



# De werkzame bestanddeelen van bulbus Scillae

<https://hdl.handle.net/1874/322658>

**DE WERKZAME BESTANDDEELEN  
VAN BULBUS SCILLAE**

**F. H. J. PICARD**

BIBLIOTHEEK DER  
RIJKSUNIVERSITEIT  
UTRECHT.

cht







A-72-192-1926



DE WERKZAME BESTANDDEELEN  
VAN BULBUS SCILLAE





# DE WERKZAME BESTANDDEELEN VAN BULBUS SCILLAE

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD  
VAN DOCTOR IN DE WIS- EN NATUURKUNDE AAN  
DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG  
VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS Dr. C. W. VOLLGRAFF,  
HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN  
EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN  
SENAAT DER UNIVERSITEIT IN HET OPENBAAR TE  
VERDEDIGEN OP MAANDAG 27 APRIL 1936, DES NA-  
MIDDAGS TE 3 UUR

DOOR

FRITS HIJMEN JOHAN PICARD

GEBOREN TE DRIEBERGEN

N.V. DRUKKERIJ P. DEN BOER — UTRECHT  
SENATUS VETERANORUM TYPOGRAPHUS ET LIBRORUM EDITOR

BIBLIOTHEEK DER  
RIJKSUNIVERSITEIT  
UTRECHT.



AAN MIJN OUDERS



*Bij het afsluiten van mijn Universitaire studie, zij het mij vergund, aan U, Hoogleraren, Oud-Hoogleraren, lectoren en assistenten aan de Rijks Universiteit te Utrecht, mijn dank te betuigen voor Uw leiding bij mijn wetenschappelijke vorming.*

*Hooggeleerde Bijlsma, Hooggeachte Promotor, de tijd, welke ik in Uw instituut mocht doorbrengen, zal mij steeds in herinnering blijven, als de prettigste van mijn studie.*

*Voor Uw leiding en Uw vriendschappelijk medeleven, niet alleen in, maar ook buiten mijn werk, ben ik U zeer veel dank verschuldigd.*

*Hooggeleerde de Graaf,*

*Voor de gelegenheid, die U mij gaf, om mij als Uw assistent, in zelfstandig optreden te bekwamen, ben ik U zeer dankbaar.*

*Zeergeleerde Le Heux,*

*Voor Uw groote kennis, en technische vaardigheid bij het opereeren, die U mij steeds met groote vriendelijkheid en bereidwilligheid ten dienste stelde, betuig ik U mijn hartelijke dank.*

*De Heeren Geurtsen, van Haren en Heckman ben ik zeer verplicht voor hun medewerking bij het tot stand komen van dit werk.*

*Mejuffrouw Hoekstra, U betuig ik m'n erkentelijkheid voor Uw hulp bij het persklaar maken van dit proefschrift.*

*Verder dank ik het personeel van het Pharmacologisch laboratorium voor de altijd bereidwillige hulp, die mijn werk zeer verlicht heeft.*

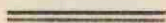
*Aan alle vrienden en collega's, die mij deze tijd tot een onvergetelijke maakten, betuig ik hier mijn oprechte en innige dank.*



## INHOUD.

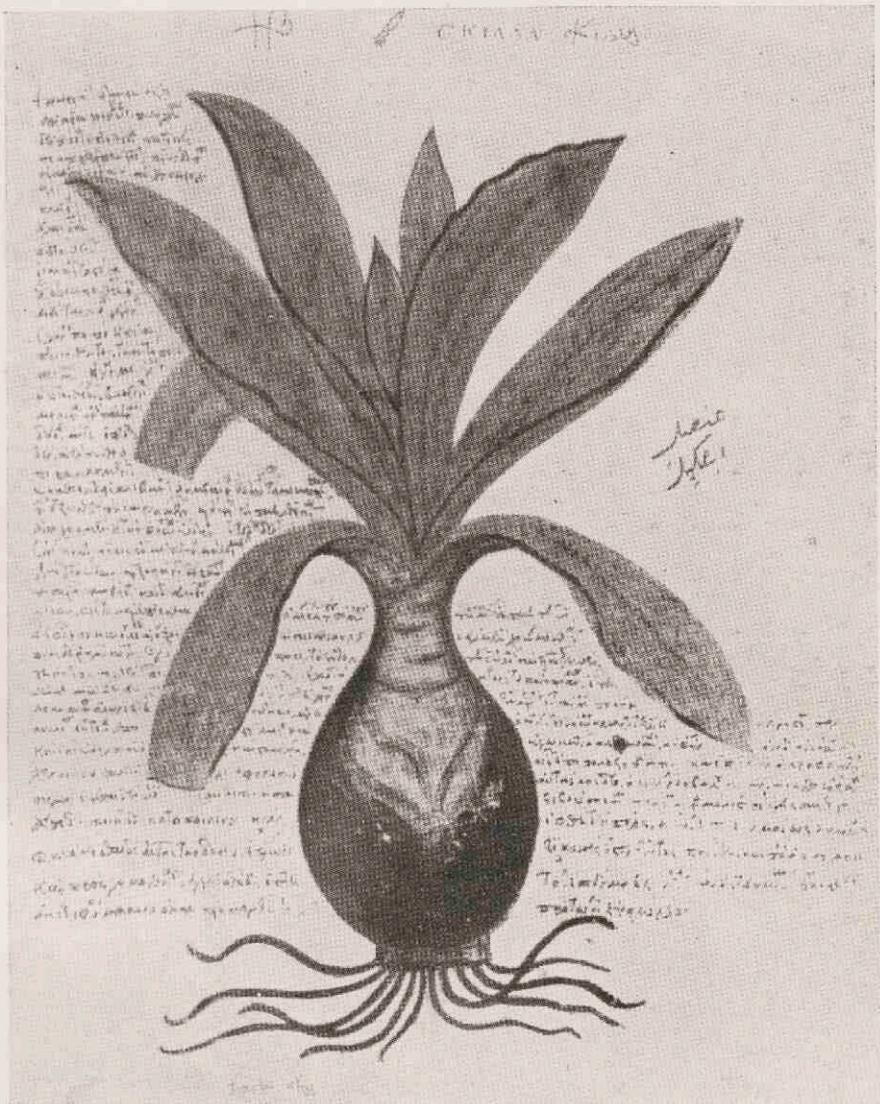


Inleiding . . . . .	blz. 1
Hoofdstuk I . . . . .	„ 11
„ II . . . . .	„ 22
„ III . . . . .	„ 24
„ IV . . . . .	„ 48
„ V . . . . .	„ 59
„ VI . . . . .	„ 63
Samenvatting . . . . .	„ 66
Litteratuurlijst . . . . .	„ 68









De oudste afbeelding van de Scilla Maritima komt voor in een Dioskurides Handschrift uit het begin van de 6e eeuw na Chr.



## INLEIDING.

De zeeajuin (*Scilla maritima* L., *Urginea scilla* Baker) is een tot de familie der Liliaceën behorende plant. Het voorkomen ervan is uitsluitend beperkt tot het Middellandsche zeegebied.

Vermeld dient hier te worden, de zeer bijzondere groeiwijze van de *Scilla*.

De bloei vindt plaats in 't begin van de herfst, en duurt van September tot October. De stengel met bloemen bereikt dikwijls een hoogte van meer dan 2 meter, waarvan het bovenste 3<sup>de</sup> gedeelte de bloemen draagt. De bloemen zijn voor 90 % wit en reukeloos; in Algerië komen zacht rose gekleurde bloemen voor, die een lichte hyacinthengeur verspreiden, hetgeen, naar men zegt, een aanwijzing zou zijn voor de groote werkzaamheid der bol.

De bladvorming vindt plaats als de bloemstengel reeds lang verdord en afgevallen is, n.l. tegen de lente (in het Middellandsche zeegebied van Januari tot Maart). Deze bladvorming is zeer weelderig, zoodat de vlakke, waarin de bol groeit, dan geheel als met een groen tapijt bedekt is. In Mei of Juni gaan de bladeren langzamerhand vergelen en verdorren, waarop ze tenslotte afvallen. De bol droogt dan in de zomer (Juli—Augustus) in, waardoor het reserve voedsel sterk geconcentreerd wordt. Het gunstige moment voor de oogst is hiermede aangebroken (Augustus—September).

Deze eigenaardige groeiwijze der plant is de oorzaak van haar naam bij de Arabieren, die de *Scilla* „gekke plant” noemen, en van de overtuiging der oude Grieken, dat de Scillabol krankzinnigheid genas.

De geschiedenis van de zee-ajuin als medicinale plant is reeds zeer oud. Reeds in de tijd van het

nieuw Egyptisch rijk (Papyrus Ebers  $\pm 1500$ ), maar waarschijnlijk (de papyrus Ebers wijst terug op nog veel oudere recepten b.v. uit de tijd van de grootste Egyptische geneeskundige Imhotep — de Imouthes der Grieken — in 't begin van de 3<sup>de</sup> dynastie  $\pm 3150$  voor Christus' geboorte) al veel eerder werd de Scillabol voorgeschreven tegen waterzucht en hartzwakte.

Hier volgt het recept uit de papyrus Ebers (A. Stoll, Ein Gang durch biochem. Forschungsarbeiten).

Dadel-meel	$\frac{1}{4}$
Zeeajuin	$\frac{1}{32}$
Amamu Plant	$\frac{1}{3}$
Zoet bier	$\frac{1}{3}$ dena
Tehebu-boom	$\frac{1}{2}$

koken, zeeven, en gedurende 4 dagen innemen.

De oudste zeer duidelijke teekening (zie plaat) van de plant, komt voor in een Dioscurides handschrift uit de 6<sup>de</sup> eeuw na Christus, de bol werd hier v.n.l. als middel tegen waterzucht gebruikt.

Hoe hoog b.v. de Grieken de Scilla plant schatten, blijkt wel uit het feit, dat zij er zelfs een tempel aan wijdden. Zij gebruikten de bol tegen waterzucht, als rattenverdelgingsmiddel, als middel tegen reumatiek, en ook werd de bol door zijn hoog suikergehalte gebruikt om er alcoholische dranken uit te bereiden.

De Scilla maritima als zoodanig, is als geneesmiddel nooit geheel vergeten, zelfs nu komen bijna in elke Pharmacopee nog recepten voor, bereid uit deze bol.

Ook als rattenverdelgingsmiddel is zij al zeer oud, en 't spreekt vanzelf, dat zij als zoodanig vooral op de plaats van herkomst n.l. het Middellandsche zeegebied — Algerië — werd toegepast.

In de middeleeuwen werden versche bolfrag-

menten te zamen met vleesch of vet verwerkt tot een zeer actief rattenverdelgingsmiddel.

Ook werd, en wordt nog daar ter plaatse een afkooksel of aftreksel der bol gebruikt als middel tegen parasitaire insecten. Eigenaardig is een gebruik van de bol op de Balearen, waar zieke olijven vijgeboomen werden behandeld met Scillabollen; en wel op de volgende manier: de wortels van de zieke boom worden omringd door 4—6 bollen, die door hun weelderige bladgroei het aantasten der wortels door parasieten blijken te verhinderen. (Waarschijnlijk zal het hooge oxalaatgehalte van de bol hiertoe wel bijdragen).

Nadat de Scilla een tijdlang veel gebruikt was als geneesmiddel (Boerhaave, van Swieten)<sup>17</sup>), werd zij in de 19<sup>de</sup> eeuw op de achtergrond gedrongen door de toepassing van digitalispreparaten.

Dit op de achtergrond geraken van een vroeger zoo hoog geschat geneesmiddel, moet m.i. voornamelijk worden toegeschreven aan de volgende oorzaken:

- 1<sup>o</sup>. De wisselende samenstelling al naar gelang de plaats van herkomst en de tijd van oogsten.
- 2<sup>o</sup>. De vermindering der activiteit door bewaren.
- 3<sup>o</sup>. De onaangename nevenwerkingen (aantasten der slijmvliezen, braken, maagpijnen enz.).
- 4<sup>o</sup>. Verdringing door andere geneesmiddelen.

Doseering was natuurlijk om bovengenoemde redenen zeer moeilijk, zoodat het digitalis-extract, dat constanter van samenstelling is, meer en meer veld won.

De in 't wild groeiende digitalisplant is waarschijnlijk al constanter van samenstelling dan de Scilla; later toen de digitalisplant kweekproduct werd, was dit zèker het geval.

Misschien is ook een van de oorzaken het feit, dat langzamerhand de leiding in de nieuwere genees-

kunde overgenomen werd door West-Europa, waar de digitalisplant inheemsch is.

Ook de mode kan in de geneeskunde een groote rol spelen.

Toch is de Scilla nooit geheel in onbruik geraakt en bleven in de meeste Pharmacopeeën nog scilla-extracten, tincturae, aceta enz. bestaan, vooral in Amerika. In Frankrijk schatten de klinici de waarde van de bol als diureticum hooger dan de digitalis, en combineeren de twee ook wel.

Reeds sedert de aanvang van het tijdperk der moderne chemie, is er getracht uit de Scillabol preparaten te verkrijgen, die doseerbaar en goed houdbaar waren; twee der voornaamste eischen, waaraan een geneesmiddel moet voldoen.

Tot 1921 (Stoll <sup>4</sup>) is dit eigenlijk niet gelukt. Als we de litteratuur over de bestanddeelen der bol van vóór 1922 nagaan, zien we, dat er behalve eenige gunstige uitzonderingen zooals Ewins <sup>5</sup>), Jarmerstaedt <sup>6</sup>), Vogel <sup>7</sup>), Dixon en Haynes <sup>2</sup>), Schlubach <sup>8</sup>) e.e.a., geen onderzoekers zijn geweest, die er in geslaagd zijn, een chemisch, en vooral pharmacologisch goed gedefinieerd preparaat uit de Scilla te bereiden. Wel vinden we daarentegen een groote hoeveelheid zeer verwarrend werkende namen gegeven aan stoffen, die bijna allen onzuiver zijn; en waarvan de meesten in pharmacologisch opzicht dezelfde werking vertoonen.

Tal van kristallijne producten (Bley <sup>9</sup>), Buschmann <sup>10</sup>)), nog meer stroopjes (Merck <sup>11</sup>)) en amorphe stoffen (Vogel <sup>7</sup>), Jarmerstaedt <sup>6</sup>), Kopacsewski <sup>12</sup>) werden uit de bol bereid.

Allerlei werkingen werden aan deze stoffen toegekend, waarvan er ook verschillende in de handel werden gebracht. (Merck <sup>4</sup>)).

Om alle preparaten, die in de loop der tijden (1812 Vogel—1926 Kopacsewski) uit de Scillabool bereid werden uitvoerig te bespreken, zou dit proefschrift te uitgebreid moeten worden, en daarom onoverzichtelijk.

Evenwel wil ik hier in 't kort de voornaamste eruit vermelden en hunne werking toetsen aan de nu bekende feiten.

Het lijstje dat hier nu volgt geeft in de eerste kolom aan, de namen van de stoffen, met de naam van de onderzoeker, die ze isoleerde; in de tweede kolom de werkzaamheid volgens de onderzoeker; terwijl de derde kolom aangeeft de bestanddeelen, die naar onze meening de stof bevatte.

scillatine (Vogel, Bley, Lebordais 15)	hartwerking	rattoxine + scillareen B misschien zuiver R
scillaïne (Jarmerstaedt)	hartwerking	scillareen B (onzuiver)
scillitoxine (Merck)	hartwerking + diurese	ingedampte tinctuur
scillipikrine (Merck)	hartwerking	scillareen + kleurstoffen en suikers
scillamorine (Waleszki)	onbekend	—
scillenine (Waleszki)	onbekend	—
scillidiuretine (Kopacsewski)	diurese	sinistrine + scillareen
xanthoscilinine (Buschmann)	hartwerking	scillareen
scilline (Merck)	diurese	onbekend
sinistrine (Schmiedeberg 13)	geen werking	sinistrine A + B
scilline (Riche, Remont)	geen werking	

Uit dit lijstje zien we, dat bijna geen enkel preparaat kan bogen op zuiverheid. De eenige zuivere preparaten waren het sinistrine van Schlubach, en de gele naalden van Buschmann, welke lasten wij niet hebben kunnen terugvinden.

Bijna zuiver was verder het scillitine van Lebordais en Bley<sup>15</sup>), die aangeven hun stof kristallijn te hebben verkregen.

Jarmerstaedt geeft voor zijn scillaïne de bruto formule  $(C_6H_{10}O_3)_n$ ; ook Kopacsewski geeft



brutoformules, die evenwel sterk aan verandering onderhevig waren.

De groote moeilijkheden die de oudere onderzoekers bij het bereiden hunner preparaten ondervonden, werden grootendeels veroorzaakt door het feit, dat de eenige tot nu toe verkregen zuivere en kristallijne stof n.l. scillareen A, thermolabel en zeer gemakkelijk door fermenten te splitsen is.

Het is dan ook praktisch onmogelijk, om op de oud bekende manier van extraheeren met alcohol of andere oplosmiddelen, het scillareen A kristallijn te verkrijgen, als niet eerst de fermenten onschadelijk gemaakt zijn.

