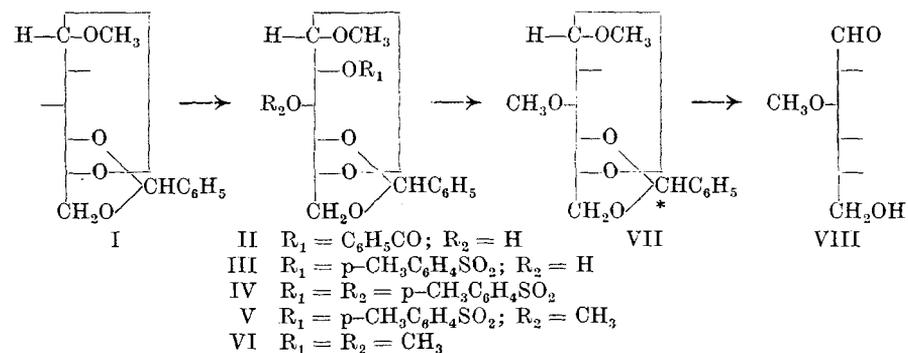


**60. 2-Tosyl-4, 6-benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1, 5) und
4, 6-Benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1, 5)-3-methyläther**

von H. R. Bolliger und D. A. Prins.

(12. III. 45.)

Vor einigen Jahren berichteten *Robertson* und *Griffith*¹⁾ über die partielle Acylierung von 4, 6-Benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1, 5) (I). Sie stellten das 2-Benzoyl- und das 2-Tosyl-Derivat von (I) her (II resp. III) und beobachteten, dass die partielle Tosylierung befriedigender verlief als die partielle Benzoylierung; sie erzielten eine etwa 20-proz. Ausbeute an (III).



Da das Monotosylat (III) sich leicht und fast quantitativ in 2,3-Anhydro-4,6-benzyliden- α -methyl-*d*-mannosid-(1, 5) (IX) verwandeln lässt^{1) 2)}, welch' letztere Substanz wir in grösserer Menge für synthetische Versuche benötigten, war es von Interesse, seine Herstellung durch partielle Tosylierung von (I) etwas näher zu studieren.

In Übereinstimmung zu früheren Versuchen¹⁾ stellte sich dabei heraus, dass die Behandlung von (I) mit 1,3 Mol Tosylchlorid immer zu einem Stoffgemisch führt, das neben (III) noch (I) und (IV) enthält, doch überwog darin das gesuchte Monotosylat (III), dessen

¹⁾ G. J. Robertson, C. F. Griffith, Soc. 1935, 1193; vgl. jedoch H. Ohle, K. Spencker, B. 61, 2387 (1928).

²⁾ G. J. Robertson, W. Whitehead, Soc. 1940, 319.

Menge durchwegs 60—70% des Gesamtgemisches betrug. Krystallographisch konnte es hieraus mit einer 45- bis 50-proz. Ausbeute erhalten werden, doch ist die vollständige Reinigung von (III) durch wiederholtes Umkrystallisieren ziemlich verlustreich; besser gelingt sie unter Zuhilfenahme der Chromatographie. Für präparative Zwecke (Herstellung von (IX)) kann aber auf eine vollständige Reinigung überhaupt verzichtet werden, indem man entweder das ganze Tosylierungsgemisch einer stufenweisen Behandlung mit Natriummethylat unterzieht — unter Ausnützung der verschiedenen Bildungsgeschwindigkeiten der Anhydro-hexosid-Derivate (X) und (IX) aus (IV) resp. (III)¹⁾ —, wobei man neben (IX) auch noch das Anhydro-*d*-allosid-Derivat (X) erhält, oder aber indem man diejenigen Krystallisate des rohen Tosylierungsgemisches verwendet, deren spez. Drehung bei ca. + 60° liegt. Für die Einzelheiten sei auf den experimentellen Teil verwiesen.

