



De kininespiegel in het bloed

<https://hdl.handle.net/1874/323141>

A. qu. 192, 1937.



**DE
KININESPIEGEL
IN HET
BLOED**

F. J. KAISER

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

Diss Utrecht 1937

DE KININESPIEGEL IN HET BLOED

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. J. BOEKE, HOOGLEERAAR IN DE FACUL-
TEIT DER GENEESKUNDE, VOLGENS BESLUIT
VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT IN HET
OPENBAAR TE VERDEDIGEN OP MAANDAG
8 NOVEMBER 1937, DES NAMIDDAGS TE 3 UUR

DOOR

FRANZ JOZEF KAISER

GEBOREN TE DORMAGEN

1937

DRUK GEBR. VAN AELST - O. L. VR. KADE 10-11 MAASTRICHT

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

AAN MIJN OUDERS
AAN MIJN ZUSTER

Het verschijnen van dit proefschrift is mij een welkome gelegenheid, mijn groote erkentelijkheid te betuigen aan de Hoogleeraren en de Lectoren in de faculteit der Wis- en Natuurkunde aan de Rijks-Universiteit te Utrecht, waarbij vooral mijn dank uitgaat naar de Hoogleeraren Cohen, Kögl, de Graaff en Kruyt.

Hooggeleerde Bijlsma, Hooggeachte Promotor, ik kan U niet genoeg dankbaar zijn voor de gelegenheid die Gij mij geboden hebt, op Uw laboratorium een onderzoek te verrichten. Liet Gij mij zelfstandig werken, toch hebt Gij onafgebroken met Uwe scherpzinnige voorlichting de richtlijnen aangegeven. Uw groote belangstelling in mijn werk, gevoegd bij Uw vriendschappelijke omgang deden mij U waardeeren, niet alleen als leermeester, doch ook om Uw groote gaven als mensch.

Hooggeleerde Ornstein, zeker zou dit onderzoek niet mogelijk geweest zijn, indien Gij niet Uw belangstelling getoond hadt door mij zoo voorkomend de weg te wijzen, waarvoor ik U ten zeerste dankbaar ben.

Hooggeleerde Schoorl, het openstellen van Uw laboratorium voor mij stemt mij tot groote erkentelijkheid.

Zeergeleerde Le Heux, bijzonder aangenaam is het mij, hier openlijk uiting te kunnen geven aan gevoelens van dankbaarheid jegens U. Steeds waart Gij bereid mij met woord en daad bij te staan; veel heb ik dan ook van U mogen leeren op velerlei gebied.

Zeergeleerde Mejuffrouw Eymers, ik dank U zeer voor de onmisbare hulp welke U mij boodt bij het uitwerken der meettechniek.

Zeergeleerde Ernst, dat Gij mij behulpzaam waart bij het verrichten van mijn proeven waardeer ik zeer.

Zeer geachte Toxopeus, het zal bij mij in dankbare herinnering blijven, dat ik nooit tevergeefs een beroep op U deed.

Het personeel van het Pharmacologisch Laboratorium dank ik voor de zoo vaak verleende hulp.

De „Vereeniging tot het bevorderen van de beoefening der Wetenschap onder de Katholieken in Nederland" en de commissie van beheer van het „Dr. van Gils-fonds" ben ik zeer erkentelijk voor de steun bij de bestrijding der drukkosten van deze dissertatie.

Tenslotte betuig ik aan allen, die op de een of andere wijze hebben medegewerkt aan het totstandkomen van dit proefschrift, mijn dank.

INHOUD.

	Blz.
Inleiding	1
HOOFDSTUK I.	
Overzicht van de Methoden voor de Bepaling en Extractie van Kinine in Bloed	5
HOOFDSTUK II.	
De bij dit Onderzoek toegepaste Methoden	19
1. De Bepalingsmethode	19
2. De Extractiemethode	32
HOOFDSTUK III.	
De Pharmacologische Proeven	42
HOOFDSTUK IV.	
De Verdeeling van de Kinine tusschen de Bloedlichaam- pjes en het Plasma	72
HOOFDSTUK V.	
De Opname van Kinine door de Longen	88
HOOFDSTUK VI.	
De Kinine-uitscheiding in de Urine	94
Samenvatting	96
Zusammenfassung	98
Summary	100
Literatuurlijst	102

INLEIDING.

Reeds drie eeuwen lang geniet kinabast de reputatie van geneesmiddel ter bestrijding van koorts, in het bijzonder van de malaria. Ruim een eeuw geleden is gebleken, dat deze werking moet worden toegeschreven aan de in de bast aanwezige alkaloiden, waarvan op dit oogenblik kinine het belangrijkste is.

Tot 1870 heerschte de meening, dat de koortswerende invloed een gevolg was van een sedatieve werking van de alkaloiden op het zenuwstelsel. In 1867 verkondigde BINZ ¹⁾ — op grond van eigen bevinding en die van vroegere onderzoekers, dat vele microorganismen voor kinine zeer gevoelig waren—de theorie dat de malaria, die immers door kinine werd genezen, door microorganismen moest worden veroorzaakt. Dit was dus in een tijd, toen de verwekkers van de verschillende vormen der malaria nog niet waren ontdekt. Dit laatste geschiedde in 1880 door LAVERAN, wat dus een bevestiging vormde van de door BINZ reeds verdedigde theorie.

LAVERAN's pogingen om nu ook direct de werking van kinine op malaria-plasmodiën in vitro aan te toonen, hadden geen overtuigend resultaat. Evenmin geheel duidelijk waren de uitkomsten die BACCELLI verkreeg door intraveneuze inspuiting van kinine bij patiënten. Wel verdwenen de plasmodiën uit het bloed, doch van een directe werking der kinine op de parasieten werd niet veel waargenomen.

¹⁾ Betreffende literatuur zie alphabetische literatuurlijst.

De klassieke proeven van GOLGI (1892) toonden overtuigend aan, dat directe werking van de kinine op de ongeslachtelijke vormen van de malariaplasmodiën bestond en wel het sterkst op de vrij in het plasma aanwezige merozoïten, daarna op de oudere endoglobulaire vormen, het zwakst op de jonge endoglobulaire vormen. Volgens de opvatting van GOLGI vormt het roode bloedlichaampje een beschermende laag om het plasmodium, deze bescherming is des te geringer naarmate het bloedlichaampje meer door het plasmodium beschadigd is.

De opvatting van GOLGI — door latere onderzoekers meer of minder sterk ondersteund — is dus, *dat het roode bloedlichaampje moeilijk kinine opneemt* en daardoor het plasmodium beschermt.

Een geheel andere hypothese heeft MORGENROTH voor ongeveer 20 jaren verdedigd. Hij is hierop nooit teruggekomen, waarschijnlijk heeft hij niet aan deze hypothese vastgehouden. Op grond van de meening, *dat in de roode bloedlichaampjes meer kinine overging dan in het plasma*, wees MORGENROTH op de mogelijkheid, dat de uitgezwermde jonge vormen niet in staat zouden zijn om in nieuwe bloedlichaampjes binnen te dringen en daardoor gedoemd waren in het plasma van honger te sterven.

Hier staan dus twee opvattingen tegenover elkaar. GOLGI meent, dat de roode bloedlichaampjes weinig kinine opnemen en daardoor de malaria-verwekkers beschermen; MORGENROTH meent dat de roode bloedlichaampjes juist veel kinine opnemen, doch dat de

kinine geen direct vergift voor de plasmodiën is, doch op deze slechts een negatief chemotactische invloed uitoefent.

Zooals wij nog zullen zien, vinden beide opvattingen steun bij schrijvers die in plasma en bloedlichaampjes de kinineconcentratie hebben bepaald; in hoofdstuk IV zullen wij bespreken, waarop deze verschillende uitkomsten berusten.

In beide theoriën is echter het primaire, dat om een werking op de malaria-verwekkers te kunnen uitoefenen, de kinine eerst in het bloed aanwezig moet zijn.

Tegenwoordig is de meest aangenomen theorie over de werking van chemotherapeutica op de parasieten van dierlijken aard (protozoën) deze, dat door het chemotherapeuticum een directe werking op de parasieten wordt uitgeoefend en dat de hierdoor aangetaste microorganismen door deelen van de gastheer verder worden aangevallen en overwonnen. Deze theorie, hoeveel er ook voor te zeggen valt, is nog niet bewezen, zelfs voor geen enkel microorganisme en geen enkel chemotherapeuticum. Doch dit behoort niet tot de vraagstukken welke wij in dit proefschrift hebben ter hand genomen.

Wij willen er thans slechts op wijzen, dat in elk geval als eerste gebeuren een directe werking van het therapeuticum (in casu kinine) op het microorganisme (in casu het malariaplasmodium) wordt aangenomen. Aangezien het laatste zich in het bloed bevindt, zal het belangrijkste zijn, dat ook de kinine in het bloed ver-

schijnt. Voor een rationeele therapie moeten wij ons dus de vraag stellen *hoe snel en in welke mate wordt kinine in het bloed opgenomen bij toediening langs verschillende wegen*. De beantwoording van deze vraag kan ook voor de therapie van andere ziekten van beteekenis zijn, al kunnen zich daarbij ook vragen omtrent het binnendringen van kinine in organen voordoen. Wij denken hier bijv. aan de voorkeur voor de intramusculaire inspuiting die vele medici aan den dag leggen bij de behandeling van ziekten als longontsteking en roodvonk met kinine. Het kan mogelijk zijn dat het onderzoek naar de kininespiegel in het bloed na toediening door de mond in vergelijking met die na toediening door inspuiting in de spieren, hiervoor een rationeele verklaring zou kunnen geven.

HOOFDSTUK I.

OVERZICHT VAN DE METHODEN VOOR DE
BEPALING EN EXTRACTIE VAN KININE
IN BLOED.

Bij de bestudeering van de literatuur over de kininespiegel in het bloed na toediening van kininepreparaten, trekt het de aandacht, dat iedere onderzoeker van dit onderwerp weer begonnen is met het uitwerken eener nieuwe analyse-methode. Het blijkt n.l. dat de concentraties van de kinine in het bloed van de met dit alkaloïde behandelde menschen en proefdieren zeer klein zijn; zij liggen beneden de 10γ per cm^3 . Men heeft bij deze concentraties reeds zeer snel hoge procentueele afwijkingen, te wijten aan de groote foutenbronnen die ieder onderdeel der gevolgde werkmethode mee kan brengen.

Het uitwerken van een analysemethode is te splitsen in twee deelen:

A. De methode ter bepaling van de kinine.

B. De methode ter extractie van het alkaloïde uit bloed en wel zoodanig, dat de uitgewerkte bepalingmethode hierna te gebruiken is.

A. DE BEPALINGSMETHODEN.

De bepalingsmethoden die toegepast zijn kunnen wij in drie groepen verdeelen:

1. chemische methoden.

2. optische methoden.
 3. biochemische methoden.
1. Chemische methoden.

Deze berusten op de bepaling van de mindere of meerdere opalescentie, die ontstaat na toevoeging van een alkaloïde-reagens bij een kinineoplossing. De intensiteit dezer opalescentie zal bij gelijke dispersiteitsgraad evenredig zijn met de concentratie van het alkaloïde. Een der gevoeligste reagentia hiervoor is het kaliumkwikzilverjodide. GIEMSA was de eerste onderzoeker die met dit reagens de kinineconcentratie in het bloed bij honden heeft nagegaan. In de samenstelling waarin het door deze auteur gebruikt is, wordt het dan ook „Giemsa reagens” ¹⁾ genoemd.

De manier van bepaling die de meeste onderzoekers volgden bestond hierin, dat men de opalescentie der onbekende oplossingen vergeleek met die van bekende concentratie, of dat men de te onderzoeken vloeistof met water verdunde tot het toevoegen van het reagens geen opalescentie meer gaf.

Met het Giemsa-reagens hebben de volgende auteurs het kininegehalte van het bloed bepaald:

GIEMSA 1908, CAHN-BRONNER 1919, BOECKER 1920, AKASHI 1923, TCHAPKEWITCH 1925, ROY 1926, SVEDSKII 1927.

Het kaliumkwikjodide geeft een opalescentie tot in een verdunning van 1 : 200.000. Volgens sommige auteurs, o.a. BOECKER en STERKIN krijgt men nog een

¹⁾ 27 g HgCl₂ in 1500 g aqua dest., 100 g KJ in 500 g aqua dest., 20 g ijsazijn.

positieve reactie bij een verdunning van 1 : 400.000. Het positief uitvallen der reactie bij deze verdunning hangt volgens STERKIN echter van nog onbekende factoren af. Hij kon bij genoemde concentratie slechts in 50% der gevallen een opalescentie waarnemen. In de onzekerheid over de gevoeligheid kunnen wij reeds een bezwaar zien tegen de methoden, welke de graad van verdunning bepalen waarbij nog opalescentie optreedt, zooals BOECKER, SVEDSKII en TCHAPKEWITCH dit bij hunne onderzoekingen toepasten.

STERKIN en HELFGAT onderzoeken verder het reagens op zijn geschiktheid een stabiele en tevens reproduceerbare opalescentie te geven. Wat betreft de reproduceerbaarheid geven zij een afwijking aan, welke ligt tusschen +16% en —35%, terwijl de sterkte der opalescentie in verband met de concentratie een afwijking blijkt te hebben van gemiddeld 40%. Hieruit volgt dat deze methode voor nephelometrische kininebepalingen niet bijzonder geschikt is. Maar bovendien is een concentratie van 1 : 400.000 nog vrij hoog. Bij toediening van normale hoeveelheden kinine ligt deze concentratie slechts weinig beneden de maximale concentratie, welke in het bloed bereikt wordt. Wil men nu toch op deze manier de concentratie bepalen, dan moet men van grootere hoeveelheden bloed uitgaan en de kinine tenslotte in een kleiner volume oplosmiddel oplossen. Dit heeft het bezwaar dat men geen reeks bepalingen bij eenzelfde proefdier kan doen.

RAMSDEN, LIPKIN en WHITLEY publiceeren in 1918 uitvoerig een bepalingsmethode, waarbij zij het reagens

van TANRET¹⁾ gebruiken. De gevoeligheid der reactie kunnen zij aanmerkelijk verhoogen door de kinine op te lossen in een verzadigde ammoniumsulfaatoplossing. Zij vergelijken de verkregen troebeling met die, welke ontstaat na toevoeging van het reagens aan verzadigde ammoniumsulfaatoplossingen met een kininegehalte van 2, 4, 6, 8 en 10 γ per cm^3 . Door verdere bepaling in de nephelometer kunnen zij dan de meer nauwkeurige concentratie vinden. De beste resultaten worden verkregen bij een concentratie van 3—5 γ per cm^3 , met een gemiddelde fout van 3%. Als bepalingsmethode voor de lage alkaloïdeconcentraties schijnt deze methode dus wel geschikt.

GIBBS (1928) volgt dezelfde bepalingsmethode bij zijn onderzoek. ROY (1926) maakt ook gebruik van het gunstig effect welk een verzadigde ammoniumsulfaatoplossing als oplosmiddel voor het alkaloïde heeft. Echter als reagens neemt hij een gewijzigd WAGNER-reagens, n.l. een 1/100 N. jodiumoplossing in 1/10 N. zoutzuur. Door het zoutzure milieu wordt de gevoeligheid van het Wagner-reagens verhoogd. Hij vergelijkt de roodbruine troebeling, welke ontstaat na toevoeging van de jodiumoplossing bij de te onderzoeken oplossing met die, welke ontstaat bij een reeks standaardoplossingen en kan aldus tusschen 45 en 30 γ in 5 cm^3 een verschil van 2 γ bepalen en tusschen 30 en 1 γ een verschil van 1 γ .

VEDDER en MASEN (1930) merken op dat voor dit doel een groote reeks vergelijkende bepalingen noodig

¹⁾ 1.35 g HgCl_2 in 75 cm^3 aqua dest., 5 g KJ in 20 cm^3 aqua dest.

is en dat, daar de troebeling niet erg stabiel is, op deze manier slechts één onbekende telkens met één reeks standaardbepalingen vergeleken kan worden. De geringe stabiliteit verbeteren deze onderzoekers door Arabische gom toe te voegen. Men krijgt dan in plaats van het bruine neerslag een heldere bruine oplossing, waarvan de kleursterkte voldoende evenredig is met de concentratie, zoodat deze in een Dubosq-colorimeter te bepalen is.

Nog betere resultaten verkrijgen zij wanneer het WAGNER-reagens vervangen wordt door een oplossing van kaliumbismuthjodide; als oplosmiddel voor de kinine wordt dan een 2 N. zwavelzure oplossing gebruikt, welke verzadigd is met zinksulfaat en tenslotte wordt weer Arabische gom toegevoegd. Zij kunnen dan concentraties tusschen 2 en 0.2 γ per cm^3 met een nauwkeurigheid van 0.2 γ bepalen. Ook met 10 procentig silicowolfraamzuur als reagens hebben zij goede resultaten verkregen door de troebeling nephelometrisch met die van de standaardoplossingen te vergelijken.

Volledigheidshalve noemen wij de onderzoekingen van HALBERKANN (1919) en van AKASHI (1923) welke voor hun proeven het alkaloïde gewichtsanalytisch bepaalden door het als kinine te wegen. Tenslotte worde nog vermeld de titrimetrische methode van HATCHER en WEISS (1926) welke berust op de ontkleuring van broomwater door het vermogen van kinine broom te addeeren. Hiervoor is echter minstens 1 mg kinine per 5 cm^3 noodig.

2. Optische methoden.

De optische methoden berusten op de vergelijking van het fluorescentieverschijnsel dat oplossingen van kininesulfaat vertoonen, indien zij met ultraviolet licht bestraald worden. Deze fluorescentie maakt het aantoonen van kinine tot in een verdunning van 1 : 50.000.000 mogelijk. De toepassing van deze inderdaad zeer gevoelige methode wordt echter bemoeilijkt door de groote storende invloed van verontreinigingen op het fluorescentieverschijnsel.

DENIGÈS (1903) bepaalde reeds op deze manier het kininegehalte van bloed en van urine. Hij vergeleek de door extractie verkregen kinineoplossingen bij het licht van een brandende magnesiumband. Ook HARTMANN en ZILA (1918) onderzochten de concentratie van kinine in bloed volgens deze methode. Ofschoon hun resultaten in vele handboeken worden aangehaald, kan men echter geen beschrijving van hun bij de bepaling gebruikte opstelling vinden. Vele auteurs hebben vervolgens de eigenschap der fluorescentiestraling slechts gebruikt als schatting voor het meer of minder aanwezig zijn van kinine.

PANTSCHENKOW en KIRSTNER (1920) vergeleken voor quantitative doeleinden de onbekende kininesulfaatoplossing met een reeks standaardoplossingen. Zij hielden de oplossingen, welke zich in reageerbuisen bevonden, onder een kwartslamp. De gevoeligheid bereikte dan haar grens bij 1 : 2.000.000. Wij kunnen hier echter nog niet van een nauwkeurige methode

spreken. De concentraties van hun standaardreeks klimmen met 50% op, d.w.z. dat dit ten naastenbij hun proeffout is.

BINET en FABRE (1926) maakten gebruik van een methode, waarbij zij met behulp van de fotografische plaat de sterkte der fluorescentiestraling — opgewekt met licht van een bepaalde golflengte — vergeleken.

Ook zij beschrijven geen nauwkeurige opstelling en geven geen waarden voor hun foutengrenzen aan. Hun publicatie houdt een afbeelding in van een aldus verkregen fotografische plaat. Daarop is het verschil tussen de oplossingen, welke een concentratie hebben van 1 : 10.000 en 1 : 25.000 niet zeer duidelijk. Bij de hierbij gebruikte belichtingstijd heeft de oplossing met een concentratie 1 : 50.000 reeds geen effect meer op de plaat. Als bepalingswijze zal deze methode, wil zij voldoende nauwkeurig zijn, ook zeer omslachtig zijn.

3. Biochemische methoden.

Om het kininegehalte in het bloed te bepalen, vermeldt MORGENROTH (1918) een methode welke berust op de anaesthetische werking van kinine op de cornea van het konijn. De fout bij deze bepaling is zooals hij zelf, wellicht nog wat optimistisch, aangeeft 25%.

RETZLAFF (1921) maakt gebruik van de remmende werking, welke kinine heeft op de groei van *Paramecium caudatum*. Deze werking is het sterkst bij een concentratie van 1 : 200.000 tot 1 : 220.000. SCHNABEL (1921) heeft ook onderzoekingen over kinine gedaan. Hij gebruikt de door hem voor optochine toegepaste

bepalingsmethode. Zij berust op de eigenschap van het optochine, de reduceerende werking van pneumococ-
cen op methyleenblauw te beïnvloeden.

RONA en BLOCH (1921) hebben de ferment-vergifti-
gende werking van kinine op de splitsing van tributyr-
ine door serumlipase toegepast. Uit het verschil der
reactieconstanten, die zij stalagmometrisch bepalen
voor en na het toevoegen van kinine, kunnen zij de
kinineconcentratie berekenen. Deze methode is geschikt
om een concentratie van 2γ in 10 cm^3 vloeistof te
bepalen.

