

GILBERTO MATOS NETO

**APLICAÇÃO DE POLÍMEROS IMPRESSOS NA EXTRAÇÃO SELETIVA DE
CASEARINAS EM EXTRATOS DE *CASEARIA SYLVESTRIS***

Relatório de Pós-doutorado realizado na
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” na sede, Instituto de
Química da UNESP de Araraquara.

Supervisor(a): Prof.^a Dr.^a Maria del Pilar
Taboada Sotomayor
Co-supervisão: Dr. Ademar Wong

PROGRAMA DE PÓS-DOCTORADO DA UNESP

Araraquara-SP

2026

RESUMO

As casearinas são compostos bioativos extraídos das folhas de *Casearia sylvestris* com excelentes potencial de ação citotóxico, anti-inflamatório e antitumoral, trazendo uma perspectiva promissora para inúmeras aplicações farmacológicas. O presente projeto de pós-doutorado propõe sintetizar um material seletivo para avaliar sua aplicação na pré-concentração, extração e/ou purificação desses compostos do grupo das casearinas, a partir do extrato de *Casearia sylvestris* e/ou suas frações. Esse material seletivo sintetizado trata-se de polímeros molecularmente impressos (MIP) que serão avaliados nos extratos do produto natural. O MIP sintetizado mostrou uma capacidade de adsorção de cerca de 90% (com 3 mg de material) para 5 ppm de analito (casearina-D) que foi usada como molécula molde para a síntese desse material. Uma vez sintetizados o material (MIP e o material de controle NIP, *non-imprinted polymer*) foram avaliados na interação com a fração do extrato do produto natural e suas frações, visando verificar qual era a fração do extrato que permitiria obter maior adsorção seletiva da casearina. Neste sentido, a Fração 2 do extrato etanólico (EEt) da *Caearina sylvestris* foi a que permitiu obter resultados promissores, sendo que o MIP adsorveu cerca de 40% a mais de casearinas em relação ao NIP. Estes resultados mostraram que o material sintetizado é promissor para este tipo de aplicação, abrindo um leque de possibilidades para outros tipos de extratos.

Palavras chaves: *Casearia sylvestris*, polímeros de impressão molecular (MIP), extração, casearina, extrato etanólico, métodos analíticos.

1. INTRODUÇÃO

Casearia sylvestris Swartz, é uma erva medicinal tradicionalmente conhecida como guaçatonga ou chá de bugre. Investigações fitoquímicas dos extratos das folhas da *Casearia sylvestris* revelou a presença de inúmeros compostos bioativos dentre os quais os diterpenos clerodânicos bioativos descobriram 287 compostos bioativos dentre estes 152 diterpenos clerodânicos entre os quais 23 casearinas A-X [1-6]. A casearina é o principal constituinte de *C. sylvestris*, diterpenos clerodânicos bioativos com uma potente atividade citotóxica em baixas concentrações in vitro e ação antitumoral e antiulcerogênica [1-6].

Os diterpenos clerodânicos são diterpenos altamente oxigenado com núcleo tricíclico clerodânico altamente oxigenados, marcado pela presença de insaturações e hidroxilas esterificadas. O esqueleto estrutural consiste em um sistema decalinico formado por dois anéis A e B com duas metilas uma em C-8 (Me-17) e C-9 (Me-20) vinculado a uma cadeia lateral em C-9 com 6 carbonos (C-11 a C-16) onde aparece um dieno conjugado que pode variar em três formas isoméricas, além deste apresenta um terceiro anel diidrofurânico/diacetálico acompanhado de um substituintes oxigenados (R1 a R5, os quais podem ser ésteres, éteres, hidroxilas ou cetonas) que podem estar presentes nos carbonos 2, 6, 7, 18 e 19 [6,7]. **Figura 1**

A distinção entre suas respectivas bioatividades são atribuídas as substituições nas posições R1, R4, R5. As principais diferenças estruturais entre essas 23 casearinas e suas respectivas bioatividades são atribuídas às diferentes substituições e alterações que ocorre nas posições dos substituintes C-2 (R 1), C-6 (R 4), C-7 (R 5), C-18 (R 2) e C-19 (R3). no grupo éster. Os derivados convertidos das Cas (casearinas) CasD na posição C-6 por substituinte acil exercem redução da toxidade. Diferentemente as Cas G, H e I apresentam maior atividade citotóxica e antiproliferativa caracterizada pela ausência da função portadora de oxigênio em C-6 [6-9].

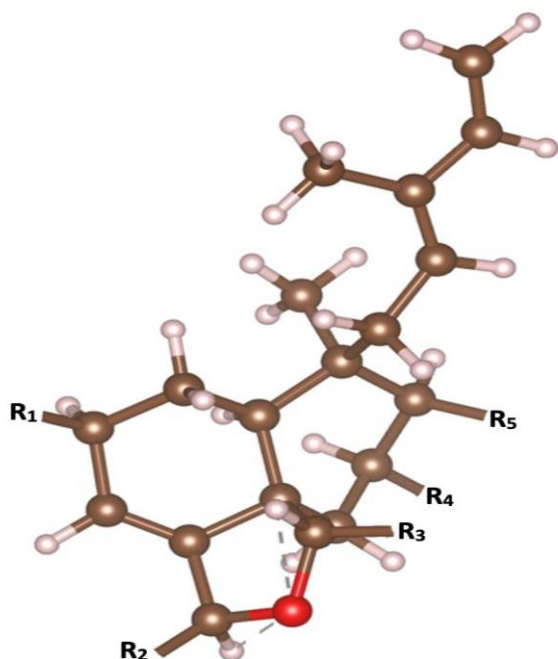


Figura 1- Representação do esqueleto básico dos diterpenos clerodânicos, suas formas isoméricas e seus respectivos substituintes oxigenados R₁ a R₅ que podem ser principalmente ésteres (ex. acetato, butanoato), éteres (metoxilas) e hidroxilas.

