



การศึกษาการสังเคราะห์และสมบัติทางชีวภาพของอะพอร์ฟินอัลคาลอยด์, ออกโซอะพอร์ฟิน  
อัลคาลอยด์ และอัลคาลอยด์ที่เกี่ยวข้องบางชนิด

โดย

นายพันสรวง อุดมพุทธิเมฆากุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การศึกษาการสังเคราะห์และสมบัติทางชีวภาพของอะพอร์ฟีนอัลคาลอยด์, ออกโซอะพอร์ฟีนอัลคาลอยด์ และอัลคาลอยด์ที่เกี่ยวข้องบางชนิด

โดย

นายพันสรวง อุดมพุทธิเมฆากุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

**SYNTHETIC AND BIOLOGICAL ACTIVITY STUDIES OF SELECTED APORPHINE,  
OXOAPORPHINE AND RELATED ALKALOIDS**

**By**

**Phansuang Udomputtimekakul**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree**

**DOCTOR OF PHILOSOPHY**

**Department of Chemistry**

**Graduate School**

**SILPAKORN UNIVERSITY**

**2008**

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากรอนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “การศึกษาการสังเคราะห์และสมบัติทางชีวภาพของอะพอร์ฟินอัลคาลอยด์, ออกโซอะพอร์ฟินอัลคาลอยด์ และอัลคาลอยด์ที่เกี่ยวข้องบางชนิด” เสนอโดยนายพันสรวง อุคมพุทธิเมฆากุล เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ชินะตั้งกูร)  
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร.สุรชัย นิมจิรวัดน์

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(อาจารย์ ดร.สุภชัย สุกัลยณัฏ์นารี)  
...../...../.....

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุนิตย์ สุขสำราญ )  
...../...../.....

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรษา ปานเจริญ)  
...../...../.....

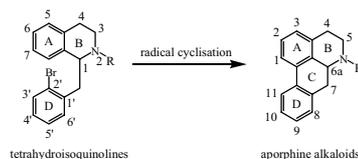
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุรชัย นิมจิรวัดน์)  
...../...../.....

47302901: สาขาวิชาเคมีอินทรีย์

คำสำคัญ : อะพอร์พีนอัลคาลอยด์/ เอมีดิก อะพอร์พีนอัลคาลอยด์/ ออกโซอะพอร์พีนอัลคาลอยด์/ โปโตเบอเบอ-  
ริน อัลคาลอยด์/ แรดิคัล ไชโคลเซชัน/ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ/ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ

พันธรวม อุคมพุทธิเมฆากุล : การศึกษาการสังเคราะห์และสมบัติทางชีวภาพของอะพอร์พีนอัลคา-  
ลอยด์, ออกโซอะพอร์พีนอัลคาลอยด์และอัลคาลอยด์ที่เกี่ยวข้องบางชนิด อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ :  
รองศาสตราจารย์ ดร.สุรัช นิมจิรวัฒน์. 202 หน้า.

การศึกษาอิทธิพลของขนาดของหมู่แทนที่บน nitrogen และขนาดของหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง C-7 และ C-3' ของ 1-(2'-bromobenzyl)tetrahydroisoquinolines ที่มีต่อการสร้างวงแหวน C ในปฏิกิริยา radical cyclisation โดยมีสมมุติฐานว่าการเพิ่มขนาดของหมู่แทนที่บน nitrogen น่าจะทำให้ radical ที่เกิดขึ้นบนวงแหวน D หันมาอยู่ใกล้วงแหวน A จึงอาจทำให้การสร้างวงแหวน C เกิดได้รวดเร็วขึ้น และหากลดความแออัดบน carbon ตำแหน่งที่ 7 และตำแหน่ง 3' ลงการสร้างวงแหวน C ก็น่าจะได้รวดเร็วขึ้น จากการศึกษาพบว่าขนาดของหมู่แทนที่บน nitrogen ไม่มีผลที่มีนัยยะสำคัญต่อการสร้างวงแหวน C เลย ส่วนขนาดของหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง C-7 และ C-3' มีผลอย่างมีนัยยะสำคัญต่อการสร้างวงแหวน C



การสังเคราะห์ (±)-laurelliptinhexadecan-1-one และ (±)-laurelliptinoctadecan-1-one สามารถยืนยัน  
ความถูกต้องของโครงสร้างที่เสนอแก่ (-)-laurelliptinhexadecan-1-one และ (-)-laurelliptinoctadecan-1-one ได้  
และได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของ alkaloid ทั้งสองตัวนี้ พบว่าไม่มี anti-microbial activity สามารถพัฒนาวิธีการ  
สังเคราะห์ 4-hydroxy-2,3-dimethoxybenzaldehyde วิธีใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูงและประหยัดเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้น  
ในการสังเคราะห์ (±)-isopiline, (±)-preocoteine, (±)-oureguattidine และ (±)-3-methoxynordomesticine เป็นครั้งแรก  
เพื่อยืนยันโครงสร้างของ (-)-isopiline, (+)-preocoteine, (-)-oureguattidine และ (+)-3-methoxynordomes-  
ticine การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่า (±)-3-methoxynordomesticine เพียงสารเดียวที่มี anti-inflammatory  
activity สามารถพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ alkaloids ประเภท telisatin วิธีใหม่และได้สังเคราะห์ telisatin A,  
telisatin B และ lettowianthine ขึ้น ความพยายามในการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์ 1,2,3-trimethoxy-5-  
oxoaporphine, 1,2-dimethoxy-3-hydroxy-5-oxoaporphine, fuseine, lakshminine, telazoline, teladiazoline, the  
azafluoranthene และ homoaporphine alkaloids ยังไม่ประสบความสำเร็จเนื่องจากข้อจำกัดด้านเวลา โดยการใช้  
ปฏิกิริยา radical cyclisation สามารถสังเคราะห์ (±)-gusanlung A, (±)-gusanlung D และ 8-oxyberberrubine และ  
จากข้อมูล <sup>1</sup>H-NMR และ <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy พบว่าโครงสร้างของ(-)-gusanlung A, (-)-gusanlung D และ 8-  
oxyberberrubine ยังมีความไม่แน่นอน

ภาควิชาเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2551

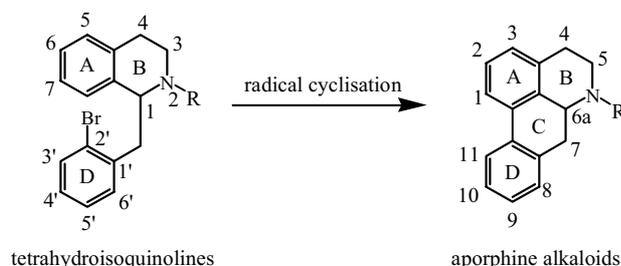
ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

47302901: MAJOR: ORGANIC CHEMISTRY

KEY WORDS: APORPHINE ALKALOIDS/ AMIDIC APORPHINE ALKALOIDS/ OXOAPORPHINE ALKALOIDS/ PROTOBERBERINE ALKALOIDS/ RADICAL CYCLISATION/ ANTI-MICROBIAL ACTIVITY/ ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY  
PHANSUANG UDOMPUTTIMEKAKUL: SYNTHETIC AND BIOLOGICAL ACTIVITY  
STUDIES OF SELECTED APORPHINE, OXOAPORPHINE AND RELATED ALKALOIDS.  
THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SURACHAI NIMGIRAWATH, Ph.D. 202 pp.

Based on the hypothesis that increasing the sizes of the substituents on the nitrogen of the 1-(2'-bromobenzyl)tetrahydroisoquinoline precursors will force the radical formed on ring D to lie closer to ring A and hence favours ring C formation while reducing the steric crowding on C-7 and C-3' will also favour ring C formation, it was found that the sizes of the protecting groups on the nitrogen do not have significant influence on the formation of ring C while steric crowding on C-7 and C-3' has significant effects on the formation of ring C.



The structures previously assigned to ( $\pm$ )-laurelliptinhexadecan-1-one and ( $\pm$ )-laurelliptinocetadecan-1-one have been confirmed by total syntheses of the racemic alkaloids which do not possess any anti-microbial activity. A simple and economical synthesis of 4-hydroxy-2,3-dimethoxybenzaldehyde has been developed, leading to the first total syntheses of ( $\pm$ )-isopiline, ( $\pm$ )-preocoteine, ( $\pm$ )-oureguattidine and ( $\pm$ )-3-methoxynordomesticine. Only ( $\pm$ )-3-methoxynordomesticine was found to possess anti-inflammatory activity. A new synthesis, based on radical cyclisation, of telisatin-type alkaloids has been developed leading to the syntheses of telisatin A and first total syntheses of telisatin B and lettowianthine. Unfortunately, attempts to develop new syntheses of 1,2,3-trimethoxy-5-oxoaporphine, 1,2-dimethoxy-3-hydroxy-5-oxoaporphine, fuseine, lakshminine, telazoline, teladiazoline, the azafluoranthene and homoaporphine alkaloids were not successful due to time limitation. Using radical cyclisation, ( $\pm$ )-gusanlung A, ( $\pm$ )-gusanlung D and 8-oxerberberubine have been synthesized. Comparison of the  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectral data of the synthetic alkaloids with those of the natural alkaloids cast doubt on the correctness of the structures previously assigned to the natural alkaloids.

---

Department of Chemistry      Graduate School, Silpakorn University      Academic Year 2008

Student's signature .....

Thesis Advisor's signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

ในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุรัชย์ นิมจิรวัดณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนตรวจและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ด้วยความเมตตาตลอดงานวิจัย

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร. สุภชัย ศุภลักษณ์นารี รองศาสตราจารย์ ดร. สุนิตย์ สุขสำราญ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรษา ปานเจริญ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้แนวคิดและคำแนะนำอันมีคุณค่าตลอดการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร. กนกอร ระย้านิล ที่กรุณาให้คำปรึกษาด้าน 2D-NMR Spectroscopy

ขอขอบคุณ คุณอนันต์ อธิพรชัย ที่กรุณาพิสูจน์อักษรในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ที่มอบทุนการศึกษา

ขอขอบคุณบิดามารดาที่เป็นกำลังใจให้มาโดยตลอด

สุดท้ายขอขอบคุณ คณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษา ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือและสารเคมีตลอดงานวิจัย

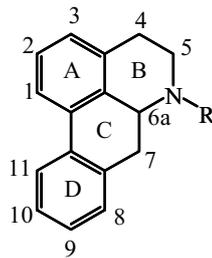
## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
<b>บทที่</b>	
1 บทนำ.....	1
2 การศึกษาอิทธิพลของขนาดของหมู่แทนที่บน nitrogen และขนาดของหมู่แทนที่ใน บริเวณใกล้เคียงกับจุดที่จะเกิดวงแหวน C ที่มีต่อปฏิกิริยา radical cyclisation.....	15
3 การสังเคราะห์และฤทธิ์ทางชีวภาพของ (±)-Laurelliptinhexadecan-1-one และ (±)- Laurelliptinoctadecan-1-one.....	42
4 การสังเคราะห์ (±)-Isopiline, (±)-Preocoteine, (±)-Oureguattidine และ (±)-3-Metho- xynordomesticine และฤทธิ์ทางชีวภาพของ (±)-3-Methoxynordomesticine.....	57
5 การสังเคราะห์ Teisatin A, Telisatin B, Lettowianthine และความพยายามในการ สังเคราะห์ Laurodionine.....	92
6 การสังเคราะห์ Hernanymphine และความพยายามในการสังเคราะห์ Clemaine.....	103
7 ความพยายามในการสังเคราะห์ Lakshminine, Telazoline และ Teladiazoline .....	113
8 ความพยายามในการสังเคราะห์ 1,2,3-Trimethoxy-5-oxoaporphine, 1,2-Dimethoxy-3- hydroxy-5-oxoaporphine และ Fuseine .....	125
9 ความพยายามในการประยุกต์ใช้ปฏิกิริยา radical cyclisation ในการสังเคราะห์ Azafluoranthene alkaloids และ Homoaporphine alkaloids.....	133
10 การสังเคราะห์ (±)-Gusanlung A, (±)-Gusanlung D และ 8-Oxyberberrubine: ความ คลุมเคลือของโครงสร้าง (-)-Gusanlung A, (-)-Gusanlung และ 8- Oxyberberrubine.....	141
ภาคผนวก.....	156
การตีพิมพ์.....	159
ประวัติผู้วิจัย.....	202

## บทที่ 1

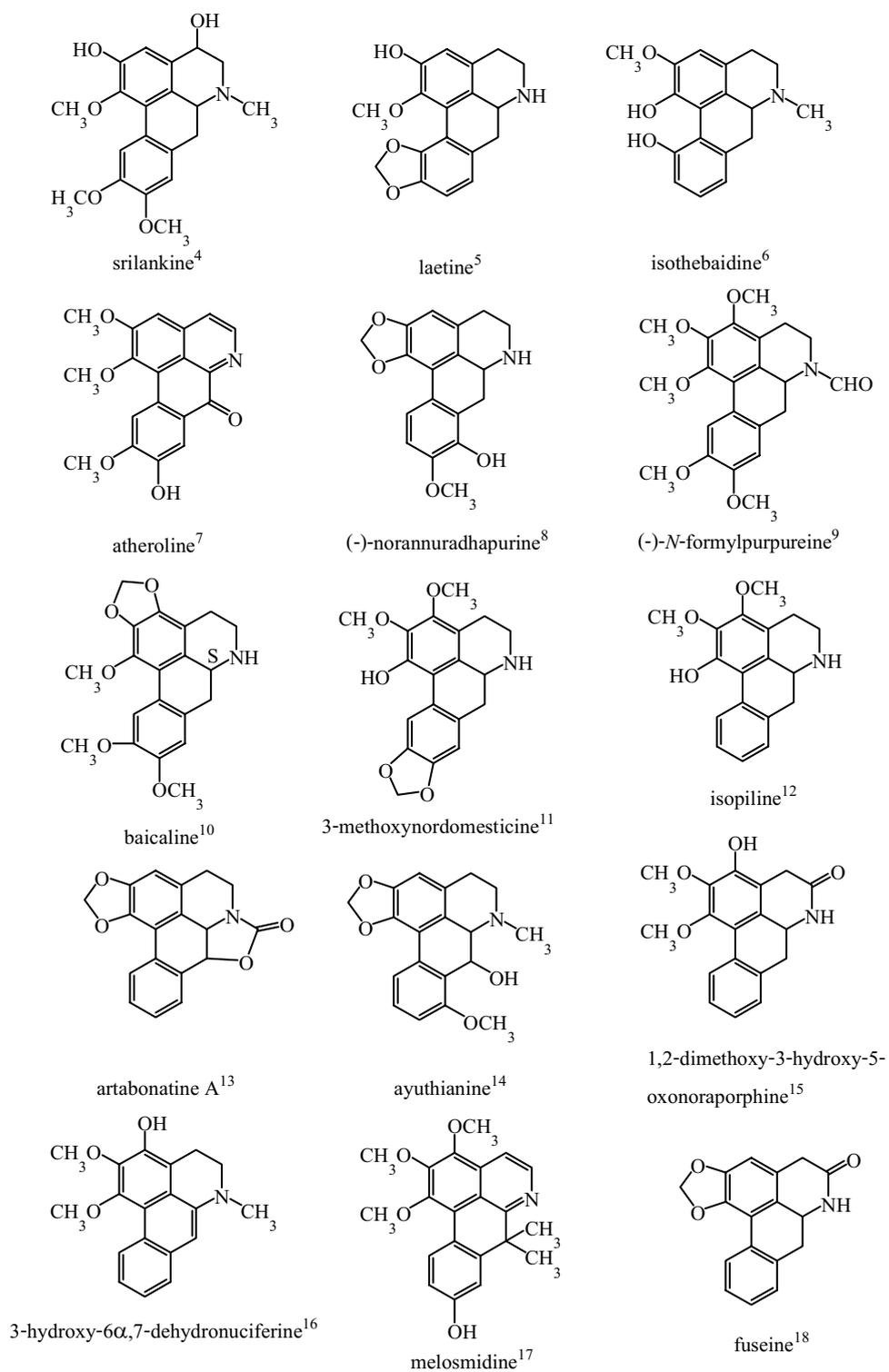
### บทนำ

Aporphine alkaloids<sup>1,2</sup> เป็น alkaloid กลุ่มใหญ่ในกลุ่ม benzyloquinoline alkaloids และมีสมาชิกมากกว่า 1500 ตัว<sup>3</sup> มีโครงสร้างพื้นฐานดังแสดงในรูปที่ 1 พบมากในพืชวงศ์ Annonaceae, Berberidaceae, Hernandiaceae, Lauraceae, Magnoliaceae, Menispermaceae, Monimiaceae, Nymphaeaceae, Papaveraceae และ Ranunculaceae นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ในพืชวงศ์อื่น เช่น Araceae, Aristolochiaceae, Canellaceae, Euphorbiaceae, Eupomatiaceae, Fumariaceae, Leguminosae, Liliaceae, Nelumbonaceae, Piperaceae, Rhamnaceae, Rutaceae และ Saururaceae เป็นต้น

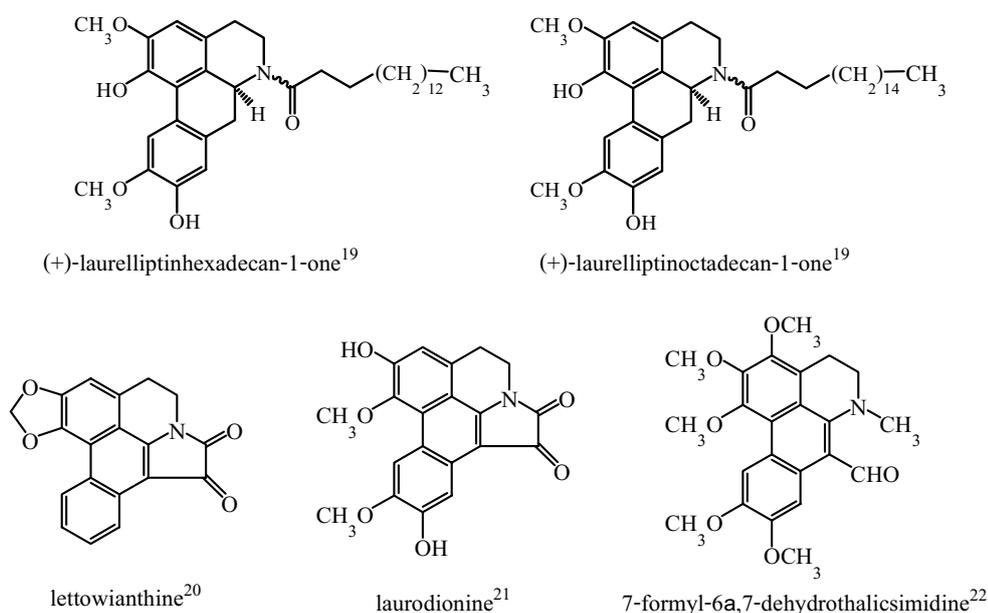


รูปที่ 1 โครงสร้างพื้นฐานของ aporphine alkaloids

เนื่องจาก aporphine alkaloids สามารถมีหมู่แทนที่ ต่าง ๆ เช่นหมู่ hydroxy, methylenedioxy และ methoxy ในตำแหน่งต่าง ๆ มากมายจึงพบ aporphine alkaloids ที่มีโครงสร้างหลากหลาย โดยปกติจะพบหมู่แทนที่ ที่เป็นออกซิเจนที่ตำแหน่ง C-1, C-2, C-3, C-9, C-10 และ C-11 มีพบบ้างที่ตำแหน่ง C-8 หากหมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-4, C-5 และ C-7 เป็นหมู่ carbonyl จะเรียกว่า oxoaporphine หรือ dioxoaporphine<sup>1</sup> ตัวอย่าง aporphine alkaloids แสดงดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ตัวอย่าง aporphine alkaloids

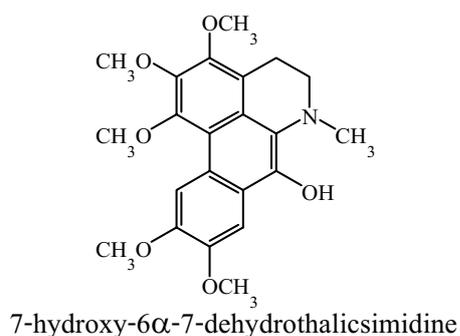


## รูปที่ 2 ตัวอย่าง aporphine alkaloids (ต่อ)

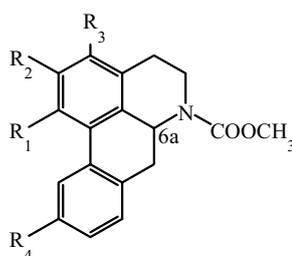
### Aporphine alkaloids กับฤทธิ์ทางชีวภาพ

ฤทธิ์ทางชีวภาพของ aporphine alkaloids เป็นหัวข้อสำคัญในงานศึกษาวิจัยในสาขาเคมีของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มีการศึกษาอย่างกว้างขวางถึงความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างทางเคมีของ aporphine alkaloids กับฤทธิ์ทางชีวภาพ หลายงานวิจัยได้รายงานถึงผลทางเภสัชวิทยาที่มีต่อกลิ้ามเนื้อเรียบ ระบบหลอดเลือดหัวใจ และฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เช่น ฤทธิ์ต้านจุลชีพ และความเป็นพิษต่างๆ ก็เป็นที่สนใจศึกษาเช่นกัน ดังนั้นจึงมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างกว้างขวางของ aporphine alkaloids ตัวใหม่ๆ และได้เผยแพร่ในวารสารทางวิชาการเป็นจำนวนมากดังขอยกตัวอย่างต่อไปนี้

ปี ค. ศ. 1998 Wu และคณะ<sup>22</sup> ได้รายงานฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการจับตัวของเกล็ดเลือดของ 7-hydroxy-6 $\alpha$ -7-dehydrothalicsimidine จากส่วนใบของ *Annona purpurea*

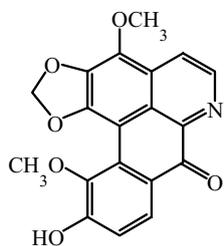


ปี ค. ศ. 2001 Wu และคณะ<sup>23</sup> ได้รายงานฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการจับตัวของเกล็ดเลือดของ aporphine alkaloid 5 ตัว จากส่วนก้านของ *Rollinia mucosa* คือ romucosin A, romucosin B, romucosin C, romucosin D และ *N*-methoxycarbonylnornuciferine

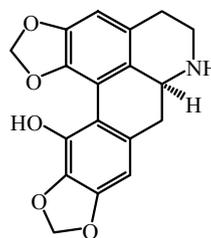


	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	6a
romucosin A	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	<i>R</i>
romucosin B	OCH <sub>3</sub>	OH	Cl	H	<i>S</i>
romucosin C	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OH	<i>S</i>
romucosin D	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	<i>S</i>
<i>N</i> -methoxycarbonyl-nornuciferine	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	<i>S</i>

ปี ค. ศ. 2002 Hattori และคณะ<sup>24</sup> ได้รายงานการพบ aporphine alkaloid ใหม่ 2 ตัว ได้แก่ lindechunine A และ lindechunine B จากส่วนรากของ *Lindera chunii* และ พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ HIV-1 ได้

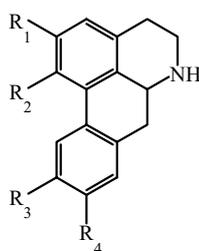


lindechunine A



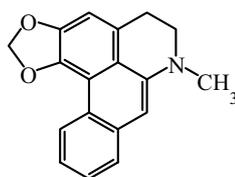
lindechunine B

ปี ค. ศ. 2003 Rios และคณะ<sup>25</sup> ได้รายงานฤทธิ์ทางชีวภาพของ aporphine alkaloid 4 ตัวจาก *Guatteria amplifolia* และ *Guatteria dumetorum* ได้แก่ xylophine, cryptonine, normantenine และ normuciferine พบว่าสามารถยับยั้งปรีลิตที่อาศัยในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังได้



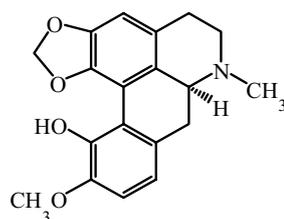
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
xylophine	OCH <sub>2</sub> O		H	OCH <sub>3</sub>
cryptonine	OCH <sub>2</sub> O		OCH <sub>2</sub> O	
normantenine	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>2</sub> O	
normuciferine	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H

ปี ค. ศ. 2007 Balansard และคณะ<sup>26</sup> ได้รายงานฤทธิ์ antiplasmodial ของ dehydro-roemerine จาก *Stephania rotunda* (Menispermaceae)



dehydroroemerine

ปี ค. ศ. 2007 Adersen และคณะ<sup>27</sup> ได้รายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของ aporphine alkaloids จาก *Corydalis cava* พบว่า bolbocapnine มีฤทธิ์ยับยั้ง acetylcholinesterase และ butyrylcholinesterase



bolbocapnine

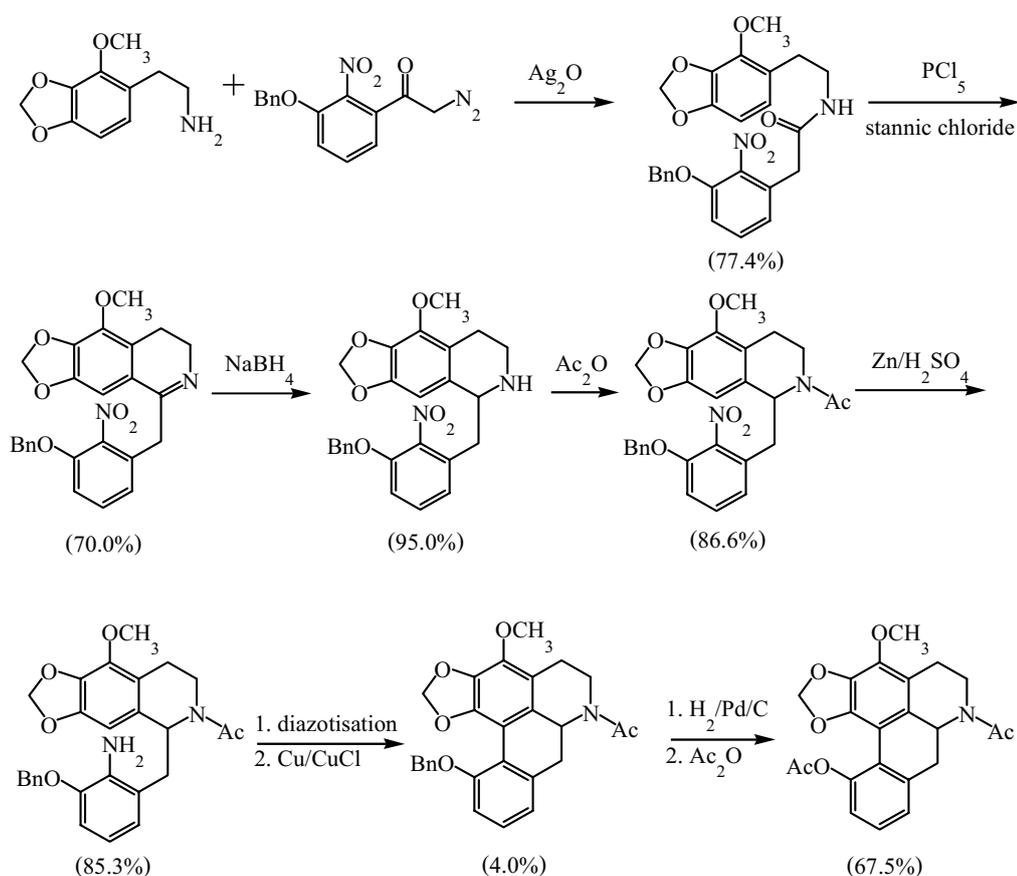
### การสังเคราะห์ aporphine alkaloids<sup>28</sup>

การสังเคราะห์ aporphine alkaloids นิยมสร้างวงแหวน C จากสารตั้งต้นที่เป็น 1-benzyltetrahydroisoquinoline ปฏิกริยาที่ใช้สร้างวงแหวน C พอสรุปได้ดังนี้

1. ปฏิกริยา Pschorr cyclisation มีสารตั้งต้นที่สำคัญคือ diazonium salt precursor ซึ่งเมื่อเกิด intramolecular arylation จะได้สารผลิตภัณฑ์เป็น aporphine alkaloids ดังตัวอย่างต่อไปนี้

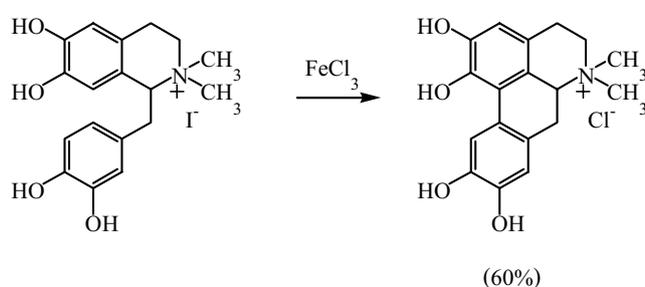
ปี ค. ศ. 1976 Ritchie และคณะ<sup>29</sup> ทำการสังเคราะห์ (±)-*N,O*-diacetylmerrillicine ดัง

แผนภาพ 1

แผนภาพ 1 การสังเคราะห์ *N,O*-diacetylmerrillicine

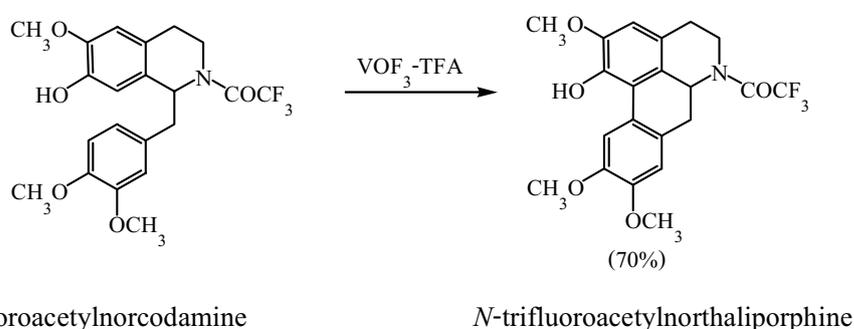
ปฏิกิริยา Pschorr cyclisation ให้ผลผลิตต่ำมากเมื่อบริเวณที่จะเกิดพันธะระหว่างวง aromatic มีหมู่แทนที่ขนาดใหญ่อยู่ ปฏิกิริยานี้ให้ผลดีพอสมควรในกรณีที่มีตำแหน่ง *ortho* กับจุดที่จะเกิด aryl-aryl bond ไม่มีหมู่แทนที่ที่มีขนาดใหญ่

2. วิธี phenolic oxidation มีรายงานการสังเคราะห์ aporphine alkaloids เป็นครั้งแรก โดย Frank และ Schlingloff<sup>28</sup> ในปี ค. ศ. 1962 โดยปฏิกิริยา phenol oxidation ของ laudanosoline methiodide โดยใช้ iron (III) chloride ที่ 20 °C เป็นเวลา 20 ชั่วโมงให้สารผลิตภัณฑ์ในปริมาณผลผลิต 60% ดังแผนภาพ 2



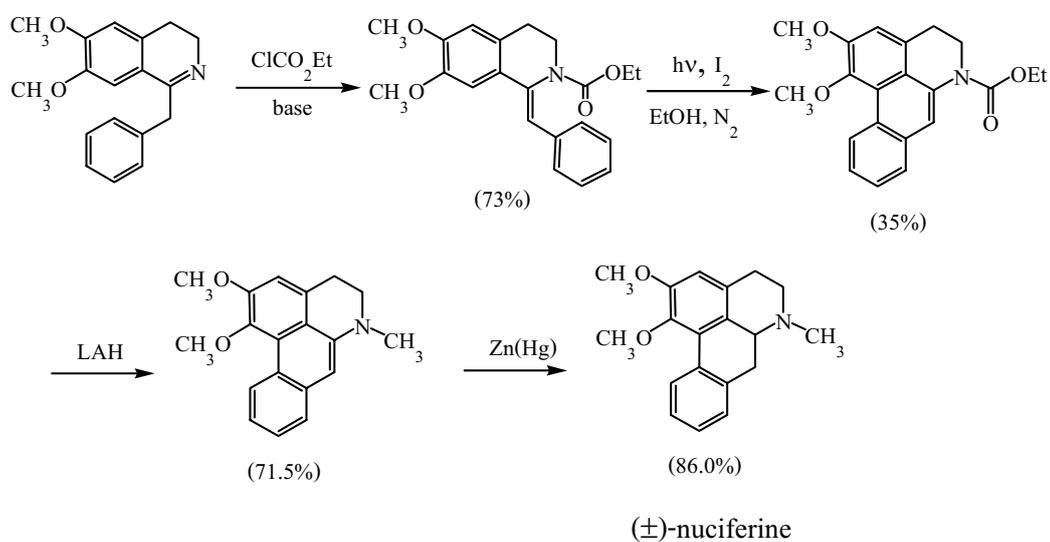
แผนภาพ 2 การสังเคราะห์ aporphine alkaloids โดยปฏิกิริยา phenolic oxidation

นอกจากนี้ยังมีการใช้ oxidizing reagent ตัวอื่น ๆ แทน iron (III) chloride ในการสังเคราะห์ aporphine alkaloids เช่น potassium ferricyanide, manganese dioxide และ vanadium oxyfluoride เป็นต้น ยกตัวอย่างเช่น Kupchan และคณะ<sup>30</sup> ทำการสังเคราะห์ *N*-trifluoroacetyl-northaliporphine จาก *N*-trifluoroacetyl-norcodamine ดังแผนภาพ 3



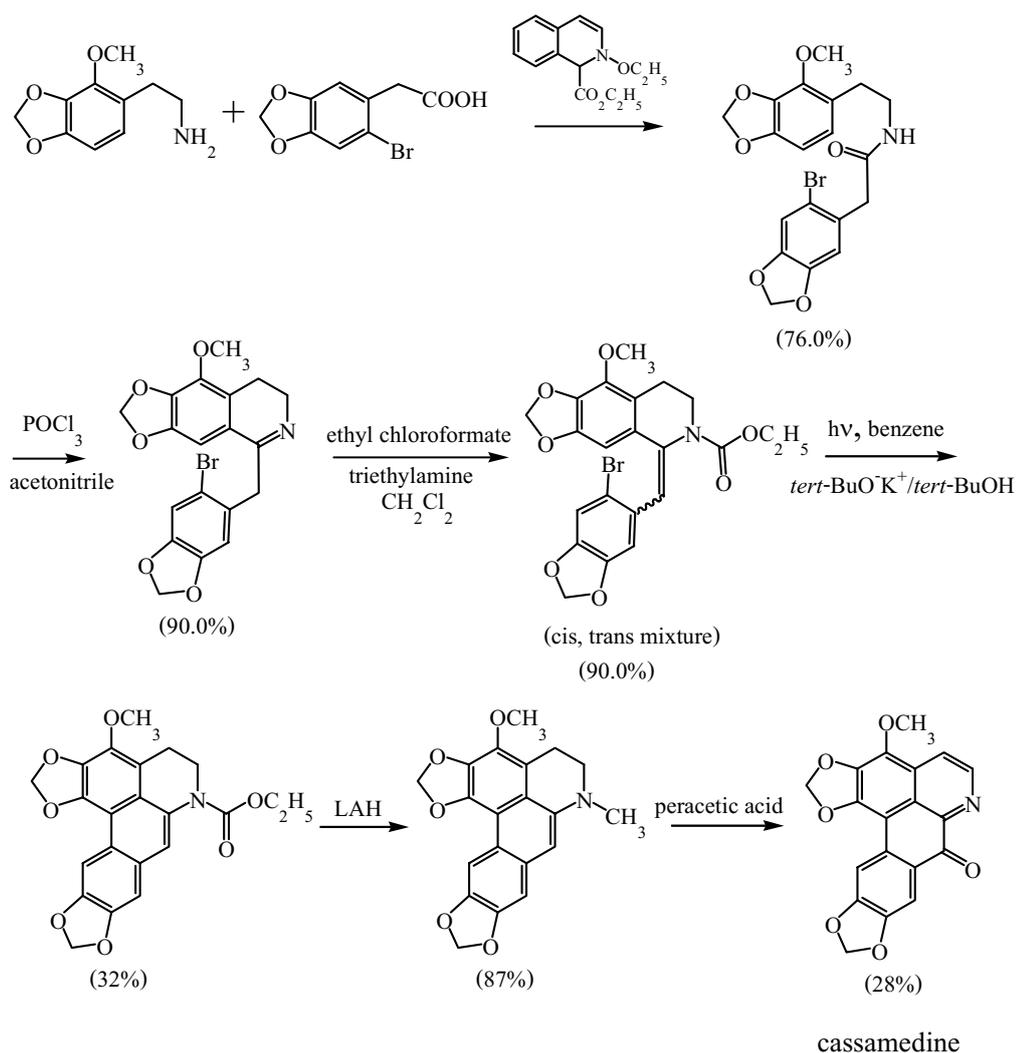
แผนภาพ 3 การสังเคราะห์ aporphine alkaloids โดยปฏิกิริยา phenolic oxidation

3. ปฏิกิริยา photochemistry มีรายงานครั้งแรก โดย Cava และคณะ<sup>31</sup> ในปี ค. ศ. 1966 โดยฉายแสง ultraviolet แก่ 1-benzylidene-2-ethoxycarbonylisoquinoline/ I<sub>2</sub> โดยมี iodine เป็น oxidizing agent ให้สารผลิตภัณฑ์เป็น N-carboethoxydehydronuciferine ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับ lithium aluminium hydride ให้ dehydronuciferine เมื่อทำ reduction ด้วย Zn(Hg) ให้ (±)-nuciferine ดังแผนภาพ 4



แผนภาพ 4 การสังเคราะห์ (±)-nuciferine

นอกจากนี้การฉายแสงของ halogenated stilbenes โดยมี potassium *tert*-butoxide เป็นเบสให้สารผลิตภัณฑ์เป็น dehydroaporphine เช่นกันดังตัวอย่างการสังเคราะห์ cassamedine โดย Cava และ Libsch<sup>32</sup> ดังแผนภาพ 5

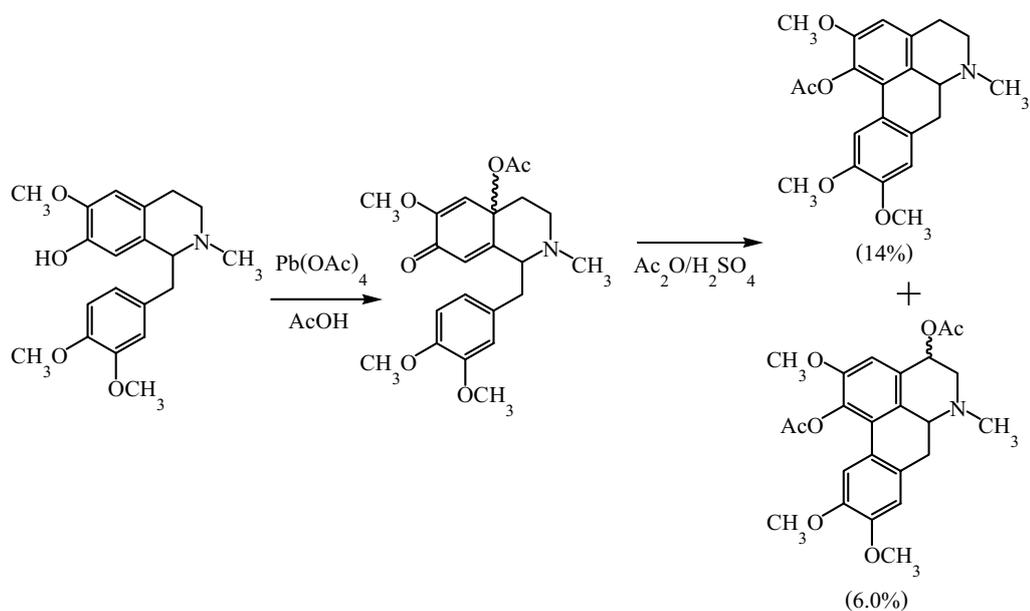


แผนภาพ 5 การสังเคราะห์ cassamedine

การสร้างวงแหวน C โดยวิธีฉายแสงไม่สามารถใช้สังเคราะห์ aporphine alkaloids ที่ตำแหน่ง 11 มีหมู่ออกซิเจนอยู่ได้

4. วิธี quinol acetate มีรายงานเป็นครั้งแรกโดย Umezawa และคณะ<sup>33</sup> ในปี ค. ศ. 1974 โดยนำ 7-hydroxy-1-benzyltetrahydroisoquinoline มาทำปฏิกิริยากับ lead tetraacetate ได้สารผลิตภัณฑ์เป็น quinol acetate ซึ่งทำปฏิกิริยากับ acetic anhydride-sulfuric acid ได้ (±)-acetylthaliporphine (14%) และ (±)-4-acetoxy-O-acetylthaliporphine (6%) เป็นสารผลิตภัณฑ์ดัง

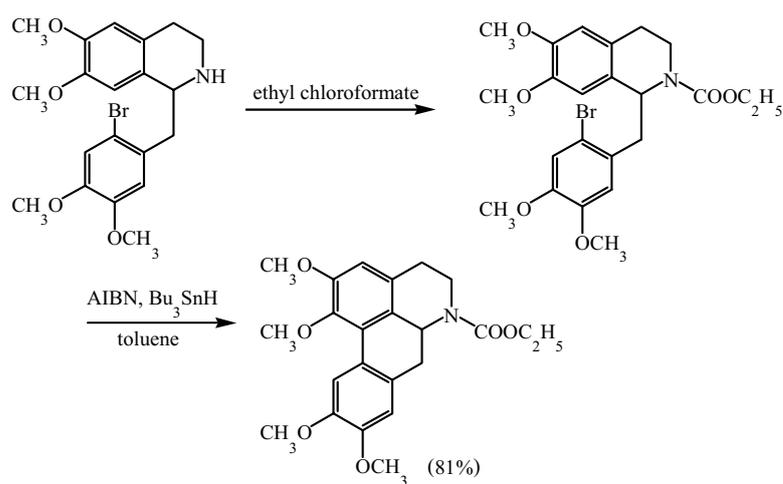
แผนภาพ 6



แผนภาพ 6 การสังเคราะห์ (±)-acetylthaliporphine และ (±)-4-acetoxy-O-acetylthaliporphine

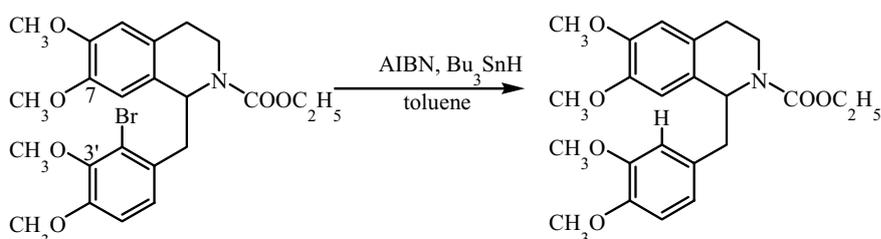
การสร้างวงแหวน C วิธี quinol acetate ไม่สามารถใช้สังเคราะห์ aporphine alkaloids ที่ตำแหน่ง 11 มีหมู่ออกซิเจนอยู่ได้

5. วิธี radical cyclisation ในปี ค. ศ. 1994 Castedo และคณะ<sup>34</sup> ได้รายงานวิธีการใหม่ ซึ่งใช้ radical cyclisation สังเคราะห์ aporphine alkaloids ดังแผนภาพ 7



แผนภาพ 7 ปฏิกริยา radical cyclisation

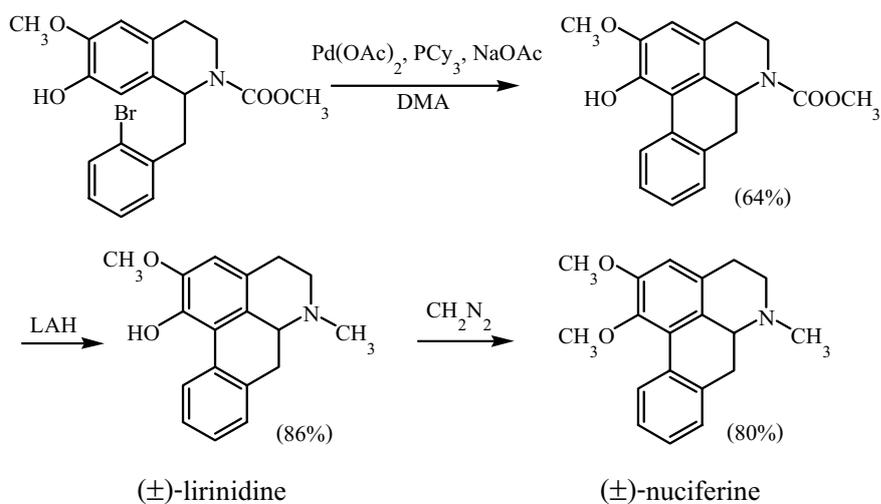
นอกจากนี้ Castedo และคณะ<sup>34</sup> ได้รายงานว่าหากมีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 และ C-3' ของ 1-benzyltetrahydroisoquinoline precursor การปิดวงแหวนเป็น aporphine alkaloids จะไม่เกิดขึ้นจะได้แต่ hydrogenolysis product เท่านั้นดังแผนภาพ 8

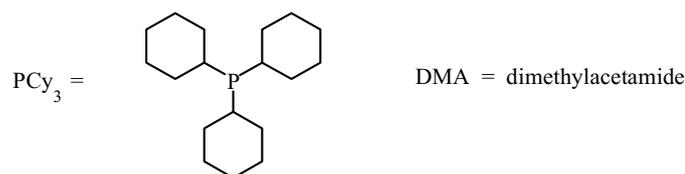


แผนภาพ 8 hydrogenolysis product จากปฏิกิริยา radical cyclisation

ซึ่ง Castedo และคณะ<sup>34</sup> ได้กล่าวถึงความแออัดภายในโมเลกุลอันเนื่องมาจากหมู่แทนที่ในตำแหน่ง ที่ 7 และ 3' ของโครงสร้าง 1-benzyltetrahydroisoquinoline precursor เป็นสาเหตุให้เกิดสารผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ อันเป็นข้อจำกัดของวิธีนี้ ซึ่งนำศึกษาข้อจำกัดนี้ต่อไป

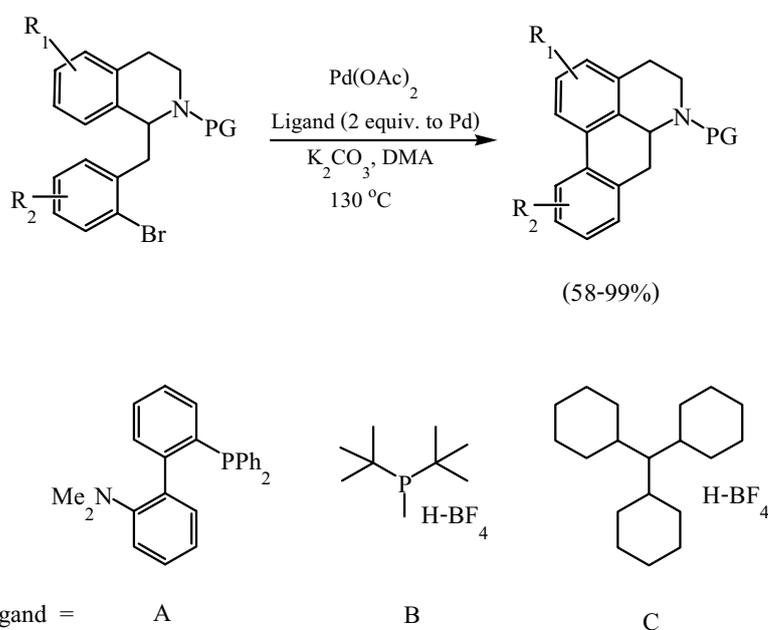
6. วิธี intramolecular *ortho*-arylation of phenol เสนอโดย Cuny<sup>35</sup> ในปี ค. ศ. 2003 โดยนำมาใช้ในการสังเคราะห์ (±)-lirinidine และ (±)-nuciferine โดยใช้ palladium complex ในปฏิกิริยาการปิดวงแหวน C ดังแผนภาพ 9





แผนภาพ 9 การสังเคราะห์ (±)-lirinidine และ (±)-nuciferine

7. วิธี direct arylation reaction ได้มีการใช้ palladium complex ในการสร้างวงแหวน C ของ aporphine alkaloids ใน ค.ศ. 2007 โดย Fagnou และคณะ<sup>36</sup> ได้พัฒนาการสังเคราะห์ aporphine alkaloids ให้มีประสิทธิภาพดีได้สารผลิตภัณฑ์ที่สูง ดังแผนภาพ 10



แผนภาพ 10 การสังเคราะห์ aporphine alkaloids โดยวิธี direct arylation reaction

เนื่องจากปฏิกิริยา radical cyclisation ซึ่งค้นพบโดย Castedo และคณะ<sup>34</sup> ยังไม่มีการศึกษาถึงขอบเขตและข้อจำกัด งานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการเกิดวงแหวน C ในประเด็นต่อไปนี้

1. ขนาดของหมู่แทนที่บน nitrogen
2. ขนาดและตำแหน่งของหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง 7 ในวงแหวน A และ 3' ในวงแหวน

D ของ 1-benzyltetrahydroisoquinoline precursor

**บรรณานุกรม**

1. Cordell G. A., "Introduction to Alkaloids: A Biogenetic Approach," John Wiley & Sons Inc, New York, 1981, pp. 388-410.
2. Shamma M., "The Isoquinoline Alkaloids: Chemistry and Pharmacology," Academic Press, New York, 1972, pp. 194-228.
3. Shulgin A. T., Perry W. E., "The Simple Plant Isoquinolines," Transform Press, Berkeley, 2002, pp. 385-390.
4. Guinaudeau H., Leboeuf M., Cave A., *J. Nat. Prod.*, **42**, 325-360 (1979).
5. Rastogi R. C., Borthakur N., *Phytochemistry*, **19**, 998-999 (1980).
6. Rivera A., Urzua A., Torres R., *J. Nat. Prod.*, **47**, 1040-1041 (1984).
7. Hocquemiller R., Rasamizafy S., Cave A., Moretti C., *J. Nat. Prod.*, **46**, 335-341 (1983).
8. Abu Zarga M. H., Shamma M., *J. Nat. Prod.*, **45**, 471-475 (1982).
9. Chang F-R., Wei J-L., Teng C-M., Wu Y-C., *J. Nat. Prod.*, **61**, 1457-1461 (1998).
10. Maekh S. Kh., Yunusov S. Yu., Boiko E. V., Starchenko V. M., *Chem. Nat. Comp.*, **18**, 208-210 (1982).
11. Castro O., Hasbun C., Calderon M., *Fitoterapia*, **62**, 72-73 (1991).
12. Hocquemiller R., Cabalion P., Fournet A., Cave A., *Planta Med.*, **50**, 23-25 (1984).
13. Hsieh T. J., Chen C-Y., Kuo R-Y., Chang F-R., Wu Y-C., *J. Nat. Prod.*, **62**, 1192-1193 (1999).
14. Guinaudeau H., Shamma M., Tantisewie B., Pharadai K., *J. Nat. Prod.*, **45**, 355-357 (1982).
15. Lee N. H. S., Xu Y-J., Goh S. H., *J. Nat. Prod.*, **62**, 1158-1159 (1999).
16. Achenbach H., Lowel M., Cave A., *Phytochemistry*, **40**, 967-970 (1995).
17. Zabel V., Watson W. H., Phoebe C. H., Knapp J. E., Schiff P. L., Slatkin D. J., *J. Nat. Prod.*, **45**, 94-101 (1982).
18. Fo B. R., Gabriel S. J., Gomes C. M. R., Gottlieb O. R., Bichara M. D. G. A., Maia J. G. S., *Phytochemistry*, **15**, 1187-1188 (1976).
19. Chang F-R., Wu Y-C., *J. Nat. Prod.*, **68**, 1056-1060 (2005).
20. Nkunya M. H. H., Jonker S. A., Makangara J. J., Waibel R., Achenbach H., *Phytochemistry*, **53**, 1067-1073 (2000).

21. Chen C-C., Huang Y-L., Lee S-S., Ou J-C., *J. Nat. Prod.*, **60**, 826-827 (1997).
22. Chang F-R., Wei J-L., Teng C-M., Wu Y-C., *Phytochemistry*, **49**, 2015-2018 (1998).
23. Kuo R-Y., Chang F-R., Chen C-Y., Teng C-M., Yen H-F., Wu Y-C., *Phytochemistry*, **51**, 421-425 (2001).
24. Zhang C-F., Nakamura N., Tewtrakul S., Hattori M., Sun Q-S., Wang Z-T., Fujiwara T., *Chem. Pharm. Bull.* **50**, 1195-1200 (2002).
25. Montenegro H., Gutierrez M., Romero L. I., Ortega-Barria E., Capson T. L., Rios L. C., *Planta Med.*, **69**, 677-679 (2003).
26. Chea A., Hout S., Bun S-S., Tabatadze N., Gasquet M., Azas N., Elias R., Balansard G., *J. Ethnopharmacology.*, **112**, 132-137 (2007).
27. Adersen A., Kjolbye A., Dall O., Jager A. K., *J. Ethnopharmacology.*, **113**, 179-182 (2007).
28. Brossi A., "The Alkaloids," Vol XXIV, Academic Press, New York, 1985, pp. 153-251.
29. Cleaver L., Nimgirawath S., Ritchie E., Taylor W. C., *Aust. J. Chem.*, **29**, 2003-2021 (1976).
30. Kupchan S. M., Dhingra O. P., Kim C-K., *J. Org. Chem*, **41**, 4049-4050 (1976).
31. (a). Cava M. P., Havlicek S. C., Lindert A., Spangler R. J., *Tetrahedron lett.*, 2937-2940 (1966); (b). Cava M. P., Mitchell M. J., Havlicek S. C., Lindert A., Spangler R. J., *J. Org. Chem.*, **35**, 175-179 (1970).
32. Cava M. P., Libsch S. S., *J. Org. Chem*, **39**, 577-578 (1974).
33. Hoshino O., Toshioka T., Umezawa B., *Chem. Pharm. Bull.* **22**, 1302-1306 (1974).
34. Estevez J. C., Villaverde M. C., Estevez R. J., Castedo L., *Tetrahedron*, **50**, 2107-2114 (1994).
35. Cuny G. D., *Tetrahedron Lett.*, **44**, 8149-8152 (2003).
36. Lafrance M., Blaquiere N., Fagnou K., *Eur. J. Org. Chem.*, 811-825 (2007).

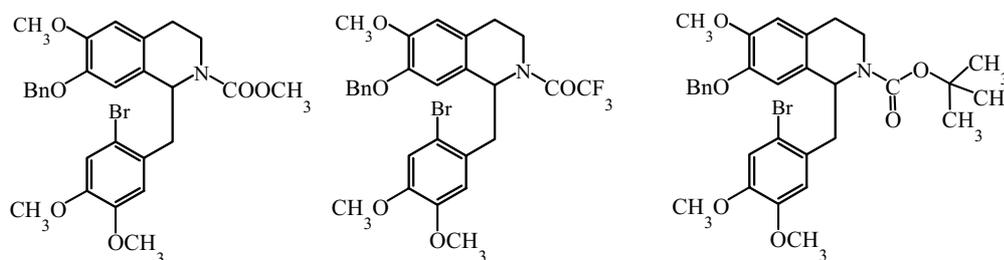
## บทที่ 2

### การศึกษาอิทธิพลของขนาดของหมู่แทนที่บน nitrogen และขนาดของหมู่แทนที่ในบริเวณใกล้เคียงกับจุดที่จะเกิดวงแหวน C ที่มีต่อปฏิกิริยา radical cyclisation

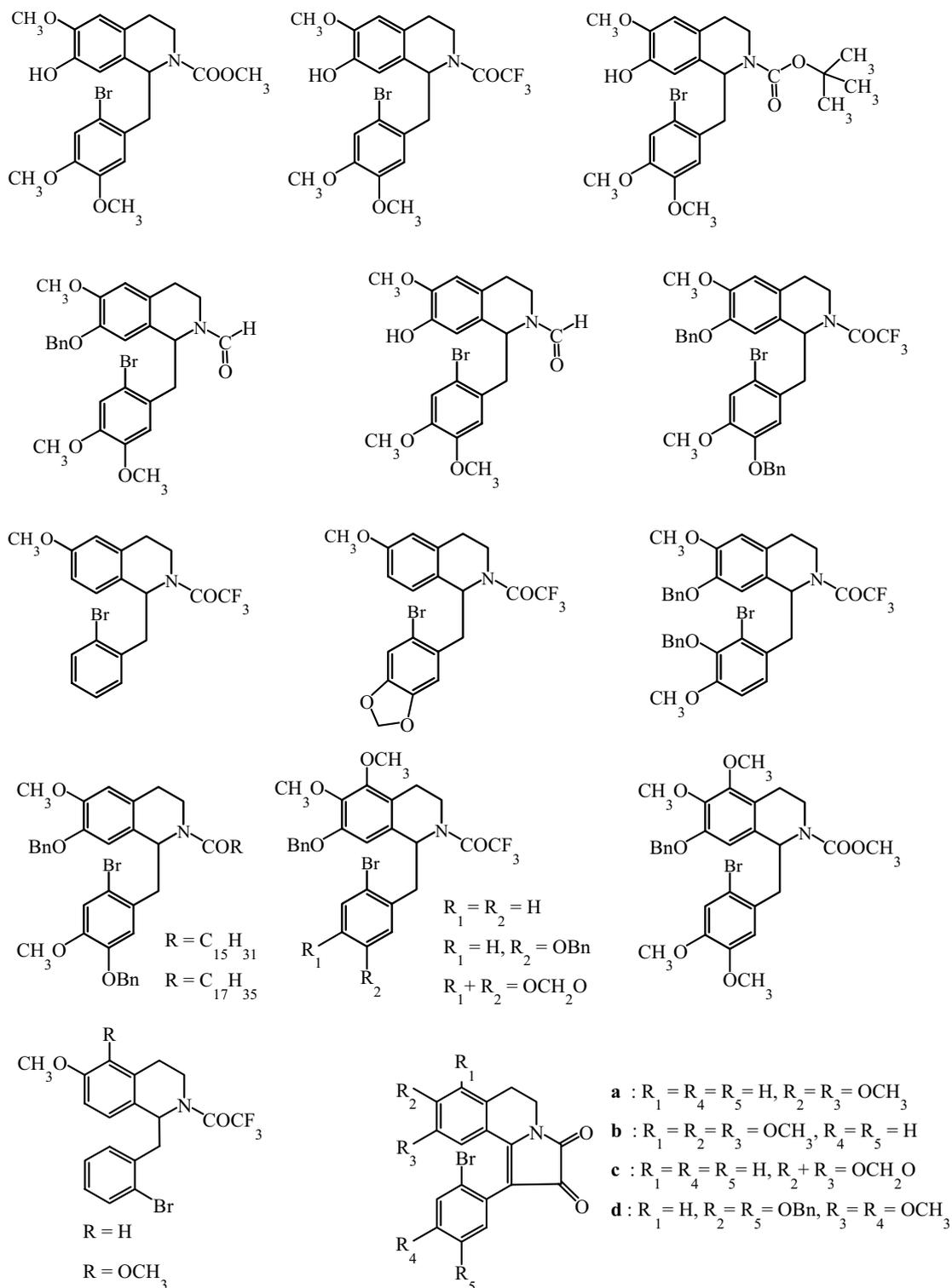
ตามที่ Castedo และคณะ<sup>1</sup> ได้รายงานว่าหากสารตั้งต้น 1-benzyltetrahydroisoquinoline ที่ใช้ในการสร้างวงแหวน C ของ aporphine alkaloids มีหมู่ methoxy ที่ตำแหน่ง 7 และตำแหน่ง 3' การสร้างวงแหวน C จะล้มเหลวได้แต่ hydrogenolysis product จึงตีความได้ว่าเมื่อบริเวณที่จะสร้างพันธะระหว่างวงแหวน A กับวงแหวน D มีหมู่แทนที่อยู่ ปฏิกิริยาการสร้างวงแหวน C น่าจะมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ช้ามาก radical ที่เกิดขึ้นจึงถูก tributyltin hydride reduced เป็น hydrogenolysis product ไปก่อนการปิดวงแหวน คณะวิจัยของเราจึงตั้งสมมุติฐานดังนี้

1. การเพิ่มขนาดของหมู่แทนที่บน nitrogen น่าจะทำให้ radical ที่เกิดขึ้นบนวงแหวน D หันมาอยู่ใกล้วงแหวน A จึงอาจทำให้การสร้างวงแหวน C เกิดได้รวดเร็วยิ่งขึ้น
2. หากลดความแออัดบน carbon ตำแหน่งที่ 7 และตำแหน่ง 3' ลงการสร้างวงแหวน C ก็น่าจะเกิดได้รวดเร็วยิ่งขึ้น

ในโครงการวิจัยนี้จึงมีการใช้หมู่แทนที่บน nitrogen ที่มีขนาดต่างๆ กัน และการไม่ใช้หมู่แทนที่บน oxygen ที่เกาะอยู่กับ carbon ที่ตำแหน่ง 7 ในการศึกษาปฏิกิริยา radical cyclisation และในบางกรณีการสร้างวงแหวนจะทำในสารตั้งต้นที่ carbon ตำแหน่ง 7 และหรือตำแหน่งที่ 3' ไม่มีหมู่แทนที่เลย สารตั้งต้นที่ใช้ในการศึกษาปฏิกิริยาได้แสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 สารตั้งต้นที่ใช้ในการศึกษาปฏิกิริยา radical cyclisation

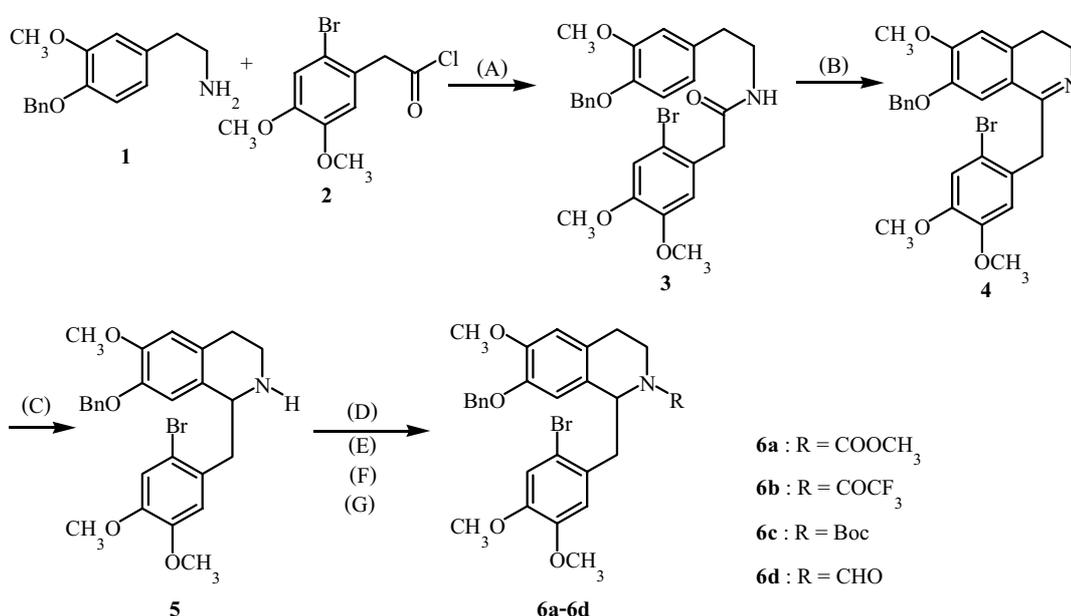


รูปที่ 1 สารตั้งต้นที่ใช้ในการศึกษาปฏิกิริยา radical cyclisation (ต่อ)

## ผลการทดลอง

## การสังเคราะห์สารตั้งต้น (6a-6h)

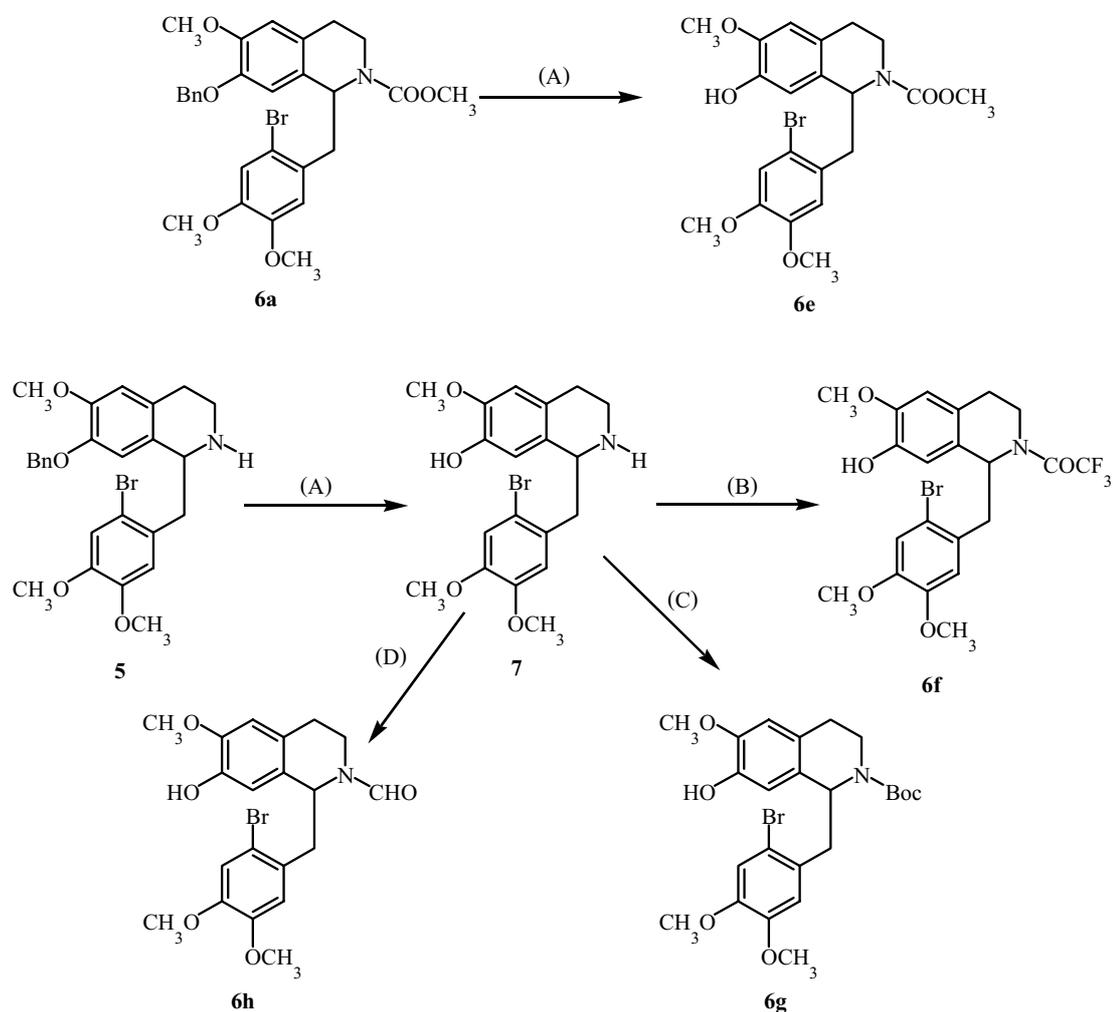
นำ 3,4-dimethoxyphenylacetyl chloride (2) มาทำปฏิกิริยากับ 4-benzyloxy-3-methoxyphenethylamine (1) ให้ amide (3) ซึ่งทำปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ได้ 4 reduction ของ 4 ด้วย sodium borohydride ให้ 5 จากนั้นใส่หมู่ป้องกันที่ nitrogen ด้วยหมู่ carbomethoxy, trifluoroacetyl, *tert*-butyloxycarbonyl และ formyl ให้ *N*-acyltetrahydroisoquinolines (6a-6d) ตามลำดับ แผนการสังเคราะห์ดังแสดงในแผนภาพ 1



Reaction conditions: (A) 10% NaHCO<sub>3</sub>/ chloroform; (B) POCl<sub>3</sub>/ benzene; (C) NaBH<sub>4</sub>/ ethanol; (D) ClCOOCH<sub>3</sub>, Et<sub>3</sub>N/ chloroform (5 → 6a); (E) (CF<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>N/ chloroform (5 → 6b); (F) (Boc)<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>N/ dichloromethane (5 → 6c); (G) formic acid, DCC / dichloromethane (5 → 6d).

แผนภาพ 1 การสังเคราะห์ *N*-acyltetrahydroisoquinolines (6a-6d)

การขจัดหมู่ benzyl ของ 6a และ 5 ด้วย concentrated hydrochloric acid ได้ 6e และ 7 จากนั้นนำ 7 มาทำปฏิกิริยากับ trifluoroacetic anhydride, di-*tert*-butyl dicarbonate และ formic acid หมู่แทนที่เหล่านี้จะเข้าไปที่ nitrogen และ oxygen ตามด้วยการทำปฏิกิริยากับ 2N hydrochloric acid หรือ 2N sodium hydroxide เพื่อขจัดหมู่ acyl ที่ตำแหน่ง C-7 ให้เป็นหมู่ hydrogen ได้ 6f-6h ตามลำดับ แผนการสังเคราะห์ได้แสดงในแผนภาพ 2



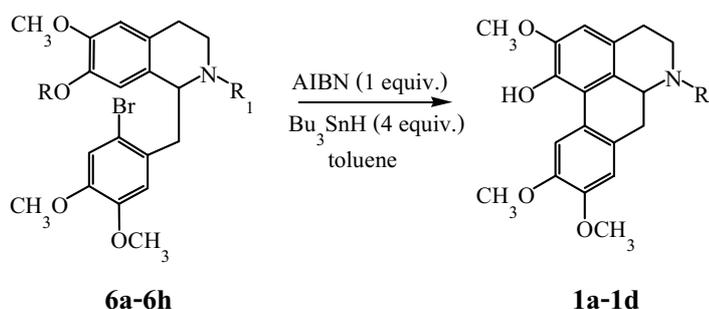
Reaction conditions: (A) conc. HCl/ ethanol (**5**  $\rightarrow$  **7**) and (**6a**  $\rightarrow$  **6e**); (B) (i)  $(CF_3CO)_2O$ ,  $Et_3N$ / chloroform (ii) 2N HCl (**7**  $\rightarrow$  **6f**); (C)  $(Boc)_2O$ ,  $Et_3N$ / dichloromethane; (ii) 2N NaOH (**7**  $\rightarrow$  **6g**); (D) (i) formic acid, DCC / dichloromethane; (ii) 2N NaOH; (iii) 2H HCl (**7**  $\rightarrow$  **6h**).

แผนภาพ 2 การสังเคราะห์ *N*-acyltetrahydroisoquinolines (**6e-6h**)

#### การสังเคราะห์ noraporphines (**1a-1d**)

ใช้ปฏิกิริยาการสร้างวงแหวน C ของ aporphine โดยวิธี radical cyclisation โดยนำ **6a-6h** มาทำปฏิกิริยากับ tributyltin hydride และ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) ให้ noraporphines (**1a-1d**) เนื่องจากความแออัดในบริเวณที่มีการสร้างวงแหวน C พบว่ามีการเสียนหมู่ benzyl บน

ออกซิเจนที่ตำแหน่ง C-1 ของ aporphine โครงสร้าง **1a** แสดงสัญญาณใน  $^1\text{H-NMR}$  spectrum เป็น singlet ที่  $\delta_{\text{H}}$  8.11 ซึ่งเป็นสัญญาณของ H-11 ในโครงสร้าง noraporphine (**1a**) ซึ่งสัญญาณสำคัญนี้พบใน **1b**, **1c** และ **1d** เช่นกัน ปริมาณผลผลิตได้แสดงในตาราง 1



substrate	R	R <sub>1</sub>	product	yield (%)
<b>6a</b>	Bn	COOCH <sub>3</sub>	<b>1a</b>	10.3
<b>6b</b>	Bn	COCF <sub>3</sub>	<b>1b</b>	10.2
<b>6c</b>	Bn	Boc	<b>1c</b>	9.51*
<b>6d</b>	Bn	CHO	<b>1d</b>	10.19
<b>6e</b>	H	COOCH <sub>3</sub>	<b>1a</b>	16.3
<b>6f</b>	H	COCF <sub>3</sub>	<b>1b</b>	13.6
<b>6g</b>	H	Boc	<b>1c</b>	17.0*
<b>6h</b>	H	CHO	<b>1d</b>	13.8

\*แยกไม่ออก (ผลผลิตไม่แน่นอนเนื่องจากไม่สามารถแยกสารบริสุทธิ์จากการทำ column chromatography โดยใช้ silica gel ซะ column ด้วยระบบ hexane-ethyl acetate)

ตาราง 1 ปริมาณ noraporphines (**1a-1d**) ที่ได้จากปฏิกิริยา radical cyclisation

### สรุปผลการทดลอง

1. ขนาดของหมู่ benzyloxy ในตำแหน่ง C-7 ของ 1-benzyltetrahydroisoquinolines มีผลต่อการสร้างวงแหวน C เพราะขนาดที่ใหญ่จึงทำให้เกิดความเกะกะในการสร้างวงแหวน C อีกทั้งพบว่ามักมีการสูญเสียหมู่ benzyl ระหว่างการเกิดปฏิกิริยา radical cyclisation อีกด้วย ในขณะที่หมู่ hydroxyl มีขนาดเล็กกว่าก่อให้เกิดความเกะกะน้อย จึงเกิดการปิดวงแหวน C เป็น noraporphine ในปริมาณผลผลิตที่มากกว่า

2. ขนาดของหมู่ป้องกันที่ nitrogen ไม่มีผลที่มีนัยยะสำคัญต่อการสร้างวงแหวน C จะเห็นได้ว่า หมู่ *tert*-butyloxycarbonyl ซึ่งมีขนาดใหญ่ น่าจะเบียดวงแหวน D ให้หันด้านหมู่แทนที่ bromine มาอยู่ใกล้วงแหวน A ซึ่งเอื้อต่อการสร้างวงแหวน C จึงน่าจะได้นoraporphine มากที่สุด

แต่จากปริมาณผลผลิตในตาราง 1 เมื่อเทียบผลผลิตที่ได้สารตั้งต้นที่มีหมู่ *tert*-butyloxycarbonyl กับ หมู่ป้องกันอีก 3 ชนิด คือ หมู่ trifluoroacetyl, formyl และ carbomethoxy สามารถสรุปได้ว่าขนาด หมู่ป้องกันที่ nitrogen ไม่มีผลต่อการสร้างวงแหวน C

3. ในการสังเคราะห์ *N*-acyl-1-benzyltetrahydroisoquinolines พบว่าหมู่ trifluoroacetyl เป็นหมู่ป้องกันที่ดีและมีข้อดี คือ สารประเภท *N*-trifluoroacetyl-1-benzyltetrahydroisoquinolines สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ง่ายโดยการตกผลึก นอกจากนี้การเติมหรือขจัดหมู่ trifluoroacetyl สามารถทำได้ง่าย ให้ผลผลิตสูง นอกจากนี้สารผลิตภัณฑ์ *N*-trifluoroacetylnoraporphines ที่ได้ยังทำให้บริสุทธิ์ได้ง่ายโดยการแยกออกจาก hydrogenolysis product ด้วยการตกผลึกหรือวิธี column chromatography

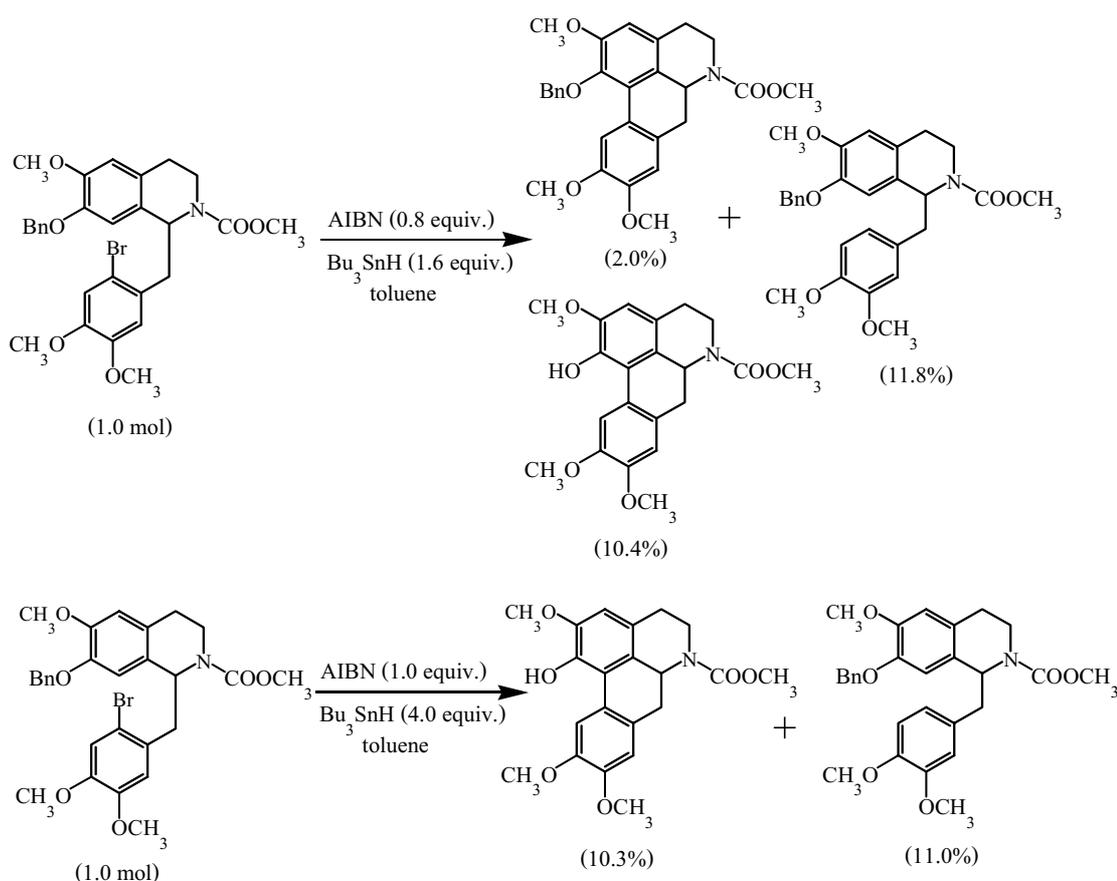
4. หมู่ carbomethoxy เป็นหมู่ป้องกันที่ nitrogen ที่ดีพอควร แต่มีข้อด้อยคือ มักพบว่า สารประเภท *N*-carbomethoxy-1-benzyltetrahydroisoquinolines ตกผลึกได้ยากมาก มักต้องทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี chromatography แต่ก็มีข้อดีคือสามารถเปลี่ยนหมู่ *N*-COOCH<sub>3</sub> เป็น *N*-CH<sub>3</sub> ได้ โดยการทำปฏิกิริยากับ lithium aluminium hydride ให้ปริมาณผลผลิตปานกลาง การแยก *N*-carbomethoxynoraporphine ออกจาก hydrogenolysis product มักต้องใช้วิธี column chromatography จึงจะให้ผลดี

5. หมู่ formyl เป็นหมู่ป้องกันที่ nitrogen ที่ดีเช่นกัน การทำสารให้บริสุทธิ์โดยการตกผลึกสาร *N*-formyl-1-benzyltetrahydroisoquinolines ทำได้ง่าย ให้ปริมาณผลผลิตดีปานกลางและสามารถเปลี่ยนหมู่ *N*-CHO เป็น *N*-CH<sub>3</sub> ได้ โดยการทำปฏิกิริยากับ lithium aluminium hydride ได้เช่นกัน การแยก *N*-formylnoraporphine ออกจาก hydrogenolysis product มักต้องใช้วิธี column chromatography จึงจะให้ผลดี

6. หมู่ *tert*-butyloxycarbonyl ซึ่งมีขนาดใหญ่ที่สุดที่ใช้ในการทดลองนี้ มีข้อดีคือ การตกผลึกสาร *N*-*tert*-butyloxycarbonyl-1-benzyltetrahydroisoquinolines ทำได้ง่าย แต่การแยกสารผลิตภัณฑ์ประเภท *N*-*tert*-butyloxycarbonylnoraporphine ออกจาก hydrogenolysis product ทำได้ยากที่สุดในบรรดาสารตั้งต้น ทั้ง 4 ประเภทที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้

7. radical initiator ที่ใช้ในการทดลองนี้มี 2 ตัวคือ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (AIBN) และ 1,1'-azobis(cyclohexanecarbonitrile) (ACCN) พบว่า ไม่มีความแตกต่างในแง่ปริมาณผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยา radical cyclisation แต่การใช้ AIBN มีข้อได้เปรียบคือ สามารถแยกออกจากสารผลิตภัณฑ์ได้ง่ายโดยการล้างด้วย hexane แต่การใช้ ACCN พบว่ามักปนกับสารผลิตภัณฑ์แยกออกจากกันได้ง่าย

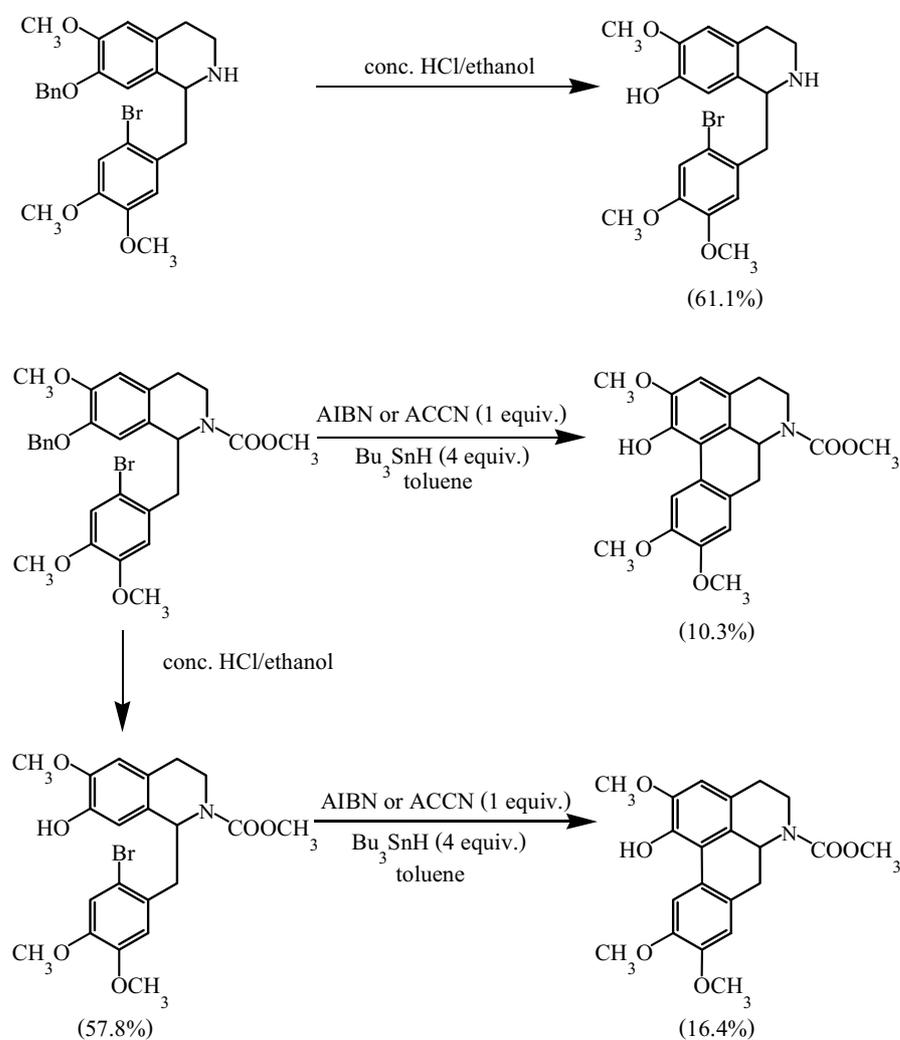
8. สัดส่วนโดยโมลระหว่างสารตั้งต้น : AIBN หรือ ACCN :  $Bu_3SnH$  เป็น 1:1:4 เป็นสัดส่วนที่เหมาะสมในการทดลองนี้ เพราะได้สารผลิตภัณฑ์เพียง 2 ตัว วิธีทำสารให้บริสุทธิ์จึงทำได้ง่ายกว่าการใช้สัดส่วนระหว่างสารตั้งต้น : AIBN หรือ ACCN :  $Bu_3SnH$  เป็น 1:0.8:1.6 ตามรายงานของ Castedo และคณะ<sup>1</sup> ซึ่งให้สารผลิตภัณฑ์ถึง 3 ชนิด การทำสารให้บริสุทธิ์จึงมีความลำบาก ดังแสดงในแผนภาพ 3



แผนภาพ 3 ปฏิกิริยา radical cyclisation ที่ใช้สัดส่วน โมลระหว่างสารตั้งต้น : AIBN:  $Bu_3SnH$  ต่างกัน

9. แม้ว่าหมู่แทนที่ hydroxyl ในตำแหน่ง C-7 ของสารตั้งต้นจะให้สารผลิตภัณฑ์มากกว่ากรณีตำแหน่ง C-7 ของสารตั้งต้นมีหมู่ benzyloxy อยู่ แต่การสังเคราะห์ 7-hydroxy-1-benzyltetrahydroisoquinoline จาก 7-benzyloxy-1-benzyltetrahydroisoquinoline ให้ปริมาณผลผลิต

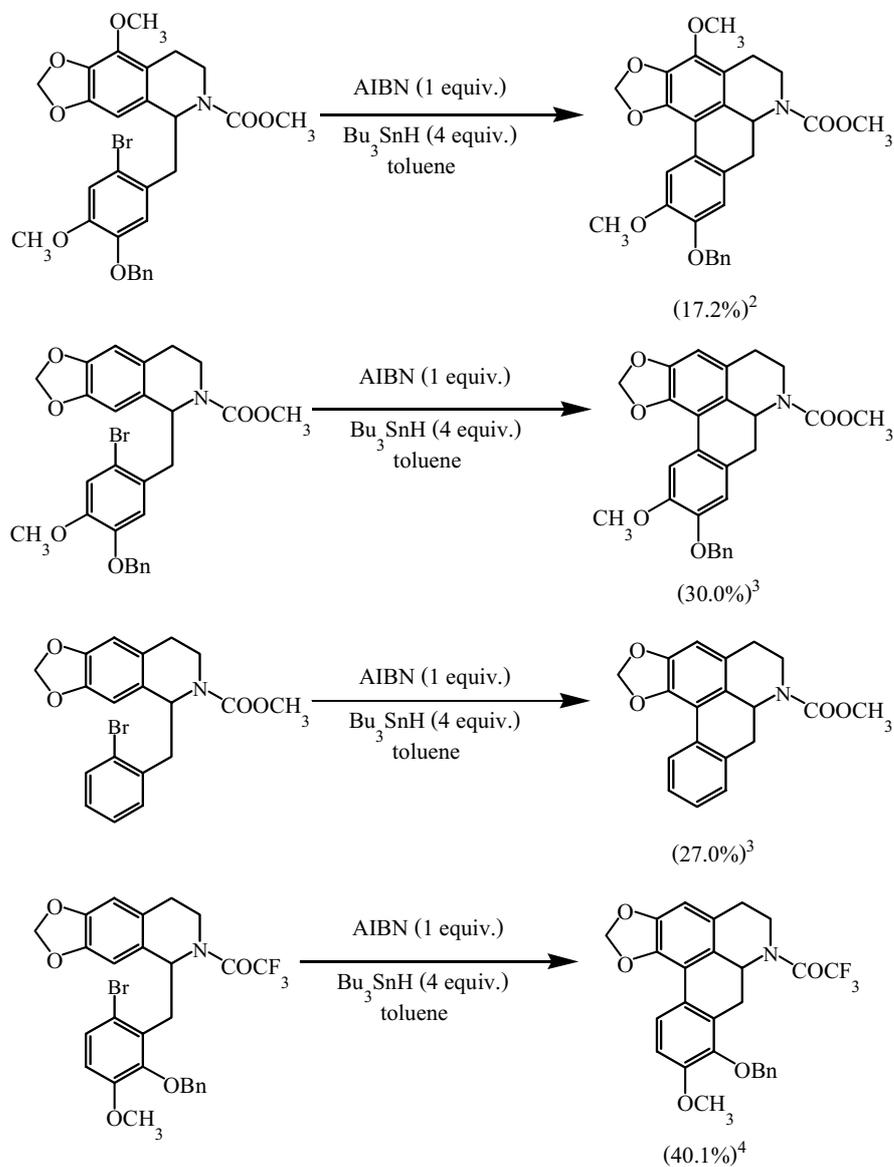
เพียง 57-61% เท่านั้น ดังนั้นเมื่อพิจารณาปริมาณผลผลิตโดยรวมแล้วสามารถสรุปได้ว่า หมู่ป้องกัน benzyloxy แทบไม่มีผลต่อการได้สารผลิตภัณฑ์โดยรวมเลย ดังแสดงในแผนภาพ 4



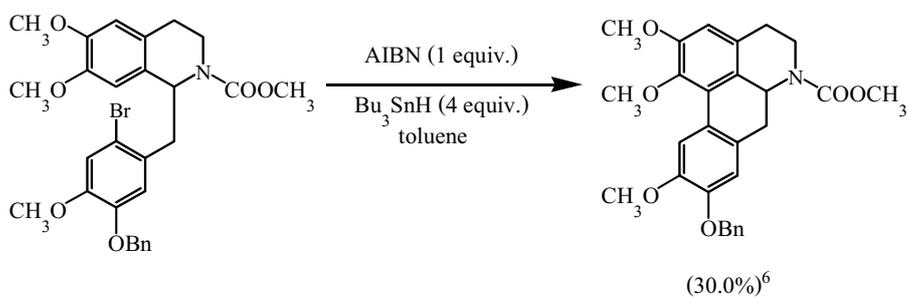
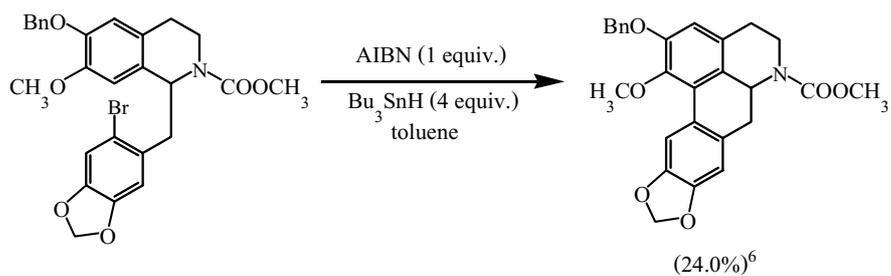
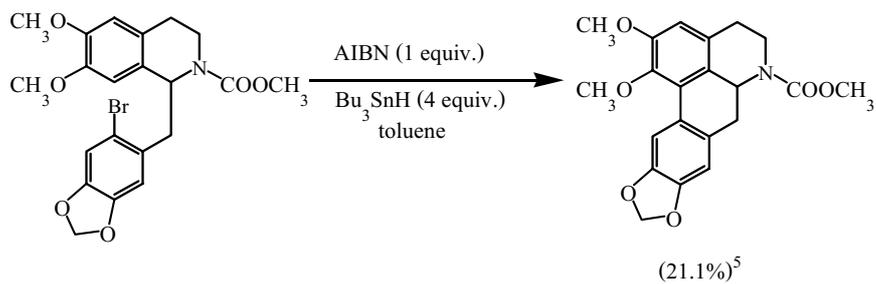
แผนภาพ 4 ปริมาณผลผลิตรวมที่ได้จากปฏิกิริยา radical cyclisation

