

Avaliação da atividade angiogênica da solução aquosa da *Tabebuia impetiginosa* (Ipê-roxo)

*Evaluation of the angiogenic activity of the aqueous solution of *tabebuia impetiginosa* (purple Ipe)*

Paulo Sávio Paim de Moraes¹, Carolyn de Sousa Carvalho², Dwight Assis Chaves³, Maria Alice Montes de Sousa³, Susy Ricardo Lemes⁴, Lilhian Alves de Araújo⁴, Fátima Mrué², Paulo Roberto de Melo-Reis⁵,

- 1 Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Mestrado em Genética. Praça Universitária com 1ª avenida (esq. com Rua 235) – Setor Universitário. CEP 74605-010 – Goiânia – GO.
- 2 Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Escola de Ciências Médicas, Farmacêuticas e Biomédicas. Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde. 1ª Avenida, 1069 – Setor Universitário. CEP 74605-020 – Goiânia - GO.
- 3 Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde. Rua 232, 128, 3º andar – Setor Universitário. CEP 74605-140 – Goiânia – GO.
- 4 Universidade Federal de Goiás. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Biodiversidade. Rua 235, s/n - Setor Universitário. CEP 74605-050 – Goiânia – GO.
- 5 Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Laboratório de Estudos Experimentais e Biotecnológicos. Rua 232, 128, 3º andar – Setor Universitário. CEP 74605-140 – Goiânia – GO.

Resumo: A *Tabebuia impetiginosa* é uma planta conhecida popularmente como ipê-roxo, encontrada na América do Sul e Central e amplamente distribuída no cerrado brasileiro. A casca da planta apresenta componentes químicos que possuem ação anti-inflamatória, antitumoral, antibacteriana e antifúngica, podendo ser utilizada no tratamento de diversas enfermidades. Com base no potencial terapêutico que os componentes químicos extraídos da casca da planta podem oferecer, o presente estudo teve por objetivo avaliar a atividade angiogênica da *Tabebuia impetiginosa* (Ipê-roxo). A possível atividade angiogênica da planta foi avaliada pelo ensaio da membrana corio-alantoide (MCA) de ovos embrionados de galinha. O experimento evidenciou um aumento da rede vascular ($p < 0,05$) das MCAs em relação aos controles neutro (H₂O) e inibidor (Dexametazona) pelo uso da solução aquosa do ipê-roxo na concentração de 10 mg/ml, inferindo deste modo, que esta substância possui atividade angiogênica.

Palavras-chave: *Tabebuia impetiginosa*. Ipê-roxo. Atividade angiogênica. Membrana corio-alantoide.

Abstract: The *Tabebuia impetiginosa* is a plant popularly known as Purple Ipe, found in South and Central Americas and variably distributed in the Brazilian Cerrado. The plant's bark presents chemical components with anti-inflammatory, antitumor, antibacterial and antifungal actions, being able to be utilized in several infirmities. Based on therapeutic potential that the tree's bark can offer, the present study had its objective set on avail of the angiogenesis capacity of the *Tabebuia impetiginosa* by the chorioallantoic membrane (CAM) assay in embryonated hen eggs. The experiment showed an increase in vascular nets ($p < 0,05$) from CAMs related to the negative controls (H₂O) and inhibitor (Dexamethasone) by the use of aqueous solution at 10 mg/dL of the purple Ipe, inferring that this substance possesses an angiogenic action.

Keywords: *Tabebuia impetiginosa*. Purple Ipe. Angiogenic activity. Chorioallantoic membrane.

INTRODUÇÃO

O processo de formação de novos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes é denominado angiogênese. A angiogênese consiste em uma série de eventos coordenados envolvendo a proliferação e migração de células endoteliais, realinhamento das células, formação de vasos e produção de uma nova membrana basal¹. A angiogênese é comum em processos fisiológicos e em processos patológicos, sendo caracterizados como benéficos ou prejudiciais; benéficos, participando do processo de cicatrização tecidual, regeneração de órgãos, formação do corpo lúteo, regeneração do endométrio após o ciclo menstrual e na formação da placenta²⁻⁴; e prejudiciais, promovendo o crescimento de tumores e metástases, além de estarem envolvidos em outras complicações, como na artrite, isquemia e na retinopatia diabética²⁻⁵.

