

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
ESCOLA DE QUÍMICA

Thiago Pires Ponte



SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA E RESOLUÇÃO CINÉTICA
DINÂMICA VISANDO A OBTENÇÃO DE PRAZIQUNTEL
ENANTIOMERICAMENTE PURO: UM ESTUDO PERSPECTIVO

RIO DE JANEIRO

2023

Thiago Pires Ponte

SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA E RESOLUÇÃO CINÉTICA DINÂMICA VISANDO
A OBTENÇÃO DE PRAZIQUNTEL ENANTIOMERICAMENTE PURO: UM ESTUDO
PERSPECTIVO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenheiro Químico.

Orientadores: Amaro Barreto Gomes Júnior, D. Sc.
Ivaldo Itabaiana Júnior, D. Sc.

Rio de Janeiro

2023

CIP - Catalogação na Publicação

P813s Ponte, Thiago Pires
Separação cromatográfica e resolução cinética
dinâmica visando a obtenção de praziquantel
enantiomericamente puro: um estudo perspectivo /
Thiago Pires Ponte. -- Rio de Janeiro, 2023.
82 f.

Orientador: Amaro Barreto Gomes Júnior.
Coorientador: Ivaldo Itabaiana Júnior.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de
Química, Bacharel em Engenharia Química, 2023.

1. Esquistossomose. 2. Praziquantel. 3. Leito
Móvel Simulado. 4. Resolução Cinética Dinâmica. I.
Gomes Júnior, Amaro Barreto, orient. II. Itabaiana
Júnior, Ivaldo, coorient. III. Título.

Thiago Pires Ponte

SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA E RESOLUÇÃO CINÉTICA DINÂMICA VISANDO
A OBTENÇÃO DE PRAZQUANTEL ENANTIOMERICAMENTE PURO: UM ESTUDO
PERSPECTIVO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Escola de Química da Universidade Federal do
Rio de Janeiro, como parte dos requisitos
necessários à obtenção do grau de Engenheiro
Químico.

Aprovado em 21 de dezembro de 2023.

Amaro Barreto Gomes Júnior, D. Sc., EQ/UFRJ

Ivaldo Itabaiana Júnior, D. Sc., EQ/UFRJ

Ingrid de Azevedo de Oliveira Young, D. Sc., EQ/UFRJ

Rafael Cavalcante dos Santos, D. Sc., ATOMS/UFRJ

Rio de Janeiro
2023

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, aos meus pais e amigos por todo o apoio ao longo de todos esses anos. Vocês são parte de quem me tornei.

Aos meus orientadores, Amaro e Ivaldo, que sempre acreditaram em mim e não desistiram deste projeto.

Em especial, gostaria de agradecer ao meu pai Roberto Ponte e aos meus amigos Leonardo Pessôa, João Pedro Mendonça e Margarete Bianchi por terem estado ao meu lado e me apoiado no momento mais difícil de minha vida. Sem a ajuda de vocês eu não teria chegado até aqui.

Aos amigos queridos da União Fraterna que hoje são quase como uma segunda família para mim e que me ajudaram a aguentar todo o processo do final de curso.

Por último, à minha namorada Isadora Santino, que esteve comigo enquanto eu passava horas e mais horas pesquisando e escrevendo este trabalho.

A todos vocês minha eterna gratidão.

RESUMO

PONTE, Thiago Pires. **Separação cromatográfica e resolução cinética dinâmica visando a obtenção de praziquantel enantiomericamente puro: um estudo perspectivo**. Rio de Janeiro, 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

A esquistossomose é uma doença negligenciada que atinge algumas das regiões tropicais mais pobres do planeta, dentre elas o Brasil. Como esta é causada por um parasita, seu combate é comumente feito através da utilização de uma droga anti-helmíntica quirial, o praziquantel. Por se tratar de uma molécula quirial, o praziquantel possui dois enantiômeros, sendo somente o enantiômero *R* realmente ativo contra a doença, enquanto o outro inativo ainda possui um gosto extremamente amargo. Visando uma melhor administração deste medicamento, estudou-se algumas possibilidades de obtenção deste fármaco na sua forma enantiomericamente pura. O presente trabalho busca por sintetizar e analisar qualitativamente duas hipóteses propostas para esta obtenção: a cromatografia SMB acoplada a uma racemização e a resolução cinética dinâmica a partir de um intermediário do praziquantel. Ambas as sugestões se baseiam em dados presentes na literatura não só para o praziquantel e seu intermediários, mas também para demais moléculas quirais de estrutura semelhante. As propostas foram avaliadas e contrapostas, buscando solucionar o problema da síntese e obtenção do *R*-praziquantel enantiomericamente puro.

Palavras-chave: Esquistossomose; Praziquantel; SMB; Cromatografia; Leito móvel simulado; DKR; Resolução cinética dinâmica.

ABSTRACT

PONTE, Thiago Pires. **Separação cromatográfica e resolução cinética dinâmica visando a obtenção de praziquantel enantiomericamente puro: um estudo perspectivo**. Rio de Janeiro, 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

Schistosomiasis is a neglected disease which affects some of the planet's most poor tropical regions, one of them being Brazil. It is caused by a parasite, so its combat is commonly made through the use of a chiral anthelmintic drug, praziquantel. Because praziquantel is a chiral molecule, it has two enantiomers, only the *R* one being really active, while the inactive one possesses an extremely bitter taste. Aiming a better administration, some possibilities to obtain the enantiopure drug were studied. The present work seeks to synthesize and analyse two proposed hypothesis qualitatively: the SMB chromatography integrated with a racemization process and the dynamic kinetic resolution from a praziquantel intermediate. Both suggestions are based on data present in the literature, not only for praziquantel and its intermediates, but also for other chiral molecules with similar structure. The propositions were evaluated and compared, seeking the solution for the problem of synthesis and development of enantiopure *R*-praziquantel.

Keywords: Schistosomiasis; Praziquantel; SMB; Chromatography; Simulated Moving Bed; DKR; Dynamic kinetic resolution.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.1 – O parasita <i>Schistosoma mansoni</i>	13
Figura 1.2 – Exemplo de enantiômeros.....	14
Figura 1.3 – Fórmula estrutural da molécula de praziquantel.....	15
Figura 3.1 – Esquema de uma corrida cromatográfica.....	18
Figura 3.2 – Exemplo de um cromatograma típico.....	19
Figura 3.3 – Esquema didático do efeito da operação em contracorrente.....	21
Figura 3.4 – Coluna operando no modelo de TMB.....	22
Figura 3.5 – Movimento das espécies em um SMB.....	23
Figura 3.6 – Intervalos de troca e o movimento aparente das colunas em um SMB.....	24
Figura 3.7 – Teoria do triângulo e regiões de separação e regeneração.....	25
Figura 3.8 – Exemplo de estado estacionário cíclico (CSS).....	26
Figura 3.9 – Exemplo de reação de racemização.....	28
Figura 3.10 – Desidrogenação e estabilização do intermediário da racemização.....	28
Figura 3.11 – Exemplo de resolução cinética (KR).....	29
Figura 3.12 – Exemplo de resolução cinética dinâmica (DKR).....	31
Figura 4.1 – Unidade utilizada por Cunha (2021).....	33
Figura 4.2 – Configuração 1:2:2:1 utilizada por Cunha (2021).....	34
Figura 4.3 – Acoplamento de SMB com NF e EMR proposto por Fuereder <i>et al.</i> (2016).....	36
Figura 4.4 – Esquema detalhado da unidade proposta por Fuereder <i>et al.</i> (2016).....	38
Figura 4.5 – Exemplo didático de um gráfico de Pareto.....	40
Figura 4.6 – Gráfico de Pareto para o acoplamento realizado por Fuereder <i>et al.</i> (2016).....	41
Figura 4.7 – Gráfico de Pareto 3D para o acoplamento de Fuereder <i>et al.</i> (2016).....	43
Figura 4.8 – Esquema detalhado da unidade proposta por Harriehausen <i>et al.</i> (2020).....	44
Figura 4.9 – Gráfico de consumo de solvente vs. produtividade para Harriehausen <i>et al.</i> (2020)	48
Figura 4.10 – Esquema proposto de acoplamento.....	49
Figura 4.11 – Fórmula estrutural da molécula de praziquanamina.....	53
Figura 4.12 – Síntese de intermediário enantiomericamente puro do praziquantel.....	54
Figura 4.13 – Enantiopreferência da lipase em álcoois e amins secundários.....	56
Figura 4.14 – Mecanismo geral de ação de lipases.....	57
Figura 4.15 – Estrutura molecular do catalisador de Shvo.....	58

Figura 4.16 – Esquema do preparo de nanopartículas contendo uma enzima e um metal segundo Filice <i>et al.</i> (2013).....	59
Figura 4.17 – Formação dos CLEAs por Sheldon (2011).....	60
Figura 4.18 – Ativação do suporte nanometálico utilizando glutaraldeído segundo Ferraz (2019).....	61
Figura 4.19 – Imobilização da CALB no suporte nanometálico por Ferraz (2019).....	61
Figura 4.20 – Esquema para a proposta de síntese de <i>R</i> -PZQ.....	64
Figura 4.21 – Fórmula estrutural da molécula de ciclohexanoato.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 – Resultados das corridas realizadas por Cunha (2021) e comparações com a literatura.....	35
Tabela 4.2 – Custos de operação associados ao acoplamento realizado por Fuereder <i>et al.</i> (2016).....	42
Tabela 4.3 – Resultados obtidos por Harriehausen <i>et al.</i> (2020) comparados com a literatura	47
Tabela 4.4 – Resultados de Ferraz (2019) para a DKR de 1-feniletilamina.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAR	<i>Amino-acid racemase</i>
ACL	<i>α-amino-ϵ-caprolactam</i>
APTES	(3-aminopropil) trietoxisilano
CALB	Lipase B da levedura <i>Candida antarctica</i>
CLEA	Agregado de enzima reticulado
CSS	Estado estacionário cíclico
DKR	Resolução cinética dinâmica
EFBR	Reator de leito fixo para racemização enzimática
EMR	Reator de membrana
HEPES	Ácido 4-(2-hidroxiethyl) piperazino-1-etanosulfônico
KR	Resolução cinética
MR	<i>Mandelato racemase</i>
NF	Nanofiltração
NP	Nanopartícula
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBR	Reator de leito recheado
PES	Polietersulfona
PZQ	Praziquantel
PZQamina	Praziquanamina
SMB	<i>Simulated Moving Bed</i>
TAG	<i>Teicoplanin aglycone</i>
TEOS	Ortosilicato de tetraetila
TMB	<i>True Moving Bed</i>
TP	Produção

LISTA DE SÍMBOLOS

<i>i</i>	Enantiômero alimentado ao SMB (-)
<i>I</i>	Vida útil do insumo (dias)
<i>j</i>	Número da zona do SMB (-)
<i>k</i>	Velocidade específica de reação (diferentes unidades possíveis)
<i>K</i>	Coefficiente da isoterma de adsorção (-)
<i>m</i>	Razão entre as vazões de eluente e de sólido (-)
<i>M</i>	Quantidade utilizada ou consumida do insumo (-)
<i>P</i>	Preço do insumo (\$ kg ⁻¹ ou \$ m ⁻²)
<i>Q</i>	Vazão volumétrica (m ³ s ⁻¹)
<i>s</i>	Sólido (-)
<i>t</i>	Tempo (s)
<i>TP</i>	Produção (kg dia ⁻¹)
<i>w</i>	Fator de peso do insumo (-)
<i>x</i>	Insumo (-)
<i>π</i>	Custo específico do insumo por unidade de tempo (\$ kg ⁻¹ dia ⁻¹ ou \$ m ⁻² dia ⁻¹)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	ESQUISTOSOMOSE	12
1.2	ISÔMEROS E QUIRALIDADE	13
1.3	PRAZIQUANTEL	15
2	OBJETIVOS	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1	CROMATOGRAFIA	18
3.2	CROMATOGRAFIA DE LEITO MÓVEL SIMULADO	19
3.3	RACEMIZAÇÃO	27
3.4	RESOLUÇÃO CINÉTICA	28
3.5	RESOLUÇÃO CINÉTICA DINÂMICA	30
4	PROPOSTAS	32
4.1	ACOPLAMENTO ENTRE SMB E RACEMIZAÇÃO	32
4.2	SUGESTÃO DE ACOPLAMENTO ENTRE SMB E RACEMIZAÇÃO	48
4.3	PRODUÇÃO DE PRAZIQUANTEL ATRAVÉS DE DKR	53
4.4	SUGESTÃO PARA PRODUÇÃO DE PRAZIQUANTEL ATRAVÉS DE DKR	63
5	CONCLUSÃO	71
6	REFERÊNCIAS	75

1 INTRODUÇÃO

1.1 ESQUISTOSSOMOSE

A esquistossomose é uma doença negligenciada, causada por trematódeos do gênero *Schistosoma* (BERGQUIST & ELMORSHEDY, 2018). Cerca de 779 milhões de pessoas correm risco de contaminação, onde os maiores grupos de risco estão as crianças, principalmente nas regiões da África Subsaariana e partes da Ásia e América do Sul (LOMBARDO, PERISSUTTI & KEISER, 2019). Além disso, é a segunda doença tropical mais predominante no mundo, atrás somente da Malária (BADILLO-GARCÍA & ARIAS, 2019).

Os trematódeos parasitários responsáveis pela doença podem ser transmitidos através de caracóis de águas frescas que servem de hospedeiros intermediários para os humanos. Desta forma, a doença se apresenta com mais frequência em locais sem saneamento básico, de baixa higiene, próximos a corpos d'água e com alta presença de caracóis hospedeiros. Por isso, é uma doença mais comum em áreas pobres, em que as crianças são as principais afetadas, sendo, portanto, negligenciada (BERGQUIST & ELMORSHEDY, 2018).

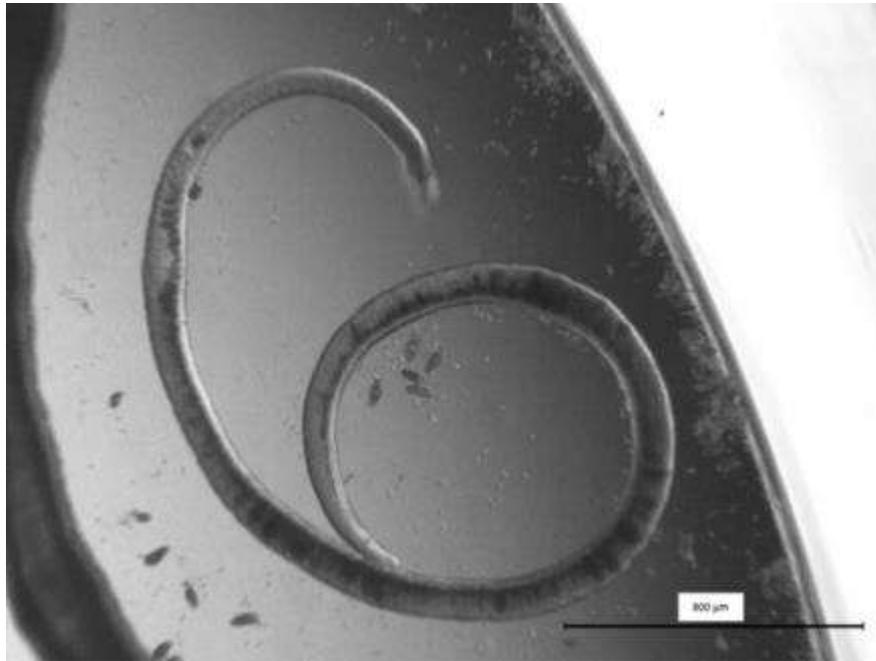
A infecção em humanos ocorre quando em contato com a água contaminada por formas larvares do parasita, lá depositadas pelo hospedeiro intermediário (os caracóis). Assim, as larvas adentram o corpo através da penetração da pele (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2023).

Uma vez no corpo humano, o parasita (**Figura 1.1**) necessita se desenvolver até a fase adulta e faz isso enquanto se desloca da pele, através dos pulmões até as veias do intestino ou da bexiga (em alguns casos). Cerca de 4 a 6 semanas após a infecção, um casal de parasitas se aloja nos vasos sanguíneos mesentéricos onde então se alimentam do sangue hospedeiro e depositam seus ovos. Este casal pode produzir cerca de 300 ovos por dia, que são levados dos vasos sanguíneos do intestino até o seu interior, visando sua saída do hospedeiro pelas suas fezes. Cerca de metade desses ovos nunca atinge o intestino, indo em vez disso até o fígado, causando grande inflamação granulomatosa. Além disso, existem grande indícios de modulação do sistema hemostático por parte desses parasitas, através da liberação de diversas substâncias bioativas, muitas delas enzimas. As lesões causadas no hospedeiro tendem a ser mais crônicas que agudas (COSTAIN, MACDONALD & SMITS, 2018; BERGQUIST & ELMORSHEDY, 2018).

Dentre as técnicas mais utilizadas para diagnóstico da doença estão a identificação da presença do parasita em alguma das suas fases de vida, principalmente pela análise de fezes em

busca de ovos. Também já é possível se realizar este diagnóstico pela análise e detecção de antígenos do parasita presentes na corrente sanguínea do hospedeiro (RABELLO, 1997).

Figura 1.1 – O parasita *Schistosoma mansoni*.



Fonte: MARQUES *et al.*, 2018.

Andrade *et al.* (2020) relatam que o tratamento mais indicado para esta doença é o praziquantel (PZQ), uma droga anti-helmíntica, de baixa solubilidade em água e alta permeabilidade que se encontra, inclusive, na Lista Modelo de Medicamentos Essenciais da Organização Mundial da Saúde, OMS (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

1.2 ISÔMEROS E QUIRALIDADE

O conhecimento da estrutura molecular do praziquantel é de suma importância para entender os desafios intrínsecos à sua administração e formulação, que estão diretamente ligados a essa estrutura e à forma como é atualmente sintetizado e produzido.

Substâncias como o praziquantel se encaixam no que se classifica como isômeros. Os isômeros são moléculas orgânicas que apresentam a mesma fórmula molecular porém possuem diferenças em suas estruturas. Essas diferenças podem se dar de diversas formas, sendo constitucionais ou espaciais. Os constitucionais são aqueles que possuem cadeias diferentes (ramificadas ou não, por exemplo), posições diferentes (de um grupo funcional, por exemplo) ou mesmo funções distintas (como ácidos carboxílicos e ésteres). Já os isômeros espaciais

possuem o mesmo tipo de cadeia, ligações e funções orgânicas, mas com uma diferença configuracional entre eles. Esses são chamados de estereoisômeros, podendo ser diastereoisômeros ou enantiômeros. Os enantiômeros são pares de moléculas que são imagens especulares entre si, entretanto não sobreponíveis uma na outra. Os diastereoisômeros, por sua vez, são aquelas que não formam imagens especulares entre si. Estas últimas podem apresentar diferenças nas suas conformações espaciais, como os casos dos isômeros *cis* e *trans* ou os isômeros *E* e *Z*. Possuem, portanto, diferenças maiores entre si que os enantiômeros (MCMURRAY, 2015; CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2012).

O caso do praziquantel, utilizado no combate à esquistossomose, se enquadra no par de moléculas enantioméricas, ou seja, que possuem apenas entre si uma diferença configuracional e formam imagens especulares.

Um par de enantiômeros, portanto, constitui-se de duas moléculas muito similares entre si, com diferença sutil na configuração espacial das mesmas. Essas moléculas apresentam as mesmas ligações químicas entre si, tendo a diferença de que uma ligação pode se encontrar voltada para frente em um dos enantiômeros e voltada para trás de um mesmo plano no outro enantiômero, formando assim uma imagem especular. Com isso, ao atravessar um feixe de luz polarizada em uma solução que contenha estas moléculas, ocorrerá o desvio da luz em um sentido (para esquerda ou para a direita) na mesma proporção. São moléculas ditas opticamente ativas. Já uma mistura contendo 50% de ambas (chamada mistura racêmica) não irá, conseqüentemente, desviar a luz para nenhum lado. É assim que se identificam muitos enantiômeros, chamando-os de levógiros (*L*) quando desviam a luz à esquerda e dextrógiros (*D*) quando para direita (CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2012; MCMURRAY, 2015). Um exemplo de um par de enantiômeros pode ser observado na **Figura 1.2**.

Figura 1.2 – Exemplo de enantiômeros.



Adaptado de: CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2012.

Esse efeito só é possível por haver nestas moléculas um carbono que realiza quatro ligações distintas, não possuindo portanto nenhum plano de simetria na molécula. Esse carbono

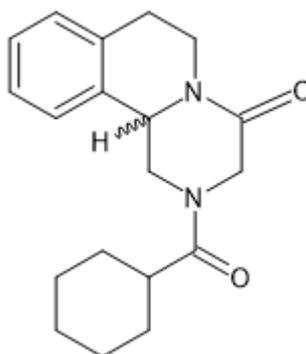
é chamado de carbono quiral, assim como tais moléculas são ditas quirais. A característica descrita e presente nas referidas moléculas é conhecida como quiralidade (CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2012; MCMURRAY, 2015).

Além da nomenclatura apresentada, há também outra nomenclatura usual para enantiômeros, descrita pela posição dos grupos ligados ao centro quiral, em que um enantiômero é chamado de enantiômero *R* e o outro *S*. Segundo o método estabelecido, o ligante de menor prioridade (em geral com menor número atômico) é posto apontando para trás e avalia-se a prioridade dos outros 3 ligantes remanescentes. Se a ordem de prioridade desses três seguir o sentido horário, trata-se do enantiômero *R*. Caso siga o sentido anti-horário, o enantiômero é o *S* (CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2012; MCMURRAY, 2015).

1.3 PRAZIQUANTEL

Alguns dos grandes obstáculos apresentados para a administração do praziquantel (**Figura 1.3**) para o tratamento da esquistossomose são justamente sua baixa solubilidade em água e seu gosto desagradável, o que torna necessário que esta seja realizada via formulação sólida. Esta forma de administração e o tamanho dos comprimidos acaba sendo problemática para crianças, um dos principais grupos de risco da doença (ANDRADE *et al.*, 2020; MARQUES *et al.*, 2018).

Figura 1.3 – Fórmula estrutural da molécula de praziquantel.



Esse problema ocorre devido ao fato de que o PZQ apresenta dois enantiômeros, os quais o *R*-PZQ (ou *L*-PZQ) é o mais ativo e o *S*-PZQ (ou *D*-PZQ), o menos ativo e responsável pelo gosto desagradável do medicamento (LOMBARDO, PERISSUTTI & KEISER, 2019; CUNHA *et al.*, 2019). Assim, por apresentar dois enantiômeros, o PZQ é usualmente produzido como uma mistura racêmica (ou racemato), o que dobra a dosagem necessária para

administração do mesmo, uma vez que somente metade do seu conteúdo contém realmente o princípio ativo desejado, o *R*-PZQ (CUNHA *et al.*, 2019). Em resumo, por ser usualmente produzido e administrado como uma mistura racêmica, suas dosagens são maiores que o necessário e sua administração um desafio para um dos principais grupos alvos, as crianças. O cenário desejado seria a administração somente do enantiômero *R*. Contudo, devido às semelhanças estruturais entre os enantiômeros do praziquantel, sua separação ou a síntese do *R*-PZQ puro se tornam desafios. Algumas técnicas de produção de compostos enantiomericamente puros, assim como separação de misturas de enantiômeros são destaque na indústria farmacêutica e serão discutidas adiante, tais como a Cromatografia de Leito Móvel Simulado e a Resolução Cinética Dinâmica.

O mecanismo de ação do fármaco nos parasitas ainda não foi completamente elucidado, mas sabe-se que ele atua na absorção de íons de cálcio (Ca^{+2}), além de causar vacuolização e borbulhamento próximo à superfície do corpo do parasita. Como relatado por Doenhoff, Cioli e Utzinger (2008), o praziquantel possui atuação nas subunidades β dos canais de Ca^{+2} , sendo os parasitas sensíveis à sua atuação provavelmente devido à ausência de duas unidades do aminoácido serina nestas subunidades β de suas células (DOENHOFF, CIOLI & UTZINGER, 2008).

Em 2011, a OMS já apontava a necessidade de mais de 500 milhões de comprimidos de PZQ por ano para o tratamento da esquistossomose (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011). Recentemente, a farmacêutica Merck, criadora do medicamento, realizou a doação de 1,5 bilhão de comprimidos de praziquantel em parceria com a OMS, sendo que 138 milhões destes foram doados somente para a República Democrática do Congo (MERCK GROUP, 2022).

