

135. Über Steroide und Sexualhormone.

(79. Mitteilung¹⁾).Über das 2-Äthyl-5-methyl-pyridin, ein Dehydrierungsprodukt des Solanidins²⁾

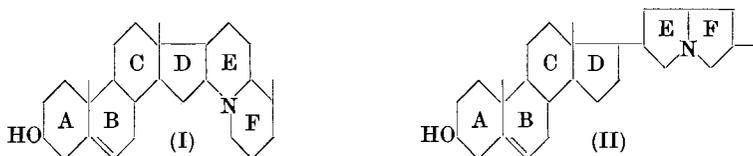
von V. Prelog und S. Szpilfogel.

(10. IX. 42.)

Die für die Konstitutionsermittlung des Solanidins, des wichtigsten Aglykons der Solanin-Reihe, wesentlichsten Tatsachen verdanken wir insbesondere C. Schöpf und R. Hermann³⁾, F. Bergel und R. Wagner⁴⁾, A. Soltys⁵⁾, A. Soltys und K. Wallenfels⁶⁾, H. Dieterle und Mitarb.⁷⁾ und H. Rochelmeyer⁸⁾. Aus den Untersuchungen dieser Forscher geht hervor, dass dem Solanidin die Formel $C_{27}H_{43}ON$ zukommt. Es enthält eine Doppelbindung, der Sauerstoff ist als sekundäres Hydroxyl vorhanden, der Stickstoff ist in einer tertiären Aminogruppe enthalten, N-Methylgruppen sind nicht anwesend. Durch Dehydrierung mit Selen wurde aus dem Solanidin γ -Methylcyclopenteno-phenanthren erhalten. Daraus ergab sich eine Verwandtschaft des Solanidins mit den Sterinen und man hat für Solanidin und eine Reihe ähnlicher Stoffe den Namen Sterinalkaloide geprägt. Tatsächlich lassen sich viele Reaktionen, die für die Sterine charakteristisch sind, auch bei den Aglykonen der Solanin-Reihe verwirklichen. Solanidin zeigt z. B. mehrere Farbreaktionen der Sterine, es ist mit Digitonin fällbar und auch die Oxydationsreaktionen und die Reaktionen bei der Wasserabspaltung verlaufen analog wie bei denjenigen Sterinen, die ein Hydroxyl in 3- und eine Doppelbindung in 5-Stellung des Cyclopentano-perhydro-phenanthren-Gerüsts besitzen. Für das Solanidin sind deshalb die Formeln I⁹⁾ und II¹⁰⁾ vorgeschlagen worden, wobei insbesondere die Formulierung der Ringe E und F recht hypothetischen Charakter besitzt.

¹⁾ 78. Mitt. Helv. **25**, 1297 (1942).²⁾ Nach einem Vorschlag von Henry (Plant Alkaloids, III. Aufl. London 1939, S. 644) behalten wir für die Alkaloide, welche zuerst aus *Solanum tuberosum* isoliert wurden, die Namen Solanin und Solanidin, ohne sie weiter mit *t* zu bezeichnen. Über die Nomenklatur der Alkaloide der Solanin-Reihe vgl. auch Rochelmeyer, Arch. Pharm. **275**, 336 (1937) und Briggs, Soc. **1942**, 3 (Fussnote).³⁾ B. **60**, 298 (1933). ⁵⁾ B. **66**, 762 (1933).⁴⁾ B. **60**, 1093 (1933). ⁶⁾ B. **60**, 811 (1936).⁷⁾ Arch. Pharm. **270**, 550 (1932); **273**, 532, 539 (1935).⁸⁾ Arch. Pharm. **274**, 543 (1936); **275**, 336 (1937); **277**, 340 (1939); B. **71**, 226 (1938).⁹⁾ A. Soltys und K. Wallenfels, B. **60**, 816 (1936).¹⁰⁾ G. R. Clemons, W. Mc G. Morgan und R. Raper, Soc. **1936**, 1299.

