

School of Agriculture in Wrocław. In all investigated specimens there was stated an excessive quantity of common salt. In the foods which poultry was nourished with there was stated from 2,9—6,5% NaCl and in the food contents of the ingluvies of the investigated poultry 1,95—3,5% NaCl.

In the final discussion the author suggests that prophylactically should be paid more attention to the percentage of salt which the foods contain to assure at the same time the sufficient quantity of drink water to the poultry of close farms.

STANISŁAW MALICKI

P.Z.L.Z. Rychtal

### ZALEGANIE POPORODOWE NA TLE ZATRZYMANIA ŁOŻYSKA

Dnia 18 sierpnia 1956 r. zostałem wezwany przez ob. G. J. z miejscowości Z. do chorej krowy. Na podstawie wywiadu ustalono, że krowa wycielila się przed dwoma dniami normalnie, oraz że łożysko nie odeszło po porodzie. Od 12 godz. krowa również nie wstaje, co spowodowało, że właściciel wezwał leka-

rza wet. Klinicznie stwierdzono co następuje: krowa maści czarno-białej lat 7, kondycji dobrej, wydajność mleka 22 l (obecnie znacznie zmniejszona). Temp. wewnętrzna 38,3°C, zewnętrzna nierównomiernie rozłożona, błony śluzowe nieznacznie przekrwione. Tętno 60/min. Oddechy 16/min. przeżuwanie wstrzymane, biegunka, brak apetytu. Czuć głębokie i powierzchowne zachowane. Niemożność wstawania. Krowa po podniesieniu jej przez kilku ludzi nie może się utrzymać na nogach, upada na legowisko. Badaniem *per vaginam* stwierdza się zatrzymanie łożyska. Ze strony układu kostnego nie stwierdza się odchyłań od normy. Rozpoznanie: Zaleganie poporodowe (*paralysis puerperalis*) na tle zatrzymania łożyska.

Leczenie: po odlejeniu łożyska, oraz podaniu domacicznie 6 kaps. Metritolu, wstrzyknięto dożylnie Antiparen — 300 ml, podskórnie *Coff. natrium benzoicum* 20% — 20 ml, domięśniowo Witaminę A + D 20 ml. Z braku efektu podano jeszcze domięśniowo (mięśnie pośladkowe) *Veratrinum* 0,05—5 ml. Po tych zabiegach, oraz po użyciu małej podniety (wylanie na głowę około 50 ml wody) krowa wstała oraz zaczęła szukać karmy i interesować się cielakiem itd.

## Z PRAKTYKI LABORATORYJNEJ

M. A. JANICKI, S. KOŁACZYK

### Wyodrębnienie i identyfikacja czynnika hamującego wzrost z *Poria obliqua* Bres.

Z Instytutu Fizjologii i Żyw. Zw. P.A.N. — Oddz. Bydgoszcz  
Dyrektor: Prof. dr J. KIELANOWSKI

Wyciągi z huby *Poria obliqua* Bres. są znany lekiem ludowym, używanym oddawna przeciwko rakowi w krajach europejskich, zwłaszcza w Finlandii (28). Pierwsze wzmianki o ich działaniu podał w starej rosyjskiej literaturze medycznej Froben jeszcze w r. 1858 (23). W późniejszych badaniach laboratoryjnych na zwierzętach doświadczalnych otrzymywano dość zmienne wyniki (15, 16, 23). Najnowsze jednak prace poparte analizami histologicznymi, zdają się zdecydowanie potwierdzać lecznicze właściwości huby (35). Próby identyfikacji czynnika leczniczego występującego w wyciągach datują się jeszcze z r. 1864, kiedy to Dragendorff poddał je gruntownej analizie chemicznej, nie wykrywając w nich jednak żadnej substancji charakterystycznej (23). Od tego czasu niejednokrotnie ponawiano badania nad zawartością ciał czynnych w hubach, najczęściej jednak bez rezultatu (7, 23). W r. 1955 zidentyfikowano ciało hamujące wzrost w wyciągach z huby jako substancję przynależną do grupy steryni lub trójterpenów pięciocyklicznych (24).

Z uwagi na pewne nasze prace podjęliśmy badanie wyciągów huby *Poria obliqua* Bres. na nowo, stosując dla tych celów w dalszych etapach doświadczeń technikę chromatograficzną.