2 OBJETIVOS

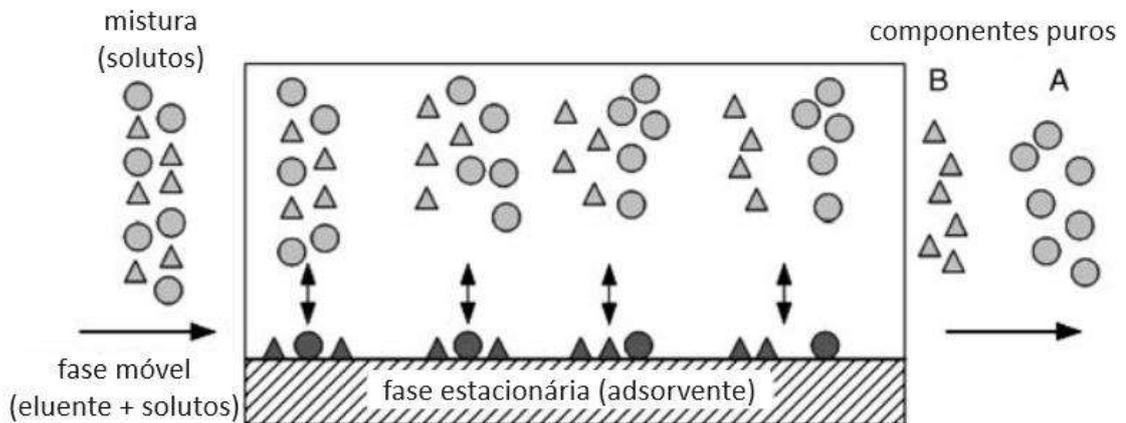
O objetivo do presente trabalho foi discutir e apresentar soluções para a obtenção de *R*-praziquantel enantiomericamente puro. Para isso, foram estudadas duas rotas distintas: a primeira focada na separação da mistura racêmica de praziquantel e sua otimização; e a segunda analisando a produção de *R*-PZQ enantiomericamente puro a partir de um intermediário do praziquantel. Ambas as propostas foram baseadas e discutidas tendo-se como base artigos e patentes disponíveis na literatura.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CROMATOGRAFIA

A cromatografia consiste no processo de separação de uma mistura homogênea fluida (gasosa ou líquida) e foi inventada em 1901 pelo cientista russo Mikhail Semenovich Tswett. Ao estudar a clorofila de plantas, Tswett separou a xantofila da clorofila utilizando o processo cromatográfico posteriormente descrito por ele. A **Figura 3.1** demonstra um processo de corrida cromatográfica e de adsorção de diferentes espécies pela coluna.

Figura 3.1 – Esquema de uma corrida cromatográfica.

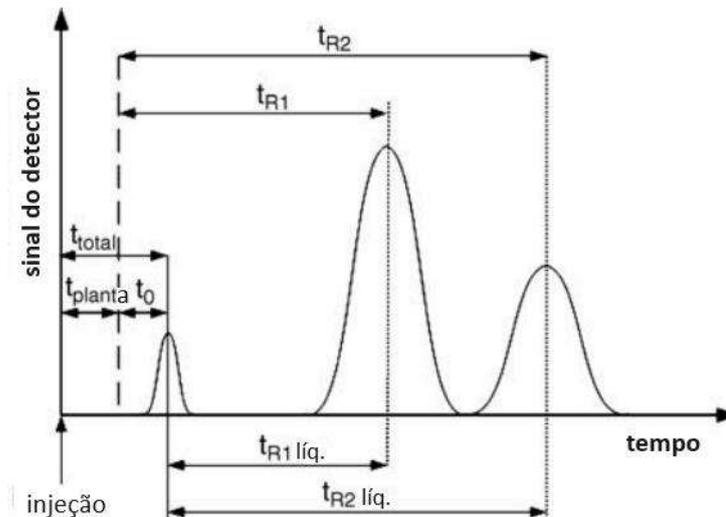


Adaptado de: SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2012.

Neste processo, uma fase móvel ou solvente carrega os componentes a serem separados ao longo de uma coluna ou suporte contendo a fase estacionária ou adsorvente. Devido à diferença de afinidades entre os compostos da mistura com as fases móvel e estacionária, um será mais adsorvido pelo adsorvente do que o outro. Com isso, aquele que tem maior afinidade com o adsorvente (fase estacionária) ficará por mais tempo adsorvido neste e demorará um maior período de tempo para ser levado pelo solvente (eluente) até o final da coluna. Isso permite que a mistura seja separada, recolhendo o componente menos retido primeiro e o mais retido em seguida (RODRIGUES *et al.*, 2015; SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2012).

Os resultados de uma corrida cromatográfica podem ser percebidos através de um gráfico conhecido como cromatograma. Um exemplo de um cromatograma típico se encontra na **Figura 3.2**.

Figura 3.2 – Exemplo de um cromatograma típico.



Adaptado de: SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2012.

O cromatograma permite visualizar o tempo que cada componente demora para percorrer a coluna através de picos no gráfico. Além disso, é possível perceber se a mistura foi efetivamente separada, através do formato dos picos e da distância entre eles. O tempo que um componente que não tem afinidade com a fase estacionária demora para percorrer a coluna é chamado de tempo morto e é geralmente marcado como o primeiro pico do cromatograma. Os picos subsequentes são, portanto, dos componentes da mistura que se deseja separar, sendo marcados pelo seu tempo de retenção, ou seja, o tempo médio que demoram para percorrer a coluna, dado usualmente pelo topo do pico (SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2012).

3.2 CROMATOLOGRAFIA DE LEITO MÓVEL SIMULADO

A cromatografia enantiosseletiva, ou seja, aquela que separa uma mistura de enantiômeros, vem sendo usada como um dos principais métodos de obtenção de enantiômeros de fármacos quirais desde a década de 1990 (HARRIEHAUSEN *et al.*, 2020; STORTI *et al.*, 1993). Entre elas, uma das mais comuns na indústria farmacêutica é a Cromatografia de Leito Móvel Simulado ou *Simulated Moving Bed* (SMB), devido à sua rapidez de modelagem e baixo consumo de eluente e fase estacionária (FUEREDER *et al.*, 2016; RODRIGUES *et al.*, 2015). Esta técnica permite alimentação e separação contínuas de uma mistura binária, como é o caso da mistura racêmica de PZQ, através de uma coluna cromatográfica recheada (RODRIGUES *et al.*, 2015).

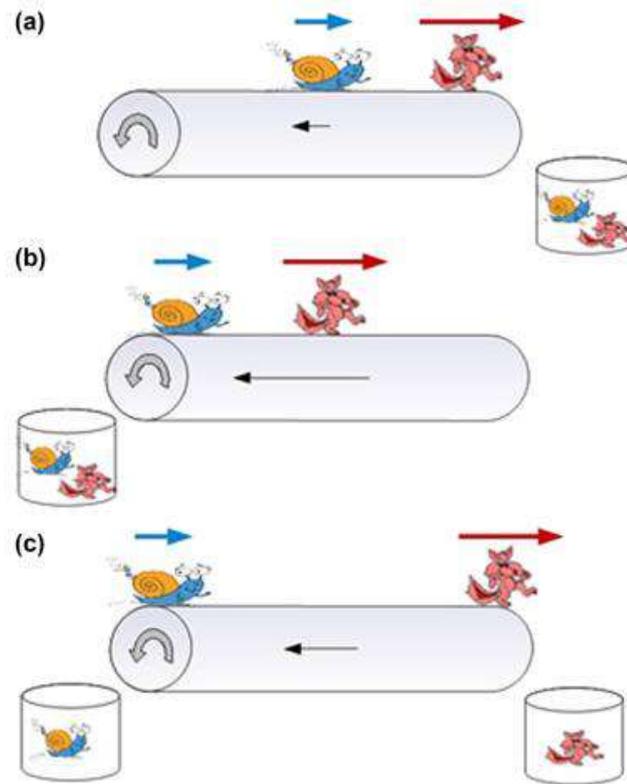
O modelo teórico que caracteriza esse tipo de coluna é o do Leito Móvel Real ou *True Moving Bed* (TMB), no qual a fase estacionária (sólida) se moveria em contracorrente com a fase móvel (líquida), gerando uma maior eficiência na separação, graças a uma melhor transferência de massa, além de consumir menor quantidade das fases líquida e sólida (RODRIGUES *et al.*, 2015; SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2012).

Uma movimentação da fase sólida em contracorrente com a movimentação da fase líquida permitiria que a mistura que se deseja separar seja melhor separada sempre que as vazões utilizadas sejam menores que a vazão com que flui o composto menos adsorvido e ainda sejam maiores que a vazão do composto mais adsorvido pela fase estacionária (recheio). Isso ocorre pois dentro dessa faixa de vazões, o componente menos retido não consegue ser levado pelo recheio que flui em contracorrente e ao mesmo tempo o componente mais retido não consegue ser levado pelo eluente que flui no mesmo sentido que ele, sendo então levado pelo recheio para o sentido oposto.

Assim, seria possível obter o composto menos adsorvido saindo de um lado da coluna (na saída de refinado), enquanto o composto mais adsorvido sairia do outro lado (na saída de extrato), otimizando a separação. O refinado é, portanto, a corrente em que o enantiômero menos retido, e, conseqüentemente, com menor afinidade à fase sólida, deixa a unidade. Já o extrato é a corrente em que o enantiômero mais retido e com maior afinidade ao recheio da coluna deixa o sistema.

Em comparação com a tradicional *Elution Chromatography* (Cromatografia de Eluição) tratada aqui anteriormente, os consumos das fases estacionária e móvel são menores e alcançando melhores critérios de desempenho, como produtividade maior e produtos menos diluídos (RODRIGUES *et al.*, 2015). A **Figura 3.3** demonstra de maneira didática o efeito do movimento em contracorrente entre o eluente e o adsorvente aqui explicado. Enquanto a vazão do sólido (seta preta) é menor que a vazão dos componentes (animais), ambos saem no mesmo lado da coluna. Resultado semelhante ocorre na outra saída quando essa vazão do sólido é maior que ambas as espécies. Somente quando essa vazão de sólido é menor que a de um dos componentes e maior que do outro, se obtém a separação almejada.

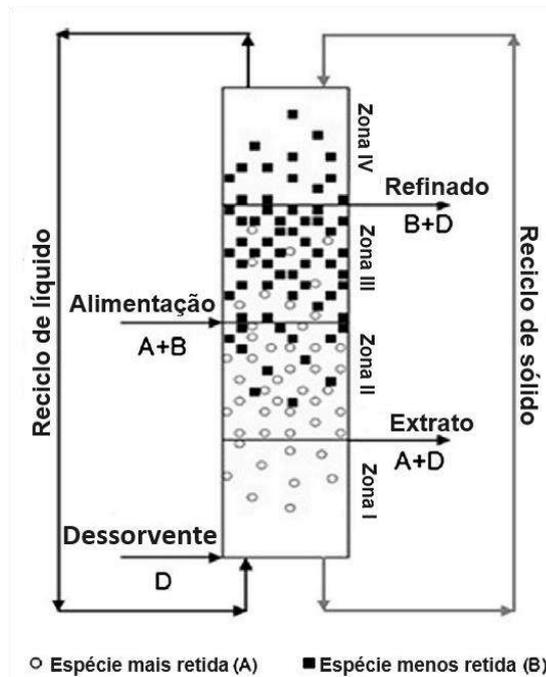
Figura 3.3 – Esquema didático do efeito da operação em contracorrente.



Fonte: RODRIGUES *et al.*, 2015.

A operação de um TMB pode ser melhor visualizada na **Figura 3.4**. O modelo clássico de TMB trabalha com as colunas divididas em 4 zonas em um ciclo (JO, NAM & MUN, 2010), tendo cada uma das zonas uma função específica. Essa divisão se torna natural quando se considera uma alimentação, duas saídas (refinado e extrato) e uma entrada de dessorvente (fase móvel).

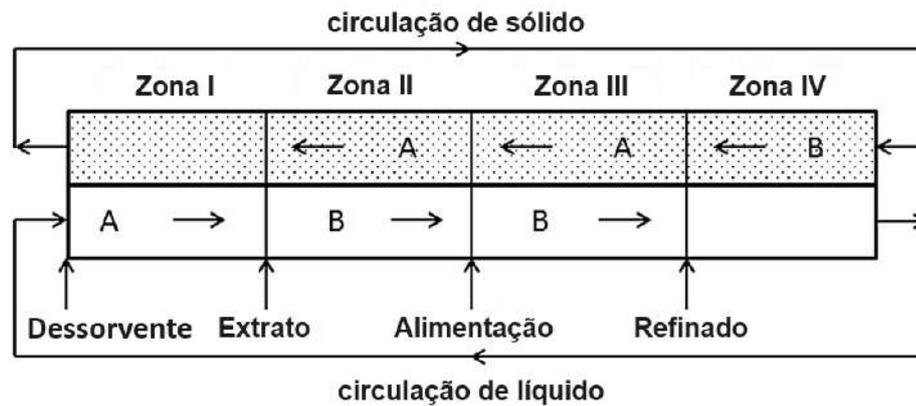
Figura 3.4 – Coluna operando no modelo de TMB.



Adaptado de: RODRIGUES *et al.*, 2015.

A zona I tem a função de regenerar a fase estacionária, que retornará à coluna na zona IV, ou seja, busca-se dessorver o composto mais retido e removê-lo da fase estacionária. Enquanto isso, as zonas II e III são aquelas que levam às saídas das correntes do extrato e refinado, respectivamente. Portanto, na zona II o composto menos retido deve ser dessorvido para não sair no extrato. Na zona III o composto mais retido deve ser adsorvido para não sair no refinado. A alimentação ocorre entre essas zonas II e III. Na última zona (IV), o dessorvente é regenerado e posteriormente retornado na zona I, fechando assim o ciclo. Assim, na última zona busca-se adsorver o composto menos retido e removê-lo da fase móvel para impedir que este saia junto do eluente a ser reciclado. (HARRIEHAUSEN, *et al.*, 2020; SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2012). Desta forma, o líquido percorre o caminho no sentido das zonas I a IV, enquanto o sólido teria um percurso no sentido das zonas IV a I, como mostra a **Figura 3.4** e a **Figura 3.5**. A função de cada zona, assim como esse sentido previsto para os movimentos das fases, estaria garantida com o ajuste adequado das vazões em cada uma das zonas (RODRIGUES *et al.*, 2015).

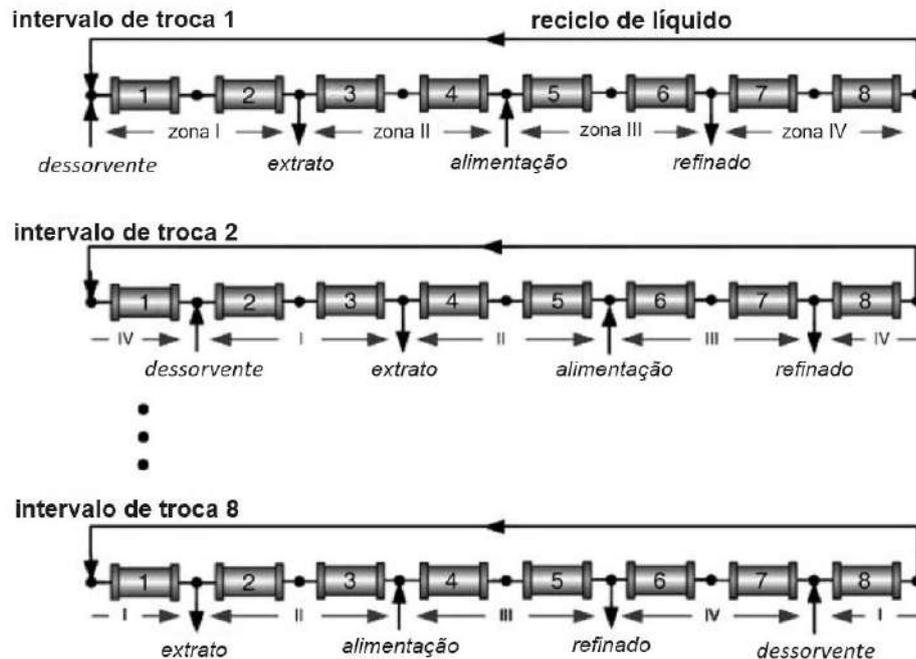
Figura 3.5 – Movimento das espécies em um SMB.



Adaptado de: RODRIGUES *et al.*, 2015.

Entretanto, este movimento da fase estacionária é complexo na prática, por se tratar de um recheio sólido. Logo, o movimento é simulado na coluna de SMB graças à troca periódica das correntes de entrada e saída das colunas cromatográficas (CUNHA *et al.*, 2019). Para que essa troca e esse movimento simulado ocorram, se faz necessário que haja mais de uma coluna em operação, sendo pelo menos uma coluna por zona. Uma configuração bem comum é a 1-2-2-1, em que as zonas I e IV possuem 1 coluna cada, enquanto as zonas II e III possuem 2. Outra também comum é a configuração 2-2-2-2, que pode ser vista na **Figura 3.6** e que, apesar de possuir mais colunas, possui menor custo de dessorvente, uma vez que com menos colunas a regeneração da fase sólida deve ocorrer mais rapidamente e para isso a vazão na zona I deve ser maior (SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2012).

Figura 3.6 – Intervalos de troca e o movimento aparente das colunas em um SMB.

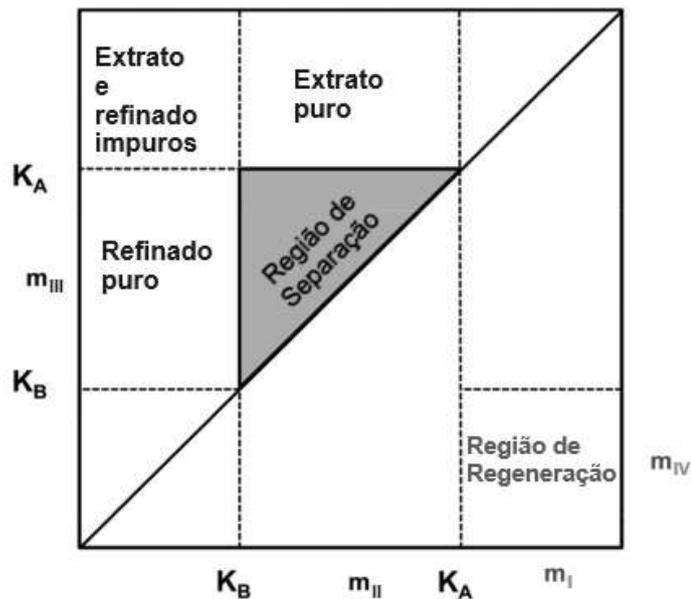


Adaptado de: SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2012.

O movimento em contracorrente entre as fases móvel e estacionária pode ser percebido ao se analisar a **Figura 3.6**. O dessorvente sempre percorre o caminho das zonas I a IV. Entretanto, as colunas são de leito fixo, assim, ao se alternar através de válvulas as entradas e saídas de posição, as colunas parecem se mover no sentido oposto ao movimento da fase móvel. Quanto mais curto os intervalos de troca das correntes e maior o número de colunas, mais fácil de se perceber o movimento contracorrente descrito pela teoria do TMB (SCHMIDT-TRAUB, SCHULTE & SEIDEL-MORGENSTERN, 2012). Contudo, quanto maior o número de válvulas e de colunas, mais custosas a unidade e a operação, além de mais complexas.

As vazões devem ser tais que se permitam separar a mistura e regenerar o solvente. Para isso, foi criada uma teoria que dita as possíveis vazões a serem trabalhadas nesse tipo de unidade. Conhecida como teoria do triângulo, representada na **Figura 3.7**, essa teoria demonstra graficamente as regiões em que se opera com boa separação e boa regeneração, sendo a região de separação dada por um triângulo, enquanto a de regeneração por um retângulo. Os vértices desse triângulo são os pontos de operação que apresentam maior produtividade, porém são difíceis de operar por não serem muito robustos (CUNHA *et al.*, 2019; RODRIGUES *et al.*, 2015).

Figura 3.7 – Teoria do triângulo e regiões de separação e regeneração.



Adaptado de: RODRIGUES *et al.*, 2015.

A região de separação é dada pelos valores de m_{II} e m_{III} , enquanto a região de regeneração é dada pelos valores de m_I e m_{IV} . Esses valores são na realidade a razão entre as vazões do eluente e do adsorvente (Q_s), sendo portanto,

$$m_j = \frac{Q_j}{Q_s}$$

onde Q_j é a vazão do eluente na zona j .

Assumindo um sistema binário, considera-se como modelo matemático para o equilíbrio de adsorção a temperatura constante uma função linear, dada pela isoterma linear de adsorção. Além disso, a resistência à transferência de massa no interior das partículas é desconsiderada (CUNHA *et al.*, 2019; RODRIGUES *et al.*, 2015). Com isso, os valores dessas razões (m_j) se encontram associados aos valores dos coeficientes da isoterma de adsorção, K_i . Considerando o componente mais retido como A e o menos retido com B, tem-se que,

$$m_I = \frac{Q_I}{Q_s} > K_A$$

$$K_B < m_{II} = \frac{Q_{II}}{Q_s} < K_A$$

$$K_B < m_{III} = \frac{Q_{III}}{Q_s} < K_A$$

$$m_{IV} = \frac{Q_{IV}}{Q_s} < K_B$$

Assim, as regiões de separação e de regeneração são dadas em termos dos coeficientes da isoterma de adsorção,

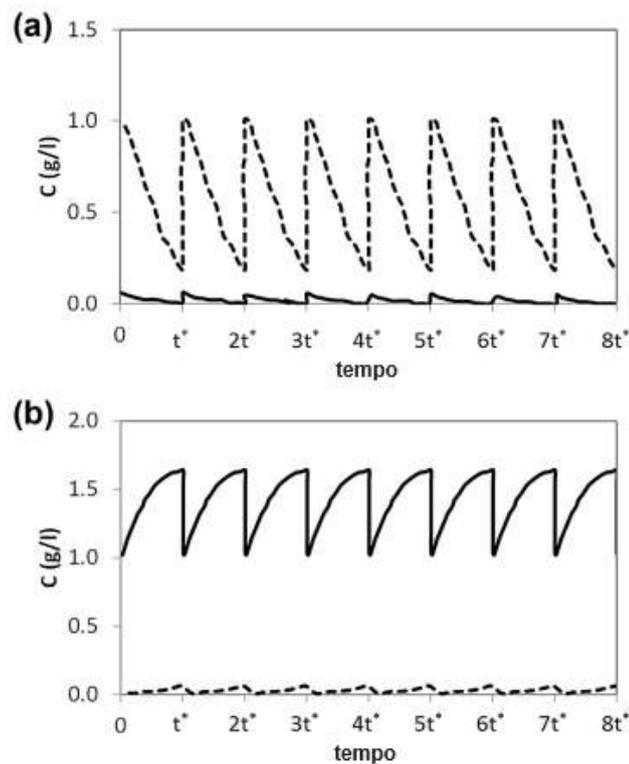
$$K_B < m_{II}, m_{III} < K_A$$

$$m_I > K_A$$

$$m_{IV} < K_B$$

Um processo de TMB poderia atingir um estado estacionário quando as concentrações nas saídas de refinado e extrato se tornassem constantes ao longo do tempo. Porém, diferente do TMB, o SMB não atinge o estado estacionário, mas pode atingir um estado estacionário cíclico (CSS) quando as concentrações das saídas do refinado e do extrato mudarem de maneira cíclica, ou seja, as mudanças nas concentrações ocorrem de maneira repetida no tempo, como demonstrado na **Figura 3.8**. Cada tempo (t) na figura representa um intervalo de troca das posições das válvulas.

Figura 3.8 – Exemplo de estado estacionário cíclico (CSS).



Adaptado de: RODRIGUES *et al.*, 2015.

As diferenças entre a teoria do TMB e sua aplicação no SMB poderiam ser atenuadas com um número infinito de colunas e um tempo de troca de válvulas infinitesimal (RODRIGUES *et al.*, 2015). Além disso, é comum também em operações desse tipo a avaliação

não só da produtividade, mas da recuperação dos enantiômeros e do excesso enantiomérico, que nada mais é do que a razão entre a diferença das concentrações ou frações molares dos enantiômeros e a soma desses mesmos valores (KARNIK & HASAN, 2021).

Já existem na literatura trabalhos que buscam outras formas de arranjar as colunas, de forma a otimizar o número de colunas usadas e, inclusive, de tornar o circuito aberto ao remover uma das zonas, como apresentado por Harriehausen *et al.* (2020).

3.3 RACEMIZAÇÃO

A racemização é um tipo de reação usualmente considerada como reação paralela indesejada, inclusive por gerar aumento de entropia no sistema (SCHNELL, FABER & KROUTIL, 2003).

