

República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0800460-9 A2**

(22) Data de Depósito: 28/02/2008  
(43) Data da Publicação: 28/06/2011  
(RPI 2112)



\* B R P I 0 8 0 0 4 6 0 A 2 \*

(51) *Int.Cl.:*  
C07F 9/38 2006.01  
C07F 9/40 2006.01  
A61K 31/685 2006.01  
A61P 3/00 2006.01

(54) Título: **NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO COM MONOETANOLAMINA**

(73) Titular(es): Antônio José Reimer, Gilberto Orivaldo Chierice, Marcos Vinicius de Almeida, Otaviano Mendonça Ribeiro Filho, Renato Meneguelo, Salvador Claro Neto, Sandra Vasconcellos Al-Asfour

(72) Inventor(es): Antônio José Reimer, Gilberto Orivaldo Chierice, Marcos Vinicius de Almeida, Otaviano Mendonça Ribeiro Filho, Renato Meneguelo, Salvador Claro Neto, Sandra Vasconcellos Al-Asfour

(57) Resumo: NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO COM MONOETANOLAMINA. Que utiliza técnicas de espectroscopia vibracional na região do Infravermelho e a análise elementar, e apresenta um rendimento final de 90%, sendo adicionado, ao cristal puro, carbonato de cálcio, magnésio e zinco, para neutralização completa da fosfoetanolamina na forma sólida, e onde a adição de monoetanolamina, para neutralização, pode ser uma estratégia para obtenção de um tampão que pode ser utilizado em disfunções celulares e metabólicas.



PI0800460-9

**NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA FOSFOETANOLAMINA NA  
FORMA SÓLIDA COM CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA  
DE SOLUÇÃO COM MONOETANOLAMINA .**

**CAMPO DE APLICAÇÃO**

5 Refere-se o presente relatório descritivo a uma **NOVA METODOLOGIA DE  
SÍNTESE DA FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM  
CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO COM  
MONOETANOLAMINA**, para um precursor de fosfolípido de possível  
aplicação biológica em disfunções celulares e metabólicas.

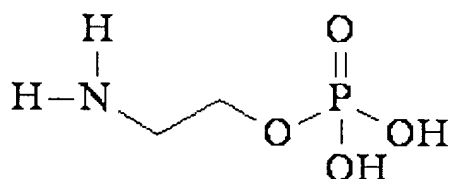
10 **SUMÁRIO DA INVENÇÃO**

A **NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA  
FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM  
CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO COM  
MONOETANOLAMINA**, ora proposta, se desenvolve em duas etapas, sem a  
15 formação de subprodutos reacionais, e utiliza reagentes de baixo custo, se  
comparada com as técnicas atualmente conhecidas.

A **NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA  
FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM  
CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO COM  
MONOETANOLAMINA**, ora proposta, utiliza técnicas de espectroscopia  
20 vibracional na região do Infravermelho e a análise elementar, e apresenta um  
rendimento final de 90%, sendo adicionado, ao cristal puro, carbonato de cálcio,  
magnésio e zinco, para neutralização completa da fosfoetanolamina na forma  
sólida, e onde a adição de monoetanolamina, para neutralização, pode ser uma

estratégia para obtenção de um tampão que pode ser utilizado em disfunções celulares e metabólicas.

O 2-aminoetanol dihidrogenofosfato (fosfoetanolamina ou FOS) é um componente metabólico de fosfolípido que apresenta massa molar de 141,1 g/mol, constituindo-se em um fosfomonoéster que possui a seguinte fórmula estrutural:



Sabe-se que esta substância está presente na membrana plasmática de células animais, e que participa da síntese de fosfatidiletanolamina no retículo endoplasmático, sendo que a fosfatidiletanolamina participa ainda em várias etapas de metabolismo celular, como metabolismo mitocondrial, síntese de acetilcolina e síntese hormonal (LENINGER, A. L; Princípios de Bioquímica, 2 ed. Sarvier, 2000).

### ANTECEDENTES DA TÉCNICA

Em 1936, E. L. Outhouse (Biochem. J.30 (1936) p.143), isolou a fosfoetanolamina (FOS) de tumores malignos bovinos, fornecendo a primeira existência deste composto livre na natureza, e, após este trabalho, outros pesquisadores (J. Awapara; A. J. Landra; R. Fuerst (J. Biol. Chem. V.1183 (1950) p. 545); W. E. Stone (J. Biol. Chem. 149 (1943) 29); D. M. Walker (Biochem. J.52 (1952) 679); R. Osterberg (Arkiv for Kemi, 13 ( 1959) 409)) encontraram a substâncias relacionadas com a síntese de fosfoetanolamina em intestinos de ratos e em tecidos cerebrais de bovinos.