เพื่อแสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของหมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 และ C-3' ของ 1-benzyl-tetrahydroisoquinolines จึงขอยกตัวอย่างต่อไปนี้เพื่อเปรียบเทียบให้เห็นขนาดของหมู่แทนที่ที่ตำแหน่ง C-7 และ C-3' ต่อการได้สารผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาการสร้างวงแหวน C ของ aporphine alkaloids โดยวิธี radical cyclisation โดยสารตั้งต้นที่ใช้ในการสร้างวงแหวน C จำแนกได้เป็นดังนี้

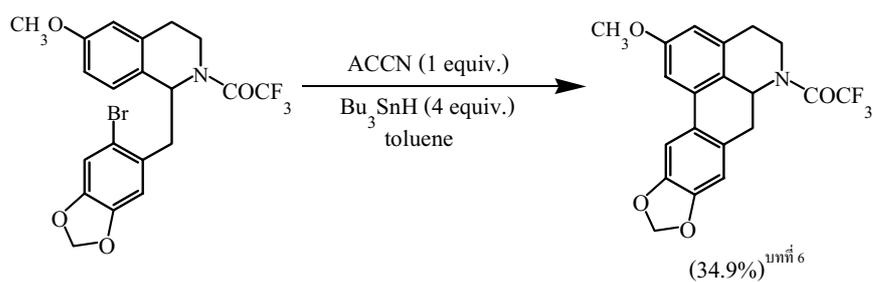
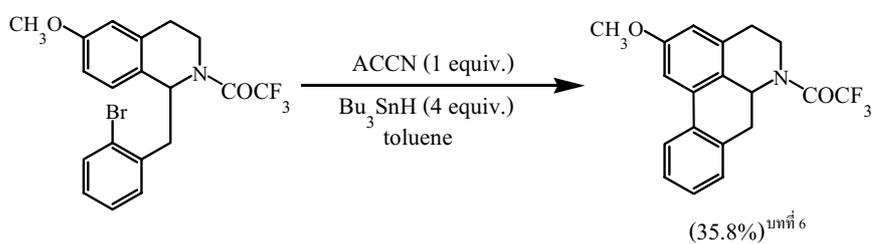
1. กรณีนีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 ของ 1-benzyltetrahydroisoquinolines คือ methylenedioxy และ C-3' คือ hydrogen



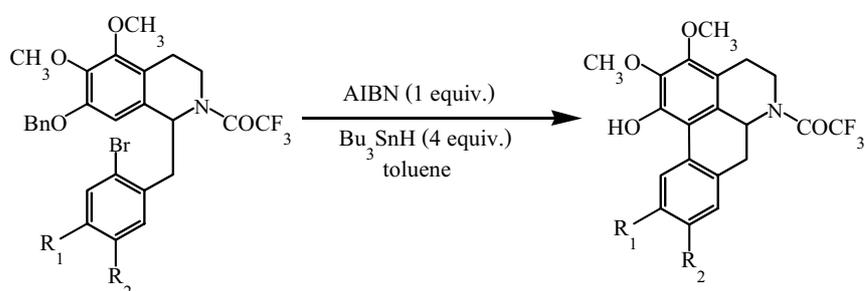
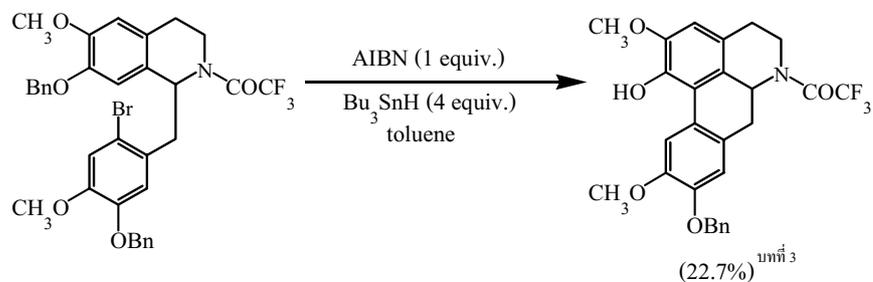
2. กรณีนีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 ของ 1-benzyltetrahydroisoquinolines คือ methoxy และ C-3' คือ hydrogen



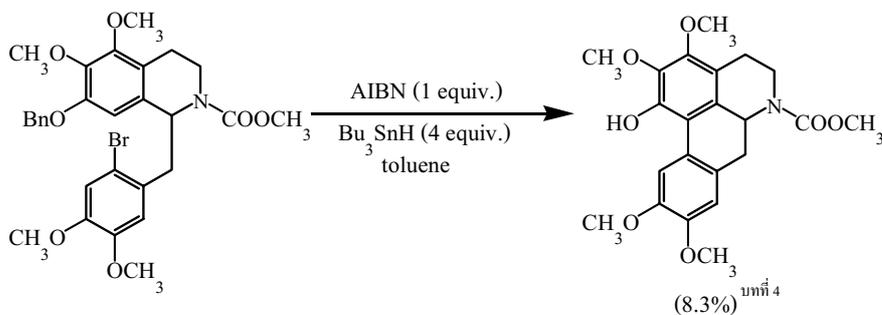
3. กรณีนุ้แทนที่ในตำแหน่ง C-7 ของ 1-benzyltetrahydroisoquinolines คือ hydrogen และ C-3' คือ hydrogen



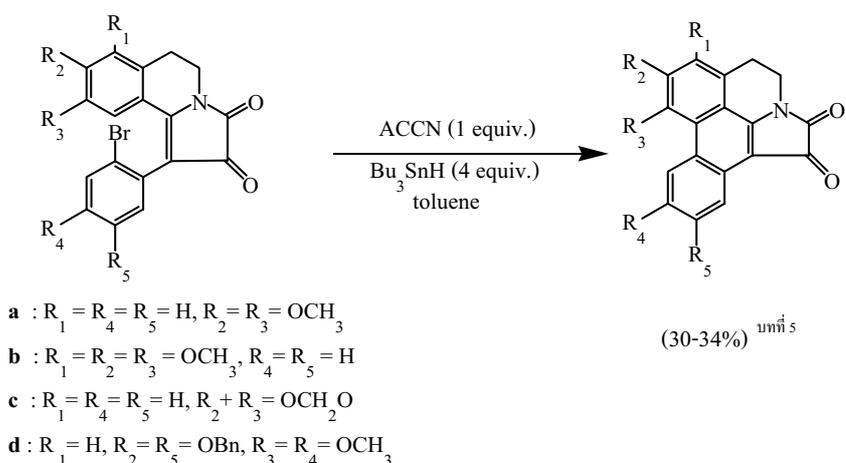
4. กรณีนหมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 ของ 1-benzyltetrahydroisoquinolines คือ benzyloxy และ C-3' คือ hydrogen



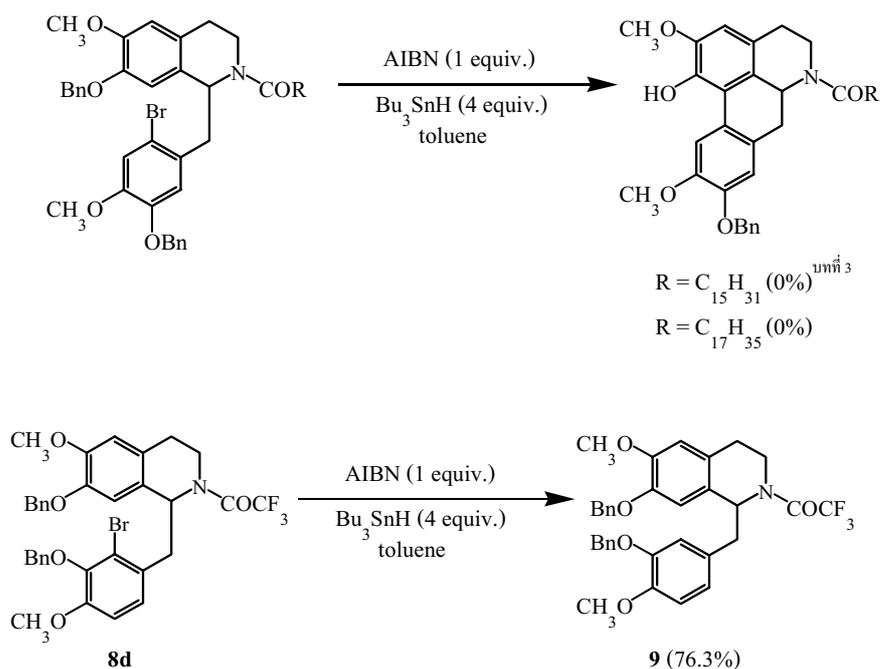
$\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$  (10.9%)<sup>บทที่ 4</sup>  
 $\text{R}_1 = \text{H}, \text{R}_2 = \text{OBn}$  (9.7%)  
 $\text{R}_1 + \text{R}_2 = \text{OCH}_2\text{O}$  (10.4%)



5. กรณีนหมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 และ C-3' ของ 1-benzyltetrahydroisoquinolines คือ methoxy หรือ methylenedioxy และ C-3' คือ hydrogen และ นหมู่แทนที่ตำแหน่ง 6a และ 7 คือ oxalyl



6. กรณียุ่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 และ C-3' ของ 1-benzyltetrahydroisoquinolines คือ benzyloxy และ C-3' คือ hydrogen หรือ benzyloxy



จากข้อมูลทั้งหมดในหกกรณีข้างต้น สามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

1. กรณียุ่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 ของ 1-benzyltetrahydroisoquinolines คือหมู่ hydroxyl, methylenedioxy หรือ methoxy และ C-3' คือ hydrogen สามารถทำปฏิกิริยาสร้างวงแหวน C เป็น aporphine alkaloids ได้ในปริมาณผลผลิตค่อนข้างดี

2. กรณีที่หมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 และ C-3' ของ 1-benzyltetrahydroisoquinolines คือ hydrogen สามารถทำปฏิกิริยาสร้างวงแหวน C เป็น aporphine alkaloids ได้ในปริมาณผลผลิตดี
3. กรณีที่หมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 ของ 1-benzyltetrahydroisoquinolines คือ benzyloxy และ C-3' คือ hydrogen สามารถทำปฏิกิริยาสร้างวงแหวน C เป็น aporphine alkaloids ได้ในปริมาณผลผลิตค่อนข้างต่ำ และมีการสูญเสียหมู่ benzyl ในการสร้างวงแหวนเสมอ
4. กรณีที่หมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 และ C-3' ของ 1-benzyltetrahydroisoquinolines คือ benzyloxy ไม่สามารถทำปฏิกิริยาสร้างวงแหวน C เป็น aporphine alkaloids ได้ เนื่องจากความแออัดในบริเวณที่พยายามสร้างวงแหวน C
5. กรณีที่หมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 และ C-3' ของ 1-benzyltetrahydroisoquinolines คือ methoxy หรือ methylenedioxy และ C-3' คือ hydrogen และหมู่แทนที่ตำแหน่งที่ 6a และ 7 คือ หมู่ oxalyl พบว่าการมีหมู่แทนที่ในตำแหน่งที่ 6a และ 7 ที่ตรึงวงแหวน D ของโครงสร้างให้หันด้านที่มีหมู่ bromine มาอยู่ใกล้วงแหวน A ก็ไม่สามารถเพิ่มปริมาณสารผลิตภัณฑ์ให้มากขึ้นได้ ซึ่งสนับสนุนข้อสรุปที่ว่า ขนาดของหมู่ป้องกันที่ nitrogen ไม่ส่งผลกระทบต่อการสร้างวงแหวน C ของ aporphine alkaloids
6. กรณีที่หมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 คือ benzyloxy และ C-3' คือ hydrogen และหมู่ป้องกันที่ nitrogen มีขนาดใหญ่มาก ( $C_{15}H_{31}CO$  และ  $C_{17}H_{35}CO$ ) ใน 1-benzyltetrahydroisoquinolines ไม่สามารถทำปฏิกิริยาสร้างวงแหวน C เป็น aporphine alkaloids ได้ กรณีนี้ยังไม่สามารถหาเหตุผลมาอธิบายได้ ส่วนกรณีสารตั้งต้น (8d) ซึ่งมีหมู่แทนที่ในตำแหน่ง C-7 และ C-3' เป็น benzyloxy และหมู่ป้องกันที่ nitrogen เป็น trifluoroacetyl พบว่าได้สาร hydrogenolysis (9) เป็นสารผลิตภัณฑ์เพียงตัวเดียว ไม่มีสารผลิตภัณฑ์ที่เป็น aporphine เลย

#### การทดลอง

จุดหลอมเหลววัดด้วยเครื่อง Stuart Scientific SMP 2 โดยมีได้ปรับค่า (uncorrected) Ultraviolet spectra วัดจากสารละลายใน methanol ด้วยเครื่อง Hitachi U-3300 spectrophotometer Infrared spectra วัดด้วยเครื่อง Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR spectrophotometer ในรูป  $CH_2Cl_2$ -films  $^1H$ - และ  $^{13}C$ -NMR spectra วัดด้วยเครื่อง Bruker AVANCE 300 spectrometer ที่ความถี่ 300 MHz สำหรับ  $^1H$  และ 75 MHz สำหรับ  $^{13}C$  โดยใช้  $CDCl_3$  และ  $DMSO-d_6$  ในบางกรณีเป็นตัวทำละลาย และใช้ tetramethylsilane เป็น internal standard

เนื่องจากการสังเคราะห์สารตั้งต้นที่มีโครงสร้างประเภทเดียวกันจำนวนมาก เพื่อความกระชับ จึงใคร่ขอรายงานการเตรียมสารแต่ละประเภทเป็นมาตรฐานดังรายละเอียดต่อไปนี้

## 1. การสังเคราะห์ phenethylamine

ค่อย ๆ เติมสารละลายของ nitrostyrene (89.0 mmol) ใน tetrahydrofuran (350 mL) ลงในของผสมของ lithium aluminium hydride (0.3 mol) ใน tetrahydrofuran (140 mL) ที่กำลังกวนอยู่อย่างระมัดระวังจนหมด กวนต่ออีก 3 ชั่วโมง จากนั้นเติม diethyl ether (280 mL) ลงไปในของผสมแล้วแช่ของผสมในอ่างน้ำแข็ง จากนั้นค่อย ๆ หยคน้ำลงไปอย่างระมัดระวัง (15 mL), 15% sodium hydroxide (15 mL) และน้ำ (30 mL) กรองเอาตะกอนออกแล้วล้างตะกอนอีกครั้งด้วย diethyl ether (100 mL) แล้วสกัด filtrate ด้วย 12% hydrochloric acid (1 × 100 mL, 2 × 60 mL) ทำชั้นกรดให้เป็นเบสด้วย concentrated ammonium hydroxide สกัดชั้นเบสด้วย chloroform (2 × 100 mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ phenethylamine

## 2. การสังเคราะห์ amides

### 2.1 โดยวิธี acid chloride

Reflux ของผสมของ carboxylic acid (0.11 mol), thionyl chloride (0.275 mol) ใน benzene (50 mL) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำ ได้ acid chloride ซึ่งนำไปละลายใน ethanol-free chloroform (50 mL) แล้วค่อย ๆ เติมสารละลาย acid chloride ลงในของผสมของ amine (0.1 mol) ใน ethanol-free chloroform (50 mL) และ 10% sodium bicarbonate (100 mL) ที่แช่เย็นในอ่างน้ำแข็ง เมื่อเติมหมด กวนต่ออีก 3 ชั่วโมง แล้วแยกชั้น chloroform มาล้างด้วย 10% sodium bicarbonate (3 × 100 mL), น้ำ (100 mL), 5% hydrochloric acid (3 × 100 mL) และน้ำ (100 mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำ นำสิ่งที่ได้ไปตกผลึกหรือ triturated ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม

### โดยวิธี reflux ใน xylene โดยใช้ Dean-Stark trap

Reflux ของผสมของ carboxylic acid (40.0 mmol) และ amine (40.0 mmol) ใน xylene (150 mL) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีการกำจัดน้ำด้วย Dean-Stark trap ระเหย xylene ภายใต้ความดันต่ำได้ของหนืดสีน้ำตาล เติม chloroform (100 mL) เพื่อละลายของหนืด แล้วล้างชั้น chloroform ด้วย 5% hydrochloric acid (3 × 100 mL), น้ำ (150 mL) และ 10% sodium carbonate (3 × 150 mL)

ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำ นำสิ่ง  
ที่ได้ไปตกผลึกหรือ triturated ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม

### 3. การสังเคราะห์ dihydroisoquinoline โดยปฏิกิริยา Bischler-Napieralski

Reflux สารละลายของ amide (40.0 mmol) และ phosphorus oxychloride (0.4 mol) ใน benzene (150 mL) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำ ได้ของหนืดสีน้ำตาล เติมน้ำเย็น (150 mL), concentrated ammonium hydroxide (50 mL) และ chloroform (150 mL) ลงในของหนืดแล้วเขย่าจนของหนืดละลายในชั้น chloroform หมุด ทำชั้นน้ำให้เป็นเบส ด้วย concentrated ammonium hydroxide แยกชั้น chloroform แล้วทำให้แห้งด้วย anhydrous sodium carbonate แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ dihydroisoquinoline เป็นของหนืดสีน้ำตาล ซึ่งอาจ triturated หรือตกผลึกด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม หรือนำไปทำปฏิกิริยาต่อทันที

### 4. การสังเคราะห์ tetrahydroisoquinoline โดยใช้ sodium borohydride

ค่อย ๆ เติม sodium borohydride (0.039 mol) ลงในของผสมของ dihydroisoquinoline (0.03 mol) ใน ethanol (150 mL) กวนต่อ 1 ชั่วโมง แล้ว reflux 1 ชั่วโมง เติมน้ำ (100 mL), chloroform (100 mL) เขย่าแยกชั้น chloroform แล้วทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ tetrahydroisoquinoline เป็นของแข็งหรือของหนืดซึ่งตกผลึกหรือ triturated ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม

### 5. การใส่หมู่ป้องกันบน nitrogen

#### 5.1 หมู่ trifluoroacetyl

ค่อย ๆ เติม trifluoroacetic anhydride (0.24 mol) ลงในสารละลายของ tetrahydroisoquinoline (0.04 mol) และ triethylamine (0.32 mol) ใน ethanol-free chloroform (300 mL) ที่ 0-10 °C เมื่อเติมเสร็จ กวนต่ออีก 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง เติม chloroform (200 mL) แล้วล้างชั้น chloroform ด้วย 10% sodium bicarbonate (4 × 300 mL), น้ำ (300 mL), 10% hydrochloric acid (6 × 300 mL) และน้ำ (300 mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำนำสิ่งที่ได้ไปตกผลึกหรือ triturated ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม

#### 5.2 หมู่ carbomethoxy

ค่อย ๆ เติม methyl chloroformate (43.4 mmol) ลงในสารละลายของ tetrahydroisoquinoline (7.2 mmol) และ triethylamine (43.4 mmol) ใน chloroform (30 mL) ที่ 0-10 °C เมื่อ

เติมหมด กวนต่ออีก 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง เติม chloroform (50 mL) และน้ำ (50 mL) เขย่าแยกชั้น chloroform แล้วล้างด้วย 10% hydrochloric acid ( $6 \times 100$  mL) และน้ำ (100 mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำ ทำสิ่งที่ได้ให้บริสุทธิ์โดยวิธีตกผลึกหรือ trituration หรือโดยวิธี column chromatography

### 5.3 หมู่ *tert*-butyloxycarbonyl

ค่อย ๆ หยดสารละลาย triethylamine (6.0 mmol) ใน dichloromethane (10 mL) ลงในสารละลาย tetrahydroisoquinoline (4.0 mmol) และ di-*tert* butyl dicarbonate (4.4 mmol) ใน dichloromethane (50 mL) กวนต่ออีก 16 ชั่วโมง จากนั้นนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำแล้วทำสิ่งที่ได้ให้บริสุทธิ์โดยวิธีตกผลึกหรือ trituration หรือโดยวิธี column chromatography

### 5.4 หมู่ formyl

ค่อย ๆ เติม *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) (11.0 mmol) ใน dichloromethane (40 mL) ลงในสารละลายของ tetrahydroisoquinoline (10.0 mmol) และ formic acid (16.6 mmol) ใน dichloromethane (50 mL) ที่แช่เย็นและกำลังกวนอยู่ เมื่อเติมหมด กวนต่อที่อุณหภูมิห้องอีก 8 ชั่วโมง แช่เย็นสารละลายแล้วกรอง จากนั้นล้าง filtrate ด้วย 10% sodium bicarbonate ( $2 \times 50$  mL), น้ำ (100 mL) ทำชั้น dichloromethane ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำ ทำสิ่งที่ได้ให้บริสุทธิ์โดยวิธีตกผลึกหรือ trituration หรือโดยวิธี column chromatography

## 6 การสร้างวงแหวน C โดยวิธี radical cyclisation

ค่อย ๆ เติมสารละลายของ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) หรือ 1,1'-azobis(cyclohexanecarbonitrile) (20.0 mmol) และ tributyltin hydride (80.0 mmol) ใน toluene (160 mL) ลงในสารละลายของ *N*-acyl-1-benzyltetrahydroisoquinoline (20.0 mmol) ใน toluene (240 mL) ที่กำลัง reflux อยู่ โดยใช้เวลาในการเติมครั้งละ 60 mL จำนวน 4 ครั้งในเวลา 2 ชั่วโมง reflux ต่ออีก 24 ชั่วโมง แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ของหนักสีน้ำตาล เติม acetonitrile (200 mL) ลงไปละลายของหนักแล้วล้างชั้น acetonitrile ด้วย hexane ( $3 \times 200$  mL) ทำชั้น acetonitrile ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำ ทำสิ่งที่ได้ให้บริสุทธิ์โดยวิธีตกผลึกหรือ trituration หรือวิธี column chromatography

*N*-(4-Benzoyloxy-3-methoxyphenethyl)-2-(2-bromo-4,5-dimethoxyphenyl)acetamide (3):

Reflux ของผสมของ 2-bromo-4,5-dimethoxyphenylacetic acid (2) (29.3 g, 0.1 mol), thionyl

chloride (38.0 g) ใน benzene (200 mL) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ acid chloride นำไปละลายใน ethanol-free chloroform (200 mL) แล้วค่อย ๆ เติมสารละลาย acid chloride ลงในของผสมของ 4-benzyloxy-3-methoxyphenethylamine (**1**) (25.0 g, 97.3 mmol) ใน ethanol-free chloroform (200 mL) และ 10% sodium bicarbonate (300 mL) ที่แช่เย็นในอ่างน้ำแข็ง เมื่อเติมหมด กวนต่ออีก 3 ชั่วโมง แยกชั้น chloroform แล้วนำมาล้างด้วย 10% hydrochloric acid (3 × 100 mL), น้ำ (100 mL), 5% sodium bicarbonate (3 × 100 mL) และน้ำ (200 mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ amide (**3**) (37.7 g, 75.6%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 159-160 °C [lit.<sup>6</sup> mp 158-160 °C]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.67 (2H, apparent t, *J*=6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.43 (2H, apparent q, *J*=6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.54 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 3.83 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.84 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.88 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.08 (2H, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.38 (1H, br s, NH), 6.56 (1H, dd, *J*=1.9, 8.1 Hz, Ar-H), 6.63 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Ar-H), 6.71 (1H, d, *J*=8.1 Hz, Ar-H), 6.81(1H, s, Ar-H), 7.01 (1H, s, Ar-H), 7.27-7.44 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 35.00 (t), 40.70 (t), 43.60 (t), 55.84 (q), 55.88 (q), 56.25 (q), 71.12 (t), 111.23 (d), 111.79 (d), 115.42 (s), 116.08 (d), 116.42 (d), 120.57 (d), 126.45 (s), 127.45 (d), 128.11 (d), 128.62 (d), 131.02 (s), 136.35 (s), 147.66 (s), 147.76 (s), 149.03 (s), 149.69 (s), 169.75 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-benzyloxy-6-methoxy-3,4-dihydroisoquinoline (4):** Reflux ของผสมของ amide (**3**) (30.0 g, 58.5 mmol), phosphorus oxychloride (90.0 g) ใน benzene (300 mL) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ของหนืดสีน้ำตาล เติมน้ำแข็ง (100 g), concentrated ammonium hydroxide (40 mL) และ chloroform (200 mL) เขย่าจนของหนืดละลายในชั้น chloroform หมด ทำชั้นน้ำให้เป็นเบส ด้วย concentrated ammonium hydroxide แยกชั้น chloroform มาทำให้แห้งด้วย anhydrous sodium carbonate นำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำ ได้ **4** เป็นของหนืดสีน้ำตาล พบว่า **4** ไม่เสถียร จึงนำไปทำปฏิกิริยาต่อทันที. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.52 (2H, t, *J*=7.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.65 (2H, t, *J*=7.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.80 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.83 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.07 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 5.02 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.62 (1H, Ar-H), 6.83 (1H, s, Ar-H), 6.90 (1H, s, Ar-H), 7.04 (1H, s, Ar-H), 7.23-7.29 (5H, m, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR (both conformers) δ: 25.06 (t), 25.65 (t), 41.73 (t), 46.84 (t), 48.11 (t), 55.94 (q), 55.99 (q), 56.11 (q), 56.18 (q), 56.20 (q), 56.38 (q), 70.92 (t), 71.15 (t), 109.31 (d), 110.06 (d), 110.14 (d), 110.30 (d), 114.83 (d), 115.74 (d), 116.09 (d), 116.32 (d), 127.12 (d), 127.53 (d), 127.78 (d), 128.17 (d), 128.43 (d), 128.64 (d),

129.16 (s), 131.27 (s), 131.46 (s), 131.59 (s), 136.15 (s), 136.63 (s), 144.45 (s), 147.53 (s), 147.66 (s), 148.98 (s), 150.98 (s), 151.53 (s), 164.24 (s), 165.95 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-benzyloxy-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (5):**

ค่อย ๆ เติม sodium borohydride (4.0 g) ลงไป ในสารละลายของ **4** (30.0 g, 60.6 mmol) ใน ethanol (300 mL) จนหมด แล้วกวนต่ออีก 1 ชั่วโมงต้มให้เดือด 30 นาที ตั้งทิ้งให้เย็น เติมน้ำ (200 mL), chloroform (200 mL) เขย่า และแยกชั้น chloroform มาทำให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate นำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **5** (20.7 g, 71.1%), เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 115-116 °C [lit.<sup>6</sup> mp 120-120.5 °C]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.70 (2H, t, *J*=5.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.77-2.85 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 3.07-3.15 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 3.25 (1H, dd, *J*=3.6, 13.8 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.83 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.85 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.88 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.13 (1H, dd, *J*=3.4, 9.9 Hz, H-1), 5.10 (1H, d, *J*=12.7 Hz, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.15 (1H, d, *J*=12.7 Hz, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.58 (1H, s, Ar-H), 6.72 (1H, s, Ar-H), 6.77 (1H, s, Ar-H), 7.08 (1H, s, Ar-H), 7.27-7.34 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 29.40 (t), 40.13 (t), 42.40 (t), 55.18 (d), 55.85 (q), 55.96 (q), 56.28 (q), 71.15 (t), 109.63 (d), 111.72 (d), 115.35 (s), 116.28 (d), 117.30 (d), 127.22 (s), 127.31 (d), 127.98 (d), 128.59 (d), 130.43 (s), 130.50 (s), 136.70 (s), 147.11 (s), 147.42 (s), 149.05 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-hydroxy-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (7):**

Reflux สารละลายของ **5** (5.0 g, 0.01 mol) ใน ethanol (250 mL) และ concentrated hydrochloric acid (250 mL) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็น แล้วทำชั้นกรดให้เป็นเบสด้วย concentrated ammonium hydroxide เกิดตะกอนสีขาว กรองแล้วผึ่งให้แห้งได้ **7** (2.5 g, 61.1%), mp 188-190 °C [lit.<sup>7</sup> mp 178-180 °C]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.70-3.05 (4H, m, CH<sub>2</sub> × 2), 3.22-3.28 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 3.80 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.85 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.86 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.28 (1H, dd, *J*=2.4, 10.0 Hz, H-1), 6.60 (1H, s, Ar-H), 6.79 (1H, s, Ar-H), 6.92 (1H, s, Ar-H), 6.95 (1H, s, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 28.66 (t), 40.01 (t), 41.98 (t), 55.28 (d), 55.88 (q), 55.99 (q), 56.19 (q), 109.60 (d), 111.70 (d), 113.17 (s), 115.11 (d), 118.11 (d), 126.65 (s), 129.33 (s), 130.45 (s), 145.30 (s), 146.55 (s), 147.37 (s), 147.82 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-2-carbomethoxy-7-benzyloxy-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (6a):**

ค่อย ๆ เติม methyl chloroformate (32.5 g) ลงในของผสมของ tetrahydroisoquinoline (**5**) (29.2 g, 58.6 mmol), triethylamine (35.0 g) ใน ethanol-free chloroform (300 mL)

ที่ 0-10 °C แล้วกวนต่ออีก 5 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำ (300 mL), chloroform (100 mL) แยกชั้น chloroform มาล้างด้วย 10% hydrochloric acid (6 × 300 mL), น้ำ (100 mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **6a** (17.5 g, 53.7%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 125-126 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.51-3.33 (5H, m, CH<sub>2</sub> of both conformers), 3.34 และ 3.65 (total 3H, 2 s, COO-CH<sub>3</sub>), 3.74, 3.76, 3.83, 3.84, 3.85 และ 3.87 (total 9H, 6 s, O-CH<sub>3</sub> × 3), 4.21-4.31 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 4.97 (1H, AB q, *J*=12.6 Hz, Ph-CH<sub>2</sub> of one conformer), 5.09 (1H, s, Ph-CH<sub>2</sub> of another conformer), 5.15-5.33 (1H, m, H-1), 6.40, 6.42, 6.52, 6.59, 6.62, 6.65, 6.96 และ 7.02 (total 4H, 8 s, Ar-H × 4), 7.25-7.47 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR (both conformers) δ: 28.15 (t), 37.55 (t), 38.83 (t), 41.16 (t), 42.07 (t), 52.28 (q), 52.61 (q), 54.22 (d), 54.79 (d), 56.04 (q), 56.12 (q), 56.24 (q), 71.22 (t), 71.35 (t), 111.60 (d), 111.84 (d), 113.07 (d), 113.25 (d), 113.79 (d), 114.10 (d), 115.13 (d), 115.28 (d), 126.95 (s), 127.05 (s), 127.14 (s), 127.26 (d), 127.89 (d), 128.01 (s), 128.07 (s), 128.60 (d), 129.66 (s), 129.86 (s), 137.13 (s), 146.35 (s), 146.47 (s), 148.03 (s), 148.10 (s), 148.27 (s), 148.50 (s), 148.60 (s), 155.93 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-benzoyloxy-6-methoxy-2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (6b):** ค่อย ๆ เติม trifluoroacetic anhydride (12.6 g) ลงในของผสมของ tetrahydroisoquinoline (**5**) (5.0 g, 10.0 mmol) และ triethylamine (10.0 g) ใน ethanol-free chloroform (50 mL) ที่ 0-10 °C กวนต่ออีก 5 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง แยกชั้น chloroform มาล้างด้วย 10% sodium bicarbonate (5 × 50 mL), น้ำ (100 mL), 10% hydrochloric acid (8 × 50 mL) และน้ำ (100 mL) แล้วทำให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate นำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **6b** (3.6 g, 60.4%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 137-138 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.67-2.78 (1H, m, H-4 of both conformers), 2.85-2.93 (1H, m, H-4 of both conformers), 2.98 (1H, dd, *J*=8.2, 14.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.26 (1H, dd, *J*=5.6, 14.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.56-3.69 (1H, m, H-3β), 3.74 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.83 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.93-4.05 (1H, m, H-3α), 4.97-5.09 (2H, m, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.63 (1H, dd, *J*=5.8, 7.9 Hz, H-1), 6.34, 6.42, 8.51, 6.54, 6.61, 6.68, 6.98 และ 6.99 (total 4H, 8 s, Ar-H × 4), 7.27-7.44 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR (both conformers) δ: 28.74 (t), 40.09 (t), 40.92 (t), 54.02 (d), 55.88 (q), 55.95 (q), 56.07 (q), 56.18 (q), 71.27 (t), 110.06 (s), 111.50 (d), 113.07 (d), 113.58 (d), 115.34 (d), 118.38 (s), 125.56 (s), 126.51 (s), 127.19 (d), 127.99 (d), 128.39 (s), 128.62 (d), 136.90 (s), 146.86 (s), 148.22 (s), 148.59 (s), 148.97 (s), 155.81 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-benzyloxy-6-methoxy-2-*tert*-butyloxycarbonyl-1,2,3,4-**

**tetrahydroisoquinoline (6c):** ค่อย ๆ หยดสารละลาย triethylamine (0.6 g) ใน dichloromethane (10 mL) ลงในสารละลาย tetrahydroisoquinoline (**5**) (2.0 g, 4.0 mmol), di-*tert* butyl dicarbonate (0.12 g) ใน dichloromethane (50 mL) กวน 16 ชั่วโมง นำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **6c** (1.5 g, 62.2%) เป็นผลึกสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 129-130 °C. <sup>1</sup>H-NMR (both conformers) δ: 1.41 (9H, s, CH<sub>3</sub> × 3), 2.50-2.67 (1H, m, H-4), 2.70-2.96 (2H, m, H-α และ H-4), 3.05 (1H, dd, *J*=3.5, 13.8 Hz H-α), 3.10-3.46 (1H, m, H-3β), 3.77, 3.79, 3.82, 3.85 และ 3.88 (total 10 H, O-CH<sub>3</sub> × 3 และ H-3α), 4.34 (1H, dd, *J*=4.0, 13.2 Hz, H-1), 5.01 (1H, AB q, *J*=12.5 Hz, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.14 (1H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.48, 6.50, 6.59, 6.64, 6.77, 6.97 และ 7.03 (total 4H, 8 s, Ar-H × 4), 7.26-7.48 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR (both conformers) δ: 27.96 (q), 28.39 (q), 36.32(t), 38.77 (t), 41.24 (t), 42.04 (t), 53.75 (d), 54.16 (d), 56.91 (q), 56.05 (q), 56.18 (q), 56.33 (q), 71.24 (t), 71.39 (t), 111.63(d), 111.92 (d), 113.09 (d), 113.27 (d), 113.70 (d), 114.30 (d), 114.97 (s), 115.19 (d), 115.43 (d), 127.13 (d), 127.23 (s), 127.31 (d), 127.88 (d), 128.58 (d), 128.76 (s), 130.37 (s), 133.50 (s), 137.15 (s), 146.49 (s), 148.34 (s), 148.48 (d), 148.55 (s), 154.24 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-benzyloxy-2-formyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (6d):**

ค่อย ๆ เติม *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (2.3 g) ใน dichloromethane (40 mL) ลงในสารละลายของ tetrahydroisoquinoline (**5**) (5.0 g, 10.0 mmol) และ formic acid (0.5 g) ใน dichloromethane (50 mL) ที่แช่เย็นและกำลังกวนอยู่ เมื่อเติมหมด กวนต่อที่อุณหภูมิห้องอีก 8 ชั่วโมง แช่เย็นสารละลายแล้วกรองจากนั้นระเหย filtrate ภายใต้ความดันต่ำ ทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี alumina column chromatography ใช้ dichloromethane เป็นตัวชะให้ **5** เป็นผลึกสีเหลืองอ่อน (4.2 g, 79.5%), mp 72-73 °C. <sup>1</sup>H-NMR (both conformers) δ: 2.64-2.77 (1H, m, H-4), 2.77-3.04 (2H, m, H-4 และ H-α), 3.05-3.13 (1H, m, H-α), 3.14-3.18 (1H, m, H-3β), 3.73, 3.79, 3.83, 3.86 และ 3.89 (total 9H, 5 s, O-CH<sub>3</sub> × 3), 4.48-4.57 (1H, m, H-3α), 4.60 (1H, dd, *J*=3.0, 9.8 Hz, H-1), 5.00 (1H, apparent q, *J*=13.0 Hz, Ph-CH<sub>2</sub> of one conformer), 5.14 (1H, s, Ph-CH<sub>2</sub> of another conformer), 6.43, 6.45, 6.56, 6.58, 6.65, 6.77, 6.96 และ 7.04 (total 4H, 8 s, Ar-H × 4), 7.28-7.48 (5H, m, Ph-H), 7.54 และ 8.07 (total 1H, 2 s, CHO). <sup>13</sup>C-NMR (both conformers) δ: 27.83 (t), 29.16 (t), 34.18 (t), 42.93 (t), 50.84 (d), 55.93 (q), 56.04 (q), 56.17 (q), 56.25 (q), 56.81(d), 71.13 (t), 71.44 (t), 111.80 (d), 111.96 (d), 112.94 (d), 113.11 (d), 113.85 (d), 114.44 (s), 114.53 (d), 115.21 (d), 115.68 (d),

125.90 (s), 126.68 (s), 127.15 (d), 127.24 (d), 127.96 (d), 128.60 (d), 128.14 (d), 136.96 (s), 137.02 (s), 146.64 (s), 146.71 (s), 148.53 (s), 148.87 (s), 149.02 (s), 160.30 (s), 161.43 (s)

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-2-carbomethoxy-7-hydroxy-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahy-**

**droisoquinoline (6e):** Reflux สารละลายของ **6a** (10.0 g) ใน ethanol (500 mL) และ concentrated hydrochloric acid (500 mL) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็น แล้วสกัดด้วย chloroform (3 × 100 mL) ทำชั้น chloroform ทำให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **6** (4.8 g, 57.8 %) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 152-153 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.50-3.30 (5H, m, CH<sub>2</sub> of both conformers), 3.29 และ 3.59 (total 3H, 2 s, COO-CH<sub>3</sub>), 3.73, 3.77, 3.84 และ 3.85 (total 9H, 4 s, O-CH<sub>3</sub> × 2), 4.16-4.26 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 5.20-5.37 (1H, m, H-1), 6.52, 6.56, 6.58, 6.60, 6.67, 6.98 และ 7.04 (total 4H, 8 s, Ar-H × 4). <sup>13</sup>C-NMR (both conformers) δ: 28.01 (t), 37.59 (t), 38.56 (t), 41.26 (t), 42.01 (t), 52.07 (q), 52.43 (q), 54.00 (q), 54.25 (q), 55.90 (q), 56.01 (q), 56.05 (d), 56.22 (d), 111.44 (d), 111.57 (d), 113.61 (d), 113.86 (d), 114.01 (d), 114.33 (d), 114.78 (s), 115.22 (d), 115.32 (d), 124.89 (s), 128.55 (s), 129.90 (s), 144.86 (s), 146.62 (s), 147.98 (s), 148.16 (s), 155.74 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-hydroxy-6-methoxy-2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-tetrahy-**

**droisoquinoline (6f):** ค่อย ๆ เติม trifluoroacetic anhydride (7.0 g) ลงในของผสมของ tetrahydroisoquinoline (**7**) (2.7 g, 6.6 mmol) และ triethylamine (5.6 g) ใน ethanol-free chloroform (30 mL) ที่ 0-10 °C กวนต่อ 5 ชั่วโมง เติม 2N hydrochloric acid (18 mL) และ methanol (20 mL) กวนต่ออีก 2 ชั่วโมง แยกชั้น chloroform มาทำให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **6f** (1.4 g, 41.9%), เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 201-203 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.66-2.76 (total 1H, m, H-4), 2.85-3.00 (total 1H, m, H-4), 3.06 (1H, dd, *J*=8.9, 14.2 Hz, H-α), 3.39 (1H, dd, *J*=4.8, 14.2 Hz, H-α), 3.57-3.69 (total 1H, m, H-3), 3.76 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.85 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.95-4.50 (total 1H, m, H-3), 5.75 (1H, dd, *J*=4.8, 8.9 Hz, H-1), 6.46 และ 6.56 (total 1H, 2 s, Ar-H), 6.57 และ 6.60 (total 1H, 2 s, Ar-H), 6.67 และ 6.78 (total 1H, 2 s, Ar-H), 6.99 และ 7.01 (total 1H, 2 s, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR (both conformers) δ: 27.35 (t), 28.90 (t), 40.15 (t), 40.20 (t), 41.10 (t), 42.10 (t), 53.90 (d), 55.92 (q), 56.01 (q), 56.05 (q), 110.43 (d), 110.76 (d), 112.62 (d), 113.00 (d), 113.59 (d), 113.67 (d), 114.57

(s), 115.24 (s), 115.38 (d), 115.51 (d), 118.39 (s), 124.40 (s), 127.62 (s), 128.30 (s), 144.51 (s), 145.93 (s), 148.11 (s), 148.56 (s), 155.80 (s)

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-hydroxy-6-methoxy-2-*tert*-butyloxycarbonyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (6g):** ค่อย ๆ หยดสารละลาย triethylamine (0.6 g) ใน dichloromethane (10 mL) ลงในสารละลายของ tetrahydroisoquinoline (7) (2.0 g, 4.0 mmol) และ di-*tert* butyl dicarbonate (0.12 g) ใน dichloromethane (50 mL) กวน 16 ชั่วโมง เติม methanol (20 mL) และ 2N sodium hydroxide (5 mL) กวนต่ออีก 3 ชั่วโมง นำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำ แล้วเติมน้ำ (20 mL) และ chloroform (30 mL) เขย่าแล้วทำชั้นเบสให้เป็นกรดด้วย 2N hydrochloric acid ( $\approx$ 20 mL) แยกชั้น chloroform มาทำให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **6g** (0.5 g, 80.3%) เป็นผลึกสีขาวหลังตกผลึกด้วย benzene-hexane, mp 185-187 °C. <sup>1</sup>H-NMR (both conformers)  $\delta$ : 1.19 (9H, s, CH<sub>3</sub>  $\times$  3), 2.60-2.71 (1H, m, H-4), 2.75-3.00 (2H, m, H- $\alpha$  และ H-4), 3.14 (1H, dd,  $J=3.8, 13.8$  Hz, H- $\alpha$ ), 3.18-3.44 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.72, 3.77, 3.80, 3.85, 3.86 และ 3.88 (9H, 6 s, O-CH<sub>3</sub>  $\times$  3), 4.28-4.48 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 5.20 (1H, dd,  $J=3.8, 10.1$  Hz, H-1), 6.58, 6.62, 6.68, 6.72, 6.74, 6.75, 6.99 และ 7.03 (4H, 8 s, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 28.03 (q), 36.49 (t), 38.51 (t), 41.99 (t), 54.30 (d), 55.92 (q), 55.97 (q), 56.39 (q), 109.95 (d), 111.48 (d), 113.92 (s), 114.89 (d), 117.54 (d), 125.14 (s), 126.62 (s), 128.95 (s), 131.02 (s), 145.01 (s), 146.16 (s), 147.38 (s), 147.87 (s), 154.39 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-hydroxy-2-formyl-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (6h):** ค่อย ๆ เติม *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide (1.9 g) ใน dichloromethane (30 mL) ลงในสารละลายของ tetrahydroisoquinoline (7) (1.7 g, 4.2 mmol) และ formic acid (0.4 g) ใน dichloromethane (30 mL) ที่แช่เย็นและกำลังกวนอยู่ เมื่อเติมหมด กวนต่อที่อุณหภูมิห้องอีก 8 ชั่วโมง แช่เย็นสารละลายแล้วกรอง เติม 10% sodium hydroxide (50 mL) ลงในชั้น dichloromethane กวนต่ออีก 3 ชั่วโมง ทำชั้นเบสให้เป็นกรดด้วย 10% hydrochloric acid (60 mL) แยกชั้น dichloromethane มาทำให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **6h** (1.2 g, 65.9%) เป็นผลึกสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 155-156 °C. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.67-2.78 (1H, m, H-4), 2.83-2.92 (1H, m, H-4), 2.92-3.30 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 3.14-3.28 (2H, m, H-3 $\beta$ , CH<sub>2</sub>), 3.81 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.46-4.55 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.69 (1H, dd,  $J=3.3, 10.5$  Hz, H-1), 6.49 (1H, s, Ar-H), 6.62 (1H, s, Ar-H), 6.91 (1H, s, Ar-H),

7.05 (1H, s, Ar-H), 7.54 (1H, s, CHO).  $^{13}\text{C-NMR}$  (both conformers)  $\delta$ : 24.95 (t), 25.64 (t), 27.91 (t), 29.34 (t), 33.96 (t), 34.43 (t), 42.91 (t), 56.01 (q), 56.17 (q), 56.27 (q), 56.96 (d), 110.78 (d), 110.91 (d), 112.62 (d), 113.10 (d), 113.89 (d), 114.45 (d), 115.25 (d), 115.75 (d), 125.36 (s), 128.13 (s), 128.64 (s), 144.36 (s), 146.00 (s), 148.57 (s), 148.88 (s), 161.39 (s), 161.58 (s).

**6-Carbomethoxy-1-hydroxy-2,9,10-trimethoxynoraporphine (1a):** ค่อย ๆ เติมสารละลายของ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (0.29 g) และ tributyltin hydride (2.1 g) ใน toluene (40 mL) ลงในสารละลายของ *N*-acyl-1-benzyltetrahydroisoquinoline (**6a**) (1.0 g, 1.8 mmol) ใน toluene (20 mL) ที่กำลัง reflux อยู่ โดยใช้เวลาในการเติมครั้งละ 10 mL จำนวน 4 ครั้งในเวลา 2 ชั่วโมง reflux ต่ออีก 24 ชั่วโมง แล้วนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ของหนืดสีน้ำตาล เติม acetonitrile (30 mL) ลงไปละลายของหนืดแล้วล้างชั้น acetonitrile ด้วย hexane ( $3 \times 20$  mL) ทำชั้น acetonitrile ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำ ทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี silica gel column chromatography ใช้ hexane-ethyl acetate เป็นตัวชะได้ **1a** (71.6 mg, 10.3%) เป็นของแข็งสีขาว และ 16.4% จากสารตั้งต้น **6e**, mp 137-139 °C [lit.<sup>8</sup> mp 123-125 °C].  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.57-3.05 (5H, m,  $\text{CH}_2 \times 2$  และ H-5 $\beta$ ), 3.77 (3H, s,  $\text{COO-CH}_3$ ), 3.90 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.91 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.93 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.35-4.50 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 4.77 (1H, dd,  $J=4.7, 12.9$  Hz, H-6a), 6.23 (1H, s, OH), 6.57 (1H, s, H-3), 6.78 (1H, s, H-8), 8.11 (1H, s, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 30.07 (t), 34.60 (t), 39.18 (d), 51.98 (d), 52.68 (q), 52.82 (q), 55.99 (q), 56.25 (q), 108.91 (d), 111.24 (d), 112.45 (d), 120.14 (s), 124.48 (s), 124.95 (s), 125.49 (s), 129.33 (s), 141.19 (s), 145.75 (s), 147.17 (s), 147.91 (s), 156.01 (s).

**1-Hydroxy-6-trifluoroacetyl-2,9,10-trimethoxynoraporphine (1b):** ในทำนองเดียวกันได้ **1b** เป็นของแข็งสีขาว 10.2% จากสารตั้งต้น **6b** และ 13.6% จากสารตั้งต้น **6f**, mp 196-197 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.68-3.04 (4H, m,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 3.28-3.41 (1H, m, H-5 $\beta$ ), 3.91 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.94 (6H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.17-4.26 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 5.06 (1H, dd,  $J=4.2, 13.8$  Hz, H-6a), 6.23 (1H, s, OH), 6.59 (1H, s, H-3), 6.78 (1H, s, H-8), 8.12 (1H, s, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 30.17 (t), 32.99 (t), 41.46 (t), 52.66 (d), 55.82 (q), 56.00 (q), 56.32 (q), 108.60 (d), 111.33 (d), 112.42 (d), 114.48 (s), 118.29 (s), 120.26 (s), 123.71 (s), 124.05 (s), 128.36 (s), 141.58 (s), 146.05 (s), 147.39 (s), 148.14 (s), 155.91 (s).

**1-Hydroxy-6-tert-butyloxycarbonyl-2,9,10-trimethoxynoraporphine (1c):** ในทำนองเดียวกันได้ **1c** เป็นของแข็งสีขาว 9.5%\* จากสารตั้งต้น **6c** และ 17.0%\* จากสารตั้งต้น **6g**, mp 96-97 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 1.49 (9H, s, CH<sub>3</sub> × 3), 2.59-2.97(5H, m, CH<sub>2</sub> × 2 และ H-5β), 3.66 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.90 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.92 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.41 (1H, br d, *J*=9.3 Hz, H-5α), 4.63 (1H, dd, *J*=3.5, 13.3 Hz, H-6a), 5.72 (1H, s, OH), 6.63 (1H, s, H-3), 6.82 (1H, s, H-8), 8.13 (1H, s, H-11). <sup>13</sup>C-NMR δ: 28.57 (q), 30.45 (t), 34.76 (t), 38.44 (t), 51.88 (d), 55.89 (q), 56.02 (q), 59.95 (q), 110.47 (d), 111.28 (d), 123.68 (s), 125.90 (s), 128.69 (d), 129.87 (s), 130.14 (s), 130.25 (s), 130.85 (s), 137.35 (s), 144.58 (s), 145.18 (s), 148.15 (s).

\*แยกไม่ออก(ผลผลิตไม่แน่นอนเนื่องจากไม่สามารถแยกสารบริสุทธิ์จากการทำ column chromatography โดยใช้ silica gel ชะ column ด้วยระบบ hexane-ethyl acetate)

**1-Hydroxy-6-formyl-2,9,10-trimethoxynoraporphine (1d):** ในทำนองเดียวกันได้ **1d** เป็นของแข็งสีขาว 10.2% จากสารตั้งต้น **6d** และ 13.8% จากสารตั้งต้น **6h**, mp 121-122 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.66-3.11 (4H, m, CH<sub>2</sub> × 2), 3.11-3.19, 3.35-3.46 (total 1H, 2 m, H-5), 3.78-3.86 และ 4.41-4.49 (total 1H, 2 m, H-5), 3.91 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.93 (6H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.53 และ 4.97 (total 1H, 2 dd, *J*=4.2, 13.8 Hz, H-6a), 6.21 (1H, s, OH), 6.57 และ 6.60 (total 1H, 2 s, H-3), 6.77 และ 6.80 (total 1H, 2 s, H-8), 8.10 (1H, s, H-11), 8.26 และ 8.40 (total 1H, 2 s, CHO). <sup>13</sup>C-NMR δ: 30.81 (t), 33.55 (t), 42.33 (t), 49.82 (d), 55.82 (q), 56.00 (q), 56.32 (q), 108.82 (d), 111.43 (d), 112.37 (d), 123.92 (s), 124.20 (s), 124.71 (s), 128.35 (d), 128.78 (s), 141.51 (s), 145.98 (s), 147.24 (s), 148.02 (s), 162.18 (s).

การสังเคราะห์สารตั้งต้น **8d** (จาก **8a-8c**)

**1-(3-Benzyloxy-2-bromo-4-hydroxyphenyl)-N-(4-benzyloxy-3-methoxyphenethyl)acetamide (8a):** เตรียมโดยวิธี acid chloride โดยใช้ 3-benzyloxy-2-bromo-4-methoxyphenylacetic acid (10.0 g, 28.6 mmol) และ 4-benzyloxy-3-methoxyphenethylamine (7.3 g, 28.4 mmol) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **8a** (14.2 g, 84.5%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 122-124 °C [lit.<sup>10</sup> mp 125 °C]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.66 (2H, apparent t, *J*=6.8 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.44 (2H, apparent q, *J*=6.8 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.63 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 3.83 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.86 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.01 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 5.08 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 5.40 (1H, br s, NH), 6.51 (1H, dd, *J*=1.9, 8.1 Hz, Ar-H), 6.65 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Ar-H), 6.73 (1H, d, *J*=8.1 Hz, Ar-H), 6.82 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Ar-H), 6.98 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Ar-H),

7.27-7.41 (8H, m, Ar-H), 7.54 (2H, dd,  $J=1.6, 7.7$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 35.06 (t), 40.72 (t), 43.71 (t), 56.00 (q), 56.13 (q), 71.06 (t), 74.57 (t), 111.58 (d), 112.34 (d), 114.21 (d), 120.67 (d), 121.17 (s), 126.50 (d), 127.26 (d), 127.58 (s), 127.77 (d), 128.15 (d), 128.35 (d), 128.47 (d), 128.50 (d), 131.70 (s), 137.02 (s), 137.28 (s), 146.81 (s), 149.74 (s), 153.07 (s), 170.01 (s).

**1-(3-Benzyloxy-2-bromo-4-methoxybenzyl)-7-benzyloxy-6-methoxy-3,4-dihydroisoquinoline (8b):** เตรียมโดยปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ได้ **8b** เป็นของหนืดสีน้ำตาลในปริมาณผลผลิตเกือบ 100% และพบว่าไม่เสถียร จึงนำไปทำปฏิกิริยาต่อทันที  $^1\text{H-NMR}$  (both conformers)  $\delta$ : 2.67 (2H, t,  $J=7.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.67 (2H, t,  $J=7.1$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.80 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.85 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.06 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ), 4.98 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 4.99 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 6.64 และ 6.65 (total 1H, 2 s, Ar-H), 6.72 (0.4H, d,  $J=3.4$  Hz, Ar-H of one conformer), 6.78 (0.6H, d,  $J=8.6$  Hz, Ar-H of another conformer), 6.93 (0.6H, d,  $J=8.6$  Hz, Ar-H of one conformer), 6.98 (0.4H, d,  $J=3.4$  Hz, Ar-H of another conformer), 7.16 และ 7.18 (total 1H, 2 s, Ar-H), 7.20-7.56 (total 10H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (both conformers)  $\delta$ : 25.21 (t), 41.26 (t), 41.34 (t), 46.31 (t), 46.48 (t), 55.48 (q), 55.42 (q), 70.61 (t), 70.75 (t), 73.87 (t), 109.70 (d), 110.01 (d), 110.36 (d), 110.42 (d), 111.03 (d), 111.64 (d), 111.73 (d), 112.74 (d), 119.24 (d), 120.03 (s), 120.79 (s), 124.64 (d), 127.00 (d), 127.03 (d), 127.38 (d), 127.45 (d), 127.56 (d), 127.82 (d), 127.86 (d), 127.98 (d), 128.02 (d), 129.54 (s), 129.82 (s), 131.74 (s), 131.78 (s), 136.25 (s), 136.75 (s), 143.74 (s), 144.63 (s), 145.82 (s), 145.87 (s), 146.20 (s), 151.25 (s), 151.72 (s), 164.71 (s), 165.14 (s).

**1-(3-Benzyloxy-2-bromo-4-methoxybenzyl)-7-benzyloxy-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8c):** เตรียมโดยใช้ sodium borohydride ได้ **8c** (89.3%) เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อนหลังทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี alumina column chromatography โดยใช้ dichloromethane เป็นตัวชะ  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.57-2.82 (4H, m,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 3.02-3.10 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.68 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.71 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.98 (1H, dd,  $J=2.8, 9.9$  Hz, H-1), 4.92 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 4.99 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 6.47 (1H, s, Ar-H), 6.67 (1H, s, Ar-H), 6.68 (1H, d,  $J=8.3$  Hz, Ar-H), 6.81 (1H, d,  $J=8.3$  Hz, Ar-H), 7.10-7.46 (10H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 28.34 (t), 38.65 (t), 41.55 (t), 53.64 (d), 54.87 (q), 55.02 (q), 70.22 (t), 73.44 (t), 111.13 (d), 111.14 (d), 111.86 (d), 119.83 (s), 125.55 (d), 126.23 (d), 126.70 (d), 126.72 (s), 126.97 (d), 127.22 (d), 127.35 (d), 127.46 (d), 129.45 (s), 130.54 (s), 136.17 (s), 136.29 (s), 144.41 (s), 145.04 (s), 147.12 (s), 151.36 (s).

**1-(3-Benzyloxy-2-bromo-4-methoxybenzyl)-7-benzyloxy-2-trifluoroacetyl-6-methoxy 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8d):** เตรียมโดยใช้ trifluoroacetic anhydride (6.6 g), **8c** (3.0 g, 5.2 mmol) และ triethylamine (3.2 g) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **8d** (8.5 g, 70.2%) เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อน หลังทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี alumina column chromatography โดยใช้ benzene เป็นตัวชะ <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.64-3.32 (5H, m, CH<sub>2</sub>), 3.54-3.70 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 3.74 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.81 (3.81, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.98 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.02 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.67 (1H, dd, *J*=5.0, 8.8 Hz, H-1), 6.57 และ 6.59 (total 1H, 2 s, Ar-H), 6.72 และ 6.73 (total 1H, 2 s, Ar-H), 7.20-7.43 (10H, m, Ph-H), 7.52-7.60 (2H, m, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 28.84 (t), 39.99 (t), 41.11 (t), 53.78 (d), 56.02 (q), 56.03 (q), 71.26 (t), 74.60 (t), 110.98 (d), 111.43 (d), 113.10 (d), 121.53 (s), 125.52 (s), 126.22 (d), 126.75 (s), 127.29 (d), 128.00 (d), 128.31 (d), 128.49 (d), 128.66 (d), 129.50 (s), 137.00 (s), 137.33 (s), 145.37 (s), 146.80 (s), 148.94 (s), 152.91 (s), 155.36 (s), 155.83 (s).

**ความพยายามในการสังเคราะห์ aporphine alkaloid จากสารตั้งต้น 8d:** เตรียมโดยใช้ **8d** (2.9 g, 4.3 mmol), 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (0.7 g) และ tributyltin hydride (5.1 g) ทำ workup โดยวิธีปกติ พบว่าได้ 1-(3-Benzyloxy-4-methoxybenzyl)-7-benzyloxy-2-trifluoroacetyl-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (**9**) (hydrogenolysis product) (2.0 g, 76.3%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol เพียงสารเดียว mp 135-136 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.56-3.00 (4H, m, CH<sub>2</sub> × 2), 3.32-3.56 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 3.63-3.88 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 3.81 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.88 (3H, m, O-CH<sub>3</sub>), 4.85-4.99 (4H, m, Ph-CH<sub>2</sub> × 2), 5.48 (1H, apparent t, *J*=7.2 Hz, H-6a), 6.33 (1H, s, Ar-H), 6.50 (1H, s, Ar-H), 6.80 (1H, d, *J*=8.4 Hz, Ar-H), 6.89 (1H, d, *J*=8.4 Hz, Ar-H), 7.20-7.62 (11H, m, Ph-H × 2 และ Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 28.54 (t), 38.93 (t), 39.85 (t), 55.14 (d), 56.02 (q), 56.10 (q), 69.51 (t), 71.05 (t), 110.94 (d), 111.42 (d), 112.75 (d), 118.34 (s), 125.00 (d), 125.23 (d), 125.42 (s), 125.72 (s), 125.77 (d), 126.78 (s), 127.23 (d), 127.31 (d), 127.79 (d), 128.00 (d), 128.61 (d), 130.34 (s), 134.41 (s), 136.78 (s), 145.84 (s), 146.63 (s), 148.08 (s), 148.80 (s).

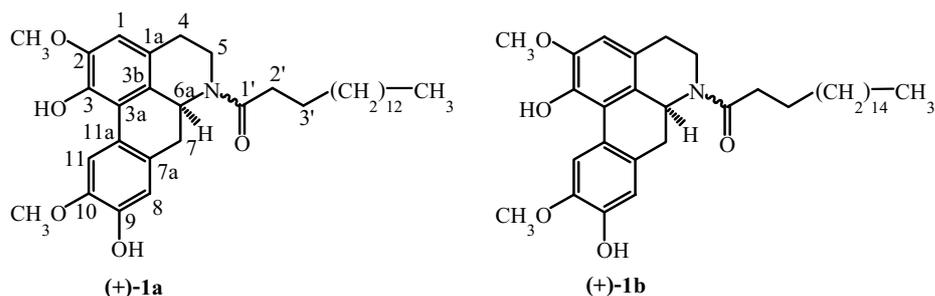
## บรรณานุกรม

1. Estevez J. C., Villaverde M. C., Estevez R J., Castedo L., *Tetrahedron*, **50**, 2107-2114 (1994).
2. Nimgirawath S., Podoy P., *Aust. J. Chem.*, **53**, 527-529 (2000).
3. Nimgirawath S. *Songklanakarín J. Sci. Techol.*, **28**, 1209-1215 (2006).
4. Nimgirawath S., Lorpitthaya R., Wanbanjob A., Taechowisan T., Shen Y-M., *Molecules*, **14**, 89-101 (2009).
5. Nimgirawath S., Chaturonrugsamee S., *J. Chin. Chem. Soc.*, **53**, 443-447 (2006).
6. Nimgirawath S., Laosriratana J., Lorpitthaya R., *Songklanakarín J. Sci. Techol.*, **28**, 1217-1226 (2006).
7. Spangler R. J., Boop D. C., Kim J. H., *J. Org. Chem.*, **39**, 1368-1374 (1974).
8. Gupta S., Bhakuni D. S., *Synthetic Communications*, **18**, 2251-2258 (1988).
9. Barolo S. M., Teng X., Cuny G. D., Rossi R., *J. Org. Chem.*, **71**, 8493-8499 (2006).
10. Kametani T., Fukumoto K., Shibuya S., Nemoto H., Nakano T., Sugahara T., Takahashi T., Aizawa Y., Toriyama M., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **12**, 1435-1441 (1972).

### บทที่ 3

#### การสังเคราะห์และฤทธิ์ทางชีวภาพของ (±)-Laurelliptinhexadecan-1-one และ (±)- Laurelliptinoctadecan-1-one

ปกติแล้ว amidic aporphine alkaloids มักมีหมู่แทนที่บน nitrogen เป็น acetyl, formyl และ methoxycarbonyl<sup>1</sup> แต่ (+)-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) และ (+)-laurelliptinoctadecan-1-one (**1b**) เป็น alkaloid เพียง 2 ตัวที่มีหมู่ palmitoyl และ stearoyl ติดอยู่ที่ nitrogen ในโครงสร้างของ aporphine<sup>2</sup>



รูปที่ 1 โครงสร้างของ (+)-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) และ (+)-laurelliptinoctadecan-1-one (**1b**)

alkaloid ทั้ง 2 ตัวนี้พบใน *Cocculus orbiculatus* (Menispermaceae) ในรูปของผสม ซึ่งไม่สามารถแยกออกจากกันได้ จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสเปกโทรสโกปี สามารถเสนอโครงสร้าง **1a** และ **1b** ให้แก่ (+)-laurelliptinhexadecan-1-one และ (+)-laurelliptinoctadecan-1-one ตามลำดับ พบว่าสารผสม **1a** และ **1b** ออกฤทธิ์ต่อ hepatoma cell line HepG2 และ breast cancer cell line MDA-MB-231 ในระดับต่ำ แต่ยังไม่มีการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพ

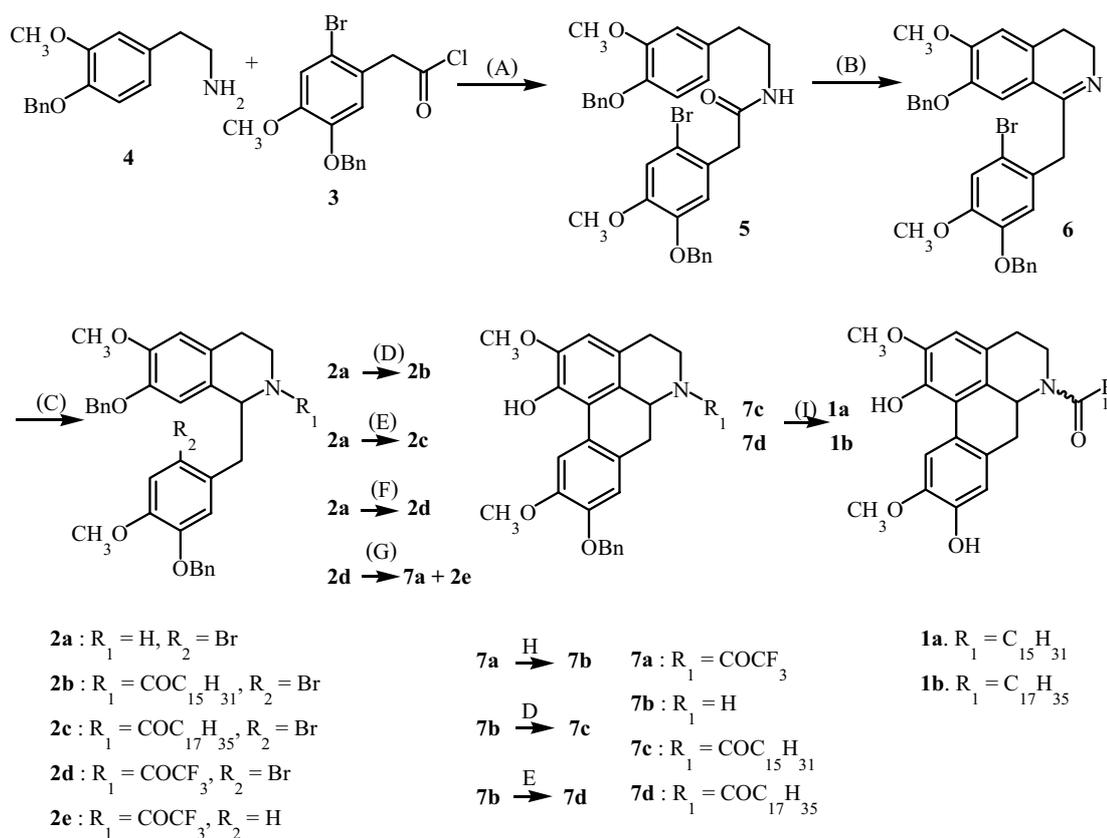
ด้วยเหตุที่ (+)-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) และ (+)-laurelliptinoctadecan-1-one (**1b**) อยู่ในรูปของผสมซึ่งไม่สามารถแยกออกจากกันได้ การสังเคราะห์ alkaloid บริสุทธิ์ทั้ง 2 ตัวนี้เพื่อพิสูจน์โครงสร้าง และเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ จึงมีความน่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง

### ผลการทดลอง

การสังเคราะห์ (±)-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) และ (±)-laurelliptinoctadecan-1-one (**1b**) ใช้ปฏิกิริยาการสร้างวงแหวน C ของวง aporphine โดยวิธี radical cyclisation<sup>3</sup> เริ่มจากการปิดวงแหวนใน **2b** และ **2c** ซึ่งสามารถนำไปสู่ (±)-**1a** และ (±)-**1b** หลังจากการตัดหมู่ benzyl ออก ดังนั้นเมื่อนำ 5-benzyloxy-2-bromo-4-methoxyphenylacetyl chloride (**3**)<sup>4</sup> มาทำปฏิกิริยากับ 4-benzyloxy-3-methoxyphenethylamine (**4**) ให้ amide (**5**) ซึ่งเปลี่ยนเป็น **6** ได้โดยปฏิกิริยา Bischler-Napieralski, reduction ของ **6** ด้วย sodium borohydride ให้ **2a** ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับ palmitoyl chloride และ stearoyl chloride ให้ **2b** และ **2c** ตามลำดับ อย่างไรก็ตามอย่างไรก็ดีพบว่า การปิดวงแหวน C ของ **2b** และ **2c** โดยปฏิกิริยา radical cyclisation ไม่ประสบความสำเร็จ ดังนั้นจึงนำ isoquinoline (**2a**) มาทำปฏิกิริยากับ trifluoroacetic anhydride ให้ **2d** ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับ tributyltin hydride และ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) ให้ noraporphine (**7a**) ในปริมาณผลผลิต 22.7% และ hydrogenolysis product (**2e**) ในปริมาณผลผลิต 29.1% เนื่องจากความแออัดในบริเวณที่มีการสร้างวงแหวน C พบว่ามีการเสียหมู่ benzyl บนออกซิเจนที่ตำแหน่ง C-1 โครงสร้าง **7a** แสดงสัญญาณใน <sup>1</sup>H-NMR เป็น singlet ที่ δ<sub>H</sub> 8.14 ซึ่งเป็นสัญญาณของ H-11 ในโครงสร้าง aporphine เมื่อตัดหมู่ trifluoroacetyl ออกโดยใช้สารละลาย potassium carbonate ให้ **7b** ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับ palmitoyl chloride และ stearoyl chloride ให้ (±)-9-benzyllaurelliptinhexadecan-1-one (**7c**) และ (±)-9-benzyllaurelliptinoctadecan-1-one (**7d**) ตามลำดับ การทำปฏิกิริยา hydrogenolysis ของ **7c** และ **7d** ให้ (±)-**1a** และ (±)-**1b** และพบว่าทั้ง (±)-**1a** และ (±)-**1b** ปรากฏในลักษณะของ Z และ E conformers ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูล <sup>1</sup>H-NMR ของสารธรรมชาติ (+)-**1a** และ (+)-**1b** (ตาราง 1 และ 3) อย่างไรก็ตามข้อมูล <sup>13</sup>C-NMR ของ (±)-**1a** และ (±)-**1b** ที่ได้จากการสังเคราะห์มีความแตกต่างในบางตำแหน่งใน <sup>13</sup>C-NMR ของ (+)-**1a** และ (+)-**1b** (ตาราง 2 และ 4) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากข้อมูลที่ได้จากการระบุตำแหน่งของคาร์บอนกระทำใน <sup>13</sup>C-NMR spectrum ของสารผสมจึงมีความชัดเจนต่ำ อย่างไรก็ตามพอสรุปได้ว่าโครงสร้างของ (+)-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) และ (+)-laurelliptinoctadecan-1-one (**1b**) ถูกต้องตามที่รายงานไว้ก่อนหน้านี้

ฤทธิ์ทางชีวภาพของ (±)-Laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) และ (±)-laurelliptinooctadecan-1-one (**1b**)

(±)-Laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) และ (±)-laurelliptinooctadecan-1-one (**1b**) ที่ความเข้มข้น 256  $\mu\text{g/mL}$  ไม่ออกฤทธิ์ต่อ *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Escherichia coli* ATCC10536 และ *Candida albicans* ATCC90028



Reaction conditions: (A) 10%  $\text{NaHCO}_3$ / chloroform; (B)  $\text{POCl}_3$ / benzene; (C)  $\text{NaBH}_4$ / ethanol; (D) palmitoyl chloride, 10%  $\text{NaHCO}_3$ / chloroform; (E) stearoyl chloride, 10%  $\text{NaHCO}_3$ / chloroform; (F)  $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ / chloroform; (G)  $\text{Bu}_3\text{SnH}$ , AIBN/ dry toluene; (H)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ / methanol-water; (I)  $\text{H}_2$ , Pd/C / ethanol.

แผนภาพ 1 การสังเคราะห์ (±)-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) และ (±)-laurelliptinooctadecan-1-one (**1b**)

ตาราง 1 การเปรียบเทียบข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectrum ระหว่าง (+)-laurelliptinhexadecan-1-one (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) และ ( $\pm$ )-laurelliptinhexadecan-1-one (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

	(+)-laurelliptinhexadecan -1-one <b>Z-form</b>	( $\pm$ )-laurelliptinhexadecan -1-one <b>Z-form</b>	(+)-laurelliptinhexadecan -1-one <b>E-form</b>	( $\pm$ )-laurelliptinhexadecan -1-one <b>E-form</b>
position	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$
Aporphine moiety				
1	6.55 (s)	6.56 (s)	6.59 (s)	6.60 (s)
1a				
2				
3				
3a				
3b				
4	2.66/2.83 (m)	2.52-2.91 (m)	2.66/2.83 (m)	2.52-2.91 (m)
5	3.23 (pseudo ax., br t, 12.0)	3.24 (pseudo ax., br t, 12.1)	2.75 (pseudo ax., br t, 12.0)	2.75-2.82 (pseudo ax., m)
	4.02 (pseudo eq., br d, 12.0)	4.00 (pseudo eq., br d, 12.1)	4.95 (pseudo eq., br d, 12.0)	4.96 (pseudo eq., br d, 8.0)
6a	5.11 (br d, 12.5)	5.12 (br d, 10.5)	4.60 (br d, 12.5)	4.61 (br d, 12.1)
7	2.61 (pseudo ax., br t, 12.5)	2.58-2.75 (pseudo ax., m)	2.99 (pseudo ax., br t, 12.5)	2.91-3.10 (pseudo ax., m)
	2.95 (pseudo eq., br d, 12.5)	2.91-3.10 (pseudo eq., m)	2.61 (pseudo eq., br d, 12.5)	2.58-2.75 (pseudo eq., m)
7a				
8	6.82 (s)	6.83 (s)	6.82 (s)	6.83 (s)
9				
10				
11	8.06 (s)	8.07 (s)	8.09 (s)	8.10 (s)
11a				
$\text{OCH}_3 \times 2$	ca. 3.90 (s)	3.92 (s)	ca. 3.90 (s)	3.92 (s)
Fatty acid moiety				
1'				
2'	2.44 (m)	2.51-2.40 (m)	2.34 (m)	2.40-2.30 (m)
3'	1.65 (m)	1.78-1.60 (m)	1.65 (m)	1.78-1.60 (m)
aliphatic $\text{CH}_2$	1.18-1.30 (m)	1.15-1.40 (m)	1.18-1.30 (m)	1.15-1.40 (m)
terminal $\text{CH}_3$	0.86 (t, 6.8)	0.88 (t, 6.8)	0.86 (t, 6.8)	0.88(t, 6.8)

ตาราง 2 การเปรียบเทียบข้อมูล  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum ระหว่าง (+)-laurelliptinhexadecan-1-one (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) และ ( $\pm$ )-laurelliptinhexadecan-1-one (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

	(+)- laurelliptinhexadecan -1-one <b>Z-form</b>	( $\pm$ )-laurelliptinhexadecan -1-one <b>Z-form</b>	(+)-laurelliptinhexadecan -1-one <b>E-form</b>	( $\pm$ )-laurelliptinhexadecan -1-one <b>E-form</b>
position	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$
Aporphine moiety				
1	108.3 (d)	108.47 (d)	108.8 (d)	108.96 (d)
<b>1a</b>	<b>111.9 (s)</b>	<b>124.24 (s)</b>	<b>112.0 (s)</b>	<b>125.27 (s)</b>
2	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	144.84-145.87 (s) <sup>a</sup>	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	144.84-145.87 (s) <sup>a</sup>
3	141.0 (s)	141.13 (s)	140.9 (s)	141.10 (s)
<b>3a</b>	<b>125.86 (s)</b>	<b>120.62 (s)</b>	<b>124.0 (s)</b>	<b>120.10 (s)</b>
<b>3b</b>	<b>120.5 (s)</b>	<b>125.63 (s)</b>	<b>120.0 (s)</b>	<b>126.22 (s)</b>
<b>4</b>	<b>34.5 (t)</b>	<b>30.72 (t)</b>	<b>30.6 (t)</b>	<b>29.69 (t)</b>
5	41.4 (t)	41.38 (t)	36.8 (t)	36.73 (t)
6a	50.8 (d)	50.76 (d)	53.4 (d)	53.38 (d)
7	33.2 (t)	33.28 (t)	35.9 (t)	36.10 (t)
7a	123.5 (s)	123.69 (s)	128.8 (s)	123.93 (s)
8	114.5 (d)	114.55 (d)	113.9 (d)	113.94 (d)
9	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	144.84-145.87 (s) <sup>a</sup>	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	144.84-145.87 (s) <sup>a</sup>
10	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	144.84-145.87 (s) <sup>a</sup>	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	144.84-145.87 (s) <sup>a</sup>
11	<b>118.8 (d)</b>	<b>111.88 (d)</b>	111.9 (d)	112.02 (d)
<b>11a</b>	<b>125.4 (s)</b>	<b>130.30 (s)</b>	<b>125.0 (s)</b>	<b>129.59 (s)</b>
$\text{OCH}_3 \times 2$	56.0 (q) and 56.2 (q)	56.06 (q) and 56.28 (q)	56.0 (q) and 56.2 (q)	56.06 (q) and 56.28 (q)
Fatty acid moiety				
1'	172.1 (s)	171.79 (s)	172.6 (s)	172.50 (s)
2'	33.2 (t)	33.28 (t)	34.2 (t)	34.56 (t)
3'	25.3 (t)	25.33 (t)	25.5 (t)	25.60 (t)
aliphatic $\text{CH}_2$	29-32 (t)	29.11-31.92 (t)	29-32 (t)	29.11-31.92 (t)
terminal $\text{CH}_3$	14.1 (q)	14.12 (q)	14.1 (q)	14.12 (q)

<sup>a</sup> assignments may be interchangeable.

ตาราง 3 การเปรียบเทียบข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectrum ระหว่าง (+)-laurelliptinooctadecan-1-one (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) และ ( $\pm$ )-laurelliptinooctadecan-1-one (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

	(+)-laurelliptinooctadecan -1-one <b>Z-form</b>	( $\pm$ )-laurelliptinooctadecan - 1-one <b>Z-form</b>	(+)-laurelliptinooctadecan -1-one <b>E-form</b>	( $\pm$ )-laurelliptinooctadecan -1-one <b>E-form</b>
<b>position</b>	<b><math>^1\text{H}</math></b>	<b><math>^1\text{H}</math></b>	<b><math>^1\text{H}</math></b>	<b><math>^1\text{H}</math></b>
Aporphine moiety				
1	6.55 (s)	6.53 (s)	6.59 (s)	6.57 (s)
1a				
2				
3				
3a				
3b				
4	2.66/2.83 (m)	2.52-2.88 (m)	2.66/2.83 (m)	2.52-2.88 (m)
5	3.23 (pseudo ax., br t, 12.0)	3.21 (pseudo ax., br t, 12.0)	2.75 (pseudo ax., br t, 12.0)	2.66-2.78 (pseudo ax., m)
	4.02 (pseudo eq., br d, 12.0)	4.00 (pseudo eq., br d, 12.0)	4.95 (pseudo eq., br d, 12.0)	4.95 (pseudo eq., br d, 8.0)
6a	5.11 (br d, 12.5)	5.12 (br d, 13.8)	4.60 (br d, 12.5)	4.61 (br d, 12.1)
7	2.61 (pseudo ax., br t, 12.5)	2.54-2.72 (pseudo ax., m)	2.99 (pseudo ax., br t, 12.5)	2.88-3.50 (pseudo ax., m)
	2.95 (pseudo eq., br d, 12.5)	2.88-3.50 (pseudo eq., m)	2.61 (pseudo eq., br d, 12.5)	2.54-2.72 (pseudo eq., m)
7a				
8	6.82 (s)	6.82 (s)	6.82 (s)	6.82 (s)
9				
10				
11	8.06 (s)	8.06 (s)	8.09 (s)	8.10 (s)
11a				
$\text{OCH}_3 \times 2$	ca. 3.90 (s)	3.89 (s)	ca. 3.90 (s)	3.89 (s)
Fatty acid moiety				
1'				
2'	2.44 (m)	2.50-2.39 (m)	2.34 (m)	2.39-2.29 (m)
3'	1.65 (m)	1.73-1.60 (m)	1.65 (m)	1.73-1.60 (m)
aliphatic $\text{CH}_2$	1.18-1.30 (m)	1.15-1.40 (m)	1.18-1.30 (m)	1.15-1.40 (m)
terminal $\text{CH}_3$	0.86 (t, 6.8)	0.87 (t, 6.9)	0.86 (t, 6.8)	0.87(t, 6.9)

ตาราง 4 การเปรียบเทียบข้อมูล  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum ระหว่าง (+)-laurelliptinooctadecan-1-one (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) และ ( $\pm$ )-laurelliptinooctadecan-1-one (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

	(+)-laurelliptinooctadecan -1-one <b>Z-form</b>	( $\pm$ )-laurelliptinooctadecan -1-one <b>Z-form</b>	(+)-laurelliptinooctadecan -1-one <b>E-form</b>	( $\pm$ )-laurelliptinooctadecan -1-one <b>E-form</b>
position	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$
Aporphine moiety				
1	108.3 (d)	108.46 (d)	108.8 (d)	108.96 (d)
<b>1a</b>	<b>111.9 (s)</b>	<b>124.17 (s)</b>	<b>112.0 (s)</b>	<b>125.56 (s)</b>
2	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	145.05-145.94 (s) <sup>a</sup>	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	145.05-145.94 (s) <sup>a</sup>
3	141.0 (s)	141.18 (s)	140.9 (s)	141.08 (s)
<b>3a</b>	<b>125.86 (s)</b>	<b>120.66 (s)</b>	<b>124.0 (s)</b>	<b>120.14 (s)</b>
<b>3b</b>	<b>120.5 (s)</b>	<b>126.03 (s)</b>	<b>120.0 (s)</b>	<b>125.17 (s)</b>
<b>4</b>	<b>34.5 (t)</b>	<b>30.70 (t)</b>	<b>30.6 (t)</b>	<b>29.73 (t)</b>
5	41.4 (t)	41.46 (t)	36.8 (t)	36.81 (t)
6a	50.8 (d)	50.90 (d)	53.4 (d)	53.45 (d)
7	33.2 (t)	33.31 (t)	35.9 (t)	36.08 (t)
7a	123.5 (s)	123.62 (s)	128.8 (s)	123.93 (s)
8	114.5 (d)	114.69 (d)	113.9 (d)	114.06 (d)
9	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	145.05-145.94 (s) <sup>a</sup>	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	145.05-145.94 (s) <sup>a</sup>
10	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	145.05-145.94 (s) <sup>a</sup>	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	145.05-145.94 (s) <sup>a</sup>
<b>11</b>	<b>118.8 (d)</b>	<b>112.12 (d)</b>	111.9 (d)	112.12 (d)
<b>11a</b>	<b>125.4 (s)</b>	<b>130.13 (s)</b>	<b>125.0 (s)</b>	<b>129.51 (s)</b>
OCH <sub>3</sub> x 2	56.0 (q) and 56.2 (q)	56.07 (q) and 56.26 (q)	56.0 (q) and 56.2 (q)	56.07 (q) and 56.26 (q)
Fatty acid moiety				
1'	172.1 (s)	172.07 (s)	172.6 (s)	172.62 (s)
2'	33.2 (t)	33.31 (t)	34.2 (t)	34.53 (t)
3'	25.3 (t)	25.42 (t)	25.5 (t)	25.46 (t)
aliphatic CH <sub>2</sub>	29-32 (t)	29.14-31.95 (t)	29-32 (t)	29.14-31.95 (t)
terminal CH <sub>3</sub>	14.1 (q)	14.14 (q)	14.1 (q)	14.14 (q)

<sup>a</sup> assignments may be interchangeable.

### การทดลอง

จุดหลอมเหลววัดด้วยเครื่อง Stuart Scientific SMP 2 โดยมีได้ปรับค่า (uncorrected) Ultraviolet spectra วัดจากสารละลายใน methanol ด้วยเครื่อง Perkin Elmer Lambda 35 UV-VIS spectrophotometer Infrared spectra วัดด้วยเครื่อง Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR spectrophotometer ในรูป CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-films <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR spectra วัดด้วยเครื่อง Bruker AVANCE 300 spectrometer ที่ความถี่ 300 MHz สำหรับ <sup>1</sup>H และ 75 MHz สำหรับ <sup>13</sup>C โดยใช้ CDCl<sub>3</sub> และ DMSO-*d*<sub>6</sub> ในบางกรณีเป็นตัวทำละลาย และใช้ tetramethylsilane เป็น internal standard Mass spectra วัดด้วยเครื่อง POLARIS Q mass spectrometer Elemental analyses วัดด้วยเครื่อง Perkin Elmer 2400 Elemental Analyser

### 2-(2-Bromo-5-benzyloxy-4-methoxyphenyl)-*N*-(4-benzyloxy-3-methoxyphenethyl)acetamide

(5): เตรียมโดยวิธี acid chloride โดยใช้ 5-benzyloxy-2-bromo-4-methoxyphenylacetic acid (26.0 g, 0.07 mol) และ 4-benzyloxy-3-methoxyphenethylamine (4) (18.1 g, 0.07 mol) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ 5 เป็นของแข็งสีขาว (38.7 g, 93.3%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 133-134 °C [lit.<sup>5</sup> mp 135 °C]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.65 (2H, apparent t, *J*=6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.42 (2H, apparent q, *J*=6.6 Hz, N-CH<sub>2</sub>), 3.54 (2H, s, CON-CH<sub>2</sub>), 3.84 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.85 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.08 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.10 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.40 (1H, br s, NH), 6.48 (1H, dd, *J*=1.8, 8.1 Hz, Ar-H), 6.64 (1H, d, *J*=1.8 Hz, Ar-H), 6.72 (1H, d, *J*=8.1 Hz, Ar-H), 6.81 (1H, s, Ar-H), 6.99 (1H, s, Ar-H), 7.29-7.45 (10H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 34.96 (t), 40.72 (t), 43.47 (t), 55.98 (q), 56.26 (q), 71.13 (t), 109.48 (s), 112.39 (d), 114.22 (d), 115.41 (s), 116.10 (d), 116.43 (d), 120.58 (d), 126.33 (s), 127.25 (d), 127.47 (d), 127.79 (d), 128.11 (d), 128.52 (d), 128.62 (d), 131.62 (s), 136.35 (s), 137.26 (s), 146.87 (s), 147.77 (s), 149.73 (s), 169.96 (s).

### 1-(5-Benzyloxy-2-bromo-4-methoxybenzyl)-7-benzyloxy-6-methoxy-3,4-dihydroisoquinoline

(6): เตรียมโดยปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ได้ 6 เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (90.1%) หลัง triturated ด้วย ethanol, mp 108-110 °C [lit.<sup>6</sup> mp 105-106 °C]. UV (MeOH) λ<sub>max</sub> nm (log ε): 207 (4.76), 230 (4.49), 283 (4.00), 311 (3.85). IR ν<sub>max</sub> (film) cm<sup>-1</sup>: 3063, 3032, 3005, 2933, 2838, 1621, 1603, 1568, 1506, 1455, 1439, 1378, 1357, 1322, 1256, 1214, 1160, 1142, 1073, 1026, 981. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.55 (2H, t, *J*=7.8 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.65 (2H, t, *J*=7.8 Hz, N-CH<sub>2</sub>), 3.84 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.90 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.08 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 5.03 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.04 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.64 (1H, s,

Ar-H), 6.78 (1H, s, Ar-H), 6.99 (1H, s, Ar-H), 7.02 (1H, s, Ar-H), 7.20-7.45 (10H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C}$ -NMR  $\delta$ : 25.66 (t), 41.22 (t), 46.12 (t), 56.08 (q), 56.21 (q), 70.94 (t), 71.16 (t), 105.38 (s), 105.97 (s), 110.65 (d), 112.23 (d), 112.92 (s), 114.53 (s), 114.93 (d), 115.83 (d), 127.10 (d), 127.45 (d), 127.74 (d), 127.99 (d), 128.42 (d), 128.54 (d), 132.35 (s), 136.57 (s), 136.68 (s), 146.67 (s), 147.68 (s), 149.06 (s), 167.03 (s).

**1-(5-Benzyloxy-2-bromo-4-methoxybenzyl)-7-benzyloxy-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (2a):** เตรียมโดยใช้ sodium borohydride ได้ **2a** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (93.0%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 91-93 °C [lit.<sup>7</sup> mp 90-90.5 °C]. UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 211 (4.48), 236sh (4.26), 290sh (3.79), 324 (3.70). IR  $\nu_{\text{max}}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3585, 3063, 3032, 3007, 2936, 2839, 1592, 1567, 1506, 1456, 1438, 1410, 1383, 1356, 1334, 1320, 1267, 1217, 1173, 1143, 1081, 1053, 1024, 958.  $^1\text{H}$ -NMR  $\delta$ : 2.64-2.87 (4H, m,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 3.01-3.13 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.85 (6H, s,  $\text{O-CH}_3 \times 2$ ), 3.97-4.05 (1H, m, H-1), 5.11 (4H, s,  $\text{Ph-CH}_2 \times 2$ ), 6.59 (1H, s, Ar-H), 6.71 (1H, s, Ar-H), 6.74 (1H, s, Ar-H), 7.06 (1H, s, Ar-H), 7.20-7.46 (10H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C}$ -NMR  $\delta$ : 29.42 (t), 40.06 (t), 42.27 (t), 55.10 (d), 56.01 (q), 56.29 (q), 71.14 (t), 71.39 (t), 112.22 (d), 112.90 (d), 115.38 (s), 116.29 (d), 117.30 (d), 127.34 (d), 127.36 (d), 127.80 (d), 127.87 (s), 128.00 (d), 128.55 (d), 128.61 (d), 130.32 (s), 130.51 (s), 136.72 (s), 137.38 (s), 146.17 (s), 147.17 (s), 148.25 (s), 149.07 (s).

**1-(5-Benzyloxy-2-bromo-4-methoxybenzyl)-7-benzyloxy-6-methoxy-2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (2d):** เตรียมโดยใช้ trifluoroacetic anhydride ได้ **2d** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (63.9%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 157-158 °C. UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 208 (4.75), 232sh (4.12), 287 (3.65). IR  $\nu_{\text{max}}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3033, 2919, 2849, 1689, 1609, 1509, 1456, 1440, 1381, 1258, 1197, 1165, 1141, 1116, 1027, 912.  $^1\text{H}$ -NMR  $\delta$ : 2.68-3.28 (4H, m,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 3.53-3.64 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.85 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 3.88 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 3.91-4.02 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.98 (2H, s,  $\text{Ph-CH}_2$ ), 5.00 (2H, s,  $\text{Ph-CH}_2$ ), 5.57-5.65 (1H, m, H-1), 6.45 (1H, s, Ar-H), 6.60 (1H, s, Ar-H), 6.61 (1H, s, Ar-H), 7.01 (1H, s, Ar-H), 7.30-7.45 (10H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C}$ -NMR  $\delta$  (both conformers): 27.21 (t), 28.69 (t), 37.54 (t), 40.11 (t), 40.16 (t), 40.77 (t), 41.84 (t), 42.29 (t), 54.06 (d), 56.04 (q), 56.12 (q), 56.20 (q), 56.60 (q), 71.17 (t), 71.29 (t), 71.41 (t), 111.44 (d), 111.77 (d), 112.74 (d), 112.94 (d), 114.55 (s), 115.78 (d), 116.04 (s), 116.45 (d), 116.71 (d), 118.37 (s),

125.52 (s), 126.42 (s), 127.19 (d), 127.29 (d), 127.41 (d), 127.97 (d), 128.01 (d), 128.28 (s), 128.61 (d), 128.63 (d), 136.67 (s), 136.87 (s), 146.81 (s), 147.39 (s), 148.93 (s), 149.30 (s), 155.81 (s). *Anal.* Calcd for  $C_{34}H_{31}NO_5BrF_3$ : C, 60.90; H, 4.66; N, 2.09, Found: C, 60.72; H, 4.81; N, 2.25.

