

Zusammenfassung

Männchen von *Drosophila melanogaster* wurden subletalen Dosen von Chloropikrindampf ausgesetzt. Die Behandlung war ohne mutagene Wirkung sowohl auf reife als auch auf unreife Keimzellen.

The Effect of Raphanin on the Colonies of Common Pathogenic Fungi

IVÁNOVICS and HORVÁTH¹ produced in 1947 from the seed of radishes (*Raphanus sativus*), a thermostabile, water-soluble, syrup-like substance which has been termed raphanin. In a dilution of 1 in 20,000 the substance inhibited the growth of a tissue culture made up of rabbits' testicle; its solution of 1 in 1,000 impeded the germination of vegetable seeds. When applied as in HEATLEY's² procedure it inhibited, in areas of various diameter, the growth of various gram-positive and gram-negative bacteria. 10 mg administered intravenously kills a mouse.

IVÁNOVICS was of the opinion that the substance might, despite its toxic effect on *per os* administration, be occasionally applied to the skin in cases of dermatomycoses. Therefore, we had to study the effect of raphanin *in vitro*, i.e., on the growth of such fungi as produce diseases in man.

The fungi to be studied were selected so that the main-groups responsible for the most common mycotic diseases were represented (*Trichophyton gypseum asteroides*, *Epidermophyton* KAUFMANN-WOLF, *Cryptococcus hominis*, *Cryptococcus* GILCHRIST, *Achorion* GRUBY-SCHÖNLEIN, *Microsporon* AUDOUIN, *Nocardia bovis*). All the selected individuals were pathogenic strains derived from early clinical manifestations.

The following culture media were employed: malt soup (Wander's malt 4.0 g, peptone 1.0 g, dist. water up to 100 g); malt agar (malt 4.0 g, peptone 1.0 g, agar 1.8 g, dist. water ad 100 g).

The most suitable form of medium seemed the oblique agar in test tubes. Raphanin was mixed with the medium before sterilization, whereby the fungi were exposed to a continuous and stable raphanin action. HEATLEY's original procedure was but rarely applied. The procedure, consisting in placing a glass cylinder in the centre of the medium spread upon a flat plate, may give erroneous results because the solution escaping from the cylinder is unevenly diluted by the medium.

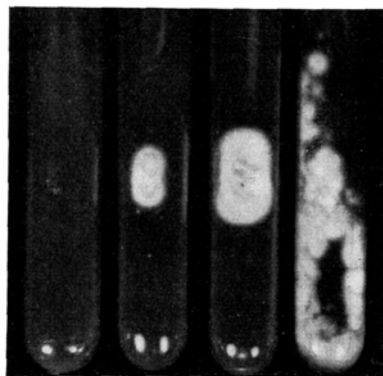
The spores were placed on the medium with a platinum loop. The growth of all colonies inoculated onto malt soup showed the following features: the 1 to 2 weeks old colonies, both those swimming in the liquid and those forming a superficial membrane, gradually decreased, proportionally with the increase of the raphanin concentration. At a certain concentration of raphanin no growth at all took place. On the solid medium, the colonies of the same age were in an inverse proportion to the concentration of raphanin, and there was a raphanin concentration at which the fungi failed to grow (Fig. 1). The raphanin concentration which thoroughly inhibited the growth of the fungi was, by the fungi, 1 in 4,000 to 1 in 100.

¹ Gy. IVÁNOVICS and I. HORVÁTH, Nature 160, 297 (1947); Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 66, 623 (1947). – Gy. IVÁNOVICS, Ark. Kemi, Mineral. och Geol. 26, 6 (1948). – Gy. IVÁNOVICS and R. R. HYDE, Amer. J. Hyg. 23, 55 (1936.)

² N. G. HEATLEY, Bioch. J. 38, 61 (1944).

Trichophyton gypseum was cultivated in a plate by HEATLEY's procedure. In the centre there was a strip free of fungi. Close to this strip there was another in which the concentration of raphanin was the greatest. In this area the fungi developed pleiomorphism.

When *Trichophyton gypseum* and *Penicillium glaucum* grow beside each other on a solid medium, the *Trichophyton* displays a greater vitality, which is manifested by its growing into the zone of the other and forming a concavity in the marginal zone of the *Penicillium*, where the growth of the latter was inhibited by the *Trichophyton*. However, such diluted solutions as e.g. 1 in 10,000 of raphanin suffice to change this relationship. The *Trichophyton* loses vitality under the effect of raphanin and becomes incapable of inhibiting the growth of *Penicillium*. On the contrary, the *Penicillium* will enter into the colony of the *Trichophyton*.



