

## DIE ABSOLUTE KONFIGURATION DES (+)-CORYNOLINS

N. TAKAO,\* M. KAMIGAUCHI und K. IWASA

Pharmazeutische Hochschule für Frauen zu Kobe, Motoyamakita-machi, Higashinada-ku, Kobe 658, Japan

(Received in Germany 14 September 1978)

**Abstract**—From *Corydalis incisa* (+)-corynoline (2) was isolated together with (±)-corynoline (2'), which has been reported to be the major alkaloid. Optical resolution of 2' was achieved by resolving the corresponding diastereomeric esters with (-)-menthoxyacetic acid. The quaternary hydroxide of (+)-corynoline-O-acetate (3) was subjected to Emde degradation to afford the hydromethine base (5), the methiodide of which was converted by further Emde degradation into the optically active nitrogenfree product (6). This product was identical with the nitrogen-free product resulting from Emde degradation of (+)-14-epicorynoline (1), whose absolute configuration has been determined by means of an X-ray analysis. This result shows the absolute configuration of (+)-corynoline (2) to be 11S, 13R and 14R.

Kürzlich haben wir über die Ermittlung der absoluten Konfiguration des (+)-14-Epicorynolins (1) mit Hilfe der Röntgenstrukturanalyse berichtet.<sup>1</sup> Dies stellt das erste Beispiel eines Hydrobenzo(c)phenanthridin-Alkaloids dar, von dem die absolute Konfiguration röntgenographisch bestimmt worden ist. In der vorliegenden Mitteilung berichten wir über die absolute Konfiguration des (+)-Corynolins (2), die auf 1 nach der chemischen Methode bezogen wurde.

(±)-Corynolin (2') wurde als ein Hauptalkaloid in *Corydalis incisa* (Papaveraceen) isoliert,<sup>2</sup> und seine Struktur nach chemischen Methoden und mit Hilfe der IR-, UV-, <sup>1</sup>H-NMR- und MS-Spektroskopie aufgeklärt.<sup>3</sup> Im Verlaufe unserer Arbeiten über die Biosynthese des (±)-Corynolins wurde zufällig entdeckt, dass das optisch aktive (+)-Corynolin (2) selbst in dieser Pflanze vorkommt.<sup>4†</sup> Um die Eigenschaften des (+)-Corynolins näher zu überprüfen und die absolute Konfiguration zu bestimmen, wurde die folgende Racematspaltung des (±)-Corynolins (2') vorgenommen. Es gelang uns jedoch nicht, das Racemat durch fraktionierte Kristallisation der diastereomeren Salze mit (+)-10-Campfersulfonsäure, (+)-Weinsäure, (+)-Diacetylweinsäure sowie (+)-Dibenzoylweinsäure zu spalten. Dagegen führte die Trennung der diastereomeren Ester, die durch Umsetzung der sekundären Hydroxyl-Gruppe dieser Base mit einer optisch aktiven Säure hergestellt wurden, zum Erfolg. So konnte (±)-Corynolin (2') mit (-)-Menthoxyacetylchlorid in Gegenwart von Pyridin in die diastereomeren Menthoxyessigsäureester überführt werden, die als Öl anfielen. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des so erhaltenen Diastereomerenmischens wurden die Signale der N-Methylprotonen bei  $\delta = 2.42$  und 2.46 und diejenigen der beiden aromatischen Protonen (10-H) bei  $\delta = 7.00$  und 7.03 beobachtet. Die dünnschichtchromatographischen Untersuchungen erfolgten auf Kieselgel mit verschiedenen Elutionsmitteln, z.B. n-Hexan/Ether (85:15) (A), n-Hexan (B), Ether/Benzol (20:80) (C) und Benzol (D). Im Gemisch (A) erhielten wir die beste Auftrennung. Zur vollständigen Trennung des diastereomeren Gemisches mussten wir das Verfahren wenigstens fünfmal wieder-