In de 20<sup>ste</sup> eeuw kwam ook van medische zijde weer nieuwe belangstelling. In 1906 wezen Dixon en Haynes op de goede hartwerking van Scilla-preparaten; ze slaagden er o.a. in een standardeeringsmethode te vinden.

Mendel <sup>1)</sup> 1918 kwam weer op de Scilla terug en publiceerde een reeks van therapeutische successen bij gebruik van de gedroogde Scillabol.

Markwalder <sup>3)</sup> (een leerling van Straub) onderzocht in 1920 de werkzaamheid van versche en gedroogde bol en ook van de extracten, tincturae, aceta, oxymelles enz. uit de handel.

Hij vond dat de te weinig gebruikte bol een groote werkzaamheid vertoonde t.o.v. het kikkerhart en in dit opzicht niet achter stond bij digitalis. Het is het onderzoek van Markwalder, dat tenslotte de stoot heeft gegeven aan het nauwkeurig en voorzichtig chemisch onderzoek van de bol. Verder is het aan A. Stoll <sup>4)</sup> gelukt, de op het hart werkende glucosiden in zuiveren vorm te verkrijgen, welk onderzoek eigenlijk de sluitsteen vormt van het chemisch onderzoek naar de actieve stoffen uit de Scilla maritima; later zal blijken dat met het vinden van het scillareen toch nog niet alle kwesties

waren opgelost, en dat er behalve het scillareen stellig nog twee andere pharmacologisch actieve bestanddeelen uit de bol geïsoleerd kunnen worden.

Aangemoedigd door zijn succes met de *Secale cornutum* heeft A. Stoll omstreeks 1920 het *Scilla* probleem ter hand genomen, en dit na eenige jaren, pharmacologisch, voor zoover de hartwerking betreft, volkomen opgelost. Stoll <sup>4)</sup> en medewerkers slaagden erin uit de *Scillabol* in ieder geval het hartmiddel zuiver te bereiden, waardoor natuurlijk een geweldige stap in de goede richting werd gezet.

Om terug te komen op de geschiedenis voor 1922, wijzen we erop, dat zoo goed als alle pogingen in de 19<sup>de</sup> en begin 20<sup>ste</sup> eeuw, om uit de *Scillabol* een doseerbaar en houdbaar preparaat te fabriceren mislukt waren. Vandaar dat men zich moest behelpen met tincturae, aceta, oxymelles, extracten enz., met als gevolg dat een eertijds ook bij ons in Nederland (*Boerhaave* <sup>16)</sup>, van *Swieten* <sup>17)</sup>), zoo hoog geschat geneesmiddel, totaal verdrongen werd.

Door het op groote schaal aanwenden van de *Scillabol* als rattenverdelgingsmiddel, kwam deze weer op de voorgrond, en was het alleen zaak: de verschillende poeders in bewaarbare vorm af te leveren.

Verschillende methoden worden gevolgd om de bol te stabiliseeren; o. a. door drogen der versche bolfragmenten bij 100°, en b. v. door ze bloot te stellen aan damp van kokende alcohol en azijnzuur (stabiliseeren + activeeren).

Met deze laatste methode (*Danzel* <sup>18)</sup>) slaagt men er inderdaad in, een houdbaar en zeer actief poeder te verkrijgen, dat als rattengif zeer goed bruikbaar is.

*Danzel* zelf zegt hierover het volgende:

„La stablactivation met à profit les avantages de la stabilisation sous ses deux formes et ceux de

l'activation acétique particulière à la scille rouge."

La stablactivation de la scille rouge (stabilisation et activation simultanées), consiste en effet dans l'action stabilisante des vapeurs alcooliques, à la température optimun et prolongée de 75° C., superposée simultanément à l'action activante des vapeurs d'éléments acétique et acétylés entraînés mécaniquement sur le chromogène qu'elles séparent de ses combinaisons organo-végétales, dans les conditions nécessaires à la destruction des oxydases et à la libération et à la conservation du pigment rouge".

Dit product werd o.a. ook te Amsterdam bij de bestrijding van ratten gebruikt.

Hierover werd rapport uitgebracht door Dr. L. W. van Esveld <sup>19</sup>).

Toen Stoll e.m. er in geslaagd waren, het scillareen zuiver te bereiden, meenden zij, dat hiermee alle raadselen van de Scillabol opgelost waren, m.a.w., dat alle werkingen van de bol teruggebracht konden worden tot die van het scillareen.

Het is ons evenwel duidelijk geworden, dat deze meening niet juist is.

In de eerste plaats is scillareen zeer weinig giftig voor ratten. Het is een bekend feit, dat ratten weinig gevoelig zijn voor glucosiden uit digitalis, er ook voor hiermee pharmacologisch verwante glucosiden. Verschillende schrijvers merken dan ook op, dat het vrijwel onmogelijk is, om door scillareentoediening een rat te doodden. De roep van de bol als rattengif moet dan ook wel op de aanwezigheid van een of meer andere bestanddeelen berusten. Deze veronderstelling wordt nog versterkt door het feit, dat de roode bol veel giftiger voor ratten is dan de witte; alhoewel het gehalte aan scillareen van beide zeker geen groote verschillen vertoont. Over dit punt zijn dan ook verschillende meeningen uitgesproken. Zoo wordt hier en daar opgemerkt, dat het hooge oxa-

laatgehalte wellicht de giftigheid voor de rat veroorzaakt. Moge deze meening in zekeren zin al juist zijn; namelijk in zooverre het oxaalzuur tot een vergiftiging bij zou kunnen dragen, dit kan weer niet het groote verschil tusschen witte en roode bol verklaren, want beiden bevatten oxalaat. Uit het vervolg van dit werk zal nog blijken, dat bovendien een zeer groot deel van de toxiciteit van de bol wordt verkregen bij het isoleeren van de zuivere rattoxine, welke zuivering natuurlijk met verliezen gepaard gaat, zoodat wij zeker aan het oxalaatgehalte van de bol geen groote beteekenis mogen toekennen bij de analyse van de voor ratten giftige werking. Dan zel <sup>18)</sup> schrijft de giftige werking aan de kleurstof toe. Dit zou een ongedwongen verklaring geven van het verschil tusschen roode en witte bol; wij zullen echter nog zien, dat zijn meening onjuist is.

In de tweede plaats achtten wij het gewenscht de meening van Stoll, als zoude door het scillareen, behalve de werking op het hart, ook de geheele diuretische werking van de bol worden verklaard, aan een nader minutieus onderzoek te onderwerpen. Wel is waar bestaat hier een groote moeilijkheid: De roep van Scillabol als geneesmiddel tegen waterzucht berust voornamelijk of geheel op therapeutische resultaten; verkregen bij patienten die leden aan waterzucht tengevolge van hartaandoeningen. Wordt door een geneesmiddel de hartsfunctie verbeterd, dan kan reeds daardoor ook het oedeem verdwijnen. Geeft men dus aan een dergelijke patient scillareen, dan kan de diuretische werking een gevolg zijn van de verbetering van het hart, geheel zooals dat ook door digitalis kan worden bewerkt. Om de vraag te beantwoorden, of scillareen de geheele diuretische werking van de Scillabol vertegenwoordigt, moet men dus de vraag zoo stellen: is scillareen in de praktijk een sterker diuretisch wer-

kend middel dan digitalis? Het is aan gegronnen twijfel onderhevig, of de klinische rapporten voldoende houvast geven om deze laatste vraag bevestigend te beantwoorden. Ook experimenteel is de vraag omtrent de diuretische werking van scillareen onderzocht. Ik zelf heb bij intacte honden door scillareen geen diuretisch effect teweeg kunnen brengen.

Gremels<sup>23)</sup> heeft bij het hart-long-nier-preparaat een diuretische werking door scillareen kunnen opwekken. Dit was echter ook het geval met digitalis glucosiden. Een verschil tusschen digitalis en scillareen is dus ook op deze wijze niet vast te stellen. Al kan men dan ook niet met zekerheid de mogelijkheid uitsluiten, dat scillareen in de praktijk sterker diuretisch werkt dan digitalis, evenmin kan men nog met zekerheid verklaren, dat scillareen het eenige diuretisch werkende bestanddeel van de Scillabol is. De mogelijkheid moet nog worden opengelaten, dat naast de op het hart werkende glucosiden (d.i. scillareen) nog een of meer specifiek diuretisch werkende stoffen in de bol aanwezig zijn.

We hebben ons dan ook tot taak gesteld te trachten de twee volgende vraagstukken op te lossen:

a) Is er behalve scillareen nog een andere diuretisch werkende stof aanwezig en zoo ja welke is die stof.

b) Aan welke tot nu toe onbekende stof moet de toxiciteit voor ratten toegeschreven worden.

Hoewel wij ons niet in 't bijzonder met het door Stoll<sup>4)</sup> geïsoleerde scillareen hebben bezig gehouden, zou een geschrift over de Scilla niet volledig zijn indien dit allerbelangrijkste bestanddeel daarin niet genoemd zou worden. Daarom zullen we in een afzonderlijk hoofdstuk het scillareen, zij het dan in 't kort, ter sprake brengen.

---

## HOOFDSTUK I.

### Methodiek der pharmacologische proeven.

We hadden ons tot taak gesteld de vraag te beantwoorden, welke stoffen in de Scilla werken op de diurese, en welke stoffen werken toxisch bij ratten.

Wijl dit antwoord slechts kan worden verkregen door middel van dierproeven, willen wij in dit hoofdstuk in 't bijzonder de methodiek der diurese proeven beschrijven, terwijl de proeven op ratten en de chemische methodiek meer in 't kort besproken zullen worden.

Proeven over diurese behooren tot het moeilijkste gebied van de experimenteele pharmacologie. Niet zoo zeer door de ingewikkeldheid van de technieken, als wel door de moeilijkheid om uit de op eenigerlei wijze verkregen resultaten conclusies te trekken, die voor de therapeutische toepassing bij de zieke mensch van belang zijn. Het verschil toch tusschen zieke menschen en gezonde dieren kan soms groot zijn. In het eene geval weegt dit zwaarder dan in het andere. Wanneer men b.v. wil weten of een stof een te trage darmbeweging kan aanzetten, dan is het in de regel voldoende om te weten, dat een normale darm door deze stof geprikkeld wordt; de ervaring heeft geleerd, dat dan eigenlijk steeds de zieke darm in dezelfde richting wordt beïnvloed. Is het gebied waarop men werkt de diurese, dan weegt het verschil tusschen ziek en gezond veel zwaarder. Bij een gezond individu (mensch of dier) bestaat een zeker evenwicht tusschen opgenomen en uitgescheiden hoeveelheden water en zouten, een evenwicht dat weliswaar niet geheel gefixeerd is, doch dat toch binnen betrekkelijk nauwe grenzen wordt gehandhaafd. Vindt even een vermeerderde uitscheiding plaats, dan verzetten zich onmiddellijk de regulee-

rende functies van het lichaam tegen verder verlies, terwijl bij tijdelijke verminderde urine-afscheiding de regulatie omgekeerd werkt. Bij een ziek organisme, dat eenigen tijd lang te weinig water en zout uitscheidt, is blijkbaar deze regeling defect. Dit defect kan op verschillende oorzaken berusten: ziekten van het hart, van de nier, van de lever, van de organen met interne secretie, van het centrale zenuwstelsel, komen hiervoor in aanmerking.

Het kan nu zijn, dat een zeker middel diuretisch werkt bij de eene ziekte, bij een andere niet of nauwelijks. Het zou ook kunnen zijn, dat een middel bij verschillende zieken diuretisch werkt, maar bij gezonden niet. Dit plaatst ons nu voor deze vraag: wij onderzoeken de Scillabol en hieruit verkregen fracties; wanneer wij nu van een fractie geen diuretische werking kunnen aantoonen, is het dan juist om te concludeeren dat dit niet de fractie kan zijn welke bij de zieke mensch voor de klinisch waargenomen diuretische werking aansprakelijk te stellen is? En als eens het onderzoek van alle fracties negatief uitvalt, mogen wij dan zeggen: de klinici hebben zich vergist, Scillabol werkt niet diuretisch? Dit laatste zou zeker een ongeoorloofde conclusie zijn, een middel dat zoo lang de roep van diureticum bij een aantal klinici die het geregeld gebruiken, handhaaft, moet wel aan de er aan toegeschreven eigenschappen voldoen.

De techniek is daarom op de volgende grondslagen opgebouwd: laten wij nagaan, of wij met eenigerlei fractie op eenigerlei wijze een diuretische werking kunnen aantoonen. Is dit eenmaal het geval, dan wordt het waarschijnlijk, dat wij daarmee het diuretische principe van de Scillabol in handen hebben. Om dit met zekerheid aan te toonen, zal het noodig zijn om met deze fractie ook bij zieken met gestoorde diuresis klinische proefnemingen te doen.

Drie technieken hebben wij ten slotte aangewend:

- 1<sup>o</sup>. Bij intacte honden en bij intacte menschen.
- 2<sup>o</sup>. Bij gedecerebreerde katten.
- 3<sup>o</sup>. Bij gedecerebreerde katten met intraveneuzen inloop.

### 1 A. Honden.

Het dier dat vanaf 17.00 vorige dag geen voedsel of water meer gekregen had, werd des morgens tusschen 9.00 en 10.00 uur behandeld met een steriele katheter, zoodanig dat zooveel mogelijk alle urine ontnomen werd (ledigen).

Telkens na ongeveer 1 uur werd de behandeling herhaald, en de opgevangen hoeveelheid urine gemeten.

In deze urine werd iedere keer het NaCl-gehalte en bij eenige proeven ook het suikergehalte bepaald (methode Volhard voor NaCl en Shaffer Hartmann voor de suiker).

Na een periode van 3—4 uur werd de te onderzoeken stof toegediend (per os met maagsonde of door intramusculaire injectie), daarna werd de proef weer 3—4 uur voortgezet en de verkregen resultaten in tabelvorm opgeschreven. Als voorbeeld volgt hier een tabel van een normale proef, dus zonder toediening van eenige stof.

**Tabel I**

tijd = uur van urine afname.

**Hond A 9.1 Kgr.**  
**Normaaltabellen.**

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
10.00	—	—	—	—
11.20	11	0.244	0.336	0.138
12.30	10	0.231	0.328	0.143
2.40	23	0.208	0.368	0.177
3.40	10	0.184	0.305	0.166
4.40	8	0.194	0.258	0.133



**Hond B 7 Kgr.****Normaal.**

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.30	—	—	—	—
10.30	8	0.300	0.400	0.133
11.30	7	0.310	0.360	0.166
12.30	6	0.348	0.348	0.100
2.30	10	0.375	0.312	0.083
3.30	5	0.371	0.308	0.083
4.30	4.5	0.364	0.266	0.075
5.30	3	0.340	0.170	0.050

Uit deze en soortgelijke andere proeven blijkt, dat gedurende een honger- en dorstdag de hoeveelheid urine per minuut weinig verandert, of wel geleidelijk afneemt, terwijl hetzelfde het geval is met de uitscheiding van keukenzout.

**1 B. Menschen.**

Proefpersonen, die een constant ontbijt hadden genoten bestaande uit 2 sneedjes brood met boter + 1 kop thee, ledigden hun blaas om  $\pm$  9 uur, en vervolgens ongeveer om het halve uur. Na een normaalperiode van 2—3 uur, werd de te onderzoeken stof per os genomen, waarna de proef werd voortgezet gedurende 2—3 uur.

Ook in deze urine werd het NaCl-gehalte bepaald, en de uitkomsten als boven neergeschreven. Methodiek 1 B werd alleen toegepast voor sinistrine, hyacinthine en saccharose als vergelijkings-suiker.

Hier volgt een normaaltabel van een proef bij menschen, en een tabel voor saccharose.

**Contrôleproef bij menschen.****Tabel II**

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.20	geledigd	—	—	—
9.50	16	0.98	5.22	0.533
10.20	17	0.90	5.10	0.566

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
10.50	14	0.96	4.50	0.466
11.30	19	0.91	4.32	0.473
12.00	13	0.99	4.29	0.433
12.40	18	0.92	4.14	0.450
1.00	8	1.03	4.12	0.400

Evenals bij de proeven met honden, zien we bij menschen een zeer geleidelijke afname van de hoeveelheid urine per minuut, gepaard gaande met een afname van de hoeveelheid keukenzout per minuut.

Tabel III

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
10.05	geledigd	—	—	—
10.25	15.5	1.21	9.38	0.78
10.50	18	1.23	8.85	0.72
11.12	17	1.28	9.45	0.73
11.15	10 gr. suiker in 10 cc H <sub>2</sub> O			
11.47	24	1.35	9.28	0.68
12.15	18	1.37	8.70	0.65
12.45	21	1.38	9.35	0.68
13.05	17	1.31	9.74	0.74
13.25	9.5	1.29	7.25	0.56

We zien dat bij inneming van een dosis saccharose p.o. de hoeveelheid urine en de hoeveelheid NaCl per minuut wel iets, maar toch niet noemenswaard stijgen.

