

Anstieg. Die ATP Laktatwerte erreichen bei HMP nur rund 10% der Werte bei den übrigen Substraten.

Die hervorragende Bedeutung des ATP für die Glykolyse mag zu der Vorstellung verleiten, dass der qualitativen Abhängigkeit der Glykolyse von der Gegenwart des ATP auch eine quantitative entsprechen müsste im Sinne einer Proportionalität mit der ATP-Konzentration. Dass dies nicht der Fall ist, geht aus den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit hervor. Wird dem beschriebenen «aktiven Hämolytat»<sup>3</sup> HMP als Substrat zugesetzt, so folgt eine kräftige Laktatbildung, obwohl sich das anfangs vorhandene ATP schnell auf einen geringen Bruchteil reduziert. Die mit dem ATP-Abfall verbundene AMP-Anhäufung zeigt, dass es sich um die Abspaltung der beiden energiereichen Phosphatreste handelt; die Nucleosidmonophosphatsynthese bleibt ungestört. Wird als Substrat aber FDP verwendet, so erreicht die Laktatkonzentration kaum die Hälfte des «HMP-Laktats», während ATP ansteigt. Variiert anstelle des Substrats das Versuchs-pH, etwa durch Verschiebung von 7,5 auf 8,1, so steigt die Laktatbildung auf ihr Maximum; indessen sinkt der ATP-Gehalt. Auch hier erhöht sich der AMP-Gehalt<sup>3</sup>. Der pH-Effekt beruht in erster Linie auf einer Aktivitätssteigerung der Hexokinase, welche bei den HMP-Versuchen aber keine Rolle spielen kann. Schliesslich lässt der Vergleich der Blutproben verschiedener Individuen gelegentlich starke Abweichungen zwischen ATP-Gehalt und Milchsäurebildung erkennen. In einer unserer Proben war beispielsweise eine sehr aktive Glykolyse von einem geringen ATP-Gehalt begleitet, in

einer anderen eine mittelmässige glykolytische Aktivität von einer überdurchschnittlichen ATP-Ansammlung.

Wir kommen also zu dem Ergebnis, dass im frischen Hämolytat ATP-Gehalt und Milchsäurekonzentration Einflüssen zugänglich sind, die ihr gegenseitiges Verhältnis weitgehend bestimmen, und dass daher die ATP-Konzentration nicht in allen Fällen geschwindigkeitsbestimmend für die Glykolyse ist. Das von Tsuboi<sup>5</sup> auf Grund seiner Versuche mit konserviertem Blut erhobene Postulat, dass die Glykolyse von der ATP-Konzentration abhängig sei, behält daher seine Gültigkeit nur innerhalb gewisser Grenzen.

Die zu einer Erklärung obiger Befunde notwendige Überprüfung weiterer Reaktionsteilnehmer ist im Gange.

**Summary.** A hemolysate of human red cells with intact capacity for ATP-synthesis and glycolysis was incubated with some glycolytic substrates plus adenine. ATP and lactic acid levels did not always vary in the same direction. HMP caused an extensive formation of lactic acid accompanied by a loss of ATP<sup>6</sup>.

W. KLEIN und E. BERETTA

*Laboratorio Enzimi, Soc. Italiana Prodotti Schering. Milano (Italia), 1. November 1965.*

<sup>5</sup> K. K. Tsuboi, J. biol. Chem. 240, 582 (1965).

<sup>6</sup> Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden auf der 8. Lateinischen Tagung für Biochemie in Lissabon (19. bis 26.9.1965) vorgetragen.

