

Chimica. — 11-metossi-diabolina: un nuovo alcaloide terziario da *Strychnos Romeu Belenii* Krukoff & Barneby (*). Nota di ELISABETTA MIRANDA DELLE MONACHE, CORRADO GALEFFI, SILVIA ERAZO GIUFFRÀ (**), e GIOVANNI BATTISTA MARINI BETTOLO, presentata (***) dal Corrisp. G. B. MARINI BETTOLO.

SUMMARY. — From the stem bark of *Strychnos Romeu Belenii* Krukoff & Barneby a Loganiacea of South America, a new indolinic alkaloid has been isolated, to which the structure of 11-methoxydiaboline(I) has been assigned on the basis of u.v., i.r., n.m.r., o.r.d. and MS data.

The structure has been confirmed by converting I in α -colubrine(II) through the N-deacetyl derivative(III) (11-methoxy-Wieland-Gumlich aldehyde), and by acetylation to isocondensamine isomer of condensamine(X).

11-methoxy-Wieland-Gumlich aldehyde by heating with acetic acid and sodium acetate is converted into the dimeric 11,11'-dimethoxy-caracurine V (XI).

Nello studio sistematico degli alcaloidi di varie specie di *Strychnos* sono sempre state riscontrate miscele molto complesse di alcaloidi, per la cui separazione abbiamo messo a punto un nuovo metodo di ripartizione in controcorrente a pH variabile in modo discontinuo [1].

Nella corteccia del fusto di *Strychnos Romeu Belenii* Krukoff e Barneby che vegeta in Brasile (Itacarè, Bahia) [2], è stato invece riscontrato un nuovo alcaloide allo stato quasi puro accanto a tracce di altre sostanze basiche. L'alcaloide dopo distribuzione in controcorrente tra cloroformio e tampone a pH 6 cristallizza da acetato di etile in prismi che fondono a 214-6°, $[\alpha]_D^{20} = +20$ (c 1 in CHCl_3). In base all'analisi elementare ed allo spettro di massa (M^+ 382 picco base) si deduce la formula grezza $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$.

Lo spettro UV in EtOH con massimi a 295 nm ($\log \epsilon$ 3,81), 292 ($\log \epsilon$ 3,84), 254 ($\log \epsilon$ 4,01) e minimo a 273 nm ($\log \epsilon$ 3,62) è molto simile a quello caratteristico della α -colubrina(II) [3] [λ_{\max} 297 nm ($\log \epsilon$ 3,77), 293 ($\log \epsilon$ 3,75) e 255 ($\log \epsilon$ 4,03)] e della stricnospermina(IV) [4] [294 ($\log \epsilon$ 3,66) e 252 ($\log \epsilon$ 3,93)], cioè di una 11-metossi-N-acil-indolina.

La struttura N-acil-indolinica è confermata pure dalla reazione di Otto con bicromato ed acido solforico e dalla banda IR a 1650 cm^{-1} dovuta alla vibrazione di « stretching » del carbonile ammidico privo di legame idrogeno.

(*) Lavoro eseguito presso i Laboratori di Chimica Biologica dell'Istituto Superiore di Sanità - Roma.

(**) Borsista dell'Istituto Superiore di Sanità della Universidad tecnica Santa Maria, Valparaiso - Chile.

(***) Nella seduta del 17 aprile 1971.

La molteplicità e gli spostamenti chimici dei segnali RMN in deutero-cloroformio dei protoni aromatici e del metossile della conformazione V (H_9 doppietto (d) δ 6,90 p.p.m. J 8,5 c.p.s., H_{10} quartetto (q) δ 6,63 p.p.m. J 2,5 e 8,5 c.p.s., H_{12} doppietto δ 7,70 p.p.m. J 2,5 c.p.s., OCH_3 singoletto (s) δ 3,78 p.p.m.) identici a quelli corrispondenti della α -colubrina [5] [H_9 δ 7,00 p.p.m. (d) J 8 c.p.s., H_{10} 6,60 p.p.m. (q) J 2 e 8 c.p.s., H_{12} 7,74 p.p.m. (d) J 2 c.p.s., OCH_3 3,76 p.p.m. (s)] confermano l'identica sostituzione aromatica.

Inoltre la presenza di un altro singoletto corrispondente a tre protoni a 2,35 p.p.m. cioè a campi relativamente bassi per un acetile è a favore di una struttura N -acetil-indolinica in quanto il segnale del N -acetile è a 2,35 p.p.m. nella diabolina(VI) e a 2,37 nella stricnospermina(IV) [6].

