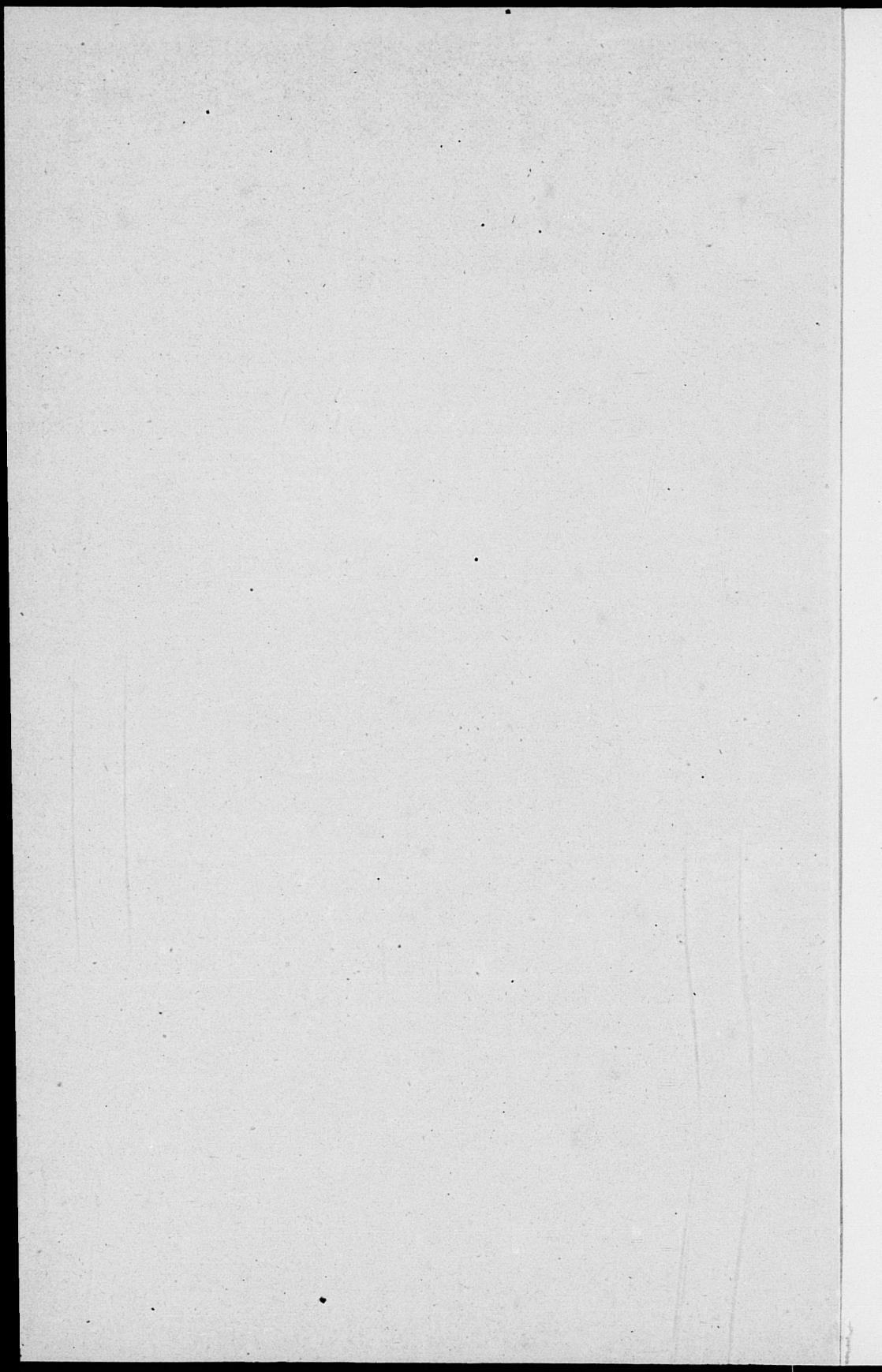


Pr. 1886, II, 29.

Ottow. Over *Glycine chinensis*.





Onderzoekingen over den bast van *Wistaria sinensis*
(Nutt) syn. *Glycine sinensis* (Curt), gedaan in het
Pharmaceutisch Laboratorium der Rijks-Univer-
siteit te Utrecht; door W. M. Ottow,
Mil. Apoth. II^e kl. N. I.

In de „Gazette des Hospitaux” 1880 blz. 990 komt eene mededeeling voor van Dr. Léouffre te Parijs omtrent eene vermoedelijke vergiftiging door de takken en de wortels van de *Wistaria sinensis*, eene mededeeling, die in verschillende wetenschappelijke tijdschriften, o. a.: „Jahresbericht über die Fortschritte der Pharmacognosie, Pharmacie und Toxicologie,” 1882 blz. 272, en ook in werken over de Toxicologie, o. a.: in Dr. L. Lewin's „Lehrbuch der Toxicologie” 1885, blz. 385 is overgenomen.

Naar aanleiding van deze mededeeling achtte Prof. Wefers Bettink het van belang een onderzoek naar de bestanddeelen van de *Wistaria* te doen, en stond het benoodigde materiaal welwillend ter mijner beschikking af, toen ik gedurende den tijd van mijn verlof den bast van deze plant aan een toxico-chemisch onderzoek wenschte te onderwerpen.

Omtrent de beschrijving der *Wistaria sinensis* en nadere bijzonderheden uit botanisch oogpunt raadplegen: Curtis' „Botanical Magazine” 2083 — „Genera

