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

JOANDERSON SANTOS DE MORAIS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIANGIOGÊNICO E DA TOXICIDADE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS CASCAS DAS ESPÉCIES *Spondias tuberosa* E *Spondias bahiensis*.

CUITÉ-PB
2025

JOANDERSON SANTOS DE MORAIS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIANGIOGÊNICO E DA TOXICIDADE DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS CASCAS DAS ESPÉCIES *Spondias tuberosa* E *Spondias bahiensis*.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – *Campus* Cuité, como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Bruna Braga Dantas

CUITÉ-PB

2025

Universidade Federal de Campina Grande - UFCG
Sistema de Bibliotecas - SISTEMOTECA
Catalogação de Publicação na Fonte. UFCG - Biblioteca Central

M828a Morais, Joanderson Santos de.

Avaliação do potencial antiangiogênico e da toxicidade do extrato hidroalcoólico das cascas das espécies *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis* / Joanderson Santos de Morais. – 2025.

62 f. : il. color.

Monografia (bacharelado em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2025.

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

Referências.

1. Neovascularização. 2. Umbu. 3. Umbu-cajá. 4. *Spondias*. 5. Efeitos Tóxicos. 6. Produtos Naturais. I. Dantas, Bruna Braga. II. Título.

UFCG/BC CDU 615(04)

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECÁRIA ITAPUANA SOARES DIAS GONÇALVES CRB-15/93

JOANDERSON SANTOS DE MORAIS

Avaliação do potencial antiangiogênico e da toxicidade do extrato hidroalcoólico das cascas das espécies *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis*.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 04/12/2025.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br
BRUNA BRAGA DANTAS
Data: 08/12/2025 12:55:47-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. Bruna Braga Dantas
Orientador(a)

Documento assinado digitalmente
gov.br
WYLLY ARAUJO DE OLIVEIRA
Data: 09/12/2025 17:17:51-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Wylly Araújo de Oliveira
Avaliador(a)

Documento assinado digitalmente
gov.br
MARIA DA GLORIA BATISTA DE AZEVEDO
Data: 10/12/2025 14:45:49-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Ma. Maria da Glória Batista Azevedo
Avaliador(a)

Dedico este trabalho à minha mãe, Jaqueline, que, apesar de ter suas asas podadas pela vida, nunca hesitou em me deixar voar. Ela abriu mão dos próprios sonhos para que eu pudesse seguir os meus, e cada conquista minha é um reflexo de sua coragem e de seu amor incondicional. Este trabalho é todo seu, mãe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus. Sem Ele e seu infinito amor, sabedoria e misericórdia, eu não teria chegado até aqui. Foi Ele quem me concedeu a dádiva da vida e me permitiu recomeçar inúmeras vezes, cuidando e me protegendo de todo e qualquer mal. Em incontáveis momentos, Deus foi meu farol, guiando meus passos, dos mais pequenos aos mais ousados, e mostrando que, mesmo quando a distância parecia inalcançável, era possível chegar. Nada disso teria sido possível sem Sua presença constante.

À minha mãe, Jaqueline Etelvina, deixo meu eterno agradecimento e amor. Tudo o que sou devo a ela. Minha fonte de esperança, minha força diária e meu refúgio nos dias difíceis. Com seu exemplo, aprendi o valor da honestidade e do trabalho árduo. Foi ela quem nunca desistiu de mim, que sempre acreditou em meus sonhos e que se sacrificou em turnos, finais de semana e feriados para que nada me faltasse. Mãe, o meu muito obrigado por fazer o impossível para que nosso sonho se tornasse realidade. Divido também essa conquista com minhas irmãs, Giselly Vitória e Geisianny Valleska, que, com sua alegria e carinho, tornam minha caminhada mais leve.

Ao meu tio Jocielly Sabino e à minha avó Maria de Fátima, registro minha gratidão pela presença constante e pelo apoio incondicional, sempre prontos a estender a mão e a acreditar em mim. Vocês foram parte essencial da minha caminhada, dando-me força para seguir adiante mesmo nos momentos mais desafiadores.

À minha bisavó, Cícera Caiana, agradeço por me ensinar, com seus 94 anos de vida, o verdadeiro sentido da fé e do amor. Em dias difíceis, era ela quem me lembrava o valor de casa, da calma e do afeto. Sua força e doçura permanecem como um exemplo que levarei comigo para sempre.

À minha prima Júlia Azevedo, que sempre exerceu o papel de irmã mais velha, o meu muito obrigado por todo cuidado e apoio. Obrigado por me ajudar de todas as formas possíveis, em especial por atender minhas ligações e me ouvir com paciência nos momentos em que eu mais precisava.

Aos meus avós maternos, Iracema Etelvina e José Almino, agradeço pelo apoio e pela presença em momentos importantes da minha vida. Sou grato pelos ensinamentos e pela contribuição de cada um na construção da minha trajetória.

Aos meus amigos de alma (Gledson Costa, Jhonatan Ysrael, Markyel Flábio e Angel Gabriel) deixo meu mais sincero agradecimento. Desde os tempos do IFRN, compartilhamos sonhos, desafios e conquistas que ajudaram a moldar quem sou. Gledson, meu melhor amigo e futuro médico, tua sensibilidade e empatia sempre me lembram do valor da amizade verdadeira. Markyel, meu futuro advogado, tua lealdade e serenidade foram abrigo em dias incertos. Jhonatan, engenheiro químico e intercambista, tua coragem em seguir novos caminhos me inspira a ir além. Angel Gabriel, futuro engenheiro da computação, tua alegria e entusiasmo tornaram essa caminhada mais leve. A cada um de vocês, deixo minha eterna gratidão. Levarei comigo nossas histórias, risadas e aprendizados, que se tornaram parte de quem sou e desta conquista que, de alguma forma, também é de vocês.

Aos amigos que a graduação me presenteou (Lucas Emanuel, Alexia Leisy, Laís Kailane, Maria Marina, Raul Câmera, Iago Aragão, Maria Alicya, Eratan Fernandes e Davy Gabryel), agradeço pela parceria, pelo apoio e pelos momentos de descontração que deram novos significados a essa etapa. Sou grato por cada conversa, pelos cafés da tarde e pelos almoços de domingo que ficaram marcados na memória. Agradeço, em especial, à minha “duplinha da faculdade”, Maria Fernanda, e a todos os integrantes do grupo “Dubai UFCG”, por compartilharem comigo as ansiedades antes das provas, as colaborações nos trabalhos e as longas noites de estudo. Levo comigo o aprendizado e a amizade que construímos ao longo dessa trajetória.

Aos que, de alguma forma, fizeram parte desta caminhada, mesmo que seus nomes não estejam aqui mencionados, deixo minha sincera gratidão. Cada gesto de apoio, palavra de incentivo, sorriso compartilhado e ajuda silenciosa contribuíram, à sua maneira, para o meu crescimento pessoal e acadêmico.

À minha orientadora, Professora Bruna Braga Dantas, expresso minha mais profunda gratidão pela orientação, paciência e dedicação ao longo de toda esta jornada. Sua sensibilidade acadêmica, seu rigor científico e seu olhar humano foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho e para o meu crescimento como pesquisador. Agradeço não apenas pelos ensinamentos técnicos, mas também por acreditar no meu potencial, me inspirar a seguir com coragem e me mostrar que a ciência é também um ato de cuidado e compromisso com o outro.

A todos os integrantes do Observatório de Câncer do Curimataú (OCC), deixo meu sincero agradecimento pela parceria, pelas trocas e pelos aprendizados

compartilhados ao longo dessa jornada. Em especial, à melhor coorientadora que eu poderia ter, Janaracy Marinho, por toda dedicação, paciência e incentivo em cada etapa deste trabalho. Aos meus amigos Caio Douglas e Pedro Gabriel, com quem tive a alegria de dividir bancada, desafios e descobertas, agradeço pela amizade, companheirismo e por cada momento vivido dentro do laboratório. Tenho certeza de que vocês se tornarão grandes profissionais, tenho orgulho de ter caminhado ao lado de vocês.

Aos membros da banca examinadora, Professor Dr. Wylly Araujo de Oliveira e Me. Maria da Glória Batista Azevedo, deixo minha sincera gratidão pela honra de tê-los neste momento tão especial. Ao Professor Wylly, agradeço pelos ensinamentos e pela leveza com que conduz a bioquímica, sempre contribuindo para o meu crescimento acadêmico e pessoal. À Farmacêutica e Professora Glória, expresso minha admiração e agradecimento por sua presença constante na Farmácia Escola, pelo apoio que sempre ofereceu à nossa turma e pela disponibilidade em ajudar sempre que surgiam dúvidas. Sua dedicação nas atividades práticas e no dia a dia tornou nossa formação mais humana e acolhedora. A presença de ambos nesta banca torna este momento ainda mais significativo e reafirma o quanto a caminhada acadêmica é construída por pessoas que inspiram e fazem diferença.

Ao Grupo de Saúde Planetária, orientado pela Professora Francinalva Dantas, e ao aluno de iniciação científica e membro do grupo, Moisés Dantas, expresso minha gratidão por terem contribuído para o desenvolvimento deste trabalho, especialmente pela gentileza de ceder os extratos utilizados nas análises realizadas. Agradeço também ao grupo FUNGI, coordenado pelo professor Fillipe de Oliveira, pela disposição em estabelecer parcerias e pelas discussões de resultados sempre pertinentes.

Agradeço a todo o corpo docente do curso, que dedica com excelência suas vidas à formação de profissionais comprometidos e éticos. Em especial, aos professores Toshiyuki Nagashima, Carlos Leon e Egberto Santos, e às professoras Júlia Beatriz, Yonara Monique, Vanessa Santos e Igara Oliveira, pela dedicação, paciência e incentivo ao longo da minha trajetória acadêmica.

Estendo meus agradecimentos aos técnicos e colaboradores terceirizados da Universidade Federal de Campina Grande, pelo apoio essencial às atividades

acadêmicas e laboratoriais, contribuindo de forma significativa para o bom andamento da instituição e para a formação de seus estudantes.

À Universidade Federal de Campina Grande, ao Centro de Educação e Saúde e à cidade de Cuité, a serra que me acolheu com ternura, deixo minha sincera gratidão. Levo comigo as melhores lembranças, vivências e amizades que marcaram para sempre esta etapa da minha vida.

“Tudo o que vive, vive porque muda; muda porque passa; e porque passa, morre.”

Fernando Pessoa

RESUMO

A utilização de plantas medicinais acompanha a humanidade desde as civilizações mais antigas, consolidando-se como prática de transmissão cultural e conhecimento popular. O Brasil, por sua grande biodiversidade, apresenta vasto potencial para a descoberta de compostos bioativos. O gênero *Spondias* (Anacardiaceae), amplamente utilizado na medicina popular, destaca-se pela presença de metabólitos secundários como taninos, flavonoides, terpenos e esteroides, associados a diversas atividades farmacológicas. Entretanto, os estudos específicos sobre sua ação na angiogênese ainda são limitados. Diante disso, este estudo teve por objetivo avaliar a toxicidade, o potencial irritante e o efeito antiangiogênico dos extratos hidroalcoólicos das cascas de *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis*. Foram realizados ensaios de toxicidade aguda frente à *Artemia salina*, ensaio hemolítico com eritrócitos humanos, o teste de irritação ocular alternativa (HET-CAM) e o ensaio de angiogênese na membrana corioalantoide (CAM) em ovos embrionados de *Gallus domesticus*. Ambos os extratos apresentaram CL50 > 1000 µg/mL, sendo considerados atóxicos frente a *Artemia salina*. No ensaio hemolítico, nenhuma das concentrações testadas (62,5 a 1000 µg/mL) apresentou lise significativa em relação ao controle negativo. No teste HET-CAM, *S. tuberosa* e *S. bahiensis* foram classificadas como levemente irritantes, com médias de score de 1,25 ± 0,72 e 2,67 ± 1,42, respectivamente. Na avaliação antiangiogênica, *S. tuberosa* reduziu significativamente o diâmetro, o comprimento e a ramificação dos vasos, enquanto *S. bahiensis* promoveu redução significativa apenas na ramificação, ambas diferindo do controle negativo (NaCl 0,9%) e apresentando comportamento semelhante ($p>0,05$) ao controle positivo (dexametasona 4 mg/mL). Esses achados indicam que os metabólitos presentes nas espécies estudadas podem modular processos vasculares em concentrações subtóxicas, reforçando o potencial terapêutico do gênero *Spondias* e sua relevância na valorização sustentável da biodiversidade da Caatinga.

Palavras-chave: Neovascularização. Umbu. Umbu-cajá. *Spondias.* Efeitos tóxicos. Produtos naturais.

ABSTRACT

The use of medicinal plants has accompanied humanity since the earliest civilizations, becoming established as a practice of cultural transmission and popular knowledge. Brazil, due to its great biodiversity, presents vast potential for the discovery of bioactive compounds. The genus *Spondias* (Anacardiaceae), widely used in traditional medicine, stands out for the presence of secondary metabolites such as tannins, flavonoids, terpenes, and steroids, which are associated with various pharmacological activities. However, specific studies on its action in angiogenesis remain limited. Therefore, this study aimed to evaluate the toxicity, irritant potential, and antiangiogenic effect of the hydroalcoholic extracts of the bark of *Spondias tuberosa* and *Spondias bahiensis*. Acute toxicity assays using *Artemia salina*, a hemolytic assay with human erythrocytes, the alternative ocular irritation test (HET-CAM), and the angiogenesis assay on the chorioallantoic membrane (CAM) of *Gallus domesticus* embryos were performed. Both extracts showed LC50 > 1000 µg/mL, being considered nontoxic to *Artemia salina*. In the hemolytic assay, none of the tested concentrations (62.5 to 1000 µg/mL) showed significant lysis compared to the negative control. In the HET-CAM test, *S. tuberosa* and *S. bahiensis* were classified as slightly irritating, with mean scores of 1.25 ± 0.72 and 2.67 ± 1.42, respectively. In the antiangiogenic evaluation, *S. tuberosa* significantly reduced vessel diameter, length, and branching, while *S. bahiensis* caused a significant reduction only in branching; both differed from the negative control (0.9% NaCl) and showed similar behavior ($p > 0.05$) to the positive control (dexamethasone 4 mg/mL). These findings indicate that the metabolites present in the studied species may modulate vascular processes at subtoxic concentrations, reinforcing the therapeutic potential of the genus *Spondias* and its relevance in the sustainable valorization of the Caatinga biodiversity.

