

RÉSUMÉ.

Il est décrit une méthode de dosage de l'ion potassium au moyen de la dipicrylamine. La détermination polarographique de ce réactif s'effectue facilement et avec précision. La méthode n'exige pas de séparation, elle permet de doser le potassium dans le sérum, sur des volumes compris entre 0,2 à 2 cm³ avec une précision de 2 à 5 % selon la prise initiale.

La précipitation du composé potassique exige 12 heures. La durée des manipulations peut être évaluée à 1 h ½ y compris la calcination. Dans le cas de dosages en série ce temps peut encore être diminué.

Genève, Laboratoire de Chimie analytique et de Microchimie de l'Université.

50. Die Strömungsdoppelbrechung von Natriumthymonucleinat in Lösungsmitteln verschiedener Viskosität.

von H. Schwander und R. Cerf

(7. I. 51.)

Aus neuerer Zeit liegen zahlreiche Messungen an Lösungen von Natriumthymonucleinat vor, mit der Zielsetzung, Form und Grösse der Thymonucleinat-Molekülen zu ermitteln. Die meisten der gebräuchlichen Methoden fanden hierbei Anwendung, wie Viskositätsmessungen¹⁾, Strömungsdoppelbrechung²⁾, Lichtstreuung³⁾, Messungen in der Ultrazentrifuge und Diffusionsmessungen⁴⁾. Es ergaben sich dabei sehr verschiedene Werte, da bei der Isolierung ein fermentativer Abbau eintritt. Dass in den Lösungen von Thymonucleinat Kettenmolekülen vorliegen, wird besonders durch die Messungen der Strömungsdoppelbrechung wahrscheinlich gemacht.

Viele dieser Messungen und die daraus gezogenen Folgerungen sind mit grossen Unsicherheiten behaftet. Bei allen hydrodynamischen Methoden wird eine sehr starke Konzentrationsabhängigkeit beobachtet, so dass es aus experimentellen Gründen nicht immer möglich ist, mit genügend verdünnten Lösungen zu arbeiten (Ultra-

¹⁾ Vilbrandt & Tennent, Am. Soc. **65**, 1806 (1943); J. M. Creeth, J. M. Gulland & D. O. Jordan, Soc. **1947**, 1141.

²⁾ Signer, Caspersson & Hammarsten, Nature **141**, 122 (1938); Wissler, Dissertation (Bern 1940).

³⁾ D. B. Smith & H. Sheffer, Canad. J. Research B. **28**, 96 (1950).

⁴⁾ Schmidt, Pickels & Levene, J. Biol. Chem. **127**, 251 (1939); Tennent & Vilbrandt, Am. Soc. **65**, 424 (1943); H. Kahler, J. Phys. Coll. Chem. **52**, 676 (1948); Cecil & Ogston, Soc. **1948**, 1382.

zentrifuge, Diffusionsmessung). Die Viskositäten von Thymonucleinatlösungen zeigen eine so ausgeprägte Abhängigkeit vom Gradienten, dass Messungen im Kapillarviskosimeter nicht auswertbar sind¹⁾. Auf die Lichtstreuungsmessung werden wir weiter unten zurückkommen. Thymonucleinat stellt nun eine geradezu ideale Substanz für Strömungsdoppelbrechungs-Messungen dar, indem noch viel verdünntere Lösungen als bei den meisten übrigen Methoden untersucht werden können. Wie der eine von uns²⁾ zeigte, kann man durch Messung der Strömungsdoppelbrechung bei Variation der Viskosität des Lösungsmittels zwischen den Grenzfällen völlig starrer bzw. statistisch geknüelter Fadenmolekülen unterscheiden. Da das Problem der Form und Größe der Thymonucleinat-Moleküle noch wenig geklärt ist, haben wir entsprechende Messungen der Strömungsdoppelbrechung auch an Natriumthymonucleinat ausgeführt, worüber wir im folgenden berichten.

Es seien kurz die theoretischen Grundlagen dargelegt. Die Theorie für eine Suspension langgestreckter starrer Teilchen, beschrieben als Rotationsellipsoide, wurde von *Sadron*³⁾ und *Peterlin & Stuart*⁴⁾ aufgestellt. Sie führt zu folgender Beziehung für die Rotationsdiffusionskonstante D :

$$D = \frac{1}{12 (\tan \alpha)_{c \rightarrow 0}}, \quad (1)$$

$(\tan \alpha)_{c \rightarrow 0}$ ist dabei die Steigung der Orientierungswinkelkurve am Ursprung und im Bereich idealer Lösung.