Die neuere Formel II von *Clemo, Morgan* und *Raper*, welche dieselbe Anordnung der Kohlenstoffatome enthält, wie sie in Cholesterin vorkommt, wird allgemein bevorzugt.



Um neue Anhaltspunkte über die Konstitution der Ringe E und F zu gewinnen, haben wir die Dehydrierung des Solanidins mit Selen nochmals durchgeführt. Wir haben dabei unsere Aufmerksamkeit insbesondere den basischen Reaktionsprodukten gewidmet, die auch von anderer Seite bereits untersucht worden sind. So haben *Dieterle* und *Rochelmeyer*¹⁾ als Dehydrierungsprodukt des Solanidins mit Selen Pyridin nachgewiesen. Die Reaktionsbedingungen dieser Forscher waren aber sicher zu energisch, da sie an Stelle von γ -Methyl-cyclopenteno-phenanthren sekundäre Dehydrierungsprodukte, Chrysen und Phenanthren, erhalten haben, ähnlich wie es bei der Dehydrierung des Cholesterins mit Selen bei höheren Temperaturen beobachtet wurde²⁾.

Wir haben als einzige gut definierte flüchtige Base bei der Dehydrierung des Solanidins mit Selen bei 300—320° im Einschlußrohr eine Pyridinbase $C_8H_{11}N$ beobachtet, welche in Form ihres Pikrates mit den Schmelzpunkten 144,5° und 150,5° und ihres Styphnates vom Smp. 170° isoliert wurde. Für die Base fiel auf Grund der weiter unten erörterten, als Arbeitshypothese benutzten Formel (VII) die Konstitution eines 2-Äthyl-5-methyl-pyridins in Betracht, eine Vermutung, die durch die Synthese bewiesen werden konnte.

Die Synthese des 2-Äthyl-5-methyl-pyridins wurde auf folgendem Wege durchgeführt. Propionylessigsäure-äthylester, welcher nach *Blaise*³⁾ gewonnen wurde, gab mit Ammoniak den β -Amino- β -äthylacrylsäure-äthylester III. Dieser wurde mit Methyl-malonsäure-diäthylester und Natriumäthylat unter Abspaltung von 2 Molekeln Alkohol und einer Carbäthoxylgruppe zu 4,6-Dioxy-2-äthyl-5-methyl-pyridin IV (bzw. zu dem desmotropen 4,6-Dioxo-2-äthyl-5-methyl-tetrahydro-pyridin)⁴⁾ kondensiert. Mit Phosphorochlorid erhielten wir daraus bei 210° im Einschlußrohr das 4,6-Dichlor-2-äthyl-5-methyl-pyridin V, das durch katalytische Hydrierung mit *Raney*-Nickel im alkalischen Medium in das gesuchte 2-Äthyl-5-methyl-pyridin VI verwandelt wurde. Das Verfahren eignet sich

¹⁾ Arch. Pharm. **273**, 535 (1935).

²⁾ L. *Ruzicka* und Mitarbeiter, Helv. **17**, 200 (1934).

³⁾ C. r. **132**, 978 (1901); R. *Willstätter*, B. **47**, 298 (1914).

⁴⁾ Vgl. E. *Knoevenagel* und A. *Fries*, B. **31**, 767 (1898) und E. *Knoevenagel* und W. *Cremer*, B. **35**, 2391 (1902); O. *Schnyder*, Festschrift E. C. *Barell*, Basel 1936, S. 195.

allgemein zur Synthese von 2,5-alkylierten Pyridinen, wie wir am Beispiel des 2,5-Lutidins¹⁾, dessen Herstellung im experimentellen Teil ebenfalls beschrieben ist, zeigen konnten. Pikrat und Styphnat des synthetischen 2-Äthyl-5-methyl-pyridins sind in allen ihren Eigenschaften mit den durch Dehydrierung des Solanidins mit Selen erhaltenen Produkten identisch. Sie geben mit ihnen keine Schmelzpunktserniedrigung.