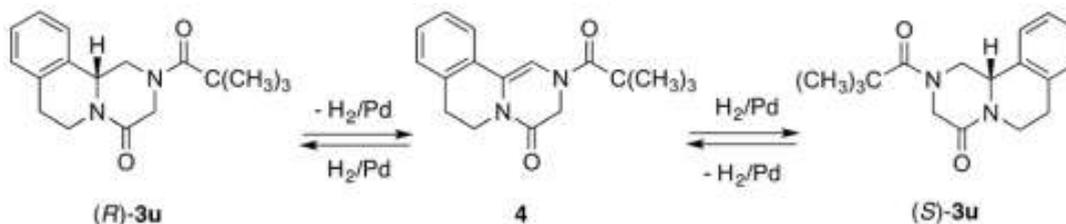
O processo de racemização constitui de transformar irreversivelmente uma certa quantidade macroscópica de um enantiômero em uma mistura racêmica (REIST *et al.*, 1995), ou seja, uma mistura dos dois enantiômeros em iguais quantidades (em base livre de solvente). Na indústria farmacêutica esta técnica é muito utilizada, visto que diversas drogas se apresentam na forma de enantiômeros e em muitos casos um destes enantiômeros acaba por ser tóxico ou inativo (ALI *et al.*, 2007) para aquilo que se deseja tratar, como é o caso do praziquantel.

A racemização pode ser realizada se utilizando de um metal de transição como catalisador (catálise metálica), um ácido ou uma base forte (catálise ácido-básica) ou mesmo uma enzima, via catálise enzimática, como por exemplo lipases, transaminases, racemases, entre outras (FERRAZ, 2019).

Essa reação em geral ocorre com a formação de um intermediário plano (às vezes com um carbânion) e sem plano de simetria a partir do substrato quiral. Isso pode se dar, por exemplo, com a remoção de um hidrogênio ligado ao carbono quiral (desidrogenação). A esse intermediário pode ser readicionado um átomo de hidrogênio (hidrogenação) no mesmo ponto em que o anterior foi retirado. Com isso, se formará novamente um composto quiral que terá 50% de chances de ser *R* ou *S*, formando uma mistura racêmica (BADA, 1985; CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2012; CONLEY *et al.*, 2010). Um exemplo de racemização utilizando de desidrogenação e hidrogenação é demonstrado na **Figura 3.9**, em que um enantiômero pode ser obtido através do outro, passando por um intermediário. No exemplo citado, o enantiômero *R* pode ser desidrogenado, gerando um intermediário (4) contendo uma dupla ligação entre os carbonos que estavam previamente ligados aos átomos de H que saíram

da molécula. Através de uma nova hidrogenação (reação com H₂), é possível obter o outro enantiômero, o *S*.

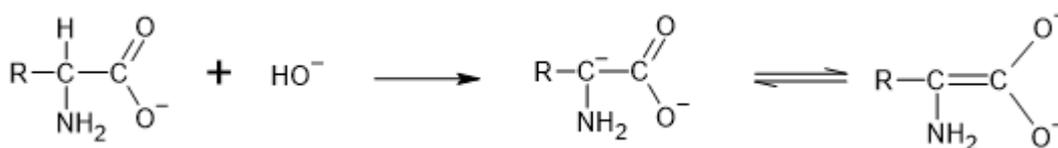
Figura 3.9 – Exemplo de reação de racemização.



Fonte: VALENTI *et al.*, 2021.

O intermediário formado pode ser estabilizado pelos grupos ligados ao carbânion gerado, que podem ajudar a distribuir a densidade eletrônica ao longo da molécula, em um efeito de ressonância, como visto na **Figura 3.10**. Forma-se, em muitos casos, um isomerismo similar à tautomeria, reação de transferência intramolecular de um próton, que transforma, por exemplo, um enol em uma cetona (isômeros). Com isso, há uma melhor estabilização do intermediário. Estudos demonstram que quanto mais estável o intermediário, mais rápida é a reação de racemização (BADA, 1985; NEUBERGER, 1948; CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2012).

Figura 3.10 – Desidrogenação e estabilização do intermediário da racemização.



Adaptado de: NEUBERGER, 1948.

Desta forma, a reação de racemização costumeiramente ocorre na presença de uma fonte doadora de hidrogênio, podendo em muitos casos ser o próprio hidrogênio gasoso, H₂ (VALENTI *et al.*, 2021; FERRAZ, 2019).

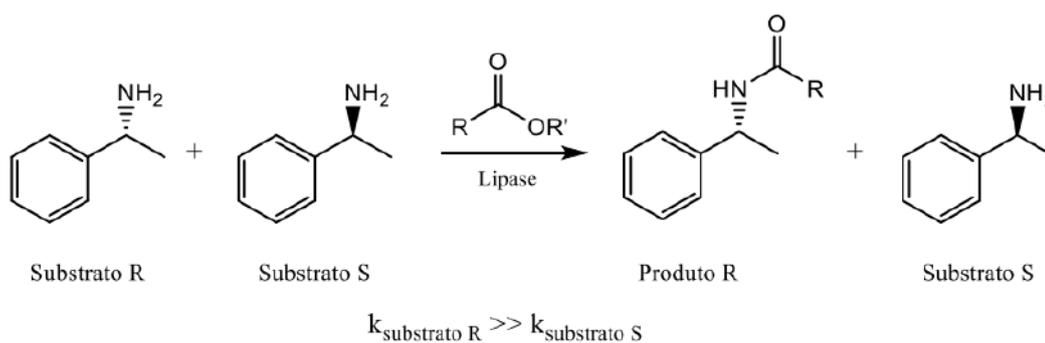
3.4 RESOLUÇÃO CINÉTICA

A resolução cinética (KR) consiste na transformação de uma mistura racêmica em um novo composto enantiomericamente puro, ou seja, o produto desta reação é uma solução contendo somente o enantiômero *R* ou o *S* de uma determinada espécie. Para isso, usualmente

se utiliza de uma reação de acilação, em que se ataca um grupo nucleofílico formando a nova molécula enantiomericamente pura. Dessa forma, a reação deve ser enantiosseletiva, permitindo que somente um dos enantiômeros reaja, fazendo-se necessário encontrar um catalisador enantiosseletivo, o que nem sempre é simples. Essa acilação pode ser uma esterificação (caso haja uma hidroxila envolvida) ou inclusive uma aminólise (caso haja uma amida envolvida). A resolução cinética é, portanto, uma solução para tornar um racemato em um composto enantiomericamente puro (CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2012; SCHMIDBERGER *et al.*, 2015). Na indústria farmacêutica, esta solução pode evitar os problemas envolvidos na administração da mistura racêmica, como apontado anteriormente.

Para a realização da acilação é necessário um doador de acila, que pode ser um ácido carboxílico ou um éster, por exemplo. Essas reações muitas vezes necessitam de catalisadores para acontecer. Estes catalisadores são comumente enzimáticos, pois permitem que somente um dos enantiômeros da mistura sofra a acilação devido às altas seletividades encontradas nesse tipo de catalisador, fazendo com que a reatividade para com cada enantiômero seja diferente. Com grande diferença nas velocidades de reação, somente um dos enantiômeros tende a reagir. Assim, por meio da KR é possível isolar compostos enantiomericamente puros, principalmente álcoois e aminas (CLAYDEN, GREEVES & WARREN, 2012; FILICE *et al.*, 2013; VERHO & BÄCKVALL, 2015; FERRAZ, 2019; ZHANG, ZHANG & RAMSTRÖM, 2020). Um exemplo de KR pode ser melhor visualizado na **Figura 3.11**, em que somente um dos substratos (*R*) reage, enquanto o outro (*S*) permanece inalterado devido às diferenças de velocidade de reação entre eles. Como o enantiômero *R* reage consideravelmente mais rápido, ele é o único a formar produto (também de orientação *R*).

Figura 3.11 – Exemplo de resolução cinética (KR).



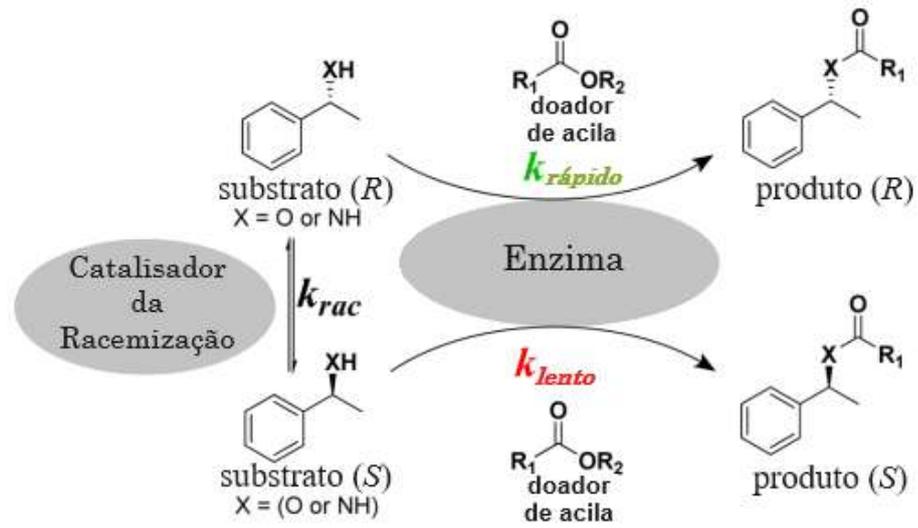
Fonte: FERRAZ, 2019.

O problema encontrado nas resoluções cinéticas é o rendimento obtido nesse tipo de operação. Como somente um dos enantiômeros do racemato é alvo da acilação, somente metade da mistura irá sofrer resolução e será posteriormente isolada. Enquanto isso, o enantiômero não reagido permanece inutilizado, tornando o rendimento teórico máximo de apenas 50% (VERHO & BÄCKVALL, 2015; FERRAZ, 2019).

3.5 RESOLUÇÃO CINÉTICA DINÂMICA

Uma solução para a limitação no rendimento da KR é a associação desta operação à racemização do enantiômero não reagido, fazendo com que se forme novamente uma mistura racêmica que será alvo da KR. A esse procedimento acoplado se dá o nome de resolução cinética dinâmica (DKR). Com isso, todo enantiômero indesejado irá se transformar em racemato. Este possui 50% de enantiômero alvo, que sofrerá resolução cinética. Os outros 50% de enantiômero indesejado sofrerá nova racemização, gerando novo racemato. Esse processo continua sempre que restar enantiômeros indesejados e até se formar o máximo possível do produto enantiomericamente puro. A resolução cinética dinâmica, portanto, permite 100% de rendimento teórico na síntese de compostos enantiomericamente puros (MIRANDA, MIRANDA & SOUZA, 2015; FERRAZ, 2019; ZHANG, ZHANG & RAMSTRÖM, 2020). Um esquema demonstrando um exemplo de DKR pode ser melhor visualizado na **Figura 3.12**. No exemplo mostrado, percebe-se que enquanto um dos enantiômeros (*R*) reage catalisado pela enzima, o outro não reage com a mesma devido à baixa velocidade de reação. Contudo, diferente da KR, nota-se que o substrato que não reage enzimaticamente (*S*) é convertido em uma mistura racêmica através de uma reação de racemização, formando assim substrato *R* a partir do *S*. Desta forma, a tendência é que toda a mistura se transforme no produto *R*.

Figura 3.12 – Exemplo de resolução cinética dinâmica (DKR).



Adaptado de: VERHO & BÄCKVALL, 2015.

4 PROPOSTAS

Para a melhor administração do praziquantel, buscaram-se soluções visando a redução da sua dosagem, diminuindo o tamanho dos comprimidos administrados e facilitando a utilização de xaropes, reduzindo o amargor dos mesmos. Para isso, seria necessária a produção e a administração somente do enantiômero *R*, aquele mais ativo e menos amargo, evitando inclusive possíveis efeitos adversos e hepatotóxicos.

Visando a obtenção de praziquantel enantiomericamente puro, portanto, foram formuladas duas propostas distintas baseadas em estudos encontrados na literatura. A primeira proposta se baseia na separação do PZQ racêmico por meio de um processo cromatográfico (SMB) acoplado com racemização. Já a segunda proposta se baseia na produção de *R*-PZQ (enantiômero ativo) a partir de um precursor utilizando a resolução cinética dinâmica (DKR) em catalisador híbrido. Ambas as propostas são detalhadas e discutidas adiante.

4.1 ACOPLAMENTO ENTRE SMB E RACEMIZAÇÃO

Pode-se verificar na literatura encontrada que o processo SMB é amplamente utilizado na separação de enantiômeros e produção de fármacos puros (ZHANG *et al.*, 2007). Com o praziquantel não é diferente, como se percebe nos trabalhos de Cunha (2021), Calderón Supelano (2021) e Moscoso (2015).

No primeiro estudo sobre a separação de PZQ por cromatografia SMB, realizado por Ching *et al.* (1993), percebe-se a utilização de uma configuração de colunas 1:1:2 (portanto, sem a zona IV de regeneração do eluente presente) e o solvente escolhido foi o metanol. Como fase estacionária foi escolhido o triacetato de celulose microcristalina (CHING *et al.*, 1993).

A unidade SMB descrita por Cunha (2019, 2021) possui algumas diferenças se comparada à unidade descrita no primeiro estudo sobre o assunto. A unidade de Cunha (2019, 2021) continha 6 colunas dispostas na configuração 1:2:2:1 (uma coluna na zona I, duas na zona II, duas na zona III e uma na zona IV). Além disso, a fase estacionária escolhida foi a celulose *tris* 3-cloro, 4-metilfenilcarbamato e como solvente (fase móvel) se utilizou o etanol. A celulose *tris* 3-cloro, 4-metilfenilcarbamato apresenta maior estabilidade mecânica e menor solubilidade em solventes polares, como são os casos do metanol e do etanol utilizados nos dois estudos, o que permite uma melhor separação dos enantiômeros da mistura racêmica (CUNHA, 2021; CHING *et al.*, 1993).

Dentre os resultados obtidos por ambos, destaca-se a maior pureza nas saídas de extrato e de refinado no trabalho de Cunha (2021), chegando a valores próximos ou iguais a 100%

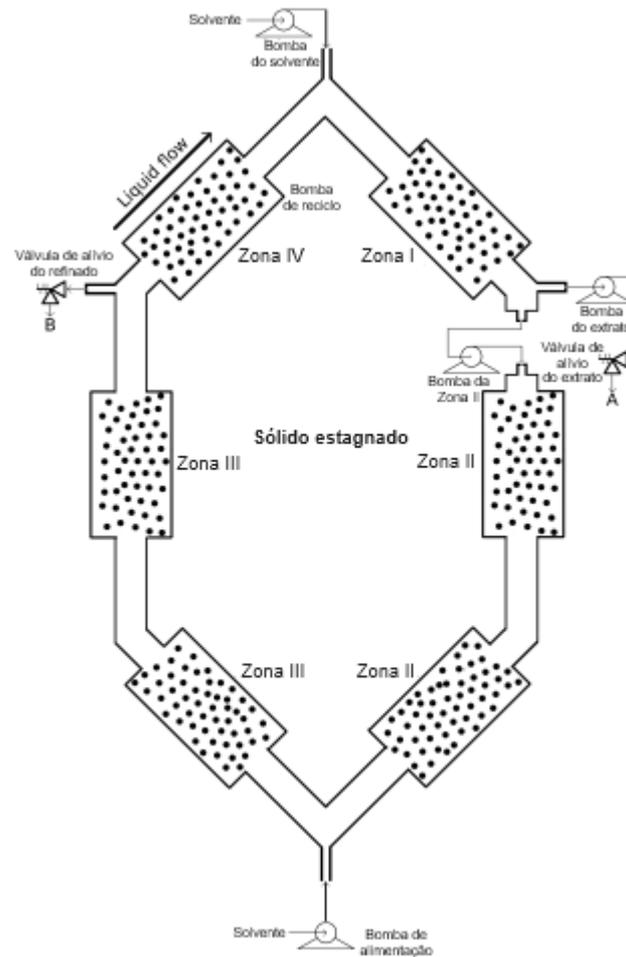
(98,6% para *D*-PZQ saindo no extrato e 100% de pureza para *L*-PZQ saindo no refinado em uma das corridas realizadas), enquanto no trabalho de Ching *et al.* (1993) os valores ficam em 90,09% e 93,68% para o extrato e para o refinado, respectivamente. Isso pode ser explicado por alguns fatores, entre eles pelo fato de Cunha (2021) trabalhar com um maior número de colunas nas zonas de separação propriamente dita (zonas II e III). O fato de ambos não alcançarem 100% de pureza nas duas saídas em uma mesma corrida também se explica pelo número limitado de colunas, uma vez que a teoria do TMB requisita um número infinito de colunas nas zonas de separação para que esta ocorra por completo (CUNHA, 2021; CHING *et al.*, 1993). A unidade descrita por Cunha (2021) pode ser melhor visualizada na **Figura 4.1**, em que as colunas são representadas pelo número 5. Além disso, na **Figura 4.2** pode ser vista a configuração 1:2:2:1 mencionada e utilizada por Cunha (2021).

Figura 4.1 – Unidade utilizada por Cunha (2021).



Fonte: Cunha (2021).

Figura 4.2 – Configuração 1:2:2:1 utilizada por Cunha (2021).



Adaptado de: Cunha (2021).

Vale destacar também que as concentrações de alimentação no processo realizado por Cunha (2021) foram mais do que 10 vezes menores e o tempo para atingir o estado estacionário mais do que 5 vezes menor se comparados com os resultados obtidos por Ching *et al.* (1993). Enquanto isso, a produtividade chegou a 125 e 107 gramas por quilograma de adsorvente por dia, para *L*-PZQ e *D*-PZQ respectivamente, com purezas de 97,1% (*L*-PZQ) e 98% (*D*-PZQ). Esses valores de produtividade são próximos aos obtidos por Ching *et al.* (1993), que foram de 110 e 115 gramas por quilograma de adsorvente por dia, para *L*-PZQ e *D*-PZQ respectivamente. Outro dado importante é o consumo reduzido da fase móvel quando se aumentou a concentração de praziquantel racêmico na entrada, um fator de extrema importância quando se busca escalas maiores de operação. A presença de uma zona IV de regeneração de eluente auxilia a redução da utilização de eluente fresco (CUNHA, 2021; CHING *et al.*, 1993). Isso ocorre devido à função desta zona, que busca adsorver o componente menos retido antes de reciclar o eluente para a zona I (RODRIGUES *et al.*, 2015). Sem essa zona, portanto, a saída do eluente contendo

ainda o componente menos retido acaba se dando no refinado e com isso, pode haver perda desse solvente. Sendo assim, a corrida com maior concentração de entrada mostrou maior produtividade, menor consumo de fase móvel e altos valores de pureza nas saídas de refinado e extrato, tendo ainda assim concentrações de alimentação muito menores que as encontradas na literatura (CUNHA, 2021). Esses dados, demonstrados na **Tabela 4.1**, reforçam a robustez da unidade e do método utilizados por Cunha (2021), principalmente se comparado aos demais trabalhos encontrados.

Tabela 4.1 – Resultados das corridas realizadas por Cunha (2021) e comparações com a literatura.

	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3	Corrida 4	Corrida 5	Ching <i>et al.</i> *	Lim <i>et al.</i> *
$\bar{C}_{A \text{ ou } B, F}^{\#}$	0.55 ± 0.03	0.53 ± 0.05	0.57 ± 0.01	0.46 ± 0.02	2.02 ± 0.04	25	25
Pur _{A,X} [#]	97 ± 2	99 ± 1	98.6 ± 0.2	98 ± 1	98 ± 1	90.1	85.9
Pur _{B,R} [#]	100 ± 0	68 ± 2	100 ± 0	78 ± 2	97.1 ± 0.2	93.7	97.5
Rec _{A,X} [#]	94 ± 10	47 ± 4	96 ± 3	71 ± 6	90 ± 4	94	98
Rec _{B,R} [#]	104 ± 10	102 ± 3	100 ± 3	97 ± 3	103 ± 5	90	84
Pr _A [#]	24 ± 4	11 ± 1	27 ± 2	16 ± 3	107 ± 4	115	n.d.
Pr _B [#]	27 ± 3	26 ± 1	28,4 ± 0.5	22 ± 2	125 ± 2	110	n.d.
DC	4.8 ± 0.4	2.5 ± 0.3	2.8 ± 0.1	2.9 ± 0.3	1.06 ± 0.02	0.29	0.35
t _{troca} [#]	3.55	8.78	6.58	8.71	3.55	45.0	30.0

* dispersão dos experimentos não disponível (n.d.)

** A e B são o D-PZQ e L-PZQ, respectivamente

\bar{C} =[gL⁻¹]; Pur=[-]; Rec=[-]; Pr=[g kg_{ads}⁻¹ dia⁻¹]; DC=[g_iL⁻¹]; t_{troca}=[min]

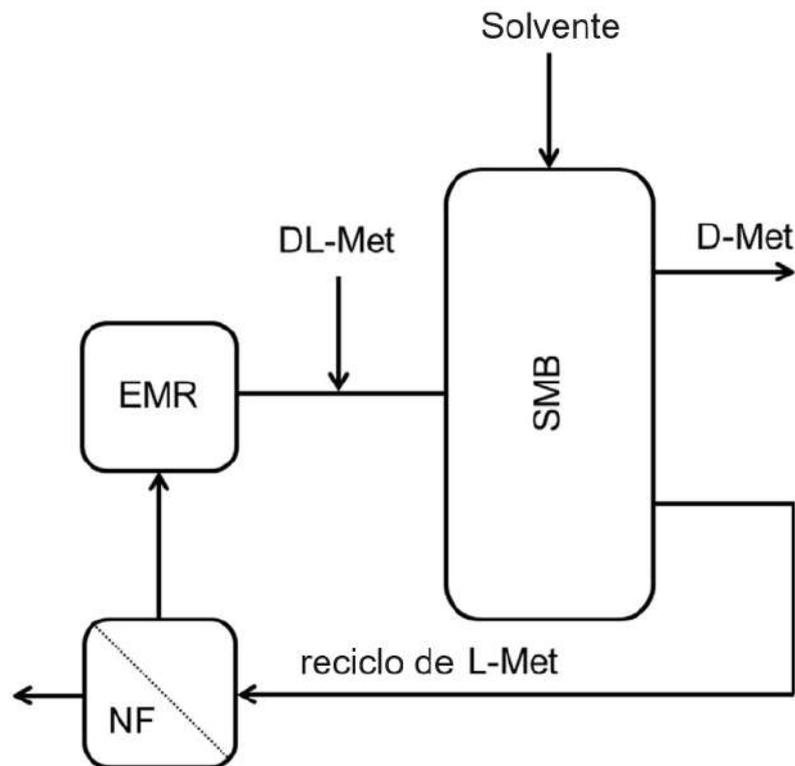
Adaptado de: CUNHA, 2021.

Uma separação dos enantiômeros de uma mistura racêmica através de processos como a Cromatografia de SMB resulta, na melhor das hipóteses, em um rendimento de 50% na operação, ou seja, é possível obter na forma do enantiômero alvo somente 50% da massa inicialmente utilizada para separação (mistura racêmica). Com um posterior tratamento do enantiômero inativo ou tóxico com uma racemização e reintrodução da nova mistura racêmica na unidade SMB, seria possível trazer um maior rendimento ao processo, principalmente se for aplicada a racemização sempre que restar alguma quantidade do enantiômero indesejado. Sendo assim, poderia ser obtido virtualmente até 100% de rendimento, transformando uma mistura racêmica original no enantiômero desejado (FUEREDER *et al.*, 2016). Para o caso do praziquantel, seria possível uma administração melhor do medicamento, já que seria necessário administrar somente metade da massa original racêmica, permitindo uma maior facilidade na administração via comprimido e também via xarope, pois o enantiômero indesejado é o maior responsável pelo gosto amargo do fármaco (ANDRADE *et al.*, 2020). Como aponta Cunha

(2021), a racemização da corrente de extrato contendo *D*-PZQ com alta pureza e sua posterior reintrodução à unidade SMB como racemato (ou soluções com concentrações diferentes da condição racêmica) traria melhor desempenho ao processo.

Na literatura surgem algumas propostas de acoplamento de Cromatografia de SMB e racemização, como é o caso do trabalho realizado por Fuereder *et al.* (2016), um dos primeiros grupos a realizar este tipo de trabalho. Foi realizado um acoplamento da unidade SMB com uma unidade de nanofiltração (NF) e posteriormente um reator de membrana (EMR), onde ocorre a racemização enzimática (FUEREDER *et al.*, 2016). Esta proposta de acoplamento pode ser melhor visualizada na **Figura 4.3**.

Figura 4.3 – Acoplamento de SMB com NF e EMR proposto por Fuereder *et al.* (2016).



Adaptado de: FUEREDER *et al.*, 2016.

