



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA - RENORBIO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

SÁVIA FRANCISCA LOPES DIAS

**EFEITO RELAXANTE DA GOMA DO CAJUEIRO (*Anacardium Occidentale* L)
PURIFICADA E EM SISTEMA DE NANOPARTÍCULAS SOBRE ÚTERO DE RATA.**

TERESINA

2019

SÁVIA FRANCISCA LOPES DIAS

**EFEITO RELAXANTE DA GOMA DO CAJUEIRO (*Anacardium Occidentale L*)
PURIFICADA E EM SISTEMA DE NANOPARTÍCULAS SOBRE ÚTERO DE RATA.**

Tese apresentada ao Programa de PósGraduação em Biotecnologia/Renorbio da Universidade Federal do Piauí, como requisito à obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia Industrial.

Orientador: Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes

Co-orientador: Prof. Dra. Rosimeire Ferreira dos Santos

TERESINA

2019

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Serviço de Processamento Técnico

D541e Dias, Sávia Francisca Lopes.
Efeito relaxante da Goma do Cajueiro (*Anacardium
Occidentale* L) purificada e em sistema de nanopartículas sobre
útero de rata / Sávia Francisca Lopes Dias. – 2019.
105 f.

Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Rede Nordeste de
Biotecnologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2019.
“Orientador: Prof Dr. Lívio César Cunha Nunes”.

1. Goma do Cajueiro. 2. Nanopartículas. 3. Dismenorreia
primária. I. Título.

CDD 660.6

FOLHA DE APROVAÇÃO – DEFESA DE TESE

ALUNA: SÁVIA FRANCISCA LOPES DIAS

TÍTULO DO PROJETO: “EFEITO RELAXANTE DA GOMA DO CAJUEIRO (*Anacardium Occidentale* L) PURIFICADA E EM SISTEMA DE NANOPARTÍCULAS SOBRE ÚTERO DE RATA.”

PROFESSOR ORIENTADOR: Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes

BANCA EXAMINADORA:

CONCEITO

ASSINATURA

Profa. Dra. Rosimeire Ferreira dos Santos - UFPI
(Presidente)

Satisfatório

Rosimeire F. Santos

Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva - UFPI
(Examinadora)

Satisfatório

Durcilene A. Silva

Prof. Dr. Anderson Nogueira Mendes - UFPI
(Examinador)

Satisfatório

Anderson N. Mendes

Prof. Dr. Guilherme Barroso Langoni de Freitas – UFPI
(Examinador)

Satisfatório

Guilherme B. Langoni de Freitas

Profa. Dra. Mônica Felts de La Roca Soares - UFPE
(Examinadora)

satisfatório

Mônica Felts de La Roca Soares

DATA DA AVALIAÇÃO: 03 de maio de 2019.

HORÁRIO: 14h

LOCAL: Auditório do Curso de Farmácia

DEDICATÓRIA

Gostaria de dedicar essa conquista primeiramente a Deus que me deu coragem, paciência e fé. À minha mãe Santidade pela dedicação, estímulo, confiança, amor e suporte. Ao meu pai Isócrates pelo exemplo de compromisso, esperança e força de vontade. Aos meus irmãos César, Hellena e Cássia pelo otimismo, companheirismo e compreensão.

Ao meu esposo Laécio pela disponibilidade, amor, cumplicidade, confiança e apoio. À minha filha Mariana, por transformar minha vida e me tornar uma pessoa melhor; por ela não desisti; por ela e para ela vale toda minha luta! Aos meus sobrinhos Lara, Júlia, Rafael e Daniel pelo sorriso desinteressado e alegria nos momentos difíceis. A Tia Trindade pela presença e incentivo.

Aos meus amigos, alunos e pacientes do HGV, da Faculdade do Piauí, da Clínica Neurovida e da Maternidade Santa Fé pela torcida e carinho.

Ao professor Lívio por confiar no meu potencial e acreditar em mim, muitas vezes mais do que eu mesma! A professora Rosimeire que me recebeu de braços abertos, e me fez acreditar que tudo daria certo, muito obrigada pela confiança, disposição, tolerância, paciência e amizade.

Aos amigos do doutorado que tornaram esses quatro anos bem mais divertidos e menos solitários. Ao NPPM por proporcionar um aprendizado pessoal e profissional para toda a vida. As minhas irmãs de laboratório, em especial a Layane pela presença, apoio, disponibilidade, ajuda, alegria; e Teresa, que foi um verdadeiro anjo na minha vida. Aos meus irmãos científicos Marcos, Daniel, Adrielle e Carlos que foram verdadeiros milagres de Deus!! À Carlinha e Prof. Durcilene que vieram do mestrado para a vida e continuaram com seu apoio e torcida sempre!! As professoras Aldeidia e Rita que me fizeram sentir acolhida sempre.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Piauí, e ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia por possibilitar a realização do Curso de Doutorado.

Ao Prof. Lívio Nunes por se disponibilizar para a orientação desses quatro anos de doutorado

Ao NPPM, nas pessoas das professoras Rosimeire, Rita, Aldeidia e Fernanda por contribuição científica de todos os protocolos experimentais *in vitro* e *in vivo*

Ao Hospital Universitário, na pessoa da Luana Lopes, por realização das análises histológicas.

Ao BIOTEC, na pessoa da professora Durcilene Alves, pela coleta e purificação da goma do cajueiro.

À UFPE, na pessoa de Anatônia Carla, pela acetilação da goma, infra-vermelho e análise elementar

Ao LIMAV em especial a professora Carla Eiras, pelas análises de DLS e potencial zeta .

DIAS, Sávia Francisca Lopes. **Efeito relaxante da Goma do Cajueiro (*Anacardium Occidentale* L) purificada e em sistema de nanopartículas sobre útero de rata**. 2019. 105f. Tese (doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2019.

RESUMO

O termo “dismenorreia” é utilizado para denominar as cólicas menstruais dolorosas. O aumento da contratilidade uterina foi proposto como uma das principais causas da dismenorreia primária (DP). Esse estudo propôs o efeito relaxante da goma do cajueiro purificada (GCP) e em sistema de nanopartículas na contratilidade uterina de roedores. A Goma do Cajueiro foi extraída por incisões no tronco da árvore *Anacardium Occidentale* e purificada em laboratório. O material foi analisado por Espectroscopia no Infravermelho e Análise Elementar. Para investigação do efeito relaxante em útero isolado de rata (*in vitro*) foram utilizadas ratas Wistar virgens (*Rattus norvegicus*). Para o estudo *in vivo* foram utilizados camundongos fêmeas virgens (*Swiss*). Todos os animais foram pré-tratados com estradiol antes dos experimentos. As contrações uterinas em órgão isolado foram monitoradas por um transdutor de deslocamento de força conectado a um amplificador de sinal. Os estudos foram realizados em útero pré-contráido com ocitocina (10^{-2} UI/mL) ou KCl (60 mM) em diferentes concentrações da GCP (10^{-3} – 10^3 µg/mL). Foi investigado o efeito da GCP sob uma curva concentração-resposta à ocitocina. O mecanismo de ação foi estudado através da participação dos canais de potássio na presença de tetraetilamônio (TEA^+) 1mM e 5 mM. O teste de contorção induzida por ocitocina foi utilizado como modelo de DP *in vivo*. A GCP foi ainda modificada por acetilação para síntese de nanopartículas. Esta foi realizada utilizando o método de diálise ou deslocamento do solvente e analisadas em DLS, Potencial Zeta e índice de polidispersão (IPD). A estabilidade coloidal das nanopartículas foi monitorada por 12 meses. O tecido uterino foi coletado para exame histológico (H & E). A CGP reduz a contração uterina induzida pela ocitocina *in vitro* de forma significativa e dependente da concentração ($CE_{50} = 2,53 \pm 0,54$ µg/mL) com eficácia máxima (E_{max}) de $97,8 \pm 0,8\%$. A característica do antagonismo da contração é do tipo não competitivo. Na presença de 1mM e 5 mM de TEA^+ o valor de E_{max} foi inferior a 50%, o que sugere o envolvimento dos canais de K^+ . O estudo *in vivo* demonstrou que a GCP reduziu significativamente o número de contorções induzidas por ocitocina com uma inibição máxima $78,86 \pm 8,97\%$ na dose de 0,3 mg/kg. Cortes histológicos confirmaram o efeito tocolítico da GCP. O espectro do infra vermelho e análise elementar atestaram a originalidade da GC e comprovam a hidrofobização por acetilação. As NPsGCA foram sintetizadas com partículas de distribuição unimodal (tamanho: $257,63 \pm 1,60$ nm; potencial zeta: $-32,18 \pm 0,70$ mV; IPD: $0,140 \pm 0,012$). A estabilidade coloidal das nanopartículas monitorada por 12 meses foi confirmada, o que determina um parâmetro importante para interação e penetração de barreiras biológicas. As NPsGCA inibiram 88,66% as contorções induzidas por ocitocina na concentração de 0,03 mg/kg. Os cortes histológicos confirmaram o efeito tocolítico. O presente estudo demonstrou a existência de um efeito terapêutico inovador da GCP e o aprimoramento do mesmo em sistema de nanopartículas, ao comprovar sua capacidade de diminuir a contração do músculo liso uterino induzida por ocitocina *in vitro* e *in vivo*. O mecanismo do efeito tocolítico foi estudado e sugere estar associado à ativação de canais de K^+ . Isso amplia as possibilidades da Goma do Cajueiro ser mais investigada para o tratamento da DP.

Palavras-chave: Goma do Cajueiro; Nanopartículas; Dismenorreia primária.

DIAS, Savia Francisca Lopes. **Relaxing effect of purified Cajueiro Gum (*Anacardium occidentale* L) and nanoparticle system on rat uterus.** 2019. 105f. Tese (doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Piauı, Teresina, 2019.

ABSTRACT

The term "dysmenorrhea" is used to describe painful menstrual cramps. The increase in uterine contractility was proposed as one of the main causes of primary dysmenorrhoea (PD). This study proposed the relaxing effect of purified cashew gum (PCG) and nanoparticle system on rodent uterine contractility. Cashew gum was extracted by incisions in the trunk of the *Anacardium occidentale* L tree and purified in the laboratory. The originality of the material was proven by Infrared Spectroscopy and Elementary Analysis. To investigate the relaxing effect in rat isolated uterus (*in vitro*) virgin Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were used. For the *in vivo* study, virgin female mice (Swiss) were used. All animals were pretreated with estradiol prior to the experiments. Uterine contractions were monitored by a force-displacement transducer connected to a signal amplifier. The studies were performed in uterus pre-contracted with oxytocin (10^{-2} UI/mL) or KCl (60mM) at different concentrations of PCG (10^{-3} – 10^3 μ g/mL). The effect of PCG on a concentration-response curve to oxytocin was investigated. The mechanism of action was studied through the participation of potassium channels in the presence of TEA⁺ 1 mM and 5 mM. The oxytocin-induced contortion test was used as a model for in-vivo dysmenorrhea. PCG was further modified by acetylation to synthesize nanoparticles. This was done using the dialysis method or solvent displacement and analyzed in DLS, Zeta Potential and polydispersity index (PDI). The colloidal stability of the nanoparticles was monitored for 12 months. The rats received the Nanoparticles of Acetylated Cashew Gum (NPsACG) by gavage. The uterine tissue was collected for histopathological examination (H & E). PCG relaxed the uterus when it was precontracted with 10^{-2} IU / mL oxytocin significantly and concentration-dependent ($EC_{50} = 2.53 \pm 0.54$ μ g / mL) with maximum efficacy of $97.8 \pm 0.8\%$. The displacement of the curve to the right is observed, in a non-parallel manner with reduction of E_{max} in relation to the concentration, which characterizes a non-competitive antagonism and confirms that the PCG does not act at receptor levels. In the presence of the blocker (TEA⁺) the value of E_{max} was only $49.05 \pm 4.33\%$ for 5mM and $58.87\% \pm 3\%$ for 1mM, which made it impossible to calculate the EC_{50} . Thus suggesting the participation of K⁺ channels. Oral PCG significantly reduced the number of oxytocin-induced contortions compared to the negative control group, maximum inhibition percentage of $78.86 \pm 8.97\%$ at the dose of 0.3 mg / kg. Histological sections confirmed the tocolytic effect of PCG. Infrared spectrum and elemental analysis attest to the originality of GC and prove the hydrophobization by acetylation. The NPsACG were synthesized with unimodal distribution particles (size: 257.63 ± 1.60 nm, zeta potential: -32.18 ± 0.70 mV, PDI: 0.140 ± 0.012). The colloidal stability of nanoparticles monitored for 12 months was confirmed, which determines an important parameter for interaction and penetration of biological barriers. NPsACG inhibited the oxytocin-induced contortions at the concentration of 0.03 mg / kg (88.66%). Histological sections confirmed the tocolytic effect. The present study demonstrated the existence of an innovative PCG effect and the improvement of the same in a nanoparticle system in demonstrating its ability to decrease oxytocin-induced contraction of uterine smooth muscle *in vitro* and *in vivo*. The mechanism of tocolysis suggests this is associated with the activation of K⁺ channels. This increases the possibilities of PCG to be investigated for the treatment of PD.

Keywords: Cashew Gum; Nanoparticles; Primary dysmenorrhea.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
2.1 Geral	11
2.2 Específicos	11
CAPÍTULO I	12
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
3.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO ÚTERO	13
3.1.1 Útero de humanos e roedores	13
3.2 MATERIAIS BOTÂNICOS COM EFEITO TOCOLÍTICO	19
3.3 GOMA DO CAJUEIRO (GC)	20
3.3.1 Caracterização	20
3.3.2 Aplicações biomédicas e farmacológicas	22
3.4 NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS	24
4. REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO II	34
PROSPECÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA SOBRE FORMULAÇÕES TRANSDÉRMICAS E TERAPIAS COMPLEMENTARES PARA O TRATAMENTO DA DISMENORREIA PRIMÁRIA	35
CAPÍTULO III	61
A GOMA DO CAJUEIRO EXTRAÍDA DO EXSUDATO DA <i>Anacardium occidentale</i> L. REDUZ A CONTRAÇÃO UTERINA INDUZIDA POR OCITOCINA <i>IN VITRO</i> E <i>IN VIVO</i> ..	62
CAPÍTULO IV	86
EFEITO DAS NANOPARTÍCULAS DE GOMA DO CAJUEIRO ACETILADA SOBRE ÀS CONTRAÇÕES UTERINAS INDUZIDAS POR OCITOCINA COMO MODELO DE DISMENORREIA PRIMÁRIA <i>IN VIVO</i>	87
PERSPECTIVAS	100
ANEXOS	101

1. INTRODUÇÃO

O termo “dismenorreia” é derivado de palavra grega que significa fluxo mensal difícil. É usado para denominar as cólicas menstruais dolorosas que ocorrem durante a menstruação ou algumas horas antes desta. Caracteriza-se por dor, sob forma de cólica, habitualmente no baixo ventre ou na região lombar, onde sintomas como náuseas, diarreia ou cefaleia podem acompanhá-la ou não (DAWOOD, 2006).

Essa condição é classificada como primária (intrínseca, essencial ou idiopática) se ocorrer em mulher sem doença pélvica; e secundária (extrínseca, adquirida) se estiver relacionada a uma afecção orgânica pélvica como endometriose, leiomioma uterino, doença inflamatória pélvica ou presença de dispositivo contraceptivo intrauterino (BORGES et al., 2007).

O aumento da contratilidade uterina foi proposto como uma das principais causas da dismenorreia primária. Estudos clínicos demonstraram que, nesses quadros, a contração anormal pode reduzir o fluxo sanguíneo uterino, levando à isquemia miometrial (YANG et al., 2016). Para Nunes et al. (2013), esse problema pode afetar em grande proporção mulheres em idade reprodutiva, interferindo principalmente em suas atividades cotidianas, afetando sua qualidade de vida e bem-estar geral.

Chauhan (2012) afirma que os sintomas da dismenorreia primária (DP) podem estar relacionados com a ação de prostaglandinas (PGs), onde a $PGF_2\alpha$ que é liberada durante a menstruação pode estimular as contrações do miométrio, sensibilizando as terminações nervosas e provocando a isquemia e dor. Desta maneira, a inibição na produção das PGs no endométrio, com a utilização de anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), apresenta-se como o tratamento mais efetivo da dismenorreia primária (FEBRASGO, 2013), entretanto ainda assim são ineficazes em cerca de 20% a 25% das pacientes com DP (HAREL, 2008).

Além disso, a ingestão oral indiscriminada de AINES causa vários efeitos colaterais sistêmicos como náuseas, dispepsia, diarreia, ulceração e sangramento na mucosa, bem como sintomas recorrentes (BORTOLON et al., 2008). A indústria farmacêutica tem focado seus esforços no desenvolvimento de sistemas diferenciados na vetorização de fármacos que aumentem a biodisponibilidade e reduzam os efeitos colaterais dos fármacos (KIM et al., 2009).

Nesse contexto, terapias alternativas vêm se destacando na tentativa de aliviar a intensidade e a duração da dor ocasionada pela dismenorreia primária (DIAS et al., 2019). O uso de plantas medicinais tem sido amplamente estudado principalmente devido a suas propriedades como abundância, biodegradabilidade e biocompatibilidade (AZIMA et al. 2015).

Dentre estes materiais, podem ser citadas as gomas que são polissacarídeos constituídos em unidades múltiplas de monossacarídeos naturalmente presentes em plantas, o que lhes confere um caráter essencialmente barato e abundante. Possuem diversas aplicações como espessantes, emulsionantes, corantes e atuam também nos sistemas de liberação controlada de fármacos (RANAA et al, 2011).

A Goma do cajueiro (GC) é um polissacarídeo extraído da espécie *Anacardium occidentale* L. (DE PAULA et al., 1998; MOTHÉ, 2000) e tem sido bastante pesquisada pela indústria farmacêutica. Já foi utilizada como adjuvante em formulações tópicas (KUMAR, et al., 2009; DAS, NAYAK & NANDA, 2013), obteve comprovado efeito antiulcerogênico e antidiarreico (CARVALHO et al., 2015; ARAÚJO et al., 2015), e já foi utilizada também na preparação de nano e micropartículas poliméricas para incorporação de uma variedade de princípios ativos como anti-inflamatório (PITOMBEIRA, et al., 2014; DIAS, et al, 2016), vasodilatador (DAS et al., 2014) e óleo essencial (DE PAULA, et al., 2014). O intuito é promover um perfil de liberação mais satisfatório e comprovar o potencial desse polímero em sistemas de entrega farmacológica.

Logo, uma potencialidade promissora da utilização de nanopartículas poliméricas é a associação a fármacos anti-inflamatórios não-esteroides (AINEs), como ibuprofeno, diclofenaco e indometacina, objetivando a redução da toxicidade gastrointestinal, a qual é geralmente responsável pela descontinuidade da terapia mediante o uso desta classe de fármacos (SCHAFFAZICK et al., 2002).

Nesse sentido, o estudo da goma do cajueiro purificada e em sistemas de nanopartículas no efeito relaxante uterino, pode ser inovador, no sentido de ampliar as possibilidades para o tratamento da dismenorreia primária.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Desenvolver nanopartículas de goma do cajueiro acetilada (GCA) e avaliar o efeito relaxante da goma do cajueiro purificada e das nanopartículas na contratilidade uterina de roedores.

2.2 Específicos

- ✓ Investigar o mecanismo de ação tocolítico da goma do cajueiro purificada (GCP) em útero isolado de rata;
- ✓ Caracterizar o tipo de antagonismo exercido pela GCP frente às contrações induzidas por ocitocina;
- ✓ Avaliar o efeito da GCP sobre as contrações tônicas induzidas por ocitocina ou KCl;
- ✓ Comparar o efeito da GCP com o fármaco comercial ibuprofeno sobre as contrações tônicas induzidas por ocitocina;
- ✓ Determinar a influência dos canais de potássio (K^+) envolvidos no mecanismo de ação espasmolítico da GCP sobre as contrações tônicas induzidas por ocitocina na presença de tetraetilamônio (TEA^+);
- ✓ Analisar os cortes histológicos do útero sob efeito da GCP frente às contrações tônicas induzidas por ocitocina;
- ✓ Modificar a goma do cajueiro por acetilação;
- ✓ Sintetizar nanopartículas à base de goma do cajueiro acetilada (NPsGCA);
- ✓ Caracterizar as nanopartículas utilizando espectroscopia do Infravermelho, Espalhamento de Luz Dinâmico e Potencial Zeta;
- ✓ Realizar teste de estabilidade das nanopartículas em relação ao tempo de síntese;
- ✓ Avaliar o efeito do tratamento oral com GCP e NPsGCA sobre as contorções abdominais induzidas por ocitocina em camundongos como modelo *in vivo* para dismenorreia;
- ✓ Analisar o efeito da GCP e NpGCA sobre achados histológicos

CAPÍTULO I

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA



3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO ÚTERO

3.1.1 Útero de humanos e roedores

O útero humano é um órgão muscular piriforme de paredes espessas e musculares, normalmente situado entre a bexiga urinária e o reto. Mede cerca de 7,5 cm de comprimento e 5 cm de largura, porém, no período gestacional, ele se adapta em tamanho e estrutura às necessidades de crescimento do feto (GRAY; WILLIAMS, 1995).

O útero humano é composto de camadas longitudinal e circular de músculo liso, organizadas perpendicularmente umas às outras. A camada longitudinal externa consiste de uma rede de feixes de células musculares lisas orientadas no eixo longitudinal do órgão e a camada circular interna, na qual as fibras estão dispostas concentricamente em torno do eixo longitudinal do órgão. A contração da camada longitudinal faz com que o órgão dilate-se e encurte-se, ao passo que a contração da camada circular faz com que o órgão alongue-se, resultando em redução do diâmetro e do comprimento (GUYTON; HALL, 2011)

A parede uterina é formada por três camadas distintas (Figura 1), a mais externa é chamada de perimétrio e é responsável pelo revestimento epitelial do órgão; o miométrio é a camada muscular intermediária e mais espessa, constituída de feixes entrelaçados de fibras musculares lisas envoltas em tecido conjuntivo; e o endométrio que é a camada mais interna, é formada por um revestimento epitelial e um tecido conjuntivo chamado de estroma endometrial (JACOB; FRANCONI; LOSSOW, 1990).

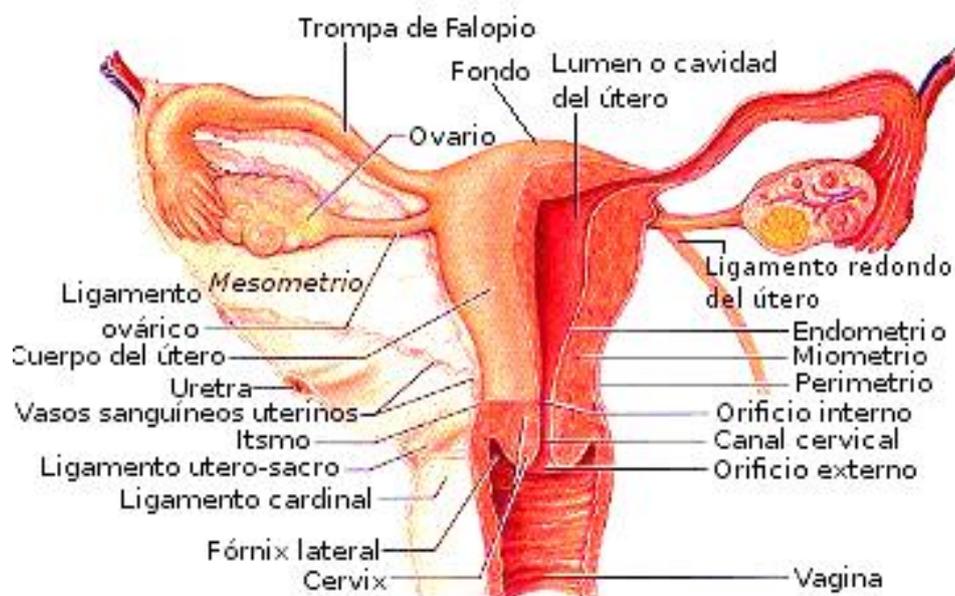


Figura 1: Representação esquemática do útero humano. Fonte: <https://www.pinterest.com.mx>

O útero dos roedores, diferente dos humanos em morfologia, consiste em tubos pares que se abrem separadamente na vagina, e é denominado útero duplo ou duplex (Figura 2). Existe uma importante camada muscular longitudinal em cada corno uterino, a qual se torna transversa caudalmente na junção dos dois cornos uterinos. Nos mamíferos, o útero compreende uma camada miometrial externa e uma camada interna denominada endométrio que se encontra imediatamente adjacente ao miométrio. Em animais com um útero bipartido, histologicamente, o músculo circular interior e longitudinal exterior são mais facilmente separados do que em útero humano (RIBEIRO, 2013)

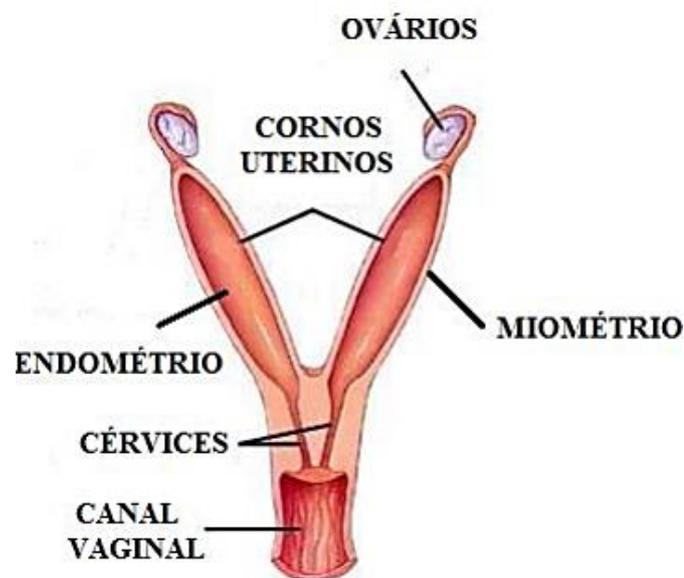


Figura 2: Representação esquemática do útero de roedores. Fonte: Ribeiro, 2013.

3.1.2 Contração e relaxamento da musculatura lisa

A regulação da contração do músculo liso apresenta um papel importante em muitos processos fisiopatológicos. Alterações nesses processos podem contribuir para o desencadeamento de eventos contráteis anormais em células musculares lisas de vários órgãos importantes como vasos sanguíneos, estômago, intestinos, bexiga, útero, vias respiratórias, entre outros (WEBB, 2003).

A contração do músculo liso uterino em especial possui um papel crítico na regulação e no controle da atividade contrátil do miométrio, sendo que muitos problemas como abortos, partos prematuros, hemorragias pós-parto e cólicas uterinas estão associados a uma regulação anormal da contratilidade desse músculo (RIBEIRO, 2013).

No músculo liso, o principal promotor da contração muscular é o aumento do conteúdo citosólico de Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_c$). Esse mecanismo pode ser desencadeado, tanto pela liberação dos estoques de cálcio intracelulares $[\text{Ca}^{2+}]_i$, provenientes principalmente do retículo sarcoplasmático (RS), quanto pela sua entrada através de canais para Ca^{2+} abertos por voltagem (Cav) na membrana plasmática (GRUBER; O'BRIEN, 2011).

O músculo liso uterino tem um padrão fásico de atividade contrátil, com a manutenção discreta de um tom de repouso e contrações intermitentes de frequência, amplitude e duração variadas. Como observado anteriormente, o estado de contratilidade é regulado predominantemente por $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Do ponto de vista funcional e fisiológico, a regulação do $[\text{Ca}^{2+}]_i$ pode ser considerada em três fases: manutenção das concentrações basais, que desempenham um papel no tônus de repouso; o aumento acentuado em $[\text{Ca}^{2+}]_i$ que ocorre com a estimulação por agonistas contráteis; e a restauração de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ para o estado de repouso após a estimulação. Em geral, esses processos são controlados por mecanismos de canais iônicos e bombas inter-relacionados (AGUILAR; MITCHELL, 2010).

A excitabilidade das células do músculo liso, incluindo os miócitos uterinos, depende também do movimento de outros íons além do Ca^{2+} , como por exemplo, o sódio (Na^+) e potássio (K^+), pelo fato de que muitos processos necessitam de uma transmissão rápida e precisam de informações entre suas células e tecidos (RIBEIRO, 2007).

Todos esses processos são mediados, pelo menos em parte, por membros da superfamília de canais voltagem dependentes (VDC), dentre eles, canais para K^+ abertos por voltagem (Kv), canais para K^+ retificadores de entrada (Kir), canais para K^+ de dois poros (K2P), canais para K^+ de grande condutância ativados por Ca^{2+} (BKca), canais para Na^+ abertos por voltagem (Nav), canais ativados por hiperpolarização e nucleotídeos cíclicos (HCN), canais receptores de potencial transiente (TRP), canais de potencial transiente (TPC), e canais para Ca^{2+} abertos por voltagem (Cav) (AGUILAR; MITCHELL, 2010).

O aumento da $[\text{Ca}^{2+}]_i$ que leva à contração da musculatura lisa pode ocorrer, basicamente, por dois mecanismos, o eletromecânico, que causa a despolarização levando a uma mudança no potencial de membrana (V_m), onde ocorre influxo de Ca^{2+} por meio dos Cav , ou o fármacomecânico, onde a contração pode ser promovida pela ligação de um agonista com o receptor (RANG et al, 2007).

O mecanismo eletromecânico (Figura 3) para a contração do músculo liso é originado a partir da despolarização ou mudança de potencial de membrana (V_m) induzida inicialmente por estimulação elétrica, que leva ao aumento do influxo de Ca^{2+} por meio de canais específicos para Ca^{2+} , em especial os Cav . O aumento da concentração de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ favorece a ligação do

Ca^{2+} à calmodulina (CaM) e o complexo originado dessa junção, cálcio-calmodulina ($[(\text{Ca}^{2+})_4\text{-CaM}]$), ativa a cinase da cadeia leve da miosina (MLCK) para fosforilar a cadeia leve da miosina (MLC) e promover a interação da actina com a miosina, levando a contração (WEB, 2003).

O processo de contração fármacomecânica (Figura 3) ocorre através da ligação do agonista a receptores acoplados à proteína G (GPCRs) em especial àqueles acoplados às proteínas Gq ou G11 e, por meio da subunidade α , promovem a ativação da fosfolipase C (PLC) que, por sua vez, hidrolisa fosfolípidios específicos na membrana, como o 4,5 bisfosfato de fosfatidilinositol (PIP_2) que produz como segundo mensageiro importante o 1,4,5-trisfosfato de inositol (IP_3), e o diacilglicerol (DAG) (RANG et al., 2007).