**9-Benzoyloxy-2,10-dimethoxy-1-hydroxy-6-trifluoroacetylnoraporphine (7a).** เตรียมโดยใช้ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) และ tributyltin hydride ได้ของหนักสีน้ำตาล (6.92 g), ทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี silica gel column chromatography ใช้ benzene-chloroform เป็นตัวชะ fraction แรกๆ ได้ hydrogenolysis product (2e) เป็นของแข็งสีขาว (4.1 g, 29.1%). mp 85-86 °C.  $^1H$ -NMR  $\delta$ : 2.50-3.00 (5H, m,  $CH_2$  of both conformers), 3.20-3.33 (1H, m,  $CH_2$  of both conformers), 3.84, 3.82 3.90 และ 3.93 (total 6H, 4 s,  $O-CH_3 \times 2$  of both conformers), 4.98-5.08 (total 2H, 2 s, Ph- $CH_2$  of both conformers), 4.90 และ 5.17 (total 2H, 2 AB q,  $J=12.4$  และ 12.2 Hz, Ph- $CH_2$  of both conformers), 5.44 (1H, apparent t,  $J=6.2$  Hz, H-6a of both conformers), 6.25 และ 6.27 (total 1H, 2 s, Ar-H of both conformers), 6.46-6.53 (total 1H, m, Ar-H of both conformers), 6.55-6.61 (total 2H, m, Ar-H of both conformers), 6.74 และ 6.79 (total 1H, 2 d,  $J = 8.6$  และ 8.2 Hz, Ar-H of both conformers), 7.25-7.48 (10H, m, Ph-H of both conformers).  $^{13}C$ -NMR  $\delta$  (both conformers): 28.54 (t) 40.61 (t), 41.04 (t), 55.24 (d), 56.00 (q), 56.20 (q), 56.31 (q), 70.87 (t), 70.94 (t), 111.45 (d), 111.61 (d), 113.06 (d), 115.39 (d), 118.45 (s), 122.55 (d), 125.65 (s), 126.36 (s), 127.18 (d), 127.35 (d), 127.82 (d), 127.94 (d), 128.53 (d), 128.59 (d), 129.27 (s), 136.85 (s), 137.04 (s), 146.50 (s), 147.99 (s), 148.71 (s), 148.94 (s), 155.81 (s). Fraction หลังๆ ได้ noraporphine (7a) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (2.7 g, 22.7%). mp 232-234 °C. UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 213 (4.57), 272sh (3.99), 281 (4.08), 306 (4.12). IR  $\nu_{max}$  (film)  $cm^{-1}$ : 3373, 2920, 2850, 1682, 1605, 1513, 1463, 1401, 1383, 1371, 1337, 1310, 1281, 1255, 1202, 1169, 1139, 1099, 1049, 1025, 928.  $^1H$ -NMR  $\delta$ : 2.66-3.04 (4H, m,  $CH_2 \times 2$ ), 3.26-3.38 (1H, m, H-5 $\beta$ ), 3.93 (3H, s,  $O-CH_3$ ), 3.94 (3H, s,  $O-CH_3$ ), 4.14-4.25 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 5.00-5.09 (1H, m, H-6a), 5.18 (2H, AB q,  $J = 12.3$  Hz, Ph- $CH_2$ ), 6.23 (1H, s, OH), 6.57 (1H, s, H-3), 6.80 (1H, s, H-8), 7.30-7.60 (5H, m, Ph-H), 8.14 (1H, s, H-11).  $^{13}C$ -NMR  $\delta$ : 30.18 (t), 32.93 (t), 41.43 (t), 52.62 (d), 56.21 (q), 56.32 (q), 70.91 (t), 108.66 (d), 113.12 (d), 113.81 (d), 118.29 (s), 120.23 (s), 123.71 (s), 124.08 (s), 124.57 (s), 127.30 (d), 127.85 (d), 128.32 (s), 128.56 (d), 137.09 (s), 141.63 (s), 146.04 (s), 147.48 (s), 148.04 (s), 155.88 (s). *Anal.* Calcd for  $C_{27}H_{24}NO_5F_3$ : C, 64.93; H, 4.84; N, 2.80, Found: C, 65.09; H, 4.68; N, 2.65.

**9-Benzyloxy-2,10-dimethoxy-1-hydroxynoraporphine (7b):** Reflux ของผสมของ noraporphine (7a) (1.6 g, 3.2 mmol), potassium carbonate (3.0 g), methanol (150 mL) และน้ำ (9 mL) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ของหนืดสีน้ำตาล เติม 5% sodium bicarbonate (100 mL) ลงไปแล้วสกัดด้วย chloroform (3 × 30 mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ noraporphine (7b) เป็นของแข็งสีน้ำตาลอ่อน (996.7 mg, 77.3%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 197-198 °C. UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 217 (4.62), 270sh (4.12), 280 (4.22), 305 (4.23). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3583, 3292, 2919, 2849, 1603, 1509, 1463, 1455, 1398, 1373, 1284, 1252, 1213, 1124, 1102, 1038, 1025, 992.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.58-3.05 (6H, m, H-5 $\beta$ , CH, CH<sub>2</sub> × 2), 3.31-3.40 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.91 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.17 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.54 (1H, s, H-3), 6.76 (1H, s, H-8), 7.28-7.50 (5H, m, Ph-H), 8.09 (1H, s, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 29.02 (t), 36.92 (t), 43.33 (t), 53.81 (d), 56.17 (q), 56.23 (q), 71.02 (t), 109.39 (d), 112.99 (d), 113.61 (d), 119.14 (s), 124.05 (s), 125.53 (s), 127.30 (d), 127.78 (d), 128.40 (s), 128.53 (d), 128.68 (s), 137.31 (s), 140.79 (s), 145.94 (s), 146.94 (s), 147.90 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 403[M<sup>+</sup>] (32), 312 (100), 91 (7). *Anal.* Calcd for C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>4</sub>: C, 74.42; H, 6.24; N, 3.47, Found: C, 74.26; H, 6.38; N, 3.66.

**9-Benzyloxy-2,10-dimethoxy-1-hydroxy-6-palmitoylnoraporphine (7c):** ค่อย ๆ เติมสารละลายของ palmitoyl chloride (389.0 mg, 1.42 mmol) ใน chloroform (80 mL) ลงในของผสมของ noraporphine (7b) (400.0 mg, 0.99 mmol) ใน chloroform (80 mL) และ 10% sodium bicarbonate (120 mL) เมื่อเติมหมดกวนต่อ 24 ชั่วโมง จากนั้นแยกชั้น chloroform แล้วนำไปทำให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ palmitoylnoraporphine (7c) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (530.0 mg, 83.3%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 85-86 °C. UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 218 (4.45), 273sh (3.98), 281(4.04), 306 (4.10), 314sh (4.07). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3503, 2923, 2852, 1635, 1605, 1515, 1463, 1456, 1428, 1398, 1338, 1277, 1249, 1215, 1192, 1165, 1123, 1098, 1027.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$  (both conformers): 0.88 (3H, t,  $J=6.6$  Hz, terminal CH<sub>3</sub>), 1.15-1.45 (24H, m, aliphatic CH<sub>2</sub>), 1.55-1.75 (2H, m, CH<sub>2</sub>-3'), 2.31-2.43 (2H, m, CH<sub>2</sub>-2'), 2.59-2.97 (2H, m, CH<sub>2</sub>-4), 2.87- 3.03 และ 2.54-2.74 (total 2H, 2 m, CH<sub>2</sub>-7), 2.68-2.78 และ 3.21 (total 1H, m และ br t,  $J=12.1$  Hz, , H-5), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.92 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.01, 4.94 (total 1H, 2 br d,  $J=10.1$  และ 8.1 Hz, H-5), 4.60, 5.13 (total 1H, 2 br d,  $J=13.2$  และ 3.8 Hz, H-6a), 5.15-5.26 (total 2H, m, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.23 (1H, br s, OH), 6.55, 6.59 (total 1H, 2 s, H-3), 6.79, 6.81 (total

1H, 2 s, H-8), 7.28-7.50 (total 5H, m, Ph-H), 8.13, 8.15 (total 1H, 2 s, H-11). <sup>13</sup>C-NMR δ (both conformers): 14.14 (q), 22.70 (t), 24.86 (t), 25.32 (t), 25.62 (t), 29.15 (t), 29.31 (t), 29.37 (t), 29.51 (t), 29.67 (t), 30.68 (t), 31.93 (t), 33.39 (t), 33.95 (t), 34.46 (t), 36.24 (t), 36.82 (t), 41.43 (t), 50.90 (q), 53.41 (d), 56.17 (q), 56.27 (q), 70.81 (t), 71.06 (t), 108.65 (d), 109.12 (d), 113.09 (d), 113.26 (d), 113.76 (d), 119.92 (s), 120.39 (s), 124.19 (s), 124.81 (s), 125.14 (s), 125.55 (s), 126.08 (s), 127.33 (d), 127.76 (d), 128.51 (d), 129.50 (s), 137.03 (s), 137.22 (s), 141.25 (s), 141.37 (s), 145.65 (s), 145.93 (s), 147.27 (s), 147.70 (s), 148.21 (s), 171.95 (s), 172.60 (s). EI-MS *m/z* (%): 641[M<sup>+</sup>] (63), 550 (10), 386 (100), 295 (79), 91 (15). *Anal.* Calcd for C<sub>41</sub>H<sub>55</sub>NO<sub>5</sub>: C, 76.72; H, 8.64; N, 2.18, Found: C, 76.62; H, 8.80; N 2.35.

**9-Benzyloxy-2,10-dimethoxy-1-hydroxy-6-stearoylnoraporphine (7d).** ในทำนองเดียวกันได้ stearoylnoraporphine (7d) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol (88.4%), mp 83-84 °C. UV (MeOH) λ<sub>max</sub> nm (log ε): 218 (4.37), 272sh (3.69), 281 (3.79), 305 (3.87), 314sh (3.82). IR ν<sub>max</sub> (film) cm<sup>-1</sup>: 3393, 2923, 2852, 1641, 1603, 1513, 1464, 1428, 1399, 1337, 1255, 1214, 1115, 1100, 1026. <sup>1</sup>H-NMR δ (both conformers): 0.88 (3H, t, *J*=6.7 Hz, terminal CH<sub>3</sub>), 1.15-1.40 (28H, m, aliphatic CH<sub>2</sub>), 1.55-1.75 (2H, m, CH<sub>2</sub>-3'), 2.33-2.43 (total 2H, m, CH<sub>2</sub>-2'), 2.55-2.90 (total 2H, m, CH<sub>2</sub>-4), 2.55-2.71 และ 2.89-3.07 (total 2H, 2 m, CH<sub>2</sub>-7), 2.68-2.76 และ 3.22 (total 1H, m และ br t, *J*=12.1 Hz, H-5), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.92 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.03 และ 4.95 (total 1H, 2 br d, *J*=13.6 และ 7.7 Hz, H-5), 4.60 และ 5.10 (total 1H, 2 br d, *J*=12.6 และ 9.7 Hz, H-6a), 5.11-5.20 (total 2H, m, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.19 (1H, br s, OH), 6.56 และ 6.60 (total 1H, 2 s, H-3), 6.79 และ 6.82 (total 1H, 2 s, H-8), 7.28-7.50 (total 5H, m, Ph-H), 8.13 และ 8.15 (total 1H, 2 s, H-11). <sup>13</sup>C-NMR δ (both conformers): 14.12 (q), 22.70 (t), 25.32 (t), 25.61 (t), 29.37 (t), 29.52 (t), 29.70 (t), 30.71 (t), 31.93 (t), 33.40 (t), 34.48 (t), 36.25 (t), 36.79 (t), 41.42 (t), 50.89 (d), 53.39 (d), 56.20 (q), 56.30 (q), 70.82 (t), 71.06 (t), 108.65 (d), 109.13 (d), 113.09 (d), 113.25 (d), 113.80 (d), 119.95 (s), 120.44 (s), 124.22 (s), 124.80 (s), 125.17 (s), 125.62 (s), 126.17 (s), 127.34 (d), 127.77 (d), 128.53 (d), 129.52 (s), 137.06 (s), 137.24 (s), 141.36 (s), 145.66 (s), 145.93 (s), 147.30 (s), 147.75 (s), 148.25 (s), 171.88 (s), 172.53 (s). EI-MS *m/z* (%): 669[M<sup>+</sup>] (6), 578 (1), 386 (10), 296 (100), 91 (3). *Anal.* Calcd for C<sub>43</sub>H<sub>59</sub>NO<sub>5</sub>: C, 77.09; H, 8.88; N, 2.09, Found: C, 77.26; H, 8.65; N, 2.23.

**(±)-Laurelliptinhexadecan-1-one (1a):** นำของผสมของ **7c** (300.5 mg, 0.47 mmol), 10%Pd/C (10.0 mg) ใน ethanol (70 mL) ทำปฏิกิริยา catalytic hydrogenation ภายใต้ความดันบรรยากาศเป็นเวลา 48 ชั่วโมงกรอง แล้วระเหย filtrate ภายใต้ความดันต่ำได้ (±)-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) เป็นของแข็งสีเทาอ่อน (182.0 mg, 70.5%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 147-148 °C. UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 221 (4.57), 272sh (4.13), 282 (4.20), 305 (4.27), 315sh (4.24). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3370, 2923, 2852, 1622, 1602, 1513, 1464, 1431, 1413, 1366, 1330, 1279, 1246, 1193, 1122, 1096, 1035, 960. EI-MS  $m/z$  (%): 551[ $\text{M}^+$ ] (26), 296 (100). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{34}\text{H}_{49}\text{NO}_5$ : C, 74.01; H, 8.95; N, 2.54, Found: C, 74.19; H, 9.07; N, 2.68.  $^1\text{H-NMR}$  และ  $^{13}\text{C-NMR}$  แสดงในตาราง **1** และ **2**

**(±)-Laurelliptinoctadecan-1-one (1b):** ในทำนองเดียวกันได้ (±)-laurelliptinoctadecan-1-one (**1b**) (79.2%) เป็นของแข็งสีเทาอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 146-147 °C. UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 221 (4.61), 271sh (4.11), 282 (4.20), 305 (4.28), 313sh (4.25). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3383, 2923, 2852, 1625, 1600, 1509, 1463, 1413, 1366, 1330, 1279, 1246, 1193, 1122, 1096, 1034, 960. EI-MS  $m/z$  (%): 579[ $\text{M}^+$ ] (17), 296 (100). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{36}\text{H}_{53}\text{NO}_5$ : C, 74.57; H, 9.21; N, 2.42, Found: C, 74.7; H, 9.12; N, 2.36.  $^1\text{H-NMR}$  และ  $^{13}\text{C-NMR}$  แสดงในตาราง **3** และ **4**

**MIC ของ (±)-laurelliptinhexadecan-1-one และ (±)-laurelliptinoctadecan-1-one หาได้โดยวิธี NCCLS microbroth dilution<sup>8</sup> ดังนี้**

1. ละลาย (±)-laurelliptinhexadecan-1-one และ (±)-laurelliptinoctadecan-1-one ใน DMSO ให้มีความเข้มข้น 1024 µg/mL
2. เลี้ยงจุลชีพ 3 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Escherichia coli* ATCC10536 และ *Candida albicans* ATCC90028 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดย 10% glucose (NBG) สำหรับเลี้ยงเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC25932 และ *Escherichia coli* ATCC10536; Sabouraud glucose broth สำหรับเชื้อ *Candida albicans* ATCC90028 บ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมเชื้อให้มีความเข้มข้น 1 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร
3. ทำ two-fold serial dilution ของสารในข้อ 1 ให้สารละลายมีความเข้มข้นจาก 512 µg/mL ถึง 0.50 µg/mL ในจานเพาะเชื้อเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ดังนี้
  - 3.1 เติมสารละลายในข้อ 1 ปริมาตร 100 µL ลงในจานเพาะเชื้อจานที่ 1 จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 µL ลงไป เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารผสมที่มีความเข้มข้น 512 µg/mL
  - 3.2 แบ่งของผสมปริมาตร 100 µL ในจานที่ 1 ใส่ลงในจานที่ 2 แล้วเติมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 µL ลงไปในจานที่ 2 เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารผสมที่มีความเข้มข้น 256 µg/mL
  - 3.3 แบ่งของผสมปริมาตร 100 µL ในจานที่ 2 ใส่ลงในจานที่ 3 แล้วเติมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 µL ลงไปในจานที่ 3 เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารผสมที่มีความเข้มข้น 128 µg/mL
4. ทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 3.3 จนจานเพาะเชื้อรองสุดท้ายมีความเข้มข้น 0.5 µg/mL แล้วมีจานเพาะเชื้อจานสุดท้ายที่มีอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเดียว เป็นจาน control
5. เติมเชื้อจุลชีพ 20 µL ลงในจานเพาะเชื้อในข้อ 3 จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อลงไปอีก 80 µL ผสมให้เข้ากัน ดังนั้นทุกจานจะมีปริมาตรสุทธิเป็น 200 µL ความเข้มข้นจานแรกจะเท่ากับ 256 µg/mL และจานรองสุดท้ายเท่ากับ 0.25 µg/mL
6. บ่มจานเพาะเชื้อในข้อ 5 ที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
7. ค่า MIC หาได้จากการพิจารณาความขุ่นของจานเพาะเชื้อที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเทียบกับจาน control โดยจาน control จะขุ่นแสดงว่าจุลชีพเจริญเติบโตได้ สังเกตจานที่ใสจานแรกนั้นคือ MIC ของสารที่ทำการทดสอบ

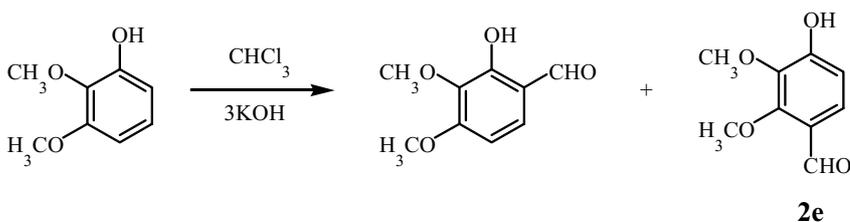
## บรรณานุกรม

1. Shulgin A. T., Perry W. E., "The Simple Plant Isoquinolines," Transform Press, Berkeley, 2002, pp. 385-390.
2. Chang F-R., Wu Y-C., *J. Nat. Prod.*, **68**, 1056-1060 (2005).
3. Estevez J. C., Villaverde M. C., Estevez R. J., Castedo L., *Tetrahedron*, **50**, 2107-2114 (1994).
4. Nimgirawath S., Podoy P., *Aust. J. Chem.*, **53**, 527-529. (2000).
5. Jackson A. H., Martin J. A., *J. Chem. Soc. C*. 2061-2069 (1966).
6. Vincze Z., Biro A. B., Csekei M., Timari G., Kotschy A., *Synthesis*, **8**, 1375-1385 (2006).
7. Kametani T., Ihara M., *J. Chem. Soc. C.*, 530-532 (1967).
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. **1997**.

#### บทที่ 4

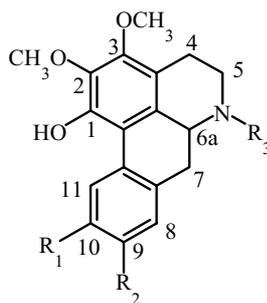
### การสังเคราะห์ (±)-Isopiline, (±)-Preocoteine, (±)-Oureguattidine และ (±)-3-Methoxynordomesticine และฤทธิ์ทางชีวภาพของ (±)-3-Methoxynordomesticine

Aporphine alkaloids เป็น alkaloid กลุ่มใหญ่ในกลุ่ม benzyloisoquinoline alkaloids พบในพืชหลายวงศ์ การมีหมู่แทนที่ในหลายรูปแบบก่อให้เกิดฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย aporphine alkaloids ที่มีหมู่แทนที่เป็น 1-hydroxy-2,3-dimethoxy ในวงแหวน A ค่อนข้างพบยากและพบในพืชบางวงศ์เท่านั้น<sup>1</sup> โครงสร้างของ alkaloid เหล่านี้ถูกเสนอโดยวิธีการวิเคราะห์ทางสเปกโตรสโกปี และจากการเปลี่ยนโครงสร้างเป็น alkaloid ที่ทราบโครงสร้างแน่นอนแล้วเท่านั้น ยังไม่พบรายงานการสังเคราะห์ alkaloid กลุ่มนี้เพื่อพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีเลย เนื่องจาก alkaloid กลุ่มนี้พบในธรรมชาติในปริมาณน้อยยิ่ง จึงเป็นอุปสรรคต่อการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในห้องปฏิบัติการ และด้วยข้อจำกัดนี้ จึงเป็นความจำเป็นอย่างยิ่งในการหาวิธีสังเคราะห์ alkaloid กลุ่มนี้ขึ้นมาในห้องปฏิบัติการเคมีให้ได้ในปริมาณสูงเพื่อเป็นการยืนยันโครงสร้างทางเคมี และเพื่อการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย ความยากลำบากในการสังเคราะห์ alkaloid กลุ่มนี้ มีสาเหตุมาจากการความยากลำบากในการสังเคราะห์ 4-hydroxy-2,3-dimethoxybenzaldehyde (**2e**) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญยิ่งสำหรับการนำไปสู่การสังเคราะห์ 4-benzyloxy-2,3-dimethoxyphenethylamine (**2h**) ที่ผ่านมามีรายงานการสังเคราะห์ **2e** เพียงฉบับเดียวเท่านั้น โดยใช้ Reimer-Tiemann formylation เป็นปฏิกิริยาสำคัญในการเปลี่ยนสาร 2,3-dimethoxyphenol ไปเป็น **2e** ซึ่งเป็นวิธีการสังเคราะห์ที่ยืดเยื้อและมีประสิทธิภาพต่ำอันเนื่องมาจากการได้สารผลิตภัณฑ์ 2 ตัว ดังแผนภาพ 1



แผนภาพ 1 ปฏิกิริยา Reimer-Tiemann formylation

ด้วยเหตุนี้กลุ่มวิจัยของเราจึงมุ่งหาวิธีการสังเคราะห์ 4-hydroxy-2,3-dimethoxybenzaldehyde (**2e**) ที่มีประสิทธิภาพสูงและประหยัด สามารถสังเคราะห์ได้ในปริมาณสูงในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ alkaloid กลุ่มนี้ต่อไป งานวิจัยนี้จะสังเคราะห์ alkaloid จำนวน 4 ตัว คือ (±)-isopiline (**1a**), (±)-preocoteine (**1b**), (±)-oureguattidine (**1c**) และ (±)-3-methoxynordomesticine (**1d**)



(±)-isopiline (**1a**):  $R_1 = R_2 = R_3 = H$

(±)-preocoteine (**1b**):  $R_1 = R_2 = OCH_3, R_3 = CH_3$

(±)-oureguattidine (**1c**):  $R_1 = R_3 = H, R_2 = OH$

(±)-3-methoxynordomesticine (**1d**):  $R_1 + R_2 = OCH_2O, R_3 = H$

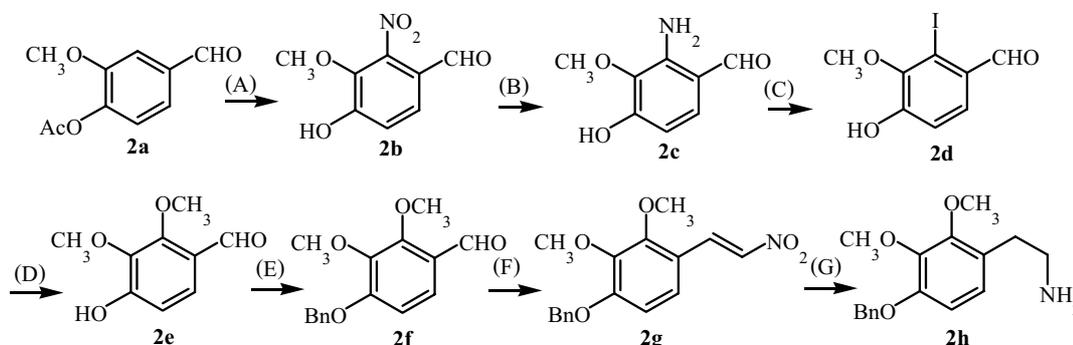
**รูปที่ 1** โครงสร้างของ (±)-isopiline (**1a**), (±)-preocoteine (**1b**), (±)-oureguattidine (**1c**) และ (±)-3-methoxynordomesticine (**1d**)

## ผลการทดลอง

### การสังเคราะห์ 4-benzyloxy-2,3-dimethoxyphenethylamine

เริ่มจาก ทำปฏิกิริยา nitration ของ vanillin acetate ด้วย fuming nitric acid ตามด้วยปฏิกิริยา hydrolysis ให้ **2b**<sup>3</sup> จากนั้นทำปฏิกิริยา reduction ของ **2b** ด้วยผงเหล็ก และ iron (II) sulfate ให้ **2c** ซึ่งเปลี่ยนเป็น **2d** ภายใต้ปฏิกิริยา diazotization และ iodination ตามลำดับ การทำปฏิกิริยา methoxylation ของ **2d** ด้วย sodium methoxide และ copper (II) chloride ให้ **2e** ในปริมาณผลผลิตสูง หลังจากนั้นทำปฏิกิริยา benzylation ของ **2e** ให้ **2f** ซึ่งเมื่อเปลี่ยน **2f** เป็น nitrostyrene (**2g**) แล้วตามด้วยการทำปฏิกิริยา reduction ด้วย lithium aluminium hydride ให้สาร amine (**2h**) ที่ต้องการ โดยทุกขั้นตอนของปฏิกิริยาข้างต้นสามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการอย่างปลอดภัย สำหรับ

แผนภาพการสังเคราะห์ แสดงดังแผนภาพ 2



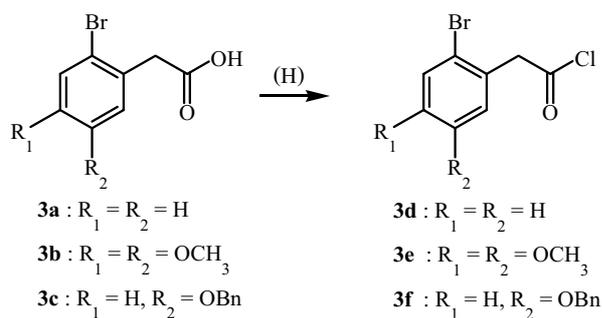
Reaction conditions: (A) (i) fuming  $\text{HNO}_3$ , dry ice/ acetone; (ii) 10%  $\text{NaOH}$ ; (B)  $\text{Fe(II)SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , iron power/ ethanol-water; (C) (i)  $\text{NaNO}_2/20\%$   $\text{HCl}$ ; (ii)  $\text{KI}$ ; (D)  $\text{CuCl}_2/\text{DMF}$ ,  $\text{NaOCH}_3/\text{methanol}$ ; (E)  $\text{BnCl}$ , anh.  $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{ethanol}$ ; (F)  $\text{CH}_3\text{NO}_2$ ,  $\text{NH}_4\text{OAc}/\text{acetic acid}$ ; (G)  $\text{LAH}/\text{THF}$ .

Reaction conditions: (A) (i) fuming  $\text{HNO}_3$ , dry ice/ acetone; (ii) 10%  $\text{NaOH}$ ; (B)  $\text{Fe(II)SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , iron power/ ethanol-water; (C) (i)  $\text{NaNO}_2/20\%$   $\text{HCl}$ ; (ii)  $\text{KI}$ ; (D)  $\text{CuCl}_2/\text{DMF}$ ,  $\text{NaOCH}_3/\text{methanol}$ ; (E)  $\text{BnCl}$ , anh.  $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{ethanol}$ ; (F)  $\text{CH}_3\text{NO}_2$ ,  $\text{NH}_4\text{OAc}/\text{acetic acid}$ ; (G)  $\text{LAH}/\text{THF}$ .

แผนภาพ 2 การสังเคราะห์ 4-benzyloxy-2,3-dimethoxyphenethylamine (**2h**)

การสังเคราะห์ ( $\pm$ )-isopiline (**1a**), ( $\pm$ )-preocoteine (**1b**), ( $\pm$ )-oureguattidine (**1c**) และ ( $\pm$ )-3-methoxynordomesticine (**1d**)

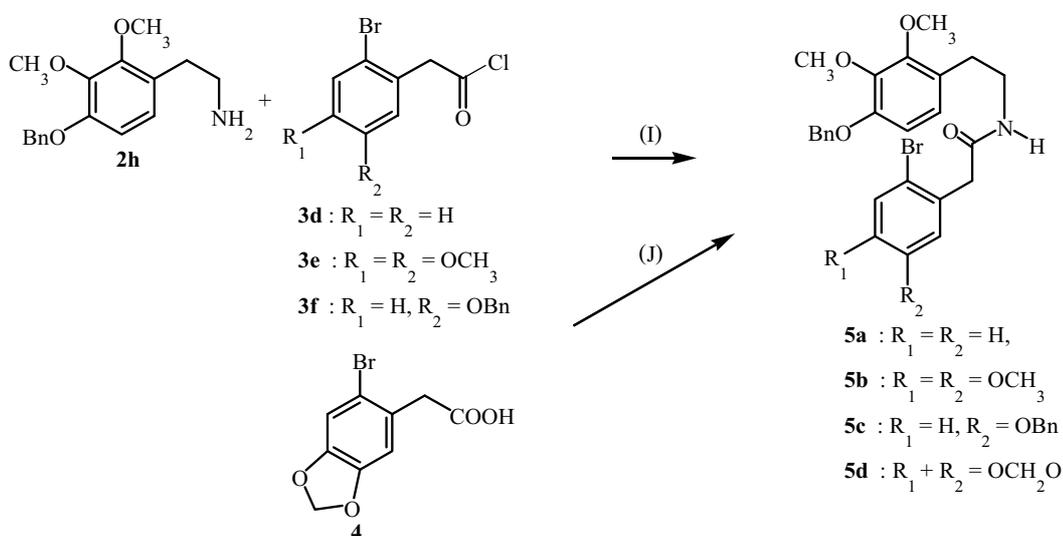
เมื่อสามารถสังเคราะห์ amine (**2h**) ในปริมาณที่มากพอ จึงนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ ( $\pm$ )-isopiline (**1a**)<sup>4</sup>, ( $\pm$ )-preocoteine (**1b**)<sup>5</sup>, ( $\pm$ )-oureguattidine (**1c**)<sup>6</sup> และ ( $\pm$ )-3-methoxynordomesticine (**1d**)<sup>7</sup> การสังเคราะห์นี้ใช้ปฏิกิริยาการสร้างวงแหวน C โดยวิธี radical cyclisation<sup>8</sup> เป็นกลยุทธ์สำคัญในการสังเคราะห์ aporphine alkaloids ทั้ง 4 ตัวนี้ และด้วยเหตุที่การสร้างวงแหวน C ของสารประเภท 7-benzyloxy-1-(2-bromobenzyl)tetrahydroisoquinoline ยังไม่พบในรายงานการวิจัย เราจึงคาดว่าจะได้สารผลิตภัณฑ์ในปริมาณผลผลิตต่ำ เนื่องจากความใหญ่ของหมู่ benzyloxy ในตำแหน่ง 7 นี้จะเป็นอุปสรรคสำคัญในการสร้างวงแหวน C เริ่มจากปฏิกิริยา condensation ของ amine (**2h**) กับ acid chlorides (**3d-3f**) (แผนภาพ 3) ให้ amides (**5a-5c**) (แผนภาพ 4) ในปริมาณผลผลิตสูงตามลำดับ



Reaction condition: (H)  $SOCl_2$ /benzene

### แผนภาพ 3 การสังเคราะห์ acid chlorides (3d-3f)

ในกรณี amide (5d) สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยา condensation ของ amine (2h) และ acid (4) โดยการ reflux ใน xylene เนื่องจากไม่สามารถสังเคราะห์ acid chloride จาก acid (4) ได้ เพราะ acid (4) ละลายในตัวทำละลายต่าง ๆ ได้น้อยยิ่ง (แผนภาพ 4)

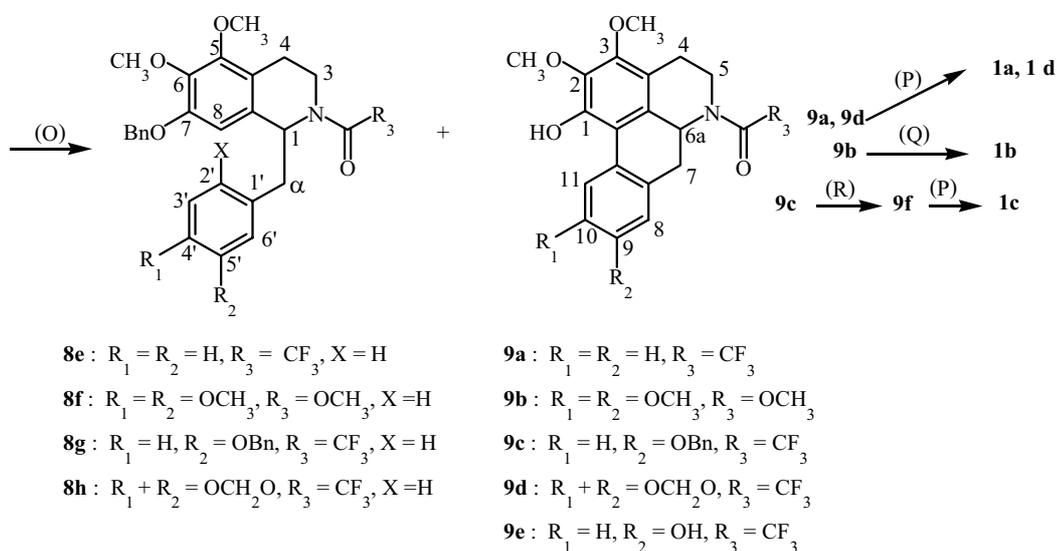
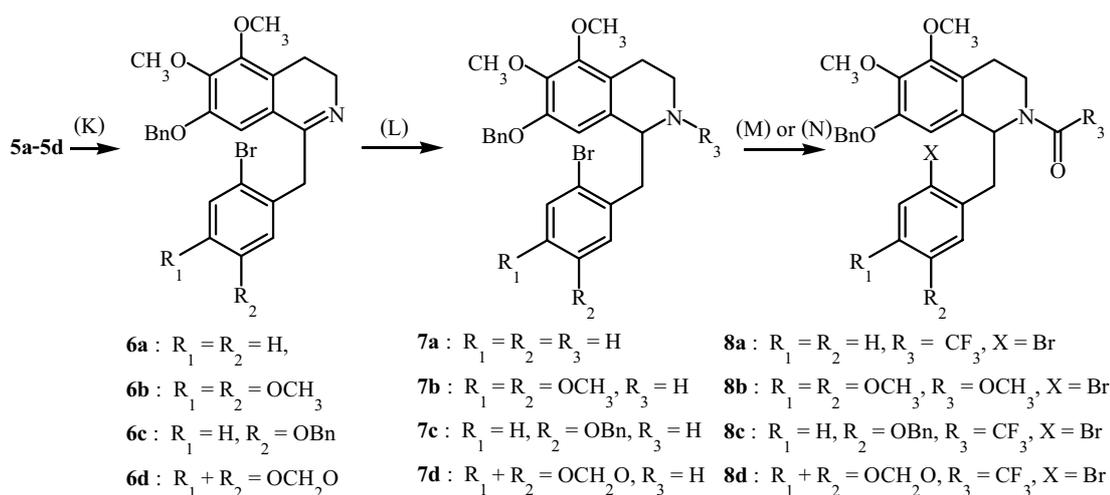


Reaction conditions: (I) 10%  $NaHCO_3$ /chloroform; (J) refluxed/ xylene

### แผนภาพ 4 การสังเคราะห์ amides (5a-5d)

การทำปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ของ 5a-5d ให้สารผลิตภัณฑ์เป็น dihydroisoquinolines (6a-6d) ซึ่งพบว่ามีค่าเสถียรต่ำ จึงนำมาทำปฏิกิริยากับ sodium borohydride ให้ tetrahydroisoquinolines (7a-7d) ตามลำดับ จากนั้นนำ 7a, 7c และ 7d มาทำปฏิกิริยากับ

trifluoroacetic anhydride ได้ **8a**, **8c** และ **8d** ในขณะที่ **7b** ถูกเปลี่ยนเป็น urethane (**8b**) โดยใช้ methyl chloroformate จากนั้นนำ **8a**, **8b**, **8c** และ **8d** มาทำปฏิกิริยากับ tributyltin hydride และ 2,2'-azobis-(isobutyronitrile) ให้ noraporphines (**9a**), (**9b**), (**9c**) และ (**9d**) ในปริมาณผลผลิต 8.3-10.9% ตามลำดับ พบว่าในทุกกรณีของการสร้างวงแหวน C นี้ มีการเสียหมู่ benzyl ที่ตำแหน่ง C-1 ของโครงสร้าง aporphine นอกจากนี้ยังได้สารผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการคือ **8e-8h** (hydrogenolysis products) ในปริมาณผลผลิต 13.1-41.6%, การปรากฏสัญญาณ doublet ที่  $\delta_H$  8.39 ใน  $^1H$ -NMR spectrum เป็นลักษณะสำคัญของ H-11 ในโครงสร้าง aporphine (**9a**) ซึ่งสัญญาณสำคัญนี้พบใน **9b**, **9c** และ **9d** เช่นกัน เมื่อตัดหมู่ trifluoroacetyl ออกจาก **9a** และ **9d** ให้ ( $\pm$ )-isopiline (**1a**) และ ( $\pm$ )-3-methoxynordomesticine (**1d**) ตามลำดับ สำหรับ **9b** เมื่อทำปฏิกิริยากับ lithium aluminium hydride ให้ ( $\pm$ )-preocoteine (**1b**) ในขณะที่ การตัดหมู่ benzyl ของ **9c** ตามด้วยการตัดหมู่ trifluoroacetyl ออกให้ ( $\pm$ )-oureguattidine (**1c**)



Reaction conditions: (K) POCl<sub>3</sub>/ acetonitrile; (L) NaBH<sub>4</sub>/ ethanol; (M) (CF<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>N/ chloroform (**7a**, **7c**, **7d** → **8a**, **8c**, **8d**); (N) ClCOOCH<sub>3</sub>, Et<sub>3</sub>N/ chloroform (**7b** → **8b**); (O) Bu<sub>3</sub>SnH, AIBN/ dry toluene; (P) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/ methanol-water; (Q) LAH/ THF; (R) H<sub>2</sub>, Pd/C/ ethanol.

### แผนภาพ 5 การสังเคราะห์ aporphine alkaloids (**1a-1d**)

การเปรียบเทียบข้อมูล <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR spectrum ของสารสังเคราะห์ (±)-isopiline (**1a**), (±)-preocoteine (**1b**), (±)-oureguattidine (**1c**) และ (±)-3-methoxynordomesticine (**1d**) พบว่า สอดคล้องกับ <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR spectrum ของสารที่พบในธรรมชาติ จึงสรุปได้ว่าโครงสร้างสารที่พบในธรรมชาติถูกต้องตามที่รายงานไว้ก่อนหน้านี้

### การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรีย (MIC) ของ (±)-isopiline, (±)-preocoteine, (±)-oureguattidine และ (±)-3-methoxynordomesticine

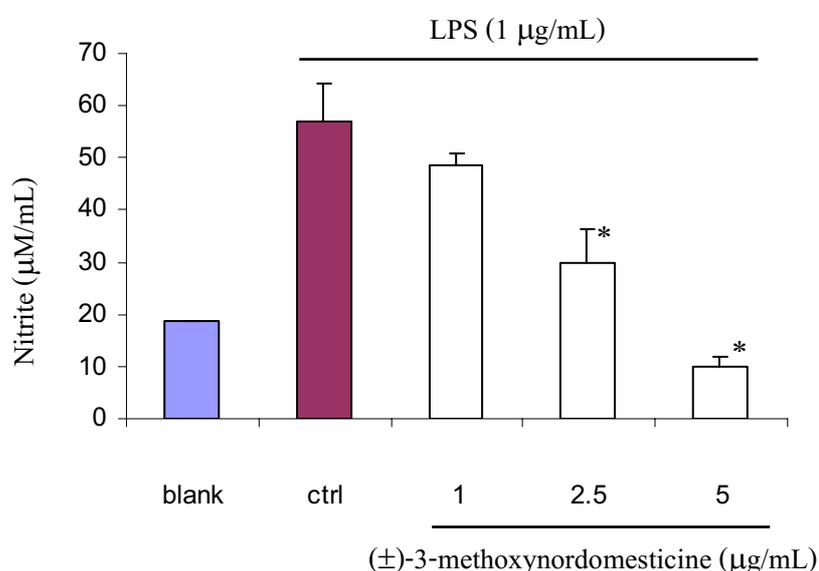
พบว่า (±)-3-methoxynordomesticine เพียงสารเดียวเท่านั้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรีย โดยมีค่า MIC เท่ากับ 256 µg/mL สำหรับ *E. coli* ATCC10536 และ MIC ที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 512 µg/mL สำหรับ *S. aureus* ATCC25932 และ *C. albicans*

### คุณสมบัติการต้านการอักเสบของ (±)-3-methoxynordomesticine

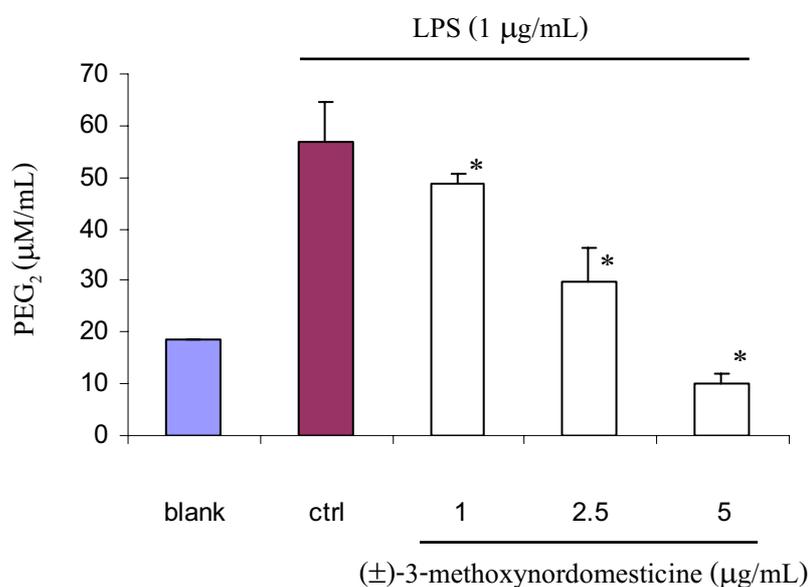
(±)-3-Methoxynordomesticine สามารถยับยั้งการสร้าง nitric oxide ใน murine macrophage RAW 264.7 cells ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS (รูป 2), การติดตามผลของ (±)-3-methoxynordomesticine ต่อการสร้าง PGE<sub>2</sub> เมื่อเทียบกับ control, LPS (1 µg/mL) ซึ่งมี PGE<sub>2</sub> สูงใน RAW 264.7 cells พบว่า 3-methoxynordomesticine (1–5 mg/mL) สามารถยับยั้งการสร้าง PEG<sub>2</sub> ใน RAW 264.7 cells ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS (1µg/mL) (รูป 3) สำหรับการอธิบายกลไกการยับยั้งของ (±)-3-methoxynordomesticine ต่อการสร้าง NO และ PGE<sub>2</sub> เราได้ศึกษาถึงผลของ (±)-3-methoxynordomesticine ที่แสดงต่อ iNOS และ COX-2 ตามลำดับ และในการตอบสนองต่อ LPS, iNOS และ COX-2 ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยยะ และพบว่า (±)-3-methoxynordomesticine สามารถลดการสร้าง iNOS และ COX-2 protein (รูป 4, 5) ในการเปรียบเทียบของ iNOS และ COX-2 พบว่า (±)-3-methoxynordomesticine ไม่มี effect ต่อ β-actin และ COX-1 (ไม่ได้แสดงข้อมูล) แสดงว่า (±)-3-methoxynordomesticine สามารถลดการสร้าง NO และ PGE<sub>2</sub> ใน LPS-stimulated RAW 264.7 cells

โดยการยับยั้ง iNOS และ COX-2 protein ตามลำดับ เคยมีการรายงานว่า cytokines เช่น TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  และ IL-6 เป็น pro-inflammatory ใน *vitro* และ *in vivo*<sup>14</sup> การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า (±)-3-methoxynordomesticine มีผลในการยับยั้งการสร้าง TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  และ IL-6 ใน LPS-stimulated RAW 264.7 cells ดังแสดงใน (รูป 6, 7, 8) นอกจากนี้ ความเป็นพิษของ (±)-3-methoxynordomesticine ซึ่งประเมินได้จากการอยู่รอดของ LPS (more than 95% cell viability) เราพบว่าไม่มีความแตกต่างของ cell ที่ถูก treat ด้วย (±)-3-methoxynordomesticine ที่ทุกความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (1–5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) ในการตายหรืออยู่รอดของ LPS.

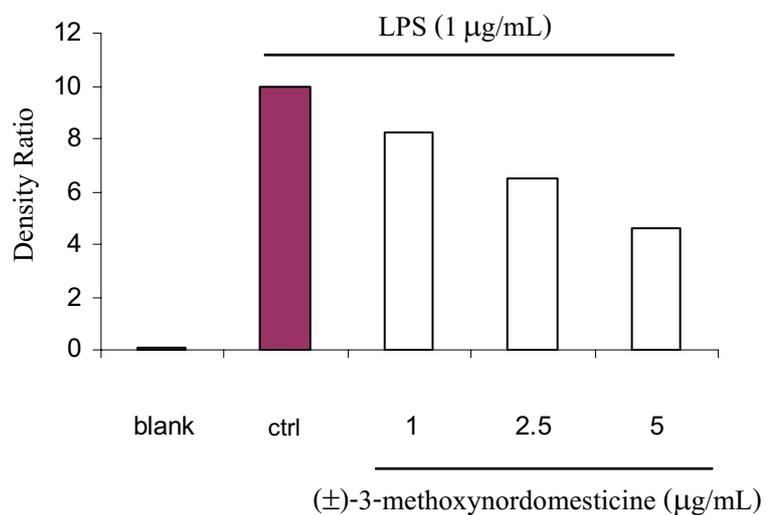
ในการนี้สามารถสรุปได้ว่า (±)-3-methoxynordomesticine ไม่เพียงมีฤทธิ์ antibacterial activity ต่อ *E. coli* ATCC10536 แต่ยังมีฤทธิ์ anti-inflammatory activity อีกด้วย ซึ่ง (±)-3-methoxynordomesticine สามารถยับยั้งการสร้าง NO, PGE<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  และ IL-6 นอกจากนี้ยังมี expression ต่อ iNOS และ COX-2 ใน macrophages ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS *in vitro* จากผลที่ได้คาดว่าอาจใช้ (±)-3-methoxynordomesticine สำหรับรักษาการติดเชื้อของ *S. aureus* และอาจใช้เป็นสารต้านการอักเสบได้ในอนาคต



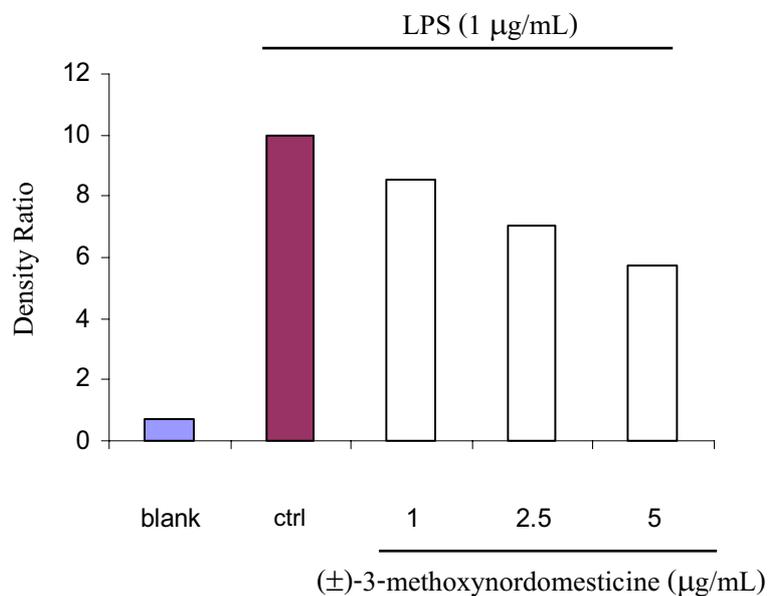
**รูปที่ 2** Evaluation of nitrite production by RAW 264.7 cells stimulated for 24 hours with LPS alone or combination with increasing concentrations (1-5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) of (±)-3-methoxynordomesticine. The values are the means of at least 3 determinations  $\pm$  SD. Probability levels (Student's *t*-test): \*  $p < 0.05$  vs. LPS-treated group.



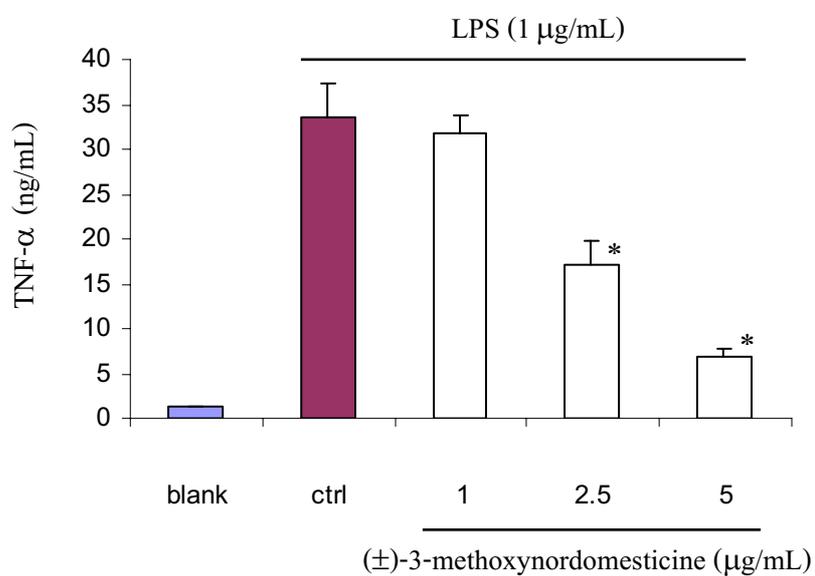
**รูปที่ 3** Effect of (±)-3-methoxynordomesticine on PEG<sub>2</sub> production in LPS-induced RAW 264.7 macrophage for 24 hours. The values are the means of at least 3 determinations ± SD. Probability level (Student's *t*-test): \*  $p < 0.05$  vs. LPS-treated group.



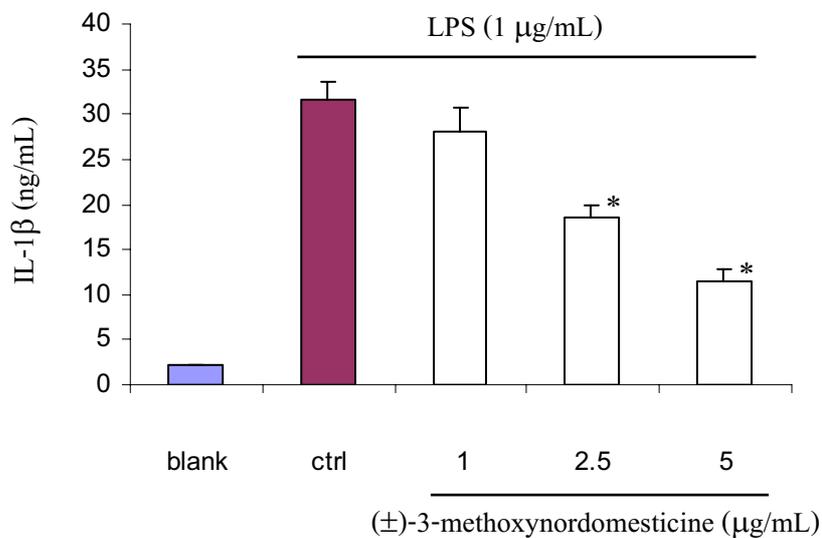
**รูปที่ 4** Effect of (±)-3-methoxynordomesticine on iNOS protein production by LPS-induced RAW 264.7 macrophage for 24 hours.



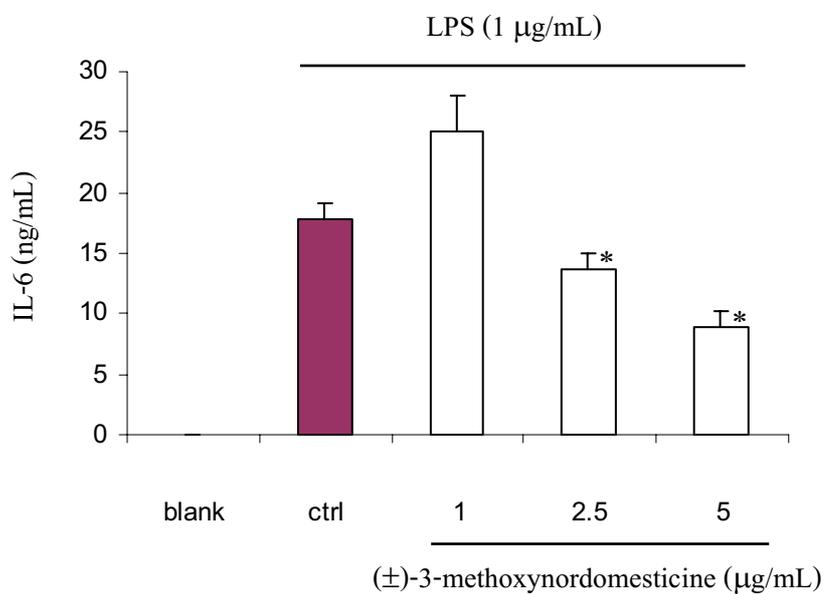
**រូបភាព ៥** Effect of (±)-3-methoxynordomesticine and LPS-induced COX-2 protein expression in RAW 264.7 cells.



**រូបភាព ៦** Effect of (±)-3-methoxynordomesticine on LPS-induced TNF-α production by RAW 264.7 cells. The values are the means of at least 3 determinations  $\pm$  SD. Probability level (Student's *t*-test): \*  $p < 0.05$  vs. LPS-treated group.



**រូបភាព 7** Effect of (±)-3-methoxynordomesticine on IL1-β production by RAW 264.7 cells. The values are the means of at least 3 determinations ± SD. Probability level (Student's *t*-test): \*  $p < 0.05$  vs. LPS-treated group.



**រូបភាព 8** Effect of (±)-3-methoxynordomesticine on LPS induced IL-6 production by RAW 264.7 cells. The values are the means of at least 3 determinations ± SD. Probability level (Student's *t*-test): \*  $p < 0.05$  vs. LPS-treated group.

### การทดลอง

จุดหลอมเหลววัดด้วยเครื่อง Stuart Scientific SMP 2 โดยมีได้ปรับค่า (uncorrected) Ultraviolet spectra วัดจากสารละลายใน methanol ด้วยเครื่อง Perkin Elmer Lambda 35 UV-VIS spectrophotometer Infrared spectra วัดด้วยเครื่อง Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR spectrophotometer ในรูป  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -films  $^1\text{H}$ - และ  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra วัดด้วยเครื่อง Bruker AVANCE 300 spectrometer ที่ความถี่ 300 MHz สำหรับ  $^1\text{H}$  และ 75 MHz สำหรับ  $^{13}\text{C}$  โดยใช้  $\text{CDCl}_3$ , pyridine- $d_5$  และ  $\text{DMSO}-d_6$  ในบางกรณีเป็นตัวทำละลาย และใช้ tetramethylsilane เป็น internal standard Mass spectra วัดด้วยเครื่อง POLARIS Q หรือ HEWLETT PACKARD 5973 mass spectrometer Elemental analyses วัดด้วยเครื่อง Perkin Elmer 2400 Elemental Analyser

**4-Hydroxy-2-nitro-3-methoxybenzaldehyde (2b):** ค่อย ๆ เติม vanillin acetate (**2a**) (50.0 g, 257.7 mmol) ลงใน fuming nitric acid (200 mL) ที่  $-10$ - $5$  °C กวน 10 นาที แล้วเทของผสมลงในน้ำแข็ง (800.0 g) เกิดตะกอนสีเหลืองตกออกมา กรองตะกอน แล้วเติม 10% sodium hydroxide (400 mL) ลงในตะกอน ต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที ตั้งทิ้งให้เย็น ทำให้เป็นกรดด้วย concentrated hydrochloric acid เกิดตะกอนสีเหลือง กรองตะกอนแล้วตกผลึกซ้ำด้วยน้ำให้ **2b** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (44.9 g, 88.6%), mp 136-138 °C [lit.<sup>3</sup> mp 136 °C].  $^1\text{H}$ -NMR  $\delta$ : 3.92 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 7.19 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, Ar-H), 7.52 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, Ar-H), 9.72 (1H, s, CHO).  $^{13}\text{C}$ -NMR  $\delta$ : 66.00 (q), 122.29 (d), 123.08 (s), 133.74 (d), 144.04 (s), 148.55 (s), 162.07 (s), 190.82 (d).

**2-Amino-4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (2c):** Reflux ของผสมของ **2b** (16.0 g, 81.2 mmol), iron (II) sulfate heptahydrate (4.0 g), iron powder (40.0 g), ethanol (150 mL) และน้ำ (50 mL) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นกรองเอาผงเหล็กออกขณะร้อน แล้วระเหย filtrate ภายใต้อากาศดันต่ำ ได้ **2c** เป็นของแข็งรูปเข็มสีน้ำตาล (11.5 g, 84.8%) หลังตกผลึกซ้ำด้วยน้ำ ( $\approx 100$  mL), mp 137-138 °C [lit.<sup>9</sup> mp 138-139 °C].  $^1\text{H}$ -NMR  $\delta$ : 3.81(3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 6.39 (1H, d,  $J=8.6$  Hz, Ar-H), 7.20 (1H, d,  $J=8.6$  Hz, Ar-H), 9.71 (1H, s, CHO).  $^{13}\text{C}$ -NMR  $\delta$ : 58.81 (q), 105.72 (d), 113.01 (s), 131.77 (d), 132.17 (s), 144.96 (s), 154.87 (s), 191.05 (d).

**2-Iodo-4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (2d):** ค่อย ๆ เติมสารละลาย sodium nitrite (9.5 g) ในน้ำ (80 mL) ลงในสารละลาย **2c** (21.0 g, 125.7 mmol) ใน 20% hydrochloric acid (250 mL) ที่กำลังกวนอยู่ที่  $0$ - $5$  °C เมื่อเติมหมด กวนต่ออีก 15 นาที จากนั้นค่อย ๆ เติมสารละลาย potassium

iodide (100 g) ในน้ำ (300 mL) ลงในสารละลาย diazonium salt จากนั้นกวนค้างคืนแล้วเติม chloroform (600 mL) และ sodium thiosulfate มากเกินพอจนอย่างดี แยกชั้น chloroform แล้วล้างชั้น chloroform ด้วยน้ำ และน้ำเกลืออิ่มตัว จากนั้นทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **2d** เป็นผลึกรูปเข็มสีน้ำตาล (30.6 g, 87.5%) หลังตกผลึกซ้ำด้วย ethanol-น้ำ, mp 154-156 °C [lit.<sup>10</sup> mp 155-156 °C]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 3.92 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 7.03 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Ar-H), 7.70 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Ar-H), 9.97 (1H, s, CHO). <sup>13</sup>C-NMR δ: 64.40 (q), 105.13 (s), 121.32 (d), 131.69 (d), 132.03 (s), 151.84 (s), 160.86 (s), 198.87 (d).

**4-Hydroxy-2,3-dimethoxybenzaldehyde (2e):** เติมสารละลายของ **2d** (4.2 g, 15.1 mmol), copper (II) chloride (1.0 g) ใน *N,N*-dimethylformamide (60 mL) ลงในของผสมของ sodium methoxide (9.7 g) ใน methanol (60 mL) ที่กำลัง reflux ในอ่างน้ำมัน (≈160 °C) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็น จากนั้นเติมน้ำ (100 mL) แล้วทำของผสมให้เป็นกรดด้วย 6N hydrochloric acid กรองเอาตะกอนออก แล้วสกัด filtrate ด้วย ethyl acetate (1 × 100 mL, 2 × 50 mL) ล้างชั้น ethyl acetate ด้วยน้ำ (5 × 100 mL) ทำชั้น ethyl acetate ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **2e** เป็นผลึกสีเหลืองอ่อน (2.2 g, 78.0%) หลังทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี silica gel column chromatography ใช้ benzene เป็นตัวชะ mp 72-73 °C [lit.<sup>11</sup> mp 75 °C]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 3.96 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.01 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 6.81 (1H, d, *J*=8.7 Hz, Ar-H), 7.57 (1H, d, *J*=8.7 Hz, Ar-H), 10.20 (1H, s, CHO). <sup>13</sup>C-NMR δ: 61.05 (q), 62.05 (q), 111.54 (d), 122.95 (s), 124.97 (d), 139.25 (s), 156.05 (s), 156.34 (s), 188.67 (d).

**4-Benzyloxy-2,3-dimethoxybenzaldehyde (2f):** Reflux ของผสมของ **2e** (5.0 g, 27.5 mmol), benzyl chloride (3.8 g) และ anhydrous potassium carbonate (4.2 g) ใน ethanol (30 mL) เป็นเวลา 5 ชั่วโมง กรองขณะร้อนแล้วระเหย filtrate ภายใต้ความดันต่ำได้ **2f** เป็นผลึกสีเหลืองอ่อน (6.9 g, 92.4%), mp 63-64 °C [lit.<sup>11</sup> liquid]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 3.90 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.02 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.17 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.79 (1H, d, *J*=8.8 Hz, Ar-H), 7.23-7.50 (5H, m, Ph-H), 7.55 (1H, d, *J*=8.8 Hz, Ar-H), 10.24 (1H, s, CHO). <sup>13</sup>C-NMR δ: 60.98 (q), 62.35 (q), 70.83 (t), 108.93 (d), 123.48 (s), 124.00 (d), 127.28 (d), 128.25 (d), 128.70 (d), 136.02 (s), 141.98 (s), 157.07 (s), 158.43 (s), 188.77 (d).

**4-Benzyloxy-2,3-dimethoxy- $\beta$ -nitrostyrene (2g):** Reflux ของผสมของ **2f** (39.7 g, 145.9 mmol), ammonium acetate (29.2 g) และ nitromethane (29.2 g) ใน acetic acid (440 mL) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็นจากนั้นเทลงในน้ำเย็น (20 mL) จะเกิดตะกอนสีเหลืองอมเขียวตกออกมา กรองตะกอนได้ **2g** เป็นผลึกสีเหลือง (36.4 g, 79.2%), mp 80-81 °C [lit.<sup>11</sup> mp 83-84 °C]. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 3.90 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.00 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.18 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.76 (1H, d,  $J$ =8.8 Hz, Ar-H), 7.15 (1H, d,  $J$ =8.8 Hz, Ar-H), 7.30-7.49 (5H, m, Ph-H), 7.75 (1H, d,  $J$ =13.6 Hz, CH), 8.08 (1H, d,  $J$ =13.6 Hz, CH). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 60.99 (q), 61.26 (q), 70.93 (t), 109.28 (d), 117.26 (s), 126.40 (d), 127.26 (d), 128.29 (d), 128.74 (d), 135.28 (d), 136.04 (s), 136.63 (d), 142.81 (s), 154.42 (s), 156.44 (s).

**4-Benzyloxy-2,3-dimethoxyphenethylamine (2h):** เตรียมโดยใช้ **2g** (28.0 g, 88.9 mmol) และ lithium aluminium hydride (11.2 g) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **2h** เป็นของหนืดสีน้ำตาล (22.1 g, 86.6%) [lit.<sup>11</sup> oil]. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.69 (2H, t,  $J$ =6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.89 (2H, t,  $J$ =6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.90 (6H, s, O-CH<sub>3</sub>  $\times$  2), 5.09 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.65 (1H, d,  $J$ =8.5 Hz, Ar-H), 6.79 (1H, d,  $J$ =8.5 Hz, Ar-H), 7.28-7.45 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 33.89 (t), 42.80 (t), 60.79 (q), 61.02 (q), 70.97 (t), 109.29 (d), 124.32 (d), 125.91 (s), 127.25 (d), 127.85 (d), 128.53 (d), 137.15 (s), 142.91 (s), 151.48 (s), 152.20 (s).

**2-(2-Bromophenyl)-N-(4-benzyloxy-2,3-dimethoxyphenethyl)acetamide (5a):** เตรียมโดยวิธี acid chloride โดยใช้ 2-bromophenylacetic acid (3.8 g, 17.6 mmol) และ amine (**2h**) (5.0 g, 17.42 mmol) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **5a** (3.6 g, 42.8%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย benzene-hexane, mp 101-103 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 209 (4.72), 223sh (4.35), 271 (3.16). IR  $\nu_{\max}$  (film) cm<sup>-1</sup>: 3301, 2926, 1648, 1601, 1542, 1535, 1491, 1467, 1439, 1417, 1379, 1279, 1258, 1200, 1096, 1058, 1026. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.69 (2H, apparent t,  $J$ =6.6 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.42 (2H, apparent q,  $J$ =6.5 Hz, N-CH<sub>2</sub>), 3.67 (2H, s, CO-CH<sub>2</sub>), 3.80 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.09 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.79 (1H, br s, NH), 6.58 (1H, d,  $J$ =8.5 Hz, Ar-H), 6.66 (1H, d,  $J$ =8.5 Hz, Ar-H), 7.10-7.50 (8H, m, Ar-H), 7.54 (1H, d,  $J$ =7.8 Hz, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 29.49 (t), 40.86 (t), 44.02 (t), 60.84 (q), 61.00 (q), 70.98 (t), 109.46 (d), 124.40 (d), 125.10 (s), 127.24 (d), 127.89 (d), 127.93 (d), 128.58 (d), 128.98 (d), 131.78 (d), 133.05 (d), 134.85 (s), 137.09 (s), 142.76 (s), 143.64 (s), 151.73 (s), 151.84 (s), 169.64 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 483[M]<sup>+</sup> (1), 270 (34), 179 (9), 91

(100). *Anal.* Calcd for  $C_{25}H_{26}BrNO_4$ : C, 61.99; H, 5.41; N, 2.89, Found: C, 61.75; H, 5.60; N, 3.02.

**2-(2-Bromo-4,5-dimethoxyphenyl)-N-(4-benzyloxy-2,3-dimethoxyphenethyl)acetamide (5b):**

ในทำนองเดียวกันได้ **5b** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (65.8%) หลังตกผลึกด้วย benzene-hexane, mp 114-116 °C. UV  $\lambda_{max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 207 (4.89), 230sh (4.26), 282 (3.51), 294sh (3.30). IR  $\nu_{max}$  (film)  $cm^{-1}$ : 3307, 2935, 2843, 1652, 1603, 1506, 1466, 1439, 1417, 1386, 1260, 1219, 1193, 1166, 1096, 1058, 1029, 969.  $^1H$ -NMR  $\delta$ : 2.70 (2H, apparent t,  $J=6.6$  Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.42 (2H, apparent q,  $J=6.5$  Hz, N-CH<sub>2</sub>), 3.60 (2H, s, CO-CH<sub>2</sub>), 3.82 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.83 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.85 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.09 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.85 (1H, br s, NH), 6.59 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, Ar-H), 6.67 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, Ar-H), 6.81 (1H, s, Ar-H), 7.01 (1H, s, Ar-H), 7.32-7.43 (5H, m, Ph-H).  $^{13}C$ -NMR  $\delta$ : 29.48 (t), 40.89 (t), 43.50 (t), 56.09 (q), 56.20 (q), 60.80 (q), 61.02 (q), 70.97 (t), 109.40 (d), 113.89 (d), 114.87 (s), 115.57 (d), 124.39 (d), 125.02 (s), 126.58 (s), 127.25 (d), 127.93 (d), 128.57 (d), 137.05 (s), 142.77 (s), 148.70 (s), 148.93 (s), 151.78 (s), 151.84 (s), 170.14 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 544[M]<sup>+</sup> (3), 270 (8), 179 (17), 91 (100). *Anal.* Calcd for  $C_{27}H_{30}BrNO_6$ : C, 59.56; H, 5.55; N, 2.57, Found: C, 59.31; H, 5.72; N, 2.68.

**2-(5-Benzyloxy-2-bromophenyl)-N-(4-benzyloxy-2,3-dimethoxy-phenethyl)acetamide (5c):**

ในทำนองเดียวกันได้ **5c** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (72.9%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 127-128 °C. UV  $\lambda_{max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 206 (4.87), 227 (4.33), 280 (3.22). IR  $\nu_{max}$  (film)  $cm^{-1}$ : 3300, 3065, 3033, 2934, 2873, 2827, 1652, 1595, 1571, 1533, 1492, 1467, 1417, 1380, 1280, 1241, 1194, 1171, 1096, 1057, 1016, 910.  $^1H$ -NMR  $\delta$ : 2.69 (2H, apparent t,  $J=6.6$  Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.41 (2H, apparent q,  $J=6.6$  Hz, N-CH<sub>2</sub>), 3.61 (2H, s, CO-CH<sub>2</sub>), 3.81 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.86 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.02 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.06 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.81 (1H, br s, NH), 6.57 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, Ar-H), 6.66 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, Ar-H), 6.78 (1H, dd,  $J=3.0, 8.8$ , Hz, Ar-H), 6.95 (1H, d,  $J=3.0$  Hz, Ar-H), 7.30-7.45 (11H, m, Ph-H  $\times$  10 และ Ar-H).  $^{13}C$ -NMR  $\delta$ : 29.52 (t), 40.84 (t), 44.25 (t), 60.83 (q), 61.01 (q), 70.24 (t), 70.98 (t), 109.46 (d), 115.62 (s), 115.84 (d), 117.94 (d), 124.40 (d), 125.12 (s), 127.25 (d), 127.49 (d), 127.91 (d), 128.17 (d), 128.56 (d), 128.65 (d), 133.61 (d), 135.80 (s), 136.34 (s), 137.08 (s), 142.78 (s), 151.74 (s), 151.86 (s), 158.32 (s), 169.44 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 498 (9), 179 (25), 91 (70). *Anal.* Calcd for  $C_{32}H_{32}BrNO_5$ : C, 65.09; H, 5.46; N, 2.37,

Found: C, 64.91; H, 5.62; N, 2.48.

**2-(2-Bromo-4,5-methylenedioxyphenyl)-N-(4-benzyloxy-2,3-dimethoxyphenethyl)acetamide**

**(5d):** Reflux ของผสมของ acid (**4**) (11.3 g, 43.6 mmol) และ amine (**2h**) (12.5 g, 43.6 mmol) ใน xylene (150 mL) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีกรำจัดน้ำด้วย Dean-Stark trap จากนั้นระเหย xylene ภายใต้อัตราความดันต่ำได้ของหนืดสีน้ำตาล เติม chloroform (100 mL) ลงในของหนืดเขย่าให้ละลายจนหมด แล้วล้างชั้น chloroform ด้วย 5% hydrochloric acid ( $3 \times 100$  mL), น้ำ (150 mL) และ 10% sodium carbonate ( $3 \times 150$  mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **5d** เป็นผลึกสีขาว (8.3 g, 36.1%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 139-141 °C. UV  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 212 (4.48), 228sh (4.23), 247sh (3.99), 282sh (3.97), 295(4.01). IR  $\nu_{\text{max}}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3296, 2921, 1638, 1603, 1500, 1480, 1417, 1380, 1256, 1234, 1196, 1163, 1096, 1056, 1037, 971, 938, 926.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.70 (2H, apparent t,  $J=6.6$  Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.42 (2H, apparent q,  $J=6.4$  Hz, N-CH<sub>2</sub>), 3.55 (2H, s, CO-CH<sub>2</sub>), 3.83 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.08 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.85 (1H, br s, NH), 5.95 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.61 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, Ar-H), 6.69 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, Ar-H), 6.75 (1H, s, Ar-H), 6.98 (1H, s, Ar-H), 7.29-7.50 (5H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 29.49 (t), 40.81 (t), 43.77 (t), 60.81 (q), 61.02 (q), 70.97 (t), 101.91 (t), 109.45 (d), 111.08 (d), 112.84 (d), 115.40 (s), 124.46 (d), 125.09 (s), 127.25 (d), 127.67 (s), 127.93 (d), 128.58 (d), 137.07 (s), 142.78 (s), 147.64 (s), 147.80 (s), 151.76 (s), 151.85 (s), 169.77 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 527[M]<sup>+</sup> (1), 257 (9), 179 (30), 91 (6). *Anal.* Calcd for C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>BrNO<sub>6</sub>: C, 59.10; H, 4.96; N, 2.65, Found: C, 59.28; H, 4.81; N, 2.40.

**1-(2-Bromobenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline (6a):** เตรียมโดยปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ได้ **6a** เป็นของหนืดสีน้ำตาลเข้มในปริมาณผลผลิตสูง และพบว่า dihydroisoquinoline ที่ได้ไม่เสถียร จึงนำไปทำปฏิกิริยาต่อทันที.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.69 และ 2.73 (total 2H, 2 t,  $J=7.6$  Hz, CH<sub>2</sub> of both conformers), 3.71 และ 3.82 (total 2H, 2 t,  $J=7.6$  Hz, CH<sub>2</sub> of both conformers), 3.85, 3.88, 3.90 และ 3.96 (total 6.7H, 4 s, O-CH<sub>3</sub>  $\times$  2 of both conformers และ CH<sub>2</sub> of one conformer), 4.15 (1.30 H, s, CH<sub>2</sub> of another conformer), 5.01 และ 5.12 (total 2H, 2 s, Ph-CH<sub>2</sub> of both conformers), 6.85 (0.6H, s, Ar-H of one conformer), 7.04-7.65 (9.4H, m, Ph-H  $\times$  5 of both conformers และ Ar-H  $\times$  4.4 of both conformers).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : (both conformers) 18.53 (t), 19.04 (t), 24.85 (t), 42.38 (t), 46.79 (t), 48.04 (t), 60.97 (q), 61.00 (q), 61.04 (q), 61.08 (q),

71.12 (t), 71.20 (t), 107.94 (d), 109.21 (d), 120.66 (d), 121.53 (s), 123.90 (s), 124.54 (s), 124.85 (s), 124.92 (s), 127.38 (d), 127.50 (d), 127.60 (d), 127.64 (d), 128.00 (d), 128.02 (d), 128.15 (d), 128.24 (d), 128.57 (d), 129.69 (d), 129.88 (d), 130.20 (d), 131.02 (d), 132.49 (d), 132.85 (d), 133.07 (d), 136.63 (s), 137.45 (s), 140.19 (s), 145.09 (s), 150.04 (s), 150.09 (s), 150.79 (s), 150.88 (s), 163.64 (s), 165.08 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline (6b):**

ในทำนองเดียวกันได้ **6b** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (42.1%), mp 148-150 °C จากการตกผลึกด้วย benzene-hexane และพบว่า dihydroisoquinoline ที่ได้ไม่เสถียร จึงนำไปทำปฏิกิริยาต่อทันที. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.67 (2H, t,  $J=7.3$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.70 (2H, t,  $J=7.3$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.73 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.79 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.83 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.13 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 5.07 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.80 (1H, s, Ar-H), 6.93 (1H, s, Ar-H), 7.01 (1H, s, Ar-H), 7.24-7.45 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 19.13 (t), 42.16 (t), 47.04 (t), 55.81 (q), 56.00 (q), 60.86 (q), 60.90 (q), 71.09 (t), 107.71 (d), 112.34 (d), 114.07 (s), 115.30 (d), 123.96 (s), 124.72 (s), 127.40 (d), 127.93 (d), 128.47 (d), 129.36 (s), 136.67 (s), 144.81 (s), 148.29 (s), 148.48 (s), 149.96 (s), 150.77 (s), 165.08 (s).

**1-(5-Benzyloxy-2-bromobenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline (6c):**

ในทำนองเดียวกันได้ **6c** เป็นของหนืดสีน้ำตาลเข้มในปริมาณเกือบ 100% และพบว่า dihydroisoquinoline ที่ได้ไม่เสถียร จึงนำไปทำปฏิกิริยาต่อทันที. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.63 (2H, t,  $J=7.5$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.68 (2H, t,  $J=7.6$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.84 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.90 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.07 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 4.94 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.01 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.71 (1H, dd,  $J=8.8, 2.8$  Hz, Ar-H), 6.82 (1H, s, Ar-H), 6.88 (1H, d,  $J=2.8$  Hz, Ar-H), 7.27-7.40 (10H, m, Ph-H), 7.44 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 19.03 (t), 42.80 (t), 47.09 (t), 60.96 (q), 61.00 (q), 70.13 (t), 71.14 (t), 107.78 (d), 115.20 (d), 116.45 (d), 124.00 (s), 124.81 (s), 127.40 (d), 127.42 (d), 127.97 (d), 128.05 (d), 128.56 (d), 133.35 (d), 136.50 (s), 136.72 (s), 138.65 (s), 144.85 (s), 150.01 (s), 150.77 (s), 158.17 (s), 164.69 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-methylenedioxybenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline**

**(6d):** ในทำนองเดียวกันได้ **6d** เป็นของหนืดสีน้ำตาลเข้มในปริมาณเกือบ 100% และพบว่า dihydroisoquinoline ที่ได้ไม่เสถียร จึงนำไปทำปฏิกิริยาต่อทันที. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.67 (2H, t,  $J=7.5$  Hz,

CH<sub>2</sub>), 3.70 (2H, t,  $J=7.5$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.85 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.91 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.02 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 5.06 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.93 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.73 (1H, s, Ar-H), 6.85 (1H, s, Ar-H), 7.01 (1H, s, Ar-H), 7.30-7.42 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 19.05 (t), 42.34 (t), 46.94 (t), 60.94 (q), 60.96 (q), 71.11 (t), 101.71 (t), 107.70 (d), 109.55 (d), 112.56 (d), 114.41 (s), 123.89 (s), 124.84 (s), 127.32 (d), 127.95 (d), 128.55 (d), 130.45 (s), 136.61 (s), 144.93 (s), 147.03 (s), 147.56 (s), 150.06 (s), 150.80 (s), 164.89 (s).

**1-(2-Bromobenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (7a):** เตรียมโดยใช้ sodium borohydride ได้ **7a** เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อน (2.4 g, 85.4%). UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 207 (4.44), 224sh (4.05), 276 (2.94). IR  $\nu_{\max}$  (film) cm<sup>-1</sup>: 3332, 2935, 2829, 1601, 1491, 1456, 1437, 1413, 1377, 1342, 1322, 1274, 1240, 1200, 1110, 1026, 916, 751, 697. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.58-2.78 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 2.84-2.94 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 3.10-3.29 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 3.86 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.16 (1H, dd,  $J=3.3, 10.2$  Hz, H-1), 5.06 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.64 (1H, s, Ar-H), 7.00-7.45 (8H, m, Ar-H), 7.55 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 23.79 (t), 39.53 (t), 42.81 (t), 54.94 (d), 60.39 (q), 60.86 (q), 71.02 (t), 107.97 (d), 121.99 (s), 124.88 (s), 127.25 (d), 127.36 (d), 127.79 (d), 128.21 (d), 128.49 (d), 131.95 (d), 132.99 (d), 133.98 (s), 137.21 (s), 138.67 (s), 141.04 (s), 150.40 (s), 151.19 (s). *Anal.* Calcd for C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>BrNO<sub>3</sub>: C, 64.11; H, 5.59; N, 2.99, Found: C, 64.29; H, 5.42; N, 2.81.

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (7b):** ในทำนองเดียวกันได้ **7b** เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อน (98.0%). UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 210 (4.80), 229sh (4.42), 284sh (3.79), 295sh (3.57). IR  $\nu_{\max}$  (film) cm<sup>-1</sup>: 3429, 2935, 2839, 1602, 1506, 1456, 1438, 1413, 1380, 1322, 1259, 1219, 1164, 1109, 1029, 959. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.60-2.95 (4H, m, CH<sub>2</sub> × 2), 3.15-3.27 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 3.82 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.83 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.15 (1H, dd,  $J=3.2, 9.8$  Hz, H-1), 5.07 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.62 (1H, s, Ar-H), 6.74 (1H, s, Ar-H), 7.04 (1H, s, Ar-H), 7.24-7.47 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 23.86 (t), 40.12 (t), 42.45 (t), 55.40 (d), 56.12 (q), 56.16 (q), 60.47 (q), 60.93 (q), 71.15 (t), 107.99 (d), 114.40 (d), 114.71 (s), 115.75 (d), 122.11 (s), 127.34 (d), 127.87 (d), 128.55 (d), 130.45 (s), 133.85 (s), 137.24 (s), 141.10 (s), 148.28 (s), 148.37 (s), 150.47 (s), 151.26 (s). *Anal.* Calcd for C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>BrNO<sub>5</sub>: C, 61.37; H, 5.72; N, 2.65, Found: C, 61.15; H, 5.88; N, 2.78.

**1-(5-Benzyloxy-2-bromobenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline**

**(7c):** ในทำนองเดียวกันได้ **7c** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (92.1%), mp 93-96 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 206 (4.77), 229 (4.31), 282 (3.43). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3335, 3089, 3064, 3032, 2935, 2829, 1592, 1570, 1492, 1456, 1435, 1413, 1342, 1321, 1277, 1240, 1201, 1169, 1111, 1028, 1015, 913.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.65-2.94 (4H, m,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 3.10-3.25 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.87 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.89 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.14 (1H, dd,  $J=3.3, 9.8$  Hz, H-1), 5.02 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.08 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 6.65 (1H, s, Ar-H), 6.76 (1H, dd,  $J=3.0, 8.8$  Hz, Ar-H), 6.87 (1H, d,  $J=3.0$  Hz, Ar-H), 7.26-7.49 (11H, m, Ph-H  $\times 10$  และ Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.78 (t), 39.53 (t), 42.93 (t), 54.97 (d), 60.46 (q), 60.93 (q), 70.19 (t), 71.11 (t), 108.03 (d), 114.76 (d), 115.58 (s), 118.51 (d), 122.02 (s), 127.31 (d), 127.45 (d), 127.84 (d), 128.10 (d), 128.53 (d), 128.63 (d), 133.57 (d), 133.88 (s), 136.49 (s), 137.22 (s), 139.64 (s), 141.09 (s), 150.45 (s), 151.22 (s), 157.93 (s). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{BrNO}_4$ : C, 66.90; H, 5.61; N, 2.44, Found: C, 66.74; H, 5.80; N, 2.58.

**1-(2-Bromo-4,5-methylenedioxybenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (7d):**

ในทำนองเดียวกันได้ **7d** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (64.0%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 105-106 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 213 (4.34), 230sh (4.09), 276sh (3.83), 293 (3.88). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3336, 2935, 1602, 1585, 1500, 1478, 1456, 1436, 1412, 1378, 1343, 1322, 1273, 1231, 1201, 1163, 1112, 1037, 964, 932.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.62-3.02 (4H, m,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 3.12-3.26 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.88 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.90 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.13 (1H, dd,  $J=3.6, 10.1$  Hz, H-1), 5.09 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.95 (2H, s, O- $\text{CH}_2$ -O), 6.62 (1H, s, Ar-H), 6.76 (1H, s, Ar-H), 7.03 (1H, s, Ar-H), 7.27-7.48 (5H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.59 (t), 39.57 (t), 42.52 (t), 55.22 (d), 60.50 (q), 60.95 (q), 71.16 (t), 101.72 (t), 108.02 (d), 111.38 (d), 112.91 (d), 114.95 (s), 121.89 (s), 127.29 (d), 127.87 (d), 128.56 (d), 131.45 (s), 133.58 (s), 137.21 (s), 141.15 (s), 147.22 (s), 147.31 (s), 150.52 (s), 151.22 (s). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{BrNO}_5$ : C, 60.95; H, 5.11; N, 2.73, Found: C, 60.80; H, 5.28; N, 2.90.

**2-Trifluoroacetyl-1-(2-bromobenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8a):**

เตรียมโดยใช้ trifluoroacetic anhydride (7.8 g), **7a** (2.8 g, 6.0 mmol) และ triethylamine (5.0 g) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **8a** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (2.7 g, 78.3%) จากการทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี alumina column chromatography ใช้ benzene เป็นตัวชะ mp 106-108 °C. UV  $\lambda_{\max}$

(MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 206 (4.87), 224 (4.49), 275 (3.52), 283 (3.50). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2938, 1694, 1603, 1587, 1492, 1459, 1438, 1417, 1375, 1350, 1325, 1265, 1244, 1198, 1171, 1142, 1119, 1094, 1046, 1027, 905.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.70-3.36 (5H, m, H-3 $\beta$ ,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 3.89 (6H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.00-4.13 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 5.00 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.69-5.74 (1H, m, H-1), 6.43 (1H, s, Ar-H), 7.06-7.50 (8H, m, Ph-H  $\times 5$  และ Ar-H  $\times 3$ ), 7.54 (1H, d,  $J=7.5$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : (both conformers) 21.87 (t), 23.47 (t), 37.10 (t), 39.61 (t), 41.50 (t), 53.66 (d), 60.67 (q), 60.98 (q), 71.02 (t), 107.84 (d), 108.22 (d), 114.47 (s), 118.29 (s), 119.67 (s), 125.41 (s), 127.25 (d), 127.31 (d), 127.71 (d), 128.04 (d), 128.61 (d), 128.64 (d), 128.74 (d), 128.90 (d), 129.88 (s), 130.09 (s), 131.28 (d), 131.46 (d), 132.85 (d), 136.39 (s), 136.81 (s), 141.61 (s), 150.91 (s), 151.30 (s), 155.68 (s). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{BrF}_3\text{NO}_4$ : C, 57.46; H, 4.46; N, 2.48, Found: C, 57.30; H, 4.60; N, 2.62.

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-benzyloxy-2-carbomethoxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8b):** เตรียมโดยใช้ methyl chloroformate (4.1 g), **7b** (3.8 g, 7.2 mmol) และ triethylamine (4.4 g) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **8b** เป็นของแข็งสีขาว (3.2 g, 76.2%) จากการทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี alumina column chromatography ใช้ benzene เป็นตัวชะ mp 113-114 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 207 (4.60), 233sh (3.94), 284 (3.28). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2936, 2843, 1698, 1603, 1509, 1452, 1409, 1382, 1342, 1258, 1220, 1165, 1106, 1088, 1029, 986.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.51-3.50 (5H, m, H-3 $\beta$ ,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 3.43 และ 3.65 (total 3H, 2 s, COO- $\text{CH}_3$  of both conformers), 3.78, 3.83, 3.85, 3.87, 3.88 และ 3.89 (total 12H, 6 s, O- $\text{CH}_3 \times 4$  of both conformers), 3.86-3.98 และ 4.22-4.35 (total 1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.93 และ 5.05 (total 2H, 2 s, Ph- $\text{CH}_2$  of both conformers), 5.18-5.35 (1H, m, H-1), 6.26, 6.46, 6.50, 6.59, 7.02 และ 7.04 (total 3H, 6 s, Ar-H of both conformers), 7.30-7.50 (5H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : (both conformers) 22.24 (t), 22.42 (t), 37.12 (t), 38.44 (t), 41.17 (t), 42.02 (t), 52.27 (q), 52.61 (q), 53.32 (d), 54.90 (d), 56.03 (q), 56.12 (q), 56.23 (q), 60.62 (q), 60.69 (q), 60.97 (q), 71.04 (t), 71.14 (t), 108.27 (d), 108.59 (d), 113.76 (d), 114.10 (d), 115.14 (d), 115.29 (d), 121.07 (s), 121.27 (s), 127.15 (d), 127.26 (d), 127.82 (d), 127.96 (d), 128.40 (d), 128.60 (d), 129.59 (s), 129.76 (s), 131.55 (s), 131.66 (s), 137.02 (s), 141.42 (s), 148.10 (s), 148.16 (s), 148.20 (s), 148.33 (s), 150.72 (s), 150.85 (s), 151.14 (s), 155.84 (s), 155.98 (s). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{BrNO}_7$ : C, 59.39; H, 5.50; N, 2.39, Found: C, 59.54; H, 5.37; N, 2.10.

**2-Trifluoroacetyl-1-(5-benzyloxy-2-bromobenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8c):** ในทำนองเดียวกันได้ **8c** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (62.1%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 108-110 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 215 (4.66), 227sh (4.52), 283 (4.12). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2936, 1691, 1592, 1571, 1492, 1459, 1437, 1416, 1376, 1350, 1324, 1283, 1265, 1243, 1196, 1169, 1141, 1117, 1093, 1019, 905.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.70-3.08 (4H, m,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 3.57-3.69 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.88 (6H, s,  $\text{O-CH}_3 \times 2$ ), 3.99-4.09 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.97 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 4.98 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.69 (1H, dd,  $J=5.4, 8.9$  Hz, H-1), 6.41(1H, s, Ar-H), 6.70-6.78 (2H, m, Ar-H), 7.28-7.45 (11H, m, Ph-H  $\times 10$  และ Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.42 (t), 39.68 (t), 41.66 (t), 53.74 (d), 60.68 (q), 60.99 (q), 70.23 (t), 71.03 (t), 108.19 (d), 115.22 (d), 116.12 (s), 117.88 (d), 118.24 (s), 119.68 (s), 127.24 (d), 127.47 (d), 128.03 (d), 128.13 (d), 128.65 (d), 130.01 (s), 133.33 (d), 136.47 (s), 136.81 (s), 137.38 (s), 141.63 (s), 150.90 (s), 151.32 (s), 155.51 (s), 157.97 (s). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{34}\text{H}_{31}\text{BrF}_3\text{NO}_5$ : C, 60.90; H, 4.66; N, 2.09, Found: C, 60.80; H, 4.8; N, 2.17.

**2-Trifluoroacetyl-1-(2-bromo-4,5-methylenedioxybenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8d):** ในทำนองเดียวกันได้ **8d** ของแข็งสีเหลืองอ่อน (65.7%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 152-154 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 212 (4.70), 226sh (4.43), 285 (4.08), 294 (4.09). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2938, 1690, 1604, 1587, 1502, 1478, 1460, 1438, 1416, 1374, 1350, 1325, 1267, 1232, 1199, 1169, 1142, 1115, 1093, 1037, 933, 905.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.70-3.26 (4H, m,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 3.57-3.70 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.88 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 3.89 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 4.00-4.11 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 5.04 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.64 (1H, dd,  $J=5.4, 9.0$  Hz, H-1), 5.93-5.97 (2H, m,  $\text{O-CH}_2\text{-O}$ ), 6.45 (1H, s, Ar-H), 6.56 (1H, s, Ar-H), 6.98 (1H, s, Ar-H), 7.28-7.45 (5H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : (both conformers) 21.86 (t), 23.48 (t), 39.67 (t), 39.72 (t), 41.40 (t), 42.29 (t), 53.93 (d), 60.69 (q), 61.00 (q), 71.15 (t), 101.77 (t), 108.29 (d), 110.53 (d), 112.75 (d), 115.56 (s), 118.34 (s), 119.74 (s), 127.20 (d), 128.06 (d), 128.67 (d), 129.33 (s), 130.05 (s), 136.83 (s), 141.65 (s), 147.33 (s), 147.47 (s), 150.92 (s), 151.35 (s), 155.79 (s). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{BrF}_3\text{NO}_6$ : C, 55.27; H, 4.14; N, 2.30, Found: C, 55.02; H, 4.31; N, 2.47.