### 2<sup>o</sup>. Gedecerebreerde katten.

### 3<sup>o</sup>. Idem met intraveneuzen inloop.

Een kat wordt gedecerebreerd (vagi intact gelaten). Hierna wordt een snede gemaakt in de linea alba en de blaas vrij geprepareerd. Men pakt de blaas links en rechts van de mediaanlijn met een pincet vast en knipt een gat in de wand. In de ont-

stane opening wordt een blaascanule gebracht en de blaaswand door middel van een tevoren gereed gelegde ligatuur stevig vastgebonden. In de canule bevindt zich hiertoe een gleuf. Natuurlijk moet ervoor gewaakt worden dat de beide ureteren vrij blijven. De canule is door middel van een gummi-slangetje verbonden met een uitgetrokken glasbuisje, dat uitmondt boven een druppelteller. Door het vallen van een druppel op een spiraalveertje, dat verbonden is met een Mareysche tambour, wordt deze een weinig ingedrukt; door deze drukverandering wordt weer een andere tambour, die door middel van een gummislang in verbinding staat met de eerste, in beweging gebracht. De trillingen van deze laatste worden door een schrijfstift aangeteekend op een beroet papier, gespannen op een kymographion.

Bij 3<sup>o</sup> was bovendien in de vena jugularis een canule ingebracht, om het dier constant te kunnen doorstroomen. Dit werd verkregen door een klein electro-motortje, dat telkens een constante hoeveelheid vloeistof per minuut in de vena drukte. (Physisch Adviesbureau Dr. Bleeker).

De bedoeling van deze opstelling (ontleend aan E. E. Nelson, J. of Pharmacol. 52. 185) was, een groote hoeveelheid vloeistof voor uitscheiding beschikbaar te stellen, in de hoop daardoor duidelijker diuretische werking te verkrijgen. Deze hoop is niet verwezenlijkt.

Alle uit de *Scilla Maritima* bereide fracties werden door middel van methoden 1 A, 2 en 3 onderzocht, terwijl methode 1 B, zooals reeds gezegd, alleen bij sinistrine toegepast werd.

Methode 1 A, 2 en 3 werden eerst getoetst aan bekende diuretica als coffeïne en Natriumacetaat. Hier volgen eenige tabellen en graphieken van proeven met bekende diuretica. Zooals uit tabel IV

en curve IV, blz. 32, te zien is, kan men met deze methode zeer goed een diurese beïnvloedende werking vaststellen.

Tabel IV

Hond A 12½ Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.00	—	—	—	—
10.00	14	0.650	1.50	0.23
11.00	12	0.620	1.24	0.20
12.00	10	0.640	1.09	0.17
1.50	2 gr. in 5 cc NaCl 0.9 % intramusculair.			
2.00	26	0.600	1.32	0.22
3.00	17	0.540	1.51	0.28
4.00	13	0.630	1.39	0.22
1.50	2 gr. natrium acetaat intramusculair.			

Alleen bij methode 3 duurde het vrij lang (soms 3 uur) voordat een zekere constantheid bereikt was; hartzwakte was waar te nemen alvorens tot injectie kon worden overgegaan. Daarom, en ook al om de reeds genoemde reden, hebben we tenslotte methode 3 geheel laten vervallen en alleen gewerkt met 1 A, 1 B en 2. Van groot belang bij methode 2 en 3 was de rustige ligging van het proefdier. Onjuiste wijze van decerebreeren geeft aanleiding tot allerlei bewegingen; tijdens deze bewegingen perst het dier dikwijls een straaltje urine uit z'n blaas, zoodat dan van druppels tellen geen sprake is. In de hersenholte kunnen dan weer bloedingen optreden, wat weer tot nieuwe storingen aanleiding kan geven. Tijdens de proef werd het dier ook zoo min mogelijk aangeraakt en werd er tevens voor gezorgd dat de lichaamswarmte op peil bleef.

De inloop-vloeistoffen (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-oplossing, saccharose en glucose-oplossing) werden door een lange spiraal geleid die in een thermostaat op 38° gehouden werd. Om te zorgen dat het proefdier niet te veel vocht verliest, werd de ademhalingslucht

door water geleid. De dieren hadden steeds eigen ademhaling.

De proeven met de ratten zullen nu in 't kort besproken worden.

De methode die wij hierbij volgden, week in zoverre af van die van Winton<sup>20</sup>), die steeds met minstens 40 ratten werkte voor één bepaling, dat wij met maximaal 5 ratten werkten, meestal met 3 dieren voor één bepaling.

Ook maakten wij geen gebruik van de ingewikkelde formule van Winton. Onze methode bevat natuurlijk vele fouten, evenwel had zij het voordeel van sneller werken en bovendien onderzocht Winton  $\pm 16$  poeders en extracten terwijl wij minstens 6 maal zooveel fracties moesten onderzoeken, wat bij gebruik van de formule Winton  $\pm 2000$  ratten zou hebben gekost. We zullen dan onze D.D. ook niet anders opgeven, dan voorzien van het  $\pm$  teeken.

Bij onze methode rekenden wij b.v. als volgt:

Stel 3 albino ratten (gewicht 200—300 gr.) die ieder 200 mgr./Kg. preparaat p.o. kregen, na 24 uur vasten;

hiervan 2 = 1 = †. ( = niet gestorven, † = dood in 24—60 uur).

3 volgende ratten kregen ieder 300 mg./Kg.

hiervan 2 = † 1 = .

dan namen we 250 mg./Kg. als D.D. aan.

De dood volgde bij verschillende dieren eerst na  $\pm 60$  uur.

Dieren die ziek werden, maar herstelden, rekenden wij = .

Toediening geschiedde door menging met het voedsel, nadat de dieren 24 uur van te voren gevast hadden.

Wijfjes ratten zijn gevoeliger dan mannetjes, waarmee wij alleen bij de slotproeven rekening hielden.

## Methodiek van de onderzoeken op het kikkerhart.

### Methode van Straub.

Van een kikker (*rana esculenta*) wordt het centrale zenuwstelsel verwoest.

Daarna wordt de borstkas geopend en het hart vrij gelegd; dan worden de beide takken van de aorta afgebonden; één daarvan, de rechter, wordt centraal van de afgebonden plaats ingeknipt en in de ontstane opening de Straub-canule gebracht.

De canule wordt zoover doorgevoerd, dat zij met de punt tot in den ventrikel van het hart komt. Als dit gelukt is, wordt de canule door middel van een te voren onder den aorta gelegden draad, vastgebonden. Men heft de canule nu een weinig op, zoodat het hart wat naar voren komt en brengt een ligatuur aan, die gelijktijdig alle vaten die naar het hart gaan, afbindt. Onder de ligatuur worden de vaten dan doorgeknipt, zoodat het hart vrij aan de canule hangt. Aan de punt van het hart wordt een *serre-fine* bevestigd, die naar een hefboom gaat, op deze wijze kunnen de contracties van het hart opgeteekend worden.

De canule die wij gebruikten had een inhoud van 2 cm<sup>3</sup>. Ze werd gevuld met kikkerringe-oplossing, die nu en dan ververscht werd. Na een uur, als het hart constante contracties maakte, werd de Ringer-vloeistof vervangen door de te onderzoeken oplossing, waarvan verschillende verdunningen bereid waren.

Over de chemische methodiek zullen wij kort zijn. Gegeven zal worden een schema van bewerking, waaruit kan blijken welke fracties onderzocht werden. De niet werkzame bestanddeelen zullen onbesproken blijven, terwijl aan 't scillareen van A. Stoll<sup>4)</sup> e.m. een afzonderlijk woord gewijd zal worden.

# Schema van scillareen bereiding.

800 gr. versche bol + 650 gr.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

wrijven en persen

I perssap  
filtreren

Ia  
filtraat

uitschudden met  
azijnester  
ester toevoegen  
aan IIA

Ib  
rest  
slijm  
uittrekken met  
azijnester  
ester toevoegen  
aan IIA

II rest  
uitschudden met azijnester

IIA

azijnester oplossing  
indampen en opnemen  
in abs. alkohol

IIIB

rest uittrekken met abs alkohol

IIA<sub>1</sub>  
rest te  
vervaarloozen

IIA<sub>2</sub>  
oplossing indampen  
uittrekken aether

IIIB<sub>2</sub> rest

IIIB<sub>2</sub> oplossing  
droogdampen  
opnemen in H<sub>2</sub>O

Ial  
rest

uittrekken aether

Ia<sub>4</sub>  
nihil

Ia<sub>2</sub>  
waterige zoutoplossing  
waterdamp destillatie

IIA<sub>2a</sub>  
rest

Scilla tannoiden

IIA<sub>2b</sub> oplossing  
indampen  
vetten

oplossing  
in H<sub>2</sub>O

A<sub>1</sub>

A<sub>2</sub>

nihil

rest Ia<sub>3</sub>  
met Ba (OH)<sub>2</sub> behandelen  
filtreren, filtraat  
droogdampen en opnemen  
in CH<sub>3</sub>OH

CH<sub>3</sub>OH oplossing  
droogdampen  
opnemen in H<sub>2</sub>O  
CO<sub>2</sub> doorleiden

rest  
opnemen in H<sub>2</sub>O

C<sub>1</sub>

C<sub>2</sub>

II. 780 gr. versche bol in 4.5 L. aceton (in 3 porties)  
aceton-water oplossing.

indampen (vacuum)

I rest = 20 gr. acetonpoeder  
extractie met azijnester

IA esteroplossing

rest IB  
oplossen in H<sub>2</sub>O  
= tinctuur T<sub>2</sub>

III. 670 gr. versche bol + 2.5 L. aceton (24 u.).

filtreren en persen

filtraat I rest  
aceton afdampen  
rest met Pb (ac)  
behandelen en  
filtreren

IA  
filtraat  
behandelen met  
Pb (OH) ac  
affiltreren

IB  
neerslag  
uittrekken met alcohol  
affiltreren

IA<sub>1</sub>  
filtraat  
ontloeden  
indampen  
neerslaan met  
alcohol

IA<sub>2</sub>  
neerslag  
uittrekken met  
alcohol  
filtreer

IB  
filtraat  
**indampen**

IB<sub>2</sub>  
neerslag  
oplossen in azijnzuur  
ontloeden  
filtreren

sinistrine IA<sub>2a</sub>  
filtraat  
**indampen** IA<sub>2b</sub>  
neerslag  
opslibben in H<sub>2</sub>O  
ontloeden

IB<sub>2</sub> filtraat  
**indampen**

IA<sub>2b2</sub>  
filtraat  
**indampen**

Alle fracties werden onderzocht op hun werkzaamheid op het kikkerhart, op hun toxiciteit voor ratten, en op hun diuretische werking.

De elementair analyses werden verricht door Dr. Ing. H. Schoeller, Berlijn Schmargendorff.



## HOOFDSTUK II.

### Het scillareen.

A. Stoll <sup>4)</sup> e.m., Kreis, Sutter,  
Hoffmann e.a.

Het is aan A. Stoll e.m. te danken, dat de zeeajuin weer een eervolle plaats inneemt onder de medicinale planten. Zonder hem, zou de bol thans alleen nog gebruikt worden als rattengif. De gedachte om inplaats van gedroogde bol, uit te gaan van **versche** is niet **nieuw**, maar de reden waarom oudere onderzoekers uit de versche bol toch geen zuivere glucosiden konden bereiden, ligt in het feit, dat de Scillabol een ferment bevat, dat het zeer werkzame glucoside, zeer snel splitst. Stoll heeft dit ingezien, en ervoor gezorgd, dat de fermenten buiten werking gesteld werden, b.v. door uitzouten met  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Bovendien vond hij in aethylacetaat een prachtig oplosmiddel voor scillareen.

De concentratie van het scillareen in de verschillende fracties, is te volgen met twee methoden. I. de werking op het kikkerhart ( $\frac{1}{40}$  mgr. zuiver scillareen doodt een kikker van 30 gr.) en 2° de z.g. **Liebermansche cholesterine reactie** met  $\text{H}_2\text{SO}_4$  en azijnzuuranhydride. Hiermede geeft scillareen A een roodkleuring, overgaande in blauw, en scillareen B een directe blauwkleuring.

Door Stoll werd toen aangegeven de volgende methode voor scillareen bereiding uit Scilla Maritima.

2 Kgr. versche zeeajuin worden in stukken gesneden en met 1.6 Kgr.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  gestampt. De verkregen brei uitpersen en de rest weer stampen.

De fijne rest wordt nu met 6 L. azijnester 12 uur bij kamertemperatuur geroerd, waarna de oplossing door talk gefiltreerd wordt en in vacuum bij  $25^{\circ}$  ingedampt. De droogrest wordt nu met aether uitgetrokken. Opbrengst 1—10 gr. (scilla tannoides).

Door behandeling met  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  verkrijgt men het scillareen A + B mengsel zuiver. Stoll scheidt dan volgens bepaalde methoden A en B en komt tenslotte tot zuiver gekristalleerd scillareen A, waarvan hij nu volgens latere publicaties, de structuur tracht op te helderen. Het is hier niet de plaats op de chemische eigenschappen van scillareen dieper in te gaan. We verwijzen hiervoor naar de publicaties van Stoll en medewerkers. Volgens de laatste publicatie van Stoll (Helv. Chim. acta 18, 1257) is de bruto-formule  $\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{O}_{13}$ , en bezit het aglukonsterine structuur.

Onze scillareen preparaten zijn alle volgens de methode van Stoll verkregen, terwijl we tevens gebruik maakten van scillareen „Sandoz” en van gekristalliseerd scillareen A „Sandoz”.

Het is ons evenals de ontelbare andere onderzoekers als Rothlin <sup>24</sup>), Oliaro <sup>25</sup>), de Premankur <sup>26</sup>), Diaz <sup>27</sup>), Graf <sup>28</sup>), Dubinskaja <sup>29</sup>) enz. duidelijk gebleken, dat scillareen aanzien moet worden als het specifiek op het hart werkende bestanddeel der Scillabol.

We vonden voor de grensdosis, die een geïsoleerd hart in  $\pm 50'$  tot stilstand bracht, de conc.  $5 \times 10^{-6}$  terwijl de conc.  $1 \times 10^{-6}$  nog therapeutisch werkt. Onze eigen preparaten stemden hierin volkomen overeen met die van „Sandoz”.

### HOOFDSTUK III.

Zooals in het voorgaande is uiteengezet, was een van de belangrijkste gedeelten van dit onderzoek, het opsporen van een eventueel specifiek diuretisch bestanddeel van de Scillabol.

„Om met Scillabol extracten toename van diurese te verkrijgen”, zegt Withering <sup>20</sup>), „moet de dosis zoo groot genomen worden, dat de patienten er misselijk van worden”.

Aangezien uit klinische en uit pharmacologische gegevens bekend is, dat hartmiddelen (digitalis, strophanthine, enz.) in groote hoeveelheden eerder een remming van de diurese veroorzaken, wat in mijn eigen proeven ook voor scillareen bleek op te gaan (zie tabel IV<sup>a</sup>), kan men uit dit gezegde van Withering reeds opmaken, dat de werkzame dosis van het diuretische bestanddeel in een vrij groote hoeveelheid bol aanwezig moet zijn. Dient men aan een gezonde hond nu een dergelijke groote dosis bol toe, dan zal men dus naast de diuretische stof ook vrij veel giftige stoffen (zeker scillareen en rattoxine) toevoeren. De giftigheid van de bol belet ons dan al spoedig om met de dosis omhoog te gaan. Toch heb ik eerst geprobeerd, om met een zoo volledig mogelijk extract uit de bol een diuretische werking bij honden en katten te voorschijn te roepen.

Wij hebben de bol als zoodanig niet aan proefdieren ingegeven, maar ons bepaald tot het geven van extracten, tincturae en aceta.

We zijn begonnen met de tinctuur te onderzoeken, omdat deze wel de meeste stoffen zal bevatten en ook 't gemakkelijkste te bereiden is. Voor de bereiding werd steeds gevolgd het recept der Ameri-

kaansche pharmacopee, omdat de Amerikanen nog de meeste recepten met Scilla M. gebruiken.

bolpoeder (gedroogd) 100 gr.

alkohol (70 %) tot 1000 C.C.

Daar deze tinctuur voor proefdieren te sterk is, gebruikten we verdunningen hiervan 1 : 10.

De proefdieren waren honden en katten, de methoden 1 A en 3.

Tabel IV a

Hond C 8 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.30	geledigd	—	—	—
10.30	16½	0.654	1.75	0.27
11.30	8	0.698	0.91	0.13
12.30	8	0.621	0.81	0.13
14.00	injectie van 1 cc. onverdunde tinctuur (hond is na 30 min. ziek)			
14.30	14	0.596	0.72	0.12
15.30	5	0.668	0.60	0.09
16.30	2½	0.672	0.27	0.04

Uit deze tabel is te zien dat de geconcentreerde tinctuur diurese-remmend werkt. (1 cc. bevatte ± 2 mgr. scillareen en 0.5 mgr. rattoxine).

Tabel IV b

Hond C 9 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.30	geledigd	—	—	—
10.30	15	0.55	0.138	0.25
11.30	10	0.59	0.095	0.167
12.30	9	0.61	0.091	0.15
1.30	8	0.62	0.081	0.133
3.20	4 cm <sup>3</sup> t 1 : 100 intramusculair			injectie
3.30	16	0.60	0.079	0.133
4.30	10	0.54	0.090	0.167
5.30	7	0.58	0.065	0.111
3.20 injectie van 4 cc t, 1 : 100 intramusculair.				

