

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Avaliação das atividades anti-hiperuricêmica, antiartrite gotosa e antioxidante de extratos brutos das folhas de *Sparattosperma leucanthum* e estudo fitoquímico do extrato acetato etílico

Rita de Cássia Lemos Lima

Ouro Preto – MG

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Avaliação das atividades anti-hiperuricêmica, antiartrite gotosa e antioxidante de extratos brutos das folhas de *Sparattosperma leucanthum* e estudo fitoquímico do extrato acetato etílico

Autora: Rita de Cássia Lemos Lima

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Dênia Antunes Saúde Guimarães (DEFAR-UFOP)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – CIPHARMA, para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Fármacos e Medicamentos. Linha de Pesquisa: Química e Farmacologia de Substâncias.

Ouro Preto – MG

2014

F381a

Lima, Rita de Cássia Lemos.

Avaliação das atividades anti-hiperuricêmica, antiartrite gotosa e antioxidante de extratos brutos das folhas de *Sparattosperma leucanthum* e estudo fitoquímico do extrato acetato etílico [manuscrito] / Rita de Cássia Lemos Lima. – 2014.

99 f.: il. color., grafs., tabs.; fluxogramas.

Orientadora: Profa. Dra. Dênia Antunes Saúde Guimarães.

Co-orientadora: Profa. Dra. Carmen Aparecida de Paula

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Programa de Pós graduação em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

1. Artrite - Teses. 2. Gota (Doença) - Teses. 3. Hiperuricemia - Teses.
4. Inflamação - Teses. 5. Xantina – Teses. 6. Ervas – Uso terapêutico - Teses.
I. Guimarães, Dênia Antunes Saúde. II. Paula, Carmen Aparecida de.
III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 616.72-002:615.322

Catálogo: sisbin@sisbin.ufop.br

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP
Escola de FarmáciaATA DA SESSÃO DE DEFESA DA 90ª DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DA ESCOLA DE
FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

1 Aos vinte e seis dias do mês de agosto de dois mil e quatorze, terça-feira, realizou-se, a
2 partir das quinze horas, no Auditório do Pavilhão de Aulas - Campus, a sessão de
3 defesa de dissertação da candidata ao grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, **Rita**
4 **de Cássia Lemos Lima** intitulada: “Avaliação das atividades anti-hiperuricêmica,
5 antiartrite gotosa e antioxidante dos extratos brutos de *Sparattosperma leucanthum* e
6 estudo fitoquímico do extrato acetato etílico”. A Banca Examinadora foi constituída
7 pela Profa. Jacqueline Aparecida Takahashi (UFMG), Profa. Andrea Grabe Guimarães
8 (UFOP) e pela orientadora Profa. Dênia Antunes Saúde Guimarães (UFOP). De acordo
9 com o regulamento do Curso, a orientadora, Profa. Dênia Antunes Saúde Guimarães,
10 presidente da banca, abriu a sessão, passando a palavra à candidata, que fez a exposição
11 do seu trabalho. Em seguida, foi realizada a arguição pelas examinadoras na ordem
12 registrada acima, com a respectiva defesa da candidata. Finda a arguição, a Banca
13 Examinadora se reuniu, sem a presença da candidata, tendo deliberado pela sua
14 aprovação. Nada mais havendo para constar, lavrou-se
15 a presente ata por mim, Mirela Pena Fagundes, secretária do CiPharma, e fez-se a
16 leitura da presente ata que segue assinada pelos membros da Banca Examinadora e pela
17 vice-coordenadora do Curso.

18
19 Ouro Preto, 26 de agosto de 2014.

20
21
22

23 Profª. Dra. Jacqueline Aparecida Takahashi
24 UFMG

25
26
27

28 Profª. Dra. Andrea Grabe Guimarães
29 UFOP

30
31
32

33 Profª. Dra. Dênia Antunes Saúde Guimarães
34 UFOP

35
36
37

38 Profª. Dra. Simone Aparecida Rezende
39 Vice-coordenadora do Programa de Pós-Graduação em
40 Ciências Farmacêuticas - CiPharma

**Este trabalho foi realizado sob a orientação da Prof^a Dr^a Dênia Antunes Saúde
Guimarães e co-orientação da Prof^a Dr^a Carmem Aparecida de Paula.**

**Laboratório de Plantas Medicinais (LAPLAMED)
Escola de Farmácia – CiPharma - UFOP**

**Este trabalho recebeu apoio da Rede Mineira de Ensaio Toxicológicos e
Farmacológicos da FAPEMIG e da CAPES**

Dedico este trabalho aos meus pais, por serem os meus maiores modelos de força, fé, amor e caráter.

Obrigada por tudo, desde os primeiros passos até hoje, vocês são um lindo exemplo de vida.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a Deus pelas inúmeras graças concedidas, especialmente a de conseguir concretizar meus sonhos.

Agradeço aos meus pais, Geraldo e Lúcia, pelo exemplo de força e de vida, pelo amor e dedicação incondicionais ao longo de toda minha vida. Pelos sábios conselhos, incentivo e pela confiança na minha capacidade desde os primeiros passos. Às minhas irmãs, Renata e Geovanna, o meu eterno amor e gratidão pela amizade, força, companhia e carinho de sempre. Esta conquista pertence a vocês também.

À prof^a Dênia Antunes Saúde Guimarães toda a minha gratidão pela confiança depositada ao me conceder esta oportunidade, pela atenção, paciência e especialmente pela inspiração. À prof^a Carmem Aparecida de Paula pela paciência, carinho, sábias orientações e palavras de apoio ao longo destes anos.

Aos colegas do LAPLAMED, que hoje chamo, carinhosamente, de amigos, de modo especial, Fernanda, Marcela e Zilma que tanto me auxiliaram nos trabalhos e fizeram desta caminhada mais agradável, os meus mais sinceros agradecimentos. Aos alunos de iniciação científica, Bruna e Marcus, pelo auxílio ao longo deste trabalho e pela adorável companhia.

Aos amigos do CiPharma, Quênia, Thales, Aline e Patrícia pela companhia e apoio em tantos momentos. Aos técnicos Patrícia Capelari, Leonardo César, Mirela Pena e Renata Castro pelo auxílio ao longo do trabalho.

Ao Prof. José Dias de Souza Filho pela obtenção dos espectros de RMN de SL-1.

Agradeço à UFOP, CNPq e à rede TOXIFAR/FAPEMIG, pelo apoio financeiro; à CAPES pela bolsa concedida.

*E a nós, o que cabe?
Cabe a nós, homens e mulheres,
que por sorte na vida,
e amor incondicional de Deus,
recebemos o dom do olhar atento.
De enxergar mais fundo e descobrir
a razão e o motivo,
as vias desses acontecimentos,
químicos, físicos, matemáticos e biológicos,
Detetives atentos dessa gama de seres e moléculas,
Obras do Criador...
Cabe a nós desvendar o que carrega a alma,
o sonho e a esperança
dos olhos que carregam o sofrimento.
Que nosso olhar atento não seja só científico,
mas, sobretudo, misericordioso.
Capaz de reconhecer na dor do que sofre
a única e maior inspiração para tomar as rédeas
e seguir em frente.
Que não lutemos por nós,
meramente por vaidades e reconhecimentos públicos.
Que nosso maior reconhecimento seja
o sono tranquilo da mãe que vê seu filho curado,
o sorriso de quem ora chorava e sofria,
os olhos sorridentes que só a paz de espírito traz,
como em olhos de criança.
Cabe a nós, cientistas, sermos mais sonhadores,
poetas e um pouco utópicos, talvez.
Voltar aos nossos sonhos de criança,
e resgatar o que de melhor em nós existe,
para promover mais que saúde, a esperança.*

(Rita de Cássia Lemos Lima)

RESUMO

A artrite gotosa, ou gota, consiste num processo lento e recorrente de inflamação provocado pelo acúmulo e precipitação de cristais de urato nas articulações dando início à patologia provocando dor intensa, desconforto e debilidade física nos pacientes. A procura por novas opções de tratamento para a artrite gotosa vem aumentando consideravelmente e se justifica diante dos efeitos adversos e, muitas vezes inadequação do tratamento em uso clínico atualmente. A espécie *Sparattosperma leucanthum*, popularmente conhecida como “cinco-folhas”, pertencente ao pequeno gênero *Sparattosperma* é amplamente distribuída pelo Brasil, sendo considerada uma planta nativa. Poucos estudos relatam o estudo fitoquímico da espécie *Sparattosperma leucanthum*, apesar de ser utilizada na medicina popular brasileira para tratamento de inflamações, reumatismo e como depurativa do sangue. No presente trabalho os extratos acetato etílico, metanólico e aquoso de *S. leucanthum* foram avaliados quanto às suas atividades de inibição da enzima xantina oxidase e antioxidante *in vitro*, e atividades anti-hiperuricêmica e antiartrite gotosa *in vivo*. Para avaliar o efeito dos extratos sobre os níveis sanguíneos de ácido úrico, foi utilizado modelo de hiperuricemia induzida por oxonato de potássio em camundongos Swiss. Para o teste de atividade inibitória da enzima xantina oxidase *in vitro*, o extrato acetato etílico apresentou atividade significativa na concentração de 100 µg/mL. Nos ensaios *in vivo*, o extrato aquoso na dose de 125 mg/kg reduziu significativamente os níveis séricos de ácido úrico e também foi capaz de inibir a enzima xantina hepática (XOD). O extrato metanólico foi ativo quanto à avaliação da atividade anti-hiperuricêmica em todas as doses avaliadas, porém somente na dose de 500 mg/kg este extrato mostrou atividade sobre a XOD. O extrato acetato etílico reduziu os níveis séricos de ácido úrico de camundongos hiperuricêmicos nas doses de 125, 250 e 500 mg/kg, sendo que na dose de 250 mg/kg, este extrato mostrou-se mais ativo. Os extratos acetato etílico (125 e 250 mg/kg) e aquoso (500 mg/kg) apresentaram atividade anti-inflamatória significativa no modelo de edema de pata induzido por cristais de urato. No intuito de avaliar as atividades antioxidantes dos componentes dos extratos num amplo espectro de polaridade, foram realizados os experimentos *in vitro* com DPPH, ABTS e β-caroteno/ácido linoleico. Os extratos acetato etílico, metanólico e aquoso apresentaram expressiva atividade antioxidante, especialmente no teste com o sistema β-caroteno/ácido linoleico. A escolha do extrato acetato etílico para a realização do fracionamento cromatográfico e estudo fitoquímico

se deu pela análise dos resultados nos testes biológicos mais promissores e que possibilitariam chegar à obtenção das substâncias ativas. O fracionamento cromatográfico do extrato acetato etílico conduziu à obtenção de cinco substâncias com grau de pureza considerável. Para a elucidação estrutural, amostras destas substâncias foram enviadas para a obtenção de espectros de ressonância magnética nuclear. O presente trabalho possibilitou contribuir para um maior conhecimento do ponto de vista farmacológico da espécie *S. leucanthum*. Os resultados apresentados pelos extratos acetato etílico, metanólico e aquoso de *Sparattosperma leucanthum*, indicaram que estes extratos podem ser importantes matérias-primas para a elaboração de fitoterápicos com ações na hiperuricemia e gota. Os resultados corroboram o uso popular desta espécie vegetal para o tratamento da inflamação, como a artrite gotosa.

