

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GENOTÓXICA E ANTIGENOTÓXICA DO EXTRATO ETANÓLICO DOS FRUTOS DE *MORINDA CITRIFOLIA*

Débora Kuck Mausolff Papke¹

Franciele Souza Santos²

Mariana Leal Ambrozio³

Thienne Rocha Pires⁴

Graciela da Costa Gonçalves⁵

Alice Gomes Ferraz⁶

Germano Pinho de Moraes⁷

Alexandre de Barros Falcão Ferraz⁸

Ivana Grivicich⁸

Jaqueline Nascimento Picada⁹

RESUMO

Morinda citrifolia (Rubiaceae) é uma planta medicinal conhecida popularmente como “noni”, que vem sendo estudada quanto às propriedades farmacológicas, tais como bactericida, analgésica, anti- inflamatória e imuno- estimulante. O presente estudo teve como objetivos avaliar as atividades genotóxicas e antigenotóxicas do extrato etanólico dos frutos de *Morinda citrifolia* em camundongos, utilizando o teste cometa alcalino. Os resultados obtidos demonstraram que não houve aumento de danos ao DNA após dose única ou repetidas do extrato em sangue periférico de camundongos. Por outro lado, o extrato apresentou efeitos antigenotóxicos em sangue periférico coletado 24 h após três dias consecutivos de administração. Através deste estudo é possível concluir que o extrato etanólico dos frutos de *Morinda citrifolia* apresenta atividade protetora contra danos oxidativos ao DNA sem induzir efeito genotóxico.

Palavras-chave: *Morinda citrifolia*, genotoxicidade, antigenotoxicidade.

ABSTRACT

Morinda citrifolia is a medicinal plant popularly known as noni, whose pharmacological properties as bactericide, analgesic, anti inflammatory, and imuno stimulant have been studied. The

¹ Acadêmica do curso de Farmácia/ULBRA – Bolsista PROBIC/FAPERGS

² Acadêmica do curso de Farmácia/ULBRA – Bolsista PIBIC/CNPq

³ Acadêmica do curso de Biomedicina/ULBRA – Bolsista PROICT/ULBRA

⁴ Acadêmica do curso de Biomedicina/ULBRA – Bolsista PROBIC/FAPERGS

⁵ Acadêmica do curso de Farmácia/ULBRA – Bolsista PROBIT/FAPERGS

⁶ Acadêmica do Ensino Médio – Bolsista PIBIC-EM/CNPq

⁷ Aluno de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde/ULBRA

⁸ Professor do curso de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde/ULBRA

⁹ Professora-orientadora do curso de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde/ULBRA (jnpicada@gmail.com).

aims of this study were to evaluate the genotoxic and antigenotoxic effects of an ethanolic extract from *Morinda citrifolia* fruit using alkaline comet assay in mice. The results showed that there was not an increase in DNA damage after a single dose or repeated doses of the extract in peripheral blood of mice. However, the extract showed antigenotoxic activities in peripheral blood collected 24 h after three consecutive days of treatment. In conclusion, the ethanolic extract from *Morinda citrifolia* fruit has protective actions against DNA oxidative damage without inducing genotoxic effects.

Keywords: *Morinda citrifolia*, genotoxicity, antigenotoxicity.

INTRODUÇÃO

Morinda citrifolia é uma planta que pertence à família Rubiaceae, originária das ilhas do Pacífico, Sudeste Asiático e outras áreas tropicais e subtropicais. Popularmente como “noni” é utilizada pelos polinésios na medicina popular há mais de 2000 anos (LI et al., 2008; MUTO et al., 2010). Essa planta é um arbusto que pode medir de 3 a 10 metros de altura. As folhas são grandes e perenes, elípticas e verde-escuras e suas flores são pequenas e brancas (MCCLATCHEY, 2002). Noni também é conhecida por outros nomes vulgares como Ba ji tian, nonu, indian mulberry, canarywood e cheese fruit (COSTA, 2011).