Eenige werking is te bespeuren, vooral in vergelijking met een normaaltabel (zie I) en IV<sup>c</sup>.

Tabel IV c

Hond A 12 Kgr.  
Normaaltabel.

Tijd	hoeveelheid urine geledigd	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.00	—	—	—	—
10.00	19	0.63	0.202	0.32
11.00	18	0.62	0.184	0.30
12.00	19	0.59	0.131	0.22
2.00	22	0.54	0.097	0.18
3.00	8	0.52	0.073	0.14
4.00	6	0.52	0.052	0.10
5.00	4	0.52	0.036	0.07

We zien bij de normaaltabellen een geregelde afname van de hoeveelheid NaCl en urine per min.

Tabel V

Hond B 7.2 Kgr.

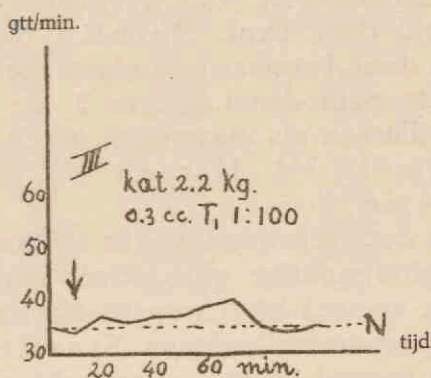
Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.00	14	0.74	0.178	0.24
10.00	13	0.70	0.154	0.22
11.00	12	0.69	0.131	0.19
11.05	5 cm <sup>3</sup> t 1 : 100 intramusculair.			
12.00	13	0.68	0.134	0.20
3.00	11	0.64	0.115	0.18
4.00	5.5	0.62	0.056	0.09
11.05	injectie van 5 cc t, 1 : 100 intramusculair.			

Ook hier is eenige, hoewel zeer weinig werking te bespeuren. Hoogere doses konden wij niet geven, daar sommige honden bij injectie van 4—10 cc. t, 1 : 10 reeds vergiftigings-verschijnselen vertoonden.

Bij de doseering werd rekening gehouden met het scillareengehalte van de tinctuur, in verband met de groote giftigheid hiervan voor honden (letale dosis 0.160 mgr./Kg.).

De tinctuur: 1 : 100 bevatte aan droge stof 7 mgr./cc. Hiervan was  $\pm$  0.2 mgr. summasil. en 0.1 mgr. rattoxine. Honden kregen dus  $\pm$  0.8 mgr.

summascil. en  $\pm 0.4$  mgr. rattoxine,  $\pm 30$  mgr. andere stoffen (vetten en kleurstoffen v.n.l.).



Bij de kat (methode 3) zien we, zooals uit de graphiek III blijkt, een zeer geringe werking, waaruit slecht conclusies getrokken kunnen worden.

De doses, die een kat intraveneus verdraagt, zijn zoo gering, dat ons hier al zeer spoedig een halt werd toegeroepen.

Samenvattende kunnen we zeggen, dat de werking van de tinctuur op honden en katten volgens onze methodiek een zeer geringe is.

Waar nu de galenische extracten een zoo geringe werking bleken te bezitten, ben ik overgegaan tot het onderzoeken van afzonderlijke bestanddeelen, of van fracties der extracten, in de hoop minder giftige fracties te vinden, die dus in grootere hoeveelheden konden worden gegeven, en hierin het diuretische bestanddeel aan te zullen treffen. Dit zou natuurlijk alleen gelukken, wanneer niet de toxische stoffen zelf voor de diuretische werking aansprakelijk te stellen zijn, dat zijn de glucosiden met sterke hartwerking (summascil, scillareen) of het rattengif (rattoxine).

Daar scillareen A kristallijn te verkrijgen is, en ook, dank zij Stoll <sup>4</sup>), Kreis, Suter e.a., scillareen B niet zoo buitengewoon lastig te bereiden is,

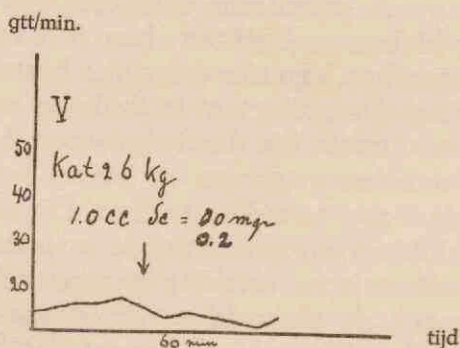
zijn we begonnen met het onderzoek van scillareen. Gebruikt werden „Scillareen Sandoz” (A + B), kristallijn scillareen A (ons welwillend ter beschikking gesteld door Prof. Rothlin, waarvoor wij hier onzen dank betuigen) en eigen preparaten.

Gebruikte methoden 1 A, 2 en 3.

Over scillareen als diureticum is o.a. geschreven door Gremels <sup>23</sup>), Hirsch <sup>32</sup>), Costapagniotis <sup>33</sup>) e.a.

Volgens deze schrijvers werkt scillareen, evenals andere digitalisachtige glucosiden, versnellend op de diurese, zowel bij 't intacte dier, als bij hart-long-nier preparaten volgens Starling <sup>22</sup>). De werking is zowel renaal (vaatwerking) als extrarenaal.

Uit ons onderzoek bleek evenwel, dat scillareen niet of maar zeer weinig versnellende werking vertoont op de diurese, zowel volgens methode 1, 2 als 3, zelfs vonden wij vrij dikwijls een remming (graphiek V) inplaats van een versnelling. Hier volgen eenige tabellen n.l. VI, VII en graphieken IV, V van proeven met scillareen A en summascil op de boven beschreven methoden.



Tabel VI

Hond A 12½ Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.00	geledigd	—	—	—
10.00	24	0.734	2.93	0.40
11.00	15	0.712	1.78	0.25
12.00	11.5	0.714	1.35	0.19
1.50	injectie.			
2.00	13.2	0.725	0.79	0.11
3.00	7.2	0.718	0.86	0.12
4.00	7.2	0.697	0.84	0.12
5.00	6	0.702	0.70	0.10
1.50	injectie van 1½ cc = 0.06 mg./Kgr. scillareen A + B intramusculair			

Tabel VII

Hond C 8 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.00	geledigd	—	—	—
10.00	16	0.542	1.40	0.26
11.00	8	0.484	0.63	0.13
12.00	8.5	0.496	0.70	0.14
1.50	injectie van 0.7 mgr. scillareen.			
2.00	17	0.504	0.65	0.13
3.00	8	0.502	0.65	0.13
4.00	15	0.464	0.78	0.17
5.00	5	0.483	0.44	0.09
1.50	injectie van 1½ cc = 0.09 mgr./Kgr. intramusculair			

Het blijkt uit onze proeven dat, tenminste met onze methodiek, geen of weinig versnelling van diurese met scillareen te verkrijgen is. Zooals op blz. 10 werd gezegd, sluit dit niet uit, dat bij hartlijders scillareen wel degelijk diuretisch kan werken, even goed als digitalis glucosiden, strophanthine enz.

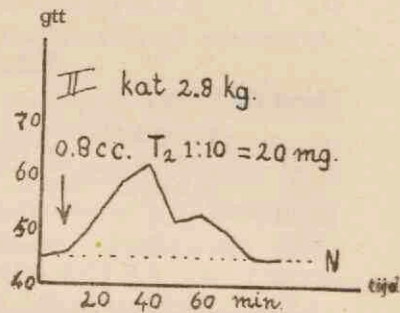
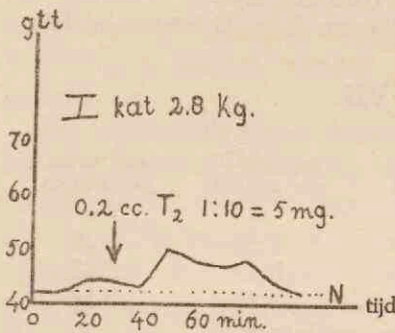
De werking van het rattoxine op de diurese, wordt in het hoofdstuk over deze rattendoodende stof besproken.

Daarna hebben wij de proeven voortgezet, eerst



met een extract uit de bol zonder scillareen, door n.l. het droge bolpoeder 14 à 15 maal te extraheeren met aethylacetaat, gelukte het, de rest zoo goed als scillareenvrij te verkrijgen. De resten werden steeds getest op een kikkerhart. Uit het scillareenvrije bolpoeder bereidden we met 30 % alcohol een tinctuur ( $t_2$ ) en van deze tinctuur werd weer met genoemde methodes de diuretische werking bepaald.

Hier volgen de tabellen en graphieken (I en II).  
Tabellen VIII, IX en X.



Tabel VIII

Hond B 8 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.00	—	—	—	—
10.00	26.5	0.656	2.78	0.44
11.00	21.5	0.654	2.45	0.36
12.00	19.0	0.644	2.06	0.32
2.00	25.0	0.654	1.37	0.21
2.10	injectie 5 cc $t_2$ 1 : 10			
3.00	13.2	0.662	1.46	0.22
4.00	14.4	0.682	1.63	0.24
5.00	± 7	0.641	0.71	0.11
6.00	5.5	0.655	0.60	0.09
2.10	injectie 5 cc $t_2$ 1 : 10 intramusculair.			

Tabel IX

Hond 8 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.30	—	—	—	—
10.30	17.5	0.684	1.95	0.29
11.30	16.2	0.678	1.83	0.27
12.30	14.0	0.683	1.57	0.23
2.30	12.0	0.675	1.33	0.20
3.20	injectie 5 cc t <sub>2</sub> 1 : 1.			
3.30	28.0	0.688	1.58	0.23
4.30	15.4	0.691	1.80	0.26
5.30	12.0	0.673	1.46	0.20
6.30	9.0	0.652	0.98	0.15
3.20	injectie 5 cc t <sub>2</sub> intramusculair.			

Tabel X

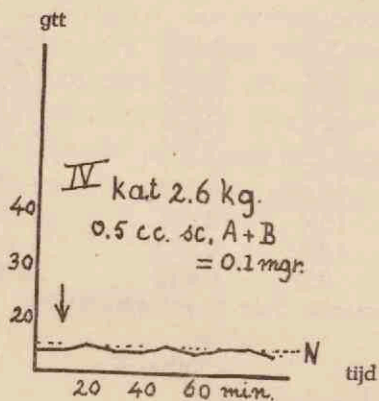
Hond B 8 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.00	—	—	—	—
10.00	14.4	0.407	0.975	0.24
11.00	15	0.382	0.961	0.25
12.00	15	0.350	0.873	0.25
2.00	22	0.350	0.700	0.20
2.10	injectie 8 cc t <sub>2</sub> 1 : 10.			
3.00	14	0.375	0.820	0.20
4.00	12	0.382	0.764	0.20
5.00	12	0.340	0.680	0.20
2.10	injectie 8 cc t <sub>2</sub> 1 : 10 intramusculair.			

Hieruit zien we, dat t<sub>2</sub> niet sterker werkt, ja eerder zwakker dan t<sub>1</sub>. Evenwel konden we de t<sub>2</sub> dosis sterk vergrooten, zonder nadeelige gevolgen voor het dier. Zooals uit de tabellen blijkt, wordt de werking nu veel sterker, zoodat we kunnen zeggen dat t<sub>2</sub> in sterke concentratie diuretisch werkt.

Door het extraheeren met aethylacetaat waren uit de bol verdwenen: Scillareen A en B, een gedeelte van het rattengif en de vetten. De overblijvende stoffen waren dus kleurstoffen, suikers en eventueel andere bestanddeelen.

De kleurstof werd volgens later te beschrijven methoden geïsoleerd, gezuiverd, en onderzocht op diuretische werking.



Tabel XI

Hond 9 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.30	geledigd	—	—	—
10.30	10 cc	0.600	1.000	0.17
11.30	8 cc	0.610	0.810	0.13
12.30	7 cc	0.600	0.700	0.11
12.30	10 mgr/Kgr. kleurstof in 4 cc ringer-alkohol intramusculair.			
2.00	10 cc	0.612	0.680	0.11
3.00	6 cc	0.630	0.630	0.10
4.00	5 cc	0.625	0.510	0.08
5.00	3 cc	0.646	0.323	0.05

De kleurstof heeft blijkbaar geen invloed op de diurese, zoodat er nu alleen overblijft de suiker en onbekende, wellicht sporen van bekende bijmengselen.

De volgende stap is daarom geweest: de isolatie van de suiker uit de Scillabol.

In 1879 isoleerde Schmiedeberg <sup>8)</sup> voor het eerst een insulineachtige stof uit de Scillabol, die hij sinistrine noemde.

Schlubach en Flohrsheim <sup>9)</sup> hebben later de suiker gedefinieerd als een uit 2 suikers bestaand polysaccharide.

De eerste noemde hij Sinistrine A en de tweede Sinistrine B; deze suikers zijn resp. di en tetra anhydro fructosanen.

$$\alpha_{\frac{D}{20}} A = -25,3^\circ \text{ en } \alpha_{\frac{D}{20}} B = -30,6^\circ.$$

Van sinistrine B hebben we o.m. de volgende eigenschappen vastgesteld: het is een wit, zeer licht, hygroscopisch poeder, oplosbaarheid in water  $\pm 100$  gr. in 100 cc.; oplosbaarheid in abs. alkohol = 0, in alkohol van 80 % weinig, onoplosbaar in aceton, aether enz.

Niet te vergisten, noch met bakkersgist, noch met cultures van *Bact. coli* (mondelling mededeeling van Dr. Schlemper), noch met pancreassap.

Hydrolyseerbaar met 1 % HCl op kokend waterbad (na  $\pm 1$  uur volledig).

Uit geconcentreerd waterige oplossing slaat  $Sr(OH)_2$  de suiker neer; deze eigenschap werd door Rosenthaler <sup>35)</sup> gebruikt voor het aantoonen van sinistrine.

Het percentage sinistrine in de bollen hangt af van het jaargetijde. Het is naar onze meening het hoogste vlak na de oogst, en het laagste in Januari en Februari. Hoe de afbraak van sinistrine in de bol verloopt is nog niet bekend, maar het is zeer goed mogelijk dat dit over tusschenproducten gaat, die aanleiding kunnen geven tot verschil in opvatting over de suiker zelf. Het is daarom aan te raden, steeds vlak na de oogst de bol te analyseeren. Colin en Chaudin <sup>36)</sup> hebben beweerd, dat al naar het jaargetijde, de samenstelling der suiker wisselde en dat er in het voorjaar maar één suiker voorkwam, die 6 fructose + 1 glucose mol. bevatte.

Hoe dit ook zij, de sinistrine uit onze bollen verkregen, is wel degelijk een uit 2 soorten suiker bestaande stof n.l. sinistrine A  $\alpha_{\frac{D}{20}} = \pm -25$  en sinistrine B  $\alpha_{\frac{D}{20}} = \pm -33^\circ$ .

Sinistrine reduceert niet en wordt bij hydrolyse met 1 % HCl volledig gesplitst in fructose.

De methode van bereiding volgens Schlubach<sup>9)</sup> was als volgt.

3 Kgr. versche bollen worden geschild, tot een brij vermalen en dan sterk uitgeperst.

De rest wordt 3 maal met tezamen 4 L. water koud uitgetrokken en telkens uitgeperst. De slijmerige perssappen worden zoolang met loodazijn behandeld, tot er geen neerslag meer ontstaat. Hiervoor is noodig  $\pm 400$  cc. van de in den handel verkrijgbare loodazijnoplossing.

Er wordt afgezogen, het filtraat ontlood met  $H_2S$  en ingedampt in vacuum tot  $\pm \frac{1}{4}$  van het oorspronkelijk volume. Hierna wordt door de capillair  $NH_3$  damp ingezogen en verder ingedampt tot  $\frac{1}{2}$  van het volume. De rest wordt met 5 maal zijn volume aan 96 % alcohol behandeld. Het neerslag is sinistrine B. Mol. Gew. 648

$$\alpha_{\text{D}}^{20} = -30.6^\circ \text{ C.} = 1.1640.$$

De alcohol wordt nu weggedampt, en de rest met abs. alk. behandeld tot conc. 85 %. Hierbij slaat dan sinistrine A neer. Mol. 324

$$\alpha_{\text{D}}^{20} = -25.3^\circ \text{ C.} = 1.1432.$$

We verkregen tenslotte een suiker met een hooge graad van zuiverheid. Geheel silicaat vrij konden we de suiker niet maken, steeds bleef er een aschgehalte van 0.5 %—1.5 %.

Met de sinistrine (A + B) hebben we nu een groote reeks van proeven verricht volgens de methodieken 1<sup>b</sup>, 2 en 3.

In 't begin werd de doseering zeer laag gehouden, maar toen later bleek dat menschen en dieren groote hoeveelheden kunnen verdragen zonder onaangenaamheden, werd de doseering opgevoerd tot maximaal 0.2 gr./Kgr. dier en 0.3 gr./Kgr. mensch.

De resultaten van de proeven vindt men in de volgende tabellen XII, XIII, XIV, XV, XVI en XVII, curven VI, VII en VIII.