Aus dem Monotosylat (III) lässt sich durch Methylierung nach *Purdie*²⁾ der Methyläther (V) herstellen, der durch reduktive Abspaltung der Tosylgruppe mit NaHg³⁾ leicht in 4,6-Benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1,5)-3-methyl-äther (VII) übergeführt werden kann. Dieses Glucosid-Derivat zeigt den Smp. 150—151° und die spez. Drehung $[\alpha]_D = +119,5^0$ (in C₂H₂Cl₄); $[\alpha]_D = +108,3^0$ (in CHCl₃); es ist somit nicht identisch mit dem von *Freudenberg* und Mitarbeitern beschriebenen Produkt [Smp. 133°; $[\alpha]_D^{25} = +49,1^0$ (in C₂H₂Cl₄)⁴⁾], dem bisher die Konstitution (VII) zugeschrieben wurde. Diese Autoren stellten ihre „Benzal-3-methyl-[methyl-glucoside]“ (α und β) aus *d*-Glucose-3-methyläther durch Glucosidifizierung und anschließende Benzalierung des erhaltenen sirupösen Reaktionsgemisches her, also ohne Isolierung des α -Methyl-*d*-glucosid-(1,5)-3-methyläthers. Die Stellung der 3-ständigen Methoxylgruppe ist daher eindeutig festgelegt, nicht dagegen die Spannweite des Lactolringes sowie die Stellung des Benzylidenrestes, da die Möglichkeit eines furoiden 5,6-Benzyliden-Derivates nicht ausgeschlossen scheint⁵⁾. Allerdings könnte der Unterschied zwischen dem *Freudenberg*'schen Produkt und unserer Sub-

¹⁾ *G. J. Robertson, C. F. Griffith, Soc. 1935, 1193.*

²⁾ *Th. Purdie, J. C. Irvine, Soc. 83, 1021 (1903).* Vgl. *Th. Purdie, W. Pitkeathly, Soc. 75, 153 (1899); Th. Purdie, R. C. Bridgett, Soc. 83, 1037 (1903).*

³⁾ *K. Freudenberg, F. Brauns, B. 55, 3233 (1922);* vgl. *P. A. Levene, J. Compton, Am. Soc. 57, 2306 (1935), u. a.*

⁴⁾ *K. Freudenberg, H. Toepffer, C. C. Andersen, B. 61, 1758 (1928).*

⁵⁾ Die in der erwähnten Abhandlung⁴⁾ auf S. 1759 (oben) beschriebenen 2,3-Dimethyl-4,6-benzyliden- α - und - β -methyl-*d*-glucoside wurden nicht aus den im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen, krystallisierten 3-Methyl-4,6-benzyliden- α - und - β -methyl-*d*-glucosiden (Smp. 133°; $[\alpha]_D = +49,1^0$ (in C₂H₂Cl₄) resp. Smp. 164°; $[\alpha]_D = -39,1^0$ (in C₂H₂Cl₄) hergestellt, sondern aus einem diese Stoffe in unbekannter Menge enthaltenen Gemisch. Die Konstitution der eben erwähnten krystallinen Verbindungen kann demnach noch nicht als eindeutig gesichert gelten⁶⁾.

⁶⁾ Diese Frage soll gelegentlich etwas eingehender untersucht werden.

stanz (VII) eventuell auch auf Isomerie am Carbonyl-Kohlenstoffatom (in Formel (VII) mit * angedeutet) des Benzylidenrestes beruhen¹⁾. Jedenfalls lässt sich (VII) leicht in das bekannte Dimethyl-Derivat (VI)²⁾ überführen. Da in dem von uns hergestellten Glucosid-Derivat (VII) einerseits die pyranoide Struktur und die Lage des Benzylidenrestes eindeutig festgelegt sind³⁾, und andererseits durch saure Hydrolyse von (VII) zu *d*-Glucose-3-methyläther (VIII)⁴⁾ die Lage der Methoxygruppe in (VII) als 3-ständig (und damit auch diejenige der Tosylgruppe in (V) als 2-ständig) fixiert wurde, scheint die Konstitution unseres 4,6-Benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1,5)-3-methyläthers (VII) eindeutig gesichert zu sein.