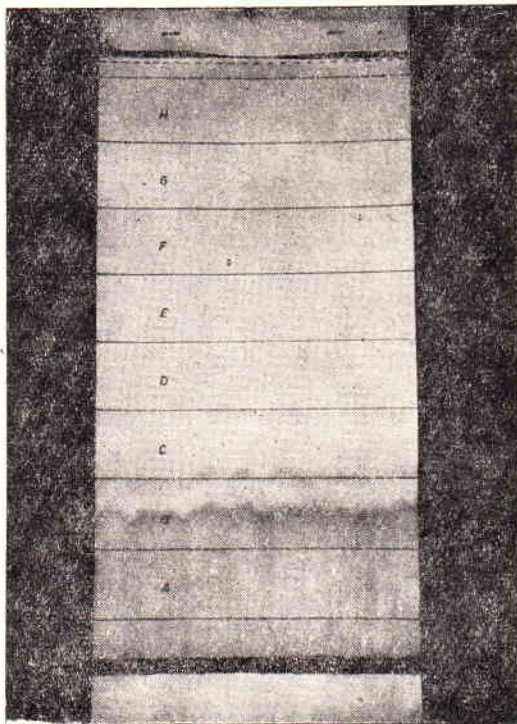
#### Metodyka badań

Przyrządzanie wyciągów. Przy przygotowywaniu wyciągów z huby kierowano się wskazówkami fitoterapii (28). Jako wyciągi podstawowe stosowano wyciągi gotowane. Przyrządzano je używając 10% wag. utartej pilnikiem huby *Poria obliqua* Bres. oraz 90% wody dest. Wyciągi gotowano 1/2 godziny, po czym uzupełniano wyparowaną wodę. Ze względów niżej omówionych używano również wyciągów niegotowanych, które przyrządzano identycznie z tym, że zamiast gotowania stosowano 20 godz. moczenie. Dla celów chromatograficznego (patrz niżej) stosowano wyciągi skondensowane z huby rozdrobnionej na dezintegratorach cyklonowych, którą zalewano na 20 godz. minimalną ilością wody dest., a następnie odwirowywano. Wszystkie wyciągi klarowano przy użyciu szybkoobrotowych wirówek.

Pomiar hamowania wzrostu. Hamowanie wzrostu wywołane przez wyciągi studiowano na nasionach roślin wyższych. Przeprowadzono liczne próby nad przydatną dla tych celów techniką kiełkowania, rodzajem nasion oraz zastosowaniem antyseptyków. W rezultacie przyjęto kiełkowanie w warunkach możliwie aseptycznych bez dodatku antyseptyków, na grubej twardej bibule, w nasyconej

parą wodną atmosferze, w temperaturze  $t = 30^{\circ}\text{C}$ . Stosowano nasiona beru (*Setaria italica*), które układano na małych prostokątach bibuły zgiętych w kształcie greckiej litery pi, zanurzonych skrajami w badanej cieczy w niewielkim naczyniu. Zastosowana technika pozwalała na uzyskanie w ciągu 48 godz. w próbie kontrolnej z wodą destylowaną dużego porostu kiełków, wysokości kilkunastu mm; wystarczało przy tym użycie minimalnej ilości płynu. Wyniki wzrostu podawano w mm długości kiełków, wyrosłych w opisanych warunkach w ciągu 48 godz. Wyniki opracowano statystycznie. Wnioskowanie przeprowadzano na podstawie analizy zmienności (31).

Wyodrębnienie czynnika hamującego wzrost. W następstwie różnych nieudanych prób zastosowano do rozdzielenia składników huby metodę rozmywania wyciągu na bibule chromatograficznej. Wyciąg skondensowany nanoszono 4-rotnie na bibułę Whatman Nr 1, stwarzając ciągłą linię startu szerokości ca 6 mm (Ryc. 1). Używano przeważnie rozpuszczalnika składającego się z metanolu, 88% kw. mrówkowego oraz wody w stosunku obj. 80:15:5 (3). Stosowano chromatografię wstępującą przy czasie spływu ok. 18 godz., uzyskując chromatogram długości 500 mm. Po rozmyciu rozpuszczalnik odpędzano w strumieniu ciepłego powietrza. Otrzymane chromatogramy dzielono na 50 mm szerokości pasy od A do H (Ryc. 1), które umiejscawiano w ten sposób, by linia graniczna między pasami C i D przebiegała akurat po wi-



Ryc. 1  
Chromatogram ze stężonego wyciągu wodnego.  
Z *Poria obliqua* Bres.

docznej na chromatogramach bardzo wąskiej linii jakiegoś barwnika, który w tym właśnie miejscu osiadał. Chromatogramy rozcinano wzdłuż linii, pasy eluowano (14) wodą, a eluaty rozcieńczano lub zagęszczano do objętości, jaką posiadał w sumie wyciąg, naniesiony w danym cyklu na bibułę. Eluaty doprowadzano przy pomocy n/10 NaOH lub HCl do stałego pH = 6,00 i poddawano próbom biologicznym.

