



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

BRUNO HENRIQUE MATIAS DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA MODULAÇÃO ANGIOGÊNICA PELO EXTRATO
ETANÓLICO DO JUCÁ (*Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.) L. P.
Queiroz)**

CUITÉ – PB

2022

BRUNO HENRIQUE MATIAS DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA MODULAÇÃO ANGIOGÊNICA PELO EXTRATO
ETANÓLICO DO JUCÁ (*Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.) L. P.
Queiroz)**

Monografia apresentada à Coordenação de
Curso de Bacharelado em Farmácia da
Universidade Federal de Campina Grande,
Centro de Educação e Saúde, *Campus* Cuité,
como requisito indispensável para obtenção do
título de bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Bruna Braga Dantas.

CUITÉ – PB

2022

S586a Silva, Bruno Henrique Matias da.

Avaliação da modulação angiogênica pelo extrato etanólico do Jucá (*Libidibia ferrea* (max. ex. tul.) L. P. Queiroz). / Bruno Henrique Matias da Silva. - Cuité, 2022.

40 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2022.

"Orientação: Profa. Dra. Bruna Braga Dantas".

Referências.

1. Plantas medicinais. 2. Medicina popular - plantas - uso. 3. Angiogênica. 4. Jucá - extrato. 5. *Libidibia ferrea*. 6. Ensaio fitoquímico. 7. Fármaco - plantas medicinais. I. Dantas, Bruna Braga. II. Título.

CDU 633.88(043)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus pelo dom da vida e por desde o início do curso ter me guiado e me protegido para que eu possa estar aqui hoje, sem ele nada seria possível. Em segundo, gostaria de agradecer a minha família, meu suporte e meu pilar, que sempre me sustentaram nos momentos mais difíceis durante essa caminhada e foram os primeiros a me incentivarem a entrar no curso, mesmo com inúmeras dificuldades.

Também gostaria de agradecer às minhas amigas Laura e Camilla que me ampararam em momentos nos quais a desistência parecia ser o melhor caminho e me fizeram rir quando a tristeza estava escondida dentro de mim. Quero agradecer também a minha orientadora Prof^a Dr^a Bruna Braga Dantas, pelo apoio mais que essencial, sempre compreensiva e prestativa, embarcando nessa jornada difícil junto comigo.

Agradeço a Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) e todo corpo docente pela assistência prestada, onde, apesar de um campus de interior, pôde fornecer o suporte necessário para a conclusão do curso com grande êxito.

Não posso deixar de agradecer às professoras Júlia e Francinalva, que também embarcaram nessa jornada complicada, mas que nunca deixaram de me apoiar e de me fornecer o suporte necessário. Também agradeço ao Observatório de Câncer do Curimataú (OCC), o qual faço parte e que é primeiro núcleo de pesquisas voltadas ao câncer no campus.

Por fim agradeço a minha mãe e meu pai em especial, por trabalharem duro dia-a-dia durante mais de 25 anos (até o momento) para me sustentarem não só financeiramente como afetivamente, sem eles eu não estaria aqui e não seria possível a formação de um futuro farmacêutico na família, o primeiro no meu núcleo familiar a cursar um ensino superior.

Desde o início quando soube que passei no curso na casa da minha vó, entreguei nas mãos de Deus e disse que se fosse da vontade dele, que tudo caminhasse de forma positiva e foi assim que aconteceu, nunca vou desistir dos meus sonhos e também agradeço a mim por aquecer firme em tantos momentos de dificuldade.

RESUMO

O uso de plantas através da medicina popular vem ajudando no desenvolvimento de estudos científicos. Substâncias encontradas em plantas medicinais podem contribuir para descoberta de novas alternativas de tratamento para diversas doenças. O objetivo do estudo foi a obtenção e caracterização do extrato etanólico da *Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz, juntamente com a avaliação de sua capacidade de modulação no processo de angiogênese. Seus frutos foram coletados, seguidamente selecionados, higienizados, secados e triturados. O extrato foi obtido pela metodologia de maceração por solvente, utilizando 50 mL de álcool etílico e 5 g do material vegetal, durante 5 dias de extração. Foram realizados ensaios fitoquímicos no extrato para identificação da presença ou ausência de grupos metabólicos. Logo após, através da rotaevaporação do extrato, foi obtida a droga vegetal. Em seguida, ela foi ressuspensa em 50 mL de solução fisiológica 0,9%, com a concentração final da solução em 12,62 mg/mL. Foram preparadas três concentrações através desta solução (50 µg/mL, 100 µg/mL e 200 µg/mL) a serem testadas através do experimento HET-CAM (Test Hen's Eggs Chorioallantoide Membrane) que analisa parâmetros como o diâmetro, comprimento e ramificações dos vasos sanguíneos. Para o controle negativo utilizou-se solução fisiológica 0,9% e para o controle positivo utilizou-se o fármaco dexametasona 4 mg/mL. O experimento foi realizado em duplicata para cada concentração teste, em três repetições distintas, com os resultados tratados estatisticamente. Os resultados obtidos nos ensaios fitoquímicos indicaram presença apenas para o grupo dos taninos. No HET-CAM os resultados indicaram uma possível atividade antiangiogênica da *L. ferrea*. As concentrações testadas, nos parâmetros analisados, apresentaram resultados superiores aos apresentados pelo fármaco, principalmente a concentração de 200 µg/mL, indicando uma possível atividade antiangiogênica do extrato da *L. ferrea*, podendo ser atrelada ao grupo dos taninos. Com isso é possível determinar possíveis estudos futuros sobre o extrato, de forma a identificar e isolar substâncias que venham a tornar-se fármacos promissores no mercado e que auxiliem no tratamento de doenças que prejudicam o bem estar da população.

Palavras-chave: Angiogênese; Jucá; Extrato.

ABSTRACT

The use of plants through folk medicine has helped in the development of scientific studies. Substances found in medicinal plants can contribute to the discovery of new treatment alternatives for various diseases. The objective of the study was to obtain and characterize the ethanolic extract of *Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz, together with the evaluation of its ability to modulate the angiogenesis process. The plant used was Jucá (*Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz), its fruits were collected on May 11, 2022, then selected, sanitized, dried and crushed. The extract was obtained by the method of maceration by solvent, using 50 mL of ethyl alcohol and 5 g of plant material, during 5 days of extraction. Phytochemical assays were performed on the extract to identify the presence or absence of metabolic groups. Soon after, through rotaevaporation of the extract, the plant drug was obtained. Then, it was resuspended in 50 mL of 0.9% saline solution, with the final concentration of the solution at 12.62 mg/mL. Three concentrations were prepared using this solution (50 µg/mL, 100 µg/mL and 200 µg/mL) to be tested through the HET-CAM (Test Hen's Eggs Chorioallantoide Membrane) experiment, which analyzes parameters such as diameter, length and ramifications of the blood vessels. For the negative control, 0.9% saline solution was used and for the positive control, the drug dexamethasone 4 mg/mL was used. The experiment was carried out in duplicate for each test concentration, in three different repetitions. with the results treated statistically. The results obtained in the phytochemical assays indicated presence only for the tannins group. In HET-CAM the results indicated a possible antiangiogenic activity of *L. ferrea*. The tested concentrations, in the analyzed parameters, presented superior results to those presented by the drug, principal 200 µg/mL. With this, it is possible to determine possible future studies on the extract, in order to identify and isolate substances that may become promising drugs on the market and that help in the treatment of diseases that harm the well-being of the population.

Key words: Angiogenesis; Juca; Extract.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01- Frutos da <i>Libidibia ferrea</i> (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz.....	12
Figura 02 - Corte histológico Artéria (A) Veia (V).....	14
Figura 03 - Corte histológico artéria de médio calibre, apresentando túnica íntima (I), túnica média (M) e túnica adventícia.....	15
Figura 04 - Representação do processo de angiogênese.....	16
Figura 05- Células endoteliais (em seta) em secção de uma veia.....	18
Figura 06 – Extrato etanólico após rotaevaporação.....	26
Figura 07 - Tubos de ensaio dos testes fitoquímicos.....	27
Figura 08 - Efeito evidenciado pelo teste da membrana corioalantóide de ovos de galinha (HET-CAM) em concentração de 50 µg/mL do extrato.....	28
Figura 09 - Efeito evidenciado pelo teste da membrana corioalantóide de ovos de galinha (HET-CAM) em concentração de 100 µg/mL do extrato.....	29
Figura 10 - Efeito evidenciado pelo teste da membrana corioalantóide de ovos de galinha (HET-CAM) em concentração de 100 µg/mL do extrato.....	30
Figura 11 – Análise do comprimento dos vasos sanguíneos em 6 e 24 horas nas concentrações testas frente a dexametasona.....	31
Figura 12 – Análise do diâmetro dos vasos sanguíneos em 6 e 24 horas nas concentrações testas frente a dexametasona.....	32
Figura 13 – Análise do número de ramificações dos vasos sanguíneos em 6 e 24 horas nas concentrações testas frente a dexametasona.....	33

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS.....	11
2.1 Objetivo geral	11
2.2 Objetivos específicos	11
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
3.1 <i>Libidibia ferrea</i> (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz.....	12
3.2 Plantas Medicinais e Metabólitos Secundários	13
3.3 Vasos Sanguíneos	14
3.4 Angiogênese e Endotélio Vascular	15
3.5 Células endoteliais precursoras, endotélio vascular e células endoteliais	17
3.6 Angiogênese Patológica.....	19
3.6.1 Inflamação	19
3.6.2 Neoplasias	20
3.7 HET-CAM (Test Hen's Eggs Chorioallantoide Membrane)	21
4 METODOLOGIA	23
4.1 Coleta, seleção e preparo da <i>Libidibia ferrea</i> (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz.....	23
4.2 Preparo do extrato etanólico da (<i>Libidibia ferrea</i> (Mart.) L. P. Queiroz), filtração, rotaevaporação	23
4.3 Ensaio Fitoquímicos	23
4.4 Preparo da solução mãe e concentrações teste para o HET-CAM ...	24
4.4 Ensaio de modulação do processo de angiogênese	24
4.4.1 Seleção dos ovos.....	24
4.4.2 Desenvolvimento do Ensaio	24
4.4.3 Análise de dados	25

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1 Extrato etanólico e droga vegetal	26
5.2 Ensaio Fitoquímico	26
5.3 HET-CAM (Teste de Membrana de Chorioalantoide de Ovos de Galinha)	27
6 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS.....	36

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais no Brasil atribui-se principalmente à medicina popular, que vem se desenvolvendo ao longo dos anos por conhecimentos empíricos desde o surgimento do homem na terra. A medicina popular constitui um pilar importante na construção do conhecimento científico, pois através dela podemos direcionar pesquisas que irão gerar novos fármacos a serem utilizados no tratamento de diversas doenças (MELLO JÚNIOR; SILVA, 2020).