Tabel XII

Hond C 9.2 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
10.25	geledigd	—	—	—
11.26	13	1.49	5.46	0.37
12.26	22	1.49	5.46	0.37
2.36	70	1.04	5.60	0.54
3.41	39	1.12	6.70	0.60
4.30	28	1.13	5.64	0.60
5.26	22	1.17	4.61	0.40
10.45	injectie van 2 cc = 78 mgr. sinistrine.			

Tabel XIII

Hond B 7 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.30	geledigd	—	—	—
10.20	38	0.601	4.50	0.76
11.14	54	0.430	4.30	1.00
12.48	43	0.851	3.80	0.48
3.06	70	0.880	4.50	0.56
3.51	33	0.730	5.30	0.73
4.42	19	0.790	3.00	0.38
5.31	15	0.790	2.82	0.31
12.00	injectie 2 cc = 78 mgr. sinistrine.			

Tabel XIV

Hond B 7 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.25	geledigd	—	—	—
10.25	5	0.425	0.354	0.083
11.25	3.75	0.426	0.266	0.063
12.30	2.75	0.368	0.162	0.042
2.18	8.5	0.280	0.220	0.079
3.25	7.5	0.316	0.394	0.125
4.25	10	0.265	0.048	0.015
11.55	0.9 gr. sinistrine in 4 cc intramusculair.			

Tabel XV

Hond B 8.7 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
10.10	geledigd	—	—	—
11.00	16	0.654	1.87	0.32
11.05	toediening van 2 gr. S. p.o.			
11.50	25	0.936	4.68	0.50
1.40	65	0.886	5.06	0.60
2.35	43	0.760	5.93	0.80
3.55	27	0.850	3.83	0.45
4.30	14	0.810	2.06	0.25
11.05	2 gr. sinistrine in 10 H <sub>2</sub> O p.o.			

Tabel XVI

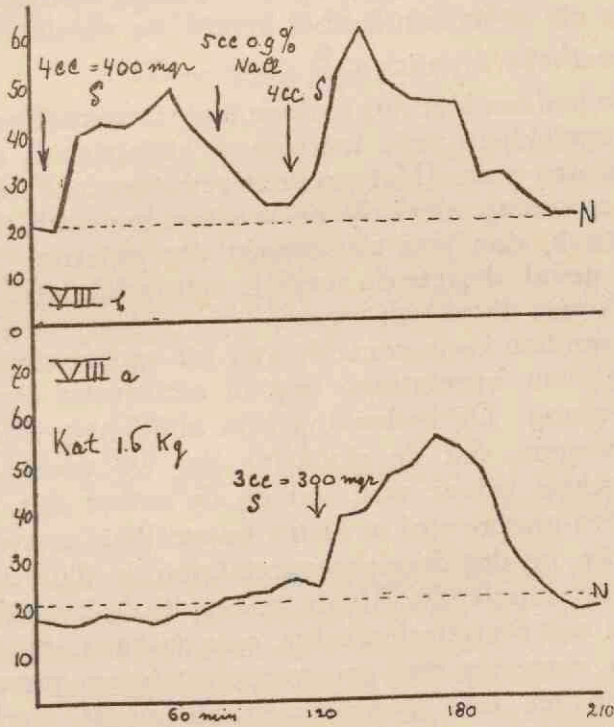
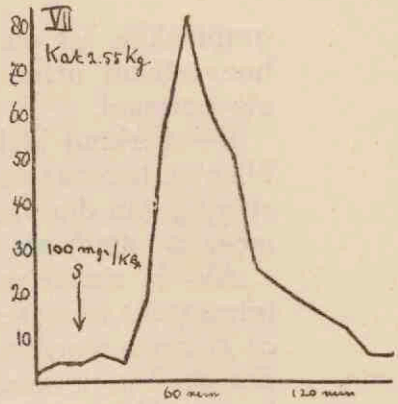
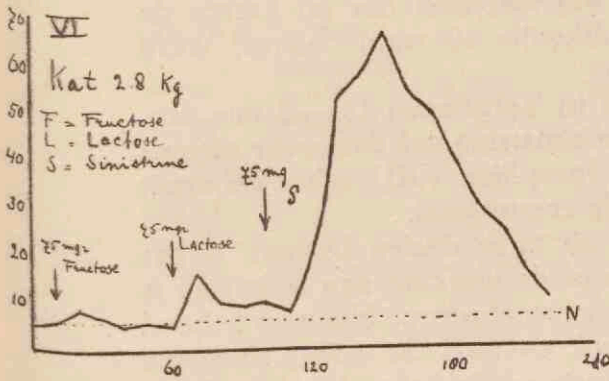
Hond A 9.1 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.20	geledigd	—	—	—
10.10	7.5	0.278	4.17	0.15
11.00	8.5	0.294	4.73	0.17
11.50	8.0	0.304	4.86	0.16
12.40	6.0	0.321	3.85	0.12
12.50	toediening van 1.5 gr. s. p.o.			
2.10	36.0	0.328	13.12	0.40
3.00	14.0	0.298	8.40	0.28
4.05	14.0	0.301	6.62	0.22
5.25	12.0	0.345	5.18	0.15
12.50	1.5 gr. sinistrine p.o. (maagsonde).			

Tabel XVII

Hond A 9.1 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.30	geledigd	—	—	—
10.30	15	0.278	7.00	0.25
11.20	8.5	0.372	6.30	0.17
12.15	8.5	0.351	5.75	0.16
1.45	17.0	0.318	5.90	0.19
1.50	toediening van 3 gr. sinistrine p.o.			
2.40	18	0.279	9.10	0.33
3.30	15	0.410	12.50	0.30
4.45	26	0.345	12.10	0.35
5.30	11	0.320	7.65	0.25
1.50	3.0 gr. sinistrine maagsonde in 10 cc H <sub>2</sub> O.			



Honden (toediening p.o. of intramusculair).  
Katten (toediening intraveneus).  
Het blijkt hieruit dat de sinistrine vooral een sterke werking heeft als NaCl uitdrijvend middel. Uit



graphieken VI en VII ziet men dat bij katten de hoeveelheid urine dikwijls 10 maal zooveel werd als normaal.

De werking hield in 't algemeen  $1\frac{1}{2}$ —3 uur aan. Nieuwe toevoer van sinistrine gaf dan weer nieuwe stijging van diurese (graphiek VIII), alhoewel nooit meer zoo sterk als de eerste maal.

Als de sinistrine uit twee deelen bestaat, is het interessant te weten of de werking aan sinistrine A of B moet worden toegeschreven. Nu was bekend dat de hyacinthenbol, evenals de scilla, sinistrine bevat. We hebben toen op de bekende methode de suiker uit de hyacinthenbol bereid, en vonden voor de specifieke draaiing  $\alpha \frac{D}{20} = \pm - 33^\circ$ .

We hadden hier dus te doen met sinistrine B, daar de mogelijkheid vrije fructose + sinistrine A en B uitgesloten was. (Het product reduceerde Fehling-sche oplossing niet). Werkte deze hyacinthine nu diuretisch, dan was uitgemaakt dat sinistrine B in ieder geval diuretisch werkte, natuurlijk niet, dat ook A niet diuretisch werkt.

Bovendien is de contrôle van dit onderzoek door middel van hyacinthine nog in een ander opzicht van belang. De bedenking kon altijd nog worden opgeworpen, dat de sinistrine die wij toedienden niet geheel zuiver was, dat bij de suiker dus wellicht een andere stof in kleine hoeveelheid aanwezig kon zijn, en dat deze verontreiniging de diuretische werking uitoefende. Als de suiker uit de hyacinthenbol nu ook diuretisch werkte, was de kans, dat deze suiker eveneens met een verontreiniging gemengd was, welke ook weer diuretisch moest werken, uiterst gering.

Hier volgen eenige tabellen van de werking van hyacinthine (tabellen XVIII en XIX).

Tabel XVIII

Hond A 9.1 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
10.02	geledigd	—	—	—
11.03	9	0.846	1.254	0.148
11.55	9	0.848	1.094	0.125
12.45	7	0.877	1.234	0.140
2.25	15	0.719	<b>1.079</b>	0.150
2.35	toediening van 1.82 gr. H. p.o.			
3.20	8.5	0.735	1.254	0.155
4.10	16	0.678	<b>2.271</b>	0.320
5.00	14	0.557	1.560	0.280
5.30	6	0.425	0.850	0.233
2.35	1.82 hyacinthine in 10 cc (maagsonde).			

Tabel XIX

Hond B 7 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.00	geledigd	—	—	—
10.00	10.0	0.646	1.075	0.167
11.00	9.0	0.653	0.983	0.150
12.00	9.0	0.641	0.963	0.150
1.50	toediening van 1.0 gr. H. p.o.			
2.00	16.0	0.651	<b>0.870</b>	<b>0.133</b>
3.00	14.0	0.680	1.823	0.283
4.00	24.0	0.600	<b>2.400</b>	<b>0.400</b>
5.00	10.0	0.584	0.973	0.167
1.50	1.0 gr. zeer zuiver hyacinthine in 5 cc intramusculair.			

Het blijkt dat de werking gelijk is aan die van sinistrine, en in het vervolg zullen we de naam hyacinthine vervangen door sinistrine.

De waarschijnlijkheid dat het de sinistrine zelf is, die diuretisch werkt, en niet de verontreiniging, wordt hierdoor ook wel zeer groot. Dit wordt ook nog ondersteund door het feit, dat steeds verder voortgezette reiniging de diuretische werking niet in het minst verzwakte, zie b.v. tabel XIX.

Over de diuretische werking van suikers is veel geschreven, o.a. Hamburger <sup>37</sup>), Brasol <sup>38</sup>), Hartwick <sup>39</sup>), Arrous <sup>40</sup>), Mayard <sup>41</sup>), Bernheim en Schlager <sup>42</sup>) e.a., maar steeds blijkt dat, hoewel bijna alle suikers (en hiervan v.n.l. de polysacchariden) eenige werking vertoonen, deze toch steeds pas opgewekt wordt door zeer groote hoeveelheden.

Rietsuiker en lactose werken b.v. pas bij een doseering van  $> 2$  gr./Kgr. lichaamsgewicht, terwijl de sinistrine in onze bepalingen reeds werkte bij een doseering van 0.1 gr./Kgr. Hoe deze werking tot stand komt, is moeilijk uit te maken.

We hebben enkele proeven gedaan in de richting van het uitvinden of het renale of extrarenale werking is en gebruikten daarvoor de volgende methode.

Een gedecerebreerde kat wordt ontnierd. Hierna worden haemoglobine en NaCl gehalte van het bloed bepaald en na een uur nogmaals. Blijft het bloed constant van samenstelling, dan wordt overgegaan tot intramusculaire injectie van 0.2 gr./Kgr. sinistrine in 0.85 % NaCl oplossing. Vervolgens wordt om het uur haemoglobine en NaCl gehalte bepaald.

Is de werking nu uitgesproken extrarenaal, dan zal in het bloed haemoglobine en NaCl gehalte zakken, gebeurt dit niet, dan kan de werking renaal zijn. Uit de volgende tabellen zien we dat het zakken van haemoglobine gehalte ongeveer binnen de proef-fout valt (hier  $\pm 10\%$ ), terwijl het NaCl gehalte voorbijgaand daalt.

Tabel XX

Kat 2.2 Kgr.

10.00 ontnierd

10.15 onthersend

12.50 injectie 0.65 gr. sinistrine in  
4 cc H<sub>2</sub>O intramusculair.

10.40	1e bloedafname		
	haemoglobine	104	= 100
	cloornatrium	0.560	= 100
11.40	hb	103	99
	chl	0.555	99
12.10	hb	107	102
	chl	0.570	101
1.10	hb	103	99
	chl	0.555	99
2.20	hb	92	88
	chl	0.480	85.5
3.00	hb	94	90
	chl	0.375	67
4.00	hb	91	87
	chl	0.490	87
5.00	hb	101	99

## Tabel XXI

Kat 1.55 Kgr.

Kat 1.55 Kgr. 11.40 injectie 4 cc = 0.7 gr.

10.00 ontneerd 3.40 injectie 5 cc = 0.7 gr.

10.15 onthersend

10.30	1e bloedafname		
	hb	105	100
	chl	0.565	100
11.00	hb	102	97
	chl	0.657	114
11.30	hb	107	102
	chl	0.585	102
12.00	hb	94	90
	chl	0.520	91
12.40	hb	100	96
	chl	0.515	90
1.20	hb	96	91
	chl	0.490	87
2.10	hb	99	94
	chl	0.477	84
2.45	hb	99	94
	chl	0.516	90
3.25	hb	98	93
	chl	0.531	93
4.10	hb	97	92
	chl	0.511	90

4.40	hb	99	94
	chl	0.480	84
5.10	hb	90	85
	chl	0.465	81
5.40	hb	101	97
	chl	0.535	94

Van een extrarenale werking is dus weinig te bespeuren; wel is eigenaardig de daling van het NaCl gehalte tot 67 % van de normale waarde.

De resultaten met bovengenoemde proeven verkregen, zullen we zeker niet als maatgevend aannemen, daarvoor is het aantal proeven (3) veel te gering geweest.

Om uit te maken of een diureticum renaal of extrarenaal werkt, zou de methode beschreven door *Frijda* <sup>21)</sup> gevolgd moeten worden, waarbij de omstandigheden hier toch nog iets ingewikkelder zijn dan bij de stoffen die *Frijda* onderzocht.

Polysacchariden kunnen in de darm reeds worden gehydrolyseerd, terwijl dan de ontstane monosacchariden worden geresorbeerd. Als dit met sinistrine gebeurt, zal er fructose ontstaan. Ik heb nu eerst nagegaan, of fructose dezelfde diuretische werking heeft.

Tabel XXII

Hond A 9.1 Kgr.

11.50 injectie 2.5 gr. Fructose in 10 cc intramusculair.  
2.40 injectie 1.0 gr. Sinistrine in 5 cc intramucculair.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.30	geledigd	—	—	—
10.15	6.0	0.263	3.57	0.133
11.05	5.5	0.343	3.77	0.110
11.47	4.8	0.351	3.70	0.114
12.48	6.3	0.408	4.08	0.103
2.32	17.0	0.174	2.10	0.163
3.27	5.6	0.102	10.28	1.018
4.14	25	0.164	8.73	0.532
5.05	15	0.194	5.70	0.293

Uit deze tabel blijkt dat fructose geen sterke werking vertoont, ja zelfs bij gelijke dosage totaal geen effect heeft, alleen, zooals ook in de literatuur aangegeven is, bij zeer hooge doseering werkt fructose diuretisch.

De kans dat sinistrine in het lichaam afgebroken wordt tot fructose, en als zoodanig werkzaam is, is dus vrijwel uitgesloten.

Het bovenstaande voert ons dus tot de conclusie, dat sinistrine zeker voor een belangrijk deel, ongesplitst of hoogstens tot sinistrine A gesplitst wordt geresorbeerd, en dat hydrolyse tot fructose ook in het lichaam lang genoeg duurt om de sinistrine nog gelegenheid te geven om een diuretische werking uit te oefenen.

Ik heb nu nagegaan, of sinistrine als zoodanig in de urine is aan te toonen, met name, of in deze vloeistof na de toediening van sinistrine, een vermeerdering is te vinden van de hoeveelheid stof die na hydrolyse reduceert.

Tabel XXIII

Hond 8.65 Kgr.

% suiker uitgedrukt in fructose  
(bepaling volgens Shaffer Hartman (micro)  
hydrolyse

Tijd	hoeveelheid	voor	na	g.	
10.00	geledigd	1.74	1.86	—	0.12
11.00	5 cc	1.68	1.94	0.08	0.26
12.00	4 cc	2.20	2.30	0.07	0.30
1.50	7 cc	1.86	2.04	0.06	0.18
1.50	sinistrine per Kgr. in 20 cc H <sub>2</sub> O (maagsonde).				
2.50	6 cc	2.18	2.88	0.10	0.70
3.25	12 cc	1.12	1.49	0.27	0.37
4.25	10 cc	2.08	2.62	0.20	0.54
5.10	5 cc	1.14	1.49	0.11	0.35

Tabel XXIV

Hond 8.70 Kgr.

Tijd	hoeveelheid	voor	na	g.	
11.00	16 cc	0.90 %	1.87	6.54 %	0.32
10.00	geledigd	—	—	5.85 %	—
11.05	2 gr. sinistrine in 4 cc p.o.				
11.50	25 cc	1.90 %	4.68	9.36 %	0.50
1.40	65 cc	1.28 %	5.06	8.86 %	0.60
2.35	43 cc	0.65 %	5.93	7.60 %	0.80
3.35	27 cc	0.72 %	3.83	8.50 %	0.45
4.30	14 cc	0.76 %	2.06	8.10 %	0.25

Hier dus wel eenige vermeerdering van reducerende suiker na hydrolyse. Toch vinden we, aangenomen dat de vermeerdering 1 % bedraagt, nog slechts 90 mgr. van de 2 gr. sinistrine terug in de urine van honden die p.o. 0.2 gr. Kgr. sinistrine gekregen hadden. Sinistrine wordt dus in de hoeveelheid die wij toedienen, in het lichaam geabsorbeerd.

