

Microcápsulas de Salicilato de Metila para o Tratamento de Doenças Musculoesqueléticas

Microcapsules of methyl salicylate for the treatment of musculoskeletal diseases

Nayra Piscoso Saes Lopes*, Fabricio Maestá Bezerra ‡,

Guilherme Andreoli Gil†

RESUMO

A dor relacionada a lesões e doenças musculoesqueléticas representa um problema de saúde que atinge de 20-33% da população mundial, causando grande limitação funcional e deficiências crônicas. O tratamento das doenças musculoesqueléticas pode ser ministrado por meio de compostos anti-inflamatórios e analgésicos, como o salicilato de metila (SaMe). No entanto, o SaMe é um composto vegetal altamente volátil, de baixa solubilidade em água e considerável toxicidade, que necessita de mecanismos de microencapsulação para sua aplicação. Dessa forma, propõe-se a utilização da microencapsulação do SaMe com o objetivo de protegê-lo de fatores ambientais prejudiciais e promover sua liberação de forma controlada. Microcápsulas de melamina-formaldeído utilizando SaMe foram sintetizadas por polimerização *in situ*, a fim de avaliar a influência de parâmetros de processo na eficiência de encapsulação, tamanho das microcápsulas e estabilidade térmica. Por meio do método estatístico ANOVA, determinou-se que a velocidade do agitador de hélice apresenta uma contribuição mais significativa na formação das microcápsulas, 65,44%, frente ao impacto da velocidade do emulsificador, 17,44%. A mais alta eficiência de encapsulação foi obtida no experimento 1, 29,71%, onde a velocidade do agitador de hélice foi mais branda (600 rpm), originando microcápsulas menos espessas, com diâmetro de 1.727,9 nm e termicamente estáveis.

Palavras-chave: Doenças Musculoesqueléticas; Salicilato de Metila; Microencapsulação; Parâmetros de Processo.

ABSTRACT

Pain related to musculoskeletal injuries and diseases represent a health problem that affects 20-33% of the world population, causing great functional limitation and chronic deficiencies. The treatment of musculoskeletal diseases can be given through anti-inflammatory and analgesic compounds, such as methyl salicylate (MeSa). However, MeSa is a highly volatile plant compound, with low water solubility and considerable toxicity, which requires microencapsulation mechanisms for its application. Thus, the use of MeSa microencapsulation is proposed in order to protect it from harmful environmental factors and promote its release in controlled manner. Melamine-formaldehyde microcapsules using MeSa were synthesized by *in situ* polymerization in order to evaluate the influence of process parameters on encapsulation efficiency, microcapsule size and thermal stability. Through the statistical method ANOVA, it was determined that the speed of the propeller stirrer presents a more significant contribution to the formation of microcapsules, 65.44%, compared to the impact of the speed of the emulsifier, of 17.44%. The highest encapsulation efficiency was obtained in experiment 1, 23.71%, where the speed of the propeller stirrer was milder (600 rpm), resulting in less thick microcapsules, with a diameter of 1,727.9 nm and thermally stable.

Keywords: Musculoskeletal Diseases; Methyl Salicylate; Microencapsulation; Process Parameters.

* Engenharia Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil; nayralopes@alunos.utfpr.edu.br

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Apucarana, fabriciom@utfpr.edu.br

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil; guilherme_gil@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

A dor relacionada a lesões e doenças musculoesqueléticas representa um problema de saúde que atinge de 20-33% da população mundial, causando grande limitação funcional na população adulta em vários países (MCMAHON *et al.*, 2020; MONTEIRO *et al.*, 2006). Além disso, as doenças musculoesqueléticas são consideradas a principal causa de deficiências crônicas que resultam em morbidade e mortalidade (CONNELLY *et al.*, 2006). O tratamento das doenças musculoesqueléticas pode ser ministrado por meio de medicamentos tópicos ou sistêmicos, principalmente através de compostos anti-inflamatórios, como o salicilato de metila (FEUCHT, 2020; MCMAHON *et al.*, 2020).

