



Aplicação de Planejamento Experimental na Síntese de Fenitoína

Fernanda Cursino Villela

Projeto de Final de Curso

Orientador:

Prof.^a Erika Christina Ashton Nunes Chrisman, DSc

Agosto de 2018

Aplicação de Planejamento Experimental na Síntese de Fenitoína

Fernanda Cursino Villela

Projeto Final de Curso submetido ao corpo docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenheiro Químico.

Aprovado por:

Daniel Weingart Barreto, D.Sc.

Raquel Massad Cavalcante, D.Sc.

Marcelo Oliveira Queiroz de Almeida, Eng. Petrol

Orientado por:

Erika Christina Ashton N. Chrisman, Dsc

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Agosto de 2018

Villela, Fernanda Cursino.
Aplicação de Planejamento Experimental na síntese de Fenitoina/Fernanda Cursino Villela. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2018.
viii, 46 p.; il.
(Projeto Final de Curso) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2018.
Orientadores: Erika Christina Ashton N. Chrisman
1.Fenitoina 2.Planejamento Experimental 3.Otimização
4.Projeto Final (Graduação – UFRJ/EQ) 5. Erika Christina Ashton N. Chrisman
I.Título

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por sempre me apoiarem e acreditarem em mim, me dando aquele “empurrãozinho” muitas vezes necessário.

Ao meu irmão, pelo companheirismo nesses 23 anos, mas principalmente pelos últimos 4 de intensa convivência.

Aos meus avós, sem sua ajuda os últimos anos seriam mais difíceis.

À minha orientadora Prof^a Erika Nunes por ter aceitado me orientar e por toda a dedicação, apoio e atenção, principalmente nas horas mais corridas.

À Prof^a Tatiana Félix pelo tempo e espaço cedido para realização da análise de espectro de ultravioleta.

Ao Prof^o Luiz Antônio d'Avila e à Amanda Franco do LABCOM pelas análises de espectro infravermelho.

Resumo do Projeto Final de Curso apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para conclusão do curso de Engenharia Química.

Aplicação de Planejamento Experimental na Síntese de Fenitoína

Fernanda Cursino Villela

Agosto, 2018

Orientadora: Erika Christina Ashton N. Chrisman

A Fenitoína é um farmoquímico utilizado como princípio ativo de um dos medicamentos mais conhecidos no tratamento de convulsões em pacientes com epilepsia. A epilepsia atinge 50 milhões de pessoas no mundo, tendo 2,4 milhões de novos casos a cada ano, o que a torna a 4^a condição neurológica mais comum. A síntese da Fenitoína é descrita em três etapas, o aldeído benzoico sofre condensação gerando a benzoina; que é oxidada à benzila, que por sua vez é a precursora da Fenitoína. A primeira etapa foi considerada economicamente inviável de ser realizada no Brasil e a segunda etapa apresenta alto rendimento; portanto, a terceira etapa foi o foco deste trabalho. Este projeto de final de curso teve por objetivo a análise da influência das condições reacionais usadas na síntese da fenitoína. Um planejamento fatorial completo, com três fatores com dois níveis e réplicas no ponto central, foi realizado para determinar a importância das variáveis estudadas: razão molar ureia/benzila, razão molar KOH/ureia e tempo de reação. A variável resposta foi o rendimento da reação. A análise estatística dos dados realizada no *software Design Expert* verificou a significância das variáveis e suas interações, assim como a natureza e magnitude de seus efeitos no rendimento da reação. Todas as variáveis se mostraram estatisticamente significativas, sendo a razão molar ureia/benzila a de maior influência, seguido pelo tempo. As interações entre as variáveis não são significativas, com exceção da interação entre as razões molares. Foram obtidos diversos gráficos para interpretação dos resultados e foi analisada a adequação do modelo.

ÍNDICE

1. Introdução	1
1.1 Contextualização	1
2. Objetivo	3
2.1. Objetivos Específicos	3
2.2. Estrutura	4
3. Revisão Bibliográfica	5
3.1. Mercado.....	7
3.2. Síntese de Fenitoína	9
3.2.1 Primeira Etapa	11
3.2.2 Segunda Etapa	13
3.2.3 Terceira Etapa	15
3.3 Planejamento Experimental.....	18
4. Metodologia	21
4.1 Obtenção da Fenitoína.....	21
4.1.1 Obtenção de benzila a partir de benzoína (etapa 2).....	21
4.1.2 Obtenção da Fenitoína a partir da Benzila (etapa 3)	22
5. Resultados e Discussões	26
5.1 Caracterização do produto e cálculo do rendimento	26
5.2 Software Design Expert	33
6. Conclusão	43
Referências	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Quantidade importada de fenitoína	2
Figura 2 – Molécula de Fenitoína.....	5
Figura 3 – Gráfico comparativo de preço de fenitoína e benzaldeído.....	8
Figura 4 – Gráfico comparativo de benzaldeído e benzoína	9
Figura 5 – Esquema das etapas na síntese de fenitoína	10
Figura 6 – Mecanismo da primeira etapa	11
Figura 7 – Mecanismo da segunda etapa.....	14
Figura 8 – Mecanismo da terceira etapa.....	15
Figura 9 – Espectro de IV da Benzila.....	27
Figura 10 – Espectro de IV da Benzila padrão	27
Figura 11 – Espectro de IV da Fenitoína.....	28
Figura 12 – Espectro de IV da Fenitoína padrão	28
Figura 13 – Espectro UV da Benzila e Fenitoína	29
Figura 14 – Espectro UV da Benzila.....	30
Figura 15 – Espectro UV da Fenitoína	30
Figura 16 – Gráfico de Absorbância vs Concentração da Fenitoína padrão	31
Figura 17 – Gráfico com valores Preditos vs Observados	38
Figura 19 – Gráfico de perturbação das variáveis	39
Figura 20 – Gráfico de interação das variáveis A e B	40
Figura 21 – Gráfico de interação entre as variáveis A e C.....	41
Figura 22 – Gráfico de interação das variáveis B e C	41

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Medicamentos antiepilépticos aprovados para tratamento de convulsões nos EUA	6
Tabela 2 – Quadro resumo das variáveis estudadas na terceira etapa	16
Tabela 3 – Variáveis investigadas no planejamento e suas faixas.....	24
Tabela 4 – Matriz de planejamento experimental na forma real	24
Tabela 6 – Dados de Absorbância e Concentração das amostras	32
Tabela 7 – Dados para cálculo do rendimento	33
Tabela 8 – Dados inseridos no programa Design Expert	34
Tabela 9 – Resultados do Design Expert (Efeitos e Contribuições).....	34
Tabela 10 – Teste de hipóteses Design Expert	35
Tabela 11 – Teste de hipóteses sem termos não significativos	36
Tabela 12 – Comparação valor real e previsto	37

1. Introdução

1.1 Contextualização

Fenitoina é o nome mais usual do químico 5,5-difenilimidazolidina-2,4-diona, cuja principal utilização é como princípio ativo de um dos medicamentos mais usados no tratamento de convulsões em pacientes com epilepsia.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 50 milhões de pessoas no mundo sofrem de epilepsia, tornando-a uma das doenças neurológicas mais comuns – a 4ª condição mais comum do mundo, segundo a Epilepsy Foundation. Globalmente, são estimados 2,4 milhões de novos casos a cada ano, sendo pelo menos metade começando na infância ou adolescência.

Quando a epilepsia é definida como convulsões recorrentes e não provocadas, a incidência média anual em países desenvolvidos é entre 40-70 pessoas a cada 100.000 da população. Já em países em desenvolvimento, esse número é muito maior, em torno de 100-190, por ano. Incidência é definida com a frequência de novo caso da doença em uma população definida em um período de tempo especificado. A principal razão desse aumento da incidência é o maior risco de dano cerebral permanente devido a doenças como malária, meningite e complicações pré e perinatal (Sander, 2003).

A OMS estima que 80% da população epiléptica viva em países de baixa e média renda, sendo, desses, oito milhões de pessoas na América Latina. O seu tratamento é relativamente simples e cerca de 70% dos pacientes conseguem controlar as convulsões com monoterapia com medicamentos eficientes e de baixo custo (como a difenilhidantoina). Entretanto, nesses países, cerca de $\frac{3}{4}$ dos pacientes não conseguem o tratamento que precisam.

Segundo dados de exportação e importação disponíveis no site PharmaCompass.com, o preço médio de um dos produtos mais usados, a Oxcarbazepina, é mais de quatro vezes superior ao da Fenitoína, 158 USD/Kg contra 36 USD/Kg.

Com base nos fatos apresentados, a fenitoína se mostra uma das melhores opções no tratamento da epilepsia, principalmente em pacientes com crises parciais. Os demais medicamentos reconhecidos como de primeira linha ou possuem efeitos adversos severos ou são mais custosos.

No Brasil, segundo dados da ABIQUIM (Associação Brasileira da Indústria Química), há somente uma empresa com registro de produção de fenitoína, a NORTEC em Duque de Caxias, RJ. Como essa produção não é suficiente para suprir a demanda nacional dos laboratórios farmacêuticos há importação de grandes volumes desse químico, como mostrado na Figura 1.

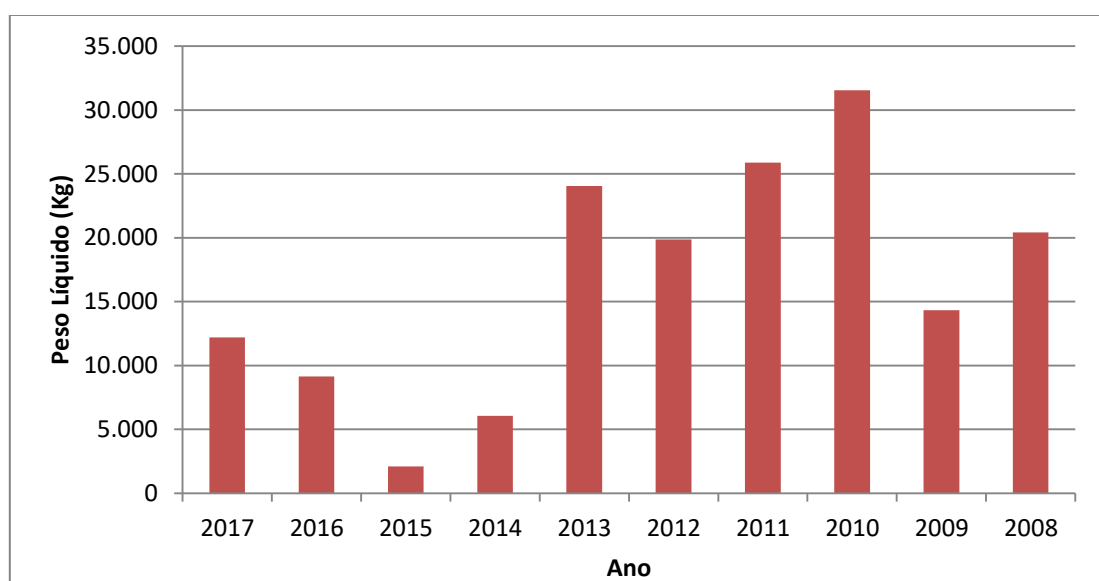


Figura 1 - Quantidade importada de fenitoína
Fonte: Adaptado de dados de importação do Comex Stat

Em 2015 houve uma queda acentuada nas importações de fenitoína. Segundo o Conselho Federal de Farmácia (2016), isso ocorreu, pois a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) suspendeu a importação do princípio ativo proveniente de um laboratório mexicano. Tal fato levou à paralização temporária da produção de Hidantal (medicamento a base de fenitoína) pelo laboratório farmacêutico Sanofi, prejudicando a vida de milhares de pacientes.

Com isso, destaca-se a importância de produzir o princípio ativo no Brasil, de forma a não depender das importações, uma vez que se trata de um dos medicamentos mais usados em pacientes epiléticos.

Por se tratar de um produto de química fina, entende-se que um estudo sobre o processo de síntese da fenitoína seria bastante vantajoso. O entendimento das influências das variáveis de processo poderão ocasionar propostas de melhorias no processo de obtenção da fenitoína, e viabilizar a sua obtenção no Brasil.

2. Objetivo

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a influência das variáveis de processo na síntese da Fenitoína – a partir da segunda etapa – usando planejamento experimental visando a otimização deste processo.

2.1. Objetivos Específicos

- Estudar a síntese de fenitoína;
- Determinar parâmetros e os níveis que influenciam o rendimento;
- Aplicar planejamento fatorial;
- Avaliar influência dos parâmetros;
- Tentar propor um modelo estatístico adequado;
- Comprovar obtenção dos produtos por IV e UV

2.2. Estrutura

O presente texto divide-se em 6 capítulos:

- O primeiro capítulo tem o objetivo de introduzir contexto e a motivação do trabalho, apoiado pelo estudo mercadológico.
- No segundo capítulo são apresentados os objetivos deste trabalho, divididos em geral e específicos.
- O terceiro capítulo tem como objetivo fazer uma revisão bibliográfica sobre estudos relevantes das três etapas da síntese da Fenitoína, assim como uma breve introdução sobre Planejamento Experimental;
- No quarto capítulo é descrita a metodologia aplicada no Planejamento Experimental e escolha das variáveis, e os materiais e métodos utilizados na obtenção da fenitoína.
- No quinto capítulo são expostos os resultados obtidos com a caracterização do produto e pelo software *Design Expert*.
- No sexto capítulo são apresentadas as conclusões do trabalho e as sugestões para trabalhos futuros.

3. Revisão Bibliográfica

A molécula de fenitoína é formada por dois grupamentos fenil ligados a um anel de hidantoína, como mostrado na Figura 2.

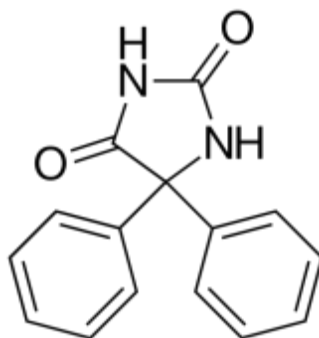


Figura 2 - Molécula de Fenitoína

Fonte: Elaboração própria

O seu principal uso é no controle de convulsões em pacientes portadores de epilepsia, sendo altamente eficiente e, portanto, um dos anticonvulsantes mais comumente usados na América do Norte. Pode ser ministrada oralmente em forma de comprimido (de fenitoína ou seu sal sódico), ou por injeção intravenosa lenta (na forma de fenitoína sódica).

