

Metabolismo del maltosio nel diaframma isolato di ratto

In un precedente lavoro eseguito nel nostro laboratorio ¹, nel quale si era dimostrato che nel diaframma isolato di ratto il glucosio veniva trasformato in glicogeno ed in oligosaccaridi, non era stato chiarito in maniera inequivocabile se questi ultimi dovessero essere considerati intermedi nella trasformazione del glucosio a glicogeno oppure intermedi della glicogenolisi.

Successivamente SIE *et al.* ² da esperienze eseguite iniettando bicarbonato ¹⁴C in ratti e determinando poi l'attività specifica degli oligosaccaridi e del glicogeno isolati dal fegato, dedussero che gli oligosaccaridi erano precursori del glicogeno. D'altra parte OLAVARRIA ³, a seguito dei risultati ottenuti incubando estratti di fegato parzialmente purificati con uridindifosfogluccosio o glicogeno marcati con ¹⁴C, ritenne che gli oligosaccaridi non potessero essere considerati dei precursori per la sintesi del glicogeno.

Allo scopo di avere dati più significativi per la definizione del quadro metabolico dei carboidrati nel diaframma isolato di ratto, abbiamo ritenuto utile confrontare il metabolismo del maltosio-U-¹⁴C con quello del glucosio-U-¹⁴C in condizioni sperimentali analoghe a quelle usate precedentemente ¹.

Pertanto il diaframma, prelevato da ratti Wistar a digiuno di 24 ore, è stato diviso in quattro parti, ciascuna da mg 50 circa; la prima parte è stata incubata con maltosio-U-¹⁴C per 15 minuti, la seconda con maltosio-U-¹⁴C per 60 minuti, la terza con glucosio-U-¹⁴C per 15 minuti e la quarta con glucosio-U-¹⁴C per 60 minuti. Il mezzo di incubazione era costituito da ml 0,6 di tampone di bicarbonato (NaHCO₃ 0,01 M, NaCl 0,11 M e MgCl₂ 0,005 M), ed il substrato era impiegato alla concentrazione finale dello 0,1 % come glucosio.

I risultati ottenuti separando i metaboliti radioattivi mediante la tecnica quantitativa di cromatografia su carta precedentemente descritta ⁴ sono riportati nella Tab. 1.

Dalla Tabella appare chiaramente che dopo 15 minuti di incubazione la sintesi di glicogeno da maltosio, a differenza di quanto si ottiene da glucosio, è estremamente bassa, nonostante che il maltosio sia presente nel tessuto in quantità apprezzabile; anche la formazione di acido lattico da maltosio è di gran lunga inferiore a quella che si ottiene quando il substrato è glucosio. Inoltre da maltosio si forma un metabolita, presente quasi esclusivamente nel mezzo di incubazione, che per idrolisi dà glucosio ed ha un Rf corrispondente al maltotrioso. Dopo 60 min' di incubazione la sintesi di glicogeno da maltosio diviene apprezzabile, pur rimanendo sempre di gran lunga inferiore a quella ottenuta da glucosio; contemporaneamente si osserva un aumento nella produzione degli altri metaboliti.

Il confronto tra i livelli della radioattività incorporata nei metaboliti dopo incubazione del tessuto per 15 e 60 min' con maltosio, indica che la sintesi del glicogeno non dipende direttamente dal livello del maltosio, che è presente nel tessuto in quantità considerevole anche dopo 15 min' di incubazione, ma piuttosto appare correlata

TABELLA I.

Metabolismo del glucosio e del maltosio nel diaframma di ratto « in vitro ».

Substrato *	Tempo di incubazione (min.)	Sede della radioattività	Prodotti radioattivi dopo incubazione ** (c.p.m. x 10 ³ /50 mg di tessuto, peso umido)					
			acido lattico	glucosio	maltosio	maltotriosio	glicogeno e oligosaccaridi	residuo insolubile (glicogeno)
Glucosio	15	mezzo di incubazione	7,7	678,0	tracce	—	tracce	6,1
		tessuto	15,3	15,2	2,7	1,0	2,3	
		totale	23,0	693,2	2,7	1,0	2,3	
Maltosio	15	mezzo di incubazione	tracce	9,0	683,0	11,2	—	0,3
		tessuto	2,1	1,1	10,8	tracce	tracce	
		totale	2,1	10,1	693,8	11,2	tracce	
Glucosio	60	mezzo di incubazione	28,5	590,0	6,3	—	6,9	11,0
		tessuto	22,2	18,9	7,2	4,6	9,7	
		totale	50,7	608,9	13,5	4,6	16,6	
Maltosio	60	mezzo di incubazione	3,3	20,6	631,0	19,3	—	1,8
		tessuto	7,6	3,8	15,8	1,1	1,4	
		totale	10,9	24,4	646,8	20,4	1,4	