Keywords: Neovascularization. Umbu. Umbu-cajá. *Spondias*. Toxic effects. Natural products.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Aspectos morfológicos de Spondias tuberosa. 21

Figura 2 – Aspectos morfológicos de Spondias bahiensis. 23

Figura 3 - Mecanismos de angiogênese. (A) Angiogênese por brotamento: formação de novos vasos a partir da migração e proliferação de células endoteliais. (B) Angiogênese por intussuscepção: divisão do lúmen vascular por invaginação da parede do vaso pré-existente, originando duas estruturas vasculares. 25

Figura 4 - Etapas do processo de angiogênese mediado pelo fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). 26

Figura 5 - Representação esquemática do bioensaio de toxicidade frente a Artemia salina utilizando extratos hidroalcoólicos das cascas de Spondias tuberosa e Spondias bahiensis (62,5–1000 µg/mL). 32

Figura 6 - Representação esquemática do ensaio de potencial hemolítico utilizando eritrócitos humanos (2%) frente aos extratos hidroalcoólicos das cascas de Spondias tuberosa e Spondias bahiensis (62,5–1000 µg/mL). 33

Figura 7 - Representação esquemática do ensaio da membrana corioalantóide utilizando ovos embrionados de galinha (CAM) frente aos extratos hidroalcoólicos das cascas de Spondias tuberosa e Spondias bahiensis (500 µg/mL). 36

Figura 8 A e B - Toxicidade aguda frente a larvas de Artemia salina após período de incubação de 24 horas, em diferentes concentrações. (A) Extrato hidroalcoólico da casca de Spondias tuberosa. (B) Extrato hidroalcoólico da casca de Spondias bahiensis. 39

Figura 9 A e B - Atividade hemolítica frente a eritrócitos humanos, em diferentes concentrações. (A) Extrato hidroalcoólico da casca de Spondias tuberosa. (B) Extrato hidroalcoólico da casca de Spondias bahiensis. 41

Figura 10 - Parâmetros angiogênicos (diâmetro, comprimento e ramificação dos vasos sanguíneos) após 6 h de tratamento com os extratos das cascas de ST e SB (500 µg/mL). 44

Figura 11 - Avaliação do efeito antiangiogênico dos extratos hidroalcoólicos das cascas de ST e SB utilizando o modelo de membrana corioalantoide (CAM). 45

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Relação entre a angiogênese e diferentes patologias, evidenciando seu papel fisiopatológico. 27

Tabela 1 - Tempo em segundos relacionado a cada fenômeno vascular. 34

Tabela 2 - Potencial irritante dos extratos hidroalcoólicos das cascas de ST, SB e controles. 43

LISTA DE ABREVIAÇÕES

Ang/Tie-2 Angiopoietina/Tie-2

ANOVA Análise de variância de uma via;

CAM Ensaio da membrana corioalantóide;

CE_{50} Concentração efetiva capaz de causar 50% de hemólise;

CEP Comitê de Ética em Pesquisa;

CEs Células endoteliais;

CES Centro de Educação e Saúde;

CL_{50} Concentração letal média para indução da morte de 50% dos organismos testados;

DLL4 Delta-like-4;

DMBA 7,12-dimetilbenz[a]antraceno;

DMRIn Degeneração macular relacionada à idade neovascular;

DMSO Dimetilsulfóxido;

DNA Desoxirribonucleico;

EDTA Ácido etilenodiamino tetra-acético;

EGFR Receptor do fator de crescimento epidérmico;

FGF Fator de crescimento de fibroblastos;

HET-CAM Análise do potencial irritante na membrana corioalantóide;

HIF-1 Fator induzido por hipóxia 1;

HIF-1α Fator induzido por hipóxia 1-alfa;

IL-17A Interleucina 17A;

MEC Matriz extracelular;

mL Mililitro;

mm Milímetros;

MMP-2 Metaloproteinase da matriz-2;

MMPs Metaloproteinases da matriz;

NaCl Cloreto de Sódio;

NSCLC Câncer de Pulmão de Não Pequenas Células;

OMS Organização Mundial da Saúde;

PDGF Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

PDR Retinopatia diabética proliferativa;

S Segundos;

SisGen Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do conhecimento Tradicional Associado;

SUS Sistema Único de Saúde;

TGF-β Fator de crescimento transformador beta;

TNF-α Fator de necrose tumoral Alfa

UFCG Universidade Federal de Campina Grande

VEGF Fator de crescimento endotelial vascular;

VEGF-A Fator de crescimento endotelial vascular A;

VEGFR Receptor do fator de crescimento endotelial vascular;

VEGFR-1 Receptor do fator de crescimento endotelial vascular 1;

VEGFR-2 Receptor do fator de crescimento endotelial vascular 2;

VEGFR-3 Receptor do fator de crescimento endotelial vascular 3;

µg Micrograma;

µL Microlitro.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO **16**

2 OBJETIVOS **18**

2.1 Objetivo geral 18

2.2 Objetivo geral 18

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA **19**

3.1 Plantas medicinais 19

3.1.1 O Gênero *Spondias* sp. 20

3.1.2 *Spondias tuberosa* 21

3.1.3 *Spondias bahiensis* 22

3.2 Angiogênese: Conceitos e importância 23

3.3 Relevância terapêutica da inibição da angiogênese 26

3 METODOLOGIA **31**

3.1 Tipo de estudo 31

3.2 Droga vegetal 31

3.3 Bioensaio frente Artemia salina 31

3.4 Potencial hemolítico frente a eritrócitos humanos 32

3.5 Análise do potencial irritante - teste HET-CAM (Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane) 33

3.6 Ensaio da membrana corioalantóide (CAM) utilizando ovos embrionados de galinha 35

3.7 Análise estatística 36

3.8 Aspectos éticos 36

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO **38**

5 CONCLUSÃO **48**

REFERÊNCIAS **49**

ANEXOS **58**

1 INTRODUÇÃO

A busca pela sobrevivência levou o ser humano a aprimorar sua relação com o meio ambiente, resultando no desenvolvimento das práticas de uso de plantas medicinais. Essa tradição remonta às civilizações mais antigas, que utilizavam produtos do beneficiamento de plantas, como extrato vegetal, para tratar os doentes. Ao longo do tempo, o conhecimento sobre o uso dessas plantas foi transmitido de geração em geração por meio da oralidade e da experiência empírica, consolidando-se como parte integrante do conhecimento popular (Ferreira *et al.*, 2019).

Conforme a Farmacopeia Brasileira (2024), 7ª edição, o extrato vegetal é uma preparação líquida concentrada obtida a partir de matérias-primas de origem vegetal, utilizando solventes adequados, como o etanol, metanol, acetona ou o éter etílico. Durante o processo de secagem, esses solventes podem ser removidos total ou parcialmente. O extrato resultante preserva, em proporção definida, os princípios ativos presentes na planta original. Essas substâncias podem ser submetidas a ensaios farmacológicos para avaliar a possibilidade terapêutica dos possíveis metabólitos produzidos de acordo com a necessidade da planta (Borges; Amorim, 2020).

A produção desses compostos bioativos favorece a sobrevivência e adaptação da planta, estando relacionada à sua proteção. São sintetizados por vias metabólicas específicas, variando de acordo com a espécie vegetal, o que possibilita uma diversidade de atividades biológicas para esses metabólitos secundários (Cordeiro, 2018b). Além disso, o Brasil apresenta uma vasta biodiversidade de espécies vegetais, as quais variam de acordo com o bioma, tipo de vegetação e clima do território. Levantamentos etnobotânicos indicam que alguns biomas, como a caatinga, ainda são pouco estudados no que diz respeito ao estudo das plantas e de seus respectivos usos terapêuticos (Sá-Filho *et al.*, 2021).

Uma planta amplamente utilizada na medicina popular é o umbuzeiro, pertencente ao gênero *Spondias* da família Anacardiaceae, que abrange aproximadamente 80 gêneros e 800 espécies distribuídas globalmente (Pell *et al.*, 2010). Essas plantas são predominantemente encontradas em regiões tropicais e subtropicais, com poucas espécies adaptadas a regiões de clima temperado. No Brasil, o gênero *Spondias* é particularmente relevante, com várias espécies

distribuídas por todo o território nacional, sendo muitas delas abundantes na Região Nordeste (Santos *et al.*, 2021).

Estudos fitoquímicos realizados com extratos vegetais de *Spondias* sp. revelaram a presença significativa de esteróides, taninos, flavonoides e terpenos, enquanto alcalóides e saponinas são menos comuns (Teixeira; Rodrigues; Santos, 2016). De acordo com Alves (2021), a presença desses compostos fenólicos favorece a atividade farmacológica e biológica, antioxidante e antimicrobiana, tornando-os úteis no tratamento e prevenção de diversas enfermidades. Apesar do uso tradicional do umbuzeiro na medicina popular, há escassez de estudos científicos aprofundados sobre outras propriedades biológicas relevantes dessas espécies, como os possíveis efeitos moduladores da angiogênese.

A angiogênese é um processo fisiológico essencial à cicatrização e ao crescimento tecidual, mas sua regulação inadequada está associada a condições patológicas, como câncer, inflamações crônicas, alterações oculares e problemas isquêmicos. Em tais condições, a formação anormal de vasos sanguíneos contribui para a progressão da doença, tornando a inibição da angiogênese uma estratégia terapêutica de grande interesse (Carmeliet, 2005).

Dessa forma, este estudo tem como objetivo avaliar o potencial dos extratos das espécies *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis* na modulação do processo de angiogênese em concentrações subtóxicas. Além disso, busca analisar a toxicidade e os efeitos dos extratos em diferentes modelos biológicos. A pesquisa contribui para o avanço do conhecimento sobre o uso medicinal do umbuzeiro e reforça a importância da conservação e valorização sustentável da biodiversidade da Caatinga.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o uso dos extratos das espécies *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis* na modulação do processo de angiogênese, em concentrações subtóxicas.

2.2 Objetivo geral

- Avaliar a toxicidade aguda dos extratos, através do bioensaio frente a *Artemia salina*;
- Determinar as concentrações subtóxicas dos extratos, por meio do ensaio de atividade hemolítica;
- Avaliar o potencial irritante dos extratos por meio do teste *Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane* (HET-CAM);
- Verificar a resposta antiangiogênica dos extratos frente ao teste da membrana corioalantóide de ovos embrionados de galinha (CAM).

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Plantas medicinais

De acordo com a Organização Mundial da Saúde - OMS (1998), uma planta medicinal é aquela que contém substâncias que podem ser usadas para tratamentos terapêuticos, seja diretamente, utilizando partes da planta, ou indiretamente, por meio de extração de princípios ativos para produção de medicamentos. Isso abrange tanto plantas utilizadas na medicina tradicional quanto aquelas que estão sendo investigadas para novos tratamentos.

O uso de plantas medicinais tem sido uma prática comum em diversas sociedades antigas, como Grécia e Egito antigo. Esta prática acompanhou a evolução da medicina, passando por rituais de caráter mágico-religioso e simbólico, nos quais as plantas eram empregadas como parte das crenças de cura, até o desenvolvimento de abordagens mais racionais e metodológicas. O acúmulo e a contribuição do uso desses vegetais em diferentes culturas foram fundamentais para o seu reconhecimento como uma forma de tratamento farmacêutico (Rocha *et al.*, 2021).

De acordo com dados do Ministério da Saúde (2012), aproximadamente 82% da população brasileira utiliza medicamentos fitoterápicos para cuidar da saúde. Esse alto índice de utilização é atribuído à facilidade de acesso e ao baixo custo desses produtos naturais, bem como à falta de acesso aos serviços básicos de saúde, o que reflete a persistente desigualdade social no Brasil. Diante desse contexto, é fundamental fortalecer e expandir políticas que promovam a inclusão dos recursos medicinais vegetais no Sistema Único de Saúde (SUS). Essas medidas têm como objetivo incentivar o uso desses recursos terapêuticos, promovendo o acesso à saúde e garantindo sua utilização de forma segura. Uma das estratégias adotadas é o desenvolvimento de farmácias vivas, que ampliam o acesso a esses recursos de maneira segura e eficaz (Castro; Figueiredo, 2019; Gondim, 2021).

O Brasil é reconhecido como um dos países com maior diversidade biológica do mundo, abrigando aproximadamente 20% dessa riqueza. Dentro desse amplo espectro de biodiversidade, as plantas ocupam um papel de destaque. O conhecimento sobre essas espécies impulsiona o desenvolvimento de novos medicamentos e tratamentos. Portanto, é evidente a importância de incentivar

estudos voltados para a prospecção de tecnologias em saúde, especialmente aquelas relacionadas a medicamentos fitoterápicos e plantas medicinais (Gondim, 2021).

Embora as reações adversas e os potenciais riscos associados às plantas medicinais sejam consideravelmente menores em comparação com os medicamentos sintéticos, seu uso sem supervisão profissional e sem respaldo de estudos farmacológicos pode acarretar perigos para os usuários. A maioria desses riscos está ligada a reações adversas intrínsecas, como superdosagem, interações com outros medicamentos, consumo durante a gravidez ou amamentação e em pacientes com condições crônicas (Gonçalves *et al.*, 2022). Dessa forma, torna-se claro o papel crucial da ciência na identificação das espécies vegetais, na ampliação do conhecimento sobre a extração de substâncias que geram os resultados terapêuticos desejados e não desejados, e na condução de testes que demonstrem a eficácia medicinal dessas plantas (Zardeto-Sabec *et al.*, 2019).

3.1.1 O Gênero *Spondias* sp.

Anacardiaceae é uma família botânica que abriga várias espécies de plantas com significativa importância econômica e cultural. Nessa lógica, destacam-se diversas espécies, como a cajarana do sertão (*Spondias* sp.), o cajá (*Spondias mombin*), a ciriguela ou red mombin (*Spondias purpurea*), o umbu ou imbu (*Spondias tuberosa*); e a cajarana ou cajá-manga (*Spondias dulcis*). Essas plantas apresentam frutos de grande valor nutricional e são amplamente utilizadas na culinária regional. De acordo com levantamentos etnobotânicos essas espécies desempenham papéis importantes na medicina popular, sendo empregadas para diversos fins terapêuticos. Elas são utilizadas em chás, infusões e preparações tópicas para tratar uma variedade de condições de saúde (Mitchell *et al.*, 2022; Santos, 2020).

Pesquisas fitoquímicas de natureza qualitativa e quantitativa revelam uma abundante presença de flavonoides, derivados do ácido cinâmico, terpenos e esteróides nos extratos vegetais do gênero *Spondias*, com destaque especial para os compostos fenólicos, incluindo os flavonoides (Araújo *et al.*, 2021; Teixeira; Rodrigues; Santos, 2016). Análises *in vitro* (Silva, 2021) indicam que esses metabólitos secundários possuem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e a

capacidade de inibir a proliferação celular descontrolada (Machado, 2008), evidenciando o significativo potencial terapêutico desse gênero.

O potencial anti-inflamatório dessas substâncias também oferece efeitos anticancerígenos, visto que tratar a inflamação é crucial para prevenir e combater essa doença (Singh *et al.*, 2019). Conforme destacado por Rey-Blanes *et al.* (2020), o conjunto de metabólitos secundários presente nessas plantas confere um amplo espectro de atividade biológica e farmacológica. Entre essas atividades, estão a interferência no ciclo celular, indução de efeitos pró-apoptóticos e redução do potencial migratório de células cancerígenas, resultando em um efeito antitumoral *in vitro*. Além disso, pesquisas realizadas *in vivo* mostram que a concentração de carotenoides em *Spondias mombin* pode antagonizar proteínas que inibem a apoptose em células cancerígenas (Metibemu *et al.*, 2020). No entanto, é evidente a necessidade de novas alternativas terapêuticas mais seletivas, que tenham um efeito mínimo na homeostase dos tecidos saudáveis.

3.1.2 *Spondias tuberosa*

Spondias tuberosa, espécie nativa e endêmica do Brasil, é popularmente conhecida como “umbuzeiro”, “umbu” ou “imbuzeiro”. Encontra-se amplamente distribuída nos biomas Caatinga e Cerrado e possui grande relevância ecológica e socioeconômica (Flora do Brasil, 2020). Seus principais aspectos morfológicos podem ser observados na Figura 1 (Oliveira et al., 2018).

Figura 1 – Aspectos morfológicos de *Spondias tuberosa*.



Fonte: Adaptado de Oliveira *et al.*, 2018.

Além de seu reconhecido valor alimentar, *Spondias tuberosa* destaca-se também pelo uso em práticas terapêuticas tradicionais. Na medicina popular, diferentes partes da planta são utilizadas no tratamento de infecções, distúrbios gastrointestinais e processos inflamatórios (Siqueira *et al.*, 2016). A casca do caule, em particular, é empregada na preparação de remédios artesanais destinados ao alívio de dores de cabeça, à redução do colesterol e à promoção da cicatrização de tecidos (Ferreira Junior; Siqueira; Albuquerque, 2012; Pereira Junior *et al.*, 2014).

Estudos fitoquímicos revelam que o extrato metanólico das folhas de *S. tuberosa* contém uma ampla diversidade de metabólitos secundários, incluindo taninos flabogênicos, flavonas, flavonoides, xantonas, chalconas, auronas e catequinas, compostos associados a múltiplas propriedades biológicas (Araújo, L., *et al.*, 2025). Esses fitoconstituintes contribuem para o potencial farmacológico da espécie, justificando seu uso tradicional e motivando pesquisas voltadas à bioprospecção de substâncias bioativas.

