

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej. Wydział Farmaceutyczny.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr Eugenia Domagalina

Eugenia DOMAGALINA i Hanna HOPKAŁA

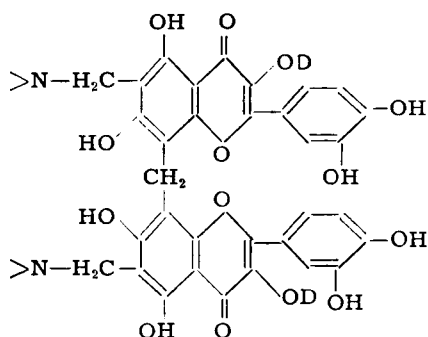
Reakcje aminometylowania rutyny i kwercetyny

Реакция аминометилирования рутина и кверцетина

Aminomethylation Reaction of Rutin and Quercetin

Rozpowszechniona w świecie roślinnym rutyna (rutozyd; 3-ramnoglukozyd kwercetyny; 5,7,3',4'-czterohydroksyflawonol-3) jest związkciem wprowadzonym do lecznictwa w 1944 r. jako środek uszczelniający naczynia włosowate, stosowany w gnilcu, skazach krwotocznych, nadciśnieniach, krwimoczcu i działający również przeciwzapalnie i przeciwalergicznie. Trudna rozpuszczalność rutyny w wodzie ogranicza zakres jej działania i uniemożliwia stosowanie tego leku drogą iniekcyjną. Dlatego problem poszukiwania pochodnych dobrze rozpuszczalnych, zachowujących aktywność farmakologiczną, jest stale aktualny. Jak wynika z dotychczasowych badań zadowalające właściwości wykazały sole sodowe estrów siarczanowych rutyny (2) oraz pochodne hydroksy- i aminoalkilowe, z których metylorutyna (Vasorutina) (5), eterowa 7,3',4'-trój- β -hydroksyetylorutyna (Relvène, Vitamin P.) (1) i 8/lub 6/-morfolinoetylorutyna (Aethoxazorutosid, Solurutine) weszły do lecznictwa jako antihämorrhagica (4). Dobrą rozpuszczalnością w wodzie cechują się też produkty reakcji aminometylowania (zasady Mannicha) rutyny, otrzymane przez Klośę (3) i opatentowane jako sole kompleksowe, w których składnikami kwasowymi są różne farmakologicznie czynne związki, jak np. kwas acetylosalicylowy, nikotynowy, alkaloidy purynowe, barbiturowe (6). Z zasad Mannicha tylko 8/lub 6/-dwuetyloaminometylorutyna i 3-metylo-7-metoksy-8-dwumetyloaminometyloflawon (Remeflin — analeptyk oddechowy) zarejestrowane są w spisie leków (4). W cytowanej pracy wykazano jednak, że zasady Mannicha wywodzące się z rutyny są pochodnymi bis-/8-rutyno/-metanu, gdyż można je otrzymać z tego związku na drodze dalszego podstawienia w poz. C₃ (3).

Poniższa struktura powstająca w wyniku związania 2 cząsteczek mostkiem metylenowym tłumaczy — zdaniem autora — łatwą rozpuszczalność w wodzie tych połączeń. Dowód dwucząsteczkowej budowy aminometylorutyn oparto na założeniu, że naturalne składniki drewna — polihydroksyflawony dopiero przez utworzenie mostka metylenowego przechodzą w formy rozpuszczalne (7).

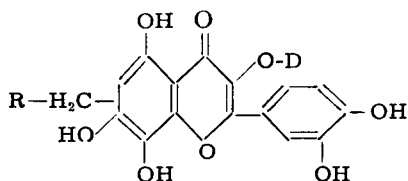



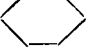

D = reszta dwusacharydu —
rutynozy

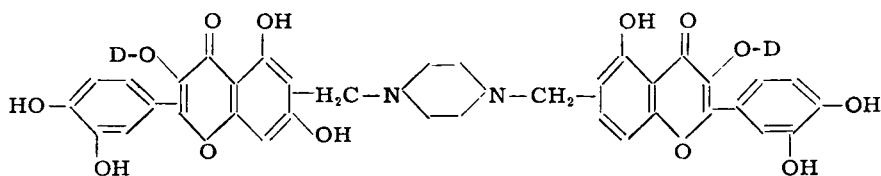
Wątpliwości, jakie w świetle dotychczasowych danych w literaturze wzbudzają wyniki Klośy, w tym także brak jakiegokolwiek wzmianki na temat dwucząsteczkowej struktury flawonoidowych składników drewna w cytowanej przez niego pracy (7), były dla nas bodźcem do powtórzenia doświadczeń tego autora, zsyntezowania dalszych, nie opisanych dotąd zasad aminometylowych wywodzących się z rutyny, a także z jej aglikonu — trudno rozpuszczalnej kwercetyny (Flavin. Sophoretin) stosowanej również jako lek naczyniowy (4).