Palavras-chaves: *Sparattosperma leucanthum*, artrite gotosa, hiperuricemia, inflamação, antioxidante, xantina oxidase.

ABSTRACT

Gouty arthritis, or gout, consists in a slowly and recidivist inflammation process caused by accumulation and precipitation of monosodium urate crystals on the joints, starting the pathology provoking intense pain, discomfort and physical weakness on the patient. The research for new treatment options to gouty arthritis has been growing considerably and it is justified by the side effects and, in many times, the inappropriateness of the current treatments in clinical medicine. The species *Sparattosperma leucanthum*, popularly known as “cinco-folhas”, which belongs to the small genera *Sparattosperma* is largely distributed on Brazil, and it has been recognized as a native plant. Just a few studies relate the phytochemical research of *Sparattosperma leucanthum*, although this species is used in Brazilian folk medicine to treat inflammation, rheumatism and as blood cleanser. In this work, the ethyl acetate, methanolic and aqueous extracts were evaluated for their inhibition activity of xanthine oxidase and antioxidant activity *in vitro*, and antihyperuricemic and gouty antiarthritic activities *in vivo*. In order to evaluate the effect of extracts on blood levels of uric acid, it was used an experimental model of hyperuricemia induced by potassium oxonate in mice. In the test of inhibitory activity of xanthine oxidase *in vitro*, ethyl acetate extract has presented significant activity at the concentration of 100 µg/mL. In the *in vivo* assays, the aqueous extract, at the dose of 125 mg/kg, reduced significantly the blood levels of uric acid and also was capable to inhibit the liver xanthine (XOD). The methanolic extract was active on the evaluation of antihyperuricemic activity at all the evaluated doses, however only at dose of 500 mg/kg this extract showed activity on XOD. The ethyl acetate extract reduced the blood levels of uric acid on hyperuricemic mice at the doses of 125, 250 and 500 mg/kg, and at the dose of 250 mg/kg, the ethyl acetate extract was more active. The ethyl acetate extract (125 and 250 mg/kg) and aqueous extract (500 mg/kg) showed significant anti-inflammatory activity on paw oedema model induced by MSU crystals. In order to evaluate the antioxidant activity of extract compounds in a wide range polarity, the *in vitro* experiments DPPH, ABTS and β-carotene/linoleic acid were performed. The ethyl acetate extract, methanolic extract and aqueous extract showed expressive antioxidant activities, especially on the test with β-carotene/linoleic acid system. The choice for the ethyl acetate extract to performing the chromatographic fractionation and phytochemical study was made by analyses of the most promising results on biological tests, that would allow the reaching the obtaining of active substances. The chromatographic fractionation of ethyl acetate extract conducted to the obtaining of five substances with considerable grade of purity. To structural elucidation, amounts from these substances were sent for obtaining of NMR spectra. The present study allowed to contribute to a better understanding of the pharmacological point of view of *S. leucanthum* species. The results presented by ethyl acetate, methanolic and aqueous

extracts of *Sparattosperma leucanthum*, indicated that these extracts may be important raw materials for the preparation of herbal medicines with shares in hyperuricemia and gout. The results support the popular use of this plant species for the treatment of inflammation, such as gout.

Keywords: *Sparattosperma leucanthum*, gouty arthritis, hyperuricemia, inflammation, antioxidant, xanthine oxidase.

1.INTRODUÇÃO

1.1. INTRODUÇÃO GERAL

Doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) são, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), doenças que se desenvolvem em indivíduos de maneira lenta e progressiva, não sendo transmitidas a outros indivíduos e são caracterizadas por um longo período de duração. Dentre as principais doenças desta classe estão as doenças cardíacas, a hipertensão, o câncer, o diabetes, as doenças crônicas respiratórias, bem como doenças osteomusculares: artrite reumatoide, osteoartrite, hiperuricemia e artrite gotosa (OMS, 2013).

De modo particular, a artrite gotosa é uma doença caracterizada pelo acúmulo de cristais de urato nas articulações, o que promove um processo inflamatório localizado e recorrente que, gera muito desconforto, dor e em alguns casos debilidade física. As preocupações atreladas à artrite gotosa, bem como à hiperuricemia, promotora inicial da doença, residem no fato de esta ser uma patologia que afeta homens e mulheres não só em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, como também em países ricos, como os Estados Unidos, aonde a prevalência da gota chegou a quase 4% entre 2007 e 2008 (ZHU *et al.*, 2011). Tais fatos geram impactos negativos, principalmente na população economicamente ativa, já que a doença afeta em sua maioria homens e mulheres a partir dos 35 anos.

O desenvolvimento da artrite gotosa se dá a partir do metabolismo desbalanceado do ácido úrico, seja pelo aumento em sua produção ou pela dificuldade de sua eliminação, o que caracteriza a hiperuricemia, já que este desequilíbrio promove, por consequência, um aumento sérico do ácido úrico. A hiperuricemia pode ser muitas vezes, assintomática não gerando nenhum dano ao paciente. Contudo, em algumas situações, o ácido úrico sérico pode precipitar nas articulações na forma de sais de urato e assim, gerar um processo inflamatório que, progressivamente, decorre no desenvolvimento e estabelecimento da artrite gotosa no paciente (CHAICHIAN *et al.*, 2014).

Por não apresentarem cura, as DCNTs caracterizam hoje grande preocupação para os órgãos nacionais e internacionais de saúde, incluindo a OMS que, periodicamente apresentam planos de controle e tratamentos seguidos por diversos países. O desenvolvimento destas doenças está, geralmente, associado a fatores de risco comuns e evitáveis diante de uma mudança de hábitos por meio de projetos de

intervenção e conscientização dos profissionais da saúde. Os principais fatores associados a estas doenças que podem ser relatados são dieta não balanceada, tabagismo, alcoolismo, e, em alguns casos, predisposição genética.

Além disso, há um grande cuidado por parte dos profissionais da saúde quanto às evidências de relação destas doenças e ao risco de agravamento das mesmas pela sua reincidência. De modo particular, estudos relatam a relação entre a hiperuricemia e o aumento do risco de doenças cardiovasculares e diabetes, assim como, o risco de desenvolvimento de doenças renais devido às altas concentrações de glicose e também do ácido úrico no sangue (DALBETH e SO, 2010).

Dados recentes justificam tal preocupação, já que as DCNTs são responsáveis pela mortalidade de mais pessoas no mundo do que outras causas combinadas. De acordo com a OMS, nas últimas décadas, as DCNTs foram responsáveis por cerca de 72% dos óbitos em países da América Latina e Caribe. Estimativas da própria OMS preveem que em 2020 o índice de óbitos devido às complicações relacionadas às DCNTs chegará a 73% do total (OMS, 2013; SILVA *et al.*, 2013).

Além dos impactos nos índices de mortalidade mundial e econômicos, estas doenças acarretam outras preocupações. As DCNTs provocam uma redução na expectativa e também na qualidade de vida dos pacientes e, ainda que existam medicamentos em uso clínico, estes apresentam uma atividade, muitas vezes, paliativa ante aos danos causados por estas doenças.

No caso específico da artrite gotosa, os últimos 10 anos de pesquisa vêm mostrando o quão inadequado é o tratamento convencional para esta patologia, considerada altamente destrutiva (EDWARDS e SO, 2014). Assim, a busca por fármacos que possam auxiliar na melhoria da qualidade de vida e promover melhoras expressivas no quadro clínico dos pacientes portadores de DCNTs é tão crescente quanto às ações no combate e controle destas doenças.

1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1. A hiperuricemia e a artrite gotosa

A hiperuricemia é um processo caracterizado pelo aumento dos níveis de ácido úrico no organismo seja por deficiência em excretar esta substância ou pelo aumento de sua produção. Há relatos de que sua ocorrência está relacionada a fatores como sexo, idade e etnia, acometendo principalmente homens de meia-idade (PINHEIRO, 2008; MCADAMS-DEMARCO *et al.*, 2013).

