre o efeito tóxico do noni (Muller, 2007; Marques, 2010; Yu, 2011; Santana et al., 2013), fez-se necessário verificar o potencial citotóxico do extrato aquoso do noni *in vitro*.

A Figura 1 mostra que não houve diferença significativa na viabilidade celular em relação ao tratamento com as diferentes concentrações do extrato aquoso do noni (50, 200, 1000, 2500 e 5000 µg/mL) em células CHO, quando comparado com controle negativo. Este resultado mostra que há possibilidade de proliferação celular das células CHO quando em exposição com o noni, mostrando que o mesmo não apresentou potencial tóxico, nas condições testadas.

A Figura 2 mostra que o extrato do noni, nas concentrações testadas, não apresentou efeito antitumoral em células de TAE.

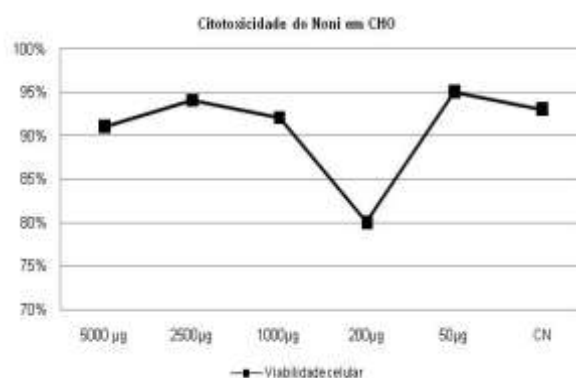


Figura 1 – Viabilidade celular de células CHO tratadas com extrato aquoso do noni, comparadas ao controle negativo.

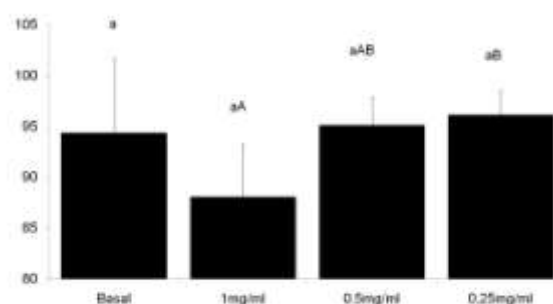


Figura 2 – Avaliação da viabilidade celular de células de Tumor Ascítico de Erlich (TAE) tratadas com extrato do noni, comparadas ao controle basal. *Letra maiúsculas: comparação entre os grupos tratados com extrato; Letras minúsculas: comparação dos grupos tratados com extrato e basal

Assim, os resultados apresentados no teste de citotoxicidade não mostraram efeito citotóxico em células CHO e TAE. Serafini et al., (2011) não observaram efeito citotóxico do extrato aquoso do noni em células de fibroblastos de camundongos (L929) após 24 horas de exposição com diferentes concentrações (0,05; 12 e 25 mg/mL) do extrato no teste de citotoxicidade pelo método direto (MTT).

De acordo com Furusawa (2003), o suco do noni não é citotóxico para algumas linhagens de culturas celulares, mas o noni pode levar indiretamente a morte celular de células cancerígenas via ativação do sistema imune envolvendo macrófagos, células natural killer e células T. Dessa forma, o suco do noni poderia ser considerado um potente imunestimulador com atividade antitumor.

Taskin et al. (2009) investigaram o potencial citotóxico do noni no crescimento do tumor ascítico de Ehrlich, cultivadas em ratas fêmeas Balb-c e combinado com um agente anticâncer potente, doxorubicina.

Os diâmetros de tecidos tumorais foram de cerca de 40-50% menor, em comparação com os do grupo controle.

Thani et al. (2010) estudaram as atividades antiproliferativa e antioxidante de vários extratos do

noni contra diferentes linhagens de células de câncer humano *in vitro*, indicando o possível consumo do noni na quimioprevenção e tratamento do câncer. Da mesma forma, Lishuang et al. (2011) confirmaram o efeito citotóxico de compostos isolados do noni na proliferação de células humanas de câncer de pulmão e cólon *in vitro*.

