

В. Г. МХИТАРЯН, С. А. АСТВАЦАТРЯН

ВЛИЯНИЕ ОБЛУЧЕННОГО И НЕ ОБЛУЧЕННОГО УФ-СВЕТОМ ХЛОРОПЕНА НА ПРОЦЕСС ОКИСЛЕНИЯ ЖЕЛЕЗА

Органические перекиси приобрели в настоящее время исключительный большой научно-практический интерес в связи с их широким применением в промышленности, а также в расшифровке первичных радиационно-биохимических нарушений в организме.

Они обладают высокой реакционной способностью, хотя химическая активность и время существования различных перекисей далеко неодинаковы.

Установлено, что некоторые органические перекиси с лабильной структурой оказывают угнетающее влияние на многочисленные физиологические и биохимические функции организма, подавляют рост асцитных клеток карциномы Эрлиха, тормозят дыхание и гликолиз, в то время как стабильные органические перекиси таким эффектом не обладают.

Согласно данным Weitzel, Buddecke и Schneider [10], одни перекиси почти не влияют на гликолиз, но сильно угнетают респирацию, а другие подавляют и респирацию, и гликолиз.

Органические перекиси хорошо реагируют с лабильными тиоловыми группами ферментов, окисляют производные имидазола и тем самым вызывают инактивацию целого ряда энзимных систем.

По данным Weitzel и сотр., органические перекиси особенно сильно угнетают активность глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы и в меньшей степени — активность альдолазы и лактатдегидрогеназы. По их данным, органические перекиси не угнетают активности каталазы, хотя ряд авторов находит, что при облучении ее активность также угнетается.

Исключительно велико влияние перекисных соединений на процесс полимеризации диеновых и виниловых углеводов.

Исследования W. Kern, H. Jockusch, A. Wolfram [7, 8] показали, что хлоропен, свободный от перекисей, не подвергается полимеризации, однако если его кратковременно обработать молекулярным кислородом, то образуются перекиси, которые и инициируют процесс полимеризации.

Любопытно, что хлоропен в отличие от других диеновых углеводов даже при низких температурах образует перекиси с молекулярным кислородом, причем этот процесс протекает настолько быстро и бурно (у большинства полимеризуемых ненасыщенных соединений процесс образования перекисей протекает не так быстро), что получить свободный от перекиси хлоропен практически невозможно.

По данным W. Kern и сотр., перекиси хлоропена исключительно не-

стойки, легко разлагаются и поэтому их попытки изолировать перекиси хлоропрена не имели успеха.

Как известно, самоокисление хлоропрена представляет собой автокаталитический процесс. Поскольку при этом образуются перекиси, то возникло предположение, что эти перекиси и имеют каталитическое действие. Было установлено, что на процесс самоокисления хлоропрена существенное влияние оказывает ультрафиолетовый свет. Эффект автокаталитического ускорения реакции окисления перекисями связан с образованием радикалов, являющихся продуктом распада молекул перекиси.

Таким образом, как органические перекиси, так и свободные радикалы являются инициаторами цепных окислительных процессов.

В настоящее время общепринятым является механизм, который объясняет радикальную полимеризацию как цепной процесс, протекающий при участии свободных радикалов, среди которых особое значение имеют перекисные радикалы.

В 1941 г. Winnacker и Patat [11] установили, что молекулярный кислород сильно тормозит процесс полимеризации хлоропрена. Значительно позже «кислородный эффект» был обнаружен и при радиационных процессах.

Так, согласно данным Б. Н. Тарусова [4], повышение радиочувствительности под действием кислорода происходит только в тех случаях, когда парциальное давление кислорода не превышает 600 мм, при более высоком давлении кислорода, наоборот, наблюдается «защитный эффект».

Органические перекиси хорошо реагируют также с различными восстановителями, в том числе и с такими важными физиологически активными веществами, как ионы двухвалентного железа, аскорбиновая кислота, тиоловые соединения, и подвергают их окислению.

Известно, что процессы тканевого дыхания тесно связаны с разнообразными металлосодержащими (в частности железо) ферментами, и в первую очередь с цитохромной системой, посредством которой осуществляется перенос электронов с окисляемого субстрата на кислород.

Исследования Л. В. Фунштейна и Э. И. Щербакова [5] показали, что у облученных животных в некоторых радиочувствительных органах накапливается трехвалентное железо.

С. Е. Манойлов и Б. А. Орлов [2] наблюдали появление спектра метгемоглобина в изолированных эритроцитах, взятых в различные сроки после облучения животных рентгеновыми лучами. Подобные результаты были получены также М. А. Рождественской [3].

Как уже сообщалось, высокая токсичность хлоропрена объясняется в основном действием его агрессивных перекисей, не исключая при этом его алкилирующих свойств.

На основании большого материала мы имели возможность причислить хлоропрен (перекиси) к радиомиметическим веществам, что хорошо согласуется с данными Латарже [1], который установил высокую радиомиметическую активность перекиси янтарной кислоты.