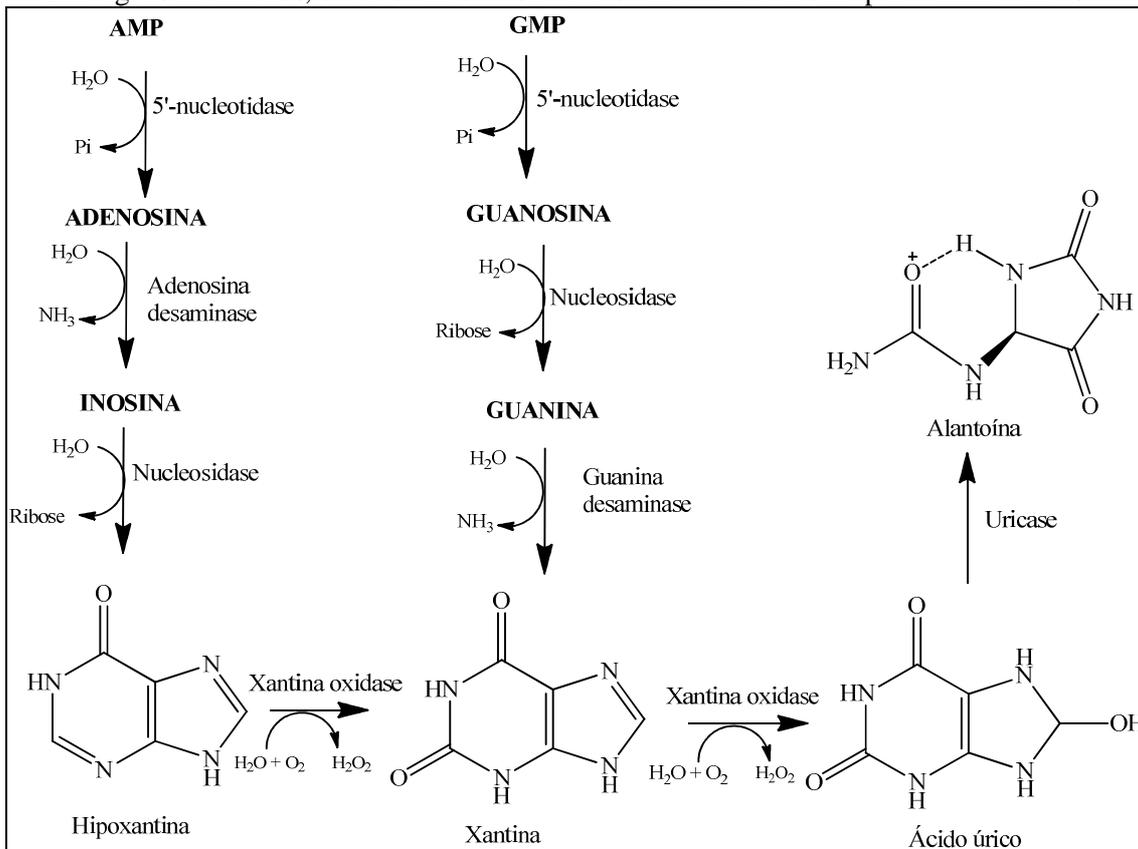
O ácido úrico é um ácido fraco, pKa em torno de 5,8, e está presente no organismo de mamíferos na sua forma ionizada como metabólito da via das purinas. O monofosfato de adenosina (AMP) é degradado a adenosina pela enzima 5'-nucleotidase. A adenosina por sua vez é convertida, pela ação da adenosina desaminase, à inosina, que sofre hidrólise pela ação da enzima nucleosidase, dando origem à hipoxantina e uma molécula de ribose. A hipoxantina é o substrato da enzima xantina oxidase, que promove a conversão desta substância à xantina e esta, por sua vez, ao ácido úrico, por oxidação. O monofosfato de guanósina (GMP), assim como o AMP, sofre hidrólise pela ação da 5'-nucleotidase, passando a guanósina que, por sua vez, sofre a ação da nucleotidase originando guanina e ribose. A guanina, então sofre uma desaminação pela enzima guanina desaminase chegando à xantina que, por sua vez, é convertida ao ácido úrico pela ação oxidativa da xantina oxidase (Figura 1-1, página 4) (LEHNINGER, 2008).

Concentrações séricas de ácido úrico acima de 6,8 mg/dL são consideradas suficientes para o início da sua deposição na forma de cristais de urato, o que pode desencadear o processo inflamatório. Em alguns casos, os cristais de urato podem se depositar nas juntas e/ou tecidos moles do organismo mantendo a hiperuricemia assintomática (KHANNA *et al.*, 2007; BUSSO e SO, 2010).

A hiperuricemia pode ser influenciada por diversos fatores que vêm sendo estudados nos últimos tempos. Em um estudo conduzido por McAdams-Demarco e colaboradores (2013) foi constatado, ao longo de nove anos, que fatores como idade, sexo, etnia e obesidade podem estar associados ao aumento do risco de desenvolvimento da hiperuricemia, bem como o tabagismo e grau de instrução que também podem influenciar em menor escala.

A epidemiologia da artrite gotosa vem se tornando uma constante preocupação para os sistemas de saúde, tendo em vista que esta doença afeta indivíduos com idade entre 30 e 40 anos, considerados economicamente ativos e em sua maioria homens. Deste modo, a pesquisa por medidas de tratamento eficientes e de baixo custo se faz necessária e justificável (BUSSO e SO, 2010; MCADAMS-DEMARCO *et al.*, 2013).

Figura 1-1. Via metabólica das purinas originando o ácido úrico no organismo humano.
Em alguns mamíferos, o ácido úrico é convertido ainda em alantoína pela enzima uricase.



Fonte: LEHNINGER, 2008.

1.2.1.1. O processo inflamatório na artrite gotosa

As crises de artrite gotosa são decorrentes do processo inflamatório desencadeado pelo acúmulo de cristais de urato nas juntas e tecidos moles do organismo. Tais episódios se dão principalmente à noite ou em dias de baixas temperaturas, já que a temperatura é um dos fatores que contribuem para a cristalização e precipitação dos sais de urato (PINHEIRO, 2008).

O processo inflamatório inicia pela ação das células do sistema imunológico presentes no líquido sinovial como os macrófagos que, induzidos pela presença dos cristais de urato, em um primeiro momento promovem a liberação de citocinas como

IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α , que promovem a vasodilatação e permeabilidade celular. Desta forma, promovem o aumento das moléculas de adesão, corroborando para o recrutamento de outras células como os neutrófilos que, por sua vez liberam enzimas lisossomais ao sofrerem morte celular por ingestão dos cristais de urato. A importância dos neutrófilos no processo inflamatório relacionado à gota foi justificada experimentalmente pela ação da colchicina, um potente inibidor de inflamossomas de neutrófilos, bem como da migração celular (MARTINON *et al.*, 2006; BUSSO e SO, 2010; DUBCHACK e FALASCA, 2010).

Os episódios de crise da gota costumam durar em torno de sete dias, período em que ocorre intensa ação dos neutrófilos. Diversos estudos relatam a evidente associação entre a ação dos neutrófilos aos episódios de crises da gota devido à intensa fagocitose dos cristais de urato e consequente morte deste tipo celular, o que acarreta a liberação de mais citocinas e atração de mais neutrófilos para o local da inflamação (MARTINON *et al.*, 2006; KHANNA *et al.*, 2007; SCHUMACHER, 2008; BUSSO e SO, 2010).

Além disso, outros componentes importantes envolvidos no processo inflamatório são relacionados aos neutrófilos como a elastase humana, um tipo de serino-protease encontrada nos grânulos azurófilos de neutrófilos. Sua atividade está em sua capacidade de promover a clivagem enzimática da elastina, bem como outras proteínas de matriz extracelular, levando à degradação dos tecidos adjacentes ao foco inflamatório. Antes se pensava que a atividade da elastase se restringia somente aos processos inflamatórios induzidos por microrganismos, contudo, hoje se sabe da ação da elastase humana sobre processos inflamatórios induzidos por outros agentes (MARTINON *et al.*, 2006; BENEDEK *et al.*, 2007; KOH e DiPIETRO, 2011).

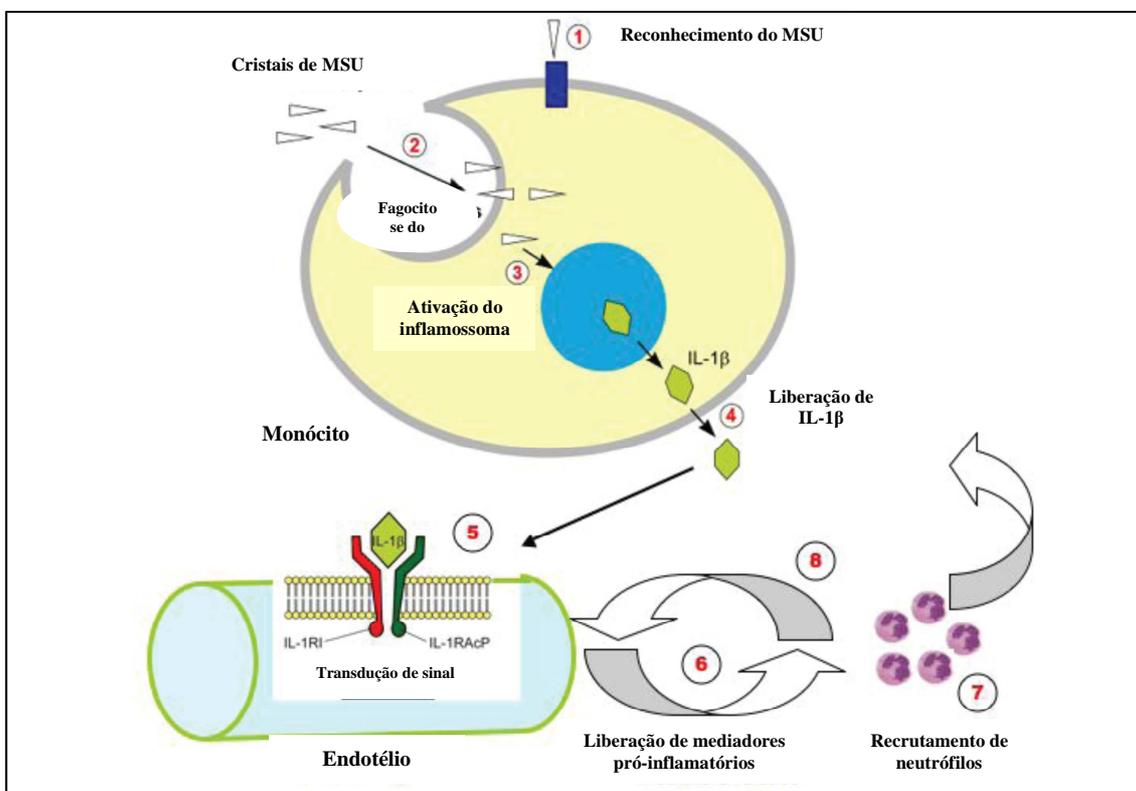
Outro fato importante no desenvolvimento da inflamação associada à gota é o reconhecimento dos cristais de urato pelos receptores do tipo *Toll-like* (TLR) como TLR-2 e TLR-4, que normalmente estão envolvidos no desencadeamento da resposta imune inata diante de patógenos infecciosos. Estes receptores parecem ser os primeiros desencadeadores do processo inflamatório, bem como do processo de degeneração tecidual, e associados à proteína MyD88 promovem a ingestão dos cristais de urato pelos fagócitos. Além disso, os receptores *Toll-like* juntamente à MyD88 e Rac-1, fosfatidilinositol-3-quinase estão envolvidos na transcrição de fator nuclear κ B (NF- κ B) e na expressão de uma série de outras citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-8,

IL-6 e TNF α (CRONSTEIN e TERKELTAUB, 2006; MARTINON *et al.*, 2006; BUSSO e SO, 2010).