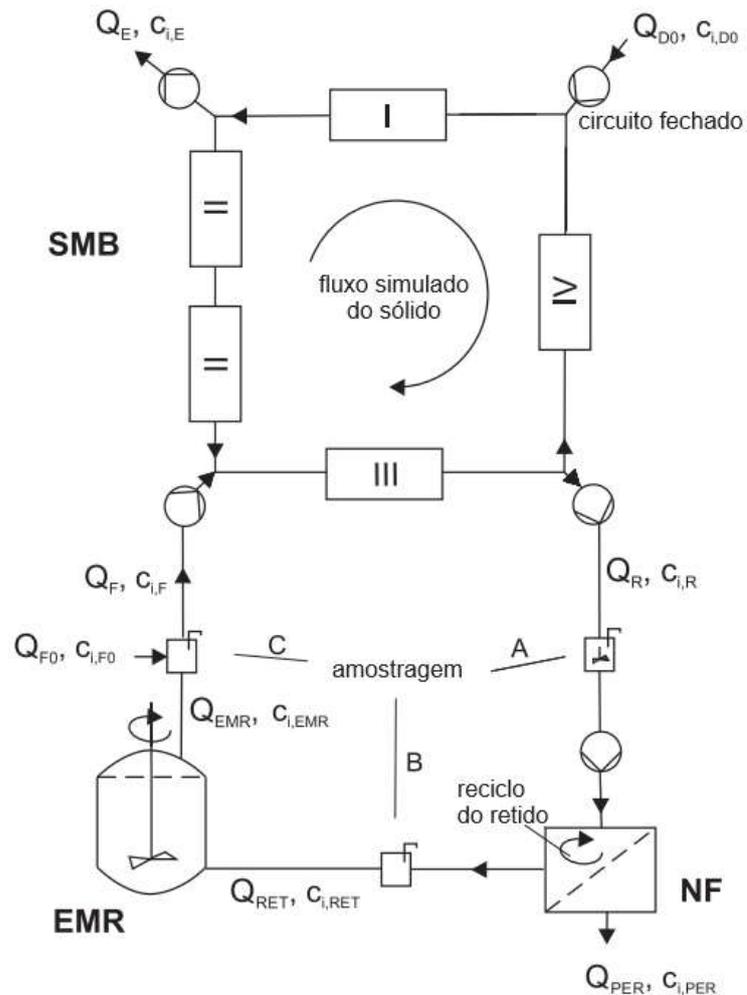
No trabalho de Fuereder *et al.* (2016), foi utilizada como alimentação uma mistura racêmica do aminoácido metionina e buscou-se separar a *D*-metionina (enantiômero desejado) da *L*-metionina (enantiômero indesejado). O solvente escolhido foi uma mistura de acetato de amônia e metanol, em proporções de 75% de acetato e 25% de metanol. O eluente para aminoácidos é comumente aquoso, considerando que boa parte dessas moléculas são hidrofílicas. A configuração escolhida utilizou de 5 colunas na disposição 1:2:1:1, contendo,

portanto, a zona IV de regeneração de solvente e com isso tornando a operação com ciclo fechado. Cada coluna continha o macrocíclico glicopeptídeo *teicoplanin aglycone* (TAG) como fase estacionária. Este glicopeptídeo se mostra o mais eficiente seletor para ser utilizado como fase estacionária em aminoácidos naturais, separando completamente todos eles, inclusive a metionina estudada (FUEREDER *et al.*, 2016; BERTHOD, 2012).

Acoplado à unidade SMB se inseriu uma unidade de nanofiltração visando concentrar o refinado que sai da unidade SMB antes da entrada no reator de membrana, a fim de facilitar a racemização, já que este último processo possui maior diferença de concentração e maior tempo de residência. Esta nanofiltração foi realizada por uma membrana de poliamida (FUEREDER *et al.*, 2016).

Na saída da unidade de nanofiltração, se acoplou um reator de membrana responsável pela racemização do refinado contendo o enantiômero indesejado. A enzima responsável pela catálise foi a *amino-acid racemase* (AAR) EC 5.1.1.10, produzida por meio da bactéria *Pseudomonas putida* DSM 3263. Esta enzima se mostrou adequada para operação em solventes contendo água/metanol, que é o caso trabalhado. Além disso, a enzima apresenta vasta especificidade para diversos tipos de aminoácidos alifáticos, como é o caso da *L*-metionina (BECHTOLD *et al.*, 2007; SCHNELL, FABER & KROUTIL, 2003). A manutenção do solvente utilizado durante a separação na unidade de SMB se mostra uma grande vantagem desta operação, já que a escolha do solvente é essencial tanto para a etapa de separação, quanto para a etapa de biocatálise, podendo, portanto, ser fundamental para a otimização do processo como um todo. Além disso, a cinética da racemização pôde ser bem representada através do modelo de Michaelis-Menten, e percebeu-se também que a enzima não é inibida por altas concentrações de substrato (BECHTOLD *et al.*, 2007). A utilização de um filtro de membrana de polietersulfona (PES) neste processo foi necessária justamente para evitar a perda de enzima do reator. A corrente de saída do reator de membrana foi misturada com metionina racêmica fresca para retornar à alimentação da unidade SMB (FUEREDER *et al.*, 2016).

Figura 4.4 – Esquema detalhado da unidade proposta por Fuereder *et al.* (2016).



Adaptado de: FUEREDER *et al.*, 2016.

Foi observado neste trabalho um rendimento de 93,5% com operação e produção contínuas por 33h, muito acima dos 50% teóricos obtidos somente com a unidade SMB e muito próximo do valor ideal teórico de 100% de recuperação do enantiômero alvo. O fato de não se ter atingido os 100% teóricos se deve principalmente à limitação da membrana de nanofiltração, que permitiu que cerca de 4,5% do aminoácido alimentado deixasse o processo, além da limitada pureza do extrato, que continha 98% de *D*-metionina, com 2% de *L*-metionina contaminante. Fuereder *et al.* (2016) apontam que caso se operasse a cromatografia com baixa diluição da corrente de extrato (ou seja, com um extrato mais concentrado), haveria uma menor quantidade de material permeando a membrana de NF, uma vez que baixas concentrações de extrato gera um alto fator de concentração volumétrica (razão entre as vazões de refinado e do retido pela membrana). Consequentemente, haveria menos perda de metionina através da membrana, ao custo de uma menor produtividade do enantiômero desejado. Além disso,

poderia se pensar em outro tipo de membrana para a NF, uma com material que permitisse uma rejeição completa à metionina, como uma membrana de osmose reversa, ao custo de uma alta queda de pressão na filtração (FUEREDER *et al.*, 2016).

Como discutido por Rajendran, Paredes e Mazzotti (2009) e por Paredes e Mazzotti (2007), e enfatizado por Fuereder *et al.* (2016), o ponto ótimo de operação do SMB geralmente leva em conta dois fatores de desempenho considerados essenciais para a operação: a máxima produção e o mínimo consumo de fase móvel. O ponto ótimo desejado permitiria, portanto, uma operação com custos menores e grande produção, o que se torna primordial para um processo industrial. Entretanto, como também colocado por estes autores, em geral o aumento da produção leva a um aumento no consumo de absorventes. Seria necessário, então, uma compensação (um *trade-off*) entre uma variável de desempenho e outra. Dessa forma, ocorre que muitos procuram encontrar um ponto em que se possa operar com altas produções e baixos consumos de solvente, dando os devidos pesos a cada variável e calculando o ponto ótimo por meio de funções de custo. Contudo, para essa solução seria necessário avaliar a importância relativa de cada variável, o que poderia não ser adequado para todos os casos e levar a erros de otimização (RAJENDRAN, PAREDES & MAZZOTTI, 2009; PAREDES & MAZZOTTI, 2007). Como alternativa se propõe a construção de um gráfico ou conjunto de Pareto (*Pareto set*), como realizado por Fuereder *et al.* (2016).

O gráfico de Pareto consiste em um conjunto de pontos ótimos que leva em conta todas as variáveis de desempenho ao mesmo tempo. Um exemplo didático de um gráfico deste tipo se encontra na **Figura 4.5**. Para o caso de duas variáveis de desempenho, em que se deseja minimizar uma e maximizar outra, a curva se apresenta em um plano, contendo em cada eixo uma das variáveis de desempenho. A curva representa, portanto, os pontos ótimos de operação considerando certas condições pré-definidas, tais como pureza mínima dos produtos, máxima queda de pressão durante a operação, entre outras. Os pontos obtidos abaixo desta curva não atendem às condições pré-estabelecidas e, portanto, não constituem pontos ótimos viáveis. Já para cada ponto acima da curva é possível encontrar um ponto na própria curva que claramente apresenta valores melhores das variáveis de desempenho.

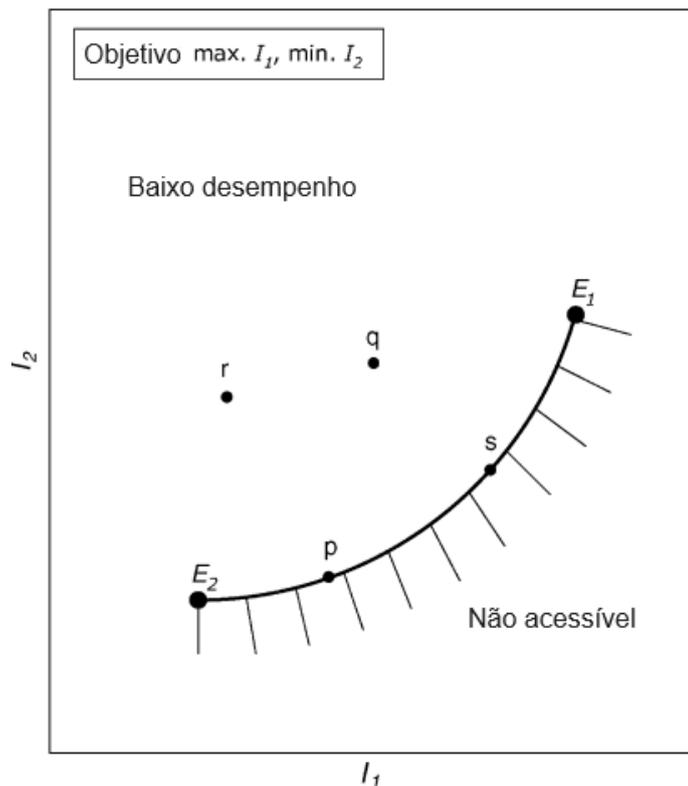
Analisando a **Figura 4.5**, o ponto q , por exemplo, atende melhor o critério de maximizar I_1 , se comparado com o ponto p pertencente à curva. O último, por sua vez, atende melhor o critério de minimizar I_2 . Inicialmente, poder-se-ia atribuir um peso para cada critério, visando escolher o ponto ótimo entre q e p . Contudo, sabe-se com certeza que o ponto q não é o ponto

ótimo buscado, uma vez que ao analisar o ponto s , também pertencente à curva, percebe-se que este atende melhor a ambos os critérios se comparado ao ponto q acima da curva.

Sendo assim, os pontos acima da curva também não podem representar pontos ótimos de operação. Para saber, entretanto, qual ponto pertencente à curva é o melhor ponto para se operar são necessárias outras informações acerca da operação, tais como custo de equipamento, de produtos e de insumos, por exemplo (PAREDES & MAZZOTTI, 2007).

A obtenção dos pontos ótimos que compõem o gráfico de Pareto passa por restrições impostas pela própria operação, assim como restrições que podem ser impostas por nós, tal como um valor mínimo de pureza a ser obtido. Com essas restrições consideradas, busca-se então maximizar a função de produtividade e minimizar a função de consumo de solvente, para o caso aqui estudado. Para traçar esses pontos a partir destas funções (de maximização e minimização) e restrições (dadas geralmente por inequações e equações), utiliza-se de uma abordagem matemática ou um algoritmo, que podem ser diversos, como apresentado por Bhaskar, Gupta e Ray (2000) e Calderón Supelano (2021).

Figura 4.5 – Exemplo didático de um gráfico de Pareto.

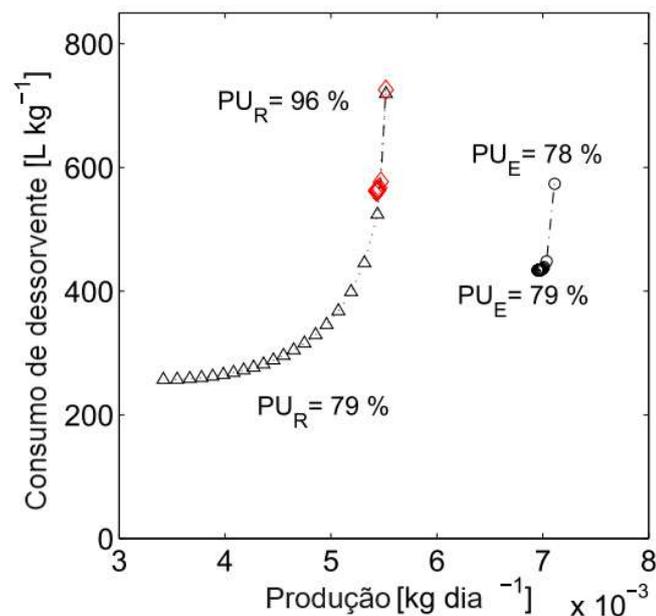


Adaptado de: PAREDES & MAZZOTTI, 2007.

Ao analisar o acoplamento da unidade de SMB com outras duas unidades (NF e EMR), deve-se levar em conta as variáveis de custo associadas à cada unidade. Como apontado por Fuereder *et al.* (2016) no seu estudo, a principal diferença no projeto entre a unidade SMB sozinha e a mesma acoplada se encontra na pureza do refinado que deixa o SMB, que passa a ser uma variável livre ao invés de uma variável especificada por questões de rendimento. Assim sendo, mesmo com baixas purezas no refinado, ainda seria possível obter 100% de rendimento na obtenção do enantiômero alvo, desde que não haja perdas pelo NF, ou seja, desde que o nanofiltro não permita a passagem de nenhum dos enantiômeros.

O gráfico construído por Fuereder *et al.* (2016) para o processo acoplado e para diferentes valores de pureza de refinado e de extrato se encontram representados na **Figura 4.6**, em que os triângulos representam pontos ótimos de produção de *D*-metionina, que deixa o sistema pelo extrato da unidade SMB, enquanto que os círculos representam os pontos ótimos de produção da *L*-metionina, que sai pela corrente de refinado. Percebe-se por esse gráfico o *trade-off* mencionado anteriormente, em que o aumento na produção gera um aumento no consumo de dessorvente, ou seja, à medida que os valores de produção aumentam, também o fazem os valores de consumo de dessorvente (FUEREDER *et al.*, 2016).

Figura 4.6 – Gráfico de Pareto para o acoplamento realizado por Fuereder *et al.* (2016).



Adaptado de: FUEREDER *et al.* (2016).

O trabalho de Fuereder *et al.* (2016) ainda assumiu valores para alguns custos e vida útil de variáveis envolvidas no processo, entre elas a fase estacionária, o dessorvente, a enzima e a membrana (valores listados na **Tabela 4.2**). Foram definidos alguns parâmetros, como o custo específico por unidade de tempo (π_x), dado pela razão entre P_x e I_x , sendo os últimos a vida útil (I_x) e o preço do insumo (P_x). A quantidade utilizada ou consumida no processo (M_x) e a produção (TP) se relacionam para se obter o custo do insumo em relação à produção do produto de interesse. O custo do insumo por quantidade de *D*-metionina produzida também pode ser visualizado na sétima coluna da tabela apresentada. Definiu-se também o fator de peso do insumo (w_x), que indica a relevância que o mesmo possui no custo de operação, variando entre 0 e 1. Além disso, a contribuição do insumo para o custo final é demonstrada pelo valor percentual mostrado.

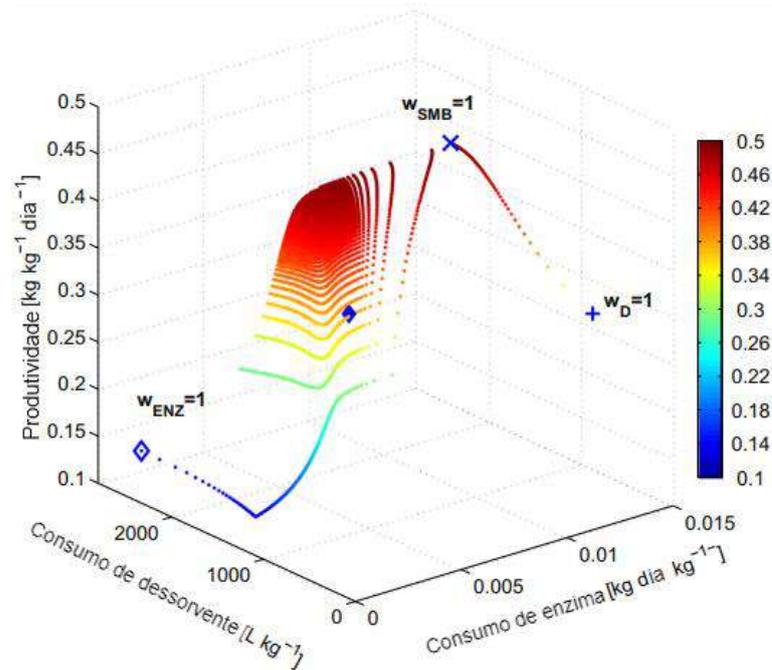
Ao se considerar o custo da enzima na otimização do processo, busca-se ao mesmo tempo obter um ponto ótimo com alta produção, baixo consumo de solvente e baixo consumo de enzima. Desta forma, foi construído um outro gráfico de Pareto, representando todas as três variáveis de desempenho consideradas, em que se variou o peso que cada variável tem no custo de operação (w_x), variando de 0 a 1 como mostra a **Figura 4.7** (FUEREDER *et al.*, 2016).

Tabela 4.2 – Custos de operação associados ao acoplamento realizado por Fuereder *et al.* (2016).

	P_x [\$ kg ⁻¹] ou [\$ m ⁻²]	I_x [dias]	π_x [\$ kg ⁻¹ dia ⁻¹] or [\$ m ⁻² dia ⁻¹]	w_x [-]	M_x/TP [kg kg ⁻¹ dia] or [m ² kg ⁻¹ dia]*	[\$ kg D-Met ⁻¹]	[%]
Enzima	30,000	3	10,000	0.99488	9.72E-04	10	3.4
Fase Estacionária	25,000	500	50	0.00497	2.585	129	45.4
Membrana	100	100	1	0.00010	0.050	0	0.0
Solvente	0.5	1	0.5	0.00005	291.180	146	51.2
*das corridas de otimização de Pareto			10051.5		Σ	285	

Adaptado de: FUEREDER *et al.*, 2016.

Figura 4.7 – Gráfico de Pareto 3D para o acoplamento de Fuereder *et al.* (2016).



Adaptado de: FUEREDER *et al.*, 2016.

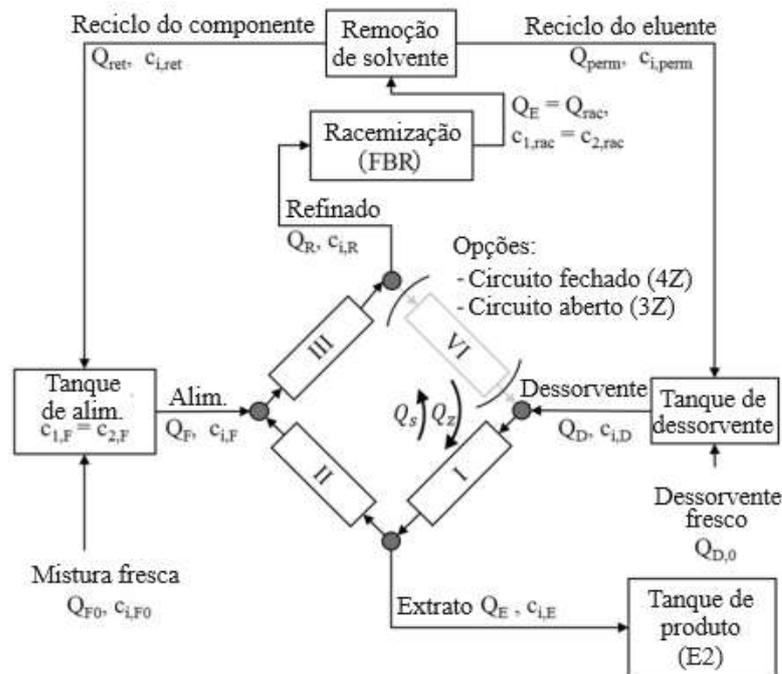
O ponto de operação escolhido a partir deste gráfico (marcado com um losango) mostrou 88% de pureza no refinado e conversão de 47,7% no EMR, além de conseguir uma redução de 40% nos custos se comparado a um processo com os mesmos pesos e custos, mas com valores de pureza no refinado e conversão fixados no máximo. Com isso, percebe-se que um pequeno relaxamento nestas variáveis de processo traz um benefício muito maior aos custos de operação. Notou-se também que o solvente correspondeu a 51% dos custos totais de operação, enquanto a fase estacionária correspondeu a 45% e a enzima a apenas 3,4%. Isso demonstra o grande peso do solvente nos custos de operação e a necessidade de um reciclo do mesmo. Porém, também é demonstrado que um processo utilizando enzima como biocatalisador para racemização se torna viável operacional e economicamente, quando apresenta cinética do tipo Michaelis-Menten. O processo acoplado se torna ainda mais interessante para produtos químicos e farmacêuticos com maior valor agregado, uma vez que os custos envolvidos nesta operação ainda são elevados (o custo estimado pelos autores, em 2016, era de \$285/kg de *D*-metionina produzida). Este é justamente o caso do praziquantel aqui estudado (FUEREDER *et al.*, 2016).

Percebe-se, desta forma, os benefícios trazidos pelo acoplamento da cromatografia com a racemização. Entretanto, ainda faltam trabalhos nessa área que demonstrem melhor esses

benefícios, comparando, por exemplo, os resultados ótimos de processos de SMB acoplados e desacoplados. Vê-se, pelos resultados obtidos e acima discutidos, que o *trade-off* esperado para esse tipo de operação parece se deslocar para valores melhores de produtividade e de consumo de solvente quando se acopla o SMB à racemização. Um deslocamento semelhante desse *trade-off* será visto mais à frente.

Outro trabalho a ser destacado é o trabalho de Harriehausen *et al.* (2020), em que se utilizou de um acoplamento de uma unidade SMB com um reator de leito fixo para racemização enzimática (EFBR), utilizando a *mandelato racemase* (MR) EC 5.1.2.2, e uma unidade de nanofiltração (NF) para remoção de solvente, como representado na **Figura 4.8**. Percebem-se demonstrados também os tanques de produto, de alimentação e de dessolvente, sendo os dois últimos alimentados por misturas frescas juntamente dos ciclos provenientes da unidade acoplada. As alternativas para circuito aberto e fechado serão discutidas posteriormente (HARRIEHAUSEN *et al.*, 2020; WRZOSEK *et al.*, 2016).

Figura 4.8 - Esquema detalhado da unidade proposta por Harriehausen *et al.* (2020).



Adaptado de: HARRIEHAUSEN *et al.*, 2020.

Neste caso, diferente do trabalho de Fuereder *et al.* (2016), uma unidade de nanofiltração foi adicionada à saída do reator, aumentando a concentração da corrente que retorna à alimentação do SMB. Além disso, o reator utilizado foi de leito fixo ao invés do reator de

membrana. Como apontado por Wrzosek, Harriehausen e Seidel-Morgenstern (2018), a vantagem deste tipo de reator em relação ao reator de membrana seria justamente a manutenção da atividade da enzima mesmo após muito tempo de uso (mais de 2 semanas neste estudo). Essa maior estabilidade da enzima se deve à sua melhor imobilização no EFBR se comparado ao EMR. No caso estudado a enzima foi imobilizada no suporte acrílico poroso epóxi-ativado Eupergit® CM. Isso faz com que se diminua o risco de desativação do reator devido a agregações ou a estresses causados por agitações, por exemplo. Esse problema é contornado no reator de membrana com o uso de um excesso de enzima, visando manter altos valores de conversão. Com isso, a escolha pelo reator de leito fixo poderia diminuir a quantidade de enzima utilizada no processo, evitando a perda da mesma e consequente desativação do reator (HARRIEHAUSEN *et al.*, 2020; WRZOSEK, HARRIEHAUSEN & SEIDEL-MORGENSTERN, 2018; FUEREDER *et al.*, 2016; WRZOSEK *et al.*, 2016).