Esse medicamento é mais usado para convulsões de início parcial, que são aquelas que começam em um dos lados do cérebro, porém também é usado para prevenir que convulsões ocorram durante ou depois de cirurgias no cérebro ou após traumatismos graves na cabeça (Epilepsy Foundation). Acredita-se que a Fenitoína estabilize, ao em vez de aumentar, o limiar de convulsão e limite o avanço da atividade convulsionante. A fenitoína também possui propriedades antiarrítmicas, as quais foram descobertas na década de 1950. (GOODMAN GILMAN *et al.*, 1990; REYNOLDS, 1993).

A epilepsia é uma condição em que a pessoa sofre de repetidas convulsões não provocadas. Durante uma convulsão, as células cerebrais se comportam de maneira hiperexcitável, interrompendo sua função habitual e produzindo manifestações involuntárias no corpo (World Health Organization: Epilepsy). A fenitoína atua no

córtex motor, exercendo um efeito estabilizante nas membranas de diversas células, incluindo neurônios e miócitos cardíacos. Dessa forma, estabiliza contra a hiperexcitabilidade, controlando os químicos cerebrais que enviam sinais para os nervos, impedindo que a convulsão ocorra (JONES & WIMBISH, 1985).

O tratamento adequado, idealmente, varia de paciente para paciente, levando em consideração o tipo de convulsão e/ou síndrome assim como as necessidades particulares de cada paciente. Em países em desenvolvimento, porém, a oferta de medicamentos é limitada e uma análise do mercado indica que os fatores determinantes para a escolha de anticonvulsante são o preço e a disponibilidade, não necessariamente a eficiência ou ausência de efeitos adversos (OMS, 2006).

Os principais medicamentos usados na epilepsia encontram-se na Tabela 1. Cabe ressaltar que existem outros medicamentos, porém são considerados apenas os tidos como agentes de primeira linha, ou seja, os de uso preferencial.

Tabela 1 - Medicamentos antiepilépticos aprovados para tratamento de convulsões nos EUA

Convulsão Tônico-Clônica	Crises Parciais*	Crises de Ausência	Ausência Atípica Mioclônica e Convulsões Atônicas
<i>Agentes de primeira linha</i>			
Ácido Valproico Lamotrigina Topiramato	Carbamazepina Fenitoína Oxcarbazepina Ácido Valproico	Ácido Valproico Etossuximida	Ácido Valproico Lamotrigina Topiramato

*Inclui crise parcial simples e complexa e convulsões generalizadas secundárias.

Fonte: Adaptado de Goldenberg (2010)

Logo no início da investigação de suas propriedades, a difenilhidantoina destacou-se por sua impressionante capacidade em controlar convulsões, sem os efeitos sedativos associados com o fenobarbital (medicamento mais utilizado na época e que, atualmente, é considerado um agente de segunda linha). Estudos clínicos mostram que o fenobarbital é significativamente mais provável de ser afastado do tratamento do que a

fenitoina, com uma razão de risco (HR)¹ de 1,62, principalmente devido aos seus efeitos adversos (Colaboração Cochrane, 2003).

Goldenberg (2010) realizou um *overview* sobre os principais medicamentos usados no tratamento da epilepsia. Neste, são apresentadas as principais características das drogas, assim como suas advertências e efeitos adversos. A carbamazepina e o ácido valproico possuem a mais forte advertência feita pelo órgão regulador americano, a FDA (*Food and Drugs Administration*): a “advertência da caixa preta da FDA” é usada quando estudos médicos concluem que o medicamento possui risco de efeitos adversos severos ou, até mesmo, risco de vida.

Em 2006, a Colaboração Cochrane fez um estudo comparativo da oxcarbazepina (que tem propriedades químicas semelhantes a carbamazepina) e a fenitoina quando usadas como monoterapia em pacientes com epilepsia. Nenhuma vantagem clínica foi identificada em nenhuma das drogas no que diz respeito a remissão, entretanto a fenitoina tem maior probabilidade de ser removida do tratamento devido aos efeitos adversos. A vantagem da fenitoina está no seu custo.

3.1. Mercado

A Fenitoina é sintetizada a partir de benzila, em condensação com ureia em catalise básica. Entretanto, é usual encontrar na literatura sua síntese descrita como uma reação de três etapas, partindo do aldeído benzoico, que sofre condensação e forma a benzoína que, por sua vez é oxidada, gerando a benzila (Figura 5). Nenhum dos precursores (benzaldeído, benzoina ou benzila) é produzido internamente, sendo inteiramente importados.

A grande diferença de preço entre a Fenitoina e seu precursor, Benzaldeído pode ser observada na Figura 3.

¹ Razão de Risco (Hazard Ratio) é um índice de incidência cuja interpretação é a razão entre o risco do grupo droga pelo risco do grupo placebo.

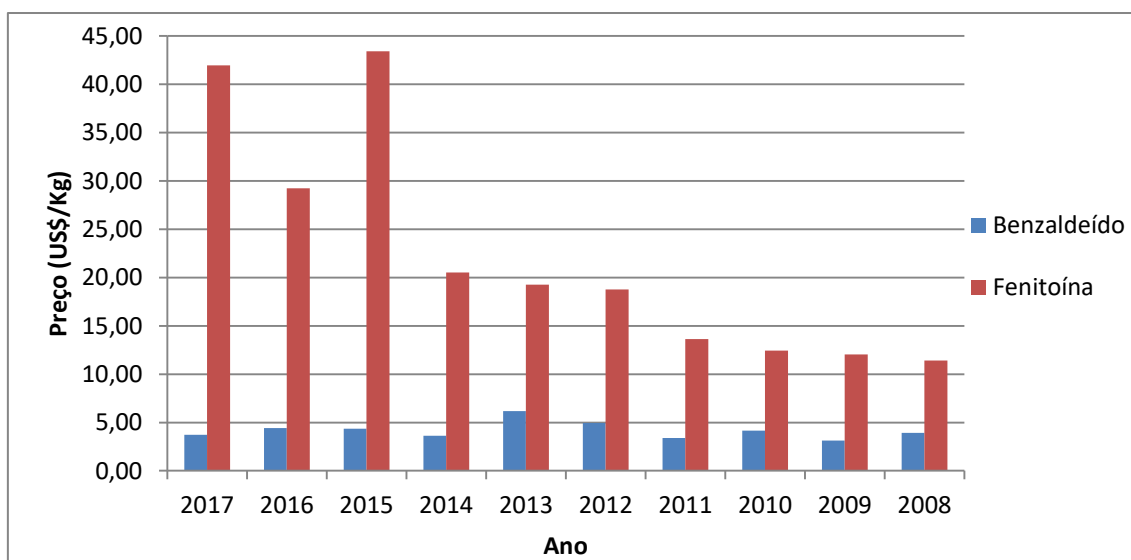


Figura 3– Gráfico comparativo de preço de fenitoína e benzaldeído
 Fonte: Adaptado de dados de importação do Comex Stat

No último ano, o preço da fenitoína foi mais de dez vezes superior ao do benzaldeído, 41,97 US\$/Kg contra 3,72 US\$/Kg, respectivamente.

Como pode ser visto na Figura 4, o custo do benzaldeído é similar ao da benzoina – seu produto da condensação (1ª etapa). No último ano, o preço do benzaldeído foi de 3,72 US\$/Kg, contra 3,68 US\$/Kg da benzoina. Em anos anteriores, o preço do benzaldeído chegou a superar significativamente o da benzoina, sendo o ano de 2013 quando houve a maior diferença, 6,19 US\$/Kg contra 3,94US\$/Kg, respectivamente, o que representa um custo 57% maior.

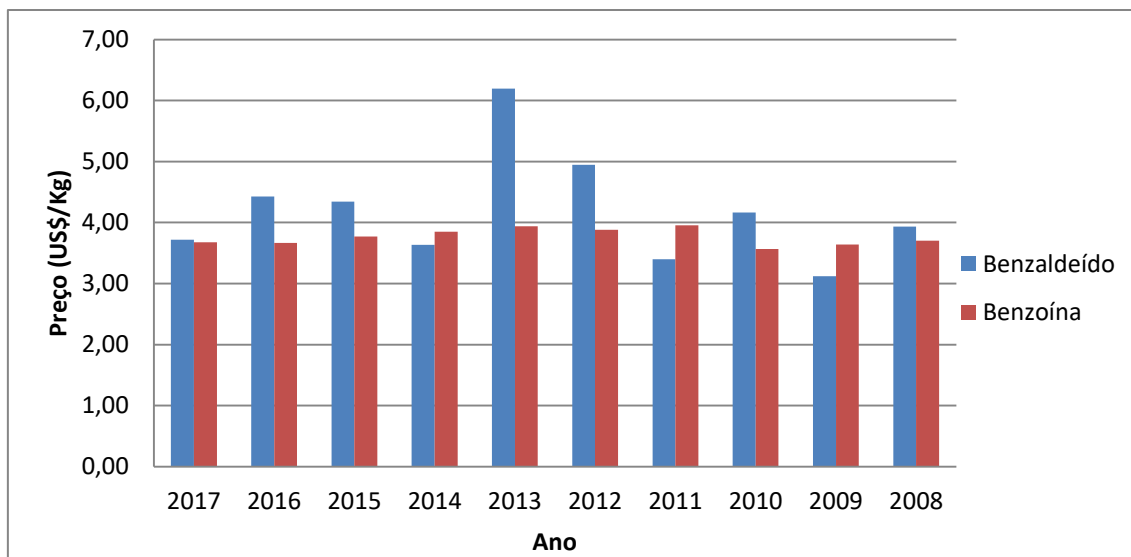


Figura 4– Gráfico comparativo de benzaldeído e benzoína
 Fonte: Adaptado de dados de importação do Comex Stat

Tal fato leva a conclusão que não é economicamente viável, no Brasil, realizar a síntese a partir da primeira etapa, uma vez que ambos são importados e os custos para a produção de benzoína superariam o seu custo de importação.

3.2. Síntese de Fenitoína

A molécula de fenitoína foi primeiramente sintetizada por Michael em 1887, entretanto esse fato é muitas vezes atribuído ao químico alemão Heinrich Blitz, por ter sido o primeiro a explicar corretamente sua estrutura. Blitz descreveu em 1908 pela primeira vez a sua síntese a partir da condensação de benzila com ureia, em catalise básica – reação que ficou conhecida como síntese de Blitz (KONRATH *et al.*, 2012)

Foi somente após 28 anos, em 1936, que a poderosa atividade anti-convulsante da fenitoína foi descoberta por Tracy Putnam e Houston Merriot do Hospital da Cidade de Boston. A descoberta fez com que se tornasse um dos fármacos mais largamente estudados no mundo no século XX. À época da descoberta, os pesquisadores participavam de um grupo que estava à procura de novos tratamentos para as

convulsões epilépticas. Em um de seus estudos, se depararam com a relação entre a presença de fenil conjugado no organismo de pacientes e a inexistência de convulsões. Tal fato fez com que as pesquisas se voltassem para derivados de fenil e, portanto, da difenilhidantoína (ANDERSON, 2009).

Como mencionado no capítulo anterior, a síntese da Fenitoína é realizada a partir de uma dicetona, a benzila. Entretanto, é tradicionalmente descrita na literatura com sua síntese partindo de um precursor mais simples – o benzaldeído; o que acrescenta duas etapas na rota sintética (GENNARO, 1995), conforme mostrado na Figura 5.

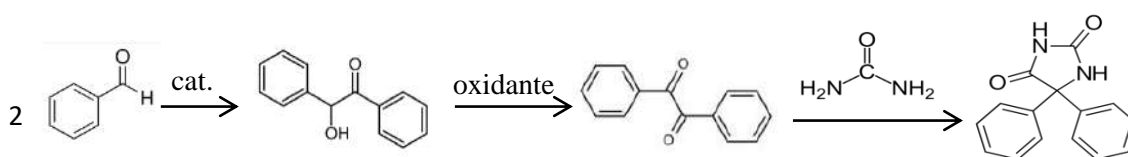


Figura 5 – Esquema das etapas na síntese de fenitoína

Fonte: Elaboração própria

- Etapa 1: Condensação do benzaldeído à benzoína, realizada na presença de catalisador adequado;
- Etapa 2: Oxidação da benzoína à benzila;
- Etapa 3: Condensação de benzila através de catalise básica com uréia.

A rota sintética, como descrita anteriormente, apresenta baixo rendimento global, de apenas 45,2%, quando realizada de acordo com o procedimento clássico de aquecimento convencional em placa de agitação magnética (KONRATH *et al.*, 2012). Por esse motivo e, tendo em vista a relevância desse fármaco mundialmente utilizado, diversos estudos já foram realizados em busca de alternativas que aumentem o rendimento da reação.

Nos itens 3.1.1 a 3.1.3, são apresentadas as informações da revisão bibliográfica realizada para cada uma das etapas da rota.