Prowadząc kondensację rutyny z formaldehydem według metody podanej przez Klośę nie otrzymano bis-8-rutynylometanu. Z metanolewego roztworu poreakcyjnego izopropanol wytrąca śladową ilość odpowiedniej zasady Mannicha, utworzonej z zalecanego drobnego dodatku aminy, natomiast z zagęszczonych ługów regeneruje się w całości nie przereagowana rutyna.

W reakcji rutyny z aminami i 38% formaldehydem, w środowisku etanolu lub metanolu, otrzymano przy stosunku molowym substratów, a także przy nadmiarze aminy i formaliny, bardzo łatwo rozpuszczalne już w zimnej wodzie, trwale również we wrzącym 2,5% kwasie solnym, jednocząsteczkowe zasady (I—IV)



- I. R = -N $\begin{cases} \text{C}_2\text{H}_5 \\ \text{C}_2\text{H}_5 \end{cases}$
 II. R = -N $\begin{cases} (\text{CH}_2)_3\text{CH}_3 \\ (\text{CH}_2)_3\text{CH}_3 \end{cases}$
 III. R = -N 
 IV. R = -N 
 V. R = -N 



Rozpuszczalność otrzymanych przez nas dwu nowych połączeń: N-piperazynometylorutyny (V) i N,N'-bis-rutynylometylopiperazyny (VI) jest bardzo trudna, lecz przy zastąpieniu piperazyny jej dwuchlorowodorkiem uzyskuje się sól rozpuszczalną, zawsze chlorowodorek związku (V), bez względu na ilość dwu pozostałych składników reakcji. Stwierdzono także, że rutyna łatwo tworzy połączenia cząsteczkowe (sole) z aminami; związki te topią się nisko, bez rozkładu (ok. 100°, rutyna ok. 200° z rozkł., zasady aminometylowe ok. 280°), łatwo rozpuszczają się w wodzie, lecz dość szybko ulegają w roztworze hydrolizie.

Znacznie mniej korzystne z uwagi na trudną rozpuszczalność okazały się aminometylowe pochodne kwercetyny o strukturze jak wyżej (D = H, związki VII—XII), z których tylko N-morfolinometylokwercetyna (IX) i N-piperydinometylokwercetyna (X) dają trwałe, bardzo łatwo rozpuszczalne w wodzie chlorowodorki.

Z uwagi na dyskusyjną pozycję podstawienia w cząsteczce obu związków macierzystych, otrzymane w naszej pracy związki określono jako 8(lub 6)-aminometylorutyny lub odpowiednio kwercetyny.

Przeprowadzone w Zakładzie Farmakodynamiki Akademii Medycznej w Lublinie wstępne testy farmakologiczne na związkach I—IV wykazały ich niższą toksyczność w stosunku do rutyny (LD₅₀ powyżej 3000 mg/kg, dla rutyny 1630), a dla związku (II) nie stwierdzone u rutyny, słabe potęgowanie narkozy ewipanowej (ED₅₀ = średnio 460 mg/kg) i słabe działanie analgetyczne. Dokładniejsza analiza tych połączeń, a także związków V, IX, X, winna być kontynuowana.

CZĘŚĆ DOSWIADCZALNA

8/lub 6/-N-dwuetyloaminorutyna (I)

1,3 g uwodnionej rutyny zawieszono w 12 ml bezw. etanolu (lub rozpuszczono na gorąco w 6 ml metanolu), dodano 0,15 ml dwuetyloaminy, po ogrzaniu do rozpuszczenia na łaźni wodnej pod chłodnicą zwrotną wkroplono przy mieszaniu 0,2 ml 38% formaldehydu (stosunek molowy substratów 1:1:1,25) i całość ogrzewano przez 1-godz. przy lekkim wrzeniu. Roztwór poreakcyjny pozostawiono do następnego dnia i wydzielony bezpostaciowy, częściowo żywicowaty osad jasnopomarańczowy odsączono, roztarto i odmyto małą ilością etanolu i acetonem. Kolejno rozpuszczono go w metanolu i z ogrzanego roztworu wytrącono izopropanolem jaśniejszy już, jednorodny osad. Produkt ten po odmyciu małymi porcjami izopropanolu i acetonu ponownie rozpuszczono i wytrącono jak wyżej uzyskując 0,7 g — 75% bezpostaciowej, żółtej substancji, rozkładającej się w 280—5°. Związek rozpuszcza się bardzo łatwo w wodzie, rozcieńczonych alkaliach i kwasach, w metanolu, trudniej w etanolu (po ogrza-

