

massgeblich beteiligt sind, der Grössenordnung nach eine Länge von 1 bis  $2 \times 10^{-5}$  cm haben müssen. Wir werden später das Achsenverhältnis aus der Viskosität berechnen und dann diesen Längenwert benützen, um auch die Grössenordnung des Teilchengewichtes zu bestimmen. Es sei jetzt schon vorweggenommen, dass dieselbe 1—2 Zehnerpotenzen grösser ist als diejenige der mittleren Molekulargewichte, welche für Caseinatlösungen mit sehr kleinen Salzgehalten in der Ultrazentrifuge ermittelt worden sind. An der aggregierenden Wirkung des Natriumsulfates kann somit kein Zweifel bestehen.

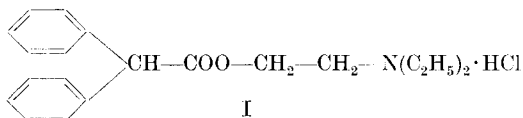
Chemisches Institut der Universität Bern,  
Organische Abteilung.

## 57. Über die Darstellung einiger basischer Ester substituierter Essigsäuren

von K. Miescher und K. Hoffmann.

(29. III. 41.)

Vor einigen Jahren haben wir eine grössere Reihe von basischen Estern und basischen Amidon verschieden substituierter Essigsäuren, insbesondere der Di- und Triphenylelessigsäure, dargestellt. Eine Verbindung dieser Reihe, das Diphenylelessigsäure-diäthylamino-äthanol-ester-hydrochlorid (I)

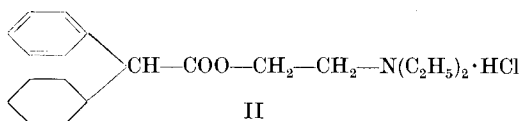


ist seit einiger Zeit unter dem Namen „Trasentin“ als Spasmolytikum im Handel. Es vereinigt die neurotrope Wirkung des Atropins mit der museulotropen des Papaverins ohne die Nebenwirkungen des Atropins insbesondere auf Pupille, Speichelsekretion und Herz aufzuweisen. Über seine pharmakologischen Eigenschaften hat R. Meier<sup>1)</sup> ausführlicher berichtet.

In unsere Untersuchungen wurden sodann auch basische Ester und basische Amide von im Kern teilweise oder vollständig hydrierten Diphenylelessigsäuren einbezogen. Dabei zeigte sich, dass insbesondere die partielle Kernhydrierung bei basischen Estern der Diphenylelessigsäure zu einer weiteren Steigerung der Wirkung führt.

<sup>1)</sup> Klin. Wochschr. 1936, 1403.

Namentlich zeichnete sich das Hexahydro-diphenylessigsäure-diäthylamino-äthanolester-hydrochlorid (II)<sup>1)</sup> aus.



Über die Herstellung einer Reihe dieser Verbindungen<sup>2)</sup> soll nachfolgend berichtet werden, während wir bezüglich der pharmakologischen Eigenschaften auf die soeben erschienene zusammenfassende Arbeit von *R. Meier* und *K. Hoffmann*<sup>3)</sup> verweisen.

Für die Gewinnung der von uns hergestellten basischen Ester bedienten wir uns öfters des üblichen Verfahrens der Umsetzung der Säurechloride mit den Amino-alkoholen; zweckmässiger erwies sich aber die Umsetzung der freien Säuren mit dem betreffenden Halogenäthylamin z. B. Chloräthyl-diäthylamin in Gegenwart von Pottasche. Dabei wurde Aceton oder Essigester als Lösungsmittel verwendet und unter Rühren 1 Tag erwärmt. Wir erhielten auf diese Weise die basischen Ester in quantitativer Ausbeute. Nach Abfiltrieren der Pottasche und Einleiten von Salzsäure in die Lösung wurden die Hydrochloride der betreffenden Basen meist direkt in reiner krystalliner Form gewonnen. Die Darstellung der basischen Ester der Dodekahydro- und der Hexahydro-diphenylessigsäure wurde in verschiedener Weise durchgeführt. Einerseits gingen wir zu ihrer Gewinnung von den entsprechenden Säuren bzw. Säurechloriden unter Anwendung der oben erwähnten Methode aus. Andererseits gelang aber ihre Herstellung auch, indem wir bereits gebildete basische Ester hydrierten. So konnten wir die Benzolkerne des Diphenylessigsäure-diäthylamino-äthanolester-hydrochlorids in Eisessiglösung in Gegenwart von Platinoxid nach *Adams* mit Wasserstoff reduzieren. Wir arbeiteten mit und ohne Wasserstoff-Überdruck. Neben dem total hydrierten Produkt konnte auch durch Unterbrechung der Hydrierung nach Aufnahme von 3 Mol Wasserstoff das entsprechende Hexahydro-Derivat erhalten werden.