B. DE EXTRACTIEMETHODEN.

Ook aan methoden om kinine uit bloed en organen
te isoleren heeft het niet ontbroken. Als extractie-
vloeistoffen voor kinine zijn gebruikt alcohol, aether
en chloroform. Deze oplosmiddelen zullen behalve
kinine, natuurlijk ook andere stoffen uit het bloed
extraheeren. Om de bovengenoemde chemische bepa-
lingsmethoden toe te passen, moet men deze stoffen
echter zorgvuldig verwijderen, daar de reagentia ook
hiermede reageeren en neerslagen vormen. Bij de flu-
orescentiemetingen hebben deze stoffen een nog groo-
tere storende invloed, zooals wij later zullen zien.

Alvorens de isolatiemethoden te bespreken, moeten
wij er de aandacht op vestigen, dat kinine en haar
zouten zeer gemakkelijk aan verschillende oppervlak-
ten geadsorbeerd worden, zooals bijv. filtreerpapier,
neerslagen en kool. Bij vele der gebruikte methoden
wordt echter het vormen van neerslagen of herhaald

filtreren niet vermeden. Het verlies tengevolge van het groote adsorptievermogen van kinine zal dus vooral bij de kleine hoeveelheden waarmede men hier te doen heeft, een aanzienlijk percentage kunnen bedragen.

De wijzen ter extractie van kinine uit het bloed vallen te onderscheiden in:

1. Extractie uit de gedroogde stof.
2. Extractie uit de bloedoplossing
 - a. met onteiwitten,
 - b. zonder onteiwitten.

1. Droge extractie.

Men laat hiertoe de te extraheeren vloeistof opdrogen op stoffen die de oppervlakte vergrooten, zooals natriumsulfaat, natriumbicarbonaat of zand. Ook kan men voor dit doel het bloed over asbest laten uitvloeien. De gedroogde massa wordt dan na fijnpoederen, bijv. in een soxhlettoestel, geëxtraheerd.

VEDDER en MASEN passen het indrogen op asbest bij hun methode toe. Volgens dezen zou het bloed voldoende alkalisch zijn om de kininebase met aether te extraheeren zonder voorafgaande toevoeging van alkali. Zij pipetteeren 5 cm³ bloed op asbest en extraheeren dit gedurende 2 uren in een voor dit doel geconstrueerd extractietoestel, met aether. Na verdampen van de aether wordt het residu in 5 cm³ 0.5 N. zoutzuur opgelost en gefiltreerd door een speciaal filter; het is dan voor hun concentratiebepaling geschikt.

JOHN (1932) heeft dit onderzoek over de kinineconcentratie in het bloed van met kinine behandelde personen volgens deze methode voortgezet.

PANTSCHENKOW en KIRSTNER, die volgens de fluorescentiemethode bepalingen verricht hebben, beschrijven een wijze van extractie, die bij toepassing op kininevrij bloed een oplossing geeft welke niet zou fluoresceeren. Aan deze eisch is zeer lastig te voldoen en dit is dan ook wel een der hoofdredenen, waarom de fluorescentiemethode zoo weinig door de verschillende onderzoekers voor quantitative doeleinden gebruikt is. De genoemde auteurs gaan als volgt te werk. Zij mengen het kininehoudend bloed met een voldoende hoeveelheid natriumbicarbonaat en laten dit mengsel op een waterbad gedurende 1 tot 1½ uur indrogen. Na fijnpoederen wordt dan 24 uur in een soxhlettoestel met aether geëxtraheerd, de aether verdampt en het residu in 1 tot 2 cm³ zwavelzuur opgenomen. Deze oplossing wordt dan op de hierboven genoemde manier onder de kwiklamp vergeleken met de standaardoplossingen.

STERKIN en HELFGAT beschrijven een zeer omslachtige methode, waarbij zij het bloed op natriumsulfaat laten indrogen. Deze massa wordt 2 maal gedurende 24 uur met alcohol geëxtraheerd, vervolgens 3 maal 24 uur met aether en dan nog eens 24 uur met 0.01 N. zoutzuur. De filtraten worden ingedampt, het residu in zoutzuur opgenomen, gefiltreerd en het filtraat drooggedampt. De achterblijvende rest wordt in chloroform opgenomen, gefiltreerd en de chloroform weer

verdampt. Het residu is nu na opnemen in zoutzuur voor bepaling van het kininegehalte geschikt.

2. Extractie uit de bloedoplossing.

a. Met onteiwitten.

Het nadeel van de methoden welke op extractie van het bloed na onteiwitten berusten, is het zeer volumineuze neerslag dat hierbij gevormd wordt. Met de eiwitten zal ook een aanzienlijk gedeelte van het alkaloïde neerslaan en herhaald uitwasschen is nu zeker een vereischte.

Verder is bij de extractie uit bloedoplossingen herhaald schudden noodig, waarbij de sterke emulsievorming veel ongemak oplevert.

Als extractiemethode, waarbij onteiwitten van het bloed plaats heeft, kunnen wij de bekende methode voor alkaloïde-extractie van STAS—OTTO—OGIER noemen.

Van deze methode hebben HARTMANN en ZILA (1918) en ook FABRE (1926) gebruik gemaakt. De onderzoekers volstaan met het noemen dezer extractiemethode. Controleproeven of opgaven over verliezen worden niet aangehaald. In hoeverre kininevrij bloed na de bewerking het fluorescentieverschijnsel, waarop hun bepaling berust, vertoont, is eveneens bijna niet aangeroerd.

Een andere reeks auteurs hebben met ammoniumsulfaat onteiwit, zoals dit het eerst is beschreven door RAMSDEN en LIPKIN (1918). ACTON, KING, CHOPRA

(1921), ROY (1926) en GIBBS (1926) hebben van deze methode gebruik gemaakt. Zij komt op het volgende neer:

5 cm³ bloed worden verdund met 5 cm³ water. Hierbij worden 20 cm³ eener verzadigde ammoniumsulfaatoplossing die 0.6% zwavelzuur bevat en nog 5 g vast ammoniumsulfaat gevoegd. Dit mengsel wordt dan gekookt en het gevormde neerslag door een Gooch-kroes afgefiltreerd. Het neerslag wordt weer met 20 cm³ aangezuurde ammoniumsulfaatoplossing behandeld en afgefiltreerd. Deze bewerking wordt 10 maal herhaald. Bij de verzamelde filtraten (\pm 200 cm³) wordt 10 cm³ ammonia gevoegd en nu met respectievelijk, 20, 15, 15 en 10 cm³ aether uitgetrokken. Na verdampen van de aether wordt het residu in 10 cm³ verzadigde ammoniumsulfaatoplossing opgenomen. Volgens de opgave van RAMSDEN en LIPKIN is de fout hierbij 4%. Toch kunnen ACTON en KING en ook GIBBS na toevoegen van 50 γ kinine bij bloed hoogstens 75% ervan terugvinden. Het verlies wordt aan het onteiwitten toegeschreven, want bij de extractie van een waterige kinineoplossing vinden zij op deze manier 95% terug.

b. Zonder onteiwitten.

Nu gaan wij over tot het bespreken van een veel toegepaste methode n.l. de directe extractie van kinine uit het bloed, nadat hiervan een homogene vloeistof is gemaakt.

Het eenvoudigste voorschrift is dat van GIEMSA en

SCHAUMANN, dat echter o.a. volgens RETZLAFF een verlies van 25% geeft. De onderzoekers gaan voor serum als volgt te werk: het serum wordt alkalisch gemaakt en met aether uitgetrokken. De aether wordt verdampt, de achterblijvende rest in verdund zwavelzuur opgenomen en gefiltreerd. In het filtraat wordt dan met het Giemsa-reagens het kininegehalte bepaald. Volgens vele auteurs krijgt men echter op deze manier ook bij kininevrij bloed een duidelijke opalescentie.

HALBERKANN (1919) en AKASHI (1921) geven een beter uitgewerkte methode aan, welke zij bij hun gewichtsanalytische bepalingen gebruikten. Bij 40 cm³ bloed worden 50 cm³ water en 10 cm³ 15% natronloog gevoegd. Dit mengsel wordt 3 maal met 100 cm³ aether in een scheidrechtter uitgetrokken. De aether wordt gefiltreerd, vervolgens 2 maal met 20 cm³ 0.1 N. zoutzuur en nog 1 maal met 15 cm³ water behandeld. Deze oplossingen worden dan nog eens met aether behandeld en nu na alkalisch gemaakt te zijn, de kinine met aether uitgeschud. De aetherische oplossing wordt met natriumsulfaat gedroogd, gefiltreerd en verdampt. Het residu wordt bij 110° gedroogd en gewogen.

AKASHI vindt op deze manier na toevoeging van bijv. 0.2 gr kinine 96% terug. BOECKER gebruikt een dergelijke methode, maar past ze toe bij kleinere hoeveelheden kinine.

Als laatste noemen wij het werk van HATCHER en WEISS, die chloroform-extractie toepassen. Ook GIBBS verwacht van chloroform, ofschoon hij deze zelf niet gebruikt, als extractiemiddel goede resultaten. De

werkwijze van HATCHER en WEISS is als volgt: 100 cm³ bloed wordt met 10 cm³ 30% natronloog verwarmd, tot een homogene oplossing ontstaan is. Deze wordt dan enkele malen met chloroform behandeld. Het residu, na verdampen van de chloroform, wordt in verdund zwavelzuur opgenomen, alkalisch gemaakt en de kinine weer met chloroform uitgetrokken. Deze wordt dan afgedestilleerd en het alkaloïdegehalte door broomtitratie bepaald. Dat kinine door het verwarmen met de sterke loog niet ontleed wordt, controleeren zij door de volgende proef: 50mg kininesulfaat opgelost in 10 cm³ 40% loog worden gedurende 1 uur op het waterbad verwarmd. Zij vinden dan de toegevoegde hoeveelheid kinine bijna quantitatief terug.

Uit deze opsomming der extractiemethoden blijkt, dat de onderzoekers hierin een moeilijke taak hebben gezien, waarvan de uitwerking zeer tijdrovend is. Het is dan ook een voordeel der meeste biologische bepalingsmethoden, dat deze mogelijk zijn zonder de kinine uit het bloed te isoleren.

HOOFDSTUK II.

DE BIJ DIT ONDERZOEK TOEGEPASTE
METHODEN.

1. DE BEPALINGSMETHODE.

Teneinde de concentratie van een oplossing van kininesulfaat te bepalen, werd gebruik gemaakt van het fluorescentieverschijnsel dat deze op zichzelf kleurloze oplossing geeft, indien er ultraviolet licht invalt. Het blauwe fluorescentielicht van zulk een oplossing is nog tot in een verdunning van 1 : 50.000.000 duidelijk waar te nemen.¹⁾ De betrekking welke tusschen de intensiteit van het fluorescentielicht en de concentratie bestaat, heeft ENNEKING experimenteel nagegaan. Hij heeft zijn lichtmetingen o.a. uitgevoerd met de Pulfrich-photometer, en gebruikt hierbij kininesulfaat oplossingen in 0.1 N. zwavelzuur. Beneden een concentratie van 100 γ per cm^3 vindt hij een lineair verband tusschen de intensiteit der fluorescentie en de concentratie. Voor ons doel is het niet noodig hier verder op in te gaan. Voldoende is het, te weten dat in het bepalingengebied beneden de 10 γ per cm^3 , met iedere bepaalde concentratie — onder overigens gelijke omstandigheden — een bepaalde intensiteit van het fluorescentielicht overeenkomt.

Wij hebben, om de intensiteit van de fluorescentie te bepalen, een photometrische methode gebruikt, waarvoor de benodigde opstelling grootendeels analoog is aan een opstelling welke op het Fysisch Labo-

¹⁾ Samenvattende literatuur: P. Danckwortt „Lumineszenzanalyse“ 1934 Leipzig Akad. Verlagsges. m. b. H.

ratorium te Utrecht in gebruik is. De methode berust op de visueele vergelijking van de intensiteiten van het fluorescentielicht en het licht eener standaardlichtbron.

Voor deze vergelijking wordt uitgegaan van de eigenschap van ons oog, om met groote nauwkeurigheid een verschil in lichtintensiteit te kunnen vaststellen, indien stralen — die een gelijke kleurindruk geven — op twee vlakjes vallen waarvan het een het andere geheel omringt. Om dit in ons geval toe te passen, laten wij het fluorescentielicht uit een opening treden die omringd is door een wit vlakje, dat beschenen wordt door het licht van een vergelijkings-lichtbron. Dit licht moet ter vergelijking dezelfde kleurindruk geven als het fluorescentielicht. De stralen van de standaardlichtbron moeten dus door een bepaald kleurenfilter gaan.

Om volgens dit principe een vergelijking der lichtintensiteiten te kunnen uitvoeren, wordt gebruik gemaakt van een horizontaal liggend cilindervormig cuvetje, waarin zich de oplossing van kininesulfaat bevindt. Het glazen cuvetje is aan de buitenzijde wit geverfd. Aan de vlakke voorzijde is door wegkrabben der verf een venster gemaakt. Door een ronde opening aan de bovenzijde valt het ultraviolette licht in de oplossing en brengt deze tot fluorescentie. Het fluorescentielicht treedt dan door het venster naar buiten. Door de terugkaatsing op de wit geverfde zijwanden wordt de intensiteit van het uittredende fluorescentielicht vergroot. Op het witte voorvlak valt nu verder het licht van de standaardlichtbron. De lichtstralen zullen door

het venster in de oplossing dringen en door de witte zijwanden van het cuvetje diffuus verstrooid worden.

Indien enkel de standaardlamp brandt, zien wij het venster dan ook donker afgeteekend op het lichte voorvlak. Omgekeerd moet, wanneer zich in het cuvetje een oplossing van kininesulfaat bevindt en de ultravioletlamp alleen brandt, enkel het venster helder afgeteekend zijn op het donkere voorvlak. Om dit effect te bereiken moet dus op het voorvlak alleen licht van het standaardlampje vallen en moeten de zichtbare stralen der ultravioletlamp zooveel mogelijk afgeschermd zijn.

Indien aan de voorgaande eischen voldaan is, zien wij op het voorvlak de beide lichtsoorten naast elkaar. Naargelang de standaardlamp verder van het cuvetje af staat, zal de intensiteit van het licht ervan op het voorvlak minder groot zijn. Bij een bepaalde stand van de standaardlamp zal de intensiteit gelijk zijn aan de intensiteit van het fluorescentielicht in het venster en ziet men dus het voorvlak als één gelijkmatig verlicht vlak. De beoordeeling hiervan mag echter niet afhankelijk zijn van de kijkrichting naar het voorvlak. Hieraan o.a. voldoet de samenstelling der witte verf die op het cuvetje is aangebracht. ¹⁾

¹⁾ De samenstelling der witte verf is als volgt:

4	gewichtsdeelen	zinkoxyde
1	„	spiritus
4	„	celluloselak

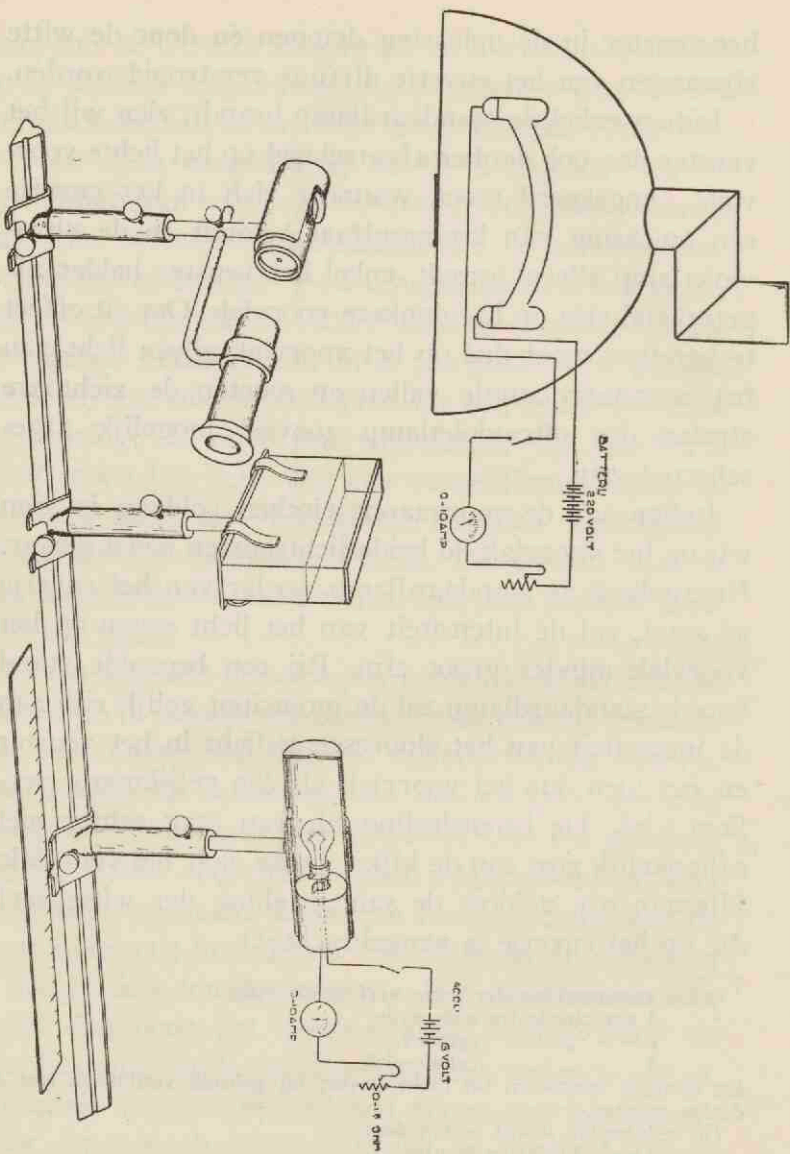
het mengsel aanroeren tot dikke pasta; bij gebruik verdunnen met 2 deelen spiritus.

De celluloselak wordt bereid door

15	gewichtsdeelen	kamfer
100	„	spiritus
10	„	kleurlooze cellulose

te roeren tot alles is opgelost.

FIG. 1.



Na deze uiteenzetting van het principe der bepalingsmethode kunnen wij overgaan tot de beschrijving van de opstelling, welke gebruikt wordt en die natuurlijk in een donkere kamer geplaatst is. De opstelling (fig. I) bestaat uit de volgende onderdeelen:

- A. De bron van het ultraviolette licht.
- B. Het cuvetje voor de oplossing van kininesulfaat.
- C. De standaardlichtbron.
- D. Het filter voor dit standaardlicht.
- E. De kijker.

A. *De Bron van het ultraviolette licht.*

Wij hebben hiervoor een in het laboratorium aanwezige Hanauer kwartslamp van 220 volt gelijkstroom gebruikt. Aan deze kunstmatige hoogtezon zijn, om de lamp voor ons doel geschikt te maken, eenige veranderingen aangebracht. Het uittreden van het zichtbare licht moet n.l. volkomen verhinderd worden. Te dien einde wordt de reflectorkap aan de onderzijde geheel afgesloten door een koperen plaat, waarin een opening is van 3×5 cm; hierin wordt een lichtfilter voor het ultraviolette licht bevestigd. Voor het afvoeren van de groote hoeveelheid warmte, die bij het branden van de lamp vrij komt, is aan de bovenzijde van de kap een dubbele elleboogpijp aangebracht. Hierdoor is na verloop van een kwartier de ruimte onder de reflectorkap op een constante temperatuur gekomen. Dit o.a. heeft tot gevolg dat de intensiteit van het licht voldoende constant blijft en dat de lamp niet uitgaat door te hooge temperatuur onder de kap.

Om een constante intensiteit van het ultraviolette licht te verkrijgen, moet verder de lamp met een constante stroombron gevoed worden. Hiertoe wordt een accumulatorenbatterij van 220 volt gebruikt en wordt een regelbare weerstand van 24 ohm in serie tusschengeschakeld. De stroomsterkte wordt op een ampèremeter, die tot 10 ampère aanwijst en waarop schommelingen van 0.1 ampère goed zijn waar te nemen, afgelezen. Bij het inschakelen van de kwiklamp is de stroomsterkte ongeveer 7 ampère; deze daalt snel en na ongeveer 15 minuten wijst de ampèremeter constant 2.7 ampère aan.

Als filter voor het ultraviolette licht wordt een uviol-glasfilter gebruikt, dat in hoofdzaak de stralen van het golflengtegebied van 3100 tot 3600 Å° doorlaat. Dit glas is bij SCHOTT (Jena) verkrijgbaar onder de naam uviolglas U.G.2. Het heeft een dikte van 4 mm. De lamp is zoo opgesteld, dat het midden van de kwartsbuis zich 30 cm boven het cuvetje bevindt. Het glasfilter is op 10 cm afstand van de kwiklamp aangebracht.

B. *Het cuvetje voor de kininesulfaatoplossingen.*

Over dit glazen cuvetje hebben wij reeds het een en ander gezegd. De juiste vorm is duidelijk op de teekening te zien. Het is 4½ cm lang, heeft een doorsnede van 2 cm en een inhoud van 9 cm³. De zijwand steekt 4 mm buiten het voorvlak uit. Dit laatste bestaat uit een glazen plaatje, dat geheel vlak aan de zijwand vastgesmolten is. De ronde opening van het cuvetje is

1.1 cm in doorsnede en heeft een opstaande rand.