holen und erhielten so zwei Zonen. Aus der oberen Zone wurde eine farblose, ölige Substanz, ( $[\alpha]_D^{20} + 8.4^\circ$ , *m/e* 563 (*M*<sup>+</sup>)) isoliert. Die Hydrolyse der oberen Fraktion mit methanolischer Kalilauge lieferte (+)-Corynolin (2) (Schmp. 178–179°,  $[\alpha]_D^{20} + 116.4^\circ$ ). Die in gleicher Weise aus der unteren Fraktion gewonnene Base kristallisierte als durchsichtige Nadeln vom Schmp. 178–179° ( $[\alpha]_D^{20} - 116.4^\circ$ ). Die optische Reinheit der optisch aktiven Base wurde mit Hilfe eines chiralen NMR-Verschiebungsreagenzes<sup>5</sup> und der CD-Daten<sup>6</sup> gesichert. Das IR-Spektrum der (-)-Base in Nujol stimmte völlig mit demjenigen der (+)-Base überein. Damit konnte auch das Vorkommen des aktiven (+)-Corynolins (2) in *Corydalis incisa* festgestellt werden.

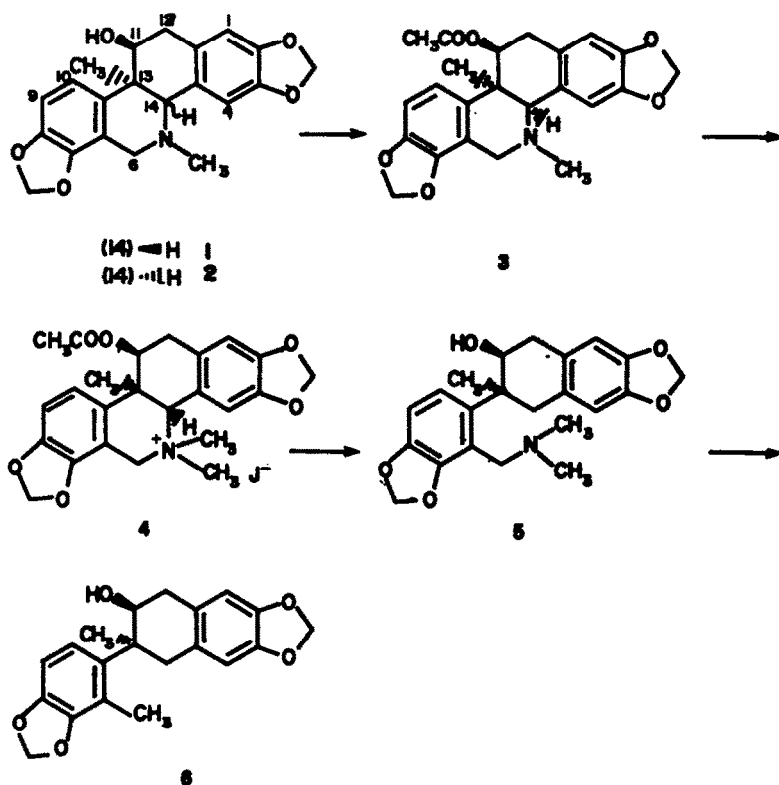
Um das optisch aktive Des-N-Produkt von (+)-Corynolin (2) mit demjenigen des (+)-14-Epicorynolins (1) gesicherter Konfiguration (11S, 13R und 14S)<sup>1</sup> zu vergleichen, wurde das (+)-Corynolin (2) zweimal dem Emde-Abbau unterworfen. Das Des-N-Produkt des (+)-14-Epicorynolins ist bereits bekannt.<sup>7</sup>