Tot slot volgen nog eenige tabellen van bepalingen aan proefpersonen, die de sinistrine per os innamen, in doses van 0.1 tot 0.2gr/Kgr. lichaams-gewicht.

Voor de methodiek verwijzen we naar voorgaande bladzijde (methode 1<sup>b</sup>).

Tabel XXV

I. Proef met sinistrine 100 mg/Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.45	geledigd	—	—	—
10.15	27	0.95	8.55	0.9
10.20	100 mg/Kgr. = 8.35 gr. suiker (sinistrine in 10 cc H <sub>2</sub> O)			
11.20	55	1.28	10.90	0.86
11.45	32	1.41	18.00	1.28
12.15	34	1.58	21.00	1.13
12.45	30	1.65	16.50	1.00

Tabel XXVI

II. \*)

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.00	geledigd	—	—	—
9.30	35	1.11	13.00	1.17
10.00	24	1.15	9.22	0.80
10.15	100 mg/Kgr. = 6.75 gr. sinistrine in 10 cc H <sub>2</sub> O.			
10.30	29	1.24	12.00	0.97
11.00	38	1.16	14.65	1.27
11.25	33	1.49	19.70	1.32
11.55	40	1.42	19.30	1.33
12.20	30	1.38	16.60	1.20

Tabel XXVII

I. Proef met sinistrine 0.2 gr./Kgr. — 0.3 gr./Kgr. \*)

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
10.00	15.0	1.40	7.0	0.5
10.30	21.0	1.30	9.1	0.7
10.32	20 gr. sinistrine p.o. in 20 cc H <sub>2</sub> O.			
11.00	27.0	1.17	10.5	0.9
11.30	40.5	1.65	22.3	1.35
12.00	41.0	1.68	23.0	1.37
12.30	33	1.71	18.8	1.10
1.00	34.5	1.59	18.2	1.13

Tabel XXVIII

II. \*)

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.15	geledigd	—	—	—
9.45	22.5	1.40	10.5	0.75
10.15	20.0	1.20	8.0	0.67
10.16	20 gr. sinistrine in 50 cc H <sub>2</sub> O.			
10.45	29.0	1.36	13.2	0.97
12.15	55.0	1.08	19.8	1.83
12.45	40.0	1.14	15.2	1.33
1.15	32.0	1.41	15.0	1.07



Tabel XXIX

II.	*)			
Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.30	geledigd	—	—	—
10.00	16 cc	1.05	5.60	0.52
10.30	18	1.03	6.14	0.60
11.00	20	0.98	6.50	0.67
11.00	20 gr. sinistrine per os.			
11.30	35	1.32	15.30	1.17
12.00	50	1.10	18.40	1.67
12.30	35	1.42	16.60	1.17
13.00	30	1.44	14.40	1.00
13.30	24	1.48	11.85	0.80

\*) Totaal afgescheiden 175 cc urine in 2½ uur tegen 90 cc normaal, 2.300 gr. NaCl in 2½ uur tegen 0.9 gr. normaal.

### Conclusie:

Als eenig bestanddeel van de Scillabol dat een duidelijke diuretische werking uitoefent, werd gevonden de sinistrine. Dezelfde suiker, geïsoleerd uit de hyacinthenbol, vertoonde deze werking ook.

Het ligt dus voor de hand te denken, dat de Scillabol zijn roep als diureticum, en wel als sterker diureticum dan digitalis, te danken heeft aan zijn gehalte aan sinistrine.

Indien dit juist is, moet dan ook bij de klinische doseering van de Scilla een voldoende hoeveelheid sinistrine worden toegediend.

Acetum scillae (1:10) zal waarschijnlijk ongeveer 3% sinistrine bevatten, de Nederlandsche tinctuur (1:5), ongeveer 6%. De doseering is volgens Pinkhof en van der Wielen tot 5 gram acetum of tot 2.5 gr. tinctuur per dag, dat wil zeggen tot 150 mgr. sinistrine per dag. Voor een mensch van 60 Kgr. beteekent dit 2.5 mgr. sinistrine per Kg. per dag. In het licht van bovenstaande proeven lijkt deze dosis veel te klein om een diuretische werking

van eenige beteekenis uit te oefenen. Toch mag men deze conclusie niet zonder meer trekken. In de eerste plaats is de dosis, door Pinkhof en van der Wielen aangegeven, laag wat de op het hart werkende stoffen betreft. Zij zelf toch geven aan, dat deze dosis acetum scillae met digitalis mag worden gecombineerd.

Bulbus scillae in poeders, pillen, infuus of decoct wordt volgens Pinkhof en van der Wielen gegeven tot 0.5 per dag. Daarin zal gemiddeld aanwezig zijn ongeveer 200 mgr. sinistrine. Ook deze doseering schijnt te laag om een behoorlijke diuretische werking door sinistrine te verkrijgen.

Dat echter de huidige doseering laag is, blijkt wanneer wij zien dat Withering 3 maal daags 1 gr. gedroogde bol geeft. Dit is alleen mogelijk bij op onjuiste wijze gedroogde bol, waarin een groot deel van het scillareen vernietigd is. Op deze wijze wordt per dag ongeveer 2.0 gr. sinistrine gegeven, wat nog wel laag is volgens bovenstaande proeven, maar toch onze doseering begint te naderen. Klinisch onderzoek zal nog moeten uitwijzen of bij zieken deze hoeveelheid sinistrine voldoende is, of wellicht door de werking van de hartglucosiden sterk wordt ondersteund.

---

## HOOFDSTUK IV.

### Onderzoek naar het rattendoodende bestanddeel der *Scilla Maritima*.

Reeds in de grijze oudheid werden bolpoeders en versche bollen gebruikt als rattenverdelgingsmiddel, en dit gebruik heeft zich door de geheele geschiedenis weten te handhaven. Ook nu is de Scillabol nog altijd één van de beste, zoo niet het beste, rattenverdelgingsmiddel. Bij de onlangs te Amsterdam georganiseerde rattenverdelging in het groot, is o.a. met veel succes gebruik gemaakt van de *Scilla maritima*.

Zooals uit de inleiding van dit proefschrift bekend is, bestaan er van *Scilla m.* twee variëteiten n.l. de witte en de roode variëteit.

Winton <sup>20)</sup> was de eerste die proefondervindelijk aantoonde, dat de roode bol veel giftiger is voor ratten, dan de witte variëteit. Dit feit was trouwens reeds in de middeleeuwen door de praktijk uitgewezen, alhoewel er door het voortdurend gebruik van de roode bol, en door de moeilijke uiterlijke onderscheiding van beide variëteiten, weinig of geen aandacht aan geschonken werd. Claremont <sup>4)</sup> heeft in 1922 ook al op 't verschil in giftigheid van de witte en roode variëteit gewezen.

Winton bepaalde nu de doodelijke dosis (D.D.) voor ratten, van gedroogde bolpoeders van beide variëteiten. De poeders werden bereid door gehakte versche bolfragmenten te drogen bij 105°, gevolgd door fijn wrijven in een mortier. Hij komt dan tot een D.D. voor roodebolpoeders van  $\pm 0.6$  gr./Kgr. dier, terwijl de witte variëteit ongeveer 10 maal minder giftig is. D.D. hiervan  $> 6.0$  gr./Kgr.

Fijne verdeling van de poeders heeft door de

betere absorptie-mogelijkheden natuurlijk invloed, het fijnst verdeelde roode poeder was ongeveer 2 maal zoo giftig als het grove. (D.D. fijnst verdeelde poeder 0.35 gr./Kgr.

We geven hier voor 't gemakkelijke overzicht een tabel, die eigenlijk een bladzijde verder zou moeten komen, en die aangeeft de verhouding der giftigheid voor ratten van witte en roode varieteit met het scillareen gehalte.

Roode varieteit	Witte varieteit
giftigheid voor ratten gesteld:	giftigheid voor ratten
100	8
scillareen gehalte gesteld	scillareen gehalte
100	105

Hieruit is dus duidelijk te zien dat, hoewel de witte bol iets meer scillareen bevat, zij toch  $12\frac{1}{2}$  maal minder giftig is dan de roode.

Winton<sup>20)</sup> trachtte verder het doodende bestanddeel te concentreeren. Hij extraheerde de droge poeders met water, dampte het extract in tot klein volume en liet deze stroop uitvloeien in aceton, waardoor suikers en eiwitten uitvlokten. De aceton oplossing werd ingedampt tot droog. De rest bestond uit een roodachtig poeder, waarvan hij de D.D. voor ratten bepaalde (beide varieteiten werden aldus behandeld):

D.D. roode bol extract 0.035 g./Kgr.

D.D. witte bol extract > 0.800 g./Kgr.

dus voor de witte meer dan 20 maal zoo groot.

Het acetonpoeder van Winton beteekende dus een 10-voudige concentratie van het vergif in vergelijking met de oorspronkelijke giftigheid van het bolpoeder.

Bij de extractie gaat  $\pm 25\%$  verloren, of blijft in 't bolpoeder achter. Extractie met alcohol en indampen van het extract, leidt tot bijna hetzelfde

resultaat, hoewel alkoholextractie nog meer van de actieve stof in het poeder achterlaat. Zij moet geschieden met  $\pm 70\%$  alcohol, waardoor tot  $80\%$  van de rattendoodende stof geëxtraheerd kan worden; bovendien heeft de alcoholische extractie dan het groote voordeel van direct sterkere gifconcentratie.

Uit bovenstaande tabel trekt Winton zeer terecht de conclusie, dat alleen summascil (scillareen A + B) niet de oorzaak van deze toxiciteit voor ratten kan zijn; het was trouwens allang bekend, dat ratten zeer ongevoelig zijn voor digitalisachtige glucosiden. Gunn o.a. toonde aan dat ratten p.o. en subcutaan 30 maal de D.D. strophanthine (uitgerekend per Kgr. konijn) kunnen verdragen.

Ten overvloede werd door Winton nog de D.D. van scillareen bepaald. Hij vond dat 0.2 gr. scillareen per Kgr. nog niet doodelijk was voor ratten. Rothlin bevestigde dit voor summascil (hij gaf 250000 K.E.) en zelf hebben wij aan ratten van 150—300 gr. hoeveelheden scillareen A + B te slikken gegeven van 10—20 mgr., zonder dat de dieren er ziek van werden.

De conclusie van Winton, dat scillareen A en/of B niet aangezien mogen worden voor de oorzaak van de toxiciteit voor ratten van de Scillabol, is dan ook ons inziens zeer juist.

Een kleine contrôle-berekening bewijst ons dit nog eens duidelijker:

Rekenen we (Winton) 0.2 gr./Kgr. scillareen als D.D.

1 Kgr. versche bol bevat (Stoll <sup>4</sup>) 0.4—4 gr. zuiver scillareen, dat zou dus uitgedrukt in Kilogrammen rat overeenkomen met 2—20 Kgr. rat.

1 gr. versche bol per Kgr. rat is absoluut doodelijk, dus 1 Kgr. versche bol komt overeen met min-

stens 1000 Kgr. rat. Zelfs al was het scillareen 10 maal giftiger, en bevatte de bol 10 maal zooveel scillareen, dan zou er toch nog een andere giftige stof bij moeten zijn om tot 1000 Kgr. rat te komen. Vooral ook omdat de giftigheid vrijwel constant is, terwijl 't scillareen gehalte wisselt.

Daarbij komt nog dat Winton zijn extracten droogde bij 100—105°, terwijl volgens Stoll scillareen A, dat  $\frac{2}{3}$  van 't totaal scillareen gehalte uitmaakt, reeds bij 70° ontleedt.

Welke onbekende of reeds bekende stof uit de roode scillabol moet nu aansprakelijk gesteld worden voor de giftigheid voor ratten? Winton geeft hier al eenige eigenschappen aan, waaraan de stof moet voldoen:

- 1<sup>o</sup>. giftig voor ratten,
- 2<sup>o</sup>. betrekkelijk thermostabiel,
- 3<sup>o</sup>. oplosbaar in water, verdunde alcohol en aceton,
- 4<sup>o</sup>. ontleding bij koken met verdunde zuren en alkaliën,
- 5<sup>o</sup>. lang zonder ontleding te bewaren.

scillareen A valt al af op 2<sup>o</sup>.

scillareen B op 1<sup>o</sup>.

Logisch was te veronderstellen dat de roode kleurstof, die in de roode bol aanwezig is, de oorzaak der giftigheid is, temeer omdat het een stof moest zijn die in de roode bol wel, maar in de witte niet voorkwam, en omdat de kleurstof heel aardig voldoet aan de eischen door Winton gesteld, behalve — zooals later bleek — aan de belangrijkste, n.l. 1<sup>o</sup>.

Tot deze veronderstelling komt ook Danzel<sup>18)</sup>, hij zegt o.m.:

„Des maintenant il semble acquis, que le principe actif raticide de la scille urginée rouge

est un chromogène que la stabilisation a pour effet de mettre à l'abri des actions prolongées et complexes de l'air, en évitant d'en modifier la nature et la composition",

en verder:

„il semble bien, que du point de vue raticide, le pouvoir ratoxique de la scille est dû au chromogène de la scille rouge seule”.

Zooals we reeds eerder opmerkten, leek deze oplossing logisch en juist, en ging het er alleen maar om, deze kleurstof te isoleeren en verder biologisch te onderzoeken.

Wij zijn begonnen met een bepaling van de D.D. voor ratten van de versche Scillabol (roode).

Voor D.D. versche bol vonden wij gemiddeld 1.0—1.5 gr./Kgr. 1 Kgr. versche Scillabol doodt dus 700—1000 Kgr. rat.

We hebben toen getracht de kleurstof uit de bol te isoleeren. Hiertoe werd de versche bol in stukjes gehakt met de hakmachine, en met 2½ maal zijn gewicht aan aceton koud geëxtraheerd onder toevoeging van calcium carbonaat voor neutrale reactie. Het extract werd ingedampt in vacuum bij 30°, en de droge rest geëxtraheerd met aether om de vetten eruit te verwijderen.

Het droge poeder bleek zooals Winton reeds bepaald had, een toxiciteit te bezitten van  $\pm 50$  mgr./Kgr. Daar het verkregen poeder glanzend rood was, oploste in water en alcohol, niet in aether, benzol enz., scheen het op dit punt dat Danzel gelijk kreeg, en dat de kleurstof verantwoordelijk was voor de giftigheid. We wisten evenwel dat in dit poeder al het scillareen nog aanwezig moest zijn, zoodat we zeker geen zuivere stof in handen hadden, temeer daar er nog veel suiker in het poeder aan te toonen was.

Scillareen is oplosbaar in aethylacetaat, de kleurstof, zooals bleek, niet. Het poeder werd daarom 6 maal geëxtraheerd met 10 maal z'n gewicht aan aethylacetaat. In het 6<sup>de</sup> extract kon met de Liebermannsche reactie geen scillareen meer worden aangetoond.

De droge rest werd nu opgelost in water, en neergeslagen met bas. loodacetaat. Het neerslag werd uitgekookt met alcohol en water, en opgeslibd in alcohol.

Door ontlooding kregen we een sterk roode alcoholoplossing van de kleurstof.

Deze vloeistof werd in vacuum tot droog verdampt en de droge rest opgenomen in water, weer neergeslagen, nu met versch geprecipiteerd  $Pb(OH)_2$ . Het neerslag werd op dezelfde wijze als boven behandeld.

We kregen tenslotte een droog poeder, niet kristallijn (ook niet na 6 maal zuiveren op bovengenoemde manier, en 6 maal neerslaan uit alcoholoplossing met aether, en afkoelen op  $-15^\circ$ ), sterk rood glanzend, oplosbaar in water, alcohol, azijnzuur. (Zie hoofdstuk V).

Van deze 6 maal gezuiverde, 6 maal met aether uit alcohol neergeslagen kleurstof werd de D.D. voor ratten bepaald.

Als de kleurstof giftig was, dan moest de D.D.  $\pm 10$  mgr./Kgr. zijn, berekend op het kleurstofgehalte van de bol dat 5—10 gr. op 1 Kgr. versche bol bedroeg. Het bleek dat de kleurstof in 't geheel niet giftig was.

500 mgr./Kgr. had totaal geen effect op ratten en grootere doses te geven, had geen zin.

De conclusie was dus, dat noch scillareen, noch de kleurstof iets uit te staan hadden met de rattendoodende werking der Scillabol.

Het was nu evenwel duidelijk geworden, dat de



giftige stof wel in het aceton extract en dus in het in vacuum gedroogde poeder aanwezig was, immers we verkregen uit 1 Kgr. versche bol  $\pm 32$  gr. aceton droogrest, waarvan de D.D.  $\pm 50$  mgr./Kgr. was, en dus overeenkwam met 640 Kgr. rat. De D.D. van de extractie rest was  $\pm \frac{1}{4}$  van de oorspronkelijke, zoodat  $\pm 70\%$  van het rattengif in de aceton was overgegaan. 1 Kgr. versche bol  $\pm 850$  Kgr. rat, geëxtraheerd  $\pm 650$  Kgr.