Fonte: Autor do trabalho

A casearina D apresenta alguns grupos farmacofóricos que sustenta a biotividade dessa molécula, conferindo propriedades farmacológica única; O Anel Lactona é fundamental para atividade citotóxica e antitumoral e reatividade a biomoléculas, o grupo éster está associado a permeabilidade, o grupo hidroxila (-OH) ajuda na modulação de atividade anti-inflamatória [6-10].

A similaridade da estrutura molecular das casearinas, sua baixa abundância na fonte vegetal, e sobretudo a presença de interferentes em extratos, torna difícil a extração, separação e purificação, por meio de técnicas fitoquímicas tradicionais [10,11].

Embora as casearinas apresentem centros farmacofóricos diferentes, existe uma grande similaridade molecular estrutural, o que dificulta a separação e isolamento das casearinas que podem está presente no extrato vegetal podendo co-eluir na cromatografia, como ocorre nos processos convencionais [10,11].

E mesmo que essas técnicas tenham suas vantagens elas são demoradas, custosas e normalmente pode consumir muito solvente, algumas vezes agressivos ao ambiente, além de alcançar rendimento ineficiente com baixa seletividade [10-13].

Deste modo o uso de técnicas analíticas inovadoras abre uma nova perspectiva para separação de compostos ativos das plantas com grande similaridade molecular, mesmo considerando a complexidade da matriz e a presença de interferentes [14].

A utilização de adsorventes de reconhecimento específico como os polímeros com impressão molecular, MIP (do inglês: *Molecularly Imprinted Polymers*) tem se mostrado rápido, eficiente, acessível, com alto grau de seletividade e sensibilidade para identificação e quantificação do analito de interesse [15,16].

Os polímeros de impressão molecular consistem em uma matriz polimérica altamente reticulada feita sob medida formando uma rede polimérica, onde se expõe em sua superfície sítio de reconhecimento específico, ou nanocavidades seletivas funcionais que se liga de modo complementar a uma molécula alvo ou análogos estruturais. [16,17].

A impressão molecular na prática acontece com a pré-polimerização onde o monômero funcional interage com o analito por meio de uma ligação covalente, não covalente ou semi-covalente, resultando na formação do complexo estável analito-monômero-funcional, a seguir é adicionado ao meio reacional, monômero estrutural e ativado por iniciador radicalar que promove ligação cruzada no polímero, resultando na formação da matriz polimérica rígida. Após a polimerização o template, molécula molde é extraída deixando expostas nanocavidades seletivas complementar ao alvo molecular [19,20].

A separação de matrizes complexas com a presença de interferente e com baixa concentração de analito de interesse tem sido o grande desafio para extração isolamento e separação de compostos bioativos presente nas plantas, exigindo algumas vezes um pré-tratamento da amostra [20]

A utilização de MIPs tem sido expressivamente aplicado como materiais adsorventes em processo de separação e pré-concentração e extração de analitos, atuando como adsorvente em técnica de separação como a

cromatografia líquida de alta eficiência ou eletroforese capilar, extração em fase sólida, sensores entre outros [15-20]

Uma vez que a maioria dos adsorventes convencionais aplicado a SPE apresenta seletividade limitada e insatisfatória. O uso dos polímeros molecularmente impressos em adsorventes convencionais potencializa muito a seletividade no processo de extração em fase sólida SPE, devido a sua alta seletividade em amostras reais, baixo custo e facilidade de preparo, sem interferência de efeito de matriz [20,21].

O MISPE consiste em método de pré-tratamento de amostras utilizando o MIP como adsorvente aplicados para análise amostras reais dentre os quais inclui o cartucho off-online MISPE, dispersão de fase sólida (MI-MSPD) e MISPE em coluna, os adsorventes MISPE utilizados são partículas MIP irregular, monolitos MIP e microesferas MIP [22,23].

A capacidade promissora da utilização de MIP-SPE reside no potencial de isolar seletivamente analitos de interesse presente no extrato vegetal e seus analogos estruturais de uma matriz complexa. Essa aplicação do MIP como solvente possibilita não somente o pré-tratamento e pré-concentração de uma amostra como também a limpeza, extração seletiva do analito alvo. Além disso o MIP permite que o analito seja pré concentrado ao mesmo tempo que se remove os interferentes da matriz [23,24].

Os polímeros molecularmente impressos têm sido utilizados e aplicados com sucesso na extração e separação de diversas matrizes de extratos vegetais, entre os quais alguns metabólitos secundários de origem vegetal, incluindo alguns terpenos como; flavonoides, alcaloides e fenóis[24,25].