В настоящей работе мы поставили перед собой задачу найти новые факты, подтверждающие перекисный механизм токсического действия хлоропрена на организм и изучить действие некоторых антиокислителей на этот процесс.

В связи с этим мы нашли необходимым в модельных опытах изучить действие хлоропрена, а также действие хлоропрена, облученного УФ-светом, на процесс окисления закисного железа и выяснить влияние антиокислителей на этот процесс.

Методика исследования. Опыты ставили с 0,01 М раствором сернокислого закисного железа (соль Мора). Для удаления следов ионов трехвалентного железа его подвергали перекристаллизации, после чего готовили раствор для опытов. Во избежание гидролиза раствор подкисляли концентрированной серной кислотой до pH—2,6—2,8.

В первой серии опытов использовали свежееотогнанный хлоропрен. Для этого в широкие пробирки, с притертой пробкой емкостью в 20 мл, отмеривали по 15 мл 0,01 М раствора сернокислого закисного железа. Одна пробирка (без хлоропрена) служила контролем, во вторую добавляли 0,5 mM и в третью—1,0 mM хлоропрена. Ввиду того, что хлоропрен плохо растворяется в воде, все пробы взбалтывали в шуттель-аппарате в течение 30 и 60 мин. при комнатной температуре.

По истечении этих сроков взбалтывание прекращали и определяли содержание образующихся трехвалентных ионов железа. Для этого из каждой пробирки отмеривали по 3,5 мл раствора FeSO_4 , добавляли в них по 0,5 мл 4% раствора HCl и по 1,0 мл 3N KCNS и появившуюся красную окраску (роданидный комплекс) колориметрировали на ФЭК-М при зеленом светофильтре.

Результаты исследования. Результаты данной серии опытов представлены на рис. 1. Как видно из рисунка, в опытах с хлоропреном количество возникших ионов Fe^{3+} больше, чем в контроле. Так, хлоропрен в количестве 0,5 mM, добавленный к раствору FeSO_4 , при 30 мин. взбалтывании повышает по сравнению с контролем содержание ионов Fe^{3+} в 1,28 раза, а при 60 мин.—в 2,35 раза. Увеличение количества хлоропрена в опыте до 1,0 mM приводит к еще большему накоплению ионов Fe^{3+} , соответственно в 1,4 и 3 раза.

Последующие опыты были поставлены с тем же хлоропреном на 2 и 7 день после отгонки. Как показали результаты этих исследований, хлоропрен, оставленный в холодильнике без стабилизатора, на 2 и особенно на 7 день после отгонки, имеет более выраженные окислительные свойства, чем свежееотогнанный хлоропрен.

Так, на второй день после отгонки хлоропрен в количестве 0,5 mM после 30 и 60 мин. взбалтывания повышает содержание ионов Fe^{3+} соответственно в 1,4 и 3 раза, а в количестве 1,0 mM—в 1,5 и 3,6 раза.

При тех же условиях опыта хлоропрен на 7 день после отгонки в количестве 0,5 mM через 30- и 60-минутного взбалтывания повышает содержание ионов Fe^{3+} соответственно в 2,1 и 3,8 раза, а в количестве 1,0 mM—в 2,8 и 10,5 раза.

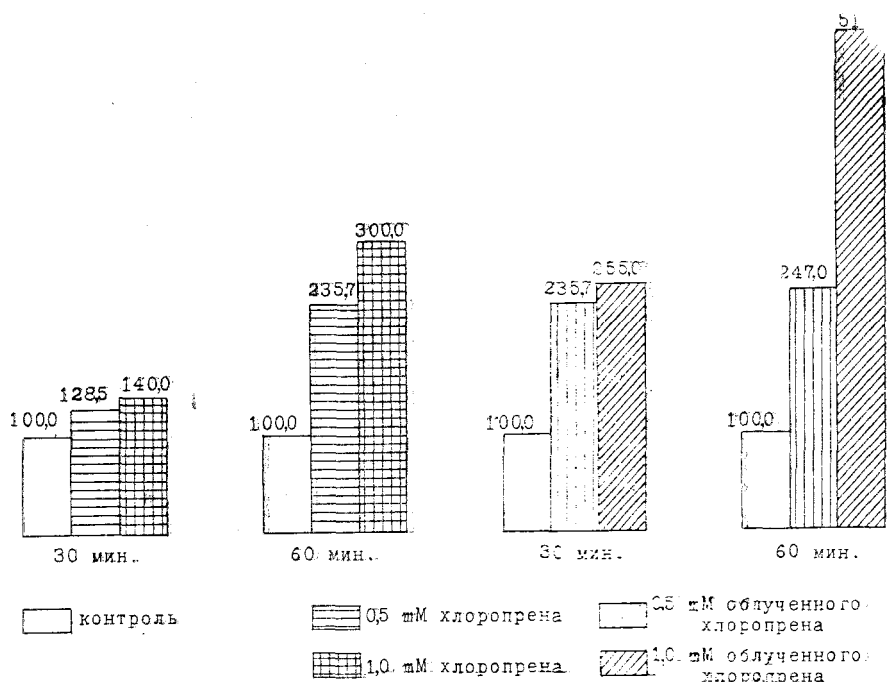


Рис. 1. Влияние облученного и не облученного УФ-светом хлоропена в первый день после отгонки на процесс окисления Fe^{2+} при 30 и 60 мин. взбалтывания (цифры обозначают процент прироста Fe^{3+} по отношению к контролю).