Nach *F. Perrin*⁵⁾ steht D mit der Viskosität η_0 des Lösungsmittels, dem Volumen v und dem Achsenverhältnis $p = a/b$ (a grosse, b kleine Halbachse) der Rotationsellipsoide in der Beziehung:

$$D = \frac{kT}{2 \eta_0 v} \frac{1}{p^2} [\ln 2p - 0,5] \quad (\text{für grosse Werte von } p). \quad (2)$$

T ist die absolute Temperatur. Aus (1) und (2) folgt somit:

$$T (\tan \alpha)_{c \rightarrow 0} = A \cdot \eta_0. \quad (3)$$

A ist eine Konstante, bestimmt durch die Form und Größe der Teilchen. Für Rotationsellipsoide ist folglich die Größe

$$\Theta = \frac{D \cdot \eta_0}{T} \quad (4)$$

eine von den Versuchsbedingungen unabhängige Konstante.

Kürzlich wurde vom einen von uns die Strömungsdoppelbrechung einer Suspension homogener elastischer Kugeln theoretisch behandelt⁶⁾ und die elastische Kugel als Modell für eine statistisch ge-

¹⁾ *G. Vallet & H. Schwander*, Helv. **32**, 2508 (1949).

²⁾ *R. Cerf*, J. Chim. Phys. **47**, 663 (1950).

³⁾ *Ch. Sadron*, J. de Phys. **8**, 481 (1937); **9**, 381 (1938).

⁴⁾ *A. Peterlin & H. A. Stuart*, Z. Physik **112**, 1 (1939).

⁵⁾ *F. Perrin*, J. de Phys. **1934**, 497; **1939**, 1.

⁶⁾ *R. Cerf*, C. r. **226**, 1586 (1948); **227**, 1221, 1362 (1948); Thèse, Strasbourg 1950.

knäuelte Fadenmoleköl (undurchspülbares Knäuel) vorgeschlagen, eine etwas grobe Modellvorstellung, die aber den Vorteil hat, eine strenge Behandlung zu gestatten. Man erhält die (1) entsprechende Beziehung

$$T(\tan \alpha)_{c \rightarrow 0} = \frac{1,25 T_x}{\mu_x} (\eta_0 + 0,4 \eta_t). \quad (5)$$

μ_x ist der Schermodul bei der beliebigen Temperatur T_x und η_t ; der Koeffizient der inneren Reibung der Kugel. Der Koeffizient T_x/μ_x ist konstant.

Auf Grund der Beziehungen (1) und (5) besteht nun die Möglichkeit, zwischen den beiden Modellen, starres Rotationsellipsoid bzw. homogene elastische Kugel, zu entscheiden. Trägt man $T(\tan \alpha)_{c \rightarrow 0}$ in Abhängigkeit von η_0 auf, so erhält man für starre Rotationsellipsoide eine Gerade durch den Ursprung, während die Theorie der elastischen Kugel eine Gerade verlangt, die die Ordinate in einem Punkt der Positiven Achse schneidet. Diese Verhältnisse sind in Figur 1 veranschaulicht.

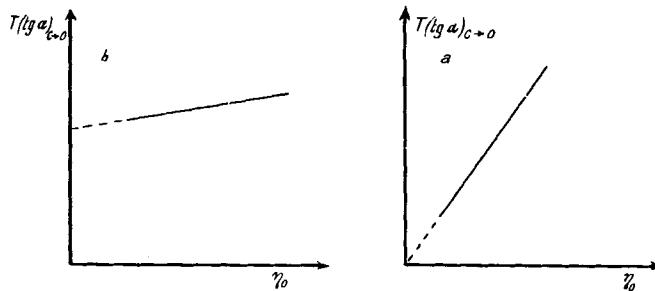


Fig. 1.

$T(\tan \alpha)_{c \rightarrow 0}$ in Abhängigkeit von η_0 für starre Rotationsellipsoide (a) bzw. homogene elastische Kugeln (b).

