

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
Área de Tecnologia Químico-Farmacêutica

Síntese da Pioglitazona e Lobeglitazona em batelada e microrreator capilar

Renan Rodrigues de Oliveira Silva

Tese para obtenção do Título de **DOCTOR**
Orientador: Prof. Dr. Mauri Sergio Alves Palma
Coorientador: Lucas Colucci Ducati

São Paulo
2023

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
Área de Tecnologia Químico-Farmacêutica

Síntese da Pioglitazona e Lobeglitazona em batelada e microrreator capilar

Renan Rodrigues de Oliveira Silva

Versão Corrigida

Tese para obtenção do Título de **DOCTOR**
Orientador: Prof. Dr. Mauri Sergio Alves Palma
Coorientador: Lucas Colucci Ducati

São Paulo
2023

Renan Rodrigues de Oliveira Silva

Síntese da Pioglitazona e Lobeglitazona em batelada e microrreator capilar.

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do Título de DOUTOR

Prof. Dr. Mauri Sergio Alves Palma
Orientador/presidente

1º examinador

2º examinador

3º examinador

4º examinador

São Paulo, ____ de _____ de 2023.

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:

Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

S586s Silva, Renan Rodrigues de Oliveira
Síntese da Pioglitazona e Lobeglitazona em
batelada e microrreator capilar / Renan Rodrigues
de Oliveira Silva. - São Paulo, 2023.
257 p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.
Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica -
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-
Farmacêutica.
Orientador: Palma, Mauri Sergio Alves
Coorientador: Ducati, Lucas Colucci

1. Microrreatores. 2. Síntese em fluxo. 3.
Glitazona. 4. Química orgânica. 5. Intensificação de
processos. I. T. II. Palma, Mauri Sergio Alves,
orientador. III. Ducati, Lucas Colucci,
coorientador.

RESUMO

SILVA, R. R. de O. **Síntese da Pioglitazona e Lobeglitazona em batelada e microrreator capilar**. 2023. 257 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Síntese em fluxo em microrreatores é uma alternativa ao processo em batelada e vem sendo incorporada à indústria químico-farmacêutica nos últimos anos devido às suas vantagens, particularmente à intensificação de processos, que pode levar à redução do tempo para um novo medicamento ser colocado no mercado. As glitazonas são uma classe de fármacos que combatem principalmente o diabetes *mellitus* tipo 2, uma das maiores preocupações na área da saúde. Este trabalho teve como objetivo a transposição da síntese dos fármacos Pioglitazona (Actos[®]) e Lobeglitazona (Duvie[®]) do processo batelada para o processo em fluxo em microrreator capilar, indicar uma equivalência de ambos os processos pelo número de microrreatores em paralelo (n_{MR}) e determinar parâmetros cinéticos e termodinâmicos de cada etapa das reações. Adicionalmente buscou-se determinar os mecanismos reacionais de cada etapa da síntese destes fármacos pelo uso do software Gaussian 09[®]. Os resultados obtidos para as reações intermediárias da síntese do Pioglitazona, 2-(5-etilpiridin-2-il)etilmetanosulfonato (**2P**) e (Z)-5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (**4P**) atingiram rendimentos de 66 e 85,3% e $n_{MR} = 4,4$ e 2, a 25 e 120°C, respectivamente, no processo em fluxo, já 4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzaldeído (**3P**) e Pioglitazona atingiram 54% e 100%, a 25°C em batelada. Uma nova rota de síntese deste fármaco foi desenvolvida e solicitada patente (BR 10 2021 006604 0). Para Lobeglitazona, 4-cloro-6-(4-metoxifenoxi)pirimidina (**1L**), 2-[[6-(4-metoxifenoxi)pirimidin-4-il](metilamino)etan-1-ol (**2L**) e 5-[4-(2-[[6-(4-metoxifenoxi)pirimidin-4-il]metilamino)etoxi]benzilideno]tiazolidina-2,4-diona (**4L**) atingiram rendimentos de 28, 61 e 32%, $n_{MR} = 1,4, 0,8$ e 2,5, a 25, 160 e 120°C, respectivamente em fluxo, enquanto 4-(2-((6-(4-metoxifenil)pirimidin-4-il)(metil)amino)etoxi)benzaldeído (**3L**) e Lobeglitazona atingiram 73 e 100%, a 60 e 25°C, respectivamente, no processo batelada. Foram determinados todos os parâmetros cinéticos e termodinâmicos das reações de formação dos produtos intermediários de ambos os fármacos. Os resultados indicam que a transposição de ambas as sínteses do processo batelada para fluxo em microrreatores podem ser vantajosas em escala industrial.

Palavras-chave: Microrreatores. Fluxo contínuo. Batelada. Pioglitazona. Lobeglitazona,

ABSTRACT

SILVA, R. R. de O. **Synthesis of Pioglitazone and Lobeglitazone in batch and capillary microreactor.** 2023. 257 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Flow synthesis in microreactors is an alternative to the batch process and has been incorporated into the chemical-pharmaceutical industry in recent years due to its advantages, particularly the process intensification, which can lead to a reduction in the time for a new drug to be placed the market. Glitazones are a drug class that mainly fight type 2 diabetes *mellitus*, one of the biggest concern in the health area. This work aimed to transpose the synthesis of Pioglitazone (Actos®) and Lobeglitazone (Duvie®) from batch to flow process in a capillary microreactor, indicating equivalence of both processes by the number of microreactors in parallel (n_{MR}) and determine kinetic and thermodynamic parameters of each step of both reactions. Additionally, we sought to determine the reaction mechanisms of each stage of the synthesis of these drugs using the Gaussian 09® software. Additionally, determining the reaction mechanisms of each step of both synthesis pathways of these drugs using the Gaussian 09® software. The results obtained for the intermediate reactions of the synthesis of Pioglitazone, 2-(5-ethylpyridin-2-yl)ethylmethanesulfonate (**2P**) and (Z)-5-(4-(2-(5-ethylpyridin-2-yl)ethoxy)benzylidene)thiazolidine-2,4-dione (**4P**) reached yields of 66 and 85.3% and $n_{MR} = 4.4$ and 2 at 25 and 120°C, respectively, in flow process, while 4-(2-(5-ethylpyridin-2-yl)ethoxy)benzaldehyde (**3P**) and Pioglitazone reached 54% and 100% at 25°C in batch. A new synthesis route for this drug was developed and patented (BR 10 2021 006604 0). For Lobeglitazone, 4-chloro-6-(4-methoxyphenoxy)pyrimidine (**1L**), 2-[[6-(4-methoxyphenoxy)pyrimidin-4-yl](methylamino)ethan-1-ol (**2L**) and 5-[4-(2-{[6-(4-methoxyphenoxy)pyrimidin-4-yl]methylamino}ethoxy)benzylidene]thiazolidine-2,4-dione (**4L**) achieved yields of 28, 61 and 32% $n_{MR} = 1.4$, 0.8 and 2.5 at 25, 160 and 120°C respectively in flow, while 4-(2-((6-(4-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl)(methyl)amino)ethoxy)benzaldehyde (**3L**) and Lobeglitazone reached 73 and 100% at 60 and 25°C, respectively, in batch process. All kinetic and thermodynamic parameters of the intermediate product reactions of both drugs were determined. The results indicate that the transposition of both syntheses from the batch to flow process in microreactors can be advantageous on an industrial scale.

Keywords: Microreactors. Continuous flow. Batch. Pioglitazone. Lobeglitazone.

Agradecimentos

Agradeço à Universidade de São Paulo (USP) por ter aberto as portas para eu realizar o sonho da minha vida.

Agradeço à Faculdade de Ciências Farmacêuticas e o Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da USP por disponibilizar o espaço para a realização deste trabalho.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) processo: 2018/01478-5 pelo auxílio financeiro disponibilizado para o desenvolvimento desta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (Capes) – Código de financiamento 001.

Ao Prof. Dr. Mauri Sergio Alves Palma. Não existem palavras que expressam minha gratidão pelo senhor. Obrigado por acreditar, confiar em mim e contribuir para o meu crescimento profissional.

Ao Dr. Agostino Cilibrizzi e Dr. Robert C. Hinder do Institute of Pharmaceutical Science do King's College London por permitirem que eu realizasse o estágio no King's College London em seu laboratório.

Aos amigos do King's College London Qi Xu, Claudia De Attiliis, Siham Memdouh, Divya Merugu, Yu Chee Sonia Chen, Yandong Ran, Mohammed Moursy e Giuseppe Floresta

Dr^a Antonella Guerriero do *Istituto di Chimica dei Composti Organometallici* – ICCOM do *Consiglio Nazionale delle Ricerche* (CNR) de Florença, Itália, por permitir que eu realizasse uma parte da pesquisa no exterior em seu laboratório.

Ao Dr. Attilio Converti do *Department of Civil, Chemical and Environmental Engineering*, da Universidade de Genoa, pelo seu auxílio na redação de artigos científicos.

Ao Prof. Dr. Lucas Colucci Ducati e Dr. Patrick Rodrigues Batista por sua coorientação e ajuda no desenvolvimento da pesquisa.

À Prof.^a Dr^a Juliana Neves Rodrigues Ract do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP pela disponibilização do equipamento de HPLC-UV, extremamente necessário para a realização desta pesquisa.

À Prof^a Dr^a. Suzana Caetano da Silva Lannes do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP pela disponibilização de equipamentos multiusuários utilizados na pesquisa, bem como o auxílio do técnico de laboratório Alexandre Mariani Rodrigues.

Aos Professores. Dr^a Carlota de Oliveira Rangel Yagui, Dr^a Gisele Monteiro e Dr. João Carlos Monteiro de Carvalho e Dr. Marco Antonio Stephano do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP por suas colaborações no período.

À Yuki Sabanay pelo apoio, paciência, carinho, parceria e motivação para que eu continuasse em frente e nunca desistisse.

Aos amigos de laboratório, os M.Sc Danilo da Silva Pinheiro, Rodrigo de Oliveira Vieira, Edson Nascimento dos Santos Junior, Gabriela Consolini, Marcio José Aguiar e Christian Adrian Merfels pela convivência do dia a dia no laboratório.

Ao Dr. Paulo Victor Cuesta Calvo, por toda a sua contribuição e apoio durante o período de trabalho.

À Paula Almeida Meira por sua ajuda durante seu período de iniciação científica.

Aos alunos de Iniciação Científica Leandro Leite Reche Daniel Hideki Nunes Saito, Diego de Oliveira Santos e Caroline Araskiro Pessoa por toda a ajuda ao longo do desenvolvimento da pesquisa.

À minha família por todo o amor e compreensão durante estes anos em que fiquei ausente, porém sentindo uma saudade enorme de seu lar.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exemplo de um microrreator de vidro, ou microchip, da marca Syrris, modelo Asia, de volume interno de 250 μ L.....	29
Figura 2 - Representação de um esquema de microrreatores em paralelo (numbering-up)	31
Figura 3 – Comparação esquemática do tempo de produção de um processo químico em batelada e em fluxo em microrreatores.....	32
Figura 4 - Incidência de artigos com o tema "microrreatores" no banco de dados científicos Scopus [®] de 1951 a 2022.	32
Figura 5 - Rota de síntese do fármaco Pioglitazona.	37
Figura 6 - Mecanismo reacional da síntese do produto intermediário 2P	38
Figura 7 - Mecanismo reacional na formação do produto intermediário 3P	39
Figura 8 - Mecanismo reacional na formação do produto intermediário 4P	40
Figura 9 - Mecanismo de hidrogenação de eteno para produção de etano.....	41
Figura 10 - Rota de síntese do fármaco Lobeglitazona	42
Figura 11 - Mecanismo reacional na formação do produto intermediário 1L	43
Figura 12 - Mecanismo de formação do produto intermediário 2L	43
Figura 13 - Mecanismo de formação do produto intermediário 3L	44
Figura 14 - Mecanismo reacional na formação do produto intermediário 4L	44
Figura 15 - Rota de síntese do fármaco Pioglitazona	49
Figura 16 - Rota de síntese do fármaco Lobeglitazona	49
Figura 17 – Reator batelada pressurizado para hidrogenação. (A) Vista geral do reator com suporte, mangueiras de silicone, tubos pescadores e agitador magnético. (B) Detalhe do reator e tubos pescadores. (C) Detalhe superior dos tubos pescadores e mangueiras de alimentação e de purga. (D) Cilindro de H ₂ (pureza grau CG) e manômetros.....	54
Figura 18 – Fluxograma do sistema em fluxo no microrreator capilar	56
Figura 19 - Esquema de síntese do produto intermediário 2P no processo batelada.....	57
Figura 20 - Esquema de síntese do produto intermediário 2P no processo em fluxo no microrreator capilar	58
Figura 21 - Esquema de síntese do produto intermediário 3P no processo batelada.....	58
Figura 22 - Esquema de síntese do produto intermediário 3P (método alternativo) no processo batelada.....	59
Figura 23 - Esquema de síntese do produto intermediário 4P no processo batelada.....	61
Figura 24 - Esquema de síntese do produto intermediário 4P em fluxo no microrreator capilar	61
Figura 25 - Esquema da hidrogenação do produto intermediário 4P no processo batelada.....	62
Figura 26 - Esquema da reação one-pot dos produtos intermediários 2P e 3P no processo batelada.....	62

Figura 27 - Esquema de síntese do produto intermediário 1L no processo batelada	63
Figura 28 - Esquema de síntese do produto intermediário 1L em fluxo no microrreator capilar	65
Figura 29 - Esquema de síntese do produto intermediário 2L no processo batelada	65
Figura 30 - Esquema de síntese do produto intermediário 2L em fluxo no microrreator capilar	66
Figura 31 - Esquema de síntese do produto intermediário 3L no processo batelada	67
Figura 32 - Esquema de síntese do produto intermediário 4L no processo batelada	68
Figura 33 - Esquema de síntese do produto intermediário 4L em fluxo no microrreator capilar	69
Figura 34 - Esquema de hidrogenação do produto intermediário 4L no processo batelada.....	70
Figura 35 - Esquema de síntese one-pot dos produtos intermediário 1L e 2L no processo batelada.....	70
Figura 36 - Esquema de síntese <i>one-pot</i> dos produtos intermediário 1L , 2L e 3L no processo batelada.....	71
Figura 37 - Esquema de síntese em fluxo no microrreator capilar dos intermediários 1L e 2L	72
Figura 38 - Conversão do reagente 1P e rendimento do produto intermediário 2P no processo batelada ($C_{1P} = 0,10$ M; $C_1 = 0,125$ M; $C_{base} = 0,112$ M; Solvente: Tolueno $t = 3$ h, $T = 25^\circ\text{C}$). $C =$ concentração molar; $t =$ tempo de reação no processo batelada, $T =$ temperatura.	81
Figura 39 - Comparação do rendimento do produto intermediário 2P nos solventes tolueno e acetonitrila no processo batelada ($C_{1P} = 0,10$ M; $C_1 = 0,125$ M; $C_{base} = 0,112$ M; $t = 3$ h, $T = 25^\circ\text{C}$). $C =$ concentração molar; $t =$ tempo de reação no processo batelada, $T =$ temperatura.	82
Figura 40 - Comparação do rendimento do produto intermediário 2P nos processos batelada e em fluxo no microrreator capilar ($C_{1P} = 0,10$ M; $C_1 = 0,125$ M; $C_{base} = 0,112$ M; Solvente: acetonitrila; $t = 3$ h, $T = 25^\circ\text{C}$). $C =$ concentração molar; $t =$ tempo reacional; $\tau =$ tempo médio de residência no microrreator, $T =$ temperatura.	83
Figura 41 - Influência do tempo médio de residência (τ) na produção molar (\dot{m}_{MR}) no processo em fluxo e no número de microrreatores em paralelo (n_{MR}), com volume de 1 mL para se atingir a mesma produção de 2P no processo batelada ($1,52 \times 10^{-6}$ mol s^{-1}) após 60 min em $T = 25^\circ\text{C}$. $t =$ tempo de reação no processo batelada, $T =$ temperatura.	84
Figura 42 - Relação de áreas (%) obtidas por HPLC-MS no estudo de bases e solventes na formação do produto intermediário 3P (método alternativo) no processo batelada ($C_{1P} = 0,20$ M; $C_7 = 0,20$ M; $C_{base} = 0,40$ M; $\lambda = 254$ nm; $t = 2$ h, $T = 25^\circ\text{C}$). $C =$ concentração molar; $t =$ tempo de reação no processo batelada, $T =$ temperatura.	87
Figura 43 - Influência da base promotora da reação no rendimento do produto intermediário 3P (método alternativo) no processo batelada durante 2 h de tempo reacional reação ($C_{1P} = 0,20$ M; $C_7 = 0,20$ M; $C_{base} = 0,20$ M; solvente: DMF; $t = 2$ h, $T = 25^\circ\text{C}$). $C =$ concentração molar; $t =$ tempo de reação no processo batelada, $T =$ temperatura.....	88
Figura 44 - Rendimentos finais do produto intermediário 3P (método alternativo) no processo batelada obtido a partir do planejamento multivariado ($C_{1P} = 0,20$ M; Solvente: DMF; $t = 2$ h, $T = 25^\circ\text{C}$). $C =$ concentração molar; $t =$ tempo de reação no processo batelada, $T =$ temperatura. Obs.: Os números da legenda correspondem aos nomes dos ensaios descritos na Tabela 8....	90

- Figura 45 – 92
- Figura 46 - Rendimento final do produto intermediário **4P** no processo batelada nos solventes metanol, etanol e n-propanol e temperatura de 65°C (C_{3P} , $C_3 = 0,030$ M; $C_{\text{pirrolidina}} = 0,024$ M; solvente: etanol, $t = 3$ h, $T = 65^\circ\text{C}$). C = concentração total do meio reacional, t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura..... 93
- Figura 47 - Rendimento do produto intermediário **4P** no microrreator capilar em função de τ e T (C_{3P} , $C_3 = 0,030$ M; $C_{\text{pirrolidina}} = 0,024$ M; solvente: etanol). C = concentração molar, T = temperatura τ = tempo médio de residência no microrreator. 94
- Figura 48 - (A) Rendimento do produto intermediário **4P**. Processo batelada = BR_A : $T = 78^\circ\text{C}$, $t = 20$ min; BR_B : $T = 78^\circ\text{C}$, $t = 180$ min. Processo em fluxo no microrreator = MR_A : $T = 78^\circ\text{C}$, $\tau = 20$ min; MR_B : $T = 120^\circ\text{C}$, $\tau = 20$ min. (B) Influência do tempo médio de residência (τ) na produção molar (\dot{m}_{MR}) no processo em fluxo e no número de microrreatores em paralelo (n_{MR}), com volume de 1 mL para se atingir a mesma produção de **4P** no processo batelada ($4,17 \times 10^{-8}$ mol s^{-1}) após 180 min em $T = 120^\circ\text{C}$. t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura. 95
- Figura 49 - Comparação da Pioglitazona produzida no MRT-Lab com a Pioglitazona comercial (Novamed®). $t_{\text{retenção}} = 5,856$ min (comercial), 5,853 (MRT-Lab). $t_{\text{retenção}}$ = tempo de retenção da amostra em análise de HPLC-UV..... 97
- Figura 50 - Conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina e rendimento do produto intermediário **1L** ($C_4 = 0,223$ M; $C_5 = 0,223$ M; $C_{\text{NaH}} = 0,446$ M. solvente: DMF; base: NaH; $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração do meio reacional, T = temperatura..... 99
- Figura 51 - Rendimento do produto intermediário **1L** no processo batelada para diversos solventes e bases promotoras da reação ($C_4 = 0,077$ M; $C_5 = 0,077$ M; $C_{\text{base}} = 0,077$ M; $t = 1$ h; $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura 101
- Figura 52 - Conversão (X) do reagente **4** e rendimento (Y_P) do produto intermediário **1L** em função do tempo reacional no solvente acetonitrila. (C_4 e $C_5 = 0,223$ M; $C_{\text{NaH}} = 0,446$ M, $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura 101
- Figura 53 - (A) Conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina para a adição de 1,00 eq. de NaH em 1, 2 e 3 min; (B) Rendimento do produto intermediário **1L** para a adição de 1,00 eq. de NaH em 1, 2 e 3 min no processo batelada (Solvente: acetonitrila; ($C_4 = 0,223$ M; $C_5 = 0,223$ M; $C_{\text{NaH}} = 0,223$ M; base: NaH; $n_{\text{eq}} \text{ base} = 1,00$; $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; $n_{\text{eq}} \text{ base}$ = número de equivalentes da base; T = temperatura 102
- Figura 54 - (A) Conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina (**4**) para a adição de 2,00 eq. de NaH em de 1, 2 e 3 min; (B) Rendimento do produto intermediário **1L** para a adição de 2,00 eq. NaH em 1, 2 e 3 min no processo batelada (Solvente: acetonitrila; ($C_4 = 0,223$ M; $C_5 = 0,223$ M; $C_{\text{NaH}} = 0,223$ M; $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; $n_{\text{eq}} \text{ base}$ = número de equivalentes da base; T = temperatura 103
- Figura 55 - Rendimento do produto intermediário **1L** obtido com a adição de 1,00 e 2,00 eq. de NaH em 4 partes iguais dentro de 1 min (Solvente: acetonitrila; $C_4 = 0,223$ M; $C_5 = 0,223$ M, $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; T = temperatura 104
- Figura 56 - (A) Conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina (**4**) e rendimento do produto intermediário **1L** no processo batelada ($C_4 = 0,026$ M; $C_5 = 0,026$ M; $C_{\text{NaH}} = 0,026$ M; solvente: THF; base: NaH; $T = 25^\circ\text{C}$). (B) Conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina (**4**) e rendimento

do produto intermediário **1L** no processo batelada ($C_4 = 0,077$ M; $C_5 = 0,077$ M; $C_{NaH} = 0,077$ M; solvente: metanol; base: KOH; $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; T = Temperatura .. 106

Figura 57 - (A) Comparação do rendimento do produto intermediário **1L** em batelada e no microrreator capilar no solvente metanol e base KOH ($C_4 = 0,08$ M; $C_5 = 0,08$ M; $C_{KOH} = 0,08$ M, base: KOH, $T = 25^\circ\text{C}$) (B) Comparação do rendimento do produto intermediário **1L** em batelada e no microrreator capilar no solvente THF e base NaH. ($C_4 = 0,026$ M; $C_5 = 0,026$ M; $C_{NaH} = 0,026$ M, base: NaH, $T = 25^\circ\text{C}$); C = concentração molar; T = temperatura, t = tempo de reação no processo batelada; τ = tempo médio de residência no microrreator) 107

Figura 58 - (A) Influência do tempo médio de residência (τ) na taxa de produção molar em fluxo (\dot{m}_{MR}) e no número de microrreatores em paralelo (n_{MR}) com volume de 1,0 mL para se atingir a mesma taxa de produção do processo batelada (\dot{m}_{BR}) de $3,88 \times 10^{-3} \text{ mol h}^{-1}$ para a síntese de **1L** em metanol após o tempo de reação em batelada (t) de 20 min. (C_4 , C_5 e $C_{KOH} = 0,08$ M, base: KOH, $T = 25^\circ\text{C}$). (D) Influência de τ na \dot{m}_{MR} e n_{MR} com volume de 1,0 mL para se atingir a mesma taxa de produção do processo batelada (\dot{m}_{BR}) de $3,45 \times 10^{-3} \text{ mol h}^{-1}$ para a síntese de **1L** em THF após $t = 8$ min. (C_4 , C_5 e $C_{NaH} = 0,026$ M, base: NaH, $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; T = temperatura, t = tempo de reação no processo batelada; τ = tempo médio de residência no microrreator 108

Figura 59 - Conversão do reagente **1L** e rendimento do produto intermediário **2L** em processo batelada ($C_{1L} = 0,106$ M; $C_6 = 0,318$ M; solvente: etanol; $T = 78^\circ\text{C}$). C = concentração molar, T = temperatura 0,132 109

Figura 60 - (A) Rendimento do produto intermediário **2L** em função do tempo de reação nos solventes estudados; (B) Rendimento do produto intermediário **2L** em 20 min de tempo de reação nos solventes estudados; (C) Rendimento final do produto intermediário **2L** obtido após 5 h de reação batelada (C_{1L} , $C_6 = 0,066$ M; $T = 65^\circ\text{C}$, $t = 5$ h). C = concentração reacional, T = temperatura, t = tempo de reação no processo batelada 110

Figura 61 - Rendimento do produto intermediário **2L** em função do tempo de reação nas concentrações 0,133, 0,159 e 0,186 M ($n^\circ \text{ eq. } 6 = 1,00 \text{ eq.}$; $T = 65^\circ\text{C}$; $t = 5$ h). T = temperatura, t = tempo de reação no processo batelada, $n^\circ \text{ eq. } 6$ = número de equivalentes do reagente **6**. 111

Figura 62 - Rendimento do produto intermediário **2L** no microrreator capilar em função de τ e T . (C_{1L} , $C_6 = 0,066$ M, solvente: etanol). C = concentração molar, T = temperatura τ = tempo médio de residência no microrreator. 112

Figura 63 - (A) Comparação dos rendimentos do produto intermediário **2L** nos processos batelada e em fluxo. Processo batelada = BR_A : $T = 65^\circ\text{C}$, $t = 20$ min; BR_B : $T = 65^\circ\text{C}$, $t = 5$ h. Processo em fluxo no microrreator = MR_A : $T = 65^\circ\text{C}$, $\tau = 20$ min; MR_B : $T = 160^\circ\text{C}$, $\tau = 20$ min. (B) Influência da temperatura (T) na taxa de produção molar em fluxo (\dot{m}_{MR}) e no número de microrreatores em paralelo (n_{MR}), com volume de 1,0 mL, para se atingir a mesma taxa de produção no processo batelada ($2,0 \times 10^{-4} \text{ mol h}^{-1}$) após 5 h. t = tempo de reação no processo batelada, τ = tempo médio de residência no processo em fluxo, T = temperatura. 113

Figura 64 - Rendimento do produto intermediário **3L** no processo em batelada usando diversos solventes e bases promotoras da reação. C_{2L} , C_6 , $C_{base} = 0,13$ M. $t = 1$ h; $T = 25^\circ\text{C}$. C = concentração molar, t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura. 114

Figura 65 - (A) Conversão do reagente **2L** e (B) rendimento do produto intermediário **3L** em função do tempo de reação em diferentes temperaturas (60, 70, 80, 90 e 100°C) no processo batelada. (Solvente: DMF; C_{2L} , C_7 , $C_{NaH} = 0,13$ M; $t = 2$ h). C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada. 115

- Figura 66 - Rendimento final do produto intermediário **4L** obtido após 4 h de reação no processo batelada. $C_3, C_{3L} = 0,016$ M; $t = 4$ h; $T = 65^\circ\text{C}$ (em metanol), 78°C (em etanol) e 98°C (em n-propanol). A numeração dos ensaios e a mesma da Tabela 11. $C =$ concentração molar; $t =$ tempo de reação no processo batelada, $T =$ Temperatura 117
- Figura 67 - Rendimento do produto intermediário **4L** em função do tempo médio de residência (τ) no processo em fluxo no microrreator capilar. (Solvente: n-propanol; $C_{3L}, C_3 = 0,016$ M; $C_{\text{Pirrolidina}} = 0,013$ M). $C =$ concentração molar, $T =$ temperatura $\tau =$ tempo médio de residência no microrreator. 118
- Figura 68 - Cromatogramas de HPLC-UV do produto intermediário **4L** ($\lambda = 347$ nm). (A) Processo batelada, $T = 98^\circ\text{C}$, tempo de reação, $t = 4$ h. Processo em fluxo, tempo médio de residência, $\tau = 20$ min; (B) $T = 120^\circ\text{C}$, (C) $T = 140^\circ\text{C}$, (D) $T = 160^\circ\text{C}$ 119
- Figura 69 - (A) Rendimento do produto intermediário **4L**. Processo batelada = BR_A : $T = 98^\circ\text{C}$, $t = 20$ min; BR_B : $T = 98^\circ\text{C}$, $t = 4$ h. Processo em fluxo no microrreator = MR_A : $T = 98^\circ\text{C}$, $\tau = 20$ min; MR_B : $T = 140^\circ\text{C}$, $\tau = 20$ min. (B) Influência do tempo médio de residência (τ) na taxa de produção molar do processo em fluxo (\dot{m}_{MR}) e no número de microrreatores em paralelo (n_{MR}), com volume de 1,0 mL e $T = 120^\circ\text{C}$ para se atingir a mesma taxa de produção molar do processo batelada após 4 h ($3,4 \times 10^{-5}$ mol h^{-1}). $t =$ tempo de reação no processo batelada, $T =$ temperatura. 120
- Figura 70 - Rendimento do produto intermediário **2L** nos ensaios one-pot em batelada (BR) e multistep em fluxo no microrreator capilar (MR) para $t, \tau = 5$ min. $C_4, C_5, C_6, C_{\text{NaH}} = 0,010$ M; base: NaH, $T = 60^\circ\text{C}$; Solvente: THF. $\tau =$ tempo médio de residência no microrreator; $t =$ tempo de reação no processo batelada..... 122

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produtos químicos utilizados na síntese dos fármacos Pioglitazona.....	53
Tabela 2 - Produtos químicos utilizados na síntese do fármaco Lobeglitazona.....	54
Tabela 3 - Relação de soluções inibidoras utilizadas nas amostragens dos produtos intermediários das sínteses dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona a partir da mistura 1:1 (v/v) de acetonitrila / água.....	73
Tabela 4 - Planejamento de amostragem no microrreator.....	74
Tabela 5 - Temperatura do sistema e pressão necessária para manter o meio reacional no estado líquido.....	75
Tabela 6 - Métodos analíticos em HPLC-UV dos reagentes e produtos intermediários dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona.....	76
Tabela 7 - Valores da relação de áreas (em %) obtidos a partir de análise de HPLC-MS no estudo de base e solventes da síntese do produto intermediário 3P (método alternativo) no processo batelada ($C_{1P} = 0,20$ M; $C_7 = 0,20$ M; $C_{base} = 0,40$ M; $\lambda = 254$ nm; $t = 2$ h, $T = 25^\circ\text{C}$). $C =$ concentração molar; $t =$ tempo de reação no processo batelada, $T =$ temperatura.....	86
Tabela 8 - Relação dos ensaios propostos para o planejamento multivariado na síntese do produto intermediário 3P (método alternativo) no processo batelada.....	89
Tabela 9 - Relação dos ensaios realizados para o planejamento fatorial 3^2 na síntese do produto intermediário 4P no processo batelada.....	92
Tabela 10 - Parâmetros cinéticos e termodinâmicos da síntese dos produtos intermediários 3P e 4P . Constante de segunda ordem da taxa de reação (k); Energia de ativação (E_a); variação de entalpia (ΔH^\ddagger), variação de energia livre de Gibbs (ΔG^\ddagger) e produto da temperatura pela variação de entropia ($T\Delta S^\ddagger$) estimados para o estado de transição.....	98
Tabela 11 - Relação dos ensaios realizados para o planejamento fatorial 3^2 na síntese do produto intermediário 4L no processo batelada.....	117
Tabela 12 - Métodos de hidrogenação do produto intermediário 4L e formação do produto Lobeglitazona.....	121
Tabela 13 - Parâmetros cinéticos e termodinâmicos da síntese dos produtos intermediários 1L , 2L , 3L e 4L . Constante de segunda ordem da taxa de reação (k); Energia de ativação (E_a); variação de entalpia (ΔH^\ddagger), variação de energia livre de Gibbs (ΔG^\ddagger) e produto da temperatura pela variação de entropia ($T\Delta S^\ddagger$) estimados para o estado de transição.....	124

LISTA DE SIGLAS

3FA- Ácido trifluoracético

AAG- Ácido acético Glacial

AASLD- *American Association for the Study of Liver Diseases*

ACN - Acetonitrila

AEAT - Anuário Estatístico de Acidentes de Trabalho

AGA - *American Gastroenterological Association*

AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

BPR - *Back pressure regulator*

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CG - Cromatografia Gasosa

CH(OEt)₃ - Trietil ortoformato

CsF - Fluoreto de céσιο

DCM - Diclorometano

DFT - *Density Functional Theory*

DMF - n,n-Dimetilformamida

DPP-4 - Dipeptidil Peptidase 4

DTR - Distribuição de tempo de residência

Ea - Energia de Ativação

EM - Espectroscopia de Massa

EUA - Estados Unidos da América

FAPESP -Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FBT/FCF/USP - Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP

FCF/USP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

FDA - *Food and Drug Administration*

GLP-1 - *Glucagon-like peptide-1*

HCl - Ácido clorídrico

HIV-1-RT - Vírus da Imunodeficiência humana transcriptase reversa

HPLC-MS - Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas

HPLC-UV - Cromatografia líquida de alta eficiência

INPI - Instituto Nacional de Propriedade Intelectual

IP - Intensificação de processos
IV - Infravermelho
JP - Japão
K₂CO₃ - Carbonato de potássio
KCL – King's College London
KF - Fluoreto de potássio
KOH - Hidróxido de potássio
MgSO₄ - Sulfato de magnésio
MIT - *Massachusetts Institute of Technology*
MRT-Lab - Laboratório de Tecnologia de Microrreatores
MS - *Mass Spectroscopy*
MsCl - Cloreto de metanosulforila
NaBH₄ - Borohidreto de sódio
NaCl - Cloreto de sódio
NaF - Fluoreto de sódio
NaH - Hidreto de sódio
NaOH - Hidróxido de sódio
NaSO₄ - Sulfato de sódio
OMS - Organização Mundial de Saúde
Pd/C - Paládio sobre carbono
PDMS - Polidimetilsiloxano
PPAR γ - Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama
Rf - Fator de retenção
RMN - Ressonância Magnética Nuclear
SN₂ - Substituição nucleofílica de segunda ordem
SrF₂ - Fluoreto de estrôncio
TBATB - Tribrometo de tetrabutylamônio
THF - Tetrahydrofurano
TMR - Tecnologia de Microrreatores
TZD - Tiazolidina-2,4-diona
USP - Universidade de São Paulo
UV - Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

$^{\circ}\text{C}$	Grau Celcius
C	Concentração molar
d_{ext}	diâmetro exterior
h	altura
d_i	diâmetro interior
mg	miligrama
mmol	milimol
eq.	equivalente
μL	microlitro
mL	mililitro
h	hora
min	minuto
mV	milivolt
M	Molar
atm	atmosfera
τ	Tempo médio de residência
L	Litros
\dot{m}_{BR}	Taxa de produção no processo batelada
\dot{m}_{MR}	Taxa de produção no processo em fluxo
$t_{\text{retenção}}$	Tempo de retenção em HPLC-UV
T_{eb}	Temperatura de ebulição
P_{atm}	Pressão atmosférica
P_a	Pascal
Q	Vazão

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Tempo médio de residência

Equação 2 - Tempo de descarte

Equação 3 - Conversão do reagente

Equação 4 - Rendimento do produto

Equação 5 – Taxa de produção no processo batelada

Equação 6 – Taxa de produção no processo em fluxo

Equação 7 - Número de microrreatores em paralelo

Equação 8 – Modelo matemático de segunda ordem global da reação para alimentação em quantidade estequiométrica

Equação 9 – Equação de Arrhenius

Equação 10 – Equação de Eyring

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1 - Elucidação das reações de formação dos produtos intermediários dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona em nível teórico.

Apêndice 2 - BOLSA PRINT/CAPES: Síntese de biblioteca de novas moléculas contendo 3-hidroxipiridin-4-ona visando aplicação farmacêutica (Processo PRINT/CAPES 88887.570120/2020-00).

Apêndice 3 - Protocolo de recuperação de acetonitrila.

Apêndice 4 - Curvas de calibração.

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 - Cromatogramas de HPLC-UV de reagentes e produtos intermediários usados na síntese dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona

Anexo 2 - Comprovação da identidade do produto intermediário **2P** por HPLC-MS

Anexo 3 - Comprovação da identidade do produto intermediário **3P** por HPLC-MS

Anexo 4 - Comprovação da identidade do produto intermediário **3P** (método alternativo) por HPLC-MS

Anexo 5 - Comprovação da identidade do produto intermediário **4P** por HPLC-MS

Anexo 6 - Comprovação da identidade do produto Pioglitazona por HPLC-MS

Anexo 7 – Cromatogramas de HPLC-UV do fármaco Pioglitazona comercial e sintetizado em laboratório

Anexo 8 - Comprovação da identidade do produto intermediário **3P** em síntese *one-pot* por HPLC-MS

Anexo 9 - Comprovação da identidade do produto intermediário **1L** por HPLC-MS

Anexo 10 - Comprovação da identidade do produto intermediário **2L** por HPLC-MS

Anexo 11 - Comprovação da identidade do produto intermediário **3L** por HPLC-MS

Anexo 12 - Comprovação da identidade do produto intermediário **4L** por HPLC-MS

Anexo 13 - Comprovação da identidade do produto Lobeglitazona por HPLC-MS

Anexo 14 – Patente Processo para a síntese de Pioglitazona (BR 10 2021 006604 0)

Anexo 15 – Publicações realizadas no período

SUMÁRIO

1	Introdução.....	25
2	Revisão da literatura.....	28
2.1	Microrreatores.....	28
2.2	Diabetes <i>mellitus</i>	34
2.2.1	Glitazonas.....	35
2.2.1.1	Pioglitazona.....	36
2.2.1.2	Lobeglitazona.....	41
2.3	Síntese <i>one-pot</i>	45
2.4	Hidroxipiridinonas como agentes quelantes.....	45
2.5	Química computacional.....	46
3	Objetivo.....	48
3.1	Objetivos.....	48
3.2	Objetivos específicos.....	50
4	Justificativa.....	52
5	Materiais e métodos.....	53
5.1	Materiais.....	53
5.1.1	Produtos químicos.....	53
5.1.2	Equipamentos e acessórios utilizados.....	54
5.2	Métodos.....	56
5.2.1	Procedimento para síntese e purificação dos produtos intermediários do fármaco Pioglitazona.....	56
5.2.1.1	Síntese do produto intermediário 2P no processo batelada.....	57
5.2.1.2	Síntese do produto intermediário 2P no processo em fluxo no microrreator capilar.....	58
5.2.1.3	Síntese do produto intermediário 3P no processo batelada.....	58
5.2.1.4	Síntese do produto intermediário 3P no processo batelada (método alternativo) e seu estudo de cinética.....	59
5.2.1.5	Estudo de bases e solventes reacionais para a síntese do produto intermediário 3P (método alternativo) no processo bateada.....	60
5.2.1.6	Síntese do produto intermediário 4P no processo batelada.....	61
5.2.1.7	Síntese do produto intermediário 4P no processo em fluxo no microrreator capilar e estudo de cinética.....	61
5.2.1.8	Hidrogenação do produto intermediário 4P	62

5.2.1.9	Síntese one-pot dos produtos intermediários 2P e 3P no processo batelada ..	62
5.2.2	Procedimento para síntese e purificação dos produtos intermediários do fármaco Lobeglitazona	63
5.2.2.1	Síntese do produto intermediário 1L no processo batelada e seu estudo de cinética	63
5.2.2.2	Estudo de bases e solventes reacionais para a síntese do produto intermediário 1L no processo bateada	64
5.2.2.3	Síntese do produto intermediário 1L em fluxo no microrreator capilar	65
5.2.2.4	Síntese do produto intermediário 2L no processo batelada	65
5.2.2.5	Síntese do produto intermediário 2L no em fluxo no microrreator capilar e seu estudo de cinética	66
5.2.2.6	Síntese do produto intermediário 3L no processo batelada e seu estudo de cinética	67
5.2.2.1	Estudo de bases e solventes reacionais para a síntese do produto intermediário 3L no processo bateada	68
5.2.2.2	Síntese do intermediário 4L no processo batelada	68
5.2.2.3	Síntese do produto intermediário 4L no em fluxo no microrreator capilar	69
5.2.2.4	Hidrogenação do produto intermediário 4L	70
5.2.2.5	Síntese one-pot do produto intermediário 2L no processo batelada.....	70
5.2.2.6	Síntese one-pot do produto intermediário 3L no processo batelada.....	71
5.2.2.7	Síntese one-pot em fluxo do produto intermediário 2L	72
5.2.3	Solução inibidora de reação.....	72
5.2.4	Determinação do método de amostragem no microrreator capilar em fluxo	73
5.2.5	Métodos analíticos	75
5.2.5.1	Quantificação e caracterização de reagentes e produtos.....	75
5.2.5.2	Curva de calibração e análise em HPLC-UV	76
5.2.6	Tratamento de dados.....	77
6	Resultados e discussão	80
6.1	síntese do fármaco Pioglitazona	80
6.1.1	Síntese do produto intermediário 2P	80
6.1.1.1	Reprodutibilidade da síntese do produto intermediário 2P	80
6.1.1.2	Estudo de solventes na síntese do produto intermediário 2P no processo batelada	81
6.1.1.3	Síntese do produto intermediário 2P em fluxo no microrreator capilar e comparação entre os processos batelada e fluxo no microrreator capilar	82

6.1.2	Síntese do produto intermediário 3P	84
6.1.2.1	Estudos preliminares para síntese do produto intermediário 3P	84
6.1.3	Síntese do produto intermediário 3P (método alternativo) no processo batelada	85
6.1.3.1	Estudo de bases e solventes reacionais para a síntese do produto intermediário 3P (método alternativo) no processo batelada.....	85
6.1.3.2	Aplicação de planejamento multivariado na síntese do produto intermediário 3P (método alternativo) no processo batelada.....	88
6.1.4	Síntese do produto intermediário 4P	90
6.1.4.1	Informações preliminares sobre a síntese do produto intermediário 4P	90
6.1.4.2	Aplicação de planejamento fatorial 3^2 e estudo de solvente na síntese do produto intermediário 4P no processo batelada	91
6.1.4.3	Síntese do produto intermediário 4P em fluxo no microrreator capilar	93
6.1.4.1	Comparação do rendimento e da produção molar do produto intermediário 4P nos processos batelada e em fluxo no microrreator capilar e determinação do número de microrreatores em paralelo	94
6.1.5	Síntese do produto Pioglitazona	95
6.1.6	Síntese <i>one-pot</i> de intermediários do fármaco Pioglitazona	97
6.1.7	Parâmetros cinéticos e termodinâmicos das reações intermediárias da síntese do fármaco Pioglitazona.....	98
6.2	Estudo do processo de síntese do fármaco Lobeglitazona.....	99
6.2.1	Síntese do produto intermediário 1L	99
6.2.1.1	Reprodutibilidade da síntese do produto intermediário 1L	99
6.2.1.1	Estudo de bases e solventes reacionais para a síntese do produto intermediário 1L no processo bateada	100
6.2.1.1	Alimentação do NaH ao reator batelada na síntese do produto intermediário 1L	102
6.2.1.2	Estudo da solubilização do meio reacional na síntese do produto intermediário 1L	105
6.2.1.3	Síntese do produto intermediário 1L em fluxo no microrreator capilar e comparações entre os processos batelada e fluxo.....	106
6.2.2	Síntese do produto intermediário 2L	108
6.2.2.1	Reprodutibilidade da síntese do produto intermediário 2L	108
6.2.2.2	Influência dos solventes e da concentração molar na síntese do produto intermediário 2L no processo batelada.....	109
6.2.2.3	Síntese do produto intermediário 2L em fluxo no microrreator capilar	111

6.2.2.4	Comparação do rendimento do produto intermediário 2L nos processos batelada e em fluxo no microrreator capilar	112
6.2.3	Síntese do produto intermediário 3L	113
6.2.3.1	Reprodutibilidade da síntese do produto intermediário 3L	113
6.2.3.2	Estudo de bases e solventes reacionais para a síntese do produto intermediário 3L no processo batelada	114
6.2.3.3	Influência da temperatura na síntese do produto intermediário 3L no processo batelada	115
6.2.4	Síntese do produto intermediário 4L	115
6.2.4.1	Aplicação de planejamento fatorial 3^2 e estudo de solvente na síntese do produto intermediário 4L no processo batelada	116
6.2.4.2	Síntese do produto intermediário 4L em fluxo no microrreator capilar	117
6.2.4.3	Comparação do rendimento do produto intermediário 4L nos processos batelada e em fluxo no microrreator capilar	119
6.2.5	Síntese do produto Lobeglitazona	120
6.2.6	Síntese <i>one-pot</i> e <i>multistep synthesis</i> do produto intermediário 2L em batelada e em fluxo	121
6.2.7	Parâmetros cinéticos e termodinâmicos das reações intermediárias da síntese do fármaco Lobeglitazona	122
7	Conclusão	125
	Referências	127

1 INTRODUÇÃO

A intensificação de processos (IP) é uma ciência interdisciplinar que sugere a busca por novas rotas, processos e equipamentos que levam à redução do número de etapas de síntese e de purificação dos produtos, redução do volume dos equipamentos e, conseqüentemente, do tamanho das plantas químicas, redução de custos operacionais, redução do consumo de energia, aumento da produtividade e redução da geração de resíduos, e tecnologia de produção mais barata e sustentável (STANKIEWICZ; MOULIJN, 2000). Um conceito tradicional e anterior ao conceito da intensificação de processos é o de otimização de processos existentes, que consiste na busca por novas condições operacionais para aumentar a eficiência do processo em termos de balanço material e de energia, aumentando a conversão dos reagentes, rendimento e seletividade de produtos, com maior pureza e qualidade (STANKIEWICZ; MOULIJN, 2000).

Ambos os conceitos já estão sendo integrados à indústria químico-farmacêutica, tendo em vista que as grandes indústrias da área, como Boehringer, Pfizer, Eli Lilly, Glaxo-SmithKline, DSM, Johnson & Johnson, AstraZeneca e Merck, em consenso, definiram os dez principais pontos para pesquisa sustentável: (1) processos contínuos; (2) bioprocessos; (3) tecnologia de reação e separação; (4) escolha adequada de solventes; (5) intensificação de processos; (6) análise de ciclo de vida; (7) integração química e engenharia; (8) aumento de escala; (9) intensidade da energia do processo; (10) integração massa/energia. É possível observar que os pontos 1 a 5 se referem parcialmente, à otimização de processos químicos sintéticos, enquanto os pontos 6 a 10 se referem à intensificação de processos (HESSEL *et al.*, 2013). Não há como negar que exista uma sinergia nos conceitos apresentados e a ligação entre eles é a síntese química em fluxo e sua unidade básica de processamento, os microrreatores (BAXENDALE, 2013).

A Tecnologia de Microrreatores (TMR) explora fenômenos microfluídicos em relação à mistura, separação, transferência de massa e de calor. Suas vantagens podem ser definidas como fluxo único e multifásico bem definidos, pequenas distâncias para difusão das espécies químicas, elevadas taxas para transferência de calor, devido à alta relação superfície/volume (HESSEL *et al.*, 2013).

A síntese química vem sendo realizada e aprimorada por mais de 200 anos e suas técnicas são muito bem estabelecidas e comprovadas. Com base nisto, qual a necessidade de considerar mudanças com base nos princípios da IP e quais são os reais benefícios para essa mudança? Essa é a pergunta que pesquisadores da academia e indústria fazem e pode levar anos

para se atingir uma real conclusão. Afinal, o balão de vidro, agitador magnético, condensador, banho Maria, etc. são equipamentos amplamente utilizados no laboratório químico e vêm servindo satisfatoriamente na síntese de produtos em processo batelada. De fato, existe um desconhecimento por grande parte dos pesquisadores a respeito da química em fluxo e quão vantajosa ela pode ser para a pesquisa científica aplicada à busca por novos fármacos, e, particularmente, para indústria químico-farmacêutica, aplicada também à produção em escala comercial (BAXENDALE, 2013).

A indústria químico-farmacêutica tem características de baixa demanda, alto valor agregado, reações em múltiplas etapas, reagentes e produtos perigosos ou muito tóxicos, baixo rendimento e curto prazo de patente, usualmente de 20 anos (WIRTH, 2013). Para gerar o retorno de elevados investimentos, da ordem de 10^9 US\$ em 10 anos, até que o medicamento possa ser comercializado, é necessário reduzir o tempo entre a descoberta de uma molécula com atividade farmacológica e sua produção industrial, diminuindo o número de etapas, principalmente para o *scale-up* que, por métodos tradicionais pode demandar alguns anos e gastos substanciais decorrentes da construção/operação de plantas piloto (GUTMANN; CANTILLO; KAPPE, 2015; PORTA; BENAGLIA; PUGLISI, 2016). Em reatores de tanque agitado operando em processo batelada ou, de modo simplificado, reatores batelada, o aumento de escala é realizado com o aumento do volume dos reatores, no entanto, são observados pontos quentes, dificuldade em manter a troca térmica e agitação eficiente (KRTSCHIL *et al.*, 2009; TONHAUSER *et al.*, 2012). Em microrreatores operando em fluxo estas ineficiências são evitadas, pois o aumento de escala de produção é possível dispondo microrreatores em paralelo em condições operacionais idênticas de temperatura e de tempo médio de residência, denominado *numbering-up* (SOUZA; MIRANDA, 2014). Em razão desta característica de processo, a indústria químico-farmacêutica pode ser beneficiada com a TMR, que também permite a realização de sínteses completas incluindo etapas intermediárias de purificação, introdução de reagentes ao longo do processo e construção de mini plantas completas de síntese e, desta forma, atender à produção industrial (BRITTON; RASTON, 2017).

Dentre as classes de fármacos mais consumidos no mundo estão aqueles indicados no tratamento de diabetes *mellitus*, que é uma das maiores preocupações na área da saúde. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que mais de 180 milhões de pessoas tenham esta doença e este número pode chegar a 366 milhões em 2030 (DARWISH *et al.*, 2016). Muitos fatores levam esta doença a ter caráter epidêmico, tais como estilo de vida sedentário, aumento do consumo de alimentos industrializados, responsável por uma alimentação inadequada (DARWISH *et al.*, 2016; MAJI; SAMANTA, 2017). A doença, caracterizada pelo aumento do

nível de glicose no sangue devido à interferência na atuação da insulina no corpo, possui alguns tratamentos já estabelecidos, como a readequação do estilo de vida e uma dieta mais equilibrada, aliada ao uso de medicamentos que ajudem a sensibilizar a insulina, tais como metformina e glitazonas, que são indicadas pelo *American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD)* e *American Gastroenterological Association (AGA)* (AHMADI *et al.*, 2016; DARWISH *et al.*, 2016; LEE *et al.*, 2017).

As glitazonas, que possuem o grupo da tiazolidina-2,4-diona, são conhecidas por apresentarem diversas atividades biológicas, como antihiperlipidêmica no tratamento de diabetes *mellitus* tipo 2, anti-inflamatória, anti-malarial, antioxidante, antitumoral, antimicrobiana e, recentemente, inibidor da HIV-1-RT (BAHARE *et al.*, 2015). No mercado, elas são comercializadas com os nomes Pioglitazona (Actos[®]), Rosiglitazona (Avandia[®]) e Lobeglitazona (Duvie[®]), mas apenas utilizados no tratamento de diabetes (SOHN *et al.*, 2018).

A implantação efetiva da TMR na indústria químico-farmacêutica nacional possibilitaria o aumento da produção, redução de custos e maior participação no mercado mundial de medicamentos e maior participação no desenvolvimento de novos fármacos. Portanto, é de fundamental importância a promoção da TMR aplicada à síntese de fármacos, por ser uma tecnologia promissora, pouco difundida no Brasil e suas vantagens de processo em relação a reatores batelada podem ajudar na produção e introdução mais rápida no mercado de fármacos que combatem doenças epidêmicas, tal como o diabetes *mellitus* tipo 2.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 MICRORREATORES

Muito se tem estudado, nas últimas décadas, sobre a miniaturização de equipamentos com o propósito de intensificação de processos tecnológicos. Tecnologia de processo e tecnologia de microssistemas são temas interdisciplinares que abrangem as áreas da química, física, biológica e de engenharias. Pesquisadores da área acadêmica e industrial trabalham em novas técnicas e equipamentos que podem levar a mudanças da concepção de uma planta industrial, possibilitando desenvolver processos compactos, seguros e eficientes em termos de energia e sustentabilidade. Estas premissas têm foco no conceito de Intensificação de Processos que consiste em desenvolver equipamentos e técnicas que, comparados com os equipamentos e técnicas já utilizados, permitam aprimoramento nas técnicas de produção e processamento, redução de tamanho dos equipamentos, redução e conexão de unidades de processos, aumento da produtividade, redução do consumo de energia e da geração de resíduos, obtendo assim uma tecnologia de menor custo e sustentável (STANKIEWICZ; MOULIJN, 2000, KOCKMANN, 2008).

A indústria de transformação, como a indústria química e a químico-farmacêutica, tradicionalmente utiliza grandes reatores batelada, entretanto, a síntese em fluxo tem tomado a atenção deste setor por conta dos conceitos de Intensificação de Processos. Por muito tempo o processo contínuo esteve ligado apenas ao setor petroquímico e de *commodities*, nas quais plantas dedicadas provaram ser mais economicamente viáveis, porém, recentemente, o uso da química em fluxo na preparação de produtos naturais e de fármacos vem sendo utilizado principalmente em laboratórios de pesquisa de universidades de todo o mundo por conta da maior eficiência, segurança e automatização na síntese de produtos de alto valor agregado (PORTA; BENAGLIA; PUGLISI, 2016, BRITTON; RASTON, 2017).

Os reatores em miniatura para utilização em escala laboratorial podem ser classificados em meso- e microrreatores, sendo que o primeiro tem dimensões entre 1 e 10 mm, e o último, com maior utilização em pesquisas acadêmicas, tem dimensões menores que 1 mm (WILES; WATTS, 2007).

Microrreatores são as unidades básicas de transformação química na síntese em fluxo e podem ser fabricados de diversos materiais que tenham características de resistência química e mecânica adequadas, como, por exemplo, vidro, cerâmica, polímeros, metais, etc.

(HAMIDOVIĆ; ENDER; SPRINGER, 2020). O exemplo de uma unidade básica de um microrreator, ou *microchip*, é apresentado na Figura 1.

Figura 1 - Exemplo de um microrreator de vidro, ou microchip, da marca Syrris, modelo Asia, de volume interno de 250 μL



Fonte: <https://syrris.com/modules/asia-microreactors/>

Em comparação com reatores batelada, a síntese em fluxo em microrreatores permite tempo de reação menor do que os usuais em reatores batelada. Os reatores batelada necessitam usualmente de 4 etapas no processamento de uma carga de um produto (carregamento, reação, descarregamento e limpeza), enquanto na síntese em fluxo em microrreatores, os reagentes são constantemente bombeados ao *microchip*, onde a reação química específica ocorre em um ambiente altamente controlado. Desta forma, as variáveis operacionais que podem ser ajustadas no processo em fluxo são a temperatura e o tempo médio de residência. (HAMIDOVIĆ; ENDER; SPRINGER, 2020).

O pequeno diâmetro dos canais dos microrreatores possibilita um melhor controle da temperatura e composição do meio reacional mais homogêneo, radialmente, do que em reatores batelada, além de ser possível trabalhar de forma segura em temperatura, pressão e concentração mais elevadas do que em reatores batelada (TONHAUSER *et al.*, 2012; STOUTEN *et al.*, 2013). Suas vantagens em relação aos reatores batelada são o excelente controle de transferência de calor, devido à alta relação superfície/volume, homogeneização mais eficiente, em razão das pequenas distâncias para difusão, aumento da velocidade das reações químicas, alta conversão, rendimento e seletividade, segurança ao se trabalhar com reagentes e produtos tóxicos, redução da geração de resíduos e aumento da pureza do produto. A desvantagem desta tecnologia está associada a reações que geram sólidos e podem obstruir os microcanais. Meios reacionais heterogêneos são comuns em síntese orgânica, e é usual

ocorrer a cristalização de sais inorgânicos e componentes insolúveis. Algumas técnicas que auxiliam na redução destes problemas se baseiam na troca do solvente, redução da concentração do meio reacional ou o aumento do diâmetro do microcanal do microrreator (TONHAUSER *et al.*, 2012; WILES; WATTS, 2012; XU *et al.*, 2015; PORTA; BENAGLIA; PUGLISI, 2016).

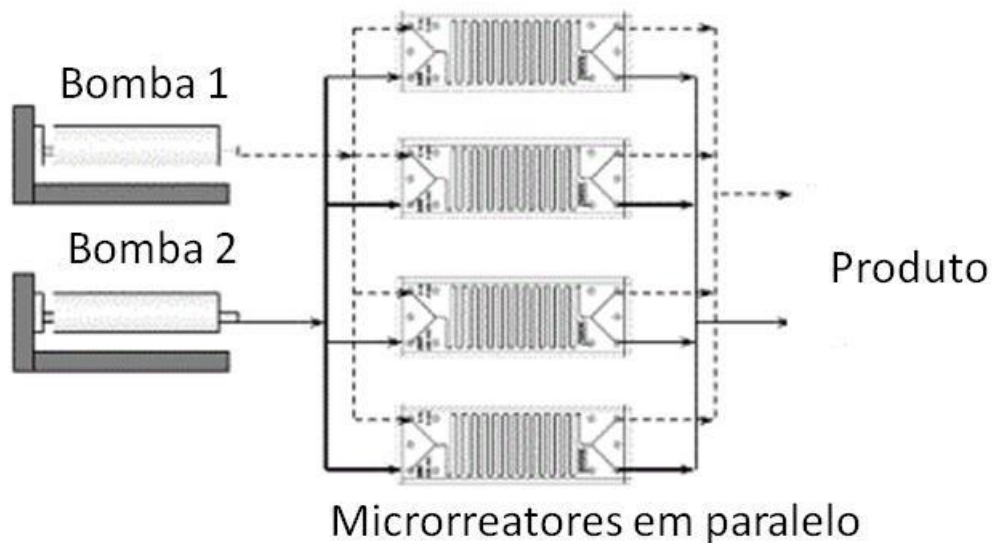
A TMR possibilita um menor consumo de energia, construção modular, compacta e flexível à demanda, qualidade do produto melhorada devido à possibilidade de análises em tempo real e alteração rápida das variáveis operacionais, podendo ser aplicada à pesquisa e desenvolvimento de produtos e aplicação industrial (WILES; WATTS, 2014; MANDITY *et al.*, 2015; BRITTON; RASTON, 2017). É possível conduzir reações com solventes voláteis à altas temperaturas (acima da temperatura normal de ebulição), mantendo-os líquidos com pressões maiores do que a atmosférica, o que facilita a sua remoção no final da reação, e solventes em condição supercrítica (STOUTEN *et al.*, 2013). Em geral, o controle da temperatura e da pressão são mais seguros quando comparados com reatores batelada, pois trabalha-se com volumes menores, resultando assim em um processo mais confiável e com alta reprodutibilidade (MACHADO *et al.*, 2014; PORTA; BENAGLIA; PUGLISI, 2016; ZHOU *et al.*, 2016). A facilidade na realização de ensaios também acelera a criação de bibliotecas de compostos químicos, pois os ensaios podem ser realizados com pequenas quantidades de reagentes, da ordem de mg/ensaio, e em pouco tempo, da ordem de minutos/ensaio (WILES; WATTS, 2010).

A segurança no trabalho é de suma importância. O microrreator é intrinsecamente seguro, pois o inventário de meio reacional é da ordem de mililitros, enquanto em reatores batelada pode ser de vários metros cúbicos. Os dados apresentados no Anuário Estatístico de Acidentes de Trabalho (AEAT) de 2017, divulgado pela Secretaria de Previdência do Ministério da Economia do Estado Brasileiro, o último anuário divulgado até o presente momento, mostra que dentro das atividades de indústria de transformação, a indústria farmacêutica tem menor incidência de acidentes de trabalho (1446 acidentes de trabalho em 2017) se comparados com outras atividades dentro desta categoria. Entretanto, a TMR não é só aplicável para a síntese de fármacos, como também para síntese de produtos químicos orgânicos e inorgânicos (5167 acidentes de trabalho em 2017) e combustíveis (5358 acidentes de trabalho em 2017) (MINISTÉRIO DA FAZENDA, 2017).

Constantemente é posto em dúvida que um equipamento em microescala possa atingir a mesma produção de um reator batelada industrial. Os pesquisadores da área reconhecem esta questão, pois, de fato a produção de um *microchip* é menor do que um reator batelada industrial. Em princípio, existem três estratégias para ampliar a escala de produção baseada na TMR: (1)

manter a solução de alimentação sendo bombeada para o *microchip* por longo período de tempo, chamado de *scaling-out*; (2) aumentar o volume do reator contínuo, conhecido como *scaling-up*; (3) e o arranjo de microrreatores em paralelo, chamado de *numbering-up*. Neste último, em vez de ajustar o processo de produção a cada novo aumento de escala, tornando o reator cada vez maior em relação ao seu volume, o processo em fluxo em microrreatores atinge altas taxas de produção através da replicação de sua unidade básica. Ou seja, após o processo ser otimizado em escala de laboratório, se dispõe *microchips* em paralelo na condição operacional otimizada de síntese do produto de interesse (MACHADO *et al.*, 2014; PORTA; BENAGLIA; PUGLISI, 2016; QIU *et al.*, 2019; HAMIDOVIĆ; ENDER; SPRINGER, 2020), conforme esquematizado na Figura 2. Desta forma, evita-se a etapa de aumento de escala (*scale-up*) de um reator batelada, uma das maiores dificuldades na transposição de uma síntese de escala laboratorial para escala industrial, por conta de ineficiência de troca térmica e agitação (KRTSCHIL *et al.*, 2009; TONHAUSER *et al.*, 2012).

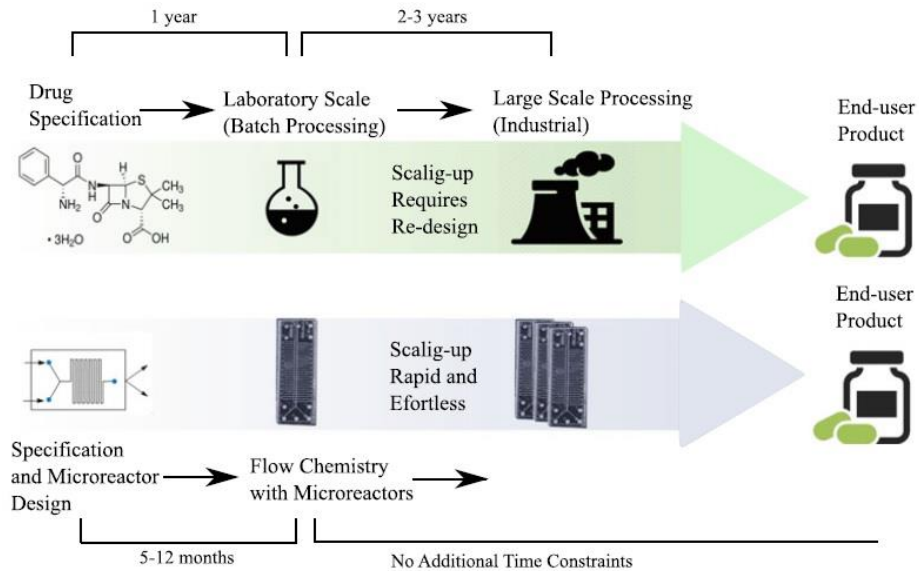
Figura 2 - Representação de um esquema de microrreatores em paralelo (*numbering-up*)



Fonte: Adaptado de Šalić; Tušek; Zelić, 2012

A indústria químico-farmacêutica, que produz produtos de alto valor agregado, pode se beneficiar com o arranjo de microrreatores em paralelo, pois o aumento de escala laboratorial para a escala industrial é um dos maiores gargalos na produção de fármacos. A partir das condições operacionais desenvolvidas em bancada de laboratório, é possível construir mini-plantas industriais com *microchips* em paralelo, atingindo assim taxas de produção em escala industrial, economizando tempo de estudo de aumento de escala, conforme esquema apresentado na Figura 3 (BRITTON; RASTON, 2017).

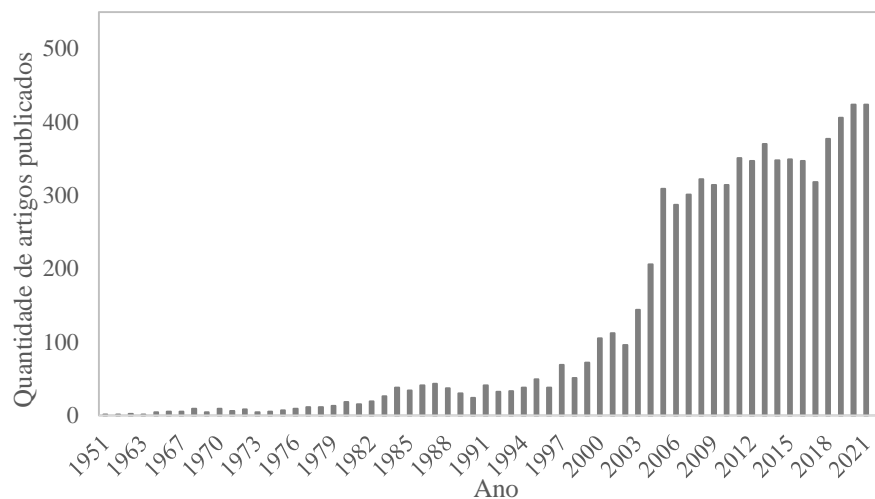
Figura 3 – Comparação esquemática do tempo de produção de um processo químico em batelada e em fluxo em microrreatores.



Fonte: Hamidović; Ender; Springer, 2020

O tema "microrreatores" vem sendo bastante estudado nos últimos 20 anos. A base de dados Scopus®, da Elsevier®, um dos maiores bancos de dados de resumos e citações da literatura científica, mostra que, segundo a Figura 4, abaixo, o primeiro artigo com a palavra "microreactor" foi publicado em 1951, e até 1999, 863 artigos foram publicados sobre o tema. Entretanto, entre os anos 2000 e 2022, 7068 artigos com o tema "microrreatores" está presente neste banco de dados, provando a relevância científica sobre o tema.

Figura 4 - Incidência de artigos com o tema "microrreatores" no banco de dados científicos Scopus® de 1951 a 2022.



Fonte: Scopus.com

A indústria químico-farmacêutica reconhece a relevância do tema e tem dado suporte para pesquisas científicas sobre síntese em fluxo contínuo. Schaber *et al.*, (2011), com o suporte da indústria farmacêutica Novartis, publicou um estudo da síntese do fármaco anti-hipertensivo Alisquireno. O processo completo de síntese foi realizado em fluxo, incluindo etapas intermediárias de purificação e formulação do fármaco. Adamo *et al.*, (2016), em colaboração com a empresa Norvatis, publicou um estudo de produção completa do cloridrato de difenidrimina (4500 doses/dia), cloridrato de lidocaína (810 doses/dia), cloridrato de fluoxetina (100 - 200 doses/dia) e diazepam (3000 doses/dia).

A aproximação da indústria farmacêutica à metodologia de Intensificação de Processos, a partir da miniaturização de equipamentos e conexão de processos de separação e purificação, fez com que a *Food and Drug Administration* (FDA), agência federal do departamento de saúde e serviços humanos dos EUA, sinalizasse pela facilitação da implementação de produção em fluxo pelas indústrias farmacêuticas, para melhorar a qualidade do produto e eliminar a escassez de fármacos e *recalls*. Por exemplo, em um processo em batelada, a quantidade de fármaco a ser produzida depende do tamanho do reator e de sua demanda, enquanto em um processo contínuo, a quantidade produzida, ou lote, pode ser definido por uma marcação de data/hora, quantidade de medicamento produzido ou a quantidade de reagente alimentado. Estes métodos de controle permitem que o produtor isole a quantidade mínima de produto que apresente não conformidade, reduzindo o desperdício e a escassez do fármaco (LEE, 2017).

A síntese em fluxo contínuo está deixando de ser um tema restrito a pesquisas acadêmicas e atingindo novos alvos. Em 2014 foi assinado o Horizon 2020, um acordo da União Europeia com fundos de 80 bilhões de Euros que está sendo destinados à pesquisa e inovação com o objetivo de produzir ciência de alta performance, remover barreiras de inovação, tornar mais simples o acordo entre setores públicos e privados para trabalharem juntos em inovações. Os temas Intensificação de Processos e produção em fluxo contínuo foram abordados nesse acordo (COMMISSION, 2015). A organização *Medicine 4 All*, criada em 2014 pelo Dr. Frank Gupton, da Boehringer Ingelheim's North American com o suporte de grandes universidades norte americanas, como a Universidade do Estado da Flórida e Massachusetts *Institute of Technology* (MIT) e da *Bill & Melinda Gates Foundation*, que tem o objetivo de usar os princípios da Intensificação de Processos, como integração de operações unitárias, produção em fluxo contínuo automatizada e redução de custos de operação, para produção de fármacos de alto valor agregado e distribuí-los em países com populações carentes. Para provar o conceito, Ziegler *et al.* (2018), com o apoio da *Medicine 4 All*, publicou os resultados da síntese

em fluxo em sete etapas para produção do fármaco Dolutegravir, utilizado no tratamento de HIV/AIDS.

Com todo este cenário descrito, fica claro que é necessário que a TMR seja melhor difundida no Brasil, que carece de informações sobre as vantagens da síntese em fluxo em microrreatores.

2.2 DIABETES MELLITUS

O diabetes *mellitus* é uma doença crônica causada pela falta de produção ou não absorção da insulina, hormônio regulador da glicose no sangue e que promove o fornecimento de energia para o organismo. Estima-se que no Brasil haja 13 milhões de pessoas que possuam a doença, o que representa 6,9% da população, enquanto no mundo, a Organização Mundial da Saúde estima que existam mais de 180 milhões de pessoas com a doença, com a estimativa de haver 366 milhões de casos até 2030 (DARWISH *et al.*, 2016; MINISTÉRIO DA SAUDE, 2019). A melhor forma de prevenir a doença é manter hábitos saudáveis, realizando atividades físicas regularmente, manter uma alimentação equilibrada, evitando o consumo de álcool e cigarro (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2019).

Existem vários tipos de diabetes, entretanto os mais comuns são o pré-diabetes, diabetes tipo 1 e diabetes tipo 2. O pré-diabetes ocorre normalmente em hipertensos, obesos e/ou pessoas com alterações nos lipídeos e é diagnosticada quando os níveis de glicose estão mais altos que o normal, mas não elevados o suficiente para ser diagnosticado com diabetes *mellitus* tipo 1 ou 2. Estima-se que 50% dos casos de pré-diabetes desenvolvam de fato a doença. O diabetes *mellitus* tipo 1 é uma doença hereditária, crônica e não transmissível que aparece com mais frequência em crianças e adolescentes. Não existe uma causa conhecida para o desenvolvimento do tipo 1 e, dependendo da gravidade, pode ser controlada com planejamento alimentar e atividades físicas, entretanto, se agravada, pode ser necessária a administração de insulina e/ou outros medicamentos no controle da glicose (MINISTÉRIO DA SAUDE, 2019).

Já o diabetes *mellitus* tipo 2 é uma doença metabólica principalmente causada pelo sobrepeso, disposição genética e estilo de vida e ocorre quando o corpo não produz insulina ou não a aproveita adequadamente. A doença pode ser identificada a partir dos sintomas hiperglicemia pós-prandial, hiperinsulinemia, redução na produção da glicose hepática e redução na captação da glicose (DEFRONZO, 2009; AKHTAR *et al.*, 2015).

Na maioria dos casos, o tipo 2 do diabetes *mellitus* participa de uma doença inter-relacionada conhecida como síndrome metabólica. Além dos sintomas típicos do diabetes *mellitus* tipo 2, a síndrome metabólica pode ser identificada pelos seguintes fatores: aumento da pressão sanguínea, aumento dos níveis de triglicérides e baixo nível de lipoproteínas de alta densidade (ALBERTI *et al.*, 2009).

Em linhas gerais, a combinação dos sintomas citados pode levar ao alto risco de doenças cardiovasculares, cegueira, falência renal e amputação de membros, se não tratada corretamente. Além disso, o diabetes *mellitus* tipo 2 e síndrome metabólica estão ligadas a doenças como artrite, declínio cognitivo, doença crônica nos rins, doenças psiquiátricas e aumento do risco de câncer. Consequentemente, um tratamento adequado do diabetes *mellitus* é um importante passo para o aumento da qualidade e expectativa de vida dos pacientes (HIDAYAT *et al.*, 2019).

Vários fármacos podem ser utilizados para o tratamento do diabetes, como biguanidas, sulfoniluréias, glinidas, inibidores de α -glicosidade, inibidores de DPP-4, sequestradores de ácidos biliares, agonistas de dopamina-2, receptores agonistas de GLP-1, miméticos de amilina, insulina e glitazonas (INZUCCHI *et al.*, 2012).

2.2.1 Glitazonas

A classe de fármacos glitazonas, também chamadas comumente de tiazolidinonas, devido ao seu núcleo farmacofórico tiazolidina-2,4-diona, é o único agente antidiabético que possui função predominante de sensibilizador de insulina nos tecidos periféricos e hepáticos, envolvendo-os e ativando o receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (PPAR γ), presentes nestes tecidos (ALAM *et al.*, 2019).

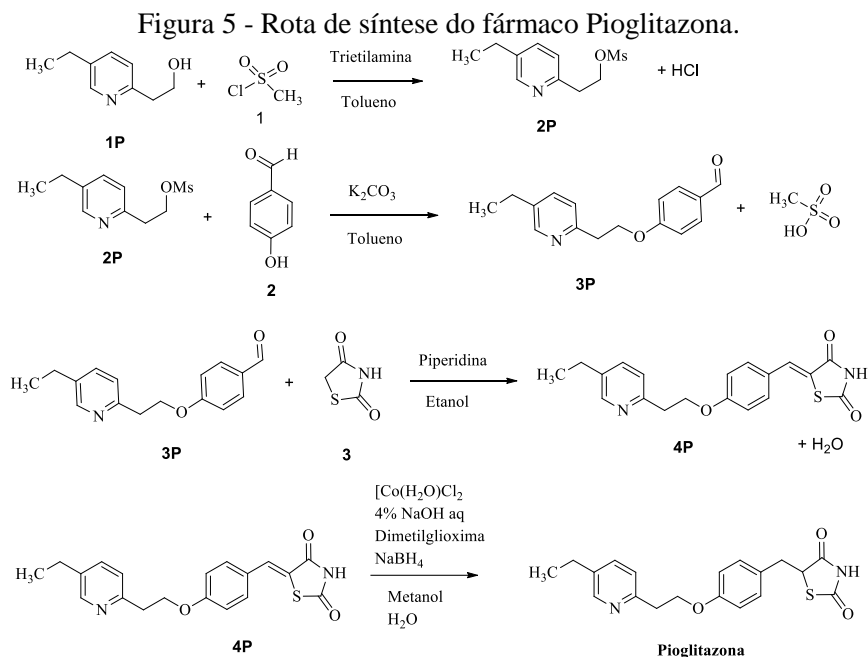
As pesquisas sobre o uso de glitazonas aplicados ao tratamento de diabetes *mellitus* tipo 2 iniciaram-se na década de 1990. A Ciglitazona, Englitazona, Darglitazona e KRP-297 foram os primeiros protótipos desta classe, porém não chegaram a ser comercializadas, sendo o seu desenvolvimento interrompido ainda em estudos clínicos. Entre 1997 a 1999 a Troglitazona (Rezulin[®]), Rosiglitazona (Avandia[®]) e Pioglitazona (Actos[®]) foram aprovados pelo FDA e comercializadas. Em 2000, após estudos indicando severa toxicidade hepática, a Troglitazona foi descontinuada e retirada do mercado, enquanto a Rosiglitazona teve seu uso questionado após surgirem estudos sugerindo que seu uso colocava em risco a segurança cardiovascular no paciente. Em 2010 o FDA restringiu seu uso e em 2013 revisou sua decisão após análise de

estudo de caso envolvendo 4447 pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2 onde não foi detectado nenhum aumento da incidência de infarto do miocárdio ou morte causada por doenças cardiovasculares devida à administração da Rosiglitazona, porém sua reputação foi afetada após sua retirada do mercado. A Pioglitazona e Lobeglitazona (Duvie[®]), sendo esta última comercializada apenas na Coreia do Sul, são as únicas disponíveis no mercado para o tratamento do diabetes *mellitus* tipo 2 (LUO *et al.*, 2010; MALIK; PRASAD, 2012; RANČIĆ *et al.*, 2013; ROY *et al.*, 2013; LEE *et al.*, 2017; ALAM *et al.*, 2019).

2.2.1.1 Pioglitazona

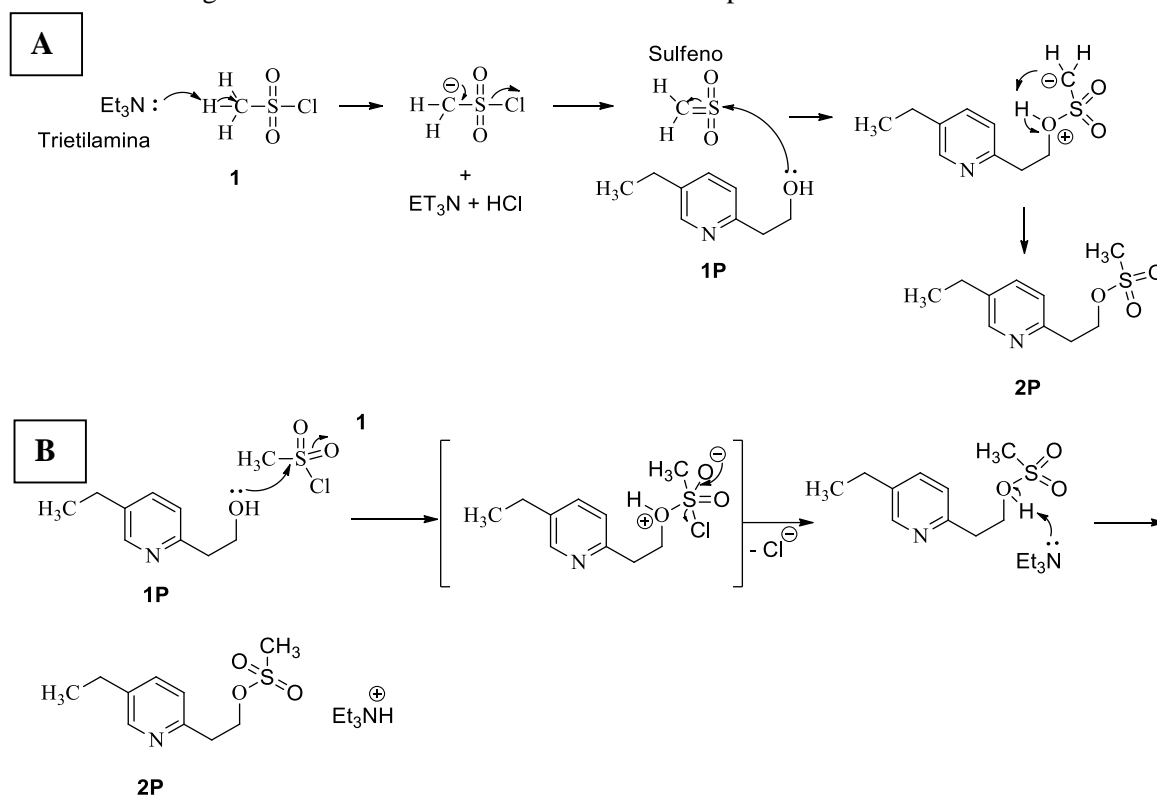
A Pioglitazona, fármaco da classe das glitazonas, é um agente hipoglicêmico de uso oral utilizado no tratamento do diabetes *mellitus* tipo 2 como monoterapia, ou em combinação com metformina, sulfonilureia e/ou insulina. Foi aprovado pelo *FDA* em 1999 e basicamente funciona controlando o nível de açúcar no sangue, ajudando o organismo a utilizar, de forma mais eficiente, a insulina produzida pelo organismo (FERWANA *et al.*, 2013; EMS S/A, 2015). No Brasil, o fármaco é vendido com o nomes comerciais Actos[®], Aglilit[®] e Piotaz[®], e o genérico cloridrato de pioglitazona, em comprimidos de 15, 30 e 45 mg (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Embora seu uso seja no tratamento do diabetes, existem estudos que indicam que o fármaco também possui efeitos anticancerígeno, antiartrítico, antimicrobiano, antifúngico, atividade anti-inflamatória, anticonvulsivante e antioxidante e existem pesquisas que mostram a melhora da memória quando administrado após evento de traumatismo craniano (KUMAR *et al.*, 2006; MCGUIRE *et al.*, 2019).

A rota de síntese do fármaco Pioglitazona foi patenteada por Anumula *et al.*, (2009) é apresentada na Figura 5.