Os fitocompostos presentes nos extratos de *S. tuberosa* podem estar relacionados a diversas atividades biológicas descritas na literatura, incluindo ações fotoprotetora (Araújo *et al.*, 2021), fungistática (Santos, 2020), antitumoral (Guedes *et al.*, 2020), antioxidante (Cordeiro, 2018b; Uchôa *et al.*, 2015) e antifúngica (Santos *et al.*, 2019). A combinação entre a composição fitoquímica complexa e a multiplicidade de efeitos biológicos torna a espécie uma importante fonte natural de compostos de interesse farmacêutico e biotecnológico.

3.1.3 *Spondias bahiensis*

Spondias bahiensis (Figura 2), conhecida popularmente como “umbu-cajá”, é uma espécie nativa e domesticada do Nordeste brasileiro, ocorrendo predominantemente na Caatinga (Proflora, 2020). Essa espécie apresenta ampla adaptação às condições do solo e do clima do semiárido, conhecidas como condições edafoclimáticas, o que lhe permite desenvolver-se tanto em regiões secas quanto em zonas mais úmidas próximas ao bioma Mata Atlântica e áreas litorâneas. De grande relevância ecológica e socioeconômica, o umbu-cajá tem frutos amplamente consumidos *in natura* ou utilizados na produção de sucos, geleias e polpas congeladas (Araújo, 2018).

Figura 2 – Aspectos morfológicos de *Spondias bahiensis*.



Fonte: Adaptado de Nascimento, 2023.

Sob a perspectiva tecnológica e agroalimentar, estudos recentes têm evidenciado o potencial aproveitamento dos frutos e subprodutos de *Spondias bahiensis* para a obtenção de compostos bioativos. A extração ultrassônica de polifenóis a partir do bagaço do fruto apresentou elevada atividade antioxidante e possível aplicação funcional em produtos alimentícios, favorecendo a estabilidade oxidativa e agregando valor à cadeia produtiva. Esses achados reforçam a importância da espécie como fonte natural de compostos com relevância tecnológica e nutricional (Silva, A., 2023).

Em relação ao perfil fitoquímico, análises realizadas com extratos metanólicos das folhas de *Spondias bahiensis*, *Spondias tuberosa* e *Spondias mombin* evidenciaram a presença de classes relevantes de metabólitos secundários, como fenóis, flavonoides, taninos e outros compostos associados à atividade antioxidante. Dentre essas espécies, *S. bahiensis* diferenciou-se por apresentar alcaloides, classe metabólica não identificada nas demais, além de se destacar por ainda ser pouco estudada sob o aspecto fitoquímico (Araújo, L., *et al.*, 2025).

3.2 Angiogênese: Conceitos e importância

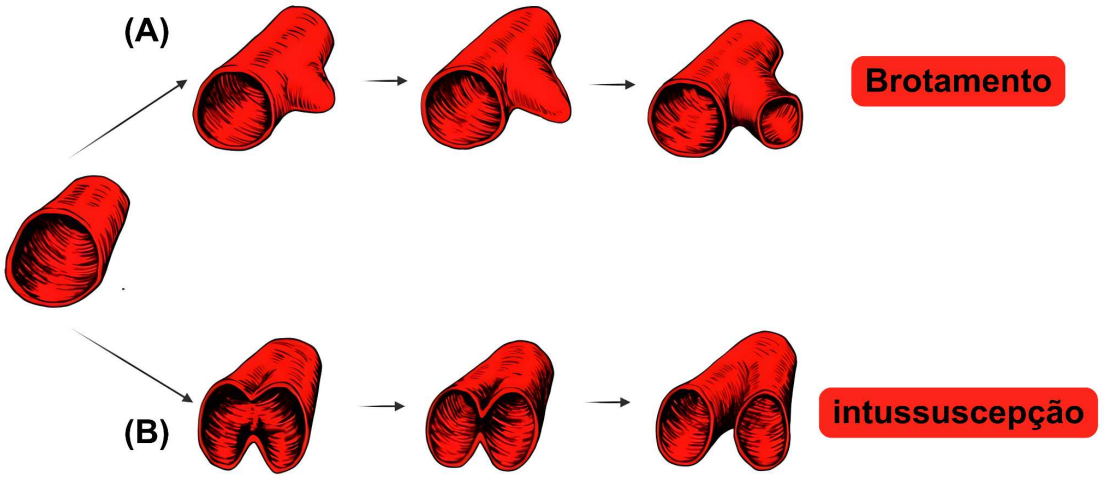
A angiogênese é o processo biológico responsável pela formação de novos vasos sanguíneos a partir de vasos já existentes. Esse fenômeno é essencial

durante o desenvolvimento embrionário, a cicatrização de tecidos, a regeneração e também ocorre em diversas condições patológicas, como inflamações, isquemias, fibrose e crescimento tumoral (Arpino *et al.*, 2021; Risau, 1997).

O desenvolvimento e a manutenção da rede vascular dependem de sinais moleculares finamente coordenados, que asseguram o controle da formação e diferenciação dos vasos sanguíneos. Entre esses mecanismos, a via do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e seu receptor (VEGFR) exerce papel central, pois orquestra praticamente todas as etapas do processo angiogênico, desde a ativação endotelial até a maturação dos vasos recém-formados (Noren *et al.*, 2016). Essa via está envolvida tanto na vasculogênese, responsável pela origem dos vasos a partir de células precursoras no período embrionário, quanto na angiogênese, que promove o crescimento e remodelação da vasculatura já existente em condições fisiológicas ou associadas a doenças. O sistema é composto por diversas isoformas de fatores VEGF e seus receptores de membrana correspondentes, entre os quais VEGFR-1, VEGFR-2 e VEGFR-3 se destacam por sua expressiva função nas células endoteliais (CEs) durante o processo de formação de novos vasos (Apte; Chen; Ferrara, 2019).

A angiogênese manifesta-se por dois mecanismos principais: brotamento (Figura 3A) e intussuscepção (Figura 3B), que, embora distintos em morfologia e dinâmica, convergem para a formação e estabilização de novas redes vasculares (Ranjbar; Kamal, 2019). No modelo de crescimento compensatório pulmonar em camundongos, Konerding *et al.* (2012) observaram que o tipo de angiogênese varia conforme a densidade vascular: o brotamento predomina em áreas pouco perfundidas, enquanto a intussuscepção ocorre em regiões mais vascularizadas.

Figura 3 - Mecanismos de angiogênese. (A) Angiogênese por brotamento: formação de novos vasos a partir da migração e proliferação de células endoteliais. (B) Angiogênese por intussuscepção: divisão do lúmen vascular por invaginação da parede do vaso pré-existente, originando duas estruturas vasculares.



Fonte: Adaptado de Ranjbar; Fayazi, 2019.

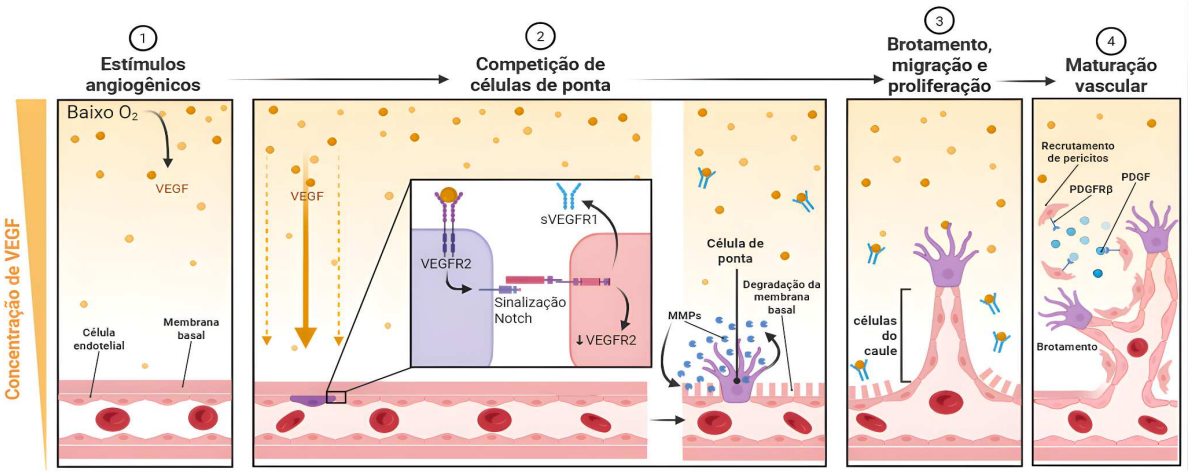
Em tecidos hipóxicos, a redução do oxigênio estimula a liberação de fatores pró-angiogênicos, como VEGF, o fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF). O gradiente de VEGF ativa as CEs dos vasos preexistentes, induzindo sua diferenciação em células de ponta, responsáveis pela orientação e migração no sentido do estímulo, e em células do caule, que se proliferam e sustentam o broto capilar (Zhang *et al.*, 2024).

A interação entre essas células é regulada pela via de sinalização Notch: as células de ponta expressam a proteína Delta-like-4 (DLL4), que ativa a via Notch nas células vizinhas, reduzindo a expressão de VEGFR2 e promovendo o fenótipo de célula do caule. A progressão do processo depende da degradação da membrana basal e da remodelação da matriz extracelular (MEC) por metaloproteinases (MMPs), permitindo a invasão das CEs no tecido até a anastomose e a formação de lúmens (Zhang *et al.*, 2024).

Após o brotamento e a fusão dos capilares, a maturação vascular envolve o recrutamento de pericitos mediado por PDGF a ação das vias de sinalização angiopoietina/Tie-2 (Ang/Tie-2) e fator de crescimento transformador beta (TGF-β), que promovem a deposição de nova matriz e o reforço da membrana basal, conferindo estabilidade estrutural e funcional aos vasos formados (Zhang *et al.*,

2024). Esse processo de angiogênese, mediado pelo fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), está ilustrado na Figura 4.

Figura 4 - Etapas do processo de angiogênese mediado pelo fator de crescimento endotelial vascular (VEGF).



Fonte: Adaptado de Subramaniam; Vaezzadeh, elaborado com *software* BioRender, 2025.

Em contraste, a intussuscepção promove expansão e remodelamento vascular por reestruturação interna do vaso existente: a invaginação da parede endotelial gera pilares intraluminais que se alargam e dividem a luz vascular, originando novos canais com menor necessidade de proliferação endotelial, processo este mais rápido e energeticamente eficiente em determinadas condições fisiológicas e patológicas. Ambos os mecanismos são, portanto, complementares e essenciais tanto para a homeostase tecidual, incluindo crescimento, cicatrização e remodelamento, quanto para situações patológicas, nas quais a angiogênese fornece o suporte vascular necessário ao suprimento de oxigênio e nutrientes em áreas de intensa proliferação celular (Zhang *et al.*, 2024).

3.3 Relevância terapêutica da inibição da angiogênese

Em 1971, Judah Folkman e colaboradores publicaram um estudo pioneiro que descreveu, pela primeira vez, o papel essencial da angiogênese no crescimento e disseminação tumoral. Nesse trabalho, os autores demonstraram que o bloqueio da formação de novos vasos sanguíneos poderia limitar a proliferação e a metástase de

células cancerígenas, estabelecendo o princípio de que a inibição da angiogênese constitui uma estratégia promissora para o controle do câncer.

A angiogênese constitui um processo biológico fundamental, atuando tanto na manutenção da homeostase tecidual quanto na progressão de diversas doenças. Sua ativação desregulada está associada a múltiplas condições patológicas, incluindo neoplasias, inflamações e doenças oculares. Dessa forma, o conhecimento sobre a regulação da angiogênese é essencial para compreender sua participação em diferentes doenças e orientar o desenvolvimento de estratégias terapêuticas. No Quadro 1 estão sintetizadas algumas das patologias em que a angiogênese apresenta participação relevante.

Quadro 1 - Relação entre a angiogênese e diferentes patologias, evidenciando seu papel fisiopatológico.

Patologia	**Relação com a angiogênese**
Câncer de pulmão de não pequenas células (NSCLC)	Favorece crescimento tumoral e metástase (Wang *et al.*, 2024).
Endometriose	Sustenta o crescimento e manutenção das lesões ectópicas (Joliniere *et al.*, 2021; Zani *et al.*, 2020).
Degeneração macular relacionada à idade neovascular (DMRIn)	Causa neovascularização retiniana anormal (Hang *et al.,* 2023; Moon; Kim; Kim, 2023).
Artrite reumatoide	Mantém inflamação e destruição articular (Wang; Wu; Deng, 2021).
Aterosclerose	Estimula neovascularização intraplaca e instabilidade (Chai *et al.*, 2024).
Psoríase	Amplifica inflamação e espessamento epidérmico (Chen *et al.*, 2023; Marina *et al.*, 2015).
Doença de Crohn	Contribui para inflamação intestinal e remodelação tecidual (Li *et al.*, 2025).

Fonte: Autoria própria, 2025.

O câncer é uma doença caracterizada por alterações genéticas e epigenéticas que promovem a proliferação celular descontrolada, falhas em genes supressores de tumor, disfunções nos sistemas de reparo do ácido desoxirribonucleico (DNA), evasão dos mecanismos de morte celular programada (apoptose) e pela aquisição

de propriedades como replicação ilimitada, adaptações metabólicas, invasão tecidual e metástase (Hanahan, 2022).

Entre os marcos fundamentais do câncer destaca-se a indução da angiogênese, processo pelo qual os tumores estimulam a formação de novos vasos sanguíneos para suprir suas demandas metabólicas. Além de dependerem de fatores de crescimento proliferativo, as células tumorais necessitam de um aporte vascular que lhes forneça oxigênio e nutrientes, permita a remoção de resíduos metabólicos e viabilize a expansão e a metástase. A angiogênese tumoral resulta do desequilíbrio dinâmico entre moléculas promotoras, como VEGF, FGF e angiopoietinas, e inibidoras, como a trombospondina-1, além de ser fortemente modulada pelo microambiente tumoral, que inclui células do estroma e do sistema imune capazes defavorecer ou restringir esse processo (Yang; Lee; Fan, 2024). Evidências recentes indicam que a expressão de genes relacionados à angiogênese está associada não apenas à agressividade tumoral, mas também à resposta a terapias imunológicas (Li *et al.*, 2022).

Dessa forma, a angiogênese tumoral constitui um dos principais mecanismos de progressão do câncer, pois garante o suprimento contínuo de oxigênio e nutrientes necessários à sobrevivência e expansão das células neoplásicas. No câncer de pulmão de não pequenas células (NSCLC), esse processo desempenha papel determinante na formação de metástases e na resistência a terapias convencionais. Assim, o bloqueio da via do VEGF e de seu receptor VEGFR-2 tem sido explorado como uma estratégia terapêutica promissora. Pesquisas recentes têm buscado desenvolver inibidores mais seletivos e potentes para essa via, com potencial de suprimir o crescimento tumoral por meio da interrupção do suprimento vascular (Wang *et al.*, 2024).

Na endometriose, a angiogênese desregulada constitui um dos principais mecanismos envolvidos na patogênese da doença, favorecendo o estabelecimento, o crescimento e a manutenção das lesões ectópicas. Evidências experimentais demonstram que a inibição da via do VEGF pode atenuar significativamente a progressão da endometriose. Em modelo experimental induzido em ratos, o uso prolongado de bevacizumabe, um anticorpo monoclonal anti-VEGF, reduziu a área das lesões endometrióticas e diminuiu a expressão de genes relacionados à proliferação celular, indicando potencial terapêutico para o controle da doença (Zani *et al.*, 2020). Relato clínico em paciente com endometriose grave reforça esses

achados, mostrando melhora da dor pélvica refratária e redução da atividade metabólica das lesões após tratamento com o mesmo agente (Joliniere *et al.*, 2021).