Дальнейшие исследования проводились с хлоропеном, предварительно облученным ультрафиолетовым светом. Облучение хлоропена производили в кварцевой колбе при помощи ртутно-кварцевой лампы типа ПРК-4 на расстоянии 200 мм в течение 20 мин.

Результаты этой серии опытов приведены на тех же рис. 1, 2, и 3 и показывают прирост ионов Fe^{3+} в процентах по сравнению с контролем.

Сопоставляя результаты этой серии опытов с данными предыдущей (без облучения), можно заметить, что облученный хлоропен обладает более сильными окислительными свойствами, чем необлученный.

Так, хлоропен в первый день после отгонки и облучения в количестве 0,5 мМ после 30-минутного взбалтывания повышает содержание ионов Fe^{3+} в 2,35 раза, что почти в 2 раза больше, чем в опытах с необлученным хлоропеном, а после 60 мин.—в 2,5 раза. В количестве же 1,0 мМ—соответственно в 2,6 и 5,2 раза.

Окислительное свойство хлоропена еще больше усиливается на второй и особенно на седьмой день после отгонки и облучения, о чем свидетельствует резкое повышение содержания ионов Fe^{3+} . Так, на второй день после отгонки и облучения хлоропен, добавленный к раствору FeSO_4 в количестве 0,5 мМ, после 30-минутного взбалтывания повышает количество ионов Fe^{3+} в 2,8 раза, а через 60 мин.—в 4,2 раза.

При тех же условиях опыта хлоропен в количестве 1,0 мМ повышает содержание ионов Fe^{3+} соответственно в 4,1 и 9,9 раза.

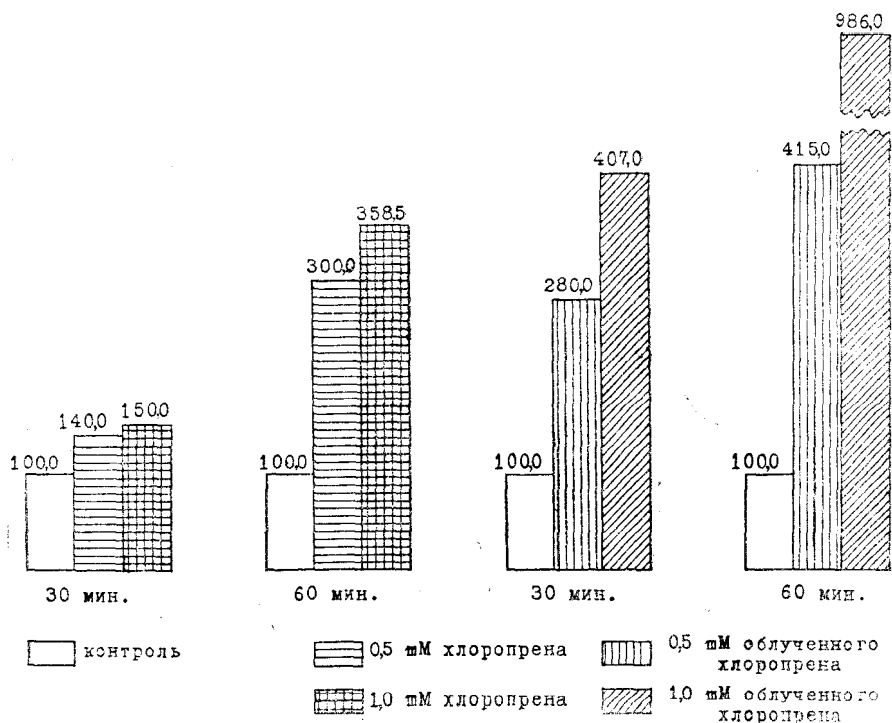


Рис. 2. Влияние облученного и не облученного УФ-светом хлоропрена на второй день после отгонки на процесс окисления Fe^{2+} при 30 и 60 мин. взбалтывания (цифры обозначают процент прироста Fe^{3+} по отношению к контролю).

Хлоропрен на 7 день после отгонки и облучения еще больше повышает содержание ионов Fe^{3+} . Так, в количестве 0,5 мМ хлоропрена содержание ионов Fe^{3+} повышается соответственно в 5,5 и 11,5 раза, а в количестве 1,0 мМ—соответственно в 9,2 и 12,5 раза.