No contexto intracelular (Figura 1-2, página 8), existe uma série de moléculas que também desempenham significativo papel no processo inflamatório como a proteína NALP1 (NLRP1 ou *nucleotide-binding domain, leucine-rich repeat-riching repeat containing receptor protein*) ou criopirina (que vai formar os inflamossomas) que, diante do influxo de cristais de urato no citoplasma, promovem a ativação da caspase-1, membro da família das caspases que inclui a caspase-4, caspase-5, caspase-11 e caspase-12; importantes componentes pró-inflamatórios. No caso, a caspase-1 está intimamente relacionada ao aumento das concentrações da IL-1 β , já que este tipo de caspase será responsável pela clivagem da pró-IL-1 β à forma ativa desse tipo de interleucina (BUSSO e SO, 2010; CONTASSOT *et al.*, 2012).

Diversos estudos vêm sendo realizados com o intuito de se elucidar todo o cenário do processo inflamatório relacionado à artrite gotosa. Nos últimos anos, muitos mecanismos e vias de sinalização celular foram esclarecidos, como a importância dos neutrófilos e as vias que permitem a ativação de quimioquinas como a IL-1 β , por exemplo. Porém, muitas questões ainda não foram elucidadas e necessitam maiores estudos para seu esclarecimento, tais como o porquê de os cristais de urato nem sempre induzirem o processo inflamatório ou um mecanismo que explique efeitos adversos das terapias de redução de urato. Hipóteses vêm sendo levantadas para tais questões, contudo, nenhuma resposta foi ainda comprovada (CRONSTEIN e TERKELTAUB, 2006; MCADAMS-DEMARCO *et al.*, 2013).

Figura 1-2. Etapas envolvidas no processo inflamatório ligado à gota. (1) Reconhecimento dos cristais de urato na membrana celular por receptores do tipo *Toll-like*; (2) Fagocitose dos cristais de urato por células como macrófagos; (3) Ativação dos inflamossomas (NALP3) pelos cristais; (4) Liberação de IL-1 β pela célula; (5) Ativação de receptores endoteliais de IL-1 β tipo 1; (6) Liberação de mediadores pró-inflamatórios incluindo IL-8, importante recrutador de neutrófilos; (7) Recrutamento de neutrófilos para o foco da inflamação; (8) Liberação de citocinas pró-inflamatórias pelos neutrófilos, como IL-1 β .



Fonte: BUSSO e SO, 2010.

1.2.1.2. Os processos oxidativos e atividade antioxidante

Os processos oxidativos estão associados a diversas reações em organismos vivos, seja para o seu bom funcionamento ou em mecanismos de defesa, como é o caso de alguns processos envolvidos na inflamação.

A presença de radicais livres em materiais biológicos foi descoberta há pouco mais de 50 anos, quando, em hipótese, estes compostos foram definidos como subprodutos de mecanismos do metabolismo, como em reações enzimáticas, como é o caso dos radicais de oxigênio. Na primeira era de pesquisas a respeito dos processos oxidativos, os radicais livres foram denominados como “caixas de Pandora” e associados a fatores como danos celulares, mutagênese, câncer e também aos processos degenerativos relacionados à idade. Com a descoberta da enzima superóxido dismutase, deu-se início à segunda era da pesquisa acerca dos processos oxidativos e, a partir de então, diversos pesquisadores iniciaram uma série de trabalhos quanto aos danos

gerados ao DNA, proteínas e lipídeos a partir dos processos de oxidação (DRÖGE, 2002; KUMAR e PANDEY, 2013).

A visão a respeito dos processos oxidativos foi mudada quando Mittal e Murard, na terceira era de pesquisas sobre radicais livres, comprovaram a ação do ânion radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e de seu derivado, radical hidroxila (OH^{\bullet}) na ativação da guanil ciclase para a formação do segundo mensageiro cGMP. Outros estudos demonstraram a importância dos processos oxidativos em mecanismos imunológicos como a ação do ânion superóxido e do peróxido de hidrogênio na produção de IL-2, fator de crescimento de células T, importantes na resposta imunológica. Além disso, é importante ressaltar a ação do peróxido de hidrogênio na ativação do fator de transcrição nuclear NF- κ B, componente intimamente ligado ao processo inflamatório (DRÖGE, 2002).

Contudo, ainda que os processos oxidativos sejam inerentes ao metabolismo de organismos vivos, estes processos trazem graves consequências e, por estarem relacionados a diversas patologias como câncer, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares e doenças degenerativas; os radicais livres bem como os processos oxidativos são alvos de intensas pesquisas nas últimas décadas para a descoberta de métodos e medicamentos que possam impedir ou contornar os seus efeitos danosos ao organismo (ROY *et al.*, 2011; ALAM *et al.*, 2013).

Os antioxidantes são compostos que atuam por diversas vias, mas que de maneira geral, são capazes de impedir a formação de radicais livres ou mesmo ligar-se a eles de maneira a impedir a sua ação. Atualmente, observa-se um aumento dramático na busca por substâncias antioxidantes, especialmente por substâncias de origem natural como os polifenóis (flavonoides e taninos) e seus derivados amplamente distribuídos em espécies vegetais do mundo inteiro que muitas vezes já são utilizadas na medicina popular (ROY *et al.*, 2011; KUMAR e PANDEY, 2013).

1.2.1.3. Terapias atuais para tratamento da artrite gotosa

O tratamento de primeira escolha para as crises agudas da gota são os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) como a indometacina e o naproxeno. Contudo, tais substâncias apresentam conhecidos efeitos colaterais como toxicidade gastrointestinal, toxicidade renal, bem como possíveis sangramentos gastrintestinais. Outros tratamentos em uso são os corticosteroides sistêmicos, que se mostraram como bons agentes no controle da gota aguda em alguns pacientes. Há também a utilização de

corticoides intra-articulares frequentemente utilizados em pacientes com gota monoarticular que não podem receber o tratamento por via oral. Além disso, há o tratamento com o hormônio adrenocorticotrópico que vem sendo uma importante alternativa para pacientes com complicações renais, por exemplo, que não podem receber outros mecanismos de tratamento (CONSTREIN e TERKELTAUB, 2006).

Por outro lado, existem as alternativas voltadas para a tentativa de normalização do processo de desenvolvimento da hiperuricemia, como aqueles tratamentos voltados à eliminação de ácido úrico (uricosúricos). Estes fármacos são geralmente indicados a pacientes com menos de 60 anos de idade e que não apresentam histórico de cálculo renal ou urolitíase, além de clearance de creatinina superior a 80 mL/min. Dentre os uricosúricos, merece destaque a probenecida, fármaco que atua inibindo competitivamente a proteína transportadora URAT-1 presente nas células epiteliais dos túbulos proximais, responsável por promover a recaptção de urato nos rins. Contudo, os efeitos adversos relacionados ao uso da probenecida constituem um fator limitante para a sua utilização clínica como o fato de este fármaco exigir múltiplas doses diárias e o risco do desenvolvimento de problemas como a urolitíase. É importante ressaltar também a existência de casos de interação entre medicamentos como o aumento da biodisponibilidade do alopurinol e outras drogas (DUBCHACK e FALASCA, 2010).

Além da probenecida, a benzbromarona é um uricosúrico de escolha para o tratamento da hiperuricemia que, em alguns estudos avaliando a sua dose padrão (100 mg/dia), mostrou-se mais eficiente que doses-padrão administradas de alopurinol (300 mg/dia) e de probenecida (1000 mg/dia). Porém, devido ao risco de hepatotoxicidade associado à sua utilização, o uso da benzbromarona não é permitido em alguns países, como nos Estados Unidos. O efeito hepatotóxico deste medicamento está relacionado à sua metabolização, que ocorre por via do sistema citocromo P450 no fígado. Em estudo realizado por Kaufmann e colaboradores (2005), a benzbromarona promoveu a inibição da cadeia respiratória mitocondrial e a β -oxidação, além de induzir a produção de espécies reativas de oxigênio, induzindo a apoptose e necrose celular em hepatócitos de ratos (TERKELTAUB, 2003; KAUFMANN *et al.*, 2005; REINDERS *et al.*, 2009; DUBCHACK e FALASCA, 2010).

Há também os inibidores das enzimas conversoras da hipoxantina à xantina e xantina ao ácido úrico, xantina oxidase (XO) e xantina dehidrogenase (XDH) como é o caso do alopurinol, o fármaco uricostático mais utilizado no tratamento crônico da gota. Este fármaco em baixas concentrações inibe competitivamente a enzima xantina oxidase

e, em altas doses, torna-se um inibidor não competitivo. Além disso, o alopurinol atua como substrato da enzima xantina oxidase que, por sua vez, converte o alopurinol a oxipurinol, derivado que também possui atividade de inibição da enzima. O alopurinol, contudo, apresenta uma série de reações adversas, principal razão do abandono ao tratamento da artrite gotosa crônica. Entre os principais efeitos adversos deste medicamento, destacam-se disfunção renal e hepática, nefropatias e erupções cutâneas. Além disso, o alopurinol é ineficaz em episódios de artrite gotosa aguda, chegando a agravá-los (GOODMAN & GILMAN, 2010; RAJU *et al.*, 2012).

Alternativas de tratamento vêm sendo estudadas principalmente em vista dos efeitos adversos provocados aos pacientes pelos modelos terapêuticos em uso clínico. Todavia, é importante ressaltar que o controle e mudança de hábitos intimamente relacionados ao surgimento da hiperuricemia são muito relevantes nos tratamentos, como redução da ingestão de alimentos ricos em proteínas, bebidas alcoólicas, de modo particular as fermentadas como a cerveja. Além disso, a prática de atividade física e controle de peso devem estar associados ao tratamento de controle dos níveis séricos de ácido úrico no organismo do paciente (PINHEIRO, 2008).

1.3. Produtos Naturais como fonte de novos fármacos

Os relatos sobre a relação entre o homem e a natureza datam de muito tempo. Seja para obtenção de alimentos, abrigo ou para rituais de cura e tratamento de doenças, a natureza representa grande importância para a evolução e subsistência do homem. De modo particular, a cultura de se tratar doenças a partir dos recursos naturais originou a medicina tradicional, que refere-se aos conhecimentos, habilidades e práticas baseadas em teorias, crenças e experiências indígenas e de diferentes culturas, passados pelas gerações e usadas na manutenção da saúde, prevenção e diagnóstico de doenças (OMS, 2000).

