Utrecht University Library
Partner in Science
Universiteit Utrecht

Over de interfibrillaire stof in de lederhuid bij zoogdieren

https://hdl.handle.net/1874/255977

4e 192 Med 8 Juli 1909

OVER DE INTERFIBRILLAIRE STOF IN DE LEDERHUID BIJ ZOOGDIEREN. . . . . .

ss.
cht

E. H. B. VAN LIER.

OVER DE INTERFIBRILLAIRE STOF IN DE LEDERHUID BIJ ZOOGDIEREN.

Diss. Utrecht 1909

OVER DE INTERFIBRILLAIRE STOF IN DE LEDERHUID BIJ ZOOGDIEREN.

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS Dr. JAN DE VRIES, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE TE VERDEDIGEN OP DONDERDAG 8 JULI * 1909 DES NAMIDDAGS TE 4 UUR DOOR *

EDUARD HENRI BENJAMIN VAN LIER,

* * * * * * ARTS, GEBOREN TE UTRECHT. * * * * * *



AAN MIJNE OUDERS.

Aan het einde mijner academische studie, breng ik U, Hoogleeraren en Lectoren der Philosophische en Medische faculteiten, mijn dank voor het onderwijs, dat ik van U mocht ontvangen.

In het bijzonder geldt mijn dank U, Hooggeleerde PEKELHARING, Hooggeachte Promotor, voor den bereidwilligen steun, dien ik van U bij mijn werk mocht ondervinden. Uwe steeds zoo hartelijk gegeven voorlichting, uwe buitengewone belangstelling in het werk uwer leerlingen, zullen bij mij in dankbare herinnering blijven.

Voor de groote welwillendheid, waarmede Gij, Zeergeleerde RINGER, vaak tijd en moeite aan mijn onderzoek hebt willen geven, ben ik U zeer erkentelijk.

Zeergeleerde BOSSCHA, mij, onder uwe bekwame leiding, aan een groot materiaal klinische kennis te mogen verwerven, is een voorrecht, dat ik op hoogen prijs stel.

INLEIDING.

In 1858 deelde ROLLETT mede [1]), dat de draden van verschillende dikte, waaruit het bindweefsel van pezen, lederhuid en een aantal andere organen hoofdzakelijk bestaat, in zeer dunne, gladde, onvertakte fibrillen kunnen worden gesplitst, wanneer het weefsel vooraf met kalkwater of barytwater eenigen tijd is behandeld. Door deze behandeling wordt namelijk, zooals ROLLETT ontdekte, aan het weefsel een stof onttrokken, die uit de oplossing der alkalische aarde door azijnzuur kan worden neergeslagen en de eigenschappen van eene eiwitstof bleek te vertoonen. Zoolang deze eiwitstof in het bindweefsel aanwezig is, kleven de fibrillen zoo stevig aaneen, dat zij door uitpluizen niet van elkaar losgemaakt kunnen worden. Door deze ontdekking werd de leer van REICHERT weerlegd, volgens welke het bindweefsel uit eene homogene stof zou bestaan, waarin de fijne strepen, die er zoo dikwijls in gezien werden, niet door de aanwezigheid van fibrillen, maar door plooien zouden worden veroorzaakt. ROLLETT merkte terstond op dat de kleefstof die de fibrillen aan elkaar verbindt, ook wel door andere stoffen — verdunde zuren, alkaliën — opgelost kunnen worden, maar dat het voordeel der alkalische aarden hierin gelegen is, dat zij de bindweefselfibrillen niet of nauwelijks doen zwellen.

[1]) Wiener Sitzungsber. Bd. XXX, S. 37.

Eenigen tijd later [1]) sprak ROLLETT het vermoeden uit, dat de eiwitachtige kleefstof tot de groep der mucinen zou behooren, een vermoeden, dat door andere onderzoekers bevestigd werd.

Voor het scheikundig onderzoek van de in het volwassen fibrillaire bindweefsel voorkomende kleefstof werd, zoowel door ROLLETT zelven als door anderen steeds gebruik gemaakt van het peesweefsel, naar aanleiding waarvan de stof dan ook „peesmucine", of ook, in lateren tijd, „tendomucoide" genoemd werd.

Intusschen gaf ROLLETT reeds in zijn eerste mededeeling over dit onderwerp duidelijk te kennen, dat hij het voorkomen daarvan ook in de bundels van bindweefselfibrillen van andere organen, bepaaldelijk van het corium aannam. Ook in het met kalkwater verkregen extract van de huid, kon hij eene eiwitstof aantoonen en hij [2]) haalt met instemming HERMBSTÄDT aan, die had opgemerkt, dat het voordeel dat de leerlooierij trok uit de behandeling van de huid, vóór het looien, met kalk, niet uitsluitend kon worden toegeschreven aan het losmaken van de epidermis en de haren. Een opzettelijk onderzoek naar het voorkomen van tendomucoïde in de huid is evenwel, voor zoover ik heb kunnen nagaan, van den kant van histologen en physiologen niet ingesteld. Wel heeft HALLIBURTON [3]), bij zijne onderzoekingen over myxoedema, een aantal bepalingen verricht van de hoeveelheid stof, die door

---

[1]) Wiener Sitzungsber. Bd. XXXIX, S. 308.

[2]) Ibidem Bd. XXX, S. 47.

[3]) Transactions of the clin. Soc. London, vol. XXI, suppl. 1888 en Journ. of Pathol. and Bacteriol. 1892, p. 1.

uittrekken met verdund barytwater en behandeling van het extract met azijnzuur, uit de huid van den mensch onder verschillende omstandigheden kan worden verkregen, maar de eigenschappen en de samenstelling van de door azijnzuur neergeslagen stof werden daarbij niet onderzocht.

Terwijl nu de biologen, die het bindweefsel in zijne verschillende vormen bestudeerden, tot het besluit kwamen, dat dit weefsel, bij gewervelde dieren althans, overal volgens hetzelfde beginsel gebouwd is en er dus geen bezwaar in zagen, aan te nemen, dat de in alkali oplosbare, in verdund azijnzuur onoplosbare kleefstof, die de fibrillen van de bindweefseldraden van het corium doet aaneen kleven, van denzelfden aard geacht mag worden als de interfibrillaire stof der pezen, werd door scheikundigen, die zich, ten dienste der leerlooierij, uitsluitend met het onderzoek der huid bezighielden, eene andere opvatting ontwikkeld [1]). Volgens hen zou de interfibrillaire stof van het corium zeker niet tot de mucoide stoffen gerekend mogen worden, ja zelfs wellicht niet anders zijn, als collagene stof, ternauwernood verschillend van die, waaruit de fibrillen zijn opgebouwd.

Dit verschil van meening is de aanleiding geweest tot mijn onderzoek, waarbij ik getracht heb de interfibrillaire stof van het corium eenigszins nader te leeren kennen.

Aan de beschrijving van mijne uitkomsten laat ik vooraf gaan:

1ste. Eene beknopte uiteenzetting van de gronden, waarop

---

[1]) Zie Stortenbeker, Album der Natuur, 1906, bl. 261, 293.

men het voorkomen van eene mucoide stof tusschen de bindweefselfibrillen ook in de lederhuid waarschijnlijk meende te mogen achten.

2de. Een overzicht van hetgeen over den aard en de samenstelling der tendomucoïde door verschillende onderzoekers is medegedeeld.

3de. Eene beschrijving van de uitkomsten omtrent de interfibrillaire stof der lederhuid door het scheikundig onderzoek der technologen verkregen.

I.

Toen in 1871 het eerste handboek over weefselleer verscheen, uitgegeven door S. Stricker [1]) met medewerking van tal van geleerden, is daarin het bindweefsel door A. Rollett uitvoerig beschreven. Reeds toen werd onder bindweefsel een groep van weefsels samengevat, welke alle daardoor zijn gekenmerkt, dat de cellen daarin niet aaneensluiten, doch gescheiden zijn door eene intercellulaire stof, die in 't volwassen weefsel in hoeveelheid ver de overhand heeft boven de cellen. Reichert heeft in 1845 't eerst op de verwantschap van deze weefsels gewezen.

Tegenwoordig geeft men van „bindweefsel" nog dezelfde definitie en men rekent dus tot de bindweefselgroep: het fibrillaire bindweefsel (waarin de intercellulaire stof bestaat uit fijne vezels, de bindweefselfibrillen), het kraakbeen, het been (in de beide laatste weefsels is de intercellulaire stof, op 't eerste gezicht zoo geheel van die van het fibrillaire bindweefsel verschillend, gebleken eveneens uit zeer fijne vezels te bestaan), het vetweefsel, het glycogeenweefsel en het lymphoide weefsel.

In al deze weefsels — waaruit pezen, allerlei vliezen, de lymphklieren o. a. zijn opgebouwd — bestaat de intercellulaire stof uit tot bundels vereenigde, uiterst fijne vezels, die na koken met water lijm geven en dus uit collagene d. i. lijmgevende stof, worden gezegd te bestaan (collageen, chondrigeen, osseïne). Deze fijne vezels, de

[1]) Handbuch der Lehre von den Geweben des Menschen u. der Thiere, Leipzig, 1871.

bindweefselfibrillen dus, zijn — zoowel in het fibrillaire bindweefsel, als in het been en het kraakbeen — door eene „interfibrillaire" stof aaneen gekleefd.

De interfibrillaire stof is voor het fibrillaire bindweefsel, het kraakbeen en het been, alhoewel een zeer naverwante, toch niet dezelfde stof. Ze is echter steeds eene samengestelde eiwitstof, een mucoide — of volgens latere onderzoekers een mengsel van verscheidene mucoide stoffen. Wat het fibrillaire bindweefsel betreft is in pezen de „peesmucine", gevonden, in het kraakbeen de „chondromucoïde" en in het been de „osseomucoide". Het verband tusschen de cellen en de intercellulaire stof kan men zich aldus voorstellen:

De bindweefsel*cel* levert de intercellulaire stof en wel zoo, dat de jonge bindweefselcel in hare buitenste lagen, in het zoogenaamde ektoplasma, rijk is aan glycoproteiden (mucinen) of eene moederstof daarvan. *Uit* die mucinen worden de collagene fibrillen gevormd, die, naarmate de afscheiding voortgaat, buiten de cel komen te liggen, waar zij *op kosten der mucinen,* onder invloed van andere stoffen, die door de cellen afgescheiden worden, nog voort kunnen groeien.

De collagene stof waaruit de fibrillen bestaan, is dus te beschouwen als een afbrekingsproduct van de interfibrillaire stof. Want, dat uit eene door de cel naar buiten afgescheiden stof, de fibrillen door synthese zouden worden opgebouwd, is wel niet waarschijnlijk. Tot synthese is wel het protoplasma van de cel, niet de door de cel afgescheiden doode stof in staat. Bovendien is de opvatting, dat collageen door ontleding uit de interfibrillaire stof

ontstaat, geheel in overeenstemming met het feit, dat deze laatste dan ook eene samengestelde eiwitstof is, een mucoïde, waarvan het molecule veel ingewikkelder is samengesteld dan dat der collagene stof. Ook het door VON EBNER goed geconstateerde feit, dat bindweefselfibrillen, in zeer jong bindweefsel althans, ook nog buiten de cel kunnen voortgroeien, is in dit licht bezien zeer begrijpelijk. Men behoeft daarbij niet aan eene bijzondere levensfunctie van de intercellulaire stof te denken, want dat uit een samengesteld eiwit een veel eenvoudiger door ontleding ontstaat is toch wel niet als een teeken van leven op te vatten.

Het is dus moeilijk zich bindweefsel te denken, waarin mucoïde, de voorlooper van de collagene fibrillen, ontbreekt. Zulk bindweefsel is ook nooit gevonden. Ware dat wel het geval, dan zou men moeten denken aan de mogelijkheid, dat alle mucoïde in collageen was omgezet, niet evenwel dat zij in 't geheel niet in dat weefsel geweest was.

Wat de lederhuid aangaat, is intusschen het voorkomen van een in kalkwater oplosbare, eiwitachtige interfibrillaire stof reeds door ROLLETT aangetoond. Nu gebleken was dat de stof die, op dezelfde wijze, uit pezen en ook uit de navelstreng verkregen werd, tot de mucoïden moest worden gerekend, dat bovendien uit kraakbeen chondromucoïde, uit been osseomucoïde kan worden bereid, lag het zeker voor de hand aan te nemen dat ook de stof die door kalkwater of barytwater aan het corium wordt onttrokken, in de groep der mucoïden thuis zou behooren.

II.

Mucine, de slijmstof, die aan speeksel en aan sputa bijv. het taaie, kleverige karakter geeft, dat alle slijm kenmerkt, is het onderwerp van veel onderzoek geweest, alvorens hare scheikundige samenstelling bekend was, als die van eene samengestelde eiwitstof.

HAMMARSTEN [1]) definieert de mucinen in zijn leerboek, als colloïde, proteïdeachtige lichamen, die slijmige oplossingen vormen en met azijnzuur een neerslag geven, dat in overmaat moeilijk oplost. Na koken met verdunde zuren leveren zij eene stof, die FEHLING's proefvocht reduceert. Deze eigenschap onderscheidt de mucinen van vele lichamen, die in physisch karakter overigens bijna gelijk zijn, bijv. van de nucleo-albumine van de gal. De mucinen bevatten C, H, N, S, O, maar geen P.

Na de onderzoekingen van SCHERER, EICHWALD (1865), [2]) HILGER en OBOLENSKY werd mucine wel als eene albuminoïde stof opgevat, doch men meende — zooals bij EICHWALD nog uitdrukkelijk staat vermeld —, dat zij van echt eiwit onderscheiden was door totale afwezigheid van *S* in en een laag gehalte aan *N* van het molecule. HAMMARSTEN vond evenwel in mucine uit het bindweefsel van de navelstreng 1 % *S* en 14,1 % *N*.

---

[1]) Lehrb. d. phys. Chemie, Wiesbaden 1904, S. 51.

[2]) LIEBIG's Annalen Bd. CXXXIV S. 193.

Kort daarna toonden LANDWEHR [1]) (1881—'85) in mucine der glandula submaxillaris en GIACOSA in die uit de schaal van eieren van den kikvorsch *S* en *N* aan. Men wist toen, dat mucine oplost in verdunde alkaliën en uit die oplossing door verdunde zuren kan worden neergeslagen. Verder werd als een zeer belangrijke eigenschap van mucine aangegeven, dat zij met verdunde zuren gekookt eene reduceerende stof levert. Over de chemische samenstelling dezer laatste deed LANDWEHR onderzoekingen, waarbij hij uit de mucine der glandula submaxillaris de zoo veel besproken „dierlijke gom" als niet reduceerend splitsingsproduct, na verhitten dier mucine met waterdamp in den Papiniaanschen pot, verkreeg. Deze onderzoeker hield de mucinen voor mengsels van eiwit met andere stoffen; in de mucine der glandula submaxillaris zou ze bijv. voorkomen als een mengsel van eiwit met dierlijke gom, terwijl in de mucine uit gal verkregen reduceerende stof — ook na koken met verdunde zuren — geheel zou ontbreken.

Later spraken zoowel LANDWEHR [2]), als LOEBISCH (1885) [3]) en HAMMARSTEN [4]) (1885) de meening uit, dat het eiwit in de mucinen chemisch zou zijn gebonden aan de door koken met verdunde zuren afsplitsbare, reduceerende stof.

Intusschen is herhaaldelijk de vraag geopperd, of men wel het recht had „dierlijke gom" als een scheikundig goed te kenmerken stof te beschouwen.