Die u. a. als Ausgangsmaterial verwendete Hexahydro-diphenylessigsäure ist bereits von *E. D. Venus-Danilowa* und *A. J. Bol-schuchin*<sup>4)</sup> sowie von *G. Vasilin*<sup>5)</sup> beschrieben worden. Diese Autoren

<sup>1)</sup> In Ampullenform als „Trasentin-H“ ebenfalls im Handel.

<sup>2)</sup> Die von uns erhaltenen basischen Ester und Amide bilden den Gegenstand verschiedener Patente der *Ciba*. Da dieselben zum Teil bereits veröffentlicht sind, beschränken wir uns an dieser Stelle auf die Beschreibung der pharmakologisch besonders interessanten Stoffe; bezgl. der übrigen Verbindungen dieser Reihe sei verwiesen auf C. 1935, II, 1917; II, 3265; 1936, I, 4762; 1937, II, 4364, sowie auf die franz. Patente 857 474 und 857 475.

<sup>3)</sup> Helv. Med. Acta, Suppl. VI (Beilage zu Band 7), 106—125 (1941).

<sup>4)</sup> C. 1938, II, 3391.

<sup>5)</sup> C. 1939, II, 632.

gewannen die Säure aus Phenyl-acetonitril durch Umsetzung mit Cyclohexylbromid in Gegenwart von Natriumamid und Verseifung des entstehenden Nitrils. Wesentlich bequemer konnte die Säure durch partielle Hydrierung der Diphenylelessigsäure in Form ihrer Ester erhalten werden. Der Methyl- oder Äthylester wurde in alkoholischer Lösung mit Wasserstoff in Gegenwart eines auf Ton niedergeschlagenen Nickelkatalysators in einem Autoklaven bei etwa 120—130° geschüttelt. Nach Aufnahme von 3 Mol Wasserstoff blieb die Reduktion stehen und man erhielt in nahezu quantitativer Ausbeute unter Absättigung nur eines Kerns die entsprechenden Hexahydro-diphenylelessigsäure-ester, die durch alkalische Verseifung Hexahydro-diphenylelessigsäure ergaben.

Da man Diphenylelessigsäure üblicherweise aus Benzilsäure durch Reduktion mittels Jodwasserstoffsäure gewinnt, wurde auch versucht, Benzilsäure katalytisch zu hydrieren<sup>1)</sup>. Bei der Reduktion ihrer Ester zeigte sich interessanterweise, dass 4 Mol Wasserstoff verbraucht werden; die  $\alpha$ -ständige Hydroxylgruppe wurde also glatt durch Wasserstoff ersetzt und als Endprodukt ebenfalls Hexahydro-diphenylelessigsäure erhalten.

### Experimenteller Teil.

#### 1. Darstellung von Diphenylelessigsäure-diäthylamino-äthanolester-hydrochlorid (Trasentin, I).

a) Aus dem Säurechlorid. 53 g Diphenylelessigsäure wurden mit 80 g Thionylchlorid im Wasserbad bei 70—80° während 3 Stunden erwärmt. Es trat vollständige Lösung ein. Der Überschuss von Thionylchlorid wurde hierauf im Vakuum entfernt und zum zurückbleibenden Öl mehrmals Benzol hinzugefügt und dasselbe abdestilliert. Das so erhaltene rohe Diphenylelessigsäure-chlorid wurde in 150 cm<sup>3</sup> Chlorbenzol gelöst und zu dieser Lösung langsam eine Lösung von 30 g trockenem Diäthylamino-äthanol in 50 cm<sup>3</sup> Chlorbenzol unter Rühren hinzugetropft. Die Lösung wurde noch kurze Zeit auf 120—125° erwärmt, Tierkohle hinzugefügt und hierauf heiss filtriert. Man liess erkalten und filtrierte das auskristallisierte Diphenylelessigsäure-diäthylamino-äthanolester-hydrochlorid ab. Das Rohkristallisat wurde in Wasser gelöst, mit Sodalösung die Base in Freiheit gesetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser gewaschen, über Pottasche getrocknet und eingedampft. Man erhielt so die freie Base, die unter 0,01 mm Quecksilbersäule bei 140—145° destilliert.