O salicilato de metila (SaMe) é um composto vegetal altamente volátil presente na casca e folhas de uma vasta variedade de plantas e sintetizado a partir do ácido salicílico (BARRY; FLAMMER, 2009; VALVERDE, *et al.*, 2015). Segundo Mendes *et al.* (2021), é frequentemente empregado no tratamento de dores musculoesqueléticas, como tensão, torção e inchaço. O SaMe, quando em contato com a pele, acessa os vasos sanguíneos e promove efeitos analgésicos e anti-inflamatórios, devido a sua ação vasodilatadora (BARRY; FLAMMER, 2009; MENDES *et al.*, 2021). No entanto, em razão da baixa solubilidade em água, alta volatilidade e toxicidade do SaMe, mecanismos de microencapsulação tornam-se uma alternativa viável para sua aplicação (MENDES *et al.*, 2021).

A microencapsulação consiste em uma técnica na qual um princípio ativo (material de núcleo) sólido, líquido ou gasoso é revestido por um material polimérico contínuo (material de casca), com o objetivo de proteger o primeiro de fatores ambientais (umidade, luz, oxidação e temperatura) e promover sua liberação de forma controlada (CHENG *et al.*, 2008; DUBEY *et al.*, 2009). As indústrias agrícola, alimentícia, cosmética, farmacêutica, médica e têxtil têm aplicado metodologias de microencapsulação no desenvolvimento de produtos inovadores (JYOTHI *et al.*, 2012).

A polimerização *in situ* é uma metodologia de microencapsulação de fácil reprodução industrial, utilizada na síntese de microcápsulas em meio aquoso, o qual envolve a presença de um monômero, um tensoativo e um agente reticulante (BRASILEIRO, 2011; SILVA *et al.*, 2003). A formação de microcápsulas por essa técnica ocorre a partir do crescimento, deposição e reticulação de um pré-polímero de baixa massa molecular sobre gotículas do ingrediente ativo que estão dispersas na fase aquosa (JYOTHI *et al.*, 2010; SALAUN *et al.*, 2009). De acordo com Salaun *et al.* (2009), as características físico-químicas das duas fases imiscíveis e os parâmetros do sistema de agitação regem a distribuição de tamanho das partículas. Dentre os compostos utilizados para a microencapsulação por polimerização *in situ* se destaca a utilização do sistema melamina-formaldeído, devido à alta reatividade, o alto teor de carregamento e a controlada formação da parede polimérica (SALAUN *et al.*, 2009).

No presente trabalho foram estudados parâmetros de processo da produção de microcápsulas de melamina-formaldeído utilizando SaMe como princípio ativo. Fatores como taxa de agitação na etapa de emulsão e taxa de agitação e tempo de reação na etapa de formação da parede polimérica foram analisados, com o objetivo de determinar a influência dessas variáveis na eficiência de encapsulação.

2 MÉTODO

2.1 Produção das Microcápsulas

As microcápsulas melamina-formaldeído com SaMe foram produzidas por polimerização *in situ* a partir da adaptação da metodologia descrita por Fan & Zhou (2010) e Miguel & Vallo (2019). As condições de



síntese estão resumidamente descritas na Tab. 2. A solução de pré-polímero (Solução 1) foi preparada a partir da adição de 3,62 g de melamina (Sigma Aldrich) e 7 mL de formaldeído (Seiko) (37%) em 10 mL de água destilada. O pH foi ajustado entre 8 e 9, utilizando solução de hidróxido de sódio (Dinâmica) (1 M), e a solução colocada sob agitação mecânica (300 rpm) por 50 min a 70 °C. A etapa de emulsão iniciou-se com a preparação de duas soluções separadamente. A primeira contendo 1 g de goma arábica (Sigma Aldrich) em 10 mL de água destilada e a segunda contendo 1 g de monooleato de sorbitano (Golden Technology) em 10 mL de água destilada. Ambas foram mantidas sob agitação mecânica (300 rpm), a temperatura ambiente, até completa solubilização dos reagentes. As soluções preparadas anteriormente foram misturadas e adicionado 20 mL de salicilato de metila (Dinâmica) (98%) e 40 mL de água destilada (Solução 2). O pH foi ajustado entre 8 e 9, utilizando hidróxido de sódio (1M), e a mistura foi dispersa por ultra turrax (IKA, modelo T25) por 15 min em velocidades especificadas na Tab. 2. A solução do agente reticulante (Solução 3) foi preparada adicionando 0,7 g de cloreto de amônio (Neon) e 0,36 g de resorcinol (Sigma Aldrich) em 20 mL de água destilada sob agitação mecânica (300 rpm) a temperatura ambiente até completa solubilização dos reagentes. Na etapa de formação da casca polimérica, realizou-se uma agitação prévia do sistema coloidal com o princípio ativo, composto pelas Soluções 1 e 2, no agitador mecânico de hélice em banho térmico a 60 °C por 15 min. Em seguida, adicionou-se a Solução 3 e ajustou-se o pH para 4, com ácido acético (Qhemis) (1M). Após isso, a solução permaneceu sob agitação em banho térmico a 60 °C por 2 h nas velocidades de agitação mostradas na Tab. 2. Por fim, filtrou-se e fez-se a lavagem com 500 mL de solução de cloreto de amônio (Neon) (37,5 g/L) para retirada do formaldeído residual e recuperação das microcápsulas produzidas. Vale destacar, que foi feito um quinto experimento, levando em consideração o experimento que apresentou a melhor eficiência (EE%), mas considerando um tempo de 4 h de reação.