LOEBISCH [5]) beschrijft, hoe hij de dierlijke gom uit pees-

[1]) Zeitschr. f. phys. Chemie Bd. V, VII, VIII, IX, 1881—'85.
[2]) Ibidem Bd. IX, S. 361, 1885.
[3]) Ibidem Bd. X. S. 40.
[4]) L. c. S. 71.
[5]) Ibidem Bd. X. S. 69 u. f.

mucine heeft afgescheiden en FOLIN [1]) heeft in HAMMARSTEN's laboratorium, de voorschriften van LANDWEHR volgende, getracht de dierlijke gom uit mucine te bereiden. Hij kon evenwel geen eiwitvrij praeparaat verkrijgen, doch in plaats van dierlijke gom werd eene mucinalbumose gevormd.

HAMMARSTEN [2]) zelf gaf in 1885 eene verhandeling in het licht, getiteld: „*Studiën über Mucin und mucinähnliche Substanzen*" en een tweetal jaren later maakte hij zijn uitvoerig onderzoek [3]) over mucine der glandula submaxillaris bekend, waarbij hij o. a. een belangrijk middel aan de hand deed om de mucine van verontreiniging met nucleoproteïden te zuiveren.

Ook HAMMARSTEN verkreeg na splitsing van mucine door koken met verdunde zuren een *N*-houdend koolhydraat en niet de *N*-vrije dierlijke gom.

Latere onderzoekers hebben zoowel aan de scheikundige samenstelling der mucinen als zoodanig, als ook aan de, door koken met verdunde zuren, daaruit verkregen splitsingsproducten, hun aandacht gewijd.

F. MÜLLER [4]) heeft na een uitvoerig onderzoek, het reduceerend splitsingsproduct — uit sputummucine van zeer verschillende herkomst na splitsing door middel van zuren verkregen — goed kunnen karakteriseeren. Zijne belangrijke onderzoekingen heeft hij in de „Jubelband zu

---

[1]) Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. XXIII. S. 347.
[2]) PFLÜGER's Arch. f. die ges. Physiologie, Bd. XXXVI, S. 373.
[3]) Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. XII, S. 163.
[4]) Zeitschr. f. Biologie. Bd. XLII, S. 468—565.

Ehren van C. Voit" van het Zeitschrift für Biologie beschreven.

Nadat Müller het plan had opgevat, het slijm der ademhalingswegen scheikundig beter te leeren kennen, had het hem getroffen, dat sputummucine zoo bijzonder rijk bleek te zijn aan door zuren afsplitsbare koolhydraatgroepen, waarvan zij 36.9 % bleek te bevatten. Welke koolhydraten hier in 't spel waren, was eene vraag, wier beantwoording geenszins eenvoudig bleek. De weg, dien Müller heeft afgelegd, alvorens het antwoord op die vraag was gevonden, zal hier zeer kort worden aangegeven.

Toen na distilleeren van de na verhitting van sputummucine met zuren verkregen vloeistof, het distillaat zuur bleek te reageeren, was de eerste stap tot het welslagen van 't geheele onderzoek naar den scheikundigen aard der reduceerende splitsingsproducten van sputummucine, de herkenning van het zuur in het distillaat, als azijnzuur.

Want overal waar glycosamine bij dergelijke splitsing werd ontleed, is azijnzuur in het distillaat gevonden. Zoo bijv. na splitsing van glycosamine uit de chitine der pantsers van kreeften (Ledderhose), uit de cellulose der paddenstoelen (Winterstein), uit chondromucoïde (Schmiedeberg).

Het voorkomen van azijnzuur in het distillaat liet dus dadelijk vermoeden, dat het reduceerend product uit sputummucine verkregen, geheel of gedeeltelijk uit glycosamine bestond.

Om de juistheid van dit vermoeden te toetsen, werd allereerst de vraag gesteld, hoeveel koolstofatomen in het molecule van deze vermeende glycosamine voorkwamen.

Was hier werkelijk sprake van de amine eener hexose, dan moest laevulinezuur, na koken met sterk zoutzuur, worden verkregen, terwijl furfurol aldus ontstaan, op eene pentose zou wijzen.

Sputummucine van lijders aan bronchitis leverde, na koken met sterk zoutzuur, noch laevulinezuur, noch furfurol. Dat sputum zou dus noch hexosen, noch pentosen bevatten, noch glycuronzuur, dat na koken met sterk zoutzuur ook furfurol doet ontstaan.

Uit kraakbeen verkreeg MÜLLER na koken met sterk zoutzuur rijkelijk furfurol. Het chondroïtinezwavelzuur bevat dan ook naar SCHMIEDEBERG, glycosamine en glycuronzuur.

De na splitsing door middel van zuren uit sputummucine verkregen reduceerende stof, bleek zeer resistent tegen koken met sterke zuren en was dus geene laevulose, noch andere ketose.

De negatieve laevulinezuur-reactie achtte MÜLLER niet bewijzend voor 't ontbreken van hexosen. Het osazon van de onbekende reduceerende stof had een smeltpunt van 191°—195°, terwijl galaktosazon volgens E. FISCHER een smeltpunt heeft van 193°.

Om dat osazon zeker te karakteriseeren zond MÜLLER 8 G. daarvan aan E. FISCHER, met verzoek omtrent den aard ervan FISCHER's meening te mogen vernemen.

E. FISCHER meende glycosazon te kunnen uitsluiten, omdat 't een optisch inactieve, in alkohol te zeer oplosbare stof was. E. FISCHER *hield het voor waarschijnlijk, hier met galaktosazon te doen te hebben.*

Later verkreeg MÜLLER, na eenige vergeefsche pogingen,

een osazon met smeltpunt 204°, *dat het gepolariseerde licht naar links draaide.* De identiteit met *glycosazon* stond toen vast.

De zuivere reduceerende stof, uit de door koken met zuur van sputummucine verkregen stof ontstaan, kristalliseerde niet, bevatte ± 3,26 % N, werd niet door gist vergist, reduceerde koperhydroxyde, gaf den zilverspiegel met zilverzouten en werd door phosphorwolfraamzuur en zoutzuur neergeslagen. Ze gaf de reactie van E. Fischer en Jenning met resorcine, die volgens E. Fischer aan aldosen toekomt en aan die biosen en polysacchariden, die eene aldose in het molecule bevatten.

Na koken met sterk zuur werd geen slijmzuur gevormd. De elementairanalyse van het osazon gaf waarden, die van de voor het osazon der biosen en pentosen berekende, belangrijk afweken en met die der hexosazonen voldoende overeenstemming vertoonden.

Müller had hier dus te doen met een koolhydraat, dat zes *C* atomen bevatte; niet vergistte met gist, dus noch dextrose, noch laevulose was;

een osazon vormde, identisch met glycosazon;

geen slijmzuur leverde na koken met sterk zuur, dus geen galaktose was;

geen identiteit vertoonde met andere hexosen.

De methode der benzoyleering van suikers, met ontleding dier benzoylverbindingen daarna door de werking van zoutzuur in een toegesmolten buis bij hooge temperatuur, gaf een product, dat *zoutzure glycosamine* bleek te zijn. De identiteit met zoutzure glycosamine werd afgeleid uit 't gevormde osazon, het eruit verkregen suikerzuur, de

draaiïng van het gepolariseerde licht en het kristallographisch onderzoek.

Een groot materiaal is aan dit onderzoek ten koste gelegd en aldus door MÜLLER in de mucine van 't slijm der ademhalingswegen en later ook in slijm van het speeksel, een goed gekarakteriseerde, welbekende reduceerende stof aangetoond, *die bovendien dezelfde bleek als de door* SCHMIEDEBERG *in chondroïtinezwavelzuur van kraakbeenmucoïde en door* CUTTER *en* GIES *in peesmucoïde vermoede glycosamine.*

De glycosamine uit mucine van de glandula submaxillaris verkregen, kwam geheel met die uit verschillende sputa, overeen, behalve dat zij een te laag draaiend vermogen vertoonde (niet 69°, maar 62°). Dat werkelijk slijm van zeer verschillende herkomst aan dit onderzoek werd onderworpen, mag blijken uit eene kleine opsomming van 't door MÜLLER verwerkte materiaal. Sputum van lijders aan mercuriaalsalivatie, pharyngitis, carcinoma oesophagi, carcinoma ventriculi (hier werd het slijm van het braaksel genomen), colica mucosa werd verzameld en vooral op de splitsingsproducten onderzocht, ontstaan door ook weer op zeer verschillende wijze bewerkte splitsing: door koken met zuren, door digestie met verdund alkali, in 70 % alkohol, maagsap, pankreassap, verhitten met waterdamp in den Papiniaanschen pot. Diastase splitste mucine niet, noch werkten diastase en speeksel splitsend op „dierlijke gom".

De zoo na verschillende splitsing uit slijm verkregen stof noemt ook MÜLLER nog dierlijke gom, teekent er evenwel bij aan, dat ze *N* bevat. Na koken met ver-

dunde zuren ontstaat hieruit eerst de reduceerende stof, die glycosamine bleek te zijn of deze verbinding althans in hoofdzaak te bevatten. Dat maag- en pankreassap sputum digereeren, heeft, zegt Müller, in zoo verre klinische beteekenis, dat doorgeslikte bacteriën, met name tuberkelbacillen, door slijm van het speeksel ingehuld niet onschadelijk zijn.

Ook is het begrijpelijk, dat slijm uit de hoogere gedeelten van het darmkanaal niet in de faeces teruggevonden wordt, wel dat uit den dikken darm.

Het dierlijk organisme is daardoor ook met het, uit voor de digestie kostbaar eiwit gevormde speeksel, niet verkwistend, doch verteert het doorgeslikte speeksel evenals ander met de voeding opgenomen eiwit.

Eén van de belangrijke splitsingsproducten is dan de stof, die naar Müller glycosamine als reduceerend bestanddeel in hoofdzaak bevat en door hem als azijnzure ester van glycosamine eerst werd opgevat.

Dien ester heeft hij evenwel synthetisch bereid en gezien, dat het eene in alkohol en aether goed oplosbare stof was, zeker niet identisch dus met de op „dierlijke gom" gelijkende splitsingsproducten van mucinen en mucoïden.

Tenslotte heeft Müller nog door middel van de reactie met dimethylamidoparabenzaldehyde (Ehrlich) [1]) voor slijmstoffen, getracht die op dierlijke gom gelijkende stoffen nader te karakteriseeren. Wel gaf allerlei sputum en speekselmucine de reactie na verwarmen met zwak alkali

[1]) Müller, l. c. S. 561.

en zoo ook dierlijke gom op dezelfde wijze. Ook penta-acetylglycosamine gaf de reactie na die voorbehandeling met zwak alkali, doch tot zekere gevolgtrekkingen kon dit niet leiden.

Men is het tegenwoordig wel daarover eens, dat de mucinen vormen een groep van naverwante scheikundige verbindingen van eiwitstoffen met koolhydraten, waaraan dus de naam glycoproteiden toekomt.

De mucinen leveren na koken met verdunde minerale zuren een stof, die FEHLING's proefvocht reduceert. Het reduceerend bestanddeel is voor de verschillende mucinen niet dezelfde stof.

De mucinen zijn onoplosbaar in water, doch oplosbaar in verdunde alkaliën. Met *zeer weinig* alkali, voorzichtig toegevoegd — door bijv. met een in verdund alkali gedoopte roerstaaf te roeren en de staaf juist zoolang opnieuw in het alkali te doopen en weer te roeren tot de mucine is opgelost — geven zij *neutrale* oplossingen.

De oplossing van mucine in weinig alkali is slijmig, zoodat bij het overschenken uit het eene glas in het andere, druppels eerst als draden aan het glaswerk blijven hangen om dan pas te vallen.

De mucinen reageeren zuur, waarop vooral LEVENE den nadruk heeft gelegd. Hij zocht de oorzaak van dat zure karakter: òf in het koolhydraat, dat dan een zuurderivaat van koolhydraat zijn zou, òf in naast eiwit en koolhydraat in het mucinemolecule gebonden zuur.

Verdunde zuren slaan mucine uit de alkalische of neutrale oplossing reeds in de koude neer.

Het door verdunde zuren in mucine oplossingen teweeg-

gebrachte neerslag lost in overmaat van zuur niet of althans zeer moeilijk op. Bij voorzichtig roeren met een roerstaaf zet het zich vaak volledig, in lange draden, om de staaf af.

De mucoïde stoffen vertoonen van de echte mucinen afwijkingen in physische eigenschappen en in de omstandigheden, waarbij ze neerslaan en oplossen.

Tot de mucoïde stoffen behooren de mucoïde stoffen van het bindweefsel, de ovomucoïde, de colloïde stof uit ovariumcysten e. a. Volgens HAMMARSTEN bevat de navelstreng echte mucine; overigens vindt men in bindweefsel geene echte mucinen, doch mucoïde stoffen (peesmucine, chondromucoïde, osseomucoïde).

De *collagene* stof is voor alle leden van de bindweefselgroep uitvoerig onderzocht.

Het collageen van het fibrillaire bindweefsel wordt beschouwd als het anhydride van de lijm, de glutine, die door koken met water uit de bindweefselvezels kan worden bereid. De elementaire samenstelling van de lijm uit beenderen verkregen wijkt van die uit het fibrillaire bindweefsel niet veel af. De kraakbeenlijm, de chondrine vertoont daarin verschil, dat ze niet tot eene zoo vaste gelei stolt als de glutine van het fibrillaire bindweefsel en o. a. ook door looizuur niet wordt neergeslagen. Latere onderzoekers hebben evenwel uit kraakbeen, nadat daaruit eerst een mucoïde, door uittrekken met zeer verdunde kaliloog, was verwijderd, eene volkomen op glutine gelijkende lijm bereid, die ook door looizuur werd neergeslagen, al vertoonen dan ook volgens de onderzoekingen van SADIKOFF de glutinen onderling nog eenige afwijkingen.

De lijm behoort niet tot de echte eiwitstoffen, maar tot de albuminoïden en blijkt, zoowel door hare splitsingsproducten als door hare overige eigenschappen, een vereenvoudigd eiwit te zijn [1]). Daarom werd in het voorafgaande gezegd, dat de collagene stof scheikundig lager staat, dan de interfibrillaire, die een echt eiwit is.

De kennis van de interfibrillaire stof van het bindweefsel vindt haren aanvang in de onderzoekingen van A. Rollett [2]) die in 1858 aantoonte, dat de interfibrillaire stof door kalkwater aan pezen kan worden onttrokken, zonder dat daarbij de bindweefselvezels worden aangetast. Integendeel bleken deze in aldus behandelde pezen onder het microscoop bekeken uiterst duidelijk, mits het kalkwater werd uitgewasschen, opdat niet een neerslag van koolzure kalk het beeld stoorde.

Uit het kalkwaterextract van pezen kon hij met azijnzuur eene stof neerslaan, die in hare eigenschappen tot de eiwitten bleek te behooren.

De leerlooiers wisten reeds lang, dat de huid, die voor het looien met kalkwater behandeld was „losser en smijdiger leder" gaf. [3]) De verklaring daarvan gaf Rollett het eerst. Deze heeft toen den aard van het in het kalkwater overgegane eiwit niet nader onderzocht. Hij volstond met de mededeeling, dat het eene eiwitachtige stof was, die de Xanthoproteïnereactie gaf. Wel deelde hij mede, dat uit onderzoekingen was afgeleid, dat

---

[1]) Hammarsten, Lehrbuch d. phys. Chemie, Wiesbaden 1904 S. 58 u. 63.

