

## Über antibakterielle Substanzen der *Cruciferae*

Vor kurzem<sup>1</sup> haben wir mitgeteilt, daß der wäßrige Auszug des Rettichsamens antibakteriell wirkt. Der Wirkstoff konnte in einheitlicher Form als ein im Hochvakuum unzersetzt destillierbares Öl gewonnen werden; er wurde von uns Raphanin genannt. Im Samen liegt er in gebundener Form vor und wird erst durch ein Enzym in Freiheit gesetzt<sup>2</sup>. Der Praecursor des Raphanins ließ sich zwar bis jetzt noch nicht isolieren, konnte aber auf folgende Weise weitgehend gereinigt werden: Der gemahlene Rettichsamen wird mit 80% Alkohol extrahiert, der Auszug eingedampft, die wäßrige Lösung des Rückstandes mit Bäckerhefe 10 Stunden vergoren, zentrifugiert und schließlich mit Bleiazetat in der beschriebenen Weise<sup>2</sup> behandelt. Der bis zur Zähflüssigkeit eingedampfte Rückstand des bleifreien Auszuges wurde mit Methanol extrahiert, die erhaltene Lösung eingedampft und der Rückstand in schonender Art getrocknet. Der Precursor der antibakteriellen Substanz ist in Chloroform, Äthyl- oder Butylazetat, Petroläther, Pyridin und Dioxan unlöslich, in Äthanol wenig, in wasserfreiem Methanol mäßig löslich. Der Grad der Reinheit der Präparate wurde durch ihren antibakteriellen Effekt kontrolliert, der erst nach Einwirkung des im Rettichsamen enthaltenen Enzyms auftritt. Die Isolierung des Enzyms erfolgte durch wiederholtes Fällen aus dem wäßrigen Auszug des Samens mit 1,5 Raumteilen Alkohol. Seine Beständigkeit gegen Alkohol und Hitze (es wird erst bei 80° inaktiviert), weiterhin auch andere charakteristische Eigenschaften<sup>3</sup> ließen es als Myrosinase erkennen. Das Enzym vermochte aus dem auf die oben beschriebene Weise isolierten Praecursor 25–30% seinem Gewicht entsprechende Mengen Raphanin freizusetzen.

Im Laufe weiterer Untersuchungen haben wir die Samen von 29 verschiedenen, in die Familie der *Cruciferae* gehörenden Pflanzen auf antibakterielle und Myrosinasewirkung geprüft<sup>4</sup>. Der antibakterielle Effekt

Die antibakterielle und Myrosinasewirkung des wäßrigen Auszuges von verschiedenen Samen der *Cruciferae*

Samen	Antibakt. Wirkung	Myrosina- sewirkung
<i>Sinapis alba</i>	0	+
<i>Sinapis nigra</i>	0	+
<i>Diplotaxis muralis</i>	0	+
<i>Brassica oleracea</i>		
Kraut	+	+
Kohlrabi	+	+
<i>Brassica napus</i> var. <i>napobrassica</i>	0	+
<i>Raphanus sativus</i>	++ +	+
<i>Rorippa islandica</i>	0	+
<i>Erysimum repandum</i>	+	+
<i>Erysimum alpestre</i>	++	+
<i>Cheiranthus cheiri</i>	++	+
<i>Cheiranthus allionii</i>	++ +	+
<i>Hesperis matronalis</i>	++	+
<i>Iberis coronaria</i>	++	+
<i>Eruca sativa</i>	0	+

wurde bei den wäßrigen (1:5) Auszügen mit Hilfe der HEATLYSchen Glaszyllndermethode<sup>1</sup> an auf Agar geimpften Staphylokokken geprüft. Die Myrosinase wurde aus den wäßrigen Auszügen mittels Alkoholfällung gewonnen, als Substrat diente die konzentrierte wäßrige Lösung des aus Rettichsamen isolierten Praecursors. Unsere positiven Resultate sind in der Tabelle zusammengefaßt.

Im Samen folgender *Cruciferae* konnte weder Myrosinase noch ein antibakterieller Wirkstoff nachgewiesen werden: *Lepidium perfoliatum*, *L. draba*, *L. ruderale*, *L. latifolium*, *Isatis tinctoria*, *Sinapis arvensis*, *Rapistrum perenne*, *Crambe tatarica*, *C. maritima*, *C. cordifolia*, *Draba siliquosa*, *Alyssum Arduini*, *Bunias orientalis*.