Desta forma, as medicinas tradicionais oriundas das populações mais antigas como a medicina egípcia, greco-romana, a medicina Chinesa e a Ayurveda indiana contribuíram para o conhecimento mais aprofundado de muitas espécies vegetais e também levaram à descoberta de importantes substâncias bioativas e medicamentos em uso atualmente (VIEGAS *et al.*, 2006).

O estudo farmacológico de plantas medicinais no Brasil reveste-se de grande importância histórica. A sabedoria a cerca da etnofarmacologia encontra-se enraizada nas culturas europeias e africanas que trouxeram seus conhecimentos para o Brasil,

além da sabedoria indígena que, passadas por gerações, incutiram no povo brasileiro o hábito de buscar a cura pela natureza (OLIVEIRA et al., 2010).

Além disso, estes estudos se fazem importantes na introdução à terapêutica de novos medicamentos de origem vegetal, levando-se em conta que aproximadamente 90% das matérias-primas farmacêuticas são importadas e cerca de 80% da população mundial não tem acesso a medicamentos essenciais (OMS, 2000). Desta maneira, medicamentos fitoterápicos se tornam uma alternativa promissora, confiável e barata à população de baixa renda. Todavia, apesar de o Brasil possuir uma grande riqueza em biodiversidade e dominar bem tecnologias para produção de fitomedicamentos, há uma grande descrença, até mesmo da classe médica, que muitas vezes desconhece os princípios ativos, indicações e contraindicações destes produtos fitoterápicos (PEDREIRA, 2007).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define planta medicinal como sendo “todo e qualquer vegetal que possui em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semissintéticos”. Além de possuir suas atividades estudadas e com resultados científicos aprovados (OMS, 2000).

1.4. Plantas com ação anti-inflamatória, anti-hiperuricêmica e na artrite gotosa

Muitos fatores se associam atualmente para justificar a busca por novas opções de tratamento da artrite gotosa. Além dos índices alarmantes e do aumento global da incidência da doença, os inúmeros fenômenos patológicos ocorrentes tanto durante as crises agudas, como nos processos crônicos, constituem questões ainda não totalmente explicadas. Tais fatos fazem com que seja unânime a preocupação entre médicos, paciente e a própria indústria farmacêutica ao se reconhecer a dificuldade em encontrar alternativas farmacoterapêuticas diante do desconhecimento do quadro clínico completo da gota (MARTIN *et al.*, 2011; EDWARDS e SO, 2014).

Diante dos efeitos adversos e, em casos específicos, a ineficácia das terapias convencionais, a procura por fitoterápicos, de modo geral, vem apresentando um considerável aumento nas últimas décadas. Em países da Ásia e Europa Oriental o mercado de fitoterápicos movimentava bilhões de dólares e estes números vêm aumentando, assim como a popularização e aceitação destes medicamentos. Estudos relatam que cerca de 70% dos médicos alemães prescrevem, regularmente, entre 600 e 700 fitomedicamentos a seus pacientes (CHOUBEY *et al.*, 2013).

Para o tratamento da artrite gotosa, particularmente, os fitoterápicos em uso clínico apresentam atividades voltadas principalmente para os ataques agudos de inflamação, trazendo alívio para o incômodo das dores. Além disso, algumas plantas utilizadas possuem comprovada atividade sobre a xantina oxidase, agindo como uricostáticos ou atividade sobre os receptores do tipo URAT presentes nos túbulos renais, conferindo ação uricosúrica (EDWARDS e SO, 2014).

Um estudo recente (CORP e PENDRY, 2013) apresentou uma lista de mais de 100 espécies de plantas medicinais para o tratamento dos quadros de artrite crônica e aguda na medicina popular, das quais, algumas já estão na forma de fitoterápicos. Entre as 51 espécies mais citadas, estão *Apium graveolens* (salsão), *Urtica dioica* (urtiga), *Harpagophytum procumbens* (garra-do-diabo), *Filipendula ulmaria* (ulmeira) e *Salix spp.*(salgueiro). O estudo avaliou a opinião tanto de pacientes que utilizam fitoterápicos como terapia alternativa às convencionais como também de médicos que prescrevem estes medicamentos e os principais sintomas tratados por estas plantas são a inflamação, dor e redução dos níveis séricos de ácido úrico. De modo particular, o salsão e a urtiga, segundo os relatos do estudo, bem como literatura consultada, apresentam importante ação diurética, auxiliando na eliminação de ácido úrico e auxiliando na redução dos seus níveis séricos.

A utilização da garra-do-diabo, salgueiro e ulmeira foi associada a sua ação anti-inflamatória, como primeira escolha para crises agudas da gota (CORP e PENDRY, 2013).

Em estudo realizado por de Souza e colaboradores (2012), o extrato etanólico bruto da arnica (*Lychnophora trichocarpha*), planta largamente utilizada na medicina popular brasileira para tratamento de inflamações e reumatismos, apresentou expressivos resultados quanto atividade anti-hiperuricêmica pela ação sobre a enzima hepática xantina oxidase em camundongos, bem como importante atividade anti-inflamatória em ensaio de edema de pata. Tal atividade pode ser atribuída aos efeitos combinados do lupeol, β -sitosterol, licnofoloida, eremantolída C, luteolina a apigenina, substâncias que podem atuar na inibição da migração de neutrófilos, assim como na inibição de IL-1, TNF- α e prostaglandinas, vias de grande importância no processo inflamatório agudo (DE SOUZA *et al.*, 2012).

Nos últimos anos, a pesquisa por novos fitoterápicos aumentou expressivamente e, como resultado, tem-se o aumento da utilização e prescrição destes medicamentos aos pacientes com artrite gotosa e o lançamento de novos fitoterápicos e também

suplementos alimentares que visam auxiliar no tratamento da doença. Como exemplo pode-se citar o suplemento alimentar Flexofytol (Tilman Laboratory, Bélgica), preparado à base do extrato padronizado de *Curcuma longa*, conhecida como açafrão-da-terra que apresenta resultados expressivos em processos inflamatórios e dores agudas, principalmente sobre a artrite gotosa (APPELBOOM e MISCIBIOST, 2013).

Estudos realizados com Flexofytol relatam que entre 19 pacientes que fizeram o uso do suplemento para tratamento das crises agudas de gota, 17 apresentaram melhora significativa nos sintomas num período de 24 a 48 horas a partir do início do tratamento, sendo que tal efeito se mostrou similar aos anti-inflamatórios não esteroidais. A ação do Flexofytol pode ser justificada pela ação da curcumina, que, segundo estudos *in vitro*, parece agir bloqueando a produção de IL-2 por células CD4, CD8 e NK e, conseqüentemente pela produção de INF- γ . Além disso, outras vias de ação da curcumina seriam a atividade inibitória de enzimas como a fosfolipase, cicloxigenase-2 e lipoxigenase, assim como a inibição da produção de óxido nítrico pela IL-1 β e inibição de enzimas como colagenase, elastase e hialuronidase (APPELBOOM e MISCIBIOST, 2013).

Apesar dos extensivos esforços na pesquisa em produtos de origem natural especificamente de origem vegetal, apenas 6% de um valor estimado de 300.000 espécies vegetais de grande porte foram estudados do ponto de vista farmacológico e 15% tiveram sua fitoquímica elucidada. Assim, produtos naturais representam grande importância no desenvolvimento de futuras drogas, não só para doenças como câncer, como também para tratamento de parasitoses e doenças muitas vezes negligenciadas (CRAGG e NEWMAN, 2013).

Deste modo, a pesquisa de espécies vegetais, bem como de outras fontes de origem natural se fazem necessárias, já que este ainda é um campo tão pouco explorado.

1.3.1. A Família Bignoniaceae

A família Bignoniaceae constitui um táxon angiospérmico da ordem Lamiales com 82 gêneros e cerca de 827 espécies catalogadas ocorrentes em regiões de floresta tropical e neotropical de todo o mundo entre plantas arbóreas, arbustivas, podendo ocorrer também em regiões de savana como na África e em algumas regiões do sudeste asiático. Estas espécies são divididas em oito tribos, no Brasil são encontradas espécies de quase todas as tribos (OLMSTEAD *et al.*, 2009; CIPRIANI *et al.*, 2012).

Pelo seu aspecto exuberante durante a florescência, muitas espécies de Bignoniaceae são utilizadas na arborização de ruas, praças e parques. Sua madeira também é amplamente usada como matéria-prima de artigos de carpintaria e marcenaria. Trabalhos relatam a crescente utilização de espécies desta família na medicina popular, principalmente como anti-inflamatório, depurativo do sangue, antibacteriano, antifúngico entre outras afecções (FENNER et al., 2006; FONSECA et al., 2008; CHAGAS JR et al., 2010; CASTILLO e ROSSINI, 2010).

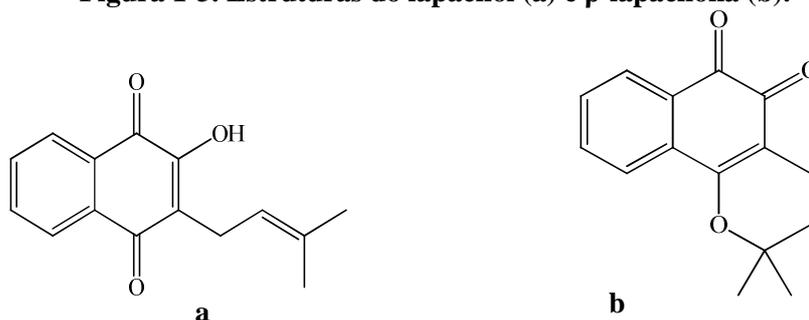
1.3.1.1. Marcadores quimiotaxonômicos de Bignoniaceae

Devido, em parte, a sua importância econômica e de modo particular, influenciado pela utilização popular e conhecimentos etnobotânicos, nas últimas décadas, as espécies desta família vêm sendo extensamente estudadas, especialmente do ponto de vista fitoquímico. Cipriani e colaboradores (2012) ao determinarem o perfil químico de Bignoniaceae e de seus marcadores quimiotaxonômicos - classes de substâncias de ocorrência mais significativa e com maior variabilidade estrutural -, constataram a presença de terpenoides, quinonas, alcaloides, derivados aromáticos especiais e flavonoides (SEITO et al., 2011; NCHU et al., 2011).

