

CAPÍTULO 3

APLICAÇÃO DE ENZIMAS NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA: UM CENÁRIO ATUAL

Data de submissão: 09/01/2025

Data de aceite: 02/01/2025

Agnaldo Guilherme Novaes de Souza

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) campus JK, Instituto de Ciência e Tecnologia.

Diamantina-MG, Brasil.

<https://lattes.cnpq.br/8259582730166725>

<https://orcid.org/0000-0003-1324-7582>

Vivian Machado Benassi

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) campus JK, Instituto de Ciência e Tecnologia.

Diamantina-MG, Brasil.

<http://lattes.cnpq.br/8244877867115110>

<https://orcid.org/0000-0002-6030-0473>

síntese de medicamentos quanto em intervenções terapêuticas.

PALAVRAS-CHAVE: Enzimas; Biocatálise; Biotecnologia; Indústria farmacêutica.

ENZYME APPLICATION IN THE PHARMACEUTICAL INDUSTRY: A CURRENT SCENARIO

ABSTRACT: Enzymes have various industrial applications. In the pharmaceutical industry, they play a key role in drug synthesis, producing purer molecules in shorter reaction times. Additionally, in therapeutic formulations, enzymes offer high specificity and fewer side effects, providing relief during treatment. These applications highlight the potential and diversity of enzymes in the pharmaceutical industry, emphasizing their importance both in drug synthesis and therapeutic interventions.

KEYWORDS: Enzymes; Biocatalysis; Biotechnology; Pharmaceutical industry.

1 | INTRODUÇÃO

As enzimas são eficientes biocatalisadores utilizadas em diversas aplicações industriais, desde a medicina até a produção de biocombustíveis.

RESUMO: As enzimas possuem diversas aplicações industriais. Por sua vez, na indústria farmacêutica desempenham um papel fundamental na síntese de fármacos, obtendo moléculas mais puras em menores tempos de reação. Além disso, em formulações terapêuticas as enzimas oferecem alta especificidade e menores efeitos colaterais, proporcionando alívio durante o tratamento. Essas aplicações destacam o potencial e a diversidade das enzimas na área da indústria farmacêutica, evidenciando sua importância tanto na

Sua utilização traz benefícios ambientais, econômicos e sustentáveis, uma vez que são biodegradáveis, não tóxicos, dispensam o uso de metais pesados, e permitem processos de produção em condições amenas, sem a necessidade de solventes onerosos (MIRANDA *et al.*, 2023).

Na indústria farmacêutica, as enzimas desempenham um papel fundamental na síntese de drogas terapêuticas, contribuindo para a produção de compostos quirais essenciais em medicamentos com alta pureza e eficiência. Isso reduz a necessidade de reagentes adicionais e minimiza o número de etapas sintéticas (ARROYO *et al.*, 2017; PATEL, 2018; SIMIC *et al.*, 2021; ATONAL-FLORES *et al.*, 2023; DENG *et al.*, 2023; JANGRA *et al.*, 2024).

2 | ENZIMAS E MERCADO DOS BIOCATALISADORES

No mundo da engenharia humana não existe algo tão grandioso como o mundo biológico, nessa, a natureza criou proteínas funcionais, os catalisadores enzimáticos, que a mais de 5 mil anos servem a humanidade com infinitas possibilidades (ARNOLD, 2019). No campo industrial, estão presentes na indústria de alimentos, papel e celulose, combustível, cosmética, farmacêutica, detergentes e sabões entre outras (NOGUEIRA *et al.*, 2021; ROCHA *et al.*, 2022).

As enzimas são exploradas em vários processos industriais pela capacidade de se manterem viáveis e realizarem suas atividades mesmo fora de seu organismo, devido à alta especificidade ao substrato de ação e por serem biomoléculas, não causando danos à natureza (MEGHWANSHI, 2020).

As enzimas desempenham um papel fundamental como facilitadores das reações bioquímicas, tendo a capacidade de acelerar reações específicas em até 10^6 vezes com alta seletividade justificando, assim, o enorme potencial como catalisadores (HAUER, 2020).

A maioria das enzimas com aplicações industriais são produzidas por microrganismos como leveduras, fungos filamentosos, bactérias e uma pequena parcela sintetizada por células animais e vegetais (RIGO *et al.*, 2021). Dentre os microrganismos, destacam-se os fungos filamentosos por secretarem os biocatalisadores, dessa forma, facilitando a separação do micélio fúngico do extrato extracelular contendo as enzimas de interesse, sendo essa uma etapa a menos no processo.

Segundo Liu & Kokare (2023), a grande utilização das enzimas está associada à sua ampla variedade de aplicações em diferentes áreas. No campo médico, cita que elas podem ser usadas como biossensores para análise de compostos em fluidos biológicos, em rotas biocatalíticas para a fabricação de medicamentos e como agentes terapêuticos atuando como anti-inflamatórios, mucolíticos e destruidores de células cancerosas.