### Phytochemical Studies. Isolation of 5-Ethyltropolone from *Libocedrus formosana*<sup>1</sup>

The genus *Libocedrus* (Family Cupressaceae, tribe Thujoideae) is a rich source of seven-membered ring compounds<sup>2</sup>. Some years ago an investigation of the heartwood components of *Heyderia formosana* (Florin) Li (= *Libocedrus formosana* Florin) revealed the presence of both shonanin and thujic acids<sup>3</sup>. Later, a screening of the *n*-hexane extract detected  $\beta$ - and  $\gamma$ -thujaplicin,  $\beta$ -thujaplicinol, and two additional but unidentified tropolones<sup>4</sup>. The unknown compound with the lowest polarity value (Rf 0.06; support, phosphoric acid impregnated cellulose powder; eluent, *n*-hexane; developer, dilute ferric chloride solution) formed a copper complex salt that was recrystallized from chloroform to furnish green crystals, m.p. 279–280° (decomposition). Treatment of the copper chelate with dilute sulfuric acid gave the pure tropolone, which was sublimed (60°/30 mm) to afford prisms, m.p. 79–80°. The compound analyzed for C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub> (found: C, 72.17; H, 6.73; calculated: C, 71.98; H, 6.71). The mass spectrum confirmed the molecular weight of 150 (parent ion) and showed the strongest fragmentation peak at 117 (loss of both carbon monoxide and methyl), with lesser peaks at 135 (loss of methyl), 122 (loss of carbon monoxide or ethylene) and 77 (phenyl ion)<sup>5</sup>. The IR-spectrum in potassium bromide revealed absorptions at 3220 (hydrogen-bonded hydroxyl), 1617 (conjugated carbonyl), and 1605, 1545, and 1280 cm<sup>-1</sup> (conjugated triene). The UV-spectrum in isooctane contained maxima at 224 (4.38), 240 (4.28, inflection), 248 (4.16, inflection),

311 (3.92 shoulder), 323 (3.96), 358 (3.76), and 376 nm (3.66) (log  $\epsilon$ ). The three initial and intense extinction bands occur in the typical tropolone 'region A', while the next four and weaker absorptions are in 'region B'. The UV-data observed here are almost identical to the reported values for  $\gamma$ -thujaplicin, but not for  $\beta$ - or  $\alpha$ -thujaplicin<sup>6,7</sup>. The nuclear magnetic resonance spectrum in deuteriochloroform with tetramethylsilane as an internal standard possessed peaks centered at 8.71 (area one, hydroxyl proton), 7.26 (area four, aromatic protons), 2.64 (area two, quartet, methylene protons), and 1.23 ppm (area three, triplet, methyl protons). The aromatic absorption existed as a single peak, suggestive of a possible symmetrical molecule.

The foregoing information appears to strongly support the formulation of this particular compound as 5-ethyltropolone. Fortunately, all three possible isomeric ethyl-

<sup>1</sup> For the previous paper in this series see: Y.-T. LIN, K.-T. WANG, and B. WEINSTEIN, Chem. Commun., 592 (1965).

<sup>2</sup> R. HEGNAUER, *Chemotaxonomie der Pflanzen* (Birkhäuser Verlag, Basel 1962), vol. 1, p. 347, 365, 366.

<sup>3</sup> Y.-T. LIN, T.-B. LO, and Y.-S. CHENG, J. Chinese chem. Soc., Taiwan 7, 166 (1960).

<sup>4</sup> Y.-T. LIN and K.-T. LIU, J. Chinese chem. Soc., Taiwan 10, 156 (1963).

<sup>5</sup> J. M. WILSON, M. OHASHI, H. BUDZIKIEWICZ, C. DJERASSI, S. ITÔ, and T. NOZOE, Tetrahedron 19, 2247 (1963).

<sup>6</sup> W. VON E. DOERING and L. H. KNOX, J. Am. chem. Soc. 74, 297 (1953).