As plantas produzem substâncias conhecidas como metabólitos secundários e estes são o foco da pesquisa de novos fármacos. Para isso são necessárias identificações e comprovações cientificamente de alguma atividade farmacológica de interesse. A *Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz, popularmente conhecida como Jucá, é utilizada na medicina popular no tratamento de feridas, contusões e distúrbios gastrointestinais através de garrafadas ou soluções hidroalcoólicas. Com isso, o Jucá faz parte do grupo de plantas com possíveis ações biológicas de importância para pesquisa científica. (AMÉRICO, 2020).

Diante da diversidade dos processos patológicos em humanos a descoberta de novas formas de tratamento auxilia no bem-estar do paciente. Essa rota de pesquisa científica através de plantas medicinais induz a exploração da nossa flora de forma positiva, agregando valores à saúde da nossa população. (FERREIRA *et al.*, 2016).

A angiogênese é um processo fisiopatológico responsável pela formação de novos vasos, ela está relacionada a doenças como o câncer e as que envolvam a regulação e homeostase da renovação vascular. O Jucá apresenta um grupo de metabólitos, conhecidos como taninos, que entram em destaque por apresentar atividade antiangiogênica. Os taninos, também conhecidos como polifenóis, podem ser identificados qualitativamente através de ensaios fitoquímicos realizados no extrato da planta. (COSTA; SIMPLICIO; SOUZA, 2015; FERREIRA *et al.*, 2018).

Dessa forma o estudo da modulação do processo de angiogênese aplicada a *L. ferrea* pode significar grande importância para o conhecimento científico obtido pela medicina popular. Assim, este trabalho tem por objetivo a obtenção e caracterização do extrato etanólico da *Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.)

L. P. Queiroz, juntamente com a avaliação de sua capacidade de modulação no processo de angiogênese.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Obtenção e caracterização do extrato etanólico da *Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz, juntamente com a avaliação da sua capacidade de modulação no processo de angiogênese.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar o extrato etanólico da *Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz,
- Identificar o perfil fitoquímicos do extrato obtido, e
- Verificar a resposta do extrato etanólico da *Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz frente ao teste de avaliação da modulação do processo de angiogênese.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 *Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz

A *Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz popularmente é conhecida por diversos nomes como “Jucá”, “Pau-ferro” e “Jucaína”, seu uso é bastante extenso na medicina popular, podendo ser utilizada para tratamento de quadros como inflamações e processos de cicatrização. As árvores variam entre pequeno e médio porte. O fruto (vagem) pode chegar a medir entre 3,5–10 × 1,5–2,7 cm (figura 01) e apresenta-se inflado com ápice acuminado, glabro e pubescente, além de lenhoso na maturação (KOBAYASHI *et al.*, 2015).

Figura 01- Frutos da *Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz.



Fonte: Própria, 2022.

Os frutos apresentam metabólitos secundários produzidos pela planta, estes metabólitos são capazes de desenvolver reações biológicas interessantes e importantes para ciência na área da saúde. No extrato obtido através da vagem do Jucá podem ser detectadas ácidos orgânicos, antraquinonas, sesquiterpenolactonas, fenóis, açúcares redutores e taninos. Suas concentrações podem variar de acordo com a época de colheita, preparo do extrato, solvente utilizado, solo, área de crescimento e preparo da amostra. Essas substâncias podem ser responsáveis pelo surgimento de possíveis futuros

fármacos a serem usados por pacientes enfermos (COSTA *et al.*, 2015 FERREIRA *et al.*, 2016).

Os taninos encontrados nos frutos do Jucá apresentam atividade antiangiogênica, por isso sua utilização no tratamento de feridas e em processos de cicatrizações. Devido essa atividade antiangiogênica da planta o estudo da modulação do processo angiogênico se torna de grande importância para a pesquisa científica de novos fármacos (JÚNIOR;SILVA, 2020).

3.2 Plantas Medicinais e Metabólitos Secundários

O Brasil é um dos países mais ricos em fauna e flora e dentro desse grupo podemos destacar as plantas que são bastante utilizadas pela medicina popular. O conhecimento adquirido empiricamente muitas vezes não está acompanhado de um embasamento científico, mas não se descarta a hipótese do uso dessas plantas quando estudadas e analisadas a fim de validar cientificamente seu potencial farmacológico (MELO JÚNIOR; SILVA, 2020).

Os metabólitos secundários ou produtos naturais - também conhecidos como alcalóides, flavonóides, terpenos, taninos e entre outros - são produzidos pelas plantas como parte de mecanismos de defesa. As plantas são fontes naturais ricas para o descobrimento de novas substâncias químicas com atividade farmacológica. Estudos etnobotânicos levam ao descobrimento de plantas como o Jucá encontrado na região nordeste, que pode contribuir de forma eficaz no tratamento de doenças, desde que haja comprovação científica, apesar de seu uso popular ser bastante disseminado (VIZZOTTO *et al.*, 2010).

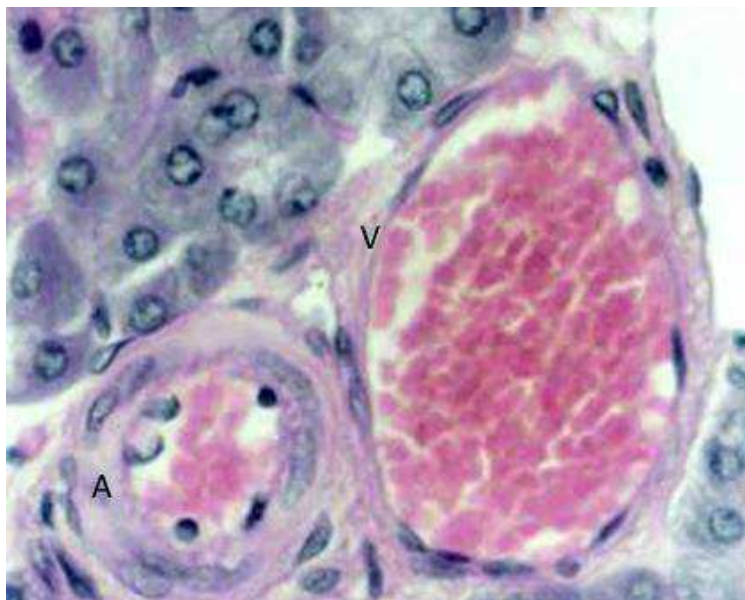
Metabólitos secundários de origem vegetal podem ser obtidos através de processos extrativos, que possuem as mais diversas metodologias, escolhidas com base no foco do estudo, tipo de material a ser analisado e tipo de solvente que se deseja empregar. A extração ocorre por meio da polaridade do solvente escolhido com base na permeabilidade da planta que se deseja estudar e fomenta o embasamento do início da investigação científica, pelo descobrimento de substâncias com ações biológicas importantes ao ser humano (SÁ-FILHO *et al.*, 2021).

Os processos extrativos podem ocorrer por maceração, percolação, por turbólise, por influência de fluidos supercríticos e entre outras técnicas. Na maioria dos casos o processo extrativo que mais se assemelha ao uso popular é a técnica de maceração, em que o material é colocado em contato com o solvente, previamente escolhido, em recipiente ao abrigo da luz e umidade, permanecendo por cerca de 5 a 7 dias. Dessa forma a escolha do tipo de extração deve permanecer em concordância com o uso popular, para que os resultados possam condizer com a realidade que a população faz uso (LIMA, 2019).

3.3 Vasos Sanguíneos

Os vasos sanguíneos constituem um dos sistemas mais importantes do corpo humano e são formados pelas túnicas íntima, média e adventícia, como mostra a figura 02. A túnica íntima é formada pelo endotélio, seguida da camada subendotelial, tecido conjuntivo frouxo e a lâmina elástica interna; diferente da túnica média que apresenta apenas tecido elástico e tecido muscular liso. Por fim, a túnica adventícia é formada pelo tecido conjuntivo denso não modelado e tecido conjuntivo frouxo (BORGES, 2011).

Figura 02 - Corte histológico Artéria (A) Veia (V).

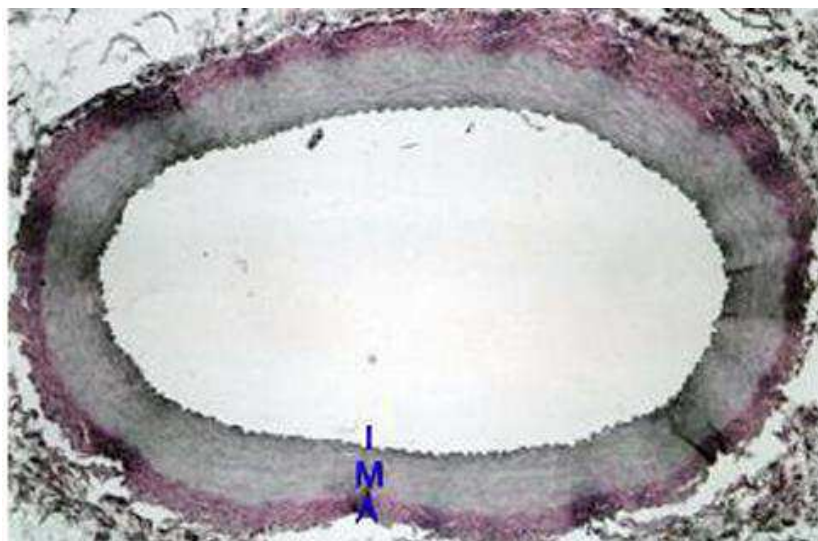


Fonte: Adaptado Montanari, 2016.