A angiogênese é um mecanismo estimulado pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), uma citocina que está diretamente relacionada a processos inflamatórios e imunes, fazendo com que ocorra a migração de células endoteliais e formação de novos capilares. Moléculas como o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), *fator transformador de crescimento* beta (TGF- β), angiogenina, angiotropina e angiopoetina, também são consideradas como estimuladoras de angiogênese, assim como ácidos láticos, aminas bioativas em quantidades elevadas e a baixa tensão de O₂. A formação de novos vasos é fundamental para o suprimento de oxigênio e nutrientes para o metabolismo celular^{6,7}.

A utilização de substâncias de origem natural sempre foi um hábito frequente na cultura dos mais diferentes povos desde os tempos mais remotos, em que tribos primitivas extraíam princípios ativos de plantas para utilizá-las no tratamento de enfermidades⁸. As plantas são fontes importantes de produtos com potencial terapêutico, visto que servem de princípio ativo para vários fármacos disponíveis no mercado. O Brasil tem uma grande biodiversidade, com cerca de 100.000 espécies catalogadas, mas apenas 8% foram estudadas e somente 1.100 em relação ao potencial medicinal⁹. Estudos vêm sendo realizados com o intuito de descobrir espécies de plantas com componentes químicos capazes de induzir angiogênese, pois essas substâncias podem ser utilizadas no tratamento de diversas doenças, no tratamento de feridas e até mesmo na substitui-

ção parcial de grandes arteriais¹⁰.

Vários tipos de plantas têm estimulado o mecanismo de angiogênese, como, por exemplo, o látex de *Synadenium umbellatum*, “Cola-nota”; o óleo essencial de *Schinus terebinthifolius raddi*, “Aroeira”; o óleo de *Copaifera spp*, “Copaíba”; o látex de *Hevea brasiliensis*, “seringueira”; o extrato bruto de raízes de *Memora nodosa*, “Silva Manso”; o extrato etanólico de *Terminalia bellirica*, *Ginkgo biloba*, *Aloe vera*, *Angélica sinensis*, *Dalbergia odorifera*, *Epimedium sagittatum*, *Patrinia villosa*, *Trichosanthes kirilowii*, dentre outras²⁻¹¹⁻¹²⁻¹³.

A *Tabebuia impetiginosa* é uma planta popularmente conhecida como ipê-roxo, pertencente à família Bignoniaceae de porte arbóreo, é também conhecida como pau-d’arco e ipê-roxo-de-bola. Esta planta é encontrada na América do Sul e América Central e em áreas como Nordeste, Sudeste e cerrado brasileiro¹⁴. A casca da planta vem sendo utilizada com finalidade terapêutica, para o tratamento de doenças como úlcera, sífilis e diabetes¹⁵. A casca da *Tabebuia impetiginosa* apresenta componentes químicos importantes como as furano-naftoquinonas, quinonas, naftoquinonas, ácido benzoico, derivados de benzaldeído, dialdeídos, ciclo-penteno e flavonoides. A naftoquinona beta-lapachona, presente na casca da planta, tem demonstrado efeitos antitumorais, anti-inflamatórios, antibacterianos, antifúngicos, dentre outros efeitos terapêuticos¹⁶⁻¹⁷.

Com base nisso, o presente estudo tem por objetivo avaliar a possível atividade angiogênica da *Tabebuia impetiginosa* (Ipê-roxo), através do ensaio da membrana corio-alantóide (MCA) de ovos embrionados de galinha.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Solução aquosa da *Tabebuia impetiginosa* (Ipê-roxo)

A casca do ipê-roxo foi adquirida no Mercado Central de Goiânia. Foi utilizada uma balança de precisão para pesar 10 gramas da casca. Posteriormente, para obtenção da dose da solução aquosa do ipê-roxo, foi adicionado 1 litro de água destilada em balão volumétrico junto a 10 gramas da casca da planta. Deste modo, foi realizado o processo de infusão (chá) em temperatura de 100 C° durante 10 minutos, seguido de repouso por 10 minutos. Ressalta-se que na avaliação

da atividade angiogênica, foi utilizada apenas a infusão obtida com 10 gramas da casca do ipê-roxo.