4,479 mg Subst. gaben 12,68 mg CO<sub>2</sub> und 3,16 mg H<sub>2</sub>O

2,387; 4,591 mg Subst. gaben 0,095; 0,190 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub>

C<sub>20</sub>H<sub>25</sub>O<sub>2</sub>N Ber. C 77,11 H 8,09 N 4,50%

Gef. „ 77,20 „ 7,89; „ 4,49; 4,58%

<sup>1)</sup> Diese Versuche sind bei uns durch Herrn Dr. L. Panizzon ausgeführt worden.

Die Base bildet ein in Wasser und Alkohol leicht lösliches Hydrochlorid vom Smp. 114° (aus Essigester), ein schwerlösliches Pikrat vom Smp. 144—145,5° sowie ein Hydrojodid vom Smp. 118—119° (aus Essigester).

b) Aus Diphenylelessigsäure. 212 g Diphenylelessigsäure, 135,5 g Chloräthyl-diäthylamin und 200 g trockenes Kaliumcarbonat wurden in 800 cm<sup>3</sup> trockenem Aceton während 24 Stunden unter Rühren erwärmt. Nach dem Erkalten wurde filtriert und der Rückstand mit Aceton ausgewaschen. Durch Einleiten der berechneten Menge Salzsäure in die Acetonlösung wurde direkt das Hydrochlorid des Diphenylelessigsäure-diäthylamino-äthanolesters in reiner Form erhalten. Es liess sich aus Essigester umkrystallisieren. Smp. 114°. Der Mischschmelzpunkt mit der nach 1a) hergestellten Verbindung zeigte keine Erniedrigung.

## 2. Darstellung von basischen Estern der Hexahydro-diphenylelessigsäure.

### Hexahydro-diphenylelessigsäure-diäthylamino-äthanol-ester (Trasentin-H, II).

a) Aus Hexahydro-diphenylelessigsäure. 218 g Hexahydro-diphenylelessigsäure, 135 g Chloräthyl-diäthylamin und 200 g Pottasche wurden wie beim obigen Versuch beschrieben, umgesetzt. Man erhielt auf diese Weise nahezu quantitativ Hexahydro-diphenylelessigsäure-diäthylamino-äthanol-ester-hydrochlorid vom Smp. 146—147°.

Zur Analyse wurde während 3 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

4,536; 4,737 mg Subst. gaben 11,30; 11,81 mg CO<sub>2</sub> und 3,70; 3,86 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> NCl	Ber. C 67,84	H 9,11%
Gef. „	67,95; 68,00	„ 9,13; 9,11%

Durch Zugabe von Sodalösung zu einer Lösung des Hydrochlorids wurde die Base in Freiheit gesetzt. Sie wurde ausgeäthert, die ätherische Lösung mit Wasser gewaschen, über Pottasche getrocknet und der Äther abdestilliert. Der Rückstand bildete ein Öl vom Sdp.<sub>0,07 mm</sub> 137°.

3,392; 5,752 mg Subst. gaben 0,132; 0,220 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (23°, 730 mm)

C <sub>20</sub> H <sub>31</sub> O <sub>2</sub> N	Ber. N 4,41	Gef. N 4,32; 4,24%
--	-------------	--------------------

b) Durch Hydrierung von Diphenylelessigsäure-diäthylamino-äthanol-ester. 17,4 g Diphenylelessigsäure-diäthylamino-äthanol-ester-hydrochlorid wurden in 200 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und 0,5 g Platinoxid hinzugefügt. Hierauf wurde bei etwa 50° mit Wasserstoff geschüttelt. Nach Aufnahme der für die Ab-sättigung eines Kernes berechneten Menge Wasserstoff liess man erkalten und dampfte die von Platin abfiltrierte Lösung vollständig ein. Nach Aufarbeitung in der oben beschriebenen Weise wurde

Hexahydro-diphenylessigsäure-diäthylamino-äthanoester erhalten, dessen Hydrochlorid sich nach Schmelzpunkt und Mischprobe mit dem nach 2a) dargestellten Hydrochlorid als identisch erwies.

