

# LYCOPSIDA

## LYCOPODIACEAE

### ALCALOÏDES DE *LYCOPodium ALPINUM*

N. MILLER,\* F. MEES et J. C. BRAEKMAN†

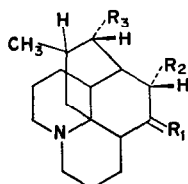
Université Libre de Bruxelles, Service de Chimie Organique, Faculté des Sciences,  
50, Av. Franklin Roosevelt, Bruxelles 1050, Belgique



(Received 15 September 1970, in revised form 26 November 1970)

**Abstract**—Four alkaloids have been isolated from *Lycopodium alpinum*. These have been identified as lycopodine, lycoclavine, clavolonine and des-*N*-methyl- $\alpha$ -obscurine.

LA PRÉSENTE communication est consacrée à l'isolement et à l'identification des alcaloïdes présents dans *Lycopodium alpinum* (Lycopodiaceae).‡ Cette espèce, contrairement aux autres lycopodes des régions tempérées de l'hémisphère nord, n'avait fait jusqu'à présent l'objet d'aucune étude chimique en ce qui concerne la nature des alcaloïdes qu'elle contient.

La poudre végétale, préalablement dégraissée par traitement à l'éther de pétrole et humectée par de l'ammoniaque, a été extraite en soxhlet par du méthanol. Les constituants basiques de l'extrait méthanolique ont été concentrés, selon le mode opératoire détaillé dans la partie expérimentale, dans deux fractions appelées respectivement 'bases faibles' ( $B_f$ ) et 'bases fortes' ( $B_F$ ).



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
(I)	=O	-H	-H
(II)	 OCOCH <sub>3</sub> -H	-OH	-H
(III)	=O	-H	-OH
(V)	=O	-H	-OCOCH <sub>3</sub>
(VII)	 OH -H	-OH	-H
(VIII)	=O	-OH	-H

La fraction  $B_f$  a été soumise à une distribution à contre courant et scindée en deux nouvelles fractions; l'une à caractère basique dont on isole après chromatographie sur colonne d'alumine de la lycopodine (I)<sup>1</sup> et de la lycoclavine (II);<sup>2</sup> l'autre, non basique,

\* Boursier du Gouvernement Belge.

† Chargé de recherches au Fonds National de la Recherche Scientifique.

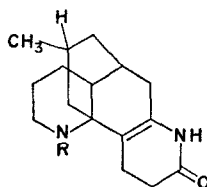
‡ Nous remercions Monsieur A. Lawalree (Jardin Botanique de l'Etat à Bruxelles) qui a confirmé l'identification du matériel végétal qui a été récolté au Tyrol dans la vallée de la Lisens.

<sup>1</sup> D. B. MAC LEAN, *The Alkaloids* (edited by R. H. F. MANSKE), Chap. 4, Academic Press (1968).

<sup>2</sup> W. A. AYER and D. A. LAW, *Can. J. Chem.* **40**, 2088 (1962).

constituée essentiellement de p-coumarate de méthyle, de férulate de méthyle, de palmitate de méthyle et d'un mélange de stéarate de méthyle, d'un dehydro- et d'un bisdéhdro-stéarate de méthyle.

De la fraction  $B_F$  on sépare, suite à une chromatographie sur colonne d'alumine, outre une nouvelle quantité de lycoclavine et de lycopodine, un mélange cristallin constitué de clavolonine (III)<sup>3,4</sup> et de des-*N*-méthyl- $\alpha$ -obscurine (IV).<sup>5</sup> La séparation de ces deux derniers composés est réalisée, au niveau des dérivés acétylés (V) et (VI) correspondants, par distribution à contre courant en tirant parti du caractère non basique du dérivé acétyle de l' $\alpha$ -obscurine. L'identification des quatre alcaloïdes qui ont été isolés est établie sur la base de leurs propriétés physiques et spectrales.