Het acetonpoeder werd nu zooals eerst, ontvet en daarna opgelost in water. De kleurstof werd neergeslagen met  $\text{Pb}(\text{OH})_2$ , en het filtraat van het Pb neerslag ingedampt tot droog. De rest was een gele stroop, die in vacuum gedroogd ( $100^\circ$ ), en daarna gepoederd werd.

Het gedroogde poeder werd hierna, om verlost te zijn van scillareen, nog 4 uur lang gedroogd bij  $105\text{--}110^\circ$ , hoewel 't natuurlijk om meergenoemde redenen nu niet zoo noodzakelijk was het scillareen kwijt te raken.

Het verkregen gele poeder was sterk toxisch.

De D.D. bedroeg  $\pm 2.0$  mgr./Kgr.

Daar er uitgegaan was van 1 Kgr. versche bol en we 1.2 gram van het gele poeder verkregen, hadden we nog 600 Kgr. van de oorspronkelijk aanwezige 850 Kgr. rat behouden.

Het gele poeder werd nu weer opgelost in water, en de oplossing met dierlijke kool grondig uitgeschud en gefiltreerd, het filtraat was kleurloos en niet toxisch, zoodat de actieve stof aan de kool geadsorbeerd bleek te zijn.

De met water uitgewasschen kool werd bij  $100^\circ$  gedroogd, en daarna met kokende alcohol van  $90\%$  geëxtraheerd.

Het alcohol extract werd drooggedampt en de rest in vacuum bij  $56^\circ$  gedroogd. De residu bestond uit  $\pm 120$  mgr. van een lichtgele, iets hygroscopische

stof, waarvan de D.D. voor ratten bepaald werd op 250—300  $\gamma$ /Kgr. dier.

Dit poeder werd nu weer opgelost in aethylace-  
taat, de oplossing gefiltreerd en ingedampt. De rest  
werd in water opgenomen, gefiltreerd, weer met  
kool geschud, en tenslotte uit alcohol op de boven  
reeds beschreven methode verkregen.

We hadden toen 80 mgr. van een lichtgeel  
(niet kristallijn) poeder waarvan we de D.D. op  
 $\pm 200 \gamma$ /Kgr. vaststelden. We zullen voor deze stof  
in dit proefschrift verder de naam van „rattoxine”  
gebruiken.

Om wat meer van deze stof te verkrijgen werd  
toen uitgegaan van 1 Kgr. gedroogde bol, zooals  
die in de handel wordt gebracht tot het dooden van  
ratten en bewerkt (geactiveerd „stablactivé”)  
volgens de methode van Danzel<sup>18</sup>). Uit deze  
1 Kgr. bol werd op de bovenomschreven methode  
verkregen 750 mgr. van het rattoxine D.D. 200  
 $\gamma$ /Kgr.

Deze 750 mgr. werden zoover mogelijk gezuiverd,  
o.a. door 5 maal adsorbeeren aan kool enz., door  
3 maal neerslaan met aether uit aethylacetaat op-  
lossing enz., maar het is ons niet gelukt de stof in  
kristallijne toestand te verkrijgen.

Een analyse van de verst gezuiverde fractie gaf:

4.063 mgr. stof = 9.020 mgr. CO<sub>2</sub>  
2.500 mgr. H<sub>2</sub>O

berekend voor formule C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>

60.64 % C

6.83 % H

32.53 % O

gevonden 60.80 % C

6.77 % H

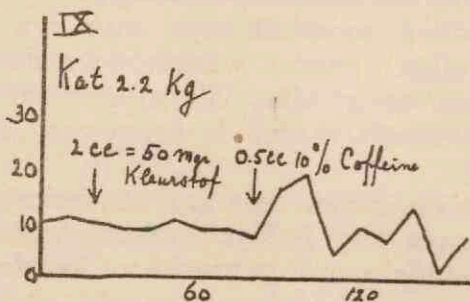
32.43 % O

Mol. Gew. uit vriespuntsdaling in ijsazijn  $\pm 300$ .

De werking op het kikkerhart blijkt uit curve I.

**Concentratie 1 : 10000** werkt toxisch (geen scilla-reen werking).

De werking op de diurese blijkt uit de tabel; geen enkele werking is te zien.



D.D. voor gedecerebreerde katten (intraveneus) 0.5 mgr./Kgr. dier. Merkwaardig is dat bij subcutane injectie van 6 D.D. bij een rat, dit dier wel ziek wordt, maar toch in leven blijft, zoodat de verhouding der giftigheid p.o. en subcutaan  $\pm 6:1$  is. Ook Kopacsewski vond dit verschil bij de scillitine (verhouding 4:1).

De vergiftigingsverschijnselen bij ratten zijn de volgende.

Het begin van de werking is te zien aan de eigenaardige scheeve houding van het dier, dan volgen een verlamming van de achterhand (niet altijd) en hevige krampen tot aan de dood toe.

Bij sectie bleken er weinig of geen afwijkingen te bestaan:

nieren normaal

hart (stilstand in systole)

dikwijls waren er bloedingen in de maag opgetreden.

## Hond C 8 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
10.20	geledigd	—	—	—
11.20	14	0.580	1.35	0.23
12.20	13	0.585	1.27	0.22
1.50	20	0.555	1.23	0.22
1.50	injectie van 4 cc = 1.0 mgr. R. intraveneus.			
2.50	11	0.564	1.04	0.18
3.50	9	0.573	0.86	0.15
4.50	7	0.585	0.68	0.12
1.50	injectie van 1.0 mgr. Rattoxine intraveneus. totaal geen werking met methode 1.			

Hiermede was dus de concentratie van het rattoxine, die door Wilton op het 10-voudige was gebracht, gestegen tot het 1000-voudige van de oorspronkelijke, en ons doel n.l. het vinden van de rattendoodende fractie, bereikt.

Lebourdais (1848) en later Bley (1850) hebben uit de Scillabol op de volgende manier een stof bereid, die zij scillitine noemden en die waarschijnlijk identiek is met ons rattoxine.

Een waterig afkooksel van zeeajuin werd met Pb acetaat behandeld, en afgefiltreerd. Het filtraat werd uitgeschud met kool, en de kool uitgekookt met alcohol.

De drooggedampte alcohol rest noemde hij scillitine. Over de pharmacologie van dit scillitine is zoover we konden nagaan, niets bekend.

Het vinden van kristallijn scillareen door Stoll, heeft in 't begin de indruk gevestigd, dat nu alle chemische problemen der Scillabol opgelost waren, en het is de verdienste van Winton geweest, er op te wijzen, dat er nog andere pharmacologisch sterk actieve stoffen in de bol aanwezig moeten zijn.

Het rattoxine is een glucoside en het is onze bedoeling om dit onderzoek voort te zetten en te weten te komen welke onzuiverheden ons product

nog bevatte, het is o.i. zeer waarschijnlijk dat ons product verontreinigd was met omzettingsproducten van scillareen A en B. Jammer is het, dat over de lange kristallen (naalden) van Bley (1850) pharmacologisch zoo weinig bekend is. Het kan zijn dat hij scillareen A in handen heeft gehad, maar even goed is het mogelijk, dat hij zuiver rattoxine, dus misschien het sterkst werkende gif onder alle rattengiften verkregen had. Deze kwestie moet nog nader onderzocht worden.

---

## HOOFDSTUK V.

### De kleurstof uit de Scillabol.

Behalve het rattoxine, isoleerden wij als onbekende stof uit de bol een roode kleurstof, waarover reeds eerder in dit proefschrift werd bericht.

Danzel <sup>18)</sup> was van meening, dat deze kleurstof en de voor ratten zoo toxische stof identiek waren, maar zooals reeds gezegd is, was deze kleurstof in 't geheel niet giftig voor ratten of andere dieren.

Ook op de diurese was met onze methode geen werking aan te toonen, en de werking op het kikkerhart was zooals uit bijgaande curven blijkt, pas in grootere concentraties toxisch.

Het vinden van de kleurstof berust eigenlijk op een vast loopen der methode Stoll, om behalve scillareen, nog andere stoffen uit de bol te isoleeren.

Door het mengen van  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  met de gehakte versche bol was, behalve vetten, scillareen en rattoxine, het isoleeren van andere in water oplosbare stoffen uit de rest zeer moeilijk geworden. Wel was het  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  met  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -water weg te krijgen, maar tevens veranderde dan de kleurstof in een zwartachtig product, waar natuurlijk niet veel mee te beginnen was.

Hierom hebben we later de versche bol direct met aceton behandeld, en het extract, onder toevoeging van  $\text{CaCO}_3$  voor neutrale reactie, in vacuum bij  $25^\circ$  ingedampt tot droog. De droge rest werd dan met aether en aethylacetaat in soxhlet geëxtraheerd; het residu bevatte nu enkel kleurstof en suiker.

Uit dit mengsel werd dan de kleurstof met  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  neergeslagen. Later werkten we met de tinctuur, omdat deze meer kleurstof bevat dan het acetoneextract.

### Kleurstofbereiding:

De waterige oplossing van de tinctuuroogrest werd met versch gepraecipiteerd  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  behandeld, het neerslag afgezogen, gewasschen en daarna met kokende alcohol geëxtraheerd.

Hierdoor wordt het oplosbare scillareen verwijderd. Het neerslag wordt nu opgeslibt in waterige alcohol en  $\text{H}_2\text{S}$  doorgeleid tot verzadiging. Na filtreren verkregen we een roode vloeistof, die nu met zeer weinig  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  behandeld werd en gefiltreerd. De alcoholische oplossing werd nu in vacuum tot droog ingedampt.

Het resterende poeder bestond uit glinsterende blaadjes van een fraaie roode kleur, loste slecht op in water zoowel als in alcohol, eerst bij verwarmen ging dit oplossen goed.

Uit 96 % alcohol liet de kleurstof zich met aether neerslaan, zoodat we daar gebruik van maakten om de stof te zuiveren. Na 6 maal neerslaan met aether verkregen we een rosa poeder dat met felroode kleur oploste in water en alcohol, maar daaruit niet gekristalliseerd kon worden verkregen. De waterige oplossing werd verschillende malen met dierlijke kool p.a. geschud en weer met  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  neergeslagen, het is ons evenwel niet gelukt de kleurstof kristallijn te verkrijgen.

Een bepaling van het aschgehalte van de verstgezuiverde kleurstof toonde aan, dat er slechts 0.04 % aschrest overbleef, hetgeen zeer gering te noemen is.

#### Hond A 9.5 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.30	geledigd	—	—	—
10.30	16	0.480	1.29	0.27
11.30	12	0.492	0.98	0.20
12.30	9	0.500	0.75	0.15
1.50	intramusculaire injectie van 50 mgr. K. in 5 cc $\text{H}_2\text{O}$			

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
2.00	12	0.505	0.66	0.13
3.00	10	0.400	0.68	0.17
4.00	7	0.465	0.55	0.12
5.00	5	0.491	0.39	0.08

Zoals uit de tabel en curve te zien is, werkt de kleurstof niet op de diurese of op het kikkerhart.

Tenslotte zijn we er toe overgegaan, de verst gezuiverde stof te **analyseeren**.

gevonden 5.318 mg. = 10.570 CO<sub>2</sub>  
 54.22 % C + 2.360 H<sub>2</sub>O  
 4.93 % H  
 40.85 % O klopt met formule C<sub>23</sub> H<sub>25</sub> O<sub>13</sub> =  $\left. \begin{array}{l} 54.20 \% C \\ 4.93 \% H \\ 40.87 \% O \end{array} \right\} \text{ berekend}$

Dat deze kleurstof een glucoside is, bewees het feit dat bij hydrolyse in waterige oplossing met 10 % HCl gedurende 3 uur op kokend waterbad, een in water onoplosbare stof ontstond met daarnaast glucose.

De onoplosbare stof was een oranjekleurig amorph product dat weer tegen alle verwachting in niet wilde kristalliseeren. Koken met dierlijke kool, neerslaan uit abs. alcohol met H<sub>2</sub>O enz., was niet voldoende om de stof zoo zuiver te krijgen, dat zij kristalliseerde.

Aschbepaling gaf 0.03 % asch.

Uit de bijgaande tabellen blijkt, dat ook het aglukon noch diuretisch, noch op het kikkerhart, noch op ratten eenige werking uitoefent.

#### Analyse gevonden

5.011 mgr. geeft 11.240 CO<sub>2</sub> 61.27 % C klopt met formule  
 1.10 H<sub>2</sub>O 4.23 % H  
 34.60 % O

Glucose bepaling (Bertrand) =

C<sub>17</sub> H<sub>14</sub> O<sub>7</sub>  
 C 61.25 %  
 H 4.24 %  
 O 34.51 %

100.0 mgr. stof geeft 35.3 mgr. glucose

Mol. gew. dus  $\frac{100}{35.3} \times 180 = 510$  (gevonden 509)

Hieruit kunnen we dus besluiten dat de bruto for-



mule van de kleurstof  $C_{23}H_{25}O_{13}$  is en van het aglukon  $C_{17}H_{14}O_7$ .

Uit de verschillende reacties, b.v. kleuromslagen met basen en zuren enz., maakten we op, dat deze kleurstof een anthocyaan-achtige kleurstof is, maar daar we de pharmacologie van de bol als hoofdzaak wilden beschouwen, zijn we op de chemie der kleurstof niet verder ingegaan.

Overigens is het ophelderen van structuren in de glucosiden reeks, een werk dat meestal zeer lange tijd vergt (Stoll b.v. werkt al jaren aan het kristallijn scillareen A), en dat zeker waard zou zijn er afzonderlijke publicaties aan te wijden.

Onze conclusie is dan, dat de kleurstof pharmacologisch gesproken van geen interesse is.

#### Hond C 8 Kgr.

Tijd	hoeveelheid urine	% NaCl	mg. NaCl per minuut	cm <sup>3</sup> urine per minuut
9.00	geledigd	—	—	—
10.00	12	0.643	1.29	0.2
11.00	10	0.647	1.08	0.17
12.00	10	0.652	1.05	0.17
1.50	20 mgr. aglukon in 4 cc 0.85 % NaCl (+ 1 % alk.) intramusculair.			
2.00	22	0.621	1.11	0.18
3.00	9	0.631	0.95	0.15
4.00	9	0.612	0.92	0.15
5.00	7	0.631	0.76	0.12

## HOOFDSTUK VI.

### De andere bestanddeelen der Scillabol.

¶ We hebben reeds de belangrijkste stoffen die uit de Scilla geïsoleerd werden, besproken. Dit waren achtereenvolgens:

- 1<sup>o</sup>. Scillareen A en B,
- 2<sup>o</sup>. het rattoxine,
- 3<sup>o</sup>. de sinistrine A en B,
- 4<sup>o</sup>. de kleurstof.

Om volledig te zijn, zullen we in het kort nog de andere door ons gevonden bestanddeelen vermelden, en tevens de stoffen die door vorige onderzoekers gevonden zijn, o.a. door Claremont <sup>41</sup>).

Analyse van de bol:

water gehalte versche bol tusschen 80 en 90 %, wisselend al naar gelang jaargetijde, verschheid en plaats van herkomst.

De verdere getallen zijn omgerekend op droog bolpoeder:

Reduceerende suikers (C)	3 — 12 %	
niet reduceerende suikers (C)	30 — 60 %	
	(kort na de oogst het grootst)	
kleurstoffen	± 5 %	
Si O <sub>2</sub> } aschgehalte	0.4 — 1 %	asch 4 — 5 %
CaO } aschgehalte	2.5 — 5 %	
vezel (Claremont)	2.5 — 6.5 %	
vetten	± 10 %	
scillareen tannoiden (Stoll)	0.8 — 1.5 %	
rattoxine	± 0.1 %	
coffeïne (volgens Ewins)	0.02 %	
vocht	4 — 5 %	

verder Na, K, en Mg in zeer kleine hoeveelheden en het ferment scillarenase, dat scillareen A splitst in pro-scillaridine A en glucose.

Het Calcium komt in de versche bol voornamelijk voor als oxalaat. De oxalaatkristallen zijn onder het microscoop zeer duidelijk te onderscheiden, ze liggen binnen de cellen in raphiden bundels.

De versche bol, vooral de schil, heeft huidprikkelende eigenschappen. Hakt of snijdt men een versche bol in stukjes zonder handschoenen te gebruiken, dan dringen de vlijmscherpe kristalnaaldjes in de huid, en veroorzaken daar een ondragelijke jeuk.

De vroeger zoo geroemde reumatiek genezende kracht, was wel voornamelijk aan het bestaan van deze calcium-oxalaat kristallen te danken. Door het inwrijven van de huid met Scillabol wordt deze sterk geïrriteerd en warm. Ook de jeuk zal wel bijgedragen hebben tot het afleiden van het pijngevoel.

Een gedeelte van het Calcium en het Natrium en Kalium en Magnesium komen voor als silicaten.

De suikers zijn reeds genoemd, behalve de reducerende, die vertegenwoordigd worden door de glucose en de saccharose. De vetten leveren bij verzeeping vitosterinen en verschillende vetzuren, o.a. propionzuur.

Pharmacologisch zijn ze volkomen onbelangrijk.

Literatuur hierover: Buschmann <sup>10)</sup>, Claremont <sup>41)</sup>.

Coffeïne hebben wij wel aangetoond, maar niet quantitatief bepaald; de cijfers zijn van Ewins <sup>5)</sup>.