Es ist seit langem bekannt, daß im Samen der *Cruciferae* Senföle enthalten sind. Über den antibakteriellen Effekt der Senföle berichtete als erster KOSOWICZ<sup>2</sup>, der Allylsenföl als wirksam fand. Dies konnte von FOTER und GOLICK<sup>3</sup> bestätigt werden. Es ist sonderbar, daß nach unseren Untersuchungen weder der wäßrige Auszug des weißen noch der des schwarzen Senfölsamens antibakteriell wirkt, obwohl diese Samen in glykosidischer Bindung Allyl- bzw. p-Oxy-tolyl-senföl<sup>4</sup> enthalten. In diesen Samen konnte nur Myrosinase nachgewiesen werden. Somit scheint also die Freisetzung des Senföls aus ihrem Glykosid gesichert zu sein. Als unwirksam erwies sich auch der ein Crotonylenfölglykosid<sup>5</sup> enthaltende Samen von *Brassica napus*.

St. HORVÁTH und G. IVÁNOVICS

Institut für allgemeine Pathologie und Bakteriologie der Universität Szeged, den 16. Juli 1948.

### Summary

The aqueous extracts of the seeds of 30 different plants belonging to the family of the *Cruciferae* were investigated as to their antibacterial effect and their content of myrosinase. An antibacterial effect was found only in the extracts of such seeds as contain myrosinase. The aqueous extract of the seeds of several varieties of *Cruciferae* showed no antibacterial effect in spite of its content of myrosinase.

<sup>1</sup> N. G. HEATLEY, Bioch. J. 38, 61 (1944).

<sup>2</sup> A. KOSOWICZ, Chem. Cbl. II, 643 (1905).

<sup>3</sup> M. J. FOTER und A. M. GOLICK, Food Res. 3, 609 (1938); Chem. Cbl. I, 786 (1941).

<sup>4</sup> J. GADAMER, Arch. der Pharmacie 235, 91 (1897); 235, 75 (1897).

<sup>5</sup> B. SJOLLEMA, Rec. Trav. chim. Pays-Bas 20, 237 (1901).

## Der Einfluß des Streptomycins und Patulins auf einige Protozoen

Die Wirkung der Antibiotika wurde bis jetzt nur an pathogenen Protozoen untersucht (Trypanosomen, Leishmanie, Plasmodien, Entamöben, Leptospiren u.a.). Penicillin und Streptomycin wurden zur Gewinnung von Reinkulturen solcher Protozoen angewendet, die in einem von Bakterien stark verunreinigten Milieu leben, z.B. *Trichomonas vaginalis* und *T. foetus*. Mit beiden Stoffen kann man das Bakterienwachstum in den Kulturen herabdrücken. Auf diese Art wird das Leben der Kulturen bedeutend verlängert oder überhaupt das Augehen derselben ermöglicht (Entamöben, Trichomonaden). Wir stellten uns die Frage, wie Protozoen im allgemeinen durch verschiedene Antibiotika beeinflußt werden. In dieser Mitteilung berichten wir über unsere vorläufigen Ergebnisse mit Streptomycin und Patulin.

<sup>1</sup> G. IVÁNOVICS und St. HORVÁTH, Nature 160, 297 (1947).

<sup>2</sup> G. IVÁNOVICS und St. HORVÁTH, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 66, 625 (1947).

<sup>3</sup> Vgl. J. BRAECKE, J. pharm. Belgique 10, 481 (1928). — C. NEUBERG und J. WAGNER, Bioch. Z. 174, 457 (1926). — M. SANDBERG und O. M. HOLLY, J. Biol. Chem. 96, 443 (1932).

<sup>4</sup> Die verschiedenen Samen hat uns Herr Doz. V. FRANZO zur Verfügung gestellt, wofür wir auch an dieser Stelle danken möchten.

Tabelle I

Wachstum einiger Protisten bei Anwesenheit von Streptomycin nach 10 (erstes Zeichen) und nach 20 Tagen (zweites Zeichen).