Assim, embora a literatura apresente estudos divergentes no tocante à segurança no uso do noni, são necessárias maiores investigações em relação aos riscos provenientes dos constituintes ativos presentes nesta planta medicinal. Estas evidências salientam a necessidade de programas de saúde pública que orientem sobre o consumo de plantas medicinais que ainda não tenham comprovações científicas para efeitos clínicos e de doses adequadas, como estratégia para a manutenção da saúde e qualidade de vida humana.

Conclusão

Este estudo mostrou que o noni contém compostos antimutagênicos, os quais indicam ter provavelmente potencial quimiopreventivo contra substâncias genotóxicas. Por outro lado, não mostrou efeito tóxico nos sistemas testes utilizados. Assim, evidências experimentais que correlacionem ingestão de *Morinda citrifolia* L. (noni) e frequência de mutação são ainda muito limitadas.

Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Esclarecimento sobre as avaliações de segurança realizadas de produtos contendo *Morinda citrifolia*, também conhecida como Noni. Informe Técnico nº. 25, de 29 de maio de 2007. Atualizado em 18 de junho de 2008. http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/25_290507.htm

BROWN, A. C. Anticancer Activity of *Morinda citrifolia* (Noni) fruit: A review. *Phytotherapy Research* 26:1427-40, 2012.

DELMANTO, R. D. et al. Antimutagenic effect of *Agaricus blazei* Murrill mushroom on the genotoxicity induced by cyclophosphamide. *Mutation Research-Genetic Toxicology* 496:15-21, 2001.

DUSSOSSOY, E. et al. Characterization, anti-oxidative and anti-inflammatory effects of Costa Rican noni juice (*Morinda citrifolia* L.). *Journal Ethnopharmacology* 133:108-115, 2011.

FERREIRA, F. G. et al. Avaliação de mutagenicidade e antimutagenicidade de diferentes frações de *Pterogyne nitens* (leguminosae) utilizando ensaio de micronúcleo em *Tradescantia pallida*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 19:61-67, 2009.

FURUSAWA, E. Anti-cancer Activity of Noni Fruit Juice Against Tumors in Mice. *Proceedings of the 2002 Hawai'i Noni Conference*, University of Hawaii

at Manoa, College of Tropical Agriculture and Human Resources, 2003.

FURUSAWA, E. et al. Antitumour potential of a polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni) on sarcoma 180 ascites tumour in mice. *Phytotherapy Research* 1:1158-1164, 2003.

JENSEN, C. J. et al. Preventative and treatment effects of *Morinda citrifolia* as a colon cancer cell growth inhibitor. *United States Patent Application* 285-334, 2003.

JIMENÉZ, M.R. et al. Genotoxicity and anti-genotoxicity of some traditional medicinal herbs. *Mutation Research* 585:147-155, 2005.

KUPRADINUN, P.; TEPSUWAN, A.; KUSAMRAN, W. R. Anticlastogenic effect of Asiatic Pennywort and Indian Mulberry using rodent erythrocyte Micronucleus Assay. *The Thai Journal of Veterinary Medicine* 41:87-94, 2011.

KUSAMRAN, W. R.; TEPSUWAN A.; KUPRADINUN, P. Antimutagenic and anticarcinogenic potentials of some Thai vegetables. *Mutation Research* 402:247-258, 1998.

LAVAUT, N. E. G.; LAVAUT, J. A. G. *Morinda citrifolia* Linn: potencialidades para su utilización em La salud humana. *Revista Cubana de Farmácia* 37:12-15, 2003.

LISHUANG, L.V. et al. Chemical components of the roots of Noni (*Morinda citrifolia*) and their cytotoxic effects. *Fitoterapia* 82:704-708, 2011.