(IV) R = H  
(VI) R = COCH<sub>3</sub>

L'identité du dérivé (I) est prouvée par comparaison directe avec un échantillon authentique de lycopodine; celle du dérivé (III) par comparaison directe de son iodométhylate avec un échantillon authentique d'iodométhylate de clavolonine.\*

Par ailleurs, l'identité du composé (II) est prouvée par corrélation avec la lycopodine. En effet, le diol (VII) obtenu par hydrolyse de l'alcaloïde (II) est rigoureusement identique au produit de réduction de l'alcaloïde L20 (VIII)<sup>6</sup> par le borohydrure de sodium, que nous avons préparé en oxydant la lycopodine en  $\alpha$ -hydroxycétone suivant le schéma réactionnel décrit par Ayer et ses collaborateurs.<sup>6</sup>

Enfin, l'identité du composé (IV) avec la des-*N*-méthyl- $\alpha$ -obscurine est établie sur la base des propriétés spectroscopiques de son dérivé acétylé (VI).

La lycopodine et la clavolonine sont des alcaloïdes répandus dans les espèces du genre *Lycopodium*. En effet, la présence de la lycopodine est renseignée, à quelques exceptions près, dans toutes les espèces de ce genre qui ont été étudiées jusqu'à présent (une vingtaine environ); celle de la clavolonine dans six d'entre elles.<sup>1,7</sup> Par contre la lycoclavine et la des-*N*-méthyl- $\alpha$ -obscurine sont des constituants plus parcimonieusement répandus qui n'avaient été signalés jusqu'à maintenant que dans *L. clavatum* var. *megastachyon*<sup>2</sup> pour la lycoclavine et dans *L. clavatum*,<sup>5</sup> *L. flabelliforme*<sup>8</sup> et *L. fawcettii*<sup>9</sup> pour la des-*N*-méthyl- $\alpha$ -obscurine.

\* Nous remercions Monsieur le Professeur R. H. Burnell pour l'envoi d'un échantillon d'iodométhylate de clavolonine.

<sup>3</sup> R. H. BURNELL and D. R. TAYLOR, *Chem. & Ind.* 1239 (1960).

<sup>4</sup> R. H. BURNELL and D. R. TAYLOR, *Tetrahedron* **15**, 173 (1961).

<sup>5</sup> W. A. AYER, J. A. BEREZOWSKY and G. E. IVERACH, *Tetrahedron* **18**, 567 (1962).

<sup>6</sup> W. A. AYER, J. A. BEREZOWSKY and D. A. LAW, *Can. J. Chem.* **41**, 649 (1963).

<sup>7</sup> Y. INUBUSHI, H. ISHII, B. YASUI, T. HARAYAMA, M. HOSOKAWA, R. NISHINO and Y. NAKAHARA, *Yakugaku Zasshi* **87**, 1394 (1967).

<sup>8</sup> S. N. ALAM, K. A. H. ADAMS and D. B. MACLEAN, *Can. J. Chem.* **42**, 2456 (1964).

<sup>9</sup> R. H. BURNELL, C. G. CHIN, B. S. MOOTOO and D. R. TAYLOR, *Can. J. Chem.* **41**, 3091 (1963).

En conclusion, vu la nature des alcaloïdes que nous avons isolés de *L. alpinum*, il ressort que cette lycopodiacee ne contient que des alcaloïdes déjà connus dont le squelette est largement répandu parmi les membres de cette famille botanique. En cela donc, *L. alpinum* ne se distingue en rien de la plupart des autres espèces du genre.

## PARTIE EXPÉRIMENTALE

### Extraction

La poudre sèche de *Lycopodium alpinum* (3,19 kg), préalablement dégraissée en soxhlet par de l'éther de pétrole 60-80, est humectée par de l'ammoniaque et extraite exhaustivement par le MeOH. La solution obtenue est concentrée sous vide et le concentré est traité par l'acide acétique à 20%. Après filtration sur verre fritté, la phase aqueuse acide (A) est extraite exhaustivement par du  $\text{CHCl}_3$ . Les phases  $\text{CHCl}_3$  sont rassemblées et évaporées sous vide. La masse liquide résultante est rendue basique par  $\text{NH}_4\text{OH}$  et extraite par  $\text{CHCl}_3$ . Les phases  $\text{CHCl}_3$ , rassemblées, séchées et évaporées à sec sous vide, donnent un résidu solide (17,25 g; 0,54%) répondant positivement aux tests d'Aebisch et Reichstein<sup>10</sup> et que nous appelons 'bases faibles' ( $B_f$ ). La phase aqueuse acide (A) est ensuite rendue basique par addition d' $\text{NH}_4\text{OH}$ , puis extraite exhaustivement par  $\text{CHCl}_3$ . Des phases  $\text{CHCl}_3$  un résidu solide est obtenu (1,55 g; 0,05%) qui répond positivement aux tests d'Aebisch et Reichstein et que nous appelons 'bases fortes' ( $B_F$ ).