Einheiten von Streptomycin in 1 cm <sup>3</sup>	1000	500	200	100	50	20	10	5 und 2	Kontrolle
<i>Polytoma uvella</i> . . . . {	0	0	(+)	(+)	(+)	(+)	+	++	+++
	0	0	0	0	(+)	+	++	+++	++++
<i>Polytomella caeca</i> . . . . {	0	0	+	++	++	+++	+++	+++	+++
	0	0	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Chilomonas paramaecium</i> {	0	0	0	(+)	+	+	++	++	++
	0	0	0	0	(+)	++	++	++	++
<i>Astasia Chattoni</i> . . . . {	(+)	(+)	+	+	++	+++	+++	+++	+++
	+	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++
<i>Euglena gracilis</i> , grün oder farblos . . . . . {	(+)	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++
	+	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++
<i>Strigomonas oncopelti</i> und <i>S. culicidaris</i> . . . . {	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Strigomonas fasciculata</i> . {	+	+	++	++	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Glaucoma piriformis</i> . . {	(+)	(+)	(+)	+	++	+++	+++	+++	+++
	(+)	+	+	++	++	++	++	++	++
<i>Leptospira</i> , div. Spezies . {	0	0	0	0	0	0	0	0	++
	0	0	0	0	0	0	0	0	++

0 Es sind keine Protisten zu finden.

(+) Einige wenige Protisten schwimmen im Röhrchen umher, besonders direkt unter der Oberfläche.

+ Etwa 5–10 Protisten nach Durchschütteln im Gesichtsfeld (100mal).

++ Etwa 20–40 Protisten im Gesichtsfeld.

+++ Etwa 80–100 Protisten im Gesichtsfeld.

++++ Mehr als 100 Protisten im Gesichtsfeld.

1. *Technik der Toxizitätsbestimmung.* In kleinen Agglutinationsröhren wird 1 cm<sup>3</sup> des Antibiotikums in verschiedenen Verdünnungen mit je 1 cm<sup>3</sup> einer reichlich aufgewachsenen Protozoenkultur gemischt und nach bestimmten Zeitabschnitten mikroskopisch untersucht. Am einfachsten beobachtet wir unter einem schräggestellten Mikroskop bei etwa 100facher Vergrößerung die ganzen Röhrchen und bestimmen approximativ die Zahl der noch frei schwimmenden Protozoen. Wenn nötig, überträgt man mit einer Kapillarpipette das Sediment auf einen Objektträger und untersucht genauer bei etwa 600facher Vergrößerung. Die letzte Ablesung erfolgt nach 24 Stunden. Es wird möglichst steril gearbeitet.

2. *Technik der Inhibitionstests.* Bakterienfreie Reinkulturen der Protozoen sind Bedingung. Auf je 4,4 cm<sup>3</sup> der Nährstofflösung in Jenae Reagensröhren wird 0,5 cm<sup>3</sup> des Antibiotikums in verschiedener Verdünnung hinzugefügt und mit 0,1 cm<sup>3</sup> einer etwa 7 Tage alten (in der logarithmischen Phase des Wachstums sich befindenden) gut durchmischten Kultur geimpft. Nach 5, 10, 15, 20 und 30 Tagen werden die Röhrchen untersucht und mit Kontrollen verglichen. Hierbei werden wieder die ganzen Röhrchen unter einem schräggestellten Mikroskop bei etwa 100facher Vergrößerung untersucht, und zwar von der Oberfläche beginnend bis zum Grunde. Nach Durchschütteln wird dann die Zahl der frei schwimmenden Protozoen approximativ bestimmt. Wenn nötig, untersucht man dann noch das Sediment im mikroskopischen Präparat bei starker Vergrößerung. Für quantitative Zwecke kann man in einer Blutkörperchenzählkammer die Protozoen genau auszählen und Wachstumskurven zeichnen. Für eine Orientierung ist dies aber nicht nötig.