Der gleiche Methyläther (VII) entsteht auch bei der Methylierung von (I) mit Dimethylsulfat und Kalilauge nach *West* und *Holden*⁵⁾, und zwar fanden wir ihn regelmässig in einer Menge von mindestens 20 % neben dem als Hauptprodukt entstehenden Dimethyläther (VI), von dem er durch Chromatographie leicht zu trennen war. Während bei der Acylierung in der Glucose-Reihe die 2-ständige Hydroxylgruppe die reaktionsfähigere ist, scheint es bei der Alkylierung die 3-ständige zu sein.

Der eine von uns (*D. A. P.*) dankt Herrn Professor *T. Reichstein* sowie der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$.)

2-Tosyl-4,6-benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1,5) (III)⁶⁾.

5,6 g 4,6-Benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1,5) (I) wurden in 15 cm³ Pyridin gelöst; dazu gab man unter Wasserkühlung auf einmal eine Lösung von 4,8 g Tosylchlorid (= 1,3 Mol) in 15 cm³ Pyridin und liess dann das Gemisch über Nacht bei Raumtemperatur stehen. Am andern Tag wurde $\frac{1}{2}$ Stunde auf 50° erwärmt, abgekühlt und eventuell noch unumgesetztes Tosylchlorid durch 2-stündige Einwirkung von 1 cm³ Wasser zerstört. Nach Zugabe von mehr Wasser wurde mit Chloroform extrahiert und neutral gewaschen, die Chloroformschicht über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel verjagt. Der sirupöse Rückstand wurde mit Äther verrieben, wobei Krystallisation eintrat, die durch Zusatz von Petroläther vervollständigt wurde. Das so erhaltene Krystallisat wurde aus Methanol umkrystallisiert und lieferte 4,3 g Prismen vom Smp. 154—156°.

¹⁾ Diese Frage soll gelegentlich etwas eingehender untersucht werden.

²⁾ *J. C. Irvine, J. P. Scott, Soc. 103, 575 (1913).*

³⁾ Für die pyranoide Struktur des α -Methylglucosids vgl. z. B. *W. Charlton, W. N. Haworth, S. Peat, Soc. 1926, 89; H. D. K. Drew, W. N. Haworth, Soc. 1926, 2303; W. N. Haworth, B. 65A, 43 (1932) (Referat), für die Lage des Benzylidenrestes in (I) vgl. ²⁾; H. Ohle, K. Spencker, B. 61, 2387 (1928); sowie ⁴⁾ S. 466.*

⁴⁾ *K. Freudenberg, R. M. Hixon, B. 56, 2119 (1923); P. A. Levene, G. M. Meyer, J. Biol. Chem. 60, 173 (1924).*

⁵⁾ *E. S. West, R. F. Holden, Am. Soc. 56, 930 (1934).*

⁶⁾ *G. J. Robertson, C. F. Griffith, Soc. 1935, 1193; vgl. jedoch H. Ohle, K. Spencker, B. 61, 2387 (1928).*

Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{15} = +61^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 2,75$ in CHCl_3); die Ausbeute belief sich auf ca. 50%. Zur Analyse wurde bei 90° im Hochvakuum getrocknet.

3,648 mg Subst. gaben 7,693 mg CO_2 und 1,869 mg H_2O

$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_8\text{S}$ (436,40) Ber. C 57,78 H 5,54%

Gef. „ 57,54 „ 5,73%

Für grössere Ansätze lohnt es sich, das Tosylchlorid jeweils in Chloroform zu lösen, wie dies z. B. im folgenden Fall geschah: 42 g (I) wurden in 50 cm^3 Pyridin gelöst und dazu eine Lösung von 36 g Tosylchlorid in 50 cm^3 absolutem Chloroform gegeben. Das Gemisch wurde eine Woche bei Raumtemperatur aufbewahrt und dann wie oben aufgearbeitet. Das Rohkrystallinat aus Äther-Petroläther wurde einmal aus Methanol umkrystallisiert und wog dann 61,5 g; Smp. $135\text{--}150^\circ$; $[\alpha]_D^{15} = +56^\circ$ ($c = 4,60$ in CHCl_3). Trotz des unscharfen Schmelzpunktes kann dieses Produkt ohne weiteres für die Bereitung von (IX) verwendet werden.