Identyfikacja inhibitora wzrostu. Po lokalizacji czynnika hamującego wzrost, identyfikowano go na drodze chromatograficznej i chemicznej. I tak, fosforany oznaczano chromatograficznie przy użyciu rozpuszczalników kw. pikrynowego i butanolu (17) oraz kw. mrówkowego i metanolu (3). Wywoływanie przeprowadzano met. Hanesa i Isherwooda (17) oraz Domana i Kagana (9). Szczawiany identyfikowano na podstawie ogólnych reakcji chemicznych (33), met. Lochmanna (21), Krausego (19) oraz Feigla i Frehdena (13). Oznaczenia chromatograficzne przeprowadzano na układzie: propanol, etanol (11) przy wywołaniu molibdenianem z kw. nadchlorowym (4) oraz n/10 nadmanganianem potasu a po wysuszeniu 3%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Mikrochemicznie wykrywano szczawiany wg Molischa (27). Ilościowe oznaczenie szczawianów w eluatach przeprowadzano fotometrycznie mikrometodą Pacheco i Lopez-Rubio (29). Ze względu na charakter wyciągów z huby (duża zawartość ciał huminowych i in.) ilościowe oznaczenie w nich szczawianów przez zwykłe strącenie wapniem było niemożliwe. Tak samo było niemożliwe zastosowanie wyżej wspomnianej metody fotometrycznej. Uprzednie oczyszczenie wyciągów przez adsorpcję na węglu zwierzęcym wg Fliega (26) było możliwe ale niebezpieczne z uwagi na konieczność kilkakrotnego powtarzania adsorpcji. Zasadniczo więc stosowano do oznaczania szczawianów w wyciągach met. Lehmann i Gruetza (20) polegającą na estyfikacji kw. szczawowego metanolem, oddestylowaniu estru, zmydleniu go i zwykłym oznaczeniu szczawianów sposobem objętościowym.

#### Przebieg badań i omówienie wyników

Przeprowadzone prace wstępne wykazały, że gotowane wodne wyciągi huby *Poria obliqua* Bres. hamują kiełkowanie i wzrost roślin. Jak widać z tab. 1 hamowanie to jest bardzo wyraźne, chociaż nie jest całkowite.

Tabela 1  
Wpływ wyciągu z huby na kiełkowanie beru

Rodzaj próby	Długość kiełków	
	$\bar{X}$	S
kontrolna	14,8	3,68
wyciąg	3,2	1,01



## Analiza zmienności

Źródło zmienności	Stopnie swobody	Suma kwadratów	Średni kwadrat
całkowita	19	804	
próby	1	673	673,0 (++)*)
powtórzenia	18	131	7,3

\*) (++) = istotne statyst. przy 99% pewności

(+) = istotne statyst. przy 95% pewności

(-) = nieistotne statystycznie

Dla stwierdzenia, czy powyższe działanie nie jest spowodowane zbyt niskim pH wyciągów, (które zwykle wynosiło 4,60—5,90) sprowadzono stężenie jonów wodorowych w wyciągu do pH = 6,00 i porównano jego działanie biologiczne z wyciągiem oryginalnym. Porównanie nie dowiodło istotności wpływu badanych różnic pH na kiełkowanie beru (Tab. 2).

Tabela 2  
Wpływ pH wyciągu na kiełkowanie beru

Rodzaj wyciągu	Długość kiełków	
	$\bar{X}$	S
wyciąg oryg. pH = 4,86	4,1	1,41
wyciąg nast. pH = 6,00	4,4	1,00

## Analiza zmienności

Źródło zmienności	Stopnie swobody	Suma kwadratów	Średni kwadrat
całkowita	19	28,2	
wyciągi	1	0,2	0,20 (-)
powtórzenia	18	28,0	1,56

Wyciągi gotowane miały zwykle ok. 3,35% suchej substancji oraz ok. 0,65% soli mineralnych, co mogło wywierać dzięki ciśnieniu osmotycznemu pewne działanie hamujące na wzrost. Aby więc upewnić się, że wymienione wyżej czynniki nie działają w wypadku naszego doświadczenia jako istotne źródło inhibicji wzrostu, przeprowadzono porównanie działania biologicznego wyciągu oraz roztworu glukozy, identycznego pod względem suchej substancji, zawartości soli mineralnych oraz stężenia jonów wodorowych. I tak suchą substancję roztworu cukru doprowadzono do 3,35%, sole mineralne do 0,65% (przy pomocy fosforanu sodu) oraz stężenie jonów wodorowych do pH = 6,00. Wyniki tak ustawionego porównania przedstawia tabela 3.