Na degeneração macular relacionada à idade neovascular (DMRIn) e na retinopatia diabética proliferativa (PDR), a hipóxia retiniana desencadeia aumento da expressão de VEGF e de outros mediadores pró-angiogênicos, resultando em neovascularização desorganizada e acúmulo de fluido na mácula. A utilização de agentes anti-VEGF, como ranibizumabe e aflibercepte, consolidou-se como abordagem terapêutica de primeira linha, proporcionando redução consistente da neovascularização e do edema retiniano (Hang *et al.*, 2023; Moon; Kim; Kim, 2023).

Ainda assim, limitações relacionadas à durabilidade do efeito e à variabilidade de resposta entre os pacientes têm impulsionado o desenvolvimento de estratégias inovadoras, como sistemas de liberação prolongada e novos alvos moleculares com potencial para aprimorar a eficácia terapêutica (Sugimoto *et al.*, 2019).

Na artrite reumatoide, a hipóxia presente no tecido sinovial ativa o fator induzido por hipóxia 1-alfa (HIF-1α), estimulando a expressão de VEGF e de diversas citocinas angiogênicas que promovem proliferação endotelial, formação de novos vasos no tecido sinovial anormal e recrutamento de células inflamatórias. Esses eventos sustentam um ciclo de inflamação e destruição articular contínuo. A angiogênese, portanto, constitui elo fundamental entre inflamação crônica e degradação tecidual na fisiopatologia da doença (Wang; Wu; Deng, 2021). A inibição desse processo surge como uma estratégia terapêutica promissora, especialmente considerando os efeitos protetores observados para diversos compostos naturais capazes de modular negativamente a angiogênese e atenuar o dano articular (Gao *et al.*, 2024). Nesse contexto, Lu *et al.* (2020) demonstraram que o ácido chebulínico, um polifenol de origem vegetal, exerceu atividade antiangiogênica e efeito protetor articular em camundongos com artrite induzida por colágeno, sugerindo potencial terapêutico ainda em fase pré- clínica.

A progressão da aterosclerose depende da angiogênese intraplaca, estimulada pela hipóxia e por mediadores inflamatórios que promovem o crescimento de vasa vasorum e capilares no interior da lesão. Embora inicialmente contribua para suprir a demanda metabólica do tecido isquêmico, essa neovascularização frequentemente origina vasos imaturos e frágeis, favorecendo hemorragia, necrose e instabilidade da placa (Chai *et al.*, 2024).

Na psoríase, a angiogênese patológica constitui um elemento-chave na perpetuação da inflamação crônica característica das lesões cutâneas. Evidências indicam que a expressão do fator de crescimento endotelial vascular A (VEGF-A) encontra-se marcadamente elevada nas regiões afetadas, favorecendo a formação de novos vasos sanguíneos imaturos e altamente permeáveis, o que contribui para o extravasamento plasmático e o espessamento epidérmico típico da doença (Chen *et al.*, 2023). Esse processo é intensificado pela ação de mediadores inflamatórios, como interleucina 17A (IL-17A) e fator de necrose tumoral Alfa (TNF-α), que modulam a expressão de VEGF-A e de outras moléculas pró-angiogênicas, estabelecendo um ciclo de retroalimentação entre inflamação e angiogênese. Assim, a ativação contínua das vias inflamatórias não apenas mantém o influxo de células imunes, mas também estimula a expansão da rede vascular, reforçando a natureza crônica e recidivante da psoríase (Marina *et al.*, 2015).

Na doença de Crohn, a angiogênese também desempenha papel determinante na fisiopatologia, participando ativamente da manutenção da inflamação intestinal e da remodelação tecidual. Estudos demonstram elevação significativa dos níveis de VEGF e de outros fatores angiogênicos na mucosa inflamada, correlacionando-se com a densidade microvascular aumentada e com a gravidade do processo inflamatório. A hipóxia resultante da inflamação persistente atua como potente estímulo angiogênico, promovendo a ativação endotelial e o recrutamento de células imunes (Li *et al.*, 2025).

3 METODOLOGIA

3.1 Tipo de estudo

O presente trabalho configura-se como um estudo experimental, destinado à investigação de propriedades biológicas de extratos vegetais. Foram conduzidos ensaios de toxicidade, bem como experimentos voltados à avaliação do potencial antiangiogênico e da irritabilidade do extrato hidroalcoólico obtido da casca das espécies *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis*.

3.2 Droga vegetal

Foram utilizados extratos das cascas dos galhos de *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis*, produzidos pelo Grupo de Pesquisa Farmacognosia e Saúde Planetária da Universidade Federal da Paraíba. As cascas foram submetidas à extração hidroalcoólica (etanol:água 1:1) e posterior liofilização.

As soluções estoque foram preparadas na concentração de 400 mg/mL, sendo a de *Spondias tuberosa* em meio aquoso e a de *Spondias bahiensis* em dimetilsulfóxido (DMSO) 100%. Ambas foram posteriormente diluídas em solução estéril de cloreto de sódio 0,9% (NaCl), garantindo que a concentração final de DMSO não interferisse nos ensaios biológicos. A partir dessas soluções, foram obtidas as concentrações de uso (62,5 µg/mL, 125 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL).

3.3 Bioensaio frente *Artemia salina*

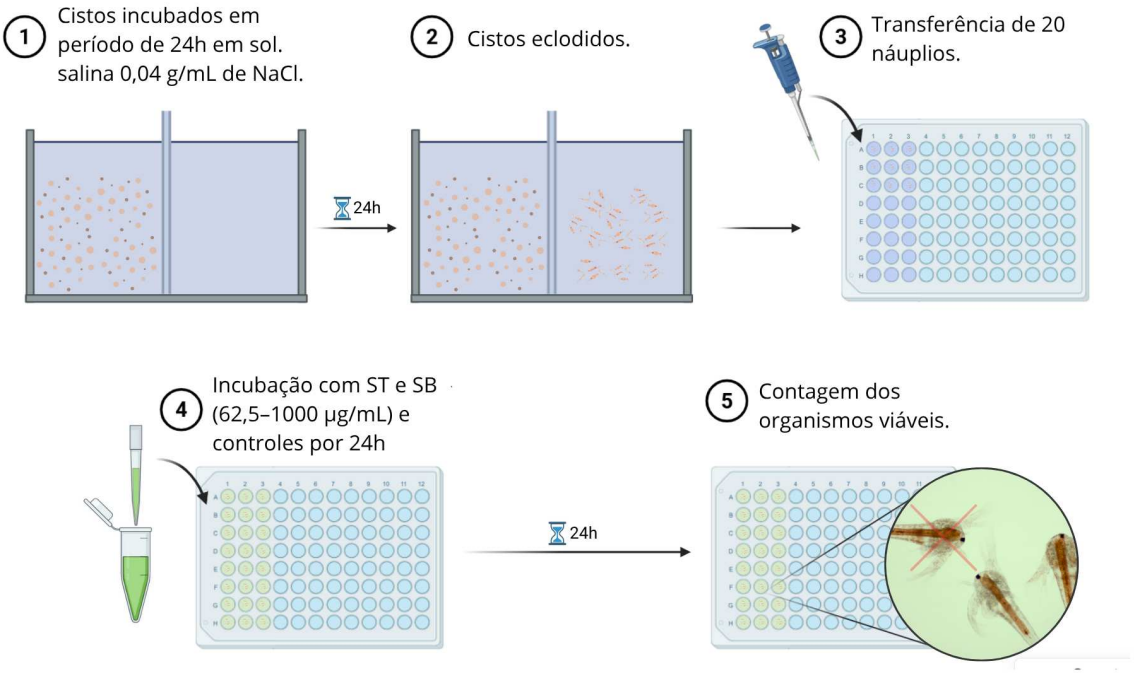
O teste de toxicidade aguda com *Artemia salina* (Figura 5) foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Maia *et al.* (2022) com algumas adaptações (Silva, K., 2023).

Inicialmente, os cistos foram obtidos em uma loja especializada de suprimentos para aquários em João Pessoa/PB. Posteriormente, a cultura foi incubada em solução salina (0,04 g/mL de NaCl), sendo mantida sob temperatura ambiente por 24 horas até a eclosão. Após a finalização deste processo, as larvas foram incubadas, em placas de 96 poços (20 larvas/poço), com diferentes

concentrações (62,5 µg/mL, 125 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL) dos extratos das cascas de *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis*, por um período de 24 horas. Foram utilizados um controle positivo (DMSO 4,0%) e um controle negativo (NaCl 0,9%).

Em seguida, foi feita a contagem dos organismos vivos e mortos, sendo considerados vivos todos aqueles que apresentarem qualquer tipo de movimento quando observados próximos a uma fonte luminosa e ponderados mortos aqueles que permaneceram imóveis por mais de 10 segundos.

Figura 5 - Representação esquemática do bioensaio de toxicidade frente a *Artemia salina* utilizando extratos hidroalcoólicos das cascas de *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis* (62,5–1000 µg/mL).



Fonte: Adaptado do banco de imagens do Observatório de Câncer do Curimataú, elaborado com *software* BioRender, 2025.

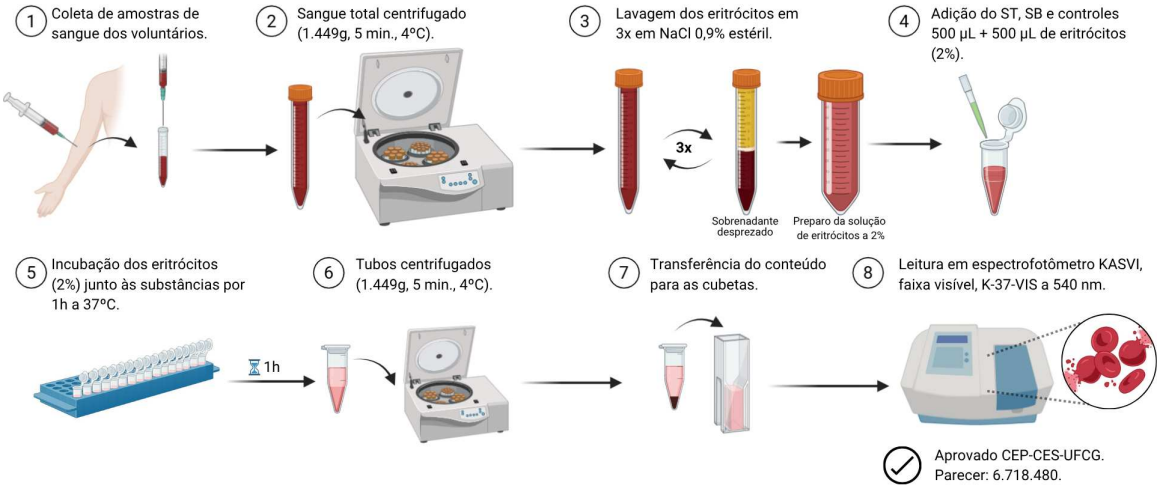
3.4 Potencial hemolítico frente a eritrócitos humanos

O potencial hemolítico foi avaliado de acordo com o método proposto por Sengkhui; Klubthawee; Aaunpad (2023) com algumas modificações (Silva, K., 2023).

Foram obtidas pequenas amostras de sangue periférico de colaboradores voluntários – declarados saudáveis e sem uso de medicamentos nas últimas 72 horas – sendo imediatamente estabilizadas em ácido etilenodiamino tetra-acético

(EDTA) (5mg/mL). Posteriormente, o sangue total foi centrifugado (1.449 g, 5 min a 4°C) e, concomitantemente, foi realizada a lavagem das hemácias, três vezes em solução fisiológica estéril. Após a finalização desta etapa, o último sedimento foi ressuspenso em 3 mL de solução fisiológica, e então estas hemácias (2%) foram incubadas, em tubos de ensaio, em diferentes concentrações (62,5 µg/mL, 125 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL) dos extratos das cascas de *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis* por um período de 1 hora a 37 ºC. Após o referido intervalo temporal, as células sanguíneas foram centrifugadas (1.449 g, 5 min a 4 °C), o sobrenadante foi coletado por aspiração suave e a absorbância foi medida em um espectrofotômetro, a 540 nm (Figura 6). Para o branco, necessário à leitura inicial, foi utilizada uma solução de NaCl 0,9%. Foram empregados como controles: positivo (Triton-X 0,02%) e negativo (NaCl 0,9%).

Figura 6 - Representação esquemática do ensaio de potencial hemolítico utilizando eritrócitos humanos (2%) frente aos extratos hidroalcoólicos das cascas de *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis* (62,5–1000 µg/mL).



Fonte: Adaptado do banco de imagens do Observatório de Câncer do Curimataú, elaborado com *software* BioRender, 2025.

3.5 Análise do potencial irritante - teste HET-CAM (*Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane*)

O ensaio foi conduzido de acordo com as diretrizes do protocolo francês descrito no Atlas do HET-CAM (2023), com adaptações baseadas em Araújo, W., *et al.* (2025). Foram avaliados os extratos hidroalcoólicos obtidos das cascas de *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis* na concentração de 500 µg/mL. Utilizou-se solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% como controle negativo, enquanto o álcool absoluto (100%) e o hidróxido de sódio 0,1 N foram empregados como controles positivos.

Os ovos férteis da espécie *Gallus domesticus* foram adquiridos e submetidos à assepsia com álcool 70%, sendo posteriormente incubados em equipamento automático sob temperatura constante de 37 ± 1 °C e umidade relativa em torno de 33%. No décimo dia de incubação, a região correspondente à câmara de ar foi cuidadosamente aberta, retirando-se a casca e a membrana interna, de modo a expor a membrana cório-alantoide (CAM). Sobre esta, aplicou-se 300 µL dos extratos e dos respectivos controles. Após 20 s de contato, as amostras foram removidas e a superfície da membrana lavada com solução fisiológica.

As respostas vasculares da CAM foram monitoradas durante cinco minutos, registrando-se o tempo de aparecimento dos fenômenos fisiológicos em segundos. A pontuação foi atribuída conforme os critérios do protocolo francês do Atlas do HET-CAM (2023), conforme indicado na Tabela 2.

Tabela 1 - Tempo em segundos relacionado a cada fenômeno vascular.

Fenômeno	**Tempo**		
	≤30 s	**30 s < t ≤ 2 min**	**2 min < t ≤ 5 min**
Hiperemia	5	3	1
Hemorragia	7	5	3
Coagulação	9	7	5

Fonte: Adaptado de Delgado; Cordeiro; Valadares, 2023.

A classificação do potencial irritante foi realizada conforme o escore proposto por Luepke (1985), traduzido e validado por pesquisadores da Fundação Oswaldo Cruz. O material é considerado praticamente não irritante quando o escore se

encontra entre 0 e 0,9; levemente irritante, entre 1 e 4,9; moderadamente irritante, entre 5 e 8,9; e severamente irritante, entre 9 e 21 (Delgado; Cordeiro; Valadares, 2023).

O cálculo do escore de irritação foi obtido a partir da equação proposta por Luepke, considerando os tempos médios de aparecimento dos fenômenos observados, sendo que os valores sobrescritos indicam as réplicas analisadas.

$$MSc = \frac{(Hip_1+Hem_1+Coag_1) + (Hip_2+Hem_2+Coag_2) + (Hip_3+Hem_3+Coag_3) + (Hip_4+Hem_4+Coag_4)}{4}$$

Onde:
MSc= média do Score; Hip= Hiperemia; Hem= Hemorragia; Coag= Coagulação.

3.6 Ensaio da membrana corioalantóide (CAM) utilizando ovos embrionados de galinha

Os ensaios para avaliação da atividade antiangiogênica pelo método CAM (Figura 7) foram realizados conforme a metodologia descrita por Ambika *et al.* (2019) com algumas adaptações. Primeiramente, ovos fertilizados da espécie *Gallus domesticus* foram adquiridos, higienizados (álcool 70%) e acondicionados em uma incubadora automática sob temperatura controlada de 37°C e com umidade relativa do ar de aproximadamente 33%.

