

Ms.
A 47/8

95

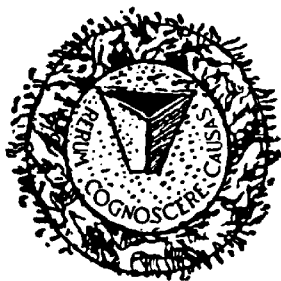
G. B. MARINI-BETTÒLO - M. A. JORIO - A. PIMENTA - A. DUCKE - D. BOVET

Ricerche sugli alcaloidi curarizzanti di varie specie di *Strychnos* del Brasile

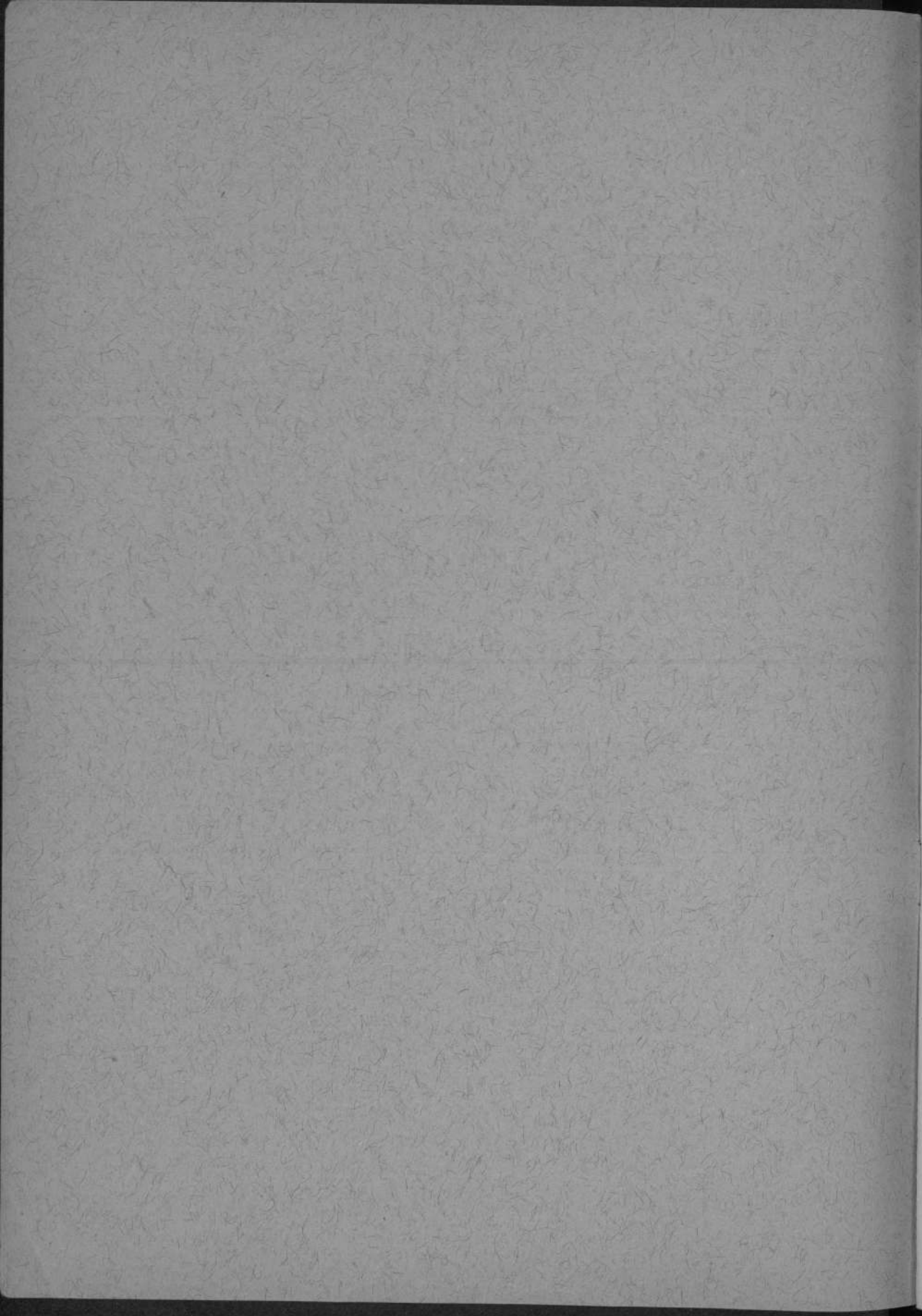
Nota V. Studi cromatografici su carta degli alcaloidi
quaternari della *S. guianensis* (Aubl.) Mart., *S. divaricans*
Ducke e *S. Mitscherlichii*. Rich. Schomb

