

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

ESCOLA DE FARMÁCIA

HYURE BRITO RAMOS

**AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS IMPRESSOS MOLECULARMENTE COMO
POTENCIAIS SISTEMAS PARA LIBERAÇÃO MODIFICADA DE ACICLOVIR**

OURO PRETO-MG

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO

ESCOLA DE FARMÁCIA

HYURE BRITO RAMOS

AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS IMPRESSOS MOLECULARMENTE COMO
POTENCIAIS SISTEMAS PARA LIBERAÇÃO MODIFICADA DE ACICLOVIR

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de Farmácia, da
Universidade Federal de Ouro Preto,
pela disciplina Trabalho de Conclusão
de Curso – TCC007.

Orientador: Prof Dr André Luís Morais
Ruela

Ouro Preto-MG

2023

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

R175a Ramos, Hyure.

Avaliação de polímeros impressos molecularmente como potenciais sistemas para liberação modificada de aciclovir. [manuscrito] / Hyure Ramos. - 2023.
43 f.

Orientador: Prof. Dr. André Luís Ruela.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto.
Escola de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Polímeros. 2. Medicamentos. 3. Agentes antivirais. 4. Aciclovir. I. Ruela, André Luís. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU 615.281.8

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



FOLHA DE APROVAÇÃO

Hyure Brito Ramos

Avaliação de polímeros impressos molecularmente como potenciais sistemas para liberação modificada de aciclovir

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia

Aprovada em 02 de fevereiro de 2023

Membros da banca

Doutor - André Luís Morais Ruela - Orientador - Universidade Federal de Ouro Preto
Mestranda - Tereza Gabriela Ferreira Gomides - Universidade Federal de Ouro Preto
Mestranda - Lorena Kelly Santiago Ramos - Universidade Federal de Ouro Preto

André Luís Morais Ruela, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 08/02/2023



Documento assinado eletronicamente por **Andre Luis Morais Ruela, COORDENADOR(A) DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**, em 08/02/2023, às 10:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0469174** e o código CRC **8BF61167**.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe Vanuza que fez o possível e o impossível para que eu estivesse aqui hoje.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe por todo apoio e motivação.

Ao meu orientador, André Morais Ruela, por toda ajuda, suporte, amizade e paciência.

Ao laboratório de Controle de Qualidade do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (LCQ-CIPHARMA) da UFOP por todo acompanhamento e estrutura nessa jornada.

Ao meu namorado, Moisés, por toda ajuda, carinho, apoio e companheirismo.

Ao Laboratório Multiusuário 1 do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UFOP e Laboratório de Microscopia e Microanálises - LMic do Departamento de Geologia da Escola de Minas/UFOP pelo apoio na realização de análises para caracterização dos materiais.

Ao Programa de Iniciação Científica da UFOP pela concessão de bolsa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e UFOP pelo apoio para execução deste projeto.

Muito obrigado!

RESUMO

A impressão molecular é uma tecnologia capaz de produzir polímeros dotados de sítios seletivos de reconhecimento, estereoquimicamente moldados a partir de uma molécula molde, como um fármaco. Nos polímeros impressos molecularmente (MIPs), a primeira etapa da síntese é a formação de um complexo entre os monômeros funcionais (MF) e a molécula molde. Assim, as terminações ligantes dos MF são posicionadas em pontos complementares aqueles provenientes da molécula molde, permitindo a formação de ligações de natureza não-covalente e, por consequência, uma notável capacidade de religação seletiva da molécula molde, geralmente por adsorção da molécula molde no material polimérico. Nos protocolos de síntese por precipitação, as partículas poliméricas são prontamente formadas durante a etapa de síntese, possuindo formato esférico e tamanho de ordem nano ou micrométrico, geralmente com tamanho $\leq 1 \mu\text{m}$ e com elevada uniformidade. A aplicação de partículas de MIPs como sistemas de liberação de fármacos é tema de alguns estudos, com resultados inovadores sendo descritos na literatura. A molécula molde selecionada neste trabalho foi o fármaco antiviral aciclovir. O aciclovir é indicado para tratamento de infecções causadas pelo vírus herpes simples tipo 1 (HSV-1), tipo 2 (HSV-2), vírus varicela-zoster (VZV), e também para tratamento de meningite asséptica causada por HSV-1 e HSV-2. Considerando que o fármaco possui baixa biodisponibilidade oral (10 a 30%), torna-se interessante pesquisar potenciais materiais para aplicação como carreadores seletivos em vias de administração não-invasivas, tais como os MIPs. Sendo assim, este projeto propõe a síntese de partículas de MIP por precipitação usando o aciclovir como molécula molde. As partículas poliméricas foram caracterizadas para avaliar seu potencial como excipientes funcionais para o desenvolvimento de novos sistemas de liberação. Para isso, as interações seletivas estabelecidas entre fármaco e os polímeros foram estudadas com auxílio de técnicas apropriadas, incluindo avaliação da adsorção do aciclovir nas partículas de MIPs. Com base nos resultados, os MIPs sintetizados neste estudo, usando monômeros acrílicos como ácido metacrílico, hidroxietil metacrilato e etilenoglicol dimetacrilato, apresentaram tamanho submicrométrico ($<1 \mu\text{m}$) e uniforme, o que foi caracterizado em diferentes meios aquosos por espalhamento dinâmico da luz, e no estado seco por microscopia eletrônica de varredura. Caracterizou-se que o potencial zeta das partículas é dependente do pH do meio aquoso, o que permitiu também caracterizar a introdução do ácido metacrílico na matriz polimérica das partículas. Entretanto, devido ao caráter hidrofílico do aciclovir e ao caráter hidrofóbico das partículas do MIP sintetizado, a adsorção do aciclovir na matriz polimérica foi muito baixa (menor que 1%), indicando a baixa viabilidade do uso deste material como sistema de liberação de fármacos. Este não foi um resultado esperado, indicando que materiais mais hidrofílicos devem ser produzidos para permitir maiores interações com o aciclovir.

Palavras-chaves: Polímeros impressos; aciclovir; medicamento; adsorção; liberação.

ABSTRACT

Molecular imprinting is a new technique to produce organic polymers with selective recognition sites in its polymeric matrices, which are complementary to the template in their size, shape and spatial arrangement of the functional groups. The first step to produce molecularly imprinted polymers (MIPs) is the formation of a complex between the functional monomers (FMs) and the template molecule. Thus, the moieties of the FMs interact with complementary groups from the template molecule, allowing the formation of non-covalent bonds. Consequently, a remarkable capacity for selective binding of template in the imprinted cavities of MIPs may be achieved after the synthesis. In precipitation synthesis, polymeric particles are formed during the synthesis step, presenting spherical shape and nano- or micrometric size, usually $\leq 1 \mu\text{m}$ in size and with high uniformity. The application of MIPs particles as drug delivery systems is the subject of some studies, with novel results being described in the literature. The template molecule selected in this work was the antiviral drug acyclovir. Acyclovir has been indicated for the treatment of infections caused by herpes simplex virus type 1 (HSV-1), type 2 (HSV-2), varicella-zoster virus (VZV), and for the treatment of aseptic meningitis caused by HSV-1 and HSV-2. Considering that the drug has low bioavailability after oral administration (10-30%), the searching for potential materials to be applied as selective carriers in non-invasive routes of administration is interesting. And MIPs can be a promising strategy. Therefore, this project proposes the synthesis of MIP particles by precipitation using acyclovir as a template molecule. The polymeric particles were characterized to evaluate their potential as functional excipients for the development of drug delivery systems. To this end, the selective interactions established between drug and MIP were studied with the aid of appropriate techniques, including the evaluation of acyclovir adsorption onto the MIP particles. Then, MIPs were synthesized in this study using monomers such as methacrylic acid, hydroxyethyl methacrylate, and ethylene glycol dimethacrylate. These polymer particles showed submicrometric ($< 1 \mu\text{m}$) and uniform size, which was characterized in different aqueous media by dynamic light scattering, and in the dry state by scanning electron microscopy. It was characterized that the zeta potential of the particles is dependent on the pH of the aqueous medium, which also allowed characterizing the introduction of methacrylic acid into the polymeric matrix of the particles. However, due to the hydrophilic character of acyclovir and the hydrophobic character of the MIP particles, the adsorption of acyclovir on the polymer matrix was very low (less than 1%), indicating the low feasibility of using this material as a drug delivery system. This was not an expected result, indicating that more hydrophilic materials should be produced to allow greater interactions with acyclovir.

Keywords: Imprinted polymers, acyclovir, medicine, adsorption, drug release.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
3. REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 Aciclovir.....	14
3.1.1 Farmacologia	14
3.1.2 Propriedades físico-químicas	15
3.1.2 Propriedades farmacocinéticas.....	15
3.2 Polímeros impressos molecularmente	16
3.2.1 Síntese não-covalente	18
3.2.1 Polimerização.....	19
3.2.2 Monômeros	20
3.2.3 Agente de ligação cruzada e solvente porogênico	21
3.2.4 Iniciador radicalar	22
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Materiais	23
4.1.1 Padrões, matérias-primas farmacêuticas, reagentes e solventes	23
4.1.2 Equipamentos e acessórios	24
4.2 Métodos	26
4.2.1 Preparo de soluções	26
4.2.2 Metodologia analítica para quantificação de aciclovir	27
4.2.3 Síntese e modificação das partículas de polímero de impressão molecular	27
4.2.4 Lavagem das partículas de polímero de impressão molecular.....	28
4.2.5 Estudos de caracterização das partículas poliméricas.....	28
4.2.6 Adsorção do aciclovir nas partículas poliméricas.....	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 Síntese das partículas poliméricas por polimerização por precipitação.....	30
5.2 Caracterização das partículas poliméricas	31
5.2 Adsorção do aciclovir nas partículas poliméricas.....	35
6 CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

Doenças infecciosas virais são uma preocupação relativa à saúde em todo mundo. Apesar do aperfeiçoamento da medicina moderna e da intensa busca por novos fármacos antivirais, os avanços apresentados ainda são limitados (STAHL; MAILLES, 2019).

O aciclovir é um fármaco antiviral análogo sintético ao nucleotídeo 2'-desoxiguanosina. Atua por diferentes mecanismos para impedir a replicação do DNA viral. Um desses mecanismos é relacionado à molécula de aciclovir ser fosforilada pela enzima viral timidina quinase após atravessar a membrana da célula infectada, com posterior conversão por enzimas celulares para difosfato e trifosfato de aciclovir, que é a forma ativa do fármaco. A forma ativa do fármaco é utilizada no lugar de uma base nitrogenada, devido a sua semelhança com o nucleotídeo guanina, sendo incorporada ao DNA do vírus, interrompendo a sua replicação (KLYSIK *et al.*, 2018). O aciclovir possui propriedades antivirais contra os vírus herpes simples tipo 1 (HSV-1) e herpes simples tipo 2 (HSV-2) e varicela-zoster (VZ), tendo sido amplamente usado clinicamente para tratar estas doenças virais (REOLON *et al.*, 2019).