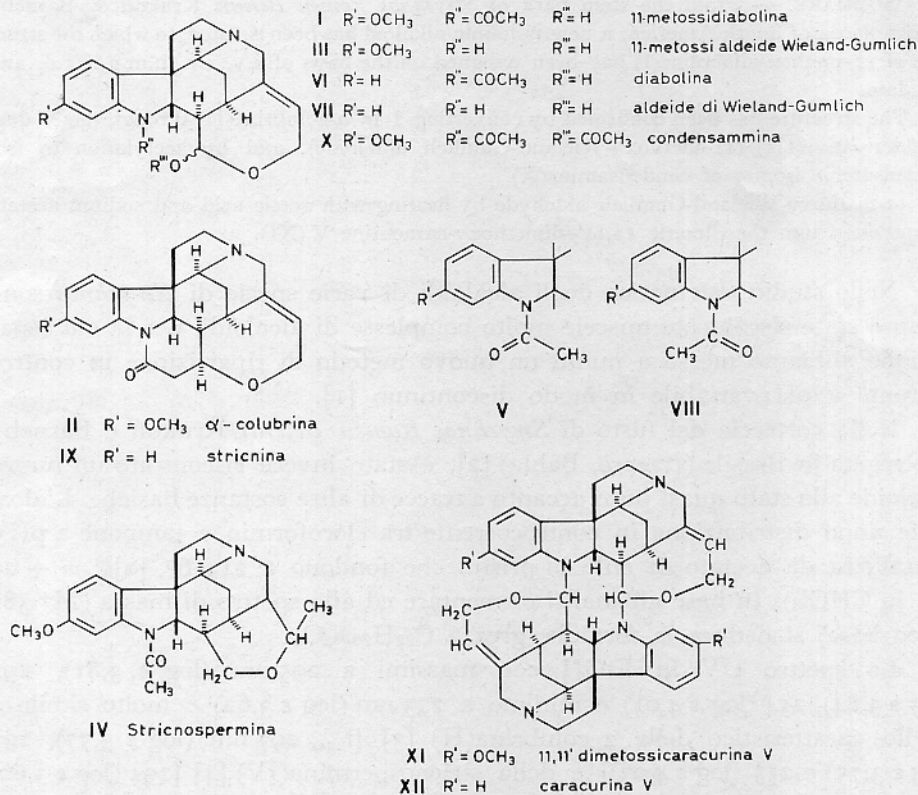


Fig. 1.

Nello spettro IR in $CHCl_3$ si ha una stretta banda a 3650 cm^{-1} attribuita all'ossidrilico libero, una larga banda tra 3300 e 3400 e tra 2700 e 2500 cm^{-1} dovuta all'ossidrilico (ed al gruppo amminico) legato, una a 1600 cm^{-1} attribuita al sistema indolinico e la larga banda sovraccennata a 1650 cm^{-1} del N -acilammide senza legame idrogeno. Questo spettro è praticamente sovrapponibile a quello della diabolina tra 3650 e 1500 cm^{-1} [7].

Questo suggerisce l'identità dei gruppi funzionali le cui vibrazioni cadono in questo intervallo e precisamente dell'anello emiacetalico (oltre a quello acetammidico) propri della diabolina.

Anche gli spettri RMN della diabolina(VI) e dell'alcaloide in esame (I) sono molto simili salvo naturalmente la diversità della parte aromatica e la presenza del metossile. La notevole similitudine della parte non aromatica della molecola dell'alcaloide con quella della diabolina, salvo forse per la stereochimica, è confermata dagli spettri di massa delle due sostanze nei quali i frammenti attribuibili alla parte non aromatica della molecola compaiono tutti e con pari intensità nei due alcaloidi mentre quelli contenenti l'anello indolico risultano maggiorati di 30 unità di massa nell'alcaloide in esame rispetto alla diabolina [8] per la presenza del metossile (vedi Tabella I).