Die Acetylierung von 2 mit Essigsäureanhydrid und Pyridin bei Raumtemperatur lieferte (+)-Corynolin-O-Acetat (3) (Schmp. 115–116°,  $[\alpha]_D^{20} + 75.3^\circ$ ). Das O-acetat 3 wurde mit Methyljodid zum O-Acetatjodmethylat 4 (Schmp. 206–209°,  $[\alpha]_D^{20} + 89^\circ$ ) quaternisiert. Beim Emde-Abbau von 4 unter modifizierten Bedingungen<sup>8</sup> erhielten wir eine einzige Hydromethinbase 5 als eine ölige Substanz. Auf Grund des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums kann dieser Hydromethinbase die Struktur 5 zugeordnet werden. Nach nochmaliger Jodmethylierung und anschließendem Emde-Abbau entstand das Des-N-Produkt 6, vom Schmp. 161–162° und  $[\alpha]_D^{20} + 63^\circ$ . Durch Vergleich der IR-Spektren und durch Mischprobe erwies sich das Produkt 6 mit dem Des-N-Produkt des (+)-14-Epicorynolins (1) vollkommen identisch. Mit dieser Reaktionsfolge wurde die absolute Konfiguration an C(11) und C(13) im (+)-Corynolin (2) gesichert. Daraus ergibt sich die absolute Konfiguration des (+)-Corynolins (2) als 11S, 13R und 14R.

### EXPERIMENTELLER TEIL

Die IR-Spektren wurden mit dem EPI-G2 (Hitachi) Spektrometer, die MS-Spektren mit dem JEOL-OIS Instrument und die NMR-Spektren mit dem Varian A-60D oder mit dem NEVA NV-21 (90 MHz, CW-Technik) Spektrometer mit TMS als int.

†Die Isolierung der optischen aktiven Base aus der Pflanze wird im experimentellen Teil näher beschrieben.



Standard aufgenommen.—Die Drehwerte wurden mit dem DIP-SL (Jasco) Polarimeter gemessen.—Die Schmelzpunkte wurden mit dem Mikroskopheiztisch nach Kofler gemessen und sind unkorrigiert.—Für die Dünnschichtchromatographie wurden Kieselgel-Plattplatten F<sub>254</sub> (Merck) verwendet.

#### Isolierung des (+)-Corynolins (2) aus der Pflanze

Die aus 3.7 Kg (Trockengewicht) von *Corydalis incisa* hergestellten methanolischen Auszüge wurden wie üblich aufgearbeitet. Das nichtphenolische *tert.* Basengemisch wurde aus Chloroform-Methanol-Gemischen unkrystallisiert, wobei wir 3.5 g ( $\pm$ )-Corynolin (2) als durchsichtige Prismen vom Schmp. 216–217° erhielten. Die Mutterlauge wurde an Kieselgel mit Benzol/Ether (1:1) als Laufmittel chromatographiert. Dadurch erhielten wir 1.75 g ( $\pm$ )-Corynolin (2) als Prismen vom Schmp. 216–217° und ca. 1 g eines Gemisches (Racemat + optisch aktives 2) als eine hellgelbe ölige Substanz. Diese ölige Substanz wurde in Methanol gelöst und über Nacht stehen gelassen, wodurch sich rohes, kristallines (+)-Corynolin (2) anschied. Nach Wiederholung der Umkrystallisation aus Aceton-Ether-Gemischen erhielten wir 0.56 g (+)-Corynolin (2) als durchsichtige Nadeln vom Schmp. 178–179°;  $[\alpha]_D^{20} +116.4^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>, c = 1); C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>O<sub>3</sub>N, Ber.: C, 68.65; H, 5.76. Gef.: 68.64, H, 5.88%.

#### ( $\pm$ )-Corynolin-O(-)-menthoxyacetat

3 g ( $\pm$ )-Corynolin (2) wurden in Chloroform gelöst und unter Zusatz von einigen Tropfen Pyridin mit 2 g (-)-Menthoxyacetylchlorid versetzt. Das Gemisch wurde bei Raumtemp. über Nacht stehen gelassen und anschließend in Eiswasser gegossen. Die Chloroform-Phase wurde mit 5-proz. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und mit gesättigter Kochsalz-Lösung gewaschen, über Kaliumcarbonat getrocknet und anschließend abgedampft, wobei ein rotbrauner ölgiger Rückstand verblieb. Dieser wurde an Kieselgel mit einem Lösungsmittelgemisch Benzol/Ether (9:1) chromatographiert. Dabei erhielten wir 4.5 g farblose ölige Substanz, ( $\pm$ )-Corynolin-O(-)-menthoxyacetat.  $[\alpha]_D^{20} -55.2^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>, c = 1); MS *m/e* 563 (M<sup>+</sup>); IR (CHCl<sub>3</sub>) 1745 cm<sup>-1</sup> (C=O).