Plantarum" van Endlicher en van Bentham en Hooker—London's „Encyclopedia of plants." — Vaucher „Histoire physique des plantes de l'Europe", „Botanical register" 650. — Bentham „Handbook of the British flora" — W. T. Thiselton Dyer „Note on the fruiting of *Wistaria sinensis* in Europe" in de „Journal of the Linn. Soc. of London" XVII. 79. — Th. G. Gentry „The fertilisation of certain flowers through insect agency" in de „American Naturalist IX. 75. — Thomas Meechan „Note on the Seedvessels of *Wistaria*" in de „Proceed. Nat. Scien. Philadelphia" 80 etc. Hier zij slechts ten behoeve van een overzicht meegedeeld, dat de *Wist. sin.* in 't algemeen nog meer bekend onder den naam van *Glycine sinensis* en door Hollandsche tuiniers Blauwe Regen geheeten, een slingerplant is, behoorende tot de familie der Papilionaceae en de onderafdeeling der Phaseoleae. Linnaeus bracht haar in 1737 met een 40-tal andere soorten tot 't geslacht der Glycineae, een geslacht, dus genoemd met 't oog op den zoeten smaak van den wortel, dien verscheidene zijner soorten bezitten, en dat later tot slechts een 12-tal Oost-Indische en Mexicaansche soorten is teruggebracht, terwijl de andere tot verschillende eigen geslachten zijn vereenigd. Zoo o. a. werden *Glycine sinensis* en *G. frutescens* door Nuttall in 1818 onder den geslachtsnaam *Wistaria* (naar Prof. Dr. Caspar Wistar) vereenigd. Inheemsch is de *Wist. sin.* in China, volgens anderen in Japan, (Vgl. Botanischer Jahresbericht VI. 78. 2e Afd. blz. 948), en in 1818 werd zij uit China in Engeland ingevoerd. Sinds dat jaar is zij in Midden- en Zuid-Europa algemeen gekweekt en als sierplant om hare sierlijke en welriekende bloemen zeer gezocht Vóór

dien tijd was zij in Europa niet bekend, althans in Hehn „Culturpflanzen und Haustierte in ihrem Uebergange aus Asien nach Europa” en in Pauly „Realencyclopädie des classischen Alterthums” vond ik geen aanwijzingen daaromtrent, evenmin als in Dödonaeus’ „Cruydeboek” en in andere oudere botanische werken.

Lestiboundois heeft in zijn verhandeling „Structure des hétérogènes” in de „Comptes rendues” vol. 76. 1873 de anatomische bouw ook der Wist sin-stengels beschreven, zonder, als wel te wenschen ware, op de voorhandene celvormen in te gaan. Ik laat derhalve hier alvorens het macroscopisch aanzien van den bast te beschrijven, en tot het chemische deel van het onderzoek over te gaan, eene beschrijving van den microscopischen bouw des stengels volgen.

Bij den eenjarigen stengel treft men onder de cuticula 2 tot 3 rijen tafelvormige epidermiscellen aan, die vooral vlak bij 't daaraan grenzende kurk op vele plaatsen door steencellen vervangen zijn. Op de twee buitenste kurkcellenlagen, die bruin gekleurd zijn, en wier tangential afgeplatte cellen met een bruinrooden inhoud voorzien zijn, volgen twee, zelden drie lagen steencellen, die de homogeniteit van 't kurkweefsel onderbreken, daar zij naar 't middelpunt toe weer aan een 3- tot 4-tal lagen veel minder gekleurde kurkcellen grenzen. Aan den anderen kant grenzen deze binnenste kurkcellenlagen aan een 8 tot 12 cellen breed gordel van veel chlorophyll- en betrekkelijk weinig zetmeelhoudende, dunwandige parenchymcellen, waarvan er enkele een hendyoëdrisch kristal van calciumoxalaat bevatten. Dit parenchymweefsel is op verscheidene plaatsen door collenchym vervangen, en hier en daar

afgewisseld door ééne steencel, dan wel door een kleine groep dezer cellen. Slechts enkele van de parenchymcellen zijn met een licht bruinrooden inhoud gevuld. Aan het parenchymateus weefsel sluit zich scherp daarvan afgescheiden een krachtige ring van afwisselende bundels bastcellen en steencelgroepen, met dien verstande, dat de laatste een veel minder groote ruimte innemen. De binnenbast, die aan de binnenzijde van dezen ring grenst, vangt aan met een dunwandig min of meer tangentiaal gerekt parenchym, dat zeer rijk is aan cellen met een bruinrooden inhoud gevuld. Laatstbedoelde cellen staan in tot 4 tangentiaal- en tot 10 overlangsche reeksen bij elkander, en hun inhoud vertoonde evenmin als bij oudere basten de harsreactie van Franchimont en Unverdorben. Verder bestaat de binnenbast, die evenals 't hout door mergstralen, op dwarse doorsnede van 2 tot 3 radiaal gestrekte cellen-breedte, radiaal gedeeld is, uit een 10-tal afwisselende concentrische lagen van bastvezelbundels en sterk tangentiaal saamgedrukte onregelmatige dunwandige parenchymcellen, benevens cambi-formcellen en zeefvaten, welke laatste aan oudere basten duidelijk aangetoond konden worden. Ook dit parenchymweefsel bevat cellen met een bruinrooden inhoud voorzien. De bastvezelbundels zijn door reeksen van calciumoxalaat-kristalhoudende cellen omgeven, evenals men die b.v. aan de officineele basten bij *Quercus* en *Salix* vindt.

Het hout bestaat uit groote gestippelde vaten, wier lumen op dwarse doorsnede soms een diameter van 200 micron vertoont, en die meest 2 bij elkander voorkomen. Bij oudere stengels vindt men deze vaten soms gevuld met thyllen. Verder vindt men in 't hout net-

en laddervormig geteekende tracheïden, bundels van libriformvezels, en tamelijk dikwandig, rijkelijk zetmeelhoudend houtparenchym. De houtcelbundels zijn vooral in de nabijheid van het cambium min of meer in concentrische reeksen geplaatst.

Het merg bestaat vooral binnenwaarts uit groote dunwandige polyaedrische cellen, en bevat evenals de mergstralen, 't houtparenchym en 't parenchym van den binnenbast rijkelijk zetmeelkorrels, van 1—5 micron grootte, ovalen vorm, met bochtigen omtrek en een speeltvormig hylum. Tegen den binnenwand van slechts enkele dezer mergcellen heeft zich een licht bruinrood gekleurde stof afgezet. Als bijzonderheid van den ouderen bast dient nog vermeld, dat 't parenchymateus weefsel van den binnen- en buitenbast bijzonder rijk is aan calciumoxalaat-kristallen, zoodat deze bij 't doorbreken, na drogen, verstuiven kunnen.

Macroscopisch doet zich de oudere gedroogde bast voor in 1—4 m.m. dikke, eenigszins gootvormige stukken zonder kurk, daar dit zich bij 't drogen van zelf van den bast loslaat. De buitenkant is groen, de binnenkant geel gekleurd, terwijl 't middenliggend weefsel geelachtig wit is. De binnenzijde is daarenboven zwak overlangs gestreept. De breuk is zeer vezelig. Met 't bloote oog zijn in 't binnendeel zoowel op dwarse als op overlangsche doorsnede bruin tot bruinviolette strepen duidelijk waar te nemen, evenals met de loupe de geslingerde, spitstoelopende door secundaire mergstralen verdeelde baststralen. De smaak is zeer zwak zoet, daarna eenigszins scherp in de keel.