Подводя итог этой части исследования, можно заключить, что хлоропрен, и особенно облученный хлоропрен, в отношении ионов двухвалентного железа проявляет весьма выраженное окислительное действие, которое становится еще более выраженным на седьмой день после отгонки и облучения УФ-светом.

Вторая часть наших исследований была выполнена точно так же, как и предыдущая, но в присутствии протекторов. В качестве протектора применялись вещества, относящиеся к различным классам химических соединений с антиоксидантными или восстановительными свойствами. Как известно, восстановители разрушают перекиси, в то время как антиоксиданты обрывают цепную реакцию окисления, не давая ей развиваться.

Опыты ставили с цистеином, унитиолом (2,3'-димеркаптопропан-сульфат натрия), тиомолочной и тиогликолевой кислотами, тиомочевой, тиамином, а также с гидрохиноном и р-изобутилпирокатехином в количествах $6 \cdot 10^{-2}$ М и в отдельных случаях (тиомолочная кислота, унитиол)— $6 \cdot 10^{-3}$ М.

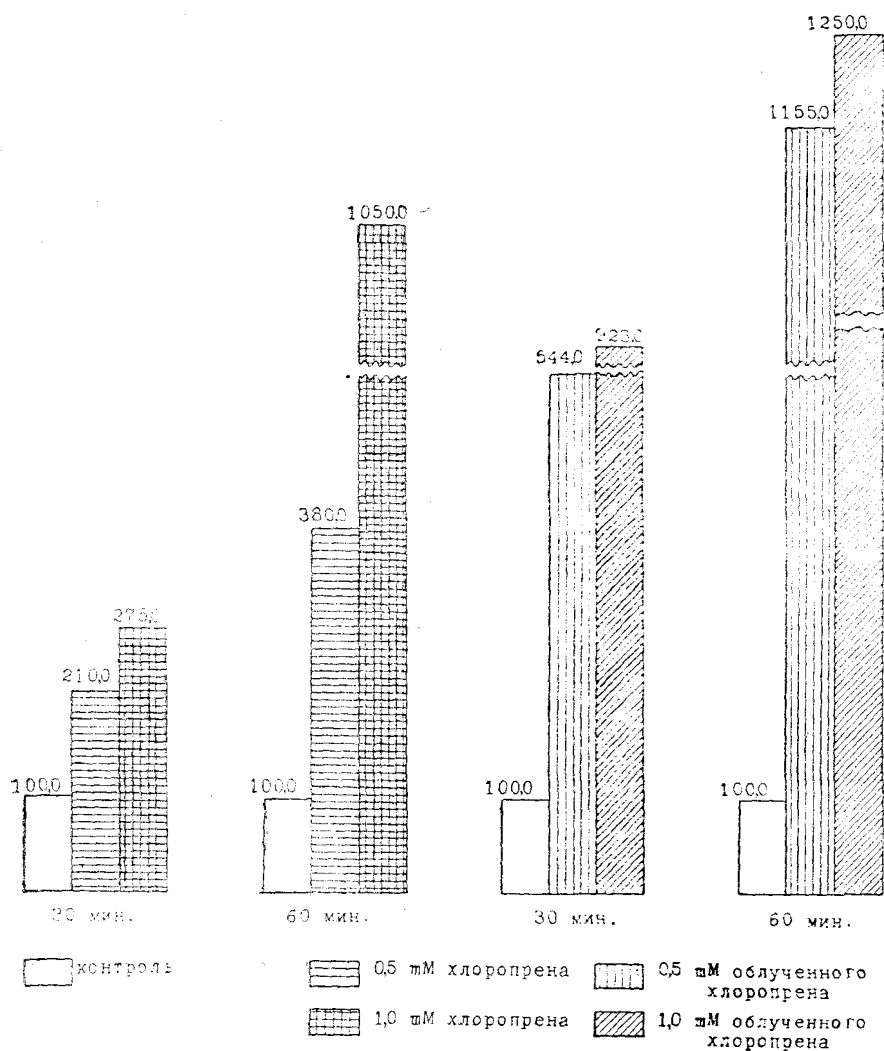


Рис. 3. Влияние облученного и не облученного УФ-светом хлоропрена на седьмой день после отгонки на процесс окисления Fe^{2+} при 30 и 60 мин. взбалтывания (цифры обозначают процент прироста Fe^{3+} по отношению к контролю).

Данные этой серии опытов приведены на рис. 4, 5, 6 и показывают содержание ионов Fe^{3+} в мкг при 60 мин. взбалтывания.

Как видно из рисунков, в присутствии протекторов процесс окисления закисного железа подавляется, хотя оно и выражено далеко неодинаково. Наиболее сильное торможение наблюдается с тиомолочной кислотой и унитиолом. Эти вещества во все сроки опытов подавляют процесс окисления на 100% как в присутствии 0,5 мМ, так и в присутствии 1,0 мМ хлоропрена. Они на 100% тормозят этот процесс и в количестве $6 \cdot 10^{-3}$ М.