[2]) Wiener Sitzungsber. Bd. XXX. S. 37.

[3]) W. Stortenbeker, Album der Natuur, Juni 1906, blz. 268.

caseïne in den wand van slagaderen voorkomt. [1]).

Later maakte hij de resultaten van zijn onderzoek, naar den scheikundigen aard van het eiwit, door kalkwater aan de huid onttrokken, bekend. [2]) Daarin komt hij tot het besluit, dat de door kalkwater uit bindweefsel (Achillespees van het paard) opgeloste stof in die oplossing schijnt voor te komen, gebonden aan alkali, omdat het neerslag door alkohol of aether daaruit verkregen, geheel overeenstemt met het door Lieberkühn op dezelfde wijze neergeslagen kalialbuminaat.

Verdunde zuren ontleden deze verbinding en slaan het eiwit reeds in de koude neer. Dit neerslag lost volgens Rollett in overmaat van zuur niet op. In kokend salpeterzuur opgelost is de oplossing geel en zij wordt met ammonia oranje.

Het door verdunde zuren verkregen neerslag zet zich goed af. Hetzelfde geven ook latere onderzoekers aan, behalve Reimer, die met het verzamelen van het neerslag veel moeite had. Dit zij nu reeds op den voorgrond gesteld. Reimer [3]) deelt evenwel mede, dat ook Rollett een neerslag verkreeg, dat zich slecht afzette en niet te verzamelen was. Toch beschrijft de laatste hoe hij met 0.1 % zoutzuur een neerslag verkreeg, dat na filtreeren een helder filtraat gaf. [4])

De uitvoerige opgave der eigenschappen van de zoo verkregen interfibrillaire stof zal hier achterwege blijven, daar nieuwere onderzoekingen ten dienste staan. Nog

[1]) Wiener Sitz. Ber. Bd. XXX. S. 45.
[2]) Ibidem, Bd. XXXIX, S. 308.
[3]) Dingler's polytechn. Journal, Bd. CCV, S. 154.
[4]) Wiener Sitzungsber. Bd. XXXIX, S. 312.

moet evenwel worden opgemerkt, dat ROLLETT, nadat hij dit eiwit eerst met fibrine en met caseïne vergeleken had, tot het vermoeden kwam, dat het tot de *mucinen* zou behooren. Hiertoe besloot hij omdat de vergelijking der stof met de in water evenzeer onoplosbare eiwitten, wat de overige eigenschappen betrof, negatief uitviel, behalve bij de mucine. Hier stuitte hij evenwel op de moeilijkheid, dat de scheikundige kennis der mucinen toen nog zeer gebrekkig was.

JAMES DRUMMOND [1]) verklaarde het embryonale nog niet lijmgevende bindweefsel, identisch met fibrine.

ROLLETT trok huid van menschen en runderen met kalkwater uit en maakte in zijne eerste, boven aangehaalde, verhandeling bekend, dat in dat kalkwater eene eiwitstof in oplossing overging. Zijn onderzoek *naar den aard van dat eiwit* geschiedde *uitsluitend* aan de met kalkwater uitgetrokken *Achillespees van het paard.* Ook latere physiologen gebruikten voor hun onderzoek naar de interfibrillaire stof van het bindweefsel slechts pezen als materiaal.

EICHWALD [2]) (1865) heeft zeven jaar na ROLLETT's eerste mededeeling de door dezen beschreven eiwitstof voor identisch verklaard met de door hem uit slakken bereide mucine. Ook dit onderzoek is te oud, dan dat het hier anders dan gememoreerd behoeft te worden.

LOEBISCH [3]) heeft daarna het onderzoek der interfibrillaire stof van het fibrillaire bindweefsel voortgezet. Hij bereidde in drie reeksen van proeven peesmucine en

---

[1]) Zie bij ROLLETT, Wien. Sitz. Ber. Bd. XXXIX S. 317.

[2]) Annalen der Chemie u. Pharm. Bd. CXXXIV, S. 177.

[3]) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd, X. S. 40.

analyseerde die. Voor elke reeks, deed hij van de bijeengevoegde porties peesmucine ééne S- en ééne N-bepaling. Voor de eerste reeks evenwel nog eene N-bepaling extra. Latere onderzoekers vinden overeenkomstige cijfers, behalve, dat zij éénparig het door LOEBISCH gevonden S-gehalte als veel te laag afkeuren.

	C	H	N	S	O	
Chittenden en Gies.	48.76	6.53	11.75	2.33	30.60	Peesmucine.
Cutter en Gies . .	48.04	6.67	12.47	2.20		
Loebisch	48.30	6.44	11.75	0.81	32.70	
C. Mörner	47.30	6.42	12.58	2.42	31.28	Chondromucoïde.
Hawk en Gies . .	47.43	6.63	12.22	2.32	31.40	Osseomucoïde.

(Zie voor volledige tabel Handbuch der Biochemie von C. OPPENHEIMER, Jena 1908, S. 329.)

In chronologische volgorde moeten na die van LOEBISCH, de onderzoekingen van HAMMARSTEN [1]) (1885—1887) worden genoemd, omdat zij van gewicht waren voor de kennis der slijmstoffen in het algemeen, evenwel op mucine uit bindweefsel geen betrekking hebben, daar HAMMARSTEN zijne mucinen uit slakken en uit de glandula submaxillaris van het rund bereidde.

Met CHITTENDEN en GIES [2]) (1896) beginnen de onderzoekingen van den lateren tijd, die ook alle aan peesmucine zijn ondernomen. Genoemde onderzoekers maakten talrijker analyses, dan LOEBISCH en kregen eveneens in

[1]) Pflüger's Archiv. XXXVI, S. 373.
Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XII. S. 163.

[2]) Journ. of exper. Med. 1896, Vol. I, p. 186.

drie reeksen van proeven zeven maal voor elke reeks constante resultaten voor het *S*-gehalte, dat zij, zooals gezegd, veel hooger vonden, dan LOEBISCH.

Hun onderzoek zal met dat van LEVENE [1]) (1900) en dat van CUTTER en GIES [2]) (1901) in de volgende bladzijden uitvoerig worden besproken, omdat deze nieuwere onderzoekingen — vooral dat van LEVENE — mij, bij de bereiding en ontleding van de mucoïden uit pees en huid, voornamelijk hebben geleid.

CHITTENDEN en GIES [3]) verrichtten in 1895 analyses van peesmucine en toetsten de resultaten hunner proeven aan die van LOEBISCH.

Zij deden hunne onderzoekingen op ruimer schaal, dan LOEBISCH, doch kwamen, behalve een veel hooger cijfer voor het *S*-gehalte tot vrijwel dezelfde uitkomsten.

LOEBISH vond in drie zijner proeven eene stof met constant gehalte aan *C*, *H*, en *S* doch met een gehalte aan *N*, wisselend van 11.59 % tot 11.84 %. Zijn hieruit berekende gemiddelde *N*-gehalte komt met dat van CHITTENDEN en GIES overeen, die weer het gehalte aan *N* constant vonden, doch een wisselend gehalte aan *C*.

Zij meenen, dat volgens de tegenwoordige methoden peesmucine nog niet absoluut zuiver is te krijgen en bovendien, dat wat tot nog toe als peesmucine is beschreven, steeds een mengsel van verschillende mucoïde stoffen is geweest, die onderling kleine afwijkingen in gehalte

[1]) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XXXI, S. 395.
Ibidem, Bd. XXXIX, S. 1.

[2]) The American Journ. of physiology, Vol VI, Nov. 1901 no. III.

[3]) *The Mucin of white Fibrou Connective Tissue.* The Journ. of Exper. Med. 1896. Vol. I, p. 186.

aan *C* en aan *N* vertoonen, evenals bijv. ook peesmucine in gehalte aan *C* en *N* verschilt van de mucine der glandula submaxillaris.

Dus besloten zij, peesmucine in fracties te bereiden, en wel door afzonderlijk te verzamelen, wat na één maal, tweemaal enz., extraheeren van pezen met kalkwater, werd verkregen.

Bij deze gefractioneerde bereiding wisselde het gehalte aan *N* voor de verschillende fracties van 11.51 % tot 12.26 %. Daaruit achtten Chittenden en Gies het waarschijnlijk dat dus werkelijk peesmucine een mengsel van eenige mucoïde stoffen is. Evenwel laten zij de mogelijkheid in het midden, dat toch nog verontreiniging alleen de oorzaak zou zijn van de wisseling in hunne uitkomsten. Ook aan de door koken met verdund zoutzuur uit peesmucine verkregen splitsingsproducten hebben Chittenden en Gies hunne aandacht gewijd. Na koken met 2 % zoutzuur gedurende vijf uren, verkregen zij uit peesmucine een stof, die in zwak alkali oplosbaar was en die de eiwitkleurreacties gaf. Nadat deze stof door filtreeren was verwijderd werd het filtraat ingedampt. Na indampen bleef een in water oplosbare stof over, die Fehling's proefvocht reduceerde. Het gelukte niet, daaruit een kristallijn osazon te verkrijgen, wel ontstond met zoutzure phenylhydrazine en natriumacetaat een amorph neerslag. Later konden zij toch eene geringe hoeveelheid osazon bereiden, waarvan alleen het smeltpunt kon worden bepaald. Dit bedroeg 160° C. en verschilde dus veel van dat van dextrosazon of laktosazon.

Chittenden en Gies opperden het vermoeden, dat het het osazon van eene pentose zou zijn.

Nog later verkregen zij een kristallijn osazon, dat zij echter niet nader konden definieeren.

Cutter en Gies [1]) (1901) hebben de gefractioneerde bereiding van peesmucine herhaald.

Zij vestigden bovendien de aandacht daarop, dat vooral de mucoïde stof van de pees van die van de peesschede afzonderlijk moet worden gehouden, daar beide verschillende mucoïden zouden zijn.

Bij het verzamelen van peesmucine in fracties, hadden zij met de moeilijkheid te kampen, dat met elke extractie het neerslaan van de mucoïde stof uit de oplossing moeilijker werd.

Ook Cutter en Gies vonden bij hunne peesmucine eene wisseling van het gehalte aan *N* bij de verschillende fracties. Zij besloten als Chittenden en Gies, dat peesmucine is een mengsel van verschillende mucoïde stoffen en dat de tot nog toe beschreven peesmucine geen chemische individualiteit bezat, zoomin als de door hen bereide.

Chittenden en Gies dachten nog aan verontreiniging der peesmucine met andere proteïden, als mogelijke oorzaak voor de wisselende uitkomsten hunner analyses. Cutter en Gies merkten evenwel op, dat in pezen behalve mucoïden weinig andere oplosbare proteïden voorkomen en wel minder, dan 0.3 %. Bovendien zouden deze, ook al sloegen zij steeds tegelijk met de mucoïde stof neer, niet verklaren de regelmatige rijzing en daling van het *N*-gehalte, zooals Chittenden en Gies, die in elke reeks hunner proeven vonden. Zij gelooven dan ook eerder,

[1]) The composition of tendon mucoid. The American Journ. of physiology, vol. VI, Nov. 1901. No. III, p. 155.

dat de mucoïde stoffen in de weefsels labiele stoffen zijn, van groote variëteit, stoffen, die meer dan eene functie te vervullen hebben en wier zuurradicalen hen zeer geschikt maken om talrijke ionencombinaties aan te gaan.

Evenwel CUTTER en GIES definieeren alle bij hunne proeven afgescheiden producten als echte glycoproteïden, die, beantwoordende aan de bekende reacties, op de gebruikelijke wijze behandeld ook in overvloed reduceerende stof leveren.

Het osazon, verkregen uit het gemengde product der verschillende fracties had een smeltpunt van 182° C. (CHITTENDEN en GIES vonden, gelijk gezegd, 160° C.) Microscopisch geleken de kristallen van het osazon op die van glycosazon. Als waarschijnlijke splitsingsproducten van peesmucine noemen CUTTER en GIES het glycuronzuur en glycosamine, beide door SCHMIEDEBERG ook in chondroitinezwavelzuur vermoed.

Zij bespreken nog de mogelijkheid, dat vet-proteïdecombinaties, zooals door NERKING [1]) beschreven, waaruit het vet niet door de gewone oplossingsmiddelen verwijderd zou worden, ook in de peesmucine zouden bestaan. Voor ovomucoïde kon zoo'n combinatie niet worden aangetoond, wel voor mucine van de glandula submaxillaris. Eerst door afbreken dier verbinding volgens DORMEIJER's methode zou het vet daaruit verwijderd kunnen worden. NERKING spreekt evenwel niet over praeparaten, die door koken met aether en alkohol eerst van vet bevrijd waren. Door die bewerking toch meenen CUTTER en GIES hunne pees-

[1]) Arch. f. die gesammte Physiologie. 1901 CXXXV S. 330.

mucine van alle vet te hebben ontdaan. En dat verontreiniging met extractiefstoffen eerst na herhaalde en lang voortgezette extractie kan worden vermeden, daarop hebben reeds LOEBISCH en CHITTENDEN en GIES gewezen.

Resumeerende, komen CUTTER en GIES tot de conclusies:

1. Peesmucine bevat meer dan één glycoproteïde.

De gemiddelde samenstelling van de gemengde mucoïde is:

C	H	N	S	O
48.04	6.67	12.47	2.20	30.62.

2. De samenstelling van de mucoïde van de pees verschilt van die van de mucoïde van de peesscheede.

3. Peesmucoïden bevatten *S* tot een gemiddeld gehalte als CHITTENDEN en GIES aangeven. Nooit vonden CUTTER en GIES het lage *S*-gehalte door LOEBISCH aan deze stoffen toegeschreven.

4. De gemiddelde samenstelling van peesmucoïden is vrijwel gelijk aan die van osseomucoïde en van chondromucoïde.

5. Thermochemische studiën van de mucoïde stoffen in pezen, kraakbeen en been maken waarschijnlijk, dat deze lichamen zeer na verwant zijn.

Tevens geven CUTTER en GIES [1]) in een tabel een overzicht van de gemiddelde samenstelling dier mucoïden volgens verschillende onderzoekers, waaruit ook alweer blijkt, hoe na verwant die mucoïde stoffen waarschijnlijk zijn.

De tabel laten wij hierachter volgen:

---

[1]) l. c. p. 171.

Chondromucoïde.	C	H	N	S	O
Mörner.	47.3	6.42	12.58	2.42	31.28
Tendomucoïde.					
Chittenden en Gies.	48.76	6.53	11.75	2.33	30.63
Cutter en Gies.	47.47	6.68	12.58	2.20	31.07
Osseomucoïde.					
Hawk en Gies.	47.07	6.69	11.98	2.41	31.85
Gemiddelde.	47.65	6.58	12.22	2.34	31.21

Door den Amerikaan Levene (1900) is een onderzoek verricht, dat vooral aan dat gedeelte van het mucinemolecule is gewijd, dat daaraan het zure karakter geeft.

Levene zocht het zure karakter van mucinen — waaraan naar zijne meening tot nog toe niet genoeg aandacht was besteed — òf in naast eiwit en koolhydraat in het mucinemolecule gebonden zuur òf in het dan aan zuur gebonden koolhydraat zelf.

Peesmucine en later mucine uit de glandula submaxillaris en die uit carcinoomtumoren bereid, vormden het materiaal voor Levene's onderzoek.