Bignoniaceae destaca-se tanto pelo número como pela diversidade de tipos terpenoídicos, bem como pela química de quinonas que também é bastante diversificada. As quinonas desta família destacam-se devido à grande busca pela naftoquinona lapachol (**1-3a**, página 16). Inicialmente isolada da espécie *Handroanthus impetiginosus*, o lapachol foi muito citado pelas suas propriedades anticancerígenas, fazendo com que a espécie entrasse no elenco das plantas ameaçadas de extinção. Dentre as quinonas isoladas das espécies da família Bignoniaceae, 94,04% são naftoquinonas (OLMSTEAD et al., 2009; CIPRIANI et al., 2012).

Além disso, há relatos na literatura da presença de α -lapachona e β -lapachona (**1-3b**, página 16), em espécies da família, como no gênero *Tabebuia* sp.. Estes compostos possuem reconhecida atividade antineoplásica, diurética, analgésica e anti-inflamatória, particularmente a β -lapachona, que apresenta atividade citotóxica em alguns tipos de câncer. Seu potencial antineoplásico foi constatado no início do século XX, sendo que atualmente, estudos clínicos estão sendo conduzidos com o intuito de melhorar a sua biodisponibilidade no organismo e consequente redução das doses terapêuticas (CUNHA-FILHO et al., 2008; PINTO e CASTRO, 2009).

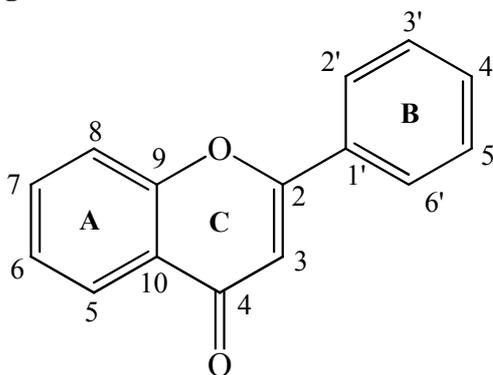
Figura 1-3. Estruturas do lapachol (a) e β -lapachona (b).



Outra classe de substâncias de ocorrência na família Bignoniaceae, são os flavonoides. Estes compreendem uma grande família de metabólitos secundários cujas estruturas são originárias em parte das vias do chiquimato e do acetato. Apresentam uma estrutura de quinze carbonos que compartilham, de maneira geral, dois núcleos fenólicos (anéis A e B), ligados por uma cadeia de três carbonos que pode sofrer ciclização dando origem a um terceiro anel (anel C). O anel C pode ser de cinco ou seis membros e possui um átomo de oxigênio como heteroátomo, originando um sistema tricíclico (Figura 1-4) (AGRAWAL, 1989).

Os flavonoides encontrados nas Bignoniaceae são constituídos por esqueletos regulares, não havendo ocorrência de tipos mais especializados. Dentre as principais ocorrências estão flavonas, flavonois, além de antocianinas, flavan-3,4-diois e chalconas (COSTA e LEITÃO, 2011).

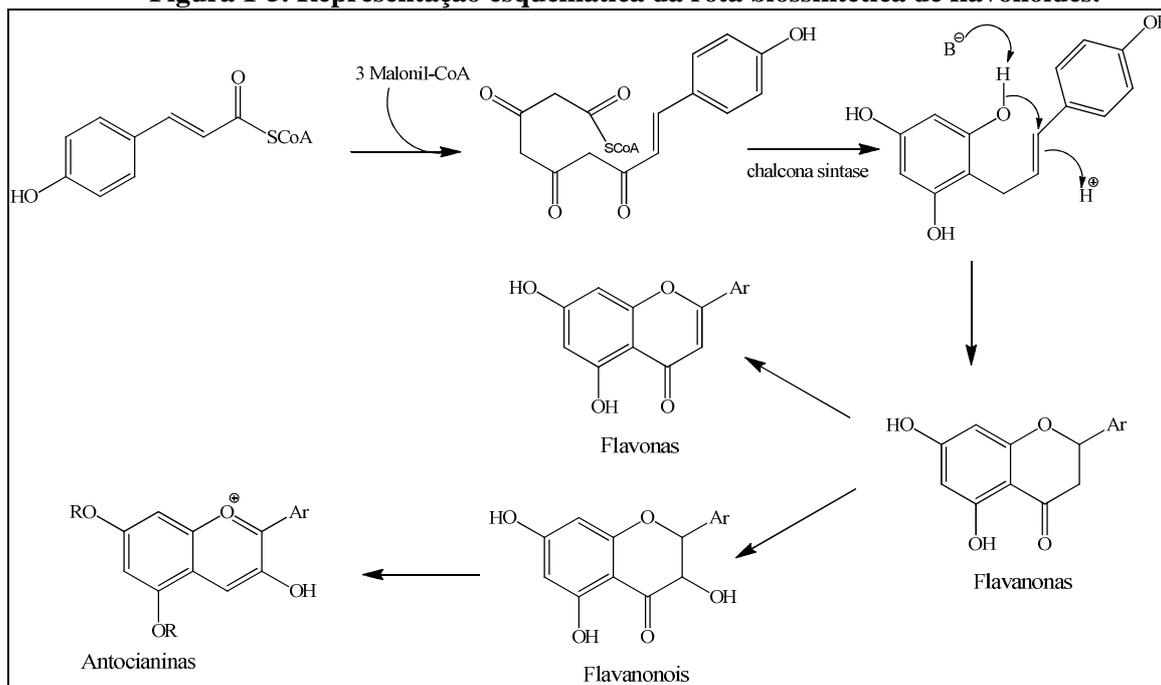
Figura 1-4. Estrutura básica de flavonoides.



A biossíntese dos flavonoides se dá pela condensação do ácido 4-hidroxicinâmico com três unidades de malonil-CoA em uma reação de ciclização do tipo Claisen, catalisada pela enzima chalcona sintase. A chalcona então formada sofre

ciclização, sob ação da enzima chalcona isomerase, originando a estrutura da flavanona (Figura 1-5). Assim, as chalconas atuam como precursoras dos outros tipos de flavonoides e, através de alterações nos padrões de oxidação da molécula, são originados outros flavonoides como os flavonóis, as flavonas, os flavanonois e as antocianinas (MANN, 1999; DEWICK, 2002).

Figura 1-5. Representação esquemática da rota biossintética de flavonoides.



Amplamente distribuídos na natureza, os flavonoides estão presentes em muitas espécies de plantas medicinais, frutas, legumes e verduras. Podem ser encontrados conjugados a uma grande variedade de moléculas de açúcar (glicosídeos) ou na sua forma simples (agliconas). Nas plantas, estes compostos apresentam funções desde a coloração das florações, conferindo exuberância a algumas espécies, até ação antimicrobiana, sendo produzidos como resposta diante os ataques de microrganismos. Além disso, os flavonoides estão relacionados ao combate do stress oxidativo, que é gerado por diversos fatores bióticos e abióticos que promovem a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS). Estudos relatam esta como sendo sua principal atividade nas plantas, já que estes compostos apresentam a capacidade de absorver os raios solares mais energéticos como UV-B e UV-A, inibindo a formação de ROS ou suprimindo-os assim que formados (AGATI *et al.*, 2012; KUMAR e PANDEY, 2013).

A ação mais bem descrita dos flavonoides na literatura para o organismo humano é a sua significativa atividade antioxidante. A ação antioxidante destes compostos depende da configuração dos substituintes da molécula, bem como do seu padrão de oxidação, características que estão intimamente ligadas à capacidade da molécula em se ligar aos radicais livres ou se complexar com metais. A configuração das hidroxilas do anel B, por exemplo, é o fator determinante na ação da molécula em remover agentes como ROS e RNS (espécies reativas do nitrogênio). O flavonoide doa um hidrogênio e um elétron aos radicais hidroxil, peroxil e peroxinitrito, estabilizando-os. Além disso, o anel aromático estabiliza a carga do ânion formado do flavonoide. Alguns flavonoides, como a quercetina, apresentam atividade sobre a peroxidação lipídica por diversas vias, entre elas, pela sua capacidade de quelar com metais livres que induzem a formação de espécies reativas do oxigênio (KUMAR e PANDEY, 2013).

A literatura relata diversas outras atividades terapêuticas para os flavonoides, como ação anti-inflamatória reduzindo ou até mesmo inibindo a formação de mediadores da inflamação (como TNF- α , IL-1 e Linfócitos T), pela inibição de enzimas intimamente ligadas ao processo inflamatório como a tirosina-quinase e a serino-quinase. A inibição das quinases é devida a ligação competitiva dos flavonoides com o ATP nos sítios catalíticos das enzimas. Além disso, os flavonoides atuam sobre vários outros fatores envolvidos nos processos inflamatórios, assim como em outros processos patológicos. Por isso, estes compostos são o foco de várias pesquisas que buscam elucidar a sua via de ação, bem como de modelagem molecular no desenvolvimento de novos fármacos (OLMSTEAD *et al.*, 2009; KUMAR e PANDEY, 2013).

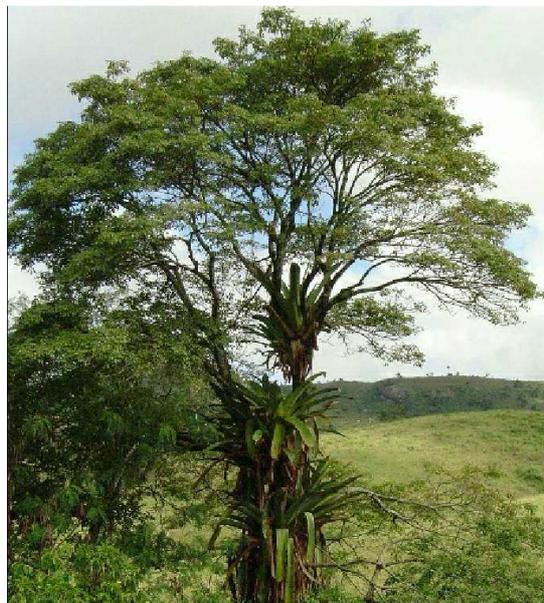
1.3.1.2. *Sparattosperma leucanthum*

A *Sparattosperma leucanthum* (Vell.) K. Schum (Figuras 1-6 a 1-8, páginas 19 e 20), também conhecida como “ipê branco”, “caroba-branca”, “cinco-folhas”, “cinco-chagas” entre outros, é uma espécie pertencente ao pequeno gênero *Sparattosperma* de espécies neotropicais. Segundo Olmstead e colaboradores (2009), esta espécie é classificada no clado “*Tabebuia alliance*” como um grupo “irmão” de um grupo de três cladros que formam uma tricotomia ainda não definida. A *S. leucanthum* é considerada uma espécie nativa do Brasil sendo encontrada em Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Espírito Santo, Amazonas, Rondônia, Bahia, Ceará, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Deste modo, está distribuída em quase todas as regiões do país compreendendo

os biomas cerrado, floresta amazônica e mata atlântica (GENTRY, 1992; LORENZI, 2008; COSTA *et al.*, 2011).