Сравнительно слабее выражено тормозящее действие цистеина, тиогликолевой кислоты, р-изобутилпирокатехина и тиомочевины. Интересно, что эти вещества в присутствии различных количеств хлоропрена,

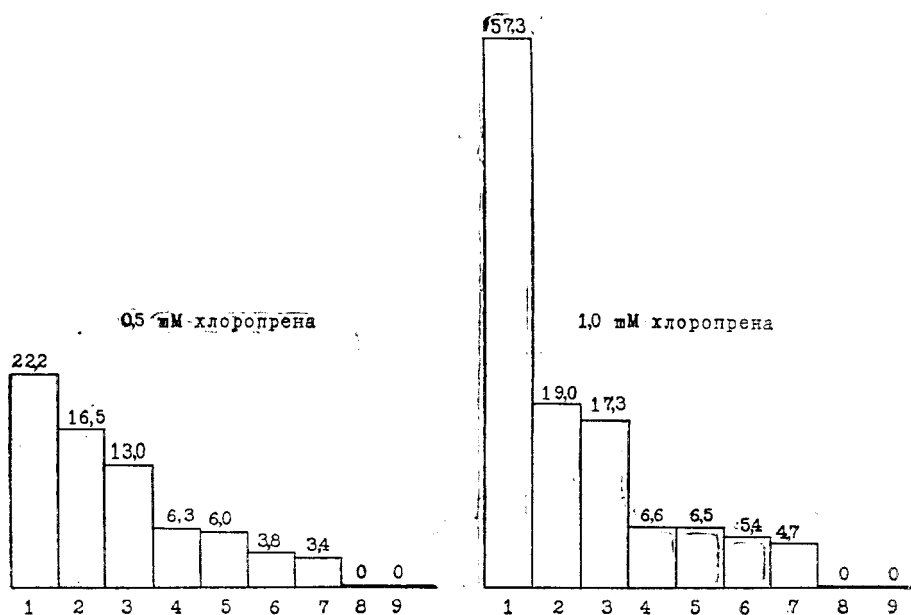


Рис. 4. Влияние антиокислителей на процесс окисления Fe^{2+} хлоропреном в первый день после отгонки при 60 мин. взбалтывания (цифры обозначают количество Fe^{3+} в мкг).

- | | |
|-----------------------------------|---|
| 1. Fe^{2+} + хлоропрен | 5. Fe^{2+} + хлоропрен + тиомочевина |
| 2. " + " + тиамин | 6. " + " + цистеин |
| 3. " + " + гидрохинон | 7. " + " + тиогликолевая к-та |
| 4. " + " + р-изобутил-пирокатехин | 8. " + " + унитиол |
| | 9. " + " + тиомолочная к-та |

а также в различные сроки опытов оказывают неодинаковое тормозящее действие. Так, например, цистеин в опытах с 0,5 mM хлоропрена угнетает процесс окисления железа в первый день на 85,7%, на второй день—на 82,5 и на седьмой день—на 81,8%, между тем как с 1,0 mM хлоропрена угнетение в первый день составляет 88,8%, на второй—90,5 и на седьмой день—94%.

В целом эти вещества процесс окисления железа хлоропреном угнетают в среднем на 75—88% и могут быть распределены по убывающей силе следующим образом: цистеин > тиогликолевая кислота > р-изобутил-пирокатехин > тиомочевина.

Значительно слабее выражено действие гидрохинона и тиамин. Так, тиамин в опытах с 0,5 mM хлоропрена в первый день подавляет процесс окисления железа на 25,6, на второй—на 46,6 и на седьмой день—29,5%. Сравнительно сильнее выражено его тормозящее действие в опытах, где количество хлоропрена составляет 1,0 mM. Таким образом, в отличие от вышеуказанных протекторов тиамин и гидрохинон угнетают процесс окисления ионов Fe^{3+} в среднем на 50—58%.

Обсуждение результатов исследований. Приведенные данные свидетельствуют о том, что хлоропрен в опытах *in vitro* способен окислять закисное железо, что без сомнения связано с его перекисями, которые он