Die ganze Betrachtungsweise ist qualitativer Natur und hat den Vorteil, von einer eventuellen Polydispersität der Präparate nicht beeinflusst zu werden. Messungen an zwei Polystyrolen von der Masse 140 000 und 200 000 ergaben ein Verhalten, wie es Gleichung (5) fordert. Tabak-Mosaikvirus dagegen verhielt sich, wie zu erwarten war, gemäss der Theorie von Peterlin-Stuart¹⁾.

Experimentelles.

Bei unsrern Messungen benutzten wir ein Präparat²⁾, das durch elektrometrische Titration²⁾, Strömungsdoppelbrechung³⁾ und Viskositätsmessungen⁴⁾ charakterisiert worden war. Als Lösungsmittel wurde das System H_2O -Glycerin-NaCl mit wechselndem

¹⁾ R. Cerf, J. Chim. Phys. **47**, 663 (1950).

²⁾ R. Signer & H. Schwander, Helv. **32**, 853 (1949). Bezüglich Proteingehalt siehe H. Schwander & R. Signer, Helv. **33**, 1521 (1950).

³⁾ H. Schwander & R. Cerf, Helv. **32**, 2356 (1949).

⁴⁾ G. Vallet & H. Schwander, loc. cit.; H. Schwander, Helv. **32**, 2510 (1949).

Glyceringehalt verwendet, das keine Eigendoppelbrechung ergibt. Bei der Herstellung der Lösungen wurde jeweils eine Lösung von Thymonucleinat in Wasser¹⁾ mit abgewogenen Mengen an NaCl und reinstem Glycerin des Handels versetzt.

Wenn nicht näher angegeben, sind alle Konzentrationsangaben im folgenden in g/100 g-Lösung zu verstehen. Der NaCl-Gehalt betrug stets 10%. Die Viskositäten der Lösungsmittel wurden durch Messung entsprechender Lösungen in einem *Ubbelohde*-Viskosimeter ermittelt. Die Konzentrationen der Lösungen sind Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1.

No.	Konzentration Thymonucleinat mg/100 g Lösg.	Konzentration Glyzerin %	η_0 Poises	$(tg \alpha)_{c \rightarrow 0} \cdot 10^3$	$\Theta \cdot 10^3$	$\left[\frac{(\tau_y - n_a)}{G \cdot c} \right] \cdot 10^{10}$ $G \rightarrow 0$
1	20,5					10
2	15					5,65
3	10					5,41
4	7,5					5,20
5	5					5,20
6	3					5,20
7	10					
8	5					
9	15					1,88
10	10					1,95
11	5					1,80
12	15					
13	10					
14	20					0,97
15	15					0,78
16	10					0,75
17	20	—				0,47
18	15	—	0,0117	2,51	1,33	0,35
19	10	—				0,37

Die Strömungsdoppelbrechungs-Messungen wurden mit der im Centre d'Etudes de Physique Macromoléculaire, Strasbourg, aufgestellten Apparatur²⁾ ausgeführt. Zur Bestimmung der Orientierungswinkel bedienten wir uns bei kleinen Gradienten einer Doppelquarzplatte nach *Bravais*³⁾, bei konzentrierteren Lösungen und grösseren Gradienten der Achsenkreuzmethode. Die optische Justierung erforderte besondere Sorgfalt, da infolge der hohen Viskosität der Lösungen Störungen durch Reflexionen an den Zylinderwänden besonders leicht eintreten können⁴⁾.

Alle Messungen erfolgten bei 20° C \pm 0,1°.

¹⁾ Lange gelagerte Präparate sind häufig in NaCl-haltigem Wasser teilweise unlöslich (Rekristallisationserscheinung?). Bei Verwendung von reinem Wasser erhält man schnell echte Lösungen.

²⁾ *Ch. Sadron*, J. Phys. Radium [7] 7, 263 (1936); Schweiz. Arch. angew. Wiss. Techn. 3, 8 (1937). ³⁾ *R. Cerf*, Rev. Optique Théor. Instr. 29, 200 (1950).

⁴⁾ *Björnstahl*, Z. Physik 119, 245 (1942).