Wat dadelijk treft is, dat Levene voor het splitsen van mucine in de koolhydraatgroep en het eiwit niet den gebruikelijken weg volgt, dus niet kookt met verdunde zuren, *doch die splitsing bij kamertemperatuur bewerkstelligt, door de mucine gedurende 2 × 24 uur in 2 % natronloog te digereeren.*

Daarna werd deze alkalische oplossing zoover met azijnzuur geneutraliseerd, dat de oplossing nog even alkalisch bleef, en dan met overmaat van pikrinezuur en azijnzuur het eiwit neergeslagen.

Na filtreeren kon in het filtraat door toevoegen van 3 à 4 maal zooveel alkohol, als het volumen van het filtraat bedroeg, een vlokkig neerslag worden verkregen, dat na bezinken met alkohol en aether van pikrinezuur kon worden gezuiverd. Dit neerslag was meestal biureetvrij en werd dat anders spoedig door nog eens oplossen in water en weer neerslaan met alkohol.

Zoo werd een stof verkregen, die in water oplosbaar was, doch onoplosbaar in aether en alkohol. De waterige oplossing reageerde zuur, vormde door toevoegen van alkohol bij afwezigheid van minerale zouten een geleiachtig neerslag; bij aanwezigheid dier zouten evenwel ontstond met alkohol een vlokkig praecipitaat. De zuivere stof vertoonde niet ééne der eiwitreacties, bevatte N en S en reduceerde FEHLING's proefvocht eerst na koken met verdund zuur. De waterige oplossing bleef met zoutzuur en chloorbaryum volkomen helder. Daarmede gekookt, gedurende langen tijd, vormde zich een duidelijk neerslag. Deze eigenschappen wekten bij LEVENE het vermoeden, dat hij hier met eene stof te doen had, identisch met het door C. MÖRNER [1]) uit chondromucoïde afgesplitste, doch ook door hem gepraeformeerd in kraakbeen gevonden, chondroïtinezwavelzuur.

Dezelfde stof kon LEVENE [2]), naar hij zegt, ook uit mucine van de glandula submaxillaris en uit die van carcinoomgezwellen, bereiden.

Later komt LEVENE van de identiteit van dit, door hem

---

[1]) Pflüger's Archiv. LXXXIV en LXXXIX.
Zeitschr. f. phys. Chemie, XX S. 357 u. XXIII, S. 311.

[2]) Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XXXI, S. 404.

glycothionzuur gedoopte, zuur met het, vooral door SCHMIEDEBERG [1]) nader onderzochte, *chondroïtinezwavelzuur* terug [2]).

Het chondroïtinezwavelzuur toch bevat volgens ORGLER en NEUBERG geene furfurol gevende stof in het molecule, terwijl het glycothionzuur bij distillatie veel furfurol levert.

Het glycothionzuur geeft de orcinereactie als glycuronzuur, chondroïtinezwavelzuur daarentegen niet (ORGLER en NEUBERG) [3]). Van het glycothionzuur kon LEVENE het baryum —, het natrium — en het koperzout bereiden.

Het baryumzout kon uit de geconcentreerde waterige oplossing van glycothionzuur met chloorbaryum direct worden neergeslagen. Het was in water zeer weinig oplosbaar, doch in alkohol 50 % onoplosbaar. Daarmede kon het dus chloorvrij gewasschen worden. Dan bevatte het ook geen in het molecule gebonden chloor.

De uitkomsten der analyses van dit baryumzout weken van die van chondroïtinezuur-baryum tamelijk veel af.

Uit wat boven is medegedeeld is LEVENE's conclusie, dat de stof, die aan mucine het zure karakter geeft, het glycothionzuur is, het zuur dat de koolhydraatgroep bevat, duidelijk. Door koken met zuur is daaruit immers zoowel zwavelzuur verkregen als een rest, die reduceerend vermogen bezit.

Dat dit glycothionzuur met eiwit gebonden niet alleen in het molecule van peesmucine, maar ook in dat der glandula submaxillaris voorkomt, werd door LEVENE aangenomen.

---

[1]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XXVIII, S. 355.

[2]) Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. XXXIX, S. 1.

[3]) Ibidem. Bd. XXXVII, S. 416 u. 417.

De interfibrillaire stof van kraakbeen en been zijn in den laatsten tijd grondig onderzocht. En hoe langer zoo meer is men tot de overtuiging gekomen, dat in alle bindweefsel mucoïden de kleefstof vormen, die de fibrillen aaneenhoudt. Zoo zelfs, dat HAWK [1]) en GIES in hun onderzoek naar de interfibrillaire stof van het been opmerken:

„Practically all forms of uncalcified fibrous tissue, from which the intercalated material has not entirely disappeared, are known to contain mucin, yet bone, according to *Young*, would be regarded as an exception".

Zoo hielden tot nog toe anderen de lederhuid evenzeer voor eene uitzondering.

De interfibrillaire stof van het kraakbeen is in de „chondrineballen", die in dat gedeelte der intercellulaire stof gevonden worden, dat men de kapsels der kraakbeencellen noemt, een glycoproteïde, de zoogenaamde chondromucoïde. De kapsels zijn nog niet lang geleden afgescheiden, nog jonge intercellulaire stof. De oudere, verder van de cellen verwijderde intercellulaire stof bevat een albumoïde en geen glycoproteïde meer.

MÖRNER toonde in kraakbeen aan: chondromucoïde, chondroïtinezwavelzuur (de stof, die na afsplitsen van eiwit uit chondromucoïde overblijft), collageen en albumoïde (elastine?)

Lang is het voorkomen van mucoïde stof in been ontkend. Een kort historisch overzicht van het onderzoek in deze richting vindt men bij HAWK en GIES (1901) [2]).

[1]) Amer. Journ. of physiol., vol. VII, pag. 354.

[2]) Ibidem, Vol. V, July 1901, No. VI p. 387.

Men was van meening, dat het zoogenaamde chondrigeen uit embryonaal been — dat de glycoproteïden bevat — vóór de ossificatie door collageen geheel werd „vervangen". YOUNG [1]), die werkende onder HALLIBURTON's leiding naar glycoproteïden in been zocht, vond ze niet. Hij besloot toen, dat de interfibrillaire stof in been geheel was verkalkt, geheel „door kalk was vervangen." Dit klopte met de door VON EBNER [2]) gedane — en door KÖLLIKER bestreden — mededeeling, dat kalk zich in de interfibrillaire stof afzet. MÖRNER had evenwel vóór YOUNG's publicatie reeds aangetoond, dat in been van kraakbeen afgeleid, nog een rest van chondromucoïde wordt gevonden, dus nog interfibrillaire stof aanwezig is.

HALLIBURTON [3]) vond in been:

de nucleoproteïden der cellen, collageen, elastine en wat vet van het merg afkomstig. Waarom geen mucine of chondromucoïde, vragen HAWK en GIES, *zoozeer zijn zij van het noodzakelijk voorkomen van mucoïde stof in alle bindweefsel overtuigd.* Ook HALLIBURTON nam de volledige vervanging van de interfibrillaire stof door kalk aan.

HAWK en GIES [4]) zijn in het aantoonen van mucoïde — door hen hier *osseomucoïde* genoemd — geslaagd, doordat zij een middel hebben gevonden om been te ontkalken, zonder met het daarvoor gebruikte zuur de mucoïde stof te ontleden.

Zij gingen op de volgende wijze te werk:

---

[1]) The Journ. of physiol. 1892, XIII, p. 803.
[2]) Arch. f. mikrosk. Anatomie. 1887, XXIX, S. 213.
[3]) SCHÄFER's Textbook of physiology, 1898 I, p. 111.
[4]) Amer. Journ. of physiol. Vol. V, p. 387.

Het been werd een halven dag in 0.5 % zoutzuur gelegd en daarna met een mes afgeschaafd. De zoo verkregen vliesjes werden in alkoholhoudend water verzameld, het been opnieuw in het verdunde zuur gelegd, na een halven dag afgeschraapt, enz.

De verkregen vliezen bestonden uit ontkalkt been, dat niet met zuur, slechts met zure zouten in aanraking was geweest en waarin de interfibrillaire stof dus nog ongeschonden aanwezig was. Die vliezen werden uitgewasschen, fijngemalen en met half verzadigd kalkwater uitgetrokken. In het extract werd de interfibrillaire stof op de bekende wijze met verdunde zuren neergeslagen.

Young [1]) publiceerde in 1894 zijn onderzoek naar de scheikundige samenstelling van de gelei van Wharton, die naar Young zegt, reeds door Virchow werd beschreven, als een netwerk van fijne vertakte cellen en fijne golvende vezels, vervat in eene veel grootere hoeveelheid grondstof, die half vloeibaar en sterk mucinehoudend is. Virchow beschouwde dit weefsel als een type van embryonaal bindweefsel en classificeerde het als slijmweefsel of mucineus weefsel.

De gelei van Wharton verschilt in samenstelling en hoeveelheid zeer in verschillende navelstrengen; in sommige bestaat ze bijna geheel uit half vloeibare gelatineuze stof, in zeer groote hoeveelheid aanwezig, in andere uit vastere strengen van weefsel, wit van kleur en de vaten volgende in hunnen gewonden loop. De geheele navelstreng heeft eene dunne doorschijnende bedekking van amnion.

Om uit de navelstreng de interfibrillaire stof te extra-

[1]) The Journ. of Physiology, Vol. XVI, 1894 p. 325.

heeren gebruikte YOUNG eenvoudig water of wel barytwater $^1/_5$ of $^1/_{10}$ verzadigd. Uit die oplossing werd dan de interfibrillaire stof door toevoeging van 3 à 4 % azijnzuur neergeslagen. Dan vormden zich na extractie, gedurende 2 à 3 dagen, twee neerslagen met azijnzuur: een vlokkig neerslag, dat goed bezonk en daarboven een vloeistof, troebel door een draderig, steeds drijvend praecipitaat. De draderige vorm geleek in eigenschappen op het mantelmucinogeen van HAMMARSTEN en verhield zich tot den vlokkigen vorm als dit mucinogeen tot de mantelmucine. Na zeer korte extractie ontstond alleen de draderige vorm.

Het vlokkige neerslag was verzameld, eene witte, sterk zure stof, die op den duur geel tot bruin werd en in verdund alkali als bijv. 0.5 % soda goed oploste. Die oplossingen reageerden zwak alkalisch, of, indien zorgvuldig gemaakt, neutraal.

Deze stof gaf de eiwit-kleurreacties precies als mucine, bereid uit het corpus vitreum van schapenoogen. Ze gaf in oplossing met azijnzuur een neerslag, dat in een overmaat < 10 à 20 % azijnzuur, niet oploste, in ijsazijn zeer goed oplosbaar was en, om kort te gaan, beantwoordde aan de door HAMMARSTEN [1]) voor echte mucinen gegeven definitie.

Na koken met 2 % zoutzuur kwam met chloorbaryum geen neerslag, dus bevatte de uit de navelstreng bereide mucine, geen zwavel in esterachtige combinatie, zooals andere uit bindweefsel bereide mucoïde stoffen.

Volgens YOUNG bevat dus de interfibrillaire stof van embryonaal bindweefsel *geen zwavel, als esterzwavelzuur.* Dit wekt daarom bevreemding, omdat, zooals gezegd, alle

[1]) Lehrb. d. phys. Chemie, Wiesbaden 1904, S. 51.

mucoïde stoffen uit ouder bindweefsel wel esterzwavelzuur bevatten. Dat de echte mucine van het embryonale bindweefsel op haren weg naar de mucoïde stof van volwassen bindweefsel, eenige verandering ondergaat en zoo van echte mucine, mucoïde wordt, is aannemelijk. Maar dat daarbij zwavel als esterzwavelzuur het molecule intreden en niet te voren reeds aanwezig zou zijn, moet toch bevreemding wekken.

Behalve in deze fundamenteele eigenschap, vertoont navelstrengmucine van de mucoïde stoffen van volwassen bindweefsel slechts geringe afwijkingen, zooals bijv. van tendomucine door eene grootere oplosbaarheid in zoutzuur.

Mucine van de navelstreng bevat, zoomin als de mucoïde stoffen van volwassen bindweefsel, phosphorus.

III.

Reimer [1]) werd bij zijne studiën om tot eenen wetenschappelijken grondslag der leerlooierij te geraken, zooals van zelf spreekt, ook voor de vraag gesteld, wat wel de stof mocht zijn, door Rollett aan de huid van den mensch en van het rund door kalkwater onttrokken.

Deze stof toch — volgens Rollett de stof, die de bindweefselvezels doet aaneen kleven — moest voor de leerlooierij van beteekenis zijn, daar juist het uittrekken van huiden met kalkwater, zoowel bij het ontharen van huiden vóór het looien, als bij het looiproces zelf een' grooten rol speelt.

Kalkwater werd reeds in overoude tijden, lang voor Rollett, bij het looien gebruikt en ook thans nog. Men stelt zich tegenwoordig, zegt Stortenbeker, [2]) het nut van het „kalken" aldus voor: „bij het ontharen zou de *Malpighische* slijmlaag het eerst worden aangetast en opgelost, waardoor de samenhang tusschen hoornlaag en lederhuid zou worden verbroken, waarna de opperhuid met de haren gemakkelijk kan worden weggeschaafd".

Tevens lost het kalkwater de interfibrillaire stof, die de bindweefselvezels doet aaneenkleven op. Het leder wordt daardoor „losser en smijdiger," waarom voor zoolleder het kalken dan ook vaak wordt nagelaten.

Om tot de kennis van de scheikundige samenstelling van de door kalkwater aan het corium onttrokken en door

---

[1]) Dingler's Polyt. Journ. 1872 Bd. CCV S. 153.

[2]) Album der natuur, Juni 1906 blz. 267.

Reimer „coriïne" gedoopte stof, te geraken, sloeg Reimer den door Rollett aangegeven weg in, met dat verschil evenwel, dat hij zijn materiaal uit de leerlooierij betrok. Niet versche huid dus, maar onthaarde, *reeds „gekalkte"* huid vormen het door Reimer onderzochte product.

Daarop kan niet genoeg de nadruk worden gelegd, omdat toch de reeds door kalkwater behandelde huid, de interfibrillaire stof grootendeels, misschien ten eenemale mist. Temeer, omdat de leerlooier bij het kalken allesbehalve zachtzinnig te werk gaat. Immers bij het kalken worden de huiden in kalkwater gebracht, dat per liter water 6 à 30 G. kalk bevat. En aangezien bij 15—20° C. ± 1.3 G. kalk in een liter water oplost, wordt in ieder geval met verzadigd kalkwater gekalkt. Dat bij die ruwe behandeling de interfibrillaire stof door het alkali wordt opgelost en verwijderd en bovendien de bindweefselvezels zelf worden aangetast is toch zeer zeker te vreezen.

Wel heeft Reimer ook niet door *„kalken"*, doch door *„schwitzen"* onthaarde huid voor zijn onderzoek gebezigd. „Schwitzen" nu is een rottingsproces, dat al evenmin onschadelijk kan worden geacht voor eene stof, als de interfibrillaire van het corium, die toch ook door Reimer voor een albuminoïde wordt gehouden.

Gaan wij nu na, hoe Reimer zelf de voor zijn onderzoek bestemde huiden, heeft bewerkt.

De in de looierij onthaarde en gekalkte huid sneed hij in stukjes en waschte hij zoolang met gedistilleerd water uit, totdat ferrocyaankalium in het waschwater geen neerslag meer deed onstaan. Daarna werden de stukjes huid in een gesloten glazen cylinder met *verzadigd kalkwater gedurende*

6—8 dagen onder lichte temperatuursverhooging gedigereerd.