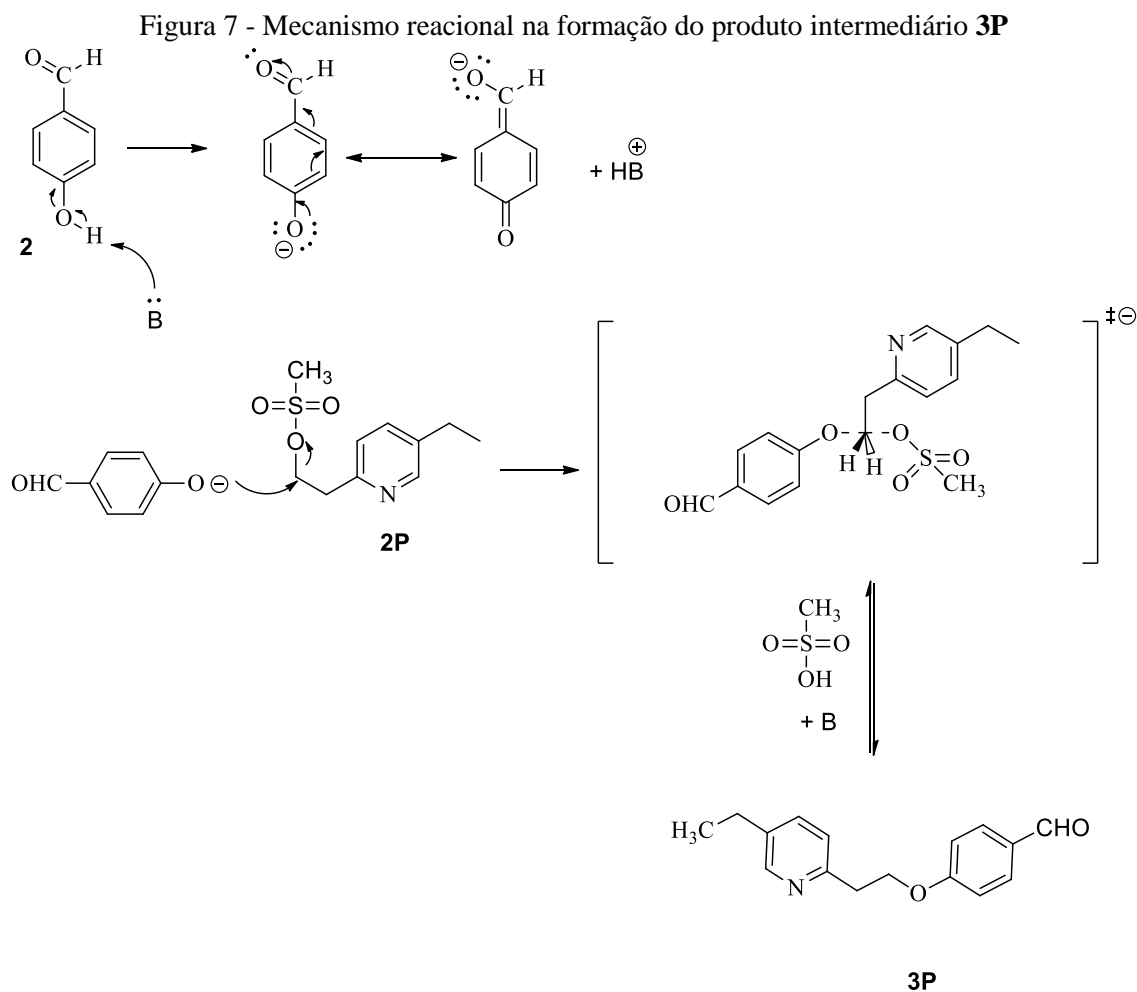
Fonte: adaptado de Anumula *et al.*, (2009)

Esta rota sintética é iniciada com o reagente 2-(5-etilpiridin)-2-il)etan-1-ol (**1P**). O grupo OH não é um bom grupo de saída e precisa ser preparado para tal ação. Para isso utiliza-se o cloreto de metanosulfonila (MsCl) (**1**) na presença de uma base (geralmente trietilamina) (CLAYDEN *et al.*, 2012). Encontra-se na literatura dois mecanismos distintos na conversão de álcool para um mesilato. O mecanismo desta reação proposto por Clayden *et al.*, (2012) ocorre a partir da eliminação do HCl do cloreto de metanosulfonila a partir da ação da base, gerando um sulfeno. O sulfeno é altamente eletrofílico no átomo de enxofre e reage com o grupo OH, formando o composto de interesse; entretanto Solomons; Fryhle (2009) descrevem o mecanismo com o ataque do átomo de oxigênio do reagente no enxofre do grupo MsCl, formando um grupo intermediário, que tem seu átomo de cloro extraído pela ação da base e leva à formação do produto de interesse e a estabilização do HCl pela base. Ambos os mecanismos são apresentados na Figura 6A e 6B.

Figura 6 - Mecanismo reacional da síntese do produto intermediário **2P**

Fonte: (A) adaptado de Clayden *et al.* (2012); (B) Adaptado de Solomons; Fryhle (2009)

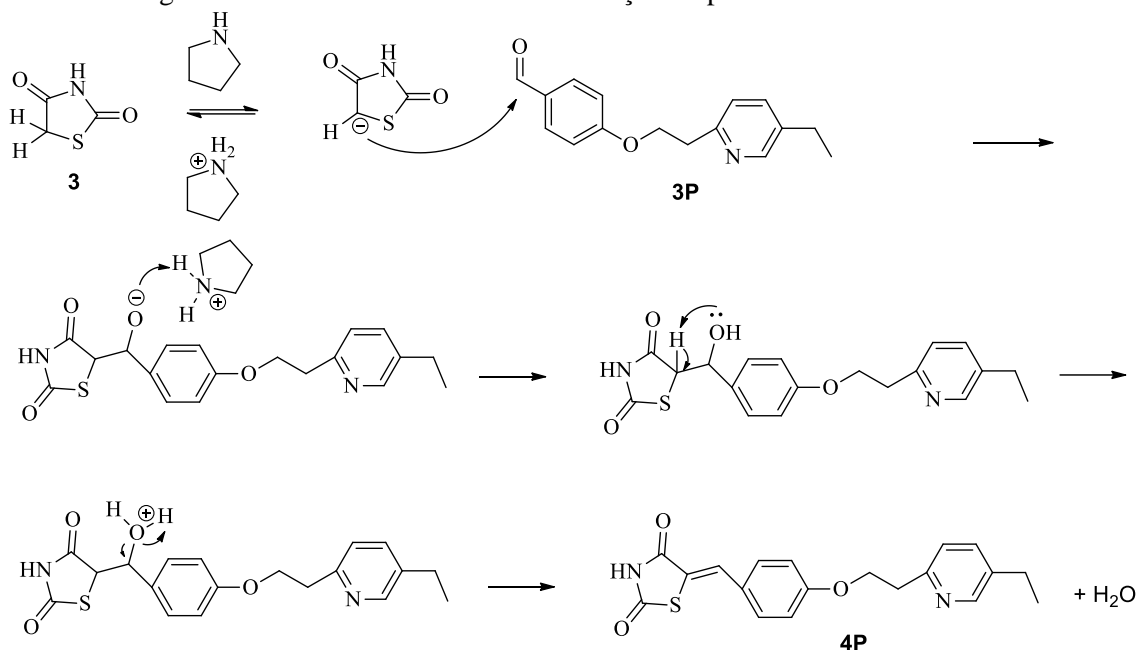
Após a formação do produto intermediário 2-(5-etilpiridin-2-il)etilmétanosulfonato (**2P**), o aldeído aromático 4-hidroxibenzaldeído (**2**), reage com **2P** através de uma substituição nucleofílica, $\text{S}_{\text{N}}2$, conforme mecanismo apresentado na Figura 7 (CLAYDEN *et al.*, 2012). O primeiro passo é a ação de uma base desprotonando o grupo OH presente no aldeído aromático, aumentando a nucleofilicidade do átomo de oxigênio. Em seguida ocorre a substituição nucleofílica de segunda ordem a partir do ataque do oxigênio com carga negativa no intermediário (**2P**), formando um estado de transição e finalizando com a saída do grupo "Ms" e formação do produto intermediário 4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzaldeído (**3P**).



Fonte: adaptado de Clayden *et al.* (2012)

O penúltimo passo é a condensação de *Knoevenagel* entre o aldeído aromático em (**3P**) e a molécula da tiazolidina-2,4-diona (TZD) (**3**). Não há um consenso sobre o mecanismo da condensação de *Knoevenagel* (LI *et al.*, 2015b). Sugere-se que a primeira etapa é a ativação do metileno da posição 5 do anel da TZD a partir da subtração do próton por ação da base (no caso pirrolidina), formando um carbânion enolato, conforme o mecanismo apresentado na Figura 8. Em seguida ocorre o ataque nucleofílico do carbânion ao aldeído, formando um aduto. O próton sequestrado pela base é retirado pelo oxigênio, formando um grupo OH e finalmente ocorre uma β -eliminação, eliminando uma molécula de água e formando o produto de interesse (*Z*)-5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (**4P**) (SILVA *et al.*, 2019).

Figura 8 - Mecanismo reacional na formação do produto intermediário **4P**.

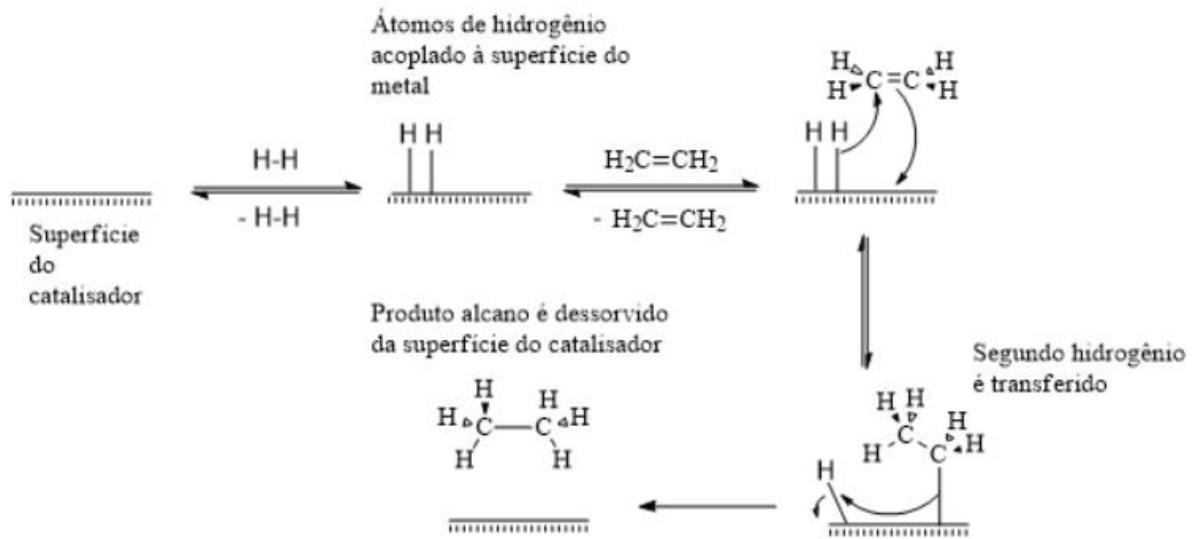


Fonte: adaptado de Silva *et al.* (2019)

O último passo, a hidrogenação da ligação dupla entre o anel da TZD e o anel aromático, é indicada pela rota patenteada por (ANUMULA *et al.*, 2009) conforme apresentado na Figura 5. Neste sistema proposto, a hidrogenação é conduzida com nitrato de cobalto (II) hexahidratado em solução aquosa de NaOH, com dimetilglioxima para estabilização do íon Co^{2+} por coordenação. O íon atua como catalisador da hidrogenação, transferindo hidrogênio gerado pelo NaBH_4 para o reagente **4P**, formando o fármaco Pioglitazona.

Outra maneira de realizar a hidrogenação da ligação dupla é através do catalisador paládio sobre carbono (Pd/C), que é o método mais relatado na literatura (SOLOMONS; FRYHLE, 2009; VOLLHARDT; SCHORE, 2009). A hidrogenação do alcenos formando alcanos não é possível mesmo em elevadas temperaturas, por exemplo, eteno e gás hidrogênio podem ser aquecidos a 200°C sem que nenhuma reação ocorra. Entretanto, ao utilizar um catalisador, a hidrogenação ocorre mesmo em temperatura ambiente. O catalisador utilizado é, normalmente, um material insolúvel, como o paládio, platina e níquel (VOLLHARDT; SCHORE, 2009). Neste sistema, o metal adsorve quimicamente o hidrogênio atômico em sua superfície, que reage com o alceno os entrega ao carbono, formando um alcano. O mecanismo desta hidrogenação catalítica é apresentado na Figura 9. Os solventes usados em hidrogenações incluem metanol, etanol, ácido acético, ácido fórmico e acetato de etila.

Figura 9 - Mecanismo de hidrogenação de eteno para produção de etano



Fonte: adaptado de (Vollhardt; Schore, (2009)

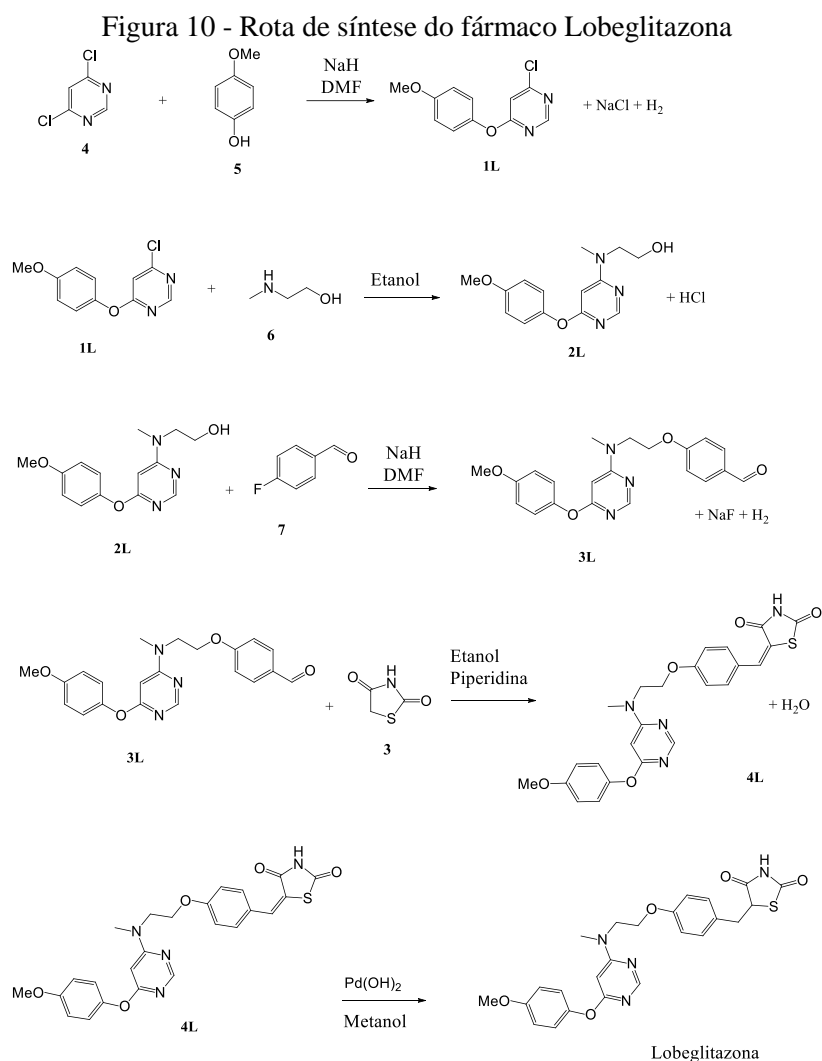
2.2.1.2 *Lobeglitazona*

A Lobeglitazona, comercializada com o nome de Duvie[®], entrou no mercado em 2013 sob patente da empresa *Chong Kun Dang Pharmaceutical Corp.* (Seoul, Coreia do Sul), e sua venda está restrita à Coreia do Sul, sob vigilância pós comercialização até o ano de 2019 (DRUGBANK, 2015; TRIALS, 2019).

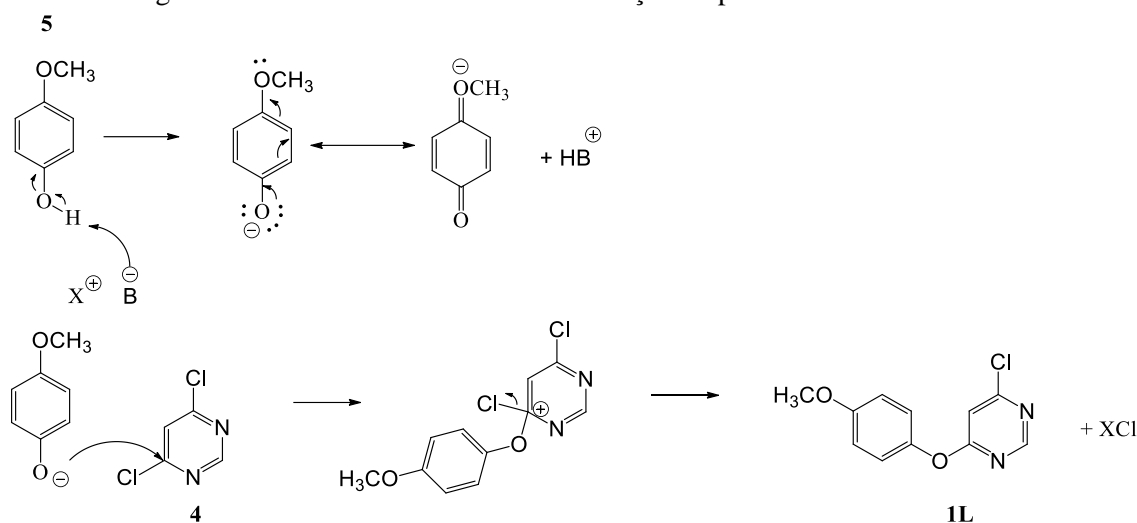
Foi primeiramente sintetizado por Kim *et al.* (2004), entre dezenas de candidatos a novas potenciais glitazonas. Na publicação foi constatado que o composto recém descoberto mostrou-se com maior potencial de atividade hipoglicêmica e hipolipidêmica que os fármacos que eram comercializados, Pioglitazona e Rosiglitazona (KIM *et al.*, 2004). Em 2007, sob nome de Lobeglitazona e durante sua fase I de estudos clínicos, foi realizado um estudo de aumento de escala, visando a produção industrial do fármaco que já apresentava boas respostas em relação a sua farmacocinética (LEE *et al.*, 2007). Em 2013, após os estudos clínicos de fase III, foi divulgado um estudo em pacientes diagnosticados com diabetes *mellitus* tipo 2, que concluiu que sua administração é eficiente e segura (questionamento que se apresenta para as glitazonas que estão no mercado) e servem de base para potencial função no tratamento do diabetes (KIM *et al.*, 2014; JIN *et al.*, 2015). Em 2018, estudos mostraram que a Lobeglitazona pode ser mais eficiente na inibição da resistência à insulina e melhorar a regulação termogênica, se comparado com Pioglitazona e Rosiglitazona (SOHN *et al.*, 2018). Portanto, nota-se que,

embora o fármaco esteja restrito a um país, é possível que o fármaco seja comercializado mundialmente, tendo em vista suas vantagens em relação às glitazonas que hoje estão no mercado.

A rota de síntese desenvolvida por Lee *et al.*, (2007) é apresentada na Figura 10.

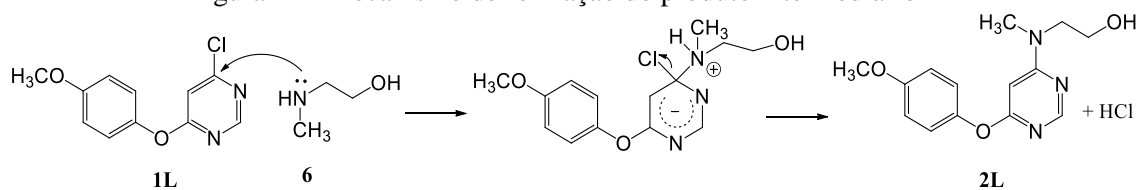


A primeira reação, formação do produto 4-cloro-6-(4-metoxifenoxi)pirimidina (**1L**) ocorre a partir de uma desprotonação do grupo OH presente no 4-metoxifenol (**5**) com uma base forte (no caso o NaH), formando um sal fenóxido, seguida por uma substituição nucleofílica aromática na posição do cloro, presente no reagente 4,6-dicloropirimidina (**4**), liberando o NaCl, que é um bom grupo de saída, formando o produto intermediário 4-cloro-6-(4-metoxifenoxi)pirimidina (**1L**), conforme mecanismo apresentado na Figura 11 (SOLOMONS; FRYHLE, 2009).

Figura 11 - Mecanismo reacional na formação do produto intermediário **1L**

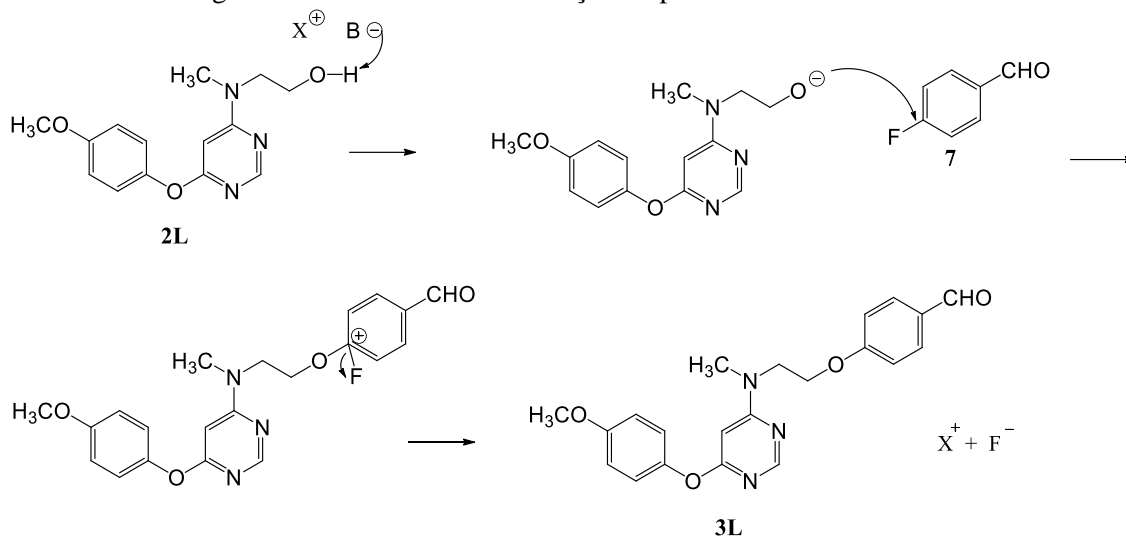
Fonte: Adaptado de Solomons; Fryhle, (2009)

A etapa seguinte, a adição do grupo 2-(metilamino)etanol (**6**), formando o produto 2-((6-(4-metoxifenoxi)pirimidin-4-il)(metilamino)etan-1-ol) (**2L**) ocorre a partir de uma substituição nucleofílica aromática. O mecanismo de adição-eliminação ocorre com a adição do grupo amino presente em **6**, forma-se o complexo de *Meisenheimer* que estabiliza o anel aromático, seguida pela eliminação do ânion Cl⁻, que subtrai o próton do grupo amino, formando HCl e o produto intermediário **2L**, conforme mecanismo apresentado na Figura 12 (SOLOMONS; FRYHLE, 2009).

Figura 12 - Mecanismo de formação do produto intermediário **2L**

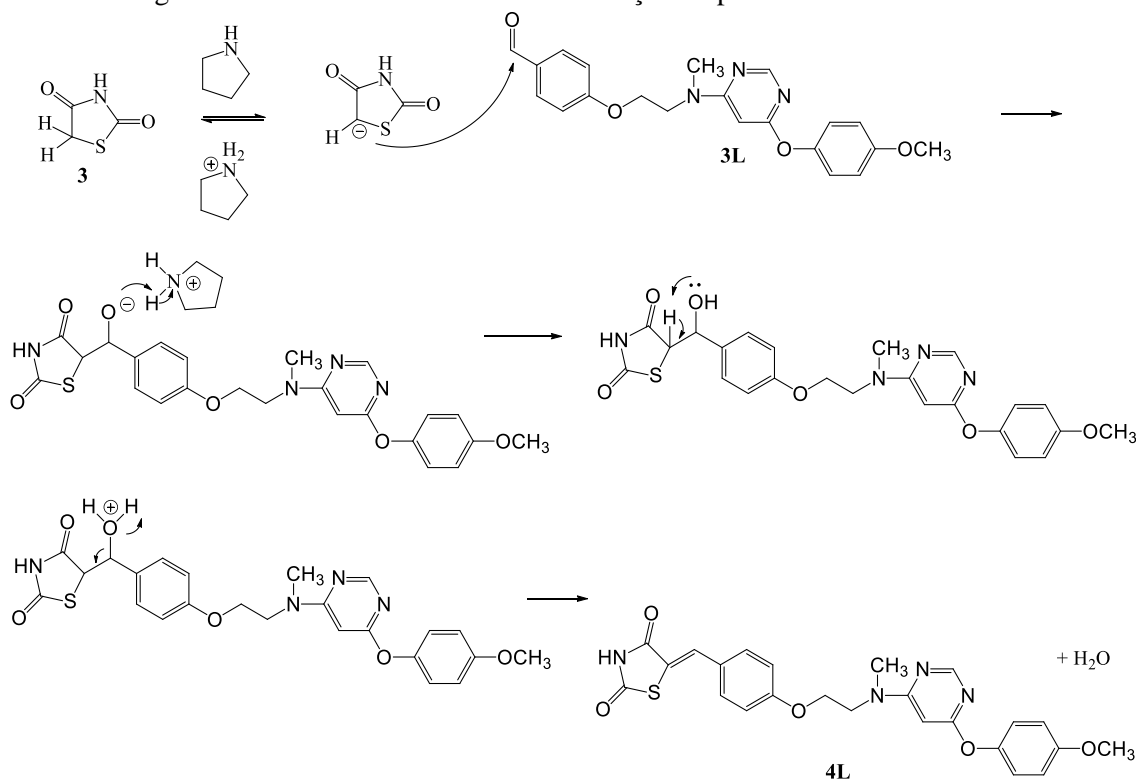
Fonte: Adaptado de Solomons; Fryhle, (2009)

A formação do terceiro produto intermediário (**3L**) ocorre conforme mecanismo descrito na formação do produto intermediário **1L**, o ataque de uma base forte, NaH, desprotona o grupo OH presente em **2L**, formando um sal, seguida por uma substituição nucleofílica aromática na posição do flúor, presente no 4-fluorbenzaldeído (**7**), formando NaF, que é um excelente grupo de saída, formando o produto 4-(2-((6-(4-metoxifenil)pirimidin-4-il)(metil)amino)etoxi)benzaldeído (**3L**), conforme mecanismo apresentado na Figura 13 (SOLOMONS; FRYHLE, 2009).

Figura 13 - Mecanismo de formação do produto intermediário **3L**

Fonte: Adaptado de Solomons; Fryhle, (2009)

O penúltimo passo é a condensação de Knoevenagel entre o aldeído aromático do produto intermediário **3L** e a molécula da TZD (**3**), formando o produto intermediário 5-[4-(2-[[6-(4-metoxifenoxi)pirimidin-4-il]metilamino]etoxi)benzilideno]tiazolidina-2,4-diona (**4L**) que também ocorre conforme mecanismo descrito na síntese do intermediário **4P** (Figura 8), descrito na seção 2.2.1.1. O mecanismo é apresentado na Figura 14.

Figura 14 - Mecanismo reacional na formação do produto intermediário **4L**

Fonte: adaptado de Silva *et al.*, (2019)

O último passo, a hidrogenação da ligação dupla entre o anel da TZD e o anel aromático, é indicada pela literatura (LEE *et al.*, 2007) conforme é apresentada na Figura 10. Neste sistema, a hidrogenação é conduzida de maneira semelhante ao que ocorre com paládio sobre carbono (Pd/C), o hidrogênio é adsorvido quimicamente à superfície do metal, que reage com o alceno. O mecanismo desta hidrogenação catalítica foi apresentado na Figura 9.

2.3 SÍNTESE *ONE-POT*

Ao longo do último século, pesquisadores da área química vêm buscando por metodologias que visam a economia em processos sintéticos, que inclui, por exemplo, (A) economia de átomos, redução da geração de resíduos e incentiva o uso de catalisadores; (B) e redução de etapas de uma rota sintética, por exemplo, eliminando reações de proteção de grupos; e (C) economia redox, que visa minimizar reações de oxirredução desnecessárias. A economia sintética proporciona um importante método de projeto e orientação de processo de uma rota sintética, e é fundamental para se atingir maior eficiência. Com o objetivo descrito, foi desenvolvido o conceito de síntese *one-pot* (ou síntese em um pote, por tradução livre), que é uma metodologia economicamente vantajosa de se realizar uma rota sintética, ou etapas desta rota, condensando etapas e operações unitárias (BURNS; BARAN; HOFFMANN, 2009; ZHAO; CHEN, 2013).

O uso da síntese *one-pot* foi ampliado nas últimas décadas, impulsionado pela preocupação com processos sustentáveis. Dentro do conceito *one-pot* estão reações sequenciais sendo elas, ou não, nas mesmas condições operacionais operacionais (temperatura, catalisador, meio reacional ácido ou alcalino, etc.) e redução das etapas de isolamento (ZHAO; CHEN, 2013).

2.4 HIDROXIPYRIDINONAS COMO AGENTES QUELANTES

Quelação é um termo bem conhecido que significa uma estrutura composta por um íon metálico ligado por um número definido de heteroátomo carregando um único par. Este tipo de ligação tem aplicações como, por ex., remover metais tóxicos do corpo ou ambiente e/ou tratamento químico da água. Agentes quelantes também participam no transporte de oxigênio pela hemoglobina e magnésio pela clorofila. O número de ligantes que o átomo central pode ligar é definido por sua denticidade (CLAYDEN *et al.*, 2012).

Nas últimas duas décadas muitas pesquisas foram realizadas no desenvolvimento de novos agentes quelantes e muitos avanços nesta área foram observados, trazendo o conhecimento de como agem como agentes terapêuticos (LIU; LIU; HIDER, 2002). Nesse cenário, há vários agentes quelantes que podem "sequestrar" um íon metálico. Um deles é o conhecido composto orgânico hidroxipiridinona (HOPO). Derivados de HOPO são agentes quelantes que se conectam com um metal, por ex., ferro (III), gálio (III), alumínio (III), zircônio (IV), etc. A título de exemplo, a deferiprona é um agente quelante presente no mercado e é utilizado no tratamento da talassemia (CILIBRIZZI et al., 2018).

Os HOPOs são muito interessantes no campo da química medicinal devido à sua capacidade como quelantes binato com alta afinidade por íons metálicos em estado de alta oxidação (CILIBRIZZI et al., 2018).

O tratamento mais frequente de doenças hematológicas hereditárias, como a β -talassemia maior, é a manutenção de níveis elevados de hemoglobina por meio de transfusões sanguíneas regulares. A transfusão repetida aumenta o nível de ferro no corpo devido à incapacidade dos humanos de excretar ferro pelos rins. O excesso de ferro está localizado principalmente no fígado e em outros órgãos altamente perfundidos, levando a danos nos tecidos, falência de órgãos e, eventualmente, morte. Complicações associadas a níveis elevados de ferro podem ser amplamente evitadas pelo uso de agentes quelantes específicos de ferro (LI et al., 2015a).

Os HOPOs são um dos principais candidatos para o desenvolvimento de quelantes de ferro. Até o momento, vários ligantes de HOPOs foram amplamente estudados para quelação de ferro, tanto em modelos animais com alta carga de ferro, quanto em pacientes talassêmicos. A maioria dos resultados mostrou que a excreção de ferro pode ser aumentada pelas vias urinária e biliar, e alguns compostos têm potencial como quelantes clinicamente úteis (LIU et al., 1999).

Portanto, é de alta importância a busca de novas moléculas de HOPOs para serem utilizadas como agentes quelantes.

2.5 QUÍMICA COMPUTACIONAL

A química quântica tem como sua principal função explicar e prever propriedades moleculares e esclarecer a característica de ligações químicas, analisadas usando métodos computacionais, baseadas nas leis de mecânica quântica (MORGON; CUSTÓDIO, 1995).

Considerando estes interesses, aplica-se a Teoria do Funcional de Densidade (ou *Density Functional Theory* - DFT, em inglês), a qual é utilizada para calcular estruturas moleculares, com base na densidade eletrônica em um sistema de muitos corpos. Neste sistema *Ab initio* (o cálculo da densidade eletrônica envolve a energia cinética do elétron, a atração entre núcleo e elétron, a força de repulsão entre elétrons e a troca de correlação eletrônica, que afeta os efeitos de rotação (ATKINS; PAULA, 2006). A grande vantagem desta técnica em relação aos métodos tradicionais, baseados em equações de Hatree-Fock-Roothaan, está no ganho em velocidade computacional e espaço em memória, ou seja, os cálculos de DFT podem ser realizados em computadores de baixo custo e software acessíveis (MORGON; CUSTÓDIO, 1995; TANAKA; MAEKAWA; SUZUKI, 2013).

Uma das funções da DFT é elucidar teoricamente mecanismos reacionais, determinando os estados de transição das etapas reacionais, além de parâmetros termodinâmicos e cinéticos, que podem ser comparados com os valores obtidos experimentalmente. Também está em seu âmbito especular valores espectroscópicos, como espectros de infravermelho (IV), Raman, Ultravioleta (UV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (MORGON; CUSTÓDIO, 1995; TANAKA; MAEKAWA; SUZUKI, 2013).

A elucidação teórica da DFT é geralmente calculada utilizando o software Gaussian[®]. Este software é aplicado para simular e analisar o comportamento molecular em um sistema de muitos corpos. A aplicação do software Gaussian[®] é extensa, podendo ser utilizada na área de química ambiental, ciência de materiais e no desenvolvimento de novos fármacos (LESZCZYNSKI, 2012).

3 OBJETIVO

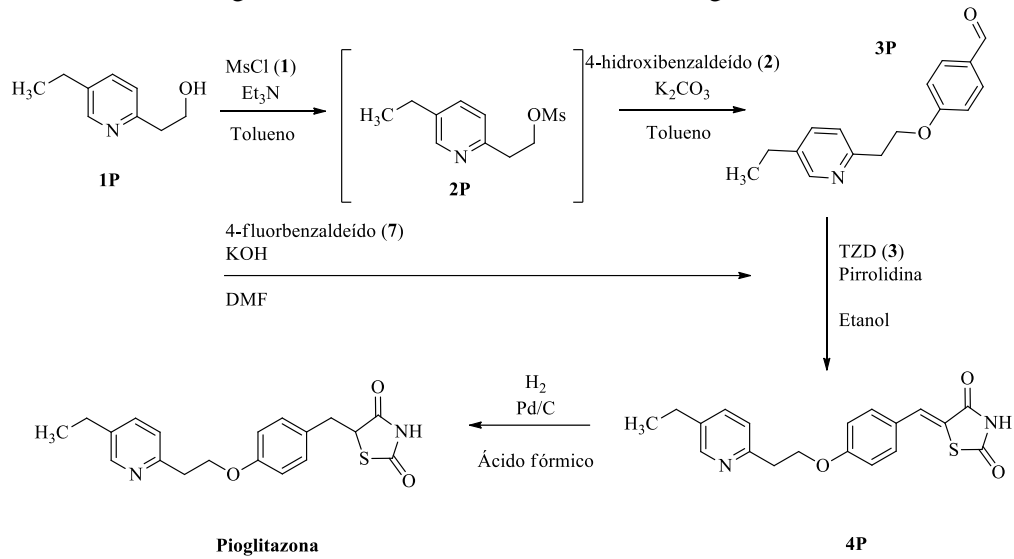
3.1 OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo principal a busca pela inédita transposição das sínteses dos fármacos Pioglitazona (Actos[®]) e Lobeglitazona (Duvie[®]) do processo batelada para o processo em fluxo em microrreatores capilares. As etapas em que a transposição não seria possível, o seu estudo ocorreu no processo batelada. A meta foi estudar individualmente cada uma das oito reações relatadas na literatura buscando demonstrar a eficiência e viabilidade da utilização da Tecnologia de Microrreatores em indústrias químico-farmacêuticas.

A rota de síntese do fármaco Pioglitazona (Figura 15) é uma adaptação da literatura (GOWDA; GOWDA, 2000; MADIVADA et al., 2009; SILVA; PALMA, 2021) e consiste em 4 etapas de reações até a formação da Pioglitazona, porém durante o seu estudo foi desenvolvida uma adaptação à rota conhecida, pois foi observada dificuldades na produção de uma solução inibidora que interrompesse a reação de formação do produto intermediário **3P** a partir do reagente **2P**. Nesta nova rota em questão realiza-se a síntese do produto intermediário **3P** sem que haja a formação do produto intermediário **2P**, sendo assim 3 etapas de síntese.

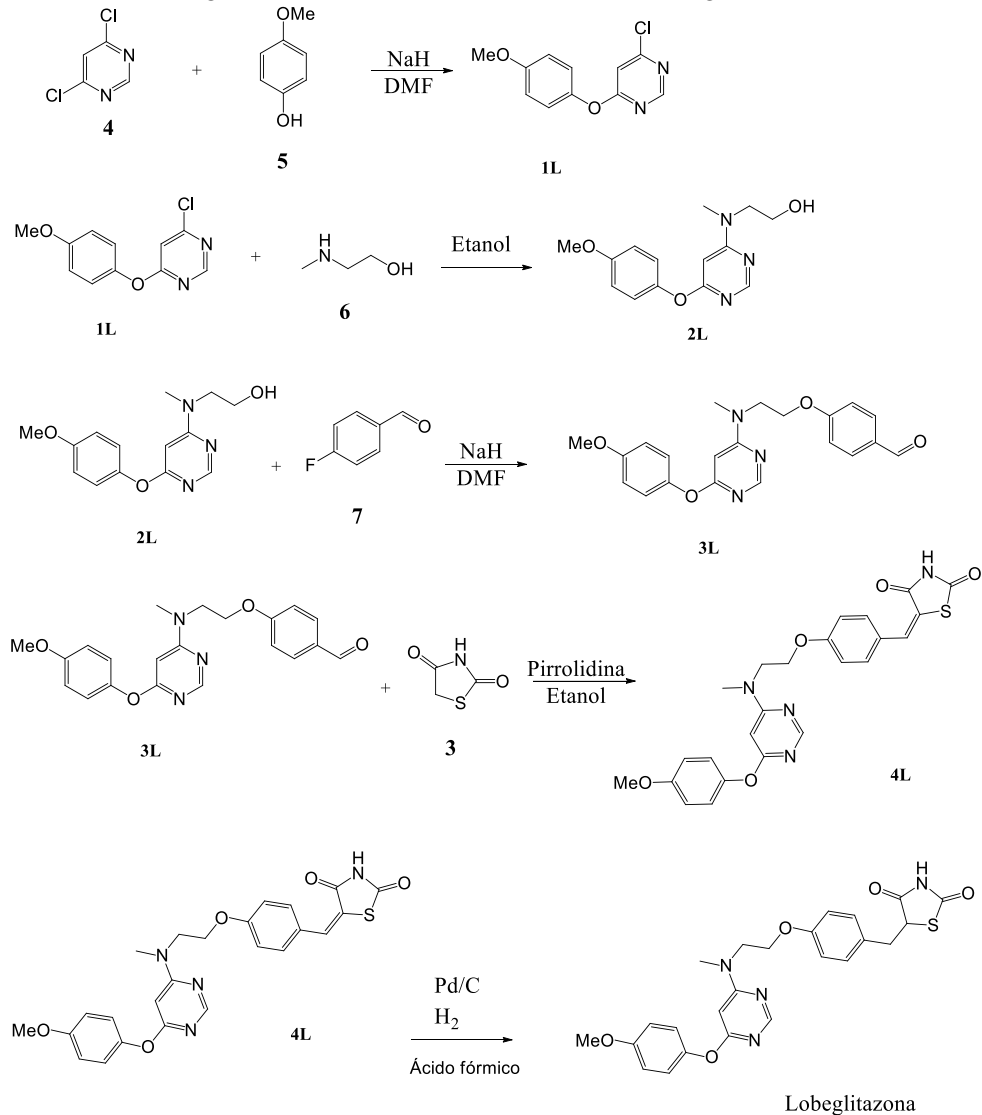
Já a rota de síntese do fármaco Lobeglitazona, também adaptada da literatura (GOWDA; GOWDA, 2000; LEE et al., 2007; SILVA et al., 2022), consiste em 5 etapas, conforme descrito na Figura 16. Cada reação apresentada foi estudada separadamente, buscando-se pelas melhores condições operacionais visando obter a maior conversão dos reagentes, velocidade da reação, rendimento e seletividade do produto, tanto no processo em batelada quanto em fluxo, quando aplicável.

Figura 15 - Rota de síntese do fármaco Pioglitazona



Fonte: adaptado de Gowda; Gowda (2000); Madivada *et al.*, (2009), Silva; Palma (2021).

Figura 16 - Rota de síntese do fármaco Lobeglitazona



Fonte: adaptado de Gowda; Gowda, (2000); Lee *et al.* (2007); Silva *et al.* (2022).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Buscou-se por metodologias que possibilitassem a síntese completa de ambos os fármacos em microrreatores envolvendo todas as reações em série. Adicionalmente, é sugerida e testada uma nova rota, esta inédita, de síntese do fármaco Pioglitazona, além de fazer uso de química computacional para propor os mecanismos reacionais das reações intermediárias e de formação dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona, localizando os estados de transição, conformações mais estáveis dos produtos e reagentes e, finalmente, comparar os valores cinéticos da reação e dos parâmetros termodinâmicos obtidos experimentalmente com os valores teóricos produzidos a partir de química computacional.

- Adequar a rota de síntese do produto proposto no processo em batelada para que não haja a presença de sólidos no meio reacional, o que impediria a transposição para o processo em fluxo em microrreatores;
- Determinar as melhores condições operacionais de cada etapa da reação em termos de temperatura, solvente, base promotora da reação, concentração da base promotora e concentração total dos reagentes no processo em batelada para se obter a maior conversão dos reagentes, velocidade da reação, rendimento e seletividade do produto;
- As melhores condições observadas no processo em batelada foram transpostas para o processo em fluxo no microrreator, onde cada etapa da reação foi estudada em termos de temperatura e tempo médio de residência (ou vazão), para se obter a maior conversão dos reagentes, velocidade da reação, rendimento e seletividade do produto;
- Buscar por metodologias que possibilitassem a síntese completa de ambos os fármacos em microrreatores em fluxo envolvendo todas as reações em série;
- Determinar, de forma inédita, a cinética e constante da taxa das reações (k), através do ajuste do modelo cinético de 2ª ordem, energia de ativação (E_a) através do modelo de Arrhenius, respectivamente, e parâmetros termodinâmicos (ΔH^\ddagger , ΔG^\ddagger e ΔS^\ddagger), do estado de transição, através do ajuste do modelo de Eyring;
- Analisar qualitativamente e quantitativamente os produtos intermediários de interesse, obtido em cada etapa da síntese de ambos os fármacos;
- Fazer uso da química computacional utilizando o software Gaussian 09[®] para propor os mecanismos reacionais das reações intermediárias e de formação dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona, localizando os estados de transição,

conformações mais estáveis dos produtos e reagentes e, finalmente, comparando os valores cinéticos da reação e dos parâmetros termodinâmicos obtidos experimentalmente (Apêndice 1).

4 JUSTIFICATIVA

Por conta de suas características em relação à Intensificação de Processos, a TMR vem sendo aplicada tanto na pesquisa acadêmica, quanto em indústrias de química fina, entretanto, poucos grupos de pesquisa no Brasil estudam esta tecnologia e não há nenhuma indústria no Brasil que se utilize da TMR em sua linha de manufatura. Desta forma, existe a necessidade de se ampliar o estudo e aplicações de microrreatores na área científica de modo que esta tecnologia possa ser transferida para a indústria químico-farmacêutica nacional. Além disto, a transposição das rotas de síntese da Pioglitazona e Lobeglitazona do processo batelada para o processo em fluxo contínuo em microrreatores permite atingir maior conversão dos reagentes, rendimento e seletividade dos produtos em menor tempo, visto que em microrreatores é possível trabalhar em condições extremas de temperatura e pressão de maneira segura. Adicionalmente, foi determinada de forma inédita a cinética das reações de cada etapa da síntese do fármaco.

Paralelamente aos estudos de transposição das reações intermediárias, houve o foco na utilização de solventes considerados “verdes”, pois os solventes representam de 80 a 90% da massa de material para a produção de um fármaco, 60% do custo total de energia e 50% do custo de pós-tratamento de emissão de gases do efeito estufa (DUNN, 2012; ALDER *et al.*, 2016; BYRNE *et al.*, 2016), portanto, a utilização de solventes considerados “verdes” (sustentável, recuperável, reutilizável, pouco tóxico) pela indústria químico-farmacêutica é de extrema importância.

A diabetes *mellitus* é uma doença epidêmica e a quinta mais importante causa de mortalidade mundial (KLAFKE *et al.*, 2015; MAJI; SAMANTA, 2017). O estudo de uma nova rota de síntese de um fármaco que combate uma patologia tão importante, aliada ao uso de solventes mais sustentáveis e renováveis e à TMR é um grande passo para provar a eficiência e viabilidade da utilização da TMR em indústrias químico-farmacêuticas.

A síntese completa de ambos os fármacos é uma continuação da pesquisa realizada para obtenção do grau de mestre pela Universidade de São Paulo (USP) realizado entre agosto/2015 a agosto/2017, onde a etapa da condensação entre a tiazolidina-2,4-diona e aldeídos aromáticos foi amplamente estudada.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Os equipamentos e aparelhagem utilizados neste projeto foram montados no “Laboratório de Tecnologia de Microrreatores – MRT-Lab”, localizado no Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP (FBT/FCF/USP).

5.1 MATERIAIS

5.1.1 Produtos químicos

As listas de produtos químicos utilizados durante o desenvolvimento da pesquisa são apresentadas nas Tabelas 1 e 2, referentes a produtos químicos utilizados na síntese da Pioglitazona e Lobeglitazona, respectivamente. Os reagentes foram adquiridos das empresas Merck KGaA (Darmstadt, Alemanha), Labsynth (Diadema, Brasil) e Oakwood Chemicals (Columbia, EUA), e foram utilizados sem prévia purificação. Vale ressaltar que a TZD foi previamente sintetizada a partir de um procedimento adaptado descrito na literatura (PINHEIRO et al., 2017).

Tabela 1 - Produtos químicos utilizados na síntese dos fármacos Pioglitazona

Pioglitazona		
Reagentes	Solventes	Reagentes para purificação
2-(5-etil-2-piridil)etanol (98%)	Tolueno (99,9%)	Água destilada
Trietilamina (99%)	Acetonitrila (99,32%)	Acetato de etila (99,5%)
Cloreto de metanosulfonila (98%)	Tetrahidrofurano (99,9%)	Hexano (98,5%)
<i>p</i> -hidroxibenzaldeído (98%)	Etanol (99,8%)	Hidróxido de sódio (97%)
Carbonato de potássio (99%)	Metanol (99,8%)	Bicarbonato de sódio (99%)
Pirrolidina (99%)	Ácido fórmico (88%)	Sulfato de sódio (99%)
Tiazolidina-2,4-diona (90%)		
Paládio sobre carbono (10%)		

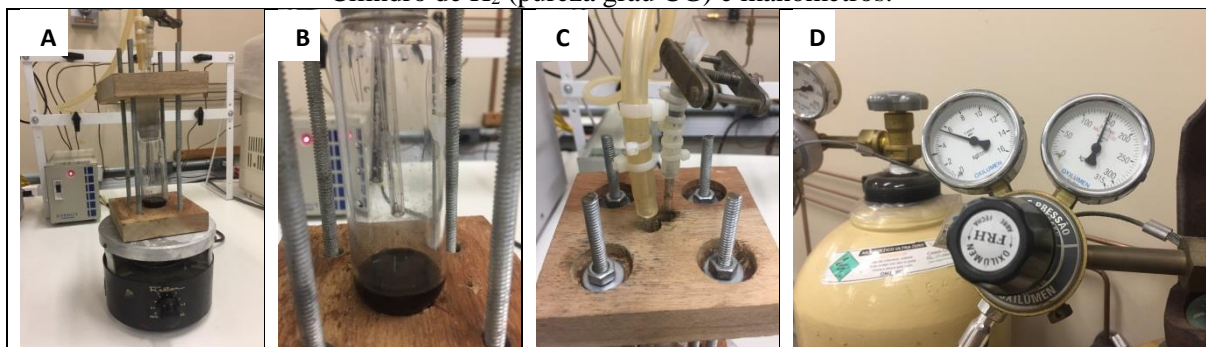
Tabela 2 - Produtos químicos utilizados na síntese do fármaco Lobeglitazona

Lobeglitazona		
Reagentes	Solventes	Reagentes para purificação
4-metoxifenol (98%)	DMF (99,8%)	Água destilada
4,6-dicloropirimidina (97%)	Acetonitrila (99,32%)	Acetato de etila (99,5%)
Hidreto de sódio (60%)	Metanol (99,8%)	Hexano (98,5%)
2-(metilamino)etanol (98%)	Etanol (99,8%)	Sulfato de sódio (99%)
4-fluorbenzaldeído (98%)	n-Propanol (99,5%)	
Tiazolidina-2,4-diona (99%)	Isopropanol (99,7%)	
Pirrolidina (99%)	n-Butanol (99,4%)	
Paládio sobre carbono (10%)	Tetrahidrofurano (99,9%)	
Hidróxido de potássio (85%)	Ácido fórmico (88%)	

5.1.2 Equipamentos e acessórios utilizados

Para a realização das reações no processo em batelada e posteriores purificações, foram utilizados equipamentos e vidrarias comuns de laboratório, tais como balões de vidro, mantas aquecedoras, variados tipos de condensadores, etc. Para realização da hidrogenação dos produtos intermediários **4P** e **4L** e consequente formação dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona, respectivamente, foi necessário construir um protótipo de um reator batelada pressurizado para hidrogenação, apresentado na Figura 17.

Figura 17 – Reator batelada pressurizado para hidrogenação. (A) Vista geral do reator com suporte, mangueiras de silicone, tubos pescadores e agitador magnético. (B) Detalhe do reator e tubos pescadores. (C) Detalhe superior dos tubos pescadores e mangueiras de alimentação e de purga. (D) Cilindro de H₂ (pureza grau CG) e manômetros.



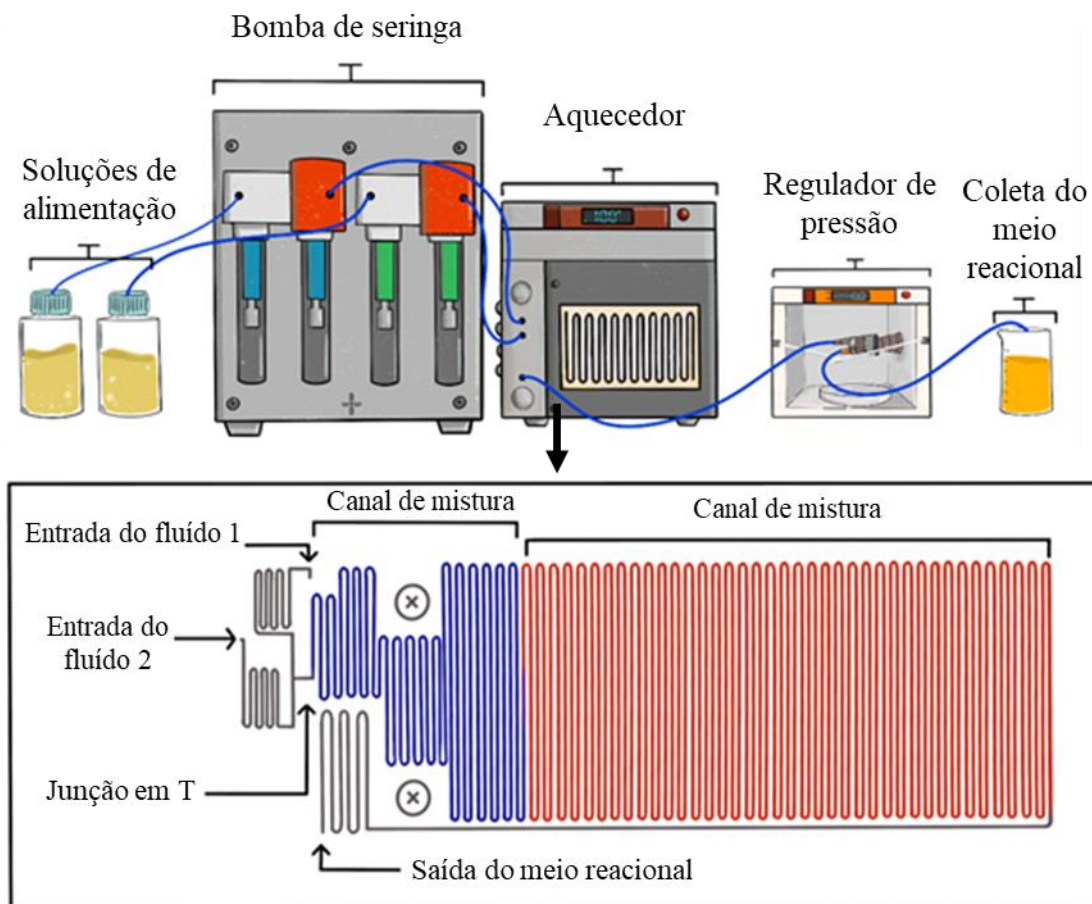
Fonte: arquivo pessoal

O reator de hidrogenação consiste de um tubo de vidro ($d_{\text{ext}} = 3,2$ cm, $e = 0,3$ cm, $h = 13$ cm) acoplado à 2 placas de madeira ($h = l = 10$ cm, $e = 2,2$ cm) com 4 furos ($d_i = 0,8$ cm)

usadas para pressionar o tubo de vidro (reator) e 2 furos ($d_i = 0,5$ cm) localizados na parte central da placa superior, onde passam 2 tubos pescadores de vidro ($d_{ext} = 0,47$ cm, $d_i = 0,28$ cm, $l = 15$ cm). O gás H_2 é inserido ao reator por um dos tubos e sua saída ocorre no segundo tubo. Uma rolha de silicone acoplada ao reator é transpassada pelos tubos pescadores, enquanto a placa superior de madeira pressiona o reator e a rolha por meio de 4 parafusos. O reator foi colocado sobre uma placa de agitação e a reação foi realizada em temperatura ambiente ($\pm 25^\circ C$). O tempo de hidrogenação foi de 1 dia e ao final da reação foi determinado qualitativamente a identidade do produto hidrogenado por análise em HPLC-MS.

Para a realização das reações em fluxo no microrreator capilar, o equipamento ora instalado foi adquirido com auxílio financeiro da Fapesp, com os projetos n° 2014/07757-2, intitulado “Microrreatores na Síntese de Fármacos”, com vigência no período 01/09/2014 a 28/02/2017, e n° 2017/12830-9 intitulado “Síntese da Pioglitazona, Rosiglitazona e Lobeglitazona em fluxo em microrreatores capilares”, com vigência no período 01/10/2017 a 31/03/2020. Destes projetos foram adquiridos 2 sistemas de bombas de seringa tipo pistão de 2 canais cada, totalizando 4 bombas, da marca Syrris, modelo Asia, onde cada canal possui duas seringas, uma de 1 mL e outra de 0,5 mL, que foram utilizados para o bombeamento contínuo das soluções de alimentação para um microrreator de vidro borossilicato com volume interno de 1000 μL de capacidade e pressão máxima de 20 bar e temperatura de $250^\circ C$, um aquecedor Asia Heater, da marca Syrris, modelo Asia, que permite trabalhar com temperaturas entre 40 a $250^\circ C$ e um regulador de pressão “*back pressure regulator*” (BPR), da empresa Syrris, modelo Asia, que permite a pressurização interna do sistema, sendo possível trabalhar com o fluido acima de sua temperatura de ebulição mantendo-o em estado líquido. O fluxograma do sistema a ser utilizado é apresentado na Figura 18.

Figura 18 – Fluxograma do sistema em fluxo no microrreator capilar



Fonte: Adaptado de Silva *et al.*, 2022

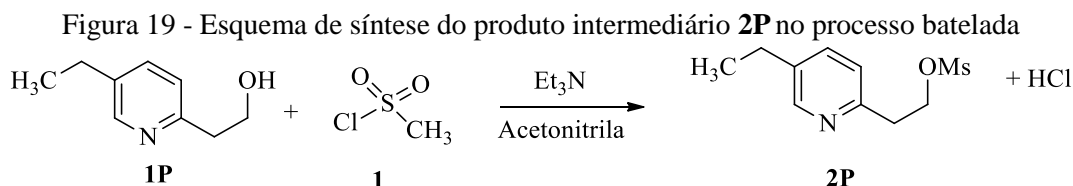
5.2 MÉTODOS

5.2.1 Procedimento para síntese e purificação dos produtos intermediários do fármaco Pioglitazona

A seguir serão apresentados os procedimentos utilizados para sintetizar todos os intermediários do fármaco Pioglitazona e seus respectivos métodos de purificação. Estes procedimentos foram realizados a partir da literatura (GOWDA; GOWDA, 2000; MADIVADA *et al.*, 2009). Para facilitar a leitura, os produtos intermediários de cada uma das reações serão denominados genericamente de “*nP*”, ou seja, o produto intermediário da primeira etapa de síntese do fármaco Pioglitazona será denominado **1P**, enquanto o produto intermediário da segunda etapa será denominado **2P**, e assim por diante. Embora o produto intermediário da primeira etapa (2-(5-etil-2-piridil)etanol), tenha sido comprado e, portanto, é um reagente

inicial, o mesmo será denominado **1P**, para facilitar a leitura. A relação das soluções inibidoras está descrita na seção 5.2.3.

5.2.1.1 Síntese do produto intermediário **2P** no processo batelada

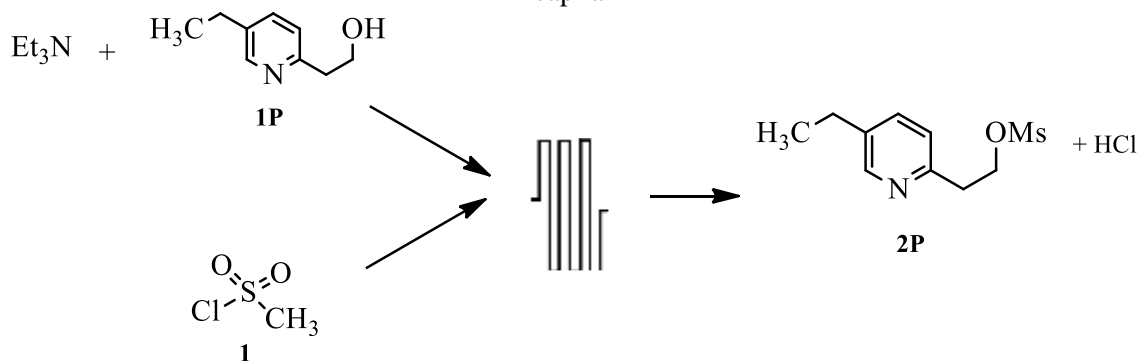


Fonte: Adaptado de Madivada, *et al.* (2009)

Conforme esquema apresentado na Figura 19, 2-(5-etilpiridina-2-il)etanol (**1P**) e trietilamina foram diluídos em acetonitrila (99,3%) nas concentrações de 0,1 e 0,112 M, respectivamente. Foram retirados 30 μL do meio reacional e diluído 1 mL de “Solução Inibidora A” para preparação da amostra padrão utilizada para gerar a curva de calibração. Em seguida cloreto de metanosulfonila (MsCl) (**1**) foi adicionado ao meio reacional na concentração de 0,125 M e manteve-se a reação por 1 h sob agitação constante em atmosfera de N_2 em temperatura ambiente ($\pm 25^\circ\text{C}$). Foram realizadas amostragens ao longo do tempo de reação e diluídas na “Solução Inibidora A” ao longo do tempo reacional para determinação da conversão do reagente **1P** e rendimento do produto **2P** por análise em HPLC-UV. Após o término da reação, foi realizada uma lavagem com 10 mL de solução de 4% de bicarbonato de sódio, extraído com acetato de etila (2 x 15 mL), lavado com solução aquosa de 50% de NaCl (2 x 20 mL) e seca com Na_2SO_4 . A fase orgânica foi evaporada a vácuo e o produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica (acetato de etila/hexano 2:1; $R_f = 0,47$).

5.2.1.2 Síntese do produto intermediário **2P** no processo em fluxo no microrreator capilar

Figura 20 - Esquema de síntese do produto intermediário **2P** no processo em fluxo no microrreator capilar

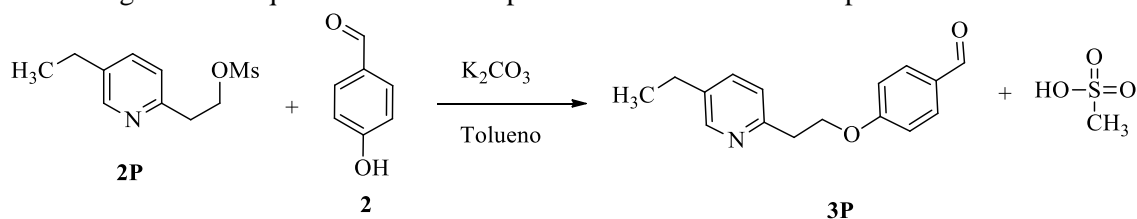


Fonte: Adaptado de Madivada, *et al.* (2009)

Conforme esquema apresentado na Figura 20, duas soluções foram preparadas, uma contendo **1P** e trietilamina em acetonitrila (99,3%) nas concentrações de 0,2 e 0,224 M, respectivamente, e outra contendo **1** em acetonitrila (99,3%) na concentração de 0,25 M. As duas soluções foram alimentadas separadamente ao microrreator, em temperatura ambiente, nas vazões adequadas, conforme o planejamento experimental descrito na seção 5.2.4. Foram estudados os tempos médios de residência 1, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 min. À saída do microrreator foram coletadas amostras e diluídas na “Solução Inibidora A” para posterior análise em HPLC-UV para determinação da conversão do reagente **1P** e rendimento do produto intermediário **2P**.

5.2.1.3 Síntese do produto intermediário **3P** no processo batelada

Figura 21 - Esquema de síntese do produto intermediário **3P** no processo batelada



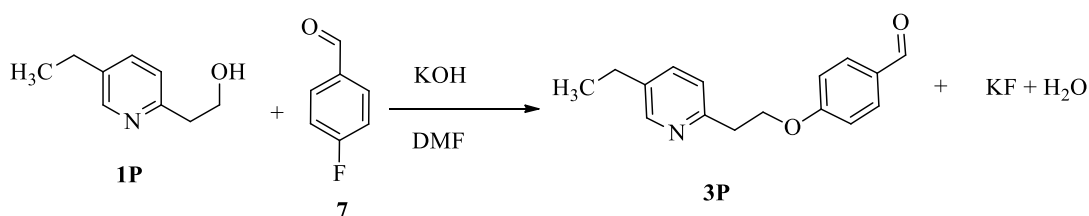
Fonte: Adaptado de Madivada, *et al.* (2009)

Conforme esquema apresentado na Figura 21, **2P** e 4-hidroxibenzaldeído (**2**) foram diluídos em tolueno (99,9%) nas concentrações de 0,1 M e 0,106 M, respectivamente, em temperatura ambiente. Em seguida foi adicionado ao meio reacional carbonato de potássio na

concentração de 0,174 M. A temperatura do meio reacional foi levada a 90°C e mantida sob agitação por 24h. Após o término da reação, a mistura reacional foi diminuída a 50°C e adicionou-se 20 mL de água destilada sob agitação. A solução bifásica formada foi separada, sendo a fase aquosa extraída com tolueno (2 x 10 mL) e a fase orgânica lavada com uma solução de 20 mL de NaOH 5%. Na fase orgânica contendo o intermediário **3P** foi adicionado o reagente e base da etapa seguinte de formação do produto **4P**.

5.2.1.4 Síntese do produto intermediário **3P** no processo batelada (método alternativo) e seu estudo de cinética

Figura 22 - Esquema de síntese do produto intermediário **3P** (método alternativo) no processo batelada



Fonte: Adaptado de Lee, *et al.* (2007), Silva; Palma (2021)

Conforme esquema apresentado na Figura 22, **1P** foi diluído em DMF (99,8%) na concentração de 0,2 M, em seguida foram retirados 30 µL do meio reacional e diluído em 1,5 mL de “Solução Inibidora B” para preparação da amostra padrão utilizada para gerar a curva de calibração. Adicionou-se KOH ao meio reacional na concentração de 0,4 M e manteve-se o meio reacional sob agitação constante por 20 min em temperatura ambiente. 4-fluorobenzaldeído (**7**) foi adicionado ao meio reacional na concentração de 0,2 M e manteve-se a reação sob agitação constante e atmosfera de N₂ por 3h em temperatura ambiente. Foram realizadas amostragens ao longo do tempo de reação e diluídas na “Solução Inibidora B” para se determinar a conversão do reagente **1P** e rendimento do produto **3P** em análise de HPLC-UV. Após o término da reação o meio reacional foi transferido para um funil de separação e foi colocado 10 mL de água gelada, seguido por extração com acetato de etila (2 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com salmoura (2 x 20 mL), e seca com Na₂SO₄, seguida por evaporação a vácuo. O produto foi purificado por cromatografia em coluna (hexano/acetato de etila 1:1; *R_f* = 0,51).

Para a realização do estudo de cinética, **1P** e **7** e foram diluídos em DMF (99,8%) em uma concentração equimolar de 0,2 M. Foram retirados 30 µL do meio reacional e diluído em

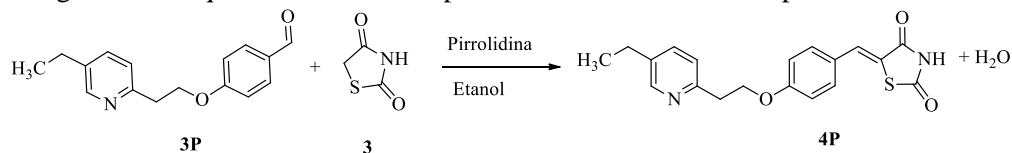
1,5 mL de “Solução Inibidora B” para preparação da amostra padrão utilizada para gerar a curva de calibração. KOH foi adicionado ao meio reacional na concentração de 0,2 M, o meio reacional foi mantido sob agitação constante e o estudo foi realizado nas temperaturas de 25, 30, 40, 50, e 60°C. Foram coletadas amostragens a cada 1 min e diluídas na “Solução Inibidora B” para se determinar a conversão dos reagentes **1P** e **7** em análise de HPLC-UV

5.2.1.5 *Estudo de bases e solventes reacionais para a síntese do produto intermediário 3P (método alternativo) no processo bateada*

Para selecionar a melhor base e o melhor solvente para a síntese do produto intermediário **3P**, foram separados 8 vials de volume 1,5 mL com uma barra magnética dentro de cada um. Adicionou-se aos *vials* o reagente **1P** na concentração de 0,2 M em um dos solventes em estudo e manteve-se o meio reacional sob agitação para solubilização total do reagente. Os solventes em estudo foram N,N-dimetilformamida (DMF) (99%), acetonitrila (ACN) (99,9%), etanol (99,8%), metanol (99,8%), dimetilsulfóxido (DMSO) (99%), tolueno (99%), 1,4-dioxano (99%), diclorometano (DCM) (99%) e tetrahidrofurano (THF) (99%). Em cada um dos vials foram adicionadas 8 diferentes bases na concentração de 0,2 M: NaOH, SrF₂, CsF, KF, NaF, K₂CO₃, NaH e KOH. Os vials foram mantidos sob agitação constante por 30 min e em temperatura ambiente para, em seguida, ser adicionado o reagente **7** na mesma concentração de 0,2 M. O meio reacional foi mantido sob agitação constante por 2 h em temperatura ambiente. Após o término da reação interrompeu-se a agitação do meio reacional para verificação visual da formação de sólido no meio reacional, seguida pela coleta de uma amostra que foi diluída na “Solução Inibidora B” para posterior análise em HPLC-UV para se determinar as conversões dos reagentes **1P** e **7**, e o rendimento do produto intermediário **3P** por análise em HPLC-UV. Repetiu-se este procedimento para estudar todos os solventes citados anteriormente.

5.2.1.6 Síntese do produto intermediário **4P** no processo batelada

Figura 23 - Esquema de síntese do produto intermediário **4P** no processo batelada

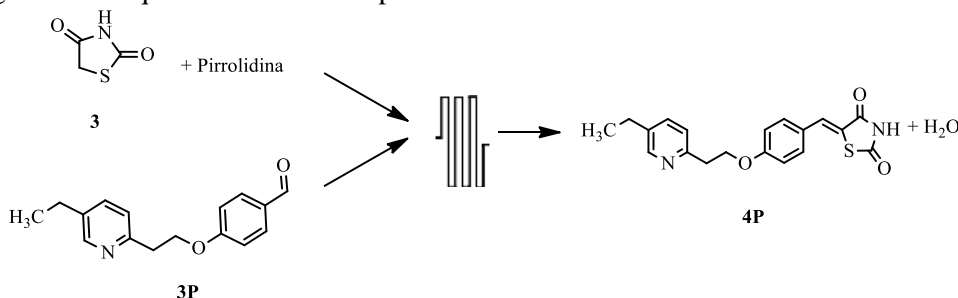


Fonte: Adaptado de Madivada, *et al.* (2009), Silva; Palma (2021).

Conforme esquema apresentado na Figura 23, **3P** e tiazolidina-2,4-diona (**3**) foram diluídos em etanol (99,8%) em uma concentração equimolar de 0,03 M. Foram retirados 30 μ L do meio reacional e diluído em 1,5 mL de “Solução Inibidora C” para preparação da amostra padrão utilizada para gerar a curva de calibração. O meio reacional foi levado a ebulição, seguida pela adição de pirrolidina na concentração de 0,022 M e manteve-se sob agitação constante por 3 h. Foram realizadas amostragens ao longo do tempo de reação e diluídas na “Solução Inibidora C” para se determinar a conversão do reagente **3P** e rendimento do produto **4P** em análise de HPLC-UV. Após o término da reação, o meio reacional foi levado à temperatura ambiente e adicionado 10 mL de água destilada para precipitação do produto bruto, coletado por filtração a vácuo, seguida por recristalização em etanol.

5.2.1.7 Síntese do produto intermediário **4P** no processo em fluxo no microrreator capilar e estudo de cinética

Figura 24 - Esquema de síntese do produto intermediário **4P** em fluxo no microrreator capilar

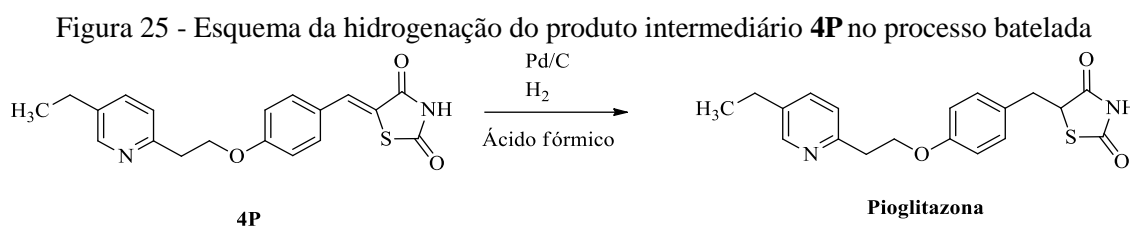


Fonte: Adaptado de Madivada, *et al.* (2009), Silva; Palma (2021).

Conforme esquema apresentado na Figura 24, duas soluções foram preparadas, uma contendo **1P** em etanol (99,8%) na concentração de 0,06 M, e outra contendo tiazolidina-2,4-diona (**3**) e pirrolidina em etanol (99,8%) nas concentrações de 0,06 e 0,048 M, respectivamente. As duas soluções foram alimentadas separadamente ao microrreator nas

vazões adequadas, conforme o planejamento experimental descrito na seção 5.2.4. Foram estudados os tempos médios de residência 1, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 min e as temperaturas 65, 78, 100, 120, 140 e 160°C. À saída do microrreator foram coletadas amostras e diluídas na “Solução Inibidora C” para posterior análise em HPLC-UV para determinação da conversão do reagente **3P** e rendimento do produto intermediário **4P**.

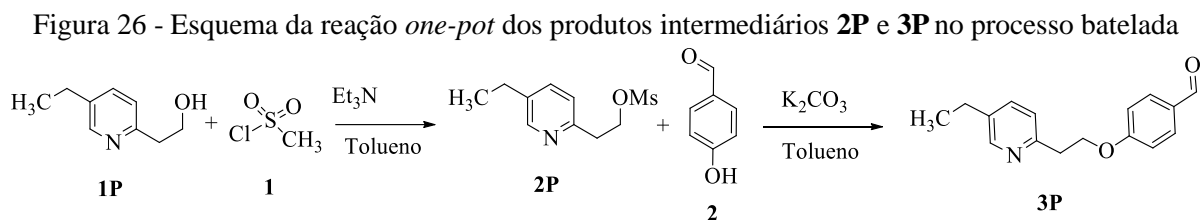
5.2.1.8 Hidrogenação do produto intermediário **4P**



Fonte: Adaptado de Gowda; Gowda (2000), Silva; Palma (2021).

Conforme esquema apresentado na Figura 25, diluiu-se no reator batelada mostrado na Figura 17 **4P** em ácido fórmico (88%) na concentração de 0,054 M e paládio sobre carbono (Pd/C) (5% em massa). O meio reacional foi purgado com hidrogênio para garantir que a atmosfera interna do reator fosse de H₂ e mantido sob temperatura ambiente, agitação constante por 24 h sob atmosfera de hidrogênio (aproximadamente 5 atm). Ao final da reação, o meio reacional foi filtrado a vácuo para retirada do Pd/C e a fase líquida foi evaporada a vácuo para obtenção do produto Pioglitazona, identificado por análise de HPLC-MS.

5.2.1.9 Síntese *one-pot* dos produtos intermediários **2P** e **3P** no processo batelada



Fonte: Adaptado de Madivada, *et al.* (2009)

Conforme esquema apresentado na Figura 26, **1P** e trietilamina foram diluídos em tolueno (99,9%) nas concentrações de 0,1 e 0,112 M, respectivamente. Em seguida, **1** foi adicionado ao meio reacional na concentração de 0,125 M e manteve-se a reação por 1 h sob

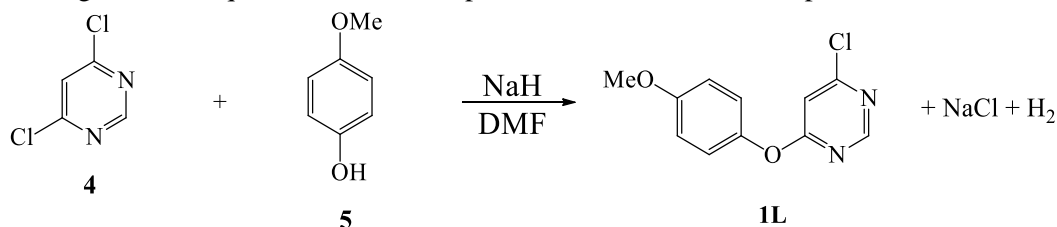
agitação constante em atmosfera de N₂ e em temperatura ambiente. Após o período descrito, **2** e carbonato de potássio foram adicionados ao meio reacional nas concentrações de 0,106 e 0,174 M, respectivamente. O meio reacional foi levado a temperatura de 90°C, sob agitação constante por 24h. Após o término da reação, o meio reacional foi levado a 50°C e adicionou-se 20 mL de água destilada sob agitação. A solução bifásica formada foi separada, sendo a fase aquosa extraída com tolueno e a fase orgânica lavada com uma solução de NaOH 5%. A fase orgânica foi evaporada a vácuo e o produto bruto foi purificado em coluna cromatográfica (acetato de etila/hexano 1:1; *R_f* = 0,47).

5.2.2 Procedimento para síntese e purificação dos produtos intermediários do fármaco Lobeglitzona

A seguir serão apresentados os procedimentos utilizados para sintetizar todos os intermediários do fármaco Lobeglitzona e seus respectivos métodos de purificação. Estes procedimentos foram realizados a partir da literatura (LEE *et al.*, 2007). Para facilitar a leitura, os produtos de cada uma das reações serão chamados de “*nL*”, ou seja, o produto intermediário da primeira etapa de síntese do fármaco Lobeglitzona será denominado **1L**, enquanto o produto intermediário da segunda etapa será denominado **2L** e assim consecutivamente. A relação das soluções inibidoras está descrita na seção 5.2.3.

5.2.2.1 Síntese do produto intermediário **1L** no processo batelada e seu estudo de cinética

Figura 27 - Esquema de síntese do produto intermediário **1L** no processo batelada



Fonte: Adaptado de Lee, *et al.* (2007) e Silva, *et al.* (2022).

Conforme esquema apresentado na Figura 27, 4,6-dicloropirimidina (**4**) e 4-metoxifenol (**5**) foram diluídos em acetonitrila (99,8%) em uma concentração equimolar de 0,223 M. Foram retirados 30 µL do meio reacional e diluído em 1,5 mL de “Solução Inibidora D” para preparação da amostra padrão utilizada para gerar a curva de calibração. NaH foi adicionado

ao meio reacional na concentração de 0,466 M em quatro porções iguais durante de 1 min e manteve-se a reação sob agitação constante, sob atmosfera de N₂ e temperatura ambiente. Foram realizadas amostragens ao longo do tempo da reação para se determinar a conversão do reagente **4** e rendimento do produto intermediário 4-cloro-6-(4-metóxi-fenoxi)pirimidina (**1L**) por análise em HPLC-UV. Após o término da reação a mistura reacional foi derramada em 30 mL de água gelada e extraída com acetato de etila (2 x 30 mL). A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de 50% de NaCl (2 x 20 mL) e seca com Na₂SO₄, seguida por evaporação a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (hexano/acetato de etila 5:1; *R_f* = 0,48).

Para a realização do estudo de cinética, **4** e **5** foram diluídos em metanol (99,8%) em uma concentração equimolar de 0,08 M. Foram retirados 30 µL do meio reacional e diluído em 1,5 mL de “Solução Inibidora D” para preparação da amostra padrão utilizada para gerar a curva de calibração. KOH foi adicionado ao meio reacional na concentração de 0,08 M e o meio reacional foi mantido sob agitação constante e o estudo foi realizado nas temperaturas de 30, 40, 50, e 60°C. Foram coletadas amostras a cada 1 min e diluídas na “Solução Inibidora D” para se determinar a conversão dos reagentes **4** e **5** em análise de HPLC-UV.

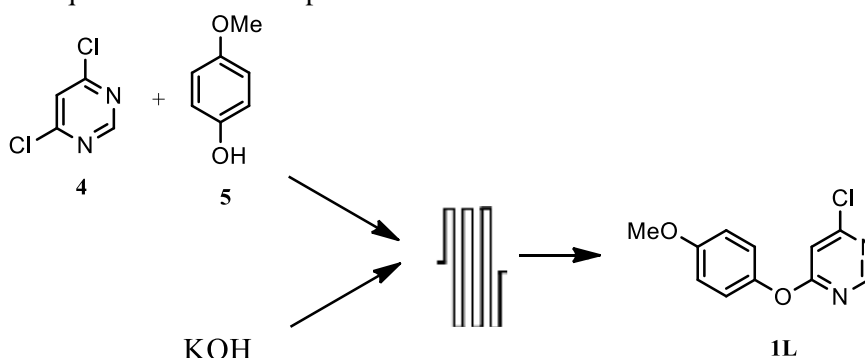
5.2.2.2 *Estudo de bases e solventes reacionais para a síntese do produto intermediário 1L no processo bateada*

Para selecionar a melhor base e o melhor solvente para a síntese do produto intermediário **1L**, foram separados 8 *vials* de volume 1,5 mL com uma barra magnética dentro de cada um. Adicionou-se aos *vials* o reagente **5** na concentração de 0,146 M em um dos solventes em estudo e manteve-se o meio reacional sob agitação para solubilização total do reagente. Os solventes em estudo foram N,N-dimetilformamida (DMF) (99%), acetonitrila (ACN) (99,9%), etanol (99,8%), metanol (99,8%), dimetilsulfóxido (DMSO) (99%), tolueno (99%), 1,4-dioxano (99%), diclorometano (DCM) (99%) e tetrahydrofurano (THF) (99%). Em cada um dos *vials* foram adicionadas 8 diferentes bases na concentração de 0,146 M: NaOH, SrF₂, CsF, KF, NaF, K₂CO₃, NaH e KOH. Os *vials* foram mantidos sob agitação constante por 30 min e em temperatura ambiente para, em seguida, ser adicionado o reagente **4** na mesma concentração de 0,146 M. O meio reacional foi mantido sob agitação constante por 10 min em temperatura ambiente. Após o término da reação interrompeu-se a agitação do meio reacional para verificação visual da formação de sólido no meio reacional, seguida pela coleta de uma

amostra que foi diluída na “Solução Inibidora D” para posterior análise em HPLC-UV para se determinar a conversão do reagente **4** e o rendimento do produto intermediário **1L** por análise em HPLC-UV. Repetiu-se este procedimento para estudar todos os solventes citados anteriormente.

5.2.2.3 Síntese do produto intermediário **1L** em fluxo no microrreator capilar

Figura 28 - Esquema de síntese do produto intermediário **1L** em fluxo no microrreator capilar

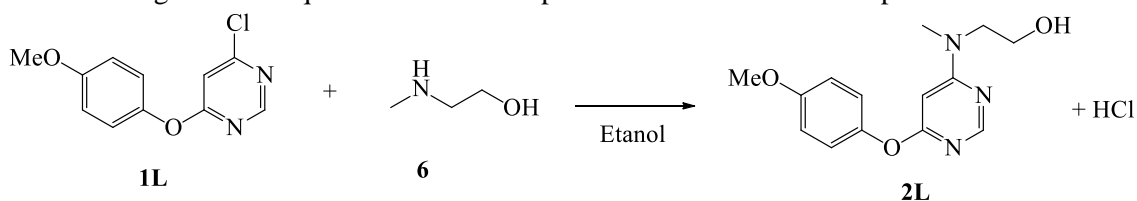


Fonte: Adaptado de Lee, *et al.* (2007) e Silva, *et al.* (2022).