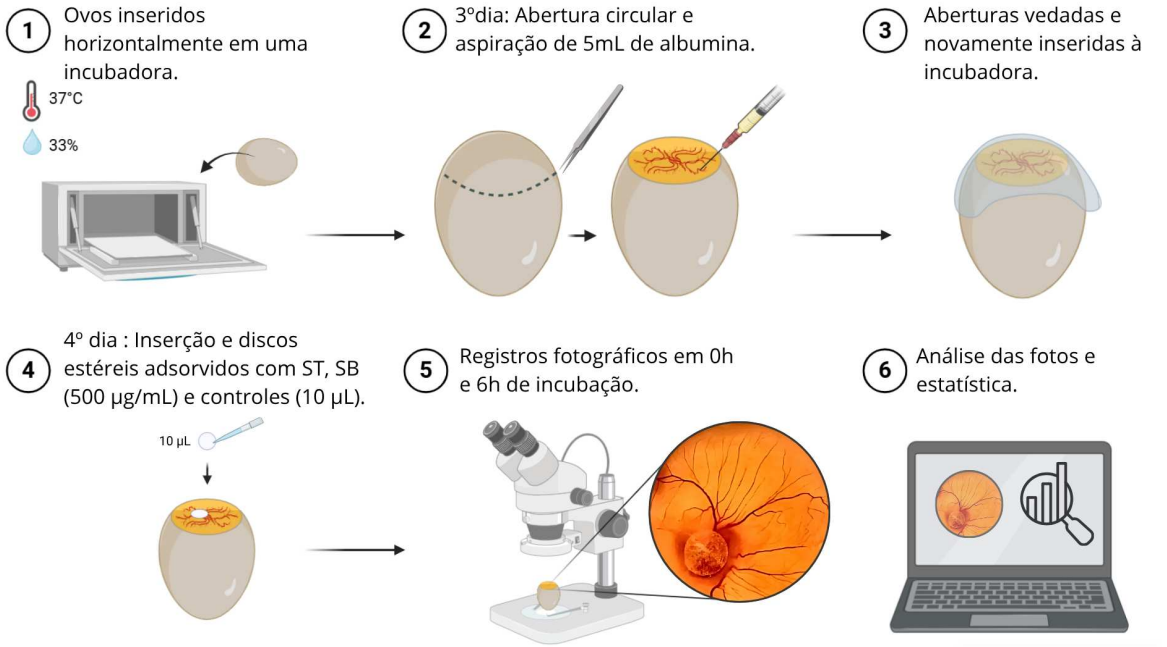
No 4° dia do desenvolvimento embrionário, foi realizada uma abertura circular na região da câmara de ar da casca dos ovos. Posteriormente, foi retirada a membrana interna da casca e aspirado 5 mL de albumina para melhor visualização da membrana corioalantóica (CAM). Em seguida, as aberturas foram vedadas com material apropriado para manutenção da umidade, sem perda da visibilidade do embrião, e os ovos foram novamente inseridos na incubadora. No 5° dia de desenvolvimento embrionário, discos de papel filtro estéril (6 mm de diâmetro) foram inseridos no terço externo da CAM, adsorvidos com 10 µL de extratos das cascas de *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis*, na concentração subtóxica de 500 µg/mL.

Após a inserção, em um período de 0h e 6h de incubação, foram registradas imagens com o auxílio de um aparato fotográfico acoplado a um estereomicroscópio. Após o período de 6 horas as fotografias obtidas foram analisadas com o auxílio do software ImageJ, versão 1.53, para a realização da quantificação dos seguintes

parâmetros angiogênicos: diâmetro, comprimento e ramificações dos vasos sanguíneos.

Foram utilizados um controle positivo (Dexametasona 4 mg/mL) e um controle negativo (NaCl 0,9%).

Figura 7 - Representação esquemática do ensaio da membrana corioalantóide utilizando ovos embrionados de galinha (CAM) frente aos extratos hidroalcoólicos das cascas de *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis* (500 µg/mL).



Fonte: Adaptado do banco de imagens do Observatório de Câncer do Curimataú, elaborado com *software* BioRender, 2025.

3.7 Análise estatística

Todas as análises foram feitas em três repetições independentes, em seguida os dados foram expressos como média ± erro padrão. Os dados foram comparados por análise de variância de uma via (ANOVA), seguida pelo pós-teste de Tukey ou teste T independente, adotando nível de significância de $p<0,05$, por intermédio do programa estatístico GraphPad Prism, versão 8.0.

3.8 Aspectos éticos

De acordo com Resolução n° 466/12 e a Resolução nº 510/16, “toda pesquisa envolvendo seres humanos deve ser submetida à apreciação de um Comitê de Ética em Pesquisa”. Sendo assim, para realização do método hemolítico com eritrócitos humanos, o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro de Educação e Saúde (CES) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), aprovado com parecer de número 6.718.480, e segue de acordo com os regimentos éticos e legais vigentes.

Com relação ao bioensaio com *Artemia salina*, o teste da membrana corioalantóide de ovos embrionados da espécie *Gallus domesticus* (CAM) e ao teste HET-CAM (*Hen’s Egg Test – Chorioallantoic Membrane*), que representam ensaios alternativos ao uso de animais, esses não requerem aprovação por Comissão de Ética no Uso de Animais, conforme dispõe a Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, e normas internacionais.

Vale salientar, que pelo uso dos extratos, a pesquisa foi registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – *SisGen*, que é um sistema eletrônico criado pelo Decreto nº 8.772, de 11 de maio de 2016, que regulamenta a Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015, para gestão do patrimônio genético e do conhecimento tradicional associado. Os registros foram realizados sob os números AD746E9 para *Spondias tuberosa* e AD1C61D para *Spondias bahiensis*.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diante do potencial terapêutico relatado para o uso de *Spondias tuberosa* na medicina popular, é fundamental destacar os possíveis efeitos tóxicos decorrentes do uso inadequado da planta. Assim, torna-se essencial realizar estudos que avaliem concentrações potencialmente tóxicas, garantindo uma utilização mais segura e eficiente, para uso na prospecção de novas alternativas de tratamento baseadas em plantas medicinais, além de promover o uso racional de fitoterápicos. Nessa perspectiva, diferentes tipos de pesquisas podem ser conduzidas para analisar o potencial tóxico, incluindo estudos *in vitro*, estudos pré-clínicos *in vivo* em animais e ensaios clínicos em seres humanos (Lima *et al.*, 2019; Ogunro *et al.*, 2023).

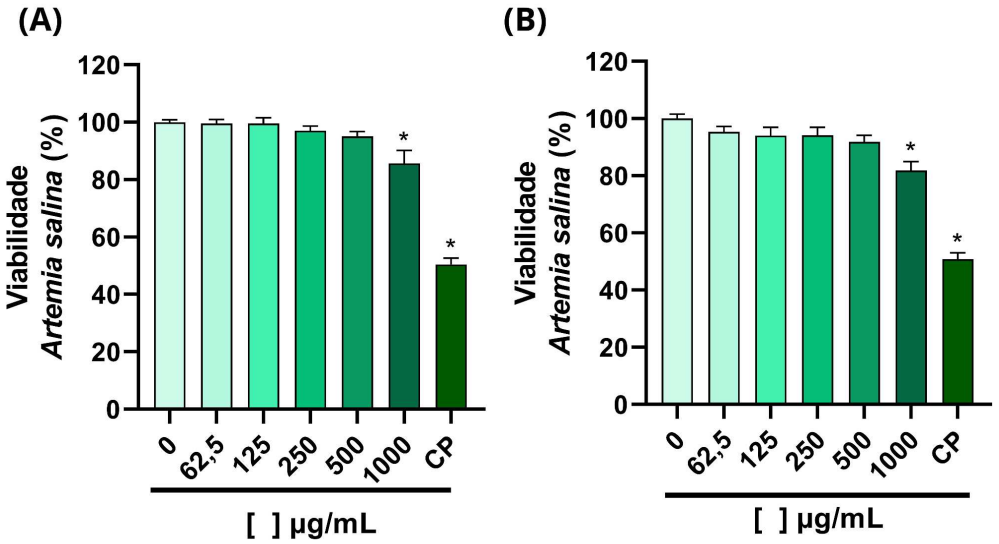
Uma forma eficaz de avaliar os possíveis efeitos tóxicos da planta é por meio de ensaios de toxicidade aguda. Esses ensaios têm como objetivo avaliar a toxicidade de uma substância administrada em doses conhecidas durante um curto período de tempo. Essa abordagem permite analisar, reproduzir e comparar os efeitos das substâncias testadas, sendo amplamente utilizada em pesquisas. Além disso, fornece suporte para a escolha das doses utilizadas em outros testes de toxicidade, contribuindo para a avaliação da segurança de substâncias químicas, como drogas vegetais e fitoterápicos (Galvão, 2024).

Um método eficiente para avaliar a toxicidade aguda de extratos vegetais é o bioensaio com *Artemia salina*, um microcrustáceo de água salgada amplamente utilizado em estudos de toxicidade. Esse ensaio permite estimar a concentração necessária para causar a morte de 50% dos organismos testados (CL_{50}), um parâmetro essencial para quantificar o potencial tóxico de uma substância e estabelecer margens de segurança para seu uso (Finney, 1952; Silva, K., 2023). Além disso, a determinação da CL_{50} possibilita comparar a toxicidade entre diferentes compostos, fornecendo informações valiosas para a triagem inicial de substâncias com potencial terapêutico. A facilidade de obtenção dos cistos, aliada ao baixo custo e à simplicidade do procedimento, torna essa técnica uma alternativa viável para testar diversas substâncias em diferentes concentrações (Medeiro, 2022).

O bioensaio previamente mencionado foi aplicado com o propósito de determinar as concentrações sub-tóxicas do extrato da casca de *Spondias tuberosa*,

expressas em termos da estimativa da CL_{50}. Após 24 horas de exposição, verificou-se que as concentrações de 62,5 µg/mL, 125 µg/mL, 250 µg/mL e 500 µg/mL não exibiram toxicidade significativa em relação ao controle negativo. Em contrapartida, a concentração de 1000 µg/mL (85,64 ± 4,47) reduziu a viabilidade celular em 14,35 ± 3,21 ($p < 0,05$) quando comparada ao controle negativo (99,98 ± 0,87) (Figura 8A). A análise indicou que a CL_{50} é superior a 1000 µg/mL, classificando o extrato como atóxico (Nguta *et al.*, 2011). Dessa forma, concentrações iguais ou inferiores a 500 µg/mL foram consideradas seguras para futuros estudos pré-clínicos e para a avaliação *in vitro* de propriedades farmacológicas.

Figura 8 A e B - Toxicidade aguda frente a larvas de *Artemia salina* após período de incubação de 24 horas, em diferentes concentrações. (A) Extrato hidroalcoólico da casca de *Spondias tuberosa*. (B) Extrato hidroalcoólico da casca de *Spondias bahiensis*.



Legenda: CP (Controle Positivo); [ ] (concentração). (*) indica $p<0,05$ em comparação ao controle negativo (NaCl 0,9%), representado pela concentração 0. Os resultados estão expressos como percentuais das médias ± erro padrão, obtidos a partir de três experimentos independentes realizados em triplicata. A análise estatística foi conduzida por ANOVA unidirecional, seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey. Fonte: Dados do presente estudo, 2025.

No caso do extrato da casca de *Spondias bahiensis*, verificou-se um perfil semelhante frente ao ensaio de *Artemia salina*, comparável ao observado para *S. tuberosa*. Após 24 horas de exposição, apenas a concentração de 1000 µg/mL (81,87 ± 3,05) promoveu redução da viabilidade celular, que atingiu 18,13 ± 3,38 ($p <$

0,05) em comparação ao controle negativo (100,00 ± 1,51) (Figura 8B). Com base nesses dados, estima-se que a CL_{50} também seja superior a 1000 µg/mL, o que indica ausência de toxicidade relevante, uma vez que extratos vegetais com CL_{50} acima desse valor são comumente classificados como não tóxicos em ensaios desse tipo (Clemen-Pascual; Macahig; Rojas, 2022; Meyer *et al.*, 1982; Nguta *et al.*, 2011).

Dessa forma, ambos os extratos apresentaram indícios de que a concentração letal média (CL_{50}) seria superior a 1000 µg/mL, maior concentração testada, o que reforça a baixa toxicidade das amostras frente a *Artemia salina*. No entanto, no estudo desenvolvido por Araújo, L., *et al.* (2025), que avaliou a toxicidade de extratos metanólicos das folhas de *S. tuberosa* e *S. bahiensis* em concentrações variando entre 10 e 1000 µg/mL, foram observados valores de CL_{50} inferiores a este limite, sendo 403 µg/mL para *S. tuberosa* e 460 µg/mL para *S. bahiensis*. Essa diferença pode estar relacionada às distintas partes vegetais empregadas, solventes de extração utilizados ou à variabilidade fitoquímica intrínseca entre os extratos, fatores que influenciam diretamente o perfil toxicológico das espécies (Lezoul *et al.*, 2020).

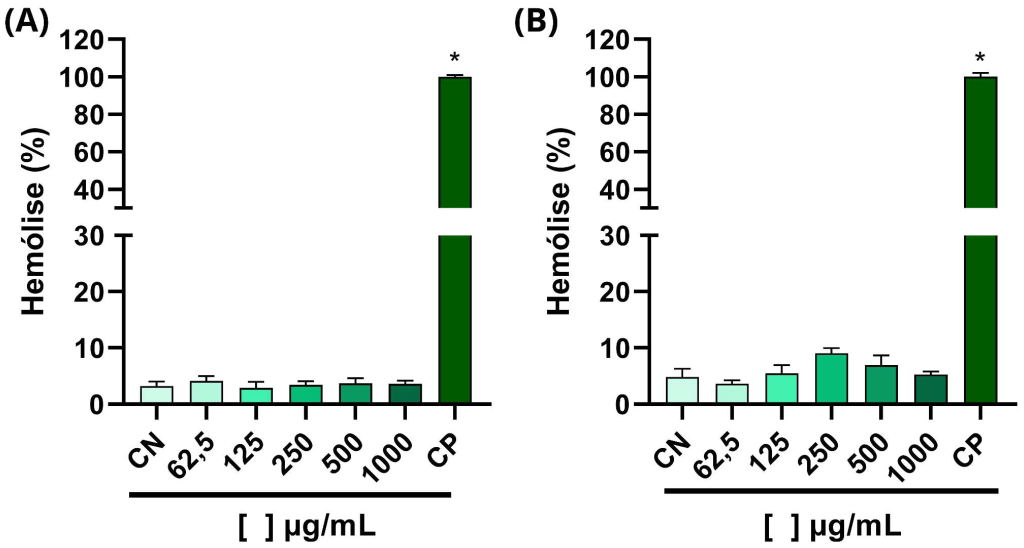
Em concordância com os achados do presente estudo, a pesquisa conduzida por Santos-Filho *et al.* (2025) também relatou baixa toxicidade em espécies do mesmo gênero. No estudo desenvolvido pelos autores, o extrato etanólico da casca do caule de *Spondias mombin*, caracterizado pela presença de flavonas, apresentou CL_{50} superior a 1000 µg/mL (1339,88 ± 32,73) frente a larvas de *Artemia salina*, sendo igualmente classificado como não tóxico. Esses resultados reforçam o comportamento seguro dos extratos do gênero *Spondias* sp. em ensaios de toxicidade aguda, sugerindo a existência de um padrão fitoquímico semelhante entre as espécies.