Os frutos são verdes, ovais, contém muitas sementes, podem pesar até 800 gramas e mudar de cor rapidamente para um amarelo claro e em seguida, para o branco translúcido (SOUSA et al., 2009). O aroma da fruta depende da variedade, mas a maioria apresenta cheiro desagradável de ácido butírico quando maduras (MCCLATCHEY, 2002).

Praticamente todas as partes da planta de noni são utilizadas, e para cada uma delas a medicina popular atribui propriedades medicinais diferentes (SOUSA et al., 2009). O fruto de *M. citrifolia* é a parte da planta de mais ampla utilização, usado para preparar um suco medicinal comercializado em mercados públicos e feiras, especialmente no nordeste do Brasil, sendo popularmente consumido para tratar doenças como diabetes, hipertensão e câncer (RYBAK, RUZIK, 2013). Ao suco da fruta são atribuídas ações bactericida, analgésica, anticongestiva, antioxidante, expectorante, anti- inflamatória, adstringente, emoliente, laxativa, hipotensora, imuno- estimulante, tônica e anticarcinogênica (BUI; BACIC; PETTOLINO; 2006; SOUSA et al., 2009). Contudo, um levantamento na literatura tem indicado limitadas avaliações genotoxicológicas com relação ao suco de noni, o que caracteriza risco potencial à saúde para quem o consome (WESTENDORF et al., 2007; MÜLLER et al., 2009).

O teste cometa é um método padronizado para avaliar danos ao DNA, usado para detecção de substâncias genotóxicas (TICE et al., 2000). A técnica possui alta sensibilidade para detectar baixos níveis de danos ao DNA; entre os quais, quebras de fita simples e duplas e sítios álcali-lábeis. Além disto, o teste pode detectar danos em células que não se dividiram e requer pequeno número de células por amostra, o que amplia sua versatilidade de aplicações (TICE et al., 2000; GOMTIJO; TICE, 2003). Alterações metodológicas do teste cometa podem ser empregadas para identificar compostos antigenotóxicos, que estariam envolvidos na proteção do DNA (WEISBURGER, 2001). O procedimento *ex*

vivo utilizando peróxido de hidrogênio (H_2O_2) permite verificar efeitos antígeno-tóxicos de diferentes substâncias, incluindo extratos vegetais que podem proteger o DNA contra os efeitos induzidos por lesões oxidativas causadas pelo H_2O_2 (SZETO et al., 2002; PEREIRA et al., 2005; KAHL et al., 2011).

Devido ao crescente interesse pelos efeitos medicinais de produtos produzidos a partir dos frutos de noni e devido a pouca informação a respeito de suas atividades sobre o material genético, os objetivos deste trabalho foram avaliar as atividades genotóxicas e antígeno-tóxicas de um extrato etanólico dos frutos de *M. citrifolia* em sangue periférico de camundongos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do extrato etanólico dos frutos de *Morinda citrifolia* (noni)

Os frutos da planta *M. citrifolia* foram coletados no município de Altos, estado do Piauí, à latitude de 05° 02'20" S, longitude de 42° 27'39" O e a 187 metros de altitude, a 42 quilômetros ao nordeste da capital Teresina. O extrato etanólico foi preparado no Laboratório de Farmacognosia e Fitoquímica da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Canoas, RS, Brasil. Os frutos foram triturados por completo com o auxílio de um mixer, em uma proporção 1:5 m/v de fruto e etanol. Posteriormente, a mistura foi transferida para um frasco, onde diariamente foi submetido a técnica de inversão para a extração dos componentes do fruto. Após a solução foi filtrada e o resíduo que permaneceu no papel filtro foi devolvido para o frasco e novamente submetido a extração com adição de etanol na proporção indicada. Este procedimento foi repetido até exaustão, ou seja, até que o etanol não apresentasse mais coloração. Após, o filtrado foi evaporado em aparelho de evaporação rotatória para retirar o etanol, obtendo-se assim o extrato etanólico dos frutos de noni (EEFN).

Animais experimentais

Utilizou-se 35 camundongos machos (peso médio $38,8 \pm 1,53$ g), oriundos do Biotério da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Campus Canoas. Os animais foram mantidos a $22^\circ C \pm 3$, com ciclo claro 12 h escuro 12 h, durante todo o período experimental. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), ULBRA, Canoas, sob o protocolo número 2013-22P.

