
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ANGEL VILLAR DEL FRESNO, ELISABETTA MIRANDA
DELLE MONACHE, CORRADO GALEFFI, MARIA AMALIA
CIASCA RENDINA, GIOVANNI BATTISTA
MARINI-BETTOLO

**Due nuovi alcaloidi da *Strychnos nux-vomica* L.
16-ossi— α -colubrina e L. 16-ossi— β -colubrina**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 48 (1970), n.2, p. 250–254.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1970_8_48_2_250_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Chimica. — *Due nuovi alcaloidi da Strychnos nux-vomica L. 16-ossi- α -colubrina e 16-ossi- β -colubrina* (*). Nota di ANGEL VILLAR DEL FRESNO, ELISABETTA MIRANDA DELLE MONACHE, CORRADO GALLEFFI, MARIA AMALIA CIASCA RENDINA e GIOVANNI BATTISTA MARINI BETTOLO, presentata (***) dal Corrisp. G.B. MARINI-BETTOLO.

SUMMARY. — From seeds of *Strychnos nux-vomica* two new alkaloids, 16-hydroxy- α -colubrine and 16-hydroxy- β -colubrine, were isolated. Their structures were confirmed by synthesis from α - and β -colubrine respectively; as secondary products 18-oxo- α -colubrine and 18-oxo- β -colubrine were obtained.

Dal 1818 quando Pelletier e Caventou isolarono la stricnina (I) e la brucina (II) dai semi di *Strychnos nux-vomica* L. [1] numerosi altri alcaloidi sono stati ricavati da questa pianta.

Così Wieland e Oertel nel 1929 ottenevano un nuovo alcaloide di struttura molto vicina a quella della stricnina che chiamarono vomicina [2] (III).

Successivamente Warnat nel 1931 metteva in evidenza la presenza di due metossi-stricnine isomere la α (IV) e la β (V) colubrina e della 16-ossi-stricnina, nota anche con il nome di pseudostricnina [3] (VI).

Nel 1952 Martin, Bentley, Henry e Spring stabilivano la presenza di novacina o N-metil-pseudobrucina [4] (VII).

Quirin e coll. d'altra parte dimostravano che gli stessi alcaloidi trovati nei semi si potevano riscontrare nelle foglie di *Strychnos nux-vomica* [5].

La struttura della stricnina e dei suoi derivati proposta da Leuchs [6] in base alle reazioni di demolizione è stata confermata per analisi strutturistica con i raggi X [7] e per sintesi totale [8].

Si possono classificare queste sostanze in tre gruppi: quello della stricnina (I), quello della pseudostricnina (VI) e quello della N-metil-pseudostricnina (formula 2).

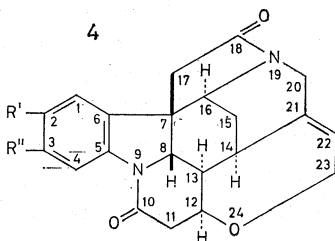
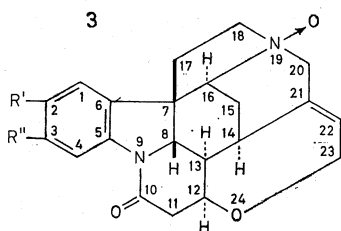
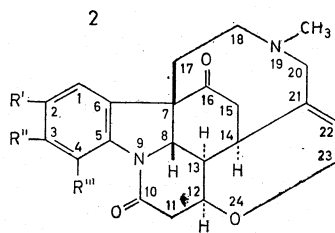
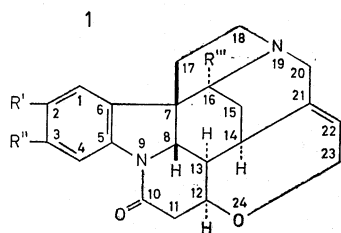
Recentemente uno di noi [9] ha messo in evidenza nei semi di *S. nux vomica* la presenza di pseudobrucina (VIII), prima solo riscontrata in *S. gaultheriana*, e della icajina (IX) o N-metil-pseudostricnina nota solo in *S. icajia*.

Successivamente con l'impiego di un particolare sistema di distribuzione in controcorrente a pH variabile in modo discontinuo abbiamo potuto isolare due nuovi alcaloidi oltre i nove precedentemente riportati [10].

La coesistenza nella pianta di quasi tutti i termini della serie della stricnina, della pseudostricnina e di N-metil-pseudostricnina fa pensare ad un comune schema biogenetico.