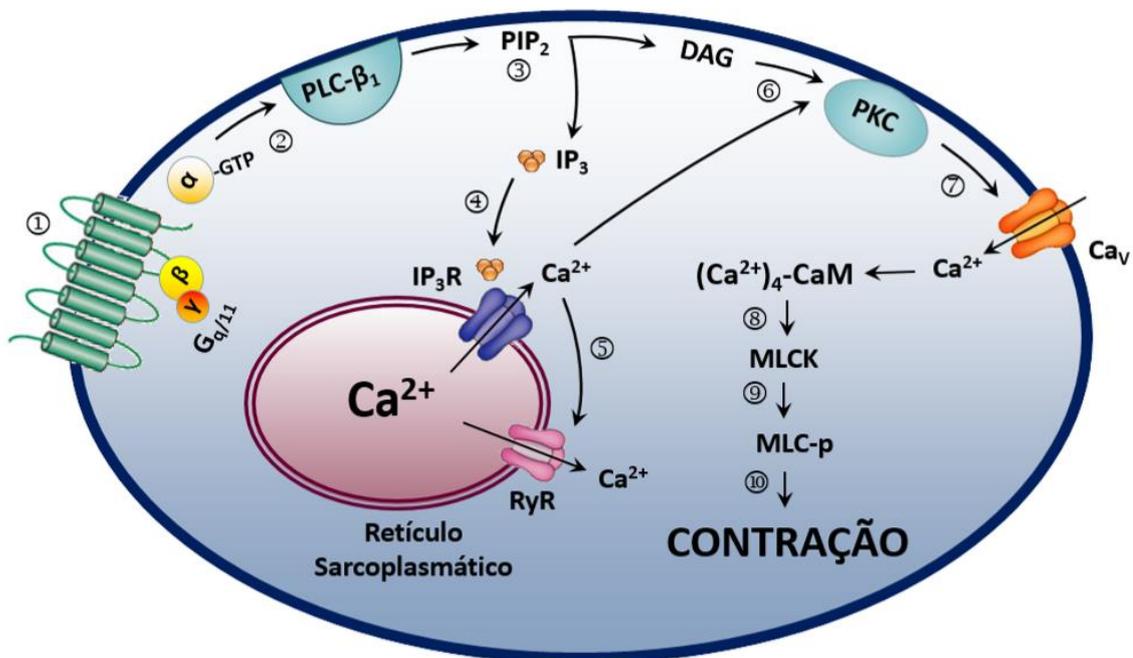


Figura 3: Mecanismos fármacomecânico e eletromecânico de contração do músculo liso (1) O agonista se liga ao receptor GPCR na membrana plasmática e a proteína Gq/11 troca GDP por GTP em sua subunidade α , tornando-se ativa; (2) a subunidade α q/11 GTP ligado, ativa a enzima PLC- β 1; (3) a PLC- β 1 hidrolisa o fosfolípido de membrana PIP_2 em IP_3 e DAG; (4) o IP_3 ativa o IP_3R na membrana do RS, liberando Ca^{2+} dos estoques; (5) o Ca^{2+} liberado ativa o RyR aumentando a liberação de Ca^{2+} para o citoplasma; (6) o Ca^{2+} liberado pelo RS se liga na PKC e a transloca para a membrana, onde é ativada pelo DAG; (7) a PKC uma vez ativada, fosforila o Ca_v na membrana da célula promovendo um influxo de Ca^{2+} para o citoplasma; (8) o aumento global de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ favorece a formação do complexo $(\text{Ca}^{2+})_4\text{-CaM}$ que ativa a MLCK; (9) a MLCK ativada fosforila a MLC; (10) a MLC fosforilada favorece sua interação com os filamentos de actina, desencadeando a contração do músculo liso. Fonte: Travassos, RA (2015).

A partir dessa hidrólise, o IP3 formado liga-se ao seu receptor no retículo sarcoplasmático, IP3R, permitindo a liberação de Ca^{2+} i. A presença do íon fora do RS desencadeia o processo de liberação de mais Ca^{2+} pelo próprio Ca^{2+} por meio da ativação dos RyR (receptores de rianodina) que também estão presentes na membrana do RS promovendo o aumento da $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (WRAY et al., 2001; AGUILAR; MITCHELL, 2010). Essa liberação promove a ativação da proteína quinase tipo C (PKC) pelo DAG, o que leva a fosforilação do CaV na membrana da célula, promovendo um influxo de Ca^{2+} para o citoplasma permitindo a formação do complexo $[(\text{Ca}^{2+})_4\text{-CaM}]$, responsável pelo início do mecanismo contrátil.

Além de todas essas etapas descritas que levam a contração do músculo liso, no útero ainda se destaca uma via adicional importante para a compreensão de patologias como a dismenorreia. Autores sugerem que na célula miométrial, a PKC ativa uma cascata de proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) resultando em aumento da atividade da fosfolipase A2 e como consequência o aumento na produção de prostaglandinas (PGs), que também contribui para o mecanismo de contração (ARROWSMITH & WRAY, 2014).

De acordo com Borges et al. (2007), com a diminuição da progesterona durante a luteólise, ocorre instabilidade lisossomal, que resulta na ativação da fosfolipase A2, levando à liberação de ácido araquidônico, ativação da via da ciclooxygenase (COX) e produção de PGs. Nas mulheres com dismenorreia primária, pode haver liberação aumentada de prostaglandinas (primariamente $\text{PGF}_2\alpha$) pelo endométrio na menstruação, promovendo contrações uterinas fortes e vasoconstrição, levando à hipóxia uterina e dor.

Efetivada a contração muscular, para o relaxamento acontecer, deve ocorrer uma redução na concentração do $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Em relação à atividade uterina, sabe-se que o V_m é ajustado principalmente pela variação da condutância do íon K^+ pela membrana, através de canais, contribuindo para a regulação do influxo de Ca^{2+} através dos Cav. Os canais para K^+ desempenham um papel chave na regulação do V_m e na excitabilidade celular, o qual depende do balanço entre o aumento da condutância ao K^+ , levando a uma repolarização/hiperpolarização (Figura 4). O retorno ao nível basal da célula lisa se dá pela remoção dos estímulos contráteis (agonistas ou despolarização), o que promove a hiperpolarização, resultando na redução da excitabilidade da membrana, ocorrendo o fechamento dos canais Cav e, em seguida, relaxamento muscular (WRAY et al., 2003).

Nas células do miométrio, os canais de K^+ são componentes subjacentes do mecanismo que permite a adaptação do útero gravídico aos aumentos no estiramento e na pressão intra-uterina. Vários tipos de canais de K^+ foram identificados no miométrio. Os mais abundantes e bem estudados incluem o canal de K^+ de grande condutância sensível ao Ca^{2+} (canal BKCa^{2+}),

o canal de K^+ de pequena condutância sensível ao Ca^{2+} ($SKCa^{2+}$), o canal K^+ sensível ao ATP (K^+ATP) e o canal de K^+ sensível a voltagem (K^+V). Estes canais, quando abertos conduzem uma corrente externa durante os períodos em que o músculo não está ativo, e assim mantêm o estado de repouso (BRAINARD; KOROVKINA; ENGLAND, 2007).

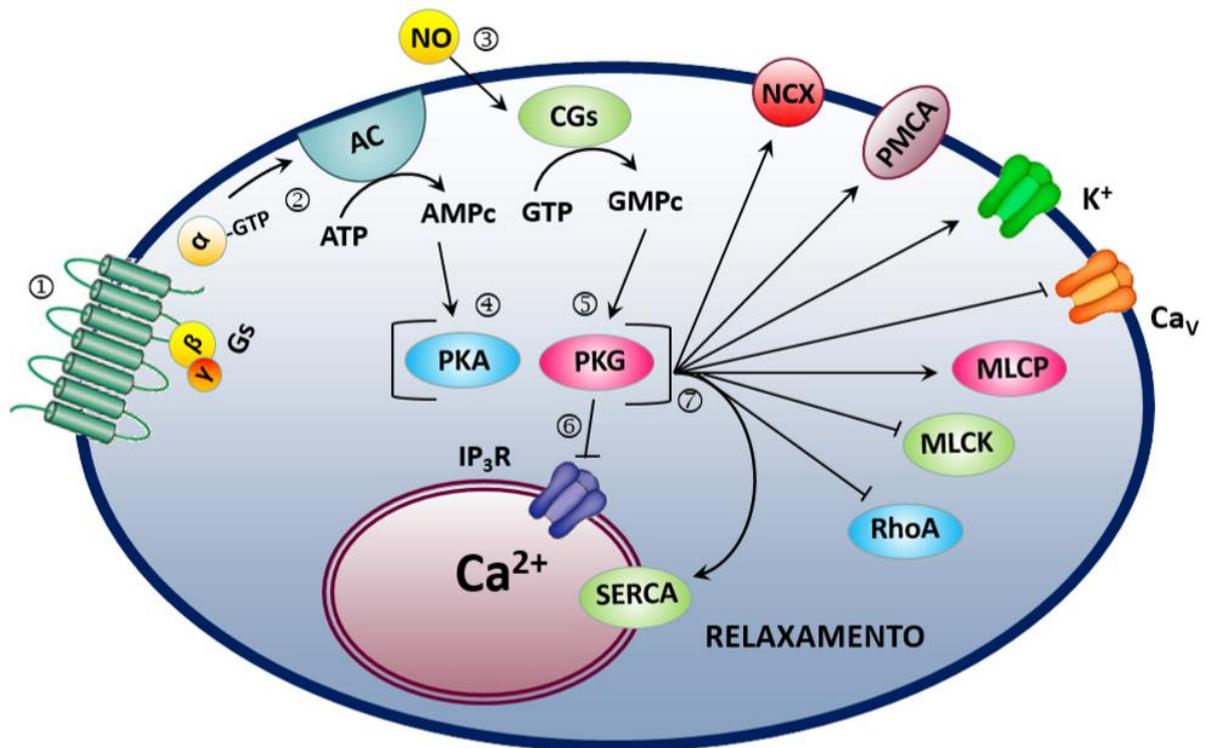


Figura 4: A ativação de canais de K^+ sensíveis ao Ca^{2+} serve para repolarizar a membrana do miócito e induz o fechamento de VDCs, limitando a entrada adicional de Ca^{2+} . (1) O agonista se liga ao receptor GPCR na membrana plasmática e a proteína Gs troca GDP por GTP em sua subunidade α , tornando-se ativa. (2) A subunidade α GTP ligado, ativa a ciclase de adenilil (AC) que converte ATP em CAMP. (3) O NO estimula a sCG que converte GTP em CGMP. Os nucleotídeos cíclicos, CAMP e CGMP, ativam suas proteínas cinases correspondentes, PKA (4) e PKG (5). (6) Fosforilação do IP₃R pela PKG mas não pela PKA. (7) Ambas as proteínas cinases fosforilam vários substratos: aumentam a atividade da SERCA e PMCA, ativação do trocador Na^+/Ca^{2+} (NCX), ativam canais de K^+ e inibem os Ca_V ; todos esses eventos levam à diminuição do cálcio intracelular. Além disso PKA e PKG podem ativar MLCP via MYPT1, inibir a MLCK e a RhoA. Todos esses eventos impedem a fosforilação da MLC e consequentemente a sua interação com os filamentos finos de actina, favorecendo o relaxamento. Fonte: Travassos, RA (2015).

3.2 MATERIAIS BOTÂNICOS COM EFEITO TOCOLÍTICO

A contração tetânica uterina e a redução do fluxo sanguíneo da artéria uterina são possíveis causas para a dismenorreia primária (DP). Atualmente, os agentes anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) são a principal escolha para o tratamento da DP, mas são ineficazes em 20% -25% das pacientes. Como alternativa, a medicina tradicional e terapias alternativas são usadas para aliviar essa condição em mulheres que não respondem à terapia com AINEs. Em vários países, a fitoterapia tem sido usada há séculos para aliviar os sintomas da DP (YANG et al., 2016).

Quando se trata de ações espasmolíticas ou tocolíticas a medicina tradicional busca a utilização de compostos ativos que promovam essa ação no organismo com objetivo de prevenir ou tratar complicações decorrentes da contratilidade uterina. A maioria das pesquisas sobre plantas com ação tocolítica direciona-se para obter compostos farmacologicamente ativos que produzam o efeito desejado (RIBEIRO, 2013).

Alguns estudos já foram realizados comprovando a atividade tocolítica de plantas, extratos ou derivados. Alencar; Cunha et al. (2003) identificaram que o óleo de *Copaifera langsdorfii*, possui um diterpeno com atividade relaxante sobre o músculo liso uterino de ratas frente a contrações induzidas por agonistas como ocitocina e acetilcolina; o chá das folhas de *Duguetia furfuraceae* (At. Hil) B. et. H., conhecida como marolinho, araticum-do-campo, ata brava, também já foi comprovado que poderia ser utilizado para combater dismenorreia (TOLEDO, 2006). Pesquisas feitas por Shih; Hsu; Yang (2009) evidenciaram o efeito tocolítico das raízes da erva chinesa *Scutellaria baicalensis* e Thaina et al. (2009) comprovaram que o extrato metanólico e clorofórmico de *Curcuma aeruginosa* Roxb. exercem efeito tocolítico sobre o útero de ratas pré-tratadas com estrogênio.

Estudo mais recente de Buna et al. (2018) avaliou se o isoespintanol, um monoterpene isolado das folhas de *Oxandra xylopioides*, possui efeitos antiespasmódicos no intestino, no útero e bexiga e observou-se que o mesmo possui uma maior potência do que os outros fármacos utilizados na terapêutica, por interferência no influxo de Ca^{2+} . Monji et al. (2018) investigaram as propriedades tocolíticas do extrato de *Ananas comosus* no tecido uterino de ratas e humanos in vitro utilizando a técnica de banho orgânico. Concluíram que tal extrato seria um candidato promissor para se desenvolver como agente tocolítico. Com metodologia semelhante, Morais et al.(2019) investigaram o mecanismo de ação do óleo essencial de *L. alba* (EOLa) e seus principais constituintes citral e limoneno no útero isolado de ratas e comprovaram que o EOLa e seus constituintes oferecem o potencial para o desenvolvimento futuro de agentes terapêuticos na prevenção de alterações fisiológicas envolvendo contrações uterinas indevidas.

3.3 GOMA DO CAJUEIRO (GC)

3.3.1 Caracterização

A *Anacardium occidentale* Linn (Figura 5A), membro da família Anacardiaceae, é uma planta com considerável valor econômico e medicinal. É popularmente conhecido como cajueiro e é nativo da África, Índia e Nordeste do Brasil (BUENO SILVA et al., 2018).

As células epiteliais da casca do cajueiro naturalmente produzem e armazenam um exsudato conhecido como Goma do Cajueiro (GC), que é liberado em resposta a lesões mecânicas ou ataques de patógenos, como forma de proteção (MIRANDA, 2009) (Figura 5B). A GC pode ser obtida naturalmente ou por incisões no tronco e ramos da árvore apresentando-se como resina de coloração amarelada e solúvel em água (DE PAULA & RODRIGUES, 1995). A GC é uma mistura de polissacarídeos ácidos contendo vários íons metálicos, como cátions neutralizados, os principais são K^+ , Na^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} (PAULA et al., 1998).

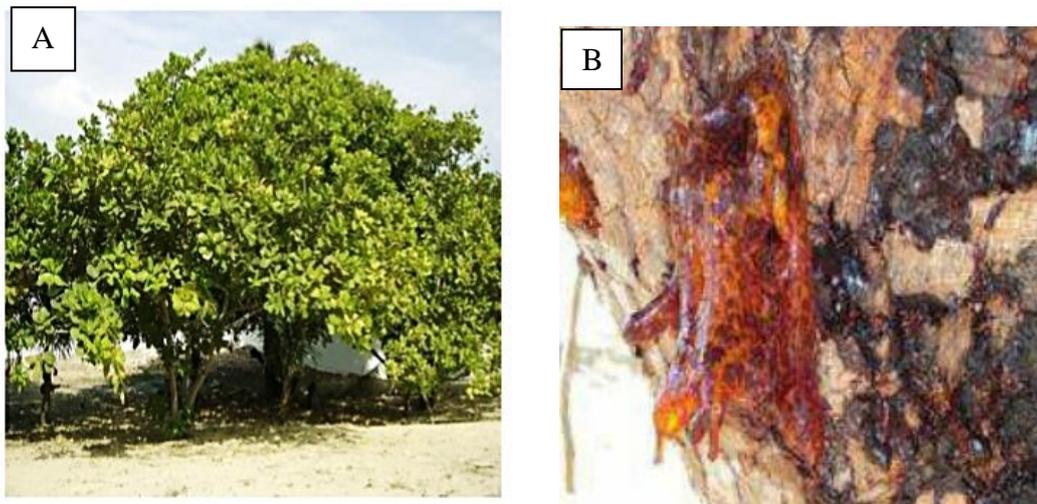


Figura 5: A) *Anacardium occidentale*; B) exsudato ou Goma do Cajueiro (GC). Fonte: Cunha et al., 2007.

A GC bruta (Figura 6A), contendo esses cátions, tende a ser naturalmente transformada em sal Na^+ , após a purificação ou diálise contra $NaCl$ 0,15 M, conforme descrito anteriormente (PAULA et al. 1998). A GC purificada (Figura 6B) é constituída em estrutura, de galactose (72-73%), glicose (11-14%), arabinose (4,6-5%), ramnose (3,2-4%) e ácido glucurônico (4,7-6,3%) (Figura 6C) (DE PAULA, 1998; MOTHÉ, 2000).

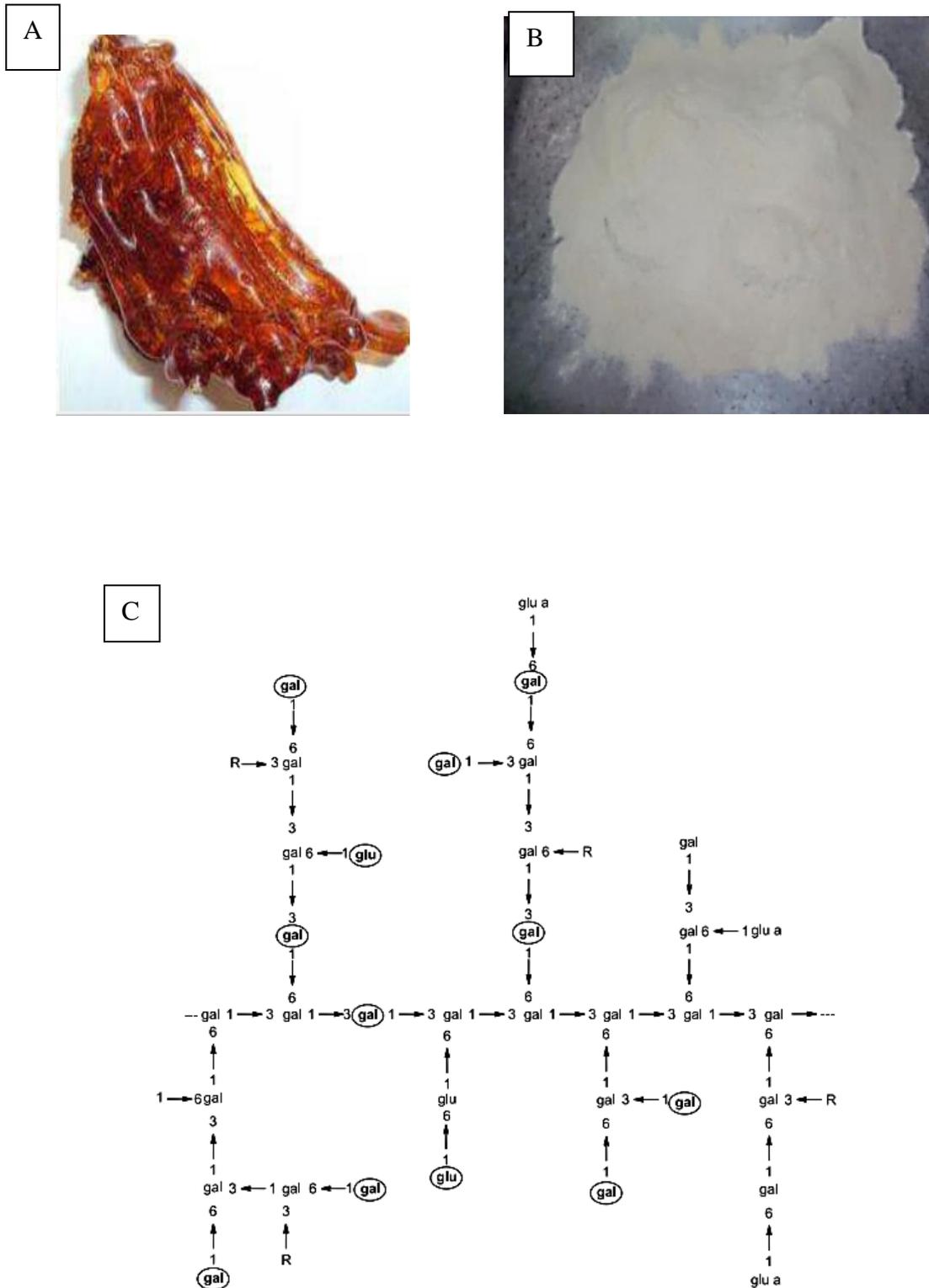


Figura 6: Goma do Cajueiro (GC) A) GC bruta; B) GC purificada; C) Estrutura da goma do cajueiro. R representa D-manose, L-rannose, L-arabinose ou arabinose 1,2. Fonte: Cunha et al., 2007.

3.3.2 Aplicações biomédicas e farmacológicas

Os extratos obtidos de diferentes partes do cajueiro têm encontrado ampla aplicação na medicina tradicional para o tratamento de diversas doenças, como asma, distúrbios gastrointestinais, doenças de pele e febre. Além disso, suas cascas e folhas têm sido usadas em preparações tópicas para o tratamento da dor e várias condições inflamatórias como artrite (BUENO SILVA et al., 2018).

A goma de cajueiro, em preparações solúveis em água, tem sido comumente usada como agente anti-inflamatório, analgésico, antiasmático e antidiabético (LIMA et al., 2006). Além disso, tem sido usada para tratar doenças gastrointestinais como a diarreia (ANDERSON et al., 1974), bem como verrugas, tosses e feridas (AGRA et al., 2007).

Na área biomédica, Torquato et al. (2004), demonstraram efeito antimicrobiano da GC contra uma espécie fúngica e em estudo mais recente foi comprovada a relevante atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas (CAMPOS et al., 2012).

Outras aplicações biológicas incluem efeito anti-inflamatório para ovários e útero (YAZBEK et al., 2016); ação hipoglicêmica (OJEWOLE, 2003), efetividade no tratamento tópico de feridas cutâneas (SCHIRATO et al., 2006; VITORINO FILHO, 2011), efeito anti-tumoral (FLORÊNCIO et al., 2007); atividade anti-ulcerogênica (CARVALHO et al., 2015) e anti-diarreica (ARAÚJO et al., 2015).

O pré-revestimento de biópsias esofágicas humanas com solução da goma do cajueiro também já foi investigado e foi comprovado que a mesma confere proteção contra solução ácida contendo pepsina e ácidos biliares (De Lima et al., 2016). Borsaro et al. (2017) avaliaram e afirmaram o efeito protetor tópico da goma do cajueiro na integridade da mucosa laríngea de camundongos *in vitro*.

Estudos experimentais com CG mostraram que este polímero possui atividade anti-inflamatória capaz de reduzir os processos de edema e hiperemia; inibindo prostaglandina E2; e reduzindo marcadores inflamatórios como mieloperoxidase e malondialdeído. Além disso, a CG tem sido relatado como tendo uma influência significativa nos níveis de óxido nítrico (NO), IFN e modulação dos macrófagos (SOUZA FILHO et al., 2018).

As causas desses efeitos ainda não estão totalmente esclarecidas, mas alguns estudiosos apostam na composição da GC. Um estudo realizado por Yamassaki et al. (2015), utilizando ensaios imunoestimulantes e inflamatórios *in vitro* de atividades de macrófagos peritoneais murinos, mostrou a atividade anti-inflamatória da GC, que foi atribuída à presença de polissacarídeos em sua composição.

Araújo et al. (2015) comprovaram a atividade antidiarreica da GC e justificaram que os monossacarídeos presentes na goma possivelmente posicionam-se em locais específicos que modulam os receptores de opioides. Para examinar o envolvimento desses receptores no efeito antidiarreico da CG, os animais foram pré-tratados com o antagonista opióide naloxona antes da indução da diarreia. Os resultados demonstram que a administração de naloxona bloqueou os efeitos do tratamento com CG sugerindo que a inibição da motilidade gastrointestinal e conseqüente aumento da reabsorção e redução da secreção de fluido intestinal pode envolver receptores opióides.

Estudos realizados por Bilsky et al. (2000) mostraram que a alta atividade analgésica dos análogos do glicopéptido de encefalina é devido à presença de carboidratos em locais específicos que modulam os receptores opióides. A CG contém galactose, glicose, arabinose, ramnose e ácido glicurônico (De Paula et al., 1998), grupos carboidratos que também estão presentes em tais glicopeptídeos de encefalina e portanto esses grupos poderiam ser responsáveis pela possível interação entre a CG e os receptores opióides.

Entretanto, outras pesquisas apontam que os ácidos anacárdicos, também fitoconstituintes da GC promovem a redução nos níveis de PGE2, e que, portanto, os efeitos antinociceptivos e antiinflamatórios deveriam ser atribuídos à presença dos mesmos em sua composição, independente da presença de polissacarídeos (BUENO SILVA et al., 2018).

Na área farmacêutica, a GC já foi utilizada como agente gelificante na formulação tópica do aceclofenaco (KUMAR, et al., 2009); adjuvante na preparação do gel de lidocaína aprimorando a permeação cutânea (DAS; NAYAK & NANDA, 2013); como ligante para comprimidos de paracetamol (GOWTHAMARAJAN et al., 2011); na produção de comprimidos de curcumina (GOWTHAMARAJAN et al, 2012); incipiente de pasta dental com aceclofenaco para inflamação e dor (HAINAIN et al., 2018); em formulação de orobase para o tratamento da periodontite (SOUZA FILHO, 2018); e na redução da superexpressão de genes pró-inflamatórios em periodontite experimental (FERNANDES et al., 2019).

Com um enorme potencial biotecnológico, a GC já se mostrou eficaz como formador de filme para sensores eletroquímicos (ARAÚJO et al, 2012). Na preparação de nano e micropartículas poliméricas modificadas para incorporação de uma variedade de princípios ativos como, anti-inflamatórios não esteroides (PITOMBEIRA, et al., 2014; DIAS, et al, 2016), vasodilatadores (DAS et al., 2014), óleo essencial (DE PAULA, et al., 2014), anti-fúngico (LIMA et al. 2018), alcalóide natural epiisopiloturina (DO AMARAL RODRIGUES, et al., 2019) e insulina (SILVA et al., 2019), com o intuito de promover um perfil de liberação mais satisfatório e comprovar o poder desse polímero em sistemas de entrega farmacológica.

3.4 NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

As nanopartículas (NPs) poliméricas têm desempenhando um papel crucial em um amplo espectro de áreas que vão desde a eletrônica, a medicina e à biotecnologia (HOSOKAWA et al., 2007). Para a área farmacêutica, são definidas como sistemas carreadores de fármacos aquelas que apresentam diâmetro inferior a 1 μm e incluem principalmente as nanoesferas e as nanocápsulas (SCHAFFAZICK; GUTERRES, 2003). As nanocápsulas são sistemas vesiculares que agem como uma espécie de reservatório, no qual as substâncias são confinadas a um núcleo líquido (óleo ou água). Por outro lado, as nanoesferas, que não apresentam óleo em sua composição, são formadas por uma matriz polimérica, onde o fármaco pode ficar retido ou adsorvido na superfície (RAOA; GECKELER, 2011).

Os métodos de preparação a partir de polímeros pré-formados em comparação com os demais são mais facilmente controláveis e de maior rendimento. Em regra, são os mais utilizados para preparar nanoesferas contendo princípios ativos lipofílicos e nesse processo a utilização de polímeros anfipáticos pode retirar o uso de tensoativos levando a uma eficiência de encapsulação mais elevada (SOUTO et al., 2012).

A diálise oferece um método simples e eficaz para a preparação de nanopartículas pequenas e com distribuição de tamanho unimodal. O polímero é dissolvido em um solvente orgânico e colocado dentro de uma membrana de diálise com peso molecular de corte apropriado. O procedimento é realizado contra um solvente miscível ou não e o deslocamento do solvente no interior da membrana é acompanhado pela progressiva agregação do polímero devido a uma perda de solubilidade e formação de suspensões homogêneas de nanopartículas (RAOA; GECKELERA, 2011).

De acordo com Yang et al. (2015), os polissacarídeos têm atraído cada vez mais atenções e têm sido reconhecidos como sendo os materiais mais promissores nos últimos anos por causa de seus méritos excepcionais, como biocompatibilidade, facilidade ao acesso, por serem não tóxicos e facilmente modificáveis. Pesquisas consideráveis têm sido direcionadas para o desenvolvimento de micro/ nanopartículas.

As gomas naturais têm sido extensivamente estudadas principalmente devido ao fato de serem biopolímeros que possuem uma grande variedade de propriedades reológicas e de composição. Estas características fazem deles materiais versáteis, com uma ampla gama de aplicações que não são encontradas em outras classes de polímeros (LIMA et al., 2018).

No entanto, existem algumas dificuldades associadas ao uso das gomas como a queda na viscosidade em armazenamento e a possibilidade de contaminação microbiana (RANAA et al., 2011). A modificação química por hidrofobização é capaz de minimizar estes

inconvenientes e favorece a formação de nanopartículas em sistemas auto-organizados gerados a partir de biopolímeros anfifílicos. A acetilação de polissacarídeos, por exemplo, permite a melhoria das propriedades emulsificantes e aumento da bioatividade (LIMA et al., 2018).

Os sistemas nanoparticulados a base de polissacarídeos naturais mostra variabilidade e versatilidade, devido à sua estrutura complexa, o que é difícil de ser reproduzido com polímeros sintéticos (MARTÍNEZ et al., 2012). Como carreadores para entrega farmacológica têm atraído grande atenção dos pesquisadores devido às suas potencialidades terapêuticas tais como: manutenção do nível terapêutico do fármaco no sangue, diminuição das reações adversas e melhora do esquema posológico através da diminuição do número de doses (LANGER; TIRREL, 2004).

Essas nanoestruturas procuram ainda uma maior seletividade da droga com o alvo, investigar a interação com órgãos e tecidos e aumentar a capacidade de entrega através de uma velocidade de liberação adequada (LIU et al., 2008). Esses sistemas de liberação controlada se destacam por aperfeiçoarem a efetividade terapêutica o que é uma vantagem em relação às formas convencionais de administração, mantendo a concentração do fármaco na faixa terapêutica (AZEVEDO, 2005).

A nanotecnologia constitui uma das bases para o surgimento e aperfeiçoamento de produtos e processos. Dispositivos biomédicos vêm sendo aprimorados a cada dia, tornando possível alguns tratamentos e melhorando métodos existentes. Neste campo, os materiais poliméricos ocupam posição de destaque, dada a sua versatilidade estrutural, que permite adequação de propriedades para cada aplicação. A possibilidade de alterar os grupamentos químicos presentes na arquitetura macromolecular das cadeias e modificar a superfície das partículas pode viabilizar, por exemplo, o estabelecimento de interações específicas entre o polímero e o meio biológico (Pichot, 2004).

Segund Gher (2018), as nanopartículas podem penetrar nas células muito mais facilmente do que as partículas do tamanho de micron e uma vez dentro das células podem ficar ligadas à membrana ou livres no citoplasma. Elas também podem translocar através das células, penetrando em outros compartimentos do microambiente, como por exemplo, sangue ou tecido conjuntivo. Dessa forma, as nanopartículas poliméricas, têm sido indicadas como sistemas promissores de nanopartículas orgânicas para o tratamento da dor (Andreu & Arruebo, 2018) e tocolise (Paul & Smith, 2018).

No presente estudo, a goma do cajueiro foi utilizada como potencial agente tocolítico em útero de ratas *in vitro* e *in vivo* e modificada por acetilação para síntese de nanopartículas e administração oral em modelo de dismenorreia.

4. REFERÊNCIAS

- AGRA, M.F., FRANÇA, P.F., BARBOSA-FILHO, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev. Bras. Farmacogn.* 17, 114–140, 2007.
- AGUILAR, H. N.; MITCHELL, B. F. Physiological pathways and molecular mechanisms regulating uterine contractility. *Human Reproduction Update*, v. 16, n.º. 6, p. 725-744, 2010.
- ANDERSON, D.M.W., BELL, P.C., MILLAR, R.A. Composition of gum exudates from *Anacardium occidentale*. *Phytochemistry* 13, 2189–2193, 1974.
- ARAUJO, I. M. S.; ZAMPA, M. F.; MOURA, J. B.; DOS SANTOS, JR., J. R.; EATON, P.; ZUCOLOTTI, V.; VERAS, L. M. C.; DE PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A.; LEITE, J. R. S. A.; EIRAS, C. Contribution of the cashew gum (*Anacardium occidentale* L.) for development of layer-by-layer films with potential application in nanobiomedical devices. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, v. 32, n. 6, p. 1588-1593, 2012.
- ARAÚJO, T. S.L., COSTA, D. S., SOUSA, N. A. , SOUZA, LUAN K.M., ARAÚJO, SIMONE DE, OLIVEIRA, A. P., SOUSA, F. B. M., SILVA, D. A., BARBOSA, A. L.R., LEITE, J. R. S.A., MEDEIROS, J. V. R. Antidiarrheal activity of cashew GUM, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of *Anacardium occidentale* L. in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 174, 299–307, 2015.
- ARROWSMITH & WRAY. Oxytocin: Its Mechanism of Action and Receptor Signalling in the Myometrium. *Journal of Neuroendocrinology*, 26, 356–369, 2014.
- AZEVEDO, M.M.M. Sistemas poliméricos de liberação controlada utilizando micro e nanopartículas encapsulando violaceína: caracterização, atividade biológica, consequências e perspectivas. 2005.177f. Tese (Doutorado em Química). Departamento de Físico-química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- AZIMA S, BAKHSHAYESH HR, KAVIANI M, ABBASNIA K, SAYADI M. Comparison of the Effect of Massage Therapy and Isometric Exercises on Primary Dysmenorrhea: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal Of Pediatric And Adolescent Gynecology*. 28 (6): 486-91, 2015.