Het bedekken van het cuvetje met een ondoorzichtige verflaag geschiedt, door het eenige malen te verven en telkens de aangebrachte verflaag goed te laten indrogen. Op het voorvlak wordt deze laag dan over een oppervlakte van 3×2 mm weggekrabd. Om een scherpe afteekening van het venster bij de belichting te verkrijgen moet ervoor gezorgd worden, dat het wegkrabben van de verf zoo geschiedt, dat de rand van de verflaag een scherpe hoek met het glasplaatje maakt.

Door het opstaande kraagje van de cuvettenopening is het mogelijk, deze telkens op dezelfde manier in de cuvettenhouder te plaatsen. De cuvettenhouder bestaat uit een stuk koperen buis, welke precies om het cuvetje past. Uit deze buis is een reep koper gesneden ter breedte van het opstaande kraagje. Hierdoor wordt het cuvetje na iedere vulling in dezelfde stand in de houder geschoven. De ruit, waarin de cuvettenhouder geklemd is, wordt vastgeschroefd op een rail en zoodanig opgesteld dat de lichtstralen van het standaardlicht onder een hoek van ongeveer 30° op het voorvlak van het cuvetje vallen.

C. *Het standaardlicht.*

Als vergelijkingslichtbron dient een gloeilamp van 6 volt, 40 watt welke met een accumulator van 6 volt gevoed wordt. De stroomsterkte waarmede het lampje brandt, moet gedurende de bepaling constant blijven. Om de regeling van deze stroomsterkte in de hand te

hebben, is een schuifweerstand van 1.5 ohm in de keten opgenomen en tevens een ampèremeter die tot 10 ampère aanwijst en een schaalverdeeling van 0.1 ampère heeft. Om de lamp niet aan een te sterke stroomstoot bloot te stellen, wordt bij het sluiten van de keten de weerstand geheel ingeschakeld en dan langzaam verminderd tot de stroomsterkte 5 ampère is. Na ongeveer 15 minuten blijft deze constant; de weerstand van de schakeling verandert dan niet meer, daar de temperatuur van het geheele systeem constant is geworden. Om tijdens de meting een verandering in de stroomsterkte uit te sluiten, moet er zorg voor gedragen worden, dat de accumulator steeds voldoende geladen is, de verbindingsdraden dik zijn en de contacten goed sluiten, daar dit alle bronnen zijn van veranderingen in de stroomsterkte. Wij constateerden dat een schommeling van 0.05 ampère reeds een goed merkbare verandering in de lichtintensiteit van het lampje gaf.

De lamp is gemonteerd in een cilindervormige metalen huls die van binnen dof zwart geverfd is. De huls heeft een doorsnede van 5 cm. Aan de voorzijde is zij afgesloten door een plaat waarin in het midden een ronde opening van 4.5 mm doorsnede is aangebracht. Het geheel wordt bevestigd op een ruit, die over een rail van 1 m lengte heen en weer kan geschoven worden. Aan deze ruit bevindt zich een wijzer die op een 50 cm lange lat — welke in millimeters verdeeld is — de stand van de lichtbron aangeeft. Een kleine opening aan de onderzijde van de huls laat een lichtbundel op de wijzer vallen, zoodat de stand gemakkelijk in het

donker kan afgelezen worden. Aan de achterzijde van de huls is nog een afgeschermd opening om de vrijkomende warmte naar buiten te laten treden.

D. Het filter voor het standaardlicht.

Het licht van de standaardlamp moet door een zoodanig filter gaan, dat de kleur op het voorvlak van het cuvetje gelijk is aan de kleur van het fluorescentielicht. Wij mengden hiertoe een oplossing van het paarsachtige pyrrolblauw en het groenachtige patentblauw in een cuvet van $3 \times 10 \times 10$ cm. Door telkens enkele druppels van de eene oplossing of van de andere toe te voegen, hebben wij het gewenschte resultaat bereikt. De cuvet wordt met een glazen plaat afgesloten. De kleur der oplossing is gedurende de geheele reeks van metingen niet veranderd.

E. De kijker.

Aan de houder van het cuvetje voor de kininesulfaatoplossingen is een kijker bevestigd, waardoor de stand van het oog bij iedere bepaling dezelfde is. Hij bestaat uit een kartonnen koker van 14 cm lengte, met een doorsnede van 3 cm. Aan de naar het cuvetje gekeerde zijde is een diafragma met een opening van 1.5 cm doorsnede bevestigd. De lengteas van de kijker valt samen met die van het cuvetje. Indien wij door de koker naar het cuvetje kijken, zien wij enkel het voorvlak. Ons oog bevindt zich dan op een afstand van 25 cm van het cuvetje, dus op de afstand van duidelijk zien.

Voor het meten zijn nu nog een reeks standaard-

oplossingen noodig. Voor het bereiden hiervan werd uitgegaan van een kininesulfaat 8 aq. dat 74.15% kinine bevatte. Dit was geanalyseerd volgens de methode aangegeven in de commentaar op de Nederlandse Pharmacopee Ed. V. De oplossingen werden gemaakt in 0.1 N. zwavelzuur en bevatten het volgende aantal γ per cm^3 : 8.0, 7.5, 7.0, 6.5, 6.0, 5.5, 5.0, 4.5, 4.0, 3.5, 3.2, 3.0, 2.7, 2.5, 2.3, 2.1, 2.0, 1.9, 1.8, 1.7, 1.6, 1.5, 1.4, 1.3, 1.2, 1.1, 1.0, 0.9, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5.

Deze oplossingen werden ongeveer iedere maand ververscht, daar zij aan bederf onderhevig zijn.

MEEÏMETHODE.

De vergelijking der lichtintensiteiten gaat in ons geval het gemakkelijkst wanneer de afstand van de lamp tot het cuvetje varieert tusschen de 80 en 40 cm; o.a. wordt ons oog dan het minst snel vermoeid. Indien wij de sterkten van de fluorescentie der standaardoplossingen onderling vergelijken, dan blijkt het verschil in intensiteit van het fluorescentielicht eener oplossing die bijv. 8 γ per cm^3 bevat en het licht eener oplossing die 1.5 γ per cm^3 bevat zoo groot te zijn, dat de standaardlamp in het laatste geval veel te ver weggeschoven moet worden om gelijke intensiteit op het voorvlak te krijgen. Wij kunnen echter ook de sterkte van het fluorescentielicht verzwakken of versterken. Immers door de stand van het cuvetje onder het uviolfilter te veranderen, verandert de intensiteit van het invallend ultraviolette licht en dus ook de intensiteit van het fluorescentielicht. Bij een stand loodrecht

onder het filter zal de fluorescentie-intensiteit het grootst zijn.

Moeten wij de lamp buiten het gebied tusschen 80 en 40 cm verschuiven, dan veranderen wij de stand van het cuvetje zoodanig dat de meting in het genoemde afstandgebied te verrichten is. Dit sluit in, dat de door ons gevolgde methode geen absolute, maar een vergelijkende methode is, waarbij bepaald wordt met welke bekende concentratie van kininesulfaat de onbekende oplossing overeenkomt. Dit is voor ons doel de geschiktste manier. Wij hebben er zodoende slechts voor te zorgen, dat bij één bepaalde serie metingen de factoren welke de lichtintensiteiten beïnvloeden, gelijk blijven.

Het verloop van de bepaling der concentratie eener oplossing van kininesulfaat is nu als volgt:

5 cm³ der onbekende oplossing worden in het cuvetje gepipetteerd. De standaardlamp wordt op een afstand van ongeveer 60 cm gesteld. Het cuvetje wordt nu door verschuiven van de cuvettenhouder dusdanig onder het ultraviolette licht geplaatst, dat de te vergelijken lichtintensiteiten op het voorvlak ongeveer even sterk zijn. Door schuiven van de standaardlamp wordt nu enkele malen op gelijkheid van intensiteit ingesteld. Voor eenzelfde oplossing liggen de verschillende instellingen niet verder dan 0.5 cm uit elkaar. Nadat de stand van de lamp genoteerd is, worden 5 cm³ van een standaardoplossing, die naar schatting ongeveer dezelfde concentratie heeft als de onbekende oplossing, in het cuvetje gepipetteerd en vervolgens wordt met

de standaardlamp weer op gelijkheid van intensiteit ingesteld. Na eenige oefening valt het niet moeilijk vast te stellen, welke der oplossingen uit de standaardreeks wij moeten gebruiken, temeer daar de eigenlijke kininebepalingen in bloed alle ongeveer in hetzelfde concentratiegebied liggen. Is op deze manier de stand van de lamp voor de oplossingen met de naast hoogere en met de naast lagere concentratie bepaald, dan kan hieruit door toepassing der kwadraten-wet de sterkte der onbekende oplossing berekend worden. Immers door de groote afstanden, welke wij bij onze bepalingen hebben, mag het standaardlicht als puntvormige lichtbron beschouwd worden. De lichtintensiteiten op het voorvlak zullen dus bij benadering omgekeerd evenredig zijn met de kwadraten der afstanden. Hiermede zijn dus ook de concentraties der oplossingen omgekeerd evenredig.

Thans volge een uitgewerkt voorbeeld van de bepaling eener oplossing met de onbekende concentratie X.

Op de beschreven manier vinden wij voor deze oplossing als lampafstand 75.0 cm. Voor de standaardoplossingen met de concentraties van 0.8 γ en 0.7 γ zijn deze afstanden respectievelijk 72.5 en 77.0 cm. Door toepassing van de kwadraten-wet is de concentratie van X nu te berekenen:

t.o.v.

$$0.7 \gamma \text{ per cm}^3; \quad 77.0^2 : 75.0^2 = X : 0.7; \quad X = 0.737 \gamma$$

$$0.8 \gamma \text{ per cm}^3; \quad 72.5^2 : 75.0^2 = X : 0.8; \quad X = 0.747 \gamma$$

Werkelijke waarde van X is 0.72 γ

Door toepassing van de kwadraten-wet is de af-

stand die wij voor de concentratie van 0.7 γ hadden moeten vinden ook te berekenen:

$$0.7 : 0.8 = 72.5^2 : a^2;$$

$$a = 77.5 \text{ cm}; \text{ gevonden } a = 77.0 \text{ cm.}$$

In dit verschil van 0.5 cm komt de instelfout tot uiting.

Het is ook mogelijk de onbekende concentratie door rechtlijnige interpolatie tusschen de afstanden 72.5 en 77.0 cm te berekenen; dit geeft dan voor X een waarde van 0.74⁴ γ . Uit de uitkomst welke wij op deze manier vinden blijkt, dat het gebruik van rechtlijnige interpolatie bij dergelijke kleine concentratieverschillen ($\pm 10\%$) en groote afstanden geoorloofd is. Wij pasten dan ook rechtlijnige interpolatie bij onze bepalingen geregeld toe.

Als toetsing der methode werden voor ons onbekende oplossingen onderzocht. Van oplossingen met een concentratie hooger dan 8 γ per cm^3 werden verdunningen gemaakt.

TABEL 1.

Aanwezige hoeveelheid γ per cm^3	Gevonden waarden γ per cm^3	Fout in %
27.0	26.7	-1.1
20.0	20.0	0
18.0	17.6	-2.2
10.0	10.0	0
7.50	7.36	-1.9
5.00	4.85	-3.0
3.30	3.14	-4.8
0.80	0.80	0
0.72	0.74	+2.8

Op deze manier kunnen wij dus de concentratie van een kininesulfaatoplossing met voldoende nauwkeurigheid bepalen n.l. met een fout van 2—3%; terwijl bij de concentraties beneden 2 γ per cm^3 de afwijking ongeveer 0.05 γ is.

De minimum hoeveelheid die wij met de door ons gebruikte opstelling kunnen bepalen bedraagt 0.5 γ per cm^3 of 1 : 2.000.000.

2. DE EXTRACTIEMETHODE.

De volgende taak was nu, een methode te vinden om de kinine zoo quantitatief mogelijk uit het bloed te isoleeren. Ons doel was een serie bepalingen bij ieder proefdier te doen. Dit sloot dus in, dat voor iedere extractie slechts een kleine hoeveelheid bloed beschikbaar was; tevens moest de extractie niet te veel tijd eischen om gelijktijdig de verschillende bloedmonsters te kunnen behandelen.

Zooals wij reeds in Hoofdstuk I opmerkten, waren door het groote adsorptievermogen van kinine en haar zouten de methoden van onteiwitten of droge extractie niet geschikt. Ook het schudden in een scheidrecter was minder gewenscht door de hinderlijke emulsievorming die hierbij optreedt en de groote hoeveelheid extractiemiddel die noodig is.

Het bleek ons, dat de gunstigste resultaten verkregen werden door van het bloed een homogene vloeistof te maken door er sterke loog aan toe te voegen en dit mengsel te verwarmen. Als extractiemiddel kozen wij chloroform, die vele voordeelen boven aether heeft o.a.

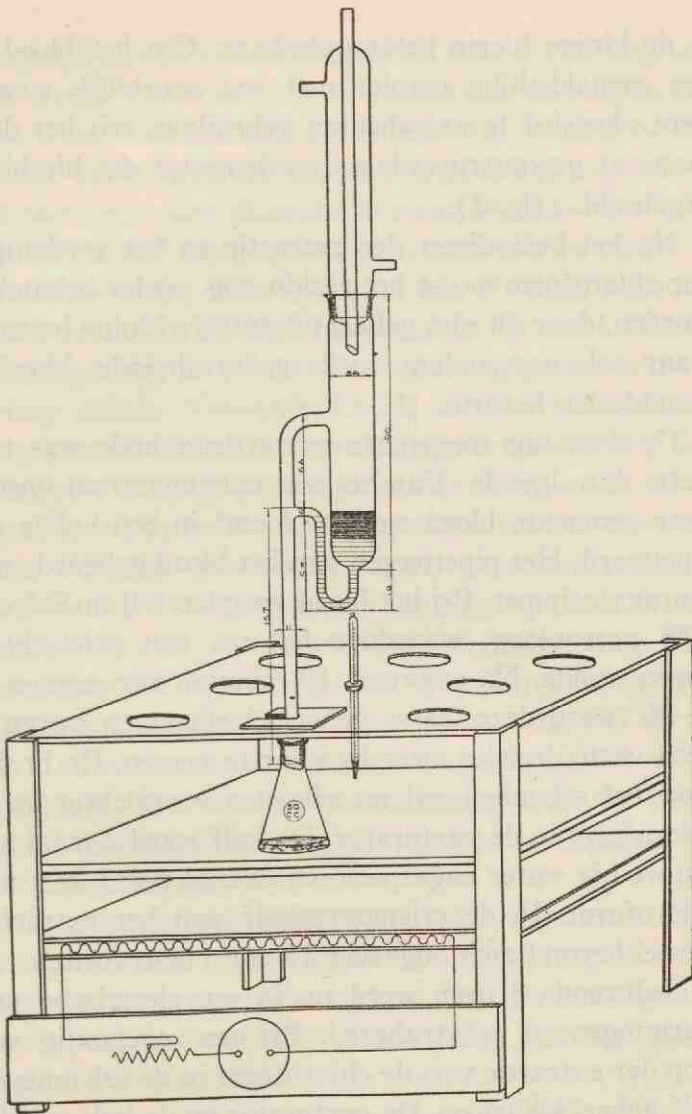


FIG. II.

Extractietoestel met Verwarmingsoven.

is de kinine hierin beter oplosbaar. Om het bloed op een gemakkelijke manier met een soortelijk zwaardere vloeistof te extraheeren gebruikten wij het door SCHOORL geconstrueerde extractietoestel, dat hierbij is afgebeeld. (fig. 2).

Na het beëindigen der extractie en het verdampen der chloroform moest het residu nog verder behandeld worden, daar dit niet geheel uit zuivere kinine bestond, maar ook nog andere mede geëxtraheerde bloedbestanddeelen bevatte.

De door ons toegepaste extractiemethode was ten slotte de volgende: Van het met natriumcitraat onstolbaar gemaakte bloed werden 5 cm^3 in een kolfje gepipetteerd. Het pipetteeren van het bloed gebeurde met een uitvloeipipet. Bij het bloed voegden wij nu 2.5 cm^3 30% natronloog, waardoor het tot een geleachtige massa stolde. Na ongeveer 10 minuten verwarmen op $\pm 80^\circ$ werd deze massa geheel vloeibaar en waren er geen vaste deeltjes meer in waar te nemen. De bruine vloeistof schonken wij na afkoelen voorzichtig op de chloroform in de perforator. De kolf werd 2 maal met een weinig water nagespoeld en daarna nog 1 keer met chloroform. In de erlenmeyer kolf van het extractietoestel bevond zich ongeveer 10 cm^3 chloroform.

Gedurende 3 uren werd nu in een electriche verwarmingsoven geëxtraheerd. Bij een regelmatig verloop der extractie was de chloroform in de erlenmeyer kolf geheel kleurloos. De perforator en de kolf werden uit de oven genomen; door scheefhouden van de perforator lieten wij de chloroform door de zijbuis zooveel

mogelijk in de erlenmeyerkolff vloeien, goten nog eens een weinig chloroform in de perforator en vingen deze dan weer in de kolff op. De chloroform werd door destillatie verwijderd tot het residu geheel droog was en dit niet meer naar chloroform rook. Bij deze rest voegden wij 2 cm^3 aether, zwenkten even om en pipetteerden er 5 cm^3 0.1 N. zwavelzuur bij. Na goed schudden werd de aether bij lage temperatuur op een kookplaat verdampt. Op de zwavelzure oplossing kwam een vetachtig vliesje. Teneinde dit uit de zwavelzure oplossing van de kinine te verwijderen, schudden wij deze met een weinig petroleumaether (Kp. 40° — 60°), waarna wij de kolff even lieten staan. Er vormden zich twee duidelijk gescheiden lagen: petroleumaether en zwavelzuur. De petroleumaether werd — door scheefhouden van de erlenmeyerkolff — voorzichtig afgeschonken. De bewerking met petroleumaether werd nog eens herhaald en tenslotte verdampten wij de nog na afschenken achtergebleven petroleumaether op de kookplaat. De zwavelzure oplossing was nu geheel helder en kleurloos, en geschikt voor de bepaling van het kininegehalte.

De geheele bewerking geschiedde dus in dezelfde erlenmeyerkolff. Het volume der toegevoegde 5 cm^3 zwavelzuur veranderde tijdens de behandeling niet, zoodat het kininegehalte hierin gelijk aan het gehalte in de 5 cm^3 bloed was.

Voor het verkrijgen van goede resultaten bij de fluorescentiemeting is het noodzakelijk, met een heldere en kleurlooze oplossing te werken. Om dit met

de besproken extractiemethode te bereiken, bleken de volgende punten van belang te zijn:

1. De duur van de extractie.

Door het bepalen van het alkaloïdegehalte van kinine-oplossingen van bekende sterkte in water en ook in bloed, vonden wij 3 uur de meest geschikte extractietijd. Door langer extraheeren van het kininehoudend bloed kregen wij veel te lage waarden, hetgeen toegeschreven moet worden aan de mede geëxtraheerde verontreinigingen, welke een doovende werking op het fluorescentielicht uitoefenen. Deze doovende werking bleek uit het volgende:

5 cm³ kininevrij bloed, dat met loog behandeld was, werd gedurende verschillende tijden geëxtraheerd. Het residu dat overbleef na destilleeren van de chloroform werd met 2 cm³ aether overgoten en hierbij 5 cm³ 0.1 N. zwavelzuur, dat een bekende hoeveelheid kinine bevatte, gevoegd en weer verder als boven behandeld. Bij bepaling vonden wij de concentraties te laag (zie tabel 4 en 5). Bij extracties welke langer dan 5 uren duurden, was de chloroform ook herhaaldelijk geel. Door verdere behandeling kon dan geen volkomen kleurlooze en zelfs geen heldere zwavelzure oplossing worden verkregen.

Om ervoor te zorgen dat de extractietijd voor alle bepalingen dezelfde was, moesten de gebruikte toestellen gelijkmatig verwarmd worden. Om dit te bereiken, maakten wij gebruik van het afgebeelde verwarmingsoventje, waarin 8 toestellen konden worden geplaatst.

De toestellen rustten op een koperen plaat welke bedekt was met een asbestplaat. Hierdoor verkregen wij een gelijkmatige verwarming. Gedurende de extractie wees de thermometer een temperatuur van 90° — 100° aan. Door de erlenmeyerkolven af te schermen werden de perforatoren niet warm, waardoor de chloroform reeds tegen de wand condenseerde en regelmatig op het bloed afvloeide. De hinderlijke schuimvorming tengevolge van het druppelen van de chloroform uit de koelers konden wij zoodoende vermijden.

2. Het residu, dat overbleef na destilleeren van de chloroform, lostte niet geheel in het verdunde zwavelzuur op. Dit moet worden toegeschreven aan een laagje vetachtige substantie dat de kinine omsloot. Daarom losten wij deze substantie eerst in aether op. De sterk aan de glaswand hechtende kinine kon nu gemakkelijk in het toegevoegde zwavelzuur worden opgenomen.

3. Het vetachtige vliesje, dat zich na verdampen van de aether vormde, verdween meestal direct bij schudden met de petroleumaether. Indien de oplossing hierna nog niet helder was, werd nog eens met petroleumaether geschud. De behandeling met petroleumaether gaf geen merkbaar verlies. Dit controleerden wij door bekende oplossingen van kininesulfaat in zwavelzuur met petroleumaether te schudden.