Dat bij een zoo krachtig aangrijpen van de huid, niet alleen de interfibrillaire stof wordt opgelost, maar bovendien ontleed en erger nog, ook de bindweefselvezels zelf niet onaangetast blijven, moet wel als zeker aangenomen worden.

In ieder geval zal men betwijfelen, of de beschreven methode geschikt is voor het onderzoek van zoo labiele eiwitstoffen, als die, waarvan hier sprake is.

Bij alle onderzoekers van den nieuweren tijd is dan ook op te merken, dat zij voor hunne onderzoekingen naar den scheikundigen aard van de in bindweefsel voorkomende mucoïde stoffen, steeds met volkomen versch materiaal werken niet alleen, maar ook nooit sterker alkali voor extractie van bindweefsel aanwenden, dan *half verzadigd kalkwater, dat zij bij kamertemperatuur gedurende 24 of 2 × 24 uren laten werken.*

De door Reimer door middel van verdunde zuren uit het kalkwater-extract van uit de leerlooierij afkomstige huiden neergeslagen *„coriïne"* kan dus niet anders, als met eenig wantrouwen worden aangezien. Als zij de interfibrillaire stof al bevat, dan is die toch gemengd met allerlei ontledingsproducten van de door te krachtig aangrijpen, mede aangetaste bindweefselvezels.

Reimer's coriïne vertoont dan ook, volgens zijne eigene beschrijving, verschillen in allerlei eigenschappen met de lang tevoren door Rollett beschreven interfibrillaire stof.

Zoo bereikt Reimer door de huid met 10 % keukenzoutoplossing uit te trekken hetzelfde resultaat, als door extractie met kalkwater. Zijne *coriïne* lost in 10 % keukenzout-

oplossing op, in sterkere of zwakkere keukenzoutoplossingen niet. Door verdund azijnzuur kan ze uit de alkalische oplossing neergeslagen worden. Daarbij vormt zich een volumineus neerslag, dat later zoo sterk schrompelt, dat het nauwelijks van het filter te verwijderen is, zonder het papier mede te nemen.

Met veel azijnzuur neergeslagen wordt het neerslag weer zoo fijn verdeeld, dat ook dat niet te filtreeren is.

Alles bijzonderheden, die men bij andere onderzoekers geenszins aantreft.

Door toevoegen van zwavelzuurvrij keukenzout — zwavelzuur houdend zout veroorzaakt verontreiniging van het neerslag met gips — ontstaat een goed vlokkig neerslag. Geconcentreerde zoutoplossingen slaan *coriïne* in zure oplossing neer.

De zwak zure oplossing van *coriïne* werd: door ferro- en ferricyaankalium niet neergeslagen; bij neutrale reactie gaven: ijzer-, koper-, lood- en kwikzouten geen neerslag; bij alkalische reactie gaven: basisch loodacetaat, overmaat van looizuur en basisch ferrisulfaat een neerslag; de stof gaf de reactie van Millon, biureetreactie en xanthoproteïnereactie.

Zwavel kon Reimer in zijne coriïne *niet* aantoonen.

Voorts krijgt Reimer [1]) *na herhaalde extractie met kalkwater, van dezelfde huid steeds eene rijkelijke afscheiding van coriïne.* Daaruit leidt hij af, dat *coriïne* niet als zoodanig in de huid zou voorkomen, maar als een *ontledingsproduct van de collagene stof* moet worden opgevat, daaruit door de ontledende werking van het kalkwater ontstaan.

[1]) l. c. S. 156. Zie ook Stortenbeker l. c. blz. 265.

Naar alle waarschijnlijkheid moet de *coriïne* van REIMER ook werkelijk worden opgevat als door behandeling met sterk kalkwater, gedurende langen tijd voortgezet, ontlede collagene stof. Dat steeds meer coriïne wordt verkregen, na hernieuwd uittrekken met kalkwater van dezelfde huid, behoeft dan geene bevreemding te wekken, want hoe langer men uittrekt hoe meer bindweefselvezels kunnen worden aangetast en zoo lang er huid is zijn er bindweefselfibrillen, die nog ontleed kunnen worden.

Wel zegt REIMER [1]) in zijne *coriïne* eene stof van constante samenstelling, met sprekende eigenschappen verkregen te hebben. Maar door andere onderzoekers [2]) wordt de individualiteit der *coriïne* in twijfel getrokken. Mogelijk ware echter dan nog, dat het door de werking van sterk kalkwater verkregen ontledingsproduct der collagene stof eene constante samenstelling bezit.

De samenstelling der *coriïne* en hare verwantschap tot collageen vindt men bij REIMER aldus in formule gebracht:

$$\underset{\text{Collageen.}}{C_{30}\ H_{46}\ N_{10}\ O_{12}} + O + 2H_2O = \underset{\text{Coriïne.}}{C_{30}\ H_{50}\ N_{10}\ O_{15}}$$

REIMER laat de *coriïne* dus uit *collageen* ontstaan, door opneming van één atoom zuurstof en twee moleculen water.

Het is, zooals bekend is, mogelijk, mits men met alkalische vloeistoffen uittrekt, niet sterker dan half verzadigd kalkwater, de interfibrillaire stof aan het bindweefsel te onttrekken zonder daarbij de bindweefselvezels

---

[1]) l. c. S. 161.

[2]) SCHROEDER, Dingl. Polyt. Journ. Bd. CCLXXXVII S. 285. KÖRNER, Jahresber. d. D. Gerberschule zu Freiberg in Sachsen X S. 4, XI en XIV.

aan te tasten. Dan blijkt, dat bindweefsel na hernieuwde extractie al heel spoedig weinig en ten slotte na nog langer uittrekken in het geheel geen interfibrillaire stof meer levert. Zoo men versche huid, uit de slagerij en van juist geslachte dieren afkomstig, na eene straks te bespreken voorbereiding, met half verzadigd kalkwater bij kamertemperatuur, gedurende weken en maanden uittrekt, — doch met dien verstande, dat ze telkens drie dagen in half verzadigd kalkwater, één dag in water, weer drie dagen in half verzadigd kalkwater enz. verblijft — *lijden de bindweefselfibrillen in het geheel niet en in het extract kan ten slotte met verdunde zuren geen neerslag, zelfs geene troebelheid meer worden verwekt.*

Beziet men praeparaten van stukjes, aldus zeer langen tijd geëxtraheerde huid, onder het microscoop, nadat door uitpluizen met praepareernaalden de fibrillenbundels eenigszins zijn geïsoleerd, dan blijkt hoe de bindweefselfibrillen bijzonder fraai en geheel ongeschonden, *zelfs niet gezwollen,* zijn bewaard gebleven.

Schroeder en Körner hebben aan de juistheid van de door Reimer verkregen resultaten getwijfeld.

Körner neemt niet aan, dat de coriïne door ontleding uit de collagene stof ontstaat, maar zegt:[1]) „die lösliche Intercellularsubstanz befindet sich nur im Stadium der Verquellung, ist aber chemisch nicht von der eigentlichen Gewebssubstanz verschieden".

En hij verdedigt zijne meening door te wijzen op z. i. analoge verhoudingen in de verschillend oplosbare lagen der zetmeelkorrels. Ook die verschillende oplosbaarheid

[1]) L. c. S. 4.

berust toch slechts op verschil in gehalte aan colloïdaal gebonden water, hoewel men vroeger meende, dat zij op verschil in scheikundige samenstelling berustte.

Een krachtig bewijs voor de chemische gelijkheid van de fibrillen en de interfibrillaire stof in de lederhuid, vormt KÖRNER's argumentatie nu juist niet. Experimenteel onderzoek heeft KÖRNER niet verricht.

STORTENBEKER [1]) heeft zich in zijn reeds geciteerd artikel, getiteld: *„Lederbereiding en wetenschap"* met de zienswijze van KÖRNER vereenigd. Hij schrijft: *„Men kan dus voorloopig zoowel de bindweefselsubstantie, als het coriïne van* REIMER *en de gelatine als wijzigingen van dezelfde stof beschouwen, waaraan men gewoonlijk den naam „glutine" toekent"*.

A priori zou men verwachten, dat het verschil in scheikundige samenstelling van de collagene stof en de interfibrillaire in de lederhuid, — evenals in ander bindweefsel — van veel ingrijpender aard is, dan dat zij eenvoudig in watergehalte zouden verschillen, of dat zooals REIMER meent, de interfibrillaire uit de collagene stof ontstaat door opneming van één atoom zuurstof en twee moleculen water.

In de uitkomsten van mijn onderzoek naar den aard van de interfibrillaire stof in de lederhuid, heb ik dan ook gemeend argumenten te vinden, die tot eene andere opvatting, als die van REIMER, KÖRNER en STORTENBEKER leiden.

---

[1]) L. c. blz. 267.

EIGEN ONDERZOEK.

Methode van bereiding van de interfibrillaire stof uit het corium.

De eerste eisch, die bij mijn onderzoek naar de interfibrillaire stof van het corium moest worden gesteld, was wel die, van niet anders als volkomen versch materiaal te bewerken.

Volkomen versche huid van runderen, kalveren en paarden werd uit het gemeenteslachthuis te Utrecht verkregen en wel telkens ongeveer 100 gram.

Ik overtuigde mij persoonlijk, dat de huid zoo spoedig mogelijk na het slachten werd afgepraepareerd. Volgens de regels van het slachthuis evenwel mag niet onmiddellijk, doch eerst na eenige minuten, als alle reflexbewegingen bij het insnijden uitblijven, de huid worden afgepraepareerd[1]).

Eenmaal was ik in de gelegenheid mij versche menschelijke huid te verschaffen. Toen in de chirurgische kliniek alhier, een geheel onderbeen voor een sarcoma van de knie moest worden geamputeerd, kon ik, welwillend gewaarschuwd, de operatie bijwonen en de huid direct na de amputatie van het been afpraepareeren.

[1]) Van 's Rijks Veeartsenijschool werd mij meermalen versche huid van paarden geschonken.

Het aldus verkregen en terstond naar het laboratorium overgebrachte materiaal werd zoo snel mogelijk geschoren en in ronde schijven geknipt om in eene hydraulische pers onder een druk van 250 atmospheren van alle weefselvocht en bloed zoo goed mogelijk te worden bevrijd.

Zoodoende kan althans de groote massa van later storende eiwitstoffen worden verwijderd. En juist om het uitpersen zoo volledig mogelijk te doen geschieden moeten de weefselsappen nog vloeibaar, nog niet gestold zijn. Hoe verscher dus het materiaal, des te beter gelukt het uitpersen.

Na een verblijf van 24 uren in de pers vertoonden zich de schijven huid, als droge, dunne lagen. Deze werden in stukjes geknipt en gedurende 24 uren in een gesloten flesch met water uitgetrokken. Dit waschwater werd daarna door half verzadigd kalkwater vervangen en de huid aldus met 400 cc. *half* verzadigd, gefiltreerd kalkwater op ± 100 G. huid in een gesloten flesch, gedurende 24 uren geëxtraheerd.

Vloeistof en huid werden daarna door coleeren door een doek van elkaar gescheiden, waarbij de huid in den doek met behulp van een handpers krachtig werd uitgeperst.

De aldus uitgeperste huid kwam 24 uren in water. In dit water was dan nog eene aanzienlijke hoeveelheid interfibrillaire stof in oplossing. Na de extractie met water volgde weer die met half verzadigd kalkwater, gedurende 24 uren, of zoo de huid weinig stof aan het kalkwater meer afstond, gedurende 2 of 3 × 24 uren. Daarna weer één dag extraheeren met water, weer drie dagen met half verzadigd kalkwater enz.

Het kalkwater, respectievelijk het water, dat voor extractie diende en daarna van de huid werd gescheiden, was door allerlei bestanddeelen verontreinigd, waarvan het door filtreeren moest worden bevrijd. Bloed, haren en allerlei vuil gaven aan de van de huid gescheiden vloeistof een troebel, zeer onrein karakter. De vloeistof was slijmig, zoo ze veel stof in oplossing bevatte. Het filtreeren door een gewoon filter stuitte dus op groote bezwaren. Zeer goed lieten zich deze visceuze vloeistoffen door filters van samengeperste papierpap met de waterzuigpomp filtreeren. Het filtraat was eene taaie vloeistof, soms nog opalescent en dikker, naarmate meer stof door het kalkwater was opgelost. In dat filtraat kon door toevoeging van 5 % azijnzuur een volumineus neerslag worden verkregen, dat meestentijds, door voorzichtig roeren met de roerstaaf, in lange draden zich afzette, die om de staaf zich oprolden, evenals mucine uit speekselklieren geëxtraheerd en met verdunde zuren uit de oplossing neergeslagen. Veelal kon het neerslag aldus gemakkelijk geheel om de de roerstaaf worden verzameld. Vele malen ontstond evenwel een klein-vlokkig neerslag, in plaats van het taaie, draderige. Dan moest de centrifuge neerslag van vloeistof scheiden.

Het om de roerstaaf verzamelde neerslag werd uitgewasschen door het met de staaf uit de vloeistof te lichten en in water te dompelen. Daarna werd het met de staaf in een droog glas gezet om het overtollige water te doen afdruipen. Het door centrifugeeren verzamelde neerslag werd met water eenmaal uitgewassen, opnieuw gecentrifugeerd en het water afgegegoten.

Van 20 runderen, 22 paarden en 14 kalveren werd

een stuk huid, telkens ongeveer 100 G. verwerkt. Bovendien eenmaal een dergelijke hoeveelheid menschelijke huid. De extractie met half verzadigd kalkwater leverde geene moeilijkheden op. Meestal was *na 8 dagen* uittrekken *de huid* van runderen en paarden *„uitgewerkt"*, terwijl die van kalveren — overeenkomstig den rijkdom aan mucoïde stof in jong bindweefsel — soms gedurende 2, soms gedurende 4 weken nog productief was. Hoe geheel anders als REIMER beschrijft, die dezelfde huid steeds meer interfibrillaire stof aan het kalkwater laat afstaan!

De „uitgewerkte" huid leverde bij de praecipitatie der interfibrillaire stof uit het kalkwaterextract, met verdunde zuren geen neerslag, doch slechts eene opalescente vloeistof. Na 24 uren staan kwam in die vloeistof wel een vlokkig neerslag, dat echter zoo gering was, dat het de moeite van het verzamelen niet loonde. Werd de extractie maanden voortgezet, dan bleef tenslotte ook die geringe opalescentie uit en bleef de voor het uittrekken gebruikte vloeistof na toevoegen van azijnzuur waterhelder. Deze waterheldere vloeistof vertoonde na 24 uren staan toch noch enkele vlokjes, behalve die van het rund, die na gedurende 7 maanden met half verzadigd kalkwater en water, beurtelings 3 en 1 dag te zijn uitgetrokken in 't geheel geen stof meer aan de extractievloeistof afstond.

Werd de huid, die nog sporen van interfibrillaire stof of van nucleoproteiden aan het kalkwater afgaf, van epitheel bevrijd dan verdwenen ook de enkele vlokjes, die eerst nog na aanzuren van de extractievloeistof ontstonden. Met de huid van den mensch en met die van het paard werd dit resultaat bereikt.

Om de huid van epitheel te bevrijden werd met *verzadigd* kalkwater uitgetrokken, evenwel tegelijk zwavelwaterstof gedurende een uur doorgeleid. Daarna werd in een schudmachine geschud en de dan zeer troebel geworden vloeistof van de huid gescheiden en door versche vervangen, weer geschud enz. tot de vloeistof helder bleef.