O aciclovir em insumos farmacêuticos ativos é um pó branco ou quase branco, com baixa solubilidade em água, estável em pH neutro a alcalino e se encontra disponível em diversas formas farmacêuticas. O comprimido de aciclovir é utilizado no tratamento de infecções pelo vírus HSV-1 e VZ na pele e mucosas, além de ser prescrito no tratamento do herpes genital inicial e recorrente causada por HSV-2. O creme de aciclovir é utilizado para infecções cutâneas (herpes genital e labial) e a pomada oftálmica de aciclovir é indicada no tratamento da ceratite por herpes simples. O aciclovir administrado por infusão endovenosa é indicado no tratamento de infecções pelo vírus HSV-1 HSV-2 e VZ zoster em neonatos, crianças e adultos, como meningoencefalite herpética. O aciclovir parenteral também é usado na profilaxia de infecção por estes vírus em pacientes imunocomprometidos e na profilaxia de infecções pelo vírus citomegalovírus em pacientes que receberam transplante de medula óssea (WAGSTAFF *et al.*, 1994; BRASIL, 2015). Os efeitos colaterais mais frequentemente relatados após a administração de medicamentos antivirais, incluindo o aciclovir são dor abdominal, náuseas, vômitos, cefaleia e tontura (LI *et al.*, 2014).

Apesar da grande importância clínica do aciclovir, o fármaco é pouco absorvido no trato gastrointestinal (TGI). Quando administrado por via oral, nas doses clinicamente aprovadas (200 mg a 800 mg) pela ANVISA, o aciclovir é pouco absorvido, sendo que somente 10 a 30%

da dose se torna biodisponível. A baixa absorção do aciclovir no TGI deve-se ao seu caráter hidrofílico, relacionado ao coeficiente de partição n-octanol/água da molécula do fármaco, com valor de -1,56 (log P) (ARNAL *et al.*, 2008). Para melhorar a biodisponibilidade oral do aciclovir, a elaboração de novas formas farmacêuticas de liberação modificada do fármaco por via oral pode ser interessante, desde que possibilite maior tempo de permanência do sistema de liberação no TGI (intestino delgado) e a liberação lenta e contínua do fármaco antiviral.

Polímeros impressos molecularmente (MIPs) estão cada vez mais presentes em discussões acadêmicas por oportunizarem uma estratégia para desenvolver excipientes avançados no desenvolvimento de novos sistemas de liberação modificada de fármacos. Para Alexander *et al.* (2006), define-se MIP como um polímero sintético com sítios de reconhecimento seletivo, em que uma molécula molde (*template*) é empregada na etapa de síntese, facilitando a formação do sítio impresso de reconhecimento molecular. Após a síntese, com conseqüente remoção da molécula molde, são criados estes sítios seletivos, na forma de espaços vazios ou cavidades impressas, que favorecem a religação da molécula molde na matriz impressa, devido ao seu formato e a posição de grupos dos monômeros funcionais estabelecida na etapa de síntese (ALEXANDER *et al.*, 2006).

Trabalhos publicados utilizando MIPs como sistemas de liberação de fármacos estão sendo descritos na literatura, geralmente usando vários tipos diferentes de monômeros acrílicos na síntese. A maior afinidade do fármaco pelo MIP leva à sua adsorção seletiva. Logo, na etapa de liberação, ocorre a dessorção lenta do fármaco a partir das cavidades seletivas dos MIPs, onde o fármaco está seletivamente adsorvido, principalmente por ligações de hidrogênio, e será mais lentamente liberado para o meio aquoso. Isto pode favorecer a alcançar um perfil de liberação modificada (FIGUEIREDO; DIAS; ARRUDA, 2008).

Neste trabalho, partiu-se do princípio que partículas de MIPs podem ser aplicadas como matrizes de liberação prolongada do aciclovir, uma vez que interações fármaco-polímero seletivas sejam obtidas. A taxa de dessorção mais lenta do fármaco a partir da matriz polimérica dos MIPs será, portanto, devido à maior afinidade do aciclovir pelas cavidades seletivas dos MIPs, devido ao efeito de impressão molecular alcançado na etapa de síntese. Assim, a taxa de dessorção do aciclovir do material polimérico poderá corresponder a um perfil de liberação prolongada. É importante mencionar que MIPs para liberação de aciclovir ainda não foram descritos na literatura.

Muitos estudos descrevem MIPs sintetizados utilizando diferentes técnicas de polimerização. A síntese do tipo “bulk”, que resulta em um monólito que deve ser moído e peneirado para obtenção das partículas de polímero irregulares com tamanhos de 5 a 50 μm , apresentando morfologias e tamanhos heterogêneos (ALVAREZ-LORENZO; CONCHEIRO, 2004; UMPLEBY II, 2004; POMA; TURNER; PILETSKY, 2010). Em contraste à técnica de polimerização do tipo “bulk”, destaca-se a técnica de polimerização por precipitação, que dispensa as operações de moagem e peneiramento, produzindo partículas menores e com morfologia geralmente esférica, com maior área superficial e capacidade de adsorção, facilitando a interação da molécula molde na matriz polimérica. No geral, alguns monômeros acrílicos são usados para reticular as cadeias poliméricas, formando ligações cruzadas (*crosslinking*), o que permite formar as partículas poliméricas. Cita-se como exemplo o etilenoglicol dimetacrilato (EDGMA) como agente reticulante, que é muito descrito na literatura, porém trazendo propriedades altamente hidrofóbicas ao material polimérico. Assim, para reduzir a hidrofobicidade das partículas de MIPs, pode-se incluir na etapa de síntese monômeros funcionais mais hidrofílicos, como o 2-hidroxietil metacrilato (HEMA), permitindo maior compatibilidade do material sintetizado com meios aquosos e também maiores interações com fármacos de natureza hidrofílica, como o aciclovir (FIGUEIREDO; DIAS; ARRUDA, 2008; SOUSA; BARBOSA, 2009).

As partículas de MIPs sintetizadas por polimerização por precipitação descritas na literatura possuem formato geralmente esférico e tamanho em escala nano ou micrométrica, $\leq 1 \mu\text{m}$ e com elevada uniformidade. Estas são características interessantes para aplicações farmacêuticas, que devido ao aumento da área superficial, podem facilitar o acesso do fármaco à matriz polimérica, por adsorção, e a partir disso, aumentar o efeito do polímero em modificar a liberação do fármaco (SOUSA; BARBOSA, 2009). Estudos anteriores do grupo de pesquisa permitiram verificar a alta capacidade adsortiva dos MIPs com fármacos de natureza anfifílica (RUELA; FIGUEIREDO; PEREIRA, 2014; RUELA *et al.*, 2018) e lipofílica (RUELA *et al.*, 2016), havendo modificação significativa nos perfis de liberação dos fármacos, obtendo cinéticas de liberação prolongada.

A utilização de MIPs como adjuvantes farmacêuticos é um campo ainda a ser explorado na área farmacêutica, visto a potencial viabilidade dos MIPs como novos sistemas de liberação, devido à sua alta estabilidade química e potencial seletividade decorrente da impressão molecular (ALVAREZ-LORENZO; CONCHEIRO, 2004). Assim, o presente estudo avaliou partículas de MIPs com capacidade de potencial reconhecimento seletivo para um fármaco

hidrofílico, o aciclovir, que será usado como molécula molde. As partículas de MIPs foram sintetizadas incluindo o monômero hidrofílico HEMA e caracterizadas para avaliar como possíveis carreadores poliméricos para o aciclovir.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Sintetizar e caracterizar partículas de polímeros impressos molecularmente (MIPs) usando aciclovir como molécula molde pela técnica de polimerização por precipitação e avaliar sua viabilidade como carreadores para liberação modificada deste fármaco antiviral.

2.2 Objetivos específicos

- Elaborar uma breve revisão de literatura narrativa sobre o tema deste projeto;
- Sintetizar partículas de MIPs e de polímero controle não impresso (NIPs) pela técnica de polimerização por precipitação, incluindo o monômero de caráter hidrofílico HEMA;
- Caracterizar as partículas poliméricas sintetizadas;
- Avaliar a adsorção do aciclovir nas partículas poliméricas sintetizadas, realizando a quantificação do fármaco por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção ultravioleta (CLAE-UV).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aciclovir

3.1.1 Farmacologia

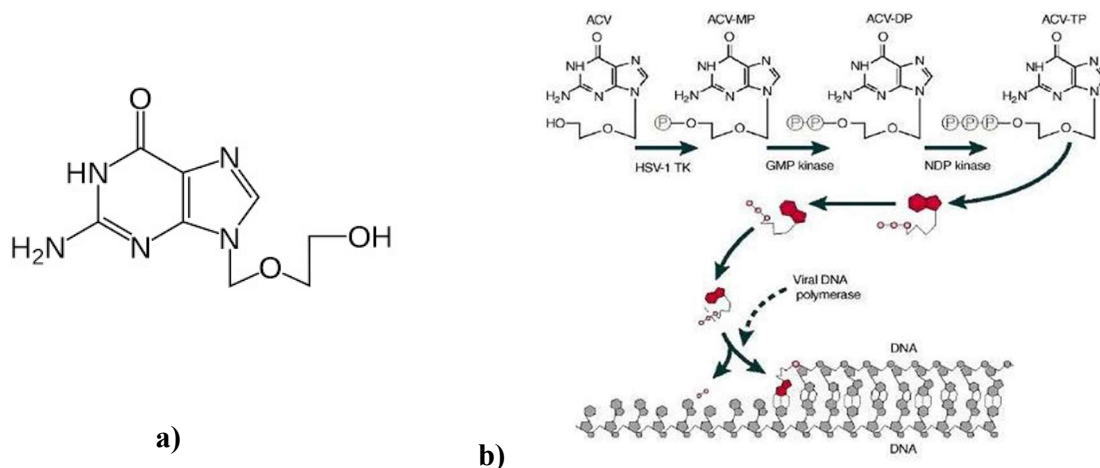
Após o desenvolvimento inicial da terapêutica antiviral em 1960, fez-se necessária a utilização de medicamentos com uma menor toxicidade sistêmica e com uma maior possibilidade de uso, resultando no desenvolvimento da molécula de aciclovir, um análogo acíclico de nucleosídeo purínico. (PEREIRA, 2002; COEN e SCHAFFER, 2003) Sendo assim, o aciclovir é um fármaco antiviral indicado no tratamento de infecções causadas pelo vírus *Herpes simplex 1*, *Herpes simplex 2* e *Varicella zoster*, também indicado como terapia profilática para pacientes imunocomprometidos e infecções causadas pelo citomegalovírus em pacientes transplantados de medula óssea, além da indicação para o tratamento de meningoencefalite herpética. Disponível nas formas de comprimido de 200 e 400 mg, na forma de creme 50 mg/g, pomada oftálmica 30 mg/g e pó liofilizado 250 mg para preparação de solução injetável para infusão endovenosa (BRASIL, 2022).