Na década de 70, Cherbuliez e colaboradores (E. Cherbuliez; H. Probst; J. Rabinowitz (Helv. Chim. Acta. 41 (1958) 1693); E. Cherbuliez (Helv. Chim. Acta, 42 (1959) 2277); E. Cherbuliez; G. Cordahi; J. Rabinowitz (Helv. Chim. Acta, 42 (1959) 591); E. Cherbuliez; H. Probst; J. Rabinowitz (Helv. Chim.

Acta, 43 (1960) 465); E. Cherbuliez (Helv. Chim. Acta, 43 (1960) 1841); E. Cherbuliez; G. Cordahi; J. Rabinowitz (Helv. Chim. Acta, 43 (1960) 863); E. Cherbuliez (Helv. Chim. Acta, 43 (1960) 1159); E. Cherbuliez (Helv. Chim. Acta, 44 (1961) 1813); E. Cherbuliez; F. Hunkeler; J. Rabinowitz (Helv. Chim. Acta, 44 (1961) 1803); E. Cherbuliez; A. Yazgi; J. Rabinowitz (Helv. Chim. Acta, 44 (1961) 1165); E. Cherbuliez (Helv. Chim. Acta, 45 (1962) 2653); E. Cherbuliez (Helv. Chim. Acta, 45 (1962) 2283); E. Cherbuliez (Helv. Chim. Acta, 45 (1962) 2651); E. Cherbuliez (Helv. Chim. Acta, 45 (1962) 2657); E. Cherbuliez (Helv. Chim. Acta, 45 (1963) 1449)), não só sintetizaram, mas também caracterizaram e analisaram o comportamento químico de muitos ésteres fosfóricos, publicando trabalhos sobre o tema, onde a síntese descrita por eles envolvia várias etapas, com formação de subprodutos e propiciava baixo rendimento.

Muitas publicações mostram a relação da variação da concentração da fosfoetanolamina com doenças como Mal de Alzheimer, Isquemia, Epilepsia e Câncer (William E. Klunk, Manik L. Debnath, Richard J. McClure and Jay W. Pettegrew (Life Sciences, 56 (1995) 2377); J. G. Pilitsis, F. G. Diaz, M. H. O'Regan and J. W. Phillis (Brain Research, Volume 916( 2001)192); J. W. Phillis and M. H. O'Regan (Neurochemistry International, 43 (2003) 461); Fernando Arias-Mendoza, Mitchell R. Smith and Truman R. Brown (Academic Radiology, 11, (2004) 368)), e, por isso, uma nova rota de síntese com alto rendimento e de baixo custo é de extrema importância para uma possível aplicação biológica.

As sínteses de fosfoetanolamina até hoje descritas foram realizadas por Outhouse (1936 e 1937) e Cherbuliez (1959), e onde as sínteses subsequentes sempre visaram melhorar o rendimento total ao fim de cada reação.

Na síntese de Outhouse, realizada em 1937, verificou-se a seguinte reação:



Porém o rendimento da reação não foi satisfatório, como na síntese de Cherbuliez, em 1959, que, devido à formação de vários subprodutos e a utilização de bário, além de outros reagentes intermediários, apresentou a seguinte reação:



Ribeiro Filho, O. M. (Síntese, caracterização, estudo de equilíbrio químico e agregação do 2-aminoetanoldihidrogenofosfato - Tese de Doutorado da Universidade de São Carlos - SP (1999)) descreve uma síntese semelhante à proposta presentemente, porém com o rendimento de 80%, enquanto que a  
10 síntese ora proposta atinge até 90% de rendimento.

#### **DESCRIÇÃO PREFERIDA DA ROTA DE SÍNTESE**

Na **NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO COM**  
15 **MONOETANOLAMINA**, ora proposta, utilizou como reagentes ácido fosfórico e 2-aminoetanol, ambos fabricados por Carlo Erba, além de nitrogênio gasoso (com grau industrial) da marca AGA, KBr Vetec.

O fluxograma com as etapas da síntese da fosfoetanolamina, ora proposta, está demonstrado na figura 1.