**1-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-trifluoroacetylnoraporphine (9a):** เตรียมโดยใช้ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (0.6 g, 3.6 mmol), tributyltin hydride (4.1 g, 14.0 mmol) และ **8a** (2.0 g, 3.6 mmol) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ของหนืดสีน้ำตาล ทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี silica gel column

chromatography ใช้ hexane-ethyl acetate เป็นตัวชะ fraction แรกๆ ได้ hydrogenolysis product (**8e**) เป็นของ แฉ่งสีขาว (18.5%), mp 115-116 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.71-2.78 (2H, m, H-4 of both conformers), 3.08 (2H, apparent d,  $J=6.8$  Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.38-3.50 (1H, m, H-3 $\beta$  of both conformers), 3.86, 3.87, 3.88 และ 3.89 (total 6H, 4 s, O-CH<sub>3</sub>  $\times$  2 of both conformers), 3.90-3.98 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.87 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.55 (1H, apparent t,  $J=6.8$  Hz, H-1), 6.17 (1H, s, Ar-H), 7.04-7.12 (2H, m, Ar-H of both conformers), 7.22-7.41 (8H, m, Ph-H  $\times$  5 และ Ar-H  $\times$  3 of both conformers).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : (both conformers) 21.83 (t), 23.22 (t), 39.98 (t), 40.02 (t), 41.78 (t), 55.30 (d), 60.71 (q), 60.97 (q), 70.78 (t), 108.33 (d), 114.58 (s), 118.40 (s), 119.69 (s), 122.21 (s), 126.95 (d), 127.25 (d), 128.02 (d), 128.46 (d), 128.61 (d), 129.74 (d), 136.78 (s), 136.87 (s), 141.46 (s), 150.88 (s), 150.98 (s), 155.74 (s). Fraction หลังๆ ได้ noraporphine (**9a**) เป็นของแฉ่งสีน้ำตาลอ่อน (10.9%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 205-206 °C. UV  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 215 (4.51), 274 (4.22), 292sh (4.07), 309 (4.02). IR  $\nu_{\text{max}}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3393, 2921, 2850, 1682, 1589, 1456, 1440, 1420, 1377, 1300, 1277, 1186, 1173, 1147, 1127, 1079, 1046, 1019, 952, 926.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.57-3.34 (5H, m, H-5 $\beta$ , CH<sub>2</sub>  $\times$  2), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.97 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.19-4.28 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 5.08 (1H, dd,  $J=4.2, 13.7$  Hz, H-6a), 6.41 (1H, s, OH), 7.19-7.38 (3H, m, Ar-H), 8.39 (1H, d,  $J=7.9$  Hz, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.93 (t), 33.19 (t), 41.09 (t), 52.33 (d), 60.55 (q), 61.03 (q), 114.48 (s), 116.43 (s), 118.26 (s), 122.11 (s), 127.06 (d), 127.29 (d), 128.12 (d), 128.49 (d), 131.36 (s), 134.86 (s), 138.80 (s), 146.13 (s), 148.32 (s), 155.81 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 393[M]<sup>+</sup> (43), 361 (6), 267 (100), 126 (2). *Anal.* Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>4</sub>: C, 61.07; H, 4.61; N, 3.56, Found: C, 61.24; H, 4.48; N, 3.40.

**1-Hydroxy-6-carbomethoxy-2,3,9,10-tetramethoxynoraporphine (9b):** ในทำนองเดียวกันได้ **8f** เป็นของแฉ่งสีขาว (41.6%), mp 121-122 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.53-2.84 (2H, m, H-4 of both conformers), 2.84-3.10 (2H, m, Ar-CH<sub>2</sub> of both conformers), 3.10-3.30 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.52, 3.68, 3.71, 3.81, 3.84, 3.85, 3.87 และ 3.88 (total 15H, 8 s, O-CH<sub>3</sub>  $\times$  4 of both conformers), 4.05-4.22 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.85 (1.06H, AB q,  $J=12.1$  Hz, Ph-CH<sub>2</sub> of one conformer), 4.96 (0.94H, s, Ph-CH<sub>2</sub> of another conformer), 5.05-5.15 และ 5.15-5.25 (total 1H, apparent 2 m, H-1 of both conformers), 6.11 และ 6.28 (total 1H, 2 s, Ar-H of both conformers), 6.52-6.65 (2H, m, Ar-H of both conformers), 6.76 (1H, apparent t,  $J=8.5$  Hz, Ar-H of both conformers), 7.26-7.44 (5H, m, Ph-H of both conformers).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : (both conformers) 22.21 (t), 37.53 (t), 38.69 (t), 41.98 (t), 42.43 (t),

52.45 (q), 52.58 (q), 55.75 (q), 55.84 (q), 55.90 (q), 56.02 (d), 56.12 (d), 60.62 (q), 60.69 (q), 60.92 (q), 70.79 (t), 71.04 (t), 108.44 (d), 108.72 (d), 110.85 (d), 111.01 (d), 112.73 (d), 120.89 (s), 121.32 (s), 121.79 (d), 121.91 (d), 127.11 (d), 127.21 (d), 127.86 (d), 127.91 (d), 128.53 (d), 130.63 (s), 131.71 (s), 136.96 (s), 141.13 (s), 141.32 (s), 147.65 (s), 147.73 (s), 148.61 (s), 150.34 (s), 150.58 (s), 150.77 (s), 151.11 (s), 155.89 (s), 156.00 (s). ได้ **9b** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (8.3%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 212-213 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 222 (4.54), 271sh (3.91), 280 (4.00), 304 (4.12), 315 (4.12). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3383, 2936, 2849, 1686, 1609, 1592, 1513, 1459, 1448, 1396, 1342, 1250, 1197, 1167, 1126, 1111, 1078, 1049, 1021, 974.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.47-2.98 (5H, m, H-5 $\beta$ ,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 3.77, 3.86, 3.91, 3.93 และ 3.97 (total 15H, 5 s, O- $\text{CH}_3 \times 5$ ), 4.38-4.50 (total 1H, m, H-5 $\alpha$ ), 4.72-4.82 (total 1H, m, H-6a), 6.39 (1H, br s, OH), 6.78 (1H, s, H-8), 8.05 (1H, s, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.57 (t), 34.25 (t), 38.78 (t), 52.08 (d), 52.68 (q), 55.84 (q), 55.98 (q), 60.45 (q), 60.98 (q), 111.25 (d), 111.92 (d), 116.43 (s), 119.57 (s), 124.35 (s), 128.75 (s), 128.95 (s), 138.53 (s), 144.80 (s), 147.26 (s), 147.70 (s), 147.90 (s), 155.09 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 415[M] $^+$  (34), 383 (36), 327 (100), 88 (4). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{NO}_7$ : C, 63.60; H, 6.07; N, 3.37, Found: C, 63.42; H, 6.21; N, 3.50.

**9-Benzoyloxy-1-hydroxy-2,3-dimethoxy-6-trifluoroacetylnoraporphine (9c):** ในทำนองเดียวกัน ได้ **8g** เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อน (38.6%).  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.70-2.77(2H, m, H-4 of both conformers), 3.04 (2H, apparent d,  $J=6.8$  Hz, Ar- $\text{CH}_2$ ), 3.34-3.47 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.84, 3.85 และ 3.86 (total 6H, 3 s, O- $\text{CH}_3 \times 2$  of both conformers), 3.88-3.98 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.65 (0.2H, AB q,  $J=11.7$  Hz, Ph- $\text{CH}_2$  of one conformer), 4.85 (1.8H, AB q,  $J=12.1$  Hz, Ph- $\text{CH}_2$  of another conformer), 4.96 และ 4.98 (total 2H, 2 s, Ph- $\text{CH}_2$  of both conformers), 5.56 (1H, apparent t,  $J=6.7$  Hz, H-1), 6.17 (1H, s, Ar-H), 6.64-6.75 (2H, m, Ar-H of both conformers), 6.81-6.91 (1H, m, Ar-H of both conformers), 7.12-7.21 (1H, m, Ar-H of both conformers), 7.23-7.41 (total 10H, m, Ph-H of both conformers).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : (both conformers) 23.18 (t), 39.99 (t), 40.03 (t), 41.80 (t), 55.23 (d), 60.65 (q), 60.92 (q), 69.87 (t), 70.76 (t), 108.31 (d), 113.50 (d), 114.62 (s), 116.10 (d), 118.44 (s), 119.66 (d), 122.40 (d), 127.25 (d), 127.47 (d), 127.92 (d), 127.98 (d), 128.54 (d), 128.58 (d), 129.45 (d), 129.73 (d), 129.97 (s), 136.77 (s), 136.91 (s), 138.48 (s), 141.45 (s), 150.85 (s), 150.99 (s), 155.71 (s), 158.86 (s). ได้ **9c** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (9.7%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 183-184 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 213 (4.67), 231sh (4.43), 274 (4.28), 283 (4.31), 299 (4.19), 312

(4.11). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3583, 3411, 2942, 1686, 1609, 1501, 1459, 1414, 1378, 1342, 1310, 1281, 1233, 1201, 1175, 1153, 1083, 1049, 1016, 974.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.57-3.10 (5H, m, CH,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 3.21-3.33 (1H, m, H-5 $\beta$ ), 3.87 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.97 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.18-4.28 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 5.10 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 6.35 (1H, s, OH), 6.90 (1H, d,  $J=2.4$  Hz, H-8), 6.95 (1H, dd,  $J=2.4, 8.7$  Hz, H-10), 7.30-7.50 (5H, m, Ph-H), 8.32 (1H, d,  $J=8.7$  Hz, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.92 (t), 33.55 (t), 41.12 (t), 52.31 (d), 60.54 (q), 60.99 (q), 69.95 (t), 113.28 (d), 114.76 (d), 116.45 (s), 118.20 (s), 118.29 (s), 124.43 (s), 127.28 (s), 127.51 (d), 127.97 (d), 128.61 (d), 129.48 (d), 136.68 (s), 136.99 (s), 138.80 (s), 145.49 (s), 147.69 (s), 155.80 (s), 157.75 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 499[M]<sup>+</sup> (10), 373 (16), 91 (23), 32 (100). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{NO}_5$ : C, 64.93; H, 4.84; N, 2.80, Found: C, 64.76; H, 4.98; N, 2.97.

**1-Hydroxy-2,3-dimethoxy-9,10-methylenedioxy-6-trifluoroacetylnoraporphine (9d):** ในทำนองเดียวกันได้ **8h** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (13.1%), mp 129-130 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.71-2.78 (2H, m, H-4 of both conformers), 2.99 (2H, apparent d,  $J=6.7$  Hz Ar- $\text{CH}_2$ ), 3.36-3.48 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.87 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.89 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.91-4.00 (total 1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.95 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.49 (1H, apparent t,  $J=6.7$  Hz, H-1), 5.89-5.95 (2H, m, O- $\text{CH}_2$ -O of both conformers), 6.24 (1H, s, Ar-H), 6.51 (1H, dd,  $J=1.4, 7.8$  Hz, Ar-H), 6.54 และ 6.56 (total 1H, 2 d,  $J=1.4$  Hz, Ar-H of both conformers), 6.70 และ 6.75 (total 1H, 2 d,  $J=7.8$  Hz, Ar-H of both conformers), 7.28-7.42 (5H, m, Ph-H of both conformers).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : (both conformers) 23.23 (t), 39.98 (t), 40.02 (t), 41.41 (t), 55.33 (d), 58.28 (d), 60.69 (q), 60.96 (q), 70.95 (t), 100.95 (t), 108.17 (d), 108.38 (d), 109.97 (d), 114.57 (s), 118.39 (s), 119.77 (s), 122.69 (d), 127.19 (d), 128.02 (d), 128.62 (d), 129.97 (s), 130.52 (s), 136.76 (s), 141.50 (s), 146.52 (s), 147.63 (s), 150.87 (s), 151.04 (s), 155.75 (s). ได้ **9d** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (10.4%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 251-252 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 220 (4.60), 235sh (4.40), 274sh (4.03), 283 (4.09), 309 (4.27), 320 (4.28). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3402, 2919, 2850, 1686, 1506, 1488, 1459, 1431, 1414, 1373, 1354, 1305, 1281, 1239, 1225, 1186, 1146, 1094, 1045, 971, 940, 924.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.54-3.09 (4H, m,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 3.19-3.20 (1H, m, H-5 $\beta$ ), 3.87 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.97 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.17-4.27 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 5.02 (1H, dd,  $J=4.2, 13.8$  Hz, H-6a), 5.97 (2H, s, O- $\text{CH}_2$ -O), 6.40 (1H, s, OH), 6.74 (1H, s, H-8), 7.95 (1H, s, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.88 (t), 33.18 (t), 41.09 (t), 52.48 (d), 60.54 (q), 61.01 (q), 101.01 (t), 108.80 (d), 108.82 (d), 114.47 (s), 116.54 (s), 118.17 (s), 124.93 (s), 127.38 (s), 129.17

(s), 138.77 (s), 145.42 (s), 146.26 (s), 146.56 (s), 147.80 (s), 155.83 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 437 [M]<sup>+</sup> (38), 405 (3), 311 (100), 126 (9). *Anal.* Calcd for C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>6</sub>: C, 57.67; H, 4.15; N, 3.20, Found: C, 57.48; H, 4.30; N, 3.37.

**1,9-Dihydroxy-2,3-dimethoxy-6-trifluoroacetylnoraporphine (9e):** ทำปฏิกิริยา catalytic hydrogenation ของของผสมของ **9c** (115.0 mg, 0.23 mmol), 10% Pd/C (10.0 mg) ใน ethanol (30 mL) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วกรอง catalyst ออก จากนั้นนำ filtrate ไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **9e** (84.3 mg, 89.4%) เป็นของแข็งสีน้ำตาลหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 274-275 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 214 (4.64), 232sh (4.39), 274sh (4.25), 282 (4.28), 299 (4.16), 312 (4.08). IR  $\nu_{\max}$  (film) cm<sup>-1</sup>: 3502, 3347, 2920, 2850, 1671, 1619, 1587, 1506, 1459, 1378, 1343, 1302, 1280, 1264, 1234, 1201, 1190, 1176, 1144, 1081, 1049, 1020, 973. <sup>1</sup>H-NMR (acetone-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 2.57-3.13 (4H, m, CH<sub>2</sub> × 2), 3.26-3.38 (1H, m, H-5 $\beta$ ), 3.88 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.94 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.17-4.28 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 5.02 (1H, dd,  $J=5.1, 12.9$  Hz, H-6a), 6.76-6.85 (2H, m, Ar-H), 8.31 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-11). <sup>13</sup>C-NMR (acetone-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 24.10 (t), 33.70 (t), 41.32 (t), 52.69 (d), 60.53 (q), 60.92 (q), 113.95 (d), 115.24 (d), 117.02 (s), 118.00 (s), 118.60 (s), 123.72 (s), 127.20 (s), 130.06 (d), 136.95 (s), 139.46 (s), 146.20 (s), 148.15 (s), 155.73 (s), 156.16 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 409[M]<sup>+</sup> (29), 377 (7), 283 (100), 126 (3). *Anal.* Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>: C, 58.68; H, 4.43; N, 3.42, Found: C, 58.45; H, 4.60; N, 3.55.

**(±)-Isopiline (1a):** Reflux ของผสมของ **9a** (60.0 mg, 15.3 mmol), potassium carbonate (1.0 g), น้ำ (5 mL) และ methanol (20 mL) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ของหนืดสีเทาเติม 5% sodium bicarbonate (40 mL) แล้วสกัดด้วย chloroform (2 × 20 mL), ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **1a** (29.3 mg, 64.7%) เป็นของแข็งสีเทาหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 170-171 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 214 (4.45), 220sh (4.42), 232sh (4.19), 274 (4.20), 291sh (4.00), 309 (3.89). IR  $\nu_{\max}$  (film) cm<sup>-1</sup>: 3583, 3305, 2931, 2849, 1587, 1490, 1463, 1445, 1418, 1380, 1338, 1305, 1267, 1226, 1196, 1152, 1110, 1086, 1052, 1025, 991, 960. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.72-3.25 (5H, m, H-5 $\beta$ , CH<sub>2</sub> × 2), 3.39-3.49 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 3.83-3.94 (1H, m, H-6a), 3.88 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.95 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 7.14-7.34 (3H, m, Ar-H), 8.32 (1H, d,  $J=7.2$  Hz, H-11). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 23.12 (t), 36.82 (t), 42.82 (t), 53.80 (d), 59.95 (q), 60.83 (q), 115.39 (s), 118.32 (s), 126.69 (d), 126.82 (d), 127.73 (d), 127.84

(d), 131.59 (s), 132.18 (s), 134.90 (s), 138.75 (s), 145.31 (s), 149.09 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 297[M]<sup>+</sup> (73), 296 (100), 266 (18). *Anal.* Calcd for C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>: C, 72.71; H, 6.44; N, 4.71, Found: C, 72.60; H, 6.54; N, 4.86.

**(±)-Preocoteine (1b):** Reflux ของผสมของ **9b** (100.0 mg, 0.24 mmol) และ lithium aluminium hydride (2.0 g) ใน tetrahydrofuran (40 mL) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำ (10 mL) ลงไปอย่างระมัดระวังจนหมด เติม dilute ammonium hydroxide (25 mL) กรองตะกอนออกแล้วล้างตะกอนด้วย chloroform แล้วทำชั้น filtrate ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **1b** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (74.5%) หลังตกผลึกด้วย benzene, mp 179-180 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 219 (4.38), 271sh (3.71), 281 (3.82), 308 (4.00), 319 (3.99). IR  $\nu_{\max}$  (film) cm<sup>-1</sup>: 3400, 2937, 2846, 1609, 1593, 1515, 1463, 1430, 1397, 1375, 1347, 1310, 1284, 1253, 1226, 1215, 1195, 1115, 1082, 1058, 1036, 1014, 990, 971. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.70 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>), 2.68-3.36 (7H, m, CH, CH<sub>2</sub> × 3), 3.87, 3.91 และ 3.96 (12H, 3 s, O-CH<sub>3</sub> × 4), 6.77 (1H, s, H-8), 7.96 (1H, s, H-11). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 21.72 (t), 30.34 (q), 33.06 (t), 52.60 (t), 55.91 (q), 56.03 (q), 60.08 (q), 60.87 (q), 62.24 (d), 111.03 (d), 111.73 (d), 115.92 (s), 117.28 (s), 124.31 (s), 126.93 (s), 135.80 (s), 139.06 (s), 145.01 (s), 147.52 (s), 147.69 (s), 148.07 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 371[M]<sup>+</sup> (100), 339 (35), 326 (17). *Anal.* Calcd for C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub>: C, 67.91; H, 6.78; N, 3.77, Found: C, 67.80; H, 6.85; N, 3.90.

**(±)-Oureguattidine (1c):** ในทำนองเดียวกันได้ **1c** เป็นของแข็งสีน้ำตาล (86.5%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 228-229 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 209sh (4.40), 221 (4.53), 269sh (3.96), 303 (4.14), 314 (4.13). IR  $\nu_{\max}$  (film) cm<sup>-1</sup>: 3412, 2922, 2850, 1610, 1463, 1420, 1380, 1341, 1298, 1227, 1195, 1154, 1112, 1085, 1048, 1026, 992. <sup>1</sup>H-NMR (pyridine-*d*<sub>5</sub>)  $\delta$ : 2.81-3.06 (5H, m, H-5 $\beta$ , CH<sub>2</sub> × 2), 3.39-3.49 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 3.86 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.88 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.00-4.15 (1H, m, H-6a), 7.21 (1H, d,  $J$ =2.6 Hz, H-8), 7.27 (1H, dd,  $J$ =2.6, 8.6 Hz, H-10), 9.03 (1H, d,  $J$ =8.6 Hz, H-11). <sup>13</sup>C-NMR (pyridine-*d*<sub>5</sub>)  $\delta$ : 23.97 (t), 38.03 (t), 43.42 (t), 54.85 (d), 60.01 (q), 60.56 (q), 114.37 (d), 115.67 (d), 117.70 (s), 118.28 (s), 125.23 (s), 130.69 (d), 132.05 (s), 138.02 (s), 140.77 (s), 147.25 (s), 149.74 (s), 157.52 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 313[M]<sup>+</sup> (88), 312 (100), 282 (23). *Anal.* Calcd for C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>: C, 68.99; H, 6.11; N, 4.47, Found: C, 68.78; H, 6.30; N, 4.58.

**(±)-3-Methoxynordomesticine (1d):** ในทำนองเดียวกันได้ **1d** เป็นของแข็งสีน้ำตาลอ่อน (78.6%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 206-208 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 213 (4.73), 234sh (4.40), 271sh (4.41), 281 (4.45), 295 (4.29), 310sh (4.15). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3437, 2919, 2850, 1620, 1542, 1502, 1463, 1430, 1413, 1381, 1357, 1303, 1292, 1255, 1228, 1196, 1148, 1126, 1096, 1039, 982, 932.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.58-3.00 (6H, m,  $\text{CH}_2 \times 3$ ), 3.35-3.44 (1H, m, H-6a), 3.87 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.94 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 5.95 (2H, AB q,  $J=1.4$  Hz, O- $\text{CH}_2$ -O), 6.72 (1H, s, H-8), 7.90 (1H, s, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.51 (t), 37.29 (t), 42.99 (t), 54.02 (d), 59.93 (q), 60.81 (q), 100.78 (t), 108.14 (d), 108.66 (d), 115.53 (s), 118.63 (s), 125.74 (s), 129.49 (s), 131.87 (s), 138.58 (s), 144.48 (s), 145.69 (s), 146.21 (s), 148.61 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 341[M]<sup>+</sup> (87), 340 (100), 310 (22). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{NO}_5$ : C, 66.85; H, 5.61; N, 4.10, Found: C, 66.68; H, 5.84; N, 4.03.

**MIC ของ (±)-isopiline, (±)-preocoteine, (±)-oureguattidine และ (±)-3-methoxynordomes-ticine หาได้โดยวิธี NCCLS microbroth dilution<sup>8</sup> ดังนี้**

1. เตรียมสารละลายของ (±)-isopiline, (±)-preocoteine, (±)-oureguattidine และ (±)-3-methoxy-nordomes-ticine ใน DMSO ให้มีความเข้มข้น 1024 µg/mL
2. เลี้ยงจุลชีพ 3 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Escherichia coli* ATCC10536 และ *Candida albicans* ATCC90028 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดย 10% glucose (NBG) สำหรับเลี้ยงเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC25932 และ *Escherichia coli* ATCC10536; Sabouraud glucose broth สำหรับเชื้อ *Candida albicans* ATCC90028 บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจากเตรียมเชื้อให้มีความเข้มข้น 1 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร
3. ทำ two-fold serial dilution ของสารในข้อ 1 ให้สารละลายมีความเข้มข้นจาก 512 µg/mL ถึง 0.50 µg/mL ในจานเพาะเชื้อเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ดังนี้
  - 3.1 เติมสารละลายที่มีความเข้มข้น 1024 µg/mL ปริมาตร 100 µL ลงในจานเพาะเชื้อจานที่ 1 จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 µL ลงไป เขย่าให้เข้ากันจะได้สารผสมที่มีความเข้มข้น 512 µg/mL
  - 3.2 แบ่งของผสมปริมาตร 100 µL ในจานที่ 1 ใส่ลงในจานที่ 2 แล้วเติมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 µL ลงไปในจานที่ 2 เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารผสมที่มีความเข้มข้น 256 µg/mL
  - 3.3 แบ่งของผสมปริมาตร 100 µL ในจานที่ 2 ใส่ลงในจานที่ 3 แล้วเติมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 µL ลงไปในจานที่ 3 เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารผสมที่มีความเข้มข้น 128 µg/mL
4. ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.3 จนจานเพาะเชื้อรองสุดท้ายมีความเข้มข้น 0.5 µg/mL แล้วมีจานเพาะเชื้อจานสุดท้ายที่มีอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเดียว เป็นจาน control
5. เติมเชื้อจุลชีพ 20 µL ลงในจานเพาะเชื้อในข้อ 3 จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อลงไปอีก 80 µL ผสมให้เข้ากัน ดังนั้นทุกจานจะมีปริมาตรสุทธิเป็น 200 µL ความเข้มข้นจานแรกจะเท่ากับ 256 µg/mL และจานรองสุดท้ายเท่ากับ 0.25 µg/mL
6. บ่มจานเพาะเชื้อในข้อ 5 ที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
7. ค่า MIC หาได้จากการพิจารณาความขุ่นของจานเพาะเชื้อที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเทียบกับจาน control โดยจาน control จะขุ่นแสดงว่าจุลชีพเจริญเติบโตได้ สังเกตจานที่ใสจานแรกนั้นคือ MIC ของสารที่ทำทดสอบ

### การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงโดยวิธี MTT assay<sup>13</sup>

MTT ของ (±)-3-methoxynordomesticine ทำดังนี้

1. RAW 264.7 murine macrophage cell line เลี้ยงในอาหาร DMEM ที่เติม 10% FBS เลี้ยงในสภาวะ 5% CO<sub>2</sub> อุณหภูมิ 37 °C
2. RAW 264.7 cells ได้ถูกขูดโดยใช้ scraped rubber แล้วเจือจางในอาหาร DMEM ที่เติม 10% FBS และใส่ลงไปใน 96-well plate โดยใส่หลุมละ  $2 \times 10^5$  cells ในอาหาร DMEM ที่เติม 10% FBS 100  $\mu$ L เลี้ยงในสภาวะ 5% CO<sub>2</sub> อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง
3. เตรียม (±)-3-methoxynordomesticine ใน DMSO ให้ได้ความเข้มข้น 2 mg/mL (stock solution) แล้วนำมาเจือจางใน DMEM ที่ไม่มี FBS ให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม (0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64  $\mu$ g/mL) เติม (±)-3-methoxynordomesticine หรือ DMEM (negative control) หรือ 50  $\mu$ g/mL acridine orange ใน MEM (negative control) ปริมาตร 100  $\mu$ L ลงไปใน RAW 264.7 cells (ดูดอาหาร DMEM เก้าทิ้ง) เลี้ยงในสภาวะ 5% CO<sub>2</sub> อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง
4. RAW 264.7 cells ถูกนำมาล้างด้วย DMEM ที่ไม่มี FBS ปริมาตร 150  $\mu$ L 3 ครั้งแล้วเติม 5 mg/mL MTT ใน DMEM ที่ไม่มี FBS ปริมาตร 50  $\mu$ L บ่มไว้ในสภาวะ 5% CO<sub>2</sub> อุณหภูมิ 37 °C นาน 4 ชั่วโมง
5. ดูดสารละลายที่บ่มไว้ทิ้ง แล้วเติม DMSO ปริมาตร 50  $\mu$ L ลงไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที นำไปอ่านความเข้มสีด้วย ELISA plate reader (Hewlett Packard) ที่ความยาวคลื่น 540 nm
6. คำนวณหาความเข้มข้นของ (±)-3-methoxynordomesticine ที่สามารถลดความเข้มของสี formazan blue ได้ครึ่งหนึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ negative control (cell control)

### การตรวจคุณสมบัติการต้านการอักเสบ

RAW 264.7 murine macrophage cell line ได้ถูกนำมาใช้ในการทดสอบคุณสมบัติการต้านการอักเสบ โดยเลี้ยง RAW 264.7 murine macrophage cell line ในอาหาร DMEM ที่เติม 10% FBS เลี้ยงในสภาวะ 5% CO<sub>2</sub> อุณหภูมิ 37 °C RAW 264.7 cells ได้ถูกขูดโดยใช้ scraped rubber แล้วเจือจางในอาหาร DMEM ที่เติม 10% FBS และใส่ลงไปใน 96-well plate โดยใส่หลุมละ  $2 \times 10^5$  cells ในอาหาร DMEM ที่เติม 10% FBS 100  $\mu$ L เลี้ยงในสภาวะ 5% CO<sub>2</sub> อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง เตรียม (±)-3-methoxynordomesticine ใน DMSO ให้ได้ความเข้มข้น 2 mg/mL (stock solution) แล้วนำมาเจือจางใน DMEM ที่ไม่มี FBS ให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม (0.5, 1, 1.5, 2  $\mu$ g/mL) เติม (±)-3-methoxynordomesticine หรือ DMEM (negative control) ปริมาตร 100  $\mu$ L ลง

ไปใน RAW 264.7 cells (คูอาหาร DMEM เก้าที่) เลี้ยงในสภาวะ 5% CO<sub>2</sub> อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง แล้วกระตุ้นด้วย Lipopolysaccharide (LPS) ความเข้มข้น 1 µg/mL เลี้ยงในสภาวะ 5% CO<sub>2</sub> อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง แล้วเก็บ supernatant ที่เลี้ยงเซลล์ไว้เพื่อรอการทดสอบต่อไป ได้แก่ nitrite assay, proinflammatory cytokine ได้แก่ PGE<sub>2</sub>, TNF-α, IL-1β และ IL-6 ส่วน RAW 264.7 cells จะนำมาตรวจวิเคราะห์ iNOS และ COX-2 โดยวิธี Western blot assay

#### การตรวจวิเคราะห์ Nitric Oxide (total) Detection Kit (Stressgen, USA)

1. เตรียม nitrate standard ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยจุด 1X reaction buffer ปริมาตร 900 µL ลงในหลอดที่ 1 และจุด 1X reaction buffer ปริมาตร 500 µL ลงในหลอดที่ 2-6 เติม nitrate standard solution ความเข้มข้น 1,000 µmol/L ลงในหลอดที่ 1 ผสมให้เข้ากันดี แล้วดูดสารละลายจากหลอดที่ 1 ปริมาตร 500 µL เจือจางลงในหลอดที่ 2 แล้วทำเจือจางเช่นนี้ในหลอดที่ 3-6 จะได้ความเข้มข้นของ nitrate standard solution หลอดที่ 1-6 ดังนี้ 100, 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.125 µmol/L
2. เติม 1X reaction buffer ปริมาตร 200 µL ลงใน microtiter plate หลุม A1 (blank well)
3. เติม nitrate standard solution หลอดที่ 1-6 ลงในหลุม B1, C1, D1, E1, F1 และ G1 หลุมละ 50 µL (standard #1 - #6)
4. เติม 1X reaction buffer ปริมาตร 50 µL ลงในหลุม H1 (zero standard)
5. เติม samples ลงไปในแต่ละหลุม ตั้งแต่หลุม A2 เป็นต้นไป หลุมละ 50 µL
6. เติม final NADH dilution (ละลาย NADH ใน vial ด้วย deionized water ปริมาตร 1 mL เก็บไว้ -20 °C, เตรียม final NADH dilution โดยผสม NADH solution ปริมาตร 0.9 mL กับ deionized water ปริมาตร 1.8 mL แชนน้ำแข็ง) ปริมาตร 25 µL ในหลุม standards, zero standard และ samples
7. เติม nitrate reductase final enzyme dilution (ละลาย nitrate reductase ใน vial ด้วย nitrate reductase storage buffer ปริมาตร 1 mL ที่ไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที เก็บไว้ -20 °C (เรียกสารละลายนี้ว่า enzyme dilution I) เตรียม final enzyme dilution โดยผสม enzyme dilution I ปริมาตร X µL กับ reaction buffer ปริมาตร 1.5X µL แชนน้ำแข็ง) ปริมาตร 25 µL ในหลุม standards, zero standard และ samples ผสมให้เข้ากันดีโดยเขย่าเบาๆ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 30 นาที
8. เติม Griess reagent I ปริมาตร 50 µL ในแต่ละหลุม ยกเว้นหลุม blank (A1)
9. เติม Griess reagent II ปริมาตร 50 µL ในแต่ละหลุม ยกเว้นหลุม blank (A1)
10. ผสมให้เข้ากันดีโดยเขย่าเบาๆ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที

11. นำไปอ่านค่า optical density ในแต่ละหลุม ที่ความยาวคลื่น 540 nm ด้วยเครื่อง ELISA reader เขียนกราฟ nitrate standard แล้วเปรียบเทียบกับ samples กับกราฟมาตรฐาน

#### การตรวจวิเคราะห์ PGE<sub>2</sub> EIA Kit (Stressgen, USA)

ชุดตรวจ Assay Designs' Correlate-EIA™ Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) kit อาศัยหลักการ competitive immunoassay ซึ่งมีวิธีการ ดังต่อไปนี้

1. เตรียม PGE<sub>2</sub> standard คูณ standard diluent หรือ tissue culture media ลงในหลอดทดลองหลอดที่ 1 ปริมาตร 950 µL และคูณ standard diluent หรือ tissue culture media ลงในหลอดทดลองหลอดที่ 2-7 หลอดละ 500 µL คูณ PGE<sub>2</sub> standard solution เข้มข้น 50,000 pg/mL ปริมาตร 500 µL เจือจางลงในหลอดที่ 3-7 จะได้ PGE<sub>2</sub> standards ที่มีความเข้มข้น 2,500, 1,250, 625, 313, 156, 78.1, และ 39.1 pg/mL ในหลอดที่ 1-7 ตามลำดับ
2. นำ microtiter plate ที่ coated ด้วย goat anti-mouse IgG ไว้แล้วมาเติม standard diluent หรือ tissue culture media ในหลุม NSB (หลุม A1) ปริมาตร 100 µL
3. เติม PGE<sub>2</sub> standards ที่เตรียมไว้ในหลอดที่ 1-7 ลงในหลุม B1-H1 ตามลำดับ หลุมละ 100 µL
4. เติม samples ลงไปในแต่ละหลุม ตั้งแต่หลุม A2 เป็นต้นไป หลุมละ 100 µL
5. เติม assay buffer ลงในหลุม NBS (หลุม A1) ปริมาตร 50 µL
6. เติม blue conjugate (alkaline phosphatase conjugated with PGE<sub>2</sub>) ลงในหลุม PGE<sub>2</sub> standards และ samples หลุมละ 50 µL
7. เติม yellow antibody (monoclonal antibody to PGE<sub>2</sub>) ลงในทุกหลุม (หลุม NSB, PGE<sub>2</sub> standards และ samples) หลุมละ 50 µL
8. บ่ม microtiter plate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าเบาๆ นาน 2 ชั่วโมง
9. นำ microtiter plate มาล้างด้วย 1X wash solution ครั้งละ 400 µL 3 ครั้ง
10. คูณ pNpp (p-nitrophenyl phosphatase) substrate solution ลงในทุกหลุมๆ ละ 200 µL บ่ม microtiter plate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 45 นาที ไม่ต้องเขย่า
11. คูณ stop solution (trisodium phosphate solution) ลงในทุกหลุมๆ ละ 50 µL
12. นำ microtiter plate ไปอ่านค่า optical density ที่ความยาวคลื่น 405 nm
13. คำนวณหา Net OD โดยนำค่า OD ของแต่ละหลุม – จาก OD ของหลุม NSB (A1) นำค่า Net OD ของ PGE<sub>2</sub> standards มาสร้างกราฟ แล้วนำค่า Net OD ของ samples มาคำนวณหาปริมาณ PGE<sub>2</sub>

### การตรวจวิเคราะห์ mouse TNF- $\alpha$ EIA Kit (Stressgen, USA)

1. เตรียม TNF- $\alpha$  standard คูณ assay buffer 16 ลงในหลอดทดลองหลอดที่ 1 ปริมาตร 450  $\mu$ L และคูณ assay buffer 16 ลงในหลอดทดลอง หลอดที่ 2-8 หลอดละ 250  $\mu$ L คูณ mouse TNF- $\alpha$  standard เข้มข้น 20,000 pg/mL ปริมาตร 50  $\mu$ L ลงในหลอดที่ 1 ผสมให้เข้ากันดี คูณสารละลายจากหลอดที่ 1 ปริมาตร 250  $\mu$ L เจือจางลงในหลอดที่ 2 และเจือจางเช่นเดียวกันลงในหลอดที่ 3-8 จะได้ TNF- $\alpha$  standards ที่มีความเข้มข้น 2,000, 500, 250, 62.5, 31.25, และ 15.63 pg/mL ในหลอดที่ 1-8 ตามลำดับ
2. นำ microtiter plate ที่ coated ด้วย monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อ mouse TNF- $\alpha$  ไว้แล้วมาเติม TNF- $\alpha$  standard ที่เตรียมไว้ในหลอดที่ 1-8 ลงในหลุม A1-H1 ตามลำดับ หลุมละ 50  $\mu$ L
3. คูณ standards diluent (Assay buffer 16 หรือ tissue culture media) ลงในหลุม A2 (blank) หลุมละ 50  $\mu$ L
4. คูณ samples ลงไปในแต่ละหลุม ตั้งแต่หลุม B2 เป็นต้นไป หลุมละ 50  $\mu$ L
5. บ่ม microtiter plate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าเบาๆ นาน 2 ชั่วโมง
6. นำ microtiter plate มาล้างด้วย 1X wash solution ครั้งละ 400  $\mu$ L 4 ครั้ง
7. คูณ yellow antibody (rabbit polyclonal antibody ต่อ mouse TNF- $\alpha$ ) ลงในทุกหลุมๆ ละ 50  $\mu$ L บ่ม microtiter plate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าเบาๆ นาน 2 ชั่วโมง
8. นำ microtiter plate มาล้างด้วย 1X wash solution ครั้งละ 400  $\mu$ L 4 ครั้ง
9. คูณ blue conjugate (donkey anti-rabbit antibody conjugated to horseradish peroxidase) ลงในทุกหลุมๆ ละ 50  $\mu$ L บ่ม microtiter plate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าเบาๆ นาน 30 นาที
10. นำ microtiter plate มาล้างด้วย 1X wash solution ครั้งละ 400  $\mu$ L 4 ครั้ง
11. คูณ TMB (3,3',5,5' tetramethylbenzidine and hydrogen peroxide) substrate solution ลงในทุกหลุมๆ ละ 50  $\mu$ L บ่ม microtiter plate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที ไม่ต้องเขย่า
12. คูณ stop solution (1N hydrochloric acid) ลงไปในทุกหลุม หลุมละ 50  $\mu$ L
13. นำ microtiter plate ไปอ่านค่า optical density ที่ความยาวคลื่น 450 nm
14. คำนวณหา Net OD โดยนำค่า OD ของแต่ละหลุม – จาก OD ของหลุม blank (A2) นำค่า Net OD ของ TNF- $\alpha$  standards มาสร้างกราฟ แล้วนำค่า Net OD ของ samples มาคำนวณหาปริมาณ TNF- $\alpha$

### การตรวจวิเคราะห์ mouse IL-1 $\beta$ EIA Kit (Stressgen, USA)

1. เตรียม IL-1 $\beta$  standard คุก standard diluent หรือ tissue culture media ลงในหลอดทดลอง หลอดที่ 1-4 หลอดละ 300  $\mu$ L คุก mouse IL-1 $\beta$  standard (recombinant mouse IL-1 $\beta$ ) เข้มข้น 4,000 pg/mL ปริมาตร 100  $\mu$ L ลงในหลอดที่ 1 ผสมให้เข้ากันดี คุกสารละลายจากหลอดที่ 1 ปริมาตร 100  $\mu$ L เจือจางลงในหลอดที่ 2 และเจือจางเช่นเดียวกันลงในหลอดที่ 3-4 จะได้ IL-1 $\beta$  standards ที่มีความเข้มข้น 1,000, 250, 62.5, และ 15.63 pg/mL ในหลอดที่ 1-4 ตามลำดับ
2. นำ microtiter plate ที่ coated ด้วย monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อ mouse IL-1 $\beta$  ไว้แล้วมาเติม IL-1 $\beta$  standard ที่เตรียมไว้ในหลอดที่ 1-4 ลงในหลุม A1-D1 ตามลำดับ หลุมละ 50  $\mu$ L
3. คุก standards diluent หรือ tissue culture media ลงในหลุม E1 (Blank) หลุมละ 50  $\mu$ L
4. คุก samples ลงไปในแต่ละหลุม ตั้งแต่หลุม F1 เป็นต้นไป หลุมละ 50  $\mu$ L
5. คุก antibody (biotinylated antibody ต่อ mouse IL-1 $\beta$ ) ลงไปในทุกหลุมละ 50  $\mu$ L
6. บ่ม microtiter plate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าเบาๆ นาน 2 ชั่วโมง
7. นำ microtiter plate มาล้างด้วย 1X wash solution ครั้งละ 400  $\mu$ L 3 ครั้ง
8. คุก streptavidin-HRP Conjugate (เตรียมใหม่ทุกครั้ง, คุก streptavidin-HRP conjugate ปริมาตร 2.5  $\mu$ L ผสมลงใน streptavidin-HRP dilution buffer ปริมาตร 1 mL) ลงในทุกหลุมละ 50  $\mu$ L บ่ม microtiter plate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าเบาๆ นาน 30 นาที
9. นำ microtiter plate มาล้างด้วย 1X wash solution ครั้งละ 400  $\mu$ L 3 ครั้ง
10. คุก TMB (3,3',5,5' tetramethylbenzidine and hydrogen peroxide) substrate solution ลงในทุกหลุมละ 50  $\mu$ L บ่ม microtiter plate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที ไม่ต้องเขย่า
11. คุก stop solution (0.18 M sulfuric acid) ลงในทุกหลุม หลุมละ 50  $\mu$ L
12. นำ microtiter plate ไปอ่านค่า optical density ที่ความยาวคลื่น 450 nm
13. คำนวณหา Net OD โดยนำค่า OD ของแต่ละหลุม – จาก OD ของหลุม blank (E1) นำค่า Net OD ของ IL-1 $\beta$  standards มาสร้างกราฟ แล้วนำค่า Net OD ของ samples มาคำนวณหาปริมาณ IL-1 $\beta$

### การตรวจวิเคราะห์ mouse IL-6 EIA Kit (Stressgen, USA)

1. เตรียม IL-6 standard คุก standard diluent (Assay Buffer หรือ tissue culture media ปริมาตร 2 mL ลงใน mouse IL-6 (2,000 พิโคกรัม) ใน vial จะได้ IL-6 เข้มข้น 1,000 pg/mL คุก standard diluent (Assay Buffer 13 หรือ tissue culture media) ลงในหลอดที่ 2-8 หลอดละ 500  $\mu$ L คุก mouse IL-6 standard ที่เตรียมไว้ ความเข้มข้น 1000 pg/mL ปริมาตร 500  $\mu$ L เจือจางลงในหลอดที่ 3 และ

- เจือจางเช่นเดียวกันลงในหลอดที่ 4-8 จะได้ IL-6 standards ที่มีความเข้มข้น 1,000, 250, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63 และ 7.81 pg/mL ในหลอดที่ 1-8 ตามลำดับ
2. นำ microtiter plate ที่ coated ด้วย monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อ mouse IL-6 ไว้แล้ว มาเติม IL-6 standard ที่เตรียมไว้ในหลอดที่ 1-8 ลงในหลุม A1-H1 ตามลำดับ หลุมละ 50  $\mu$ L
  3. คุก standards diluent (Assay Buffer 13 tissue culture media) ลงในหลุม A2 (Blank) ปริมาตร 50  $\mu$ L
  4. คุก samples ลงไปในแต่ละหลุม ตั้งแต่หลุม B2 เป็นต้นไป หลุมละ 50  $\mu$ L
  5. บ่ม microtiter plate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าเบาๆ นาน 1 ชั่วโมง
  6. นำ microtiter plate มาล้างด้วย 1X wash solution ครั้งละ 400  $\mu$ L 4 ครั้ง
  7. คุก yellow antibody (biotinylated rat monoclonal antibody ต่อ mouse IL-6) ลงในทุกหลุมๆ ละ 50  $\mu$ L
  8. บ่ม microtiter plate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าเบาๆ นาน 1 ชั่วโมง
  9. นำ microtiter plate มาล้างด้วย 1X wash solution ครั้งละ 400  $\mu$ L 4 ครั้ง
  10. คุก blue conjugate (streptavidin conjugated กับ horseradish peroxidase) ลงในทุกหลุมๆ ละ 50  $\mu$ L บ่ม microtiter plate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าเบาๆ นาน 30 นาที
  11. นำ microtiter plate มาล้างด้วย 1X wash solution ครั้งละ 400  $\mu$ L 4 ครั้ง
  12. คุก TMB (3,3',5,5' tetramethylbenzidine และ hydrogen peroxide) substrate solution ลงในทุกหลุมๆ ละ 50  $\mu$ L บ่ม microtiter plate ไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 15 นาที ไม่ต้องเขย่า
  13. คุก stop solution (1 N hydrochloric acid) ลงในทุกหลุม หลุมละ 50  $\mu$ L
  14. นำ microtiter plate ไปอ่านค่า optical density ที่ความยาวคลื่น 450 nm
  15. คำนวณหา Net OD โดยนำค่า OD ของแต่ละหลุม – จาก OD ของหลุม blank (A2) นำค่า Net OD ของ IL-6 standards มาสร้างกราฟ แล้วนำค่า Net OD ของ samples มาคำนวณหาปริมาณ IL-6

#### การตรวจวิเคราะห์ iNOS และ COX-2 ด้วยวิธี Western blot assay

RAW 264.7 cell ที่ได้รับการบ่มด้วย ( $\pm$ )-3-methoxynordomesticine และได้รับการกระตุ้นด้วย lipopolysaccharide (LPS) ความเข้มข้น 1  $\mu$ g/mL จะนำมาตรวจวิเคราะห์ iNOS และ COX-2 โดยวิธี Western blot assay ดังนี้

1. RAW 264.7 cells ได้นำมาปั่นล้างด้วย PBS 3 ครั้ง แล้วนำมาทำให้เซลล์แตกด้วย lysis buffer

(50 mM Cl, 5 mM EDTA, 0.1% Nonidet P-40, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 0.5 mM dithiothreitol, 5 mM NaF, 0.5 mM naorthovanadate) ที่ผสม 5  $\mu$ L/mL ของ leupeptin และ aprotinin บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 15 นาที

2. นำไปปั่นที่ 3000 g ที่อุณหภูมิ 4 °C คว้าเก็บ supernatant ไว้ที่ -20 °C
3. นำ supernatant ที่เก็บได้มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ด้วย BioRad protein assay reagent
4. นำ supernatant ที่วิเคราะห์โปรตีนได้ ปริมาณ 40-50  $\mu$ g ทั้ง RAW 264.7 cells ที่บ่มด้วย ( $\pm$ )-3-Methoxynordomesticine และ RAW 264.7 cells control ที่ถูกกระตุ้นด้วย LPS ความเข้มข้น 1  $\mu$ g/mL มาทำ electrophoresis ใน 10% SAD PAGE จากนั้นทำถ่ายลงบน nitrocellulose membrane ด้วยวิธี Wet blot ด้วยเครื่อง Mini Trans-Blot Electrophoretic Transfer Cell (Bio-Rad) ทำการ block ด้วย 5% skim milk บ่มที่ 4 °C ซ้ำมคืน
5. นำ nitrocellulose membrane ที่ได้มาบ่มด้วย monoclonal anti-iNOS (Santa Cruz, CA,USA) (สำหรับตรวจหา iNOS) หรือบ่มด้วย monoclonal anti-COX-2 (Santa Cruz, CA, USA) (สำหรับตรวจหา COX-2) พร้อมกับ anti- $\beta$ -actin antibody (Santa Cruz, CA,USA) (สำหรับตรวจหา  $\beta$ -actin, control) ที่ระดับความเจือจาง 1:500 โดยบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าเบาๆ นาน 60 นาที
6. นำ nitrocellulose membrane มาล้างด้วย PBS 3 ครั้ง แล้วบ่มด้วย horseradish peroxidase-conjugated goat anti-mouse IgG (Santa Cruz, CA,USA) ที่ระดับความเจือจาง 1:1000 โดยบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าเบาๆ นาน 60 นาที
7. นำ nitrocellulose membrane มาล้างด้วย Tween20/ Tris-buffered saline 3 ครั้ง แล้วบ่มด้วย substrate จาก Chemiluminescence Kit (Amersham Life Scirnce, IL, USA)
8. บันทึก Chemiluminescence reaction ด้วย hyperfilm (Amersham Life Scirnce, IL, USA)
9. เปรียบเทียบความเข้มของแถบแบนด์ที่ตรวจพบด้วย gel document คำนวณความเข้มของแบนด์ต่างๆกับแบนด์ของ  $\beta$ -actin และเปรียบเทียบกับ RAW264.7 cells ที่บ่มด้วย ( $\pm$ )-3-methoxy-nordomesticine และ RAW264.7 cells control

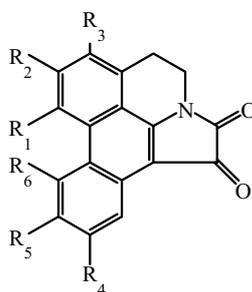
## บรรณานุกรม

- 1 Shulgin A. T., Perry W. E., "The Simple Plant Isoquinolines," Transform Press, Berkeley, 2002, pp. 385-390.
- 2 Kurosawa K., Ollis W. D., Sutherland I. O., Gottlieb O. R., de Oliveira A. B., *Phytochemistry*, **17**, 1389-1394 (1978).
- 3 Benington F., Morin R. D., Clark L. C., *J. Org. Chem.*, **24**, 917-919 (1959).
- 4 Hocquemiller R., Cabalion P., Fournet A., Cave A., *Planta Med.*, **50**, 23-25 (1984).
- 5 Shamma M., Shine R. J., Dudock B. S., *Tetrahedron*, **23**, 2887-2892 (1967).
- 6 Leboeuf M., Cortes D., Hocquemiller R., Cave A., *Planta Med.*, **48**, 234-245 (1983).
- 7 Castro O., Hasbun C., Calderon M., *Fitoterapia*, **62**, 72-73 (1991).
- 8 Estevez J. C., Villaverde M. C., Estevez R. J., Castedo L., *Tetrahedron*, **50**, 2107-2114 (1994).
- 9 Burger A. P. N., Brandt E. V., Roux D. G., *Phytochemistry*, **22**, 2813-2817 (1983).
- 10 Raiford L. C., Wells E. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **57**, 2500-2503 (1935).
- 11 Chen C-M., Fu Y-F., Yang T-H., *J. Nat. Prod.*, **58**, 1767-1771 (1995).
- 12 National Committee for Clinical Laboratory Standards, Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 1997.
- 13 Mosmann T., *J. Immunol. Methods.*, **65**, 55-63 (1983).
- 14 Mannel D.N., Echtenacher, B., *Chem. Immunol.*, **74**, 141-161 (2000).

## บทที่ 5

### การสังเคราะห์ Teisatin A, Telisatin B, Lettowianthine และความพยายามในการสังเคราะห์ Laurodionine

Telisatin A, telisatin B, lettowianthine และ laurodionine เป็น alkaloid กลุ่มย่อยของ aporphine alkaloids โดยตำแหน่ง N-6 และ C-7 เชื่อมต่อกับหมู่ oxaly1 ปัจจุบันพบ alkaloid กลุ่มนี้เพียง 5 ตัวในธรรมชาติ โดย telisatin A (1) และ telisatin B (2) พบใน *Telitoxicum peruvianum* Moldenke (Menispermaceae)<sup>1</sup>, lettowianthine (3) และ 11-methoxylettowianthine (4) พบใน *Lettowianthus stellatus* Diels (Annonaceae)<sup>2</sup> และ laurodionine (5) พบใน *Phoebe formosana* Hayata (Lauraceae)<sup>3</sup> ส่วน Annonbraine ซึ่งพบใน *Annona glaba* L (Annonaceae)<sup>4</sup> ถูกรายงานว่ามีการสังเคราะห์ขึ้นโดยสังเคราะห์ขึ้นจาก lettowianthine แม้ว่าจะมีจุดหลอมเหลวต่างกันมากก็ตาม



- 1 : R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub> = R<sub>6</sub> = H
- 2 : R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub> = R<sub>6</sub> = H
- 3 : R<sub>1</sub> + R<sub>2</sub> = OCH<sub>2</sub>O, R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub> = R<sub>6</sub> = H
- 4 : R<sub>1</sub> + R<sub>2</sub> = OCH<sub>2</sub>O, R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub> = H, R<sub>6</sub> = OCH<sub>3</sub>
- 5 : R<sub>1</sub> = R<sub>5</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = R<sub>4</sub> = OH, R<sub>3</sub> = R<sub>6</sub> = H

**รูปที่ 1** โครงสร้างของ telisatin A (1), telisatin B (2), lettowianthine (3), 11-methoxylettowianthine (4) และ laurodionine (5)

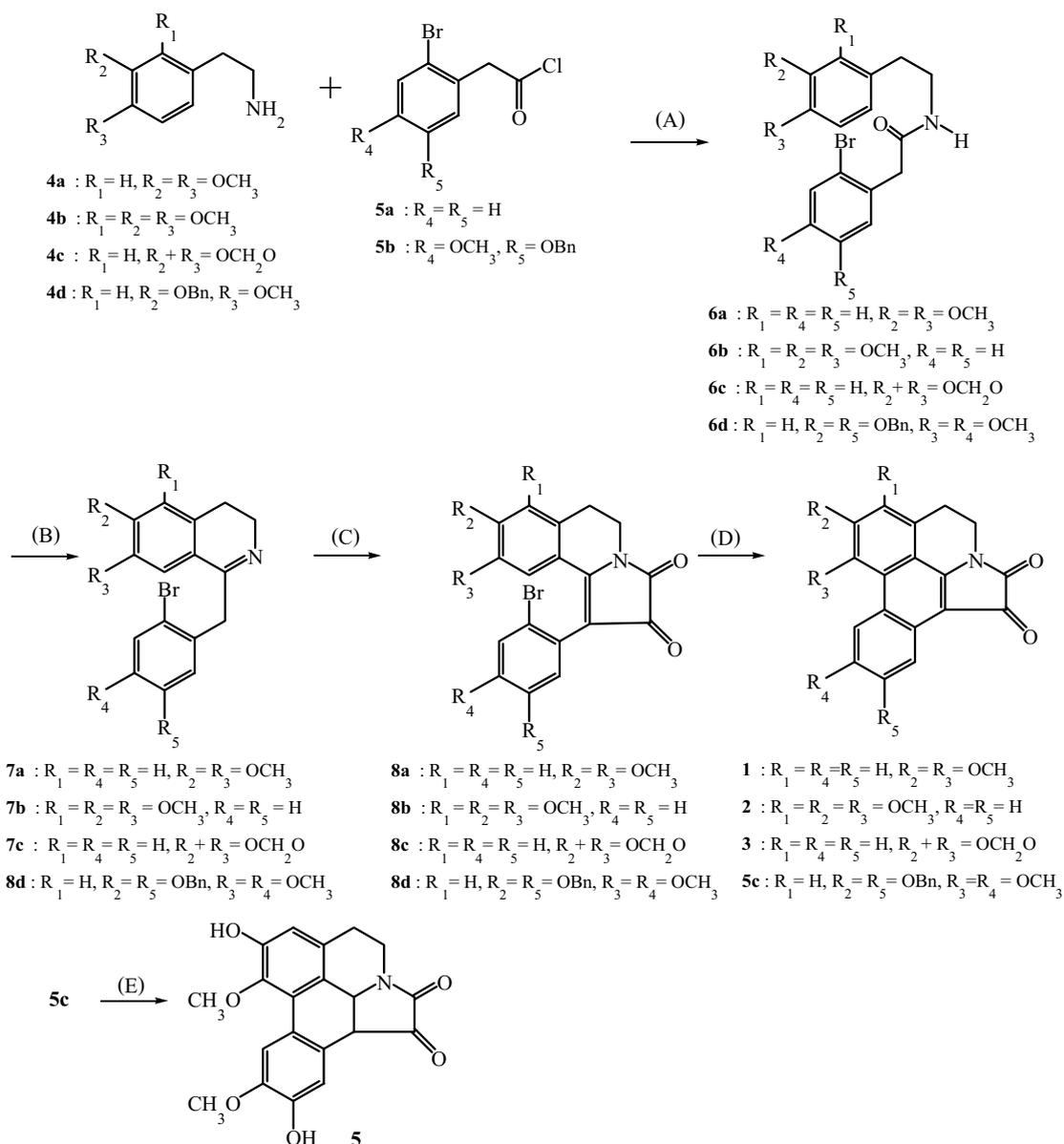
Telisatin A ถูกสังเคราะห์โดย Castedo และคณะ<sup>5</sup> และ Saa และคณะ<sup>6</sup> ในการศึกษาการสังเคราะห์ aporphine alkaloids ก่อนการค้นพบพวก alkaloid ประเภท telisatin หลายปีในขณะที่โครงสร้างของ alkaloid ที่เหลือถูกเสนอขึ้นโดยการวิเคราะห์ข้อมูลทางสเปกโตรสโกปี ปัจจุบันจึงมีเพียงการสังเคราะห์ telisatin A โดยวิธีของ Castedo และคณะ<sup>5</sup> ซึ่งใช้การปิดวงแหวน C โดยการฉาย

แสงของสาร 1-(2-bromophenyl)-5,6-dihydro-8,9-dimethoxypyrrolo[2,1-a]isoquinoline-2,3-dione (**8a**) ที่ความเข้มข้น 0.001 M ได้เป็นสารผลิตภัณฑ์ในปริมาณผลผลิตดี (60%)<sup>5</sup> วิธีนี้มีข้อจำกัดเนื่องจากสามารถสังเคราะห์ได้ปริมาณจำกัดเท่านั้น อันเป็นข้อจำกัดของปฏิกิริยาการสังเคราะห์โดยใช้แสง อีกวิธีหนึ่งที่ใช้คือ benzyne cycloaddition ของ Saa และคณะ<sup>6</sup> ซึ่งให้สารผลิตภัณฑ์ในปริมาณต่ำ (10%)<sup>6</sup>

โครงการวิจัยนี้จึงเสนอวิธีการสังเคราะห์ที่ปฏิบัติได้ง่าย และได้สารผลิตภัณฑ์ในปริมาณผลผลิตที่มากพอและเนื่องจากการสังเคราะห์สาร 1-(2-bromophenyl)-5,6-dihydro-8,9-dimethoxypyrrolo[2,1-a]isoquinoline-2,3-dione (**8a**) ของ Castedo และคณะ<sup>5</sup> มีความยุ่งยากมาก เราจึงได้พัฒนาการสังเคราะห์สารกลุ่มนี้โดยใช้ oxalyl chloride และ triethylamine โดยมีวิธีการ workup ที่ง่ายมาก กลุ่มของ Wu และคณะ<sup>7</sup> ได้รายงานถึงสมบัติ antiplatelet activity ของสารในกลุ่มนี้ด้วยเพื่อหลีกเลี่ยงการสร้างวงแหวน C โดยการฉายแสง จึงมีความตั้งใจที่จะสร้างวงแหวน C โดยปฏิกิริยา radical cyclisation โดยใช้ tributyltin hydride และ 1,1'-azobis(cyclohexanecarbonitrile) (ACCN)

## ผลการทดลอง

การสังเคราะห์ telisatin A (**1**), telisatin B (**2**), tettowianthine (**3**) และ laurodionine (**5**) ใช้ปฏิกิริยาการสร้างวงแหวน C ของวง aporphine โดยวิธี radical cyclisation โดยเริ่มจากปฏิกิริยา condensation ของ amines (**4a-4d**) กับ acid chlorides (**5a, 5b**) ให้สาร amides (**6a-6d**) ในปริมาณผลผลิต 78-88% เมื่อทำปฏิกิริยา Bischler-Napieralski amides (**6a-6d**) ให้ dihydroisoquinolines (**7a-7d**) ซึ่งพบว่ามีผลผลิตต่ำ จึงนำไปทำปฏิกิริยาต่อทันทีกับ oxalyl chloride/ triethylamine ได้ **8a-8d** ในปริมาณผลผลิต 48-75% จากนั้นนำ **8a, 8b, 8c** และ **8d** ทำปฏิกิริยากับ tributyltin hydride และ 1,1'-azobis(cyclohexanecarbonitrile) ให้ telisatin A (**1**), telisatin B (**2**), lettowianthine (**3**) และ 2,9-dibenzyloxy laurodionine (**5c**) ในปริมาณผลผลิต 30-34% ตามลำดับ ข้อมูลของ <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR ของสารสังเคราะห์ telisatin A (**1**), telisatin B (**2**) และ lettowianthine (**3**) สอดคล้องกับข้อมูลของ <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR ของ telisatin A (**1**), telisatin B (**2**) และ lettowianthine (**3**) ที่ได้จากรธรรมชาติ จึงสรุปได้ว่าโครงสร้างของ telisatin A (**1**), telisatin B (**2**) และ lettowianthine (**3**) ถูกต้องตามที่รายงานไว้ก่อนหน้านี้ สำหรับการตัดหมู่ benzyl ของ 2,9-dibenzyloxy laurodionine (**5c**) โดยปฏิกิริยา catalytic hydrogenolysis พบว่า C-C double bond ในตำแหน่ง C-7 และ C-8 หายไป ดังนั้นการสังเคราะห์ laurodionine (**5**) จึงยังไม่ประสบผลสำเร็จ



แผนภาพ 1 การสังเคราะห์ telisatin A (1), telisatin B (2), lettowianthine (3) และ laurdionine (5)

#### การทดลอง

จุดหลอมเหลววัดด้วยเครื่อง Stuart Scientific SMP 2 โดยมีได้ปรับค่า (uncorrected)  
 Ultraviolet spectra วัดจากสารละลายใน methanol ด้วยเครื่อง Hitachi U-3300 spectrophotometer  
 Infrared spectra วัดด้วยเครื่อง Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR spectrophotometer ในรูป

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-films <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR spectra วัดด้วยเครื่อง Bruker AVANCE 300 spectrometer ที่ความถี่ 300 MHz สำหรับ <sup>1</sup>H และ 75 MHz สำหรับ <sup>13</sup>C โดยใช้ CDCl<sub>3</sub> และ DMSO-*d*<sub>6</sub> ในบางกรณีเป็นตัวทำละลายและใช้ tetramethylsilane เป็น internal standard High resolution mass spectra วัดด้วยเครื่อง Bruker Datonics micrOTOF mass spectrometer

**2-(2-Bromophenyl)-*N*-(3,4-dimethoxyphenethyl)acetamide (6a):** เตรียมโดยวิธี acid chloride โดยใช้ 2-bromophenylacetic acid (15.0 g, 0.07 mol) และ amine (**4a**) (12.7 g, 0.07 mol) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ amide (**6a**) (22.0 g, 88.1%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 131-132 °C [lit.<sup>8</sup> mp 127-129 °C]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.71 (2H, apparent t, *J*=7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.47 (2H, apparent q, *J*=6.8 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.66 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 3.82 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.85 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.58 (1H, s, NH), 6.60 (1H, dd, *J*=1.9, 8.1 Hz, Ar-H), 6.63 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Ar-H), 6.72 (1H, d, *J*=8.1 Hz, Ar-H), 7.09-7.18 (1H, m, Ar-H), 7.22-7.30 (2H, m, Ar-H), 7.54 (1H, d, *J*=7.8 Hz, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 34.99 (t), 40.81 (t), 43.99 (t), 55.82 (q), 55.91 (q), 111.32 (d), 111.79 (d), 120.58 (d), 124.94 (s), 127.92 (d), 129.04 (d), 131.10 (s), 131.63 (d), 133.03 (d), 134.79 (s), 147.60 (s), 148.98 (s), 169.48 (s).

**2-(2-Bromophenyl)-*N*-(2,3,4-trimethoxyphenethyl)acetamide (6b):** ในทำนองเดียวกันได้ **6b** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (78.8%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 92-93 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.70 (2H, apparent t, *J*=6.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.43 (2H, apparent q, *J*=6.4 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.67 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 3.79 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.83 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.88 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.83 (1H, br s, NH), 6.54 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Ar-H), 6.72 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Ar-H), 7.12-7.19 (1H, m, Ar-H), 7.25-7.33 (2H, m, Ar-H), 7.57 (1H, d, *J*=8.3 Hz, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 29.47 (t), 40.91 (t), 44.05 (t), 56.01 (q), 60.75 (q), 60.92 (q), 107.42 (d), 124.46 (d), 124.69 (s), 125.10 (s), 127.89 (d), 128.97 (d), 131.78 (d), 133.05 (d), 134.91 (s), 142.19 (s), 151.74 (s), 152.59 (s), 169.58 (s).

**2-(2-Bromophenyl)-*N*-(3,4-methylenedioxyphenethyl)acetamide (6c):** ทำนองเดียวกันได้ **6c** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (82.5%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 127-28 °C [lit.<sup>9</sup> mp 128-130 °C]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.65 (2H, apparent t, *J*=6.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.42 (2H, apparent q, *J*=6.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.66 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 5.48 (1H, br s, NH), 5.91 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.48 (1H, dd, *J*=1.6, 7.9 Hz, Ar-H), 6.55 (1H, d, *J*=1.6 Hz, Ar-H), 6.65 (1H, d, *J*=7.9 Hz, Ar-H), 7.11-7.19 (1H, m, Ar-H), 7.25-7.33 (2H, m,

Ar-H), 7.56 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 35.15 (t), 40.87 (t), 44.04 (t), 100.85 (t), 108.30 (d), 109.04 (d), 121.57 (d), 124.98 (s), 127.97 (d), 129.09 (d), 131.67 (d), 132.35 (s), 133.13 (d), 134.80 (s), 146.11 (s), 147.72 (s), 169.44 (s).

**2-(5-Benzyloxy-2-bromo-4-methoxyphenyl)-N-(3-benzyloxy-4-methoxyphenethyl)acetamide**

**(6d):** ทำนองเดียวกันได้ **6d** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (86.1%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 122-123 °C [lit.<sup>10</sup> mp 138-139 °C].  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.61 (2H, apparent t,  $J=6.9$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.37 (2H, apparent q,  $J=6.8$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.51 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ), 3.83 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.84 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 5.07 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.09 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.34 (1H, br s, NH), 6.57 (1H, dd,  $J=2.0, 8.2$  Hz, Ar-H), 6.69 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, Ar-H), 6.73 (1H, d,  $J=8.2$  Hz, Ar-H), 6.79 (1H, s, Ar-H), 7.00 (1H, s, Ar-H), 7.28-7.48 (10H, m, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 34.87 (t), 40.65 (t), 43.55 (t), 56.04 (q), 56.22 (q), 71.05 (t), 71.11 (t), 111.94 (d), 114.66 (d), 115.42 (s), 116.06 (d), 116.39 (d), 121.33 (d), 126.43 (s), 127.41 (d), 127.47 (d), 127.88 (d), 128.11 (d), 128.54 (d), 128.62 (d), 130.99 (s), 136.36 (s), 137.09 (s), 147.75 (s), 148.24 (s), 148.41 (s), 149.67 (s), 169.77 (s).

**1-(2-Bromobenzyl)-6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline (7a):** เตรียมโดยปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ได้ **7a** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (3.9 g, 75.8%), mp 95-96 °C [lit.<sup>8</sup> mp 93-95 °C] พบว่า **7a** ที่ได้ไม่เสถียร จึงนำไปทำปฏิกิริยาต่อทันที.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.67 (2H, t,  $J=7.6$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.73 (2H, t,  $J=7.6$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.79 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.88 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.20 (2H, s, Ar- $\text{CH}_2$ ), 6.67 (1H, s, Ar-H), 6.91 (1H, s, Ar-H), 7.05 (1H, dt,  $J=1.7, 7.6$ , Ar-H), 7.18 (1H, dt,  $J=1.3, 7.6$  Hz, Ar-H), 7.27 (1H, dd,  $J=1.7, 7.6$  Hz, Ar-H), 7.56 (1H, dd,  $J=1.3, 7.9$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 25.73 (t), 42.53 (t), 47.29 (t), 55.92 (q), 56.16 (q), 109.15 (d), 110.25 (d), 121.41 (s), 124.54 (s), 127.62 (s), 128.18 (s), 130.21 (d), 131.59 (s), 132.78 (d), 137.66 (s), 147.43 (s), 150.76 (s), 165.08 (s).

**1-(2-Bromobenzyl)-5,6,7-trimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline (7b):** ในทำนองเดียวกันได้ **7b** เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อนในปริมาณผลผลิตเกือบ 100%.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.67 (2H, t,  $J=7.6$  Hz,  $\text{CH}_2$ -4), 3.71 (2H, t,  $J=7.6$  Hz,  $\text{CH}_2$ -3), 3.78 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.83 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.88 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.19 (2H, s, Ar- $\text{CH}_2$ ), 6.78 (1H, s, H-8), 7.01-7.09 (1H, m, Ar-H), 7.15-7.20 (1H, m, Ar-H), 7.26-7.30 (1H, m, Ar-H), 7.55 (1H, dd,  $J=1.3, 7.9$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 18.99 (t), 42.58 (t), 47.09 (t), 56.19 (q), 60.83 (q), 60.88 (q), 105.63 (d), 124.09 (s), 124.46 (s), 124.52 (s), 127.61 (d), 128.19

(d), 130.23 (d), 132.77 (d), 137.63 (s), 144.17 (s), 149.88 (s), 151.69 (s), 164.68 (s).

**1-(2-Bromobenzyl)-6,7-methylenedioxy-3,4-dihydroisoquinoline (7c):** ในทำนองเดียวกันได้ **7c** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (42.1%) หลังตกผลึกด้วย benzene-hexane, mp 121-122 °C [lit.<sup>9</sup> mp 121-123 °C]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.60 (2H, t, *J*=7.6 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.65 (2H, t, *J*=7.6 Hz, CH<sub>2</sub>), 4.09 (2H, s, Ar-CH<sub>2</sub>), 5.86 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.61 (1H, s, Ar-H), 6.89 (1H, s, Ar-H), 6.98-7.06 (1H, m, Ar-H), 7.12-7.22 (1H, m, Ar-H), 7.52 (1H, dd, *J*=1.0, 7.8 Hz, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 26.33 (t), 42.55 (t), 47.09 (t), 101.31 (t), 106.02 (d), 107.98 (d), 122.77 (s), 124.79 (s), 127.50 (d), 128.14 (d), 130.30 (d), 132.79 (d), 133.38 (s), 137.55 (s), 146.44 (s), 149.08 (s), 164.65 (s).

**1-(5-Benzyloxy-2-bromo-4-methoxybenzyl)-6-benzyloxy-7-methoxy-3,4-dihydroisoquinoline (7d):** ในทำนองเดียวกันได้ **7d** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (56.4%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 95-96 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.46 (2H, t, *J*=7.6 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.62 (2H, t, *J*=7.6 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.81 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.84 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.12 (2H, s, Ar-CH<sub>2</sub>), 5.03 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.17 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.64 (1H, s, Ar-H), 6.81 (1H, s, Ar-H), 6.93 (1H, s, Ar-H), 7.04 (1H, s, Ar-H), 7.18-7.48 (10H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 25.59 (t), 41.81 (t), 46.92 (t), 56.21 (q), 56.32 (q), 70.82 (t), 70.94 (t), 109.83 (d), 112.30 (d), 114.61 (s), 114.90 (d), 115.77 (d), 121.42 (s), 127.09 (d), 127.20 (d), 127.78 (d), 128.06 (d), 128.44 (d), 128.67 (d), 129.24 (s), 131.42 (s), 136.62 (s), 140.72 (s), 147.67 (s), 147.99 (s), 148.97 (s), 150.16 (s), 165.82 (s).

**1-(2-Bromophenyl)-5,6-dihydro-8,9-dimethoxypyrrolo[2,1-*a*]isoquinoline-2,3-dione (8a):** ค่อย ๆ เติม oxalyl chloride (0.2 mL) ลงในสารละลาย **7a** (359 mg, 1 mmol), triethylamine (0.3 mL) ใน chloroform (10 mL) ที่กำลังกวนอยู่ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเติมเสร็จ กวนต่ออีก 3 ชั่วโมง เติม chloroform (20 mL) ลงไป จากนั้นล้างชั้น chloroform ด้วย 5% hydrochloric acid (4 × 50 mL), น้ำ (50 mL) จากนั้นนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **8a** เป็นผลึกสีแดงเข้ม (245.9 mg, 59.5%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 195-196 °C [lit.<sup>5</sup> mp 176-178 °C]. UV λ<sub>max</sub> (MeOH) nm (log ε): 203 (4.36), 226sh (4.12), 262 (3.76), 322 (3.65). IR ν<sub>max</sub> (film) cm<sup>-1</sup>: 2937, 2843, 1744, 1699, 1594, 1575, 1515, 1472, 1428, 1398, 1337, 1312, 1291, 1270, 1225, 1187, 1101, 1034, 987, 865, 798, 735, 682; <sup>1</sup>H-NMR δ: 3.10 (2H, t, *J*=6.3 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.29 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.89 (2H, t, *J*=6.3 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.95 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 6.66 (1H, s, Ar-H), 6.77 (1H, s, Ar-H), 7.22-7.29 (1H, m, Ar-H), 7.29-

7.34 (1H, m, Ar-H), 7.37-7.44 (1H, m, Ar-H), 7.70 (1H, dd,  $J=0.9$ , 8.0 Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 28.37 (t), 36.37 (t), 55.17 (q), 56.27 (q), 107.80 (s), 111.29 (d), 116.68 (s), 125.82 (s), 128.06 (d), 129.96 (d), 132.41 (s), 132.83 (d), 133.09 (s), 133.17 (d), 148.14 (s), 153.80 (s), 158.35 (s), 158.50 (s), 181.59 (s). HRMS (ESI-TOF) calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{BrNO}_4$  ( $[\text{M}+\text{H}^+]$ ) = 414.0335, Found 414.0438.

**1-(2-Bromophenyl)-5,6-dihydro-7,8,9-trimethoxypyrrolo[2,1-a]isoquinoline-2,3-dione (8b):**

ในทำนองเดียวกันได้ **8b** เป็นของแข็งสีแดงเข้ม (68.2%) จากการทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี alumina column chromatography ใช้ dichloromethane เป็นตัวชะ mp 69-70 °C. UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ): 203 (4.66), 226sh (4.38), 258 (3.95), 332 (3.93). IR  $\nu_{\text{max}}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2939, 2837, 1746, 1702, 1592, 1576, 1467, 1425, 1397, 1342, 1298, 1246, 1182, 1109, 1024, 986, 939, 914, 845, 752;  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 3.00-3.20 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.27 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 3.73-3.93 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.88 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 3.94 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 6.53 (1H, s, Ar-H), 7.23-7.32 (2H, m, Ar-H), 7.35-7.44 (1H, m, Ar-H), 7.71 (1H, dd,  $J=0.9$ , 8.0 Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 21.67 (t), 36.19 (t), 55.21 (q), 61.08 (q), 61.12 (q), 105.68 (s), 108.53 (d), 108.64 (s), 119.38 (s), 125.48 (s), 125.77 (s), 128.08 (d), 130.03 (d), 132.25 (s), 132.70 (d), 133.21 (d), 147.02 (s), 150.56 (s), 152.24 (s), 158.07 (s), 182.05 (s). HRMS (ESI-TOF) calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{BrNO}_5$  ( $[\text{M}+\text{H}^+]$ ) = 444.0441, Found 444.0519.

**1-(2-Bromophenyl)-5,6-dihydro-8,9-methylenedioxyppyrolo[2,1-a]isoquinoline-2,3-dione (8c):**

ในทำนองเดียวกันได้ **8c** เป็นผลึกสีแดงเข้ม (47.7%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 226-227 °C. UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 203 (4.64), 236sh (4.18), 261sh (3.88), 284 (3.77), 320 (3.67), 388 (3.64). IR  $\nu_{\text{max}}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3056, 2906, 1744, 1698, 1608, 1568, 1505, 1467, 1403, 1378, 1338, 1316, 1286, 1249, 1181, 1036, 938, 868, 748, 736;  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 3.07 (2H, t,  $J=6.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.77-3.94 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 6.00 (2H, AB q,  $J=1.1$  Hz,  $\text{O-CH}_2\text{-O}$ ), 6.56 (1H, s, Ar-H), 6.79 (1H, s, Ar-H), 7.23-7.31 (2H, m, Ar-H), 7.36-7.42 (1H, m, Ar-H), 7.66-7.71 (1H, m, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 29.24 (t), 36.20 (t), 102.25 (t), 108.23 (s), 108.50 (d), 109.28 (d), 118.23 (s), 125.35 (s), 128.14 (d), 130.13 (d), 131.68 (s), 132.43 (d), 133.43 (d), 135.17 (s), 147.37 (s), 152.47 (s), 157.94 (s), 158.10 (s), 181.94 (s). HRMS (ESI-TOF) calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{BrNO}_4$  ( $[\text{M}+\text{H}^+]$ ) = 398.0022, Found 397.9895.

**8-(Benzyloxy)-1-(5-benzyloxy-2-bromo-4-methoxyphenyl)-5,6-dihydro-9-methoxypyrrolo**

**[2,1-a]isoquinoline-2,3-dione (8d):** ในทำนองเดียวกันได้ **8d** เป็นผลึกสีแดงเข้ม (75.6%) จากการ triturated ด้วย ethanol, mp 155-156 °C. UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 207 (4.87), 237sh (4.41), 257sh (4.11), 285 (3.95), 320 (3.90), 388 (3.87). IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2937, 2843, 1744, 1699, 1594, 1575, 1515, 1472, 1428, 1398, 1337, 1312, 1291, 1270, 1225, 1187, 1101, 1034, 987, 865, 798, 735, 689;  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 3.01 (2H, t,  $J=6.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.30 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.68-3.77 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.89 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 5.08 (2H, AB q,  $J=12.0$  Hz, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.22 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 6.70 (1H, s, Ar-H), 6.77 (1H, s, Ar-H), 6.81 (1H, s, Ar-H), 7.17 (1H, s, Ar-H), 7.30-7.50 (10H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 28.38 (t), 36.35 (t), 55.30 (q), 56.47 (q), 70.93 (t), 71.24 (t), 107.74 (s), 111.70 (d), 112.76 (d), 116.33 (d), 116.57 (s), 117.02 (s), 117.29 (d), 123.81 (s), 127.26 (d), 127.47 (d), 128.11 (d), 128.43 (d), 128.55 (d), 128.84 (d), 132.52 (s), 135.65 (s), 136.24 (s), 148.04 (s), 148.54 (s), 150.48 (s), 152.89 (s), 158.20 (s), 158.46 (s), 182.00 (s).

**Telisatin A (1)** ค่อย ๆ เติมสารละลายของ 1,1'-azobis(cyclohexanecarbonitrile) (245.0 mg, 1.0 mmol), tributyltin hydride (1.2 mg, 4.0 mmol) ใน toluene (20 mL) ลงในสารละลายของ **8a** (413.0 mg, 1.0 mmol) ใน toluene (20 mL) ที่กำลัง reflux อยู่ โดยใช้เวลาในการเติมครั้งละ 5 mL จำนวน 4 ครั้งเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้น reflux ต่ออีก 8 ชั่วโมง แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ของหนืดสีน้ำตาล เติม acetonitrile (40 mL) แล้วล้างด้วย hexane ( $2 \times 30$  mL) ทำชั้น acetonitrile ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำ ได้ของหนืดสีน้ำตาล ซึ่งตกผลึกช้าด้วย ethanol ได้ **1** เป็นผลึกสีแดงเข้ม (109.4 mg) นำ filtrate มาทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี silica gel column chromatography ใช้ hexane-ethyl acetate เป็นตัวชะได้ **1** เป็นผลึกสีแดงเข้มอีก (0.5 mg) รวมได้ **1** (109.9 mg, 33.0%), mp 234-235 °C [lit.<sup>1</sup> mp 238-239 °C]. UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 207 (4.03), 257 (4.26), 284sh (3.60), 322 (3.70), 336 (3.80), 352sh (3.56); IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2925, 1748, 1701, 1605, 1584, 1531, 1462, 1423, 1386, 1306, 1261, 1195, 1149, 1131, 1112, 1037, 969, 924, 802, 759;  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 3.35 (2H, t,  $J=6.5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.95 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.97 (2H, t,  $J=6.5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 4.10 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 7.17 (1H, s, H-3), 7.46-7.54 (1H, m, H-10), 7.60-7.67 (1H, m, H-9), 8.63 (1H, dd,  $J=1.5, 8.0$  Hz, H-8), 9.41 (1H, br d,  $J=8.5$  Hz, H-11);  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 27.68 (t), 36.53 (t), 56.62 (q), 59.99 (q), 103.17 (s), 112.18 (s), 112.29 (d), 123.76 (d), 125.62 (d), 125.87 (s), 127.56 (s), 128.33 (d), 129.21 (d), 129.35 (s), 130.75 (s), 146.65 (s), 153.36 (s), 157.15 (s), 160.34 (s), 179.98 (s); HRMS (ESI-TOF) calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{NO}_4$  ( $[\text{M}+\text{H}^+]$ ) =

334.1074, Found 334.1125.

**Telisatin B (2)** ในทำนองเดียวกันได้ **2** เป็นผลึกสีแดงเข้มหลังตกผลึกด้วย ethanol และจากวิธี silica gel column chromatography (30.0%). mp 218-219 °C [lit.<sup>1</sup> mp 221-222 °C]. UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 203 (4.33), 223sh (4.26), 257 (4.59), 318sh (3.99), 329 (4.07); IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2942, 2864, 1749, 1716, 1702, 1619, 1607, 1579, 1527, 1515, 1452, 1406, 1389, 1323, 1146, 1125, 1071, 1033, 973, 814, 757; <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 3.33 (2H, t,  $J=6.5$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.91 (2H, t,  $J=6.5$  Hz, CH<sub>2</sub>), 4.01 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.03 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.14 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 7.45-7.55 (1H, m, H-10), 7.56-7.64 1H, (m, H-9), 8.60 (1H, dd,  $J=1.3, 8.0$  Hz, H-8), 9.37 (1H, br d,  $J=8.5$  Hz, H-11), <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 21.21 (t), 36.14 (t), 60.48 (q), 61.30 (q), 61.47 (q), 104.17 (s), 114.14 (s), 121.18 (s), 123.66 (d), 125.78 (d), 126.11 (s), 126.38 (s), 126.63 (s), 127.53 (d), 128.71 (d), 150.16 (s), 152.03 (s), 152.16 (s), 152.58 (s), 159.86 (s), 180.69 (s); HRMS (ESI-TOF) calcd for C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub> ([M+H<sup>+</sup>]) = 364.1179, Found 364.1231.

**Lettowianthine (3)** ในทำนองเดียวกันได้ **3** เป็นผลึกสีแดงเข้มหลังตกผลึกด้วย ethanol และจากวิธี silica gel column chromatography (34.0%), mp 294-295 °C (dec.) [lit.<sup>2</sup> mp 314-317 °C (dec.)], [lit.<sup>4</sup> mp 265-267 °C]. UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 203 (4.37), 212sh (4.29), 247sh (4.07), 257sh (4.04), 287 (3.64), 335 (3.51), 353 (3.28); IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2923, 2093, 1737, 1695, 1622, 1610, 1581, 1530, 1506, 1450, 1417, 1301, 1253, 1222, 1176, 1151, 1122, 1050, 927, 867, 749; <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 3.29 (2H, t,  $J=6.2$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.93 (2H t,  $J=6.2$  Hz, CH<sub>2</sub>), 6.35 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O),; 7.09 (1H, s, H-3), 7.48 (1H, t,  $J=7.2$  Hz, H-10), 7.61 (1H, t,  $J=6.9$  Hz, H-9), 8.55 (1H, br d,  $J=7.6$  Hz, H-8), 8.80 (1H, br d,  $J=8.6$  Hz, H-11); <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 27.51 (t), 36.66 (t), 102.35 (t), 103.10 (s), 109.23 (d), 112.46 (s), 119.90 (s), 123.60 (s), 124.45 (s), 125.35 (d), 126.83 (s), 127.62 (d), 129.33 (d), 129.61 (s), 143.08 (s), 151.55 (s), 153.68 (s), 160.33 (s), 179.92 (s); HRMS (ESI-TOF) calcd for C<sub>19</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub> ([M+H<sup>+</sup>]) = 318.0761, Found 318.0666.

**2,9-Dibenzyloxy-laurodionine (5c):** ในทำนองเดียวกันได้ **5c** เป็นผลึกสีแดงเข้มหลังตกผลึกด้วย ethanol และจากวิธี silica gel column chromatography (32.3%), mp 255-256 °C. UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 207 (4.21), 226 (4.15), 287sh (3.94), 344 (3.93); IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2925, 2849, 1746, 1698, 1622, 1587, 1531, 1464, 1444, 1428, 1372, 1288, 1248, 1232, 1111, 1088, 1027, 968,

739, 699;  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 3.29 (2H, t,  $J=6.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.93 (2H, t,  $J=6.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.99 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.04 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 5.34 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.37 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 7.16 (1H, s, H-3), 7.30-7.64 (10H, m, Ph  $\times$  2), 8.16 (1H, s, H-8), 9.05 (1H, s, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 27.65 (t), 36.52 (t), 55.84 (q), 60.24 (q), 70.63 (t), 71.43 (t), 103.19 (s), 105.75 (d), 109.76 (d), 111.86 (s), 113.11 (d), 120.21 (s), 122.99 (s), 127.37 (d), 128.04 (d), 128.09 (d), 128.45 (d), 128.61 (d), 128.87 (d), 129.18 (s), 130.46 (s), 136.06 (s), 136.41 (s), 145.86 (s), 147.73 (s), 150.12 (s), 151.62 (s), 155.62 (s), 160.29 (s), 180.32 (s).

**ความพยายามในการสังเคราะห์ laurodionine (5):** ทำปฏิกิริยา catalytic hydrogenation ของของผสมของ **5c** (16.0 mg, 25.6 mmol), 10%Pd/C (16.0 mg) ใน ethanol (10 mL) และ ethyl acetate (10 mL) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นกรอง catalyst ออก แล้วระเหย filtrate ภายใต้อากาศดันต่ำได้ของแข็งสีน้ำตาลเข้มเมื่อตกผลึกซ้ำด้วย ethanol ให้สารผลิตภัณฑ์เป็นของแข็งสีน้ำตาล (11.2 mg, 80.3%) จากการวิเคราะห์ข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ ,  $^1\text{H-}^1\text{H}$  COSY, HMQC และ HMBC correlations พบว่าสารผลิตภัณฑ์คือ 6a,7-dihydrolaurodionine,  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 3.23 (2H, t,  $J=6.3$  Hz,  $\text{CH}_2$ -4), 3.60-3.73 (1H, m, H-5), 3.90 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.98 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.90-3.98 (1H, m, H-5), 5.32 (1H, s, H-7), 6.32 (1H, s, H-6a), 7.15 (1H, s, Ar-H), 7.41 (1H, s, Ar-H), 9.00 (1H, s, Ar-H);  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 27.32 (t), 36.92 (t), 55.75 (q), 59.67 (q), 71.75 (d), 107.55 (d), 109.83 (d), 111.19 (s), 111.74 (s), 116.01 (d), 119.38 (s), 124.44 (s), 126.40 (s), 127.94 (s), 134.66 (s), 142.28 (s), 146.11 (s), 147.69 (s), 150.30 (s), 177.94 (s).

\*การระบุตำแหน่ง carbon ยังไม่แน่นอน

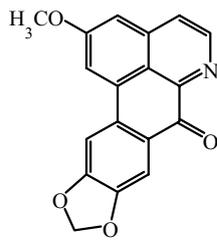
## บรรณานุกรม

- 1 Menachery M. D., Blake G. W., Gourley R. C., Freyer A., *J. Nat. Prod.*, **58**, 1945-1949 (1995).
- 2 Nkunya M. H. H., Jonker S. A., Makangara J. J., Waibel R., Achenbach H., *Phytochemistry*, **53**, 1067-1073 (2000).
- 3 Chen C-C., Huang Y-L., Lee S-S., Ou J-C., *J. Nat. Prod.*, **60**, 826-827 (1997).
- 4 Chang F-R., Chen C-Y., Hsieh T-J., Cho C-P., Wu Y-C., *J. Chin. Chem. Soc.*, **47**, 913-920 (2000).
- 5 Castedo L., Saa C., Saa J. M., Suau R., *J. Org. Chem.*, **47**, 513-517 (1982).
- 6 Saa C., Guitian E., Castedo L., Suau R., Saa J. M., *J. Org. Chem.*, **51**, 2781-2784 (1986).
- 7 Kuo R-Y., Wu C-C., Chang F-R., Yeh J-L., Chen I-J., Wu Y-C., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**, 821-823 (2003).
- 8 Niimi J., *Yakugaku Zasshi*, **80**, 123-126 (1960).
- 9 Nimgirawath S., Taylor W. C., *Aust. J. Chem.*, **36**, 1061-1065 (1983).
- 10 Kametani T., Takahashi K., Honda T., Ihara M., Fukumoto K., *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 1793-1799 (1972).