Tabela 3  
Wpływ wyciągu na kiełkowanie beru

Rodzaj próby	Długość kiełków	
	$\bar{X}$	S
Roztwór cukru	12,1	3,05
Wyciąg z huby	4,2	1,24

## Analiza zmienności

Źródło zmienności	Stopnie swobody	Suma kwadratów	Średni kwadrat
całkowita	19	402	
próby	1	304	304(+++)
powtórzenia	18	98	5,44

Jak z uzyskanych danych widać, wyniki są wyraźne i nie nastroczają żadnych wątpliwości. Na podstawie przeprowadzonych prób przyjęto więc, że hamowanie wzrostu beru przez wyciągi z huby *Poria obliqua* Bres. jest niewątpliwe i wywołane być musi przez czynniki specyficzne, zawarte w wyciągach.

Gdy badania chemiczne, które szły w kierunku wykrycia związków o charakterze radiomimetycznym (10, 22) oraz próby zastosowania rozpuszczalników selektywnych nie dały zadowalających wyników, posłużono się dla celów rozdzielenia składników wyciągów metodą rozmywania ich na bibule chromatograficznej, co nastroczało szereg trudności. Przede wszystkim z powodu dużego prawdopodobnie rozcieńczenia substancji czynnych należało użyć do wkraplania stosunkowo znacznych ilości wyciągu. Już jednakże 2-krotne naniesienie go na linię startu przeszkadzało bardzo poważnie rozmywaniu. Zdecydowano się więc przygotowywać wyciągi wodne niegotowane. Brak działania biologicznego takich wyciągów, stwierdzany przez niektórych autorów (34) przypisywaliśmy raczej zbyt niemu rozcieńczeniu w nich ciała czynnego. I rzeczywiście, nasze próby w tym zakresie wykazały, że o ile opilki z huby poddać dostatecznie długiemu moczeniu, to otrzymane wyciągi, mimo 3-krotnie niższej zawartości suchej substancji, są w działaniu biologicznym tylko niewiele słabsze od wyciągów gotowanych; test kiełkowania nie wykazuje wtedy nawet różnic istotnych (tab. 4).

Tabela 4  
Wpływ gotowania wyciągów na kiełkowanie beru

Rodzaj wyciągu	Długość kiełków	
	$\bar{X}$	S
wyciąg gotowany	3,2	1,15
wyciąg niegotowany	3,8	1,10

## Analiza zmienności

Źródło zmienności	Stopnie swobody	Suma kwadratów	Średni kwadrat
całkowita	19	23,0	
wyciągi	1	0,9	0,90 (-)
powtórzenia	18	22,1	1,23

Gdy zaś przygotować wyciągi niegotowane stężone (patrz metodyka), to działanie ich jest znacznie silniejsze, niż standardowych wyciągów gotowanych (tab. 5).

Tabela 5  
Wpływ wyciągów z huby na kiełkowanie beru

Rodzaj wyciągu	Długość kiełków	
	$\bar{X}$	S
wyciąg gotowany (standard)	3,50	1,15
wyciąg niegotowany stężony	0,65	0,80

## Analiza zmienności

Źródło zmienności	Stopnie swobody	Suma kwadratów	Średni kwadrat
całkowita	19	58	
wyciągi	1	41	41,0 (++)
powtórzenia	18	17	0,94

Wobec powyższego do nanoszenia na bibułę używano wyciągów niegotowanych stężonych, które nawet przy wielokrotnym naniesieniu dawały się dobrze rozmywać, zawierając równocześnie dużo ciał czynnych. Działanie wyciągów niegotowanych dowiodło również, że dla biologicznej skuteczności wyciągów z *Poria obliqua* Bres. nie jest potrzebna hydroliza, stosowana w tym celu przez niektórych autorów (24). Dalsza trudność zastosowania metody chromatograficznej do rozdzielenia składników huby polegała na doborze właściwego rozpuszczalnika. Musiał on bowiem nie tylko dobrze rozpuszczać substancje czynne ale także dawać się łatwo usuwać po rozmyciu, a ponadto pozostawiać na miejscu startu możliwie dużą ilość ciemnych barwników, które w przeciwnym razie zamazywały cały chromatogram. Przebadano dużą ilość różnych rozpuszczalników, wybierając jako najkorzystniejszy tj. dający w eluacie wyraźne hamowanie wzrostu i dobry rozdział składników, rozpuszczalnik składający się z kw. mrówkowego i metanolu (patrz metodyka). Aby zlokalizować substancję odpowiedzialną za hamowanie wzrostu, podzielono powierzchnię chromatogramu na odpowiednie pasy (Ryc. 1). Uzyskane z pasów eluaty poddawano próbom biologicznym. Dla porównania dodano próbę kontrolną (O).

