

33. A. BALLIO e G. B. MARINI-BETTOLO. — La costituzione del cernuoside, il pigmento giallo dei fiori di *Oxalis cernua* Thumb.

Riassunto. — Si dimostra che il cernuoside, il pigmento giallo dei fiori di *Oxalis cernua* Thumb., è il 4-glucoside del 3'-4'-4,6-tetraossi-benzal-cumaranone.

Résumé. — On démontre que le cernuoside, le pigment jaune des fleurs d'*Oxalis cernua* Thumb., est le glucoside de la tétrahydroxy-3'-4'-4,6-benzylidène coumaranone.

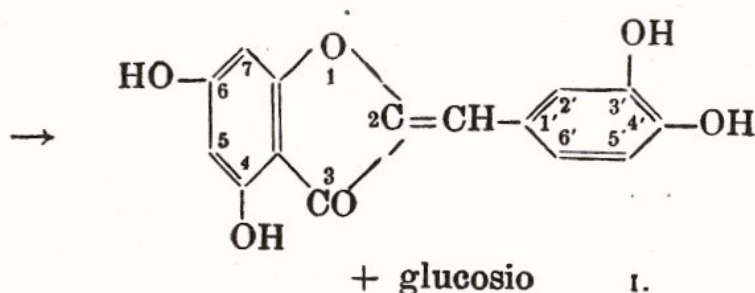
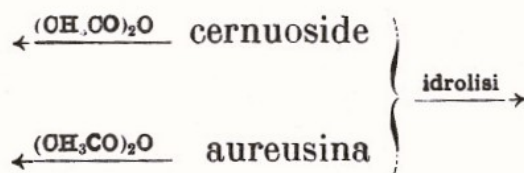
Summary. — It is shown that the structure of cernuoside, the yellow pigment from the flowers of *Oxalis cernua* Thumb., is the 4-glucoside of 3',4',4,6-tetrahydroxybenzalcoumaranone.

Zusammenfassung. — Es wird gezeigt, dass das gelbe Pigment der Blüten der *Oxalis cernua* Thumb. das 4-Glukosid des 3'-4'-4,6-Tetraoxybenzalcumaranon ist.

Dai petali dei fiori di *Oxalis cernua* Thumb, è stato isolato allo stato cristallino un eteroside giallo, il *cernuoside*, che per idrolisi acida dà una molecola di glucosio ed una di aglicone (¹). Abbiamo precedentemente dimostrato (²) che questo aglicone è identico all'*aureusidina* (3'-4'-4,6-tetraossi-benzalcumaranone) (I), già ottenuta da SEIKEL e GEISSMAN

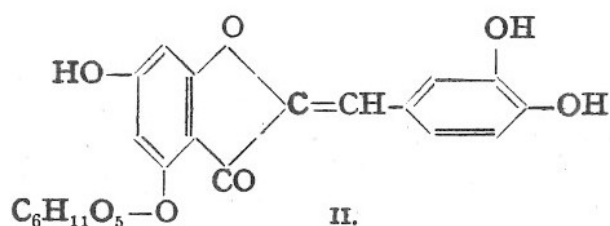
$C_{35}H_{34}O_{18}$
pf 169-170°

$C_{35}H_{34}O_{18}$
pf 264,5-265°,5



per idrolisi dell'*aureusina*, un eteroside contenuto nei fiori di *Anthirrinum majus* ⁽³⁾. Da un esame comparativo dei nostri risultati con quelli di SEIKEL e GEISSMAN, appariva evidente che tanto il cernuoside quanto l'*aureusina* sono monoglucosidi del 3'-4'-4-6-tetraossi-benzalcumaranone, ma che la loro struttura non poteva essere la stessa in quanto i rispettivi epta-acetilderivati differivano di circa 100° nel punto di fusione ⁽²⁾.

In questo lavoro riportiamo i risultati di alcune reazioni di demolizione e di sintesi, le quali permettono di assegnare al cernuoside stesso la costituzione di 4-glucoside dell'*aureusidina* (II).