20 Em um balão de 3 bocas de 500 mL, colocou-se 1 mol de 2-aminoetanol sobre banho de gelo e agitação constante, adicionou-se lentamente 1 mol de ácido fosfórico 85% (m/m), sendo que, após a neutralização, o balão foi acondicionado em manta aquecedora e borbulhou-se a mistura com fluxo de gás nitrogênio, mantendo-se o sistema sob agitação com mesmo gás e temperatura  
25 controlada, e onde a adição do gás nitrogênio teve duas funções, sendo uma de retirar água por evaporação, conforme a mistura era aquecida, bem como garantir uma atmosfera inerte de reação, evitando a oxidação do meio reacional, e onde a água evaporada da mistura teve duas origens, sendo que uma parte é a água de

dissolução do próprio ácido fosfórico, e a outra parte é formada como produto da reação de esterificação.

A temperatura foi elevada até 220 °C, e a mistura obtida se apresentou na forma de um líquido amarelo de alta viscosidade, e a esta mistura acrescentou-se 5 água e posteriormente etanol hidratado a 95%, de modo que a mudança da constante dielétrica do meio permitisse a cristalização da fosfoetanolamina, sendo que o líquido viscoso, obtido dessa maneira, cristalizou-se após uma hora, e os cristais obtidos foram lavados com etanol anidro, tendo a reação apresentado rendimento de 90%; ou seja, superior à síntese que foi descrita por Filho, que 10 aqueceu a 180° C e alcançou um rendimento de 80%, e, a partir dos cristais obtidos, preparou-se uma solução aquosa saturada, que foi deixada em repouso, sob refrigeração a 8 °C, durante duas semanas, obtendo-se, desta forma, cristais bem definidos.

Para a caracterização da síntese, ora proposta, utilizou-se técnica de 15 espectroscopia vibracional na região do infravermelho, empregando espectrômetro BOMEM (Modelo MB-102), equipado com sistema de transformação de Fourier, operando na região de número de ondas de 500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , e os espectros de I. R. foram obtidos por meio da leitura de uma pastilha preparada a partir de uma alíquota da amostra, que foi 20 misturada e prensada com brometo de potássio, e a técnica de determinação do teor de carbono, hidrogênio e nitrogênio, com o emprego de um analisador elementar, GA 1110 CHNS-O CE Instruments.

A rota sintética realizada apresentou um rendimento de 90%, sendo que, na primeira etapa da reação observa-se a formação de um sal, e na segunda etapa 25 a formação do éster:

Nos resultados da espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho foram observados que as frequências de absorção evidenciam bandas características do composto, como ilustra a Figura 2, sendo que as

possíveis atribuições relativas aos números de onda são visualizadas na tabela abaixo.

Número de onda / $\text{cm}^{-1}$	Possíveis atribuições
3417 – 2560	Superposição de bandas de deformação axial $\text{NH}_3^+$ e $\text{OH}^-$
2117	Deformação angular simétrica de $\text{NH}_3^+$
1641	Deformação angular assimétrica de $\text{NH}_3^+$
1556	Deformação angular simétrica de N-H
1448	Deformação angular simétrica de $\text{CH}_2$
1259	Deformação axial de P=O
1084 – 941	Deformação axial de P-OH
1030	Deformação axial de P-O-C
530	Oscilação com estiramento do grupo $\text{NH}_3^+$

Os resultados teóricos calculados foram concordantes com os resultados

5 experimentais encontrados na análise elementar, e estes valores foram:

%N = 9,92 (calculado) / 9,54 (encontrado);

% C=17,01 (calculado) / 16,60 (encontrado);

% H= 5,67 (calculado) / 5,80 (encontrado).

10 Para neutralização com sais de cálcio, magnésio e zinco, adiciona-se, em 1 mol de fosfoetanolamina, 0,42 mols de  $\text{CaCO}_3$ ; 0,11 mols de  $\text{MgCO}_3$ , e 0,06 mols de  $\text{ZnCO}_3$ , mistura-se água, e o produto deve ser colocado em estufa a  $70^\circ \text{C}$ , por aproximadamente cinco dias.

Neutralizou-se a solução de fosfoetanolamina 0,02mol/L com monoetanolamina até atingir o pH 7,4, para possível utilização como tampão biológico.

5 Por meio da rota de síntese, ora proposta, pode-se sintetizar o composto fosfoetanolamina com rendimento superior aos descritos nos métodos já relatados na literatura, além do que, esta rota de síntese não apresenta formação de subprodutos e o custos dos seus reagentes são mais baixos que os utilizados em outras rotas sintéticas.