Os vasos sanguíneos são responsáveis por transportar o sangue e permitem que ocorram trocas gasosas essenciais para respiração, atividades bioquímicas fisiológicas ou patológicas. Os vasos estabelecem também o local onde percorrem as demais células do corpo, substâncias exógenas e endógenas (KARP, 2005; NEVES, 2018).

As artérias, figura 03, são vasos eferentes que transportam o sangue do coração para os órgãos e tecidos, carregando moléculas essenciais como o oxigênio (O_2) e nutrientes. Contudo as veias são caracterizadas como vasos aferentes, pois trazem o sangue do corpo aos pulmões. O contato do sangue enviado do coração com as células e tecidos do corpo permite trocas gasosas, deixando o sangue rico em dióxido de carbono (CO_2), por isso o sangue passa pelos pulmões para que seja reoxigenado e enviado ao coração para uma nova distribuição pelo corpo (YOSHIDA, 2005).

Figura 03 - Corte histológico artéria de médio calibre, apresentando túnica íntima (I), túnica média (M) e túnica adventícia.



Fonte: Adaptado de Montanari, 2016.

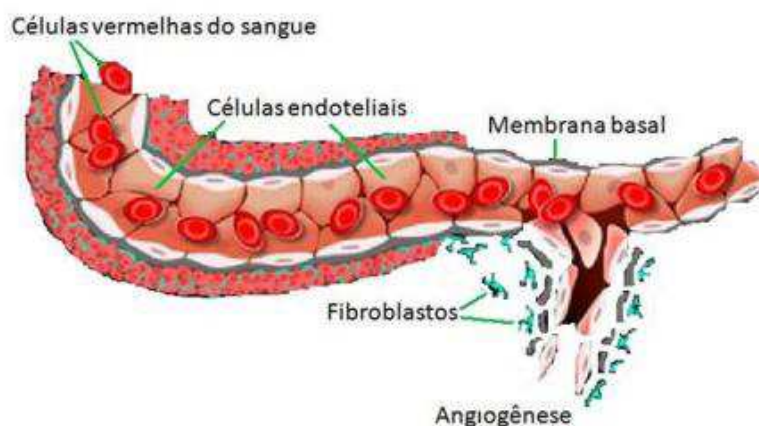
3.4 Angiogênese e Endotélio Vascular

Caracterizada como um processo fisiopatológico altamente dinâmico e complexo, a angiogênese ou neovascularização é responsável pela formação de novos vasos sanguíneos. Este processo é regulado por fatores pró e antiangiogênicos e pode ocorrer por brotação - através da ativação, proliferação

e migração de Células Endoteliais (CE's) a partir de vasos pré-existent em tecidos embrionários ou adultos - e por divisão intravascular (YOSHIDA, 2005).

A angiogênese (figura 4) tem início com a dilatação e degradação da matriz dos vasos adjacentes ao estímulo, em seguida ocorre a ativação das CE's da membrana basal do tecido específico mediante fatores pró-angiogênicos, como o Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF). Com a ativação das CE's são secretadas proteases, enzimas que induzem o início da degradação da membrana basal, que irá permitir a migração, proliferação e invasão do tecido pelas CE's. A migração e a invasão ocorrem mediante a atividade simultânea do sistema ativador do plasminogênio (PA) e das metaloproteinases (MMP), em paralelo ocorre a reorganização das CE's para formação do tubo capilar (CEZARIO, 2015).

Figura 04 - Representação do processo de angiogênese.



Fonte: Adaptado de Montanari, 2016.

Durante o processo de angiogênese os vasos responsáveis por fornecer as CE's permanecem dilatados, favorecendo a sua permeabilidade. Em seguida a membrana basal é degradada e com isso as CE's conseguem migrar para o estímulo angiogênico. Induzida por fatores de crescimento ocorre a proliferação das CE's que propicia o alinhamento das células formando os tubos capilares, que darão origem aos novos vasos. Ao final as células endoteliais constituintes do novo vaso entram em maturação, demandando remodelações do tecido. Com isso lúmens são formados juntamente com uma nova membrana basal, onde dois brotos formados unem-se e constituem uma alça capilar. As células

mesenquimais migram para o vaso neoformado com a finalidade de conferir sustentação e estabilização com posterior diferenciação em pericitos e células musculares lisas, com auxílio também da regeneração da matriz extracelular e da membrana basal (CEZARIO, 2015).

Esse processo no embrião ocorre desencadeado pela formação do plexo vascular primitivo, originando o mesoderma por vasculogênese. Células precursoras indiferenciadas conhecidas como angioblastos, *in situ*, diferenciam-se em células endoteliais que formarão a rede vascular primitiva. Após inúmeras reações e alterações, essa rede vascular torna-se madura através da formação de vasos pequenos e grandes que fornecem um fluxo sanguíneo. Na fase adulta, a formação de novos vasos sanguíneos depende da angiogênese, embora a vasculogênese ainda ocorra, com recrutamento de Células Endoteliais Precursoras (CEP's) (BORGES, 2011).

Em cada tecido, o crescimento vascular é formado com características distintas, devido a influência dos fatores pró e antiangiogênicos, possuindo morfologia e fisiologia diferentes. No adulto, existe uma predominância de fatores antiangiogênicos, quando a neovascularização ocorre com a prevalência de fatores pró-angiogênicos, favorecendo diversos processos patológicos (BIAGINI, 2021).

3.5 Células endoteliais precursoras, endotélio vascular e células endoteliais

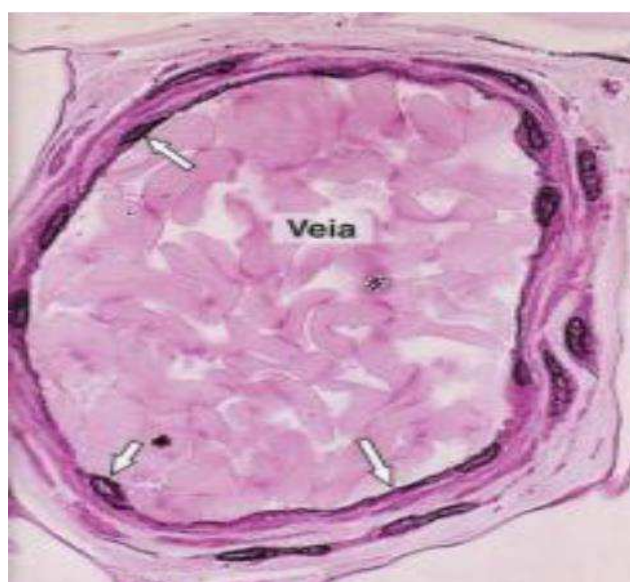
As Células Endoteliais Precursoras (CEP's) caracterizam-se por desenvolver propriedades semelhantes aos angioblastos embrionários, com capacidade para circular, proliferar e diferenciar-se em CE's maduras, apesar de ainda não possuírem marcadores característicos de CE's diferenciadas, por isso também não formam o lúmen. Atualmente, sabe-se que as CEP's estão presentes em adultos e não somente na fase embrionária, participando dos processos de neovascularização (BIAGINI, 2021; FRANÇA *et al.*, 2013; GOMES, 2017).

O endotélio vascular está presente em todos os órgãos do corpo humano. Ele permeia entre os tecidos que compõem os vasos e o sangue, recobrendo a face interna como uma barreira física, de epitélio de revestimento simples. O

endotélio vascular desenvolve um papel crucial no organismo, atuando na proteção vascular contra inflamação, trombose, doenças cardiovasculares, até a formação de novos vasos sanguíneos. Ele também favorece atividades metabólicas, proliferativas e imunológicas que regulam a homeostase, funções vasomotoras, sistemas de coagulação e reparo tissular (PINHO, 2005; BORGES, 2011).

Para que o endotélio vascular se mantenha em constante atividade, é necessária uma comunicação entre as células presentes nesse endotélio e dada tamanha importância, essas células permanecem em constante atuação, unidas perfeitamente, essas são as Células Endoteliais (CE's), como mostra a figura 05 (BORGES, 2011).

Figura 05- Células endoteliais (em seta) em secção de uma veia



Fonte: Adaptado Montanari, 2016.

As células endoteliais, orientadas longitudinalmente na direção do fluxo sanguíneo, formam o endotélio vascular através de uma fina camada de células achatadas unidas entre lâminas basais por junções oclusivas, junções de adesão e também por junções *gap*, interagindo também com as células da parede vascular. Dessa forma é possível estabelecer a passagem de hormônios, hemácias e outras moléculas (YOSHIDA,2005; JESÚS *et al.*, 2014).

As junções *gap* são a comunicação direta de sinais entre as células vizinhas, permitindo a passagem de íons, hormônios e fatores de crescimento, essenciais na angiogênese. Estas junções controlam a homeostase celular pela forte integração nas funções celulares nos tecidos. Destaque, também, na resposta vasoativa das células e na regulação do crescimento e diferenciação (PINHO, 2005; FONSECA *et al.*, 2013).