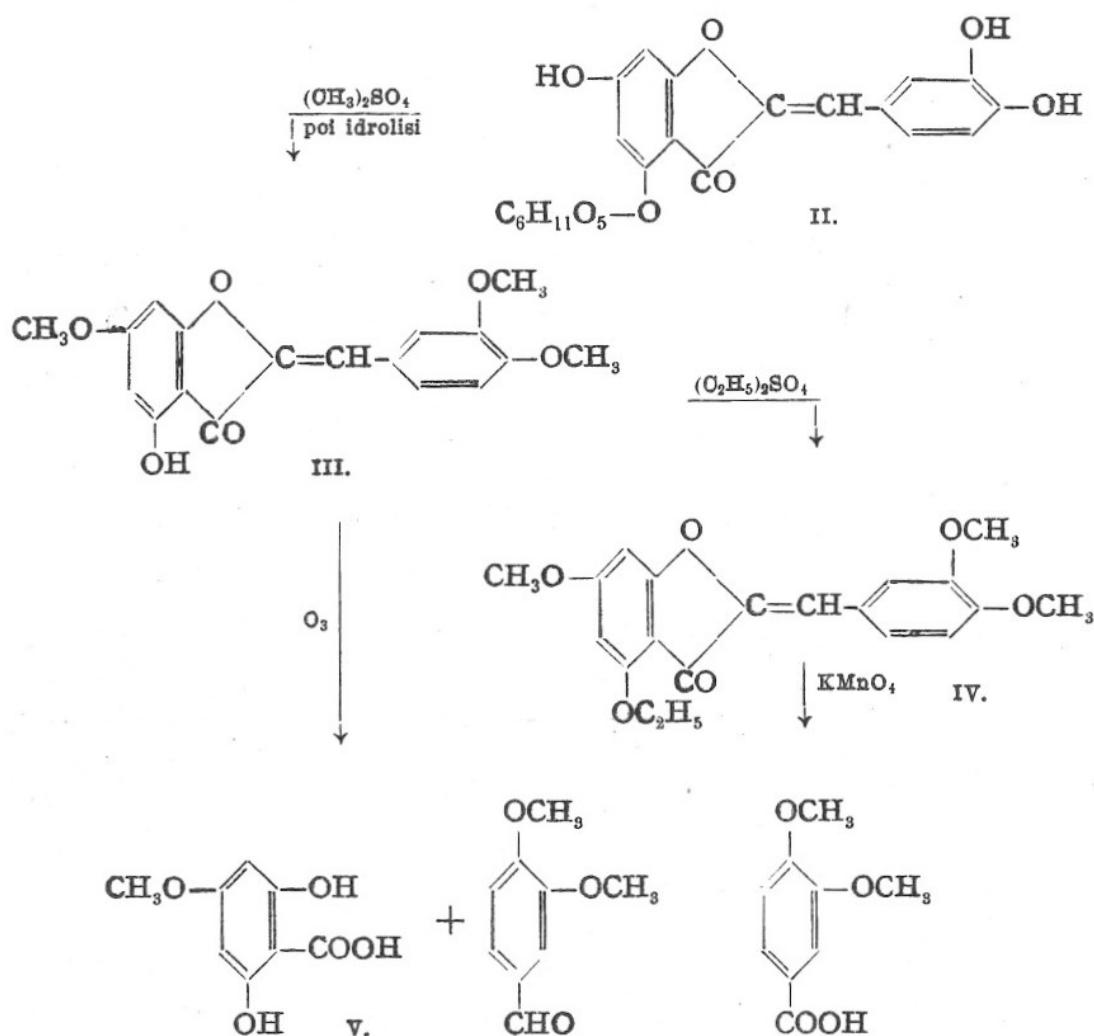


Tali risultati, già comunicati al XIV Congresso di Chimica pura ed applicata ⁽⁴⁾, sono stati confermati da GEISSMAN e HARBORNE ⁽⁵⁾ sulla base di dati cromatografici e spettrofotometrici ottenuti con un campione di cernuoside da noi inviato.