Die Orientierungswinkelkurven. Mit Ausnahme der Lösungen mit 58,8% Glycerin erwiesen sich die Orientierungswinkelkurven als konzentrationsunabhängig bis zu einem Gehalt von 20 mg Thymonucleinat/100 g Lösung. Um $(\tan \alpha)_{c \rightarrow 0}$ genau bestimmen zu können, bemühten wir uns, die Messungen bis zu möglichst kleinen Gradienten auszudehnen. Durch Verwendung eines sehr viskosen Lösungsmittels und der *Bravais*-Doppelquarzplatte gelang es in einem Falle, eine Lösung mit nur 3 mg Thymonucleinat/100 g-Lösung mit noch genügender Genauigkeit zu messen. Die Konzentrationsunabhängigkeit der Orientierungswinkel bis zur Konzentration Null erscheint dadurch sichergestellt. Die Genauigkeit der Messungen ist aus Figur 2 an einigen Beispielen zu ersehen.

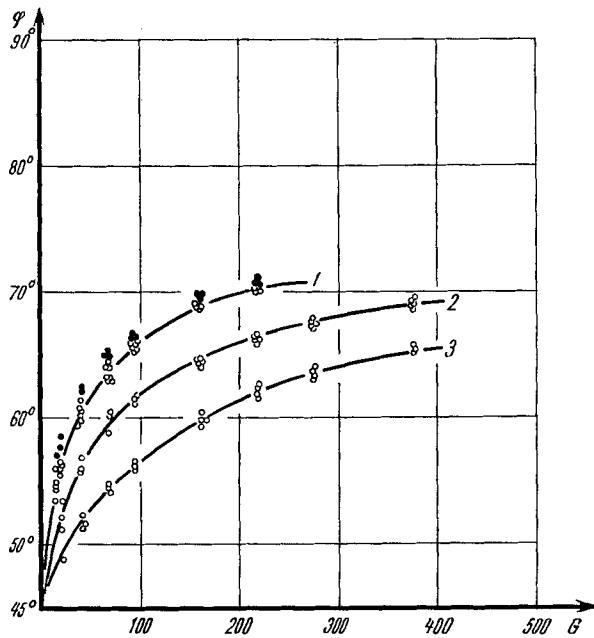


Fig. 2.

Kurve 1: Lösungen 2-6. • Lösung 1.

Kurve 2: Lösungen 9-11.

Kurve 3: Lösungen 14-16.

Das Verhalten von Orientierungswinkel und Doppelbrechung über einen grösseren Gradientenbereich ist für die Lösung 3 in Fig. 3 dargestellt.

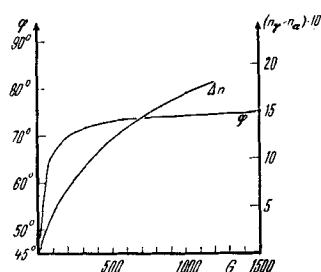


Fig. 3.

Lösung 3. Orientierungswinkel und Doppelbrechung in einem grösseren Gradientenbereich.

Fig. 4 stellt die Werte $(\tan \alpha)_{c \rightarrow 0}$ in Abhängigkeit von η_0 dar. (Der Faktor T, in unserem Falle eine Konstante, kann weggelassen werden.)

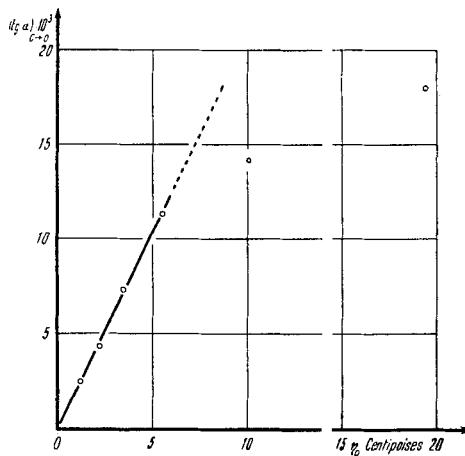


Fig. 4.
 $(\tan \alpha)_{c \rightarrow 0}$ in Abhängigkeit von η_0 .

Die Doppelbrechung. Die Doppelbrechung zeigt bei grösseren Gradienten die Tendenz, einem Grenzwert zuzustreben, wie aus Fig. 3 ersichtlich. Die Doppelbrechungskurven der Lösungen 3, 10 und 16 (je 10 mg Thymonucleinat/100 g-Lösung) sind Fig. 5 zu entnehmen. In Fig. 6 sind die Ausdrücke