Com comunicações estabelecidas, as CE's regulam o fluxo sanguíneo e o tônus muscular pela vasodilatação ou vasoconstrição. Essas mesmas células participam da formação de novos vasos sanguíneos, promovendo a criação de novos endotélios vasculares, importante em processos de cicatrização. Sua morfologia pode variar de acordo com o calibre do vaso, em microvasculação e macrovasculação, com características específicas das regiões do corpo (JESÚS, *et al.*, 2014; PALHARES, 2016; KOBAYASHI *et al.*, 2015).

Os angioblastos, ou CEP's com a mesma capacidade, localizados nas periferias das ilhotas sanguíneas formadas por hemangioblastos, no saco vitelino, diferenciam-se em células endoteliais ainda no início do desenvolvimento embrionário, com a formação da mesoderme extra-embrionária (BIAGINI, 2021).

3.6 Angiogênese Patológica

3.6.1 Inflamação

O processo de inflamação é desencadeado mediante a presença de microrganismos ou injúrias químicas, físicas ou biológicas, tornando-se um mecanismo de defesa e reparo do estado original do tecido de extrema importância para o organismo humano, ao mesmo tempo que promove a lesão do tecido ou órgão para que sua resposta ocorra. Pelo processo complexo, em casos específicos, a inflamação manifesta agressões mais danosas do que o próprio agente causador (FERREIRA *et al.*, 2019).

No reparo e remodelação do tecido inflamado a angiogênese é promovida, acontecendo mediante estímulos proporcionados devido ao quadro de inflamação, influenciados pela complexidade da patologia. As células recrutadas por quimiocinas são responsáveis pela resposta inflamatória,

proporcionando uma quimiotaxia de células sanguíneas do nosso sistema imunológico e adesão leucocitária (FALCÃO *et al.*, 2019).

A reação inflamatória, de fato, envolve mecanismos de atividades vasculares e celulares, em ambientes extravascular ou intravascular, desse modo outros sistemas biológicos podem ser desencadeados, como a angiogênese. O endotélio vascular tem participação ativa na resposta inflamatória, mas também é afetado por ela. Seja qual for o agente promulgador da inflamação, a lesão tecidual induz a liberação de inúmeras substâncias que irão atuar nos locais lesionados (FALCÃO *et al.*, 2019).

Durante essa resposta inflamatória, dois mecanismos importantes são desencadeados, a coagulação e a angiogênese. O segundo mecanismo se desenvolve mediante a resposta de reparo do tecido injuriado, onde mediadores pró-inflamatórios são capazes de promover a angiogênese. Desse modo o processo inflamatório dispersa sinalizadores capazes de promover a angiogênese, manifestando complicações clínicas e por isso substâncias com efeito direto na neovascularização tornam-se modelos interessantes para o tratamento da inflamação (AMÉRICO *et al.*, 2020).

3.6.2 Neoplasias

As células neoplásicas possuem características próprias que impedem a atuação processos apoptóticos homeostáticos, contribuindo para o surgimento do tumor, contudo, apenas este fator não é capaz de propiciar o seu desenvolvimento. Para isso, faz-se necessário um forte suprimento sanguíneo - através da neovascularização - responsável por carregar nutrientes que irão contribuir ainda mais para a divisão celular neoplásica (GUERRA *et al.*, 2017).

Tecidos que apresentam tumores possuem uma vascularização bastante proeminente, indicando processos de angiogênese constantes na região, para que os novos vasos possam suprir as demandas sanguíneas. As células endoteliais dos tecidos próximos às células tumorais são responsáveis pelo surgimento de uma nova vascularização, pois recebem um forte estímulo capaz de alterar o seu estado proliferativo normal, proporcionando uma microvascularização no processo de crescimento tumoral. Por isso, nesses casos, técnicas que bloqueiem o surgimento dessa neovascularização irão

contribuir para a interrupção do crescimento tumoral (GOMES, 2017; NITULESCU *et al.*, 2018).

Os fatores de crescimento possuem uma alta atividade oncogênica, pela capacidade de estimular o processo de angiogênese, tornando-se um ponto crucial para a linha de tratamento antineoplásico. A angiogênese ainda desempenha papel importante em quadros de formação e desenvolvimento de metástase, pois esses quadros em geral não se desenvolvem sem antes a formação de uma neovascularização, facilitando a migração de células neoplásicas na circulação sanguínea, uma vez estabelecido o canal. A estratégia terapêutica, baseada na angiogênese, se desenvolve através da proposição de medicamentos que são capazes de inibi-la e como consequência ocorre uma redução do crescimento tumoral (PRAZERES *et al.*, 2019).

3.7 HET-CAM (*Test Hen's Eggs Chorioallantoide Membrane*)

O teste HET-CAM é uma das metodologias alternativas *in vivo* voltadas ao estudo a partir da membrana corioalantóide de ovos de galinha, podendo ser aplicada as mais diversas finalidades, desde testes de toxicidade até teste de acompanhamento do desenvolvimento embrionário, incluindo os vasos sanguíneos que os permeiam. Uma infinidade de substâncias podem ser testadas no HET-CAM, desde cosméticos, agrotóxicos até fármacos e outras substâncias químicas. Essa metodologia é bastante empregada devido ao baixo custo, fácil manipulação e desenvolvimento (DE OLIVEIRA *et al.*, 2012).

O ovo de galinha utilizado no teste deve estar fecundado, uma vez que o foco do estudo é o embrião e/ou os vasos sanguíneos. O desenvolvimento dessa metodologia alternativa buscou reduzir o sofrimento da experimentação em animais, minimizando a dor e o desconforto causado por outros tipos de testes em animais por questões éticas (DEROUICHE; ABDENNOUR, 2017).

A membrana corioalantóide formada durante o desenvolvimento embrionário permite um sistema propício para o estudo da modulação do processo de angiogênese, diferenciando-se do teste *in vitro* que possuem dificuldades de desenvolvimento para análise desse processo fisiopatológico (RIBATTI, 2016).

Duas técnicas podem ser aplicadas no HET-CAM, o desenvolvimento do teste no próprio ovo, após abertura da casca, ou uso o cultivo do embrião em placa de petri. Em geral após de 3 a 5 dias é possível prosseguir com o estudo de modulação do processo de angiogênese, a substância teste pode ser inserida através de discos de filtros e em seguida alguns parâmetros podem ser analisados a fim de obter resultados como o número de vasos ou ramificações, o comprimento e o diâmetro. Esses parâmetros serão capazes de demonstrar o processo como o processo de angiogênese ocorreu durante o teste (STATON; REED; BROWN, 2008).

Ainda segundo Staton; Reed; Brown (2008) a membrana corioalantóide é sensível a vários fatores e naturalmente é bastante vascularizada, esses fatores podem interferir no teste gerando resultados alterados. Por isso o tempo de incubação, a abertura da casca e a administração da substância teste devem ser realizadas com cautela.

4 METODOLOGIA

4.1 Coleta, seleção e preparo da *Libidibia ferrea* (Max. Ex. Tul.) L. P. Queiroz

Os frutos de *L. ferrea* foram coletados no Centro de Educação (CES) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), situada no acesso Prof^a. Maria Anita Furtado Coelho, localidade do Olho D'Água da Bica, no município de Cuité–PB. A espécie foi identificada pelo botânico Prof. Dr. Carlos Alberto Garcia Santos (UFCG - Cuité) e a exsicata depositada no Herbário do Centro de Educação e Saúde - UFCG.

A cidade localiza-se no nordeste brasileiro, mais precisamente na Microrregião do Curimataú Ocidental Paraibano, em região serrana de clima de clima quente durante a maior parte do ano (GOMES, 2011). A coleta foi realizada no dia 11 de maio de 2022.

Foram selecionados frutos com partes íntegras e que não demonstraram qualquer tipo de contaminação. Após a coleta e seleção do material, os frutos passaram por um processo de secagem em estufa entre 40 °C a 50 °C até o peso constante. Com as vagens devidamente secas, as mesmas foram trituradas com auxílio de um macro moinho de facas modelo SL-32, com mesh 12, que padronizou as partículas preparando-as para o processo de extração.

4.2 Preparo do extrato etanólico da (*Libidibia ferrea* (Mart.) L. P. Queiroz), filtração, rotaevaporação

Foram pesados 5 g do material vegetal obtido e adicionado em erlenmeyer juntamente com 50 ml de álcool etílico (C₂H₅OH), solvente utilizado para obtenção do extrato com base no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira. A extração ocorreu através da técnica de maceração contínua em local ao abrigo da luz durante 5 dias. Logo após, realizou-se a filtração do extrato através de papel filtro para eliminação de partículas residuais.

4.3 Ensaios Fitoquímicos

Os ensaios fitoquímicos foram realizados para determinação da composição fitoquímica mediante reações descritas por Simões *et al* (2017) e com intuito de gerar resultados qualitativos sobre a presença ou ausência de terpenos, taninos, flavonoides e alcaloides.

Para identificação de terpenos, foram adicionados em um tubo de ensaio 1 mL do extrato juntamente com 0,5 mL de anidrido acético e duas gotas de ácido sulfúrico concentrado, o resultado positivo para presença desse grupo metabólico ocorrerá pelo surgimento de uma coloração azul. Para identificação dos taninos foram utilizados 1 mL do extrato adicionado a um tubo de ensaio juntamente com duas gotas de cloreto férrico a 5%, com confirmação de presença observando mudança de coloração (verde, marrom, vermelho ou azul) a depender da cor inicial do extrato. Para análise da presença de saponinas, em um tubo de ensaio foi adicionado 1 mL do extrato com posterior agitação vigorosa para observação do surgimento de espuma na superfície, indicando teste positivo para presença.

4.4 Preparo da solução mãe e concentrações teste para o HET-CAM

Para preparação da solução mãe, primeiro foi realizada uma rotaevaporação até eliminação do solvente, obtendo a droga vegetal. Foi possível obter 0,631 g de droga vegetal, que foi ressuspensa em 50 mL de soro fisiológico 0,9%, obtendo assim a solução mãe na concentração de 12,62 mg/mL.