Jak wykazuje tab. 6 hamowanie wzrostu zaobserwowano jedynie w pasie C i D. Działanie to jest bardzo wyraźne a różnica w stosunku do próby kontrolnej lub eluatów z innych pa-

sów chromatogramu statystycznie bardzo istotna. Natomiast eluaty pasów C i D nie różniły się istotnie między sobą. Wywołany chromatogram wykazywał w obszarze hamowania wzrostu obecność jakiegoś fosforanu (Ryc. 2). Plama tego fosforanu przebiegała na granicy pasa C i D; wykryty fosforan mógł się więc znaleźć w obu pasach.

Fosforan ten wykazywał niski bardzo współczynnik  $R_F = 0,37$  w porównaniu z  $R_F = 0,63$  dla orto- i  $R_F = 0,46$  dla pirofosforanów dla danego układu (3), byliśmy więc skłonni uważać go za jakiś ester kwasu fosforowego. Z uwagi na liczne prace różnych autorów o organofosforowych inhibitorach esterazy (1, 25, 30), znaleziony związek wydawał się bardzo interesujący i stąd zajęliśmy się bliżej jego budową. W międzyczasie prowadzono dalsze badania nad ściślejszą lokalizacją ciała czynnego. Przede wszystkim przeprowadzono inny podział chromatogramów i to taki, by interesujący nas fosforan nie mógł się w żadnym wypadku dostać do pasa C. W tym celu granicę między pasami C i D przeprowadzono 20 mm poniżej linii fosforanów wywołanych

Tabela 6  
Wpływ eluatów na kiełkowanie beru

Eluat	Długość kiełków	
	$\bar{X}$	S
O	14,4	4,94
A	17,0	2,90
B	15,8	2,21
C	6,0	1,63
D	7,7	3,30
E	15,6	3,59
F	14,7	3,59
G	16,1	4,58
H	16,7	3,77

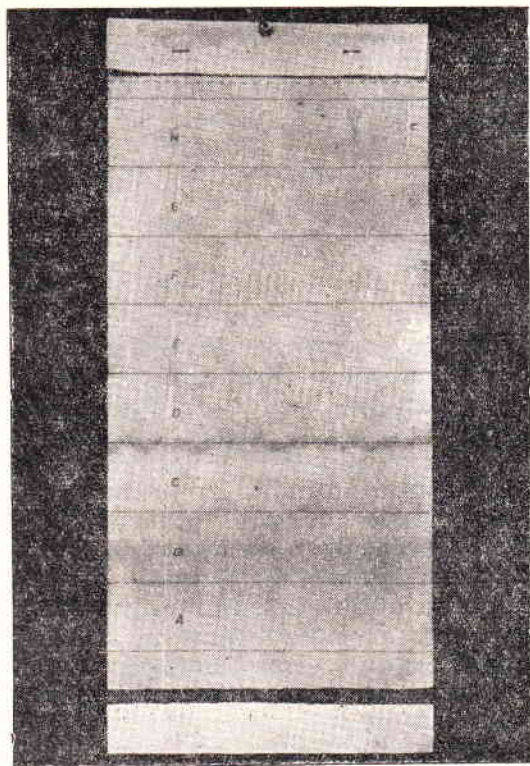
## Analiza zmienności

Źródło zmienności	Stopnie swobody	Suma kwadratów	Średni kwadrat
całkowita	89	2378	
eluaty	8	1362	170,80 (++)
powtórzenia	81	1011	12,48