HET CHEMISCH ONDERZOEK DER WISTARIA SINENSIS.

a. Voorloopig kwalitatief onderzoek.

Daar aanvankelijk mijn plan slechts daartoe beperkt was, 't werkzame bestanddeel van den bast van Wist. sin. aan te toonen en zoo mogelijk aftezonderen, was mijn eerste taak een chemisch lichaam op te sporen, dat tot een der groepen van alcaloïden, glucosiden en bitterstoffen zou kunnen terug gebracht worden. De rationeelste weg daartoe achtte ik in eene combinatie van de methode Stas-Otto met die, welke algemeen ter afscheiding van glucosiden en bitterstoffen toegepast wordt, gelegen.

100 gramm. van den nagenoeg luchtdrogen, grofgepulveriseerden bast werden daarom in een ruime kolf met staanden afkoeler, eerst met 500 gramm. daarna met 300 gramm. spiritus van 90% in een waterbad uitgekookt. Vervolgens werd warm gecoleerd en gefiltreerd. Uit de vereenigde tincturen had zich na bekoeling een wit amorph bezinksel *a* afgezet, dat door decanteeren en filtreeren afgezonderd werd. Het verkregen filtraat werd daarna met een zeer geringe overmaat van een alcoholische oplossing van loodacetaat neergeslagen, en daarna het filtraat verkregen door afzondering van 't ontstane groen-bruine neerslag *b* met een oplossing van basisch loodacetaat. Door dit laatste reactief ontstond een geel neerslag, *d* dat van de bovenstaande vloeistof *c* gescheiden en even als neerslag *b* goed en snel met spiritus uitgewasschen werd. Nog vochtig werden beide neerslagen in 90% ischen spiritus gesuspenderd om ze ter ontleding aan de inwerking van H^2S bloottestellen.

Neerslag *a*, dat na afzondering en afwassching met

spiritus eenigszins groen gekleurd zich vertoonde, was smakeloos, stond met zwak zuur-water behandeld hieraan geen alcaloïd af, wyl Meijer's oplossing, pikrinezuur en tannine hierin geen neerslagen deden ontstaan, en gaf bij koking met Fehling's koperproefvocht, ook na verwarmen met een verdund mineraalzuur, geen reductie te zien. Het loste in een geconcentreerde KOH -oplossing gemakkelijk op en werd door geconcentreerd H_2SO_4 nauwelijks rood gekleurd, zoodat geen alcaloïden, glucosiden of bitterstoffen aanwezig waren, maar de massa hoofdzakelijk uit in kouden alcohol moeielijk oplosbaar vet en was bestond.

Neerslag *b*, door neutraal loodacetaat ontstaan, werd van lood bevrijd en in alcohol opgenomen, en de oplossing, na toevoeging van een weinig water en onder voortdurende neutralisatie met NH_3 door verdamping van den alcohol bevrijd. Bij een deel van de oplossing in water, die zwak zuur reageerde en een donker gekleurd kleverig en harsachtig neerslag had afgezet, werd H_2SO_4 -houdend water gevoegd, waardoor een wit neerslag ontstond. Na filtreering gaf 't filtraat geen neerslag met de bovengemelde alcaloïd-reactieven. Een ander deel werd met water verdund, waardoor eene opalisatie ontstond, en daarna op zijn reduceerend vermogen op K. V. (1) onderzocht. Het reduceerde dit duidelijk, terwijl een sterkere reductie intrad, nadat de oplossing met een verdund mineraalzuur was verwarmd. De smaak der oplossing in water was eenigszins zoet en ziltig, nauwelijks samentrekkend en niet bitter. Na toevoeging van KOH werd zij donkerbruinrood gekleurd, en bij verwarming met HCl , evenals met

(1) K. V. = koperproefvocht.

KOH, ontstonden eigenaardige reukverschijnselen, die later nog meermalen zouden worden waargenomen. Bij verwarming met KOH ontwikkelden zich alcalische dampen. Fe^2Cl^6 bracht in de oplossing in water een donker bruinviolette verkleuring te weeg.

Daar de laatstgenoemde reactie aan een looizuur-reactie herinnerde, en ook andere K. V. reduceerende stoffen mogelijk aanwezig waren, bestond er geen genoegzame reden de reductie aan een glucosid of glucosidachtig lichaam toe te schrijven.

Het filtraat *c*, na praecipiteeren met basisch loodacetaat verkregen, werd door distillatie van 't grootste deel des alcohols bevrijd, vervolgens door H^2S van lood bevrijd en door filtratie van 't gevormde PbS gescheiden.

Na verdamping van den alcohol was de smaak van dit filtraat zoet, weinig opvallend samentrekkend, niet bitter, en werd het, daar hars, was en vet zich hadden afgescheiden, na toevoeging van een paar druppels zuur, gefiltreerd.

Daar nu dit filtraat reeds met de algemeene alcaloïd-reactieven geen neerslag vertoonde, dus geen alcaloïden bevatte, werd de verdere uitvoering der methode Stas-Otto achterwege gelaten. Het reduceerde K. V. sterk ook zonder het vooraf met een verdund mineraalzuur te koken.

Neerslag *d*. Het lichtgele, door basisch loodacetaat ontstane praecipitaat werd, na uitwasschen, totdat aan alcohol nauwelijks iets meer werd afgestaan, in alcohol van 90° verdeeld en door H^2S ontleed.