A partir desta solução foram preparadas três concentrações distintas, com base em cálculos de diluição, a serem utilizadas no ensaio de modulação: 50 µg/mL, 100 µg/mL e 200 µg/mL.

4.4 Ensaio de modulação do processo de angiogênese

Para desenvolvimento desse tipo de teste, fez-se necessário a obtenção de ovos de galinha fecundados para avaliação da atividade angiogênica. Os ovos foram obtidos por fornecedores locais da região de Cuité-PB.

4.4.1 Seleção dos ovos

Os ovos selecionados apresentaram-se íntegros, sem rachaduras ou qualquer tipo de anormalidade visual, para desenvolvimento eficaz do teste HET-CAM.

4.4.2 Desenvolvimento do Ensaio

Os ovos foram higienizados e armazenados em estufa a 37 °C, para prosseguimento do ensaio de modulação do processo de angiogênese. Após um período de incubação de 3 dias, os mesmos sofreram incisões em suas cascas

na extremidade de maior diâmetro, com cautela para que não houvesse nenhum rompimento dos vasos sanguíneos.

Logo após a abertura da casca dos ovos, a concentração teste, a dexametasona 4 mg/mL e a solução fisiológica a 0,9% foram inseridos através de discos de papel filtro contendo 10 µL de cada uma das substâncias.

Os experimentos foram realizados em duplicata para cada concentração (50 µg/mL, 100 µg/mL e 200 µg/mL) e controle, em três repetições independentes. Foram feitos registros fotográficos utilizando um estereoscópio durante um período de 0, 6 e 24 horas.

4.4.3 Análise de dados

As fotos obtidas foram analisadas com auxílio do programa “Image J” para quantificação dos parâmetros vasculares: número de ramificações, comprimento e diâmetro dos vasos sanguíneos. Os dados foram transformados em porcentagem e tratados estatisticamente através do teste t de *student*, para determinação da possível diferença significativa em análises interdependentes das concentrações utilizadas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Extrato etanólico e droga vegetal

O extrato obtido manteve-se na concentração de 5% em 50 mL de solvente etanólico com cor característica (marrom claro) a parte utilizada da planta, o fruto. A droga vegetal obtida, como mostra a figura 06, apresentou coloração marrom escura.

Figura 06 – Extrato etanólico após rotaevaporação.

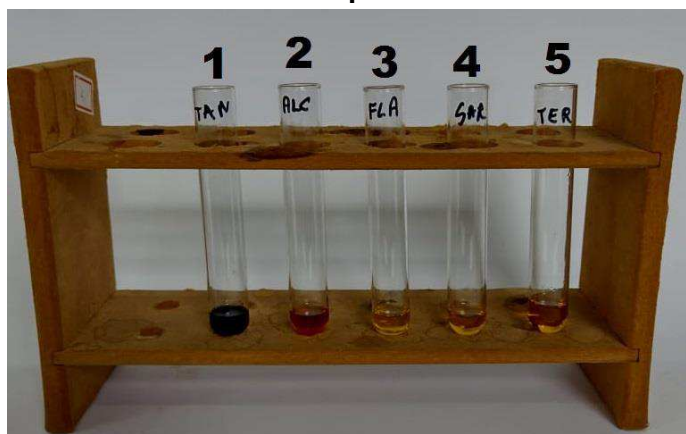


Fonte: Arquivos da pesquisa, 2022.

5.2 Ensaios Fitoquímicos

O extrato etanólico do Jucá, submetido aos ensaios fitoquímicos, foi avaliado mediante técnicas colorimétricas e de aglutinação para identificação dos metabólitos secundários. Verificou-se resultado positivo para presença apenas da classe dos taninos, onde o extrato após adição de 0,5 mL de anidrido acético e duas gotas de ácido sulfúrico concentrado, apresentou uma coloração azul escuro característico da reação ocorrida, como mostra a figura 07. Os demais metabólitos apresentaram resultado negativo para presença no extrato.

Figura 07 - Tubos de ensaio dos testes fitoquímicos



Legenda - 1= Taninos, 2= Alcalóides, 3= Flavonoides, 4= Saponinas e 5= Terpenos.

Fonte: Arquivos da pesquisa, 2022.

Os resultados obtidos corroboram com o estudo realizado por Kobayashi *et al* (2015), que realizaram testes fitoquímicos também com o extrato obtido a partir dos frutos do Jucá no estado do Pará, detectando a presença de taninos. Contudo, no mesmo estudo, observou-se a presença de saponinas diferindo do presente trabalho. A diferença de resultados pode ser explicada devido à época, horário de coleta dos frutos e região onde a planta coletada se encontra, como também aspectos climáticos que podem interferir na presença ou ausência de alguns desses metabólitos.

5.3 HET-CAM (Test Hen's Eggs Chorioallantoide Membrane)

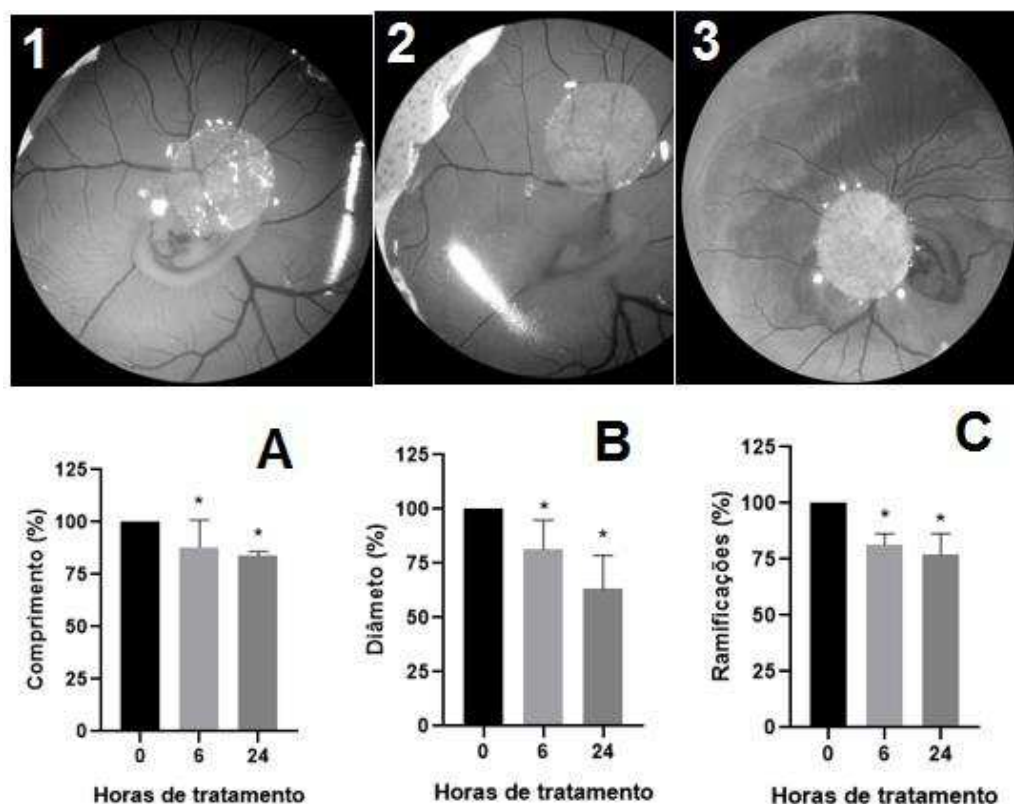
Foram testadas as três concentrações obtidas através do extrato da *L. ferrea*, 50 µg/mL, 100 µg/mL e 200 µg/mL. A menor concentração administrada no experimento foi a de 50 µg/mL e apresentou diminuição no comprimento ($82,82 \pm 15,25$ %), no diâmetro ($85,66 \pm 10,42$ %) e nas ramificações ($78,49 \pm 10,17$ %) dos vasos sanguíneos nas primeiras 6 horas do experimento.

Após 24 horas do teste, os vasos sanguíneos mantiveram a diminuição no comprimento ($83,92 \pm 2,08$ %), no diâmetro ($63,32 \pm 15,33$ %) e nas ramificações dos vasos sanguíneos ($77,09 \pm 9,36$ %).

A diminuição significativa dos parâmetros comprimento, diâmetro e número de ramificações dos vasos sanguíneos ao decorrer do experimento, figura 08, aponta que com a menor concentração administrada já foi possível

observar resultados significativamente consideráveis e que se mantêm ao decorrer das 6 e 24 horas de análise.

Figura 08 - Efeito evidenciado pelo teste da membrana corioalantóide de ovos de galinha (HET-CAM) em concentração de 50 µg/mL do extrato *L. ferrea*.



1 - 0 horas, 2 - 6 horas, 3 - 24 horas de tratamento. A - Comprimento; B - Diâmetro; C - Ramificações dos vasos sanguíneos. Dados apresentados em média $\pm$ desvio padrão em três repetições distintas em duplicata. * Diferença significativa ao tempo 0 ($p < 0,05$), tratados estatisticamente através do teste t de *student* em análises interdependentes.