2-Äthyl-5-methyl-pyridin ist in der letzten Zeit als Produkt der Destillation des Cevins mit Zinkstaub und der Dehydrierung der Veratrum-Alkaloide Cevin, Jervin und Protoveratrin mit Selen von *W. Jacobs* und *L. C. Craig*²⁾ isoliert worden. Seine Konstitution wurde gefolgert aus dem Verlauf der Oxydation, die zu Isocinchomeronsäure (2,5-Pyridin-dicarbonsäure) führte und aus der Tatsache, dass die Base nicht mit dem bekannten 2-Methyl-5-äthyl-pyridin (Aldehydeollidin) identisch ist. Die Eigenschaften des von uns hergestellten 2-Äthyl-5-methyl-pyridins stimmen ungefähr mit den Angaben der amerikanischen Forscher überein³⁾.

Die Bildung des 2-Äthyl-5-methyl-pyridins bei der Dehydrierung des Solanidins lässt sich mit den beiden bisher vorgeschlagenen Formulierungen der Ringe E und F (vgl. Formel I und II) schwer in Einklang bringen. Wir schlagen daher für Solanidin eine neue Formel VII vor, die wir als Arbeitshypothese für weitere Untersuchungen benützen wollen. Diese Formel erklärt ohne weiteres die Bildung des 2-Äthyl-5-methyl-pyridins bei der Dehydrierung und steht im Einklang mit allen bisher bekannten Reaktionen des Solanidins. Ebenso wie in der Formel II ist auch in VII die Kohlenstoffseitenkette des Cholesterins erhalten. Auch die abnorme Beständigkeit des Solanidin-Stickstoffs gegen Abbaureaktionen, die von anderen Autoren und auch von uns festgestellt worden ist, wird verständlich. Im Zusammenhang mit der neuen Formulierung des Solanidins wird man auch die für die verwandten Alkaloide vorgeschlagenen Konstitutionsformeln neu überprüfen müssen.

Es sei noch erwähnt, dass in der letzten Zeit *Craig* und *Jacobs*⁴⁾ insbesondere auf Grund der Dehydrierungsreaktionen zu einer ähnlichen Formulierung des Skeletts einiger Veratrum-Alkaloide gelangt sind (VIII), wobei allerdings der Ring B des Sterin-Gerüsts als

¹⁾ Die einzige bisher beschriebene Synthese von *Errera*, *B.* **34**, 3691 (1901) gibt schlechte Ausbeuten.

²⁾ *W. A. Jacobs* und *L. C. Craig*, *J. Biol. Chem.* **119**, 141 (1937); **120**, 447 (1937); **124**, 659 (1938); **129**, 79 (1939); **143**, 427 (1942); *W. A. Jacobs*, *L. C. Craig* und *G. J. Lavin*, *J. Biol. Chem.* **141**, 51 (1941).

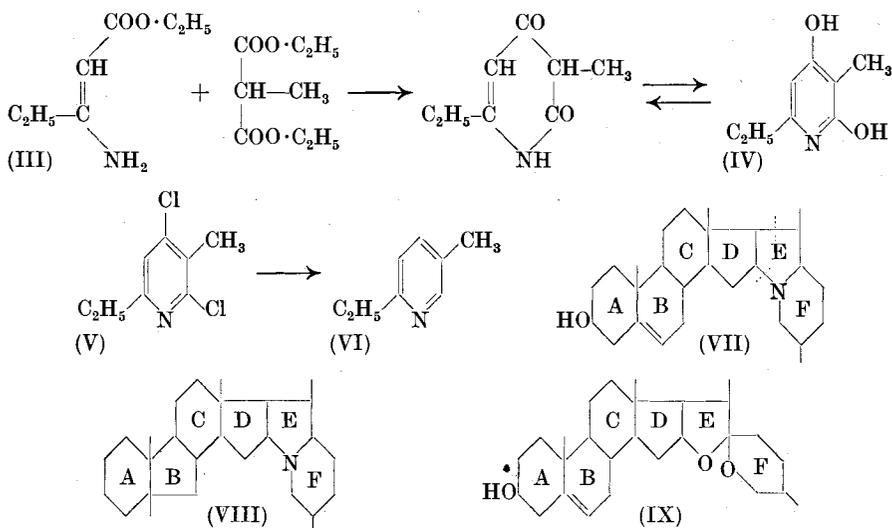
³⁾ Wir erwähnen noch, dass *Rochelmeyer*, *Arch. Pharm.* **275**, 342 (1937), durch Dehydrierung des mit Solanidin nahe verwandten Solasodins ein Pikrat vom Schmelzpunkt 140–142° erhalten hat. Dieses gab mit α - und β -Picolin-pikrat eine Schmelzpunktserniedrigung, wurde aber nicht näher untersucht.