Conforme esquema apresentado na Figura 28, duas soluções foram preparadas, uma contendo **4** e **5** em metanol (99,8%) em uma concentração equimolar de 0,16 M, e outra contendo KOH em metanol (99,8%) na concentração de 0,16 M. As duas soluções foram alimentadas separadamente ao microrreator, em temperatura ambiente, nas vazões adequadas, conforme o planejamento experimental descrito na seção 5.2.4. Foram estudados os tempos médios de residência 1, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 min. À saída do microrreator foram coletadas amostras e diluídas na “Solução Inibidora D” para posterior análise em HPLC-UV para determinação da conversão do reagente **4** e rendimento do produto intermediário **1L**.

5.2.2.4 Síntese do produto intermediário **2L** no processo batelada

Figura 29 - Esquema de síntese do produto intermediário **2L** no processo batelada

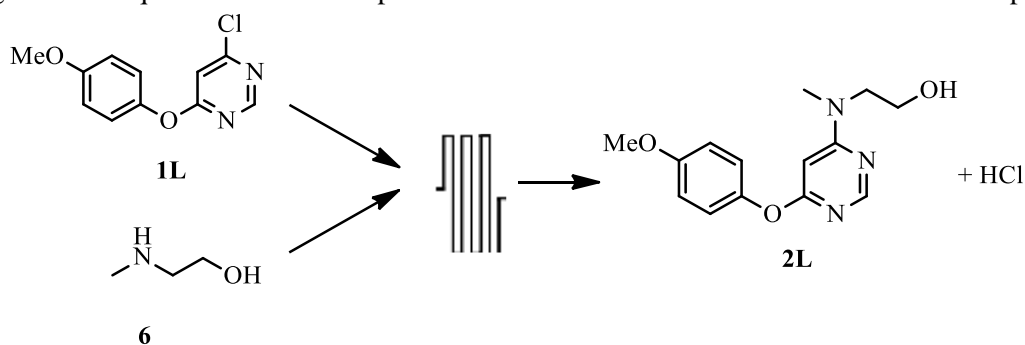


Fonte: Adaptado de Lee, *et al.* (2007) e Silva, *et al.* (2022).

Conforme esquema apresentado na Figura 29, **1L** foi diluído em etanol (99,8%) na concentração de 0,066 M, em seguida foram retirados 30 μ L do meio reacional e diluído em 1,5 mL de “Solução Inibidora D” para preparação da amostra padrão utilizada para gerar a curva de calibração. O meio reacional foi aquecido até ebulição e foi adicionado 2-(metilamino)etanol (**6**) ao meio reacional na concentração de 0,066 M que foi mantido em refluxo por 5 h. Foram realizadas amostragens ao longo do tempo de reação e diluídas na “Solução Inibidora D” para se determinar a conversão do reagente **1L** e rendimento do produto intermediário 2-((6-(4-metóxi)pirimidil-4-il)(metil)amino)-etan-1-ol (**2L**) por análise de HPLC-UV. Após o término da reação, o meio reacional foi levado à temperatura ambiente e interrompida com a adição de 30 mL de uma solução 1 M de cloreto de amônio e extraída com acetato de etila (2 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com salmoura (2 x 20 mL), seca com Na₂SO₄ seguida por evaporação a vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna (hexano/acetato de etila 1:1; *R_f* = 0,50).

5.2.2.5 Síntese do produto intermediário **2L** no em fluxo no microrreator capilar e seu estudo de cinética

Figura 30 - Esquema de síntese do produto intermediário **2L** em fluxo no microrreator capilar

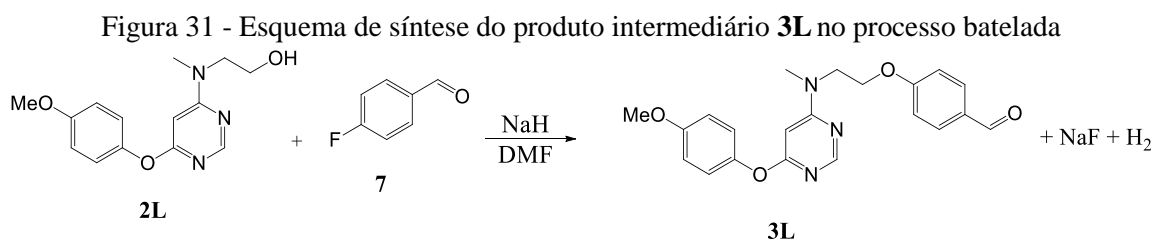


Fonte: Adaptado de Lee, *et al.* (2007) e Silva, *et al.* (2022).

Conforme esquema apresentado na Figura 30, duas soluções foram preparadas, uma contendo **2L** em etanol (99,8%) na concentração de 0,120 M e outra contendo **6** em etanol (99,8%) também na concentração de 0,120 M. As duas soluções foram alimentadas separadamente ao microrreator nas vazões adequadas, conforme o planejamento experimental descrito na seção 5.2.4. Foram estudados os tempos médios de residência 1, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 min e as temperaturas 65, 78, 100, 120, 140 e 160°C. À saída do microrreator foram coletadas

amostras e diluídas na “Solução Inibidora D” para posterior análise em HPLC-UV para determinação da conversão do reagente **1L** e rendimento do produto intermediário **2L**.

5.2.2.6 Síntese do produto intermediário **3L** no processo batelada e seu estudo de cinética



Fonte: Adaptado de Lee, *et al.* (2007) e Silva, *et al.* (2022).

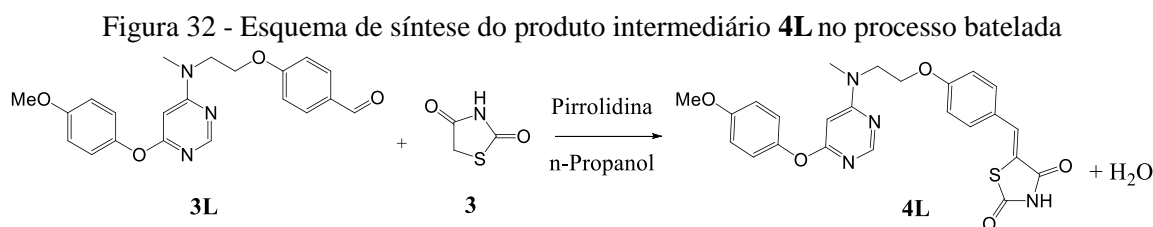
Conforme esquema apresentado na Figura 31, **2L** e **7** foram diluídos em DMF (99,8%) nas concentrações de 0,750 M e 0,825 M, respectivamente. Foram retirados 30 μ L do meio reacional e diluído em 1,5 mL de “Solução Inibidora D” para preparação da amostra padrão utilizada para gerar a curva de calibração. NaH foi adicionado ao meio reacional na concentração de 2,25 M em quatro porções iguais durante de 1 min e manteve-se a reação sob agitação constante, sob atmosfera de N₂ e temperatura ambiente. Foram realizadas amostragens ao longo do tempo da reação para se determinar a conversão do reagente **2L** e rendimento do produto intermediário 4-(2-{{[6-(4-metóxi-fenoxi)pirimidin-4-il]metilamino}etoxi)benzaldeído (**3L**) por análise em HPLC-UV. Após o término da reação, a mistura reacional foi transferida para um funil de separação e foi colocado 10 mL de água gelada e a mistura foi extraída com acetato de etila (2 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com salmoura (2 x 20 mL), e seca com Na₂SO₄, seguida por evaporação a vácuo. O produto foi purificado por cromatografia em coluna (hexano/acetato de etila 2:5; *R_f* = 0,77).

Para a realização do estudo de cinética, **2L** e **7** e foram diluídos em DMF (99,8%) em uma concentração equimolar de 0,13 M. Foram retirados 30 μ L do meio reacional e diluído em 1,5 mL de “Solução Inibidora D” para preparação da amostra padrão utilizada para gerar a curva de calibração. KOH foi adicionado ao meio reacional na concentração de 0,13 M e o meio reacional foi mantido sob agitação constante e o estudo foi realizado nas temperaturas de 60, 70, 80, 90 e 100°C. Foram coletadas amostragens a cada 1 min e diluídas na “Solução Inibidora D” para se determinar a conversão dos reagentes **2L** e **7** em análise de HPLC-UV

5.2.2.1 Estudo de bases e solventes reacionais para a síntese do produto intermediário **3L** no processo bateada

Para selecionar a melhor base e o melhor solvente para a síntese do produto intermediário **3L**, foram separados 8 *vials* de volume 1,5 mL com uma barra magnética dentro de cada um. Adicionou-se aos *vials* o reagente **2L** na concentração de 0,065 M em um dos solventes em estudo e manteve-se o meio reacional sob agitação para solubilização total do reagente. Os solventes em estudo foram N,N-dimetilformamida (DMF) (99%), acetonitrila (ACN) (99,9%), etanol (99,8%), metanol (99,8%), dimetilsulfóxido (DMSO) (99%), tolueno (99%), 1,4-dioxano (99%), diclorometano (DCM) (99%) e tetrahidrofurano (THF) (99%). Em cada um dos *vials* foram adicionadas 8 diferentes bases na concentração de 0,065 M: NaOH, SrF₂, CsF, KF, NaF, K₂CO₃, NaH e KOH. Os *vials* foram mantidos sob agitação constante por 30 min e em temperatura ambiente para, em seguida, ser adicionado o reagente **7** na mesma concentração de 0,065 M. O meio reacional foi mantido sob agitação constante por 6 h em temperatura ambiente. Após o término da reação, interrompeu-se a agitação do meio reacional para verificação visual da formação de sólido no meio reacional, seguida pela coleta de uma amostra que foi diluída na “Solução Inibidora D” para posterior análise em HPLC-UV para se determinar a conversão do reagente **2L** e o rendimento do produto intermediário **3L** por análise em HPLC-UV. Repetiu-se este procedimento para estudar todos os solventes citados anteriormente.

5.2.2.2 Síntese do intermediário **4L** no processo batelada

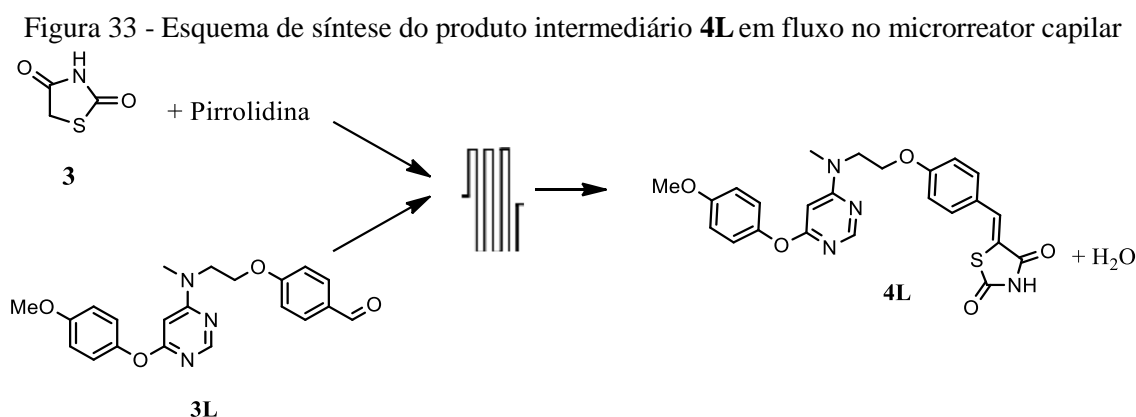


Fonte: Adaptado de Lee, *et al.* (2007) e Silva, *et al.* (2022).

Conforme esquema apresentado na Figura 32, **3L** e **3** foram diluídos em n-propanol (99,8%) em uma concentração equimolar de 0,016 M. Foram retirados 30 µL do meio reacional e diluído em 1,5 mL de “Solução Inibidora E” para preparação da amostra padrão utilizada para gerar a curva de calibração. O meio reacional foi levado a ebulição, seguida pela adição de pirrolidina

na concentração de 0,013 M e manteve-se sob agitação constante por 4 h. Foram realizadas amostragens ao longo do tempo de reação e diluídas na “Solução Inibidora E” para se determinar a conversão do reagente **3L** e rendimento do produto 5-[4-(2-{[6-(4-metóxi)pirimidin-4-il]metilamino}etóxi)benzilideno]tiazolidina-2,4-diona (**4P**) em análise de HPLC-UV. Após o término da reação, o meio reacional foi levado à temperatura ambiente e adicionado 30 mL de água destilada para precipitação do produto bruto. O produto foi isolado por filtração a vácuo, seguida por recristalização em etanol.

5.2.2.3 Síntese do produto intermediário **4L** no em fluxo no microrreator capilar

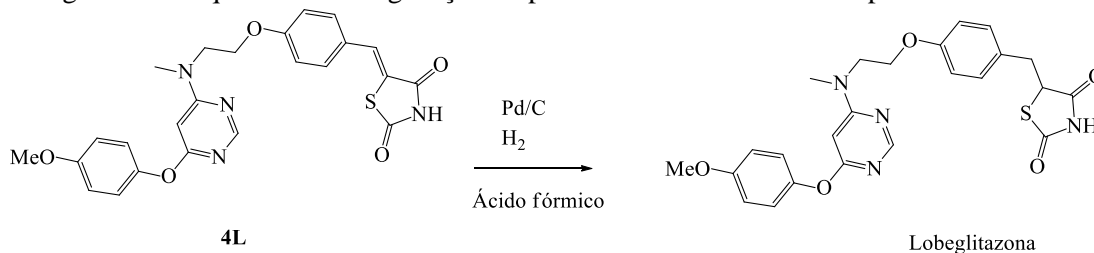


Fonte: Adaptado de Lee, *et al.* (2007) e Silva, *et al.* (2022).

Conforme esquema apresentado na Figura 33, duas soluções foram preparadas, uma contendo **3L** em n-propanol (99,8%) na concentração de 0,032 M, e outra contendo **3** e pirrolidina em n-propanol (99,8%) nas concentrações de 0,032 e 0,020 M, respectivamente. As duas soluções foram alimentadas separadamente ao microrreator nas vazões adequadas, conforme o planejamento experimental descrito na seção 5.2.4. Foram estudados os tempos médios de residência 1, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 min e as temperaturas 65, 78, 100, 120, 140 e 160°C. À saída do microrreator foram coletadas amostras e diluídas na “Solução Inibidora E” para posterior análise em HPLC-UV para determinação da conversão do reagente **3L** e rendimento do produto intermediário **4L**.

5.2.2.4 Hidrogenação do produto intermediário **4L**

Figura 34 - Esquema de hidrogenação do produto intermediário **4L** no processo batelada

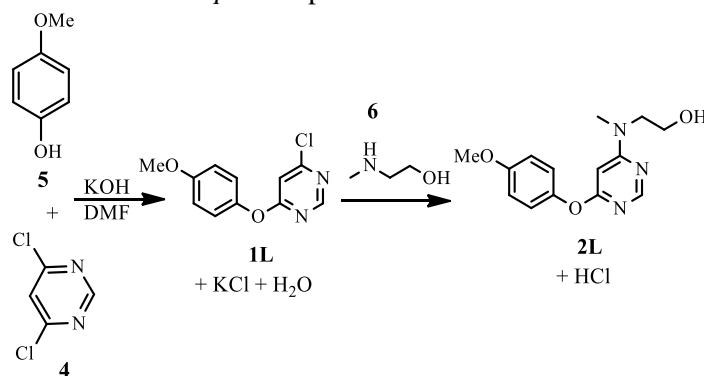


Fonte: Adaptado de Gowda; Gowda (2000) e Silva, *et al.* (2022).

Conforme esquema apresentado na Figura 34, diluiu-se no reator batelada mostrado na Figura 17 **4P** em ácido fórmico (88%) na concentração de 0,036 M e paládio sobre carbono (Pd/C) (5% em massa). O meio reacional foi purgado com hidrogênio para garantir que a atmosfera interna do reator fosse de H₂ e mantido sob temperatura ambiente, agitação constante por 24 h sob atmosfera de hidrogênio (aproximadamente 5 atm). Ao final da reação o meio reacional foi filtrado a vácuo para retirada do Pd/C e a fase líquida foi evaporada a vácuo para obtenção do produto Lobeglitazona, identificado por análise de HPLC-MS.

5.2.2.5 Síntese *one-pot* do produto intermediário **2L** no processo batelada

Figura 35 - Esquema de síntese *one-pot* dos produtos intermediário **1L** e **2L** no processo batelada



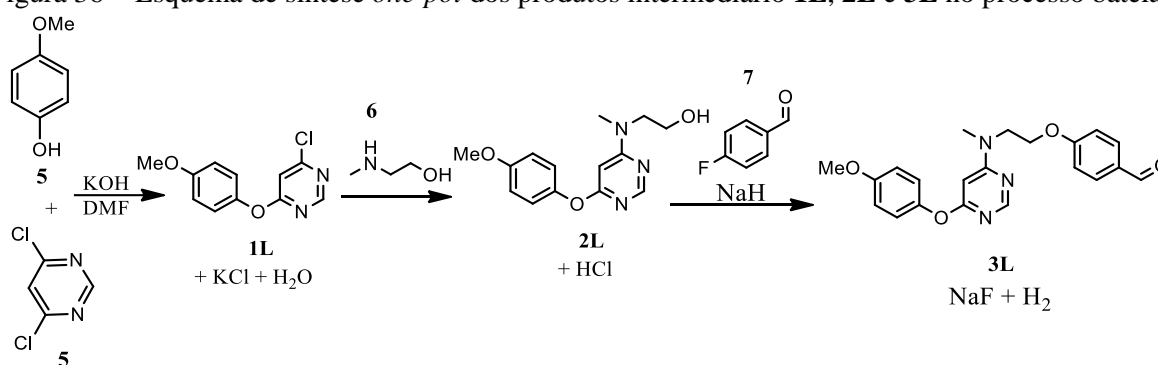
Fonte: Adaptado de Lee, *et al.* (2007) e Silva, *et al.* (2022).

Conforme esquema apresentado na Figura 35, **4** e **5** e NaH foram diluídos em THF (99,9%) em uma concentração equimolar de 0,01 M. Foram retirados 30 μL do meio reacional e diluído em 1,5 mL de “Solução Inibidora D” para preparação da amostra padrão utilizada para gerar a curva de calibração, e manteve-se a reação foi sob agitação constante, sob atmosfera de

N₂ e temperatura ambiente por 30 min. Após este período o meio reacional à 60°C e adicionou-se **6** na concentração de 0,01 M e manteve-se o meio reacional sob agitação constante por 5 h. Foram realizadas amostragens ao longo do tempo de reação e diluídas na “Solução Inibidora D” para se determinar a conversão dos reagentes **4**, **1L** e rendimento dos produtos **1L** e **2L** em análise de HPLC-UV.

5.2.2.6 Síntese one-pot do produto intermediário **3L** no processo batelada

Figura 36 - Esquema de síntese *one-pot* dos produtos intermediário **1L**, **2L** e **3L** no processo batelada

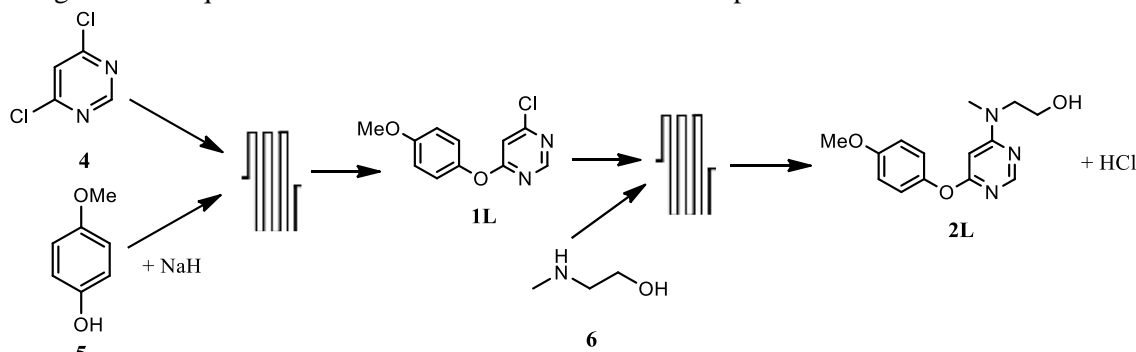


Fonte: Adaptado de Lee, *et al.* (2007) e Silva, *et al.* (2022).

Conforme esquema apresentado na Figura 36, **4** e **5** e KOH foram diluídos em DMF (99,8%) em uma concentração equimolar de 0,167 M. Foram retirados 30 µL do meio reacional e diluído em 1,5 mL de “Solução Inibidora D” para preparação da amostra padrão utilizada para gerar a curva de calibração, e manteve-se a reação sob agitação constante, sob atmosfera de N₂ e temperatura ambiente por 30 min. Após este período o meio reacional à 78°C e adicionou-se **6** na concentração de 0,25 M e manteve-se o meio reacional sob agitação constante por 5 h. Em seguida o meio reacional foi levado à temperatura ambiente e adicionou-se NaH e **7** nas concentrações de 0,167 M e 0,183, respectivamente, e manteve-se sob agitação constante por 1 h sob atmosfera de N₂. Foram realizadas amostragens ao longo do tempo de reação e diluídas na “Solução Inibidora D” para se determinar a conversão dos reagentes **5**, **1L** e **2L** e rendimento dos produtos **1L**, **2L** e **3L** em análise de HPLC-UV. Após o término da reação a mistura reacional foi colocada em um funil de separação e adicionado 20 mL de água destilada gelada e extraída com acetato de etila (2 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de 50% de NaCl (2 x 20 mL), e seca com Na₂SO₄, seguida por evaporação a vácuo. O produto foi purificado por cromatografia em coluna (hexano/acetato de etila 2:5).

5.2.2.7 Síntese one-pot em fluxo do produto intermediário 2L

Figura 37 - Esquema de síntese em fluxo no microrreator capilar dos intermediários 1L e 2L



Fonte: Adaptado de Lee, *et al.* (2007) e Silva, *et al.* (2022).

Conforme esquema apresentado na Figura 37, para a síntese *one-pot* em fluxo do produto intermediário 2L foram preparadas três soluções distintas: (A) 4,6-dicloropirimidina (4) (125 mg, 0,8 mmol, 1,00 eq.) em 15 mL de THF (99,9%); (B) 4-metoxifenol (5) (106 mg, 0,8 mmol, 1,00 eq.) e NaH (33,5 mg, 0,8 mmol, 1,00 eq.) em 15 mL de THF (99,9%). Estas duas soluções foram bombeadas para o primeiro microrreator capilar com sua saída conectada à entrada de um segundo microrreator capilar. Neste segundo microrreator, a terceira solução de alimentação (C) foi bombeada com uma solução composta de 2-(metilamino)etanol (6) (481 μ L, 6,00 mmol, 3,00 eq.) em 15 mL de THF (99,9%) a 60°C. As amostragens foram realizadas nos tempos médios de residência 1, 2, 3, 4 e 5 min.

5.2.3 Solução inibidora de reação

Para cada reação estudada foi desenvolvida uma solução que inibisse que a reação prosseguisse a partir do instante de amostragem, chamadas de “Solução inibidora”. Esta etapa do desenvolvimento da pesquisa é de suma importância, pois sem a inibição correta da reação no instante da amostragem, é impossível ter confiabilidade nos resultados.

As soluções inibidoras foram desenvolvidas a partir da mistura acetonitrila (ACN) e água 1:1 (v/v) e adição de um ácido para aumentar a presença de H^+ (diminuir o pH), de modo a diminuir a velocidade da reação direta. O objetivo foi, no mínimo, dobrar a quantidade de H^+ ao final da reação, e no máximo, observar se houve degradação pelo excesso de ácido na solução de amostragem. Os ácidos utilizados foram os ácidos clorídrico (HCl), acético glacial (AAG) e trifluoracético (3FA).

Todas as amostragens no meio reacional foram realizadas retirando-se uma alíquota com um volume pré-determinado de 30 μL , em seguida adicionada a um *vial* contendo previamente a solução inibidora da reação em realização (o volume adicionado ao *vial* variou para cada reação estudada), e então esta solução foi armazenada a $\pm 4^\circ\text{C}$ até o momento de sua análise em HPLC-UV. Esta diluição mostrou-se eficaz no ajuste do método de análise no HPLC-UV, pois as áreas dos cromatogramas atingiram, no máximo, 1500 mV de altura, evitando assim o *plateau* da área.

Foram preparadas cinco soluções inibidoras, todas apresentadas na Tabela 3, cuja sua eficiência foi determinada a partir da variação de área dos reagentes e produtos dentro do *vial* por análise de HPLC-UV realizadas diariamente, ao longo de, no mínimo, 7 dias. As análises que, ao final de uma semana, apresentavam variação de até 10% nas áreas obtidas nas análises dos analitos foram consideradas inibidas, considerando que, em geral, as amostras eram coletadas e analisadas dentro de 24h, período o qual não foi observada a variação das áreas dos analitos.

Tabela 3 - Relação de soluções inibidoras utilizadas nas amostragens dos produtos intermediários das sínteses dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona a partir da mistura 1:1 (v/v) de acetonitrila / água

Solução inibidora	Ácido adicionado	Concentração (M)	Volume de Solução inibidora adicionado ao <i>vial</i> (mL)	Utilização
A	HCl	0,01	1	2P
B	Sem ácido		1,5	3P
C	AAG	0,01	1,5	4P
D	3FA	0,098	1,5	1L, 2L e 3L
E	AAG	0,01	1,5	4L

5.2.4 Determinação do método de amostragem no microrreator capilar em fluxo

O ajuste da vazão determina o tempo médio de residência e o tempo de descarte. O tempo médio de residência no microrreator corresponde ao tempo de reação no reator batelada e significa, em média, o tempo que a molécula permanece dentro do reator; já o tempo de descarte é o tempo necessário para que, após o ajuste da nova vazão, tenha-se certeza de que todo o meio reacional contido nas mangueiras de entrada e de saída dos microrreatores sejam descartados e não interfira nas vazões seguintes. A determinação do tempo médio de residência e do tempo de descarte são apresentados nas Equações (eq.) 1 e 2. O volume do reator utilizado foi de 1.000 μL e o volume total do sistema é de 2,080 μL .

$$\text{Tempo médio de residência } (\tau) = \frac{\text{Volume do reator } (\mu\text{L})}{\text{Vazão total } (\mu\text{L min}^{-1})} \quad (1)$$

$$\text{Tempo de descarte} = \frac{\text{volume de descarte } (\mu\text{L})}{\text{vazão total } (\mu\text{L min}^{-1})} = \frac{2.080 \mu\text{L}}{\text{vazão total } (\mu\text{L min}^{-1})} \quad (2)$$

Denomina-se “tempo médio de residência”, pois o microrreator não é ideal, conseqüentemente ocorre dispersão durante o escoamento do fluido. Foi realizado o estudo de distribuição de tempo de residência (DTR) a partir de um degrau de concentração de TZD. Os resultados deste estudo foram publicados previamente (PINHEIRO et al., 2018; SIGUEMOTO et al., 2020)

Com isto, foi estabelecido o seguinte planejamento de ensaios, mostrado na Tabela 4. A cada temperatura estudada, foram realizados seis ensaios com diferentes vazões.

Tabela 4 - Planejamento de amostragem no microrreator

Ensaio	Tempo médio de residência (min)	Vazão solução A ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Vazão solução B ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Vazão total ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Tempo mínimo de descarte (min)
1	1	500	500	1000	2,1
2	2	250	250	500,0	4,2
3	4	166,6	166,6	333,3	6,2
4	8	83,3	83,3	166,6	16,6
5	12	41,6	41,6	83,5	25,0
6	16	31,1	31,1	62,2	33,3
7	20	25,0	25	50,0	41,6

O maior tempo de residência para o estudo realizado no microrreator está fixado em 20 min, pois foi o tempo considerado razoável para realização de ensaios e para se obter respostas significativas em termos de conversão de reagentes e rendimento dos produtos.

Para os ensaios nos quais a temperatura fosse maior do que a de ebulição normal do solvente foi necessária a pressurização do meio através da utilização de um regulador de pressão (“*back pressure regulator*”), para que não houvesse a evaporação do solvente dentro do microrreator. A pressão do sistema foi ajustada de acordo com a Tabela 5, que mostra a pressão mínima e a ideal de trabalho para cada um dos solventes em estudo.

Tabela 5 - Temperatura do sistema e pressão necessária para manter o meio reacional no estado líquido

METANOL		
Temperatura (°C)	Pressão mínima (bar)	Pressão ideal (bar)
65,0	0,1	1,1
78,0	1,8	2,8
98,0	3,2	4,2
120	6,1	7,1
140	10,3	11,3
160	16,6	17,6
Obs.: Pressões manométricas		

ETANOL		
Temperatura (°C)	Pressão mínima (bar)	Pressão ideal (bar)
78,0	0,1	1,1
98,0	2,0	3,0
120	3,2	4,2
140	6,3	7,3
160	10,7	11,7
Obs.: Pressões manométricas		

n-PROPANOL		
Temperatura (°C)	Pressão mínima (bar)	Pressão ideal (bar)
98,0	0,1	1,1
120	1,6	2,6
140	3,9	4,9
160	7,1	8,1
Obs.: Pressões manométricas		

THF		
Temperatura (°C)	Pressão mínima (bar)	Pressão ideal (bar)
65,0	0,1	1,1
78,0	0,7	1,7
98,0	1,9	2,9
120	3,6	4,6
140	6,0	7,0
160	9,3	10,3
Obs.: Pressões manométricas		

5.2.5 Métodos analíticos

5.2.5.1 Quantificação e caracterização de reagentes e produtos

- “High Performance Liquid Chromatography” (HPLC-UV) utilizado para a determinação da concentração dos reagentes e produto e, conseqüentemente, da conversão de reagentes

e rendimento de produto: modelo Prominence 20AD da Shimadzu, equipado com uma pré coluna e coluna TSKgel® ODS-100V C18, 3 µm, 25 cm x 4,6 mm, e fase móvel isocrática de acetonitrila e água. Disponível no Laboratório Instrumental Multiusuário do FBT/FCF/USP. Também foi realizado um processo de recuperação da acetonitrila utilizada na fase móvel das análises de HPLC-UV e este procedimento está descrito no Apêndice 3.

- Espectroscopia de Massa (EM) (*Mass Spectroscopy* (MS) acoplado em aparelho de HPLC (HPLC-MS), equipamento: UFLC Prominence 20AD, Shimadzu, Tokio, JP; MS Bruker Amazon Speed, fonte eletrospray, analisador *ion trap*, Massachussets, EUA).

5.2.5.2 Curva de calibração e análise em HPLC-UV

As análises em HPLC-UV foram feitas para quantificar a concentração de reagentes e produtos nas amostras coletadas nos ensaios em batelada e no microrreator. As condições para análise de cada um dos reagentes e produtos intermediários dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona são apresentadas na Tabela 6 e os cromatogramas das análises de HPLC-UV são apresentados no Anexo 1. As curvas de calibração de cada um dos reagentes e produtos intermediários dos dois fármacos são apresentadas no Apêndice 4.

Tabela 6 - Métodos analíticos em HPLC-UV dos reagentes e produtos intermediários dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona

Pioglitazona				
Produto	Vazão (mL min ⁻¹)	Composição fase móvel (Acetonitrila/Água) (% v/v)	Comprimento de onda (λ) (nm)	Tempo de retenção (min)
1P	0,5	95/5	211	7,023
2P	0,5	95/5	211	11,067
3P	0,5	95/5	275	9,367
4P	0,5	95/5	324	9,787
Pioglitazona	0,7	99/1	270	5,853
Lobeglitazona				
Produto	Vazão (mL min ⁻¹)	Composição fase móvel (Acetonitrila/Água) (% v/v)	Comprimento de onda (λ) (nm)	Tempo de retenção (min)

4,6-dicloropirimidina	0,5	92/8	250	8,946
1L	0,5	92/8	250	10,280
2L	0,5	92/8	230	7,246
3L	0,5	92/8	280	10,693
4L	0,5	92/8	374	10,911

5.2.6 Tratamento de dados

Os dados obtidos após análises foram tratados segundo a metodologia descrita a seguir e consistem de resultados de concentração do reagente e dos produtos em função do tempo de reação, no processo batelada, e do tempo médio de residência, no microrreator de fluxo, para cada um dos valores estipulados de temperatura.

A conversão, X_A , da reação $aA + bB \rightarrow pP + qQ$ é definida como a fração do reagente limitante que é consumido na reação (HARRIOT, 2003; HILL; ROOT, 2014) e é determinada pela eq. (3):

$$X_A = \frac{C_{A0} - C_A}{C_{A0}} \quad (3)$$

Na eq. (3) C_{A0} e C_A são as concentrações inicial e final do reagente limitante, respectivamente.

O rendimento do produto desejado, Y_P , é determinado através da relação entre a quantidade de produto formado e a quantidade de produto que seria formado se não houvesse formação de subprodutos (HARRIOT, 2003; HILL; ROOT, 2014). A expressão matemática para a determinação do rendimento do produto está descrita pela eq. (4):

$$Y_P = \frac{a(C_P - C_{P0})}{pC_{A0}} \quad (4)$$

Na eq. (4) C_{P0} e C_P são as quantidades inicial e final do produto formado, respectivamente, C_{A0} é a quantidade inicial do reagente limitante, a e p são os coeficientes estequiométricos do reagente limitante e do produto, respectivamente.

A taxa produção em batelada (\dot{m}_{BR}) e em fluxo no microrreator (\dot{m}_{MR}) foram determinadas pelas eq. (5) e (6), onde C_P (mol L⁻¹) e m_P (mol) são as concentrações finais e a massa do produto desejado ao final do processo batelada (t , h), V_R é o volume do reator (L), F

(L h⁻¹) é a vazão total no microrreator e $C_{P,out}$ é a concentração molar (mol L⁻¹) do produto desejado à saída do microrreator.

$$\dot{m}_{BR} = \frac{C_P V_R}{t} = \frac{m_P}{t} \quad (5)$$

$$\dot{m}_{MR} = C_{P,out} F \quad (6)$$

O cálculo de número de microrreatores em paralelo (n_{MR}), conforme descrito na literatura (CALVO et al., 2021; PINHEIRO et al., 2018; SILVA et al., 2019, 2022; SILVA; PALMA, 2022), e apresentado na eq. (7) é definido como a razão entre \dot{m}_{BR} (mol h⁻¹) após a formação total de produto e \dot{m}_{MR} (mol h⁻¹). Este parâmetro fornece uma estimativa do número de microrreatores em paralelo necessário para obter a mesma produção média de produto no reator batelada e, portanto, pode ser usado como um índice da viabilidade da Tecnologia de Microrreatores em escala industrial.

$$n_{MR} = \frac{\dot{m}_{BR}}{\dot{m}_{MR}} \quad (7)$$

A constante da taxa da reação (k), expressa em L mol⁻¹ s⁻¹, foi determinada pelo ajuste do modelo cinético de segunda ordem de todas as reações de formação dos intermediários em estudo, de acordo com a eq. (8), onde $C_{A0} = C_{B0}$ (mol L⁻¹) são as concentrações iniciais dos reagentes e t o tempo (s).

$$\frac{1}{C_A} - \frac{1}{C_{A0}} = kt \quad (8)$$

A energia de ativação de cada reação intermediária (E_a), expressa em kJ mol⁻¹, foi determinada pelo modelo de Arrhenius de acordo com a eq. (9), onde A_0 é o fator pré-exponencial, R a constante dos gases ideais e T a temperatura absoluta (K).

$$k = A_0 e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (9)$$

Os parâmetros termodinâmicos do estado de transição (TS) das reações de cada etapa, entalpia (ΔH^\ddagger), entropia (ΔS^\ddagger) e energia livre de Gibbs (ΔG^\ddagger), foram determinados a partir dos

dados experimentais usando a equação de Eyring (eq. 10), onde k_b é a constante de Boltzmann ($1,38 \times 10^{-23} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-2} \text{ K}^{-1}$) e h a constante de Planck ($6,63 \times 10^{-34} \text{ m}^2 \text{ kg s}^{-1}$).

$$k = \frac{k_b T}{h} e^{\Delta S^\ddagger/RT} e^{-\Delta H^\ddagger/RT} \quad (10)$$

Se k é expresso em $\text{L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$, o estado padrão para a energia livre, entalpia e entropia de ativação é 1 mol L^{-1} (HILL; ROOT, 2014).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

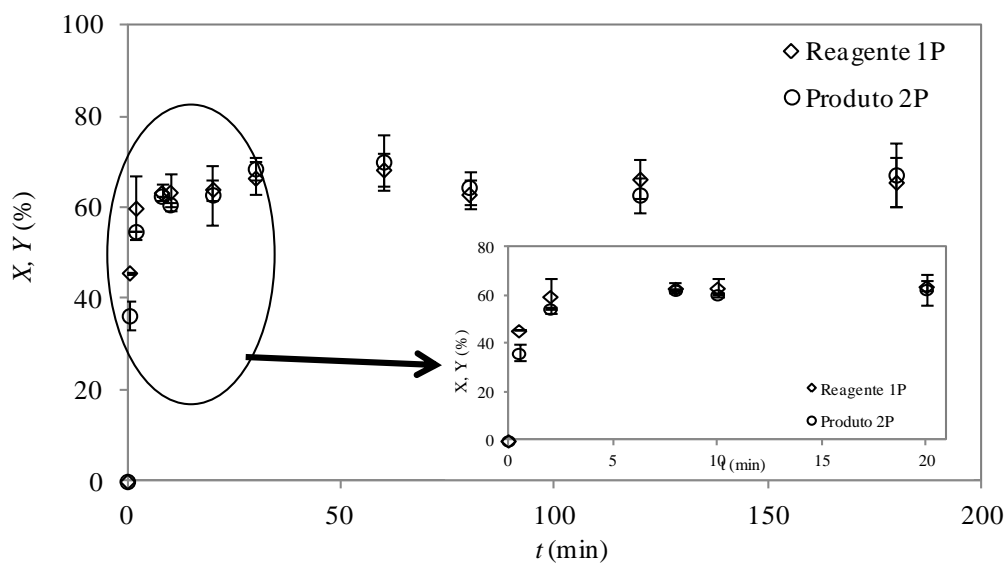
6.1 SÍNTESE DO FÁRMACO PIOGLITAZONA

6.1.1 Síntese do produto intermediário **2P**

6.1.1.1 *Reprodutibilidade da síntese do produto intermediário **2P***

A síntese dos intermediários **2P** e **3P** é relatada na literatura (MADIVADA *et al.*, 2009) sugerindo um tempo total de reação de 16 h (3 h para o intermediário **2P** e 13 h para o **3P**) para se obter rendimento final do produto intermediário **3P** de 81,2%. Os estudos preliminares destas sínteses foram realizados individualmente, isolando o intermediário **2P**, e o utilizando a partir de uma concentração conhecida como reagente da síntese do produto intermediário **3P**. Desta forma seria um primeiro passo para compreender o comportamento de ambas as reações de formação destes produtos intermediários. Após definido o método de análise em HPLC-UV, foram realizados ensaios em triplicata, conforme o procedimento descrito na literatura (MADIVADA *et al.*, 2009) e os resultados de conversão do reagente **1P** e rendimento do produto intermediário **2P** são apresentados na Figura 38. Foram testadas concentrações do meio reacional de 1,66, 0,55, 0,2, 0,1 e 0,05 M para se verificar em qual concentração não haveria formação de sólidos (ensaios não apresentados), no entanto, foi observado que houve formação dos mesmos. O HCl formado como subproduto da reação precisa ser removido utilizando uma amina terciária como um "sequestrador de ácido" (SOLOMONS; FRYHLE, 2009), porém há a formação de um sal de amônio que não é solúvel em tolueno, o que impede a transposição desta reação do processo batelada para o processo em fluxo no microrreator capilar nas condições apresentadas na literatura (MADIVADA *et al.*, 2009). A confirmação da síntese do produto intermediário **2P** foi feita por análise em HPLC-MS e é apresentada no Anexo 2.

Figura 38 - Conversão do reagente **1P** e rendimento do produto intermediário **2P** no processo batelada ($C_{1P} = 0,10$ M; $C_I = 0,125$ M; $C_{base} = 0,112$ M; Solvente: Tolueno $t = 3$ h, $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura.



Fonte: Autoria própria.

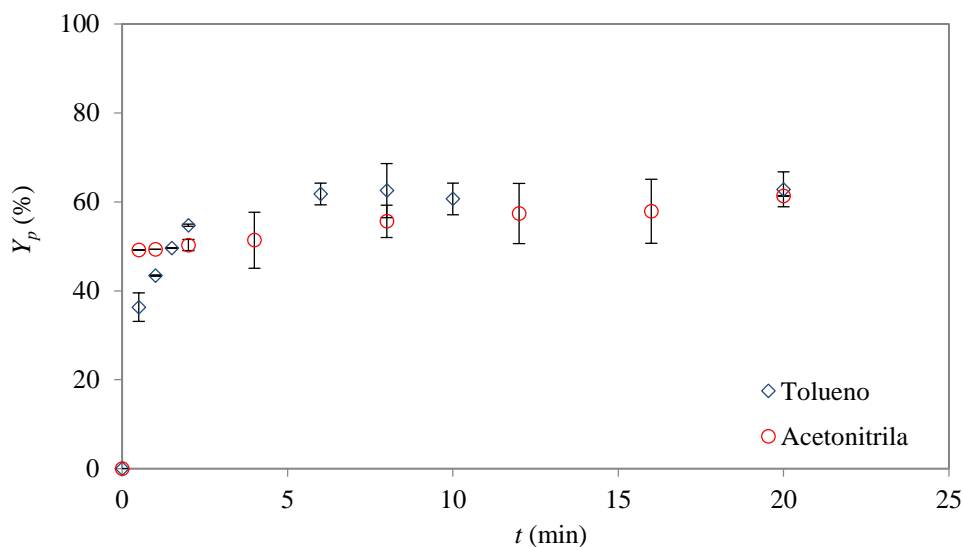
A Figura 38 mostra que a partir de 4 min de reação no processo batelada a conversão do reagente **1P** e rendimento do produto intermediário **2P** já atingem sua estabilização 64 e 63%, respectivamente. Ao final de 3 h foi obtido rendimento de 67%. Este resultado mostra que não é necessário manter a reação por 3 h, conforme sugere a literatura (MADIVADA *et al.*, 2009).

6.1.1.2 Estudo de solventes na síntese do produto intermediário **2P** no processo batelada

Após estudada a síntese deste produto intermediário conforme a literatura (MADIVADA *et al.*, 2009), foi realizado um estudo de solventes com o objetivo de buscar um solvente que solubilize o meio reacional e, conseqüentemente, que forme o produto desejado. Neste estudo foram testados inicialmente os solventes THF e acetonitrila. Foi observado que, embora o THF promova a reação, ele não solubiliza o meio reacional, portanto este solvente foi descartado. Já a acetonitrila, além de promover a reação, também solubilizou o meio reacional, sendo possível assim transpor esta reação para a síntese em fluxo no microrreator capilar. A Figura 39 apresenta a comparação do rendimento do produto intermediário **2P** nos solventes tolueno e acetonitrila no processo batelada, no qual é possível observar que, embora os rendimentos finais a partir de 6 min de reação sejam equivalentes, a vantagem da substituição do solvente tolueno, proposto na literatura (MADIVADA *et al.*, 2009), por acetonitrila está na

maior velocidade inicial da reação, embora nos dois solventes a estabilização seja atingida por volta dos 6 min de reação. Em 20 min de reação o rendimento do produto intermediário **2P** no solvente tolueno foi de 60%, enquanto em acetonitrila foi de 61%.

Figura 39 - Comparação do rendimento do produto intermediário **2P** nos solventes tolueno e acetonitrila no processo batelada ($C_{IP} = 0,10$ M; $C_I = 0,125$ M; $C_{base} = 0,112$ M; $t = 3$ h, $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura.

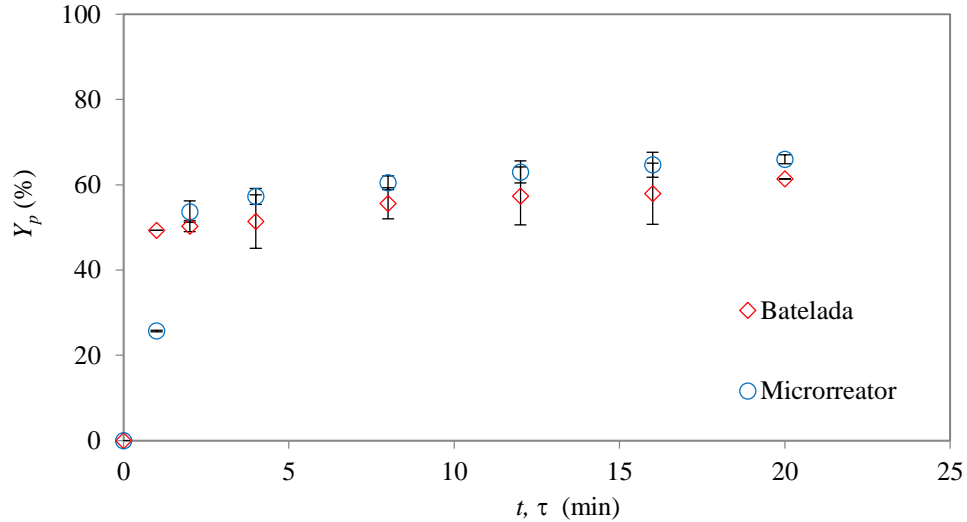


Fonte: Autoria própria.

6.1.1.3 Síntese do produto intermediário **2P** em fluxo no microrreator capilar e comparação entre os processos batelada e fluxo no microrreator capilar

Após definida as condições para transposição da reação do processo batelada para o processo em fluxo no microrreator capilar, foram realizados os ensaios variando o tempo médio de residência (τ) em temperatura ambiente (25°C). A Figura 40 apresenta a comparação do rendimento do produto intermediário **2P** nos processos em batelada e em fluxo no microrreator capilar. É possível observar que os rendimentos em ambos os processos são equivalentes, tendo em vista que as barras de erro se sobrepõem na maioria dos pontos de amostragem. O rendimento do produto intermediário **2P** em batelada após 20 min foi de 61%, enquanto no microrreator capilar o rendimento foi de 66%.

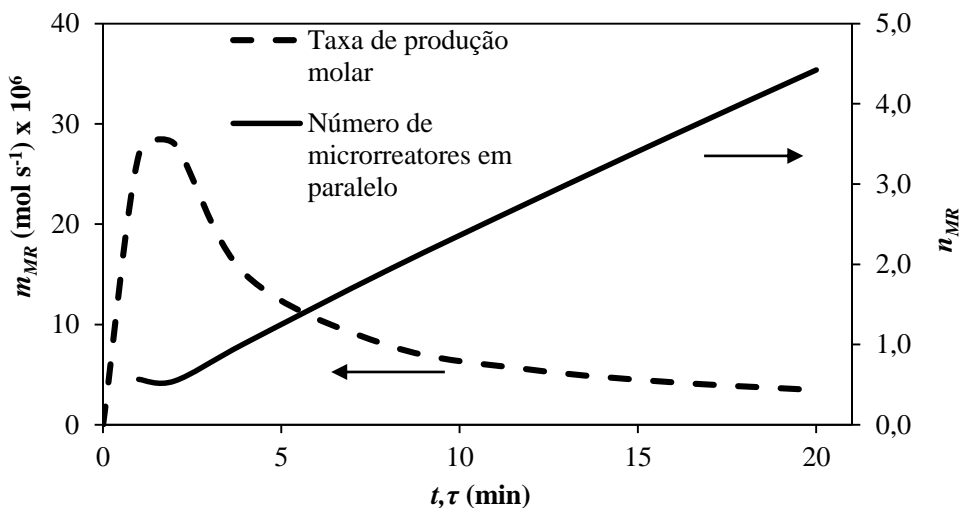
Figura 40 - Comparação do rendimento do produto intermediário **2P** nos processos batelada e em fluxo no microrreator capilar ($C_{IP} = 0,10$ M; $C_I = 0,125$ M; $C_{base} = 0,112$ M; Solvente: acetonitrila; $t = 3$ h, $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; t = tempo reacional; τ = tempo médio de residência no microrreator, T = temperatura.



Fonte: Autoria própria.

A Figura 41 apresenta a influência do tempo médio de residência (τ) na produção molar (\dot{m}_{MR}) e no número de microrreatores em paralelo (n_{MR}). Este último fornece uma estimativa do número de microrreatores em paralelo necessário para obter a mesma produção média do produto no reator batelada e, portanto, pode ser usado como um índice da viabilidade da Tecnologia de Microrreatores em escala industrial. Para tanto, foram considerados para o processo em batelada um volume de meio reacional de 5 mL, $t = 60$ min, $T = 25^\circ\text{C}$ e nestas condições a produção média foi de $1,52 \times 10^{-6}$ mol s^{-1} . No cálculo da produção no processo em fluxo foi utilizado um microrreator, de volume 1 mL, e $T = 25^\circ\text{C}$. O \dot{m}_{MR} diminuiu com o aumento de τ , atingindo $3,44 \times 10^{-6}$ mol s^{-1} em $\tau = 20$ min (que corresponde ao maior rendimento observado). O menor valor de n_{MR} (0,5) foi obtido para $\tau = 1$ min, porém com o menor rendimento observado (25%). Por outro lado, para $\tau = 20$ min foi obtido maior rendimento (66%), com $n_{MR} = 4,4$, indicando assim a condição ideal para a produção em fluxo deste intermediário.

Figura 41 - Influência do tempo médio de residência (τ) na produção molar (\dot{m}_{MR}) no processo em fluxo e no número de microrreatores em paralelo (n_{MR}), com volume de 1 mL para se atingir a mesma produção de **2P** no processo batelada ($1,52 \times 10^{-6} \text{ mol s}^{-1}$) após 60 min em $T = 25^\circ\text{C}$. t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura.



Fonte: Autoria própria.

6.1.2 Síntese do produto intermediário **3P**

6.1.2.1 Estudos preliminares para síntese do produto intermediário **3P**

A síntese do produto intermediário **3P** é descrita na literatura (MADIVADA *et al.*, 2009) que sugere um tempo de reação de 13 h, para se obter rendimento de 81,2 %. Foram testadas concentrações do meio reacional de 0,35, 0,14 e 0,07 M para se verificar se haveria formação de sólidos. Foi observado que o K_2CO_3 (base promotora desta reação) não se dissolve no solvente, tolueno, impedindo a transposição desta síntese para o processo em fluxo no microrreator capilar. O rendimento da reação de formação do produto **3P**, após a etapa de purificação, foi de 9%, indicando que novos estudos. A confirmação da identidade do produto intermediário **3P** foi feita em HPLC-MS e é apresentada no Anexo 3. A dificuldade desta etapa foi adequar uma maneira de inibir a reação após a coleta no meio reacional. Foram testadas algumas soluções inibidoras, entretanto, nenhuma solução interrompeu a reação, pois foi observada a variação das áreas das amostras de HPLC-UV dos reagentes e produto. Esta reação não foi explorada, pois tão logo iniciaram-se seus testes foi desenvolvida uma nova maneira de se realizar a síntese do produto intermediário **3P**, sem a necessidade prévia de realizar a síntese do produto intermediário **2P**, descrito a partir da seção 6.1.1. Este novo método, chamado de “**3P** (método alternativo)” está explicado no capítulo seguinte.

6.1.3 Síntese do produto intermediário **3P** (método alternativo) no processo batelada

A síntese do produto **3P** pode ser realizada a partir do reagente **1P** sem a necessidade da formação do produto intermediário **2P**, utilizando uma base forte para desprotonação da hidroxila presente no reagente **1P**, seguido por uma substituição nucleofílica com o reagente 4-fluorbenzaldeído (**7**). Esse mecanismo é observado na reação de formação dos produtos intermediários **1L** e **3L**, descritos nas seções 6.3.1 e 6.3.3, respectivamente. A confirmação da identidade do produto intermediário **3P** sintetizado a partir desta nova metodologia foi feita a partir de análise de HPLC-MS e é apresentada no Anexo 4. Vale ressaltar que esta síntese não foi apresentada na patente do produto Pioglitazona e, por ser então uma inovação e uma melhoria no processo de síntese do fármaco em estudo, foi feito o pedido de patente, submetido ao Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI) em 06/04/2021 (BR 10 2021 006604 0) e sua publicação foi feita na Revista da Propriedade Industrial” nº 2631, de 08 de junho de 2021 (Anexo 14) (SILVA; PALMA, 2021).

*6.1.3.1 Estudo de bases e solventes reacionais para a síntese do produto intermediário **3P** (método alternativo) no processo batelada*

Após a confirmação de que é possível realizar a síntese do produto intermediário **3P** a partir da desprotonação de **1P** e substituição nucleofílica com o 4-fluorbenzaldeído (**7**), foi realizado um estudo para buscar bases e solventes que forneçam o maior rendimento no menor tempo de reação, uma vez que não foi encontrado até o momento referências específicas a esta reação, além de buscar por composições em que o meio reacional esteja completamente solubilizado. A solubilidade total do meio é necessária para a transposição da reação para o processo em fluxo no microrreator capilar, pois a formação e/ou a presença de sólido no meio reacional podem obstruir e/ou danificar o microrreator. Neste estudo foram testadas as bases NaOH, SrF₂, CsF, KF, NaF, K₂CO₃, NaH, e KOH, na concentração de 0,20 M, e os solventes utilizados foram o DMF, acetonitrila (ACN), metanol, etanol, tolueno, DMSO, 1,4-dioxano, THF e diclorometano (DCM). Todas as reações foram realizadas a partir da desprotonação do reagente **1P** pela ação da base por 30 min e, em seguida, adição do reagente **7** e mantida por 2h em temperatura ambiente e sob agitação constante. Todas as análises para verificar a formação do produto de interesse foram realizadas em HPLC-MS, conforme a seção 5.2.5.1. Não foi calculado o rendimento final de cada reação, entretanto, os resultados a serem apresentados a

seguir foram obtidos a partir da relação de áreas (em %) dos cromatogramas que apresentaram o produto no comprimento de onda fixo em 254 nm, conforme estabelecido pela farmacopéia brasileira (FARMACOPÉIA, 2010). A formação de sólido foi verificada por análise visual.

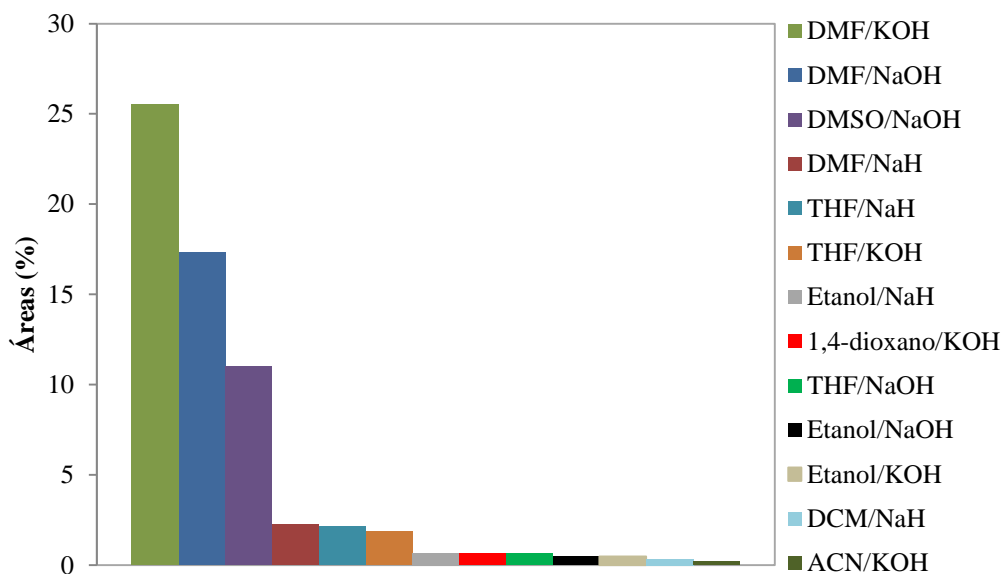
A Tabela 7 apresenta os valores da relação de áreas (em %) obtida a partir das análises em HPLC-MS na formação do produto intermediário **3P**, visto que os valores em vermelho representam as composições de meio reacional que apresentaram sólido disperso, enquanto os valores em verde representam as composições em que o meio reacional foi solubilizado. Já a Figura 42 apresenta os dados observados na Tabela 7 organizados de forma decrescente de valores de área (em %).

Tabela 7 - Valores da relação de áreas (em %) obtidos a partir de análise de HPLC-MS no estudo de base e solventes da síntese do produto intermediário **3P** (método alternativo) no processo batelada ($C_{IP} = 0,20$ M; $C_7 = 0,20$ M; $C_{base} = 0,40$ M; $\lambda = 254$ nm; $t = 2$ h, $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura

	DMF	ACN	DCM	Metanol	Etanol	DMSO	Tolueno	1,4-dioxano	THF
NaOH	17,33	-	-	-	0,50	11,01	-	-	0,64
SrF ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CsF	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KF	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaF	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K ₂ CO ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaH	2,27	-	0,35	-	0,67	-	-	-	2,15
KOH	25,52	0,20	-	-	0,49	-	-	0,65	1,85

Fonte: Autoria própria e Silva; Palma, 2021

Figura 42 - Relação de áreas (%) obtidas por LC-MS no estudo de bases e solventes na formação do produto intermediário **3P** (método alternativo) no processo batelada ($C_{IP} = 0,20$ M; $C_7 = 0,20$ M; $C_{base} = 0,40$ M; $\lambda = 254$ nm; $t = 2$ h, $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura.



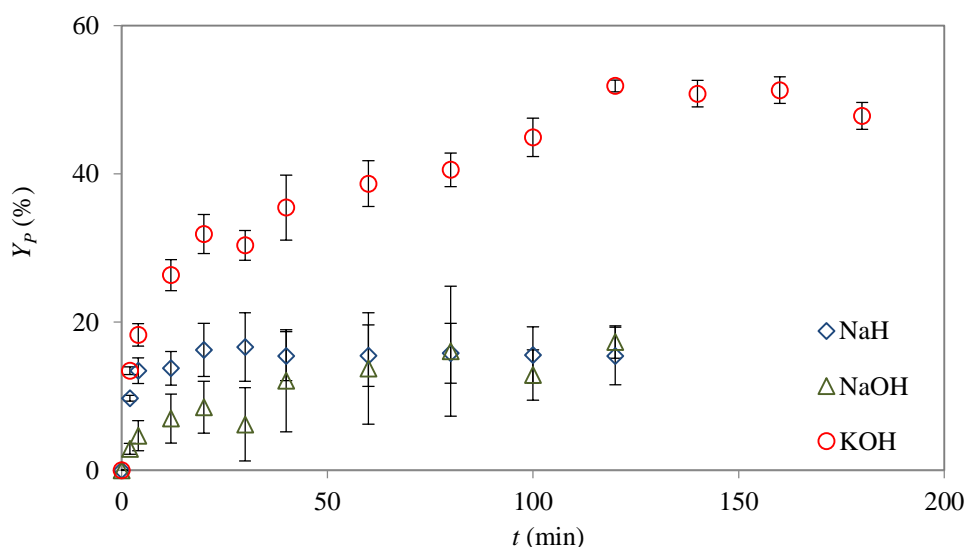
Fonte: Autoria própria e Silva; Palma, 2021

Destaca-se na Tabela 7 e na Figura 42 os valores de áreas obtida com a base KOH no solvente DMF (25,5%), e a base NaOH nos solventes DMF (17,3%) e DMSO (11%). Estes valores indicam que os maiores rendimentos desta reação provavelmente serão obtidos nestas composições de bases e solventes. Em relação à formação de sólidos, foi observado que não houve sua formação apenas no solvente etanol, entretanto, os valores (em %) das áreas observadas neste solvente foram baixos, sendo 0,67, 0,50 e 0,49% nas bases NaH, NaOH e KOH, respectivamente, indicando que o rendimento desta reação com estas bases em etanol é baixo. De fato, era previsível que o rendimento do produto intermediário **3P** em etanol seria baixo ou inexistente, tendo em vista que estas bases reagem em soluções alcoólicas, entretanto este teste foi conduzido, devido ao observado na seção 6.2.1.1, em que a formação do produto intermediário **1L** foi constatada em solvente alcoólico, mesmo tendo o mesmo mecanismo reacional do produto intermediário **3P**.

Com estes resultados apresentados foi realizada a síntese do produto intermediário **3P** no solvente DMF e bases KOH, NaOH e NaH, com amostragens do meio reacional ao longo do tempo de reação para se determinar a conversão dos reagentes e rendimento do produto intermediário **3P**. Também foi realizada a síntese deste produto no solvente etanol e base KOH para testar a viabilidade da transposição para a síntese em fluxo no microrreator capilar, entretanto não foi detectado o produto em estudo nas análises em HPLC-UV, possivelmente

por conta do baixo rendimento, portanto estes resultados não serão apresentados. A Figura 43 apresenta os resultados de rendimento do produto intermediário **3P** no processo batelada, no solvente DMF e bases KOH, NaOH e NaH. As reações realizadas com a base KOH foram mantidas por 3h para se determinar qual seria o tempo necessário para se atingir o maior rendimento e estabilização da curva de rendimento, até então desconhecidos. Após confirmação de que este tempo seria de 2 h, os ensaios seguintes, realizados com as bases NaH e NaOH foram mantidos por 2 h. Os resultados mostram que o maior rendimento do produto é atingido com a base KOH (51,9%), enquanto o rendimento atingido com as bases NaH e NaOH são próximos, 15,4 e 17,3%, respectivamente, confirmando que o maior rendimento do produto seria atingido usando a base KOH, conforme os resultados observados no estudo de base e solvente apresentado anteriormente.

Figura 43 – Influência da base promotora da reação no rendimento do produto intermediário **3P** (método alternativo) no processo batelada durante 2 h de tempo reacional reação ($C_{IP} = 0,20$ M; $C_7 = 0,20$ M; $C_{base} = 0,20$ M; solvente: DMF; $t = 2$ h, $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura



Fonte: Autoria própria e Silva; Palma, 2021

6.1.3.2 Aplicação de planejamento multivariado na síntese do produto intermediário **3P** (método alternativo) no processo batelada

Após definido que o melhor solvente e a melhor base para se promover a reação de formação do produto intermediário **3P** são o DMF e KOH, foi aplicado um planejamento multivariado, considerando três variáveis definidas como as principais para se atingir maiores

valores de rendimento: o tempo de desprotonação do reagente **1P** por ação da base KOH, concentração do reagente 4-fluorbenzaldeído (**7**) e da base KOH. Estas variáveis foram definidas como as mais importantes a partir dos estudos da síntese dos produtos intermediários **1L** e **3L**, que serão apresentados nas seções 6.3.1.3 e 6.3.3.2, respectivamente.

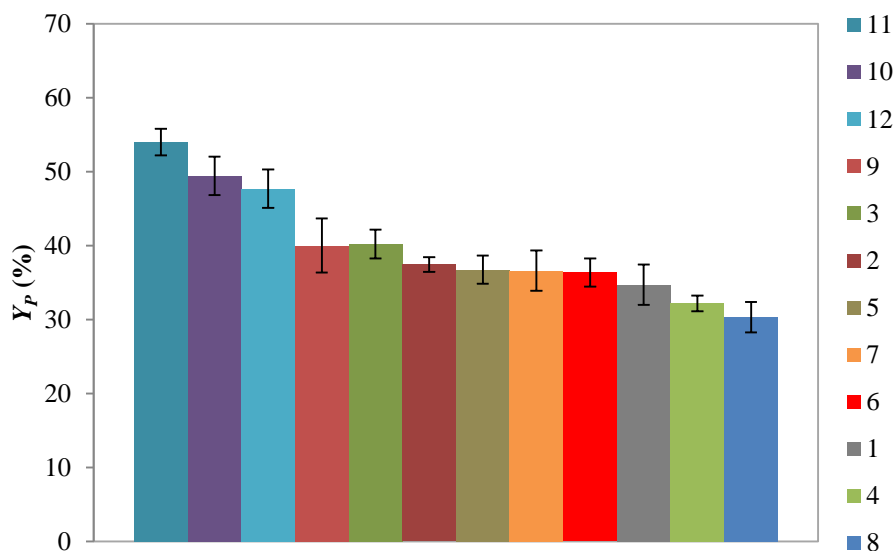
O planejamento multivariado constando as variáveis estudadas e seus níveis é apresentado na Tabela 8. A Figura 44 apresenta o rendimento final de cada ensaio após as 2 h de reação.

Tabela 8 - Relação dos ensaios propostos para o planejamento multivariado na síntese do produto intermediário **3P** (método alternativo) no processo batelada

Nome do ensaio	Concentração de KOH (M)	Concentração de 4-fluorbenzaldeído (M)	Tempo de desprotonação
1	0,20	0,20	10 min
2	0,20	0,20	20 min
3	0,20	0,20	30 min
4	0,20	0,40	10 min
5	0,20	0,40	20 min
6	0,20	0,40	30 min
7	0,40	0,20	10 min
8	0,40	0,20	20 min
9	0,40	0,20	30 min
10	0,40	0,40	10 min
11	0,40	0,40	20 min
12	0,40	0,40	30 min

Fonte: Autoria própria.

Figura 44 – Rendimentos finais do produto intermediário **3P** (método alternativo) no processo batelada obtido a partir do planejamento multivariado ($C_{IP} = 0,20$ M; Solvente: DMF; $t = 2$ h, $T = 25^{\circ}\text{C}$). C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura. Obs.: Os números da legenda correspondem aos nomes dos ensaios descritos na Tabela 8



Fonte: Autoria própria e Silva; Palma, 2021

A Figura 44 mostra que os três maiores rendimentos de **3P** foram obtidos na concentração de 0,40 M de base KOH e reagente **7**, independentemente do tempo de desprotonação, tendo em vista que as barras de erro se sobrepõem nos ensaios 10, 11 e 12, ou seja, este estudo indica que para se atingir maiores rendimentos nesta reação, é necessário dobrar a concentração de base e do reagente **7** e da base KOH. Os rendimentos observados para as três condições citadas são, respectivamente, 49,5, 47,7 e 54%. Em relação aos outros rendimentos obtidos no estudo é observado que, também por conta das barras de erro se sobreporem, é possível afirmar que as condições estabelecidas entre os ensaios 1 a 9 indicam que as mesmas não interferem no rendimento final.

6.1.4 Síntese do produto intermediário **4P**

6.1.4.1 Informações preliminares sobre a síntese do produto intermediário **4P**

A reação de formação do produto intermediário **4P** é descrita na literatura (MADIVADA *et al.*, 2009), e sugere o tempo de reação de 13 h, no solvente metanol, e piperidina como base promotora da reação, para se obter rendimento de 50%. Para a realização

desta etapa, foi utilizada a pirrolidina como a base promotora da reação, por conta da piperidina ter sua comercialização rigidamente controlada no país (BRASIL, 1998, 2020).

O mecanismo reacional da síntese do produto intermediário **4P**, a condensação de Knoevenagel, já foi amplamente estudado nos últimos anos pelo grupo de pesquisa (PINHEIRO et al., 2018; SILVA et al., 2019, 2022; SILVA; PALMA, 2022). Por conta disso, o estudo da reação de formação do produto intermediário **4P** iniciou-se já visando sua transposição para a síntese em fluxo no microrreator capilar, reduzindo a sua concentração de meio reacional de 1,65 M, visto na literatura (MADIVADA et al., 2009) (sendo: **3P** = 0,49 M; tiazolidina-2,4-diona (**3**) = 0,55 M; piperidina = 0,61 M), para 0,084 M (sendo **3P** e **3** = 0,03 M; pirrolidina = 0,024 M. Esta concentração foi determinada a partir do estudo apresentado na seção 6.1.4.2), tendo em vista que estudos anteriores indicavam que esta concentração seria a ideal para evitar a presença de sólidos no meio reacional (PINHEIRO et al., 2018; SILVA et al., 2019, 2022; SILVA; PALMA, 2022). Os ensaios preliminares no processo batelada visaram determinar o método analítico por HPLC-UV do produto **4P** e o tempo necessário para se atingir a estabilização da curva de rendimento e, a partir destes resultados, aplicar o planejamento fatorial 3^2 , para se determinar qual concentração de base promotora e qual solvente dentre os escolhidos levaria ao maior rendimento do produto de interesse. A confirmação da identidade do produto intermediário **4P** foi feita em HPLC-MS e é apresentada no Anexo 5.

*6.1.4.2 Aplicação de planejamento fatorial 3^2 e estudo de solvente na síntese do produto intermediário **4P** no processo batelada*

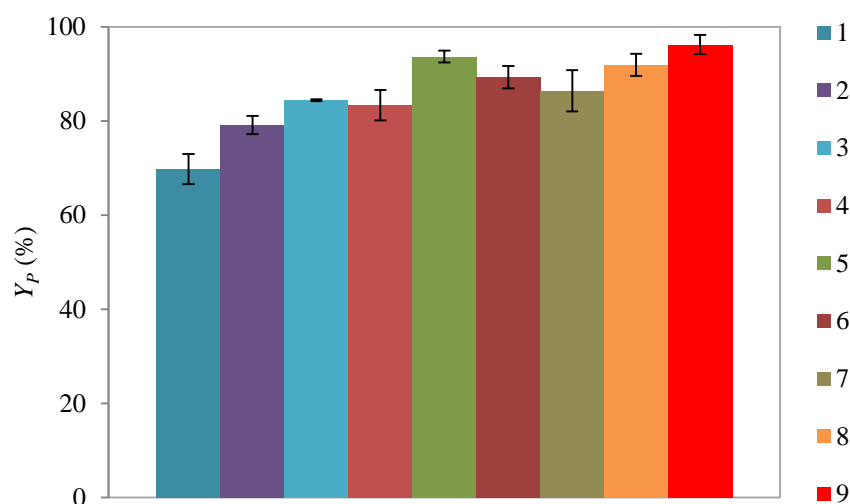
O estudo em batelada da síntese do produto intermediário **4P** foi realizado aplicando um planejamento fatorial 3^2 , com duas variáveis em três níveis. As variáveis escolhidas foram definidas com base nos estudos anteriores já publicados (PINHEIRO et al., 2018; SILVA et al., 2019), solventes e concentração de base promotora da reação. A Tabela 9 apresenta as condições dos ensaios planejados, enquanto a Figura 45 apresenta o rendimento final do produto intermediário **4P** obtido neste estudo após 3 h de reação.

Tabela 9 - Relação dos ensaios realizados para o planejamento fatorial 3^2 na síntese do produto intermediário **4P** no processo batelada

Nome do ensaio	Concentração de Pirrolidina (M)	Solvente
1	0,018	Metanol
2	0,024	Metanol
3	0,030	Metanol
4	0,018	Etanol
5	0,024	Etanol
6	0,030	Etanol
7	0,018	<i>n</i> -Propanol
8	0,024	<i>n</i> -Propanol
9	0,030	<i>n</i> -Propanol

Fonte: Autoria própria.

Figura 45 – Rendimentos finais do produto intermediário **4P** no processo batelada obtido a partir do planejamento fatorial 3^2 (C_{3P} , $C_3 = 0,030$ M; $t = 3$ h). C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada. Obs.: Os números da legenda correspondem aos nomes dos ensaios descritos na Tabela 9



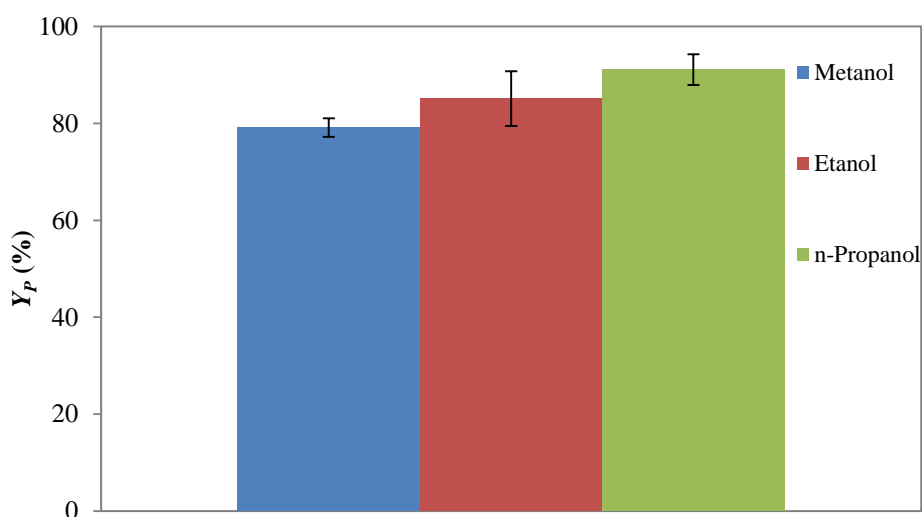
Fonte: Autoria própria e Silva; Palma, 2021

Observa-se que as condições dos ensaios em que foram observados os maiores rendimentos foram os ensaios 5, 6, 7, 8 e 9, com 93,7, 89,3, 86,4, 91,9 e 96,2%, respectivamente, entretanto, por conta das barras de erro se sobreporem, é possível afirmar que estes ensaios atingiram valores de rendimento estatisticamente iguais.

Em seguida foi realizado o estudo para se determinar o melhor solvente dentre os três estudados, metanol, etanol e *n*-propanol. Este estudo foi realizado com 0,80 eq. de pirrolidina e, para eliminar a variável da temperatura do meio reacional, todos os ensaios foram realizados a 65°C, pois esta é a temperatura em que os três solventes conseguem atingir sem a necessidade de pressurização do meio reacional. A Figura 46 apresenta o resultado de rendimento do

produto intermediário **4P** para este estudo. Observa-se os rendimentos de 79,1; 85,1 e 91,1% nos solventes metanol, etanol e n-propanol, respectivamente. Embora o rendimento em n-propanol tenha sido o maior observado, a barra de erro em etanol e n-propanol se sobrepõem, indicando que ambos os solventes atingem rendimentos estatisticamente iguais. Por conta disto, para o estudo seguinte, a transposição desta síntese para o microrreator em fluxo foi realizada no solvente etanol por ser mais sustentável (BYRNE et al., 2016).

Figura 46 - Rendimento final do produto intermediário **4P** no processo batelada nos solventes metanol, etanol e n-propanol e temperatura de 65°C (C_{3P} , $C_3 = 0,030$ M; $C_{pirrolidina} = 0,024$ M; solvente: etanol, $t = 3$ h, $T = 65^\circ\text{C}$). C = concentração total do meio reacional, t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura

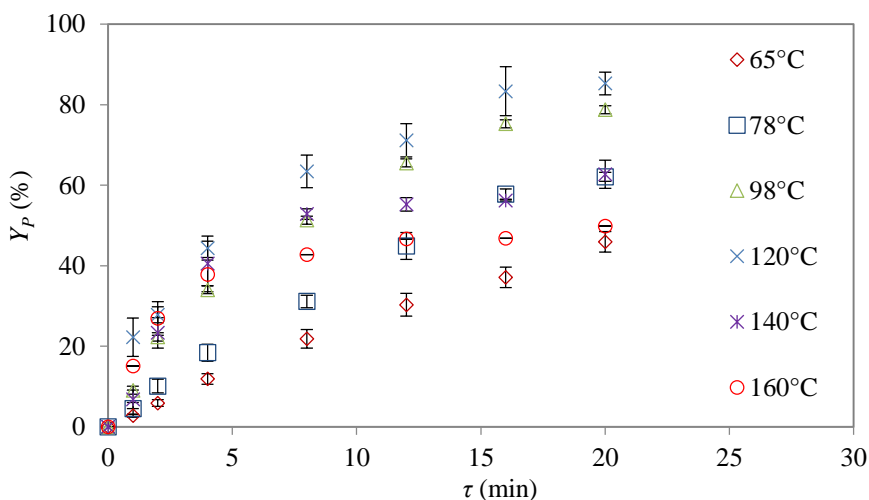


Fonte: Autoria própria e Silva; Palma, 2021

6.1.4.3 Síntese do produto intermediário **4P** em fluxo no microrreator capilar

Após definido no processo batelada que a melhor composição de meio reacional, em termos de concentração de pirrolidina e solvente, a síntese do produto intermediário **4P** foi transposta para a síntese fluxo no microrreator capilar. Os ensaios foram realizados no solvente etanol, na concentração de 0,024 M de pirrolidina, nos tempos médios de residência (τ) 1, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 min e nas temperaturas de 65, 78, 100, 120, 140 e 160°C. A Figura 47 apresenta o rendimento do produto intermediário **4P** em fluxo no microrreator capilar em função de τ e T . Embora o rendimento de **4P** tenha sido favorecido pelo aumento de T e τ , atingindo o valor máximo de rendimento de 85% para $\tau = 20$ min e $T = 120^\circ\text{C}$, a partir de 140°C o rendimento diminuiu, sugerindo que a reação deixou de ser seletiva e que houve degradação de **3P** e/ou formação de subprodutos.

Figura 47 - Rendimento do produto intermediário **4P** no microrreator capilar em função de τ e T ($C_{3P} = 0,030$ M; $C_{pirrolidina} = 0,024$ M; solvente: etanol). C = concentração molar, T = temperatura τ = tempo médio de residência no microrreator.

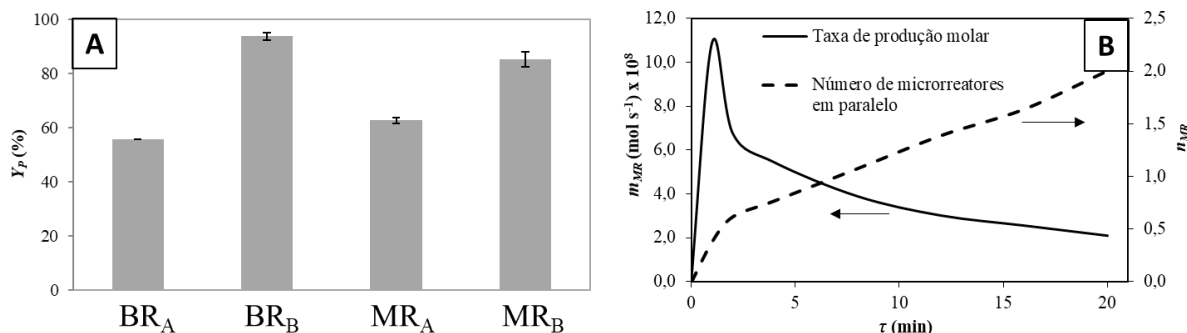


Fonte: Autoria própria.

6.1.4.1 Comparação do rendimento e da produção molar do produto intermediário **4P** nos processos batelada e em fluxo no microrreator capilar e determinação do número de microrreatores em paralelo

Na Figura 48A são comparados os rendimentos obtidos nos processos em batelada para $t = 20$ min (55,7%) e 180 min (93,7%), a $T = 78^\circ\text{C}$, e em fluxo para $\tau = 20$ min, a $T = 78^\circ\text{C}$ (62,6%) e 120°C (85,3%). A síntese em fluxo apresentou-se mais favorável ao rendimento de **4P** em $T = 78^\circ\text{C}$, enquanto se comparados os melhores rendimentos em ambos os processos, a batelada em $t = 180$ min e $T = 78^\circ\text{C}$ apresentou rendimento parcialmente maior que a síntese em fluxo em $\tau = 20$ min e $T = 120^\circ\text{C}$. A Figura 48B apresenta a influência do tempo médio de residência (τ) na produção molar (\dot{m}_{MR}) e no número de microrreatores em paralelo (n_{MR}). Foram considerados para o processo em batelada um volume de meio reacional de 20 mL, $t = 180$ min, $T = 78^\circ\text{C}$; nestas condições a produção média é de $4,2 \times 10^{-8} \text{ mol s}^{-1}$. No cálculo da produção no processo em fluxo foi utilizado um microrreator, de volume 1 mL, e $T = 120^\circ\text{C}$. Pode-se ver que \dot{m}_{MR} diminui com o aumento de τ , atingindo $2,0 \times 10^{-8} \text{ mol s}^{-1}$ em $\tau = 20$ min (que corresponde ao maior rendimento observado). O menor valor de n_{MR} (0,38) foi obtido para $\tau = 1$ min, porém o rendimento foi insatisfatório (22%). Por outro lado, para $\tau = 20$ min foi obtido maior rendimento (85%), com $n_{MR} = 2,0$, e esta condição operacional é considerada melhor para a produção em fluxo.

Figura 48 - (A) Rendimento do produto intermediário **4P**. Processo batelada = BR_A: $T = 78^{\circ}\text{C}$, $t = 20$ min; BR_B: $T = 78^{\circ}\text{C}$, $t = 180$ min. Processo em fluxo no microrreator = MR_A: $T = 78^{\circ}\text{C}$, $\tau = 20$ min; MR_B: $T = 120^{\circ}\text{C}$, $\tau = 20$ min. (B) Influência do tempo médio de residência (τ) na produção molar (\dot{m}_{MR}) no processo em fluxo e no número de microrreatores em paralelo (n_{MR}), com volume de 1 mL para se atingir a mesma produção de **4P** no processo batelada ($4,17 \times 10^{-8} \text{ mol s}^{-1}$) após 180 min em $T = 120^{\circ}\text{C}$. $t =$ tempo de reação no processo batelada, $T =$ temperatura.