Salze der entsprechenden quaternären Base.

Bromäthylat.

16 g des oben beschriebenen Hexahydro-diphenylessigsäure-diäthylamino-äthanoesters und 17,5 g Äthylbromid wurden im Rohr während 30 Stunden auf 100° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Reaktionsmasse mit Äther ausgewaschen und der Rückstand aus einer Mischung von Essigester und Alkohol umkrystallisiert. Smp. 149—151°.

Zur Analyse wurde während 2 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

4,979; 3,378 mg Subst. gaben 11,30; 7,68 mg CO<sub>2</sub> und 3,75; 2,60 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{22}H_{36}O_2NBr$  Ber. C 61,94 H 8,51%  
 Gef. „ 61,90; 62,00 „ 8,43; 8,61%

Brombenzylat.

15 g der oben beschriebenen Hexahydro-Base und 40 g Benzylbromid wurden mit 400 cm<sup>3</sup> absolutem Äther während mehrerer Stunden am Rückfluss erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die auskrystallisierte Substanz abfiltriert und aus einer Mischung von Essigester und Alkohol umkrystallisiert. Man erhielt so das Brombenzylat vom Smp. 141—142°.

Zur Analyse wurde während 2 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,940 mg Subst. gaben 9,62 mg CO<sub>2</sub> und 2,70 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{27}H_{38}O_2NBr$  Ber. C 66,40 H 7,84%  
 Gef. „ 66,60 „ 7,67%

Hexahydro-diphenylessigsäure-piperidino-äthanoester. 25 g Hexahydro-diphenylessigsäure wurden mit 20 g Thionylchlorid auf 80° erwärmt und nach vollständiger Lösung der Überschuss von Thionylchlorid im Vakuum vollständig entfernt. Der Rückstand wurde in 50 cm<sup>3</sup> Toluol aufgenommen und mit einer Lösung von 13 g Piperidino-äthanol in 50 cm<sup>3</sup> Toluol unter Kühlung vermischt. Zur Beendigung der Reaktion wurde noch kurze Zeit auf dem Wasserbad erwärmt und hierauf die erkaltete Toluollösung mit verdünnter Salzsäure ausgeschüttelt. Aus der wässrigen Lösung wurde mit Sodalösung die Base gefällt und mit Äther extrahiert. Die Ätherlösung wurde hierauf mit Wasser gewaschen, über Pottasche getrocknet und eingedampft. Sie hinterliess den Hexahydro-diphenylessigsäure-piperidino-äthanoester als Öl vom Sdp.<sub>0,15 mm</sub> 180—182°. Durch Einleiten von Salzsäuregas in eine Lösung dieser

Base in Essigester wurde das Hydrochlorid vom Smp. 166—167° erhalten.

Zur Analyse wurde während 3 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,721 mg Subst. gaben 9,41 mg CO<sub>2</sub> und 2,85 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>NCl Ber. C 68,92 H 8,82%

Gef. „ 68,99 „ 8,57%

Hexahydro-diphenylelessigsäure-tropinester. Es wurde in gleicher Weise wie in obigem Beispiel beschrieben gearbeitet, aber an Stelle des Piperidino-äthanol 15 g Tropin verwendet. Auf diese Weise wurde der Hexahydro-diphenylelessigsäure-tropinester vom Sdp. 0,15 mm 186° erhalten.

4,040 mg Subst. gaben 0,156 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (24°, 732 mm)

C<sub>22</sub>H<sub>31</sub>O<sub>2</sub>N Ber. N 4,10; Gef. N 4,27%

Sein Hydrochlorid zeigte den Smp. 231—233°.