$$\left[\frac{(n_\gamma - n_\alpha)}{G \cdot c} \right]_{G \rightarrow 0}$$

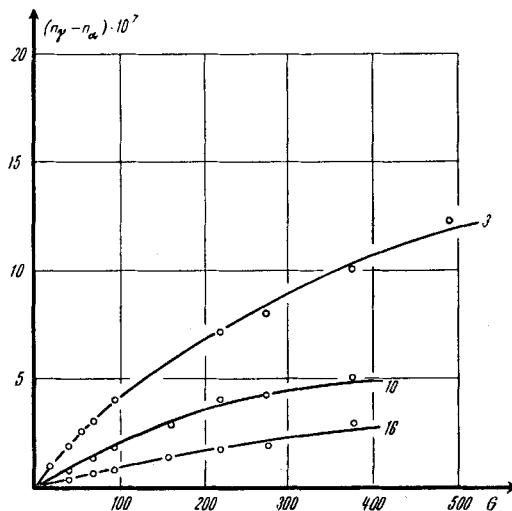


Fig. 5.
Doppelbrechungskurven der Lösungen 3, 10 und 16.

in Abhängigkeit von der Konzentration aufgetragen. Die nach Fig. 6 extrapolierten Werte

$$\left[\frac{(n_y - n_x)}{G \cdot c} \right]_{G \rightarrow 0} \quad c \rightarrow 0$$

als Funktion von η_0 zeigt Fig. 7.

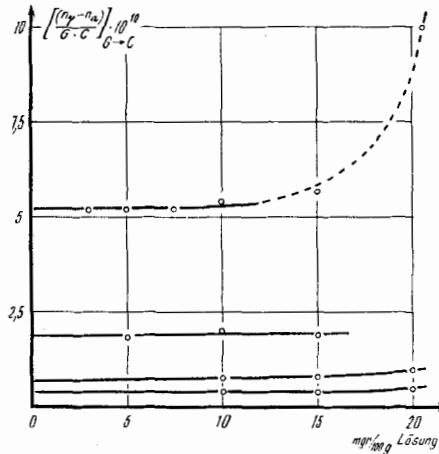


Fig. 6.

$$\left[\frac{(n_y - n_x)}{G \cdot c} \right]_{G \rightarrow 0} \quad \text{in Abhängigkeit von der Konzentration.}$$

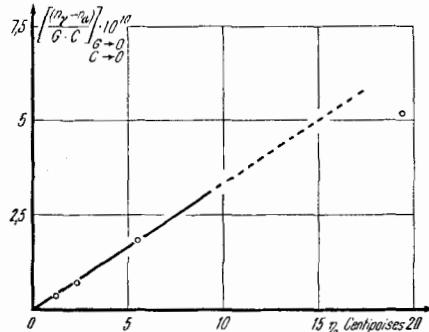


Fig. 7.

$$\left[\frac{(n_y - n_x)}{G \cdot c} \right]_{G \rightarrow 0} \quad c \rightarrow 0 \quad \text{in Abhängigkeit von } \eta_0.$$

Diskussion.

Figur 4 lässt erkennen, dass unser Präparat sich gemäss der Theorie von *Peterlin-Stuart* (Gleichung 3) verhält, wenigstens bei nicht zu hoher Viskosität des Lösungsmittels. Für die Abweichungen, die in letzterem Falle auftreten, können wir noch keine Erklärung

geben, zumal da analoge Messungen an anderen sehr langgestreckten Fadenmolekülen nicht vorliegen¹⁾.

Die Tatsache, dass Fadenmolekülen solch grosser Länge (siehe unten) sich starr verhalten, scheint uns erstaunlich. Eine Erklärung durch elektrostatische Streckungseffekte kommt bei dem hohen Neutralsalzgehalt der Lösungen nicht in Frage, und auch eine allfällige sterische Behinderung der freien Drehbarkeit der Kettenglieder dürfte kaum hinreichend sein. Eine Erklärung kann vielleicht die Struktur der Thymonucleinat-Molekülen geben, wie sie aus röntgenographischen Messungen gefolgert wurde²⁾.