<sup>7</sup> H. ERDTMAN and J. GRIPENBERG, Acta chem. scand. 2, 625 (1948).

tropolones are described in the literature; specifically, 3-ethyltropolone has been characterized as a greenish-yellow copper complex, m.p. 219°<sup>8,9</sup> and 223°<sup>10</sup>, while 4-ethyltropolone is a solid, m.p. 42°, copper complex, m.p. 156°<sup>11</sup>, and 5-ethyltropolone is known in the form of colorless prisms, m.p. 81–82°, green copper complex, m.p. 274°<sup>8,9</sup>. An IR-spectrum comparison between the natural product and synthetic 5-ethyltropolone, recovered from a copper complex salt, fully confirmed their mutual identity<sup>12</sup>.

Attention is called to the fact point 5-ethyltropolone (or  $\gamma$ -northujaplicin) represents the second example of an uncommon class of nortropolones that may be widely distributed in Nature. The first compound in this series is 4-acetyltropolone, which was isolated recently from

*Thujopsis dolabrata* Sieb. et Zucc.<sup>13,14</sup>. In recognition of this fact, a search was made for this particular material in the tropolone fraction of *Libocedrus formosana*, but it was not detected by various thin-layer chromatographic procedures<sup>15</sup>. Careful scrutiny of the heartwood extracts of the family Cupressaceae may reveal additional nortropolones, related in particular to the various  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -thujaplicins.

*Zusammenfassung.* Es wird die Isolierung eines neuen Nortropolon-Derivates beschrieben.

Y.-T. LIN, K.-T. LIN, K.-T. WANG,  
and B. WEINSTEIN

*Department of Chemistry, National Taiwan University, Taipei (Taiwan, Republic of China), and Department of Chemistry, Stanford University, Stanford (California USA), October 15, 1965.*

<sup>8</sup> K. TAKASE, T. SUDO, and K. UNNO, reported at the 13th Annual Meeting of the Chemical Society of Japan, Tokyo, April 1960.

<sup>9</sup> T. NOZOE, *Non-Benzenoid Aromatic Compounds*, vol. 13; Ed. M. KOTAKE, *Organic Chemistry* (Asakura Book Store, Tokyo 1960), p. 158.

<sup>10</sup> Shell International Research Maatschappij N.V., French Patent 1,338,875 (October 4, 1963).

<sup>11</sup> T. NOZOE, T. MUKAI, and S. MATSUMOTO, *Proc. Japan Acad.* 27, 110 (1951).

<sup>12</sup> We wish to express our thanks to Dr. T. ASAO, Department of Chemistry, Tohoku University, Sendai, Japan, for this collation of samples.

<sup>13</sup> K. ITÔ, reported at the 12th Annual Meeting of the Chemical Society of Japan, Kyoto, April 1959.

<sup>14</sup> T. NOZOE, *Non-Benzenoid Aromatic Compounds*, vol. 13; Ed. M. KOTAKE, *Organic Chemistry* (Asakura Book Store, Tokyo 1960), p. 23.

<sup>15</sup> Y.-T. LIN and K.-T. LIU, *J. Chinese chem. Soc., Taiwan* 10, 160 (1963) (footnote).

## Zum Vorkommen von Maltose in vegetativen Pflanzenteilen

Einige der meist älteren Angaben über die Speicherung von Maltose in höheren Pflanzen wurden papierchromatographisch überprüft. Nachdem BAILEY<sup>1</sup> in *Trifolium*-Blättern eine intermediäre Anhäufung von Maltose bei einsetzendem Abbau der Assimilationsstärke nachgewiesen hat, sollten dabei zugleich Hinweise auf das Speicherverhalten dieses Zuckers gewonnen werden.

Die papierchromatographische Trennung der Zucker erfolgte nach der Extraktion<sup>2</sup> in Butanol-Äthanol-Wasser (4:1:5, V). Daneben fanden Phenol-Wasser und Butanol-Eisessig-Wasser als Laufmittel Verwendung. Allerdings liegen bei Anwendung von Phenol die R<sub>f</sub>-Werte häufig ungünstig; bei Anwendung essigsäurehaltiger Gemische besteht stets Hydrolysegefahr. – Der Nachweis der Maltose erfolgte mit dem spezifischen Diphenylamin-Anilin-Reagenz<sup>3–5</sup>, das eine charakteristische Farbreaktion ergibt und im Gegensatz zu Anilinhthalat auch ziemlich empfindlich ist. Die Mengen wurden durch Schätzung der Fleckintensitäten gegen chromatographisch gleich behandelte bekannte Maltosemengen ermittelt.