ESTRATTO DAI RENDICONTI
DELL'ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'

VOLUME XVIII



ROMA 1955 - VIALE REGINA ELENA, 299



80. G. B. MARINI-BETTÒLO, M. A. JORIO, A. PIMENTA, A. DUCKE e D. BOVET. — **Ricerche sugli alcaloidi curarizzanti di varie specie di *Strychnos* del Brasile.** — Nota V. Studi cromatografici su carta degli alcaloidi quaternari della *S. guianensis* (Aubl.) Mart., *S. divaricans* Ducke e *S. Mitscherlichii*. Rich. Schomb.

Riassunto. — Vengono studiati mediante la cromatografia su carta i cloruri degli alcaloidi della *S. guianensis*, della *S. divaricans* e della *S. Mitscherlichii*.

E' possibile in questo modo mettere in evidenza nella *S. guianensis* un gruppo di nuovi alcaloidi tra questi alcuni caratterizzati da intensa colorazione arancione e da colorazione verde azzurra con solfato cerico. Per questi ultimi viene proposto il nome di Guiaicurarine.

Nella *S. divaricans* si può riscontrare la presenza degli alcaloidi curarina e calebassina.

Gli alcaloidi della *S. Mitscherlichii* risultano diversi da quelli precedentemente descritti nella letteratura e tra essi sono stati identificati la mavacurina, la curarina, la fluorocurina e la calebassina.

Résumé. — L'on a étudié au moyen de la chromatographie sur papier les chlorures des alcaloïdes de la *S. guianensis*, de la *S. divaricans* et de la *S. Mitscherlichii*.

Il a été possible de mettre en évidence de cette façon dans la *S. guianensis* un groupe de nouveaux alcaloïdes, dont certains sont caractérisés par une coloration orange intense et par une coloration vertebleue avec le sulphate cérrique pour lesquels l'on propose le nom de Guiaicurarines.

Dans la *S. divaricans* on a constaté la présence de la curarine et de la calebassine.

Les alcaloïdes de la *S. Mitscherlichii* sont différentes pour cette plante de ceux décrits jusqu'ici. Parmi eux on a identifié la mavacurine, la curarine, la fluorocurine et la calebassine.

Summary. — The chlorides of the alkaloids of *S. guianensis*, *S. divaricans*, and *S. Mitscherlichii* were studied by paper chromatography.

The method provides evidence for a group of new alkaloids in *S. guianensis* including some provided an intense orange colour and with of a greenish-blue colour with ceric sulphate. For these last the name « Guiaicurarines » is suggested.

The presence of the alkaloids curarine and calebassine can be detected in *S. divaricans*.

The alkaloids of *S. Mitscherlichii* appear to be different from those previously described in the literature, and those identified include mavacurine, curarine, fluorocurine, and calebassine.

Zusammenfassung. — Mittels Papierchromatographie werden die Chloride der Alkaloide der *S. guianensis*, der *S. divaricans* und der *S. Mitscherlichii* untersucht.

Auf diese Weise ist es möglich, bei der *S. guianensis* eine Gruppe von neuen Alkaloiden nachzuweisen, darunter einige, die eine intensive Orangenfärbung und grün-blaue Färbung mit $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ zeigen. Für diese letzteren wurde die Bezeichnung Guiacurarin vorgeschlagen.

Bei der *S. divaricans* wird die Gegenwart der Alkaloide Curarin und Calebassin festgestellt.