De aldus met kalkwater en zwavelwaterstof behandelde huid van het rund, vertoonde direct daarna weer met half verzadigd kalkwater uitgetrokken, in het met azijnzuur zuur gemaakte extract weer eene sterke troebelheid, die zooals gezegd hierin eerst in het geheel niet meer door azijnzuur op te wekken was.

Dit neerslag werd met de centrifuge verzameld en uitgewasschen. Het bleek uit nucleoproteïden te bestaan, want:

1°. In zoutzuur opgelost en daarna met pepsine gedigereerd, gaf het een neerslag, dat in alkali oploste.

2°. *Met 1 % zoutzuur* gedurende 4 uren *gekookt, reduceerde het Fehling's proefvocht niet.*

De door toevoeging van azijnzuur uit het kalkwaterextract van de versche huid neergeslagen stof vertoonde in physische en chemische eigenschappen reeds zeer veel overeenkomst met mucoïde stoffen:

Ze was goed oplosbaar in alkaliën, werd door verdunde zuren uit die oplossing neergeslagen, was zeer slecht oplosbaar in water en reageerde zuur, zoodat het gelukte met alkali neutrale oplossingen te maken, die zich door electrolyse lieten dissocieeren, evenals eene neutrale oplossing van nucleohiston. De mucoïde zette zich daarbij dan aan de positieve, NaOH aan de negatieve pool af,

zoo van eene oplossing in verdunde NaOH was uitgegaan, die door dialyse volkomen neutraal gemaakt en van andere electrolyten bevrijd was.

Alle neerslagen, zoowel de draderige vorm, als het met de centrifuge verzamelde, werden met gedistilleerd water uitgewasschen, om

1e. 't overtollige azijnzuur,

2e. 't nog opgeloste eiwit,

3e. ingesloten azijnzure kalk

te verwijderen.

Bij het uitwasschen bleek het vaak noodig het waschwater met een' enkelen druppel zuur aan te zuren, om te voorkomen, dat de mucoïde eenigszins oploste en verloren ging.

De uitgewasschen stof werd òf in gesloten stopfleschjes met 2 % loog gedigereerd, òf opnieuw in half verzadigd, gefiltreerd kalkwater opgelost, al naar gelang zij bestemd was voor de analyses van de splitsingsproducten van de interfibrillaire stof, met name van het glycothionzuur, dan wel gebruikt zou worden voor analyses der mucoïde stof als zoodanig.

De opnieuw in kalkwater op te lossen stof werd met zooveel half verzadigd kalkwater opgelost, dat eene uiterst zwak alkalische, liefst neutrale oplossing verkregen werd. Zoo te veel alkali was toegevoegd — wat slechts in geringe mate soms het geval was — werd die overmaat door dialyse snel verwijderd.

Uit die neutrale oplossing werd de mucoïde stof langs twee verschillende wegen teruggewonnen: nu eens door electrolyse, dan weer door opnieuw neerslaan met 5 % azijnzuur.

De laatste methode ging aanmerkelijk vlugger en werd dus tenslotte boven de eerste verkozen. In beide gevallen werd de verkregen stof door drie maal uitwasschen met gedistilleerd water en opnieuw centrifugeeren, gezuiverd.

Bij dat uitwasschen, waarbij niet zooals anders het waschwater met een paar druppels zuur aangezuurd werd — doet men dit wel, dan moet men daarna het zuur met alkohol uitwasschen —, deed zich de moeilijkheid voor, dat soms een troebele vloeistof werd verkregen, die zich niet liet centrifugeeren. Door toevoegen van wat alkohol moest dan het waschwater tot een nog slechter oplosmiddel voor mucoïde, gemaakt worden.

De aldus gezuiverde mucoïde stof werd in alkohol van ± 92 % gedurende 24 uren bewaard, dan op een gehard filter gebracht, met absoluten alkohol en aether uitgewasschen en in een vacuumexsiccator en daarna gedurende drie uren bij 110° C. gedroogd en gewogen.

Nadat de huid ongeveer een week — de huid van het kalf 10—14 dagen — met half verzadigd kalkwater uitgetrokken was en slechts weinig mucoïde stof meer opleverde, werd het nu met azijnzuur verkregen neerslag, onder alkoholhoudend water verzameld en daarna op het filter gebracht en met alkohol en aether goed uitgewasschen, om het van lecithine e. a. verontreiniging te zuiveren. Daarna werd het in een vacuumexsiccator gedroogd, dan nog eens gedurende 3 uren bij 110° C. en tenslotte gewogen. Het zoo verkregen praeparaat diende om uit te maken, of wat na herhaalde extractie van de huid in het kalkwater nog oploste, interfibrillaire stof was of uit nucleoproteïden in hoofdzaak

bestond. Zoo het laatste het geval was, moest de extractie eerder worden gestaakt.

Het resultaat ook van dit gedeelte van het onderzoek, zal straks worden medegedeeld.

Bereiding van „glycothionzuur" uit de interfibrillaire stof van het corium.

De op de beschreven wijze verkregen interfibrillaire stof werd in gesloten stopfleschjes, volgens de door LEVENE [1]) aangegeven methode, met 2 % natronloog gedurende 2 × 24 uren — gerekend van het oogenblik af dat de laatste portie mucoïde stof in de loog was gebracht — bij kamertemperatuur gedigereerd.

Volgens LEVENE wordt daarbij de interfibrillaire stof gesplitst in eiwit aan den eenen en glycothionzuur aan den anderen kant.

Evenals LEVENE deed, maakte ik daarna de vloeistof door toevoeging van 30 % azijnzuur zwak zuur en sloeg dan het eiwit met overmaat van pikrinezuur in verzadigde oplossing en overmaat van 30 % azijnzuur, neer. Het volumineuze neerslag van eiwit liet zich vooral dan goed affiltreeren, zoo ik het eerst eenige uren liet bezinken en dan filtreerde, zonder eerst om te roeren.

In het filtraat kon dan door toevoegen van 3 à 4 maal het volumen alkohol het „glycothionzuur" als een wit, vlokkig neerslag worden verkregen. Na bezinken en decanteeren werd het neerslag met ± 90 % alkohol pikrinezuurvrij gewasschen en tenslotte met aether nog 24 uren

[1]) Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. XXXI S. 395 en Bd. XXXIX S. 1

uitgetrokken. Soms had ik hierbij te kampen met neerslagen, die bleven zweven en niet bezonken. Dan hielp toevoeging van aether aan den alkohol daartegen afdoende.

Op de juist beschreven wijze is door LEVENE uit peesmucine het door hem *„glycothionzuur"* gedoopte — omdat het een of meer koolhydraatgroepen en zwavel bevat en zure eigenschappen heeft — zuur bereid. LEVENE heeft het als een goed gekarakteriseerde en met *chondroitinezwavelzuur* vergelijkbare stof bekend gemaakt en het uit verscheidene parenchymateuse organen weten af te scheiden.

De individualiteit van LEVENE's glycothionzuur is in den laatsten tijd door NEUBERG [1]) krachtig betwist. Deze verwijt LEVENE, dat hij zegt *P*-vrij glycothionzuur te hebben bereid, wat aan MANDEL [2]) en NEUBERG nooit gelukte.

LEVENE [3]) antwoordt daarop, dat MANDEL en NEUBERG niet met versch materiaal werkten en dat daardoor het nucleïnezuur met het glycothionzuur vermengd, door autolyse of bacteriënwerking in oplosbaren vorm zou overgaan, zoodat het bij het oplossen van het glycothionzure baryumzout in water, mede oplost en dus niet daarvan gescheiden kan worden.

Dan wijzen MANDEL en NEUBERG op het onmogelijke van LEVENE's uitkomsten in zijne analyses: het glycothionzure baryum heeft een veel hooger *S*-gehalte dan het vrije zuur en het *N*-gehalte der glycothionzuren van verschillende herkomst wisselt wel 200%. NEUBERG gaat zoo

[1]) Biochemische Zeitschr. Bd. XVI, S. 250.
[2]) Ibidem, Bd. XIII, S. 142.
[3]) Ibidem, Bd. XVI, S. 246.

ver, dat hij zegt, dat het glycothionzuur geen stof sui generis is en niet anders, als eene verwarring stichtende naam voor zeer verschillende stoffen, een naam, die hoe eer zoo beter dient te verdwijnen.

In den strijd over de specificiteit van het glycothionzuur zal ik mij niet begeven. Zij al onder den naam *„glycothionzuur"* eene groep van stoffen saamgevat, die kleinere of grootere verschillen biedt, al naar de herkomst, zoo het slechts mogelijk is volgens dezelfde methode — hier die van LEVENE — werkende, uit peesmucine en uit mucoïde van het corium eene enkelvoudige of een groep van stoffen te bereiden, die aantoont, dat peesmucoïde en de interfibrillaire stof van het corium tot dezelfde groote familie van mucoïde stoffen behooren, dan is het doel van dit proefschrift bereikt.

Het door LEVENE glycothionzuur gedoopte, nemen wij aan complex van stoffen, is toch voldoende door zeer treffende eigenschappen gekenmerkt om verwantschap van verscheidene stoffen, waaruit het op dezelfde wijze kon worden bereid, te bewijzen.

Dat het niet is, dan een mengelmoes, waaraan een naam niet toekomt, schijnt te veel gezegd te zijn.

Een stof of mengsel van stoffen, dat:

orcine-reactie geeft,

na koken met verdunde zuren reduceerende stof levert en zwavelzuur loslaat,

in water oplosbaar is en daarmede eene zuur reageerende oplossing vormt,

in alkohol en aether onoplosbaar is,

na distillatie met zuren furfurol levert,

in geconcentreerde waterige oplossing met chloorbaryum een moeilijk oplosbaar zout vormt,

is toch niet geheel en al van kenmerkende eigenschappen ontbloot.

Het pikrinezuurvrij gewasschen helderwitte glycothionzuur uit oriomucoïde, op de beschreven wijze verkregen, werd in weinig gedistilleerd water opgelost — waarbij het verontreinigende nucleïnezuur niet mede oplost — en vormde dan eene licht opalescente, soms troebele, dikke vloeistof, die met een klein zuigfiltertje van papierpap — gesteund door een watteprop je in den hoek van den trechter — langzaam, doch goed gefiltreerd kon worden. De gefiltreerde oplossing was meest waterhelder, visceus als ware het nog mucoïde, soms opalesceerend en reageerde zuur.

De door halfverzadigd kalkwater uit de huid van den mensch, van paarden, van kalveren en van runderen uitgetrokken mucoïde stof, liet zich steeds geheel volgens de methode van Levene behandelen en steeds werd een splitsingsproduct verkregen met de eigenschappen van het glycothionzuur.

Geheel op dezelfde wijze kon ook uit peesmucine en uit mucine van de navelstreng dat zuur worden afgescheiden. Niet evenwel uit mucine van de glandula submaxillaris. Hierop kom ik later terug.

Evenals Levene deed, heb ik van het gycothionzuur, uit de verschillende huiden, pezen en uit navelstrengen bereid, het *baryumzout* gemaakt. Nadat evenwel was gebleken, dat chloorbaryum met de geconcentreerde waterige oplossing van glycothionzuur, wel een flink neerslag gaf, doch dat daarbij toch nog eene aanzienlijke hoeveelheid van

het baryumzout in oplossing bleef, ging ik in het vervolg anders te werk.

Aan de geconcentreerde oplossing van glycothionzuur, ééns in water opgelost, gefiltreerd en weer met alkohol neergeslagen en ten tweedemale in weinig gedistilleerd water opgelost, werd een gelijk volumen alkohol 92% toegevoegd. Dan ontstond nog geene troebelheid, zoodat besloten mocht worden, dat het glycothionzuur in alkohol van ± 50 % nog oplosbaar is. Aan deze oplossing werd overmaat van chloorbaryum in verzadigde oplossing toegevoegd, nadat ook de oplossing van chloorbaryum eerst met een gelijk volumen alkohol was vermengd. Zoo kon het glycothionzuur volledig als het baryumzout worden neergeslagen. Het baryumzout werd dan met 50 % alkohol chloorvrij gewasschen, in een vacuumexsiccator en tenslotte nog gedurende drie uren bij 110° C. gedroogd en gewogen.

Zoo de stof na het drogen niet wit was, kon door nog eens oplossen in water, filtreeren en weer neerslaan met alkohol en opnieuw drogen een helder wit praeparaat worden verkregen. Alleen leverde de zoutvrije waterige oplossing met alkohol slechts eene lichte troebelheid, geen neerslag op. Door toevoegen van een paar druppels eener verzadigde keukenzoutoplossing kwam dadelijk een flink vlokkig neerslag, dat dan evenwel opnieuw chloorvrij moest worden gewasschen.

Bereiding van peesmucine en het glycothionzure baryum daaruit.

De Achillespees van het rund en van het kalf werden vrij gepraepareerd en zoo zorgvuldig mogelijk gereinigd; dan in stukjes geknipt en gedurende 24 uren in water uitgetrokken. Nadat het waschwater door uitpersen zooveel mogelijk was verwijderd, werden de pezen gedurende 2×24 uren met half verzadigd kalkwater uitgetrokken. Niet werd, zooals gebruikelijk is, eerst met eene verdunde oplossing van keukenzout uitgetrokken, om de eiwitstoffen van bloed en lymphe te verwijderen. Die praeparaten, die voor de analyses van peesmucine als zoodanig, niet voor die van het glycothionzuur daaruit, hebben gediend, zijn als voor die van coriomucoïde beschreven is, opnieuw in half verzadigd kalkwater opgelost enz.

Bij de bereiding van peesmucine ondervond ik zeer vaak moeilijkheden, die ik bij die van mucoïde uit huiden slechts tegen kwam, wanneer de huid „uitgewerkt" raakte.

De extractie met kalkwater leverde geene moeilijkheden op. Alleen de oplossing van peesmucine in kalkwater was ook dan, wanneer ze veel mucoïde stof bevatte, nooit visceus, als die van coriomucoïde.

De moeilijkheden kwamen eerst bij het neerslaan der stof in oplossing met verdunde zuren en bij het verzamelen van het neerslag. Wel ontstond eene dichte troe-

belheid, zoo dicht, dat de geheele vloeistof melkwit was, maar een vlokkig neerslag, dat zich liet verzamelen, bleef uit.

Ook Loebisch [1]) ondervond die bezwaren. Hinderlijke zouten, als azijnzure kalk, die de praecipitatie van mucoïden door zuren tegengaan, konden door dialyse onschadelijk worden gemaakt. Doch ook al waren die verwijderd, dan waren de moeilijkheden slechts zelden uit den weg geruimd. Meestal was een te kort aan zuur de oorzaak van het uitblijven van een echt neerslag.

De verschillende praeparaten nu verschilden belangrijk in de hoeveelheid zuur, die ze behoefden om een behoorlijk neerslag te doen ontstaan. Nu eens kon ik met eene tot juist zure reactie voortgezette toevoeging van 5 % azijnzuur of 0.2 % zoutzuur volstaan, dan weer was het laatste veel beter in staat tot het doel te voeren, dan het eerste en een volgende maal bleef elk neerslag uit, totdat eerst na 24 uren staan met zooveel 0.2 % zoutzuur, als het volumen van de mucoïdeoplossing bedroeg, een goed neerslag ontstond. In dat geval bereikte ik het doel sneller door toevoegen van eenige kubieke centimeters *1* % zoutzuur, waarna in eene eerst met verdund zuur nauwelijks troebel geworden vloeistof, een rijkelijk, mooi vlokkig neerslag kwam. Tenslotte kon op deze of gene wijze toch altijd een neerslag verkregen worden.