### 3. Darstellung von 1,2,3,4-Tetrahydro-diphenylelessigsäure-diäthylamino-äthanolester.

Bearbeitet durch Dr. L. Panizzon.

216 g 1,2,3,4-Tetrahydro-diphenylelessigsäure (dargestellt aus 236 g Phenylmalonsäure-diäthylester und 242 g 1,2-Dibromcyclohexan in Gegenwart von 46 g Natrium in 600 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol, Verseifen des entstandenen Tetrahydro-diphenylmalonesters und Decarboxylieren der Säure durch Destillation) wurden mit 135,5 g Chloräthyl-diäthylamin und 200 g Pottasche in 1000 cm<sup>3</sup> Essigester während 20 Stunden unter Rühren erwärmt. Nach dem Erkalten wurde abgenutscht, mit Essigester gewaschen und in die Lösung trockenes Chlorwasserstoffgas eingeleitet. Es wurde so das 1,2,3,4-Tetrahydro - diphenylelessigsäure - diäthylamino - äthanolester - hydrochlorid vom Smp. 153—154° erhalten.

Zur Analyse wurde während 3 Stunden bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,574; 4,130 mg Subst. gaben 8,84; 10,32 mg CO<sub>2</sub> und 2,77; 3,17 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>NCl Ber. C 68,24 H 8,59%

Gef. „ 68,40; 68,38 „ 8,67; 8,62%

### 4. Darstellung von Dodekahydro-diphenylelessigsäure-diäthylamino-äthanolester.

a) Durch Hydrierung. 70 g Diphenylelessigsäure-diäthylamino-äthanolester-hydrochlorid wurden in 800 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und 6 g Platinoxid hinzugefügt. Hierauf wurde unter geringem Wasserstoff-Überdruck bei etwa 40—45° geschüttelt. Nach 24 Stunden kam die Hydrierung zum Stillstand, nachdem die für die Absättigung von zwei Benzolkernen berechnete Menge Wasserstoff aufgenommen worden war. Nach dem Erkalten wurde die Lösung vom Platin

abfiltriert und vollständig eingedampft. Man erhielt so direkt das Dodekahydro-diphenylessigsäure-diäthylamino-äthano-lester-hydrochlorid, welches aus Essigester umkrystallisiert bei 167—169° schmolz.

Die mit Hilfe von Pottasche in Freiheit gesetzte Base bildete ein Öl vom Sdp.<sub>0,15 mm</sub> 163°.

4,027; 2,623 mg Subst. gaben 10,98; 7,16 mg CO<sub>2</sub> und 4,10; 2,67 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{20}H_{37}O_2N$  Ber. C 74,25 H 11,53%  
 Gef. „ 74,37; 74,45 „ 11,40; 11,40%

Die Base bildete ein in Wasser schwerlösliches Rhodanid vom Smp. 93—95° und ein in Wasser leichtlösliches öliges Sulfat.

b) Aus Dodekahydro-diphenylessigsäure. 25 g Dodekahydro-diphenylessigsäure<sup>1)</sup> wurden mit Thionylechlorid ins Säurechlorid übergeführt und dieses mit 15 g Diäthylamino-äthanol in der anfangs beschriebenen Weise umgesetzt. Die erhaltene Substanz war mit der unter 4a) beschriebenen identisch.

## 5. Darstellung von Hexahydro-diphenylessigsäure.

a) Durch Hydrierung von Diphenylessigsäure-äthylester. 120 g Diphenylessigsäure-äthylester wurden mit 350 cm<sup>3</sup> absolutem Äthylalkohol und 25 g auf Ton niedergeschlagenem, vorreduziertem Nickelkatalysator in einem 1-litrigen Schüttelantoklaven unter Wasserstoffdruck auf 120—130° erwärmt. Nach 18 Stunden war die für die Hydrierung eines Kerns berechnete Menge Wasserstoff aufgenommen und die Hydrierung kam zum Stillstand. Nach dem Erkalten wurde die alkoholische Lösung vom Nickelkatalysator abfiltriert und eingedampft. Der Rückstand bildete ein Öl vom Sdp.<sub>12 mm</sub> 167°. Wie aus der Analyse hervorgeht, handelte es sich um reinen Hexahydro-diphenylessigsäure-äthylester.