Die Alkaloide der *S. Mitscherlichii* sind verschieden von denen bisher im Schriftum beschriebenen. Festgestellt wurden Mavacurin, Curarin, Fluorocurin und Calebassin.

Nello scorso anno è stata da noi descritta l'estrazione e l'attività curarizzante degli alcaloidi di varie *Strychnos* del Brasile ed in particolare della *S. guianensis* e della *S. divaricans* ⁽¹⁾.

Desideriamo oggi riferire i risultati degli studi cromatografici su carta degli alcaloidi di queste due specie come pure di quelli della *S. Mitscherlichii* che permettono di ampliare il quadro delle nostre conoscenze sugli alcaloidi di queste piante.

Le soluzioni degli alcaloidi della *S. guianensis* come pure quella degli estratti acquosi della stessa pianta si differenziano nettamente da quelle delle altre specie da noi studiate o in corso di studio sia per la loro colorazione gialla aranciata sia perchè al saggio alla tocca con solfato cerico danno una colorazione azzurra verde intensa ⁽²⁾.

Dopo aver stabilito che la colorazione gialla non andava attribuita a resine o ad altre impurezze, bensì agli stessi alcaloidi — infatti nella ionoforesi su carta in ambiente acido si ha uno spostamento della colorazione gialla verso il catodo — ne abbiamo effettuato la cromatografia bidimensionale su carta.

Rivelando con i comuni reattivi ⁽³⁾ dopo l'osservazione alla lampada ultravioletta, si possono mettere in evidenza 16 macchie (vedi fig. 4).