Bei der chromatographischen Trennung des rohen Tosylierungsproduktes an der 20-fachen Menge neutralisierten Aluminiumoxyds nach dem Durchlaufverfahren wird zuerst das Ditosylat (IV) eluiert (Benzol-Petroläther-Gemische), dann folgt das Monotosylat (III) (Benzol und Benzol-Äther-Gemische), während (I) in den letzten Fraktionen (Äther, Aceton oder sogar Methanol) enthalten ist.

2,3-Anhydro-4,6-benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1,5) (IX)¹.

1. Aus Rohkrystallisaten mit $[\alpha]_D = +55^\circ$ bis $+60^\circ$. 32,8 g Rohtosylat (III) (aus 25 g (I); $[\alpha]_D = +58^\circ$) wurden mit 450 cm^3 n. Natriummethylat-Lösung während 4 Stunden am Rückfluss gekocht, sodann die Lösung mit 600 cm^3 Wasser verdünnt, der entstandene Krystallbrei abgenutscht, mit Wasser gewaschen und gut abgepresst. Das Produkt wurde aus Methanol umkrystallisiert und lieferte 14 g (IX) in Form schlanker Prismen vom Smp. $143\text{--}145^\circ$, die mit authentischem, aus 2,3-Ditosyl-4,6-benzyliden- α -methyl-*d*-altrosid-(1,5) bereitetem Material²) keine Schmelzpunktserniedrigung zeigten. Die Ausbeute betrug 60% (auf (I) berechnet); die 32,8 g Rohtosylat hatten mindestens 23,1 g oder 70% (III) enthalten.

2. Aus den Mutterlaugen der Rohkrystallisate (III). Behandelt man die sirupösen Mutterlaugen der oben beschriebenen Rohkrystallisate — sie enthalten neben (III) noch (I) und (IV) — mit Natriummethylat-Lösung in der Kälte, so entsteht aus (IV) das vorzüglich krystallisierende und leicht isolierbare Allosid-Derivat (X)^{1,3}), während (III) kaum angegriffen wird. Die Mutterlaugen von (X), die nunmehr hauptsächlich (III) und (I) enthalten, liefern dann beim Verkochen mit n. Natriummethylat-Lösung noch etwas (IX). So wurden z. B. 13 g solcher Rohkrystallinat-Mutterlaugen in 100 cm^3 Chloroform gelöst, mit 30 cm^3 2,7-n. Natriummethylat-Lösung versetzt und 2 Tage bei 0° aufbewahrt. Das Gemisch wurde dann mit Wasser verdünnt, die Chloroformschicht abgetrennt, mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingeengt, wobei sich (X) alsbald abschied. Zugabe von etwas Petroläther (10—20% des Volumens) bewirkte eine nahezu quantitative Abscheidung. Der Krystallbrei wurde abgesaugt und mit Chloroform-Petroläther (1 : 3) gewaschen: Smp. $200\text{--}202^\circ$; Ausbeute 2 g (X). Aus den Mutterlaugen wurden 2,25 g (II), Smp. und Mischmp. $149\text{--}153^\circ$ isoliert. Das verbleibende Filtrat wurde eingedampft und mit 100 cm^3 n. Natriummethylat-Lösung zwei Stunden zum Sieden erhitzt, dann mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und der Krystallbrei abgenutscht. Aus Methanol umkrystallisiert lieferte er das Mannosid-Derivat (IX); 0,9 g, Smp. und Mischmp. 149° . Die ca. 4 g wiegende sirupöse Mutterlauge wurde vorderhand nicht weiter untersucht.

¹) G. J. Robertson, C. F. Griffith, Soc. 1935, 1193; vgl. jedoch H. Ohle, K. Spencker, B. 61, 2387 (1928).

²) G. J. Robertson, W. Whitehead, Soc. 1940, 319.

³) N. K. Richtmyer, C. S. Hudson, Am. Soc. 63, 1729 (1941).

2-Tosyl-4, 6-benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1, 5)-3-methyläther (V)¹).

