

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS
CURSO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

GUILHERME DE CASTRO BARRAVIERA

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE QUITOSANA/SULFATO
DE CONDRITINA COM UTILIZAÇÃO DE LÍQUIDO IÔNICO COMO SOLVENTE E
INCORPORAÇÃO DE PRÓPOLIS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LONDRINA

2019

GUILHERME DE CASTRO BARRAVIERA

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE QUITOSANA/SULFATO
DE CONDRITINA COM UTILIZAÇÃO DE LÍQUIDO IÔNICO COMO SOLVENTE E
INCORPORAÇÃO DE PRÓPOLIS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais na Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Engenharia de Materiais.

Orientadora: Prof^a Dr^a Elisângela Corradini

Coorientador: Prof. Dr. Edvani Curti Muniz

LONDRINA

2019

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Sandra e José Roberto, por todo apoio, carinho e amizade.

Aos meus amados avós, Iraides e Moacir e em memória de Aparecida Barraviera.

Aos meus queridos tios, em especial, ao meu tio Moacir Júnior por me incentivar a seguir meus objetivos e pela sua dedicação a mim.

A todos meus amigos, que sempre estiveram ao meu lado, nos vários momentos e horas de estudo.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Elisangela Corradini por todo o tempo que se dedicou a me ajudar na realização deste TCC.

Aos professores Dr. Edvani Muniz e Dr.^a Joice Motezuki que se empenharam em me auxiliar desde o início deste trabalho.

Ao doutorando Paulo Ricardo de Souza e a Dr.^a Camila Fabiano de Freitas, da Universidade Estadual de Maringá, pela ajuda no desenvolvimento de algumas das técnicas de caracterização utilizadas.



TERMO DE APROVAÇÃO

Guilherme de Castro Barraviera

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE QUITOSANA/SULFATO DE CONDRITINA COM UTILIZAÇÃO DE LÍQUIDO IÔNICO COMO SOLVENTE E INCORPORAÇÃO DE PRÓPOLIS

Trabalho de conclusão de curso apresentado no dia 12 de novembro de 2019 como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Materiais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Londrina. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Francisco Rosário
(UTFPR – Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais)

Prof. Dr. Raphael Prestes Salem
(UTFPR – Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais)

Prof.^a Dr.^a Elisângela Corradini
(UTFPR – Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais)

Prof.^a Dr.^a Silvia Midori Higa
(UTFPR – Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais)
Coordenadora do Curso de Engenharia de Materiais

RESUMO

BARRAVIERA, Guilherme C. **Preparação e caracterização de hidrogéis de quitosana/sulfato de condroitina com utilização de líquido iônico como solvente e incorporação de própolis.** 2019. 45 p. Trabalho de conclusão de curso – Departamento de Engenharia de Materiais. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2019.

Hidrogéis constituídos de quitosana e sulfato de condroitina foram sintetizados com a utilização de líquido iônico como solvente e incorporação de própolis, visando determinar seu comportamento nos requisitos de liberação controlada de fármaco e propriedades bactericidas. As amostras foram preparadas pela mistura de 40%, em massa, de solução de quitosana (12,5 g/L) e 60%, em massa, de solução de sulfato de condroitina (75 g/L). A mistura foi realizada em temperatura ambiente e meio ácido. Após secagem do material sintetizado, foram realizadas análises de espectroscopia de infravermelho, calorimetria exploratória diferencial, difração de raios X, propriedades bactericidas e liberação de sulfato de condroitina. Os resultados mostram que houve a sintetização dos hidrogéis em todos os casos. A presença de líquido iônico gera uma melhor interação entre a quitosana e o sulfato de condroitina, além de ajudar, assim como o própolis, na organização das cadeias. Porém, a utilização de ambos os componentes prejudica a cristalinidade do material. As amostras sintetizadas apresentam boa absorção de água, sendo favorecida pela presença de própolis, que além disso, ajuda na melhoria do caráter bactericida. Já a utilização de líquido iônico em união com o própolis colabora para um melhor controle na liberação do fármaco.

Palavras-chave: Fármaco, Quitosana, Sulfato de Condroitina, Líquido Iônico

ABSTRACT

BARRAVIERA, Guilherme C. **Preparação e caracterização de hidrogéis de quitosana/sulfato de condroitina com utilização de líquido iônico como solvente e incorporação de própolis.** 2019. 45 p. Graduation final work – Departamento de Engenharia de Materiais. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2019.

Hydrogels constituted of chitosan and chondroitin sulfate were synthesized using ionic liquid as solvent and incorporation of propolis, aiming to determine their behavior in controlled drug release requirements and bactericidal properties. The samples were prepared by mixing 40% by weight of chitosan solution (12,5 g / L) and 60% by weight of chondroitin sulfate solution (75 g / L). Mixing was performed at room temperature and acid environment. After the synthesized material drying, infrared spectroscopy, differential scanning calorimetry, x-ray diffraction, bactericidal properties and chondroitin sulfate release analyses were performed. The results show that hydrogels were synthesized in all cases. The ionic liquid presence generates a better interaction between chitosan and chondroitin sulfate, besides helping, as well as propolis, in the organization of the chains. However, both components used together impairs the material crystallinity. The synthesized samples have good water absorption, being favored by the propolis presence, which also helps in improving the bactericidal character. The ionic liquid use in conjunction with propolis contributes to better drug release control.

Key words: Drug, Chitosan, Chondroitin Sulfate, Ionic Fluid

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Comparação entre Liberação (a) Convencional e (b) Controlada	17
Figura 2 - Retículos de hidrogel no (a) estado seco e (b) estado intumescido	19
Figura 3 – Representação da a) quitina e b) quitosana	20
Figura 4 – Reação de protonação da quitosana	20
Figura 5 – Estrutura do sulfato de condroitina	22
Figura 6 - Gráfico Transmitância x Comprimento de onda dos géis formados por quitosana (Q), sulfato de condroitina (SC) e própolis (P) e líquido iônico (LI) e dos componentes separadamente.....	28
Figura 7 - Termograma das amostras sintetizadas com quitosana (Q), sulfato de condroitina (SC), própolis (P) e líquido iônico (LI).	31
Figura 8 - Difratoograma de raios X das amostras sintetizadas com quitosana (Q), sulfato de condroitina (SC), própolis (P) e líquido iônico (LI).	33
Figura 9 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana e Sulfato de Condroitina aplicada no microrganismo <i>Staphylococcus aureus</i>	34
Figura 10 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana, Sulfato de Condroitina e Própolis aplicada no microrganismo <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Figura 11 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana, Sulfato de Condroitina e Líquido Iônico aplicada no microrganismo <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Figura 12 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana, Sulfato de Condroitina, Própolis e Líquido Iônico aplicada no microrganismo <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Figura 13 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana e Sulfato de Condroitina aplicada no microrganismo <i>Escherichia coli</i>	36
Figura 14 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana, Sulfato de Condroitina e Própolis aplicada no microrganismo <i>Escherichia coli</i>	36
Figura 15 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana, Sulfato de Condroitina e Líquido Iônico aplicada no microrganismo <i>Escherichia coli</i>	37
Figura 16 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana, Sulfato de Condroitina, Própolis e Líquido Iônico aplicada no microrganismo <i>Escherichia coli</i>	37
Figura 17 - Liberação de SC em ambiente que simula fluido intestinal (pH 6,8) para as amostras compostas de quitosana (CHT), sulfato de condroitina (CS), própolis (PROP) e líquido iônico (IL).	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Relação entre grupos químicos e bandas de absorção no infravermelho. .. 29

LISTA DE SIMBOLOS

SC	Sulfato de Condroitina
Q	Quitosana
P	Própolis
LI	Líquido Iônico
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
TGA	Análise Termogravimétrica
DRX	Difração de Raio X
°C	Graus Celsius
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO.....	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
3. JUSTIFICATIVA	14
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
4.1 Biomateriais.....	15
4.2 Liberação controlada de fármacos	16
4.3 Hidrogéis.....	18
4.4 Quitosana.....	19
4.6 Própolis.....	22
4.7 Líquido iônico.....	23
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
5.1 Materiais utilizados	25
5.2 Metodologia aplicada.....	25
5.3 Caracterização.....	26
5.3.1 Espectroscopia de infravermelho.....	26
5.3.2 Calorimetria exploratória diferencial	26
5.3.3 Difração de raios X	26
5.3.4 Análise bactericida.....	27
5.3.5 Liberação de sulfato de condroitina	27
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
6.1 Espectroscopia no infravermelho (FTIR)	28
6.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	31
6.3 Análise dos difratogramas de raios X.....	32
6.4 Análise bactericida.....	34
6.5 Liberação de sulfato de condroitina.....	38

7. CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS	41

1. INTRODUÇÃO

A partir do século XX, a expectativa de vida da população brasileira vem aumentando cada vez mais. Assim sendo, podemos observar que a qualidade de vida dos brasileiros multiplica-se proporcionalmente com a densidade populacional (NASRI, 2008).

Conseqüentemente, a demanda por serviços e tecnologias na área de saúde cresce continuamente, o que gera uma elevação dos gastos públicos com este setor, além dos problemas com escassez de recursos e necessidades de reestruturação dos serviços. Visto que atualmente uma parte significativa dos produtos e tecnologias que utilizamos no Brasil é de origem estrangeira, justifica-se o desenvolvimento nacional de tecnologias em saúde (CALIXTO, 2008).

Nos últimos anos, a tendência mundial para aplicações biomédicas é a troca dos materiais bioestáveis, que oferecem melhorias temporárias, por biodegradáveis, os quais podem colaborar na reparação e regeneração de tecidos danificados.

Dentre os biomateriais, a quitosana é um dos mais utilizados, visto a sua grande disponibilidade e propriedades biodegradáveis e não-toxicidade (SILVA; SANTOS; FERREIRA, 2006). Simultaneamente, o sulfato de condroitina é muito utilizado para o combate de doenças como osteoartrite. Combinados de forma correta, ambos materiais formam um complexo polieletrônico, o qual pode ser utilizado como meio de liberação de fármacos de forma controlada (FERNANDES, 2006).