3. *Die benutzten Protozoenstämmen.* Bakterienfreie Reinkulturen von *Polytoma uvella*, *Polytomella caeca*, *Chilomonas paramaecium*, *Astasia Chattoni*, *Euglena gracilis* (mehrere farblose und grüne Stämme) und *Euglena stellata* wurden alle in 0,5% Bacto-Pepton mit 0,2% Na-Aacetat ( $p_H = 6,8-7$ ) gezüchtet. Reinkulturen von *Chlorogonium elongatum* und *Ch. euklitorum*, *Chlamydomonas pseudogloë* und *Ch. pulchra* wuchsen auf dem Na-Aacetat-Mineralnährboden nach Lwoff. *Strigomonas oncopelti*, *S. culicidaris* und *S. fasciculata* wuchsen auf 1% Bacto-Pepton mit 0,6% NaCl ( $p_H = 7,2$ ), beide letzteren unter Zugabe von einigen Tropfen hämolysierten Blutes. Die verschiedenen *Leptospirastämme* wuchsen in 10% Kaninchenserumwasser ( $p_H = 7,2$ ). Das freilebende Ciliat *Glaucoma piriformis* wurde entweder am gleichen Nährboden wie *Strigomonas oncopelti* oder auf dem Hirnnährboden nach Lwoff ( $p_H = 7,2$ ) gezüchtet. Bei allen Kulturen und Versuchen wurde eine Temperatur von 20–40°C eingehalten.

4. *Ergebnisse mit Streptomycin.* In orientierenden Versuchen überzeugten wir uns, daß Streptomycin (Merck, Kalziumchloridkomplex) selbst in hohen Konzentrationen (10 000–50 000 E/cm<sup>3</sup>) für die Protozoen nicht giftig ist. Alle untersuchten Arten blieben darin 24–48 Stunden ungeschädigt am Leben. *Glaucoma* ertrug zum Beispiel ohne Schaden 25 000 E/cm<sup>3</sup> während 72 Stunden. Selbst in 50 000 E/cm<sup>3</sup> vermehrten sich die Ciliaten nach 48 Stunden wiederum, nachdem ihre Zahl, offenbar infolge des höheren osmotischen Druckes solcher Lösungen, auf etwa ein Fünftel innerhalb 1–2 Stunden gesunken war. In unseren Wachstumsversuchen zeigte sich jedoch, daß die Mehrzahl der benutzten Protozoen durch das Streptomycin mehr oder minder gehemmt wird. Am empfindlichsten zeigten sich die Leptospiren, deren Wachstum selbst durch 2 E/cm<sup>3</sup> gänzlich gehemmt wird. (*Leptospira icterohaemorrhagiae*, Stamm Lebe; *L. grippotyphosa*, Stamm Schlesien; *L. Sejro*; *L. canicola*; *L. pomona*; *L. biflexa*, Stämme Tokio, Erlangen, Berlin, RG-V.). Wir können somit die Angaben von WYLIE und VINCENT<sup>1</sup> über die große Empfindlichkeit von *L. icterohaemorrhagiae* und *L. canicola* auch für weitere pathogene und freilebende Leptospiren bestätigen.

Unter den Flagellaten waren *Polytoma uvella* und *Chilomonas paramaecium* am leichtesten zu beeinflussen. Bis zu 100 E/cm<sup>3</sup> erfolgt bei beiden Arten kein Wachstum mehr. Bei *Polytoma* hemmen 10 E/cm<sup>3</sup> noch deutlich, bei *Chilomonas* noch 20 E/cm<sup>3</sup>. *Polytomella caeca* ist schon weniger empfindlich; immerhin wird deren Wachstum durch 500 E/cm<sup>3</sup> vollständig unterbunden. Von den grünen Flagellaten wurden *Chlorogonium elongatum* und *Chlamydomonas pseudogloë* bereits durch 10 E/cm<sup>3</sup> vollständig gehemmt. Die Vermehrung von *Euglena gracilis*, *E. stellata* und *Astasia Chattoni* wird durch höhere Streptomycinmengen deutlich verlangsamt, und erst bei

<sup>1</sup> J. A. H. WYLIE und E. VINCENT, J. Path. A. Bact. 59, 247 (1947).