BORGES, PCG, RAMOS JFD, DEPEB DB, YATABE S, DAMIÃO RS, LOPES RGC, LIPPI UG. Dismenorréia e endométrio. *Femina*. 35(12):789-795, 2007.

BORSARO, A. A., SANTANA, A. P. M., BATISTA, G. L., NICOLAU, L. D., WONG, D. V., SANTOS, A. A., SOUZA, M. In Vitro Assessment of Mice Laryngeal Mucosal Integrity. Evaluation of Topical Protective Effect of Cashew Gum, a Natural Polymer Obtained from a Brazilian Northeastern Tree (*Anacardium Occidentale*). *Gastroenterology*, 152(5), S234, 2017.

BORTOLON, F. F.; SATO, M. E.; ANDREAZZA, R. C. da S.; BRESOLIN, T. M. B. Effect of enhancers on the in vitro percutaneous absorption of piroxicam from compounding formulations. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 44, n.3, p. 433-440, 2008.

BRAINARD, A. M.; KOROVIKINA, V. P.; ENGLAND, S. K.. Potassium channels and uterine function. *Seminars In Cell & Developmental Biology*, [s.l.], v. 18, n. 3, p.332-339, 2007.

BUENO DA SILVA, D.; FLORENTINO, MOREIRA, BRITO, CARVALHO, RODRIGUES, VASCONCELOS, VAZ, PEREIRA-JUNIOR, FERNANDES, COSTA. Chemical characterization and pharmacological assessment of polysaccharide free, standardized cashew gum extract (*Anacardium occidentale* L.) *Journal of Ethnopharmacology* 213, 395–402, 2018.

BUNA, GERMÁN A. COLAREDA, MARÍA INÉS RAGONE , MILENA BONILLA , BENJAMÍN A. ROJANO , GUILLERMO R. SCHINELLA , ALICIA E. Consolini , Intestinal, urinary and uterine antispasmodic effects of isoespintanol, metabolite from *Oxandra xylopioides* leaves, *Phytomedicine*, 2018.

CAMPOS, D. A.; RIBEIRO, A. C.; COSTA, E. M.; FERNANDES, J. C., F. K. TAVARIA, F. B. ARARUNA, C. EIRAS, P. EATON, J. R. S.A. LEITE, M. M. Pintado, Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum. *Carbohydrate Polymers*. 90, 270– 274, 2012.

CARVALHO, N. S. , SILVA, M. M. , SILVA, R. O. , NICOLAU, L. A. D., SOUSA, F. B. M. DAMASCENO, S. R. B., SILVA, D. A., BARBOSA, A. L. R. LEITE, J. R. S. A., MEDEIROS, J. V. R. Gastroprotective Properties of Cashew Gum, a Complex Heteropolysaccharide of *Anacardium occidentale*, in Naproxen-Induced Gastrointestinal Damage in Rats. *Drug development research* 76: 143–151, 2015.

CHAUHAN, M.; KALA, J. Relation Between Dysmenorrhea and Bod Mass Index in Adolescents with Rural Versus Urban Variation. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India*, v. 62, n. 4, p. 442-445, 2012.

CUNHA, P.L.R., MACIEL, J.S., SIERAKOWSKI, M.R., PAULA, R.C.M., FEITOSA, J.P.A., 2007. Oxidation of cashew tree gum exudate polysaccharide with TEMPO reagent. *J. Braz. Chem. Soc.*, 18, 1, 85-92, 2007.

DAS, BISWARUP; NAYAK, AMIT KUMAR; NANDA, UPENDRANATH. Topical gels of lidocaine HCl using cashew gum and Carbopol 940: Preparation and in vitro skin permeation. *International Journal of Biological Macromolecules*, v.62, p.514– 517, 2013.

DAWOOD, MY. Primary dysmenorrhea: advances in pathogenesis and management. *Obstet Gynecol.*, 108(2):428-41, 2006.

DE LIMA FB, NICOLAU L, WOODLAND P, LEE C, SANTANA APM, SILVA D, LEITE JR, MELO I, SOUZA MAN, SANTOS AA, SOUZA MH, SIFRIM D. Su1127 in vitro topical protection of human esophageal mucosal integrity by natural products from the northeast region of Brazil. *Gastroenterology* 150: S477, 2016.

DE PAULA & RODRIGUES. Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Carbohydrate Polymers*. 26, 3, 177–181, 1995.

DE PAULA, R. C. M.; HEATLEY, F.; BUDD, P. M.; *Polym. Int.*, 45, 27, 1998.

DIAS, S.F.L., NOGUEIRA, S.S, DOURADO, F.F, GUIMARÃES, M.A., PITOMBEIRA, N.A.O, GOMIDES, G.G, PRIMO, F.L, DE PAULA, R.C.M., FEITOSA, J.P.A., TEDESCO, A.C., NUNES, L.C.C., LEITE, J.R.S.A., DA SILVA, D.A. Acetylated cashew gum-based nanoparticles for transdermal delivery of diclofenac diethyl amine. *Carbohydrate Polymers*, v.143, n.5, p. 254–261, 2016.

DIAS, S.F.L., PEREIRA, L.C.A, SANTOS, F.R.D, OLIVEIRA, A.P., NUNES, L.C. Scientific and technological prospecting on transdermal formulations and complementary therapies for the treatment of primary dysmenorrhea. *Expert Opin Ther Pat.*,29(2),115-126, 2019.

DO AMARAL RODRIGUES, J., DE ARAÚJO, A. R., PITOMBEIRA, N. A., PLÁCIDO, A., DE ALMEIDA, M. P., VERAS, L. M. C., DA SILVA, D. A. Acetylated cashew gum-based

nanoparticles for the incorporation of alkaloid epiisopiloturine. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019.

FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA – FEBRASGO. Dismenorreia primária: tratamento. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.59, n.5, p. 413–419, 2013.

FLORÊNCIO, A.P.S.; MELO, J.H.L.; MOTA, C.R.F.C.; MELO-JÚNIOR, M.R.; ARAÚJO, R.V.S. Estudo da atividade anti-tumoral do polissacarídeo (PJU) extraído de *Anacardium occidentale* frente a um modelo experimental do sarcoma 180. *Revista Eletron. Farm.* v. 4, n. 1, p. 61-65, 2007.

GOWTHAMARAJA, K.; JAWAHAR, N.; WAKE, PRASHANT; JAIN, KUNAL, SOOD, SUMEET. Development of buccal tablets for curcumin using *Anacardium occidentale* gum. *Carbohydrate Polymers*, v.88, p.1177– 1183, 2012.

GOWTHAMARAJAN, K.; KUMAR, G.K.P.; GAIKWAD, N.B.; SURESH, B. Preliminary study of *Anacardium occidentale* gum as binder in the formulation of paracetamol tablets. *Carbohydrate Polymers*, v.83, p. 506–511, 2011.

GRAY, H.; WILLIAMS, P. L. *Anatomia*. 37. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

GRUBER, C. W.; O'BRIEN, M. Uterotonic Plants and their Bioactive Constituents. *Planta Medica*, v. 77, n. 3, p.207-220, 2011.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. *Tratado de fisiologia médica*. 12. ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2011.

HAREL Z. Dysmenorrhea in adolescents and young adults: from pathophysiology to pharmacological treatments and management strategies [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 9(15): 2661-2672, 2008.

HOSOKAWA, M.; NOGI, K.; NAITO, M.; YOKOYAMA, T. *Nanoparticle technology handbook*. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2007.

JACOB, S. W; FRANCONI, C. A.; LOSSOW, W. J. *Anatomia e fisiologia humana*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1990.

KIM, S.; KIM, J.-H.; JEON, O.; KWON, I. C.; PARK, K. Engineered polymers for advanced drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.71, n.3, p.420-430, 2009.

KUMAR, R., PATIL, M. B., PATIL, S. R., & PASCHAPUR, M. S. Evaluation of Anacardium occidentale gum as gelling agent in aceclofenac gel. *International Journal of PharmTech Research*, v.1, n.3, p. 695–704, 2009.

LANGER, R.; TIRRELL, D.A. Designing materials for biology and medicine. *Nature*, v. 428, p. 487-492, 2004.

LIMA, J.L.S., FURTADO, D.A., PEREIRA, J.P.G., BARACUHY, J.G.V., XAVIER, H.S. *Plantas Mediciniais de uso comum no Nordeste do Brasil*. Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2006.

LIMA, M. R., PAULA, H. C. B., ABREU, F. O. M. S., DA SILVA, R. B. C., SOMBRA, F. M., & DE PAULA, R. C. M. Hydrophobization of cashew gum by acetylation mechanism and amphotericin b encapsulation. *International journal of biological macromolecules*, 108, 523, 2018.

LIU, Z.; JIAO, Y.; WANG, Y.; ZHOU, C.; ZHANG, Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.60, n.15, p.1650-1662, 2008.

MIRANDA, R.L. Cashew tree bark secretion – perspectives for its use in protein isolation strategies. *Open Glycosci.* 2, 16–19, 2009.

MONJI, F., LAU, L.C., SIDDIQUEE, A.A., SAID, B. B., YOGANATHAN, L.Y., CHOOLANI, M.A., ADAIKANA, P.G. Potent tocolytic activity of ethyl acetate fraction of *Ananas comosus* on rat and human uteri. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 105, 824–834, 2018.

MORAIS, L.P., SILVA, A.A., SILVA, R.E.R., COSTA, R.H.S., MONTEIRO, A.B., BARBOSA, C.R.S., AMORIM, T.S.I, MENEZES, R.A., KERNTOPF, M.R., BARBOSA, R. Tocolytic activity of the *Lippia alba* essential oil and its major constituents, citral and limonene, on the isolated uterus of rats. *Chemico-Biological Interactions*, 297, 155–159, 2019.

MOTHÉ, C.G. Produção de goma de cajueiro, Patente PI0004114-9, 2000

NICOLAU, L. D., DE LIMA, F. B., SANTANA, A. P. M., WOODLAND, P. J., LEE, C., MEDEIROS, J. V. R., SOUZA, M. Topical Protection of Human Oesophageal Mucosal Integrity By the Cashew Gum, a Natural Polymer Obtained from a Brazilian Northeastern Tree (*Anacardium occidentale* L.). *Gastroenterology*, 152(5), S460–S461, 2017.

NUNES, Janaina Mayer de Oliveira. Prevalência de dismenorreia em universitárias e sua relação com absenteísmo escolar, exercício físico e uso de medicamentos. *Revista Brasileira em Promoção da Saúde*, v. 26, n. 3, p. 381-386, 2013.

OJEWOLE, J.A. Laboratory evaluation of the hypoglycemic effect of *Anacardium occidentale* L. (*Anacardiaceae*) stem-bark extracts in rats. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 25, 199–204, 2003.

PITOMBEIRA, N. A. O., NETO, J. G. V., SILVA, D. A., FEITOSA, J. P. A., PAULA, H. C. B., AND PAULA, R. C. M. Self-Assembled Nanoparticles Of Acetylated Cashew Gum: Characterization And Evaluation As Potential Drug Carrier, *Carbohydrate Polymers*, 2014.

RANAA, V.; RAI, P.; TIWARY, A. K.; SINGH, R.S. ; KENNEDY, J. F., KNILL, C. J. Modified gums: Approaches and applications in drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, v.83, p.1031–1047, 2011.

RANG, H. P. et al. *Farmacologia*. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

RAO, J.P.; GECKELER, K. E. Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size control parameters. *Progress in Polymer Science*, v.36, p.887–913, 2011.

RIBEIRO, Fernanda Pires Rodrigues de Almeida. *Investigação da atividade espasmogênica de Erythroxylum caatingae Plowman em útero isolado de rata-Petrolina*, 2013.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. DE LUCCA; POHLMANN, A. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química Nova* [online], v.26, n.5, p. 726-737, 2003.

SHIH, H. C.; HSU, C. S.; YANG, L. L. In vitro study of the tocolytic effect of oroxylin A from *Scutellaria baicalensis* root. *Journal of Biomedical Science*, v.16, n. 27, p. 1-7, 2009.

SHIRATO, G. V.; MONTEIRO, F. M. F.; SILVA, F. O.; FILHO, J. L. L.; LEÃO, A. M. A. C. O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de camundongos. *Ciência Rural*, v.36, p.149-154, 2006.

Silva, E.L.V., Oliveira, A.C.J. Patriota, Y.B.G., Ribeiro, A.J., Veiga, F., Hallwass, F. Silva-Filho, E.C., Silva, D.A., Soares, M.F., Wanderley, A.G., Soares-Sobrinho, J.L. Solvent-free synthesis of acetylated cashew gum for oral delivery system of insulin, carbohydrate polymers, 207, 601-608, 2019.

SOUTO, E. B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M. H. A. Preparação de Nanopartículas Poliméricas a partir de Polímeros Pré-formados – Parte II. Polímeros, v. 22, n. 1, p. 101-106, 2012.

SOUZA FILHO, M.D et al. Orobace formulation with cashew gum polysaccharide decreases inflammatory ad bone loss hallmarks in experimental periodontitis. International Journal Biological Macromolecules 107,1093-1101, 2018.

THAINA, P. et al. Uterine relaxant effects of *Curcuma aeruginosa* Roxb. rhizome extracts. Journal of Ethnopharmacology, v. 121, nº. 3, p. 433-443, 2009.

TOLEDO, M. R. S. et al. Fitotoxicidade de extrato aquoso de *Duguetia furfuraceae* (St. Hil.) B. et H. em ratos (*Rattus norvegicus*). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.8, nº. 4, p. 281-222, 2006.

TORQUATO, D. S.; M. L. FERREIRA, G. C. SÁ, E. S. BRITO, G. A. S. PINTO, E. H. F. Azevedo, Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum., World Journal of Microbiology & Biotechnology. 20, 505-507, 2004.

TRAVASSOS, R.A. Mecanismos de sinalização endotelial e modulação de canais para cálcio e potássio na atividade relaxante do alcaloide sintético 1-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-7-metoxi-1,2,3,4-tetrahidroisoquilina em aorta isolada de rato . 2015. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, Joao Pessoa. 2015.

VITORINO FILHO, Raimundo Nonato Lima. Uso de polissacarídeo extraído do exsudato de cajueiro (*anacardium occidentale* L.) na terapêutica tópica de feridas. 2011. 66p. Dissertação (Mestrado em ciência animal), Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.

WEBB, R. C. Smooth muscle contraction and relaxation. Advances in Physiology Education, v. 27, nº. 4, p.201-206, 2003.

WRAY, S. et al. The physiological basis of uterine contractility: a short review. Experimental Physiology, v. 86, n. 2, p. 239-246, 2001.

YAMASSAKI, F.T., LENZI, R.M., CAMPESTRINI, L.H., BOVO, F., SEYFRIED, M., SOLDERA-SILVA, A., STEVAN-HANCKE, F.R., ZAWADZKI-BAGGIO, S.F., PETTOLINO, F.A., BACIC, A., MAURER, J.B. Effect of the native polysaccharide of cashew-nut tree gum exudate on murine peritoneal macrophage modulatory activities. *Carbohydr. Polym.* 125, 241–248, 2015.

YANG L, CHAI C, YUE X, YAN Y, KOU J, CAO Z, et al. Ge-Gen Decoction attenuates oxytocin-induced uterine contraction and writhing response: potential application in primary dysmenorrhea therapy. *Chinese Journal of Natural Medicines.*14(2):124–32, 2016

YANG, J, SUYA HAN, HAICHENG ZHENG, HONGBIAO DONG, JIUBING LIU. Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides. *Carbohydrate Polymers* 123, 53–66, 2015.

YAZBEK, P.B.; TEZOTO J.; CASSAS F.; RODRIGUES, E. Plants used during maternity, menstrual cycle and other women's health conditions among Brazilian cultures. *Journal Ethnopharmacology*, 2016.

CAPÍTULO II

ARTIGO 1

Publicado na revista Expert Opinion On Therapeutic Patents

Qualis em Biotecnologia: A1

Fator de Impacto: 2.867



**PROSPECÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA SOBRE FORMULAÇÕES
TRANSDÉRMICAS E TERAPIAS COMPLEMENTARES PARA O TRATAMENTO
DA DISMENORREIA PRIMÁRIA**

**Scientific and technological prospection on transdermal formulations and
complementary therapies for the treatment of primary dysmenorrhea**

Sávia Francisca Lopes Dias ^a, Layane Carneiro Alves Pereira ^b, Rosimeire Ferreira dos Santos ^c,
Aldeidia Pereira de Oliveira ^c, Lívio César Cunha Nunes^a

^a Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – RENORBIO ^b Curso de Farmácia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil; ^c Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

<https://doi.org/10.1080/13543776.2019.1562547>

Resumo

Dismenorreia primária (DP) é um termo médico utilizado para definir as cólicas menstruais cuja causas não são totalmente compreendidas, mas sabe-se que podem estar relacionadas com a ação da prostaglandina F2 alfa (PGF_{2α}). Os tratamentos convencionais são feitos com contraceptivos orais e/ou anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs). Entretanto, estes apresentam diversos efeitos colaterais. Desta forma, novos estudos estão voltados à busca de terapias alternativas que sejam eficazes no tratamento da DP como aplicação transdérmica de AINEs e/ou terapias complementares. O presente trabalho tem como objetivo realizar uma prospecção científica e tecnológica a partir das bases de artigos da *Web of Science*, *PubMed* e *Scienccdirect* e as bases de patentes do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI); *European Patent Office* (EPO) e da *World Intellectual Property Organization* (WIPO). Através da destes, foi possível compreender a necessidade de terapias alternativas para o tratamento da DP com maior efetividade e menores efeitos colaterais principalmente na tentativa de reduzir a intensidade e duração da dor além de diminuir o uso contínuo de medicamentos.

Palavras-chave: Administração Transdérmica; Dismenorreia Primária; Plantas Medicinais; Terapias Complementares.

1. Introdução

Dismenorreia ou período doloroso é um termo médico utilizado para definir as cólicas menstruais. Essa condição é classificada como primária (intrínseca, essencial ou idiopática) se ocorrer em mulheres sem doença pélvica; e secundária (extrínseca, adquirida) se estiver

relacionada a uma afecção orgânica pélvica como endometriose, leiomioma uterino, doença inflamatória pélvica ou presença de dispositivo contraceptivo intrauterino [1].

A maioria das pacientes com dismenorreia sofrem também com outros sintomas associados à menstruação tais como, náuseas e vômitos. Além disso, o período de dor intensa pode resultar ainda em estresse psicológico como a ansiedade e depressão [2].

A dismenorreia é um problema bastante frequente e pode afetar principalmente aquelas mulheres em idade reprodutiva, interferindo principalmente em suas atividades cotidianas, afetando sua qualidade de vida e bem-estar geral. E afeta cerca de 40 a 50% das mulheres adolescentes [3-4].

As causas dessa condição ainda não são totalmente compreendidas, mas seus sintomas podem estar relacionados com a ação de prostaglandinas (PGs), mais especificamente a $\text{PGF}_{2\alpha}$, onde está é liberada durante a menstruação, pode estimular as contrações do miométrio, sensibilizando as terminações nervosas, provocando isquemia e dor [5].

Existem vários métodos médicos e nutricionais para o tratamento e controle da dismenorreia primária (DP), incluindo métodos mais convencionais, como contraceptivos orais e as drogas inibidoras das ciclooxygenases, e conseqüentemente das prostaglandinas, conhecidas como anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) [6].

Entretanto, os efeitos colaterais mais comuns desses medicamentos incluem problemas digestivos, como náuseas, dispepsia e vômitos, e em casos mais graves, problemas renais, úlcera de estômago, tonturas, cefaleia e complicações hepáticas [7].

Dessa forma, o estudo da aplicação transdérmica dessa classe de fármacos tem se destacado na tentativa de evitar ou reduzir os efeitos adversos [8]. Esse tipo de aplicação não sofre ação do metabolismo de primeira passagem hepática, comum para fármacos administrados pela via oral, aumentando a biodisponibilidade e reduzindo a degradação dessas drogas. Além disso, torna-se mais vantajoso em relação às vias intravenosa e intramuscular por ser indolor e não invasiva, aumentando a adesão do paciente à terapia [9].

Entretanto, a administração cutânea é um processo extremamente complexo. As camadas da pele, principalmente o estrato córneo, agem como o principal obstáculo à permeação dos fármacos [10]. Nesse sentido, novos dispositivos para a incorporação desses medicamentos veem sendo investigados no intuito de aperfeiçoar a distribuição cutânea, que envolvem uma alteração direta da pele para promover a permeação dos fármacos e garantir a biodisponibilidade do fármaco e sua manutenção na faixa terapêutica [11].

A dismenorreia pode também ser tratada utilizando terapias alternativas como óleos essenciais, plantas medicinais, acupuntura, aromaterapia, reflexologia, massagem e exercícios.

Essas alternativas podem ser um componente terapêutico suplementar na redução da intensidade e duração da dor bem como na dose de medicamentos [12].

O presente trabalho teve como objetivo realizar uma prospecção científica e tecnológica a fim de avaliar o perfil dos artigos e patentes sobre a administração transdérmica de fármacos e a utilização de terapias alternativas para o tratamento da DP.

2. Metodologia

O levantamento de dados foi realizado utilizando a base de artigos da *Web of Science*, *PubMed* e *Sciencedirect* e as bases de patentes do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI); *European Patent Office* (EPO) e da *World Intellectual Property Organization* (WIPO).

Foi utilizado como descritores: “*Primary Dysmenorrhea*” and “*Transdermal Administration*”; “*Primary Dysmenorrhea*” and “*Complementary Therapies*”; “*Primary Dysmenorrhea*” and “*Medicinal Plants*”. Para a busca de documentos na base nacional, foram pesquisados esses termos na sua equivalência ao português, sendo considerados válidos os documentos que apresentassem o cruzamento dessas palavras no título e/ou resumo.

Durante a seleção dos artigos, para o refinamento da pesquisa, a avaliação dos títulos e dos resumos (*abstracts*) identificados na busca inicial foi realizada por dois pesquisadores, de forma independente e cegada, obedecendo rigorosamente aos critérios de inclusão como segue: artigos dos últimos 10 anos; ensaios clínicos em mulheres jovens ou adultas com sinais clínicos de DP. Os estudos de caso, séries de casos, estudos qualitativos, revisões de literatura e ensaios não controlados foram excluídos, bem como aqueles que não conseguiram fornecer resultados detalhados.

Para a pesquisa de patentes, foram utilizados os mesmos descritores e como critério de seleção apenas o ano, de 2008 a 2018 e todos os documentos que já haviam sido publicados nesse período.

Na tabulação dos dados, os resultados foram expressos em um quadro comparativo com a descrição dos autores, data do depósito e detalhes da invenção. Para os artigos foi construído um quadro com a descrição dos principais resultados alcançados, em gráficos de acordo com ano de publicação, países proponentes e área de atuação; e um quadro que descreve a intervenção realizada para alívio da dor na DP e o nível de significância em relação ao controle, placebo ou AINE.

3. Resultados e Discussão

3.1 Prospecção Científica

Por meio das bases de periódicos utilizadas e seguindo os critérios pré-estabelecidos, foram computados 281 artigos com o descritor “*Primary Dysmenorrhea*”. Quando se empregou o cruzamento das palavras “*Primary Dysmenorrhea*” and “*Transdermal Administration*” obteve-se apenas 4 artigos, ao utilizar o termo “*Complementary Therapies*” e com o cruzamento dos termos “*Primary Dysmenorrhea*” and “*Medicinal Plants*” encontrou-se 81 artigos.

A Figura 1 descreve um diagrama de fluxo PRISMA para estratégia de busca e seleção dos estudos pesquisados. Do número total identificados nas bases de dados e selecionados por título, resumo e palavras-chave, alguns foram removidos por duplicação. Destes, ainda foram excluídos aqueles que abordavam o tratamento farmacológico da dismenorreia por via oral, experimentos com animais, artigos de revisão bibliográfica e estudos não controlados; resultando ao final 19 que foram devidamente elegidos para discussão subsequente.

Com relação à quantidade de publicações, na Figura 2 estão representados os artigos publicados no período de 2008 a 2018, na qual foi possível observar o crescente aumento de artigos a respeito da DP. Destaca-se inclusive, que a produção de todo o ano 2008 se equipara apenas ao início do ano de 2017. Além disso, observa-se uma redução em quantidade de publicações com o refinamento da pesquisa, principalmente ao associar o termo “Administração Transdérmica”, em seguida de “Plantas Medicinais” e “Terapias Complementares”, demonstrando que o estudo sobre possibilidades de tratamento eficaz para essa condição por diferentes alternativas ainda é bastante limitado.

Ao analisar os artigos publicados por países (Figura 3), observa-se, que a China e os Estados Unidos ocupam lugares de destaque em trabalhos com Dismenorreia Primária e seu tratamento por administração tópica e terapias complementares, respectivamente. Esse resultado confirma a enorme capacidade científica desses territórios e o interesse em desenvolver novas tecnologias para beneficiar a saúde da população.

Dentre os artigos publicados, as áreas mais requeridas foram Ginecologia e Obstetrícia; Medicina Complementar e Medicina Geral. Isso acontece provavelmente, porque a Dismenorreia é o problema ginecológico mais comum entre mulheres em idade reprodutiva e a maior causa de restrição de suas atividades. O que justifica a necessidade de se estudar de forma mais aprofundada novas formas de alívio da dor e melhora da qualidade de vida dessas mulheres [13].

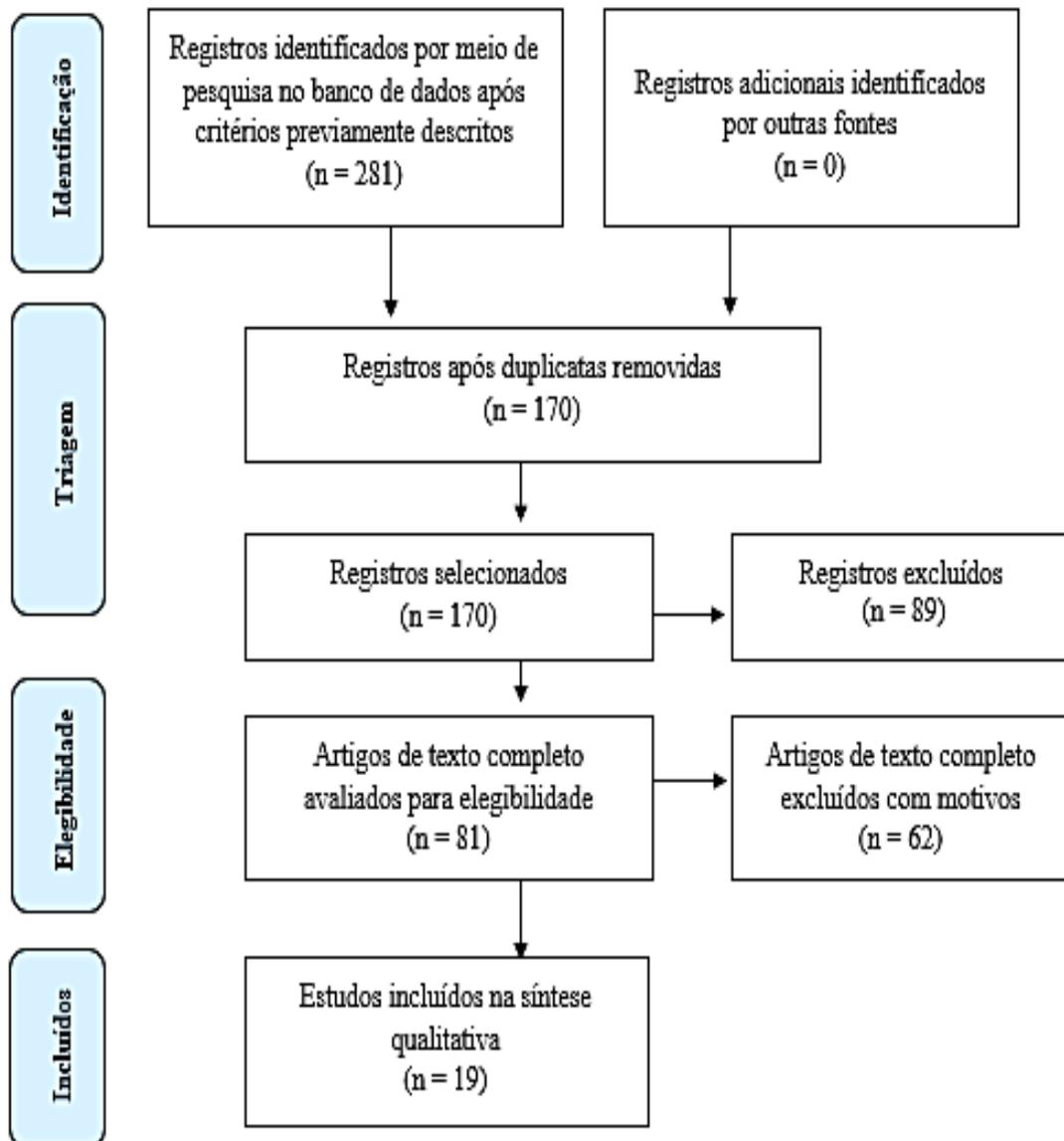


Figura 1: Diagrama de fluxo PRISMA

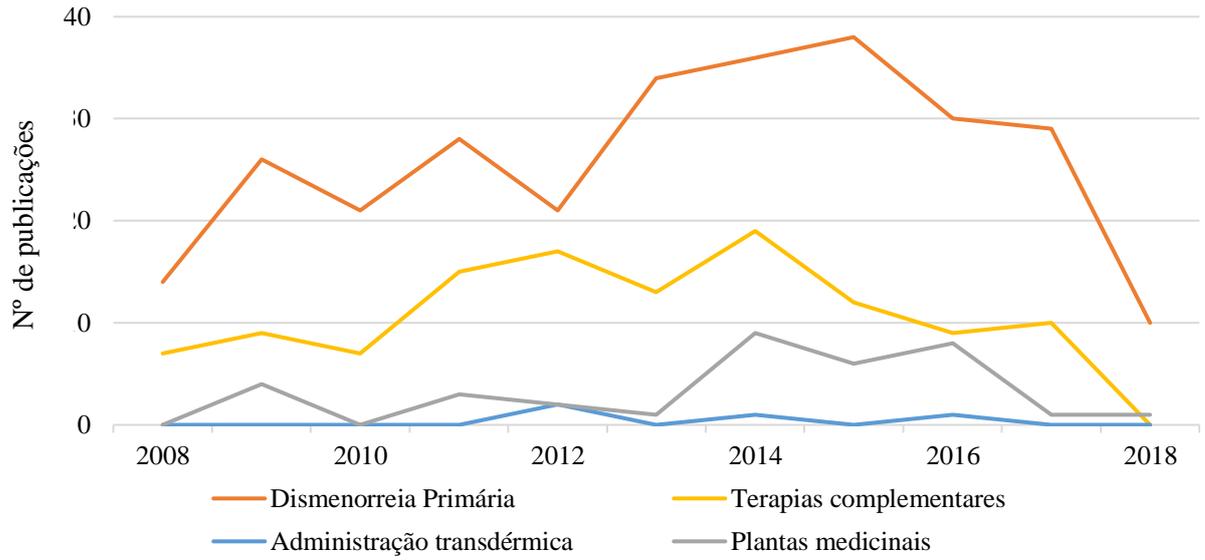


Figura 2. Número de artigos por ano de publicação para o tratamento da Dismenorreia Primária

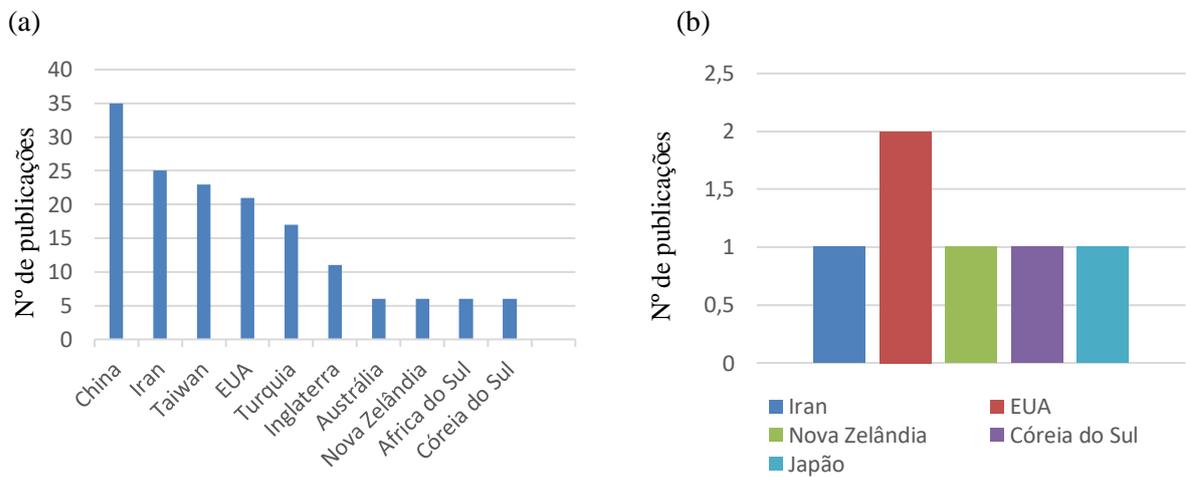


Figura 3. Número de publicações por País de origem sobre Dismenorreia Primária (a) e seu tratamento por administração tópica e terapias complementares (b)

Quadro 1. Tratamento da Dismenorreia primária por via transdérmica e terapias complementares.