Vale citar que durante a pandemia COVID-19 houve um aumento na demanda por produtos biológicos e biossimilares, resultando em investimentos e acordos de fabricação

em larga escala. Espera-se que esse mercado de fabricação farmacêutico registre uma taxa de crescimento anual composta (*Compound Annual Growth Rate - CAGR*) de 11% de 2024 a 2029 (*MORDOR INTELLIGENCE*, 2024).

O crescimento das indústrias farmacêuticas indica um cenário promissor para a expansão do uso das enzimas. Segundo Sajeev & Deshmukh (2022), a demanda de enzima está pronta para aumentar em todos os setores industriais devido à sua biocatálise altamente eficiente, seletividade de produtos, menor toxicidade fisiológica e ambiental. Além disso, a utilização de menos energia e a redução geral do tempo no processo de fabricação resultam em reduções significativas de custos.

A crescente demanda por processos sustentáveis alinhados aos princípios da Química Verde faz das enzimas grandes candidatas a substituição de métodos químicos convencionais (ROCHA *et al.*, 2022; DEGÓRSKA, 2023).

Essa substituição reduz o uso e o manuseio de muitos compostos tóxicos e solventes orgânicos, por exemplo, diclorometano, dimetilanilina e pentacloreto de fósforo. Assim, diminui os impactos à natureza como, também, as ameaças à saúde dos seres humanos (ATALAH *et al.*, 2019).

Para termos uma comparação, de acordo com a pesquisa da *Precedence Research* (2023), o mercado global de enzimas foi avaliado em USD 10,20 bilhões em 2022 e é projetado para superar USD 15,03 bilhões até 2032. A Figura 1 desmostra essa projeção ao longo dos anos.



Figura 1. Avaliação do mercado global de enzimas entre 2022 a 2032 (USD Bilhões).

Fonte: Adaptado de *Precedence Research* (2023).

3 | APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

3.1 Síntese de fármacos

Aproximadamente 57% dos ingredientes farmacêuticos ativos são moléculas

quirais. Por esse motivo, as empresas vêm desenvolvendo procedimentos eficientes para a obtenção de compostos homoquirais com bons rendimentos e alta pureza de enantiômeros (ROSSINO *et al.*, 2022).

As autoridades regulatórias exigem que as especificações do produto final devem assegurar identidade, resistência, qualidade e pureza do ponto de vista esteroquímico. Isso porquê, compostos enantioméricos podem ter diferentes propriedades farmacocinéticas (adsorção, distribuição, biotransformação e excreção) e diferentes efeitos farmacológicos ou toxicológicos (PATEL, 2018).

Os processos biocatalíticos fornecem produtos em maior pureza devido à sua seletividade quando comparado com os processos químicos ou quimiocatalíticos tradicionais. Isso se torna interessante para a indústria, uma vez que oferecem demandas cada vez mais regio-, estereo- e enantioseletividade de medicamentos, evitando a necessidade de proteção de grupos, reações paralelas e redução do número de etapas sintéticas (ARROYO *et al.*, 2017; PATEL, 2018). Assim como, devido à pureza resultante aumenta-se a segurança e eficácia dos produtos farmacêuticos, simplificando os processos de controle de qualidade (KIM *et al.*, 2024).

Além de catalisar reações mais complexas em uma única etapa, a biocatálise reduz a necessidade de reagentes adicionais, tornando-a eficiente em termos de tempo de produção mais curtos e custos reduzidos (KIM *et al.*, 2024). Vale ressaltar que os processos enzimáticos podem ser produzidos em reatores batelada de multiuso, não exigindo investimento adicional em reatores de alta pressão (PATEL, 2018).

3.1.1 Produção de Sitagliptina

O diabetes é uma doença caracterizada por alterações nos níveis de glicose, que se não controlada pode resultar em doenças graves e redução da expectativa de vida. No manejo farmacológico, existem diferentes classes de medicamentos hipoglicemiantes orais como a sitagliptina, liraglutida, sitagliptina/metformina e linagliptina (ATONAL-FLORES *et al.*, 2023).

Nas últimas duas décadas tem ocorrido um aumento significativo nos casos de diabetes mellitus tipo 2 (DM2), sendo categorizado como uma epidemia. A sitagliptina, aprovada como um poderoso inibidor da dipeptidil peptidase IV (DPP-4), é utilizada no tratamento do DM2 e está presente em medicamentos comerciais como JANUVIA® e JANUMET® (KHOPADE *et al.*, 2020). Devido à crescente demanda por esses medicamentos terapêuticos, torna-se necessário aumentar a produção, e uma das rotas produtivas para a sitagliptina é por meio de transaminação enzimática.

As transaminases são enzimas que desencadeiam a troca do grupo amina (NH_2) de um doador de aminoácido e do grupo ceto (CO=) de um acceptor, resultando na síntese quiral de aminoácidos ou aminas. Essas enzimas têm sido amplamente estudadas devido

à sua notável estereosseletividade e às etapas de reação concisas em condições suaves, tornando-se uma opção atrativa em relação à síntese química catalisada por metais de transição. A obtenção de aminas quirais é de grande importância na produção de diversos produtos naturais bioativos e fármacos (SUN *et al.*, 2018).