Vale destacar também que Harriehausen *et al.* (2020) seguiram a recomendação dada por Fuereder *et al.* (2016) e inseriram no acoplamento um reciclo do solvente que sai do reator enzimático, diminuindo assim a perda de solvente durante o processo. O solvente utilizado, aliás, foi uma solução contendo 20 mM de ácido 4-(2-hidroxi-etil) piperazino-1-etanosulfônico (HEPES), 3,3 mM de cloreto de magnésio ($MgCl_2$) e 20% de metanol. Como apontado por Kaspereit, Swernath e Kienle (2012), a escolha do solvente é etapa primordial em um processo acoplado. Isso porque muitas vezes um bom solvente para uma unidade não se aplica às demais unidades. Para a cromatografia, por exemplo, o solvente deve apresentar alta solubilidade dos enantiômeros, alta resolução, baixa queda de pressão, estabilidade, entre outros fatores. Já para a racemização, o solvente deve permitir uma alta taxa de reação, além de fornecer estabilidade e permitir a recuperação do catalisador. Assim como no gráfico de Pareto, a escolha do solvente pode passar por um *trade-off* entre os requisitos de cada unidade, tendo muitas vezes que passar por testes de desempenho para avaliar qual solvente ou mistura ideal para o acoplamento desejado. Desta forma, a operação ótima do processo acoplado passa pelo uso de um único solvente em todas as unidades e que seja o solvente mais adequado possível para todas elas. O solvente aqui escolhido foi aquele que apresentou maior resolução ao se realizar um teste de desempenho com outras soluções consideradas, entre elas soluções contendo 10, 15 e 20% de metanol (WRZOSEK, HARRIEHAUSEN & SEIDEL-MORGENSTERN, 2018; KASPEREIT, SWERNATH & KIENLE, 2012; WRZOSEK *et al.*, 2016).

Outra particularidade do trabalho de Harriehausen *et al.* (2020) foi o estudo de dois casos distintos: um com ácido mandélico e outro com a metionina. O estudo do ácido mandélico

se baseou no trabalho previamente realizado por Wrzosek, Harriehausen e Seidel-Morgenstern (2018), enquanto o estudo da metionina se baseou no trabalho previamente realizado por Fuereder *et al.* (2016), também analisado aqui.

Foram também considerados dois cenários: um com circuito aberto (3 zonas) e outro com circuito fechado (4 zonas, incluindo a de regeneração do solvente). O objetivo era, portanto, comparar esses dois cenários para avaliar a viabilidade de um acoplamento sem a zona de regeneração de solvente. Além disso, estudou-se também a influência do aumento da concentração de alimentação na produtividade (HARRIEHASUEN *et al.*, 2020).

Desta forma, o que se percebeu foi que o aumento da concentração de alimentação levou a uma maior produtividade de ambos os enantiômeros do ácido mandélico ao mesmo tempo em que houve um decréscimo no consumo de solvente. Assim, o produto obtido era mais concentrado e consumiu menos solvente durante sua produção. Esse cenário é ideal para aplicação industrial e explica a razão de se colocar a unidade de nanofiltração após o EFBR e não antes dele, visando justamente concentrar a corrente de alimentação que adentra o SMB. Como apontado por Kaspereit, Swernath e Kienle (2012), seria ideal a manutenção da concentração ao longo do processo acoplado como um todo. Porém, como isso é de difícil manejo devido às diferentes necessidades de cada unidade, a variação da concentração por meio de retirada de solvente ao longo do processo é interessante e recomendável, utilizando preferencialmente uma nanofiltração como removedor de solvente. (HARRIEHAUSEN *et al.*, 2020; KASPEREIT, SWERNATH & KIENLE, 2012; WRZOSEK, HARRIEHAUSEN & SEIDEL-MORGENSTERN, 2018).

A **Tabela 4.3** compara os valores de Harriehausen *et al.* (2020) com os de Wrzosek, Harriehausen e Seidel-Morgenstern (2018), indicado como cromatografia em batelada, e Fuereder *et al.* (2016), 4Z-SMB indicado no número 2. A coluna Alvo indica de qual corrente se está tratando, se o refinado ou o extrato. A produtividade da corrente tratada (i) é representada por PR_i , enquanto o consumo de solvente é dado por SC_i e a pureza da corrente por PUR_i . Pode-se visualizar também os valores das concentrações das correntes de alimentação ($c_{i,F}$) e das razões m_{II} e m_{III} descritas na Teoria do Triângulo na **Seção 3.2**. Quanto à configuração do SMB, notou-se que com a saída de uma das zonas, no caso do ácido mandélico, houve uma redução de 25% no consumo de fase estacionária e um aumento de 33% na produtividade no refinado, chamado de E1 e destacado em amarelo na **Tabela 4.3** (indo de 486 para 647 gramas de produto por quilograma de adsorvente por dia), como mostra a coluna PR_i . Em compensação, para esta mesma configuração e enantiômero alvo, houve uma diluição do produto e um aumento no

consumo do solvente, indo de 38 para 92 litros de solvente por quilograma de produto (também destacado em amarelo). Entretanto, para o produto saindo no extrato (E2) e destacado em azul, não ocorre aumento no consumo de solvente nem diluição do produto, ainda assim mantendo um certo aumento de produtividade, indo de 199 para 265 gramas de produto por quilograma de adsorvente por dia (HARRIEHAUSEN *et al.*, 2020).

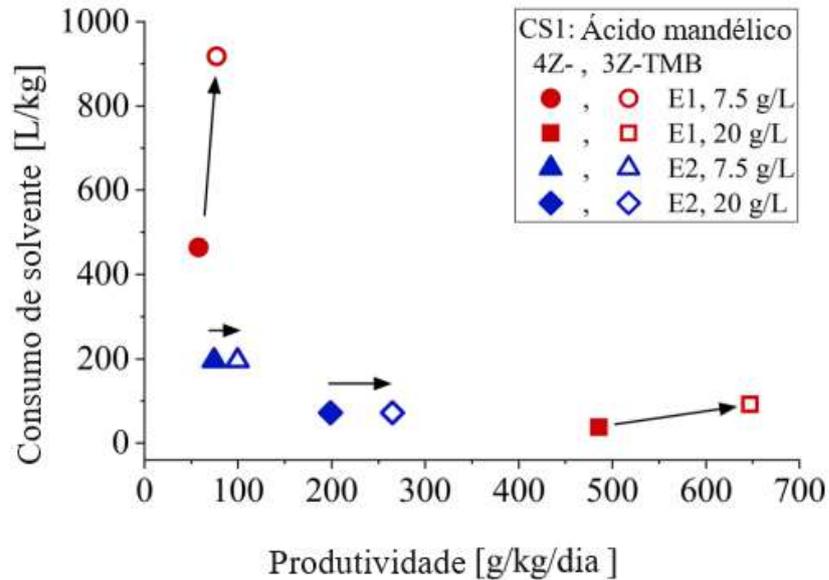
Os resultados destacados demonstram que para casos em que o solvente representa uma parcela pequena dos custos ou que o enantiômero alvo é aquele mais retido no SMB (ou seja, sai pela corrente de extrato), a utilização da configuração com 3 zonas pode ser viável e trazer uma economia ao processo. A **Figura 4.9** também compara os valores para SMB de 3 e 4 zonas em diferentes concentrações de alimentação de ácido mandélico (HARRIEHAUSEN *et al.*, 2020).

Tabela 4.3 – Resultados obtidos por Harriehausen *et al.* (2020) comparados com a literatura.

CS	Modo de processo	$c_{i,F}$	m_{II}	m_{III}	Alvo		PR_i $\left(\frac{g}{kg \cdot dia}\right)$	SC_i $\left(\frac{L}{kg}\right)$	PUR_i (%)
					Ref.	Extr.			
1	Batelada ^a	20	–	–	x		208.7	887.5	99.50
		20	–	–		x	161.1	1150.0	99.50
1	4Z-SMB	7.5	0.45	0.65	x		57.5	464.7	> 99.95
		7.5	0.58	0.80		x	74.5	195.5	> 99.90
		20	0.10	0.65	x		485.5	38.0	> 99.95
		20	0.58	0.77		x	198.6	72.3	> 99.95
1	3Z-SMB	7.5	0.45	0.65	x		76.8	918.5	> 99.90
		7.5	0.58	0.80		x	99.3	195.6	100
		20	0.10	0.65	x		647.4	91.9	> 99.95
		20	0.58	0.77		x	264.8	72.3	100
2 ^b	4Z-SMB	7.5	0.2	1.2	x		515	450	> 99.50
		7.5	1.0	1.6		x	395	560	> 99.50

Adaptado de: HARRIEHAUSEN *et al.*, 2020.

Figura 4.9 – Gráfico de consumo de solvente vs. produtividade para Harriehausen *et al.* (2020).



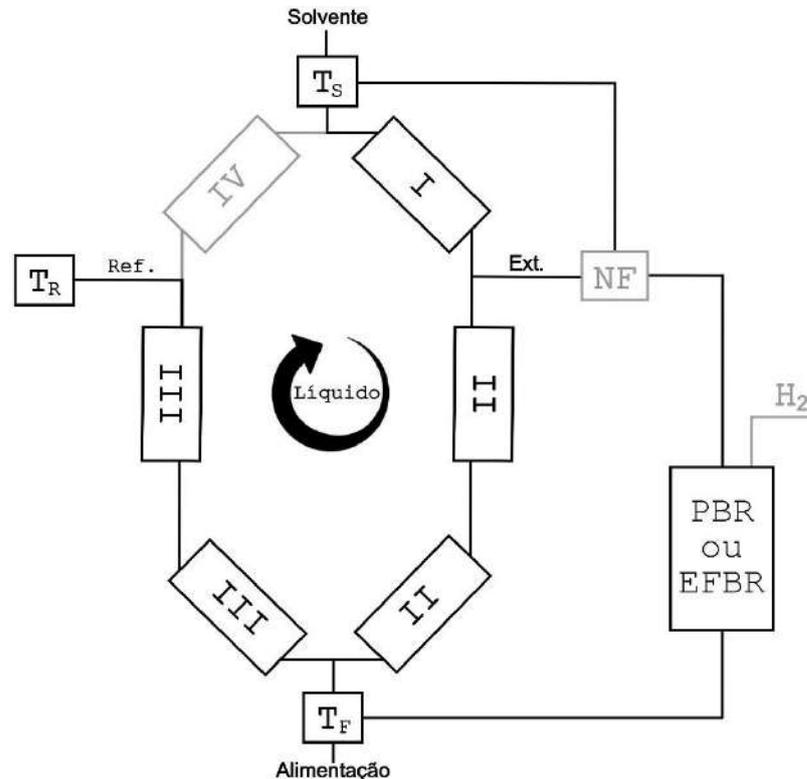
Adaptado de: HARRIEHAUSEN *et al.*, 2020.

Na **Figura 4.9**, percebe-se justamente o deslocamento do *trade-off* nos valores ótimos quando se retira a zona de regeneração de solvente. Um resultado semelhante é esperado quando se acopla um processo SMB a uma racemização, como discutido anteriormente para os resultados obtidos por Fuereder *et al.* (2016).

4.2 SUGESTÃO DE ACOPLAMENTO ENTRE SMB E RACEMIZAÇÃO

Considerando agora a operação visando a produção de praziquantel enantiomericamente puro, sugere-se um acoplamento entre uma unidade SMB e um reator de racemização, semelhante aos apresentados anteriormente. Um esquema representativo do acoplamento proposto se encontra na **Figura 4.10**.

Figura 4.10 – Esquema proposto de acoplamento.



As correntes de refinado e extrato estão representadas por Ref. e Ext., respectivamente, enquanto os tanques de refinado, solvente e de alimentação são representados pela letra T., além da utilização da NF ou não e a escolha do tipo de reator (PBR ou EFBR).

A unidade SMB produtora de PZQ de Cunha (2021) mostrou-se um ótimo desempenho, tendo em vista os excelentes resultados obtidos com baixas concentrações de alimentação necessárias, ainda se comparado a outros trabalhos presentes na literatura. Levando em consideração a proposta realizada por Harriehausen *et al.* (2020) de utilização de 3 zonas em vez de 4 no SMB, pode-se imaginar a utilização dessa configuração em conjunto com o processo usado por Cunha (2021), desde que a diluição do produto não seja um problema e o custo do solvente não seja elevado. Acoplando ao processo um reciclo de solvente, como o sugerido por Fuereder *et al.* (2016) e aplicado por Harriehausen *et al.* (2020), o custo do solvente pode ser mitigado, uma vez que apesar da ausência da zona de regeneração de solvente, haveria uma recuperação do mesmo com o uso do reciclo. Assim, poder-se-ia diminuir o custo da fase estacionária reduzindo o número de colunas de 6 para 5 sem grande aumento no custo da fase móvel e ainda com aumento na produtividade do enantiômero alvo. Destaca-se na

Figura 4.10 a alternativa de trabalhar com 3 zonas (circuito aberto) ou com 4 zonas (circuito aberto).

Quanto ao solvente escolhido, este deve ser um solvente que se adeque tanto ao reator de racemização quanto ao SMB. Para o racemato a ser separado e considerando a fase estacionária das colunas cromatográficas (celulose *tris* 3-cloro, 4-metilfenilcarbamato), os melhores solventes são polares-orgânicos, tais quais o etanol e o metanol previamente analisados.

Como opção para racemização, buscaram-se na literatura trabalhos em que há racemização de *D*-PZQ (*S*-PZQ). Destaca-se o uso de uma base composta de um alcóxido alcalino terciário, tais quais terc-butóxidos ou terc-pentóxidos alcalinos (com destaque para o terc-butóxido de potássio). Para esse método, faz-se necessária a utilização de um meio dipolar aprótico como, por exemplo, de soluções contendo *N*-metil-2-pirrolidona, dimetilformamida ou dimetilsulfóxido. Contudo, esse método necessita de algumas etapas para a preparação do meio e reação, além de ser realizado em batelada, o que não seria ideal para o acoplamento aqui tratado, uma vez que se busca um processo contínuo (WAECHTLER *et al.*, 2016).

Para a praziquanamina, um dos principais precursores do praziquantel e que apresenta estrutura semelhante e o mesmo centro quiral do mesmo, percebe-se a ampla utilização de paládio suportado em carbono (Pd/C) em meio rico em H₂ como catalisador da sua racemização (VALENTI *et al.*, 2021; YANG *et al.*, 2016). A utilização deste catalisador também é vista na racemização de outro precursor, como demonstra Qian (2015). O mesmo processo se mostra viável para a racemização do praziquantel, como mostra Valenti *et al.* (2021).

Entretanto, se mostraram ausentes na literatura, até o nosso conhecimento, estudos que utilizem enzimas para a racemização de praziquantel, assim como foi feito por Fuereder *et al.* (2016) e Harriehausen *et al.* (2020) para a metionina e o ácido mandélico. Evidentemente faltam dados experimentais que sustentem melhor a escolha do tipo de catalisador e de reator de racemização a serem empregados em uma eventual racemização do praziquantel em um sistema acoplado a um SMB. Sendo assim, sugere-se uma análise qualitativa e hipotética que aborde as possibilidades aqui apresentadas.

Para a utilização de paládio como catalisador, surgem na literatura propostas de um reator de leito recheado (PBR) com o metal suportado em carbono. Segundo Valenti *et al.* (2021), essa reação nesse tipo de reator se dá de maneira rápida, em até 2 minutos. Uma dificuldade encontrada para este reator seria a necessidade de utilização de uma corrente de H₂ a 130°C (VALENTI *et al.*, 2021). Como mostra Qian (2015) para um dos precursores do

praziquantel, essa reação de hidrogenação se dá usualmente em um reator fechado e pressurizado com meio rico em H₂, o que permitiria a utilização dos solventes previamente discutidos (etanol e metanol) nesse processo, já que apesar de terem pontos de ebulição abaixo de 130°C (pressão ambiente), a pressão no reator permitiria que não houvesse vaporização do solvente (PERRY, GREEN & MALONEY, 1997). No caso descrito por Qian (2015), por exemplo, a pressão era de 3 MPa. A temperatura de ebulição, por definição, é aquela em que a pressão de vapor do líquido se iguala a pressão externa exercida sobre ele (FAYYAZBAKSH & PIROUZFAR, 2017). Desta forma, a temperatura de ebulição para o metanol à pressão do processo realizado por Qian (2015), ou seja, 3 MPa, seria de aproximadamente 185°C, enquanto a temperatura do etanol nesta mesma pressão seria de aproximadamente 200°C, portanto acima dos 130°C da operação (PERRY, GREEN & MALONEY, 1997). Percebe-se, inclusive que essa reação de racemização descrita por Qian (2015) se dá com o composto solubilizado em etanol (a temperaturas mais baixas, vale destacar), justamente uma das opções discutidas para solvente no acoplamento. Isso demonstra a viabilidade desse solvente para esse tipo de reator e esse tipo de catalisador.

Para a utilização de uma enzima, um reator EFBR como o utilizado por Harriehausen *et al.* (2020) e por Wrzosek, Harriehausen e Seidel-Morgenstern (2018) poderia ser uma opção mais adequada ao acoplamento, devido à melhor atividade enzimática e menor consumo de enzima neste reator, graças à imobilização da biomolécula em um leito fixo. Poderia também se considerar a utilização de um reator EMR, como feito por Fuereder *et al.* (2016), desde que o custo da enzima não seja muito elevado, uma vez que esse tipo de reator necessita de maior quantidade de enzima para garantir a atividade do mesmo.

Seguindo os trabalhos de Fuereder *et al.* (2016) e Harriehausen *et al.* (2020), sugere-se também o acoplamento de uma unidade de nanofiltração. Esta nanofiltração poderia ser localizada após o reator de racemização visando a concentração do racemato para alimentação no SMB, como sugerido por Harriehausen *et al.* (2020), permitindo possivelmente uma maior produtividade, um produto mais concentrado e menor consumo de solvente. Entretanto, caso se opte pelo reator EMR, segundo recomendação de Fuereder *et al.* (2016), a nanofiltração deve preferencialmente ocorrer antes do reator. Como a unidade descrita por Cunha (2021) opera bem com concentrações de alimentação baixas, não haveria a necessidade da unidade de nanofiltração se encontrar após o reator de racemização. A opção de utilizar ou não o NF se encontra destacada na **Figura 4.10**.

Como possibilidade para a nanofiltração, poder-se-ia usar a mesma membrana de poliamida utilizada por Fuereder *et al.* (2016), uma vez que esta possui um corte de 90 Da, bem abaixo do PZQ, que tem massa de aproximadamente 312 Da (FUEREDER *et al.*, 2016; NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2023). Desta forma, parece não ser necessária uma membrana mais rigorosa para esta molécula, como foi sugerido por Fuereder *et al.* (2016) para a metionina. Um estudo experimental poderia confirmar essa hipótese.

Como ainda faltam estudos a respeito de enzimas para catálise da racemização do praziquantel, sugerimos aqui que sejam realizados testes para avaliar a melhor opção para esta reação. Dentre as possibilidades previstas, estão aquelas enzimas que racemizam outros compostos similares como aminas/amidas. Um exemplo desse tipo de enzima foi previamente discutido aqui: a *amino acid racemase* (AAR). Para esta enzima, já se encontram diversos estudos de sua atividade em diversos compostos orgânicos e inclusive para o acoplamento desejado, como aqui previamente citado.

Também foi observado na literatura a utilização de outras enzimas para catálise de aminoácidos ou amidas derivadas de aminoácidos. Dentre as enzimas encontradas se destaca a *α -amino- ϵ -caprolactam (ACL) racemase* EC 5. 1. 1. 15 proveniente da bactéria *Achromobacter obae*. Esta enzima se mostrou útil na racemização de diversas amidas, inclusive a *L*-metionina amida, derivada da metionina previamente discutida (ASANO & YAMAGUCHI, 2005).

Uma alternativa na busca por uma enzima apropriada para a racemização de praziquantel pode ser o *docking*, um método de dinâmica molecular que visa prever mecanismos de ligação e orientação de substratos para diversas enzimas (DAS *et al.*, 2019).

Retornando à discussão do solvente, deve-se considerar os possíveis catalisadores para a racemização previamente à escolha do solvente. Como dito anteriormente, solventes polares-orgânicos se mostram os mais adequados para o tipo de fase estacionária escolhida no SMB. Considerando primeiramente a utilização de paládio como catalisador, já foi visto que os solventes sugeridos se adequam à operação descrita em meio pressurizado com H₂. Desta forma, acredita-se ser viável a utilização de um álcool, também para a etapa de racemização em Pd/C.

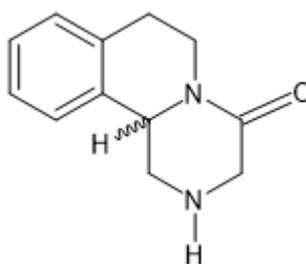
Imaginando ser a catálise enzimática, caso esta seja realizada por uma *amino acid racemase*, poder-se-ia pensar em um álcool, assim como foi feito no trabalho de Fuereder *et al.* (2016), uma vez que se mostrou provado neste e em outros trabalhos já citados a atividade da

enzima em um meio alcoólico. A vantagem de uma racemização enzimática seria, portanto, a operação em condições mais brandas que as vistas para um catalisador metálico.

4.3 PRODUÇÃO DE PRAZIQUANTEL ATRAVÉS DE DKR

Praziquantel produzido de maneira enantiomericamente pura não é novidade, como mostra a literatura encontrada. Já existem propostas de produção a partir de diversos intermediários, como mostram os trabalhos de Qian (2015; 2017) e Maillard *et al.* (2016), por exemplo. Dentre os principais precursores do praziquantel está a praziquanamina (PZQamina), citada anteriormente na **Seção 4.2**. A molécula de praziquanamina é representada na **Figura 4.11**.

Figura 4.11 – Fórmula estrutural da molécula de praziquanamina.

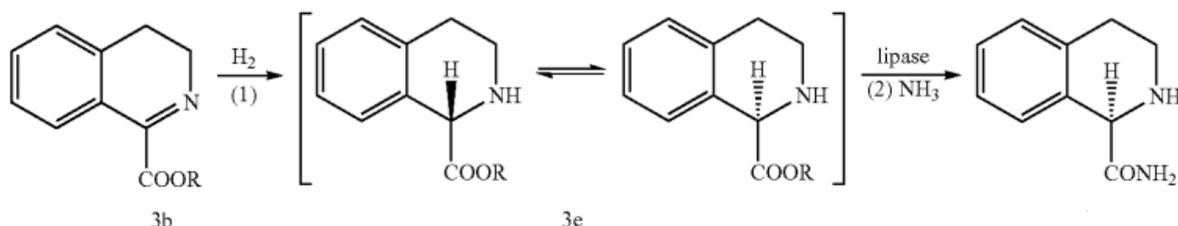


A primeira síntese de praziquantel registrada utilizou de praziquanamina como precursor, através de uma reação de acilação. Essa reação se deu com um ácido carboxílico ou derivado como reagente, em excesso ou em solução de benzeno ou tolueno. A temperatura preferencial para processar a reação foi dada na faixa de 0 a 80°C, com duração também preferencial entre 30 minutos e 5 horas. Neste mesmo trabalho, outras opções de reagentes foram apresentadas (como, por exemplo, a utilização de um haleto ácido em vez de um ácido carboxílico), além de outros derivados do praziquantel terem sido obtidos (SEUBERT, THOMAS & ANDREWS, 1975).

A partir de então, diversas rotas de síntese foram buscadas para gerar o praziquantel e seus derivados por meio das mais variadas reações e precursores, como mostra o trabalho de Dhawle e Giri (2018). Dentre esses métodos, a grande maioria por via sintética e química, raramente buscando uma via enzimática ou uma biossíntese. Um trabalho a se destacar nesta última área é o de Qian (2015), que utilizou de uma lipase em uma das etapas de obtenção de praziquantel enantiomericamente puro, justamente na etapa de geração de um intermediário enantiomericamente puro a partir de outro intermediário racêmico, como mostra a **Figura 4.12**.

A partir do intermediário 3b, se realiza uma hidrogenação, gerando o intermediário racêmico 3e por meio da ligação com os dois átomos de hidrogênio. O enantiômero *R* do intermediário 3e formado sofre a resolução cinética catalisada por uma lipase e o composto produzido enantiomericamente puro serve de intermediário para a síntese do *R*-PZQ.

Figura 4.12 – Síntese de intermediário enantiomericamente puro do praziquantel.



Fonte: QIAN, 2015.

Pensando em uma possível síntese de *R*-PZQ a partir da praziquanamina racêmica, deve-se imaginar uma solução que permita a resolução de *R*-PZQamina em *R*-PZQ e uma racemização que converta o enantiômero restante (*S*-PZQamina) em praziquanamina racêmica novamente. Para esse tipo de operação, encontra-se na literatura (FERRAZ, 2019) a sugestão de uma resolução cinética dinâmica, que permita ambas as reações de resolução e racemização.

Pode-se ainda ir mais além, sugerindo um processo em que ocorra em um mesmo reator, um reator, portanto, híbrido, contendo o catalisador para a resolução da *R*-praziquanamina e o catalisador para a racemização do enantiômero que não sofre resolução. Um reator deste tipo já foi descrito na literatura por Ferraz (2019), Souza *et al.* (2017) e Filice *et al.* (2013).

Um reator híbrido que permita a racemização ocorrer no mesmo meio reacional da resolução cinética constitui uma vantagem operacional, uma vez que não é necessário levar o produto de uma operação de um reator ao outro reator e vice-versa. Assim foi feito por Ferraz (2019), que conseguiu aliar a racemização química a uma resolução enzimática graças à imobilização dos diferentes catalisadores utilizados em um suporte com partículas magnéticas nanométricas, capazes de criar um campo magnético que separa os catalisadores.