Es liegen demnach Ketten vor, die abwechselungsweise aus Phosphorsäure und Pentoseresten aufgebaut sind. Die Zuckerreste tragen seitlich Purin- bzw. Pyrimidinbasen mit deren Ebenen senkrecht zur Richtung der Kette und in dichter Packung, gewissermassen wie Scheiben aufeinandergeschichtet. Elektrometrische Titrationen von *Gulland* und Mitarbeitern³⁾ deuten darauf hin, dass zwischen $-\text{NH}_2$ - und $-\text{OH}$ -Gruppen benachbarter Basen Wasserstoffbindungen vorliegen. Auf Grund dieser Struktur liesse sich die Starrheit der Moleküle verstehen. Als weitere Voraussetzung verlangt die Theorie von *Peterlin-Stuart*, dass die starren Teilchen einen im Vergleich zu den Dimensionen der Moleküle des Lösungsmittels grossen Querschnitt besitzen, damit die Kontinuumsbetrachtungen der Hydrodynamik anwendbar sind. Auch diese Forderung wird durch die beschriebene Struktur erfüllt. In Lösungen von Thymonucleinat dürfen demnach Fadenmoleküle als starre „Kornmoleküle“ im Sinne von *Peterlin-Stuart* vorliegen, ein wohl sehr seltener Fall.

Unsere Folgerungen werden noch gestützt durch eine qualitative Untersuchung der Strukturviskosität des gleichen Präparates⁴⁾. In demselben Gradientenintervall, wo der Orientierungswinkel von 45° bis gegen ca. 80° ansteigt, wird auch der stärkste Abfall der Viskosität beobachtet. Die Strukturviskosität scheint demnach durch die Orientierung starrer Teilchen bedingt zu sein.

Mit der Vorstellung starrer Teilchen gut vereinbar sind ferner Messungen der Röntgenstreuung konzentrierter Lösungen desselben Präparates⁵⁾.

¹⁾ Der Raum gestattet uns nicht, näher auf die Theorie von *W. Kuhn & H. Kuhn* einzutreten [*W. Kuhn & H. Kuhn*, *Helv.* **29**, 71 (1946)]. Nach dieser Theorie lässt sich das Verhalten von $(\text{tg } \alpha)_{c \rightarrow 0}$ in Abhängigkeit von η_0 erklären, nicht aber die Abhängigkeit der Doppelbrechung vom Gradienten für die verschiedenen Werte von η_0 (Fig. 5). Es scheint somit, dass diese Theorie (die im Widerspruch steht zu den experimentellen Ergebnissen an Polystyrolen; *R. Cerf*, loc. cit.) auch für die oben erwähnten Abweichungen keine Erklärung geben kann.

²⁾ *Astbury & Bell*, *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.* **6**, 109 (1938).

³⁾ *Gulland, Jordan & Taylor*, *Soc.* **1947**, 1131.

⁴⁾ *G. Vallet & H. Schwander*, loc. cit.

⁵⁾ *D. P. Riley & G. Oster*, unveröffentlicht.

Das Verhalten der Doppelbrechung ist mit allen Theorien vergleichlich und spiegelt die bei der Orientierung beobachtete Konzentrationsabhängigkeit wider. Eine Auswertung der Doppelbrechung ist nicht möglich, da hier die Voraussetzungen der Theorie von *Peterlin-Stuart* (Abmessungen der Teilchen klein im Verhältnis zur Wellenlänge des Lichts) nicht erfüllt sind.

Nach der Theorie von *Peterlin-Stuart* sollten Orientierungs- und Doppelbrechungskurven ungefähr parallel verlaufen. Nach Figur 3 ist dies bei dem von uns untersuchten Präparat nicht der Fall, was aber sehr wahrscheinlich durch Polydispersität erklärt werden kann. Auf Polydispersität deutet auch die praktische Konstanz des Orientierungswinkels bei höheren Gradienten hin.

Auf Grund von Gleichung 2 lassen sich nun die Molekeldimensionen abschätzen. Indem wir für b den Wert 5 \AA annehmen (die etwas willkürliche Wahl von b hat nur geringen Einfluss auf a , wie eine Umformung von Gleichung 2 erkennen lässt), ergibt sich für die Länge $L = 2a$ der Moleküle der Mittelwert

$$L \sim 8000 \text{ \AA}.$$

Röntgenographisch wurde die Faserperiode zu $3,3 \text{ \AA}$ ermittelt, und das mittlere Gewicht eines Nucleotidrests beträgt 330^1). Auf Grund dieser Daten und unter Annahme starrer Moleküle folgt für das Molekulargewicht der Mittelwert

$$M \sim 800000.$$

Der Wert für M ist größenordnungsmässig in Übereinstimmung mit neueren Messungen in der Ultrazentrifuge²⁾.