Tratamento dos camundongos

O tratamento dos animais foi realizado em uma sala de procedimentos do biotério da Ulbra. Os animais foram divididos em cinco grupos constituídos de seis a oito camundongos por grupo. Os animais dos grupos tratados receberam durante três dias consecutivos por via oral (gavagem) doses de 500, 1000 e 2000 mg/kg do extrato etanólico dos frutos de *M. citrifolia*. O grupo controle negativo recebeu solução salina (NaCl 0,9%).

Coleta das amostras

As amostras de sangue periférico foram coletadas nos tempos zero, 6 h, 24 h após a primeira gavagem, e no final do período experimental, após 72 h de exposição. Os animais foram eutanasiados por decapitação. As amostras foram armazenadas em tubos tipo Eppendorf contendo 15 μ L de heparina (12.000 U.I.).

Teste cometa

Para a análise da genotoxicidade utilizou-se a versão alcalina do teste cometa, descrito em Tice et al. (2000) com menores modificações. Aliquotas de 10 μ L das amostras foram misturadas com uma fina camada de agarose “low melting” 0,75% (95 ml) e colocadas sobre lâminas pré-cobertas com agarose normal a 1,5%; estas lâminas foram mergulhadas em uma solução de lise (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA e 10 mM Tris, pH 10 com adição de 1% Triton X-100 e 10% DMSO na hora do uso), por 24-72 horas a 4°C, para o rompimento das membranas celulares. Para a avaliação da atividade antigenotóxica utilizou-se peróxido de hidrogênio (0,25 mM) em tratamento *ex vivo*: as lâminas de sangue periférico 6, 24 e 72 horas, foram mergulhadas por 5 min na solução de peróxido de hidrogênio, antes de serem mergulhadas em solução de lise. A migração dos fragmentos de DNA foi realizada em uma cuba de eletroforese de DNA onde as lâminas foram imersas em tampão alcalino (300 mM NaOH e 1 mM EDTA, pH > 13) por 20 minutos e em seguida submetidas a uma corrente elétrica de 300 mA e 25 V (0,90 V/cm) por 15 minutos. As lâminas foram neutralizadas logo após a eletroforese com tampão Tris 0,4 M, pH 7,5 e coradas com solução de prata. Os resultados foram expressos em índice de danos (ID) e frequência de danos (FD). O ID foi obtido pela avaliação visual das classes de danos (de 0 – 4), para a expressão do dano geral sofrido por uma população de células (50 células por lâmina em duplicata). A FD será calculada baseada no número de células com cauda versus aquelas sem cauda. Os resultados foram submetidos à análise da variância de uma via (ANOVA) e complementados com o teste de Dunnett. Foram considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar da literatura científica sobre *M. citrifolia* ser extensa, especialmente em relação aos possíveis efeitos farmacológicos e usos terapêuticos, a quantidade de publicações que avaliaram sua segurança é bem limitada (HIRAZUMI; FURUSAWA, 1999). A utilização de plantas com fins medicinais, para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade, no entanto poucas foram avaliadas quanto a toxicidade (JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

No presente estudo foram avaliadas as atividades genotóxicas e antigenotóxicas do EEFN *in vivo*, utilizando o teste cometa em sangue periférico. Primeiramente, foram avaliados os danos basais de cada animal no sangue periférico, antes de iniciar os tratamentos com as diferentes concentrações do EEFN ou salina. Os valores de ID e FD relacionados ao tempo zero não revelou diferença estatística entre os grupos testados.

Após 6 h da primeira administração, não houve aumento significativo de ID e FD em sangue periférico dos animais dos grupos tratados com o EEFN em relação ao grupo controle negativo, indicando que o extrato não foi genotóxico após 6 h de exposição (Tabela 1). A análise dos valores obtidos de ID e FD após 24 h da primeira administração, quando comparados com o grupo controle negativo, de acordo com a avaliação estatística, também não revelou diferença significativa entre os grupos testados.