Outro material que vem sendo estudado para aplicações biomédicas é a própolis, devido à sua propriedade bactericida para um amplo espectro de bactérias (GHISALBERTI, 1979).

Além dos materiais apresentados acima, o solvente é um fator muito importante para a determinação das propriedades finais do produto adquirido. No caso deste estudo, será utilizado líquido iônico como solvente, visando uma mudança na dinâmica da reação e atingir diferentes propriedades.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Desenvolver um complexo de quitosana e sulfato de condroitina contendo própolis a partir de solução com líquido iônico.

2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar o complexo;
- Caracterizar o material por meio da técnica de espectroscopia de infravermelho (FTIR);
- Caracterizar a cristalinidade do material por meio de difração de raio X (DRX);
- Caracterizar o material por meio de calorimetria exploratória diferencial (DSC);
- Realizar estudos de atividades bactericidas no material;
- Observar a liberação de sulfato de condroitina.

3. JUSTIFICATIVA

Atualmente, existem vários trabalhos relacionados com materiais utilizados na liberação controlada de fármacos. Porém, continua havendo uma grande demanda por inovações tecnológicas para melhorar a saúde da população. Os materiais que foram utilizados nesse projeto são todos naturais, cada um apresentando propriedades que desejamos combinar para formar um produto que consiga liberar o sulfato de condroitina de forma controlada no local desejado, com excelente biocompatibilidade e baixa citotoxicidade, além das propriedades antimicrobianas. Assim, estudou-se a formação de géis utilizando estes materiais com as propriedades desejadas.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Biomateriais

Com a evolução da medicina, biomateriais estão sendo cada vez mais utilizados, tanto em tratamento de doenças crônicas, acidentes traumáticos, reconstruções cirúrgicas como em outros problemas de saúde. Ao longo dos anos, diversas pesquisas foram realizadas no desenvolvimento desses materiais, principalmente nas áreas de engenharia de tecidos e liberação de fármacos (BHAT; KUMAR, 2013).

Inicialmente, a evolução dos biomateriais ocorreu entre os anos 1960 e 1970, sendo considerada sua primeira geração. Os dispositivos criados eram desenvolvidos com um equilíbrio entre as propriedades físicas e mecânicas com o mínimo de toxicidade possível (KUMAR; HAN, 2017).

Alguns anos depois, foram incorporadas novas propriedades a estes produtos, como a bioatividade e a capacidade de ser absorvível pelo corpo. Assim, os novos dispositivos criados foram rotulados como de segunda geração. (KUMAR; HAN, 2017)

Posteriormente, criou-se a terceira geração adicionando-se a capacidade de estimular a resposta celular específica para regeneração de tecidos vivos (KUMAR; HAN, 2017).

Hoje em dia, apesar das divergências entre autores sobre a definição de biomateriais, conseguimos defini-los como: dispositivos, de origem sintética ou natural, que entram em contato com sistemas biológicos e atuam em aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015).

Uma das propostas para a aplicação desses materiais é o combate às doenças comuns que são causadas pelo desgaste de ossos e cartilagens, como a osteoporose. Grande parte dos estudos no tratamento dessas doenças geram resultados abaixo do esperado, sendo necessário um avanço para restaurar integralmente os ossos e cartilagens desgastados. Conseqüentemente, muitos outros problemas que são gerados por essas doenças, como a impossibilidade de movimentação, frequentes consultas médicas, aumento dos custos com saúde e diminuição da qualidade de vida seriam solucionados (NAVARRO et al., 2008; REIS et al., 2009).

Visto isso, a utilização de biomateriais é restrita por algumas características que devem possuir (CAO; WANG, 2009):

- Não devem desencadear ações inflamatórias ou tóxicas *in vivo*;
- Não sejam produzidos resíduos tóxicos por sua degradação;
- Os resíduos gerados pela degradação devem ser facilmente metabolizados e liberados pelo organismo.

Complementarmente, uma das aplicações mais estudadas para esses materiais é a liberação controlada de fármacos, visto que são sensíveis a pequenos estímulos do meio, como variações de temperatura, pH e força iônica. Assim, uma ligeira modificação em algum desses fatores pode fazer com que o produto passe de uma situação estável para um estado ativo, permitindo a liberação do fármaco (STAYTON et al., 2005).

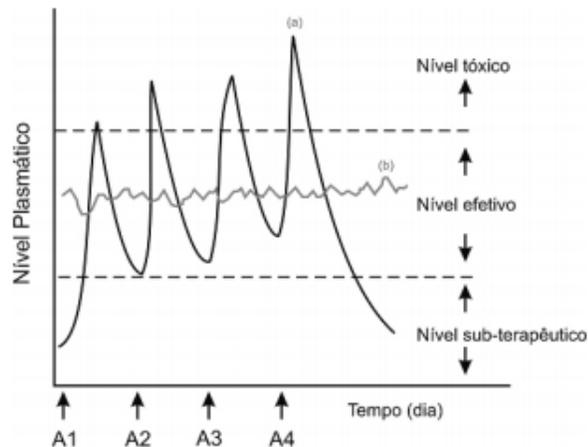
4.2 Liberação controlada de fármacos

Por muito tempo os medicamentos eram confeccionados de forma a liberarem a totalidade de suas substâncias logo após seu consumo. Porém, diversos problemas estão relacionados a este mecanismo, como a célere queda da quantidade do fármaco no organismo, necessitando de uma nova aplicação para manter uma constante concentração. Conseqüentemente, o indivíduo se submete ao risco de superdosagem, o que pode acarretar a toxicidade e diminuir o resultado do tratamento, possibilitando ao organismo desenvolver resistência ao medicamento (SHEN et al., 2008).

Nos últimos anos muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas na elaboração de remédios que possibilitem a liberação controlada da substância ativa (XU et al., 2020, no prelo; BANIHASHEM; NEZHATI; PANAHIA, 2020, no prelo; YANG et al., 2020, no prelo). A matriz que armazena o fármaco é diretamente relacionada com o tempo com que ele será liberado, além de sua própria estrutura e da aplicação desejada, podendo variar entre horas e até mesmo meses. Diversos materiais naturais e sintéticos foram e estão sendo estudados para confecção de tais produtos, porém há diversas restrições para suas aplicações. Dentre elas podemos citar a biocompatibilidade, a toxicidade, os custos para fabricação e os casos de sistemas que não são biodegradáveis podem necessitar de intervenções cirúrgicas para remoção (JOGANI et al., 2008).

Para melhor compreensão, a Figura 1 mostra as diferenças entre ambos mecanismos de liberação (LYRA et al., 2007).

Figura 1 - Comparação entre Liberação (a) Convencional e (b) Controlada



Fonte: LYRA, 2007.

Em suma, os materiais utilizados para liberação controlada apresentam diversas vantagens, entre elas: 1) controle na liberação do fármaco; 2) prevenir doses tóxicas ou não efetivas; 3) regulação no nível de princípio ativo; 4) direcionamento do medicamento para o local do organismo desejado; 5) redução de efeitos colaterais (BIZERRA; SILVA, 2016).

Dentre todos os materiais utilizados para finalidades biotecnológicas, os polímeros são fortes candidatos, destacando-se pela diversidade de funções e aplicações em que podem atuar. Necessita-se metucioso cuidado na escolha do material a ser utilizado, levando-se sempre em consideração que não pode haver incompatibilidade entre o excipiente e o princípio ativo. Além disso, os materiais poliméricos possibilitam alterações em suas propriedades de diversas maneiras, como quimicamente, fisicamente ou combinando-se propriedades de diversos polímeros, conseguindo-se modificar como ocorrerá a liberação (PILLAI; PANCHAGNULA, 2001).

Além disso, outros fatores afetam o mecanismo de liberação. É imprescindível a análise de permeabilidade do fármaco perante o polímero. Conseqüentemente, a cristalinidade do material é um fator muito importante a ser considerado. O

empacotamento das cadeias poliméricas é diretamente proporcional à cristalinidade, acarretando em uma resistência à difusão das moléculas da substância ativa. Importante salientar, dois polímeros com mesma estrutura química possuem propriedades diferentes se suas proporções de partes amorfas forem divergentes (JACOBS; MASON, 1993).

4.3 Hidrogéis

Os polímeros constituem uma vasta gama de materiais, podendo ser subdivididos em diversas classificações. Aqueles que possuem a habilidade de inchar ao entrar em contato com água e são insolúveis neste líquido denominam-se hidrogéis. São formados por redes tridimensionais de materiais totalmente ou parcialmente hidrofílicos, os quais geram a capacidade de absorção de quantidades extremamente grandes de água, podendo chegar até mesmo milhares de vezes do seu peso seco (PEPPAS et al, 2000; HOFFMAN, 2012).

Além disso, por oferecerem biocompatibilidade são produtos muito visados para aplicações biomédicas, tendo sido os primeiros biomateriais projetados para serem aplicados em humanos. Entretanto, sua aplicabilidade não se limita a esta, havendo diversos usos desses materiais em aplicações como: encapsulamento de microeletrônicos; removedores de íons pesados; membranas bioseparadoras e liberação controlada de agentes bioativos (WICHTERLE, 1960; HOFFMAN, 1995).

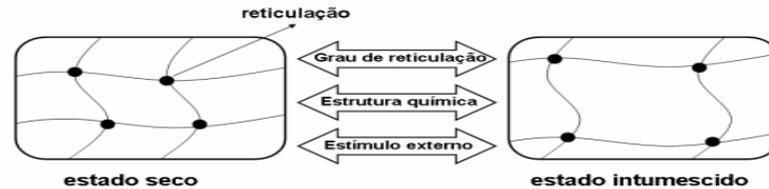
Vale ressaltar que para aplicações como liberação controlada de fármacos, os hidrogéis são processados, geralmente, de forma a produzir filmes finos (JONES; VAUGHAN, 2005).