O fármaco é um análogo do nucleosídeo guanina e atua pelo mecanismo de competição com outros nucleosídeos endógenos, catalisado pela DNA-polimerase viral e incorporado no DNA viral, impedindo o alongamento da cadeia de DNA e, conseqüentemente, interrompendo a replicação viral nas células infectadas. O aciclovir é um pró-fármaco que necessita ser ativado para que possa exercer sua ação farmacológica, portanto, após ultrapassar a membrana plasmática da célula infectada, a molécula do aciclovir é fosforilada pela enzima viral timidina quinase do vírus. Isto confere ao fármaco uma maior seletividade às células infectadas. Posteriormente, a forma monofosfatada sofre duas novas fosforilações enzimáticas, mediadas por quinases celulares gerando a forma trifosfatada do aciclovir (CRAIG; STITZEL, 2004).

Ao final, a molécula de aciclovir trifosfatada é a forma ativa do fármaco, competindo com o nucleotídeo 2'-desoxinucleotídeo-5'-trifosfato pela polimerase viral. Ao ser incorporado na cadeia de DNA viral, o aciclovir trifosfatado ocupa o lugar deste nucleotídeo. Após ser incorporado ao DNA viral, o aciclovir trifosfatado finaliza o processo de replicação viral, devido à ausência do grupo 3'-hidroxila na molécula do aciclovir, porém presente na estrutura química dos nucleotídeos endógenos. A ligação entre um nucleotídeo e outro no DNA viral é impossibilitada, formando assim um DNA viral defeituoso, impedindo o alongamento da cadeia

e, conseqüentemente, finalizando-a, como apresentado na **Figura 1** (LUPI, 2000; PEREIRA, 2002; COEN; SCHAFFER, 2003).

Figura 1 - Estrutura química do fármaco aciclovir (a) mecanismo de ação do aciclovir (b).



Fonte: Baseado em De Clercq (2004).

3.1.2 Propriedades físico-químicas

Quanto às suas propriedades físico-químicas, o aciclovir é uma molécula com grupamentos ácidos e básicos fracos, com pKa de 2,16-2,27 (ácido) e 9,04-9,25 (básico) conferindo uma característica anfotérica à molécula. Possui ponto de fusão é de 256,5 – 257,0 °C e coeficiente de partição (logP) em n-octanol de -1,59 a 25°C. Assim, este fármaco é considerado hidrofílico e possui uma baixa permeação através das membranas biológicas. De acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019), o aciclovir se apresenta como um pó cristalino branco ou quase branco e possui uma solubilidade muito baixa em água, sendo classificado como pouco solúvel em água (0,2% a 25°C), solúvel em dimetilsulfóxido e solúvel em soluções diluídas de ácidos minerais e hidróxidos alcalinos (KLYSIK *et al.*, 2018; SUSANTAKUMAR; GAUR; SHARMA, 2011; BRASIL, 2019).

3.1.2 Propriedades farmacocinéticas

Apesar da aplicabilidade do aciclovir, considerado um dos agentes antivirais mais eficazes e seletivos contra todos os tipos de vírus do herpes simples e *Varicella zoster*, sua biodisponibilidade é muito limitada. Este fármaco apresenta uma baixa absorção oral, devido a sua hidrofiliçidade e ao curto tempo de meia-vida biológica (cerca de 3 horas), é pouco

absorvido no TGI, tendo uma biodisponibilidade muito baixa, variando de 15 a 30%. Além de possuir uma característica dose-dependente, em que, com o aumento da dose administrada, menor será a absorção, visto que há uma limitação da área de absorção (KLYSIK *et al.*, 2018; LOREGIAN *et al.*, 2001; REOLON *et al.*, 2019; SUSANTAKUMAR; GAUR; SHARMA, 2011).

O pico de concentração plasmática é alcançado entre 1,5 – 2,5 horas após a administração oral e o fármaco é amplamente distribuído na maior parte dos tecidos, variando sua taxa de ligação às proteínas plasmáticas de 9 a 33% independente da concentração do fármaco (KLYSIK *et al.*, 2018; LOREGIAN *et al.*, 2001).

3.2 Polímeros impressos molecularmente

Polímeros impressos molecularmente, do inglês “*Molecularly imprinted polymers*”, são polímeros sintéticos com uma seletividade predominante para uma determinada molécula molde, podendo ser aplicado no desenvolvimento de diversos materiais com reconhecimento seletivo de variados compostos, denominados como “*templates*” (POMA; TURNER; PILETSKY, 2010).

O uso de MIPs já vem sendo descrito na literatura desde 1931, quando Polyakov relatou um tipo incomum de propriedades adsorptivas em partículas poliméricas inorgânicas de sílica, que foram preparadas a partir de um inovador processo de síntese, utilizando ligantes adicionados na síntese, ou seja, os “*templates*”. Estes ligantes estavam ligados na matriz polimérica inorgânica de sílica de forma covalente após a síntese, sendo posteriormente removidos por clivagens químicas. Após a síntese e clivagem química dos ligantes das partículas de sílica, o material polimérico obtido demonstrou uma alta capacidade de se ligar com maior seletividade aos respectivos ligantes. Posteriormente, estudos de Linus Pauling auxiliaram a reforçar a teoria da impressão molecular, muitas vezes usando como analogia as interações altamente seletivas entre antígenos e anticorpos (ALEXANDER *et al.*, 2006).

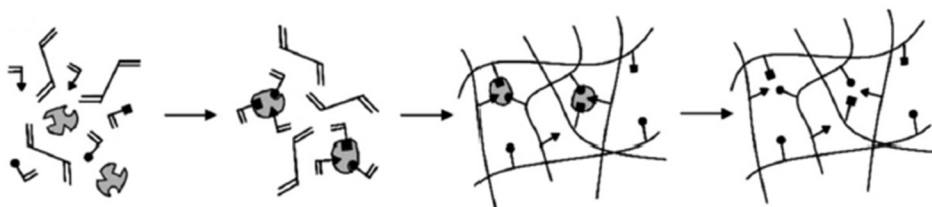
Em 1950, Curti e seu grupo de pesquisa apresentavam sílicas com seletividade quiral em fases estacionárias de colunas para cromatografia, demonstrando o poder da seletividade espacial que estes polímeros impressos possuíam. A partir de 1970, polímeros orgânicos foram utilizados para substituir polímeros inorgânicos baseados em sílica, gerando assim, uma oportunidade para desenvolvimento das técnicas utilizando interações não-covalentes na síntese

de polímeros impressos, sendo os principais fundamentos que pavimentaram o caminho para muitos estudos realizados atualmente (ALEXANDER *et al.*, 2006).

A técnica de impressão molecular é promissora, visto que, os materiais poliméricos de natureza orgânica apresentam uma seletividade, estabilidade química e física e durabilidade mediante variações de temperatura, pH ácido e básico e efeitos mecânicos (ZAIDI, 2016). No caso mais aplicada atualmente, em que os polímeros sintetizados são materiais de natureza orgânica, a técnica consiste na construção de estruturas formadas por diferentes monômeros ao redor de uma molécula molde com sítios de ligações estereoquimicamente e espacialmente seletivos (ALEXANDER *et al.*, 2006).

Os monômeros funcionais de natureza orgânica interagem de forma não-covalente com a molécula molde ou “*template*”. Após adição do agente de ligação cruzada e início de uma reação de polimerização radicalar livre, a partir da clivagem do iniciador radicalar, os monômeros formam uma rede polimérica. Ao se remover a molécula molde, formam-se as cavidades seletivas com capacidade de religação da molécula molde, conforme demonstrado na **Figura 2**. Cada reagente e monômero adicionado ao meio exerce uma função na formação deste material polimérico (ZAIDI, 2016).

Figura 2 – Processo de formação da matriz polimérica com cavidades impressas.



Fonte: Zaidi, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25317753/>.

Os MIPs vêm sendo utilizados nas mais variadas aplicações em diferentes áreas do conhecimento, sendo empregados como materiais adsorventes contendo sítios de reconhecimento para as moléculas “*templates*”. São aplicados como sensores na detecção de substâncias químicas, adsorventes, remoção de produtos vestigiais em reações química e desenvolvimento de novas formulações para liberação de fármacos (TARLEY; SOTOMAYOR; KUBOTA, 2005; BALDIN, 2012; PARISI *et al.*, 2022; BODOKI; IACOB; BODOKI, 2019).

Como exemplo de aplicação dos MIPs em sistemas de liberação, Tashakori-Sabzevar e colaboradores (2014) utilizaram a técnica de impressão molecular para desenvolver um sistema de liberação controlada de fármacos através da administração ocular, funcionando como um tipo de lente de contato para tratar distúrbios oculares, reduzindo a necessidade de múltiplas aplicações diárias do medicamento (TASHAKORI-SABZEVAR, 2014).

Em outro exemplo, em estudos anteriores do grupo, a técnica de impressão molecular foi utilizada baseada em protocolos de síntese por polimerização em massa ou “*bulk*”, para desenvolver um sistema inovador de liberação transdérmica de nicotina. Estas preparações permitiram a liberação prolongada do fármaco, com um material compatível com a nicotina, alcançando uma cinética de liberação prolongada (RUELA, 2012; RUELA; FIGUEIREDO; PEREIRA, 2014). Em continuidade, ainda demonstraram que o material pode ser otimizado para a mesma aplicação usando polimerização por precipitação (RUELA *et al.*, 2018).

Em síntese, diversas abordagens sobre o tema foram reportadas nos últimos anos, descrevendo o “*design*” de MIPs como sistemas de liberação de fármacos (ALEXANDER *et al.*, 2006; HE, *al.*, 2021), demonstrando o amadurecimento dessa técnica e o aumento do interesse da comunidade científica.

3.2.1 Síntese não-covalente

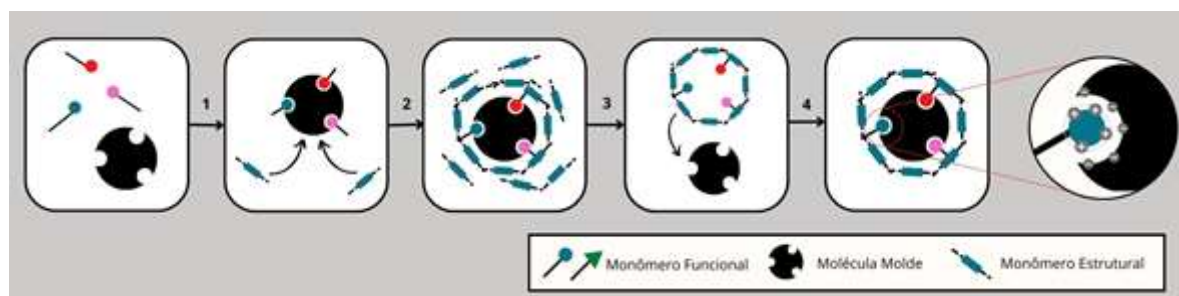
A estratégia utilizando interações não-covalentes na síntese dos MIPs é a mais utilizada devido a sua maior simplicidade em termos de protocolos experimentais de síntese. Esta foi a abordagem explorada neste estudo. A impressão molecular não covalente permite aos MIPs ter uma maior variedade de funcionalidades, explorando interações entre átomos, como ligações de hidrogênio, dipolo-dipolo, eletrostática ou transferência de carga entre molécula molde e o monômero funcional (CARO *et al.*, 2006).