niu), nie rozpuszcza się w izopropanolu, acetonie. Gotowany w roztworze wodnym lub kwaśnym (2,5% HCl) nie zmienia się, lecz w toku gotowania z 5% HCl hydrolizuje z wytrąceniem rutyny.

Analiza:

Dla wzoru $C_{32}H_{41}NO_{16}$ (c. cz. 695,66) — obliczono: 55,53% C; 5,94% H; 2,01% N, oznaczono: 53,52% C; 6,14% H; 2,03% N.

W reakcji rutyny z dwuetyloaminą (bez formaldehydu), przy stosunku molowym substratów 1 : 1 otrzymano po odpędzeniu etanolu bezpostaciową, intensywnie żółtą sól o temp. topn. 75—96° (gazowanie). Związek ten rozpuszcza się również bardzo łatwo w wodzie, znacznie łatwiej niż zasada w alkoholach i acetonie, w roztworze wodnym po kilkunastu minutach hydrolizuje.

Dla wzoru $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot C_4H_{11}N$ (c. cz. 683,65) — obliczono: 2,04% N, oznaczono: 1,79% N.

Postępując jak wyżej otrzymano dalsze zasady Mannicha i sole rutyny z aminami o cechach rozpuszczalności, zdolności do hydrolizy jak związku (I).

8 / lub 6 / - N - dwubutyloaminorutyna (II)

Żółty bezpostaciowy związek o temp. rozkładu 265—70°, wydajność 0,8 g = 56%.

Dla wzoru $C_{36}H_{49}NO_{16}$ (c. cz. 751,76) — obliczono: 57,51% C; 6,57% H; 1,86% N; oznaczono: 56,65% C; 6,22% H; 2,11% N.

Sól rutyny z dwubutyloaminą, t. t. 88—98°.

8 / lub 6 / - N - morfolinometylorutyna (III)

Żółty, bezpostaciowy związek o temp. rozkł. 275—80°, wydajność 0,9 g = 64%.

Dla wzoru $C_{32}H_{39}NO_{17}$ (c. cz. 709,64) — obliczono: 54,15% C; 5,54% H; 1,97% N, oznaczono: 54,20% C; 5,35% H; 1,98% N.

Sól rutyny z morfoliną, t. t. 88—110°.

8 / lub 6 / - N - piperydynometylorutyna (IV)

Żółty, bezpostaciowy związek o temp. rozkł. 280—5°, wydajność 1,1 g = 80%.

Dla wzoru $C_{33}H_{41}NO_{16}$ (c. cz. 707,66) — obliczono: 56,00% C; 5,84% H; 1,98% N, oznaczono: 56,00% C; 5,94% H; 2,25% N.

Sól rutyny z piperydyną, t. t. 90—108°. Produkt trwalszy, hydrolizujący w wodzie po kilku godzinach.

8/lub 6/-N-piperazynometylorutyna (V)

1,3 g rutyny rozpuszczono na gorąco w 6 ml metanolu, dodano porcjami 0,4 g piperazyny sześciowodnej i wkroplono 0,2 ml 38% formaldehydu (stos. molowy 1:1:1,25). Mieszaninę ogrzewano przez 1 godz. pod chłodnicą, utrzymując łagodne wrzenie roztworu. Wydzielający się w toku reakcji olej, który po kilku godzinach krzepnie na zbitą masę, roztarto, odmyto i wyługowano trzykrotnie metanolem, uzyskując żółty produkt z 94% wydajnością. Związek rozpuszcza się dobrze w alkaliach, bardzo trudno w wodzie, nie rozpuszcza się w alkoholach, dioksanie, acetonie. Temp. rozkł. 245—8°.

Dla wzoru: $C_{32}H_{40}N_2O_{16}$ (c. cz. 708,66) — obliczono: 54,23% C; 5,69% H; 3,95% N, oznaczono: 53,80% C; 5,77% H; 3,92% N.