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

(**) Nella seduta del 14 febbraio 1970.



Serie stricnina e pseudostricnina (16-ossi-stricnina) (formula 1):

		R'	R''	R'''
I	Stricnina	H	H	H
II	Brucina	OCH ₃	OCH ₃	H
IV	α -colubrina	H	OCH ₃	H
V	β -colubrina	OCH ₃	H	H
VI	Pseudostricnina	H	H	OH
VIII	Pseudobrucina	OCH ₃	OCH ₃	OH
X	Pseudo- α -colubrina	H	OCH ₃	OH
XI	Pseudo- β -colubrina	OCH ₃	H	OH
XII	16-alcossistricnina	H	H	O-Alch.

Serie N-metil-pseudostricnina (formula 2):

		R'	R''	R'''
III	Vomicina	H	H	OH
VII	Novacina	OCH ₃	OCH ₃	H
IX	Icajina	H	H	H

Serie N-ossistricnina (formula 3):

		R'	R''
XIII	N-ossi- α -colubrina	H	OCH ₃
XVI	N-ossibrucina	OCH ₃	OCH ₃
XVII	N-ossi- β -colubrina	OCH ₃	H

Serie 18-oxo-stricnina (formula 4):

		R'	R''
XIV	α -colubrone	H	OCH ₃
XV	Brucone	OCH ₃	OCH ₃
XVIII	β -colubrone	OCH ₃	H

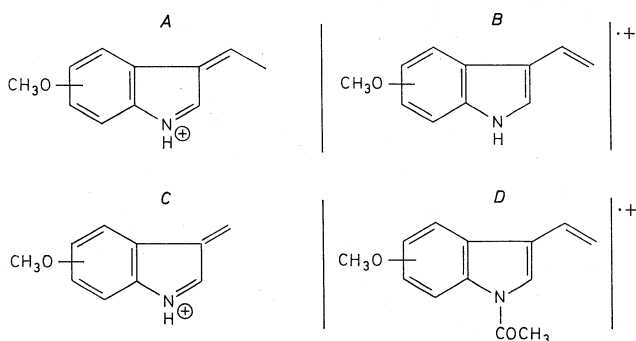
Ai due alcaloidi che sono isomeri tra loro e corrispondono alla formula grezza $C_{22}H_{24}O_4N_2$ e che sono stati separati per ripartizione in c/c tra $CHCl_3-H_2O$ a pH 3,2 è stata attribuita la formula X e XI. Essi sono caratterizzati come 16-ossi- α -colubrina e 16-ossi- β -colubrina che per analogia con la pseudostricnina (VI) e la pseudobrucina (VIII) possono essere denominate pseudo- α -colubrina e pseudo- β -colubrina. Il primo cristallizza da acetato di etile-esano (PF = 225-227°; $[\alpha]_D$ in cloroformio - 54°). Lo spettro U.V. in etanolo 90 % è simile a quello della α -colubrina (IV) presentando un massimo a 257 nm ($\log \epsilon$ 3,94) con spalla a 267, due massimi a 293 e 300 nm di pari intensità ($\log \epsilon$ 3,68) ed un minimo a 275 nm. Lo spettro I.R. presenta le tre bande comuni a tutti gli alcaloidi del tipo della stricnina (I) e cioè quella di « stretching » del C=O dell'anello α -piperidonico a 1670 cm^{-1} e quelle pure di « stretching » del C=C del fenile a 1615 e 1500 cm^{-1} .

Lo spettro di massa presenta il picco molecolare $M^+ = 380$ che è il 27 % del picco predominante a 362 che corrisponde all'eliminazione di una molecola di acqua. Altri picchi notevoli sono quelli a m/e 174, 173 e 160 propri di un sistema indolico con un idrogeno aromatico sostituito da un metossile (formule A, B e C [11]). Lo spettro RMN (solvente deutero-cloroformio, riferimento tetrametilsilano come per i successivi) conferma la presenza del metossile ($\delta = 3,76$ p.p.m.) la cui posizione in 3, ipotizzabile in base alla analogia dello spettro U.V. con quello della α -colubrina (IV) (vedi appresso) è confermata dal segnale del protone in 4, che è un doppietto senza accoppiamento orto ma meta (J 2,5 c.p.s.) a 7,76 p.p.m. (il corrispondente protone nella β -colubrina (V) è a 8,08 p.p.m. e solo a 7,74 p.p.m. nella α -colubrina (IV) per la presenza del metossile in orto).