O sangue periférico foi coletado também após a administração por 3 dias consecutivos (72 h) da administração das doses do extrato ou solução salina. De acordo com a análise estatística, não foi observado um aumento significativo de ID e FD em sangue periférico dos animais dos grupos tratados com o EEFN em relação ao grupo controle negativo, assim como foi observado nos demais tempos de coleta. Desta forma, os resultados indicam que o EEFN não apresenta efeito genotóxico em sangue periférico tanto em dose única quanto em doses repetidas três vezes, sugerindo que a curto prazo, o suco não apresenta riscos genotóxicos.

Tabela 1 – Avaliação da atividade genotóxica pelo teste cometa em sangue periférico de camundongos tratados com salina ou extrato etanólico dos frutos de *M. citrifolia* (500, 1000, 2000 mg/Kg).

Tempo de Exposição	Grupo	ID	FD
		Média ± DP	Média ± DP
6 h	Salina	54,7 ± 14,4	43,3 ± 7,6
	500 mg/Kg	49,5 ± 9,6	40,2 ± 7,6
	1000 mg/Kg	56,0 ± 5,3	41,3 ± 12,8
	2000 mg/Kg	47,0 ± 13,5	39,7 ± 9,9
24 h	Salina	44,6 ± 9,7	35,6 ± 9,3
	500 mg/Kg	53,1 ± 10,1	42,8 ± 3,8
	1000 mg/Kg	50,2 ± 9,4	38,7 ± 8,2
	2000 mg/Kg	46,2 ± 30,4	38,4 ± 17,6
72 h	3 x Salina	54,3 ± 26,3	45,8 ± 13,9
	3 x 500 mg/Kg	42,0 ± 15,8	38,5 ± 11,2
	3 x 1000 mg/Kg	43,5 ± 31,7	36,1 ± 13,6
	3 x 2000 mg/Kg	40,2 ± 28,4	33,1 ± 13,0

Os dados foram analisados por ANOVA e complementado com o teste de Dunnett.

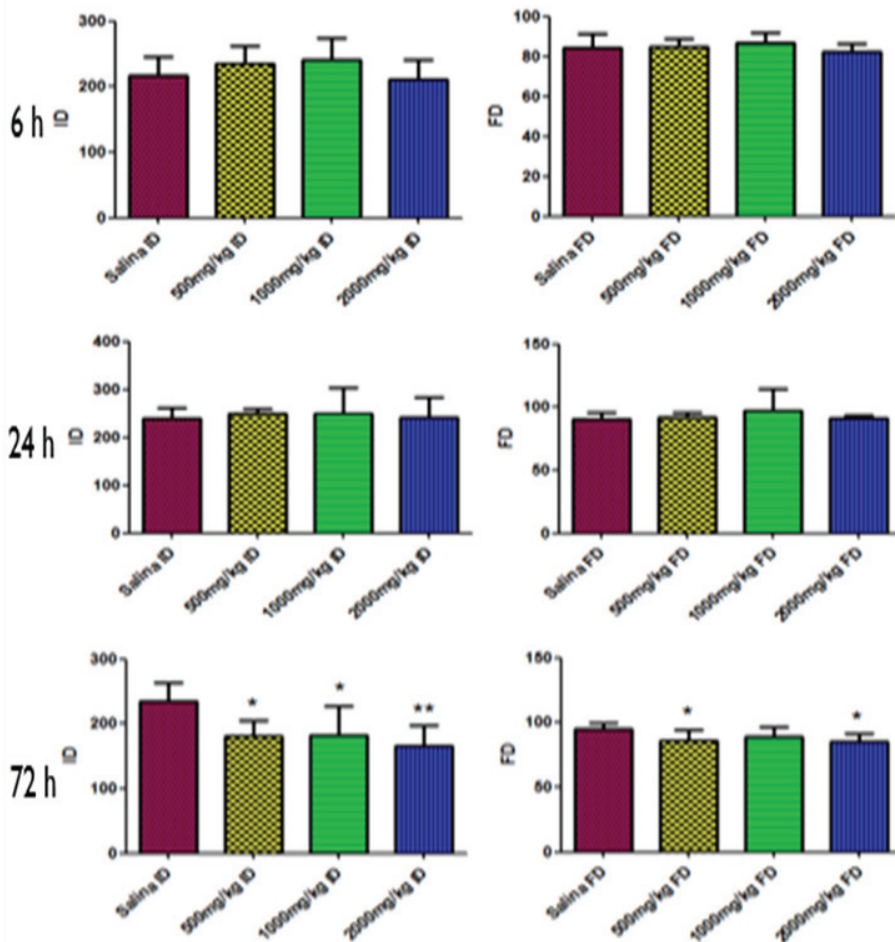
ID: índice de danos – de zero (sem danos, 100 células x 0) a 400 (com máximo de dano, 100 x 4).

