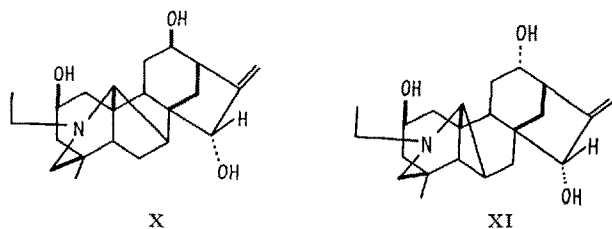


However, the basicity of the weakly basic carbinol-amine-ether III, if it is formulated as IX, cannot be equally well explained as for the structure III*d*.

There is a strong tendency to maintain C₁₇ in the trigonal state because of steric interaction with C₈. This effect would oppose the basicity weakening interaction with the axial hydroxy group. (For a detailed discussion of this effect in veatchine, see ref.⁶.) This means that the interaction with the axial hydroxyl would have to lower the basicity not by two, but almost by five orders of magnitude (pK of veatchine = 11.5). This is considered unlikely and consequently the C₁₇–C₁₀ bond is preferred to the C₁₆–C₁₀ bond in the napelline skeleton. Also the oxidation of III*d* to Vb is analogous to the course of such a reaction in garryine. The oxidation of veatchine has never been observed to give C₁₇ lactams.

The structure of napelline and napellonine can of course not be regarded as rigorously proven, but the rather extensive evidence available at present is fully compatible with the structures discussed.

There is only one attractive hypothesis left. This is the possibility that in the last step of Kuzovkov's synthesis, which was a dehydrogenation, the very plausible rearrangement of a methyl group into the less hindered 9 position has occurred and that the 'natural' phenanthrene is actually 1–9-dimethyl-7-ethyl phenanthrene. This possibility changes nothing in the interpretation of the chemistry of napelline, it only means that the biogenetically very plausible structure X is still a possibility for napelline besides the structure XI.



We might mention that the skeleton as in X was considered by us ab origine, but discarded initially for the reasons we have discussed¹.

We have recently also sent a sample of napellonine to Professor E. OCHIAI, Tokyo, who has ascertained its identity with the Shimoburo base⁷.

In conclusion, we wish to withdraw the name napellonine in favour of the name songorine, in deference to the first isolation of this compound by YUNUSOV⁴.

We wish to thank Dr. A. D. KUZOVKOV and Professor E. OCHIAI for kindly communicating their results to us.

K. WIESNER, SHÔ ITÔ, and Z. VALENTA

Organic Chemistry Laboratory, University of New Brunswick, Canada.

Zusammenfassung

Für das Aconitum-Alkaloid Napellin wurden auf Grund einer eingehenden Diskussion des Tatsachenmaterials die Strukturen XI bzw. X vorgeschlagen. Das Alkaloid Songorin ist das dazugehörige Ring-D-Keton.

⁶ K. WIESNER and J. A. EDWARDS, Exper. 11, 255 (1955).

⁷ TSUTOMU SUGASAWA, Pharmac. Bulletin 4, 6 (1956).

Über die Atmungsenzyme des Seeigeleies

Die Information über die Atmungsenzyme des Seeigeleies erscheint lückenhaft, grossenteils veraltet und teilweise widersprechend¹. Ungeklärt sind unter anderem folgende Fragen:

1. Inwieweit das Zytochrom-System operativ ist²;
2. der Weg des Wasserstoff-Transportes, insbesondere inwieweit DPNH- und TPNH-dehydrierende Enzyme aktiv sind;
3. ob der Zitronensäurezyklus wirksam ist, besonders im Hinblick auf mehrfache Berichte über die Abwesenheit von Succinatsystemen³, und
4. Natur und Abbaupeweise der Substrate der endogenen Atmung⁴.

Zudem ist auch die intrazelluläre Verteilung der Atmungssysteme, ob Mitochondrien und Mikrosomen oder ihre Äquivalente existieren, bisher nicht untersucht worden. In einer Mitteilung⁵ wurde kürzlich der Beweis für mitochondrienartige Teilchen, die das komplette Zytochrom-System enthalten, geführt. Unsere Untersuchungen ergaben folgende Hauptergebnisse:

Es gelang mittels photometrisch-kinetischer Methoden der Nachweis und die Messung von a) Zytochrom-Oxydase, b) hochaktiver DPNH⁶-Zytochrom-c-Reduktase, c) Succinodehydase- und d) schwacher TPNH-Zytochrom-c-Reduktase-Aktivitäten ($< 1/20$ der DPNH-Reduktase-Aktivität) im Homogenat von unbefruchteten ebenso wie von befruchteten Seeigeleiern.