Wij gebruikten petroleumaether, daar de mengverhoudingen verdund zwavelzuur-petroleumaether veel gunstiger zijn dan voor andere vetoplossende middelen,

zoals aether. Ook het verdampen van de laatste rest petroleumaether gaat gemakkelijker dan dit voor aether het geval is.

4. De onderdeelen van het extractietoestel moesten onderling verbonden zijn door slijpstukken. Kurken gaven telkens bij de extractie stoffen af, die een ongunstige invloed hadden op de intensiteit van het fluorescentielicht.

5. Verder moet er nog aandacht geschonken worden aan de soort bloed waarmede te werk gegaan wordt. Op genoemde manier behandeld honden- of kattenbloed gaf een zwavelzure oplossing, waarvan de fluorescentie zwakker was dan die eener kininesulfaatoplossing met een concentratie van 0.05γ per cm^3 . Het bleek ons echter dat wanneer wij kininevrij geitenbloed aldus behandelden, de tenslotte verkregen zwavelzure oplossing vrij sterk fluoresceerde.

Als toetsing van de uitgewerkte extractiemethode werden ons 16 bloedmonsters gegeven om hiervan het kininegehalte te bepalen. Als grootste toelaatbare proeffout hadden wij 10% vastgesteld. Na opwerking gaven slechts 2 bepalingen waarden, die buiten deze grens lagen. De duplobepalingen hiervan klopten onderling echter ook niet, zoodat dit wel aan een routinegebrek kan worden toegeschreven.

TABEL 2.

Aanwezige hoeveelheid γ per cm^3	Gevonden waarden γ per cm^3		Gemiddelde	Fout in %
16.80	17.7	17.8	17.8	+5.9
14.40	13.3	13.7	13.5	-6.3
13.50	12.4	12.3	12.4	-8.1
10.80	—	10.4	10.4	-3.7
10.80	10.4	10.4	10.4	-3.7
9.60	9.00	9.06	9.03	-5.9
2.00	2.00	1.96	1.98	-1.0
1.75	1.72	1.70	1.71	-2.3
1.60	1.60	1.60	1.60	-0
1.40	1.32	1.36	1.34	-4.3
1.30	1.20	1.25	1.23	-5.4
1.20	1.15	1.18	1.17	-2.5
1.10	1.04	1.05	1.05	-4.5
1.10	1.06	1.07	1.07	-2.7

Gemiddelde afwijking -4%

Uit deze reeks bepalingen zien wij dat de uitgewerkte methode geschikt is om met voldoende nauwkeurigheid het kininegehalte in bloed te bepalen. De waarden welke gevonden worden liggen gemiddeld 4% te laag. De grootste afwijking is 8%.

Hier volgen nu nog eenige waarden, welke gevonden werden bij de bovengenoemde controlebepalingen.

1. Extractiemethode toegepast op kininesulfaatoplossingen in water.

TABEL 3.

Aanwezige hoeveelheid γ per cm^3	Gevonden waarden γ per cm^3		Gemiddelde	Fout in %
50.0	49.0	49.8	49.4	-1.2
27.0	27.0	26.9	26.8	-0.7
27.0	—	26.5	—	—
10.0	9.6	9.8	9.7	-3.0
10.0	9.8	9.9	9.9	-1.0
0.9	0.88	0.89	0.88 ⁵	-1.6

II. Extracties van bloed, waaraan een bekende hoeveelheid kinine was toegevoegd en waarbij de extractietijd gevarieerd werd.

TABEL 4.

Aanwezige hoeveelheid γ per cm^3	Gevonden waarden γ per cm^3		Gemiddelde	Fout in %	Extractietijd in uren
9.4	5.8	5.9	5.9	-37	16
7.5	5.5	5.3	5.4	-28	8
10.0	7.4	7.0	7.2	-28	6
7.5	6.3	6.0	6.2	-17	6
9.4	8.1	8.8	8.5	-10	2

Wij zien uit deze tabel, dat door langer extraheeren de resultaten slechter worden en tevens, dat extractie korter dan 3 uren niet voldoende is.

III. Om de doovende werking der mede geëxtraheerde stoffen aan te toonen, werd bij bloedextract een bekende kininesulfaatoplossing gevoegd.

TABEL 5.

Aanwezige hoeveelheid γ per cm^3	Gevonden concentr. γ per cm^3	Fout in %	Extractietijd in uren
4.5	3.7	-18	20
5.0	2.8	-44	16
10.0	7.6	-24	6
6.0	5.2	-13	5
6.0	5.3	-12	5
2.7	2.68	-1	3
2.1	2.06	-2	3
1.5	1.44	-4	3
0.9	0.85	-5	3

In de overeenstemming der procentueele fouten bij deze bepalingen met de onder II genoemde bepalingen, komt het ongunstig effect van te lange extractie duidelijk tot uiting.

HOOFDSTUK III.

DE PHARMACOLOGISCHE PROEVEN.

Nu wij door middel van de beschreven methode in staat waren, in een klein volume bloed op een weinig bewerkelijke manier het kininegehalte te bepalen, konden wij overgaan tot het eigenlijke onderzoek.

Wij hebben de kininespiegel in het bloed vergeleken na toediening van kininezouten langs verschillende wegen en wel intraveneus, intramusculair en per os. Bij de intramusculaire injectie hebben wij het effect nagegaan van stoffen welke de oplosbaarheid van kininezouten vergrooten, zooals antipyrine en urethaan en tevens de invloed die de pH der geïnjecteerde oplossing heeft op de resorptie. Bij de toediening per os werd het verschil in resorptie van oplosbare en onoplosbare kininezouten onderzocht en ook de stijging der concentratie in het bloed bij vergrooten der toegediende hoeveelheid kinine nagegaan.

Alvorens de resultaten van het experimenteele gedeelte te vermelden, zullen wij de gang van zaken bij het verrichten der dierproeven beschrijven.

Voor *intraveneuze* toediening werd ongeveer 5 cm³ eener oplossing van kininechloride in de vena saphena externa van de hond langzaam geïnjecteerd. Op bepaalde tijden hierna werden \pm 12 cm³ bloed afgenomen door hartpunctie. Het bloed werd opgevangen in een droge erlenmeyerkolf, waarin zich een weinig vast natriumcitraat bevond. Om de stolling van het bloed

te voorkomen moest tijdens het opvangen goed omgezwinkt worden, zoodat het natriumcitraat snel oploste. Wij pasten hier hartpunctie toe, omdat dit de snelste manier (duur ongeveer een halve minuut) is om 12 cm^3 bloed te verkrijgen. Immers, zooals uit de resultaten blijkt, daalt de concentratie de eerste minuten na de toediening zeer snel.

Voor *intramusculaire* toediening werd het kininezout opgelost in $\pm 5 \text{ cm}^3$ water of physiologische keukenzoutoplossing en zeer langzaam in de spier van de rechter voorpoot geïnjecteerd. Ook in dit geval werd hartpunctie gedaan om het bloed af te nemen.

De toediening *per os* geschiedde met behulp van de maagsonde. Het kininezout werd in 100 cm^3 water van 37° opgelost. Na de toediening werd nog met 50 cm^3 water nagespoeld. De onoplosbare zouten werden toegediend door er een suspensie in water van te maken. Het afnemen van het bloed had op de verschillende tijden plaats door punctie der vena saphena externa. Het bloed druppelde uit de voor dit doel gebruikte canule in de erlenmeyerkolb. Het duurde ongeveer 3 minuten om 12 cm^3 te verzamelen; daarom werd het oogenblik waarop de helft van het bloed was opgevangen als „tijd na toediening” genoteerd.

Wanneer de honden meerdere malen met kinine behandeld werden, was de tusschentijd van de proeven zeker een week.

Wat betreft de voeding der dieren merken wij het volgende op. Als regel werden de dieren de avond voor de proef om 5 uur gevoed. Waar in de tabellen vermeld

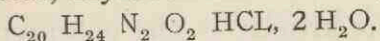
staat, dat zij gevestigd hebben, wil dit zeggen dat de avond voor de proef de voeding achterwege bleef.

De volgende dierproeven werden verricht:

- I. Intraveneus: 10 mg kinine per kg lichaamsgewicht in de vorm van:
 - kininechloride. Grafiek A, hond H, B, J, T.
- II. Intramusculair: 10 mg kinine per kg lichaamsgewicht in de vorm van:
 - kininechloride. Grafiek B, hond B, Z.
 - kininechloride-urethaan. Grafiek C, hond T, B.
 - kininechloride-antipyrine (pH 6.8). Grafiek D, hond B, B, P.
 - kininechloride-antipyrine (pH 7.2). Grafiek E, hond Q, R, P, Q, (Q.).
 - Solvochine. Grafiek F, hond B, T, Z, F, P.
- III. Per os: 10 mg kinine per kg lichaamsgewicht in de vorm van:
 - kininechloride. Grafiek G, hond B, Z, H, B.
 30 mg kinine per kg lichaamsgewicht in de vorm van:
 - kininechloride. Grafiek H, hond B, Z.
 - kininetannaat. Grafiek J, hond H, Z, H, F.
 - Euchinine. Grafiek K, hond H, K.
 3 maal 10 mg kinine per kg lichaamsgewicht in de vorm van:
 - kininechloride. Grafiek L, hond J, T.

Nu nog enkele opmerkingen over de gebruikte kinine-preparaten:

Kininechloride, Hydrochloras Chinini,



Het bij ons onderzoek gebruikte zout had een kininegehalte van 81.80%.

Euchinine, Aethylcarbonas Chinini, de ester van koolzuur, aethyl-alkohol en kinine. Het is een in water onoplosbare verbinding, welke dus geen bittere smaak heeft. Het kininegehalte van het gebruikte preparaat was 80.21% (proef K).

Kininetannaat, Tannas Chinini, het in water niet oplosbare preparaat met een kininegehalte van 30.2% (proef J).

Voor de intramusculaire injectie van kininezouten worden vaak stoffen toegevoegd, die de oplosbaarheid van het kininezout verhoogen. Een veel gebruikte combinatie is die van kininechloride met aethylurethaan (proef C) of met antipyrine (proef D) in een verhouding van 2 : 1 (Pharmacother. Vademecum). De pH dezer oplossingen is 6.8. Daar men in deze lichte zuurgraad een oorzaak zag voor de nevenwerking der kinineoplossingen, n.l. de prikkelingsverschijnselen, heeft men de zuurgraad aangepast aan die van het weefselvocht. Dit is bereikt door een deel van het kininezout te vervangen door de vrije kininebase (Solvochine), of door bij het mengsel een voldoende hoeveelheid natronloog te voegen (volgens VOGELENZANG). Er wordt dan zooveel loog of kininebase toegevoegd dat de oplossing een pH van 7.2 heeft.

De oplossing van kininechloride met antipyrine

(2 : 1) waaraan natronloog is toegevoegd om de gewenschte pH te krijgen, is niet onbegrensd met water mengbaar. Slechts bij een bepaalde natronloog-concentratie is een tienvoudige verdunning mogelijk, zonder dat hierdoor de kininebase neerslaat. Een oplossing met een pH van 7.2, welke de gewenschte verdunning verdraagt, heeft de volgende samenstelling:

kininechloride 30, antipyrine 15, N. natronloog 6 cm³, aq. dest. ad 100 cm³.

Deze oplossing werd door ons gebruikt (proef E. I-V).

Solvochine wordt als volgt beschreven (Pharmacother. Vademecum) „een oplosbaar, met de lichaamsvochten isotonisch praeparaat, waarvan de zuurgraad 7.2 is en dat 25% kinine bevat. Het bevat basisch kinine, Hydrochloras Chinini en antipyrine”. (proef F).

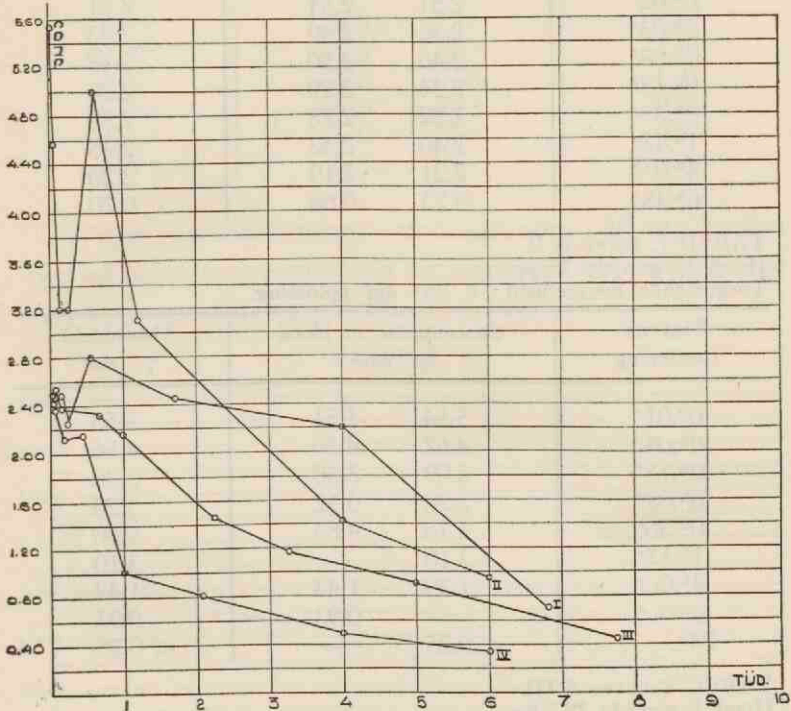
Solvochine bevat in tegenstelling met de hierboven genoemde oplossing, die slechts 15% antipyrine heeft, 20% antipyrine.

VOGELENZANG geeft het volgende voorschrift voor een antipyrine-kinine-oplossing, welke het Solvochine kan vervangen:

Hydrochloras Chinini 30, antipyrine 20, N. natronloog 7.5 cm³, aq. bidest. ad 100 cm³. Deze oplossing, welke een pH heeft van 7.3, verdraagt slechts een verdunning met 3 volumina water. Dit is een verschil met Solvochine, dat veel sterker te verdunnen is. Deze oplossing werd gebruikt in proef E. V.

Wijze van toediening: *intraveneus*; 10 mg kinine per kg lichaamsgewicht als kininechlorideoplossing met een kininegehalte van 2.5%.

GRAFIEK A.



TABEL 6, curve A I.
Hond H, gewicht 12.5 kg.
Toegediende hoeveelheid: 5 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .02'	2.51	2.51	2.51
0 ^h .03'	2.36	2.49	2.43
0 ^h .08'	2.46	2.50	2.48
0 ^h .15'	2.24	2.29	2.26
0 ^h .33'	2.82	2.78	2.80
1 ^h .42'	2.46	2.43	2.45
4 ^h .0'	2.21	2.19	2.20
6 ^h .48'	0.73	0.66	0.70

TABEL 7, curve A II.
Hond B, gewicht 15 kg.
Toegediende hoeveelheid: 6 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .01'	5.54	5.51	5.53
0 ^h .04'	4.62	4.50	4.56
0 ^h .15'	3.09	3.30	3.20
0 ^h .08'	3.28	3.12	3.20
0 ^h .36'	5.16	4.83	5.00
1 ^h .12'	3.10	—	3.10
4 ^h .0'	1.39	1.44	1.42
6 ^h .0'	—	0.93	0.93
24 ^h .	< 0.25	—	< 0.25

TABEL 8, curve A III.
Hond J, gewicht 12.5 kg.
Toegediende hoeveelheid: 5 cm³ der oplossing.

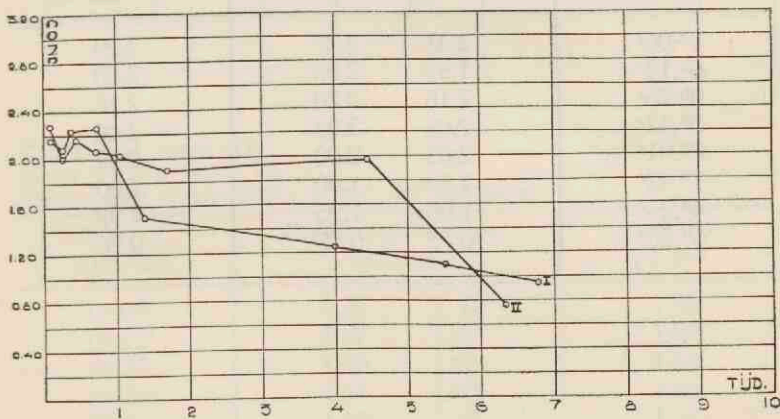
Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .05'	2.53	2.53	2.53
0 ^h .10'	2.32	2.42	2.37
0 ^h .41'	2.34	2.30	2.32
1 ^h .0'	2.16	2.16	2.16
2 ^h .15'	1.47	1.46	1.47
3 ^h .16'	1.16	1.18	1.17
5 ^h .0'	0.95	0.86	0.90
7 ^h .45'	—	< 0.5	< 0.5

TABEL 9, curve AIV.
 Hond T, gewicht 14 kg.
 Toegediende hoeveelheid: 5.5 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .04'	2.36	2.41	2.39
0 ^h .12'	2.10	2.14	2.12
0 ^h .27'	2.20	2.09	2.15
1 ^h .01'	1.06	0.96	1.01
2 ^h .05'	0.80	0.82	0.81
4 ^h .0'	0.50	0.50	0.50
6 ^h .0'	minder	—	minder

Wijze van toediening: *intramusculair*; 10 mg kinine per kg lichaamsgewicht als kininechlorideoplossing met een kininegehalte van 2.4%.

GRAFIEK B.



TABEL 10, curve B I.
 Hond B, gewicht 15 kg.
 Toegediende hoeveelheid: 6.3 cm³ der oplossing.

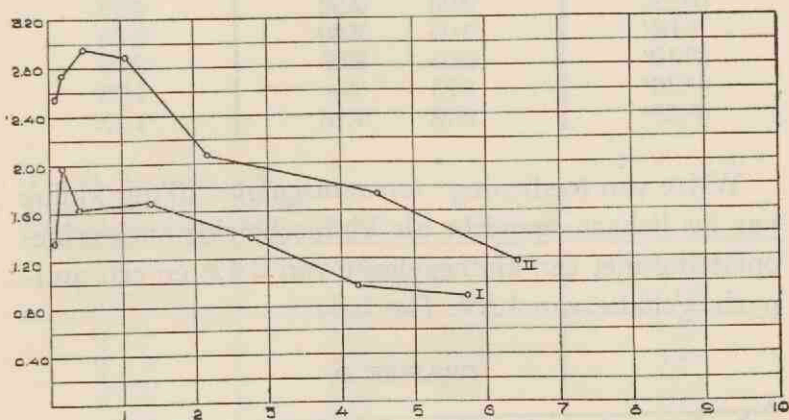
Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .07'	2.22	2.12	2.17
0 ^h .16'	2.10	2.04	2.07
0 ^h .26'	2.23	2.25	2.24
0 ^h .44'	2.25	2.27	2.26
1 ^h .25'	1.50	1.50	1.50
4 ^h .0'	—	1.23	1.23
5 ^h .30'	1.10	1.10	1.10
6 ^h .45'	0.98	0.96	0.97

TABEL 11, curve B II.
 Hond Z, gewicht 13 kg.
 Toegediende hoeveelheid: 5.4 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .06'	2.31	2.27	2.29
0 ^h .18'	1.95	2.05	2.00
0 ^h .26'	2.16	2.20	2.18
0 ^h .42'	2.08	2.03	2.06
0 ^h .01'	2.03	2.00	2.02
1 ^h .42'	1.89	1.90	1.90
4 ^h .25'	1.98	1.95	1.97
6 ^h .20'	0.75	0.77	0.76

Wijze van toediening: *intramusculair*; 10 mg kinine per kg lichaamsgewicht als kininechloride-urethaanoplossing met een kininegehalte van 2.4% en een urethaangehalte van 1.4%.

GRAFIEK C.



TABEL 12, curve C I.
Hond T, gewicht 17 kg.
Toegediende hoeveelheid: 7 cm³ der oplossing.