FD: frequência de danos – calculada baseada no número de células com danos versus aquelas sem danos.

O teste cometa também foi realizado para determinar o efeito antígeno-tóxico do EEFN utilizando o H₂O₂ com o objetivo de avaliar a proteção contra danos oxidativos ao DNA, com o uso do procedimento *ex vivo*. Como pode ser observado na Figura 1, não houve diminuição significativa de ID e FD após a primeira administração do EEFN, tanto em sangue periférico coletado 6 h quanto em 24 h, sugerindo que o EEFN não apresenta atividade antígeno-tóxica nas doses utilizadas. Contudo, no tempo de 72 h, correspondente ao sangue periférico coletado após as administrações das doses do extrato por três dias consecutivos, foi observada diminuição significativa de ID em todas as doses testadas

e de FD nas doses de 500 e 2000 mg/kg, quando comparados ao grupo salina + H₂O₂, indicando proteção antigenotóxica do EEFN.

Figura 1 – Avaliação da atividade antigenotóxica pelo teste cometa em sangue periférico de camundongos tratados com salina ou extrato etanólico dos frutos de *Morinda citrifolia* (500, 1000, 2000 mg/Kg). As células foram tratadas *ex vivo* com peróxido de hidrogênio (0,25 mM).



Os mecanismos pelos quais o suco de noni exerce a sua atividade antigenotóxica não são muito claros. Muitos compostos vegetais protegem os sistemas biológicos contra xenobióticos por apresentarem atividade antioxidante, induzirem enzimas detoxificadoras, ou por inibirem enzimas oxidativas. Sendo assim, estudos sobre substâncias que possam apresentar efeitos químico preventivos são de grande interesse (BELLO-KLEIN, 2002; PAOLINI; NESTLE, 2003). Os antioxidantes removem espécies reativas de oxigênio

(ERO), que são produzidas naturalmente pela respiração e produção de energia e afetam negativamente o organismo quando em excesso. As ERO reagem com DNA e outras moléculas endógenas, contribuindo para o envelhecimento precoce e a instalação de doenças degenerativas, como câncer, aterosclerose, artrite reumática, entre outras. O papel dos antioxidantes é bloquear as reações de oxidação e oferecer proteção às membranas e outras partes das células (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1984).

Prévios estudos verificaram as propriedades antioxidantes de extratos etanólico e acetato de etila dos frutos de *Morinda citrifolia* utilizando tiocinato férrico (FTC) e teste com ácido tiobarbitúrico (TBA). Os resultados mostraram que os extratos não polares das três partes da planta, raízes, folhas e frutos exibiram uma forte inibição de peroxidação lipídica, quando comparados com os antioxidantes α -tocoferol e di-terc-butil-metil-fenol (BHT) (ZIN; ABDUL-HAMID; OSMAN; 2002; CHAN-BLANCO et al., 2006).