1:1,000, 1:2,000, 1:3,000, K.
Fig. 1. – *Epidermophyton* KAUFMANN-WOLF.

In malt-soup microculture, high dilutions of raphanin (1 in 8–10,000) suffice to diminish the reproductiveness of *Trichophyton gypseum asteroides*. If the concentration of raphanin is raised to 1 in 5,000 the inoculated spores remain unchanged. The substance inhibits their growth in diluted solutions to a less degree, in more concentrated solutions thoroughly (Fig. 2). Generally, the thorough inhibition of growth requires more concentrated solutions of raphanin in the case of fungi than in the case of bacteria.

IVÁNOVICS believes that raphanin acts like other antibiotic drugs, i.e., it enters into a reaction with the –SH radical existing in the bacterial body.

We observed that those fungi exhibiting a more rapid development needed, for the thorough inhibition of their growth, more concentrated raphanin solutions than those developing slowly.

FREY¹ claimed that there was a very close correlation between the development of the micro-organisms and the intensity of their oxidation. Probably this correlation is true of the fungi also. I believe further that the converse also is true: the decrease of development may represent an inhibition of oxidation.

All the strains examined in the experiments were, at the same time and with the same method, inoculated separately on oblique malt agar. One week later the tubes were arranged according to the intensity of the growth of the inoculated fungi. In this way an order of the strains was obtained which was identical with the other obtained by arranging the strains according to the order of the raphanin concentration needed for the

¹ W. FREY, Schweiz. med. Wschr. 77, 23 (1947).

thorough inhibition of their growth. Thus the effect of raphanin gives information as to the growth capacity of fungi. Provided that the development depends on the intensity of the oxidation, raphanin inhibits the development by decreasing the intensity of oxidation.

However, it is more likely that this effect is an indirect one, i.e., the drug reduces the fermentative functions playing a role in the oxidations indispensable for development.

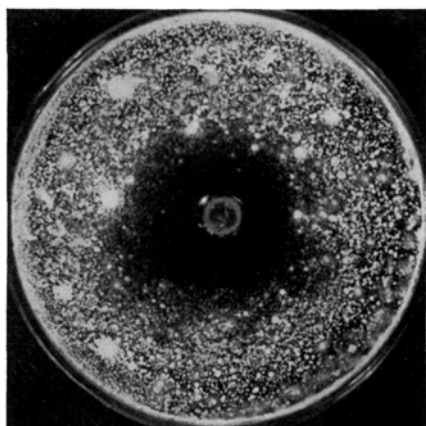


Fig. 2.

Evidently, raphanin exerts an inhibitory action on the growth of some pathogenic fungi. If the drug did not exert a local irritation or a remote toxic effect after absorption from the skin, it could be applied in the therapy of certain mycotic diseases of the skin. This problem is to be studied by clinical observations.

A. DÓSA

Institute for Forensic Medicine, University of Szeged, September 1, 1949.

Zusammenfassung

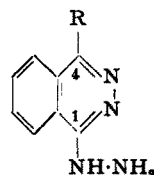
Raphanin vermag das Wachstum von *Cryptococcus hominis*, *Cryptococcus GILCHRIST*, *Trichophyton gypseum asteroides*, *Epidermophyton KAUFMANN-WOLF*, *Nocardia bovis*, *Mikrosporon AUDOUIN*, *Achorion GRUBY-SCHÖNLEIN*, in einer entsprechenden Konzentration vollkommen zu verhindern (1:100–1:4000). Zur Tötung der rasch wachsenden Pilzarten bedarf es einer höheren Raphaninkonzentration (z.B. Sproßpilze), während die langsam wachsenden Arten (*Achorion SCHÖNLEIN*) schon verdünnten Raphaninlösungen erliegen. Wahrscheinlich beruht die Raphaninwirkung auf der Lähmung der Enzymfunktionen, die die oxydative, beim Wachstum unerlässliche Tätigkeit des Pilzorganismus beeinflussen.