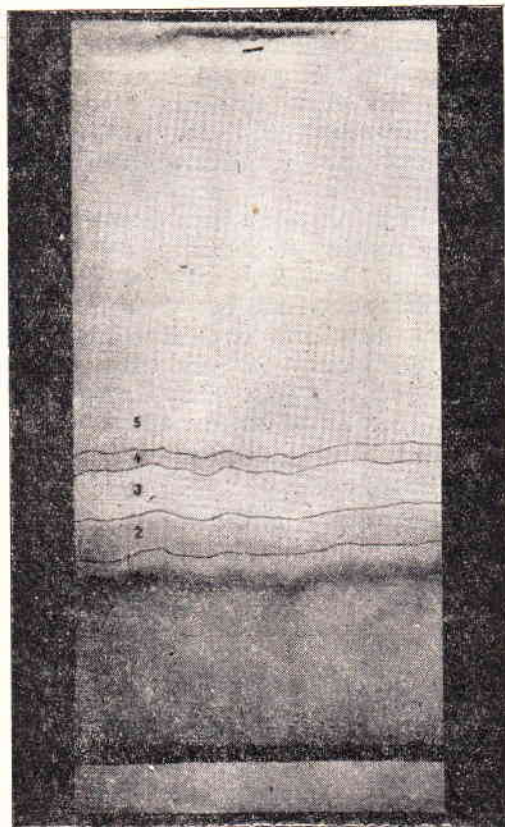
## Istotność różnic średnich

Eluaty	A	B	C	D	E	F	G	H
O	+ 2,6 (-)	+ 1,4 (-)	- 8,4 (++)	- 6,7 (++)	+ 1,2 (-)	+ 0,3 (-)	+ 1,7 (-)	+ 2,3 (-)
A		- 1,2 (-)	- 11,0 (++)	- 9,3 (++)	- 1,4 (-)	- 2,3 (-)	- 0,9 (-)	- 0,3 (-)
B			- 9,8 (++)	- 8,1 (++)	- 0,2 (-)	- 1,1 (-)	+ 0,3 (-)	+ 0,9 (-)
C				+ 1,7 (-)	+ 9,6 (++)	+ 8,7 (++)	+ 10,1 (++)	+ 10,7 (++)
D					+ 7,9 (++)	+ 7,0 (++)	+ 8,4 (++)	+ 9,4 (++)
E						- 0,9 (-)	+ 0,5 (-)	+ 1,1 (-)
F							+ 1,4 (-)	+ 2,0 (-)
G								+ 0,6 (-)





Ryc. 2  
Chromatogram z wyciągu *Poria obliqua*,  
wywołany odczynnikami na fosforany.



Ryc. 3  
Chromatogram z wyciągu *Poria obliqua*,  
podzielony na pasy pod lampą UV.

dla orientacji na skrajach chromatogramów. I wtedy stwierdziliśmy, że mimo wszystko obydwie pasy wykazują aktywność biologiczną. W tych warunkach należało przyjąć, że widocznie istnieje w obrębie pasów C i D więcej substancji aktywnych. Zwrócono wtedy uwagę na występujące w pasie C barwniki roślinne. Bliższe ich badanie wykazało, że posiadają one właściwości wyraźnej a przy tym różnej dla każdego z nich fluorescencji w świetle ultrafioletowym. Okazało się, że dzięki właściwościom barwników istnieje możliwość dokładnej lokalizacji poszczególnych związków na chromatogramach. Na podstawie ściślejszych obserwacji stwierdzono, że w środku interesującego nas obszaru chromatogramu znajduje się szeroki pas substancji, wyglądającej na jednorodną, która nie posiada właściwości fluoryzowania. Powyżej tej substancji zaobserwowano lekko fluoryzujący pas znalezionego już uprzednio fosforanu; poniżej występował jakiś barwnik o silnej bardzo fluorescencji. Barwnik ten łącznie ze znajdującą się powyżej niego substancją niefluoryzującą zajmował z grubsza obszar pasa C.

Na podstawie obserwacji pod lampą UV podzielono teraz chromatogram na nowe pasy, jak to uwidoczniono na ryc. 3. Wąski pas 4 przedstawia tam znany już fosforan, pas 3 substancję niefluoryzującą a pas 2 silnie fluoryzujący barwnik.

Powyzszy schemat podziału zastosowano do nowej serii kilkunastu chromatogramów i z odpowiednich pasów przygotowano eluaty, które poddano próbie biologicznej. Dla porównania do próby tej dodano jeszcze eluaty z 50 mm pasów leżących powyżej (nr 5) oraz poniżej (nr 1) omawianych związków (Ryc. 3). Wyniki próby przedstawia tab. 7.

Tabela 7  
Wpływ eluatów na kiełkowanie beru

Eluat	Długość kiełków	
	X	S
1	15,7	2,83
2	6,6	2,05
3	5,3	1,70
4	14,3	3,68
5	15,8	3,68

Analiza zmienności

Źródło zmienności	Stopnie swobody	Suma kwadratów	Średni kwadrat
całkowita	49	1455	
eluaty	4	1060	266 (++)
powtórzenia	45	390	8,67

Istotność różnic średnich

Eluaty	2	3	4	5
1	- 9,1 (++)	-10,4 (++)	- 1,4 (-)	+ 0,1 (-)
2		- 1,3 (-)	+ 7,7 (++)	+ 9,2 (++)
3			+ 9,0 (++)	+10,5 (++)
4				+ 1,5 (-)