Poucos trabalhos relatam a análise fitoquímica da espécie em questão, apesar de ser bastante utilizada na medicina popular pela sua atividade anti-inflamatória e depurativa do sangue (CORREA, 1926-1978; PATZLAFF, 2007). Apresenta uma rica constituição de metabólitos secundários, onde é relatada a presença de flavonóis, flavanonas, agliconas flavônicas, chalconas, cumarinas, catequinas, polifenóis, saponinas, taninos, terpenoides, triterpenos, xantonas entre outros. Em seus estudos, Azevedo e colaboradores (2008) relatam a atividade antioxidante do extrato do caule, e atividade antifúngica e citotóxica dos extratos da folha de *S. leucanthum*. Porém, não há estudos avaliando o potencial anti-inflamatório desta espécie (COSTA *et al.*, 2011; AVERY, 2012).

Figura 1-6. *Sparattosperma leucanthum* (Vell.) K. Schum.



Fonte: www.arvoresdobrasil.com.br

Figura 1-7. Aspecto das flores de *S. leucanthum*.



Fonte: www.arvoresdobrasil.com

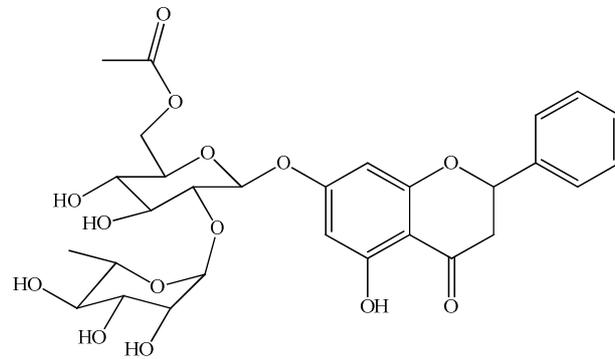
Figura 1-8. Aspecto dos frutos de *S. leucanthum*.



Fonte: www.arvoresdobrasil.com.br

Alguns autores consideram a espécie *Sparattosperma leucanthum* uma sinonímia da espécie *Sparattosperma vernicosum* que, em estudos anteriores, levou ao isolamento da flavanona pinocembrin-7-O-(-D) neohesperidosídeo (Figura 1-9, página 21). Esta substância, bem como o extrato da *S. leucanthum* apresentou significativo efeito sobre a atividade da ATPase na enzima Pdr5p da membrana plasmática de leveduras, responsável pelo fenótipo de resistência de células de leveduras a múltiplas drogas (RANGEL *et al.*, 2008). A mesma substância foi isolada da espécie *Sparattosperma leucanthum* por Costa (2009) em estudo realizado com amostras coletadas na Mata Boa Vista em Levy Gaspariam, interior do Rio de Janeiro (COSTA, 2009; COSTA e LEITÃO, 2011).

Figura 1-9. Flavanona pinocembrin-7-O-(-D) neohesperidosídeo.



Fonte: COSTA, 2009

REFERÊNCIAS

- AGATI, G.; AZARELLO, E.; POLLASTRI, S.; TATTINI, M. "Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance," *Plant Science*, vol. 196, pp. 67–76, 2012.
- AGRAWAL, P.K. 1989. *Studies in Organic Chemistry 39: Carbon-13 NMR of flavonoids*. 1ª ed.. Elsevier, Amsterdam, p. 1-2.
- ALAM, M.N.; BRISTI, N.J.; RAFIQZZAMAN, M. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**. v.21, p. 143-152, 2013.
- APPELBOOM, T.; MSCIBIOST, C.M. Flexofytol, a Purified Curcumin Extract, in Fibromyalgia and Gout: A retrospective study. **Open Journal of Rheumatology and Autoimmune Diseases**. v. 3, p. 104-107, 2013.
- AVERY, V. Prospecção Fitoquímica de *Sparattosperma leucanthum*. 2012. 43f. Monografia – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto. 2012.
- AZEVEDO, F. M. 31ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. 2008. Águas de Lindóia. *Resumo*. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). 2008. 2p.
- BENEDEK, B.; KOPP, B.; MELZIG, M.F. *Achillea millefolium* L. s.l. – Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition?. **Journal of Ethnopharmacology**. v.113, p. 312-317, 2007.
- BRADFORD, M.M. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. v. 72, p. 248-254, 1976.
- BUSSO, N.; SO, A. Mechanisms of inflammation in gout. **Arthritis Research & Therapy**. v. 12:206, p.1-8, 2010.
- CASTILLO, L.; ROSSINI, C. Bignoniaceae Metabolites as Semiochemicals. **Molecules**. v. 15, p. 7090-7105, 2010.

CHAGAS JR, J.M.; CARVALHO, D.A.; MANSANARES, M.E. A Família Bignoniaceae Juss. (Ipês) no município de Lavras, Minas Gerais. **Revista Cerne**. v. 16, n.4, p. 517-529, 2010.

CHAICHIAN, Y.; CHOCHAN, S.; BECKER, M.A. Long-Term Management of Gout: Nonpharmacologic and Pharmacologic Therapies. **Rheumatism Diseases Clinics**. v. 40, p. 357-374, 2014.

CHOUBEY, J.; PATEL, A.; VERMA, M.K. Phytotherapy in the treatment of arthritis: a Review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**. v. 4, n. 8, p. 2853-2865, 2013.

CIPRIANI, F. A.; FIGUEIREDO, M.R.; SOARES, G.L.G.; KAPLAN, M.A.C. Implicações químicas na sistemática e filogenia de Bignoniaceae. **Revista Química Nova**. v. 35, n. 11, p. 2125-2131, 2012.

CORP, N.; PENDRY, B. The role of Western herbal medicine in the treatment of gout. **Journal of Herbal Medicine**. v.3, p. 157-170, 2013.

CORREA, M.P. 1926-1978. Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. v. 6. Imprensa Nacional: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Floresta. Rio de Janeiro.

CONTASSOT, E.; BEER, H. D.; FRENCH, L. E. Interleukin-1, inflammasomes, autoinflammation and the skin. **Swiss Medical Weekly**, v. 142, p. 1-10, 2012.

COSTA, F. N.; LEITÃO, G. G. Evaluation of different solvent systems for the isolation of *Sparattosperma leucanthum* flavonoids by counter-current chromatography. **Journal of Chromatography A**. v. 1218, p. 6200-6205, 2011.

COSTA, F. N. *Sparattosperma leucanthum*: Anatomia Foliar e Isolamento de flavonóides por cromatografia em contracorrente. 2009. 163f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. 2009.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural Products: A continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta**. v.1830, p. 3670-3695, 2013.

CRONSTEIN, B. N.; TERKELTAUB, R. The inflammatory process of gout and its treatment. **Athritus Research**. v.8, p.1-7, 2006.

CUNHA-FILHO, M. S. S.; PACHECO, R. M.; LANDÍN, M. Dissolution rate enhancement of the novel antitumor B-lapachone by solvent change precipitation of microparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, p. 871-877, 2008.

DALBETH, N.; SO, A. Hyperuricaemia and gout: state of art and future perspectives. **Annals of Rheumatic Diseases**, v. 69, p. 1738-1743, 2010.

DE SOUZA, M.R.; PAULA, C.A.; RESENDE, M.L.P.; GRABE-GUIMARÃES, A.; FILHO, J.D.S.; SAÚDE-GUIMARÃES, D.A. Pharmacological basis for use of *Lychnophora trichocarpa* in gouty artgritis: Anti-hyperuricemic and anti-inflammatory effects of its extract, fraction and constituents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, p. 845-850, 2012.

DEWICK, P.M. (2002). Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. (2^a ed.) **Wiley & Sons**. West Sussex, England. 507p.

DRÖGE, W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function, **Physiology Reviews**, v. 82, p. 47-95, 2002.

DUBCHACK, N.; FALASCA, G.F. New and improved strategies for treatment of gout. **International Journal of Nephrology and Renovascular Disease**, v. 3, p. 145-166, 2010.

EDWARDS, N.L.; SO, A. Emerging Therapies for Gout. **Rheumatism Disease Clinics**, v. 40, p. 375-387, 2014.

FENNER, R.; BETTI, A.H.; MENTZ, L.A.; RATES, S.M.K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 370-394, 2006.

FERRAZ-FILHA, Z. S.; VITOLO, I.F.; FIETTO, L.G.; LOMBARDI, J.A.; SAÚDE-GUIMARÃES, D.A. Xanthine oxidase inhibitory activity of *Lychnophora* species from Brazil (“Arnica”). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, p. 79, 2006.

FERRAZ-FILHA, Z.S. **Avaliação das atividades biológicas de espécies do gênero *Lychnophora* (arnicas) e Estudo fitoquímico do extrato ativo de *Lychnophora staavioides* Mart.** 2008. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2008.

FONSECA, T. L.; GROLL, A.V.; LEITÃO, G.G.; SCAINI, C.J.; RAMOS, D.F.; RAMOS, D.F.; SILVA, P.E.A. Atividade antimicrobacteriana de extratos vegetais frente a *Mycobacterium fortuitum* e *Mycobacterium fortuitum*. **Vitalle**, v. 20, n. 1, p. 65-71, 2008.

FRANKEL, E.N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. **Food Chemistry**. v. 57, n. 1, p. 51-55, 1996.

GENTRY, A. H. Bignoniaceae part. II – Tribe Tecomae. *Flora Neotropica*, v. 25(2), New York, Botanical Garden, New York, 1992.

GOODMAN; GILMAN. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. **McGrall Hill**, 12^a ed. Cap. 21, 2010.

HADARI, F.; KESHAVARZ, S.A.; RASHIDI, M.R.; SHARI, M.M. Orange juice and hesperetine supplementation to hyperuricemic rats alter oxidative stress markers and xanthine oxidoreductase activity. **Journal of Clinical and Biochemical Nutrition**, v.45, p. 285-291, 2009.

KAUR, C.; KAPOOR, H.C. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asia vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 37, p. 153-161. 2002.