2.2 Caracterização das Microcápsulas

2.2.1 Eficiência de Encapsulação

A eficiência de encapsulação das microcápsulas foi determinada por meio de uma adaptação da metodologia descrita por Shahabudin *et al.* (2016). As microcápsulas foram previamente secas a 50 °C por 24 h. Coletou-se uma amostra de 0,5 g de microcápsulas (*massa total*) secas e macerou-se para rompimento da casca polimérica. Utilizando uma mistura de 25 mL de álcool etílico (99%) e 25 mL de acetona, realizou-se a lavagem das microcápsulas, a fim de carregar o SaMe liberado durante a maceração. A amostra foi então seca a 50 °C por 15 min e novamente realizada pesagem, para determinação da *massa de óleo* liberada no processo de lavagem. A partir disso determinou-se a EE% por meio da Eq. (1). Realizou-se as análises em triplicata.

$$EE\% = \frac{\text{Massa de óleo}}{\text{Massa total}} \times 100 \quad (1)$$

2.2.2 Distribuição de Tamanho de Partícula

A distribuição do tamanho das microcápsulas foi determinada por meio da técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS), utilizando o equipamento Nanoplus (EDS) acoplado com o Software Nanoplus Common. As microcápsulas recém-preparadas foram dispersas em água destilada para realização das análises.

2.2.3 Análise Termogravimétrica

A análise da estabilidade térmica das microcápsulas foi realizada com o equipamento de Análise Termogravimétrica Shimadzu, modelo TGA-50 acoplado ao Software TA-60WS. Verificou-se o comportamento térmico das microcápsulas que apresentaram melhor eficiência, de acordo com a resposta do planejamento experimental. O método utilizado apresenta velocidade de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, faixa de temperatura de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $800\text{ }^{\circ}\text{C}$ em atmosfera de argônio.

3 RESULTADOS

Na fabricação das microcápsulas melamina-formaldeído com SaMe por polimerização *in situ*, foram estudadas variações em parâmetros primordiais na determinação do diâmetro e formação estrutural das microcápsulas. O método estatístico ANOVA foi utilizado para analisar os resultados do planejamento fatorial.

O valor negativo dos efeitos padronizados expressos na Tab. 1 mostram que ao sair do valor máximo para o mínimo há um efeito de contribuição em relação a variável. O valor de F de 19,57, assim como os valores de p-Valor menores que 0,05, indicam que os parâmetros velocidade do emulsificador (A) e velocidade do agitador de hélice (B), interferem significativamente na formação das microcápsulas.

Tabela 2 – Análise Estatística ANOVA

Parâmetros	Efeitos Padronizados	Valor F	p-Valor	% Contribuição
Modelo		19,57	0,0005	
A-A	-2,95	11,63	0,0092	17,44
B-B	-5,71	43,65	0,0002	65,44
A-B	-1,60	3,43	0,1013	5,14

Fonte: Autoria própria (2021).

A partir dos percentuais de contribuição das variáveis estudadas no processo, observou-se que a velocidade do emulsificador apresenta uma contribuição de 17,44%, enquanto a velocidade do agitador de hélice apresenta uma contribuição de 65,44%. Portanto, a velocidade do agitador de hélice tem um efeito mais significativo na produção de microcápsulas melamina-formaldeído, como também foi percebido por Shahabudin *et al.* (2016).