Rispetto alla α -colubrina (IV) che ha l'identica sostituzione aromatica l'alcaloide in esame ha il protone in 1 invece che a 7,0 p.p.m. (J 8 c.p.s.) a 7,72 p.p.m. Un effetto descherante (deshielding) della stessa entità era stato da alcuni di noi [12] già notato nella 16-ossi-stricnina (VI) e 16-alcossistricnina (XII) rispetto alla stricnina (I) ed era stato attribuito ad un'interazione a distanza in queste molecole a struttura rigida del sostituito in 16 sul protone in 1.

L'alcaloide (X) ha, rispetto alla α -colubrina, un atomo di ossigeno in più che deve essere di tipo alcoolico come lascia supporre l'eliminazione di H_2O allo spettro di massa e come conferma la banda I.R. stretta a 3650 cm^{-1} dell'ossidrile libero. Si può quindi ragionevolmente ammettere che in (X) l'ossidrile si trovi in 16 e che cioè si tratti di un altro alcaloide della cosiddetta serie « pseudo ». Gli alcaloidi indolici di questa serie hanno nello spettro di massa una frammentazione caratteristica [13] e lo ione corrispondente ($m/e = 215$) avente la formula D è appunto presente nello spettro di (X) (15 % del picco base). La conferma che l'alcaloide in esame presenta la formula (X) è stata infine effettuata per confronto diretto (IR, PF) con la pseudo- α -colubrina da noi ottenuta per ossidazione del N-ossi- α -colubrina (XIII) (da acqua PF = 190-195°, λ_{max} in etanolo 95° 255 nm - spalla a 265 - e a 293 e 300 nm - minimo a 275 -) con cromato di potassio analogamente alla preparazione della pseudostricnina (VI) [14]. In questa

reazione si forma anche una sostanza neutra avente la formula $C_{22}H_{22}O_4N_2$ ($M^+ = 378$ picco largamente predominante; P.F. = 224–6° da acetato di etile-esano λ_{max} in etanolo 95° 255 nm – spalla a 266— e 293 e 300 nm – minimo a 275—) che rispetto alla α -colubrina (IV) ha un ossigeno in sostituzione di due idrogeni. La natura neutra della sostanza e la presenza della banda I.R. a 1700 cm^{-1} propria della vibrazione di « stretching » del C=O di un α -pirroli-done fanno assegnare alla sostanza la formula (XIV). Questo è pure in accordo con la formazione del brucone (XV) dalla N-ossi-brucina (XVI) nelle stesse condizioni di ossidazione. Alla sostanza (XIV) viene quindi per analogia assegnato il nome di α -colubrone.



Struttura di alcuni ioni della spettrometria di massa.

Il secondo alcaloide isomero del precedente, isolato da *Strychnos nux-vomica* cristallizza da acetato di etile-esano (PF = 150–3°; $[\alpha]_D$ in cloroformio — 56°) corrisponde alla formula bruta $C_{22}H_{24}O_4N_2$. Lo spettro U.V. in etanolo 90 % è simile a quello della β -colubrina (V) (λ_{max} 263 nm $\log \epsilon$ 4,06; e 296 nm $\log \epsilon$ 3,56 – spalla a 310) mentre lo spettro I.R. presenta le quattro bande a 3650 cm^{-1} (OH libero), a 1670 cm^{-1} (C=O) e a 1615 e 1500 cm^{-1} (C=C del fenile) comuni alla pseudo- α -colubrina. Lo spettro di massa praticamente sovrapponibile a quello della pseudo- α -colubrina presenta il picco molecolare $M^+ = 380$ che è il 20 % del picco base a 362 ($M^+ - H_2O$), i picchi m/e 174, 173 e 160 (indolo metossisostituito, formule A, B, C [11]) ed inoltre quello a 215 (17 % del picco base, formula D) proprio della serie pseudo, cioè 16-ossisostituita [13]. Questa sostituzione è confermata dallo spettro RMN che presenta per il protone in 1 ($\delta = 7,48$ p.p.m.) rispetto a quello della β -colubrina ($\delta = 6,70$ p.p.m.) la deschermatura (deshielding) a lunga distanza sopradescritta. L'identità dello spettro U.V. con quello della β -colubrina e la molteplicità del segnale RMN del protone in 4 (doppietto con solo accoppiamento orto $\delta = 8,02$ p.p.m. J 9 c.p.s.) fanno ammettere la posizione 2 per la sostituzione del metossile nell'anello benzenico. La formula (XI) ipotizzata per questo alcaloide, isomero del precedente (X), è stata confermata per confronto diretto con la pseudo- β -colubrina da noi preparata dalla N-ossi- β -colubrina (XVII) (prismi da acqua; PF = 185–190°, λ_{max} in etanolo a 95°, 262 nm con spalle a 292, 302 e 312 nm). In questa reazione analogamente a quanto visto sopra si forma pure una sostanza neutra $C_{22}H_{22}O_4N_2$