* Radioattività 700 x 10³ c.p.m.** Condizioni sperimentali: 50 mg di diaframma sono stati incubati a 37° in 95% O₂ e 5% CO₂ in 0,6 ml di tampone di bicarbonato contenente 0,1% di substrato espresso come glucosio.

alla presenza ed al livello del glucosio che, come si vede dalla tabella, si forma nel tempo; anche la produzione di acido lattico sembra essere collegata più alla formazione del glucosio che non al livello del maltosio nel tessuto.

Inoltre, il confronto tra i livelli del maltosio trovati nel tessuto dopo incubazione con glucosio o con maltosio indica che la sintesi del glicogeno non è funzione della quantità di maltosio presente nel tessuto: infatti dopo 15 min' di incubazione con glucosio si trovano 9.400 c.p.m. incorporati complessivamente nel glicogeno totale e nei polisaccaridi e solo 2.700 c.p.m. nel maltosio, mentre dopo 15 min' di incubazione con maltosio, nel tessuto sono presenti 10.800 c.p.m. di substrato ma solo poco più di 300 c.p.m. sono incorporati nel glicogeno. Indicazioni analoghe si possono trarre dai risultati ottenuti dopo 60 min' di incubazione.

Pertanto risulta evidente, e ciò è in accordo con quanto trovato da OLAVARRIA³ in esperienze con preparati di fegato, che nel diaframma il maltosio non può essere considerato un intermedio nella glicogenosintesi da glucosio. La presenza di maltosio nel diaframma dopo incubazione con glucosio, come pure quella degli oligosaccaridi¹, è quindi da attribuire alla degradazione enzimatica del glicogeno; a questo riguardo è da ricordare che PETROVA⁵ e successivamente anche TORRES & OLAVARRIA⁶ avevano notato attività amilasica nel muscolo di ratto.

Per quanto concerne la formazione del maltotrioso e del glucosio da maltosio, si ritiene che quanto trovato indichi la presenza nel diaframma di una glicosiltransferasi del tipo di quella precedentemente messa in evidenza nel fegato di ratto^{7,8}. La possibilità di una formazione di glucosio da maltotrioso è stata discussa da WALKER & WHELAN⁹.

Gli Autori desiderano esprimere il loro ringraziamento ai Sig.ri Carlo Cantello e Remo Gabriele per l'apprezzata assistenza tecnica.

26 aprile 1966.

RAFFAELLA CATANZARO, LUIGI LONGINOTTI,
INES MASI e FRANCESCO POCCHIARI
Laboratori di Chimica Biologica

- ¹ BELOFF-CHAIN, A., R. CATANZARO, E. B. CHAIN, I. MASI, F. POCCHIARI & C. ROSSI
Proc. Roy. Soc., B, **143**, 481 (1955).
- ² SIE, H. G., J. ASHMORE, R. MAHLER & H. FISHMAN, *Nature*, **184**, 1380 (1959).
- ³ OLAVARRIA, J. M., *J. Biol. Chem.*, **235**, 3058 (1960).
- ⁴ FRANK, M., E. B. CHAIN, F. POCCHIARI & C. ROSSI, *Selected Sci. Papers Ist. Super. Sanità*, **2**, 75 (1959).
- ⁵ PETROVA, A. N., *Biokhimiya*, **11**, 119 (1946).
- ⁶ TORRES, H. N. & J. M. OLAVARRIA, *Acta Physiol. Latinoam.*, **11**, 95 (1961).
- ⁷ GIRI, K. V., A. NAGABHUSHANAM, V. N. NIGAM & B. BELAVADI, *Science*, **121**, 898 (1955).
- ⁸ STETTEN, M. R., *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 1437 (1959).
- ⁹ WALKER, M., & W. J. WHELAN, *Biochem. J.*, **76**, 257 (1960).

Ricerche sugli alcaloidi delle *Strychnos*. Nota XV. Gli alcaloidi della *Strychnos panamensis* Seem

Nel quadro delle ricerche sugli alcaloidi delle *Strychnos*¹ abbiamo intrapreso lo studio della *Strychnos panamensis* Seem.