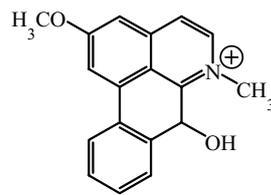
## บทที่ 6

### การสังเคราะห์ hernanymphine และความพยายามในการสังเคราะห์ clemaine

Hernanymphine (1) และ clemaine (2) พบใน *Hernandia nymphaeifolia* Kubitzki (Hernandiaceae)<sup>1</sup> และ *Clematis purpurea* Var. *hybrida* (Ranunculaceae)<sup>2</sup> ตามลำดับ โดย alkaloid ทั้ง 2 ตัวนี้มีรายงานว่า มีหมู่ methoxy เป็นหมู่แทนที่เพียงหมู่เดียวบนวงแหวน A ดังรูปที่ 1



1



2

รูปที่ 1 โครงสร้างของ hernanymphine (1) และ clemaine (2)

สำหรับโครงสร้าง 1 และ 2 ถูกเสนอโดยอาศัยการวิเคราะห์ข้อมูลทาง spectroscopy และยังไม่มีการพิสูจน์โครงสร้างโดยการสังเคราะห์ และเพื่อให้เกิดความชัดเจนในโครงสร้างของ alkaloid 2 ตัวนี้ กลุ่มวิจัยของเราจึงวางแผนการสังเคราะห์ hernanymphine (1) และ clemaine (2) เพื่อพิสูจน์โครงสร้างและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

## ผลการทดลอง

### การสังเคราะห์ hernanymphine (1)

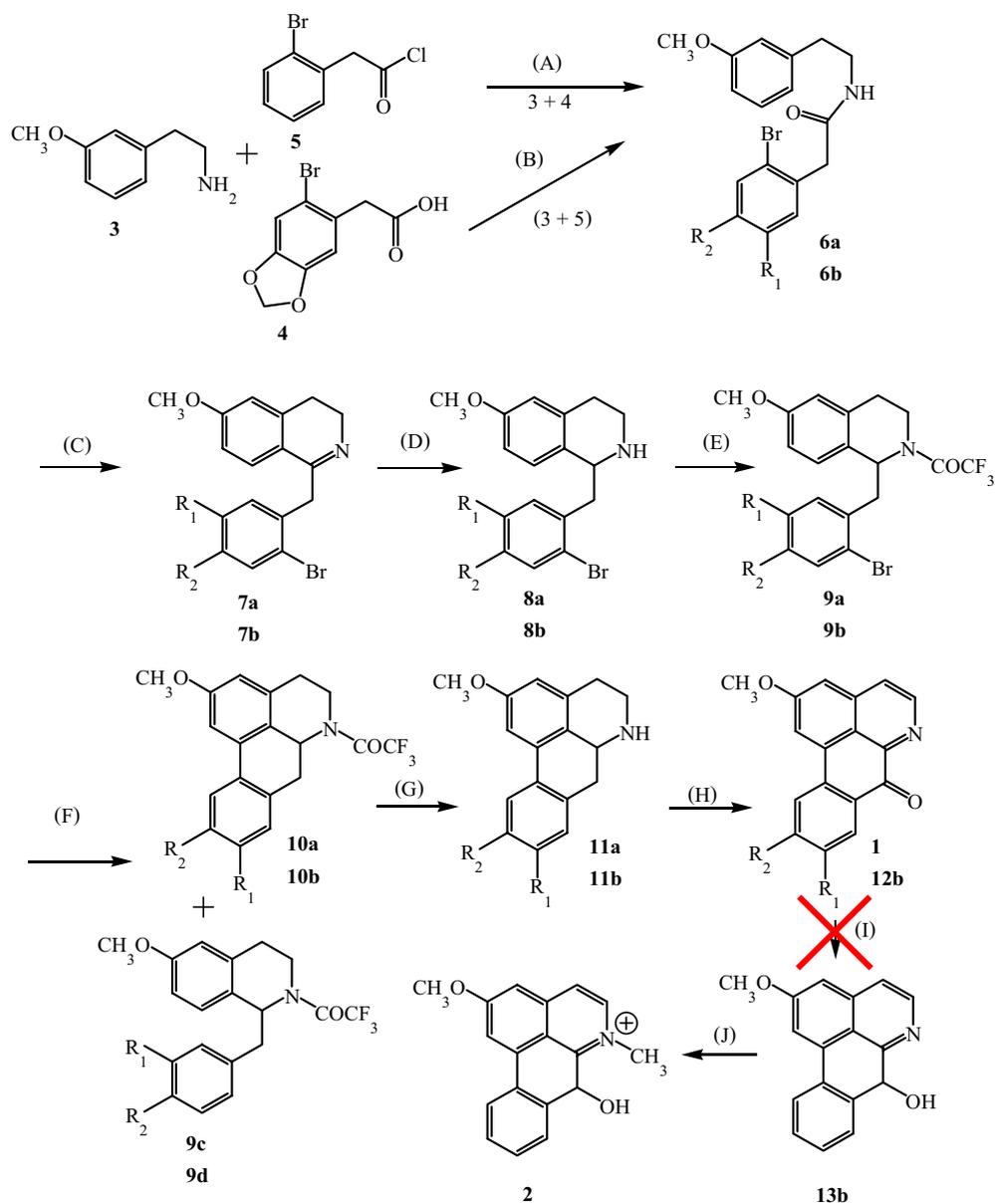
สำหรับการสังเคราะห์ hernanymphine (1) เมื่อนำ acid (4) มาทำปฏิกิริยากับ amine (3) ให้ amide (6a) ซึ่งทำปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ให้ dihydroisoquinoline (7a) reduction ของ 7a ด้วย sodium borohydride ให้ tetrahydroisoquinoline (8a) ซึ่งทำปฏิกิริยากับ trifluoroacetic anhydride ให้ *N*-trifluoroacetamide (9a) เมื่อนำ 9a มาทำปฏิกิริยากับ tributyltin hydride และ 1,1'-azobis(cyclohexanecarbonitrile) ให้ *N*-trifluoroacetylnoraporphine (10a) (34.9%) และสาร hydrogenolysis (9c) หลังจากนั้นทำปฏิกิริยากำจัด protecting group ของ 10a ได้ noraporphine (11a) ซึ่งทำปฏิกิริยา oxidation กับ Fremy's salt ให้ hernanymphine (1)

### ความพยายามในการสังเคราะห์ clemaine (2)

เมื่อ 3 ทำปฏิกิริยากับ 5 ให้ amide (6b) ซึ่งทำปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ให้ dihydroisoquinoline (7b) reduction ของ 7b ด้วย sodium borohydride ให้ tetrahydroisoquinoline (8b) ซึ่งทำปฏิกิริยากับ trifluoroacetic anhydride ให้ *N*-trifluoroacetamide (9b) เมื่อนำ 9b มาทำปฏิกิริยากับ tributyltin hydride และ 1,1'-azobis(cyclohexanecarbonitrile) ให้ *N*-trifluoroacetylnoraporphine (10b) (35.8%) และสาร hydrogenolysis (9d) หลังจากนั้นการทำปฏิกิริยากำจัด protecting group ของ 10b ได้ noraporphine (11b) ซึ่งทำปฏิกิริยา oxidation กับ Fremy's salt ให้ 7-oxoaporphine (12b) ความพยายามในการทำปฏิกิริยา reduction ของ 12b โดย NaBH<sub>4</sub>, LiAlH<sub>4</sub> และวิธี catalytic hydrogenation ของ 12b เพื่อให้ได้ 7-hydroxy-3-methoxyaporphine (13b) ยังไม่ประสบผลสำเร็จ

ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงประสบผลสำเร็จเพียงการสังเคราะห์ hernanymphine (1)

เท่านั้น



a :  $R_1 + R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$

b :  $R_1 = R_2 = \text{H}$

Reaction conditions: (A) 10%  $\text{NaHCO}_3$ / chloroform; (B) refluxed/ xylene; (C)  $\text{POCl}_3$ / benzene; (D)  $\text{NaBH}_4$ / ethanol; (E)  $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ / chloroform; (F)  $\text{Bu}_3\text{SnH}$ ,  $\text{ACCN}$ / dry toluene; (G)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ / methanol-water; (H) Fremy's salt; (I)  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd/C}$ / ethanol or  $\text{NaBH}_4$  or  $\text{LAH}$ ; (J)  $\text{MeI}$

แผนภาพ 1 การสังเคราะห์ hernanymphine (1) และ clemaine (2)

### การทดลอง

จุดหลอมเหลววัดด้วยเครื่อง Stuart Scientific SMP 2 โดยมีได้ปรับค่า (uncorrected) Ultraviolet spectra วัดจากสารละลายใน methanol ด้วยเครื่อง Hitachi U-3300 spectrophotometer Infrared spectra วัดด้วยเครื่อง Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR spectrophotometer ในรูป CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-films <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR spectra วัดด้วยเครื่อง Bruker AVANCE 300 spectrometer ที่ ความถี่ 300 MHz สำหรับ <sup>1</sup>H และ 75 MHz สำหรับ <sup>13</sup>C โดยใช้ CDCl<sub>3</sub> และ DMSO-*d*<sub>6</sub> ในบางกรณี เป็นตัวทำละลาย และใช้ tetramethylsilane เป็น internal standard

**3-Methoxyphenethylamine (3):** เตรียมโดยใช้ 3-methoxy- $\beta$ -nitrostyrene (68.0 g, 0.4 mol) และ lithium aluminium hydride (50.0 g) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **3** เป็นของหนืดสีน้ำตาล (40.4 g, 70.4%). <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.72 (2H, t,  $J=6.8$  Hz, CH<sub>2</sub>), 2.96 (2H, dt,  $J=0.8$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.79 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 6.73-6.82 (3H, m, Ar-H), 7.18-7.25 (1H, m, Ar-H); <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 40.00 (t), 43.37 (t), 55.12 (q), 111.42 (d), 114.60 (d), 121.21 (d), 129.43 (d), 141.39 (s), 159.70 (s).

**2-(2-Bromo-4,5-methylenedioxyphenyl)-*N*-(3-methoxyphenethyl)acetamide (6a):** Reflux ของผสมของ acid (**4**) (22.2 g, 90.0 mmol) และ amine (**3**) (13.0 g, 90.0 mmol) ใน xylene (150 mL) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วย Dean-Stark trap แล้วทำ workup โดยวิธีปกติได้ **6a** เป็นผลึกสีขาว (23.3 g, 69.3%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 118-120 °C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 225sh (4.11), 241 (3.97), 273sh (3.93), 281 (3.97), 294 (3.99), 327 (3.82). IR  $\nu_{\max}$  (film) cm<sup>-1</sup>: 3583, 3413, 3302, 3079, 3006, 2918, 2835, 1652, 1645, 1602, 1584, 1542, 1504, 1481, 1455, 1434, 1409, 1339, 1316, 1259, 1233, 1166, 1153, 1116, 1037, 968, 924, 863, 833, 780, 695, 665 cm<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.74 (2H, apparent t,  $J=6.8$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.48 (2H, apparent q,  $J=6.8$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.56 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 3.78 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.46 (1H, br s, NH), 5.98 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.65-6.84 (4H, m, Ar-H), 6.98 (1H, s, Ar-H), 7.12-7.17 (1H, m, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 35.49 (t), 40.57 (t), 43.84 (t), 55.16 (q), 101.94 (t), 110.95 (d), 111.82 (d), 112.93 (d), 114.45 (d), 115.31 (s), 121.05 (d), 127.51 (s), 129.59 (d), 140.21 (s), 147.73 (s), 147.90 (s), 159.81 (s), 169.61 (s).

**2-(2-Bromophenyl)-*N*-(3-methoxyphenethyl)acetamide (6b):** เตรียมโดยวิธี acid chloride โดยใช้ 2-bromophenylacetic acid (23.5 g, 110.0 mmol) และ amine (**3**) (15.0 g, 100.0 mmol) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **6b** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (26.9 g, 77.8%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp

85-87 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.73 (2H, apparent t,  $J=6.8$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.49 (2H, apparent q,  $J=6.8$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.68 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ), 3.78 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 5.40 (1H, br s, NH), 6.62-6.76 (3H, m, Ar-H), 7.11-7.19 (2H, m, Ar-H), 7.25-7.31 (2H, m, Ar-H), 7.56 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 35.50 (t), 40.64 (t), 44.04 (t), 55.14 (q), 111.83 (d), 114.38 (d), 121.00 (d), 124.97 (s), 127.96 (d), 129.07 (d), 129.58 (d), 131.66 (d), 133.11 (d), 134.75 (s), 140.21 (s), 159.76 (s), 169.48 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-methylenedioxybenzyl)-6-methoxy-3,4-dihydroisoquinoline (7a):** เตรียมโดยปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ได้ **7a** เป็นของแข็งสีน้ำตาล (11.9 g, 84.3%), mp 122-124 °C พบว่า dihydroisoquinoline ที่ได้ไม่เสถียรจึงนำไปทำปฏิกิริยาต่อทันที  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.72 (2H, t,  $J=7.4$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.72 (2H, t,  $J=7.4$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.81 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 4.07 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ), 5.89 (2H, s,  $\text{O-CH}_2\text{-O}$ ), 6.69-6.77 (3H, m, Ar-H), 7.01 (1H, s, Ar-H), 7.38 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 26.65 (t), 42.11 (t), 46.95 (t), 55.32 (q), 101.61 (t), 109.81 (d), 111.95 (d), 112.64 (d), 113.05 (d), 114.68 (s), 122.10 (s), 127.44 (d), 130.58 (s), 140.15 (s), 147.05 (s), 147.40 (s), 161.31 (s), 165.31 (s).

**1-(2-Bromobenzyl)-6-methoxy-3,4-dihydroisoquinoline (7b):** ในทำนองเดียวกันได้ **7b** เป็นของหนืดสีน้ำตาลในปริมาณผลผลิตเกือบ 100% และพบว่า **7b** ที่ได้ไม่เสถียรจึงนำไปทำปฏิกิริยาต่อทันที  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.69 (2H, t,  $J=7.4$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.70 (2H, t,  $J=8.0$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.75 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 4.14 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ), 6.66-6.74 (2H, m, Ar-H), 6.98-7.10 (1H, m, Ar-H), 7.11-7.25 (2H, m, Ar-H), 7.34 (1H, d,  $J=9.3$  Hz, Ar-H), 7.53 (1H, d,  $J=9.0$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 26.70 (t), 42.42 (t), 47.14 (t), 55.29 (q), 111.91 (d), 113.08 (d), 122.33 (s), 124.81 (s), 127.31 (d), 127.48 (d), 128.05 (d), 130.36 (d), 132.75 (d), 137.87 (s), 140.10 (s), 161.19 (s), 164.89 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-methylenedioxybenzyl)-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8a):** เตรียมโดยใช้ sodium borohydride ได้ **8a** เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อน (8.3 g, 82.2%). UV  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 229.84sh, 287.11, 299.00sh, 320.83sh, 382.50. IR  $\nu_{\text{max}}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3736, 3583, 3326, 2907, 2834, 2070, 1861, 1609, 1584, 1504, 1477, 1408, 1388, 1378, 1352, 1319, 1253, 1234, 1155, 1115, 1038, 964, 932, 903, 862, 836, 775, 736, 701, 674, 665.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.73-2.98 (3H, m, H-4  $\times$  2 และ H-3), 3.15-3.29 (2H, m, H-5 $\beta$  และ H-3), 3.59 (1H, q,  $J=6.9$  Hz, H-5 $\alpha$ ), 3.76 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 4.19 (1H, dd,  $J=2.9, 10.3$  Hz, H-1), 5.91 (2H, s,  $\text{O-CH}_2\text{-O}$ ), 6.62 (1H,

d,  $J=2.4$  Hz, H-5), 6.73 (1H, dd,  $J=2.4$ , 8.5 Hz, H-7), 6.75 (1H, s, Ar-H), 7.01 (1H, s, Ar-H), 7.20 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-8).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 30.13 (t), 40.03 (t), 42.80 (t), 54.99 (d), 55.19 (q), 101.74 (t), 111.27 (d), 112.51 (d), 112.90 (d), 113.63 (d), 114.91 (s), 127.57 (d), 130.74 (s), 131.63 (s), 136.32 (s), 147.16 (s), 147.34 (s), 157.85 (s).

**1-(2-Bromobenzyl)-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8b):** ในทำนองเดียวกันได้ **8b** เป็นของหนีสีเหลือง (19.0 g, 99.6%).  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.73-2.83 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 2.83-2.97 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.15-3.20 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.75 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 3.76 (1H, dd,  $J=3.3$ , 13.6 Hz, H-3 $\alpha$ ), 4.26 (1H, dd,  $J=3.3$ , 10.4 Hz, H-1), 6.63 (1H, d,  $J=2.5$ , H-5), 6.74 (1H, dd,  $J=2.5$ , 8.5 Hz, H-7), 7.04-7.12 (1H, m, Ar-H), 7.20-7.29 (3H, m, Ar-H), 7.56 (1H, d,  $J=7.9$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 30.26 (t), 40.12 (t), 43.10 (t), 54.77 (d), 55.24 (q), 112.27 (d), 113.68 (d), 124.97 (s), 127.48 (d), 127.64 (d), 128.28 (d), 130.93 (s), 131.99 (d), 133.13 (d), 136.43 (s), 138.81 (s), 157.89 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-methylenedioxybenzyl)-6-methoxy-2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (9a):** เตรียมโดยใช้ trifluoroacetic anhydride (33.85 g), **8a** (9.64 g, 25.7 mmol) และ triethylamine (26.1 g) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **9a** (8.5 g, 70.2%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 147-148 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.81-2.91 (1H, m,  $\text{CH}_2$ -4), 2.92-3.00 (1H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.05 (1H, dd,  $J=9.2$ , 14.0 Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.29 (1H, dd,  $J=5.2$ , 14.0 Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.68-3.78 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.79 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.97-4.07 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 5.75 (1H, dd,  $J=5.2$ , 9.2 Hz, H-1), 5.94 (2H, AB q,  $J=1.3$  Hz, O- $\text{CH}_2$ -O), 6.61 (1H, s, Ar-H), 6.65 (1H, d,  $J=2.6$  Hz, Ar-H), 6.77 (1H, dd,  $J=2.6$ , 8.6 Hz, Ar-H), 6.97 (1H, s, Ar-H), 7.05 (1H, d,  $J=8.6$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (both conformers)  $\delta$ : 27.85 (t), 29.48 (t), 39.98 (t), 40.03 (t), 41.68 (t), 42.53 (t), 54.07 (d), 55.31 (q), 101.75 (t), 110.52 (d), 112.72 (d), 112.88 (d), 113.08 (d), 113.21 (d), 113.54 (d), 114.57 (s), 115.49 (s), 118.39 (s), 122.21 (s), 126.99 (s), 127.95 (d), 128.49 (d), 129.42 (s), 134.15 (s), 147.31 (d), 147.42 (s), 155.86 (s), 158.62 (s).

**1-(2-Bromobenzyl)-6-methoxy-2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (9b):** ในทำนองเดียวกันได้ **9b** (15.3 g, 64.2%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 109-110 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.79-2.89 (1H, m, H-4), 2.91-3.07 (1H, m, H-4), 3.14 (1H, dd,  $J=9.5$ , 13.5 Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.40 (1H, dd,  $J=5.0$ , 13.5 Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.69-3.70 (1H, m, H-5 $\beta$ ), 3.79 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.97-

4.08 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 5.84 (1H, dd,  $J=5.0, 9.5$  Hz, H-1), 6.65 (1H, d,  $J=2.6$  Hz, Ar-H), 6.77 (1H, dd,  $J=2.6, 8.1$  Hz, Ar-H), 7.05-7.12 (3H, m, Ar-H), 7.16-7.23 (1H, m, Ar-H), 7.52 (1H, d,  $J=7.9$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$  (both conformers)  $\delta$ : 27.88 (t), 29.49 (t), 37.48 (t), 39.76 (t), 39.81 (t), 39.85 (t), 41.85 (t), 42.62 (t), 53.69 (d), 55.30 (q), 112.89 (d), 113.09 (d), 113.21 (d), 113.53 (d), 114.51 (s), 118.33 (s), 125.30 (s), 127.12 (d), 127.24 (d), 127.64 (d), 127.96 (d), 128.50 (d), 128.71 (d), 128.89 (d), 131.26 (d), 131.41 (d), 132.84 (d), 132.90 (d), 134.11 (s), 136.43 (s), 155.75 (s), 158.60 (s).

**2-Methoxy-9,10-methylenedioxy-6-trifluoroacetylnoraporphine (10a):** เตรียมโดยใช้ **9a** (8.0 g, 17.0 mmol), 1,1'-azobis(cyclohexanecarbonitrile) (4.2 g) และ tributyltin hydride (19.9 g) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ noraporphine (**10a**) (2.3 g, 34.9%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 217-219 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.71-2.85 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 2.90-3.30 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 3.07 (1H, dd,  $J=4.6, 13.9$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.30-3.42 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.85 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.18-4.28 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 5.11 (1H, dd,  $J=4.4, 14.0$  Hz, H-6a), 5.99 (2H, AB q,  $J=1.3$  Hz, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.61 (1H, d,  $J=2.3$  Hz, Ar-H), 6.75 (1H, s, H-8), 7.05 (1H, d,  $J=2.3$  Hz, Ar-H), 7.22 (1H, s, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 30.65 (t), 32.73 (t), 41.52 (t), 52.28 (d), 55.43 (q), 101.24 (t), 104.30 (d), 108.75 (d), 109.32 (d), 111.61 (d), 114.45 (s), 118.26 (s), 122.38 (s), 127.15 (s), 129.11 (s), 134.77 (s), 135.93 (s), 147.47 (s), 147.61 (s), 158.96 (s).

**2-Methoxy-6-trifluoroacetylnoraporphine (10b):** ในทำนองเดียวกันได้ noraporphine (**10b**) (6.2 g, 35.8%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกจาก ethanol, mp 160-161 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.76-3.04 (3H, m, H-4  $\times$  2 และ H-7), 3.19 (1H, dd,  $J=4.5, 13.9$  Hz, H-7), 3.31-3.43 (1H, m, H-5 $\beta$ ), 3.86 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.18-4.28 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 5.15 (1H, dd,  $J=4.5, 13.9$  Hz, H-6a), 6.66 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-3), 7.20 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-1), 7.26-7.38 (3H, m, H-8, H-9 และ H-10), 7.74 (1H, d,  $J=7.5$  Hz, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.07 (t), 32.69 (t), 41.45 (t), 52.13 (d), 55.43 (q), 109.20 (d), 112.40 (d), 114.46 (s), 118.28 (s), 123.17 (s), 123.79 (d), 127.64 (d), 128.40 (d), 129.19 (d), 133.27 (s), 134.84 (s), 134.88 (s), 135.87 (s), 158.94 (s).

**2-Methoxy-9,10-methylenedioxy-noraporphine (11a):** Reflux ของผสมของ **10a** (2.0 g, 5.1 mmol), potassium carbonate (33.5 g) ใน methanol (400 mL) และน้ำ (170 mL) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

จากนั้นทำ workup โดยวิธีปกติได้ noraporphine (**11a**) เป็นของแข็งสีครีม (1.1 g, 74.1%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 152-153 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.59-2.80 (3H, m, H-7 × 2 และ H-4), 2.93-3.02 (2H, m, H-5 และ H-4), 3.29-3.41 (1H, m, H-5), 3.82 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.91 (1H, dd, *J*=5.3, 13.7 Hz, H-6a), 5.95 (2H, AB q, *J*=1.3 Hz, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.58 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-3), 6.71 (1H, s, H-8), 6.96 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-1), 7.17 (1H, s, H-11). <sup>13</sup>C-NMR δ: 29.57 (t), 37.03 (t), 43.46 (t), 53.17 (d), 55.29 (q), 100.98 (t), 104.48 (d), 107.55 (d), 108.66 (d), 112.19 (d), 126.99 (s), 127.99 (s), 129.75 (s), 134.52 (s), 135.19 (s), 146.96 (s), 147.06 (s), 158.63 (s).

**2-Methoxynoraporphine (11b):** ในทำนองเดียวกันได้ **11b** เป็นของหนืดสีเขียวเข้ม (4.1 g, 93.3%) จากการทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี alumina column chromatography ใช้ benzene-chloroform เป็นตัวชะ <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.72-3.17 (5H, m, H-4 × 2, H-7 × 2 และ H-5β), 3.37-3.46 (1H, m, H-5α), 3.85 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.02 (1H, dd, *J*=5.0, 14.0 Hz, H-6a), 6.64 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-3), 7.14 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-1), 7.23-7.36 (3H, m, H-8, H-9 และ H-10), 7.70 (1H, d, *J*=7.5 Hz, H-11). <sup>13</sup>C-NMR δ: 29.56 (t), 36.96 (t), 43.41 (t), 53.08 (d), 55.31 (q), 107.94 (d), 113.01 (d), 123.87 (d), 127.24 (d), 127.67 (d), 127.71 (s), 128.35 (d), 134.23 (s), 134.41 (s), 135.26 (s), 135.64 (s), 158.65 (s).

**Hernanymphine (1):** ค่อย ๆ เติมสารละลายอิมตัวของ Fremy's salt ใน 4% sodium bicarbonate (150 mL) ลงใน **11a** (300.0 mg, 1.0 mmol) ใน methanol (150 mL) กวน 48 ชั่วโมง จากนั้นสกัดด้วย chloroform (1 × 100 mL, 2 × 50 mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **1** เป็นของแข็งสีเหลืองเข้ม (251.1 mg, 80.4%) หลังตกผลึกด้วย methanol, mp 271- 273 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 4.02 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 6.14 (2H, s, O-CH<sub>3</sub>), 7.10 (1H, d, *J*=1.9 Hz, H-3), 7.52 (1H, s, H-11), 7.76 (1H, d, *J*=1.9 Hz, H-1), 7.79 (1H, d, *J*=5.5 Hz, H-4), 7.89 (1H, s, H-8), 8.89 (1H, d, *J*=5.5 Hz, H-5). <sup>13</sup>C-NMR δ: 55.84 (q), 102.32 (t), 102.45 (d), 104.59 (d), 107.61 (d), 108.73 (s), 118.15 (d), 120.55 (s), 123.92 (d), 128.09 (s), 130.47 (s), 131.38 (s), 138.96 (s), 145.86 (d), 149.33 (s), 153.13 (s), 161.23 (s), 181.35 (s).

**2-Methoxy-7-oxoaporphine (12b):** ในทำนองเดียวกันได้ **12b** เป็นของแข็งสีเหลืองเข้ม (422.9 mg, 81.3%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 194-195 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 4.04 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 7.15 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-3), 7.60 (1H, t, *J*=7.5 Hz, H-10\*), 7.76 (1H, t, *J*=7.5 Hz, H-9\*), 7.83 (1H, d, *J*=5.4 Hz, H-4), 7.99 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-1), 8.19 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-11), 8.52 (1H, d, *J*=8.0 Hz,

H-8), 8.92 (1H, d,  $J=5.4$  Hz, H-5).  $^{13}\text{C}$ -NMR  $\delta$ : 55.85 (q), 105.00 (d), 118.33 (d), 121.22 (s), 123.18 (d), 124.10 (d), 128.98 (d), 129.46 (d), 130.45 (s), 131.81 (s), 133.95 (d), 134.34 (s), 139.14 (s), 145.90 (d), 146.14 (s), 161.21 (s), 182.79 (s).

\*assignments may be interchangeable

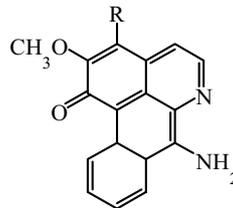
**บรรณานุกรม**

1. Chen J. J., Tsai I. L., Chen I. S., *J. Nat. Prod.*, **59**, 156-158 (1996).
2. Sayed H. M., El-Moghazy S. A., Kamel M. S., *Indian. J. Chem.*, **34B**, 1111-1113 (1995).

## บทที่ 7

### ความพยายามในการสังเคราะห์ lakshminine, telazoline และ teladiazoline

Telazoline พบใน *Telitoxicum peruvianum* (Menispermaceae) เป็นครั้งแรกต่อมามีรายงานการพบ telazoline และ teladiazoline ใน *Telitoxicum glaziovii* Modenke (Menispermaceae)<sup>1</sup> สาร 2 ตัวนี้เป็น alkaloid ในกลุ่ม oxoaporphine โครงสร้างของ aporphine 2 ตัวนี้ถูกเสนอโดยอาศัยการวิเคราะห์ข้อมูลทาง spectroscopy

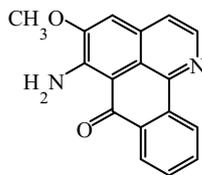


R = H (telazoline)

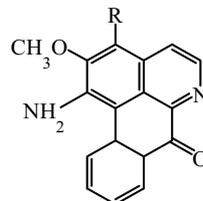
R = OCH<sub>3</sub> (teladiazoline)

#### รูปที่ 1 โครงสร้างของ telazoline และ teladiazoline เดิม

ในปี ค.ศ. 2003 Freyer และคณะ<sup>2</sup> ได้รายงานการค้นพบ lakshminine ใน *Sciadotenia toxifera* (Krukoff and A. C. Smith) (Menispermaceae) โครงสร้างของ lakshminine นี้ถูกเสนอโดยอาศัยการวิเคราะห์ข้อมูลทาง spectroscopy เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ Freyer และคณะ<sup>2</sup> ได้เสนอโครงสร้างใหม่ของ telazoline และ teladiazoline โดยอาศัยการวิเคราะห์และการเปรียบเทียบข้อมูลทาง spectroscopy กับโครงสร้าง lakshminine



lakshminine (26)



R = H = telazoline (1)

R = OCH<sub>3</sub> = teladiazoline (2)

#### รูปที่ 2 โครงสร้างของ lakshminine (26) , telazoline (1) และ teladiazoline (2) ใหม่

จะเห็นได้ว่ายังไม่มีการสังเคราะห์ alkaloid ทั้ง 3 ตัวเพื่อพิสูจน์โครงสร้างเลย ทำให้เกิดความคลุมเคลือในโครงสร้างของ alkaloid ทั้ง 3 ตัวนี้ ดังนั้นกลุ่มงานวิจัยของเราจึงมุ่งหาวิธีสังเคราะห์ alkaloid 3 ตัวนี้ เพื่อยืนยันโครงสร้างของ alkaloid ทั้ง 3 ตัว

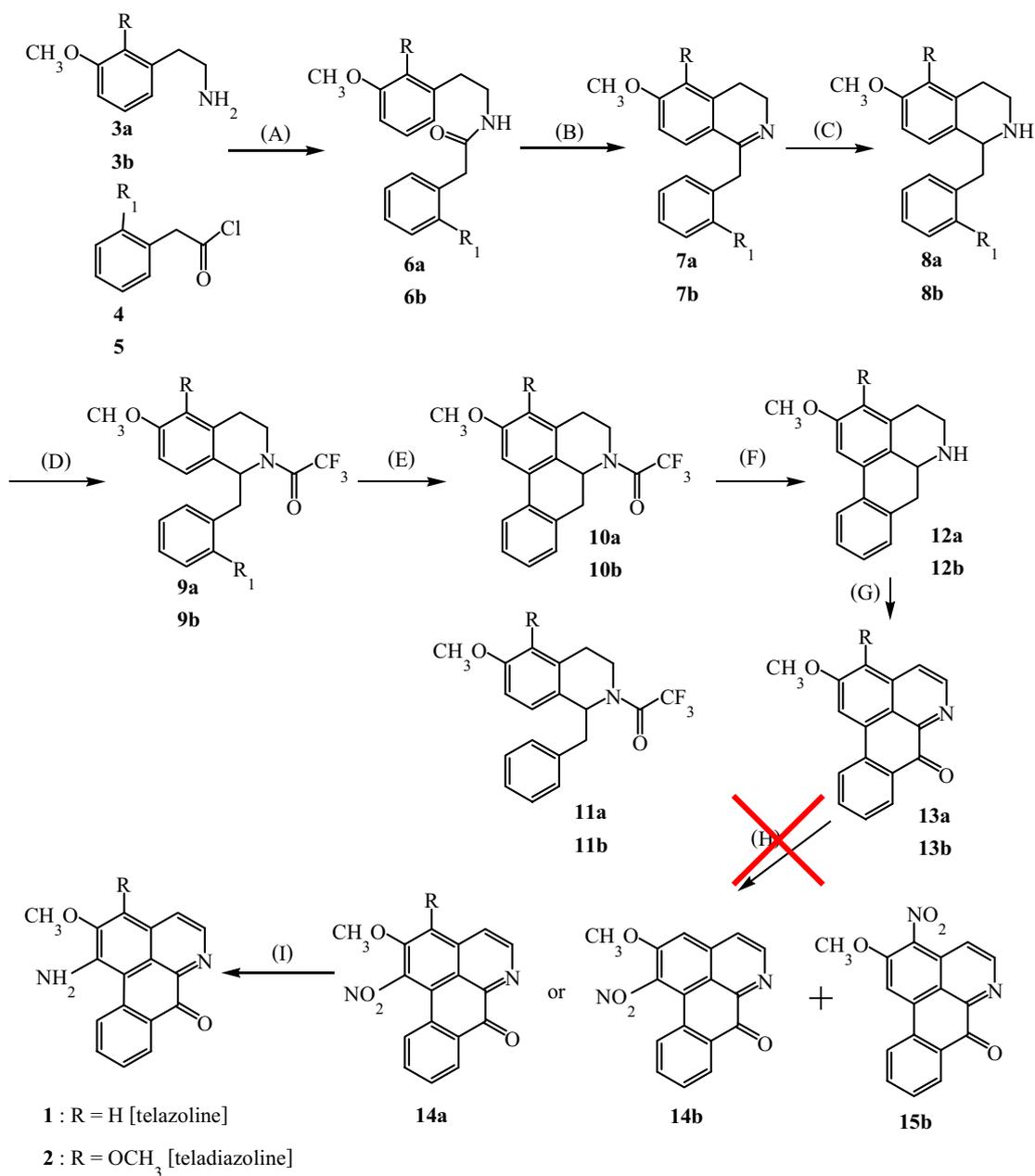
## ผลการทดลอง

### ความพยายามในการสังเคราะห์ telazoline (1) และ teladiazodine (2)

นำ amines (3a, 3b) มาทำปฏิกิริยากับ acid chlorides (4, 5) ได้ amides (6a, 6b) ตามลำดับ จากนั้นทำปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ของ amides (6a, 6b) ให้ dihydroisoquinolines (7a, 7b) ตามลำดับ 7a, 7b ทำปฏิกิริยา reduction กับ sodium borohydride ให้ 8a, 8b ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับ trifluoroacetic anhydride ให้ 9a, 9b เมื่อนำ 9a, 9b มาทำปฏิกิริยากับ tributyltin hydride และ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) ได้ noraporphines (10a, 10b) ในปริมาณผลผลิต 16.0% และ 35.8% ตามลำดับ และได้ hydrogenolysis products (11a, 11b) ตามลำดับ การกำจัดหมู่ trifluoroacetyl ของ 10a และ 10b ได้ 12a, 12b ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยา oxidation กับ Fremy's salt ให้ oxoaporphines (13a, 13b) การทำปฏิกิริยา nitration ของ 13a, 13b ยังไม่ประสบผลสำเร็จ ดังนั้นการสังเคราะห์ telazoline (1) และ teladiazodine (2) จึงยุติเพียงขั้นตอนนี้

### ความพยายามในการสังเคราะห์ lakshminine (26)

นำ amine (16) มาทำปฏิกิริยากับ acid chloride (17) ได้ benzamide (18) ซึ่งทำปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ให้ dihydroisoquinoline (19) oxidation ของ 19 ด้วย manganese dioxide ให้ 1-phenylisoquinoline (20) เมื่อนำ 20 มาทำปฏิกิริยากับ cuprous cyanide ให้ benzonitrile (21) ปฏิกิริยา hydrolysis ของ 21 ให้ 22 การพยายามทำปฏิกิริยา nitration ของ 22 ยังไม่ประสบผลสำเร็จ ดังนั้นการสังเคราะห์ lakshminine (26) จึงยุติเพียงขั้นตอนนี้

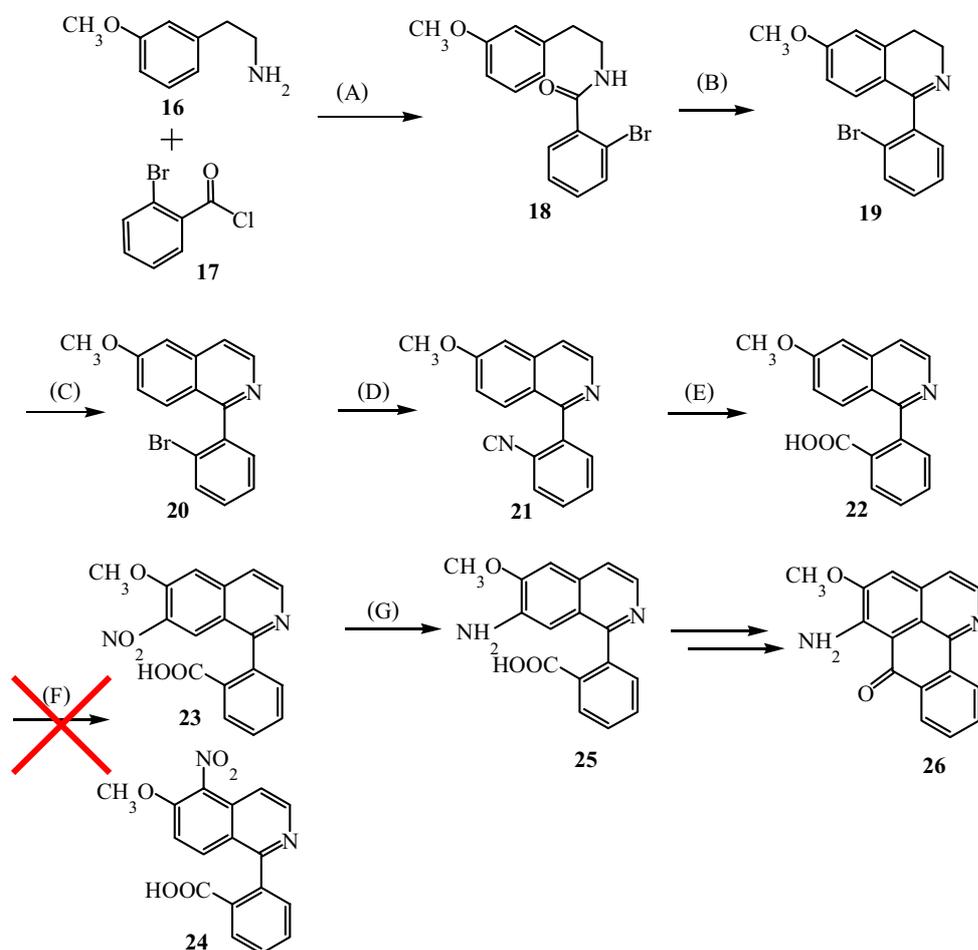


a : R = OCH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = I

b : R = H, R<sub>1</sub> = Br

Reaction conditions: (A) 10% NaHCO<sub>3</sub>/ chloroform; (B) POCl<sub>3</sub>/ benzene; (C) NaBH<sub>4</sub>/ ethanol; (D) (CF<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>N/ chloroform; (E) Bu<sub>3</sub>SnH, AIBN/ dry toluene; (F) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/ methanol-water; (G) Fremy's salt; (H) HNO<sub>3</sub> or HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> or HNO<sub>3</sub>-AcOH; (I) H<sub>2</sub>, Pd/C/ ethanol

แผนภาพ 1 การสังเคราะห์ telazoline (1) และ teladiazoline (2)



Reaction conditions: (A) 10% NaHCO<sub>3</sub>/ chloroform; (B) POCl<sub>3</sub>/ benzene; (C) MnO<sub>2</sub>/ benzene; (D) CuCN/ DMF; (E) i. OH<sup>-</sup>, ii. H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>; (F) HNO<sub>3</sub> or fuming HNO<sub>3</sub> or HNO<sub>3</sub>-AcOH; (G) H<sub>2</sub>, Pd/C/ ethanol.

## แผนภาพ 2 การสังเคราะห์ lakshminine (26)

### การทดลอง

จุดหลอมเหลววัดด้วยเครื่อง Stuart Scientific SMP 2 โดยมีได้ปรับค่า (uncorrected)  
 Ultraviolet spectra วัดจากสารละลายใน methanol ด้วยเครื่อง Hitachi U-3300 spectrophotometer  
 Infrared spectra วัดด้วยเครื่อง Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR spectrophotometer ในรูป  
 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-films <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR spectra วัดด้วยเครื่อง Bruker AVANCE 300 spectrometer ที่

ความถี่ 300 MHz สำหรับ  $^1\text{H}$  และ 75 MHz สำหรับ  $^{13}\text{C}$  โดยใช้  $\text{CDCl}_3$  และ  $\text{DMSO-}d_6$  ในบางกรณี เป็นตัวทำละลาย และใช้ tetramethylsilane เป็น internal standard

**2,3-Dimethoxyphenethylamine (3a):** เตรียมโดยใช้ 2,3-dimethoxy- $\beta$ -nitrostyrene (43.1 g, 0.2 mol) และ lithium aluminium hydride (28.9 g) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **3a** เป็นของแข็งสีเหลือง (27.1 g, 72.6%).  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 1.99 (2H, br s,  $\text{NH}_2$ ), 2.78 (2H, t,  $J=6.8$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 2.94 (2H, t,  $J=6.8$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.82 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 3.86 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 6.77-6.81 (2H, m, Ar-H), 6.99 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 34.15 (t), 42.85 (t), 55.66 (q), 60.63 (q), 110.58 (d), 122.32 (d), 123.89 (d), 133.47 (d), 147.42 (d), 152.82 (d).

**2-(2-Iodophenyl)-N-(2,3-dimethoxyphenethyl)acetamide (6a):** เตรียมโดยวิธี acid chloride โดยใช้ 2-iodophenylacetic acid (31.2 g) และ 2,3-dimethoxyphenethylamine (21.5 g, 118.8 mmol) ทำ workup โดยวิธีปกติได้สาร **6a** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (28.5g, 56.3%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 107-109 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.78 (2H, apparent t,  $J=6.6$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.46 (2H, apparent q,  $J=6.6$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.66 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ), 3.74 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 3.85 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 5.80 1H, (br s, NH), 6.65 (1H, dd,  $J=1.3, 7.6$  Hz, Ar-H), 6.78 (1H, dd,  $J=1.3, 7.6$  Hz, Ar-H), 6.86-6.99 (2H, m, Ar-H), 7.25-7.35 (2H, m, Ar-H), 7.83 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 29.55 (t), 40.70 (t), 48.54 (t), 55.63 (q), 60.55 (q), 101.28 (s), 110.91 (d), 122.29 (d), 124.12 (d), 128.70 (d), 128.93 (d), 130.90 (d), 132.55 (s), 138.27 (s), 139.74 (d), 147.06 (s), 152.68 (s), 169.57 (s).

**2-(2-Bromophenyl)-N-(3-methoxyphenethyl)acetamide (6b):** ในทำนองเดียวกันได้ amide (**6b**) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (26.9 g, 77.8%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 85-87 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.73 (2H, apparent t,  $J=6.8$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.49 (2H, apparent q,  $J=6.8$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.68 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ), 3.78 (3H, s,  $\text{O-CH}_3$ ), 5.40 (1H, br s, NH), 6.62-6.76 (3H, m, Ar-H), 7.11-7.19 (2H, m, Ar-H), 7.25-7.31 (2H, m, Ar-H), 7.56 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 35.50 (t), 40.64 (t), 44.04 (t), 55.14 (q), 111.83 (d), 114.38 (d), 121.00 (d), 124.97 (s), 127.96 (d), 129.07 (d), 129.58 (d), 131.66 (d), 133.11 (d), 134.75 (s), 140.21 (s), 159.76 (s), 169.48 (s).

**1-(2-Iodobenzyl)-5,6-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline (7a):** เตรียมโดยปฏิกิริยา Bischler

-Napieralski ได้ **7a** เป็นของหนืดสีน้ำตาลซึ่งไม่เสถียรจึงนำไปทำปฏิกิริยาต่อทันที  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.73 (2H, t,  $J=7.6$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.70 (2H, t,  $J=7.6$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.80 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.86 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.14 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ), 6.74 (1H, d,  $J=8.6$  Hz, Ar-H), 6.89 (1H, ddd,  $J=1.1, 2.2, 8.6$  Hz, Ar-H), 7.16-7.26 (3H, m, Ar-H), 7.84 (1H, dd,  $J=1.0, 7.7$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 19.67 (t), 46.82 (t), 47.45 (t), 55.66 (q), 60.62 (q), 101.47 (s), 109.46 (d), 122.47 (d), 122.70 (s), 128.16 (d), 128.33 (d), 129.56 (d), 131.91 (s), 139.42 (d), 141.16 (s), 145.05 (s), 154.54 (s), 165.13 (s).

**1-(2-Bromobenzyl)-6-methoxy-3,4-dihydroisoquinoline (7b)**: ในทำนองเดียวกันได้ **7b** เป็นของหนืดสีน้ำตาลซึ่งไม่เสถียรจึงนำไปทำปฏิกิริยาต่อทันที  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.69 (2H, t,  $J=7.4$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.70 (2H, t,  $J=8.0$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.75 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.14 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ), 6.66-6.74 (2H, m, Ar-H), 6.98-7.10 (1H, m, Ar-H), 7.11-7.25 (2H, m, Ar-H), 7.34 (1H, d,  $J=9.3$  Hz, Ar-H), 7.53 (1H, d,  $J=9.0$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 26.70 (t), 42.42 (t), 47.14 (t), 55.29 (q), 111.91 (d), 113.08 (d), 122.33 (s), 124.81 (s), 127.31 (d), 127.48 (d), 128.05 (d), 130.36 (d), 132.75 (d), 137.87 (s), 140.10 (s), 161.19 (s), 164.89 (s).

**1-(2-Iodobenzyl)-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8a)**: เตรียมโดยใช้ sodium borohydride ได้ **8a** เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อน (7.3 g, 75.9%) หลังตกผลึกด้วย ethanol.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.81-3.05 (4H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.22-3.37 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.82 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.86 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.28 (1H, dd,  $J=3.4, 10.4$  Hz, CH), 6.81 (1H, d,  $J=8.6$  Hz, Ar-H), 6.95 (1H, ddd,  $J=1.2, 2.1, 6.8$  Hz, Ar-H), 7.12 (1H, d,  $J=8.6$  Hz, Ar-H), 7.26-7.35 (2H, m, Ar-H), 7.88 (1H, dd,  $J=1.2, 7.9$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 24.26 (t), 39.95 (t), 47.06 (t), 54.67 (d), 55.80 (q), 59.99 (q), 100.98 (s), 110.15 (d), 121.91 (d), 128.29 (d), 128.42 (d), 129.65 (s), 131.19 (s), 131.58 (s), 139.84 (d), 141.67 (s), 146.41 (s), 150.67 (s).

**1-(2-Bromobenzyl)-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8b)**: ในทำนองเดียวกันได้ **8b** เป็นของหนืดสีเหลือง (19.0 g, 99.6%).  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.73-2.83 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 2.83-2.97 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.15-3.20 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.75 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 3.76 (1H, dd,  $J=3.3, 13.6$  Hz, H-3 $\alpha$ ), 4.26 (1H, dd,  $J=3.3, 10.4$  Hz, H-1), 6.63 (1H, d,  $J=2.5, 8.5$  Hz, H-5), 6.74 (1H, dd,  $J=2.5, 8.5$  Hz, H-7), 7.04-7.12 (1H, m, Ar-H), 7.20-7.29 (3H, m, Ar-H), 7.56 (1H, d,  $J=7.9$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 30.26 (t),

40.12 (t), 43.10 (t), 54.77 (d), 55.24 (q), 112.27 (d), 113.68 (d), 124.97 (s), 127.48 (d), 127.64 (d), 128.28 (d), 130.93 (s), 131.99 (d), 133.13 (d), 136.43 (s), 138.81 (s), 157.89 (s).

**1-(2-Iodobenzyl)-5,6-dimethoxy-2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (9a):** เตรียมโดยใช้ trifluoroacetic anhydride (23.3 g), **8a** (7.3 g, 17.8 mmol) และ triethylamine (16.0 g) ทำ workup โดยวิธีปกติ ได้ **9a** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (6.85 g, 75.60%) จากการทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี alumina column chromatography ใช้ benzene เป็นตัวชะ mp 109-110 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.80-2.91 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 2.99-3.07 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 3.14-3.22 (1H, m, CH<sub>3</sub>), 3.29-3.36 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 3.67-3.76 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 3.82 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.84 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.04 (1H, dd, *J*=4.0, 9.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 5.82 (1H, dd, *J*=5.2, 9.5 Hz, CH<sub>2</sub>), 6.75-6.85 (1H, m, Ar-H), 6.88-6.95 (2H, m, Ar-H), 7.03-7.12 (1H, m, Ar-H), 7.20-7.26 (1H, m, Ar-H), 7.79 (1H, dd, *J*=6.9, 7.9 Hz, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 23.82 (t), 39.63 (t), 46.16 (t), 53.53 (d), 55.85 (q), 60.24 (q), 101.56 (s), 111.09 (d), 114.49 (s), 118.31 (s), 122.83 (d), 127.42 (s), 127.78 (s), 128.10 (d), 128.77 (d), 130.36 (d), 139.52 (d), 146.08 (s), 151.33 (s), 155.73 (s).

**1-(2-Bromobenzyl)-6-methoxy-2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (9b):** ในทำนองเดียวกัน ได้ **9b** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (15.3 g, 64.2%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 109-110 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.79-2.89 (1H, m, H-4), 2.91-3.07 (1H, m, H-4), 3.14 (1H, dd, *J*=9.5, 13.5 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.40 (1H, dd, *J*=5.0, 13.5 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.69-3.70 (1H, m, H-5β), 3.79 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.97-4.08 (1H, m, H-5α), 5.84 (1H, dd, *J*=5.0, 9.5 Hz, H-1), 6.65 (1H, d, *J*=2.6 Hz, Ar-H), 6.77 (1H, dd, *J*=2.6, 8.1 Hz, Ar-H), 7.05-7.12 (3H, m, Ar-H), 7.16-7.23 (1H, m, Ar-H), 7.52 (1H, d, *J*=7.9 Hz, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR (both conformers) δ: 27.88 (t), 29.49 (t), 37.48 (t), 39.76 (t), 39.81 (t), 39.85 (t), 41.85 (t), 42.62 (t), 53.69 (d), 55.30 (q), 112.89 (d), 113.09 (d), 113.21 (d), 113.53 (d), 114.51 (s), 118.33 (s), 125.30 (s), 127.12 (d), 127.24 (d), 127.64 (d), 127.96 (d), 128.50 (d), 128.71 (d), 128.89 (d), 131.26 (d), 131.41 (d), 132.84 (d), 132.90 (d), 134.11 (s), 136.43 (s), 155.75 (s), 158.60 (s).

**2,3-Dimethoxy-6-trifluoroacetylnoraporphine (10a):** เตรียมโดยใช้ **10a** (22.9 g, 45.3 mmol), 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (6.8 g) และ tributyltin hydride (47.9 g) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ noraporphine (**10a**) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (2.76 g, 16.0%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 146-

148 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.62-2.77 (1H, m,  $\text{CH}_2$ ), 2.88 (1H, t,  $J=14.0$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.15-3.38 (3H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.86 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.96 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.21-4.32 (1H, m,  $\text{CH}_2$ ), 5.16 (1H, dd,  $J=4.4$ , 14.0 Hz, H-6a), 7.22-7.31 (3H, m, Ar-H), 7.32-7.38 (1H, m, Ar-H), 7.72 (1H, d,  $J=7.6$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 24.57 (t), 32.57 (t), 41.25 (t), 51.94 (d), 56.01 (q), 60.73 (q), 107.43 (d), 114.46 (s), 118.28 (s), 123.29 (d), 123.93 (s), 127.61 (d), 127.93 (d), 129.20 (d), 130.30 (s), 133.26 (s), 134.47 (s), 145.67 (s), 151.64 (s) 155.99 (s).

**2-Methoxy-6-trifluoroacetylnoraporphine (10b):** ในทำนองเดียวกันได้ noraporphine (10b) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (6.21 g, 35.8%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 160-161 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.76-3.04 (3H, m, H-4  $\times$  2 และ H-7), 3.19 (1H, dd,  $J=4.5$ , 13.9 Hz, H-7), 3.31-3.43 (1H, m, H-5 $\beta$ ), 3.86 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.18-4.28 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 5.15 (1H, dd,  $J=4.5$ , 13.9 Hz, H-6a), 6.66 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-3), 7.20 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-1), 7.26-7.38 (3H, m, H-8, H-9 และ H-10), 7.74 (1H, d,  $J=7.5$  Hz, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.07 (t), 32.69 (t), 41.45 (t), 52.13 (d), 55.43 (q), 109.20 (d), 112.40 (d), 114.46 (s), 118.28 (s), 123.17 (s), 123.79 (d), 127.64 (d), 128.40 (d), 129.19 (d), 133.27 (s), 134.84 (s), 134.88 (s), 135.87 (s), 158.94 (s).

**2,3-Dimethoxynoraporphine (12a):** Reflux ของผสมของ **10a** (380.0 mg, 1 mmol), potassium carbonate (5.0 g), น้ำ (15 mL) และ methanol (100 mL) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นทำ workup โดยวิธีปกติได้ noraporphine (12a) เป็นของหนืดสีเทา (274.0 mg, 96.8%) จากการทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี alumina column chromatography ใช้ benzene-chloroform เป็นตัวชะ  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.63-2.95 (5H, m,  $\text{CH}_2 \times 2$  และ H-3 $\beta$ ), 3.29-3.37 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 3.80-3.90 (1H, m, H-6a), 3.82 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.88 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 7.12 (1H, s, Ar-H), 7.15 (1H, s, Ar-H), 7.17 (1H, s, Ar-H), 7.22-7.31 (1H, m, Ar-H), 7.62 (1H, d,  $J=7.70$  Hz, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 24.13 (t), 36.83 (t), 43.13 (t), 53.19 (d), 55.87 (q), 60.03 (q), 106.19 (d), 123.37 (d), 127.19 (d), 127.23 (d), 128.20 (s), 128.35 (d), 128.57 (s), 128.83 (s), 134.27 (s), 135.21 (s), 146.48 (s), 151.26 (s).

**2-Methoxynoraporphine (12b):** ในทำนองเดียวกันได้ noraporphine (11b) เป็นของหนืดสีเขียวเข้ม (4.1 g, 93.3%) จากการทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี alumina column chromatography ใช้ benzene-chloroform เป็นตัวชะ  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.72-3.17 (5H, m, H-4  $\times$  2, H-7  $\times$  2 และ H-5 $\beta$ ), 3.37-3.46 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 3.85 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.02 (1H, dd,  $J=5.0$ , 14.0 Hz, H-6a), 6.64 (1H, d,  $J=2.4$  Hz,

H-3), 7.14 (1H, d,  $J=2.4$  Hz, H-1), 7.23-7.36 (3H, m, H-8, H-9 และ H-10), 7.70 (1H, d,  $J=7.5$  Hz, H-11).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 29.56 (t), 36.96 (t), 43.41 (t), 53.08 (d), 55.31 (q), 107.94 (d), 113.01 (d), 123.87 (d), 127.24 (d), 127.67 (d), 127.71 (s), 128.35 (d), 134.23 (s), 134.41 (s), 135.26 (s), 135.64 (s), 158.65 (s).

**2,3-Dimethoxy-7-oxoaporphine (13a)**; ค่อย ๆ เติมสารละลายอิมตัวของ Fremy's salt ใน 4% sodium bicarbonate (20 mL) ลงใน **12a** (52.0 mg, 0.19 mmol) ใน methanol (20 mL) จากนั้นกวน 48 ชั่วโมง แล้วสกัดด้วย chloroform ( $2 \times 20$  mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **13a** เป็นของแข็งสีดำ (40.6 mg, 74.7%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 194-195 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 4.11 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.17 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 7.52 (1H, t,  $J=7.4$  Hz, Ar-H), 7.72 (1H, br s, Ar-H), 8.08-8.17 (2H, m, Ar-H), 8.20 (1H, d,  $J=5.6$  Hz, H-4), 8.48 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, Ar-H), 8.95 (1H, d,  $J=5.6$  Hz, H-5).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 57.09 (q), 61.73 (q), 113.95 (d), 119.14 (d), 120.83 (s), 122.67 (d), 125.36 (s), 128.77 (d), 129.09 (d), 131.33 (s), 133.23 (s), 133.92 (d), 134.59 (s), 143.55 (s), 145.20 (d), 146.33 (s), 151.27 (s), 182.84 (s).

**2-Methoxy-7-oxoaporphine (13b)**: ในทำนองเดียวกันได้ **13b** เป็นของแข็งสีเหลืองเข้ม (81.3%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 194-195 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 4.04 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 7.15 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-3), 7.60 (1H, t,  $J=7.5$  Hz, H-10\*), 7.76 (1H, t,  $J=7.5$  Hz, H-9\*), 7.83 (1H, d,  $J=5.4$  Hz, H-4), 7.99 (1H, d,  $J=2.0$  Hz, H-1), 8.19 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-11), 8.52 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-8), 8.92 (1H, d,  $J=5.4$  Hz, H-5).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 55.85 (q), 105.00 (d), 118.33 (d), 121.22 (s), 123.18 (d), 124.10 (d), 128.98 (d), 129.46 (d), 130.45 (s), 131.81 (s), 133.95 (d), 134.34 (s), 139.14 (s), 145.90 (d), 146.14 (s), 161.21 (s), 182.79 (s).

\*assignments may be interchangeable

**N-(3-Methoxyphenethyl)-2-bromobenzamide (18)**: เตรียมโดยวิธี acid chloride โดยใช้ 2-bromobenzoic acid (44.0 g) และ 3-methoxyphenethylamine (30.0 g, 0.2 mol) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **18** เป็นของแข็งสีขาว (55.2 g, 84.0%) หลังตกผลึกด้วย benzene-hexane, mp 78-79 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.94 (2H, t,  $J=6.1$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.76 (2H, t,  $J=6.1$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.80 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.99 (1H, br s, NH), 6.75-6.88 (3H, m, Ar-H), 7.20-7.37 (3H, m, Ar-H), 7.48 (1H, dd,  $J=1.8, 7.5$  Hz, Ar-H), 7.56 (1H, dd,  $J=1.2, 7.9$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 35.51 (t), 41.06 (t), 55.23 (q), 112.09 (d), 114.49

(d), 119.25 (s), 121.17 (d), 127.53 (d), 129.49 (d), 129.72 (d), 131.20 (d), 133.36 (d), 137.87 (s), 140.27 (s), 159.88 (s), 167.61 (s).

**1-(2-Bromophenyl)-6-methoxy-3,4-dihydroisoquinoline (19):** เตรียมโดยปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ได้ **19** เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อน (18.0 g, 95.6%) จากการทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี alumina column chromatography ใช้  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  เป็นตัวชะ  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.65-2.95 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.81 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.90-4.15 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 6.66 (1H, dd,  $J=2.6, 8.5$  Hz, Ar-H), 6.77 (1H, d,  $J=2.6$  Hz, Ar-H), 6.87 (1H, t,  $J=8.5$  Hz, Ar-H), 7.10-7.41 (3H, m, Ar-H), 7.59 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 26.50 (t), 47.54 (t), 55.33 (q), 111.84 (d), 112.97 (d), 121.94 (s), 122.44 (s), 127.45 (d), 128.93 (d), 129.86 (d), 130.31 (d), 132.74 (d), 139.58 (s), 140.40 (s), 161.48 (s), 166.80 (s).

**1-(2-Bromophenyl)-6-methoxyisoquinoline (20):** Reflux ของผสมของ **19** (18.9 g, 60.2 mmol), manganese dioxide ( $\text{MnO}_2$ ) (40.0 g) ใน benzene (200 mL) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรอง catalyst ออก จากนั้นนำ filtrate ไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **20** เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อน (12.8 g, 68.2%) จากการทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี alumina column chromatography ใช้ hexane-ethyl acetate เป็นตัวชะ  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 3.71 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 6.92-6.98 (2H, m, Ar-H), 7.10-7.18 (1H, m, Ar-H), 7.26 (2H, d,  $J=4.3$  Hz, Ar-H), 7.34 (1H, d,  $J=8.7$  Hz Ar-H), 7.40 (1H, d,  $J=5.8$  Hz, H-4), 7.54 (1H, d,  $J=7.9$  Hz Ar-H), 8.37 (1H, d,  $J=5.8$  Hz, H-3).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 54.39 (q), 103.34 (d), 118.91 (d), 119.29 (s), 121.64 (s), 121.84 (d), 126.26 (d), 127.93 (d), 128.84 (d), 130.10 (d), 131.67 (d), 137.28 (s), 139.29 (s), 141.54 (d), 158.21 (s), 159.65 (s).

**2-(6-Methoxyisoquinolin-1-yl)benzotrile (21):** นำของผสม **20** (2.6 g, 8.3 mmol), cuprous cyanide (3.0 g) ใน *N,N*-dimethylformamide (30 mL) ไปกวนในอ่างน้ำมันที่ 180 °C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งให้เย็น จากนั้นเทลงน้ำ (200 mL) แล้วทำชั้นน้ำให้เป็นเบสด้วย concentrated ammonium hydroxide แล้วสกัดชั้นเบสด้วย ethyl acetate ( $2 \times 50$  mL) แล้วทำให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **21** เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อน (2.0 g, 91.9%).  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 3.59 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 6.90 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, Ar-H), 7.44-7.75 (7H, m, Ar-H), 8.61 (1H, d,  $J=5.5$  Hz, H-3).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 55.38 (q), 106.95 (d), 112.14 (s), 118.14 (s), 119.67 (d), 120.97 (d), 127.35 (d), 129.21 (d), 131.24 (d), 131.43 (d), 131.70 (d), 138.64 (s), 142.23 (d), 148.18 (s), 154.88 (s), 156.10 (s).

**2-(6-Methoxyisoquinolin-1-yl)benzoic acid (22):** Reflux สารละลายของ **21** (1.6 g, 6.15 mmol) ใน ethanol (20 mL) และ 40% potassium hydroxide (60 mL) เป็นเวลา 40 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็น กรองจากนั้นทำ filtrate ให้เป็นกรดด้วย concentrated hydrochloric acid ได้ตะกอนสีเหลืองอ่อนตก ออกมา กรองตะกอนแล้วผึ่งลมให้แห้งได้ **22** เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อน (1.6 g, 93.6%), mp 160-161 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 3.50 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 7.24 (1H, d,  $J=8.1$  Hz, H-5), 7.45-7.49 (1H, m, Ar-H), 7.68-7.78 (2H, m, Ar-H), 7.82 (1H, d,  $J=8.1$  Hz, H-8), 8.04 (1H, t,  $J=8.1$  Hz, H-7), 8.14-8.18 (1H, m, Ar-H), 8.34 (1H, d,  $J=6.5$  Hz, H-4), 8.49 (1H, d,  $J=6.5$  Hz, H-3).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 56.53 (q), 110.41 (d), 118.90 (s), 120.02 (d) 124.12 (d), 129.49 (d), 130.12 (d), 130.28 (d), 131.70 (d), 132.11 (d), 137.28 (d), 139.88 (s), 157.61 (s), 158.47 (s), 166.91 (s).

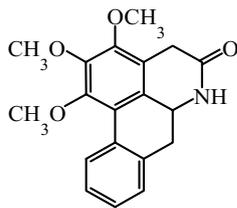
**บรรณานุกรม**

1. Menachery M. D., Edgren D., *J. Nat. Prod.*, **51**, 1283-1284 (1988).
2. Killmer L., Vogt F. G., Freyer A. J., Menachery M. D., Adelman C. M., *J. Nat. Prod.*, **66**, 115-118 (2003).

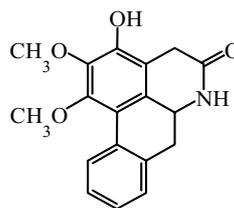
## บทที่ 8

### ความพยายามในการสังเคราะห์ 1,2,3-trimethoxy-5-oxoaporphine, 1,2-dimethoxy-3-hydroxy-5-oxoaporphine และ fuseine

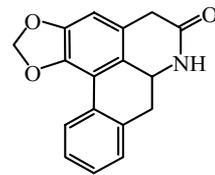
1,2,3-Trimethoxy-5-oxoaporphine<sup>1</sup>, 1,2-dimethoxy-3-hydroxy-5-oxoaporphine<sup>1</sup> และ fuseine<sup>2</sup> เป็น alkaloid ในกลุ่ม oxoaporphine พบใน *Mitrephora cf. maingayi* (Annonaceae)<sup>1</sup> และ *Fusea longifolia* (Annonaceae)<sup>2</sup> ตามลำดับ โครงสร้างของ aporphine 3 ตัวนี้เสนอโดยอาศัยการวิเคราะห์ข้อมูลทาง spectroscopy ดังรูปที่ 1



1,2,3-trimethoxy-5-oxoaporphine (1)



1,2-dimethoxy-3-hydroxy-5-oxoaporphine (2)



fuseine (3)

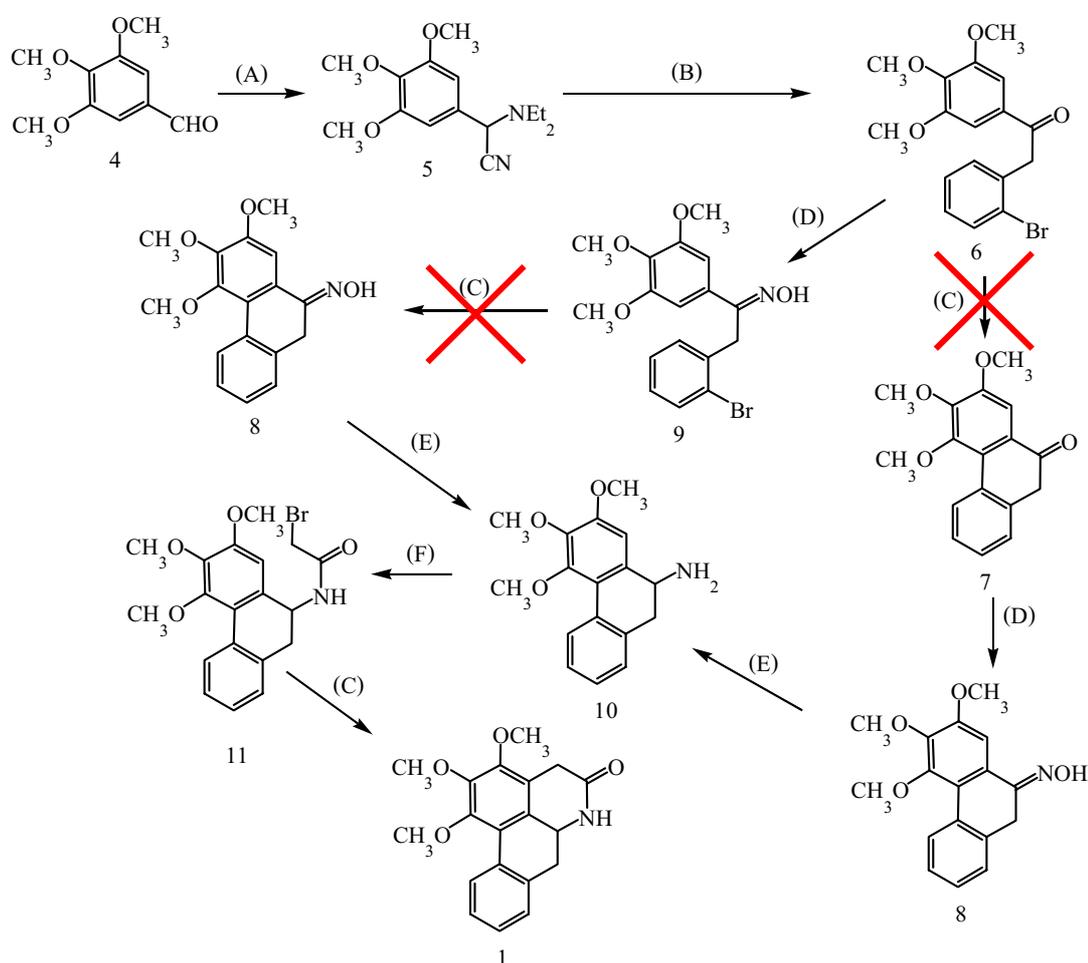
**รูปที่ 1** โครงสร้างของ 1,2,3-trimethoxy-5-oxoaporphine (1), 1,2-dimethoxy-3-hydroxy-5-oxoaporphine (2) และ fuseine (3)

จะเห็นได้ว่ายังไม่มีกรสังเคราะห์ alkaloid ทั้ง 3 ตัวเพื่อพิสูจน์โครงสร้างเลย ดังนั้น กลุ่มงานวิจัยของเราจึงมุ่งหาวิธีสังเคราะห์ alkaloid 3 ตัวนี้เพื่อยืนยันโครงสร้างของ alkaloid ทั้ง 3 ตัว

#### ผลการทดลอง

#### ความพยายามในการสังเคราะห์ 1,2,3-trimethoxy-5-oxoaporphine (1)

เริ่มจากการสังเคราะห์  $\alpha$ -aminonitrile (5) จาก aldehyde (4) แล้วนำ 5 มาทำปฏิกิริยากับ sodium hydride ตามด้วยการทำปฏิกิริยากับ 2-bromobenzyl bromide แล้ว hydrolysed ด้วย 3N hydrochloric acid ให้ ketone (6) ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับ tributyltin hydride และ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) ไม่ได้สาร 7 ที่ต้องการ จึงนำ 6 มาทำปฏิกิริยากับ hydroxylamine hydrochloride ให้ oxime (9) ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับ tributyltin hydride และ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) ก็ไม่ได้สาร 8 ที่ต้องการเช่นกัน การสังเคราะห์ 1,2,3-trimethoxy-5-oxoaporphine (1) จึงยุติเพียงขั้นตอนนี้

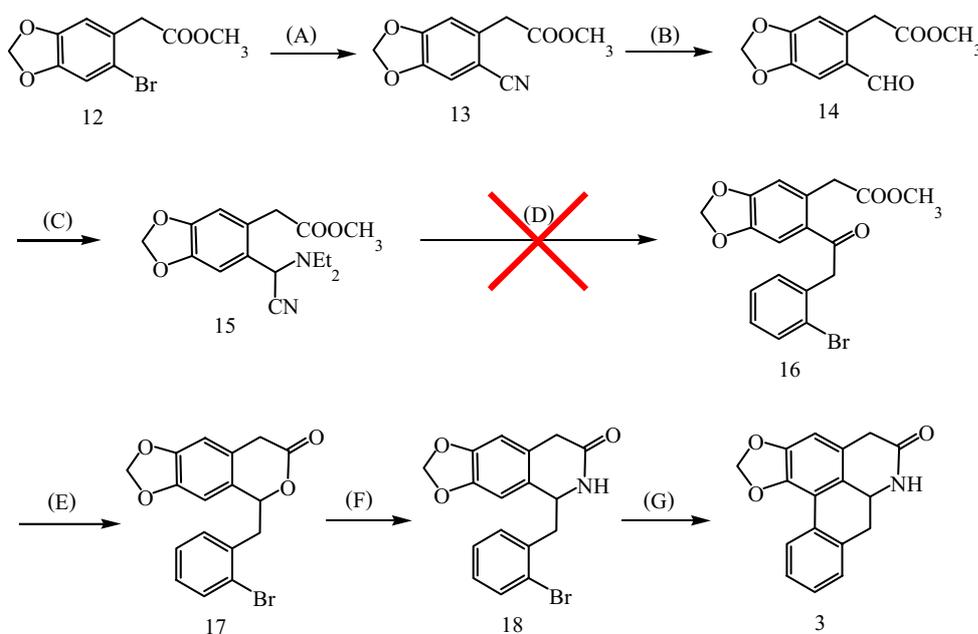


Reaction conditions: (A) NaCN/ triethylamine; (B) (i) NaH; (ii) 2-bromobenzyl bromide; (iii)  $\text{H}_3\text{O}^+$ ; (C)  $\text{Bu}_3\text{SnH}$ , AIBN/ dry toluene; (D)  $\text{NH}_4\text{OH}\cdot\text{HCl}$  / ethanol; (E) (i) borane dimethylsulfide complex/ tetrahydrofuran (ii) 4N HCl; (F) 2-bromoacetyl bromide,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  / benzene.

แผนภาพ 1 การสังเคราะห์ 1,2,3-trimethoxy-5-oxoaporphine (1)

### ความพยายามในการสังเคราะห์ fuseine (3)

เชื่อว่าหากสามารถสังเคราะห์ keto-ester (16) ก็จะนำไปสู่การสังเคราะห์ fuseine (3) ได้ตั้งนั้นเริ่มจาก bromo-ester (12) ทำปฏิกิริยากับ cuprous cyanide ได้ cyano-ester (13) เมื่อนำ 13 มาทำปฏิกิริยากับ sodium hypophosphite และ Raney-Nickel ได้ aldehyde (14) จากนั้น 14 ทำปฏิกิริยากับ sodium cyanide และ diethylamine hydrochloride ได้  $\alpha$ -aminonitrile (15) เมื่อนำ 15 มาทำปฏิกิริยากับ sodium hydride ตามด้วยการทำปฏิกิริยากับ 2-bromobenzyl bromide แล้ว hydrolysed ด้วย 3N hydrochloric acid ไม่ได้สาร 16 ที่ต้องการ การสังเคราะห์ fuseine (3) จึงยุติเพียงขั้นตอนนี้

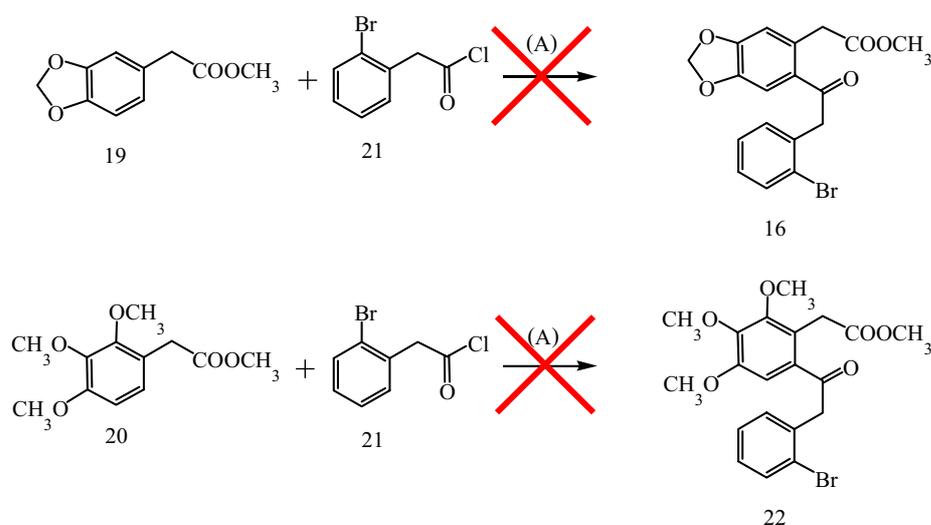


Reaction conditions: (A) CuCN/ DMF; (B) NaPH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ Raney-Nickel; (C) NaCN/ diethylamine hydrochloride (D) (i) NaH; (ii) 2-bromobenzyl bromide; (iii) H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>; (E) (i) NaBH<sub>4</sub> (ii) 20% HCl; (F) NH<sub>4</sub>OAc (G) Bu<sub>3</sub>SnH, AIBN/ dry toluene.

### แผนภาพ 2 การสังเคราะห์ fuseine (3)

### ความพยายามในการสังเคราะห์ 1,2,3-trimethoxy-5-oxoaporphine (1) และ fuseine (3)

เชื่อว่าหากสามารถสังเคราะห์ keto-ester (16) และ (22) ได้ จะนำไปสู่การสังเคราะห์ oxoaporphine ทั้ง 3 ตัวได้ ดังนั้น จึงพยายามทำปฏิกิริยา Friedel-Crafts acylation ของ ester (19) และ (20) โดยใช้ acid chloride (21) พบว่ายังไม่สามารถสังเคราะห์ keto-ester (16) และ (22) ได้ การสังเคราะห์ 1,2,3-trimethoxy-5-oxoaporphine (1) และ fuseine (3) จึงยุติเพียงขั้นตอนนี้



Reaction condition: (A)  $\text{AlCl}_3$ / chloroform

### แผนภาพ 3 การสังเคราะห์ (16) และ (22)

#### การทดลอง

จุดหลอมเหลววัดด้วยเครื่อง Stuart Scientific SMP 2 โดยมีได้ปรับค่า (uncorrected) Ultraviolet spectra วัดจากสารละลายใน methanol ด้วยเครื่อง Perkin Elmer Lambda 35 UV-VIS spectrophotometer Infrared spectra วัดด้วยเครื่อง Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR spectrophotometer ในรูป  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -films  $^1\text{H}$ - และ  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra วัดด้วยเครื่อง Bruker AVANCE 300 spectrometer ที่ความถี่ 300 MHz สำหรับ  $^1\text{H}$  และ 75 MHz สำหรับ  $^{13}\text{C}$  โดยใช้  $\text{CDCl}_3$  และ  $\text{DMSO}-d_6$  ในบางกรณีเป็นตัวทำละลาย และใช้ tetramethylsilane เป็น internal standard

**2-(Diethylamino)-2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)acetonitrile (5):** ค่อย ๆ เติม สารละลายของ diethylamine hydrochloride (28.0 g), sodium cyanide (7.5 g) ในน้ำ (50 mL) ลงในสารละลาย 14 (20.0 g, 0.1 mol) ใน methanol (120 mL) เมื่อเติมหมด reflux ต่อ 4 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็น เติมน้ำ (100

mL) แล้วสกัดด้วย ethyl acetate ( $3 \times 80$  mL) ล้างชั้น ethyl acetate ด้วยน้ำ (100 mL), สารละลายอิ่มตัว sodium bisulfite ( $3 \times 100$  mL) และน้ำ (100 mL) ทำชั้น ethyl acetate ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำจะได้ **5** (19.22 g, 80.5%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 79-80 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 1.11 (6H, s,  $\text{CH}_3 \times 2$ ), 2.41-2.53 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 2.64-2.77 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.86 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.89 (6H, s, O- $\text{CH}_3 \times 2$ ), 4.98 (1H, s, CH), 6.81 (2H, s, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 13.22 (q), 45.01 (t), 56.20 (q), 58.33 (d), 60.87 (q), 104.44 (d), 116.44 (s), 130.15 (s), 153.38 (s).

**2-(2-Bromophenyl)-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethanone (6):** ค่อย ๆ เติม **5** (27.8 g, 0.1 mol) ลงใน sodium hydride (10.0 g), *N,N*-dimethylformamide (20 mL) ภายใต้บรรยากาศของ argon เมื่อเติมหมด กวนต่ออีก 1 ชั่วโมง จากนั้นค่อย ๆ เติมสารละลายของ 2-bromobenzyl bromide (24.8 g, 0.1 mol) ใน *N,N*-dimethylformamide (20 mL) เมื่อเติมหมด กวนต่อค้างคืนภายใต้บรรยากาศของ argon จากนั้นเติม methanol มากเกินพอเพื่อทำลาย sodium hydride ที่เหลือ แล้วนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำ (water bath 60 °C) จากนั้นเติม 3N hydrochloric acid (300 mL) แล้ว reflux เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง จะมีของแข็งตกออกมา กรอง ได้ **6** (24.9 g, 68.4%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 118-120 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 3.91 (6H, s, O- $\text{CH}_3 \times 2$ ), 3.92 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.42 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ), 7.11-7.19 (1H, m, Ar-H), 7.30-7.32 (4H, m, Ar-H) 7.60 (1H, d,  $J=8.1$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 45.63 (t), 56.32 (q), 60.94 (q), 105.95 (d), 124.88 (s), 127.04 (s), 127.67 (d), 128.78 (d), 131.38 (d), 131.63 (s), 132.87 (d), 135.04 (s), 142.72 (s), 153.10 (s), 195.33 (s).

**2-(2-Bromophenyl)-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethanone oxime (9):** Reflux ของผสมของ **6** (3.64 g, 10.0 mmol), hydroxylamine hydrochloride (2.2 g, 31.8 mmol), anhydrous sodium acetate (3.6 g, 44.0 mmol) ใน ethanol (50 mL) เป็นเวลา 2 ชั่วโมงภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำ เติมน้ำ (60 mL) ลงในสิ่งที่เหลือ แล้วสกัดด้วย chloroform ( $2 \times 50$  mL) ทำให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำ จะได้ **9** (3.4 g, 89.7%) เป็นของหนืดสีขาวขุ่น  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 3.77 (6H, s, O- $\text{CH}_3 \times 2$ ), 3.83 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.33 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ), 6.84 (2H, s, Ar-H), 7.54 (1H, d,  $J=7.5$  Hz, Ar-H) 10.03 (1H, br s, OH).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 32.26 (t), 56.15 (q), 60.88 (q), 124.40 (s), 127.84 (d), 128.20 (d), 129.62 (d), 130.47 (s), 132.77 (d), 136.06 (s), 139.19 (s), 153.12 (s), 156.87 (s).

**Methyl 2-cyano-4,5-methylenedioxyphenylacetate (13):** Reflux ของผสมของ **12** (10.0 g, 36.6 mmol), cuprous cyanide (26.2 g) ใน *N,N*-dimethylformamide (90 mL) เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็น กรองแล้วเท filtrate ลงน้ำ (300 mL) จากนั้นทำให้เป็นกรดด้วย concentrated hydrochloric acid แล้วสกัดด้วย ethyl acetate (1 × 100 mL, 2 × 50 mL) ทำให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำ จะได้ **13** (3.6 g, 44.9%) เป็นผลึกรูปเข็มสีน้ำตาลอ่อน หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 80-82 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 3.73 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.80 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 6.07 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.86 (1H, s, Ar-H), 7.01 (1H, s, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 39.11 (t), 52.43 (q), 102.53 (t), 105.55 (s), 110.80 (d), 111.33 (d), 117.70 (s), 133.95 (s), 147.17 (s), 151.71 (s), 170.36 (s).

**Methyl 2-formyl-4,5-methylenedioxyphenylacetate (14):** ค่อย ๆ เติม Raney-Nickel (≈20 g) ลงในสารละลายของ **13** (10.0 g, 45.7 mmol), sodium hypophosphite (40.0 g) ในสารละลายผสมของน้ำ : acetic acid : pyridine ในสัดส่วน (1:1:2) (300 mL) เมื่อเติมหมด กวนค้างคืน จากนั้นเติม chloroform (200 mL) แล้วล้างชั้น chloroform ด้วย 10% hydrochloric acid (3 × 300 mL), น้ำ (100 mL) และ 5% sodium carbonate (2 × 300 mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำ จะได้ **14** เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อน (7.2 g, 71.1%). <sup>1</sup>H-NMR δ: 3.71 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.98 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 6.07 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.77 (1H, s, Ar-H), 7.30 (1H, s, Ar-H), 9.99 (1H, s, CHO). <sup>13</sup>C-NMR δ: 38.30 (t), 52.22 (t), 102.25 (t), 111.57 (d), 112.10 (d), 129.02 (s), 132.65 (s), 147.56 (s), 152.09 (s), 171.30 (s), 190.12 (d).

**Methyl 2-(5-(cyano(diethylamino)methyl)benzo[d][1,3]dioxol-6-yl)acetate (15):** ค่อย ๆ เติมสารละลายของ diethylamine hydrochloride (6.35 g), sodium cyanide (2.1 g) ในน้ำ (16 mL) ลงในสารละลาย **14** (5.2 g, 23.4 mmol) ใน methanol (100 mL) เมื่อเติมหมด reflux ต่อ 4 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็น เติมน้ำ (80 mL) แล้วสกัดด้วย ethyl acetate (3 × 50 mL) ล้างชั้น ethyl acetate ด้วยน้ำ (100 mL), สารละลายอิ่มตัว sodium bisulfite (50 mL) และน้ำ (30 mL) ทำชั้น ethyl acetate ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **15** (3.5 g, 49.2%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 100-101 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 0.96 (6H, t, *J*=7.2 Hz, CH<sub>3</sub> × 2), 2.36-2.40 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 2.53-2.78 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 3.38 (1H, d, *J*=16.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.60 (3H, s, COO-CH<sub>3</sub>), 3.98 (1H, d, *J*=16.0 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 5.14 (1H, s, Ar-H), 5.90-5.97 (2H, m, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.67 (1H, s, Ar-H), 7.10 (1H, s, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 11.56 (q), 36.52 (t), 43.69 (t), 51.03 (q),

55.62 (d), 100.63 (t), 108.81 (d), 110.96 (d), 115.23 (s), 124.52 (s), 126.23 (s), 145.89 (s), 146.94 (s), 170.78 (s).

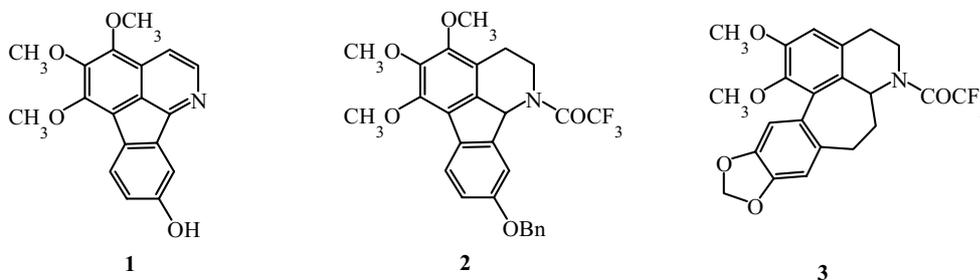
**บรรณานุกรม**

1. Lee N. H. S., Xu Y-J., Goh S. H., *J. Nat. Prod.*, **62**, 1158-1159 (1999).
2. Fo B. R., Gabriel S. J., Gomes C. M. R., Gottlieb O. R., Bichara M. D. G. A., Maia J. G. S. *Phytochemistry*, **15**, 1187-1188 (1976).

## บทที่ 9

### ความพยายามในการประยุกต์ใช้ปฏิกิริยา radical cyclisation ในการสังเคราะห์ azafluoranthene alkaloids และ homoaporphine alkaloids

จากการศึกษาขอบเขตและข้อจำกัดของปฏิกิริยา radical cyclisation ของ Castedo และคณะ<sup>1</sup> ในการสร้างวงแหวน C ของ aporphine alkaloids ซึ่งมีวง C เป็นวงหกเหลี่ยมในบทที่ 2 กลุ่มวิจัยของเราจึงสนใจการสร้างวงแหวน C ใน azafluoranthene alkaloids ซึ่งมีวง C เป็นวงห้าเหลี่ยม และ homoaporphine alkaloids ซึ่งมีวง C เป็นวงเจ็ดเหลี่ยม โดยใช้ปฏิกิริยานี้ ในโครงการนี้ได้เลือกสังเคราะห์สาร (2) และสาร (3) ซึ่งสาร 2 สามารถเปลี่ยนเป็น norrufesine (1) ซึ่งพบใน *Abuta imene*<sup>2</sup>, *Abuta rufescens*<sup>2</sup> และ *Cissampelos pareira*<sup>3</sup> (Menispermaceae) ได้ ส่วนการลองใช้ปฏิกิริยา radical cyclisation ในการสังเคราะห์ homoaporphine alkaloids ได้เลือกการสังเคราะห์สาร (3) เนื่องจากสามารถเตรียมสารตั้งต้นได้สะดวก

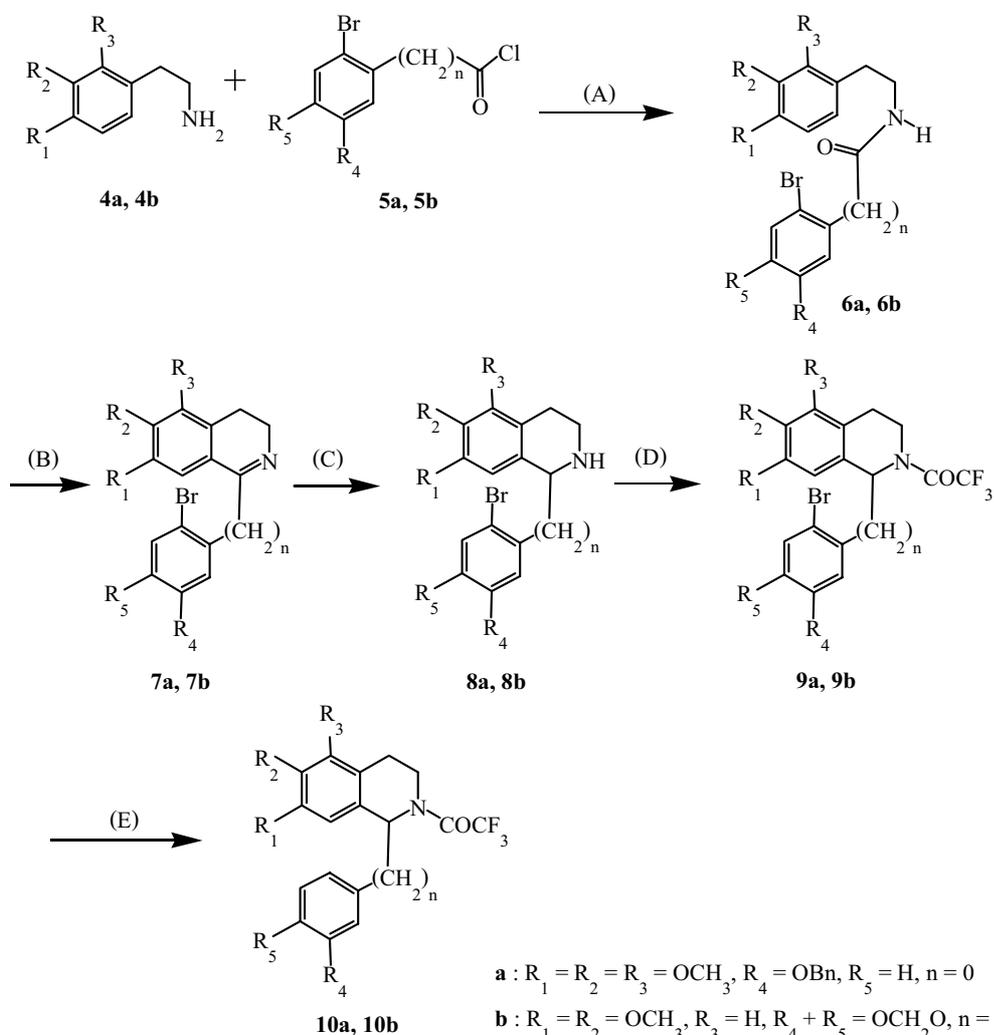


รูปที่ 1 โครงสร้างของ norrufesine (1), สาร (2) และสาร (3)

#### ผลการทดลอง

นำ amines (4a, 4b) มาทำปฏิกิริยากับ acid chlorides (5a, 5b) ให้ amides (6a, 6b) ซึ่งทำปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ให้ dihydroisoquinolines (7a, 7b) จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับ sodium borohydride ได้ tetrahydroisoquinolines (8a, 8b) และเมื่อทำปฏิกิริยากับ trifluoroacetic anhydride ให้ N-trifluoroacetamides (9a, 9b) จากนั้นนำ 9a และ 9b มาทำปฏิกิริยากับ tributyltin hydride และ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) ให้ hydrogenolysis product (10a, 10b) เพียงชนิดเดียว

ไม่พบสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสร้างวงแหวน C แต่อย่างใด จึงสรุปได้ว่าในขณะนี้ยังไม่สามารถ  
ใช้ปฏิกิริยา radical cyclisation สร้างวงแหวน C แบบห้าเหลี่ยมและเจ็ดเหลี่ยมได้



Reaction conditions: (A) 10%  $\text{NaHCO}_3$ / chloroform; (B)  $\text{POCl}_3$ / benzene; (C)  $\text{NaBH}_4$ / ethanol;  
(D)  $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}, \text{Et}_3\text{N}$ / chloroform; (E)  $\text{Bu}_3\text{SnH}, \text{AIBN}$ / dry toluene

แผนภาพ 1 การสังเคราะห์สาร (2) และ (3)

การทดลอง

จุดหลอมเหลววัดด้วยเครื่อง Stuart Scientific SMP 2 โดยมีได้ปรับค่า (uncorrected)  
Ultraviolet spectra วัดจากสารละลายใน methanol ด้วยเครื่อง Hitachi U-3300 spectrophotometer

Infrared spectra วัดด้วยเครื่อง Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR spectrophotometer ในรูป CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-films <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR spectra วัดด้วยเครื่อง Bruker AVANCE 300 spectrometer ที่ความถี่ 300 MHz สำหรับ <sup>1</sup>H และ 75 MHz สำหรับ <sup>13</sup>C โดยใช้ CDCl<sub>3</sub> และ DMSO-*d*<sub>6</sub> ในบางกรณีเป็นตัวทำละลาย และใช้ tetramethylsilane เป็น internal standard

**1-(5-Benzyloxy-2-bromophenyl)-*N*-(2,3,4-trimethoxyphenethyl)formamide (6a):** เตรียมโดยวิธี acid chloride โดยใช้ 5-benzyloxy-2-bromobenzoic acid (16.0 g) และ amine (**4a**) (15.0 g, 0.1 mol) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **6a** เป็นของแข็งสีขาว (15.9 g, 67.2%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 98-100 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.89 (2H, t, *J*=6.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.66 (2H, dd, *J*=6.7, 12.3 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.83 (6H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.90 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.03 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.31 (1H, br s, NH), 6.62 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Ar-H), 6.86 (1H, dd, *J*=3.1, 8.5 Hz, Ar-H), 6.90 (1H, d, *J*=8.5 Hz, Ar-H), 7.12 (1H, d, *J*=3.1 Hz, Ar-H), 7.32-7.44 (6H, m, Ph-H × 5 และ Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 29.51 (t), 41.10 (t), 56.00 (q), 60.74 (q), 61.00 (q), 70.34 (t), 107.48 (d), 109.78 (s), 115.69 (d), 118.23 (d), 124.59 (d), 124.62 (s), 127.50 (d), 128.23 (d), 128.66 (d), 134.16 (d), 136.15 (s), 138.65 (s), 142.27 (s), 151.92 (s), 152.71 (s), 158.01(s), 167.31 (s).

**3-(2-Bromo-4,5-methylenedioxyphenyl)-*N*-(3,4-dimethoxyphenethyl)propanamide (6b):** เตรียมโดยวิธี acid chloride โดยใช้ 2-bromo-4,5-methylenedioxyphenylpropanoic acid (25.2 g) และ amine (**4b**) (16.7 g, 92.3 mmol) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **6b** เป็นของแข็งสีขาว (30.1 g, 74.9%), mp 149-151 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.39 (2H, t, *J*=7.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.72 (2H, t, *J*=7.0 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.95 (2H, t, *J*=7.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.47 (2H, q, *J*=6.8 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.85 (6H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.65 (1H, br s, NH), 5.92 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.66 (1H, dd, *J*=1.9, 8.0 Hz, Ar-H), 6.69 (1H, d, *J*=1.9 Hz, Ar-H), 6.74 (1H, s, Ar-H), 6.78 (1H, d, *J*=8.0 Hz, Ar-H), 6.95 (1H, s, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 32.05 (t), 35.24 (t), 36.66 (t), 40.73 (t), 55.85 (q), 55.89 (q), 101.63 (t), 110.25 (d), 111.32 (d), 111.82 (d), 112.62 (d), 114.13 (s), 120.61 (d), 131.30 (s), 133.00 (s), 146.94 (s), 147.36 (s), 147.66 (s), 149.02 (s), 171.69 (s).

**1-(5-Benzyloxy-2-bromophenyl)-5,6,7-trimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline (7a):** เตรียมโดยปฏิกิริยา Bischler-Napieralski ได้ **7a** เป็นของหนืดสีเหลือง (1.8 g, 93.4%) <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.66-2.95 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 3.64 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.92 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.89-4.11 (2H, m,

CH<sub>2</sub>), 5.06 (2H, d,  $J=3.0$  Hz, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.27 (1H, s, Ar-H), 6.91 (1H, dd,  $J=3.0, 8.8$  Hz, Ar-H), 7.04 (1H, d,  $J=3.0$  Hz, Ar-H), 7.28-7.43 (5H, m, Ph-H), 7.48 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 18.97 (t), 47.55 (t), 56.25 (q), 60.96 (q), 61.05 (q), 70.30 (t), 107.36 (d), 112.60 (s), 116.41 (d), 117.23 (d), 124.01 (s), 124.09 (s), 127.52 (d), 128.14 (d), 128.62 (d), 133.58 (d), 136.39 (s), 141.09 (s), 144.70 (s), 149.98 (s), 151.80 (s), 158.16 (s), 166.41 (s).