Existem diferentes maneiras de produzir a sitagliptina. Uma dessas maneiras é por síntese catalítica, Figura 2-A, a qual envolve a hidrogenação assimétrica de uma enamina sobre alta pressão (250 psi), utilizando um catalisador quiral à base de ródio. O processo químico sofre de estereosseletividade inadequada e uma corrente de produto contaminado com ródio, exigindo etapas adicionais de purificação em detrimento do rendimento para melhorar tanto o excesso enantiomérico (e.e.) quanto à pureza química (PATEL, 2018).

Nos trabalhos de Savile *et al.* (2010), Patel (2018) e Li *et al.* (2018) apresentaram uma síntese biocatalítica envolvendo a animação direta da cetona da prositagliptina catalisada por uma transaminase, conforme ilustrado na Figura 2-B. Essa variante de enzima foi aprimorada por meio de evolução dirigida para uma aplicação prática na fabricação. Como resultado, foram obtidos biocatalisadores capazes de sintetizar aminas quirais.

Segundo Patel (2018), a enzima otimizada converteu 200 g/L de prositagliptina cetona em sitagliptina com um e.e. superior a 99,95%. Essa conversão foi alcançada utilizando 6 g/L de enzima em 50% de DMSO, resultando em um rendimento de 92%. Comparado ao processo catalisado por ródio, o processo biocatalítico ofereceu vantagens significativas: aumento de 10% a 13% no rendimento, aumento de 53% na produtividade, redução de 19% no resíduo total, eliminação completa de metais pesados e redução nos custos totais de fabricação.

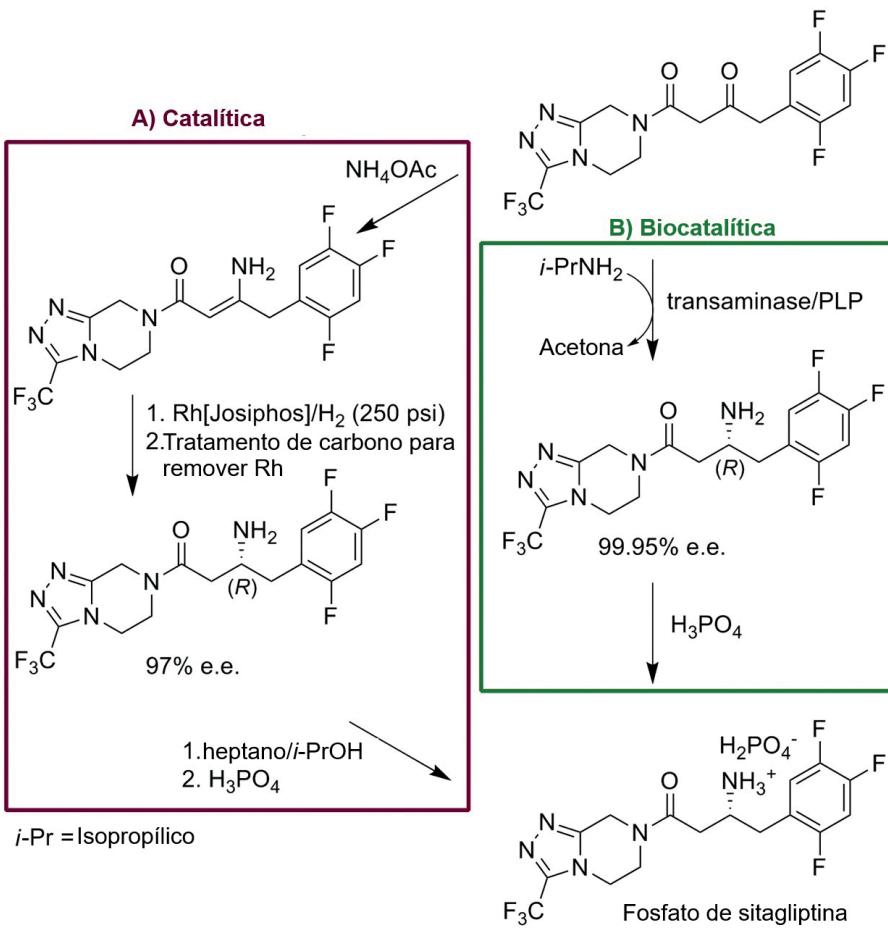


Figura 2. Imagem representativa dos processos de sínteses da sitagliptina: (2R)-4-oxo-4-[3-(trifluorometil)-5,6-dihidro[1,2,4]triazolo[4,3-a]pirazina-7(8H)-il]-1-(2,4,5-trifluorofenil)butan-2-amina. (A) Rota catalítica e (B) Rota biocatalítica.

Fonte: Adaptado de Savile *et al.*, 2010.