Uma característica importante desses materiais é o tipo de interações que ocorrem entre as macromoléculas para haver a formação das redes tridimensionais. Aqueles oriundos de reticulações químicas são denominados hidrogéis químicos, enquanto os gerados por interações físicas são conhecidos como hidrogéis físicos. Ao serem submetidos a estímulos externos, os hidrogéis físicos podem sofrer dissociação de suas redes (AOUADA, 2009).

O gel é afetado drasticamente ao ser colocado em um meio de intumescimento, sendo aquoso ou não, podendo haver interação das cadeias poliméricas com o meio. Esta interação provoca uma expansão das cadeias, distanciando-as e aumentando o

volume do material (FLORY; REHNER, 1943). A Figura 2 ilustra o comportamento dos géis ao serem submetidos a meio de intumescimento.

Figura 2 - Retículos de hidrogel no (a) estado seco e (b) estado intumescido



Fonte: AOUADA,2009

Assim, com o espaçamento das cadeias poliméricas inicia-se a liberação de princípios ativos que estavam armazenados em seu interior anteriormente (WANG; HAN, 2011).

4.4 Quitosana

Dentre os polissacarídeos, a quitina é o segundo mais abundante no planeta, sendo superado apenas pela celulose. Como um dos biomateriais mais utilizados, é um homopolímero que tem sido extraído de fontes naturais, de diversas maneiras. Forma o componente estrutural da parede celular de fungos e plantas, além de ser obtida comercialmente a partir da casca do camarão e de caranguejos. Por meio de modificações químicas, podemos alcançar melhoras significativas nas propriedades da quitina (FELSE; PANDA, 1999).

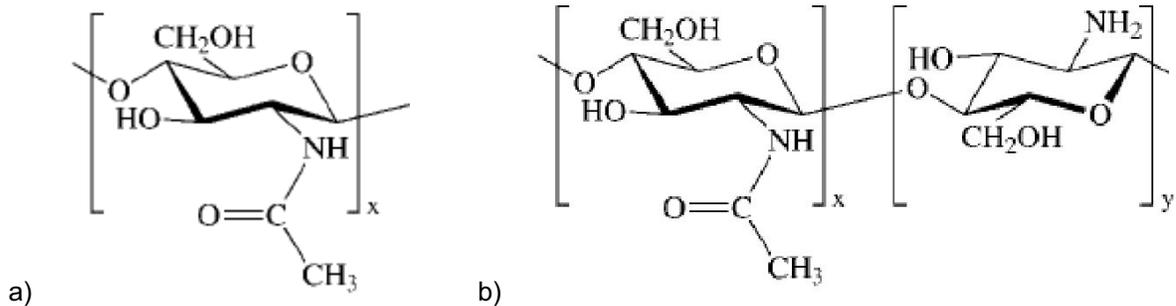
A quitosana (poli[β -(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose]) é um polímero linear obtido a partir de desacetilação, que seria a troca dos grupos acetil por grupos amina, parcial da quitina. Caracteriza-se como uma base fraca, possuindo pK_a entre 6,2 e 7,0, sendo insolúvel, portanto, em ambiente neutro ou alcalino. Porém, quando se encontra em meio ácido, os grupos amino ($-NH_2$) são carregados positivamente, fazendo com que o polímero atinja uma alta densidade de cargas (KUMAR, 2000; RINAUDO; PAVOLOV, 1999).

Vale ressaltar que a estrutura da quitina e da quitosana são exatamente idênticas, sendo diferenciadas apenas pela concentração de grupos amino ou acetoamido

presentes. Assim sendo, um importante levantamento que deve ser realizado é o grau médio de desatilação na formação da quitosana, representando os grupos amino livres, que conferem significativas mudanças nas propriedades do polímero (BRUGNEROTTO, 2001).

No caso da quitina, cerca de 90% do composto é formado por unidades acetiladas, enquanto que na quitosana o grupo amino representa uma maior proporção do que os grupos acetamido. Por meio da Figura 3 consegue-se uma melhor visualização da estrutura química de ambos os polímeros (LIMA, 2010; IBRAHIM; EL-ZAIRY, 2015).

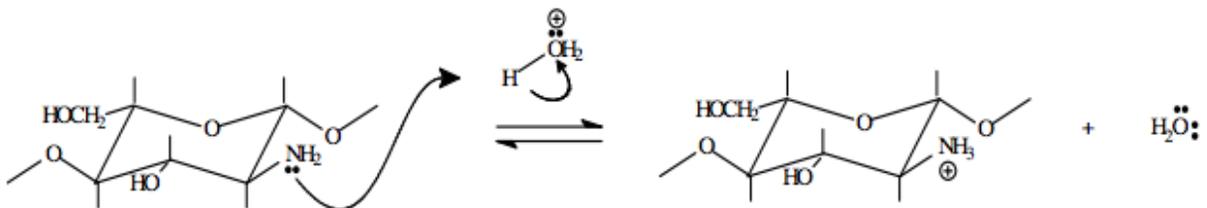
Figura 3 – Representação da a) quitina e b) quitosana



Fonte: IBRAHIM; EL-ZAIRY, 2015

Sabe-se que a quitosana torna-se solúvel em pH inferior a 4,0 ou quando o grau de desacetilação for maior do que 85%, o que faz com que a cadeia possua em sua maior parte caráter hidrofílico. A Figura 4 mostra como ocorre a dissociação da quitosana em ambiente ácido (LIMA, 2010).

Figura 4 – Reação de protonação da quitosana



Fonte: LIMA, 2010

Devido ao fato de os grupos amino serem mais reativos, comparados com as unidades acetiladas, a quitosana se torna muito atraente para aplicações. A quitina e seus derivados possuem grandes potenciais em diversas áreas, principalmente por suas características de biodegradabilidade e não toxicidade (SANTOS, 2009).

4.5 Sulfato de condroitina

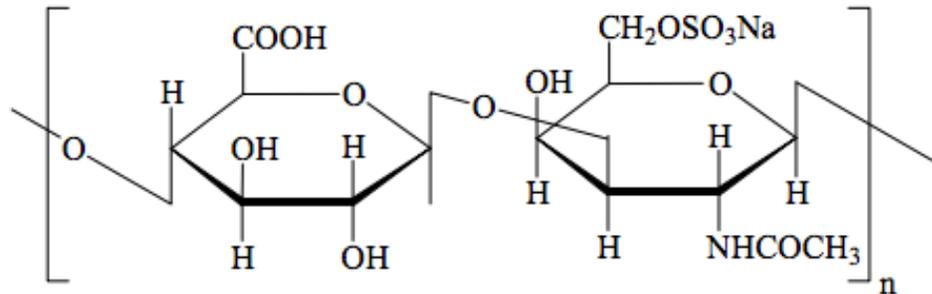
Uma importante área de estudo para a medicina é a descoberta de tratamento para doenças que afetam os tecidos flexíveis que contornam os ossos. Com o passar dos anos, este tecido começa a se desgastar, gerando problemas como artrose, por exemplo. Sabe-se da existência de substâncias condroprotetoras que vêm sendo utilizadas no tratamento dessas doenças pelo fato de se assemelharem aos componentes das cartilagens (CLARK, 1991).

Os condroprotetores oferecem propriedades anti-inflamatórias, além de conseguir minimizar a perda de proteoglicanos e colágeno, inibindo as enzimas que geram a degradação das cartilagens. Além disso, essas substâncias possuem a capacidade de estimularem a síntese da matriz cartilaginosa. Uma substância que mais se destaca entre essa classe é o sulfato de condroitina (SC) (CLARK, 1991; VAUGHAN-SCOTT; TAYLOR, 1997).

O sulfato de condroitina é um heteropolissacarídeo, mais especificamente um glicosaminoglicano (GAG), extraído da aorta bovina e utilizado na reparação óssea. Constitui grande parte da matriz cartilaginosa e promove a retenção de água e nutrientes, além de permitir a mobilidade de outras estruturas através da cartilagem. Essa substância vem sendo muito utilizada para tratamento de doenças e é caracterizada por produzir um alívio sintomático com ação prolongada. (BUNHAK et al., 2007; VIDOTTI et al., 2000; YANAGISHITA, 1993). Estudos comprovam que o SC não apresenta toxicidade, mutagenicidade e carcinogênese (MONFORT et al., 2008).

A Figura 5 nos mostra a estrutura do SC, o que nos ajuda a entender sua solubilidade em água. Os íons Na^+ se separam da molécula, gerando polos negativos em toda a extensão do polímero, aumentando sua polaridade (PIAI, 2008).

Figura 5 – Estrutura do sulfato de condroitina



Fonte: PIAI, 2008

Como discutido anteriormente, as propriedades da quitosana em união com o sulfato de condroitina formam um hidrogel de complexos, o qual possui potencial para ser aplicado em áreas farmacêuticas e biomédicas. Utilizando uma concentração em excesso de SC, haverá um possível enovelamento das cadeias na formação da suspensão, acarretando uma preservação das cadeias de SC durante a precipitação, permitindo a liberação desse polímero posteriormente (PIAI, 2008).

4.6 Própolis

O termo própolis é originado do grego, designando a defesa (*pro*) das cidades (*polis*). Constitui de um adesivo forte que é coletado pelas abelhas melíferas, originado dos brotos das folhas de diversas espécies de árvores. Este composto é transformado e utilizado pelas abelhas para selar frestas de suas colmeias e proteger a entrada delas contra intrusos (SILICI; KUTLUCA, 2005; SFORCIN et al., 2001).