⁴⁾ *J. Biol. Chem.* **141**, 260 (1941).

5-Ring angenommen wurde¹⁾. Die beiden Alkaloidgruppen wären demnach verwandt.

Wir möchten zuletzt noch auf die Verwandtschaft des Solanidins mit den im Pflanzenreich verbreiteten Sapogeninen der Diosgenin-Gruppe hinweisen, welche sich aus der neuen Formulierung des Solanidins ergibt. Beispielsweise kommt nach den Arbeiten von Marker²⁾ dem Diosgenin die Formel IX zu.

Die hier diskutierten Formeln VII, VIII und IX sind noch nicht in allen Einzelheiten sichergestellt. Die Übereinstimmung der Kohlenstoffgerüste und teilweise der Stellungen der funktionellen Gruppen regt aber zum Versuch an, die drei Gruppen der wichtigen Naturstoffe untereinander in formelle Beziehung zu bringen.



Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil³⁾.

(Mitbearbeitet von B. Stahlberger.)

Darstellung des Solanidins.

Das Solanin bzw. Solanidin, welches wir für unsere Versuche verwendet haben, wurde aus Kartoffelkeimlingen nach *Soltys* und *Wallenfels*⁴⁾ dargestellt. Es hat sich als vorteilhaft erwiesen, die Rohbasen nach dem Fällen mit Ammoniak und dem Trocknen mit Äther zu extrahieren. Dadurch werden nicht unbeträchtliche Mengen des Solanidins, welche in den Keimlingen frei vorkommen, leicht erhalten.

¹⁾ Der 5-Ring ist nicht streng bewiesen.

²⁾ Am. Soc. **62**, 2525 (1940).

³⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

⁴⁾ B. **69**, 811 (1936).

Wir konnten auf diese Weise z. B. 0,008 % des Gewichtes der frischen Keimlinge an Rohsolanidin mit dem Smp. 205—206° isolieren. Der in Äther unlösliche Anteil wurde dann weiter mit 85-proz. Alkohol portionsweise ausgezogen, wodurch Solanin (0,04 % der frischen Keimlinge) mit dem Smp. 248—250° erhalten wurde. Das Rohsolanidin liess sich gut aus Chloroform-Methanol umkrystallisieren und zeigte dann den richtigen Smp. 218—219°.

Dehydrierung des Solanidins mit Selen.

14,6 g reines Solanidin wurden mit 28,2 g Selen gut vermischt und in 4 Portionen in Einschlussröhren ca. 14 Stunden auf 300—320° erhitzt. Der Inhalt der Röhren wurde dann zerkleinert und mit Äther und Salzsäure ausgespült. Die salzsaure, die basischen Bestandteile enthaltende wässrige Lösung wurde zuerst durch Destillation mit Wasserdampf von neutralen flüchtigen Produkten befreit. Nach Zugabe von Kaliumhydroxyd wurden die Basen auf übliche Weise isoliert und in einer Mikrokolonne nach *L. C. Craig*¹⁾ (Höhe 10 cm) destilliert. Es wurden folgende Fraktionen erhalten:

Nr.	Badtemp.	Heizmanteltemp.	Druck mm Hg	Gewicht mg	Rohpikrat Smp.
1	bis 195°	100°	722	5	124—126,5°
2	100°	65°	12	20	140—141°
3	120°	67°	12	45	137°
4	bis 150°	bis 110°	12	85	140°
5	Rückstand			50	—