Na etapa de complexação entre os monômeros e a molécula molde solúveis no meio contendo o solvente porogênico, estabelecem-se as interações não-covalente. Após, ocorre a etapa de polimerização, em que os monômeros reagem entre si, covalentemente, formando o material polimérico. Consecutivamente, são realizados vários ciclos de lavagem do MIP até a exaustão, utilizando um solvente em que o *template* seja altamente solúvel, para removê-lo da matriz do polímero. Nesta etapa, também se preocupa com a remoção dos solventes e reagentes residuais da etapa de síntese. Após a etapa de remoção do *template*, os sítios de ligação ou cavidades impressas dos MIPs estão livres da molécula molde, sendo possível realizar a

relição desta molécula molde ao polímero durante a aplicação do material para a finalidade que foi delineado. Assim, podem ser estabelecidas interações não-covalentes, por meio de processos adsorptivos do *template* na matriz do material polimérico. Um material controle não-impresso (NIP), em que o *template* não é adicionado na etapa de síntese, é sintetizado para demonstrar a maior capacidade adsorptiva do MIP em comparativo ao NIP, o que evidencia o efeito da impressão molecular (CARO *et al.*, 2006; WHITCOMBE, 1995).

A **Figura 3** representa as etapas do processo de síntese que foram citadas. Como é possível visualizar nesta figura, a impressão molecular do tipo não-covalente depende primeiramente da formação dos complexos monômero/*template* (1), seguida da etapa de formação da matriz polimerizável (2), quando ocorre a adição do agente reticulante e a reação de polimerização (3). Depois ocorre a remoção da molécula molde permitindo sua posterior relição (adsorção) na etapa de aplicação do material (4).

Figura 3 – Impressão molecular não-covalente.



Fonte: Do Autor, 2022.

3.2.2 Polimerização

Na literatura existem alguns tipos diferentes de abordagens para produzir MIPs, destacando as polimerizações do tipo *bulk*, em massa ou batelada e a polimerização por precipitação (FIGUEIREDO; DIAS; ARRUDA, 2008).

A polimerização do tipo *bulk* é realizada com menor volume de solvente, limitado a dissolver os monômeros e *template* para realizar a polimerização. Possui mais etapas (operações unitárias) e resulta em um monólito polimérico consistente e firme (bloco). As etapas após a síntese estão relacionadas ao processamento deste monólito, que deve ser triturado, sendo finamente moído e depois peneirado para obter partículas menores e de tamanho mais homogêneo, de 20 a 150 μm . Uma desvantagem dessa técnica em comparação à técnica de polimerização por precipitação é a formação de partículas poliméricas de tamanho heterogêneo e formato irregular. Além disso, pode haver perda de sítios seletivos na moagem e obtenção de

materiais com área superficial reduzida (ANDERSSON, 2000; CHAPUIS *et al.*, 2004; SHI *et al.*, 2006).

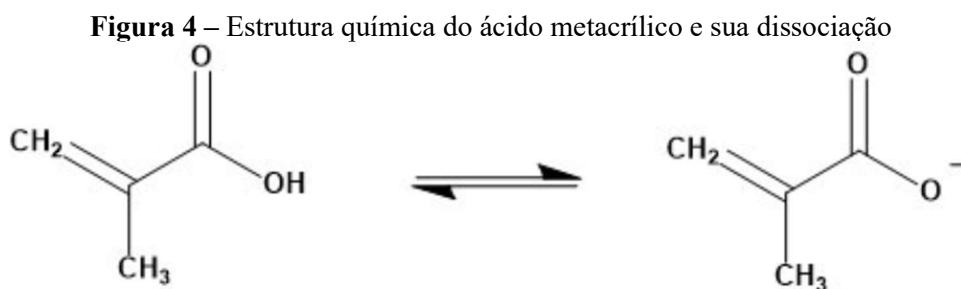
Diferente da técnica de polimerização em *bulk*, a técnica por precipitação utiliza um maior volume de solvente, geralmente 5 vezes maior. Na técnica de polimerização por precipitação ocorre a formação das partículas poliméricas a partir do crescimento da cadeia polimérica ao longo da reação, o que torna as partículas do polímero cada vez menos solúveis no meio reacional, causando sua precipitação na forma de partículas já formadas. As partículas são prontamente formadas, sem necessidade de moagem e tamisação. Esta técnica resulta em partículas pequenas, esféricas e homogêneas, com tamanho variando de nanômetros até 10 micrometros, aumentando a área superficial dos materiais. Também há maior rendimento da reação (aproximadamente 85%) (TARLEY; SOTOMAYOR; KUBOTA, 2005).

A técnica de impressão molecular envolve a necessidade da preparação de um polímero controle não impresso, chamado de NIP, em paralelo ao MIP. O NIP é um material polimérico sintetizado sem a presença da molécula molde, porém com todas as outras etapas do protocolo experimental idênticas à síntese e preparo do MIP. A formação das cavidades complementares dos MIPs pela interação com a molécula molde pode ser verificada pela sua maior retenção (adsorção) no MIP, comparado ao NIP (controle). Para o NIP, ocorre a formação de sítios de ligação (adsorção) não seletivos, de forma aleatória, desprovidos de cavidades complementares quanto ao volume e posição de grupos funcionais que podem interagir com a molécula molde, promovendo alguma retenção (adsorção) deste *template*. É diferente no caso do MIP, que possui sítios seletivos e especializados, construídos a partir de uma molécula molde (PEÇANHA, 2012).

3.2.2 Monômeros

Sendo a unidade principal e essencial que constitui todos os tipos de polímeros, os monômeros são a peça fundamental, ligando-se uns aos outros para formar moléculas de cadeia repetida pelo processo de polimerização. Homopolímeros são constituídos de uma única espécie monomérica, enquanto heteropolímeros tem diferentes monômeros na composição. Além disso, os polímeros podem ter estruturas lineares com cadeias de tamanhos variados, ou possuírem ligações cruzadas entre as cadeias, formando uma rede polimérica. A densidade das ligações cruzadas corresponde ao grau de reticulação do polímero (FIGUEIREDO; DIAS; ARRUDA, 2008; TARLEY; SOTOMAYOR; KUBOTA, 2005).

Os monômeros funcionais utilizados na síntese dos MIPs são os responsáveis pela interação dos sítios de ligação e a molécula molde. A escolha dos monômeros funcionais é baseada na natureza da molécula molde. A molécula de aciclovir por sua vez possui grupos básicos ($pK_a = 2,4$) em sua estrutura molecular, o que teoricamente favorece interações com monômeros funcionais que possuam grupos ácidos em sua estrutura, como é o caso do ácido metacrílico (**Figura 4**), comumente utilizado na síntese dos MIPs (TARLEY; SOTOMAYOR; KUBOTA, 2005).



Fonte: Do autor, 2022.

Os monômeros funcionais normalmente possuem constantes de associação com a molécula molde muito baixas para formar um complexo estável. Por esse motivo, estes monômeros devem ser usados em excesso, geralmente na proporção de 4:1 (fração molar) em relação a molécula molde, de modo a deslocar o equilíbrio para a formação do complexo (TARLEY; SOTOMAYOR; KUBOT, 2005; SPIVAK, 2005).

3.2.3 Agente de ligação cruzada e solvente porogênico

O monômero etilenoglicol dimetacrilato (EDGMA) é comumente utilizado como agente de ligação cruzada (ou agente reticulante) com a função de formar uma matriz de polímero sólida. O seu principal uso na síntese de MIPs é estabelecer ligações químicas entre as cadeias poliméricas lineares, conectando-as entre si como uma rede polimérica. Isto caracteriza um processo denominado de reticulação do material polimérico. O agente reticulante irá conferir rigidez e elasticidade ao material polimérico final, resultando em polímeros estáveis do ponto de vista térmico e mecânico. Ao mesmo tempo, o agente reticulante promove a formação de cavidades impressas nos MIPs que são estericamente estáveis, quanto ao volume e posição de grupos funcionais para reconhecimento da molécula molde. Por isso, pode-se afirmar que o EDGMA atua como um monômero estrutural, criando estruturas poliméricas tridimensionais, do tipo matriz ou rede polimérica, que preservam os grupos dos monômeros funcionais em uma

posição fixa e complementar a molécula molde. Esta propriedade é de fundamental importância ao reconhecimento molecular dos MIPs, garantindo estabilidade e rigidez aos sítios de ligação (cavidades impressas). É importante mencionar que quanto maior a porcentagem de EDGMA, maior a hidrofobicidade do material polimérico, visto que o EDGMA é insolúvel em água (FERNANDES, 2012).

A depender principalmente da proporção do agente de ligação cruzada e do solvente utilizado na síntese, a matriz polimérica formada pode ser macro ou microporosa. Um polímero macroporoso é caracterizado por apresentar estruturas permanentemente porosas, mesmo no estado seco, além de serem mecanicamente mais robustos. Por essas razões, os polímeros macroporosos são geralmente os preferidos, pois também possuem maior área superficial para impressão molecular, garantindo um aumento da capacidade de adsorção da molécula molde. Geralmente utilizam-se MIPs com alto grau de reticulação, de aproximadamente 80% (SOUSA; BARBOSA, 2009).

O solvente de escolha para a síntese é responsável pela criação dos poros formados no material polimérico final, e por este motivo é muito comum o uso do termo solvente porogênico. O solvente porogênico deve solubilizar todos os reagentes da síntese (molécula molde, monômeros, agente de ligação cruzada e iniciador radicalar), idealmente sem interferir nas interações não-covalentes entre os reagentes. Uma interferência poderá causar um grande impacto na formação dos sítios de ligação e o material polimérico se torna menos seletivo. Assim, não são incluídos solventes aquosos na etapa de síntese, pois as interações das moléculas de água, principalmente ligações de hidrogênio, com os reagentes e *template*, reduzem a seletividade do MIP. Então, as sínteses poliméricas são efetuadas em solventes orgânicos ou suas misturas, incluindo metanol, acetonitrila, tolueno, clorofórmio, diclorometano, entre outros (TARLEY; SOTOMAYOR; KUBOTA, 2005).

3.2.4 Iniciador radicalar

O iniciador radicalar tem como função gerar radicais livres para iniciar e manter a reação de polimerização. Ou seja, o agente reticulante forma a matriz polimérica em torno dos complexos molécula molde-monômero funcional. Após ser adicionado na reação, o iniciador sofre uma quebra homolítica, desencadeada por estímulos externos, como temperatura ou radiação ultravioleta, gerando radicais livres que iniciam e propagam rapidamente a reação de polimerização (CORMACK; ELORZA, 2004).