Zastępując piperazynę w reakcji jak wyżej jej dwuchlorowodorkiem otrzymano olej dobrze rozpuszczalny w ciepłym metanolu. Po zadaniu izopropanolem wydziela się jasnożółty, bezpostaciowy osad chlorowodorku piperazynometylorutyny, który oczyszczono przez dwukrotne jeszcze rozpuszczenie i wytrącanie. Związek ten wykazuje bardzo dobrą rozpuszczalność w wodzie i temp. rozkł. 205—10°.

Dla wzoru $C_{32}H_{41}N_2O_{16}Cl$ (c. cz. 763,14) — obliczono: 4,64% Cl; oznaczono: 5,06% Cl.

Sól rutyny z piperazyną (1:1), t. t. 80—100°.

Dla wzoru $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot C_4H_{10}N_2$ (c. cz. 696,65) — obliczono: 4,02% N; oznaczono: 3,81% N.

N,N'-bis-/rutynylo-8/lub 6/-metylo/-piperazyna (VI)

W wyniku kondensacji prowadzonej jak dla związku (V), lecz przy stosunku molowym substratów 1:0,5:2 uzyskano z wydajnością 85% żółty, bezpostaciowy produkt, wykazujący temp. rozkł. 277—9° i taką samą jak (V) trudną rozpuszczalność.

Dla wzoru $C_{60}H_{70}N_2O_{32}$ (c. cz. 1331,18) — obliczono: 54,13% C; 5,30% H; 2,10% N, oznaczono: 54,14% C; 5,57% H; 2,10% N.

Sól rutyny z piperazyną (2:1), t. t. 90—104°.

Dla wzoru $C_{54}H_{60}O_{32} \cdot C_4H_{10}N_2$ (c. cz. 1307,16) — obliczono: 2,14% N; oznaczono: 2,12% N.

8/lub 6/-N-dwuetyloaminokwercetyna (VII)

0,6 g uwodnionej kwercetyny zawieszono w 15 ml bezw. etanolu, dodano 0,2 ml 38% formaldehydu i wolno mieszając wkraplano 0,15 ml dwuetyloaminy. Mieszaninę tę o stos. molowym substratów 1:1,25:1 ogrzewano 1 godz. w temperaturze łagodnego wrzenia a po ostudzeniu krystaliczny, wytrącony z roztworu osad (intensywnie żółte grudki) od-

sączono i odmyto etanolem. Wydajność 0,53 g = 70%, temp. topn. 332—3° z rozkł., depresja z suszoną w 95° kwercetyną topiącą się w 313—4° ok. 30° (t. t. mieszaniny 286—8°). Związek rozpuszcza się dobrze tylko w alkaliach, trudno w acetonie a w wodzie, rozcieńczonych kwasach i rozpuszczalnikach organicznych jest nierozpuszczalny.

Analiza:

Dla wzoru $C_{20}H_{21}NO_7$ (c. cz. 387,57) — obliczono: 62,00% C; 5,46% H; 3,61% N, oznaczono: 61,40% C; 5,37% H; 3,40% N.

Postępując jak wyżej otrzymano dalsze zasady Mannicha o rozpuszczalności jak w związku VII:

8 / l u b 6 / - N - d w u b u t y l o a m i n o m e t y l o k w e r c e t y n a (VIII)

Żółte, krystaliczne grudki o t. t. 315—7° z rozkł. (w mieszaninie z kwercetyną 272—9°), wydajność 0,48 g = 55%.

Dla wzoru $C_{24}H_{29}NO_7$ (c. cz. 443,48) — obliczono: 64,99% C; 6,59% H; 3,15% N, oznaczono: 65,44% C; 6,57% H; 2,90% N.

8 / l u b 6 / - N - m o r f o l i n o m e t y l o k w e r c e t y n a (IX)

Żółte, cienkie blaszki o t. t. 305° z rozkł. (w mieszaninie z kwercetyną 300—10°), wydajność 0,57 g = 84%.

Dla wzoru $C_{20}H_{19}NO_8$ (c. cz. 401,36) — obliczono: 59,84% C; 4,77% H; 3,49% N, oznaczono: 59,59% C; 4,51% H; 3,48% N.

0,3 g (IX) zawieszono w 20 ml 75% etanolu, dodano do całkowitego rozpuszczenia kilka kropel stęż. HCl i pozostawiono do następnego dnia. Krystaliczny osad (0,2 g, żółte pałeczki) chlorowodoru morfolinometylokwercectyny odsączono i odmyto acetonem. Związek topi się bez rozkładu w 198—200°, rozpuszcza się bardzo łatwo w wodzie (w toku gotowania dość szybko hydrolizuje), metanolu i gorącym etanolu.