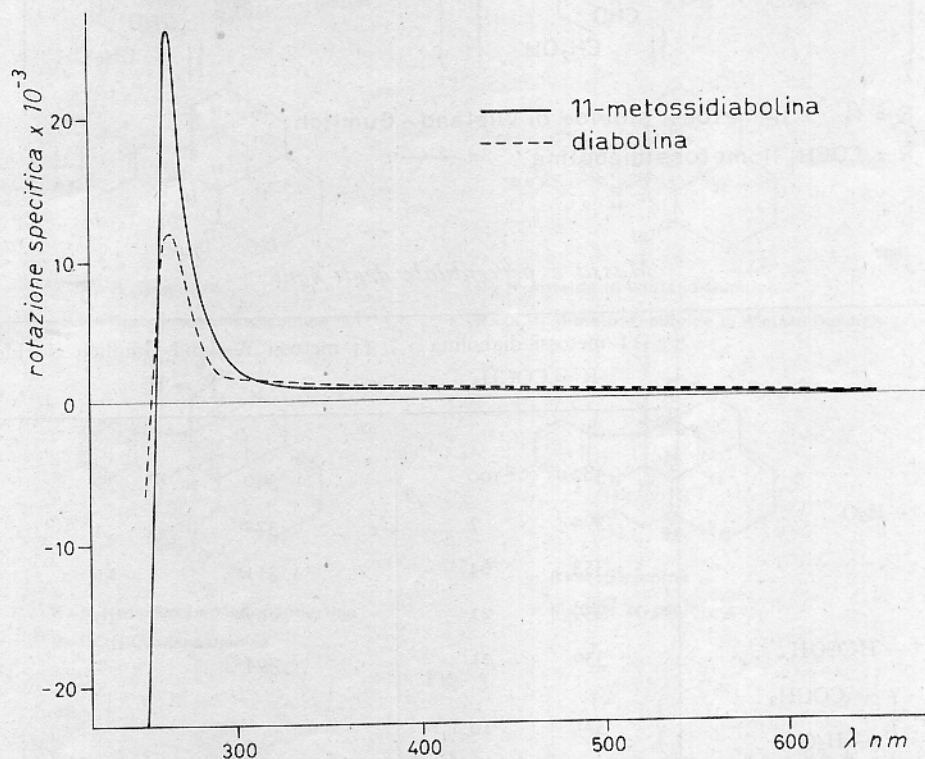


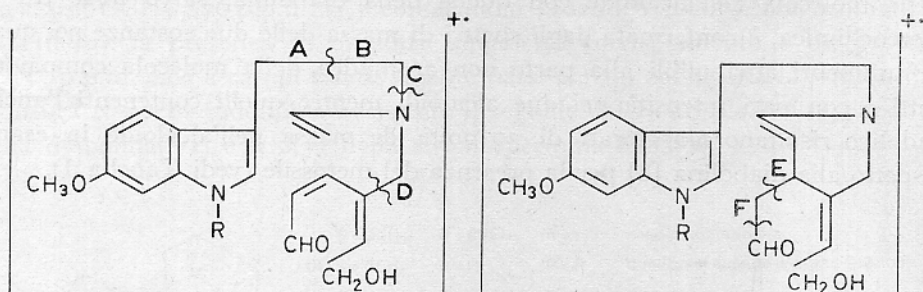
Fig. 2.

L'identità della configurazione ai centri di asimmetria C_2 , C_7 , e quindi, C_7 , C_{15} e C_{16} tra diabolina e I è provata dall'identità delle curve di dispersione ottica rotatoria che presentano entrambe effetto Cotton positivo (MeOH $c 7 \cdot 10^{-3}$) con massimo a 264 nm $[\alpha]^{20} = +12100$ per la diabolina e $+26300$ per la I (fig. 2).

Pertanto all'alcaloide in esame deve essere attribuita la formula di 11-metossi-diabolina (I).

TABELLA I.

Frammentazione nello spettro di massa della 11-metossi-diabolina e 11-metossi-aldeide di Wieland-Gumlich.



R = H 11-metossi aldeide di Wieland - Gumlich

R = COCH₃ 11-metossidiabolina

Massa e percentuale degli ioni.

	11-metossi-diabolina R = COCH ₃		11-metossi Wieland-Gumlich aldeide R = H	
	Massa	Percentuale	Massa	Percentuale
M ⁺	382	100	340	30
M ⁺ -H ₂ O	364	7	322	4
F	353	64	311	11
E	339	21	297	10
M ⁺ -HCOOH	336	21	294	2
M ⁺ { -- COCH ₃ . . . -- H ₂ O }	321	10		
D	271	43	229	6
C	216	14	174	63
B	180	100	180	100
C-CH ₂ CO	174	95		
B-H ₂ O	162	14	162	10
A-CH ₂ CO	160	39		

Per confermare la struttura proposta abbiamo preparato il N-desacetil-derivato III che per trattamento con acido malonico dà la α -colubrina (11-metossi-stricnina) (II).

Il N-desacetilderivato III, Pf. 166-8° (da benzene) ottenuto da I per idrolisi acida, come l'aldeide di Wieland-Gumlich (VII) [9] dalla diabolina (fig. 3) non presenta più la banda IR a 1650 cm^{-1} del carbonile mentre presenta due bande strette a 3700 e 3450 cm^{-1} dovute ai gruppi NH ed OH.