Per stabilire quale degli ossidrili dell'*aureusidina* fosse impegnato nel legame glucosidico si è effettuata la metilazione del cernuoside seguita da idrolisi acida; si è in tal modo ottenuto un ossi-trimetossi-benzalcumaranone (*trimetil-aureusidina*) (III), in cui l'unico ossidrile non eterificato deve logicamente corrispondere a quello che nell'eteroside è legato al glucosio. L'ossidazione permanganica dell'etere etilico della trimetil-*aureusidina* (IV) ha dato acido veratrico, dimostrando che l'ossidrile libero (in tal caso protetto con l'etilazione) deve trovarsi nel nucleo del cumaranone. Dopo aver stabilito che l'ozonizzazione del 3'-4'-4-6-tetrametossi-benzalcumaranone sintetico dà luogo ad aldeide veratrica e ad acido 2-ossi-4-6-dimetossi-benzoico, abbiamo sottoposto la trimetil-*aureusidina* allo stesso trattamento ed abbiamo isolato, oltre all'aldeide veratrica, l'acido 2-6-diossi-4-metossi-benzoico (V); tale risultato indica che la trimetil-*aureusidina* è il 4-ossi-3'-4'-6-trimetossi-benzalcumaranone e che quindi al cernuoside spetta la costituzione di 4-glucoside del 3'-4'-4-6-tetraossi-benzalcumaranone.

A conferma della struttura della trimetil-*aureusidina* è stata effettuata la sintesi di alcuni eteri metilici del 3'-4'-4-6-tetraossi-benzalcumaranone. Dei quattro possibili trimetilderivati di questo composto, tre sono

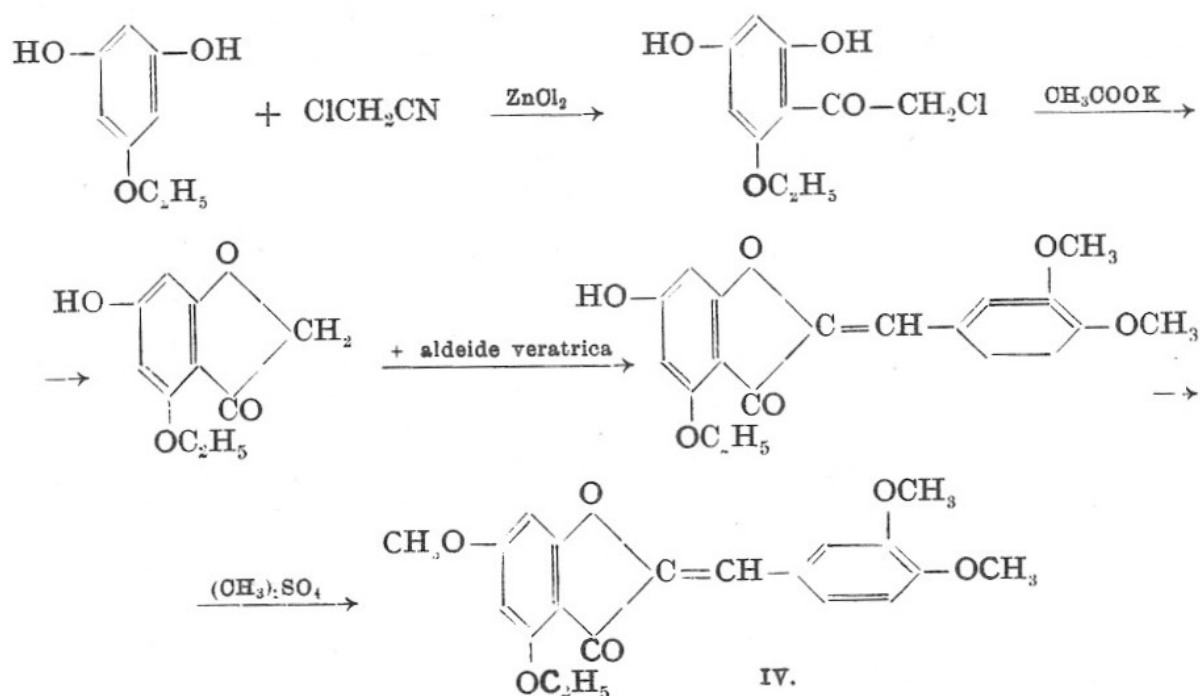
facilmente sintetizzabili e precisamente il 6-ossi-3'-4-4'-trimetossi-benzalcumaranone (condensando il 4-metossi-6-ossi-cumaranone con l'aldeide veratrica), il 3'-ossi-4-4'-6-trimetossi-benzalcumaranone ed il 4'-ossi-3'-4-6-trimetossibenzalcumaranone (condensando il 4-6-dimetossi-cumaranone rispettivamente con aldeide isovainiglica e con aldeide vainiglica). Questi composti sono risultati, come era prevedibile, differenti dalla trimetil-aureusidina. Il quarto isomero, e cioè il 4-ossi-3'-4'-6-trimetossi-benzalcumaranone, si dovrebbe poter preparare dal 4-ossi-6-metossi-cumara-