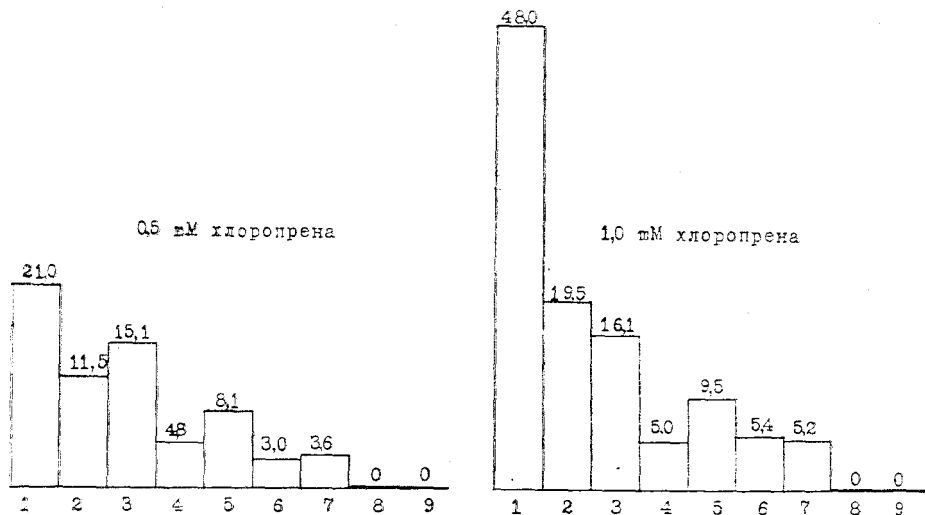
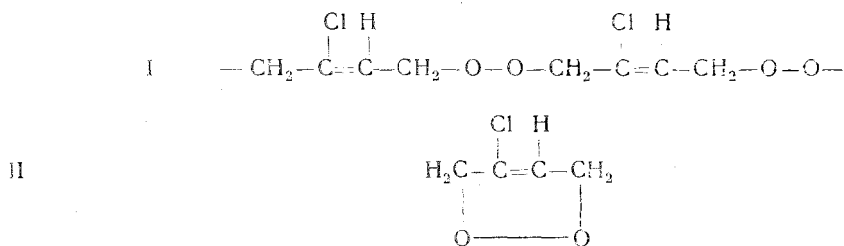


Рис. 5. Влияние антиокислителей на процесс окисления Fe^{2+} хлоропреном на второй день после отгонки при 60 мин. взбалтывания (цифры обозначают количество Fe^{3+} в мкг).

- | | |
|---------------------------------------|---|
| 1. Fe^{2+} + хлоропрен | 5. Fe^{2+} + хлоропрен — тиомочевина |
| 2. " + " + тиамин | 6. " + " — цистеин |
| 3. " + " + гидрохинон | 7. " + " — тиогликолевая к-та |
| 4. " + " + p-изобутил-
пирокатехин | 8. " + " + унитиол |
| | 9. " + " — тиомолочная к-та |

образует исключительно быстро и бурно при соприкосновении хлоропрена с молекулярным кислородом.

Согласно Кегн и сотр., для структуры перекиси хлоропрена утверждаются в первую очередь две следующие возможности:



За полимерную перекись хлоропрена имеется больше экспериментальных данных, чем за шестичленную. Допускается, что циклическая перекись летуча. Еще в 1931 г. Haber, Wilstätter [10] показали, что ионы тяжелых металлов вызывают распад перекиси с образованием свободных радикалов и высказали предположение о том, что некоторые биохимические реакции протекают по цепному механизму.

Известно, что закисное железо (как и некоторые другие ионы переменной валентности) вызывает распад перекиси с образованием свободных радикалов и окисляется само до трехвалентного железа.

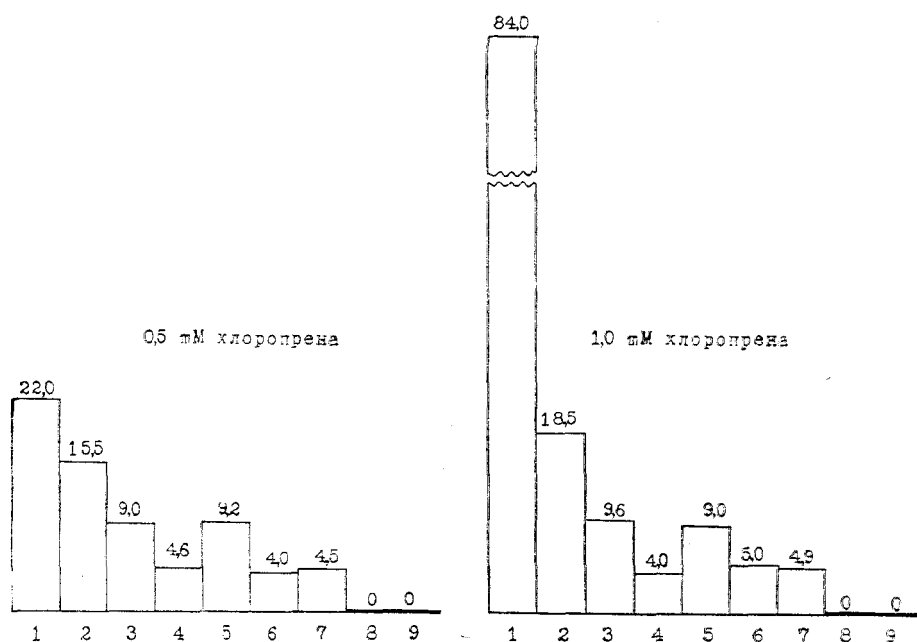
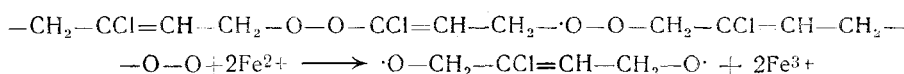


Рис. 6. Влияние антиокислителей на процесс окисления Fe^{2+} хлоропреном на седьмой день после отгонки при 60 мин. взбалтывания (цифры обозначают количество Fe^{3+} в мкг).