3.1.2 Produção de Pregabalina

A pregabalina, comercializada como Lyrica®, é um análogo lipofílico do ácido γ -aminobutírico (GABA) desenvolvido para o tratamento de uma variedade de distúrbios do sistema nervoso central. Esses distúrbios incluem epilepsia, dor neuropática, ansiedade e fobia social. Estudos adicionais têm demonstrado a eficácia da pregabalina no tratamento da fibromialgia e de lesões na medula espinhal (MATHIESON, 2020; SIMIC *et al.*, 2021).

A atividade farmacológica da pregabalina está restrita ao seu enantiômero (S), tornando a síntese assimétrica da substância de grande importância na indústria farmacêutica. Diferentes rotas químicas e biocatalíticas têm sido utilizadas para a síntese assimétrica do intermediário-chave (S)-ácido 3-ciano-5-metil-hexanoico da pregabalina

(S). Por exemplo, o ródio bifosfina e a nitrilase foram relatados como eficientes para a obtenção do (S)-3-ciano-5-metil-hexanoato com rendimentos consideráveis e alta pureza enantiomérica, alcançando, respectivamente, 98% e 97% de e.e (MEGHWANSI *et al.*, 2020).

No estudo de Zhang *et al.* (2019) foi desenvolvida uma rota quimioenzimática para a síntese de pregabalina ópticamente ativa a partir de isobutilsuccinonitrilo racêmico (IBSN) como observado na Figura 3. O estudo focou na síntese do ácido (S)-3-ciano-5-metilhexanóico ((S)-CMHA), um intermediário quiral crítico da pregabalina, utilizando a hidrólise regio- e enantiosseletiva do IBSN por células de *Escherichia coli* imobilizadas incorporadas com nitrilase.

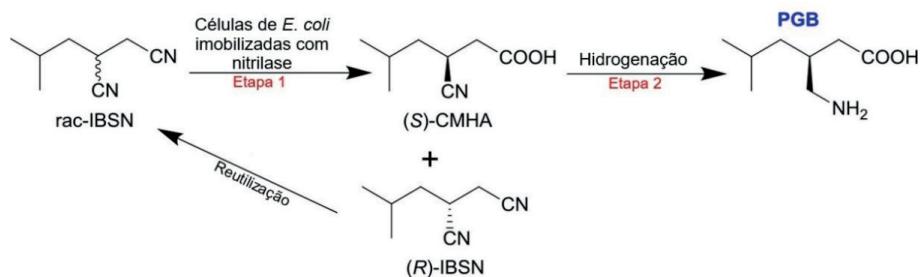


Figura 3. Imagem representativa da síntese enzimática da Pregabalina.

Fonte: Adaptado de Zhang *et al.*, 2019.

Por sua vez, a síntese química da pregabalina (ácido (S)-3-(aminometil)-5-metil hexanóico), Figura 4, envolve quatro etapas a mais do que a etapa enzimática (LIN *et al.*, 2024). A rota começa com a condensação de knoevenagel do isovaleraldeído e malonato de dietila, seguida por cianação para dar o intermediário chave 1. O composto 1 foi, então, convertido em ácido racêmico 3-aminometil-5-metilhexanoico em uma sequência de três etapas que incluiu uma hidrólise, uma redução e uma descarboxilação, todas realizadas em um único recipiente com uma única etapa de isolamento. A pregabalina racêmica bruta foi então resolvida usando ácido (S)-(+)-mandélico em um processo de cristalização (MARTINEZ *et al.*, 2008).

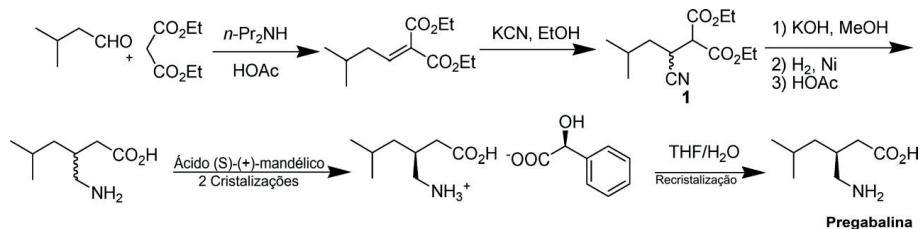


Figura 4. Imagem representativa da síntese química da Pregabalina.

Fonte: Adaptado de Martinez *et al.*, 2008.

3.2 Agentes terapêuticos

As enzimas têm um impacto considerável na saúde humana, os medicamentos à base de enzimas estão se tornando progressivamente um foco de pesquisa na atualidade (TANDON *et al.*, 2021). Neste sentido, a terapia enzimática tem muitas possíveis aplicações médicas, como por exemplo, no tratamento de insuficiência pancreática e fibrose cística, distúrbios metabólicos, intolerância à lactose, remoção de tecidos mortos, cânceres ou tumores, e assim por diante (MEGHWANSI *et al.*, 2020).

As formulações terapêuticas de enzimas, geralmente, são comercializadas como preparações puras liofilizadas com sais tampão biocompatíveis e diluente de manitol. Os custos dessas enzimas são altos, entretanto, não excedem ou são comparáveis com os de medicamentos/tratamento (KUNAMNENI, 2018).