Em seu trabalho, Ferraz (2019) buscou realizar a resolução da 1-feniletilamina racêmica, reagindo seu enantiômero *R* com 2-metoxiacetato de metila, enquanto o enantiômero *S* restante foi racemizado pelo catalisador de paládio. Assim sendo, poderia obter-se 100% de rendimento teórico no processo, tendo como produto *R*-*N*-(1-feniletil)acetamida enantiomericamente pura.

A enzima utilizada na resolução da (*R*)-1-feniletilamina foi a lipase B da levedura *Candida antarctica* (CALB), sendo o reagente 2-metoxiacetato de metila o doador de acila para

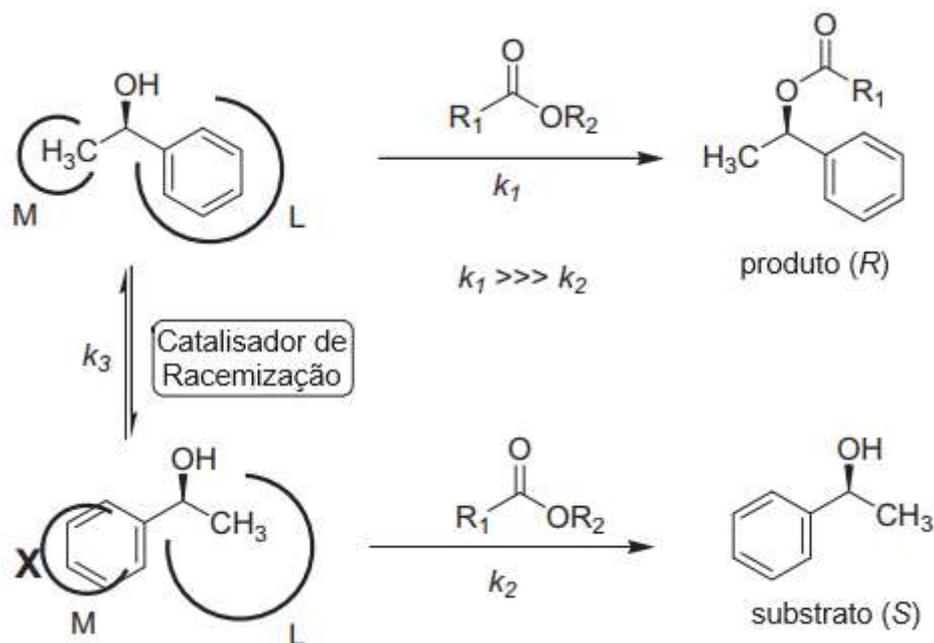
a reação (FERRAZ, 2019). Essa enzima é conhecida por suportar condições reacionais bem diversas, tais como solventes orgânicos polares, pH alcalino e altas temperaturas (TSAI, 2016). É reportado na literatura também que a enantiopreferência desta enzima é em geral para o enantiômero *R* de amins quirais, realizando a acilação no nitrogênio da amina (REETZ & SCHIMOSSEK, 1996; SEDDIGI *et al.*, 2017).

Segundo a regra estabelecida por Kazlauskas *et al.* (1991) para determinação da enantiopreferência da lipase para álcoois secundários (e frequentemente extensiva para amins secundárias), a reação catalisada pela enzima se dá mais rapidamente de acordo com o tamanho relativo dos substituintes do álcool (ou amina). Isso se deve aos pontos de ligação presentes no sítio ativo da enzima.

No caso da lipase, há um ponto de ligação maior próximo à superfície da mesma, enquanto há um outro ponto de ligação menor em uma região mais profunda da estrutura da enzima. Esse ponto de ligação menor é em geral formado de um lado pela cadeia principal da terceira fita e do outro pela cadeia lateral do Trp104 (triptofano). Enquanto isso, o substituinte maior pode se alocar ao longo do canal hidrofóbico que leva à superfície da enzima. Quando o enantiômero é o *S*, o ligante maior acaba ficando com pouco espaço para se alocar, tendo muitas vezes que se curvar para se alojar. Com isso, o ligante maior acaba se conectando preferencialmente ao ponto maior, enquanto o ligante menor ao ponto menor. Desta forma, a reação é favorecida para a formação do enantiômero *R*, uma vez que o substrato *R* possui maior facilidade de ligação ao sítio ativo da enzima e sua velocidade de reação se torna maior que a do outro enantiômero. Quanto maior a diferença entre os tamanhos dos ligantes do álcool ou amina, maior tende a ser a enantioseletividade (KAZLAUKAS *et al.*, 1991; SEDDIGI *et al.*, 2017; UPPENBERG *et al.*, 1995).

Um exemplo que representa a enantioseletividade da lipase pode ser visualizado na **Figura 4.13**, em que um álcool secundário é submetido a uma resolução cinética dinâmica como a aqui proposta. Neste exemplo, percebe-se o impedimento espacial causado pelo substituinte maior (anel aromático) no sítio menor (M) para o substrato *S*, enquanto para o substrato *R* o impedimento espacial se mostra claramente menor. Desta forma, a reação tende a ser muito mais rápida para o substrato *R*, levando à produção somente do produto *R*, devido à grande diferença de velocidades entre as reações (a velocidade específica para *R*, k_1 , é muito maior que a velocidade específica para *S*, k_2).

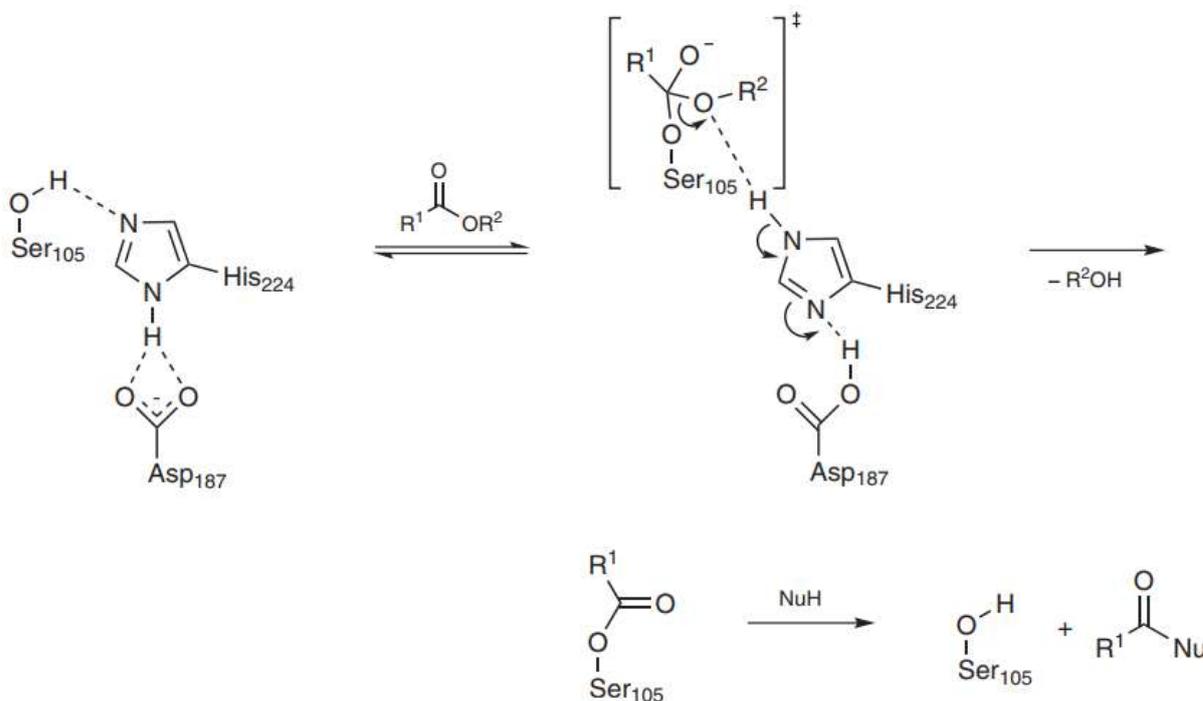
Figura 4.13 – Enantiopreferência da lipase em álcoois e amins secundários.



Adaptado de: SEDDIGI *et al.*, 2017.

As lipases, como a CALB utilizada por Ferraz (2019), atuam geralmente utilizando de um éster como doador de grupo acila e de um nucleófilo. O mecanismo geral de atuação das lipases se inicia pela entrada do éster no sítio ativo, formando um intermediário enzimático que posteriormente libera um álcool no meio, gerando um segundo intermediário formado pela enzima ligada ao grupamento acila do éster. Este último intermediário é então atacado pelo nucleófilo, produzindo finalmente o produto dado pela ligação do nucleófilo com o grupo acila. Dependendo do nucleófilo escolhido, o produto e a reação terão diversas denominações. Quando se trata de uma amina como nucleófilo, pode-se chamar essa acilação de aminólise, gerando uma amida formada pela amina precursora e pelo éster doador de acila (SCHMIDBERGER *et al.*, 2015). Uma demonstração do mecanismo de ação de lipases se encontra representada na **Figura 4.14**.

Figura 4.14 – Mecanismo geral de ação de lipases.

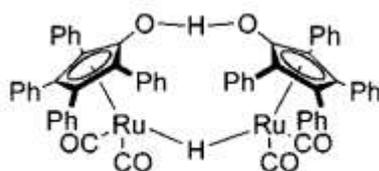


Fonte: SCHMIDBERGER *et al.*, 2015.

Para a etapa dinâmica, o uso de metais nobres para catálise de hidrogenação e consequente racemização de compostos orgânicos já é amplamente disseminada (SHENG, YANG & WENG, 2011). Como aponta Ferreira *et al.* (2018), o uso de nanopartículas (NP) metálicas, como o feito também por Ferraz (2019) com o paládio, se mostra interessante devido às diferentes propriedades físicas e químicas que permitem uma variedade de transformações e sínteses orgânicas. O uso desses metais em partículas de tamanho nanométrico se mostra mais vantajoso do que em tamanhos maiores graças à maior área de superfície por volume ou por peso (ALSHAMMARI, KALEVARU & MARTIN, 2016). Pode-se perceber o uso de paládio para racemização de compostos orgânicos e mais especificamente de aminas, como a PZQamina nos trabalhos já citados de Qian (2015) e Valenti *et al.* (2021). Esse metal apresenta elevada atividade para desidrogenação de aminas secundárias e hidrogenação de iminas, necessárias para a racemização aqui discutida, além de também catalisarem transaminações de aminas primárias, como apontam Chen *et al.* (2013) e Ainembabazi *et al.* (2019). Além disso, o paládio já foi utilizado com sucesso em outros processos de DKR contendo lipases de *Pseudomonas*, tal como relatado pioneiramente por Allen e Williams (1996) e posteriormente por Verho e Bäckvall (2015) utilizando a própria CALB previamente mencionada.

Foi encontrado na literatura também outras opções de metais para racemização de aminas, tal como o rutênio, que teve sua utilização em processos de resolução cinética dinâmica com a lipase como enzima observada com resultados satisfatórios (PAETZOLD & BÄCKVALL, 2005). Dentre estes catalisadores de rutênio se destaca em especial o catalisador de Shvo, um complexo de ciclopentadienona ligada a rutênio utilizado muito comumente para hidrogenação e desidrogenação de moléculas orgânicas, tais como as aminas. A estrutura do complexo e a presença das ciclopentadionas permite a estabilização do metal em estados de oxidação mais baixos (FERREIRA *et al.*, 2018; CONLEY *et al.*, 2010). O trabalho de Paetzold e Bäckvall (2005) inclusive se utilizou deste tipo de catalisador para a catálise da racemização da (S)-1-feniletilamina. Além disso, este catalisador já foi utilizado para racemização do álcool α -metil benzílico combinado com a resolução cinética catalisada justamente pela enzima CALB aqui tratada, o que mostra sua compatibilidade para operar associado a esta enzima (LARSSON, PERSSON & BÄCKVALL, 1997). A molécula do catalisador de Shvo está representada na **Figura 4.15**.

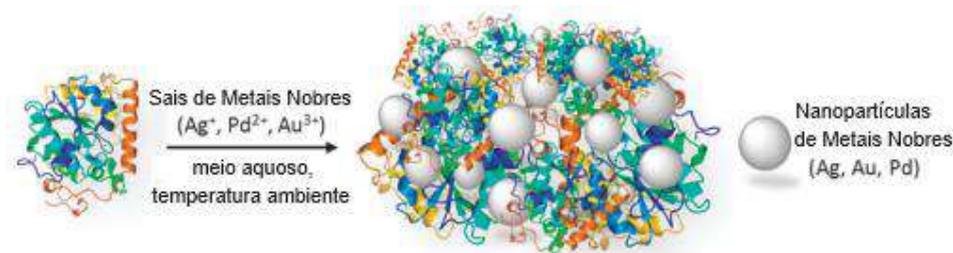
Figura 4.15 – Estrutura molecular do catalisador de Shvo.



Fonte: CONLEY *et al.*, 2010.

Em geral, a enzima e o metal encontram-se em fases diferentes ou em suportes diferentes (SOUZA *et al.*, 2017). Entretanto, a utilização de ambos no mesmo meio reacional já é realidade e pode se dar de diferentes formas. Uma maneira de fazê-lo é ligando a enzima covalentemente a uma matriz que já suporta metal (SOUZA *et al.*, 2017). Outra forma também relatada na literatura é a mistura da enzima em meio aquoso com uma solução contendo um sal do metal que se deseja utilizar como catalisador. Assim, formam-se nanopartículas *in situ* contendo tanto o metal quanto a enzima, como mostra a **Figura 4.16**. Posteriormente as nanopartículas podem ser precipitadas e obtidas na forma de um pó liofilizado (FILICE *et al.*, 2013).

Figura 4.16 – Esquema do preparo de nanopartículas contendo uma enzima e um metal segundo Filice *et al.* (2013).



Fonte: FILICE *et al.*, 2013.

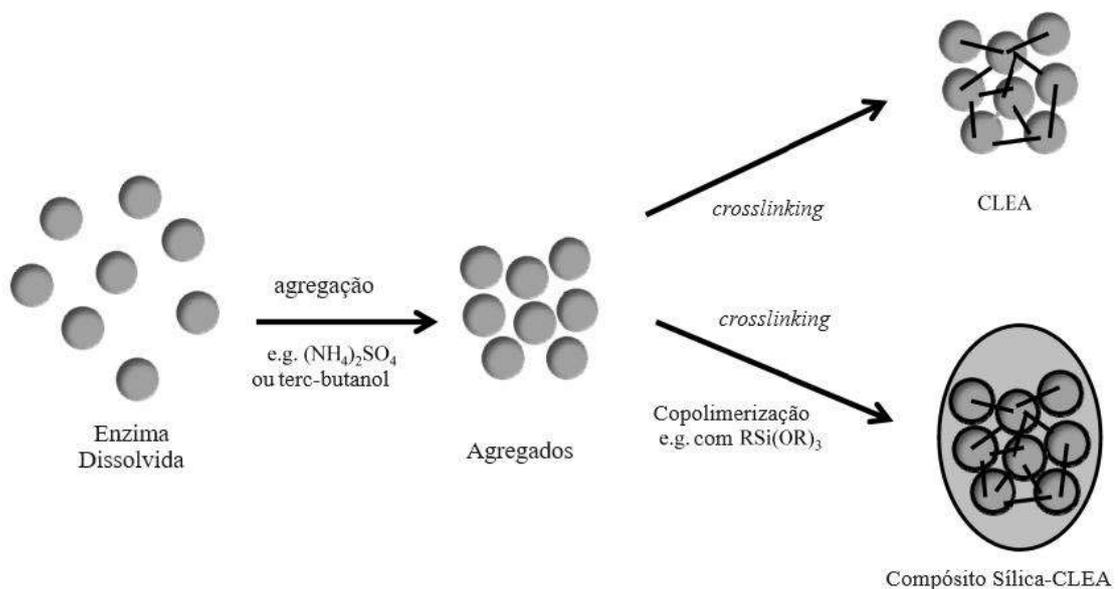
O método utilizado por Ferraz (2019) se baseou no trabalho de Souza *et al.* (2017), em que se suportou o paládio em nanopartículas de ferro revestidas de ortosilicato de tetraetila (TEOS). Para a formação destas nanopartículas, Ferraz (2019) misturou soluções de FeSO_4 e FeCl_3 com NH_4OH , gerando a coprecipitação de íons de Fe^{+2} e Fe^{+3} em meio básico e se obtendo magnetita (Fe_3O_4). Visando produzir NPs ainda menores e menos agregadas, ainda foram realizados os processos de ultrassom e de revestimento das partículas com ácido oleico de forma a evitar a oxidação. Só então foi feito o revestimento com TEOS, com o objetivo de aumentar a biocompatibilidade das partículas, funcionalizá-las e protegê-las de degradação externa (FERRAZ, 2019).

Essas nanopartículas foram ainda funcionalizadas utilizando-se de 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES) e a ligação do paládio ao suporte funcionalizado se deu através da adição de uma solução de H_2PdCl_4 seguido da adição de borohidreto de sódio (NaBH_4) e hidróxido de amônio (NH_4OH). A função do borohidreto de sódio foi a de reduzir o paládio de Pd^{+2} para Pd^0 . Além disso, quanto maior o volume da solução de H_2PdCl_4 adicionado, maior a concentração do metal nas nanopartículas formadas (FERRAZ, 2019; SOUZA *et al.*, 2017; VERHO & BÄCKVALL, 2015).

As enzimas para resolução cinética (KR) são comumente utilizadas em suportes heterogêneos, ou seja, imobilizadas. Isso permite uma maior estabilidade física e térmica, além de mais fácil separação e reciclo, podendo a enzima ser mais facilmente recuperada e reutilizada (VERHO & BÄCKVALL, 2015). Outra opção destacada por Verho e Bäckvall (2015) e desenvolvida por Sheldon (2011) é a da formação de agregados de enzima reticulados (CLEAs). Esse método consiste na criação de ligações entre as cadeias poliméricas enzimáticas sem que estas percam sua atividade catalítica. Para isso, se busca formar agregados de enzimas através da adição de sais, solventes orgânicos miscíveis em água ou polímeros não iônicos. Esses

agregados precipitam e são posteriormente reagidos com agentes bifuncionais, tal como o glutaraldeído, formando então as ligações cruzadas (*crosslinking*) entre as cadeias poliméricas. Isso permite que as enzimas sejam ao mesmo tempo imobilizadas e purificadas. As ligações cruzadas são feitas através da reação entre os grupamentos amino livres de resíduos de lisina na região periférica das enzimas com polímeros ou oligômeros resultantes de condensações aldólicas do glutaraldeído. Este procedimento também pode ser realizado na presença de sílica, fazendo com que a última sirva de matriz para a formação de um compósito com as CLEAs, o que permite inclusive seu encapsulamento e, conseqüentemente, uma maior proteção ao ambiente em que está exposta (SHELDON, 2011). Um esquema mostrando a formação dos CLEAs pode ser melhor visualizado na **Figura 4.17**. Na figura percebe-se que a enzima dissolvida é agregada por meio da adição do sal $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ou do terc-butanol (solvente orgânico miscível em água). Posteriormente, os agregados sofrem *crosslinking*, ou seja, a formação das ligações cruzadas entre as cadeias das enzimas, podendo ser ou não na presença de um suporte, tal como a sílica.

Figura 4.17 – Formação dos CLEAs por Sheldon (2011).

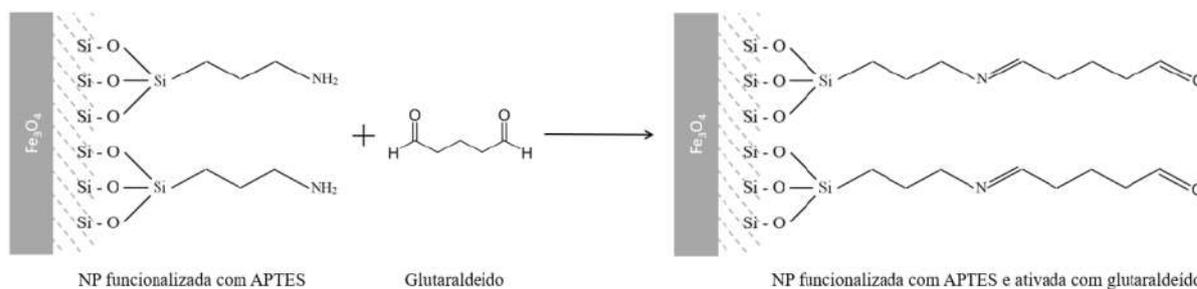


Adaptado de: SHELDON (2011).

Dentre as opções de utilização de enzimas, Ferraz (2019) optou por suportar a enzima (CALB) nas nanopartículas (NPs) de Pd formadas. Para isso, se utilizou de glutaraldeído, assim como Sheldon (2011), como reagente para ativação do suporte. Com isso, os seus grupamentos aldeído reagiram com os grupamentos amino do suporte funcionalizado com APTES e com o

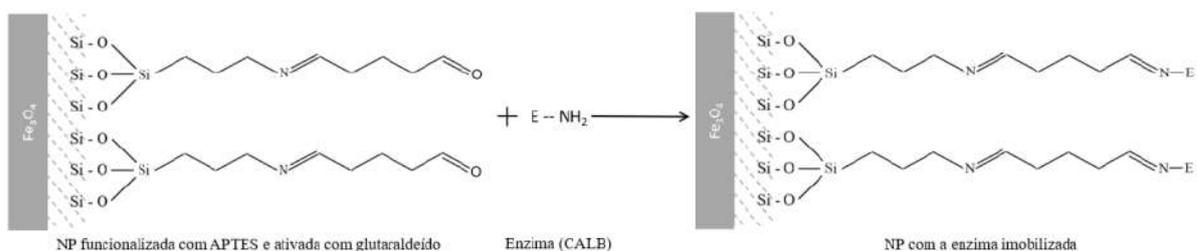
grupamento amino da enzima, permitindo a imobilização da enzima através de ligações covalentes com as NPs ativadas (FERRAZ, 2019). As figuras 4.18 e 4.19 demonstram o processo de imobilização realizado por Ferraz (2019).

Figura 4.18 – Ativação do suporte nanometálico utilizando glutaraldeído por Ferraz (2019).



Fonte: FERRAZ, 2019.

Figura 4.19 – Imobilização da CALB no suporte nanometálico por Ferraz (2019).



Fonte: FERRAZ, 2019.

Durante a imobilização da enzima, Ferraz (2019) buscou avaliar diferentes concentrações de enzima e seus efeitos na atividade do catalisador. Além disso, testou-se também epícloridrina como possível reagente para ativação do suporte nanométrico (FERRAZ, 2019).

As condições operacionais que permitam uma boa resolução cinética e uma boa racemização ocorrendo ao mesmo tempo em um mesmo meio reacional são até hoje um desafio grande para a implementação de uma resolução cinética dinâmica (DKR). Isso porque muitas vezes as condições ótimas para uma reação não condizem com as condições ótimas para a outra reação (VERHO & BÄCKVALL, 2015). O trabalho de Souza *et al.* (2017) utilizou da mesma enzima e do mesmo metal para a DKR da 1-feniletilamina e para isso teve como solvente tolueno seco e a operação se deu a 70°C. A fonte de hidrogênio escolhida para a racemização foi o formiato de amônio (NH_4HCO_2), enquanto o doador do grupamento acila para a resolução

enzimática escolhido foi metoxiacetato de metila (SOUZA *et al.*, 2017). Já Ferraz (2019) considerou a utilização de H₂ gasoso como alternativa para fonte de hidrogênio, além do próprio formiato de amônio utilizado por Souza *et al.* (2017).

Como resultado dos seus experimentos, Ferraz (2019) percebeu que para as NPs propostas e sintetizadas, a racemização ocorre melhor com uma quantidade de 4,5% de Pd e que a atividade enzimática é melhor quando utilizado o glutaraldeído (em vez da epícloridrina) como reagente de ativação, como é corroborado pela literatura (FERRAZ, 2019; RODRIGUES *et al.* 2008). Além disso, se observou que durante a imobilização enzimática o aumento do volume da solução contendo a CALB aumenta a quantidade de enzima imobilizada e, conseqüentemente, a atividade da mesma. Contudo, o aumento na concentração desta solução não causa necessariamente um aumento na quantidade imobilizada ou na atividade enzimática. Isso poderia ser explicado pelo fato de que uma maior concentração de enzimas pode causar uma maior interação indesejada entre elas, causando uma dificuldade de difusão e interação das mesmas com o suporte (FERRAZ, 2019).