A separação de compostos ativos tem apresentado resultados satisfatórios uma vez que o polímero pode adsorver seletivamente o template e seus análogos independente da complexidade da matriz [25]. Entretanto, não há registro na literatura da utilização de técnicas de extração por impressão molecular, utilizando o polímero para a extração seletiva de casearinas.

2. OBJETIVOS

Otimizar a síntese de um MIP seletivo à família das casearinas do tipo diterpenos clerodânicos.

Avaliar a capacidade de adsorção seletiva das casearinas diretamente de matrizes complexas das frações do extrato etanólico (EEt) da *Casearia sylvestris*.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Processo de sínteses do MIP

Dentre os materiais utilizados nesse período, os polímeros impressos molecularmente (MIP) foram sintetizado a partir dos seguintes reagentes **Tabela 1** : ácido acrílico (AA) como os monômero funcional (MF), que interage diretamente com o analito e determina o sucesso na construção do polímero assim como o seu desempenho resultante dessa interação [20,21]. O trimetacrilato de trimetilolpropano (TRIM) como monômero estrutural (ME) ou agente de reticulação, se liga a molécula molde e ao monômero funcional promovendo ligações cruzadas e resultando na formação de uma matriz polimérica rígida tridimensional [22,23]. O 2,2'-azo-bis-(2-metil propionitrila) (AIBN) como Iniciador radicalar (IR) determina o início, assim como o sucesso do processo de polimerização [24]. Acetonitrila (ACN) (grau HPLC) 99,995% solvente porogênico, serve como um meio de dispersão, solubilizando os reagentes envolvidos durante a polimerização, contribuindo para a formação de cavidades homogênea, além de favorece a formação de poros garantindo que o polímero apresente boas propriedades de fluxo [25].

Tabela 1: Reagentes utilizados na síntese do MiP e suas respectivas quantidades.

Reagente utilizados	Quantidade
Acetonitrila (Solvente porogênico) Sigma-Aldrich®	6,0 mL
Casearinas (analito)	5 mg

Extrato Etanólico de Casearia (EEt) fornecido pela FCF	5 mL
1-Vinilimidazol ou Ácido Acrílico ambos deles da Sigma-Aldrich® usados como monômero funcional.	22 µL
Trimetacrilato de trimetilolpropano (TRIM) (Monômero estrutural) Sigma-Aldrich®	700 µL
AIBN (Iniciador radicalar) ou 2,2-azo-bis-(2 metil proprionitrila), ambos deles da Sigma-Aldrich®	4.0 mg - 8.0 mg

A utilização desses reagentes para a síntese e desenvolvimento do material adsorvente partiu de uma previa análise computacional e estudos in-silico para escolha do monômero funcional mais adequado para a síntese do MIP, uma vez que eles podem afetar e influenciar diretamente nas propriedades morfológicas e desempenho dos polímeros.

Foram sintetizados dois polímeros impressos (MIPs) e não impressos (NIPs). Considerando estes resultados preliminares, e verificando que a casearina (Cas) é instável na temperatura de polimerização, foi então realizada a polimerização por irradiação UV.

Os padrões de casearinas (D e X) utilizadas nas sínteses e testes de adsorção, assim como o extrato etanólico de *C. sylvestris* (EEt), e as frações etanólicas utilizadas na aplicação do MIP foram fornecidos pelo grupo do Prof. André Gonzaga coordenador do grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas-UNESP, Araraquara [26].

A fração F2 do extrato etanólico foi escolhida para este projeto, uma vez que apresenta maior teor de casearinas, especialmente CasJ, CasO, CasX, CasD, CasF [26].

3.2. Síntese do MIP por fotopolimerização

A síntese do polímero foi realizada segundo o método de polimerização em *bulk* (massa) proposto por Kempe et al, 2010 [27]. A fotopolimerização foi realizada usando um reator com uma lâmpada de quartzo com vapor de Hg a alta pressão de 125 W e durante 8 horas **Figura 2**.

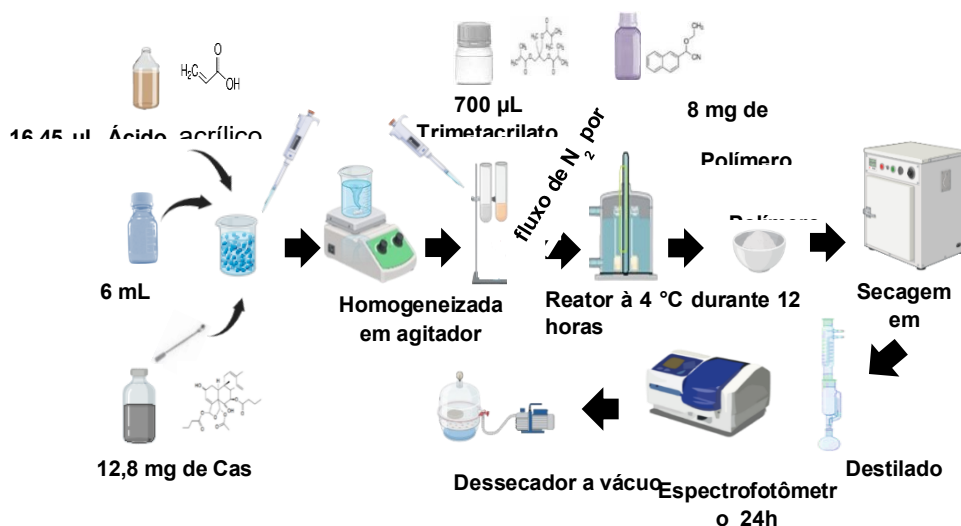


Figura 2: Esquema do procedimento de síntese do polímero por fotopolimerização utilizando como molécula molde.