**1-(2-(2-Bromo-4,5-methylenedioxyphenyl)ethyl)-6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline (7b):**

Reflux ของผสมของ (10.0 g, 22.9 mmol), phosphorus oxychloride (30.0 g) ใน benzene (80 mL) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จะมีของแข็งสีขาวตกออกมา กรอง แล้วล้างตะกอนด้วย *tert*-butyl methyl ether จากนั้น ทำให้เป็นเบส ด้วย 10% sodium carbonate กรอง ได้ **7b** (6.4 g, 66.8%) เป็นของแข็งสีขาว หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 133-134 °C. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.69 (2H, t,  $J=7.6$  Hz, CH<sub>2</sub>), 2.90-3.10 (4H, m, CH<sub>2</sub>  $\times$  2), 3.70 (2H, t,  $J=7.5$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.90 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.93 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.93 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.71 (1H, s, Ar-H), 6.81 (1H, s, Ar-H), 6.98 (1H, s, Ar-H), 7.08 (1H, s, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 25.84 (t), 34.39 (t), 35.67 (t), 46.01 (t), 56.05 (q), 56.30 (q), 101.63 (t), 109.10 (d), 110.42 (d), 110.44 (d), 112.57 (d), 114.07 (s), 121.31 (s), 131.74 (s), 133.75 (s), 146.97 (s), 147.48 (s), 147.71 (s), 151.60 (s), 167.37 (s).

**1-(5-Benzyloxy-2-bromophenyl)-5,6,7-trimethoxy-1,2,3,4-dihydroisoquinoline (8a):** เตรียม

โดยใช้ sodium borohydride ได้ **8a** เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อน (84.4%). <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.70-3.00 (3H, m, CH<sub>2</sub> of both conformers), 3.59 และ 3.61 (total 3H, 2 s, O-CH<sub>3</sub> of both conformers), 3.86, 3.87, 3.89 และ 3.90 (total 6H, 4 s, O-CH<sub>3</sub>  $\times$  2 of both conformers), 4.88 (1H, s, Ph-CH<sub>2</sub> of one conformer), 5.02 (1H, apparent d,  $J=2.1$  Hz, Ph-CH<sub>2</sub> of another conformer), 5.41 (1H, s, H-1), 6.08 และ 6.28 (total 1H, 2 s, H-8 of both conformers), 6.60 และ 7.05 (total 1H, 2 d,  $J=3.0$  Hz, H-6' of both conformers), 6.74 และ 6.88 (total 1H, 2 dd,  $J=3.0, 8.8$  Hz, H-4' of both conformers), 7.21-7.40 (5H, m, Ph-H of both conformers), 7.43 และ 7.46 (total 1H, 2 dd,  $J=1.6, 8.8$  Hz, H-3' of both conformers). <sup>13</sup>C-NMR (both conformers)  $\delta$ : 19.01 (t), 23.68 (t), 40.02(t), 47.53 (t), 55.88 (q), 56.22 (q), 59.72 (d), 60.42 (q), 60.56 (q), 60.82 (q), 60.93 (q), 61.02 (q), 70.06 (t), 70.25 (t), 106.87 (d), 107.37 (d), 112.58 (s), 114.93 (s), 115.56 (d), 116.51 (d), 117.19 (d), 117.91 (d), 122.37 (s), 123.99 (s), 124.09 (s), 127.49 (d), 127.52 (d), 128.06 (d), 128.12 (d), 128.57 (d),

128.59 (d), 131.88 (s), 133.37 (d), 133.59 (d), 136.40 (s), 140.72 (s), 141.09 (s), 144.36 (s), 144.73 (s), 150.01 (s), 151.10 (s), 151.51 (s), 151.84 (s), 157.69 (s), 158.16 (s), 166.42 (s).

**1-(2-(2-Bromo-4,5-methylenedioxyphenyl)ethyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8b):** ในทำนองเดียวกันได้ **8b** เป็นของหนืดสีเหลืองอ่อน (99.5%).  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 1.95-2.10 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 2.60-2.90 (4H, m,  $\text{CH}_2 \times 2$ ), 2.95-3.06 (1H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.20-3.31 (1H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.83 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.84 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.93-4.01 (1H, m, H-1), 5.93 (2H, s, O- $\text{CH}_2$ -O), 6.57 (1H, s, Ar-H), 6.61 (1H, s, Ar-H), 6.75 (1H, s, Ar-H), 6.98 (1H, s, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 29.43 (t), 32.81(t), 36.71 (t), 41.06 (t), 55.10 (d), 55.82 (q), 55.99 (q), 101.53 (t), 109.20 (d), 109.97 (s), 110.01 (d), 111.80 (d), 112.67 (d), 114.15 (s), 127.24 (s), 130.95 (s), 134.70 (s), 146.59 (s), 147.21 (s), 147.33 (s).

**1-(5-Benzyloxy-2-bromophenyl)-5,6,7-trimethoxy-2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-dihydroisoquinoline (9a):** เตรียมโดยใช้ trifluoroacetic anhydride (18.9 g), **8a** (14.7 g, 25.71 mmol) และ triethylamine (15.1 g) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **9a** (8.8 g, 50.0%) เป็นของแข็งสีเหลืองอ่อนหลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 163-164 °C.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.75-2.85 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.21-3.35 (1H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.75 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.86-3.98 (1H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.89 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.93 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.89 (1H, d,  $J=12.1$  Hz, Ph- $\text{CH}_2$ ), 4.95 (1H, d,  $J=12.1$  Hz, Ph- $\text{CH}_2$ ), 6.31 (1H, s, H-8), 6.39 (1H, d,  $J=3.0$  Hz, Ar-H), 6.70 (1H, s, H-1), 6.81 (dd,  $J=3.0, 8.7$  Hz, 1H, Ar-H), 7.23-7.39 (5H, m, Ph-H), 7.52 (1H, d,  $J=8.7$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.98 (t), 39.51 (t), 55.95 (q), 56.83 (d), 60.55 (q), 60.87 (q), 72.22 (t), 106.60 (d), 114.61 (s), 115.07 (s), 115.94 (d), 118.43 (s), 119.22 (d), 119.97 (s), 127.40 (d), 128.72 (d), 128.72 (d), 134.25 (d), 136.09 (s), 140.32 (s), 141.39 (s), 151.13 (s), 152.60 (s), 155.87 (s), 157.61 (s).

**1-(2-(2-Bromo-4,5-methylenedioxyphenyl)ethyl)-6,7-dimethoxy-2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (9b):** เตรียมโดยใช้ trifluoroacetic anhydride (52.5 g), **8b** (21.3 g, 50.7 mmol) และ triethylamine (38.0 g) ทำ workup โดยวิธีปกติได้ **9b** (24.0 g, 91.7%) เป็นของหนืดสีเหลือง  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 1.80-2.20 (2H, m,  $\text{CH}_2$  of both conformers), 2.64-2.84 (3H, m,  $\text{CH}_2$  of both conformers), 2.93-3.06 (1H, m,  $\text{CH}_2$  of both conformers), 3.64-3.88 (1H, m,  $\text{CH}_2$  of both conformers), 3.85 (6H, s, O- $\text{CH}_3 \times 2$ ), 4.05-4.16 (1H, m,  $\text{CH}_2$  of both conformers), 5.58 (1H, dd,

$J=4.6, 9.9$  Hz, H-1), 5.93 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.58 (2H, s, Ar-H), 6.76 (1H, s, Ar-H), 6.96 (1H, s, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR (both conformers)  $\delta$ : 28.72 (t), 33.09 (t), 36.82 (t), 39.62 (t), 39.66 (t), 53.67 (d), 55.98 (q), 56.05 (q), 101.63 (t), 109.44 (s), 109.66 (s), 109.86 (d), 109.97 (d), 111.23 (d), 111.72 (d), 112.63 (d), 112.69 (s), 113.91 (s), 114.77 (s), 118.59 (s), 122.41 (s), 124.39 (d), 124.81 (s), 127.72 (d), 127.87 (s), 133.01 (s), 133.35 (s), 146.83 (s), 147.44 (s), 147.92 (s), 148.16 (s), 156.10 (s).

**ความพยายามในการสังเคราะห์สาร 2:** เตรียมโดยใช้ **9a** (2.9 g, 6.7 mmol), 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (0.8 g) และ tributyltin hydride (5.9 g) ทำ workup โดยวิธีปกติ พบว่าได้ 1-(5-benzyloxyphenyl)-5,6,7-trimethoxy-2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-dihydroisoquinoline (**10a**) (2.3 g, 92.0%) เป็นของหนืดสีเหลือง เพียงตัวเดียวหลังทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี silica gel column chromatography ใช้ hexane-ethyl acetate เป็นตัวชะ <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.72-2.94 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 3.26-3.39 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 3.72 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.87-3.97 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.93 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.01 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.32 (1H, s, H-8), 6.72 (1H, s, H-1), 6.81-6.87 (2H, m, Ar-H), 6.90-6.95 (1H, m, Ar-H), 7.20-7.27 (1H, m, Ar-H), 7.30-7.40 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR (both conformers)  $\delta$ : 27.85 (t), 38.90 (t), 38.95 (t), 56.02 (q), 56.32 (d), 60.56 (q), 60.88 (q), 70.03 (t), 107.00 (d), 114.44 (d), 115.78 (d), 118.55 (s), 120.16 (s), 121.56 (d), 127.61 (d), 128.46 (s), 128.61 (d), 129.66 (d), 136.65 (s), 141.21 (s), 142.23 (s), 151.01 (s), 152.42 (s), 155.77 (s), 158.83 (s).

**ความพยายามในการสังเคราะห์สาร 3:** เตรียมโดยใช้ **9b** (6.8 g, 13.2 mmol), 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (2.2 g) และ tributyltin hydride (15.5 g) ทำ workup โดยวิธีปกติ พบว่าได้ 1-(2-(4,5-methylenedioxyphenyl)ethyl)-6,7-dimethoxy-2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (**10b**) (3.8 g, 66.2%) เป็นของหนืดสีเหลืองเพียงตัวเดียวหลังทำสารให้บริสุทธิ์โดยวิธี silica gel column chromatography ใช้ hexane-ethyl acetate เป็นตัวชะ <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.04-2.26 (2H, m, H- $\alpha$  of both conformers), 2.52-2.80 (2H, m, H- $\beta$  of both conformers), 2.80-2.86 (1H, m, H-4 of both conformers), 2.93-3.08 (1H, m, H-4 of both conformers), 3.58-3.71 (1H, m, H-5 of both conformers), 3.86 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.01-4.12 (1H, m, H-5 of both conformers), 5.57 (1H, dd,  $J=7.3, 9.1$  Hz, H-1), 5.93 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.56 (1H, s, Ar-H), 6.60 (1H, s, Ar-H), 6.67 (1H, dd,  $J=1.6, 7.9$  Hz, Ar-H), 6.72 (1H, d,  $J=1.6$  Hz, Ar-H), 6.75 (1H, d,  $J=7.9$  Hz, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR (both conformers)  $\delta$ : 28.76 (t), 32.21 (t), 38.36 (t), 39.57 (t), 53.77 (d),

55.96 (q), 56.07 (q), 100.86 (t), 108.27 (d), 108.74 (d), 109.96 (d), 111.22 (d), 114.76 (s), 121.07 (d), 124.37 (s), 128.00 (s), 134.91 (s), 145.86 (s), 147.70 (s), 147.96 (s), 148.21 (s), 151.27 (s).

**บรรณานุกรม**

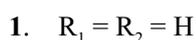
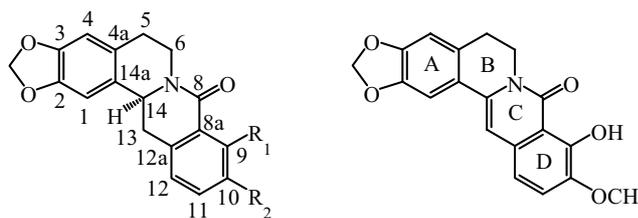
1. Estevez J. C., Villaverde M. C., Estevez R. J., Castedo L., *Tetrahedron*, **50**, 2107-2114 (1994).
2. Cava M. P., Buck K. T., Noguchi I., Srinivasan M., Rao M. G., DaRocha A. I., *Tetrahedron*, **31**, 1667-1668 (1975).
3. Morita H., Matsumoto K., Takeya K., Itokawa H., *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 1307-1308 (1993).

## บทที่ 10

### การสังเคราะห์ (±)-Gusanlung A, (±)-Gusanlung D และ 8-Oxyberberrubine: ความคลุมเครือ ของโครงสร้าง (-)-Gusanlung A, (-)-Gusanlung D และ 8-Oxyberberrubine

(-)-Gusanlung D พบใน *Acangelisia gusanlung* H. S. Lo (Menispermaceae) เป็น 8-oxotetrahydroprotoberberine ตัวแรกที่ไม่มีความแตกต่างที่บนวงแหวน D<sup>1</sup> จากการวิเคราะห์ข้อมูลทาง spectroscopy ได้มีการเสนอโครงสร้าง 1 แก่ (-)-gusanlung D ในปี ค.ศ.1992 Kessar และคณะ<sup>2</sup> ในการศึกษาการสังเคราะห์ protoberberine alkaloid ได้สังเคราะห์สารที่มีโครงสร้างเป็น (±)-gusanlung D เป็นครั้งแรก การวิเคราะห์ข้อมูล <sup>1</sup>H-NMR ของ (±)-gusanlung D เทียบกับ (-)-gusanlung D พบว่ามีความแตกต่างอยู่เป็นอันมาก ต่อมาปี ค.ศ. 2003 Reimann และคณะ<sup>3</sup> ได้รายงานการสังเคราะห์ (±)-gusanlung D ขึ้นและจากการวิเคราะห์ข้อมูล <sup>13</sup>C-NMR ของ (±)-gusanlung D ที่สังเคราะห์ได้พบว่ายังแตกต่างจากข้อมูล <sup>13</sup>C-NMR ของ (-)-gusanlung D ในปี ค.ศ. 2004 Chrzanowska และคณะ<sup>4</sup> ทำการสังเคราะห์ (-)-gusanlung D ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบข้อมูล <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR ของสารสังเคราะห์ (-)-gusanlung D กับสารธรรมชาติ (-)-gusanlung D ก็ยังคงพบว่ามี ความแตกต่างกันอยู่ ในปี ค.ศ. 2008 Chang และคณะ<sup>5</sup> ได้รายงานการสังเคราะห์ (±)-gusanlung D และได้สรุปผลการวิเคราะห์ข้อมูลของ <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR ของ สารสังเคราะห์ (±)-gusanlung D ว่า สอดคล้องกับข้อมูลที่มีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้<sup>1-4</sup> ข้อสรุปนี้ไม่น่าเป็นไปได้เนื่องจากว่าหากข้อมูล <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR ของสารสังเคราะห์ (±)-gusanlung D<sup>5</sup> มีความสอดคล้องกับ (±)-gusanlung D<sup>2-3</sup> และ (-)-gusanlung D<sup>4</sup> จริง ก็เป็นไปได้ที่จะสอดคล้องกับข้อมูล <sup>1</sup>H- และ <sup>13</sup>C-NMR ของ (-)-gusanlung D<sup>1</sup> ที่มาจากธรรมชาติได้ เพื่อแสวงหาความกระจ่างในด้าน โครงสร้างที่ถูกต้องของ (-)-gusanlung D<sup>1</sup> ที่มาจากธรรมชาติ จึงมีความจำเป็นที่ต้องสังเคราะห์ (±)-gusanlung D ขึ้นด้วยวิธีการ ใหม่

นอกจากนี้ใน *Acangelisia gusanlung* H. S. Lo ยังพบ สารใหม่ 2 ตัว คือ (-)-gusanlung A<sup>6</sup> และ 8-oxyberberrubine<sup>1</sup> ซึ่งมีการเสนอโครงสร้างเป็น 2 และ 3 โดยการวิเคราะห์ข้อมูลทาง spectroscopy ตามลำดับ แต่ยังไม่มีการพิสูจน์โครงสร้างโดยการสังเคราะห์ ในเมื่อยังมีความไม่ กระจ่างในโครงสร้างของ (-)-gusanlung D จึงมีข้อสงสัยในโครงสร้างของ (-)-gusanlung A และ 8-oxyberberrubine ด้วย



3

**รูปที่ 1** โครงสร้างของ (-)-gusanlung D (1), (-)-gusanlung A (2) และ 8-oxyberberrubine (3)

เพื่อให้เกิดความชัดเจนในโครงสร้างเช่นเดียวกันกับในกรณีของ (-)-gusanlung D<sup>1</sup> จึงมีความจำเป็นต้องมีการยืนยันโครงสร้างของ (-)-gusanlung A (2) และ 8-oxyberberrubine (3) โดยการสังเคราะห์เช่นเดียวกัน

**ผลการทดลอง**

**การสังเคราะห์ (±)-gusanlung A (2) และ 8-oxyberberrubine (3)**

การสังเคราะห์ (±)-gusanlung A (2) อาศัยปฏิกิริยา radical cyclisation ในการสร้างวงแหวน C ของ 2-(2'-benzyloxy-6'-bromo-3'-methoxybenzoyl)-1-methylene-6,7-methylenedioxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (6a) ตามแผนการสังเคราะห์ในแผนภาพที่ 1 ปฏิกิริยา oxidation ของ 2-benzyloxy-6-bromo-3-methoxybenzaldehyde (4a)<sup>7</sup> ด้วย sodium chlorite ให้ 2-benzyloxy-6-bromo-3-methoxybenzoic acid (4b) ซึ่งถูกเปลี่ยนเป็น acid chloride (4c) ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับ 6,7-methylenedioxy-1-methyl-3,4-dihydroisoquinoline (5)<sup>8</sup> และ triethylamine ให้ 6a ซึ่งมีความเสถียรต่ำ จึงนำ 6a มาทำปฏิกิริยาสร้างวงแหวน C กับ tributyltin hydride และ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) เลย ให้สารผลิตภัณฑ์เป็นของผสมของ (±)-9-benzylgusanlung A (7a) และ 9-benzyl-8-oxyberberrubine (8a) ในปริมาณผลผลิตรวม 31.3% ในสัดส่วน 7a : 8a เท่ากับ 78:22 จากการวิเคราะห์ <sup>1</sup>H-NMR spectrum จากนั้นทำปฏิกิริยา catalytic hydrogenolysis ของ 7a และ 8a เพื่อตัดหมู่ benzyl ออก ซึ่งมีผลทำให้เกิดปฏิกิริยา hydrogenation ที่ C-C double bond ด้วย ได้ (±)-gusanlung A (2) บริสุทธิ์ นอกจากนี้การทำปฏิกิริยา oxidation ของของผสมของ 7a และ 8a ด้วย iodine ให้ 9-benzyl-8-oxyberberrubine (8a) ซึ่งเมื่อตัดหมู่ benzyl ออกโดยการต้มกับ concentrated hydrochloric acid ได้ 8-oxyberberrubine (3)

ข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectrum ของ ( $\pm$ )-gusanlung A (2) ที่ได้จากการสังเคราะห์สอดคล้องกับ ข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectrum ของ (-)-gusanlung A (2) อย่างไรก็ตามใน  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum ของ (-)-gusanlung A (2) มี carbon จำนวนหนึ่งที่มี chemical shift แตกต่างจาก chemical shift ของ carbon เดียวกันของ ( $\pm$ )-gusanlung A (2) ดังนั้นเราจึงทำ  $^1\text{H-}^1\text{H-COSY}$ , HMQC และ HMBC correlations เพื่อความแน่ใจในการระบุตำแหน่งของ carbon ในโครงสร้างของ ( $\pm$ )-gusanlung A (2) สำหรับข้อมูล HMBC correlations ได้แสดงในรูปแบบที่ 2 และตาราง 4

ข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectrum ของ 8-oxyberberrubine (3) ที่มาจากธรรมชาติ สอดคล้องกับ ข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  spectrum ของ 8-oxyberberrubine (3) จากการสังเคราะห์ อย่างไรก็ตามใน  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum ของ 8-oxyberberrubine จากธรรมชาติ มี carbon จำนวนหนึ่งที่มี chemical shift แตกต่างจาก chemical shift ของ carbon เดียวกันของ 8-oxyberberrubine (3) จากการสังเคราะห์ และผลจาก HMBC correlation พบว่ารายงานก่อนหน้านี้ระบุตำแหน่งของ H-1 และ H-13 สลับกัน ข้อมูลของ HMBC correlation แสดงไว้ในรูปที่ 2 และตาราง 5

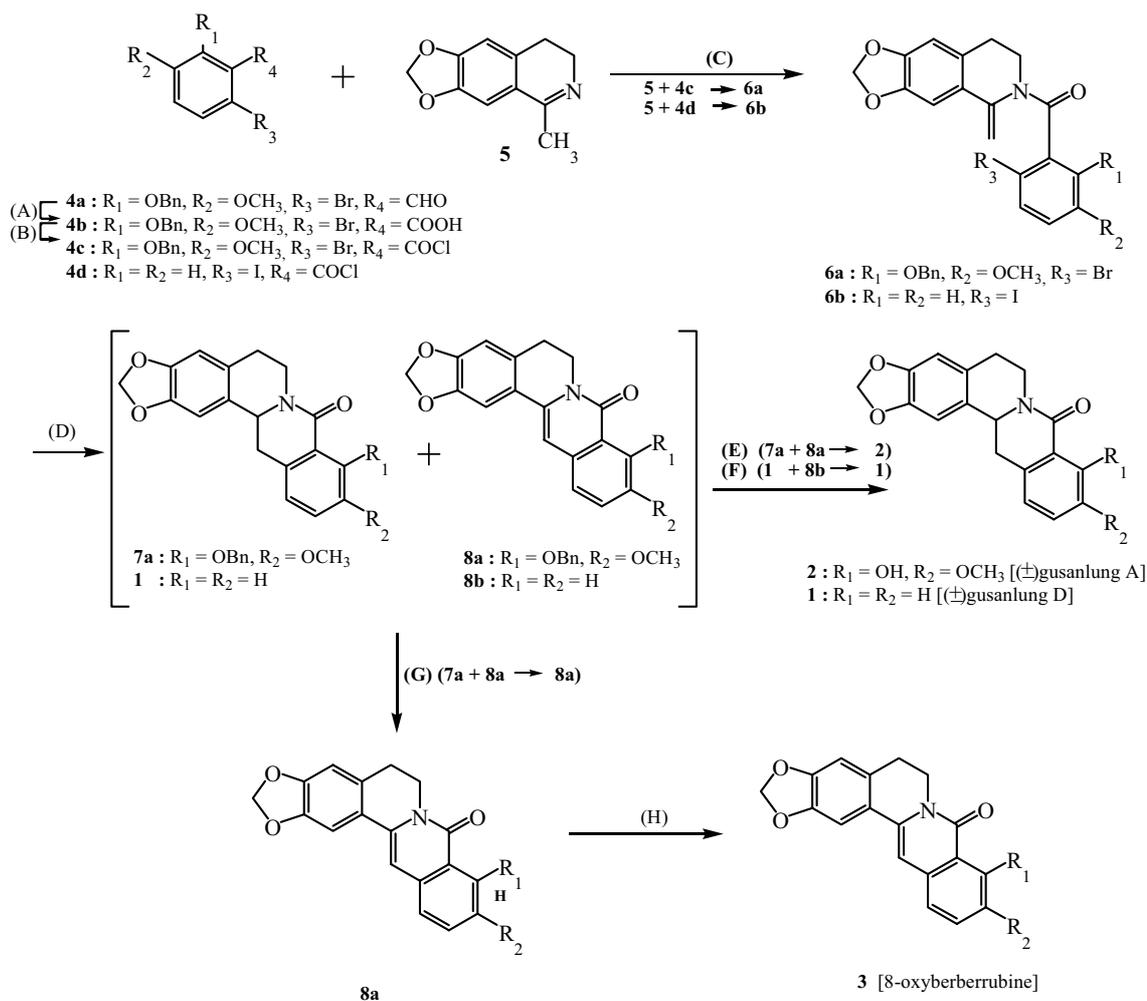
เราสามารถสรุปได้ว่าจากข้อมูลของ  $^1\text{H-NMR}$  สามารถยืนยันโครงสร้างของ (-)-gusanlung A (2) และ 8-oxyberberrubine (3) ได้ แต่ความแตกต่างของค่า chemical shift ของ carbon ในบางตำแหน่งระหว่างสารสังเคราะห์กับสารธรรมชาติ ทำให้ไม่สามารถยืนยันโครงสร้างของ (-)-gusanlung A (2) และ 8-oxyberberrubine (3) ของรายงานก่อนหน้านี้ได้อย่างมั่นใจ

#### การสังเคราะห์ ( $\pm$ )-gusanlung D

สำหรับการสังเคราะห์ ( $\pm$ )-gusanlung D (1) นั้นเริ่มจากการนำ 2-iodobenzoyl chloride (4d) มาทำปฏิกิริยากับ  $5^8$  และ triethylamine ให้ 2-(2'-iodobenzoyl)-1-methylene-6,7-methylenedioxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (6b) ซึ่งมีความเสถียรต่ำมาก จึงนำ 6b มาทำปฏิกิริยากับ tributyltin hydride และ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) เลย ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นของผสมของ 1 และ 8b ในปริมาณผลผลิตรวม 39.0% ในสัดส่วน 1: 8b เท่ากับ 87:23 จากการวิเคราะห์  $^1\text{H-NMR}$  spectrum และเมื่อนำของผสมมาทำปฏิกิริยากับ hydrazine และ palladium/charcoal ให้ ( $\pm$ )-gusanlung D (1) บริสุทธิ์ ข้อมูล  $^1\text{H-}$  และ  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum ของ ( $\pm$ )-gusanlung D (1) ที่สังเคราะห์ได้สอดคล้องกับข้อมูลของ ( $\pm$ )-gusanlung D และ (-)-gusanlung D จากรายงานก่อนหน้านี้<sup>2,3,4</sup> แต่แตกต่างจากข้อมูลของ (-)-gusanlung D<sup>1</sup> ดังนั้นโครงสร้างของ (-)-gusanlung D<sup>1</sup> จากธรรมชาติจึงยังคงมีความคลุมเคลือต่อไป

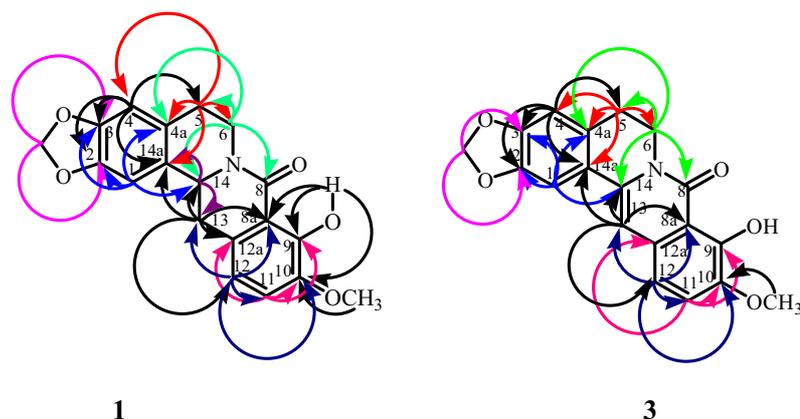
### ฤทธิ์ทางชีวภาพของ (±)-Gusanlung D (1) และ (±)-gusanlung A (2)

(±)-Gusanlung D (1) และ (±)-gusanlung A (2) ที่ความเข้มข้น 256 µg/mL ไม่ออกฤทธิ์ยับยั้งต่อ *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Escherichia coli* ATCC10536 และ *Candida albicans* ATCC90028.



Reaction conditions: (A) NaClO<sub>2</sub>, sulphamic acid/ *tert*-butanol-H<sub>2</sub>O; (B) SOCl<sub>2</sub>/ benzene; (C) Et<sub>3</sub>N/ dry benzene; (D) Bu<sub>3</sub>SnH, AIBN/ dry benzene; (E) H<sub>2</sub>, Pd/C/ ethanol; (F) hydrazine, Pd/C/ ethyl acetate-ethanol; (G) I<sub>2</sub>/ dioxane; (H) conc. HCl/ ethanol.

**แผนภาพ 1** การสังเคราะห์ (±)-gusanlung A (1), (±)-gusanlung D (2) และ 8-oxyberberrubine (3)



รูปที่ 2 HMBC correlations ของ (±)-gusanlung A (1) และ 8-oxyberberrubine (3)

ตาราง 1 การเปรียบเทียบข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  ระหว่าง natural (-)-gusanlung D<sup>1</sup>, synthetic (-)-gusanlung D<sup>4</sup> และ synthetic (±)-gusanlung D<sup>2</sup> และ [this work]

(position)	(-)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> <sup>1</sup> mp 250-251 °C	(-)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> <sup>4</sup> mp 195-197 °C	(±)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> <sup>2</sup> mp 175-177 °C	(±)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [this work] mp 175-176 °C
	<sup>1</sup> H	<sup>1</sup> H	<sup>1</sup> H	<sup>1</sup> H
1	<b>7.35</b> (s)	<b>6.71</b> (s)	<b>6.76</b> (d)	<b>6.72</b> (s)
4	<b>6.80</b> (s)	<b>6.67</b> (s)	<b>6.76</b> (d)	<b>6.67</b> (s)
5 $\alpha$	2.70-3.40 (m)	2.7-2.8 (m)	2.83-3.35 (m)	2.70-2.82 (m)
5 $\beta$	2.70-3.40 (m)	2.82-3.02 (m)	2.83-3.35 (m)	2.87-3.07 (m)
6 $\alpha$	2.70-3.40 (m)	2.82-3.02 (m)	2.83-3.35 (m)	2.87-3.07 (m)
6 $\beta$	4.8 (m)	4.93-4.99 (m)	4.7-5.1 (m)	4.88-4.99 (m)
9	<b>8.07</b> (d, 8.0)	<b>8.13</b> (d, 7.4)	<b>8.1-8.37</b> (m)	<b>8.13</b> (dd, 7.6, 1.4)
10	7.29-7.41 (m)	7.34-7.40 (m)	7.25-7.65 (m)	7.39 (br t, 7.4)
11	7.29-7.41 (m)	7.41-7.49 (m)	7.25-7.65 (m)	7.46 (dt, 7.4, 1.5)
12	7.29-7.41 (m)	7.24 (d, 7.4)	7.25-7.65 (m)	7.22-7.29 (m)
13 $\alpha$	2.70-3.40 (m)	2.82-3.02 (m)	2.83-3.35 (m)	2.87-3.07 (m)
13 $\beta$	2.70-3.40 (m)	3.18 (dd, 15.3, 3.7)	2.83-3.35 (m)	3.18 (dd, 15.7, 3.7)
14	<b>3.95</b> (m)	<b>4.83</b> (dd, 13.3, 3.7)	<b>4.7-5.1</b> (m)	<b>4.84</b> (dd, 13.3, 3.7)
OCH <sub>2</sub> O	<b>6.20, 6.06</b> (s)	<b>5.96</b> (s)	<b>5.93</b> (s)	<b>5.96</b> (s)

ตาราง 2 การเปรียบเทียบข้อมูล  $^{13}\text{C}$ -NMR ระหว่าง natural (-)-gusanlung D<sup>1</sup>, synthetic (-)-gusanlung D<sup>4</sup> และ synthetic (±)-gusanlung D<sup>3</sup> และ [this work].

(position)	(-)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> <sup>1</sup> mp 250-251 °C	(-)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> <sup>4</sup> mp 195-197 °C	(±)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> <sup>3</sup> mp 175-177 °C	(±)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [this work] mp 175-176 °C
	<sup>13</sup> C	<sup>13</sup> C	<sup>13</sup> C	<sup>13</sup> C
1	<b>107.3</b>	<b>105.8</b>	<b>105.97</b>	<b>105.9</b>
2	<b>135.0</b>	<b>146.5<sup>b</sup></b>	<b>146.57</b>	<b>146.6<sup>c</sup></b>
3	147.0	146.7 <sup>b</sup>	146.77	146.8 <sup>c</sup>
4	<b>107.5</b>	<b>108.6</b>	<b>108.81</b>	<b>108.7</b>
4a	<b>126.5</b>	<b>128.8</b>	<b>128.85</b>	<b>128.9</b>
5	29.7	29.6	29.61	29.7
6	<b>42.0</b>	<b>38.7</b>	<b>38.49</b>	<b>38.8</b>
8	<b>162.0</b>	<b>164.5</b>	<b>158.67</b>	<b>164.6</b>
8a	<b>117.3</b>	<b>137.2</b>	<b>137.24</b>	<b>137.3</b>
9	128.7 <sup>a</sup>	128.6	128.60	128.6
10	<b>127.9<sup>a</sup></b>	<b>127.3</b>	<b>127.37</b>	<b>127.4<sup>*</sup></b>
11	<b>127.1<sup>a</sup></b>	<b>131.8</b>	<b>132.33</b>	<b>131.9<sup>*</sup></b>
12	126.8 <sup>a</sup>	126.8	126.87	126.9
12a	<b>124.6</b>	<b>129.0</b>	<b>131.81</b>	<b>129.1</b>
13	<b>33.5</b>	<b>38.1</b>	<b>37.78</b>	<b>38.1</b>
14	<b>49.4</b>	<b>55.2</b>	<b>55.18</b>	55.3
14a	<b>126.5</b>	<b>128.5</b>	<b>128.55</b>	<b>128.6</b>
OCH <sub>2</sub> O	100.9	101.1	101.00	101.1

<sup>a, b, c, \*</sup> assignments may be interchangeable.

ตาราง 3 การเปรียบเทียบข้อมูล  $^1\text{H-NMR}$  ระหว่าง natural (-)-gusanlung A<sup>1</sup> และ synthetic (±)-gusanlung A [this work].

(position)	(-)-gusanlung A (DMSO- $d_6$ ) <sup>6</sup> m.p. 260-262 °C	(±)-gusanlung A (DMSO- $d_6$ ) [this work] m.p. 188-189 °C	(±)-gusanlung A (CDCl <sub>3</sub> ) [this work] m.p. 188-189 °C
	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$
1	6.96 (s)	7.00 (s)	6.71 (s)
4	6.80 (s)	6.79 (s)	6.66 (s)
5	2.73-2.81 (m)	2.75-2.89 (m)	2.72-2.84 (m)
6 $\alpha$	<b>2.73-2.81 (m)</b>	<b>2.89-3.01 (m)</b>	2.94-3.40 (m)
6 $\beta$	<b>4.71 (m)</b>	<b>4.69-4.59 (m)</b>	4.80-4.87 (m)
11	6.99 (d, 8.1)	7.09 (d, 8.1)	6.94 (d, 8.1)
12	<b>6.86 (d, 8.1)</b>	<b>6.71 (d, 8.1)</b>	6.63 (d, 8.1)
13 $\alpha$	<b>3.13 (dd, 15.3, 3.1)</b>	<b>3.36 (dd, 15.2, 3.6)</b>	3.14 (dd, 15.2, 3.8)
13 $\beta$	2.62 (dd, 15.3, 13.3)	2.66-2.75 (m)	2.80-2.94 (m)
14	<b>4.68 (dd, 13.3, 3.1)</b>	<b>4.84 (dd, 13.3, 3.4)</b>	4.80 (dd, 13.6, 3.5)
C <sub>10</sub> -OCH <sub>3</sub>	3.76 (s)	3.78 (s)	3.90 (s)
OCH <sub>2</sub> O	5.98, 5.99 (s)	5.98, 6.00 (s)	5.96 (s)
OH	-	12.88 (s)	12.83 (s)

ตาราง 4 การเปรียบเทียบข้อมูล  $^{13}\text{C-NMR}$  ระหว่าง natural (-)-gusanlung A<sup>6</sup> และ synthetic (±)-gusanlung A [this work] และ HMBC correlations ของ (±)-gusanlung A [this work].

(position)	(-)-gusanlung A (DMSO- $d_6$ ) <sup>6</sup> m.p. 260-262 °C	(±)-gusanlung A (DMSO- $d_6$ ) [this work] m.p. 188-189 °C	(±)-gusanlung A (CDCl <sub>3</sub> ) [this work] m.p. 188-189 °C	(±)-gusanlung A (DMSO- $d_6$ ) [this work]	
	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	HMBC	
	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^2\text{J}$	$^3\text{J}$
1	106.1	106.6	105.8	C-2	C-3, 4a, 14
2	145.9 <sup>a</sup>	146.7 <sup>c</sup>	146.8*	-	-
3	147.7 <sup>a</sup>	146.5 <sup>c</sup>	146.7*	-	-
4	<b>107.8</b>	<b>108.7</b>	108.6	C-3	C-2, 5, 14a
4a	129.1 <sup>b</sup>	128.3	128.1	-	-
5	29.0	28.9	29.4	C-4a, 6	C-4, 14a

ตาราง 4 การเปรียบเทียบข้อมูล  $^{13}\text{C}$ -NMR ระหว่าง natural (-)-gusanlung A<sup>6</sup> และ synthetic (±)-gusanlung A [this work] และ HMBC correlations ของ (±)-gusanlung A [this work]. (ต่อ)

6	<b>37.8</b>	<b>38.5</b>	38.4	C-5	C-4a, 8, 14
8	<b>161.4</b>	<b>168.4</b>	168.6	-	-
8a	<b>122.3<sup>b</sup></b>	<b>111.4</b>	111.4	-	-
9	149.7 <sup>a</sup>	151.4	151.8	-	-
10	145.7 <sup>a</sup>	147.2	147.5	-	-
11	<b>118.9</b>	<b>116.7</b>	115.4	C-10	C-9, 12a
12	<b>122.1</b>	<b>116.9</b>	116.1	C-11	C-8a, 10, 13
12a	<b>128.2<sup>b</sup></b>	<b>129.6</b>	128.7	-	-
13	<b>37.7</b>	<b>35.9</b>	37.1	C-12a, 14	C-8a, 12, 14a
14	<b>54.4</b>	<b>55.4</b>	55.7	C-13, 14a	-
14a	<b>129.3<sup>b</sup></b>	<b>129.1</b>	128.4	-	-
C <sub>10</sub> -OCH <sub>3</sub>	<b>60.5</b>	<b>56.3</b>	56.3	-	C-10
OCH <sub>2</sub> O	<b>100.5</b>	<b>101.3</b>	101.2	-	C-2, 3
OH				C-9	C-8a, 10

<sup>a, b, c</sup> \* assignments may be interchangeable.

ตาราง 5 การเปรียบเทียบข้อมูล  $^1\text{H}$ - และ  $^{13}\text{C}$ -NMR ระหว่าง natural 8-oxyberberubine (**3**)<sup>1</sup>, synthetic 8-oxyberberubine (**3**) [this work] และ HMBC correlations ของ 8-oxyberberubine [this work].

(position)	natural 8-oxyberberubine ( <b>3</b> ) CDCl <sub>3</sub> <sup>1</sup> m.p. 240-241 °C	synthetic 8-oxyberberubine ( <b>3</b> ) CDCl <sub>3</sub> [this work] m.p. 238-239 °C	natural 8-oxyberberubine ( <b>3</b> ) CDCl <sub>3</sub> <sup>1</sup> m.p. 240-241 °C	synthetic 8-oxyberberubine ( <b>3</b> ) CDCl <sub>3</sub> [this work] m.p. 238-239 °C	synthetic 8-oxyberberubine ( <b>3</b> ) (CDCl <sub>3</sub> ) [this work] HMBC	
	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^2\text{J}$	$^3\text{J}$
1	<b>6.83 (s)</b>	<b>7.21 (s)</b>	104.0	104.8	C-2	C-3, 4a, 14
2			<b>141.6</b>	<b>147.5*</b>	-	-
3			<b>146.4</b>	<b>148.6*</b>	-	-

ตาราง 5 การเปรียบเทียบข้อมูล  $^1\text{H}$ - และ  $^{13}\text{C}$ -NMR ระหว่าง natural 8-oxyberberubine (**3**)<sup>1</sup>, synthetic 8-oxyberberubine (**3**) [this work] และ HMBC correlations ของ 8-oxyberberubine [this work]. (ต่อ)

4	6.72 (s)	6.71 (s)	107.1	108.0	C-3	C-2, 5, 14a
4a			<b>109.6</b>	<b>129.5</b>	-	-
5	2.91 (t, 7.2)	2.92 (t, 6.1)	28.4	28.4	C-4a, 6	C-4, 14a
6	4.27 (t, 7.2)	4.27 (t, 6.1)	39.1	39.1	C-5	C-4a, 8, 14
8			<b>164.0</b>	<b>165.4</b>	-	-
8a			<b>129.9</b>	<b>111.0</b>	-	-
9			149.0	150.3	-	-
10			<b>147.5</b>	<b>144.9</b>	-	-
11	7.30 (AB q, 8.0)	7.28 (d, 8.5)	<b>114.9</b>	<b>119.1</b>	C-10	C-9, 12a
12	7.00 (AB q, 8.0)	6.99 (d, 8.5)	<b>120.0</b>	<b>115.3</b>	C-11	C-8a, 10, 13
12a			<b>128.9</b>	<b>130.5</b>	-	-
13	<b>7.21 (s)</b>	<b>6.83 (s)</b>	103.6	103.6	C-14	C-8a, 12, 14a
14			133.6	134.6	-	-
14a			<b>122.1</b>	<b>123.5</b>	-	-
C <sub>10</sub> -OCH <sub>3</sub>	3.96 (s)	3.97 (s)	56.7	56.7	-	C-10
OCH <sub>2</sub> O	6.02 (s)	6.02 (s)	<b>100.6</b>	<b>101.5</b>	-	C-2, 3
OH		13.14	-	-	-	-

\* assignments may be interchangeable.

#### การทดลอง

จุดหลอมเหลววัดด้วยเครื่อง Stuart Scientific SMP 2 โดยมีได้ปรับค่า (uncorrected)  
 Ultraviolet spectra วัดจากสารละลายใน methanol ด้วยเครื่อง Perkin Elmer Lambda 35 UV-VIS spectrophotometer  
 Infrared spectra วัดด้วยเครื่อง Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR

spectrophotometer ในรูป  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -films  $^1\text{H}$ - และ  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra วัดด้วยเครื่อง Bruker AVANCE 300 spectrometer ที่ความถี่ 300 MHz สำหรับ  $^1\text{H}$  และ 75 MHz สำหรับ  $^{13}\text{C}$  โดยใช้  $\text{CDCl}_3$  และ  $\text{DMSO}-d_6$  ในบางกรณีเป็นตัวทำละลาย และใช้ tetramethylsilane เป็น internal standard Mass spectra วัดด้วยเครื่อง POLARIS Q mass spectrometer

**2-Benzoyloxy-6-bromo-3-methoxybenzoic acid (4b):** ค่อย ๆ เติมสารละลายของ sodium chlorite (0.36 g, 3.6 mmol) ในน้ำ (5 mL) ลงในสารละลายของ 2-benzyloxy-6-bromo-3-methoxy-benzaldehyde (**4a**)<sup>7</sup> (1.0 g, 3.1 mmol) และ sulfamic acid (0.5 g) ใน *tert*-butanol (10 mL) และน้ำ (3 mL) ที่กำลังกวนอยู่ เมื่อเติมเสร็จ กวนต่ออีก 1 ชั่วโมง จากนั้นเติม ethyl acetate (20 mL) ลงไปเขย่าอย่างดี แล้วสกัดชั้น ethyl acetate ด้วย 5% sodium carbonate ( $3 \times 20$  mL) จากนั้นทำชั้นเบสให้เป็นกรด ด้วย concentrated hydrochloric acid สกัดชั้นกรดด้วย chloroform ( $3 \times 20$  mL) จากนั้นทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **4b** เป็นผลึกสีขาว (0.8 g, 76.2%) หลังตกผลึกด้วย benzene-hexane, mp 112-115 °C;  $^1\text{H}$ -NMR  $\delta$ : 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.10 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.88, (1H, d,  $J=8.9$  Hz, Ar-H), 7.25-7.38 (4H, m, Ph-H  $\times$  3 และ Ar-H), 7.42-7.47 (2H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C}$ -NMR  $\delta$ : 56.2 (q), 76.0 (t), 108.7 (s), 114.9 (d), 128.2 (d), 128.3 (d), 128.4 (d), 130.6 (s), 136.7 (s), 145.9 (s), 152.2 (s), 171.0 (s).

**2-(2'-Benzoyloxy-6'-bromo-3'-methoxybenzoyl)-1-methylene-6,7-methylenedioxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (6a):** เตรียมโดยวิธี acid chloride โดยใช้ acid (**4b**) (3.6 g, 10.0 mmol) และ dihydroisoquinoline (**5**)<sup>8</sup> (1.0 g, 5.3 mmol) workup โดยวิธีปกติได้ **6a** ซึ่งมีความเสถียรต่ำจึงนำไปทำปฏิกิริยาในขั้นต่อไปทันที  $^1\text{H}$ -NMR  $\delta$ : 2.90-2.59 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 3.80 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.13-4.02 และ 3.57-3.50 (2H, 2 m, CH<sub>2</sub>), 4.81 (1H, d,  $J=1.3$  Hz, =CH<sub>2</sub>), 5.00 (2H, AB q,  $J=10.8$  Hz, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.14 (1H, d,  $J=1.3$  Hz, =CH<sub>2</sub>), 5.90 (2H, AB q,  $J=1.3$  Hz, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.41 (1H, s, H-5), 6.75 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-4'), 6.89 (1H, s, H-8), 7.18 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-5'), 7.38-7.23 (5H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C}$ -NMR  $\delta$ : 28.8 (t), 41.6 (t), 55.9 (q), 75.4 (t), 101.1 (t), 103.8 (d), 104.4 (t), 108.4 (d), 110.0 (s), 113.4 (d), 125.1 (s), 127.7 (d), 127.9 (d), 128.1 (d), 128.4 (d), 129.0 (s), 134.3 (s), 137.4 (s), 141.4 (s), 145.3 (s), 146.5 (s), 147.8 (s), 152.1 (s), 165.0 (s).

**(±)-Gusanlung A (2) และ 9-benzyl-8-oxyberberrubine (8a)** Reflux สารละลายของ **6a** (2.7 g, 5.3 mmol), tributyltin hydride (3.4 g, 11.7 mmol) และ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (0.2 g, 0.7

mmol) ใน benzene (50 mL) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำ ได้ของหนืดสีน้ำตาล เติม chloroform (30 mL) ลงไปเพื่อละลายของหนืด จากนั้นล้างชั้น chloroform ด้วย hexane ( $4 \times 15$  mL) แล้วทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วยด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ของผสม (±)-9-benzylgusanlung A (**7a**) และ 9-benzyl-8-oxyberberrubine (**8a**) เป็นผลึกสีเหลืองอ่อน (31.3%) หลังตกผลึกซ้ำด้วย ethanol ในสัดส่วน 78: 22 จากการวิเคราะห์ข้อมูลของ  $^1\text{H-NMR}$  spectrum

นำของผสม **8a** และ **7a** (303.7 mg, 0.7 mmol), 10% Pd/C (30.4 mg) ใน ethanol (50 mL) มาทำปฏิกิริยากับ hydrogen ที่ความดันบรรยากาศเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นกรองเอา catalyst ออก นำ filtrate ไปประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ (±)-gusanlung A (**2**) เป็นผลึกสีเหลืองอ่อน (82.4 mg, 34.3%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 188-189 °C; UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 219 (4.54), 271sh (3.87), 281 (3.98), 308 (4.16), 319 (4.15); IR  $\nu_{\text{max}}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3737, 3650, 3585, 2919, 2852, 1748, 1634, 1615, 1581, 1542, 1506, 1488, 1456, 1386, 1356, 1336, 1315, 1262, 1239, 1154, 1084, 1069, 1037, 1001, 933, 858, 804, 792, 728; EI-MS  $m/z$  (%): 339[M]<sup>+</sup> (55), 176 (100).  $^1\text{H-NMR}$  แสดงในตาราง 3,  $^{13}\text{C-NMR}$  และ HMBC แสดงในตาราง 4

ค่อย ๆ เติมสารละลาย iodine (4.6 g, 18.3 mmol) ใน dioxane (100 mL) ลงในของผสมของ **7a** และ **8a** (1.3 g, 3.0 mmol), sodium acetate (1.5 g) ใน dioxane (50 mL) ที่กำลัง reflux อยู่ โดยใช้เวลาในการเติมประมาณ 30 นาที จากนั้น reflux ต่ออีก 6 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งให้เย็น กรองแล้วล้างตะกอนบน Buchner funnel ด้วย chloroform (100 mL) ล้างชั้น chloroform ด้วย 5% sodium bisulfite (100 mL) แล้วเติม dilute ammonium hydroxide (100 mL) เขย่าอย่างดี แยกชั้น chloroform มาทำให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate แล้วนำไปประเหยภายใต้ความดันต่ำ ได้ 9-benzyl-8-oxyberberrubine (**8a**) เป็นผลึกสีแดงเข้ม (0.6 g, 50.0%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 190-192 °C. UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 206sh (4.62), 224 (6.31), 255sh (5.78), 312 (5.76), 342 (6.03), 369 (5.86), 387 (5.71); IR  $\nu_{\text{max}}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2938, 2898, 2841, 1651, 1619, 1599, 1494, 1484, 1386, 1372, 1317, 1277, 1225, 1176, 1100, 1083, 939, 871, 834, 777, 734;  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.88 (2H, t,  $J=6.1$  Hz,  $\text{CH}_2-5$ ), 3.88 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.31 (2H, t,  $J=6.1$  Hz,  $\text{CH}_2-6$ ), 5.16 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 6.00 (2H, s, O- $\text{CH}_2$ -O), 6.70 (1H, s, H-4), 6.72 (1H, s, H-13), 7.22 (1H, s, H-1), 7.28-7.32 (2H, m, H-11 และ H-12), 7.32-7.43 (3H, m, Ph-H), 7.68-7.73 (2H, m, Ph-H);  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 28.7 (t) 39.5 (t), 56.9 (q), 75.7(t), 101.3 (d), 101.4 (t), 104.7 (d), 107.9 (d), 119.1 (d), 119.8 (s), 122.5 (d), 123.8 (s), 127.7 (d), 128.2 (d), 128.7 (d), 130.1 (s), 132.4 (s), 135.6 (s), 138.1 (s), 147.3 (s), 148.2 (s), 148.4 (s), 151.7 (s), 160.2 (s).

**8-Oxyberberrubine (3):** Reflux สารละลายของ **8a** (100.0 mg, 0.2 mmol) ใน ethanol (30 mL) และ concentrated hydrochloric acid (30 mL) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็นแล้วสกัดด้วย chloroform (50 mL) ล้างชั้น chloroform ด้วยน้ำ (50 mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ 8-oxyberberrubine (**3**) เป็นผลึกสีเหลืองอ่อน (42.2 mg, 53.5%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 238-239 °C [Lit.<sup>2</sup> mp 240-241 °C]; UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 225 (4.44), 258sh (3.99), 270 (3.87), 288 (3.69), 345 (4.16), 369 (4.13); IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3011, 2893, 2836, 1645, 1594, 1490, 1393, 1320, 1267, 1228, 1181, 1087, 1033, 932, 826, 665; <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR และ HMBC แสดงในตาราง 5

**2-(2'-Iodobenzoyl)-1-methylene-6,7-methylenedioxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (6b):** นำ **4d** (1.4 g, 5.4 mmol) ละลายใน benzene (20 mL) แล้วค่อย ๆ หยดสารละลาย **4d** ลงในสารละลายของ dihydroisoquinoline (**5**)<sup>8</sup> (1.0 g, 5.3 mmol) และ triethylamine (1.0 g) ใน benzene (20 mL) จากนั้น reflux เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งให้เย็น จากนั้นกรอง triethylamine hydrochloride ออกจากนั้นนำ filtrate ไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ **6b** เป็นของหนืดสีเหลืองเข้ม (2.2 g) ซึ่งพบว่ามี ความเสถียรต่ำมากจึงนำไปทำปฏิกิริยาในขั้นต่อไปทันที <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.95 (2H, br s, CH<sub>2</sub>), 4.12 (2H, br s, CH<sub>2</sub>), 4.50 (1H, br s, =CH<sub>2</sub>), 5.18 (1H, br s, =CH<sub>2</sub>), 5.92 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.58 (1H, s, Ar-H), 8.07-6.84 (5H, m, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 29.0 (t), 41.8 (t), 101.2 (t), 103.9 (d), 106.2 (t), 108.4 (d), 125.0 (s), 128.3 (d), 129.9 (d), 132.5 (s), 135.9 (s), 139.3 (d), 142.2 (d), 142.6 (s), 146.8 (s), 148.2 (s), 161.2 (s), 169.0 (s).

**(±)-Gusanlung D (1) และ 13,14-Didehydrogusanlung D (8b):** Reflux สารละลายของ **6b** (2.9 g, 10.0 mmol), tributyltin hydride (11.7 g, 40.0 mmol) และ 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (1.6 g, 10.0 mmol) ใน benzene (50 mL) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำ ได้ของหนืดสีน้ำตาล เติม chloroform (30 mL) ลงไปเพื่อละลายของหนืด แล้วล้างชั้น chloroform ด้วย hexane (4 × 15 mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ของผสม **1** และ **8b** เป็นผลึกสีเหลืองอ่อน (39.0%) หลังตกผลึกซ้ำด้วย ethanol ในสัดส่วน 23: 86 จากการวิเคราะห์ข้อมูลของ <sup>1</sup>H-NMR spectrum

Reflux ของผสมของ **1** และ **8b** (200.0 mg, 0.7 mmol), 10%Pd/C (300.0 mg), hydrazine (50 mL), ethanol (50 mL) และ ethyl acetate (50 mL) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตั้งทิ้งให้เย็น แล้วกรอง จากนั้นสกัด filtrate ด้วย chloroform (80 mL) แล้วล้างชั้น chloroform ด้วย 10%

hydrochloric acid ( $2 \times 50$  mL), น้ำ (50 mL) ทำชั้น chloroform ให้แห้งด้วย anhydrous sodium sulfate จากนั้นนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำได้ (±)-gusanlung D (**1**) เป็นผลึกสีเหลืองอ่อน (99.4 mg, 49.4%) หลังตกผลึกด้วย ethanol, mp 175-176 °C [lit.<sup>5</sup> mp 175-177 °C]. UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 206 (6.27), 230 (5.78), 253sh (5.42), 290 (5.42), 335 (5.02), 365 (4.77); IR  $\nu_{\max}$  (film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2922, 1646, 1602, 1576, 1487, 1412, 1362, 1333, 1285, 1241, 1218, 1178, 1141, 1038, 936, 906, 853, 743, 636, 505;  $^1\text{H-NMR}$  และ  $^{13}\text{C-NMR}$  แสดงในตาราง **1** และ **2**

### MIC ของ (±)-gusanlung D และ (±)-gusanlung A หาได้โดยวิธี NCCLS microbroth dilution<sup>8</sup> ดังนี้

1. ละลาย (±)-gusanlung D และ (±)-gusanlung A ใน DMSO ให้มีความเข้มข้น 1024 µg/mL
2. เลี้ยงจุลชีพ 3 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Escherichia coli* ATCC10536 และ *Candida albicans* ATCC90028 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดย 10% glucose (NBG) สำหรับเลี้ยงเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC25932 และ *Escherichia coli* ATCC10536; Sabouraud glucose broth สำหรับเชื้อ *Candida albicans* ATCC90028 บ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจากเตรียมเชื้อให้มีความเข้มข้น 1 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร
3. ทำ two-fold serial dilution ของสารในข้อ 1 ให้สารละลายมีความเข้มข้นจาก 512 µg/mL ถึง 0.50 µg/mL ในจานเพาะเชื้อเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ดังนี้
  - 3.1 เติมสารละลายในข้อ 1 ปริมาตร 100 µL ลงในจานเพาะเชื้อจานที่ 1 จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 µL ลงไป เขย่าให้เข้ากันจะได้สารผสมที่มีความเข้มข้น 512 µg/mL
  - 3.2 แบ่งของผสมปริมาตร 100 µL ในจานที่ 1 ใส่ลงในจานที่ 2 แล้วเติมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 µL ลงไปในจานที่ 2 เขย่าให้เข้ากันจะได้สารผสมที่มีความเข้มข้น 256 µg/mL
  - 3.3 แบ่งของผสมปริมาตร 100 µL ในจานที่ 2 ใส่ลงในจานที่ 3 แล้วเติมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 µL ลงไปในจานที่ 3 เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารผสมที่มีความเข้มข้น 128 µg/mL
4. ทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 3.3 จนจานเพาะเชื้อรองสุดท้ายมีความเข้มข้น 0.5 µg/mL แล้วมีจานเพาะเชื้อจานสุดท้ายที่มีอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเดียวนั้นเป็นจาน control
5. เติมเชื้อจุลชีพ 20 µL ลงในจานเพาะเชื้อในข้อ 3 จากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อลงไปอีก 80 µL ผสมให้เข้ากัน ดังนั้นทุกจานจะมีปริมาตรสุทธิเป็น 200 µL ความเข้มข้นจานแรกจะเท่ากับ 256 µg/mL และจานรองสุดท้ายเท่ากับ 0.25 µg/mL
6. บ่มจานเพาะเชื้อในข้อ 5 ที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
7. ค่า MIC หาได้จากการพิจารณาความขุ่นของจานเพาะเชื้อที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเทียบกับจาน control โดยจาน control จะขุ่นแสดงว่าจุลชีพเจริญเติบโตได้ สังเกตดูจานที่ใสจานแรกนั้นคือ MIC ของสารที่ทำการศึกษา

## บรรณานุกรม

1. Zhang J-S., Men-Olivier L. L., Massiot G., *Phytochemistry*, **39**, 439-442 (1995).
2. Kessar S. V., Singh P., Vohra R., Kaur N. P., Venugopal D., *J. Org. Chem.*, **57**, 6716-6720 (1992).
3. Reimann E., Grasberger F., Polborn K., *Monatsh. Chem.*, **134**, 991-1014 (2003).
4. Chrzanowska M., Dreas A., Rozwadowska M. D., *Tetrahedron: Asymmetry*, **15**, 1113-1120 (2004).
5. Chang J-K., Chang N-C., *Tetrahedron*, **64**, 3483-3487 (2008).
6. Zhang J-S., Chen Z-L., *Planta Med.*, **57**, 457-459 (1991).
7. Nimgirawath S., Lorpitthaya R., Wanbanjob A., Taechowisan T., Shen Y-M., *Molecules*, **14**, 89-101 (2009).
8. Ishiwata S., Nozaki T., *J. Pharm. Soc. Jpn.*, **71**, 1257-1260 (1951).
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, **1997**.

ภาคผนวก

ACCN	= 1,1'-azobis(cyclohexanecarbonitrile)
AIBN	= 2,2'-azobis(isobutyronitrile)
Ac	= acetyl
$\mathcal{E}$	= molar absorptivity coefficient
Boc	= <i>tert</i> -butyloxycarbonyl
br s	= broad singlet
CDCl <sub>3</sub>	= deuteriochloroform
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	= dichloromethane
CHCl <sub>3</sub>	= chloroform
CH <sub>3</sub> CN	= acetonitrile
COSY	= correlated spectroscopy
COX-2	= cyclooxygenase-2
$\delta$	= chemical shift relative to tetramethylsilane(TMS)
DMSO	= dimethyl sulfoxide
DMF	= dimethylformamide
d	= doublet
dd	= doublets of doublet
dt	= doublets of triplet
EI-MS	= electron impact mass spectrometry
EtOAc	= ethyl acetate
EtOH	= ethanol
g	= gram
HMBC	= heteronuclear multiple bond correlation
HMQC	= heteronuclear multiple quantum correlation
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	= sulfuric acid
HCl	= hydrochloric acid
Hz	= hertz
IR	= infrared
IL	= interleukin
iNOS	= inducible nitric oxide synthase

$J$	= coupling constant
$\lambda_{\max}$	= In UV spectroscopy, the wavelength at which maximum absorption occurs.
LPS	= lipopolysaccharide
MS	= mass spectrometry
MeOH	= methanol
MHz	= megahertz
MIC	= minimum inhibitory concentration
mg	= milligram
mL	= milliliter
m	= multiplet
mp	= melting point
$m/z$	= mass-to-charge ratio
NO	= nitric oxide
NMR	= nuclear magnetic resonance
PGE <sub>2</sub>	= prostaglandin E <sub>2</sub>
ppm	= part per million
q	= quartet
s	= singlet
THF	= tetrahydrofuran
t	= triplet
TNF- $\alpha$	= tumor necrosis factor- $\alpha$
UV	= ultraviolet
$V_{\max}$	= absorption wavelength

## การตีพิมพ์

1. เนื้อหาในบทที่ 3 ได้ตีพิมพ์แล้วดังนี้  
Nimgirawath, S.; Udomputtimekakul, P.; Pongphuttichai, S.; Wanbanjob A.;  
Taechowisan, T. Total Synthesis and Antimicrobial Activity of (±)-  
Laurelliptinhexadecan-1-one and (±)-Laurelliptinoctadecan-1-one. *Molecules* **2008**, *13*,  
2935-2947.
2. เนื้อหาในบทที่ 4 ได้ตีพิมพ์แล้วดังนี้  
Nimgirawath, S.; Udomputtimekakul, P.; Taechowisan, T.; Wanbanjob A. Shen, Y.  
First Total Syntheses of (±)-Isopiline, (±)-Preocoteine, (±)-Oureguattidine, and (±)-3-  
Methoxynordomesticine and the Biological Activities of (±)-3-Methoxynordomesticine  
*Chem. Pharm. Bull.* **2009**, *57*, 368-376.
3. เนื้อหาในบทที่ 5 ได้ตีพิมพ์แล้วดังนี้  
Nimgirawath, S.; Udomputtimekakul, P. Total Syntheses of Telisatin A, Telisatin B and  
Lettowianthine. *Molecules* **2009**, *14*, 917-924.
4. เนื้อหาในบทที่ 10 ได้ตีพิมพ์แล้วดังนี้  
Nimgirawath, S.; Udomputtimekakul, P.; Apornpisarn, T.; Wanbanjob A.; Taechowisan,  
T. Total Syntheses of (±)-Gusanlung A, (±)-Gusanlung D and 8-Oxyberberrubine and  
the Uncertainty Concerning the Structures of (-)-Gusanlung A, (-)-Gusanlung D and 8-  
Oxyberberrubine. *Molecules* **2009**, *14*, 726-737.

Article

## Total Synthesis and Antimicrobial Activity of ( $\pm$ )-Laurelliptinhexadecan-1-one and ( $\pm$ )-Laurelliptinoctadecan-1-one

Surachai Nimgirawath<sup>1,\*</sup>, Phansuang Udomputtimekakul<sup>1</sup>, Samathi Pongphuttichai<sup>1</sup>, Asawin Wanbanjob<sup>1</sup> and Thongchai Taechowisan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, Silpakorn University, Nakorn Pathom 73000, Thailand

<sup>2</sup> Department of Microbiology, Faculty of Science, Silpakorn University, Nakorn Pathom 73000, Thailand; E-mail: tthongch@su.ac.th (T. T.)

\* Author to whom correspondence should be addressed; E-mail: surachai@su.ac.th.

Received: 8 November 2008; in revised form: 19 November 2008 / Accepted: 25 November 2008/

Published: 28 November 2008

---

**Abstract:** The structures previously assigned to (+)-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) and (+)-laurelliptinoctadecan-1-one (**1b**) from *Cocculus orbiculatus* (L.) DC. (Menispermaceae) have been confirmed by total synthesis of the racemic alkaloids. The key step of the synthesis involved formation of ring C of the aporphines by a radical-initiated cyclisation. Both ( $\pm$ )-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) and ( $\pm$ )-laurelliptinoctadecan-1-one (**1b**) were inactive against *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Escherichia coli* ATCC10536 and *Candida albicans* ATCC90028.

**Keywords:** Alkaloid; Amidic aporphine; Isoquinoline; Synthesis; Antimicrobial activity.

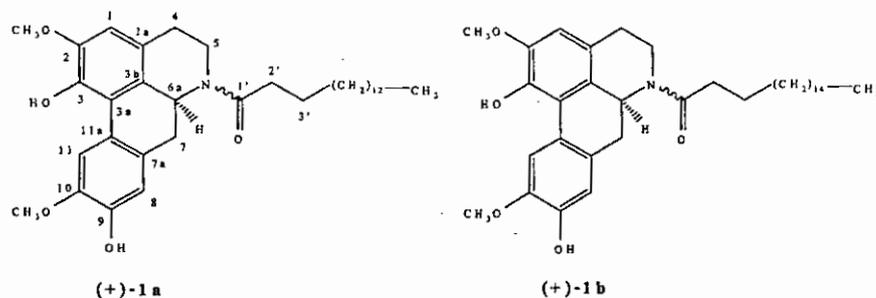
---

### Introduction

Amidic aporphine alkaloids usually occur as *N*-formyl, *N*-acetyl and *N*-methoxycarbonyl derivatives [1]. (+)-Laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) and (+)-laurelliptinoctadecan-1-one (**1b**) are two unique amidic aporphine alkaloids in which a palmitoyl and a stearyl functional group is attached to

the nitrogen of the aporphine nucleus, respectively (Figure 1)[2].

**Figure 1.** Structures of (+)-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) and (+)-laurelliptinoctadecan-1-one (**1b**).



These two unique alkaloids were isolated as an inseparable mixture from *Cocculus orbiculatus* (Menispermaceae). Based on detailed spectroscopic analysis of the mixture, structures **1a** and **1b** were assigned to (+)-laurelliptinhexadecan-1-one and (+)-laurelliptinoctadecan-1-one, respectively. The mixture of **1a** and **1b** was found to exhibit weak activity toward the human hepatoma cell line HepG2 and breast cancer cell line MDA-MB-231. No antimicrobial activity has been reported. In view of the fact that (+)-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) and (+)-laurelliptinoctadecan-1-one (**1b**) occur as an inseparable mixture, it is therefore desirable to carry out a total synthesis of these two alkaloids to confirm their structures and to study the biological activities of the pure alkaloids.

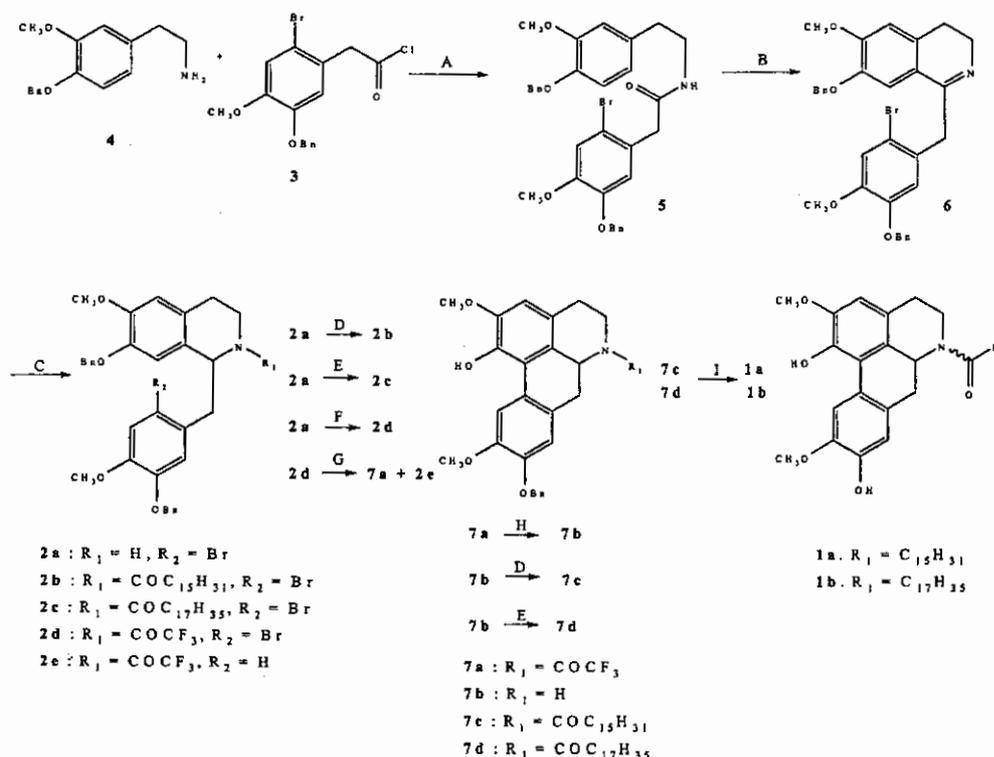
## Results and Discussion

The syntheses of both (±)-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) and (±)-laurelliptinoctadecan-1-one (**1b**) were based on the construction of ring C of the aporphine nucleus by a radical-initiated cyclisation [3]. It was initially anticipated that cyclisation of **2b** and **2c** would lead to the desired (±)-**1a** and (±)-**1b** after removal of the benzyl protecting groups. Thus, condensation of 5-benzyloxy-2-bromo-4-methoxyphenylacetyl chloride (**3**) [4] with 4-benzyloxy-3-methoxyphenethylamine (**4**) gave amide **5** which was converted to **6** in a Bischler-Napieralski reaction. Reduction of **6** with sodium borohydride gave (**2a**) which was treated with palmitoyl chloride and stearoyl chloride to give **2b** and **2c** respectively. Unfortunately, several attempts to effect cyclisation of both **2b** and **2c** by a radical-initiated cyclisation were fruitless. Subsequently, isoquinoline **2a** was reacted with trifluoroacetic anhydride to give **2d**, which was treated with tributyltin hydride and azobis(isobutyronitrile) to give **7a** in 22.7% yield and the hydrogenolysis product **2e** in 29.1% yield. Due to steric hindrance, the formation of **7a** was accompanied by concurrent loss of the benzyl protecting group on the oxygen at C-1. Furthermore, the loss of the benzyl radical from the radical intermediate formed after initial cyclisation is also favoured electronically. The structure of **7a** was supported by the presence of a singlet at  $\delta_{\text{H}}$  8.14 due to the proton at C-11, characteristic of aporphines bearing a proton at that position. Removal of the trifluoroacetyl protecting group was achieved using aqueous potassium carbonate to give **7b** which was treated with palmitoyl chloride and stearoyl chloride to give (±)-9-

benzyl-laurelliptinhexadecan-1-one (**7c**) and ( $\pm$ )-9-benzyl-laurelliptin octadecan-1-one (**7d**), respectively. Hydrogenolysis of **7c** and **7d** gave ( $\pm$ )-**1a** and ( $\pm$ )-**1b** respectively. Both ( $\pm$ )-**1a** and ( $\pm$ )-**1b** exist as the *Z* and *E* conformers, the  $^1\text{H-NMR}$  spectral data of which are in good agreement with those of natural (+)-**1a** and (+)-**1b** (Tables 1 and 3).

However, the  $^{13}\text{C-NMR}$  spectral data of synthetic ( $\pm$ )-**1a** and ( $\pm$ )-**1b** possess a number of signals which are different from those assigned to the same carbons in natural (+)-**1a** and (+)-**1b** (Tables 2 and 4). These discrepancies may be due to the fact that in the original paper assignments of chemical shifts to the carbon atoms involved were carried out on the spectra measured on the mixture of (+)-**1a** and (+)-**1b**. Bearing this fact in mind, it can be concluded with good confidence that the structures previously assigned to (+)-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) and (+)-laurelliptin octadecan-1-one (**1b**) can be confirmed with our current syntheses of the racemic alkaloids. ( $\pm$ )-Laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) and ( $\pm$ )-laurelliptin octadecan-1-one (**1b**) at the concentration value 256  $\mu\text{g/mL}$  were inactive against *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Escherichia coli* ATCC10536 and *Candida albicans* ATCC90028.

**Scheme 1.** Synthetic routes to ( $\pm$ )-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) and ( $\pm$ )-laurelliptin octadecan-1-one (**1b**).



**Reagents and conditions:** A) 10%  $\text{NaHCO}_3$ / chloroform; B)  $\text{POCl}_3$ / benzene; C)  $\text{NaBH}_4$ / ethanol; D) palmitoyl chloride, 10%  $\text{NaHCO}_3$ / chloroform; E) stearoyl chloride, 10%  $\text{NaHCO}_3$ / chloroform; F)  $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ / chloroform; G)  $\text{Bu}_3\text{SnH}$ , AIBN/ dry toluene; H)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ / methanol-water; I)  $\text{H}_2$ , Pd/C / ethanol.

**Table 1.** Comparison of  $^1\text{H-NMR}$  spectral data between (+)-laurelliptinhexadecan-1-one (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) and ( $\pm$ )-laurelliptinhexadecan-1-one (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

	(+)-laurelliptin- hexadecan-1-one Z-form	( $\pm$ )-laurelliptin- hexadecan-1-one Z-form	(+)-laurelliptin- hexadecan-1-one E-form	( $\pm$ )-laurelliptin- hexadecan-1-one E-form
Position	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$
Aporphine moiety				
1	6.55 (s)	6.56 (s)	6.59 (s)	6.60 (s)
1a				
2				
3				
3a				
3b				
4	2.66/2.83 (m)	2.52-2.91 (m)	2.66/2.83 (m)	2.52-2.91 (m)
5	3.23 (pseudo ax., br t, 12.0)	3.24 (pseudo ax., br t, 12.11)	2.75 (pseudo ax., br t, 12.0)	2.75-2.82 (pseudo ax., m)
	4.02 (pseudo eq., br d, 12.0)	4.00 (pseudo eq., br d, 12.11)	4.95 (pseudo eq., br d, 12.0)	4.96 (pseudo eq., br d, 8.03)
6a	5.11 (br d, 12.5)	5.12 (br d, 10.5)	4.60 (br d, 12.5)	4.61 (br d, 12.1)
7	2.61 (pseudo ax., br t, 12.5)	2.58-2.75 (pseudo ax., m)	2.99 (pseudo ax., br t, 12.5)	2.91-3.10 (pseudo ax., m)
	2.95 (pseudo eq., br d, 12.5)	2.91-3.10 (pseudo eq., m)	2.61 (pseudo eq., br d, 12.5)	2.58-2.75 (pseudo eq., m)
7a				
8	6.82 (s)	6.83 (s)	6.82 (s)	6.83 (s)
9				
10				
11	8.06 (s)	8.07 (s)	8.09 (s)	8.10 (s)
11a				
$\text{OCH}_3 \times 2$	ca. 3.90 (s)	3.92 (s)	ca. 3.90 (s)	3.92 (s)
Fatty acid moiety				
1'				
2'	2.44 (m)	2.51-2.40 (m)	2.34 (m)	2.40-2.30 (m)
3'	1.65 (m)	1.78-1.60 (m)	1.65 (m)	1.78-1.60 (m)
Aliphatic $\text{CH}_2$	1.18-1.30 (m)	1.15-1.40 (m)	1.18-1.30 (m)	1.15-1.40 (m)
Terminal $\text{CH}_3$	0.86 (t, 6.8)	0.88 (t, 6.8)	0.86 (t, 6.8)	0.88(t, 6.8)

**Table 2.** Comparison of  $^{13}\text{C}$ -NMR spectral data between (+)-laurelliptinhexadecan-1-one (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) and ( $\pm$ )-laurelliptinhexadecan-1-one (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

	(+)-laurelliptin- hexadecan-1-one <i>Z</i> -form	( $\pm$ )-laurelliptin- hexadecan-1-one <i>Z</i> -form	(+)-laurelliptin- hexadecan-1-one <i>E</i> -form	( $\pm$ )-laurelliptin- hexadecan-1-one <i>E</i> -form
position	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$
Aporphine moiety				
1	108.3 (d)	108.5 (d)	108.8 (d)	108.9 (d)
1a	111.9 (s)	124.2 (s)	112.0 (s)	125.3 (s)
2	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	144.8-145.9 (s) <sup>a</sup>	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	144.8-145.9 (s) <sup>a</sup>
3	141.0 (s)	141.1 (s)	140.9 (s)	141.1 (s)
3a	125.86 (s)	120.6 (s)	124.0 (s)	120.1 (s)
3b	120.5 (s)	125.6 (s)	120.0 (s)	126.2 (s)
4	34.5 (t)	30.7 (t)	30.6 (t)	29.7 (t)
5	41.4 (t)	41.4 (t)	36.8 (t)	36.7 (t)
6a	50.8 (d)	50.8 (d)	53.4 (d)	53.4 (d)
7	33.2 (t)	33.3 (t)	35.9 (t)	36.1 (t)
7a	123.5 (s)	123.7 (s)	128.8 (s)	123.9 (s)
8	114.5 (d)	114.6 (d)	113.9 (d)	113.9 (d)
9	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	144.8-145.9 (s) <sup>a</sup>	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	144.8-145.9 (s) <sup>a</sup>
10	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	144.8-145.9 (s) <sup>a</sup>	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	144.8-145.9 (s) <sup>a</sup>
11	118.8 (d)	111.9 (d)	111.9 (d)	112.0 (d)
11a	125.4 (s)	130.3 (s)	125.0 (s)	129.6 (s)
$\text{OCH}_2 \times 2$	56.0 (q) and 56.2 (q)	56.1 (q) and 56.3 (q)	56.0 (q) and 56.2 (q)	56.1 (q) and 56.3 (q)
Fatty acid moiety				
1'	172.1 (s)	171.8 (s)	172.6 (s)	172.5 (s)
2'	33.2 (t)	33.3 (t)	34.2 (t)	34.6 (t)
3'	25.3 (t)	25.3 (t)	25.5 (t)	25.6 (t)
Aliphatic $\text{CH}_2$	29-32 (t)	29-32 (t)	29-32 (t)	29-32 (t)
Terminal $\text{CH}_3$	14.1 (q)	14.1 (q)	14.1 (q)	14.1 (q)

<sup>a</sup> assignments may be interchangeable

**Table 3.** Comparison of  $^1\text{H}$ -NMR spectral data between (+)-laurelliptinooctadecan-1-one (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) and ( $\pm$ )-laurelliptinooctadecan-1-one (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

	(+)-laurelliptinooctadecan-1-one Z-form	( $\pm$ )-laurelliptinooctadecan-1-one Z-form	(+)-laurelliptinooctadecan-1-one E-form	( $\pm$ )-laurelliptinooctadecan-1-one E-form
position	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$
Aporphine moiety				
1	6.55 (s)	6.53 (s)	6.59 (s)	6.57 (s)
1a				
2				
3				
3a				
3b				
4	2.66/2.83 (m)	2.52-2.88 (m)	2.66/2.83 (m)	2.52-2.88 (m)
5	3.23 (pseudo ax., br t, 12.0)	3.21 (pseudo ax., br t, 12.0)	2.75 (pseudo ax., br t, 12.0)	2.66-2.78 (pseudo ax., m)
	4.02 (pseudo eq., br d, 12.0)	4.00 (pseudo eq., br d, 12.0)	4.95 (pseudo eq., br d, 12.0)	4.95 (pseudo eq., br d, 7.95)
6a	5.11 (br d, 12.5)	5.12 (br d, 13.8)	4.60 (br d, 12.5)	4.61 (br d, 12.1)
7	2.61 (pseudo ax., br t, 12.5)	2.54-2.72 (pseudo ax., m)	2.99 (pseudo ax., br t, 12.5)	2.88-3.50 (pseudo ax., m)
	2.95 (pseudo eq., br d, 12.5)	2.88-3.50 (pseudo eq., m)	2.61 (pseudo eq., br d, 12.5)	2.54-2.72 (pseudo eq., m)
7a				
8	6.82 (s)	6.82 (s)	6.82 (s)	6.82 (s)
9				
10				
11	8.06 (s)	8.06 (s)	8.09 (s)	8.10 (s)
11a				
$\text{OCH}_3 \times 2$	ca. 3.90 (s)	3.89 (s)	ca. 3.90 (s)	3.89 (s)
Fatty acid moiety				
1'				
2'	2.44 (m)	2.50-2.39 (m)	2.34 (m)	2.39-2.29 (m)
3'	1.65 (m)	1.73-1.60 (m)	1.65 (m)	1.73-1.60 (m)
Aliphatic $\text{CH}_2$	1.18-1.30 (m)	1.15-1.40 (m)	1.18-1.30 (m)	1.15-1.40 (m)
Terminal $\text{CH}_3$	0.86 (t, 6.8)	0.87 (t, 6.9)	0.86 (t, 6.8)	0.87(t, 6.9)

**Table 4.** Comparison of  $^{13}\text{C}$ -NMR spectral data between (+)-laurelliptinooctadecan-1-one (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) and ( $\pm$ )-laurelliptinooctadecan-1-one (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

	(+)-laurelliptin- octadecan-1-one <i>Z</i> -form	( $\pm$ )-laurelliptin- octadecan-1-one <i>Z</i> -form	(+)-laurelliptin- octadecan-1-one <i>E</i> -form	( $\pm$ )-laurelliptin- octadecan-1-one <i>E</i> -form
position	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$
Aporphine moiety				
1	108.3 (d)	108.5 (d)	108.8 (d)	109.0 (d)
1a	111.9 (s)	124.2 (s)	112.0 (s)	125.6 (s)
2	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	145.1-145.9 (s) <sup>a</sup>	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	145.1-145.9 (s) <sup>a</sup>
3	141.0 (s)	141.2 (s)	140.9 (s)	141.1 (s)
3a	125.86 (s)	120.7 (s)	124.0 (s)	120.1 (s)
3b	120.5 (s)	126.0 (s)	120.0 (s)	125.2 (s)
4	34.5 (t)	30.7 (t)	30.6 (t)	29.7 (t)
5	41.4 (t)	41.5 (t)	36.8 (t)	36.8 (t)
6a	50.8 (d)	50.9 (d)	53.4 (d)	53.5 (d)
7	33.2 (t)	33.3 (t)	35.9 (t)	36.1 (t)
7a	123.5 (s)	123.6 (s)	128.8 (s)	123.9 (s)
8	114.5 (d)	114.7 (d)	113.9 (d)	114.1 (d)
9	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	145.1-145.9 (s) <sup>a</sup>	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	145.1-145.9 (s) <sup>a</sup>
10	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	145.1-145.9 (s) <sup>a</sup>	144.98-145.2 (s) <sup>a</sup>	145.1-145.9 (s) <sup>a</sup>
11	118.8 (d)	112.1 (d)	111.9 (d)	112.1 (d)
11a	125.4 (s)	130.1 (s)	125.0 (s)	129.5 (s)
$\text{OCH}_2 \times 2$	56.0 (q) and 56.2 (q)	56.1 (q) and 56.3 (q)	56.0 (q) and 56.2 (q)	56.1 (q) and 56.3 (q)
Fatty acid moiety				
1'	172.1 (s)	172.1 (s)	172.6 (s)	172.6 (s)
2'	33.2 (t)	33.3 (t)	34.2 (t)	34.5 (t)
3'	25.3 (t)	25.4 (t)	25.5 (t)	25.5 (t)
Aliphatic $\text{CH}_2$	29-32 (t)	29-32 (t)	29-32 (t)	29-32 (t)
Terminal $\text{CH}_3$	14.1 (q)	14.1 (q)	14.1 (q)	14.1 (q)

<sup>a</sup> assignments may be interchangeable

## Experimental

### General

Melting points were determined on a Stuart Scientific SMP 2 melting point apparatus and are uncorrected. Infrared spectra were recorded on  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -films with a Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR.

spectrophotometer. Ultraviolet spectra were recorded on methanol solutions with a Perkin Elmer Lambda 35 UV-VIS spectrophotometer.  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra were recorded for deuteriochloroform solutions, unless otherwise stated, at 300 MHz for  $^1\text{H}$  and 75 MHz for  $^{13}\text{C}$  with a Bruker AVANCE 300 spectrometer. Tetramethylsilane was used as the internal standard. Mass spectra were recorded on a POLARIS Q mass spectrometer. Elemental analysis was performed on a Perkin Elmer 2400 Elemental Analyser.

*2-(2-Bromo-5-benzyloxy-4-methoxyphenyl)-N-(4-benzyloxy-3-methoxyphenethyl)acetamide (5)*. A mixture of 5-benzyloxy-4-methoxy-2-bromophenylacetic acid (26.0 g, 0.07 mol) and thionyl chloride (22.0 g, 0.19 mol) in benzene (150 mL) was refluxed for 1 h. Removal of the solvent under vacuum gave 5-benzyloxy-2-bromo-4-methoxyphenylacetyl chloride (3) [4] which was dissolved in ethanol-free chloroform (150 mL) and added to a mixture of 4-benzyloxy-3-methoxyphenethylamine (4) (18.1 g, 0.07 mol) in chloroform (150 mL) and 10% sodium hydrogen carbonate (120 mL). The mixture was then stirred for 4 h and the chloroform layer was washed with water (100 mL), 10% hydrochloric acid (100 mL), water (100 mL), then dried over anhydrous sodium sulfate. Removal of the solvent under vacuum gave a residue which was triturated with ethanol to give 2-(2-bromo-5-benzyloxy-4-methoxyphenyl)-*N*-(4-benzyloxy-3-methoxyphenethyl)acetamide (5) as white prisms (38.7 g, 93.3%); m.p. 133-134 °C (lit. [5] m.p. 135 °C);  $^1\text{H}$ -NMR:  $\delta$  7.45-7.29 (10H, m, Ph-H); 6.99 (1H, s, Ar-H); 6.81 (1H, s, Ar-H); 6.72 (1H, d,  $J$  = 8.1 Hz, Ar-H); 6.64 (1H, d,  $J$  = 1.8 Hz, Ar-H); 6.48 (1H, dd,  $J$  = 8.1, 1.8 Hz, Ar-H); 5.40 (1H, br s, NH); 5.10 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 5.08 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 3.85 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ); 3.84 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ); 3.54 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{CON}$ ); 3.42 (2H, apparent q,  $J$  = 6.6 Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.65 (2H, t,  $J$  = 6.9 Hz,  $\text{CH}_2$ );  $^{13}\text{C}$ -NMR:  $\delta$  170.0 (C), 149. (C), 147.8 (C), 146.9 (C), 137.3 (C), 136.4 (C), 131.6 (C), 128.6 (CH), 128.5 (CH), 128.1 (CH), 127.8 (CH), 127.5 (CH), 127.3 (CH), 126.3 (C), 120.6 (CH), 116.4 (CH), 116.1 (CH), 115.4 (C), 114.2 (CH), 112.4 (CH), 109.5 (C), 71.1 ( $\text{CH}_2$ ), 56.3 ( $\text{OCH}_3$ ), 56.0 ( $\text{OCH}_3$ ), 43.5 ( $\text{CH}_2$ ), 40.7 ( $\text{CH}_2$ ), 35.0 ( $\text{CH}_2$ ).

*1-(5-Benzyloxy-2-bromo-4-methoxybenzyl)-7-benzyloxy-6-methoxy-3,4-dihydroisoquinoline (6)*. Phosphorus oxychloride (75.0 g, 0.49 mol) was added to a solution of 2-(2-bromo-5-benzyloxy-4-methoxyphenyl)-*N*-(4-benzyloxy-3-methoxyphenethyl)acetamide (5) (25.0 g, 0.04 mol) in benzene (150 mL) and the solution was refluxed with stirring for 3 h. The reaction mixture was then evaporated under vacuum to yield a brown liquid which was shaken with water (150 mL) and chloroform (150 mL). The mixture was then basified with concentrated ammonia and the chloroform layer was dried over anhydrous sodium sulfate. Removal of the solvent under vacuum gave a dark orange solid which was triturated with ethanol to yield dihydroisoquinoline (6) as a pale yellow solid (21.8 g, 90.1%); m.p. 108-110 °C (lit. [6] m.p. 105-106 °C); UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 207 (4.76), 230 (4.49), 283 (4.00), 311 (3.85); IR  $\nu_{\text{max}}$  (film): 3063, 3032, 3005, 2933, 2838, 1621, 1603, 1568, 1506, 1455, 1439, 1378, 1357, 1322, 1256, 1214, 1160, 1142, 1073, 1026, 981,  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$ -NMR:  $\delta$  7.45-7.20 (10H, m, Ph-H); 7.02 (1H, s, Ar-H); 6.99 (1H, s, Ar-H); 6.78 (1H, s, Ar-H); 6.64 (1H, s, Ar-H); 5.04 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 5.03 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 4.08 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ); 3.90 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ); 3.84 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ); 3.65 (2H, t,  $J$  = 7.8 Hz,  $\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.55 (2H, t,  $J$  = 7.8 Hz,  $\text{CH}_2$ );  $^{13}\text{C}$ -NMR:  $\delta$  167.0 (C), 149.1 (C), 147.7 (C), 146.7 (C), 136.7 (C), 136.6 (C), 132.4 (C), 128.5 (CH), 128.4 (CH), 128.0 (CH), 127.7 (CH), 127.5 (CH), 127.1

(CH), 115.8 (CH), 114.9 (CH), 114.5 (C), 112.9 (C), 112.3 (CH), 110.7 (CH), 106.0 (C), 105.4 (C), 71.2 (CH<sub>2</sub>), 70.9 (CH<sub>2</sub>), 56.2 (OCH<sub>3</sub>), 56.1 (OCH<sub>3</sub>), 46.1 (CH<sub>2</sub>), 41.2 (CH<sub>2</sub>), 25.7 (CH<sub>2</sub>).

*1-(5-Benzyloxy-2-bromo-4-methoxybenzyl)-7-benzyloxy-6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (2a)*. Sodium borohydride (11.1 g, 0.29 mol) was added portionwise to a stirred solution of dihydroisoquinoline (**6**) (15.0 g, 0.03 mol) in ethanol (150 mL) and the mixture was stirred for 3 h. Removal of the ethanol under vacuum gave a residue which was shaken with water (100 mL) and chloroform (100 mL) and the chloroform layer was dried. Removal of the solvent gave a crude white solid which was triturated with ethanol to give tetrahydroisoquinoline **2a** as a yellow solid (14.0 g, 93.0%); m.p. 91-93 °C (Lit. [7] m.p. 90-90.5 °C); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 211 (4.48), 236sh (4.26), 290sh (3.79), 324 (3.70); IR  $\nu_{\max}$  (film): 3585, 3063, 3032, 3007, 2936, 2839, 1592, 1567, 1506, 1456, 1438, 1410, 1383, 1356, 1334, 1320, 1267, 1217, 1173, 1143, 1081, 1053, 1024, 958 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  7.46-7.20 (10H, m, Ph-H); 7.06 (1H, s, Ar-H); 6.74 (1H, s, Ar-H); 6.71 (1H, s, Ar-H); 6.59 (1H, s, Ar-H); 5.11 (4H, s, 2 x CH<sub>2</sub>Ph); 4.05-3.97 (1H, m, H-1); 3.85 (6H, s, 2 x OCH<sub>3</sub>); 3.13-3.01 (2H, m, CH<sub>2</sub>); 2.87-2.64 (4H, m, 2 x CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  149.1 (C), 148.3 (C), 147.1 (C), 146.2 (C), 137.4 (C), 136.7 (C), 130.5 (C), 130.3 (C), 128.6 (CH), 128.0 (CH), 127.9 (C), 127.8 (CH), 127.4 (CH), 127.3 (CH), 117.3 (CH), 116.3 (CH), 115.4 (C), 112.9 (CH), 112.2 (CH), 71.4 (CH<sub>2</sub>), 71.1 (CH<sub>2</sub>), 56.3 (OCH<sub>3</sub>), 56.0 (OCH<sub>3</sub>), 55.1 (CH), 42.3 (CH<sub>2</sub>), 40.1 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (CH<sub>2</sub>).

