

## A fulvosavak meghatározása fungisztatikus hatásuk alapján

BÉRES TIBOR és FLORIÁN EDE

Orvostudományi Egyetem Gyógyszerismereti Intézet és Országos  
Bőr- és Nemikórtani Intézet, Budapest

Niklowszky [7] volt az első, aki 1937-ben azt észlelte, hogy a tőzegkivonatok a magasabbrendű növények gyökérzetére igen erősen serkentő hatásúak és ez a hatás a tőzegkivonatok huminsavtartalmának tulajdonítható. A huminsavaknak ezt a biológiai serkentő tulajdonságát később többen igazolták.

Kuthy és Pecznik a huminsavak növényi hormon jellegű tulajdonságait írták le [6].

Hriszteva [5] 1951-ben megjelent közleményében tárgyalja ennek a növényélettani folyamatnak mechanizmusát. Arra a megállapításra jut, hogy a huminsavak iondiszperz állapotban, igen nagy — ezred, tízezredes — hígításban a növényekbe felszívódnak és közvetlenül hatnak a növény anyagcseréjére. Fulvosavakkal nem végzett kísérleteket.

Filatov [4] a humin- és a fulvosavakat a biogen stimulátorok csoportjába sorolja, Biber és Magazinov [3] légzést aktiváló hatásukat tanulmányozta izolált növényi (gyökér) szövetekben.

Az orvosi irodalomban a fulvo- és huminsavak teljesen ismeretlenek voltak. A szerzők kutatómunkájának eredményeképpen jelenlétüket az emberi szervezetben is sikerült kimutatni. A béltraktusban lejátszódó huminsavképződési folyamat eredményeként keletkezett faeces-huminsavakat tisztán előállítottuk és azonosítottuk [1]. Ennek a ténynek élettani jelentőséget az ad, hogy a faeces kolloidális vízmegkötő képességét a nagy mennyiségben (kb. 20%, a faeces száraz-anyagára számítva), jelenlevő huminsavak biztosítják. További kutatásokat igényel, hogy a huminsavak a permutithoz hasonló ioncserélő képességükkel milyen szerepet töltenek be pl. a colon élettanában (pl. Ca, nehéz fémek kiválasztása).

Meglepő eredményeket tapasztaltunk gyógyászati alkalmazásuk kapcsán is. Az emésztőrendszer megbetegedéseinél kis mennyiségű, 0,05—0,15 g pro dosi, 0,25—0,50 g pro die, per os alkalmazott tőzegfulvosav adagolásakor igen jelentős gyógyhatást tapasztaltunk anélkül, hogy a legkisebb mértékű toxicitással találkoztunk volna. Toxicitásra vonatkozó tapasztalataink egyeznek a Szegedi Egyetem Gyógyszertani Intézetében dr. Dirner Zoltán vizsgálataival, aki állatkísérletekben a fenti anyagok 70—100-szoros mennyiségét adagolva, még huzamos idő után sem tapasztalt toxikus hatást.

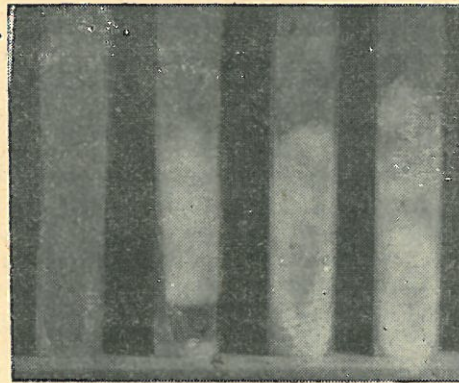
Eredményeinkről részletesen a közeljövőben kívánunk beszámolni. A fenti rövid összefoglalóval csak jellemezni akartuk annak szükségességét, hogy a fulvosavak kimutatására megfelelő módszert találjunk.

A fulvosavak meghatározására a világirodalomban semilyen eljárást sem közöltek. Egyikünk (Király Ilonával [2]) egy másik közleményben kimutatta, hogy a tőzegfulvosav is adja a reduktonok és aszkorbinsav kémiai reakcióit és részletesen leírtuk fotometriás eljárásunkat, mely alkalmas a fulvosavak minőségi és mennyiségi meghatározására is.