3.3. Medidas Analíticas

Para avaliação das características de adsorção do MIP para Casearinas foram realizadas medidas por cromatografia líquida de alta eficiência considerando as melhores condições de análise **Tabela 2**, otimizadas neste período. Para tal, foi utilizado um cromatógrafo Shimadzu® modelo 20A, com detector UV-Visível modelo SPD-20A, amostrador automático SIL-20A e degaseificador DGU-20A5 acoplado a um microcomputador.

3.4. Isoterma de Adsorção

Uma vez estabelecidas as condições de análise para a quantificação do analito, o MIP ou NIP foram colocados em contato com o analito e, depois de um tempo pré-determinado, a quantidade de analito remanescente na solução foi quantificada usando a curva analítica correspondente. O desempenho do MIP foi avaliado em relação à adsorção do analito e em relação ao polímero de controle (NIP) através de isotermas de adsorção.

As isotermas de adsorção, expressam a quantidade de Cas (analito) adsorvida por miligrama de polímero Q (mg/g) vs diferentes concentrações do analito remanescente na solução depois do período pré-estabelecido de adsorção.

Desta forma para esse estudo de afinidade foram avaliadas diferentes concentrações de analito (3 a 25 ppm) usando 8 mg do polímero adsorvente (MIP) durante um período de contato de 120 min em meio de 2 mL de água e metanol (1:1, v/v).

Tabela 2: Condições experimentais da análise cromatográfica para quantificação da casearina

PARÂMETRO	CONDIÇÃO OTIMIZADA
Analito	Cas X
Fase móvel	Água/Metanol 40/60
Temperatura	35° C
Comprimento de onda	235 nm
Fluxo	1 mL min ⁻¹
Tempo de análise	10 min
Volume da injeção	1,5 µL
Solvente de extração	Água e Metanol (1:1, v/v)

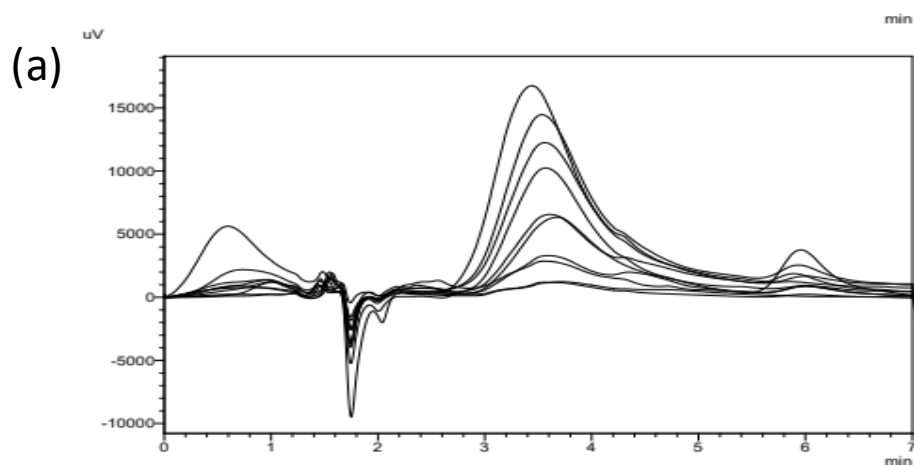
3.5. Preparação e aplicação de amostras

De forma a verificar a aplicabilidade do polímero molecularmente impresso foi realizado um ensaio utilizando 6 mg de MIP em uma fração do extrato etanólico (EEt) de *Casearia Sylvestris* com característica de matriz bastante complexa, porém se conhecendo que na composição desse extrato predominam os diterpenos. Essa fração foi diluída 100 vezes em água e metanol 1:1 (v/v) representado pela Fração 2 (F2). Foram avaliadas três situações: análise da Fração (F2), análise do resultado da F2 no MIP (F2M) e análise do F2 no NIP (F2N) nas mesmas condições de análise e em triplicata. Por se tratarem de amostras complexas, foram realizadas diferentes diluições e ensaios de adsorção, a fim de avaliar a potencialidade do MIP para a detecção de casearina.

4. RESULTADOS e DISCUSSÃO

4.1. Quantificação do analito

Embora a cromatografia líquida de alta eficiência seja uma técnica analítica amplamente usada no grupo de pesquisa, os parâmetros de análise para obtenção de cromatogramas para Casearina-D (analito) tiveram que ser avaliados de forma criteriosa para obter resultados reprodutíveis e confiáveis.