Dla wzoru $C_{20}H_{19}NO_8 \cdot HCl$ (c. cz. 437,82) — obliczono: 8,09% Cl, oznaczono: 7,60% Cl.

8 / l u b 6 / N - p i p e r y d y n o m e t y l o k w e r c e t y n a (X)

Żółto pomarańczowe pryzmy o t. t. 323° z rozkł. (w mieszaninie z kwercetyną 260—5°), wydajność 0,75 g = 95%.

Dla wzoru $C_{21}H_{21}NO_7$ (c. cz. 399,38) — obliczono: 63,15% C; 5,30% H; 3,50% N, oznaczono: 62,88% C; 5,17% H; 3,64% N.

Chlorowodorek piperydynometylokwercectyny (zielonkawo żółte igły o t. t. 309—10° z rozkł.) rozpuszcza się bardzo łatwo w wodzie (na gorąco nie ulega hydrolizie), trudniej w alkoholach.

Dla wzoru $C_{21}H_{21}NO_7 \cdot HCl$ (c. cz. 435,84) — obliczono: 8,13% Cl, oznaczono 7,92% Cl.

8 / l u b 6 / - N - p i p e r a z y n o m e t y l o k w e r c e t y n a (XI)

Szarawo żółte, krystaliczne grudki o t. t. 313° z rozkł. (w mieszaninie z kwercetyną $270-80^\circ$), wydajność 0,77 g = 90%.

Dla wzoru $C_{20}H_{20}N_2O_7$ (c. cz. 400,38) — obliczono: 59,99% C; 5,04% H; 7,00% N, oznaczono: 58,42% C; 5,02% H; 6,94% N.

N, N' - b i s - k w e r c e t y n y l o - 8 / l u b 6 / - m e t y l o / - - p i p e r a z y n a (XII)

Prowadząc reakcję jak dla związku VII, lecz przy stosunku molowym substratów 1 : 1,25 : 0,5 (kwercetyna, formaldehyd, piperazyna), otrzymano 0,35 g = 50% produktu (szaro zielone grudki), nierozpuszczalnego w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych, topiącego się w 293° z rozkł. (w mieszaninie z kwercetyną $270-7^\circ$).

Dla wzoru $C_{36}H_{30}N_2O_{14}$ (c. cz. 714,62) — obliczono: 60,50% C; 4,23% H; 3,92% N, oznaczono: 59,99% C; 4,23% H; 4,12% N.

PIŚMIENNICTWO

1. Favre J., patent szwajc. 349 614 (1957); Courbat P., Guerne R., Uhlmann G.: *Helv. Acta* **48**, 1203—1211, 1420—1424, 1966.
2. Höller H. J. A., Janisch H.: *Scientia Pharm.* **38**, 183—185, 1932.
3. Klosa J.: *J. prakt. Chemie* [4], **35**, 319—325, 1967.
4. Negwer M.: *Org.-chem. Arzneimittel u. ihre Synonima*, poz. 3336, 3451, 3450, 3439, 2586, 1742, Akademie-Verlag, Berlin, 1967.
5. Patent DBP 832 892.
6. Rogowski R., Klosa J.: patent polski 104 220, 1964.
7. Sandersmann W.: *Naturwissenschaften* **53**, 513—519, 1966.

Otrzymano 13 I 1969.

Р Е З Ю М Е

В поисках новых растворимых соединений рутина и кверцетина, сохраняющих антигеморрагическую активность, получено реакцией Манниха ряд аминометилированных производных (I—XII). Соединения I—IV в предварительных фармакологических опытах проявили общие свойства рутина с пониженной токсичностью и небольшим увеличением эвипанного наркоза, и небольшим аналгетическим действием. Следует также обратить внимание на производную рутина с пи-

перазинметиловым радикалом (V), а также на морфолин- и пиперидинметилкверцетин (IX—X), так как их хлористоводородные соли легко растворимы.

S U M M A R Y

In search of some new soluble compounds of rutin and quercetin, known for their antihaemorrhagical activity, some of the aminomethyl-derivatives (I—XII) were obtained by the Mannich reaction. In the preliminary pharmacological tests, the compounds I—IV showed the general profile of rutin with a decreasing toxicity, weak potentialization of evipan narcosis and weak analgetic activity. A rutin derivative with piperazinemethylrest (V), the morpholine- and piperidinemethylquercetin (IX, X), are also worth mentioning because of high solubility of their hydrogenchlorides.