3.2.1 Primeira Etapa

O procedimento clássico dessa síntese é descrito na literatura usando como catalisador o íon cianeto, em meio alcalino. A etapa envolve a condensação de benzaldeído, promovida pelo catalisador, formando uma alfa-hidroxicetona (a benzoína) de acordo com o mecanismo da figura 6. O rendimento dessa etapa é o mais baixo da rota sintética, apenas 68,7% (KONRATH *et al.*, 2012)

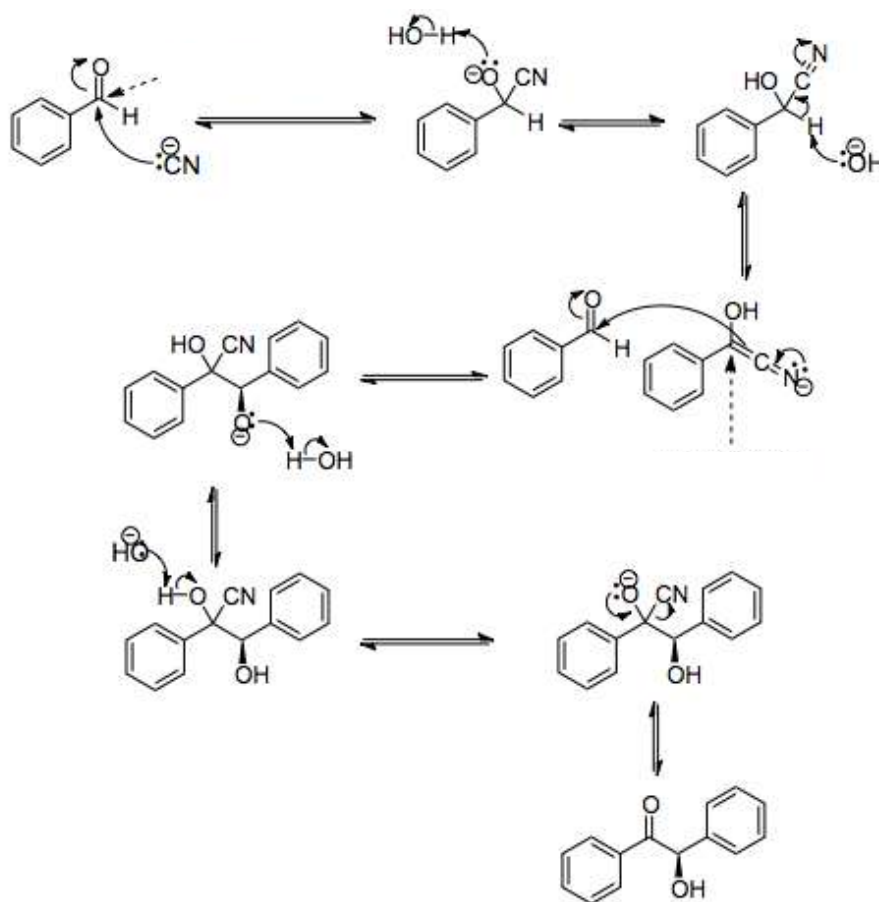


Figura 6- Mecanismo da primeira etapa

Fonte: Elaboração própria

Os estudos que buscam novos métodos de melhorar o rendimento não passam pelo catalisador original. Isso se deve ao fato do catalisador em questão ser extremamente

tóxico, o que vai à contramão da química atual, que busca processos cada vez mais verdes².

Dentre as pesquisas, as que se destacam envolvem estudos sobre o potencial catalítico de carbenos³ oriundos de sais de imidazólio.

A utilização de sais de imidazólio para síntese de derivados de benzoina utilizando ultrassom consegue atingir rendimentos superiores a 97%, enquanto que o mesmo método com cianeto de potássio alcança no máximo 90% (SAFARI *et al.*, 2015). Tal estudo evidencia não somente a superioridade do catalisador estudado frente ao íon cianeto, como também do método de ultrassom. Ambos os artigos que utilizam cianeto como catalisador, usaram proporções similares de reagentes, sendo o tipo de aquecimento o fator mais relevante que altera o rendimento.

Outro método estudado que também se mostrou superior ao aquecimento convencional é o uso de micro-ondas. Konrath *et al.* (2012) comparou o uso dos dois métodos para a mesma reação com a mesma proporção de reagente e obteve maior rendimento com o uso do micro-ondas (86,7%).

Ao aprofundar os estudos nos tipos de sais de imidazólio, apesar de todos apresentarem rendimentos ótimos, os sais di-catiônicos são melhores catalisadores que os mono-catiônicos, principalmente quando se usam aldeídos mais substituídos. Ademais, o tamanho da cadeia alifática entre os anéis imidazólio tem influência positiva no rendimento: quanto maior o número de carbonos entre os N-átomos, maior o rendimento da reação (MAVIS *et al.*, 2010)

Além disso, a concentração do sal e o tipo de base usada para a deprotonação também influenciam nos rendimentos obtidos. Os dois artigos apresentados por Safari *et al.*, (2015) e Mavis *et al.*, (2010) encontraram resultados semelhantes quanto a isso, ambos determinaram a concentração de 1mol% como a ideal e hidróxido de sódio 20mol% como a melhor base, quando comparada a THF, trietilamina e carbonato de potássio.

² Processos verdes são aqueles que atendem os princípios da Química Verde - vertente da química que visa melhorar a percepção da química na sociedade, reduzindo desperdícios e agentes poluentes. Um dos seus princípios é a utilização de substâncias que possuam pouca ou nenhuma toxicidade à saúde humana e ao ambiente (LENARDÃO *et al.*, 2003).

³ Carbenos são espécies neutras, com átomo de carbono divalente com apenas 6 elétrons de valência.

Além da busca por altos rendimentos, a enantiosseletividade nas sínteses também é um fator que se destaca⁴.

Nesse contexto, foi desenvolvido o conceito de utilização de ligações de hidrogênio para controlar o resultado estereoquímico da reação de Condensação de Blitz, introduzindo um sal triazolico como pré-catalisador. Este incorpora um substituinte quiral prótico que melhora a enantiosseletividade do produto e uma porção pentafluorofenila que aumenta drasticamente a eficácia do catalisador. Com Rb_2CO_3 como base, THF como solvente, sendo utilizado 4mol% de catalisador e base, é possível obter 89% de rendimento com 99% de excesso enantiomérico em 20 horas de reação (BARAGWANATH *et al.*, 2009)

Apesar dos ótimos resultados obtidos com os novos catalisadores, seus custos elevados associados a falta de competitividade do benzaldeído frente a benzoina, tornam esta etapa da síntese economicamente inviável no Brasil. Portanto, para o presente trabalho, não foi considerada para otimização do rendimento da síntese da Fenitoina.

3.2.2 Segunda Etapa

A oxidação da benzoina à benzila é um método simples e direto que já foi investigado utilizando diferentes agentes oxidantes, como ácido nítrico, solução de Fehling, bismuto (III), acetato de nitrato-cobre (II) e nitrato de tálio (III). Com ácido nítrico, conforme o procedimento tradicional, esta é a etapa de maior rendimento, 88,3% (KONRATH *et al.*, 2012). O mecanismo da reação encontra-se na Figura 7.

⁴ Sínteses enantiosseletivas são aquelas que levam a obtenção de um enantiômero específico, em detrimento do outro. É um processo importante na química moderna, particularmente no campo dos fármacos, na medida em que diferentes enantiômeros ou diastereômeros de uma molécula muitas vezes tem diferente atividade biológica.

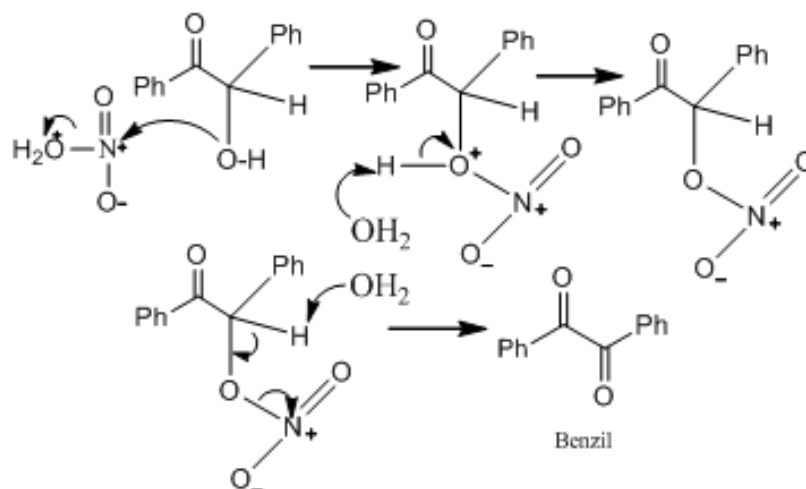


Figura 7 – Mecanismo da segunda etapa.

Fonte: Elaboração própria

Na busca por processos mais eficientes e menos tóxicos foi desenvolvido um método utilizando reagente “verde”: a oxidação de benzoína usando hidreto de sódio (NaH). De acordo com Cheonik *et al* (2010), o melhor solvente para a reação foi o tetraidrofurano (THF) à temperatura ambiente, com o qual foi possível obter alto rendimento em poucos minutos. Além disso, foi necessário o uso de 2 equivalentes de NaH para obter rendimentos superiores a 90%, em contrapartida, ao usar 1 equivalente, onde menos de 50% de benzila foi obtida.

O tempo de reação foi o parâmetro mais importante a ser controlado, uma vez que foi possível observar mudança de cor da mistura com o tempo, indicando a formação de subproduto. Nessa reação, há formação de peróxido de hidrogênio a partir do oxigênio presente e o hidrogênio que é liberado; essa molécula reage com o NaH restante, formando hidróxido de sódio. Para obter alto rendimento de benzila, é necessária a adição de NaHCO₃ aquoso para reagir com o hidróxido de sódio. (CHEONIK *et al.*, 2010)

Por se tratar da etapa com maior rendimento e as alternativas estudadas serem mais complexas que o procedimento original, não se fez necessária sua otimização no presente trabalho. Entretanto, essa etapa é usada como parte da rota sintética para obtenção da fenitoína, devido ao baixo custo da benzoína, simplicidade do método e elevado rendimento.

3.2.3 Terceira Etapa

No procedimento clássico, essa etapa apresenta 74,5% de rendimento. Nela ocorre a condensação da benzila com a ureia catalisada por uma base forte em meio alcólico, conforme mecanismo ilustrado na Figura 8. A hidroxila da base presente no meio é responsável por remover o átomo de hidrogênio disponível da ureia, transformando-a em um nucleófilo que irá, então, “atacar” a benzila em sua carbonila. Uma etapa importante dessa reação é o “rearranjo de ácido benzílico”, na qual ocorre migração da ligação C-C do grupo fenil.

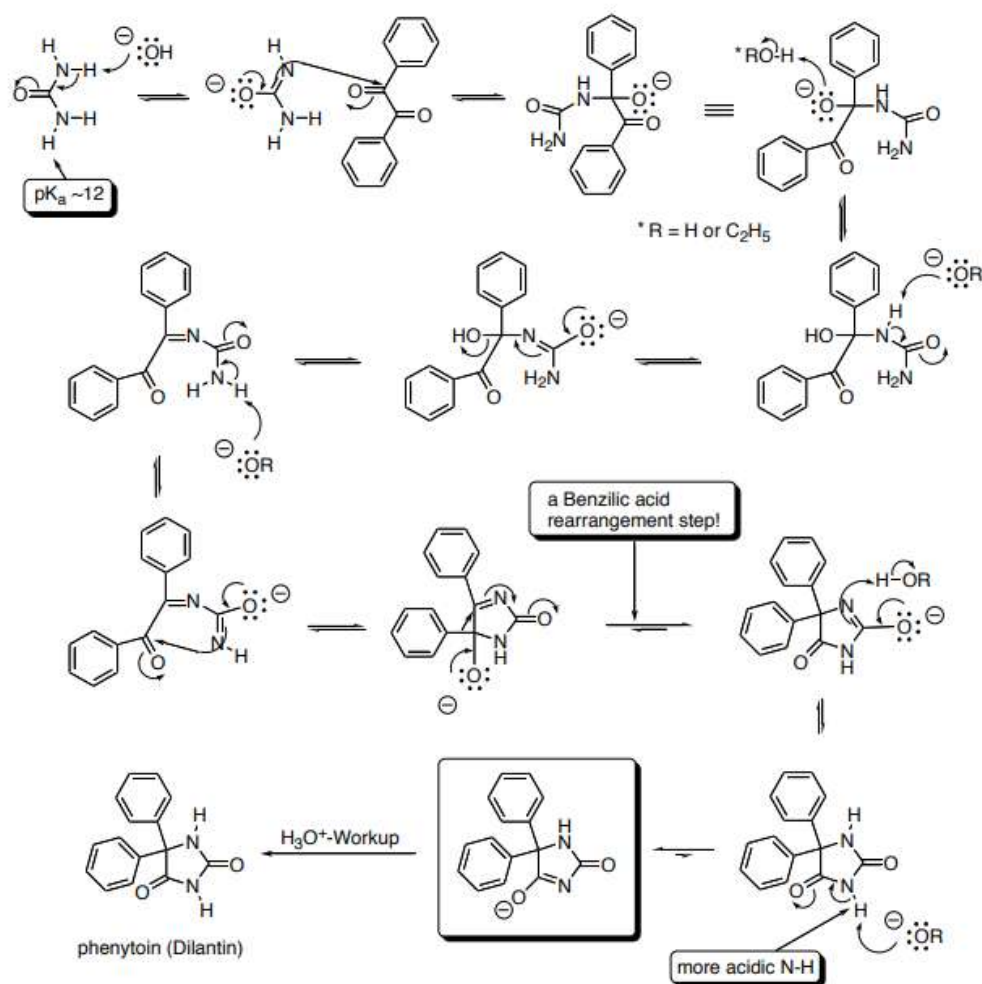


Figura 8 - Mecanismo da terceira etapa

Fonte: Adaptado de Koreeda (2011)

As condições reacionais para a síntese da fenitoína vêm sendo estudadas desde sua primeira “descoberta” até os dias de hoje. As principais condições investigadas são as proporções molares entre os reagentes benzila e ureia e entre a benzila e hidróxido de potássio, o tipo de solvente usado, tempo reacional e o método de aquecimento como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Quadro resumo das variáveis estudadas na terceira etapa

	Tempo (min)	Método	Solvente	Ureia/ Benzila	KOH/ Benzila	KOH/ Ureia	Rendimento
1	120	Clássico	Etanol (685)	1,75	1,87	1,07	63%
2	4	Ultrassom	DMSO:Água (6:1 mL)	1,8	1,8	1,0	98%
2	25	Clássico	DMSO:Água (6:1 mL)	1,8	1,8	1,0	89%
3	30	Microondas	DMSO	1,74	0,3	0,17	80%
3	120	Clássico	DMSO:Água (40:100 mL)	1,74	0,3	0,17	62%
4	60	Clássico	Etanol (1284,5)	1,48	5,88	4,0	74,5%
4	1,5	Microondas	Etanol	1,48	5,88	4,0	89%

1 – Dunnavant e James (1956); 2 – Arani e Safari (2011); 3 - Muccioli *et al* (2003) ; Konrath *et al.* (2012).