#### (+)- und (-)-Corynolin-O(-)-menthoxyacetat

Es konnte jeweils nur eine kleine Menge der diastereomeren Ester präparativ dünnenschichtchromatographiert werden: 20 mg ( $\pm$ )-Corynolin-O(-)-menthoxyacetat wurden auf einer Kieselplatte mit *n*-Hexan/Ether (85:15) als Laufmittel fünfmal hintereinander chromatographiert, wobei sich die beiden Produkte in zwei Zonen ansammelten. Danach wurde jede Zone abgeschabt und mit Chloroform-Methanol-Lösungsgemischen extrahiert. Die Lösung wurde abgedampft, wobei ein farbloser ölgiger Rückstand verblieb. Aus der oberen Zone wurde (+)-Corynolin-O(-)-menthoxyacetat als farblose ölige Substanz gewonnen.  $[\alpha]_D^{20} +8.4^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>, c = 7.9); IR (CHCl<sub>3</sub>) 1745 cm<sup>-1</sup> (C=O); MS *m/e* 563 (M<sup>+</sup>), 350 (Höchste Spitze), 335, 319, 202, 190; NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 1.26, s (C-CH<sub>3</sub>), 2.47, s (N-CH<sub>3</sub>), 5.30, t, J = 7.5 Hz (11-H), 5.88, s (2  $\times$  O-CH<sub>2</sub>-O), 6.53, 6.88, s (1-H, 4-H), 6.65, 7.03, ABq, J = 8 Hz (9-H, 10-H).

Aus der unteren Zone wurde (-)-Corynolin-O(-)-menthoxyacetat ebenfalls als farblose ölige Substanz erhalten.  $[\alpha]_D^{20} -69.4^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>, c = 3.9); IR (CHCl<sub>3</sub>) 1745 cm<sup>-1</sup> (C=O); MS *m/e* 563 (M<sup>+</sup>), 350 (Höchste Spitze), 335, 319, 202, 190; NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 1.26, s (C-CH<sub>3</sub>), 2.43, s (N-CH<sub>3</sub>), 5.30, t, J = 7.5 Hz (11-H), 5.88, s (2  $\times$  O-CH<sub>2</sub>-O), 6.53, 6.88, s (1-H, 4-H), 6.65, 7.00, ABq, J = 8 Hz (9-H, 10-H).

#### (-)- und (+)-Corynolin (2)

(1) 353 mg (+)-Corynolin-O(-)-menthoxyacetat wurden in 10 ml Methanol gelöst und mit 2 ml 5-proz. methanolischer Kalilauge versetzt. Das Gemisch wurde 1 h lang unter Rückfluss erhitzt und danach *l. Vak.* abdestilliert, wobei ein rotbrauner ölgiger Rückstand verblieb. Dieser wurde mit 5-proz. Salzsäure mehrmals extrahiert. Die Salzsäure-Auszüge wurden mit konz. Ammoniak alkalisch gemacht und mit Ether ausgeschüttelt. Die Ether-Auszüge wurden mit gesättigter Kochsalz-Lösung gewaschen, über Kaliumcarbonat getrocknet und der Ether abgedampft, wobei ein hellgelber Rückstand zurückblieb. Dieser lieferte bei der Kristallisation aus Aceton und Ether 160 mg durchsichtige Nadeln vom Schmp. 178–179°;  $[\alpha]_D^{20} +116.4^\circ$

(CHCl<sub>3</sub>, c = 1.7); IR (Nujol) 3150 cm<sup>-1</sup> (O-H); MS *m/e* 367 (M<sup>+</sup>), 349 (Höchste Spitze), 334, 318, 307, 202, 190; C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>O<sub>3</sub>N, Ber.: C, 68.65; H, 5.76. Gef.: C, 68.84; H, 5.92%.