Het filtraat, waarbij ook de alcohol gevoegd werd, die ter uitkooking van 't genoemde PbS gebruikt was, werd bij zachte warmte op een waterbad van alcohol bevrijd, terwijl nu en dan water toegevoegd werd, en

tevens ter voorkoming van ontleding NH_3 . Zoo werd ten slotte eene zwak zure vloeistof verkregen, waaruit zich na volkomen bekoeling een weeke amorphe bruine en kleverige stof α afzette, terwijl de bovenstaande vloeistof, welke afzonderlijk onderzocht zou worden, eene zwakke lichtgele troebeling vertoonde, veroorzaakt door een amorph lichaam, dat zich onder 't microscoop als zeer kleine harsbolletjes voordeed. Na toevoeging van eenige droppels verdund zuur bij deze vloeistof ontstond een wit neerslag β dat zich moeielijk, ten laatste echter geheel op den bodem van 't vat neerzette. De daar bovenstaande heldere vloeistof γ bevatte noch een bittere stof, noch een alcaloïd. Zij werd vervolgens evenals 't witte neerslag β en de bruine massa α op hare verhouding tegen over K. V. onderzocht, zoowel zonder, als na met een verdund mineraalzuur te zijn gekookt. Alle drie oefenden hierop eene reduceerende werking uit, terwijl de afscheiding van Cu^2O zonder vooraf met een zuur behandeld te hebben, bij vloeistof γ 't sterkst was. Bij deze laatste operaties werden de volgende noemenswaardige opmerkingen gemaakt. Bij verwarming met verdund HCl . werd, wanneer niet te veel in bewerking werd genomen, het witte neerslag β , gedeeltelijk ook de bruingekleurde stof α , opgelost, en scheidde het opgeloste zich bij bekoeling amorph weder af. Bij deze verwarming met HCl . ontwikkelden de drie onderzoekingsvoorwerpen een karakteristieken, eenigermate aan menyanthol herinnerenden reuk, terwijl bij verwarming met KOH , dus ook met K. V. een andere reuk optrad, welke cumarinachtig was, meer nog 't midden hield tusschen den geur der bloemen van *Spiraea Ulmaria* en die der droge bladen van *Asperula odorata*. Door KOH werd 't neerslag β

met eene gele, de bruine stof α met roodgele kleur opgelost, terwijl de vloeistof γ er geel door gekleurd werd, welke kleur bij verwarming meer in rood overging. Deze vloeistof γ deed bij schudden schuimvorming ontstaan; haar smaak, nadat 't zuur afgestompt was, was, behalve ziltig, ook zwak samentrekkend, en door $\text{Fe}^2 \text{Cl}^6$ werd zij donkerbruinviolet gekleurd, welke verkleuring ook α en β slechts weinig gevarieerd in alcoholische oplossing vertoonden. De eigenschappen, die α , β en γ vertoonden, bleven ook, nadat zij door middel van water en spiritus absolutus gereinigd waren, dezelfde. Alleen scheen de reductie van K. V. bij α en bij β , zonder dat deze vooraf met zuur verwarmd werden, minder sterk te zijn. Werd λ na de behandeling met water en alcohol met zuiveren aether staan gelaten, dan werd aan den aether eene amorphe gele harsachtige stof afgestaan die bij verwarming met verdunde H Cl. niet oploste, en die hierna alcalisch gemaakt en met K. V. gekookt nauwelijks een reductie deed ontstaan. De rest van eene chloroform-oplossing vertoonde geen reduceerende werking.

Ofschoon uit deze proeven gebleken is, dat een glucosid of glucosidachtig lichaam door acet. plumb. basicus was neergeslagen, vooral omdat plantenslijm, gom, dextrine en looizuur in dat neerslag niet aanwezig waren, toch besloot ik dit resultaat zoolang te wantrouwen, tot ik er in geslaagd zou zijn het glucosid in zuiveren staat af te scheiden. Het was in den loop der voorloopige bewerking ook gebleken dat 't glucosid (zoo dit aanwezig was) in spiritus gemakkelijk, in warm water tamelijk wel, in koud water nauwelijks oplosbaar is, en niet oplosbaar in aether en chloroform, en met deze feiten voorop

besloot ik nu een andere afscheidingsmethode te volgen, waarbij tevens een eventueel voorhanden en bij 't volgen der vorige methode mogelijk ontleed alcaloïd aan te wijzen zou zijn.

b. *Afscheiding van het glucosid der Wistaria sinensis.*

200 gramm. grof gepulveriseerde bast werden met spiritus van 90 % bij zachte warmte uitgetrokken. De verkregen tinctuur had nauwelijks een samentrekkenden en prikkelenden smaak, iets zeepachtig, doch was niet bitter. Zij werd bij matige warmte ingedampt en vervolgens met vooraf uitgegloeid zand tot een bijna droog poeder vermengd, terwijl 't verkregen poeder daarna in een deplaceertoestel, eerst met aether, dan met chloroform werd behandeld totdat nagenoeg niets meer aan deze oplosmiddelen werd afgestaan. Het in aether en chloroform onoplosbare werd toen in alcohol opgenomen en de alcoholische oplossing onder toevoeging van water zacht verhit. Ten slotte werd dus eene alcoholvrije vloeistof verkregen, die geen smaak had, geen alcaloïde bevatte, en een lichtgeel niet saamgepakt neerslag afzette. Dit neerslag werd met een weinig koud water uitgewasschen, totdat het waschwater na behandeling met een mineraalzuur bijna niet reduceerde, en K. V. nauwelijks door Fe^2Cl^6 gekleurd werd. Vervolgens moest dit gereinigde neerslag, dat naar het voorloopig onderzoek 't glucoside, zoo aanwezig, moest bevatten, in zijne bestanddeelen worden gesplitst. Het was amorph en harsachtig, reduceerde na verwarming met een mineraalzuur K. V. sterk, loste in Na O H-oplossing geel op, werd bij verwarming met verdund H Cl of H^2SO^4 opgelost, en ontwikkelde daarbij een menyanthol-achtigen reuk, bij

verwarming met KOH daarentegen een cumarinachtigen, terwijl in 't laatste geval de dampen rood lakmoes niet verkleurden. In Na^2CO^3 loste deze stof zich ook geel op, en evenals uit de KOH-oplossing ontstond daarin door verdund HCl een wit neerslag, dat zich moeielijk op den bodem van 't vat afzette. In geconc. H^2SO^4 opgelost, werd deze oplossing bij verwarming terstond kersrood met een nauwelijks bruine nevenkleur. In geconc. HNO^3 werd zij geelrood opgelost, uit welke oplossing, na toevoeging van water, gele vlokken zich afscheidden. Bij koken van deze verdunde HNO^3 -oplossing met NaOH in overmaat, werd zij donker geelrood gekleurd. Zij scheen alzoo hoofdzakelijk uit een harsachtig lichaam te bestaan, dat zelf bij verwarming met een verdund mineraalzuur glucose gaf, of dat een stof als verontreiniging bevatte, die bij splitsing glucose deed ontstaan. Alvorens echter door oplosmiddelen deze stof in hare bestanddeelen te splitsen, werd zij, daar ik de verkleuring, die hare spiritueuse oplossing door Fe^2Cl^6 onderging aan een tanninachtig bijmengsel dacht te moeten toeschrijven, met verscheid bereid $\text{Pb}(\text{OH})^2$ gemengd, en onder bevochtiging met water eenige malen ingedampt. De droge rest werd met alcohol uitgetrokken, en daar aan 't $\text{Pb}(\text{OH})^2$ zich nauwelijks iets had vastgelegd, werd slechts de alcoholische oplossing, die geen Pb bevatte, aan een verder onderzoek onderworpen. Na indamping vertoonde zich eene lichtgele amorphe rest, die achtereenvolgens met petroleumaether, benzol, aether, chloroform, aethylacetaat en water uitgeschud werd, totdat niets of nauwelijks meer iets in deze oplosmiddelen overging of totdat de hoeveelheid van 't in oplossing gegane geacht kon worden bij latere uitschuddingen dezelfde te zijn