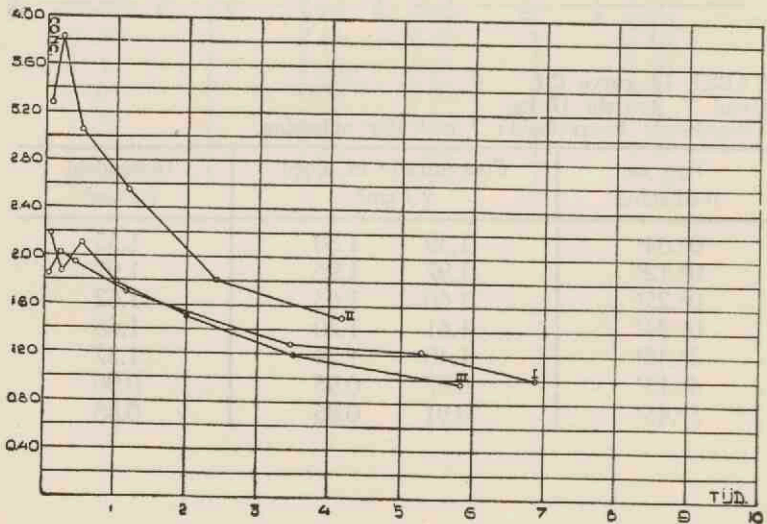
Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm ³		Gemiddeld γ / cm ³
0 ^h .04'	1.39	1.30	1.35
0 ^h .12'	1.97	1.96	1.97
0 ^h .25'	1.60	1.63	1.62
0 ^h .24'	1.61	1.70	1.66
2 ^h .46'	1.40	1.34	1.37
4 ^h .13'	0.97	0.95	0.96
5 ^h .45'	0.91	0.85	0.88

TABEL 13, curve C II.
 Hond B, gewicht 16.5 kg.
 Toegediende hoeveelheid: 6.9 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .05'	2.50	2.57	2.54
0 ^h .11'	2.75	2.70	2.73
0 ^h .29'	2.98	2.92	2.95
1 ^h .04'	2.96	2.80	2.88
2 ^h .10'	2.05	2.07	2.06
4 ^h .30'	1.73	—	1.73
6 ^h .25'	1.18	1.16	1.17

Wijze van toediening: *intramusculair*; 10 mg kinine per kg lichaamsgewicht als kininechloride-antipyrine-oplossing met een kininegehalte van 2.4% en een antipyrinegehalte van 1.5%. (pH 6.8).

GRAFIEK D.



TABEL 14, curve D I.
Hond B, gewicht 16.5 kg.
Toegediende hoeveelheid: 6.9 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .04'	1.88	1.80	1.84
0 ^h .13'	2.03	2.00	2.02
0 ^h .26'	1.90	1.97	1.94
1 ^h .09'	1.72	1.67	1.70
3 ^h .27'	1.24	1.29	1.27
5 ^h .17'	1.20	1.21	1.21
6 ^h .52'	1.00	0.98	0.99

TABEL 15, curve D II.
Hond B, gewicht 16.5 kg.
Toegediende hoeveelheid: 6.9 cm³ der oplossing.

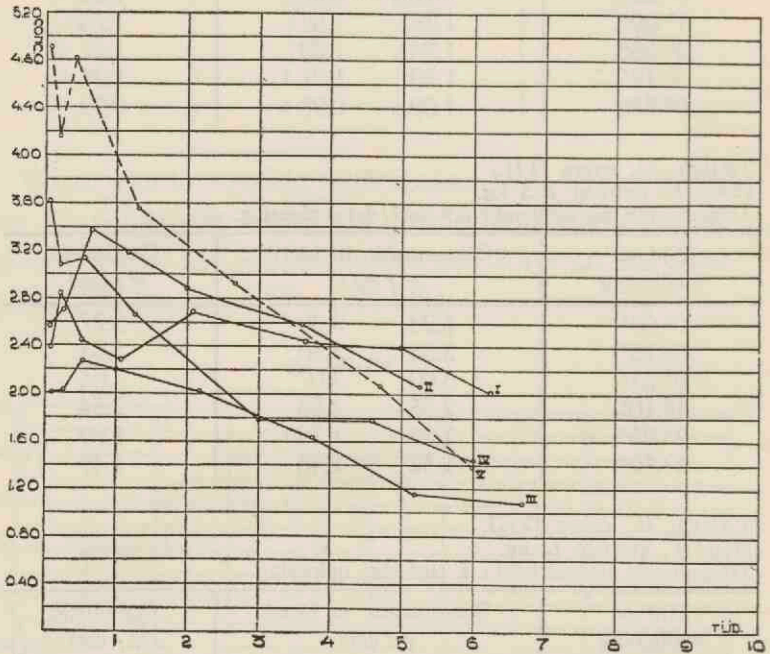
Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .05'	3.23	3.30	3.27
0 ^h .13'	3.85	3.80	3.83
0 ^h .31'	3.00	3.07	3.04
1 ^h .10'	2.55	2.53	2.54
2 ^h .25'	1.83	1.76	1.80
4 ^h .10'	1.52	1.46	1.49

TABEL 16, curve D III.
Hond P, gewicht 12 kg.
Toegediende hoeveelheid: 5 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .05'	2.12	2.24	2.18
0 ^h .14'	1.90	1.82	1.86
0 ^h .31'	2.15	2.05	2.10
1 ^h .0'	1.73	1.80	1.77
2 ^h .0'	1.53	1.48	1.51
3 ^h .30'	1.20	1.17	1.19
5 ^h .50'	0.95	0.95	0.95

Wijze van toediening: *intramusculair*; 10 mg kinine per kg lichaamsgewicht als kininechloride-antipyrine-oplossing met een kininegehalte van 2.4% en een antipyrinegehalte van 1.5%. (pH 7.2.). Uitgezonderd E V. (samenstelling volgens Vogelenzang).

GRAFIEK E.



TABEL 17, curve E I.

Hond Q, gewicht 11.5 kg.

Toegediende hoeveelheid: 4.8 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .05'	—	2.39	2.39
0 ^h .14'	2.83	2.90	2.87
0 ^h .32'	2.50	2.38	2.44
1 ^h .05'	2.26	2.30	2.28
2 ^h .05'	2.75	2.60	2.68
3 ^h .39'	2.44	2.40	2.42
5 ^h .0'	2.40	2.37	2.39
6 ^h .15'	1.97	2.05	2.01

TABEL 18, curve E II.
Hond R, gewicht 14.5 kg.
Toegediende hoeveelheid: 6.4 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .05'	2.65	2.48	2.57
0 ^h .17'	2.70	—	2.70
0 ^h .40'	3.45	3.28	3.37
1 ^h .10'	3.28	3.10	3.19
2 ^h .0'	2.95	2.80	2.88
3 ^h .37'	2.54	2.63	2.59
5 ^h .15'	2.07	2.05	2.06

TABEL 19, curve E III.
Hond P, gewicht 12 kg.
Toegediende hoeveelheid: 5 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .06'	2.03	1.97	2.00
0 ^h .16'	2.05	1.96	2.02
0 ^h .32'	2.26	—	2.26
1 ^h .0'	2.26	2.13	2.20
2 ^h .10'	2.03	1.99	2.01
3 ^h .45'	1.58	1.68	1.63
5 ^h .11'	1.17	1.15	1.16
6 ^h .41'	1.12	1.03	1.08

TABEL 20, curve E IV.
Hond Q, gewicht 12.2 kg.
Toegediende hoeveelheid: 5.1 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .04'	3.62	3.60	3.61
0 ^h .14'	3.08	—	3.08
0 ^h .34'	3.09	3.16	3.13
1 ^h .17'	2.69	2.60	2.65
3 ^h .0'	1.83	1.72	1.78
4 ^h .35'	1.80	1.73	1.77
6 ^h .0'	1.40	1.46	1.43

TABEL 21, curve E V.

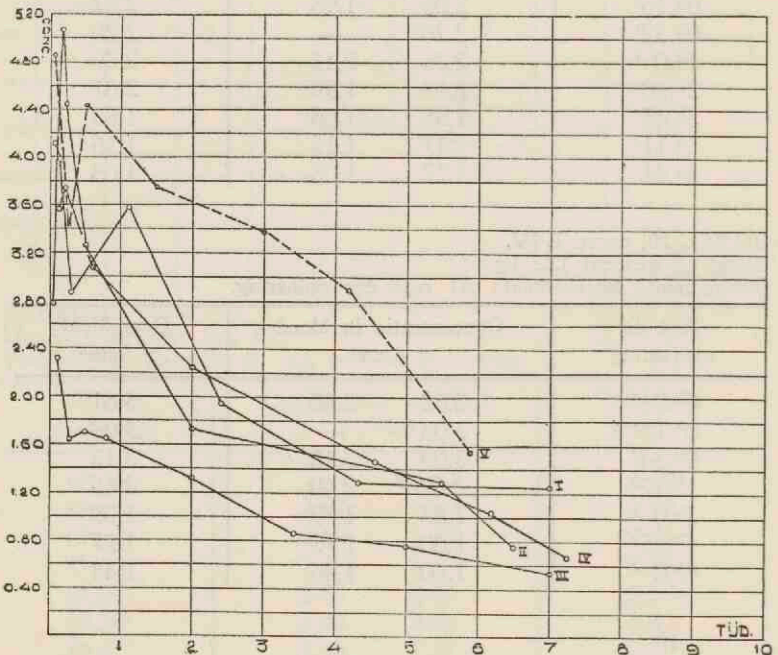
Hond Q, gewicht 11.5 kg.

Toegediende hoeveelheid: 4.8 cm³ eener oplossing gemaakt door verdunnen met phys. water, van het kinine-antipyriene mengsel volgens Vogelenzang.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .05'	4.94	4.88	4.91
0 ^h .13'	—	4.16	4.16
0 ^h .26'	4.86	4.75	4.81
1 ^h .19'	3.52	3.58	3.55
2 ^h .40'	2.85	2.98	2.92
4 ^h .42'	2.10	2.03	2.07
6 ^h .0'	1.40	1.36	1.38

Wijze van toediening: *intramusculair*; 10 mg kinine per kg lichaamsgewicht als oplossing van Solvochine in phys. water, met kininegehalte van 2.4% en een pH van 7.2.

GRAFIEK F.



TABEL 22, curve F I.
Hond B, gewicht 17 kg.
Toegediende hoeveelheid: 7 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .04'	4.12	—	4.12
0 ^h .08'	4.05	3.90	3.98
0 ^h .19'	2.82	2.90	2.86
1 ^h .06'	3.62	3.55	3.58
2 ^h .25'	1.91	1.96	1.94
4 ^h .20'	1.26	1.30	1.28
7 ^h .0'	1.25	—	1.25

TABEL 23, curve F II.
Hond T, gewicht 17 kg.
Toegediende hoeveelheid: 7 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .02'	2.85	2.72	2.79
0 ^h .10'	5.06	—	5.06
0 ^h .15'	4.48	4.38	4.43
0 ^h .30'	3.23	3.26	3.25
2 ^h .0'	1.70	1.76	1.73
5 ^h .30'	1.32	1.24	1.28
6 ^h .30'	0.74	0.78	0.76

TABEL 24, curve F III.
Hond Z, gewicht 12 kg.
Toegediende hoeveelheid: 5 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .06'	2.28	2.33	2.31
0 ^h .17'	1.60	1.67	1.64
0 ^h .30'	1.70	1.68	1.69
0 ^h .48'	1.62	1.65	1.64
2 ^h .0'	1.30	1.34	1.32
3 ^h .26'	0.86	0.86	0.86
5 ^h .0'	0.73	0.77	0.75
7 ^h .0'	0.56	0.50	0.53

TABEL 25, curve FIV.

Hond F, gewicht 6.5 kg.

Toegediende hoeveelheid: 2.7 cm³ der oplossing.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .04'	3.55	3.59	3.57
0 ^h .10'	3.65	3.82	3.74
0 ^h .19'	3.00	3.16	3.08
2 ^h .0'	2.20	2.26	2.23
4 ^h .35'	1.40	1.49	1.45
6 ^h .10'	0.93	—	0.93
7 ^h .15'	0.56	0.58	0.57

TABEL 26, curve F V.

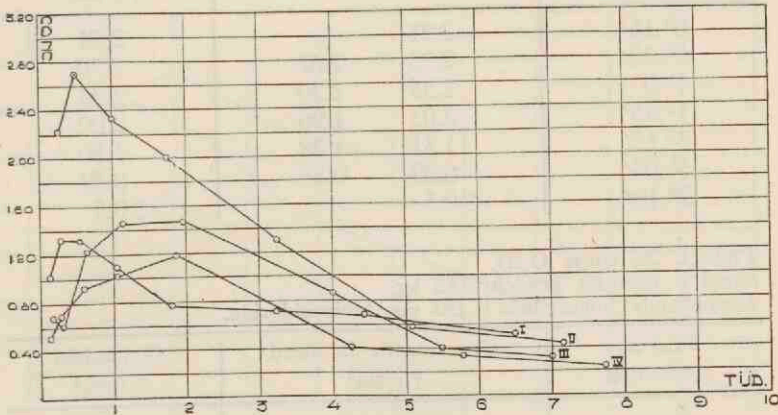
Hond P, gewicht 12 kg.

Toegediende hoeveelheid: 5 cm³ der oplossing, (welke met water verdund was).

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .04'	4.80	4.87	4.84
0 ^h .15'	3.43	3.41	3.42
0 ^h .32'	4.43	—	4.43
0 ^h .30'	3.70	3.80	3.75
3 ^h .0'	3.41	3.36	3.39
4 ^h .10'	2.91	2.86	2.89
5 ^h .45'	1.50	1.57	1.54

Wijze van toediening: *per os*; 10 mg kinine per kg
 lichaamsgewicht als kininechlorideoplossing.

GRAFIEK G.



TABEL 27, curve G I.
 Hond B, gewicht 15 kg.
 Toegediende hoeveelheid: 183 mg kininechloride.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .08'	1.00	1.04	1.02
0 ^h .17'	1.33	—	1.33
0 ^h .32'	1.31	1.36	1.33
1 ^h .0'	1.07	1.10	1.09
1 ^h .48'	0.76	0.78	0.77
3 ^h .15'	0.74	0.74	0.74
4 ^h .25'	0.69	0.69	0.69
6 ^h .30'	0.5	—	0.5

TABEL 28, curve G II.
Hond B, gewicht 15 kg.
Toegediende hoeveelheid: 183 mg kininechloride.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .15'	2.21	—	2.21
0 ^h .30'	2.73	2.67	2.70
1 ^h .0'	2.35	2.30	2.33
1 ^h .45'	2.03	1.96	2.00
3 ^h .15'	1.31	1.28	1.30
5 ^h .05'	0.59	0.58	0.59
7 ^h .10'	< 0.5		< 0.5

TABEL 29, curve G III.
Hond Z (gevast), gewicht 12.5 kg.
Toegediende hoeveelheid: 150 mg kininechloride.

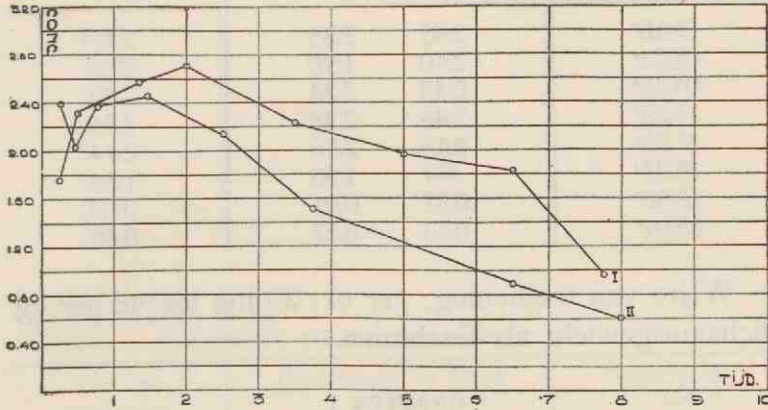
Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .11'	0.65	0.70	0.68
0 ^h .19'	0.60	0.60	0.60
0 ^h .39'	1.22	1.24	1.23
1 ^h .09'	1.42	1.50	1.46
1 ^h .59'	—	1.47	1.47
4 ^h .0'	0.89	0.81	0.85
5 ^h .30'	0.4	—	0,4
7 ^h .0'	minder	<	minder

TABEL 30, curve G IV.
Hond H (gevast), gewicht 14.5 kg.
Toegediende hoeveelheid: 177 mg kininechloride.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .08'	0.51	—	0.51
0 ^h .18'	0.72	0.68	0.70
0 ^h .37'	0.92	0.95	0.93
1 ^h .02'	1.00	1.02	1.01
1 ^h .53'	1.22	1.16	1.19
4 ^h .15'	0.4	—	0.40
5 ^h .45'	minder	—	—
7 ^h .45'	„	—	—

Wijze van toediening: *per os*; 30 mg kinine per kg lichaamsgewicht als kininechlorideoplossing.

GRAFIEK H.



TABEL 31, curve HI.
Hond B, gewicht 15 kg.
Toegediende hoeveelheid: 588 mg kininechloride.

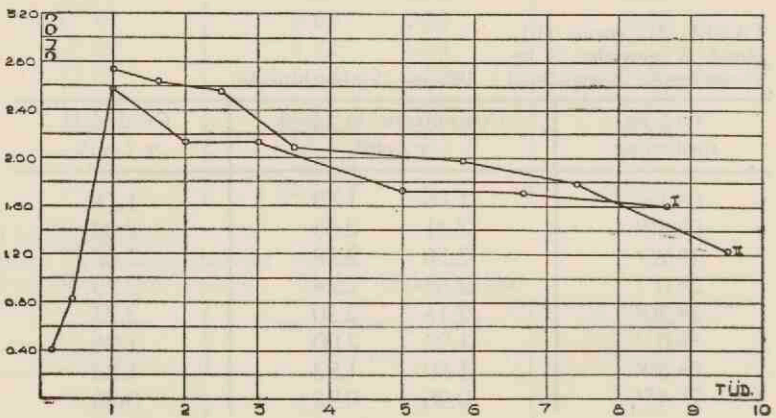
Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .15'	1.76	1.80	1.78
0 ^h .30'	2.31	2.33	2.32
1 ^h .20'	2.56	2.58	2.57
2 ^h .0'	2.66	2.74	2.70
3 ^h .30'	2.15	2.30	2.23
5 ^h .0'	1.92	2.00	1.96
6 ^h .30'	1.80	1.83	1.82
7 ^h .45'	0.96	0.95	0.96

TABEL 32, curve H II.
 Hond Z, gewicht 12.5 kg.
 Toegediende hoeveelheid: 461 mg kininechloride.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .18'	2.45	2.35	2.40
0 ^h .28'	2.10	1.96	2.03
0 ^h .46'	2.42	2.34	2.38
1 ^h .28'	2.46	2.46	2.46
2 ^h .30'	2.18	2.10	2.14
3 ^h .45'	—	1.50	1.50
6 ^h .30'	0.87	0.91	0.89
8 ^h .0'	0.63	0.57	0.60

Wijze van toediening: *per os*; 30 mg kinine per kg lichaamsgewicht als Eüchine.

GRAFIEK J.



TABEL 33, curve J I.
 Hond H, gewicht 12 kg.
 Toegediende hoeveelheid: 449 mg Euchinine.

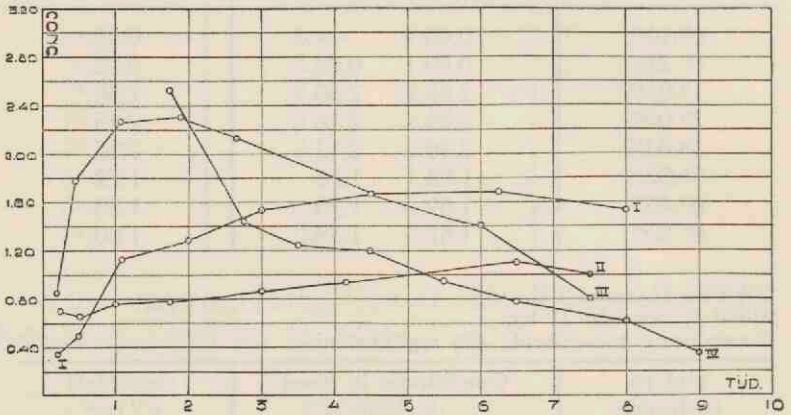
Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .10'	0.40	—	0.40
0 ^h .27'	0.80	0.83	0.82
1 ^h .0'	2.65	2.50	2.58
2 ^h .0'	2.14	2.16	2.15
3 ^h .0'	2.16	2.13	2.15
5 ^h .0'	1.73	1.71	1.72
6 ^h .40'	1.69	1.70	1.70
8 ^h .80'	1.61	1.58	1.60

TABEL 34, curve J II.
 Hond K, gewicht 13 kg.
 Toegediende hoeveelheid: 486 mg Euchinine.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
1 ^h .0'	2.71	2.77	2.74
1 ^h .38'	2.60	2.65	2.63
2 ^h .30'	2.52	2.58	2.55
3 ^h .30'	2.05	2.10	2.08
5 ^h .50'	1.95	1.99	1.97
7 ^h .25'	1.74	1.83	1.79
9 ^h .30'	1.24	1.20	1.22

Wijze van toediening: *per os*; 30 mg kinine per kg
lichaamsgewicht als kininetannaat.

GRAFIEK K.



TABEL 35, curve K I.
Hond H, gewicht 11.5 kg.
Toegediende hoeveelheid: 1.12 g kininetannaat.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .13'	< 0.4		< 0.4
0 ^h .30'	0.50	0.50	0.50
1 ^h .05'	1.11	1.15	1.13
2 ^h .0'	1.30	1.26	1.28
3 ^h .0'	1.50	1.53	1.52
4 ^h .30'	1.68	1.64	1.66
6 ^h .15'	1.68	1.67	1.68
8 ^h .0'	1.50	1.54	1.52

TABEL 36, curve K II.
 Hond Z (gevast), gewicht 12 kg.
 Toegediende hoeveelheid: 1.17 g kininetannaat.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .15'	0.73	0.67	0.70
0 ^h .31'	0.70	0.63	0.67
1 ^h .0'	0.75	0.75	0.75
1 ^h .45'	0.77	0.80	0.79
3 ^h .0'	0.85	—	0.85
4 ^h .10'	0.90	0.95	0.93
6 ^h .30'	1.14	1.06	1.10
7 ^h .30'	1.02	0.98	1.00
24 ^h .	< 0.4		< 0.4

TABEL 37, curve K III.
 Hond H, gewicht 15 kg.
 Toegediende hoeveelheid: 1.46 g kininetannaat.