Schlüsse auf Molekelform und Masse von Thymonucleinat in Lösung wurden neulich auch von *Smith & Sheffer*³⁾ aus Messungen der Lichtstreuung gezogen. Bei Berücksichtigung der heute gebräuchlichen Darstellungsmethoden für Thymonucleinat halten wir aber die Voraussetzungen für die Anwendbarkeit der Lichtstreuungsmethode als nicht gegeben.

Lichtstreuungsmessungen verlangen völlig reine Präparate. Alle heute bekannten Methoden ergeben aber Präparate, die noch geringe Mengen Protein enthalten⁴⁾, und wie *Caspersson* zeigte⁵⁾, liegt ein Teil des restlichen Proteins kolloidal vor und ist im Ultramikroskop sichtbar. Lichtstreuungsmessungen wurden sogar von *Caspersson* zur Bestimmung des relativen Proteingehalts der Präparate verwandt. Wie eigene Versuche zeigten⁶⁾, ist die Lichtstreuung von Thymonucleinat-Lösungen sehr stark von der Vorbehandlung der Lösungen

¹⁾ *Astbury & Bell*, loc. cit.

²⁾ *Cecil & Ogston*, loc. cit.

³⁾ *D. B. Smith & H. Sheffer*, loc. cit.

⁴⁾ *H. Schwander & R. Signer*, *Helv.* **33**, 1521 (1950).

⁵⁾ *Caspersson*, *Biochem. Z.* **270**, 161 (1934).

⁶⁾ *H. Schwander*, unveröffentlicht.

abhängig, z. B. von der Art und Dauer einer Zentrifugierung. So ist es auch nicht erstaunlich, wenn *Smith & Sheffer* in einem Falle für das Molekulargewicht einen Wert von $24 \cdot 10^6$ fanden. Thymonucleoprotein, das zu ca. 50 % aus Nucleinsäure besteht, hat aber in der Ultrazentrifuge ein Molekulargewicht von der Grössenordnung 2000000¹⁾, so dass Thymonucleinat ein Molekulargewicht von höchstens ca. 1000000 aufweisen sollte, in befriedigender Übereinstimmung mit allen bisherigen Messungen in der Ultrazentrifuge.

Damit Messungen der Lichtstreuung an Thymonucleinat irgendwelcher Art beigemessen werden kann, muss der Beweis erbracht werden, dass die Präparate keine kolloidalen Proteinspuren mehr enthielten.

Herrn Prof. *Ch. Sadron* und Herrn Prof. *R. Signer* danken wir für viele wertvolle Diskussionen im Verlaufe dieser Arbeit. Dem einen von uns (*H. Sch.*) ist es eine angenehme Pflicht, der *Schweizerischen Stiftung für Stipendien auf dem Gebiete der Chemie* für die Gewährung eines Stipendiums zu danken.

Zusammenfassung.

Es werden Messungen der Strömungsdoppelbrechung eines Thymonucleinat-Präparates im System Glyzerin — NaCl — H₂O mitgeteilt, wobei die Viskosität des Lösungsmittels variiert wurde. Es wird auf Starrheit der Thymonucleinat-Moleküle geschlossen und auf Grund der Theorie von *Peterlin-Stuart* eine Abschätzung der Molekeldimensionen gegeben. Lichtstreuungsmessungen anderer Autoren werden kritisiert.

Strasbourg, Centre d'Etudes de Physique
Macromoléculaire.

51. Eschscholtzxanthin und Anhydro-eschscholtzxanthin

von P. Karrer und E. Leumann.

(10. I. 51.)

Vor einigen Jahren konnte *H. H. Strain*²⁾ in den Blütenblättern von *Eschscholtzia californica* Zeaxanthin, Xanthophyll sowie Carotinoid-epoxyde nachweisen und ein neues Carotinoid, das Eschscholtzxanthin, in beträchtlicher Ausbeute kristallisiert isolieren. Letzteres wurde auch in anderen *Eschscholtzia*-arten nachgewiesen, so z. B. in *Eschscholtzia lemmonii*, wo es gleichfalls in grösseren Mengen angetroffen wird.

Für das Eschscholtzxanthin hat *Strain*²⁾ die Bruttoformel C₄₀H₅₄ ± ₂O₂ angegeben. Die beiden Sauerstoffatome wurden durch

¹⁾ *R. O. Carter*, Am. Soc. **63**, 1960 (1941).

²⁾ *H. H. Strain*, J. Biol. Chem. **123**, 425 (1938).