Het petroleumaether uitschudsel liet eene geringe amorphe vetachtige rest achter, die zeer weinig groen gekleurd, niet bitter was, door geconc. H^2SO^4 nauwelijks gekleurd werd, en tot geen reductie van koperproefvocht aanleiding gaf, ook niet na verwarming met een verdund mineraal zuur. De benzolrest vertoonde evenmin iets opvallends. Aan aether werd nauwelijks iets van een amorphe harsachtige stof afgestaan, die door geconc. H^2SO^2 na eenigen tijd rood gekleurd werd, en waaraan de K. V. reduceerende eigenschap nauwelijks kon worden waargenomen.

De chloroformrest was zeer gering. Meer ging in aether aceticus over n. l. een lichtgele, smakelooze amorphe stof, die na behandeling met een mineraal-zuur K. V. reduceerde, en door geconc. H^2SO^4 langzamerhand rood gekleurd werd.

De overblijvende, nauwelijks in quantiteit afgenomen stof werd vervolgens met water gekookt. Hierbij werd een tamelijk sterk schuimen opgemerkt. Warm gefiltreerd, opaliseerde 't filtraat bij bekoeling, en zette zich daaruit na eenigen tijd een gering wit amorph bezinksel af. De neutrale oplossing in water van nauwelijks saamtrekkenden en niet bitteren smaak werd door Fe^2Cl^6 bruinachtig violet, na eenigen tijd bruingroen gekleurd, welke kleur door citroenzuur in vuil geel-groen overging. Na vooraf met verdund HCl gekookt te zijn, en daarna alcalisch gemaakt te hebben, reduceerde deze oplossing K. V. terwijl de meergemelde reukverschijnselen daarbij optraden. De rest, die de oplossing achterliet na indamping, werd evenals 't daaruit gevormde bezinksel door geconc. H^2SO^4 langzamerhand rood gekleurd.

Daar de latere water-uitschudsels telkens eene

quantitatief en kwalitatief gelijke rest achterlieten, en ook de gedeeltelijk door toevoeging van water neergeslagen alcoholische oplossing van de overgebleven stof tegenover geconc. H^2SO^4 , Fe^2Cl^6 , K. V. enz. analoge reacties vertoonde, kwam ik tot 't inzicht, dat ik op een eigen chemische stof was gestuit, die thans zoo mogelijk door omkristalliseering zuiver moest verkregen worden. De waterige zoowel als de spiritueuse oplossing liet bij zeer langzame verdamping slechts een amorphe, harsachtige rest achter, die zich onder 't microscoop als uit kleine, ronde, eenigszins geel gekleurde lichaampjes en conglomeraten bestaande, vertoonde. Er werd daarom eene geconcentreerde oplossing in acetum glaciale aan eene langzame verdamping blootgesteld. Na een dag had zich uit deze oplossing, die rood gekleurd was, zoowel aan de oppervlakte als op den bodem een wit lichaam afgescheiden, die zich onder 't microscoop in den vorm van bolletjes vertoonde met een diameter-lengte van 10 micron, en die van stekeltjes omgeven waren. De vorm herinnerde mij aan de vruchten van Galium Aparine. Deze kristallijne lichaampjes werden op een filter verzameld, eerst met acetum glaciale, vervolgens met water uitgewasschen, en alvorens de rest eveneens uit acetum glaciale te laten kristalliseeren aan een onderzoek onderworpen. Zij smolten op een platina-blik verhit eerst, verkoolden daarna en lieten bij voortgaande verhitting geen rest achter. Door geconc. H^2SO^4 werden ze met eene gele kleur opgelost, die bij verhitting in een prachtig kersroode overging. In hunne alcoholische oplossing bracht Fe^2Cl^6 een violette verkleuring te weeg, welke na eenigen tijd, en terstond door toevoeging van een verdund zuur, in een bruin-groene overging. In KOH en Na^2Co^3 losten zij met

een lichtgele kleur op. Na kortstondige, meer nog na langere verwarming met verdund HCl en alcalisch maken dezer zure vloeistof, reduceerden zij K. V. sterk. Bij de verwarming met HCl ontwikkelde zich een frissche, aan menyanthol herinnerende reuk, terwijl bij de verwarming met K. V. een zuivere cumarinereuk kon worden waargenomen, en de ontwikkelde dampen lakmoes niet veranderden.

Daar op deze wijze het glucoside in zuiveren toestand verkregen was, werd de rest van de stof, waarvan vroeger slechts een deel in acetum glaciale opgelost werd, op dezelfde wijze behandeld. Voorafechter werd zij in twee ongelijke deelen gesplitst, door haar n. l. met relatief veel water te koken, en wat hierdoor in oplossing was gegaan, na indamping afzonderlijk in acetum glaciale op te lossen. Zoowel deze oplossing als die van het door water niet opgeloste deel, die ik korthedshalve respectievelijk Ia en IIa noemen zal, en hunne filtraten straks respectievelijk Ib en IIb, werden ter kristallisatie weggesteld. Ia zette een lichaam na eenigen tijd af, dat minder een kristallijne structuur vertoonde dan wat zich uit IIa had afgezet. Ik schreef dit echter aan bij-omstandigheden toe, niet aan een chemisch onderscheid, die ik trouwens niet op kon merken, en achtte dit vooral gerechtvaardigd toen hunne smeltpunten dezelfde bleken te zijn, n. l. 203—204° C. Het filtraat van IIa na afzondering van 't daaruit gekristalliseerde n. l. IIb zette na eenige dagen dezelfde kristallen af als IIa, die ook bij 204° C. aanvingen te smelten. Anders verhiel zich echter de stof, die zich uit 't filtraat Ib van Ia afzette, bij welk filtraat, omdat ik daarmede een snellere uitscheiding der kristallen beoogde, een paar druppels

water toegevoegd waren. Deze stof was niet kristallijn en niet ongekleurd, en vertoonde een smeltpunt van ongeveer 180° C. Ze werd derhalve niet met Ia, IIa en IIb vereenigd, welke laatste, als zijnde 't zuiver afgescheiden glucoside, bij elkander gevoegd werden en aan een nader onderzoek onderworpen.

