

phenylalanine (VII, minor component) and 3-amino-4-hydroxyphenylalanine (VIII), identified⁹ by comparison of their chromatographic properties with those of authentic samples^{10,11}.

Considering that 3-hydroxy-4-aminophenylalanine is a secondary product arising from further degradation of the amide VI⁴, the results of the degradative experiment prove unequivocally the nature and the relative positions of the aromatic substituents attached to the $\Delta^2,2'$ -bibenzothiazine chromophore of descarboxytrichosiderin B, which accordingly can be formulated as V. Hence structure IV can be derived for trichosiderin B.

Therefore it appears that trichosiderin B differs from trichosiderin C only in the position of attachment of an alanine residue to the $\Delta^2,2'$ -bibenzothiazine chromophore. This structural difference is consistent with recent bio-synthetic studies¹² according to which trichosiderins are considered as a new group of animal pigments deriving from tyrosine and cysteine by the intermediacy of either IX or X or of both.

Riassunto. Un nuovo pigmento feomelanico, denominato tricosiderina B, è stato isolato dalle piume di pollo di razza New Hampshire. Sulla base delle proprietà chimiche e spettrali a tale pigmento, $C_{23}H_{20}N_4O_9S_2$, è stata assegnata la struttura $\Delta^2,2'$ -bibenzotiazinica IV.

G. PROTA, A. SUARATO and R. A. NICOLAUS

*Istituto di Chimica Organica dell'Università,
Via L. Rodinò 22, I-80138 Napoli (Italy),
13 May 1971.*

¹⁰ E. FATTORUSSO, L. MINALE, S. DE STEFANO, G. CIMINO and R. A. NICOLAUS, *Gazz. chim. ital.* **98**, 1143 (1968).

¹¹ G. PROTA, G. SCHERILLO and R. A. NICOLAUS, *Gazz. chim. ital.* **98**, 495 (1968).

¹² G. PROTA, S. CRESCENZI, G. MISURACA and R. A. NICOLAUS, *Experientia* **26**, 1058 (1970).

Alcaloïde des Canneberges II

Les extraits des feuilles des Canneberges possèdent l'application dans la médecine traditionnelle (l'agent antithermique) et dans la thérapie de certaines formes du cancer.

Méthode. L'extraction des feuilles des Canneberges (*Vaccinium oxycoccus*) du Nouveau-Brunswick donne une fraction basique (1%)¹. La chromatographie sur couches minces (CCM) de la fraction basique a révélé la présence d'un minimum de 7 produits basiques différents.

Une des bases - Rf 0.44 (benzène-éthanol 9:1) - a été isolée par la CCMP (MN Silica Gel G, épaisseur: 1 mm). On a obtenu 53 mg d'une base que nous avons appelé Cannivonine (1). La structure partielle de la Cannivonine a été déterminée par l'étude des spectres et la dégradation.

Identification de la structure de la Cannivonine (1). Le spectre de masse de la Cannivonine (1) a donné le pic moléculaire a 163, correspondant à la composition $C_{11}H_{17}N$ (analyse: calculé C, 80.9; H, 10.5; N, 8.6. Trouvé C, 81.1, H, 10.7; N, 8.3). Cette composition suggère pour une base 1 la structure tricyclique avec une liaison double.

Le spectre IR (Nujol) ne révèle pas d'absorption NH mais l'absorption a 1620 cm^{-1} confirme la présence d'une liaison double. Le spectre RMN (Varian T-60, $CDCl_3$, δ , ppm) donne: 2 protons olefinique (5.3), 5 protons en α d'azote (2.3-3.7) dont un singulet N-CH₃ (3.3) et 3 protons allyliques (2.0-2.3).

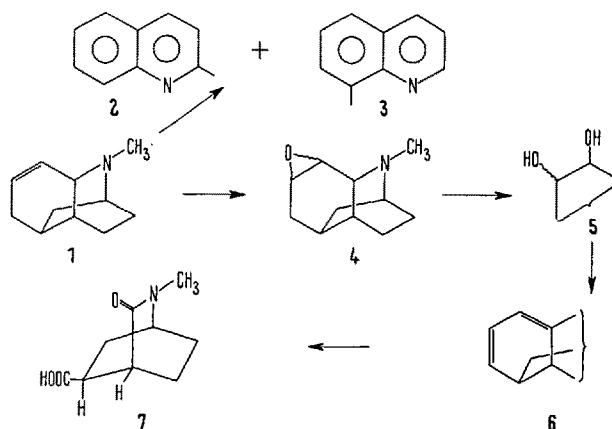
La dégradation de Hofmann sur le produit 1 donne quelques produits dont un diène conjugué (λ_{max} 278 nm). La présence de ce produit élimine la possibilité d'existence du cycle à 7 dans la molécule.