A kémiai reakciók kiegészítéseképpen szükségesnek láttunk biológiai módszert is kidolgozni a fulvosavak kimutatására. Ebből a célból vizsgáltuk a fulvosavak hatását *Epidermophyton* Kaufman—Wolfra és *Candida albicans*-ra.

#### Kísérleti rész

A fulvosav  $1^0/_{00}$ -nyi mennyiségét Sabouraud-féle dextroz-agarhoz kevertük. A fulvosav-tartalmú táptalajra *Epidermophyton* Kaufman—Wolf-ot, ill. *Candida albicans*-t ojtottunk. A fulvosav  $1^0/_{00}$ -nyi töménységben az *Epidermophyton* növekedését teljesen meggátolja, a *Candida albicans* növekedését erősen késlelteti. A fulvosav további hígításai — még a százezerszeres is — késleltette az *Epidermophyton* növekedését az ellenőrző tenyészetekhez hasonlítva, míg a *Candida albicans* növekedésében  $1^1/_{00}$ -nél nagyobb hígításban eltérést nem tudtunk megfigyelni. Fulvosavba vitt és 10—60'ig benne tartott *Epidermophyton* és *Candida* gombák az anyagból kivéve és normál Sabouraud táptalajra ojtva zavartalanul nőttek. Fungicid hatást tehát nem regisztrálhattunk. A fulvosav hatása fungisztatikus.



I. II. III. IV.

#### 1. ábra

*Epidermophyton* Kaufman—Wolf növekedése Sabouraud-féle dextroz-pepton-agaron különböző mennyiségű tőzeg-fulvosav jelenlétében. Balról jobbra: I.  $10^{-3}$ , II.  $10^{-4}$ , III.  $10^{-5}$  g tőzegfulvosav, IV. Kontrol — szobahőmérsékleten 14 napos tenyészetben

Az a tény, hogy az általunk vizsgált fulvosavak táptalajhoz keverve nagy hígításban fungisztatikus hatást gyakorolnak a bőr patogén gombáira, az *Epidermophyton* Kaufman—Wolf-ra és a *Candida albicans*-ra, jól használható biológiai tesztet adott kezünkbe az egyes fulvosavak kimutatására, ami az előbb említett kémiai fotometriás reakciók mellett kétségtelenül nagy segítséget nyújt a további kutatásokban.

A különböző eredetű fulvosavak egyformán viselkedtek, azaz patogén börgombákra fungisztatikus hatást gyakoroltak, a penészgombáknak pedig kitűnő táptalajt nyújtottak. (Érdekes, hogy a streptomycingyártás egyik mellékterméke, az aktidion ilyen szempontból éppen ellenkező hatást fejt ki.)

Kémiai szempontból azért jelentős a biológiai módszer, mert a különböző eredetű fulvosav jellegű gyületek azonosítására felhasználható.

A következő fulvosavak biológiai hatását vizsgáltuk, ezzel a módszerrel:

1. Tőzezből előállított természetes fulvosav.
2. Aminosavak és egyszerű cukrok (glikokoll és glukoz) egymásrahatásából keletkezett (Maillard-típusú melanoidin) szintetikus fulvosav készítmény.
3. Barnaszénből előállított, huminsav permanganátos oxidációjával nyert fulvosav.

1. táblázat

A fulvosavak gátló hatása a bőr pathogén gombáira

Anyag neve							
Fulvosav koncentráció %	Tőzeg fulvosav	Szintetikus fulvosav glikokoll- és glukozból	Szén-huminsav oxidációjából nyert fulvosav	Fulvosav koncentráció ‰	Tőzeg fulvosav	Szintetikus fulvosav glikokoll- és glukozból	Szén-huminsav oxidációjából nyert fulvosav
<i>Epidermophyton K. W.</i>				<i>Candida albicans</i>			
1	negatív	negatív	negatív	1	+	+	+
0,5	++	+	+	0,5	++++	++++	++++
0,1	+++	+++	+++	0,1	++++	++++	++++
0,01	++++	++++	++++	0,01	++++	++++	++++
K	+++++	+++++	+++++	K	++++	++++	++++

Mivel mindegyik készítmény azonos hatást gyakorolt a tesztként alkalmazott gombákra, feltehető, hogy az egyes anyagok szerkezeti váza azonos felépítésű vagy pedig ennek a szerkezeti váznak kell biztosítani egyes gyökök tartós hatékonyságát a biológiai hatás létrehozásában.