Como biofármacos, as enzimas oferecem bastantes vantagens como alta especificidade e afinidade ao substrato, catálise eficiente com toxicidade reduzida e efeitos colaterais mínimos. A catálise enzimática permite a conversão de múltiplos alvos, incluindo pró-fármacos, simultaneamente nos produtos desejados, permitindo a administração de quantidades menores de dose terapêutica (VACHHER *et al.*, 2021).

3.2.1 Enzimas Oncológicas

O câncer continua sendo uma das principais causas de mortalidade global, apesar dos esforços substanciais feitos para combater essa doença. Os medicamentos quimioterápicos convencionais como paclitaxel, docetaxel, cisplatina, bleomicina e doxorrubicina carecem da capacidade de visar seletivamente os tumores. Nesse contexto, enzimas terapêuticas como L-asparaginase, ADI, Arginase e Metioninase, surgiram como intervenções promissoras para a terapia direcionada às células cancerígenas (JANGRA *et al.*, 2024).

As enzimas podem ser utilizadas como agentes potenciais no tratamento do câncer de várias maneiras, como ativando enzimas para liberar a droga de um pró-fármaco (um composto que se transforma em droga ativa na presença de enzima), redução da inflamação, prevenção de patógenos infecciosos e indução da morte de células cancerígenas (SHARIFI *et al.*, 2020).

Segundo Jangra *et al.* (2024), a terapia do câncer baseada em enzimas, como a terapia de privação de aminoácidos, é projetada para explorar as diferenças metabólicas entre células cancerosas e saudáveis. As células cancerosas, a fim de manter seu crescimento acelerado equilibrado, passam por alterações metabólicas importantes, incluindo regulação positiva de oncogenes, plasticidade e aumento na captação de certos aminoácidos.

As enzimas que visam os aminoácidos interferem de maneira específica na disponibilidade desses nutrientes para os tumores que dependem deles, causando a

privação e supressão das células cancerosas, sem prejudicar as células saudáveis normais (JANGRA *et al.*, 2024).

3.2.1.1. Asparaginase

A L-asparaginase (ASNase) pertence à família de enzimas amidohidrolases e tem diversos usos biotecnológicos, como controle microbiano e terapêuticos, como tratamento de doenças autoimunes e infecciosas, manejo de condições hematológicas e oncológicas (RATH *et al.*, 2024).

A enzima é bem conhecida como antitumoral, quimioterápica, usada no tratamento de linfossarcoma, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia linfoblástica crônica, leucemia mieloide, doença de Hodgkin e leucemia linfocítica crônica, devido à sua capacidade de hidrolisar a asparagina exógena presente na corrente sanguínea (Figura 5) (TANDON *et al.*, 2021; NURÇE *et al.*, 2023).

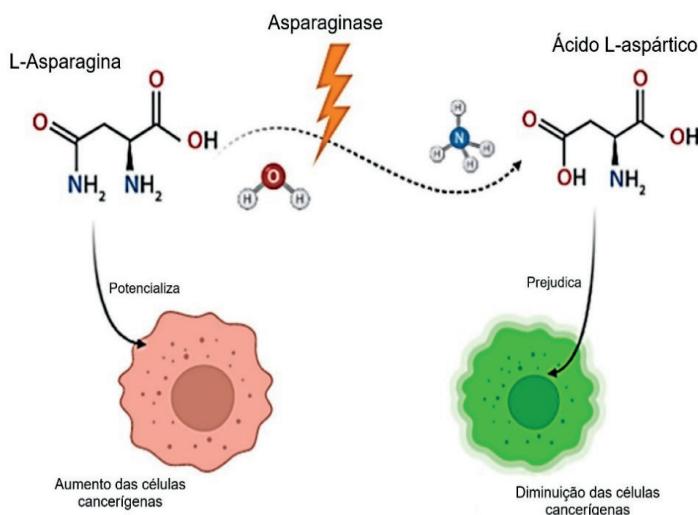


Figura 5. Mecanismo de ação da asparaginase na redução do crescimento de células tumorais.

Fonte: Adaptado de Tandon *et al.*, 2021.

Segundo Vidya *et al.* (2017), a asparagina é um aminoácido não essencial e o corpo humano pode sintetizá-lo por conta própria e não há necessidade de suplementação externa. No entanto, as células cancerígenas são incapazes de sintetizar asparagina devido à falta de atividade da ligase de aspartato. Elas dependem da asparagina circulante extracelular para sobreviver, pois está principalmente envolvida na via de síntese de proteínas e é essencial para a existência das células.

A Asparaginase, geralmente, é formulada para compor soluções de injeção intramuscular ou intravenosa, entretanto, formulações que utilizam entrega lipossomal, nanopartículas e acoplamento ao PEG estão sendo exploradas (VIDYA *et al.*, 2017) (Tabela

1). Esses sistemas de entrega podem minimizar as reações tóxicas, melhorar a estabilidade *in vivo* e ao mesmo tempo manter a atividade catalítica da enzima (PATEL *et al.*, 2022).