Sua composição varia significativamente conforme a planta e região de origem e também da época do ano em que foi coletado. Além disso, foram estudados os produtos gerados por diferentes espécies de abelhas melíferas, sendo comprovado que houve divergências em suas composições químicas e, conseqüentemente, a atividade antibacteriana. Apesar destas variações, a própolis derivada da região tropical é caracterizada por aproximadamente 50% de resinas e bálsamos, 30% de cera, 10% de essências e óleos aromáticos, 5% de polen e 5% de outras substâncias, como cetonas,

aldeídos, ácidos aromáticos, vitaminas, entre outros (SORCIN et al., 2001; ALMEIDA; MENEZES, 2002).

Na área da medicina, o extrato de própolis vem sendo muito utilizado para tratamento de enfermidades, como infecções, doenças de peles, antivirais, fortalecedores do sistema imunológico, antimicrobianos e anti-inflamatórios. Dentre as diversas substâncias presentes em sua composição, os flavonoides e seus derivados são aqueles que mais contribuem para os efeitos desejados (AZEVEDO et al., 1986; AHN et al., 2004).

4.7 Líquido iônico

Uma grande preocupação da humanidade que vem sendo cada vez mais crítica é a questão de preservação do meio ambiente. Visando minimizar os impactos gerados pelas atividades industriais, estão sendo desenvolvidas pesquisas de solventes alternativos, denominados solventes verdes, os quais diminuem o total de resíduos orgânicos (MACIEL et al., 2019).

Além disso, é importante salientar que a troca dos solventes convencionais pelos verdes não significa exclusivamente modificação nas consequências ambientais. Conforme ocorre essa substituição, a dinâmica das reações pode apresentar variação, podendo alterar o rendimento e outras variáveis (EARLE; SEDDON, 2000).

Analisando-se os solventes verdes e os diversos estudos que estão sendo desenvolvidos, é possível dizer que os líquidos iônicos ganham destaque. São diversas as características que geram interesse na utilização deste produto. Além de não ser inflamável e ser reciclável, permite a solubilização de compostos inorgânicos, orgânicos e polímeros. Além do mais, é possível modelá-lo para que atinja propriedades que sejam desejáveis durante o processo (FREEMANTLE, 2000).

Após diversas discussões sobre a definição de líquidos iônicos, determinou-se que são caracterizados por compostos iônicos que exibem ponto de fusão inferior a 100°C (WASSERSCHIED; WELTON, 2002).

Como dito anteriormente, as características destes solventes podem ser ajustadas dependendo do objetivo desejado. A possibilidade de propriedades químicas e físicas

são enormes, imaginando-se que cada combinação possível de cátions e ânions tem um efeito diferente sobre elas (EARLE; SEDDON, 2000).

Para a formação desses solventes, os cátions e ânions não podem possuir, em sua superfície, uma forte polarização, para que assim não haja agregação dos mesmos, evitando a formação de cristais (SILVA, 2004).

Apesar das propriedades dos líquidos iônicos, sua utilização no processamento de hidrogéis é algo que não tem sido muito explorado até a atualidade. Assim sendo, as possibilidades de estudo para esses materiais é muito ampla e pode gerar propriedades ainda mais impressionantes (NUNES et al., 2017).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Materiais utilizados

Quitosana foi obtida pelo método de Mao (MAO et al., 2004), atingindo 15% de acetilação e M_v : $380 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$ (Lote: 9012-76-4, Acros Organics);

Sulfato de condroitina (Lote: B5B234 – B.01; Solabia) foi obtido pelo método de Wastenson (WASTESON, 1971) e apresenta M_v : $22 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$;

Própolis (Lote: 1723, Ervanatus);

Ácido clorídrico (HCl) P.A. 37% m/m (Nuclear);

O líquido iônico utilizado foi o [Bmim][BF₄], o qual foi sintetizado pelo método descrito por J. Dupont (DUPONT, 2004), obtendo-se um óleo incolor, de alta viscosidade e ponto de fusão de -74 °C.

5.2 Metodologia aplicada

Inicialmente, a quitosana foi dissolvida, utilizando pH ácido, em uma concentração de 12,5 g/L e o SC em uma concentração de 75 g/L, em pH neutro. Posteriormente, pela adição de uma pequena quantidade de líquido iônico, misturou-se os dois compostos em uma proporção 60% SC para 40% quitosana, em massa, e adicionou-se uma proporção de 20% de própolis em pó. A mistura ocorreu sob agitação magnética em um béquer por aproximadamente 10 minutos em temperatura ambiente.

Após a completa mistura, a solução é armazenada sob refrigeração durante 24 horas. Após este período, o produto foi lavado e filtrado, sendo posteriormente levado para a estufa em temperatura próxima a 40°C até secagem completa do material.

Quatro amostras foram preparadas para comparação dos resultados, sendo a primeira apenas a mistura de SC com quitosana, a segunda adicionando própolis, a terceira adicionando líquido iônico em vez da própolis e a quarta seria a combinação do SC, quitosana, própolis e líquido iônico.

5.3 Caracterização

5.3.1 Espectroscopia de infravermelho

A espectroscopia de infravermelho possibilita identificar os grupos químicos presentes nas amostras. Para isso, uma fina camada dos hidrogéis secos foram analisadas por meio de espectroscopia de infravermelho (FTIR), utilizando a técnica ATR. Para isso, utilizou-se um equipamento PERKINELMER, modelo Spectrum Tow.

O experimento foi realizado no Laboratório de Análises do Departamento Acadêmico de Engenharia de Materiais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná câmpus Londrina.

5.3.2 Calorimetria exploratória diferencial

A calorimetria exploratória diferencial é utilizada para verificar as mudanças que ocorrem no material com a variação de temperatura. Para isso, após a lavagem e secagem dos hidrogéis, os mesmos foram submetidos às análises por meio de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC). Para isso, utilizou-se um equipamento SHIMADZU, modelo DSC-60, operando sob fluxo de nitrogênio gasoso de 20 mL min^{-1} , com taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, na faixa de temperatura de 22 até 400°C .

O experimento foi realizado no Centro de Análises de Materiais Avançados – COMCAP da Universidade Estadual de Maringá.

5.3.3 Difração de raios X

A difração de raios X nos gera indícios para inferir conclusões sobre o arranjo das cadeias poliméricas. Para esse fim, as amostras, após lavadas e secas, foram levadas a um difratômetro XRD-6000 Shimadu, operando na região de 5° a 70° com resolução $0,02^\circ$ e velocidade de $2\theta = 2^\circ \text{ min}^{-1}$.

O experimento foi realizado no Centro de Análises de Materiais Avançados – COMCAP da Universidade Estadual de Maringá.

5.3.4 Análise bactericida

Verifica-se a proliferação dos microorganismos em regiões próximas à amostra de forma visual.

O ensaio experimental foi realizado pelo método de disco-difusão, dispensando os discos de papel-filtro, impregnados com o microorganismo (*Staphylococcus aureus* ou *Escherichia coli*) em concentrações fixas, sobre a placa de ágar, com 1 a 2 x 10⁸ UFC/mL. Incubaram-se as placas por 24 horas em 5% de CO₂ a 35°C, e em seguida os resultados foram analisados. Os resultados apresentados foram obtidos a partir de três amostras independentes.

O experimento foi realizado no Hospital Universitário da Universidade Estadual de Maringá.

5.3.5 Liberação de sulfato de condroitina

Determina-se o comportamento dos materiais ao serem colocados em condições de pH similares ao estomago e intestino.

O estudo foi realizado *in vitro* em temperatura de 37°C. O procedimento consiste em imergir 10.0 mg do hidrogel em 10 mL de líquido que simula ou o fluido gástrico (pH 1,2) ou o fluido intestinal (pH 6,8). Os fluidos foram preparados de acordo com a United States Pharmacopeia 37 (USP37) com exceção que enzimas não foram adicionadas.

Em intervalos determinados, alíquotas do sobrenadante (0,5 mL) foram coletadas e o mesmo volume foi repostado do respectivo fluido. Assim, a quantidade de SC presente na alíquota foi determinada a partir da adição de dimetil-metileno azul que forma um complexo com o SC absorvendo luz em 525 nm. Para isso, utilizou-se a equação (RITGER; PEPPAS, 1987):

$$M_t/M_\infty = kt^n$$

M_t e M_∞ representam as quantidades de SC coletadas no tempo, t, e no equilíbrio, respectivamente. K é uma constante dependente do solvente/polímero e condições externas e n é o expoente difusional que pode ser relacionado com o mecanismo de transporte do fármaco (RITGER; PEPPAS, 1987).

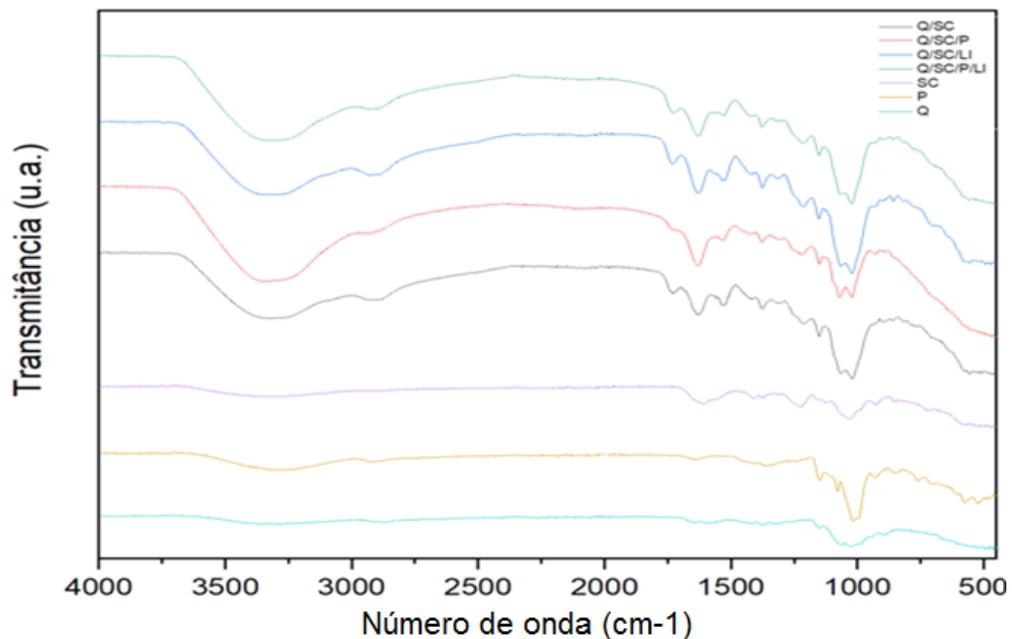
O experimento foi realizado no Laboratório 18 do Grupo de Materiais Poliméricos e Compósitos - GMPC da Universidade Estadual de Maringá.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Espectroscopia no infravermelho (FTIR)

Por meio da técnica FTIR-ATR foi possível visualizar os grupos químicos presentes em cada amostra e comparar com os espectros de cada componente separadamente. Assim sendo, foram realizados espectros da quitosana, sulfato de condroitina e própolis, além das quatro amostras sintetizadas, como mostrado na Figura 6.