Összefoglalás

A fulvosavak kémiai meghatározásának kiegészítése céljából biológiai módszerrel dolgoztunk ki. Tesztként *Epidermophyton K. W.*-ot és *Candida albicans*-t használtunk. Megállapítottuk, hogy a fulvosavak fungisztikus hatásúak. Az *Epidermophyton K. W.*-ot 10<sup>0</sup>/<sub>00</sub>-ben Sabouraud táptalajhoz keverve növekedésében teljesen meggátolta, nagyobb hígításban pedig a kontrolhoz képest fejlődését hátráltatta. *Candida albicans*-ra a fulvosavak 10<sup>0</sup>/<sub>00</sub>-ben szintén gátló hatást gyakoroltak. Nagyobb hígításban a gátlás nem oly szembetűnő.

A fenti biológiai módszer kémiai eljárásokkal egybekötve különböző eredetű fulvosavak meghatározására és azonosítására alkalmazható.

Érkezett 1957. április 23.

Irodalom

- [1] Béres, T.: Agrokémia és Talajtan. 6. 93. 1957.
- [2] Béres, T. & Király, I.: Agrokémia és Talajtan. 6. 55. 1957.
- [3] Biber, W. A. & Magazinov, K. M.: Dokladi Akad. Nauk. SSSR. 76. 609. 1951.
- [4] Filatov, V. P.: V. P. Filatov tiszteletére készült gyűjtőmunka. Ukrán Tud. Akad. kiadása. Kiev. 1950.

- [5] *Hriszteva, L. A.*: Rabotü o organicseszkomu veschsesztvu pocsvü. Izv. Akad. Nauk. SSSR. Moskva. 1951.
- [6] *Kúthy, S. & Pecznik, J.*: Bodenkunde u. PflErnähr. 23, 83. 1941.
- [7] *Niklewsky, B. & Wojciechowsky, J.*: Bodenkunde u. PflErnähr. 4. 294. 1937.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФУЛЬВОКИСЛОТ НА ОСНОВАНИИ ИХ ФУНГОСТАТИСТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Т. Береш и Э. Флориан

Институт Испытания Лекарств Медицинского Университета, Институт Венерических и кожных болезней, Будапешт (Венгрия)

#### Резюме

В дополнении к химическим определениям фульвокислот был разработан и биологический метод определения их. В качестве опытного организма применили *Epidermophyton K. W.* и *Candida albicans*. Установили, что фульвокислоты имеют фунгостатистическое действие. Прибавление 1%-ного раствора фульвокислот к питательной среде Sabouraud полностью тормозило рост *Epidermophyton K. W.* а при более разбавленных концентрациях фульвокислоты тормозили рост грибка по сравнению с контролем. В отношении *Candida albicans* фульвокислоты тоже имели тормозящее действие при концентрации 1%, но при меньших концентрациях такое действие уже выражено не так ярко.

Этот биологический метод может применяться совместно с химическими методами для определения и идентификаций фульвокислот различного происхождения.

### Assay of Fulvo-Acids Based on their Fungistatic Activity

T. BÉRES and E. FLORIÁN

Institute of Pharmacognosey, Medical University, Budapest and State Institute for Skin and Venereal Diseases, Budapest (Hungary)

#### Summary

Supplementing the chemical determination of fulvo-acids, a biological assay was established. *Epidermophyton K. W.* and *Candida albicans* were used as test organisms. *Epidermophyton's* growth was wholly inhibited by adding 1% fulvo acid to Sabouraud nutrient medium. The growth of the test organism was diminished in greater dilutions too. On *Candida albicans* 1% fulvo acids showed inhibiting action. In more diluted solutions the inhibition was less manifest.

The biological assay, combined with chemical determination is applicable for identification and determination of fulvo acids of various origin.

Fig. 1. Development of *Epidermophyton Kaufman—Wolf* on dextrose-peptone-agar of Sabouraud in the presence of various amounts of peat fulvo-acid. From left to right: I.  $10^{-3}$ , II.  $10^{-4}$ , III.  $10^{-5}$  g of peat fulvo-acid. IV. Control test, at room temperature, in a 14 days culture.