2. Ovos embrionados

Foram analisadas 60 amostras de membrana corio-alantoide (MCA) de ovos férteis de galinha da espécie *Gallus domesticus*, linhagem Rhoss. A membrana corio-alantoide (MCA) do ovo embrionado de galinha é altamente vascularizada, composta por artérias e veias que se desenvolvem dentro do ovo e são formadas pela fusão do córion (mesoderma somático) com a alantoide (mesoderma esplânico). Possui função primordial de promover trocas gasosas para sobrevivência do embrião, sendo formada durante o 4º e o 6º dia de desenvolvimento embrionário¹⁸. A alta taxa de vascularização e o baixo custo tornam esse material adequado para o estudo. Foram distribuídas 15 amostras para o controle positivo, 15 para o negativo, 15 para o inibidor e 15 para a substância teste.

3. Procedimento experimental para avaliação da atividade angiogênica

Os ovos embrionados de galinha foram incubados em estufa automática à temperatura de 38°C, com umidade a 65% e deslocados lateralmente a cada 15 minutos, durante os cinco primeiros dias de incubação. No quinto dia de incubação foi realizada, na casca do ovo, uma abertura circular (1,0 cm de diâmetro) em sua base maior com auxílio de uma microrretífica¹⁹. O procedimento ocorreu dentro de uma câmara de fluxo laminar, em ambiente previamente esterilizado com luz ultravioleta.

Após a abertura na casca do ovo, com o uso de uma seringa estéril, foi depositada uma gota (NaCl 0,9%) sobre a membrana da casca a fim de auxiliar sua retirada e expor a membrana corio-alantoide (MCA) já vascularizada. A abertura, então, foi lacrada com fita adesiva transparente (Figura 1) e os ovos retornaram à incubadora, porém, sem agitação periódica e com a base maior voltada para cima.

No 13º dia de incubação, discos de papel de filtro com 0,5 cm de diâmetro, veiculando 3 µL/filtro da solução aquosa do ipê-roxo e com os controles negativo (água destilada), inibidor (solução de dexametasona) e positivo



Figura 1. Visão da base maior do ovo com fita adesiva transparente lacrando a abertura realizada para exposição da MCA

(Rege Derm®) foram colocados diretamente sobre vasos da membrana corio-alantoide. Todos os ovos voltaram para a incubação, onde permaneceram até o 16º dia¹⁹.

Posteriormente, foi depositada dentro dos ovos solução de formol (10%) por 5 minutos, após os 5 minutos e, com uma tesoura cirúrgica fina, foram cortadas as laterais dos ovos e, com o auxílio de uma pinça, foram retiradas as membranas corio-alantoides (MCAs) que então foram depositadas em placa de Petri com solução de formol. Após isso, foram obtidas por equipamento digital as imagens das membranas.

4. Obtenção da imagem e mensuração automatizada da rede vascular

As imagens das membranas foram obtidas sobre um fundo azul claro, em tamanho 640x480 pixels e formato de RGB 24 bites, padronizados para posterior análise e quantificação da rede vascular formada. A quantificação da rede vascular foi realizada por meio da determinação da área percentual de cada ensaio. Foi utilizado o programa Imagem J (versão 1.28).

As imagens foram preparadas de forma que a saturação, brilho e contraste permitiram uma melhor resolução dos vasos sanguíneos, que foram quantificados em pixels correspondentes.

A quantidade dos pixels selecionada é proporcional ao nível de vascularização do campo de imagem capturada^{20,21}. Pixels são pontos que geram a impressão óptica de preenchimentos sólidos²².