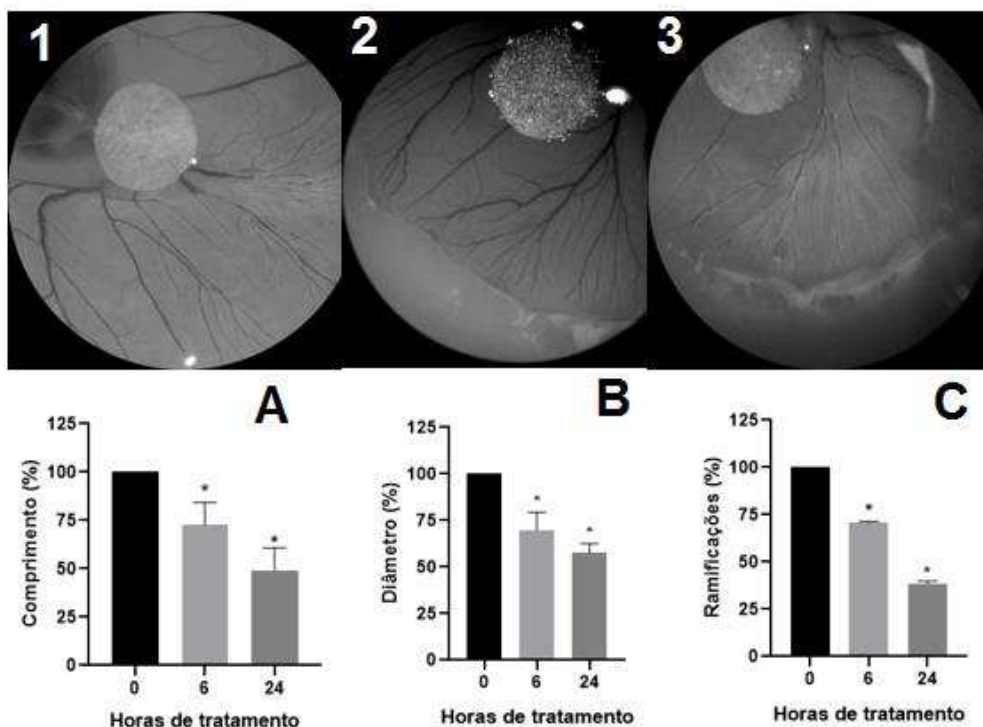
Fonte: Arquivos da pesquisa, 2022.

A concentração administrada de 100 µg/mL também apresentou diminuição no comprimento ($74,77 \pm 11,54\%$), no diâmetro ($71,26 \pm 13,11\%$) e nas ramificações ($70,98 \pm 0,41\%$) dos vasos sanguíneos nas primeiras 6 horas de tratamento, o que se repetiu nas 24 horas do teste no comprimento ($49,26 \pm 11,52\%$), no diâmetro ($57,60 \pm 4,98\%$) e nas ramificações ($38,75 \pm 1,15\%$) dos vasos sanguíneos, como mostra a figura 09.

A segunda concentração administrada também foi capaz de gerar resultados significativos. Os parâmetros analisados foram estatisticamente diferentes ao

tempo 0, apontando também uma diminuição no comprimento, diâmetro e números de ramificações dos vasos sanguíneos para esta concentração.

Figura 09 - Efeito evidenciado pelo teste da membrana corioalantóide de ovos de galinha (HET-CAM) em concentração de 100 µg/mL do extrato *L. ferrea*.



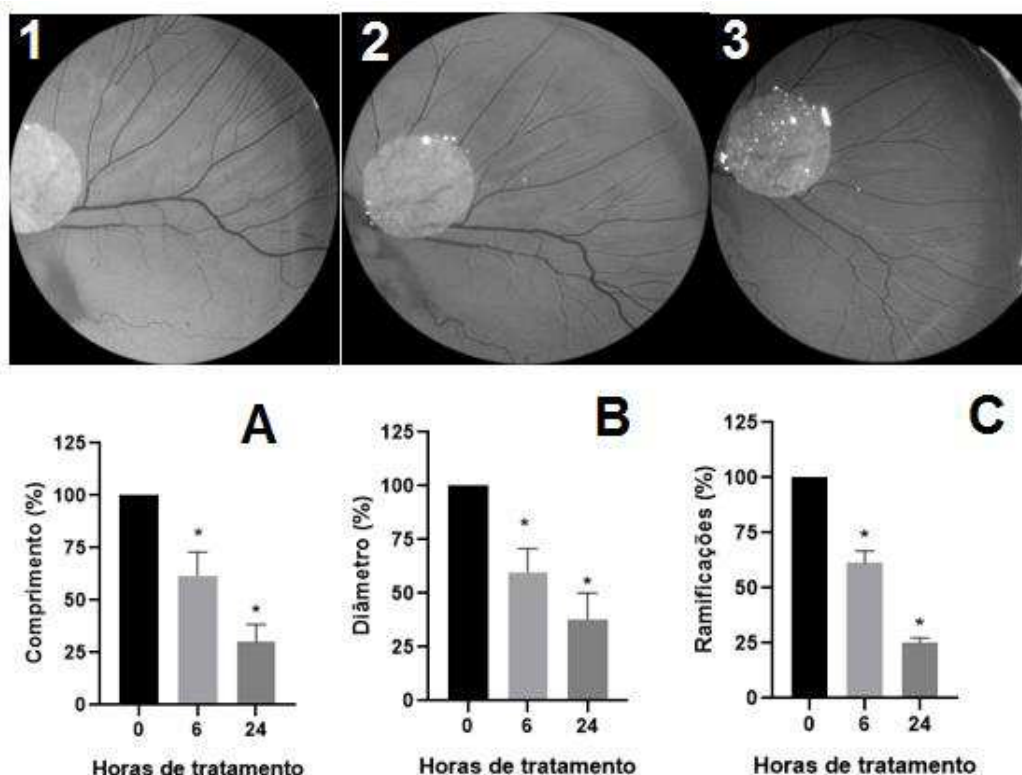
1 - 0 horas, 2 - 6 horas, 3 - 24 horas de tratamento. A - Comprimento; B - Diâmetro; C - Ramificações dos vasos sanguíneos. Dados apresentados em média $\pm$ desvio padrão em três repetições distintas em duplicata. * Diferença significativa ao tempo 0 ($p < 0,05$), tratados estatisticamente através do teste t de *student* em análises interdependentes.

Fonte: Arquivos da pesquisa, 2022.

Para a concentração de 200 µg/mL, observou-se também a diminuição no comprimento ($61,80 \pm 11,24\%$), no diâmetro ($59,95 \pm 10,80\%$) e nas ramificações ($61,39 \pm 5,27\%$), nas primeiras 6 horas de tratamento, repetindo-se na análise após 24 horas com diminuição no comprimento ($30,28 \pm 8,21\%$), no diâmetro ($38,01 \pm 12,21\%$) e nas ramificações ($25,32 \pm 2,04\%$), como mostra a figura 10.

Essa concentração administrada durante o experimento também seguiu a mesma tendência de diminuição dos três parâmetros analisados, apontando que com o aumento das concentrações o comprimento, o diâmetro e as ramificações dos vasos sanguíneos seguiram diminuindo ao longo do teste, demonstrando uma possível atividade antiangiogênica do extrato da *L. ferrea*.

Figura 10 - Efeito evidenciado pelo teste da membrana corioalantóide de ovos de galinha (HET-CAM) em concentração de 100 µg/mL do extrato.



1 - 0 horas, 2 – 6 horas, 3 – 24 horas de tratamento. A – Comprimento; B – Diâmetro; C – Ramificações dos vasos sanguíneos. Dados apresentados em média $\pm$ desvio padrão em três repetições distintas em duplicata. * Diferença significativa ao tempo 0 ($p < 0,05$,) tratados estatisticamente através do teste t de *student* em análises interdependentes.

Fonte: Arquivos da pesquisa, 2022.

Todas as concentrações administradas foram capazes de diminuir os parâmetros monitorados significativamente, quando comparadas com o tempo 0, de forma que, com o aumento das concentrações o comprimento, o diâmetro e as ramificações dos vasos sanguíneos seguiram diminuindo.

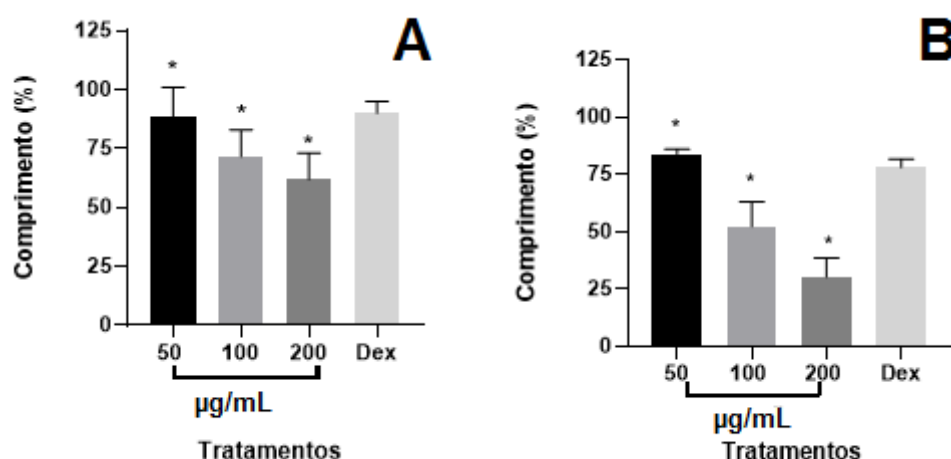
A atividade antiangiogênica é importante no tratamento de doenças como câncer, inflamações, degenerações musculares, artrite reumatoide, psoríase e entre outras patologias (STATON; REED; BROWN, 2008).

As concentrações administradas de 50 µg/mL, 100 µg/mL e 200 µg/mL foram analisadas estatisticamente frente aos dados dos parâmetros monitorados e obtidos pela dexametasona 4 mg/mL, utilizada como controle positivo, entre os períodos de 6 e 24 horas do experimento.

Para o comprimento dos vasos sanguíneos, todas as concentrações apresentaram diferença significativa tanto nas 6 primeiras horas quanto nas 24 horas do experimento. Dessa forma, a diferença significativa demonstra que já na menor concentração administrada, ocorre uma diminuição do comprimento dos vasos sanguíneos, mas com efeito menor que o do fármaco.