Fraktionierung mittels Zentrifugation zeigte enzymatische Profile, wie sie für Mitochondrien und Mikrosomen kennzeichnend sind (Tabelle I). Nur die Mitochondrienfraktion zeigte Zytochrom-Oxydase und Succinodehydase-Wirkung; ihre Succinodehydase und DPNH-Zytochrom-c-Reduktase war durch RÜ-Hemmstoff hemmbar (Tabelle II). Diese Eigenschaften der Mitochondrien sind also beim Seeigel und beim Säugetier gleich. Die Mikrosomen enthalten annähernd die Hälfte der gesamten DPNH-Zytochrom-c-Reduktase-Aktivität. Neben der Abwesenheit von Zytochrom-Oxydase und Succinodehydase sind sie durch RÜ nicht beeinflussbar. Das Differenzspektrum (reduziert mittels DPNH und Dithionit gegen oxydiert) einer Mikrosomensuspension ähnelt dem Mikrosomenzytochrom (b_5) der Säugetiere, jedoch ist das Maximum⁷ in der γ -Bande bei 428–30 m μ , also deutlich zum Langwelligen hin verschoben. Gegen eine Identität mit Zytochrom b_5 spricht auch die Abwesenheit einer katalytischen Wirkung bei Zugabe von Erythrozyten-Diaphorase, wie sie bei Zytochrom b_5 beobachtet wurde⁸.

¹ J. RUNDSTRÖM, Adv. Enzymol. 9, 241 (1949).

² E. G. BALL und B. MEYERHOF, J. biol. Chem. 134, 483 (1940). – M. E. KRAHL, A. K. KELTCH, C. E. NEUBECK und G. H. A. CLOWES, J. gen. Physiol. 24, 597 (1941).

³ E. G. BALL und B. MEYERHOF, J. biol. Chem. 134, 483 (1940). – I. M. GOLDINGER und E. S. G. BARRON, J. gen. Physiol. 30, 73 (1943). – A. K. KELTCH *et al.* J. gen. Physiol. 33, 547 (1950).

⁴ M. E. KRAHL *et al.*, J. gen. Physiol. 38, 31 (1954–55); Biochim. biophys. Acta 20, 27 (1956).

⁵ A. GHIRETTI-MAGALDI, Exp. Cell Res. (im Druck).

⁶ Abkürzungen: DPNH: reduziertes Diphosphopyridinnukleotid; TPNH: reduziertes Triphosphopyridinnukleotid; RÜ: Retikulozytenhemmstoff.

⁷ P. STRITTMATTER und S. F. VELICK, J. biol. Chem. 221, 253 (1956). – D. GARFINKEL, Arch. Biochem. Biophys. 71, 111 (1957).

⁸ S. RAPOPORT und C. WAGENKNECHT, Naturwissenschaften 44, 515 (1957).

Tabelle I
Verteilung der Oxydationsenzyme im Seeigle (Paracentrotus lividus)

Versuch Nr.	Zellfraktion	Zytochrom-oxydase	DPNH-Zytochrom-c-Reduktase	Succinat-Zytochrom-c-System
VII VIIIa (unbefruchtet)	Ü ₀	3,44	5,55	0,68
	Mitochondrien	3,18	3,04	0,65
	Mikrosomen	0	2,21	0
	Überstand		0,12	
X (unbefruchtet)	Ü ₀		6,93	0,42
	Mitochondrien	3,18	3,18	0,16
	Mikrosomen	0	2,74	0
	Überstand		0,3	
VIIIb (befruchtet)	Ü ₀		4,49	0,51
	Mitochondrien		2,17	0,14
	Mikrosomen		1,98	0
	Überstand		0,09	

Gewinnung und Befruchtung der Eier erfolgte nach üblichen Methoden. Die Eier wurden nach ⁹ mit der Modifikation gewaschen und homogenisiert, dass im Homogenisierungsmedium Glyzylglyzin durch Phosphat ersetzt wurde. Die überstehende Suspension Ü₀ wurde durch Zentrifugieren des Homogenates bei 1000 g (20 min; Abtrennung der nicht zerstörten Eier) gewonnen. Die Herstellung der Mitochondrien erfolgte bei 13000 g (90 min) und der Mikrosomen bei 80000 g (300 min). Die überstehende Lösung dieser Fraktion wird als «Überstand» bezeichnet. Die Messung der Enzymaktivität wurde nach ¹⁰ vorgenommen. Die Werte geben die Mikromole Zytochrom c an, die von den einzelnen Enzymen entweder oxydiert oder reduziert wurden, bezogen auf 1 g Ei-Frischgewicht. Untersuchungsmonate waren Oktober und November 1957.