Aus allen 4 Fraktionen erhielten wir in Methanol dasselbe Pikrat (Mischschmelzpunkt). Dieses bildete nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Methanol und Aceton flache, gelbe Nadeln, welche entweder bei 143,5—144,5° oder bei 150—150,5° (unscharf) schmolzen und mit dem synthetischen 2-Äthyl-5-methyl-pyridin-pikrat keine Schmelzpunktserniedrigung gaben. Zur Analyse wurde 24 Stunden im Hochvakuum bei 65° getrocknet.

3,755 mg Subst. gaben 6,587 mg CO₂ und 1,376 mg H₂O
 $C_{14}H_{14}O_7N_4$ Ber. C 48,00 H 4,03%
 Gef. „ 47,87 „ 4,10%

Aus einem Teil der Base wurde in Methanol das Styphnat dargestellt. Es krystallisierte aus Methanol in gelben Nadeln vom Smp. 170° (Zers.) und gab mit dem synthetischen 2-Äthyl-5-methylpyridin-styphnat keine Schmelzpunktserniedrigung. Zur Analyse wurde 24 Stunden im Hochvakuum bei 65° getrocknet.

3,857 mg Subst. gaben 6,513 mg CO₂ und 1,350 mg H₂O
 $C_{14}H_{14}O_8N_4$ Ber. C 45,90 H 3,85%
 Gef. „ 46,08 „ 3,92%

¹⁾ Ind. Engin. Chem. (Anal. Ed.) **9**, 441 (1937).

Synthese des 2-Äthyl-5-methyl-pyridins.

β -Amino- β -äthyl-acrylsäure-äthylester III. Zu einer Lösung von 10 g Propionylessigsäure-äthylester in 20 cm³ Äther wurden 8 g Ammoniumnitrat zugegeben. Darauf wurde ein trockener Ammoniakstrom während 4 Stunden durchgeleitet¹⁾. In dieser Zeit löste sich das Ammoniumnitrat in dem gebildeten Reaktionswasser. Nach 2 Tagen wurde die Ätherschicht abgetrennt, getrocknet und in einem *Vigreux*-Kolben zweimal destilliert. β -Amino- β -äthyl-acrylsäure-äthylester bildet ein farbloses Öl vom Sdp._{13 mm} 105°.

4,6-Dioxy-2-äthyl-5-methyl-pyridin VI. Zu einer kalten Natriumäthylatlösung aus 1,0 g Natrium in 20 cm³ absolutem Alkohol wurden 6,1 g Methyl-malonsäure-diäthylester zugegeben. Die gallertartig erstarrte Mischung wurde mit 5,0 g β -Amino- β -äthyl-acrylsäure-äthylester gut durchgeschüttelt und 24 Stunden stehen gelassen. Zur Beendigung der Reaktion erhitzen wir 1 Stunde unter Rückfluss auf dem Wasserbade. Das Reaktionsprodukt wurde mit verdünnter Salzsäure angesäuert (Kongorot: schmutzig blau), worauf sich nach einigem Stehen ein weisser Niederschlag ausschied. Durch Einengen der Mutterlaugen erhielten wir weitere Mengen der gleichen Verbindung. Ausbeute 2,8 g (53 % der Theorie), Smp. nach Umlösen aus Alkohol 238°. Für die Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert.

3,855 mg Subst. gaben 8,882 mg CO₂ und 2,488 mg H₂O
 $C_8H_{11}O_2N$ Ber. C 62,73 H 7,24%
 Gef. „ 62,88 „ 7,22%

4,6-Dichlor-2-äthyl-5-methyl-pyridin V. 2,17 g 4,6-Dioxy-2-äthyl-5-methyl-pyridin wurden mit der doppelten Gewichtsmenge Phosphoroxchlorid im Einschlussrohr 4 Stunden auf 210° erhitzt. Nach der Zersetzung des überschüssigen Phosphoroxchlorids mit Eiswasser wurde das Produkt in Äther aufgenommen, von den verkohlten Teilen abfiltriert, mit Kaliumcarbonat getrocknet und im Vakuum destilliert. Ausbeute 2,03 g (80 % der Theorie); farbloses, fast geruchloses Öl vom Sdp._{12 mm} 125—130° (Kragenkolben, Badtemperatur).