Jak z powyższej tabeli wynika, istotne działanie hamujące wykazują jedynie eluaty z pasów 2 i 3. Eluat 4, zidentyfikowany jako fosforan, wykazał minimalne działanie, statystycznie nieistotne. Przypisywane mu w pierwszej fazie prac hamowanie wynikało widocznie na skutek zachwytywania substancji leżącej poniżej. Było to całkiem możliwe z uwagi na nieprecyzyjny wówczas podział chromatogramu, oparty jedynie na widocznych gołym okiem zaciemnieniach po rozmyciu. Wobec takich wyników skupiono całą uwagę na eluacie z pasa 3. Jego działanie biologiczne było najsilniejsze, likwidowało przy większych stężeniach całkowicie wzrost korzonków, zezwalając jedynie na minimalny wzrost kiełków. Substancję eluowaną z tego pasa zidentyfikowano metodami chemicznymi (patrz metodyka) jako szczawian. Istnienie szczawianów w tym pasie potwierdziły badania chromatograficzne, które ponadto wskazywały — z uwagi na identyczną reakcję z wywoływaczami — na możliwość występowania szczawianów i w pasach sąsiednich. Przypuszczenie to potwierdzono metodami chemicznymi. Dla ujęcia ilościowego oznaczono zawartość szczawianów w eluatach metodą chemiczną. Uzyskano wtedy następujące stężenia:

Tabela 8  
Zawartość szczawianów w eluatach

Eluat	Stężenie w mg % jako (COOH) <sub>2</sub>
1	ślady
2	145
3	304
4	20
5	—

Z tabeli tej wynika, że większość szczawianów zlokalizowana jest w pasie 3 i że jednak duże jego stężenie występuje również w pasie 2. Porównanie stężenia szczawianów w eluatach (tab. 8) z ich działaniem biologicznym (Tab. 7) daje poważne podstawy do wnioskowania, że we wszystkich tych wypadkach za hamowanie wzrostu odpowiedzialne są szczawiany. Jest to tym bardziej przekonujące, gdy się przejrzy wyniki przeprowadzonych przez nas prób biologicznych z chemicznie czystym preparatem szczawianu. Przy użyciu różnych stężeń szczawianu amonowego uzyskano, stosując standardowe warunki wzrostu (patrz metodyka), następujące hamowanie:

Tabela 9  
Wpływ szczawianów na kiełkowanie beru

Stężenie szczawianów w mg % jako (COOH) <sub>2</sub>	Długość kiełków	
	$\bar{X}$	S
Próba kontrolna	16,9	3,74
50	16,8	3,90
100	8,5	3,21
200	7,0	2,03
300	5,6	1,91

W świetle powyższych wyników działanie biologiczne eluatów tłumaczyć można z dużą pewnością obecnością szczawianów. Jakies poważniejsze działanie innych związków (np. obecnych tam barwników), jest bardzo mało prawdopodobne, bo uzyskane hamowanie odpowiada prawie dokładnie hamowaniu czystych szczawianów o identycznym stężeniu. Dodatkowym dowodem na wyżej postawioną tezę może być fakt zniesienia hamowania po dodaniu wapnia. Jeśli mianowicie do kiełkownika zawierającego eluat hamujący wzrost dodać stechiometryczną w stosunku do szczawianów ilość jakiejś soli wapnia, to wtedy eluat traci aktywność biologiczną.

W zastosowanym przez nas układzie rozpuszczalników nie wszystkie substancje przeszły na płaszczyznę spływu chromatogramu. Tak nawet dobierano rozpuszczalniki, aby możliwie dużo ciał barwnych pozostawić na linii startu. W tych warunkach jest oczywiście możliwe, że jakieś substancje biologicznie czynne nie znalazły się na chromatogramie, tym więcej że do wkraplania używano, jak wyżej przedstawiono, wyciągów niegotowanych. Aby stwierdzić, czy taka możliwość mogła zaistnieć, oznaczono stężenie szczawianów w wyciągach gotowanych huby, takich jakie proponuje fitoterapia. Wynosiło ono zwykle przeliczając na kwas bezwodny ok. 0,10—0,25%. Porównano wtedy działanie biologiczne takiego wyciągu o znanej zawartości szczawianów z działaniem roztworu cukru o identycznej suchej substancji oraz o identycznym stężeniu soli mineralnych, jonów wodorowych oraz szczawianów.

Tabela 10  
Wpływ szczawianów wyciągu i roztw. cukru na kiełkowanie

Próba	Długość kiełków	
	$\bar{X}$	S
wyciąg	4,9	1,28
roztwór cukru	5,1	1,65

Analiza zmienności

Zródło zmienności	Stopnie swobody	Suma kwadratów	Sredni kwadrat
całkowita	19	40	
próby	1	0,2	0,2 (-)
powtórzenia	18	39,8	2,21



Przeprowadzone porównanie (tab. 10) wykazuje, że w danych warunkach działanie biologiczne wyciągu i roztworu cukru jest, praktycznie biorąc, identyczne. Z tego można wnioskować z dużą pewnością, że poza szczawianami nie ma w wyciągach huby inhibitorów wzrostu o poważniejszym działaniu.