Autor/ Ano	Tipo de Estudo	Objetivo	Terapêutica/Método avaliativo	Resultados/Conclusões
Kempf D., Berger D., Ausfeld- hafter B., 2009 [14]	Estudo piloto randomizado, controlado e duplo cego. GP: 30 GE: 18	Investigar se o efeito da acupuntura com agulha a laser ativa é superior ao efeito da acupuntura com agulha de laser placebo em mulheres com DP.	GE: Acupuntura com agulha de laser; GP: Acupuntura com agulha sem atividade do laser (placebo); 8 pontos de acupuntura (SP6, LV3 e LI4 bilateral; CV3 e ST36 à direita) em 8 sessões de 20 min cada, durante um período de 3 ciclos menstruais; EVA.	No grupo de acupuntura real, a taxa de sucesso foi de 16,7%, no grupo placebo 20%. Não foi possível encontrar uma vantagem significativa da acupuntura com agulha laser.
Rakhshae, 2011 [15]	Estudo clínico controlado, randomizado. GE: 50 GC: 42	Verificar a efetividade de três posicionamentos da Yoga em adolescentes com DP.	GE: Posturas Cobra, Gato e Peixe. Por pelo menos 14 dias de ciclo menstrual (fase lútea) e por uma sessão de 20 minutos por dia; GC: Nenhuma intervenção; EVA.	A Yoga reduz de forma significativa a severidade e a duração da dor na DP.
Mirabi, P. et al, 2011 [16]	Ensaio randomizado Duplo-controlado n: 100 estudantes GE: 49 GC: 51	Avaliar o impacto da valeriana (<i>Valeriana officinalis</i>) quanto aos seus efeitos sedativos e efeitos antiespasmódico sobre a gravidade da dismenorréia.	GE: Valeriana, 225 mg, v.o., 8/8h, Durante 3 dias, começando no início da menstruação, durante 2 ciclos menstruais consecutivos); GC: Cápsulas de amido (placebo); EVA.	Observou-se que intensidade da dor foi significativamente reduzida em ambos os grupos, mas a extensão da redução foi maior no grupo da valeriana e os escores totais das manifestações sistêmicas associadas à dismenorreia diminuíram após a intervenção, mas não houve diferença significativa entre os grupos, com exceção da síncope.

Shin Y.I. et al., 2012 [17]	Ensaio piloto randomizado, duplo-cego, controlado por placebo. GE:21 GC:10	Avaliar a eficácia da terapia com luz baixa de adesivo de pele (LLLT) em participantes com DP.	GE: LLLT ativa; GC: Placebo; 20 min/dia durante 5 dias antes do início esperado da menstruação; 6 meses; EVA.	A taxa de redução da dor foi de 83% no grupo ativo LLLT. Isso sugere que o adesivo de pele pode ser um tratamento não farmacológico eficaz, simples e seguro para dismenorreia.
Rigi et al., 2012 [18]	Estudo controlado, randomizado. GP:72 GI:75	Comparar o efeito analgésico de um <i>patch</i> de calor contendo ferro com ibuprofeno para o tratamento da dismenorreia primária (DP).	GP: Um <i>patch</i> de 7 × 12 cm para colocar em suas roupas íntimas no início da menstruação; GI: 400 mg, v.o, 8/8h; Mc Gill.	<i>Patch</i> de calor contendo chips de ferro tem efeitos analgésicos comparáveis ao ibuprofeno e pode ser usado para DP.
Apay et al., 2012 [19]	Desenho experimental com os sujeitos como seu próprio controle GE: 44 GP: 44	Investigar o efeito da massagem de aromaterapia com óleo de lavanda em comparação com massagem com vaselina líquida inodora (placebo).	GE: Massagem com aromaterapia; GP: Massagem com vaselina líquida inodora. Região acima sínfise púbica 2ml de lavanda ou vaselina; Movimentos circulares (15 min); EVA.	A massagem foi eficaz na redução da dismenorreia. E o efeito da massagem aromaterapia sobre a dor foi maior do que a da massagem placebo.
Baldan et al., 2013 [20]	Estudo clínico, controlado, duplo-cego e randomizado n: 21 mulheres	Avaliar a influência da TENS em relação a dismenorreia primária.	TENS convencional; F: 120 Hz, 100µs; T: 40 min; EVA.	A aplicação da TENS promoveu diminuição da DP.
Potur; Komurcu, 2014 [21]	Estudo prospectivo controlado GA: 61 GP:66 GC:66	Comparar os efeitos de um <i>patch</i> de baixa dose de calor com a auto-medicação analgésica na redução dos sintomas de dor na DP.	GC: Não usou nenhum tratamento GA: Medicação analgésica (dose única); GP: Baixo ventre, contra a pele, por um período de aplicação de 2 ciclos menstruais; EVA.	Houve diferenças significativas entre os grupos em termos de intensidade da dor após 8 horas de aplicação, comprovando que o <i>patch</i> de calor é um método eficaz para reduzir a dismenorreia.

Shirvani, M. A.; Motahari-Tabari, N.; Alipour, A, 2014 [13]	Ensaio clínico randomizado n: 122 mulheres GP: 61 GC: 61	Comparar o efeito do ácido mefenâmico e gengibre (<i>Zingiber officinale</i>) no tratamento da dor na DP.	GG: Gengibre, 250 mg, v.o., 6/6h; GM: Ácido mefenâmico, 250 mg, v.o., 8/8h a partir do início da menstruação até o alívio da dor durar dois ciclos; EVA.	A medição repetida mostrou uma diferença significativa na intensidade da dor dentro dos grupos por tempo, mas não entre os grupos. Sendo o tão eficaz quanto o ácido mefenâmico no alívio da dor na DP.
Ghodsi; Asltoghiri, 2014 [22]	Estudo clínico randomizado. n: 80 mulheres GE: 40 GC: 40	Avaliar a eficácia da erva doce (<i>Foeniculum vulgare</i> M.) nos sintomas da DP e na duração da menorria.	GE: Erva-doce, 30 mg, v.o., 4/4h, 3 dias antes da menstruação até o 5º dia por 3 meses; GC: Não recebeu medicação. EVA	Após 3 meses observou-se uma diminuição da média da intensidade, da fraqueza e da náusea além de uma redução no período menstrual. Sendo assim, eficaz no alívio dos sinais de dismenorréia, na duração menstrual e nos seus problemas sócio-psicóticos.
Abd-El-Maeboud; 2014 [23]	Estudo randomizado comparativo n: 60 mulheres	Avaliação preliminar da eficácia e segurança do uso de uzara (<i>Xysmalobium undulatum</i>) no tratamento da dismenorreia primária moderada e grave em comparação ao ibuprofeno.	G: Uzara, 80 mg, v.o, 8/8h e depois ibuprofeno, 400 mg, v.o., 6/6h em dois ciclos subsequentes ou vice-versa; EVA.	Uzara foi comparativamente eficaz para o ibuprofeno com taxas comparáveis de eficácia na avaliação global (cerca de 50% para cada droga) e taxas de faltas escolares (11,7% vs. 13,3%;). E com menores efeitos colaterais.
Lauretti et al., 2014 [24]	Estudo prospectivo duplo cego randomizado n: 40 mulheres	Avaliar a eficácia e segurança de um novo dispositivo portátil para cólicas menstruais.	TENS TANIX; F: 85 Hz 100µs; T: 30 minutos; EVA.	O dispositivo portátil TENS demonstrou-se eficaz para o alívio da dor e melhora a qualidade de vida.
Dehkordi; Baharanch; Bekhradi, 2014 [25]	Clínico, randomizado, clínico, experimental n: 96 mulheres GE: 48 GP: 48	Investigar os efeitos terapêuticos da inalação do óleo de lavanda nos sintomas da DP.	GE: Aroma de lavanda diluído em óleo de sésamo; GP: Óleo de sésamo; Inalação: 5 min.	A lavanda foi altamente eficaz na redução da pontuação de sintomas (dor abdominal, dor nas costas, desmaio, fraqueza, vômito e congestão nasal).

Azima et al., 2015 [12]	Ensaio clínico controlado GEI:40 GM:40 GC:40	Comparar o efeito da massagem com óleo de lavanda e exercício isométrico na DP.	GM: Dois ciclos consecutivos de massagem com óleo de lavanda; GEI: 8 semanas de exercício isométrico; GC: Sem intervenção; EVA; Questionário de Spielberger.	A massagem aromática e o exercício isométrico são efetivos na redução dos sintomas da DP e a redução da intensidade da dor foi mais significativa no grupo da massagem.
Lee B. et al., 2015 [26]	Ensaio clínico randomizado único-cego, controlado por placebo n: 115 mulheres GE: 57 GC: 58	Investigar a eficácia e a segurança da terapia combinada hf-TENS e termoterapia no alívio da dor DP.	hf- TENS; F: 100-110Hz; T: 10min; Termoterapia 40 ±1 °C ou 37 ±1 °C (20min); GE: hf-TENS / termoterapia GC: Dispositivo simulado. EVA.	A combinação de hf-TENS e termoterapia foi eficaz e seguro no alívio da dor aguda em mulheres com DP moderada ou grave.
Kannan et al., 2015 [27]	Ensaio clínico randomizado único-cego, prospectivo n: 70 mulheres GE: 35 GC: 35	Avaliar o efeito de uma intervenção com exercício para reduzir a intensidade da dor e melhorar a qualidade de vida em mulheres com DP.	Treinamento aeróbio vigoroso em uma esteira por 30 min; Aquecimento:10 min; Resfriamento: 10min; Alongamento para músculos lombares, região pélvica, fortalecimento dos músculos abdominais e glúteos. EVA	Foi comprovado a eficácia do exercício na gestão da dor em mulheres com dismenorreia e melhora da qualidade de vida.
Ortiz et al., 2015 [4]	Ensaio clínico randomizado único-cego, prospectivo GE: 96 GC: 96	Avaliar a eficácia de um programa de fisioterapia para aliviar os sintomas de DP.	GE: Fisioterapia por 3 meses com alongamento, alongamentos específicos, exercícios de Kegel, exercícios de corrida e de relaxamento.	O fortalecimento, alongamento e relaxamento muscular técnicas, são eficazes para reduzir os sintomas da DP quando eles são realizados regularmente.

Hong G.Y et al., 2016. [28]	Ensaio clínico prospectivo, multicêntrico, placebo-controlado, duplo cego GC: 38 GE: 41	Avaliar a eficácia e segurança da terapia de luz de baixo nível (LLLT) em mulheres com DP.	GE: O dispositivo Color DNA-WSF; GC: Tratamento com dispositivo fictício (placebo); 3 meses; EVA.	A LLLT pode ser uma modalidade eficaz e segura de tratamento para mulheres com DP.
Uysal et al., 2016 [29]	Ensaio clínico randomizado, placebo controlado GE: 50 GC: 50	Avaliar os efeitos do óleo essencial de rosa na DP.	GE: Diclofenaco de sódio, 75mg, I.M. + inalação com óleo essencial de rosa (2%); GC: Diclofenaco de sódio, 75mg, I.M. EVA	O óleo essencial de rosa aplicado por inalação pode ser uma modalidade de tratamento adjuvante eficaz na DP.
Gaubeca-Gilarranz, 2018. [30]	Ensaio randomizado em grupo paralelo n: 56 mulheres GE: 19 GAP: 18 GC: 19	Comparar a eficácia do agulhamento seco (<i>dry needling</i>) em ponto de gatilho versus placebo, em relação ao grupo controle não tratado, sobre dor e qualidade de vida em casos de DP.	GE: <i>Dry needling</i> em ponto de gatilho; GAP: Agulhamento placebo; GC: Nenhum tratamento; Todos realizaram alongamento do músculo reto abdominal diariamente. Avaliação no início, 1 e 2 meses após o tratamento; EVA.	As mulheres do grupo GE relataram redução da dor e da quantidade de medicamentos em relação ao placebo ou controle. Não foram encontradas diferenças no número de dias com dor ou qualidade de vida.

Legenda - DP: Dismenorreia primária; EVA: Escala visual analógica; GA: Grupo analgesia; GAP: Grupo agulhamento placebo; GC: Grupo controle; GE: Grupo experimental; GEI: Grupo exercício isométrico; GI: Grupo ibuprofeno; GM: Grupo massagem; GP: Grupo *patch*; I.M.: Intramuscular; LLLT: *Low-level laser therapy*; T: Tempo; TENS: *Transcutaneous electrical nerve stimulation*; V.O.: Via oral

O Quadro 1 dispõe esses artigos após a seleção criteriosa de acordo com ano de publicação em ordem crescente, tipo de estudo, objetivo, terapêutica com método avaliativo e resultados. Todos descrevem técnicas e formas aprimoradas para alívio da dor e de desconfortos ocasionados pela dismenorreia.

Terapias complementares não farmacológicas podem ser associadas a novas formas de administração de medicamentos e dessa maneira também reduzir o nível de exposição às drogas e seus efeitos colaterais de modo a potencializar o alívio da sintomatologia da dismenorreia primária. Através de técnicas como a aromaterapia, eletroestimulação, massagem ou exercícios pode-se promover uma redução da hipóxia e com isto aumentar o nível de oxigenação tecidual propiciando uma melhor circulação sanguínea e linfática, aliviando a rigidez muscular e como consequência a dor [19].

Nesse sentido, um estudo foi realizado para investigar exclusivamente os efeitos terapêuticos da inalação do óleo de lavanda nos sintomas da dismenorreia e na quantidade de sangramento para aliviar as queixas e desconfortos, e, assim, melhorar a qualidade de vida das mulheres. Essa pesquisa comprovou que não existe uma associação significativa entre a inalação de lavanda e a quantidade de sangramento menstrual durante os primeiros três dias, entretanto a técnica comparada ao placebo reduziu drasticamente a gravidade dos sintomas da dismenorreia primária [25].

Em pesquisa mais recente, pesquisadores associaram a inalação de óleo essencial de rosa com o tratamento por AINE e comprovaram que as técnicas em conjunto reduziram a dor na dismenorreia primária mais do que o tratamento com AINE de maneira isolada. Isso sugere que essa alternativa pode ser usada como uma terapia adjuvante no alívio da dor em pacientes com essas queixas [29].

Apay et al [19], incluíram à aromaterapia o efeito da massagem com óleo de lavanda em comparação à massagem placebo com vaselina líquida inodora. O óleo essencial de lavanda é utilizado para ser um estimulante adrenocortical que estimula a circulação. Os resultados do estudo demonstraram que a massagem foi eficaz na redução da dismenorreia e que o efeito com óleo de lavanda sobre a dor foi maior comparado ao placebo. Além disso, é importante ressaltar que o método pode ser utilizado aplicado de forma segura, porque ele não apresentou efeitos colaterais, tem menor custo e é de fácil aplicação.

Azima et al [12] compararam a eficácia da massagem aromática e exercícios isométricos sobre a intensidade, duração da dor, e nível de ansiedade em estudantes que sofrem de dismenorreia primária. Os exercícios isométricos incluíram os músculos do assoalho pélvico, adutores femorais, reto, transversos e oblíquos do abdômen. Os achados do estudo mostraram

que ambas as técnicas, pelo menos em curto prazo, podem reduzir a intensidade e a duração da sintomatologia da dismenorreia primária. Entretanto, o nível de ansiedade não foi significativamente reduzido no grupo exercícios isométricos. Acredita-se que essa redução aconteceu no grupo da massagem, porque a mesma promove regulação da resposta emocional-sensacional límbica promovendo a melhoria do fluxo de sangue e linfa, e relaxamento dos músculos contraídos.

Outros autores corroboram com a influência do exercício na redução da duração da dor possivelmente associada ao aumento do fluxo sanguíneo e do metabolismo no útero. Onde avaliaram e comprovaram o efeito de uma intervenção com treinamento aeróbico vigoroso para reduzir a intensidade da dor e melhorar a qualidade de vida em mulheres com dismenorreia primária [27].

Quanto a avaliação da eficácia de um programa de fisioterapia para aliviar os sintomas de dismenorreia primária com alongamentos específicos, nele foi incluído exercícios de Kegel, exercícios de corrida, e de relaxamento [4]. O estudo comprovou que essas técnicas, são eficazes para reduzir os sintomas quando eles são realizados regularmente. Rakhshae [15] verificou a efetividade de três posicionamentos da Yoga em adolescentes com dismenorreia primária e concluiu que esta técnica reduz de forma significativa a severidade e a duração da dor em mulheres com essa condição.

Outras terapias alternativas já estudadas como a Eletroestimulação Transcutânea e Acupuntura, também comprovaram seus efeitos na redução da dor, mesmo que a curto prazo, o que ratifica a ideia que o tratamento por via tópica pode ser eficaz, principalmente se novas tecnologias fossem desenvolvidas para incorporação e liberação de medicamentos, bem como se associadas a terapias complementares [31-32-33].

A estimulação elétrica transcutânea (TENS) é um recurso fisioterapêutico de fácil manejo, utilizada para o alívio da dor pela estimulação de nervos periféricos, onde se utiliza eletrodos na pele com o intuito de transmitir correntes, ativando a liberação de opióides endógenos baseada na teoria das comportas. A corrente elétrica apresenta efeitos fisiológicos ocasionando analgesia devido à ativação das fibras de diâmetro largo (A-beta), sem estimular as fibras de menor diâmetro (A- delta e C) [20].

Pesquisadores, em seus estudos, avaliaram a eficácia de um novo dispositivo portátil, TENS (TANYX), usado para o tratamento de cólicas menstruais. A aplicação do dispositivo foi durante 7 dias, por 30 minutos. A intensidade da dor foi medida pela pontuação da Escala Visual Analógica (EVA). O TENS (TANYX) demonstrou ser eficaz para o alívio da dor e melhora na qualidade de vida. A portabilidade do dispositivo é certamente uma vantagem por

oferecer uma terapia contínua; porém, são necessários novos estudos a respeito do uso deste dispositivo [24]. O mesmo resultado foi obtido por estudos que avaliavam a influência da TENS convencional em 21 voluntárias, com frequência de 120 Hz e 100 μ s durante 40 minutos, constatou que a TENS de alta frequência reduziu a dor na dismenorreia primária [20].

Ainda no contexto de terapias transdérmicas, o ensaio clínico randomizado de Gaubeca-Gilarranz evidencia cientificamente que uma única sessão de agulhamento seco em pontos-gatilhos ativos do músculo reto abdominal combinada com um exercício de alongamento é mais eficaz do que placebo e agulhamento sozinho na redução da intensidade da dor e do número de AINEs usados em mulheres com dismenorreia primária [30].

Outra vertente analisada nessa revisão para a dismenorreia primária advém da terapia por plantas medicinais. Estas têm sido extensamente utilizadas em diversas culturas há milhares de anos e atribuem um papel significativo na descoberta de novos produtos como agentes terapêuticos, além de serem fonte e inspiração para uma grande fração da atual Farmacopeia [34]. Isso porque, seus extratos e substâncias isoladas (princípio ativo), contribuem para a manutenção da saúde, fato fortemente associado à sua fácil aceitabilidade, disponibilidade e baixo custo [35-36].

Quanto à busca de tal forma de tratamento voltado a plantas medicinais, verificou-se a eficácia da aplicação do uso oral de capsulas de gengibre (*Zingiber officinale*) em comparação a um AINE de referência no tratamento da dismenorreia, o ácido mefenâmico. Ao fazer uma análise comparativa quanto a intensidade da dor e a gravidade da dismenorreia nos meses de observação, não houve diferença significativa entre os grupos. O que sugere o uso do gengibre como um tratamento alternativo satisfatório [13].

Outra planta medicinal que se destaca diante de AINEs no tratamento de dismenorreia primária é a Uzara (*Xysmalobium undulatum*) que a partir de um estudo comparativo e randomizado foi comprovado a eficácia da uzara frente ao fármaco comercial, ibuprofeno. Tal resultado é significativo, pois este tratamento apresenta-se como uma possível alternativa e destaca-se com uma melhor tolerabilidade e menor incidência de efeitos colaterais e contraindicações [23].

Estudos recentes também confirmam a eficácia de plantas medicinais como a erva doce (*Foeniculum vulgare*) e a valeriana (*Valeriana officinalis*) no tratamento da dismenorreia. A erva doce foi evidenciada por apresentar um grande potencial no alívio das queixas da dismenorreia e de seus problemas sócio psicóticos; e a valeriana como uma alternativa eficaz, devido seu possível efeito antiespasmódico que resulta numa diminuição da dor, além de uma

redução das manifestações sistêmicas associadas à dismenorreia, com exceção da síncope [22-16].

Após a análise dos artigos, e constatada que a dor intensa é o principal e mais frequente sintoma, foi realizada uma seleção daqueles que utilizaram a escala visual analógica (EVA) como medida do nível de dor da dismenorreia antes e após a aplicação da técnica (Quadro 2). Em seguida foi feita a relação entre a mesma e o nível de significância considerando como estatístico o valor de $p < 0,05$.

Quadro 2. Avaliação dos estudos segundo a severidade da dor na dismenorreia primária e o nível de significância em relação ao controle e/ou placebo

Autor/ Ano	N	Dor	Intervenção	Técnica Início	Técnica Final	Controle/Placebo / AINE Início	Controle/Placebo / AINE Final	p
Rakhshall, 2011 [15]	92	EVA Andersch e Milson	Yoga	2.51	1.50	2.35	2.45	0.000
Mirabi et al., 2011 [16]	100	EVA mm	<i>Valeriana officinalis</i> e placebo	7.45	1.99	7.06	4.41	<0.001
Apay et al., 2012 [19]	44	EVA mm	Massagem com aromoterapia e placebo	82.36	51.13	82.36	74.31	<0.001
Shin et al., 2012 [17]	31	EVA cm	LLLT e placebo	8	2	7.5	7	0.001
Baldan, Freitas, Zambello, 2013 [20]	21	EVA cm	TENS 120 Hz e placebo	5.64	0.80	5.66	2.97	<0.0001
Abd-El-Maeboud et al., 2014. [23]	60	EVA cm	Uzara (<i>Xysmalobium undulatum</i>) e Ibuprofeno	6.77	1.63	6.77	1.61	<0.001
Komurcu et al., 2014 [27]	193	EVA cm	Patch de calor	8.08	1.99	7.34	5.78	<0.01

Lauretti et al., 2014. [24]	40	EVA cm	TANYX® 85Hz e placebo	8	2	8	7	<0.001
Azima et al., 2015 [12]	102	EVA cm	Exercício	6.58	4.64	6.61	6.94	<0.001
Ortiz et al., 2015 [4]	160	EVA mm	Fisioterapia	64.9	35	62.9	60	<0.05
Lee et al., 2015 [26]	115	EVA cm	hfTENS + termoterapia	6.0	4.53	7.05	5.72	<0.001
Shirvani;Alipour, 2015 [13]	122	EVA mm	Gengibre e ácido mefânico	58.01	43.49	55.03	39.01	0.01
Hong et al., 2016 [28]	79	EVA cm	LLLT e placebo	8.22	3.88	8.05	6.26	<0.001
Uysal et al., 2016 [29]	100	EVA cm	Aromoterapia (óleo essencial de rosa) e DS	7.79	2.09	8.11	3	0.019
Gaubec-Gilarranz et al., 2018 [30]	56	EVA mm	TrP-DN	65.4	28.8	62.1	51.6	<0.001

Legenda - EVA: Escala visual analógica; DS: Diclofenaco de sódio; hf: *High frequency*; LLLT: *Low-level laser therapy*; TANYX®: Dispositivo portátil TENS; TENS: *Transcutaneous electrical nerve stimulation*; TrP-DN: *Trigger point dry needling*; p: Nível de significância

3.2. Prospecção Tecnológica

Os dados levantados por patentes resultaram após o refinamento da pesquisa em um total de 12 documentos depositados entre 2008 a 2018, referentes ao tema e seguindo os critérios pré-estabelecidos, com a utilização dos mesmos descritores de busca. Vale destacar que durante a utilização de busca das patentes foram recuperados apenas os documentos que já haviam sido publicados.

O Quadro 3 descreve as patentes com respectivos números; classificação internacional de patentes (CIP); título; inovação e ano de depósito, com as aplicações tecnológicas para tratamento da dismenorreia nas bases: Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI); *European Patent Office* (EPO) e da *World Intellectual Property Organization* (WIPO). Esses resultados chamam atenção para a base de dados nacional com apenas dois depósitos realizados, o que pode ser interpretado como um alerta para a comunidade científica nacional para a necessidade de novas pesquisas e desenvolvimento de produtos relacionados ao tratamento dessa condição.

Todas as patentes investigadas na descrição da invenção enfatizam a ideia que a dismenorreia é uma condição incapacitante para muitas mulheres. Dessa forma, as patentes corroboram os artigos no intuito de desenvolver métodos, composições ou dispositivos para amenizar os sintomas da dismenorreia, seja através do aprimoramento da via de administração transdérmica de AINEs, como na patente que cria uma bandagem com uma fita de flurbiprofeno para o alívio da dor na dismenorreia em mulheres; seja por meio de extratos naturais e desenvolvimento de compostos químicos, como nas patentes que demonstram a redução da contratilidade uterina promovida por essas substâncias em útero isolado após indução por $\text{PGF}_{2\alpha}$ e/ou ocitocina ou também por meio de dispositivos magnéticos e geradores de microcorrentes [26].

Quadro 3. Patentes com aplicações tecnológicas para terapia de dismenorrea depositadas no INPI, OMPI e EPO.

NÚMERO DE PATENTE	CIP	INVENTOR	TÍTULO	INOVAÇÃO	ANO DE DEPÓSITO
PI 0907168-7 A2 US2009044 379	A61F 13/00 A61K 9/70	KOEY, A.	Tratamento da dismenorréia através da administração transdérmica de antiinflamatórios não-esteróides (AINE).	Os métodos e as composições são fornecidas para o tratamento de dismenorrea primária e secundária. Alguns aspectos da invenção incluem a administração transdérmica de uma quantidade eficaz de AINEs	2009
KR2011001 5172 (A)	A61K36 /234 A61K36 /65 (+1)	CHOI CHEOL SEOK [KR]	Composição de extrato de plantas para dismenorréia em mulheres.	Uma composição para o tratamento da irregularidade menstrual contendo extrato de <i>Cnidium officinale</i> Makino, <i>Angélica gigas</i> Nakai, <i>Trigonella foenum-graecum</i> , <i>Pyrola japonica</i> e <i>Corydalis turtschaninovii</i> . É usado na forma de solução, suspensão, emulsão, gel, comprimido e pílula.	2011
CN2011130 1357 20110929	A61P15 /00	NIANPING FENG YONGTAI ZHANG (+4)	Composição medicinal chinesa de um extrato fluido composto para tratamento de dismenorréia.	A invenção descreve uma composição medicinal chinesa para o tratamento da dismenorréia que compreende os seguintes produtos farmacêuticos em partes por peso: 1-50 partes de frutas medicinais evódicas e 1-50 partes de casca de cassia (<i>Cinnamomum cassia</i>). A invenção descreve ainda um extrato fluido composto desta composição que apresenta eficácia notável sobre a dismenorrea.	2011

BR 11 2012 022619 3 US2011027 370	A01N 31/14 A61K 31/075	KAZUKO MATSUDA / YUICHI IWAKI / MARIA FELDMAN / KALE RUBY	Composições, métodos e dispositivos para o tratamento da dismenorreia.	Tal método é voltado para prevenção e/ou tratamento de dismenorreia ou melhoria dos seus sintomas, compreendendo a administração ao paciente de uma quantidade eficaz de um composto que pode derivar de seu metabolito, pró-fármaco ou um sal farmacologicamente aceitável de qualquer um dos precedentes.	2011
KR2012002 6786 20120315	A61N1/ 05 A61N1/ 36 A61N1/ 375 (+1)	PARK CHEON JUNG [KR]	Aparelhos estimulantes para gerar micro corrente usada para terapia de incontinência urinária e dismenorréia.	A partir de um aparelho estimulador de micro corrente é possível executar um tratamento utilizando <i>biofeedback</i> , administrando sistematicamente o processo de estimulação. Compreende um dispositivo de controle de corrente; um chip de comunicação sem fio; uma fonte de energia; e uma unidade de controle sem fio.	2012
CN2013213 3904U 20130322	A61M3 7/00 A61N2/ 08	REN JIE	Absorvente com terapia magnética para tratamento da dismenoreia.	O modelo de utilidade divulga um novo absorvente de magnetoterapia para dismenorreia ginecológica que compreende um protetor, fitas magnéticas, e reservatório para adicionar medicamento.	2013
CN2013151 2109 20131028	A61K36 /28 A61P15 /00 A61K12 7/00	WU YAN	Aplicação de extrato aquoso de folhas de bardana (<i>Arctium lappa</i> L.) na preparação de um tratamento para dismenorréia.	A invenção refere-se a uma nova aplicação de um extrato aquoso de folhas de bardana e particularmente refere-se a uma aplicação deste extrato na preparação de medicamentos para o tratamento de dismenorreia. Este extrato tem eficácia no tratamento de dismenorréia e pode ser usado como terapêutica trazendo consigo a vantagem de não apresentar efeitos colaterais.	2013

CN2015179 4729 20151118	A61K35 /32 A61K36 /8905 A61K9/ 70 (+2)	DU YINGFENG	Metodo de preparacao do comprimido do extrato de melilotus (<i>Melilotus officinalis</i>) para o tratamento de dismenorreia.	A invenção descreve um método de preparação do comprimido do extrato de melilotus para o tratamento da dismenorreia. O método compreende os seguintes passos: (1) pesagem das seguintes matérias-primas, em partes por peso: 12-18 partes de <i>Bupleuri Radix</i> , 10-15 partes de <i>Alba paenoiiae</i> , 8-12 partes de <i>Sinensis radix angelicae</i> , 4-6 partes de <i>Cyperus rotundus</i> , 4-6 partes de <i>Lindera aggregata</i> , 5-7 partes de <i>Cimicifugae foetidae</i> , 4-6 partes de <i>Crocus sativus</i> , 8-12 partes de <i>Scutellaria baicalensis</i> , 8-10 partes de <i>Rhizoma corydalis</i> , 4-6 partes de sementes de tangerina, 8-12 partes de <i>Tetrapanax papyriferus</i> , 8-12 partes de <i>Rubia cordifolia</i> , 10-15 partes de escuro ameixa, 8-12 partes de <i>Ligustricum wallichii</i> e 3-5 partes de <i>Panax notoginseng</i> ; (2) triturar as matérias-primas pesadas, misturar e realizar uma extração com etanol para assim obter uma solução de lixiviação.	2015
CN2015101 568 20150105	A61K36 /9062 A61P15 /00 (+1)	LI YUBIN ZHANG JUNQING	Aplicação medicinal do extrato de galangina para tratamento de dismenorréia.	A invenção baseia-se no método de preparo do extrato de galangal e sua utilização no tratamento da dismenorreia. Seu preparo é realizado a partir de rizomas secos da galanga (<i>Alpinia galanga</i>) que são esmagados, extraídos com 40-95% de etanol, filtrados, onde tal filtrado foi concentrado sobre uma coluna de resina macroporosa, lavado com 10-40% de etanol e 60-90% de etanol em seguida o eluato obtido foi concentrado sob pressão e em seguida foi seco.	2015
KR2016005 1547 20160427	A61K36 /9068	HONG SEUNG HWA [KR] KIM YOUNG CHUL [KR] (+2)	Composição para prevenir e tratar dismenorréia e trabalho de parto prematuro compreendendo subfração de solvente não polar do extrato de Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>).	A presente descoberta sua eficácia na supressão da contração do músculo liso uterino de caráter voluntário ou induzido por fármaco, deste modo, é capaz de beneficiar na prevenção e tratamento da dismenorreia ou trabalho de parto prematuro. Além da ausência de relatos sobre reações adversas, quando administrados por via oral, tem uma elevada taxa de depuração, enquanto as principais componentes de gengibre, shogaol ou gingerol são absorvidos 90% ou mais sem apresentar um acúmulo no corpo, possibilitando um uso mais seguro deste.	2016

CN2016139 2938 20160603	A61K35 /58 A61K36 /77 A61P15 /00 (+1)	WANG HUADONG	Composição do extrato de crocodilo para tratamento da dismenorréia e método de preparo da composição.	Tal invenção visa fornecer a composição do extrato de crocodilo que é capaz de promover a circulação sanguínea, remover estase e tratar dismenorréia. Esta composição é principalmente preparada a partir dos seguintes componentes: 20-30 partes de carne de crocodilo, 10-20 partes de polpa de <i>Nephelium longanum</i> C. seca, 10-20 partes de frutos de framboesa (<i>Rubus idaeus</i>), 10- 20 partes de <i>Citrus medica</i> e 5-10 partes de erva-doce (<i>Foeniculum vulgare</i> M.).	2016
CN2017167 9069 20170810	A61K31 /7016 A61K35 /36 A61K35 /48 (+6)	DING ZHIHONG	Extrato semifluido de feto de cervo para tratamento de infertilidade, endometriose e dismenorreia.	A invenção refere-se a um extrato semifluido de feto de cervo para tratamento de infertilidade, endometriose e dismenorréia. Sua eficácia baseia-se na medicina tradicional chinesa realizada a partir de combinados que exercem certa eficácia de beneficiar, nutrir o sangue, regular a menstruação, dissipar o frio, dispersar a estagnação do sangue, aliviar a dor, e ter os efeitos notáveis de fortalecer os canais da via e da concepção, e ajustar imunidade.	2017

Ainda no que concerne as formas terapêuticas alternativas para o tratamento da dismenorrea, as patentes podem ser analisadas segundo a área biotecnológica de acordo com a Classificação Internacional de Patentes (IPC). Como demonstra a Quadro 1, a classificação presente em todas as patentes foi a A61, referente à Ciência Médica ou Veterinária: Higiene, e dentro desta, destacam-se os códigos A61K, A61P e A61N.