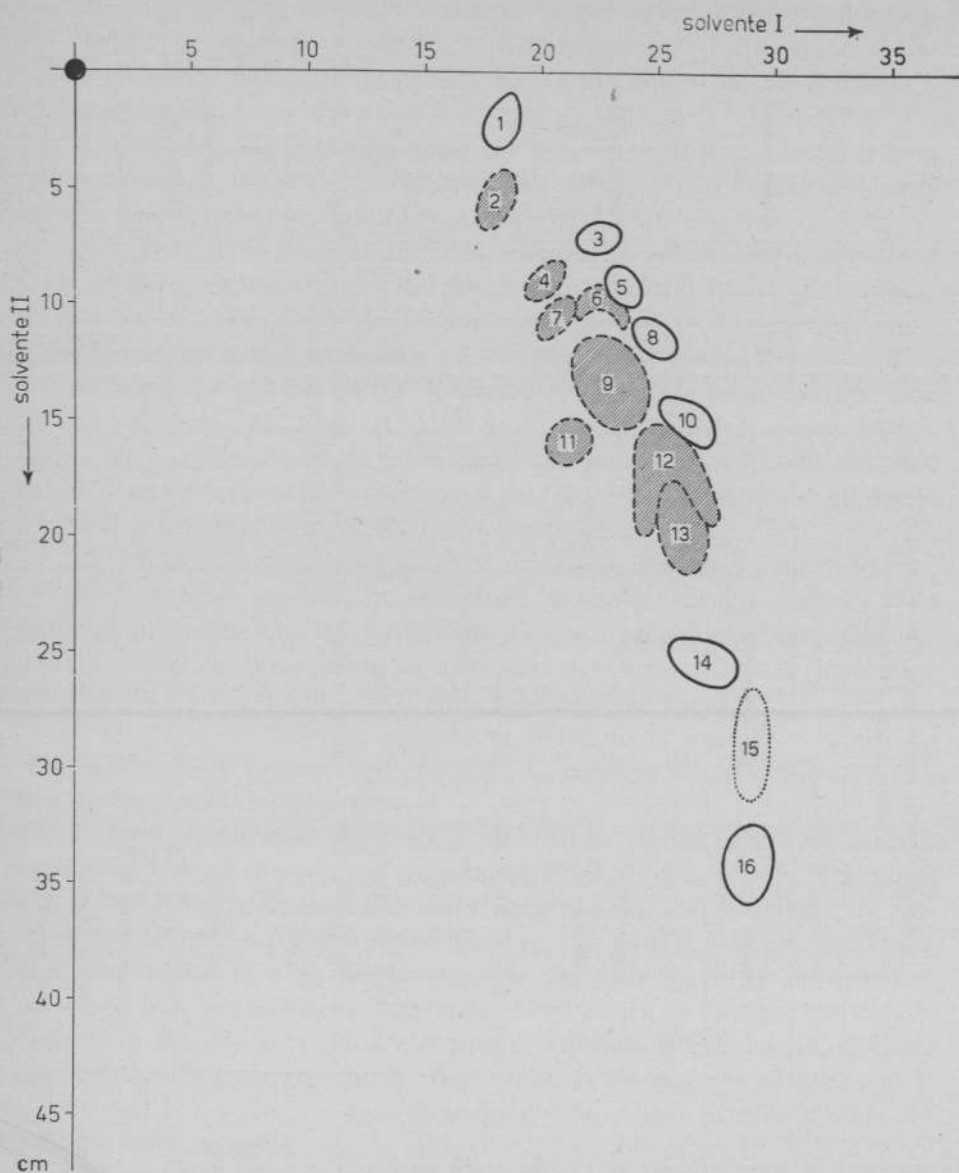


FIG. 1. — Cromatografia bidimensionale degli alcaloidi della *S. guianensis*.

Solv. I: piridina-acetato di etile-acqua 14 h.

Solv. II: metiletilchetone-metanolo 1% 48 h.

Leggenda: area delimitata da linea continua: colorazione positiva con solfato di cerio: area delimitata da linea punteggiata: assorbimento alla luce di Wood: area tratteggiata delimitata da linea a trattini: fluorescenza alla luce di Wood.

I numeri si riferiscono alla tab. 1.

TABELLA I.

CHROMATOGRAPHIA DEI CLORURI DEGLI ALCALOIDI
DELLA S. GUIANENSIS

Macchia	Osservazione alla luce U.V.	Reazioni cromatiche			Sostanza probabile
		CaSO_4	Aldeide cinnamide	HCl	
1	—	viola	—	—	—
2	fluor. arancione	azzurro	—	—	Guaiacurarina I
3	—	viola	—	—	—
4	fluor. verde	—	—	—	—
5	—	rosa viola 5 RP 6/10	viola	—	—
6	fluor. verde	—	—	—	—
7	fluor. azzurra	—	—	—	—
8	—	rosa viola 5 RP 6/10	viola	—	—
9	fluor. arancione	azz. verde 10 BG 4/6	giallo bruno	la col. diventa più intensa	Guaiacurarina II
10	—	viola	viola	—	—
11	fluor. celeste	—	—	—	—
12	fluor. gialla	verde azzurro	—	—	Guaiacurarina III
13	fluor. arancione	azzurro 2,5 B 5/6	viola bruno	la col. diventa più intensa	Guaiacurarina IV
14	—	azzurro verde 5 B	—	—	Guaiacurarina V
15	ass. arancione	azzurro verde	—	—	Guaiacurarina VI
16	—	azzurro verde	—	—	Guaiacurarina VII

La maggior parte di queste macchie, sia per la colorazione con i reattivi che per la posizione relativa nel cromatogramma si discostano nettamente da quelle date dagli alcaloidi noti e già isolati da altre piante o dalle calebasse.

Alcune di queste macchie sono colorate in giallo e presentano fluorescenza arancione, altre si colorano con solfato cerico in azzurro-verde intenso. Ora è noto che fino ad oggi sono conosciuti solo tre alcaloidi, la curarina, l'alcaloide E e l'alcaloide G, che danno colorazione azzurra con detto reattivo. Dato che si tratta pertanto di alcaloidi nuovi proponiamo chiamare Guaiacurarine gli alcaloidi caratterizzati dalla reazione cromatica azzurro-verde con solfato cerico.

Avendoci in seguito il Prof. KARRER comunicato le caratteristiche non ancora pubblicate di alcuni alcaloidi da lui isolate dalle calebasse del Rio Iça, caratteristiche molto vicine a quelle da noi osservate negli alcaloidi della *S. guianensis* abbiamo pensato che si potesse trattare degli stessi alcaloidi o almeno di alcaloidi dello stesso gruppo.