Entre os compostos encontrados nos frutos de noni, os mais importantes relatados são antraquinonas (morindona, morindino), e também iridóides (aucubina e asperulosídeo), e cumarina (escopoletina) (CHAN-BLANCO et al., 2006; KIM et al., 2010). Alguns destes compostos poderiam sequestrar ERO, impedindo a oxidação de bases nitrogenadas do DNA, induzir enzimas antioxidantes ou de reparação de DNA. É provável que um ou mais destes mecanismos promova a proteção ao DNA observada nas células sanguíneas dos camundongos tratados com o EEFN. Curiosamente, nas primeiras 24 h não foi observado efeito protetor, sugerindo um mecanismo de ação sobre atividades enzimáticas de vias redox ou de reparação de DNA, que geralmente levam mais tempo para serem detectadas. A atividade anti-inflamatória de um extrato aquoso do suco de noni foi atribuída ao efeito seletivo de inibição em algumas enzimas ciclooxigenases (COX-1 e COX-2) (DENG et al., 2007), demonstrando a presença de compostos no suco com ação sobre atividades enzimáticas.

Uma atividade antioxidante foi medida *in vitro* utilizando o ensaio de nitro azul tetrazolium (TNB), através da avaliação da capacidade do suco para proteger as células da lipoperoxidação induzida por ânion radical superóxido (SAR), (FRANCHI et al., 2013). A atividade sequestradora de SAR pelo suco de noni foi 2,8 vezes maior do que a da vitamina C, e 1,4 vezes mais elevada do que a de picnogenol (WANG; SU, 2001).

Nas folhas, também foi observado efeito antígenotóxico: um extrato aquoso das folhas de *M. citrifolia* apresentou efeito protetor contra danos oxidativos induzidos por H_2O_2 em *Allium cepa* (SREERANJINI; SIRIL, 2011). Os bulbos das cebolas foram tratados por 24 horas com diferentes doses de extrato aquoso das folhas de noni com ou sem pré-tratamento (1 hora) com 7% de H_2O_2 . O efeito do extrato aquoso das folhas de *M. citrifolia* sobre a redução do número total de aberrações cromossômicas induzidas por H_2O_2 foi estatisticamente significativo, quando comparado com o controle negativo, sugerindo que o extrato aquoso das folhas *M. citrifolia* tem um forte efeito inibidor do estresse oxidativo induzido pela ação mutagênica do peróxido de hidrogênio utilizando *A. cepa* (SREERANJINI; SIRIL, 2011). No presente estudo, o EEFN protegeu o DNA das células sanguíneas contra danos oxidativos, provavelmente, devido a atividade antioxidante de componentes que foram extraídos dos frutos de noni.

CONCLUSÕES

O extrato etanólico dos frutos de *Morinda citrifolia* não apresentou atividade genotóxica em sangue periférico, sendo que, no teste de antigenotoxicidade o extrato mostrou um efeito protetor contra danos oxidativos em sangue periférico através do teste cometa *ex vivo*, sugerindo uma atividade antigenotóxica. Estudos adicionais devem ser realizados para elucidar os mecanismos envolvidos na indução dos efeitos antigenotóxicos observados.

AGRADECIMENTOS

Os pesquisadores agradecem ao doutorando Germano Pinho de Moraes do PPGBioSaúde, ULBRA, Canoas, pelo fornecimento dos frutos de *Morinda citrifolia*. Esta pesquisa teve o apoio financeiro da ULBRA, CNPq e FAPERGS.

REFERÊNCIAS

- BELLO-KLEIN, A. Dano oxidativo e Regulação Biológica pelos Radicais Livres. In: MARRONI, N. P. **Estresse Oxidativo e Antioxidantes**. Canoas: Editora da Ulbra, 2002.
- BUI, A. K. T.; BACIC, A.; PETTOLINO, F. Polysaccharide composition of the fruit juice of *Morinda citrifolia* (noni). **Phytochemistry**, v. 67, p. 1271–1275, 2006.
- CHAN-BLANCO, Y et al. The noni fruit (*Morindacitrifolia L.*): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 645–654, 2006.
- COSTA, A. B. **Atividade antioxidante in vitro e antifúngica do noni (*Morinda citrifolia L.*)**. 2011. 89 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, 2011. Piauí: UFP, 2011.
- DENG S. et al. Lipxygenase inhibitory constituents of the fruits of noni (*Morinda citrifolia*) collected in Tahiti. **Journal of Natural Products**. v. 70, n. 5, p. 859-862, 2007.
- FRANCHI, L. P. et al. Antimutagenic and antirecombinagenic activities of noni fruit juice in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 2, p. 585-594, 2013.
- GONTIJO, A. M. M. C; TICE, R. Teste do Cometa para a Detecção de Dano no DNA e Reparo em Células Individualizadas. In: RIBEIRO, L. R.; SALVADORI, D. M. F.; MARQUES, K. E. **Mutagênese Ambiental**. Canoas: Editora da ULBRA, 2003.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. **The Biochemical Journal**, v. 219, p. 1-14, 1984.