Com o aumento da concentração, em 200 µg/mL, observa-se uma ação de diminuição do comprimento dos vasos sanguíneos maior que a do fármaco, como mostra a figura 11.

Figura 11 – Análise do comprimento dos vasos sanguíneos em 6 e 24 horas nas concentrações testas frente a dexametasona 4mg/mL.



A – 6 horas de tratamento; B – 24 horas de tratamento; Dex – Dexametasona 4mg/mL. * diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparada a dexametasona. Dados apresentados em média $\pm$ desvio padrão em três repetições distintas em duplicata, tratados estatisticamente através do teste t de *student* em análises interdependentes.

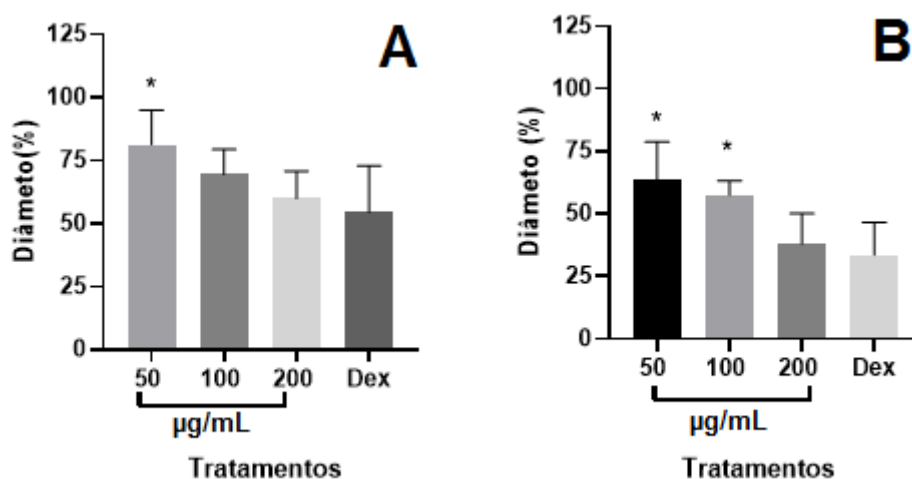
Fonte: Arquivos da pesquisa, 2022.

Para o diâmetro, nas primeiras 6 horas do experimento apenas a concentração de 50 µg/mL apresentou diferença significativa quando comparado a dexametasona 4 mg/mL.

Este comportamento indica que a menor concentração administrada apresentou também a menor ação na diminuição do diâmetro dos vasos sanguíneos quando comparadas a do controle positivo. Contudo nas 24 horas do experimento apenas a concentração de 200 µg/mL não apresentou diferença

significativa, nesse caso, foi a concentração que mais se aproximou dos dados obtidos pela dexametasona 4 mg/mL, como mostra a figura 12.

Figura 12 – Análise do diâmetro dos vasos sanguíneos em 6 e 24 horas nas concentrações testadas frente a dexametasona 4 mg/mL.



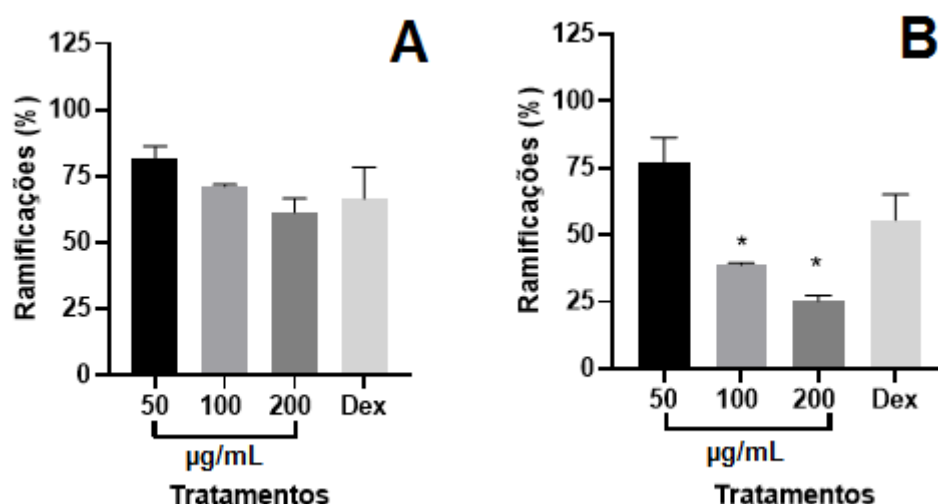
A – 6 horas de tratamento; B – 24 horas de tratamento; Dex – Dexametasona 4mg/mL. * diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparada a dexametasona. Dados apresentados em média $\pm$ desvio padrão em três repetições distintas em duplicata, tratados estatisticamente através do teste t de *student* em análises interdependentes.

Fonte: Arquivos da pesquisa, 2022.

Para o número de ramificações dos vasos sanguíneos, nas primeiras 6 horas, quando comparadas com a dexametasona 4mg/mL, nenhuma das concentrações demonstrou diferença significativa, apontando que todas as concentrações apresentaram uma diminuição neste parâmetro, semelhante ao controle positivo.

Contudo após 24 horas do tratamento, as concentrações de 100 µg/mL e 200 µg/mL apresentaram diferenças significativas quando comparadas a dexametasona 4 mg/mL, mostrando uma diminuição do número de ramificações dos vasos sanguíneos maior que a apresentada pelo controle positivo, como mostra a figura 13.

Figura 13 – Análise do número de ramificações dos vasos sanguíneos em 6 e 24 horas nas concentrações testadas frente a dexametasona 4 mg/mL



A – 6 horas de tratamento; B – 24 horas de tratamento; Dex – Dexametasona 4mg/mL. * diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparada a dexametasona. Dados apresentados em média $\pm$ desvio padrão em três repetições distintas em duplicata, tratados estatisticamente através do teste t de *student* em análises interdependentes.

Fonte: Arquivos da pesquisa, 2022.

Ao final, a concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$ apresentou resultados, em todos os parâmetros monitorados, semelhantes ou maiores que os resultados obtidos pelo controle positivo. Com isso, podemos demonstrar uma possível tendência de atividade antiangiogênica do extrato dos frutos da *L. ferrea*.

O uso de plantas para descoberta de possíveis atividades farmacológicas vêm sendo observado há décadas, como a *Mentha spicata* (hortelã) para tratamento da ansiedade, a *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) e *Calendula officinalis* (calêndula) para cicatrização de feridas e entre outras plantas que compõe não só a flora brasileira como a mundial (BORTOLUZZI; SCHMITT; MAZUR, 2019).

Como apontado neste trabalho, foi detectada a presença de taninos no extrato do Jucá e uma possível atividade antiangiogênica do extrato. Para Fortes (2016) os taninos exercem atividade antiangiogênica, com propriedades antitumorais *in vivo* e *in vitro*.

Dois estudos corroboram com a atividade antiangiogênica dos taninos. Landete (2011) analisou o extrato de romã, rica em taninos, *in vitro* frente a tumores de mama, próstata, cólon e cancro dos pulmões, observando uma inibição seletiva destes. Larrosa *et al.* (2010) evidenciaram a ação antiangiogênica dos taninos frente aos danos causados nas paredes das artérias pela arterosclerose crônica.

A possível ação antiangiogênica do extrato do Jucá pode estar relacionada a presença dos taninos. Por isso, o aproveitamento de plantas e extratos vegetais auxilia no descobrimento de novos fármacos em potencial para tratamento de patologias e surgem como novas alternativas paralelas as já utilizadas, somando positivamente para o avanço positivo do quadro clínico dos pacientes, além de valorizar a flora e sua potência quando a diversidade de substâncias ainda não estudadas (BORTOLUZZI; SCHMITT; MAZUR, 2019).

6 CONCLUSÃO

O extrato de *L. férrea* foi obtido através de solvente etanólico e o perfil fitoquímico apresentou presença apenas do grupo de metabólitos secundários dos taninos.

Testadas as concentrações e analisados os resultados obtidos pelo monitoramento dos parâmetros vasculares, foi possível avaliar o potencial do extrato etanólico do Jucá quanto a modulação da atividade angiogênica, observando-se uma possível atividade antiangiogênica, também possivelmente atrelada a presença dos taninos no extrato.

Os resultados apontam um caminho de pesquisa para aprofundamento no estudo sobre a atividade exercida pelo extrato, em quais vias biológicas e metabólicas ele atua e quais substâncias podem ser isoladas para estudos posteriores quanto a sua atividade de modulação no processo de angiogênese.

REFERÊNCIAS

AMÉRICO, A. V. L. S.; NUNES, K. N.; ASSIS, F. F. V.; DIAS, S. R.; PASSOS, C. T. S.; MORINI, A. C.; DE ARAÚJO, J. A.; CASTRO, K. C. F.; DA SILVA, S. K. R.; BARATA, L. E. S.; MINERVINO, H. H. A. Efficacy of Phytopharmaceuticals From the Amazonian Plant *Libidibia ferrea* for Wound Healing in Dogs. **Phytopharmaceuticals from Amazonian Plants for Wound Healing**, n.244, vol. 7, p. 1-11, 2020.

BORTOLUZZI, M. M.; SCHMITT, V.; MAZUR, C. E. Efeito fitoterápico de plantas medicinais sobre a ansiedade: uma breve revisão. **Research, Society and Development**, vol. 9, n. 1, p. 1-13, 2019.

BIAGINI, G. **Análise da Interação entre Células-Tronco e Células Endoteliais Progenitoras em Arcabouços de Poli(Ácido Láctico) (PLA) para Aplicações na Engenharia de Tecidos**. Dissertação de Mestrado. FIOCRUZ. Instituto Carlos Chagas. Mestrado em Biociências e Biotecnologia, 2021.

BORGES, J. C. A. **Características Estruturais e Funcionais das Células Endoteliais: Revisão da Literatura**. Universidade de Goiás. Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás Nível: Mestrado, 2011.