A classificação A61K se refere a preparações para fins médicos, odontológicos ou higiênicos, e dentre as 9 patentes com essa classificação, 6 formas descritas dentro da subcategoria A61K36, que incluem preparações medicinais contendo material de algas, líquenes, fungos ou plantas, ou seus derivados, como medicamentos fitoterápicos tradicionais; as outras 3 pertenciam ao grupo de materiais orgânicos ou desconhecidos. A classificação A61P refere-se a atividades terapêuticas específicas de compostos químicos ou preparações medicinais, na qual as 4 patentes nessa classificação foram subcategorizadas em A61P15, referindo-se a drogas para distúrbios genitais ou sexuais. Por fim, o código A61N, com 2 patentes, englobavam a eletroterapia; magnetoterapia; terapia de radiação e terapia por ultrassom.

Através da análise dos artigos e patentes, foi possível compreender a necessidade de terapias alternativas para o tratamento da dismenorrea primária, com maior efetividade e menores efeitos colaterais principalmente na tentativa de reduzir a intensidade e duração da dor bem como no uso contínuo de medicamentos.

4. Conclusão

O estudo de prospecção tecnológica sobre a administração transdérmica de fármacos e terapias complementares para o tratamento da dismenorrea primária por meio dos artigos publicados e das patentes concedidas destacou a relevante importância em se buscar novos métodos para o alívio dos sintomas provocados por essa condição. As perspectivas convivem no fato da descoberta de novas aplicações farmacológicas mais naturais e biotecnológicas, principalmente no desenvolvimento de novos dispositivos capazes de facilitar e otimizar essa forma de administração na tentativa de reduzir os efeitos colaterais, melhorar a biodisponibilidade e a eficácia terapêutica.

Conflito de interesses

Os autores declararam que não há conflito de interesses.

Financiamento

Este artigo não foi financiado.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Boris Timah Acha por revisar o idioma inglês neste manuscrito.

5. Referências

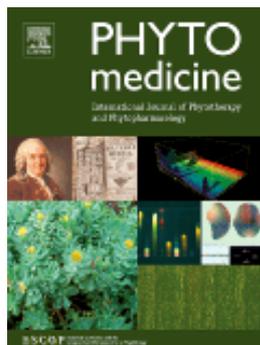
1. Borges PCG, Ramos JFD, Depes DB, Yatabe S, Damião RSD, Lopes RGC, Lippi UG. Dismenorréia e endométrio. *Revista Femina*. 2007; 35(12):789-95.
2. Yang L, Chai C, Yue X, Yan Y, Kou J, Cao Z, et al. Ge-Gen Decoction attenuates oxytocin-induced uterine contraction and writhing response: potential application in primary dysmenorrhea therapy. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2016; 14(2):124–32.
3. Nunes JM et al. Prevalência de dismenorreia em universitárias e sua relação com absenteísmo escolar, exercício físico e uso de medicamentos. *Revista Brasileira em Promoção da Saúde*. 2013; 26(3): 381-6.
4. Ortiz MI, Cortes-Marquez SK, Romero-Quezada LC, Murguia-Canovas G, Jaramillo-Díaz AP. Effect of a physiotherapy program in women with primary dysmenorrhea. *European Journal Of Obstetrics & Gynecology And Reproductive Biology*. 2015; 194:24-9.
5. Chauhan M, Kala J. Relation Between Dysmenorrhea and Body Mass Index in Adolescents with Rural Versus Urban Variation. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India*. 2012; 62(4): 442-45.
6. French L. Dysmenorrhea. *American Family Physician*. 2005; 71(2), p.285-91.
7. Lorensen M, Wilson M, White M. Norwegian families: transition to parenthood. *Health care of Women Internacional*. 2004; 25:334-48.
8. Bortolon FF, Sato ME, Andreazza RCS, Bresolin TMB. Effect of enhancers on the in vitro percutaneous absorption of piroxicam from compounding formulations. *Revista Brasileira de Ciências farmacêuticas*. 2008; 44(3): 433-40.
9. Özgüney SI, Karasulu HY, Kantarci G, Sözer S, Güneri T, Ertan G. Transdermal delivery of diclofenac sodium through rat skin from various formulations. *Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*. 2006, 7(4): 39-45.
10. Gill HS et al. Selective removal of stratum corneum by microdermabrasion to increase skin permeability. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009; 38(2): 95-103.
11. Moser K, Kriwet K, Froehlich C, Naik A, Kalia Y N, Guy RH. Permeation enhancement of a highly lipophilic drug supersaturated systems. *Journal Pharmaceutical Sciences*. 2001; 90 (5): 607-16.
12. Azima S, Bakhshayesh HR, Kaviani M, Abbasnia K, Sayadi M. Comparison of the Effect of Massage Therapy and Isometric Exercises on Primary Dysmenorrhea: A Randomized

- Controlled Clinical Trial. *Journal Of Pediatric And Adolescent Gynecology*. 2015; 28 (6): 486-91.
13. Shirvani MA, Motahari-Tabari N, Alipour A. The effect of mefenamic acid and ginger on pain relief in primary dysmenorrhea: a randomized clinical trial. *Archives Of Gynecology And Obstetrics*. 2014; 291(6):1277-81.
 14. Kempf D, Berger D, Ausfeld-Hafter B. Lasernadel-Akupunktur bei Frauen mit Dysmenorrhoe: Eine randomisierte kontrollierte doppelblinde pilotstudie. *Complementary Medicine Research*. 2019; 16(1): 6-12.
 15. Rakhshae Z. Effect of Three Yoga Poses (Cobra, Cat and Fish Poses) in Women with Primary Dysmenorrhea: A Randomized Clinical Trial. *Journal Of Pediatric And Adolescent Gynecology*. 2011; 24(4):192-6.
 16. Mirabi P, Dolatian M, Mojab F, Majd HA. Effects of valerian on the severity and systemic manifestations of dysmenorrhea. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2011; 115(3): 285-8.
 17. Shin Y, Kim N, Park K, Kim D, Hong G, Shin B. Skin adhesive low-level light therapy for dysmenorrhoea: a randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial. *Archives Of Gynecology And Obstetrics*. 2012; 286(4): 947-52.
 18. Rigi S et al. Comparing the analgesic effect of heat patch containing iron chip and ibuprofen for primary dysmenorrhea: a randomized controlled trial. *Bmc Women's Health*. 2012; 12(1): 327-45.
 19. Apay SE, Arslan S, Akpınar RB, Celebioglu A. Effect of Aromatherapy Massage on Dysmenorrhea in Turkish Students. *Pain Management Nursing*. 2012; 13(4): 236-40.
 20. Baldan CS, Freitas CD, Zambello L. Estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS) alivia a dismenorrea primária: estudo clínico, controlado e randomizado. *Journal of the Health Sciences Institute*. 2013; 31(2): 193-6.
 21. Potur DC, Bilgin NC, Komurcu N. Prevalence of Dysmenorrhea in University Students in Turkey: Effect on Daily Activities and Evaluation of Different Pain Management Methods. *Pain Management Nursing*. 2014; 15(4): 768-77.
 22. Ghodsi Z, Asltoghiri M. The Effect of Fennel on Pain Quality, Symptoms, and Menstrual Duration in Primary Dysmenorrhea. *Journal Of Pediatric And Adolescent Gynecology*. 2014; 27(5): 283-6.
 23. Abd-El-Maeboud KHI, Kortam MAMF, Ali MS, Ibrahim MI, Mohamed RMMZ. A Preliminary Pilot Randomized Crossover Study of Uzara (*Xysmalobium undulatum*) versus Ibuprofen in the Treatment of Primary Dysmenorrhea. *PLoS ONE*. 2014; 9(8): 48-55.
 24. Lauretti GR, Oliveira R, Parada F, Mattos AL. The New Portable Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation Device Was Efficacious in the Control of Primary Dysmenorrhea Cramp Pain. *Neuromodulation*. 2014; 18(6):522-7.

25. Dehkordi ZR, Baharanchi FSH, Bekhrad IR. Effect of lavender inhalation on the symptoms of primary dysmenorrhea and the amount of menstrual bleeding: A randomized clinical trial. *Complementary Therapies In Medicine*. 2014; 22(2): 212-9.
26. Lee B, Hong SH, Kim K, Kang WC, Kim YB. Efficacy of the device combining high-frequency transcutaneous electrical nerve stimulation and thermotherapy for relieving primary dysmenorrhea: A randomized, single-blind, placebo-controlled trial. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2015; 194:58-63.
27. Kannan P, Chapple CM, Miller D, Claydon LC, Baxter GD. Menstrual pain and quality of life in women with primary dysmenorrhea: Rationale, design, and interventions of a randomized controlled trial of effects of a treadmill-based exercise intervention. *Contemporary Clinical Trials*. 2015; 42: 81-9.
28. Hong G, Shin B, Park S, Gu Y, Kim N, Park K, et al. Randomized controlled trial of the efficacy and safety of self-adhesive low-level light therapy in women with primary dysmenorrhea. *International Journal Of Gynecology & Obstetrics*. 2016; 133 (1):37-42.
29. Uysal M, Doğru HY, Sapmaz E, Tas U, Çakmak B, Ozsoy AZ, et al. Investigating the effect of rose essential oil in patients with primary dysmenorrhea. *Complementary Therapies In Clinical Practice*, 2016; 24: 45-9.
30. Gaubeca-Gilarranz A, Fernández-de-las-Peñas C, Medina-Torres JR, Seoane-Ruiz JM, Company-Palónés A, Cleland JÁ. Effectiveness of dry needling of rectus abdominis trigger points for the treatment of primary dysmenorrhoea: a randomised parallel-group trial. *Acupuncture In Medicine*. 2018; 1: 1-9.
31. Wang, S.F.; Lee, J.P.; Hwa, H.L. Effect of transcutaneous electrical nerve stimulation on primary dysmenorrhea. *Neuromodulation: Journal of the International Neuromodulation Society*, 2009, 12(4): 302-9.
32. Tugay N, Akbayrak T, Demirtürk F, Karakaya IC, Kocaacar O, Tugay U, et al. Effectiveness of Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation and Interferential Current in Primary Dysmenorrhea. *Pain medicine*. 2007, 8(4): 295-300.
33. Sriprasert I, Suerungruang S, Athilarp P, Matanasarawoot A, Teekachunhatean S. Efficacy of Acupuncture versus Combined Oral Contraceptive Pill in Treatment of Moderate-to-Severe Dysmenorrhea: A Randomized Controlled Trial. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2015:1-10.
34. Kingston DGI. Modern Natural Products Drug Discovery and Its Relevance to Biodiversity Conservation. *Journal of Natural Products*. 2011;74(3): 496-511.
35. Balunas MJ et al. Relationships between inhibitory activity against a cancer cell line panel, profiles of plants collected, and compound classes isolated in an anticancer drug discovery project. *Chemistry & Biodiversity*. 2006; 3: 897-915.
36. Varanda, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*. 2006; 27(1): 1-7

CAPÍTULO III

ARTIGO 2



Submetido na revista Phytomedicine

Qualis em Biotecnologia: A2

Fator de Impacto: 3.610

A GOMA DO CAJUEIRO EXTRAÍDA DO EXSUDATO DA *Anacardium occidentale* L. REDUZ A CONTRAÇÃO UTERINA INDUZIDA POR OCITOCINA *IN VITRO* E *IN VIVO*

The cashew gum extracted from exudate of *Anacardium occidentale* L. reduces oxytocin-induced uterine contraction *in vitro* and *in vivo*

Sávia Francisca Lopes Dias^a; Layane Carneiro Alves; Daniel Freitas Santos^b; Marcos Meneses de Oliveira^b; Antônio Carlos dos Reis Filho^b; Adrielle Memória da Silva^b; Luana de Oliveira Lopes^a; Antônio Carla de Jesus Oliveira^c; Durcilene Alves da Silva^d; Rita de Cassia Meneses Oliveira^e; Rosimeire Ferreira dos Santos^e; Lívio César Cunha Nunes^{a*}

^a Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - RENORBIO, Ponto Focal - Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

^b Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

^c Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

^d Centro de Pesquisa em Biotecnologia e Biodiversidade, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Brasil

^e Centro de Pesquisa de Plantas Mediciniais da Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

*Lívio César Cunha Nunes: Autor correspondente, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - RENORBIO, Ponto Focal - Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil., Av. Nossa Senhora de Fátima s/n, Teresina, Piauí 64049-550, Brasil. E-mail: liviocesar@hotmail.com. Telephone: (86)98832-0700

Resumo

Introdução: Dismenorreia é um termo médico usado para definir cólicas menstruais que tem como uma das suas principais causas o aumento da contratilidade uterina.

Objetivo: O objetivo deste estudo foi investigar o efeito relaxante da goma do cajueiro purificada (GCP) no útero isolado de ratas

Métodos: As ratas foram pré-tratadas com estradiol e eutanasiadas com intuito de isolar os cornos uterinos. As contrações uterinas foram monitoradas por um transdutor de deslocamento de força conectado a um amplificador de sinal. Os estudos foram realizados em útero pré-contráido com ocitocina ou KCl em diferentes concentrações da GCP. Foi investigado o efeito da GCP sob uma curva concentração-resposta à ocitocina. O mecanismo de ação foi estudado através da participação dos canais de potássio na presença de tetraetilamônio (TEA⁺) 1mM e 5 mM. O teste de contorção induzida por ocitocina foi utilizado como modelo de dismenorreia *in vivo*. Os cortes histológicos do útero também foram analisados.

Resultados: A CGP reduz a contração uterina induzida pela ocitocina *in vitro* de forma significativa e dependente da concentração (CE₅₀ = 2,53 ± 0,54 µg/mL) com eficácia máxima de 97,8 ± 0,8%. A característica do antagonismo da contração é do tipo não competitivo com receptores de ocitocina. Na presença de 1mM e 5 mM de TEA⁺ o valor de E_{max} foi inferior a 50%, o que sugere o envolvimento dos canais de K⁺. O estudo *in vivo* demonstrou que a GCP reduziu significativamente o número de contorções induzidas por ocitocina com uma inibição máxima 78,86 ± 8,97%. Cortes histológicos confirmaram o efeito tocolítico da GCP.

Conclusão: O presente estudo demonstrou a existência de um efeito inovador da CGP, ao demonstrar sua capacidade de diminuir a contração do músculo liso uterino induzido pela ocitocina *in vitro* e *in vivo*. O mecanismo tocolítico sugere estar associado à ativação dos canais de K⁺. Isso amplia as possibilidades da GCP ser investigada para o tratamento da dismenorreia primária.

Palavras-chave: Goma do Cajueiro; Contração uterina; Dismenorreia primária

1. Introdução

O termo “dismenorreia” é derivado de palavra grega que significa fluxo mensal difícil. É usado para denominar as cólicas menstruais dolorosas e ocorre durante a menstruação ou algumas horas antes desta. Caracteriza-se por dor, sob forma de cólica, habitualmente no baixo ventre ou na região lombar, onde sintomas como náuseas, diarreia ou cefaleia podem acompanhá-la ou não (Dawood, 2006).

A dismenorreia primária (DP) ocorre na ausência de condição patológica identificável e caracteristicamente começa na ou logo após a menarca (Chen et al., 2014). A dor geralmente ocorre no início da menstruação, dura 1-3 dias e acompanha sintomas sistêmicos (Ryan, 2017). De acordo com uma pesquisa feita sobre mulheres de em idade reprodutiva, a prevalência varia de 20% a 90% (Nguyen et al., 2015; Kazama et al., 2015).

O aumento da contratilidade uterina foi proposto como uma das principais causas da dismenorreia primária. Estudos clínicos demonstraram que, nessas pacientes, a contração anormal pode reduzir o fluxo sanguíneo uterino, levando à isquemia miometrial (Yang et al., 2016). Para Nunes et al. (2013), esse problema pode afetar em grande proporção mulheres em idade reprodutiva, interferindo principalmente em suas atividades cotidianas, afetando sua qualidade de vida e bem-estar geral.

Chauhan (2012) afirma que seus sintomas podem estar relacionados com a ação de prostaglandinas (PGs), onde a PGF_2 alfa que é liberada durante a menstruação pode estimular as contrações do miométrio, sensibilizando as terminações nervosas e provocando a isquemia e dor. Desta maneira, a inibição na produção das PGs no endométrio, com a utilização de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), apresenta-se como o tratamento mais efetivo da dismenorreia primária (FEBRASGO, 2013), entretanto, ainda assim são ineficazes em cerca de 20% a 25% das pacientes com dismenorreia primária (Harel, 2008).

Além disso, a ingestão oral dessa classe de medicamentos causa vários efeitos colaterais sistêmicos como náuseas, ulceração e sangramento na mucosa, bem como sintomas recorrentes (Bortolon et al., 2008). Terapias alternativas vêm se destacando na tentativa de aliviar a intensidade e a duração da dor ocasionada pela dismenorreia primária (Dias et al., 2019). O uso de plantas medicinais foi provado ser mais seguro e mais eficaz com menos efeitos adversos no tratamento da DP e com maiores possibilidades de exercer eficiências terapêuticas sinérgicas (Cheng et al., 2018; Sosorburam et al., 2019).

Dentre estes materiais, podem ser citadas as gomas que são polissacarídeos constituídos em unidades múltiplas de monossacarídeos naturalmente presentes em plantas, o que lhes confere um caráter essencialmente barato e abundante. Possuem diversas aplicações como

espessantes, emulsionantes, corantes e atuam também nos sistemas de liberação controlada de fármacos (Ranaa et al, 2011).

A Goma do cajueiro (GC) é um polissacarídeo extraído da espécie *Anacardium occidentale* L. (De Paula et al., 1998) e tem sido pesquisada pela indústria farmacêutica, atuando como adjuvante em formulações tópicas (Kumar, et al., 2009; Das, Nayak, Nanda, 2013), e com comprovado efeito antiulcerogênico e antidiarreico (Carvalho et al., 2015; Araújo et al., 2015), na proteção da mucosa esofágica humana (Nicolau et al., 2017), bem como o efeito protetor tópico na integridade da mucosa laríngea de camundongos (Borsaro et al., 2017).

Não existe na literatura estudos acerca do efeito tocolítico da goma do cajueiro, ou de substâncias de mesma composição química sobre o útero em roedores. No presente estudo, se objetivou investigar o efeito da Goma do Cajueiro purificada (GCP) e os mecanismos envolvidos na redução da contração uterina, utilizando modelos experimentais *in vitro* e *in vitro*.

2. Material e Métodos

2.1 Material

2.1.1 Botânico

A goma do cajueiro extraída do tronco da árvore *Anacardium occidentale* L., na cidade de Parnaíba, litoral do Estado do Piauí foi purificada no laboratório de biotecnologia (BIOTEC) da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

2.1.2 Animais

Para os protocolos *in vitro* foram utilizadas ratas *Wistar virgens* (*Rattus norvegicus*) pesando entre 150 e 250 g e para os protocolos *in vivo* foram utilizados camundongos *Swiss* fêmeas virgens pesando entre 20 e 30g e com 6 a 8 semanas de vida. Todos os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno com ventilação e temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) controladas e constantes, submetidos diariamente a um ciclo claro-escuro de 12 horas, sob rigoroso controle alimentar. Todos os protocolos experimentais propostos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí, de acordo com o Protocolo nº 410/2017.

2.1.3 Drogas e reagentes

O benzoato de estradiol foi obtido pela Infinity Pharma[®] dissolvido em etanol e soro fisiológico para obtenção da solução estoque (1,25mg/mL). A ocitocina foi obtida da Sigma-Aldrich[®]. Todas as substâncias experimentais foram preparadas com água destilada.

Para eutanásia dos animais foi utilizado o tiopental sódico 100 mg/kg associado à lidocaína 10 mg/kg via intraperitoneal. O fármaco comercial Ibuprofeno (suspensão oral 50mg/ml) foi adquirido pelo Laboratório Medley®.

2.1.4 Solução nutritiva

Para os experimentos de contração e relaxamento do útero isolado de rata, utilizou-se a solução nutritiva de Locke Ringer (em mmol·L⁻¹: NaCl 120, KCl 4.6, CaCl₂ 1.5, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1.0, NaHCO₃ 25 e glicose 11), aerada com mistura carbogênica (95 % de O₂ e 5 % de CO₂) e mantida em um banho de órgãos a temperatura constante de 32 ± 1°C.

2.1.5 Preparação da solução-estoque da GCP

A GCP foi diluída em água destilada (pH 7,0) para obtenção da solução-estoque (10 mg/mL) a qual foi armazenada em um “freezer”, entre -18° e -20° C, sendo novamente diluída em água destilada de acordo com a necessidade de cada protocolo experimental.

2.1.6 Aparelhagem

Para registro das contrações isométricos os segmentos de útero isolado foram suspensos em cubas (6 mL) de um sistema de banho para órgãos isolados. Para o monitoramento das contrações foram utilizados transdutores de força modelo TRI210AD (Panlab®, Espanha) acoplados a um amplificador de força AECAD 1604, software AQCAD 2.3.6, AVS Projetos, SP, conectado a um computador. Para manter a temperatura, foi utilizado um banho de órgãos modelo AVS-BM. Todas as substâncias foram pesadas em balança analítica modelo AY220 (SHIMADZU).

2.2 Métodos

2.2.1 Extração e purificação da Goma do Cajueiro

O exsudato do cajueiro foi extraído por incisões no tronco da árvore e apresentou-se como goma de coloração amarelada e solúvel em água segundo método já descrito (De Paula; Rodrigues, 1995). O sistema foi submetido às seguintes etapas: filtração, precipitação, nova filtração e lavagem do precipitado seguindo método de Costa, Rodrigues & de Paula (1996).

2.2.2 Espectroscopia no Infravermelho

Os espectros de FT - IR foram registrados em pastilhas de KBr num espectrofotometro Shimadzu FT - IR 8300 no intervalo de números de onda de 4000-500 cm⁻¹.

2.2.3 Análise Elementar

A análise elementar foi obtida no equipamento analisador elementar - Perkin Elmer 2400 com o método Pregl-Dumas em atmosfera de oxigênio puro e detector TCD (detector de condutividade térmica).

2.2.4 Preparação de útero isolado de ratas

Para os experimentos foram utilizados cornos de útero isolados de rata (200-250 g) pré-tratadas por via subcutânea com estradiol (0,5 mg/kg) um dia antes da eutanásia que foi realizada por sobredose de anestésico geral associado a anestésico local (tiopental sódico 150 mg/kg associado a lidocaína 10 mg/kg intraperitoneal).

Em seguida, foi feita a dissecação do útero onde seus cornos foram isolados individualmente, transferidos para cubas de vidro contendo 6 mL de solução de Locke Ringer, onde permaneceu em repouso por 45 minutos sob tensão de 1g, efetuando, neste período, a renovação da solução nutritiva a cada 15 min. Quando a amplitude se estabilizou, as contrações uterinas foram monitoradas por um transdutor de deslocamento de força conectado a um amplificador de sinal.

2.2.5 Efeito GCP sobre útero pré-contraído por Ocitocina ou KCl.

Após estabilização foram adicionados às cubas, ocitocina (10^{-2} UI/mL) ou KCl (60 mM). Durante a fase tônica sustentada da contração, a GCP foi adicionada à cuba, em preparações diferentes de 10^{-3} a 10^3 µg/mL. O relaxamento produzido por GCP foi expresso como a percentagem reversa da contração inicial induzida pelo agente contraturante (OCI ou KCl).

2.2.6 Efeito da GCP e do Ibuprofeno em útero pré-contraído por Ocitocina.

Após estabilização da preparação foram adicionados às cubas, ocitocina (10^{-2} UI/mL) e durante a fase tônica da concentração foi adicionado GCP/IBU cumulativamente, em preparações diferentes de 10^{-3} a 10^3 µg/mL.

2.2.7 Efeito da GCP sob uma curva concentração-resposta à ocitocina (10^{-6} a 10^{-1} M).

Após eutanásia dos animais, o preparo do tecido e sua respectiva estabilização, foram realizadas duas curvas consecutivas e do tipo concentração-resposta cumulativas de ocitocina (10^{-6} a 10^{-1} M). Em seguida, na ausência da ocitocina, a GCP foi incubada por 20 min em diferentes concentrações e em experimentos independentes. Após este período, ainda na presença de GCP, uma nova curva concentração-resposta cumulativa à ocitocina foi obtida. Os resultados foram avaliados comparando-se a porcentagem da resposta contrátil na presença e na ausência da GCP.

2.2.8 Investigação da participação dos canais de potássio no efeito tocolítico induzido pela GCP sobre útero pré-contraído por ocitocina

Para investigar o envolvimento de canais de potássio no mecanismo de ação tocolítico da GCP, após o preparo do tecido e respectiva estabilização, foram adicionados às cubas por, 20 min em experimentos independentes, 5 mM de tetraetilmônio (TEA^+), que nessa concentração é um bloqueador não seletivo dos canais de potássio e 1mM de TEA^+ , que nessa

concentração é um bloqueador seletivo para BK_{Ca} (canais para potássio de grande condutância ativados pelo Ca²⁺). Após esse período, na presença do bloqueador, uma nova contração foi induzida pela ocitocina (10⁻² UI/mL) e durante a fase tônica sustentada da contração, a GCP foi adicionada cumulativamente à cuba, em preparações diferentes 10⁻³ a 10³ µg/mL. O relaxamento produzido foi expresso como a percentagem reversa da contração inicial induzida pelo agente contraturante.

2.2.9 Teste de contorção induzida por ocitocina como modelo de dismenorreia

O teste de contorção foi realizado de acordo com o método relatado por Yang et al. (2015). Camundongos fêmeas foram divididas aleatoriamente em sete grupos (n = 10/ grupo) da seguinte forma: grupo normal (sem tratamento com estradiol), grupo modelo (salina), grupos GCP de diferentes doses (0,03; 0,3; 3 e 30 mg/kg) e grupo controle positivo (Ibuprofeno 7,5mg/kg). Cada camundongo do grupo modelo, grupo GCP e grupo de controle positivo foi pré-tratado com estradiol (intraperitoneal) durante 3 dias consecutivos numa dose de 1 mg/kg/d. As diferentes doses de GCP e Ibuprofeno foram administradas por via oral 0,5 h antes da injeção intraperitoneal de ocitocina (0,4 UI por animal). O número de alongamentos ou contorções foi registrado em 30 minutos após a injeção de ocitocina.

2.2.10 Análise histológica do útero

Foram coletadas 3 amostras de cada grupo dos modelos *in vitro* e *in vivo* para a análise histológica. Após o experimento inicial, os úteros foram imersos em formol tamponado a 10% por 24 horas. Em seguida, as amostras foram representadas por meio de cortes transversais e dispostas em cassetes previamente identificados. O material foi levado à rotina histológica por 11h (Formol-Álcool-Xilol), sendo uma hora em cada banho e posterior inclusão em parafina. Os blocos foram cortados em micrótomo (Leica) para a confecção das lâminas histológicas. Após os cortes, as lâminas foram levadas à estufa (70°C) por 15 minutos e, posteriormente submetidas à coloração hematoxilina/eosina de rotina.

3. Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (e.p.m). Para comparação múltipla dos dados paramétricos, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) pelo programa estatístico *GraphPad Prism 6.0*[®] seguida do teste de Student Newman Keul. O teste de Tukey foi utilizado para múltiplas comparações. Valores de p < 0,05 foram considerados estatisticamente significativos e p < 0,01 considerado altamente significativo. Os valores CE₅₀ (concentração de uma substância capaz de induzir 50% de uma resposta máxima) foram obtidos através de regressão não-linear. O valor de E_{max} foi correspondente à média percentual de

relaxamento de GCP para cada condição estudada. E a taxa de inibição (I%) das contrações no modelo de dismenorrea foi calculada da seguinte forma: $I\% = (\text{média do grupo controle OCI} - \text{média teste}) / \text{Média do grupo controle OCI} \times 100$.