none, che non è descritto in letteratura; tentativi di ottenere questo cumaranone per metilazione parziale del 4-6-diossi-cumaranone non hanno avuto finora successo (*) e abbiamo perciò preferito preparare il suo etil-etero e cioè il 4-etossi-3'-4'-6-trimetossi-benzalcumaranone (IV), il quale poteva prevedersi identico all'etil-derivato della trimetil-aureusidina. Il

(*) Cfr. GEISSMAN e HINREINER (6).

composto è stato sintetizzato a partire dall'O-monoetil-floroglucina secondo lo schema seguente:



ed è effettivamente risultato identico al prodotto di etilazione della trimetil-aureusidina; si è così confermata la struttura del cernuoside proposta in base ai risultati delle reazioni di demolizione della trimetil-aureusidina.

Nel corso del lavoro sono stati sintetizzati alcuni altri nuovi eteri dell'aureusidina e cioè il 3'-4'-4-6-tetraetossi-benzalcumaranone, che è risultato identico al prodotto di etilazione dell'aureusidina ⁽²⁾, il 3'-4'-di-metossi-4-6-dietossi-benzalcumaranone, il 3'-4'-dimetossi-4-6-diossi-benzalcumaranone, il 3'-4'-dietossi-4-metossi-6-ossi-benzalcumaranone, il 4-metossi-3'-4'-6-trietossi-benzalcumaranone.

PARTE SPERIMENTALE

Trimetil-aureusidina. (III)

Grammi 1 di cernuoside in 200 cm³ di acetone secco si riscaldano a ricadere per 13 ore con 30 g di carbonato potassico anidro e 6 cm³ di solfato dimetilico secco. Terminato il riscaldamento la soluzione acetonica si separa per filtrazione dai sali inorganici, questi si lavano con acetone bollente ed i filtrati acetonici riuniti si portano a secco su b. m. Si ot-

tiene una sostanza bruna semisolida, costituita dall'eptametil-cernuoside, che senza ulteriore purificazione viene sottoposta a idrolisi.

Si aggiungono pertanto al residuo dell'evaporazione dell'acetone 100 cm³ di acido solforico al 3% e la miscela si riscalda per 6 ore all'ebollizione; il precipitato formatosi si raccoglie su filtro, si lava con acqua e si secca. Si ottengono in tal modo g. 0,2 di trimetil-aureusidina, che dopo cristallizzazione dall'acido acetico si presenta in aghi gialli che fondono a 224-225,5°. La soluzione alcoolica del prodotto dà con cloruro ferrico una colorazione bruna scura.

trov. % : C 65,53; H 4,79;
per C₁₈H₁₆O₆ calc. : 65,85; 4,87.

Etil-trimetil-aureusidina. (IV)

Grammi 0,180 di trimetil-aureusidina in 36 cm³ di acetone secco si riscaldano a ricadere 13 ore assieme a 1,5 g di carbonato potassico anidro e cm³ 0,4 di solfato dietilico secco. La soluzione acetonica si separa per filtrazione dai sali inorganici, questi si lavano due volte con 15 cm³ di acetone ed i filtrati riuniti si portano a secco su b. m. bollente. Si ottiene un residuo solido che, dopo essere stato agitato tre ore con 10 cm³ di idrato sodico al 3%, viene raccolto su filtro, lavato a fondo con acqua, seccato e crist. dall'alcool etilico. Si ottiene così in cristalli gialli che fondono a 164-165°.

All'analisi ha dato:

trov. % : C 67,25 H 5,52;
per C₂₀H₂₀O₆ calc. : 67,40; 5,60.