Dunnavant e James (1956) escreveram o primeiro artigo sobre o assunto, no qual verificaram as condições reacionais, usando etanol como solvente. A proporção de ureia em relação a benzila foi variada de 1,05 até 2,81, mantendo a razão de KOH constante em 1,87. Entretanto, não foi percebida variação da formação do produto desejado, somente do subproduto glicoluril, que teve sua produção aumentada com o aumento da razão. Por outro lado, a razão de KOH:benzil influenciou no rendimento, o qual ficou constante a partir de 1,87, usando 1,75 de razão de ureia.

O efeito da razão molar foi abordado novamente por Arani e Safari (2011). Neste, a razão molar foi variada de 1,0 até 2,2, tanto para Ureia como para o hidróxido de potássio e o melhor resultado (98% de rendimento) foi alcançado com razão de 1,8.

A influência do tipo de solvente também teve destaque: etanol, metanol, DMSO puro, DMSO com água (6:1) e dioxano foram testados. Os melhores resultados foram

obtidos ao usar DMSO puro (89%) ou com água (98%), que é adicionada para melhorar a solvatação do KOH.

Aplicando os resultados obtidos usando o método de aquecimento convencional e o método de ultrassom, constatou-se a superioridade deste último, que com apenas 4 minutos atingiu 98% de rendimento, contra 89% em 25 minutos do método convencional.

Já Muccioli *et al* (2003) testaram diferentes solventes para a reação, porém comparando o uso de micro-ondas com o aquecimento convencional. Em todos os solventes utilizados, o método com micro-ondas conseguiu obter rendimentos maiores que com aquecimento em placa; sendo novamente o DMSO o melhor solvente para a reação. Ressalta-se que para o método de micro-ondas foi possível obter 80% de rendimento, contra 36% do método clássico, o qual obteve melhor rendimento (62%) ao misturar o solvente com água, em proporção 40:100 v/v .

Um ponto interessante apresentado pelo artigo de Muccioli *et al* (2003) foi a síntese de fenitoina a partir de 2-tiofenitoina. Foi constatado que a reação de benzil com tioureia em meio de KOH etanólico não produz subproduto. Foi então feita a reação usando DMSO e KOH aquoso como catalisador, obtendo 5,5-diphenyl-2-thiohydantoin em alto rendimento (92%). Depois da precipitação, o produto foi oxidado à fenitoina usando peróxido de hidrogênio em DMF/ácido acético a temperatura ambiente em ótimo rendimento (95%).

O uso de micro-ondas foi estudado também por Konrath *et al.* (2012), mais uma vez, comparando com o método de aquecimento convencional. Em ambos os experimentos usaram-se os mesmos reagentes, em proporções iguais, e o mesmo solvente (etanol). O método clássico obteve 74,5% de rendimento, enquanto com o uso de micro-ondas foi possível obter 89%, um aumento significativo que é capaz de mostrar a superioridade deste método.

Tendo em vista a variedade de artigos elaborados, com diversas possibilidades de variáveis a serem estudadas, associada à diferença de rendimentos citados nessa etapa, optou-se por otimizá-la usando o método de planejamento experimental que será descrito no item 3.3. Os parâmetros escolhidos para análise, assim como seus níveis, serão elucidados no capítulo 4.

3.3 Planejamento Experimental

Planejamento Experimental é um método estatístico extremamente importante no ambiente científico com ampla utilização em diversas áreas, como na engenharia. Seu uso está associado ao aperfeiçoamento de processos de realização de produtos, sendo esta atividade composta por desenvolvimento de novo desenho de processo de fabricação, desenvolvimento de novos processos, e gerenciamento de processos.

No ramo da engenharia, o planejamento de experimentos é de fundamental importância, pois são realizadas atividades de desenvolvimento de novos produtos e aperfeiçoamento dos já existentes. As aplicações de PE em engenharia incluem (CALADO & MONTGOMERY, 2003):

- Avaliação de alternativas para materiais a serem usados no produto;
- Seleção de parâmetros que melhorem a robustez do produto;
- Determinação de parâmetros chaves que melhorem o desempenho;
- Formulação de novos produtos.

O emprego de planejamento experimental é justificado, pois resulta em produtos mais fáceis de fabricar e com melhores características de desempenho e confiabilidade, aumenta o rendimento do processo, além de reduzir a variabilidade, o custo total e o tempo de desenvolvimento do processo (MONTGOMERY, 2012).

Ao utilizar um método de planejamento de experimentos, busca-se desenvolver um modelo empírico que relacione as variáveis envolvidas no processo, através de realização de um número reduzido de experimentos.

O tipo de planejamento a ser realizado depende do número de fatores que se tem interesse em estudar. Portanto, antes de começar a experimentar, é necessário fazer uma “triagem de fatores” a fim de aprender quais têm mais influencia na resposta de interesse e não realizar experimentos em demasia. Essas variáveis escolhidas serão

variadas em “níveis” durante o experimento para observar o efeito na variável resposta escolhida. As demais variáveis serão mantidas constantes.

Usualmente, quando o interesse é estudar dois ou mais fatores, usa-se o Planejamento Fatorial. Nele, no conjunto de experimentos realizados, todas as possíveis combinações de fatores são investigadas, o que o torna bastante eficaz. Quando há suspeita de interação entre as variáveis, esse também é o melhor planejamento a utilizar. Além disso, tem a vantagem de permitir que os efeitos de um fator sejam estimados em diferentes níveis de outros fatores, resultando em conclusões válidas para diferentes condições experimentais.

O número de experimentos é calculado da seguinte maneira:

$$N^{\circ} = P^K + PC \quad (1)$$

Onde:

N° – número de experimentos;

P – número de níveis;

K – número de fatores;

PC – pontos centrais.

- Os níveis são os valores dos fatores estudados. Geralmente, em um planejamento fatorial, usam-se dois níveis: inferior (representado pelo valor -1) e superior (representado por +1). Em alguns casos há a inserção de um terceiro nível, o “zero”, que é a média dos dois outros níveis. O Planejamento Fatorial com dois níveis (2^k) é muito utilizado na fase inicial do trabalho experimental, quando muitos fatores são estudados, pois é possível realizar um planejamento fatorial completo com o menor número de experimentos. Por essa razão, é também muito usado na “triagem” de variáveis na fase inicial do planejamento.

Quando há somente dois níveis para os fatores estudados, o modelo empírico desenvolvido assume a hipótese de linearidade do sistema. Esse modelo é representado pela equação:

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j + \sum \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon \quad (2)$$

Onde:

y – variável resposta;

β_0 – termo independente;

β_j – coeficientes associados aos fatores x_j ;

β_{ij} – coeficientes relacionados às interações entre os fatores i e j ; e

ϵ – erro associado ao planejamento.

• O ponto central representa a combinação dos níveis zero dos fatores estudados. É utilizado para verificar a veracidade da hipótese de linearidade do sistema, ou seja, ajuda a definir se há curvatura. Muitas vezes ele é utilizado com réplicas para que seja possível o cálculo do erro associado ao experimento mesmo quando não há réplicas nos outros pontos.

Quando se verifica que há curvatura, o modelo mais apropriado é o de 2ª ordem, ou quadrático. Para isso, realiza-se planejamento composto central que consiste nos mesmos pontos do planejamento fatorial, somado a pontos axiais. A forma desse modelo é apresentada a seguir:

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j + \sum \sum_{i < j}^k \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} x_j^2 \in \quad (3)$$

Onde:

y – variável resposta;

β_0 – termo independente;

β_j – coeficientes associados aos fatores X_j ;

β_{ij} – coeficientes relacionados às interações entre os fatores i e j ;

β_{jj} – coeficientes de segunda ordem pura ou efeitos quadráticos; e

ϵ – erro associado ao planejamento.

A partir da Equação (1) pode-se notar que quando o número de fatores aumenta, o número de experimentos cresce exponencialmente, tornando impraticável a realização de todos. Por exemplo: um planejamento realizado com dois níveis e seis fatores precisam de 64 experimentos, além dos pontos centrais e réplicas para cálculo do erro experimental. Além disso, com o aumento do número de fatores, cresce também o número de fatores de ordens superiores, os quais têm importância menor do que termos de ordem inferiores.

Para esses casos, é possível realizar um Planejamento Fatorial Fracionado. Nele, assume-se que interações de ordem elevada podem ser negligenciadas e os efeitos principais assim como interações de ordem baixa, podem ser obtidas realizando apenas uma parte do fatorial completo.

Cabe ressaltar que no presente trabalho só será realizado o Planejamento Fatorial Completo.

4. Metodologia

4.1 Obtenção da Fenitoina

4.1.1 Obtenção de benzila a partir de benzoína (etapa 2)

Como mencionado no item 2.1, a síntese da fenitoina para o presente trabalho foi realizada a partir da segunda etapa. Os reagentes e solventes usados foram adquiridos comercialmente, sendo: benzoína (Sigma-Aldrich), HNO_3 (Isofar), ureia (Isofar), KOH (Isofar), etanol 95% (Vetec) e HCl concentrado (Vetec).

Esta etapa foi conduzida 10 vezes para obter quantidade suficiente de uma amostra homogênea para se proceder a terceira etapa na qual foi aplicado o planejamento experimental.

Método:

Primeiramente, adicionaram-se 7 g de benzoína (33 mmol) e 70 mL de ácido nítrico concentrado (1,68 mol) em um balão de fundo redondo de 250 mL. O balão foi acoplado ao sistema de refluxo (condensador e mangueiras de água de resfriamento) e colocado sob aquecimento e agitação magnética durante 60 minutos. Durante esse tempo, foi observada a formação de vapores castanho-alaranjados devido à formação de óxido nítrico.

Após o fim da reação, a mistura reacional foi vertida em um béquer, no qual foram adicionados 100 mL de água destilada gelada, lentamente enquanto a agitação magnética foi mantida, de forma a auxiliar na precipitação do produto. Após a adição de todo o volume de água, o bequer foi mantido em banho de gelo para continuar o resfriamento da mistura reacional e completar a precipitação.

Em seguida, foi realizada a filtração do produto. Foi utilizado filtro a vácuo e funil de Buchner com papel de filtro. Os sólidos obtidos foram lavados com água gelada e deixados em dessecador por aproximadamente 48h.

Por último, foi realizada a etapa de purificação do produto, ao realizar a sua recristalização. O sólido obtido foi adicionado em um béquer com etanol e foi aquecido até o ponto de ebulição do solvente, que levou à completa solubilização do material. O conjunto foi filtrado rapidamente usando funil e erlenmeyer aquecidos para evitar a precipitação. O frasco foi deixado em repouso, resfriando até a temperatura ambiente e, após, em banho de gelo.

Novamente, a mistura foi filtrada a vácuo e deixada em dessecador. O produto foi obtido na forma de cristais amarelos-claros. Foi determinado o seu ponto de fusão do produto obtido e feita a caracterização por IV e UV.

4.1.2 Obtenção da Fenitoína a partir da Benzila (etapa 3)

A revisão bibliográfica apresentada com estudos relevantes sobre a síntese de fenitoina serviu como base para a etapa de triagem de possíveis fatores a serem estudados nesse planejamento experimental. A partir desses, foi realizada uma segunda análise, que levou em consideração custos e disponibilidade de materiais e, com isso, determinaram-se as variáveis e níveis que de fato foram estudadas.

São elas:

1) Razão molar entre a benzila e a uréia

A reação de condensação de benzila com ureia é de 1:1, ou seja, só seria necessária uma molécula de ureia para condensar com cada molécula de benzila. Entretanto, foi verificado nos artigos estudados que quando a proporção de ureia com relação à benzila aumenta, o rendimento tende a aumentar. Foi constatada que proporções na faixa de 1,5 a 2,0 conseguem altos rendimentos. Acima disso, o rendimento começa a sofrer decréscimo, provavelmente devido à formação de subproduto. Assim, de forma a abranger esses valores, porém analisando ainda a possibilidade de valores acima ou abaixo dessa faixa conseguir obter altos rendimentos, decidiu-se por usar: 1,2 como o nível inferior e 2,4 como o nível superior.

2) Razão molar entre ureia e KOH

Conforme ilustrado na Figura 8, o hidróxido de potássio é usado, de certa forma, como um catalisador da reação. A hidroxila atua “ativando” a ureia, ao remover um átomo de da molécula hidrogênio, permitindo que ela “ataque” a benzila, promovendo a condensação. Dessa forma, estudar a razão molar entre a ureia e o hidróxido de potássio é mais vantajoso do que entre benzila e KOH, pois é necessário que haja hidroxilas livres suficientes para deprotonar todas as moléculas de ureia presentes.

3) Tempo

O tempo sempre é uma variável relevante de ser estudada e otimizada. Por um lado, reações realizadas em pouco tempo podem não se processar inteiramente, levando a rendimentos baixos. Também não é vantajoso realizar uma reação por muitas horas sem que haja melhoria significativa no seu rendimento, já que o custo energético associado não seria compensado. Assim, é importante determinar o tempo ideal de reação. Nos artigos da revisão bibliográfica, ao utilizar o método de aquecimento clássico, o tempo usado variava de 1 ou 2 horas e, portanto, esses valores foram escolhidos.

A Tabela 3 apresenta as variáveis utilizadas neste estudo, juntamente com seus níveis inferior (codificado por -1), médio (utilizado no ponto central e codificado por 0) e superior (codificado por +1).

Tabela 3 - Variáveis investigadas no planejamento e suas faixas

VARIÁVEL	CÓDIGO	Nível Inferior	Nível Médio	Nível Superior
Proporção Ureia:Benzila	A	1,2	1,8	2,4
Proporção KOH:Ureia	B	1	1,5	2
Tempo (min)	C	60	90	120

O nível médio foi utilizado apenas para as replicatas do ponto central. Para o planejamento fatorial, foram utilizados os níveis inferior e superior. Aplicando-se a Equação (1), temos 3 fatores ($k = 3$), 2 níveis ($p = 2$) e 3 replicatas no ponto central ($PC = 3$). Logo, teremos, para cada caso experimental avaliado, a realização de 11 experimentos.

A Tabela 4 representa a forma da matriz, com os 11 experimentos de cada caso experimental. Nela estão os valores reais das variáveis estudadas.