O controle da velocidade da reação de polimerização é basicamente ditado pela velocidade de formação desses radicais livres, principalmente pelo ajuste da temperatura e pela composição química dos monômeros envolvidos. Variações bruscas na temperatura podem desencadear a formação descontrolada de radicais e interferir na quantidade de cavidades impressas. Cabe ressaltar a necessidade de conduzir a reação na ausência de oxigênio por meio de purga de nitrogênio, argônio ou degaseificação do meio reacional em banho de ultrassom. A presença de oxigênio dissolvido no meio reacional pode prejudicar a formação de radicais livres (SELLERGREN, 2001).

O iniciador 2,2-azobisisobutironitrila é o muito descrito na síntese de MIPs, pois tem uma velocidade de clivagem térmica, com geração dos radicais livres, a temperaturas relativamente moderadas, em torno de 50 a 60°C (FIGUEIREDO et al., 2008; FERNANDES, 2012).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Padrões, matérias-primas farmacêuticas, reagentes e solventes

Todos reagentes utilizados na síntese polimérica foram adquiridos da Sigma-Aldrich: 2,2'-azobisisobutironitrila (AIBN); 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA) (99%, densidade 1.073 g/mL, peso molecular 130.14 g/mol); ácido metacrílico (99%, densidade de 1.015 g/mL, peso molecular 86.09 g/mol); etileno glicol dimetacrilato (EDGMA) (Sigma-Aldrich) (98%, densidade de 1.051 g/mL, peso molecular 198.22 g/mol).

Os reagentes e solventes utilizados foram: Ácido acético 99,8% P.A. (Neon); ácido clorídrico 37% P.A. ACS (Neon); ácido (orto) fosfórico 85% P.A. (Neon); água ultrapura (produzida usando sistema de ultrapurificação, incluindo osmose reversa, marca Milli-Q®); cloreto de sódio P.A. ACS (Dinâmica); diclorometano grau P.A. (Neon); hidróxido de sódio (Neon); metanol grau HPLC (Êxodo) e trietanolamina P.A. (TEA) (Dinâmica).

O aciclovir padrão foi adquirido da Sigma-Aldrich. Envase/lote: P500254. Teor: 94,9% tal qual. Umidade: 4,7% determinada por Karl Fisher. Guanina: 0,3%. Impurezas: 0,4% e o insumo farmacêutico ativo (IFA) aciclovir foi fabricado pela empresa Zhejiang Zhe, Origem: China, Lote: 071103.

4.1.2 Equipamentos e acessórios

Tabela 1 – Equipamentos e acessórios utilizados durante o estudo.

Equipamento/Acessório	Modelo	Marca
Agitador Magnético com aquecimento	C-MAG-HS-7	IKA
Banho de Ultrassom	Utrasonic Clear	Unique
Balança Analítica de Precisão		Shimadzu
Capela de Exaustão		
Centrífuga Refrigerada	Z 400 K	Hermle
Destilador de Água		Cristófoli
Estufa de Secage		

Espectrofotômetro Ultravioleta-visível (UV-Vis)	AJX-6100PC	Micronal
Cubeta de Quarto com caminho óptico 1 cm e volume de 3,5 ml		
Medidor de pH		Hanna
Equipamento por espalhamento dinâmico de luz	Zeta Sizer Nanosurf	Malvern
Micropipetadores Automáticos de volume ajustável (100 – 1000 µL e 500 a 5000 µL)		
Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)		Jeol
Sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector ultravioleta (CLAE-UV)	Alliance	Water
Sistema de Ultrapurificação de água incluindo osmose reversa	Milli-Q [®]	
Vidrarias e utensílios gerais de laboratório (balões volumétricos, bastões de vidro, béqueres, provetas, tubos de ensaio com tampas, entre outros.)		

4.2 Métodos

4.2.1 Preparo de soluções

Para preparo da solução salina isotônica, dissolveu-se 0,85 g de cloreto de sódio em 100 mL de água ultrapura.

Para preparo do fluido gástrico simulado sem enzimas (FGSSE), usou-se 7,0 mL de ácido clorídrico 37% P.A. e 2,0 g de cloreto de sódio diluídos em 1000 mL de água ultrapura. O pH determinado após homogeneização foi de aproximadamente 1,2.

Para preparo do tampão fosfato 0,025 mol.L⁻¹ pH 6,8 com salina 0,85%, dissolveu-se 3,53 g de fosfato de sódio dibásico, 2,99 g de fosfato de sódio monobásico, 0,85 g de cloreto de sódio em água ultrapura e completou-se o volume para 1000 mL com o mesmo solvente. O pH foi ajustado para 6,80, se necessário, usando ácido fosfórico 20% (v/v) ou solução de hidróxido de sódio 0,2 mol.L⁻¹.

4.2.2 Metodologia analítica para quantificação de aciclovir

As condições cromatográficas para análise do aciclovir foram definidas em estudo anterior do grupo de pesquisa (FERREIRA *et al.*, 2022). A metodologia analítica foi parcialmente validada conforme os critérios da Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 166, de 24 de julho de 2017, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que dispõe sobre a validação de métodos analíticos (BRASIL, 2017).

A quantificação do aciclovir foi realizada por CLAE-UV. As condições cromatográficas para análise do aciclovir incluíram separação em modo fase reversa usando colunas cromatográficas da marca Waters, modelo XTerra, com dimensões de 250mm x 4,6 mm; 5 µm de diâmetro das partículas; com recheio octilsilano (C₈). A fase móvel foi uma mistura de trietilamina (TEA) a 0,5% v/v com pH ajustado com ácido fosfórico para 3,0 (95%) e metanol (5%). O volume de injeção foi de 50 µL. A vazão de fase móvel foi de 1,0 mL/minuto, forno a 30 °C, tempo de corrida de 10 minutos e detecção UV a 254 nm. Todas as soluções injetadas em sistema CLAE-UV foram previamente filtradas usando filtro de seringa de PVDF hidrofílico com porosidade de 0,45 µm. A quantificação foi realizada usada curva analítica diluída em FGSSE no intervalo de concentrações de 0,5 a 50,0 µg/mL.

Para o preparo da solução aquosa da fase móvel, adicionou-se 5 mL da solução de TEA em balão volumétrico de 1 L contendo aproximadamente 900 mL de água ultrapura. Adicionou-se em seguida 1 mL de ácido fosfórico P.A, adicionando mais ácido fosfórico até obter um pH final de 3,0 usando um medidor de pH calibrado. O volume foi ajustado para 1 L com água ultrapura. A solução aquosa da fase móvel foi filtrada à vácuo usando membrana hidrofílica de PVDF com porosidade de 0,45 µm.

4.2.3 Síntese e modificação das partículas de polímero de impressão molecular

O protocolo de síntese de MIPs por precipitação foi adaptado dos trabalhos desenvolvidos por Sambe e colaboradores (2006) e Ruela e colaboradores (2016, 2018). Inicialmente o sistema de síntese foi montado e em seguida adicionou-se 150 mL do solvente porogênico ao balão volumétrico, este solvente porogênico foi uma mistura de acetonitrila: diclorometano, 3:1 v/v, posteriormente adicionou-se o aciclovir (1 mmol, 225 mg) e os monômeros funcionais (ácido metacrílico, 6 mmol, 510 µL; HEMA, 15 mmol, 1,84 mL). Em

seguida, foram adicionados o agente de ligação cruzada (14 mmol, 2,7 mL) e o iniciador radicalar (AIBN, 0,2 mmol, 50 mg). A mistura reacional foi mantida em ultrassom por 30 minutos, e depois aquecida a 80 °C por 6 h. Um polímero controle não-impresso (NIP) foi sintetizado do mesmo modo, porém, na ausência de aciclovir. A secagem do solvente foi realizada mantendo o meio reacional em aquecimento na chapa magnética a 80 °C, porém com o sistema aberto e a capela de exaustão ligada. Tal procedimento durou em torno de 2 h, observando-se a evaporação do solvente. O material foi mantido em estufa por 30 minutos a 50 °C. Ao final da secagem, o material seco foi pesado e depois acondicionado em frascos de polietileno com tampa.

O rendimento da síntese foi calculado a partir da relação entre a massa teórica calculada de material polimérico (100%) e a quantidade real sintetizada, determinada por pesagem logo após a síntese e secagem do solvente porogênico. A massa polimérica teórica total calculada (100%) corresponde aos valores de 5,55 g e 5,33 g para MIP e NIP, respectivamente.

4.2.4 Lavagem das partículas de polímero de impressão molecular

A etapa de lavagem para remoção do aciclovir (*template*) do material polimérico, bem como remoção dos reagentes e solventes residuais da síntese, foi padronizada (RUELA; FIGUEIREDO; PEREIRA, 2014; RUELA *et al.*, 2016). O material polimérico foi acondicionado em tubos de vidro com tampa e misturado com 8 mL de FGSSE. A dispersão das partículas poliméricas no FGSSE foi mantida em banho de ultrassom por 20 minutos, e depois submetida a centrifugação (810 g por 15 minutos) e o sobrenadante límpido foi analisado por varredura espectral de 190-350 nm usando um espectrofotômetro UV-Vis.

Foram realizados ciclos consecutivos de lavagem até observar o desaparecimento das bandas de absorção do aciclovir na região espectral do UV, analisando o pico de absorção em 254 nm e um ombro próximo em 274 nm, característicos da presença de aciclovir na solução de lavagem (FGSSE).

4.2.5 Estudos de caracterização das partículas poliméricas

A análise do diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersão do MIP e NIP foi realizada usando espalhamento dinâmico da luz. O potencial zeta foi determinado no mesmo equipamento pela mobilidade em campo eletroforético das partículas poliméricas em diferentes

meios aquosos, variando o pH. Para todas estas análises, o material polimérico foi disperso em diferentes meios aquosos (água ultrapura, tampão fosfato pH 6,8, salina e FGSSE), na proporção de 1:1000 (v/v), e as medidas realizadas em cubeta modelo DTS-1070. A condutividade dos meios aquosos também foi determinada.

A morfologia das partículas poliméricas (MIP e NIP) no estado seco foi caracterizada por MEV. Para realizar a análise por imagem, a amostra de pó seco foi disposta em uma fita adesiva preta, na forma de uma fina camada de material polimérico, evitando aglomerados do pó. Logo após, a amostra foi recoberta com uma fina camada de carbono, obtendo imagens com aumentos de 5500x e 13000x.

4.2.6 Adsorção do aciclovir nas partículas poliméricas

Estudos para caracterização da adsorção do aciclovir nas partículas poliméricas foram realizados para avaliar a seletividade do MIP em relação ao NIP somente em solvente orgânico (metanol), ou seja, um meio apolar (RUELA; FIGUEIREDO; PEREIRA, 2014; RUELA *et al.*, 2016). Para isso, a adsorção do aciclovir nas partículas poliméricas foi avaliada em metanol, por se tratar de um solvente apolar, favorecendo as interações fármaco-polímero. A quantidade de partículas poliméricas foi mantida constante, variando-se a quantidade de aciclovir disponível para adsorção no material polimérico.