5. Análise estatística

Para analisar a atividade angiogênica da solução aquosa da *Tabebuia impetiginosa*, as porcentagens das áreas obtidas da MCA dos grupos tratados e controles foram comparados por Krushal-Wallis (análise de variância) e posteriormente foi feita comparação múltipla (Método de Dunn). O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

RESULTADOS

Os resultados obtidos a partir da análise da rede vascular formada nas MCAs tratadas com as substâncias teste e controle foram analisados pelo método de cálculo das áreas percentuais e comparação das redes vasculares dos controles e do teste.

Na tabela 1 verifica-se que o percentual médio da rede vascular de amostras de MCA tratadas com o controle positivo foi de 49,9% e as membranas tratadas com o ipê-roxo (10 mg/ml) apresentaram média de 45,5%. Estes dados demonstram que o ipê-roxo promoveu um aumento na área vascular das MCAs; no entanto, o aumento obtido não apresenta diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparado ao controle positivo.

Por outro lado, é verificado que a vascularização média obtida em amostras tratadas com ipê-roxo apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao percentual obtido em membranas dos controles neutro (31,4%) e inibidor (11,7%). Quando comparados os controles positivo e neutro, foi detectada diferença estatística significativa ($p < 0,05$). As MCAs tratadas com o controle inibidor apresentaram significativa redução da vascularização ($p < 0,05$) em relação aos controles neutro e positivo.

Tabela 1. Percentagem da vascularização da MCA, com média e desvio padrão dos controles e do tratamento com a solução aquosa do Ipê-roxo na concentração de 10 mg/ml

Nº	Controle positivo (Rege- derm®)	Controle Neutro (H ₂ O)	Controle negativo (Dexa- metazona)	Teste (Ipê-roxo 10 mg/ml)
1	51,2	30,1	10,1	44,4
2	48,7	34,6	15,3	48,6
3	56,3	33,6	14,8	39,9
4	48,4	38,5	15,8	40,1
5	52,9	25,8	12,4	52,5
6	53,7	33,1	11,9	41,2
7	44,9	28,7	10,8	47,3
8	43,4	26,5	9,5	48,6
9	50,7	29,9	10,5	40,8
10	55,2	31,3	12,9	46,5
11	51,7	31,2	9,2	48,1
12	49,2	29,3	10,4	52,5
13	45,4	33,4	11,3	42,7
14	45,8	32,8	9,5	49,4
15	50,6	31,6	10,6	40,3
Média	49,9	31,4	11,7	45,5
D. Padrão	3,8	3,2	2,2	4,5

Na Figura 2, é possível observar a rede vascular dos controles e teste. A solução aquosa do ipê-roxo, concentração de 10 mg/ml, apresentou um aumento significativo na formação vascular, indicando atividade angiogênica.

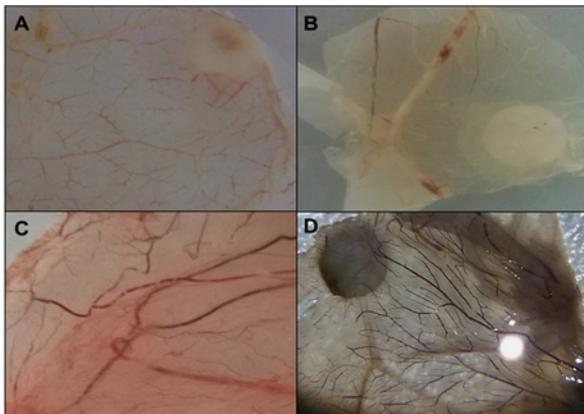


Figura 2. Visão da rede vascular formada nas MCAs de ovos embrionados de galinha após tratamento com a solução aquosa de ipê-roxo e os controles. A – Controle neutro; B - Controle inibidor; C – Controle indutor; D – Teste

Os dados apresentados na Figura 2 evidenciam as diferenças significativas detectadas na comparação entre o percentual médio de vascularização, obtido em MCAs tratadas com a solução aquosa do ipê-roxo e os controles positivo, neutro e inibidor.