*1-(5-Benzyloxy-2-bromo-4-methoxybenzyl)-7-benzyloxy-6-methoxy-2-trifluoroacetyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (2d)*. Trifluoroacetic anhydride (54.0 g, 0.26 mol) was added to a stirred solution of tetrahydroisoquinoline **2a** (23.2 g, 0.04 mol) and triethylamine (36.0 g) in chloroform (300 mL) at 0-10 °C. Stirring was continued at room temperature for 3 h. Chloroform (200 mL) was added and the chloroform layer was washed with 10% NaHCO<sub>3</sub> (4 x 300 mL), water (300 mL), 10% HCl (6 x 300 mL) and water (300 mL), then dried. Removal of the solvent under vacuum gave a brown solid which was triturated with ethanol to yield trifluoroacetyltetrahydroisoquinoline **2d** as a pale yellow solid (17.3 g, 63.9%); m.p. 157-158 °C; UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 208 (4.75), 232sh (4.12), 287 (3.65); IR  $\nu_{\max}$  (film): 3033, 2919, 2849, 1689, 1609, 1509, 1456, 1440, 1381, 1258, 1197, 1165, 1141, 1116, 1027, 912 cm<sup>-1</sup>; Anal. Calc. for C<sub>34</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>5</sub>BrF<sub>3</sub>: C 60.90, H 4.66, N 2.09%. Found: C 60.72, H 4.81, N 2.25%. <sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  7.45-7.30 (10H, m, Ph-H); 7.01 (1H, s, Ar-H); 6.61 (1H, s, Ar-H); 6.60 (1H, s, Ar-H); 6.45 (1H, s, Ar-H); 5.65-5.57 (1H, m, H-1); 5.00 (2H, s, CH<sub>2</sub>Ph); 4.98 (2H, s, CH<sub>2</sub>Ph); 4.02-3.91 (1H, m, H-3 $\alpha$ ); 3.88 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.85 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.64-3.53 (1H, m, H-3 $\beta$ ); 3.28-2.68 (4H, m, 2 x CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  (both conformers) 155.8 (C), 149.3 (C), 148.9 (C), 147.4 (C), 146.8 (C), 136.9 (C), 136.7 (C), 128.7 (CH), 128.6 (CH), 128.3 (C), 128.1 (CH), 128.0 (CH), 127.4 (CH), 127.3 (CH), 127.2 (CH), 126.4 (C), 125.5 (C), 118.4 (C), 116.7 (CH), 116.5 (CH), 116.0 (C), 115.8 (CH), 114.6 (C), 112.9 (CH), 112.7 (CH), 111.8 (CH), 111.4 (CH), 71.4 (CH<sub>2</sub>), 71.3 (CH<sub>2</sub>), 71.2 (CH<sub>2</sub>), 56.6 (OCH<sub>3</sub>), 56.2 (OCH<sub>3</sub>), 56.1 (OCH<sub>3</sub>), 56.0 (OCH<sub>3</sub>), 54.1 (CH), 42.3 (CH<sub>2</sub>), 41.8 (CH<sub>2</sub>), 40.8 (CH<sub>2</sub>), 40.2 (CH<sub>2</sub>), 40.1 (CH<sub>2</sub>), 37.5 (CH<sub>2</sub>), 28.7 (CH<sub>2</sub>), 27.2 (CH<sub>2</sub>).

*9-Benzyloxy-2,10-dimethoxy-1-hydroxy-6-trifluoroacetylnoraporphine (7a)*. A solution of azobis(isobutyronitrile) (3.7 g, 0.02 mol) and tributyltin hydride (25.2 g, 0.09 mol) in toluene (160 mL)

was added dropwise in four equal portions over 3 h to a refluxing solution of trifluoroacetyltetrahydroisoquinoline **2d** (16.0 g, 0.02 mol) in toluene (250 mL) and the resulting mixture was then refluxed for another 24 h. The solvent was then removed under vacuum and the residue was dissolved in acetonitrile (200 mL) and washed with hexane (3 x 200 mL), then dried. Removal of the solvent gave a brown solid which was triturated with ethanol to give crude noraporphine **7a** (6.92 g), which was separated on a silica gel column using benzene-chloroform as eluent. The earlier fractions gave the hydrogenolysis product **2e** as a white solid (4.1 g, 29.1%); m.p. 85–86 °C;  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  7.48–7.25 (10H, m, Ph-H of both conformers); 6.79 and 6.74 (total 1H, 2 d,  $J = 8.6$  and  $8.2$  Hz, Ar-H of both conformers); 6.61–6.55 (total 2H, m, Ar-H of both conformers); 6.53–6.46 (total 1H, m, Ar-H of both conformers); 6.27 and 6.25 (total 1H, 2 s, Ar-H of both conformers); 5.44 (1H, apparent t,  $J = 6.2$  Hz, H-6a of both conformers); 5.17, 4.90 (total 2H, 2 AB q,  $J = 12.2$  and  $12.4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$  of both conformers); 5.08, 4.98 (total 2H, 2 s,  $\text{CH}_2\text{Ph}$  of both conformers); 3.93, 3.90, 3.84 and 3.82 (total 6H, 4 s, 2 x  $\text{OCH}_3$  of both conformers); 3.33–3.20 (1H, m,  $\text{CH}_2$  of both conformers); 3.00–2.50 (5H, m,  $\text{CH}_2$  of both conformers);  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  (both conformers) 155.8 (C), 148.9 (C), 148.7 (C), 148.0 (C), 146.5 (C), 137.0 (C), 136.9 (C), 129.3 (C), 128.6 (CH), 128.5 (CH), 127.9 (CH), 127.8 (CH), 127.4 (CH), 127.2 (CH), 126.4 (C), 125.7 (C), 122.6 (CH), 118.5 (C), 115.4 (CH), 113.1 (CH), 111.6 (CH), 111.5 (CH), 70.9 ( $\text{CH}_2$ ), 70.9 ( $\text{CH}_2$ ), 56.3 ( $\text{OCH}_3$ ), 56.2 ( $\text{OCH}_3$ ), 56.0 ( $\text{OCH}_3$ ), 55.2 (CH), 41.0 ( $\text{CH}_2$ ), 40.6 ( $\text{CH}_2$ ), 28.5 ( $\text{CH}_2$ ). The later fractions gave pure noraporphine **7a** as a yellow-white solid (2.7 g, 22.7%); m.p. 232–234 °C; UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 213 (4.57), 272sh (3.99), 281 (4.08), 306 (4.12); IR  $\nu_{\text{max}}$  (film): 3373, 2920, 2850, 1682, 1605, 1513, 1463, 1401, 1383, 1371, 1337, 1310, 1281, 1255, 1202, 1169, 1139, 1099, 1049, 1025, 928  $\text{cm}^{-1}$ ; Anal. Calc. for  $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{NO}_5\text{F}_3$ : C 64.93, H 4.84, N 2.80%. Found: C 65.09, H 4.68, N 2.65%.  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  8.14 (1H, s, H-11), 7.60–7.30 (5H, m, Ph-H); 6.80 (1H, s, H-8), 6.57 (1H, s, H-3), 6.23 (1H, s, OH), 5.18 (2H, AB q,  $J = 12.3$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 5.09–5.00 (1H, m, H-6a), 4.25–4.14 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 3.94 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 3.93 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 3.38–3.26 (1H, m, H-5 $\beta$ ), 3.04–2.66 (4H, m, 2 x  $\text{CH}_2$ );  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  155.9 (C), 148.0 (C), 147.5 (C), 146.0 (C), 141.6 (C), 137.1 (C), 128.6 (CH), 128.3 (C), 127.9 (CH), 127.3 (CH), 124.6 (C), 124.1 (C), 123.7 (C), 120.2 (C), 118.3 (C), 113.8 (CH), 113.1 (CH), 108.7 (CH), 70.9 ( $\text{CH}_2$ ), 56.3 ( $\text{OCH}_3$ ), 56.2 ( $\text{OCH}_3$ ), 52.6 (CH), 41.4 ( $\text{CH}_2$ ), 32.9 ( $\text{CH}_2$ ), 30.2 ( $\text{CH}_2$ ).

**9-Benzyloxy-2,10-dimethoxy-1-hydroxynoraporphine (7b)**. A mixture of the noraporphine **7a** (1.6 g, 3.21 mmol), potassium carbonate (3.0 g), methanol (150 mL) and water (9 mL) was refluxed for 4 h. The solvent was then removed under vacuum and 5% sodium bicarbonate (100 mL) was added to the residue, which was extracted with chloroform (3 x 30 mL), then dried over anhydrous sodium sulfate. Removal of the solvent gave a dark-brown solid which was triturated with ethanol to give noraporphine **7b** as a brown solid (996.7 mg, 77.3%); m.p. 197–198 °C; UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 217 (4.62), 270sh (4.12), 280 (4.22), 305 (4.23); IR  $\nu_{\text{max}}$  (film): 3583, 3292, 2919, 2849, 1603, 1509, 1463, 1455, 1398, 1373, 1284, 1252, 1213, 1124, 1102, 1038, 1025, 992  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (EI)  $m/z$  (%): 403 ( $\text{M}^+$ , 32), 312 (100), 91 (7); Anal. Calc. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{NO}_4$ : C 74.42, H 6.24, N 3.47%. Found: C 74.26, H 6.38, N 3.66%.  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  8.09 (1H, s, H-11); 7.50–7.28 (5H, m, Ph-H); 6.76 (1H, s, H-8); 6.54 (1H, s, H-3); 5.17 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 3.91 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ); 3.89 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ); 3.40–3.31 (1H, m, H-5 $\alpha$ ); 3.05–2.58 (6H, m, H-5 $\beta$ , CH, 2 x  $\text{CH}_2$ );  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  147.9 (C), 146.9 (C), 145.9 (C), 140.8 (C), 137.3 (C),

128.7 (C), 128.5 (CH), 128.4 (C), 127.8 (CH), 127.3 (CH), 125.5 (C), 124.1 (C), 119.1 (C), 113.6 (CH), 113.0 (CH), 109.4 (CH), 71.0 (CH<sub>2</sub>), 56.2 (OCH<sub>3</sub>), 56.1 (OCH<sub>3</sub>), 53.8 (CH), 43.3 (CH<sub>2</sub>), 36.9 (CH<sub>2</sub>), 29.0 (CH<sub>2</sub>).

*9-Benzoyloxy-2,10-dimethoxy-1-hydroxy-6-palmitoylnoraporphine (7c)*. A solution of palmitoyl chloride (389.0 mg, 1.42 mmol) in chloroform (80 mL) was added to a stirred mixture of noraporphine **7b** (400.0 mg, 0.99 mmol) in chloroform (80 mL) and 10% sodium bicarbonate (120 mL). Stirring was continued overnight. The chloroform layer was separated, then dried. Removal of the solvent gave a brown solid which was recrystallized with ethanol to give palmitoylnoraporphine **7c** as a yellow-white solid (530.0 mg, 83.3%); m.p. 85-86°C; UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 218 (4.45), 273sh (3.98), 281(4.04), 306 (4.10), 314sh (4.07); IR  $\nu_{\max}$  (film): 3503, 2923, 2852, 1635, 1605, 1515, 1463, 1456, 1428, 1398, 1338, 1277, 1249, 1215, 1192, 1165, 1123, 1098, 1027 cm<sup>-1</sup>; MS (EI) m/z (%): 641(M<sup>+</sup>, 63), 550(10), 386(100), 295(79), 91 (15); Anal. Calc. for C<sub>41</sub>H<sub>55</sub>NO<sub>5</sub>: C 76.72, H 8.64, N 2.18%. Found: C 76.62, H 8.80, N 2.35%. <sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  (both conformers) 8.15, 8.13 (total 1H, 2 s, H-11); 7.50-7.28 (total 5H, m, Ph-H); 6.81, 6.79 (total 1H, 2 s, H-8); 6.59, 6.55 (total 1H, 2 s, H-3); 6.23 (1H, br s, OH); 5.26-5.15 (total 2H, m, CH<sub>2</sub>Ph); 5.13, 4.60 (total 1H, 2 br d,  $J = 3.8$  and 13.2 Hz, H-6a); 4.94, 4.01 (total 1H, 2 br d,  $J = 8.1$  and 10.1 Hz, H-5); 3.92 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.89 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.21 and 2.78-2.68 (total 1H, br t,  $J = 12.1$  Hz, and m, H-5); 3.03-2.87 and 2.74-2.54 (total 2H, m, CH<sub>2</sub>-7); 2.97-2.59 (total 2H, m, CH<sub>2</sub>-4); 2.43-2.31 (total 2H, m, CH<sub>2</sub>-2'); 1.75-1.55 (2H, m, CH<sub>2</sub>-3'); 1.45-1.15 (24H, m, aliphatic CH<sub>2</sub>); 0.88 (3H, t,  $J = 6.6$  Hz, terminal CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  (both conformers) 172.6 (C), 172.0 (C), 148.2 (C), 147.7 (C), 147.3 (C), 145.9 (C), 145.7 (C), 141.4 (C), 141.3 (C), 137.2 (C), 137.0 (C), 129.5 (C), 128.5 (CH), 127.8 (CH), 127.3 (CH), 126.1 (C), 125.6 (C), 125.1 (C), 124.8 (C), 124.2 (C), 120.4 (C), 119.9 (C), 113.8 (CH), 113.3 (CH), 113.1 (CH), 109.1 (CH), 108.7 (CH), 71.1 (CH<sub>2</sub>), 70.8 (CH<sub>2</sub>), 56.3 (OCH<sub>3</sub>), 56.2 (OCH<sub>3</sub>), 53.4 (CH), 50.9 (OCH<sub>3</sub>), 41.4 (CH<sub>2</sub>), 36.8 (CH<sub>2</sub>), 36.2 (CH<sub>2</sub>), 34.5 (CH<sub>2</sub>), 34.0 (CH<sub>2</sub>), 33.4 (CH<sub>2</sub>), 31.9 (CH<sub>2</sub>), 30.7 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (CH<sub>2</sub>), 29.3 (CH<sub>2</sub>), 29.2 (CH<sub>2</sub>), 25.6 (CH<sub>2</sub>), 25.3 (CH<sub>2</sub>), 24.9 (CH<sub>2</sub>), 22.7 (CH<sub>2</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>).

*9-Benzoyloxy-2,10-dimethoxy-1-hydroxy-6-stearoylnoraporphine (7d)*. In a similar manner, stearoylnoraporphine **7d** was obtained in 88.4% yield as a yellow-white solid from ethanol; m.p. 83-84 °C; UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 218 (4.37), 272sh (3.69), 281 (3.79), 305 (3.87), 314sh (3.82); IR  $\nu_{\max}$  (film): 3393, 2923, 2852, 1641, 1603, 1513, 1464, 1428, 1399, 1337, 1255, 1214, 1115, 1100, 1026 cm<sup>-1</sup>; MS (EI) m/z (%): 669 (M<sup>+</sup>, 6), 578 (1), 386 (10), 296 (100), 91 (3); Anal. Calc. for C<sub>43</sub>H<sub>59</sub>NO<sub>5</sub>: C 77.09, H 8.88, N 2.09%. Found: C 77.26, H 8.65, N 2.23%. <sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  (both conformers) 8.15, 8.13 (total 1H, 2 s, H-11); 7.50-7.28 (total 5H, m, Ph-H); 6.82, 6.79 (total 1H, 2 s, H-8); 6.60, 6.56 (total 1H, 2 s, H-3); 6.19 (1H, br s, OH); 5.20-5.11 (total 2H, m, CH<sub>2</sub>Ph); 5.10, 4.60 (total 1H, 2 br d,  $J = 9.7$  and 12.6 Hz, H-6a); 4.95, 4.03 (total 1H, 2 br d,  $J = 7.7$  and 13.6 Hz, H-5); 3.92 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.89 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.22 and 2.76-2.68 (total 1H, br t,  $J = 12.1$  Hz and m, H-5); 3.07-2.89 and 2.71-2.55 (total 2H, m, CH<sub>2</sub>-7); 2.90-2.55 (total 2H, m, CH<sub>2</sub>-4); 2.43-2.33 (total 2H, m, CH<sub>2</sub>-2'); 1.75-1.55 (2H, m, CH<sub>2</sub>-3'); 1.40-1.15 (28H, m, aliphatic CH<sub>2</sub>); 0.88(3H, t,  $J = 6.7$  Hz, terminal CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  (both conformers) 172.5 (C), 171.9 (C), 148.3 (C), 147.8 (C), 147.3 (C), 145.9 (C), 145.7 (C), 141.4 (C), 137.2 (C), 137.1 (C), 129.5 (C), 128.5 (CH), 127.8 (CH), 127.3 (CH),

126.2 (C), 125.6 (C), 125.2 (C), 124.8 (C), 124.2 (C), 120.4 (C), 120.0 (C), 113.8 (CH), 113.3 (CH), 113.1 (CH), 109.1 (CH), 108.7 (CH), 71.1 (CH<sub>2</sub>), 70.9 (CH<sub>2</sub>), 56.3 (OCH<sub>3</sub>), 56.2 (OCH<sub>3</sub>), 53.4 (CH), 50.9 (CH), 41.4 (CH<sub>2</sub>), 36.8 (CH<sub>2</sub>), 36.3 (CH<sub>2</sub>), 34.5 (CH<sub>2</sub>), 33.4 (CH<sub>2</sub>), 31.9 (CH<sub>2</sub>), 30.7 (CH<sub>2</sub>), 29.7 (CH<sub>2</sub>), 29.5 (CH<sub>2</sub>), 29.4 (CH<sub>2</sub>), 25.6 (CH<sub>2</sub>), 25.3 (CH<sub>2</sub>), 22.7 (CH<sub>2</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>).

(±)-*Laurelliptinhexadecan-1-one* (**1a**). A solution of noraporphine **7c** (300.5 mg, 0.47 mmol) in ethanol (70 mL), was hydrogenolysed over Pd/C (31.1 mg) at atmospheric pressure for 48 h. The catalyst was filtered off and the solvent removed under vacuum. The resulting white residue was recrystallized from ethanol to give (±)-laurelliptinhexadecan-1-one (**1a**) as a gray-white solid (182.0 mg, 70.5%); m.p. 147-148 °C; UV (MeOH) λ<sub>max</sub> nm (log ε): 221 (4.57), 272sh (4.13), 282 (4.20), 305 (4.27), 315sh (4.24); IR ν<sub>max</sub> (film): 3370, 2923, 2852; 1622, 1602, 1513, 1464, 1431, 1413, 1366, 1330, 1279, 1246, 1193, 1122, 1096, 1035, 960 cm<sup>-1</sup>; MS (EI) m/z (%): 551 (M<sup>+</sup>, 26), 296 (100); Anal. Calc. for C<sub>34</sub>H<sub>49</sub>NO<sub>5</sub>: C 74.01, H 8.95, N 2.54%. Found: C 74.19, H 9.07, N 2.68%. <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR see Tables 1 and 2.

(±)-*Laurelliptinoctadecan-1-one* (**1b**). In a similar manner, (±)-laurelliptinoctadecan-1-one (**1b**) was obtained in 79.2% yield as a gray-white solid from ethanol; m.p. 146-147 °C; UV (MeOH) λ<sub>max</sub> nm (log ε): 221 (4.61), 271sh (4.11), 282 (4.20), 305 (4.28), 313sh (4.25); IR ν<sub>max</sub> (film): 3383, 2923, 2852, 1625, 1600, 1509, 1463, 1413, 1366, 1330, 1279, 1246, 1193, 1122, 1096, 1034, 960 cm<sup>-1</sup>; MS (EI) m/z (%): 579 (M<sup>+</sup>, 17), 296 (100); Anal. Calc. for C<sub>36</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>5</sub>: C 74.57, H 9.21, N 2.42%. Found: C 74.7, H 9.12, N 2.36%. <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR see Tables 3 and 4.

#### Minimum inhibitory concentration (MIC)

The MICs of (±)-laurelliptinhexadecan-1-one and (±)-laurelliptinoctadecan-1-one were determined by the NCCLS microbroth dilution method [8]. (±)-Laurelliptinhexadecan-1-one and (±)-laurelliptinoctadecan-1-one were weighed and dissolved in DMSO to make a solution of concentration 2.56 mg/mL. From this stock solution two-fold serial dilution was carried out with culture medium in 96-well microplates (100 μl of total volume) to give a series of solutions ranging from 256 μg/mL to 0.50 μg/mL. Three different microorganisms were selected viz. *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Escherichia coli* ATCC10536 and *Candida albicans* ATCC90028. They were subcultured on nutrient broth supplemented with 10% glucose (NBG) (for bacteria) or Sabouraud glucose broth (for yeast) and incubated at 37 °C for 24 h. A final concentration of 1 × 10<sup>5</sup> cfu/mL of test bacteria or yeast was added to each dilution. The plates were incubated at 37 °C for 48 h. MIC was defined as the lowest concentration of test agent that inhibited bacterial or yeast growth, as indicated by the absence of turbidity. Test agent-free broth containing 5% DMSO was incubated as growth control.

#### References

1. Shulgin, A. T.; Perry, W. E. *The Simple Plant Isoquinolines*; Transform Press: Berkeley, CA, USA, 2002.

2. Chang, F-R.; Wu, Y-C. New bisbenzylisoquinolines, fatty acid amidic aporphines, and a protoberberine from Formosan *Cocculus orbiculatus*. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 1056-1060.
3. Estevez, J. C.; Villaverde, M. C.; Estevez, R. J.; Castedo, L. Radical cyclization to aporphines. A new, efficient total synthesis of the aporphine glaucine and the 4,5-dioxoaporphine pontevedrine, and the first total synthesis of 5-oxoaporphines. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 2107-2114.
4. Nimgirawath, S.; Podoy, P. Synthesis of ( $\pm$ )-cathaformine. *Aust. J. Chem.* **2000**, *53*, 527-529.
5. Jackson, A. H.; Martin, J. A. The synthesis of isoboldine and glaucine. *J. Chem. Soc. C.* **1966**, 2061-2069.
6. Vincze, Z.; Biro, A. B.; Csekei, M.; Timari, G.; Kotschy, A. The palladium-catalyzed preparation of condensed tetracyclic heterocycles and their application to the synthesis of *rac*-mangochinine. *Synthesis* **2006**, *8*, 1375-1385.
7. Kametani, T.; Ihara, M. An alternative total synthesis of ( $\pm$ )-scoulerine and ( $\pm$ )-tetrahydropalmatine. *J. Chem. Soc. C.* **1967**, 530-532.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A*. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Wayne, PA, USA, 1997.

*Sample Availability:* All products reported in this paper are available from the authors.

© 2008 by the authors; licensee Molecular Diversity Preservation International, Basel, Switzerland. This article is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

## First Total Syntheses of (±)-Isopiline, (±)-Preocoteine, (±)-Oureguattidine and (±)-3-Methoxynordomesticine and the Biological Activities of (±)-3-Methoxynordomesticine

Surachai NIMGIRAWATH,<sup>\*a</sup> Phansuang UDOMPUTTIMEKAKUL,<sup>a</sup> Thongchai TAECHOWISAN,<sup>b</sup> Asawin WANBANJOB,<sup>a</sup> and Yuemao SHEN<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science, Silpakorn University; <sup>b</sup>Department of Microbiology, Faculty of Science, Silpakorn University; Nakorn Pathom 73000, Thailand; and <sup>c</sup>Kunming Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences; Kunming 650204, P. R. China.

Received November 28, 2008; accepted January 29, 2009; published online January 30, 2009

A convenient and economical synthesis of 4-hydroxy-2,3-dimethoxybenzaldehyde has been developed. This was used as the starting material for the first total syntheses of (±)-isopiline, (±)-preocoteine, (±)-oureguattidine and (±)-3-methoxynordomesticine in which the key step involved formation of ring C of the aporphines by a radical-initiated cyclisation. Although (±)-3-methoxynordomesticine possesses weak antimicrobial activity, it inhibits the production of nitric oxide (NO), prostaglandin (PG)<sub>E2</sub>, tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , interleukin (IL)-1 $\beta$  and IL-6 and the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase (COX)-2 in macrophages stimulated with LPS *in vitro*.

**Key words** alkaloid; aporphine; isoquinoline; synthesis; antimicrobial; anti-inflammatory activity

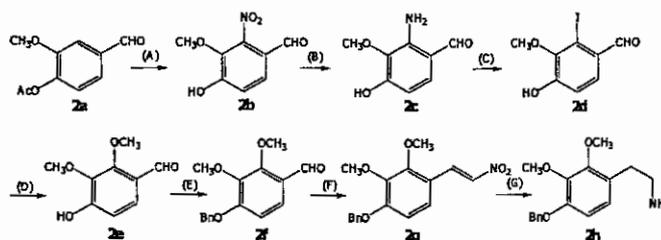
The aporphine alkaloids constitute a large group in the family of isoquinoline alkaloids and occur in a large number of plant families. They also exhibit a large variety of oxygenation patterns and biological activities. Aporphines with a 1-hydroxy-2,3-dimethoxy-substituted ring A are rather rare and occur in a restricted number of species.<sup>1)</sup> The structures of all these alkaloids were proposed based on spectroscopic analysis and conversion to known aporphines. No total synthesis of any member of the aporphines in this group has ever been reported and the minute quantities of the natural alkaloids isolated from plant sources make it impossible to carry out any biological activity evaluation of these alkaloids. In view of this limitation, it was therefore highly desirable to carry out the total syntheses of a number of these alkaloids to confirm their structures and to evaluate their biological activities.

### Results and Discussion

**Total Syntheses of Aporphine Alkaloids** The lack of synthesis of this group of aporphine alkaloids may be partly due to the difficult access to 4-hydroxy-2,3-dimethoxybenzaldehyde (2e), the key starting compound necessary for the conversion to the key intermediate, 4-benzyloxy-2,3-dimethoxyphenethyl amine (2h). At the beginning of this

work, only one synthesis of aldehyde (2e) had been reported. The synthesis, involving a Reimer–Tiemann formylation on 2,3-dimethoxyphenol, was extremely tedious and inefficient,<sup>2)</sup> making laboratory scale preparation of this aldehyde by this route not an attractive undertaking. We therefore sought to develop a more attractive and economical synthesis of 2e. Thus, nitration of vanillin acetate with fuming nitric acid followed by hydrolysis gave 2b<sup>3)</sup> which was reduced with iron powder and iron(II) sulfate to 2c. This was converted to 2d under standard diazotization and iodination conditions. Treatment of 2d with sodium methoxide in the presence of copper(II) chloride gave 2e in good yield. Benzylation then afforded the desired 2f. This was converted into nitrostyrene (2g) which was reduced with lithium aluminium hydride to the desired amine (2h). All steps in the above synthesis can be carried out safely on a laboratory scale. With the desired amine (2h) available in ample quantity, it was decided to carry out total syntheses of the racemic forms of (–)-isopiline (1a),<sup>4)</sup> (+)-preocoteine (1b),<sup>5)</sup> (–)-oureguattidine (1c)<sup>6)</sup> and (+)-3-methoxynordomesticine (1d).<sup>7)</sup>

The strategy employed was based on the construction of the ring C by a radical-initiated cyclisation.<sup>8)</sup> Such a cyclisation on a 7-benzyloxyisoquinoline precursor has not hitherto been reported. It was anticipated from the outset that due to



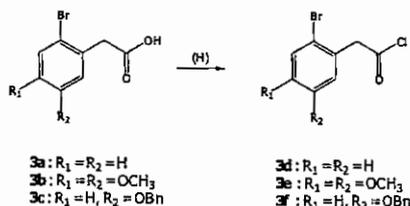
Reaction conditions: (A) (i) fuming HNO<sub>3</sub>, dry ice/acetone; (ii) 10% NaOH; (B) Fe(II)SO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, iron powder/ethanol–water; (C) (i) NaNO<sub>2</sub>/20% HCl; (ii) KI; (D) CuCl<sub>2</sub>/DMF, NaOCH<sub>3</sub>/methanol; (E) BnCl, *n*ph. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/ethanol; (F) CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>OAc/acetic acid; (G) LAH/THF.

Chart 1. Synthesis of 4-Benzyloxy-2,3-dimethoxyphenethylamine (2h)

\* To whom correspondence should be addressed. e-mail: surachai@su.ac.th

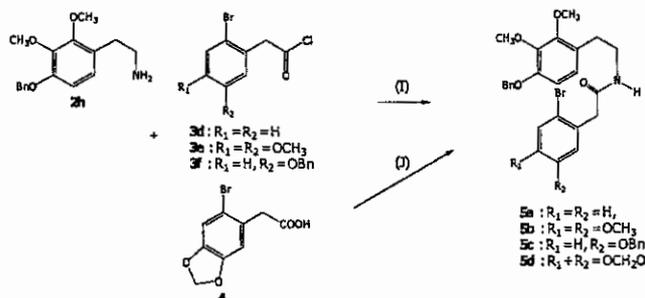
steric hindrance of the benzyloxy group at that position, the yields of the cyclisation step would be quite low. Condensation of amine (**2h**) with acid chlorides (**3d—f**) afforded in good yields amides (**5a—c**) respectively. Due to its poor solubility, acid (**4**) cannot be converted into the corresponding acid chloride. Condensation of amine (**2h**) and acid (**4**) was carried out in boiling xylene with water removal to give amide (**5d**). By a Bischler–Napieralski reaction, amides

(**5a—d**) were converted respectively to dihydroisoquinolines (**6a—d**) which were substances of extremely low stability. These were quickly reduced with sodium borohydride to give tetrahydroisoquinolines (**7a—d**). (**7a**), (**7c**) and (**7d**) were converted into the trifluoroacetyl derivatives (**8a**), (**8c**) and (**8d**) while **7b** was converted into urethane (**8b**). Treatment of **8a**, **8b**, **8c** and **8d** with tributyltin hydride in the presence of azobis(isobutyronitrile) gave noraporphines (**9a**), (**9b**), (**9c**) and (**9d**) respectively in 8.3—10.9% yields. In all cases, cyclisation took place with concurrent loss of the benzyl protecting group at C-1 of the aporphine nucleus and the formation of the corresponding hydrogenolysis products (**8e—h**) in 13.1—41.6% yields. The structure of **9a** was supported by the presence of a doublet at  $\delta_{\text{H}}$  8.39, characteristic of the proton present at C-11 of the aporphine nucleus. Similarly, the  $^1\text{H-NMR}$  spectra of **9b**, **9c** and **9d** also exhibited such low-field proton signals. Removal of the trifluoroacetyl groups from **9a** and **9d** gave ( $\pm$ )-isopiline (**1a**) and ( $\pm$ )-3-methoxynordomesticine (**1d**) respectively. On the other hand, reduction of **9b** with lithium aluminium hydride gave ( $\pm$ )-



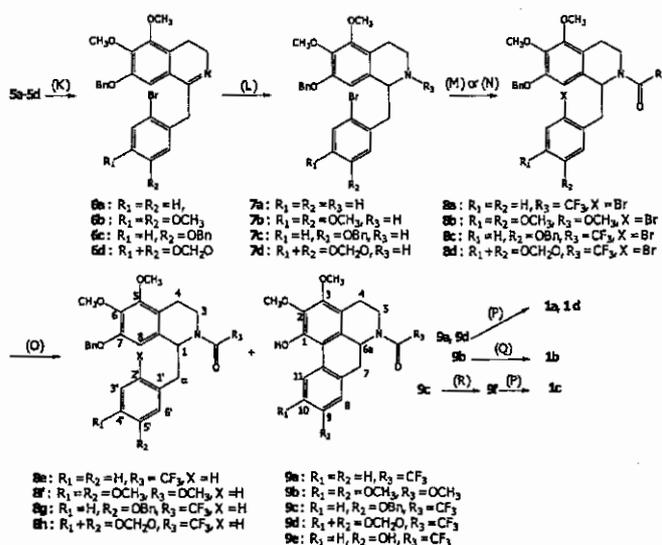
Reaction condition: (H)  $\text{SOCl}_2/\text{benzene}$ .

Chart 2. Syntheses of Acid Chlorides **3d—3f**



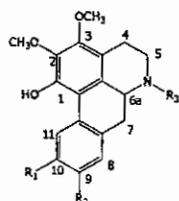
Reaction conditions: (I) 10%  $\text{NaHCO}_3/\text{chloroform}$ ; (J) reflux/xylene.

Chart 3. Syntheses of Amides **5a—5d**



Reaction conditions: (K)  $\text{POCl}_3/\text{acetonitrile}$ ; (L)  $\text{NaBH}_4/\text{ethanol}$ ; (M)  $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}, \text{Et}_3\text{N}/\text{chloroform}$  (**7a**, **7c**, **7d**→**8a**, **8c**, **8d**); (N)  $\text{ClCOOCH}_3, \text{Et}_3\text{N}/\text{chloroform}$  (**7b**→**8b**); (O)  $\text{Bu}_3\text{SnH}, \text{AIBN}/\text{dry toluene}$ ; (P)  $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{methanol-water}$ ; (Q)  $\text{LAH}/\text{THF}$ ; (R)  $\text{H}_2, \text{Pd}/\text{C}/\text{ethanol}$ .

Chart 4. Syntheses of Aporphine Alkaloids **1a—1d**



(±)-Isopiline (**1a**): R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=H  
 (±)-Preocoteine (**1b**): R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=CH<sub>3</sub>  
 (±)-Oureguattidine (**1c**): R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>=H, R<sub>2</sub>=OH  
 (±)-3-Methoxynordomesticine (**1d**): R<sub>1</sub>+R<sub>2</sub>=OCH<sub>2</sub>O, R<sub>3</sub>=H

Fig. 1. Structures of (±)-Isopiline (**1a**), (±)-Preocoteine (**1b**), (±)-Oureguattidine (**1c**) and (±)-3-Methoxynordomesticine (**1d**)

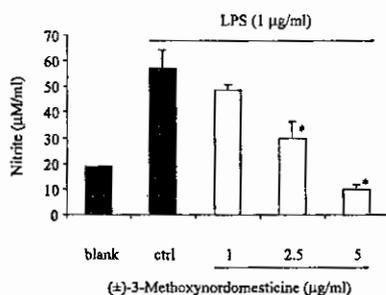


Fig. 2. Evaluation of Nitrite Production by RAW 264.7 Cells Stimulated for 24 h with LPS Alone or Combination with Increasing Concentrations (1–5 µg/ml) of (±)-3-Methoxynordomesticine

The values are the means of at least 3 determinations ± S.D. Probability levels (Student's *t*-test): \*  $p < 0.05$  vs. LPS-treated group.

preocoteine (**1b**) while catalytic removal of the benzyl group of (**9c**) at C-9 followed by removal of the trifluoroacetyl group gave (±)-oureguattidine (**1c**). The <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR spectral data of synthetic (±)-isopiline (**1a**), (±)-preocoteine (**1b**), (±)-oureguattidine (**1c**) and (±)-3-methoxynordomesticine (**1d**) were identical in all respects with those of the respective natural alkaloids.

**Biological Activities of (±)-3-Methoxynordomesticine**  
 (±)-3-Methoxynordomesticine was more effective against Gram-negative *Escherichia coli* ATCC10536 than Gram-positive *Staphylococcus aureus* ATCC25932 and budding yeast *Candida albicans* ATCC90028. The MIC value of 256 µg/ml was obtained for *E. coli* ATCC10536, whereas the MIC values lower or equal to 512 µg/ml were obtained for *S. aureus* ATCC25932 and *C. albicans* ATCC90028. The MMC value lower or equal to 512 µg/ml were obtained in all tested microorganisms. In the course of our studies on anti-inflammatory, we have found that (±)-3-methoxynordomesticine inhibits nitric oxide (NO) production in murine macrophage RAW 264.7 cells stimulated with lipopolysaccharide (LPS) (Fig. 2), we then investigated the effect of (±)-3-methoxynordomesticine on the release of prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). Compared with the untreated control, LPS (1 µg/ml) induced a great production of PGE<sub>2</sub> in RAW 264.7 cells. (±)-3-Methoxynordomesticine (1–5 mg/ml) inhibited the production of PGE<sub>2</sub> in RAW 264.7 cells stimulated with LPS in a concentration-dependent manner (Fig. 3). To elucidate the mechanism of the inhibitory effect of (±)-3-methoxynordomesticine on NO and PGE<sub>2</sub> production, we investigated their effects on inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase (COX)-2 expression levels, respectively. In response to LPS, the iNOS and COX-2 inductions were markedly increased, and (±)-3-methoxynordomesticine significantly decreased the iNOS and COX-2 protein expression in a concentration-dependent manner (Figs. 4, 5). In contrast to iNOS and COX-2, (±)-3-methoxynordomesticine had no effect on the expression of β-actin and COX-1 (data not shown). This finding indicates that (±)-3-methoxynordomesticine could suppress NO and PGE<sub>2</sub> production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells by inhibiting iNOS and COX-2 protein expression, respectively. It has been reported that cytokines such as tumor necrosis factor (TNF)-α, interleukin

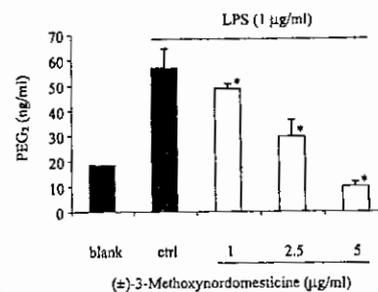


Fig. 3. Effect of (±)-3-Methoxynordomesticine on PGE<sub>2</sub> Production in LPS-Induced RAW 264.7 Macrophage for 24 h

The values are the means of at least 3 determinations ± S.D. Probability level (Student's *t*-test): \*  $p < 0.05$  vs. LPS-treated group.

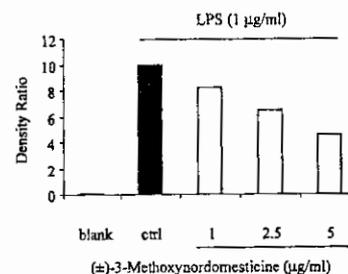


Fig. 4. Effect of (±)-3-Methoxynordomesticine on iNOS Protein Production by LPS-Induced RAW 264.7 Macrophage for 24 h

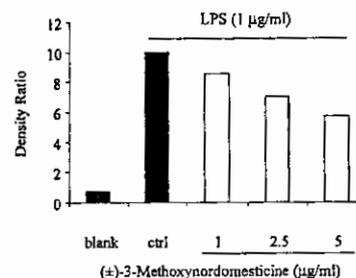


Fig. 5. Effect of (±)-3-Methoxynordomesticine and LPS-Induced COX-2 Protein Expression in RAW 264.7 Cells

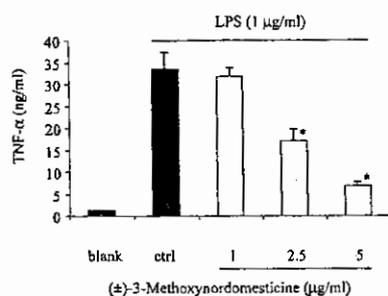


Fig. 6. Effect of (±)-3-Methoxynordomesticine on LPS-Induced TNF- $\alpha$  Production by RAW 264.7 Cells

The values are the means of at least 3 determinations  $\pm$  S.D. Probability level (Student's *t*-test): \*  $p < 0.05$  vs. LPS-treated group.

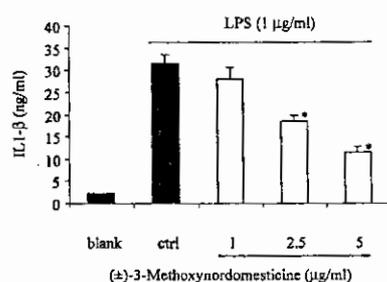


Fig. 7. Effect of (±)-3-Methoxynordomesticine on IL-1 $\beta$  Production by RAW 264.7 Cells

The values are the means of at least 3 determinations  $\pm$  S.D. Probability level (Student's *t*-test): \*  $p < 0.05$  vs. LPS-treated group.

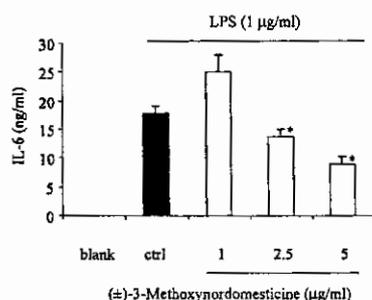


Fig. 8. Effect of (±)-3-Methoxynordomesticine on LPS Induced IL-6 Production by RAW 264.7 Cells

The values are the means of at least 3 determinations  $\pm$  S.D. Probability level (Student's *t*-test): \*  $p < 0.05$  vs. LPS-treated group.

(IL)-1 $\beta$  and IL-6 are pro-inflammatory *in vitro* as well as *in vivo*.<sup>9</sup> The present study also demonstrated that (±)-3-methoxynordomesticine has inhibitory effects on the production of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. As shown in Figs. 6–8, LPS-induced productions of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 were significantly inhibited by (±)-3-methoxynordomesticine in a concentration-dependent manner. In addition, the cytotoxic effect of (±)-3-methoxynordomesticine was evaluated in the absence or presence of LPS (more than 95% cell viability). There is no significant difference on cell viability when treated with (±)-

3-methoxynordomesticine at all concentrations used (1–5  $\mu$ g/ml) in the absence or presence of LPS.

In conclusion, we found that (±)-3-methoxynordomesticine not only possesses antibacterial activity against *E. coli* but also possesses anti-inflammatory activity. It inhibits the production of NO, PGE<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 and the expression of iNOS and COX-2 in macrophages stimulated with LPS *in vitro*. From these results it is expected that (±)-3-methoxynordomesticine could be potentially useful for the treatment of inflammatory diseases.

#### Experimental

Melting points were determined on a Stuart Scientific SMP 2 melting point apparatus and are uncorrected. Infrared spectra were recorded on CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-films with a Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR spectrophotometer. Ultraviolet spectra were recorded on methanol solutions with a Perkin-Elmer Lambda 35 UV-VIS spectrophotometer. <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR spectra were recorded on (D) chloroform solutions at 300 MHz for <sup>1</sup>H and 75 MHz for <sup>13</sup>C with a Bruker AVANCE 300 spectrometer. Tetramethylsilane was used as the internal standard. Mass spectra were recorded on a POLARIS Q or HEWLETT PACKARD 5973 mass spectrometer. Elemental analyses were performed on a Perkin Elmer 2400 Elemental Analyser.

**4-Hydroxy-2-nitro-3-methoxybenzaldehyde (2b)** Vanillin acetate (2a) (50.0 g, 257.7 mmol) was slowly added with stirring to fuming nitric acid (200 ml) at –10–5 °C and stirring continued for 10 min. The mixture was poured into ice-water (800.0 g). The yellow precipitate was filtered, washed with some water and heated with stirring to boiling in 10% NaOH (400 ml). After cooling to room temperature, the mixture was acidified with conc. HCl and the crude product was filtered and recrystallized from water to give 2b as a pale yellow solid (44.9 g, 88.6%), mp 136–138 °C [lit.<sup>9</sup> mp 136 °C]. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 3.92 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 7.19 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, Ar-H), 7.52 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, Ar-H), 9.72 (1H, s, CHO). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 66.00 (q), 122.29 (d), 123.08 (s), 133.74 (d), 144.04 (s), 148.55 (s), 162.07 (s), 190.82 (d).

**2-Amino-4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (2c)** A mixture of 2b (16.0 g, 81.2 mmol), iron(II) sulfate heptahydrate (4.0 g), iron powder (40.0 g), ethanol (150 ml) and water (50 ml) was refluxed for 4 h. The iron was filtered and the solvent removed under vacuum and the residue recrystallized from water (about 100 ml) to give 2c as a pale brown solid (11.5 g, 84.8%), mp 137–138 °C [lit.<sup>10</sup> mp 138–139 °C]. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 3.81 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 6.39 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, Ar-H), 7.20 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, Ar-H), 9.71 (1H, s, CHO). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 58.81 (q), 105.72 (d), 113.01 (s), 131.77 (d), 132.17 (s), 144.96 (s), 154.87 (s), 191.05 (d).

**2-Iodo-4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (2d)** A solution of sodium nitrite (9.5 g) in water (80 ml) was added to a stirred solution of 2c (21.0 g, 125.7 mmol) in 20% HCl (250 ml) at 0–5 °C and stirring continued for 15 min. A solution of potassium iodide (100 g) in water (300 ml) was slowly added to the diazonium solution and stirring continued overnight. Chloroform (600 ml) and excess sodium thiosulfate were added and the chloroform layer was separated, washed with brine, then dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Removal of the solvent under vacuum followed by recrystallization from ethanol–water gave 2d as yellow needles (30.6 g, 87.5%), mp 154–156 °C [lit.<sup>11</sup> mp 155–156 °C]. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 3.92 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 7.03 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, Ar-H), 7.70 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, Ar-H), 9.97 (1H, s, CHO). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 64.40 (q), 105.13 (s), 121.32 (d), 131.69 (d), 132.03 (s), 151.84 (s), 160.86 (s), 198.87 (d).

**4-Hydroxy-2,3-dimethoxybenzaldehyde (2e)** A mixture of 2d (4.2 g, 15.1 mmol), CuCl<sub>2</sub> (1.0 g) in *N,N*-dimethylformamide (60 ml) was added to sodium methoxide (9.7 g) in methanol (60 ml) and the mixture heated in an oil bath (=160 °C) for 2 h. Water (100 ml) was added and the mixture acidified with 6N HCl. The mixture was filtered and the filtrate extracted with ethyl acetate (1  $\times$  100 ml, 2  $\times$  50 ml). The extract was washed with water (5  $\times$  100 ml) then dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Removal of the solvent under vacuum gave a yellow oil which was chromatographed over silica gel using benzene as eluent to give aldehyde (2e) as pale yellow prisms (2.2 g, 78.0%), mp 72–73 °C [lit.<sup>12</sup> mp 75 °C]. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 3.96 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.01 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 6.81 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, Ar-H), 7.57 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, Ar-H), 10.20 (1H, s, CHO). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 61.05 (q), 62.05 (q), 111.54 (d), 122.95 (s), 124.97 (d), 139.25 (s), 156.05 (s), 156.34 (s), 188.67 (d).

**4-Benzyloxy-2,3-dimethoxybenzaldehyde (2f)** A mixture of 2e (5.0 g, 27.5 mmol), benzyl chloride (3.8 g), anhydrous potassium carbonate (4.2 g) in ethanol (30 ml) was refluxed for 5 h. The potassium carbonate was filtered, and the filtrate cooled to room temperature to give 2f as pale yellow

prisms (6.9 g, 92.4%), mp 63–64 °C [lit.<sup>12</sup> liquid]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 3.90 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.02 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.17 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.79 (1H, d, J=8.8 Hz, Ar-H), 7.23–7.50 (5H, m, Ph-H), 7.55 (1H, d, J=8.8 Hz, Ar-H), 10.24 (1H, s, CHO). <sup>13</sup>C-NMR δ: 60.98 (q), 62.35 (q), 70.83 (t), 108.93 (d), 123.48 (s), 124.00 (d), 127.28 (d), 128.25 (d), 128.70 (d), 136.02 (s), 141.98 (s), 157.07 (s), 158.43 (s), 188.77 (d).

**4-Benzoyloxy-2,3-dimethoxy-β-nitrostyrene (2g)** A mixture of 2f (39.7 g, 145.9 mmol), ammonium acetate (29.2 g) and nitromethane (29.2 g) in acetic acid (440 ml) was refluxed for 2 h, then cooled to room temperature. Ice-water (2 l) was added to the mixture and the yellow precipitate was filtered. Drying of the solid in air gave 2g as yellow needles (36.4 g, 79.2%), mp 80–81 °C [lit.<sup>12</sup> mp 83–84 °C]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 3.90 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.00 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.18 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.76 (1H, d, J=8.8 Hz, Ar-H), 7.15 (1H, d, J=8.8 Hz, Ar-H), 7.30–7.49 (5H, m, Ph-H), 7.75 (1H, d, J=13.6 Hz, CH), 8.08 (1H, d, J=13.6 Hz, CH). <sup>13</sup>C-NMR δ: 60.99 (q), 61.26 (q), 70.93 (t), 109.28 (d), 117.26 (s), 126.40 (d), 127.26 (d), 128.29 (d), 128.74 (d), 135.28 (d), 136.04 (s), 136.63 (d), 142.81 (s), 154.42 (s), 156.44 (s).

**4-Benzoyloxy-2,3-dimethoxyphenethylamine (2h)** A solution of 2g (28.0 g, 88.9 mmol) in dry tetrahydrofuran (350 ml) was slowly added to a stirred and cooled suspension of lithium aluminum hydride (11.2 g) in dry tetrahydrofuran (140 ml) and stirring continued for 3 h. Diethyl ether (280 ml) was added and with continued cooling and vigorous stirring, water (15 ml), 15% NaOH (15 ml) and water (45 ml) were added in succession. The pale yellow granular residue was filtered and washed with ether. The combined organic phase was extracted with 12% HCl (1 × 100 ml, 2 × 60 ml). The extract was basified with conc. ammonia to litmus. The oil was separated and the aqueous layer was extracted with chloroform (2 × 100 ml). The oil and chloroform layer were combined, then dried over anhyd. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Removal of the solvent under vacuum gave 2h as a yellow viscous oil (22.1 g, 86.6%) [lit.<sup>12</sup> oil]. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.69 (2H, t, J=6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 2.89 (2H, t, J=6.9 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.90 (6H, s, O-CH<sub>3</sub> × 2), 5.09 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.65 (1H, d, J=8.5 Hz, Ar-H), 6.79 (1H, d, J=8.5 Hz, Ar-H), 7.28–7.45 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 33.89 (t), 42.80 (t), 60.79 (q), 61.02 (q), 70.97 (t), 109.29 (d), 124.32 (d), 125.91 (s), 127.25 (d), 127.85 (d), 128.53 (d), 137.15 (s), 142.91 (s), 151.48 (s), 152.20 (s).

**2-(2-Bromophenyl)-N-(4-benzoyloxy-2,3-dimethoxyphenethyl)acetamide (5a)** A mixture of 2-bromophenylacetic acid (3.8 g, 17.6 mmol) and thionyl chloride (6.2 g) in benzene (100 ml) was refluxed for 1 h, then the solvent and excess thionyl chloride were removed under vacuum. The resulting crude acid chloride (3a) was dissolved in ethanol-free chloroform (50 ml) and added portionwise to a mixture of amine (2h) (5.0 g, 17.42 mmol) in chloroform (50 ml) and 10% NaHCO<sub>3</sub> (100 ml). The mixture was stirred at room temperature for 3 h. The chloroform layer was washed with 10% NaHCO<sub>3</sub> (3 × 50 ml), water (2 × 100 ml), 5% HCl (3 × 50 ml), water (100 ml), then dried over anhyd. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Removal of the solvent under vacuum gave a pale yellow solid which was recrystallized from benzene-hexane to give amide (5a) as a pale yellow solid (3.6 g, 42.8%), mp 101–103 °C. UV λ<sub>max</sub> (MeOH) nm (log ε): 209 (4.72), 223 sh (4.35), 271 (3.16). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 3301, 2926, 1648, 1601, 1542, 1535, 1491, 1467, 1439, 1417, 1379, 1279, 1258, 1200, 1096, 1058, 1026. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.69 (2H, t, J=6.6 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.42 (2H, apparent q, J=6.5 Hz, N-CH<sub>2</sub>), 3.67 (2H, s, CO-CH<sub>3</sub>), 3.80 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.09 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.79 (1H, brs, NH), 6.58 (1H, d, J=8.5 Hz, Ar-H), 6.66 (1H, d, J=8.5 Hz, Ar-H), 7.10–7.50 (8H, m, Ar-H), 7.54 (1H, d, J=7.8 Hz, Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 29.49 (t), 40.86 (t), 44.02 (t), 60.84 (q), 61.00 (q), 70.98 (t), 109.46 (d), 124.40 (d), 125.10 (s), 127.24 (d), 127.89 (d), 127.93 (d), 128.58 (d), 128.98 (d), 131.78 (d), 133.05 (d), 134.85 (s), 137.09 (s), 142.76 (s), 143.64 (s), 151.73 (s), 151.84 (s), 169.64 (s). EI-MS m/z (%): 483 [M]<sup>+</sup> (1), 270 (34), 179 (9), 91 (100). Anal. Calcd for C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>BrNO<sub>4</sub>: C, 61.99; H, 5.41; N, 2.89. Found: C, 61.75; H, 5.60; N, 3.02.

**2-(2-Bromo-4,5-dimethoxyphenyl)-N-(4-benzoyloxy-2,3-dimethoxyphenethyl)acetamide (5b)** In a similar manner, 5b was obtained as a pale yellow solid from benzene-hexane in 65.8% yield, mp 114–116 °C. UV λ<sub>max</sub> (MeOH) nm (log ε): 207 (4.89), 230 sh (4.26), 282 (3.51), 294 sh (3.30). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 3307, 2935, 2843, 1652, 1603, 1506, 1466, 1439, 1417, 1386, 1260, 1219, 1193, 1166, 1096, 1058, 1029, 969. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.70 (2H, t, J=6.6 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.42 (2H, apparent q, J=6.5 Hz, N-CH<sub>2</sub>), 3.60 (2H, s, CO-CH<sub>3</sub>), 3.82 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.83 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.85 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.09 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.85 (1H, brs, NH), 6.59 (1H, d, J=8.5 Hz, Ar-H), 6.67 (1H, d, J=8.5 Hz, Ar-H), 6.81 (1H, s, Ar-H), 7.01 (1H, s, Ar-H), 7.32–7.43 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 29.48 (t), 40.89 (t), 43.50 (t), 56.09 (q), 56.20 (q), 60.80 (q), 61.02 (q), 70.97 (t), 109.40 (d), 113.89 (d), 114.87 (s), 115.57 (d), 124.39

(d), 125.02 (s), 126.58 (s), 127.25 (d), 127.93 (d), 128.57 (d), 137.05 (s), 142.77 (s), 148.70 (s), 148.93 (s), 151.78 (s), 151.84 (s), 170.14 (s). EI-MS m/z (%): 544 [M]<sup>+</sup> (3), 270 (8), 179 (17), 91 (100). Anal. Calcd for C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>BrNO<sub>6</sub>: C, 59.56; H, 5.55; N, 2.57. Found: C, 59.31; H, 5.72; N, 2.68.

**2-(5-Benzoyloxy-2-bromophenyl)-N-(4-benzoyloxy-2,3-dimethoxyphenethyl)acetamide (5c)** In a similar manner, 5c was obtained as a pale yellow solid from ethanol in 72.9% yield, mp 127–128 °C. UV λ<sub>max</sub> (MeOH) nm (log ε): 206 (4.87), 227 (4.33), 280 (3.22). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 3300, 3065, 3033, 2934, 2873, 2827, 1652, 1595, 1571, 1533, 1492, 1467, 1417, 1380, 1280, 1241, 1194, 1171, 1096, 1057, 1016, 910. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.69 (2H, t, J=6.6 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.41 (2H, apparent q, J=6.6 Hz, N-CH<sub>2</sub>), 3.61 (2H, s, CO-CH<sub>3</sub>), 3.81 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.86 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.02 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.06 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.81 (1H, brs, NH), 6.57 (1H, d, J=8.5 Hz, Ar-H), 6.66 (1H, d, J=8.5 Hz, Ar-H), 6.78 (1H, dd, J=3.0, 8.8 Hz, Ar-H), 6.95 (1H, d, J=3.0 Hz, Ar-H), 7.30–7.45 (11H, m, Ph-H × 10 and Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 29.52 (t), 40.84 (t), 44.25 (t), 60.83 (q), 61.01 (q), 70.24 (t), 70.98 (t), 109.46 (d), 115.62 (s), 115.84 (d), 117.94 (d), 124.40 (d), 125.12 (s), 127.25 (d), 127.49 (d), 127.91 (d), 128.17 (d), 128.56 (d), 128.65 (d), 133.61 (d), 135.80 (s), 136.34 (s), 137.08 (s), 142.78 (s), 151.74 (s), 151.86 (s), 158.32 (s), 169.44 (s). EI-MS m/z (%): 498 (9), 179 (25), 91 (70). Anal. Calcd for C<sub>31</sub>H<sub>33</sub>BrNO<sub>6</sub>: C, 65.09; H, 5.46; N, 2.37. Found: C, 64.91; H, 5.62; N, 2.48.

**2-(2-Bromo-4,5-methylenedioxyphenyl)-N-(4-benzoyloxy-2,3-dimethoxyphenethyl)acetamide (5d)** A solution of acid (4) (11.3 g, 43.6 mmol) and amine (2h) (12.5 g, 43.6 mmol) in xylene (150 ml) was refluxed for 24 h with water removal with a Dean-Stark trap. The xylene was then removed under vacuum to yield a brown sticky residue which was dissolved in chloroform (100 ml). The chloroform layer was washed with 5% HCl (3 × 100 ml), water (150 ml), 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3 × 150 ml) and then dried over anhyd. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Removal of the solvent under vacuum gave a residue which was recrystallized with ethanol to give 5d as white prisms (8.3 g, 36.1%), mp 139–141 °C. UV λ<sub>max</sub> (MeOH) nm (log ε): 212 (4.48), 228 sh (4.23), 247 sh (3.99), 282 sh (3.97), 295 (4.01). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 3296, 2921, 1638, 1603, 1500, 1480, 1417, 1380, 1256, 1234, 1196, 1163, 1096, 1056, 1037, 971, 938, 926. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.70 (2H, t, J=6.6 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.42 (2H, apparent q, J=6.4 Hz, N-CH<sub>2</sub>), 3.55 (2H, s, CO-CH<sub>3</sub>), 3.83 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.08 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.85 (1H, brs, NH), 5.95 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.61 (1H, d, J=8.5 Hz, Ar-H), 6.69 (1H, d, J=8.5 Hz, Ar-H), 6.75 (1H, s, Ar-H), 6.98 (1H, s, Ar-H), 7.29–7.50 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR δ: 29.49 (t), 40.81 (t), 43.77 (t), 60.81 (q), 61.02 (q), 70.97 (t), 101.91 (t), 109.45 (d), 111.08 (d), 112.84 (d), 115.40 (s), 124.46 (d), 125.09 (s), 127.25 (d), 127.67 (s), 127.93 (d), 128.58 (d), 137.07 (s), 142.78 (s), 147.64 (s), 147.80 (s), 151.76 (s), 151.85 (s), 169.77 (s). EI-MS m/z (%): 527 [M]<sup>+</sup> (1), 257 (9), 179 (30), 91 (6). Anal. Calcd for C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>BrNO<sub>6</sub>: C, 59.10; H, 4.96; N, 2.65. Found: C, 59.28; H, 4.81; N, 2.40.

**1-(2-Bromobenzyl)-7-benzoyloxy-5,6-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline (6a)** A solution of 5a (3.0 g, 6.2 mmol) and phosphorus oxychloride (10.0 g) in acetonitrile (80 ml) was refluxed for 3 h. The excess reagent and solvent were removed under vacuum. The residue was shaken with chloroform (50 ml) and dilute ammonium hydroxide (50 ml). The chloroform layer was washed with water (50 ml), then dried over anhyd. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Removal of the solvent under vacuum gave 6a as a pale brown viscous oil (2.8 g) which was unstable and decomposed on standing. It was immediately used in the next step without further purification. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.69 and 2.73 (total 2H, t, J=7.6 Hz, CH<sub>2</sub> of both conformers), 3.71 and 3.82 (total 2H, t, J=7.6 Hz, CH<sub>2</sub> of both conformers), 3.85, 3.88, 3.90 and 3.96 (total 6.7H, 4 s, O-CH<sub>3</sub> × 2 of both conformers and CH<sub>2</sub> of one conformer), 4.15 (1.30H, s, CH<sub>2</sub> of another conformer), 5.01 and 5.12 (total 2H, 2 s, Ph-CH<sub>2</sub> of both conformers), 6.85 (0.6H, s, Ar-H of one conformer), 7.04–7.65 (9.4H, m, Ph-H × 5 of both conformers and Ar-H × 4.4 of both conformer). <sup>13</sup>C-NMR δ: (both conformers) 18.53 (t), 19.04 (t), 24.85 (t), 42.38 (t), 46.79 (t), 48.04 (t), 60.97 (q), 61.00 (q), 61.04 (q), 61.08 (q), 71.12 (t), 71.20 (t), 107.94 (d), 109.21 (d), 120.66 (d), 121.53 (s), 123.90 (s), 124.54 (s), 124.85 (s), 124.92 (s), 127.38 (d), 127.50 (d), 127.60 (d), 127.64 (d), 128.00 (d), 128.02 (d), 128.15 (d), 128.24 (d), 128.57 (d), 129.69 (d), 129.88 (d), 130.20 (d), 131.02 (d), 132.49 (d), 132.85 (d), 133.07 (d), 136.63 (s), 137.45 (s), 140.19 (s), 145.09 (s), 150.04 (s), 150.09 (s), 150.79 (s), 150.88 (s), 163.64 (s), 165.08 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-benzoyloxy-5,6-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline (6b)** In a similar manner, the unstable 6b was obtained in 42.1% yield from benzene-hexane as a pale yellow solid, mp 148–150 °C. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.67 (2H, t, J=7.3 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.70 (2H, t, J=7.3 Hz, CH<sub>2</sub>), 3.73 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.79 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.83 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.13 (2H, s, CH<sub>2</sub>), 5.07 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.80 (1H, s,

April 2009

373

Ar-H), 6.93 (1H, s, Ar-H), 7.01 (1H, s, Ar-H), 7.24–7.45 (5H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 19.13 (t), 42.16 (t), 47.04 (t), 55.81 (q), 56.00 (q), 60.86 (q), 60.90 (q), 71.09 (t), 107.71 (d), 112.34 (d), 114.07 (s), 115.30 (d), 123.96 (s), 124.72 (s), 127.40 (d), 127.93 (d), 128.47 (d), 129.36 (s), 136.67 (s), 144.81 (s), 148.29 (s), 148.48 (s), 149.96 (s), 150.77 (s), 165.08 (s).

**1-(5-Benzyloxy-2-bromobenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline (6c)** In a similar manner, 6c was obtained in almost quantitative yield as an unstable pale brown viscous oil which decomposed quickly on standing. It was immediately used in the next step without further purification.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.63 (2H, t,  $J=7.5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.68 (2H, t,  $J=7.5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.84 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.90 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.07 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ), 4.94 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.01 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 6.71 (1H, dd,  $J=8.8$ , 2.8 Hz, Ar-H), 6.82 (1H, s, Ar-H), 6.88 (1H, d,  $J=2.8$  Hz, Ar-H), 7.27–7.40 (10H, m, Ph-H), 7.44 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 19.03 (t), 42.80 (t), 47.09 (t), 60.96 (q), 61.00 (q), 70.13 (t), 71.14 (t), 107.78 (d), 115.20 (d), 116.45 (d), 124.00 (s), 124.81 (s), 127.40 (d), 127.42 (d), 127.97 (d), 128.05 (d), 128.56 (d), 133.35 (d), 136.50 (s), 136.72 (s), 138.65 (s), 144.85 (s), 150.01 (s), 150.77 (s), 158.17 (s), 164.69 (s).

**1-(2-Bromo-4,5-methylenedioxybenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinoline (6d)** In a similar manner, 6d was obtained in almost quantitative yield as an unstable pale brown viscous oil which decomposed quickly on standing. It was immediately used in the next step without further purification.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.67 (2H, t,  $J=7.5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.70 (2H, t,  $J=7.5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ), 3.85 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.91 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.02 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ), 5.06 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.93 (2H, s, O- $\text{CH}_2$ -O), 6.73 (1H, s, Ar-H), 6.85 (1H, s, Ar-H), 7.01 (1H, s, Ar-H), 7.30–7.42 (5H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 19.05 (t), 42.34 (t), 46.94 (t), 60.94 (q), 60.96 (q), 71.11 (t), 101.71 (t), 107.70 (d), 109.55 (d), 112.56 (d), 114.41 (s), 123.89 (s), 124.84 (s), 127.32 (d), 127.95 (d), 128.55 (d), 130.45 (s), 136.61 (s), 144.93 (s), 147.03 (s), 147.56 (s), 150.06 (s), 150.80 (s), 164.89 (s).

**1-(2-Bromobenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (7a)** Sodium borohydride (0.4 g, 10.0 mmol) was added portionwise to a stirred solution of 6a (2.8 g, 6.0 mmol) in ethanol (80 ml) and the mixture was refluxed for 1 h. Removal of the ethanol under vacuum gave a residue which was shaken with water (50 ml) and chloroform (50 ml). The chloroform layer was dried. Removal of the solvent gave a crude yellow viscous oil which was chromatographed over alumina using benzene as eluent to give tetrahydroisoquinoline (7a) as a pale yellow viscous oil (2.4 g, 85.4%). UV  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 207 (4.44), 224 sh (4.05), 276 (2.94). IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3332, 2935, 2829, 1601, 1491, 1456, 1437, 1413, 1377, 1342, 1322, 1274, 1240, 1200, 1110, 1026, 916, 751, 697.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.58–2.78 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 2.84–2.94 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.10–3.29 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.86 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.89 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.16 (1H, dd,  $J=3.3$ , 10.2 Hz, H-1), 5.06 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 6.64 (1H, s, Ar-H), 7.00–7.45 (8H, m, Ph-H $\times$ 5 and Ar-H $\times$ 3), 7.55 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.79 (t), 39.53 (t), 42.81 (t), 54.94 (d), 60.39 (q), 60.86 (q), 71.02 (t), 107.97 (d), 121.99 (s), 124.88 (s), 127.25 (d), 127.36 (d), 127.79 (d), 128.21 (d), 128.49 (d), 131.95 (d), 132.99 (d), 133.98 (s), 137.21 (s), 138.67 (s), 141.04 (s), 150.40 (s), 151.19 (s). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{BrNO}_2$ : C, 64.11; H, 5.59; N, 2.99. Found: C, 64.29; H, 5.42; N, 2.81.

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (7b)** In a similar manner, 7b was obtained in 98.0% yield as a pale yellow viscous oil. UV  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 210 (4.80), 229 sh (4.42), 284 sh (3.79), 295 sh (3.57). IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3429, 2935, 2839, 1602, 1506, 1456, 1438, 1413, 1380, 1322, 1259, 1219, 1164, 1109, 1029, 959.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.60–2.95 (4H, m,  $\text{CH}_2\times 2$ ), 3.15–3.27 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.82 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.83 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.87 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.89 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.15 (1H, dd,  $J=3.2$ , 9.8 Hz, H-1), 5.07 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 6.62 (1H, s, Ar-H), 6.74 (1H, s, Ar-H), 7.04 (1H, s, Ar-H), 7.24–7.47 (5H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.86 (t), 40.12 (t), 42.45 (t), 55.40 (d), 56.12 (q), 56.16 (q), 60.47 (q), 60.93 (q), 71.15 (t), 107.99 (d), 114.40 (d), 114.71 (s), 115.75 (d), 122.11 (s), 127.34 (d), 127.87 (d), 128.55 (d), 130.45 (s), 133.85 (s), 137.24 (s), 141.10 (s), 148.28 (s), 148.37 (s), 150.47 (s), 151.26 (s). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{BrNO}_4$ : C, 61.37; H, 5.72; N, 2.65. Found: C, 61.15; H, 5.88; N, 2.78.

**1-(5-Benzyloxy-2-bromobenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (7c)** In a similar manner, 7c was obtained in 92.1% yield as a pale yellow solid, mp 93–96°C. UV  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 206 (4.77), 229 (4.31), 282 (3.43). IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3335, 3089, 3064, 3032, 2935, 2829, 1592, 1570, 1492, 1456, 1435, 1413, 1342, 1321, 1277, 1240, 1201, 1169, 1111, 1028, 1015, 913.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.65–2.94 (4H, m,  $\text{CH}_2\times 2$ ), 3.10–3.25 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.87 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.89 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.14 (1H, dd,  $J=3.3$ , 9.8 Hz, H-1), 5.02 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.08 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 6.65 (1H, s, Ar-H), 6.76 (1H, dd,  $J=3.0$ , 8.8 Hz,

Ar-H), 6.87 (1H, d,  $J=3.0$  Hz, Ar-H), 7.26–7.49 (11H, m, Ph-H $\times$ 10 and Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.78 (t), 39.53 (t), 42.93 (t), 54.97 (d), 60.46 (q), 60.93 (q), 70.19 (t), 71.11 (t), 108.03 (d), 114.76 (d), 115.58 (s), 118.51 (d), 122.02 (s), 127.31 (d), 127.45 (d), 127.84 (d), 128.10 (d), 128.53 (d), 128.63 (d), 133.57 (d), 133.88 (s), 136.49 (s), 137.22 (s), 139.64 (s), 141.09 (s), 150.45 (s), 151.22 (s), 157.93 (s). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{BrNO}_4$ : C, 66.90; H, 5.61; N, 2.44. Found: C, 66.74; H, 5.80; N, 2.58.

**1-(2-Bromo-4,5-methylenedioxybenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (7d)** In a similar manner, 7d was obtained in 64.0% yield from ethanol as a pale yellow solid, mp 105–106°C. UV  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 213 (4.34), 230 sh (4.09), 276 sh (3.83), 293 (3.88). IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -film)  $\text{cm}^{-1}$ : 3336, 2935, 1602, 1585, 1500, 1478, 1456, 1436, 1412, 1378, 1343, 1322, 1273, 1231, 1201, 1163, 1112, 1037, 964, 932.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.62–3.02 (4H, m,  $\text{CH}_2\times 2$ ), 3.12–3.26 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 3.88 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 3.90 (3H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.13 (1H, dd,  $J=3.6$ , 10.1 Hz, H-1), 5.09 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.95 (2H, s, O- $\text{CH}_2$ -O), 6.62 (1H, s, Ar-H), 6.76 (1H, s, Ar-H), 7.03 (1H, s, Ar-H), 7.27–7.48 (5H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : 23.59 (t), 39.57 (t), 42.52 (t), 55.22 (d), 60.50 (q), 60.95 (q), 71.16 (t), 101.72 (t), 108.02 (d), 111.38 (d), 112.91 (d), 114.95 (s), 121.89 (s), 127.29 (d), 127.87 (d), 128.56 (d), 131.45 (s), 133.58 (s), 137.21 (s), 141.15 (s), 147.22 (s), 147.31 (s), 150.52 (s), 151.22 (s). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{BrNO}_4$ : C, 60.95; H, 5.11; N, 2.73. Found: C, 60.80; H, 5.28; N, 2.90.

**2-Trifluoroacetyl-1-(2-bromobenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8a)** Trifluoroacetic anhydride (7.8 g) was added dropwise to a stirred mixture of 7a (2.8 g, 6.0 mmol) and triethylamine (5.0 g) in chloroform (50 ml) at 0–10°C. Stirring was continued at room temperature for 3 h. Chloroform (50 ml) was added and the chloroform layer was washed with 10%  $\text{NaHCO}_3$  ( $5\times 60$  ml), water (50 ml), 5% HCl ( $5\times 60$  ml) and brine (50 ml), then dried over  $\text{anh. Na}_2\text{SO}_4$ . Removal of the solvent under vacuum gave a yellow viscous oil which was chromatographed over alumina using benzene as eluent to give 8a as a pale yellow solid (2.7 g, 78.3%). mp 106–108°C. UV  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 206 (4.87), 224 (4.49), 275 (3.52), 283 (3.50). IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2938, 1694, 1603, 1587, 1492, 1459, 1438, 1417, 1375, 1350, 1325, 1265, 1244, 1198, 1171, 1142, 1119, 1094, 1046, 1027, 905.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.70–3.36 (5H, m, H-3 $\beta$ ,  $\text{CH}_2\times 2$ ), 3.89 (6H, s, O- $\text{CH}_3$ ), 4.00–4.13 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 5.00 (2H, s, Ph- $\text{CH}_2$ ), 5.69–5.74 (1H, m, H-1), 6.43 (1H, s, Ar-H), 7.06–7.50 (8H, m, Ph-H $\times$ 5 and Ar-H $\times$ 3), 7.54 (1H, d,  $J=7.5$  Hz, Ar-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : (both conformers) 21.87 (t), 23.47 (t), 37.10 (t), 39.61 (t), 41.50 (t), 53.66 (d), 60.67 (q), 60.98 (q), 71.02 (t), 107.84 (d), 108.22 (d), 114.47 (s), 118.29 (d), 119.67 (q), 125.41 (s), 127.25 (d), 127.31 (d), 127.71 (d), 128.04 (d), 128.61 (d), 128.64 (d), 128.74 (d), 128.90 (d), 129.88 (s), 130.09 (s), 131.28 (d), 131.46 (d), 132.85 (d), 136.39 (s), 136.81 (s), 141.61 (s), 150.91 (s), 151.30 (s), 155.68 (s). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{BrF}_3\text{NO}_4$ : C, 57.46; H, 4.46; N, 2.48. Found: C, 57.30; H, 4.60; N, 2.62.

**1-(2-Bromo-4,5-dimethoxybenzyl)-7-benzyloxy-2-carbomethoxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8b)** Methyl chloroformate (4.1 g) was slowly added dropwise to a stirred mixture of 7b (3.8 g, 7.2 mmol) and triethylamine (4.4 g) in chloroform (30 ml) at 0–10°C. Stirring was continued at room temperature for 3 h. Chloroform (50 ml) and water (50 ml) were added and the chloroform layer was washed with 10% HCl ( $6\times 100$  ml), water (50 ml), then dried over  $\text{anh. Na}_2\text{SO}_4$ . Removal of the solvent under vacuum gave a pale yellow viscous oil. The viscous oil was chromatographed over alumina using benzene as eluent to give 8b as a white solid (3.2 g, 76.2%). mp 113–114°C. UV  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 207 (4.60), 233 sh (3.94), 284 (3.28). IR ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -film)  $\text{cm}^{-1}$ : 2936, 2843, 1698, 1603, 1509, 1452, 1409, 1382, 1342, 1258, 1220, 1165, 1106, 1088, 1029, 986.  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.51–3.50 (5H, m, H-3 $\beta$ ,  $\text{CH}_2\times 2$ ), 3.43 and 3.65 (total 3H, 2 s, COO- $\text{CH}_3$  of both conformers), 3.78, 3.83, 3.85, 3.87, 3.88 and 3.89 (total 12H, 6 s, O- $\text{CH}_3\times 4$  of both conformers), 3.86–3.98 and 4.22–4.35 (total 1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.93 and 5.05 (total 2H, 2 s, Ph- $\text{CH}_2$  of both conformers), 5.18–5.35 (1H, m, H-1), 6.26, 6.46, 6.50, 6.59, 7.02 and 7.04 (total 3H, 6 s, Ar-H of both conformers), 7.30–7.50 (5H, m, Ph-H).  $^{13}\text{C-NMR}$   $\delta$ : (both conformers) 22.24 (t), 22.42 (t), 37.12 (t), 38.44 (t), 41.17 (t), 42.02 (t), 52.27 (q), 52.61 (q), 53.32 (d), 54.90 (d), 56.03 (q), 56.12 (q), 56.23 (q), 60.62 (q), 60.69 (q), 60.97 (q), 71.04 (t), 71.14 (t), 108.27 (d), 108.59 (d), 113.76 (d), 114.10 (d), 115.14 (d), 115.29 (d), 121.07 (s), 121.27 (s), 127.15 (d), 127.26 (d), 127.82 (d), 127.96 (d), 128.40 (d), 128.60 (d), 129.59 (s), 129.76 (s), 131.55 (s), 131.66 (s), 137.02 (s), 141.42 (s), 148.10 (s), 148.16 (s), 148.20 (s), 148.33 (s), 150.72 (s), 150.85 (s), 151.14 (s), 155.84 (s), 155.98 (s). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{BrNO}_6$ : C, 59.39; H, 5.50; N, 2.39. Found: C, 59.54; H, 5.37; N, 2.10.

**2-Trifluoroacetyl-1-(5-benzyloxy-2-bromobenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8c)** In a similar manner to

**8a, 8c** was obtained in 62.1% yield from ethanol as a white solid, mp 108–110°C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 215 (4.66), 227 sh (4.52), 283 (4.12). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 2936, 1691, 1592, 1571, 1492, 1459, 1437, 1416, 1376, 1350, 1324, 1283, 1265, 1243, 1196, 1169, 1141, 1117, 1093, 1019, 905. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.70–3.08 (4H, m, CH<sub>2</sub>×2), 3.57–3.69 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.88 (6H, s, O-CH<sub>3</sub>×2), 3.99–4.09 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.97 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 4.98 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.69 (1H, dd,  $J$ =5.4, 8.9 Hz, H-1), 6.41 (1H, s, Ar-H), 6.70–6.78 (2H, m, Ar-H), 7.28–7.45 (11H, m, Ph-H×10 and Ar-H). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 23.42 (t), 39.68 (t), 41.66 (t), 53.74 (d), 60.68 (q), 60.99 (q), 70.23 (t), 71.03 (t), 108.19 (d), 115.22 (d), 116.12 (s), 117.88 (d), 118.24 (s), 119.68 (s), 127.24 (d), 127.47 (d), 128.03 (d), 128.13 (d), 128.65 (d), 130.01 (s), 133.33 (d), 136.47 (s), 136.81 (s), 137.38 (s), 141.63 (s), 150.90 (s), 151.32 (s), 155.51 (s), 157.97 (s). Anal. Calcd for C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>BrF<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>: C, 60.90; H, 4.66; N, 2.09. Found: C, 60.80; H, 4.8; N, 2.17.

**2-Trifluoroacetyl-1-(2-bromo-4,5-methylenedioxybenzyl)-7-benzyloxy-5,6-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (8d)** In a similar manner to **8a**, **8d** was obtained in 65.7% yield from ethanol as a pale yellow solid, mp 152–154°C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 212 (4.70), 226 sh (4.43), 285 (4.08), 294 (4.09). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 2938, 1690, 1604, 1587, 1502, 1478, 1460, 1438, 1416, 1374, 1350, 1325, 1267, 1232, 1199, 1169, 1142, 1115, 1093, 1037, 933, 905. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.70–3.26 (4H, m, CH<sub>2</sub>×2), 3.57–3.70 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.88 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.00–4.11 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 5.04 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.64 (1H, dd,  $J$ =5.4, 9.0 Hz, H-1), 5.93–5.97 (2H, m, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.45 (1H, s, Ar-H), 6.56 (1H, s, Ar-H), 6.98 (1H, s, Ar-H), 7.28–7.45 (5H, m, Ph-H). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : (both conformers) 21.86 (t), 23.48 (t), 39.67 (t), 39.72 (t), 41.40 (t), 42.29 (t), 53.93 (d), 60.69 (q), 61.00 (q), 71.15 (t), 101.77 (t), 108.29 (d), 110.53 (d), 112.75 (d), 115.56 (s), 118.34 (s), 119.74 (s), 127.20 (d), 128.06 (d), 128.67 (d), 129.33 (s), 130.05 (s), 136.83 (s), 141.65 (s), 147.33 (s), 147.47 (s), 150.92 (s), 151.35 (s), 155.79 (s). Anal. Calcd for C<sub>28</sub>H<sub>23</sub>Br F<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>: C, 55.27; H, 4.14; N, 2.30. Found: C, 55.02; H, 4.31; N, 2.47.

**1-Hydroxy-2,3-dimethoxy-6-trifluoroacetylnoraporphine (9a)** A solution of azobis(isobutyronitrile) (0.6 g, 3.6 mmol) and tributyltin hydride (4.1 g, 14.0 mmol) in toluene (40 ml) was added dropwise in four equal portions over 3 h to a refluxing solution of **8a** (2.0 g, 3.6 mmol) in toluene (40 ml) and the resulting mixture was then refluxed for another 24 h. The solvent was then removed under vacuum and the residue was dissolved in acetonitrile (50 ml) and washed with hexane (3×50 ml), then dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Removal of the solvent gave the crude noraporphine (1.1 g) as a brown viscous oil which was chromatographed over silica gel using hexane-ethyl acetate as eluent. The earlier fractions gave the hydrogenolysis product (**8e**) as a white solid (317.7 mg, 18.5%), mp 115–116°C. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.71–2.78 (2H, m, H-4 of both conformers), 3.08 (2H, apparent d,  $J$ =6.8 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.38–3.50 (1H, m, H-3 $\beta$  of both conformers), 3.86, 3.87, 3.88 and 3.89 (total 6H, 4s, O-CH<sub>3</sub>×2 of both conformers), 3.90–3.98 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.87 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.55 (1H, apparent t,  $J$ =6.8 Hz, H-1), 6.17 (1H, s, Ar-H), 7.04–7.12 (2H, m, Ar-H of both conformers), 7.22–7.41 (8H, m, Ph-H×5 and Ar-H×3 of both conformers). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : (both conformers) 21.83 (t), 23.22 (t), 39.98 (t), 40.02 (t), 41.78 (t), 55.30 (d), 60.71 (q), 60.97 (q), 70.78 (t), 108.33 (d), 114.58 (s), 118.40 (s), 119.69 (s), 122.21 (s), 126.95 (d), 127.25 (d), 128.02 (d), 128.46 (d), 128.61 (d), 129.74 (d), 136.78 (s), 136.87 (s), 141.46 (s), 150.88 (s), 150.98 (s), 155.74 (s). The latter fractions gave pure noraporphine (**9a**) as a pale brown solid (151.6 mg, 10.9%), mp 205–206°C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 215 (4.51), 274 (4.22), 292 sh (4.07), 309 (4.02). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 3393, 2921, 2850, 1682, 1589, 1456, 1440, 1420, 1377, 1300, 1277, 1186, 1173, 1147, 1127, 1079, 1046, 1019, 952, 926. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.57–3.34 (5H, m, H-5 $\beta$ , CH<sub>2</sub>×2), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.97 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.19–4.28 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 5.08 (1H, dd,  $J$ =4.2, 13.7 Hz, H-6 $\alpha$ ), 6.41 (1H, s, OH), 7.19–7.38 (3H, m, Ar-H), 8.39 (1H, d,  $J$ =7.9 Hz, H-1). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 23.93 (t), 33.19 (t), 41.09 (t), 52.33 (d), 60.55 (q), 61.03 (q), 114.48 (s), 116.43 (s), 118.26 (s), 122.11 (s), 127.06 (d), 127.29 (d), 128.12 (d), 128.49 (d), 131.36 (s), 134.86 (s), 138.80 (s), 146.13 (s), 148.32 (s), 155.81 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 393 [M]<sup>+</sup> (43), 361 (6), 267 (100), 126 (2). Anal. Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>: C, 61.07; H, 4.61; N, 3.56. Found: C, 61.24; H, 4.48; N, 3.40.

**1-Hydroxy-6-carbomethoxy-2,3,9,10-tetramethoxynoraporphine (9b)** In a similar manner, **9b** was obtained in 41.6% yield as a pale yellow solid, mp 121–122°C. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.53–2.84 (2H, m, H-4 of both conformers), 2.84–3.10 (2H, m, Ar-CH<sub>2</sub> of both conformers), 3.10–3.30 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.52, 3.68, 3.71, 3.81, 3.84, 3.85, 3.87 and 3.88 (total 15H, 8s, O-CH<sub>3</sub>×4 of both conformers), 4.05–4.22 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.85 (1.06H, ABq,  $J$ =12.1 Hz, Ph-CH<sub>2</sub> of one conformer), 4.96 (0.94H, s, Ph-CH<sub>2</sub> of another conformer), 5.05–5.15 and 5.15–5.25 (total 1H, apparent 2m, H-1 of

both conformers), 6.11 and 6.28 (total 1H, 2s, Ar-H of both conformers), 6.52–6.65 (2H, m, Ar-H of both conformers), 6.76 (1H, apparent t,  $J$ =8.5 Hz, Ar-H of both conformers), 7.26–7.44 (5H, m, Ph-H of both conformers). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : (both conformers) 22.21 (t), 37.53 (t), 38.69 (t), 41.98 (t), 42.43 (t), 52.45 (q), 52.58 (q), 55.75 (q), 55.84 (q), 55.90 (q), 56.02 (d), 56.12 (d), 60.62 (q), 60.69 (q), 60.92 (q), 70.79 (t), 71.04 (t), 108.44 (d), 108.72 (d), 110.85 (d), 111.01 (d), 112.73 (d), 120.89 (s), 121.32 (s), 121.79 (d), 121.91 (d), 127.11 (d), 127.21 (d), 127.86 (d), 127.91 (d), 128.53 (d), 130.63 (s), 131.71 (s), 136.96 (s), 141.13 (s), 141.32 (s), 147.65 (s), 147.73 (s), 148.61 (s), 150.34 (s), 150.58 (s), 150.77 (s), 151.11 (s), 155.89 (s), 156.00 (s). Noraporphine (**9b**) was obtained in 8.3% yield as a pale yellow solid, mp 212–213°C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 222 (4.54), 271 sh (3.91), 280 (4.00), 304 (4.12), 315 (4.12). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 3383, 2936, 2849, 1686, 1609, 1592, 1513, 1459, 1448, 1396, 1342, 1250, 1197, 1167, 1111, 1078, 1049, 1021, 974. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.47–2.98 (5H, m, H-5 $\beta$ , CH<sub>2</sub>×2), 3.77, 3.86, 3.91, 3.93 and 3.97 (total 15H, 5s, O-CH<sub>3</sub>×5), 4.38–4.50 (total 1H, m, H-5 $\alpha$ ), 4.72–4.82 (total 1H, m, H-6 $\alpha$ ), 6.39 (1H, brs, OH), 6.78 (1H, s, H-8), 8.05 (1H, s, H-11). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 23.57 (t), 34.25 (t), 38.78 (t), 52.08 (d), 52.68 (q), 55.84 (q), 55.98 (q), 60.45 (q), 60.98 (q), 111.25 (d), 111.92 (d), 116.43 (s), 119.57 (s), 124.35 (s), 128.75 (s), 128.95 (s), 138.53 (s), 144.80 (s), 147.26 (s), 147.70 (s), 147.90 (s), 155.09 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 415 [M]<sup>+</sup> (34), 383 (36), 327 (100), 88 (4). Anal. Calcd for C<sub>27</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>7</sub>: C, 63.60; H, 6.07; N, 3.37. Found: C, 63.42; H, 6.21; N, 3.50.

**9-Benzyloxy-1-hydroxy-2,3-dimethoxy-6-trifluoroacetylnoraporphine (9c)** In a similar manner, **9c** was obtained in 38.6% yield as a yellow oil. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.70–2.77 (2H, m, H-4 of both conformers), 3.04 (2H, apparent d,  $J$ =6.8 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.34–3.47 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.84, 3.85 and 3.86 (total 6H, 3s, O-CH<sub>3</sub>×2 of both conformers), 3.88–3.98 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.65 (0.2H, ABq,  $J$ =11.7 Hz, Ph-CH<sub>2</sub> of one conformer), 4.85 (1.8H, ABq,  $J$ =12.1 Hz, Ph-CH<sub>2</sub> of another conformer), 4.96 and 4.98 (total 2H, 2s, Ph-CH<sub>2</sub> of both conformers), 5.56 (1H, apparent t,  $J$ =6.7 Hz, H-1), 6.17 (1H, s, Ar-H), 6.64–6.75 (2H, m, Ar-H of both conformers), 6.81–6.91 (1H, m, Ar-H of both conformers), 7.12–7.21 (1H, m, Ar-H of both conformers). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : (both conformers) 23.18 (t), 39.99 (t), 40.03 (t), 41.80 (t), 55.23 (d), 60.65 (d), 60.92 (q), 69.87 (t), 70.76 (t), 108.31 (d), 113.50 (d), 114.62 (s), 116.10 (d), 118.44 (s), 119.66 (d), 122.40 (d), 127.25 (d), 127.47 (d), 127.92 (d), 127.98 (d), 128.54 (d), 128.58 (d), 129.45 (d), 129.73 (d), 129.97 (s), 136.77 (s), 136.91 (s), 138.48 (s), 141.45 (s), 150.85 (s), 150.99 (s), 155.71 (s), 158.86 (s). Noraporphine (**9c**) was obtained in 9.7% yield as a pale yellow solid, mp 183–184°C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 213 (4.67), 231 sh (4.43), 274 (4.28), 283 (4.31), 299 (4.19), 312 (4.11). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 3583, 3411, 2942, 1686, 1609, 1501, 1459, 1414, 1378, 1342, 1310, 1281, 1233, 1201, 1175, 1153, 1083, 1049, 1016, 974. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.57–3.10 (5H, m, CH, CH<sub>2</sub>×2), 3.21–3.33 (1H, m, H-5 $\beta$ ), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.97 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.18–4.28 (1H, m, H-5 $\alpha$ ), 5.10 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 6.35 (1H, s, OH), 6.90 (1H, d,  $J$ =2.4 Hz, H-8), 6.95 (1H, dd,  $J$ =2.4, 8.7 Hz, H-10), 7.30–7.50 (5H, m, Ph-H), 8.32 (1H, d,  $J$ =8.7 Hz, H-11). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 23.92 (t), 33.55 (t), 41.12 (t), 52.31 (d), 60.54 (q), 60.99 (q), 69.95 (t), 113.28 (d), 114.76 (d), 116.45 (s), 118.20 (s), 118.29 (s), 124.43 (s), 127.28 (s), 127.51 (d), 127.97 (d), 128.61 (d), 129.48 (d), 136.68 (s), 136.99 (s), 138.80 (s), 145.49 (s), 147.69 (s), 155.80 (s), 157.75 (s). EI-MS  $m/z$  (%): 499 [M]<sup>+</sup> (10), 373 (16), 91 (23), 32 (100). Anal. Calcd for C<sub>27</sub>H<sub>23</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>: C, 64.93; H, 4.84; N, 2.80. Found: C, 64.76; H, 4.98; N, 2.97.

**1-Hydroxy-2,3-dimethoxy-9,10-methylenedioxy-6-trifluoroacetylnoraporphine (9d)** In a similar manner, **9d** was obtained in 13.1% yield as a pale yellow solid, mp 129–130°C. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 2.71–2.78 (2H, m, H-4 of both conformers), 2.99 (2H, apparent d,  $J$ =6.7 Hz, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.36–3.48 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.89 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.91–4.00 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 4.95 (2H, s, Ph-CH<sub>2</sub>), 5.49 (1H, apparent t,  $J$ =6.7 Hz, H-1), 5.89–5.95 (2H, m, O-CH<sub>2</sub>-O of both conformers), 6.24 (1H, s, Ar-H), 6.51 (1H, dd,  $J$ =1.4, 7.8 Hz, Ar-H), 6.54 and 6.56 (total 1H, 2d,  $J$ =1.4 Hz, Ar-H of both conformers), 6.70 and 6.75 (total 1H, 2d,  $J$ =7.8 Hz, Ar-H of both conformers), 7.28–7.42 (5H, m, Ph-H of both conformers). <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : (both conformers) 23.23 (t), 39.98 (t), 40.02 (t), 41.41 (t), 55.33 (d), 58.28 (d), 60.69 (q), 60.96 (q), 70.95 (t), 100.95 (t), 108.17 (d), 108.38 (d), 109.97 (d), 114.57 (s), 118.39 (s), 119.77 (s), 122.69 (d), 127.19 (d), 128.02 (d), 128.62 (d), 129.97 (s), 130.52 (s), 136.76 (s), 141.50 (s), 146.52 (s), 147.63 (s), 150.87 (s), 151.04 (s), 155.75 (s). Noraporphine (**9d**) was obtained in 10.4% as a pale yellow solid, mp 251–252°C. UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 220 (4.60), 235 sh (4.40), 274 sh (4.03), 283 (4.09), 309 (4.27), 320 (4.28). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 3402, 2919, 2850, 1686, 1506, 1488, 1459, 1431, 1414, 1373, 1354, 1305, 1281, 1239, 1225, 1186, 1146, 1094,

1045, 971, 940, 924. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.54–3.09 (4H, m, CH<sub>2</sub>×2), 3.19–3.20 (1H, m, H-5β), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.97 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.17–4.27 (1H, m, H-5α), 5.02 (1H, dd, J=4.2, 13.8 Hz, H-6a), 5.97 (2H, s, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.40 (1H, s, OH), 6.74 (1H, s, H-8), 7.95 (1H, s, H-11). <sup>13</sup>C-NMR δ: 23.88 (t), 33.18 (t), 41.09 (t), 52.48 (d), 60.54 (q), 61.01 (q), 101.01 (t), 108.80 (d), 108.82 (d), 114.47 (s), 116.54 (s), 118.17 (s), 124.93 (s), 127.38 (s), 129.17 (s), 138.77 (s), 145.42 (s), 146.26 (s), 146.56 (s), 147.80 (s), 155.83 (s). EI-MS *m/z* (%): 437 [M]<sup>+</sup> (38), 405 (3), 311 (100), 126 (9). *Anal.* Calcd for C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>: C, 57.67; H, 4.15; N, 3.20. Found: C, 57.48; H, 4.30; N, 3.37.