CARDOSO, F. A.; DE CAMPOS, E. R.; DE MATTOS, E. C.; MIGUEL JÚNIOR, A. Endotélio Vascular. Parte I: Função e Propriedade. **Revista de Ciências Médicas**, n. 3, vol. 3, p. 76-84, 1994.

CEZARIO, S. M. **Fatores Genéticos Relacionados a Lipídios, Angiogênese e Inflamação na Degeneração Macular Relacionada à Idade**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2015.

COSTA, L. M.; SIMPLICIO, F. G.; DE SOUZA, T. P. *Libidibia ferrea* (Marx. EX TU) L. P. QUEIROZ VAR. *FERREA*: Pharmacological, Phychemical and Botanical Aspects. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, n. 4, vol. 7, p. 48-53, 2015.

DEROUICHE, M. T. T.; ABDENNOUR, S. HET-CAM test. Application to shampoos in developing countries. **Elsevier**, vol. 45, n. 3, p. 393-396, 2017.

DE JESÚS, G. R.; DE JESÚS, N. R.; DOS SANTOS, F. C.; OLIVEIRA, C. S.; LEVY, R. A.; PÔRTO, L. C. M. S.; KLUMB, E. M. Fatores Angiogênicos e Antiangiogênicos na Fisiopatologia da Pré-Eclâmpsia e seu uso na Prática Obstétrica Atual. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, n. 13, vol. 3, p 25-31, 2014.

DE OLIVEIRA, A. G. L.; SILVA, R. S.; ALVES, E. N.; PRESGRAVE, R. F.; PRESGRAVE, O. A. F.; DELGADO, I. F. Chorioallantoic membrane assays (HET-CAM and CAM-TBS): alternative tests for performing toxicological evaluation of products with low potential for ocular irritation. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, vol. 71, n.1, p. 153-159, 2012.

FALCÃO, T. R.; RODRIGUES, C. A. O.; DE ARAÚJO, A. A.; DE MEDEIROS, C. A. C. X.; SOARES, L. A. L.; FERREIRA, M. R. A.; VASCONCELOS, R. C.; DE ARAÚJO JÚNIOR, R. F.; LOPES, M. L. D. S.; GUERRA, G. C. B. Crude extract from *Libidibia ferrea* (Mart. ex.Tul.) L.P. Queiroz leaves decreased intra articular inflammation induced by zymosan in rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, n.19, vol. 47, p. 1-10, 2019. ¹

FALCÃO, T. R.; DE ARAÚJO, A. A.; SOARES, L. A. L.; DE FARIAS, I. B.; DA SILVA, W. A. V.; FERREIRA, M. R. A.; DE ARAÚJO JÚNIOR, R. F.; DE MEDEIROS, J. S.; LOPES, M. L. D. S.; GUERRA, G. C. B. *Libidibia ferrea* Fruit Crude Extract and Fractions Show Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Antinociceptive Effect In Vivo and Increase Cell Viability In Vitro. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2019.²

FERREIRA, J. B.; DE CARVALHO, T. L. L.; DE SOUSA, N. A.; GUIMARÃES, M. M.; FERREIRA, Z. A. B.; PINHEIRO, L. M. G. Efeito dos Fatores de Crescimento na Cicatrização do Pé de Diabético: Uma Revisão da Literatuta. **Inter Scientia**, n. 2, vol. 6, p. 40-50, 2018.

FERREIRA, J. V. A.; DE LIMA, L. F.; FIGUEREDO, F. G.; MATIAS, E. F.; EDINARDO, F.; DE SOUZA, E. F.; ANDRADE, J. C.; TINTINO, S. R.; LEITE, N. F.; ALBUQUERQUE, R. S.; BRAGA, M. F. B. M.; DA CUNHA, F. A. B.; DA COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. Avaliação da atividade antimicrobiana e moduladora do extrato etanólico de *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L.P. Queiroz. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, n. 1, vol. 21, p. 71-82, 2016.

FORTES, G. A. C. **Isolamento, identificação, atividade antioxidante e variabilidade temporal de compostos fenólicos de folhas de *Eucalyptus microcorys* F. Muell.** Tese Doutorado. Pós - Graduação em Química. Universidade Federal de Goiás. Goiás. p. 122. 2016.

FRANÇA, C. N.; DE OLIVEIRA, I. M. C.; DO AMARAL, J. B.; FONSECA, F. A. H. Micropartículas e Células Progenitoras: Novos Marcadores da Disfunção Endotelial. **Rev Soc Cardiol**, n. 23, vol. 4, p. 33-39, 2013).

GOMES, A. R. V. S. **Células endoteliais progenitoras. Interesse do seu estudo na hemato-oncologia**. Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade de Lisboa. Faculdade de Farmácia, 2017.

GOMES, M. V. A. **Alterações espaciais e novas relações: influências e transformações do/no espaço urbano de Cuité-PB**. Monografia – Curso de Licenciatura em Geografia. Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande. p. 54. 2011.

GUERRA, A. C. V. A.; SOARES, L. A. L.; FERREIRA, M. R. A.; DE ARAÚJO, A. A.; ROCHA, H. A. O.; DE MEDEIROS, J. S.; CAVALCANTE, R. S.; DE ARAÚJO JÚNIOR, R. F. Libidibia ferrea presents antiproliferative, apoptotic and antioxidante effects in a colorectal cancer cell line. **Elsevier Masson SAS**, vol. 92, p. 696-706, 2017.

KOBAYASHI, Y. T. S.; DE ALMEIDA, V. T.; BANDEIRA, T.; DE ALCÂNTARA, B. N.; DA SILVA, A. S. B.; BARBOSA, W. R. S.; DA SILVA, P. B.; MONTEIRO, M. V. B.; DE ALMEIDA, M. B. Avaliação fitoquímica e potencial cicatrizante do extrato etanólico dos frutos de Jucá (*Libidibia ferrea*) em ratos Wistar. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, n. 1, vol. 52, p. 34-40, 2015.

LANDETE, J. M. *Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health*. **Food Research International**, vol. 44, n. 05, p. 1150 -1160, 2011.

LARROSA, M.; GARCÍA-CONESA, M. T.; ESPÍN, J. C.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. *Ellagitannins, ellagic acid and vascular health*. **Molecular Aspects of Medicine**, vol. 31, n. 01, p. 513 - 539, 2010.

MELO JÚNIOR, A. S. M.; SILVA, J. D. Caracterização e Avaliação de Propriedades Medicinais da Planta *Libidibia ferrea*. **Rev. Multi. Sert.**, n. 2, vol. 2, p. 310-320, 2020.

MONTARANI, T. **Atlas digital de Biologia celular e tecidual**. Sistema Circulatório - Sistema Vascular sanguíneo. Capítulo 6. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.

NEVES, H. B. B. **Fator de Crescimento Epidérmico na Cicatrização de Úlceras Diabéticas: Relatos de Casos**. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação. Universidade Federal de Campina Grande. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2018.

NITULESCU, G. M.; DE VENTER, M. V.; NITULESCU, G.; UNGURIANU, A.; JUZENAS, P.; PENG, Q.; OLARU, O. T.; GRĂNDINARU, D.; TSATSAKIS, A.; TSOUKALAS, D.; SPANDIDOS, D. A.; MARGINA, D. The Akt pathway in oncology therapy and beyond (Review). **International Journal Of Oncology**, n. 1, vol. 53, p. 2319-2331, 2018.

PALHARES, L. C. G. F. **Um Dermatam Sulfato Antitrombótico do Camarão *Litopenaeus vanammei* Inibe a Inflamação e a Angiogênese**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Departamento de Bioquímica, 2016.

PINHO, M. S. L. Angiogênese: O Gatilho Proliferativo. **Rev bras Coloproct**, n. 4, vol. 25, 2005.

PRAZERES, L. D. K. T.; ARAGÃO, T. P.; BRITO, S. A.; ALMEIDA, C. L. F. A.; SILVA, A. D.; DE PAULA, M. M. F.; FARIAS, J. S.; VIEIRA, L. D.; DAMASCENO, B. P. G. L.; ROLIM, L. A.; VERAS, B. O.; ROCHA, I. G.; NETO, J. C. S.; BITTENCOURT, M. L. F.; GONÇALVES, R. C. R.; KITAGAWA, R. R.; WANDERLEY, A. G. Antioxidant and Antiulcerogenic Activity of the Dry Extract of Pods of *Libidibia ferrea* Mart. ex Tul. (Fabaceae). **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2019.

RIBATTI, D. The chick embryo chorioallantoic membrane (CAM) assay. **Reproductive Toxicology**, vol. 16, n. 1, p. 2-21, 2016.

SÁ-FILHO, G. F.; SILVA, A. I. B.; COSTA, E. M.; NUNES, L. E.; RIBEIRO, L. H.F.; CAVALCANTI, J. R. L. P.; GUZEN, F. P.; OLIVEIRA, L. C.; CAVALCANTE, J. Plantas medicinais utilizadas na caatinga brasileira e o potencial terapêutico dos metabólitos secundários: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n.13, 2021.

SIMÕES, C. M.; DE MELLO, J. C. P.; SCHENKEL, E. P. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 229-262 p.

STATON, C. A., REED, M. W. R.; BROWN, N. J. A critical analysis of current in vitro and in vivo angiogenesis assays. **Int. J. Exp. Path**, vol. 90, n. 1, p. 195-221, 2009.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C. R.; WEBER, G. E. B. Metabólitos Secundários Encontrados em Plantas e sua Importância. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Embrapa Clima Temperado, 2010.

YOSHIDA, W. B. Angiogênese, arteriogênese e vasculogênese: tratamento do futuro para isquemia crítica de membros? **J Vasc Br**, n. 4, vol. 4, p. 316-318, 2005.