Tabela 4 - Matriz de planejamento experimental na forma real

EXPERIMENTO	A	B	C
1	1,2	1	60
2	2,4	1	60
3	1,2	2	60
4	2,4	2	60
5	1,2	1	120
6	2,4	1	120
7	1,2	2	120
8	2,4	2	120
9	1,8	1,5	90
10	1,8	1,5	90
11	1,8	1,5	90

Para evitar a ocorrência de erros sistemáticos e minimizar os erros experimentais, estes experimentos foram realizados em ordem aleatória.

A variável resposta acompanhada foi o rendimento da reação.

Método:

Foram realizados 11 experimentos, todos usando a mesma metodologia, variando apenas a quantidade de reagente e o tempo de reação, conforme estabelecido pelo planejamento de experimentos e apresentado na Tabela 4.

Primeiramente, foi preparada uma solução 66% m/v de hidróxido de potássio aquoso, que foi usada nos 11 experimentos. Essa solução foi preparada anteriormente e deixada repousando por 24 hs, de forma a observar se haveria sólidos insolúveis.

A benzila foi pesada e colocada no balão de fundo redondo de 250 mL, juntamente com 75 mL de etanol – essa quantidade de solvente se manteve constante em todos os experimentos. A mistura foi aquecida sob agitação magnética até que toda a benzila houvesse sido dissolvida. Em seguida, foi pesada a ureia e adicionada ao balão para que também solubilizasse. Quando a mistura estava sem sólidos visíveis, foi adicionada a solução de hidróxido de potássio, na quantidade estipulada. O balão foi acoplado ao sistema de refluxo e mantido dessa forma pelo tempo do experimento (60, 90 ou 120 minutos).

Logo após a adição do hidróxido de potássio, a solução amarelada tornou-se marrom escura. Nos dez minutos que se seguiram, a reação passou para uma coloração mais clara gradativamente, até retornar a cor inicial.

Após o tempo estipulado para cada experimento, a mistura reacional foi removida da placa e resfriada à temperatura ambiente. Foram adicionados, então, 75 mL de água destilada gelada ao balão. A adição de água se faz necessária para auxiliar na precipitação de subproduto ou reagente que não tenha sido consumido. O produto não é precipitado, pois não é solúvel em água. Sólidos obtidos nessa etapa foram filtrados a vácuo.

O filtrado obtido contém o produto em sua forma de sal potássico solúvel e, portanto, é necessária sua precipitação, adicionando ácido. Foram adicionadas pequenas quantidades de ácido clorídrico concentrado de forma a precipitar a fenitoína que se encontrava na forma de sal de potássio solúvel. A adição de ácido foi lenta, verificando a variação do pH, até atingir pH em torno de 4.

Em seguida, foi realizada a filtração a vácuo e o sólido obtido foi deixado em dessecador por vários dias para secar. O produto obtido foi caracterizado por IV e UV.

5. Resultados e Discussões

5.1 Caracterização do produto e cálculo do rendimento

A benzila foi obtida com rendimento médio de $87,8\% \pm 0,6\%$. Este resultado está coincidente com o encontrado na literatura por Konrath *et al.*(2010) para o mesmo procedimento com HNO_3 que obteve 88,3%.

Após recristalização, a benzila foi caracterizada, primeiramente, usando o método do ponto de fusão. Obteve ponto de fusão na faixa de $94-96^\circ\text{C}$, o que condiz com *The Merck Index* em que o ponto de fusão é de 95°C .

Tanto a benzila como a fenitoína foram caracterizadas usando análise de espectro de infravermelho e ultravioleta.

O espectro IV de benzila obtido (Figura 9) apresenta todas as bandas características da benzila: em 3050 cm^{-1} , banda de estiramento de C-H sp^2 do anel aromático; tripleto em 2000 cm^{-1} referente a anel monossustituído; estiramento em 1650 cm^{-1} da ligação C=C do anel aromático; ligação em 1582 cm^{-1} indicando cetona aromática. O espectro obtido apresenta características similares ao do catálogo de padrões internacionais (medidos com amostras autênticas), SDBS n° 1700, porém com escalas diferentes. (Figura 10)

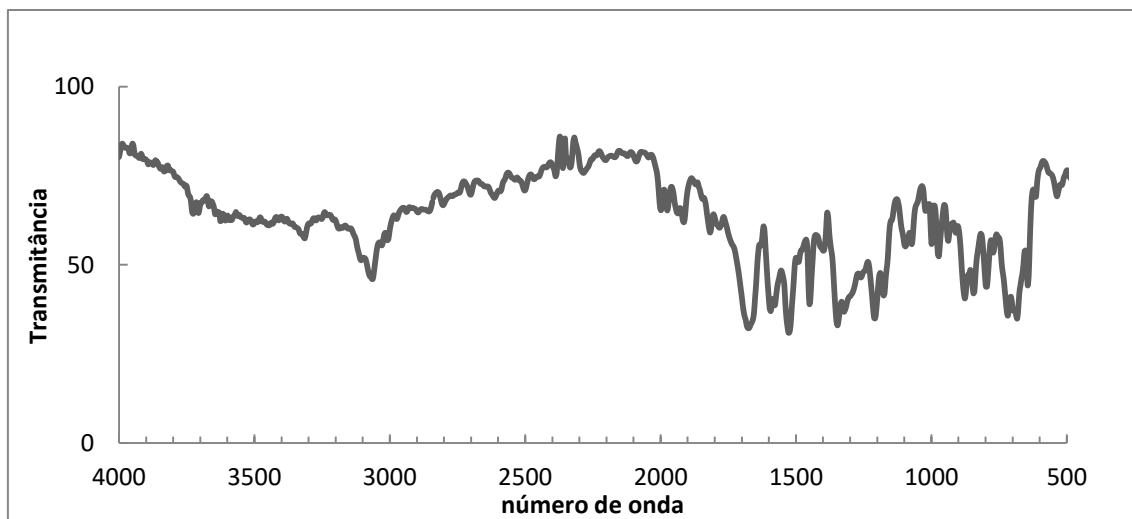


Figura 9 - Espectro de IV da Benzila

Fonte: Elaboração própria

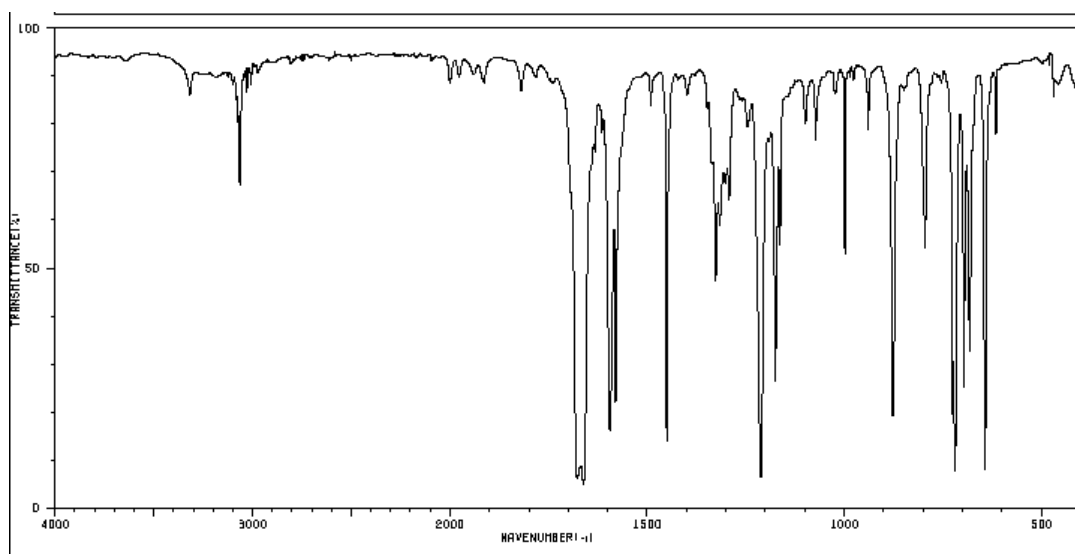


Figura 10 - Espectro de IV da Benzila padrão

Fonte: Adaptado de SDBS

No espectro de infra-vermelho da fenitoína (Figura 11) os grupamentos funcionais da molécula estão presentes: nos comprimentos de 1630-1700 indica presença de carboxila das amidas; entre 1200 – 1500 há presença de aromáticos; e por volta de 3400 há estiramentos da ligação N-H. O espectro obtido apresenta características similares aos do catálogo de padrões internacionais (medidos com amostras autênticas), SDDBS no 7403, porém com escalas diferentes.

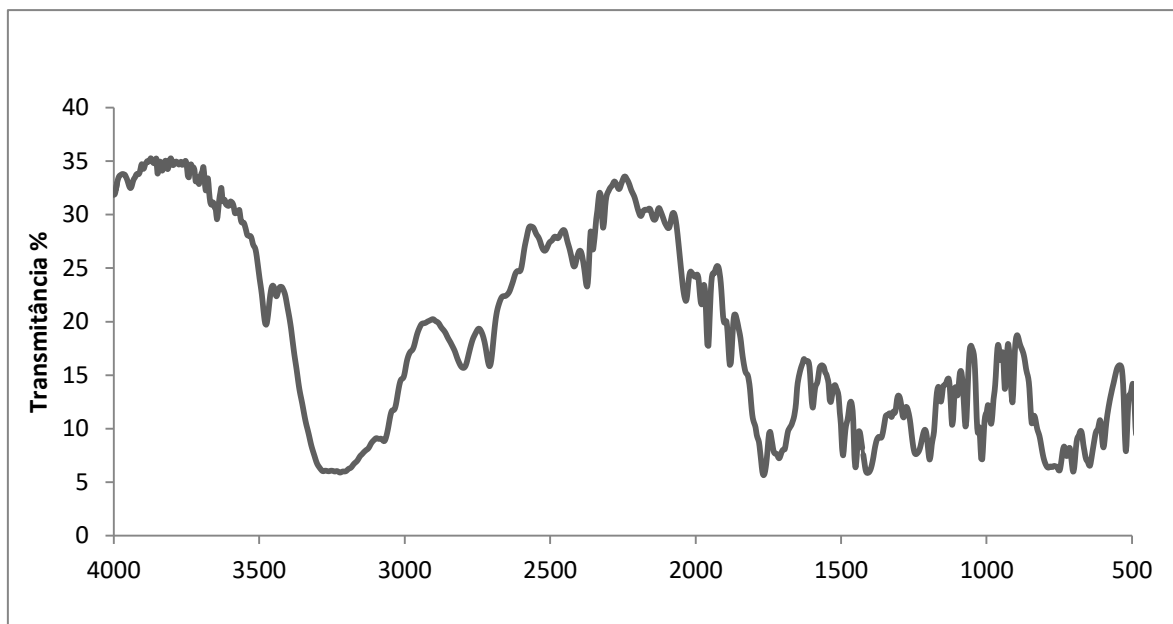


Figura 11 - Espectro de IV da Fenitoína

Fonte: Elaboração própria

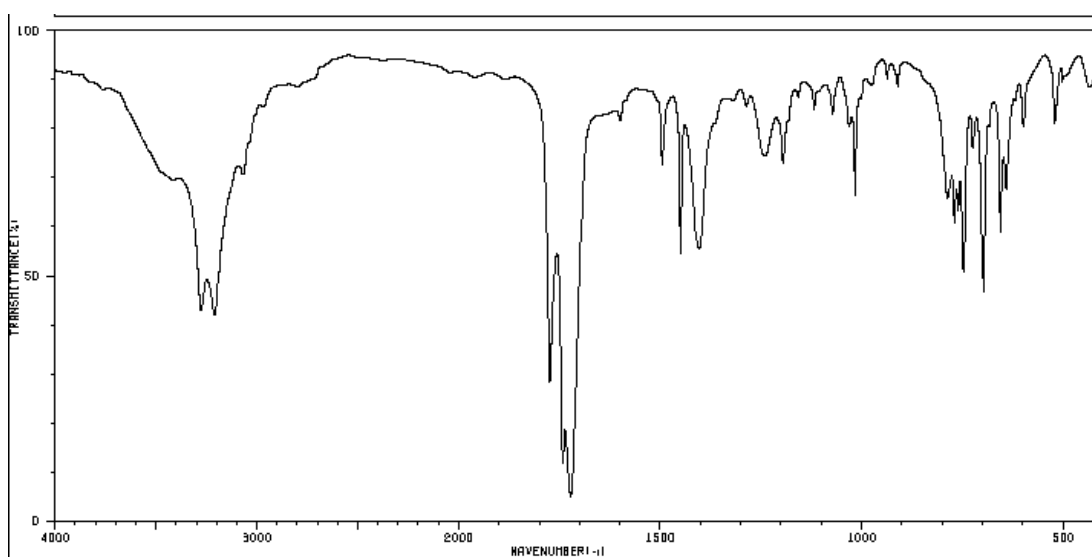


Figura 12 - Espectro de IV da Fenitoína padrão

Fonte: Adaptado de SDDBS

Os dois compostos foram analisados, também, utilizando espectroscopia de ultravioleta, conforme ilustrado na Figura 13. O espectro em azul é correspondente ao espectro da benzila, já o vermelho corresponde à fenitoína.