Tabelle II
Hemmung der Mitochondrien-Enzyme durch RÜ-Hemmstoff und Einfluss von RÜ auf Mikrosomen

Fraktion	System	Aktivität		Hemmung %
		Kontrolle	+ RÜ	
Mitochondrien . .	Succ-Zyt.-c	11	0	100
	DPNH-Zyt.-c	34	11	68
Mikrosomen . . .	DPNH-Zyt.-c	29	30	—

Zahlen geben ΔE · 10³/min im Ansatz an. Die Messung erfolgte nach¹¹.

- Folgende weitere Befunde scheinen von Interesse:
1. Das Verhältnis Succinat zu DPNH-Enzymaktivität entspricht annähernd dem in der Rattenleber. Die leichte Zerstörbarkeit der Succinodehydraseaktivität, die bei der Fraktionierung beobachtet wird (siehe Tabelle I, Versuch X und VIII B), erklärt vermutlich frühere negative Befunde.
 2. Die Diaphoraseaktivität ist verhältnismässig schwach, verglichen mit den Verhältnissen bei Säugetieren.
 3. Bei Befruchtung sind auffallende Veränderungen weder bezüglich der Aktivität noch der Verteilung der untersuchten Atmungsenzyme gefunden worden.

⁹ M. E. KRAHL, A. K. KELTCH, C. E. NEUBECK und G. H. A. CLOWES, J. gen. Physiol. 24, 597 (1941).
¹⁰ S. RAPOPORT und CH. NIERADT, Hoppe-Seylers Z. 302, 156 (1955).
¹¹ C. WAGENKNECHT und S. RAPOPORT, Hoppe-Seylers Z. 308, 127 (1957).

Die hohe Aktivität sowohl der Zytochrom-Oxydase als auch der DPNH-Zytochrom-Reduktase-Systeme ergeben eine hohe Kapazität für den Wasserstoff- und Elektronen-Transport. Diese Ergebnisse sprechen nicht für einen enzymatischen Block oder eine Lücke¹ im Atmungssystem des unbefruchteten Seeiglees.

S. RAPOPORT, E. C. G. HOFMANN
und ANNA GHIRETTI-MAGALDI

Physiologisch-chemisches Institut der Humboldt-Universität Berlin und Physiologische Abteilung der Zoologischen Station Neapel, 5. Februar 1958.

Riassunto

Le attività citocroma ossidasica, succino-deidrogenasica, DPNH e TPNH cit. c riduttasica sono state studiate in omogenati e frazioni mitocondriali e microsomiali di uova vergini e fecondate di *Paracentrotus lividus*. I mitocondri contengono tutta l'attività citocromossidastica e succinodeidrogenasica, mentre i microsomi solo una metà della attività DPNH cit. c riduttasica totale. Spettri differenziali hanno rivelato la presenza, nei microsomi, di un citocromo avente una banda γ a 428–430 mμ.

A Cytochrome c from the Hepatopancreas of *Sepia officinalis* L.*

In the course of a recent investigation¹ on the respiratory enzymes in mitochondria isolated from several organs of cephalopods, direct proof of the presence of cytochrome c was not obtained. However, the difference spectra and the enzymatic activities of the particles indicated that the pigment was present, even if not easily detectable.

Having by chance a large number of living sepias in the laboratory suggested to us to attempt the extraction and purification of cytochrome c from different organs. The hepatopancreas was found to be the most suitable material. A total weight of 22 kg tissue was obtained and stored at – 20°C until needed.

Acid extraction and purification according to KEILIN and HARTREE² resulted in a complete loss of the pigment. Since all attempts based on acid treatment gave negative results, a method based on alkaline extraction was tried and found to be successful. The purification procedure of cytochrome c from sepia hepatopancreas was as follows:

Step 1.—2 kg of minced tissue were homogenized in Waring blender for 2 min with 3 l of H₂O made alkaline with ammonia (pH ca. 8) and the suspension was centrifuged at 600 × g for 30 min. The upper layer (fat) was removed by suction, the supernatant stored in the cold and the sediment re-homogenized in 1 l of alkaline water and centrifuged as above. The combined supernatants were measured and to each 1100 ml, 100 ml of 25% lead acetate were added. The heavy precipitate was discarded by centrifugation at 2000 × g for 30 min and the supernatant was clarified by filtration on Hyflo supercell. The deep yellow-coloured solution was brought to pH 6 with

* This work has been supported by a grant (RG-4548) of the U.S. Public Health Service.
¹ A. GHIRETTI-MAGALDI, A. GIUDITTA, and F. GHIRETTI, Biochem. J. 66, 303 (1957); J. cell. comp. Physiol. (in the press).
² D. KEILIN and E. F. HARTREE, Proc. Roy. Soc. London 122B, 298 (1937).