Fonte: Autoria própria.

6.1.5 Síntese do produto Pioglitazona

A reação de formação do produto Pioglitazona é descrita na literatura (MADIVADA *et al.*, 2009), que sugere um tempo de reação de 3 h e 30 min em um sistema com 1,70 eq. de borohidreto de sódio, 0,40 eq. de dimetilglioxima em uma mistura de solventes contendo metanol, DMF e solução 4% de hidróxido de sódio nitrato de cobalto(II) hexahidratado para se obter rendimento de 98%.

O projeto inicial previa o uso de hidrazina modohidratada em etanol sob atmosfera de O₂ para a hidrogenação do produto intermediário **4P**, conforme sugerido na literatura (MENGES; BALCI, 2014). Este sistema apresentava-se ideal para a transposição desta síntese do processo batelada para a síntese em fluxo, pois não apresentava sólido no meio reacional, além de ser realizado em um solvente verde (BYRNE *et al.*, 2016). Entretanto, após uma série de tentativas utilizando este procedimento, não foi observada a formação do produto de interesse, fato este que frustraram os planos de transposição desta reação para a síntese em fluxo, pois a maioria dos procedimentos de hidrogenação descritos na literatura incluem o uso de algum tipo de metal de transição, como paládio, platina-tungstênio, níquel ou cobalto, conforme sugerido na síntese da Pioglitazona (CHEN *et al.*, 2023; GOWDA; GOWDA, 2000; LI; LIU, 2022; MADIVADA *et al.*, 2009) em suspensão ou em leito fixo. Embora a literatura descreva uma série de procedimentos para realização de hidrogenação em fluxo contínuo, especialmente utilizando a matriz de leito fixo (MASSON *et al.*, 2022; MORENO-

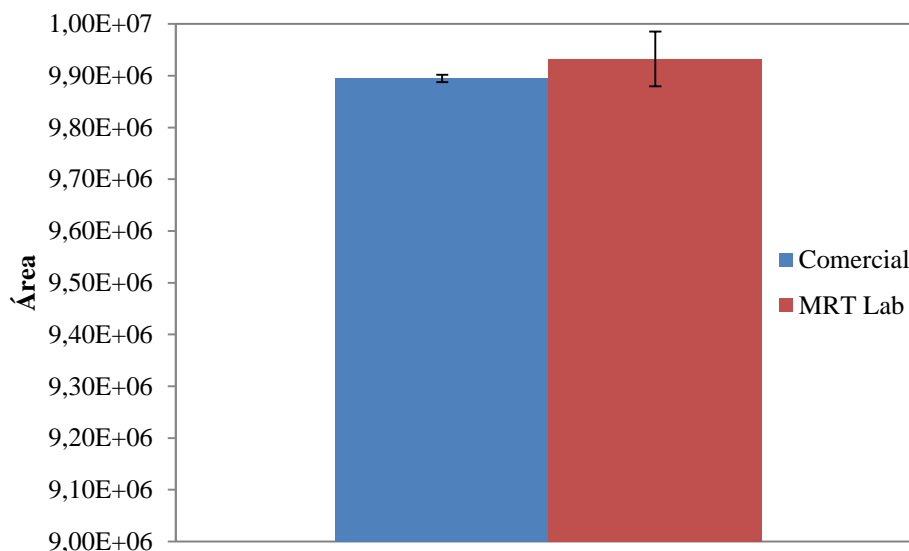
MARRODAN et al., 2018; WANG et al., 2022), o equipamento utilizado neste projeto não era o ideal para a realização deste tipo de síntese. Deste modo, não foi possível realizar a transposição para a síntese em fluxo, mantendo-a em batelada.

Os testes preliminares foram realizados com o catalisador de Pearlman, além do procedimento apresentado na literatura (LI et al., 2003; MADIVADA et al., 2009), entretanto, em ambos os casos não foi observada a formação do produto de interesse. Neste caso, foi aplicado o procedimento descrito por (Gowda; Gowda, 2000), utilizando paládio sob carbono em suspensão, sob atmosfera de H₂ e ácido acético como solvente reacional. Foi necessário construir um reator batelada para alta pressão, conforme apresentado na Figura 17 da seção 5.1.2.

A partir das análises de HPLC-MS, observou-se que após 24 h não havia mais a presença do reagente **4P**, tendo sido identificado apenas o produto de interesse. Por razões de segurança, não foi realizada amostragem em função do tempo reacional para esta etapa de síntese. A confirmação da identidade do produto Pioglitazona é apresentada no Anexo 6.

A fim de comparação, foi adquirido o fármaco Pioglitazona, produzido e comercializado pelo laboratório Novamed[®]. A Figura 49 apresenta a comparação da média das áreas obtidas por análise de HPLC-UV da Pioglitazona produzida no MRT-Lab com a Pioglitazona comercial. A Pioglitazona produzida no MRT Lab apresentou área relativa de $9,93 \times 10^6$, com 91,5% de pureza, enquanto a comercial apresentou área média de $9,89 \times 10^6$ e 95,5% de pureza. Embora as amostras possuíssem cores diferentes (a comercial tem coloração branca, enquanto a produzida no MRT-Lab possui coloração amarelada), os resultados indicam que o método de purificação foi efetivo e que a amostra produzida no MRT-Lab é semelhante a comercial em termos de pureza. O Anexo 7 apresenta o cromatograma de ambas as amostras.

Figura 49 - Comparação da Pioglitazona produzida no MRT-Lab com a Pioglitazona comercial (Novamed®). $t_{retenção} = 5,856$ min (comercial), $5,853$ (MRT-Lab). $t_{retenção}$ = tempo de retenção da amostra em análise de HPLC-UV.



Fonte: Autoria própria.

6.1.6 Síntese *one-pot* de intermediários do fármaco Pioglitazona

Foi realizada a síntese *one-pot* do produto intermediário **3P**, a partir da síntese do produto intermediário **2P**, conforme demonstrada na rota de síntese da literatura (MADIVADA *et al.*, 2009). Não foi realizada amostragem em função do tempo reacional, pois não foi desenvolvida uma solução inibidora para a reação de formação de **3P** nesta metodologia. O rendimento final do produto intermediário **3P** foi de 3,3% e a comprovação de sua identidade, realizada por análise de HPLC-MS, é apresentada no Anexo 8. Não houve o aprofundamento no estudo desta metodologia, pois tão logo ela foi realizada, o método de síntese do produto intermediário **3P** foi modificado, conforme apresentado anteriormente a partir da seção 6.1.3.

Também foi aplicada a metodologia de *one-pot* para a síntese do produto intermediário **4P**, a partir da síntese do produto intermediário **3P** (método alternativo), entretanto o produto de interesse não foi observado. É possível que a presença de água, um dos subprodutos da síntese do produto intermediário **3P**, e outros subprodutos tenham interferido na reação de formação de **4P**, que ocorre pelo mecanismo de condensação de *Knoevenagel*.

6.1.7 Parâmetros cinéticos e termodinâmicos das reações intermediárias da síntese do fármaco Pioglitazona

A Tabela 10 mostra os valores da constante da taxa de reação de segunda ordem (k), energia de ativação (Ea), entropia (ΔS^\ddagger), entalpia (ΔH^\ddagger) e energia livre de Gibbs (ΔG^\ddagger) para **3P** e **4P**, sendo os valores apresentados de **3P** apenas no processo batelada. Foi verificado que o valor de k aumenta conforme o aumento da temperatura do meio reacional, sendo a sensibilidade maior em **4P**, que é observado o aumento de 10,7 vezes maior na temperatura de 140°C em comparação com 65°C. Considerando que ΔG^\ddagger possui contribuição entálpica (ΔH^\ddagger) e entrópica ($T\Delta S^\ddagger$) e que no estado de transição a entalpia é praticamente constante, o aumento de ΔG^\ddagger com a temperatura poderia estar relacionado diretamente com a variação de $T\Delta S^\ddagger$. Os valores positivos de ΔG^\ddagger indicam que a reação necessita de energia para atingir o estado de transição (ou seja, a reação não é espontânea), e os valores negativos de $T\Delta S^\ddagger$ indicam que as reações estudadas são bimoleculares e termodinamicamente favoráveis.

Tabela 10 - Parâmetros cinéticos e termodinâmicos da síntese dos produtos intermediários **3P** e **4P**. Constante de segunda ordem da taxa de reação (k); Energia de ativação (Ea); variação de entalpia (ΔH^\ddagger), variação de energia livre de Gibbs (ΔG^\ddagger) e produto da temperatura pela variação de entropia ($T\Delta S^\ddagger$) estimados para o estado de transição.

3P						
Parâmetro [unit]	Temperatura (°C)					
	25	30	40	50	60	
$k \times 10^2$ [M ⁻¹ s ⁻¹] ^{a)}	1,12	1,03	1,28	1,42	1,69	
Ea [kJ mol ⁻¹] ^{c)}	13,3					
ΔH^\ddagger [kJ mol ⁻¹] ^{d)}	10,7					
$T\Delta S^\ddagger$ [kJ mol ⁻¹] ^{d)}	-56,6	-57,6	-59,5	-61,4	-63,3	
ΔG^\ddagger [kJ mol ⁻¹] ^{e)}	67,2	68,7	70,6	72,5	74,5	
4P						
Parâmetro [unit]	Temperatura (°C)					
	65	78	98	120	140	160
$k \times 10^2$ [M ⁻¹ s ⁻¹] ^{a)}	2,14	5,93				
$k \times 10^2$ [M ⁻¹ s ⁻¹] ^{b)}	2,93	5,01	9,3	11,1	31,4	30,7
Ea [kJ mol ⁻¹] ^{c)}	30,9					
ΔH^\ddagger [kJ mol ⁻¹] ^{d)}	27,8					
$T\Delta S^\ddagger$ [kJ mol ⁻¹] ^{d)}	-67,6	-70,2	-74,2	-78,6	-82,6	-86,6
ΔG^\ddagger [kJ mol ⁻¹] ^{e)}	92,5	95,0	98,8	103,1	106,9	110,7

Valores calculados a partir dos dados experimentais obtidos a) no processo em batelada, b) no processo em fluxo. c) Valor estimado através do modelo de Arrhenius; d) Valores estimados através do modelo de Eyring; e) Valor calculado pela equação de Gibbs-Helmholtz ($\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$).

Fonte: Autoria própria.

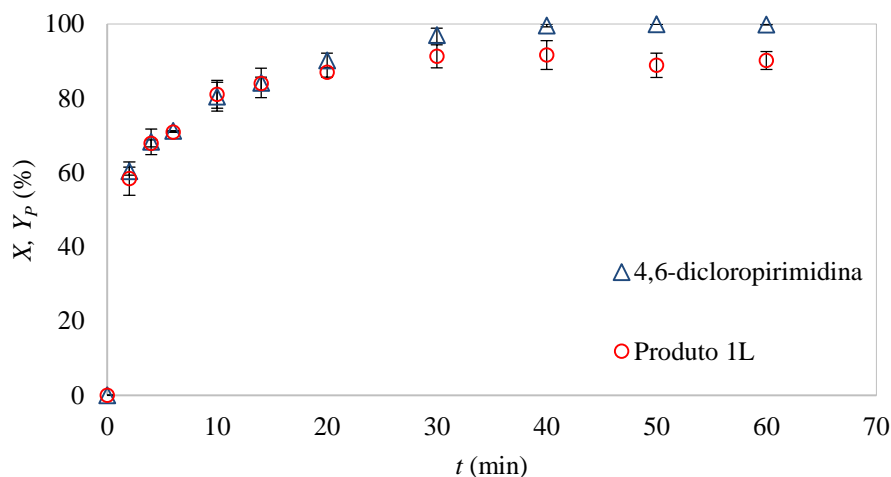
6.2 ESTUDO DO PROCESSO DE SÍNTESE DO FÁRMACO LOBEGLITAZONA

6.2.1 Síntese do produto intermediário **1L**

6.2.1.1 *Reprodutibilidade da síntese do produto intermediário **1L***

A síntese do produto intermediário **1L** é descrita na literatura (LEE et al., 2005) utilizando o solvente DMF, base NaH (2,00 eq.) em 0,894 M e temperatura ambiente, atingindo o rendimento de 81% após 3h de reação. Após definido os métodos de análise em HPLC-UV, foram realizados ensaios em triplicata, conforme o procedimento descrito na literatura, e os resultados de conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina (**4**) e rendimento do produto intermediário **1L** são apresentados na Figura 50. Foi verificado que a conversão do reagente atinge 100% aos 40 min de reação e o rendimento do produto atinge uma condição estável em 30 min de reação, quando atingiu rendimento final de 91%. A análise em HPLC-MS comprova a identidade do produto **1L** e é apresentada no Anexo 9. É possível que esta diferença de rendimento e tempo de reação observado entre a literatura (LEE et al., 2005) e o experimental seja devido à falta de um estudo de amostragem em função do tempo reacional na literatura e seu rendimento final pode ter sido calculado após as etapas de purificações, que sabidamente ocorrem perdas de massa de produto durante os processos

Figura 50 - Conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina e rendimento do produto intermediário **1L** ($C_4 = 0,223$ M; $C_5 = 0,223$ M; $C_{NaH} = 0,446$ M. solvente: DMF; base: NaH; $T = 25^\circ\text{C}$). $C =$ concentração do meio reacional, $T =$ temperatura.



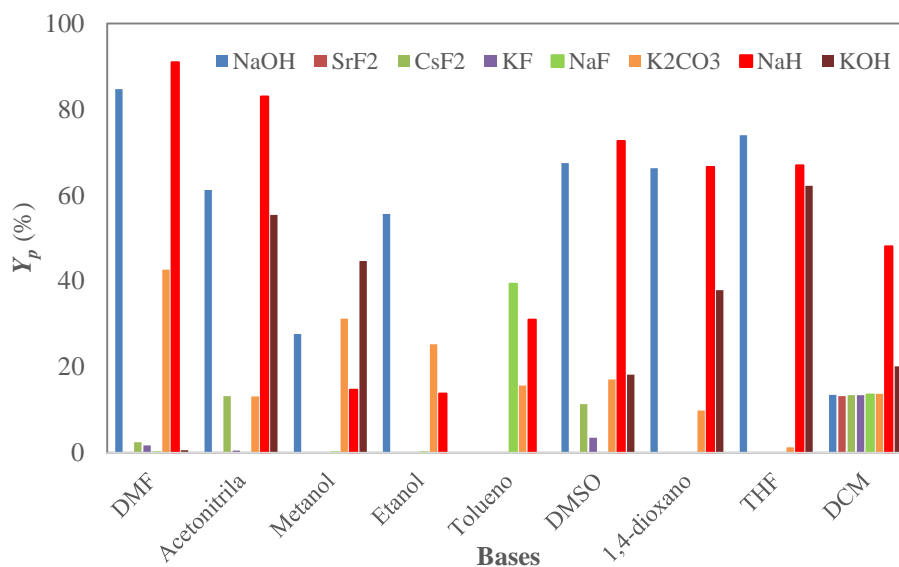
Fonte: Autoria própria.

6.2.1.1 Estudo de bases e solventes reacionais para a síntese do produto intermediário **1L** no processo batelada

Baseado nos estudos realizados na síntese do fármaco Pioglitazona, apresentados a partir da seção 6.1, foi realizado o estudo no processo batelada para testar novos solventes e bases, mirando a solubilização total do meio reacional da síntese do produto intermediário **1L**, condição necessária para a transposição desta síntese para o processo em fluxo no microrreator capilar. Inicialmente foram testadas bases orgânicas por serem solúveis em solventes orgânicos, no entanto, as bases orgânicas são muito fracas para promover a desprotonação das hidroxilas (CLAYDEN *et al.*, 2012), e, conforme esperado, não foi observada a formação do produto de interesse. As bases orgânicas testadas foram a pirrolidina, di-n-butilamina e trietilamina.

Para o prosseguimento deste estudo, foram utilizadas as bases inorgânicas NaOH, SrF₂, CsF, KF, NaF, K₂CO₃, NaH, e KOH, na concentração de 0,077 M. Os solventes testados foram o DMF, acetonitrila, metanol, etanol, tolueno, DMSO, 1,4-dioxano, THF e diclorometano (DCM). A Figura 51 apresenta o rendimento do produto intermediário **1L** após 1 h de reação nos solventes e bases apresentados. Os resultados obtidos apresentaram quatro composições promissoras para se conduzir esta reação: (A) DMF/NaH (91%), (B) acetonitrila/NaH (83%), (C) THF/NaH (67%) e (D) metanol/KOH (44,7%), entretanto, apenas as combinações C e D visivelmente não apresentaram sólidos no meio reacional, portanto passível de serem transposta para a síntese em fluxo no microrreator capilar.

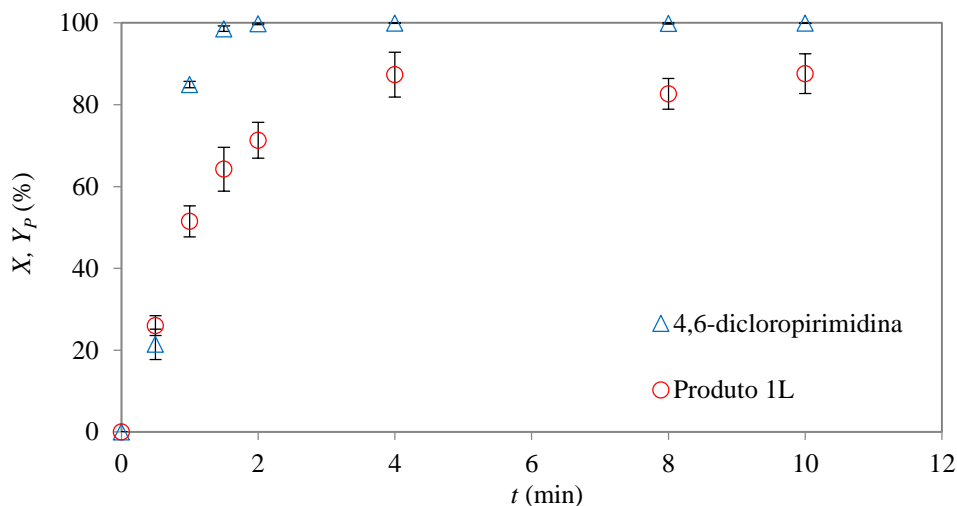
Figura 51 - Rendimento do produto intermediário **1L** no processo batelada para diversos solventes e bases promotoras da reação ($C_4 = 0,077$ M; $C_5 = 0,077$ M; $C_{base} = 0,077$ M; $t = 1$ h; $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura



Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

Baseado no método previamente descrito na literatura (LEE et al., 2005), esta reação foi realizada nas mesmas condições, porém no solvente acetonitrila, tendo em vista que o mesmo é um dos solventes sugeridos como substituto ao DMF (BYRNE *et al.*, 2016). Os resultados presentes na Figura 52 mostram que esta reação atingiu uma conversão de 99% a partir de $t = 120$ s e um rendimento de 87% a partir de 4 min, isto é, um tempo de reação 45 vezes menor num solvente menos tóxico e de menor custo.

Figura 52 - Conversão (X) do reagente **4** e rendimento (Y_p) do produto intermediário **1L** em função do tempo reacional no solvente acetonitrila. (C_4 e $C_5 = 0,223$ M; $C_{NaH} = 0,446$ M, $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura

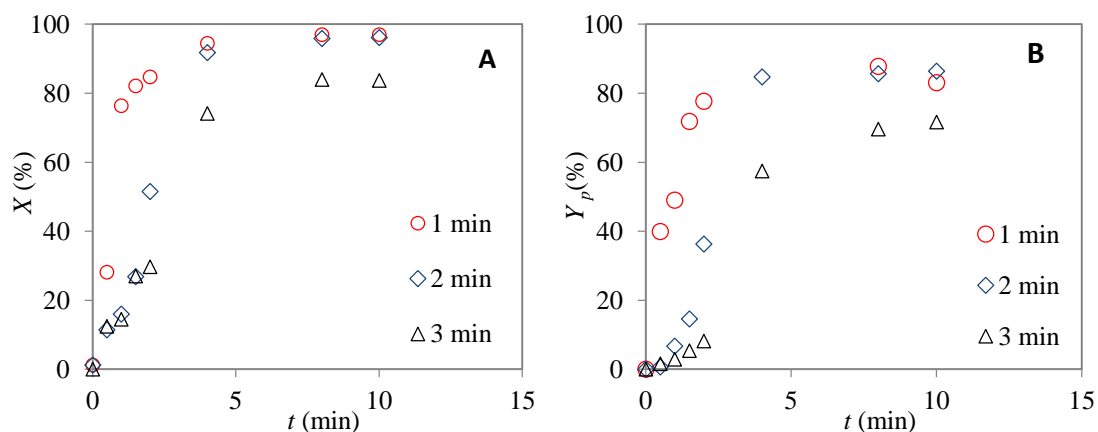


Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

6.2.1.1 Alimentação do NaH ao reator batelada na síntese do produto intermediário **1L**

Após definido a acetonitrila como solvente para a síntese do produto intermediário **1L**, foi realizado um estudo da forma de alimentação do NaH ao reator batelada, com o objetivo de verificar qual forma de alimentação poderia promover a maior conversão dos reagentes e rendimento do produto. Foram definidas três maneiras de se alimentar o reator: **(A)** solubilização dos reagentes em acetonitrila e adição de NaH (1,00 eq. e 2,00 eq.) em quatro partes iguais dentro de 1 min; **(B)** solubilização dos reagentes em acetonitrila e adição de NaH (1,00 eq. e 2,00 eq.) em quatro partes iguais dentro de 2 min; **(C)** solubilização dos reagentes em acetonitrila e adição de NaH (1,00 eq. e 2,00 eq.) em quatro partes iguais dentro de 3 min. A Figura 53A apresenta a conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina e a Figura 53B rendimento do produto com 1,00 eq. de NaH adicionado ao meio reacional em 1, 2 e 3 min.

Figura 53 - **(A)** Conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina para a adição de 1,00 eq. de NaH em 1, 2 e 3 min; **(B)** Rendimento do produto intermediário **1L** para a adição de 1,00 eq. de NaH em 1, 2 e 3 min no processo batelada (Solvente: acetonitrila; $C_4 = 0,223$ M; $C_5 = 0,223$ M; $C_{NaH} = 0,223$ M; base: NaH; n_{eq} base = 1,00; $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; n_{eq} base = número de equivalentes da base; T = temperatura



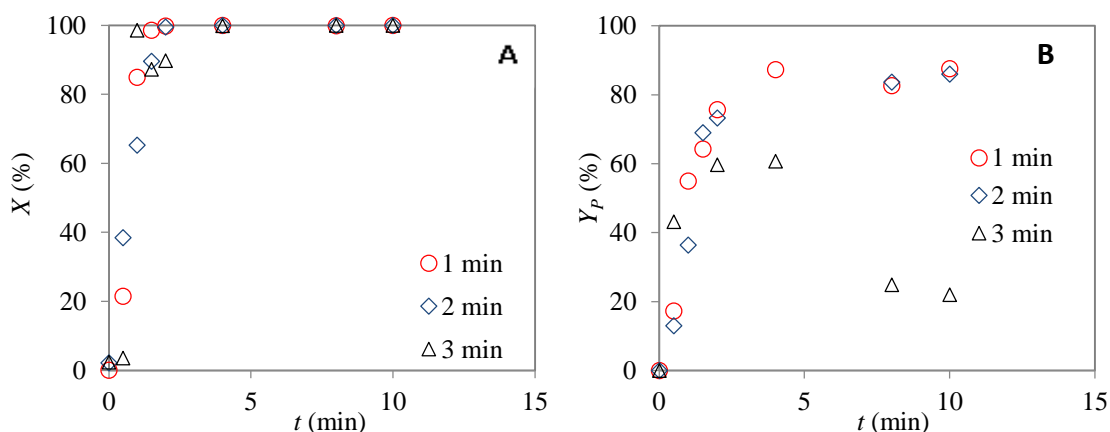
Fonte: Autoria própria.

A Figura 53A mostra que a conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina (**4**) atinge 97% em 8 min de reação com a adição do NaH em 1 min e 2 min, enquanto em 3 min de tempo de adição de NaH, a conversão atinge seu maior valor, 83%, em 8 min de reação. Outra informação importante que se apresenta neste estudo é a velocidade desta conversão. Para a adição em 1 min, a velocidade da reação é de $0,124 \text{ mol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$, enquanto em 2 e 3 min de tempo de adição do NaH a velocidade da reação é $0,049$ e $0,051 \text{ mol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$, respectivamente, o que indica maior conversão do reagente no início da reação em 1 min de tempo de adição do NaH.

A Figura 53B mostra que o rendimento do produto intermediário **1L** atinge 87% em 8 min de reação para tempos de adição do NaH de 1 e 2 min, enquanto que para 3 min de adição de NaH, o rendimento atinge seu maior valor, 71%, em 10 min de reação. As características observadas na conversão do reagente são observadas no rendimento do produto, principalmente o fato da velocidade da reação ser maior para 1 min de adição do NaH. Este fato pode ser explicado com a maior concentração de NaH no meio reacional para o tempo de adição de 1 min, e desta forma também se atinge o rendimento máximo em menor tempo.

A seguir será apresentada a conversão do reagente **4** e rendimento do produto intermediário **1L** com 2,00 eq. de NaH adicionado ao meio reacional dentro de 1, 2 e 3 min apresentados, respectivamente, nas Figuras 54A e B.

Figura 54 - (A) Conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina (**4**) para a adição de 2,00 eq. de NaH em de 1, 2 e 3 min; (B) Rendimento do produto intermediário **1L** para a adição de 2,00 eq. NaH em 1, 2 e 3 min no processo batelada (Solvente: acetonitrila; $C_4 = 0,223$ M; $C_4 = 0,223$ M; $C_{NaH} = 0,223$ M; $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; n_{eq} base = número de equivalentes da base; T = temperatura



Fonte: Autoria própria.

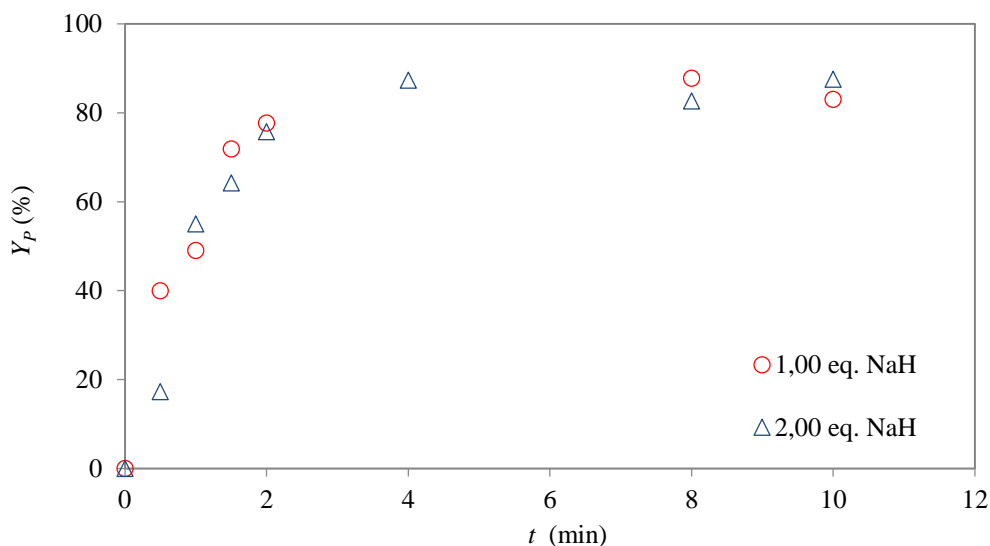
A Figura 54A mostra que a conversão do reagente **4** atinge 98% em 1 min e 30 s de reação para a adição do NaH em 1 min, enquanto em 2 e 3 min de tempo de adição de NaH, a conversão atinge seus maiores valores, 98 e 99%, em 2 e 4 min de reação, respectivamente. Para tempo de adição de 1 min, a velocidade da reação é de $0,172 \text{ mol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$, enquanto para 2 e 3 min a velocidade da reação é $0,170$ e $0,0158 \text{ mol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$, respectivamente, dado este que indica maior conversão do reagente no início da reação em 1 min de tempo de adição do NaH.

A Figura 54B mostra que o rendimento do produto intermediário **1L** atinge 87% em 4 e 10 min de reação no tempo de adição do NaH de 1 e 2 min, respectivamente, enquanto em 3

min de adição de NaH, o rendimento atinge seu maior valor, 60%, em 4 min de reação e em seguida o rendimento cai para 22% em 10 min de reação.

O estudo de adição do NaH no meio reacional indicou que os melhores resultados em termos de tempo de conversão do reagente e formação do produto e quantidade em massa do produto gerado foi a adição do NaH em quatro partes iguais em 1 min tanto com 1,00 eq., quanto com 2,00 eq. de base NaH. A maior diferença nos dados observados foi em relação a conversão do reagente, tendo em vista que é possível dizer que ele é completamente consumido com 2,00 eq. de NaH, independentemente do tempo de adição da base, por conta de ter efetivamente maior concentração de NaH para desprotonação do 4-metoxifenol (**5**). Entretanto, o rendimento máximo atingido não teve variação com 1,00 e 2,00 eq. de NaH no meio reacional, já que em ambos os casos o rendimento máximo observado foi de 87%. No entanto, foi observada a influência no tempo para se atingir o rendimento máximo, que foi de 8 min para 1,00 eq. de NaH, enquanto com 2,00 eq. o tempo foi de 4 min para se atingir o mesmo rendimento. A influência do n_{eq} de NaH no rendimento do produto intermediário **1L** para tempo de adição de 1 min está mostrada na Figura 55.

Figura 55 - Rendimento do produto intermediário **1L** obtido com a adição de 1,00 e 2,00 eq. de NaH em 4 partes iguais dentro de 1 min (Solvente: acetonitrila; $C_4 = 0,223$ M; $C_5 = 0,223$ M, $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; T = temperatura



Fonte: Autoria própria.

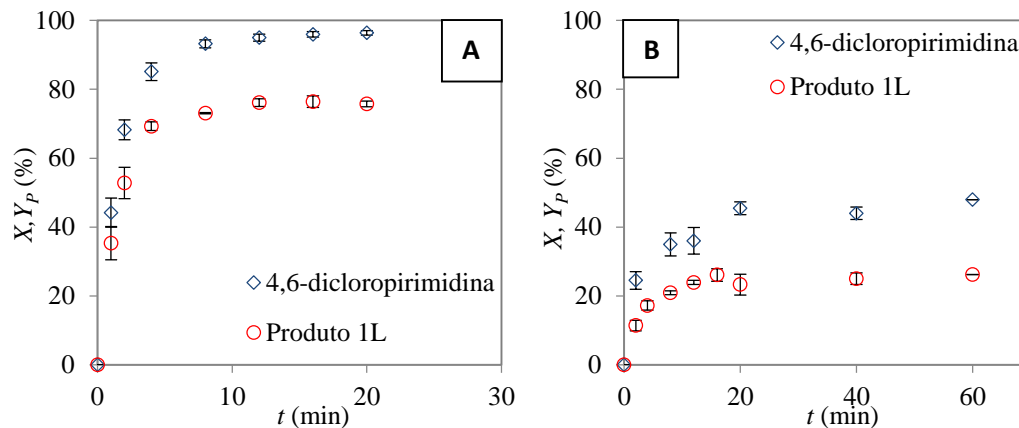
A Figura 55 mostra que o rendimento de **1L** não é influenciado significativamente pelo n_{eq} de NaH tendo sido obtido rendimento final ao redor de 80% aos 10 min de reação. Também é observado que em 4 min a reação já atinge sua estabilização. O n_{eq} de NaH influencia a pureza do produto intermediário **1L**. Para a adição de 1,00 eq. de NaH a pureza do produto,

determinada em HPLC-UV foi de 96%, enquanto para 2,00 eq. de NaH a pureza foi de 85%. Desta forma, para pureza de 96% não foi necessária a purificação por cromatografia em coluna, economizando tempo e produtos químicos. A pureza do produto bruto diminuiu para tempo de reação maior de 10 min e com o aumento tempo de adição de NaH para 2 e 3 min. Desta forma, foi definido que a melhor estratégia de adição de NaH e modo a aumentar o rendimento da reação no menor tempo e com a maior pureza de produto foi de adicionar 1,00 eq. de NaH durante 1 min e em 4 partes iguais.

6.2.1.2 Estudo da solubilização do meio reacional na síntese do produto intermediário 1L

Após o estudo de bases e solventes a etapa seguinte foi realizar a reação em batelada em metanol e base KOH e THF e base NaH. No segundo caso, após realização do primeiro ensaio, foi verificado que o meio reacional ficou turvo, não ficando claro se era pela presença de sólido disperso no meio reacional ou por conta do NaH ser disperso em óleo mineral, que pode deixar o meio oleoso e turvo. Por isso, foi realizada a síntese no solvente THF e base NaH com a concentração molar de 0,026 M, três vezes menor que a concentração utilizada no estudo de bases e solventes. A Figura 56A apresenta o resultado de conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina e rendimento do produto intermediário **1L** no solvente THF e base NaH; a Figura 56B apresenta o resultado de conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina e rendimento do produto intermediário **1L** no solvente metanol e base KOH.

Figura 56 - (A) Conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina (**4**) e rendimento do produto intermediário **1L** no processo batelada ($C_4 = 0,026$ M; $C_5 = 0,026$ M; $C_{NaH} = 0,026$ M; solvente: THF; base: NaH; $T = 25^\circ\text{C}$). (B) Conversão do reagente 4,6-dicloropirimidina (**4**) e rendimento do produto intermediário **1L** no processo batelada ($C_4 = 0,077$ M; $C_5 = 0,077$ M; $C_{NaH} = 0,077$ M; solvente: metanol; base: KOH; $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; T = Temperatura



Fonte: Autoria própria.

A conversão do reagente **4** e o rendimento do produto intermediário **1L** atingiram na combinação THF/NaH respectivamente 94 e 76% em cerca de 12 min (Figura 56A), enquanto na combinação metanol/KOH somente 45 e 23% em cerca de 20 min (Figura 56B). Desta forma, foram determinadas novas composições do meio reacional que permitissem a transposição do processo em batelada para o processo em fluxo no microrreator capilar, embora o rendimento fosse menor do que os observados em DMF e acetonitrila e usando NaH como base.

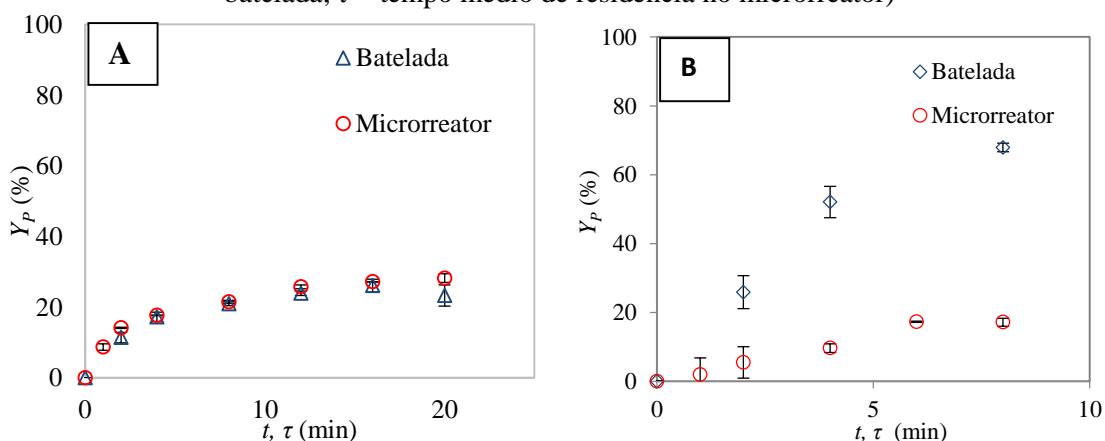
6.2.1.3 Síntese do produto intermediário **1L** em fluxo no microrreator capilar e comparações entre os processos batelada e fluxo

Os ensaios realizados na síntese do produto intermediário **1L** em fluxo no microrreator capilar foram realizados nas duas composições estudadas anteriormente, metanol/KOH e THF/NaH, variando o tempo médio de residência (τ) e em temperatura ambiente. A Figura 57A apresenta a comparação de rendimento de **1L** em batelada e em fluxo, em metanol e base KOH, enquanto a Figura 57B apresenta a mesma comparação no solvente THF e base NaH.

Os resultados da Figura 57A mostram que o rendimento de **1L** nos dois processos foram semelhantes, 23% em batelada e 28% em fluxo, ambos em 20 min de reação. A Figura 57B mostra que o rendimento do produto intermediário **1L** em solvente THF e base NaH, no processo batelada, foi de 68%, enquanto em fluxo, no microrreator capilar, foi de 17%, ambos

em 8 min de reação. O ensaio em fluxo no microrreator capilar nestas condições seguiu até o tempo médio de residência de 8 min, pois houve a formação de sólidos que obstruíram o microrreator capilar, inviabilizando a continuidade do ensaio. Essa formação de sólidos ocorreu provavelmente por conta da formação do sal NaCl, subproduto da reação e que não se solubiliza completamente no solvente THF. É possível que o baixo rendimento observado na síntese em fluxo deste composto tenha ocorrido por conta da instabilidade do íon formado da desprotonação do 4-metoxifenol (**5**), promovido pela ação do NaH, dentro da solução de alimentação do microrreator. Conforme descrito na seção 5.2.2.2, a solução de alimentação (**B**) foi preparada a partir da solubilização em THF do reagente 4-metoxifenol e base NaH e, ao longo do tempo de realização do ensaio, foi observado que a mistura reacional, que inicialmente apresentava coloração branca, mudou para a cor marrom, indicando uma provável degradação do íon.

Figura 57 - (A) Comparação do rendimento do produto intermediário **1L** em batelada e no microrreator capilar no solvente metanol e base KOH ($C_4 = 0,08$ M; $C_5 = 0,08$ M; $C_{KOH} = 0,08$ M, base: KOH, $T = 25^\circ\text{C}$) (B) Comparação do rendimento do produto intermediário **1L** em batelada e no microrreator capilar no solvente THF e base NaH. ($C_4 = 0,026$ M; $C_5 = 0,026$ M; $C_{NaH} = 0,026$ M, base: NaH, $T = 25^\circ\text{C}$); C = concentração molar; T = temperatura, t = tempo de reação no processo batelada; τ = tempo médio de residência no microrreator)

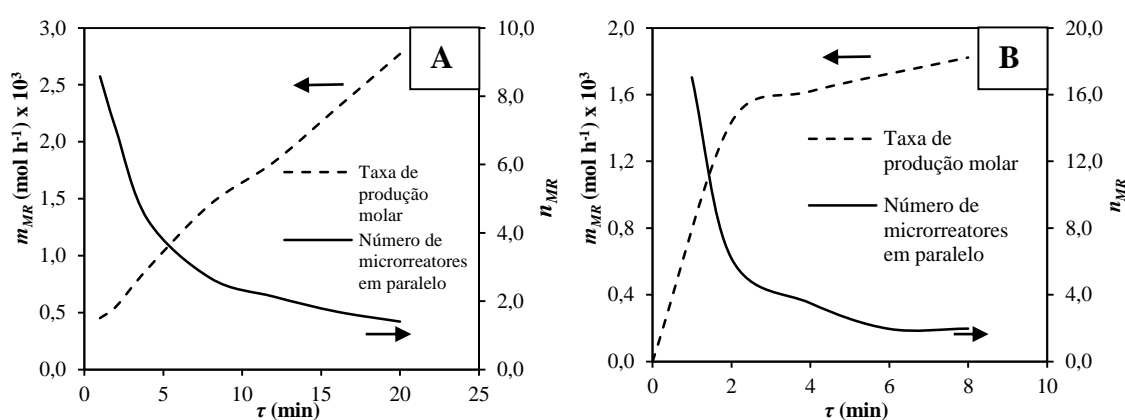


Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

Em seguida são apresentadas as taxas produção molar em fluxo (\dot{m}_{MR}) e o número microrreatores em paralelo (n_{MR}) necessários para obter a mesma produção média de produto no reator batelada nas condições estudadas acima. As Figuras 58A e 58B mostram que a \dot{m}_{MR} aumentou com τ e atingiu um valor máximo de $2,77 \times 10^3$ mol h^{-1} para $\tau = 20$ min em metanol e $1,82 \times 10^3$ mol h^{-1} para $\tau = 8$ min em THF, ou seja, justamente nos tempos de residência que garantiram os maiores rendimentos observados nas Figura 57A e B. Por outro lado, n_{MR} diminuiu com o aumento de τ , pois quanto maior o rendimento do produto, menor é o número

de microrreatores em paralelo necessário para atingir a mesma taxa de produção molar (\dot{m}_{BR}) do processo em batelada, e atingiu seus valores mínimos de 1,4 para $\tau = 20$ min em metanol e 1,9 para $\tau = 8$ min em THF.

Figura 58 - (A) Influência do tempo médio de residência (τ) na taxa de produção molar em fluxo (\dot{m}_{MR}) e no número de microrreatores em paralelo (n_{MR}) com volume de 1,0 mL para se atingir a mesma taxa de produção do processo batelada (\dot{m}_{BR}) de $3,88 \times 10^{-3}$ mol h⁻¹ para a síntese de **1L** em metanol após o tempo de reação em batelada (t) de 20 min. (C_4 , C_5 e $C_{KOH} = 0,08$ M, base: KOH, $T = 25^\circ\text{C}$). (B) Influência de τ na \dot{m}_{MR} e n_{MR} com volume de 1,0 mL para se atingir a mesma taxa de produção do processo batelada (\dot{m}_{BR}) de $3,45 \times 10^{-3}$ mol h⁻¹ para a síntese de **1L** em THF após $t = 8$ min. (C_4 , C_5 e $C_{NaH} = 0,026$ M, base: NaH, $T = 25^\circ\text{C}$). C = concentração molar; T = temperatura, t = tempo de reação no processo batelada; τ = tempo médio de residência no microrreator



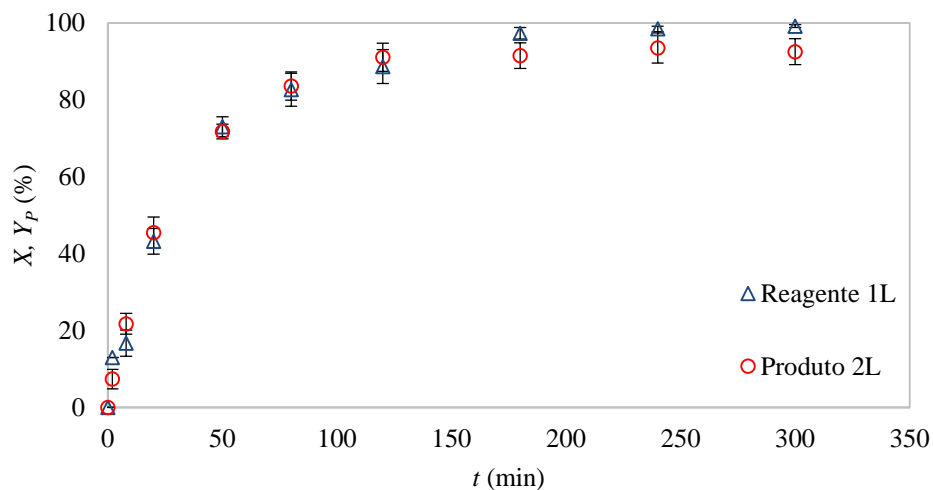
Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

6.2.2 Síntese do produto intermediário **2L**

6.2.2.1 Reprodutibilidade da síntese do produto intermediário **2L**

A síntese do produto intermediário **2L** é descrita na literatura (LEE et al., 2005) no solvente etanol, a $T = 78^\circ\text{C}$, concentração molar de 0,42 M e 3,00 eq. de 2-metilaminoetanol (**6**), atingindo 99% de rendimento após 24 h de reação. Após definido o método de análise via HPLC-UV, foram realizados ensaios em triplicata, conforme adaptação da literatura e os resultados de conversão do reagente **1L** (produto intermediário da etapa anterior) e rendimento do produto intermediário **2L** são apresentados na Figura 59. Foi verificado que a conversão do reagente e o rendimento do produto se estabilizam em 240 min de reação, sendo atingida conversão final de 98% e o rendimento final de 93%. Neste estudo também foi verificado que a reação não gera subproduto, tendo em vista que verificado o consumo total do reagente **1L** as análises posteriores de HPLC-UV e HPLC-MS não detectaram outro produto que não fosse o produto intermediário **2L**. A análise em HPLC-MS é apresentada no Anexo 10.

Figura 59 - Conversão do reagente **1L** e rendimento do produto intermediário **2L** em processo batelada ($C_{1L} = 0,106$ M; $C_6 = 0,318$ M; solvente: etanol; $T = 78^\circ\text{C}$). C = concentração molar, T = temperatura 0,132



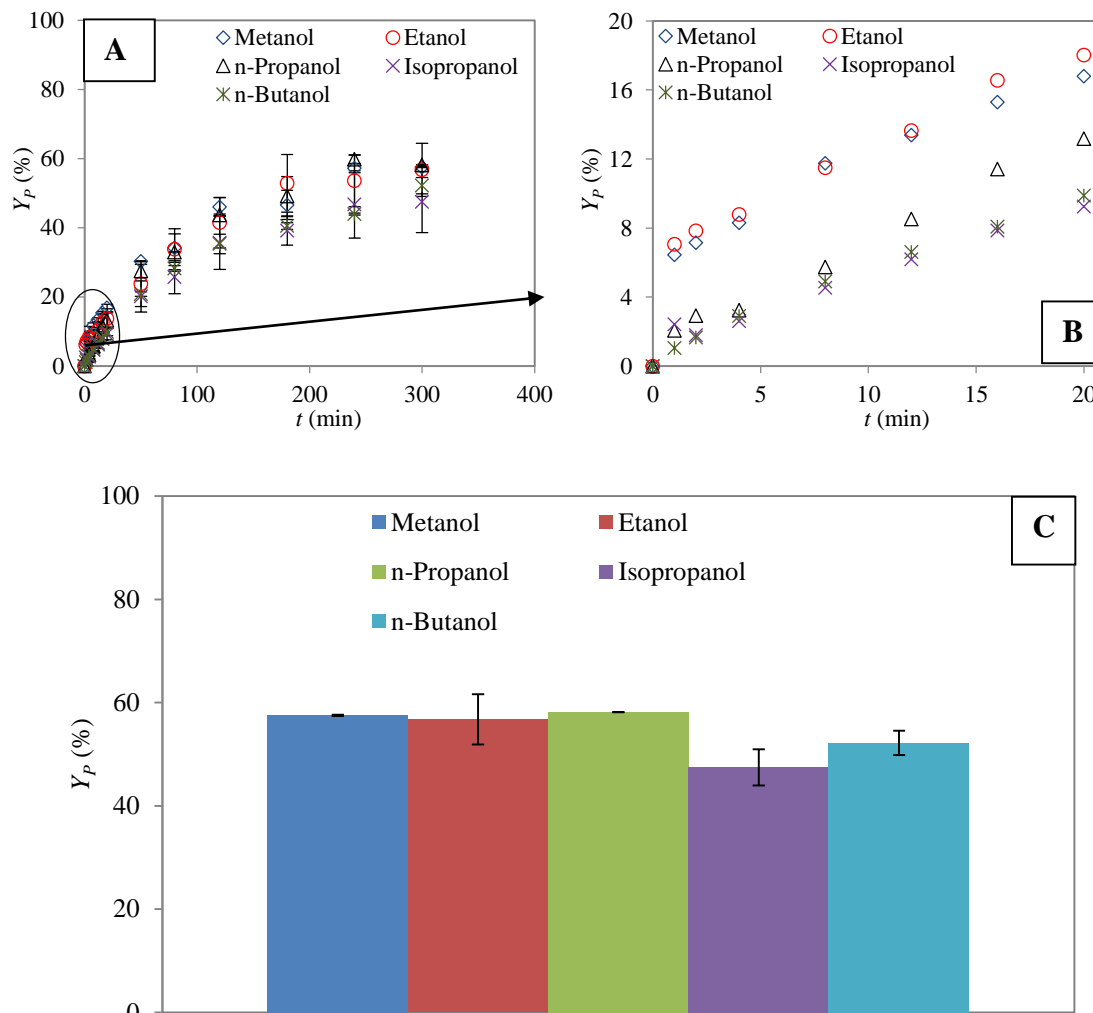
Fonte: Autoria própria.

6.2.2.2 *Influência dos solventes e da concentração molar na síntese do produto intermediário **2L** no processo batelada*

Seguindo com o estudo da síntese do produto intermediário **2L**, foi realizado um estudo de solventes reacionais, com o objetivo de determinar qual melhor solvente para a promoção desta reação. Os solventes metanol, etanol, n-propanol, isopropanol e n-butanol foram escolhidos por serem considerados verdes de acordo com a indústria químico-farmacêutica (BYRNE et al., 2016), devido às suas características de toxicidade, disponibilidade, recuperabilidade, sustentabilidade e custo. Também foi determinado para este estudo que o reagente 2-metilaminoetanol (**6**) seria alimentado ao reator com concentração equimolar ao reagente **1L**, visando a redução da geração de resíduos químicos, $T = 65^\circ\text{C}$, pois é a temperatura que todos os solventes atingem sem necessidade pressurização do reator batelada.

Para facilitar a leitura, os dados do rendimento do produto intermediário **2L** estão ilustrados de três maneiras diferentes: ao longo de todo o tempo de reação em metanol, etanol, propanol, isopropanol e *n*-butanol (Figura 60A), ao longo dos primeiros 20 min (Figura 60B), e ao final de 5 h de reação (Figura 60C).

Figura 60 - (A) Rendimento do produto intermediário **2L** em função do tempo de reação nos solventes estudados; (B) Rendimento do produto intermediário **2L** em 20 min de tempo de reação nos solventes estudados; (C) Rendimento final do produto intermediário **2L** obtido após 5 h de reação batelada (C_{IL} , $C_6 = 0,066$ M; $T = 65^\circ\text{C}$, $t = 5$ h). C = concentração reacional, T = temperatura, t = tempo de reação no processo batelada



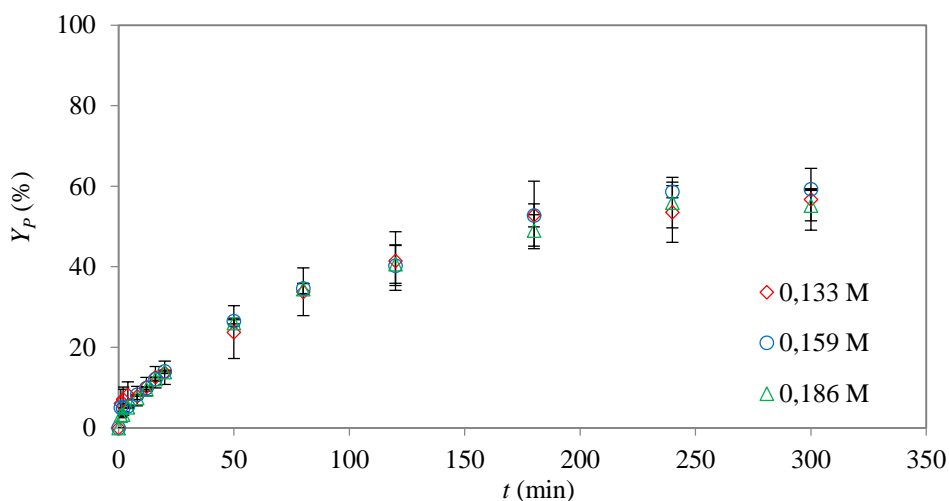
Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

Observa-se na Figuras 60 que os maiores rendimentos de produto ocorreram, em ordem decrescente, em *n*-propanol (58,1%), metanol (57,5%), etanol (56,7%), *n*-butanol (52,2%) e isopropanol (47,5%). O fato de estes valores serem próximos indica que o tipo de álcool não exerceu uma influência significativa no rendimento final do produto. Portanto, foi selecionado como solvente o etanol para seguir com o estudo em fluxo em microrreator capilar, por conta de sua alta disponibilidade, baixo custo, sustentabilidade e por ser atóxico.

Em seguida foi realizado um estudo de aumento de concentração do meio reacional. Neste estudo, realizado no solvente etanol, três concentrações foram comparadas, 0,133, 0,159 e 0,186 M, buscando encontrar a concentração que aumentasse o rendimento do produto de interesse. A Figura 61 apresenta o rendimento do produto intermediário **2L** em função do tempo

reacional até 5 h. Foi observado que o aumento da concentração do meio reacional não influenciou no rendimento do produto, tendo em vista que as barras de erro dos pontos de amostragem se sobrepõem. Os rendimentos máximos observados foram de 56,2 59,7 55,1, nas concentrações 0,133, 0,159 e 0,186 M, respectivamente. Como não foi observada uma grande variação no rendimento do produto, optou-se pela realização dos ensaios em fluxo no microrreator capilar na concentração molar total de 0,133 M.

Figura 61 - Rendimento do produto intermediário **2L** em função do tempo de reação nas concentrações 0,133, 0,159 e 0,186 M ($n^{\circ} eq. \mathbf{6} = 1,00 eq.$; $T = 65^{\circ}C$; $t = 5 h$). T = temperatura, t = tempo de reação no processo batelada, $n^{\circ} eq. \mathbf{6}$ = número de equivalentes do reagente **6**.

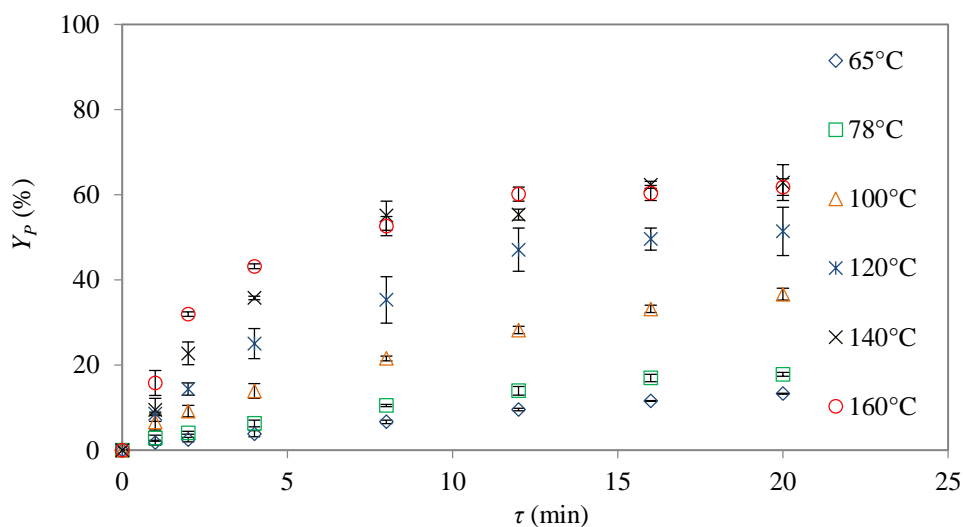


Fonte: Autoria própria.

6.2.2.3 Síntese do produto intermediário **2L** em fluxo no microrreator capilar

A partir das condições estabelecidas no processo em batelada, a síntese de **2L** foi realizada também em fluxo no microrreator usando etanol como solvente e variando o tempo médio de residência ($\tau = 1, 2, 4, 8, 12, 16$ e 20 min) e a temperatura ($T = 65, 78, 100, 120, 140$ e $160^{\circ}C$). Os resultados destes ensaios, ilustrados na Figura 62, mostram que o rendimento do produto cresceu com τ e T , o que sugere ausência de reações consecutivas responsáveis pela degradação do produto. O maior rendimento em **2L** (61%) foi obtido para $\tau = 12$ min e $T = 160^{\circ}C$.

Figura 62 - Rendimento do produto intermediário **2L** no microrreator capilar em função de τ e T . (C_{IL} , $C_6 = 0,066$ M, solvente: etanol). C = concentração molar, T = temperatura τ = tempo médio de residência no microrreator.



Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

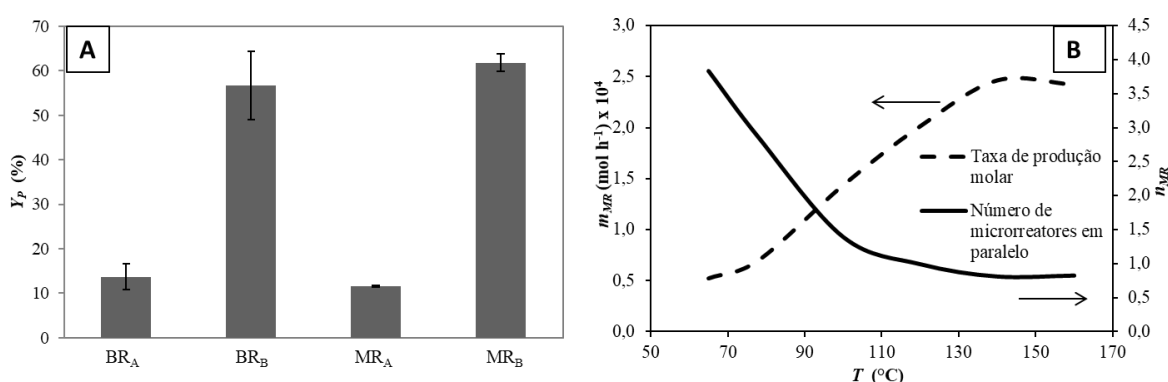
6.2.2.4 Comparação do rendimento do produto intermediário **2L** nos processos batelada e em fluxo no microrreator capilar

Na Figura 63A são comparados os rendimentos obtidos nos processos em batelada para $t = 20$ min e 5 h, e em fluxo para $\tau = 20$ min. O rendimento de **2L** nos dois processos foram semelhantes para $T = 65^\circ\text{C}$ e $t, \tau = 20$ min, o que pode ser explicado com a lentidão da reação (tempo de meia-vida > 5 min), sugerindo que o processo é controlado pela cinética da reação e pela temperatura e não pela difusão das espécies químicas (ROBERGE *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2019). Essa hipótese é confirmada pelo fato de o rendimento do produto no processo em fluxo ter crescido significativamente a 160°C , atingindo 61% em $\tau = 20$ min, enquanto o maior rendimento observado no processo batelada foi de 56% após 5h. No entanto, os rendimentos são estatisticamente equivalentes, embora τ no processo em fluxo (20 min) seja muito menor do que t do processo batelada (5 h), o que evidencia o melhor desempenho do primeiro.

A Figura 63B mostra a influência da T tanto na taxa de produção molar em fluxo (\dot{m}_{MR}) como número de microrreatores em paralelo (n_{MR}) na síntese do produto intermediário **2L**. Para tanto, foram considerados para o processo em batelada um volume de 30 mL, $t = 5$ h, $T = 65^\circ\text{C}$ e uma taxa de produção média no processo batelada de $2,0 \times 10^{-4}$ mol h^{-1} , e para o processo em fluxo um microrreator de volume 1,0 mL. Observa-se que \dot{m}_{MR} cresceu com o aumento da T até 140°C , atingindo um pico de $2,46 \times 10^{-4}$ mol h^{-1} , enquanto n_{MR} diminuiu de 3,8, a 65°C , para

apenas 0,8, a 140 e 160°C, confirmando o quanto o processo em fluxo foi acelerado por um aumento da temperatura e seu melhor desempenho na produção de **2L** em relação ao processo em batelada.

Figura 63 - (A) Comparação dos rendimentos do produto intermediário **2L** nos processos batelada e em fluxo. Processo batelada = BR_A: $T = 65^{\circ}\text{C}$, $t = 20$ min; BR_B: $T = 65^{\circ}\text{C}$, $t = 5$ h. Processo em fluxo no microrreator = MR_A: $T = 65^{\circ}\text{C}$, $\tau = 20$ min; MR_B: $T = 160^{\circ}\text{C}$, $\tau = 20$ min. (B) Influência da temperatura (T) na taxa de produção molar em fluxo (\dot{m}_{MR}) e no número de microrreatores em paralelo (n_{MR}), com volume de 1,0 mL, para se atingir a mesma taxa de produção no processo batelada ($2,0 \times 10^{-4} \text{ mol h}^{-1}$) após 5 h. t = tempo de reação no processo batelada, τ = tempo médio de residência no processo em fluxo, T = temperatura.



Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

6.2.3 Síntese do produto intermediário **3L**

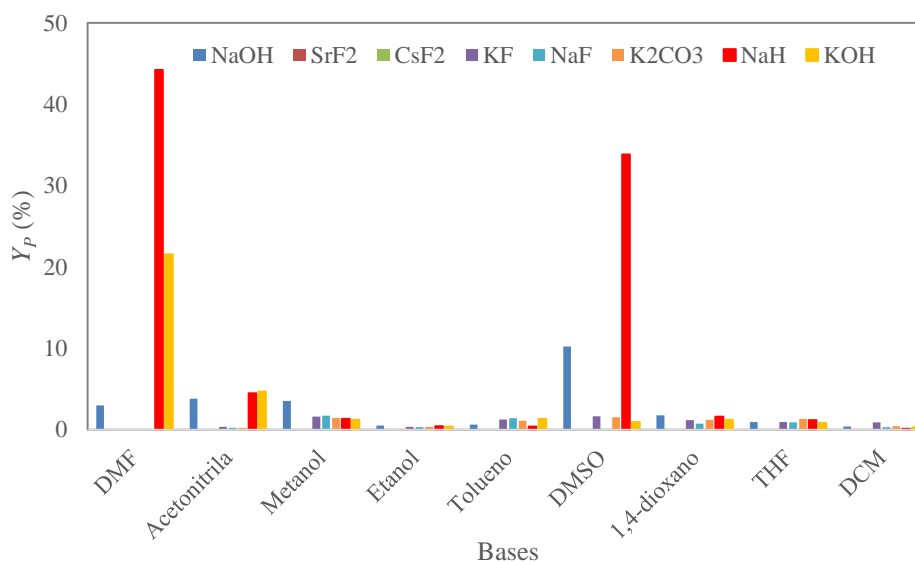
6.2.3.1 Reprodutibilidade da síntese do produto intermediário **3L**

A síntese do produto intermediário **3L** é descrita na literatura (LEE *et al.*, 2007) utilizando o solvente DMF, 2,25 M de KOH, 0,824 M de 4-fluorbenzaldeído (**7**) e 0,75 M de **2L** a 80°C com rendimento de 80% após 6 h. Após definido o método de análise via HPLC-UV, os testes iniciais em triplicata ocorreram sem amostragem em função do tempo, pois foi necessário realizar as reações com o volume de reação de 0,5 mL devido à alta quantidade de material inicial demandada para a realização desta reação nas condições da literatura (LEE *et al.*, 2007), que comprometeria o inventário de produtos para os estudos seguintes. Com isto, apenas a amostra ao final das 6 h foi coletada e o rendimento de 90% foi observado. A análise em HPLC-MS correspondente ao produto intermediário **3L** é apresentada no Anexo 11.

6.2.3.2 Estudo de bases e solventes reacionais para a síntese do produto intermediário **3L** no processo batelada

Com base nos estudos de bases e solventes apresentados anteriormente, foi aplicada a mesma metodologia para encontrar uma condição que não apresentasse a formação de sólidos no meio reacional em batelada, para posterior transposição finalizada à síntese do produto intermediário **3L** em fluxo no microrreator capilar. Para tanto, foram realizados ensaios em batelada usando os mesmos solventes e bases usados anteriormente, porém com os reagentes alimentados estequiometricamente na concentração de 0,13 M, cujos rendimentos de produto intermediário **3L** após 1 h são ilustrados na Figura 64.

Figura 64 - Rendimento do produto intermediário **3L** no processo em batelada usando diversos solventes e bases promotoras da reação. C_{2L} , C_b , $C_{base} = 0,13$ M. $t = 1$ h; $T = 25^\circ\text{C}$. C = concentração molar, t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura.



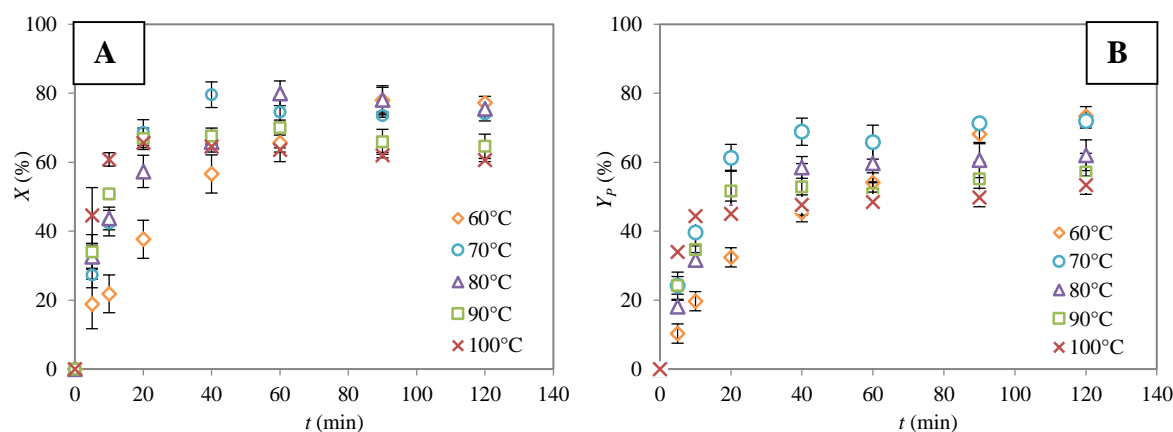
Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

Destacam-se na Figura 64 os rendimentos obtidos com NaH em DMF (44%) e DMSO (38%), com NaOH em DMSO (10%), e com KOH em DMF (21%). No entanto, em todas as condições estudadas houve formação de sólido no meio reacional, indicando que não seria possível realizar a transposição da síntese do produto intermediário **3L** para o fluxo no microrreator nas condições estudadas.

6.2.3.3 Influência da temperatura na síntese do produto intermediário **3L** no processo batelada

Com base no procedimento descrito na literatura (LEE *et al.*, 2007), foi estudada a influência da temperatura (60, 70, 80, 90 e 100°C) na síntese do produto intermediário **3L** em DMF no processo batelada usando concentração equimolar dos reagentes (0,13 M). As Figuras 65A e 65B apresentam respectivamente a conversão do reagente **2L** e o rendimento em **3L** ao longo de 2 h e mostram que o aumento da temperatura favoreceu a conversão do reagente **2L** (Figura 65A), a qual no geral atingiu seu valor máximo em até 60 e 80 min. As maiores conversões finais (77, 75 e 74% em $T = 60, 80$ e 70°C , respectivamente) foram bastante próximas entre si, o que sugere que o aumento da temperatura influenciou apenas na velocidade inicial da reação, que aumentou progressivamente de $2,4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ a 60°C para $1,6 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ a 100°C . Já o rendimento em **3L**, ilustrado na Figura 65B, mostrou uma progressiva diminuição de 73,3% a 60°C para 53,3% a 100°C possivelmente devido à formação de subprodutos.

Figura 65 - (A) Conversão do reagente **2L** e (B) rendimento do produto intermediário **3L** em função do tempo de reação em diferentes temperaturas (60, 70, 80, 90 e 100°C) no processo batelada. (Solvente: DMF; C_{2L} , C_7 , $C_{NaH} = 0,13 \text{ M}$; $t = 2 \text{ h}$). C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada.



Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

6.2.4 Síntese do produto intermediário **4L**

Esta reação é descrita na literatura (LEE *et al.*, 2007) que obtiveram 90% de rendimento após purificação cromatográfica, para um tempo de reação de 5 h. Não foi possível reproduzir

a metodologia de síntese proposta por esses autores, pois a produção e importação da base promotora da reação, a piperidina, é extremamente restrita no Brasil (BRASIL, 1998, 2020). Desta forma, com base em estudos realizados anteriormente acerca da condensação de Knoevenagel (PINHEIRO et al., 2018; SILVA et al., 2019; SILVA; PALMA, 2022), foi reduzida a concentração molar do meio reacional em 9,6 vezes se comparada à literatura (LEE et al., 2007) visando a transposição desta síntese para o microrreator e foi realizado um estudo com diferentes solventes e concentrações de pirrolidina como base promotora. Ensaios preliminares foram realizados a fim de se obter o produto puro para definição de método de análise em HPLC-UV e identificação do mesmo por HPLC-MS, presente no Anexo 12.

6.2.4.1 *Aplicação de planejamento fatorial 3² e estudo de solvente na síntese do produto intermediário 4L no processo batelada*

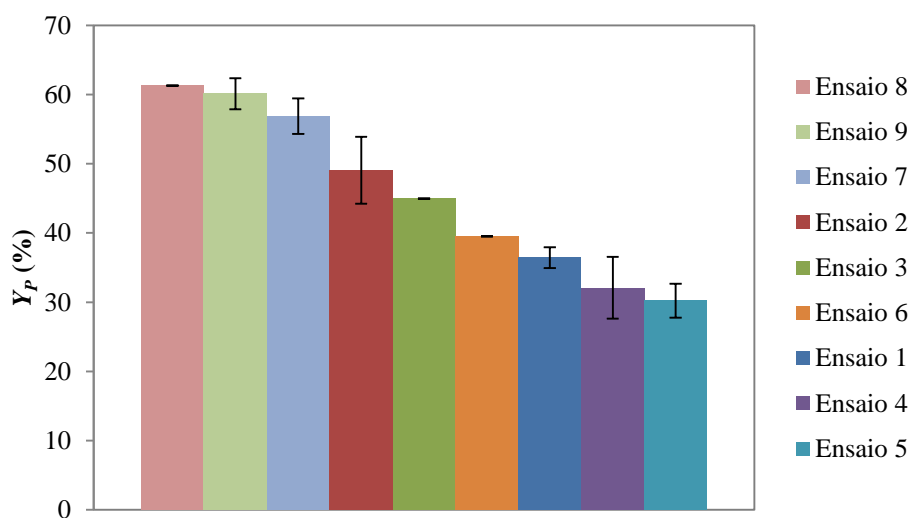
O estudo em batelada da síntese do produto intermediário **4L** foi realizado aplicando um planejamento fatorial 3², com duas variáveis em três níveis, conforme observado na seção 6.1.4.2, que trata da síntese do produto intermediário **4P**. A Tabela 11 apresenta as condições dos ensaios planejados, e a Figura 66 apresenta o rendimento final do produto intermediário **4L** obtido neste estudo após 4 h de reação, organizado em ordem decrescente. Foi constatado que os três maiores rendimentos (61,3; 60,1 e 56,9%) foram obtidos usando como solvente *n*-propanol e nas concentrações de 0,013, 0,016 e 0,010 M de pirrolidina, respectivamente, indicando que o *n*-propanol é o melhor solvente para a síntese do produto intermediário **4L**. Entretanto devido às barras de erros se sobreporem, é possível afirmar que as três concentrações estudadas apresentaram rendimentos semelhantes. Neste caso, determinou-se que a transposição para a síntese em fluxo no microrreator capilar seria realizada com pirrolidina na concentração de 0,013 M, pois foi a concentração que apresentou o maior rendimento em número absoluto.

Tabela 11 - Relação dos ensaios realizados para o planejamento fatorial 3^2 na síntese do produto intermediário **4L** no processo batelada

Nome do ensaio	Concentração de Pirrolidina (M)	Solvente
1	0,010	Metanol
2	0,013	Metanol
3	0,016	Metanol
4	0,010	Etanol
5	0,013	Etanol
6	0,016	Etanol
7	0,010	<i>n</i> -Propanol
8	0,013	<i>n</i> -Propanol
9	0,016	<i>n</i> -Propanol

Fonte: Autoria própria.

Figura 66 - Rendimento final do produto intermediário **4L** obtido após 4 h de reação no processo batelada. $C_3, C_{3L} = 0,016$ M; $t = 4$ h; $T = 65^\circ\text{C}$ (em metanol), 78°C (em etanol) e 98°C (em *n*-propanol). A numeração dos ensaios e a mesma da Tabela 11. C = concentração molar; t = tempo de reação no processo batelada, T = Temperatura



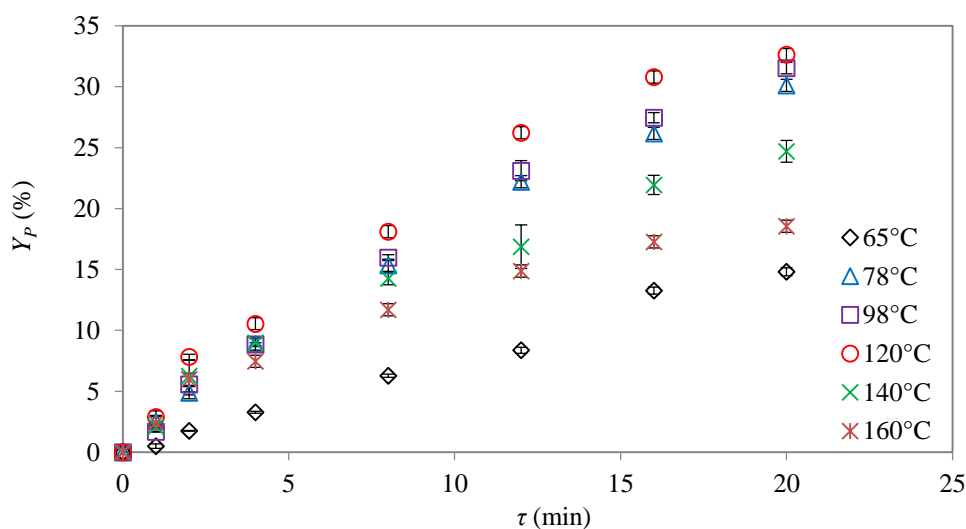
Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

6.2.4.2 Síntese do produto intermediário **4L** em fluxo no microrreator capilar

Após definido no processo batelada que a melhor composição de meio reacional, em termos de concentração de pirrolidina e solvente, a síntese do produto intermediário **4L** foi transposta para a síntese fluxo no microrreator capilar. Os ensaios foram realizados no solvente *n*-propanol, na concentração de 0,013 M de pirrolidina, nos tempos médios de residência (τ) 1, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 min e nas temperaturas de 65, 78, 100, 120, 140 e 160°C. A Figura 67

apresenta o rendimento do produto intermediário **4L** em fluxo no microrreator capilar em função de τ e T . O maior rendimento observado foi de 32,6% em $T = 120^\circ\text{C}$ e $\tau = 20$ min. Embora o rendimento de **4L** tenha sido favorecido pelo aumento de T e τ (assim como ocorreu nos outros estudos em fluxo no microrreator), o rendimento diminuiu a partir de $T = 140^\circ\text{C}$, sugerindo que a reação deixou de ser seletiva e que houve degradação de **3L** e/ou formação de subprodutos.

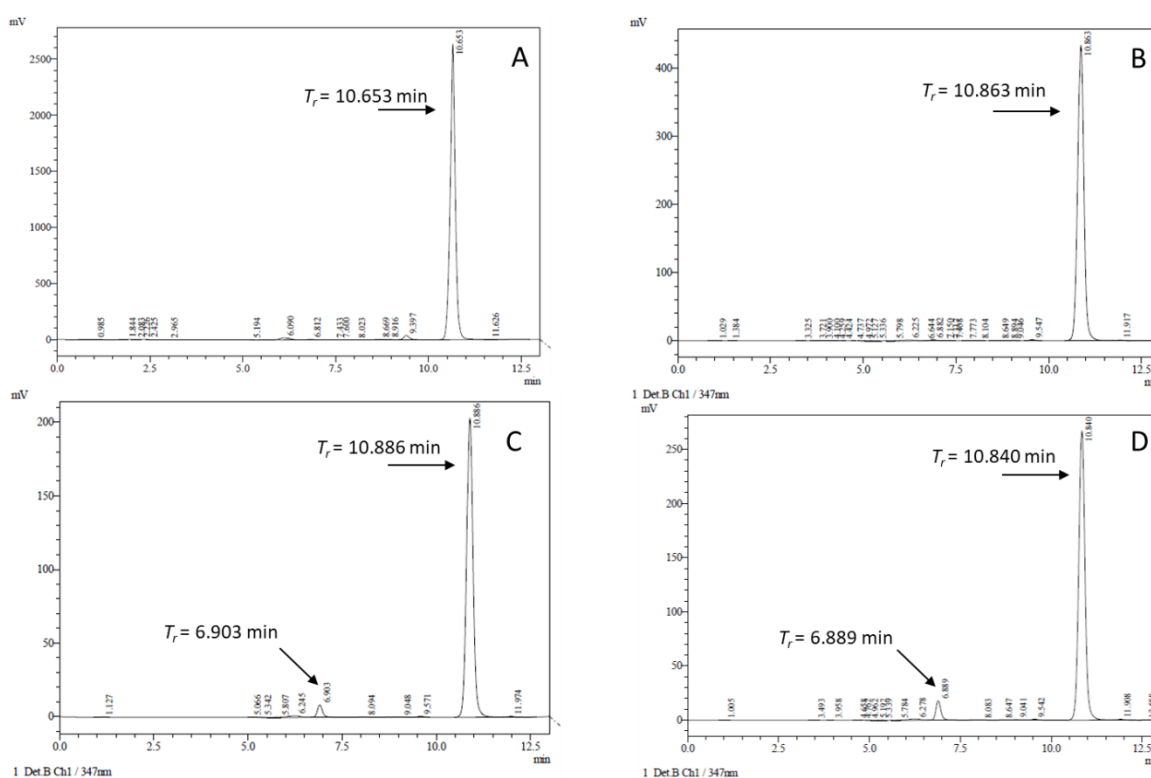
Figura 67 - Rendimento do produto intermediário **4L** em função do tempo médio de residência (τ) no processo em fluxo no microrreator capilar. (Solvente: *n*-propanol; C_{3L} , $C_3 = 0,016$ M; $C_{\text{Pirrolidina}} = 0,013$ M). C = concentração molar, T = temperatura τ = tempo médio de residência no microrreator.



Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

Esta hipótese foi confirmada analisando os cromatogramas de HPLC-UV. A Figura 68A ilustra o cromatograma do produto obtido após 4 h no processo batelada a $T = 98^\circ\text{C}$, enquanto as Figuras 68B, C e D os cromatogramas do mesmo produto obtido no processo em fluxo em $\tau = 20$ min a $T = 120, 140$ e 160°C , respectivamente. Nas Figuras 68C e D foi detectado um pico em $t_r = 6,903$ e $6,889$ min, ausente nos outros cromatogramas, que indica a formação de um subproduto em $T > 120^\circ\text{C}$ que foi favorecida pelo aumento da temperatura. O produto intermediário **4L** possui o tempo de retenção (t_r) entre 10,653 e 10,886 min.

Figura 68 - Cromatogramas de HPLC-UV do produto intermediário **4L** ($\lambda = 347$ nm). (A) Processo batelada, $T = 98^\circ\text{C}$, tempo de reação, $t = 4$ h. Processo em fluxo, tempo médio de residência, $\tau = 20$ min: (B) $T = 120^\circ\text{C}$, (C) $T = 140^\circ\text{C}$, (D) $T = 160^\circ\text{C}$.

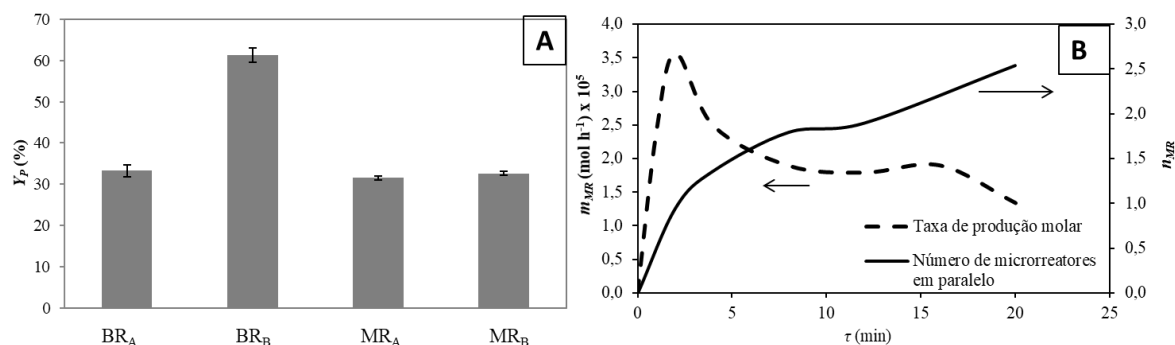


Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

6.2.4.3 Comparação do rendimento do produto intermediário **4L** nos processos batelada e em fluxo no microrreator capilar

A Figura 69A, onde são comparados os rendimentos obtidos em batelada (volume de 15 mL, $t = 20$ min e 4 h) e em fluxo (volume de 1,0 mL, $\tau = 20$ min) a diferentes temperaturas, mostra que a reação atingiu rendimentos próximos em t , $\tau = 20$ min ($\text{BR}_A = 33,2\%$, $\text{MR}_A = 31,5$, $\text{MR}_B = 32,6\%$), entretanto o rendimento no processo batelada foi maior em $t = 4$ h ($\text{BR}_B = 61,3\%$, possivelmente por conta do subproduto formado em $T > 120^\circ\text{C}$ em fluxo que pode ter concorrido com a reação principal. A Figura 69B mostra a influência de τ tanto no n_{MR} como na \dot{m}_{MR} , a qual atingiu um valor máximo de $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol h}^{-1}$ para $\tau = 2$ min e diminuiu para $1,3 \times 10^{-5} \text{ mol h}^{-1}$ para $\tau = 20$ min. O menor valor de n_{MR} (0,9) foi obtido para $\tau = 2$ min, porém o rendimento foi insatisfatório (7,8%). Por outro lado, para $\tau = 20$ min foi obtido rendimento maior (32,6%), com $n_{MR} = 2,5$, e esta condição operacional é considerada melhor para a produção em fluxo.