La distribuzione di tale pianta, secondo i più recenti lavori di KRUKOFF², comprende la zona della costa del Pacifico, del Messico tropicale, il Guatemala, El Salvador, il Nicaragua; è anche abbondante nella Costa Rica, a Panama, nel Nord Est del Venezuela e nel nord della Colombia.

Il materiale utilizzato per il nostro studio era costituito da un'unica liana matura, lunga circa 35 metri e del diametro di circa 10 cm, raccolta dal Dr. B. A. Krukoff in una zona di foresta vergine vicina alla stazione di Nahualate, nel Dipartimento di Suchitpequez, Guatemala. (Campioni di erbario (Armando Guillen 201) sono stati depositati al New York Botanical Garden).

Dato che gli estratti di tale pianta rivelavano qualitativamente la presenza di alcaloidi e che manifestavano sull'animale una certa tossicità, si è proceduto all'isolamento e alla separazione degli alcaloidi secondo le tecniche già in precedenza adottate per le altre specie di *Strychnos* da noi studiate³.

I risultati hanno mostrato che nelle varie parti della pianta la percentuale degli alcaloidi terziari, rispetto a quella dei quaternari, era bassa, come nel caso delle *Strychnos* sp. del bacino delle Amazzoni.

Gli alcaloidi terziari sono stati cromatografati su strato sottile secondo la tecnica proposta recentemente⁴ e con l'impiego di CHCl_3 e CH_3OH in varie concentrazioni come solventi. Si possono così mettere in evidenza almeno undici macchie, una delle quali ha lo stesso Rf della Diabolina, la cui probabile presenza è stata confermata isolandola ed effettuandone lo spettro U.V.

I reineckati degli alcaloidi quaternari sono stati trasformati, secondo il metodo di Panouse-Kapfhammer⁵ nei rispettivi cloruri, i quali sono stati frazionati su colonna di cellulosa, impiegando come solvente il solvente C di Karrer con quantità crescenti di metanolo. Si raccolgono in questo modo circa seicento frazioni che, in base al comportamento cromatografico su carta, si riuniscono in 12 gruppi. Mediante ulteriori frazionamenti si possono mettere in evidenza quattro alcaloidi principali, che sono stati caratterizzati in base agli Rf nei solventi C e D di Karrer, alle reazioni cromatiche con solfato cerico, agli spettri nell'U.V., con gli alcaloidi K, F, G e con la Fluorocurina³.

In base a questi risultati si può considerare che la *S. panamensis*, per composizione di alcaloidi, oltre che per relazioni tassonomiche, si avvicini alla *S. trinervis*⁶, che differisce però dalla *S. panamensis* per distribuzione geografica. La scarsa attività curarizzante degli estratti della *S. panamensis* si può spiegare tenendo conto della scarsa quantità di alcaloidi bisquaternari in essa contenuti.

La presenza di Diabolina è una conferma della diffusione di questo alcaloide nelle varie specie di *Strychnos*: essa fu infatti riscontrata la prima volta nella *S. diabolii* della Guiana Britannica da KING⁷ e successivamente da Schlittler che ne dimostrò la costituzione⁸. Essa è stata recentemente ritrovata in una specie asiatica di *Strychnos*, la *S. ignatii* (*Strychnos* KL 1929) da CASINOVÌ, MARINI-BETTÒLO & BISSETT⁹ e nella *S. chloranta*, specie limitata all'America Centrale, da Karrer e collaboratori¹⁰. Tutto ciò sembra confermare l'ipotesi che la Diabolina possa costituire il termine comune di biosintesi degli alcaloidi terziari e quaternari delle *Strychnos*⁹.

Estrazione e prove farmacologiche. — La corteccia è stata triturrata e polverizzata, quindi pesata e messa a percolare con acido tartarico in soluzione acquosa, secondo quanto riportato in altro lavoro ⁵. La soluzione tartarica viene neutralizzata, si elimina il sale separatosi, e si impiega per le prove farmacologiche.

Le tossicità per via intraperitoneale nel topino della *Strychnos panamensis*, usando un estratto tartarico del quale 12 ml equivalevano a 1 g di piante, risulta $LD_{50} = 14$ ml/kg cioè pari a 1,2 g/kg di piante. Non si è osservato *head-drop* nel coniglio con l'impiego di 2 ml/kg. Non si sono osservate convulsioni nè segni di paralisi. Quando erano state iniettate dosi tossiche, si sono osservati abbattimenti e depressioni del respiro, con atti respiratori spastici premortali.