## REIVINDICAÇÕES

**1. NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO**

5 **COM MONOETANOLAMINA, *caracterizada*** pelo fato de utilizar como reagentes ácido fosfórico e 2-aminoetanol, além de nitrogênio gasoso (com grau industrial), sendo que em um balão de três bocas de 500 mL, coloca-se 1 mol de 2-aminoetanol sobre banho de gelo e agitação constante, e adiciona-se lentamente 1 mol de ácido fosfórico 85% (m/m), sendo que, 10 após neutralização, o balão é acondicionado em manta aquecedora, borbulhando-se a mistura com fluxo de gás nitrogênio, mantendo-se o sistema sob agitação com mesmo gás e temperatura controlada, e onde a adição do gás nitrogênio tem duas funções, sendo uma de retirar água por evaporação, conforme a mistura é aquecida, bem como garantir uma 15 atmosfera inerte de reação, evitando a oxidação do meio reacional, e onde a água evaporada da mistura tem duas origens, sendo que uma parte é a água de dissolução do próprio ácido fosfórico, e a outra parte é formada como produto da reação de esterificação, sendo a temperatura elevada até 220 °C, para que a mistura obtida passe a 20 apresentar a forma de um líquido amarelo de alta viscosidade, sendo que a esta mistura acrescenta-se água e posteriormente etanol hidratado a 95%, de modo que a mudança da constante dielétrica do meio cristalize a fosfoetanolamina, sendo que o líquido viscoso, obtido dessa maneira, cristaliza-se após uma hora, e os cristais obtidos são lavados com etanol 25 anidro.

**2. NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO**

COM MONOETANOLAMINA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato da reação apresentar um rendimento de 90%.

3. NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO COM MONOETANOLAMINA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a partir dos cristais obtidos, prepara-se uma solução aquosa saturada, que é deixada em repouso, sob refrigeração a 8 °C, durante duas semanas, obtendo-se, desta forma, cristais bem definidos.

4. NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO COM MONOETANOLAMINA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato as possíveis atribuições relativas aos números de onda são visualizadas da seguinte forma:

Número de onda / $\text{cm}^{-1}$	Possíveis atribuições
3417 – 2560	Superposição de bandas de deformação axial $\text{NH}_3^+$ e $\text{OH}^-$
2117	Deformação angular simétrica de $\text{NH}_3^+$
1641	Deformação angular assimétrica de $\text{NH}_3^+$
1556	Deformação angular simétrica de N-H
1448	Deformação angular simétrica de $\text{CH}_2$
1259	Deformação axial de P=O
1084 – 941	Deformação axial de P-OH
1030	Deformação axial de P-O-C
530	Oscilação com estiramento do grupo $\text{NH}_3^+$

**5. NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO**

5 **COM MONOETANOLAMINA**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato dos resultados teóricos calculados serem concordantes com os resultados experimentais encontrados na análise elementar, e assumirem os seguintes valores:

$$\%N = 9,92 \text{ (calculado)} / 9,54 \text{ (encontrado);}$$

10  $\% C = 17,01 \text{ (calculado)} / 16,60 \text{ (encontrado);}$

$$\% H = 5,67 \text{ (calculado)} / 5,80 \text{ (encontrado).}$$

**6. NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO**

15 **COM MONOETANOLAMINA**, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que, para neutralização com sais de cálcio, magnésio e zinco, são adicionados, em 1 mol de fosfoetanolamina, 0,42 mols de  $\text{CaCO}_3$ ; 0,11 mols de  $\text{MgCO}_3$ , e 0,06 mols de  $\text{ZnCO}_3$ , misturando-se água, e colocando-se o produto em estufa a  $70^\circ \text{C}$ , por aproximadamente  
20 cinco dias.

**7. NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO COM MONOETANOLAMINA** , de acordo com a reivindicação 1,

25 caracterizada pelo fato da solução de fosfoetanolamina  $0,02 \text{ mol/L}$  ser neutralizada com monoetanolamina até atingir o pH 7,4, para possível utilização como tampão biológico.