MacGREGOR, J. T. et al. Guidelines for the conduct of micronucleus assay in mammalian bone marrow erythrocytes. *Mutation Research* 189:103-112, 1987.

MANOHAN, K., BANERJEE, M. R. β -carotene reduces sister chromatid exchange induced chemical carcinogens in mouse mammary cells in organ culture. *Cell Biol Int Rep* 9:783-89, 1985.

MARQUES, N. F. G. et al. Delayed ossification in Wistar rats induced by *Morinda citrifolia* L. exposure during pregnancy. *Journal of Ethnopharmacology* 128:85-91, 2010.

MULLER, J. C. Toxicidade reprodutiva da *Morinda citrifolia* Linn. 103 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia)- Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Curitiba - PR: 2007.

PALIOTO, G. F.; JABOR, S.; ROCHA, C. L. M. S. C. Avaliação do potencial antimutagênico do suco de *Morinda citrifolia* L. (Noni) em *Aspergillus nidulans*. In: *Resumos do 55º Congresso Brasileiro de Genética*, 2009.

- PALU, A. K. et al. The effects of *Morinda citrifolia* L. (noni) on the immune system: its molecular mechanisms of action. *Journal of Ethnopharmacology* 115:502-506, 2008.
- PALU, A. K., SU, C.; JENSEN, J. Noni (*Morinda citrifolia* L.) Fruit juice anti-breast cancer potential: a mechanism involving its aromatase enzyme inhibitory effect. *Journal Medicinal Food Plantas* 1: 55-57, 2009.
- PEREIRA, C.A.B. Teste estatístico para comparar proporções em problemas de citogenética. In: RABELLO-GAY, M.N., RODRIGUES M.A, La R., Montelleone-Neto (Eds.) *Mutagênese, teratogênese e carcinogênese: métodos e critérios de avaliação*. São Paulo: FCA, p.113-21, 1991.
- SAMOYLENKO, V. et al. New constituents from noni (*Morinda citrifolia*) fruit juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:6398-6402, 2006.
- SANTANA, G.M. et al. Citotoxicidade do fruto de *Morinda citrifolia* L. sobre as células meristemáticas de *Allium cepa* L. 65ª. Reunião Anual da SBPC, UFPE – Recife, 16-17, 2013.
- SERAFINI, M. R. et al. Pre-clinical toxicity of *Morindacitrifolia* Linn. leaf extract. *African Journal of Biotechnology* 10:14566-14572, 2011.
- SUGUI, M.M. Mecanismos de antimutagenicidade do cogumelo *Agaricus brasiliensis* sobre lesões no DNA induzidas *in vivo* e *in vitro*. 111 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Patologia)- Faculdade de Medicina – UNESP – Botucatu- São Paulo, Brasil, 2006.
- TASKIN, E. L. et al. Apoptosis-inducing effects of *Morinda citrifolia* L. and doxorubicin on the Ehrlich ascites tumor in Balb-c mice. *Cell biochemistry and Function*, 27:542-546, 2009.
- THANI, W. et al. Anti-proliferative and antioxidative activities of Thai noni/Yor (*Morinda citrifolia* Linn.) leaf extract. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 41:482-489, 2010.
- WANG, M.; SU, C. Efeito preventivo do câncer de *Morinda citrifolia* (noni). *Anais da New York Academy of Sciences* 952:161-168, 2001.
- WANG, M. et al. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. *Acta Pharmacologica Sinica* 23:1127-1141, 2002.
- WATERS, M.D. et al. Antimutagenic profiles for some model compounds. *Mutation Research* 238:57-85, 1990.
- WEST, B. J. et al. A Safety Review of Noni Fruit Juice. *Journal of Food Science* 71:100-106, 2006.
- YANG, J. et al. Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing and storage. *Food Chemistry* 102:302–8, 2007.
- YU, E. L. et al. Acute hepatotoxicity after ingestion of *Morinda citrifolia* (Noni Berry) juice in a 14-year-old boy. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 53:469-470, 2011.