Alcaloidi nel materiale botanico. — Il materiale botanico è costituito da: a) la corteccia della parte superiore della pianta; b) la corteccia della parte inferiore; c) il guscio dei frutti; d) i frutti maturi.

Le varie parti vengono estratte singolarmente con acido acetico diluito e si separano gli alcaloidi totali. Questi poi vengono frazionati in terziari e quaternari secondo la tecnica già seguita precedentemente ⁵.

Nella corteccia della parte inferiore delle piante sono presenti solo piccole percentuali di alcaloidi terziari (88 mg da 600 g) mentre si ha una maggiore percentuale di alcaloidi quaternari (400 mg di cloruri da 600 g) in accordo con quanto era stato constatato con altre *Strychnos*. Una minore percentuale di alcaloidi quaternari si trova nelle cortecce della parte superiore della pianta (600 mg da 1100 g) compensata da una maggiore quantità di alcaloidi terziari (360 mg) rispetto alla parte bassa della corteccia. Nei gusci dei semi non risulta siano presenti alcaloidi mentre nei semi maturi si ritrova una piccola percentuale di alcaloidi terziari (80 mg per 1400 g di semi) e solo tracce di quaternari.

Separazione degli alcaloidi terziari. — L'esame cromatografico delle varie frazioni dimostra la presenza di numerosi alcaloidi, uno dei quali è da identificarsi con la Diabolina. Per il suo isolamento si è presa in esame la miscela di 360 mg di alcaloidi terziari ottenuti, dopo purificazione secondo i metodi citati, dalla corteccia della parte superiore della pianta.

Il primo frazionamento fu ottenuto facendo passare la miscela su una colonna di Al_2O_3 (attività = 1), eluendo con $CHCl_3$ e quindi con $CHCl_3$ e CH_3OH 1% e raccogliendo frazioni di 15 ml.

In base ai risultati della cromatografia su strato sottile, le frazioni si riuniscono in cinque gruppi:

I	1-13	mg 30,2
II	14-23	mg 14,3
III	23-58	mg 25,6
IV	58-72	mg 118,0
V	72-115	mg 125,0

La frazione (III), che si presentava particolarmente interessante per contenere un alcaloide ad R_f uguale a quello della Diabolina, è stata ulteriormente purificata facendola passare in una colonna di Al_2O_3 (attività = 1); eluendo con $CHCl_3$ e raccogliendo frazioni di 5 ml.

L'alcaloide puro che così si ottiene ha, nel solvente $CHCl_3:CH_3OH = 7,5:25$, R_f 0,37 e massimi d'assorbimento all'U.V. a 248-275-286 $m\mu$; $\epsilon_{248} = 11,500$. Questi dati permettono di identificare con la Diabolina l'alcaloide in esame. Diabolina in minime quantità è stata anche ottenuta, con lo stesso metodo di purificazione, dai semi maturi della pianta.

Separazione ed identificazione degli alcaloidi quaternari della S. panamensis. — Seicento mg di cloruri, sciolti nel solvente C, sono stati passati in una colonna di g 200 di cellulosa previamente lavata con 8-ossichinolina e quindi con solvente C di Karrer fino a scomparsa della reazione con FeCl₃. Si sono raccolte frazioni di 15 ml eluendo con solvente C con quantità crescenti di metanolo (dall'1 % al 4 %).

TABELLA 1.

Alcaloidi quaternari della « *Strychnos panamensis* ».

Fra- zione *	Fluorescenza	Colorazione Ce (SO ₄) ₂	Rc rispetto al galattosio				Alcaloide
			Solvente C		Solvente D		
			Rc trovato	Rc lettera- tura	Rc trovato	Rc lettera- tura	
VI	Celeste	—	5,65	5,7	1,6	1,65	Fluorocurina
VII	—	Rosso porpora	3,38	3,3	1,05	1,10	K
X	—	Azzurra	1,35	1,31	0,75	0,71	F
XI	—	Azzurra	1,8	1,76	0,73	0,71	G

* Eluizione da colonna di cellulosa con solvente C di Karrer.