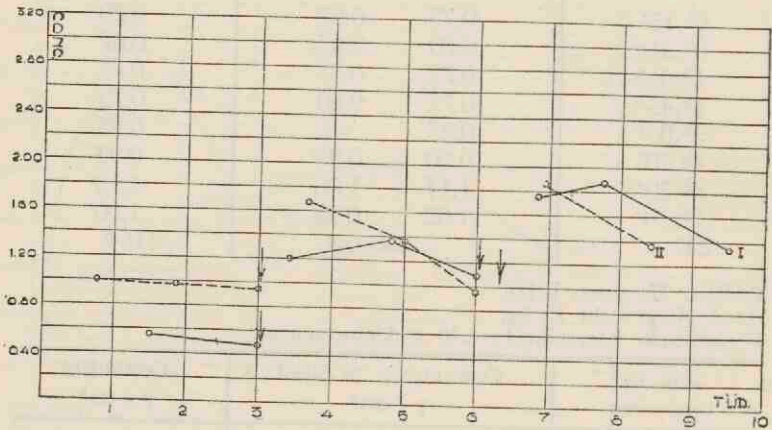
Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .11'	0.88	0.81	0.85
0 ^h .27'	1.78	—	1.78
1 ^h .05'	2.23	2.26	2.25
1 ^h .55'	2.30	2.29	2.30
2 ^h .40'	2.05	2.20	2.12
4 ^h .30'	1.64	1.68	1.66
6 ^h .0'	1.45	1.35	1.40
7 ^h .30'	0.83	0.77	0.80

TABEL 38, curve K IV.
 Hond F (gevast), gewicht 6 kg.
 Toegediende hoeveelheid: 0.59 g kininetannaat.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
1 ^h .45'	2.51	2.52	2.52
2 ^h .45'	1.50	1.40	1.45
3 ^h .30'	1.25	1.23	1.24
4 ^h .30'	1.20	1.20	1.20
5 ^h .30'	0.93	0.95	0.94
6 ^h .30'	0.80	0.77	0.79
8 ^h .0'	0.63	0.60	0.62
9 ^h .0'	< 0.4	—	< 0.4

Wijze van toediening: *per os*; iedere 3 uur 10 mg kinine per kg lichaamsgewicht als kininechloride-oplossing.

GRAFIEK L.



TABEL 39, curve L, I.

Hond J, gewicht 11.5 kg.

Toegediende hoeveelheid: iedere 3 uur 140 mg kininechloride.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
1 ^h .30'	0.57	0.53	0.55
3 ^h . 0'	0.47	—	0.47
3 ^h .0 ' (hoeveelheid toegediend)	1.23	1.17	1.20
4 ^h .50'	1.37	1.38	1.38
6 ^h .0 ' (hoeveelheid toegediend)	1.05	1.10	1.08
6 ^h .20'	1.74	1.79	1.77
7 ^h .45'	1.87	—	1.87
9 ^h .30'	1.37	1.30	1.34

TABEL 40, curve L, II.

Hond T, gewicht 15 kg.

Toegediende hoeveelheid: iedere 3 uur 183 mg kininechloride.

Tijd na toediening	Concentratie in bloed γ / cm^3		Gemiddeld γ / cm^3
0 ^h .45'	0.97	1.02	1.00
1 ^h .50'	0.97	0.98	0.98
3 ^h .0'	0.94	0.96	0.95
3 ^h .0'	hoeveelheid toegediend		
3 ^h .40'	1.70	1.64	1.67
5 ^h .0'	1.33	1.32	1.33
6 ^h .1'	0.97	0.90	0.94
6 ^h .0'	hoeveelheid toegediend		
6 ^h .55'	1.85	1.85	1.85
8 ^h .25'	1.38	1.34	1.36

Uit deze reeks proeven blijkt:

1. Hoe hoger de per os toegediende dosis kininechloride is geweest, des te hoger is de top van de curve (grafiek G en H), evenwel ligt de top bij een dosis van 30 mg kinine gemiddeld op 2.58 γ per cm^3 , bij 10 mg kinine gemiddeld op 1.63 γ per cm^3 . Bij stijging van de dosis met 200% ligt de top dus slechts 58% hoger.

Echter is de curve na de groote dosis veel breder: 3 uur na de toediening van 30 mg is de concentratie in het bloed gemiddeld 2.14 γ per cm^3 , 3 uur na de toediening van 10 mg kinine is de concentratie gemiddeld 1.0 γ per cm^3 . Na 6 uur zijn deze cijfers respectievelijk 1.44 en 0.60 γ per cm^3 .

2. Bij toediening per os van kininechloride is reeds na 8 minuten kinine in het bloed aanwezig, de concentratie stijgt daarna nog slechts betrekkelijk weinig. (grafiek G en H).

3. Wordt 30 mg kinine, in 3 gedeelten met tusschenruimten van 3 uur per os gegeven, dan wordt ten slotte een lager maximum bereikt dan wanneer de geheele dosis in eens is toegediend. Ook wordt, wanneer de kinine in refracta dosi is toegediend, niet gedurende langere tijd een hooge concentratie in het bloed behouden. Voor zoover de duur van de proeven het toelaat conclusies te trekken, schijnt de daling na de derde dosis even snel plaats te vinden als na de groote dosis ineens (grafiek L en H).
4. Bij toediening per os van Euchinine is de opname slechts iets langzamer dan na toediening van het kininechloride (grafiek J en H); bij toediening van het tannaat is de snelheid der opname in de helft der proeven veel langzamer (grafiek K). Na Euchinine ligt de top even hoog als na het chloride; bij het kininetannaat ligt de maximale concentratie in de helft der proeven even hoog, in de helft aanmerkelijk lager. Bij beide onoplosbare verbindingen daalt de curve langzamer dan na het kininechloride.
5. Bij vergelijking der toedieningen van kininechloride per os en intramusculair (grafiek B en G) zien wij, dat na intramusculaire toediening de top eerder wordt bereikt (reeds na enkele minuten) en de concentratie langer hoog blijft. Tevens geeft intramusculaire inspuiting de hoogste concentratie, met uitzondering van een der proeven per os (curve G II).

6. Bij de intramusculaire inspuiting gaf de toevoeging van urethaan gemiddeld geen verschil t.o.v. de kininechloride-oplossing (grafiek B en C).
7. Toevoeging van antipyrine in een verhouding van 2 kininechloride op 1 antipyrine, gaf na intramusculaire inspuiting in twee proeven geen duidelijk verschil met de kininechloride-oplossing. In één proef gaf het kinine-antipyrine mengsel een veel hogere concentratie in het bloed (grafiek B en D).
8. Wordt van het mengsel kininechloride-antipyrine (2 : 1) de pH op 7.2 gebracht, dan ligt de top der curven duidelijk hoger en blijven de concentraties ook langer op dit niveau, dan wanneer de pH van de ingespoten oplossing 6.8 bedraagt (grafiek E I—IV en D).
9. Nog veel hoger ligt de top wanneer de intramusculair ingespoten oplossing van kinine-antipyrine bij eenzelfde pH een $1\frac{1}{3}$ maal zoo hoog gehalte aan antipyrine bezit (curve E V). Evenwel daalt de curve in dit geval sneller.
10. Dit laatste geval (curve E V) komt geheel overeen met de hooge uitkomsten der concentratie na intramusculaire inspuiting van Solvochine (grafiek F). Dit preparaat geeft de hoogste concentraties, welke bij een toediening van 10 mg kinine per kg lichaamsgewicht zijn bereikt, evenals de zelf bereide oplossing van gelijke samenstelling.
11. Vergelijken wij de intraveneuze inspuiting met de intramusculaire inspuiting van ons optimaal

kinine-antipyrine mengsel (grafiek A en F), dan blijkt, dat in beide proefreeksen een uitzondering bestaat. Bij de intraveneuze inspuiting ligt deze uitbijter hooger dan de rest, bij de intramusculaire inspuiting ligt deze uitbijter (F III) lager. Laten wij deze uitzonderingen even buiten beschouwing, dan blijkt dat na intraveneuze injectie de waargenomen maximale concentratie lager ligt dan na intramusculaire injectie van het mengsel. Dit betekent natuurlijk, dat de intraveneus ingespoten kinine met zeer groote snelheid uit het bloed verwijderd is. De curve na intraveneuze injectie daalt ongeveer even snel als die na intramusculaire inspuiting van kininechloride-antipyrine 3 : 2 en sneller dan na intramusculaire injectie van het 2 : 1-mengsel.

12. Wanneer de curven, verkregen in de belangrijkste proefreeksen worden gemiddeld, krijgt men een volgend overzicht der concentraties:

TABEL 41.

	0 ^h .06'	0 ^h .15'	0 ^h .30'	1 ^h .0	2 ^h .0	3 ^h .0	5 ^h .0
Intraveneus kininechloride (10 mg)	2.73	2.50	2.84	2.38	1.86	1.53	1.04
Intramusculair kininechloride (10 mg)	2.22	2.05	2.19	1.89	1.67	1.63	1.38
Intramusculair kininechloride- urethaan 2 : 1 (10 mg)	1.97	2.42	2.29	2.27	1.82	1.63	1.26
Intramusculair kininechloride- antipyrine 2 : 1 (pH 6.8) (10 mg)	2.44	2.53	2.35	2.08	1.70	1.45	1.23
Intramusculair kininechloride- antipyrine 2 : 1 (pH 7.2) (10 mg)	2.62	2.64	2.99	2.65	2.46	2.21	1.85
Intramusculair kininechloride- antipyrine 3 : 2 (pH 7.2) (10 mg)	3.87	3.42	3.37	3.12	2.43	2.08	1.48
Per os kininechloride (10 mg)	—	1.20	1.47	1.47	2.49	1.03	0.55
Per os kininechloride (30 mg)	—	2.08	2.19	2.43	1.31	2.14	1.60
Per os kininetannaat (30 mg)	—	0.63	0.99	1.34	1.64	1.45	1.33
Per os Euchinine (30 mg)	0.40	0.58	0.90	2.66	2.37	2.22	1.81

HOOFDSTUK IV.

DE VERDEELING VAN DE KININE
TUSSCHEN DE BLOEDLICHAAMPJES EN
HET PLASMA.

De in hoofdstuk I genoemde onderzoekers hebben zich bijna allen met het vraagstuk der verdeling van het alkaloïde tusschen de bloedlichaampjes en het bloedplasma bezig gehouden. Toch bestaat over dit punt nog geen eenheid van opvatting. De vraag n.l. of de concentratie van de kinine in de bloedcellen hooger of lager is dan in het omringende plasma, kan uit de genoemde onderzoekingen niet met zekerheid worden beantwoord. MEYER en GOTTLIEB schrijven hierover in hun bekend boek „Experimentelle Pharmakologie” 1936: „Ueber die Frage, ob sich das Chinin im Blute selbst stärker in den Erythrocyten anreichert als im Plasma, besteht noch keine Einhelligkeit”.

Dat nog geen beslissend antwoord op dit probleem kan gegeven worden is naar onze meening o.a. te wijten aan het niet scherp gescheiden houden van de resultaten bij de proeven in vitro en die in vivo verkregen. Bij de proeven in vitro kiest men de concentratie van het alkaloïde zoodanig, dat de bepalingmethode hiervoor voldoende gevoelig is. Het verschil met de concentratie waarmede men in vivo te maken heeft, wordt dan gemakkelijk uit het oog verloren. Ook het feit dat in vitro — al worden de proeven gedaan met totaal bloed — de omstandigheden toch nog

anders zijn dan in vivo is van belang. Immers is er in vitro geen contact meer van het bloed met de weefselcellen.

Thans volgt een kort overzicht van de proeven, welke door de verschillende onderzoekers over deze verdeeling verricht zijn. In dit overzicht is vooral de aandacht geschonken aan de alkaloïde-concentraties waarmede te werk werd gegaan bij de proeven in vitro. GIEMSA en SCHAUMANN vinden, na toediening per os van een groote dosis kinine aan honden, een dag later slechts zeer kleine hoeveelheden in het bloed terug en wel in het serum, maar bijna niet in de cellen.

HARTMANN en ZILA vermelden ook één proef waarbij zij de verdeeling in vivo hebben nagegaan. Zij deelen enkel het resultaat mede en wel een concentratie in het plasma van 8.3γ per cm^3 en in de bloedlichaampjes van 5γ per cm^3 .

In een 1918 verschenen publicatie geeft MORGENROTH een hypothese over de werking der kina-alkaloïden bij de malaria-therapie (zie inleiding). Hij grondt deze hypothese op de feiten welke hij met zijn biologische methoden vindt, n.l. dat de erythrocyten in vitro in staat zijn deze alkaloïden op te hoopen. Wij kunnen zijn proeven wat de concentraties betreft in drie groepen verdeelen t.w. met een alkaloïde-concentratie van 1 : 500, 1 : 10.000 en 1 : 100.000. Deze proeven hebben het volgende verloop gehad:

Bij een optochineoplossing van de concentratie 1 : 500 werden bloedlichaampjes van een geit gevoegd,

zoodat een 5% suspensie ontstond. Na centrifugeeren bleek de cellenbrij een duidelijke anaesthetische werking op de konijnencornea te hebben, terwijl de bovenstaande vloeistof deze werking bijna geheel miste. Ook kinine gaf een dergelijk resultaat. Bij zijn proeven met kleinere concentraties moet hij een andere methode toepassen. In dit geval wordt de groeiremmende werking van het alkaloïde op een pneumococcon- of een streptococcencultuur bepaald. Hij neemt gedefibrineerd geitenbloed en geitenserum, waaraan gelijke hoeveelheden optochine worden toegevoegd. Het bloed wordt gecentrifugeerd en de werking van de bovenstaande vloeistof nu vergeleken met die van het serum. Voor een beginconcentratie van 1 : 10.000 vindt hij op deze manier dat de cellen 4 maal zooveel zouden bevatten als het serum, terwijl betreffende de concentratie 1 : 100.000 — dit is de concentratie welke in vivo optreedt — het volgende wordt gezegd:

„...dass aus der Optochinverdünnung 1 : 100.000 in Vollblut eine Optochinmenge zu Verlust gegangen ist, die sich um 50% der ursprünglich vorhandenen Menge bewegt. Die Versuchsordnung entscheidet nicht ob es in Wirklichkeit z.B. 75% oder etwa 25% sind.”

Indien wij op onze resultaten vooruit loopen, kunnen wij ook reeds bij deze proeven, waaraan in de literatuur zeer veel aandacht is geschonken, een verschuiven der kinineverdeling ten gunste van het plasma zien bij afnemende alkaloïdeconcentratie.

SCHILLING en BOECKER voegen bij een suspensie

van 0.2 cm³ geitenbloedlichaampjes in 2.8 cm³ fysiologische keukenzoutoplossing (\pm 7% erythrocyten!) 0.1 mg optochinechloride en vinden dan in de cellen een concentratie die 30 maal hooger is dan in de omgevende vloeistof. Deze waarde wordt gevonden door de bepaling der concentratie met het kaliumkwikjodide-reagens in de heldere oplossing, welke overblijft na afcentrifugeeren der cellen. In dit milieu, waarin zich toch ook nog eiwitten bevinden die de reactie storen, zal deze bepaling niet bijzonder nauwkeurig zijn. Echter vermelden SCHILLING en BOECKER dat wanneer geen optochine is toegevoegd, de oplossing ook geen troebeling geeft met het reagens. Verder moeten wij de aandacht vestigen op de zeer kleine erythrocytenconcentratie van 7%, welke zij — evenals MORGENROTH in enkele proeven — gebruikt hebben. Een kleine fout in de bepaling der concentratie van de omgevende vloeistof zal bij berekening der concentratieverhoudingen van cellen en vloeistof een aanmerkelijke verandering opleveren.

Opmerkelijk is ook hun waarneming dat de bloedlichaampjes van „kinineresistente” malaria patiënten, d.w.z. van patiënten bij welke kinine niet werkzaam is, de eigenschap der ophooping missen.

De onderzoekers die volgens de meer nauwkeurige methode van RAMSDEN het kininegehalte in het bloed bepaald hebben, vinden over het algemeen weer een hoogere kinineconcentratie in het serum. Allereerst noemen wij het onderzoek van RAMSDEN-LIPKIN, waarbij bijv. een cavia 500 mg kinine intraperitoneaal

geïnjectieerd wordt. 45 Minuten na deze injectie vinden zij in 100 cm^3 serum 5.1 mg en in 100 cm^3 cellen 1.5 mg kinine. Hun, uit enkele proeven getrokken, conclusie is, dat zich in het serum 3 maal zooveel alkaloïde bevindt als in de bloedlichaampjes.

ACTON en KING gaan dit in vitro na. Zij voegen bij 17 cm^3 gedefibrineerd schapenbloed, dat 50% cellen bevat, 0.1 mg kinine. Na extractie vinden zij hiervan slechts 0.076 mg terug. Dit is over de cellen en het serum in een verhouding van 46 : 54 verdeeld. In andere proeven vinden zij voor dit quotiënt 45 : 52 en 53 : 47. Hieruit wordt dan tot een gelijke verdeling van de kinine tusschen cellen en serum besloten.

GIBBS vindt na intraveneuze injectie van 25 mg kininechloride bij een konijn een hogere concentratie in het serum. Zijn proeven in vitro over de verdeling doen hem besluiten tot een gelijke concentratie in de cellen en in het plasma. Toch zien wij bij nadere beschouwing van zijn uitkomsten ook hier een hogere concentratie in het serum optreden. GIBBS zelf wijt dit aan de grotere extractiemoeilijkheid bij de concentratiebepaling in de cellen, waardoor de gehalten lager uitvallen.

RETZLAFF vindt bij zijn proeven in vivo, door het verschil in werking van kininevrij en kininehoudend serum en tevens van het kininevrij en kininehoudend totale bloed op een *Paramaecium caudatum*-cultuur, een 4 maal hogere concentratie in het totale bloed dan in het serum.

SCHNABEL voegt bij 0.9 cm^3 gedefibrineerd konijnenbloed 0.1 cm^3 eener 1% oplossing van kininechloride

ride. Verschillende aldus gemaakte oplossingen worden op 37° verwarmd en na bepaalde tijden gecentrifugeerd; het kininegehalte in het serum wordt bepaald door de invloed op het reduceerend vermogen van pneumococcon op methyleenblauw na te gaan. In plaats van de verwachte 1 : 1000 concentratie vindt hij een lagere concentratie in het serum. Deze neemt echter van 1 : 2500 tot 1 : 1500 in de loop van een uur toe, terwijl zij hierna 1 : 1500 blijft. Dit wijst erop, dat de erythrocyten de eigenschap zouden hebben het alkaloïde in het begin op te hoopen en daarna weer af te geven.

HALBERKANN gaat de kinineverdeling op gewichtsanalytische manier na. Hierbij wordt de hoeveelheid kinine in het serum bepaald en het verschil met de toegevoegde hoeveelheid alkaloïde komt dan op rekening der erythrocyten. Dit laatste is een hoeveelheid welke varieert van 35 tot 54.5% van de toegevoegde kinine.

AKASHI, die in aansluiting op HALBERKANN ook gewichtsanalytisch te werk is gegaan, heeft 0.2 g kinine bij 100 cm^3 eener suspensie van paardenbloedcellen in keukenzoutoplossing gevoegd. Als verhouding der alkaloïdeconcentratie in de cellen en in de vloeistof vindt hij 5.3 : 1. Vervolgens heeft hij bepalingen gedaan in het bloed van 4 konijnen die ongeveer 0.2 g kinine toegediend kregen. De volgende verhoudingen worden gevonden voor de concentraties in de cellen en in het serum: 17 : 66 en 51 : 51 in 2 proeven, terwijl in de 2 andere gevallen deze verhouding opgegeven wordt voor het totale bloed en serum n.l. 10 : 26 en 80 : 72.

Uit deze quotiënten wordt de conclusie getrokken

dat in dierproeven de verhouding der concentraties niet constant is en dat de concentratie in het serum zelfs(!) grooter kan zijn dan in de erythrocyten.

RONA en BLOCH voegen bij een suspensie van bloedlichaampjes in 15 cm³ physiologisch water 4 mg kinine. Met een haematokrietwaarde van 24 vinden zij aldus dat 67.1% van de kinine gebonden wordt. Als gemiddelde vinden zij bij deze bepalingen een 4.2 maal grotere concentratie in de cellen. Ook in vivo hebben zij een dergelijke verhouding gevonden voor de verdeling van de kinine in het kattenbloed. De waarden schommelen hierbij echter sterker dan in vitro. Zelfs zijn er gevallen bij waarin de alkaloïdeconcentratie in het serum grooter is.

HATCHER en WEISS voegen bij 90 cm³ kattenbloed, dat met 10 cm³ 10% natriumcitraatoplossing onstolbaar wordt gemaakt, 126 mg kininechloride, opgelost in 5 cm³ physiologische keukenzoutoplossing. Na 1 uur verdunnen zij dit mengsel met 105 cm³ physiologisch water en centrifugeeren het. Hierna wordt de concentratie in de verkregen 55 cm³ cellen en in de 155 cm³ verdund plasma bepaald, waarbij dan voor de cellen een concentratie 1 : 1392 en voor het verdunde plasma 1 : 2952 gevonden wordt.