A média percentual de vascularização, observada nas MCAs tratadas com o controle positivo, foi superior a 40%. Em amostras que receberam o controle neutro, o valor foi inferior a 40%. Com o uso do controle inibidor, o percentual médio foi menor que 20%, e com a solução aquosa do ipê-roxo, o valor médio da vascularização obtida nas amostras também foi superior a 40%.

Desse modo, verificou-se que o ipê-roxo apresentou um aumento significativo na formação da rede vascular de MCAs, evidenciado assim que essa substância apresenta atividade angiogênica.

DISCUSSÃO

A utilização de plantas para fins medicinais é comum há séculos em culturas ocidentais e orientais. O crescente interesse por plantas medicinais se deve aos componentes que as mesmas produzem, podendo ser utilizadas na prática para tratamento de infecções. Se-

gundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% dos países em desenvolvimento utilizam a medicina tradicional para o tratamento de doentes, através dos componentes ativos e extratos das plantas²³.

A casca da planta *Tabebuia impetiginosa* possui componentes químicos importantes para tratamento de infecções; segundo a literatura, alguns flavonoides apresentam atividade cicatrizante em lesões induzidas cirurgicamente em camundongos, as naftoquinonas *Lapachol* e β *Lapachona* são também consideradas importantes compostos de ação cicatricial²⁴⁻²⁵.

Os resultados obtidos através do estudo mostram que a solução aquosa da *Tabebuia impetiginosa* (Ipê-roxo), na concentração de 10mg/ml, promoveu atividade angiogênica em MCAs de ovos embrionados de galinha. O percentual médio de vascularização obtido nas membranas que foram tratadas com a solução aquosa da *Tabebuia impetiginosa* foi de 45,5%, o controle positivo apresentou percentual de 49,9%, o que demonstra que o ipê-roxo promoveu angiogênese nas MCAs tratadas, entretanto, sem diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparado ao controle positivo. Já ao comparar o percentual médio de vascularização nas membranas tratadas com a solução do ipê-roxo, com os controles inibidor (11,7%) e neutro (31,4%) houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Considerando que não foram encontrados estudos relacionados à atividade angiogênica da solução aquosa da *Tabebuia impetiginosa* (ipê-roxo) pelo ensaio da MCA, os resultados deste estudo apresentam um ineditismo na literatura.

Foram detectados que outras espécies vegetais como o látex das espécies *Hancornia speciosa*, *Synadenium umbellatum*, *Euphorbia trucalli*, *Hevea brasiliensis* e o extrato etanólico das flores da *Calendula officinalis*, utilizando o ensaio da MCAs de ovos embrionados de galinha, promoveram angiogênese^{26,27}.

Os componentes extraídos do ipê-roxo podem ser utilizados para auxiliar no tratamento de doenças que acometem a pele, auxiliando principalmente no processo de cicatrização de feridas, pois o mecanismo de angiogênese está diretamente relacionado ao processo de cicatrização de feridas cutâneas. Segundo Coelho e colaboradores, o extrato do ipê-roxo é capaz de promover completa epitelização em feridas cutâneas induzidas em camundongos²⁸. Os resultados obtidos no presente estudo referentes ao efeito angiogênico do

ipê-roxo reafirma os resultados da pesquisa de Coelho e colaboradores a respeito do potencial cicatrizante dessa planta.

Os resultados apresentados no estudo indicam que o aumento da rede vascular das MCAs tratadas com a solução aquosa da *Tabebuia impetiginosa* (Ipê-roxo), se deve a seus compostos presentes principalmente na casca dessa espécie vegetal¹⁶. Os dados encontrados relativos à composição fotoquímica da casca da *Tabebuia impetiginosa*, somados às atividades cicatríticas promovidas por tais compostos, e os resultados detectados neste estudo, inferem que a solução aquosa

da casca do ipê-roxo, apresenta compostos que promovem o aumento vascular na MCA de ovos embrionados de galinha.