Dentre as condições operacionais avaliadas, Ferraz (2019) percebeu que o uso de tolueno como solvente a 60°C e com H₂ como fonte de hidrogênio se mostrou o ideal para o estudo feito, como visto na **Tabela 4.4**. Desta forma, essas condições escolhidas aliadas ao catalisador híbrido previamente obtido foram capazes de melhor produzir em 12 h a *R-N*-(1-feniletil)acetamida enantiomericamente pura, com conversões chegando a mais de 99% em uma das resoluções, além de excesso enantiomérico e seletividade chegando a 96 e 100%, respectivamente, para outra resolução avaliada (FERRAZ, 2019).

Tabela 4.4 – Resultados de Ferraz (2019) para a DKR de 1-feniletilamina.

CC(N)Cc1ccccc1 + COC(=O)C=C
 $\xrightarrow[\text{tolueno, 60}^\circ\text{C}]{\text{NPUSAO@4.5\%Pd GLU (Inicial e Otimiza\c{c}o\~{e}s 1, 2, 3 e 4), H_2}}$
CC(N)C(=O)COC + CC(N)Cc1ccccc1 + Subprodutos

Imobiliza\c{c}o	Convers\c{a}o (%)	Seletividade (%)	ee _p (%)
Inicial	78	96	95
1	90	97	95
2	>99	95	92
3	89	94	94
4	88	100	96

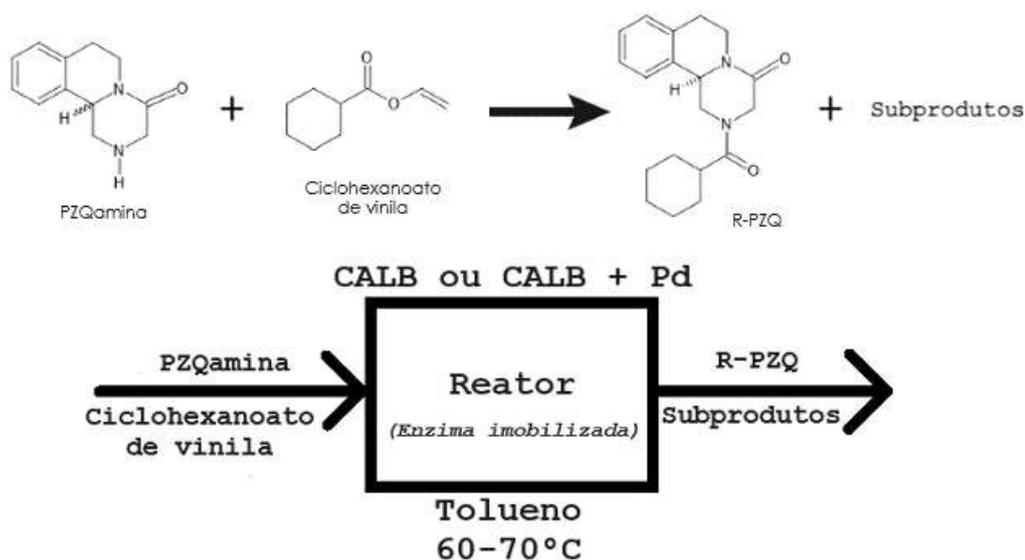
Fonte: FERRAZ, 2019.

Em catalisador similar, utilizando formiato de am\~{o}nio como fonte de hidrog\~{e}nio a 70°C e concentra\c{c}o de Pd de 1%, Souza *et al.* (2017) obtiveram convers\c{a}o de 84% e excesso enantiom\~{e}rico de mais de 99% em 17 h na s\~{i}ntese da *R*-*N*-(1-feniletil)acetamida a partir da 1-feniletilamina (SOUZA *et al.*, 2017). Filice *et al.* (2013) tamb\~{e}m utilizaram de condi\c{c}o\~{e}s similares para resolu\c{c}o cin\~{e}tica din\~{a}mica da 1-feniletilamina, por\~{e}m com um catalisador em forma de p\~{o} liofilizado, como discutido anteriormente, obtendo 98% de convers\c{a}o e 99% de excesso enantiom\~{e}rico. Isso mais uma vez demonstra a efici\~{e}ncia dos catalisadores e dos processos aqui estudados.

4.4 SUGEST\~{A}O PARA PRODU\c{C}O DE PRAZQUANTEL ATRAV\~{E}s DE DKR

Para uma poss\~{i}vel s\~{i}ntese de PZQ enantiomericamente puro, pode-se considerar o processo de resolu\c{c}o cin\~{e}tica din\~{a}mica como alternativa. Na **Figura 4.20**, foram representadas as op\c{c}o\~{e}s e escolhas feitas para esta proposta de s\~{i}ntese de *R*-PZQ, esquematizadas de maneira a demonstrar as principais possibilidades a serem tratadas e visando a opera\c{c}o em um \~{u}nico reator.

Figura 4.20 – Esquema para a proposta de síntese de R-PZQ.



Para essa operação, um precursor do praziquantel deve ser selecionado para reagente neste processo. Como discutido anteriormente, uma solução muito interessante e já amplamente utilizada em outras rotas é a praziquanamina. Por se tratar de uma amina secundária, alguns resultados e procedimentos aqui abordados podem ser úteis na utilização desta molécula para produção de praziquantel enantiomericamente puro.

É evidente que faltam estudos nesta área, porém mais uma vez busca-se aqui uma análise hipotética e qualitativa visando solucionar o problema da síntese de praziquantel enantiomericamente puro, através de rotas que sejam viáveis econômica e operacionalmente. Para a utilização de uma lipase na resolução da PZQamina, seria necessário confirmar experimentalmente a hipótese de enantiopreferência aqui colocada. Uma possível dificuldade para essa resolução poderia ser o tamanho da molécula de praziquanamina, uma vez que as demais moléculas aqui estudadas não possuem o mesmo impedimento espacial que esta molécula pode vir a causar nos sítios ativos enzimáticos.

A escolha dos catalisadores do processo deve passar pelas condições de operação, que devem ser as mesmas em um reator híbrido, e por critérios como a cinética e a reatividade. Desta forma, a enantioseletividade deve ser maior que 20, ou seja, a resolução do enantiômero alvo deve ser pelo menos 20 vezes mais rápida que a resolução do enantiômero indesejado. Já a racemização catalisada pelo metal deve ser pelo menos 10 vezes mais rápida que a resolução do enantiômero mais lento (e indesejado) pela enzima, ou seja, a etapa enzimática deve ser a mais lenta do processo. Isso porque não se deseja que o enantiômero indesejado sofra resolução

e gere subprodutos. Da mesma forma, uma racemização excessiva pode gerar muitos subprodutos indesejados. Além disso, o produto formado pela resolução enzimática não pode reagir com o metal escolhido para racemização, também visando evitar subprodutos. Portanto, um catalisador não pode influenciar negativamente na atividade do outro (SEDDIGI *et al.*, 2017; VERHO & BÄCKVALL, 2015; FERRAZ, 2019).

Como visto anteriormente, o paládio se mostra uma opção interessante para a catálise da etapa dinâmica do processo para a PZQamina, assim como realizado por Qian (2015) e Valenti *et al.* (2021). Uma alternativa que merece destaque é a possível utilização de rutênio para esta catálise, uma vez que este se mostra eficaz na racemização de aminas, em especial o catalisador de Shvo já mencionado (FERREIRA *et al.*, 2018; CONLEY *et al.*, 2010). Entretanto, são necessários maiores estudos para confirmar a eficiência desse tipo de catalisador para a molécula de PZQamina, considerando não só os possíveis subprodutos, mas principalmente sua inatividade para com a molécula de *R*-PZQ que se deseja obter ao final do processo.

Como mencionado, para a síntese de amidas por via enzimática a partir de aminas correspondentes, utilizam-se usualmente de hidrolases, tais como a lipase, e de ésteres como doadores de grupo acila. As lipases são as mais usadas enzimas na síntese orgânica, devido a diversas vantagens, entre elas suas altas enantioselectividade, estabilidade e disponibilidade, além de não necessitarem de cofatores ou de alto investimento para sua aquisição (SCHMIDBERGER *et al.*, 2015). Dessa forma, quase não surgem estudos que utilizem de outro grupo de enzimas para realizar a acilação de aminas a amidas. Além disso, a enzima para resolução da *R*-PZQamina em *R*-PZQ deve ter como enantiopreferência justamente o enantiômero *R*, evitando que o enantiômero indesejado (*S*-PZQamina) sofra acilação e gere como subproduto *S*-PZQ. Assim sendo, pode-se considerar uma lipase para esta etapa, já que a maior parte das lipases possuem a enantiopreferência aqui desejada para aminas secundárias, como reportado por Seddigi *et al.* (2017) segundo a regra estabelecida por Kazlauskas *et al.* (1991), ambos já mencionados. Não iremos, portanto, entrar em detalhes de outros grupos de enzimas para a catálise aqui desejada, e sim focaremos no uso de lipases como catalisadores enzimáticos para a acilação.

Dessa forma, pode-se imaginar a utilização de um modelo semelhante aos utilizados nos trabalhos de Ferraz (2019) e Souza *et al.* (2017) ou até o modelo tratado por Filice *et al.* (2013). Em todos esses casos, a enzima utilizada era uma lipase e o metal para a racemização, o paládio. Além disso, as condições operacionais eram semelhantes, tendo o tolueno como solvente a uma

temperatura de 60 a 70°C. Como visto por Seubert, Thomas e Andrews (1975) no seu trabalho pioneiro sobre a síntese de praziquantel, a praziquanamina precursora é solúvel em tolueno e passível de sofrer acilação nas temperaturas aqui descritas. Busca-se sugerir que agora esta reação não ocorra de maneira puramente química, mas sim catalisada por uma enzima, sendo ainda associada a uma racemização que permita a síntese de *R*-praziquantel enantiomericamente puro.

Como já colocado, o solvente e as temperaturas utilizadas por Ferraz (2019), Souza *et al.* (2017) e Filice *et al.* (2013), ou seja, tolueno e uma temperatura de 60 a 70°C, poderiam ser também utilizados na DKR da praziquanamina aqui sugerida. A lipase também apresenta boa atividade em outros solventes orgânicos polares (TSAI, 2016). Contudo, como se sabe da solubilidade do reagente e da atividade da enzima em tolueno, não se vê razão para sugerir outro solvente para este caso hipotético. Além disso, como explicado no mecanismo geral de ação das lipases, estas sofrem ataque de nucleófilos quando acopladas ao grupamento acila. Assim sendo, deve-se evitar que outros nucleófilos estejam presentes no meio reacional e possam, por ventura, reagir com o intermediário formado, gerando subprodutos indesejados. Um exemplo claro é a presença de água no meio, que pode deslocar a reação para uma hidrólise e conseqüentemente desviar o éster para a formação de subprodutos (SCHMIDBERGER *et al.*, 2015). Por isso, o meio deve ser livre de água, assim como feito nos trabalhos de Souza *et al.* (2017), Ferraz (2019) e Filice *et al.* (2013), que se utilizaram de tolueno seco.

Avaliando as possibilidades para imobilização da enzima e suporte do metal, percebe-se que os catalisadores híbridos aqui estudados demonstraram bons resultados na resolução cinética dinâmica da 1-feniletilamina. Contudo, vale destacar que o catalisador construído por Ferraz (2019) se mostrou ineficiente ao se tentar repetir a resolução, mostrando que seu reuso não era possível. Já o catalisador de Souza *et al.* (2017), se mostrou eficiente por até 3 ciclos operacionais. Considerando que aqui se busca produzir PZQ de maneira que seja possível futuramente sua comercialização como enantiômero puro, um catalisador que não possa ser reutilizado seria um problema à sua aplicação industrial. Como aponta Ferraz (2019), essa dificuldade de reuso provavelmente se dá devido a uma perda de atividade da lipase. Com isso, a menos que se solucione esse problema, a utilização deste catalisador pode não ser possível em escalas maiores, em que os custos envolvidos são ainda mais elevados.

Quanto ao catalisador híbrido de Filice *et al.* (2013), que também se utilizou de Pd e CALB, mas com uma imobilização um pouco diferente, não há resultados sobre seu reuso. Porém, foi destacado que os tamanhos das nanopartículas e sua morfologia não se alteraram

mesmo após 3 meses, indicando que a lipase atua bem não só como suporte físico para o metal, mas também como agente estabilizador para o catalisador (FILICE *et al.*, 2013). Assim sendo, poder-se-ia seguir a investigação da atividade deste catalisador com esta imobilização após várias resoluções.

É importante destacar outros trabalhos que não utilizam de uma enzima para a acilação e um metal para racemização, como os até então mencionados. Esses estudos se mostram como alternativas para a DKR de compostos orgânicos e muito promissoras para aminas, como é o caso da praziquanamina aqui considerada. Por isso, essas alternativas devem ser levadas em conta quando se escolher o catalisador a ser aplicado na resolução cinética dinâmica da PZQamina e consequente produção de *R*-PZQ enantiomericamente puro.

Dentre esses trabalhos, destaca-se o de Sakulsombat, Vongvilai e Ramström (2014), que mostrou a dupla atividade da lipase da bactéria *Burkholderia cepacia*, capaz de acilar e racemizar *N*-metil acetonitrilas. Esse estudo inclusive inclui nas enzimas avaliadas o uso de CALB para desempenhar ambas as etapas catalíticas. A lipase já mencionada anteriormente mostrou inclusive excelentes resultados nessa dupla função, chegando a 98% de conversão e 83% de excesso enantiomérico em um dos casos estudados. Já a lipase de *Burkholderia cepacia* chegou a 99% de conversão em um dos casos e 86% de excesso enantiomérico em outro caso (SAKULSOMBAT, VONGVILAI & RAMSTRÖM, 2014).

Outro trabalho que estuda a operação de DKRs utilizando-se somente de enzimas é o de Musa (2020). Uma resolução cinética dinâmica que tenha a etapa de racemização catalisada por uma enzima pode ser interessante, já que as condições operacionais são mais brandas que para catalisadores metálicos de modo geral e, portanto, podem ser mais facilmente combinadas com as condições ótimas para a outra enzima que realiza a resolução (MUSA, 2020). Essa, inclusive, se mostra uma vantagem trazida pelo estudo de Sakulsombat, Vongvilai e Ramström (2014) já mencionado, uma vez que este estudo trabalha somente com uma enzima por DKR.

Strauss e Faber (1999), por exemplo, buscaram realizar a resolução cinética dinâmica no ácido mandélico, tendo como enzima para resolução cinética uma lipase de *Pseudomonas* e *mandelato racemase* EC 5.1.2.2 como enzima da racemização. Foi obtido rendimento de 80% e excesso enantiomérico acima de 98% para a produção de *S*-O-Ácido acetil mandélico após 4 ciclos reacionais. A lipase utilizada apresentava enantioseletividade muito elevada (acima de 200) para a acilação do enantiômero *S* e a *mandelato racemase* foi utilizada imobilizada. A enantioseletividade é de suma importância, já que nada vale uma boa conversão se esta não se dá exclusivamente no enantiômero alvo. Vale destacar também que as etapas de resolução e

racemização ocorreram em solventes diferentes, sendo éter diisopropílico para a acilação e um tampão aquoso para a racemização (STRAUSS & FABER, 1999).

Os trabalhos aqui destacados demonstram a viabilidade de se utilizar somente de enzimas para uma eventual resolução cinética dinâmica. Quando imaginamos a operação com a praziquanamina, seria interessante testar a ideia de Sakulsombat, Vongvilai e Ramström (2014) para DKR utilizando somente uma enzima. Como demonstrado nesse estudo, a CALB já bastante mencionada poderia mais uma vez ser uma opção. Restaria avaliar, para escolha definitiva desta ou de outra possível enzima, sua operação em solvente que solubilize a PZQamina, como o caso do tolueno. Sabemos da operação desta enzima nesse solvente para a acilação de aminas, mas não foram encontrados estudos que comprovem sua atividade como catalisador de racemização neste mesmo solvente.

A opção trazida por Strauss e Faber (1999) também pode ser considerada para a síntese de *R*-PZQ. A discussão sobre as enzimas para a resolução cinética já foi realizada anteriormente. Porém, deve-se considerar que para este tipo de abordagem, a escolha da enzima para racemização é igualmente importante, devendo essa operar preferencialmente nas mesmas condições que a enzima escolhida para a resolução, visando facilitar a operação e possibilitando que esta se dê em mesmo meio reacional, assim como feito por Ferraz (2019), Souza *et al.* (2017) e Filice *et al.* (2013).

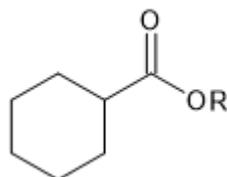
Uma opção já discutida para a racemização do praziquantel foi a *amino-acid racemase* na **Seção 4.2**. Já que as estruturas do PZQ e da PZQamina são similares e ambas possuem mesmo centro quiral, uma enzima que seja capaz de racemizar uma dessas moléculas poderia eventualmente ser capaz de racemizar a outra. Entretanto, essa enzima não seria viável para a operação aqui desejada, uma vez que se a enzima racemizar PZQamina e PZQ, o produto formado (*R*-PZQ) vai sofrer racemização da mesma forma que a *S*-PZQamina indesejada. Com isso, o produto final obtido seria PZQ racêmico, o que não é o objetivo deste estudo. Sendo assim, a menos que se encontre uma enzima que racemize a praziquanamina e não racemize o praziquantel, essa operação ocorrendo no mesmo meio reacional seria inviável. O mesmo raciocínio é válido para a operação com enzima única ou com catalisador enzima-metal.

Vale lembrar que processos de DKR que ocorrem em meio reacionais separados já são realidade e são, inclusive, mais comuns que os que ocorrem no mesmo meio reacional (SOUZA *et al.*, 2017; STRAUSS & FABER, 1999). Essa poderia ser uma alternativa em caso de grande complexidade em se operar as duas reações em um mesmo meio reacional, seja pelo problema de racemização do produto, por interferência de um catalisador na atividade do outro ou pela

dificuldade em se encontrar condições operacionais que favoreçam ambas as reações ocorrerem (SEDDIGI *et al.*, 2013; SAKULSOMBAT, VONGVILAI & RAMSTRÖM, 2014). Porém, aqui buscamos ao máximo que ambas as reações ocorram em um mesmo meio, devido às vantagens previamente citadas.

Outro fator muito importante que também deve ser levado em consideração para a escolha definitiva da enzima responsável pela catálise da acilação da PZQamina é a utilização de um doador de acila mais específico, uma vez que para a síntese de praziquantel a partir de praziquanamina, o doador escolhido deve ser necessariamente uma molécula de estrutura que permita a formação do fármaco, como por exemplo um ciclohexanoato (**Figura 4.21**). Resta saber se CALB (ou outra enzima que se deseje considerar) é capaz de realizar a acilação da praziquanamina utilizando um ciclohexanoato como doador de acila, por exemplo. Percebe-se o uso de outros ésteres de estrutura não muito diferente como doadores de acila, tais como metoxiacetato de metila, acetato de etila e acetato de fenila. Estes operam bem com lipases como a CALB como catalisador da acilação e tolueno como solvente (SOUZA *et al.*, 2017; FERRAZ, 2019; SAKULSOMBAT, VONGVILAI & RAMSTRÖM, 2014). Entretanto, são necessários maiores estudos experimentais que atestem essa possibilidade aqui tratada.

Figura 4.21 – Fórmula estrutural da molécula de ciclohexanoato.



A escolha do doador de acila é também importante pois no processo de acilação é liberado um álcool proveniente do radical R do éster utilizado (SCHMIDBERGER *et al.*, 2015). Sabe-se que álcoois de cadeias maiores, e portanto mais hidrofóbicos, são grandes desnaturantes de lipases, podendo causar inativação da enzima mesmo em concentrações baixas (10 a 30%). Contudo, também se sabe que esse tipo de moléculas também permite ambientes de maior atividade e taxas de reação (KUMAR *et al.*, 2016). Sendo assim, a escolha do radical R do ciclohexanoato deve passar pela decisão de se ter um catalisador mais ativo ou um catalisador mais duradouro. Radicais que formem ésteres enólicos são uma ótima opção, como por exemplo radicais vinílicos, visto que os grupos alcóolicos que eles geram na ação enzimática tautomerizam em compostos carbonílicos (cetonas e aldeídos), fazendo com que não haja inibição da enzima pelo álcool formado (KAZLAUSKAS, 2016). Sugere-se aqui, portanto, que

as cadeias não sejam muito longas e se prefira radicais menores, como feito nos trabalhos previamente analisados, dando preferência aos radicais vinílicos também citados (utilizando-se, por exemplo, do ciclohexanoato de vinila).

O trabalho de Paetzold e Bäckvall (2005), por exemplo, se utilizou de acetato de isopropila como doador de acila para a reação catalisada pela CALB. O álcool liberado dessa reação foi o 2-propanol que agiu como um doador de hidrogênio a mais para a racemização que ocorria simultaneamente no mesmo meio reacional. Com isso, desloca-se a hidrogenação catalisada pelo metal para a formação do racemato desejado, diminuindo a formação de subprodutos desta reação (PAETZOLD & BÄCKVALL, 2005). A escolha do radical R do doador de acila para a DKR aqui imaginada, pode também incluir um estudo do efeito que o álcool formado poderá ter como uma possível fonte de hidrogênio adicional para a racemização.

O estudo dos subprodutos da resolução cinética dinâmica deve ser, portanto, realizado considerando os efeitos que podem causar a diminuição da formação desses subprodutos e consequente deslocamento das reações para a formação do *R*-praziquantel. Além da escolha do doador de acila citada, deve-se levar em conta nesse estudo a seletividade da enzima que catalisa a acilação, já que baixas estereo e enantioseletividades levariam a uma maior produção de subprodutos. Como mencionado anteriormente essa enantioseletividade deve ser superior a 20 visando diminuir os possíveis subprodutos da resolução cinética (SEDDIGI *et al.*, 2017). Além disso, é primordial que se busquem as melhores condições operacionais que favoreçam essa seletividade e a racemização do enantiômero indesejado. Outra alternativa para evitar subprodutos na racemização é a utilização de uma enzima para esta etapa, visto que enzimas usualmente têm maior seletividade e formam, portanto, menos subprodutos (SCHNELL, FABER & KROUTIL, 2003).

5 CONCLUSÃO

Visando obter o praziquantel, principal fármaco responsável pelo combate à esquistossomose (ANDRADE *et al.*, 2020), de forma enantiomericamente pura, foram estudadas duas possíveis soluções para a produção de *R*-PZQ (ou *L*-PZQ).

A primeira solução buscada foi a da separação da mistura racêmica de PZQ e posterior racemização do enantiômero indesejado (*S*-PZQ). Essa solução permitiria a produção teórica de até 100% de *R*-praziquantel, caso os processos de separação e racemização tenham rendimentos ótimos.

Na literatura foram encontrados trabalhos que demonstram excelente separação de praziquantel utilizando da cromatografia de SMB, como é o caso do estudo realizado por Cunha (2021). Além disso, outros estudos demonstram a viabilidade de se acoplar esse tipo de separação a processos de racemização, como relata Fuereder *et al.* (2016) e Harriehausen *et al.* (2020).

Contudo, como apontado na **Seção 4.2**, até o nosso conhecimento ainda não existem trabalhos que realizem esse tipo de acoplamento para produzir praziquantel enantiomericamente puro. Sugeriu-se, portanto, a realização deste acoplamento, estudando as suas possíveis vantagens e dificuldades de implementação.

Dentre as vantagens, está a produção de até 100% de *R*-PZQ a partir de uma mistura racêmica do fármaco quiral, como mencionado anteriormente. Com isso, o rendimento poderia ir de um máximo teórico de 50% para até 100%. Isso permitiria que a administração do PZQ possa contar com apenas metade da massa que se utiliza hoje com a mistura racêmica, tendo em vista que metade da massa atual é ineficaz para o combate à doença. Assim, além de facilitar a administração, principalmente para crianças, seria possível uma grande economia, uma vez que com essa nova técnica a mesma quantidade de matéria-prima inicial produzirá o dobro de princípio ativo (MARQUES *et al.*, 2018).

O custo desse acoplamento seria o de inserir uma unidade de racemização ao processo, podendo ser mais ou menos custosa dependendo do tipo de reator que se escolha. Como visto anteriormente, pode-se imaginar a utilização de um reator enzimático ou puramente químico para essa etapa. As vantagens do reator de racemização enzimática são as condições mais brandas de operação quando comparado com as condições de operação de um reator puramente químico. No exemplo que mostramos, a racemização em Pd/C utilizando corrente de H₂ gasoso demandou pressão de 3 MPa e temperatura de 130°C. Já a racemização enzimática pode ocorrer

à temperatura ambiente, dependendo da enzima utilizada, como por exemplo a 22°C no estudo de Fueeder *et al.* (2016).

O grande desafio de aplicação da racemização enzimática passa a ser a escolha de uma enzima que racemize o *S*-PZQ que adentra o reator. Como não há estudos sobre o assunto, a sugestão dada foi a experimentação de enzimas para esta etapa, principalmente a *amino-acid racemase* analisada ao longo deste trabalho.