- | | |
|-----------------------------------|---|
| 1. Fe^{2+} + хлоропрен | 5. Fe^{2+} + хлоропрен + тиомочевина |
| 2. " + " + тиамин | 6. " + " + цистеин |
| 3. " + " + гидрохинон | 7. " + " + тиогликолевая к-та |
| 4. " + " + р-изобутил-пирокатехин | 8. " + " + унитиол |
| | 9. " + " + тиомолочная к-та |

Эту реакцию в случае хлоропрена можно представить так:



Следовательно, чем больше перекисей и чем они агрессивнее, тем больше будут накапливаться ионы Fe^{3+} .

Известно, что радикальная полимеризация осуществляется свободными радикалами и что ее скорость зависит от концентрации свободных радикалов и от их активности. Поэтому высокая скорость полимеризации при низких температурах может быть достигнута при больших концентрациях активных свободных радикалов.

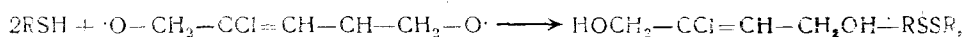
Хлоропрен в отличие от бутадиена и некоторых его производных полимеризуется уже при низких температурах и в 700 раз быстрее, чем бутадиен, что свидетельствует о высоком содержании активной перекиси. Возможно, что этим (не исключается структурная особенность перекиси) обусловлена высокая токсичность хлоропрена по сравнению с бутадиеном и его производными.

В пользу перекиси говорят также данные Nyströme [9], которому удалось показать высокую токсичность хлоропрена на 2 и особенно на

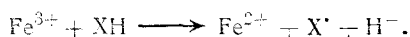
7 день после отгонки. Эти данные весьма хорошо согласуются с результатами наших исследований.

Наконец, о действии перекиси на организм говорит также метгемоглобинемия, наблюдаемая при хлоропроновом отравлении, установленная как Nyströme, так и нашими исследованиями.

Весьма большой интерес представляют опыты с антиокислителями; некоторые из них имеют широкое применение как радиозащитные вещества. Как известно, они могут реагировать со свободными радикалами и, следовательно, обрывать цепную реакцию окисления. Например, в присутствии тиоловых соединений реакция протекает по следующей схеме:



что и приводит к торможению процесса окисления Fe^{2+} . Не исключается также реакция между восстановителем и Fe^{3+} по следующей схеме:



Во всех случаях в присутствии антиокислителей или восстановителей выход Fe^{3+} должен быть подавлен, что и наблюдалось в наших опытах.

Интерес представляют опыты с тиомолочной кислотой. Насколько нам известно, она не применялась в качестве протектора при радиационных поражениях, между тем как на основании пока что предварительных данных можно допустить, что она окажется весьма эффективной как при радиационных поражениях, так и при хлоропроновом отравлении, если только сама не окажется токсичной для организма.

Эти вопросы в настоящее время нами изучаются и полученные результаты будут опубликованы в ближайшее время.

В ы в о д ы

1. Хлоропропен, добавленный к 0,01 М раствору сернокислого закисного железа, окисляет двухвалентное железо в трехвалентное. Это его действие зависит как от сроков хранения хлоропропена после отгонки при низких температурах, так и от его количества.

2. Хлоропропен в первый, во второй и седьмой день после отгонки в количестве 0,5 мМ при 30 мин. инкубации (с взбалтыванием) повышает содержание трехвалентного железа по сравнению с контролем соответственно в 1,28, 1,4 и 2,1 раза, а при 60 мин. инкубации—в 2,35, 3,0 и 3,8 раза.

3. Хлоропропен при тех же условиях опыта в количестве 1,0 мМ при 30 мин. инкубации (с взбалтыванием) повышает содержание трехва-

лентного железа в 1,4, 1,5 и 2,8 раза, а при 60 мин. инкубации — в 3,0, 3,6 и 10,5 раза.

4. При облучении хлоропрена ультрафиолетовым светом его окислительные свойства значительно повышаются. Так, в первый, во второй и седьмой день после отгонки и облучения хлоропрен в количестве 0,5 mM при 30 мин. инкубации (с взбалтыванием) повышает содержание Fe^{3+} соответственно в 2,35, 2,8 и 5,5 раз, а при 60 мин. инкубации — в 2,5, 4,2 и 11,5 раза.

5. При тех же условиях опыта хлоропрен в количестве 1,0 mM при 30 мин. инкубации (с взбалтыванием) повышает количество Fe^{3+} соответственно в 2,6, 4,1 и 9,2 раза, а при 60 мин. — в 5,2, 9,9 и 12,5 раза.