Nos experimentos que apresentam velocidade de agitação de hélice de 600 rpm, fator inferior, os valores da eficiência de encapsulação foram superiores. Esse efeito também foi verificado por Fan & Zhou (2010) que aponta que a alta taxa de agitação leva a colisões ocasionando um aglomerado das microcápsulas diminuindo o rendimento. Além disso, num comparativo entre as eficiências de encapsulação dos experimentos 1 e 2, houve uma pequena superioridade da eficiência de encapsulação dos experimentos 1 e 2, sendo de $29,71\% \pm 1,94$ e $28,36\% \pm 0,58$, respectivamente, em relação aos demais experimentos.

O resultado da eficiência de encapsulação das microcápsulas obtidas no experimento 1 e a constatação da importância da etapa de formação de casca, levou a realização da reprodução desta formulação com objetivo de avaliar a influência do tempo de agitação na reação de polimerização. Dessa maneira, realizou-se o experimento 5, no qual o sistema de microencapsulação melamina-formaldeído ficou por 4 h sob agitação mecânica no reator de hélice. A partir de análises de DLS foram determinados os diâmetros de partícula das microcápsulas produzidas nos experimentos 1 e 5, sendo de 1.727,9 nm e 12.718,0 nm, respectivamente. Os diâmetros mostram que, para um maior tempo de reação (experimento 5), há maior deposição dos polímeros sobre as gotículas de óleo formando uma casca mais espessa, de maior diâmetro, o que é comprovado pela

menor eficiência de encapsulação, de 22,08%. A menor quantidade de óleo encapsulado reflete diretamente na aplicação das microcápsulas, pois há menor quantidade do princípio ativo a ser liberada (Shahabudin *et al.*, 2016).

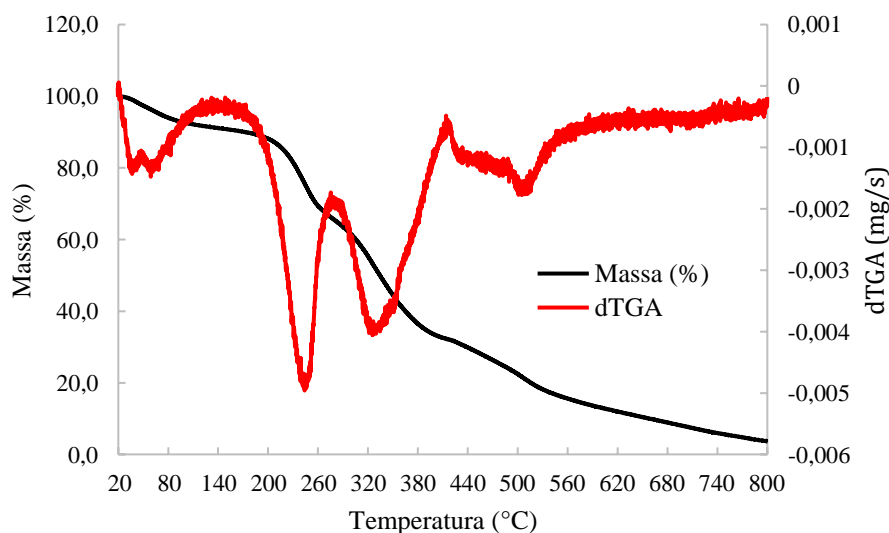
Tabela 2 – Parâmetros de processo, eficiência de encapsulação e diâmetro de partícula das microcápsulas melamina-formaldeído

Experimento	Velocidade do emulsificador (rpm)	Velocidade do agitador de hélice (rpm)	Tempo de reação (h)	Eficiência de encapsulação (%)	Diâmetro de partícula (nm)
1	3.000	600	2	29,71 ± 1,94	1.727,9
2	11.000	600	2	28,36 ± 0,58	-
3	3.000	900	2	25,60 ± 1,71	-
4	11.000	900	2	21,06 ± 1,39	-
5	3.000	600	4	22,08 ± 2,45	12.718,0

Fonte: Autoria própria (2021).