A hemólise corresponde à degradação da membrana dos eritrócitos, resultando na liberação de hemoglobina no plasma. Esse fenômeno pode ocorrer naturalmente no baço, por alterações físico-químicas associadas a doenças ou em decorrência de estresses mecânicos anormais. Além disso, compostos químicos de origem vegetal podem interagir com as membranas dos eritrócitos e desencadear esse processo (Rahamooz-Haghighi *et al.*, 2021). A hemoglobina liberada pode exercer efeitos tóxicos no organismo. Para investigar o potencial hemolítico induzido por extratos vegetais, o teste de hemólise *in vitro* tem sido amplamente empregado

na avaliação da segurança e toxicidade de extratos em amostras sanguíneas (Jeswani *et al.*, 2015; Vieira Junior *et al.*, 2012).

A avaliação do potencial hemolítico revelou que todas as concentrações testadas do extrato da casca de *S. tuberosa* (62,5 µg/mL, 125 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL e 1000 µg/mL) apresentaram baixa capacidade de causar danos à membrana eritrocitária ($p<0,05$) em comparação ao controle positivo. Além disso, não houve diferença significativa ($p>0,05$) em relação ao controle negativo (3,19 ± 0,86), conforme demonstrado na Figura 9A. Esses resultados indicam que o extrato apresentou baixa toxicidade nas condições testadas, sendo necessários estudos adicionais para confirmar sua segurança em modelos biológicos mais complexos.

Figura 9 A e B - Atividade hemolítica frente a eritrócitos humanos, em diferentes concentrações. (A) Extrato hidroalcoólico da casca de *Spondias tuberosa*. (B) Extrato hidroalcoólico da casca de *Spondias bahiensis*.



Legenda: CP (Controle Positivo); [ ] (concentração); CN (Controle Negativo); "*" indica $p<0,05$ em comparação ao controle negativo (NaCl 0,9%). Os dados são expressos em dados percentuais das médias ± erro padrão de três experimentos independentes, efetuados em triplicata, analisados por análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do pós-teste de Tukey. Fonte: Dados da pesquisa, 2025.

Na avaliação hemolítica, o extrato de *S. bahiensis* apresentou perfil seguro, não ocasionando danos relevantes às hemácias humanas (Figura 9B). Nenhuma das concentrações analisadas (62,5 a 1000 µg/mL) promoveu lise significativa quando comparada ao controle positivo ($p<0,05$). As variações observadas em relação ao controle negativo (4,84 ± 1,47) também não foram estatisticamente

significativas, reforçando a ausência de efeito citotóxico sobre as membranas eritrocitárias.

Os resultados obtidos neste estudo divergem parcialmente dos achados descritos por Cordeiro *et al.* (2018a), que avaliaram a atividade hemolítica frente a eritrócitos humanos do extrato hexânico das folhas de *Spondias tuberosa* em concentrações de 10 a 2500 µg/mL e observaram efeito hemolítico significativo, com valor de CE_{50} (concentração efetiva capaz de causar 50% de hemólise) de 740,8 ± 61,09 µg/mL.

De acordo com Jiménez *et al.* (2022), a atividade hemolítica observada em extratos vegetais está frequentemente associada à presença de metabólitos secundários, em especial saponinas. Esses compostos apresentam propriedades surfactantes capazes de interagir com componentes lipídicos das membranas dos eritrócitos, resultando em sua desestabilização e posterior lise.

Estudos anteriores sugerem que amostras com CE_{50} inferiores a 200 µg/mL podem ser consideradas hemolíticas (Costa-Lotufo *et al.*, 2005); entretanto, no presente trabalho não foram observados efeitos hemolíticos significativos nas concentrações avaliadas, indicando baixa toxicidade dos extratos testados.

Os resultados relativos ao potencial irritante dos extratos hidroalcoólicos das cascas de *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis*, avaliados pelo teste HET-CAM (*Hen's Egg Test – Membrana Corioalantoide*), estão apresentados na Tabela 2. Ambos os extratos provocaram alterações vasculares leves durante o período de observação, sendo classificados como irritantes leves (média do *score*: *S. tuberosa* = 1,25 ± 0,72; *S. bahiensis* = 2,67 ± 1,42). O controle negativo (NaCl 0,9%) apresentou efeito mínimo sobre a membrana, sendo considerado praticamente não irritante (média do *score* = 0,83 ± 0,42), enquanto o controle positivo (NaOH 0,1 N) provocou intensa irritação, caracterizando-se como irritante severo (média do score = 21,00 ± 0,58). Este ensaio permite avaliar os efeitos imediatos dos extratos sobre vasos pré-existentes, fornecendo informações relevantes sobre seu perfil de segurança e tolerabilidade.

Tabela 2 - Potencial irritante dos extratos hidroalcoólicos das cascas de ST, SB e controles.

	HIPE	HEM	COAG	Média *Score*	Classificação
ST	0,83 ± 0,56	0,00 ± 0,00	0,42 ± 0,42	1,25 ± 0,72	Irritante leve
SB	2,25 ± 0,82	0,00 ± 0,00	0,42 ± 0,42	2,67 ± 1,42	Irritante leve
Álcool 100%	8,00 ± 0,39	4,45 ± 0,28	7,50 ± 0,26	19,58 ± 0,68*	Irritante severo
NaOH 0,1 N	8,33 ± 0,28	7,00 ± 0,00	5,67 ± 0,28	21,00 ± 0,58*	Irritante severo
NaCl 0,9%	0,83 ± 0,29	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,83 ± 0,42	Praticamente não irritante

Legenda: HIPE (hiperemia); HEM (hemorragia); COAG (coagulação); ST (*Spondias tuberosa*); SB (*Spondias bahiensis*); (*) indica p<0,05 ao comparar as médias dos *scores* com o controle negativo (NaCl 0,9%). Os resultados estão expressos como percentuais das médias ± erro padrão, obtidos a partir de três experimentos independentes, realizados em quadruplicata. A análise estatística foi conduzida por ANOVA unidirecional, seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey. Fonte: Dados do presente estudo, 2025.

No contexto do ensaio HET-CAM, observa-se que estudos envolvendo espécies do gênero *Spondias* sp. ainda são escassos, e os resultados disponíveis apontam respostas variáveis conforme a natureza do material testado e o tipo de formulação empregada. Carmo *et al.* (2025) avaliaram colírios elaborados com extrato etanólico da casca e extrato hexânico da polpa de *Caryocar brasiliense*, observando baixo potencial de irritação nas concentrações de 0,24% e 0,18%, respectivamente. Em contrapartida, Moraes Júnior (2015) analisou microemulsões desenvolvidas para veiculação de fragrâncias obtidas do óleo de *Spondias tuberosa* e constatou irritação ocular moderada pelo método HET-CAM. Essa diferença pode estar relacionada à composição das formulações, como a presença de surfactantes (Sá *et al.*, 2022).

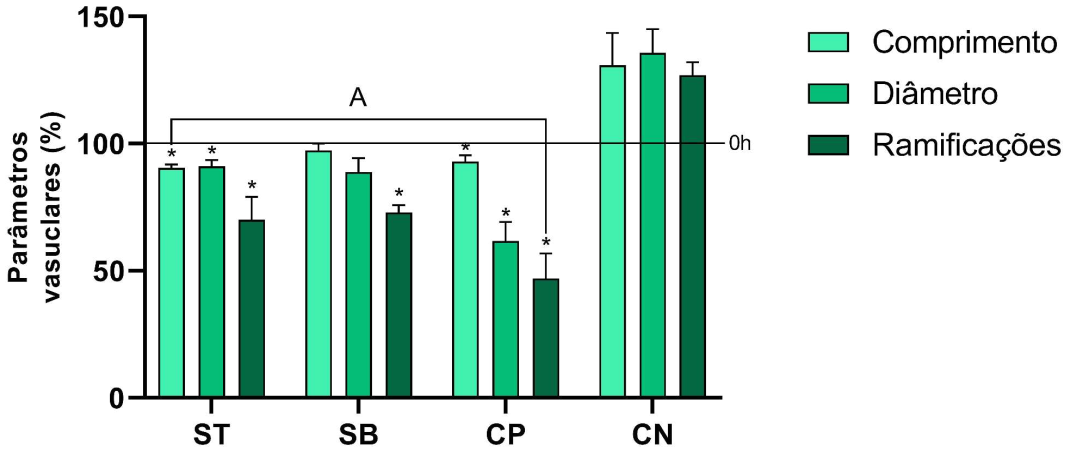
Em concordância, uma pesquisa que avaliou emulsões fotoprotetoras contendo extratos de *Bauhinia microstachya* var. *massambabensis* Vaz (Fabaceae) também demonstrou baixa irritabilidade no ensaio HET-CAM. Nesse estudo, observou-se ausência de irritação significativa, indicando que as formulações eram seguras para aplicação cutânea (Mansur *et al.*, 2016).

As plantas produzem diversos metabólitos capazes de atuar em diferentes vias relacionadas ao desenvolvimento de neoplasias, incluindo a modulação da angiogênese induzida pelo tumor (Lozano, 2020). Entre esses compostos,

destacam-se os terpenos e os fitoesteróis, frequentemente encontrados em extratos brutos de plantas, que apresentam reconhecida atividade antiangiogênica (Othman *et al.*, 2019).

Com base nos resultados dos ensaios toxicológicos anteriores, avaliou-se o potencial antiangiogênico dos extratos das cascas de *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis* na concentração sub-tóxica de 500 µg/mL. Para isso, utilizou-se o ensaio da membrana corioalantóide (CAM), que permite mensurar alterações em parâmetros vasculares, como diâmetro, extensão e grau de ramificação dos vasos sanguíneos (Figura 10).

Figura 10 - Parâmetros angiogênicos (diâmetro, comprimento e ramificação dos vasos sanguíneos) após 6 h de tratamento com os extratos das cascas de ST e SB (500 µg/mL).



Legenda: ST (*Spondias tuberosa*); SB (*Spondias bahiensis*); CP (controle positivo); CN (Controle negativo); Os dados são expressos como porcentagem das médias ± erro padrão de três experimentos independentes, realizados em duplicata, analisados pelo teste T. "*" significa $p<0,05$ quando comparada ao tempo inicial de 0h (100%). "A" significa $p<0,05$ quando comparado ao CN, NaCl 0,9%. Fonte: Dados da pesquisa, 2025.

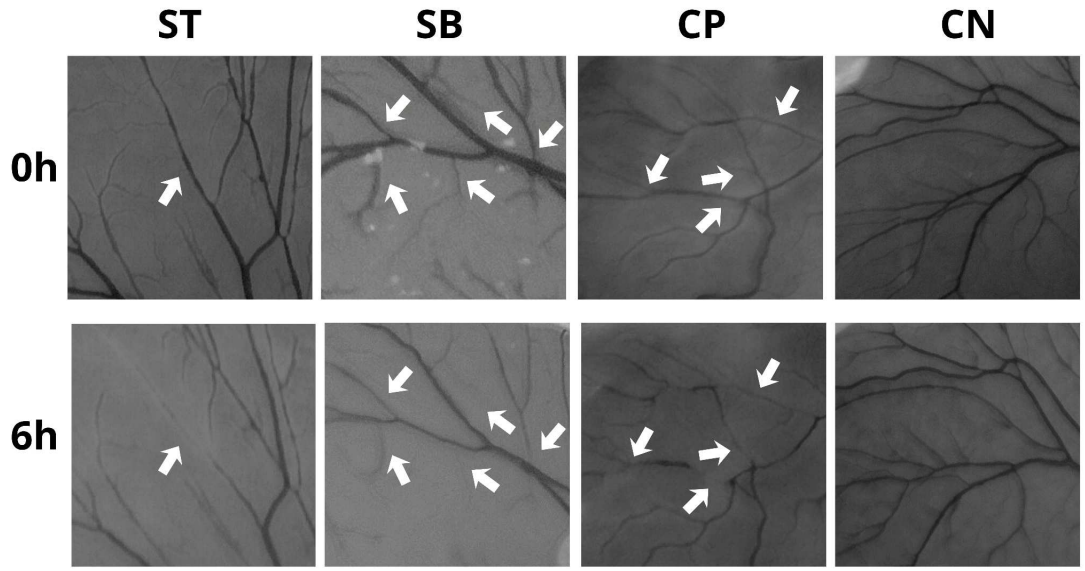
Na Figura 10, observa-se que as membranas corioalantóides tratadas com o controle negativo (NaCl 0,9%) mantiveram o desenvolvimento vascular fisiológico, sem alterações, o que possibilitou a análise dos parâmetros vasculares de comprimento 130,8 ± 6,52, diâmetro 135,7 ± 8,24 e ramificação 126,9 ± 7,96. Em contrapartida, os extratos de *Spondias tuberosa* reduziram o comprimento vascular para 90,49 ± 3,99, o diâmetro para 91,02 ± 4,38 e o número de ramificações para 70,06 ± 4,68, após 6 horas de incubação. Essas reduções representam diferenças

percentuais significativas em relação ao tempo inicial (0h, considerado 100%) e diferenciam-se estatisticamente do controle negativo ($p<0,05$).

O extrato de *Spondias bahiensis* não promoveu alterações significativas no comprimento e no diâmetro vascular em relação ao tempo inicial (0h). Contudo, após 6 horas de incubação, esses parâmetros não acompanharam o desenvolvimento vascular fisiológico observado no controle negativo, permanecendo com valores de comprimento de 97,31 ± 2,21 e de diâmetro de 88,86 ± 6,01. Diferentemente, o número de ramificações apresentou redução significativa em comparação ao tempo inicial ($p<0,05$), atingindo 72,89 ± 4,58. Em comparação ao controle negativo, todas as variáveis analisadas apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p<0,05$).

Os extratos de *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis* demonstraram comportamento semelhante ao controle positivo (dexametasona 4 mg/mL), fármaco de uso clínico com reconhecida atividade antiangiogênica. As variáveis de comprimento e ramificação vascular não apresentaram diferenças significativas em relação à dexametasona, reforçando a similaridade na modulação do desenvolvimento vascular. A redução observada nesses parâmetros sugere um efeito antiangiogênico, o que também pode ser evidenciado de forma qualitativa na Figura 11, possivelmente relacionado à presença de metabólitos secundários nos extratos.

Figura 11 - Avaliação do efeito antiangiogênico dos extratos hidroalcoólicos das cascas de ST e SB utilizando o modelo de membrana corioalantoide (CAM).



Legenda: Registros fotográficos dos parâmetros vasculares frente à exposição aos extratos de *Spondias tuberosa* (ST, 500 µg/mL) e *Spondias bahiensis* (SB, 500 µg/mL). A linha superior corresponde às imagens no tempo 0h e a inferior, às imagens após 6h de tratamento. As regiões em branco indicam alterações morfológicas vasculares. CP: controle positivo (dexametasona 4 mg/mL); CN: controle negativo (NaCl 0,9%). Fonte: Dados da pesquisa 2025.

Os achados de Metibemu *et al.* (2021) corroboram os resultados obtidos no presente estudo, uma vez que também evidenciaram o potencial antiangiogênico de compostos do gênero *Spondias* sp. No referido trabalho, os autores demonstraram que carotenoides isolados de *Spondias mombin* reduziram significativamente a expressão de marcadores angiogênicos, como VEGF, VEGFR-2, EGFR (receptor do fator de crescimento epidérmico), HIF-1 (fator induzível por hipóxia-1) e MMP-2 (metaloproteinase da matriz-2), no modelo de carcinoma mamário induzido por DMBA (7,12-dimetilbenz[a]antraceno) em ratas *Wistar*. Esses resultados reforçam a hipótese de que metabólitos secundários presentes em diferentes espécies do gênero *Spondias* sp. compartilham mecanismos moleculares semelhantes na modulação da angiogênese.