350 mg 2-Tosyl-4, 6-benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1, 5) (III) (Smp. 156°; $[\alpha]_D = +63^\circ$) wurden mit 5 cm³ Methyljodid und 1 g Silberoxyd während 4 Stunden am Rückfluss gekocht, sodann das Methyljodid abdestilliert und der Rückstand erschöpfend mit Äther ausgezogen. Die filtrierten Ätherextrakte wurden eingengt und mit Pentan versetzt, wobei das gesuchte Produkt (V) in Prismen kristallisierte. Zur Reinigung wurde einmal aus Äther-Pentan umkristallisiert, Smp. 156—157°; $[\alpha]_D^{13} = +56,3 \pm 2^\circ$ ($c = 1,35$ in CHCl₃). Die Mischprobe mit (III) zeigte eine starke Erniedrigung des Schmelzpunktes. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 70° getrocknet.

3,694 mg Subst. gaben	7,926 mg CO ₂	und	1,931 mg H ₂ O
3,380 mg Subst. verbr.	4,605 cm ³ 0,02-n. Na ₂ S ₂ O ₃	(Zeisel-Vieböck)	
C ₂₂ H ₂₆ O ₈ S (450,43)	Ber. C 58,65	H 5,82	—OCH ₃ 13,78%
	Gef. „ 58,55	„ 5,85	„ 14,09%

4, 6-Benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1, 5)-3-methyläther (VII).

230 mg 2-Tosyl-4, 6-benzyliden- α -methyl-(1, 5)-3-methyläther (V) wurden in 15 cm³ Methanol gelöst und dazu unter Rühren 10 g 2 ½-proz. Natriumamalgam in 5 Portionen zugegeben; die Reaktionsdauer betrug 3,5 Stunden. Nach dieser Zeit wurde vom Quecksilber abdekantiert, etwas Wasser zugegeben, mit Kohlendioxyd neutralisiert, das Methanol im Vakuum entfernt und mit Chloroform ausgezogen. Die Chloroform-Lösung wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, eingengt und mit Äther versetzt. Das gesuchte Produkt (VII) schied sich in Form von Nadeln ab und wurde aus Chloroform-Äther umkristallisiert. Smp. 150—151°; $[\alpha]_D^{14} = +119,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,61$ in C₂H₂Cl₄); Ausbeute nahezu quantitativ. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 70° getrocknet.

3,762 mg Subst. gaben	8,289 mg CO ₂	und	2,304 mg H ₂ O
2,700 mg Subst. verbr.	5,383 cm ³ 0,02-n. Na ₂ S ₂ O ₃	(Zeisel-Vieböck)	
C ₁₅ H ₂₀ O ₆ (296,16)	Ber. C 60,78	H 6,81	—OCH ₃ 20,95%
	Gef. „ 60,71	„ 6,92	„ 20,62%

4, 6-Benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1, 5)-2, 3-dimethyläther (VI) aus (VII).

20 mg Monomethyl-Derivat (VII) wurden nach Purdie²) methyliert. Das Produkt (VI) wurde aus Äther-Pentan umkristallisiert und lieferte Prismen vom Smp. 120°. Es war identisch mit dem nach West und Holden bereiteten Dimethyläther (VI) (vgl. weiter unten).

d-Glucose-3-methyläther (VIII) aus (VII).

400 mg 4, 6-Benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1, 5)-3-methyläther (VII) wurden in 20 cm³ 4,9-proz. Schwefelsäure in einer Kohlendioxydatmosphäre zunächst auf dem Wasserbade erhitzt (bis $[\alpha]_D^{14} = +96^\circ$ nach 4 Stunden), dann noch weitere 2 Stunden unter Rückfluss gekocht, wobei die spez. Drehung den Endwert $[\alpha]_D^{14} = +63^\circ$ erreichte. Es wurde dann mit Bariumcarbonat neutralisiert, filtriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit absolutem Äthanol ausgezogen, filtriert und zum Sirup eingedampft, der in Aceton aufgenommen, eingengt und bis zur Wolkenbildung mit Äther versetzt wurde. Nach dem Impfen mit *d*-Glucose-3-methyläther (aus Diaceton-glucose; Smp. 155—158°) trat Krystallisation ein. Das Produkt (VIII) schmolz bei 152—155°, gab im Gemisch mit authentischem *d*-Glucose-3-methyläther keine Schmelzpunktserniedrigung und zeigte die spez. Drehung: $[\alpha]_D^{14} = +95^\circ \pm 2^\circ$ (nach 20 Minuten);

¹) G. J. Robertson, C. F. Griffith, Soc. 1935, 1193.