*Tabelle II*  
Toxizität des Patulins für einige Protozoen

Verdünnung	Zeit in Std.	1:5000	1:10000	1:20000	1:50000	1:100000	1:200000	1:500000	1:1000000
<i>Polytoma uvella</i> . . . . .	1	tot	tot	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	2			tot	++	++	++	++	++
	6			tot	++	++	++	++	++
	24			tot	(+)	+	+	+	+
<i>Polytomella caeca</i> . . . . .	1	tot	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
	2		tot	tot	+	++	++	++	++
	6			tot	+	++	++	++	++
	24			tot	(+)	+	+	+	+
<i>Chilomonas paramaecium</i>	1	tot	tot	++	+++	+++	+++	+++	+++
	2			tot	++	++	++	++	++
	6			tot	+	++	++	++	++
	24			tot	+	++	++	++	++
<i>Euglena gracilis</i> , grün oder farblos . . . . .	1	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	2	tot	+	++	++	++	++	++	++
	6		+	++	++	++	++	++	++
	24	(+)	+	++	++	++	++	++	++
<i>Astasia Chattoni</i> . . . . .	1	tot	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	2		+	++	++	++	++	++	++
	6		tot	tot	+	++	++	++	++
	24			++	++	++	++	++	++
<i>Chlamydomonas pulchra</i> und <i>Chlorogonium elongatum</i> . . . . .	1	tot	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
	2		tot	tot	+	++	++	++	++
	6			tot	+	++	++	++	++
	24			tot	(+)	++	++	++	++
<i>Strigomonas oncopelti</i> und <i>Strigomonas culicidaris</i> .	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	6	+	++	++	++	++	++	++	++
	24	tot	+	++	++	++	++	++	++
<i>Glaucoma piriformis</i> . . . . .	1	tot	(+)	+	++	++	++	++	++
	2		tot	tot	+	++	++	++	++
	6			tot	tot	++	++	++	++
	24			tot	tot	++	++	++	++

tot Alle Protozoen.

(+) Vereinzelte Protozoen schwimmen noch umher, die Mehrzahl davon ist tot.

++ Etwa ein Fünftel der Protozoen am Leben und normal, die übrigen kaum beweglich und meistens tot.

++ Etwa die Hälfte der Protozoen am Leben und normal, die übrigen schwer beschädigt und meistens tot.

+++ Alle Protozoen normal wie in unbehandelten Kontrollen.

etwa 20 E/cm<sup>3</sup> erfolgt ein normales Wachstum. Merkwürdigerweise verlieren einige *Euglenastämme* bei Anwesenheit von Streptomycin ihr Chlorophyll (z. B. *E. gracilis*, Stamm Pringsheim, Stamm Prowazoli, und *E. stellata*). Für die auf den benützten Nährböden üppig wachsende *E. gracilis* genügen schon 50 E/cm<sup>3</sup>, um in der

ciliis, Stamm Pringsheim, Stamm Prowazoli, und *E. stellata*). Für die auf den benützten Nährböden üppig wachsende *E. gracilis* genügen schon 50 E/cm<sup>3</sup>, um in der

*Tabelle III*

Einfluß des Patulins auf das Wachstum einiger Protozoen nach 10 Tagen (erstes Zeichen) und nach 20 Tagen (zweites Zeichen)

Verdünnungen des Patulins	1:100000	1:250000	1:500000	1:1000000	1:2000000	Kontrolle
<i>Polytoma uvella</i> . . . . .	0	0	0	(+)	++	+++
	0	0	0	++	++	+++
<i>Polytomella caeca</i> . . . . .	+	+	+	++	++	+++
	++	++	++	+++	++	+++
<i>Chilomonas paramaecium</i> . . . . .	0	(+)	(+)	++	++	+++
	0	+	++	++	++	+++
<i>Astasia Chattoni</i> . . . . .	(+)	+	+	++	++	++
	+	++	++	++	++	++
<i>Euglena gracilis</i> , grün oder farblos	+	+	+	++	++	++
	++	++	++	++	++	++
<i>Chlorogonium elongatum</i> . . . . .	(+)	+	++	++	++	++
	+	++	++	++	++	++
<i>Strigomonas oncopelti</i> . . . . .	+	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++
<i>Strigomonas culicidaris</i> . . . . .	++	++	++	++	++	++
	++	++	++	++	++	++
<i>Glaucoma piriformis</i> . . . . .	0	0	0	(+)	++	++
	0	0	0	0	++	++