Classe	Formulação	Via de administração
ASNase amidohidrolase	Pó cristalino branco liofilizado (225 UI/mg)	Intravenoso ou intramuscular
ASNase de <i>Dickeya chrysanthemi</i>	Pó branco liofilizado (10.000 unidades)	Intravenoso ou intramuscular
ASNase recombinante de <i>Escherichia coli</i>	Pó branco liofilizado solúvel em água (1.000 unidades)	Intravenoso
ASNase peguilada	Solução isotônica e incolor (3.750 UI/5mL)	Intravenoso ou intramuscular

Tabela 1. Descreve as formulações de L-asparaginase.

Fonte: Adaptado de Tandon *et al.*, 2021.

3.2.2 Enzimas Digestivas

Uma das possíveis causas da má absorção é a falta de certas enzimas digestivas decorrente de distúrbios ou funções comprometidas do intestino. Normalmente, a função das enzimas digestivas é digerir os alimentos complexos (carboidratos, lipídios e proteínas) em nutrientes absorvíveis (VACHHER *et al.*, 2021).

A suplementação dessas enzimas digestivas atua como auxiliador na digestão no combate das patologias associadas à desnutrição, que podem ocorrer devido à insuficiência exócrina pancreática ou à ausência de enzimas (VACHHER *et al.*, 2021).

Diversas enzimas auxiliam no processo de deficiência metabólica, como as amilases, que hidrolisam as ligações glicosídicas da molécula do amido; a lactase, que hidrolisa a lactose em galactose e glicose; a invertase, que hidrolisa a sacarose; e a propil endopeptidase, que hidrolisa resíduos internos de prolina em peptídeos (KUNAMneni, 2018; VACHHER *et al.*, 2021).

3.2.2.1. Lactase

A lactose é um dissacarídeo presente em concentrações variadas no leite (WALKER & THOMAS, 2019), sendo a sua hidrólise realizada pela ação da lactase formando D-glicose e D-galactose (NIAMAH *et al.*, 2023).

Essa enzima, também conhecida como *lactase phlorizin hydrolase* (LPH) ou β-galactosidase é uma glicoproteína integral que atravessa a membrana apical dos enterócitos maduros e está ancorado uniformemente à membrana da borda em escova das células epiteliais de todas as vilosidades do duodeno e jejuno-íleo (WALKER & THOMAS, 2019; SZILAGYI, 2019).

A intolerância à lactose é devida à falta de atividade da lactase resultando na

incapacidade de hidrolisar o dissacarídeo e absorver seus componentes em circulação (NIAMAH *et al.*, 2023). Desse modo, a lactose se acumula no trato digestivo dos indivíduos afetados que ingerem produtos lácteos causando efeitos adversos como cólicas, flatulência, diarreia e desconforto abdominal (WALKER & THOMAS, 2019; NIAMAH *et al.*, 2023).

O tratamento inicial consiste na suspensão temporária do consumo de leite e seus derivados. No entanto, a eliminação completa da lactose deve ser evitada, uma vez que esses alimentos são fontes importantes de nutrientes e vitaminas, podendo resultar em deficiência nutricional (ALVES *et al.*, 2021).

Segundo Deng *et al.* (2023), a dieta sem lactose pode causar alguns problemas nutricionais, como deficiências de cálcio, fósforo e vitamina D que pode levar à mineralização óssea insuficiente. Nos últimos anos, a lactase tornou-se um suplemento dietético cada vez mais popular com melhor adesão do paciente, pois não altera adversamente a qualidade dos alimentos ou o estado nutricional da dieta.

Os suplementos dietéticos conseguem quebrar cerca de 70%–80% da lactose presente no alimento, desse modo, a enzima comercial está se tornando popular em todo o mundo e está disponível em formas como gotas, cápsulas, comprimidos e pó (DENG *et al.*, 2023).

As preparações de lactase oral são fáceis de usar, têm longa vida útil e são especialmente adequadas para pessoas com intolerância à lactose que precisam usar lactase a longo prazo (DENG *et al.*, 2023). Elas também oferecem benefícios para médicos e para a indústria, tais como administração flexível, ausência da necessidade de equipamentos especiais ou de profissionais altamente treinados e baixos custos de produção (LIU *et al.*, 2017).

Segundo Hebbink & Dickhoff (2019), a lactose também é utilizada como excipiente na indústria farmacêutica presente em 60% a 70% das formulações de doses sólidas orais registradas. A lactose desempenha um papel importante como preenchedor/aglutinante: preenche a forma de dosagem, permitindo que a formulação flua mais facilmente e fornece a aglutinação necessária na fabricação de comprimidos compactos.