O procedimento consistiu na pesagem quantitativa de 20,0 mg de material polimérico em tubos de vidro com tampa. Adicionaram-se 5 mL de solução de aciclovir em diferentes concentrações preparada em metanol. As concentrações das soluções metanólicas de aciclovir, analisadas em triplicata, foram 40 µg/mL, 100 µg/mL, 160 µg/mL, 200 µg/mL, 240 µg/mL, 320 µg/mL e 400 µg/mL, correspondendo às massas do fármaco de 250 µg, 500 µg, 800 µg, 1000 µg, 1300 µg, 1500 µg e 2000 µg. Após 24 horas em repouso a temperatura ambiente, realizou a diluição das amostras em FGSSE, dentro do intervalo linear do método por CLAE-UV (0,5 a 50,0 µg/mL). Para isso, pipetou-se 2 mL da solução metanólica contendo o aciclovir para balão volumétrico de 10 mL, ajustando-se o volume com FGSSE.

A quantidade de aciclovir adsorvida nas partículas poliméricas foi determinada indiretamente pela diferença entre quantidade ligada após o equilíbrio em solução e a quantidade inicial em solução.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese das partículas poliméricas por polimerização por precipitação

A etapa de síntese dos polímeros (**Figura 5**) apresentou uma dificuldade inicial devido à baixa solubilidade do aciclovir no solvente porogênico. Não foi possível solubilizar totalmente a massa do fármaco no solvente porogênico, porém procedeu com a síntese uma vez que se considerou que o meio reacional estava supersaturado com aciclovir, devido ao aquecimento a 80°C.

Figura 5 - Etapas da síntese utilizando a técnica de polimerização por precipitação.



a. Antes do início da polimerização (transparente)



b. Reação de polimerização em andamento (opaco)

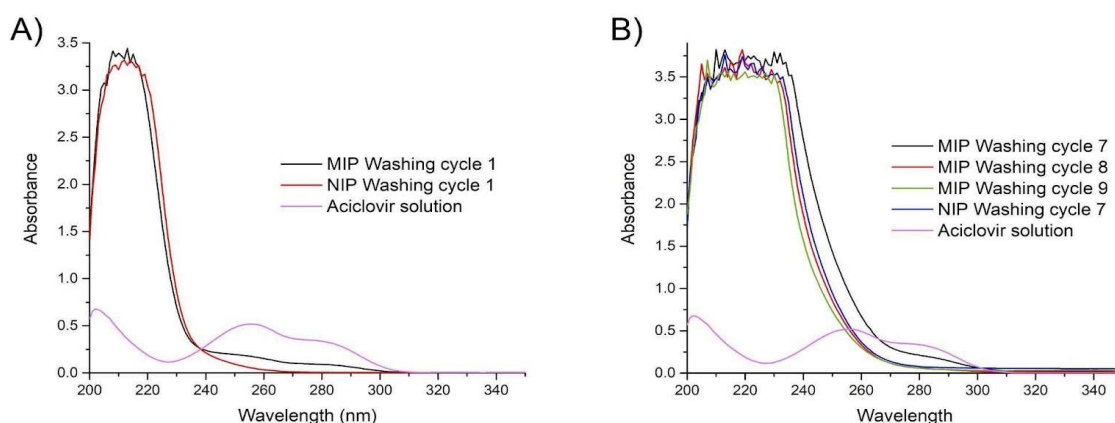


- c. Secagem do solvente porogênico em capela de exaustão
- d. Montagem do reator

Fonte: Do autor, 2021.

A etapa de remoção do aciclovir das partículas poliméricas foi realizada, sendo o procedimento monitorado por varreduras espectrais na região do UV (**Figura 6**). Foram realizados 9 ciclos de lavagem para completa remoção do aciclovir, não sendo mais detectados indícios da presença do fármaco no sobrenadante (solução de lavagem, FGSSE) a partir do sétimo ciclo de lavagem. O aciclovir é solúvel no FGSSE, e por isso o mesmo favorece a remoção do fármaco do material polimérico. Por fim, o material foi seco em estufa, apresentando aspecto de pó branco, finamente dividido. O rendimento da reação após a síntese foi de 87,9% para o NIP (4,69 g de material na forma de pó branco e fino) e 85,2% para o MIP (4,73 g de material na forma de pó branco e fino).

Figura 6 - Ciclos de lavagem das partículas poliméricas.



Fonte: Do autor, 2021.

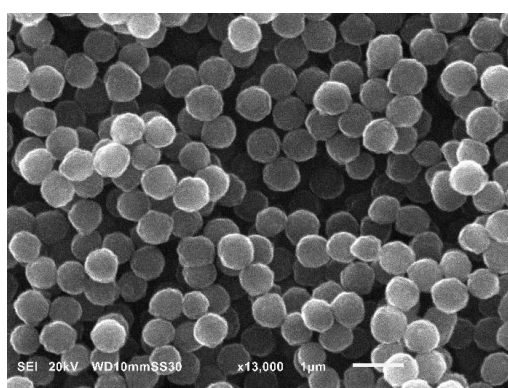
5.2 Caracterização das partículas poliméricas

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) é um tipo de microscopia em que um feixe de elétrons focalizado varre a superfície da amostra, interagindo com a matéria, gerando diferentes tipos de sinais que podem oferecer informações sobre a morfologia e organização das partículas analisadas. É importante frisar que toda análise é realizada de forma anidra, ou seja, com a amostra seca sem conter umidade (DEDAVID; GOMES; MACHADO, 2007).

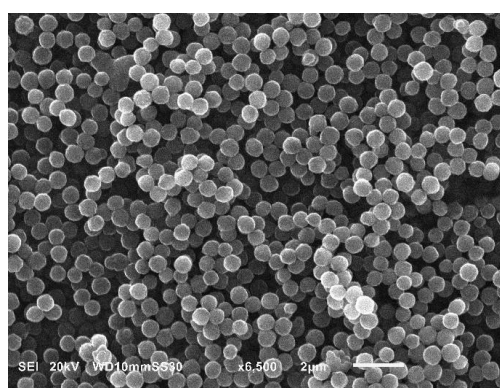
As imagens geradas pelo MEV mostraram um tamanho homogêneo entre as partículas poliméricas de ambas as amostras (MIP e NIP), com visualização da morfologia esférica. Esta

era uma característica esperada da técnica de polimerização por precipitação (SAMBE *et al.*, 2006). Nota-se pela escala da imagem do equipamento que as partículas do MIP no estado seco possuem tamanho menor que 1 μm , como mostrado nas **Figuras 7a e 7b**. As imagens de MEV para as partículas do NIP indicaram resultados similares, com partículas morfológicamente esféricas e de tamanho homogêneo, porém com tamanho menor que as partículas do MIP (**Figuras 7c e 7d**). Neste caso, sugere-se que a presença do aciclovir no meio reacional pode exercer algum efeito no tamanho das partículas formadas durante a etapa de síntese. Estudos anteriores do grupo mostraram resultados similares usando a nicotina como *template*, com partículas de MIP maiores que as partículas de NIP (RUELA *et al.*, 2018). Em outro estudo do grupo, usando a donepezila como *template*, as partículas de MIP tiveram alteração na morfologia, com partículas mais polidispersas, enquanto as partículas de NIP apresentaram-se homogêneas e monodispersas (RUELA *et al.*, 2016). Este comportamento pode estar associado às interações fármaco: polímero.

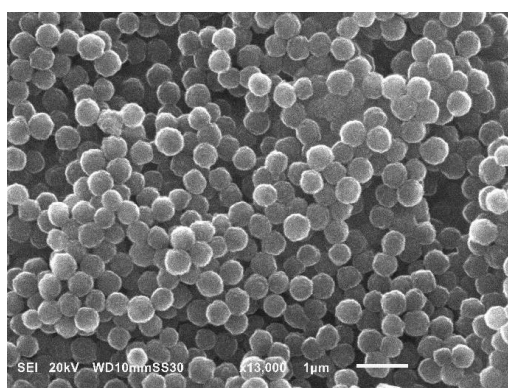
Figura 7 - Morfologia das partículas poliméricas analisadas por MEV.



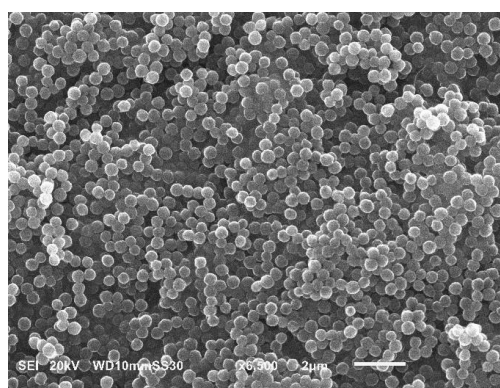
a. MIP. Aumento 13.000x



b. MIP. Aumento 5.500x



c. NIP. Aumento de 13.000x



d. NIP. Aumento de 5.500 x

Fonte: Do autor.

O potencial zeta se relaciona às forças de atração e repulsão entre as partículas poliméricas em determinado meio aquoso, com variação de pH e podendo conter eletrólitos. Nesta técnica, caracteriza-se o diâmetro hidrodinâmico, ou seja, o diâmetro da partícula solvatada em ambientes aquosos (CLOGSTON; PATRI, 2011). O inchaço das partículas com meio aquoso (*swelling*) deve ser também considerado, aumentando seu tamanho nesta dispersão em meios aquosos (RUELA *et al.*, 2016). A caracterização das partículas de MIP e NIP foram realizadas utilizando diversos meios (FGSSE, tampão fosfato, solução salina e água ultrapura), onde se variou a condutividade e o pH. Os resultados da caracterização das partículas em dispersão aquosa estão apresentados na **Tabela 2**.

O equipamento utilizado para medição do potencial zeta também realiza a determinação da condutividade das amostras, de forma a avaliar a interferência da concentração iônica nos resultados do potencial zeta e diâmetro hidrodinâmico, pois a presença de íons relaciona-se com a solvatação das partículas em meio aquoso, causando interferência nos resultados de análise.

Tabela 2 - Caracterização das partículas poliméricas usando espalhamento dinâmico da luz (n=3).

PARTÍCULAS POLIMÉRICAS	MEIO AQUOSO	DIÂMETRO HIDRODINÂMICO (NM)	PDI**	POTENCIAL ZETA (MV)	CONDUTIVIDADE (MS/CM)
NIP	FGSSE*	703 ± 47	0,559 ± 0,023	3,9 ± 0,6	37,2 ± 0,0
	Tampão fosfato pH 6,8 salina	1321 ± 145	0,493 ± 0,139	-15,6 ± 0,6	18,3 ± 0,7
	Salina	356 ± 204	0,531 ± 0,029	-7,8 ± 1,5	17,2 ± 1,7
	Água ultrapura	639 ± 6	0,253 ± 0,056	-32,8 ± 4,4	0,3 ± 0,0
MIP	FGSSE*	1425 ± 175	0,618 ± 0,096	3,8 ± 0,8	36,5 ± 0,1

Tampão fosfato pH 6,8 salina	1205 ± 168	0,557 ± 0,040	-8,8 ± 1,0	18,6 ± 1,0
Salina	1539 ± 278	0,557 ± 0,040	-4,9 ± 0,5	16,7 ± 0,7
Água ultrapura	950 ± 40	0,327 ± 0,013	-31,3 ± 0,9	0,0 ± 0,0

*FGSSE, fluido gástrico simulado sem enzimas; **PDI, índice de polidispersão.