ersten Passage den Verlust des Chlorophylls zu erzielen, bei *E. stellata* sogar schon  $25 \text{ E/cm}^3$ . (Weitere Versuche wurden mit dieser schlecht wachsenden Art nicht gemacht.) Werden nun solche farblos gewordenen Stämme von *E. gracilis* weiter auf Nährböden ohne Streptomycin überimpft, so werden die aus  $50 \text{ E/cm}^3$  schon in der ersten Passage wieder schwach grünlich und in der zweiten ganz normal grün. Aus  $100 \text{ E/cm}^3$  sind die ersten zwei Passagen noch farblos und ergrünen in der vierten. Die zwölfte Passage von *Euglenastämmen*, die einen Monat in  $500 \text{ E/cm}^3$  wuchsen, ist noch immer farblos, ebenso die zehnte durch Einwirkung von  $1000 \text{ E/cm}^3$  (die Passagen werden immer ungefähr nach einem Monat überimpft). An den Stämmen von *E. gracilis* Dusí I und Dusí II konnte in orientierenden Versuchen durch  $100 \text{ E/cm}^3$  kein Verlust des Chlorophylls erreicht werden. Es sei ausdrücklich bemerkt, daß alle diese farblosen Passagen am vollen Licht weiter gezüchtet wurden. Wenn eine im Dunkel seit 10 Jahren gezüchtete *E. gracilis* (Stamm Pringsheim) unter Zusatz von Streptomycin dem Lichte ausgesetzt wurde, so verhinderten  $25 \text{ E/cm}^3$  das Grünwerden vollständig. In  $10 \text{ E/cm}^3$  wurde sie ganz schwach grün, während die unbehandelte, ans Licht gestellte farblose *E. gracilis* innerhalb von 10–14 Tagen prachtvoll grün geworden ist.

Sollten weitere Passagen der ursprünglich mit  $1000 \text{ E/cm}^3$  Streptomycin behandelten *E. gracilis* farblos bleiben, so wäre eine chlorophyllose Dauermodifikation entstanden, die am Lichte nicht mehr ergrünt. Was nun die drei Strigomonaden anbetrifft, so wuchsen sie auch bei Zusatz von  $2000 \text{ E/cm}^3$  ganz normal. Es war kein deutlicher Unterschied gegenüber den nichtbehandelten Kontrollen zu sehen. Die freilebende Ciliat *Glaucoma piriiformis* wurde dagegen nach Zugabe von  $100$ – $2000 \text{ E/cm}^3$  in ihrem Wachstum teilweise gehemmt, doch konnte nach Überimpfen in normale Nährböden kein Unterschied im Wachstum festgestellt werden.

**5. Ergebnisse mit Patulin.** Patulin zeichnet sich bekanntlich durch seine starke Giftigkeit gegenüber tierischen Zellen aus, so daß es trotz seines hohen antibiotischen Effektes zum parenteralen Gebrauch nicht geeignet ist. GÄUMANN, JAAG und BRAUN<sup>1</sup> stellten fest, daß Patulin die Bewegung der Chlamydomonaden innerhalb weniger Minuten gänzlich hindert ( $0,1 \text{ Mol}$  in 3 Min. 20 Sek.,  $0,01 \text{ Mol}$  in 30 Min. und  $0,001 \text{ Mol}$  in 150 Min.<sup>2</sup>).

Auch für die Protozoen erwies sich Patulin als ein sehr starkes Gift (Tab. II). Am empfindlichsten reagierte die Ciliat *Glaucoma*, die innerhalb von 24 Stunden regelmäßig durch Patulin in Verdünnung von  $1:500000$  getötet wurde. In einigen Versuchen mit über einem Monat alten *Glaucomakulturen* wirkten noch Verdünnungen von  $1:1000000$  und  $1:2000000$  tödlich. Stärkere Konzentrationen als  $1:5000$  töteten schon in wenigen Minuten, z.B. Patulin  $1:200$  innerhalb von 3 Min.,  $1:1000$  in etwa 10 Min.,  $1:2000$  in etwa 20 Min.,  $1:5000$  in 30 Min. *Polytoma* starb in Konzentrationen von  $1:200$  bereits nach 2 Min.,  $1:1000$  nach 8 Min.,  $1:2000$  nach 30 Min.,  $1:5000$  nach 55 Min. *Chilomonas* war in Konzentrationen von  $1:200$  sogleich, in  $1:1000$  nach 3 Min., in  $1:2000$  in 50 Min. und in  $1:5000$  in etwa 30 Min. tot. Am widerstandsfähigsten erwiesen sich die Strigomonaden. Sie starben in Konzentrationen von  $1:200$  nach

20–25 Min.,  $1:1000$  nach 60–80 Min.,  $1:2000$  nach 100 bis 200 Min. und  $1:5000$  erst nach etwa 18 Stunden.