4. Resultados

4.1 Espectroscopia no Infravermelho

O espectro de FT-IR de CG mostra bandas em 3379 e 2933 cm^{-1} atribuídas às vibrações de estiramento O-H e C-H, respectivamente. A absorção em 1649 cm^{-1} é devida a vibração de O-H de moléculas de água. As bandas em 1150, 1080 e 1030 cm^{-1} são referentes ao estiramento de C-O-C e deformação dos grupos O-H das unidades glicosídicas (Fig.1)

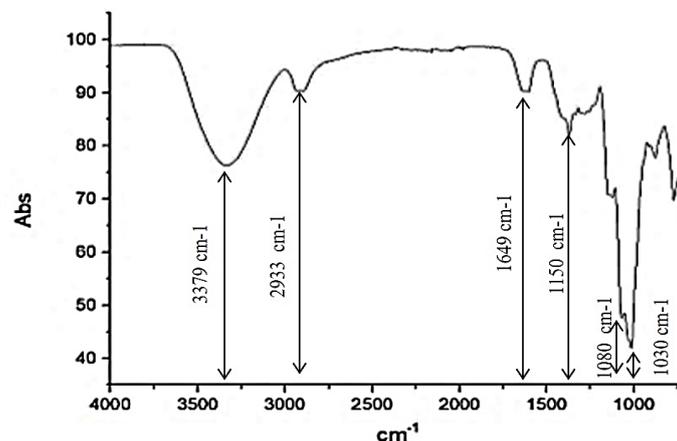


Fig. 1: Espectro do Infravermelho Goma do Cajueiro.

4.2 Análise Elementar

A análise elementar indicou a composição da GCP de acordo com a literatura, a porcentagem de carbono foi de 39,19%, a de hidrogênio 6,55% e a ausência de nitrogênio (N). A proporção em mol de carbono e hidrogênio (C/H) foi de 0,497.

4.3 Efeito da GCP sobre às contrações tônicas induzidas por ocitocina.

A ocitocina foi capaz de promover a contração do músculo liso uterino em ratas pré-estrogenadas (Fig.2A). A GCP (10^{-3} – $10^3 \mu\text{g/mL}$) relaxou o útero quando foi pré-contraído com 10^{-2} UI/mL de ocitocina de maneira significativa e dependente de concentração ($CE_{50} = 2,53 \pm$

0,54 $\mu\text{g}/\text{mL}$) com eficácia máxima de $97,8 \pm 0,8\%$ ($n=5$). Após a retirada da goma da cuba, por lavagem com a solução nutritiva, a ocitocina produziu contração com amplitude semelhante à contração inicial, demonstrando que o efeito tocolítico é reversível (Fig.2B e C).

4.4 Efeito tocolítico da GCP sobre as contrações tônicas induzidas por 60 mM de KCl em útero isolado de rata

O KCl foi capaz de promover a contração do músculo liso uterino em ratas pré-estrogenadas (Fig.2D). A GCP adicionada de maneira cumulativa a cuba, teve um efeito relaxante no útero de rata quando pré-contraído com KCl (60 mM) bem inferior ao contraído por ocitocina, com eficácia máxima (E_{max}) de apenas $43,1 \pm 4,7\%$, o que impossibilitou o cálculo da CE_{50} (Fig.2E e F). Isso significa que a potência relaxante da goma foi extremamente reduzida quando comparada ao relaxamento induzido pela ocitocina, o que justifica a utilização apenas da ocitocina como agente contraturante nos protocolos subsequentes.

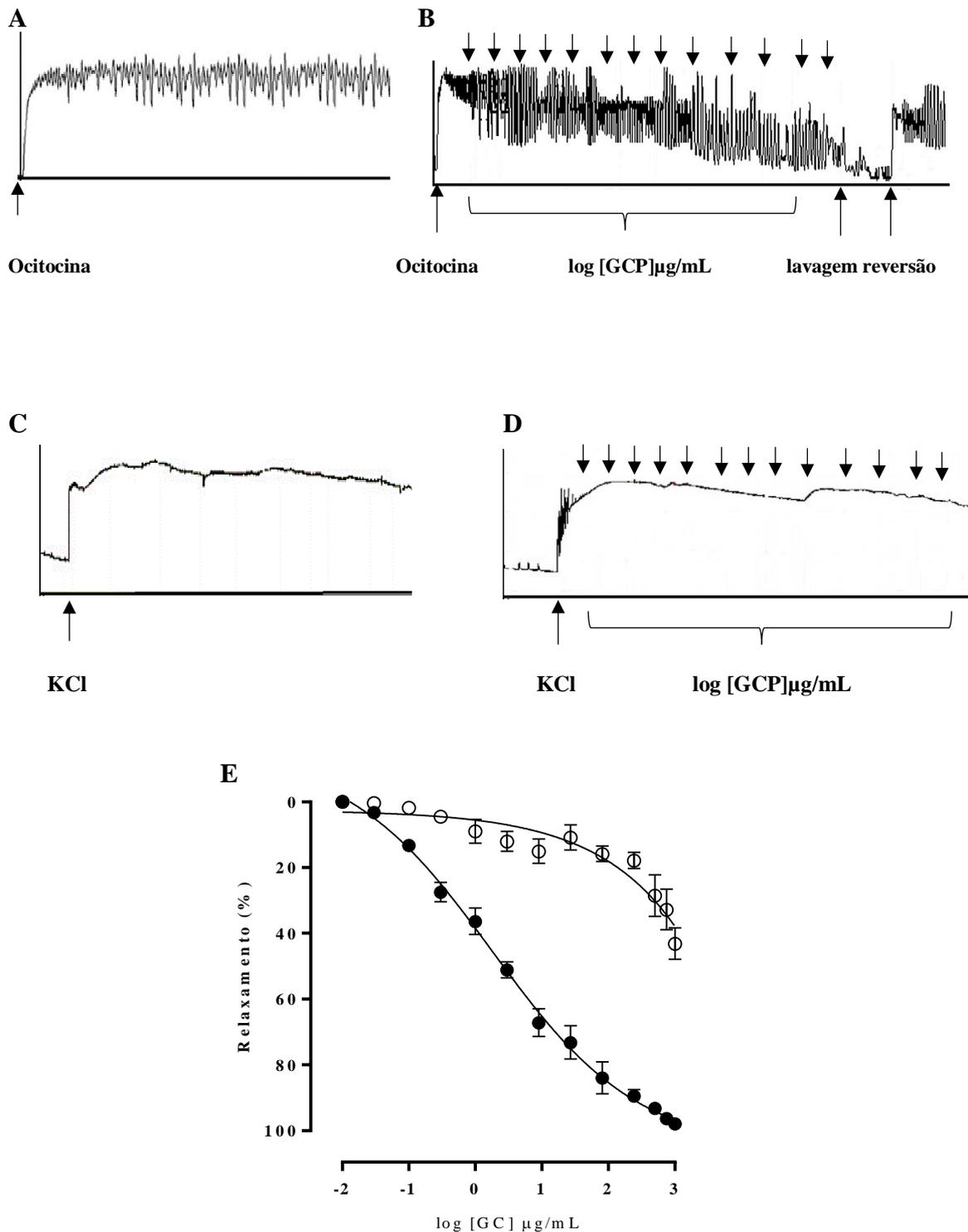


Fig. 2. Registros originais e gráficos dos efeitos do GCP nas contrações induzidas em útero isolado de rata. **A:** contração induzida por ocitocina. **B:** registro original do efeito relaxante da GCP sobre as contrações tônicas induzidas por ocitocina em concentrações cumulativas variando de \log^{-2} a \log^3 $\mu\text{g/mL}$ (\downarrow). **C:** Contração induzida por KCl. **D:** registro original do efeito relaxante da GCP sobre as contrações induzidas por KCl em concentrações cumulativas variando de \log^{-2} a \log^3 $\mu\text{g/mL}$ (\downarrow). **E:** comparação do efeito tocolítico da GCP sobre as contrações induzidas por ocitocina (\bullet) e por KCl (\circ), em útero isolado de rata, $n = 5$. Cada ponto representa a média \pm epm ($n = 10$) e os dados foram normalizados para cada contração individual antes da adição de GCP.

4.5 Comparação do efeito da Goma do Cajueiro purificada (GCP) e Ibuprofeno, sobre às contrações tônicas induzidas por ocitocina

O fármaco comercial Ibuprofeno mostrou um perfil de efeito relaxante no útero de rata quando pré-contraído com ocitocina, bem diferente daquele realizado pela GCP. A curva de relaxamento foi desviada para direita (Fig.3), o que representa uma potência relaxante menor, necessitando de concentrações bem maiores do que a goma para produzir ação tocolítica semelhante, com o valor da CE_{50} significativamente maior ($p < 0,0001$) ($CE_{50} = 85,82 \pm 2,87 \mu\text{g/mL}$) em relação à CGP ($CE_{50} = 2,53 \pm 0,54 \mu\text{g/mL}$).

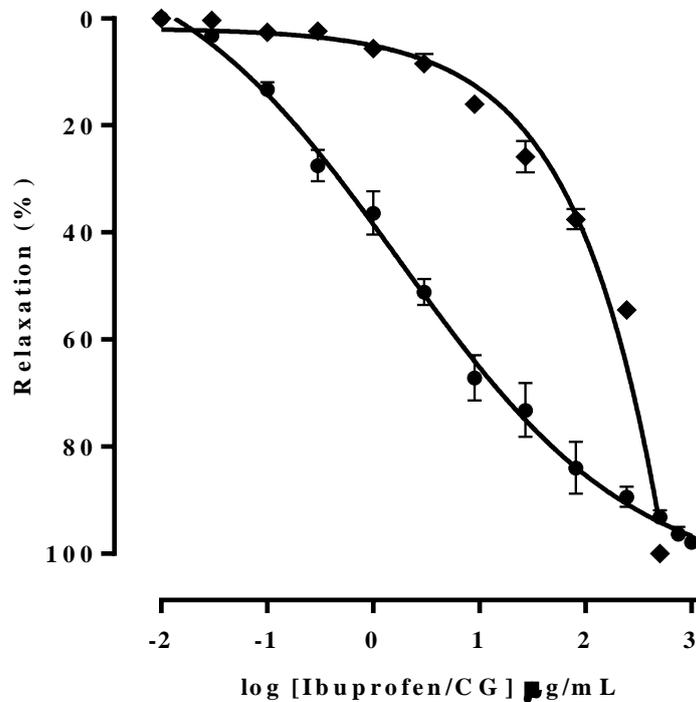


Fig. 3: Efeito tocolítico da GCP (●) e Ibuprofeno (◆) sobre as contrações tônicas induzidas por 10^{-2} UI/mL de ocitocina, em útero isolado de rata. $n=5$. Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente.

4.6 Efeito da GCP sob uma curva concentração-resposta à ocitocina [10^{-6} a 10^{-1} M].

Para confirmar ou descartar a hipótese que a GCP estaria agindo em nível de receptor de ocitocina, decidiu-se caracterizar o bloqueio exercido pelo polímero frente às curvas concentrações-resposta cumulativas induzidas por ocitocina. Observa-se na Fig.4 o deslocamento da curva para a direita, de forma não paralela e com redução da $E_{máx}$ em relação à concentração, o que caracteriza um antagonismo do tipo não competitivo e confirma que a GCP não atua em nível de receptores de ocitocina.

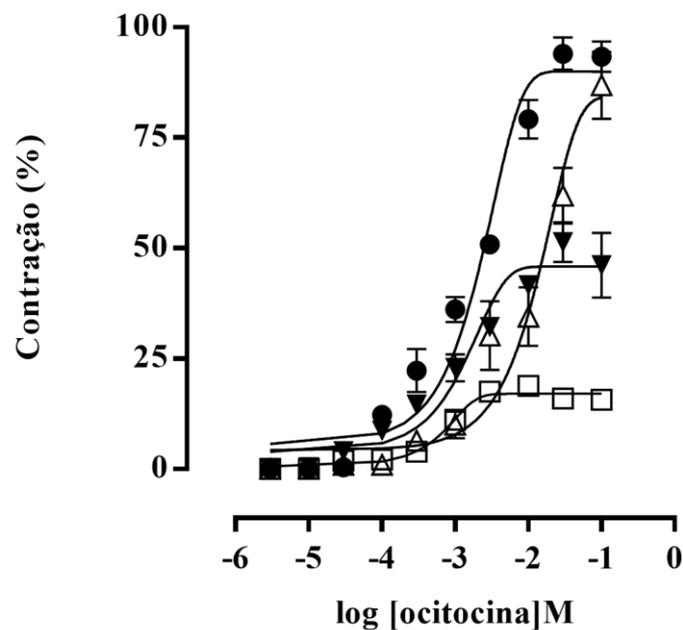


Fig. 4. Característica do antagonismo da contração induzida por ocitocina na ausência (●) e na presença de GCP 3 (Δ); 9 (▼); 27 (□) $\mu\text{g/mL}$.

4.7 Efeito da GCP sobre as contrações tônicas induzidas por ocitocina, na ausência e na presença de tetraetilamônio (TEA⁺) 5mM e 1mM

A GCP relaxou o útero isolado de rata pré-contraído com ocitocina na ausência e na presença de TEA⁺, um bloqueador dos canais de potássio (K⁺), que na concentração de 5 mM é não seletivo e na concentração de 1mM é específico para canais de potássio de grande condutância ativados pelo Ca²⁺ (BK_{Ca}). Observou-se que a curva de relaxamento obtida para a GCP foi deslocada para a direita na presença do bloqueador (Fig.5), com redução significativa da potência relaxante ($p < 0,01$) quando comparada ao relaxamento produzido pela substância na ausência de TEA⁺. Além disso, na presença do bloqueador o valor da E_{máx} foi apenas de $49,05 \pm 4,33\%$ para 5mM e $58,87\% \pm 3\%$ para 1mM, o que impossibilitou o cálculo da CE₅₀. Sugerindo assim a participação dos canais de K⁺ no potente efeito relaxante da GCP.

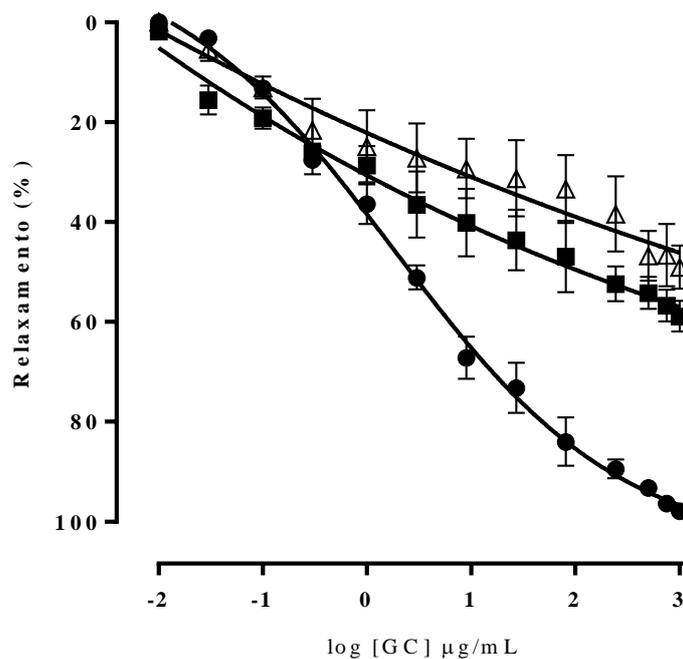


Fig. 5: Efeito da GCP sobre as contrações tônicas induzidas por 10^{-2} UI/mL M de ocitocina na ausência (●) e na presença de TEA⁺ 5mM (Δ) e 1mM (■), em útero isolado de rata. n=5. Os símbolos e as barras verticais representam a média e o e.p.m., respectivamente.

4.8 Análise histológica do útero isolado de rata

A morfologia do útero da rata de aspecto normal pode ser observada na Figura 6A, observam-se bem definidas as três camadas uterinas. Uma camada serosa mais externa o perimétrio (P); uma camada muscular lisa, o miométrio (M) e uma mais interna, o endométrio (E) com várias glândulas endometriais.

Na Figura 6B, é possível visualizar o comportamento das células do miométrio na presença de ocitocina. A Figura 6C demonstra o efeito tocolítico da GCP sob útero pré contraído por 10^{-2} UI/mL de ocitocina e a Figura 6D, a redução da potência relaxante da GCP na presença de um bloqueador inespecífico de canais de potássio TEA⁺ 5mM.

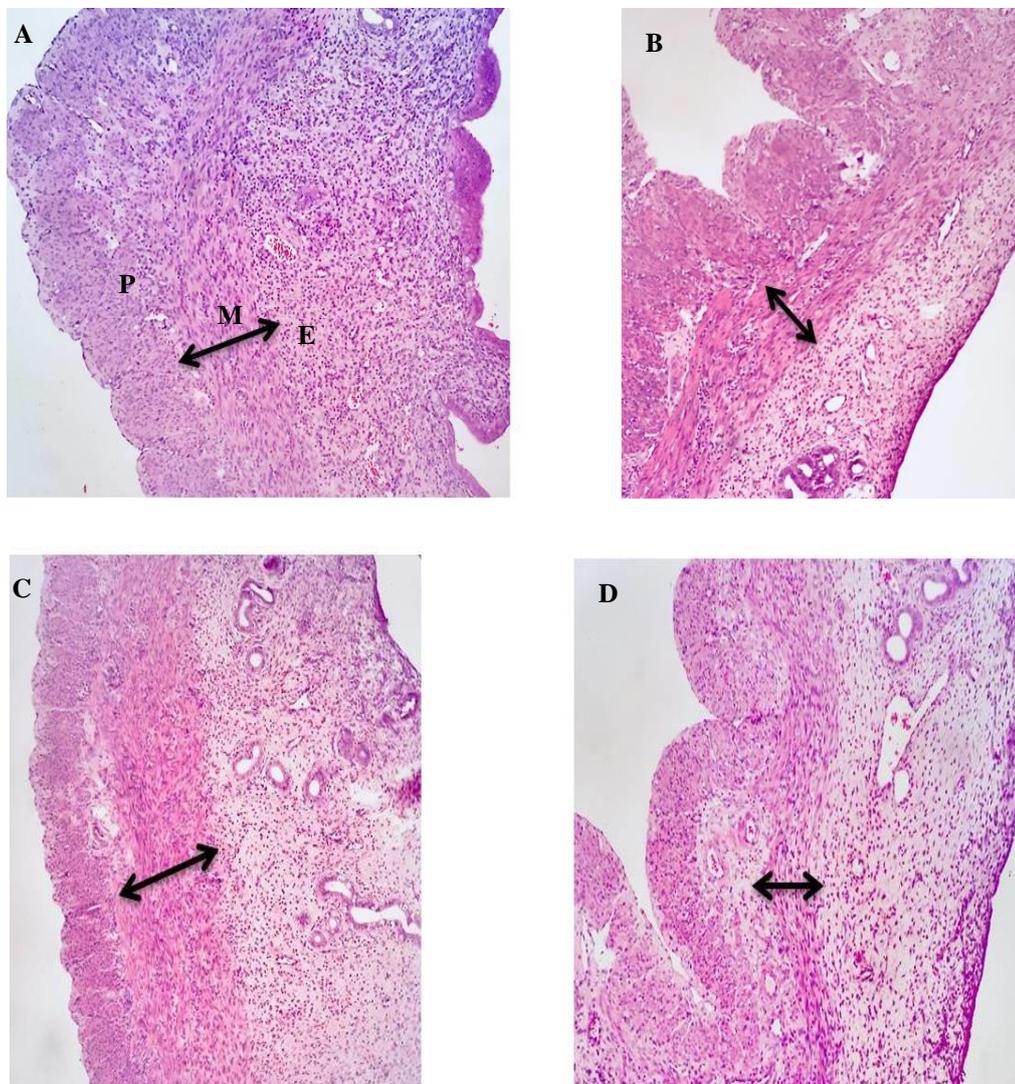


Fig. 6: Aspecto de cortes histológicos de útero isolado rata (A) controle (B) útero pré-contraído com ocitocina 10^{-2} UI/mL (C) útero após cumulativas de goma do cajueiro purificada (D) útero com bloqueio de TEA⁺ 5mM

4.9 Efeito da GCP e NPsGCA sobre a contorção induzida por ocitocina como modelo de dismenorreia primária *in vivo*

Como é possível visualizar na Figura 7, a ocitocina induziu contorções em camundongos previamente tratados com estrógeno. De acordo com Yang et al. (2015), essa resposta é causada pela contração anormal do útero e, portanto, esse modelo simula a fisiopatologia e as características clínicas da dismenorreia primária em humanos. A GCP por via oral reduziu significativamente o número de contorções induzidas por ocitocina comparado com o grupo controle negativo (** $p < 0,001$; * $p < 0,05$). As porcentagens de inibição relativa às doses de 0,03; 0,3; 3 e 30 mg/kg de GCP foram respectivamente 60,3%±8,2%; 78,8±8,9%; 43,4±10,8% e 42,2% ±5,9%. O Ibuprofeno como controle positivo inibiu 93, 8% na concentração de 7,5mg/kg.

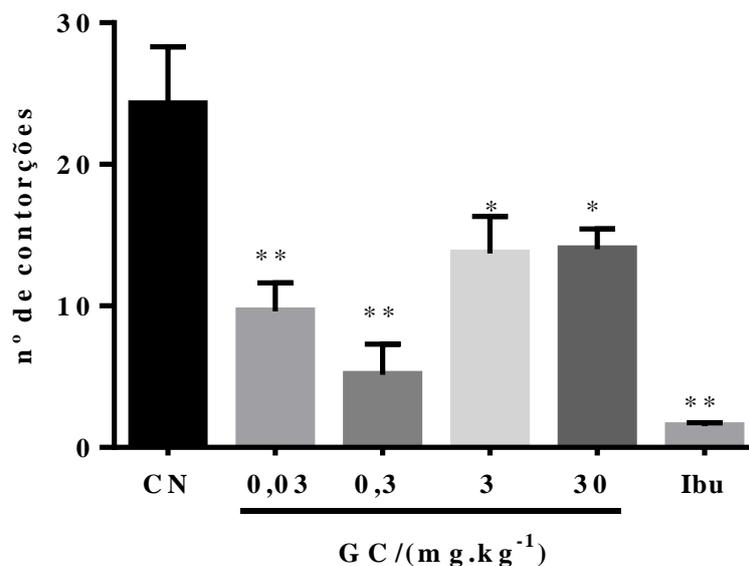


Fig. 7: Efeito da GCP na contorção induzida por ocitocina em camundongos fêmeas pré-tratadas com estrógeno. O número de contorções foi contado até 30 min depois da administração da ocitocina. Os dados foram representados como média epm(n=8). ** $p < 0,01$

4.10 Análise histológica do modelo *in vivo*

Como mostrado na Fig. 8, o estudo histomorfológico do útero mostrou alterações patológicas discerníveis sob o microscópio de luz na objetiva de $\times 100$. A administração de ocitocina (Fig. 8A) causou edema e células inflamatórias foram observados no mesênquima da lâmina própria do endométrio, bem como a redução na espessura do miométrio. As alterações histopatológicas uterinas induzidas pela ocitocina foram menores nos animais que receberam tratamento com Ibuprofeno 7,5mg / kg e GCP nas menores concentrações (Fig. 8B, C, D). Nas concentrações maiores (Fig. 8E e F) observa-se que o efeito tende a diminuir, demonstrando que a GCP não atua de forma dose dependente.

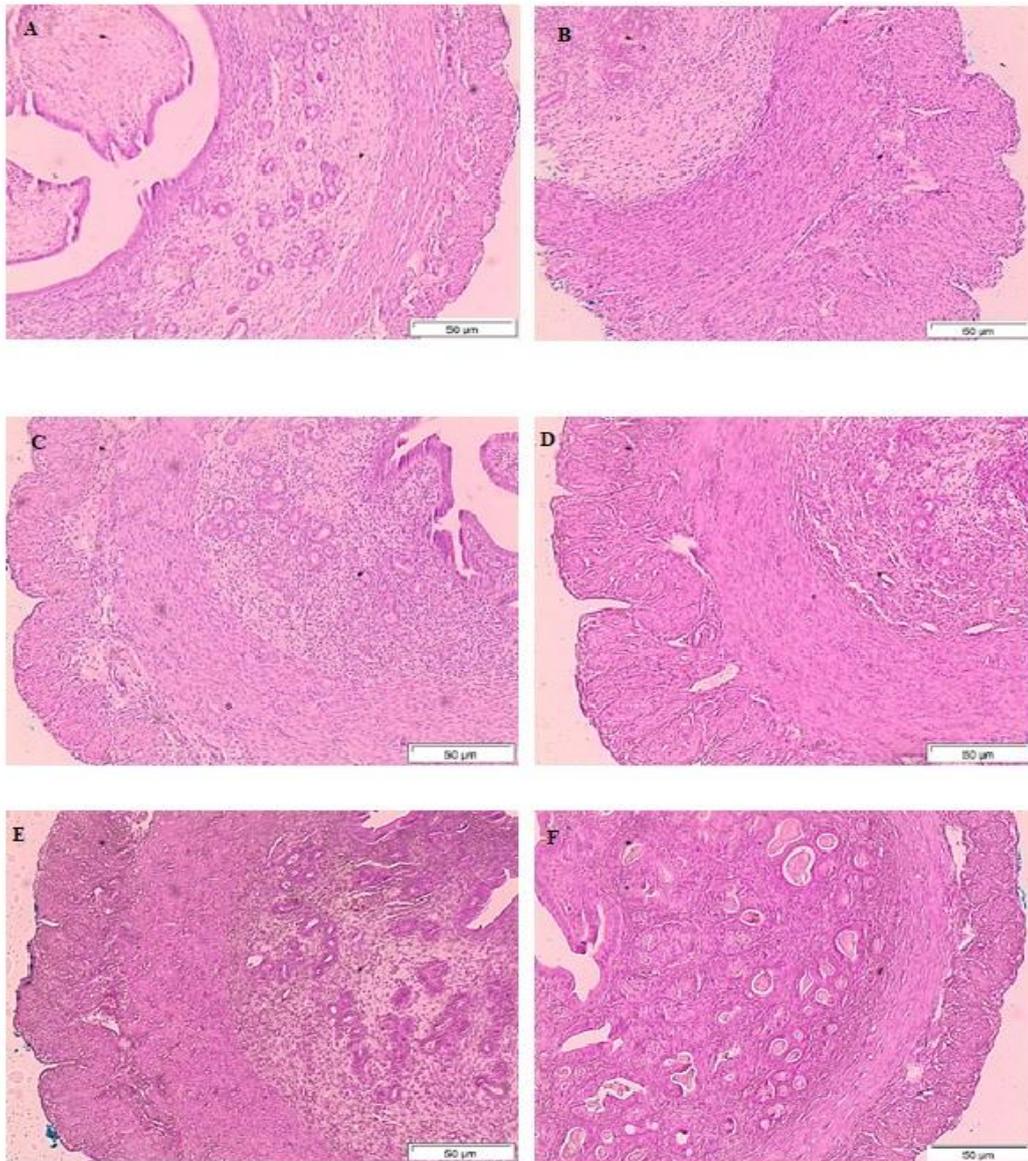


Fig. 9. Coloração por H & E de tecido uterino de camundongo (Ampliação: 100 \times) do grupo controle negativo (A), grupo ibuprofeno 7,5 mg / kg (B), grupo tratamento com GCP (C: 0,03 mg / kg D: 0,3 mg / kg; E: 3 mg / kg e F: 30 mg / kg).

5. Discussão

A Dismenorreia primária, segundo estudos recentes, resulta de contrações anormais e potencializadas do útero (Cheng et al. 2018). No presente estudo, foi comprovada a atividade espasmolítica da Goma do Cajueiro Purificada (GCP) na contração do útero isolado de rata induzido pela ocitocina e esse efeito envolve a participação de canais de K^+ .

Inicialmente, estudos de caracterização foram realizados no sentido de comprovar a purificação do material coletado. A espectroscopia do infravermelho e estudos de análise elementar ratificaram a purificação do material em estudo, com o mesmo delineamento espectroscópico encontrado por Cunha et al (2007), Moura (2009); Pitombeira et al. (2015) e Dias et al. (2016), bem como sua composição comprovadamente orgânica já determinada por Rodrigues et al (1993).

Para início dos ensaios *in vitro*, as ratas foram pré-tratadas com estradiol 0,5mg/Kg por via subcutânea. Segundo Sun et al (2017), o estradiol pode aumentar o número de receptores OT no útero e resultar em um aumento da resposta uterina a agentes contráteis. Como foi possível observar na Figura 2A, ao adicionar à cuba ocitocina houve uma resposta contrátil bifásica, consistindo em um componente fásico, seguido por uma contração sustentada (componente tônico), que se manteve durante o período de exposição ao agente contrátil (Monji et al., 2018).

O aumento da $[Ca^{2+}]_i$ é o principal promotor da contração do músculo liso. Agonistas como a ocitocina ligam-se a receptores acoplados à proteína G (GPCRs) e ativam a uma cascata de mecanismos usualmente através da produção de IP3 estimulando assim, a liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático (RS). Os agonistas contráteis podem também elevar o $[Ca^{2+}]_i$ através de múltiplos canais, atuando por acoplamento misto (Fukata; Amano; Kaibuchi, 2001).

Após a adição cumulativa de GCP, observou-se o efeito tocolítico sob as contrações tônicas induzidas por ocitocina. Não existe na literatura estudos sobre a ação espasmolítica da GCP ou de materiais de composição química semelhante em útero, sendo esse estudo inédito.

Araújo et al. (2015) comprovaram que a GCP tem atividade em modelos de diarreia aguda e inflamatória. Os autores justificaram que esse efeito pode ser explicado pela capacidade de inibição da mobilidade gastrointestinal, o que aponta um importante efeito em músculo liso. Os estudiosos sugeriram que os grupos carboidratos presentes na goma possivelmente posicionam-se em locais específicos que modulam os receptores de opióides e que a GC foi efetiva na redução do líquido intestinal neste modelo por ligar-se a sítios de ligação da PGE2 e, assim, inibir seus efeitos fisiopatológicos no intestino.

Outros estudos realizados com plantas, extratos ou derivados confirmam o efeito desses materiais na contratilidade uterina, inclusive sugerem essas substâncias como possíveis escolhas terapêuticas para a prevenção e tratamento da dismenorreia primária (Thaina et al., 2009; Sun et al. 2016; Wu et al., 2015; Yang et al., 2016; Sun et al., 2017; Monji et al. 2018; Morais et al., 2019). Entretanto, nenhum desses estudos apresentou valores próximos à potência máxima de relaxamento ou CE_{50} da GCP.

Assim, na tentativa de identificar esse mecanismo de ação vários testes foram realizados. Primeiramente, para investigar a atuação do polissacarídeo a nível de receptor, decidiu-se caracterizar o bloqueio exercido pela GCP frente às curvas concentrações-resposta cumulativas induzidas por ocitocina. Foi observado um desvio das curvas para a direita com redução significativa do $E_{máx}$, sugerindo um antagonismo do tipo não competitivo e confirmando que a GCP não atua em receptores OT para promover seu efeito tocolítico.

Carreiro et al. (2017) comprovaram efeito semelhante de um flavonóide isolado da *Piptadenia stipulacea*, onde o extrato inibiu as curvas cumulativas de ocitocina deslocando as mesmas para a direita, de forma não paralela, com redução e abolição do E_{max} . Com esse perfil gráfico, os autores excluíram o antagonismo competitivo por receptor como mecanismo de ação tocolítico.

Portanto, descartada a possibilidade do efeito relaxante da GCP ocorrer a nível de receptor OT, e associado ao fato que os mecanismos envolvidos na manutenção da fase tônica da contração são diferentes da fase fásica foi realizado o método experimental que se baseia nas propriedades eletroquímicas da membrana celular através de contrações induzidas por KCl 60mM (contração por mecanismo eletromecânico). Segundo Wu et al. (2015), o aumento do K^+ (> 30 mM) extracelular é conhecido por provocar a contração do músculo liso através da abertura de canais de Ca^{2+} dependente da voltagem tipo-L, permitindo, assim, o influxo de Ca^{2+} através da membrana e causando um efeito contrátil. No presente estudo, a GCP não promoveu um relaxamento significativo do útero pré-contraído por KCl, isso demonstra uma dificuldade em bloquear o influxo de Ca^{2+} , e, portanto, pode sugerir que o efeito tocolítico da GCP atua sobre outro mecanismo relaxante principal.

Os canais de potássio desempenham um papel muito importante na regulação do potencial de membrana e na excitabilidade celular, sendo a contração do músculo liso dependente do balanço entre o aumento e redução da condutância ao íon K^+ , logo substâncias que ativem os canais de K^+ podem ser uma alternativa farmacológica em potencial para distúrbios relacionados a contração anormal dos músculos lisos, como parto pré-maturo e dismenorreia primária (Khan et al., 2001).