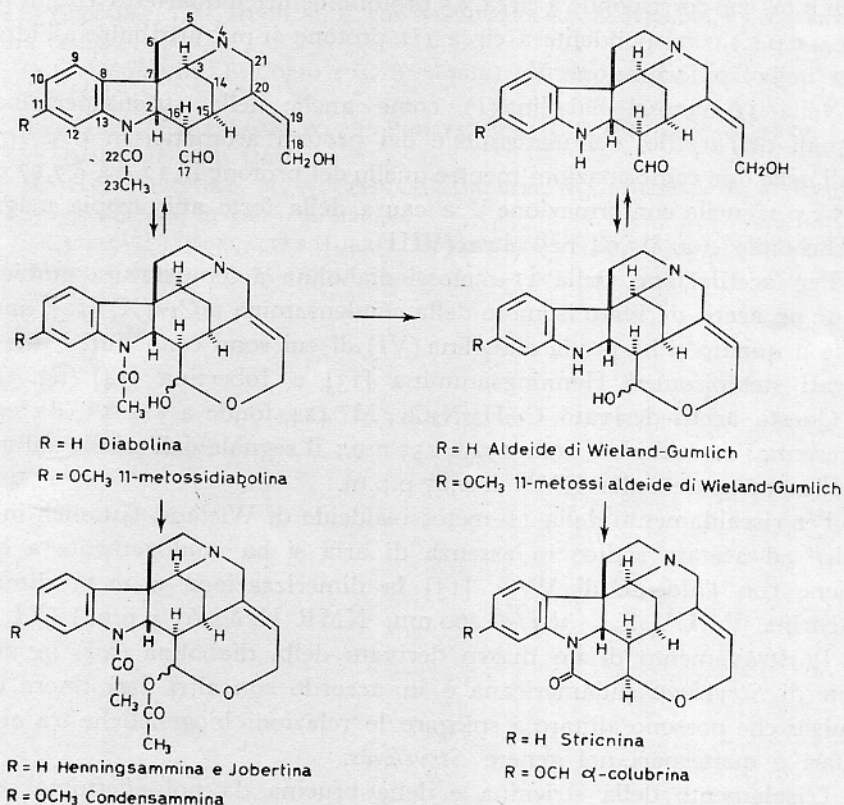


Fig. 3.

Lo spettro UV con massimi a 303 ($\log \epsilon$ 3,7) e 246 nm ($\log \epsilon$ 3,8) è simile a quello dell'aldeide di Wieland-Gumlich (λ_{max} 295, $\log \epsilon$ 3,4 e 240 nm, $\log \epsilon$ 3,8) [10]. Gli spettri di massa sono pure identici salvo la maggiorazione di 30 unità di massa nei frammenti indolici di I per la presenza del metossile [8] (Tabella I).

Nello spettro RMN dello stesso N-desacetilderivato III i protoni aromatici risultano notevolmente schermati rispetto ai corrispondenti di I a seguito della desacetilazione dell'azoto [H_9 δ 6,80 p.p.m. (*d*) J 8,5 c.p.s., H_{10} δ 6,31 p.p.m. (*q*) J 2 e 8,5 c.p.s., H_{12} δ 6,29 p.p.m. (*d*)]. La conversione del III in II è stata realizzata analogamente alla conversione dell'aldeide di Wieland-Gumlich in

stricnina(IX) con acido malonico [11] (fig. 3), ed il prodotto ottenuto è risultato identico ad un campione di α -colubrina(II) (Rf, UV, IR e Pf).

Come sopra accennato lo spettro RMN di I a 20° in deuterocloroformio risulta dalla sovrapposizione dei segnali delle due conformazioni V ed VIII dovute alla limitata rotazione dell'acetile. Il fenomeno si nota bene nella zona aromatica ed è stato dettagliatamente descritto da Anet [6] nella stricnospermina(IV). Anche la diabolina presenta lo stesso fenomeno: in questo caso tutti i segnali aromatici risultano sovrapposti in un grosso massimo a δ 7,1 p.p.m. che corrisponde a circa 3,5 protoni mentre il quartetto a δ 7,92 p.p.m. (J 8 e 2 c.p.s.) corrispondente a circa 1/2 protone si può attribuire all'idrogeno in 12 nella conformazione V.

Nella 11-metossi-diabolina(I), come anche nella stricnospermina(IV) i segnali dell'acetile, del metossile e dei protoni aromatici in 9 e 10 sono uguali nelle due conformazioni mentre quello del protone in 12 è a δ 7,57 p.p.m. (J 2,5 c.p.s.) nella conformazione V a causa della forte anisotropia magnetica del carbonile e a δ 7,08 nell'altra (VIII).