In Wachstumsversuchen mit Patulin wurden *Polytoma*, *Chilomonas* und *Glaucoma* stark gehemmt. Schwächere Hemmung zeigten *Astasia* und *Chlorogonium*. Am schwächsten war die Wirkung auf Strigomonaden. *Strigomonas oncopelti* zeigte noch bei Konzentrationen von  $1:50000$  vereinzelte Teilungsrosetten und  $1:100000$  ein deutliches Wachstum, *S. culicidaris* wuchs noch ganz gut bei  $1:50000$ . Ebenso zeigten *Euglena gracilis* (grün und farblos) sowie *Polytomella* nach drei Wochen ein ziemlich gutes Wachstum in Konzentrationen von  $1:50000$ , dagegen hemmte solche von  $1:20000$  das Wachstum aller dieser Arten gänzlich. Morphologische Veränderungen konnten nicht beobachtet werden, insbesondere behielten die Chloroplasten ihr Chlorophyll.

O. JÍROVEC

Parasitologische Abteilung der Karls-Universität, Prag II, Vinčná 7, den 10. Juli 1948.

#### Summary

(1) Streptomycin, even in such high concentrations as  $10,000$ – $50,000 \text{ U/cc}$ , is not directly toxic for the species of Protozoa here investigated. Its inhibitory effect becomes manifest only in growth tests. (2) In growth tests *Leptospirae* are shown to be most sensitive then the leucocystozoans *Polytoma*, *Chilomonas*, and *Polytomella* and of the green flagellates *Chlorogonium elongatum* and *Chlamydomonas pseudogloë*. (3) *Euglenae* and *Astasiae* are merely retarded in their growth by higher concentrations of streptomycin but not completely inhibited. The green *Euglena gracilis* and *E. stellata* evidently lose chlorophyll continually as a consequence of the application of higher concentrations of streptomycin. (4) *Strigomonas* is insensitive to  $1,000$ – $2,000 \text{ U/cc}$ . (5) *Glaucoma piriiformis* is partly retarded in her growth by  $100$ – $1,000 \text{ U/cc}$ . (6) Protozoa inhibited by streptomycin retain, when transferred to a fresh growth by  $100$ – $1,000 \text{ U/cc}$ . (6) Protozoa inhibited by nutrient medium, in so far as they do not succumb with time, a slower rate of reproduction in comparison to untreated controls. (7) In contrast to penicillin and streptomycin, patulin revealed itself as a very strong poison for the protozoa investigated. The most sensitive was the ciliate *Glaucoma piriiformis* which was still killed after 24 hours by patulin in a concentration of  $1,500,000$ – $2,000,000$ . The growth of the Protozoa likewise was strongly inhibited. The most resistant proved to be *Strigomonas*, *Polytomella*, and *Euglenae*. Patulin thus belongs to the most poisonous substances for Protozoa that we know (e.g. Merfen, Merthiolat).

---

#### p-Aminobenzoësäure-Urethan-Interferenz bei menschlichen Leukämien

Die Möglichkeit einer p-Aminobenzoësäure(PABA)-Urethan-Interferenz ist nicht ganz neuen Datums. Nach den *in-vitro*-Versuchen von WEINSTEIN und McDONALD<sup>1</sup> ist die Antisulfonamidwirkung der PABA mit Urethan in geradem Verhältnis mit der Konzentration zu hemmen (1946).

Über die Wirkung der PABA bei Leukämien erschienen in diesem Jahre die ersten Mitteilungen. BICHEL<sup>2</sup> teilte auf Grund seiner 6 Fälle mit, daß die Leukozyten-

<sup>1</sup> E. GÄUMANN, O. JAAG und R. BRAUN, Exper. 3, 70 (1947).

<sup>2</sup> Wir hatten Patulin aus *Penicillium urticae* BAINIER von Prof. PLATTNER, ETH, Zürich, und Patulin aus *Penicillium patulum* von Dr. FRAGNER, Prag, zur Verfügung. Beiden Herren sprechen wir unseren besten Dank aus. Zwischen beiden Mustern war kein größerer Unterschied festzustellen.

<sup>1</sup> L. WEINSTEIN und A. McDONALD, J. Immunol. 54, 111 (1946).

<sup>2</sup> J. BICHEL, Nature 161, 353 (1948).