Figura 69 - (A) Rendimento do produto intermediário **4L**. Processo batelada = BR_A: $T = 98^{\circ}\text{C}$, $t = 20$ min; BR_B: $T = 98^{\circ}\text{C}$, $t = 4$ h. Processo em fluxo no microrreator = MR_A: $T = 98^{\circ}\text{C}$, $\tau = 20$ min; MR_B: $T = 120^{\circ}\text{C}$, $\tau = 20$ min. (B) Influência do tempo médio de residência (τ) na taxa de produção molar do processo em fluxo (\dot{m}_{MR}) e no número de microrreatores em paralelo (n_{MR}), com volume de 1,0 mL e $T = 120^{\circ}\text{C}$ para se atingir a mesma taxa de produção molar do processo batelada após 4 h ($3,4 \times 10^{-5}$ mol h^{-1}). t = tempo de reação no processo batelada, T = temperatura.



Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

6.2.5 Síntese do produto Lobeglitzona

A última etapa da rota de síntese, a formação do produto Lobeglitzona, foi realizada em um reator batelada pressurizado para hidrogenação construído em laboratório para este fim (Figura 17 da seção 5.1.2). Por ser um reator pressurizado, não foi realizada amostragem em função do tempo reacional, pois seria necessária a abertura do reator, interrompendo a reação. Portanto, a síntese do produto Lobeglitzona teve caráter qualitativo. Foram testados vários métodos de hidrogenação (Tabela 12), dos quais o único que permitiu observar a formação da Lobeglitzona foi o de número 6 (GOWDA; GOWDA, 2000), que utiliza Pd/C como catalisador em ácido fórmico sob atmosfera de H_2 , pressurizado a 50 kPa. A sua identificação por análise de HPLC-MS está ilustrada no Anexo 13. Esta reação não foi transposta para a síntese em fluxo, pois o equipamento de utilizado não comporta a presença de sólidos (catalisador Pd/C).

Tabela 12 - Métodos de hidrogenação do produto intermediário **4L** e formação do produto Lobeglitzona

Método	Agente de hidrogenação / Catalisador	Solvente
1 (MENGES; BALCI, 2014)	Hidrazina	Etanol
2 (PRATAP et al., 2011)	Mg	Metanol
3 (LI et al., 2003)	Pd(OH) ₂	1,4-Dioxano
4 (LEE et al., 2005, 2007)	Pd(OH) ₂	DMF
5 (GAONKAR; SHIMIZU, 2010)	Mg	Metanol
6 (GOWDA; GOWDA, 2000)	Pd/C	Ácido fórmico

Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

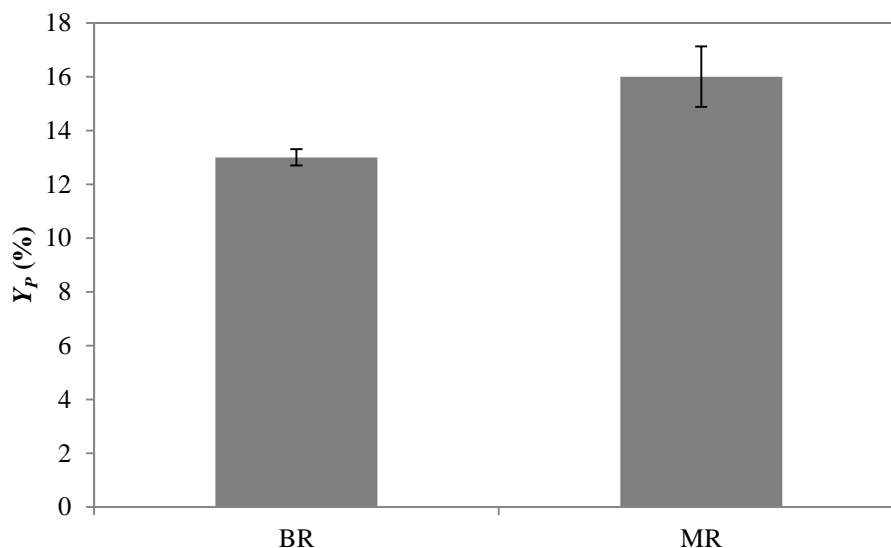
6.2.6 Síntese *one-pot* e *multistep synthesis* do produto intermediário **2L** em batelada e em fluxo

Foram realizados ensaios preliminares em batelada para determinar quais reações poderiam ser feitas em *one-pot* visando realiza-las em *multistep* em fluxo, isso é, reações sequenciais em fluxo em microrreatores. Deve ser lembrado a este respeito que o principal obstáculo para a síntese *one-pot* é o uso de solventes distintos nas reações sequenciais e a presença de sólidos no meio reacional. Nestes ensaios preliminares foi observado que apenas a síntese de **2L** em *one-pot* não apresentou a formação de sólidos visíveis no meio reacional, ao contrário do que aconteceu com **3L** e **4L**.

Foram testados os solventes metanol e THF, nos quais não houve formação de sólidos nas sínteses em batelada; entretanto, ao realizarmos a síntese *one-pot* de **2L** em metanol o produto de interesse não se formou, provavelmente devido ao metanol reagir com a adição da base. A síntese *multistep* em fluxo foi feita então utilizando THF como solvente após conectar a saída do primeiro microrreator, onde ocorria a síntese de **1L** usando NaH como base, com a entrada do segundo microrreator, onde ocorria a síntese de **2L**. Entretanto, para $\tau = 5$ min ocorreu a obstrução do primeiro microrreator, indicando que as partículas de sal, inicialmente não visíveis, se aglomeraram ao longo dos microcanais, formando partículas maiores. A Figura

70 mostra que o rendimento de **2L** em *one-pot* em batelada (13%) foi próximo ao obtido em fluxo (16%), indicando a quase equivalência dos dois processos.

Figura 70 - Rendimento do produto intermediário **2L** nos ensaios *one-pot* em batelada (BR) e *multistep* em fluxo no microrreator capilar (MR) para $t, \tau = 5$ min. $C_4, C_5, C_6, C_{NaH} = 0,010$ M; base: NaH, $T = 60^\circ\text{C}$; Solvente: THF. τ = tempo médio de residência no microrreator; t = tempo de reação no processo batelada.



Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

6.2.7 Parâmetros cinéticos e termodinâmicos das reações intermediárias da síntese do fármaco Lobeglitazona

A Tabela 13 mostra que os ensaios em batelada e em fluxo realizados a 25°C para **1L**, 65°C para **2L** e 98°C para **4L** levaram a valores da constante da taxa de reação de segunda ordem (k) próximos para os dois processos, sendo respectivamente $0,016$ e $0,017 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (**1L**), $3,7$ e $5,1 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (**2L**) e $0,83$ e $0,84 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ (**4L**). Com a exceção de **4L**, estes resultados são consistentes com os valores experimentais muito próximos de Y obtidos nos dois processos, que levaram a considerar o desempenho dos dois processos praticamente equivalente.

O valor de k da reação de síntese do produto intermediário **3L** no processo em batelada cresceu bastante com o aumento da temperatura, sendo $1,5$ e $3,7$ vezes maior nas temperaturas de 70 e 100°C do que a 60°C . Este crescimento pode ser explicado pelo valor relativamente elevado da energia de ativação ($31,6 \text{ kJ mol}^{-1}$), que implica elevada sensibilidade da reação à temperatura.

Em relação ao aumento de temperatura do meio reacional, foram observados comportamentos distintos para os produtos intermediários sintetizados. Para **1L** e **3L**, a pequena influência da temperatura é consistente também com o incremento muito pequeno da energia livre de Gibbs (ΔG^\ddagger), que indica uma constante de equilíbrio de formação do estado de transição ($K^\ddagger = e^{-\Delta G^\ddagger/RT}$) praticamente invariável. Já para os produtos **2L** e **4L** ΔG^\ddagger cresceu cerca de 18,5 e 28%, respectivamente, com o aumento de T , indicando uma significativa diminuição de K^\ddagger . Por fim, para as reações estudadas, considerando que ΔG^\ddagger possui contribuição entálpica (ΔH^\ddagger) e entrópica ($T\Delta S^\ddagger$) e que no estado de transição a entalpia é praticamente constante, o aumento de ΔG^\ddagger com a temperatura poderia estar relacionado diretamente com a variação de $T\Delta S^\ddagger$. Os valores positivos de ΔG^\ddagger indicam que a reação necessita de energia para atingir o estado de transição (ou seja, a reação não é espontânea), e os valores negativos de $T\Delta S^\ddagger$ indicam que as reações estudadas são bimoleculares e termodinamicamente favoráveis.

Tabela 13 - Parâmetros cinéticos e termodinâmicos da síntese dos produtos intermediários **1L**, **2L**, **3L** e **4L**. Constante de segunda ordem da taxa de reação (k); Energia de ativação (Ea); variação de entalpia (ΔH^\ddagger), variação de energia livre de Gibbs (ΔG^\ddagger) e produto da temperatura pela variação de entropia ($T\Delta S^\ddagger$) estimados para o estado de transição.

1L						2L					
Temperatura (°C)						Temperatura (°C)					
Parâmetro [unit]	22	30	40	50	60	65	78	98	120	140	160
k [$M^{-1} s^{-1}$] ^{a)}	0,016					$3,7 \times 10^{-3}$	$6,5 \times 10^{-3}$	$9,1 \times 10^{-3}$	$2,03 \times 10^{-2}$	$2,46 \times 10^{-2}$	$7,15 \times 10^{-2}$
k [$M^{-1} s^{-1}$] ^{b)}	0,017	0,038	0,041	0,033	0,042	$5,1 \times 10^{-3}$					
Ea [$kJ mol^{-1}$] ^{c)}			14,4						35,33		
ΔH^\ddagger [$kJ mol^{-1}$] ^{d)}			19,8						32,16		
$T\Delta S^\ddagger$ [$kJ mol^{-1}$] ^{d)}	-5,55	-5,70	-5,88	-6,07	-6,26	-66,7	-69,3	-73,3	-77,6	-81,6	-85,5
ΔG^\ddagger [$kJ mol^{-1}$] ^{e)}	74,8	76,7	78,6	80,5	82,3	99,3	101,5	105,4	109,8	113,7	117,6
3L						4L					
Temperatura (°C)						Temperatura (°C)					
Parâmetro [unit]	60	70	80	90	100	65	78	98	120	140	160
k [$M^{-1} s^{-1}$] ^{a)}	2,42	3,72	4,81	5,64	9,07	$0,53 \times 10^{-3}$	$0,48 \times 10^{-3}$	$0,84 \times 10^{-3}$	$0,90 \times 10^{-3}$	$2,13 \times 10^{-3}$	$1,90 \times 10^{-3}$
$k \times 10^3$ [$M^{-1} s^{-1}$] ^{b)}						$0,35 \times 10^{-3}$		$0,83 \times 10^{-3}$			
Ea [$kJ mol^{-1}$] ^{c)}			31,6						26,1		
ΔH^\ddagger [$kJ mol^{-1}$] ^{d)}			28,7						22,97		
$T\Delta S^\ddagger$ [$kJ mol^{-1}$] ^{d)}	-63,9	-65,8	-67,8	-69,7	-71,6	-65,4	-67,9	-71,8	-76,1	-79,9	-83,3
ΔG^\ddagger [$kJ mol^{-1}$] ^{e)}	92,6	94,6	96,5	98,4	100,3	89,4	91,9	95,9	100,2	104,1	108

Valores calculados a partir dos dados experimentais obtidos a) no processo em fluxo e b) no processo em batelada. c) Valor estimado através do modelo de Arrhenius; d) Valores estimados através do modelo de Eyring; e) Valor calculado pela equação de Gibbs-Helmholtz ($\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$).

Fonte: Autoria própria e Silva et al., 2022

7 CONCLUSÃO

Este trabalho de pesquisa contempla temas importantes relacionados à síntese de fármacos, bem como a transposição de processo de síntese, solventes verdes e redução do tempo reacional, além disto, a questão interdisciplinar deste estudo enriquece esta pesquisa científica. A tecnologia de microrreatores já está presente em plantas industriais de grandes empresas farmacêuticas em outros países, entretanto, no Brasil esta tecnologia ainda é pouco conhecida, ficando restrita apenas em pesquisas acadêmicas. O manuseio de produtos químicos perigosos e o uso de grandes reatores batelada em alta pressão e temperatura expõe o trabalhador a um risco elevado, principalmente considerando que o país possui alto número de acidentes de trabalho em indústrias químicas, indicando assim que esta tecnologia pode ser uma aliada na segurança no trabalho. O uso de microrreatores comprovadamente diminui esta exposição, tendo em vista que a transformação química ocorre dentro pequenos capilares, com volume interno da ordem de alguns mL. A técnica de *numbering-up*, substitui o aumento de escala dos reatores batelada, possibilitando o uso de microrreatores em escala industrial. Para provar a eficiência desta tecnologia, foram escolhidos dois fármacos da classe das glitazonas, a Pioglitazona (Actos[®]) e Lobeglitazona (Duvie[®]), para terem suas rotas de síntese transpostas do processo batelada para a síntese em fluxo, em microrreator capilar. Ambos os fármacos são utilizados no combate ao diabetes *mellitus* tipo 2, uma das maiores preocupações na área da saúde em todo o mundo.

Em relação ao fármaco Pioglitazona, as reações de formação dos produtos intermediários **2P** e **4P** foram possíveis de serem transpostas para a síntese em fluxo, atingindo valores de rendimento da ordem de 66,0 e 85,3% e número de microrreatores em paralelo (n_{MR}) de 4,4 e 2,0, a 25 e 120°C, respectivamente, entretanto a formação do intermediário **3P** e a última etapa da rota, a formação do produto Pioglitazona não foram possíveis de serem transpostas para a síntese em fluxo. Seus rendimentos no processo batelada foram de 54% e 100%, a 25°C. Destaca-se também que foi desenvolvida uma metodologia que possibilita a síntese do produto intermediário **3P** a partir do reagente **1P**, sem a necessidade da síntese do intermediário **2P**, reduzindo assim uma etapa da rota original de síntese. Para esta nova metodologia foi solicitada patente (BR 10 2021 006604 0).

Já em relação ao fármaco Lobeglitazona, as reações de formação dos produtos intermediários **1L**, **2L** e **4L** foram possíveis de serem transpostas para a síntese em fluxo em microrreator capilar, os quais atingiram rendimentos de 28,0, 61,0 e 32,0%, $n_{MR} = 1,4, 0,8$ e

2,5, a 25, 160 e 120°C, respectivamente. A síntese do produto intermediário **3L** e a formação do produto Lobeglitzona, não foram possíveis de serem transpostas para o processo em fluxo; em batelada, seus rendimentos foram de 73,0 e 100%, a 60 e 25°C, respectivamente.

Embora algumas etapas de ambas as rotas de síntese não foram possíveis de serem transpostas do processo batelada para o processo em fluxo, conclui-se que os resultados obtidos são excelentes e os objetivos da pesquisa foram atingidos com êxito. Além disto, os resultados abrem uma janela de possibilidades de se prosseguir com este estudo, investigando outras metodologias, para se transpor para o processo em fluxo, as reações que não foram possíveis, ampliação dos estudos das reações já transpostas, testando novas bases e/ou catalisadores e solventes, escalonamento para uma produção industrial e a criação de novas moléculas da classe das glitazonas.

REFERÊNCIAS

- ADAMO, A. et al. On-demand continuous-flow production of pharmaceuticals in a compact, reconfigurable system. **Science**, v. 352, n. 6281, p. 61–67, 2016.
- AHMADI, A. et al. Synthesis and Evaluation of the Hypoglycemic and Hypolipidemic Activity of Novel Arylidene Thiazolidinedione Analogson a Type 2 Diabetes Model. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 50, n. 3, p. 165–171, 2016.
- AKHTAR, T. et al. Design and synthesis of benzylidene thiazolidine-2,4-dione derivatives with their anticancer and antidiabetic biological screening. **World Journal of Pharmaceutical research**, v. 4, n. 1, p. 1231–1243, 2015.
- ALAM, F. et al. Efficacy and Safety of Pioglitazone Monotherapy in Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomised Controlled Trials. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–13, 2019.
- ALBERTI, K. G. M. M. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International . **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640–1645, 2009.
- ALDER, C. M. et al. Updating and further expanding GSK’s solvent sustainability guide. **Green Chem.**, v. 18, n. 13, p. 3879–3890, 2016.
- ANUMULA, R. R. et al. **Processes for preparing pioglitazone and its pharmaceutically acceptable salts**EUA, 2009.
- ATKINS, P.; PAULA, J. D. E. **Physical Chemistry**. 8th editio ed. Oxford: Oxford, 2006.
- BAHARE, R. et al. Synthesis, HIV-1 RT inhibitory, antibacterial, antifungal and binding mode studies of some novel N-substituted 5-benzylidine-2,4-thiazolidinediones. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 1, p. 6, 2015.
- BAXENDALE, I. R. The integration of flow reactors into synthetic organic chemistry. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 88, n. 4, p. 519–552, 2013.
- BRASIL. **Portaria Nº 344 , de 12 de Maio de 1998. Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial.**Brasil, 1998.
- BRASIL. **Resolução - RDC Nº 375, de 15 de Abril de 2020. Dispõe sobre a atualização do Anexo I (Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial) da Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998, e dá outras providênci**Brasil, 2020.
- BRITTON, J.; RASTON, C. L. Multi-step continuous-flow synthesis. **Chem. Soc. Rev.**, v.

46, p. 1250–1271, 2017.

BURNS, N. Z.; BARAN, P. S.; HOFFMANN, R. W. Redox economy in organic synthesis. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 48, n. 16, p. 2854–2867, 2009.

BYRNE, F. P. et al. Tools and techniques for solvent selection: green solvent selection guides. **Sustainable Chemical Processes**, v. 4, n. 1, p. 7, 2016.

CALVO, P. V. C. et al. Flow Synthesis of 2-[Methyl(pyridin-2-yl)amino]ethanol: An Experimental and Computational Study. **Chemical Engineering and Technology**, v. 44, n. 2, p. 283–290, 2021.

CHEN, M. et al. Low supported nickel-cobalt catalyst for hydrogenation of maleic anhydride. **Fuel**, v. 331, n. P1, p. 125520, 2023.

CILIBRIZZI, A. et al. Hydroxypyridinone Journey into Metal Chelation. **Chemical Reviews**, v. 118, n. 16, p. 7657–7701, 2018.

CLARIVATE, A. **The Brazil Pharmaceutical Market As Seen in the DataSã**o PauloClarivate Analytics, , 2017.

CLAYDEN, J. et al. **Organic Chemistry**. 2nd Editio ed. [s.l: s.n.].

COMMISSION, E. **Green chemistry goes with the flow**. Disponível em: <<https://ec.europa.eu/programmes/horizon2020/en/news/green-chemistry-goes-flow>>. Acesso em: 30 set. 2019.

DARWISH, K. M. et al. Design, synthesis, and biological evaluation of novel thiazolidinediones as PPAR3/FFAR1 dual agonists. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 109, p. 157–172, 2016.

DEFRONZO, R. A. From the triumvirate to the ominous octet: A new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. **Diabetes**, v. 58, n. 4, p. 773–795, 2009.

DRUGBANK. **Lobeglitazone**. Disponível em: <<https://www.drugbank.ca/drugs/DB09198>>. Acesso em: 19 fev. 2021.

DUNN, P. J. The importance of Green Chemistry in Process Research and Development. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 4, p. 1452–1461, 2012.

EMS S/A. **Cloridrato de pioglitazona**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=5093482015&pIdAnexo=2671778>. Acesso em: 26 set. 2019.

FANELLI, F. et al. Contribution of microreactor technology and flow chemistry to the development of green and sustainable synthesis. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 13, n. Figure 1, p. 520–542, 2017.

FARMACOPÉIA, A. N. D. V. S. Farmacopeia Brasileira. **Farmacopeia Brasileira**, 5^a

edição, v. 1, p. 1–523, 2010.

FERWANA, M. et al. Pioglitazone and risk of bladder cancer: A meta-analysis of controlled studies. **Diabetic Medicine**, v. 30, n. 9, p. 1026–1032, 2013.

GAONKAR, S. L.; SHIMIZU, H. Microwave-assisted synthesis of the antihyperglycemic drug rosiglitazone. **Tetrahedron**, v. 66, n. 18, p. 3314–3317, 2010.

GOWDA, C. D.; GOWDA, S. Formic acid with 10% palladium on carbon: A reagent for selective reduction of aromatic nitro compounds. **Indian Journal of Chemistry - Section B Organic and Medicinal Chemistry**, v. 39, n. 9, p. 709–711, 2000.

GUTMANN, B.; CANTILLO, D.; KAPPE, C. O. Continuous-flow technology - A tool for the safe manufacturing of active pharmaceutical ingredients. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 54, n. 23, p. 6688–6728, 2015.

HAMIDOVIĆ, M.; ENDER, F.; SPRINGER, A. A Novel Enzymatic Microreactor: Towards Transforming the Pharmaceutical Industry. **IFMBE Proceedings**, v. 73, p. 303–308, 2020.

HARRIOT, P. **Chemical Reactor Design**. 1st. ed. Basel: Marcel Dekker AG, 2003. v. 53

HESSEL, V. et al. Novel process windows for enabling, accelerating, and uplifting flow chemistry. **ChemSusChem**, v. 6, n. 5, p. 746–789, 2013.

HIDAYAT, K. et al. The use of metformin, insulin, sulphonylureas, and thiazolidinediones and the risk of fracture: Systematic review and meta-analysis of observational studies. **Obesity Reviews**, n. May, p. 1–10, 2019.

HILL, C. G.; ROOT, T. W. **Introduction to Chemical Engineering Kinetics & Reactor Design**. 2nd. ed. New Jersey: [s.n.]. v. 53

INZUCCHI, S. E. et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: A patient-centered approach. **Diabetes Care**, v. 35, n. 6, p. 1364–1379, 2012.

JIN, S. M. et al. Lobeglitazone and pioglitazone as add-ons to metformin for patients with type 2 diabetes: A 24-week, multicentre, randomized, double-blind, parallel-group, active-controlled, phase III clinical trial with a 28-week extension. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 17, n. 6, p. 599–602, 2015.

KIM, B. Y. et al. Synthesis and biological activity of novel substituted pyridines and purines containing 2,4-thiazolidinedione. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, n. 5, p. 433–447, 2004.

KIM, S. G. et al. Efficacy and safety of lobeglitazone monotherapy in patients with type 2 diabetes mellitus over 24-weeks: A multicenter, randomized, double-blind, parallel-group, placebo controlled trial. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, 2014.

KLAFKE, A. et al. The decline in mortality due to acute complications of diabetes mellitus in

Brazil, 1991 – 2010. **BMC Public Health**, v. 15, n. 772, p. 1–8, 2015.

KOCKMANN, N. **Transport Phenomena in Micro Process Engineering**. 1st. ed. Berlin: [s.n.].

KRTSCHIL, U. et al. Flow chemistry of the Kolbe-Schmitt synthesis from resorcinol: Process intensification by alternative solvents, new reagents and advanced reactor engineering.

Chemical Engineering and Technology, v. 32, n. 11, p. 1774–1789, 2009.

KUMAR, B. R. P. et al. Microwave Induced Synthesis of the Thiazolidine-2, 4-dione Motif and the Efficient Solvent Free-Solid Phase Parallel Syntheses of 5-Benzylidene-thiazolidine-2, 4-dione and 5-Benzylidene-2-thioxo-thiazolidine-4-one Compounds. 2006.

LEE, H. W. et al. Molecular design, synthesis, and hypoglycemic and hypolipidemic activities of novel pyrimidine derivatives having thiazolidinedione. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, n. 9, p. 862–874, 2005.

LEE, H. W. et al. Process development and scale-up of PPAR α/γ Dual agonist lobeglitazone sulfate (CKD-501). **Organic Process Research and Development**, v. 11, n. 2, p. 190–199, 2007.

LEE, S. L. **Modernizing the way drugs are made: A transition to continuous manufacturing**. Disponível em: <<https://www.fda.gov/Drugs/NewsEvents/ucm557448.htm>>. Acesso em: 15 abr. 2019.

LEE, Y. et al. Lobeglitazone, a Novel Thiazolidinedione, Improves Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Type 2 Diabetes: Its Efficacy and Predictive Factors Related to Responsiveness Study patients. n. 4, p. 60–69, 2017.

LESZCZYNSKI, J. **Handbook of computational chemistry**. [s.l.: s.n.].

LI, J. et al. Design and synthesis of novel pegylated iron chelators with decreased metabolic rate. **Chemical and Engineering News**, v. 7, n. 18, p. 2439–2449, 2015a.

LI, W. et al. Lipase-catalyzed Knoevenagel condensation in water-ethanol solvent system. Does the enzyme possess the substrate promiscuity? **Biochemical Engineering Journal**, v. 101, p. 99–107, 2015b.

LI, X. et al. Polymer-assisted solution phase synthesis of the antihyperglycemic agent Rosiglitazone (AvandiaTM). **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 1, n. 24, p. 4392–4395, 2003.

LI, Y.; LIU, H. Selective Hydrogenolysis of Glycerol to 1,3-Propanediol over Supported Platinum-Tungsten Oxide Catalysts. **Wuli Huaxue Xuebao/ Acta Physico - Chimica Sinica**, v. 38, n. 10, p. 1–8, 2022.

LIU, D. Y.; LIU, Z. D.; HIDER, R. C. Oral iron chelators – development and application.

- Best Practice & Research Clinical Haematology**, v. 15, n. 2, p. 369–384, 2002.
- LIU, Z. D. et al. Synthesis, physicochemical properties and biological evaluation of ester prodrugs of 3-hydroxypyridin-4-ones: Design of orally active chelators with clinical potential. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 34, n. 6, p. 475–485, 1999.
- LUO, Y. et al. Discovery of (Z)-5-(4-methoxybenzylidene)thiazolidine-2,4-dione, a readily available and orally active glitazone for the treatment of concanavalin A-induced acute liver injury of BALB/c mice. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, n. 1, p. 273–281, 2010.
- MACHADO, A. H. L. et al. Micro reatores: Novas oportunidades em síntese química. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 4, p. 1076–1085, 2014.
- MADIVADA, L. R. et al. An improved process for pioglitazone and its pharmaceutically acceptable salt. **Organic Process Research and Development**, v. 13, n. 6, p. 1190–1194, 2009.
- MAJI, D.; SAMANTA, S. Novel thiazolidinedione-5-acetic-acid-peptide hybrid derivatives as potent antidiabetic and cardioprotective agents. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 88, p. 1163–1172, 2017.
- MALIK, N.; PRASAD, D. N. Synthesis and Antimicrobial Evaluation of N-Substituted-5-Benzylidene-2, 4-Thiazolidinedione Derivatives. v. 8, n. 3, p. 209–214, 2012.
- MASSON, E. et al. Fixed Bed Continuous Hydrogenations in Trickle Flow Mode: A Pharmaceutical Industry Perspective. **Organic Process Research & Development**, v. 26, n. 8, p. 2190–2223, 2022.
- MCGUIRE, J. L. et al. Pioglitazone improves working memory performance when administered in chronic TBI. **Neurobiology of Disease**, v. 132, n. February, p. 104611, 2019.
- MENGES, N.; BALCI, M. Catalyst-free hydrogenation of alkenes and alkynes with hydrazine in the presence of oxygen. **Synlett**, v. 25, n. 5, p. 671–676, 2014.
- MINISTÉRIO DA FAZENDA, B. **Anuário Estatístico de Acidentes de TrabalhoSecretaria de Previdência** BrasíliaMinistério da Fazenda, , 2017. Disponível em: <<http://sa.previdencia.gov.br/site/2018/09/AEAT-2017.pdf>>
- MINISTÉRIO DA SAUDE. **Diabetes (diabetes mellitus): Sintomas, Causas e Tratamentos**. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/diabetes>>. Acesso em: 23 set. 2019.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Nota Técnica Nota Técnica N° 40/2012**. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/setembro/17/Pioglitazona.pdf>>. Acesso em: 26 set. 2019.
- MORENO-MARRODAN, C. et al. Continuous flow catalytic partial hydrogenation of

- hydrocarbons and alcohols over hybrid Pd/ZrO₂/PVA wall reactors. **Applied Catalysis A: General**, v. 558, n. March, p. 34–43, 2018.
- MORGON, N. H.; CUSTÓDIO, R. Teoria do Funcional de Densidade. **Química Nova**, v. 18, n. 1, p. 44–55, 1995.
- PINHEIRO, D. DA S. et al. Optimized Synthesis and Characterization of Thiazolidine-2, 4-Dione for Pharmaceutical Application. **MOJ Bioorganic & Organic Chemistry**, v. 1, n. 4, p. 122–126, 2017.
- PINHEIRO, D. DA S. et al. Microreactor Technology as a Tool for the Synthesis of a Glitazone Drug Intermediate. **Chemical Engineering and Technology**, v. 41, n. 9, p. 1800–1807, 2018.
- PORTA, R.; BENAGLIA, M.; PUGLISI, A. Flow Chemistry: Recent Developments in the Synthesis of Pharmaceutical Products. **Organic Process Research and Development**, v. 20, n. 1, p. 2–25, 2016.
- PRATAP, U. R. et al. Synthesis of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones by Knoevenagel condensation catalyzed by baker's yeast. **New J. Chem.**, v. 35, n. 1, p. 49–51, 2011.
- QIU, M. et al. Numbering-up of capillary microreactors for homogeneous processes and its application in free radical polymerization. **Reaction Chemistry and Engineering**, v. 4, n. 2, p. 351–361, 2019.
- RANČIĆ, M. P. et al. Experimental and theoretical study of substituent effect on ¹³C NMR chemical shifts of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones. **Journal of Molecular Structure**, v. 1049, p. 59–68, 2013.
- ROBERGE, D. M. et al. Microreactor technology: A revolution for the fine chemical and pharmaceutical industries? **Chemical Engineering and Technology**, v. 28, n. 3, p. 318–323, 2005.
- ROY, A. et al. Synthesis , Biological Evaluation and Molecular Modeling Studies of 5- [4- (substituted) benzylidene or benzyl] thiazolidine-2 , 4-dione with Oral Antihyperglycemic Activity. v. 5, n. 4, p. 1882–1895, 2013.
- ŠALIĆ, A.; TUŠEK, A.; ZELIĆ, B. Application of microreactors in medicine and biomedicine. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 10, n. 3, p. 137–153, 2012.
- SCHABER, S. D. et al. Economic Analysis of Integrated Continuous and Batch Pharmaceutical Manufacturing: A Case Study. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 50, n. 17, p. 10083–10092, 2011.
- SIGUEMOTO, É. S. et al. Residence Time Distribution of a Capillary Microreactor Used for Pharmaceutical Synthesis. **Chemical Engineering and Technology**, v. 43, n. 3, p. 429–435,

2020.

SILVA, R. R. DE O. et al. Flow Synthesis of a Thiazolidine Drug Intermediate in Capillary Microreactors. **Chemical Engineering and Technology**, v. 42, n. 2, p. 465–473, 2019.

SILVA, R. R. DE O. et al. Synthesis of Lobeglitazone intermediates seeking for continuous drug production in flow capillary microreactor. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 116, p. 239–249, 2022.

SILVA, R. R. DE O.; PALMA, M. S. A. **Processo para síntese de Pioglitazona** Brasil, 2021.

SILVA, R. R. DE O.; PALMA, M. S. A. Flow synthesis of n-substituted 5-benzylidinedithiazolidine-2,4-dione. **Studies in Engineering and Exact Sciences**, v. 3, n. 2, p. 385–402, 2022.

SOHN, J. H. et al. Effects of three thiazolidinediones on metabolic regulation and cold-induced thermogenesis. **Molecules and Cells**, v. 41, n. 10, p. 900–908, 2018.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Organic Chemistry**. 10. ed. EUA: [s.n.].

SOUZA, R. O. M. A.; MIRANDA, L. S. M. Reações sob fluxo contínuo: Da química verde a um processo verde. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 1, p. 34–43, 2014.

STANKIEWICZ, A.; MOULIJN, J. Process Intensification: Transforming Chemical Engineering. **Chemical Engineering Progress**, v. 96, n. January, p. 22–34, 2000.

STOUTEN, S. C. et al. A view through novel process windows. **Australian Journal of Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 121–130, 2013.

TANAKA, A.; MAEKAWA, K.; SUZUKI, K. **Theoretical Calculations in Reaction Mechanism Studies**. Tokyo: [s.n.]. Disponível em: <https://www.sumitomo-chem.co.jp/english/rd/report/files/docs/2013E_5.pdf>.

TONHAUSER, C. et al. Micro flow Technology in Polymer Synthesis. **Macromolecules**, v. 45, p. 9551–9570, 2012.

TRIALS, C. **Clinical Trial to Evaluate the Efficacy and Safety of CKD-333 Tablet**.

Disponível em: <<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03583905>>. Acesso em: 19 fev. 2021.

VOLLHARDT, P.; SCHORE, N. **Organic Chemistry - Structure and Function**. 6. ed. EUA: [s.n.].

WANG, W. et al. Efficient hydrogenation of p-chlorophenol and Cr(VI) driven by hydrogen rich balls over Pd/C catalysts. **Journal of Hazardous Materials**, v. 437, n. June, 2022.

WILES, C.; WATTS, P. Improving chemical synthesis using flow reactors. **Expert Opin. Drug Discov.**, v. 2, n. 11, p. 1487–1503, 2007.

WILES, C.; WATTS, P. The scale-up of organic synthesis using micro reactors. **chimica**

oggi/**Chemistry Today**, v. 28, n. June, p. 3–5, 2010.

WILES, C.; WATTS, P. Continuous flow reactors: a perspective. **Green Chemistry**, v. 14, n. 1, p. 38–54, 2012.

WILES, C.; WATTS, P. Continuous process technology: a tool for sustainable production. **Green Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 55–62, 2014.

WIRTH, T. **Microreactors in Organic Chemistry and Catalysis: Second, Completely Revised and Enlarged Edition**. 2nd Ed. ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013.

XU, L. et al. Synthesis of copper nanocolloids using a continuous flow based microreactor. **Applied Surface Science**, v. 355, p. 1–6, 2015.

ZHAO, W.; CHEN, F.-E. One-pot Synthesis and its Practical Application in Pharmaceutical Industry. **Current Organic Synthesis**, v. 9, n. 6, p. 873–897, 2013.

ZHOU, F. et al. Cyclization of Pseudoionone Catalyzed by Sulfuric Acid in a Microreactor. **Chemical Engineering and Technology**, v. 39, n. 5, p. 849–856, 2016.

ZIEGLER, R. E. et al. 7-Step Flow Synthesis of the HIV Integrase Inhibitor Dolutegravir. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 57, n. 24, p. 7181–7185, 2018.

Apêndice 1 - Elucidação das reações de formação dos produtos intermediários dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona em nível teórico.

1 SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS

Durante o período de vigência foram realizados ensaios de *Density Functional Theory* - DFT), utilizando o software Gaussian 09[®], para propor os mecanismos reacionais das reações intermediárias e de formação dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona, localizando os estados de transição, conformações mais estáveis dos produtos e reagentes e comparar os valores cinéticos da reação e dos parâmetros termodinâmicos obtidos experimentalmente, pelo modelo de Eyring. Esta pesquisa foi realizada em conjunto com o Prof. Dr. Lucas Colucci Ducati, do Departamento de Química Fundamental do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ/USP).

Todas as reações estudadas em laboratório foram simuladas no software, porém apenas as reações de formação dos produtos intermediários **3P** (método alternativo) e **2L** foram possíveis de serem concluídas. A simulação não foi concluída para as demais etapas reacionais estudadas, sendo necessário prosseguimento dos estudos computacionais. A Tabela A1.1 apresenta as etapas que são necessárias para o estudo completo da simulação computacional, bem como quais etapas foram realizadas (verde) e quais não foram concluídas (vermelho) de cada reação de formação de produtos intermediários dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona.

Tabela A1.1 - Resumo do estudo de simulação computacional dos mecanismos reacionais da formação dos produtos intermediários dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona. (OBS: Em verde as etapas concluídas e em vermelho as etapas que não foram possíveis).

	Pioglitazona			Lobeglitazona		
Palavra-chave	3P	4P	1L	2L	3L	4L
<i>opt freq</i>	Verde	Vermelho	Verde	Verde	Verde	Verde
<i>ts</i>	Verde	Vermelho	Verde	Verde	Verde	Vermelho
<i>IRC forward</i>	Verde	Vermelho	Verde	Verde	Verde	Vermelho
<i>IRC reverse</i>	Verde	Vermelho	Vermelho	Verde	Vermelho	Vermelho
<i>opt (forward)</i>	Verde	Vermelho	Verde	Verde	Verde	Vermelho
<i>opt (reverse)</i>	Verde	Vermelho	Vermelho	Verde	Vermelho	Vermelho

A etapa de otimização (palavra-chave: *opt*) busca encontrar a configuração molecular na qual há o mínimo de energia, enquanto a etapa de frequência (palavra-chave: *freq*) calcula as vibrações para que haja a interação entre moléculas (FORESMAN; FRISCH, 2015).

A etapa de estado de transição (palavra-chave: *ts*), como o próprio nome indica, busca pelo estado de transição, ou seja, a configuração na qual pode haver a formação de ligação química e/ou a quebra de ligações, para formação de um novo produto ou inverso da reação, regenerando os reagentes (FORESMAN; FRISCH, 2015).

A etapa de IRC (*Intrinsic Reaction Coordinate*) indica a coordenação da qual a reação deve prosseguir, sendo a palavra-chave *forward* a que representa a formação do produto, enquanto a palavra-chave *reverse* indica o retorno aos reagentes iniciais (FORESMAN; FRISCH, 2015).

E, novamente, a etapa de otimização busca pela configuração molecular em que há o mínimo de energia na molécula, tanto como reagentes (a partir do *IRC reverse*), quanto para o produto (*IRC forward*) (FORESMAN; FRISCH, 2015).

Se alguma destas etapas descritas não for concluída, conseqüentemente não é possível fechar o ciclo do mecanismo reacional. Nestes casos são necessários realizar novos ajustes à conformação molecular no software Gaussian 09[®], além de buscar por novas bases e modelos teóricos que se ajustem à reação em estudo. A título de informação, foram gerados mais de 900 arquivos (ou seja, mais de 900 tentativas) buscando-se a elucidação do mecanismo reacional de formação dos produtos intermediários da Pioglitazona e Lobeglitazona, variando ajustes de conformação, novas bases, modelos teóricos, funcionais, etc.

1.1 ELUCIDAÇÃO DA REAÇÃO DE FORMAÇÃO DO PRODUTO INTERMEDIÁRIO **3P** EM NÍVEL TEÓRICO

A Figura A1.1 apresenta o diagrama de energia do mecanismo reacional na formação do produto intermediário **3P** (método alternativo). Já as Tabelas A1.2, A1.3 e A1.4 apresentam os valores termodinâmicos (ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger , $T\Delta S^\ddagger$, respectivamente) calculados com o funcional b3lyp e base 6-31g, nos pontos (1) diferença de energia entre *TS* e reagentes, (2) diferença de energia entre *TS* e produto, (3) diferença de energia entre reagentes e produto, enquanto a Tabela A1.5 apresenta os valores da

constante da taxa de reação de segunda ordem (k), energia de ativação (E_a), entropia (ΔS^\ddagger), entalpia (ΔH^\ddagger) e energia livre de Gibbs (ΔG^\ddagger) para **3P**. Todas as simulações foram realizadas no solvente *n,n*-dimetilformamida, mesmo solvente dos ensaios experimentais. A formação do produto intermediário 4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzaldeído (**3P**) ocorre a partir de uma desprotonação do grupo OH presente no 2-(5-etilpiridin-2-il)etanol (**1P**) com uma base forte, formando um sal fenóxido, seguida por uma substituição nucleofílica aromática na posição do flúor, presente no reagente 4-fluorbenzaldeído, formando o produto (**3P**) (SOLOMONS; FRYHLE, 2009). Foi possível verificar que os valores estimados para o TS usando *DFT* e o modelo de Eyring (experimental) para ΔG^\ddagger foram próximos, enquanto os valores de $T\Delta S^\ddagger$ não foram. Serão necessários novos testes para verificar a razão do $T\Delta S^\ddagger$ não serem semelhantes, com o ajuste de novas bases para os cálculos de simulação computacional. Também se observou que os valores estimados para TS usando os modelos de *DFT* (teórico) e Eyring (experimental) para ΔG^\ddagger indicam que, por conta da diferença entre reagentes e produto terem valores negativos, a reação é termodinamicamente estável.

Figura A1.1 - Diagrama de energia do mecanismo e formação do produto intermediário **3P** (método alternativo). (1) diferença de energia entre TS e reagentes, (2) diferença de energia entre TS e produto, (3) diferença de energia entre reagentes e produto. Todas as energias foram calculadas com o funcional b3lyp e base 6-31g e solvente *n,n*-dimetilformamida. TS^\ddagger = Estado de transição.

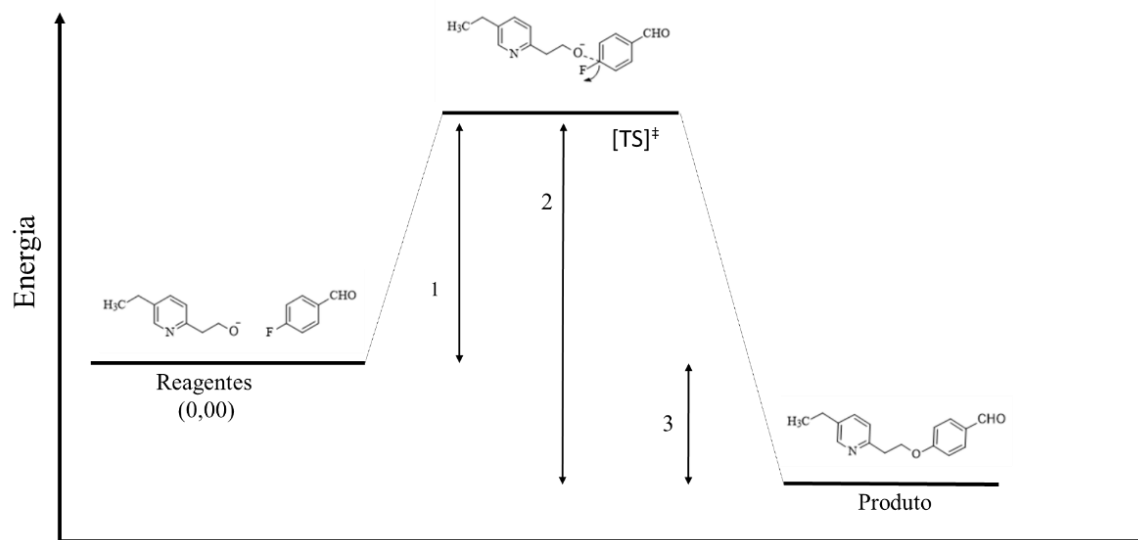


Tabela A1.2 - ΔG^\ddagger estimado na faixa de temperatura de 30 - 60°C, na formação do produto intermediário **3P** com o funcional b3lyp e base 6-31g (1) diferença de energia entre *TS* e reagentes, (2) diferença de energia entre *TS* e produto, (3) diferença de energia entre reagentes e produto

ΔG^\ddagger (kJ mol ⁻¹)			
<i>T</i> (K)	1	2	3
303	69,6	-64,3	5,31
313	67,1	-64,2	2,86
323	70,8	-64,1	6,69
333	71,5	-64,0	7,42

Tabela A1.3 - ΔH^\ddagger estimado na faixa de temperatura de 30 - 60°C, na formação do produto intermediário **3P** com o funcional b3lyp e base 6-31g (1) diferença de energia entre *TS* e reagentes, (2) diferença de energia entre *TS* e produto, (3) diferença de energia entre reagentes e produto

ΔH (kJ mol ⁻¹)			
<i>T</i> (K)	1	2	3
303	50,65	-67,25	-16,60
313	50,69	-67,23	-16,54
323	50,44	-67,20	-16,76
333	50,34	-67,17	-16,83

Tabela A1.4 - $T\Delta S^\ddagger$ estimado na faixa de temperatura de 30 - 60°C, na formação do produto intermediário **3P** com o funcional b3lyp e base 6-31g (1) diferença de energia entre *TS* e reagentes, (2) diferença de energia entre *TS* e produto, (3) diferença de energia entre reagentes e produto

$T\Delta S$ (kJ mol ⁻¹)			
<i>T</i> (K)	1	2	3
303	-18,98	-2,93	-21,91
313	-16,40	-2,99	-19,40
323	-20,37	-3,07	-23,45
333	-21,12	-3,13	-24,25

Tabela A1.5 - Parâmetros cinéticos e termodinâmicos da síntese dos produtos intermediários **3P**. Constante de segunda ordem da taxa de reação (*k*); Energia de ativação (*E_a*); variação de entalpia (ΔH^\ddagger), variação de energia livre de Gibbs (ΔG^\ddagger) e produto da temperatura pela variação de entropia ($T\Delta S^\ddagger$) estimados para o estado de transição.

Parâmetro [unit]	3P				
	<i>T</i> (K)				
	298	303	313	323	333
<i>k</i> x 10 ² [M ⁻¹ s ⁻¹] a)	1,12	1,03	1,28	1,42	1,69
<i>E_a</i> [kJ mol ⁻¹] c)	13,3				
ΔH^\ddagger [kJ mol ⁻¹] d)	10,7				
$T\Delta S^\ddagger$ [kJ mol ⁻¹] d)	-56,6	-57,6	-59,5	-61,4	-63,3
ΔG^\ddagger [kJ mol ⁻¹] e)	67,2	68,7	70,6	72,5	74,5

Valores calculados a partir dos dados experimentais obtidos a) no processo em batelada. b) Valor estimado através do modelo de Arrhenius; c) Valores estimados através do modelo de Eyring; d) Valor calculado pela equação de Gibbs-Helmholtz ($\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$).

1.2 ELUCIDAÇÃO DA REAÇÃO DE FORMAÇÃO DO PRODUTO INTERMEDIÁRIO **2L** EM NÍVEL TEÓRICO

A Figura A1.2 apresenta o diagrama de energia do mecanismo reacional na formação do produto intermediário **2L**. Já as Tabelas A1.6, A1.7 e A1.8 apresentam os valores termodinâmicos (ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger , $T\Delta S^\ddagger$, respectivamente) calculados com o funcional m062x e base cc-pvtz, nos pontos (1) diferença de energia entre *TS* e reagentes, (2) diferença de energia entre *TS* e produto, (3) diferença de energia entre reagentes e produto, enquanto a Tabela A1.9 apresenta os valores da constante da taxa de reação de segunda ordem (k), energia de ativação (E_a), entropia (ΔS^\ddagger), entalpia (ΔH^\ddagger) e energia livre de Gibbs (ΔG^\ddagger) para **2L**. Todas as simulações foram realizadas no solvente etanol, mesmo solvente dos ensaios experimentais. A formação do produto intermediário 2-((6-(4-metoxifenoxi)pirimidin-4-il)(metilamino)etan-1-ol (**2L**) ocorre a partir de uma substituição nucleofílica aromática. O mecanismo de adição-eliminação ocorre com a adição do grupo amino presente no 2-metilaminoetanol, forma-se o complexo de *Meisenheimer* que estabiliza o anel aromático, seguida pela eliminação do ânion Cl^- , que subtrai o próton do grupo amino, formando HCl e o produto intermediário **2L** (SOLOMONS; FRYHLE, 2009). Os valores estimados para *TS* usando os modelos de *DFT* (teórico) e Eyring (experimental) para ΔG^\ddagger indicam que, por conta da diferença entre reagentes e produto terem valores negativos, a reação é termodinamicamente estável, embora seus valores estimados não estejam próximos. Houve também uma grande diferença nos valores de $T\Delta S^\ddagger$, conforme observado nas simulações computacionais do produto intermediário **3P**, anteriormente citado. Serão necessários novos testes para verificar a razão dos valores de $T\Delta S^\ddagger$ não serem próximos, com o ajuste de novas bases para os cálculos de simulação computacional.

Figura A1.2 - Diagrama de energia do mecanismo e formação do produto intermediário **2L**. (1) diferença de energia entre *TS* e reagentes, (2) diferença de energia entre *TS* e produto, (3) diferença de energia entre reagentes e produto. Todas as energias foram calculadas com o funcional m062x e base cc-pvtz e solvente etanol. TS^\ddagger = Estado de transição.

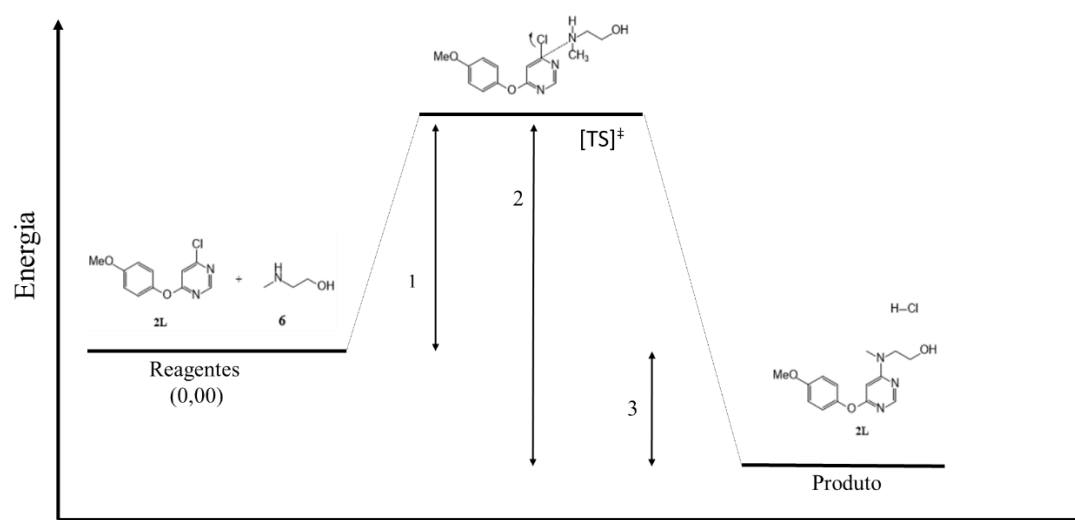


Tabela A1.6 - ΔG^\ddagger estimado na faixa de temperatura de 25 - 160°C, na formação do produto intermediário **2L** com o funcional m062x e base cc-pvtz (1) diferença de energia entre *TS* e reagentes, (2) diferença de energia entre *TS* e produto, (3) diferença de energia entre reagentes e produto.

ΔG^\ddagger (kJ mol ⁻¹)			
<i>T</i> (K)	1	2	3
298	71,2	-161,5	-90,3
338	72,7	-162,3	-89,6
351	73,1	-162,3	-89,2
373	73,4	-158,1	-84,8
393	74,1	-158,3	-84,3
413	75,5	-158,4	-82,9
433	76,3	-158,5	-82,2

Tabela A1.7 - ΔH^\ddagger estimado na faixa de temperatura de 25 - 160°C, na formação do produto intermediário **2L** com o funcional m062x e base cc-pvtz (1) diferença de energia entre *TS* e reagentes, (2) diferença de energia entre *TS* e produto, (3) diferença de energia entre reagentes e produto

ΔH^\ddagger (kJ mol ⁻¹)			
<i>T</i> (K)	1	2	3
298	60,6	-156,9	-96,3
338	60,2	-157,0	-96,7
351	60,1	-156,9	-96,8
373	59,6	-156,0	-96,4
393	59,4	-156,1	-96,6
413	59,6	-156,1	-96,5
433	59,4	-156,1	-96,7

Tabela A1.8 - $T\Delta S^\ddagger$ estimado na faixa de temperatura de 25 - 160°C, na formação do produto intermediário **2L** com o funcional m062x e base cc-pvtz (1) diferença de energia entre *TS* e reagentes, (2) diferença de energia entre *TS* e produto, (3) diferença de energia entre reagentes e produto.

<i>T</i> (K)	$T\Delta S^\ddagger$ (kJ mol ⁻¹)		
	1	2	3
298	-10,6	4,6	-6,0
338	-12,5	5,3	-7,2
351	-13,0	5,4	-7,6
373	-13,8	2,1	-11,6
393	-14,7	2,3	-12,4
413	-15,9	2,3	-13,6
433	-16,8	2,4	-14,5

Tabela A1.9 - Parâmetros cinéticos e termodinâmicos da síntese dos produtos intermediários **2L**. Constante de segunda ordem da taxa de reação (*k*); Energia de ativação (*E_a*); variação de entalpia (ΔH^\ddagger), variação de energia livre de Gibbs (ΔG^\ddagger) e produto da temperatura pela variação de entropia ($T\Delta S^\ddagger$) estimados para o estado de transição.

Parâmetro [unit]	2L					
	<i>T</i> (K)					
	338	351	373	393	413	433
$k \times 10^3$ [m ³ mol ⁻¹ s ⁻¹] ^{a)}	0,37 x 10 ²	0,65 x 10 ²	0,91 x 10 ²	2,03 x 10 ²	2,46 x 10 ²	7,15 x 10 ²
$k \times 10^3$ [m ³ mol ⁻¹ s ⁻¹] ^{b)}	0,51 x 10 ²					
<i>E_a</i> [kJ mol ⁻¹] ^{c)}	35,33					
ΔH^\ddagger [kJ mol ⁻¹] ^{d)}	32,16					
$T\Delta S^\ddagger$ ^{b)} [kJ mol ⁻¹] ^{d)}	-66,7	-69,3	-73,3	-77,6	-81,6	-85,5
ΔG^\ddagger [kJ mol ⁻¹] ^{e)}	99,3	101,5	105,4	109,8	113,7	117,6

Valores calculados a partir dos dados experimentais obtidos a) no processo em fluxo e b) no processo em batelada. c) Valor estimado através do modelo de Arrhenius; d) Valores estimados através do modelo de Eyring; e) Valor calculado pela equação de Gibbs-Helmholtz ($\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T\Delta S^\ddagger$).

2 REFERÊNCIAS

FORESMAN, J. B.; FRISCH, Æ. **Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods**. 3rd. ed. Pittsburgh, PA: Gaussian, Inc., 2015.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Organic Chemistry**. 10. ed. EUA: [s.n.].

Apêndice 2 - BOLSA PRINT/CAPES: Síntese de biblioteca de novas moléculas contendo 3-hidroxi-piridin-4-ona visando aplicação farmacêutica (Processo PRINT/CAPES 88887.570120/2020-00)

Esta pesquisa teve como objetivo a síntese de uma biblioteca química inédita de 3-hidroxi-piridin-4-ona que possam ser utilizados como quelantes de metais.

Também foi investigada a possibilidade de se transpor as reações para a síntese em fluxo em microrreatores capilares, objeto de estudo no âmbito da pesquisa desenvolvida no Brasil.

As reações que não apresentaram sólidos no meio reacional são passíveis de transposição para a síntese em microrreatores, onde serão comparadas as conversões dos reagentes, rendimentos dos produtos de interesse e tempo de reação.

A primeira parte deste projeto foi realizada sob supervisão do Dr. Agostino Cilibrizzi, do *Institute of Pharmaceutical Science* do King's College (KCL), onde foram realizadas as reações no processo batelada e identificadas as reações que possivelmente podem ser transpostas para a síntese em fluxo em microrreatores capilares. Já a segunda parte tem a previsão de ser realizada no Microreactor Technology Laboratory (MRT-Lab), com o Prof. Dr. Mauri Sergio Alves Palma, do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da FCF/USP, onde serão realizadas as sínteses em fluxo em microrreatores capilares.

Adicionalmente foi realizado um estágio no *Istituto di Chimica dei Composti Organometallici* (ICCOM) no *Consiglio Nazionale delle Ricerche* (CNR), em Florença / Itália, sob supervisão da Dr^a Antonella Guerriero, na área de síntese de complexos metálicos para aplicação em medicina nuclear. A pesquisa da Dr^a Antonella Guerriero é uma colaboração com a pesquisa realizada pelo Dr. Agostino Cilibrizzi, em que o foco foi a síntese e caracterização química de ligantes de fosfina selecionados e respectivos complexos metálicos.

Devido a pesquisa ainda estar em andamento, os resultados obtidos em ambos os estágios não poderão ser adicionados a este relatório, a pedido de ambos os pesquisadores, pois seus resultados ainda não foram publicados. Os resumos de ambas as pesquisas estão apresentados abaixo, bem como as declarações de realização dos estágios de ambos os pesquisadores.

Durante o período de estágio no KCL, o bolsista foi convidado por seu supervisor para a função de *Graduate Teacher Assistant* (GTA) em suas aulas de *Principles of Pharmaceutical Analysis*, para alunos de mestrado do KCL. Como GTA, o bolsista teve a função de monitorar e auxiliar no andamento das aulas, ajudando os alunos na elaboração de amostras a serem

analisadas em equipamentos de RMN e HPLC-UV, equipamentos estes operados pelo próprio bolsista.

Também durante o período de estágio, o bolsista teve a oportunidade de auxiliar alunos de mestrado a desenvolverem suas pesquisas em laboratório, sob supervisão do Dr. Agostino Cilibrizzi. Destes trabalhos, foram geradas duas publicações, sendo uma já publicada na revista indexada *Pharmaceuticals* e a outra foi submetida à revista *RSC Medicinal Chemistry* e está no estágio de revisão pelos pares. A publicação da revista *Pharmaceuticals* está apresentada no Anexo 14.

Institute of Pharmaceutical Science, King's College London, sob supervisão do Dr. Agostino Cilibrizzi

Proposed Area of Research: Project title: New hydroxypyridazinone- and hydroxypyridinone-based metal chelators.

The project will involve the design and synthesis of new chelators for bio-medical applications as therapeutic or diagnostic agents. Synthetic procedures in solution will be investigated in the first instance, with the aim of exploring suitable reaction conditions to be subsequently transferred into flow microreactors. Flow chemistry setups are emerging as valid alternatives to batch synthesis in several sectors, including the pharmaceutical industry. Overall, a library of new chelators will be produced by chemical manipulation of two heterocyclic systems (i.e. hydroxypyridazinone and hydroxypyridinone), in order to establish most suitable synthetic routes. In this regard, selected residues and/or functional groups will be introduced in the heterocyclic core to identify which are the substituents that produce improved effect towards chelation of the metals of interest. Once the chelators are obtained, the metal affinity for hard tri-basic cations (such as Ga^{3+} and Fe^{3+}), as well as the stability of resulting complexes, will be assessed through in-house designed titration experiments coupled to spectrophotometric analysis. The therapeutic relevance of the chelators will be further investigated through specific disease models. The terms that show the most promising affinity and complex stability will be progressed towards in cell studies to validate their use as 1) iron chelators for therapeutic use in the treatment of iron overload/unbalance diseases (e.g. macular degeneration, thalassemia) and 2) positron emission tomography (PET) imaging agents (e.g. ^{68}Ga -based PET radiotracers for the diagnosis of cancer).

Istituto di Chimica dei Composti Organometallici (ICCOM), Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) – sob supervisão de Dr^a Antonella Guerriero

Project title: Development of hybrid phosphine-HOPO metal complexes for applications in nuclear medicine

The use of metal complexes in biology and medicine has exponentially increased over the last five decades with both clinical and commercial importance. From the discovery (1969) and following FDA approval (1978) of cisplatin as an anticancer drug, the field of medicinal organometallic chemistry has enormously expanded and several metallo-drugs are currently in use for both therapy and diagnosis application.

In this context, gallium-68 complexes are commonly used for positron emission tomography (PET) to monitor non-invasively the progression of diseases, as well as the efficacy of treatments. In addition, radionuclide therapy using gallium-67 coordinated to organic ligands is proposed as a valid alternative for the treatment of various cancers. Similarly, copper-64-based compounds are also widely investigated for PET imaging and therapy at the present time. In this project, we aim to produce and biophysically validate a new family of gallium and copper complexes with improved biomedical features, to be translated into radiopharmaceuticals. We will combine suitable aminophosphine and hydroxypyridinone chelators into hybrid structures and assess their stability towards hydrolysis and transchelation, as well as their membrane permeation capabilities. The possibility to explore how the distinct properties of heterocyclic chelators (hydroxypyridinone) and cage-like ligands could produce many benefits in terms of medical application, if simultaneously present into a complex, represents a most exciting and important challenge. Furthermore, this new coordination chemistry science could expand towards other metals relevant to diagnosis and therapy. Overall, this research could pave the way to the discovery of improved metallo-drugs radiopharmaceuticals.

Dr Agostino Cilibrizzi
Institute of Pharmaceutical Science
Faculty of Life Sciences and Medicine
King's College London,
5th Floor Franklin Wilkins Building,
150 Stamford Street,
London SE1 9NH, United Kingdom
e-mail address: agostino.cilibrizzi@kcl.ac.uk
Tel: +44 (0)20 7848 9532



3rd March , 2023

Re: CERTIFICATE OF ATTENDANCE FOR VISITING PhD STUDENT (Mr Renan Rodrigues de Oliveira Silva)

To whom it may concern,

This is to confirm that Renan Rodrigues (from University of São Paulo, Brazil) has been enrolled as a visiting PhD student within my group at the Institute of Pharmaceutical Science, King's College London, for a 1-year period (January - December 2022).

During this time, Renan regularly attended my laboratory to contribute to a research project focusing on the synthesis of heterocyclic structures as bidentate metal chelators. He has developed a library of new scaffolds that bind tightly tri-basic metal cations, such as iron and gallium, and have potential of future development as therapeutic and/or PET imaging agents.

Overall, Renan has conducted synthetic procedures and analytical studies required to formulate intermediate products and the final metal chelators, that will be further characterised in future biophysical and biomedical studies. Under my supervision, Renan has been trained and expanded his knowledge with the various techniques at the basis of medicinal chemistry research, for instance synthetic procedures, extraction methods, column/thin layer chromatography, melting point, HPLC, NMR and MS.

Throughout his visiting PhD appointment, Renan demonstrated a high interest for the research project and the capability to learn all the practical lab aspects, as well as a keen interest in participating to the other group activities.

I express my highest respect for Renan Rodrigues; he is an excellent ambassador for the University of São Paulo.

Sincerely,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Agostino Cilibrizzi".

Istituto di Chimica dei Composti Organometallici – ICCOM

Dr. Antonella Guerriero

Researcher

Via Madonna del Piano, 10 - 50019 Sesto Fiorentino (Firenze) Italy

Tel +39 055 5225 217; Fax. +39 055 5225 203

e-mail antonella.guerriero@iccom.cnr.it

web page: <http://www.iccom.cnr.it>

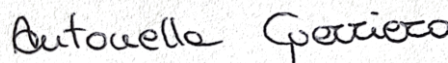
Florence, September 30th 2022

TO WHOM IT MAY CONCERN

This is to confirm that Mr. Renan R O Silva spent one month (from 5th to 30th September 2022) in my laboratory of the institute ICCOM-CNR (Florence, Italy) in the frame of the bilateral project (2022-2023) CNR-RS between my research group and that of Dr. Agostino Cilibrizzi of the Institute of Pharmaceutical Science (IPS) King's College, London.

During this time to ICCOM, under my supervision, he worked on the chemical synthesis and characterization of selected phosphine ligands and their corresponding metal complexes. He gained experience in the use of Schlenk line, in performing synthetic reactions under inert atmosphere and in multinuclear NMR characterization.

Sincerely,



Dr. Antonella Guerriero

Principal Investigator of Bilateral Project CNR-RS

Apêndice 3 - Procedimento de recuperação de acetonitrila

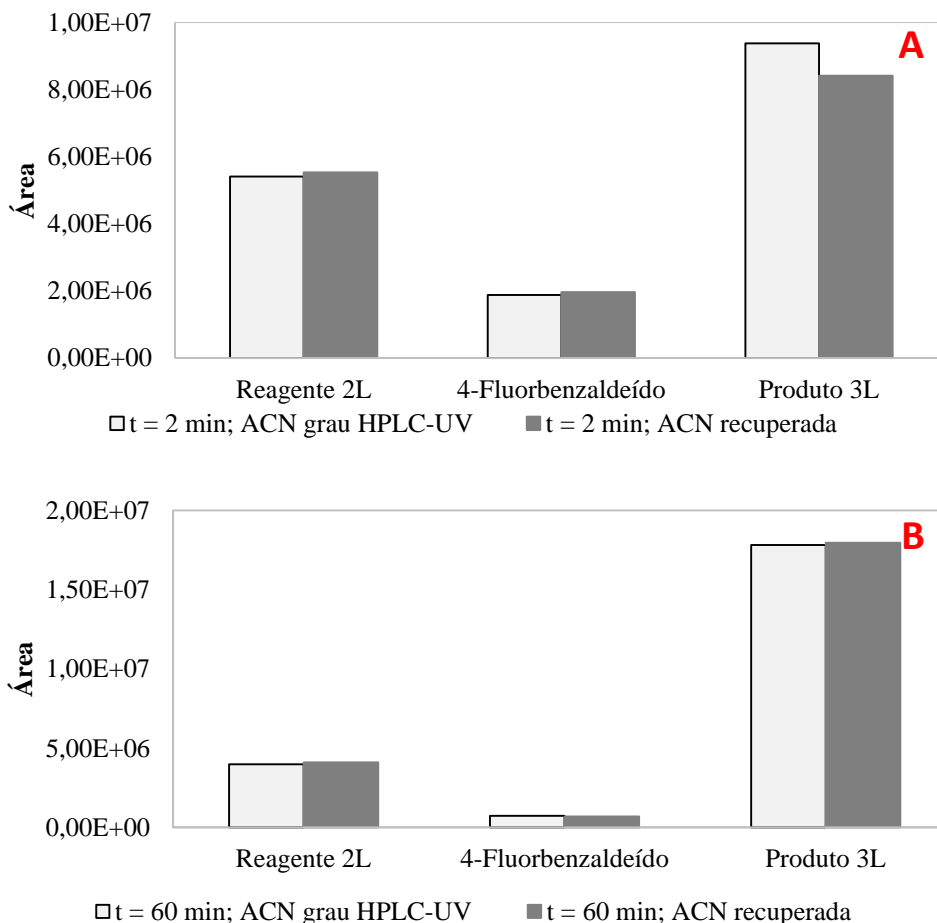
O solvente acetonitrila é o solvente mais utilizado como fase móvel em análises de HPLC-UV. Visando reduzir custos operacionais (tendo em vista que as análises de HPLC-UV foram amplamente utilizadas durante o período vigente da pesquisa) foi desenvolvido um protocolo de recuperação de acetonitrila utilizada como fase móvel nas análises no HPLC-UV, que consistiu de uma destilação coletando-se o azeótropo acetonitrila/água e a correção da composição desta solução com acetonitrila grau HPLC-UV. O protocolo de recuperação está descrito no a seguir. Para validação da acetonitrila recuperada foram feitas análises comparativas dos reagentes e produto na síntese do produto intermediário **3L**, que já haviam sido amplamente analisados com acetonitrila grau HPLC-UV. A Tabela A3.1 e a Figura A3.1 apresentam os resultados desta validação em termos de área de reagentes **2L** e 4-fluorbenzaldeído e produto intermediário **3L**. É possível observar que as áreas são praticamente iguais, validando assim a metodologia de recuperação de acetonitrila. Os cromatogramas correspondentes a uma análise em acetonitrila HPLC-UV e acetonitrila recuperada estão mostrados logo abaixo, nas Figuras A3.2 e A3.3, respectivamente. Para melhor visualização dos tempos de retenção, a Tabela A3.4 apresenta a relação dos tempos de retenção obtidos dos componentes analisados, com os eluentes preparados com acetonitrila grau HPLC-UV e recuperada.

Tabela A3.1 – Comparação das análises em HPLC-UV dos reagentes **2L** e 4-fluorbenzaldeído e produto intermediário **3L** utilizando como eluentes acetonitrila grau HPLC-UV e acetonitrila recuperada

<i>t</i> (min)	Acetonitrila HPLC-UV			Acetonitrila recuperada		
	Reagente 2L	4-fluorbenzaldeído	Produto 3L	Reagente 2L	4-fluorbenzaldeído	Produto 3L
2	5,41E+06	1,88E+06	9,38E+06	5,53E+06	1,97E+06	8,41E+06
60	3,99E+06	7,25E+05	1,78E+07	4,11E+06	6,91E+05	1,80E+07

OBS.: *t* = tempo de reação no processo batelada.

Figura A3.1- (A) Áreas correspondentes à análise em $t = 2$ min da reação de formação do intermediário **3L** com acetonitrila HPLC-UV e recuperada; (B) Áreas correspondentes a análise em $t = 60$ min da reação de formação do intermediário **3L** com acetonitrila HPLC-UV e recuperada (ACN = acetonitrila)



Protocolo – Recuperação de Acetonitrila (HPLC)

-Transferir o descarte do HPLC contendo acetonitrila (ACN) + água em frascos de acetonitrila vazios presentes no laboratório e identificá-los com “ACN para recuperação” em fita adesiva;

-Realizar a destilação do descarte de ACN + água, preenchendo o balão de fundo redondo com cerca de 4 L da solução. Ligar a manta na marcação 5 do botão de controle da temperatura e promover o aquecimento até que a solução entre em ebulição, certificando que a destilação ocorra lentamente. O destilado obtido é azeótropo ($T_{eb} = 76 \pm 2$ °C). Transferir o destilado para frascos limpos e secos e identificá-los com “ACN bruta destilada” com fita adesiva;

- Utilizar esse azeótropo como eluente no HPLC fazendo as correções de composição de fases de acordo com o memorial de cálculo em anexo.

OBS: Outros parâmetros dos métodos analíticos no HPLC não precisam ser alterados.

Memorial de Cálculo:

- Composição do azeótropo a $P_{atm} = 101.325 \text{ Pa} = 1 \text{ atm abs}$: 83,7% Acetonitrila + 16,3% Água (m/m).