In base ai risultati della cromatografia su carta l'eluato si raggruppa in 12 frazioni con recupero praticamente totale. Le frazioni più interessanti sono la VI (23 mg) VII (15 mg) X (30 mg) e la XI (15 mg) nelle quali in base agli Rc rispetto al galattosio nei solventi C e D di Karrer (percolazione dalle 14 alle 17 ore), alla colorazione con solfato cerico, alla fluorescenza si può supporre la presenza degli alcaloidi K, F, G e Fluorocurina (vedi Tabella 1).

18 marzo 1966.

ROBERTO PELLICCIARI, FRANCO DELLE MONACHE,
NANCY LOZANO REYES, CARLO G. CASINOVÌ
e G. B. MARINI-BETTÒLO

*Laboratori di Chimica Biologica
Centro di Chimica del Farmaco del C.N.R.*

- CASINOVÌ, C. G., I. GONZALES HUERTA, M. MAROTTA, G. B. MARINI-BETTÒLO, *Rend. Ist. Super. Sanità*, **27**, 65 (1964).
- KRUKOFF, B. A., *Mem. New York Bot. Garden*, **12**, n. 2 (1965).
- MARINI-BETTÒLO, G. B. & C. G. CASINOVÌ, *Chromatog. Rev.*, **1**, 75 (1959).
- GRANDOLINI, G., C. GALEFFI, E. MONTALVO, C. G. CASINOVÌ & G. B. MARINI-BETTÒLO, in: *Thin Layer Chromatography*, G. B. Marini-Bettòlo, Ed., 1964 p. 155.
- PANOUSE, J. F., *Bull. Soc. Chim. France*, **16**, 594 (1949).
- ADANK, K., D. BOVET, A. DUCKE & G. B. MARINI-BETTÒLO, *Gazz. Chim. Ital.*, **83**, 966 (1953).
- KING, H., *J. Chem. Soc.*, 3263 (1949).
- BADER, F. E., E. SCHLITTLER & H. SCHWARZ, *Helv. Chim. Acta*, **36**, 1256 (1953).
- CASINOVÌ, C. G., G. B. MARINI-BETTÒLO & N. G. BISSET, *Nature*, **193**, 1178 (1962).
- MILLER, H., M. HESSE, P. WASER, H. SCHMID & P. KARRER, *Helv. Chim. Acta*, **48**, 320 (1965).

La 18-ossiquassina, nuovo amaroide isolato dalla *Quassia amara*

Nel corso della purificazione della quassina (I), principale costituente amaro estraibile dal legno della *Quassia amara* (occorrente alle nostre ricerche sull'*Ailanthus glandulosa*^{1,2,3}) l'esame delle singole frazioni ottenute dalla cromatografia della quassina commerciale ci ha dimostrato la presenza di almeno altre tre sostanze di cui due, e cioè la isoquassina e la neoquassina, già note in letteratura^{4,5,6}.

La sostanza che per ultima esce dalla colonna, e che abbiamo costantemente ritrovato, sia pure in piccola quantità, in tutti i campioni commerciali di quassina, non era stata precedentemente descritta: abbiamo quindi ritenuto opportuno studiarne la costituzione, anche perchè sostanze possedenti lo stesso scheletro della (I), da qualche anno a questa parte, attirano l'attenzione di diversi gruppi di ricerca.

La nuova sostanza, dopo la separazione cromatografica, si purifica abbastanza facilmente e l'analisi elementare fornisce dei dati in accordo con la formula grezza $C_{22}H_{28}O_7$; lo spettro ultravioletto in etanolo mostra un singolo massimo a 256 m μ ($\epsilon = 12100$), e cioè praticamente lo stesso di quello della quassina (I) (λ_{max} 255 m μ , $\epsilon = 11650$). Lo spettro infrarosso mostra bande tipiche a 3450 cm^{-1} (OH), 1725 cm^{-1} (carbonile non coniugato), 1680 cm^{-1} (carbonile coniugato) e 1635 cm^{-1} (doppio legame coniugato); eccetto la prima, tutte queste bande sono altresì presenti nella quassina stessa e ciò suggerisce una possibile somiglianza strutturale tra le due sostanze. Una conferma molto convincente a questo proposito scaturisce dall'esame dello spettro di risonanza magnetica nucleare (RMN) della sostanza: le conclusioni che è possibile trarre dai dati riassunti nella Tab. 1, lasciano indubbiamente dedurre una stretta analogia strutturale.