Per acetilazione della 11-metossi-diabolina a temperatura ambiente si ottiene un acetil-derivato isomero della condensamina a C₁₇(X) [12], analogamente a quanto si ha per la diabolina(VI) di cui sono conosciuti i due acetil derivati stereoisomeri Henningsammia [13] e Jobertina [14] (fig. 3).

Questo acetil-derivato C₂₂H₂₈N₂O₅, M⁺ 424, fonde a 112-5° (da eptano) e presenta i massimi UV 298, 292 e 252 nm.; il segnale dell'acetile sul gruppo alcoolico compare nella RMN a 2,07 p.p.m.

Per riscaldamento della 11-metossi-aldeide di Wieland-Gumlich in acido acetico ed acetato sodico in assenza di aria si ha analogamente a quanto avviene con l'aldeide di W.G. [15] la dimerizzazione a 11,11' dimetossi-caracurina V (UV λ_{\max} 303 e 260 nm, NMR H₂ δ 4,65 p.p.m.) (XI, XII).

Il ritrovamento di un nuovo derivato della diabolina(VI) in un'altra specie di *Strychnos* sudamericana è in accordo con altri dati finora da noi acquisiti che possono aiutare a spiegare le relazioni biogenetiche tra alcaloidi terziari e quaternari nel genere *Strychnos*.

L'isolamento della stricnina e della brucina da noi effettuato recentemente da *S. panamensis* [16] che vegeta nel centro America, accanto a diabolina e ad alcaloidi quaternari, è un'altra conferma all'ipotesi da noi avanzata [17] sulla funzione della diabolina e dei suoi derivati nel quadro biogenetico degli alcaloidi di *Strychnos*.

BIBLIOGRAFIA

- [1] C. GALEFFI, M. A. CIASCA RENDINA, E. MIRANDA, DELLE MONACHE, A. VILLAR DEL FRESNO e G. B. MARINI BETTOLO, « J. Chromatog », 45, 407 (1969).
- [2] B. A. KRUKOFF, « Memoirs of the New York Botanical garden », 20, 22 (1969).
- [3] RAYMOND-HAMET, « Ann. Pharm. France », 8, 482 (1950).
- [4] F. A. L. ANET e R. ROBINSON, « J. Chem. Soc. », 2253 (1965).
- [5] A. VILLAR DEL FRESNO, E. MIRANDA DELLE MONACHE, C. GALEFFI, M. A. CIASCA RENDINA e G. B. MARINI BETTOLO, « Atti Accad. Naz. Lincei, Rend. Sci. Fis. Mat. Nat. », (8), 48, 46 (1970).

- [6] F. A. L. ANET, «*Can. J. Chem.*», *41*, 883 (1963).
- [7] N. NEUSS, *Physical data of indole and dihydroindole alkaloids*. Ely-Lilly and Co. Indianapolis 1967.
- [8] H. MÜLLER, M. HESSE, P. WASER, H. SCHMID e P. KARRER, «*Helv. Chim. Acta*», *48*, 320 (1965); K. BIEMANN, J. S. GROSSERT, J. M. HUGO, J. OCCOLOWITZ e F. L. WARREN, «*J. Chem. Soc.*», 2814 (1965).
- [9] F. E. BADER, E. SCHLITTLER e H. SCHWARZ, «*Helv. Chim. Acta*», *36*, 1256 (1953).
- [10] H. ASMIN, H. SCHMID e P. KARRER, «*Helv. Chim. Acta*», *37*, 1983 (1954).
- [11] F. A. L. ANET e R. ROBINSON, «*Chem. Ind. (London)*», 245 (1953).
- [12] J. BOSLEY, «*J. Pharm. belg.*», *6*, 150 e 243 (1951).
- [13] J. S. GROSSERT, J. M. HUGO, M. E. VON KLEMPERER e F. L. WARREN, «*J. Chem. Soc.*», 2812 (1965).
- [14] F. DELLE MONACHE, E. CORIO e G. B. MARINI BETTOLO, «*Ann. Ist. Super. Sanità*», *3*, 564 (1967).
- [15] K. BERNAUER, F. BERLAGE, W. VON PHILIPSBORN, H. SCHMID e P. KARRER, «*Helv. Chim. Acta*», *41*, 2293 (1958).
- [16] G. B. MARINI BETTOLO, M. A. CIASCA, C. GALEFFI, N. G. BISSET e B. A. KRUKOFF, «*Phytochemistry*», in corso di stampa.
- [17] C. G. CASINOVÌ, J. GONÇALVES HUERTA, M. MAROTTA e G. B. MARINI BETTOLO, «*Rend. Ist. Super. Sanità*», *27*, 75 (1964).