Convertendo para % v/v admitindo mistura ideal:

$$d_{H_2O} = 1,00 \text{ g/cm}^3$$

$$d_{ACN} = 0,786 \text{ g/cm}^3$$

$$C_{ACN} = 86,7\% \text{ (v/v)}$$

$$C_{H_2O} = 13,3\% \text{ (v/v)}$$

O Balanço Material volumétrico para a água fornece:

Volume de água adicionada + Volume do azeótropo = Volume final do eluente

CORREÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PARA VALORES DE CONCENTRAÇÃO DE ACN MENORES QUE 86,7% (v/v) (É ADICIONADA ÁGUA AO AZEÓTROPO)

Vazão de azeótropo adicionado/vazão total = C_{ACN} no eluente (% v/v) / C_{ACN} no azeótropo (% v/v)

$$\frac{Q_{Azeótropo}}{Q_{Total}} (\% \text{ v/v}) = \frac{C_{ACN, Desejado} (\% \text{ v/v})}{86,7} \times 100$$

$$\frac{Q_{Água}}{Q_{Total}} (\% \text{ v/v}) = 100 - \frac{Q_{Azeótropo}}{Q_{Total}} (\% \text{ v/v})$$

Tabela A3.2 – Relação da concentração de acetonitrila (C_{ACN}) desejada para a partir das vazões do azeótropo e água

C_{ACN} no eluente (% v/v) Desejada	$Q_{Azeótropo}/Q_{Total}$ (% v/v)	$Q_{Água}/Q_{Total}$ (% v/v)
10	11,5	88,5
20	23,1	76,9
30	34,6	65,4
40	46,1	53,9
50	57,7	42,3
60	69,2	30,8
70	80,7	19,3
80	92,3	7,7
90	NÃO É POSSÍVEL: O AZEÓTROPO SÓ TEM 86,7% DE ACN	

**CORREÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PARA VALORES DE CONCENTRAÇÃO DE ACN MAIORES QUE 86,7% (v/v)
(É ADICIONADA ACN AO AZEÓTROPO)**

Vazão de ACN pura/vazão total = [C_{ACN} no eluente (% v/v) - C_{ACN} no azeótropo (% v/v)] / [100 - C_{ACN} no azeótropo (% v/v)]

$$\frac{Q_{ACN}}{Q_{Total}} (\% v/v) = \frac{C_{ACN,Desejado} (\% v/v) - 86,7}{100 - 86,7} \times 100$$

$$\frac{Q_{Azeótropo}}{Q_{Total}} (\% v/v) = 100 - \frac{Q_{ACN}}{Q_{Total}} (\% v/v)$$

Tabela A3.3 – Relação da concentração de acetonitrila (C_{ACN}) desejada a partir da correção para concentrações de acetonitrila acima de 86,7% (v/v)

C_{ACN} no eluente (% v/v)	Q_{ACN}/Q_{Total}	$Q_{Azeótropo}/Q_{Total}$
Desejada	(% v/v)	(% v/v)
86,7	0	100
90	24,8	75,2
95	62,4	37,6

Figura A3.2 – Cromatograma de HPLC-UV gerado a partir da análise utilizando acetonitrila grau HPLC-UV. ($C_{2L} = 0,13$ M, $C_{p\text{-fluorbenzaldeído}} = 0,286$ M, $C_{NaH} = 0,26$ M, $T = 25^{\circ}\text{C}$, $t = 40$ min, $\lambda = 280$ nm

HPLC Shimadzu
LC-20AD/Prominence

Sample Information

Sample ID : 3L#1905_8
Injection Volume : 5 μL
Method Filename : pFb_2L_3L_280_80acn_0,5mlmin.lcm
Date Acquired : 12/03/2019 23:08:29

Chromatogram

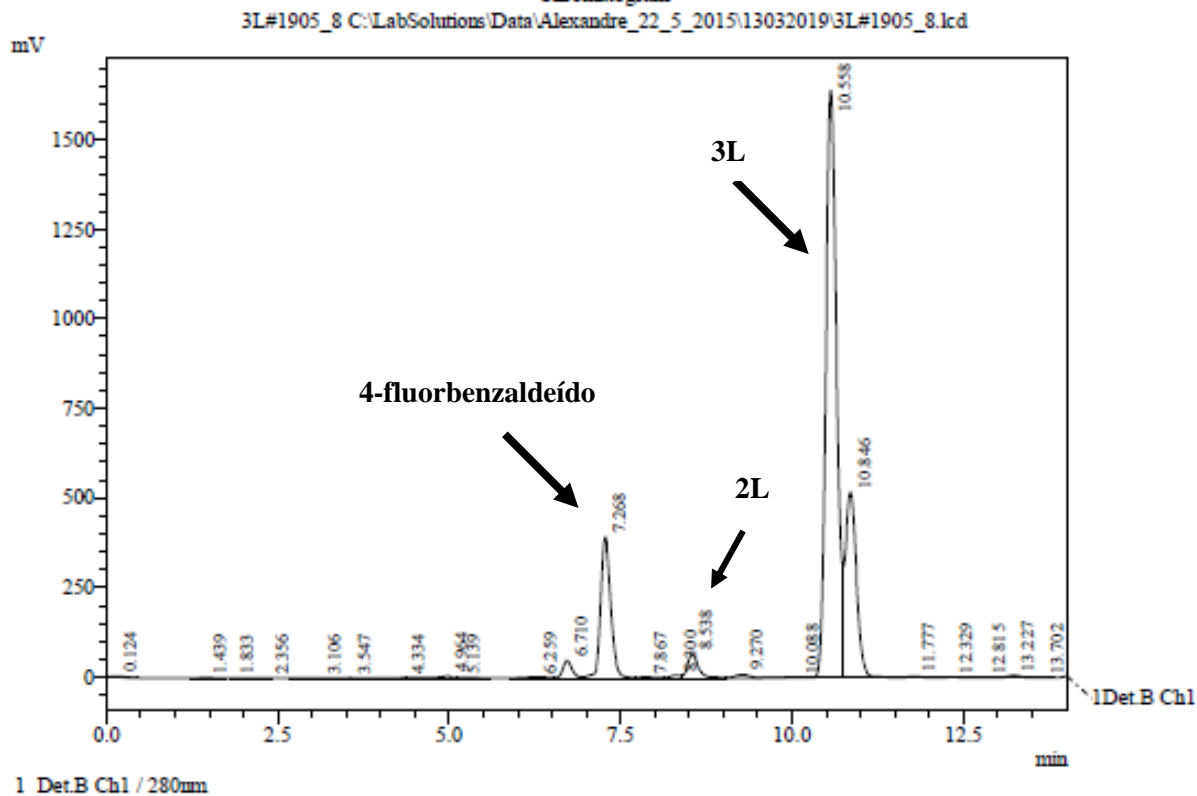


Figura A3.3 – Cromatograma de HPLC-UV gerado a partir da análise utilizando acetonitrila recuperada. ($C_{2L} = 0,13$ M, $C_{p\text{-fluorbenzaldeído}} = 0,286$ M, $C_{NaH} = 0,26$ M, $T = 25^\circ\text{C}$, $t = 40$ min, $\lambda = 280$ nm

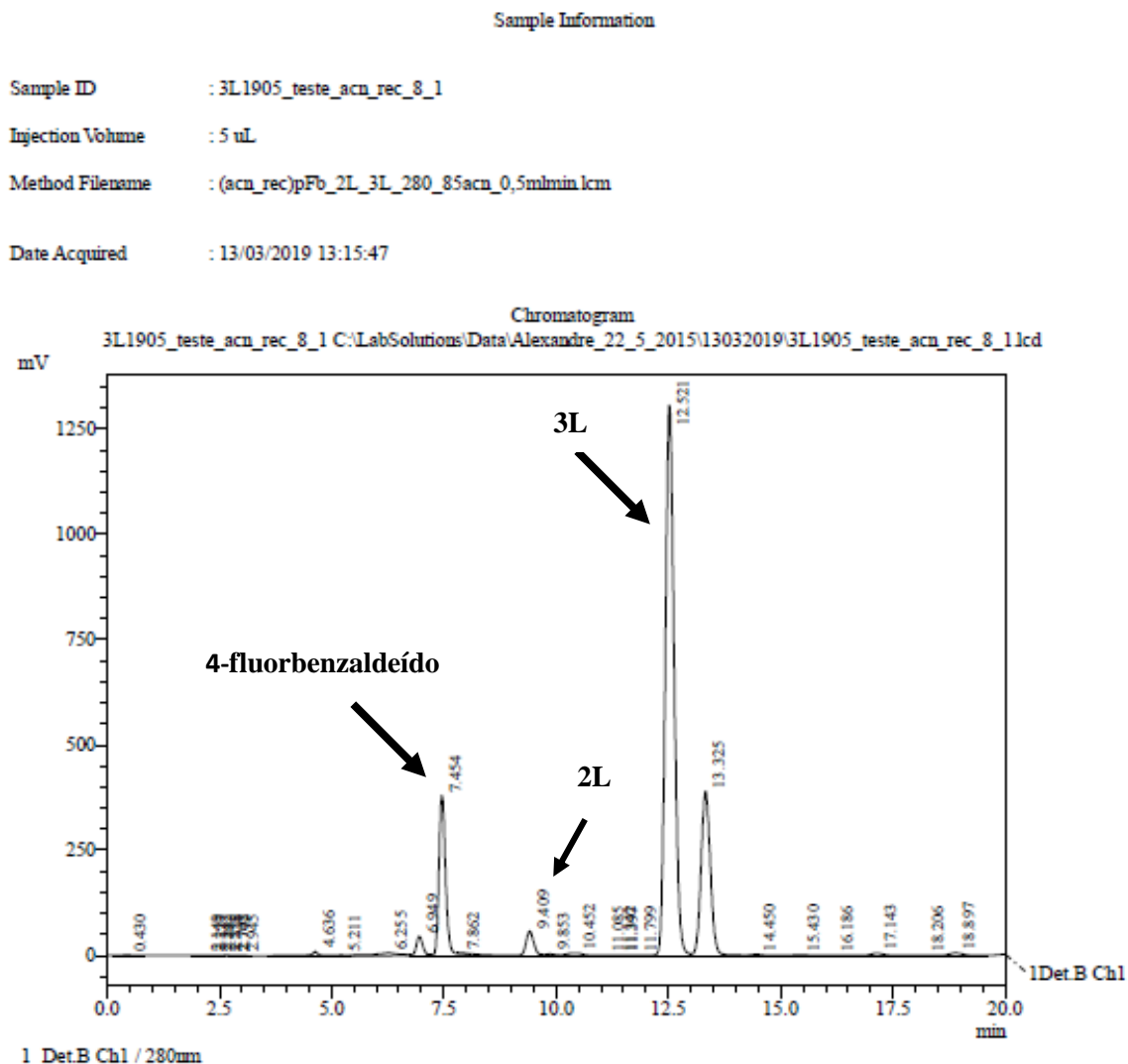


Tabela A3.4 – Tempos de retenção no HPLC-UV dos compostos analisados na síntese do produto intermediário **3L** para o desenvolvimento do protocolo de recuperação da acetonitrila

Composto	Acetonitrila grau HPLC-UV	Acetonitrila recuperada
4-fluorbenzaldeído	7,268 min	7,454 min
2L	8,538 min	9,409 min
3L	10,558 min	12,521 min

Apêndice 4 - Curvas de calibração dos reagentes e produtos intermediários na síntese dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona

- Síntese do produto intermediário **2P**

Figura A4.1 – Curva de calibração do reagente **1P** determinada a partir de análise de HPLC-UV

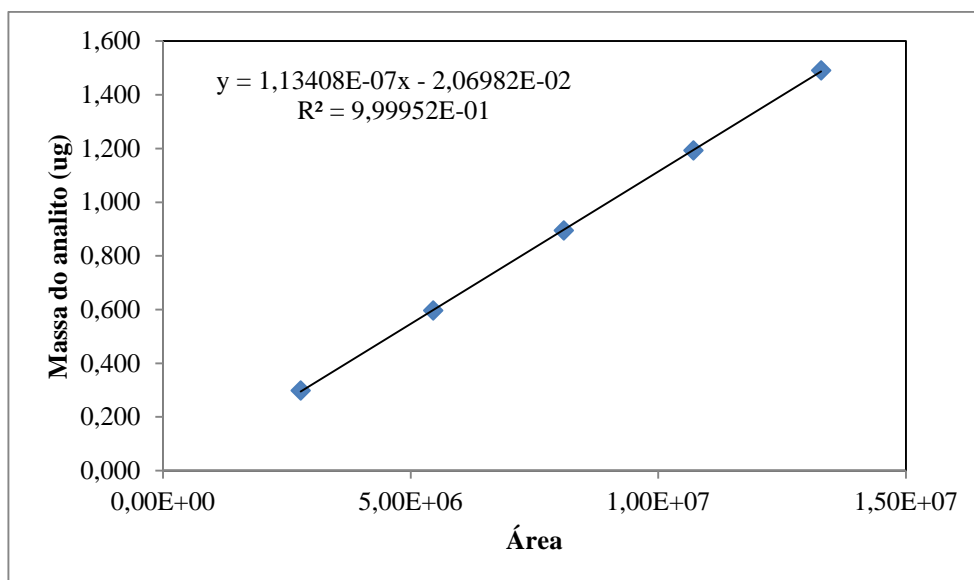
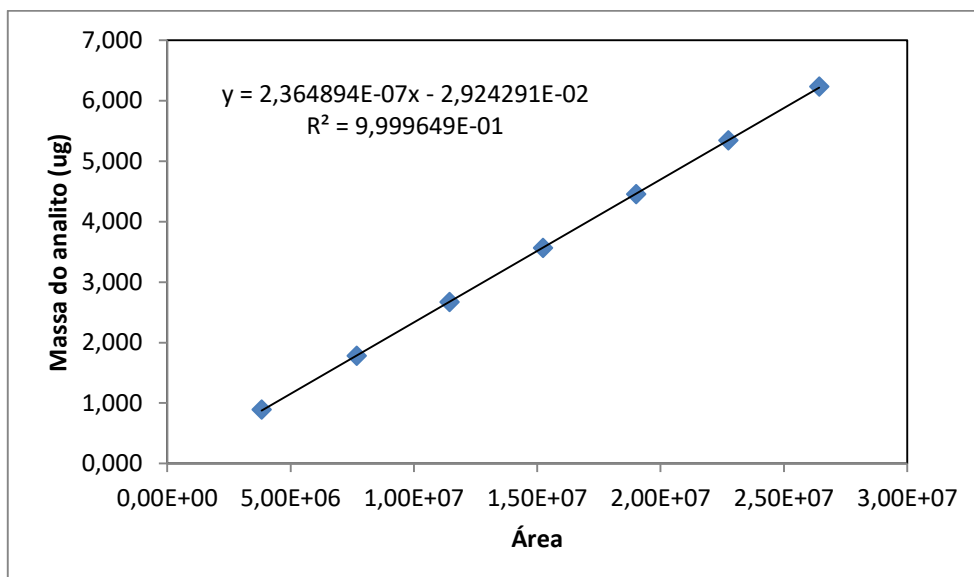


Figura A4.2 – Curva de calibração do produto intermediário **2P** determinada a partir de análise de HPLC-UV



- Síntese do produto intermediário **3P** (método alternativo)

Figura A4.3 – Curva de calibração do reagente **1P** determinada a partir de análise de HPLC-UV

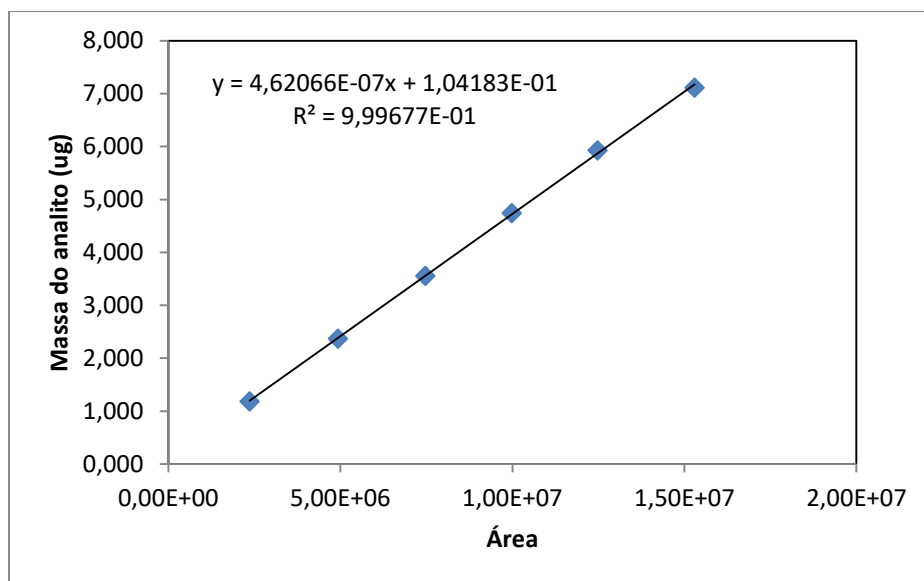
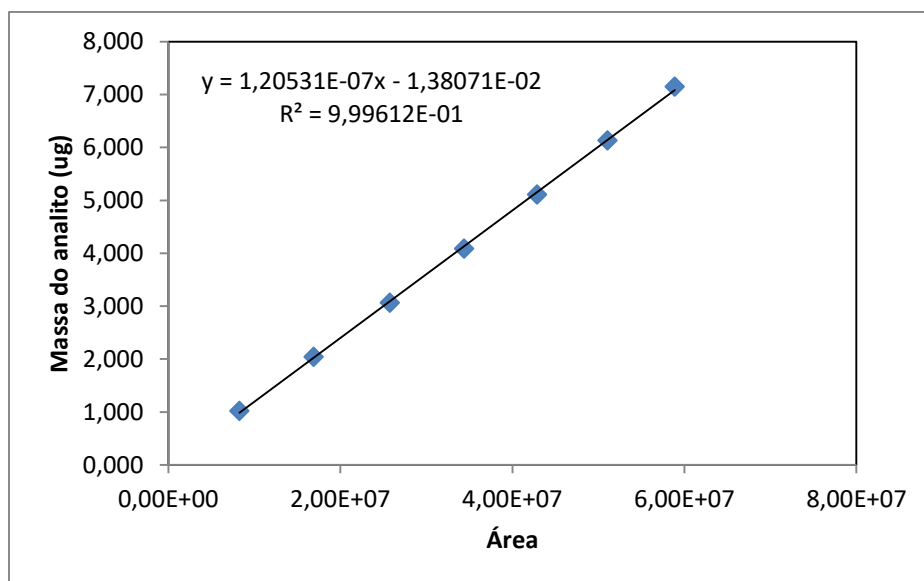


Figura A4.4 – Curva de calibração do produto intermediário **3P** determinada a partir de análise de HPLC-UV



- Síntese do produto intermediário **4P**

Figura A4.5 – Curva de calibração do reagente **3P** determinada a partir de análise de HPLC-UV

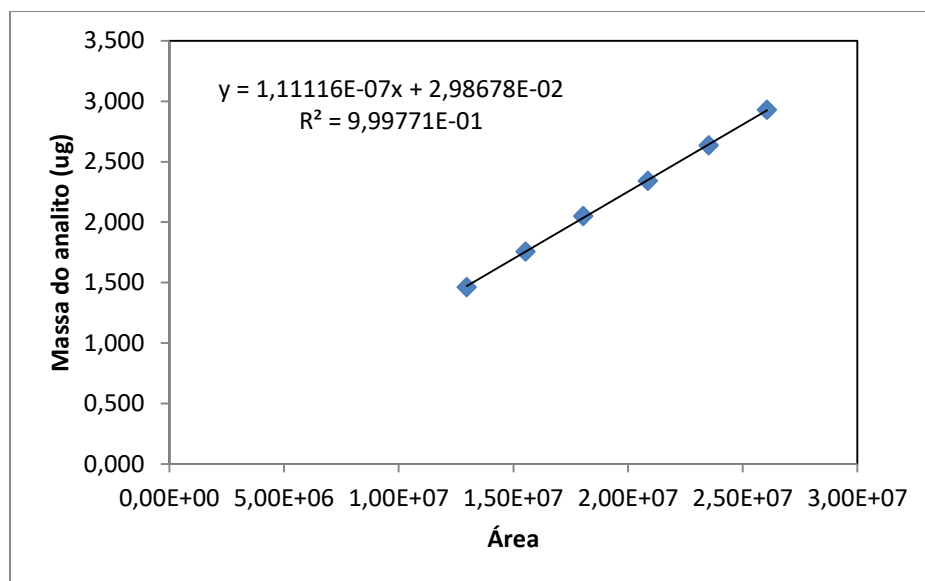
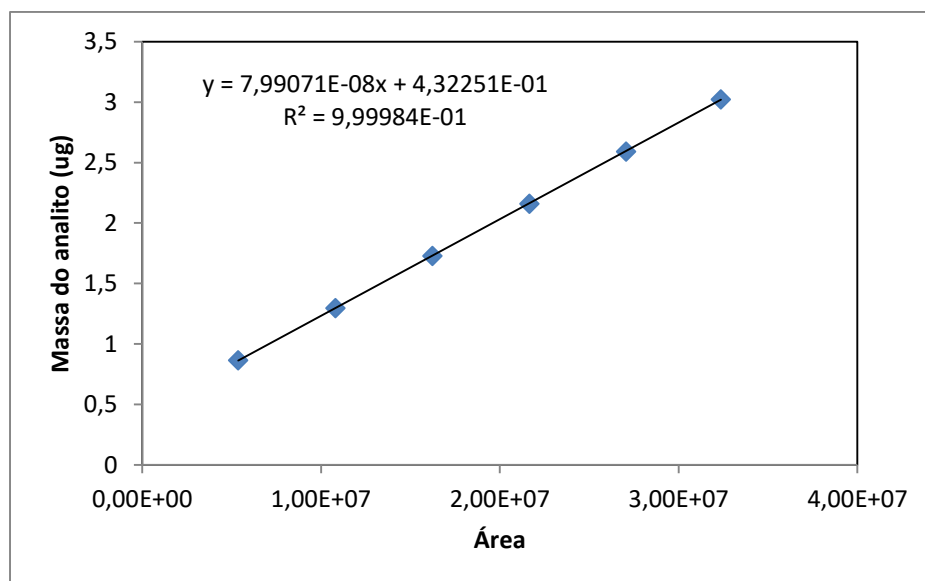


Figura A4.6 – Curva de calibração do produto intermediário **4P** determinada a partir de análise de HPLC-UV



- Síntese do produto intermediário **1L**

Figura A4.7 – Curva de calibração do reagente 4,6,dicloropirimidina determinada a partir de análise de HPLC-UV

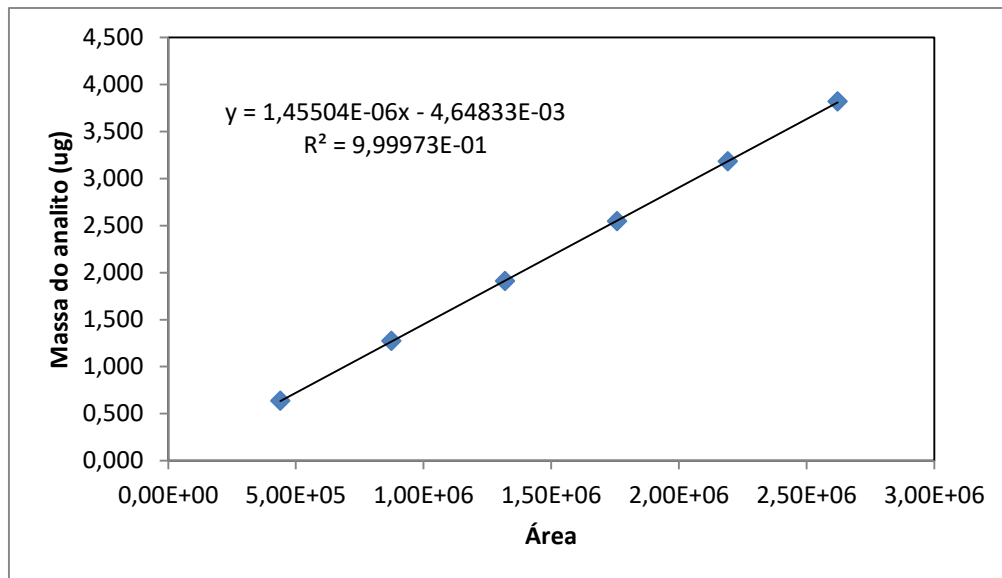
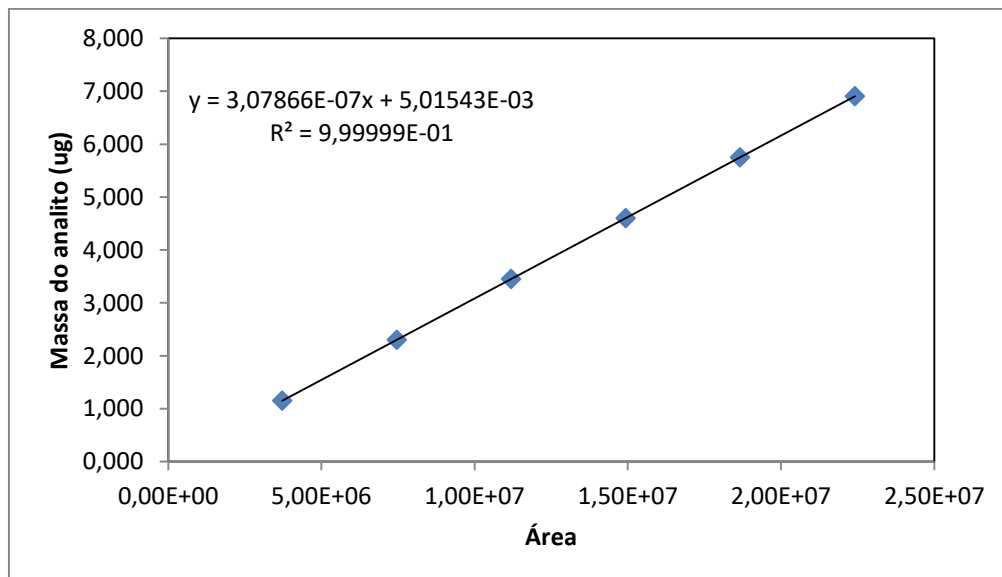
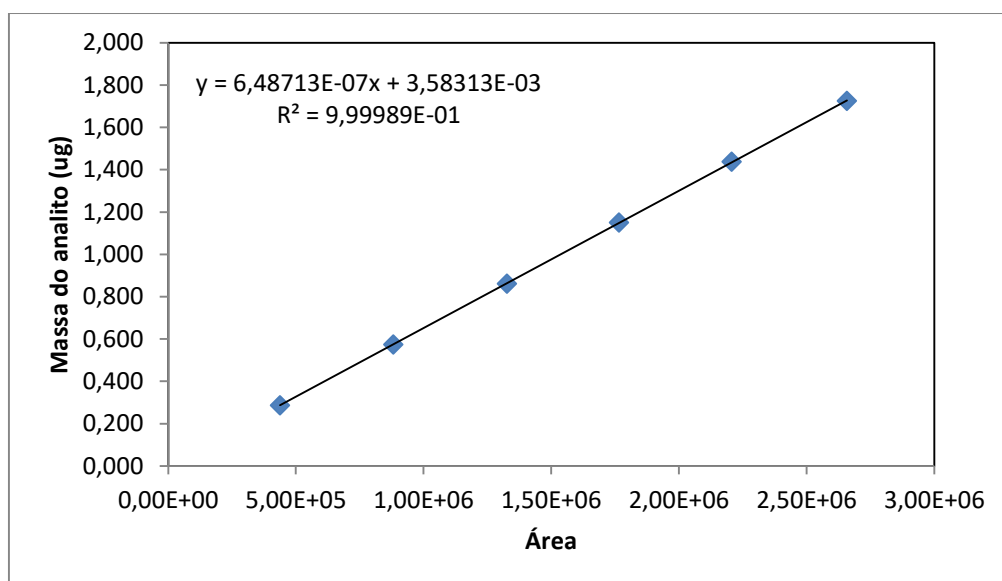
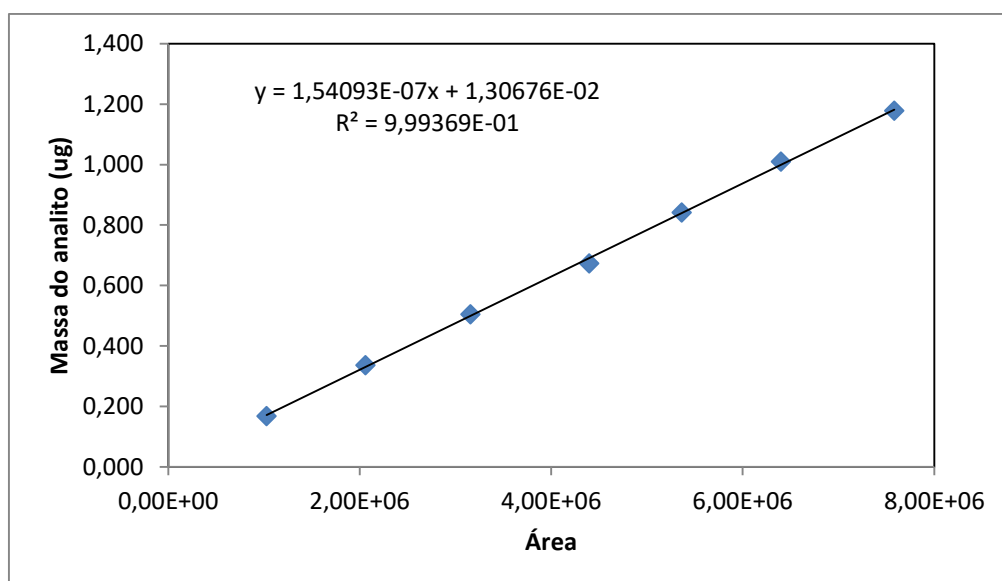


Figura A4.8 – Curva de calibração do produto intermediário **1L** determinada a partir de análise de HPLC-UV



- Síntese do produto intermediário **2L**

Figura A4.9 – Curva de calibração do reagente **1L** determinada a partir de análise de HPLC-UVFigura A4.10 – Curva de calibração do produto intermediário **2L** determinada a partir de análise de HPLC-UV

- Síntese do produto intermediário **3L**

Figura A4.11 – Curva de calibração do reagente **2L** determinada a partir de análise de HPLC-UV

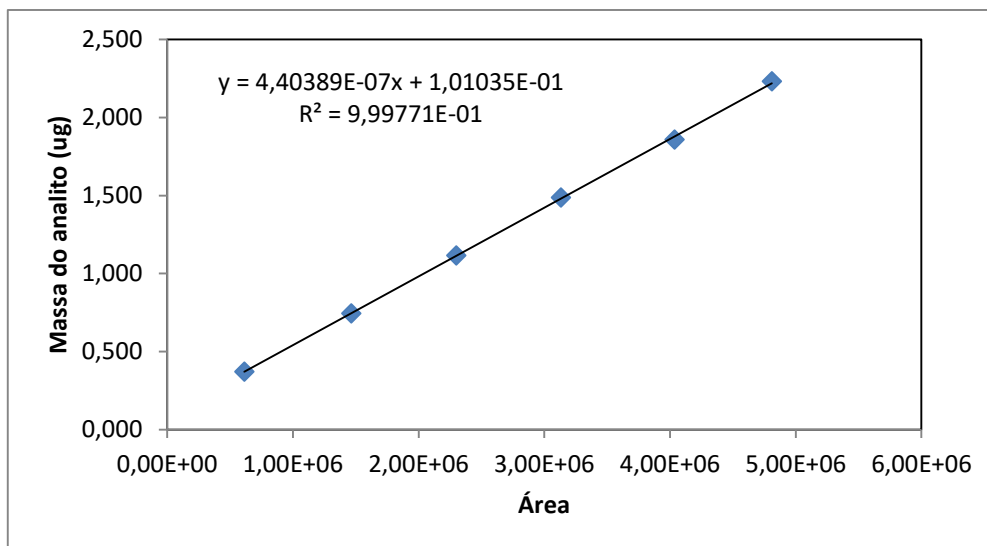
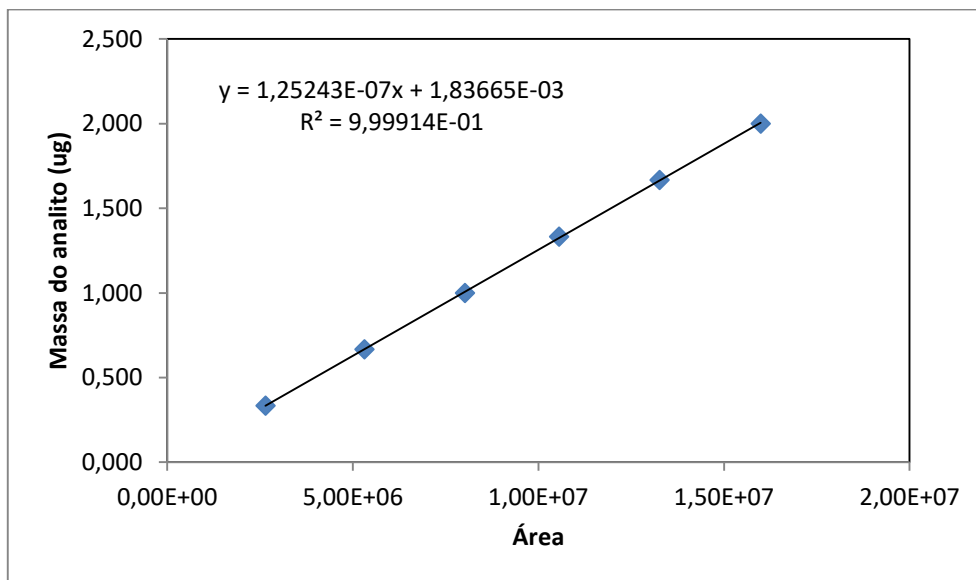


Figura A4.12 – Curva de calibração do produto intermediário **3L** determinada a partir de análise de HPLC-UV



- Síntese do produto intermediário **4L**

Figura A4.13 – Curva de calibração do reagente **3L** determinada a partir de análise de HPLC-UV

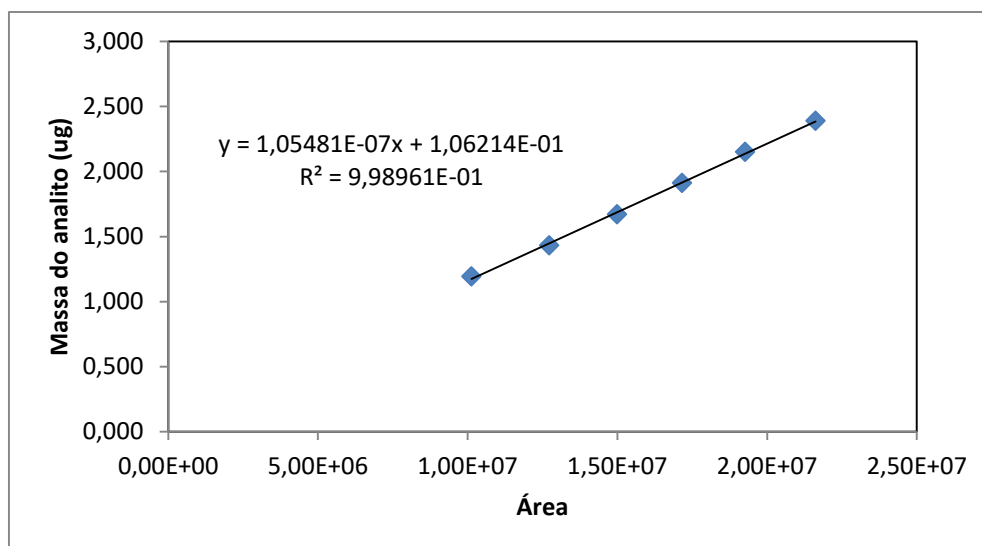
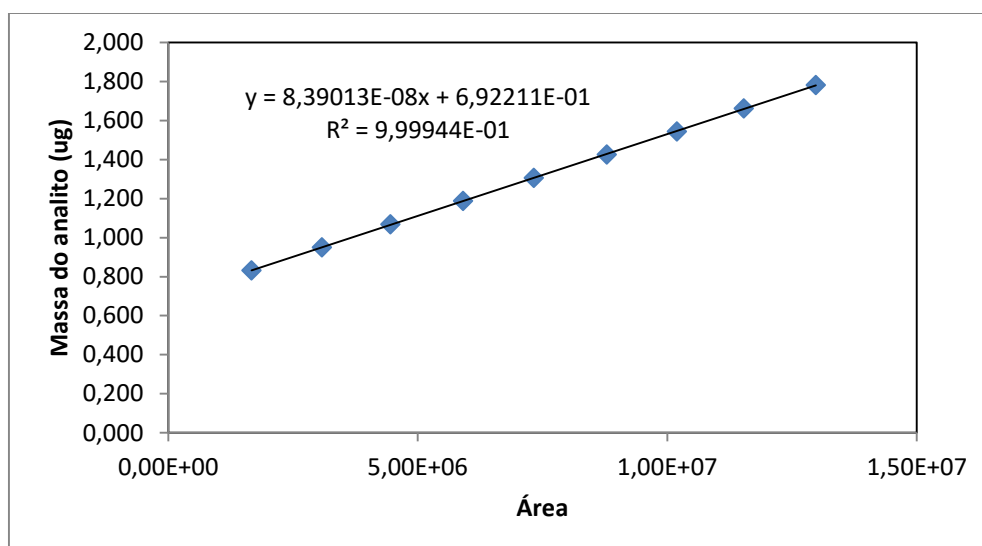


Figura A4.14 – Curva de calibração do produto intermediário **4L** determinada a partir de análise de HPLC-UV



Anexo 1 - Cromatogramas de HPLC-UV de reagentes e produtos intermediários usados na síntese dos fármacos Pioglitazona e Lobeglitazona

Sequência:

1 – 1P

2 – 2P

3 – 3P

4 – 4P

5 – 4,6-dicloropirimidina

6 – 1L

7 – 2L

8 – 3L

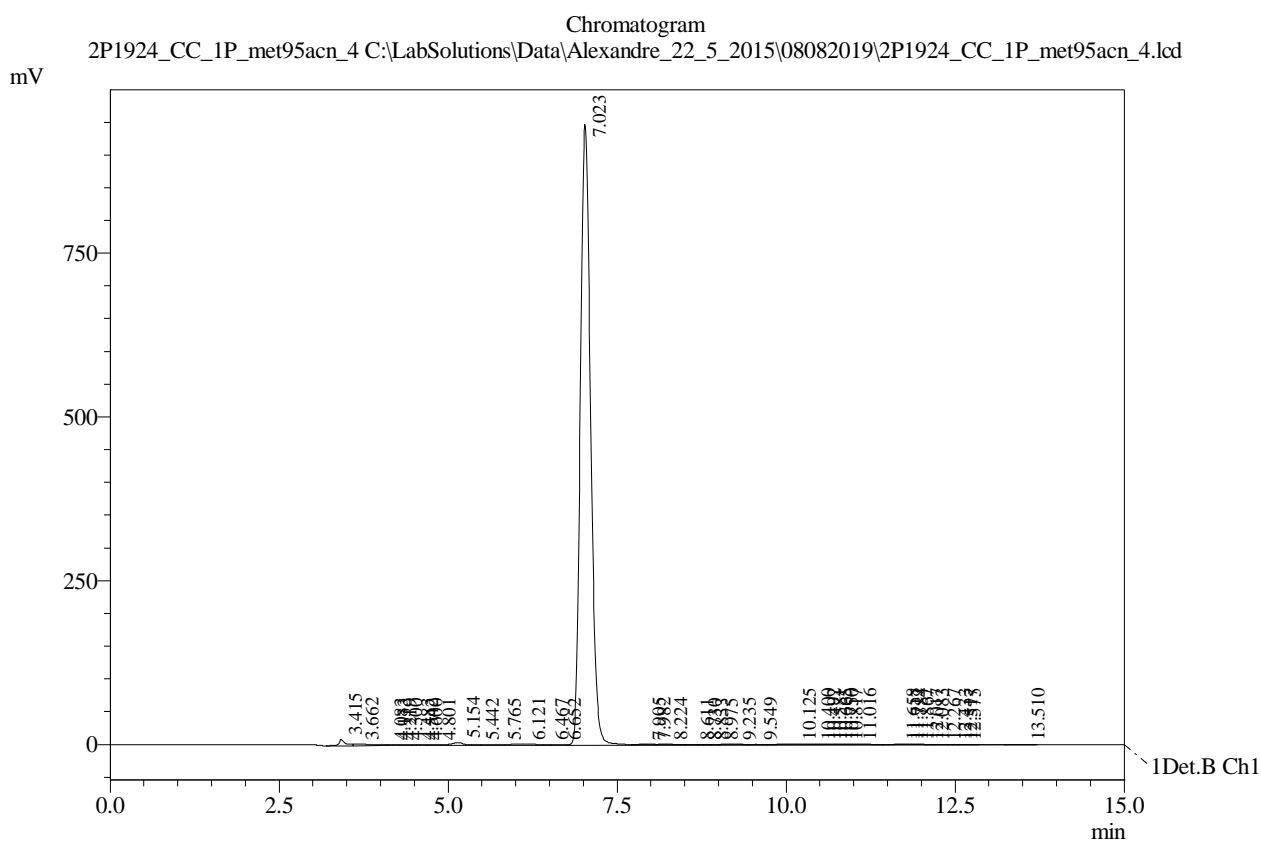
9 – 4L

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA BIOQUÍMICO-FARMACÊUTICA
Laboratório de Análise Instrumental

HPLC Shimadzu
LC-20AD/Prominence

Sample Information

Sample ID : 2P1924_CC_1P_met95acn_4
Injection Volume : 4 uL
Method Filename : (acn_rec)_1P_211nm_0,5mLmin_95acn.lcm
Date Acquired : 08/08/2019 01:20:50



1 Det.B Ch1 / 211nm

PeakTable

Detector B Ch1 211nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	3.415	64758	9810	0.613	0.985
2	3.662	56056	2484	0.530	0.249
3	4.083	3896	1571	0.037	0.158
4	4.133	6147	1548	0.058	0.155
5	4.219	9148	1540	0.087	0.155
6	4.300	16169	1517	0.153	0.152
7	4.483	5611	1409	0.053	0.141
8	4.542	4834	1399	0.046	0.140
9	4.600	8060	1364	0.076	0.137
10	4.801	16582	1335	0.157	0.134
11	5.154	64989	4548	0.615	0.456
12	5.442	9974	1183	0.094	0.119

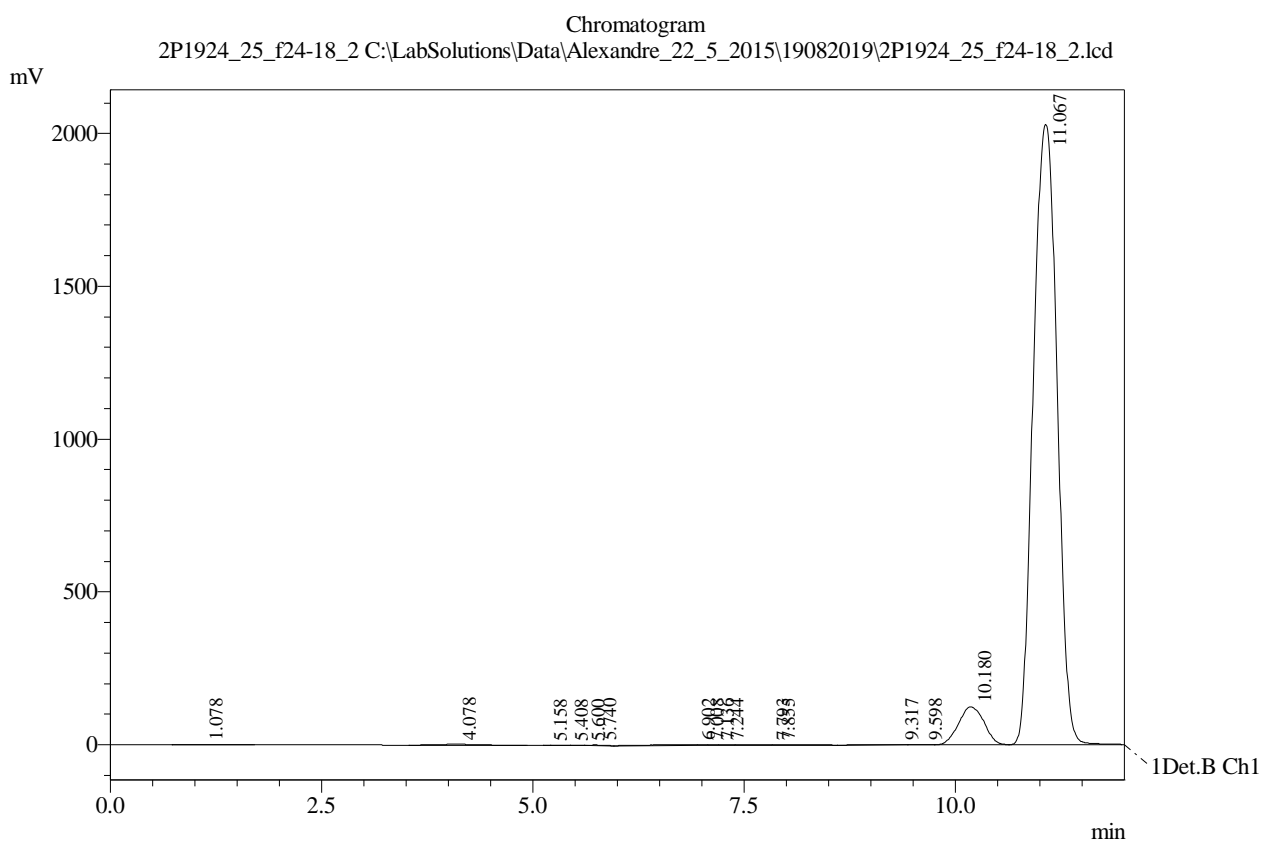
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
13	5.765	25401	1321	0.240	0.133
14	6.121	60534	2368	0.573	0.238
15	6.467	7037	1173	0.067	0.118
16	6.652	19472	1323	0.184	0.133
17	7.023	10047776	947433	95.090	95.087
18	7.905	6178	604	0.058	0.061
19	7.982	4847	601	0.046	0.060
20	8.224	12550	585	0.119	0.059
21	8.611	4763	433	0.045	0.043
22	8.730	2009	419	0.019	0.042
23	8.833	2428	409	0.023	0.041
24	8.975	3511	467	0.033	0.047
25	9.235	14108	701	0.134	0.070
26	9.549	7098	490	0.067	0.049
27	10.125	22280	810	0.211	0.081
28	10.400	1672	481	0.016	0.048
29	10.492	2632	491	0.025	0.049
30	10.581	2636	488	0.025	0.049
31	10.665	2938	507	0.028	0.051
32	10.750	1708	495	0.016	0.050
33	10.817	2233	504	0.021	0.051
34	11.016	15690	522	0.148	0.052
35	11.658	5886	448	0.056	0.045
36	11.717	1348	456	0.013	0.046
37	11.784	2280	461	0.022	0.046
38	11.867	2449	457	0.023	0.046
39	12.017	3650	437	0.035	0.044
40	12.083	3066	410	0.029	0.041
41	12.267	4208	367	0.040	0.037
42	12.433	1392	316	0.013	0.032
43	12.517	1483	299	0.014	0.030
44	12.575	3173	285	0.030	0.029
45	13.510	1894	114	0.018	0.011
Total		10566554	996383	100.000	100.000

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA BIOQUÍMICO-FARMACÊUTICA
Laboratório de Análise Instrumental

HPLC Shimadzu
LC-20AD/Prominence

Sample Information

Sample ID : 2P1924_25_f24-18_2
Injection Volume : 3 uL
Method Filename : (acn_rec)_1P_2P_211nm_0,4mLmin_82acn.lcm
Date Acquired : 19/08/2019 16:39:09



1 Det.B Ch1 / 211nm

PeakTable

Detector B Ch1 211nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.078	14630	593	0.034	0.027
2	4.078	73531	2849	0.172	0.131
3	5.158	1833	352	0.004	0.016
4	5.408	10376	954	0.024	0.044
5	5.600	12542	1472	0.029	0.068
6	5.740	27036	1861	0.063	0.086
7	6.902	102368	2114	0.240	0.097
8	7.008	14998	2018	0.035	0.093
9	7.136	14197	1909	0.033	0.088
10	7.244	21055	1836	0.049	0.084
11	7.793	46378	1959	0.109	0.090
12	7.855	55786	1915	0.131	0.088

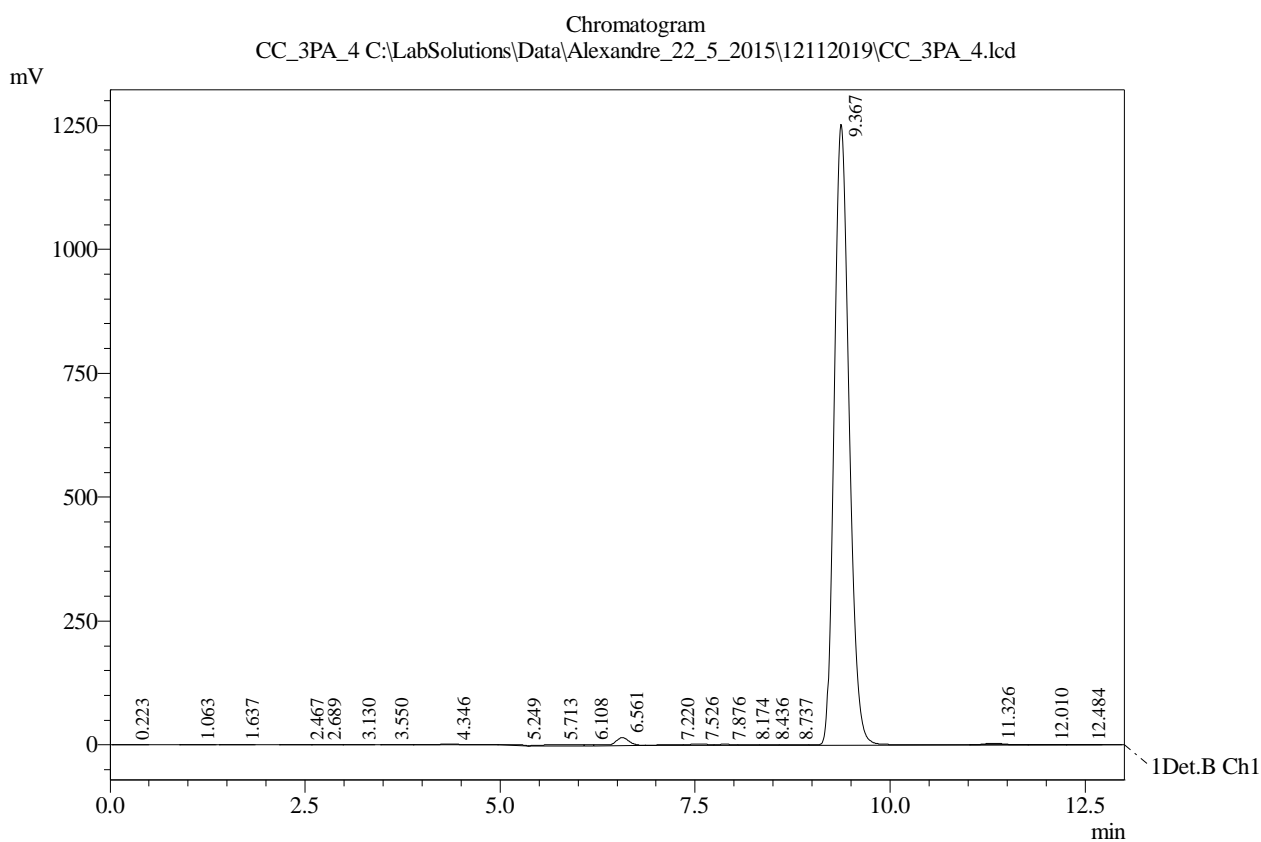
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
13	9.317	21747	586	0.051	0.027
14	9.598	9876	596	0.023	0.027
15	10.180	2602455	123860	6.101	5.699
16	11.067	39627114	2028570	92.899	93.334
Total		42655923	2173446	100.000	100.000

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA BIOQUÍMICO-FARMACÊUTICA
Laboratório de Análise Instrumental

HPLC Shimadzu
LC-20AD/Prominence

Sample Information

Sample ID : CC_3PA_4
Injection Volume : 4 uL
Method Filename : (acn_rec)_1P_3P_275nm_0,5mLmin_99acn.lcm
Date Acquired : 13/11/2019 04:21:01



PeakTable

Detector B Ch1 275nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	0.223	4971	353	0.028	0.027
2	1.063	1350	82	0.008	0.006
3	1.637	1378	104	0.008	0.008
4	2.467	6714	416	0.038	0.032
5	2.689	8435	448	0.048	0.035
6	3.130	4246	250	0.024	0.019
7	3.550	1465	97	0.008	0.007
8	4.346	39795	1838	0.227	0.142
9	5.249	15101	1224	0.086	0.095
10	5.713	59156	1787	0.337	0.138
11	6.108	11360	1541	0.065	0.119
12	6.561	206748	16524	1.177	1.277

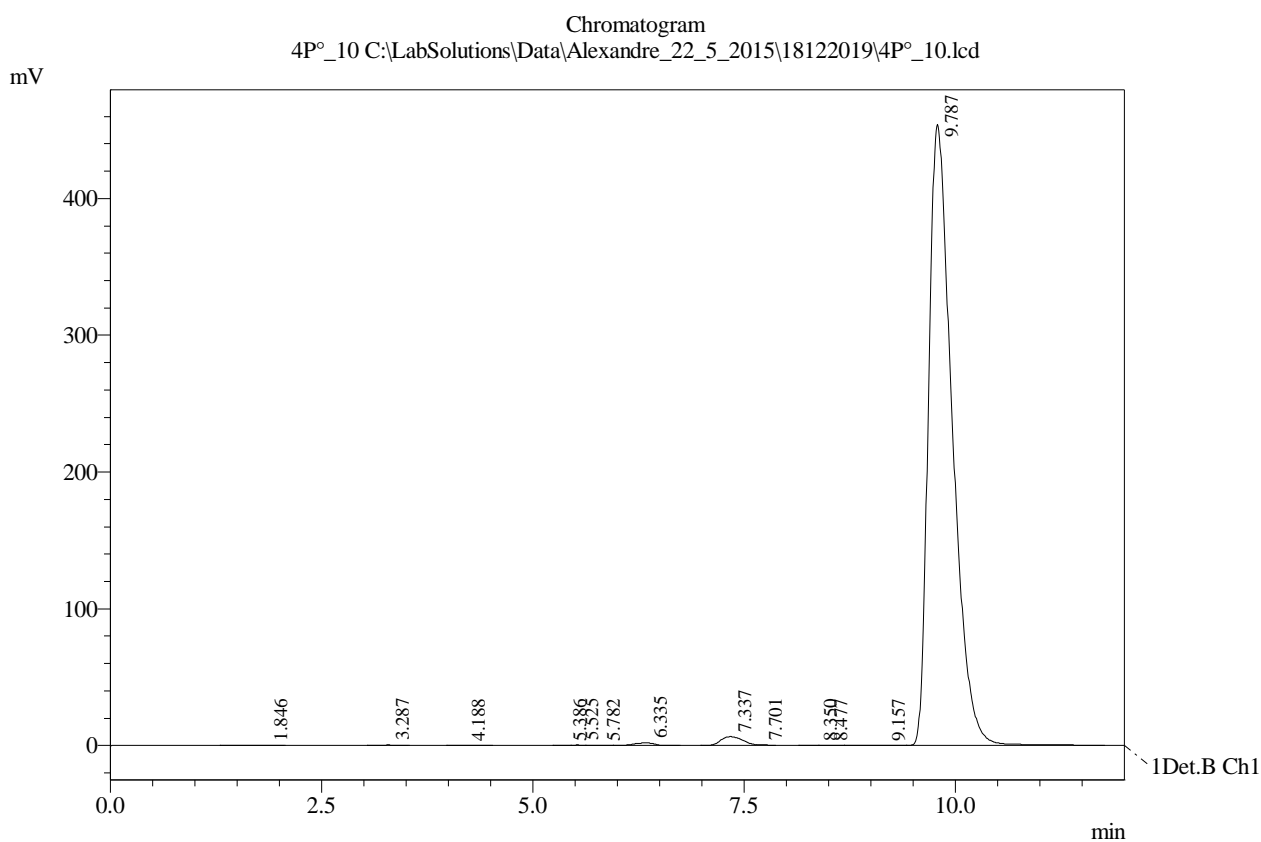
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
13	7.220	38315	1816	0.218	0.140
14	7.526	57936	3306	0.330	0.256
15	7.876	38804	2595	0.221	0.201
16	8.174	26279	1741	0.150	0.135
17	8.436	21225	1478	0.121	0.114
18	8.737	30906	1682	0.176	0.130
19	9.367	16914607	1252536	96.314	96.795
20	11.326	61504	3456	0.350	0.267
21	12.010	7565	465	0.043	0.036
22	12.484	4010	270	0.023	0.021
Total		17561871	1294009	100.000	100.000

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA BIOQUÍMICO-FARMACÊUTICA
Laboratório de Análise Instrumental

HPLC Shimadzu
LC-20AD/Prominence

Sample Information

Sample ID : 4P°_10
Injection Volume : 10 µL
Method Filename : (acn_rec)_4P_99acn_0,5mlmin_325nm.lcm
Date Acquired : 18/12/2019 14:48:10



PeakTable

Detector B Ch1 324nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.846	6917	212	0.077	0.046
2	3.287	3942	497	0.044	0.107
3	4.188	1903	104	0.021	0.022
4	5.386	1721	222	0.019	0.048
5	5.525	2766	483	0.031	0.104
6	5.782	2855	177	0.032	0.038
7	6.335	32763	1857	0.363	0.399
8	7.337	117560	6469	1.303	1.390
9	7.701	5676	813	0.063	0.175
10	8.350	1130	162	0.013	0.035
11	8.477	2492	204	0.028	0.044
12	9.157	5006	204	0.055	0.044

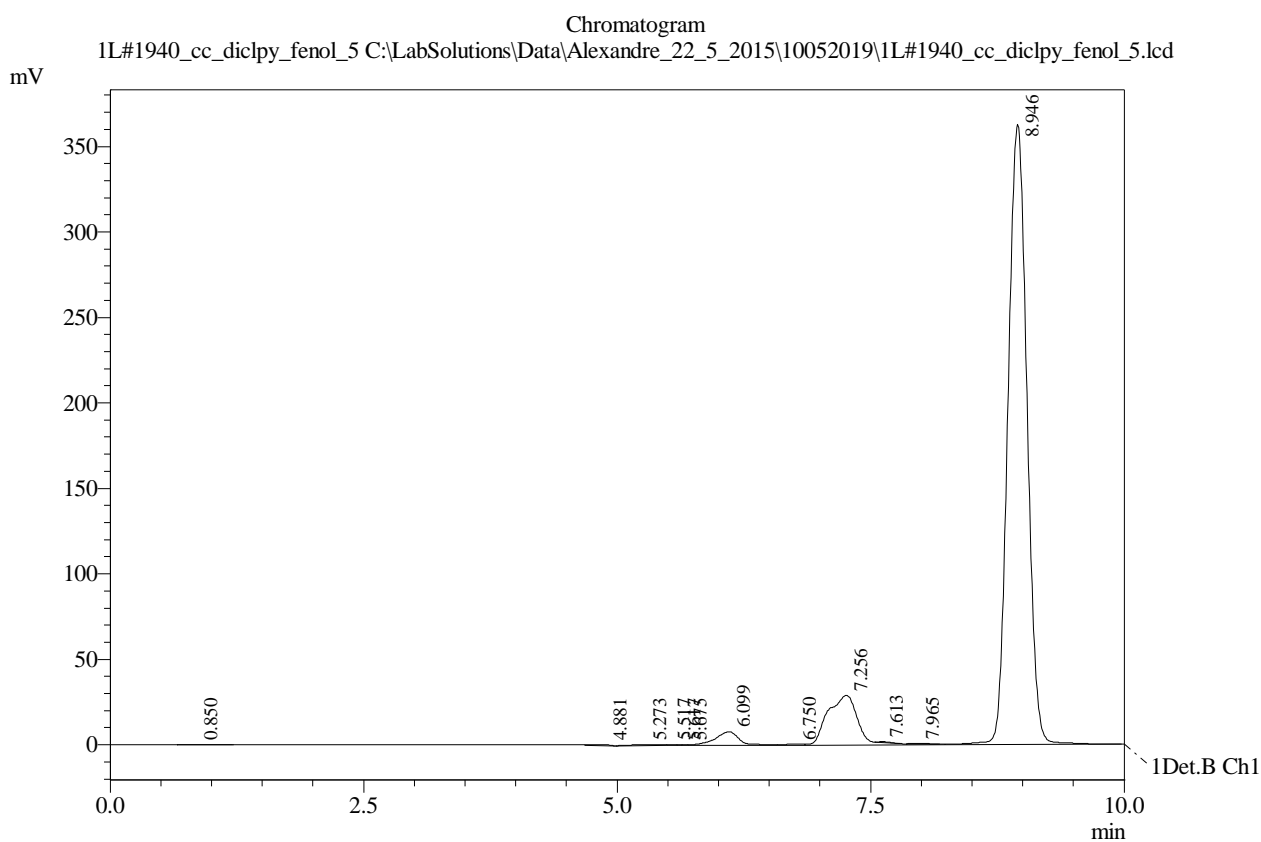
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
13	9.787	8836466	453907	97.952	97.549
Total		9021198	465312	100.000	100.000

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA BIOQUÍMICO-FARMACÊUTICA
Laboratório de Análise Instrumental

HPLC Shimadzu
LC-20AD/Prominence

Sample Information

Sample ID : 1L#1940_cc_diclpy_fenol_5
Injection Volume : 5 uL
Method Filename : (acn_rec_lote07_para_cc)_diclpy_250nm_80acn_0,5mlmin.lcm
Date Acquired : 10/05/2019 20:10:04



PeakTable

Detector B Ch1 250nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	0.850	1919	90	0.035	0.022
2	4.881	4008	393	0.073	0.098
3	5.273	12160	544	0.222	0.135
4	5.517	2435	429	0.044	0.106
5	5.617	1145	389	0.021	0.096
6	5.675	1264	366	0.023	0.091
7	6.099	132777	7975	2.425	1.980
8	6.750	7207	487	0.132	0.121
9	7.256	602465	28901	11.002	7.174
10	7.613	3759	451	0.069	0.112
11	7.965	3318	343	0.061	0.085
12	8.946	4703345	362499	85.893	89.980

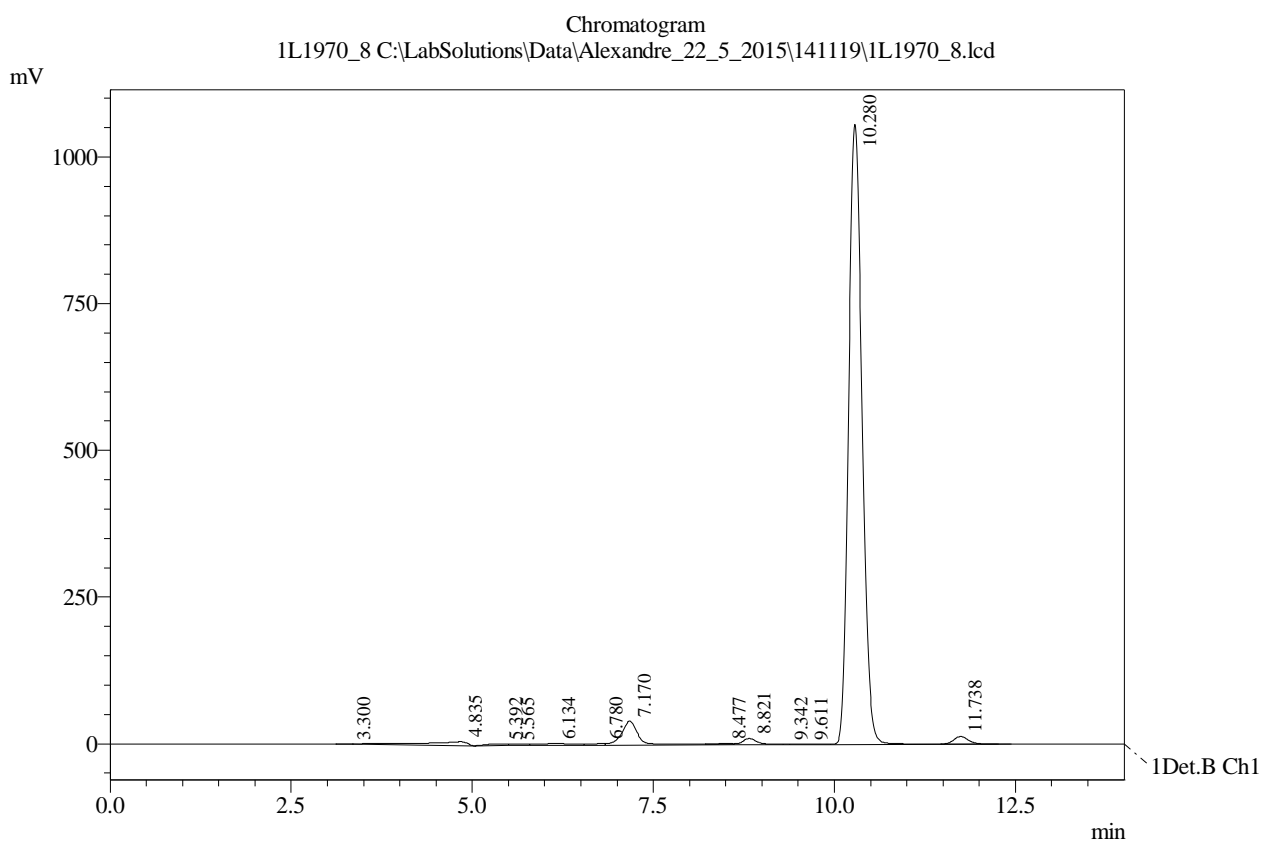
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
Total		5475802	402866	100.000	100.000

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA BIOQUÍMICO-FARMACÊUTICA
Laboratório de Análise Instrumental

HPLC Shimadzu
LC-20AD/Prominence

Sample Information

Sample ID : 1L1970_8
Injection Volume : 5 uL
Method Filename : (acn_rec)_diclpy_1L_250nm_92acn_0,5mlmin.lcm
Date Acquired : 15/11/2019 04:27:58



1 Det.B Ch1 / 250nm

PeakTable

Detector B Ch1 250nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	3.300	2888	356	0.019	0.031
2	4.835	275241	6564	1.787	0.574
3	5.392	58996	2920	0.383	0.256
4	5.565	49410	2879	0.321	0.252
5	6.134	128658	3449	0.836	0.302
6	6.780	46373	2818	0.301	0.247
7	7.170	754740	41395	4.901	3.622
8	8.477	3111	267	0.020	0.023
9	8.821	169691	10815	1.102	0.946
10	9.342	6911	1259	0.045	0.110
11	9.611	38932	1240	0.253	0.109
12	10.280	13688339	1056398	88.895	92.431

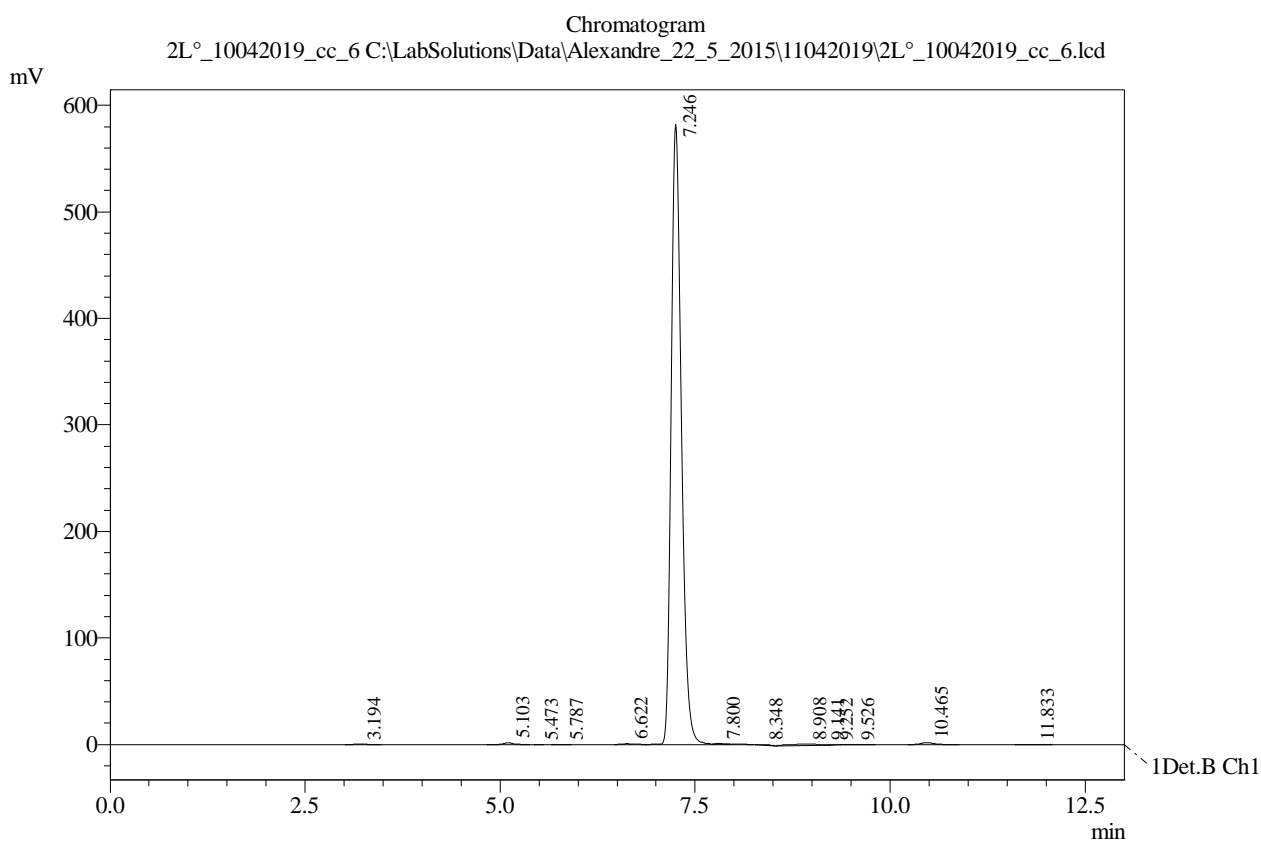
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
13	11.738	175111	12547	1.137	1.098
Total		15398401	1142907	100.000	100.000

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA BIOQUÍMICO-FARMACÊUTICA
Laboratório de Análise Instrumental

HPLC Shimadzu
LC-20AD/Prominence

Sample Information

Sample ID : 2L°_10042019_cc_6
Injection Volume : 6 uL
Method Filename : (acn_rec_lote7)2L_1L_230nm_80acn_0,5mlmin.lcm
Date Acquired : 11/04/2019 01:06:12



1 Det.B Ch1 / 230nm

PeakTable

Detector B Ch1 230nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	3.194	4899	543	0.089	0.092
2	5.103	19220	1784	0.350	0.302
3	5.473	1051	163	0.019	0.028
4	5.787	1383	116	0.025	0.020
5	6.622	7326	716	0.133	0.121
6	7.246	5384100	581847	97.977	98.499
7	7.800	1848	282	0.034	0.048
8	8.348	4672	386	0.085	0.065
9	8.908	29622	1182	0.539	0.200
10	9.141	4885	723	0.089	0.122
11	9.252	4535	611	0.083	0.103
12	9.526	8925	404	0.162	0.068

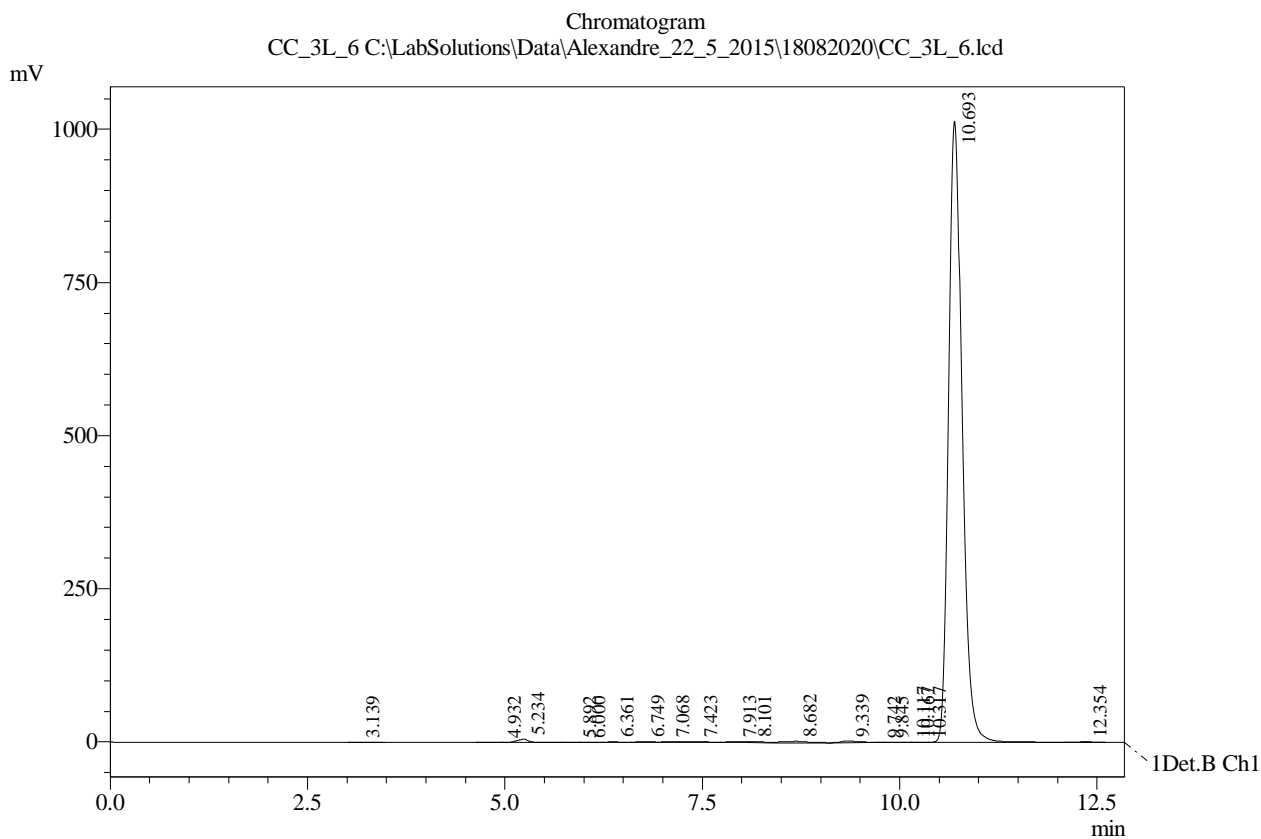
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
13	10.465	20280	1802	0.369	0.305
14	11.833	2507	155	0.046	0.026
Total		5495255	590714	100.000	100.000

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA BIOQUÍMICO-FARMACÊUTICA
Laboratório de Análise Instrumental

HPLC Shimadzu
LC-20AD/Prominence

Sample Information

Sample ID : CC_3L_6
Injection Volume : 6 uL
Method Filename : (acn_rec)pFb_2L_3L_280_92acn_0,5mlmin.lcm
Date Acquired : 18/08/2020 14:09:18



1 Det. B Ch1 / 280nm

PeakTable

Detector B Ch1 280nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	3.139	2384	170	0.019	0.016
2	4.932	2745	243	0.022	0.023
3	5.234	60496	5245	0.486	0.506
4	5.892	4752	362	0.038	0.035
5	6.000	2089	387	0.017	0.037
6	6.361	22047	929	0.177	0.090
7	6.749	24389	1801	0.196	0.174
8	7.068	18270	1326	0.147	0.128
9	7.423	35273	1816	0.283	0.175
10	7.913	22639	1579	0.182	0.152
11	8.101	27790	1570	0.223	0.151
12	8.682	50476	2187	0.405	0.211

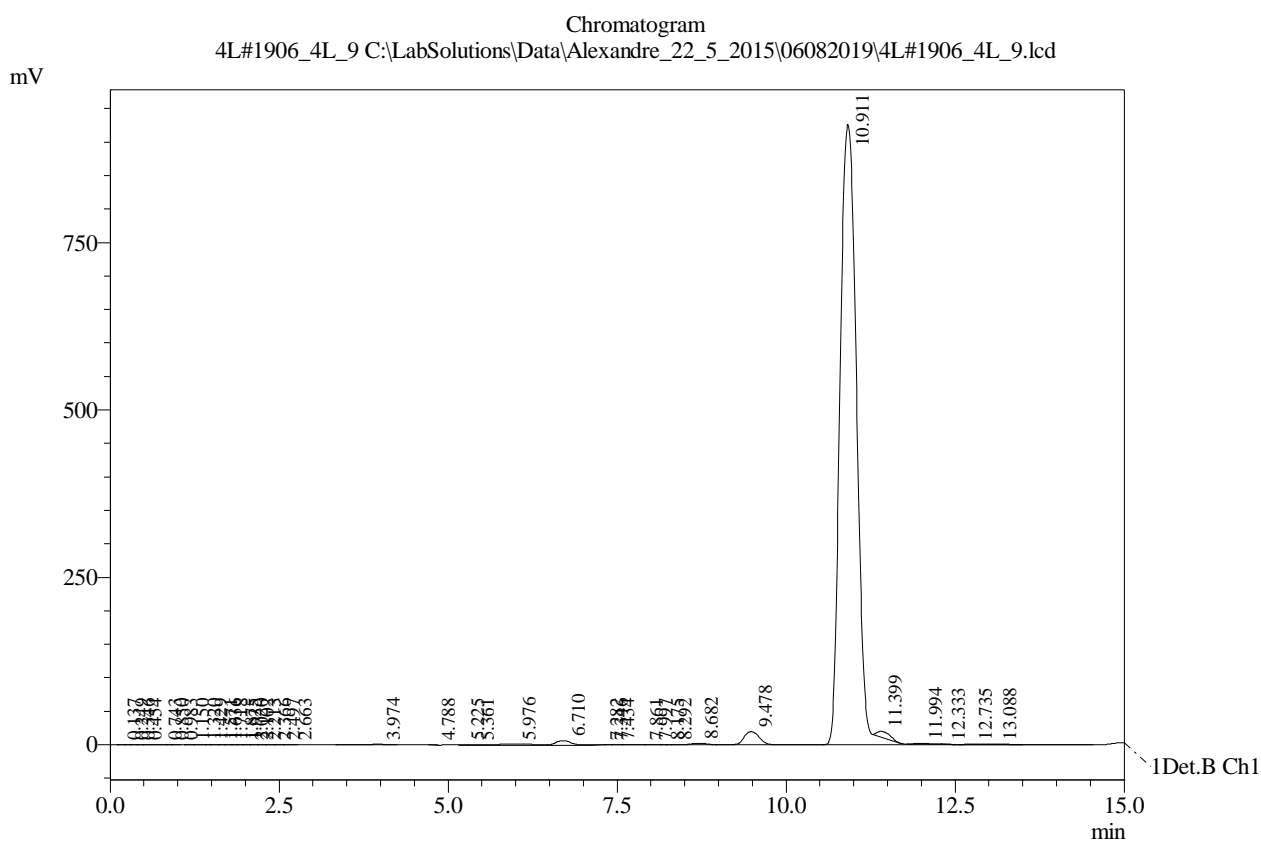
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
13	9.339	48517	2964	0.389	0.286
14	9.742	3258	732	0.026	0.071
15	9.845	10025	714	0.080	0.069
16	10.117	3207	593	0.026	0.057
17	10.167	2570	575	0.021	0.055
18	10.317	4771	566	0.038	0.055
19	10.693	12111254	1013313	97.206	97.691
20	12.354	2470	198	0.020	0.019
Total		12459424	1037268	100.000	100.000

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA BIOQUÍMICO-FARMACÊUTICA
Laboratório de Análise Instrumental

HPLC Shimadzu
LC-20AD/Prominence

Sample Information

Sample ID : 4L#1906_4L_9
Injection Volume : 20 µL
Method Filename : (acn_rec)_4L_347nm_92acn_0,5mlmin.lcm
Date Acquired : 07/08/2019 04:03:53



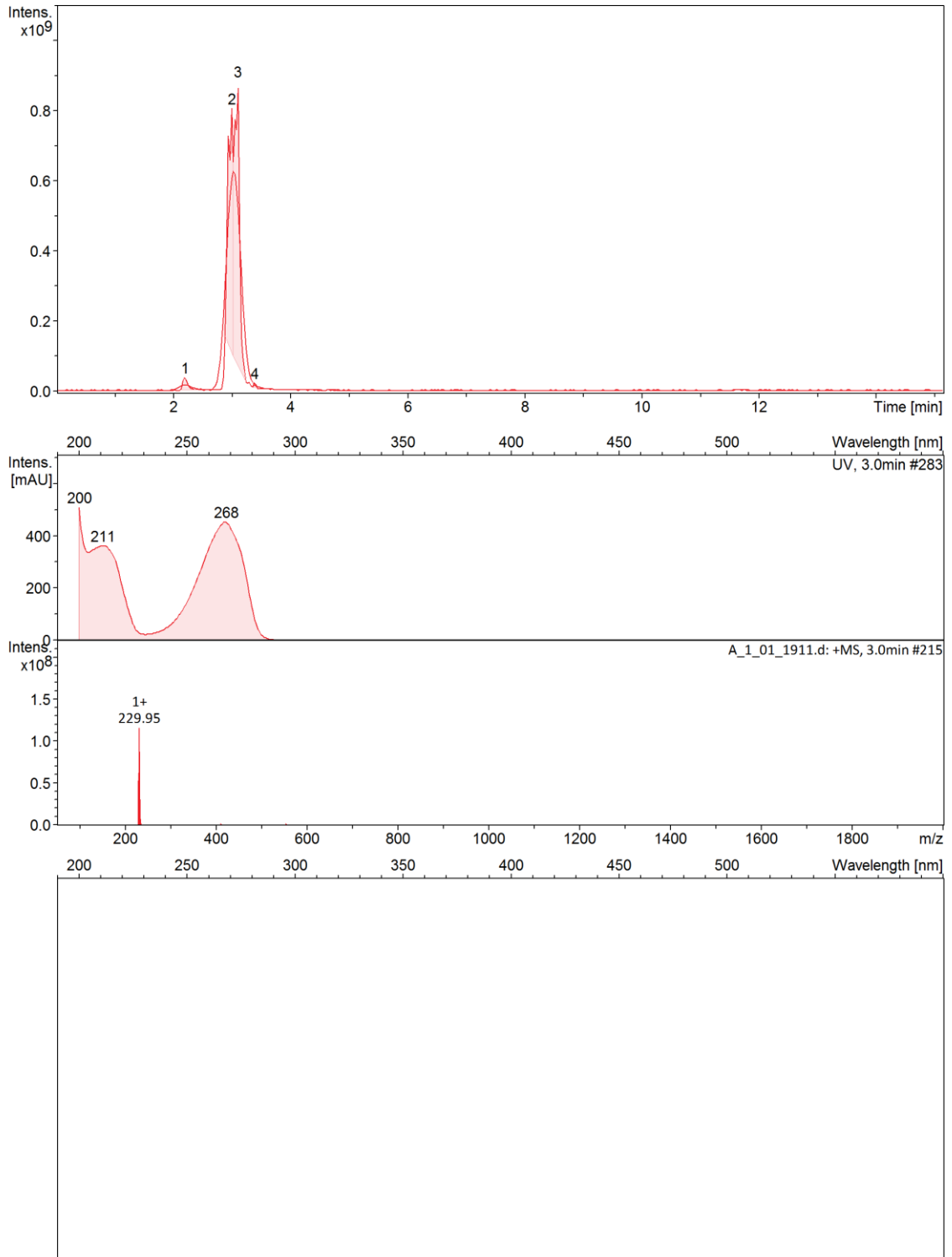
1 Det.B Ch1 / 347nm

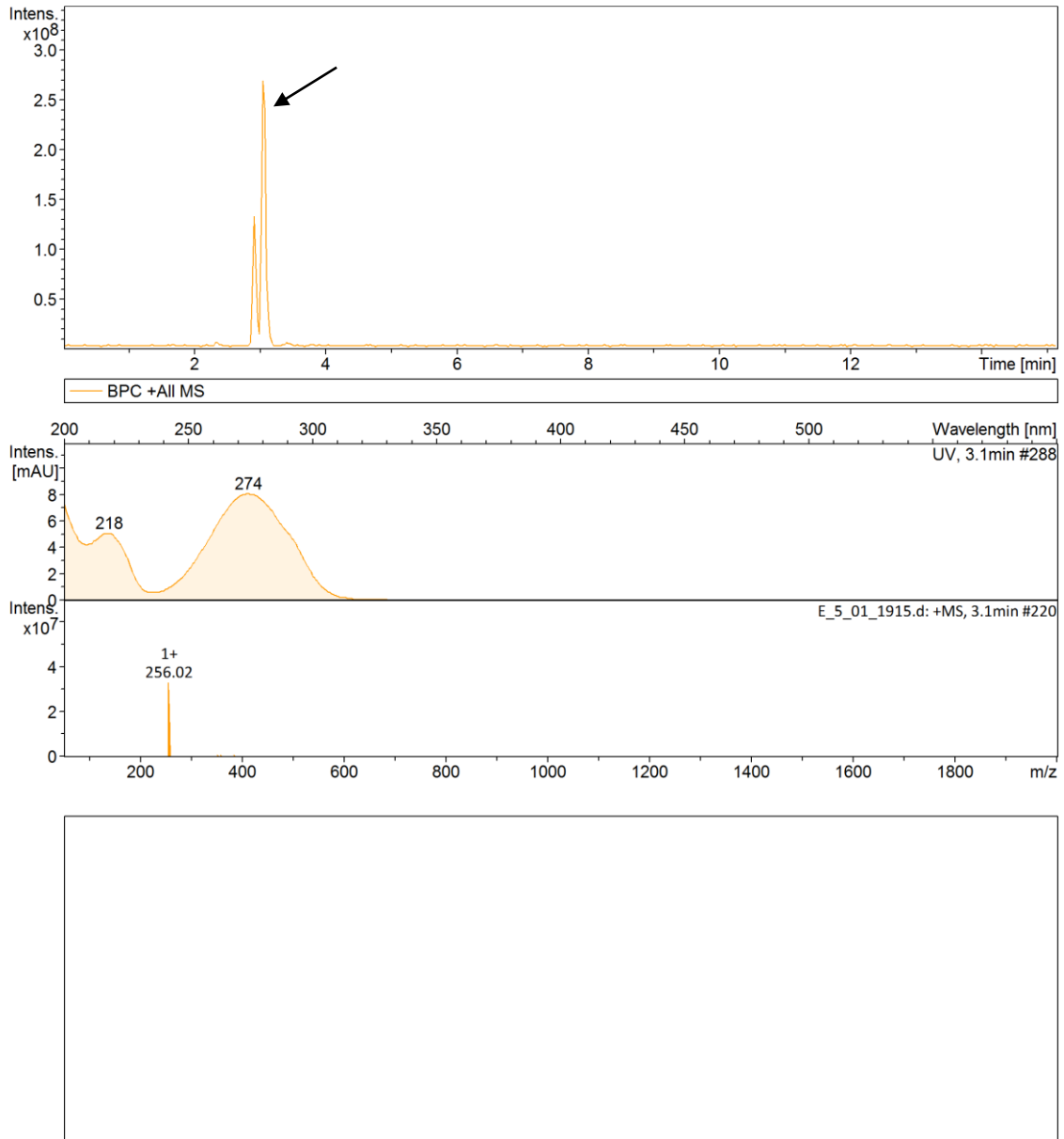
PeakTable

Detector B Ch1 347nm

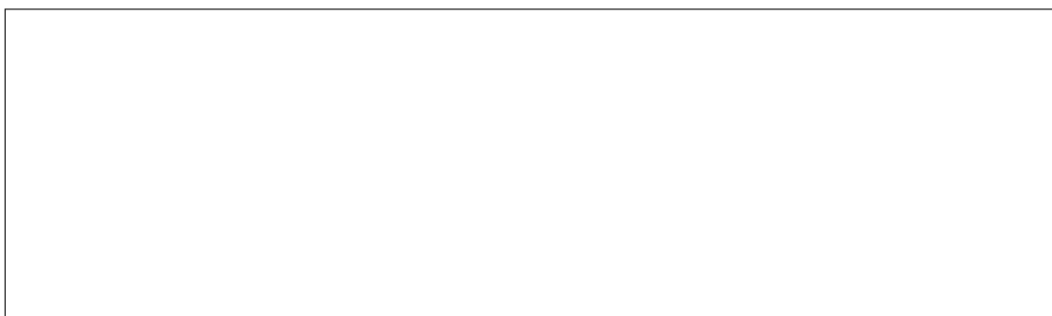
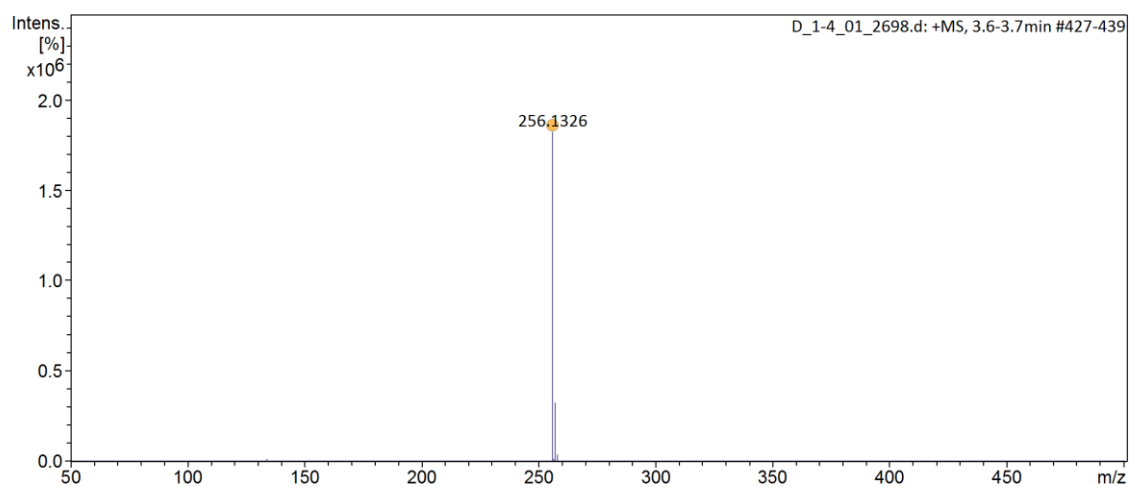
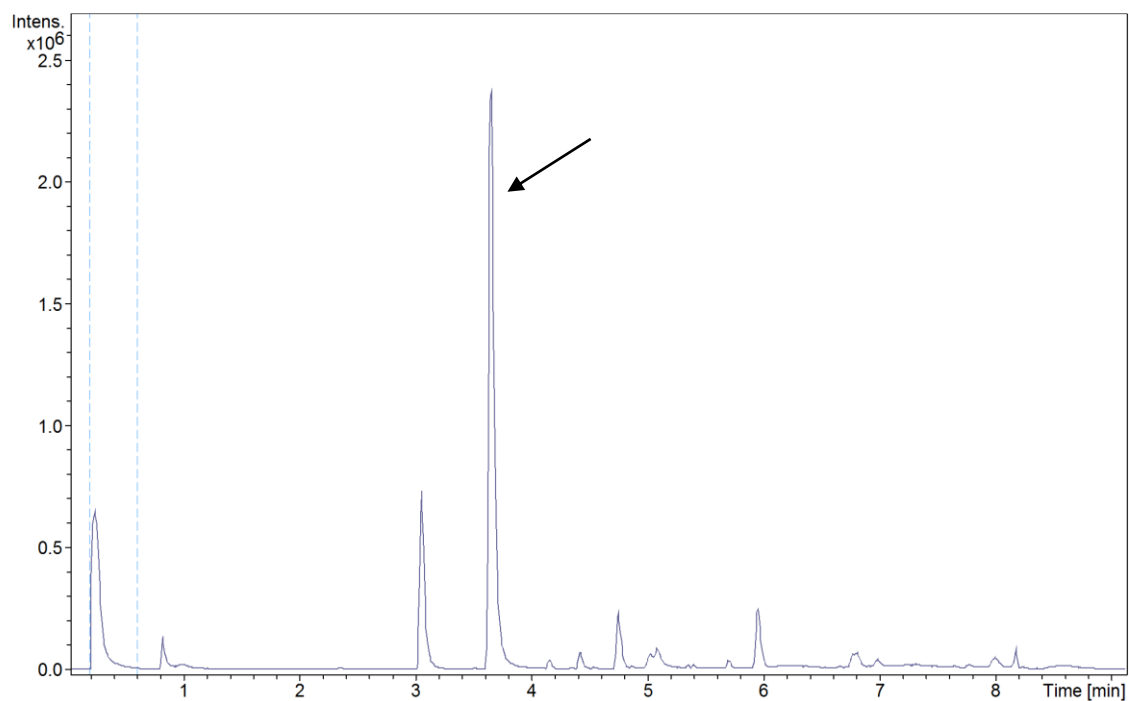
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	0.137	1388	237	0.008	0.024
2	0.249	1087	226	0.007	0.023
3	0.346	1230	246	0.007	0.025
4	0.454	1282	229	0.008	0.023
5	0.743	5262	300	0.032	0.031
6	0.850	1477	285	0.009	0.029
7	0.983	1888	292	0.011	0.030
8	1.150	2139	280	0.013	0.029
9	1.320	2586	282	0.016	0.029
10	1.429	1094	263	0.007	0.027
11	1.571	1769	262	0.011	0.027
12	1.636	1242	267	0.007	0.027