Dieselbe Behandlung lieferte aus 300 mg (-)-Corynolin-O(-)-menthoxyacetat 142 mg (-)-Corynolin vom Schmp. 178–179°; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -116.4° (CHCl<sub>3</sub>, c = 2.5); IR (Nujol) 3150 cm<sup>-1</sup> (O-H); MS *m/e* 367 (M<sup>+</sup>), 349 (Höchste Spitze); C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>O<sub>3</sub>N, Ber.: C, 68.65; H, 5.76. Gef.: C, 68.52; H, 5.70%.

(2) *Bestimmung der Reinheit.* Nach Zugabe von 50 mg Tris - [3-(trifluormethylhydroxymethylen) - d - camphorato]europium(III) (Aldrich Chemical Company, Inc.), zu 50 mg (+)-Corynolin beobachtet man im NMR-Spektrum nur ein Singulett der N-Methylgruppe bei δ = 2.58 (CDCl<sub>3</sub>).

#### (+)-Corynolin-O-acetat (3)

70 mg (+)-Corynolin wurden mit 0.5 ml Essigsäureanhydrid und 0.1 ml Pyridin bei Raumtemp. über Nacht stehengelassen. Danach wurde das Reaktionsgemisch mit einer kleinen Menge Eis versetzt, mit konz. Ammoniak alkalisch gemacht und mit Ether extrahiert. Die Ether-Auszüge wurden über Kaliumcarbonat getrocknet und abgedampft. Der Rückstand wurde in Benzol gelöst und an Kieselgel mit Benzol chromatographiert. Durch diese Trennung wurden 71 mg durchsichtige zylinderförmige Kristalle gewonnen, Schmp. 115–116° (Aceton-Ether); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +75.3° (CHCl<sub>3</sub>, c = 2.3); IR (Nujol) 1715, 1737 cm<sup>-1</sup> (C=O); MS *m/e* 409 (M<sup>+</sup>); C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>O<sub>4</sub>N, Ber.: C, 67.47; H, 5.66; N, 3.42. Gef.: C, 67.21; H, 5.64; N, 3.45%.

#### (+)-Corynolin-O-acetat-jodmethylat (4)

126 mg (+)-Corynolin-O-acetat wurden in einem Lösungsmittelgemisch von 5 ml Aceton und 1 ml Methanol gelöst und zusammen mit 1 ml Methyljodid 2 h unter Rückfluss erhitzt. Danach wurde die Lösung abgedampft. Der Rückstand lieferte aus Aceton 112 mg durchsichtige zylinderförmige Kristalle vom Schmp. 206–209°; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +89° (Methanol, c = 2.7); IR (KBr) 1740 cm<sup>-1</sup> (C=O); C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>O<sub>4</sub>NJ, Ber.: C, 52.28; H, 4.75; N, 2.54. Gef.: C, 52.04; H, 4.70; N, 2.66%.

#### Erster Emde-Abbau des (+)-Corynolin-O-acetatjodmethylats (4)

107 mg 4 wurden in Methanol gelöst und mit frisch hergestelltem Silberchlorid (aus 100 mg AgNO<sub>3</sub>) 30 Min. geschüttelt. Das so erhaltene Chlormethylat wurde in 2 ml Wasser gelöst und unter Eiskühlung mit 30-proz. Natronlauge versetzt. Die Lösung wurde unter Röhren portionsweise mit 1 g Raney-Nickel versetzt und über Nacht stehengelassen. Danach wurde die ausgeschiedene ölige Substanz mit Ether mehrmals ausgeschüttelt. Die Ether-Auszüge wurden mit gesättigter Kochsalz-Lösung gewaschen, über Kaliumcarbonat getrocknet und der Ether ab-

gedampft, wobei 50 mg farblos-er ölig-er Rückstand (5) zurückblieb. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +128.2° (CHCl<sub>3</sub>, c = 1); IR (CHCl<sub>3</sub>) 3400–2400 cm<sup>-1</sup> (O-H); MS *m/e* 383 (M<sup>+</sup>), 350, 305, 295, 275, 190, 167, 149 (Höchste Spitze); NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ = 1.42, s (C-CH<sub>3</sub>), 2.28, s (N-CH<sub>3</sub>), 5.88, s (2 × O-CH<sub>2</sub>-O), 6.53, 6.63, s (1-H, 4-H), 6.63, 6.91, ABq, J = 8 Hz (9-H, 10-H).