- HIRAZUMI, A.; FURUSAWA, E. An Immunomodulatory Polysaccharide-Rich Substance from the Fruit Juice of *Morinda citrifolia* (noni) with Antitumour Activity. **Phytotherapy Research**, v. 13, p. 380–387, 1999.
- JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.
- KAHL, V. F. S., et al. Análise dos potenciais antigenotóxico e antioxidante de duas variedades de acerola (*Malpighia glabra* L.) Fp-19 e Okinawa, em diferentes estágios de maturação. **Revista de Iniciação Científica da ULBRA**, p. 141–9, 2011.
- KIM, H.K. et al. Identification of novel fatty acid glucosides from the tropical fruit *Morinda citrifolia* L. **Phytochemistry Letters**, v. 3, p. 238–241, 2010.
- LI, J. Fermented Noni Exudate (fNE): A mediator between immune system and anti-tumor activity. **Oncology Reports**, v. 20, p. 1505-1509, 2008.
- MCCLATCHEY, W. From Polynesian Healers to Health Food Stores: Changing Perspectives of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae). **Integrative Cancer Therapies**, v. 1, n. 2, p. 110-120, 2002.
- MUTO, J., et al. *Morinda citrifolia* fruit reduces stress-induced impairment of cognitive function accompanied by vasculature improvement in mice. **Physiology & Behavior**, v.101, p. 211–217, 2010.
- MÜLLER, J. C., et al. *Morinda citrifolia* Linn (Noni): *In vivo* and *in vitro* reproductive toxicology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, p. 229–233, 2009.
- PAOLINI, M.; NESTLE, M. Pitfalls of enzymes-based molecular anticancer dietary manipulations: food for thought. **Mutation Research**, v. 543, p. 181-189, 2003.
- PEREIRA, P., et al. Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid. **Pharmacological Research**, v. 52, p. 199-203, 2005.
- RYBAK, J.; RUZIK, L. Application of chromatography and mass spectrometry to the characterization of cobalt, copper, manganese and molybdenum in *Morinda citrifolia*. **Journal of Chromatography A**, v. 1281, p. 19– 25, 2013.
- SOUSA, J. A.de et al. **Noni *Morinda citrifolia* L.** Fortaleza: Embrapa, 2009.
- SREERANJINI, S.; SIRIL, E. A., Evaluation of anti-genotoxicity of the leaf extracts of *Morinda citrifolia* Linn. **Plant Soil and Environment**, v. 57, n.5, p. 222–227, 2011.
- SZETO, Y. T.; COLLINS, A. R.; BENZIE, I. F. F. Effects of dietary antioxidants on DNA damage in lysed cells using a modified comet assay procedure. **Mutation Research**, v. 500, p.31-38, 2002.
- TICE, R. R., et al. Single cell gel/comet assay: Guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 35, p. 206-221, 2000.

WANG, M. Y.; SU, C. Cancer preventive effect of *Morinda citrifolia* (noni). **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 952, p. 161-168, 2001.

WEISBURGER, J. H. Antimutagenesis and anticarcinogenesis, from the past to the future. **Mutation Research**, v. 480, p. 23-35, 2001.

WESTENDORF, J. et al. Toxicological and Analytical Investigations of Noni (*Morindacitrifolia*) Fruit Juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 529-537, 2007.

ZIN, Z. M.; ABDUL-HAMID, A.; OSMAN, A. Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morindacitrifolia* L.) root, fruit and leaf. **Food Chemistry**, v. 78, p. 227 - 231, 2002.