3,915 mg Subst. gaben 7,277 mg CO₂ und 1,653 mg H₂O
 $C_8H_9NCl_2$ Ber. C 50,55 H 4,77%
 Gef. „ 50,73 „ 4,72%

2-Äthyl-5-methyl-pyridin VI. 740 mg 4,6-Dichlor-2-äthyl-5-methyl-pyridin wurden in 35 cm³ Methanol mit *Raney*-Nickel aus 2 g Legierung unter Zugabe von Natriummethylat aus 0,7 g Natrium katalytisch hydriert. Nach 21 Stunden war die Hydrierung beendet. Wasserstoffverbrauch: ber. 170 cm³, gef. 180,5 cm³

¹⁾ Vgl. die Darstellung des β -Amino-crotonsäure-esters nach *M. Conrad* und *W. Epstein*, B. 20, 3054 (1887).

(0°, 760 mm) einschliesslich der vom Katalysator verbrauchten Menge. Die methanolische Lösung der Base wurde vom Katalysator abfiltriert, mit 3,5 cm³ konz. Salzsäure versetzt und das Lösungsmittel wurde mit Wasserdampf abdestilliert. Aus dem mit 10 g Kaliumhydroxyd alkalisch gemachten Rückstand wurde die Base mit Wasserdampf abdestilliert. Das Destillat wurde mit 15 g Kaliumcarbonat versetzt und gründlich mit Äther ausgezogen. Die Lösung der Base wurde mit Kaliumhydroxyd getrocknet und destilliert. Ausbeute 300 mg eines farblosen Öls von pyridinartigem Geruch, Sdp._{12 mm} 73—76° (Kragenkolben, Badtemperatur).

Das Pikrat der Base bildete nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Methanol gelbe Nadeln vom Smp. 144—145° oder 150 bis 151° (*Jacobs* und *Craig* geben 145° an). Zur Analyse wurde 24 Stunden im Hochvakuum bei 65° getrocknet.

3,900 mg Subst. gaben 6,868 mg CO₂ und 1,428 mg H₂O
 $C_{14}H_{14}O_7N_4$ Ber. C 48,00 H 4,03%
 Gef. „ 48,06 „ 4,10%

Das Styphnat bildete nach Umlösen aus Methanol gelbe Nadeln vom Smp. 170° (*Zers.*). Es eignet sich für die Charakterisierung des 2-Äthyl-5-methyl-pyridins wegen seiner geringeren Löslichkeit noch besser als das Pikrat. Zur Analyse wurde 24 Stunden im Hochvakuum bei 65° getrocknet.

3,840 mg Subst. gaben 6,446 mg CO₂ und 1,299 mg H₂O
 $C_{14}H_{14}O_8N_4$ Ber. C 45,90 H 3,85%
 Gef. „ 45,81 „ 3,79%

Synthese des 2,5-Lutidins.

Vollkommen analog der Synthese des 2-Äthyl-5-methyl-pyridins verlief eine als Modellversuch durchgeführte Synthese des 2,5-Lutidins.

4,6-Dioxy-2,5-dimethyl-pyridin. Die aus β -Amino-crotonsäure-äthylester und Methyl-malonsäure-diäthylester hergestellte Verbindung bildete nach Umlösen aus heissem Wasser weisse Krystalle, welche für die Analyse im Hochvakuum sublimiert wurden. Smp. 276,5°.

3,780 mg Subst. gaben 8,341 mg CO₂ und 2,174 mg H₂O
 $C_7H_9O_2N$ Ber. C 60,42 H 6,52%
 Gef. „ 60,22 „ 6,44%

4,6-Dichlor-2,5-dimethyl-pyridin. Farbloses und geruchloses Öl vom Sdp._{12 mm} 120° (Kragenkolben, Badtemperatur).