(b)

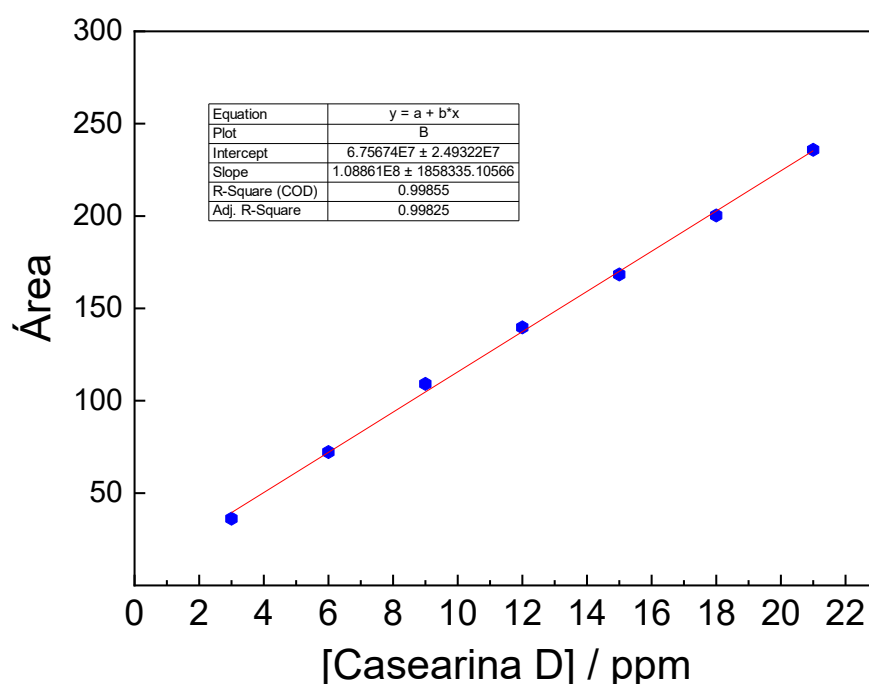


Figura 3 (a) Cromatogramas da casearina obtido por HPLC-UV e (b) curva analítica da Casearina-D dissolvida em de água e metanol (1:1, v/v), analisada no comprimento de onda de 235 nm, vazão 1,0 mL min⁻¹, fase móvel em metanol 60% água; 40% (v/v).

A **Figura 3a**, mostra os cromatogramas obtidos para as diferentes concentrações analisadas, e a correspondente curva analítica, que apresentou linearidade na faixa de 0,25 a 25 ppm, com coeficiente de correlação de 0,999 (Figura 3b).

4.2. A isoterma de adsorção

Para esse estudo de afinidade foram avaliadas diferentes concentrações de Casearina – D (3 a 25 ppm) usando 8 mg do polímero adsorvente (MIP ou NIP) por um tempo de 120 min em meio de uma mistura de água e metanol (1:1, v/v). Então foi possível determinar a quantidade de material adsorvido.

A **Figura 4** mostra os resultados obtidos durante os experimentos de adsorção em função da massa de polímero. Pode ser observado que para 8 mg de massa houve uma maior diferença em adsorção entre o MIP e o NIP e foi este o valor escolhido para os demais experimentos.

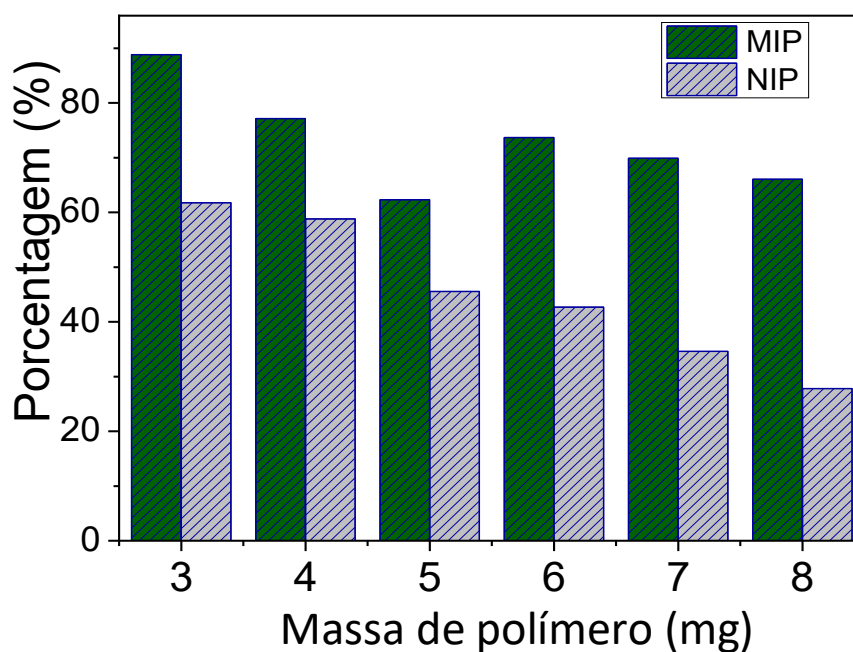


Figura 4: Porcentagem de adsorção em função da massa de polímero usado no processo de adsorção.

A **Figura 5**, representa as áreas obtidas dos cromatogramas para as diferentes concentrações remanescentes de Casearina-D. Os resultados indicam que no caso do NIP, polímero não impresso, a quantidade de casearina remanescente na solução é maior que no MIP, indicando que a adsorção no polímero de controle é menos eficiente.