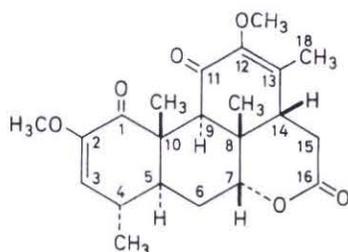
TABELLA 1.

Spettri di risonanza magnetica nucleare della quassina e derivati

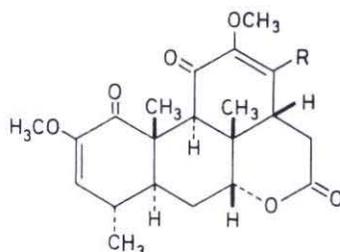
Sostanze	Segnali significativi, in unità δ , e loro attribuzione								
	C ₂ OCH ₃	C ₃	C ₄ CH ₃	C ₇	C ₈ CH ₃	C ₉	C ₁₀ CH ₃	C ₁₂ OCH ₃	C ₁₃
Quassina	3,58	5,30d	1,11d	4,28m	1,19	2,95	1,55	3,65	1,87 (CH ₃)
18-ossiquassina	3,60	5,32d	1,13d	4,38m	1,20	3,02	1,56	3,67	4,42q (CH ₂ -O-)
18-acetossiquassina	3,59	5,34d	1,14d	4,34m	1,19	3,05	1,56	3,75	4,88 (CH ₂ -O-Ac)
18-oxoquassina	3,60	5,38d	1,14d	4,36m	1,16	3,05	1,59	3,98	10,28 (CHO)

I singoletti non sono indicati; d = doppietto, m = multipletto, q = quartetto.

Confrontando questi dati con quelli riportati per la quassina⁷, si nota che la principale differenza tra le due sostanze consiste in un quartetto di tipo AB ($J = 13$ cps) centrato a 4,42 ppm, la cui area corrisponde a due protoni, assente nella quassina, il cui spettro mostra invece un singoletto a 1,87 ppm (area = tre protoni), sicuramente attribuibile al metile in 13, a sua volta assente nella nuova sostanza. La regione dello spettro in cui questo segnale si trova indica trattarsi di un gruppo alcoolico od etero primario; questa incertezza si può facilmente risolvere esaminando lo spettro RMN dell'acetilidriverivato (IIa), il quale mostra un netto segnale per un unico gruppo $\text{CH}_2\text{-COO-}$ a 2,12 ppm, mentre il segnale relativo al gruppo $\text{-CH}_2\text{-O-}$ si trasforma in un singoletto a 4,88 ppm. Resta con ciò definitivamente dimostrata, nella sostanza oggetto del presente studio, la presenza di un gruppo alcoolico primario in 13, rendendo con ciò conto, data la coniugazione con il doppio legame, del valore piuttosto basso del rispettivo spostamento chimico.



(I)



R = CH_2OH (II)
 CH_2OAc (IIa)
 CHO (IIb)

Ad ulteriore conferma, abbiamo ossidato con MnO_2 il gruppo alcoolico ottenendo l'aldeide α, β -insatura (IIb), come gli spettri infrarosso (banda del carbonile a 1705 cm^{-1}), ultravioletto ($\lambda_{\text{max}} 268 \text{ m}\mu$, $\epsilon = 7250$) e soprattutto di risonanza magnetica nucleare (singoletto a 10,28 ppm) dimostrano.

Riassumendo quindi tutti i fatti sperimentali riportati, al composto va attribuita la struttura della 18-ossi-quassina (II).

Per ciò che concerne la stereochimica del composto (II), i dati ottenuti dagli spettri di risonanza magnetica nucleare inducono a ritenere che sia la stessa della quassina (I).

Separazione cromatografica degli amaroidi. — La quassina commerciale, acquistata dalla ditta Lock Light Laboratories Ltd., cromatografata su strato sottile di gel di silice (eluente cloroformio : metanolo, 95 : 5, rivelatore acido fosfomolibdico) mostra quattro macchie principali con $R_f = 0,95 ; 0,8 ; 0,7$ e $0,55$. Tali macchie sono identificabili rispettivamente come isoquassina, quassina, neoquassina e, la macchia con R_f più basso, un nuovo amaroide, la 18-ossi-quassina (II).

Il metodo di separazione che qui viene riferito è un tipico esempio di molti esperimenti effettuati su campioni diversi di quassina commerciale.