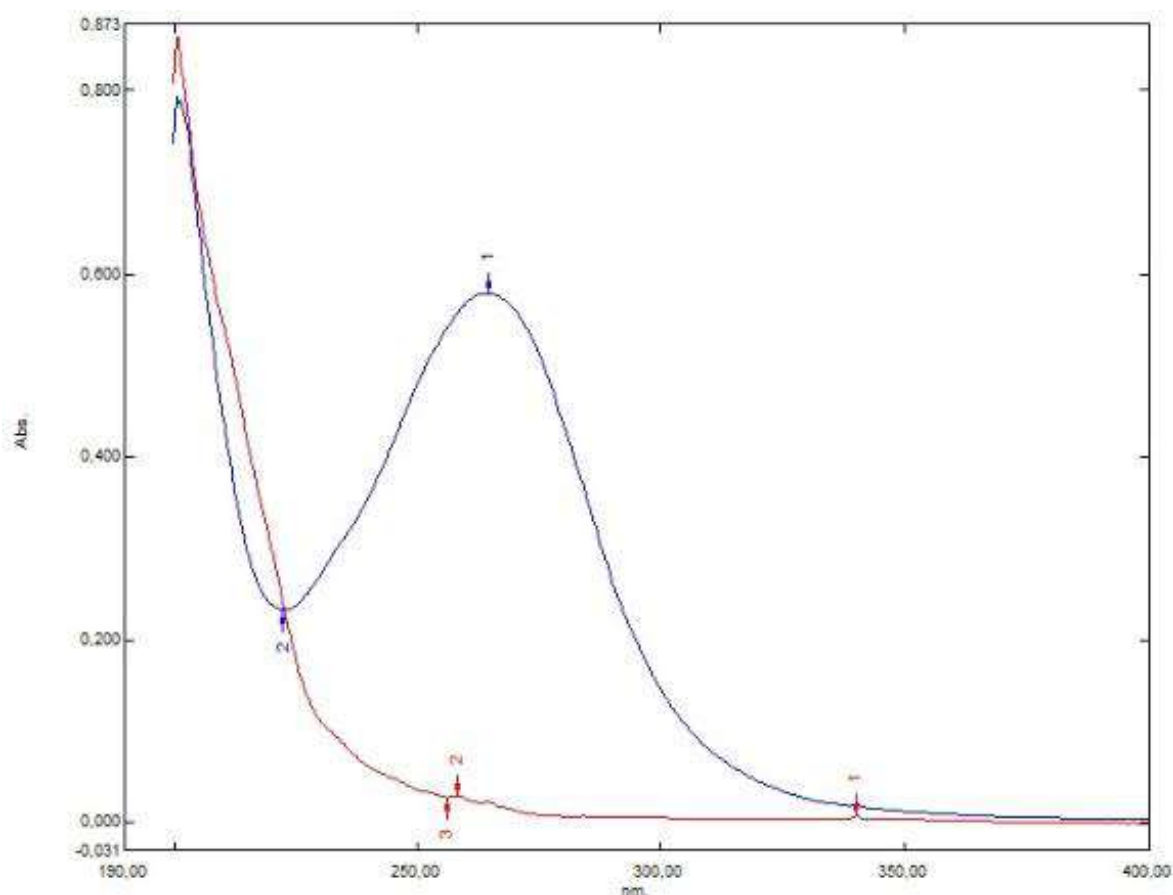


Figura 13 - Espectro UV da Benzila e Fenitoína

Fonte: Elaboração própria

Pode-se observar que a Benzila possui dois picos de absorção: um em 210 nm e outro maior em 265nm. Comparativamente, o espectro determinado por Alsalim *et al* (2013), Figura 14, possui picos nos mesmo comprimentos de onda. Já a análise da Fenitoína verificou um único pico de absorbância por volta de 210 nm; mesmo perfil determinado por Abbaspour e Mirzajani (2005), conforme mostrado na Figura 15 a curva correspondente a “Phen”.

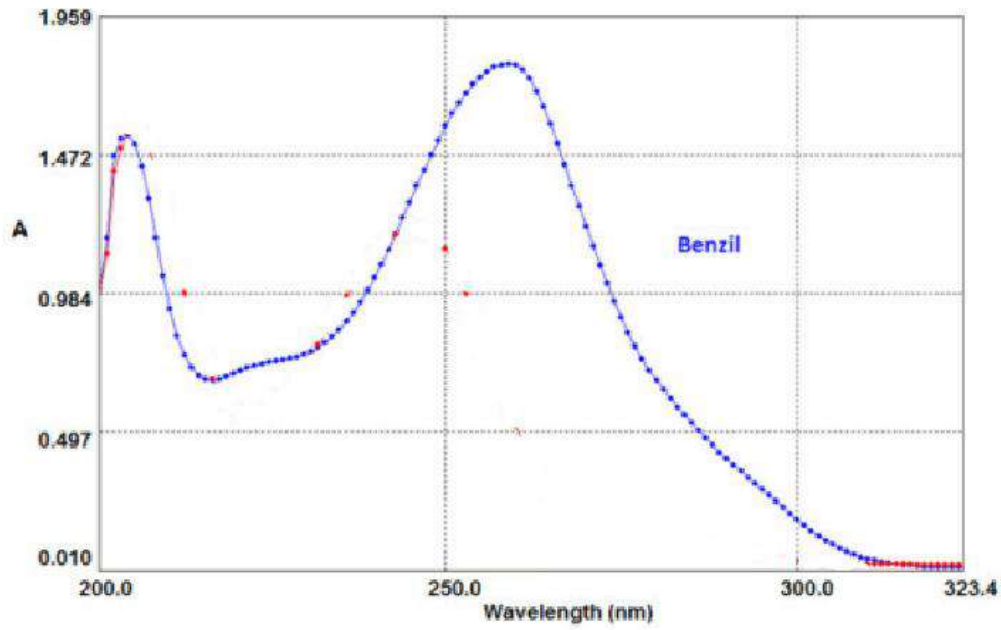


Figura 14 - Espectro UV da Benzila

Fonte : Alsalim et al (2013)

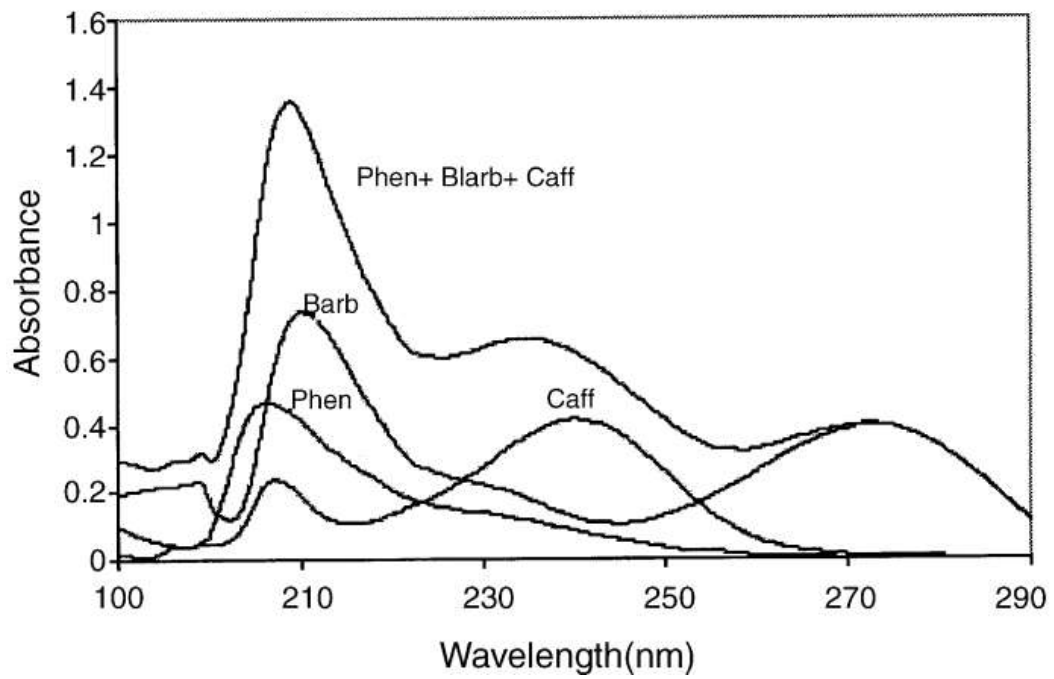


Figura 15 - Espectro UV da Fenitoina

Fonte: Abbaspour e Mirzajani (2005)

Os rendimentos individualizados dos 11 experimentos foram calculados usando a análise do espectro de absorção de ultravioleta. Usando um padrão – material recristalizado – foi determinada a curva padrão de absorbância versus concentração em determinado comprimento de onda (Figura 16).

É comum utilizar como comprimento de onda para a obtenção da curva padrão aquele em que a absorbância é mais elevada. Entretanto, nesse caso, o reagente (benzila) absorve na mesma região, o que geraria dúvidas caso houvesse contaminação de resíduos. Cogitou-se, então, utilizar o comprimento de 223 nm, por se tratar da menor absorbância da benzila; todavia, ao realizar a absorbância em diferentes diluições do padrão, não houve uma diferenciação significativa, o que dificultaria a elaboração da curva padrão.

Para contornar esses problemas, optou-se por utilizar o comprimento de 205nm, realizando, porém absorbância em 265 nm para constatar se há resíduo de reagente no produto.

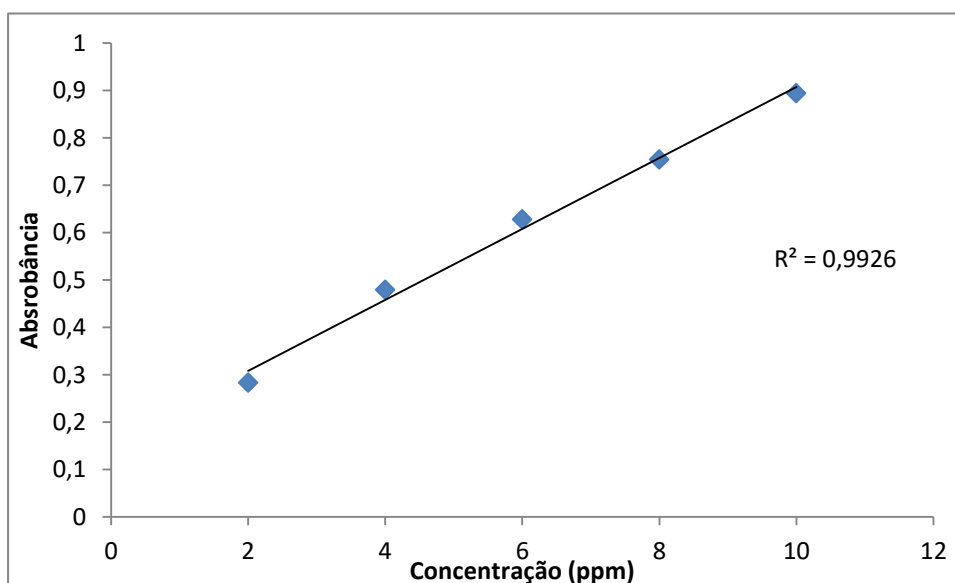


Figura 16 - Gráfico de Absorbância vs Concentração da Fenitoina padrão

Equação da reta obtida:

$$y = 0,0749 \cdot x + 0,1585 \quad (4)$$

Onde:

y – absorvância

x – concentração (ppm).

Usando a Equação (4) com as absorvâncias medidas para cada amostra, foi calculada a concentração das amostras dos 11 experimentos (Tabela 5).

Tabela 5 - Dados de Absorvância e Concentração das amostras

Amostras	Absorvância	Concentração (ppm)
1	0,584	5,68
2	0,592	5,79
3	0,541	5,11
4	0,592	5,79
5	0,618	6,13
6	0,608	6,00
7	0,594	5,81
8	0,608	6,00
9	0,602	5,92
10	0,612	6,05
11	0,61	6,03

Sabendo que na análise UV foram usadas soluções de 7 ppm de cada um dos 11 experimentos realizados, é possível determinar uma “fração mássica” dos produtos e, com isso, calcular quanto da massa obtida é de fato a Fenitoina (Tabela 6).

Tabela 6 - Dados para cálculo do rendimento

Amostras	Fração mássica	Massa obtida	Massa real	Rendimento
1	0,81	3,68	2,99	62,2%
2	0,83	4,08	3,37	70,2%
3	0,73	4,41	3,22	67,0%
4	0,83	4,19	3,46	72,1%
5	0,88	3,64	3,19	66,4%
6	0,86	4,19	3,59	74,8%
7	0,83	4,23	3,51	73,2%
8	0,86	4,20	3,60	75,0%
9	0,85	4,31	3,65	76,0%
10	0,86	4,16	3,60	74,9%
11	0,86	4,24	3,65	76,1%

De modo geral, ao analisar os melhores resultados de rendimento, é possível constatar que houve melhora, mesmo que pequena, com relação aos artigos apresentados na revisão bibliográfica. O mais alto rendimento que havia sido verificado foi de 74,5% (KONRATH *et al.*, 2012)

5.2 Software Design Expert

Este item tem como objetivo apresentar e discutir os resultados do planejamento experimental realizado neste trabalho e citados no capítulo anterior. A análise estatística será mostrada, com os modelos empíricos relacionando a variável de resposta (rendimento) com as variáveis investigadas (tempo da reação, razão molar ureia/benzila e razão molar KOH/ureia).

A Tabela 7 contém os dados inseridos no programa para realização da análise estatística.

Tabela 7 – Dados inseridos no programa *Design Expert*

Experimento	Razão molar Ureia/Benzila	Razão molar KOH/Ureia	Tempo (min)	Rendimento %
1	1,2	1	60	62,2%
2	2,4	1	60	70,2%
3	1,2	2	60	67,0%
4	2,4	2	60	72,1%
5	1,2	1	120	66,4%
6	2,4	1	120	74,8%
7	1,2	2	120	73,2%
8	2,4	2	120	75,0%
9	1,8	1,5	90	76,0%
10	1,8	1,5	90	74,9%
11	1,8	1,5	90	76,1%

Nas tabelas seguintes, serão apresentados os resultados da análise estatística, realizada com o auxílio do software *Design Expert*.

A Tabela 8 apresenta os efeitos e contribuições das variáveis estudadas na variável de resposta (rendimento). Valores de efeito positivos indicam que o aumento do valor dessa variável, leva ao aumento da variável resposta. Por outro lado, efeitos negativos indicam que um aumento nessa variável, tem influencia contrária, levando à diminuição do valor da variável de resposta. Além disso, há também a influência da magnitude desse efeito, quanto maior (em módulo), maior a sua contribuição no rendimento.

Tabela 8 - Resultados do *Design Expert* (Efeitos e Contribuições)

Variável	Efeito	Soma dos quadrados	% Contribuição
Razão molar Ureia/Benzila (A)	0.05825	0.00678612	31,767
Razão molar KOH/Ureia (B)	0.03425	0.00234613	10,9826
Tempo (C)	0.04475	0.00400513	18,7487
AB	-0.02375	0.00112812	5,28094
AC	-0.00725	0.000105125	0,492108
BC	0.00075	1,13E-03	0,00526632
ABC	-0.00925	0.000171125	0,801065
Curvatura	0.0580114	0.00673064	31,5073

A variável com maior efeito na resposta é a razão molar ureia/benzila, representando uma contribuição de 31,77% no valor da resposta obtida. É possível observar que as demais variáveis também representam contribuições relevantes para o rendimento, sendo 18,75% para o tempo de reação e 10,98% para a razão molar KOH/ureia.