Dobbiamo alla gentilezza dei Prof. KARRER e SCHMID il confronto tra i cloruri degli alcaloidi della *S. guianensis*, preparati da noi, e quelli delle suddette calebasse, che ha confermato l'ipotesi precedente, essendosi appunto constatata tra i primi la presenza di alcuni alcaloidi identici o dello stesso tipo di quelli isolati dalle calebasse del Rio Iça(*).

Degli alcaloidi della *S. guianensis* abbiamo in seguito a questi risultati iniziato la separazione completa su colonna di cellulosa e l'isolamento dei singoli componenti.

I cloruri degli alcaloidi della *S. divaricans* DUCKE danno un cromatogramma bidimensionale con un numero limitato di alcaloidi. Tra questi si possono identificare con una certa sicurezza dai valori dell' R_F , le reazioni cromatiche e il confronto delle macchie eluite con prodotti campione, la curarina e la calebassina, la fluorocurina e la mavacurina. Inoltre vi è una macchia caratteristica che si colora in violetto con solfato cerico con R_F 3,8 (solv. II) e che non si è potuta attribuire ad alcaloidi conosciuti: altra macchia ad R_F 0,37 (solv. I) si colora in azzurro con lo stesso reattivo e non si può considerare uno degli alcaloidi noti del gruppo della curarina.

Lo studio degli alcaloidi della *S. Mitscherlichii* era stato da noi intrapreso per avere un utile termine di paragone per lo studio dei cromatogrammi di altri alcaloidi di *Strychnos*, dato che di questi ne era stato fatto uno studio cromatografico esauriente da parte di KLEBBLE, SCHMID, WASER e KARRER (*).

(*) Comunicazioni personali del Prof. SCHMID e KARRER in data 16 giugno e 19 luglio 1954.