In den aanvang van deze bewerking ter afscheiding van het glucoside werden een aetherische en een chloroform-oplossing verkregen. De rest der chloroform-oplossing werd voor een deel met zuur-water behandeld, en de zure oplossing op de aanwezigheid van alcaloïden onderzocht. Toen deze bleken niet aanwezig te zijn, werd het overige deel in spiritus opgelost en deze oplossing door toevoegen van water fractionnair geprecipiteerd. In 't begin ontstond een amorph, vlokkelig neerslag, dat zich gemakkelijk door filtreeren afzonderen liet, en K. V. ook na verhitten met verdund HCl niet reduceerde. Bij toevoegen van meer water vertoonde de oplossing eene lichtgele opalisatie, door een afgescheiden stof, die ik niet door filtreeren verzamelen kon. Ik dampte daarom deze oplossing in, en verkreeg eene rest, waarvan althans een gedeelte de eigenschappen van het glucoside vertoonde, zoodat ik moest aannemen, dat zich iets daarvan in de betrekkelijk groote hoeveelheid chloroform, dat ter deplacering gebruikt was, had opgelost.

De aether-rest, die geen alcaloïde bevatte, werd met ongeveer een 10voudige hoeveelheid water uitgekookt. Na bekoeling was deze oplossing in water sterk troebel, en na neutraliseering met NH^3 en indamping tot een klein volume, had zij eene bruine, weeke, harsachtige massa afgezet, wier smeltpunt bij ongeveer 60° C. lag. De bovenstaande vloeistof verhiel zich in meer dan een

opzicht als een geconcentreerde oplossing in water van 't glucosid. Nadat de bruine massa, die eenigermate bitter en samentrekkend smaakte, door middel van watervrijen aether gereinigd was, reduceerde zij ook na met verdund HCl gekookt zijn K. V. niet meer. Zij loste zich in alcaliën met een geelroode kleur op, werd door Fe^2Cl^2 bruin gekleurd, en werd in de verdunde spiritueuse oplossing nauwelijks door basisch en neutraal loodacetaat neergeslagen. Door geconc. H^2SO_4 werd zij terstond bruin gekleurd, met een nauwelijks roode nevenkleur, terwijl bij verdunning met water zwarte vlokken in de oplossing zich vertoonden, die op eene verkoling wezen. Bij verwarming der bruine geconc. H^2SO_4 -oplossing werd weldra een sterke verkoling waargenomen.

c. De eigenschappen van het afgezonderde glucosid.

Daar de hoeveelheid van het afgezonderde glucosid te gering was, om daarmee elementair-analytische en physiologische onderzoekingen aan te vangen, besloot ik haar te gebruiken, om eenige chemische en physische eigenschappen vasttestellen, die mij in staat zouden stellen een kortere en voordeeligere bereidingswijze toe te passen, en de afgescheiden stof met de bekende glucosiden te vergelijken.

Het glucosid der W. s lost gemakkelijk in absoluten en in verdunden alcohol op, evenals in acetum glaciale. De oplosbaarheid in koud water en in aether is ongeveer 1 op 2000. In warm water is het beter oplosbaar, en deze oplossing in warm water opaliseert bij bekoeling. De oplosbaarheid in chloroform is geringer dan die in aether.

Door vaste alcaliën zoowel als door NH^3 en alcali-carbonaten wordt 't met eene gele kleur opgelost. In water opgelost vertoont het een nauwelijks samentrek-kenden daarna een nauwelijks bitteren en prikkelenden smaak; de alcoholische oplossing vertoont dezen slechts een weinig duidelijker. De neutrale oplossing in water schuimt bij schudden. 't Smeltpunt ligt bij 204°C ., terwijl zijn ontledingstemperatuur hooger is.

Door geconc. H^2SO^4 wordt het geel opgelost, welke oplossing na eenigen tijd en terstond bij verwarming een prachtig kersroode verkleuring ondergaat, zonder dat verkoling plaats vindt. De spiritueuse oplossing wordt door Fe^2Cl^6 donkerviolet gekleurd, die in water lichtviolet. Na eenigen tijd verandert deze kleur in bruingroen, terwijl zij onder eene aetherlaag dezelfde blijft. In de oplossing in water doet acetas plumbic. neuter geen, acetas plumbic. basicus daarentegen wel eene opalisatie ontstaan. In de spiritueuse oplossing brengt een alcoholische oplossing van neutraal loodacetaat eene geringe troebeling, en basisch lood-acetaat een wit neerslag teweeg. Met de proef van *Lassaigne* kon geen stikstof aangetoond worden. (Bij de twee laatste reacties werden contraproeven genomen.) De oplossing in water wordt door AgNO^3 wit neergeslagen, terwijl zich na eenigen tijd, en terstond bij verwarming, zilver afscheidt en de vloeistof rood gekleurd wordt. Eene alcalische zilveroplossing wordt terstond door 't glucoside gereduceerd. Door tannine wordt 't niet neergeslagen. Door CuSO^4 ontstaat een groen neerslag.