4 | CONCLUSÕES

As enzimas são biocatalisadores eficientes utilizados em diversos processos industriais, incluindo farmacêuticos, devido à sua capacidade de acelerar reações específicas com alta seletividade. As enzimas desempenham um papel crucial na síntese de fármacos, contribuindo para a produção de compostos quirais essenciais com elevada pureza e eficiência como na produção de sitagliptina e pregabalina, enfatizando as vantagens da biocatálise sobre os métodos químicos tradicionais. Eles também são utilizados em aplicações terapêuticas, como terapia direcionada a células cancerígenas e tratamento de distúrbios digestivos. Portanto, o estudo contribuiu para elucidar a importância das enzimas

e sua grande aplicação na indústria farmacêutica.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, ao Instituto de Ciência e Tecnologia, aos Programas de Pós-Graduação em Biocombustíveis e Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo suporte ao desenvolvimento do trabalho. Aos órgãos de fomento FAPEMIG, CAPES e CNPq.

REFERÊNCIAS

ALVES, Alex Santos; LIMA, Nádia Cristina de; MARTINS, Guilherme Bandeira Cândido. Differentiation of diagnoses and treatments between milk allergy and intolerance. 2021.

ARNOLD, Frances H. **Innovation by evolution: bringing new chemistry to life (Nobel Lecture).** Angewandte Chemie International Edition, v. 58, n. 41, p. 14420-14426, 2019.

ARROYO, Miguel et al. **Biocatalysis for industrial production of active pharmaceutical ingredients (APIs).** Biotechnology of microbial enzymes, p. 451-473, 2017.

ATALAH, Joaquín et al. **Thermophiles and the applications of their enzymes as new biocatalysts.** Bioresource technology, v. 280, p. 478-488, 2019.

ATONAL-FLORES, Beatriz; DE LA LUZ LEÓN-VÁZQUEZ, María; BARRANCO-JUAREZ, Armando. **Indicadores de diabetes mellitus posterior a liraglutida, sitagliptina/metformina, linagliptina y sitagliptina.** Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social, v. 61, n. 4, p. 489, 2023.

DEGÓRSKA, Oliwia et al. **A biocatalytic approach for resolution of 3-hydroxy-3-phenylpropanonitrile with the use of immobilized enzymes stabilized with ionic liquids.** Computational and Structural Biotechnology Journal, v. 21, p. 1593-1597, 2023.

DENG, Ziyu et al. **Strategies for lactase immobilization and delivery to relieve lactose intolerance.** Trends in Food Science & Technology, p. 104244, 2023.

HAUER, Bernhard. **Embracing nature's catalysts: a viewpoint on the future of biocatalysis.** Acs Catalysis, v. 10, n. 15, p. 8418-8427, 2020.

HEBBINK, Gerald A.; DICKHOFF, Bastiaan HJ. **Application of lactose in the pharmaceutical industry.** In: Lactose. academic press, 2019. p. 175-229.

JANGRA, Nikita et al. **Recent trends in targeted delivery of smart nanocarrier-based microbial enzymes for therapeutic applications.** Drug Discovery Today, p. 103915, 2024.

KHOPADE, Kishor V. et al. **Highly Enantioselective Synthesis of Sitagliptin.** Asian Journal of Organic Chemistry, v. 9, n. 2, p. 189-191, 2020.

KIM, Suhyeon et al. **Multidisciplinary approaches for enzyme biocatalysis in pharmaceuticals: protein engineering, computational biology, and nanoarchitectonics.** EES Catalysis, v. 2, n. 1, p. 14-48, 2024.

KUNAMNENI, Adinarayana; OGAUGWU, Christian; GOLI, Diwakar. **Enzymes as therapeutic agents**. In: Enzymes in human and animal nutrition. Academic Press, 2018. p. 301-312.

LI, Guangye; WANG, Jian-bo; REETZ, Manfred T. **Biocatalysts for the pharmaceutical industry created by structure-guided directed evolution of stereoselective enzymes**. Bioorganic & medicinal chemistry, v. 26, n. 7, p. 1241-1251, 2018.

LIN, Chao-Ping et al. **Development of a Sustainable Chemoenzymatic Process for (S)-Pregabalin Synthesis via Nitrilase-Catalyzed Hydrolysis and Continuous Flow Racemization**. Organic Process Research & Development, v. 28, n. 5, p. 1886-1895, 2024.

LIU, Lin et al. **pH-Responsive carriers for oral drug delivery: challenges and opportunities of current platforms**. Drug Delivery, v. 24, n. 1, p. 569-581, 2017.

LIU, Xiangyang; KOKARE, Chandrakant. **Microbial enzymes of use in industry**. In: Biotechnology of microbial enzymes. Academic Press, 2023. p. 405-444.

MARTINEZ, Carlos A. et al. **Development of a chemoenzymatic manufacturing process for pregabalin**. Organic Process Research & Development, v. 12, n. 3, p. 392-398, 2008.

MATHIESON, Stephanie et al. **Pregabalin and gabapentin for pain**. Bmj, v. 369, 2020.

MEGHWANSI, Gautam Kumar et al. **Enzymes for pharmaceutical and therapeutic applications**. Biotechnology and applied biochemistry, v. 67, n. 4, p. 586-601, 2020.