Pode-se concluir, através do presente estudo, que a solução aquosa da *Tabebuia impetiginosa* (Ipê-roxo) apresentou atividade angiogênica significativa em membrana corio-alantoide (MCA) de ovos embrionados de galinha. Diante disto, pode-se considerar que essa substância é um potencial alvo terapêutico, visto que o mecanismo de angiogênese é responsável pelo crescimento de novos vasos sanguíneos.

REFERÊNCIAS

1. FOLKMAN, J. 2003. Fundamental concepts of the angiogenic process. *Current Molecular Medicine* 3:643-651.
2. ARAÚJO, L. A., ASSUNÇÃO, L. A., SILVA JR, N. J., LEMES, S. R. & MELO-REIS, P. R. 2015. Angiogenic activity of sucupira (*Pterodon emarginatus*) oil. *Scientia Medica* 25:1-7.
3. KRUPINSKI, J., STROEMER, P., SLEVIN, M., MARTI, E., KUMAR, P. & RUBIO, F. 2003. Three-dimensional structure and survival of newly formed blood vessels after focal cerebral ischemia. *Neuroreport* 14:1171-1176.
4. SLEVIN, M., KRUPINSKI, J., KUMAR, P., GAFFNEY, J. & KUMAR, S. 2005. Gene activation and protein expression following ischaemic stroke: Strategies towards neuroprotection. *Journal of Cellular And Molecular Medicine* 9:85-102.
5. SLEVIN, M., KUMAR, P., GAFFNEY, J., KUMAR, S. & KRUPINSKI, J. 2006. Can angiogenesis be exploited to improve stroke outcome? Mechanisms and therapeutic potential. *Clinical Science* 111:171-183.
6. MENDONÇA, R. J. & COUTINHO-NETTO, J. 2009. Aspectos celulares da cicatrização. *Anais Brasileiros de Dermatologia* 84:257-262.
7. VITALE, R. F. & RIBEIRO, F. A. Q. 2007. O papel do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no processo de erosão óssea presente no colesteatoma adquirido da orelha média. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia* 73:123-127.
8. FRANÇA, I. S. X., SOUZA, J. A., BAPTISTA, R. S. & BRITTO, V. R. S. 2008. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. *Revista Brasileira de Enfermagem* 61: 201-208.
9. NICOLETTI, M. A., CARVALHO, K. C., OLIVEIRA JR, M. A., BERTASSO, C. C., CAPOROSSI, P. Y. & TAVARES, A. P. L. 2010. Uso popular de medicamentos contendo drogas de origem vegetal e/ou plantas medicinais: Principais interações decorrentes. *Revista Saúde* 4:25-39.
10. BESSA, G., MELO-REIS, P. R., ARAÚJO, L. A., MRUÉ, F., FREITAS, G. B., BRANDÃO, M. L. & SILVA JR, N. J. 2015. Angiogenic activity of latex from *Euphorbia tirucalli* Linnaeus 1753 (Plantae, Euphorbiaceae). *Brazilian Journal of Biology* 75: 752-758.
11. CHOI, S., KIM, K. W., CHOI, J. S., HAN, S. T., PARK, Y. I., LEE, S. K., KIM, J. S. & CHUNG, M.H. 2002. Angiogenic activity of beta-sitosterol in the ischaemia/reperfusion-damaged brain of mongolian gerbil. *Planta Medica* 68:330-335.
12. JUÁREZ, C. P. MUIÑO, J. C., GUGLIELMONE, H., SAMBUELLI, R., ECHENIQUE, J. R., HERNÁNDEZ, M. & LUNA, J. D. 2000. Experimental retinopathy of prematurity: Angiostatic inhibition by imodipine, Ginkgo-Biloba, and dipyridamole, and response to different growth factors. *European Journal of Ophthalmology* 10:51-59.