Wat na 't nemen van deze proeven overgebleven was, werd in eene kolf met staanden afkoeler met 2 pct. H^2SO^4 in overmaat op een waterbad verwarmd. Zoodra de inhoud der kolf de temperatuur van 't water-

bad had aangenomen, was 't glucosid in oplossing gegaan. Na 3 uren verwarmd te hebben werd de kolf afgekoeld, en ontstond er een wit, amorph, vlokkig neerslag, dat zich onder 't microscoop harsachtig voordeed. Geheel op den bodem der kolf had zich een stof afgezet, die onder 't microscoop uit groepen van naaldvormige kristallen bleek te bestaan. Daar 't glucoside zelf zich uit de warme waterige oplossing bij bekoeling niet kristallijn afscheidt, zoo hield ik 't kristallijne lichaam voor 't splitsingsprodukt. De bovenstaande vloeistof in de kolf reduceerde K. V. sterk, zoodat als tweede splitsingsprodukt glucose was gevormd. Uit 't vlokkige neerslag bleek het echter, dat de splitsing nog niet volkomen had plaats gehad, waarom nog eens gedurende 3 uren de kolf werd verwarmd, nadat meer verdund H^2SO^4 toegevoegd was. Thans vertoonde zich na bekoeling het vlokkige, amorphe neerslag niet meer, maar alleen het kristallijne ontledingsprodukt op den bodem. Dit kristallijne ontledingsprodukt had gansch andere eigenschappen als 't glucoside. Het reduceerde K. V. niet meer, bleek onoplosbaar in water en gemakkelijk oplosbaar in spiritus te zijn. Het werd door geconc. H^2SO^4 met eene nauwelijks gele kleur opgelost, welke kleur bij verwarming der oplossing niet gewijzigd werd. Uit de spiritueuse oplossing werd het door toevoeging van water kristallijn afgescheiden. Door Fe^2Cl^6 werd zijne oplossing geelbruin gekleurd, welke kleur na korten tijd in eene vuilgroene overgaat. Door neutraal loodacetaat ontstaat in zijne oplossing eene geringe troebeling, terwijl basisch loodacetaat een geel neerslag daarin doet ontstaan. Het smeltpunt is bij 210°C .

De vloeistof, waaruit dit ontledingsprodukt zich had

afgezet, had een frisschen menyantholachtigen reuk, welke riekende stof ik er in slaagde met petroleum-aether af te zonderen. De geringe rest, die 't petroleumaether-uitschudsel achterliet, vertoonde zich onder 't microscop in den vorm van lang gerekte druppels, die bij verhitting zich vervluchtigden, zoodat als derde ontledingsprodukt een vluchtige olie gevormd was. Werd de zure vloeistof met een overmaat van KOH verwarmd dan trad een andere reuk op. Ook deze tweede riekende stof ging in petroleumaether over. De rest, die deze laatste achterliet was vast, wit gekleurd, had de aangename reuk van cumarine en tevens die van de bloemen van *Heliotropium europeum*, en was wel is waar amorph, doch verraadde door de rangschikking der amorphe deeltjes een aanleg tot kristallisatie.

d. *Beschrijving van eenige pogingen tot afscheiding van 't glucosid langs anderen weg.*

Ofschoon de hieronder beschreven pogingen om op eene andere wijze dan de bovenvermelde het glucosid der W. s. in zuiveren staat af te scheiden, niet tot 't gewenschte resultaat leidden, zoo acht ik het toch niet overbodig deze met een kort woord te vermelden. Wanneer we aan mogen nemen, dat het glucosid in mengzels aanwezig is, zoo deze moeielijk in water en aether, gemakkelijk in alcohol en alcaliën oplossen en zij bij koken met een verdund mineraalzuur glucose doen ontstaan, terwijl tevens de karakteristieke menyantholachtige reuk waargenomen kan worden, zoo zijn we ook gerechtigd aan te nemen, dat het glucoside zich zoowel in 't neerslag door acet. plumbicum

neuter in de tinctuur van den bast teweeg gebracht, bevindt, als in 't filtraat na praecipiteering met basisch loodacetaat. Een theoretische opbrengst zou langs dezen weg dus niet te verkrijgen zijn. Toch meende ik op deze wijze 't spoedigst 't glucoside in zuiveren staat te kunnen afzonderen. Het van lood bevrijde neerslag, door basisch loodacetaat in 't filtraat na praecipiteering van de tinctuur met neutraal loodacetaat ontstaan, zou, na tot droog toe te zijn ingedampt onder voortdurende neutralisatie met ammoniumcarbonaat, en met zand te zijn gemengd, door middel van aether van de mede neergeslagen harsachtige stof worden gezuiverd en door middel van water van 't geen hierin gemakkelijk over mocht blijken te gaan. Uit acetum glaciale zou ten slotte de rest waarschijnlijk kristallijn verkregen kunnen worden.

Een ander deel van de tinctuur van den bast nam ik mij voor zoover met water te verdunnen, totdat vetten, harsen en was zouden zijn uitgescheiden, en 't ontstane neerslag slechts zeer weinig glucoside zou bevatten, welke kleine hoeveelheid in verdunden spiritus op te nemen zou zijn. Het van alcohol bevrijde filtraat zou, zoo noodig, door toevoeging van een paar druppels verdund H^2SO^4 waardoor 't glucoside met begeleidende harsachtige stoffen beter zich afzonderen laten, in een in water oplosbare deel en een ander in water onoplosbare gesplitst kunnen worden, waarna een spiritueuse oplossing van 't geen in water niet oplost door middel van aether zou worden neergeslagen. Het dus ontstane neerslag zou 't glucoside bevatten, dat mogelijk uit acetum glaciale zuiver te verkrijgen zou zijn.

Bij de uitvoering echter werd uit geen der acetum glaciale-oplossingen een kristallijn-lichaam verkregen.

In de eerste oplossing (uit 't neerslag met basisch lood-acetaat verkregen) zette zich aanvankelijk een amorph lichaam af, dat onder 't microscoop den kogelvorm vertoonde, en op grond van zijn chemische eigenschappen als genoegzaam zuiver glucosid kon beschouwd worden. Later echter kon de stof, die zich afzette, niet als zuiver beschouwd worden, daar zij door geconc. H^2SO^4 terstond rood gekleurd werd en reeds bij 140°C . aanving te smelten.

De tweede methode gaf een nog minder goed resultaat. Uit de acetum glaciale-oplossing scheiden zich nl. een gekleurde amorphe stof af, die bij ongeveer 150° smolt.

Op grond dezer resultaten kan ik dus slechts de betrekkelijk omslachtige en tijdroovende methode onder „b afscheiding van 't glucoside der W. s.” beschreven ter verkrijging van 't glucosid in zuiveren, kristallijnen staat aanbevelen.

e. *Quantitatieve analyses.*

Met een deel van den voorraad van den bast, die van betrekkelijk oude stammen der W. s. afkomstig scheen, werden hoofdzakelijk naar de in Dragendorff's „Qualitative en quantitative Analyse von Pflanzen und Pflanzentheilen” 1882 aanbevolen wijze, quantitatieve bepalingen verricht, welke ik in 't kort mededeelen zal.