Eine neue Gruppe blutdrucksenkender Substanzen von besonderem Wirkungscharakter

Die medikamentöse Therapie der verschiedenen Formen der Hypertension ist bis heute noch nicht befriedigend gelöst, da durch nahezu alle der dafür in Frage kommenden Substanzen zwar meist ein vorübergehender Blutdruckabfall, jedoch keine länger andauernde Senkung erzielt werden kann. Substanzen, auch solche die im Tierexperiment zu langanhaltender Blutdrucksenkung führen, verdienen deshalb wohl nur dann Interesse im Hinblick auf eine eventuell mögliche Verwendbarkeit beim Hochdruck des Menschen, wenn ihnen

irgendwie besondere Wirkungsqualitäten zukommen. Bei der pharmakologischen Untersuchung von Phthalazinderivaten fanden wir Verbindungen, deren Wirkungscharakter auf den Blutdruck zunächst dadurch gekennzeichnet ist, daß sie am Tier eine eigenartig verlaufende, langsam einsetzende und langanhaltende Blutdrucksenkung hervorrufen.

Das Ringsystem des Phthalazins ist bisher chemisch und pharmakologisch wenig bearbeitet worden. In letzter Zeit wurden lediglich einige Derivate auf Antimalariawirkung hin geprüft¹. Die von uns jetzt festgestellte blutdrucksenkende Wirkung ist bei von J. DRUZY² hergestellten Verbindungen von der Formel



besonders ausgesprochen, wobei R = H, ein Kohlenwasserstoffrest oder ebenfalls wie in Stellung 1 eine Hydrazingruppe sein kann. Ersatz der Hydrazingruppe in Stellung 1 durch eine Amino- oder substituierte Aminogruppe führt im allgemeinen zu wesentlich schwächer wirksamen Verbindungen. In der Tabelle sind einige der besonders stark blutdrucksenkend wirkenden Substanzen zusammengestellt:

Präparat	R	Dosis letalis i. v. Kaninchen g/kg	Drucksenkende Dosen g/kg
5968	H	0,075	0,0001 – 0,0025
6130	CH ₃	0,075	0,0001 – 0,0025
6084	C ₆ H ₅	0,075	0,00025 – 0,0025
7441	NH-NH ₂	0,25	0,00025 – 0,0025

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Verbindungen eine mittlere Toxizität besitzen. Das Vergiftungsbild ist wenig charakteristisch, mit steigenden Dosen tritt eine deutliche Frequenzsteigerung der Atmung auf.

Abb. 1 zeigt eine typische Blutdruckkurve vom Kaninchen. Der Blutdruck fällt innerhalb von 10 Minuten um etwa 40 % ab und bleibt dann für mehrere Stunden auf diesem niedrigen Niveau. Es kann nach längerer Zeit zu einem leichten Wiederanstieg kommen, jedoch erreicht die Druckkurve innerhalb der am narkotisierten Tier im allgemeinen zur Verfügung stehenden Beobachtungszeit den Ausgangswert nur in seltenen Fällen. Gleichzeitig mit dem Abfall des arteriellen Druckes kommt es meistens zu einem leichten Anstieg des Vorhofdruckes mit Zunahme der Herzfrequenz im Sinne eines Bainbridge-Reflexes (Abb. 2). Diese Wirkungen klingen jedoch wesentlich rascher ab als die Blutdrucksenkung. Die für die Drucksenkung erforderlichen Dosen liegen im Durchschnitt zwischen 0,1–2,5 mg/kg. Auffallend ist, daß die maximal wirksamen Dosen im Vergleich zur Letaldosis niedrig sind und daß sich durch Erhöhung der Dosis oder durch wiederholte Gaben die Stärke der Blutdrucksenkung nicht über ein gewisses Ausmaß steigern läßt. Im allgemeinen ist der Druckabfall um so ausgesprochener, je höher der Ausgangsdruck ist. Worauf die auf einen bestimmten Dosenbereich limitierte Wirkung zurückzuführen ist, kann noch nicht angegeben werden. Die Präparate zeigen außerdem eine deutliche tachyphylaktische Wirkung.

¹ N.L. DRAKE und R.M. PECK, J. Amer. Chem. Soc. 68, 1313 (1946). – R.D. HAWORTH und St. ROBINSON, J. Chem. Soc. 777 (1948).

² Eine Übersicht über das vorhandene Material wird zur Veröffentlichung vorbereitet.