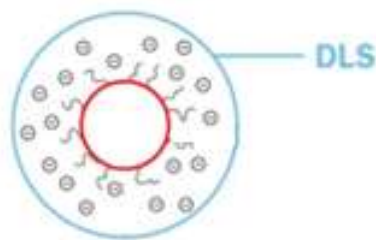
Fonte: Do autor.

Podemos observar que o PDI nos meios FGSSE, tampão fosfato e solução salina foram maiores que 0,3, indicando aglomeração das partículas devido aos menores valores de potencial zeta, prevalecendo forças atrativas entre as partículas. Valores altos de potencial zeta, maiores que 20 mV, em módulo, geralmente indicam uma maior prevalência de forças repulsivas, estabilizando uma dispersão de partículas poliméricas devido à alta densidade de cargas eletrostáticas.

O equipamento de análise utilizado para calcular o diâmetro hidrodinâmico fornece resultados em nanômetros, utilizando a técnica de espalhamento dinâmico de luz. O espalhamento dinâmico de luz (*Dynamic light scattering*, DLS) é utilizado para a avaliação do tamanho de partículas em suspensão (CLOGSTON; PATRI, 2011). Quando uma partícula é irradiada por uma fonte de luz (*laser*), esta partícula irá espalhar luz em todas as direções e a flutuação da intensidade de luz em um determinado ângulo em função do tempo fornece informações sobre o coeficiente de difusão e seu tamanho.

Podemos destacar também as variações de diâmetro hidrodinâmico nos meios aquosos avaliados, demonstrando que em cada ambiente em que as partículas são expostas um comportamento diferente ocorre (**Tabela 1**). Este comportamento se deve à interação da superfície da partícula com os íons presentes no meio aquoso, pois ao intumescer na presença de água as partículas incham (*swelling*), aumentando seu diâmetro hidrodinâmico (**Figura 8**).

Figura 8 – Representação esquemática do diâmetro hidrodinâmico



Fonte: FRITSCH (com modificações). Disponível em: <https://www.fritsch.es/medicion-de-particulas/conocimientos-de-fritsch/diametro-hidrodinamico/>. Acesso em: 21/10/22

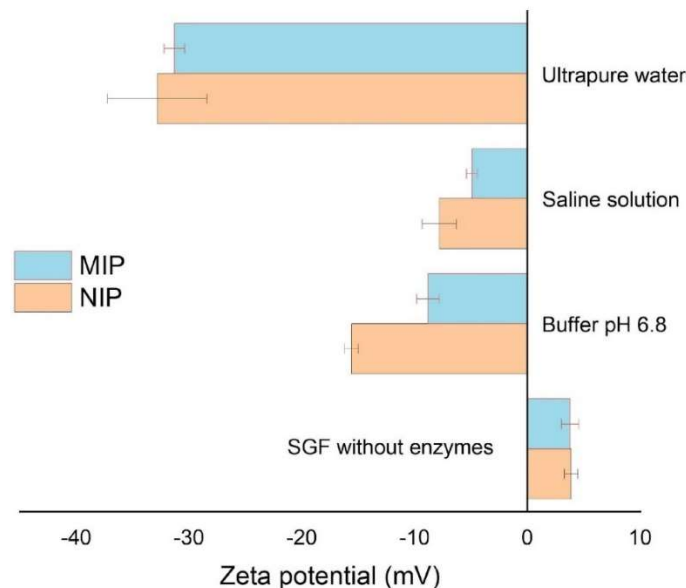
A absorção de água pela partícula em meio aquoso também pôde ser observada pela diferença entre o tamanho no estado seco (MEV) e diâmetro hidrodinâmico em dispersão aquosa (medida por espalhamento dinâmico da luz), conforme resultados apresentados anteriormente nesta seção. As partículas de MIPs são hidrofóbicas por natureza devido ao agente de ligação cruzada (EDGMA) e não se solubilizam em meios aquosos, porém podem aumentar de tamanho neste meio, pois absorvem água e intumescem, aumentando seu diâmetro hidrodinâmico.

Nos meios com maior condutividade, como o tampão fosfato, FGSSE e salina, as determinações de diâmetros hidrodinâmicos são muito afetadas pelas cargas dos eletrólitos em solução, podendo acentuar a aglomeração de partículas pelos valores de potencial zeta (**Figura 9**). Este comportamento foi evidenciado pelos maiores valores de PDI, já que no meio com baixa condutividade (condutividade próxima de 0 em água ultrapura), observou-se um menor valor de PDI, indicando que as partículas se aglomeraram menos (**Figura 10**).

Devido à presença do monômero ácido metacrílico na matriz das partículas poliméricas (MIP e NIP), observa-se uma alteração nos valores de potencial zeta. O grupo ácido carboxílico do monômero ácido metacrílico possui uma constante de dissociação ácida (pK_a) igual a 4.7, permanecendo predominante ionizado em valores de pH mais alcalinos na forma de ânion (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2023). Por este motivo, nos meios contendo água, salina e tampão fosfato, os valores de potencial zeta são negativos. Em água ultrapura, praticamente isenta de íons, o potencial zeta tem um valor mais negativo quando comparado aos outros meios, devido à ausência de cátions em solução. Os cátions têm um efeito de contra-íon na superfície da partícula, neutralizando as cargas negativas presentes

na partícula de polímero, o que resulta em um valor de potencial zeta mais brando nos outros meios, o que não se repete para as partículas presentes na água ultrapura. De modo contrário, no FGSSE, os grupos carboxílicos estão na forma não ionizada, e por isso, observa-se um potencial zeta tendendo ao zero, com prevalência de forças atrativas. Estes resultados confirmam que o ácido metacrílico foi introduzido na matriz das partículas poliméricas de MIP e NIP.

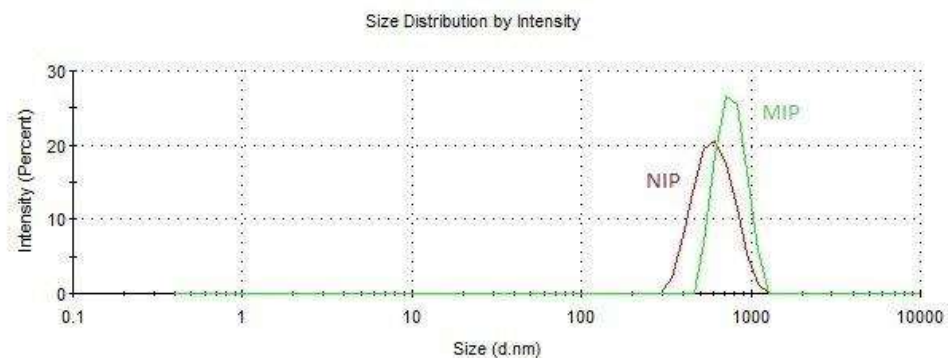
Figura 9 – Variação do potencial zeta das partículas em diferentes meios aquosos: FGSSE, água ultrapura, tampão fosfato pH 6,8 salina e solução salina 0,85%.



Fonte: Do autor.

Misturas de monômeros funcionais também podem ser usadas para formação de cavidades mais específicas no polímero. A copolimerização e complexação do *template* durante a síntese podem ocorrer. Além da utilização do ácido metacrílico, o HEMA (2-hidroxietil metacrilato) é outro monômero utilizado na síntese no MIP. Diferentemente do ácido metacrílico, o HEMA não se ioniza, podendo interagir com o aciclovir principalmente por ligações de hidrogênio (CORMACK; ELORZA, 2004).

Figura 10 - Distribuição de tamanho das partículas poliméricas em água ultrapura.



Fonte: Do autor.

5.2 Adsorção do aciclovir nas partículas poliméricas

Após realizar a caracterização das partículas poliméricas, avaliaram-se as características de adsorção do aciclovir no material produzido. Os resultados indicaram uma baixa taxa de ligação do aciclovir, independente da concentração de fármaco. Em ambas as matrizes poliméricas, MIP ou NIP, evidenciou-se uma maior repulsão do fármaco hidrofílico das partículas poliméricas hidrofóbicas. É importante destacar que a adsorção foi avaliada somente em metanol, um solvente orgânico apolar.

A hidrofobicidade do material polimérico é extensamente relacionada ao agente reticulante EDGMA. Em termos práticos, não houve adsorção maior que 1% do aciclovir em solução nos materiais poliméricos. Mesmo tendo incluído o monômero HEMA na síntese, que possui grupos hidroxila, aumentando a compatibilidade das partículas poliméricas com água, observou-se a baixa afinidade do fármaco hidrofílico pelos MIPs ou NIPs sintetizados. Este não foi um resultado esperado, e demonstrou que o material não foi viável para ser utilizado como um excipiente avançado que permite interações não-covalentes entre fármaco-polímero, uma vez que em solvente orgânico (metanol), espera-se principalmente interações por meio de ligações de hidrogênio. Sendo assim, os MIPs sintetizados podem ser ainda avaliados em meio aquoso, avaliando interações eletrostáticas do MIP em meio com $\text{pH} > 2,7$ em que o ácido metacrílico esteja majoritariamente com cargas negativas, enquanto o aciclovir esteja protonado, com carga positiva.

Outra possibilidade é mudar o protocolo de síntese, mudando o tipo ou concentração do agente de ligação cruzada ou aumentar a concentração de monômero hidrofílico, no caso o HEMA.

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que, os polímeros MIP e NIP (controle) foram sintetizados com sucesso pela metodologia de precipitação por polimerização usando aciclovir como molécula modelo. Devido a baixa solubilidade do fármaco em solventes orgânicos, em razão do caráter hidrofílico do fármaco, a síntese do MIP foi conduzida com o fármaco parcialmente solúvel a 80 °C, na forma de solução supersaturada. Estudos empregando MEV indicaram que as partículas poliméricas apresentaram uma morfologia regular e esférica, com tamanho sub-micrométrico, com as partículas de NIP apresentando tamanho ligeiramente menor que as partículas de MIP e estudos empregando espalhamento dinâmico da luz indicaram que as partículas se comportam diferentemente em meios aquosos distintos, variando o potencial zeta, PDI e diâmetro hidrodinâmico, conforme o pH e a condutividade do meio aquoso, em água ultrapura, o valor de PDI foi menor para as partículas poliméricas, indicando uma boa dispersão em meio aquoso, com menor aglomeração, o que foi atribuído ao alto valor de potencial zeta, maior que -30 mV.