Figura 6 - Gráfico Transmitância x Comprimento de onda dos géis formados por quitosana (Q), sulfato de condroitina (SC) e própolis (P) e líquido iônico (LI) e dos componentes separadamente.



Fonte: Autoria própria

Com auxílio da Tabela 1 consegue-se identificar os picos típicos da quitosana e do sulfato de condroitina (RATNER et al, 2004; COSTA; MANSUR, 2008).

Tabela 1 – Relação entre grupos químicos e bandas de absorção no infravermelho.

Materiais	Bandas (cm⁻¹)	Grupo químico
Quitosana	3570 – 3200	ν OH ligado ν NH ₂
Quitosana	2955 – 2845	ν C-H (assimétrico)
Quitosana	2878	ν C-H (simétrico)
Quitosana	1900 – 1500	Amida I ν C=O
Quitosana	1650 – 1550 e 1658 – 1630	δ N-H (I)
Quitosana	1570 – 1515 e 1560	δ N-H (II)
Quitosana	1465 e 1423	δ OH e CH ₂ (tesoura)
Quitosana	1340 – 1250 e 1379	δ C-N (terciária)
Quitosana	1321	ν C-N (primário)
Quitosana	1260	ν C-N (secundário)
Quitosana	1154 e 896	ν COC (glicose - β -1-4)
Quitosana	1160 – 1154	Hidrogênio ligado
Quitosana	1300 – 1000	ν C-O (cíclico)
Quitosana	897	ν C-O (cíclico)
Quitosana	1640 - 1690	ν C=NO (fraca)
Sulfato de Condroitina	825	C-O-S
Sulfato de Condroitina	1240	S=O
Sulfato de Condroitina	1650	Amida I

Fonte: Adaptado de RATNER et al, 2004 e COSTA; MANSUR, 2008.

Além disso, está relatado na literatura que a intensidade da banda de absorção situada próximo a 1155 cm^{-1} relaciona-se com a força de interação entre a quitosana e o sulfato de condroitina (FOOT; MULHOLLAND, 2005).

Pelo espectro, podemos perceber uma grande quantidade de água no material, nas quatro amostras sintetizadas, apesar de ele ter sido seco. Podemos verificar que o complexo polieletrônico formado apresenta uma boa propriedade de absorção de água.

Outro fato que pode ser constatado é que as amostras sintetizadas com líquido iônico, no solvente, apresentaram uma intensidade maior em seus picos próximos a 1155 cm^{-1} , podendo ser relacionado, como citado anteriormente, a uma interação mais forte entre o sulfato de condroitina e a quitosana.

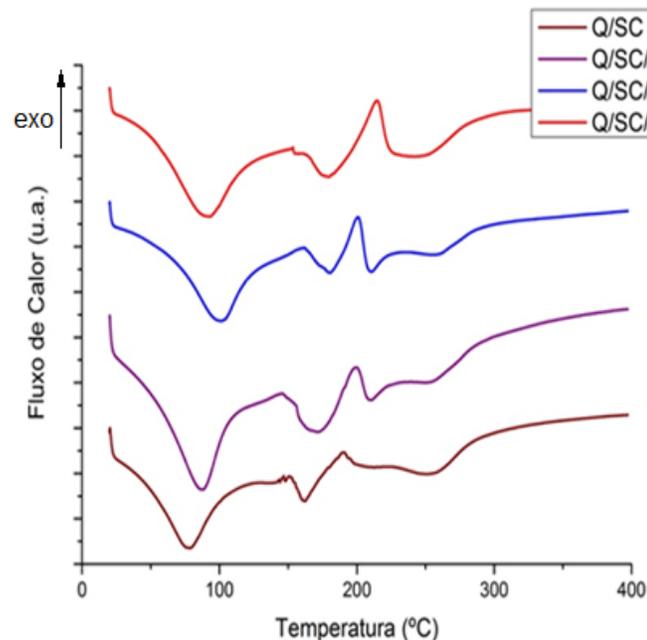
Além disso, próximo a 1500 cm^{-1} observa-se uma pequena alteração nas bandas que possuem própolis aditivado.

Sendo assim, os espectros mostram que a formação dos géis ocorreu em todos os casos, tendo o líquido iônico influenciado nas forças de ligação entre os componentes. Já a própolis não apresentou mudanças na estrutura do gel, porém se encontra presente nas amostras que foi adicionada.

6.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A Figura 7 mostra os termogramas dos hidrogéis sintetizados, partindo da temperatura ambiente. Comparando-os consegue-se aferir uma variação generalizada dos picos em relação a sua intensidade e posicionamento térmico. Porém, no geral os picos apresentados possuem semelhanças, já sendo esperado por suas composições não serem muito distintas.

Figura 7 - Termograma das amostras sintetizadas com quitosana (Q), sulfato de condroitina (SC), própolis (P) e líquido iônico (LI).



Fonte: Autoria própria

O primeiro pico apresentado para todos os hidrogéis representa a reação endotérmica de evaporação da água. Visto que todas as amostras foram submetidas às mesmas condições, podemos perceber que os materiais que apresentam própolis em sua composição tiveram seus picos intensificados, podendo ser indício de uma maior absorção de água dos materiais devido ao caráter polar da própolis. Além disso, um pico característico pode ser observado em aproximadamente 150°C nos mesmos materiais, podendo ser indício de alguma reação ocorrendo com a própolis.

A literatura mostra que a partir de temperaturas próximas a 190 °C ocorrem algumas reações com a própolis, como condensação de grupos (OH⁻), quebra de ligações carbônicas e, posteriormente, degradação de compostos orgânicos (PICCHI, 2010). Porém, visto que nem todas as própolis possuem a mesma composição, como descrito anteriormente, podemos supor que esta temperatura pode sofrer alguma variação. Nas amostras analisadas que continham própolis apresentaram-se picos característicos em 150 °C, podendo indicar início do processo descrito anteriormente.

Além disso, observa-se o deslocamento do maior pico exotérmico entre as temperaturas de 190 e 215°C. A adição de própolis ou líquido iônico fez com que o pico fosse deslocado para temperaturas mais altas. Ainda, com a adição de ambos componentes o efeito foi intensificado, podendo ser atribuído a uma melhor interação entre as cadeias dos polímeros.

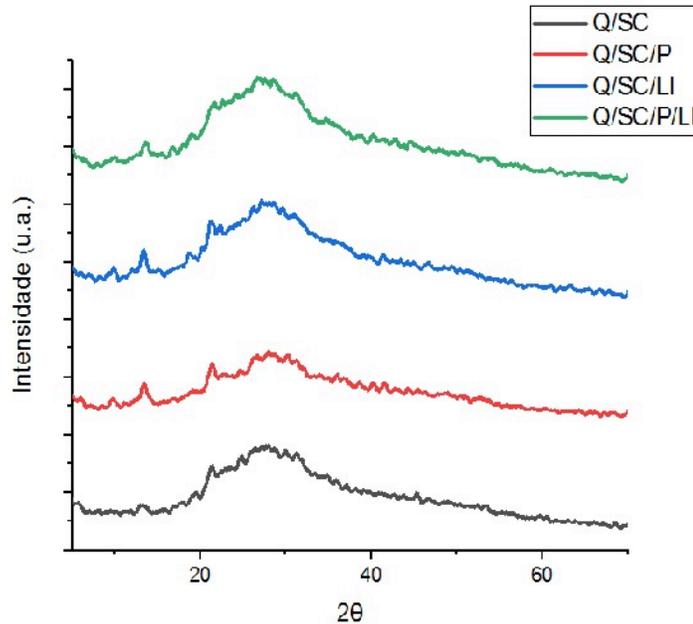
6.3 Análise dos difratogramas de raios X

Por meio da técnica de espalhamento de raios X consegue-se verificar o ângulo θ em que o feixe é espalhado, o qual gera indícios para inferir conclusões importantes sobre o arranjo das cadeias poliméricas, como a cristalinidade (CALLISTER, 2002).

Em estudos anteriores, mostrou-se que a quitosana pura apresenta dois picos de difração característicos, em $2\theta = 11,8^\circ$ e $20,2^\circ$, confirmando a presença de domínios cristalinos em sua estrutura. Já o sulfato de condroitina exibe um sinal com intensidade mais fraca, alargado e com máximo na região de $2\theta = 22,2^\circ$, sendo atribuído à sua baixa cristalinidade. Além disso, notou-se que a cristalinidade do complexo formado é prejudicada ao utilizar pH extremamente ácido (PIAI, 2008).

A Figura 8 apresenta o difratograma de raios X referente aos géis sintetizados.

Figura 8 - Difratoograma de raios X das amostras sintetizadas com quitosana (Q), sulfato de condroitina (SC), própolis (P) e líquido iônico (LI).