Os efeitos de interação de primeira e segunda ordem também são apresentados na tabela, sendo a interação entre as variáveis A (razão molar Ureia/Benzila) e B (razão molar KOH/Ureia) a única com valor relevante (5,28%).

Já as interações entre as variáveis A e C, B e C e a interação de terceira ordem ABC não possuem efeitos relevantes. Por último, o efeito da curvatura do modelo tem valor elevado, com contribuição de 31,51%, indicando a não linearidade do modelo.

As conclusões observadas na Tabela 8 são apenas indicativos do comportamento do modelo, que podem ser respaldadas pelos dados da Tabela 9, que apresentam a análise estatística de significância. A principal informação a ser extraída da tabela 10 são os valores da última coluna. O “p-valor” é um teste de hipótese de significância estatística dos efeitos das variáveis e suas interações. Este significa que existe uma probabilidade de igual ao seu valor de se obter esse resultado por acaso quando o tratamento não tem nenhum efeito real. Considerando-se um intervalo de confiança de 95%, quando esse valor é inferior a 0,05, o termo é considerado significativo estatisticamente; caso seja maior é não-significativo.

Tabela 9 - Teste de hipóteses *Design Expert*

	Soma dos quadrados	GL	Mean Square	Valor F	p-valor	
Modelo	0.015	7	2,08E-003	46.86	0.0210	significativo
A	6,79E-003	1	6,79E-003	153.07	0.0065	significativo
B	2,35E-003	1	2,35E-003	52.92	0.0184	significativo
C	4,01E-003	1	4,01E-003	90.34	0.0109	significativo
AB	1,13E-003	1	1,13E-003	25.45	0.0371	significativo
AC	1,05E-004	1	1,05E-004	2.37	0.2635	Não-significativo
BC	1,13E-006	1	1,13E-006	0.025	0.8881	Não-significativo
ABC	1,71E-004	1	1,71E-004	3.86	0.1884	Não-significativo
Curvatura	6,73E-003	1	6,73E-003	151.82	0.0065	significativo
Erro puro	8,87E-005	2	4,43E-005			
Correlação Total	0.021	10				

Com bases nesses dados, pode-se constatar que os fatores A, B e C e a interação AB são, de fato, estatisticamente significantes e contribuem para o rendimento.

Um ponto importante que pode ser retirado da tabela é o valor-F do modelo de 46,86 que indica que o modelo completo com todos os termos apresentados é significativo estatisticamente. O programa retorna que há apenas 2,10% de chance que “Valor-F do modelo” tão alto ocorra devido a perturbação.

Além disso, a curvatura mostra-se significativa, com p-valor de $0,0065 < 0,05$, confirmando o que foi observado na Tabela 8 e, portanto, invalidando a hipótese de linearidade do modelo de 1ª ordem.

Entretanto, de forma a melhorar o modelo obtido, é indicado que se removam os termos que não possuem significância estatística. Os resultados obtidos com essa modificação estão na Tabela 10.

Tabela 10 – Teste de hipóteses sem termos não significativos

	Soma dos quadrados	GL	Mean Square	Valor F	p-valor	
Modelo	0.014	4	3.566E-003	46.72	0.0003	significativo
A	6.786E-003	1	6.786E-003	92.70	0.0002	significativo
B	2.346E-003	1	2.346E-003	32.05	0.0024	significativo
C	4.005E-003	1	4.005E-003	54.71	0.0007	significativo
AB	1.128E-003	1	1.128E-003	15.41	0.0111	significativo
Curvatura	6.731E-003	1	6.731E-003	91.94	0.0002	significativo
Falta de Ajuste	2.774E-004	3	9,246E-005	2.09	0.3404	Não-significativo
Erro puro	8.867E-005	2	4.433E-005			
Correlação Total	0.021	10				

Com a remoção, o F-valor do modelo aumentou para 48.72, novamente indicando que o modelo é significativo. Dessa vez há somente 0.03% de chance que esse F-valor ocorra devido a ruído, o que indica uma melhora na confiabilidade do modelo com relação ao anterior.

Os termos A, B, C e AB continuam significativos, porém com p-valores menores.

O efeito da curvatura (medido pela diferença entre a média dos pontos centrais e a média dos pontos fatoriais) diminuiu, o seu F-valor passou de 151,82 para 91,94, indicando redução da influência da curvatura, porém ainda bastante significativo e continua invalidando a hipótese de linearidade do modelo. Há somente 0,02% de chance de curvatura tão alta ser devido a ruído.

A variável “Falta de Ajuste” tem p-valor maior que 0,050, indicando não significância, ou seja, descartando a possibilidade de falta de ajuste pelo modelo. Caso não houvesse curvatura significativa, tal fato levaria a aceitação do modelo proposto, porém o programa indica que há 34,04% de chance do alto valor de falta de ajuste ter ocorrido devido a ruído.

Caso o modelo fosse validado, a equação final obtida, em variáveis codificadas, seria:

$$\text{Rendimento} = +0,70 + 0,029 * A + 0,017 * B + 0,022 * C - 0,012 * A * B \pm 0,0045 \quad (5)$$

Com essa equação, é possível calcular o valor do rendimento previsto para cada experimento realizado, conforme Tabela 11.

Tabela 11 - Comparação valor real e previsto

Experimento	Valor Real	Valor Previsto	Resíduo
1	0.62	0.62	1,38E-03
2	0.70	0.70	-6,25E-04
3	0.67	0.68	-8,63E-03
4	0.72	0.71	7,88E-03
5	0.66	0.67	-1,38E-03
6	0.75	0.75	6,25E-04
7	0.73	0.72	8,63E-03
8	0.75	0.76	-7,88E-03
9	0.76	0.76	3,33E-03
10	0.75	0.76	-7,67E-03
11	0.76	0.76	4,33E-03

A comparação dos valores preditos e observados também pode ser analisada na Figura 17.

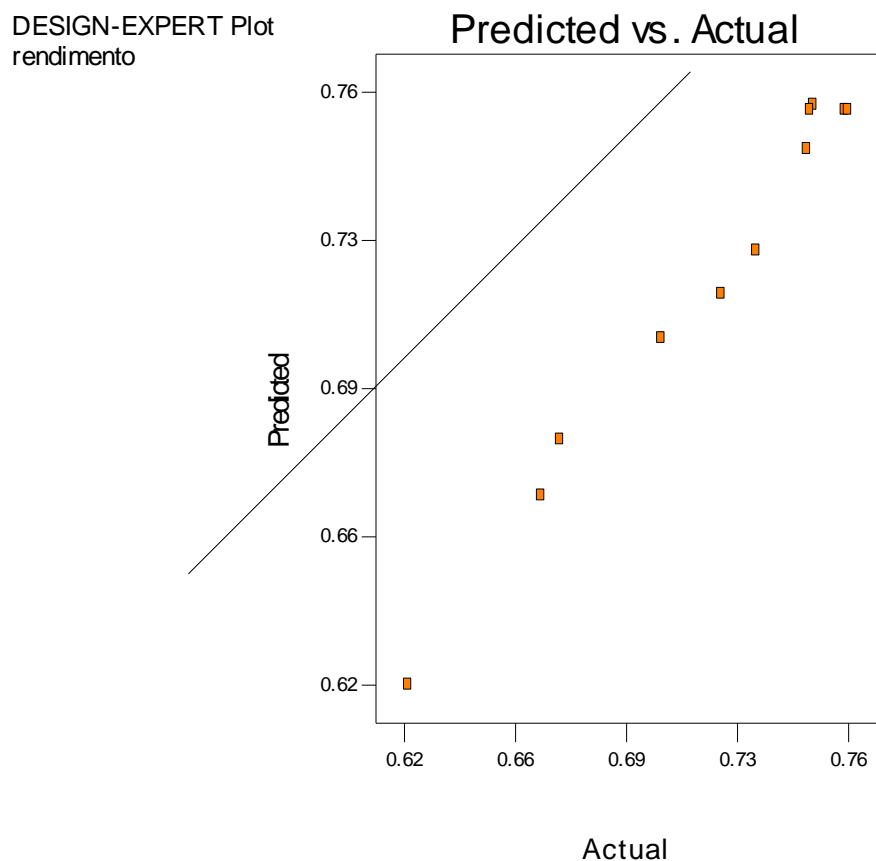


Figura 17 - Gráfico com valores Preditos vs Observados

Com base nos dados da Tabela 11 e análise do gráfico da Figura 17, é possível constatar que o modelo aparentemente se adequa bem aos dados obtidos e consegue prever corretamente os valores da variável resposta, com erros mínimos com relação ao rendimento observado. Porém, cabe destacar, que o modelo não é válido para explicar a área de estudo, pois a curvatura foi significativa.

Como o modelo não é válido não se pode utilizá-lo para estimar uma condição otimizada. O que podemos fazer é utilizar a informação pontual de cada experimento para estimar as influências observadas e propor a execução de método de superfície de resposta, com alfa 0,5, para a tentativa de obtenção de um modelo válido.

A partir daqui os gráficos gerados pelo programa *Design Expert* serão utilizados de forma ilustrativa apenas focando seus extremos não sendo válidas as curvas de ligação destes pontos.

A Figura 18 mostra que as variáveis estudadas, A, B e C, todas, apresentaram pontualmente efeito positivo no rendimento da reação, uma vez que ao passarem do nível -1 para +1, a variável de resposta aumentou. Além disso, pode-se observar que a magnitude da influência da perturbação na variável A é superior à da variável C e B, sendo esta a de menor efeito.

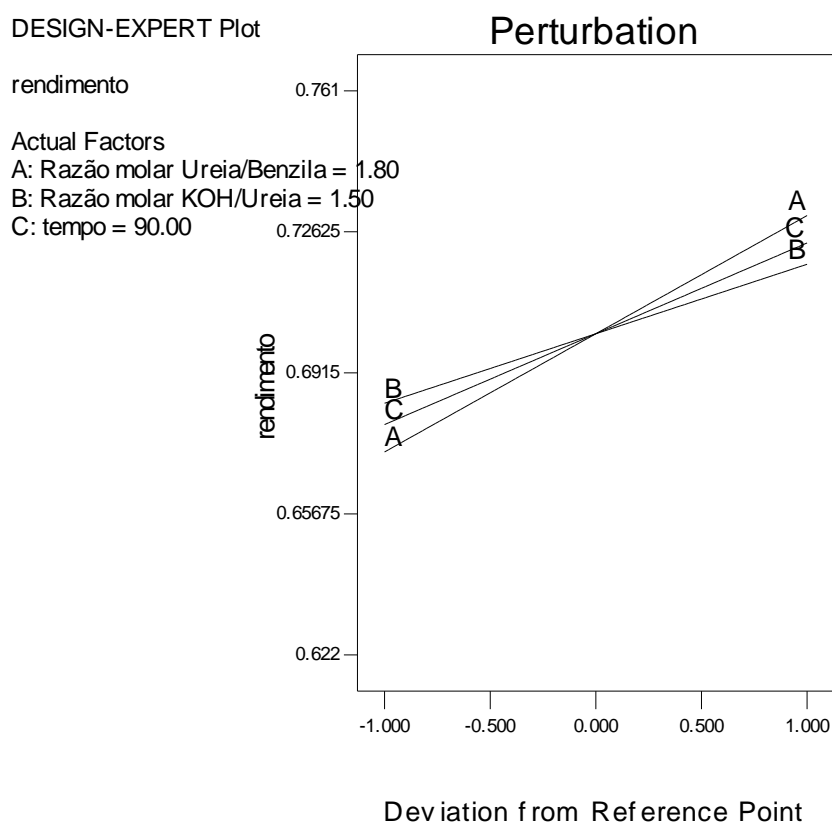


Figura 18 - Gráfico de perturbação das variáveis

As Figuras 19, 20 e 21 apresentam gráficos de interação de primeira ordem entre as variáveis AB, AC, e BC, respectivamente. É possível verificar que o único par que apresenta interação é o da Figura 20, uma vez que nas figuras 20 e 21 os pontos extremos estão equidistantes. Além disso, nas três figuras podemos notar a existência da curvatura, pois mostram os pontos centrais (*design points*) acima das retas. Assim,

conforme explicação anterior, o modelo linear não é apropriado para descrever os dados, devido à curvatura significativa.

Analisando o gráfico da Figura 19, nota-se que o rendimento é maior no nível superior da variável B e ainda maior no ponto central da variável A. É possível observar, também, que a modificação na variável B gera uma influência maior na resposta quando variável A está no seu ponto inferior.