Segundo Brainard, Korovkina e England (2007), em miócitos uterinos não gravídicos, os canais de K^+ contribuem fortemente com a corrente repolarizante que gera o relaxamento muscular. Dessa forma, foi utilizado nesse estudo um bloqueador de canais de K^+ , o TEA^+ nas concentrações de 5mM e 1mM. De acordo com Moynihan (2008), a adição de o TEA^+ 5mM bloqueia todos os canais de K^+ , e, portanto, se a substância a ser testada reduz significativamente a potência relaxante miometrial na presença desse bloqueador é porque a inibição do músculo liso uterino deve ser mediada pela ativação dos canais de potássio.

Nesse estudo, a concentração de TEA^+ 5mM bloqueou todos os canais de potássio, e por sua vez reduziu significativamente os efeitos do relaxamento miometrial induzido pela GCP. Isso sugere que a inibição do músculo liso miometrial induzida pela GCP deve estar associada à modulação positiva dos canais de K^+ , o que levaria a um bloqueio indireto dos Cav , redução da $[Ca^{2+}]_i$ e como consequência o relaxamento do miométrio.

Considerando esses resultados, a concentração de TEA^+ 1mM também foi investigada, porque é específica para bloquear os canais de grande condutância ao Ca^{2+} ativados por K^+ (BK_{Ca}). Esses canais são abundantes no útero e promovem significativa repolarização (Brainard; Korovkina; England, 2007).

Observa-se na Figura 5 que na presença de TEA^+ 1mM, a curva de relaxamento foi desviada para a direita e a potência relaxante diminuída em torno de 2 vezes quando comparada com a curva na ausência do bloqueador. Dessa forma, esses dados sugerem que o efeito tocolítico produzido pela GCP pode estar associado à abertura dos BK_{Ca} .

A potência relaxante da GCP também foi comparada ao fármaco comercial mais utilizado no alívio dos sintomas da DP, um anti-inflamatório não esteroide (AINES), o Ibuprofeno. Foi comprovada a superior potência terapêutica da GCP em relação ao medicamento no relaxamento do útero isolado contraído por ocitocina. Um estudo com testes de contorção abdominal induzida por ocitocina como modelo para dismenorreia in vivo, comprovou que a ocitocina ao induzir a contorção, promove um aumento no nível de $PGF2\alpha$, o que foi consistente com a demonstração prévia de uma relação causal entre a contração uterina e a produção de $PGF2\alpha$ (Yang et al., 2016).

De acordo com Arrowsmith e Wray (2014), o mecanismo para isso pode envolver o sistema de proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), possivelmente atribuído às atividades da PKC. As próprias prostaglandinas são moduladores-chave da contração miometrial; portanto, isso sugere que existe um papel complementar para a sinalização da ocitocina / OTR nos tecidos uterinos, pelo qual a ocitocina pode interagir não apenas

diretamente com o miométrio na estimulação de contrações uterinas, mas também indiretamente através da formação de prostaglandinas em outros tecidos.

Segundo Dawood (2006), a etiologia do início e progressão da DP tem sido associada aos níveis de prostaglandinas (PGs) e outros mediadores inflamatórios que causam a contração frequente e disrítmica do útero. Essas contrações uterinas diminuem o suprimento de sangue para o tecido do endométrio, resultando em privação temporária de oxigênio e produzem muita dor durante a menstruação. Infere-se que a causa principal da DP seja o aumento da produção endometrial de PGs que resulta a partir da diminuição dos níveis de progesterona no final da fase lútea promovendo ação enzimática com liberação de fosfolípidios, produção do ácido araquidônico e ativação da via da ciclooxygenase (COX) (Novak; Berek, 2005).

O efeito contrátil das PGs é baseado na mobilização do Ca^{2+} e na inibição da atividade da AMPc. Isso acontece pela liberação de Ca^{2+} do RS por meio da ativação do receptor acoplado à proteína G (GPCR) ativando a PLC, estimulando a produção de IP_3 e assim acionando a maquinaria contrátil uterina, como descrito anteriormente (Gruber; O'brien, 2011).

O mecanismo de ação mais estudado sobre o efeito espasmolítico dos AINES inclui a inibição da enzima COX e conseqüentemente o bloqueio da contração uterina por meio da participação das PGs. Outros mecanismos envolvem a capacidade de inibir diretamente o influxo de cálcio e/ou promover ações inibitórias que ocorrem na calmodulina. Esses efeitos podem estar relacionados com a sua estrutura não esteroidal e atividade anti-inflamatória (Catabrana et al., 1995).

Por esse motivo os AINEs continuam sendo a principal escolha para o tratamento da DP, entretanto ainda assim são ineficazes em cerca de 20% a 25% das pacientes com essa condição (Harel, 2008). Aguilar; Mitchell (2010) inferem que isso acontece porque os mecanismos dessa terapia parecem estar direcionados a limitar os estímulos contráteis ao útero em vez de interferir diretamente nas próprias contrações, os autores defendem que a atividade contrátil no útero resulta de uma zona específica do miométrio interno. Isso explica o perfil gráfico ao comparar a GCP com o Ibuprofeno. Provavelmente possuem mecanismos de ação tocolíticos diferentes, no qual a atuação da GCP se demonstra com uma potência terapêutica relaxante maior.

Para confirmar a ação da GCP em útero foi realizado o exame histopatológico (Fig.6), que comprovou a redução da espessura da camada muscular provocada pela ocitocina, com destaque para o aumento da espessura miometral quando tratado com GCP, ilustrando claramente o efeito relaxante da GCP sobre útero de rata. Na presença de TEA^+ , não houve

mudança no aspecto das lâminas comparadas à ocitocina, o que reforça a participação dos canais de K^+ na atividade tocolítica.

O presente estudo avaliou também o efeito da GCP em modelo *in vivo* para dismenorreia, por meio da indução de contorções abdominais com ocitocina. Yang et al. (2015) comprovaram que as contorções induzidas pela ocitocina em camundongos fêmeas com estrogenização prévia promove contração anormal do útero, espasmo uterino e isquemia semelhantes à patologia da DP humana e que, portanto, esse modelo pode ser utilizado para estudar DP e para avaliações terapêuticas clínicas.

O estudo *in vivo* demonstrou que o GCP reduziu significativamente as respostas de contorção induzidas pela ocitocina com uma inibição máxima de 78,86% na dose de 0,3mg / kg. Sun et al (2017) demonstraram que o óleo essencial dos galhos de *Cinnamomum cassia Presl* em mesma metodologia promoveu inibição máxima de 66,5% das contorções; Yang et (2016) comprovaram que uma conhecida fórmula de ervas chinesas, reduziu as respostas contorcidas com inibição máxima de 87%; e Sun et al (2016) também comprovaram o efeito de uma outra formulação chinesa com inibição máxima de 55%, entretanto todos esses estudos utilizaram doses cerca de 100 vezes maiores que as utilizadas para a GCP. A análise histológica confirmou o efeito tocolítico da GCP.

6. Conclusão

O presente estudo demonstrou a existência de um efeito inovador da Goma do Cajueiro purificada, ao comprovar sua capacidade de diminuir a contração do músculo liso uterino induzida por ocitocina *in vitro* e *in vivo*. O mecanismo tocolítico foi estudado e parece estar associado à ativação de canais de K^+ . Isso amplia as possibilidades da GCP ser mais investigada para o tratamento da dismenorreia primária e incentiva o delineamento de experimentos clínicos adicionais para confirmar este achado.

Conflito de interesses

Os autores declararam que não há conflito de interesses.

Financiamento

Este artigo não foi financiado.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Boris Timah Acha por revisar o idioma inglês neste manuscrito.

7. Referências

- Araújo, T.S.L., Costas, D.S., Sousa, N.A., Souza, L.K.M., Araujo, S., Oliveira, P.O., Sousa, F.B. M., Silva, D.A., Barbosa, A.L.R., Leite, J.R.S.A., Medeiros, J.V.R., 2015. Antidiarrheal activity of cashew GUM, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of *Anacardium occidentale* L. in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 174, 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.08.020>
- Arrowsmith, S., Wray, S., 2014. Oxytocin: Its Mechanism of Action and Receptor Signalling in the Myometrium. *Journal of Neuroendocrinology*, 26, 356–369. <https://doi.org/10.1111/jne.12154>
- Borsaro, A.A., Santana, A.P.M., Batista, G.L., Nicolau, L.D., Wong, D.V., Santos, A.A., Sifrim, D., Souza, M. 2017. In Vitro Assessment of Mice Laryngeal Mucosal Integrity. Evaluation of Topical Protective Effect of Cashew Gum, a Natural Polymer Obtained from a Brazilian Northeastern Tree (*Anacardium Occidentale*). *Gastroenterology*, 152 (5) 234. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(17\)31073-9](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(17)31073-9)
- Bortolon, F.F., Sato, M. E., Andreazza, R.C. S., Bresolin., T.M.B., 2008. Effect of enhancers on the in vitro percutaneous absorption of piroxicam from compounding formulations. *Revista Brasileira de Ciências farmacêuticas*, 44, 433-40. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322008000300013>
- Brainard, A.M., Korovkina, V.P., England, S.K., 2007. Potassium channels and uterine function. *Seminars In Cell & Developmental Biology*, 18(3), 332-339. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2007.05.008>
- Cantabrana, B., Vallina, J.R.P., Menendez, L., Hidalgo, A., 1995. Spasmolytic and calmodulin inhibitory effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs in vitro. *Life Science*, 57(14), 1333-1341. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(95\)02090-6](https://doi.org/10.1016/0024-3205(95)02090-6)
- Carvalho, N.S., Silva, M.M., Silva, R.O., Nicolau, L.A., Sousa, F.B., Damasceno, S.R., Silva, D.A.A, Barbosa, L.R., Leite, J.R.S.A., Medeiros., J.V.R., 2015. Gastroprotective Properties of Cashew Gum, a Complex Heteropolysaccharide of *Anacardium occidentale*, in Naproxen-Induced Gastrointestinal Damage in Rats. *Drug development research*, 76, 143–151. <https://doi.org/10.1002/ddr.21250>
- Carreiro, J. da N., Souza, I. L. L. de, Pereira, J. C., Vasconcelos, L. H. C., Travassos, R. de A., Santos, B. V. de O., & Silva, B. A. da., 2017. *Tocolytic action and underlying mechanism of galetin 3,6-dimethyl ether on rat uterus. BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1). doi:10.1186/s12906-017-2007-6
- Chauhan M, Kala J, 2012. Relation Between Dysmenorrhea and Body Mass Index in Adolescents with Rural Versus Urban Variation. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India*. 62 (4), 442-445. <https://doi.org/10.1007/s13224-012-0171-7>
- Chen, H.Y., Lin, Y.H., Su, I.H., Chen, Y.C., Yang, S.H., Chen, J.L., 2014. Investigation on Chinese herbal medicine for primary dysmenorrhea: Implication from a Nationwide prescription database in Taiwan. *Complement. Ther. Med.* 22, 116–125. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2013.11.012>
- Cheng, Y., Chu, Y., Su, X., Zhang, K., Zhang, Y., Wang, Z., Xiao, W., Zhao, L., Chen, X., 2018. Pharmacokinetic–pharmacodynamic modeling to study the antidysmenorrhea effect of

- Guizhi Fuling capsule on primary dysmenorrhea rats. *Phytomedicine*, 48, 141–151. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.04.041>
- Cunha, P.L.R., Maciel, J.S., Sierakowski, M.R., Paula, R.C.M., Feitosa, J.P.A., 2007. Oxidation of cashew tree gum exudate polysaccharide with TEMPO reagent. *J. Braz. Chem. Soc.*, 18, 1, 85-92, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532007000100009>
- Das, B., Nayak, A.K., Nanda, U., 2013. Topical gels of lidocaine HCl using cashew gum and Carbopol 940: Preparation and in vitro skin permeation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 514– 517.
- Dawood, M.Y, 2006. Primary dysmenorrheal: advances in pathogenesis and management. *Obstet Gynecol.* 108(2), 428-41.
- De Paula, R.C.M., Rodrigues, J. F., 1995. Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. *Carbohydrate Polymers*. 26 (3), 177–181. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(95\)00006-S](https://doi.org/10.1016/0144-8617(95)00006-S)
- Dias, S.F.L., Nogueira, S.S., Dourado, F.F., Guimarães, M.A., Pitombeira, N.A.O., Gobbo, G.G., Primo, F.L., de Paula, R.C.M., Feitosa, J.P.A., Tedesco, A.C., Nunes, L.C.C., Leite, J.R.S.A, Silva, D.A., 2016. Acetylated cashew gum-based nanoparticles for transdermal delivery of diclofenac diethylamine. *Carbohydrate Polymers*, 143(5), 254–261. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.004>
- Dias, S.F.L., Pereira, L.C.A, Santos, F.R.D, Oliveira, A.P., Nunes, L.C.C., 2019. Scientific and technological prospection on transdermal formulations and complementary therapies for the treatment of primary dysmenorrhea. *Expert Opin Therapeutic Patents.*,29(2),115-126. <https://doi.org/10.1080/13543776.2019.1562547>
- Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia – FEBRASGO. Dismenorreia primária: tratamento. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.5 9, n.5, p. 413–419, 2013.
- Fukata, Y., Amano, M., Kaibuchi, K., 2001. Rho–Kaibuchi, K-kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non-muscle cells. *Trends in Pharmacological Sciences*, 22, 32-39.
- Grube, O'brien, 2011. Uterotonic Plants and their Bioactive Constituents. *Planta Médica*, 77(3), 207-220. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250317>
- Harel Z, 2008. Dysmenorrhea in adolescents and young adults: from pathophysiology to pharmacological treatments and management strategies. *Expert Opin Pharmacother*, 9, 15, 2661-2672. <https://doi.org/10.1517/14656566.9.15.2661>.
- Kazama, Maruyama, Nakamura, 2015. Prevalence of dysmenorrhea and its correlating lifestyle factors in Japanese female junior high school students. *Tohoku J. Exp. Med.* 236(2), 107-13. <https://doi.org/10.1620/tjem.236.107>.
- Khan, R.N., Matharoo-Ball, B., Arulkumaran, S., Ashford, M.L., 2001. Potassium channel in the human myometrium. *Experimental Physiology*, 86(2), 255-264.
- Kumar, R., Patil, M.B., Patil, S.R., Paschapur, M.S., 2009. Evaluation of *Anacardium occidentale* gum as gelling agent in aceclofenac gel. *International Journal of PharmTech Research*, 1(3), 695–704.

- Monjia, F., Lau, L.C., Siddiquee, A.A., Said, B. B., Yoganathan, L.Y., Choolani, M.A., Adaikana, P.G., 2018. Potent tocolytic activity of ethyl acetate fraction of *Ananas comosus* on rat and human uteri. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 824–834. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.06.021>
- Morais, L.P., Silva, A.A., Silva, R.E.R., Costa, R.H.S., Monteiro, A.B., Barbosa, C.R.S., Amorim, T.S.I, Menezes, R.A., Kerntopf, M.R., Barbosa, R., 2019. Tocolytic activity of the *Lippia alba* essential oil and its major constituents, citral and limonene, on the isolated uterus of rats. *Chemico-Biological Interactions*, 297, 155–159. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.11.006>
- Moynihan, A.T., Smith, T.J., Morrison, J.J., 2008. The relaxant effect of nifedipine in human uterine smooth muscle and the BKCa channel. *Am J Obstet Gynecol*, 198, 237. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2007.08.074>
- Nguyen, A.M., Humphrey, L., Kitchen, H., Rehman, T., Norquist, J.M., 2015. A qualitative study to develop a patient-reported outcome for dysmenorrhea. *Quality Life Res.* 24,181. <https://doi.org/10.1007/s11136-014-0755-z>.
- Nicolau, L.D., Lima, F.B., Santana, A.P.M., Woodland, P.J., Lee, C., Medeiros, J. V. R., Silva, D.A.S., Vale, M.L., Souza, M.A.N. Santos, A.A., Sifrim, D., Souza, M., 2017. Topical protection of human oesophageal mucosal integrity by the cashew Gum, a natural polymer obtained from a brazilian northeastern Tree (*Anacardium occidentale* L.). *Gastroenterology*, 152(5), 460-461. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(17\)31739-0](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(17)31739-0)
- Nunes, J.M.O., Rodrigues, J.A., Moura, M.S.F., Batista, S.R.C., Coutinho, S.K.S. F., Hazime, F.A., Barbosa, A.L.R. 2013. Prevalência de dismenorreia em universitárias e sua relação com absenteísmo escolar, exercício físico e uso de medicamentos. *Revista Brasileira em Promoção da Saúde*, 26(3), 381-386. <https://doi.org/10.5020/18061230.2013.p381>
- Pitombeira, N.A., Veras Neto, J.G., Silva, D.A., Feitosa, J.P., Paula, H.C., de Paula, R.C., 2015. Self-Assembled Nanoparticles Of Acetylated Cashew Gum: Characterization And Evaluation As Potential Drug Carrier, *Carbohydrate Polymers*, 117, 610-615.
- Ranaa, V., Raia, P., Tiwary, A.K., Singh, R.S., Kennedy, J.F., Knill, C.J., 2011. Modified gums: Approaches and applications in drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 83, 1031–1047. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.09.010>
- Rodrigues, J.F., Paula, R.C., Costa, S.M.O, 1993. Métodos de isolamento de gomas naturais e comparação através de goma de cajueiro. *Polím.: Ciênc. Tecnol.*, 1, 31-36.
- Ryan, S.A.R., 2017. The treatment of dysmenorrhea. *Pediatr. Clinics N. Am.* 64, 331–342. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2016.11.004>
- Sosorburam, D., Wu, Z.G., Zhang, S.C., Peng, H.,Zhang, H.Y.,Jiang, T.,Ahiasi-Mensah, J., He, X., 2019. Therapeutic effects of traditional Chinese herbal prescriptions for primary dysmenorrhea. *Chinese Herbal Medicine*, 11,10–19. <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2018.11.001>
- Sun, L., Liu, L., Zong, S., Wang, Z., Zhou, J., Xu, Z., Ding, G., Xiao, W., Kou, J., 2016. Traditional Chinese medicine Guizhi Fuling capsule used for therapy of dysmenorrhea via attenuation uterus contraction. *Journal of Ethnopharmacology*, 191, 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.06.042>

- Sun, L., Liu, L.N., Li, J.C., Zong, S.B., Zhou, J., Wang, Z.Z., Kou, J.P., Xiao, W., 2017. The essential oil from the twigs of *Cinnamomum cassia* Presl inhibits oxytocin-induced uterine contraction in vitro and in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, 206, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.05.023>
- Thaina, P., Tungcharoen, P., Wongnawa, M., Reanmongkol, W., Subhadhirasakul, S. 2009. Uterine relaxant effects of *Curcuma aeruginosa* Roxb. rhizome extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 121(3), 433-443. 10.1016/j.jep.2008.10.022
- Wu, C., Shieh, T., Wang, K., Huang, T., Hsi, S., 2015. Quercetin, a main flavonoid in onion, inhibits the PGF₂ α -induced uterine contraction in vitro and in vivo. *Journal of Functional Foods*, 19, 495–504. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.028>
- Yang, L., Cao, Z., Yu, B., Chai, C., 2015. An *in vivo* mouse model of primary dysmenorrhea. *Experimental Animals*, 64(3), 295–303. doi: 10.1538/expanim.14-0111.
- Yang, L., Chai, C., Yue, X., Yan, Y., Kou, J., Cao Z., 2016. Ge-Gen Decoction attenuates oxytocin-induced uterine contraction and writhing response: potential application in primary dysmenorrhea therapy. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 14(2), 124–32. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(16\)60005-5](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(16)60005-5)

CAPÍTULO IV

ARTIGO 3

Artigo escrito seguindo às regras da Carbohydrate Polymers



Qualis em Biotecnologia: A1

Fator de Impacto:5.158

**EFEITO DAS NANOPARTICULAS DE GOMA DO CAJUEIRO ACETILADA
SOBRE ÀS CONTRAÇÕES UTERINAS INDUZIDAS POR OCITOCINA COMO
MODELO DE DISMENORREIA PRIMÁRIA *IN VIVO***

Effect of acetylated cashew gum-based nanoparticles on oxytocin-induced uterine contraction
as a *in vivo* mouse model of primary dysmenorrhea

Sávia Francisca Lopes Dias^a; Layane Carneiro Alves; Daniel Freitas Santos^b; Marcos Meneses de Oliveira^b; Antônio Carlos dos Reis Filho^b; Adrielle Memória da Silva^b; Luana de Oliveira Lopes^a; Antônia Carla de Jesus Oliveira^c; Durcilene Alves da Silva^d; Rita de Cassia Meneses Oliveira^e; Rosimeire Ferreira dos Santos^e; Lívio César Cunha Nunes^{a*}

^a Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - RENORBIO, Ponto Focal - Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

^b Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

^c Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

^d Centro de Pesquisa em Biotecnologia e Biodiversidade, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Brasil

^e Centro de Pesquisa de Plantas Mediciniais da Universidade Federal do Piauí, Teresina, Brasil.

Resumo

O termo “dismenorreia” é usado para denominar as cólicas menstruais dolorosas. A goma do cajueiro (GC) é um polissacarídeo extraído da espécie *Anacardium occidentale L.*, com algumas atividades biológicas já relatadas. A modificação química para síntese de nanopartículas poliméricas pode promover e otimizar interações específicas entre o polímero e o meio biológico. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito das Nanopartículas de Goma do Cajueiro acetilada (NPsGCA) sobre as contrações uterinas induzidas por ocitocina como modelo de dismenorreia *in vivo*. O exsudato do cajueiro foi extraído por incisões no tronco da árvore, a goma do cajueiro acetilada (GCA) foi sintetizada e caracterizada por espectroscopia na região do infravermelho e análise elementar. A síntese de nanopartículas foi realizada utilizando o método de diálise ou deslocamento do solvente e analisadas em DLS, Potencial Zeta e índice de polidispersão (IPD). A estabilidade coloidal das nanopartículas foram monitoradas por 12 meses. A contração uterina em camundongos fêmeas foi induzida por ocitocina (OT) a seguir ao pré-tratamento com estradiol. Os ratos receberam as NPsGCA (0,03; 0,3 e 3 mg/kg) por gavagem. O tecido uterino foi coletado para exame histopatológico (H & E). A espectro do infra vermelho e análise elementar atestam a originalidade da GC e comprovam a hidrofobização por acetilação. As NPsGCA foram sintetizadas com partículas de distribuição unimodal (tamanho: 257,63±1,60 nm; potencial zeta: -32,18±0,70 mV; IPD: 0,140±0,012). A estabilidade coloidal das nanopartículas foi monitorada por 12 meses e confirmada, o que determina um parâmetro importante para interação e penetração de barreiras biológicas. A GC por via oral inibiu significativamente as contrações induzidas por ocitocina com uma inibição máxima de 78,86% na concentração de 0,3 mg/kg e as NPsGCA inibiu de 88,66% na concentração de 0,03 mg/kg). Os resultados do exame histopatológico mostraram que as NPsGCA poderiam diminuir a inflamação e edema relacionados à DP.

Palavras-chave: Nanopartículas; Goma do Cajueiro; Dismenorreia primária

1. Introdução

O termo “dismenorreia” é usado para denominar as cólicas menstruais dolorosas que ocorrem durante a menstruação ou algumas horas antes, podendo vir acompanhadas de náuseas, vômitos, diarreia, fadiga, nervosismo, tonturas e cefaleia (Acqua e Bendlin, 2015). Kaur (2018) destaca que a dismenorreia primária (DP) caracteriza-se por dor abdominal baixa recorrente e espasmos que ocorrem na ausência de patologia pélvica, caracterizando-se como um dos problemas ginecológicos mais comuns que afeta a qualidade de vida e as atividades diárias das mulheres.

Estes sintomas podem estar relacionados com a ação de prostaglandinas (PGs), onde a PGF₂ alfa que é liberada durante a menstruação pode estimular as contrações do miométrio, sensibilizando as terminações nervosas e provocando a isquemia e dor (Chauhan, 2012). Desta maneira, a inibição na produção das prostaglandinas no endométrio, com a utilização de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), apresenta-se como tratamento mais utilizado para DP (Mieli et al, 2013).

Entretanto, ainda assim, os AINEs são ineficazes em cerca de 20% a 25% das pacientes, e podem causar efeitos colaterais como indigestão, dor de cabeça e sonolência (Marjoribanks et al., 2015). Novas terapias alternativas utilizando plantas medicinais têm sido estudadas para o tratamento da DP utilizando modelos animais *in vitro* e *in vivo* (Thaina et al., 2009; Sun et al. 2016; Wu et al., 2015; Yang et al., 2016; Sun et al., 2017; Monji et al. 2018; Morais et al., 2019).

A goma do cajueiro (GC) é um polissacarídeo extraído da espécie *Anacardium occidentale L.*, com considerável valor econômico e medicinal, nativo da África, Índia e nordeste do Brasil. Algumas atividades biológicas já foram relatadas, incluindo efeitos antimicrobianos (Torquato et al. 2004), antidiarreico (Araújo et al., 2015), anti-inflamatório (Silva et al., 2018) e gastroprotetores (Carvalho et al., 2015). Mais recentemente, a sua modificação por acetilação foi utilizada para a preparação de nanopartículas poliméricas para incorporar substâncias bioativas (Pitombeira et al., 2015; Dias et al., 2016; De Lemos et al., 2018; Do Amaral Rodrigues et al., 2019).

A nanotecnologia constitui uma das bases para o surgimento e aperfeiçoamento de produtos e processos. Dispositivos biomédicos vêm sendo aprimorados a cada dia, tornando possível alguns tratamentos e melhorando métodos existentes. Neste campo, os materiais poliméricos ocupam posição de destaque, dada a sua versatilidade estrutural, que permite adequação de propriedades para cada aplicação. A possibilidade de alterar os grupamentos

químicos presentes na arquitetura macromolecular das cadeias e modificar a superfície das partículas pode viabilizar, por exemplo, o estabelecimento de interações específicas entre o polímero e o meio biológico (Pichot, 2004).

Assim, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito das Nanopartículas de Goma do Cajueiro acetilada sobre as contrações uterinas induzidas por ocitocina como modelo de dismenorreia *in vivo*.

2. Materias e Métodos

2.1 Materiais

2.1.1 Botânico

A goma do cajueiro foi extraída do tronco da árvore *Anacardium occidentale* L., na cidade de Parnaíba, litoral do Estado do Piauí e purificada no laboratório de biotecnologia (BIOTEC) da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

2.1.2 Animais

Para os protocolos *in vivo* foram utilizados camundongos *Swiss* fêmeos virgens pesando entre 20 e 30g e com 6 a 8 semanas de vida procedentes do Biotério Setorial da UFPI, localizado no Departamento do Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais - NPPM/UFPI. Antes dos experimentos todos os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno com ventilação e temperatura ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) controladas e constantes, submetidos diariamente a um ciclo claro-escuro de 12 horas, com a fase de luz iniciando às 6:00 horas e terminando às 18:00 horas, sob rigoroso controle alimentar com uma dieta balanceada a base de ração tipo “pellets” com livre acesso a água (disponível em frascos com bicos apropriados) até 60 minutos antes dos experimentos. Após os procedimentos experimentais os animais foram eutanasiados e acondicionados em freezer (-20°C) para congelamento no Biotério Setorial da UFPI. O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí, de acordo com o Protocolo nº 410/2017.

2.2 Métodos

2.2.1 Extração e purificação da Goma do Cajueiro

O exsudato do cajueiro foi extraído por incisões no tronco da árvore e apresentou-se como goma de coloração amarelada e solúvel em água segundo método já descrito (De Paula; Rodrigues, 1995). O sistema foi submetido às seguintes etapas: filtração, precipitação, nova filtração e lavagem do precipitado seguindo método de Costa, Rodrigues & de Paula (1996).

2.2.2 Acetilação da Goma do cajueiro

A goma do cajueiro acetilada (GCA) foi sintetizada pelo método de Motozato (1986), conforme relatado em Pitombeira et al. (2015) e Dias et al. (2016). A goma do cajueiro (1 g) foi suspensa em 20 ml de formamida sob agitação vigorosa. Adicionou-se piridina (3 g) e anidrido acético (7 g) e a mistura foi agitada durante 24 horas a 50 ° C. A GCA foi obtida por precipitação com 400 mL de água. O sólido foi filtrado, lavado com água e seco em ar quente.

2.2.3 Caracterização da Goma do Cajueiro Acetilada

2.2.3.1 Espectroscopia no Infravermelho

Os espectros de FT - IR foram registrados em pastilhas de KBr num espectrofotometro Shimadzu FT - IR 8300 no intervalo de números de onda de 4000-500 cm^{-1} .

2.2.3.2 Análise Elementar

A análise elementar foi obtida no equipamento analisador elementar - Perkin Elmer 2400 com o método Pregl-Dumas em atmosfera de oxigênio puro e detector TCD (detector de condutividade térmica).

2.2.4 Síntese de Nanopartículas de Goma do Cajueiro Acetilada (NPsGCA)

A síntese de nanopartículas foi realizada utilizando o método de diálise ou deslocamento do solvente. De acordo com Dias et al. (2016), a GC foi dispersa em 20 ml de acetona durante 20 minutos, sob agitação magnética de 400rpm. A solução foi dialisada contra água deionizada, utilizando uma membrana de acetato de celulose (peso molecular 12000 Da), durante 24 horas e retirada após 48h. A condutividade foi utilizada para monitorizar as trocas de água. Em seguida, uma alíquota foi retirada para análise em DLS e Potencial Zeta, e a solução resultante foi liofilizada para estudos com órgão isolado.

2.2.4.1 Espalhamento Dinâmico de Luz e Potencial Zeta

O tamanho das partículas e as medições de potencial zeta foram realizados em um Zetasizer Nano ZS Modelo Malvern 3600. O diâmetro hidrodinâmico foi medido por dispersão de luz dinâmica, comprimento de onda do laser de 633 nm e um ângulo de dispersão fixo de 90 °. Cada amostra foi medida em triplicata e descrita como média \pm DP (n = 3). A estabilidade coloidal das nanopartículas foi monitorada por 12 meses.

2.2.5 Teste de contorção induzida por ocitocina como modelo de dismenorreia *in vivo*

O teste de contorção foi realizado de acordo com o método relatado por Yang et al. (2015). Camundongos fêmeas foram divididas aleatoriamente em seis grupos (n = 10 / grupo)

da seguinte forma: grupo normal (sem tratamento com estradiol), grupo modelo (salina), grupos NPsGCA de diferentes doses (0,03; 0,3 e 3 mg/Kg) e grupo controle positivo (Ibuprofeno 7,5mg/Kg). Cada camundongo do grupo modelo, grupo NPsGCA e grupo de controle positivo foi pré-tratado com estradiol (i.p.) durante 3 dias consecutivos numa dose de $1 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{d}^{-1}$. As diferentes doses de NPsGCA e Ibuprofeno foram administradas por via oral 0,5 h antes da injeção intraperitoneal de ocitocina (0,4 UI por animal). O número de alongamentos ou contorções foi registrado em 30 minutos após a injeção de ocitocina.

2.3 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada usando o GraphPad Prism 6.0®. As diferenças entre os grupos foram determinadas pela análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey, ($p < 0,05$). Todos os resultados foram expressos como média \pm EPM.

3. Resultados e Discussão

3.1 Caracterização da goma do cajueiro acetilada

O espectro de FT-IR de CG (Fig.1) mostra bandas em 3379 e 2933 cm^{-1} atribuídas às vibrações de estiramento O-H e C-H, respectivamente. Além disso observa-se que a intensidade de vibrações a 3400 cm^{-1} presentes na GC diminui à medida que os grupos acetil são inseridos (Dias et al., 2016). O espectro da GCA mostra bandas de vibração nas regiões de 1729 cm^{-1} em relação a C = O e em 1239 cm^{-1} característica de C-O. Essas bandas são atribuídas ao grupo acetil (Ribeiro et al., 2017).