A avaliação dos MIPs sintetizados neste protocolo avaliado como adjuvantes farmacêuticos para formulações de liberação modificada de aciclovir não apresentou resultados promissores, devido à baixa afinidade do aciclovir pelas partículas poliméricas em solvente orgânico (metanol), resultando em taxas de adsorção insignificantes, a hidrofobicidade das partículas poliméricas, principalmente pelo agente reticulante EDGMA, em contraste à hidrofiliabilidade do aciclovir supostamente levou à baixa capacidade adsortiva, uma vez que em metanol avalia-se interações não-covalentes do material e *template* principalmente ligações de hidrogênio.

A avaliação da adsorção deste material em meio aquoso, com pH maior que 5, pode ser testado futuramente, avaliando a adsorção do fármaco em um meio em que permaneça totalmente ionizado com carga positiva, avaliando suas interações iônicas com o ácido metacrílico na matriz polimérica, ionizado com carga negativa, ainda pode-se estabelecer mudanças no protocolo de síntese para se obter um material mais hidrofílico, como por exemplo: reduzir a quantidade de EDGMA, alterar o tipo de agente reticulante e/ou aumentando a quantidade de monômero hidrofílico HEMA.

REFERÊNCIAS

ARNAL, J. *et al*; Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: aciclovir. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, n. 12, p. 5061-73, 2008.

ALEXANDER, C. *et al*. Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years up to and including. **Journal of Molecular Recognition**, v. 19, n. 2, p. 106-80, 2006.

ALVAREZ-LORENZO, C.; CONCEIRO, A. Molecularly imprinted polymers for drug delivery. **Journal of Chromatography B**, v. 804, n. 1, p. 231-45, 2004.

ANDERSSON, L. I. Molecular imprinting: developments and applications in the analytical chemistry field. **Journal of Chromatography B**, v. 745, n. 1, p. 3–13, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. **Diário Oficial da União**, 25 de julho de 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 6ª Ed. Brasília, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Consultoria Jurídica/Advocacia Geral da União. **Nota Técnica Nº205/2013 – (atualizada em 19/11/2015)**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/conjur/demandas-judiciais/notas-tecnicas/notas-tecnicas-medicamentos/notas-tecnicas/a/aciclovir.pdf>. Acesso em: 19/11/2022

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Bulário Eletrônico**. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/q/?nomeProduto=ACICLOVIR>. Acesso: 19/11/2022.

BODOKI, A. E.; IACOB, B. C.; BODOKI, E. Perspectives of molecularly imprinted polymer-based drug delivery systems in cancer therapy. **Polymers**, v. 11, n. 12, p. 2085, 2019.

CARO, E.; MARCE, R.M; BORRULL, F. Application of molecularly imprinted polymers to solidphase extraction of compounds from environmental and biological samples. **Trends in Analytical Chemistry** 25, 143-153, 2006.

CHAPUIS, F *et al.* Retention mechanism of analytes in the solid-phase extraction process using molecularly imprinted polymers: Application to the extraction of triazines from complex matrices. **Journal of Chromatography B**, v. 804, n. 1, p. 93-101, 2004.

CLOGSTON, J. D.; PATRI, A. K. Zeta potential measurement. In: Characterization of nanoparticles intended for drug delivery. In: **Characterization of nanoparticles intended for drug delivery**. Humana Press, 2011. p. 63-70.

CRAIG, C. R., STITZEL, R. E. **Modern Pharmacology with clinical applications**. 6a ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, USA. 2004. 824 p.

COEN, D. M.; SCHAFFER P. A. Antiherpesvirus Drugs: A promising spectrum of new drugs and drug targets. **Nature Reviews - Drug Discovery**, v. 2, n. 4, p. 278-288, 2003

CORMACK, P. A. G.; ELORZA, A. Z. Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterization. **Journal of Chromatography B**, v. 804, p. 173-182, 2004.

DE CLERCQ, E. Recent highlights in the development of new antiviral drugs. **Current Opinion in Microbiology**, v. 8, p. 552-560, 2005

DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. **EdiPUCRS**. Porto Alegre. 2007. 60 p.

FERNANDES, R. M. T. Polímeros de Impressão Molecular para Extração Seletiva de Fármacos em Matrizes Biológicas e Determinação por LC-MS/MS e MS/MS. **Tese de Doutorado, UNICAMP**, Campinas, Brasil, 2012.

FERREIRA, P. G. S. *et al.* Métodos analíticos para determinação de aciclovir em formulações farmacêuticas de liberação prolongada. In: Encontro de Saberes 2022 - XXX Seminário de Iniciação Científica, 2022, Ouro Preto. **Anais eletrônicos** [...] Ouro Preto, 2022. Disponível em: <https://www.encontrodesaberes.ufop.br/gerar_pdf.php?id=13169>.

FIGUEIREDO, E. C.; DIAS, A. C. B.; ARRUDA, M. A. Z. Impressão molecular: uma estratégia promissora na elaboração de matrizes para a liberação controlada de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 361-375, 2008.

FRITSCH. *Diámetro Hidrodinámico*. **Conhecimentos Fritsch**. Disponível em: <https://www.fritsch.es/medicion-de-particulas/conocimientos-de-fritsch/diametro-hidrodinamico/>. Acesso em: 21/10/22.

HE, S. *et al.* Advances of molecularly imprinted polymers (MIP) and the application in drug delivery. **European Polymer Journal**, v. 143, p. 110179, 2021.

KLYSIK, K. *et al.* Acyclovir in the Treatment of Herpes Viruses – a Review. **Current Medicinal Chemistry**, v. 25, p. 1–18, 2018.

LI Q, CHEN N, YANG J, ZHOU M, ZHOU D, ZHANG Q, HE L. **Antiviral treatment for preventing postherpetic neuralgia**. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009;2(2). CD006866. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD006866.pub2>.

LOREGIAN, A. *et al.* Separation methods for acyclovir and related antiviral compounds. **Journal of Chromatography B**, v. 764, n. 1–2, p. 289–311, nov. 2001.

LUPI, O. Herpes simples. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 75, n. 3, p. 261-275, 2000.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. "PubChem Compound Summary for CID 4093, **Methacrylic acid**" **PubChem**, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Methacrylic-acid>. Acesso em 18 de janeiro de 2023.

PARISI, O. I. *et al.* The evolution of molecular recognition: from antibodies to molecularly imprinted polymers (mips) as artificial counterpart. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 13, n. 1, p. 12, 2022.

PEREIRA, M. B. C. Detecção do herpes virus humano 1 e 2 e do citomegalovirus nos gânglios trigeminais de cadáveres, através da técnica imunoenzimática, utilizando anticorpos monoclonais, 93fls. **Dissertação (Mestrado em Medicina área de concentração Dermatologia)** – Universidade Federal do Rio de Janeiro - Rio de Janeiro. 2002

PEÇANHA, B. R. B.; DIAS, L. R. S.; SPINELLI, E.; MURI, E. M. F. Polímeros de Impressão Molecular Obtidos Através de Polimerização por Precipitação e sua Aplicação na Técnica de Extração em Fase Sólida. **Revista Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 1-14, 2012.

POMA, A.; TURNER, A. P.; PILETSKY, S. A. Advances in the manufacture of MIP nanoparticles. **Trends in Biotechnology**, v. 28, n. 12, p. 629-637, 2010.

REOLON, J. B. *et al.* Co-encapsulation of acyclovir and curcumin into microparticles improves the physicochemical characteristics and potentiates in vitro antiviral action: Influence of the polymeric composition. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 131, p. 167–176, 2019

RUELA, A. L. M. et al. Adsorption and release of nicotine from imprinted particles synthesised by precipitation polymerisation: Optimising transdermal formulations. **European Polymer Journal**, v. 100, p. 67-76, 2018.

RUELA, A. L. M. et al. Molecularly imprinted microparticles in lipid-based formulations for sustained release of donepezil. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, p. 114-122, 2016.

RUELA, A. L. M.; FIGUEIREDO, E. C.; PEREIRA, G. R. Molecularly imprinted polymers as nicotine transdermal delivery systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 248, p. 1-8, 2014.

RUELA, A. L. Polímeros impressos molecularmente como sistemas para liberação transdérmica de nicotina. 2012. 102 f. **Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas**, Alfenas, MG, 2012.

SAMBE, H. et al. Uniformly-sized, molecularly imprinted polymers for nicotine by precipitation polymerization. **Journal of Chromatography A**, v. 1134, n. 1-2, p. 88-94, 2006.

SELLERGRÉN, B. *Molecularly Imprinted Polymers: Man-made Mimics of Antibodies and their Applications in Analytical Chemistry*, **Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry**. Elsevier Amsterdam 23, 2001.

SHI, Y. *et al.* Selective solid-phase extraction of cholesterol using molecularly imprinted polymers and its application in different biological samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 42, n. 5, p. 549–555, 2006.

STAHL, J. P.; MAILLES, A. Herpes simplex virus encephalitis update. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 32, n. 3, p. 239-243, 2019

SOUSA, M. D.; BARBOSA, C. M. Molecularly imprinted polymers for controlling drug release. Part 1: synthesis and characterization. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1609-1619, 2009.

SUSANTAKUMAR, P.; GAUR, A.; SHARMA, P. Comparative pharmacokinetics, safety and tolerability evaluation of acyclovir 800 mg tablet in healthy indian adult volunteers under fasting and non-fasting conditions. **Journal of Bioequivalence and Bioavailability**, v. 3, n. 6, p. 128–138, 2011.

SPIVAK, D. A. Optimization, evaluation, and characterization of molecularly imprinted polymers. **Advanced Drug Delivery Reviews** 57, 1779-1794, 2005.

TARLEY C. R. T., SOTOMAYOR M. P. T., KUBOTA L. T., Polímeros Biomiméticos em Química Analítica. Parte I: Preparo e Aplicações de MIP (‘*Molecularly Imprinted Polymer*’) em técnicas de extração e separação. **Química Nova**. v. 28, n. 6, p. 1076-1086, 2005.

TASHAKORI-SABZEVAR, F.; MOHAJERI, S. A. Development of ocular drug delivery systems using molecularly imprinted soft contact lenses. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 41, n. 5, p. 703-13, 2015.

UMPLEBY R. J. II *et al.* Characterization of the heterogeneous binding site affinity distributions in molecularly imprinted polymers. **Journal of Chromatography B**, v. 804, n. 1, p. 141-9, 2004.

WAGSTAFF, A. J., FAULDS, D.; GOA, K. L. Aciclovir. **Drugs**, v. 47, p. 153–205, 1994. <https://doi.org/10.2165/00003495-199447010-00009>

WHITCOMBE, M. J.; RODRIGUEZ, M. E.; VILLAR, P.; VULFSON, E. N. A new method for the introduction of recognition site functionality into polymers prepared by molecular imprinting-synthesis and characterization of polymeric receptors for cholesterol. **Journal of the American Chemical Society**, 117, 7105-7111, 1995.

ZAIDI, S. A. Molecular imprinted polymers as drug delivery vehicles. **Drug delivery**, v. 23, n. 7, p. 2262-2271, 2016.