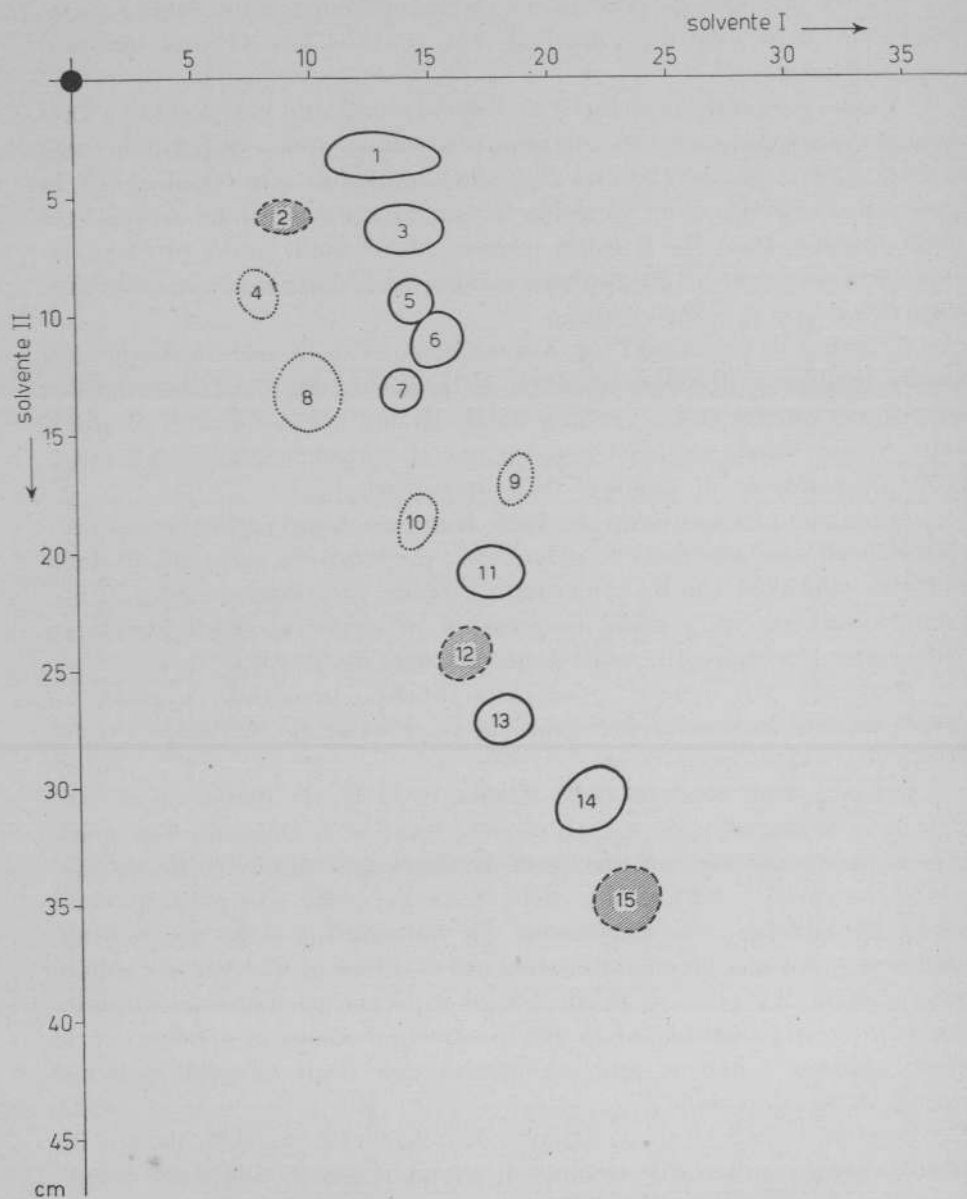


FIG. 2. — Cromatografia bidimensionale degli alcaloidi della *S. divaricans*.
Leggenda come a fig. 1. I numeri si riferiscono alla tab. 2.

TABELLA II.
 CROMATOGRAMMA DEI CLORURI DEGLI ALCALOIDI
 DELLA S. DIVARICANS DUCKÉ

Macchia	Osservazione alla luce UV.	Reazioni cromatiche			Sostanza probabile
		Ce SO ₄	Aldeide cinnamica	HCl	
1	—	viola 10 P 4/8	—	—	—
2	fluor. gialla	celeste	—	—	—
3	ass. celeste	viola 10 P 4/8	—	—	Catebassina
4	ass. celeste	—	—	—	—
5	—	rosa	violetto 5 RP	—	—
6	—	celeste	violetto 5 RP	—	Curarina
7	—	rosa	—	—	—
8	ass. giallo bruno	—	—	—	—
9	ass. azzurro	—	—	—	—
10	ass. azzurro	—	—	—	—
11	—	viola rosa 2,5 RP 6/8	viola rosa 2,5 RP 6/8	—	Mavaurina
12	fluor. verde	—	—	—	—
13	—	rosa	viola rosa	—	—
14	—	viola azzurro 7,5 PB 6/6	—	—	—
15	fluor. azzurra	—	—	—	Fluorocurarina

I risultati da noi ottenuti impiegando gli alcaloidi quaternari della corteccia di *S. Mitscherlichii* raccolta e determinata da uno di noi (A. D.) sono diversi da quelli riportati dagli Autori elvetici.

Infatti sono presenti alcuni alcaloidi molti di questi dotati di una intensa fluorescenza alla luce di Wood, fluorescenza, che tranne per la fluorocurina, non corrisponde a quelle note per questi alcaloidi. Si può mettere in evidenza la presenza di mavacurina — d'altronde in stretta relazione con la fluorocurina — della calebassina e della curarina.

L'esame spettrofotometrico delle altre macchie fluorescenti non dà curve significative.

La non identità tra gli alcaloidi della *S. Mitscherlichii* da noi studiata e quelli riportati da KLEBRLE, SCHMID, WASER e KARRER (*) è stata confermata da un confronto effettuato dagli stessi Autori.

L'apparente contraddizione di questi risultati può essere dovuta alla difficoltà di determinare le piante del genere *Strychnos* fuori del loro ambiente.