Resultados de estudos fitoquímicos evidenciam a presença de diferentes classes de metabólitos secundários em espécies do gênero *Spondias* sp., incluindo flavonoides, taninos, esteroides, triterpenos e terpenos. Em *S. tuberosa*, análises de folhas revelaram a presença de flavonoides, triterpenos, taninos hidrolisáveis, saponinas e terpenos em diferentes tipos de extratos (Uchôa *et al.*, 2015; Cordeiro *et*

al., 2018a). De modo complementar, em folhas e raízes da mesma espécie foram também identificados fenóis, esteroides e alcaloides em extratos hidroalcoólicos (Santos *et al.*, 2019). De forma semelhante, em *S. purpúrea* foram descritos taninos, esteroides, flavonoides e triterpenos em extratos etanólicos de folhas e cascas (Teixeira; Rodrigues; Santos, 2016). Esses achados demonstram que os terpenos, junto a outros metabólitos bioativos, estão amplamente presentes em espécies do gênero, o que respalda a hipótese de seu envolvimento nos efeitos anticancerígenos e antiangiogênicos observados.

Estudos apontam que determinados grupos de metabólitos secundários, especialmente os terpenos, destacam-se como compostos de grande relevância por apresentarem expressiva atividade anticancerígena e antiangiogênica. Esses efeitos estão relacionados, em particular, à capacidade de promover a regulação negativa da expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), mecanismo essencial no controle da angiogênese tumoral (Mirzaaghaei *et al.*, 2014; Sagar; Yance; Wong, 2006).

Segundo Guedes *et al.*, (2020), a composição química das espécies do gênero *Spondias* sp. pode variar, sendo identificados cerca de 23 metabólitos em *S. tuberosa* e *S. mombin*. Entre eles destacam-se diferentes ácidos graxos, como palmítico, linoleico e octadecatrienóico, que apresentaram ação citotóxica frente a linhagens tumorais de cólon, próstata, mama, colo do útero e astrocitoma.

De acordo com Rey-Blanes *et al.* (2020), extratos das folhas de *Spondias mombin* demonstraram inibir de forma significativa a angiogênese *in vitro*, evidenciada pela redução dose-dependente na formação de túbulos em ensaio de Matrigel com células endoteliais. Essa inibição na etapa final da diferenciação e organização dos vasos recém-formados indica um efeito direto sobre o processo angiogênico. Além disso, os extratos reduziram a viabilidade de células endoteliais e de câncer de mama triplo-negativo e promoveram alterações no ciclo celular, reforçando o duplo potencial antiangiogênico e antitumoral da espécie. Esses achados reforçam o potencial antiangiogênico e antitumoral da espécie.

Apesar da relevância dos achados e da consistência observada nos diferentes ensaios aplicados, é importante destacar as limitações inerentes às metodologias utilizadas. O bioensaio com *Artemia salina*, embora amplamente empregado como ferramenta de triagem inicial, apresenta limitações por se tratar de um modelo simples, cuja resposta biológica não reflete integralmente a complexidade

metabólica de organismos superiores, especialmente mamíferos. De forma semelhante, os testes de hemólise e os ensaios HET-CAM, apesar de serem métodos alternativos valiosos que reduzem o uso de animais vertebrados, fornecem apenas informações preliminares sobre efeitos citotóxicos, irritativos e alterações vasculares imediatas.

Portanto, os resultados obtidos devem ser interpretados como parte de uma etapa inicial de avaliação da segurança, sendo necessário avançar para estudos toxicológicos complementares, incluindo análises *in vitro* em sistemas celulares mais complexos, modelos pré-clínicos *in vivo* e, posteriormente, ensaios clínicos, a fim de confirmar a segurança e a eficácia dos extratos para possível aplicação em seres humanos.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que, nas condições avaliadas, os extratos das cascas de *Spondias tuberosa* e *Spondias bahiensis* não apresentaram toxicidade significativa nos ensaios biológicos conduzidos, em concentrações de até 1000 µg/mL. Além disso, ambos foram classificados como irritantes leves no teste HET-CAM quando analisados na concentração de 500 µg/mL, indicando baixa reatividade e boa compatibilidade biológica.

No modelo de membrana corioalantoide (CAM), foi observada atividade antiangiogênica para ambos os extratos vegetais, quando comparados ao tempo inicial (0 h). O extrato de *Spondias tuberosa* apresentou redução significativa nos três parâmetros vasculares avaliados (comprimento, diâmetro e ramificação). Já o extrato de *Spondias bahiensis* promoveu diferença significativa apenas no parâmetro de ramificação. Apesar dessa distinção, ambos os extratos diferiram significativamente do controle negativo, indicando que as membranas corioalantoides tratadas com os extratos vegetais não mantiveram o desenvolvimento vascular fisiológico esperado. Além disso, o comportamento observado foi semelhante ao do controle positivo (dexametasona).

Esses achados reforçam o potencial terapêutico para novos estudos das espécies do gênero *Spondias* sp. como fontes promissoras de moléculas bioativas com atividade antiangiogênica. Além disso, contribuem para o avanço do uso racional de fitoterápicos, ampliando perspectivas de desenvolvimento de alternativas complementares no tratamento de neoplasias, capazes de reduzir a resistência tumoral e melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

REFERÊNCIAS

ALVES, Giovanna França. **Caracterização e avaliação da estabilidade de compostos bioativos de extrato de Umbuguela Microencapsulados (*Spondias* Sp.)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) — Universidade de Brasília, Brasília, 2021. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/37341/1/2021_GiovannaFrancaAlves_tcc.pdf. Acesso em: 23 out. 2025.

AMBIKA, Subramanian *et al.* Biomolecular interaction, anti-cancer and anti-angiogenic properties of cobalt (III) Schiff base complexes. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 2721, 2019.

APTE, Rajendra Sanjiv; CHEN, Daniel Shun; FERRARA, Napoleone. VEGF in signaling and disease: beyond discovery and development. **Cell**, v.176, n. 6, p. 1248-1264, 2019.

ARAÚJO, Amanda Dias de *et al.* Phytochemical screening, *in vitro* antioxidant, photoprotective and hemolytic activities of ethyl acetate extracts of the fruits and branches from *Spondias tuberosa* (umbu). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e38610111825-e38610111825, 2021.

ARAÚJO, Luana Maria Sales de *et al.* Perfil químico e avaliação da atividade antioxidante de extratos metanólicos das folhas de *Spondias bahiensis* P. Cardoso, *Spondias tuberosa* Arruda, *Spondias mombin* L. **Research, Society and Development**, v. 14, n. 8, p. e4414849386-e4414849386, 2025.

ARAÚJO, Rychardson Rocha de *et al. Spondias bahiensis*. *In*: CORADIN, Lidio; CAMILLO, Julcéia; PAREYN, Frans Germain Corneel (orgs.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial:** plantas para o futuro: Região Nordeste. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2018. p. 279–286. (Série Biodiversidade, 51). ISBN 978-85-7738-383-2. Disponível em: http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1104684. Acesso em: 24 out. 2025.

ARAÚJO, Wesley Morais de et al. One-Health Approach to Managing Aflatoxin-Producing Aspergillus flavus Using Spent Mushroom Substrate of Pleurotus spp. **ACS omega**, 2025.

ARPINO, John-Michael *et al.* Low-flow intussusception and metastable VEGFR2 signaling launch angiogenesis in ischemic muscle. **Science advances**, v. 7, n. 48, p. eabg9509, 2021.

BORGES, Larissa Pacheco; AMORIM, Víctor Alves. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia-Agrotec**, v. 11, n. 1, p. 54-67, 2020.

BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira: volume 1.** 7. ed. Brasília: ANVISA, 2024. Disponível em: http://bibliotecadigital.anvisa.gov.br/jspui/handle/anvisa/11937. Acesso em: 23 out. 2025.

BRASIL, Ministério da Saúde. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica. **Cadernos de Atenção Básica,** n. 31, 2012.

CARMELIET, Peter. Angiogenesis in life, disease and medicine. **Nature**, v. 438, n. 7070, p. 932-936, 2005.

CARMO, João Marcelo Carvalho do *et al*. HET-CAM assay for evaluation of eye drops based on pequi (*Caryocar brasiliense*) peel and pulp: a preliminary study. **Ciência Animal Brasileira**, v. 26, p. 79398E, 2025.

CASTRO, Marta Rocha; FIGUEIREDO, Fábio Fonseca. Saberes tradicionais, biodiversidade, práticas integrativas e complementares: o uso de plantas medicinais no SUS. **Hygeia: Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 15, n. 31, p. 56, 2019.

CHAI, Quanyou *et al.* Association of angiogenesis-associated genes with atherosclerotic plaque progression, intraplaque hemorrhage, and immune infiltration. **Heliyon**, v. 10, n. 12, 2024.

CHEN, Ya *et al.* Vascular endothelial growth factor A VEGFA inhibition: an effective treatment strategy for psoriasis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 1, p. 59, 2023.

CLEMEN-PASCUAL, Lydia M.; MACAHIG, Rene Angelo S.; ROJAS, Nina Rosario L. Comparative toxicity, phytochemistry, and use of 53 Philippine medicinal plants. **Toxicology Reports**, v. 9, p. 22-35, 2022.

CORDEIRO, Bruna Maria Pereira da Costa *et al.* Hexane extract from *Spondias tuberosa* (Anacardiaceae) leaves has antioxidant activity and is an anti-Candida agent by causing mitochondrial and lysosomal damages. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 18, n. 1, p. 284, 2018a.

CORDEIRO, Bruna Maria Pereira da Costa. **Identificação e caracterização de compostos com ações antioxidante e antimicrobiana de folhas de *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae).** 2018. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife 2018b. Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/38473. Acesso em: 23 out. 2025.

COSTA-LOTUFO, Letícia Veras *et al.* Studies of the anticancer potential of plants used in Bangladeshi folk medicine. **Journal of ethnopharmacology**, v. 99, n. 1, p. 21-30, 2005.

DELGADO, Isabella Fernandes; CORDEIRO, Lorena Rigo Gaspar; VALADARES, Marize Campos. **Atlas do método HET CAM: protocolo ilustrado aplicado à avaliação de toxicidade ocular.** Rio de Janeiro: Fiocruz; RENAMA, 2023. 93 p. Disponível em: https://educare.fiocruz.br/resource/show?id=VswuyIV1. Acesso em: 05 out. 2025.

FERREIRA, Eberto Tibúrcio *et al.* A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos: uma revisão integrativa sobre a atuação do enfermeiro. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 3, p. 1511-1523, 2019.

FERREIRA JUNIOR, Washington Soares; SIQUEIRA, Clarissa Fernanda Queiroz; ALBUQUERQUE, Ulysses Paulino de. Plant stem bark extractivism in the northeast semiarid region of Brazil: a new aport to utilitarian redundancy model. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, n. 1, p. 543207, 2012.

FINNEY, David John. Análise de probit: um tratamento estatístico da curva de resposta sigmoide. 1952.

FLORA DO BRASIL 2020. *Spondias tuberosa* Arruda. *In:* **REFLORA – Plantas: resgate histórico e herbário virtual para o conhecimento e conservação da flora brasileira.** Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB4405. Acesso em: 18 out. 2025.

FOLKMAN, Judah *et al.* Tumor angiogenesis: therapeutic implications. **N Engl j Med**, v. 285, n. 21, p. 1182-1186, 1971.

GALVÃO, Laís Ruanita Leopoldina. **Caracterização química do extrato aquoso de Pseudobombax simplicifolium A. Robyns e avaliação da sua toxicidade aguda e atividades biológicas**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024. Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/55572. Acesso em: 23 out. 2025.

GAO, Chang *et al.* The protective effect of natural medicines in rheumatoid arthritis via inhibit angiogenesis. **Frontiers in Pharmacology**, v. 15, p. 1380098, 2024.

GONÇALVES, Rodrigo Noll *et al.* Plantas medicinais na atenção primária à saúde: riscos, toxicidade e potencial para interação medicamentosa. **Rev. APS**, p. 120-153, 2022.

GONDIM, Jacqueline Marques da Silva. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos no SUS e sua implementação por meio das farmácias vivas.** Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento – área de concentração: Tecnologia e Saúde) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2021. Disponível em: https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/423. Acesso em: 24 out. 2025.

GUEDES, Jhonyson Arruda Carvalho *et al.* GC-MS-based metabolomic profiles combined with chemometric tools and cytotoxic activities of non-polar leaf extracts of *Spondias mombin* L. and *Spondias tuberosa* Arr. Cam. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 2, p. 331-340, 2020.

HANAHAN, Douglas. Hallmarks of cancer: new dimensions. **Cancer discovery**, v. 12, n. 1, p. 31-46, 2022.

HANG, Abraham *et al.* Intravitreal anti-vascular endothelial growth factor therapies for retinal disorders. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 8, p. 1140, 2023.

JESWANI, Gunjan *et al.* Recent approaches for reducing hemolytic activity of chemotherapeutic agents. **Journal of Controlled Release**, v. 211, p. 10-21, 2015.

JIMÉNEZ, Miguel A. Alfaro *et al.* Phytochemical and Biological Characterization of the Fractions of the Aqueous and Ethanolic Extracts of *Parthenium hysterophorus*. **Separations**, v. 9, n. 11, p. 359, 2022.

JOLINIERE, Jean Bouquet de *et al.* Antiangiogenic therapy as a new strategy in the treatment of endometriosis? The first casereport. **Frontiers in Surgery**, v. 8, p. 791686, 2021.

KONERDING, Moritz A. *et al.* Spatial dependence of alveolar angiogenesis in post-pneumonectomy lung growth. **Angiogenesis**, v. 15, n. 1, p. 23-32, 2012.

LEE, Hyun Ji; HONG, Yong Jun; KIM, Miri. Angiogenesis in chronic inflammatory skin disorders. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 21, p. 12035, 2021.

LEZOUL, Nour El Houda *et al.* Extraction processes with several solvents on total bioactive compounds in different organs of three medicinal plants. **Molecules**, v. 25, n. 20, p. 4672, 2020.

LI, Xin-yu *et al.* Association of angiogenesis gene expression with cancer prognosis and immunotherapy efficacy. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 10, p. 805507, 2022.

LI, Zhiru *et al.* Angiogenic Factors and Inflammatory Bowel Diseases. **Biomedicines**, v. 13, n. 5, p. 1154, 2025.

LIMA, Maria Fernanda Ferreira *et al.* Avaliação toxicológica através do bioensaio com Artemia salina Leach de espécimes vegetais pertencentes à caatinga. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 6, p. 5950-5963, 2019.

LOZANO, Stefhania Alzate. **Terpenos de culturas *in vitro* de *Duroia saccifera* (Rubiaceae) e avaliação das atividades antibacteriana, antiangiogênica e antioxidante dos extratos.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2020. Disponível em: https://repositorio.inpa.gov.br/handle/1/12998. Acesso em: 16 out. 2024.

LU, Kai *et al.* Chebulinic acid is a safe and effective antiangiogenic agent in collagen-induced arthritis in mice. **Arthritis research & therapy**, v. 22, n. 1, p. 273, 2020.

MACHADO, Hussen *et al.* Flavonóides e seu potencial terapêutico:[revisão]. **Bol. Centro Biol. Reprod**, p. 39-33, 2008.

MAIA, Danielle O. *et al.* Nickel (II) chloride Schiff base complex: Synthesis, characterization, toxicity, antibacterial and leishmanicidal activity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 351, p. 109714, 2022.

MANSUR, Maria Cristina P. P. Reis *et al. In vitro* and *in vivo* evaluation of efficacy and safety of photoprotective formulations containing antioxidant extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 2, p. 251-258, 2016.

MARINA, Mihaela Elena *et al.* VEGF involvement in psoriasis. **Clujul medical**, v. 88, n. 3, p. 247, 2015.

MEDEIRO, Susan Gabrielly Pereira. **Avaliação do potencial antimicrobiano e toxicidade em diferentes partes do Trapiá (Crataeva tapia L.), provenientes do semiárido cearense.** Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2022. Disponível em: http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/70764. Acesso em: 23 out. 2025.

METIBEMU, Damilohun Samuel *et al.* Carotenoid isolates of *Spondias mombin* demonstrate anticancer effects in DMBA-induced breast cancer in Wistar rats through X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) antagonism and anti-inflammation. **Journal of Food Biochemistry**, v. 44, n. 12, p. e13523, 2020.