Una soluzione di g 11,5 di quassina greggia in ml 25 di cloroformio fu posta su una colonna di cm 60×5 di gel di silice (200 mesh) attivata a 200°C per 2 ore. Il cromatogramma fu sviluppato con cloroformio puro e si raccolsero frazioni di ml 200. Le prime otto frazioni non dettero alcun residuo. Le frazioni 9 e 10 fornirono g 0,1 di isoquassina impura per tracce di quassina; dalle frazioni 11-14 furono ottenuti g 8,20 di quassina pura e dalle frazioni 15-17 g 0,20 di quassina in miscela con neoquassina. Le frazioni 18-27 dettero un residuo di g 1,96 costituito da neoquassina leggermente impura.

L'eluizione fu poi continuata usando cloroformio contenente l'1 % di metanolo. Dalle frazioni 28-37 furono così ottenuti g 0,389 del nuovo amaroide quasi puro e dalle frazioni 38-45 ancora g 0,091 della stessa sostanza, ma alquanto impura. La 18-ossiquassina (II) è contenuta quindi nella quassina commerciale in quantità di circa il 4 %.

18-ossiquassina (II). — Il prodotto ottenuto come sopra descritto, purificato per ripetute cristallizzazioni da acetato di etile, si presenta in prismi bianchi che fondono a 232-233° C.

Analisi:

	trov. % :	C 65,02;	H 6,84;
per C ₂₂ H ₂₈ O ₇	calc. :	65,33;	6,98.

Il composto presenta un $[\alpha]_D^{20} = + 24^\circ$ (c = 1 % in cloroformio). La sua solubilità nei solventi organici è simile a quella della quassina.

18-acetossiquassina (IIa). — La 18-ossiquassina (II) (mg 100) è stata acetilata per azione di anidride acetica (ml 2) in piridina (ml 1) per 48 ore a temperatura ambiente. Dopo isolamento nella maniera abituale, il prodotto fu purificato per cromatografia su colonna di SiO₂, eluente benzolo. Furono ottenuti mg 75 di acetilderivato che non poté essere cristallizzato.

18-oroquassina (IIb). — Grammi 0,04 di 18-ossiquassina (II), sciolti in ml 5 di cloroformio anidro, furono dibattuti con g 0,5 di MnO₂. Dopo 8 ore a temperatura ambiente, la massa fu filtrata ed il solvente evaporato sotto vuoto. Il residuo fu cristallizzato da acetato di etile: lunghe lamine leggermente gialle, p.f. 282-283° C. Resa quantitativa.

Analisi:

	trov. % :	C 65,77;	H 6,35;
per C ₂₂ H ₂₆ O ₇	calc. :	65,66;	6,51.

Gli spettri ultravioletti sono stati registrati in soluzione alcoolica con uno spettrofotometro Ultrascan della Hilger & Watts. Gli spettri infrarossi con uno spettrografo Perkin-Elmer 21, in soluzione cloroformica e gli spettri RMN in soluzione di CHCl₃, con tetrametilsilano come riferimento interno, con un apparecchio Varian A-60.

La presente ricerca è stata svolta in collaborazione con il Centro di Chimica del Farmaco e delle sostanze biologicamente attive del CNR - Sez. II, Università del S. Cuore - Roma (P. Ceccherelli) e l'Istituto di Chimica Farmaceutica e Tossicologica dell'Università di Perugia (G. Grandolini).

22 aprile 1966.

CARLO G. CASINOVÌ, PAOLO CECCHERELLI
e GIULIANO GRANDOLINI
Laboratori di Chimica Biologica

- CASINOVÌ, C. G. & G. GRANDOLINI, *Atti Accad. Nazl. Lincei Rend. Classe Sci. Fis. Mat. Nat.*, Ser. VIII, **35**, 348 (1963).
- CASINOVÌ, C. G., P. CECCHERELLI, G. GRANDOLINI & V. BELLAVITA, *Tetrahedron Letters*, no. **52**, 3991 (1964).
- CASINOVÌ, C. G., V. BELLAVITA, G. GRANDOLINI & P. CECCHERELLI, *Tetrahedron Letters*, no. **27**, 2273 (1965).
- ADAMS, R. & W. M. WHALEY, *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 375 (1950).
- LONDON, E., A. ROBERTSON & H. WORTHINGTON, *J. Chem. Soc.*, 3431 (1950).
- VALENTA, Z., S. PAPADOPOULOS & C. PODESVA, *Tetrahedron*, **15**, 100 (1961).
- CARMAN, R. M. & A. D. WARD, *Australian J. Chem.*, **15**, 807 (1962).