Nog troffen mij deze bijzonderheden, dat, hoe minder mucoïde stof de oplossing bevat, des te meer zuur moest worden toegevoegd en dat peesmucine in overmaat van zuur veel moeilijker oplost, dan de mucoïden uit de verschillende huiden bereid. Vergelijking van oplossingen

[1]) Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. X S. 44 en 54.

met verschillend zuurgehalte bewees, de betrekkelijk groote gevoeligheid van mucoïden uit huiden voor overmaat van zuur, in tegenstelling met de ongevoeligheid daarvoor bij peesmucine waar te nemen.

Aan 5 cc eener oplossing van versche coriomucoïde van het paard, waarin door toevoegen van 5 % azijnzuur de mucoïde vlokkig was neergeslagen, werd nog toegevoegd:
1.5 cc. 5 % azijnzuur: het neerslag bleef nog slechts even zichtbaar.
2.5 cc. 5 % „ : „ „ verdween.
5 cc. 5 % „ : „ „ „ .

Aan 5 cc. eener oplossing van versche peesmucine, waarin door toevoegen van 5 % azijnzuur de mucoïde vlokkig was neergeslagen, nog toegevoegd:

5 cc. 0.2 % zoutzuur (d.i. volgens Loebisch even sterk als 10 % azijnzuur): *het neerslag loste niet op.*

Veelal evenwel vond de praecipitatie van peesmucine met 5 % azijnzuur, tot juist zure reactie toegevoegd, even goed plaats, als die van coriomucoïde. En dit was des te eerder het geval, naarmate de oplossing geconcentreerder was. Zoo kreeg ik met 200 G. pees, in 400 cc. half verzadigd kalkwater gedurende 2 × 24 uren uitgetrokken, de beste resultaten.

Nog zij opgemerkt, dat het niet gelukte peesmucine in den draderigen vorm af te scheiden en om de roerstaaf te verzamelen. Steeds ontstond een vlokkig neerslag.

Het glycothionzuur en het glycothionzure-baryum lieten zich op de gewone wijze bereiden.

Het gezuiverde glycothionzure-baryum uit peesmucine gaf geene *met zekerheid waarneembare biureetreactie.* Het prae-

paraat bevatte dus zeker geene noemenswaardige verontreiniging met eiwit. Zoo het glycothionzuur nog eene merkbare verontreiniging met eiwit aankleefde, dan werd uit de waterige oplossing dit eiwitrestje, door chloorbaryum niet mede gepraecipiteerd en dus na filtreeren verwijderd.

Bij het chloorvrij wasschen van het glycothionzure-baryum ontstond in de daarvoor gebruikte 50 % alkohol, met zilvernitraat een neerslag, dat zoowel in *salpeterzuur* als in *ammonia* oploste en dus noch chloorzilver, noch eene zilververbinding der purinestoffen was. Om hiervan zeker te zijn heb ik dat zilverzout ook bereid uit gezuiverd en bij 110° C. gedroogd glycothionzuur, ditmaal afkomstig van coriomucoïde van het rund.

Het droge poeder loste in gedistilleerd water geheel op en vormde na filtreeren eene heldere oplossing, die duidelijk *zuur reageerde*. In deze vloeistof werd met zilvernitraat een wit vlokkig neerslag verkregen, dat niet op chloorzilver geleek, doch wel op de zilververbinding van purinestoffen. Dit neerslag loste *zoowel in salpeterzuur, als in ammonia op.*

Bij verwarming verkleurde het, doch loste niet op.

Dit glycothionzure-zilver is voor analyses niet gebruikt.

Bereiding van mucine uit de navelstreng en de glandula submaxillaris en het glycothionzuur daaruit.

Aanleiding tot de bereiding van mucine uit de navelstreng was de bij YOUNG [1]) te vinden mededeeling, dat navelstrengmucine met verdunde zuren gekookt, niet, als tendomucoïde, vrij zwavelzuur onder de splitsingsproducten doet vrijkomen.

Daarom heb ik LEVENE's methode tot bereiding van glycothionzuur ook op de mucine van de navelstreng en op die van de glandula submaxillaris toegepast. Uit de laatste zegt LEVENE [2]) het glycothionzuur te hebben verkregen.

In gesloten flesschen met $^1/_5$ verzadigd kalkwater gevuld, werden de navelstrengen onmiddellijk na den partus gedeponeerd [3]) en aldus naar het laboratorium overgebracht. De strengen werden dan in stukjes geknipt in de genoemde vloeistof gedurende 2 × 24 uren uitgetrokken en dan werd de mucine volgens de methode van LEVENE verder bewerkt. Daarbij werd uit de met pikrinezuur van eiwit bevrijde oplossing, door toevoeging van alkohol, geheel als bij tendomucoïde en bij de mucoïde stof uit het corium,

[1]) Journal of physiology, vol. XVI 1894, p. 341.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XXXI S. 405.

[3]) Door de bereidwillige zorg van den assistent der obstetrische kliniek alhier.

een met zure reactie in water oplosbaar neerslag verkregen, waaruit op de gewone wijze de baryumverbinding werd gemaakt.

Bij de bereiding van mucine uit de glandula submaxillaris van het rund werd de methode van HAMMARSTEN gevolgd.

Nadat de klier was uitgenomen en met het hakmes fijn gehakt, werd zij met water geëxtraheerd. De vloeistof werd gefiltreerd en aan het filtraat verdund zoutzuur toegevoegd tot een gehalte van 0.15 % was bereikt. Het neerslag van mucine zoo verkregen loste bij omroeren, zooals HAMMARSTEN aangeeft, weder op. De vloeistof werd dan in drie maal het volumen water uitgegoten; dan ontstond een groot neerslag, dat bij voorzichtig omroeren in lange draden geheel om de roerstaaf kon worden verzameld.

Na digestie gedurende 2 × 24 uren in 2 % loog, werd daarna als bij mijne andere praeparaten het eiwit met pikrinezuur en azijnzuur verwijderd. In de dan verkregen heldere vloeistof kon met alkohol *geen neerslag* worden verkregen. Mucine van de glandula submaxillaris blijkt dus eene andere stof, als die uit de navelstreng en eene andere stof ook, als de mucoïden uit de pees en het corium. Wel heeft LEVENE [1]) medegedeeld uit mucine van de glandula submaxillaris het glycothionzuur te hebben verkregen, doch niet uit praeparaten volgens de methode van HAMMARSTEN bereid. Eerst na bijzondere manipulaties en niet met de zuivere mucine als zoodanig, heeft LEVENE dit resultaat verkregen.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XXXI S. 405.

Analyses.

Alle quantitatieve bepalingen zijn geschied met en berekend op de *niet aschvrije* stof.

Alle *koolstof-* en *waterstof*bepalingen zijn geschied onder de gebruikelijke voorzorgen; de stof werd daarbij met loodchromaat verbrand en met een' gereduceerden koperspiraal werd 't ontwijken van NO_2 voorkomen.

Het *zwavelgehalte* der mucoïden als zoodanig werd volgens de methode van HAMMARSTEN bepaald. Hierbij wordt eerst geoxydeerd met 25 % salpeterzuur, gedurende ± 20 uren bij ± 100° C. Daarna wordt soda in overmaat toegevoegd en tot droog ingedampt; dan nog eenige uren bij 110° C. gedroogd en boven den spiritusvlam verbrand. Na eenige malen indampen en weer oplossen in zoutzuur werd tenslotte in 1 % zoutzuur opgelost en in die oplossing het sulfaat met chloorbaryum neergeslagen en gewogen.

De hoeveelheid *stikstof* werd steeds volgens de methode van KJELDAHL bepaald.

De volgens NEUMANN gedestrueerde stof bleek, met molybdaenzure-ammonia onderzocht, slechts onweegbare sporen *phosphorus* te bevatten.

In de *glycothionzure-baryumzouten* der verschillende mucoïden werd de hoeveelheid van het door hydrolyse

daaruit vrij te maken zwavelzuur bepaald, door het in 1 % zoutzuur opgeloste zout, — dat dan eene even opalescente oplossing vormde — 4 uren in het waterbad, onder constant volumen, te verhitten. Een helder wit neerslag ontstond, dat gewogen werd.

Analyses van peesmucine.

Het door hydrolyse met 1 % zoutzuur gesplitste *glycothionzure-baryum,* door filtreeren van $BaSO_4$ bevrijd, reduceerde sterk FEHLING's proefvocht,

gaf eene duidelijke orcine-reactie en de voor orcine karakteristieke streep in het spectrum,

gaf met zwavelzuur eene duidelijke troebelheid, doch niet zoo sterk als de praeparaten van coriomucoïde dat deden.

0,1913 G. *glycothionzuur-baryum* leverde na hydrolyse met zoutzuur 0,0458 G. $BaSO_4$, d. i. 3.28 % *S* (2.51 % bij LEVENE [1]).

0,3497 G. *glycothionzuur-baryum* volgens KJELDAHL behandeld, had ter neutralisatie noodig 8,26 cc eener 0,095 n. zwavelzuuroplossing, d. i. 3.14 % *N* (2.65 % bij LEVENE [2]).

0,3281 G. *peesmucine* gaf na destructie volgens de methode van HAMMARSTEN 0,0649 G. $BaSO_4$, d. i. 2.72 % *S*.

0,2224 G. *peesmucine* had ter neutralisatie noodig 18,92 cc eener 0,095 n. zwavelzuuroplossing, dus een gehalte aan *N* van 11,31 %.

[1]) l. c. Bd. XXXI S. 399.

[2]) Ibidem.

Analyses van de coriomucoïde van het rund en van glycothionzuur daaruit.

Het door hydrolyse met 1 % zoutzuur gesplitste *glycothionzure-baryum* — dat in dat zuur volkomen helder oploste — vertoonde een groot wit praecipitaat. Het filtraat daarvan reduceerde sterk FEHLING's proefvocht,

gaf met *chloorbaryum geen* neerslag, doch met *zwavelzuur* eene *troebelheid,*

gaf eene positieve orcinereactie, te zwak echter om met den spektroskoop nader gekenmerkt te worden.

Het droge glycothionzure baryumzout gaf opgelost eveneens eene duidelijke orcinereactie.

Na distillatie met 30 % zoutzuur gaf dit zout duidelijk *furfurol* in het distillaat, kenbaar door den reuk en door de reductie van eene ammoniakale zilveroplossing.

Gedestrueerd volgens de methode van NEUMANN kon in dit zout met molybdaenzure-ammonia slechts een *onweegbare hoeveelheid phosphorus* worden aangetoond.

De quantitatieve analyses van het glycothionzure-baryumzout gaven de volgende uitkomsten:

0,1327 G. stof, volgens KJELDAHL behandeld, had ter neutralisatie noodig, 3,58 cc eener 0,095 n. zwavelzuuropl., d. i. 3.59 % *N.*

0,3562 G. stof, volgens KJELDAHL behandeld, had ter

neutralisatie noodig, 9.36 cc eener 0,095 n. zwavelzuur-opl., d. i. 3.50 % *N*.

0,2654 G. stof leverde na hydrolyse 0,0586 G. $BaSO_4$, d. i. 3.03 % *S*.

Na verbranding van de stof met het filter werd 0,0602 G. $BaSO_4$ gevonden. De gegloeide stof werd dan eenige malen met zoutzuur onder verwarming gedecanteerd. Daarna werd 0.0586 G. $BaSO_4$ gevonden. Een zoo gering verschil, dat later decanteeren met zoutzuur achterwege is gelaten.

In het filtraat van 0,2654 G. glycothionzuur-baryum, na digereeren met zoutzuur van $BaSO_4$ bevrijd, kwam met zwavelzuur nog een neerslag van $BaSO_4$ en wel groot 0,0056 G.

Glycothionzuur uit coriomucoïde van het rund,
was gedroogd een wit poeder,
loste in water volkomen op,
de waterige oplossing reageerde duidelijk zuur, gaf — mits de oplossing geconcentreerd was — met chloorbaryum een in alkohol en aether onoplosbaar, in water moeilijk oplosbaar neerslag, gaf met zilvernitraat een vlokkig, in salpeterzuur, zoowel als in ammonia oplosbaar neerslag.

De uitkomsten der quantitatieve analyses van de *mucoïde* als zoodanig, waren als volgt:

0,3097 G. stof gaf na verbranding 0,5740 CO_2 dus 50.53 % *C*
0,3097 G. „ „ „ „ 0,2207 H_2O „ 7.97 % *H*
0,1554 G. „ „ „ „ 0,2852 CO_2 „ 50.05 % *C*
0,1554 G. „ „ „ „ 0,1076 H_2O „ 7.75 % *H*
0,2673 G. „ „ „ „ 0,0359 $BaSO_4$ „ 1.84 % *S*
0,2716 G. „ volgens KJELDAHL behandeld, had ter neutra-

lisatie noodig 27,410 cc 0,095 n. H_2SO_4, d.i. 13.42 % N. 0,3772 G. stof, volgens KJELDAHL behandeld, had ter neutralisatie noodig 39,682 cc 0,095 n. H_2SO_4, d.i. 13,97 % N.

De nadat de huid bijna „uitgewerkt" was nog uitgetrokken mucoïde stof werd, zooals vroeger gezegd onder alkoholhoudend water verzameld en was bestemd om op nucleoproteïden te worden onderzocht om uit te maken of misschien de extractie der huiden eerder moest worden gestaakt.

0,3136 G. dezer stof loste in 1% zoutzuur volkomen op. Na 4 uren koken ontstond in de eerst heldere oplossing een wit neerslag, dat werd afgefiltreerd.

Het filtraat werd tot een bepaald volumen aangevuld. Twee derde ervan werd tot even zuur geneutraliseerd en ingedampt tot een volumen van ± 10 cc. Het eiwit werd hierna afgefiltreerd en het filtraat op reductie en op phosphorgehalte onderzocht. Met het magnesiamengsel ontstond eene *kleine, niet weegbare hoeveelheid* van een kristallijn neerslag, dat onder het microscoop bekeken, uit kristallen van *tripelphosphaat* bleek te bestaan. Het genoemde filtraat *reduceerde* FEHLING's proefvocht sterk.

De sterke reductie tegenover het zeer geringe gehalte aan phosphorus bewees, dat deze stof in hoofdzaak uit *glycoproteïden* bestond.

In het overige derde gedeelte der besproken vloeistof kon met chloorbaryum 0,0030 $BaSO_4$ worden aangetoond, d. i. 0,39 % *S* (deze bepaling is evenwel door de geringe hoeveelheid stof en door het verdeelen der vloeistof in drieën niet van waarde).

Ehrlich's [1]) reagens op slijmstoffen heeft mij geene goede diensten bewezen. Met dimethylamidoparabenzaldehyde, opgelost in normaal zoutzuur tot 30 %, werd noch met de mucoïde, noch met het glycothionzure-baryum de, door Müller beschreven, roode verkleuring verkregen.

De stoffen, opgelost in barytwater, gaven met het reagens, toegevoegd tot duidelijk zure reactie, ook na koken eene groene, geen roode verkleuring.

Barytwater zonder meer evenwel, gaf met het reagens verwarmd, eene roode verkleuring, terwijl kaliloog ermede een neerslag en eene roode verkleuring vertoonde.

[1]) Fr. Müller, Zeitsch. f. Biologie, Bd. XLII. S. 561. (Jubelband zu Ehren von C. Voit).

Analyses van coriomucoïde van het paard en van glycothionzuur daaruit.

Glycothionzuur uit de coriomucoïde van het paard loste in water geheel op; de oplossing was visceus, helder, reageerde zuur en was geheel biureetvrij.