METIBEMU, Damilohun Samuel *et al.* VEGFR-2 kinase domain inhibition as a scaffold for anti-angiogenesis: Validation of the anti-angiogenic effects of carotenoids from *Spondias mombin* in DMBA model of breast carcinoma in Wistar rats. **Toxicology Reports**, v. 8, p. 489-498, 2021.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAM, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., & MCLAUGHLIN, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, 45(5), 31–34.

MIRZAAGHAEI, S. *et al.* Ferula gummosa Boiss flower and leaf extracts inhibit angiogenesis *in vitro*. **Indian journal of câncer**, v. 51, n. 4, p. 615-620, 2014.

MITCHELL, John David *et al.* Neotropical Anacardiaceae (cashew family). **Brazilian Journal of Botany**, v. 45, n. 1, p. 139-180, 2022.

MOON, Bo-Hyun; KIM, Younghwa; KIM, Soo-Young. Twenty years of anti- vascular endothelial growth factor therapeutics in neovascular age-related macular degeneration treatment. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 16, p. 13004, 2023.

MORAES JÚNIOR, Ricardo Costa de. **Desenvolvimento, caracterização e estudo de estabilidade de microemulsões para veiculação de fragrâncias.** Dissertação (Mestrado em Biociências) - Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, 2015. Disponível em: https://biocienciasims.ufba.br/sites/biocienciasims.ufba.br/files/ricardo_costa_de_moraes_junior.pdf. Acesso em: 23 out. 2025.

NASCIMENTO, Mônica Ribeiro Peixoto do. **Biologia floral e visitantes florais de *Spondias bahiensis* P. Carvalho, Van den Berg & M. Machado no Recôncavo Baiano**. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2023. Disponível em: https://ufrb.edu.br/pgcienciasagrarias/images/TESE_PPGCAGRA_-_MONICA_RIBEIRO_PEIXOTO_DO_NASCIMENTO.pdf. Acesso em: 21 out. 2025.

NGUTA, Joseph Mwanzia *et al.* Biological screening of Kenyan medicinal plants using *Artemia salina* l.(*artemiidae*). **Pharmacologyonline**, v. 2, n. 1, p. 458-478, 2011.

NOREN, David P. *et al.* Endothelial cells decode VEGF-mediated Ca2+ signaling patterns to produce distinct functional responses. **Science signaling**, v. 9, n. 416, p. ra20-ra20, 2016.

OGUNRO, Olalekan Bukunmi *et al.* Nutritional benefits, ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological properties and toxicity of Spondias mombin Linn: a comprehensive review. **Journal of Pharmacy and Pharmacology,** v. 75, n. 2, p. 162-226, 2023.

OLIVEIRA, Visêldo Ribeiro de *et al.*, *Spondias tuberosa*: umbu**.** *In:* CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F. G. C. (ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial***:* plantas para o futuro – região Nordeste. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, 2018. Cap. 5, p. 304–315. (Série Biodiversidade, 51). ISBN 978-85-7738-383-2. Disponível em: http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1103161. Acesso em: 24 out. 2025.

OTHMAN, Zulhabri *et al.* The Anti-Angiogenic Properties of *Morinda citrifolia*. L (Mengkudu) Leaves using chicken chorioallantoic membrane (CAM) assay. **Pharmacognosy Journal**, v. 11, n. 1, 2019.

PELL, Susan Katherine *et al.* Anacardiaceae. *In*: **Flowering plants. Eudicots: sapindales, cucurbitales, myrtaceae**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010. p. 7-50.

PEREIRA JÚNIOR, Lécio Resende *et al.* Espécies da caatinga como alternativa para o desenvolvimento de novos fitofármacos. **Floresta e Ambiente**, v. 21, p. 509-520, 2014.

PROFLORA – Jardim Botânico do Rio de Janeiro. *Spondias bahiensis*. Paulo Cezar Lemos de Carvalho, Cássio van den Berg & Marlon Câmara Machado. **Flora do Brasil/Proflora**, 2020. Disponível em: https://proflora.jbrj.gov.br/html/Spondias%20bahiensis_2020.html. Acesso em: 20 out. 2025.

RAHAMOOZ-HAGHIGHI, Samaneh *et al.* Anti-proliferative properties, biocompatibility, and chemical composition of different extracts of Plantago major medicinal plant. **Iranian Biomedical Journal**, v. 25, n. 2, p. 106, 2021.

RAJABI, Mehdi; MOUSA, Shaker A. The role of angiogenesis in cancer treatment. **Biomedicines**, v. 5, n. 2, p. 34, 2017.

RANJBAR, Kamal; FAYAZI, Bayan. Vascularisation of skeletal muscle. *In:* SAKUMA, Kunihiro (org.). **Muscle Cells – Recent Advances and Future Perspectives.** London: IntechOpen, 2019. Disponível em: https://www.intechopen.com/chapters/66964. Acesso em: 02 nov. 2025.

REY-BLANES, Cristina *et al. In vitro* evaluation of the antitumoral and antiangiogenic effects of extracts from *Spondias mombin* L. leaves. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 131, p. 110716, 2020.

RISAU, Werner. Mechanisms of angiogenesis. **Nature**, v. 386, n. 6626, p. 671-674, 1997.

ROCHA, Luiz Paulo Bezerra da *et al.* Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e44101018282-e44101018282, 2021.

SÁ, Larissa de Lima *et al.* Strategies for the evaluation of the eye irritation potential of different types of surfactants and silicones used in cosmetic products. **Toxicology *in Vitro***, v. 81, p. 105351, 2022.

SÁ-FILHO, Geovan Figueirêdo de *et al.* Plantas medicinais utilizadas na caatinga brasileira e o potencial terapêutico dos metabólitos secundários: uma revisão. **Research, society and development**, v. 10, n. 13, p. e140101321096-e140101321096, 2021.

SAGAR, SM; YANCE, D.; WONG, RK Produtos naturais para a saúde que inibem a angiogênese: uma fonte potencial para novos agentes experimentais para tratar o câncer — Parte 1. **Current oncology** , v. 13, n. 1, p. 14, 2006.

SANTOS, Antonia Thassya Lucas dos. **Análise química e efeito antifúngico de *Spondias tuberosa* Arruda (umbu) frente a leveduras do gênero *Candida*.** Dissertação (Mestrado em Etnobiologia e Conservação da Natureza) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Crato, 2020. Disponível em: http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/handle/tede2/9316. Acesso em: 24 out. 2025.

SANTOS, Antonia Thassya Lucas dos *et al.* UPLC-MS-ESI-QTOF analysis and antifungal activity of the *Spondias tuberosa* Arruda leaf and root hydroalcoholic extracts. **Antibiotics**, v. 8, n. 4, p. 240, 2019.

SANTOS, Viviane Nunes dos *et al.* Diversity and genetic structure of *Spondias tuberosa* (Anacardiaceae) accessions based on microsatellite loci. **Revista de Biología Tropical**, v. 69, n. 2, p. 640-648, 2021.

SANTOS-FILHO, Luiz G. A. *et al.* Phytochemical Composition and Evaluation of Acute Toxicity, Antioxidant, and Antibacterial Activities of *Spondias mombin* L. and Myracrodruon urundeuva Allemão Ethanolic Extracts Against Vibrio parahaemolyticus. **Chemistry & Biodiversity**, p. e00534, 2025.

SENGKHUI, Siriwan; KLUBTHAWEE, Natthaporn; AUNPAD, Ratchaneewan. A novel designed membrane-active peptide for the control of foodborne Salmonella enterica serovar Typhimurium. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 3507, 2023.

SILVA, Anna Júllia Bezerra da. **Extração de polifenóis do bagaço de umbu-cajá (*Spondias bahiensis*) assistida por ultrassom para aplicação em almôndega caprina: efeitos na estabilidade oxidativa e bioacessibilidade**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2023. Disponível em: https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/31469. Acesso em: 23 out. 2025.

SILVA, João Victor da Silva. **Avaliação da atividade *in vitro* e *in vivo* de flavonoides de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlot contra *Leishmania amazonensis* em modelo murino.** Tese (Doutorado em Medicina Tropical) - Ministério da Saúde; Fundação Oswaldo Cruz; Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: https://arca.fiocruz.br/handle/icict/53315. Acesso em: 23 out. 2025.

SILVA, Kelvyn Kennedy de Figueiredo. **Complexos de Pd (II)-tipo Melofen com duplo efeito: anticancerígeno e antiangiogênico.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Enfermagem) — Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2023. Disponível em: https://dspace.sti.ufcg.edu.br/handle/riufcg/28988. Acesso em: 24 out. 2025.

SINGH, Nitin *et al.* Inflammation and cancer. **Annals of African medicine**, v. 18, n. 3, p. 121-126, 2019.

SIQUEIRA, Emerson Michell da Silva *et al. Spondias tuberosa* (Anacardiaceae) leaves: profiling phenolic compounds by HPLC-DAD and LC–MS/MS and *in vivo* anti-inflammatory activity. **Biomedical Chromatography**, v. 30, n. 10, p. 1656-1665, 2016.

SUBRAMANIAM, Noeline; VAEZZADEH, Nima. **The Process of Sprouting Angiogenesis in a Healthy Blood Vessel**. BioRender, 2024. Disponível em: https://app.biorender.com/. Acesso em: 21 out. 2025.

SUGIMOTO, Masahiko *et al.* Clinical preferences and trends of anti-vascular endothelial growth factor treatments for diabetic macular edema in Japan. **Journal of Diabetes Investigation**, v. 10, n. 2, p. 475-483, 2019.

TEIXEIRA, Jaqueline Barbosa; RODRIGUES, Maria Regilane de Sousa; SANTOS, Renata Paiva dos. Avaliação fitoquímica qualitativa de extratos da folha e caule da *Spondias purpúrea* L.(seriguela)–um estudo Preliminar. *In:* **CONGRESSO INTERNACIONAL DA DIVERSIDADE DO SEMIÁRIDO**. 2016.

UCHÔA, Amanda Dias de Araújo *et al.* Antioxidant activity and phytochemical profile of *Spondias tuberosa* Arruda leaves extracts. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, n. 19, p. 3038, 2015.

VIEIRA JUNIOR, Francisco Ubaldo *et al.* Hemólise na circulação extracorpórea: correlação com tempo e procedimentos realizados. **Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery**, v. 27, p. 535-541, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review**. Geneva: World Health Organization, 1998.

WANG, Yan; WU, Hong; DENG, Ran. Angiogenesis as a potential treatment strategy for rheumatoid arthritis. **European journal of pharmacology**, v. 910, p. 174500, 2021.

WANG, Zixiao *et al.* Discovery of novel VEGFR2 inhibitors against non-small cell lung cancer based on fingerprint-enhanced graph attention convolutional network. **Journal of Translational Medicine**, v. 22, n. 1, p. 1097, 2024.

YANG, Fan; LEE, Gloria; FAN, Yi. Navigating tumor angiogenesis: therapeutic perspectives and myeloid cell regulation mechanism. **Angiogenesis**, v. 27, n. 3, p. 333-349, 2024.

ZANI, Ana Carolina Tagliatti *et al.* Impact of bevacizumab on experimentally induced endometriotic lesions: Angiogenesis, invasion, apoptosis, and cell proliferation. **Reproductive Sciences**, v. 27, n. 10, p. 1943-1950, 2020.

ZAPPAVIGNA, Silvia *et al.* Anti-inflammatory drugs as anticancer agents. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 7, p. 2605, 2020.

ZARDETO-SABEC, Giuliana *et al.* Plantas medicinais como alternativa no tratamento do câncer. **Brazilian Journal of Surgery & Clinical Research**, v. 27, n. 3, 2019.

ZHANG, Run *et al.* Mechanisms of angiogenesis in tumour. **Frontiers in Oncology**, v. 14, p. 1359069, 2024.

ANEXOS

Anexo 1 - Parecer consubstanciado do CEP/CES

CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE - CES/UFCG

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Determinação do potencial efeito antiangiogênico de produtos naturais (e seus derivados) de plantas nativas do Brasil

Pesquisador: Bruna Braga Dantas

Área Temática: Equipamentos e dispositivos terapêuticos, novos ou não registrados no País;

Versão: 1

CAAE: 77866323.3.0000.0154

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE APOIO A PESQUISA DO ESTADO DA PARAIBA - FAPES

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.728.938

Apresentação do Projeto:

O câncer é uma das principais causas de mortalidade no mundo, que se caracteriza pelo crescimento desordenado de células que podem invadir tecidos adjacentes ou órgãos mais distantes.

Nesta busca por novas alternativas terapêuticas para o tratamento do câncer, compostos naturais despertam grande interesse. Entre as pesquisas mais promissoras sobre possíveis compostos com propriedades antineoplásicas, destacam-se aquelas que visam inibir a proliferação anormal do tumor, conhecido como angiogênese, processo em que há a formação de novos vasos sanguíneos, através da germinação de brotos endoteliais a partir de vasos preexistentes, e está presente em vários processos fisiológicos e patológicos do organismo. Levando em consideração a capacidade angiogênica das células tumorais, que permitem a sobrevivência e crescimento do câncer, e o potencial farmacológico ainda pouco explorado de diversos produtos naturais e seus derivados, além da falta de estudos que avaliem o potencial antitumoral voltados para o processo de angiogênese dessas moléculas.

O objetivo dessa pesquisa é estudar o potencial antiangiogênico de produtos naturais e seus derivados na intenção de desenvolver novas terapias de controle e combate ao câncer. A pesquisa será executada nos laboratórios do Centro de Educação e Saúde (CES) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), campus de Cuité, Paraíba.

Endereço: Rua Profª. Maria Anita Furtado Coelho, S/N, Sítio Olho D¿Água da Bica, Bloco: Central de Laboratórios de
Bairro: DISTRITO DE MELO **CEP:** 58.175-000
UF: PB **Município:** CUITE
Telefone: (83)3372-1835 **E-mail:** cep.ces.ufcg@gmail.com

Infraestrutura	TERMO_ANUENCIA_ASSINADO.pdf	18/12/2023 11:35:32	JANARACY LIMA DA COSTA MARINHO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TERMO_ANUENCIA_ASSINADO.pdf	18/12/2023 11:35:32	JANARACY LIMA DA COSTA MARINHO	Recusado
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	18/12/2023 11:34:49	JANARACY LIMA DA COSTA MARINHO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	18/12/2023 11:34:49	JANARACY LIMA DA COSTA MARINHO	Postado
Declaração de Pesquisadores	11122023_TERMO_DE_COMPROMISSO_DO29_PESQUISADOR29_assinado.pdf	18/12/2023 11:34:34	JANARACY LIMA DA COSTA MARINHO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_CEP.pdf	18/12/2023 11:34:21	JANARACY LIMA DA COSTA MARINHO	Aceito
Folha de Rosto	11122023_folhaderosto_assinado.pdf	18/12/2023 11:34:07	JANARACY LIMA DA COSTA MARINHO	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Sim

CUITE, 27 de Março de 2024

Assinado por:
MARIA EMÍLIA DA SILVA MENEZES
(Coordenador(a))

Anexo 2 – Comprovante de registro de patrimônio genético

Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
Cadastro nº A99A1BB

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro:	**A99A1BB**
Usuário:	**Joanderson Santos de Morais**
CPF/CNPJ:	**707.028.054-83**
Objeto do Acesso:	**Patrimônio Genético**
Finalidade do Acesso:	**Pesquisa**

Espécie

Spondias tuberosa
Spondias bahiensis

Título da Atividade:	**BIOPROSPECÇÃO DE EXTRATOS DO GÊNERO Spondias spp.: ESTUDO DA TOXICIDADE E DO POTENCIAL ANTIANGIOGÊNICO**

Equipe

Bruna Braga Dantas	**UFCG**
Joanderson Santos de Morais	**UFCG**

Data do Cadastro:	**29/03/2025 22:39:08**
Situação do Cadastro:	**Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **22:39** de **29/03/2025**.

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO - SISGEN