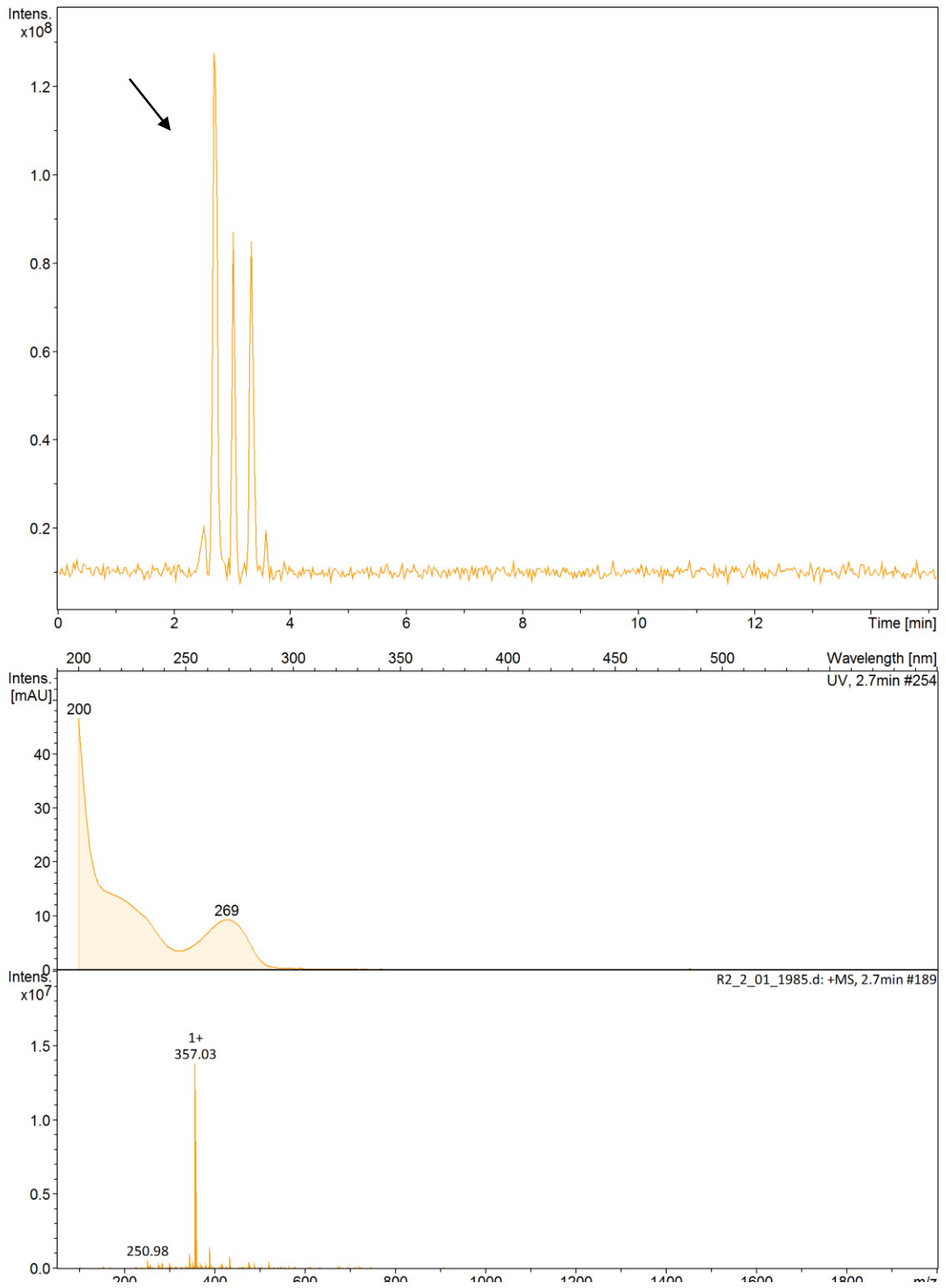
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
13	1.718	1389	243	0.008	0.025
14	1.875	1198	233	0.007	0.024
15	1.925	1190	242	0.007	0.025
16	2.020	1455	258	0.009	0.026
17	2.102	1781	273	0.011	0.028
18	2.213	1614	259	0.010	0.026
19	2.366	1513	232	0.009	0.024
20	2.497	1634	213	0.010	0.022
21	2.663	1534	179	0.009	0.018
22	3.974	16819	908	0.101	0.093
23	4.788	1545	391	0.009	0.040
24	5.225	1134	171	0.007	0.018
25	5.361	2756	288	0.017	0.029
26	5.976	53691	1449	0.323	0.148
27	6.710	101812	6451	0.613	0.660
28	7.282	3858	365	0.023	0.037
29	7.346	2058	370	0.012	0.038
30	7.434	2802	338	0.017	0.035
31	7.861	6254	353	0.038	0.036
32	7.997	5117	396	0.031	0.041
33	8.175	1320	303	0.008	0.031
34	8.292	1229	279	0.007	0.029
35	8.682	49797	2695	0.300	0.276
36	9.478	334972	20013	2.018	2.047
37	10.911	15811457	926266	95.242	94.749
38	11.399	118795	8262	0.716	0.845
39	11.994	19357	1224	0.117	0.125
40	12.333	1680	208	0.010	0.021
41	12.735	6205	459	0.037	0.047
42	13.088	22991	1113	0.138	0.114
Total		16601397	977602	100.000	100.000

Anexo 2 - Comprovação da identidade do produto intermediário **2P** por HPLC-MS

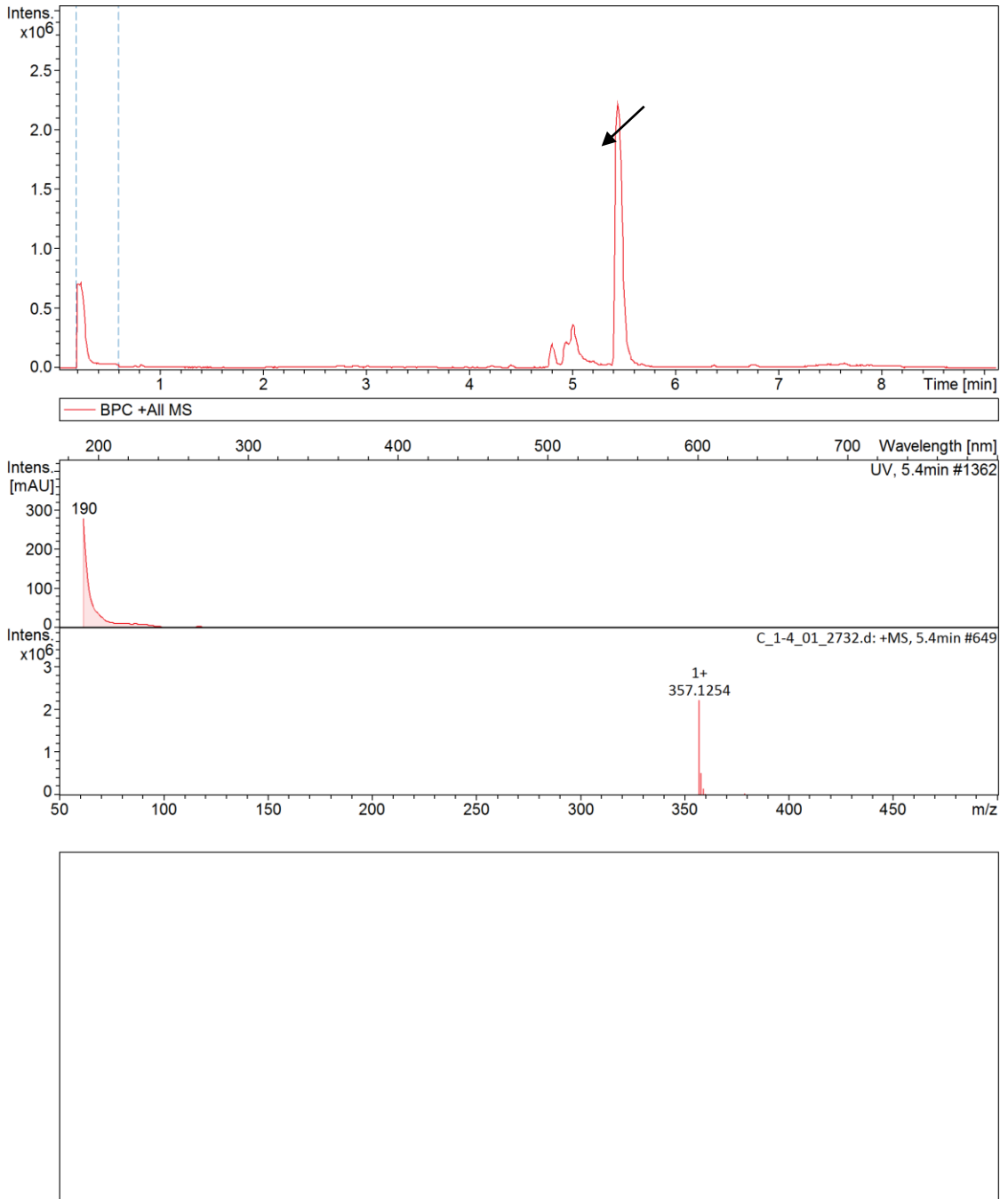
Anexo 3 - Comprovação da identidade do produto intermediário **3P** por HPLC-MS

Anexo 4 - Comprovação da identidade do produto intermediário **3P** (método alternativo) por
HPLC-MS



Anexo 5 - Comprovação da identidade do produto intermediário **4P** por HPLC-MS

Anexo 6 - Comprovação da identidade do produto Pioglitazona por HPLC-MS



Anexo 7 – Cromatogramas de HPLC-UV do fármaco Pioglitazona comercial e sintetizado em laboratório

Sequência:

1 – Pioglitazona comercial

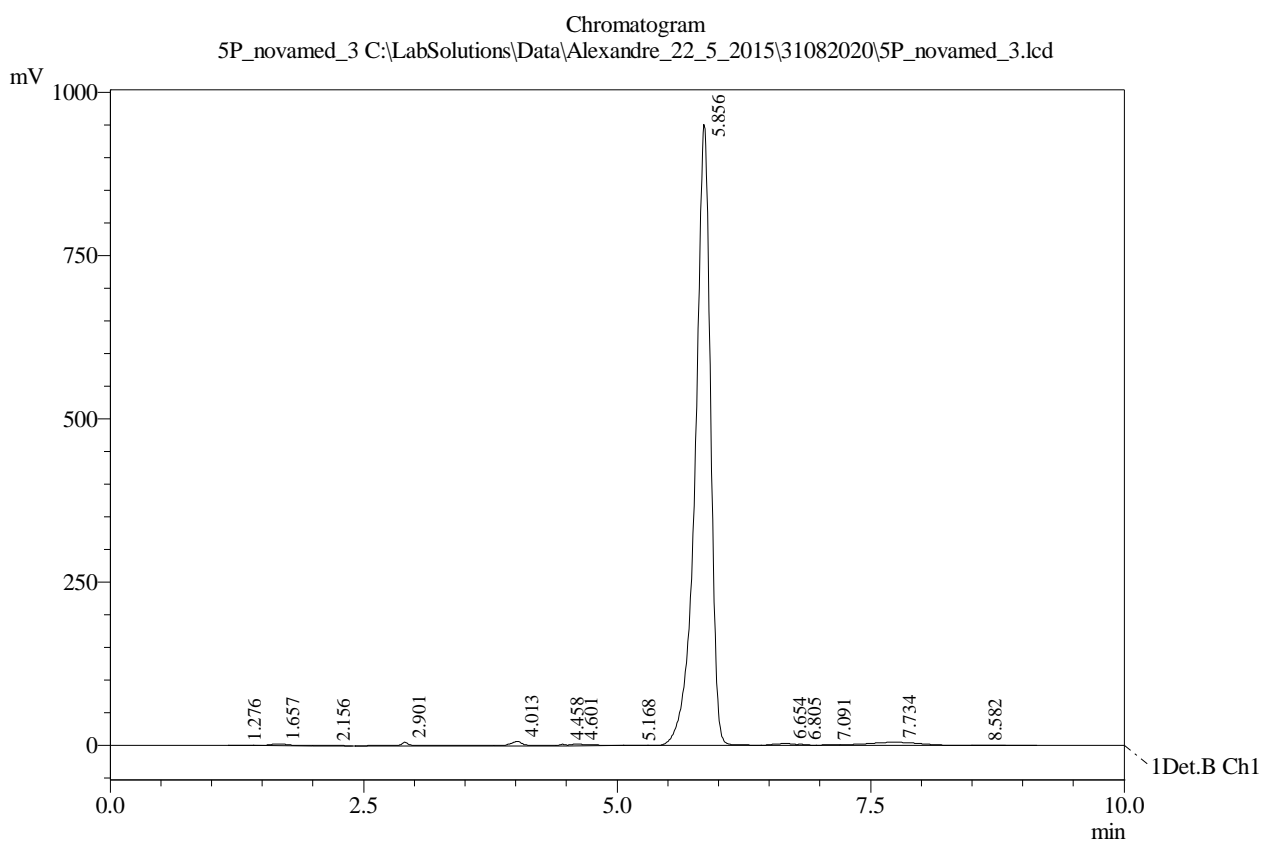
2 – Pioglitazona sintetizada em laboratório

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA BIOQUÍMICO-FARMACÊUTICA
Laboratório de Análise Instrumental

HPLC Shimadzu
LC-20AD/Prominence

Sample Information

Sample ID : 5P_novamed_3
Injection Volume : 10 µL
Method Filename : (acn_rec)_5P_99acn_0,7mlmin_270nm.lcm
Date Acquired : 31/08/2020 19:20:42



PeakTable

Detector B Ch1 270nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.276	1037	100	0.010	0.010
2	1.657	35135	2663	0.339	0.271
3	2.156	4955	367	0.048	0.037
4	2.901	46463	5067	0.448	0.515
5	4.013	56509	6451	0.545	0.656
6	4.458	8483	1999	0.082	0.203
7	4.601	39059	2320	0.376	0.236
8	5.168	7099	698	0.068	0.071
9	5.856	9898501	950885	95.393	96.738
10	6.654	47202	3553	0.455	0.361
11	6.805	14309	1949	0.138	0.198
12	7.091	17660	1723	0.170	0.175

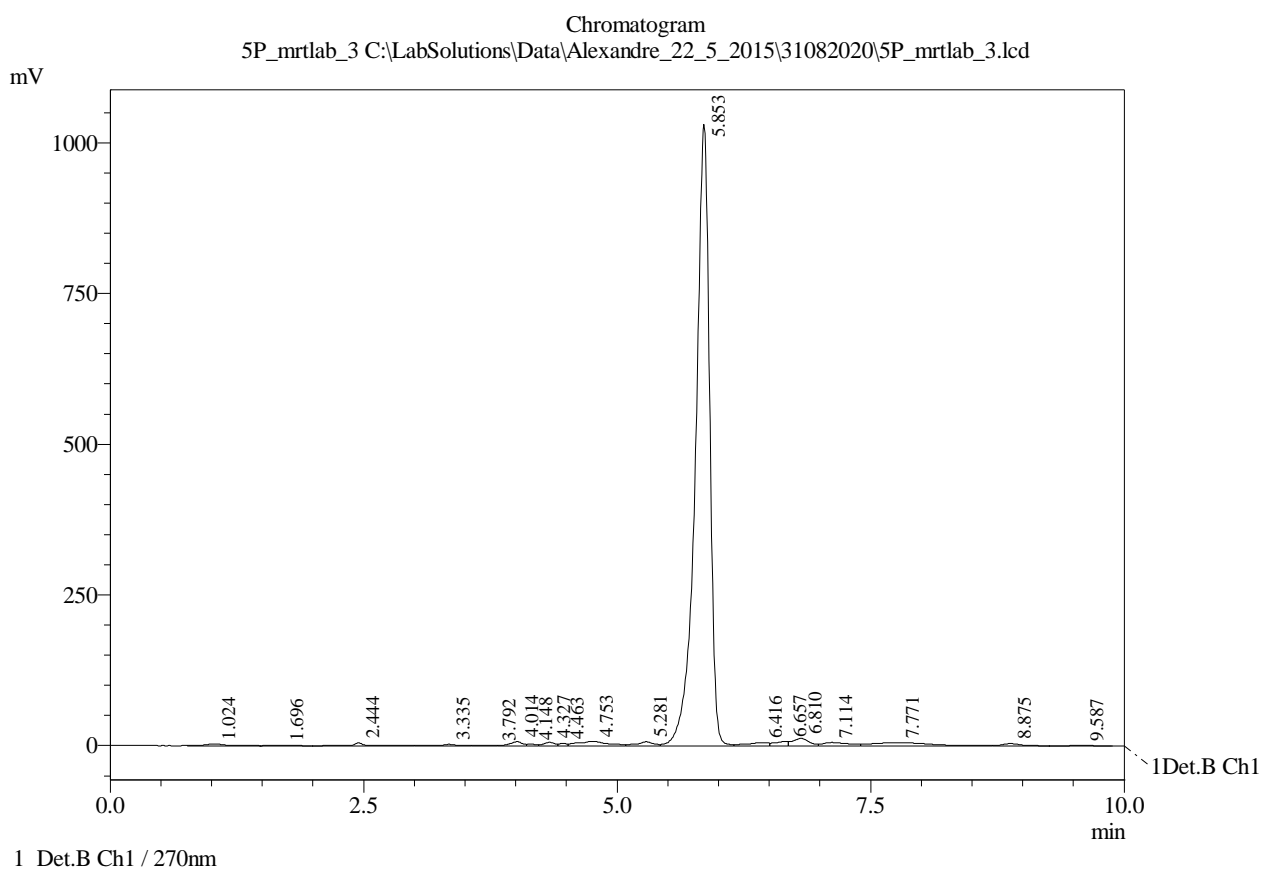
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
13	7.734	198881	5070	1.917	0.516
14	8.582	1201	103	0.012	0.010
Total		10376496	982947	100.000	100.000

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA BIOQUÍMICO-FARMACÊUTICA
Laboratório de Análise Instrumental

HPLC Shimadzu
LC-20AD/Prominence

Sample Information

Sample ID : 5P_mrtlab_3
Injection Volume : 10 µL
Method Filename : (acn_rec)_5P_99acn_0,7mlmin_270nm.lcm
Date Acquired : 31/08/2020 18:49:20



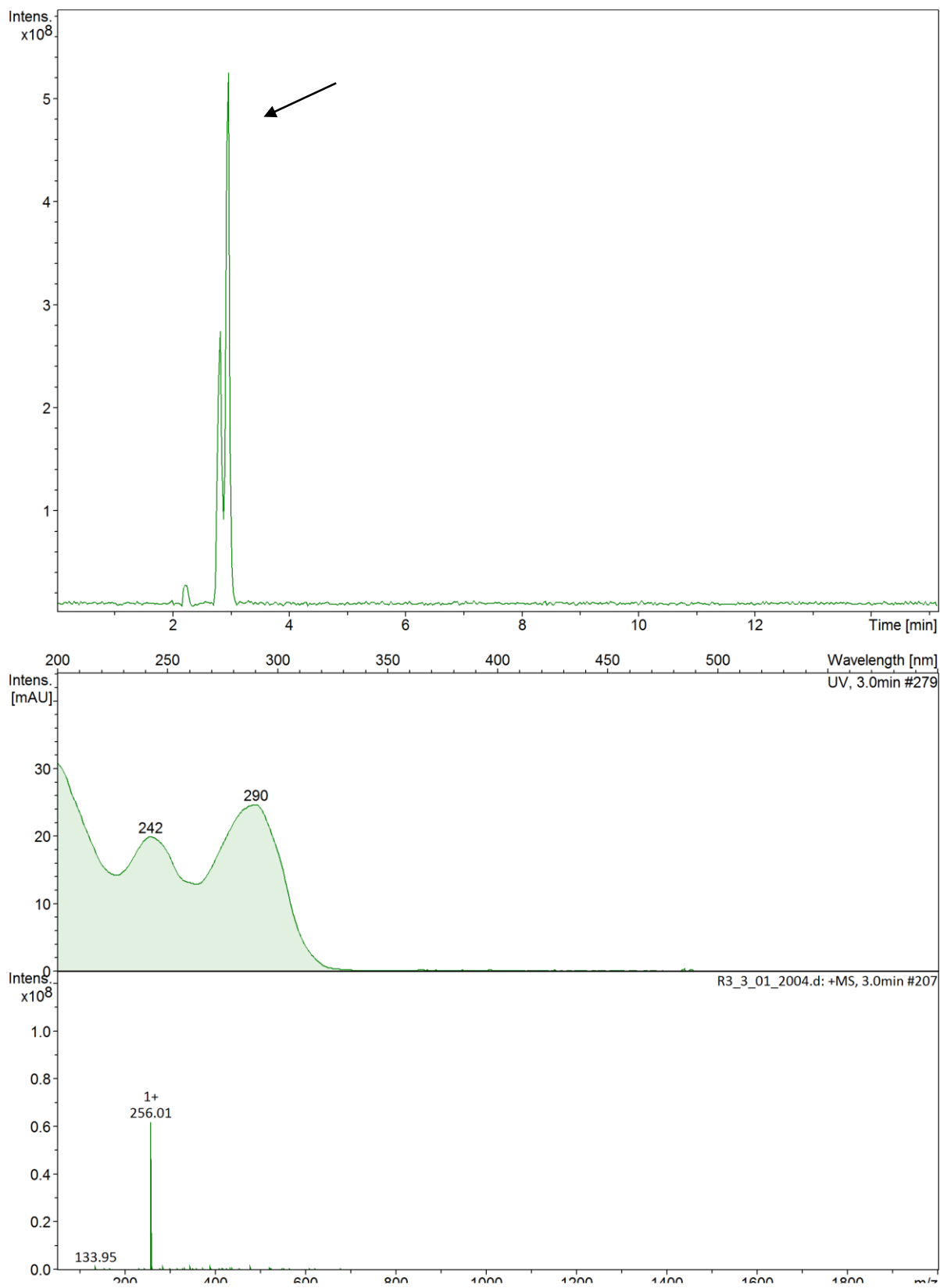
PeakTable

Detector B Ch1 270nm

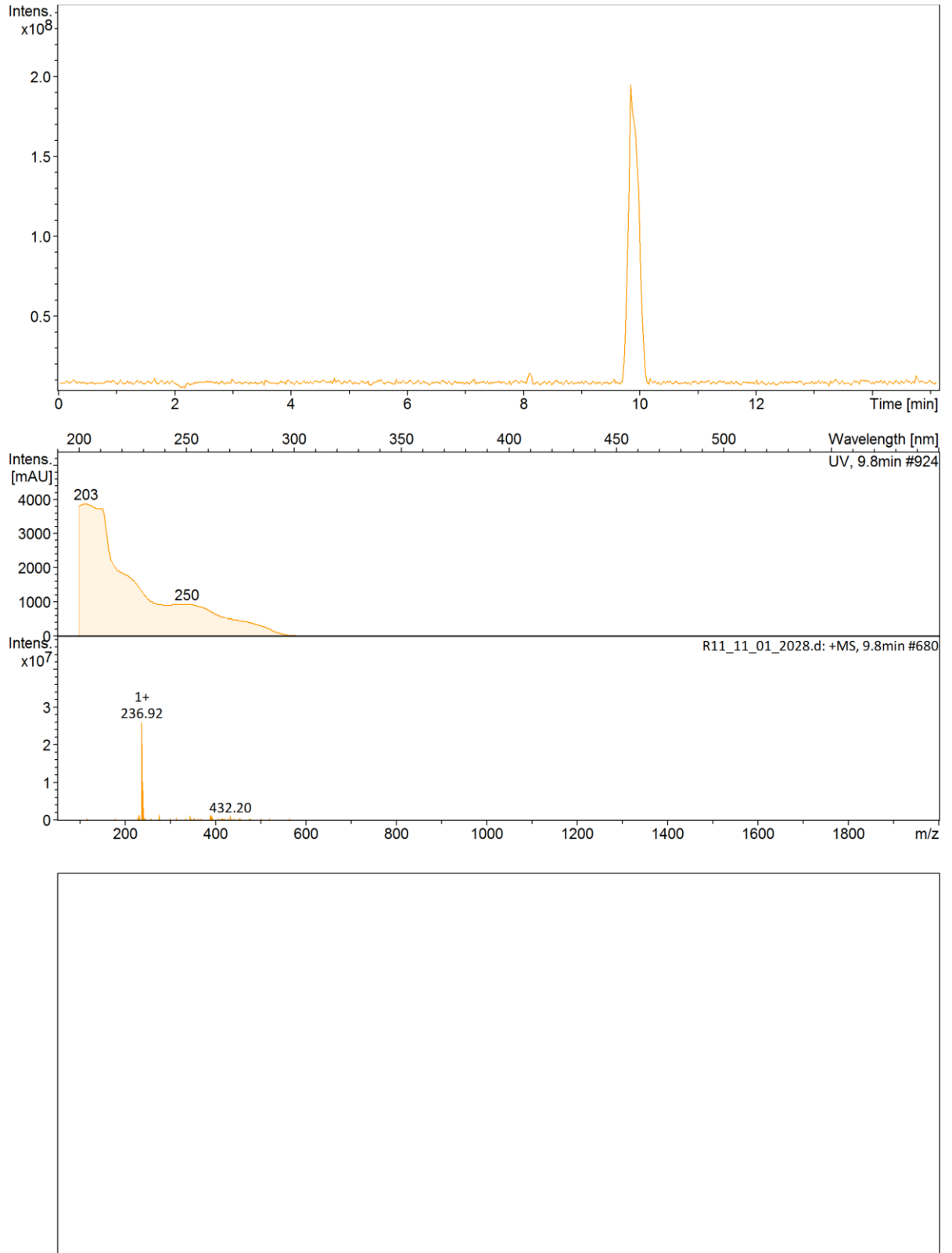
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.024	35329	2843	0.320	0.255
2	1.696	12696	1054	0.115	0.095
3	2.444	40129	5083	0.363	0.457
4	3.335	24682	2275	0.223	0.204
5	3.792	9838	766	0.089	0.069
6	4.014	57132	6779	0.517	0.609
7	4.148	14616	2456	0.132	0.221
8	4.327	41773	5517	0.378	0.495
9	4.463	20022	3881	0.181	0.349
10	4.753	147143	7453	1.331	0.669
11	5.281	74060	6486	0.670	0.583
12	5.853	9964003	1030322	90.153	92.530

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
13	6.416	74614	4955	0.675	0.445
14	6.657	64007	6932	0.579	0.623
15	6.810	133809	12199	1.211	1.096
16	7.114	95082	5424	0.860	0.487
17	7.771	198587	5290	1.797	0.475
18	8.875	40495	3468	0.366	0.311
19	9.587	4350	316	0.039	0.028
Total		11052367	1113497	100.000	100.000

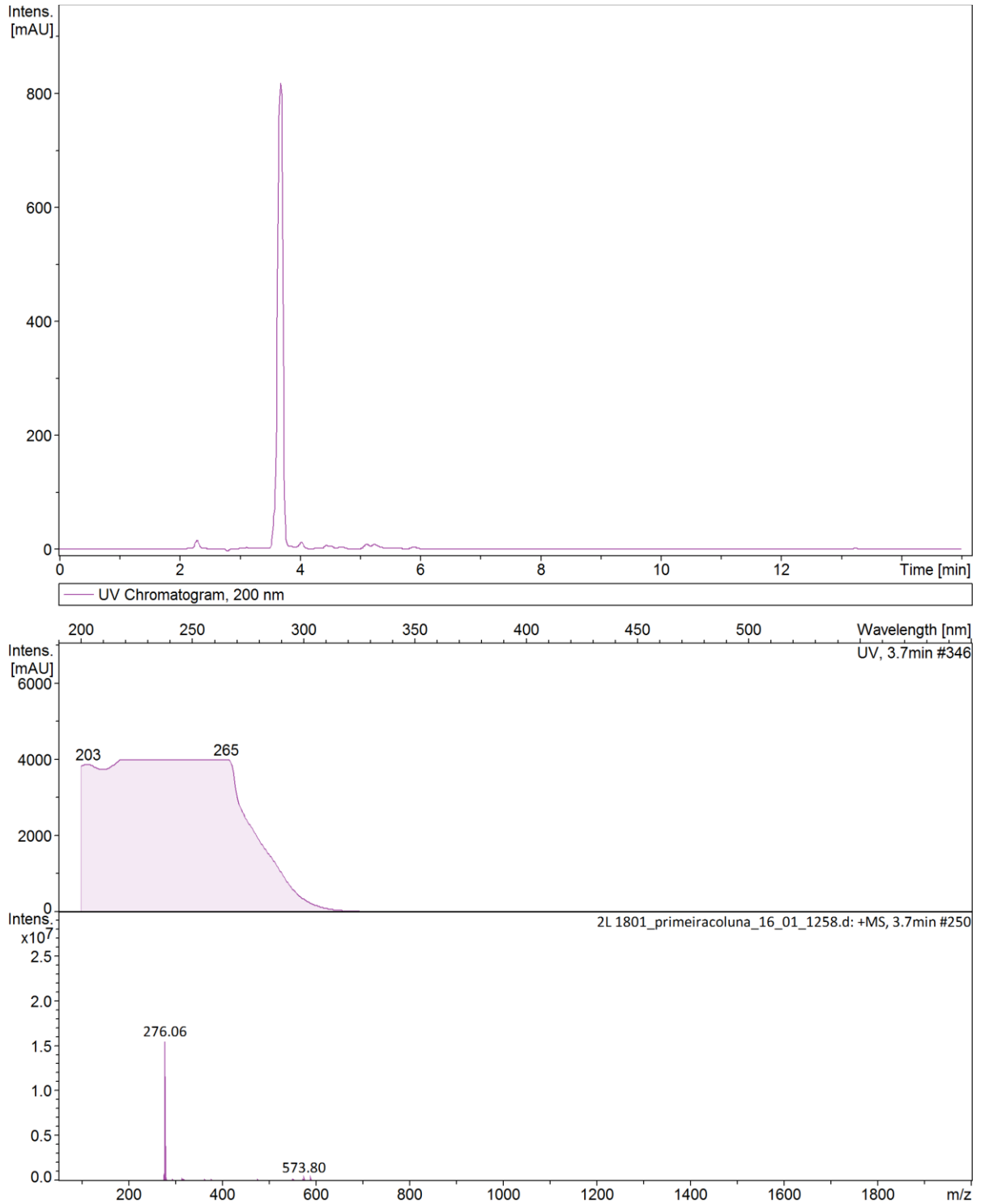
Anexo 8 - Comprovação da identidade do produto intermediário **3P** em síntese *one-pot* por HPLC-MS



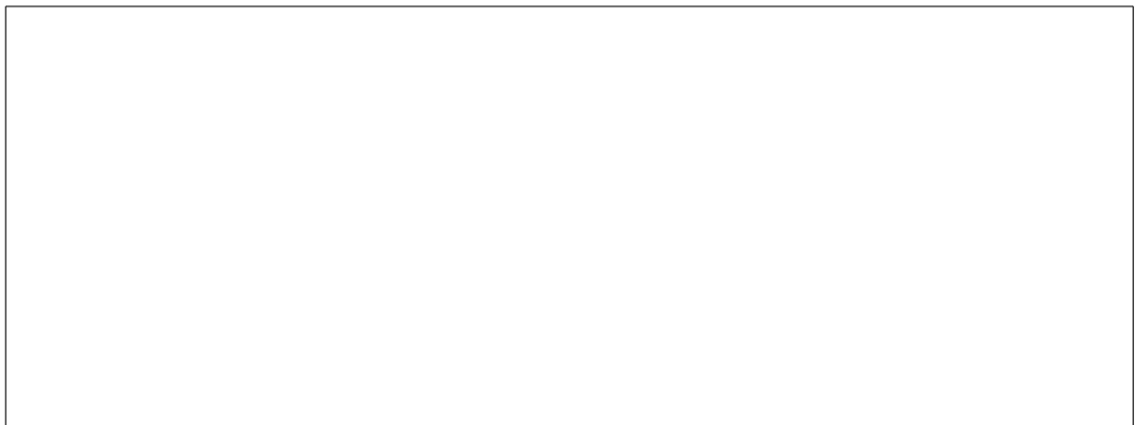
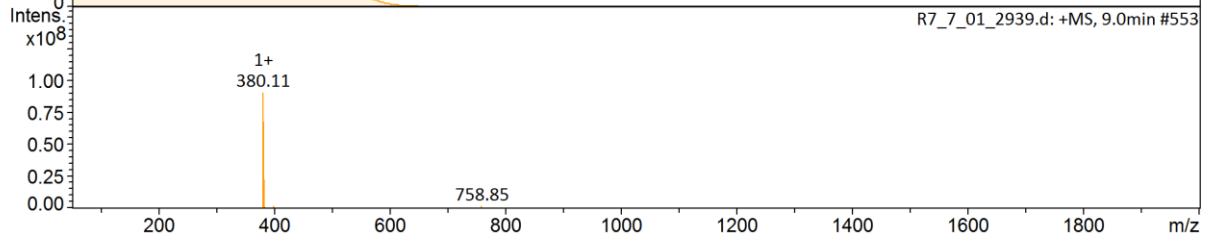
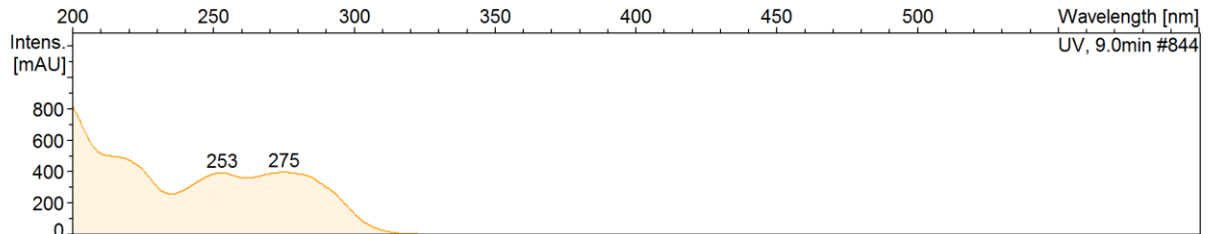
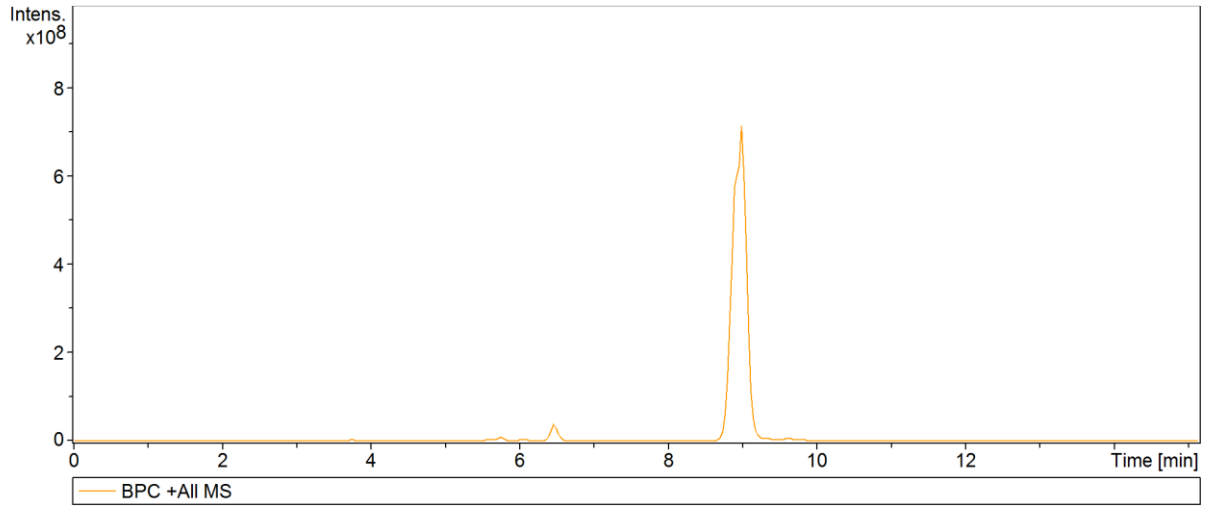
Anexo 9 - Comprovação da identidade do produto intermediário **1L** por HPLC-MS



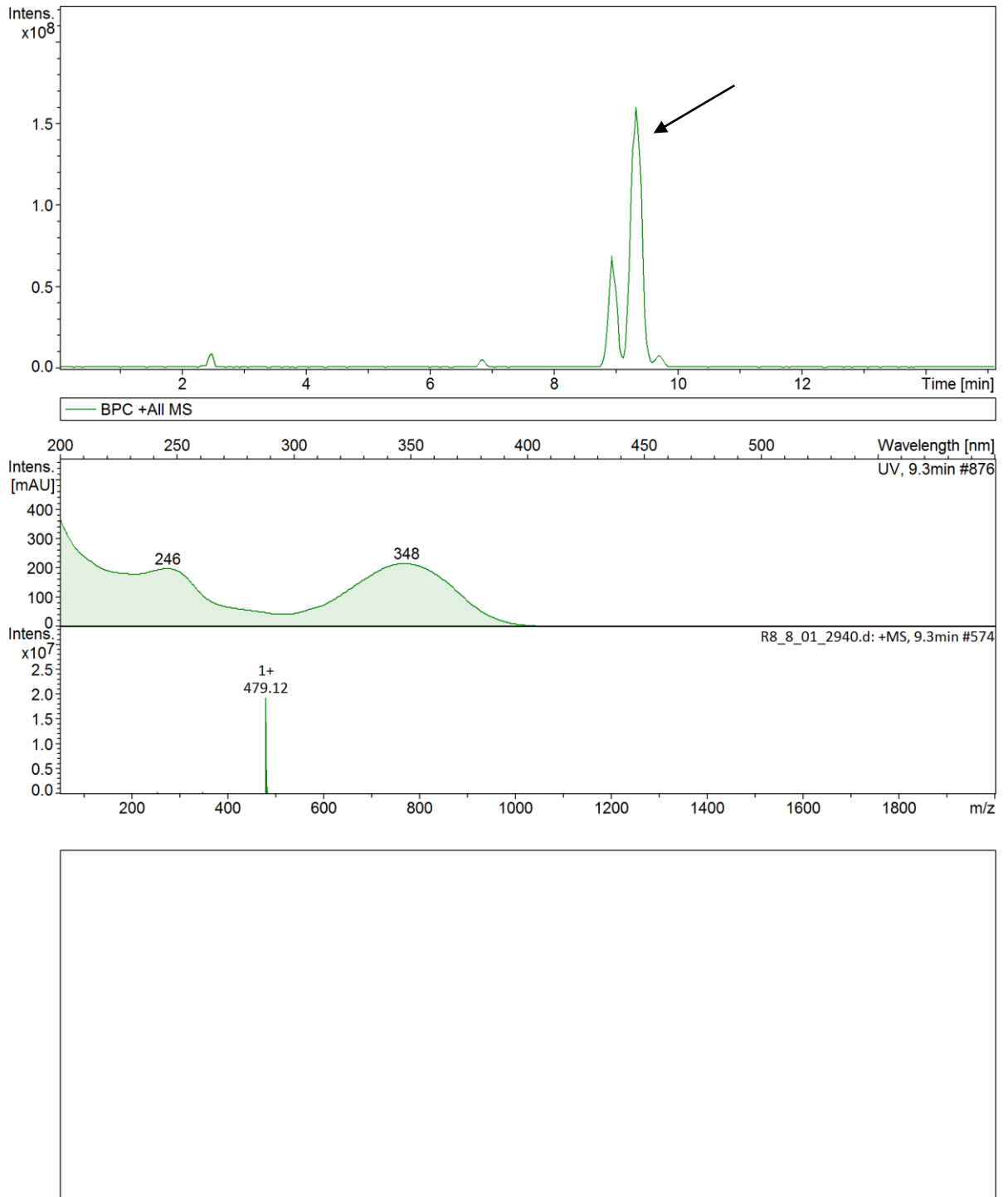
Anexo 10 - Comprovação da identidade do produto intermediário **2L** por HPLC-MS



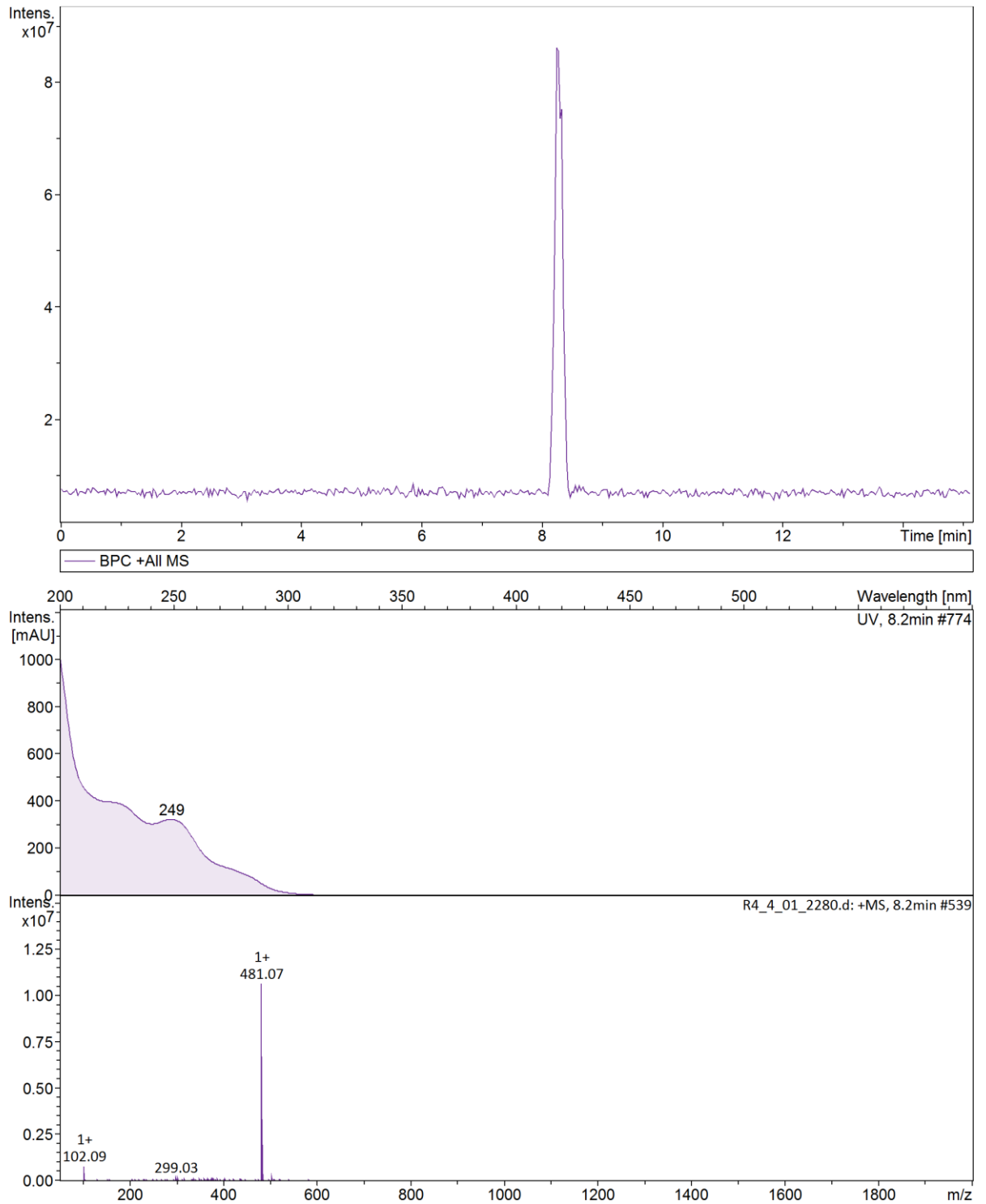
Anexo 11 - Comprovação da identidade do produto intermediário **3L** por HPLC-MS



Anexo 12 - Comprovação da identidade do produto intermediário **4L** por HPLC-MS



Anexo 13 - Comprovação da identidade do produto Lobeglitazona por HPLC-MS



Anexo 14 – Patente Processo para a síntese de Pioglitazona (BR 10 2021 006604 0)

Sequência:

1 – Documento de depósito da patente “Processo para a síntese de Pioglitazona” (BR 10 2021 006604 0)

2 – Revista Propriedade Intelectual, nº 2631, 08 de Junho de 2021 (página separada)



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2021 006604 0

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 63025530000104

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Rua da Reitoria, 374 - Butantã

Cidade: São Paulo

Estado: SP

CEP: 05508220

País: Brasil

Telefone: (11) 3091.4474

Fax:

Email: pidireto@usp.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): PROCESSO PARA SÍNTESE DE PIOGLITAZONA

Utilidade (54):

Resumo: A presente invenção refere-se a um processo para a síntese de pioglitazona com redução de uma etapa da rota de síntese convencional, através da formação do composto 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzaldeído (3) mediante o uso do p-fluorbenzaldeído, e formação do outro composto 5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (5) mediante utilização de microrreatores operando em fluxo contínuo.

Figura a publicar: 2

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 2

Nome: MAURI SERGIO ALVES PALMA

CPF: 02722679884

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Engenheiro, arquiteto e afins

Endereço: RUA CORINTO, 543 - Apto. 52 A

Cidade: SÃO PAULO

Estado: SP

CEP: 05586-060

País: BRASIL

Telefone: (11) 309 11580

Fax:

Email: pidireto@usp.br

Inventor 2 de 2

Nome: RENAN RODRIGUES DE OLIVEIRA SILVA

CPF: 34403978827

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Pós Graduação

Endereço: RUA TEODORO SAMPAIO, 1355 - Apto. 92

Cidade: SÃO PAULO

Estado: SP

CEP: 05405-100

País: BRASIL

Telefone: (11) 309 11580

Fax:

Email: pidireto@usp.br

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	GRU 33 Depósito Pioglitazona.pdf
Esclarecimento	Esclarecimento Representante.pdf
Autorizações	Autorizações pioglitazona.pdf
Relatório Descritivo	Relatório Descritivo - Pioglitazona.pdf
Reivindicação	Reivindicação - Pioglitazona.pdf
Desenho	FIGURAS.pdf
Resumo	RESUMO.pdf

Acesso ao Patrimônio Genético

- Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

- Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

INSTRUÇÕES:

A data de vencimento não prevalece sobre o prazo legal. O pagamento deve ser efetuado antes do protocolo. Órgãos públicos que utilizam o sistema SIAFI devem utilizar o número da GRU no campo Número de Referência na emissão do pagamento. Serviço: 200-Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Clique aqui e pague este boleto através do Auto Atendimento Pessoa Física.

Clique aqui e pague este boleto através do Auto Atendimento Pessoa Jurídica.

BANCO DO BRASIL					001-9	00190.00009 02940.916196 28556.310176 4 85330000007000				
Nome do Pagador/CPF/CNPJ/Endereço										
UNIVERSIDADE DE SAO PAULO USP CPF/CNPJ: 63025530000104										
RUA DA REITORIA 374 BUTANTA, SAO PAULO -SP CEP:05508220										
Sacador/Avalista										
Nosso-Número		Nr. Documento		Data de Vencimento		Valor do Documento		(-) Valor Pago		
29409161928556310		29409161928556310		16/02/2021		70,00				
Nome do Beneficiário/CPF/CNPJ/Endereço										
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUST CPF/CNPJ: 42.521.088/0001-37										
RUA MAYRINK VEIGA 9 24 ANDAR ED WHITE MARTINS , RIO DE JANEIRO - RJ CEP: 20090910										
Agência/Código do Beneficiário						Autenticação Mecânica				
2234-9 / 333028-1										

BANCO DO BRASIL					001-9	00190.00009 02940.916196 28556.310176 4 85330000007000				
Local de Pagamento										
PAGÁVEL EM QUALQUER BANCO ATÉ O VENCIMENTO										
Data de Vencimento						16/02/2021				
Nome do Beneficiário/CPF/CNPJ										
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUST CPF/CNPJ: 42.521.088/0001-37										
Agência/Código do Beneficiário										
2234-9 / 333028-1										
Data do Documento		Nr. Documento		Espécie DOC	Aceite	Data do Processamento		Nosso-Número		
18/01/2021		29409161928556310		DS	N	18/01/2021		29409161928556310		
Uso do Banco		Carteira	Espécie	Quantidade	xValor		(-) Valor do Documento			
29409161928556310		17	R\$				70,00			
Informações de Responsabilidade do Beneficiário						(-) Desconto/Abatimento				
A data de vencimento não prevalece sobre o prazo legal.										
O pagamento deve ser efetuado antes do protocolo.										
Órgãos públicos que utilizam o sistema SIAFI devem utilizar o número da GRU n						(+) Juros/Multa				
o campo Número de Referência na emissão do pagamento.										
Serviço: 200-Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de										
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT						(-) Valor Cobrado				
Nome do Pagador/CPF/CNPJ/Endereço										
UNIVERSIDADE DE SAO PAULO USP CPF/CNPJ: 63025530000104										
RUA DA REITORIA 374 BUTANTA,										
SAO PAULO-SP CEP:05508220										
Sacador/Avalista						Código de Baixa				
						Autenticação Mecânica - Ficha de Compensação				



Agência débito: 1897-X
Conta débito: 139531-9
CPF/CNPJ: 63025530/0001-04 USPBO12022021032923831001LD470

Documento empresa: 202100432905
Data vencimento: 12/02/2021
Data pagamento: 12/02/2021
Valor pagamento: 70,00
Documento banco:
Desconto: 0,00
Linha digitável: 00190.00009 02940.916196 28556.310176 4
85330000007000
Valor título: 70,00
Acréscimo: 0,00
CNPJ sacado: 00000000388068
Nome sacado: Banco do Brasil S/A
CNPJ cedente: 63025530000104
Nome cedente: UNIVERSIDADE DE SAO PAULO
Autenticação: 3921F10F7696C4E8

ESCLARECIMENTOS

A Agência USP de Inovação é o Núcleo de Inovação Tecnológica da Universidade de São Paulo, responsável pela gestão das propriedades intelectuais geradas por seus pesquisadores, conforme definido na Resolução 5175, de 18 de fevereiro de 2005 e Resolução 7035 de 17 de dezembro de 2014.

Como a gestão é feita pela equipe interna de funcionários da própria Universidade, nos atos junto ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial - INPI é apresentado o documento assinado pelo Magnífico Reitor que dá poderes a Sra. Maria Aparecida de Souza, funcionária da Instituição, sob número institucional RUSP 3081942, que atua como chefe técnica de propriedade intelectual da Agência USP de Inovação, para realizar os procedimentos necessários à proteção junto ao INPI.

Assim, para executar as ações necessárias à proteção junto ao INPI, conforme requisitos e procedimentos definidos pela legislação de propriedade industrial, possuímos *login* e senha que nos permitem representar e gerenciar os ativos de propriedade intelectual da Instituição.

São Paulo, 01 de novembro de 2017.


MARIA APARECIDA DE SOUZA
API 1833



GABINETE
DO
REITOR

PROCURAÇÃO

A UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP, autarquia estadual de regime especial, criada pelo Decreto Estadual nº 6.283, de 25 de janeiro de 1934, modificado pelo Decreto-Lei nº 13.855, de 29 de fevereiro de 1944, regida por seu Estatuto baixado através da Resolução nº 3.461, de 07 de outubro de 1988, com sede à Rua da Reitoria, 374 – Cidade Universitária “Armando de Salles Oliveira”, Butantã, São Paulo/SP, CEP 05508-220, inscrita no CNPJ/MF sob o nº 63.025.530/0001-04, neste ato representada por seu Reitor, Prof. Dr. VAHAN AGOPYAN, brasileiro, casado, portador do RG nº 4.810.600-8 SSP/SP e inscrito no CPF/MF sob o nº 839.536.208-00, domiciliado em São Paulo, com endereço funcional à Rua da Reitoria, 374 – Cidade Universitária “Armando de Salles Oliveira”, Butantã, São Paulo/SP, CEP 05508-220, pelo presente instrumento e na melhor forma de direito, nomeia e constitui seus bastantes Procuradores LUIS GUSTAVO GOMES PRIMOS, brasileiro, solteiro, advogado, portador do RG nº 15.619.942-7 e inscrito no CPF/MF sob o nº 088.524.078-20 e na OAB/SP sob o nº 126.061, domiciliado nesta Capital, com endereço funcional na Rua da Reitoria, 374 – 2º andar – Cidade Universitária “Armando de Salles Oliveira”, Butantã, São Paulo/SP, CEP 05508-220; e MARIA APARECIDA DE SOUZA, brasileira, solteira, agente de inovação, portadora do RG nº 20.436.777 SSP/SP, inscrita no CPF/MF sob o nº 121.846.178-06 e API nº 1833, domiciliada nesta Capital, com endereço funcional na Avenida Torres de Oliveira, 76, Jaguaré, São Paulo/SP, CEP 05347-902, a quem confere os mais amplos poderes de representação perante o Instituto Nacional da Propriedade Industrial – INPI, o Registro Nacional de Cultivares – RNC e o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares – SNPC, podendo, em nome da mandante, praticar todos os atos que se fizerem necessários ao registro de marcas, patentes, proteção e registro de cultivares, cumprimento de exigências, averbações de contratos de licenciamento ou transferência de tecnologia, oferecimento de oposições, recursos, cancelamentos ou revisões administrativas, bem como sua contestação, pedidos de caducidade, pagamento de anuidade, retirada de certificados, requerimento de prorrogação, alteração de sede, denominação ou titular, requerer buscas, desarquivamento, vistas de processos, promover o registro de direitos autorais, e de programas de computador, nas repartições competentes, autorizar a cópia de documentação técnica de programa de computador, podendo ainda desistir de pedidos, bem como praticar todo e qualquer outro ato que se faça necessário ao bom e fiel cumprimento desta procuração, podendo ainda agir em separado, independentemente da ordem de nomeação, ficando ratificados os atos eventualmente já praticados.

São Paulo, 20 de fevereiro de 2018.

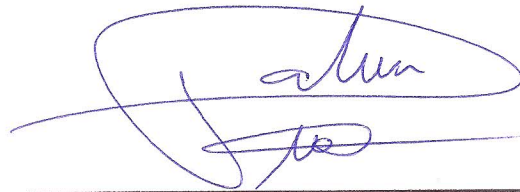
Vahan Agopyan
Reitor



AUTORIZAÇÃO DO INVENTOR

Eu, MAURI SERGIO ALVES PALMA, brasileiro, casado, engenheiro químico, portador do RG: 117783122, CPF nº 02722679884, residente e domiciliado à RUA CORINTO 543, Ap. 52 A, SÃO PAULO- SP, CEP 05586-060, abaixo assinado, na qualidade de inventor e de conformidade com a Lei da Propriedade Industrial Nº 9.279 de 14.05.96 e Resolução-USP Nº 7035 de 17.12.2014, autorizo a UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP, inscrita no CNPJ sob nº 63.025.530/0001-04, a depositar, como titular, o pedido de patente de invenção sob o título "PROCESSO PARA SÍNTESE DE PIOGLITAZONA" e representar-me perante o Instituto Nacional da Propriedade Industrial - INPI, para assinar petições, guias e demais documentos referentes ao pedido supra mencionado.

São Paulo, 22 de Março de 2021.

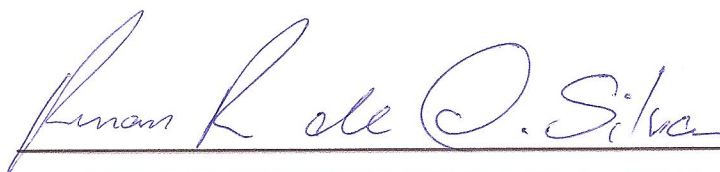


MAURI SERGIO ALVES PALMA

AUTORIZAÇÃO DO INVENTOR

Eu, RENAN RODRIGUES DE OLIVEIRA SILVA, brasileiro, solteiro, estudante, portador do RG: 46.716.151-3, CPF nº 344.039.788-27, residente e domiciliado à RUA TEODORO SAMPAIO, 1355, AP 92, SÃO PAULO– SP, CEP 05405100, abaixo assinado, na qualidade de inventor e de conformidade com a Lei da Propriedade Industrial Nº 9.279 de 14.05.96 e Resolução-USP Nº 7035 de 17.12.2014, autorizo a UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP, inscrita no CNPJ sob nº 63.025.530/0001-04, a depositar, como titular, o pedido de patente de invenção sob o título “PROCESSO PARA SÍNTESE DE PIOGLITAZONA” e representar-me perante o Instituto Nacional da Propriedade Industrial - INPI, para assinar petições, guias e demais documentos referentes ao pedido supra mencionado.

São Paulo, 22 de Março de 2021.



RENAN RODRIGUES DE OLIVEIRA SILVA

PROCESSO PARA SÍNTESE DE PIOGLITAZONA**CAMPO DA INVENÇÃO**

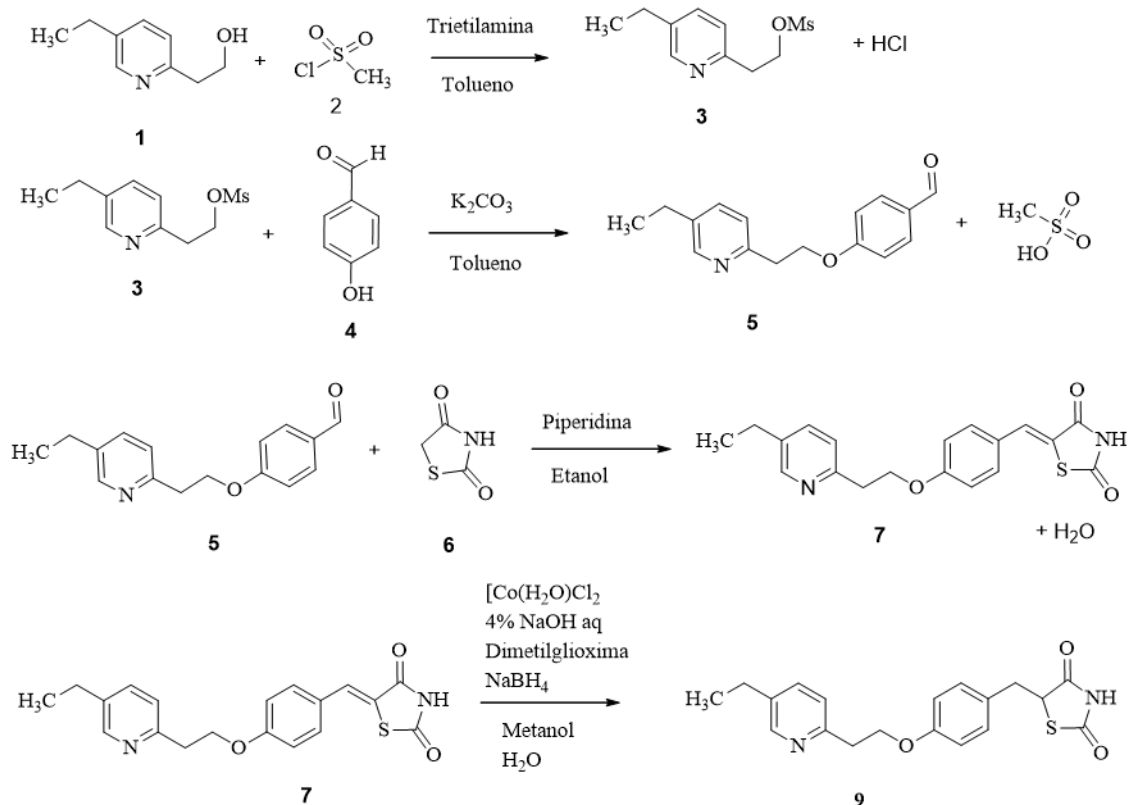
[001] A presente invenção se insere no campo da Química Orgânica, mais precisamente na área da Síntese Orgânica, e descreve um novo processo para a síntese da pioglitazona (5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzil)tiazolidina-2,4-iona), sem a necessidade da formação de um produto intermediário, mediante a utilização de uma base forte seguida de uma substituição nucleofílica e a utilização de microrreatores na síntese de um dos produtos intermediários.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO**PIOGLITAZONA**

[002] A pioglitazona, fármaco da classe das glitazonas, é um agente hipoglicêmico de uso oral utilizado no tratamento do diabetes *mellitus* tipo 2 como monoterapia, ou em combinação com metformina, sulfonilureia e/ou insulina. Foi aprovado pelo *FDA* em 1999 e basicamente funciona controlando o nível de açúcar no sangue, ajudando o organismo a utilizar, de forma mais eficiente, a insulina produzida pelo organismo (FERWANA *et al.*, 2013; EMS S/A, 2015). No Brasil, o fármaco é vendido com os nomes comerciais Actos®, Aglilitil® e Piotaz®, e o genérico cloridrato de pioglitazona, em comprimidos de 15, 30 e 45 mg (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Embora seu uso seja no tratamento do diabetes, existem estudos que indicam que o fármaco também possui efeitos anticancerígeno, antiartrítico, antimicrobiano, antifúngico, atividade anti-inflamatória, anticonvulsivante e antioxidante e existem pesquisas que mostram a melhora no funcionamento da memória quando

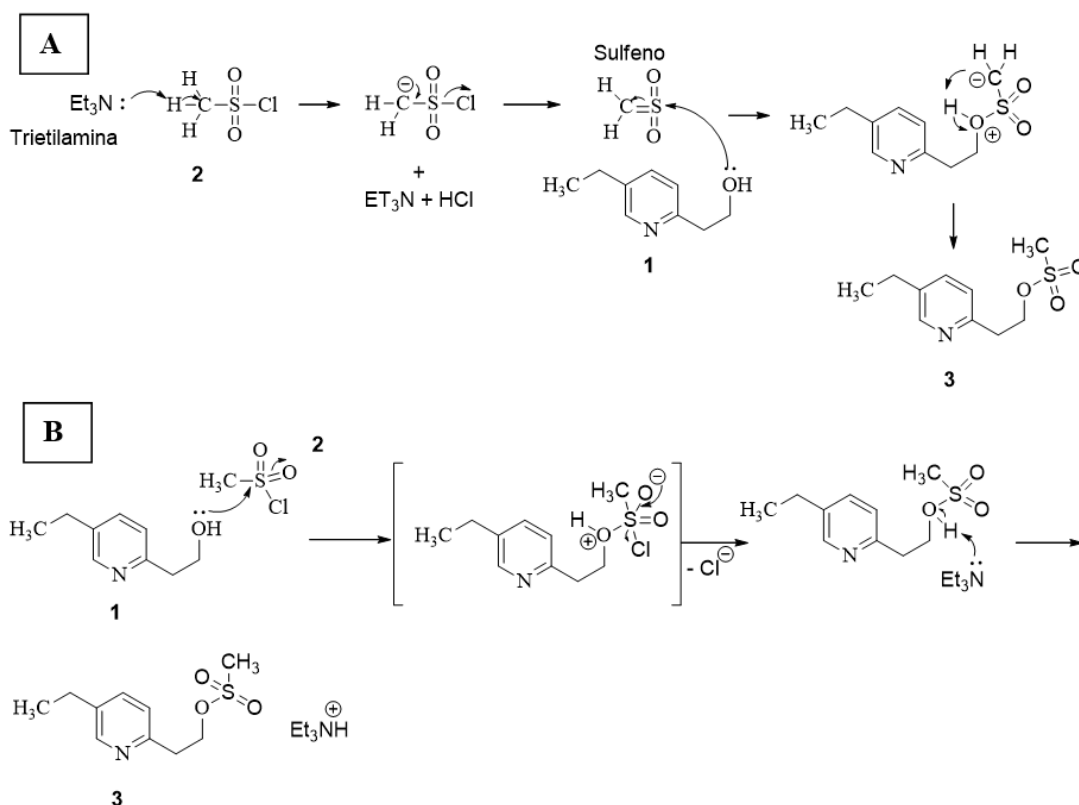
administrado após evento de traumatismo craniano (KUMAR et al., 2006; MCGUIRE et al., 2019).

[003] A mais recente rota de síntese do fármaco pioglitazona foi patenteada por Anumula et al., (2009) e é apresentada abaixo:



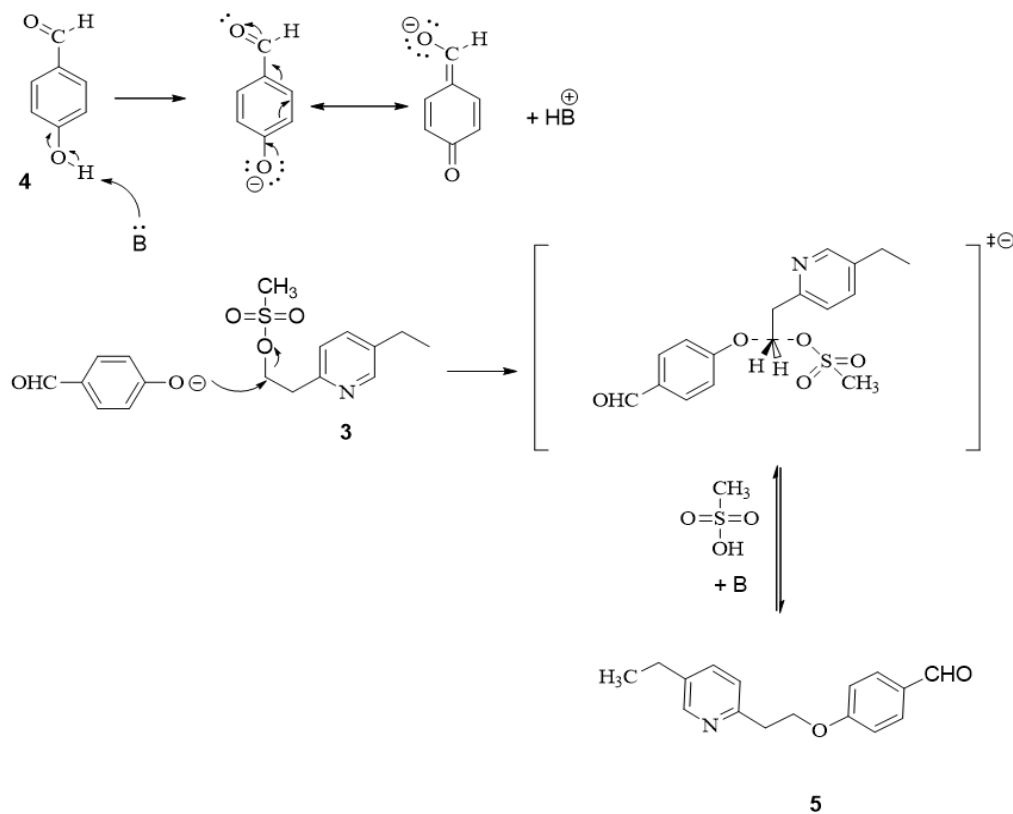
[004] Esta rota sintética é iniciada com o reagente 2-(5-etilpiridin)-2-il)etan-1-ol (1). O grupo OH não é um bom grupo de saída e precisa ser preparado para tal ação. Para isso utiliza-se o cloreto de metanosulfonila (MsCl) (2) na presença de uma base (geralmente trietilamina) (CLAYDEN et al., 2012). Encontra-se na literatura dois mecanismos distintos na conversão de álcool para um mesilato. O mecanismo desta reação proposto por Clayden et al., (2012) ocorre a partir da eliminação do HCl do cloreto de metanossulfonila a partir da ação da base, gerando um sulfeno. O sulfeno é altamente eletrofílico no átomo de

enxofre e reage com o grupo OH, formando o composto de interesse; entretanto Solomons; Fryhle (2009) descrevem o mecanismo com o ataque do átomo de oxigênio do reagente no enxofre do grupo MsCl, formando um grupo intermediário, que tem seu átomo de cloro extraído pela ação da base e leva à formação do produto de interesse e a estabilização do HCl pela base. Ambos os mecanismos A e B são apresentados abaixo:



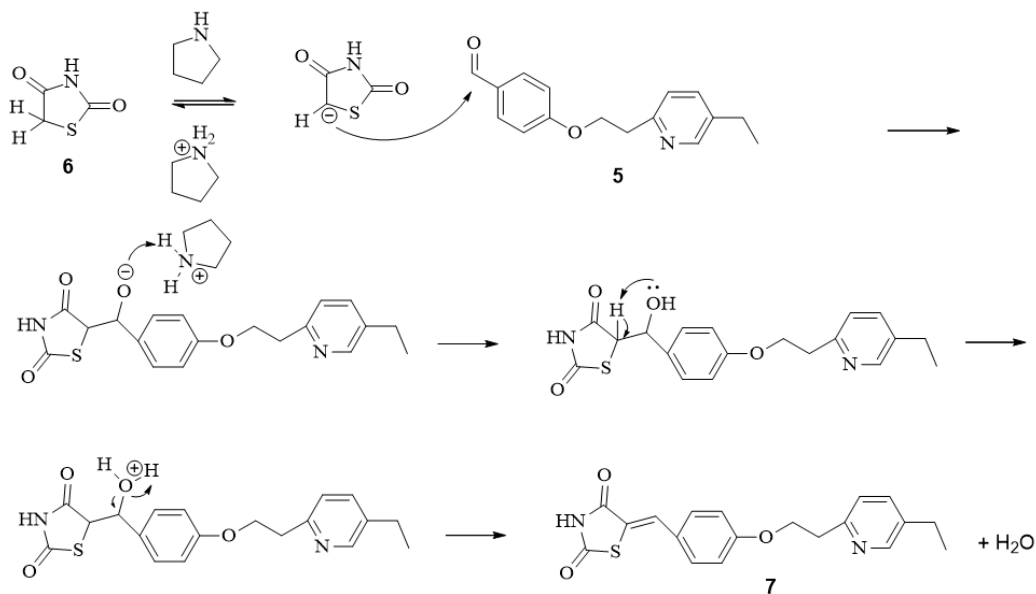
[005] Após a formação do produto intermediário 2-(5-etilpiridin-2-il)etilmetanosulfonato (3), o aldeído aromático *p*-hidroxibenzaldeído (4), reage com (3) através de uma substituição nucleofílica, S_N2, conforme mecanismo apresentado abaixo (CLAYDEN et al., 2012). O primeiro passo é a ação de uma base desprotonando o grupo OH presente no aldeído aromático, aumentando a nucleofilicidade do átomo de oxigênio. Em seguida, ocorre a substituição nucleofílica de segunda ordem a partir do ataque do oxigênio com carga

negativa no intermediário (3), formando um estado de transição e finalizando com a saída do grupo "Ms" e formação do produto intermediário 4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzaldeído (5).



[006] O penúltimo passo é a condensação de Knoevenagel entre o aldeído aromático em (5) e a molécula da tiazolidina-2,4-diona (TZD) (6). Não há um consenso sobre o mecanismo da condensação de Knoevenagel (LI et al., 2015). Sugere-se que a primeira etapa é a ativação do metileno da posição 5 do anel da TZD a partir da subtração do próton por ação da base (no caso pirrolidina), formando um carbânion enolato, conforme o mecanismo apresentado abaixo. Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico do carbânio ao aldeído, formando um aduto. O próton sequestrado pela base é retirado pelo oxigênio, formando um grupo OH e finalmente ocorre uma β -eliminação, eliminando uma molécula de água e formando o

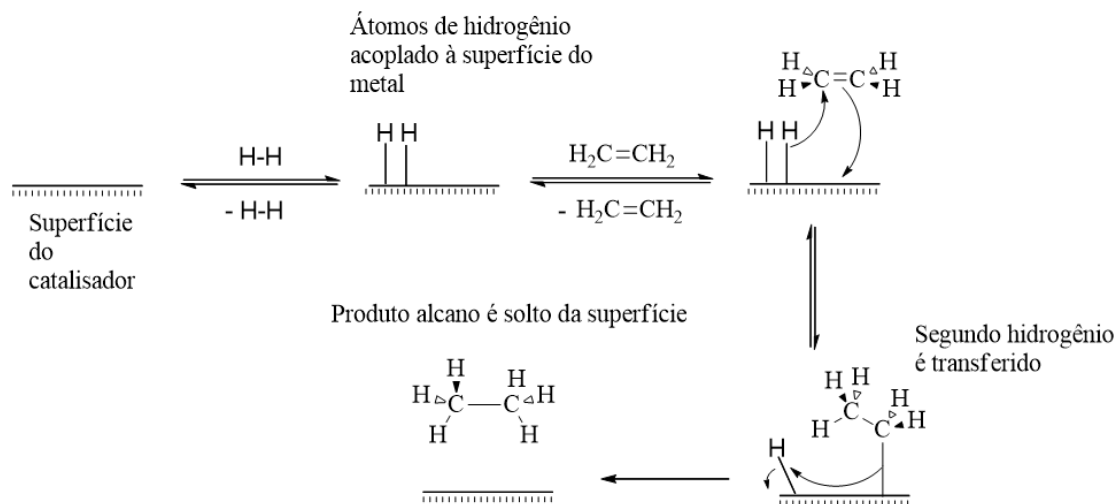
produto de interesse (*Z*)-5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (7) (SILVA et al., 2019).



[007] O último passo, a hidrogenação da ligação dupla entre o anel da TZD e o anel aromático, é indicada pela rota patentada por (ANUMULA et al., 2009) conforme apresentado acima. Neste sistema proposto, a hidrogenação é conduzida com nitrato de cobalto (II) hexahidratado em solução aquosa de NaOH, com dimetilglioxima para estabilização do íon Co^{2+} por coordenação. O íon atua como catalisador da hidrogenação, transferindo o hidrogênio gerado pelo NaBH_4 para o reagente (7), formando o fármaco pioglitazona.

[008] Outra maneira de realizar a hidrogenação da ligação dupla é através do catalisador paládio sobre carbono (Pd/C), no caso, é a maneira mais relatada na literatura (SOLOMONS; FRYHLE, 2009; VOLLHARDT; SCHORE, 2009). A hidrogenação de alceno formando alcanos não é possível mesmo em elevadas temperaturas, por exemplo, eteno e gás hidrogênio podem permanecer sob aquecimento de 200°C sem que nenhuma reação ocorra. Entretanto, ao utilizar um catalisador, a

hidrogenação ocorre mesmo em temperatura ambiente. No caso, o catalisador normalmente é um material insolúvel, tal como os metais paládio, platina e níquel (VOLLHARDT; SCHORE, 2009). Neste sistema, o metal adsorve quimicamente o hidrogênio atômico em sua superfície, que reage com o alceno e os entrega ao carbono, formando um alcano. O mecanismo desta hidrogenação catalítica é apresentado abaixo. Os solventes usados em hidrogenações incluem metanol, etanol, ácido acético, ácido fórmico e acetato de etila.



ESTADO DA TÉCNICA

[009] Alguns documentos do estado da técnica já propõem a síntese da pioglitazona, por exemplo:

[010] O documento WO2005058827 trata da síntese do produto $5-(4-(2-(5\text{-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiазolidina-2,4\text{-diona})$, a partir da reação do $4-[2-(5\text{-etil-2-piridil)etoxi}]$ benzaldeído com um ácido (HCl, CF_3COOH , $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$, $(\text{COOH})_2$, uma base e o reagente tiазolidina-2,4-diona. Segundo o autor do documento, a formação do $4-[2-(5\text{-etil-2-piridil)etoxi}]$ benzaldeído não é objeto de estudo do mesmo, pois não é aplicável para processos de aumento de escala. Os autores citam a formação

deste mesmo intermediário conforme o procedimento descrito abaixo, procedimento este que foi alterado na presente invenção.

[011] Neste caso, o documento em questão não trata a respeito das inovações sugeridas na presente invenção, que consta das etapas de inovação (A): síntese do produto (3) a partir da reação do 2-(5-etil-2-piridil)etanol com o *p*-fluorbenzaldeído na presença de uma base adequada, (B): a presente invenção também aborda a inovação do uso do microrreatores em fluxo contínuo na síntese do produto intermediário 5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona.

[012] No documento US2009118514, é possível observar a síntese da pioglitazona a partir do reagente 5-etil-2-metilpiridina, porém, não é retratada a síntese de 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzaldeído a partir da reação do 2-(5-etil-2-piridil)etanol com o *p*-fluorbenzaldeído na presença de uma base adequada. Esta inovação sugerida na presente invenção reduz uma etapa da síntese proposta no referido documento. Além disso, a presente invenção também relata o uso de microrreatores em fluxo contínuo na síntese do produto intermediário 5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona.

[013] O documento US8993773 apresenta uma rota de síntese do fármaco pioglitazona diferente da sugerida na presente invenção. Além disso, tal documento também apresenta novos e diferentes substituintes da piridina presente na estrutura do fármaco. O uso da base KOH neste documento é diferente do uso sugerido na presente invenção. No referido documento há duas reações em que se utilizam a

base KOH ou qualquer outra base inorgânica adequada, (1) a síntese do produto intermediário 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzaldeído a partir da desprotonação do *p*-hidroxibenzaldeído (procedimento semelhante ao reportado no documento US2009118514, presente na Figura 4); (2) formação do produto 5-etil-2-oxiranila-piridina, a partir do uso de bases inorgânicas (tais como o KOH) na desprotonação do composto 2-bromo-1-(5-etil-piridin-2-il)-etanol. Esta reação está descrita na Figura 5 e não é apresentada na presente invenção. Portanto, tendo em vista que o uso da base inorgânica KOH não é na reação indicada e a rota de síntese do fármaco pioglitazona não é a mesma sugerida na presente invenção, tal documento não é relevante à inovação da presente invenção.

[014] O documento US4687777 refere-se a um método para preparação da pioglitazona e homólogos a partir da reação entre 2-(5-etil-2-piridil)etanol e 4-fluornitrobenzeno na presença de hidreto de sódio e solvente DMF, formando o produto intermediário 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]nitrobenzeno. Em seguida, foi usado o Pd/C para reduzir o produto intermediário anterior e, em seguida, reagir com ácido bromídrico, acrilato de metila, nitrato de sódio e óxido de cobre, formando o produto intermediário 2-bromo-3-{4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]fenil}propionato. Este produto foi adicionado a uma mistura de tioureia e acetato de sódio, formando o produto intermediário 5-{4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzil}-2-imino-4-tiazolidinona. Para finalizar, o produto intermediário 5-{4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzil}-2-imino-4-tiazolidinona foi adicionado a uma solução de HCl, formando o produto 5-{4-[2-

(5-etil-2-piridil)etoxi]benzil}-2,4-tiazolidinadiona.

[015] O documento US4812570 refere-se a um método para preparar a pioglitazona a partir da reação do 2-(5-etil-2-piridil)etanol com o cloreto de p-toluenossulfonila, na presença da base hidróxido de sódio e diclorometano como solvente. Nesta solução foi adicionado phidroxibenzaldeído e mais hidróxido de sódio para formar o produto intermediário 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzaldeído. O aldeído resultante foi reagido com tiazolidina-2,4-diona na presença de piperidina e etanol para formar o produto intermediário 5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona. O produto resultante foi reduzido com Pd/C em 1,4-dioxano para formar a pioglitazona.

[016] O documento US5554758 refere-se a um método para preparação da pioglitazona por síntese de Williansom para formação do éter de benzaldeído. Em seguida, reagiu o 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzaldeído com tiazolidina-2,4-diona na presença de piperidina e solvente etanol. Do produto intermediário 5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona foi feita uma redução com o uso de Pd/C em 1,4-dioxano para formar a pioglitazona.

[017] O documento US20090118514 diz respeito a um processo para preparar a Pioglitazona e sais de cloridrato de pioglitazona a partir da reação do 5-etil-2-metilpiridina e p-formaldeído formando o produto intermediário 2-(5-etil-2-piridil)etanol. Este produto intermediário foi reagido com cloreto de metanossulfonila e base orgânica para formar o produto intermediário (5-etil-piridin-2-il)-etoxi metanosulfonato. Em seguida, o (5-etil-piridin-2-il)-etoxi

metanosulfonato foi reagido com *p*-hidroxibenzaldeído e base inorgânica para formação do intermediário 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzaldeído, seguida pela reação deste intermediário com tiazolidina-2,4-diona na presença da base piperidina e solvente etanol para formar o 5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona. A redução foi realizada utilizando-se do borohidreto de sódio, íon de cobalto e a mistura de solventes metanol, solução de 4% de hidróxido de sódio em água, dimetilglioxima e dimetilformamida, e a formação do sal de pioglitazona foi feita com HCl e um solvente adequado.