PANTSCHENKOW en KIRSTNER geven aan dat voor menschenbloed de kinineconcentratie in de erythrocyten 3 maal hooger is dan in het plasma. Dit concludeeren zij uit waarnemingen welke zij als volgt samenvatten: „Während sich der Chiningehalt im Gesamtblut nur wenig von der Chininkonzentration in den

roten Blutkörperchen onderscheidet, ist dieselbe im Plasma etwa 3 mal geringer." En inderdaad vermelden zij in de tabel, welke 4 waarnemingen omvat, de volgende waarden: kinineconcentratie in het bloed 1 : 100.000, kinineconcentratie in de erythrocyten 1 : 100.000, kinineconcentratie in het plasma 1 : 300.000.

Hoe dit mogelijk kan zijn, is niet te begrijpen.

FABRE en BINET deelen in hun publicatie mede dat eenige tijd na de toediening van kinine in het plasma geen alkaloïde meer gevonden wordt, terwijl de erythrocyten er nog sterk mede beladen zijn. Zij dienen een hond 0.8 g (!) kininechloride — in oplossing gebracht door toevoegen van urethaan — intraveneus toe en bepalen de concentraties 1, 48 en 96 uur na de inspuiting. Zij verkrijgen de volgende resultaten:

in de cellen op de respectievelijke tijden

1 : 10.000, 1 : 40.000, 1 : 500.000

in het plasma op de respectievelijke tijden

1 : 25.000, 1 : 500.000, < 1 : 500.000.

Opmerkelijk is in dit verband de waarneming van DI MATTEI, die in vitro aantoonde dat urethaan invloed op de verdeeling van kinine in runderbloed heeft. De toevoeging van urethaan zou de concentratie in de cellen vergrooten.

Inderdaad blijkt uit deze resultaten, dat er geen uniformiteit van opvatting heerscht betreffende de verdeeling van de kinine in het bloed. Zelfs bij afzonderlijke beschouwing der uitkomsten van de proeven in vivo zien wij de meeningen in beide richtingen ver-

deeld; er zijn evenveel voor- als tegenstanders der ophooping van de kinine in de roode bloedlichaampjes.

Het vraagstuk van de verdeling van de kinine tusschen de bloedcellen en het plasma is ook door ons nader bestudeerd.

Om te beginnen hebben wij bij de verschillende dierproeven in het vorige hoofdstuk beschreven, naast de bloedbepalingen ook enkele plasmabepalingen verricht. Bij het afnemen van het bloed vingen wij op verschillende tijden, bij de diverse proefdieren grotere hoeveelheden ($\pm 30 \text{ cm}^3$) bloed op. Een gedeelte hiervan werd gebruikt voor de betreffende concentratiebepalingen in het totale bloed, de rest ervan werd gecentrifugeerd. Na ongeveer 20 minuten centrifugeeren, werd er 2 maal 5 cm^3 helder plasma van afgepipetteerd. In dit plasma werd dan op dezelfde manier als in het bloed het kininegehalte bepaald.

De volgende tabel geeft een overzicht over de aldus verkregen waarden:

TABEL 42.

Hond	Toedieningswijze	Concentratie in bloed, γ per cm^3	Concentratie in plasma, γ per cm^3	Tijd na toediening
Z	10 mg/kg per os	1.46	1.61	1 ^h . 0'
K	30 mg/kg per os	1.79	2.05	7 ^h . 25'
B	30 mg/kg per os	1.82	2.04	6 ^h . 30'
T	10 mg/kg intrav.	2.12	2.33	0 ^h . 12'
J	10 mg/kg intrav.	2.32	2.35	0 ^h . 41'
B	10 mg/kg intramusc. (Solvochine)	2.86	3.25	0 ^h . 19'
B	10 mg/kg intramusc. (kinine-urethaan)	1.38	2.03	2 ^h . 46'

In enkele gevallen werden ook de haematokrietwaarden van het bloed bepaald.¹⁾ Met deze waarde, die het volumepercent der cellen aangeeft, kan de concentratie in de lichaampjes berekend worden, door toepassing van de volgende vergelijking.

Concentr. bloed = (concentr. plasma \times vol. % plasma + concentr. cellen \times vol. % cellen) : 100.

Voor proef 2, waar als haematokrietwaarde 31 werd gevonden, geeft deze vergelijking de volgende waarde voor de concentratie in de cellen:

$$1.79 = 2.05 \times 0.69 + X \times 0.31$$

waaruit volgt, dat $X = 1.21$ en de concentratie in het plasma 1.7 maal zoo groot is als de concentratie in de cellen. Voor proef 6 vinden wij voor deze verhouding 1.5 : 1.

Uit deze bepalingen blijkt dat — zonder uitzondering — *de concentratie in het plasma hooger is dan die in de cellen*. De verschillen zijn meerendeels grooter dan 10%. Zij vallen dus zeker buiten de bepalingsfout.

Proeven in vitro moesten ons nu over dit verschijnsel iets meer leeren. Allereerst werd nagegaan of de verdeling ook afhankelijk was van den *tijd*, gedurende welke de kinine in het bloed opgelost was.

Bij 200 cm³ met 600 mg natriumcitraat onstolbaar gemaakt bloed, werd 0.5 cm³ eener kininesulfaatoplossing gevoegd met een kininegehalte van 0.8 mg per

¹⁾ De haematokriet werd ons ter beschikking gesteld door Professor Ringer, waarvoor wij hem onzen dank betuigen.

cm³. Dit mengsel werd goed geschud en op 37° gehouden. Na verschillende tijden werd een gedeelte hiervan gecentrifugeerd. Van het heldere plasma bepaalden wij vervolgens het alkaloïdegehalte. Het centrifugeeren duurde telkens 15 minuten. Ook werd de concentratie in het totale bloed bepaald.

TABEL 43.

Tijd na toevoeging van kinine	Concentratie in plasma, γ per cm ³
0 ^h . 0'	2.39
0 ^h . 7'	2.28
0 ^h . 19'	2.44
0 ^h . 39'	2.43
0 ^h . 57'	2.33
1 ^h . 16'	2.29

Hieruit blijkt dus, dat de concentratie in het plasma in de loop van een uur *niet* verandert. Ook is deze hooger dan de concentratie in het bloed, waarvoor wij een gemiddelde waarde vonden van 1.92 γ per cm³.

Om de afhankelijkheid der verdeling van de oorspronkelijke *kinineconcentratie* na te gaan hebben wij enkele proeven als volgt verricht:

Een hoeveelheid bloed werd met natriumcitraat, dat in zoo weinig mogelijk water opgelost was, onstolbaar gemaakt. De hoeveelheid natriumcitraat bedroeg 0.3% van het gewicht aan bloed. Vervolgens werd een oplossing van kininesulfaat toegevoegd, van zoodanige sterkte dat per 100 cm³ bloed hoogstens 1 cm³ noodig was om de bij de proef gewenschte concentratie

te krijgen. Na goed mengen werd van dit bloed — dat wij het totale bloed noemen — het volgende bepaald:

- a) de kinineconcentratie en de haematokrietwaarde;
- b) de kinineconcentratie in het plasma, dat verkregen werd door centrifugeeren van het totale bloed;
- c) de kinineconcentratie en de haematokrietwaarde van het cellenrijk bloed, dat verkregen werd door het plasma na het centrifugeeren zooveel mogelijk af te schenken en de overgebleven cellenbrij goed op te roeren.

Uit de gegevens dezer bepalingen kon nu, op dezelfde manier als dit in het voorbeeld bij de proeven in vivo uitgewerkt is, de alkaloïdeconcentratie in de cellen berekend worden. Hierbij verkregen wij dan bij één proef 2 waarden voor deze concentratie n.l. een waarde uit de plasmaconcentratie en de concentratie in het totale bloed; een tweede waarde uit de plasmaconcentratie en de concentratie in het cellenrijke bloed. De overeenstemming dezer beide berekende waarden was een controle op de nauwkeurigheid van onze werkwijze. Het is onnoodig te zeggen dat alle bepalingen in duplo gebeurden; de opgegeven waarden zijn de gemiddelden uit deze bepalingen. (Tabel 44)

De bepalingen der hooge concentraties (boven 200 γ per cm^3) geschieden door de 5 cm^3 bloed of plasma na het homogeen maken met de natronloog tot 500 cm^3 met water aan te vullen. Van deze verdunning werd dan 5 cm^3 ter extractie afgepipetteerd.

TABEL 44.

Bloed- monster	Haemato- kriet- waarde	Gevonden concentr. in totaal- bloed	Gevonden concentr. in cellen- rijk bloed	Gevonden concentr. in plasma	Be- reken- de concentr. in cellen	Concentr. in plasma Concentr. in cellen
A.	33	2.92	—	3.14	2.48	1.3
	—	18.0	—	21.9	10.0	2.2
B.	46	7.20	—	7.33	7.04	1.1
	—	1.90	—	2.00	1.81	1.1
C.	40	1.92		2.36	1.25	1.9
	—		1.77			
D.	41	2.64		3.16	1.91	1.6
	—		2.39			
E.	36	0.97		1.47	0.08	16
	82		0.35		0.09	
	36 83	11.60	10.80	12.66	9.72 10.42	1.2
F.	42	1.65	—	2.15	0.95	2.3
	42	190		160	230	
	76		216		234	0.69
G.	47	1.35		2.05	0.55	3.5
	92		0.71		0.59	
	47 89	190	220	139	246 233	0.58
H.	45	276		198	371	0.53
	80		339		375	
	45 79	554	666	428	706 728	0.60

De conclusie, welke wij uit tabel 44 trekken is dat bij één bloedmonster de verhouding van de concentraties in het plasma en in de roode bloedlichaampjes afhankelijk is van de concentratie der kinine in het totale bloed.

Bij de concentraties welke in vivo kunnen optreden is deze verhouding grooter dan 1, m.a.w. de kinineconcentratie in het plasma is hooger dan die in de cellen.

Bij hoogere concentraties, zooals 200 γ per cm^3 is de verhouding daarentegen kleiner dan 1.

Duidelijk komt dit in proef F. en G. tot uiting, waar aan eenzèlfde bloedmonster zowel groote als kleine hoeveelheden kinine zijn toegevoegd.

In tabel 45 hebben wij de resultaten der proeven in vitro volgens de kinineconcentratie in het totale bloed gerangschikt.

TABEL 45.

Concentr. in bloed, γ per cm^3	Concentr. in plasma, γ per cm^3	Berekende concentr. in cellen, γ per cm^3	Concentratie in plasma
			Concentratie in bloedlich.
0.97	1.47	0.09	16
1.35	2.05	0.58	3.5
1.65	2.15	0.95	2.3
1.90	2.00	1.81	1.1
1.92	2.36	1.25	1.9
2.64	3.16	1.91	1.6
2.92	3.14	2.48	1.3
7.20	7.33	7.04	1.1
11.60	12.66	10.07	1.2
18.0	21.9	10.00	2.2
190	139	240	0.58
190	160	232	0.69
276	198	372	0.53
554	428	717	0.60

Men kan in de laatste kolom, ook reeds bij de concentraties beneden 20γ per cm^3 , waarbij het plasma wel een grootere kinineconcentratie heeft, een kleiner worden der verhouding van de concentratie in het plasma en de cellen zien optreden bij toenemende kinineconcentratie. De waarde welke wij voor deze verhouding vinden, zal — juist bij de kleine concentraties — sterk beïnvloed worden door de gevoeligheid der bepalingmethode. De fouten bij de concentratiebepalingen en de bepaling der haematokrietwaarden zullen bij de berekening der concentraties in de cellen juist in deze gevallen groote afwijkingen geven. Ook zullen de andere factoren waarvan het quotiënt afhangt een groot gewicht in de schaal leggen. Met deze factoren, zooals het toevoegen van natriumcitraat, het CO_2 - en O_2 -gehalte van het bloed, zal bij verder onderzoek ook rekening moeten gehouden worden.

Om de invloed van *aethylurethaan* op de verdeling van de kinine, zooals DI MATTEI deze geconstateerd had, na te gaan hebben wij de volgende proef gedaan:

Bij 3 bloedporties van 40 cm^3 — met 0.3% natriumcitraat onstolbaar gemaakt — werd 1 cm^3 eener oplossing gevoegd die respectievelijk als volgt was samengesteld:

- a. kininesulfaat opgelost in physiologisch water, met als kinineconcentratie 80γ per cm^3 .
- b. eenzelfde oplossing als onder a. genoemd, waarbij 40γ per cm^3 *aethylurethaan* was gevoegd (dit is de verhouding van kinine tot urethaan die in de genees-

kunde gebruikt wordt).

c. eenzelfde kinineoplossing als onder a. genoemd, waarbij 400 γ per cm^3 aethylurethaan was gevoegd (dit is de verhouding zooals DI MATTEI die gebruikte).

Na een half uur werden de bepalingen weer op de hierboven beschreven manier uitgevoerd, d.w.z. van elk monster dus totaal bloedbepalingen, plasmabepalingen, bepalingen van bloed met verhoogd aantal bloedlichaampjes en de verschillende haematokrietwaarden.

TABEL 46.

	Haematokriet-waarde	Gevonden concentr. in totaal bloed	Gevonden concentr. in cellen-rijk bloed	Gevonden concentr. in plasma	Berekende concentr. in cellen	Concentr. in plasma Concentr. in cellen
a.	37 68	1.96	1.31	2.72	0.67 0.65	4.1
b.	37 78	1.91	1.19	2.59	0.75 0.79	3.4
c.	37 80	1.92	1.05	2.69	0.62 0.64	4.3

Uit deze tabel blijkt dat het urethaan geen invloed heeft gehad op de verdeling van de kinine tusschen plasma en cellen. De onderlinge verschillen welke bij de plasmabepalingen zijn gevonden, liggen binnen de proeffout.

HOOFDSTUK V.

DE OPNAME VAN KININE DOOR DE
LONGEN.

Reeds geruimen tijd worden kininepreparaten als specifiek middel tegen de door pneumococcen veroorzaakte longontsteking toegepast.

De in dit verband verrichte onderzoeken van CAHN-BRONNER en BOECKER en ook de bepalingen van AKASHI wijzen op een sterke ophooping van de kinine in de longen. BOECKER vond, dat de concentratie van de kinine in dit orgaan tot $7 \times$ grooter was dan in de lever. AKASHI kon bij konijnen een concentratie in de longen vast stellen, die $2-100 \times$ sterker was dan die in het bloed.

Er bestaat een uitgesproken voorkeur der artsen voor de toediening der kininepreparaten door inspuiting; verscheidene schrijvers vermelden zelfs dat toediening door de mond bij longontsteking de goede uitwerking mist. Dat bij de therapie vooral van Solvochine gebruik wordt gemaakt zou wellicht geheel aan de reclame voor dit specialité kunnen worden toegeschreven. Het is echter ook mogelijk dat inderdaad Solvochine gunstiger werkt dan andere kinineoplossingen.

De voorkeur voor de intramusculaire inspuiting der kininepreparaten kan misschien verklaard worden uit de uitkomsten van de proeven, die in hoofdstuk III beschreven zijn. Daar toch bleek dat na inspuiting in

de spieren — in het bijzonder van Solvochine — de concentratie van kinine in het bloed een belangrijk hogere top bereikt dan bij toediening door de mond. In hoofdstuk IV bleek echter dat bij stijging van de concentratie van de kinine in het plasma, deze in de bloedlichaampjes veel minder toeneemt. Dit laatste was voor ons een waarschuwing dat niet zonder nader onderzoek de conclusie mag getrokken worden, dat een hogere kinineconcentratie in het bloed ook tot een sterkere ophooping van kinine in de longen voert.

Wij hebben nu proeven verricht, welke een oplossing zouden kunnen geven voor de genoemde problemen. Het bleek niet mogelijk om op een eenvoudige wijze de kinineconcentratie in het longweefsel te bepalen. Wij hebben daarom een andere weg gevolgd en wel de opgenomen kinine berekend uit de hoeveelheid kinine, welke bij de doorstroming van een geïsoleerd longpreparaat uit het bloed verdwijnt. Deze berekening is alleen dan toelaatbaar wanneer de long tijdens de proef de kinine niet omzet. Blijkens de cijfers van de hierna te beschrijven proeven is dit ook niet, of in uiterst geringe mate het geval geweest.

Wij maakten gebruik van de opstelling volgens BRODIE, zooals MAGNUS en SORGDRAGER deze uitvoerig beschreven hebben. Voor de proeven hebben wij de longen van katten gekozen daar deze resistenter zijn dan die van bijv. honden.

Het verloop der proef was als volgt:

De kat werd in aethernarcose verbloed, canules in het linker atrium en in de arteria pulmonalis gebracht

en vervolgens de longen met physiologisch water doorstroomd tot dit geheel kleurloos bleef. De longen en een gedeelte van het hart werden dan uit de borstkas genomen en in een glazen cylinder gebracht. Gedurende de geheele bewerking ademden de longen kunstmatig.

Na aansluiting aan het toestel van Brodie werd hierin een bepaalde hoeveelheid gedefibrineerd kattenbloed geschonken. De longen werden nu eenigen tijd doorstroomd met het verdunde bloed, d.w.z. het mengsel van het toegevoegde bloed en de physiologische keukenzoutoplossing welke in de longen en in het toestel aanwezig was. Het volume van dit verdunde bloed werd berekend uit het volume van het toegevoegde bloed en de verhouding der haemoglobinegehalten van het oorspronkelijke bloed en het verdunde bloed. De haemoglobinegehalten werden vergeleken — na omzetting in haematine — in de colorimeter van KLETT.

Nadat ongeveer 10 minuten doorstroomd was, werd de gewenschte hoeveelheid kininesulfaat, opgelost in physiologisch water, toegevoegd. Na bepaalde tijden werden bloedmonsters genomen en de kinineconcentratie hierin bepaald. Tegen het einde van de proef, welke ongeveer anderhalf uur duurde, begon een weinig vloeistof ($\pm 10 \text{ cm}^3$) uit de longen te lekken. Het kininegehalte hiervan was echter ten naasten bij gelijk aan de eindconcentratie van de kinine in het bloed.

De beginconcentratie van de kinine in het verdunde bloed is bekend daar wij het volume van het verdunde bloed bepalen en een bekende hoeveelheid kinine toevoegen.

Proef I.

Gewicht kat 3.2 kg. Toegevoegd volume bloed 50 cm³.

Berekend volume verdund bloed 115 cm³.

Toegevoegd 5 cm³ kininesulfaatoplossing, bevattende 800 γ kinine.

Beginconcentratie verdund bloed 6.7 γ per cm³.

Tijd van afneming: 5' 30' 45'

Concentratie γ per cm³: 1.18 0.81 0.76

In de longen is dan een hoeveelheid kinine aanwezig gelijk aan: $800 - 120 \times 0.76 = 709\gamma$.

Berekend per g long geeft dit 24.6 γ . (het gewicht der longen wordt op 9 g per kg lichaamsgewicht geschat).

Proef II.

Gewicht kat 3.2 kg. Toegevoegd volume bloed 80 cm³.

Berekend volume verdund bloed 140 cm³.

Toegevoegd 5 cm³ kininesulfaatoplossing, bevattende 800 γ kinine.

Beginconcentratie verdund bloed 5.5 γ per cm³.

Tijd van afneming: 5' 45' 60' 75'

Concentratie γ per cm³: 1.94 1.01 0.97 0.89

In de longen aanwezige hoeveelheid kinine: $800 - 145 \times 0.89 = 671\gamma$.

Per gram long geeft dit: 23.3 γ .

Proef III.

Gewicht kat 3.3 kg. Toegevoegd volume bloed 75 cm³.

Berekend volume verdund bloed 93 cm³.

Toegevoegd 10 cm³ kininesulfaatoplossing, bevattende 1600 γ kinine.

Beginconcentratie verdund bloed 15.5 γ per cm³.

Tijd van afneming: 30' 45' 60'

Concentratie γ per cm³: 3.14 2.54 2.50

In de longen aanwezige hoeveelheid kinine: $1600 - 103 \times 2.50 = 1342\gamma$.

Per gram long geeft dit: 45.2 γ .

Proef IV.

Gewicht kat 3.2 kg. Toegevoegd volume bloed 80 cm³.

Berekend volume verdund bloed 160 cm³.

Toegevoegd 10 cm³ kininesulfaatoplossing, bevattende 1600 γ kinine.

Beginconcentratie verdund bloed 9.4 γ per cm^3 .

Tijd van afneming: 45' 60' 75'

Concentratie γ per cm^3 : 2.11 1.89 1.76

In de longen aanwezige hoeveelheid kinine: $1600 - 170 \times 1.76 = 1301 \gamma$.

Per gram long geeft dit: 45.2 γ .

Proef V.

Gewicht kat 3.3 kg. Toegevoegd volume bloed 80 cm^3 .

Berekend volume verdund bloed 160 cm^3 .

Toegevoegd 10 cm^3 kininesulfaatoplossing, bevattende 1600 γ kinine.

Beginconcentratie verdund bloed 9.4 γ per cm^3 .