13. WANG, S., ZHENG, Z., WENG, Y., YU, Y., ZHANG, D., FAN, W., DAI, R. & HU, Z. 2004. Angiogenesis and anti-angiogenesis activity of Chinese medicinal herbal extracts. *Life Science* 74:2467-2478.
14. GEMAQUE, R. C. R., DAVIDE, A. C. & FARIA, J. M. R. 2002. Indicadores de maturidade fisiológica de sementes de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.). *Cerne* 8:84-91.
15. WARASHINA, T., NAGATANI, Y. & NORO, T. 2006. Constituents from the bark of *Tabebuia impetiginosa*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 54: 14-20.
16. PARK, B. S., LEE, K. G., SHIBAMOTO, T., LEE, S. & TAKEOKA, G. R. 2003. Antioxidant activity and characterization of volatile constituents of Taheebo (*Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 295-300.
17. LOURENÇO, J. A., PITANGUI, C. P., JORDÃO, A. A., VANNUCCHI, H. & CECCHI, A. O. 2010. Ausência de mutagenicidade e antimutagenicidade do extrato obtido das flores do ipê roxo [*Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl.]. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 12:414-420.
18. EGOSHI, C. T., ZERBINI, D., UTUMI, P. H., STUELP-CAMPELO, P. M., ZISCHLER, L. C. M., AMARAL, A. N. M. & ELIFIO-ESPOSITO, S. 2015. Quantificação da angiogênese induzida por tumor em membrana corioalantóica de embrião de galinha. *Bioscience Journal* 31:303-310.
19. RIBATTI, R., VACCA, A., RONCALI, L. & DAMMACCO, F. 1996. The chick embryo chorioallantoic membrane as a model for in vivo research on angiogenesis. *International Journal of Developmental Biology* 40:1189-1197.
20. MENDONÇA, R. J. 2004. Caracterização biológica de uma fração angiogênica do látex natural da seringueira – *Hevea brasiliensis*. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. 85 p.
21. DOUKAS, C. N., MAGLOGIANNIS, I., CHATZIOANNOU, A. & PAPAPETROPOULOS, A. 2006. Automated angiogenesis quantification through advanced image processing techniques. Conference Proceedings IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. 1: 2345-2348.
22. MANSUR, P. H. G., CURY, L. K. P., DESTRO-FILHO, J. B., RESENDE, E. S., DESTRO, J. P. B., OLIVEIRA, L. M., MORAES, D. C. G. & FREITAS, G. R. R. 2006. Análise de registros eletrocardiográficos associados ao infarto agudo do miocárdio. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 87:106-114.
23. MARQUES, V. & FARAH, A. 2009. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. *Food Chemistry* 113:1370-1376.
24. VIEIRA, A. P., SANTOS, N. R., BORGES, J. H. S., VINCENZI, M. P. A. & SCHMITZ, W. O. 2008. Ação dos flavonoides na cicatrização por segunda intenção em feridas limpas induzidas cirurgicamente em ratos Wistar. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde* 29:65-74.
25. BUSTAMANTE, A. A. B., ALVES, M. T. S., OLIVEIRA, F. C. F., ELIODORIO, M. E. A., ALVES, M. C. S. & SANTANA, M. D. R. 2014. Ações terapêuticas do lapachol. Resumo da VI Semana de Iniciação Científica da Faculdade de Juazeiro do Norte, Ceará.
26. ALMEIDA, L. M., FLORIANO, J. F., RIBEIRO, T. P., MAGNO, L. N., MOTA, L. S. L. S., PEIXOTO, N., MRUÉ, F., MELO-REIS, P., LINO JR, R. S., GRAEFF, C. F. O & GONÇALVES, P. J. 2014. *Hancornia speciosa* latex for biomedical applications: physical and chemical properties, biocompatibility assessment and angiogenic activity. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 25:2153-2162.
27. MELO-REIS, P. R., ANDRADE, L. S., SILVA, C. B., ARAÚJO, L. M. M., PEREIRA, M. S., MRUÉ, F. & CHEN-CHEN, L. 2010. Angiogenic activity of *Synadenium umbellatum* Pax látex. *Brazilian Journal of Biology* 70:189-194.
28. COELHO, J. M., ANTONIOLLI, A. B., SILVA, D. N., CARVALHO, T. M. M. B, PONTES, E. R. J. C., ODASHIRO, A. N. 2010. O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões* 37:45-51.