D'altra parte oltre alla diversa origine botanica delle piante non si può escludere una variazione stagionale o ambientale della pianta stessa che influisca sulla composizione e il contenuto degli alcaloidi stessi. In tale senso sono attualmente in corso ricerche sistematiche per chiarire questo importante aspetto della questione.

PARTE SPERIMENTALE

Piante: la *S. guianensis* è stata raccolta e determinata in loco da uno di noi (A.D.) nella regione di Belém nel luglio 1932.

La *S. divaricans* DUCKE è stata raccolta nella regione di Recife nel luglio 1932.

La *S. Mitscherlichii* è stata raccolta e determinata da uno di noi nel settembre 1933 nella regione di Belém.

Estrazione. — E' stata eseguita con il metodo descritto nei precedenti lavori, impiegando una soluzione di acido tartarico all'1%.

I tartrati vengono trasformati in reineckati, questi separati in base alla loro solubilità, e quindi trasformati in cloruri con il metodo di KAPFFHAMMER.

Cromatografia su carta. — E' stata effettuata la cromatografia su carta con il sistema continuo bidimensionale, impiegando nella prima direzione una miscela di acetato di etile-piridina-acqua (7,5-2,3-1,63) e nella seconda direzione metil-etilchetone contenente l'1% di metanolo.