Tijd van afneming: 5' 45' 60' 75'

Concentratie γ per cm^3 : 2.73 2.46 2.03 1.96

In de longen aanwezige hoeveelheid kinine: $1600 - 170 \times 1.96 = 1267 \gamma$.

Per gram long geeft dit: 42.7 γ .

Proef VI.

Gewicht kat 1.4 kg. Toegevoegd volume bloed 70 cm^3 .

Berekend volume verdund bloed 130 cm^3 .

Toegevoegd 25 cm^3 kininesulfaatoplossing, bevattende 4000 γ kinine.

Beginconcentratie verdund bloed 25.8 γ per cm^3 .

Tijd van afneming: 5' 45' 60' 75'

Concentratie γ per cm^3 : 12.9 10.5 10.4 10.4

In de longen aanwezige hoeveelheid kinine: $4000 - 155 \times 10.4 = 2388 \gamma$.

Per gram long geeft dit: 189 γ .

In tabel 47 geven wij een overzicht van de resultaten die in deze proeven verkregen zijn. De laatste kolom geeft aan, hoeveel maal de kinineconcentratie per g long grooter is dan de eindconcentratie in het verdunde bloed.

TABEL 47.

Beginconcentratie in verdund bloed γ per cm^3	Eindconcentratie in verdund bloed γ per cm^3	Concentratie γ per g long	Concentratie in longen — Concentratie in bloed
5.5	0.89	23.3	26
6.7	0.76	24.6	32
9.4	1.96	42.7	22
9.4	1.76	45.2	26
15.5	2.50	45.2	18
25.8	10.4	189	18

Dit experiment geeft ons aanleiding tot het trekken van de volgende conclusies:

1. In de longen kunnen wij een orgaan zien dat groote hoeveelheden kinine kan opnemen.
2. Dit opnemen vindt zeer snel plaats. (Men denke aan het snelle verdwijnen der kinine uit het bloed bij intraveneuze injectie.)
3. Er is een verband tusschen de bloedconcentratie en de concentratie in de longen. De verdeling bereikt een evenwicht.
4. De verhouding der concentratie in de longen en het bloed schommelt in deze proeven om de 25, zonder dat er uit blijkt dat de verhouding een andere zou zijn bij wisselende beginconcentratie in het bloed. Dit laatste is dus in tegenstelling met de resultaten, verkregen bij de vergelijking der kinineconcentraties in het plasma en de bloedlichaampjes.
5. Deze resultaten, gevoegd bij die uit hoofdstuk III, maken aannemelijk dat de kinineconcentratie in de longen een hooger niveau zal bereiken na intramusculaire inspuiting dan na toediening van kinine door de mond.

HOOFDSTUK VI.

DE KININE-UITSCHEIDING IN DE URINE.

Door talrijke onderzoeken is het komen vast te staan, dat een groot gedeelte van de kinine in de urine wordt uitgescheiden. De opgaven over de hoeveelheid uitgescheiden alkaloïde varieeren van 3—42% van de toegediende hoeveelheid. Meestal liggen de waarden tusschen de 10 en 15%. Bij de bepaling van de kinine-concentratie in urine heeft men niet met zulke ongunstige omstandigheden te doen als bij bloed. Men heeft hier hogere concentraties en meer uitgangsmateriaal ter beschikking, terwijl ook het isoleeren van het alkaloïde gemakkelijker is.

Ofschoon het eigenlijk buiten het gestelde doel valt, hebben wij de mogelijkheid nagegaan om met de voor bloed uitgewerkte methode het kininegehalte in urine te bepalen.

De urine, waaraan een bekende hoeveelheid kinine was toegevoegd, werd op dezelfde manier als dit bij het bloed is beschreven, behandeld.

TABEL 48.

Aanwezige hoeveelheid γ per cm^3	Gevonden waarden γ per cm^3		Gemiddelde	Fout in %
7.50	7.35	7.40	7.38	-1.6
4.50	4.58	4.51	4.55	+1.1
3.00	2.96	2.90	2.93	-2.3
1.90	1.84	1.80	1.82	-4.2
1.10	1.08	1.06	1.07	-2.7

Uit deze uitkomsten zien wij, dat de methode ook zeer geschikt is om de kinineconcentratie van urine te bepalen.

Wij hebben nu in een enkel geval de hoeveelheid uitgescheiden kinine bepaald. Een proefpersoon nam, nadat de blaas geledigd was, 10 Aflukin-pillen (1 pil bevat 50 mg kininesulfaat) per os in. Na bepaalde tijden werd de urine opgevangen. Van iedere portie urine werd 5 cm³ ter bepaling genomen. Van de drie laatste porties werd 10 cm³ genomen en na de extractie de kinine tenslotte slechts in 5 cm³ zwavelzuur opgelost.

TABEL 49.

Tijd na toediening	volume urine in cm ³	concentratie, γ per cm ³	totale hoeveelheid in mg	mg per uur
0 ^h .30'	47	0.69	0.03	0.06
1 ^h .	31	33.5	1.04	2.08
2 ^h .30'	81	128	10.37	6.91
4 ^h .30'	113	107	12.09	6.05
9 ^h .30'	268	63.9	17.13	3.43
12 ^h .	218	24.0	5.23	2.09
21 ^h .30'	230	26.8	6.16	0.65
30 ^h .	460	4.37	2.01	0.24
45 ^h .	650	0.87	0.57	0.06
48 ^h .	134	0.50	0.07	0.02
60 ^h .	475	0.30	0.14	0.01

totaal uitgescheiden 54.84 mg kinine.

In dit geval is dus 15% van de totaal toegediende hoeveelheid kinine uitgescheiden. Na een half uur is de urine reeds kininehoudend; de top in de uitscheiding wordt binnen 4 uur bereikt; het grootste gedeelte is na 12 uren uitgescheiden; terwijl na 3 dagen nog kinine in de urine aan te toonen is.

SAMENVATTING.

Er wordt een methode aangegeven ter bepaling van kinine in bloed. Nadat van het bloed een homogene vloeistof is gemaakt door het te verwarmen met 30 % natronloog, wordt de kinine met chloroform geëxtraheerd. De bepaling geschiedt door het fluorescentielicht van de kininesulfaatoplossing te vergelijken met het licht eener standaardlamp. De gevonden waarden liggen gemiddeld 4 % te laag, de grootste afwijking is 8 %. Met deze methode is de kininespiegel in het bloed van honden nagegaan, na toediening van kininezouten langs verschillende wegen.

Hoe hoger de *per os* toegediende dosis kininechloride is geweest, des te hoger ligt de maximale concentratie in het bloed. Reeds na 8 minuten is de kinine in het bloed aanwezig, de concentratie stijgt hierna nog slechts betrekkelijk weinig. Bij toediening der dosis in gedeelten wordt een lager maximum bereikt, dan wanneer de geheele dosis ineens wordt gegeven. Na toediening van Euchinine *per os* is de opname slechts iets langzamer dan na de toediening van het chloride; de bereikte concentratie in het bloed ligt even hoog.

Na *intramusculaire* injectie van kininechloride wordt het maximum eerder bereikt dan na toediening *per os*, dit maximum is ook hoger. Na *intramusculaire* inspuiting blijft de concentratie ook langer hoog. Toevoeging van urethaan of antipyrine aan de kininechloride-oplossing in een verhouding van 2 : 1 geeft geen duidelijk verschil in resorptie. Wordt van het mengsel kininechloride-antipyrine de pH op 7.2 gebracht, dan ligt de maximale concentratie hoger en blijft deze

ook langer hoog, dan wanneer de pH der ingespoten oplossing 6.8 bedraagt. Nog veel hoger ligt de top wanneer het mengsel, bij eenzelfde pH, een samenstelling heeft van kininechloride antipyrine 3 : 2 (zooals o.a. Solvochine).

Na *intraveneuze* toediening wordt de kinine met zeer groote snelheid uit het bloed verwijderd. De waargenomen maximale concentratie ligt lager dan na intramusculaire injectie van de oplossing kininechloride antipyrine 3 : 2, met een pH 7.2.

In vivo is een verdeeling van de kinine tusschen de bloedlichaampjes en het plasma ten gunste van het laatste gevonden. Ook bij de proeven in vitro, waarbij de kinineconcentratie van het totale bloed in het gebied der concentraties ligt welke in vivo optreden, heeft het plasma een hogere concentratie. Echter bij grootere concentratie van de kinine, zooals 200 γ per cm^3 , is de concentratie in de bloedlichaampjes grooter dan die in het omringende plasma.

De opname van kinine door de longen wordt onderzocht door middel van de doorstroming van overlevende kattenlongen. De verhouding der kinineconcentratie in de longen tot die in het bloed ligt bij deze proeven gemiddeld bij 25 : 1, zonder dat blijkt, dat de verhouding een andere zou zijn bij wisselende beginconcentratie.

Het opnemen van kinine door de longen vindt zeer snel plaats.

Tenslotte blijkt, dat de bepalingsmethode ook geschikt is om de hoeveelheid uitgescheiden kinine in de urine te bepalen.

ZUSAMMENFASSUNG.

Es wird eine Methode angegeben zur Bestimmung des Chiningehaltes im Blute. Nachdem das Blut, durch Erwärmen mit 30 % Natronlauge zu einer homogenen Lösung geworden ist, wird das Chinin mit Chloroform extrahiert. Zur Bestimmung wird das Fluoreszenzlicht der Chininsulfatlösung mit dem Licht einer Standardlampe verglichen. Die gefundene Werte sind im Mittel 4 % zu niedrig, der grösste Fehler beträgt 8 %.

Mit dieser Methode wurde die Konzentration im Blute von Hunden, nach Zuführung von Chininsalzen auf verschiedenen Wegen, bestimmt.

Je höher die *per os* gegebene Dosis Chininchlorid ist, um so höher liegt die maximale Konzentration im Blute. Schon nach 8 Minuten ist das Chinin im Blute vorhanden, danach steigt die Konzentration nur noch wenig. Nach Darreichung in refracta Dosi wird ein niedrigeres Maximum erreicht, als wenn die ganze Dosis auf einmal gegeben wird.

Nach peroraler Verabreichung von Euchinin ist die Aufnahme nur wenig langsamer wie nach der Zuführung vom Chlorid; die im Blute erreichte Konzentration liegt eben so hoch.

Nach *intramuskulärer* Einspritzung des Chininchlorids wird das Maximum eher erreicht als nach Zuführung *per os*; dieses Maximum ist auch höher. Nach intramuskulärer Injektion bleibt die Chininkonzentration auch länger hoch. Hinzufügen von Urethan oder Antipyrin bei der Chininchloridlösung in einem Verhältnis von 2 : 1, gibt keinen deutlichen Unterschied

bei der Resorption. Wird das pH vom Gemisch Chininchlorid—Antipyrin auf 7.2 gebracht, dann liegt die maximale Konzentration höher und bleibt sie auch länger hoch, als wenn das pH der eingespritzten Lösung 6.8 ist. Noch viel höher liegt der Gipfel wenn das Gemisch bei demselben pH, ein Verhältnis von Chininchlorid Antipyrin 3 : 2 (wie u.a. Solvochin) hat.

Nach *intravenöser* Applikation verschwindet das Chinin sehr schnell aus dem Blute. Die beobachtete maximale Konzentration liegt niedriger als nach intramuskulärer Injektion der Lösung Chininchlorid Antipyrin 3 : 2, mit einem pH 7.2.

In vivo wurde eine Verteilung des Chinins zwischen den Blutkörperchen und dem Plasma zugunsten des letzteren gefunden. Ebenso ist bei den Versuchen in vitro die Konzentration im Plasma grösser, wenn die Chininkonzentration des Gesamtblutes im Bereich der Konzentrationen liegt, welche in vivo in Frage kommen. Bei höheren Chininkonzentrationen — wie 200 γ per cm^3 — aber, ist die Konzentration in den Blutkörperchen grösser als im Plasma.

Die Chininaufnahme der Lungen wird an der überlebenden, durchbluteten Katzenlunge untersucht. Das Verhältnis der Chininkonzentration in den Lungen zu der im Blute, beträgt bei dieser Versuchsanordnung im Mittel 25 : 1, ohne dass es sich herausstellt, dass das Verhältnis sich ändert bei wechselnden Anfangskonzentrationen. Die Aufnahme von Chinin in den Lungen findet sehr schnell statt.

Schliesslich zeigt sich die Methode auch geeignet zur Bestimmung des im Harn ausgeschiedenen Chinins.

SUMMARY.

A method is given for the quantitative determination of quinine in blood. After the blood has been turned into a homogeneous liquid by heating it with a 30 % solution of sodium hydrate, the quinine is extracted by means of chloroform. The determination is carried out by comparing the fluorescent light of the quinine sulfate solution with the light of a standard-lamp. The values found lie on the average 4 % too low, the greatest deviation being 8 %.

By this method the quinine level in the blood of dogs has been investigated after the administration of quinine salts in different ways.

The higher the administered dose *per os* of quinine hydrochloride has been, the higher is the maximal concentration in the blood. After 8 minutes already the quinine is present in the blood, the raise in the curve after this moment is but small. When administering the dose in parts, a lower maximum is reached than when the whole dose is given at once. After oral administration of Eüquinine the resorption is only somewhat slower than after the administration of the chloride. The concentration obtained in the blood is just the same.

After the *intramuscular* injection of quinine-hydrochloride the maximum is reached much sooner than after oral administration. This maximum is higher too. After intramuscular application the concentration also remains high for a much longer time. Addition of urethane or antipyrine to the quinine hydrochloride solution in a proportion of 2 : 1, does not show any distinct difference in resorption. If the pH of the mixture of

quinine hydrochloride and antipyrine is brought to 7.2, the maximal concentration is higher and remains a longer time high than in the case that the pH of the injected solution is 6.8. The top lies higher yet if the mixture with the same pH, has a composition of quinine hydrochloride antipyrine 3 : 2 (as a.o. Solvochine).

After the *intravenous* administration the quinine leaves the blood very quickly. The maximal concentration observed is lower than after the intramuscular injection of the solution quininechloride antipyrine 3 : 2, with a pH 7.2.

In vivo a distribution of quinine between corpuscles and plasma has been found in favour of the latter. Also with the experiments in vitro, where the quinine concentration of the total blood lies within the values of the concentrations that occur in vivo, the plasma has a higher concentration. In case of a greater concentration of the quinine, however, such as 200 γ per cm^3 , the concentration in the corpuscles is greater than in the surrounding plasma.

The circulation through surviving cats' lungs gave an indication of the absorption of quinine by the lungs. The proportion of the quinine concentration in the lungs to that in the blood lies in these experiments on an average at 25 : 1, without any indication that the proportion would be different when changing the concentration at the beginning. The absorption of quinine by the lungs takes place very quickly.

Finally, it turns out that the method of determination is also suitable to determine the quantity of excreted quinine in the urine.

LITERATUURLIJST.

1. AKASHI, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. **27**, 12 (1923)
2. ACTON en CHOPRA, Ind. Journ. med. research, **13**, 197 (1925)
3. ACTON en KING, Bioch. Journ. **15**, 53 (1921)
4. BACELLI, Berl. kl. Wochenschr. **27**, 489 (1890)
5. BALDONI, Arch. di farmacol. **13**, 324 (1912)
6. BOECKER, Biochem. Zeitschr. **103**, 63 (1920)
7. BIJLSMA, e.a. Kina en Kinine, uitgave R.I.P.T.O. (1927)
8. BINZ, Das Chinin. Berlijn. (1875)
9. CAEN-BRONNER, Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther. **20**, 307 (1919)
10. DANCKWORTT, Lumineszenzanalyse, Leipzig. (1934)
11. DENIGÈS, Journ. pharm. et chim. 6 **17**, 505 (1903)
12. ENNEKING, Diss. Tierärztliche Hochschule, Hannover. (1930)
13. FABRE en BINET, Compt. rend. Soc. Biol. **101**, 1068 (1929)
106, 1116 (1931)
14. FABRE en BINET, Journ. Pharmac. Chim. **11**, 55 (1930)
15. GIBBS, Journ. of pharmacol. and therap. **33**, 185 (1928)
16. GIEMSA en SCHAUMANN, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. **12**, 78 (1908)
17. GOLGI, Deutsch. med. Wochenschr. **18**, 663, 685, 707, 729, (1892)
18. HALBERKANN, Biochem. Zeitschr. **95**, 24 (1919)
19. HARTMANN en ZILA, Arch. exp. Pathol. und Pharmakol. **83**, 221 (1918)
20. HATCHER en WEISS, Journ. of pharmacol. and exp. ther. **29**, 279 (1926)
30, 347 (1927)
21. HEFFTER's Handbuch der experimentellen Pharmakologie. band 2, (1920)
22. JOHN, Amer. Journ. trop. med. **12**, 101 (1932)
23. LAVERAN, Traités des Fièvres palustres (1884)
Traité du paludisme (1898)
24. MAGNUS en SORGDRAGER, Mitt. Pflüger's Arch. **155**, 292 (1914)

- | | | | |
|-----|--|------|------------|
| 25. | MATTEI DI, Arch. internat. Pharmacody-
namie, 38 , | 78 | (1930) |
| 26. | MORGENROTH, Deutsch. med. Wochenschr.
44 , | 961, | 988 (1918) |
| 27. | PANTSCHENKOW en KIRSTNER, Arch. f.
Schiffs- u. Tropenhyg. 32 , | 137 | (1928) |
| | 35 , | 286 | (1931) |
| 28. | RAMSDEN, Brit. med. Journ. 117 , | | (1920) |
| 29. | RAMSDEN, LIPKIN en WHITLEY, Ann.
Trop. Med. and Parasit. 12 , | 223 | (1918) |
| 30. | RETZLAFF, Zeitschr. f. exp. Pathol. u.
Ther. 22 , | 65 | (1921) |
| 31. | RONA en BLOCH, Biochem. Zeitschr. 121 , | 235 | (1921) |
| 32. | ROY, Indian Journ. of med. research, 14 , | 129 | (1926) |
| 33. | SCHILLING en BOECKER, Deutsch. med.
Wochenschr. 45 , | 682 | (1919) |
| 34. | SCHNABEL, Biochem. Zeitschr. 112 , | 112 | (1920) |
| | 122 , | 285 | (1921) |
| 35. | SCHOORI, Pharm. Weekblad, 42 , | 235 | (1905) |
| 36. | SMORODINZEW, Biochem. Zeitschr. 188 , | 279 | (1927) |
| 37. | STERKIN en HELFGAT, Biochem. Zeitschr.
207 , | 8 | (1929) |
| 38. | SVEDSKII, Zurn. eksper. biol. i. med. 4 , | 605 | (1927) |
| 39. | TCHAPKEWITCH, Biochem. Zeitschr. 164 , | 53 | (1925) |
| 40. | VERDER en MASEN, Amer. Journ. trop.
med. 11 , | 217 | (1931) |
| 41. | VOGELENZANG, Pharm. Weekblad, 73 , | 1030 | (1936) |

1890	7
1891	10
1892	12
1893	15
1894	18
1895	20
1896	22
1897	25
1898	28
1899	30
1900	32
1901	35
1902	38
1903	40
1904	42
1905	45
1906	48
1907	50
1908	52
1909	55
1910	58
1911	60
1912	62
1913	65
1914	68
1915	70
1916	72
1917	75
1918	78
1919	80
1920	82
1921	85
1922	88
1923	90
1924	92
1925	95
1926	98
1927	100

STELLINGEN.

I.

De verklaring van Saito voor het verschil in werking van cocaïne en novocaïne bij de oppervlakte-anaesthesie, is niet juist.

Y. Saito, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **102**, 367 (1924)
E. Reichelt, „ „ „ **187**, 41 (1937)

II.

Acetylcholine kan niet als een potentiaalvergift worden beschouwd.

W. Straub en J. Scholz,
Arch. Exp. Pathol. u. Pharmakol. **182**, 331 (1936)

III.

De interpretatie der absorptiespectra, welke Fromherz en Hartmann geven bij hun onderzoekingen over urinezuur, is onjuist.

H. Fromherz en A. Hartmann, Ber. **69**, 2420 (1936)
H. Biltz, Ber. **69**, 2750 (1936)

IV.

De reactieproducten welke ontstaan bij de inwerking van diazomethaan op aminozuren bewijzen, dat er een evenwicht is tusschen vrij aminozuur en zwitterion; het verloop der reactie geeft echter geen aanwijzing omtrent de ligging van het evenwicht.

R. Kuhn en W. Brydowna, Ber. **70**, 1333 (1937)

V.

Dorn en Glockler trekken ten onrechte uit hun bij de Röntgen-analyse van koper, lood, cadmium en antimoon verkregen resultaten de conclusie, dat deze metalen geen overgangspunt bezitten.

J. Dorn en G. Glockler, J. Phys. Chem. **41**, 499 (1937)

VI.

De resultaten der proeven van Greenberg verdienen de aandacht bij de beschouwingen over het gebonden water bij lyophyle kolloïden.

D. Greenberg en W. Cohn, J. Gen. Physiol. **18**, 93 (1935)

VII.

Het onderzoek van Tanaka sluit de mogelijkheid niet uit, dat de variola-verwekker een virus is.

K. Tanaka, The Tohoku Journ. of Exp. Med. **31**, (1937)

Ut

1