Fonte: Autoria própria

Analisando o difratograma é possível inferir que no complexo de quitosana e sulfato de condroitina puro não há indícios de domínios cristalinos significantes. O mesmo pode ser constatado no complexo contendo própolis e que utilizou líquido iônico para síntese. Porém, nas amostras que foram adicionadas própolis ou líquido iônico durante o processo de sinterização, observa-se picos que seriam típicos da quitosana, indicando uma maior cristalinidade comparado aos demais casos.

Assim, pode-se deduzir que tanto a própolis quanto o líquido iônico cooperam para uma maior organização das cadeias poliméricas, quando utilizados separadamente. A presença simultânea de ambos se apresentou não construtiva no requisito cristalinidade.

Uma possível explicação para os resultados é que a interação entre a quitosana e o sulfato de condroitina pode ter danificado as regiões cristalinas da quitosana. Isto seria possível por consequência das ligações de hidrogênio entre seções da quitosana serem desestabilizadas para construção de ligações iônicas entre os grupos amino ($-NH_2$) da

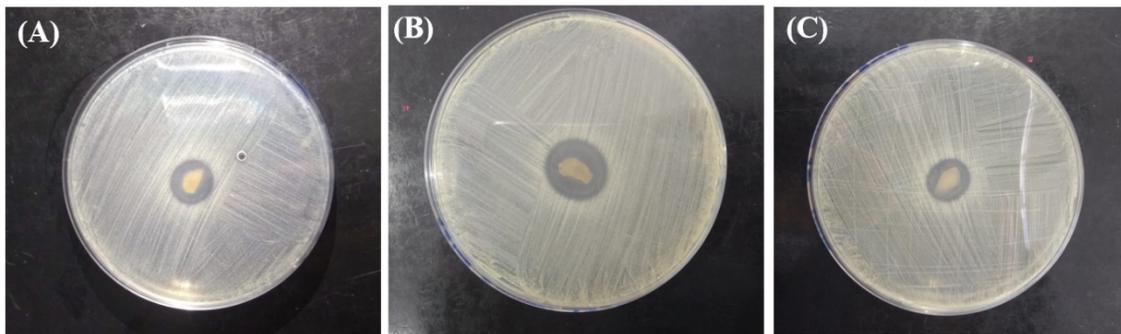
quitosana e os grupos carboxílico (-COOH) e hidrogenossulfato (-OSO₃H) do sulfato de condroitina (PIAI, 2008).

6.4 Análise bactericida

Utilizando a técnica de disco-difusão, foi possível detectar a resistência que o material possui à proliferação de microorganismos. Para isso, analisou-se a resposta à presença de dois tipos de bactérias: *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

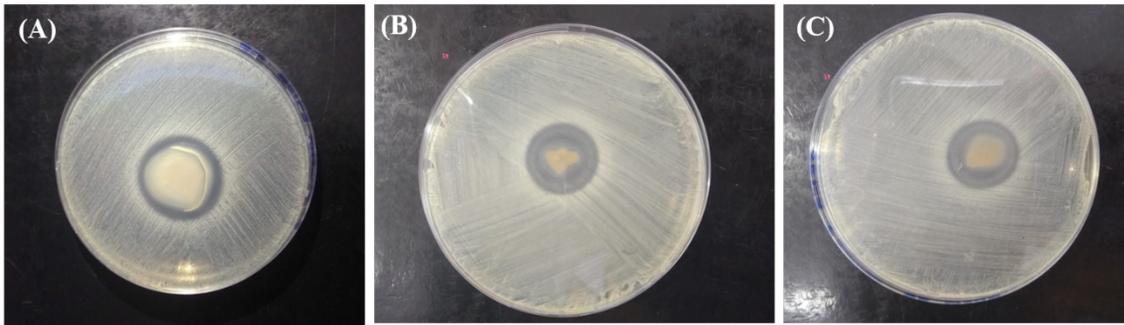
Inicialmente, verificou-se, de forma visual, os resultados das amostras perante o microorganismo *Staphylococcus aureus*. As Figuras 9, 10, 11 e 12 demonstram, por meio dos diâmetros dos halos formados, que há uma certa eficiência antimicrobiana nos quatro tipos de materiais. Porém, o desempenho apresentou ser melhor naquelas amostras que possuíam própolis em sua composição. Além disso, aquelas amostras que foram utilizados líquido iônico, para sua formulação, expôs resultados inferiores.

Figura 9 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana e Sulfato de Condroitina aplicada no microorganismo *Staphylococcus aureus*.



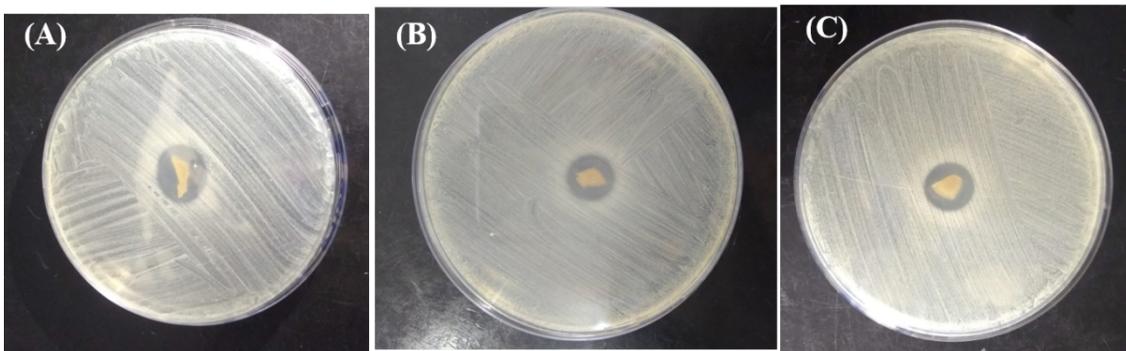
Fonte: Autoria própria

Figura 10 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana, Sulfato de Condroitina e Própolis aplicada no microrganismo *Staphylococcus aureus*.



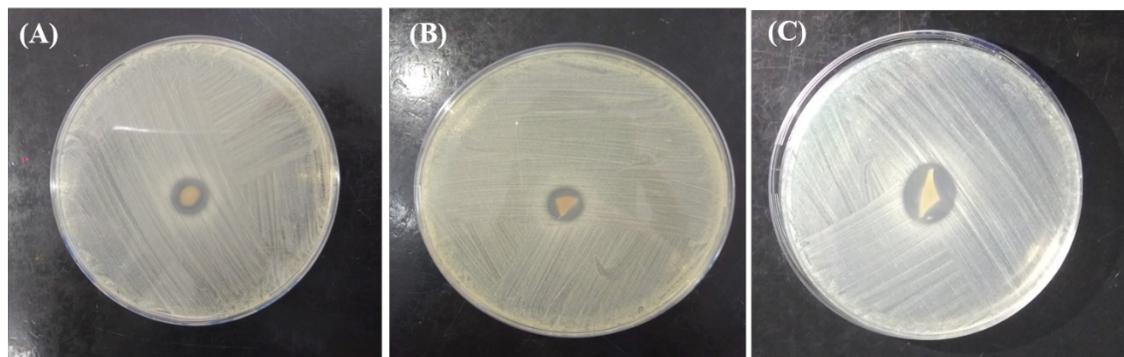
Fonte: Autoria própria

Figura 11 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana, Sulfato de Condroitina e Líquido Iônico aplicada no microrganismo *Staphylococcus aureus*.



Fonte: Autoria própria

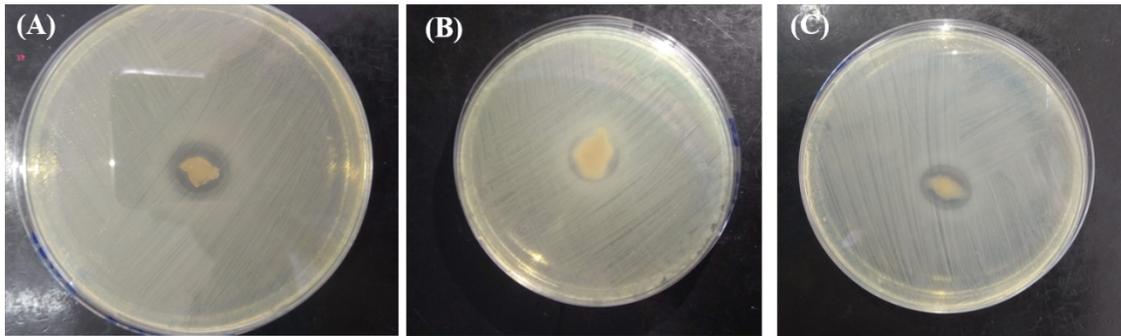
Figura 12 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana, Sulfato de Condroitina, Própolis e Líquido Iônico aplicada no microrganismo *Staphylococcus aureus*.



Fonte: Autoria própria

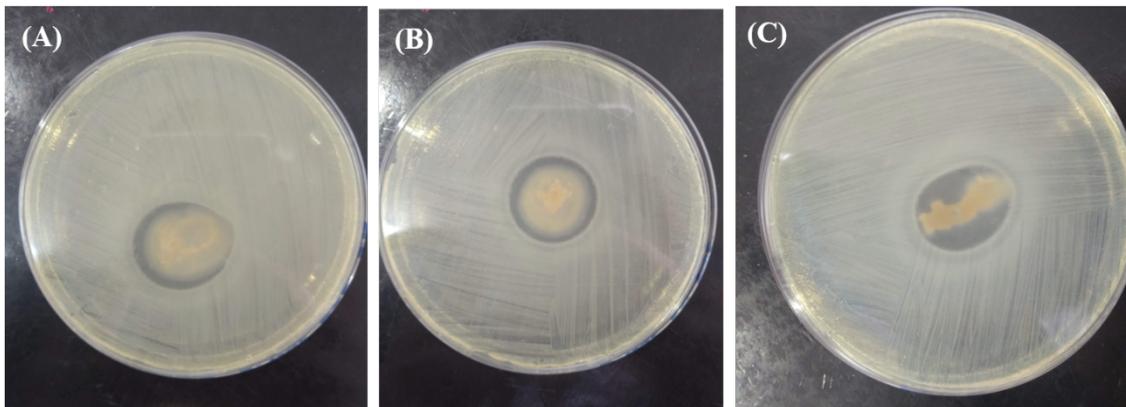
Todavia, analisando os materiais na presença do microorganismo *Escherichia coli*, averiguou-se que, apesar de haver a presença dos halos de inibição, seus diâmetros são muito inferiores aos testados anteriormente. Assim, observando as Figuras 13, 14, 15 e 16, podemos concluir que a presença de própolis na composição melhora levemente a resposta bactericida, não havendo significativa mudança pela utilização de líquido iônico.