6. В присутствии антиокислителей или восстановителей процесс окисления железа хлоропреном подавляется. Наиболее сильное торможение оказывают тиомолочная кислота и унитиол, которые в количестве $6 \cdot 10^{-2}$ и $6 \cdot 10^{-3}$ во все сроки опытов в присутствии 0,5 mM и 1,0 mM хлоропрена подавляют процесс окисления на 100%.

7. Сравнительно слабее выражено тормозящее действие цистеина, тиогликолевой кислоты, р-изобутилпирокатехина и тиомочевины, которые лишь в количестве $6 \cdot 10^{-2}$ M угнетают окисление железа хлоропреном в среднем на 75—88% и распределяются по убывающей силе следующим образом: цистеин > тиогликолевая кислота > р-изобутилпирокатехин > тиомочевина.

8. Тиамин и гидрохинон при тех же количествах $6 \cdot 10^{-2}$ M угнетают процесс окисления железа в среднем на 50—58%.

Медицинский институт,
кафедра биохимии

Поступило 22.III 1967 г.

Վ. Գ. ՄԻՒՐՅԱՆ, Ս. Ա. ԱՍԿԱՍՏՅԱՆ

ՈՒՆԵՐԱՄԱՆՈՒՇԱԿԱԳՈՒՅՆ ԼՈՒՅՍՈՎ ՃԱՌԱԳԱՅԹԱՀԱՐՎԱԾ ԵՎ
ԶՃԱՌԱԳԱՅԹԱՀԱՐՎԱԾ ՔԼՈՐՈՊՐԵՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՐԿԱԹԻ
ՕՐՄԻԴԱՅՄԱՆ ՊՐՈՅԵՍԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Օրգանական պերօքսիդներն օժտված են ռեակցիոն բարձր հատկություններով, շնայած նրանց քիմիական ակտիվությունը և գոյություն տևողությունը տարբեր են:

Անկայուն կառուցվածք ունեցող օրգանական պերօքսիդներն ընկճում են օրգանիզմի բաղմամթիվ ֆիզիոլոգիական ու բիոքիմիական ֆունկցիաները, ճնշում են էրլիխի ասցիտային կարցինոմայի բջիջների աճը, արգելակում շնչառությունն ու գլիկոլիզը:

Ի տարբերություն մյուս դիենային ածխաջրածինների, քլորոպրենը անգամ ցածր ջերմաստիճանում միանում է մոլեկուլյար թթվածնի հետ և առա-

չացնում պերօքսիդներ, ընդ որում այնքան արագ և բուռն, որ պրակտիկ պայմաններում հնարավոր չէ ունենալ քլորոպրենի՝ պերօքսիդներից ազատ:

Տվյալ աշխատության մեջ ցույց է տրված քլորոպրենի պերօքսիդների ազդեցությունը երկարժեք երկաթի օքսիդացման վրա և մի շարք հակաօքսիդանտների ազդեցությունը այդ պրոցեսի վրա:

Ցույց է տրված, որ քլորոպրենը թորումից 1, 2 և 7 օր հետո ցուցաբերում է 0,01 M FeSO₄-ի լուծույթի վրա տարբեր օքսիդանտային հատկություն: Նույն պայմաններում ուլտրամանուշակագույն լույսով ճառագայթահարված քլորոպրենի համաօքսիդանտային ազդեցությունն էլ ավելի է բարձրանում:

Ցույց է տրված, որ թիոկաթնաթթվի, ունիթիոլի, ցիստեինի, թիոգլիկոլաթթվի, ք-իդրոուտիլպիրոկատեխինի, թիոմիզանյութի, թիամինի և հիդրոխինոնի $6 \cdot 10^{-2}$ քանակները ձնշում են երկաթի օքսիդացիան քլորոպրենով ոչ միաշափ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Латарже Р. В. кн.: Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм. стр. 334, 1958.
2. Манойлов С. Е., Ордов Б. А. В кн.: Вопросы радиобиологии. т. 5. 152, 1960.
3. Рождественская М. А. В сб.: Актуальные вопросы переливания крови. вып. 5, 81, 1957.
4. Тарусов Б. Н. Radiobiology Symposium. Moscow, 1950.
5. Фунштейн Л. В., Щербakov Э. И. В кн.: Вопросы радиобиологии. т. II, 127, 1957.
6. Haber F., Wilstatter R. Ber. Deutsch. Chem. Ges. 64, 1344, 1931.
7. Kern W., Jockusch H., Wolfram A. Ztschr. Makromol. Chem. 3. 223, 1949.
8. Kern W., Jockusch H., Wolfram A. Ztschr. Makromol. Chem. 4. 213, 1950.
9. Nyström A. E. Acta Med. Scand. 219, 1948.
10. Weitzel G., Buddecke E., Schneider F. Z. physiol. Chem. 323, 3/6, 211 1961.