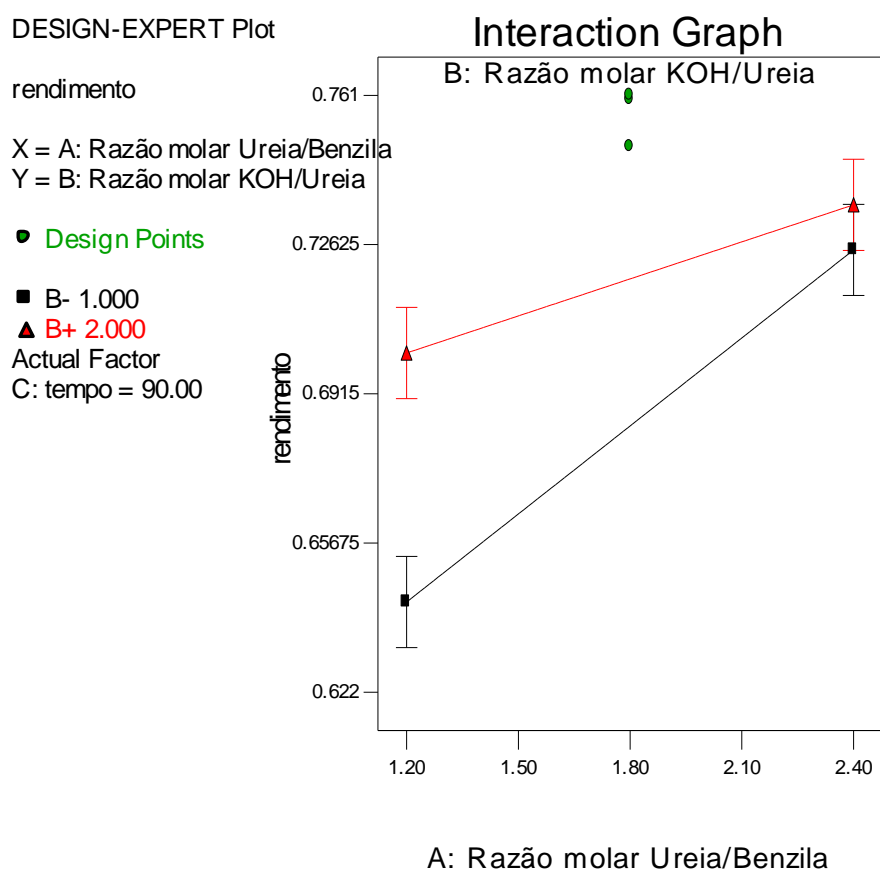


Figura 19 - Gráfico de interação das variáveis A e B

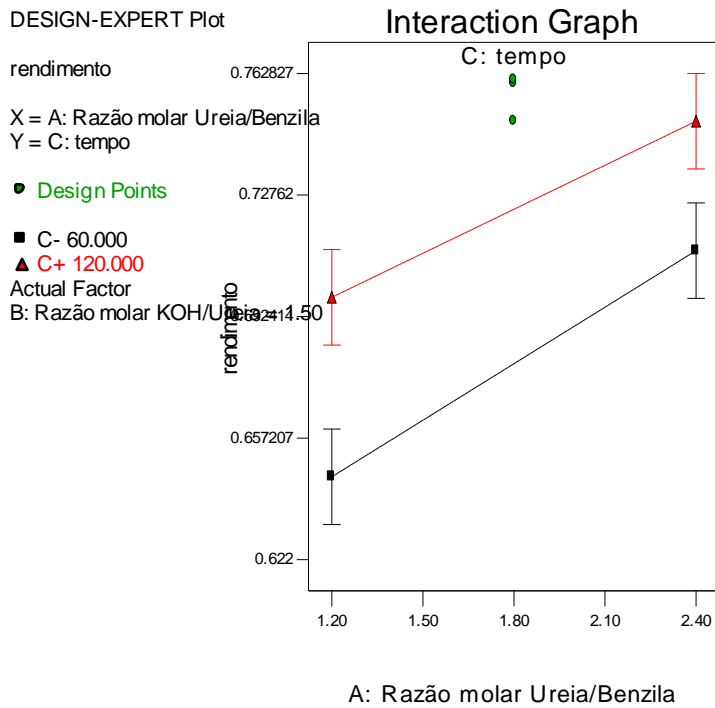


Figura 20 - Gráfico de interação entre as variáveis A e C

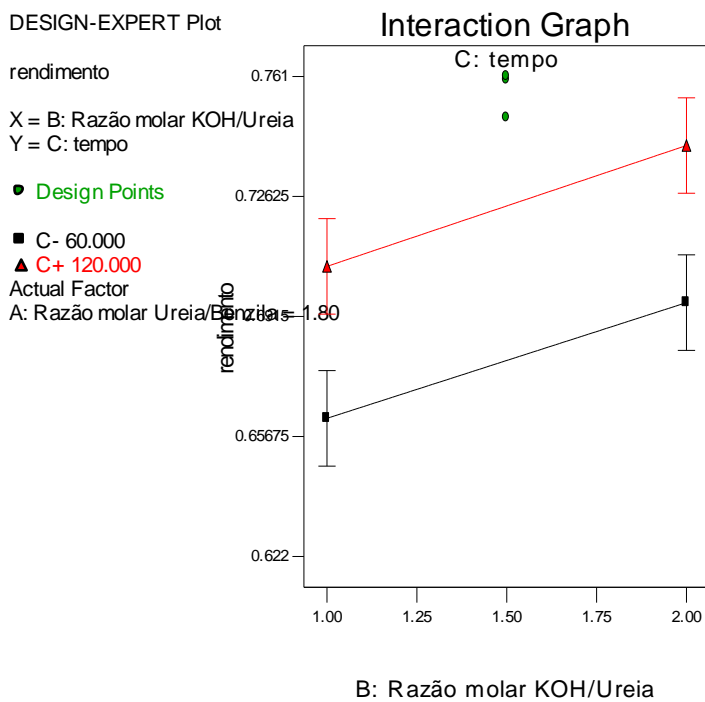


Figura 21 - Gráfico de interação das variáveis B e C

As constatações feitas estão de acordo com a literatura estudada. A influência positiva da razão molar entre a ureia e a benzila no rendimento da reação, sendo o ponto central (razão de 1,8) o de melhor resultado, também foi verificada no artigo de Arani e Safari (2011).

No que diz respeito a razão molar entre o KOH e a ureia, este não foi estudado dessa forma nos artigos apresentados, mas sim uma razão entre o KOH e a benzila. Assim como verificado neste trabalho, tanto Arani e Safari (2011) como Dunnivant e James (1956) encontraram influencia positiva desta variável. Entretanto, houve divergências no que diz respeito ao valor da variável com maior rendimento: neste trabalho foi determinada a razão de 2,0, enquanto em ambos os artigos, foi verificada razão em torno de 1,0.

Com relação aos resultados obtidos, ao comparar os mesmos com artigos apresentados na revisão bibliográfica que utilizaram o método clássico de aquecimento e o etanol como solvente, foi possível atingir rendimentos superiores. Neste trabalho o maior rendimento obtido foi de 76%, enquanto Dunnivant e James (1956) obtiveram 63% e Konrath et al (2012), 74,5%.

Para verificar os pontos de maximização da variável resposta, seria necessário realizar novo planejamento experimental, dessa vez com adição de 4 pontos axiais internos (já que o máximo está dentro dos limites estudados), completando o Planejamento Composto Central. Infelizmente isso não foi possível devido a demora na obtenção das matérias primas que acabaram por diminuir o tempo para a conclusão deste projeto final.

6. Conclusão

Este projeto final de curso possibilitou o estudo da síntese da Fenitoína, com a identificação e avaliação da influência das variáveis de processo, através da aplicação de um planejamento experimental e análise estatística.

A revisão bibliográfica realizada para cada uma das etapas desta síntese foi fundamental na escolha da terceira etapa como foco deste trabalho, uma vez que a primeira foi considerada economicamente inviável de ser realizada no Brasil e a segunda apresenta alto rendimento. Além disso, também auxiliou na escolha das variáveis e dos níveis para estudo.

O uso do planejamento experimental, usando o software *Design Expert*, possibilitou estudar a influencia de três variáveis de processo: razão molar ureia/benzila, razão molar KOH/benzila e tempo reacional. Foi constatada a significância estatística de todas as variáveis, sendo a razão molar ureia/benzila a de maior efeito, com quase um terço de contribuição na variável resposta analisada, seguida pelo tempo reacional.

As três variáveis apresentaram efeitos positivos no rendimento da reação, sendo os melhores resultados obtidos no ponto central da razão molar entre a ureia e a benzil (razão de 1,8), fato que também foi verificado na literatura. A razão molar entre o KOH e a ureia, foi a de menor influência, mas também apresentou efeito positivo, com maior rendimento em seu ponto superior, assim como verificado para o tempo reacional.

As interações entre as variáveis não apresentaram significância estatística, com exceção da interação entre a razão molar de ureia/benzila e KOH/ureia. Já a influência da curvatura foi um ponto de destaque, pois foi estatisticamente significativa. Esse resultado era esperado uma vez que a razão molar entre a ureia e a benzila em torno de 1,8 (PC) apresenta maior rendimento. Por essa variável estudada ter sido a de maior influência, isso contribuiu para a existência de curvatura.

Por este motivo, não foi possível validar o modelo de 1ª ordem proposto nem determinar as condições ótimas que maximizam o rendimento. Entretanto, é importante ressaltar, que os resultados obtidos para a variável de resposta estudada foram ligeiramente superiores àqueles que foram apresentados na revisão bibliográfica e,

portanto, este estudo conseguiu alcançar o objetivo de melhorar o rendimento da reação de síntese de Fenitoina.

Como sugestões para futuros trabalhos estão:

- Realização de Método de Superfície de Resposta, com adição de 4 pontos axiais internos, de forma a tentar obter um modelo adequado e conseguir otimizar as condições reacionais;
- Na parte estatística, realização de mais estudos com replicas, para verificar e garantir a repetibilidade dos experimentos;
- Investigação da influência de outras variáveis, como tipo e quantidade de solvente, de forma a verificar a possibilidade de otimizar ainda mais o rendimento desta síntese.

Referências

- Anderson, R. J. (2009). The Little Compound That Could. *Molecular Interventions*, 208-214.
- A.Abbaspour, & R.Mirzajani. (Julho de 2005). Simultaneous determination of phenytoin, barbital and caffeine in pharmaceuticals by absorption (zero-order) UV spectra and first-order derivative spectra—multivariate calibration methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, pp. 420-427.
- Alsalam, T., Had, i. J., Al, i. O., Abbo, H., & SJ, T. (7 de Janeiro de 2013). Oxidation of benzoin catalyzed by oxovanadium (IV) schiff base complexes. *Chem Cent J*.
- Arani, N. M., & Safari, J. (Março de 2011). A rapid and efficient ultrasound-assisted synthesis of 5,5-diphenylhydantoins and 5,5-diphenyl-2-thiohydantoins. *Ultrasonics Sonochemistry*, pp. 640-643.
- Baragwanath, L., Rose, C. A., Zeitler, K., & Connon, S. J. (18 de Setembro de 2009). Highly Enantioselective Benzoin Condensation Reactions Involving a Bifunctional Protic Pentafluorophenyl-Substituted Triazolium Precatalyst. *J. Org. Chem.*, pp. 9214-9217.
- Calado, V., & Montgomery, D. (2003). *Planejamento de Experimentos usando o Statistica*. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais Ltda.
- Dunnivant, W.R., & James, F. L. (20 de Junho de 1956). The Base-catalyzed Condensation of Benzil with Urea. *Molecular Rearrangements*, pp. 2740-2743.
- Epilepsy Foundation*. (s.d.). Acesso em 19 de Maio de 2018, disponível em <<https://www.epilepsy.com/medications/phenytoin>>
- Gennaro, A.R., ed. (1995) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 19th Ed., Vol. II, Easton, PA, Mack Publishing Co., pp. 1177–1178.
- Goodman Gilman, A., Rall, T.W., Nils, A.S. & Taylor, P., eds (1990) *Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th Ed., New York, Pergamon, pp. 439–443; 857–861.
- HIDANTAL Farm. Resp.: Silvia Regina Brollo. São Paulo: Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda.Bula de remédio. . (s.d.).
- Jones, G.L. & Wimbish, G.H. (1985) Hydantoins. In: Frey, H.H. & Janz, D., eds, *Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 74, *Anti-epileptic Drugs*, Berlin, Springer-Verlag, pp. 351–419.
- Konrath, E. L., & et, a. (2012). SÍNTESE DA FENTOÍNA ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS: PROPOSTA DE AULA PRÁTICA PARA ALUNOS DE. *Química Nova*, pp. 1887-1890.

Lenardão, E. J., Freitag, R. A., Dabdoub, M. J., Batista, A. C., & Silveira, C. d. (Fevereiro de 2003). "Green chemistry" - Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. *Química Nova*, pp. 123-129.

Mavis, M. E., Yolacan, C., & Aydogan, F. (25 de Agosto de 2010). An investigation of the catalytic potential of mono- and dicationic imidazolium N-heterocyclic carbenes in the benzoin condensation. *Tetrahedron Letters*, pp. 4509-4511.

MDIC (Sistema Comex Stat), Dados do Comércio Exterior do Ministério do Desenvolvimento, da Indústria e Comércio Exterior.. Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral>>. Acesso em: maio 2018.

Montgomery, D. C. (2012). *Design and Analysis of Experiments*. John Wiley & Sons Inc.

Muccioli, G. G., & et al. (17 de Fevereiro de 2003). A rapid and efficient microwave-assisted synthesis of hydantoins and thiohydantoins. *Tetrahedron*, pp. 1301-1307.

Pharmacompass. Dados de preço de fármacos. Disponível em: <<https://www.pharmacompass.com/>>. Acesso em julho de 2018

Remédio para controlar convulsão desaparece das farmácias. (28 de Janeiro de 2016). Acesso em 26 de Maio de 2018, disponível em Conselho Federal de Farmácia: <<http://www.cff.org.br/noticia.php?id=3420>>

Reynolds, J.E.F., ed. (1993) *Martindale: The Extra Pharmacopoeia*, 30th Ed., London, The Pharmaceutical Press, pp. 304–309.

Safari, J., Zarnegar, Z., Ahmadi, M., & Seyyedi, S. (Novembro de 2015). An investigation of the catalytic potential of potassium cyanide and imidazolium salts for ultrasound-assisted synthesis of benzoin derivatives. *Journal of Saudi Chemical Society*, pp. 628-633.

Saito, T.; Hayamizu, K.; Yanagisawa, M.; Yamamoto, O.; Wasada, N.; Someno, K.; Kinugasa, S.; Tanabe, K.; Tamura, T.; Tanabe, K.; Hiraishi, J.; NIST - National Institute of Standards, AIST – Institute of Advanced Industrial Science and Technology, SDDBS – Integrated Spectral Data Base System for Organic Compounds, disponível em <http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi?lang=eng>, acessada em Julho 2018.

Sander JW. The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr Opin Neurol*. 2003;16:165–170.

The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, 12th ed.; Rahway: New York, 1996.

World Health Organization. (Fevereiro de 2018). EPILEPSY: KEY FACTS. Disponível em: < <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy> >. Acesso em 07 de Julho de 2018.

World Health Organization. (Outubro de 2006). PHENYTOIN IN CHILDHOOD EPILEPSY. Disponível em World Health Organization: <<http://archives.who.int/eml/expcom/expcom15/applications/paediatrics/formulations/Phenytoin.pdf>>. Acesso em 07 de Julho de 2018,