De zeer fijn gepoederde bast verloor bij 110° tot constant gewicht gedroogd, 11.67% in gewicht, terwijl de watervrije bast, 7.25% asch achterliet, waarin hoofdzakelijk Ca en CO^2 en weinig Fe, K, Na, H^2SO^4 HCl en H^3PO^4 konden aangetoond worden.

In petroleumaether ging 1,545% der bestanddeelen van den drogen bast over, nl. vet van boterachtige consistentie, dat door chlorophyl een weinig groen gekleurd was.

Na macereering met petroleumaether ging van de rest van den bast in absoluten aether 1.161% over, waarvan met de 60-voudige hoeveelheid water behandeld 24.9% hierin oploste, terwijl in benzol 85.15 % overging. De rest der oplossing in water werd door geconc. H^2SO^4 terstond bruinrood gekleurd, de oplossing zelve door Fe^2Cl^6 bruinachtig verkleurd.

Na uittrekking met aether werd het overblijvende met absoluten spiritus gemacereerd, waardoor 4.059% in oplossing gingen. Van de spiritus rest werd in alcoholische oplossing 14.7% door neutraal loodacetaat en daarna 84.17% door basisch loodacetaat neergeslagen. De oplossing in water van de door indamping bij lage temperatuur verkregen spiritus-rest werd door Fe^2Cl^6 rood gekleurd, niet zwart. Wat van de spiritus-rest in de 20voudige hoeveelheid water niet opgelost werd, bleek — na gedurende eenige uren met 15 procentisch H^2SO^4 verwarmd te zijn — 4.5 % glucose te hebben gevormd, berekend op de in spiritus absolutus oplosbare stoffen. Weet men de hoeveelheid glucose, die een bepaald gewicht van het glucosid bij splitsing doet ontstaan, dan kan men, met inachtneming van het oplosbaarheidscoefficient van 't glucosid in aether en water, uit 't gevonden glucose gewicht, de hoeveelheid glucosid berekenen in de onderzochte bast aanwezig.

Het in alcohol onopgelost deel van den bast, werd met water behandeld. Hierin ging 16.39 % over met 8.25 % asch ('t laatste op de watervrije rest berekend). Door 't dubbele volume absoluten alcohol werd uit de

oplossing in water 28.05 % der hierin opgeloste stoffen neergeslagen, nl. plantenslijm, eiwitstoffen en zure plantenzure zouten. Het filtraat van dit gevormde neerslag werd tot stroopdikte ingedampt en met 4 volumen absoluten alcohol behandeld.

Het hierdoor ontstane neerslag, dat uit dextrine en verwante stoffen bestond, bedroeg 82.08 %. In oplossing bleef een weinig glucose, oxaalzuur en wijnsteen-Na2C2O4. De hoeveelheid vrije zuren in de oplossing in water aanwezig bedroeg, op wijnsteen-Na2C2O4 berekend, 2.04 %.

Ofschoon mij een genoegzame hoeveelheid van 't glucosid ontbrak om verschillende elementair-analysen uit te voeren en hun gemiddelde uitkomsten hier op te geven, zoo wil ik nochtans meedeelen, dat ik, uitgaande van 23 mgr. der stof, na verbranding vond. 51 mgr. CO2 en 21,2 mgr. H2O, zoodat volgens deze cijfers een procentische samenstelling aan het glucoside der W. s. toekomt van 10.24 H, 60.48 C en 29.28 O.

Aan het eind gekomen van het verslag omtrent de chemische onderzoekingen van de W. s. moet ik bekennen, dat mijne opmerkingen zeer fragmentarisch zijn, en dat ik over veel gaarne meer diepgaande studiën had gemaakt. Zoo had ik gaarne met zekerheid vastgesteld, dat het glucosid zich evenals door zuren en in geringe mate door alcaliën, ook door inwerking van gist en fermenten splitsen liet, hetgeen mij thans met de geringe quantiteit, die ik daartoe gebruiken kon, niet mogelijk was met zekerheid uit te maken. Studiën omtrent de verhouding van 't glucosid tegenover smeltende KOH, omtrent zijn werking op het gepolariseerde licht en omtrent zijn moleculair gewicht zouden mij zeker thans bezighouden, indien ik nog ruim over tijd en materiaal kon beschikken. De voorloopig ver-

kregen resultaten in hoofdzaak recapituleerende, bevat de W. s. een eigen harsachtig glucoside, dat den naam „Wistarine” te geven mij 't meest rationeel dunkt. Zijne meest kenmerkende eigenschappen zijn zijne verhouding tegenover geconc. H^2SO^4 , Fe^2Cl^3 , en K. V. Bij verwarming met verdunde mineraalzuren ontwikkelt zich een karakteristieke reuk, terwijl als ontledingsprodukt een kristallijn lichaam optreedt, waarvoor de naam „Wistaretine” bij nadere bestudeering waarschijnlijk zal blijken de meest juiste te zijn.

Ten slotte voel ik me gedrongen Prof. W e f e r s B e t t i n k mijnen dank te betuigen voor de welwillendheid mij betoond gedurende den tijd, dat ik in zijn laboratorium met deze onderzoekingen bezig was.

Een korte mededeeling rest me nog over de werkzaamheid van het glucosid der Wist. sin. Een hoeveelheid daarvan uit 4 gramm. ongeveer van den bast, slechts met een geringe hoeveelheid van een harsachtige stof verontreinigd, bracht bij 3 kikvorschen, die daarmee werden geïnjicieerd, vergiftingsverschijnselen teweeg, en telkens werd deze hoeveelheid letaal bevonden. Dat de dood eerst na twee dagen intrad, moet waarschijnlijk daaraan worden toegeschreven, dat 't glucosid moeielijk in water oplosbaar is, en dat een betrekkelijk groote dosis letaal werkt moet waarschijnlijk uit den aard der werking, die 't bij menschen heeft vertoond (v. g. l. de mededeeling van Dr. L é o u f f r e) verklaard worden. De helft van deze hoeveelheid bleef zonder doodelijke uitwerking. Evenmin bleek de hars,

die 't aangewende glucoside verontreinigd, vergiftig te zijn.

Nadere bijzonderheden omtrent de intoxicatie bij kikvorschen hoop ik eerst later mede te deelen, wanneer ik met de proeven op warmbloedige dieren tot een gewenscht einde zal zijn gekomen.

Utrecht, 29 Mei 1886.