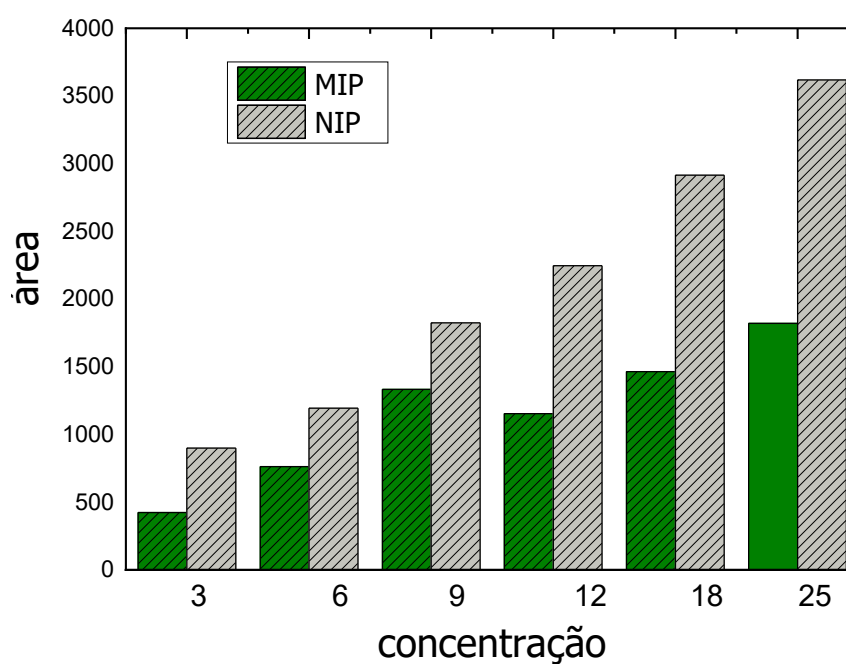


Figura 5: Perfil das áreas calculadas a partir dos cromatogramas para as soluções remanescentes após os ensaios de adsorção com o MIP e o NIP, em função das concentrações inicialmente usadas nesses ensaios.

Na **Figura 5**, também é possível observar que ocorre um aumento gradual na capacidade de adsorção de ambos polímeros, sendo maior no MIP em todas as concentrações estudadas, indicativo que as cavidades seletivas do MIP foram formadas.

Com os dados obtidos na **Figura 5**, foi possível obter as isotermas de adsorção da Figura 6, que expressa a quantidade de casearina adsorvida por miligrama de polímero Q (mg/g) vs diferentes concentrações remanescentes (de equilíbrio) da solução de casearina após a adsorção.

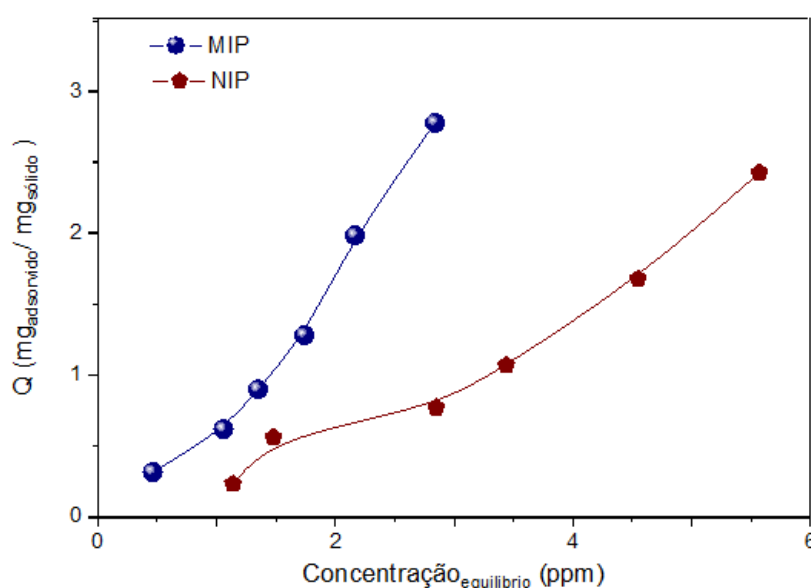


Figura 6: Isotermas de adsorção para os polímeros estudados em função da concentração em equilíbrio do analito.

A **Figura 6**, permite comparar o desempenho do MIP, em relação ao NIP, mostrando que a eficácia do polímero impresso na adsorção do analito é maior, tal como indicado já nos resultados apresentados na Figura 5.

Quanto ao perfil das isotermas obtidas, deve-se ressaltar que existem alguns tipos de isotermas conforme a classificação proposta por Brunauer,

Emmett e Teller [28]. No caso da isoterma apresentada pelo MIP, ela representa um perfil do tipo II e o NIP representa um perfil de isoterma do tipo IV, que é a mais comumente encontrada em medidas de adsorção, em sistema com mesoporos. Embora os perfis das isotermas indicarem que os materiais adsorventes correspondem àqueles esperados para materiais adsortivos (MIP, tipo II) e NIP (tipo IV), posteriormente serão realizados testes de adsorção/dessorção de nitrogênio para verificar o tamanho de poro e a área superficial [20].

4.3. Ensaio utilizando uma fração do EEt

Uma vez verificada a eficiência do MIP para a adsorção da casearina, para avaliar a aplicabilidade do polímero molecularmente impresso na extração de casearinas, a partir de uma matriz complexa, foi realizado um ensaio usando a fração F2 do extrato etanólico (EEt) da *Casearia Sylvestris* rica em diterpenos.