(±)-Isopiline (1a) A mixture of 9a (60.0 mg, 15.3 mmol), potassium carbonate (1.0 g), methanol (20 ml) and water (5 ml) was refluxed for 3 h. The solvent was then removed under vacuum and water (20 ml) and 10% sodium bicarbonate (20 ml) were added to the residue followed by extraction with chloroform (2×20 ml). Removal of the solvent gave a brown solid which was triturated with ethanol to give (±)-isopiline (1a) as a pale grey solid (29.3 mg, 64.7%), mp 170–171 °C. UV λ<sub>max</sub> (MeOH) nm (log ε): 214 (4.45), 220 sh (4.42), 232 sh (4.19), 274 (4.20), 291 sh (4.00), 309 (3.89). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 3583, 3305, 2931, 2849, 1587, 1490, 1463, 1445, 1418, 1380, 1338, 1305, 1267, 1226, 1196, 1152, 1110, 1086, 1052, 1025, 991, 960. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.72–3.25 (5H, m, H-5β, CH<sub>2</sub>×2), 3.39–3.49 (1H, m, H-5α), 3.83–3.94 (1H, m, H-6a), 3.88 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.95 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 7.14–7.34 (3H, m, Ar-H), 8.32 (1H, d, J=7.2 Hz, H-11). <sup>13</sup>C-NMR δ: 23.12 (t), 36.82 (t), 42.82 (t), 53.80 (d), 59.95 (q), 60.83 (q), 115.39 (s), 118.32 (s), 126.69 (d), 126.82 (d), 127.73 (d), 127.84 (d), 131.59 (s), 132.18 (s), 134.90 (s), 138.75 (s), 145.31 (s), 149.09 (s). EI-MS *m/z* (%): 297 [M]<sup>+</sup> (73), 296 (100), 266 (18). *Anal.* Calcd for C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>: C, 72.71; H, 6.44; N, 4.71. Found: C, 72.60; H, 6.54; N, 4.86.

(±)-Preocoteine (1b) A mixture of 9b (100.0 mg, 0.24 mmol) and lithium aluminium hydride (2.0 g) in dry tetrahydrofuran (40 ml) was refluxed for 3 h. Water (10 ml) was added dropwise followed by dilute ammonium hydroxide (25 ml). The pale yellow granular residue was filtered and washed with chloroform. The organic phase was separated and then dried over anhyd. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Removal of the solvent under vacuum gave a pale yellow-white solid which was recrystallized from benzene to give (±)-preocoteine (1b) as a pale yellow solid (66.6 mg, 74.5%), mp 179–180 °C. UV λ<sub>max</sub> (MeOH) nm (log ε): 219 (4.38), 271 sh (3.71), 281 (3.82), 308 (4.00), 319 (3.99). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 3400, 2937, 2846, 1609, 1593, 1515, 1463, 1430, 1397, 1375, 1347, 1310, 1284, 1253, 1226, 1215, 1195, 1115, 1082, 1058, 1036, 1014, 990, 971. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.70 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>), 2.68–3.36 (7H, m, CH, CH<sub>2</sub>×3), 3.87, 3.91 and 3.96 (12H, 3 s, O-CH<sub>2</sub>×4), 6.77 (1H, s, H-8), 7.96 (1H, s, H-11). <sup>13</sup>C-NMR δ: 21.72 (t), 30.34 (q), 33.06 (t), 52.60 (t), 55.91 (q), 56.03 (q), 60.08 (q), 60.87 (q), 62.24 (d), 111.03 (d), 111.73 (d), 115.92 (s), 117.28 (s), 124.31 (s), 126.93 (s), 135.80 (s), 139.06 (s), 145.01 (s), 147.52 (s), 147.69 (s), 148.07 (s). EI-MS *m/z* (%): 371 [M]<sup>+</sup> (100), 339 (35), 326 (17). *Anal.* Calcd for C<sub>21</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>2</sub>: C, 67.91; H, 6.78; N, 3.77. Found: C, 67.80; H, 6.85; N, 3.90.

1,9-Dihydroxy-2,3-dimethoxy-6-trifluoroacetylraporphine (9e) A solution of 9c (115.0 mg, 0.23 mmol) in ethanol (30 ml) was hydrogenolysed over 10% Pd/C (10.0 mg) at atmospheric pressure for 48 h. The catalyst was filtered and the solvent removed under vacuum. The resulting white residue was recrystallized from ethanol to give 9e as a pale brown solid (84.3 mg, 89.4%), mp 274–275 °C. UV λ<sub>max</sub> (MeOH) nm (log ε): 214 (4.64), 232 sh (4.39), 274 sh (4.25), 282 (4.28), 299 (4.16), 312 (4.08). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 3502, 3347, 2920, 2850, 1671, 1619, 1587, 1506, 1459, 1378, 1343, 1302, 1280, 1264, 1234, 1201, 1190, 1176, 1144, 1081, 1049, 1020, 973. <sup>1</sup>H-NMR (acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 2.57–3.13 (4H, m, CH<sub>2</sub>×2), 3.26–3.38 (1H, m, H-5β), 3.88 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.94 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.17–4.28 (1H, m, H-5α), 5.02 (1H, dd, J=5.1, 12.9 Hz, H-6a), 6.76–6.85 (2H, m, Ar-H), 8.31 (1H, d, J=8.4 Hz, H-11). <sup>13</sup>C-NMR (acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 24.10 (t), 33.70 (t), 41.32 (t), 52.69 (d), 60.53 (q), 60.92 (q), 113.95 (d), 115.24 (d), 117.02 (s), 118.00 (s), 118.60 (s), 123.72 (s), 127.20 (s), 130.06 (d), 136.95 (s), 139.46 (s), 146.20 (s), 148.15 (s), 155.73 (s), 156.16 (s). EI-MS *m/z* (%): 409 [M]<sup>+</sup> (29), 377 (7), 283 (100), 126 (3). *Anal.* Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>: C, 58.68; H, 4.43; N, 3.42. Found: C, 58.45; H, 4.60; N, 3.55.

(±)-Oureguattidine (1c) In a similar manner to 1a, (±)-oureguattidine (1c) was obtained in 86.5% yield as a brown solid, mp 228–229 °C. UV λ<sub>max</sub> (MeOH) nm (log ε): 209 sh (4.40), 221 (4.53), 269 sh (3.96), 303 (4.14), 314 (4.13). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 3412, 2922, 2850, 1610, 1463, 1420, 1380, 1341, 1298, 1227, 1195, 1154, 1120, 1085, 1048, 1026, 992. <sup>1</sup>H-NMR (pyridine-*d*<sub>5</sub>) δ: 2.81–3.06 (5H, m, H-5β, CH<sub>2</sub>×2), 3.39–3.49 (1H, m, H-5α), 3.86 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.88 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 4.00–4.15 (1H, m, H-6a), 7.21 (1H, d, J=2.6 Hz, H-8), 7.27 (1H, dd, J=2.6, 8.6 Hz, H-10), 9.03 (1H, d, J=8.6 Hz, H-11). <sup>13</sup>C-NMR (pyridine-*d*<sub>5</sub>) δ: 23.97 (t), 38.03 (t), 43.42 (t), 54.85 (d), 60.01 (q), 60.56 (q), 114.37 (d), 115.67 (d), 117.70 (s),

118.28 (s), 125.23 (s), 130.69 (d), 132.05 (s), 138.02 (s), 140.77 (s), 147.25 (s), 149.74 (s), 157.52 (s). EI-MS *m/z* (%): 313 [M]<sup>+</sup> (88), 312 (100), 282 (23). *Anal.* Calcd for C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>: C, 68.99; H, 6.11; N, 4.47. Found: C, 68.78; H, 6.30; N, 4.58.

(±)-3-Methoxynordomesticine (1d) In a similar manner to 1a, (±)-3-methoxynordomesticine (1d) was obtained in 78.6% yield as a pale brown solid, mp 206–208 °C. UV λ<sub>max</sub> (MeOH) nm (log ε): 213 (4.73), 234 sh (4.40), 271 sh (4.41), 281 (4.45), 295 (4.29), 310 sh (4.15). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film) cm<sup>-1</sup>: 3437, 2919, 2850, 1620, 1542, 1502, 1463, 1430, 1413, 1381, 1357, 1303, 1292, 1255, 1228, 1196, 1148, 1126, 1096, 1039, 982, 932. <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.58–3.00 (6H, m, CH<sub>2</sub>×3), 3.35–3.44 (1H, m, H-6a), 3.87 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 3.94 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>), 5.95 (2H, ABq, J=1.4 Hz, O-CH<sub>2</sub>-O), 6.72 (1H, s, H-8), 7.90 (1H, s, H-11). <sup>13</sup>C-NMR δ: 23.51 (t), 37.29 (t), 42.99 (t), 54.02 (d), 59.93 (q), 60.81 (q), 100.78 (t), 108.14 (d), 108.66 (d), 115.53 (s), 118.63 (s), 125.74 (s), 129.49 (s), 131.87 (s), 138.58 (s), 144.48 (s), 145.69 (s), 146.21 (s), 148.61 (s). EI-MS *m/z* (%): 341 [M]<sup>+</sup> (87), 340 (100), 310 (22). *Anal.* Calcd for C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>: C, 66.85; H, 5.61; N, 4.10. Found: C, 66.68; H, 5.84; N, 4.03.

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) MIC of (±)-3-methoxynordomesticine was determined by NCCLS microbroth dilution methods.<sup>13</sup> (±)-3-Methoxynordomesticine was weighed and dissolved in DMSO to make a solution of concentration 2.56 mg/ml. From this stock solution two-fold serial dilution has been carried out to give a series of solutions from 256 to 0.50 μg/ml with culture medium in 96-well microplates (100 μl of total volume). Three different microorganisms were selected viz. *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Escherichia coli* ATCC10536 and *Candida albicans* ATCC90028. They were subcultured on nutrient broth supplemented with 10% glucose (NBG) (for bacteria) or Sabouraud glucose broth (for yeast) and incubated at 37 °C for 24 h. A final concentration of 1×10<sup>8</sup> cfu/ml of test bacteria or yeast was added to each dilution. The plates were incubated at 37 °C for 48 h. MIC was defined as the lowest concentration of the test agent that inhibited bacterial or yeast growth, as indicated by the absence of turbidity. Test agent-free broth containing 5% DMSO was incubated as the growth control. Minimum microbicidal concentration (MMC) was determined by inoculating onto nutrient agar plates (for bacteria) or Sabouraud agar plates (for yeast) a 100 μl of medium from each of the wells from the MIC test which showed no turbidity. MMCs were defined as the lowest concentration of the test agent where there was no microbial growth on the plates.

Anti-inflammatory Activity Murine macrophage RAW 264.7 cell line obtained from American Type Culture Collection (ATCC, Maryland, U.S.A.), was maintained in DMEM supplemented with 10% heat inactivated FBS, penicillin G (100 IU/ml), streptomycin (100 mg/ml), and L-glutamine (2 mM) and incubated at 37 °C in a humidified atmosphere containing 5% CO<sub>2</sub>. Cells (1×10<sup>6</sup>/ml) were pre-incubated 2 h with (±)-3-methoxynordomesticine (1, 2.5, 5 μg/ml) and further cultured 24 h with LPS (1 μg/ml) in 24-well plates. Supernatants were removed at the allotted times and NO, PGE<sub>2</sub>, TNF-α, IL-1β and IL-6 levels were quantified by immunoassay kits according to the manufacturer's protocols (Assay Designs' Correlate-EIA™, Stressgen, U.S.A.), respectively.

Western blot Cellular proteins were extracted from the control and (±)-3-methoxynordomesticine-treated RAW 264.7 cells. The washed cell pellets were resuspended in lysis buffer (50 mM HEPES pH 7.0, 250 mM NaCl, 5 mM EDTA, 0.1% Nonidet P-40, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 0.5 mM dithiothreitol, 5 mM NaF, 0.5 mM Na orthovanadate) containing 5 μg/ml each of leupeptin and aprotinin and incubated for 15 min at 4 °C. Cell debris was removed by microcentrifugation, followed by quick freezing of the supernatants. Protein concentration was determined by BioRad protein assay reagent according to the manufacturer's instruction, 40–50 μg of cellular proteins from treated and untreated cell extracts were electrophoresed onto nitrocellulose membrane following separation on a 10% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. The immunoblot was incubated overnight with the blocking solution (5% skim milk) at 4 °C, followed by incubation for 4 h with a 1:500 dilution of monoclonal anti-iNOS and COX-2 antibody (Santa Cruz, CA, U.S.A.). Blots were washed 2 times with PBS and incubated with a 1:1000 dilution of horseradish peroxidase-conjugated goat anti-mouse IgG secondary antibody (Santa Cruz, CA, U.S.A.) for 1 h at room temperature. Blots were again washed three times in Tween 20/Tris-buffered saline (TTBS) and then developed by enhanced chemiluminescence (Amersham Life Science, Arlington Heights, IL, U.S.A.). Cytotoxicity assay. 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) cytotoxicity assay was performed according to the method previously described.<sup>14</sup> MTT solution was added at a concentration of 50 μg/ml into each well, which also contain 1, 2.5 and 5 μg/ml of (±)-3-methoxynordomes-

ticine. After 4 h of incubation at 37 °C, the medium was discarded and the formazan blue, which formed in the cells, was dissolved in 50  $\mu$ l DMSO. The optical density at 540 nm was determined with a microplate reader. The optical density of formazan formed in control (untreated) cells was taken as 100% of viability.

#### References

- 1) Shulgin A. T., Perry W. E., "The Simple Plant Isoquinolines," Transform Press, Berkeley, 2002, pp. 385—390.
- 2) Kurosawa K., Ollis W. D., Sutherland I. O., Gottlieb O. R., de Oliveira A. B., *Phytochemistry*, **17**, 1389—1394 (1978).
- 3) Benington F., Morin R. D., Clark L. C., *J. Org. Chem.*, **24**, 917—919 (1959).
- 4) Hocquemiller R., Cabalion P., Fournet A., Cave A., *Planta Med.*, **50**, 23—25 (1984).
- 5) Shamma M., Shine R. J., Dudock B. S., *Tetrahedron*, **23**, 2887—2892 (1967).
- 6) Leboeuf M., Cortes D., Hocquemiller R., Cave A., *Planta Med.*, **48**, 234—245 (1983).
- 7) Castro O., Hasbun C., Calderon M., *Fitoterapia*, **62**, 72—73 (1991).
- 8) Estevez J. C., Villaverde M. C., Estevez R. J., Castedo L., *Tetrahedron*, **50**, 2107—2114 (1994).
- 9) Mannel D. N., Echtenacher B., *Chem. Immunol.*, **74**, 141—161 (2000).
- 10) Burger A. P. N., Brandt E. V., Roux D. G., *Phytochemistry*, **22**, 2813—2817 (1983).
- 11) Raiford L. C., Wells E. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **57**, 2500—2503 (1935).
- 12) Chen C.-M., Fu Y.-F., Yang T.-H., *J. Nat. Prod.*, **58**, 1767—1771 (1995).
- 13) National Committee for Clinical Laboratory Standards, "Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard M27-A," National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, 1997.
- 14) Mosmann T., *J. Immunol. Methods*, **65**, 55—63 (1983).

**molecules**

ISSN 1420-3049

www.mdpi.com/journal/molecules

Article

## Total Syntheses of Telisatin A, Telisatin B and Lettowianthine

Surachai Nimgirawath \* and Phansuang Udomputtimekakul

Department of Chemistry, Faculty of Science, Silpakorn University; Nakorn Pathom 73000, Thailand;  
E-mail: Phansuang@yahoo.com (P.U.)

\* Author to whom correspondence should be addressed; E-mail: surachai@su.ac.th.

Received: 2 February 2009; in revised form: 17 February 2009/ Accepted: 26 February 2009 /

Published: 26 February 2009

---

**Abstract:** Treatment of 1-(2-bromoaryl)methyl)-3,4-dihydroisoquinolines with oxalyl chloride and triethylamine gave 1-(2-bromophenyl)-5,6-dihydropyrrolo[2,1-a]isoquinoline-2,3-dione derivatives, for example, 1-(2-bromophenyl)-5,6-dihydro-8,9-dimethoxypyrrolo[2,1-a]isoquinoline-2,3-dione. Radical cyclisation of these derivatives with tributyltin hydride and 1,1'-azobis(cyclohexanecarbonitrile) afforded telisatin A, telisatin B and lettowianthine.

**Keywords:** Alkaloid; Dioxoaporphine; Isoquinoline; Radical cyclisation; Synthesis.

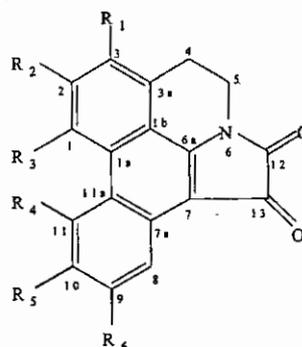
---

### Introduction

The telisatin-type aporphine alkaloids form a very small sub-group of the aporphine alkaloids in which N-6 and C-7 are fused to an oxalyl function. To date only five members of this type of aporphine alkaloids have been found to occur in Nature. These are telisatin A (1) and telisatin B (2) from *Telitoxicum peruvianum* Moldenke (Menispermaceae) [1], lettowianthine (3) and 11-methoxy-lettowianthine (4) from *Lettowianthus stellatus* Diels (Annonaceae) [2], and laurdionine (5) from *Phoebe formosana* Hayata (Lauraceae) [3]. Annonbraine, isolated from *Annona glaba* L (Annonaceae), was also assigned the same structure as lettowianthine (3), although there was a big difference in the melting points of the two alkaloids [4]. The structure of telisatin A was elucidated by comparison of spectral data and physical properties with a synthetic compound obtained by Saa and

Cava [5], Castedo *et al.* [6] and Saa *et al.* [7]. The structures of the remaining alkaloids were assigned based on spectral data analysis.

**Figure 1.** Structures of telisatin A (1), telisatin B (2), lettowianthine (annonbraine) (3), 11-methoxylettowianthine (4) and laurodionine (5).



- 1 :  $R_1 = R_4 = R_5 = R_6 = H, R_2 = R_3 = OCH_3$  (telisatin A)  
 2 :  $R_1 = R_2 = R_3 = OCH_3, R_4 = R_5 = R_6 = H$  (telisatin B)  
 3 :  $R_1 = R_4 = R_5 = R_6 = H, R_2 + R_3 = OCH_2O$  (lettowianthine, annonbraine)  
 4 :  $R_1 = R_5 = R_6 = H, R_2 + R_3 = OCH_2O, R_4 = OCH_3$  (11-methoxylettowianthine)  
 5 :  $R_1 = R_4 = H, R_2 = R_6 = OH, R_3 = R_5 = OCH_3$  (laurodionine)

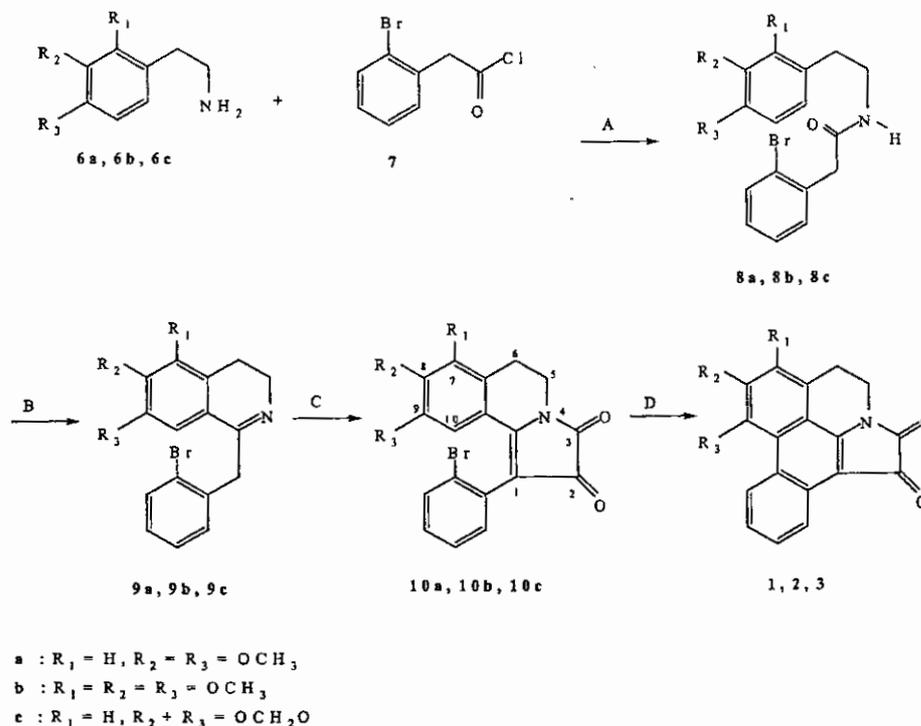
At present there are only two total syntheses of telisatin A reported by Castedo *et al.* [6] and by Saa *et al.* [7]. The first method involved photochemical cyclisation in reasonably good yield (60%) of a very dilute (0.001 M) solution of 1-(2-bromophenyl)-5,6-dihydro-8,9-dimethoxypyrrolo[2,1-a]isoquinoline-2,3-dione (10a) [6]. This method has obvious inherent limitations with regards to its scalability and convenience. The second method, based on benzyne cycloaddition, gave a low yield (10%) [7]. A partial synthesis reported by Saa and Cava involved acylation of 6a,7-dehydronuciferine with oxalyl chloride [5]. Since 6a,7-dehydroaporphines themselves are not readily accessible, this method therefore lacks generality and convenience.

## Results and Discussion

We would like to report herein an extension of the first method described by Castedo *et al.* [6], shown in Scheme 1. Amides 8a-8c, obtained by conventional methods, were converted by a Bischler-Napieralski reaction to dihydroisoquinolines 9a-9c. We found that 1-(2-bromophenyl)-5,6-dihydropyrrolo[2,1-a]-isoquinoline-2,3-dione derivatives 10a-10c could be more conveniently prepared by the reaction of dihydroisoquinolines 9a-9c with oxalyl chloride in the presence of triethylamine with straightforward workup [8]. The antiplatelet activity of such 1-aryl-5,6-dihydropyrrolo[2,1-a]-isoquinoline-2,3-dione derivatives has been reported [9]. To overcome the limitations of photochemical cyclisation under extreme dilution and based on previous reports on the radical cyclisation of halostilbenes to phenanthrenes [10-14], solutions (0.025 M) of 1-(2-

bromophenyl)-5,6-dihydropyrrolo[2,1-a]isoquinoline-2,3-dione derivatives **10a-10c** were treated with tributyltin hydride in the presence of 1,1'-azobis(cyclohexanecarbonitrile) (ACCN) to give the corresponding telisatin-type alkaloids in 30-34% yields.

**Scheme 1.** Syntheses of telisatin A (**1**), telisatin B (**2**) and lettowianthine (**3**).



*Reaction conditions:* A) 10 %  $NaHCO_3$ / chloroform; B)  $POCl_3$ / benzene; C) oxalyl chloride, triethylamine/ chloroform; D)  $Bu_3SnH$ , ACCN/ dry toluene.

Fortunately, in all cases, it was possible to isolate the pure alkaloids from the crude reaction mixtures by simple crystallization from ethanol. Silica gel chromatography of the residues from the filtrates afforded only minute quantities of the pure alkaloids and was therefore not pursued any further. Comparison of the yields from radical cyclisation using ACCN with those obtained using 2,2'-azobis(isobutyronitrile)(AIBN) was not possible since AIBN is no longer commercially available in Thailand. The spectral data of synthetic telisatin A (**1**), telisatin B (**2**) and lettowianthine (**3**) were in good agreement to those reported for the natural alkaloids.

## Conclusions

We have developed an easy and convenient synthesis of the telisatin-type alkaloids. Further applications of the current synthesis to the remaining telisatin-type alkaloids are in progress.

## Experimental

### General

Melting points were determined on a Stuart Scientific SMP 2 melting point apparatus and are uncorrected. Infrared spectra were recorded on CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-films with a Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR spectrophotometer. Ultraviolet spectra were recorded on methanol solutions with a Hitachi U-3300 spectrophotometer. <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR spectra were recorded for deuteriochloroform solutions at 300 MHz for <sup>1</sup>H and 75 MHz for <sup>13</sup>C with a Bruker AVANCE 300 spectrometer. Tetramethylsilane was used as the internal standard. High Resolution Mass spectra were recorded with a Bruker Daltonics MicrOTOF mass spectrometer.

*N*-(3,4-Dimethoxyphenethyl)-2-(2-bromophenyl)acetamide (**8a**). A mixture of 2-bromophenylacetic acid (15.0 g, 0.07 mol) and thionyl chloride (20.8 g) in benzene (50 mL) was refluxed for 1 h. Removal of the solvent under vacuum gave 2-bromophenylacetyl chloride (**7**) which was dissolved in ethanol-free chloroform (50 mL) and added to a mixture of 3,4-dimethoxyphenethylamine (**6a**, 12.7 g, 0.07 mol) in chloroform (100 mL) and 10% sodium hydrogen carbonate (100 mL). The mixture was then stirred for 3 h and the chloroform layer was washed with water (2 × 100 mL), 10% hydrochloric acid (3 × 50 mL), water (100 mL), then dried over anhydrous sodium sulfate. Removal of the solvent under vacuum gave a residue which was recrystallized from ethanol to give amide **8a** as a pale yellow solid (22.0 g, 88.1%); m.p. 131-132 °C (Lit. [15] m.p. 127-129 °C); <sup>1</sup>H-NMR: δ 7.54 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, Ar-H); 7.30-7.22 (2H, m, Ar-H); 7.18-7.09 (1H, m, Ar-H); 6.72 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, Ar-H); 6.63 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, Ar-H); 6.60 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.9 Hz, Ar-H); 5.58 (1H, s, NH); 3.85 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.82 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.66 (2H, s, CH<sub>2</sub>); 3.47 (2H, apparent q, *J* = 6.8 Hz, CH<sub>2</sub>); 2.71 (2H, apparent t, *J* = 7.0 Hz, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR: δ 169.48(C), 148.98(C), 147.60(C), 134.79(C), 133.03(CH), 131.63(CH), 131.10(C), 129.04(CH), 127.92(CH), 124.94(C), 120.58(CH), 111.79(CH), 111.32(CH), 55.91(OCH<sub>3</sub>), 55.82 (OCH<sub>3</sub>), 43.99(CH<sub>2</sub>), 40.81(CH<sub>2</sub>), 34.99(CH<sub>2</sub>).

*N*-(2,3,4-Trimethoxyphenethyl)-2-(2-bromophenyl)acetamide (**8b**). In a similar manner, **8b** was obtained in 78.8% yield as a pale yellow solid from ethanol; m.p. 92-93 °C; <sup>1</sup>H-NMR: δ 7.57 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, Ar-H); 7.33-7.25 (2H, m, Ar-H); 7.19-7.12 (1H, m, Ar-H); 6.72 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, Ar-H); 6.54 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, Ar-H); 5.83 (1H, br s, NH); 3.88 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.83 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.79 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.67 (2H, s, CH<sub>2</sub>); 3.43 (2H, apparent q, *J* = 6.4 Hz, CH<sub>2</sub>); 2.70 (2H, apparent t, *J* = 6.7 Hz, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR: δ 169.58(C), 152.59(C), 151.74(C), 142.19(C), 134.91(C), 133.05(CH), 131.78(CH), 128.97(CH), 127.89(CH), 125.10(C), 124.69(C), 124.46(CH), 107.42(CH), 60.92(OCH<sub>3</sub>), 60.75(OCH<sub>3</sub>), 56.01(OCH<sub>3</sub>), 44.05 (CH<sub>2</sub>), 40.91(CH<sub>2</sub>), 29.47(CH<sub>2</sub>).

*N*-(3,4-Methylenedioxyphenethyl)-2-(2-bromophenyl)acetamide (**8c**). In a similar manner, **8c** was obtained in 82.5% yield as a pale yellow solid from ethanol; m.p. 124-126 °C (Lit. [16] m.p. 128-130 °C); <sup>1</sup>H-NMR: δ 7.56 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, Ar-H); 7.33-7.25 (2H, m, Ar-H); 7.19-7.11 (1H, m, Ar-H); 6.65 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, Ar-H); 6.55 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, Ar-H); 6.48 (1H, dd, *J* = 7.9, 1.6 Hz, Ar-H); 5.91 (2H, s, OCH<sub>2</sub>O); 5.48 (1H, br s, NH); 3.66 (2H, s, CH<sub>2</sub>); 3.42 (2H, apparent q, *J* = 6.7 Hz, CH<sub>2</sub>);

2.65 (2H, apparent t,  $J = 6.7$  Hz, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  169.44(C), 147.72(C), 146.11(C), 134.80(C), 133.13(CH), 132.35(C), 131.67(CH), 129.09(CH), 127.97(CH), 124.98(C), 121.57(CH), 109.04(CH), 108.30(CH), 100.85(CH<sub>2</sub>), 44.04(CH<sub>2</sub>), 40.87(CH<sub>2</sub>), 35.15(CH<sub>2</sub>).

*1-(2-Bromobenzyl)-3,4-dihydro-6,7-dimethoxyisoquinoline (9a)*. A solution of **8a** (5.5 g, 14.6 mmol) and phosphorus oxychloride (17.0 g) in benzene (60 mL) was refluxed for 3 h. The excess reagent and solvent were removed under vacuum. The residue was shaken with chloroform (100 mL) and dilute ammonium hydroxide (100 mL). The chloroform layer was washed with water (100 mL), then dried over anhydrous sodium carbonate. Removal of the solvent under vacuum gave dihydroisoquinoline **9a** as a pale yellow solid (3.9 g, 75.8%) from ethyl acetate-hexane; m.p. 95-96 °C (Lit. [15] m.p. 93-95 °C). It was found to be unstable and was immediately used in the next step without further purification. <sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  7.56 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.3$  Hz, Ar-H); 7.27 (1H, dd,  $J = 7.6, 1.7$  Hz, Ar-H); 7.18 (1H, dt,  $J = 7.6, 1.3$  Hz, Ar-H); 7.05 (1H, dt,  $J = 7.6, 1.7$  Hz, Ar-H); 6.91 (1H, s, Ar-H); 6.67 (1H, s, Ar-H); 4.20 (2H, s, Ar-CH<sub>2</sub>); 3.88 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.79 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.73 (2H, t,  $J = 7.6$  Hz, CH<sub>2</sub>); 2.67 (2H, t,  $J = 7.6$  Hz, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 165.08(C), 150.76(C), 147.43(C), 137.66(C), 132.78(CH), 131.59(C), 130.21 (CH), 128.18(CH), 127.62(CH), 124.54(C), 121.41(C), 110.25(CH), 109.15(CH), 56.16(OCH<sub>3</sub>), 55.92(OCH<sub>3</sub>), 47.29(CH<sub>2</sub>), 42.53(CH<sub>2</sub>), 25.73(CH<sub>2</sub>).

*1-(2-Bromobenzyl)-3,4-dihydro-5,6,7-trimethoxyisoquinoline (9b)*. In a similar manner, **9b** was obtained in almost quantitative yield as a yellow viscous oil. <sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  7.55 (1H, dd,  $J = 7.9, 1.2$  Hz, Ar-H); 7.30-7.26 (1H, m, Ar-H); 7.20-7.15 (1H, m, Ar-H); 7.09-7.01 (1H, m, Ar-H); 6.78 (1H, s, H-8); 4.19 (2H, s, Ar-CH<sub>2</sub>); 3.88 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.83 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.78 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.71 (2H, t,  $J = 7.6$  Hz, CH<sub>2</sub>); 2.67 (2H, t,  $J = 7.6$  Hz, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  164.68(C), 151.69(C), 149.88(C), 144.17 (C), 137.63(C), 132.77(CH), 130.23(CH), 128.19(CH), 127.61(CH), 124.52(C), 124.46(C), 124.09(C), 105.63(CH), 60.88(OCH<sub>3</sub>), 60.83(OCH<sub>3</sub>), 56.19(OCH<sub>3</sub>), 47.09 (CH<sub>2</sub>), 42.58(CH<sub>2</sub>), 18.99(CH<sub>2</sub>).

*1-(2-Bromobenzyl)-3,4-dihydro-6,7-methylenedioxyisoquinoline (9c)*. In a similar manner, **9c** was obtained in 42.1% yield from ethanol as a pale yellow solid; m.p. 122-123 °C (Lit. [16] m.p. 121-123 °C); <sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  7.52 (1H, dd,  $J = 7.8, 1.0$  Hz, Ar-H); 7.22-7.12 (2H, m, Ar-H); 7.06- 6.98 (1H, m, Ar-H); 6.89 (1H, s, Ar-H); 6.61 (1H, s, Ar-H); 5.86 (2H, s, OCH<sub>2</sub>O); 4.09 (2H, s, Ar-CH<sub>2</sub>); 3.65 (2H, t,  $J = 7.6$  Hz, CH<sub>2</sub>); 2.60 (2H, t,  $J = 7.6$  Hz, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  164.65(C), 149.08(C), 146.44(C), 137.55(C), 133.38(C), 132.79 (CH), 130.30(CH), 128.14(CH), 127.50(CH), 124.79(C), 122.77(C), 107.98(CH), 106.02(CH), 101.31(CH<sub>2</sub>), 47.09(CH<sub>2</sub>), 42.55(CH<sub>2</sub>), 26.33(CH<sub>2</sub>).

*1-(2-Bromophenyl)-5,6-dihydro-8,9-dimethoxypyrolo[2,1-a]isoquinoline-2,3-dione (10a)*. Oxalyl chloride (0.2 mL) was added dropwise to a stirred solution of **9a** (359 mg, 1 mmol), triethylamine (0.3 mL) in chloroform (10 mL) at room temperature. Stirring was continued for 3 h. Chloroform (20 mL) was added and the chloroform layer was washed with 5% hydrochloric acid (4 × 50 mL), water (50 mL), then dried over anhydrous sodium sulfate. Removal of the solvent under vacuum gave a residue which was recrystallized from ethanol to give **10a** as red prisms (247.8 mg, 60.0%); m.p. 195-196 °C. (lit. [6] m.p. 176-178 °C); UV  $\lambda_{\text{max}}$  (MeOH) nm (log  $\epsilon$ ): 203 (4.36), 226sh (4.12), 262 (3.76), 322

(3.65). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 2937, 2843, 1744, 1699, 1594, 1575, 1515, 1472, 1428, 1398, 1337, 1312, 1291, 1270, 1225, 1187, 1101, 1034, 987, 865, 798, 735, 683; <sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  7.70 (1H, dd,  $J$  = 8.0, 0.9 Hz, Ar-H); 7.44-7.37 (1H, m, Ar-H); 7.34-7.29 (1H, m, Ar-H); 7.29-7.22 (1H, m, Ar-H); 6.77 (1H, s, Ar-H); 6.66 (1H, s, Ar-H); 3.95 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.89 (2H, t,  $J$  = 6.3 Hz, CH<sub>2</sub>); 3.29 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.10 (2H, t,  $J$  = 6.3 Hz, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  181.59(C), 158.50(C), 158.35(C), 153.80(C), 148.14(C), 133.17(CH), 133.09(C), 132.83(CH), 132.41(C), 129.96(CH), 128.06(CH), 125.82(C), 116.68(C), 111.29(CH), 107.80(C), 56.27(OCH<sub>3</sub>), 55.17(OCH<sub>3</sub>), 36.37(CH<sub>2</sub>), 28.37(CH<sub>2</sub>). HRMS (ESI-TOF) calcd for C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>BrNO<sub>4</sub> ([M+H<sup>+</sup>]) = 414.0335, Found 414.0438.

*1-(2-Bromophenyl)-5,6-dihydro-7,8,9-trimethoxyppyrolo[2,1-a]isoquinoline-2,3-dione (10b)*. In a similar manner, **10b** was obtained as a deep red solid in 68.2% yield after chromatography over alumina using dichloromethane as eluent; m.p. 69-70 °C; UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 203 (4.66), 226sh (4.38), 258 (3.95), 332 (3.93); IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 2939, 2837, 1746, 1702, 1592, 1576, 1467, 1425, 1397, 1342, 1298, 1248, 1182, 1109, 1024, 986, 939, 914, 845, 752; <sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  7.71 (1H, dd,  $J$  = 8.0, 0.9 Hz, Ar-H); 7.44-7.35 (1H, m, Ar-H); 7.32-7.23 (2H, m, Ar-H); 6.53 (1H, s, Ar-H); 3.94 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.88 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.93-3.73 (2H, m, CH<sub>2</sub>); 3.27 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.20-3.00 (2H, m, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  182.05(C), 158.07(C), 152.24(C), 150.56(C), 147.02(C), 133.21(CH), 132.70(CH), 132.25(C), 130.03(CH), 128.08(CH), 125.77(C), 125.48(C), 119.38(C), 108.64(C), 108.53(CH), 105.68(C), 61.12(OCH<sub>3</sub>), 61.08(OCH<sub>3</sub>), 55.21(OCH<sub>3</sub>), 36.19(CH<sub>2</sub>), 21.67(CH<sub>2</sub>). HRMS (ESI-TOF) calcd for C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>BrNO<sub>5</sub> ([M+H<sup>+</sup>]) = 444.0441, Found 444.0519.

*1-(2-Bromophenyl)-5,6-dihydro-8,9-methylenedioxyppyrolo[2,1-a]isoquinoline-2,3-dione (10c)*. In a similar manner, **10c** was obtained in 47.7% yield from ethanol as a deep red prisms; m.p. 226-227 °C; UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 203 (4.64), 236sh (4.18), 261sh (3.88), 284 (3.77), 320 (3.67), 388 (3.64); IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 3056, 2906, 1744, 1698, 1608, 1568, 1505, 1467, 1403, 1378, 1338, 1316, 1286, 1249, 1181, 1036, 938, 868, 748, 736; <sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  7.71-7.66 (1H, m, Ar-H); 7.42-7.36 (1H, m, Ar-H); 7.31-7.23 (2H, m, Ar-H); 6.79 (1H, s, Ar-H); 6.56 (1H, s, Ar-H); 6.00 (2H, AB q,  $J$  = 1.1 Hz, OCH<sub>2</sub>O); 3.94-3.77 (2H, m, CH<sub>2</sub>); 3.07 (2H, t,  $J$  = 6.3 Hz, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  181.94(C), 158.10(C), 157.94(C), 152.47(C), 147.37(C), 135.17(C), 133.43(CH), 132.43(CH), 131.68(C), 130.13(CH), 128.14(CH), 125.35(C), 118.23(C), 109.28(CH), 108.50(CH), 108.23(C), 102.25(CH<sub>2</sub>), 36.20(CH<sub>2</sub>), 29.24(CH<sub>2</sub>). HRMS (ESI-TOF) calcd for C<sub>19</sub>H<sub>12</sub>BrNO<sub>4</sub> ([M+H<sup>+</sup>]) = 398.0022, Found 397.9895.

*Telisatin A (1)*. A solution of 1,1'-azobis(cyclohexanecarbonitrile) (245.0 mg, 1.0 mmol) and tributyltin hydride (1.2 g, 4.0 mmol) in toluene (20 mL) was added dropwise in four equal portions over 3 h to a refluxing solution of **10a** (413.0 mg, 1.0 mmol) in toluene (20 mL) and the resulting mixture was then refluxed for another 8 h. The solvent was then removed under vacuum and the residue was dissolved in acetonitrile (40 mL) and washed with hexane (2 × 30 mL), then dried over anhydrous sodium sulfate. Removal of the solvent gave a brown viscous oil (0.4 g) which was recrystallized with ethanol to give telisatin A (**1**) as red prisms (109.9 mg, 33.0%); m.p. 234-235 °C (Lit. [1] m.p. 238-239 °C); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 207 (4.03), 257 (4.26), 284sh (3.60), 322

(3.70), 336 (3.80), 352sh (3.56); IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 2925, 1748, 1701, 1605, 1584, 1531, 1462, 1423, 1386, 1306, 1261, 1195, 1149, 1131, 1112, 1037, 969, 924, 802, 759. <sup>1</sup>H-NMR  $\delta$ : 9.41 (1H, br d,  $J = 8.5$  Hz, H-11); 8.63 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz, H-8); 7.67-7.60 (1H, m, H-9); 7.54-7.46 (1H, m, H-10); 7.17 (1H, s, H-3); 4.10 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.97 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz, CH<sub>2</sub>); 3.95 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); 3.35 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  179.98(C), 160.34(C), 157.15(C), 153.36(C), 146.65(C), 130.75(C), 129.35(C), 129.21(CH), 128.33(CH), 127.56(C), 125.87(C), 125.62(CH), 123.76(CH), 112.29(CH), 112.18(C), 103.17(C), 59.99(OCH<sub>3</sub>), 56.62(OCH<sub>3</sub>), 36.53(CH<sub>2</sub>), 27.68(CH<sub>2</sub>). HRMS (ESI-TOF) calcd for C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub> ([M+H<sup>+</sup>]) = 334.1074, Found 334.1125.

*Telisatin B* (2). In a similar manner, telisatin B (2) was obtained as deep red prisms (30.0%) from ethanol; m.p. 218-219 °C (Lit.[1] m.p. 221-222 °C); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 203 (4.33), 223sh (4.26), 257 (4.59), 318sh (3.99), 329 (4.07); IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 2942, 2864, 1749, 1716, 1702, 1619, 1607, 1579, 1527, 1515, 1452, 1406, 1389, 1323, 1146, 1125, 1071, 1033, 973, 814, 757; <sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  9.37 (1H, br d,  $J = 8.5$  Hz, H-11), 8.60 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.3$  Hz, H-8), 7.64-7.56 (1H, m, H-9), 7.55-7.45 (1H, m, H-10), 4.14 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.03 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.01 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 3.91 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.33 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR:  $\delta$  180.69(C), 159.86(C), 152.58(C), 152.16(C), 152.03(C), 150.16(C), 128.71(CH), 127.53(CH), 126.63(C), 126.38(C), 126.11(C), 125.78(CH), 123.66(CH), 121.18(C), 114.14(C), 104.17(C), 61.47(OCH<sub>3</sub>), 61.30(OCH<sub>3</sub>), 60.48(OCH<sub>3</sub>), 36.14(CH<sub>2</sub>), 21.21(CH<sub>2</sub>); HRMS (ESI-TOF) calcd for C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub> ([M+H<sup>+</sup>]) = 364.1179, Found 364.1231.

*Lettowianthine* (3). In a similar manner, lettowianthine (3) was obtained as red prisms (34.0%); m.p. 294-295 °C (dec.) (Lit. [2] m.p. 314-317 °C (dec.); Lit.[4] m.p. 265-267 °C); UV (MeOH)  $\lambda_{\max}$  nm (log  $\epsilon$ ): 203 (4.37), 212sh (4.29), 247sh (4.07), 257sh (4.04), 287 (3.64), 335 (3.51), 353 (3.28). IR (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-film)  $\nu_{\max}$  cm<sup>-1</sup>: 2923, 2093, 1737, 1695, 1622, 1610, 1581, 1530, 1506, 1450, 1417, 1301, 1253, 1222, 1176, 1151, 1122, 1050, 927, 867, 749; <sup>1</sup>H-NMR:  $\delta$  8.80 (1H, br d,  $J = 8.6$  Hz, H-11), 8.55 (1H, br d,  $J = 7.6$  Hz, H-8), 7.61 (1H, t,  $J = 6.9$  Hz, H-9), 7.48 (1H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-10), 7.09 (1H, s, H-3), 6.35 (2H, s, OCH<sub>2</sub>O), 3.93 (2H, t,  $J = 6.2$  Hz, CH<sub>2</sub>), 3.29 (2H, t,  $J = 6.2$  Hz, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C-NMR  $\delta$ : 179.92(C), 160.33(C), 153.68(C), 151.55(C), 143.08(C), 129.61(C), 129.33(CH), 127.62(CH), 126.83(C), 125.35(CH), 124.45(C), 123.60(CH), 119.90(C), 112.46(C), 109.23(CH), 103.10(C), 102.35(CH<sub>2</sub>), 36.66(CH<sub>2</sub>), 27.51(CH<sub>2</sub>); HRMS (ESI-TOF) calcd for C<sub>19</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub> ([M+H<sup>+</sup>]) = 318.0761, Found 318.0666.

## References

1. Menachery, M.D.; Blake, G.W.; Gourley, R.C.; Freyer, A. Telisatin A, telisatin B, and telitoxinone, three new aporphinoids from *Telotoxicum peruvianum*. *J. Nat. Prod.* **1995**, *58*, 1945-1949.
2. Nkonya, M.H.H.; Jonker, S.A.; Makangara, J.J.; Waibel, R.; Achenbach, H. Aporphinoid alkaloids and other constituents from *Lettowianthus stellatus*. *Phytochemistry* **2000**, *53*, 1067-1073.

3. Chen, C.-C.; Huang, Y.-L.; Lee, S.-S.; Ou, J.-C. Laurodionine, a new oxalyl-fused aporphine alkaloid from *Phoebe formosana*. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 826-827.
4. Chang, F.-R.; Chen, C.-Y.; Hsieh, T.-J.; Cho, C.-P.; Wu, Y.-C. Chemical constituents from *Annona glabra* III. *J. Chin. Chem. Soc.* **2000**, *47*, 913-920.
5. Saa, J.M.; Cava, M.P. Dehydroaporphines. An acylation study. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 1096-1099.
6. Castedo, L.; Saa, C.; Saa, J.M.; Suau, R. Synthesis of oxoaporphines. An unusual photocyclization-photo-reduction of 2,3-diaryl- $\Delta^2$ -pyrroline-4,5-diones. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 513-517.
7. Saa, C.; Guitian, E.; Castedo, L.; Suau, R.; Saa, J.M. A regioselective entry to 13-substituted 8-oxoprotuberberines. Total synthesis of ( $\pm$ )-corydaline. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2781-2784.
8. Mikhailovskii, A.G. Reactions of 2,3-dioxopyrrolo[2,1-a]isoquinolines with sodium borohydride and the properties of its products. *Chem. Heterocycl. Comp.* **1996**, *32*, 590-595.
9. Kuo, R.-Y.; Wu, C.-C.; Chang, F.-R.; Yeh, J.-L.; Chen, I.-J.; Wu, Y.-C. Antiplatelet activity of synthetic pyrrolo-benzylisoquinolines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 821-823.
10. Harrowven, D.C.; Nunn, M.I.T.; Fenwick, D. R. Radical cyclisations to arenes for the synthesis of phenanthrenes. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3185-3187.
11. Harrowven, D.C.; Nunn, M.I.T.; Fenwick, D. R. [5]Helicenes by iterative radical cyclisations to arenes. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3189-3191.
12. Harrowven, D.C.; Nunn, M.I.T.; Fenwick, D.R. [5]Helicenes by tandem radical cyclisation. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 7345-7347.
13. Wang, Y.-C.; Lin, C.-H.; Chen, C.-M.; Liou, J.-P. A concise synthesis of denbinobin. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8103-8104.
14. Abbate, S.; Bazzini, C.; Caronna, T.; Fontana, F.; Gambarotti, C.; Gangemi, F.; Longhi, G.; Mele, A.; Sora, I.N.; Panzeri, W. Monoaza[5]helicenes. Part 2: synthesis, characterisation and theoretical calculations. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 139-148.
15. Niimi, J. Syntheses of biscoclaurine alkaloids. IV. Synthesis of *dl*-2,4'-bis(2-methyl-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydro-1-isoquinolylmethyl)diphenyl ether. *Yakugaku Zasshi* **1960**, *80*, 123-126.
16. Nimgirawath, S.; Taylor, W.C. Photochemical synthesis of 8*H*-Benzo[*g*]-1,3-benzodioxolo-[6,5,4-*de*]quinolin-8-one (Liriodenine) via 7-methyl-6,7-dihydro-5*H*-benzo[*g*]-1,3-benzodioxolo-[6,5,4-*de*]quinoline. *Aust. J. Chem.* **1983**, *36*, 1061-1065.

*Sample Availability:* All stable products reported in this paper are available from the authors.

© 2009 by the authors; licensee Molecular Diversity Preservation International, Basel, Switzerland. This article is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

**molecules**

ISSN 1420-3049

www.mdpi.com/journal/molecules

Article

## Total Syntheses of (±)-Gusanlung A, (±)-Gusanlung D and 8-Oxyberberrubine and the Uncertainty Concerning the Structures of (-)-Gusanlung A, (-)-Gusanlung D and 8-Oxyberberrubine

Surachai Nimgirawath <sup>1,\*</sup>, Phansuang Udomputtimekakul <sup>1</sup>, Thitima Apornpisarn <sup>1</sup>, Asawin Wanbanjob <sup>1</sup> and Thongchai Taechowisan <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, Silpakorn University, Nakorn Pathom 73000, Thailand; E-mails: Phansuang@yahoo.com (P.U.), winsusc@gmail.com (T.A.), thitima\_noon@hotmail.com (T.A.)

<sup>2</sup> Department of Microbiology, Faculty of Science, Silpakorn University, Nakorn Pathom 73000, Thailand; E-mail: tthongch@su.ac.th (T.T.)

\* Author to whom correspondence should be addressed; E-mail: surachai@su.ac.th

Received: 12 January 2009; in revised form: 9 February 2009 / Accepted: 12 February 2009 /

Published: 12 February 2009

---

**Abstract:** (±)-Gusanlung A, 8-oxyberberrubine and (±)-gusanlung D have been synthesized by radical cyclisation of the corresponding 2-aryyl-1-methylenetetrahydroisoquinolines. The <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C spectra of (-)-gusanlung D were found to be different from those of synthetic (±)-gusanlung D. Careful analyses of the <sup>13</sup>C spectra of (-)-gusanlung A and natural 8-oxyberberrubine also cast doubt on the correctness of the structures previously assigned to these two compounds. (±)-Gusanlung A and (±)-gusanlung D were inactive against *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Escherichia coli* ATCC10536 and *Candida albicans* ATCC90028.

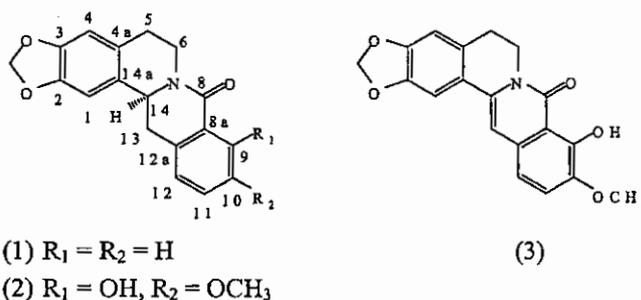
**Keywords:** Alkaloid; Protoberberine; Isoquinoline; Synthesis; Antimicrobial activity.

---

## Introduction

(-)-Gusanlung D, isolated from *Acangelisia gusanlung* H. S. Lo (Menispermaceae), is the first natural 8-oxotetrahydroprotoberberine alkaloid with an unoxygenated ring D [1]. Based on spectral data analysis, structure **1** was proposed for (-)-gusanlung D. Prior to the isolation of (-)-gusanlung D, Kessar *et al.* synthesized in 1992 a compound which is essentially ( $\pm$ )-gusanlung D [2]. However, a close comparison of the  $^1\text{H-NMR}$  data of ( $\pm$ )-gusanlung D with those reported for (-)-gusanlung D revealed significant differences. In 2003 Reimann, Grasberger and Polborn reported another synthesis of ( $\pm$ )-gusanlung D [3]; in this case the  $^{13}\text{C-NMR}$  spectral data were found to show significant differences to those reported for (-)-gusanlung D. Subsequently, an unsymmetric synthesis of (-)-gusanlung D was achieved by Chrzanowska, Dreas and Razwadowska in 2004 [4]. Comparison of the  $^1\text{H-}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$  data of synthetic (-)-gusanlung D with those of natural (-)-gusanlung D also showed significant differences. Finally, Chang and Chang reported a total synthesis of ( $\pm$ )-gusanlung D [5], whose spectral data were said to agree with those in references [1-4]. This last conclusion added further confusion to the matter since, if the spectral data of ( $\pm$ )-gusanlung D [5] are in good agreement with those reported for ( $\pm$ )-gusanlung D [2-3] and synthetic (-)-gusanlung D [4], they cannot also be consistent with those reported for natural (-)-gusanlung D [1]. In view of these discrepancies in the  $^1\text{H-}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$  data of natural (-)-gusanlung D [1] and the synthetic alkaloids, it was therefore highly desirable to perform another independent synthesis of ( $\pm$ )-gusanlung D to shed further light on the possible structure of (-)-gusanlung D.

**Figure 1.** Structures of (-)-gusanlung D (**1**), (-)-gusanlung A (**2**) and 8-oxyberberrubine (**3**).



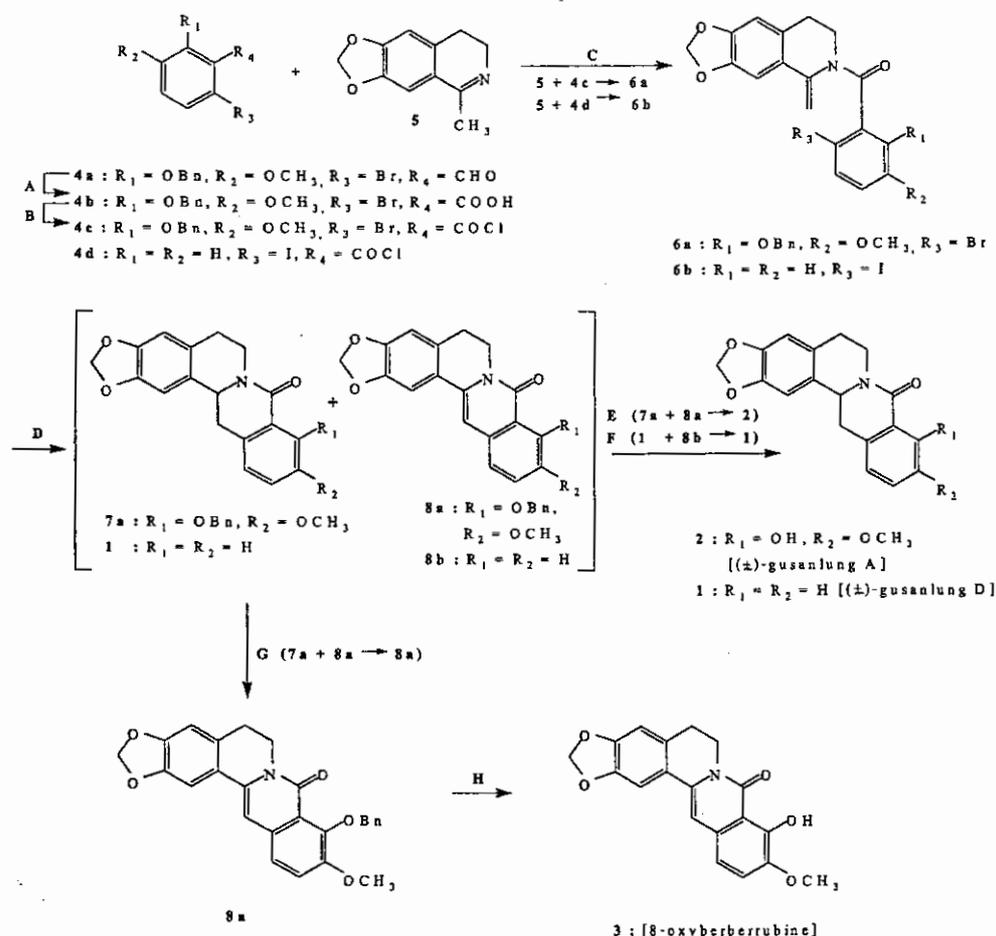
Furthermore, two new related alkaloids: (-)-gusalung A [6] and 8-oxyberberrubine [1], for which structures **2** and **3** were proposed based on spectral analysis, were isolated from *Acangelisia gusanlung* H. S. Lo. In view of the uncertainty regarding the correct structure of (-)-gusanlung D (**1**), it was therefore highly desirable to also confirm the correctness of the structures proposed for (-)-gusanlung A (**2**) and 8-oxyberberrubine (**3**) by total syntheses.

## Results and Discussion

### Syntheses of ( $\pm$ )-gusanlung A (2) and 8-oxerberberubine (3)

The synthesis of ( $\pm$ )-gusanlung A (2) was based on the radical-initiated cyclization of 2-(2'-benzyloxy-6'-bromo-3'-methoxybenzoyl)-1-methylene-6,7-methylenedioxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (6a), as outlined in Scheme 1, with subsequent catalytic hydrogenolysis of the benzyl protecting group.

**Scheme 1.** Synthetic routes to ( $\pm$ )-gusanlung A (1), ( $\pm$ )-gusanlung D (2), and 8-oxerberberubine (3).



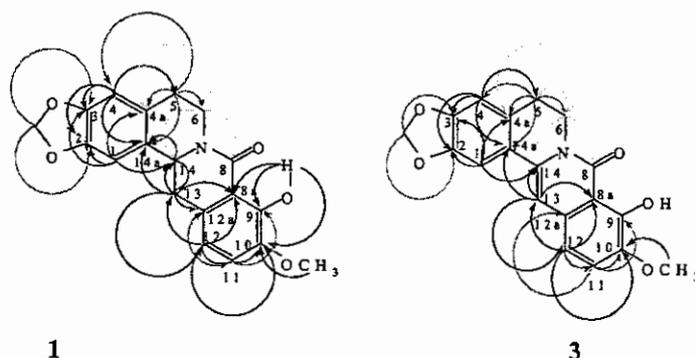
**Reagents and Conditions** A) NaClO<sub>2</sub>, sulphamic acid/ *tert*-butanol-H<sub>2</sub>O; B) SOCl<sub>2</sub>/ benzene; C) Et<sub>3</sub>N/ dry benzene; D) Bu<sub>3</sub>SnH, AIBN/ dry benzene; E) H<sub>2</sub>, Pd/C/ ethanol; F) hydrazine, Pd/C/ ethyl acetate-ethanol; G) I<sub>2</sub>/ dioxane; H) conc. HCl/ ethanol.

Thus, oxidation of 2-benzyloxy-6-bromo-3-methoxybenzaldehyde (4a) [7] with sodium chlorite gave 2-benzyloxy-6-bromo-3-methoxybenzoic acid (4b), whose acid chloride (4c) was then reacted

with 6,7-methylenedioxy-1-methyl-3,4-dihydroisoquinoline (5) [8] in the presence of triethylamine to give the moderately stable compound 6a. Treatment of 6a with tributyltin hydride in the presence of a catalytic amount of 2,2'-azobis(isobutyronitrile) gave a 31.3% yield of a mixture of ( $\pm$ )-9-benzylgusanlung A (7a) and 9-benzyl-8-oxyberberrubine (8a) in a ratio of 78:22 according to  $^1\text{H-NMR}$  analysis. Catalytic hydrogenolysis of the mixture of 7a and 8a to remove the benzyl protecting group also resulted in the concurrent hydrogenation of the C-C double bond to give pure ( $\pm$ )-gusanlung A (2). On the other hand, oxidation of the mixture of 7a and 8a with iodine gave 9-benzyl-8-oxyberberrubine (8a), whose benzyl protecting group was removed by acid treatment to give 8-oxyberberrubine (3).

The  $^1\text{H-NMR}$  data of synthetic ( $\pm$ )-gusanlung A (2) were in reasonably good agreement with those reported for natural (-)-gusanlung A (2). However, a number of carbons in the  $^{13}\text{C-NMR}$  spectrum of natural (-)-gusanlung A (2) were found to have quite different chemical shifts from the corresponding carbons in the spectrum of ( $\pm$ )-gusanlung A (2). We therefore carried out  $^1\text{H-}^1\text{H-COSY}$ , HMQC and HMBC experiments to allow complete assignments of chemical shifts of ( $\pm$ )-gusanlung A (2). Details of the HMBC correlations are shown in Figure 2 and Table 4. The  $^1\text{H-NMR}$  spectral data of natural 8-oxyberberrubine (3) were found to be in good agreement with those of synthetic 8-oxyberberrubine (3). However, from HMBC correlation experiment, it was possible to establish that the chemical shifts of H-1 and H-13 previously assigned should be interchanged. On the other hand, the  $^{13}\text{C}$  spectrum of natural 8-oxyberberrubine (3) had a number of features which were quite different from those of synthetic 8-oxyberberrubine (3). These differences were highlighted and the HMBC correlations were shown in Figure 2 and Table 5. In summary, it can be concluded that while the  $^1\text{H-NMR}$  analysis lent good support to the structures proposed for (-)-gusanlung A (2) and 8-oxyberberrubine (3), in view of the discrepancies in a number of carbon chemical shifts in the  $^{13}\text{C-NMR}$  spectra of (-)-gusanlung A (2) versus those of ( $\pm$ )-gusanlung A (2) on the one hand, and natural 8-oxyberberrubine (3) versus synthetic 8-oxyberberrubine (3) on the other, no definite conclusions can be drawn at this time concerning the correctness of the structures previously assigned to (-)-gusanlung A (2) and 8-oxyberberrubine (3).

Figure 2. HMBC correlations of ( $\pm$ )-gusanlung A (1) and 8-oxyberberrubine (3).



Synthesis of ( $\pm$ )-gusanlung D

The synthesis of ( $\pm$ )-gusanlung D (**1**) was uneventful. Thus, 2-iodobenzoyl chloride (**4d**) was reacted with **5** [8] in the presence of triethylamine to give the highly unstable 2-(2'-iodobenzoyl)-1-methylene-6,7-methylenedioxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (**6b**). Treatment of **6b** with tributyltin hydride in presence of a catalytic amount of 2,2'-azobis(isobutyronitrile) gave a 39.0% yield of a mixture of **1** and **8b** in a ratio of 87:23 from  $^1\text{H-NMR}$  analysis. Treatment of the mixture with hydrazine and palladium/charcoal gave ( $\pm$ )-gusanlung D (**1**), whose  $^1\text{H-}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$  data were in good agreement with those of ( $\pm$ )-gusanlung D (**1**) and (-)-gusanlung D obtained from previous syntheses [2,3,4] but differed significantly from those of natural (-)-gusanlung D [1]. The structure previously assigned to (-)-gusanlung D [1] therefore remains uncertain.

**Table 1.** Comparison of  $^1\text{H-NMR}$  spectral data between natural (-)-gusanlung D [1], synthetic (-)-gusanlung D [4] and synthetic ( $\pm$ )-gusanlung D [2] and [this work].

(position)	(-)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [1] m.p. 250-251 °C	(-)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [4] m.p. 195-197 °C	( $\pm$ )-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [2] m.p. 175-177 °C	( $\pm$ )-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [this work] m.p. 175-176 °C
	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$
1	7.35 (s)	6.71 (s)	6.76 (d)	6.72 (s)
4	6.80 (s)	6.67 (s)	6.76 (d)	6.67 (s)
5 $\alpha$	2.70-3.40 (m)	2.7-2.8 (m)	2.83-3.35 (m)	2.70-2.82 (m)
5 $\beta$	2.70-3.40 (m)	2.82-3.02 (m)	2.83-3.35 (m)	2.87-3.07 (m)
6 $\alpha$	2.70-3.40 (m)	2.82-3.02 (m)	2.83-3.35 (m)	2.87-3.07 (m)
6 $\beta$	4.8 (m)	4.93-4.99 (m)	4.7-5.1 (m)	4.88-4.99 (m)
9	8.07 (d, 8.0)	8.13 (d, 7.4)	8.1-8.37 (m)	8.13 (dd, 7.6, 1.4)
10	7.29-7.41 (m)	7.34-7.40 (m)	7.25-7.65 (m)	7.39 (br t, 7.4)
11	7.29-7.41 (m)	7.41-7.49 (m)	7.25-7.65 (m)	7.46 (dt, 7.4, 1.5)
12	7.29-7.41 (m)	7.24 (d, 7.4)	7.25-7.65 (m)	7.22-7.29 (m)
13 $\alpha$	2.70-3.40 (m)	2.82-3.02 (m)	2.83-3.35 (m)	2.87-3.07 (m)
13 $\beta$	2.70-3.40 (m)	3.18 (dd, 15.3, 3.7)	2.83-3.35 (m)	3.18 (dd, 15.7, 3.7)
14	3.95 (m)	4.83 (dd, 13.3, 3.7)	4.7-5.1 (m)	4.84 (dd, 13.3, 3.7)
OCH <sub>2</sub> O	6.20, 6.06 (s)	5.96 (s)	5.93 (s)	5.96 (s)

**Table 2.** Comparison of  $^{13}\text{C-NMR}$  spectral data between natural (-)-gusanlung D [1], synthetic (-)-gusanlung D [4] and synthetic ( $\pm$ )-gusanlung D [3] and [this work].

(position)	(-)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [1] m.p. 250-251 °C	(-)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [4] m.p. 195-197 °C	( $\pm$ )-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [3] m.p. 175-177 °C	( $\pm$ )-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [this work] m.p. 175-176 °C
	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$
1	107.3	105.8	105.97	105.9
2	135.0	146.5 <sup>b</sup>	146.57	146.6 <sup>c</sup>
3	147.0	146.7 <sup>b</sup>	146.77	146.8 <sup>c</sup>
4	107.5	108.6	108.81	108.7

Table 2. Cont.

(position)	(-)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [1] m.p. 250-251 °C	(-)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [4] m.p. 195-197 °C	(±)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [3] m.p. 175-177 °C	(±)-gusanlung D CDCl <sub>3</sub> [this work] m.p. 175-176 °C
4a	126.5	128.8	128.85	128.9
5	29.7	29.6	29.61	29.7
6	42.0	38.7	38.49	38.8
8	162.0	164.5	158.67	164.6
8a	117.3	137.2	137.24	137.3
9	128.7 <sup>a</sup>	128.6	128.60	128.6
10	127.9 <sup>a</sup>	127.3	127.37	127.4 <sup>*</sup>
11	127.1 <sup>a</sup>	131.8	132.33	131.9 <sup>*</sup>
12	126.8 <sup>a</sup>	126.8	126.87	126.9
12a	124.6	129.0	131.81	129.1
13	33.5	38.1	37.78	38.1
14	49.4	55.2	55.18	55.3
14a	126.5	128.5	128.55	128.6
OCH <sub>2</sub> O	100.9	101.1	101.00	101.1

<sup>a</sup>, <sup>b</sup>, <sup>c</sup>, \* assignments may be interchangeable.

**Table 3.** Comparison of <sup>1</sup>H-NMR spectral data between natural (-)-gusanlung A [1] and synthetic (±)-gusanlung A [this work].

(position)	(-)-gusanlung A (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) [6] m.p. 260-262 °C	(±)-gusanlung A (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) [this work] m.p. 188-189 °C	(±)-gusanlung A (CDCl <sub>3</sub> ) [this work] m.p. 188-189 °C
	<sup>1</sup> H	<sup>1</sup> H	<sup>1</sup> H
1	6.96 (s)	7.00 (s)	6.71 (s)
4	6.80 (s)	6.79 (s)	6.66 (s)
5	2.73-2.81 (m)	2.75-2.89 (m)	2.72-2.84 (m)
6 $\alpha$	2.73-2.81 (m)	2.89-3.01 (m)	2.94-3.40 (m)
6 $\beta$	4.71 (m)	4.69-4.59 (m)	4.80-4.87 (m)
11	6.99 (d, 8.1)	7.09 (d, 8.1)	6.94 (d, 8.1)
12	6.86 (d, 8.1)	6.71 (d, 8.1)	6.63 (d, 8.1)
13 $\alpha$	3.13 (dd, 15.3, 3.1)	3.36 (dd, 15.2, 3.6)	3.14 (dd, 15.2, 3.8)
13 $\beta$	2.62 (dd, 15.3, 13.3)	2.66-2.75 (m)	2.80-2.94 (m)
14	4.68 (dd, 13.3, 3.1)	4.84 (dd, 13.3, 3.4)	4.80 (dd, 13.6, 3.5)
C <sub>10</sub> -OCH <sub>3</sub>	3.76 (s)	3.78 (s)	3.90 (s)
OCH <sub>2</sub> O	5.98, 5.99 (s)	5.98, 6.00 (s)	5.96 (s)
OH	-	12.88 (s)	12.83 (s)

**Table 4.** Comparison of  $^{13}\text{C}$ -NMR spectral data between natural (-)-gusanlung A [6] and synthetic (-)-gusanlung A [this work] and HMBC correlations of ( $\pm$ )-gusanlung A [this work].

(position)	(-)-gusanlung A (DMSO- $d_6$ ) [6]	( $\pm$ )-gusanlung A (DMSO- $d_6$ ) [this work]	( $\pm$ )-gusanlung A (CDCl $_3$ ) [this work]	(±)-gusanlung A (DMSO- $d_6$ ) [this work]	
	m.p. 260-262 °C	m.p. 188-189 °C	m.p. 188-189 °C	HMBC	
	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	2J	3J
1	106.1	106.6	105.8	C-2	C-3, 4a, 14
2	145.9 <sup>a</sup>	146.7 <sup>c</sup>	146.8*	-	-
3	147.7 <sup>a</sup>	146.5 <sup>c</sup>	146.7*	-	-
4	107.8	108.7	108.6	C-3	C-2, 5, 14a
4a	129.1 <sup>b</sup>	128.3	128.1	-	-
5	29.0	28.9	29.4	C-4a, 6	C-4, 14a
6	37.8	38.5	38.4	C-5	C-4a, 8, 14
8	161.4	168.4	168.6	-	-
8a	122.3 <sup>b</sup>	111.4	111.4	-	-
9	149.7 <sup>a</sup>	151.4	151.8	-	-
10	145.7 <sup>a</sup>	147.2	147.5	-	-
11	118.9	116.7	115.4	C-10	C-9, 12a
12	122.1	116.9	116.1	C-11	C-8a, 10, 13
12a	128.2 <sup>b</sup>	129.6	128.7	-	-
13	37.7	35.9	37.1	C-12a, 14	C-8a, 12, 14a
14	54.4	55.4	55.7	C-13, 14a	-
14a	129.3 <sup>b</sup>	129.1	128.4	-	-
C $_{10}$ -OCH $_3$	60.5	56.3	56.3	-	C-10
OCH $_2$ O	100.5	101.3	101.2	-	C-2, 3
OH				C-9	C-8a, 10

<sup>a, b, c, \*</sup> assignments may be interchangeable.

**Table 5.** Comparison of  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectral data between natural 8-oxyberberubine (3) [1], synthetic 8-oxyberberubine (3) [this work] and HMBC correlations of 8-oxyberberubine [this work].

(position)	natural 8-oxy- berberubine (3) CDCl $_3$ [1]	synthetic 8-oxy- berberubine (3) CDCl $_3$ [this work]	natural 8-oxy- berberubine (3) CDCl $_3$ [1]	synthetic 8-oxy- berberubine (3) CDCl $_3$ [this work]	synthetic 8-oxyberberubine (3) (CDCl $_3$ ) [this work]	
	m.p. 240-241 °C	m.p. 238-239 °C	m.p. 240-241 °C	m.p. 238-239 °C	HMBC	
	$^1\text{H}$	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^{13}\text{C}$	2J	3J
1	6.83 (s)	7.21 (s)	104.0	104.8	C-2	C-3, 4a, 14
2			141.6	147.5*	-	-
3			146.4	148.6*	-	-
4	6.72 (s)	6.71 (s)	107.1	108.0	C-3	C-2, 5, 14a
4a			109.6	129.5	-	-
5	2.91 (t, 7.2)	2.92 (t, 6.1)	28.4	28.4	C-4a, 6	C-4, 14a
6	4.27 (t, 7.2)	4.27 (t, 6.1)	39.1	39.1	C-5	C-4a, 8, 14

Table 5. Cont.

(position)	natural 8-oxy-berberrubine (3) CDCl <sub>3</sub> [1] m.p. 240-241 °C	synthetic 8-oxy-berberrubine (3) CDCl <sub>3</sub> [this work] m.p. 238-239 °C	natural 8-oxy-berberrubine (3) CDCl <sub>3</sub> [1] m.p. 240-241 °C	synthetic 8-oxy-berberrubine (3) CDCl <sub>3</sub> [this work] m.p. 238-239 °C	synthetic 8-oxyberberrubine (3) (CDCl <sub>3</sub> ) [this work] HMBC	
	8			164.0	165.4	-
8a			129.9	111.0	-	-
9			149.0	150.3	-	-
10			147.5	144.9	-	-
11	7.30 (AB q, 8.0)	7.28 (d, 8.5)	114.9	119.1	C-10	C-9, 12a
12	7.00 (AB q, 8.0)	6.99 (d, 8.5)	120.0	115.3	C-11	C-8a, 10, 13
12a			128.9	130.5	-	-
13	7.21 (s)	6.83 (s)	103.6	103.6	C-14	C-8a, 12, 14a
14			133.6	134.6	-	-
14a			122.1	123.5	-	-
C <sub>10</sub> -OCH <sub>3</sub>	3.96 (s)	3.97 (s)	56.7	56.7	-	C-10
OCH <sub>2</sub> O	6.02 (s)	6.02 (s)	100.6	101.5	-	C-2, 3
OH	-	13.14	-	-	-	-

\* assignments may be interchangeable.

#### Antimicrobial activity

(±)-Gusanlung D (1) and (±)-gusanlung A (2) at the concentration value 256 µg/mL were inactive against *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Escherichia coli* ATCC10536 and *Candida albicans* ATCC90028.

#### Conclusions

Based on spectral analysis, there were significant discrepancies between the spectral data of natural (-)-gusanlung D and synthetic (±)-gusanlung D. Hence, the structure previously proposed for (-)-gusanlung D remains doubtful. While the <sup>1</sup>H spectral data of natural (-)-gusanlung A and 8-oxyberberrubine were in reasonably good agreement with those of synthetic (±)-gusanlung A and 8-oxyberberrubine, the <sup>13</sup>C spectral data of natural (-)-gusanlung A and 8-oxyberberrubine were not entirely in good agreement with those of synthetic (±)-gusanlung A and 8-oxyberberrubine. The structures previously proposed for natural (-)-gusanlung A and 8-oxyberberrubine must therefore be treated with caution.

#### Experimental

##### General

Melting points were determined on a SMP 2 Stuart Scientific melting point apparatus and are uncorrected. Infrared spectra were recorded on CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-films with a Perkin Elmer Spectrum GX FT-IR

spectrophotometer. Ultraviolet spectra were recorded on methanol solutions with a Perkin Elmer Lambda 35 UV-VIS spectrophotometer.  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra were recorded on (D) chloroform solutions at 300 MHz for  $^1\text{H}$  and 75 MHz for  $^{13}\text{C}$  with a Bruker AVANCE 300 spectrometer. Tetramethylsilane was used as the internal standard. MS spectra were recorded on a POLARIS Q mass spectrometer.

**2-Benzoyloxy-6-bromo-3-methoxybenzoic acid (4b).** A solution of sodium chlorite (0.36 g, 3.6 mmol) in  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL) was added to a solution of 2-benzoyloxy-6-bromo-3-methoxybenzaldehyde (4a) [7] (1.0 g, 3.1 mmol) and sulfamic acid (0.5 g) in *tert*-butanol (10 mL) and  $\text{H}_2\text{O}$  (3 mL). The solution was stirred for 1 h. The mixture was shaken with ethyl acetate (20 mL) and the ethyl acetate layer was extracted with 5% sodium carbonate (3  $\times$  20 mL). The aqueous layer was then acidified with concentrated hydrochloric acid and extracted with chloroform (3  $\times$  20 mL). The chloroform layer was dried over anhydrous sodium sulfate. Removal of the solvent under vacuum gave a solid which was recrystallized from benzene-hexane to give **4b** as pale white crystals (0.8 g, 76.2%), m.p. 112–115  $^\circ\text{C}$ ;  $^1\text{H}$ -NMR:  $\delta$  7.47–7.42 (2H, m, Ph-H); 7.38–7.25 (4H, m, Ph-H  $\times$  3 and Ar-H); 6.88, (1H, d,  $J$  = 8.9 Hz, Ar-H); 5.10 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 3.89 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$ -NMR:  $\delta$  171.0 (C), 152.2 (C), 145.9 (C), 136.7 (C), 130.6 (C), 128.4 (CH), 128.3 (CH), 128.2 (CH), 114.9 (CH), 108.7 (C), 76.0 ( $\text{CH}_2$ ), 56.2 ( $\text{OCH}_3$ ).

**2-(2'-Benzoyloxy-6'-bromo-3'-methoxybenzoyl)-1-methylene-6,7-methylenedioxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (6a).** A solution of acid **4b** (3.6 g, 10.0 mmol) and thionyl chloride (3.9 g, 32.8 mmol) in benzene (20 mL) was refluxed for 1 h. The solvent and excess thionyl chloride were removed under vacuum to give acid chloride **4c** as a yellow oil (3.7 g, 94.9%) which was used in the next step without further purification. A solution of acid chloride **4c** (1.9 g, 5.3 mmol) in dry benzene (20 mL) was added dropwise over 10 min. to a solution of isoquinoline **5** [8] (1.0 g, 5.3 mmol) and triethylamine (1.0 g) in dry benzene (20 mL), then the mixture was refluxed for 2 h. On cooling, the precipitated triethylamine hydrochloride was filtered off. The filtrate was evaporated under vacuum to give enamide **6a** as a yellow oil (2.6 g, 84.4%) which was unstable and decomposed on standing. It was immediately used in the next step without further purification.  $^1\text{H}$ -NMR:  $\delta$  7.38–7.23 (5H, m, Ph-H), 7.18 (1H, d,  $J$  = 8.8 Hz, H-5'), 6.89 (1H, s, H-8), 6.75 (1H, d,  $J$  = 8.8 Hz, H-4'), 6.41 (1H, s, H-5), 5.90 (2H, AB q,  $J$  = 1.3 Hz,  $\text{OCH}_2\text{O}$ ), 5.14 (1H, d,  $J$  = 1.3 Hz,  $=\text{CH}_2$ ), 5.00 (2H, AB q,  $J$  = 10.8 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.81 (1H, d,  $J$  = 1.3 Hz,  $=\text{CH}_2$ ), 4.13–4.02, 3.57–3.50 (2H, 2 m,  $\text{CH}_2$ -3), 3.80 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 2.90–2.59 (2H, m,  $\text{CH}_2$ -4);  $^{13}\text{C}$ -NMR:  $\delta$  165.0 (C), 152.1 (C), 147.8 (C), 146.5 (C), 145.3 (C), 141.4 (C), 137.4 (C), 134.3 (C), 129.0 (C), 128.4 (CH), 128.1 (CH), 127.9 (CH), 127.7 (CH), 125.1 (C), 113.4 (CH), 110.0 (C), 108.4 (CH), 104.4 ( $\text{CH}_2$ ), 103.8 (CH), 101.1 ( $\text{CH}_2$ ), 75.4 ( $\text{CH}_2$ ), 55.9 ( $\text{OCH}_3$ ), 41.6 ( $\text{CH}_2$ ), 28.8 ( $\text{CH}_2$ ).

**( $\pm$ )-Gusanlung A (1) and 9-benzyl-8-oxyberberrubine (8a).** A solution of enamide **6a** (2.7 g, 5.3 mmol), tributyltin hydride (3.4 g, 11.7 mmol) and 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (0.2 g, 0.7 mmol) in dry benzene (50 mL) was refluxed with stirring for 3 h., then the solvent was removed under vacuum. The residue was washed with hexane (4  $\times$  15 mL) and dissolved in chloroform (30 mL). The chloroform layer was washed with brine, then dried over anhydrous sodium sulfate. The solvent was removed under vacuum to give a yellow solid which was recrystallized from ethanol to give a 31.3% yield of a

mixture of ( $\pm$ )-9-benzylgusanlung A (**7a**) and 9-benzyl-8-oxyberberrubine (**8a**) in a ratio of 78:22 from  $^1\text{H-NMR}$  analysis.

A solution of the mixture of **8a** and **7a** (303.7 mg, 0.7 mmol) in ethanol (50 mL) was hydrogenated over 10% Pd/C (30.4 mg) at atmospheric pressure for 48 h. The catalyst was filtered off and the solvent was removed under vacuum to give a crude yellow solid. Recrystallization of the crude solid from ethanol gave ( $\pm$ )-gusanlung A (**2**) as a pale yellow solid (82.4 mg, 34.3%), m.p. 188–189 °C; UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 219 (4.54), 271sh (3.87), 281 (3.98), 308 (4.16), 319 (4.15); IR  $\nu_{\text{max}}$  (film): 3737, 3650, 3585, 2919, 2852, 1748, 1634, 1615, 1581, 1542, 1506, 1488, 1456, 1386, 1356, 1336, 1315, 1262, 1239, 1154, 1084, 1069, 1037, 1001, 933, 858, 804, 792, 728  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (EI)  $m/z$  (%): 339 ( $\text{M}^+$ , 55), 176 (100).  $^1\text{H-NMR}$  see Table 3,  $^{13}\text{C-NMR}$  and HMBC see Table 4.

A solution of iodine (4.6 g, 18.3 mmol) in dioxane (100 mL) was added dropwise over 30 min. to a refluxing solution of the mixture of **7a** and **8a** (1.3 g, 3.0 mmol) and sodium acetate (1.5 g) in dioxane (50 mL), then the mixture was refluxed for 6 h. On cooling, the sodium acetate was filtered off and the precipitate was washed with chloroform (100 mL). The chloroform layer was washed with 5%  $\text{NaHSO}_3$  (100 mL), dilute  $\text{NH}_3$  (30 mL),  $\text{H}_2\text{O}$  (100 mL) then dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Removal of the solvent under vacuum gave a red solid which was recrystallized with ethanol to give 9-benzyl-8-oxyberberrubine (**8a**) as red crystals (0.6 g, 50.0%), m.p. 190–192 °C. UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 206sh (4.62), 224 (6.31), 255sh (5.78), 312 (5.76), 342 (6.03), 369 (5.86), 387 (5.71); IR  $\nu_{\text{max}}$  (film): 2938, 2898, 2841, 1651, 1619, 1599, 1494, 1484, 1386, 1372, 1317, 1277, 1225, 1176, 1100, 1083, 939, 871, 834, 777, 734  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  7.73–7.68 (2H, m, Ph-H); 7.43–7.32 (3H, m, Ph-H); 7.32–7.28 (2H, m, H-11 and H-12); 7.22 (1H, s, H-1), 6.72 (1H, s, H-13); 6.70 (1H, s, H-4); 6.00 (2H, s,  $\text{OCH}_2\text{O}$ ); 5.16 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 4.31 (2H, t,  $J = 6.1$  Hz,  $\text{CH}_2-6$ ); 3.88 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ); 2.88 (2H, t,  $J = 6.1$  Hz,  $\text{CH}_2-5$ );  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  160.2 (C), 151.7 (C), 148.4 (C), 148.2 (C), 147.3 (C), 138.1 (C), 135.6 (C), 132.4 (C), 130.1 (C), 128.7 (CH), 128.2 (CH), 127.7 (CH), 123.8 (C), 122.5 (CH), 119.8 (C), 119.1 (CH), 107.9 (CH), 104.7 (CH), 101.4 ( $\text{CH}_2$ ), 101.3 (CH), 75.7 ( $\text{CH}_2$ ), 56.9 ( $\text{OCH}_3$ ), 39.5 ( $\text{CH}_2$ ), 28.7 ( $\text{CH}_2$ ).

**8-Oxyberberrubine (3)**. A solution of **8a** (100.0 mg, 0.2 mmol) in ethanol (30 mL) and conc. HCl (30 mL) was refluxed for 3 h. On cooling, the solution was extracted with chloroform (50 mL). The extract was washed with water (50 mL), then dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Removal of the solvent under vacuum gave a yellow solid which was recrystallized with ethanol to give 8-oxyberberrubine (**3**) as pale yellow crystals (42.2 mg, 53.5%), m.p. 238–239 °C (Lit. [2] m.p. 240–241 °C); UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 225 (4.44), 258sh (3.99), 270 (3.87), 288 (3.69), 345 (4.16), 369 (4.13); IR  $\nu_{\text{max}}$  (film): 3011, 2893, 2836, 1645, 1594, 1490, 1393, 1320, 1267, 1228, 1181, 1087, 1033, 932, 826, 665  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  and HMBC see Table 5.

**2-(2'-Iodobenzoyl)-1-methylene-6, 7-methylenedioxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (6b)**. A solution of 2-iodobenzoyl chloride **4d** (1.4 g, 5.4 mmol) in dry benzene (20 mL) was added dropwise over 10 min. to a solution of isoquinoline **5** [8] (1.0 g, 5.3 mmol) and triethylamine (1.0 g) in dry benzene (20 mL), then the mixture was refluxed for 2 h. On cooling, the precipitated triethylamine hydrochloride was filtered off and the filtrate was evaporated under vacuum to give enamide **6b** as a yellow oil (2.2 g, 99.1%) which was unstable and decomposed on standing, so it was immediately used in the next

step without further purification.  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  8.07-6.84 (5H, m, Ar-H); 6.58 (1H, s, Ar-H); 5.92 (2H, s,  $\text{OCH}_2\text{O}$ ); 5.18 (1H, br s,  $=\text{CH}_2$ ); 4.50 (1H, br s,  $=\text{CH}_2$ ); 4.12 (2H, br s,  $\text{CH}_2$ ); 2.95 (2H, br s,  $\text{CH}_2$ );  $^{13}\text{C-NMR}$ :  $\delta$  169.0 (C), 161.2 (C), 148.2 (C), 146.8 (C), 142.6 (C), 142.2 (CH), 139.3 (CH), 135.9 (C), 132.5 (C), 129.9 (CH), 128.3 (CH), 125.0 (C), 108.4 (CH), 106.2 ( $\text{CH}_2$ ), 103.9 (CH), 101.2 ( $\text{CH}_2$ ), 41.8 ( $\text{CH}_2$ ), 29.0 ( $\text{CH}_2$ ).

( $\pm$ )-Gusanlung D (**1**) and 13,14-didehydrogusanlung D (**8b**). A solution of enamide **6b** (2.9 g, 10.0 mmol) tributyltin hydride (11.7 g, 40.0 mmol) and 2,2'-azobis(isobutyronitrile) (1.6 g, 10.0 mmol) in dry benzene (50 mL) was refluxed with stirring for 3 h., then the solvent was removed under vacuum. The residue was washed with hexane (4  $\times$  15 mL) and dissolved in chloroform (30 mL). The chloroform layer was washed with brine, then dried over anhydrous sodium sulfate. The solvent was removed under vacuum to give a solid which was recrystallized from ethanol to give a 39.0% yield of a mixture of **1** and **8b** in a ratio of 23:87 from  $^1\text{H-NMR}$  analysis.

A mixture of **1** and **8b** (200.0 mg, 0.7 mmol), Pd/C (300.0 mg), hydrazine (50 mL), ethanol (50 mL) and ethyl acetate (50 mL) was refluxed for 48 h. The Pd/C was filtered and the filtrate extracted with chloroform (80 mL). The extract was washed with 10% HCl (2  $\times$  50 mL), water (50 mL) then dried over anh.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Removal of the solvent under vacuum gave a yellow solid which was recrystallized with ethanol to give pure ( $\pm$ )-gusanlung D (**1**) as pale yellow crystals (99.4 mg, 49.4%), m.p. 175-176  $^\circ\text{C}$  (lit. [5] m.p. 175-177  $^\circ\text{C}$ ). UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 206 (6.27), 230 (5.78), 253sh (5.42), 290 (5.42), 335 (5.02), 365 (4.77); IR  $\nu_{\text{max}}$  (film): 2922, 1646, 1602, 1576, 1487, 1412, 1362, 1333, 1285, 1241, 1218, 1178, 1141, 1038, 936, 906, 853, 743, 636, 505  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H-NMR}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$  see Tables 1 and 2.

#### Minimum inhibitory concentration (MIC)

MIC of ( $\pm$ )-gusanlung A (**2**) and ( $\pm$ )-gusanlung D (**1**) were determined by NCCLS microbroth dilution methods [9]. ( $\pm$ )-Gusanlung A (**2**) and ( $\pm$ )-gusanlung D (**1**) were weighed and dissolved in DMSO to make a solution of concentration 2.56 mg/mL. From this stock solution two-fold serial dilution has been carried out to give a series of solutions from 256  $\mu\text{g/mL}$  to 0.50  $\mu\text{g/mL}$  with culture medium in 96-well microplates (100  $\mu\text{L}$  of total volume). Three different microorganisms were selected viz. *Staphylococcus aureus* ATCC25932, *Escherichia coli* ATCC10536 and *Candida albicans* ATCC90028. They were subcultured on nutrient broth supplemented with 10% glucose (NBG) (for bacteria) or Sabouraud glucose broth (for yeast) and incubated at 37  $^\circ\text{C}$  for 24 h. A final concentration of  $1 \times 10^5$  cfu/mL of test bacteria or yeast was added to each dilution. The plates were incubated at 37  $^\circ\text{C}$  for 48 h. MIC was defined as the lowest concentration of test agent that inhibited bacterial or yeast growth, as indicated by the absence of turbidity. Test agent-free broth containing 5% DMSO was incubated as growth control.

#### References

- Zhang, J-S.; Men-Olivier, L.L.; Massiot, G. Isoquinoline alkaloids from *Acanthopanax gusanlung*. *Phytochemistry* 1995, 39, 439-442.

2. Kessar, S.V.; Singh, P.; Vohra, R.; Kaur, N.P.; Venugopal, D. Facile generation and trapping of  $\alpha$ -Oxo-*o*-quinodimethanes: Synthesis of 3-aryl-3,4-dihydroisocoumarins and protoberberines. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6716-6720.
3. Reimann, E.; Grasberger, F.; Polborn, K. Protoberberines from Reissert-Compounds VIII [1]. Oxazoloisoquinolines, new and efficient educts for the synthesis of 8-oxoprotoberberines. *Monatsh. Chem.* **2003**, *134*, 991-1014.
4. Chrzanowska, M.; Dreas, A.; Rozwadowska, M.D. Asymmetric synthesis of (*R*)-(+)- and (*S*)-(-)-2,3-methylenedioxy-8-oxoberbine (gusanlung D). *Tetrahedron Asymmetry* **2004**, *15*, 1113-1120.
5. Chang, J-K.; Chang, N-C. Total synthesis of ( $\pm$ )-gusanlung D. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 3483-3487.
6. Zhang, J-S.; Chen, Z.-L. Two new 8-oxotetrahydroprotoberberine alkaloids, gusanlung A and B, from *Acangelisia gusanlung*. *Planta Med.* **1991**, *57*, 457-459.
7. Nimgirawath, S.; Lorpitthaya, R.; Wanbanjob, A.; Taechowisan, T.; Shen, Y-M. Total synthesis and the biological activities of ( $\pm$ )-norannuradhapurine. *Molecules* **2009**, *14*, 89-101.
8. Ishiwata, S.; Nozaki, T. Syntheses of isoquinoline derivatives. V. Syntheses of alkyl derivatives of the pyridine nucleus. *J. Pharm. Soc. Jpn.* **1951**, *71*, 1257-1260.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, USA, 1997.

*Sample Availability:* All stable products reported in this paper are available from the authors.

© 2009 by the authors; licensee Molecular Diversity Preservation International, Basel, Switzerland. This article is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).

## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นายพันสรวง อุดมพุทธิเมฆากุล
วัน เดือน ปีเกิด	10 มกราคม 2516
สถานที่เกิด	จังหวัดพิจิตร
ที่อยู่	75 หมู่ 4 ตำบลไผ่รอบ อำเภอโพธิ์ประทับช้าง จังหวัดพิจิตร 66190
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2537	สำเร็จการศึกษาปริญญาการศึกษามัธยมศึกษา (วิทยาศาสตร์-เคมี) คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก
พ.ศ. 2542	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
พ.ศ. 2547	ศึกษาต่อปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร