

berichten wir hier über eine Serie von Studien an Individuen die multiple Dosen erhielten. In dieser Simulierung einer gesamten Behandlungsfolge kann gezeigt werden, dass auch ein gängiges Chemotherapieschema mit Hilfe chronobiologischer Erwägungen und Methoden noch erheblich verbessert werden kann: ein zur Zeit in der Klinik oft verschriebenes carcinostatisches Pharmakon wird viel besser vertragen wenn es zeitlich – den Rhythmen des Wirtes entsprechend – gezielt verabreicht wird.

Mäuse mit einer experimentellen Leukämie vertragen Arabinosyl Cytosin (ara-C) bei gleicher Gesamtdosis besser, wenn sie statt eines konventionellen Schemas (mit gleichen, im 3-Stunden-Intervall verabreichten, Dosen) ein den zirkadianen Rhythmen entsprechendes sinusoidales Schema (eine Folge von im 3-Stunden-Intervall graduell abfallenden und wieder ansteigenden Dosen) erhalten. Bei früher begonnenen Studien²⁰, die sich nach wie vor auf die Herabsetzung von Toxizität der Behandlung beschränken und die nunmehr 70, 54 und 42 Tage nach der Leukämieinokulation ausgewertet werden können, beträgt der Gewinn an Toleranz für das getestete Mittel (ara-C) im Durchschnitt 15.59 Mäusetage. Ergebnisse von Mäuseversuchen lassen sich natürlich nicht zwanglos auf die Humanmedizin übertragen. Eine jeweils noch zu erhaltende Extrapolation zum Menschen muss auch die entsprechenden durchschnittlichen Lebensdauern

der beiden Spezies in Betracht ziehen. Mit solcher Einschränkung entspricht der Gewinn an Toleranz bei der Maus dem Äquivalent von 545 humanen Lebens-tagen.

Hier belegen wir auch an Hand neuer Versuche den von Chronobiologen vorausgesagten Umstand, dass verschiedene sinusoidale Behandlungsarten nicht gleichwertig sind. Eine besondere zeitliche Lage der Folge von hohen und niedrigen Dosen entlang der 24-Stunden-Skala ist anderen, den Empfindlichkeitsrhythmen des Wirtes nicht angepassten Lagen des gleichen sinusoidalen Schemas (mit der gleichen Gesamtdosis) klar überlegen. Es erscheint unwahrscheinlich, dass wir es hier ausschliesslich mit einer Wirkung der Reihenfolge als solcher von hohen und niedrigen Dosen zu tun haben. Die Sequenz hoher und niedriger Dosen ist bei den verschiedenen gleichzeitig getesteten sinusoidalen Behandlungsarten die gleiche. Auch wird jede Sequenz zur gleichen zirkadianen Zeit für alle Gruppen begonnen. Nur die initiale Dosis in der sinusoidalen Sequenz wird variiert, um für verschiedene Gruppen von behandelten Tieren eine verschiedene zeitliche Lage hoher und niedriger Dosen in Bezug auf das zirkadiane System des Wirtes zu erreichen. Es erscheint wahrscheinlich, dass der letztere Faktor für die erhöhte Toleranz gewisser sinusoidaler ara-C Verabreichungssequenzen auch mit verantwortlich zeichnet.

SPECIALIA

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces brèves communications. – Für die Kurzmitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed in the authors' brief reports. – Ответственность за короткие сообщения несут исключительно автор. – El responsable de los informes reducidos, está el autor.

Deoxoscalarin, A Further Sesterterpene with the Unusual Tetracyclic Carbon Skeleton of Scalarin, from *Spongia officinalis*

Recently, HAFIZULLAH et al.¹ reported the occurrence in the fern, *Cheilanthes farinosa* Kaulf., of cheilanthatriol (I), which represents a new fundamental type of sesterterpene. It seems to be derived from geranylarnesol by a cyclization initiated at the isopropylidene group, which is typical of triterpenes.

More recently, FATTORUSSO et al.² described scalarin (II) from the sponge, *Cacospongia scalaris*, a second sesterterpene with a carbon skeleton, which appears to be of the same origin as cheilanthatriol and formed by closely allied biosynthetic processes involving additional cyclizations.

Further studies of the extract from the sponge, *Spongia officinalis*, from which we have already described a number of furanoterpenes with linear C-25³ and truncated C-21 chains^{4,5}, have now led us to the isolation of a new additional sesterterpene, present in small amounts, which proved to have the structure III, closely related to scalarin (II) and which we have named deoxoscalarin.

Extraction of fresh tissues (350 g, weighed dry) of *S. officinalis* and fractionation on silica gel column of solvent extracts were reported previously⁴. Fractions eluted with benzene-ether (7:3) were rechromatographed on preparative TLC (Merck precoated silica gel F₂₅₄ plates; benzene-ether, 7:3) to give crystalline deoxo-

¹ K. HAFIZULLAH, A. ZAMEN, G. L. CHETTY, A. S. GUPTA and S. DEV, Tetrahedron Lett. 1971, 4443.

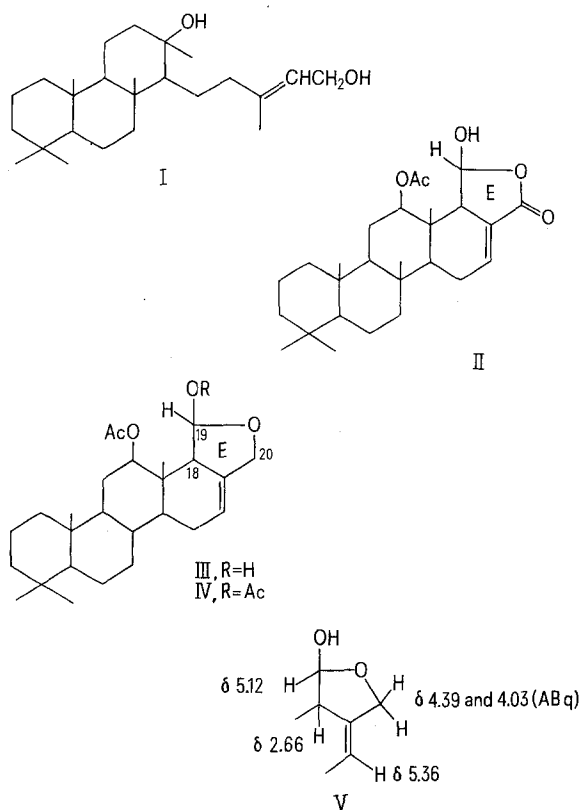
² E. FATTORUSSO, S. MAGNO, C. SANTACROCE and D. SICA, Tetrahedron, 28, 6021 (1972).

³ G. CIMINO, S. DE STEFANO and L. MINALE, Tetrahedron 28, 5983 (1972).

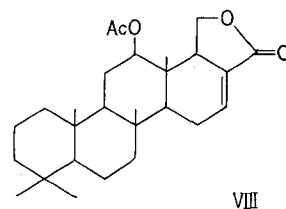
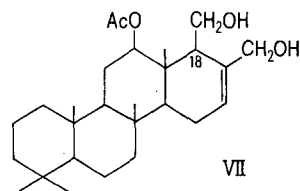
⁴ G. CIMINO, S. DE STEFANO, L. MINALE and E. FATTORUSSO, Tetrahedron 27, 4673 (1971).

⁵ G. CIMINO, S. DE STEFANO, L. MINALE and E. FATTORUSSO, Tetrahedron 28, 267 (1972).

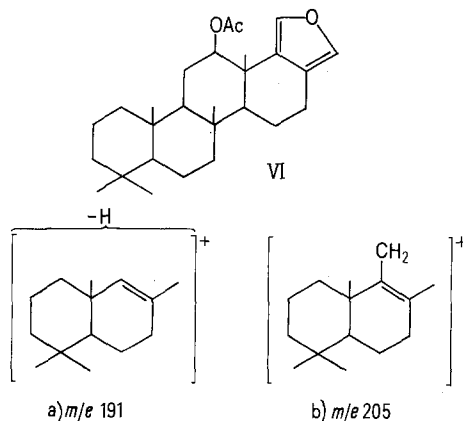
scalarin⁶ (Rf 0.3) (~ 100 mg; yield $\sim 0.03\%$ of the dry sponge), m.p. $166\text{--}168^\circ$ from CCl_4 , $[\alpha]_D^{25} = +42.5^\circ$ ($c = 1.1$; CHCl_3). Although the highest value in the mass spectrum⁷ of deoxoscalarin (III) was 412 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), elementary analysis⁷ and the spectroscopic data from it and its various derivatives confirmed its molecular formula as $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_4$. Deoxoscalarin (III), like scalarin, possesses a $-\text{CH}-\text{OAc}$ grouping as deduced from IR- (ν_{max} 1735 and 1240 cm^{-1}) and NMR-(3H singlet at δ 2.02 and 1H multiplet at δ 4.86) spectra⁷. Furthermore, the NMR-spectrum (CCl_4) of deoxoscalarin (III) includes, inter alia, a multiplet at δ 5.36 (1H) due to an olefinic proton, a doublet ($J = 4\text{ Hz}$) at δ 5.12 (1H) (this signal shifted down field at δ 5.96 on acetylation) attributable to CHOH proton, an AB quartet broadened by long range coupling with line positions at δ 4.39 and 4.03 ppm ($J = 12\text{ Hz}$) due to an isolated methylene in an asymmetrical environment and attached to oxygen and a methine multiplet, which from its chemical shift (δ 2.66), must be linked to unsaturated carbon. Spin decoupling experiments suggested that the above oxygen functions and the double



bond are arranged as shown in V: irradiation at δ 2.66 collapsed the doublet at 5.12 into a singlet and simplified the olefinic multiplet at δ 5.36, while irradiation on the 5.36 signal distinctly sharpened the AB quartet and simplified the multiplet at δ 2.66. In confirmation, treatment of deoxoscalarin with acetic anhydride and pyridine at reflux for 1 h afforded, besides a monoacetyl derivative [yield 50%; IV; $M^+ - \text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ at m/e 412; m.p. $164\text{--}167^\circ$ from light petroleum; $[\alpha]_D^{25} = +41.3^\circ$ (c , 0.9, CHCl_3); ν_{max} 1725 and 1230 cm^{-1} ; δ CH_3CO_2 — 2.02 and 1.91 ppm], an Ehrlich-positive substance [yield 25%; VI; M^+ 412; m.p. $129\text{--}132^\circ$; $[\alpha]_D^{25} = 70.3^\circ$ (c , 1.3; CHCl_3)], which possesses a β , β -disubstituted furan ring (λ_{max} 221 nm; ϵ 4,180 in cyclohexane; 2 one-proton broad singlets at δ 7.02 and 6.96 ppm in CDCl_3), derived from V by dehydration and shift of the double bond.



From the foregoing evidence, deoxoscalarin (III) would appear closely related to scalarin (II) and they very probably differ only in the ring E. The close relationship between scalarin and deoxoscalarin was further evidenced by mass spectrometry: both spectra include strong peaks at m/e 191 (base peak in II; 90% in III) and 205 (70% in II; base peak in III), which may be attributed to ions a) and b) respectively; furthermore, the mass spectrum of deoxoscalarin shows a series of peaks at m/e 412 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$; 80%), 384 (cleavage of the $\text{C}_{18}\text{--C}_{19}$ bond and the $\text{C}_{20}\text{--O}$ bond; 10%) and 370 ($M^+ - \text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$; 20%) which are also apparent in the spectrum of scalarin even if they are,



as expected, up-shifted by 14 mass units. Chemical correlation between the 2 sesterterpenes definitively established structure III for the new natural product. Treatment of III with sodium borohydride converted it into a diol [VII; Rf 0.3 in benzene-ether, 1:1; m/e 372 ($M^+ - \text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$, very small), 354 ($M^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$); NMR-spectrum (CDCl_3) very similar to that of the

⁶ Sponges, collected in the Bay of Naples, were obtained from the supply department of the Zoological Station (Naples). Various samples of animals collected in different periods of the year were analyzed and all samples were found to contain deoxoscalarin.

⁷ Mass spectra were recorded on an A.E.I. MS-9 spectrometer; IR-spectra were determined in CHCl_3 with a Perkin-Elmer 257 Infrared spectrophotometer; NMR-spectra were recorded on a Varian HA-100 apparatus operating at 100 MHz with TMS as internal standard; melting points, taken on a Kofler block, are uncorrected. All compounds gave satisfactory elementary analyses. We are grateful to Mr. C. DiPinto of our laboratory for NMR measurements.

parent compound, except that the CHOH proton absorption is replaced by a more complex signal integrating for 2H at δ 3.73 which, on irradiation at δ 2.62 (H-C-18), collapsed into an AB quartet ($J = 11$ Hz)], which, after SiO_2 chromatographic purification, was oxidized with chromium trioxide-pyridine complex⁸ to give a lactone, m.p. 208–213° (lit. 213–216°), $[\alpha]_D^{20} = +58^\circ$ (lit. $+65.2^\circ$), whose mass, NMR-, IR- and UV-spectra were the same as those of compound VIII, derived from scalarin (II) on sodium borohydride reduction².

Riassunto. Ulteriori studi dell'estratto dalla spugna *Spongia officinalis* hanno condotto all'isolamento di un nuovo sesterterpene, deoxoscalarina (III), strettamente correlato alla scalarina (II), precedentemente ottenuta dalla spugna *Cacospongia scalaris*. La scalarina e la deoxoscalarina posseggono un nuovo scheletro carbonioso

tetraciclico biogeneticamente derivabile da quello del cheilanthatriolo (I), sesterterpene triciclico, isolato recentemente da una felce. (I), (II) e (III) rappresentano un tipo nuovo nella classe dei sesterterpeni; essi sembrano originati biogeneticamente dal geranilfarnesolo attraverso una insolita ciclizzazione iniziata al gruppo isopropilidenico, che è, invece, comune nei triterpeni.

G. CIMINO, S. DE STEFANO and L. MINALE

Laboratorio per la Chimica e Fisica di Molecole di Interesse Biologico del C.N.R., Via Totano, 2, Arco Felice, Napoli (Italy), 28 December 1972.

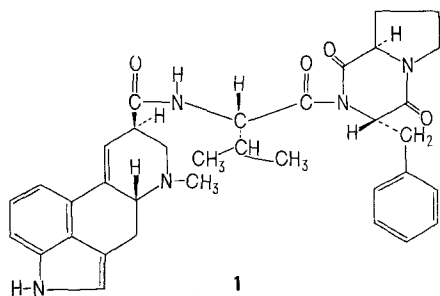
⁸ V. I. STENBERG and R. J. PERKINS, J. org. Chem. 28, 323 (1963).

Ein neues Alkaloid aus dem Mycel eines *Claviceps purpurea*-Stammes. Zur Biogenese von Ergocristin¹

In jüngster Zeit wurde von verschiedenen Arbeitskreisen die Biogenese des Peptidteils von Mutterkornalkaloiden bearbeitet^{2–5}. Soliess sich an *Claviceps*-Stämmen, welche in Submerskultur Ergocornin und Ergokryptin bilden, zeigen, dass weder L-Valyl-L-prolin-lactam⁴ noch d-Lysergyl-valin⁵ als direkte Vorstufen für die Ergotoxinreihe gelten können.

Wir haben aus dem lyophilisierten Mycel eines Ergocristin-bildenden *Claviceps purpurea*-Stammes nach schonender Extraktion ein neues Alkaloid mit ähnlichen chromatographischen Eigenschaften wie Ergocristin isoliert, dessen Konfiguration **1** aus den untenstehenden physikalischen und chemischen Daten abgeleitet wurde.

Mikroanalyse und Massenspektrum ($M^+ = 593$) entsprechen $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{N}_5\text{O}_4$. IR (CH_2Cl_2): 1660, 1710 cm^{-1} (ν Carbonyl eines N-Acylamids)⁶. UV: charakteristischer Chromophor der Lysergsäure: λ_{max} 307 (3,99) nm (log ϵ). Aminosäure-Analyse: 1 Valin, 1 Phenylalanin, 1 Prolin.



1 N-[N-(d-Lysergyl)-L-valyl]-L-phenylalanyl-D-prolin-lactam

Das NMR-Spektrum (100 MHz in CDCl_3) weist die charakteristischen Protonensignale einer Isopropylgruppe (δ 0,9 und ca. 2 ppm), einer Benzylgruppe (δ 3,2 und 7,2) sowie für Prolin (δ 1,5–2,2) und Lysergsäure (z.B. H-9: δ 6,55 d) auf. Die C-2-Protonen des Phenylalanins und des Valins erscheinen, wie für N-Acyl-dioxopiperazine zu erwarten, nach tiefem Feld verschoben (δ 5,25 t bzw. δ 5,65 m).

Eine Aussage über die Chiralität des Prolins im Dioxopiperazinring ermöglicht die chemische Verschiebung des C-2 Protonensignals (δ 2,5 t) im Prolinteil. Doppelresonanzversuche durch Einstrahlung bei 1,75 und 2,0 ppm

beweisen dessen Kopplung mit den CH_2 -Gruppen des Prolins. (Das Spektrum von N-(d-Lysergyl)-L-valin-methylester weist in diesem Bereich keine störenden Signale auf.)

Zum Vergleich sind die δ -Werte der entsprechenden Protonen im L-Phenylalanyl-L-prolin-lactam (3,7 ppm), N-Acetyl-L-phenylalanyl-L-prolin-lactam (Smp. 124–125°; $[\alpha]_D^{20} = +141^\circ$; c = 1, Aethanol; 3,7 ppm) und L-Phenylalanyl-D-prolin-lactam (2,9 ppm) angeführt. Diese bei diastereomeren Dioxopiperazinen mit einer Benzylgruppe besonders ausgeprägte Shift-Differenz der C-2-Protonen des Prolinteils muss daher dem Einfluss des Phenylringstroms zugeschrieben werden⁷. Daraus ergibt sich ein Hinweis für die D-Konfiguration des Prolins in **1**.

Ergänzende Informationen über die Struktur von **1** erhält man auf Grund der äusserst rasch verlaufenden, basenkatalysierten Methanolyse der neuen Verbindung. (5 min Raumtemperatur bei Anwesenheit von 1% Triäthylamin oder 5% Pyridin, oder 3 Tage Raumtemperatur ohne Basenzusatz.) In jedem Falle entstehen in gleichen Anteilen N-(d-Lysergyl)-L-valin-methylester **2** (gefasst als Hydrogenmaleinat: Smp. ca. 190° (Zers.) $[\alpha]_D^{20} = +38^\circ$; c = 1, Aethanol/Wasser 1:1), L-Phenylalanyl-D-prolin-lactam **3** (Smp. 150–153°, $[\alpha]_D^{20} = +87,7^\circ$; c = 1, Aethanol) und eine amorphe, schwer zu reinigende Verbindung, deren NMR- und Massenspektrum ($M^+ = 625$) mit N-(d-Lysergyl)-L-valyl-L-phenylalanyl-D-prolin-methylester **4** vereinbar ist. Eine Epimerisierung in die d-Isolysergsäureformen erfolgt dabei noch nicht.

Analog liefert N-Acetyl-L-phenylalanyl-L-prolin-lactam unter den gleichen Bedingungen $\geq 95\%$ L-Phenylalanyl-L-prolin-lactam und nur Spuren des D-Prolin-Isomeren, obwohl von der Synthese des Ergotamins und seiner

¹ 75. Mitteilung über Mutterkornalkaloide. 74. Mitt. siehe Helv. chim. Acta 55, 75 (1972).

² S. AGURELL, Acta pharm. suecica 3, 71 (1966).

³ A. MINGHETTI and F. ARCAMONE, Experientia 25, 926 (1969).

⁴ D. GRÖGER and S. JOHNE, Experientia 28, 241 (1972) sowie weitere Literaturzitate darin.

⁵ H. G. FLOSS, G. P. BASMAJIAN, M. TCHENG, D. GRÖGER and D. ERGE, Lloydia 34, 446 (1971).

⁶ R. G. GRIOT and A. J. FREY, Tetrahedron 19, 1661 (1963).

⁷ C. JOHNSON and F. BOVEY, J. chem. Phys. 29, 1012 (1958).