Coffeïne is een zeer sterk diureticum, zoodat de vraag bij ons gerezen is of de coffeïne aansprakelijk gesteld kan worden voor diuretische werking.

Evenwel is de hoeveelheid coffeïne zoo gering, dat we met deze mogelijkheid verder geen rekening meer gehouden hebben.

Rest ons nog te vermelden dat in de versche bol

zeer veel slijmstoffen voorkomen, die het bijna onmogelijk maken, een geconcentreerd waterig extract te bereiden. Toevoeging van aceton of alcohol, doet de slijmstoffen neerslaan, zoodat wij behalve bij de suikerbereiding steeds werkten met alcohol of aceton extracten.

---

## HOOFDSTUK VII.

### Samenvatting.

De pharmacologie van de roode Scillabol is door middel van eigen proeven en door literatuuronderzoek onderzocht.

Scillareen A en B zijn de bestanddeelen die op het hart werken. Bij het intacte dier is hun diuretische werking zeer gering. Met het isoleeren van het scillareen door A. Stoll e.m. is het scilla-probleem niet geheel opgelost, daar scillareen niet toxisch is voor ratten.

Het rattendoodende bestanddeel werd door ons geïsoleerd, evenwel waarschijnlijk nog niet in een geheel zuivere vorm. Het is een **ongekleurd, stikstofvrij glucoside** dat in hoeveelheden van 0.2 mgr. per Kgr. rat de dood binnen 60 uur veroorzaakt. We zouden dit glucoside de naam van rattoxine willen geven.

Verder isoleerden we volgens Schlubach en Elsner uit de bol een suiker, n.l. de Sinistrine, waarvan we de pharmacologische werking onderzochten.

Sinistrine werkt 10 maal sterker diuretisch dan andere suikers als b.v. lactose en saccharose; belangrijk is vooral haar sterke zout-uitdrijvende werking. Klinische resultaten zullen moeten worden afgewacht om de werking in de praktijk te kunnen beoordeelen. In totaal bevat de Scilla Maritima volgens onze meening drie pharmacologisch belangrijke stoffen, n.l.:

- 1<sup>o</sup>. scillareen (summascil),
- 2<sup>o</sup>. rattoxine,
- 3<sup>o</sup>. sinistrine.

Over het rattoxine wordt het onderzoek nader voortgezet.

---

## RESUMÉ.

Par moyen de propres expériences et de la littérature, nous avons étudiée la pharmacologie de la scille rouge.

Le scillarène A et B sont les substances fonctionnant sur le coeur.

Sur l'animal intacte, leur action diurétique est très faible.

En isolant le scillarène, A. Stoll e.c. n'ont pas encore résolu entièrement le problème de la scille, parce que le scillarène n'est pas toxique chez des rats.

Nous avons isolé, cependant probablement ne pas encore dans un état très pur, le principe raticide.

Il s'agit d'un glucoside, decoloré et desazoté, qui entraîne la mort dans 3 jours en quantités de 0.2 mgr./Kgr. rat. Nous proposons pour ce glucoside le nom de „rattoxine”.

Enfin nous avons préparé suivant la méthode de Schlubach et Elsner un sucre, la sinistrine, dont nous avons étudié l'action pharmacologique.

L'action diurétique de la sinistrine est de  $10 \times$  plus active, que celle d'autres sucres comme p.e. lactose et saccharose; surtout son action se concerne d'éloigner le sel du tissu.

Il faut la pratiquer dans la clinique, pour en juger l'effet.

De notre avis, la scille rouge entient 3 substances qui sont importantes du point de vue pharmacologique:

- 1<sup>o</sup>. le scillarène.
  - 2<sup>o</sup>. la rattoxine.
  - 3<sup>o</sup>. la sinistrine.
-

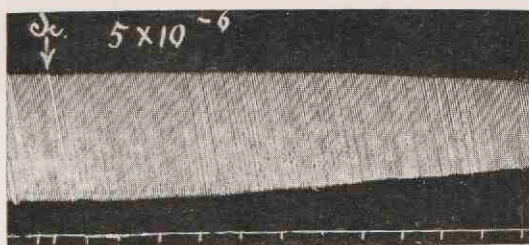
## LITERATUURLIJST.

- Papyrus Ebers.  
Dioscurides.
- I. Mendel.  
Ther. der Gegenw. 1918, 16—20.
  - II. Dixon en Haynes.  
Biochem. J. I<sup>2</sup>, 1906, 62.
  - III. Markwalder.  
Klin. Wschr. 1922, 212.
  - IV. Stoll e.m.  
Verh. der Schweiz. Naturforsch. ges.  
1927, II, 132—134, 271.  
Idem 1932, 331, 435.  
Ein gang durch biochem. Forsch. Arbeit. Berlin, 1933.  
Helv. chim. acta. 16, 703—733, 1933.  
Idem 16, 1049, 1933.  
Idem 17, 641—64, 1934.  
Hoppe-Seyler Zeitschr. 222, 24—38, 1933.  
Schweiz. Med. Wschr. 57, 1169 (1927).
  5. Ewins.  
J. of Pharmacol. a. Ther. 3, 1912, 155.
  6. Jarmerstaedt.  
Arch. f. exp. Path. 11, 22.
  7. Vogel.  
Ann. de Chimie 1812, 83, 147.
  8. Schlubach.  
Ber. 62, 1491—93.
  9. Bley.  
Arch. d. Pharm. 1850, 141.
  10. Buschmann.  
Arch. d. Pharm. 257, I, 79 (1919).
  11. Merck.  
Pharm. Zeitschr. 286 (1879).  
Merck's Jahresber. 1911, 113—5.

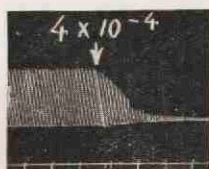
12. Kopacsewski.  
C. r. Acad. Sci. Paris 158, 1520 (1914).  
Bioch. J. 66, 501  
en Henrijean C. r. Acad. Sci. P. 183, 376 (1926).
13. Schmiedeberg.  
Hoppe Seyler's Zeitschr. 3, 130 (1879).
14. Riche, Remont.  
Cit. Buschmann 10.
15. Lebordais.  
Arch. d. Pharm, 1848.
16. Boerhaave.  
Element. Chim. 2, 122.
17. van Swieten.
18. Danzel.  
Extrait du Bull. d. l. Soc. franc. d. Ing. Col. 1935.
19. van Esveld.  
Verslagen en mededeeling. betreff. de Volksgezond-  
heid Juli 1934.
20. Winton.  
J. of Pharm. 31, 123 (1927).  
Idem 31 137 (1927).
21. L. Frijda.  
Proefschrift Utrecht 1934.
22. Starling.  
Proc. of the roy. soc. of med. 97, 321 (1925).
23. Gremels.  
Arch. f. exp. Path. 157, 92 (1930).
24. Rothlin.  
Schweiz. med. Wschr. 49, 1169 (1927).
25. Oliaro.  
Revue de Pharm. e. d. Ther. exp. Dec. 1932.
26. de Premankur.  
J. of Pharm. 31, 35 (1927).
27. Diaz.  
Ann. Inst. Modelo Clin. Med. 13, 397.
28. Graf.  
Arch. f. exp. Path. 140, 355 (1929).



29. Dubinskaja.  
Z. eksper. Biol. i. med. 10, 122 (1928).
  30. Withering.  
An. Account of the Foxglove and some of the medical  
uses (Duitsche vertaling, blz. 19).
  31. Fragge en Stevenson.  
Pharmac. J. 7, 421 (1866).
  32. Hirsch.  
Arch. f. exp. Path. 160, 220 (1931).
  33. Costapagianotis.  
Arch. f. exp. Path. 167, 674 (1933).
  34. Schmiedeberg.  
Zeitschr. f. phys. chem. 3, 114 (1879).
  35. Rosenthaler en Kohli.  
Apot. Ztg. 1097 (1930).
  36. H. Colin en Chaudin.  
Bull. Soc. Chim. biol. 15, 1520 (1933).
  37. Hamburger.  
Biochem. Zeitschr. 1922 (128) 185.
  38. Brasol.  
Arch. f. exp. Path. 1884, 211.
  39. Hartwich.  
Arch. f. exp. Path. 111, 94 (1926).
  40. Arrows.  
Arch. f. exp. Path. 85, 359 (1920).
  41. Claremont.  
Analyst. 1922, 60.
  42. Hirschfeld.  
Kyklos Jahrb. d. Inst. f. Gesch. d. Med., Band 2, 163.
  43. Handbuch der Pflanzenanalyse.
  44. Storm van Leeuwen.  
Algemeene Pharmacologie
  45. A. Hefter.  
Handbuch der Pharmacologie.
  46. Kurtz.  
Dissertation Erlangen 1893.
-



Scillareen A + B 1 mgr op 200 cc kikkerringen



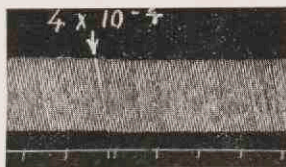
kleurstof  
0,4 mgr op 1 cc Ringer



kleurstof  
0,1 mgr op 1 cc Ringer



rattoxine  
1 mgr op 1 cc Ringer



aglukon van de kleurstof  
0,4 mgr op 1 cc Ringer



## STELLINGEN.

### I

De meening van Danzel, dat de kleurstof uit de roode varieteit der *Scilla maritima* aangezien moet worden voor de rattendoodende stof, is niet juist.

### II

Bij de ijking van atropine bevattende geneesmiddelen, is het wenschelijk, de chemische methode, en de biologische methode van Pulewka, naast elkaar aan te wenden.

Arch. f. exp. Path 169, 482 (1933).  
178, 439 (1935).

### III

Bij de door histamine veroorzaakte bloedsdruk-daling, spelen de huid en spiervaten een zeer groote rol.

Dragomir Matieff en Max Schneider.  
Pflüger's arch. 236 (1935) 605.

### IV

De onderzoekingen van Stanley, over het virus der mozaïkziekte bij tabak, rechtvaardigen de conclusie, dat dit virus van niet-levende aard is.

Stanley — Science t. 28 Juni 1935, p. 644.

### V

Het biedt geen voordeelen, het geslacht *Citrobacter* als een nieuw geslacht in te voeren.

Werkman, Gibbon — Journ. of Bact. 23, 1932, 167.

# STEFFENSON

I  
The first part of the report is devoted to a general survey of the work done during the year. It is divided into two main sections, the first of which deals with the work done in the field, and the second with the work done in the office.

II  
The second part of the report deals with the work done in the field. It is divided into three main sections, the first of which deals with the work done in the north, the second with the work done in the south, and the third with the work done in the west.

III  
The third part of the report deals with the work done in the office. It is divided into three main sections, the first of which deals with the work done in the general office, the second with the work done in the special office, and the third with the work done in the laboratory.

IV  
The fourth part of the report deals with the work done in the laboratory. It is divided into three main sections, the first of which deals with the work done in the general laboratory, the second with the work done in the special laboratory, and the third with the work done in the field laboratory.

V  
The fifth part of the report deals with the work done in the field laboratory. It is divided into three main sections, the first of which deals with the work done in the general field laboratory, the second with the work done in the special field laboratory, and the third with the work done in the field laboratory.

VI  
The sixth part of the report deals with the work done in the special office. It is divided into three main sections, the first of which deals with the work done in the general special office, the second with the work done in the special special office, and the third with the work done in the special office.

VII  
The seventh part of the report deals with the work done in the special laboratory. It is divided into three main sections, the first of which deals with the work done in the general special laboratory, the second with the work done in the special special laboratory, and the third with the work done in the special laboratory.

## VI

De vermelding van Schmitt, dat bij alkalismelt van Kalium sulfanilaat, aniline + sulfaten ontstaan, is niet juist.

N. N. Woroshtzow en M. M. Schemjakin.  
Ber. 69, I, 148 (1935).

## VII

De vorming van hydroxamzuren uit aldehyden en hydroxylaminen, berust primair op een additie. De hypothese van Angeli moet verlaten worden.

Oddo en Deleo — Ber. 69, 294 (1936).

## VIII

De solidus-liquidus curven van mengsels van zwaar en gewoon water, vallen niet samen.

A. Eucken en K. Schäfer.  
Zeitschr. f. Anor. Chem. 225.  
319.

## IX

De dampdrukmetingen van Baur en Brunner bij hoogkokende metalen, zijn aan bedenkingen onderhevig.

Helv. Chim. Acta 18, 1028.

## X

Het ware te wenschen, dat pas afgestudeerde Nederlandsche chemici in de gelegenheid gesteld werden, zich te specialiseeren in die takken van industrie, waar thans meestal, uit hoofde van hun meer gespecialiseerde opleiding, buitenlandsche krachten gebruikt worden.

VI

The following are the names of the persons who have been appointed to the various positions in the office of the Secretary of the Board of Education for the year 1900-1901.

VII

The following are the names of the persons who have been appointed to the various positions in the office of the Secretary of the Board of Education for the year 1901-1902.

VIII

The following are the names of the persons who have been appointed to the various positions in the office of the Secretary of the Board of Education for the year 1902-1903.

IX

The following are the names of the persons who have been appointed to the various positions in the office of the Secretary of the Board of Education for the year 1903-1904.

X

The following are the names of the persons who have been appointed to the various positions in the office of the Secretary of the Board of Education for the year 1904-1905.



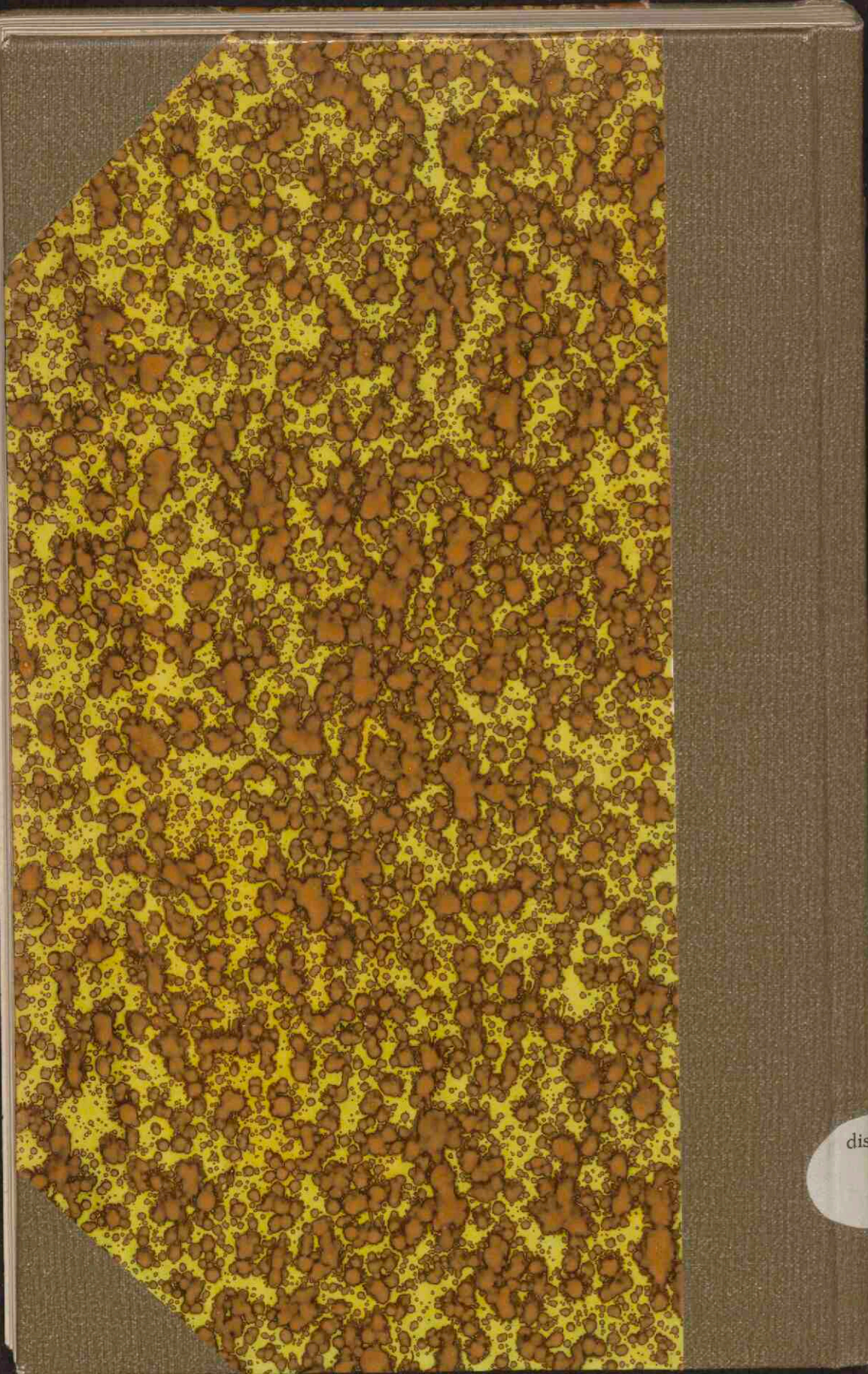








Kijkzalen voor Psychopaten  
te Avereest.



dis