Chloorbaryum deed daarin eene troebelheid ontstaan, die na toevoegen van alkohol tot een gehalte van 50 % in een groot neerslag overging.

Na hydrolyse met 1 % zoutzuur ontstond in de eerst heldere oplossing van het baryumzout een wit neerslag, dat gewogen werd.

In het filtraat daarvan ontstond met zwavelzuur eene dichte troebelheid. Het filtraat reduceerde FEHLING's proefvocht sterk en gaf de orcinereactie. Met phenylhydrazine en natriumacetaat gekookt, kwam in de vloeistof een niet kristallijn neerslag, dat dus niet nader kon worden gedefinieerd.

De quantitatieve uitkomsten waren de volgende:

0,2283 G. glycothionzuur-baryum gaf na hydrolyse 0,0263 $BaSO_4$, d.i. 1.58 % *S*,

0,3196 G. glycothionzuur-baryum, volgens KJELDAHL behandeld, had ter neutralisatie noodig 8.88 cc. 0,095 nH_2SO_4, d.i. 3.70 % *N*.

0.3372 G. glycothionzuur-baryum (van een ander preaparaat), volgens KJELDAHL behandeld, had ter neutralisatie noodig 10.85 cc. 0,095 nH_2SO_4, dus 4.28 % *N*.

De quantitatieve analyses van de coriomucoïde van het paard leverden op:

0,1472 G. stof, volgens KJELDAHL behandeld, had ter neutralisatie noodig 17.25 cc 0,095 nH_2SO_4, dus 15.58 % *N*,
0,2364 G. stof gaf na verbranden 0,0256 G. $BaSO_4$, dus 1.49 % *S*,
0,2034 G. „ „ „ „ 0,3767 CO_2, „ 50.51 % *C*,
0,2034 G. „ „ „ „ 0,1437 H_2O, „ 7.91 % *H*,
0,3294 G. „ „ „ „ 0,6037 CO_2, „ 49.98 % *C*,
0,3294 G. „ „ „ „ 0,2331 H_2O, „ 7.92 % *H*.

De nadat de huid bijna „uitgewerkt" was in alkoholhoudend water verzamelde mucoïde stof bedroeg na drogen 0,3782 G. en leverde na hydrolyse met zoutzuur 0,0096 G. $BaSO_4$, d. i. 0,35 % *S*.

Het filtraat daarvan *reduceerde sterk* FEHLING's proefvocht en leverde eene *onweegbare hoeveelheid tripelphosphaat*, na toevoegen van magnesiamengsel.

Analyses van coriomucoïde van het kalf en van glycothionzuur daaruit.

Glycothionzuur uit de corio-mucoïde van het kalf loste in water geheel op en reageerde zuur.

Chloorbaryum deed daarin eene troebelheid ontstaan, die na toevoegen van alkohol tot een gehalte van 50 % overging in een groot neerslag.

Na hydrolyse met 1 % zoutzuur ontstond in de eerst heldere oplossing van glycothionzuur-baryum, een neerslag, dat gewogen werd.

In het filtraat daarvan ontstond met zwavelzuur eene troebelheid; met FEHLINGS proefvocht werd eene sterke reductie verkregen. Het filtraat gaf de orcinereactie.

De quantitatieve analyses gaven de volgende uitkomsten:
0,2433 G. glycothionzuur-baryum gaf na hydrolyse 0,0332 $BaSO_4$, dus 1.87 % *S*,
0,2291 G. „ „ „ na hydrolyse 0,0287 $BaSO_4$, dus 1.72 % *S*,
0,2937 G. „ „ , volgens KJELDAHL behandeld, had ter neutralisatie noodig 8,92 cc 0,095 n, H_2SO_4, d.i. 4,04 % *N*.

De *coriomucoïde* van het kalf *reduceerde*, na hydrolyse met zoutzuur, sterk FEHLING's proefvocht.

Eene portie, na extractie gedurende 17 dagen nog uit de huid verkregen, bewees door eene duidelijk positieve orcinereactie, nog in hoofdzaak uit glycoproteïden te bestaan.

De quantitatieve analyses van de coriomucoïde hadden de volgende uitkomsten:

In 0,3358 G. mucoïde volgens de methode van NEUMANN gedestrueerd kon met molybdaenzure-ammonia *geen phosphorus* worden aangetoond.

Het *zwavelgehalte* is in de coriomucoïde van het kalf niet bepaald.

0,2880 G. stof leverde na verbranden 0,5407 CO_2, d. i. 51.2 % *C*,

0,2880 G. „ „ „ „ 0,1994 H_2O, d. i. 7.75 % *H*,

0,2985 G. „ „ „ „ 0,2064 H_2O, d. i. 7.74 % *H*.

Analyses van hetzelfde praeparaat, tegelijk verricht:

0,1170 G. stof, volgens KJELDAHL behandeld, had ter neutralisatie noodig 12.24 cc 0,095 n. H_2SO_4, d. i. 13.92 % *N*,

0,1195 G. stof, volgens KJELDAHL behandeld, had ter neutralisatie noodig 12.46 0,095 n. H_2SO_4, d. i. 13.87 % *N*.

Analyse van mucine van de navelstreng.

De splitsing van de oplossing van navelstrengmucine in 2 % natronloog gelukte als die van de mucoïde stoffen uit de huiden verkregen.

Nadat het eiwit door pikrinezuur was verwijderd kon in het filtraat *met alkohol een rijkelijk neerslag* verkregen worden, dat op de gewone wijze gezuiverd en tenslotte in gedistilleerd water opgelost, met chloorbaryum een neerslag gaf, dat zich ook weer eerst volledig afscheidde, indien alkohol tot een gehalte van 50 % werd toegevoegd.

Het aldus verkregen en chloorvrij gewasschen zout, dat ik weer glycothionzuur-baryum wil noemen, vertoonde de volgende eigenschappen:

het loste in water, zoowel als in 1 % zoutzuur goed op.

het was in alkohol en aether onoplosbaar.

de heldere oplossing in 1% zoutzuur werd na verhitten in het waterbad gedurende 4 uren, *troebel* en na staan bezonk een *helderwit neerslag,* dat gewogen werd: zoo werd 0,0370 G. $BaSO_4$ gevonden op 0,3628 G. glycothionzuur-baryum, d. i. 1.40 % *S.*

Het filtraat van de van $BaSO_4$ bevrijde vloeistof *reduceerde sterk* FEHLING's proefvocht,

werd met zwavelzuur troebel,

gaf zwakke orcinereactie: na 24 uren staan kwam wel

eene sterke verkleuring en na uitschudden met amylalkohol een donkergroene kleur, doch de voor orcine karakteristieke streep in het spectrum ontbrak.

De orcinestreep in het spectrum ontbrak evenwel bij de praeparaten van coriomucoïde ook wel en de orcinereactie was steeds in verhouding tot de reductie zwak te noemen.

Het glycothionzure-baryum uit navelstrengmucine week dus in geen enkel opzicht van dat uit coriomucoïden af.

De meening van Young, dat mucine van de navelstreng geen esterzwavelzuur bevat, kan ik dus niet bevestigen.

BESLUIT.

Reeds sedert ROLLETT's onderzoek in 1858 is het bekend dat het de interfibrillaire stof is, die na uittrekken van huiden met kalkwater, in dat alkali oplost.

De interfibrillaire stof van het corium van zoogdieren, door kalkwater aan de huid onttrokken, bleek in het in de vorige bladzijden medegedeelde onderzoek, overeen te komen met de op dezelfde wijze bereide peesmucine. Wel loopen de cijfers voor de elementaire samenstelling der mucoïden uit huiden van verschillende dieren, ja zelfs van hetzelfde dier, hier en daar zoo uiteen, dat niet mag worden aangenomen, dat hier ééne, onveranderlijke, zuiver afgescheiden stof in het spel was.

Geenszins had ik mij ook voorgesteld eene constante stof uit de lederhuid als *de* interfibrillaire stof te kunnen bereiden.

De onderzoekingen van den lateren tijd — in de vorige bladzijden uitvoerig besproken — hebben voldoende aangetoond, dat noch de peesmucine, noch de mucoïden uit ander bindweefsel constant van samenstelling zijn.

Sommigen meenen dan ook, dat al die mucoïden mengsels zijn van verschillende mucoïde stoffen, die door gefractioneerde bereiding kunnen worden gescheiden.

Ondergeschikte afwijkingen der mucoïden van verschil-

lende huiden onderling, zelfs van hetzelfde dier, kon ik dus reeds aan het begin van mijn onderzoek, met groote waarschijnlijkheid verwachten.

De elementaire samenstelling der mucoïden uit de lederhuid en peesmucine werd bij mijn onderzoek, tenminste door getallen van dezelfde orde uitgedrukt gevonden.

	C	H	N	S	O	
Loebisch	48.30	6.44	11.75	0.81	32.70	tendomucoïde.
Chittenden en Gies .	48.76	6.53	11.75	2.33	30.60	
Cutter en Gies . . .	48.04	6.67	12.47	2.20	—	
	—	—	11.31	2.72	—	
Eigen uitkomsten . .	50.29	7.86	13.695	1.84	26.31	rund } coriomucoïde.
	50.24	7.91	15.58	1.49	24.78	paard
	51.20	7.75	13.89	—	—	kalf
1. C. Mörner	47.30	6.42	12.58	2.42	31.28	chondromucoïde.
2. Hawk en Gies . .	47.43	6.63	12.22	2.32	31.40	osseomucoïde.
Levene.	—	—	2.65	2.51	—	glycothz. Bad. tendomuc.
Eigen uitkomsten . .	—	—	3.14	3.28	—	„ „ „
	—	—	3.54	3.03	—	„ „ d. coriomuc. v. 't rund.
	—	—	3.99	1.58	—	„ „ „ „ „ paard.
	—	—	4.04	1.79	—	„ „ „ „ „ kalf.
	—	—	—	1.40	—	„ „ d. navelstrengmuc.

Dit op zichzelf vormt slechts eene aanwijzing, geen

bewijs natuurlijk, dat de interfibrillaire stof van de lederhuid tot de mucoïden mag worden gerekend.

Een bewijs daarvoor heb ik dan ook niet in cijfers in de eerste plaats gezocht. Zooals den lezer uit het voorafgaande zal zijn gebleken, moest naast de overeenkomst in physische en chemische eigenschappen der op dezelfde wijze uit pezen en uit de lederhuid bereide interfibrillaire stof het krachtigst bewijs voor de verwantschap dier stoffen gezocht worden, in de isoleering daaruit van een of andere goed gekarakteriseerde stof of complex van stoffen. Daartoe heeft de bereiding van het glycothionzuur uit de te onderzoeken mucoïde stoffen, gediend.

De physische en chemische eigenschappen der coriomucoïden kwamen met die van andere mucoïden geheel overeen:

Het waren in alkali oplosbare, in water onoplosbare stoffen met zuur karakter, zoodat nauwkeurig bereide oplossingen neutraal reageerden. Uit die oplossing werden zij door zuren in den bekenden draderigen vorm neergeslagen en dit neerslag loste in overmaat van azijnzuur moeilijk op. Na koken met verdunde zuren kwam reduceerende stof vrij. De coriomucoïden bevatten C, H, N en S en niet meer dan sporen van P. Met natronloog konden zij in eiwit en een stof aan het glycothionzuur beantwoordend, gesplitst worden.

De interfibrillaire stof toch uit de lederhuid verscheidene malen bereid kon *steeds* door 2 % natronloog worden gesplitst *in eiwit en een stof*, die:

in water oploste met zure reactie,

onoplosbaar was in alkohol en in aether,

met baryum een in water moeilijk oplosbaar zout vormde, dat in 50 % alkohol onoplosbaar was,

orcinereactie gaf,

met zoutzuur gedistilleerd, furfurol leverde,

FEHLING's proefvocht eerst na hydrolyse met zoutzuur reduceerde,

aan baryum gebonden met 1 % zoutzuur eene oplossing vormde, die eerst volkomen helder, na hydrolyse een wit neerslag gaf van zwavelzuur-baryum,

phosphorus slechts in onweegbare hoeveelheid bevatte.

Blijkens de resultaten van de hydrolyse bevatte het chloorvrij gewasschen glycothionzuur-baryum altijd meer baryum, dan aan het daaruit bij hydrolyse vrijgeworden zwavelzuur beantwoordt.

In geen mijner talrijke praeparaten ontbrak ook maar een dezer groep van kenmerken, waaruit het glycothionzuur ook werd bereid, uit de lederhuid, uit pezen of uit de navelstreng.

De uitkomsten van het quantitatieve onderzoek van het glycothionzuur waren ook niet in staat, dat zuur als een constante stof te kenmerken. Ook dat lag echter geheel buiten de bedoeling van dit onderzoek. De strijd over de individualiteit van het *„glycothionzuur"* beschouwde ik van den aanvang van het onderzoek af, als een geheel andere, als het meeningsverschil over den *mucoïden aard* van de interfibrillaire stof van de lederhuid.

Met het beschreven onderzoek heb ik getracht eene op experimenteel onderzoek steunende bijdrage te leveren tot de kennis van de interfibrillaire stof in de lederhuid,

om daarmede de meening te weerleggen van hen, die in tegenstelling met elk ander bindweefsel, in het corium geen mucoïde, doch collageen als tusschenstof aangaven.

Uit de verkregen resultaten, meen ik te mogen besluiten, dat de interfibrillaire stof in de lederhuid, is eene *coriomucoïde,* na verwant aan de tendomucoïde, de chondromucoïde en de osseomucoïde.

STELLINGEN.

STELLINGEN.

I.

Endotheliumcellen zijn bindweefselcellen.

II.

De darmzweren en thrombosen in het gebied der vena portae, na uitgebreide huidverbranding, worden veroorzaakt door het opnemen van groote hoeveelheden nucleoproteïden, uit vernielde bloedlichaampjes en andere gedoode cellen ontstaan.

III.

Zoo bij een geval van leverlijden het vermoeden rijst, dat carcinoma hepatis bestaat, maakt het ontbreken van kreatine in de urine, de juistheid van dat vermoeden zeer onwaarschijnlijk.

IV.

Bij de behandeling van placenta preavia mag — de gebrekkige therapie van thans voor dit geval in aanmerking genomen — het leven van het kind niet medetellen.

V.

Eene dementia paralytica traumatica bestaat evenmin, als eene traumatische tabes.

VI.

Ook voor kazernes moet het paviljoensysteem als bouwwijze worden ingevoerd.

VII.

Het opwekken van plaatselijke gevoelloosheid kan en moet de algemeene narcose in tal van gevallen vervangen. Zoo bijv. bij herniotomieën, ribresecties, perineoplastieken e. a.

VIII.

Van elke kwaadaardige streptococcen-infectie behoort in een centraal rijks-instituut, virus te worden gedeponeerd, opdat het zoogenaamde polyvalente antistreptococcenserum werkelijk „polyvalent" worde.

IX.

De oogreactie van Calmette is, mits met een goed praeparaat uitgevoerd, voor gezonde oogen onschadelijk.

X.

De patella is geen sesambeen.

XI.

Het gelijktijdig voorkomen van mucine en een spoor van eiwit in de urine, maakt onwaarschijnlijk, dat dit eiwit door de nieren zou zijn gesecerneerd.

XII.

De werkzaamheid van secalepraeparaten dient aan den overlevenden uterus getoetst en dan in eenheden op het praeparaat te worden aangegeven.

XIII.

SEWALL meent ten onrechte, in zijne onderzoekingen over het evenwichtszintuig, zuivere „otolithenproeven" te hebben verricht.