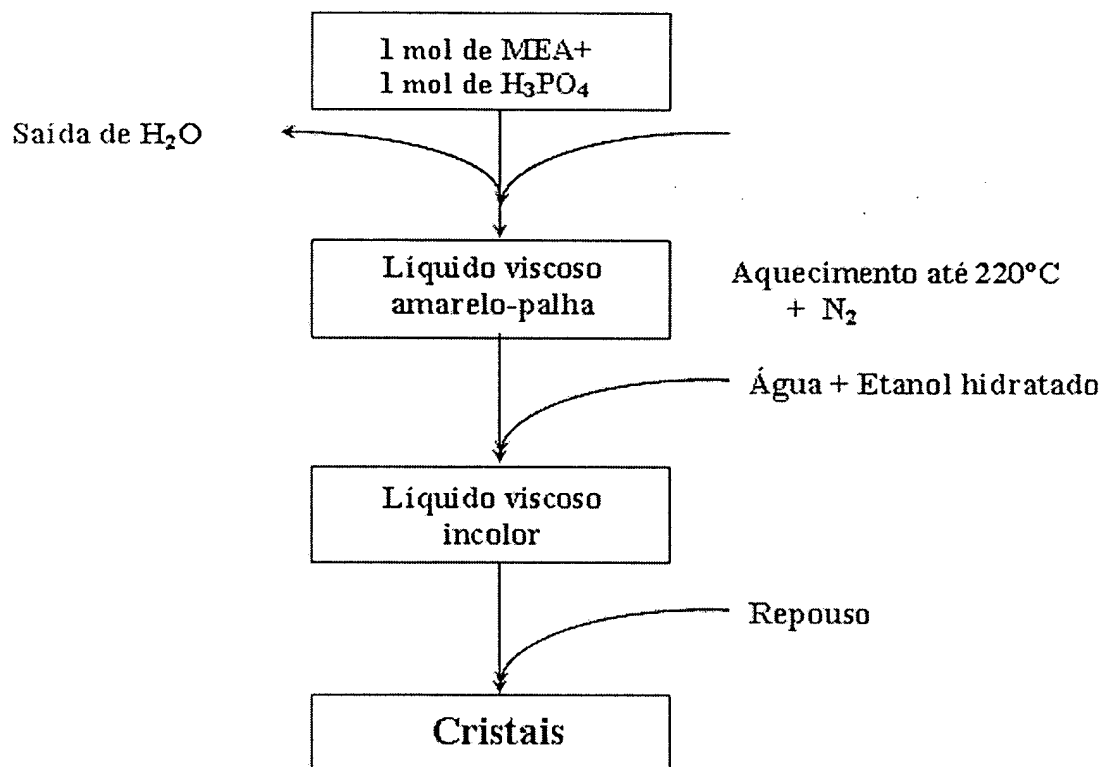


Fig. 1

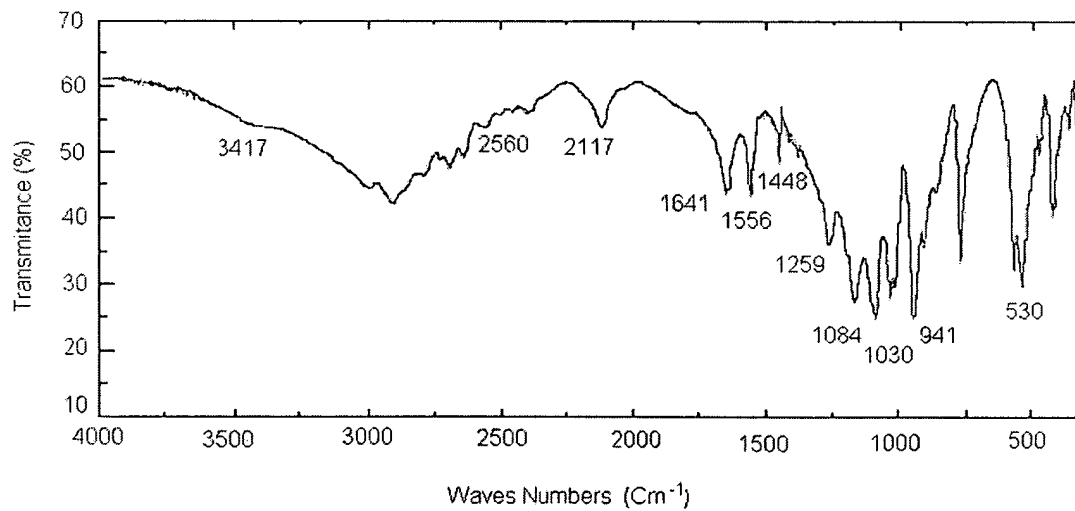


Fig. 2

## RESUMO

**NOVA METODOLOGIA DE SÍNTESE DA  
FOSFOETANOLAMINA NA FORMA SÓLIDA COM  
CÁLCIO, MAGNÉSIO E ZINCO E NA FORMA DE SOLUÇÃO COM  
5 MONOETANOLAMINA**

Que utiliza técnicas de espectroscopia vibracional na região do Infravermelho e a análise elementar, e apresenta um rendimento final de 90%, sendo adicionado, ao cristal puro, carbonato de cálcio, magnésio e zinco, para neutralização completa da fosfoetanolamina na forma sólida, e onde a adição de  
10 monoetanolamina, para neutralização, pode ser uma estratégia para obtenção de um tampão que pode ser utilizado em disfunções celulares e metabólicas.