Para realizar a comparação foi estimada através da cromatografia líquida a quantidade de casearina no F2, e também a quantidade de casearina nas soluções remanescentes após o ensaio de adsorção (Figura 7).

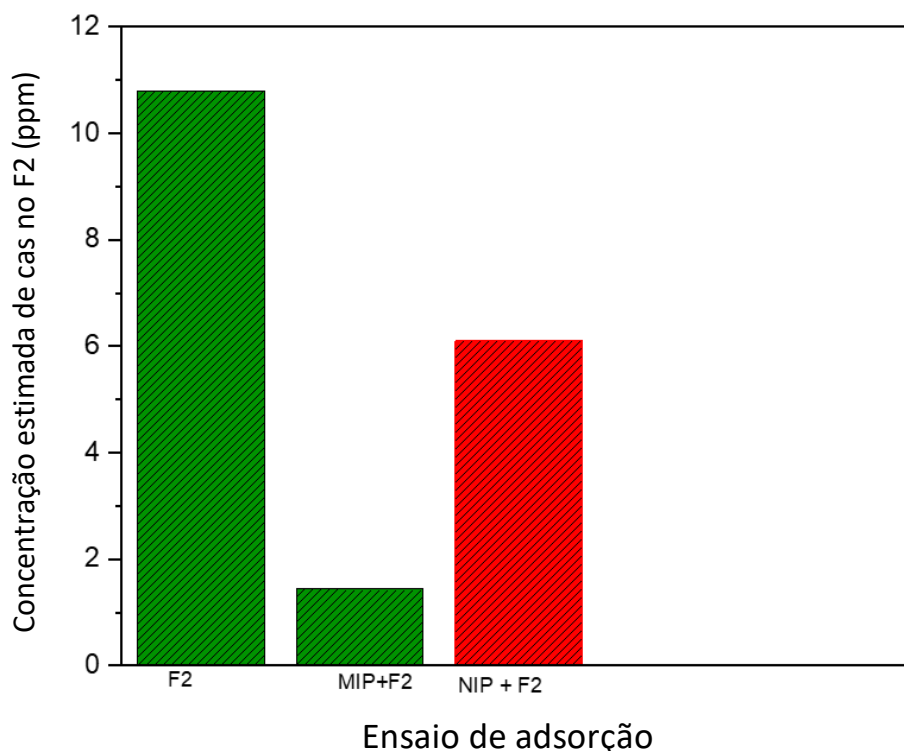


Figura 7: Valores calculados de casearina, usando HPLC no extrato F2 e depois dos ensaios de adsorção no MIP e NIP

A Figura 7, mostra claramente que o MIP adsorveu maior quantidade de analito em relação ao NIP, uma vez que a casearina estimada no remanescente da adsorção foi 9,1% da concentração das casearinas no F2, em comparação com o 54,5% da concentração estimada no NIP. Demonstrando o potencial do MIP na extração do analito de extratos vegetais.

Estes estudos deverão ser reproduzidos em ensaios posteriores e nos outros extratos fornecidos.

5. CONCLUSÃO

O presente trabalho relatou os avanços realizados em seis meses de pesquisa, visando o desenvolvimento de um polímero molecularmente impresso seletivo para o grupo das casearinas. O desempenho e sucesso da síntese foi avaliado pela formação de cavidades seletivas em resposta a sua capacidade de adsorção, não apenas em relação ao polímero não impresso, senão também em relação aos ensaios realizados em extrato de *Casearina sylvestris*.

No intuito de avaliar quais compostos foram adsorvidos no MIP, em estudos posteriores deverá ser realizada a dessorção desses compostos adsorvidos no MIP e a solução obtida será analisada por cromatografia líquida.

Até este ponto pode ser considerado que o MIP permitiu realizar um *clean-up* do extrato F2, permitindo avançar na obtenção de um material com potencial real para extração seletiva de compostos da família das casearinas, e desta forma estender a realização desses ensaios para os outros extratos da planta, que contém casearinas.

Com base nos resultados obtidos nesta etapa do trabalho e naqueles alcançados no período anterior, será elaborado um artigo científico a ser submetido a uma revista científica de fator de impacto expressivo.

6. AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual Paulista (UNESP); Instituto de Química – Araraquara – SP. Ao professor Dr. André Gonzaga do grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, Araraquara e ao Dr. Ademar Wong pela co-supervisão.

Referências bibliográficas

- [1] ITOKAWA, H.; TOTSUKA, N. et al. Antitumor principles from *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae) structure elucidation of new clerodane diterpenes by 2-D NMR spectroscopy . **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**. Vol. 36, p. 1585-1588. 1988.
- [2] ITOKAWA, H.; TOTSUKA, N.; MORITA, H. et al. Antitumor principles from *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae), structure elucidation of new clerodane diterpenes by 2-D NMR spectroscopy. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, n. 12, p. 3384-3388, 1990.
- [3] SANTOS, A. G. Desenvolvimento de metodologia para a análise de variabilidade intraespecífica e dinâmica de casearinas em *Casearia sylvestris* Sw (Flacourtiaceae). 2001. 120 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.
- [4] TININIS, A. G.; ASSONUMA, M. M. et al. Composição e variabilidade química de óleo essencial de *Casearia sylvestris* SW. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p. 132- 136, 2006.
- [5] CARVALHO, F. A. Estudo de variabilidade do óleo essencial de folhas de *Casearia sylvestris* Swartz. 2019. 215 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2019.
- [6] XIA, L.; GUO, Q; TU, P.; CHAI, X. The genus *Casearia*: a phytochemical and pharmacological overview. *Phytochemistry Reviews*, v. 14, p. 99-135, 2015.
- [7] SANTOS AG et al. Casearin X, its degradation product and other clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris*: evaluation of cytotoxicity against normal and tumour human cells. **Chem Biodivers**. v.7, n.1, p.205-15, 2010.
- [8] MORITA, H.; NAKAYAMA, M.; KOJIMA, H. et al. Structures and cytotoxic activity relationship of casearins, new clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris* Sw. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 39, n. 3, p. 693-697, 1991.