[018] Como pode ser observado, os métodos citados possuem muitas etapas reacionais e, conseqüentemente, a formação de muitos subprodutos e muitas etapas de purificações de produtos intermediários, gerando muitos resíduos.

[019] A rota sintética proposta na presente invenção abrange uma nova abordagem da síntese do fármaco pioglitazona, reduzindo o uso do reagente cloreto de metanossulfonila que é conhecidamente perigoso por conta de sua toxicidade, a conseqüente redução de uma etapa de síntese, abolindo o uso deste reagente perigoso na formação do produto intermediário 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzaldeído, além do uso de microrreatores em fluxo contínuo na síntese do produto intermediário 5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona que provou-se uma abordagem para redução do tempo reacional, mantendo o rendimento da reação.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[020] A presente invenção tem por objetivo propor um

processo para a síntese de pioglitazona com redução de uma etapa da rota de síntese convencional, mediante a formação do composto intermediário 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzaldeído (3) mediante o uso do com o uso do p-fluorbenzaldeído, e formação do outro composto intermediário 5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (5) mediante utilização de microrreatores operando em fluxo contínuo.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[021] Para obter-se uma completa visualização do objetivo desta invenção, são apresentadas as figuras às quais se fazem referências, conforme segue.

[022] A Figura 1 apresenta graficamente a relação de rendimento x áreas obtidos por HPLC-MS no estudo de bases e solventes na formação do produto intermediário (7) no processo batelada ($C_1 = 0,200 \text{ M}$; $C_8 = 0,200 \text{ M}$; $C_{\text{base}} = 0,400 \text{ M}$; $C_{\text{total}} = 0,800 \text{ M}$; $n_{\text{eq base}} = 2,00$; $\lambda = 254 \text{ nm}$; $t = 2 \text{ h}$). C = concentração molar; $n_{\text{eq base}}$ = número de equivalentes da base. t = tempo reacional;

[023] A Figura 2 apresenta graficamente o rendimento final do produto intermediário (7) no processo batelada, após 2h de reação ($C_1 = 0,200 \text{ M}$; $C_8 = 0,200 \text{ M}$; $C_{\text{base}} = 0,200 \text{ M}$; $C_{\text{total}} = 0,600 \text{ M}$; solvente: DMF; $n_{\text{eq base}} = 2,00$, $t = 2\text{h}$). C = concentração molar; $n_{\text{eq base}}$ = número de equivalentes da base; t = tempo reacional;

[024] A Figura 3 apresenta graficamente os rendimentos do produto intermediário (7) no processo batelada obtido a partir do planejamento multivariado ($C_1 = 0,200 \text{ M}$; $C_8 = 0,200 \text{ M}$; $C_{\text{base}} = 0,200 \text{ M}$; $C_{\text{total}} = 0,600 \text{ M}$; Solvente: DMF $t = 2\text{h}$). C = concentração molar; $n_{\text{eq base}} =$

número de equivalentes da base; t = tempo reacional;

[025] A Figura 4 apresenta graficamente a conversão do reagente (3) e rendimento do produto intermediário (7) no processo batelada ($C_5 = 0,030$ M; $C_6 = 0,030$ M; $C_{\text{pirrolidina}} = 0,024$ M; $C_{\text{total}} = 0,084$ M; solvente: etanol; n_{eq} base = 0,80; $t = 5$ h). C = concentração molar; n_{eq} base = número de equivalentes da base; t = tempo reacional;

[026] A Figura 5 apresenta graficamente os rendimentos do produto intermediário (7) no processo batelada obtido a partir do planejamento fatorial 3^2 ($C_5 = 0,030$ M; $C_6 = 0,030$ M; $t = 3$ h). C = concentração molar; n_{eq} base = número de equivalentes da base; t = tempo reacional;

[027] A Figura 6 apresenta graficamente o rendimento final do produto intermediário (7) no processo batelada nos solventes metanol, etanol e n-propanol ($C_5 = 0,030$ M; $C_6 = 0,030$ M; $C_{\text{pirrolidina}} = 0,024$ M; $C_{\text{total}} = 0,084$ M; n_{eq} base = 0,80; $t = 3$ h, $T = 65^\circ\text{C}$). C = concentração molar; n_{eq} base = número de equivalentes da base; t = tempo reacional; T = temperatura;

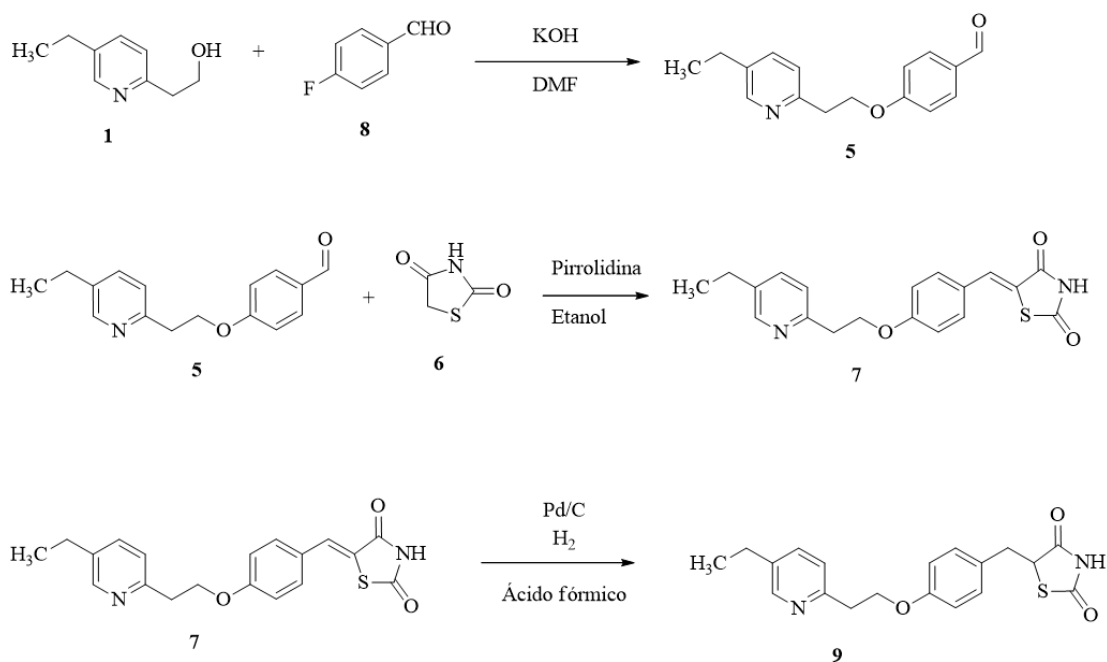
[028] A Figura 7A apresenta graficamente a conversão do reagente (5) no microrreator capilar em função de τ e T ; enquanto a Figura 7B apresenta graficamente o rendimento do produto intermediário (7) no microrreator capilar em função de τ e T ($C_5 = 0,030$ M; $C_6 = 0,030$ M; $C_{\text{pirrolidina}} = 0,024$ M; $C_{\text{total}} = 0,084$ M; n_{eq} base = 0,80; solvente: etanol). C = concentração molar, n_{eq} = número de equivalente, T = temperatura τ = tempo médio de residência no microrreator;

[029] A Figura 8 apresenta graficamente a comparação do rendimento do produto intermediário (7) nos processos de batelada e fluxo contínuo em microrreator capilar ($C_5 = 0,030$

M; $C_6 = 0,030$ M; $C_{\text{pirrolidina}} = 0,024$ M; $C_{\text{total}} = 0,084$ M; $n_{\text{eq base}} = 0,80$; solvente: etanol). C = concentração molar, n_{eq} = número de equivalente .MR = microrreator; * rendimento em $\tau = 20$ min; ** rendimento em $\tau = 20$ min *** rendimento em $\tau = 16$ min; ***rendimento em $\tau = 120$ min;

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[030] A presente invenção refere-se a um processo para a síntese de pioglitazona, sem a necessidade da formação de um produto intermediário, mediante a utilização de uma base forte seguida de uma substituição nucleofílica. Mais especificamente, conforme pode ser observado nas reações abaixo:



[031] O referido processo compreende as seguintes etapas:

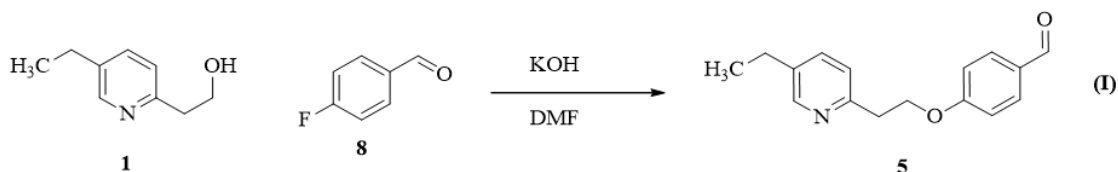
- Reação do composto 2-(5-etil-2-piridil)etanol (1) na presença da base adequada e p-fluorbenzaldeído (8) para formar o composto 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzaldeído (5);
- Reação de (5) com tiazolidina-2,4-diona (6) na

presença de base adequada para formar o composto 5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiiazolidina-2,4-diona (7);

(c) Redução de (7) com paládio sobre carbono gerando a pioglitazona (9).

EXEMPLO DA INVENÇÃO

[032] A etapa (a) é representada pela reação (I):

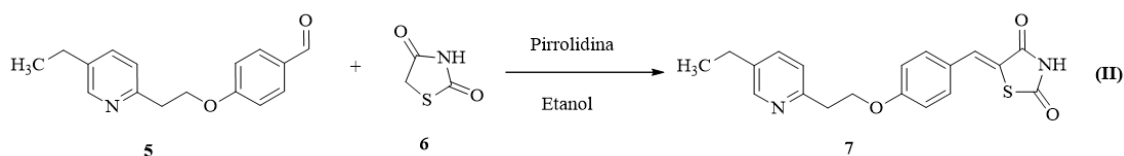


[033] O composto (1) (302,4 mg, 2,00 mmol, 1,00 eq.,) foi diluído em 10 mL de dimetilformamida (DMF) (99,8%). Em seguida, adicionou-se hidróxido de potássio (260 mg, 4,00 mmol, 2,00 eq.) e manteve-se a solução reacional sob agitação por 30 min. *p*-fluorbenzaldeído (8) (230,6 μ L, 2,00 mmol, 1,00 eq.) foi adicionado ao meio reacional e manteve-se a reação por 3h sob atmosfera de N₂. Todo o procedimento foi realizado à temperatura ambiente. Após o término da reação, a mistura reacional foi transferida para um funil de separação e foram colocados 10 mL de água destilada gelada, seguida por extração com acetato de etila (2 x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com salmoura (2 x 20 mL), e seca com sulfato de sódio, seguida por rotaevaporação. O produto (5) foi purificado por cromatografia em coluna (hexano/acetato de etila 1:1; *R_f* = 0,51). Ao final desta etapa, obteve o produto (5) com rendimento de 51%.

[034] Outras bases orgânicas e solventes foram testados para esta síntese, buscando a melhor composição para se atingir o maior rendimento no menor tempo de reação. Os solventes testados foram: dimetilformamida (DMF),

acetonitrila, dimetilssulfóxido, tolueno, 1,4-dioxano, tetrahidrofurano, metanol, etanol e diclorometano, e, as bases testadas foram: hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, hidreto de sódio, carbonato de potássio, fluoreto de potássio, fluoreto de estrôncio e fluoreto de césio. De todas as combinações possíveis, apenas apresentaram formação de produto ao se utilizar DMF como solvente e hidreto de sódio (rendimento de 15%), DMF e hidróxido de sódio (rendimento de 15%) e DMF e hidróxido de potássio (rendimento de 51%, conforme mencionado anteriormente).

[035] A etapa (B) é representada pela reação (II):

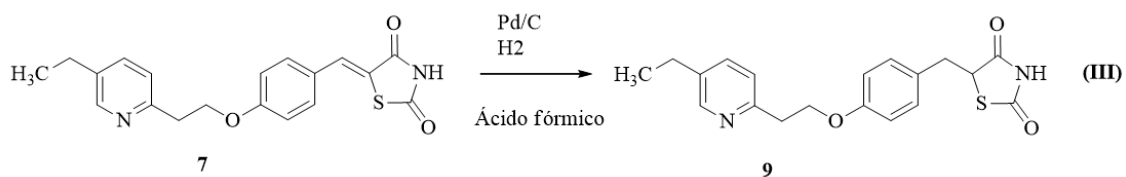


[036] O composto (5) (1,00 eq., 0,60 mmol, 153 mg), tiazolidina-2,4-diona (6) (1,00 eq., 0,60 mmol, 70,27 mg) e pirrolidina (0,60 eq., 0,36 mmol, 29,51 μ L) foram solubilizados em 20 mL de etanol (99,8%). A mistura foi adicionada a um balão de fundo redondo acoplado a um condensador de refluxo. A mistura reacional foi levada à ebulição e mantida assim, sob agitação constante por 2 h. Após o término da reação, o meio reacional foi resfriado à temperatura ambiente e adicionados 10 mL de água destilada gelada para precipitação do produto bruto. O produto (7) foi isolado por filtração a vácuo e recristalizado com etanol, obtendo-se um rendimento do mesmo de 45%.

[037] É possível realizar esta reação com outros solventes, tais como alcoóis, solventes polares apróticos e éteres, e com outras bases orgânicas, tais como piperidina, morfolina e piperazina.

[038] O uso de microrreatores operando em fluxo é recomendado para a síntese do produto intermediário (7). O aumento da temperatura do meio reacional utilizando-se de um pressurizador (Módulo de Controle de Pressão Marca Syrris, Inglaterra) para manter o meio em estado líquido leva ao aumento da conversão dos reagentes e do rendimento do produto intermediário (7), reduzindo o seu tempo de processo de síntese. As reações podem ser realizadas entre as temperaturas de 65 a 120°C. Os testes mostraram que, na temperatura de 120°C o rendimento obtido foi em média 40%, com o tempo de residência de 16 e 20 min; a temperaturas acima de 120°C, o rendimento do produto decresce.

[039] A etapa (C) é representada pela reação (III):



[040] Inicialmente, adicionam-se a um reator pressurizado para hidrogenação, (7) (1,00 eq., 1,36 mmol, 483,3 mg), paládio sobre carbono (Pd/C) (0,20 eq., 0,272 mmol, 578 mg, 5% em massa) e 25 mL de ácido fórmico. O meio reacional foi purgado com hidrogênio para garantir que a atmosfera interna do reator fosse de H₂ e mantido sob temperatura ambiente e agitação constante por 24 h, sob atmosfera de hidrogênio (aproximadamente 5 atm). Ao final da reação, o meio reacional foi filtrado a vácuo para retirada do Pd/C e lavado com metanol. O líquido filtrado misturado com metanol foram rotaevaporados, seguida por reconstituição com 20 mL de solução de cloreto de amônio 10% em água destilada. Foi realizada a extração com acetato de etila (2x 20 mL). A fase orgânica foi lavada com salmoura (2x 20 mL)

e o líquido contendo o produto de interesse foi rotavevaporado para obtenção do produto pioglitazona (9).

INOVAÇÃO DA INVENÇÃO

Síntese do produto 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzaldeído (3) no processo batelada

[041] A síntese do produto (5) pode ser realizada a partir do reagente 2-(5-etil-2-piridil)etanol (1), sem a necessidade da formação do produto intermediário 2-(5-etilpiridin-2-il)etilmetanosulfonato (3), utilizando uma base forte para desprotonação da hidroxila presente no reagente (1), seguindo para uma substituição nucleofílica com o reagente p-fluorbenzaldeído (8). A redução de etapas de uma rota de síntese está de acordo com o conceito de química verde e economia em processos sintéticos.

Estudo de bases e solventes reacionais para a síntese do produto intermediário (5) no processo batelada

[042] Após a confirmação de que é possível realizar a síntese do produto intermediário (5) a partir da desprotonação de (1) e substituição nucleofílica com o (8), foi realizado um estudo para buscar bases e solventes que fornecessem o maior rendimento no menor tempo de reação, uma vez que, não foi encontrado até o momento referências específicas para esta reação, além de buscar por uma concentração máxima do meio reacional na qual todos os seus constituintes fossem solúveis. A solubilidade total do meio é necessária para a transposição da reação para o processo em fluxo no microrreator capilar, pois a formação e/ou a presença de sólido no meio reacional podem obstruir e danificar o microrreator. As formas de evitar a formação de sólidos no meio reacional podem ser (A) diminuir a

concentração do meio reacional; (B) novos solventes; (C) novas bases que promovam a reação. Neste estudo foram testadas as bases NaOH, SrF₂, CsF, KF, NaF, K₂CO₃, NaH, e KOH, na concentração de 0,20 M, e os solventes utilizados foram o DMF, acetonitrila (ACN), metanol, etanol, tolueno, DMSO, 1,4-dioxano, THF e diclorometano (DCM). Todas as reações foram realizadas a partir da desprotonação do reagente (1) pela ação da base por 30 min e, em seguida, adicionado o reagente (8) e mantida por 2h sob agitação constante. Todas as análises para verificar a formação do produto de interesse foram realizadas em HPLC-MS. Não foi calculado o rendimento final de cada reação, entretanto, os resultados a serem apresentados a seguir foram obtidos a partir da relação de áreas dos cromatogramas que apresentaram o produto, no comprimento de onda fixo em 254 nm, conforme é estabelecido pela farmacopeia brasileira (FARMACOPÉIA, 2010). A formação de sólido foi verificada por análise visual.

[043] A Tabela 1 apresenta os valores de rendimento com base na área obtida a partir das análises em HPLC-MS na formação do produto intermediário (5), onde os valores em vermelho representam as composições de meio reacional que apresentaram sólido disperso, enquanto os valores em verde representam as composições em que o meio reacional foi solubilizado; enquanto a Figura 1 apresenta os dados observados na Tabela 1 organizados de forma decrescente de rendimento.

Tabela 1 - Valores de rendimento área obtidos a partir de análise de HPLC-MS no estudo de base e solventes da síntese do produto intermediário (5) no processo batelada

($C_1 = 0,200$ M; $C_8 = 0,200$ M; $C_{base} = 0,400$ M; $C_{total} = 0,800$ M; n_{eq} base = 2,00; $\lambda = 254$ nm). C = concentração molar; n_{eq} base = número de equivalentes da base.

	DMF	ACN	DCM	Metanol	Etanol	DMSO	Tolueno	1,4-dioxano	THF
NaOH	17,33	-	-	-	0,50	11,01	-	-	0,64
SrF ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CsF	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KF	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaF	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K ₂ CO ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaH	2,27	-	0,35	-	0,67	-	-	-	2,15
KOH	25,52	0,20	-	-	0,49	-	-	0,65	1,85

[044] Destacam-se na Tabela 1 e na Figura 1 os valores de rendimento obtidos com a base KOH nos solventes DMF (25,52%), e a base NaOH nos solventes DMF (17,3%) e DMSO (11%). Estes valores indicam que os maiores rendimentos desta reação são nestes sistemas de base e solvente. Em relação à formação de sólidos, foi observado que não houve formação de sólido no meio reacional apenas no solvente etanol, entretanto, os valores de rendimento observados neste solvente foram baixos, sendo 0,67, 0,50 e 0,49% nas bases NaH, NaOH e KOH, respectivamente, indicando que o rendimento desta reação com as bases NaH, NaOH e KOH em etanol é baixo.

[045] Com estes resultados apresentados, foi realizada, em duplicata, a síntese do produto intermediário (5) no solvente DMF e bases KOH, NaOH e NaH, com amostragens do meio reacional ao longo do tempo de reação para se determinar a curva de rendimento do produto. Também foi realizada a síntese deste produto no solvente etanol e base KOH para testar a viabilidade da transposição para a síntese

em fluxo contínuo, no microrreator capilar, entretanto, não foi detectado o produto em estudo nas análises em HPLC-UV, possivelmente por conta do baixo rendimento, portanto, estes resultados não serão apresentados. A Figura 2 apresenta os resultados de rendimento do produto intermediário (5) no processo batelada, no solvente DMF e bases KOH, NaOH e NaH. As reações realizadas com a base KOH foram mantidas por 3h para se determinar qual seria o tempo necessário para se atingir o maior rendimento e estabilização da curva de rendimento, até então desconhecidos. Após confirmação de que este tempo seria de 2h, os ensaios seguintes, realizados com as bases NaH e NaOH foram mantidos por 2h. Os resultados mostram que o maior rendimento do produto é atingido com a base KOH (51,9%), enquanto o rendimento atingido com as bases NaH e NaOH são próximos, 15,4 e 17,3%, respectivamente, confirmando que o maior rendimento do produto seria atingido usando a base KOH, conforme os resultados observados no estudo de base e solvente apresentado anteriormente.

Aplicação de planejamento multivariado na síntese do produto intermediário (5) no processo batelada

[046] Após definido que o melhor solvente e a melhor base para se promover a reação de formação do produto intermediário (5) são o DMF e KOH, foi aplicado um planejamento multivariado, considerando três variáveis definidas como as principais para se atingir maiores valores de rendimento: o tempo de desprotonação do reagente (1) por ação da base KOH, concentração do reagente (8) e da base KOH. O planejamento multivariado é apresentado nas Tabelas 2 e 3. A Tabela 2 apresenta as variáveis estudadas e seus níveis, enquanto a Tabela 3 apresenta a relação de ensaios

propostos para este planejamento. Todos os ensaios foram mantidos por 2 h após a adição do reagente (8). A Figura 3 apresenta o rendimento final de cada ensaio após as 2 h de reação. Vale ressaltar que o número de equivalentes (n°eq.) está relacionado à concentração, ou seja, 1,00 eq. significa que este composto foi alimentado estequiometricamente em relação ao reagente limitante, neste caso, o reagente (1).

Tabela 2 - Relação das variáveis e seus níveis aplicados no planejamento multivariado da síntese do produto intermediário (5) no processo batelada

	n°eq. KOH	n° eq. (8)	Tempo de desprotonação
A	1,00 eq.	1,00 eq.	10 min
B	2,00 eq.	2,00 eq.	20 min
C	-	-	30 min

Tabela 3 - Relação dos ensaios propostos para o planejamento multivariado na síntese do produto intermediário (5) no processo batelada

Nome do ensaio	n° eq. KOH	n° eq. (2)	Tempo de desprotonação
1	A	A	A
2	A	A	B
3	A	A	C
4	A	B	A
5	A	B	B
6	A	B	C
7	B	A	A
8	B	A	B
9	B	A	C
10	B	B	A
11	B	B	B

12

B

B

C

[047] A Figura 3 mostra que o maior rendimento de (5) foi obtido com o 2,00 eq. de KOH e (8) e 20 min de tempo de desprotonação, 52,2%. Também é observado que, os três maiores rendimentos de (5) foram obtidos com 2,00 eq. de KOH e (8), independentemente do tempo de desprotonação, ou seja, este estudo indica que, para se atingir maiores rendimentos nesta reação, é necessário dobrar a concentração de base e do reagente (8). Também é possível observar que os três menores rendimentos obtidos foram nos ensaios (4), (6) e (5), respectivamente, nos quais foram adicionados ao meio reacional 1,00 eq. de base para 2,00 eq. de (8).

Síntese do produto intermediário 5-(4-(2-(5-
etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona
(7)

[048] A reação de formação do produto intermediário (7) é descrita na literatura (MADIVADA et al., 2009), e sugere um tempo de reação de 13 h, no solvente metanol, e piperidina como base promotora da reação, para se obter rendimento de 50%. Para a realização desta etapa, foi utilizada a pirrolidina como a base promotora da reação, por conta da piperidina ter sua comercialização proibida no país.

[049] A síntese do produto intermediário (7) ocorre por condensação de Knoevenagel e já foi amplamente estudada nos últimos anos por nosso grupo de pesquisa e gerou duas publicações na revista Chemical Engineering & Technology (PINHEIRO et al., 2018; SILVA et al., 2019). Por conta disso, o estudo da reação de formação do produto intermediário (7) iniciou-se já visando sua transposição para a síntese em fluxo contínuo, no microrreator capilar, reduzindo a sua

concentração de meio reacional de 1,88 M, visto na literatura (MADIVADA et al., 2009), para 0,084 M, que proporciona a solubilização total do meio reacional. Os ensaios preliminares no processo batelada visaram determinar o método analítico por HPLC-UV do produto (7) e o tempo necessário para se atingir a estabilização da curva de rendimento. A Figura 4 mostra que são necessárias 2 h para se atingir a estabilização das curvas de conversão do reagente (5) e do rendimento do produto intermediário (7), atingindo o rendimento final de 40,8%.

Aplicação de planejamento fatorial 3^2 e estudo de solvente na síntese do produto intermediário (7) no processo batelada

[050] O estudo inicial da síntese do produto intermediário (7) foi realizado aplicando um planejamento fatorial 3^2 , com duas variáveis em três níveis. As variáveis escolhidas foram definidas com base nos estudos anteriores já publicados (PINHEIRO et al., 2018; SILVA et al., 2019), solventes e concentração de base promotora da reação. A Tabela 5 apresenta as variáveis e seus níveis, a Tabela 6 apresenta a relação de ensaios realizados; já a Figura 5 apresenta o rendimento final do produto intermediário (7) obtido neste estudo após 3 h de reação, organizado em ordem decrescente. Vale ressaltar que, o número de equivalentes ($n^{\circ}\text{eq.}$) está relacionado à concentração, ou seja, 1,00 eq. significa que este composto foi alimentado ao reator estequiometricamente em relação ao reagente limitante, neste caso, o reagente (5).

Tabela 5 - Relação das variáveis e seus níveis aplicados no planejamento fatorial 3^2 da síntese do produto

intermediário (7) no processo batelada

	n° eq. Pirrolidina	Solvente
A	0,60 eq.	Metanol
B	0,80 eq.	Etanol
C	1,00 eq.	n-Propanol

Tabela 6 - Relação dos ensaios propostos para o planejamento fatorial 3^2 na síntese do produto intermediário (7) no processo batelada

Nome do ensaio	n° eq. Pirrolidina	Solvente
1	A	A
2	B	A
3	C	A
4	A	B
5	B	B
6	C	B
7	A	C
8	B	C
9	C	C

[051] Observa-se na Figura 5 que os quatro maiores rendimentos atingidos foram próximos, sendo o maior valor atingido de 44,5% no ensaio (5), com solvente etanol e 0,80 eq. de número de equivalente de pirrolidina. Importante destacar que, os ensaios em etanol foram os que atingiram os maiores rendimentos, indicando que este é o solvente adequado para se realizar esta reação, e as concentrações de pirrolidina estudadas não são determinantes neste solvente, tendo em vista que o ensaio (4), que foi realizado com 0,60 eq. de pirrolidina atingiu rendimento final de 42,7%. O ensaio (8), com solvente n-propanol e 0,80 eq. de pirrolidina também teve rendimento alto, 43,6%, por conta disso, foi

determinado que a equivalência ideal de pirrolidina para esta reação é de 0,80 eq.

[052] Em seguida, foi realizado o estudo para se determinar o melhor solvente dentre os três estudados, metanol, etanol e n-propanol. Este estudo foi realizado com 0,80 eq. de pirrolidina e, para eliminar o efeito da temperatura do meio reacional, todos os ensaios foram realizados a 65°C, pois esta é a temperatura em que os três solventes conseguem atingir, sem a necessidade de pressurização do meio reacional. A Figura 6 apresenta o resultado de rendimento do produto intermediário (7) para este estudo de solvente reacional. O maior rendimento foi obtido no solvente etanol, 37%, indicando que este é o melhor solvente para se conduzir esta reação.

Síntese do produto intermediário (7) em fluxo contínuo em microrreator capilar

[053] Após definido no processo batelada a melhor composição de meio reacional, em termos de n_{eq} de pirrolidina e solvente, a reação de síntese do produto intermediário (7) foi transposta para o fluxo contínuo em microrreator capilar. Os ensaios foram realizados no solvente etanol e com 0,80 eq. de pirrolidina, os tempos médios de residência (τ) 1, 2, 4, 8, 12, 16 e 20 min e as temperaturas (T) de 65, 78, 100, 120, 140 e 160°C. A Figura 7A apresenta a conversão do reagente (5) em fluxo contínuo no microrreator capilar em função de τ e T , enquanto a Figura 7B apresenta o rendimento do produto intermediário (7) em fluxo contínuo no microrreator capilar em função de τ e T .

[054] A Figura 7A mostra que a conversão de (5) cresce com o aumento da temperatura e do tempo médio de residência,

porém, observa-se que a partir de 140°C a conversão atinge o seu limite, tendo em vista que a curva de conversão observada a 160°C é semelhante a 140°C. A conversão máxima observada foi de 75% a 140°C e 20 min de tempo médio de residência. Os desvios observados para as temperaturas de 67 e 78°C se deve à imprecisão experimental. A Figura 7B também mostra que o rendimento do produto é favorecido com o aumento da temperatura e do tempo médio de residência, até atingir o seu limite a 120°C. Nas temperaturas de 140 e 160°C nota-se o decaimento das curvas de rendimento, sugerindo que a reação acima de 120°C não é seletiva, ou seja, ou o reagente (5) está formando outro produto, ou o produto em estudo pode estar formando um subproduto nesta reação. O maior rendimento obtido foi de 36,8%, a 120°C e 16 min de tempo médio de residência.

Comparação do rendimento do produto intermediário (7) nos processos batelada e em fluxo contínuo no microrreator capilar

[055] No processo batelada foi possível constatar que o tempo de reação sugerido na literatura pode ser reduzido, pois o rendimento atinge sua estabilidade em 2 h de reação em etanol e pirrolidina como base promotora da reação, enquanto a literatura indica 13 h de reação, porém deve-se considerar que a literatura indica o uso do solvente metanol e base piperidina (MADIVADA et al., 2009). Já no microrreator, o aumento do tempo médio de residência e, principalmente, da temperatura do meio reacional foi determinante para o aumento do rendimento.

[056] A Figura 8 apresenta os resultados preliminares de rendimento do produto intermediário (7) nos dois

processos, comparando o rendimento do produto em 20 min de tempo de reação (no processo batelada) e tempo médio de residência (em fluxo) a 78°C, 16 min de tempo médio de residência a 120°C (por ter sido este o tempo em que foi observado o pico do rendimento do produto no processo em fluxo), e o rendimento máximo obtido no processo batelada a 78°C após 2h de reação.

[057] Observa-se na Figura 8 que o rendimento do produto intermediário (7) em ambos os processos a 78°C e t e $\tau = 20$ min são próximos, sendo o rendimento no processo batelada 22% e em fluxo contínuo 25%. O aumento da temperatura até 120°C favoreceu a formação do produto em fluxo contínuo, atingindo 36% em $\tau = 20$ min, valor próximo do obtido em 2 h de reação no processo batelada, 40%. É possível que o rendimento do produto seja semelhante nos dois processos a 78°C, pois esta é uma reação lenta e, deste modo, o processo é controlado pela cinética da reação e pela temperatura e não pela difusão das espécies químicas (ROBERGE et al., 2005; SILVA et al., 2019). Sugere-se essa hipótese pelo fato de se observar que o rendimento do produto aumenta significativamente a 120°C, demonstrando uma maior eficiência no processo em fluxo contínuo se comparado com o processo batelada.

Síntese do produto pioglitazona (9)

[058] A reação de formação do produto pioglitazona é descrita na literatura (MADIVADA et al., 2009), que sugere um tempo de reação de 3 h e 30 min em um sistema com 1,70 eq. de borohidreto de sódio, 0,40 eq. de dimetilglioxima em uma mistura de solventes contendo metanol, DMF e solução 4% de hidróxido de sódio nitrato de cobalto(II) hexahidratado

para se obter rendimento de 98%. Esta última etapa foi realizada adaptando o método descrito por Gowda; Gowda, (2000), que utiliza ácido fórmico como solvente e Pd/C em 5% em massa como catalisador.

[059] A partir das análises de HPLC-MS, observou-se que em 24 h não havia mais traços do reagente (7), tendo sido identificado apenas o produto de interesse. Após o processo de purificação do produto, foi determinado o rendimento de 26% em massa.

Referências Bibliográficas

[060] ANUMULA, R. R. et al. **Processes for preparing pioglitazone and its pharmaceutically acceptable salts**EU, 2009.

[061] BURNS, N. Z.; BARAN, P. S.; HOFFMANN, R. W. Redox economy in organic synthesis. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 48, n. 16, p. 2854-2867, 2009.

[062] CLAYDEN, J. et al. **Organic Chemistry**. 2nd Edition ed. [s.l: s.n.].

[063] EMS S/A. **Cloridrato de pioglitazona**. Disponível em:
<http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=5093482015&pIdAnexo=2671778>. Acesso em: 26 set. 2019.

[064] FARMACOPÉIA, A. N. D. V. S. Farmacopeia Brasileira. **Farmacopeia Brasileira, 5ª edição**, v. 1, p. 1-523, 2010.

[065] FERWANA, M. et al. Pioglitazone and risk of bladder cancer: A meta-analysis of controlled studies. **Diabetic Medicine**, v. 30, n. 9, p. 1026-1032, 2013.

[066] GOWDA, C. D.; GOWDA, S. Formic acid with 10%

palladium on carbon: A reagent for selective reduction of aromatic nitro compounds. **Indian Journal of Chemistry - Section B Organic and Medicinal Chemistry**, v. 39, n. 9, p. 709-711, 2000.

[067] KUMAR, B. R. P. et al. Microwave Induced Synthesis of the Thiazolidine-2, 4-dione Motif and the Efficient Solvent Free-Solid Phase Parallel Syntheses of 5-Benzylidene-thiazolidine-2, 4-dione and 5-Benzylidene-2-thioxo-thiazolidine-4-one Compounds. 2006.

[068] LEE, H. W. et al. Process development and scale-up of PPAR α/γ Dual agonist lobeglitazone sulfate (CKD-501). **Organic Process Research and Development**, v. 11, n. 2, p. 190-199, 2007.

[069] LI, W. et al. Lipase-catalyzed Knoevenagel condensation in water-ethanol solvent system. Does the enzyme possess the substrate promiscuity? **Biochemical Engineering Journal**, v. 101, p. 99-107, 2015.

[070] MADIVADA, L. R. et al. An improved process for pioglitazone and its pharmaceutically acceptable salt. **Organic Process Research and Development**, v. 13, n. 6, p. 1190-1194, 2009.

[071] MCGUIRE, J. L. et al. Pioglitazone improves working memory performance when administered in chronic TBI. **Neurobiology of Disease**, v. 132, n. February, p. 104611, 2019.

[072] MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Nota Técnica Nota Técnica N° 40/2012**. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/setembro/17/Pioglitazona.pdf>>. Acesso em: 26 set. 2019.

[073] PINHEIRO, D. DA S. et al. Microreactor

Technology as a Tool for the Synthesis of a Glitazone Drug Intermediate. **Chemical Engineering and Technology**, v. 41, n. 9, p. 1800-1807, 2018.

[074] ROBERGE, D. M. et al. Microreactor technology: A revolution for the fine chemical and pharmaceutical industries? **Chemical Engineering and Technology**, v. 28, n. 3, p. 318-323, 2005.

[075] SIGMAALDRICH. **Ficha de dados de segurança: Cloreto de metanossulfonila**. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=BR&language=pt&productNumber=471259&brand=ALDRICH&pageToGoToURL=https%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Faldrich%2F471259%3Flang%3Dpt>>. Acesso em: 24 jun. 2020.

[076] SILVA, R. R. DE O. et al. Flow Synthesis of a Thiazolidine Drug Intermediate in Capillary Microreactors. **Chemical Engineering and Technology**, v. 42, n. 2, p. 465-473, 2019.

[077] SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Organic Chemistry**. 10. ed. EUA: [s.n.].

[078] VOLLHARDT, P.; SCHORE, N. **Organic Chemistry - Estructure and Function**. 6. ed. EUA: [s.n.].

[079] ZHAO, W.; CHEN, F.-E. One-pot Synthesis and its Practical Application in Pharmaceutical Industry. **Current Organic Synthesis**, v. 9, n. 6, p. 873-897, 2013.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para a síntese de pioglitazona, **caracterizado** pelo fato de que compreende as seguintes etapas:

(a) Reação do composto 2-(5-etil-2-piridil)etanol (1) na presença da base orgânica adequada e p-fluorbenzaldeído (8);

(b) Reação do composto 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzaldeído (5) com tiazolidina-2,4-diona (6) na presença de base adequada; e

(c) Redução do composto 5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona com paládio sobre carbono.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a etapa (a) forma o composto 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzaldeído (5).

3. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o composto 2-(5-etil-2-piridil)etanol (1) é diluído em um solvente selecionado do grupo consistindo em dimetilformamida (DMF), acetonitrila, dimetilssulfóxido, tolueno, 1,4-dioxano, tetrahidrofurano, metanol, etanol e diclorometano, preferencialmente dimetilformamida (DMF).

4. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que na etapa (a) a base orgânica utilizada é selecionada do grupo consistindo em hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, hidreto de sódio, carbonato de potássio, fluoreto de potássio, fluoreto de estrôncio e fluoreto de césio, preferencialmente hidróxido de potássio.

5. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a etapa (b) forma o composto

5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (7).

6. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que na etapa (b) a base orgânica utilizada é selecionada do grupo consistindo em pirrolidina, piperidina, morfolina e piperazina, preferencialmente pirrolidina.

7. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que ainda na etapa (b), o composto 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxil]benzaldeído (5), o composto tiazolidina-2,4-diona (6) e a pirrolidina são solubilizados em um solvente selecionado do grupo consistindo em alcoóis, solventes polares apróticos e éteres, preferencialmente etanol.

8. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de que o composto 5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (7) é isolado preferencialmente por filtração a vácuo e recristalizado preferencialmente por etanol.

9. Processo, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de que a formação do composto 5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (7) ocorre preferencialmente em microrreatores em fluxo em temperaturas de 65 a 120°C, preferencialmente 120°C, com tempo de residência de 16 e 20 minutos.

10. Processo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que a etapa (c) é realizada em reator pressurizado para hidrogenação com ácido fórmico, purgado com hidrogênio, mantido sobre temperatura ambiente e agitação constante por 24 horas.

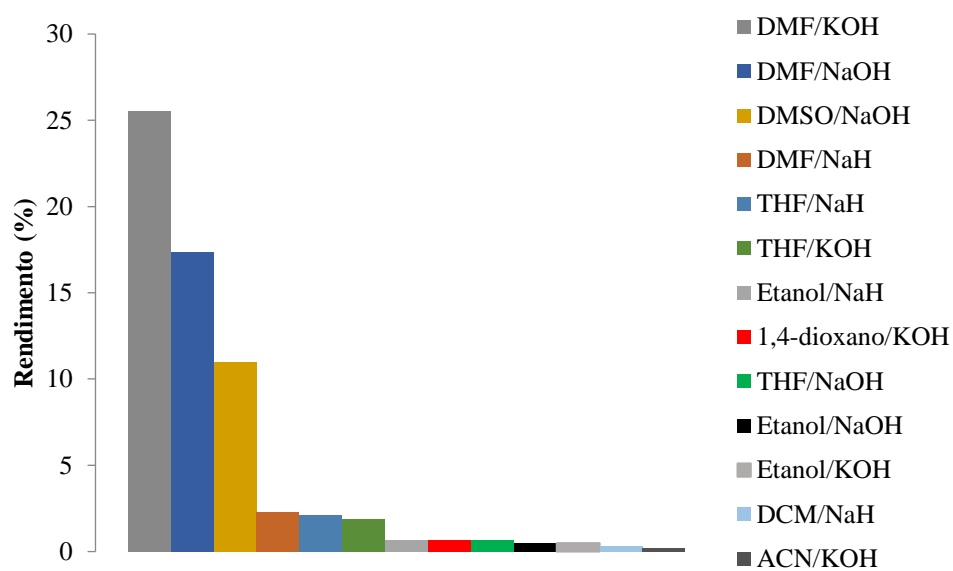
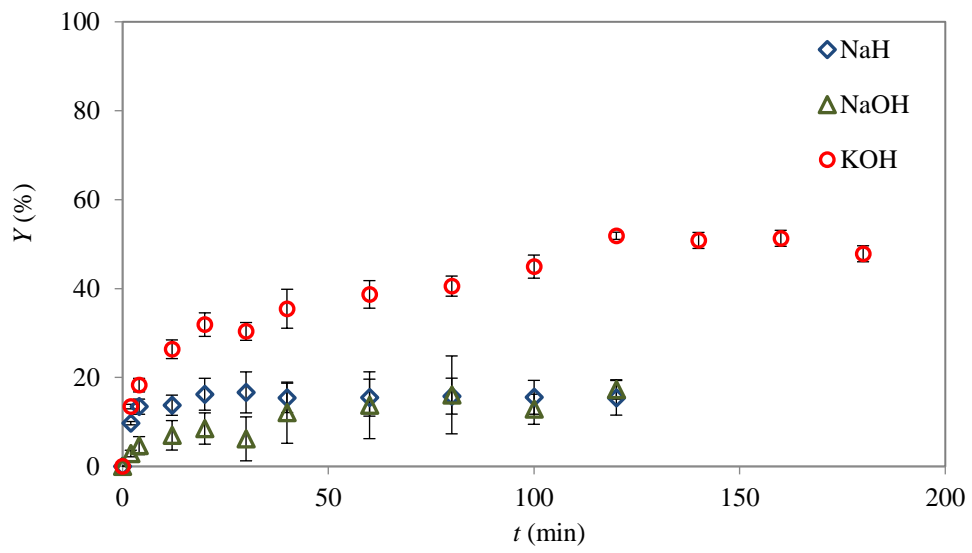


Figura 1

**Figura 2**

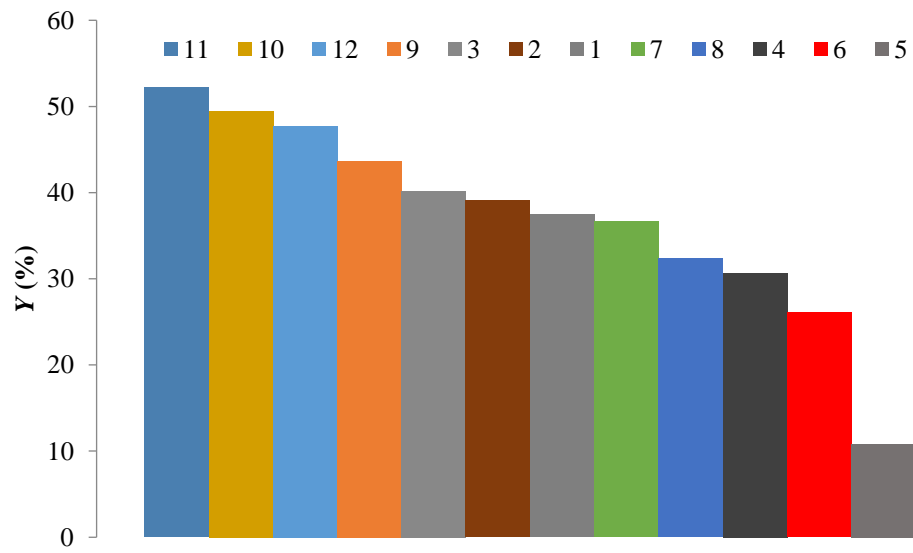
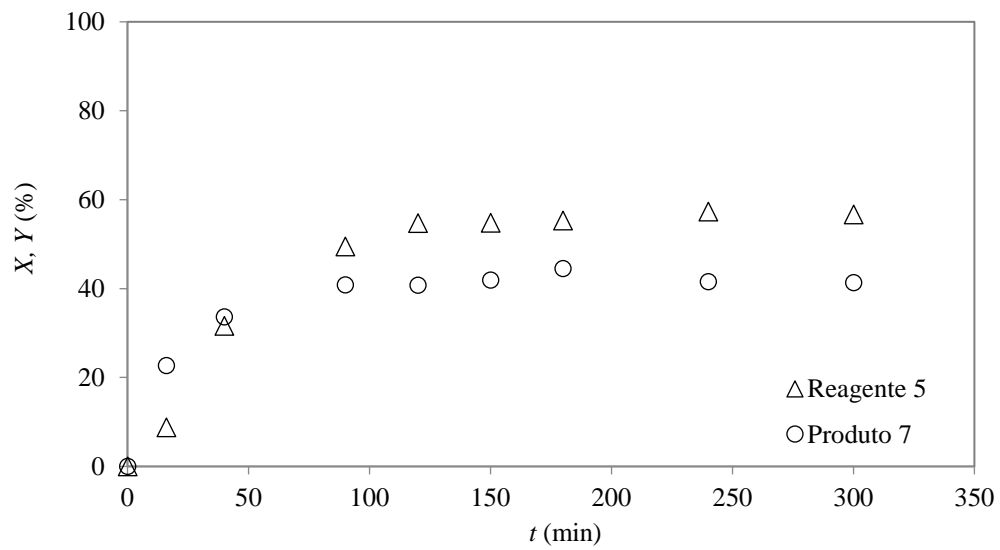


Figura 3

**Figura 4**

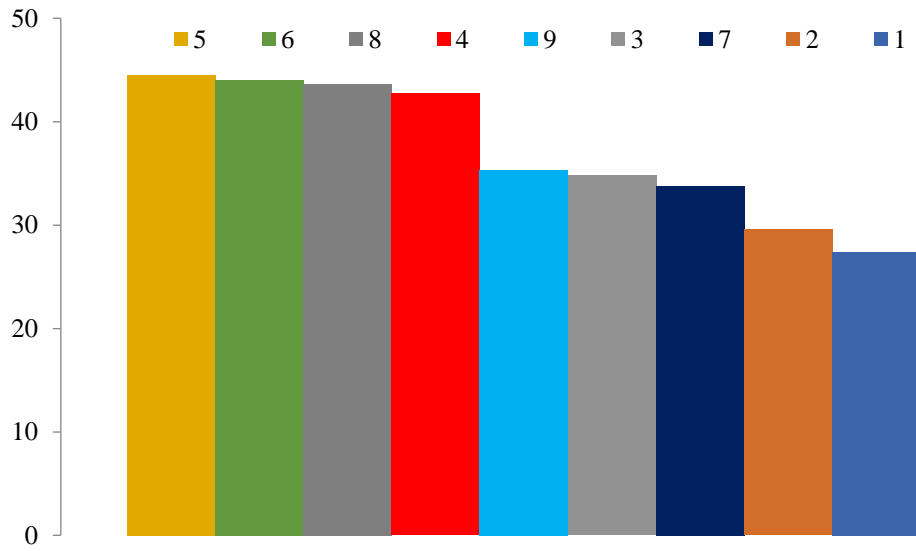


Figura 5



Figura 6

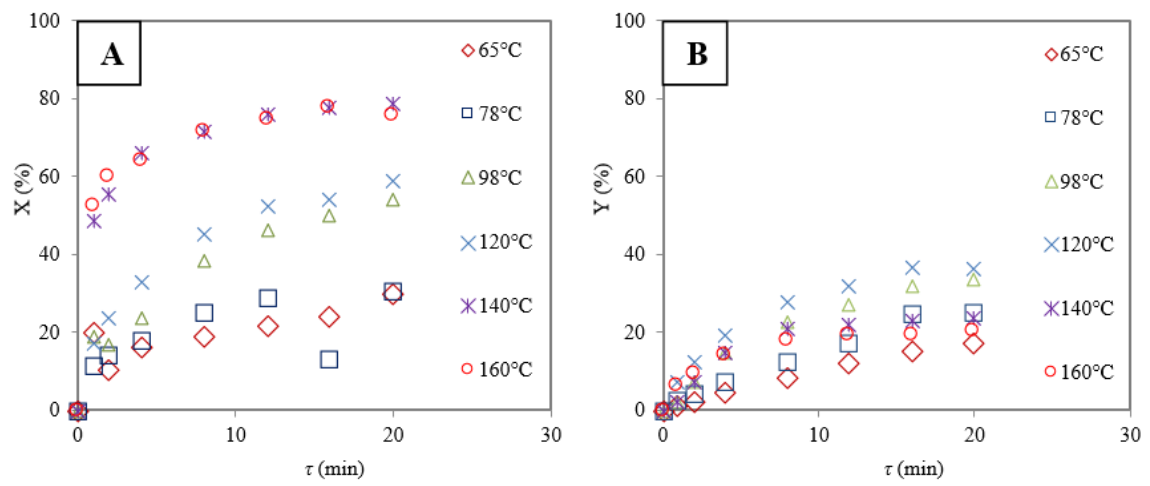


Figura 7

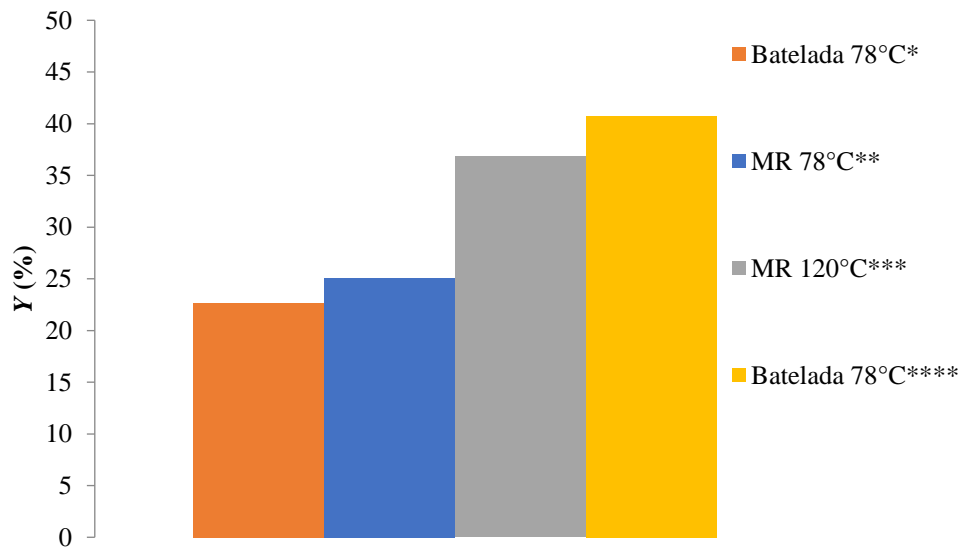


Figura 8

RESUMO**PROCESSO PARA SÍNTESE DE PIOGLITAZONA**

A presente invenção refere-se a um processo para a síntese de pioglitazona com redução de uma etapa da rota de síntese convencional, através da formação do composto 4-[2-(5-etil-2-piridil)etoxi]benzaldeído (3) mediante o uso do p-fluorbenzaldeído, e formação do outro composto 5-(4-(2-(5-etilpiridin-2-il)etoxi)benzilideno)tiazolidina-2,4-diona (5) mediante utilização de microrreatores operando em fluxo contínuo.

(71) HONDA MOTOR CO., LTD. (JP)

(21) BR 10 2021 005125-6 Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado
(22) 18/03/2021
(71) FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS (BR/SP)

(21) BR 10 2021 005126-4 Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado
(22) 18/03/2021
(71) SUZANO S.A. (BR/BA) ; UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP (BR/SP)

(21) BR 10 2021 005131-0 Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado
(22) 18/03/2021
(71) CNH INDUSTRIAL BRASIL LTDA. (BR/MG)

(21) BR 10 2021 005143-4 Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado
(22) 18/03/2021
(71) VALE S.A. (BR/RJ)

(21) BR 10 2021 005159-0 Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado
(22) 18/03/2021
(71) SYNTHESIS HEALTH CARE COSMETICOS EIRELI (BR/GO)

(21) BR 10 2021 006599-0 Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado
(22) 06/04/2021
(71) CARLOS EDUARDO PINEDO (BR/SP)

(21) BR 10 2021 006603-2 Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado
(22) 06/04/2021
(71) JOYCE CRISTINA VENCESLENCIO PEREIRA (BR/GO)

(21) BR 10 2021 006604-0 Código 2.1 - Pedido de Patente ou Certificado de Adição de Invenção depositado
(22) 06/04/2021
(71) UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP (BR/SP)

Anexo 15 – Publicações realizadas no período

Sequência:

1 - **SILVA, R.R.O.**; CALVO, P.V.C.; SILVA, M.F.; SOLISIO, C.; CONVERTI, A.; PALMA, M.S.A. Flow Synthesis of a Thiazolidine Drug Intermediate in Capillary Microreactors. *Chemical Engineering & Technology*. I 42, n 2, p. 465-473. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/ceat.201800473>.

2 - SANTANA, H.S.; DE SOUZA, M.R.P.; LOPES, M.G.M.; SOUZA, J.; **SILVA R.R.O.**; PALMA, M.S.A.; NAKANO, W.L.V.; LIMA, G.A.S.; MUNHOZ, G.; NORILER, D.; TARANTO, O.P.; SILVA JR, J.L. How Chemical Engineers can contribute to fight the COVID-19. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2020.11>.

3 – CALVO, P.V.C.; BATISTA, P.R.; **SILVA, R.R.O.**; CONVERTI, A.; ARNI, S. Al, SOLISIO, C.; DUCATI, L.C.; PALMA, M.S.A. Flow Synthesis of 2-[methyl(pyridine-2-yl)amino]ethanol: An Experimental and Computational Study. *Chemical Engineering & Technology*. 44(2) 283–290. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/ceat.202000423>.

4 - CALVO, P.V.C.; **SILVA, R.R.O.**; PORTO, W.F.S.; GOLZ JUNIOR, R.J.; PALMA, M.S.A. Síntese da (Z)-5-(4-fluorbenzilideno)tiiazolidina-2,4-diona em processo batelada e microrreator capilar. *Farmácia na Atenção e Assistência à Saúde*. Edição 4, Editora Atena. 2021.

5 - CROCETTI, L.; FLORESTA, G.; ZAGNI, C.; MERUGU, D.; MAZZACUVA, F.; **SILVA, R.R.O.**; VERGELLI, C.; GIOVANNONI, M.P.; CILIBRIZZI, A. Ligand growing experiments suggested 4-amino and 4-ureido pyridazin-3(2H)-one as novel scaffold for FABP4 inhibition. *Pharmaceuticals*, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph15111335>.

6 - MEIRA, P.A.; **SILVA, R.R.O.**; PALMA, M.S.A. Síntese do fármaco Pioglitazona. *Farmacologia Integrada: Pesquisas emergentes em casos, efeitos e usos clínicos*. 2022. DOI: <https://doi.org/10.37885/978-65-5360-110-9>.

7 - **SILVA R.R.O.**; PALMA, M.S.A. Flow synthesis of n-substituted 5-benzylidinetiazolidine-2,4-dione. *Studies in Engineering and Exact Sciences*, 2022. DOI: <https://doi.org/10.54021/sesv3n2-006>.

8 - **SILVA, R.R.O.**; CALVO, P.V.C.; MERFELS, C.A.; LIMA, M.V.R.; SANTANA, H.S.; CONVERTI, A.; PALMA, M.S.A. Synthesis of Lobeglitazone intermediates seeking for continuous drug production in flow capillary microreactor. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2022.09.014>.

Renan Rodrigues de
Oliveira Silva¹
Paulo Victor Cuesta Calvo¹
Milena Fernandes da Silva²
Carlo Solisio³
Attilio Converti³
Mauri Sergio Alves Palma^{1,*}

Flow Synthesis of a Thiazolidine Drug Intermediate in Capillary Microreactors

Microreactor technology can help to reduce the time to market new drugs. It was applied to produce (*Z*)-5-benzylidenethiazolidine-2,4-dione, a heterocyclic intermediate in the synthesis of various drugs. Ethanol was the optimum solvent and piperidine the best catalyst in the batch process. The continuous/microreactor process exhibited a much better performance than the batch process. The productivity, which was strongly influenced by solvent and temperature, reached a maximum at 160 °C using methanol as solvent. A kinetic/thermodynamic study indicated that the reaction followed the second-order model and allowed estimating its main thermodynamic parameters. A product recovery protocol was finally proposed. The microreactor proved an efficient alternative to the batch reactor in scaling up the production of active pharmaceutical ingredients.

Keywords: Batch-to-continuous transfer, Glitazones, Kinetics, Microreactor technology, Thermodynamics

Received: September 11, 2018; *revised:* October 23, 2018; *accepted:* December 10, 2018

DOI: 10.1002/ceat.201800473



Supporting Information
available online

1 Introduction

Continuous-flow microreactors are tubular devices made of a materials with adequate chemical and mechanical resistance used in the intensification of chemical processes. They have been applied worldwide in bench-scale tests to improve chemical transformations [1,2]. Their internal size of up to 1 mm allows an effective control of reaction conditions, which is difficult to achieve in batch reactors under extreme conditions of temperature, pressure, and concentration, due to safety issues [3,4].

Their advantages compared to batch reactors are: (a) higher heat transfer coefficients (up to $60\,000\text{ W m}^{-2}\text{K}^{-1}$ vs. around $100\text{ W m}^{-2}\text{K}^{-1}$) due to high surface-to-volume ratio [5], (b) more efficient homogenization owing to shorter diffusion length, (c) acceleration of chemical reactions, (d) higher conversion and selectivity, (e) greater safety when working with reagents and toxic or explosive products, (f) less generation of wastes, and (g) higher product purity [3,6–8].

Thiazolidine-2,4-dione (TZD) is a heterocyclic compound belonging to the glitazone class that has received great attention in recent decades and is used as a building block in medicinal chemistry. Its derivatives share several biological activities such as antidiabetic (especially against type 2 diabetes mellitus), antiarthritic, anti-inflammatory, antimicrobial, anti-HIV, antioxidant, and anticancer activities [9–13]. Glitazone synthesis is performed in several steps, one of them being the Knoevenagel condensation, which is widely used in medicinal chemistry to synthesize many compounds with biological activity [14].

Lai et al. [15], who applied this reaction to the synthesis of ethyl 2-cyano-3-phenylacrylate from benzaldehyde and ethyl cyanoacetate in the absence of solvent and using zeolite as a

catalyst at 100 °C, achieved, under steady-state conditions, a yield of 60 % at a mean residence time (48 min) 15 times lower than in the batch process. Recently, Pinheiro et al. [16] successfully applied the same technology to the synthesis of the glitazone (*Z*)-5-(4-hydroxybenzylidene)thiazolidine-2,4-dione, obtaining, at 160 °C and a residence time of only 20 min, a yield as high as 75.9 % using *n*-propanol as a solvent and 0.053 M piperidine as a catalyst.

Various drugs and drug intermediates have been synthesized in microreactors, demonstrating the growing importance of this technology for the pharmaceutical industry. To cite a few examples, it allowed synthesizing drugs such as Oseltamivir [17], Celecoxib, Mavacoxib, SC-560 [18], and Dolutegravir [19] as well as intermediates of Atazanavir [20], Odanacatib [21], Daclatasvir [22], and Darunavir [23]. Britton and Raston [24] reviewed the literature on this topic and presented the multistep flow synthesis of 22 active pharmaceutical ingredients, several intermediates, 4 natural products, and 20 major

¹Renan Rodrigues de Oliveira Silva, Paulo Victor Cuesta Calvo, Prof. Mauri Sergio Alves Palma
msapalma@usp.br

São Paulo University, Department of Biochemical and Pharmaceutical Technology, Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 16, 05508-000 São Paulo, SP, Brazil.

²Dr. Milena Fernandes da Silva
Federal University of Pernambuco, Bioscience Center, Av. Prof. Moraes Rego 1235, Cidade Universitária, 50670-901 Recife, PE, Brazil.

³Prof. Carlo Solisio, Prof. Attilio Converti
Genoa University, Department of Civil, Chemical and Environmental Engineering, Pole of Chemical Engineering, Via Opera Pia 15, 16145 Genoa, Italy.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jtice

How chemical engineers can contribute to fight the COVID-19

Harrison S. Santana^{a,*}, Marcos R.P. de Souza^b, Mariana G.M. Lopes^a, Johmar Souza^a, Renan R.O. Silva^c, Mauri S.A. Palma^c, Wilson L.V. Nakano^a, Giovanni A.S. Lima^d, Guadalupe Munhoz^d, Dirceu Noriler^a, Osvaldir P. Taranto^a, João L. Silva Jr.^e

^a University of Campinas, School of Chemical Engineering, Albert Einstein Av. 500, 13083-852 Campinas, SP, Brazil.

^b Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Ciências Agrárias, Departamento de Engenharia Agrícola e dos Solos, Av. General Rodrigo Otávio, 1200, 69067-005, Manaus, AM, Brazil

^c Department of Biochemical and Pharmaceutical Technology, Sao Paulo University, 05508-000 São Paulo, São Paulo, Brazil

^d Federal University of São Paulo (Unifesp), São Paulo, Brazil

^e Federal University of ABC, CECS – Center for Engineering, Modeling and Applied Social Sciences, Alameda da Universidade, s/n, 09606-045 São Bernardo do Campo, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article History:

Received 13 October 2020

Revised 22 November 2020

Accepted 23 November 2020

Available online 28 November 2020

Keywords:

SARS-CoV-2

COVID-19

Microfluidics

Fluid dynamics

Artificial intelligence

Vaccine

ABSTRACT

The SARS-CoV-2 virus, promoter of COVID-19, already infected millions of people around the world, resulting in thousands of fatal victims. Facing this unprecedented crisis in human history, several research groups, industrial companies and governments have been spending efforts to develop vaccines and medications. People from distinct knowledge fields are doing their part in order to overcome this crisis. Chemical Engineers are also contributing in the development of actions to control the SARS-CoV-2 virus. However, many chemical engineers still do not know how to use the knowledge acquired from Chemical Engineering school to collaborate in the fight against the COVID-19. In this context, the present paper aims to discuss several knowledge fields within the Chemical Engineering and correlated areas successfully applied to create innovative and effective solutions in the fight against the COVID-19.

© 2020 Taiwan Institute of Chemical Engineers. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The new coronavirus was identified for the first time by November, 2019, at Wuhan city in China. Since then, the virus has been spread around the world, leading the coronavirus disease 19 (COVID-19) to the pandemic status according to World Health Organization (WHO) already in February, 2020. The SARS-CoV-2 virus, promoter of COVID-19, already infected millions of people around the world and resulted in thousands of fatal victims. By August, 2020, there were 18,614,177 confirmed registered cases of COVID-19 and 702,642 related deaths, as reported to WHO. These numbers keep increasing due to the easy transmission by airways via spittle droplets from cough, sneeze and speak. Thus, a mere proximal contact with an infected person would be enough to promote the transmission between human beings. The easy transmission characteristics lead billions of people, around the world, to stay home under a rigid social distancing quarantine [1–4]. According to the reported data, about 80% of COVID-19 infected patients developed light to mild symptoms, while about 20% can suffer severe

symptoms, such as pneumonia, severe acute respiratory syndrome (SARS), pulmonary sepsis, including death as outcome. The COVID-19 also could affect other organs, including heart, brain and kidneys [5,6]. The SARS-CoV-2 belongs to *coronaviridae* family. From electronic microscopy analysis of the coronavirus surface morphology, spikes formed by S protein trimmers, the “spike protein”, given a crown-shape appearance, and then the name “corona virus”. Therefore, the new virus is from the SARS-CoV family, that infected 8,000 people and killed 800 in 2002 and the MERS-CoV, that infect 2294 people, leading 35% to death. Up to now, 14 different mutations were identified, including structural alteration in the crown making the vaccine development a hard task due to the transition of target points. However, its similarities with other virus from *coronaviridae* family aids the strategic and fast development achieved in the researches about the SARS-CoV-2 [2,4,7,8].

Facing this unprecedented crisis in human history, several research groups, industries and governments have been spending efforts to develop vaccines and medications. Professional from distinct areas including virologists, immunologists, epidemiologists, oncologists, biotechnologists, chemists, biochemists, bioinformatics, among several others, have been working hard against the COVID-19. People from distinct knowledge fields are doing their part in order to

* Corresponding author.

E-mail address: h109029@dac.unicamp.br (H.S. Santana).

Paulo Victor Cuesta Calvo¹
Patrick Rodrigues Batista²
Renan Rodrigues
de Oliveira Silva¹
Attilio Converti³
Saleh Al Arni⁴
Carlo Solisio³
Lucas C. Ducati²
Mauri Sergio Alves Palma^{1,*}

Flow Synthesis of 2-[Methyl(pyridin-2-yl)amino]ethanol: An Experimental and Computational Study

Microreactor technology is increasingly applied in the chemical-pharmaceutical industry for safer and more efficient drug production as compared to the traditional batch process. This technology is employed for the first time to study the production of 2-[methyl(pyridin-2-yl)amino]ethanol, the first intermediate in rosiglitazone synthesis. Under the optimum operating conditions, a single microreactor chip at 160 °C allowed to produce the equivalent of more than five batch reactors at 120 °C. The kinetic study indicated that the reaction is second order. Thermodynamic parameters were determined by the Eyring equation and density functional theory (DFT) calculations with good agreement. DFT results suggested a concerted nucleophilic aromatic substitution reaction mechanism.

Keywords: Density functional theory, Flow chemistry, Microreactor technology, Organic synthesis, Thermodynamic parameters

Received: September 15, 2020; *revised:* October 28, 2020; *accepted:* November 27, 2020

DOI: 10.1002/ceat.202000423



Supporting Information
available online

1 Introduction

The chemical-pharmaceutical industry produces a set of drugs of different therapeutic classes with different active ingredients and chemical compositions, which derive from new knowledge generated from research and development activities [1]. Drug synthesis is mainly carried out batchwise in multiphase reaction media, but when increasing the production scale, problems such as low mixing efficiency and temperature gradients often cause a low reaction selectivity in this type of process [2].

The use of microdevices such as chip-based microreactors has several advantages over the usual batch process, e.g., smaller amounts of reactants, less waste generation, lower risks of operator exposure to possible toxic chemicals [3], more efficient molecular diffusion, very high heat transfer rates due to the high surface-to-volume ratio, and higher reaction yield and selectivity [2]. In addition, it is possible to achieve the same production rate as a batch reactor by placing several microreactors in parallel (numbering-up) and ensure greater safety and better control of the reaction parameters, mainly under high temperature and pressure conditions [4].

Other important tools in the synthesis of organic compounds are computational quantum calculations, which have been used mainly to elucidate the mechanisms of product formation and to predict the reactivity of compounds and their physicochemical properties [5]. In recent decades, one of the most employed calculation methods in computational chemistry is the density functional theory (DFT), which has been applied to the structural elucidation of conformational equilibrium of organic and inorganic compounds, orbital interactions, spectroscopic parameters, and molecular dynamics [6,7]. In addition, this

method allows to show a variety of phenomena through breaking and formation of bonds arising from changes in the electronic states of the reactants [8], thus being able to corroborate the experimental results. The use of microreactors and computational chemistry can bring benefits to the chemical-pharmaceutical industry in drug development and production.

Compounds derived from 2,4-thiazolidinedione possess several pharmacological and therapeutic activities, such as anti-cancer, anti-HIV, anticonvulsant, antimicrobial, anti-histamine, antifungal, amebicide, and anti-inflammatory activities, among others [9]. Among them, rosiglitazone is one of the antiglycemic agents used to fight type 2 diabetes mellitus, which acts as an insulin sensitizer in humans. Binding to the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR γ) that mediates effects of

¹Paulo Victor Cuesta Calvo, Renan Rodrigues de Oliveira Silva, Prof. Mauri Sergio Alves Palma
msapalma@usp.br

School of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 580 – Butantã, São Paulo – SP, 05508-000, Brazil.

²Patrick Rodrigues Batista, Prof. Lucas C. Ducati
Institute of Chemistry, University of São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 748 – Butantã, São Paulo – SP, 05508-000, Brazil.

³Prof. Attilio Converti, Prof. Carlo Solisio
Department of Civil, Chemical and Environmental Engineering, University of Genoa, Pole of Chemical Engineering, via Opera Pia 15, 16145 Genoa, Italy.

⁴Prof. Saleh Al Arni
Department of Chemical Engineering, College of Engineering, University of Ha'il, P.O. Box 2440, Ha'il, 81441, Saudi Arabia.

CAPÍTULO 17

SÍNTESE DA (Z)-5-(4-FLUORBENZILIDENO) TIAZOLIDINA-2,4-DIONA EM PROCESSO BATELADA E MICRORREATOR CAPILAR

Data de aceite: 01/03/2021

Data de submissão: 17/12/2020.

Paulo Victor Cuesta Calvo

Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Universidade de São Paulo
São Paulo – SP

<https://orcid.org/0000-0002-7774-7765> / <http://lattes.cnpq.br/8833120625545987>

Renan Rodrigues de Oliveira Silva

Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Universidade de São Paulo
São Paulo – SP

<https://orcid.org/0000-0003-1480-0714> / <http://lattes.cnpq.br/4595465431340230>

Wesley Ferreira Santos Porto

Faculdades Oswaldo Cruz
São Paulo – SP
<http://lattes.cnpq.br/3735223287298537>

Ricardo José Golz Júnior

Faculdades Oswaldo Cruz
São Paulo – SP
<http://lattes.cnpq.br/7620330538242458>

Mauri Sergio Alves Palma

Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Universidade de São Paulo
São Paulo – SP
<https://orcid.org/0000-0002-2805-4532> / <http://lattes.cnpq.br/0590069862205624>

RESUMO: A química em fluxo através da Tecnologia de Microrreatores (TMR) promove um

processo de produção seguro e mais eficiente de fármacos e seus intermediários do que o processo usual em batelada. Esta tecnologia foi utilizada na síntese da (Z)-5-(4-fluorbenzilideno)thiazolidina-2,4-diona um dos intermediários da Rosiglitazona, fármaco utilizado no tratamento da diabetes *mellitus* tipo 2. Na melhor condição operacional no microrreator, foi obtido o rendimento de 92,7% a 120 °C. Um estudo cinético mostrou que a reação é de 2ª ordem e pela primeira vez foram determinados parâmetros termodinâmicos ΔG , ΔH e ΔS no estado de transição para esta reação pelo modelo de Eyring.







PALAVRAS - CHAVE: Microrreatores, Síntese Orgânica, Transposição de Processos, Glitazonas, Diabetes *mellitus*

SYNTHESIS OF (Z)-5-(4-FLUORBENZYLIDENE)THIAZOLIDINE-2,4-DIONE IN BATCH PROCESS AND CAPILLARY MICRO REACTOR

ABSTRACT: Flow chemistry through Micro Reactor Technology (MRT) promotes a safe and more efficient production process for drugs and their intermediates than the usual batch process. This technology was used in the synthesis of (Z)-5-(4-fluorbenzylidene)thiazolidine-2,4-dione, one of Rosiglitazone intermediates, a drug used in the treatment of type 2 diabetes *mellitus*. In the best operational condition in micro reactor, the yield of 92.7% at 120 °C was obtained. A kinetic study showed that the reaction is 2nd order and for the first time the thermodynamic parameters ΔG , ΔH and ΔS were determined in the transition state for this reaction by the Eyring model.

Article

Ligand Growing Experiments Suggested 4-amino and 4-ureido pyridazin-3(2H)-one as Novel Scaffold for FABP4 Inhibition

Letizia Crocetti ^{1,*}, Giuseppe Floresta ², Chiara Zagni ², Divya Merugu ³, Francesca Mazzacuva ⁴, Renan Rodrigues de Oliveira Silva ³, Claudia Vergelli ¹, Maria Paola Giovannoni ¹ and Agostino Cilibrizzi ^{3,5,*}

¹ Dipartimento NEUROFARBA—Pharmaceutical and Nutraceutical Section, via Ugo Schiff 6, Sesto Fiorentino, 50019 Florence, Italy

² Dipartimento di Scienze del Farmaco e della Salute, Università di Catania, Viale A. Doria 6, 95125 Catania, Italy

³ Institute of Pharmaceutical Science, King's College London, Stamford Street, London SE1 9NH, UK

⁴ School of Health, Sport and Bioscience, University of East London, London E15 4LZ, UK

⁵ Medicines Development, Centre for Therapeutic Innovation, University of Bath, Bath BA2 7AY, UK

* Correspondence: letizia.crocetti@unifi.it (L.C.); agostino.cilibrizzi@kcl.ac.uk (A.C.);

Tel.: +39-0554573683 (L.C.); +44-(0)-20-7848-9532 (A.C.)

Abstract: Fatty acid binding protein (FABP4) inhibitors are of synthetic and therapeutic interest and ongoing clinical studies indicate that they may be a promise for the treatment of cancer, as well as other diseases. As part of a broader research effort to develop more effective FABP4 inhibitors, we sought to identify new structures through a two-step computing assisted molecular design based on the established scaffold of a co-crystallized ligand. Novel and potent FABP4 inhibitors have been developed using this approach and herein we report the synthesis, biological evaluation and molecular docking of the 4-amino and 4-ureido pyridazinone-based series.

Keywords: fatty acid binding protein; FABP4; FABP4is; FABP4 inhibitors; pyridazinone; computing assisted molecular design



Citation: Crocetti, L.; Floresta, G.; Zagni, C.; Merugu, D.; Mazzacuva, F.; de Oliveira Silva, R.R.; Vergelli, C.; Giovannoni, M.P.; Cilibrizzi, A. Ligand Growing Experiments Suggested 4-amino and 4-ureido pyridazin-3(2H)-one as Novel Scaffold for FABP4 Inhibition. *Pharmaceuticals* **2022**, *15*, 1335. <https://doi.org/10.3390/ph15111335>

Academic Editors: Marialuigia Fantacuzzi and Mariangela Agamennone

Received: 6 October 2022

Accepted: 21 October 2022

Published: 28 October 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Fatty acids (FAs) are long carbon chain organic carboxylic acids responsible for different actions in the human organism [1,2]. Their chronic high concentration in circulation leads to various disorders [3,4], including atherosclerosis [5], diabetes [6] and obesity [7]. Considering that their chemical structure is characterized by high lipophilicity, FAs are insoluble in water, and their trafficking into the body requires specific carriers such as the fatty acid-binding proteins (FABPs). [8]. Since their discovery, FABPs have been classified into different families based on their localization in the human body, such as A-FABP (adipocyte), B-FABP (brain), E-FABP (epidermal), H-FABP (muscle and heart), I-FABP (intestinal), Il-FABP (ileal), L-FABP (liver), M-FABP (myelin), and T-FABP (testis). FABP4 (aP2 or A-FABP) is the subtype expressed in adipocytes [9], and the research into small molecule inhibitors for such protein initially started when it was reported that knockout animal models of FABP4 produced protective effects against the development of insulin resistance [10], as well as several pathological events linked to the metabolic syndrome and atherosclerosis [11–13]. Interestingly, pharmacological approaches with small molecules that inhibit the normal function of the protein are also valid in this regard, demonstrating similar results as the genetic procedures by mimicking the phenotype of FABP4-deficient mice [14]. This family of transporter proteins also has a role in cancer progression [15], and it was discovered that non-physiological expressions of FABPs are present in some of the most common cancers such as renal cell carcinoma, bladder and prostate, as well as other types of cancer cells [16–18]. It was recently discovered that FABP4 promotes the metastasis and invasion of colon cancer and that the treatment with a classical small molecule

Síntese do fármaco pioglitazona

| **Paula Almeida Meira**

Universidade de São Paulo - USP

| **Renan Rodrigues de Oliveira Silva**

Universidade de São Paulo - USP

| **Mauri Sergio Alves Palma**

Universidade de São Paulo - USP



Flow synthesis of n-substituted 5-benzylidene-thiazolidine-2,4-dione

Síntese de fluxo de n-substituído 5-benzilidina-2,4-diona

DOI: 10.54021/sesv3n2-006

Recebimento dos originais: 03/02/2022

Aceitação para publicação: 03/03/2022

Renan Rodrigues de Oliveira Silva

Mestre em Ciências

Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica

Institution: Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo

Address: Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 16, Cidade Universitária, São Paulo/SP – CEP: 05508-000

E-mail: reenaan@usp.br

Mauri Sergio Alves Palma

Doutor em Ciências

Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica

Institution: Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo

Address: Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 16, Cidade Universitária, São Paulo/SP – CEP: 05508-000

E-mail: msapalma@usp.br

ABSTRACT

Process intensification based on micro reactor technology allows safe manner and a new pathway to run organic synthesis due to its intrinsic characteristics, and can reduce time-to-market of new drugs. The main objective of this work was to study the batch and flow reaction of five n-substituted 5-benzylidene-thiazolidine-2,4-dione heterocyclic intermediates present in the synthesis of glitazone class drugs, in capillary micro reactor. Batch process was conducted with ethanol as solvent at the boiling point and pyrrolidine as promoting base of the reaction. Higher yields were obtained in shorter reaction times in temperatures above solvent boiling point. Also, we evaluated that 3.8 micro reactors in parallel would be necessary to reach the same mean molar flow rate of a 60 mL batch reactor. Kinetic and thermodynamic study indicated that the reaction followed the second-order model and allowed estimating its main thermodynamic parameters. The continuous flow micro reactor proved to be an efficient alternative to the batch process in scaling up the production of Active Pharmaceutical Ingredient intermediates (APIs).

Keywords: flow synthesis, capillary micro reactor, process intensification, thiazolidine-2,4-dione, batch process.

RESUMO

A intensificação do processo com base na tecnologia de micro reatores permite uma forma segura e uma nova via para realizar a síntese orgânica devido às suas



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Industrial and Engineering Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jiec

Synthesis of Lobeglitazone intermediates seeking for continuous drug production in flow capillary microreactor



Renan Rodrigues de Oliveira Silva^a, Paulo Victor Cuesta Calvo^a, Christian Adrian Merfels^b, Mikael Vitor Rodrigues Lima^c, Harrson S. Santana^d, Attilio Converti^e, Mauri Sergio Alves Palma^{a,*}

^a School of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 580 – Butantã, São Paulo, SP 05508-000, Brazil

^b Department of Chemistry, Johannes Gutenberg-University Mainz, Duesbergweg 10-14, D-55128 Mainz, Germany

^c Federal Institute of Education, Science and Technology of São Paulo – Campus São Paulo (IFSP-SPO), 625, Pedro Vicente st, Canindé, São Paulo, SP 01109-010, Brazil

^d University of Campinas, School of Chemical Engineering, Albert Einstein Av. 500, 13083-852 Campinas, SP, Brazil

^e Department of Civil, Chemical and Environmental Engineering, University of Genoa, Pole of Chemical Engineering, via Opera Pia 15, 16145 Genoa, Italy

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 May 2022

Revised 25 August 2022

Accepted 9 September 2022

Available online 16 September 2022

Keywords:

Microreactor technology

Flow chemistry

Multistep synthesis

Lobeglitazone

Glitazone

Kinetics

ABSTRACT

Continuous flow synthesis in microreactors has been integrated into chemical-pharmaceutical industry in recent years as an alternative to the batch process due to its advantages, especially process intensification, which can reduce the time for a new drug to be placed on the market on a large scale. This work aimed to transpose the synthesis of Lobeglitazone, a drug employed in the treatment of diabetes mellitus type 2, from batch to flow process in a microreactor as well as to determine the reaction kinetics of each step. The synthesis was carried out in five-steps, being synthesized intermediates 4-chloro-6-(4-methoxyphenoxy)pyrimidine (**11**), 2-[[6-(4-methoxyphenoxy)pyrimidin-4-yl]methylamino]ethanol (**12**), 4-(2-[[6-(4-methoxyphenoxy)pyrimidin-4-yl]methylamino]ethoxy)benzaldehyde (**13**), 5-[4-(2-[[6-(4-methoxyphenoxy)pyrimidin-4-yl]methylamino]ethoxy)benzylidene]thiazolidine-2,4-dione (**14**) and Lobeglitazone. Intermediates **11** and **14** were synthesized in flow, while **14** was synthesized either in a continuous flow multistep synthesis or in a one-pot batch process. The flow syntheses of **11**, **12** and **14** showed 28.0 %, 61.8 % and 32.0 % yields at 25, 160 and 120 °C, respectively, while the yield of **13** in batch process was 73.3 % at 60 °C. In one-pot batch process and continuous flow multistep synthesis, **12** was obtained with 13 and 16 % yields, respectively. These preliminary results constitute a starting point for the synthesis of this drug in flow on an industrial scale, with the aim of improving reaction performance using this new technology.

© 2022 The Korean Society of Industrial and Engineering Chemistry. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

Introduction

Microreactors are tubular devices made of metal, glass, quartz, ceramic, silicone, or other chemically and mechanically robust materials, with inner diameters in the order of 10 to 150 μm, in which reactions can be carried out in a continuous flow [1,2].

In the perspective of the new Continuous Pharmaceutical Manufacturing (CPM) paradigm [3–6], continuous flow synthesis employing microreactors [7–12] has been the object of study in recent years, due to advantages over batch reactors, such as increased reactions rates, higher conversion, improved yields, enhanced selectivity and higher safety, which are especially important when working with toxic reagents or products. On the other

hand, the typical disadvantage of this technology is the obstruction of microchannels in the case of solid formation or the use, common in organic synthesis, of heterogeneous reaction media, which usually requires crystallization of inorganic salts and insoluble products. Some measures that help reduce these problems are the replacement of the solvent, the dilution of the reaction medium or the increase in the microchannels diameter [13–16].

The microreactor technology also allows for a lower energy consumption, a modular, compact and flexible construction, and an improvement of product quality thanks to the possibility of real-time analysis and quick variation of operating variables, which makes it suitable in both research & process development and industrial applications [17–20]. Moreover, it enables reactions to occur in solvents under supercritical conditions or in volatile solvents at temperatures above the boiling point, keeping them in liquid state at high pressure, thus facilitating their final removal [21].

* Corresponding author.

E-mail address: msapalma@usp.br (M.S.A. Palma).