Figura 13 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana e Sulfato de Condroitina aplicada no microrganismo *Escherichia coli*.



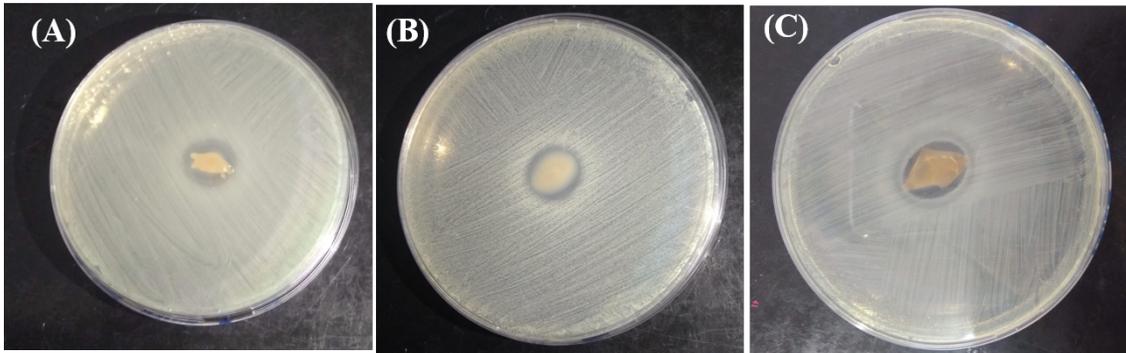
Fonte: Autoria própria

Figura 14 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana, Sulfato de Condroitina e Própolis aplicada no microrganismo *Escherichia coli*.



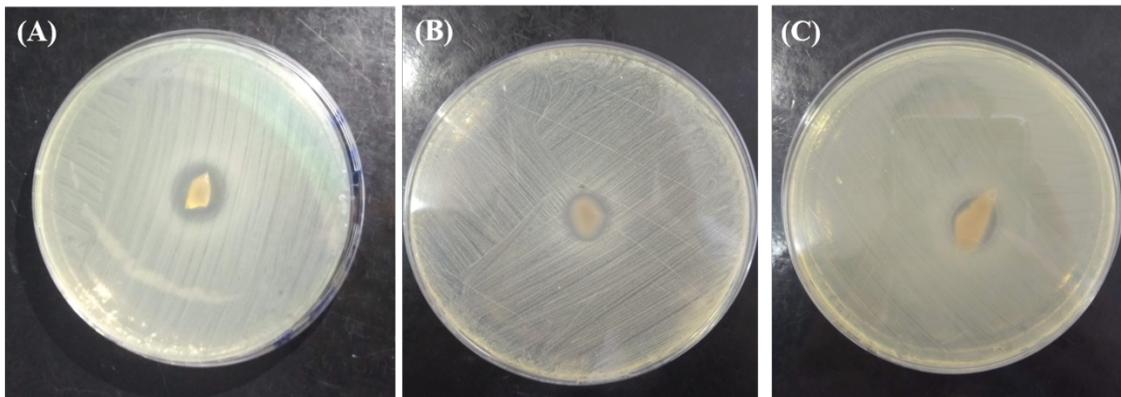
Fonte: Autoria própria

Figura 15 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana, Sulfato de Condroitina e Líquido Iônico aplicada no microrganismo *Escherichia coli*.



Fonte: Autoria própria

Figura 16 - Resultados das análises bactericidas obtidos para a amostra contendo Quitosana, Sulfato de Condroitina, Própolis e Líquido Iônico aplicada no microrganismo *Escherichia coli*.



Fonte: Autoria própria

6.5 Liberação de sulfato de condroitina

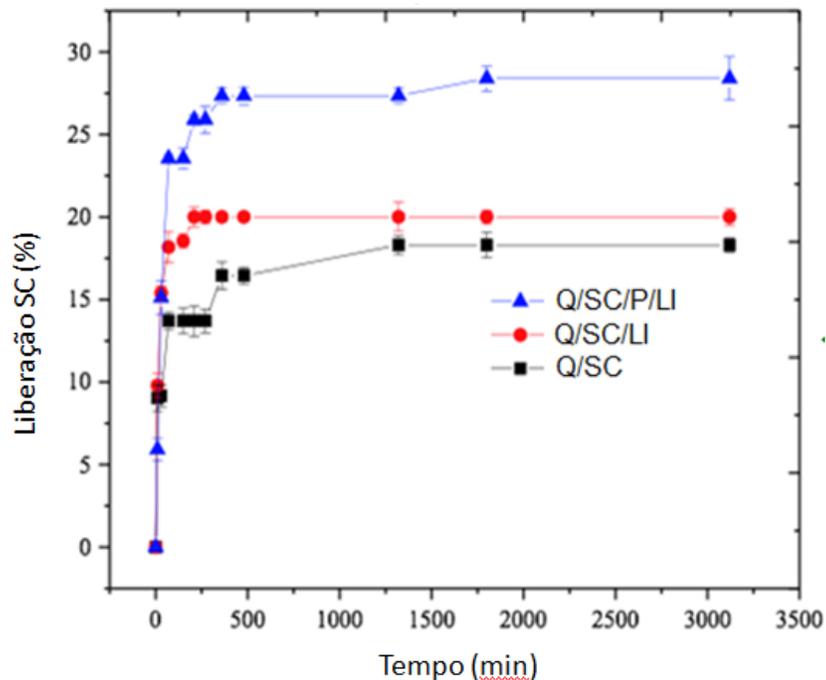
Mediante a utilização de métodos matemáticos, foi possível determinar o comportamento dos materiais sintetizados ao serem submetidos às condições de pH similares ao do estômago e do intestino.

Verificou-se que nenhuma das amostras apresentaram liberação de SC significativa para pH 1,2 pelo método utilizado. Assim, pode-se deduzir que os hidrogéis, se ingeridos, conseguiriam passar pelo estômago sem que haja degradação do mesmo.

Entretanto, as amostras apresentaram taxas significativas de liberação de SC ao serem submetidas à pH 6,8, com exceção da amostra contendo quitosana/sulfato de condroitina/própolis.

A Figura 17 apresenta a liberação do SC em relação ao tempo do material imerso em fluido que simula o fluido intestinal.

Figura 17 - Liberação de SC em ambiente que simula fluido intestinal (pH 6,8) para as amostras compostas de quitosana (Q), sulfato de condroitina (SC), própolis (P) e líquido iônico (LI).



Fonte: Autoria própria

Analisando os dados obtidos com modelamento matemático, observa-se que os dados em azul, representando a amostra contendo Q/SC/P/LI, apresenta valores da constante k significativamente menor do que os das amostras contendo Q/SC e Q/SC/LI.

Assim, pode-se inferir que, nessas condições, a liberação ocorre de forma mais controlada no material que contem os quatro componentes, sendo possivelmente relacionada com a presença de própolis na mesma.

7. CONCLUSÃO

O hidrogel composto de 60% de sulfato de condroitina e 40% de quitosana, em massa, apresentou diferentes propriedades (térmicas, liberação de SC e organização das cadeias) ao serem incorporados própolis, líquido iônico ou ambos em sua preparação.

Assim, podemos constatar que:

- Conseguiu-se sintetizar e caracterizar os complexos de quitosana e sulfato de condroitina, bem como os derivados com aditivos;

- A técnica de espectroscopia de infravermelho demonstrou que houve formação do complexo em todos os casos, sendo que a presença de líquido iônico fez com que houvesse maiores interações entre a quitosana e o sulfato de condroitina;

- Por meio do FTIR e DSC consegue-se detectar que os complexos, mesmos após secagem, continuam apresentar grandes proporções de água em sua estrutura, principalmente aquelas contendo própolis, comprovando boas propriedades de sua absorção;

- A difração de raios X demonstrou que a adição de própolis ou líquido iônico geram uma melhor organização das cadeias poliméricas, o que não ocorre na presença de ambos;

- A análise bactericida apresentou bons resultados para as amostras que possuíam própolis em sua composição, para *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Porém o líquido iônico aumentou a proliferação dos microorganismos para o primeiro caso e apresentou-se indiferente para o segundo;

- A liberação de sulfato de condroitina foi praticamente nula em meio que simula o fluido estomacal para todas as amostras. Já em ambiente que simula o fluido intestinal, as amostras apresentaram liberação do fármaco, com exceção da amostra com adição somente de própolis. A amostra com adição simultânea de própolis e líquido iônico apresentou melhores resultados para liberação controlada;

Assim sendo, os hidrogéis sintetizados apresentam singulares propriedades físico-químicas e biológicas, sendo promissores para trabalhos futuros *in vivo* e possíveis aplicações médicas.