Por mais que a racemização por Pd/C já tenha sido comprovada nos estudos acima citados, a utilização de uma enzima para esta etapa poderia solucionar um problema atual das rotas puramente químicas de racemização, que se mostram até então incapazes de operar em largas escalas produtivas (CUNHA *et al.*, 2019). Da mesma forma, deve-se buscar uma solução que permita a operação contínua e não em batelada como feito em alguns casos analisados (WAECHTLER *et al.*, 2016).

Quanto à escolha da operação de separação de praziquantel, diversos estudos comprovam a eficácia da cromatografia de SMB na separação desta mistura, como são os casos de Ching *et al.* (1993) e Cunha (2021), por exemplo. Como o custo de uma fase estacionária quiral é elevado, o processo de separação por SMB permite o melhor aproveitamento e a otimização da fase estacionária utilizada, o que torna a operação contínua efetiva e com maior custo-benefício (CHING *et al.*, 1993).

Alguns desafios para o aumento de escala e operação industrial do acoplamento ocorrem justamente devido a flutuações originadas, por exemplo, de modificações ou contaminações da fase estacionária, que levam a mudanças no comportamento de adsorção. Além disso, a inativação dos catalisadores (principalmente se enzimáticos) e o acúmulo de resíduos nas membranas podem também trazer dificuldades a processos em maior escala produtiva (SIITONEN *et al.*, 2015).

Uma parte importante desse estudo também foi a otimização da operação, visto que um acoplamento como o estudado parece ter a tendência de deslocar o *trade-off* estabelecido entre a produtividade e o consumo de solvente. Essa solução poderia permitir altas produções com menor consumo de solvente.

Outra opção estudada foi a utilização de 3 zonas em vez das tradicionais 4 zonas na cromatografia SMB. Como demonstrado por Harriehausen *et al.* (2020), essa alternativa pode apresentar resultados melhores ao custo de um pequeno aumento no consumo de solvente. Utilizando-se de um nanofiltro e reciclo desse solvente, esse aumento poderia ser mitigado e

seu custo pode não ser tão relevante se aplicarmos solventes que não apresentam preços usualmente elevados, como o etanol e metanol estudados.

Quando falamos de produção de praziquantel enantiomericamente puro, estudamos também sua síntese a partir de um intermediário racêmico. O intermediário escolhido foi a já conhecida praziquanamina. Esta molécula foi a precursora das primeiras sínteses de PZQ racêmico (SEUBERT; THOMAS; ANDREWS, 1975).

Para essa produção, sugeriu-se então um processo de resolução cinética dinâmica (DKR), já feito na literatura para outras aminas, como por exemplo a 1-feniletilamina. Esse processo permitiria a produção do *R*-PZQ enantiomericamente puro através da alimentação de uma mistura racêmica de PZQamina.

A resolução cinética dinâmica é dividida em duas operações que ocorrem simultaneamente: a resolução cinética e a racemização. Os trabalhos estudados operam majoritariamente com uma enzima para a resolução cinética e um metal para a racemização, como nos casos de Ferraz (2019), Souza *et al.* (2017) e Filice *et al.* (2013).

A principal enzima utilizada na etapa de acilação é a lipase, sendo muito comum a utilização da lipase de *Candida antarctica* (CALB), como visto. Essas enzimas costumam apresentar enantiopreferência pelo enantiômero *R*, segundo a regra de Kazlauskas *et al.* (1991), sendo este justamente o enantiômero que buscamos acilar para a geração de *R*-PZQ.

Para a racemização, usualmente se utilizam de metais, tais como paládio ou rutênio. Estes já se mostraram efetivos para diversas racemizações de aminas, como previamente discutido (FERRAZ, 2019; PAETZOLD; BÄCKVALL, 2005). Sendo assim, sua utilização em mesmo meio reacional da enzima permitiria que se racemizasse a *S*-PZQamina enquanto se acila a *R*-PZQamina, formando somente *R*-PZQ como produto. É importante que o catalisador da racemização não reaja com o produto formado.

Uma dificuldade desse tipo de processo é justamente encontrar uma forma de se trabalhar com ambas as reações no mesmo meio reacional, tendo em vista que muitas vezes um catalisador pode atrapalhar a atividade do outro, além de que ambos podem eventualmente necessitar operar em condições bem distintas. Para o caso estudado, encontraram-se na literatura soluções que conseguem operar uma DKR para aminas em tolueno, de 60 a 70°C e utilizando lipases e paládio ou rutênio (FERRAZ, 2019; SOUZA *et al.*, 2017; FILICE *et al.*, 2013). Essas condições poderiam ser ideais para a possível resolução cinética dinâmica da praziquanamina.

Também foram analisadas outras alternativas para a catálise, destacando-se a utilização de uma mesma enzima para as duas etapas reacionais (resolução cinética e racemização). Entretanto, a dificuldade de encontrar enzimas que realizem essas operações e que não influenciem negativamente na operação uma da outra é um desafio (SAKULSOMBAT; VONGVILAI; RAMSTRÖM, 2014; VERHO; BÄCKVALL, 2015).

Para a etapa de resolução cinética são necessários doadores de acila, que formam álcoois como subprodutos, sendo sua escolha de suma importância, uma vez que estes álcoois gerados podem inativar os catalisadores (SCHMIDBERGER *et al.*, 2015; KUMAR *et al.*, 2016). A alternativa mais interessante encontrada foi a utilização de ésteres vinílicos, tal como o ciclohexanoato de vinila, pois os produtos alcoólicos formados tendem a sofrer tautomeria, gerando subprodutos que não desnaturam as enzimas utilizadas (KAZLAUSKAS, 2016).

De forma geral, acredita-se que ambas as soluções encontradas merecem uma maior apreciação e um maior estudo, principalmente experimental, para se vencer as barreiras que cada uma apresenta e buscar soluções que otimizem sua operação. Com estudos mais aprofundados, poderá ser possível determinar a viabilidade econômica e operacional de ambas e compará-las melhor do ponto de vista de sua aplicação industrial. Sem esses dados experimentais, entretanto, os estudos de ambas e sua comparação têm de permanecer no campo teórico e qualitativo, sendo impossível afirmar com certeza da eficácia de um ou de outro, principalmente se o objetivo final é sua aplicação na indústria farmacêutica.

De qualquer forma, o estudo aqui apresentado serve de ponto de partida para novas discussões sobre a produção de fármacos quirais enantiomericamente puros a partir de métodos ainda não tão bem trabalhados industrialmente. Sugere-se, portanto, que esses estudos sigam, não só na sua forma teórica, mas principalmente experimental, para comprovar as hipóteses aqui colocadas e gerar melhorias e novas alternativas para a produção destes compostos de essencial utilização ao redor do mundo.

6 REFERÊNCIAS

- AINEMBABAZI, Diana *et al.* Acceptorless Amine Dehydrogenation and Transamination Using Pd-Doped Hydrotalcites. **ACS Catalysis**, v.9, n.2, p. 1055-1065, 2019.
- ALI, Imran *et al.* Role of Racemization in Optically Active Drugs Development. **Chirality**, v.19, p. 453-463, 2007.
- ALLEN, Joanne V.; WILLIAMS, Jonathan M. J. Dynamic Kinetic Resolution with Enzyme and Palladium Combinations. **Tetrahedron Letters**, v.37, n.37, p. 1859-1862, 1996.
- ALSHAMMARI, Ahmad; KALEVARU, V. Narayana; MARTIN, Andreas. Metal Nanoparticles as Emerging Green Catalysts. *In*: LARRAMENDY, Marcelo L.; SOLONESKI, Sonia. **Green Nanotechnology: Overview and Further Prospects**. 1. ed. IntechOpen, 2016. p. 1-33.
- ANDRADE, Luciana Nalone *et al.* Praziquantel-loaded solid lipid nanoparticles: Production, physicochemical characterization, release profile, cytotoxicity and in vitro activity against Schistos. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v.58, 2020.
- ASANO, Yasuhisa; YAMAGUCHI, Shigenori. Dynamic Kinetic Resolution of Amino Acid Amide Catalyzed by D-Amino peptidase and α -Amino- ϵ -caprolactam Racemase. **Journal of the American Chemical Society**, v.127, n.21, p. 7660-7961, 2005.
- BADA, J. L. Racemization of Amino Acids. *In*: BARRETT, G. C. **Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids**. 1. ed. Londres: Chapman and Hall, 1985. p. 399-414.
- BADILLO-GARCÍA, María Luisa; ARIAS, José L. Primeros estudios de preformulación en el desarrollo de una suspensión farmacéutica de micropartículas de Praziquantel destinada a la vía de administración oral. **Ars Pharmaceutica**, v.60, n.4, 2019.
- BHASKAR, V.; GUPTA, Santosh K.; RAY, Ajay K. APPLICATIONS OF MULTIOBJECTIVE OPTIMIZATION IN CHEMICAL ENGINEERING. **Reviews in Chemical Engineering**, v.16, n.1, p. 1-54, 2000.
- BECHTOLD, M. *et al.* Model-Based Characterization of an Amino Acid Racemase From *Pseudomonas putida* DSM 3263 for Application in Medium-Constrained Continuous Processes. **Biotechnology and Bioengineering**, v.98, n.4, 2007.
- BERGQUIST, Robert; ELMORSHEDY, Hala. Artemether and Praziquantel: Origin, Mode of Action, Impact, and Suggested Application for Effective Control of Human Schistosomiasis. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v.3, 2018.
- BERTHOD, A. Chromatographic Separations and Analysis: Macrocyclic Glycopeptide Chiral Stationary Phases. *In*: YAMAMOTO, Hisashi; CARREIRA, Erick M. **Comprehensive Chirality**. 1 ed. Elsevier, 2012. p. 227-262.
- CALDERÓN SUPELANO, Reinaldo. **Optimization and Nonlinear Model Predictive Control of some Simulated Moving Bed Process Variants**. Rio de Janeiro, 2021.

CHEN, Qing-An *et al.* Homogeneous palladium-catalyzed asymmetric hydrogenation. **Chemical Society Reviews**, v.42, n.2, p. 497-511, 2013.

CHING, C. B. *et al.* Preparative resolution of praziquantel enantiomers by simulated counter-current chromatography. **Journal of Chromatography**, v.634, p. 215-219, 1993.

CLAYDEN, Jonathan; GREEVES, Nick; WARREN, Stuart. **Organic Chemistry**. 2. ed. Nova Iorque: Oxford University Press, 2012.

CONLEY, Brian L. *et al.* Discovery, Applications, and Catalytic Mechanisms of Shvo's Catalyst. **Chemical Reviews**, v.110, n.4, p. 2294-2312, 2010.

COSTAIN, Alice H.; MACDONALD, Andrew S.; SMITS, Hermelijn H. Schistosome Egg Migration: Mechanisms, Pathogenesis and Host Immune Responses. **Frontiers in Immunology**, v.9, n. 3042, p. 1-16, 2018.

CUNHA, Felipe Coelho. **Chromatography Separation of Praziquantel Racemate using Simulated Moving Bed from Unit Design to Dynamic Studies with Online Measurements**. Rio de Janeiro, 2021.

CUNHA, Felipe *et al.* Separation of praziquantel enantiomers using simulated moving bed chromatographic unit with performance designed for semipreparative applications. **Chirality**, v.31, p. 583-591, 2019.

DAS, Susanta *et al.* EnzyDock - Protein-Ligand Docking of Multiple Reactive States along a Reaction Coordinate in Enzymes. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v.15, n.9, p. 5116-5134, 2019.

DHAWLE, Pranaya P.; GIRI, Anita S. Goswami. A Review on Synthetic Methods for Preparation of Praziquantel. **Der Pharma Chemica**, v.10, n.7, p. 215-221, 2018.

DOENHOFF, Michael J.; CIOLI, Donato; UTZINGER, Jürg. Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v.21, n.6, p. 659-667, 2008.

FAYYAZBAKSH, Ahmad; PIROUZFAR, Vahid. Comprehensive overview on diesel additives to reduce emissions, enhance fuel properties and improve engine performance. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.74, p. 891-901, 2017.

FERRAZ, Clara Anhel. **Síntese e Caracterização de Catalisadores Magnéticos Híbridos contendo Lipase e Paládio Para a Resolução Dinâmica de Aminas Quirais**. Rio de Janeiro, 2019.

FERREIRA, Marina M. M. *et al.* Preparation, Characterization and Catalytic Activity of Palladium Catalyst Supported on MgCO₃ for Dynamic Kinetic Resolution of Amines. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.29, n.10, p. 2144-2149, 2018.

FILICE, Marco *et al.* Synthesis of heterogeneous enzyme-metal nanoparticle biohybrids in aqueous media and their applications in C-C bond formation and tandem catalysis. **Chemical Communications**, v.49, n.61, p. 6876-6878, 2013.

FUEREDER, Markus *et al.* Integration of simulated moving bed chromatography and enzymatic racemization for the production of single enantiomers. **Chemical Engineering Science**, v.152, p. 649-662, 2016.

HARRIEHAUSEN, Isabel *et al.* Assessment of process configurations to combine enantioselective chromatography with enzymatic racemization. **Adsorption**, v.26, 2020.

JO, Se-Hee; NAM, Hee-Geun; MUN, Sungyong. Optimal design and experimental validation of a modified four-zone SMB process for the separation of a ternary amino acid mixture. **Process Biochemistry**, v.45, p. 1288-1298, 2010.

KARNIK, Anil V.; HASAN, Mohammed. **Stereochemistry: A Three-Dimensional Insight**. 1. ed. Elsevier, 2021.

KASPEREIT, Malte; SWERNATH, Subramanian; KIENLE, Achim. Evaluation of Competing Process Concepts for the Production of Pure Enantiomers. **Organic Process Research & Development**, v.16, n.2, p. 353-363, 2012.

KAZLAUSKAS, Romas. Hydrolysis and Formation of Carboxylic Acid and Alcohol Derivatives. *In*: GOSWAMI, Animesh; STEWART, Jon D. **Organic Synthesis Using Biocatalysis**. 1 ed. Academic Press, 2016. p. 127-148.

KAZLAUSKAS, Romas J. *et al.* A Rule To Predict Which Enantiomer of a Secondary Alcohol Reacts Faster in Reactions Catalyzed by Cholesterol Esterase, Lipase from *Pseudomonas cepacia*, and Lipase from *Candida rugosa*. **The Journal of Organic Chemistry**, v.56, n.8, p. 2656-2665, 1991.

KUMAR, Ashok *et al.* Lipase catalysis in organic solvents: advantages and applications. **Biological Procedures Online**, v.18, n.2, p. 1-11, 2016.

LARSSON, Anna L. E.; PERSSON, B. Anders; BÄCKVALL, Jan-E. Enzymatic Resolution of Alcohols Coupled with Ruthenium-Catalyzed Racemization of the Substrate Alcohol. **Angewandte Chemie International Edition**, v.36, n.11, p. 1211-1212, 1997.

LOMBARDO, Flavio; PERISSUTTI, Beatrice; KEISER, Jennifer. Activity and pharmacokinetics of a praziquantel crystalline polymorph in the *Schistosoma mansoni* mouse model. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.142, p. 240-246, 2019.

MAILLARD, David *et al.* **METHOD FOR THE PRODUCTION OF PRAZIQUANTEL AND PRECURSORS THEREOF**. Depositante: MERCK PATENT GMBH. WO 2016/078765 A1. Depósito: 19 nov. 2015. Concessão: 26 mai. 2016.

MARQUES, Carine S. F. *et al.* Solid dispersion of praziquantel enhanced solubility and improve the efficacy of the schistosomiasis treatment. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v.45, 2018.

MCMURRAY, John. **Organic Chemistry**. 9. ed. Boston: Cengage Learning, 2016.

MERCK GROUP. **Merck Provides 1.5 Billionth Tablet of Praziquantel for Treatment of Schistosomiasis**. 2022. Disponível em: <https://www.merckgroup.com/en/news/praziquantel-tablet-donation-24-01-2022.html>. Acesso em: 16 set. 2023.

MIRANDA, Amanda S. De; MIRANDA, Leandro S. M.; SOUZA, Rodrigo O. M. A. De. Lipases: Valuable catalysts for dynamic kinetic resolutions. **Biotechnology Advances**, v.33, n.5, p. 372-393, 2015.

MOSCOSO, Caio Tödling. **Estudo de Processo Contínuo de Separação Cromatográfica de Enantiômeros do Praziquantel**. Rio de Janeiro, 2015.

MUSA, Musa M. Enzymatic racemization of alcohols and amines: An approach for bi-enzymatic dynamic resolution. **Chirality**, v.32, n.2, p. 147-157, 2020.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **PubChem Compound Summary for CID 4891, Praziquantel**. 2023. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Praziquantel>. Acesso em: 17 ago. 2023.

NEUBERGER, A. Stereochemistry of Amino Acids. *In*: ANSON, M. L.; EDSALL, John T. **Advances in Protein Chemistry: Volume IV**. Nova Iorque: Academic Press Inc., 1948. p. 297-383.

PAETZOLD, Jens; BÄCKWALL, Jan E. Chemoenzymatic Dynamic Kinetic Resolution of Primary Amines. **Journal of the American Chemical Society**, v.127, n.50, p. 17570-17964, 2005.

PAREDES, Galatea; MAZZOTTI, Marco. Optimization of simulated moving bed and column chromatography for plasmid DNA purification step and for a chiral separation. **Journal of Chromatography A**, v.1142, p. 56-68, 2007.

PERRY, Robert H.; GREEN, Don W.; MALONEY, James O. **Perry's Chemical engineers' handbook**. 7.ed. McGraw-Hill, 1997.

QIAN, Mingxin. **METHOD FOR PREPARING (R)-PRAZIQUANTEL**. Depositante: TONGLI BIOMEDICAL CO., LTD. US 9,068,214 B2. Depósito: 28 ago. 2014. Concessão: 30 jun. 2015.

QIAN, Mingxin. **PROCESS FOR THE SYNTHESIS OF (R)-PRAZIQUANTEL**. Depositante: TONGLI BIOMEDICAL CO., LTD. US 9,802,934 B2. Depósito: 11 jan. 2017. Concessão: 31 out. 2017.

RABELLO, Ana. Diagnosing Schistosomiasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n.5, p. 669-676, 1997.

RAJENDRAN, Arvind; PAREDES, Galatea; MAZZOTTI, Marco. Simulated moving bed chromatography for the separation of enantiomers. **Journal of Chromatography A**, v.1216, p. 709-738, 2009.

REETZ, Manfred T.; SCHIMOSSEK, Klaus. Lipase-Catalyzed Dynamic Kinetic Resolution of Chiral Amines: Use of Palladium as the Racemization Catalyst. **Chimia**, v.50, n.12 p. 668-669, 1996.

REIST, Marianne *et al.* Racemization, Enantiomerization, Diastereomerization, and Epimerization: Their Meaning and Pharmacological Significance. **Chirality**, v.7, p. 396-400, 1995.

RODRIGUES, Alírio *et al.* **Simulated Moving Bed Technology**. Waltham: Elsevier, 2015.

RODRIGUES, Dasciana S. *et al.* Multipoint covalent immobilization of microbial lipase on chitosan and agarose activated by different methods. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.51, p. 100-109, 2008.

SAKULSOMBAT, Morakot; VONGVILAI, Pornrapee; RAMSTRÖM, Olof. Efficient Asymmetric Synthesis of 1-Cyano-tetrahydroisoquinolines from Lipase Dual Activity and Opposite Enantioselectivities in α -Aminonitrile Resolution. **Chemistry: A European Journal**, v.20, n.36, p. 11322-11325, 2014.

SCHMIDBERGER, J. W. *et al.* Enzymatic Synthesis of Amides. **Science of Synthesis: Biocatalysis in Organic Synthesis**, v.1, p. 329-372, 2015.

SCHMIDT-TRAUB, Henner; SCHULTE, Michael; SEIDEL-MORGENSTERN, Andreas. **Preparative Chromatography**. 2. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2012.

SCHNELL, Barbara; FABER, Kurt; KROUTIL, Wolfgang. Enzymatic Racemisation and its Application to Synthetic Biotransformations. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v.343, n.6-7, p. 653-666, 2003.

SEDDIGI, Zaki S. *et al.* Lipases in asymmetric transformations: Recent advances in classical kinetic resolution and lipase-metal combinations for dynamic process. **Coordination Chemistry Reviews**, v.348, p. 54-70, 2017.

SEUBERT, Jürgen; THOMAS, Herbert; ANDREWS, Peter. **2-Acyl-4-oxo-pyrazinoisochinolin-Derivative und Verfahren zu ihrer Herstellung**. Depositante: Merck Patent GmbH. DT 23 62 539 A1. Depósito: 17 dez. 1973. Concessão: 28 ago. 1975.

SHELDON, Roger A. Cross-Linked Enzyme Aggregates as Industrial Biocatalysts. **Organic Process Research & Development**, v.15, n.1, p. 213-223, 2011.

SHENG, Weiqin; YANG, Qing; WENG, Jian. Application of Noble Metal Nanoparticles in Organic Reactions. **Current Organic Chemistry**, v.15, p. 3692-3705, 2011.

SIITONEN, Jani *et al.* Robustness of steady state recycling chromatography with an integrated solvent removal unit. **Journal of Chromatography A**, v.1391, p. 31-39, 2015.

SOUZA, Stefânia P. de *et al.* New Biosilified Pd-lipase hybrid biocatalysts for dynamic resolution of amines. **Tetrahedron Letters**, v.58, p. 4849-4854, 2017.

STORTI, Giuseppe *et al.* Robust Design of Binary Countercurrent Adsorption Separation Processes. **AIChE Journal**, v.39, n.3, 1993.

STRAUSS, Ulrike T.; FABER, Kurt. Deracemization of (\pm)-mandelic acid using a lipase-mandelate racemase two-enzyme system. **Tetrahedron: Assymetry**, v.10, n. 21, p. 4079-4081, 1999.

TSAI, Shau-Wei. Enantiopreference of *Candida antarctica* lipase B toward carboxylic acids: Substrate models and enantioselectivity thereof. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.127, p. 98-116, 2016.

UPPENBERG, Jonas *et al.* Crystallographic and Molecular-Modeling Studies of Lipase B from *Candida antarctica* Reveal a Stereospecificity Pocket for Secondary Alcohols. **Biochemistry**, v.34, n.51, p. 16838-16851, 1995.

VALENTI, Giulio *et al.* Combining Incompatible Processes for Deracemization of a Praziquantel Derivative under Flow Conditions. **Angewandte Chemie International Edition**, v.60, n.10, p. 5279-5282, 2021.

VERHO, Oscar; BÄCKVALL, Jan-E. Chemoenzymatic Dynamic Kinetic Resolution: A Powerful Tool for the Preparation of Enantiomerically Pure Alcohols and Amines. **Journal of the American Chemical Society**, v.137, n.12, p. 3996-4009, 2015.

WAECHTLER, Andreas *et al.* **METHOD FOR THE PRODUCTION OF PRAZICUANTEL**. Depositante: MERCK PATENT GMBH. WO 2016/078758 A1. Depósito: 17 nov. 2015. Concessão: 26 mai. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Schistosomiasis**. 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>. Acesso em: 16 set. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Model List of Essential Medicines**. 2019. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325771/WHO-MVP-EMP-IAU-2019.06-eng.pdf?ua=1>. Acesso em: 30 jun. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO: More than 500 million praziquantel tablets needed each year to treat schistosomiasis**. 2011. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/27-02-2011-who-more-than-500-million-praziquantel-tablets-needed-each-year-to-treat-schistosomiasis>. Acesso em: 16 set. 2023.

WRZOSEK, Katarzyna *et al.* Racemization of undesired enantiomers: Immobilization of mandelate racemase and application in a fixed bed reactor. **Biotechnology Journal**, v.11, n.4, p. 453-463, 2016.

WRZOSEK, Katarzyna; HARRIEHAUSEN, Isabel; SEIDEL-MORGENSTERN, Andreas. Combination of Enantioselective Preparative Chromatography and Racemization: Experimental Demonstration and Model-Based Process Optimization. **Organic Process Research & Development**, v.22, n.12, p. 1761-1771, 2018.

YANG, Zhezhou *et al.* One-Pot Palladium-Catalyzed Racemization of (S)-Praziquanamine: A Key Intermediate for the Anthelmintic Agent (R)-Praziquantel. **HETEROCYCLES**, v.94, n.1, p. 122-130, 2016.

ZHANG, L. *et al.* Application of a eremomycin-chiral stationary phase for the separation of DL-methionine using simulated moving bed technology. **Journal of Chromatography A**, v.1162, p. 90-96, 2007.

ZHANG, Yan; ZHANG, Yang; RAMSTRÖM, Olof. Dynamic covalent kinetic resolution. **Catalysis Reviews: Science and Engineering**, v.62, n.1, p. 66-95, 2020.