- [9] FERREIRA-SILVA GUILHERME; CAROLINA, C.; SARTORELLI, P.; HASEGAWA, F. R.; SOARES, M. G.; IONTA, M. Casearin D inhibits ERK phosphorylation and induces downregulation of cyclin D1 in HepG2 cells. **Toxicology in Vitro**, v. 38, p. 27–32, 30 out. 2016.
- [10] VASAPOLLO, G., SOLE, R. D. et al. Molecularly imprinted polymers: Present and future prospective. **International Journal of Molecular Sciences**, v.12 n.9, p.5908–5945, 2011.
- [11] PARDO A, MESOUILLE L, BLANKERT B, *et al.* Quercetin imprinted chromatographic sorbents revisited: optimization of synthesis and rebinding protocols for application to natural resources. **Journal of Chromatography A**, v.136, n.4, p.128-139, 2014.
- [12] KHAN, SABIR, *et al.* "Synthesis and Characterization of Magnetic-Molecularly Imprinted Polymers for the HPLC-UV Analysis of Ametryn." **Reactive & Functional Polymers**, vol. 122, 1 Jan, pp. 175–182, 2018.
- [13] MORTARI, BIANCA, *et al.* "A Spot Test for Direct Quantification of Acid Green 16 Adsorbed on a Molecularly Imprinted Polymer through Diffuse Reflectance Measurements." **Analytical Methods**, vol. 13, p. 453–461, 2021.
- [14] GUPTA V K, YOLA M L, ATAR N. A novel molecular imprinted nanosensor based quartz crystal microbalance for determination of kaempferol. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v.194, p.79-85, 2014.
- [15] LIU Jun; RE Ruquan; ZHANG Yanru, *et al.* Progress in research and application of five kinds of flavonoids: **molecular imprinting, separation technique**. V.5, n.1, p.234-236, 2019. Andersson, Lars I. "Molecular Imprinting for Drug Bioanalysis." *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, vol. 739, no. 1, Feb. 2000.
- [16] MASQUE, N. "Molecularly Imprinted Polymers: New Tailor-Made Materials for Selective Solid-Phase Extraction." **Trac Trends in Analytical Chemistry**, vol. 20, no. 9, Sept. 2001.
- [17] ANDERSSON, LARS I. "Molecular Imprinting for Drug Bioanalysis." *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, vol. 739, no. 1, Feb. 2000.
- [18] KARRAT A, PALACIOS-SANTANDER JM, AMINE A, CUBILLANA-AGUILERA L. A novel magnetic molecularly imprinted polymer for selective extraction and determination of quercetin in plant samples. **Anal Chim Acta**. p.1203: 339 709, 2022.
- [19] KEMPE H, KEMPE M. Development and evaluation of spherical molecularly imprinted polymer beads. **Anal. Chem**, v. 78 n.11, p.3659–3666, 2006.
- [20] MALIK, M. I.; SHAIKH, H. et al. Recent Applications of Molecularly Imprinted Polymers in Analytical Chemistry, **Separation & Purification Reviews**, v. 48, n. 3, p. 179–219, 2018.
- [21] KRYSCIO, D.R.; PEPPAS, N.A. Critical Review and Perspective of Macromolecularly Imprinted Polymers. **Acta Biomater**. v.8, p.461–473, 2012.
- [22] BRAUN, D.; CHERDRON, H.; REHAHN, M.; RITTER, H.; VOIT, B. **Polymer Synthesis: Theory and Practice: Fundamentals, Methods, Experiments**; Springer: Heidelberg, Germany, p. 1–385, 2005., v. 139, p. 109, 2022.
- [23] HAUPT, K.; LINARES, A.V. et al. Molecularly Imprinted Polymers. In *Molecular Imprinting*. **Topics in Current Chemistry**; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, v. 325, p. 1–28, 2012.
- [24] CHEN, L.; WANG, X.; LU, W.; WU, X.; LI, J. Molecular imprinting:

- perspectives and applications. **Chemical Society Reviews**, v. 45, n. 8, p. 2137–2211, 2016.
- [25] SANTOS, A. G. Desenvolvimento de metodologia para a análise de variabilidade intraespecífica e dinâmica de casearinas em *Casearia sylvestris* Sw (Flacourtiaceae). 2001. 120 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2001.
- [26] KEMPE H, KEMPE M. Development and evaluation of spherical molecularly imprinted polymer beads. **Anal. Chem**, v. 78 n.11, p.3659–3666, 2006.
- [27] BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, v. 60, n. 2, p. 309–319, 1938.