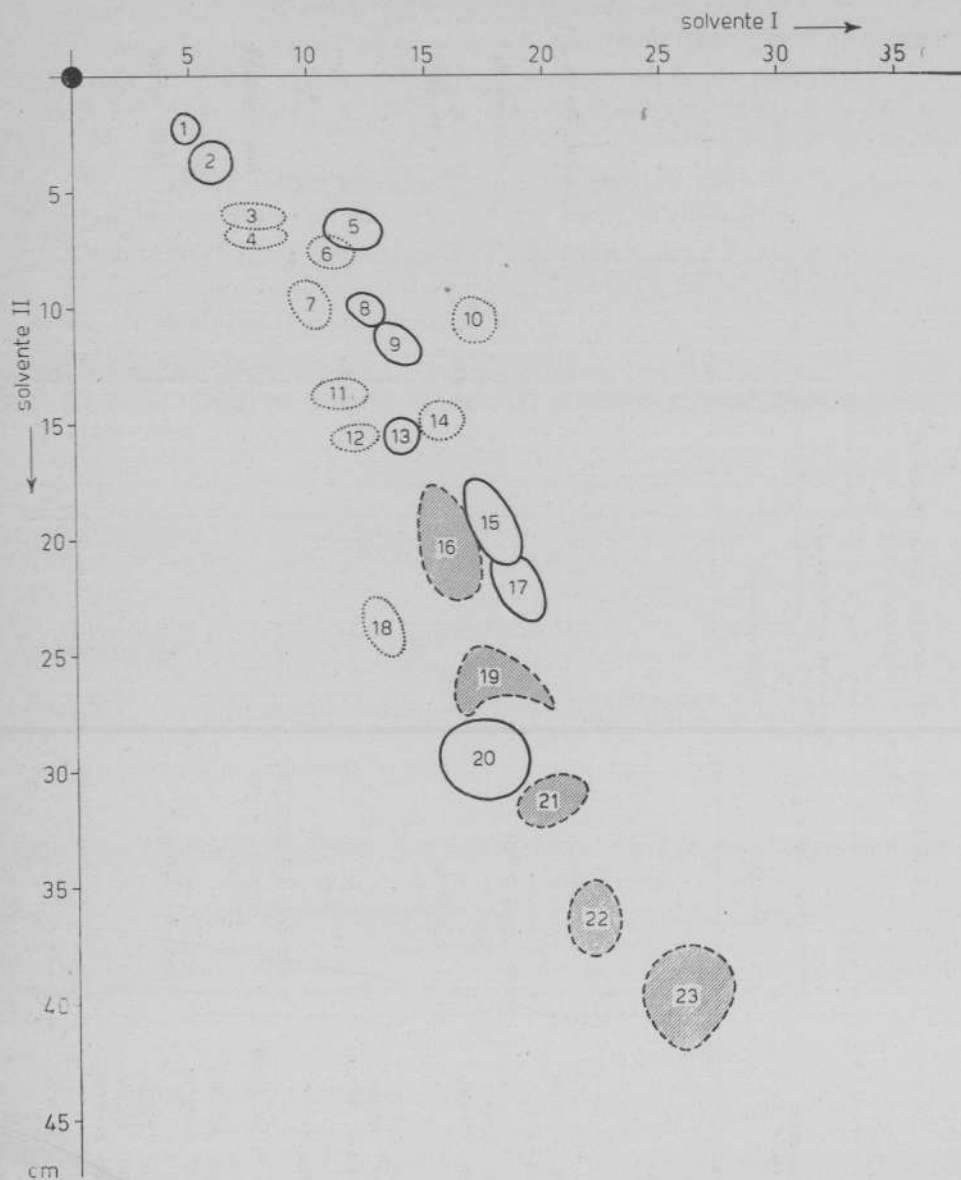


FIG. 3. — Cromatografia bidimensionale degli alcaloidi della *S. Mitscherlichii*.
Leggenda come a fig. 1. I numeri si riferiscono alla tab. 3.

TABELLA III.

CROMATOGRAFIA DEI CLORURI DEGLI ALCALOIDI
DELLA S. MITSCHERLICHII

Macchia	Osservazione alla luce U. V.	Reazioni cromatiche			Sostanza probabile
		Ce.SO ₄ /2	Aldeide cinnamica	HCl	
1	—	rosa	—	—	Alcaloide D (?)
2	—	viola	—	—	—
3	ass. arancio	—	—	—	—
4	ass. giallo	—	—	—	Calebassina
5	—	rosso viola 5 RP 4/10	—	—	—
6	ass. celeste	—	—	giallo	Curarina
7	ass. bruno	—	—	—	—
8	—	celeste	—	—	—
9	—	rosa	—	—	—
10	ass. celeste	—	—	—	—
11	ass. verde	—	—	—	—
12	ass. giallo bruno	—	—	giallo	—
13	—	rosa	—	—	—
14	ass. verde	—	—	—	—
15	—	rosso viola 2,5 RP5/10	—	—	—
16	fluor. verde gialla	—	viola	—	Fluorocurina
17	—	azzurro	—	—	—
18	fluor. azzurra	—	—	—	—
19	fluor. azzurra	—	—	—	—
20	—	rosa 2,5 RP 6/8	—	—	—
21	fluor. gialla	—	viola	—	Mavacurina
22	fluor. gialla	—	—	—	—
23	fluor. azzurra	—	—	—	—

I cromatogrammi vengono prima osservati alla luce di Wood quindi sviluppati con diversi reattivi ⁽¹⁾.

I risultati delle osservazioni sono riportati nelle tab. I, II e III rispettivamente per la *S. guianensis*, *S. divaricans* ed *S. Mitscherlichii*. Le colorazioni sono riferite anche qui agli standard del Munsell Book of color ⁽⁵⁾.

Per controllo alcune macchie sono state eluite e nuovamente cromatografate in una direzione di confronto con sostanze campione.

Desideriamo ringraziare il prof. P. KARRER e il prof. H. SCHMID per averci gentilmente fornito per il controllo cromatografico campioni di curarina, di alcaloide D e di calebassina.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Chimica terapeutica.
Belém - Pará: Instituto Agronomico do Norte.

BIBLIOGRAFIA

- ⁽¹⁾ ADANK K., BOVET D., DUCKE A. e MARINI-BETTÒLO G. B. - Gazz. Chim. Ital., 83: 966 (1953).
- ⁽²⁾ BOVET D., ADANK K., DUCKE A. e MARINI-BETTÒLO G. B. - Gazz. Chim. Ital., pag. 1144.
- ⁽³⁾ KLEBRLE J., SCHMID H., WASER P. e KARRER P. - Helvetica Chim. Acta, 36: 345 (1953).
- ⁽⁴⁾ The Munsell Book of Color, Munsell Color Company, Baltimore (1942).

102189