(PF = 315-320° prismi da acetato di etile-esano; $M^+ = 378$; λ_{\max} 263 e 300, spalla a 310 nm) con anello α -pirrolidonico ($C=O$ 1700 cm^{-1}) cui spetta la formula (XVIII) e che per analogia con l' α -colubrone chiameremo β -colubrone.

Dal confronto degli spettri U.V. di tutti i diidroindoli esaminati in questo lavoro, si può dedurre che l'introduzione di un metossile in 2 (serie β -colubrina) non modifica sostanzialmente lo spettro U.V. della stricnina (I) salvo un lieve effetto batocromico, mentre l'introduzione in 3 di un metossile (serie α -colubrina) in sostituzione di una forte banda a circa 260 nm con bande minori a 300 nm, crea due bande complesse nettamente separate a circa 260 e 300 nm con un minimo a 275 nm comuni pure alla brucina (II).

CONCLUSIONE.

Le presenti ricerche hanno permesso di isolare dai semi di *Strychnos nux-vomica*, due nuovi alcaloidi: la 16-ossi- α -colubrina (X) e la 16-ossi- β -colubrina (XI).

La struttura di queste due sostanze è stata confermata per confronto diretto con gli stessi prodotti preparati per sintesi rispettivamente da α e da β -colubrina (IV e V).

In questa sintesi sono anche stati ottenuti e descritti per la prima volta la N-ossi- α -colubrina (XIII), e la 18-oxo- α -colubrina (XIV), denominata α -colubrone in analogia con il brucone, la N-ossi- β -colubrina (XVII), e la 18-oxo- β -colubrina (XVIII) denominata β -colubrone.

In base a questi risultati che mostrano come la 16-ossi- α - e la 16-ossi- β -colubrina completino il quadro biogenetico degli alcaloidi in questa pianta, si può considerare probabile l'ipotesi di una comune origine degli alcaloidi di *S. nux-vomica*.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] P. J. PELLETTIER et J. CAVENTOU, « Ann. Chim. Phys. », 8, 323 (1818).
- [2] H. WIELAND und G. OERTEL, « Ann. Chem. », 469, 193 (1929).
- [3] H. WARNAT, « Helv. Chim. Acta », 14, 997 (1931).
- [4] W. F. MARTIN, H. R. BENTLEY, J. A. HENRY and F. S. SPRING, « J. Chem. Soc. », 3603 (1952).
- [5] M. QUIRIN, J. LÉVY et J. LE MEN, « Ann. pharm. franc. », 23, 93 (1965).
- [6] H. LEUCHS und H. G. BOIT, « B. », 73, 885 (1940).
- [7] J. H. ROBERTSON e C. A. BEEVERS, « Nature », 165, 690 (1950).
- [8] R. B. WOODWARD, M. P. CAVA, W. D. OLLIS, A. HUNGER, H. U. DAENIKER, and K. SCHENKER, « J. Am. Chem. Soc. », 76, 4749 (1954).
- [9] G. B. MARINI BETTOLO, F. DELLE MONACHE, A. GELABERT DE BROVETTO and E. CORIO, « J. Am. Off. Anal. Chem. », 51, 185 (1968).
- [10] C. GALEFFI, M. A. CIASCA RENDINA, E. MIRANDA DELLE MONACHE, A. VILLAR DEL FRESNO and G. B. MARINI BETTOLO, « J. Chromatog. », 45, 407 (1969).
- [11] H. BUDZIKIEWICZ, C. DJERASSI and D. H. WILLIAMS, *Structure elucidation of natural products by mass spectrometry*. Vol. I, Alkaloids Cap. 7 e 8. Holden-Day Inc. S. Francisco 1964.
- [12] N. G. BISSET, C. G. CASINOVI, C. GALEFFI e G. B. MARINI BETTOLO, « La ricerca scientifica », 35, serie 2, 273 (1965).
- [13] N. G. BISSET, *Alkaloids of some African species of Strychnos*. Tesi presso l'Università di Londra 1968, p. 37.
- [14] A. S. BALEY and R. ROBINSON, « J. Chem. Soc. », 703 (1948).