MIRANDA, Javiera et al. **Enzyme Engineering Strategies for the Bioenhancement of L-Asparaginase Used as a Biopharmaceutical**. BioDrugs, v. 37, n. 6, p. 793-811, 2023.

MORDO INTELLIGENCE. **Pharmaceutical manufacturing market size & share analysis – Growth trends & forecasts (2024 – 2029)**. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/pharmaceutical-manufacturing>. Acesso em 11 de Fevereiro de 2024.

NIAMAH, Alaa Kareem et al. **Chemistry and Sources of Lactase Enzyme with an Emphasis on Microbial Biotransformation in Milk**. Microbial Bioreactors for Industrial Molecules, p. 315-332, 2023.

NOGUEIRA, Eloísa Alves et al. **Otimização das condições de cultivo do fungo filamentoso Fusarium sp. EA 1.3. 7 para a produção de xilanases**. Biotemas, v. 34, n. 1, p. 5, 2021.

NURÇE, Zeycan; GEZGIN, Yüksel; HAMEŞ, Elif Esin. **Antitumor activity of urease-free L asparaginase with low glutaminase coactivity produced by marine-derived Aspergillus flavus**. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, v. 54, p. 102958, 2023.

PATEL, Payal G. et al. **Exploring current scenario and developments in the field of microbial L-asparaginase production and applications: A review**. Process Biochemistry, v. 121, p. 529-541, 2022.

PATEL, Ramesh N. **Biocatalysis for synthesis of pharmaceuticals**. Bioorganic & medicinal chemistry, v. 26, n. 7, p. 1252-1274, 2018.

PRECEDENCE RESEARCH. **Enzymes market size, share, growth, trends, report 2023 to 2032**. Disponível em: <https://www.precedenceresearch.com/enzymes-market>. Acesso em: 11 Fevereiro de 2024.

RATH, Gupteswar et al. **Unveiling the anticancer potential of L-Asparaginase (ASNase) from novel Streptomyces isolate HB2AG: Purification and characterization study.** The Microbe, v. 3, p. 100076, 2024.

RIGO, Diane et al. **Produção microbiológica de enzimas: Uma revisão.** Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 1, p. 9232-9254, 2021.

ROCHA, Adeline Cristina Pereira; ROCHA, Alessandro Santos; SILVEIRA, Rafaela Lopes da; OLIVEIRA, Mábili Mitalli Correia de; KATO, Kelly Cristina; BENASSI, Vivian Machado. **Lipases na indústria farmacêutica: estudo de revisão sobre sua aplicação na síntese de fármacos.** Ponta Grossa: Atena, 2022. 242 p.

ROSSINO, Giacomo et al. **Biocatalysis: A smart and green tool for the preparation of chiral drugs.** Chirality, v. 34, n. 11, p. 1403-1418, 2022.

SAJEEV, Suraj C.; DESHMUKH, Roshan. **Enzymes market statistics, growth drivers – Forecast 2031.** Allied Market Research, 2022. Disponível em: <https://www.alliedmarketresearch.com/enzymes-market>. Acesso em: 11 de Fevereiro de 2024.

SAVILE, Christopher K. et al. **Biocatalytic asymmetric synthesis of chiral amines from ketones applied to sitagliptin manufacture.** Science, v. 329, n. 5989, p. 305-309, 2010.

SHARIFI, Majid et al. **Enzyme immobilization onto the nanomaterials: Application in enzyme stability and prodrug-activated cancer therapy.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 143, p. 665-676, 2020.

SIMIĆ, Stefan et al. **Shortening synthetic routes to small molecule active pharmaceutical ingredients employing biocatalytic methods.** Chemical Reviews, v. 122, n. 1, p. 1052-1126, 2021.

SUN, Huihua et al. **Biocatalysis for the synthesis of pharmaceuticals and pharmaceutical intermediates.** Bioorganic & medicinal chemistry, v. 26, n. 7, p. 1275-1284, 2018.

SZILAGYI, Andrew. Digestion, absorption, metabolism, and physiological effects of lactose. In: **Lactose.** Academic Press, 2019. p. 49-111.

TANDON, Siddhi et al. **Therapeutic enzymes: discoveries, production and applications.** Journal of Drug Delivery Science and Technology, v. 63, p. 102455, 2021.

VACHHER, Meenakshi et al. **Microbial therapeutic enzymes: A promising area of biopharmaceuticals.** Current Research in Biotechnology, v. 3, p. 195-208, 2021.

VIDYA, J. et al. **Therapeutic enzymes: L-asparaginases.** In: Current Developments in Biotechnology and Bioengineering. Elsevier, 2017. p. 249-265.

WALKER, Catherine; THOMAS, Mark G. **The evolution of lactose digestion.** In: Lactose. Academic Press, 2019. p. 1-48.

ZHANG, Qin et al. **Efficient chemoenzymatic synthesis of optically active pregabalin from racemic isobutylsuccinonitrile.** Organic Process Research & Development, v. 23, n. 9, p. 2042-2049, 2019.