### Traitement de la fraction $B_f$

La fraction  $B_f$  (17,2 g) est soumise à une distribution à contre courant de 7 transferts en ampoules de 4 l ( $\text{CHCl}_3$ -Tampon McIlvaine pH = 2,8). La matière se répartit en deux fractions de coefficients de partage égal à respectivement  $K = 0$  et  $K = 2,5$ .

(A) De la fraction de  $K = 2,5$  (3,1 g), on sépare après chromatographie sur colonne d'alumine (éluant: éther de pétrole puis benzène), de la lycopodine (~1 g) et de la lycoclavine (~20 mg).

*Lycopodine*.  $F = 114-115^\circ$ . Le spectre IR (KBr), le spectre de masse (SM) et le  $R_f$  dans le MeOH (gel de silice G selon Stahl-Merck) sont superposables à ceux d'un échantillon de lycopodine authentique. Le point de fusion mixte ne présente pas d'abaissement de température.

*Lycoclavine*.  $F = 201-203^\circ$ . Le spectre IR (KBr) et SM sont compatibles avec ceux décrits pour la lycoclavine.<sup>11,2</sup> Les spectres IR et SM du diol obtenu par hydrolyse basique de notre dérivé (MeOH- $\text{H}_2\text{O}$ , 4:1; KOH 2%) sont superposables à ceux du produit de réduction de l'alcaloïde L20 par  $\text{NaBH}_4$  que nous avons préparé à partir de la lycopodine en utilisant le schéma décrit par Ayer et ses collaborateurs.<sup>6</sup> Les  $R_f$  dans le MeOH sont identiques et le point de fusion mixte des perchlorates des deux diols ne présente pas d'abaissement de température.

(B) 2 g de la fraction de  $K = 0$  (11,2 g) sont fixés sur une colonne de silice (100 g) et élués successivement par du benzène, du  $\text{CHCl}_3$ , de l'acétate d'éthyle et du MeOH. On prélève des fractions de 250 ml. Les fractions ayant un comportement identique en CCM [de silice] sont rassemblées. Chacune des fractions ainsi obtenue est passée en CPV (Colonne: SE 30 (20%) sur diatoport W de 80 à 100 mesh). \*† Les produits principaux sont piégés et identifiés par SM, IR et éventuellement par RMN. On détecte ainsi la présence de *p*-coumarate de méthyle ( $F:138^\circ$ ), de palmitate de méthyle ( $F:27^\circ$ ), de férulate de méthyle et d'un mélange composé de stéarate de méthyle, d'un dehydrostéarate de méthyle et d'un bisdehydrostéarate de méthyle. Ce mélange conduit après hydrogénation catalytique à du stéarate de méthyle pur.

### Traitement de la fraction $B_F$

La fraction  $B_F$  (1,55 g) est chromatographiée sur une colonne d'alumine et éluee au benzène. On sépare ainsi nouvelle quantité de lycopodine (~100 mg) et de lycoclavine (~30 mg). Par élution au  $\text{CHCl}_3$  on isole un mélange de deux composés (~100 mg) qui cristallise dans le benzène ( $F = 233^\circ$ ) et dont le spectre de masse est la superposition des SM de la clavonoline et de la des-*N*-méthyl- $\alpha$ -obscurine.<sup>11</sup> 80 mg de ce mélange sont dissous dans 3 ml de pyridine, additionnés d'un ml d'anhydride acétique et laissés à température ambiante pendant 24 hr. Après addition d' $\text{H}_2\text{O}$  (10 ml) et évaporation à sec sous vide, le résidu solide obtenu est soumis à une distribution à contre courant de 23 transferts ( $\text{CHCl}_3$ -Tampon McIlvaine pH 2,2). Deux fractions sont séparées.

*Clavonoline*. De la fraction de  $K > 1$  on isole de l'*O*-acétylclavonoline (37 mg). SM: Ion moléculaire à  $m/e = 305$ ; Ions fragments caractéristiques à  $m/e = 262, 246, 245, 230, 220, 191, 190, 162, 160$  et 149. Le dérivé acétylé est hydrolysé par 5 ml du système eau-méthanol, 1:1; NaOH 1M. La clavonoline obtenue est

\* LP 118, Silicone Rubber,  $\text{Se}_{30}$ , Liquid Phase, F & M Scientific Corporation.