5,684; 4,829 mg Subst. gaben 16,26; 13,83 mg CO<sub>2</sub> und 4,60; 3,94 mg H<sub>2</sub>O  
 $C_{16}H_{22}O_2$  Ber. C 78,05 H 8,94%  
 Gef. „ 78,02; 78,11 „ 9,06; 9,13%

Das erhaltene Öl wurde während 10 Stunden mit 200 cm<sup>3</sup> 20-proz. Kalilauge und 200 cm<sup>3</sup> Äthanol gekocht, der Alkohol darauf abfiltriert und die Lösung in die berechnete Menge Salzsäure eingetropft. Die auf diese Weise entstandene Hexahydro-diphenylessigsäure schmolz, aus 60-proz. Alkohol umkrystallisiert, bei 150 bis 151°.

In ähnlicher Weise wurde diese Säure ausgehend von Diphenylessigsäure-methylester erhalten.

## b) Durch Hydrierung von Benzilsäure-methylester.

Bearbeitet durch Dr. L. Panizzon.

121 g Benzilsäure-methylester, 35 g auf Ton niedergeschlagener, vorreduzierter Nickelkatalysator und 600 g absoluter Alkohol wurden

<sup>1)</sup> Vgl. C. 1937, I, 4096.

in einem Autoklaven unter 20—30 Atm. Druck mit Wasserstoff bei 135—140° geschüttelt. Nach Aufnahme der für 4 Mol berechneten Menge Wasserstoff blieb die Hydrierung stehen. Es wurde wie oben beschrieben aufgearbeitet und man erhielt Hexahydro-diphenylessigsäure vom Smp. 150—151°. Der Mischschmelzpunkt mit der aus Diphenylessigsäure-äthylester gewonnenen Substanz zeigte keine Erniedrigung.

Die Analysen wurden unter der Leitung von Herrn Dr. *Gysel* in unserer analytischen Abteilung ausgeführt.

Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba* in Basel,  
Pharmazeutische Abteilung.

## 58. Über den Einfluss von Lecithin und Vitamin E auf die enzymatische Oxydation des Carotins

von H. Süllmann.

(31. III. 41.)

Nach einigen vorangehenden Beobachtungen anderer Autoren<sup>1)</sup> wurde von *Sumner* und *Dounce*<sup>2)</sup> über ein Enzym berichtet, das die Oxydation von Carotin unter Entstehung farbloser Spaltprodukte und die Oxydation von ungesättigten Fetten unter Bildung von Peroxyden katalysiert. Das als „Carotin-oxydase“ bezeichnete Enzym findet sich in der Sojabohne und anderen Leguminosen. In der Folge wurde aber sowohl von *H. Tauber*<sup>3)</sup> als auch von *J. B.* und *R. J. Sumner*<sup>4)</sup> gezeigt, dass die schnelle enzymatische Oxydation nur in Gegenwart von ungesättigtem Fett erfolgt, und dass der wahrscheinliche Mechanismus der Oxydation des Carotins auf der primären Bildung von Fettperoxyden beruht. Die Peroxydverbindungen für sich oxydieren Carotin nur sehr langsam.

Das System: „Carotin-oxydase“ – Sauerstoff – ungesättigte Fette – Carotinoide verdient unter verschiedenen Gesichtspunkten Interesse, vor allem im Hinblick auf die noch wenig geklärte Funktion und das Schicksal der Polyene im pflanzlichen und tierischen Organismus. Ferner könnte hier eine besondere Rolle der ungesättigten Fettsäuren zum Ausdruck kommen. Über einige Versuche mit diesem

<sup>1)</sup> *S. M. Hauge*, J. Biol. Chem. **108**, 331 (1935); *C. N. Frey*, *A. L. Schultz* und *R. F. Light*, Ind. Eng. Chem. **28**, 1254 (1936).

<sup>2)</sup> *J. B. Sumner* und *A. L. Dounce*, Enzymol. **7**, 130 (1939).

<sup>3)</sup> *H. Tauber*, Am. Soc. **67**, 2251 (1940).

<sup>4)</sup> *J. B. Sumner* und *R. J. Sumner*, J. Biol. Chem. **134**, 531 (1940).