KHANNA, D.; SETHI, G.; AHN, K.S.; PANDEY, M.K.; KUNNUMAKKARA, A.B.; SUNG, B.; AGGARWAL, A.; AGGARWAL, B.B. Natural products as a gold mine for arthritis treatment. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, p. 344-351, 2007.

KHOMAR, P., Isolation and characterization of bio-active molecules from medicinal plants.,1984.Disponível em:
http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/8226/10/10_chapter%201.pdf,
acessado em Março de 2014.

KOH, T. J., DIPIETRO, L. A. Inflammation and wound healing: The role of the macrophage. **Molecular Medicine**, v. 23, p. 13, 2011.

KOLEVA, I.I.; BEEK, T.A.V.; LINSSEN, J.P.H.; GROOT, A.; EVSTATIEVA, L.N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochemical Analysis**. v. 13, p. 8-17, 2002.

KUMAR, S., PANDEY, A. K., Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. **The Scientific World Journal**. v. 2013. p. 1-16, 2013.

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L., COX, M. M., Principles of Biochemistry, 5^a ed., Nova Iorque: **W. H. Freeman**, 2008.

LEITE, J.P.V.; FERNANDES, J.M.; FÁVARO, L.B.; GONTIJO, D.C.; MAROTTA, C.P.B.; SIQUEIRA, L.C.; MAIA, R.T.; GARCIA, F.C.P. Plantas medicinais no entorno do Parque Estadual da Serra do Brigadeiro. **MG BIOTA**. v. 1, n. 4, p. 16-32, 2008.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vivo* e *in vitro*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no Pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.)**. 2008. 182f. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. São Paulo, SP. 2008.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras. v. 2. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 1992.

MANN, J. Chemical Aspects of Biosynthesis. **Oxford University Press**. (1^a ed.) p. 52-58, 1999.

MANZOCCO, L.; NICOLI, N.C. Antioxidant Properties of Tea Extracts as Affected by Processing. **Food Science and Technology**, v.31, p. 694-698, 1998.

MARTIN, W.J. **Cellular inflammation in models of acute gout**. 2008. Thesis (Doctoral). Victoria University of Wellington, 2008. Disponível em: <<http://researcharchive.vuw.ac.nz/handle/10063/896>> , acessado em Março de 2014.

MARTIN, C.; BUTELLI, E.; PETRONI, K.; TONELLI, C. How Can Research on Plants Contribute to Promoting Human Health?, **The Plant Cell Preview**, p. 2-15, 2011.

MARTINON, F.; PÉTRILLI, V.; MAYOR, A.; TARDIVEL, A.; TSCHOPP, J. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. **Nature**. v. 440, p.237-241, 2006.

MCADAMS-DEMARCO, M. A.; LAW, A.; MAYNARD, J.W.; CORESH, J.; BAER, A.N. Risk factors for incident hyperuricemia during mid-adulthood in African American and White men and women enrolled in the ARIC cohort study. **Musculoskeletal Disorders**. V. 14, p.13-17, 2013.

NCHU, F.; GITHIORI, J.B.; MCGAW, L.J.; ELOFF, J.N. Anthelmintic and cytotoxic activities of extracts of *Markhamia obtusifolia* Sprague (Bignoniaceae). **Veterinary Parasitology**. p.5918-5923, 2011.

NENADIS, N.; WANG, L.; TSIMIDOU, M.; ZHANG, H. Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using the ABTS+ Assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.52, p. 4669-4674, 2004.

OLIVEIRA, H. B.; KFFURI, C.W.; CASALI, V.W.D. Ethnopharmacological study of medicinal plants used in Rosário da Limeira, Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.20, p. 256-260, 2010.

OLIVEIRA, L. S.; MUZITANO, M.F.; COUTINHO, M.A.S.; MELO, G.O.; COSTA, S.S. Plantas Medicinais como Recurso Terapêutico em Comunidade do Entorno da Reserva Biológica do Tinguá, RJ, Brasil – Metabólitos Secundários e Aspectos Farmacológicos. **Revista Científica Internacional**. v.17, p. 54-74, 2011.

OLMSTEAD, R. G.; ZJHRA, M.; LOHMANN, L.G.; GROSE, S.O.; ECKERT, A.J. A Molecular Phylogeny And Classification Of Bignoniaceae. **American Journal of Botany**. v.96, p. 1731-1743, 2009.

OMS, General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine, **Organização Mundial da Saúde**. Genebra, 2000.

OMS, Plano de Ação para Prevenção e controle de doenças não transmissíveis, **Organização Mundial da Saúde**. Washington D.C., 2013.

PATZLAFF, R.G. **Estudo Etnobotânico de plantas de uso medicinal e místico na comunidade de Capoeira Grande, Pedra de Guaratiba, Rio de Janeiro, RJ, Brasil**. 2007. 124 f. Dissertação (Mestrado em Botânica). Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Escola Nacional de Botânica Tropical. Rio de Janeiro, RJ. 2007.

PENG, L.; WANG, Y.; ZHU, H.; CHEN, Q. Fingerprint profile of active components of *Artemisia salegensis* Turcz by HPLC-PAD combined with chemometrics. **Food Chemistry**. v. 125, p. 1064-1071, 2011.

PINHEIRO, G. R. C. Diet Orientation on Gout Revisited. **Revista Brasileira de Reumatologia**. v.48, p. 157-161, 2008.

PINTO, A. V., CASTRO, S. L. The Trypanocidal Activity of Naphthoquinones: A Review. **Molecules**. v.14, p. 4570-4590, 2009.

PORTER, W.L.; BLACK, E.D.; DROLET, A.M. Use of polyamide oxidative fluorescence test on lipid emulsions: contrast in relative effectiveness of antioxidants in bulk versus dispersed systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 37, p. 615-624, 1989.

PRAKASH, A.; RIGELHOF, F.; MILLER, E. Antioxidant Activity. **Analytical Progress**. Medallion Laboratories. Minneapolis, 2001.

PRATT, D.E.; BIRAC, P.M. Source of antioxidant activity of soybeans and soy products. **Journal of Food Sciences**. v. 44, p. 1720-1722, 1979.

RASHEED, A.; REDDY, S.; ROJA, C.; A Review on a standardization of herbal formulation. **International Journal of Phytotherapy**. v. 2, n. 2, p. 74-88, 2012.

RASOOL, M; VALARAKSHMI, P. Suppressive effect of *Whitania somnifera* root powder on experimental gouty arthritis: An *in vivo* and *in vitro* study. **Chemico-Biological Interactions**. v. 164, p. 174-180, 2006.

RASUL, A.; MILLIMOUNO, F.M.; ELTAIB, W.A.; ALI, M.; LI, J.; LI, X. Pinocembrin: A Novel Natural Compound with Versatile Pharmacological and Biological Activities. **BioMed Research International**. p.1-9, 2013.

RE, R. PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant Activity Applying An Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

REINDERS, M.K.; VAN-ROON, E.N.; JANSEN, T.L.T.A.; DELSING, J.; GRIEP, E.N.; HOEKSTRA, M.; VAN-DE-LAAR, M.A.S.J.; BROUWERS, J.R.B.J. Efficacy and tolerability of urate-lowering drugs in gout: a randomised controlled trial of benzbromarone versus probenecid after failure of allopurinol. **Ann Rheum Diseases**, v. 68, p.51-56, 2009.

ROY, P.; AMDEKAR, S.; KUMAR, A.; SINGH, V. Preliminary study of the antioxidant properties of flowers and roots of *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl) Miers. **BMC: Complementary & Alternative Medicine**, v. 11, p. 69, 2011.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; FILHO, J.M.; MOREIRA, A.V.B. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema β -caroteno/ácido linoleico. **Comunicado Técnico Embrapa**. v. 126, p. 1-4, 2006.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZ-GIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. **Comunicado Técnico Embrapa**. v. 128, p. 1-4, 2007.

SABINA, E.P.; CHANDAL, S.; RASOOL, M.K. Inhibition of monosodium urate crystal-induced inflammation by withaferin A. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. v.11, n.4, p.46-55, 2008.

SABINA, E.P.; NAGAR, S.; RASOOL, M.K.; A role of piperine on monosodium urate crystal-induced inflammation – an experimental model of gouty arthritis. *Inflammation*. v. 34, n. 3, p. 184-192, 2011.

SCHUMACHER, H.R., The pathogenesis of gout. **Cleveland Clinic Journal Of Medicine**. v. 75, p. s1-s4, 2008.

SEITO, L. N.; RUIZ, A.L.T.G.; VENDRAMINI-COSTA, D.; TINTI, S.V.; CARVALHO, J.E.; BASTOS, J.K.; DI STASI, L.C. Antiproliferative Activity of Three Methoxylated Flavonoids Isolated from *Zeyheria montana Mart.* (Bignoniaceae) Leaves. **Phytotherapy Research**. 2011.

SILVA, L. S.; COTTA, R.M.M.; ROSA, C.O.B. Estratégias de Promoção da Saúde e Prevenção Primária para enfrentamento de doenças crônicas: revisão sistemática. **Revista Panamericana de Salud Publica**. v. 34, n. 5, p. 343-350, 2013.

SMITH, E.U.R.; DIÁZ-TORNÉ, C; PEREZ-RUIZ, F.; MARCH, L.M. Epidemiology of Gout: An update. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**. v. 24, n. 6, p. 811-827, 2010.

TERKELTAUB, R. A. Clinical practice. Gout. **Engl J Med**. v.349, p. 1647-1655, 2003.

TISTAERT, C.; DEJAEGHER, B.; HEYDEN, I.V. Chromatographic separation techniques and data handling methods for herbal fingerprints: A review. **Analytica Chimica Acta**. v. 690, p. 148-161, 2011.

UMAMAHESWARI, M; ASOKKUMAR, K.; SIVASHANMUGAN, A.T.; REMYARAJU, A.; SUBHADRADEVI, V.; RAVI, T.K. *In vitro* xanthine oxidase inhibitory activity of the fractions of *Erythrina stricta* Roxb. **Journal of Ethnopharmacology**. V. 124, 646-648, 2009

VIEGAS, C.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, 2006.

WAGNER, H.; BLADT, S.; ZGAINSKI, E.M. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. Berlin: Springer Verlag, 1984, 320p.

ZHU, Y.; PANDYA, B.J.; CHOI, H.K. Prevalence of Gout and Hyperuricemia in the US General Population: The National Health and Nutrition Examination Survey 2007-2008. **Arthritis & Rheumatism**. v. 62, n. 10, p. 3136-3141, 2011.