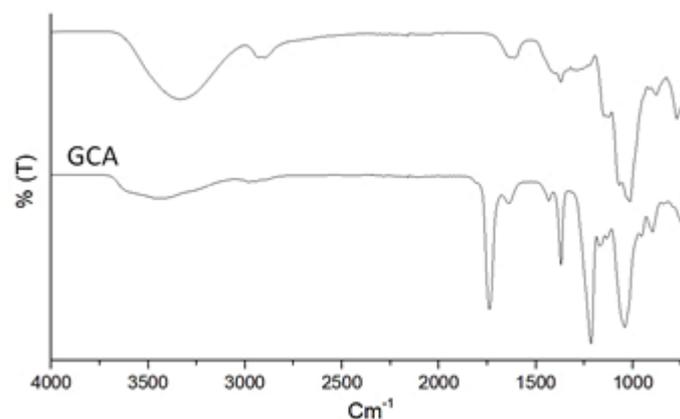


Fig1. Espectro do Infra-Vermelho. GC: goma do cajueiro. GCA: goma do cajueiro acetilada

Na análise elementar foi possível observar o mesmo resultado que De Lemos et al. (2018) encontraram ao promover a acetilação da goma do cajueiro, nota-se um aumento na relação C / H devido ao grupo acetil, como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Análise Elementar da GC e GCA

	Carbono %	Hidrogênio %	mmol(C)	mmol(H)	C/H
GC	39,10	6,65	32.56	65.47	0,497
GCA	48,07	5,91	40.00	58.86	0,682

3.2 Caracterização das nanopartículas

Atestada a originalidade da GC e comprovada a hidrofobização por acetilação da goma, foram sintetizadas nanopartículas da Goma do cajueiro acetilada (NpGCA) através do método de diálise ou deslocamento do solvente. A confirmação da formação de nanopartículas foi dada pela presença do efeito de Tyndall, caracterizado pela visualização da suspensão opalescente (De Lemos et al., 2018). A representação gráfica da distribuição de tamanho por DLS encontra-se na Fig.2.

Os resultados apontam para o sucesso da síntese, com partículas de distribuição unimodal compatíveis ao demonstrado na literatura (tamanho: $257,63 \pm 1,60$ nm; potencial zeta: $-32,18 \pm 0,70$ mV; IPD: $0,140 \pm 0,012$). Segundo Mohanraj & Chen, valores até 0,2 para polidispersão e acima de 30 mV em módulo para potencial zeta indicam boa estabilidade coloidal em solução.

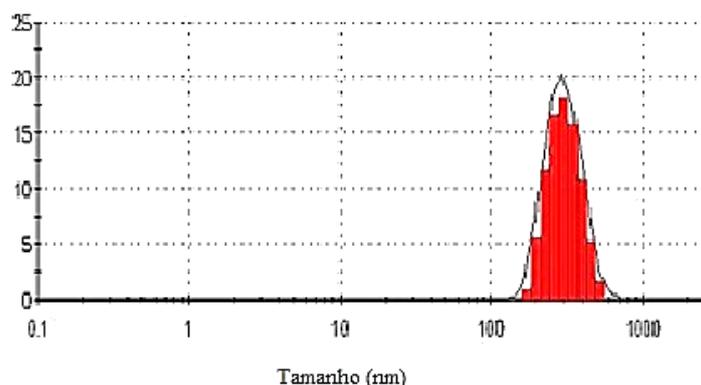


Fig.2 Distribuição de tamanho das NPsGCA

De acordo com Jeon et al. (2000), as NPs poliméricas tendem a ultrapassar 100nm de tamanho, diferente de NPs metálicas. Esses autores em síntese de NPs de PLGA (poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) encontraram um tamanho médio até duas vezes maior que o encontrado nesse estudo.

Dias et al. (2016) na síntese de NPs_{GCA} encontram tamanho acima de 300nm com distribuição unimodal e comprovaram que as nanoestruturas possuem um grande potencial como carreador de fármacos em sistemas de liberação controlada bem como são promotores da permeação transdérmica *in vitro*.

Lima et al (2018) avaliaram a influência dos parâmetros reacionais da acetilação sobre as propriedades finais da goma do cajueiro e os dados obtidos sobre a formação de sistemas auto-organizados revelaram tamanhos de partícula na faixa de 190 a 300 nm. De Lemos et al (2018) encontraram tamanho médio de partícula de 460 nm para NPs_{GCA} e comprovaram o efeito das mesmas na liberação controlada de insulina.

A estabilidade coloidal das nanopartículas foi monitorada por 12 meses após a síntese. Pode-se observar na Tabela 2 que não existe diferença significativa entre os meses que sucederam à síntese quanto ao tamanho de partícula, potencial zeta e IPD, o que confirma a estabilidade do material em solução.

Esses resultados indicam estabilidade eletrostática das NPs, o que significa a presença de partículas com uma menor tendência para formação de agregados, o que determina um parâmetro importante para interação e penetração de barreiras biológicas (Kumari, Yadav & Yadav, 2010).

Tabela 2. Estabilidade coloidal das Np_{GCA}

Tempo (meses)	Tamanho (nm)	Índice de polidispersão (IPD)	Potencial Zeta (mV)
0	257,63±1,60	0,140±0,012	-32,18±0,70
1	260,33±2,75	0,155±0,018	-30,46±0,77
3	256,46±4,21	0,165±0,02	-29,5±2,04
6	263,71±9,71	0,157±0,023	-29,66±0,40
12	263,83±10,56	0,163±0,019	-30±0,96

3.3 Efeito das NPsGCA no teste de contorção induzida por ocitocina como modelo de dismenorreia

Como demonstrado na Fig.3, a ocitocina induziu a contorção em camundongos fêmeas pré-tratadas com estrógeno. De acordo com Yang et al. (2015), essa resposta é causada pela contração anormal do útero e, portanto, esse modelo simula a fisiopatologia e as características clínicas da dismenorreia primária em humanos.

A goma do cajueiro por via oral inibiu significativamente as contorções induzidas por ocitocina com uma inibição máxima de 78,86% na concentração de 0,3 mg/kg. O Ibuprofeno como controle positivo inibiu 93, 81% na concentração de 7,5mg/kg. Observa-se uma otimização do efeito com as nanopartículas de GCA, pois obteve-se uma inibição máxima de 88,66% em uma concentração dez vezes menor que da GC. Portanto as NPsGCA atuaram como agentes tocolíticos, pois foram capazes de bloquear algum componente das vias que conduzem às contrações nos miócitos uterinos.

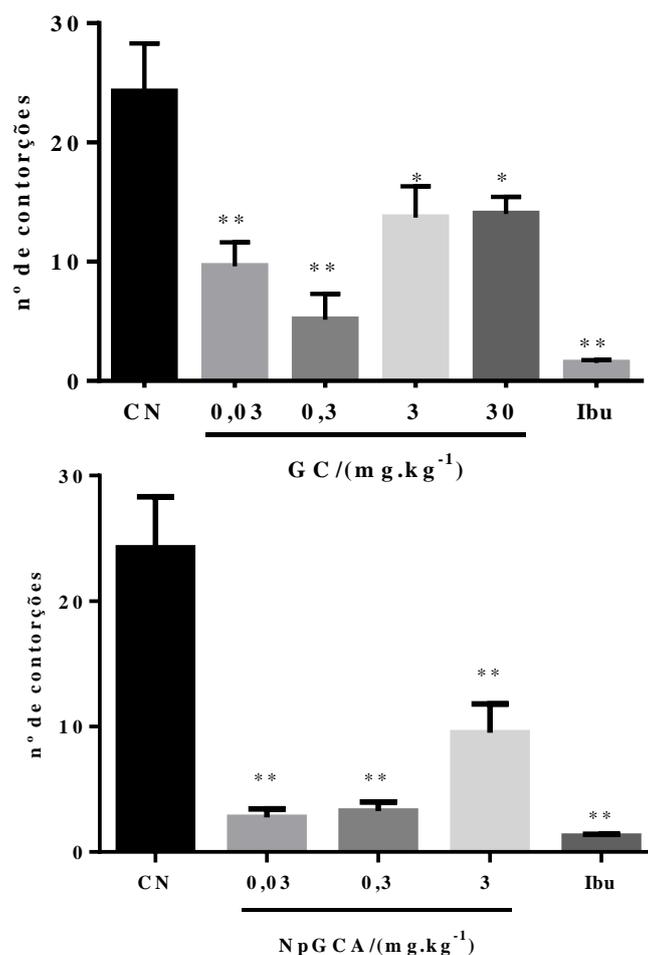


Fig. 3 Efeito da GC e das NPsGCA na contorção induzida por ocitocina em camundongos fêmeas pré-tratadas com estrógeno. O número de contorções foi contado até 30 min depois da administração da ocitocina. Os dados foram representados como média EPM(n=8). **p<0,01

De acordo com Pichot (2004), a possibilidade de modificar quimicamente a superfície das partículas pode viabilizar o estabelecimento de interações específicas entre o polímero e o meio biológico. Segund Gher (2018), as nanopartículas podem penetrar nas células muito mais facilmente do que as partículas do tamanho de micron e uma vez dentro das células podem ficar ligadas à membrana ou livres no citoplasma. Elas também podem translocar através das células, penetrando em outros compartimentos do microambiente, como por exemplo, sangue ou tecido conjuntivo.

Dessa forma, as nanopartículas poliméricas, têm sido estudadas como sistemas promissores de nanopartículas orgânicas para o tratamento da dor (Andreu & Arruebo, 2018) e tocolise (Paul & Smith, 2018).

3.4 Análise Histológica

Observação das secções de útero coradas com H & E sob um microscópio de luz mostrou que a administração de ocitocina causou edema, e um grande número de infiltrações de células inflamatórias foi observado na lâmina do endométrio (Fig. 4A). O dano uterino histopatológico induzida por ocitocina foi reduzido em animais que receberam o tratamento com Ibuprofeno 7,5mg/kg e NPsGCA (0,03; 0,3 e 3 mg/kg) (Fig. 4B, C, D e E). Observa-se claramente também o aumento da espessura do miométrio na presença do fármaco comercial e das nanopartículas, o que confirma o relaxamento do útero.

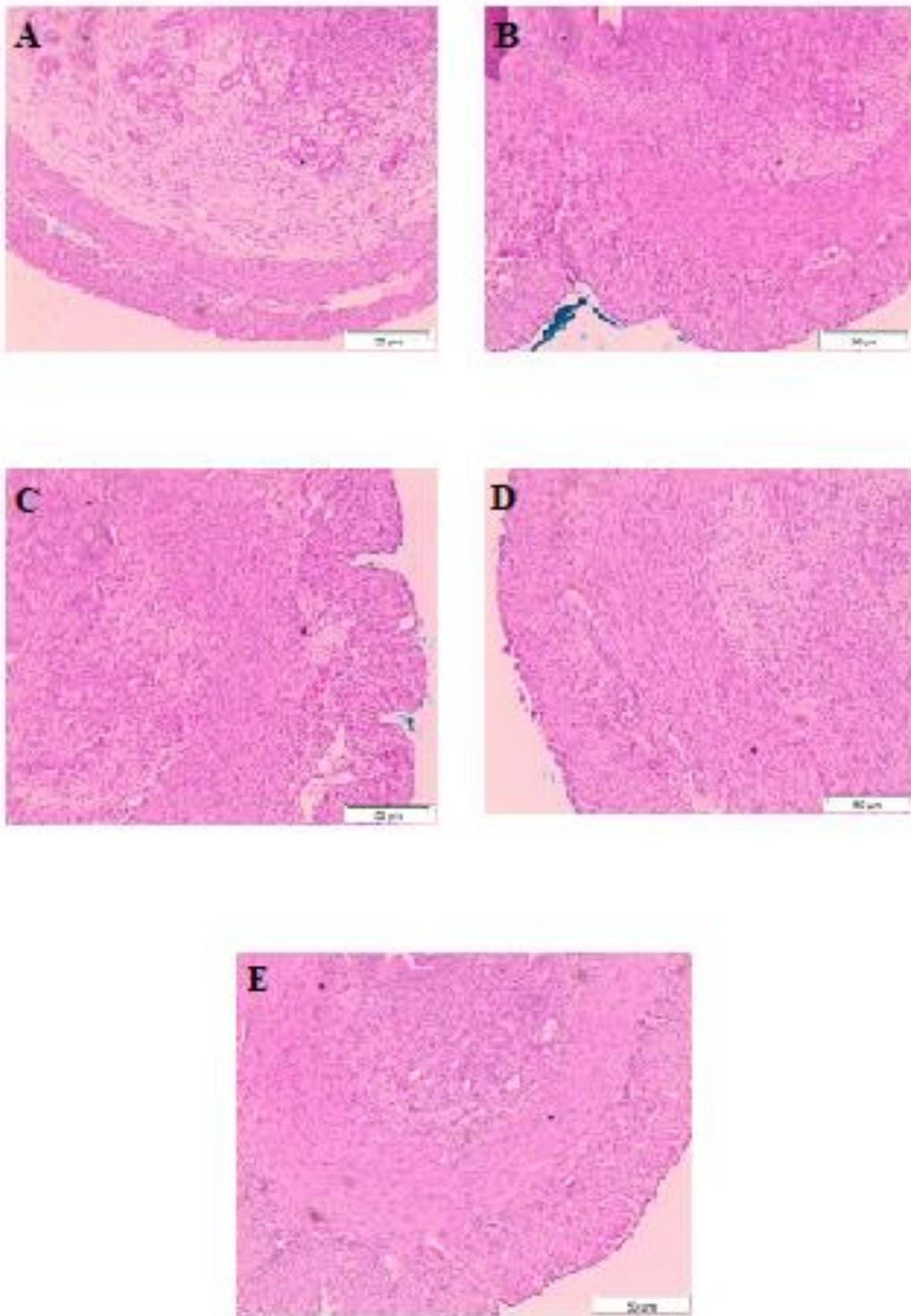


Fig. 4. Coloração por H & E de tecido uterino de camundongo (Ampliação: 100 ×) do grupo controle negativo (A), grupo ibuprofeno 7,5 mg / kg (B), grupo tratamento com NPSGGA (C: 0,03 mg / kg D: 0,3 mg / kg e E: 3 mg / kg)

4. Conclusão

O presente estudo realizou a síntese de nanopartículas de goma do cajueiro acetilada, bem como atestou a estabilidade coloidal das mesmas por 12 meses; e demonstrou um resultado inovador ao aprimorar o efeito da goma na redução da contração uterina induzida por ocitocina *in vivo*. A análise histológica afirmou que as nanopartículas reduzem a inflamação e edema provocados pela indução por ocitocina. Assim, as NPsGCA podem potencialmente ser usadas no tratamento da dismenorreia primária. Contudo, experimentos são necessários para confirmar os mecanismos envolvidos nestes achados.

5. Referências

- Acqua R, Bendlin T. (2015) Dismenorreia. *Femina*, 43 (6)
- Andreu, V., & Arruebo, M. (2018). Current progress and challenges of nanoparticle-based therapeutics in pain management. *Journal of Controlled Release*, 269, 189–213. doi:10.1016/j.jconrel.2017.11.018
- Araújo, T. S., Costa, D. S., Sousa, N. A, Souza, L. K. M., Araújo, S., Oliveira, A. P., Sousa, F. B. M., Silva, D. A, Barbosa, A. L. R., Leite, J. R. S. A, Medeiros, J. V. R. (2015). Antidiarrheal activity of cashew gum, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of *Anacardium occidentale* l. In rodents. *Journal of ethnopharmacology*, 174, 299–307 <https://doi.org/10.7198/geintec.v8i1.1000>
- Carvalho, N. S., Silva, M. M., Silva, R. O., Nicolau, L. A. D., Sousa, F. B. M., Damasceno, S. R. B., ... Medeiros, J. V. R. (2015). Gastroprotective Properties of Cashew Gum, a Complex Heteropolysaccharide of *Anacardium occidentale*, in Naproxen-Induced Gastrointestinal Damage in Rats. *Drug Development Research*, 76(3), 143–151. doi:10.1002/ddr.21250
- Chauhan, M., Kala, J. (2012). Relation between dysmenorrhea and body mass index in adolescents with rural versus urban variation. *The journal of obstetrics and gynecology of india*. 62(4), 442-445. <https://doi.org/10.1007/s13224-012-0171-7>
- Dias, S.F.L., Nogueira, S.S., Dourado, F.F., Guimarães, M.A., Pitombeira, N.A.O., Gobbo, G.G., Primo, F.L., de Paula, R.C.M., Feitosa, J.P.A., Tedesco, A.C., Nunes, L.C.C., Leite, J.R.S.A, Silva, D.A. (2016). Acetylated cashew gum-based nanoparticles for transdermal delivery of diclofenac diethylamine. *Carbohydrate Polymers*, 143(5), 254–261. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.004>
- Do Amaral Rodrigues, J., de Araújo, A. R., Pitombeira, N. A., Plácido, A., de Almeida, M. P., Veras, L. M. C., ... da Silva, D. A. (2019). Acetylated cashew gum-based nanoparticles for the incorporation of alkaloid epiisopiloturine. *International Journal of Biological Macromolecules*. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.01.206
- Gehr, p. (2018). Interaction of nanoparticles with biological systems. *Colloids and surfaces b: biointerfaces*. Doi:10.1016/j.colsurfb.2018.08.023

Jeon, H.J. ; Y.L. Jeong, M.K. Jang, Y.H. Park, J.W. Nah. (2000). Effect of solvent on the preparation of surfactant-free poly(D,L-lactide- l-lactide-co-glycolide nanoparticles and norfloxacin release characteristics., *int. J. Pharm.* 207,1-2, 99–108.

Kaur, M., Bains, B.S., Ramachandran, B., Rao, B.K., Nayak, S.R. (2018). Papel do exercício combinado sobre a dor de dismenorréia primária em mulheres jovens: uma quase-experiência. *Rev pesq fisio.* 8(1), 88-93. <http://doi.org/10.17267/2238-2704rpf.v8i1.1783>

Leem, J., Jo, J., Kwon, C.Y., Lee, H., Parl, K. S., Lee, J. M. (2019). Herbal medicine (hyeolbuchukeo-tang or xuefu zhuyu decoction) for treating primary dysmenorrhea: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicine.* 98(5). <http://doi.org/10.1097/MD.00000000000014170>.

Lima, M. R., Paula, H. C. B., Abreu, F. O. M. S., Da Silva, R. B. C., Sombra, F. M., & De Paula, R. C. M. (2018). Hydrophobization of cashew gum by acetylation mechanism and amphotericin b encapsulation. *International journal of biological macromolecules*, 108, 523–530.[doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.12.047](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.047)

Marjoribanks, J., Ayeleke, R.O., Farquhar, C., Proctor, M. (2015). Nonsteroidal antiinflammatory drugs for dysmenorrhoea. *Cochrane database syst rev.*, 30, 1–39.

Miele, M.P.A., Cezarino, P.Y.A., Margarido, P.F.R., Simões R. (2013). Dismenorreia primária: tratamento. *Rev assoc med bras.*, 59(5), 413–419.

Mohanraj, v. J., y. Chen. (2006). Nanoparticles – a review., *trop. J. Pharm. Res.* 5, 1, 561573

Monjia, F., Lau, L.C., Siddiquee, A.A., Said, B., Yoganathan, K., Choolani, M.A., Adaikana, G. (2018). Potent tocolytic activity of ethyl acetate fraction of ananas comosus on rat and human uteri. *Biomedicine & pharmacotherapy.* 105, 824–834. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.06.021>

Morais, L., Silva, A.A., da Silva, R.E.R., Costa, R.H.S.D., Monteiro, Á.B., Barbosa, C.R.D.S., Amorim, T.S., de Menezes, I.R.A., Kerntopf, M.R., Barbosa, R. (2019). Tocolytic activity of the lippia alba essential oil and its major constituents, citral and limonene, on the isolated uterus of rats. *Chemico-biological interaction*, 297, 155-159. [Doi: 10.1016/j.cbi.2018.11.006](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.11.006)

Paul, J. W., & Smith, R. (2018). Preventing preterm birth: New approaches to labour therapeutics using Nanoparticles. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology.*[doi:10.1016/j.bpobgyn.2018.03.005](https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2018.03.005)

Pichot, C. (2004). Surface-functionalized latexes for biotechnological applications. *Current opinion in colloid and interface Science*, 9, 213-221.

Pitombeira, N. A. O., Veras Neto, J. G., Silva, D. A., Feitosa, J. P. A., Paula, H. C. B., & de Paula, R. C. M. (2015). Self-assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: Characterization and evaluation as potential drug carrier. *Carbohydrate Polymers*, 117, 610–615.[doi:10.1016/j.carbpol.2014.09.087](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.09.087)

Ribeiro, A. C., Rocha, Â., Soares, R. M. D., Fonseca, L. P., & da Silveira, N. P. (2017). Synthesis and characterization of acetylated amylose and development of inclusion complexes with rifampicin. *Carbohydrate Polymers*, 157, 267–274.[doi:10.1016/j.carbpol.2016.09.064](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.064)

- Silva, D. P. B., Florentino, I. F., Moreira, L. K. S., Brito, A. F., Carvalho, V. V., Rodrigues, M.F., Vasconcelos, G. A., Vazb, B. G., Pereira-Junior, M. A., Fernandes, K. F., Costa, E. A. (2018). Chemical characterization and pharmacological assessment of polysaccharide free, standardized cashew gum extract (*anacardium occidentale* l.). *Journal of ethnopharmacology* 213, 395–402. [10.1016/j.cocis.2004.07.001](https://doi.org/10.1016/j.cocis.2004.07.001)
- Silva, E.L.V., Oliveira, A.C.J. Patriota, Y.B.G., Ribeiro, A.J., Veiga, F., Hallwass, F. Silva-Filho, E.C., Silva, D.A., Soares, M.F., Wanderley, A.G., Soares-Sobrinho, J.L. (2019). Solvent-free synthesis of acetylated cashew gum for oral delivery system of insulin, carbohydrate polymers, 207, 601-608. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.071>
- Sun, L., Liu, L., Zong, S, Wang, Z., Zhou, J., Xu, Z., Ding, G., Xiao, W., Kou, J. (2016) Traditional chinese medicine guizhi fuling capsule used for therapy of dysmenorrhea via attenuation uterus contraction. *Journal of ethnopharmacology*, 191, 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.06.042>
- Sun, L., Liu, L.N., Li, J.C., Lv, Y.Z., Zong, S.B., Zhou, J., Wang, Z.Z., Kou, J.P., Xiao, W. (2017). The essential oil from the twigs of *cinnamomum cassia* presl inhibits oxytocin-induced uterine contraction in vitro and in vivo. *Journal of ethnopharmacology*, 206, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.05.023>
- Thaina, P. Tungcharoen, M., Wongnawa, W. Reanmongkol, S. Subhadhirasakul. Uterine relaxant effects of *curcuma aeruginosa* roxb. Rhizome extracts. *Journal of ethnopharmacology*, 121 (3), 433-443. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.10.022>
- Torquato, D. S., Ferreira, M. L., Sá, G. C., Brito, E. S., Pinto, G. A. S., & Azevedo, E. H. F. (2004). Evaluation of Antimicrobial Activity of Cashew Tree Gum. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(5), 505–507. [doi:10.1023/b:wibi.0000040407.90110.c](https://doi.org/10.1023/b:wibi.0000040407.90110.c)
- Wu, C.-H., Shieh, T.-M., Wang, K.-L., Huang, T.-C., & Hsia, S.-M. (2015). Quercetin, a main flavonoid in onion, inhibits the PGF 2α -induced uterine contraction in vitro and in vivo. *Journal of Functional Foods*, 19, 495–504. [doi:10.1016/j.jff.2015.09.028](https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.09.028)
- Yang, L., Cao, Z., Yu, B., & Chai, C. (2015). An in vivo mouse model of primary dysmenorrhea. *Experimental Animals*, 64(3), 295–303. [doi:10.1538/expanim.14-0111](https://doi.org/10.1538/expanim.14-0111)
- Yang, L., Chai, C.Z., Yue, X., Yan, Y., Kou, J., Cao, Z., Yu, B. . (2016). Ge-gen decoction attenuates oxytocin-induced uterine contraction and writhing response: potential application in primary dysmenorrhea therapy. *Chinese journal of natural medicines*, 14(2), 124–32. [https://doi.org/10.1016/s1875-5364\(16\)60005-5](https://doi.org/10.1016/s1875-5364(16)60005-5)

PERSPECTIVAS

- Propor uma formulação para o material, redigir e depositar a patente do produto obtido
- Realizar os estudos *in silico*, correlacionando a estrutura da Goma do Cajueiro com o $B_{k_{ca}}$ (canais para K^+ de grande condutância ativados por Ca^{2+}).
- Incorporar o Ibuprofeno nas Nanopartículas de Goma do Cajueiro acetilada para avaliar o perfil de liberação do fármaco e o possível aprimoramento do efeito tocolítico
- Avaliar a capacidade de permeação (cutânea e mucosa) das nanopartículas por meio de métodos alternativos ao uso de animais.

ANEXOS



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



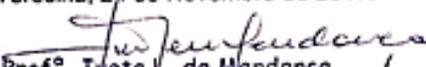
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Barro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil, CEP 64049-550
Telefone (86) 3215-5734, e-mail: cceap@ufpi.edu.br

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito relaxante da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L) purificada e em sistema de nanopartículas sobre útero de rato", registrada nº 410/17, sob responsabilidade do Prof. Dr. LIVIO CESAR CUNHA NUNES, pertencente ao Departamento de Farmacologia/CCS /UFPI que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de Pesquisa Científica- encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **Aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPI) da Universidade Federal do Piauí, em Reunião na presente data 24/11/2017.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	Fevereiro/2018 à Fevereiro/ 2019
Espécie/Linhagem/raça	Rato heterogênico/Wistar
Nº de Animais	343
Peso/ Idade	3 meses
Sexo	Fêmeas
Origem	Biotério Setorial da UFPI.

Teresina, 24 de Novembro de 2017.


Prof. Ivete L. de Mendonça
Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI
Coordenadora

REVIEW



Scientific and technological prospection on transdermal formulations and complementary therapies for the treatment of primary dysmenorrhea

Sávia Francisca Lopes Dias^a, Layane Carneiro Alves Pereira^b, Rosimeire Ferreira dos Santos^c,
Aldeidia Pereira de Oliveira^c and Lívio César Cunha Nunes^a

^aPostgraduate Program in Biotechnology – RENORBIO, Focal Point - Federal University of Piauí, Teresina, Brazil; ^bDepartment of Pharmacy, Federal University of Piauí, Teresina, Brazil; ^cMedicinal Plants Research Center, Federal University of Piauí, Teresina, Brazil

ABSTRACT

Introduction: Primary dysmenorrhea (PD) is another term for idiopathic menstrual cramps. Treatments include the use of oral non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). These drugs have several side effects. The objective of this study was to perform a systematic review on the transdermal administration of drugs and the use of alternative therapies for the treatment of PD.

Areas covered: The article bases were Web of Science, PubMed and Sciencedirect and the patent bases were INPI, EPO and WIPO with publications on Primary Dysmenorrhea and associations with Transdermal Administration; Complementary Therapies and Medicinal Plants. 21 articles and 12 patents were analyzed. The results demonstrate the need for alternative therapies for the treatment of PD, with greater effectiveness and lower side effects, mainly in an attempt to reduce the intensity and duration of pain as well as reducing the continuous use of medications.

Expert opinion: The study of technological prospection highlighted the relevant importance in seeking new methods for the relief of the symptoms provoked by this condition. The perspectives coexist in the discovery of new natural and biotechnological pharmacological applications, mainly in the development of new devices capable of facilitating and optimizing this form of administration in an attempt to reduce side effects.

ARTICLE HISTORY

Received 22 July 2018
Accepted 19 December 2018

KEYWORDS

Transdermal administration;
primary dysmenorrhea;
medicinal plants;
complementary therapies

Author's Decision

Thank you for approving "THE CASHEW GUM EXTRACTED FROM EXUDATE OF Anacardium Occidentale L. REDUCES OXYTOCIN-INDUCED UTERINE CONTRACTION IN VITRO AND IN VIVO". An email has been sent to you confirming that the journal has received this submission. Your Co-Author(s) may also receive this email, depending on the journal policy.



To keep track of how your article is performing [get your Author stats on Mendeley](#)

[Main Menu](#)

Track your recent Co-Authored submission to PHYMED



Ingrid Maier" <eesserver@eesmail.elsevier.com>

Dom, 21/04/2019 22:39

Você 



*** Automated email sent by the system ***

Dear Dr. Sávia Francisca Dias,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Phytomedicine

Title: THE CASHEW GUM EXTRACTED FROM EXUDATE OF Anacardium Occidentale L. REDUCES OXYTOCIN-INDUCED UTERINE CONTRACTION IN VITRO AND IN VIVO

Corresponding Author: Livio Nunes

Co-Authors: Sávia Francisca L Dias; Layane C Alves; Daniel Freitas F Santos; Marcos M de Oliveira; Antônio Carlos dos Reis Filho; Adrielle M da Silva; Luana d Lopes; Antônia Carla de Jesus Oliveira; Durcilene Alves A da Silva; Rita de Cassia M Oliveira; Rosimeire F dos Santos

To be kept informed of the status of your submission, register or log in (if you already have an Elsevier profile).

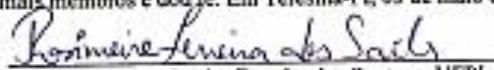


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
 PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
 Campus Universitário "Máximo Petrólio Pereira" - Bairro Sampa - Centro de Ciências Agrárias - CCA
 Telefone: (86) 3217-3231 - e-mail: renorbio@ufpi.edu.br
 CEP 64049-900 - Teresina-PI

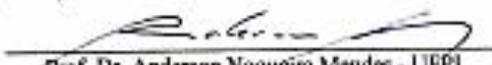
ATA DE DEFESA DE TESE

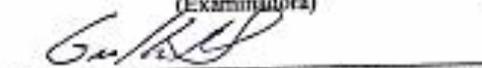
Ata de Defesa de Tese de Doutorado de Sávya Francisca Lopes Dias. Ao terceiro dia do mês de maio do ano de dois mil e dezenove, às quatorze horas, reuniu-se, no Auditório do Curso de Farmácia, a Banca Examinadora de Defesa de Tese de Doutorado composta pelos Professores Rosimeire Ferreira dos Santos - Universidade Federal do Piauí, Presidente; Durcilene Alves da Silva - Universidade Federal do Piauí, Examinadora; Anderson Nogueira Mendes - Universidade Federal do Piauí, Examinador; Guilherme Barroso Langoni de Freitas - Universidade Federal do Piauí, Examinador e Mônica Felts de La Roca Soares - Universidade Federal de Pernambuco, Examinadora; perante a qual SÁVIA FRANCISCA LOPES DIAS, aluna regularmente matriculada no Curso de Doutorado em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, Ponto Focal Piauí, defendeu, para preenchimento do requisito de doutora, sua Tese intitulada "EFEITO RELAXANTE DA GOMA DO CAJUEIRO (*Anacardium occidentale* L) PURIFICADA E EM SISTEMA DE NANOPARTÍCULAS SOBRE ÚTERO DE RATA." A defesa da referida tese ocorreu das 14:00 às 15:00, tendo a dissertação sido submetida à sabatina, dispondo cada membro da banca do tempo determinado para tal. Finalmente, a Banca reuniu-se em separado e concluiu por considerar a dissertação aprovada (Aprovada / Reprovada), por sua tese e sua defesa terem, por unanimidade, recebido o conceito satisfatório (Satisfatório / Insatisfatório).

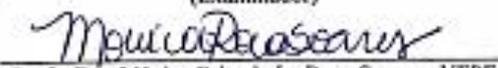
Eu, Rosimeire Ferreira dos Santos, que presidi a Banca de Defesa da Tese, assino a presente Ata, juntamente com os demais membros e dou fé. Em Teresina-PI, 03 de maio de 2019.

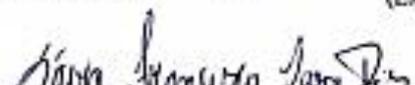

 Profa. Dra. Rosimeire Ferreira dos Santos - UFPI
 (Presidente)


 Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva - UFPI
 (Examinadora)


 Prof. Dr. Anderson Nogueira Mendes - UFPI
 (Examinador)


 Prof. Dr. Guilherme Barroso Langoni de Freitas - UFPI
 (Examinador)


 Profa. Dra. Mônica Felts de La Roca Soares - UFPE
 (Examinadora)


 Sávya Francisca Lopes Dias