4,210 mg Subst. gaben 7,387 mg CO₂ und 1,545 mg H₂O
 $C_7H_7NCl_2$ Ber. C 47,75 H 4,01%
 Gef. „ 47,88 „ 4,11%

2,5-Lutidin. Die Base wurde als Pikrat isoliert und charakterisiert. Dieses bildete gelbe Nadeln aus Alkohol und schmolz bei

170,5⁰ (*A. C. Bratton* und *J. R. Bailey*¹⁾ geben 168,5—169,5⁰ an). Für die Analyse wurde 24 Stunden im Hochvakuum bei 65⁰ getrocknet.

3,929 mg Subst. gaben 6,706 mg CO₂ und 1,291 mg H₂O

C ₁₃ H ₁₂ O ₇ N ₄	Ber. C 46,43	H 3,60%
	Gef. „ 46,58	„ 3,68%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Herrn *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Techn.
Hochschule, Zürich.

136. Fettstoffwechsel-Untersuchungen mit Hilfe von Deuterium als Indikator. I. Zur Frage der lebensnotwendigen Fettsäuren

von *Karl Bernhard*, *Heidi Steinhauser* und *François Bullet*.

(12. IX. 42.)

Wird bei Tieren durch Zufuhr von schwerem Wasser eine Anreicherung der Körperflüssigkeiten an Deuteriumoxyd erzielt, so enthalten nach kurzer Zeit sowohl Fett- als auch Aminosäuren stabil gebundenes Deuterium (*Schoenheimer* und *Rittenberg*).

Bei Kohlenhydrat-reich, aber praktisch fettfrei ernährten Mäusen weisen unter solchen Bedingungen Stearin- und Palmitinsäure analoge Deuterium-Mengen auf²⁾. Obwohl die letztere gegenüber der ersteren stark vermehrt vorkommt, werden beide Verbindungen im gleichen Ausmasse auf- und abgebaut. Anders verhalten sich die ungesättigten Säuren. Wie *Bernhard* und *Schoenheimer*³⁾ zeigten, sind aus den Körperfetten isolierte Linol- und Linolensäure Deuterium-frei. Der Organismus (Maus) ist zu ihrer Synthese nicht fähig.

Schon 1929 beobachteten *Burr* und *Burr*⁴⁾ bei fettfrei ernährten Ratten nach 70—80 Tagen schwere Hautveränderungen, später Wachstumsstillstand, Gewichtsverlust und Tod. Diese Erscheinungen liessen sich durch Fütterung von Linol-⁵⁾ und Linolensäure⁶⁾ beheben. Ölsäure erwies sich als wirkungslos. Das Auftreten einer spezifischen, durch bestimmte ungesättigte Fettsäuren heilbaren Mangelkrankheit bei stetiger „fettfreier“ Kost wurde ausser von *Evans* und *Lepkovsky*⁷⁾

¹⁾ *Am. Soc.* **59**, 175 (1937).

²⁾ *K. Bernhard* und *R. Schoenheimer*, *J. Biol. Chem.* **133**, 713 (1940).

³⁾ *K. Bernhard* und *R. Schoenheimer*, *J. Biol. Chem.* **133**, 707 (1940).

⁴⁾ *G. O. Burr* und *M. M. Burr*, *J. Biol. Chem.* **82**, 345 (1929).

⁵⁾ *G. O. Burr* und *M. M. Burr*, *J. Biol. Chem.* **86**, 587 (1930); *L. G. Wesson* und *G. O. Burr*, *J. Biol. Chem.* **91**, 525 (1931).

⁶⁾ *G. O. Burr*, *M. M. Burr* und *E. S. Miller*, *J. Biol. Chem.* **97**, 1 (1932).

⁷⁾ *H. M. Evans* und *S. Lepkovsky*, *J. Biol. Chem.* **96**, 143 (1932).