In einzelnen wurden folgende Ergebnisse erzielt: Das von GILLOT<sup>6</sup> festgestellte Vorkommen von Maltose in Rhizomen von *Mercurialis perennis*, das BRIDEL<sup>7</sup> als nicht gesichert ansah, konnte bestätigt werden. Im Spätherbst finden sich deutlich grössere Mengen als im Frühjahr (Anfang November: um 1,5%; Ende April: 0,2 bis 0,5% i.T.), wenn auch der Maltosegehalt bei den von uns untersuchten Pflanzen stets geringer war als von GILLOT angegeben. Man wird mit diesem Autor annehmen können, dass die Maltose hier als echter Speicherzucker

fungiert. Ähnliches dürfte auch für die Knollen von *Umbilicus pendulinus* gelten. In diesen fand BRIDEL<sup>7</sup> im Herbst grosse Mengen an Maltose; im April war sie nur in Spuren (um 0,1%) nachweisbar<sup>8</sup>.

Im Rhizom von *Aconitum napellus* konnte entsprechend den Angaben von LASCOMBES und CARLES<sup>9</sup> Maltose gefunden werden, wenn auch in unseren Versuchspflanzen die Menge im Dezember geringer war. Auch *Aconitum lycoctonum* enthält in den unterirdischen Teilen Maltose, aber wesentlich weniger als die Rhizome von *Aconitum napellus* zur gleichen Zeit. – Die Angabe von VAN DIE<sup>10</sup> über Maltosevorkommen in Blättern von *Solanum lycopersicum* konnte bestätigt werden; im August betrug die Maltosemenge ca. 0,1–0,2% i.T.

In Übereinstimmung mit BACON<sup>11</sup> und im Gegensatz zu PANT et al.<sup>12</sup> war Maltose in frisch geernteten Zwiebeln von *Allium cepa* nicht nachzuweisen. Zwar ist nach einjähriger Lagerung ebenso wie in austreibenden Zwiebeln das Auftreten von Maltose nicht sicher auszuschliessen. Wenn hierbei jedoch Maltose überhaupt auftritt, so kann

<sup>1</sup> R. W. BAILEY, *Nature, Lond.* 199, 1291 (1963).

<sup>2</sup> K. JEREMIAS, *Planta, Berl.* 52, 195 (1958).

<sup>3</sup> J. L. BUCHAN und R. J. SAVAGE, *Analyst* 77, 401 (1952).

<sup>4</sup> S. SCHWIMMER und A. BEVENUE, *Science* 123, 543 (1956).

<sup>5</sup> R. W. BAILEY und E. I. BOURNE, *J. Chromatogr.* 4, 206 (1960).

<sup>6</sup> M. P. GILLOT, *J. Pharm. Chim., Sér. VII*, 28, 148 (1923).

<sup>7</sup> M. BRIDEL, *C. r. Acad. Sci., Paris* 179, 1190 (1924).

<sup>8</sup> U. KULL, *Beitr. Biol. Pflanzen* 41, 231 (1965).

<sup>9</sup> S. LASCOMBES und J. CARLES, *C. r. Acad. Sci., Paris* 242, 664 (1956).

<sup>10</sup> J. VAN DIE, *Acta bot. neerl.* 71, 418 (1962).

<sup>11</sup> J. S. D. BACON, *Biochem. J.* 67, 5P (1957).

<sup>12</sup> R. PANT, H. O. AGRAWAL und A. S. KAPUR, *Flora* 152, 530 (1962).