† ST 112 F & M Scientific Corporation.

<sup>10</sup> E. AEBISCH et J. REICHSTEIN, *Helv. Chim. Acta*, **43**, 1866 (1960).

<sup>11</sup> D. B. MACLEAN, *Can. J. Chem.*, **41**, 2654 (1963).

cristallisée dans l'acétone.  $F = 228-232^\circ$ . Le spectre IR et le spectre de masse sont comparables à ceux décrits pour la clavonine.<sup>4</sup> Le spectre IR (KBr) de l'iodométhylate préparé à partir de notre échantillon est superposable à celui d'un échantillon authentique d'iodométhylate de clavonine. Le point de fusion mixte des iodométhylates ne présente pas d'abaissement de température.

*Des-N-methyl- $\alpha$ -obscurine*. De la fraction de  $K = 0$  on sépare l'*N*-acétyl-des-*N*-méthyl- $\alpha$ -obscurine (34 mg).  $F. 248-256^\circ$ . IR: Bandes à 3200, 2910, 1680, 1645 et 1400  $\text{cm}^{-1}$ . SM: Ion moléculaire à  $m/e = 302$ ; Ions fragments caractéristiques à  $m/e = 259, 245, 230, 217, 203, 190$  et 175.

Remerciements—Nous remercions MM. les professeurs R. H. Martin et J. Pécher pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu accorder à ce travail.

Nous exprimons notre gratitude au Fonds National de la Recherche Scientifique et au Gouvernement Belge pour leur aide morale et financière.

Nous remercions également le Fonds de la Recherche Scientifique Fondamentale Collective pour le subside octroyé au laboratoire.

Phytochemistry, 1971, Vol. 10, pp. 1934 to 1935. Pergamon Press. Printed in England.

## SPENOPSISIDA

### EQUISETACEAE

#### THE ISOLATION OF INDOLE-3-CARBOXALDEHYDE FROM *EQUISETUM TELMATEIA*

P. BOURDOUX, D. VANDERVORST and C. HOOTÉLÉ\*

Université Libre de Bruxelles, Service de Chimie Organique, Faculté des Sciences, Bruxelles, Belgique

(Received 2 October 1970, in revised form 20 November 1970)

*Plant*. Sterile aerial stems of *Equisetum telmateia* Ehrh. (*E. maximum* Lam.) collected near Brussels in June 1969.

*Previous work*. Chemical.<sup>1-4</sup>

*Isolation and identification*. The dried plants (5 kg) were exhaustively extracted by boiling light petroleum, then moistened with  $\text{NH}_3$  and thoroughly extracted by MeOH. The concentrated residue was mixed with 10% HOAc, filtered and extracted with  $\text{CHCl}_3$ . The  $\text{CHCl}_3$  solution was then extracted with 0.1 N HCl and evaporated. By chromatography on alumina of the residue (4.5 g) of non basic compounds, five constituents were isolated.

Indole-3-carboxaldehyde (25 mg)† was identified on the basis of its physical properties (m.p.  $192-193^\circ$ , IR, UV, NMR, MS); this structural attribution was confirmed by comparison (mixed m.p., IR, TLC) with a sample synthesized from indole.<sup>5</sup>

Methyl palmitate (600 mg; identified by IR, NMR, MS), palmitamide (9 mg; m.p.

\* Chargé de Recherches du Fonds National de la Recherche Scientifique.

† The specified weights are the weights actually obtained; they do not necessarily represent the total weight of each compound in the fraction under study.

<sup>1</sup> K. R. ADAMS, R. BONNETT, J. HALL and J. P. KUTNEY, *Chem. Commun.* 456 (1969).

<sup>2</sup> A. SOSA, *Ann. Sci. Nat. Botan.* 10, 201 (1949).

<sup>3</sup> J. D. PHILLIPSON and C. MELVILLE, *J. Pharm. Pharmacol.* 12, 506 (1960).

<sup>4</sup> W. DIETSCH and C. H. EUGSTER, *Chimia* 14, 353 (1960).

<sup>5</sup> G. F. SMITH, *J. Chem. Soc.* 3842 (1954).