REFERÊNCIAS

- AHN, M. et al. Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of Korea. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 52, n. 24, p. 7286-7292, 2004.
- ALMEIDA, E. C. de; MENEZES, H. Anti-inflammatory activity of propolis extracts: a review. **Journal Of Venomous Animals And Toxins**, v. 8, n. 2, p. 191-212, 2002.
- AOUADA, Fauze Ahmad. **Synthesis and characterization of methylcellulose polysaccharide and polyacrylamide hydrogels for controlled release of pesticides**. 2009. 141f. Tese (Doutorado em Ciências Exatas e da Terra) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.
- AZEVEDO, I. B. S. de et al. Tratamento das escaras de decúbito com própolis. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 39, n. 2-3, p. 33-37, 1986.
- BANIHASHEM, S.; NEZHATI, M.; PANAHIA, H. Synthesis of chitosan-grafted-poly(*N*-vinylcaprolactam) coated on the thiolated gold nanoparticles surface for controlled release of cisplatin. **Carbohydrate polymers**. v. 227, 2020. No prelo.
- BHAT, S.; KUMAR, A. Biomaterials and bioengineering tomorrow's healthcare. **Biomatter**, v. 3, n. 3, p.1-12, 2013.
- BIZERRA, A.; SILVA, V. SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA: Mecanismos e aplicações. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 3, n. 2, p.1-12, 2016.
- BRUGNEROTTO, J et al. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. **Polymer**, v. 42, n. 8, p.3569-3580, 2001.
- BUNHAK, Élcio José et al. Influência do sulfato de condroitina na formação de filmes isolados de polimetacrilato: avaliação do índice de intumescimento e permeabilidade ao vapor d'água. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 312-317, 2007.
- CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA, J. M. Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 78, n. 1, p. 98-106, 2008
- CALLISTER, W. D. **Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2002.
- CAO, Y.; WANG, B. Biodegradation of Silk Biomaterials. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 10, n. 4, p. 1514-1524, 2009.
- CLARK, D.M. Current concepts in the treatment of degenerative joint disease. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.13, p. 1439-1446, 1991.
- COSTA, E. S. e MANSUR, H.S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido, **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1460-1466, 2008.
- DUPONT, J. On the solid, liquid and solution structural organization of imidazolium ionic liquids. **Jordnal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 3, p. 341-350, 2004.

EARLE, M. J.; SEDDON, K. R. Ionic liquids. Green solvents for the future. **Pure And Applied Chemistry**, v. 72, n. 7, p. 1391-1398, 2000.

FELSE, P. A.; PANDA, T. Studies on applications of chitin and its derivatives. **Bioprocess Engineering**, v. 20, n. 6, p. 505-512, 1999.

FERNANDES, Ligia Lopes. **Produção e caracterização de membranas de quitosana e quitosana com sulfato de condroitina para aplicações biomédicas**. 2006. 57 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) - Escola Politécnica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

FLORY, P. J.; REHNER, J. Statistical Mechanics of Cross-Linked Polymer Networks I. Rubberlike Elasticity. **The Journal Of Chemical Physics**, v. 11, n. 11, p.521-526, 1943.

FOOT, M. e MULHOLLAND, M. Classification of chondroitin sulfate A, chondroitin sulfate C, glucosamine hydrochloride and glucosamine 6 sulfate using chemometric techniques. **Jornal os Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.38, n. 3, p. 397-407, 2005.

FREEMANTLE, Michael. EYES ON IONIC LIQUIDS. **Chemical & Engineering News**, v. 78, n. 20, p. 37-50, 2000.

GHISALBERTI, E. L. Própolis: a review. **Bee World**, v. 60, n. 2, p. 59-84, 1979.

HOFFMAN, A. S. "Intelligent" Polymers in Medicine and Biotechnology. **Macromolecular Symposia**, v. 98, p.645-664, 1995.

HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p.18-23, 2012.

IBRAHIM, H. M.; EL-ZAIRY, E. M. R. Chitosan as Biomaterial – Structure, Properties, and Electrospun Nanofibers. In: BOBBARALA, V. **Concepts, Compounds and the Alternatives of Antibacterials**. Londres: IntechOpen, 2015, p. 81-101.

JACOBS, I.C.; MASON, N. S. Polymer delivery systems concept in Polymeric delivery systems: properties and applications. **American Chemical Society**, v. 520, p. 1-17, 1993.

JOGANI, V. et al. Recent Patents Review on Intranasal Administration for CNS Drug Delivery. **Recent Patents On Drug Delivery & Formulation**, v. 2, n. 1, p. 25-40, 2008.

JONES, A.; VAUGHAN, D. Hydrogel dressings in the management of a variety of wound types: A review. **Journal Of Orthopaedic Nursing**, v. 9, p.1-11, 2005.

KUMAR, A.; HAN, S. PVA-based hydrogels for tissue engineering: A review. **International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials**, v. 66, n. 4, p. 159-182, 2017.

KUMAR, M. N. V. R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive And Functional Polymers**, v. 46, n. 1, p.1-27, 2000.

LIMA, Elaine Cristina Nogueira Lopes de. **Quitosana modificada quimicamente através de cloretos orgânicos e o uso como fonte em remação catiônica**. 2010. 119p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP, 2010.

LYRA, M. A. M. et al. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 5, p. 784-793, 2007.

MACIEL, V. et al. State-of-the-art and limitations in the life cycle assessment of ionic liquids. **Journal of Cleaner Production**, v. 217, p. 844-858, 2019.

MAO, S. et al. The depolymerization of chitosan: effects on physicochemical and biological properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 281, n. 2, p. 45-54, 2004.

MONFORT, J et al. Biochemical basis of the effect of chondroitin sulphate on osteoarthritis articular tissues. **Annals Of The Rheumatic Diseases**, v. 67, n. 6, p. 735-740, 2008.

NASRI, F. O envelhecimento populacional no Brasil. **Einstein**, São Paulo, v. 6, n. 1, p. 4-6, 2008.

NAVARRO, M et al. Biomaterials in orthopaedics. **Journal Of The Royal Society Interface**, v. 5, n. 27, p.1137-1158, 2008.

NUNES, C. et al. Chitosan/chondroitin sulfate hydrogels prepared in [Hmim][HSO₄] ionic liquid. **Carbohydrate Polymers**, v. 170, p. 99-106, 2017.

PEPPAS, N. A, et al. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, v. 50, n. 1, p. 27-46, 2000.

PIAI, Juliana Francis. **Preparação e caracterização de complexos polieletrólitos de quitosana/sulfato de condroitina e estudos de liberação controlada**. 2008. 61p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.

PICCHI, Juliano Bottura. **Preparo e caracterização físico-química e biológica de um biocompósito à base de celulose associada à própolis**. 2010. 71p. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) – Bioengenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. Polymers in drug delivery. **Current Opinion In Chemical Biology**, v. 5, n. 4, p.447-451, 2001.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, São Paulo, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015.

RATNER, B. D. et al. **Biomaterials Science: An Introduction to materials in medicine**. 2ª edição, San Diego: Elsevier, 2004.

REIS, E. C. C. et al. Comparison of In Vivo Properties of Hydroxyapatite-Polyhydroxybutyrate Composites Assessed for Bone Substitution. **Journal Of Craniofacial Surgery**, v. 20, n. 3, p.853-859, 2009.

RINAUDO, M.; PAVLOV, G.; DESBRIÈRES, J. Influence of acetic acid concentration on the solubilization of chitosan. **Polymer**, v. 40, n. 25, p.7029-7032, 1999.

RITGER, P. L.; PEPPAS, N. A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. **Journal of Controlled Release**, v. 5, p. 37–42, 1987.

- SANTOS, Erica Marques da Silva. **Modificação e caracterização da quitosana para uso como suporte em processos biotecnológicos**. 2009. 164 p. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ.
- SFORCIN, J. M. et al. Seasonal effect of brazilian propolis on *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. **Journal Of Venomous Animals And Toxins**, v. 7, n. 1, p. 139-144, 2001.
- SHEN, E. C. et al. Tetracycline release from tripolyphosphate-chitosan cross-linked sponge: a preliminary in vitro study. **Journal Of Periodontal Research**, v. 43, n. 6, p.642-648, 2008.
- SILICI, S.; KUTLUCA, S. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 99, n. 1, p. 69-73, 2005.
- SILVA, H. S. R. C.; SANTOS, K. S. C. R. D.; FERREIRA, E. I. Quitosana: derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 776-785, 2006.
- SILVA, Thiago Barcellos. **Líquidos iônicos – Alguns aspectos sobre as propriedades, preparação e aplicações**. 2004. 42 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Bacharelado e Licenciatura em Química) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2004.
- STAYTON, P. S. et al. “Smart” delivery systems for biomolecular therapeutics. **Orthod Craniofacial Res.**, v. 8, p. 219-225, 2005.
- VAUGHAN-SCOTT, T.; TAYLOR, J. H. The pathophysiology and medical management of canine osteoarthritis. **Jornal of the South African Veterinary Association**, v.68, p. 21-25, 1997.
- VIDOTTI, C. C. F. et al. Sistema Brasileiro de Informação sobre Medicamentos - SISMED. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 16, n. 4, p. 1121-1126, 2000.
- WANG, J.; HAN, Y. Tuning the stop bands of inverse opal hydrogels with double network structure by controlling the solvent and pH. **Journal Of Colloid And Interface Science**, v. 353, n. 2, p.498-505, 2011.
- WASSERSCHIED, P.; WELTON, T. **Ionic Liquids in Synthesis**; 2. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2002.
- WASTESON, A. Properties of fractionated chondroitin sulphate from ox nasal septa. **Biochemistry Journal**, v. 122, n. 4, p. 477-485, 1971.
- WICHTERLE, O.; LÍM, D. Hydrophilic Gels for Biological Use. **Nature**, v. 185, n. 4706, p.117-118, 1960.
- XU, X. Functional chitosan oligosaccharide nanomicelles for topical ocular drug delivery of dexamethasone. **Carbohydrate polymers**. v. 227, 2020. No prelo.
- YANAGISHITA, M. Function of proteoglycans in the extracellular matrix. **Pathology International**, v. 43, n. 6, p. 283-293, 1993.

YANG, Y. et al. Development of bacterial cellulose/chitin multi-nanofibers based smart films containing natural active microspheres and nanoparticles formed in situ. **Carbohydrate polymers**. v. 228, 2020. No prelo.