Ossidazione permanganica dell'etil-trimetil-aureusidina.

Grammi 0,08 di etil-trimetil-aureusidina si riscaldano un'ora su b.m. bollente con 8 cm³ di una soluzione acquosa al 5% di permanganato di potassio. La soluzione ottenuta dopo filtrazione si acidifica cautamente con acido solforico dil. e si raffredda energicamente. Il precipitato bianco che si separa si raccoglie su filtro, si lava con acqua fredda e si cristallizza dall'acqua bollente. Fonde a 178-179°, anche in miscela con un campione di acido veratrico.

Ozonizzazione della tetrametil-aureusidina.

Grammi 0,2 di tetrametil-aureusidina si sciolgono in 50 cm³ di acetato di etile, quindi raffreddando si fa gorgogliare nella soluzione una corrente di ozono; si interrompe l'operazione quando la soluzione è completamente incolore. La soluzione si lascia per 12 ore a temperatura ambiente, quindi si riprende con acqua e si estrae con etere. La soluzione eterea si dibatte con una soluzione di bicarbonato di potassio; per evaporazione dell'etere si formano lunghi aghi che cristallizzati da ligroina fondono a 58° e non danno depressione con un campione di aldeide veratrica. Dalla soluzione alcalina, per acidificazione e successiva estrazione con etere, si ottiene una sostanza di natura acida che fonde a 154-158° e corrisponde all'acido 2-ossi-4-6-dimetossi benzoico che fonde a 154°.

Ozonizzazione della trimetil-aureusidina.

Il procedimento è lo stesso di quello descritto per la tetrametilaureusidina. Dalla soluzione eterea si isola l'aldeide veratrica, mentre dalla soluzione alcalina acidificata si ottiene un acido che, crist. da etere-benzolo, fonde a 140° con decomposizione e si colora in viola con cloruro ferrico. Il composto possiede le stesse caratteristiche dell'acido 2-6-diossi-4-metossi-benzoico, che cristallizza dalla stessa miscela di solventi e fonde a 141°.

3'-4'-4-trimetossi-6-ossi-benzalcumaranone.

Grammi 0,2 di 4-metossi-6-ossi-cumaranone ⁽⁶⁾ si sciolgono con moderato riscaldamento in 2 cm³ di alcool etilico e 1 cm³ di idrato sodico acquoso al 45%; a questa soluzione si aggiungono g 0,36 di aldeide veratrica sciolta in 2 cm³ di alcool etilico ed infine 5 cm³ di idrato sodico acquoso al 45%. Dopo 18 ore a 37° si diluisce con 10 cm³ di acqua e la soluzione così ottenuta si acidifica con 10 cm³ di acido cloridrico dil. 1:1; si forma un voluminoso precipitato giallo che si raccoglie su filtro; si lava con molta acqua, poi con 10 cm³ di alcool etilico ed infine con 5 cm³ di etere. Il composto cristallizza dall'acido acetico in ciuffi di aghetti gialli che fondono a 236°, e che in soluzione alcoolica non danno colorazione con cloruro ferrico. GEISSMAN e HARBORNE ⁽⁵⁾ riportano per questo stesso prodotto pf 268-270°.

All'analisi ha dato:

	trov. % :	C	66,05;	H	4,65;
per C ₁₈ H ₁₆ O ₆	calc. :		65,85;		4,87.

4'-4-6-trimetossi-3'-ossi-benzalcumaranone.

Grammi 0,388 di 4-6-dimetossi-cumaranone ⁽⁷⁾ e g 0,364 di aldeide isovainiglica si sciolgono in 20 cm³ di alcool metilico assoluto ed alla soluzione si aggiungono 0,4 cm³ di acido cloridrico conc.

La miscela viene mantenuta per 24 ore a 37° e per altre 24 ore a 0°. Si forma così un precipitato costituito da un prodotto pressochè puro che cristallizza dall'alcool etilico in cristalli gialli fondenti a 198-199°. GEISSMAN e HARBORNE ⁽⁵⁾ riportano per questo stesso prodotto pf 190°. La soluzione alcoolica del composto non si colora con cloruro ferrico.

All'analisi ha dato:

	trov. % :	C 65,97;	H 5,04;
per C ₁₈ H ₁₆ O ₆	calc. :	65,85;	4,87.

3'-4-6-trimetossi-4'-ossi-benzalcumaranone.

E' stato preparato in modo identico a quello seguito per l'isomero precedente, effettuando la condensazione con aldeide vainiglica. Il composto cristallizza dal diossano in aghi gialli che fondono a 238-240°. GEISSMAN e HARBORNE riportano per lo stesso prodotto pf 233°. La soluzione del prodotto dà con cloruro ferrico una colorazione bruna.

All'analisi ha dato:

	trov. % :	C 65,62;	H 4,89;
per C ₁₈ H ₁₆ O ₆	calc. :	65,85;	4,87.

4-etossi-6-ossi-cumaranone.

In un pallone munito di refrigerante a ricadere si mette una soluzione di 8,5 g di etere monoetilico della floroglucina, preparato secondo il metodo di ROBERTSON ⁽⁸⁾, in 75 cm³ di etere anidro. Si aggiungono poi 4,5 g di cloroacetone nitrile e 4,5 g di cloruro di zinco fuso finemente polverizzato, quindi si fa passare agitando una corrente di acido cloridrico gassoso secco fino a saturazione. Dopo un'ora circa comincia a separarsi un solido. La miscela si lascia a riposo per 12 ore, quindi si decanta l'etere, si lava il residuo con altro etere anidro e si bolle per 10' con 200 cm³ di acqua; il prodotto che si separa viene filtrato alla pompa, seccato su piastra porosa e bollito per 3 ore con una soluzione alcoolica di 8 g di acetato potassico. Dopo aver separato per filtrazione il cloruro di potassio, si concentra la soluzione alcoolica a pressione ridotta e si precipita il prodotto per aggiunta di acqua.

Si ottiene una polvere rosa che si purifica per cristallizzazione dall'acido acetico; la sua soluzione alcoolica non si colora con cloruro ferrico.

Il composto puro è giallo paglierino e fonde a 255-256°.

All'analisi ha dato:

trov. % : C 61,78; H 5,39;
per $C_{10}H_{10}O_4$ calc. : 61,85; 5,19.

3'-4'-dimetossi-4-etossi-6-ossi-benzalcumaranone.

Grammi 0,2 di 4-etossi-6-ossi-cumaranone vengono condensati con 0,3 g di aldeide veratrica secondo le modalità riportate per il 3'-4'-4-trimetossi-6-ossi-benzalcumaranone. Il prodotto giallo aranciato che si separa viene purificato per cristallizzazione dall'alcool dil. o dall'acido acetico.

All'analisi ha dato:

trov. % : C 66,40; H 5,54;
per $C_{19}H_{18}O_6$ calc. : 66,66; 5,30.

3'-4'-6-trimetossi-4-etossi-benzalcumaranone. (IV)

Grammi 0,1 di 3'-4'-dimetossi-4-etossi-6-ossi-benzalcumaranone vengono disciolti in 36 cm³ di acetone, quindi si aggiungono 0,4 cm³ di solfato dimetilico e 1,5 g di carbonato potassico anidro e si riscalda a ricadere per 6 ore. Al termine della reazione si filtra il precipitato, lo si lava con acetone, si evapora il filtrato ed il residuo si dibatte per tre ore con idrato sodico al 3%. Si separa un prodotto giallo cristallino che si lava con molta acqua, si secca e si purifica per cristallizzazione dall'alcool etilico. Il prodotto fonde a 164° e risulta identico alla etil-trimetil-aureusidina. Il punto di fusione misto è infatti 164°,5.

4-6-dietossi-cumaranone.

Si prepara dalla dietil-floroglucina in modo analogo a quanto descritto per il 4-etossi-6-ossi-cumaranone. Il composto cristallizza dall'alcool in aghi bianchi fondenti a 160°.

All'analisi ha dato:

trov. % : C 64,60; H 6,39;
per $C_{12}H_{14}O_4$ calc. : 64,82; 6,35.

3'-4'-dimetossi-4-6-dietossi-benzalcumaranone.

Grammi 0,1 di 4-6-dietossi-cumaranone vengono condensati come riportato per il 3'-4'-4-trimetossi-6-ossi-benzalcumaranone con 0,2 g di aldeide veratrica. Il composto cristallizza dall'alcool etilico in aghi gialli fondenti a 184°.

All'analisi ha dato:

	trov. % :	C 68,25;	H 5,80;
per C ₂₁ H ₂₂ O ₆	calc. :	68,09;	5,99.

3'-4'-4-6-tetraetossi-benzalcumaranone.

Si condensano 0,2 g di 4-6-dietossi-cumaranone con 0,3 g di aldeide 3-4-dietossi-benzoica, con le stesse modalità descritte per il 3'-4'-4-trimetossi-6-ossi-benzalcumaranone. Il composto cristallizza dall'alcool in pagliette gialle fondenti a 144° e risulta identico alla tetraetilaureusidina (2) da noi precedentemente descritta.

3'-4'-dimetossi-4-6-diossi-benzalcumaranone.

Grammi 0,3 di 4-6-diossi-cumaranone (6) disciolti in 3 cm³ di alcool etilico vengono trattati a freddo con 0,6 g di aldeide veratrica con le stesse modalità descritte per il 3'-4'-4-trimetossi-6-ossi-benzalcumaranone. Il composto si ottiene in aghi gialli dopo cristallizzazione dall'alcool etilico e fonde a 224°.

Con cloruro ferrico dà colorazione rosso bruna.

All'analisi ha dato:

	trov. % :	C 65,05;	H 4,65;
per C ₁₇ H ₁₄ O ₆	calc. :	64,96;	4,49.

Per metilazione con diazometano o con solfato dimetilico il composto dà la tetrametilaureusidina a p. f. 175°.

6-ossi-4-metossi-3'-4'-dietossi-benzalcumaranone.

Grammi 0,3 di 6-ossi-4-metossi-cumaranone sciolti in 3 cm³ di alcool etilico vengono trattati con 0,6 g di aldeide 3-4-dietossibenzoica con le stesse modalità descritte per il 3'-4'-4-trimetossi-6-ossi-benzalcumaranone.

Il composto cristallizza dall'alcool etilico in aghi gialli e fonde a 198°. Non si colora con cloruro ferrico.

All'analisi ha dato:

trov. % : C 67,49; H 5,94;
per $C_{20}H_{20}O_6$ calc. : 67,40; 5,66.

4-metossi-3'-4'-6-trietossi-benzalcumaranone.

Si ottiene per etilazione con solfato dietilico del 4-metossi-3'-4'-dietossi-6-ossi-benzalcumaranone.

Il composto cristallizza dall'alcool etilico e fonde a 146°.

All'analisi ha dato:

trov. % : C 67,87; H 6,65;
per $C_{22}H_{24}O_6$ calc. : 67,73; 6,50.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Centro internazionale di chimica microbiologica e Laboratorio di chimica terapeutica.

BIBLIOGRAFIA

- ¹⁾ R. LA MONICA e G. B. MARINI-BETTÒLO: Ann. Chim., 42: 496 (1952).
- ²⁾ A. BALLIO, S. DITTRICH e G. B. MARINI-BETTÒLO: Gazz. Chim. It., 83: 224 (1953).
- ³⁾ M. K. SEIKEL e T. A. GEISSMAN: J. Am. Chem. Soc., 72: 5725 (1950).
- ⁴⁾ A. BALLIO e G. B. MARINI-BETTÒLO: XIV Congrès de Chimie Pure et Appliquée - Résumés des Communications pag. 218, Zürich, juillet 1953.
- ⁵⁾ T. A. GEISSMAN e J. B. HARBORNE: J. Am. Chem. Soc., 77: 4622 (1955).
- ⁶⁾ T. A. GEISSMAN e E. H. HINREINER: J. Am. Chem. Soc., 73: 782 (1951).
- ⁷⁾ K. FREUDENBERG, H. FIKENTSCHER e M. HARDER: Ann., 441: 157 (1925).
- ⁸⁾ A. ROBERTSON e T. S. SUBRAMANIAN: J. Chem. Soc., 289 (1937).