²) loc. cit.

bzw. $+56^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (nach 19 Stunden; Endwert) ($c = 1,58$ in H_2O), was in guter Übereinstimmung mit den früher gefundenen Werten steht¹⁾.

Osazon. Das aus (VIII) in üblicher Weise bereitete Phenylsazon schmolz nach Krystallisation aus Äther bei $184-186^{\circ}$ (Zers.). Das zum Vergleich aus authentischem *d*-Glucose-3-methyläther bereitete Phenylsazon²⁾ schmolz ebenfalls bei $184-186^{\circ}$ (Zers.), und die Mischprobe der beiden zeigte keine Schmelzpunktserniedrigung.

Methylierung von (I) nach West und Holden³⁾.

10 g 4,6-Benzyliden- α -methyl-*d*-glucosid-(1,5) (I) wurden, unter geringer Abänderung der von West und Holden gegebenen Vorschrift, in 50 cm^3 Tetrachlorkohlenstoff gelöst und zu 120 cm^3 60-proz. Kalilauge gegeben. Die Mischung wurde energisch gerührt und bei 50° eine Lösung von 18 cm^3 Dimethylsulfat in 30 cm^3 Tetrachlorkohlenstoff zugegeben. Nachdem die Reaktion abgeklungen war, wurden weitere 30 cm^3 Dimethylsulfat unverdünnt zugegeben. Nachdem alles Dimethylsulfat zerstört war, wurden die Schichten getrennt und die wässrige Phase mit 4 Portionen zu 50 cm^3 Tetrachlorkohlenstoff ausgezogen. Die vereinigten und neutral gewaschenen Auszüge lieferten nach Trocknen und Eindampfen 9,8 g Rohprodukt, das aus Essigester-Petroläther umkrystallisiert wurde. Als Spitzenfraktionen wurden 3,6 g (VI) vom Smp. 120° und dann eine Fraktion von 1,5 g (VII), Smp. $145-148^{\circ}$ erhalten. Die weiteren Krystallisate stellten Gemische mit unscharfem Schmelzpunkt dar und wurden zur Nachmethylierung verwendet. — Aus einem ähnlichen Ansatz mit 50 g (I) wurden 9 g (VII) vom Smp. $148-149^{\circ}$ isoliert.

Zur vollständigen Reinigung wurde eine Probe der eben beschriebenen Krystalle vom Smp. 148° chromatographiert, wobei aus den Benzol-Eluaten wenig (VI) und aus den Benzol-Äther-Eluaten (VII) erhalten wurde. Die reine Substanz (VII) schmolz nach Umkrystallisieren aus Chloroform-Äther bei $150-151^{\circ}$ und zeigte im Gemisch mit (VII) aus (V) keine Schmelzpunktserniedrigung. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{15} = +108,3^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,757$ in $CHCl_3$).

Tosyl-Derivat. Eine Probe der eben erhaltenen Substanz vom Smp. $150-151^{\circ}$ wurde in üblicher Weise in das Tosyl-Derivat übergeführt. Dieses krystallisierte aus Äther-Pentan in Prismen vom Smp. $158-159^{\circ}$, die im Gemisch mit (V) aus (III) keine Schmelzpunktserniedrigung zeigten. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{15} = +58,4^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,20$ in $CHCl_3$).

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung W. Manser), ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ J. C. Irvine, J. P. Scott, Soc. **103**, 564 (1931) fanden für α -*d*-Glucose-3-methyläther (dort als ζ -Monomethyl-glucose bezeichnet) den Smp. $157-158^{\circ}$ und $[\alpha]_D = +96,7^{\circ} \rightarrow +55,5^{\circ}$ (in H_2O). Vgl. auch K. Freudenberg, R. M. Hixon, loc. cit.

²⁾ K. Freudenberg, R. M. Hixon, B. **56**, 2119 (1923); P. A. Levene, G. M. Meyer, J. Biol. Chem. **60**, 173 (1924).

³⁾ Am. Soc. **56**, 930 (1934).