A Fig. 1 apresenta a estabilidade térmica das microcápsulas obtidas no experimento 1. A primeira perda de massa, de 7,41%, ocorre abaixo de 100 °C e está correlacionada à evaporação de água presente no material de casca (Khorasani *et al.*, 2017; Miguel; Vallo, 2019). A segunda degradação térmica ocorre entre 190 °C e 280 °C, com perda de massa de 23,50%, referente a eliminação de formaldeído resultante da transformação de pontes de éter em pontes de metileno. E por fim, a perda de massa de 310 °C a 400 °C (25,24%) está relacionada a quebra das pontes de metileno, enquanto que a perda de massa acima de 400 °C está associada a degradação dos grupos aminos presentes na melamina (Miguel; Vallo, 2019). Portanto, evidencia-se que a formação de um invólucro polimérico foi capaz de preservar o salicilato de metila.

Figura 1 – Estabilidade térmica (TGA) e curva termogravimétrica (dTGA) das microcápsulas melamina-formaldeído do experimento 1



Fonte: Autoria própria (2021).

4 CONCLUSÃO

O estudo estatístico por meio do método ANOVA revelou que a velocidade do agitador de hélice tem impacto de 65,44% na formação estrutural das microcápsulas. Dessa forma, com uma velocidade do agitador de hélice mais branda, de 600 rpm, e tempo de reação de 2 h, obtiveram as microcápsulas com maior eficiência de encapsulação (29,71%), menor espessura de casca, 1.727,9 nm de diâmetro, e termicamente estáveis. Portanto, os resultados apresentados confirmam que a velocidade do agitador mecânico na etapa de polimerização tem efeito mais significativo na eficiência de encapsulação e tamanho de partícula frente à velocidade de agitação da etapa emulsão, apresentando resultados promissores, tendo em vista a futura aplicação das microcápsulas produzidas em têxteis médicos para liberação de SaMe.

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e recebeu suporte do Laboratório Multiusuário de Apoio a Pesquisa da UTFPR Campus Apucarana (LAMAP).

REFERÊNCIAS

- BARRY, G. G., FLAMMER, L. J. Methyl Salicylate as a Cutaneous Stimulus: A Psychophysical Analysis. **Somatosensory & Motor Research**, v. 6, n.3, p. 253-274, 1989.
- BRASILEIRO, J. S. **Microencapsulação de compostos bioativos: inovação em diferentes áreas**. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2011.
- CHENG, S. Y., YUEN, C. W. M., KAN, C. W., CHEUK, K. K. L. Development of Cosmetic Textiles Using Microencapsulation Technology. **Journal of Textile and Apparel**, v. 12, n. 4, p. 41-51, 2008
- JYOTHI, S., SEETHADEVI, A., PRABHA, K. S., MUTHUPRASANNA, P., PAVITRA, P. Microencapsulation: a review. **Internacional Journal of Pharma and Bio Sciences**, v.3, ed. 1, p. 509-531, 2012.
- MCMAHON, S. B., DARGAN, P., LANAS, A., WIFFEN, P. The burden of musculoskeletal pain and the role of topical non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in its treatment: ten underspinning statements from a global pain faculty. **Current Medical Research and Opinion**, v. 37, n. 2, p. 287-292, 2020.
- MENDES, S., CATARINO, A., ZILLE, A., FERNANDES, N., BEZERRA, F. M. Vehiculation of Methyl Salicylate from Microcapsules Supported on Textile Matrix. **Materials**, mar. 2021.
- MIGUEL, M. P., VALLO, C. I. Influence of the Emulsifying System to obtain Linseed Oil-Filled Microcapsules with a Robust Poly (Melamine-Formaldehyde)-Based Shell. **Progress in Organic Coatings**, 2019.
- SALAUN, F., DEVAUX, E., BOURBIGOT, S., RUMEAU, P. Influence of process parameters on microcapsules loaded with n-hexadecane prepared by in situ polymerization. **Chemical Engineering Journal**, v. 155, ed.1-2, p. 457-465, dez. 2009.
- SHAHABUDIN, N., YAHYA, R., GAN, S. N. Microcapsules of poly(urea-formaldehyde) (PUF) containing alkyd from palm oil. **Materials Today: Proceedings**, 2016.
- SILVA, C., RIBEIRO, A. FERREIRA, D., VEIGA, F. Administração oral de peptídeos e proteínas II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.39, n.1, 2003.
- VALVERDE, J. M., GIMENÉZ, M.J., GUILLÉN, F., VALERO, D., ROMERO, D. M., SERRANO, M. Methyl salicylate treatments of sweet cherry trees increase antioxidant systems in fruit at harvest and during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 109, p.106-113, 2015.