#### (+)-Corynolin-hydromethinbase-jodmethylat

89 mg 5 wurden mit 1 ml Aceton und 1 ml Methyljodid bei Raumtemp. über Nacht stehengelassen. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels i. Vak. blieb 120 mg farblos-er ölig-er Rückstand. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +112.1° (Methanol, c = 4); NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ = 1.43, s (C-CH<sub>3</sub>), 3.33, s (N-CH<sub>3</sub>), 4.23, m (11-H), 5.23, b.s. (6-H<sub>2</sub>), 5.87, s (O-CH<sub>2</sub>-O), 6.08, d, J = 3 Hz (O-CH<sub>2</sub>-O), 6.50, 6.70, s (1-H, 4-H), 6.79, 7.06, ABq, J = 8 Hz (9-H, 10-H).

#### Des-N-Produkt 6 des (+)-Corynolins

120 mg Jodmethylat wurden in das Chlormethylat überführt, in 2 ml Wasser gelöst und unter Eiskühlung mit 30-proz. Natronlauge versetzt. Die Lösung wurde unter Röhren portionsweise mit 1 g Raney-Nickel versetzt und anschliessend 1 h lang gerührt. Danach wurde die ausgeschiedene Substanz mit Ether ausgeschüttelt. Die Ether-Auszüge wurden mit 5-proz. Salzsäure und mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und abgedampft, wobei ein ölig-er Rückstand verblieb. Dieser lieferte aus Ether 50 mg durchsichtige, plättchenförmige Kristalle vom Schmp. 147–150°; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +63° (CHCl<sub>3</sub>, c = 1.2); IR (KBr) 3550 cm<sup>-1</sup> (O-H); MS *m/e* 340 (M<sup>+</sup>), 322, 204, 192, 163 (Höchste Spitze), 148; NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ = 1.32, s (C-CH<sub>3</sub>), 2.45, s (Bz-CH<sub>3</sub>), 4.60, m (11-H), 5.88, 5.94, s (2 × O-CH<sub>2</sub>-O), 6.60, 6.65, s (1-H, 4-H), 6.67, 6.94, ABq, J = 8 Hz (9-H, 10-H); C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>, Ber.: C, 70.59; H, 5.88. Gef.: C, 70.70; H, 6.07%.

#### LITERATUR

- <sup>1</sup>N. Takao, M. Kamiguchi, K. Iwasa, K. Tomita, T. Fujiwara und A. Wakahara, *Tetrahedron Letters* 805 (1974).
- <sup>2</sup>C. Tani und N. Takao, *Yakugaku Zasshi* 82, 595 (1962).
- <sup>3</sup>N. Takao, *Chem. Pharm. Bull.* 11, 1306, 1312 (1963).
- <sup>4</sup>N. Takao, K. Iwasa, M. Kamiguchi und M. Sugiura, *Ibid.* 24, 2859 (1976).
- <sup>5</sup>F.-G. Klärner, S. Yaslak und M. Wette, *Chem. Ber.* 110, 107 (1977).
- <sup>6</sup>G. Englet, F. Kienzle und K. Noeck, *Helv. Chim. Acta* 60, 1209 (1977).
- <sup>7</sup>N. Takao, H.-W. Bersch und S. Takao, *Chem. Pharm. Bull.* 21, 1096 (1973).
- <sup>8</sup>S. Sugawara und T. Matsuno, *Chem. Pharm. Bull.* 4, 142 (1956).