La deshydrogenation catalytique (Pd, C, 250°) donne méthyl-2 (2) et méthyl-8 chinolines (3). Les deux chinolines prouvent la substitution du système azabicyclo-[2,2,2]-octane de la cannivonine.

L'époxydation de la liaison double (acide m-chloroperoxybenzoïque, $CHCl_3$) suivie de l'hydrolyse du mélange des époxydes (4) (HCl à 5%) donne les diols (5) facilement deshydratés au milieu basique (KOH a chaud). Ce diène (λ_{max} 273 nm) a été oxydé (KMnO₄, a chaud, pH 8-9 en donnant la petite quantité d'acide N-méthylazabicyclo-[2,2,2]-octanone-2 carboxylique-4 (7) (Schéma I), qui a

été identifié par la comparaison avec le produit connu pour la série des dégradations des alcaloïdes de la famille Ibogae²⁻⁴. Le spectre de masse (Hitachi RMU 6D) du produit 1 a révélé juste quelques pics importants. Le pic moléculaire est assez important (37%).

D'abord la voie la plus importante - les pics à 149 et 148 peuvent résulter à une perte de CH₂ ou CH₃ du système NCH₃ aussi bien que du CH₂ du cycle. La suite de la fragmentation c'est la formation du système de la méthyl-dihydropyridine (96) et sa déméthylation (81) puis aromatisation (79). L'autre voie-minoritaire et plus



¹ K. JANKOWSKI, J. BOUDREAU and I. JANKOWSKA, *Experientia* **27**, 1141 (1971).

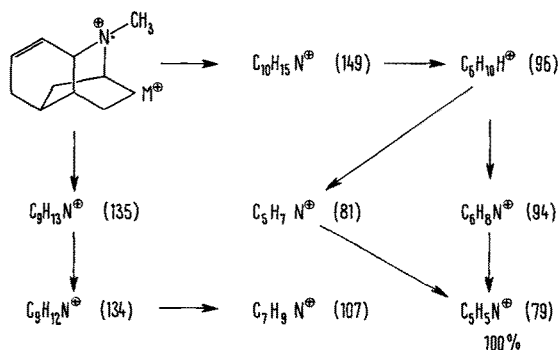
² D. F. DICKEL, C. L. HOLDEN, R. C. MAXFIELD, L. E. PASZEK et W. I. TAYLOR, *J. Am. chem. Soc.* **80**, 123 (1958).

³ G. BÜCHI, D. L. COFFEN, K. KOCIS, P. E. SONNET et F. E. ZIEGLER, *J. Am. chem. Soc.* **88**, 3099 (1966); **87**, 2073 (1965).

⁴ K. SCHENKER et J. DRUEY, *Helv. chim. Acta* **42**, 1971 (1959).

complexe-procède par une perte de $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ (135) suivi de la perte d'un hydrogène radicalaire (134) et l'obtention du pic 107 et ensuite aromatisation interne avec un transfert d'hydrogène.

Une faible intensité du pic à $\text{M}^{\oplus}-1$ ne permet pas de le suggérer comme intermédiaire important. Dans une région des petites m/e seul pic important est m/e 42 $\text{CH}_3\text{-N}^{\oplus}=\text{CH}$ qui confirme la structure de la partie gauche de la molécule **1** (Schéma II).



Autres pics nonexpliqués (51, 39) parvient vraisemblablement de la fragmentation de l'ion pyridinium⁵.

Summary. The separation of a new alkaloid from cranberries leaves was carried out by means of specific solvents and thin layer chromatography. The determination of its molecular structure was made possible by infrared, ultraviolet, nuclear magnetic resonance, mass spectra and the degradations.

K. JANKOWSKI et IWONA JANKOWSKA⁶

Université de Moncton, Faculté des Sciences,
Moncton (N.B., Canada), 7 juin 1971.

⁵ H. BUDZIKIEWICZ, C. DJERASSI et D. H. WILLIAMS, *Interpretation of Mass Spectra of Organic Compounds* (Holden-Day Incorporation, San Francisco 1965), p. 253.

⁶ Remerciements. Ce travail a été supporté par le Conseil National de Recherches du Canada. Nous tenons à remercier sincèrement Dr S. G. LeBLANC, Université de Moncton, pour sa contribution.

Drying of Agarose Gel Beads

It is well-known that agarose gel beads (Sephacrose®, Sagarose®) cannot be dried since they will shrink severely and irreversibly¹.

The gel is considered to be composed of randomly oriented and moderately hydrated fibers held together in a network by hydrogen bonding². However agarose gels are not destroyed in an 8M urea solution³, so we may assume that the gel structure relies not only on hydrogen bonds but also on some other forces, e.g. the hydrophobic interaction established between the hydrophobic patches of the anhydro-galactose (C_3 and C_6) that constitutes the agarose fibers.

If the hydrophobic bonds create contact points between the agarose fibers, orienting them into a network, we could take out the free-water from the network threads and meshes (pores) without damaging the hydrophobic bonds holding the gel structure. The only condition is to take out the water gradually and slowly with an organic solvent like acetone. Also in order to prevent network

shrinkage during drying, we have conferred a better rigidity to the gel matrix by fastening the fibers by glyceric bridges with epichlorhydrin.

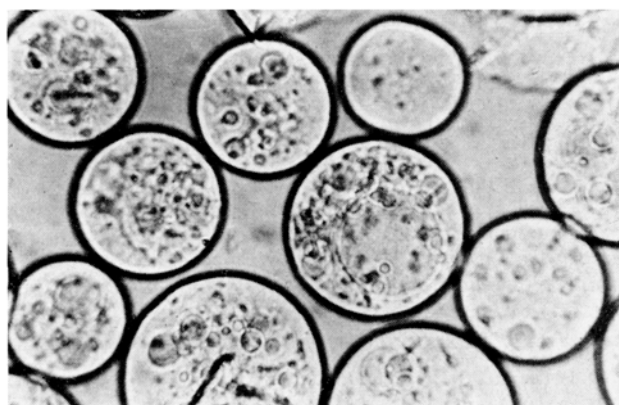
The drying of agarose beads with acetone was done according to the following technique: a water suspension of 6% agarose gel beads, prepared after HJERTEN⁴, was mixed with an equal volume of acetone and occasionally stirred for 3 h. The supernatant was decanted and the procedure repeated 3 times. Finally the suspension was kept overnight, at room temperature, and washed once more on the filter with acetone. The agarose beads

¹ P. CUATRECASAS, *J. biol. Chem.* **245**, 3069 (1971).

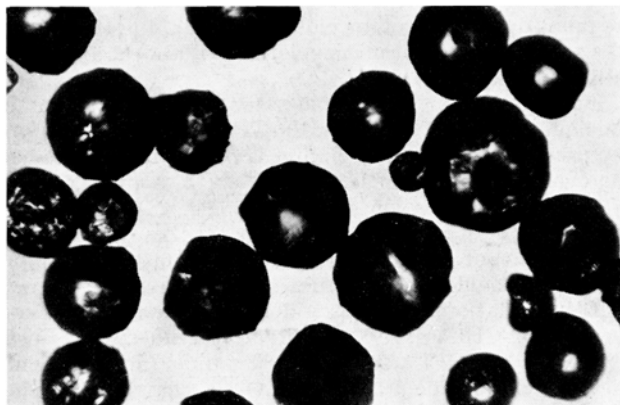
² T. C. LAURENT, *Biochim. biophys. Acta* **136**, 199 (1967).

³ M. K. JOUSTRA, in *Modern Separation Methods of Macromolecules and Particles*. (Ed. T. GERRITSEN, Wiley-Interscience, New York 1969), p. 195.

⁴ S. HJERTEN, *Biochim. biophys. Acta* **79**, 393 (1964).



a)



b)

Fig. 1. Microphotographs of agarose gel beads, a) dried and rehydrated; b) dried.