Jak z powyższego wynika szczawiany występują w wyciągach *Poria obliqua* Bres. w dość dużym stężeniu. Stąd też jest dziwne, że nie zostały one wykryte przez dotychczasowych badaczy. Jest również zastanawiające, że Dragendorff (23), który zajmował się między innymi kwasami organicznymi wyciągów, wykrył w nich jedynie kw. fumarowy i jabłkowy.

Kwas szczawiowy występuje we wszystkich tkankach i płynach ustrojowych (32), ostatnio stwierdzono go nawet w płynie mózgowo-rdzeniowym (6). Badania z pierwiastkami znaczącymi wiążą jego metabolizm z utlenianiem kw. askorbinowego w ustroju (8), jednakże jego funkcje fizjologiczne nie są zupełnie jasne. Szczawiany nie ulegają w organizmie zwierzęcemu utlenieniu (36) a są wydzielane przeważnie z moczem (5). Od czasów najdawniejszych (12, 18) aż do chwili obecnej (2) stwierdza się, że szczawiany są silnym inhibitorem fosfatazy kwaśnej. Czy jednakże szczawiany mogą mieć jakieś specyficzne znaczenie dla organizmu zwierzęcego a zwłaszcza dla karcinogenezy pozostaje oczywiście kwestią całkowicie otwartą.

Autorzy dziękują mgr. A. Witkowskiej za pomoc techniczną w niektórych oznaczeniach.

#### Piśmiennictwo

- 1) Aldrige W. N.: Biochem. J., 54, 442 (1953)
- 2) Anagnostopoulos C.: Bul. soc. chim. biol., 35, 575 (1953).
- 3) Bandurski R. S., Axelrod J.: J. Biol. Chem., 193, 405 (1951).
- 4) Becker E.: Z. Lebesm.-Unters.-Forsch., 98, 249 (1954).
- 5) Bernhard K. i in.: Helv. Chim. Acta 36, 1968 (1953).
- 6) Berisso B.: Pubs. inst. invest. microchim. 17, 235 (1953) wg C. A. 48, 11524 a.
- 7) Bławat F.: Sesja nauk. Polit. Gdańsk. 1954 (mat. nieopubl.)
- 8) Burns J. J. i in.: J. Biol. Chem., 191, 501 (1951).
- 9) Doman N. G., Kagan Z. S.: Biochimia 17, 719 (1952).
- 10) Dustin P.: Nature 159, 794 (1947).
- 11) Duuren, van A. J.: Rec. Trav. chim. Pays-Bas 72, 889 (1953).
- 12) Erdtmann H.: Zs. Phys. Chem. 172, 182 (1927) 177, 211 (1928).
- 13) Feigl F., Frehden O.: Mikrochemia 18, 272 (1935).
- 14) Gage T. B., Wender S. H.: Anal. Chem., 22, 708 (1950).
- 15) Gatty - Kostyal i in.: Bull. Int. Acad. Polon. Sc. Lettr., Sc. math. nat. II, 7-9 (1937).
- 16) Gorzkowski T.: Patologia polska 6, 293 (1955).
- 17) Hanes C. S., Isherwood F. A.: Nature 164, 1107 (1949).
- 18) Inouye K.: J. Biochem. 10, 395 (1929).
- 19) Krause H.: Ber. Deutsch. Chem. Ges. 52, 426 (1919).
- 20) Lehmann E., Gruetz W.: Zeitschr. Pflanzenern. Dueng. Bodenk. 61, 77 (1953).
- 21) Lochmann G.: Chem. Ztg. 57, 214 (1933).
- 22) Loveless A., Revell S.: Nature 164, 938 (1949).
- 23) Madaus G.: Lehrb. biol. Heilmittl. Heilpflanzen, Leipzig 1938, III, 2203.
- 24) Małonowicz M. i in.: Medycyna Wet. 11, Nr 1, 39 (1955).
- 25) Mendel B. i in.: Brit. J. Pharmacol. 8, 217 (1953).
- 26) Metge G.: Laborat.-buch. Agrikulturchemie, Halle 1948 p. 118.
- 27) Molisch H.: Mikrochemie der Pflanze, Jena 1923, p. 110.
- 28) Muszyński J.: Ziotolecznictwo i leki roślinne, Warszawa 1954, p. 135.
- 29) Pacheco J., de la R., Lopez-Rubio F. B.: Inform.-quim. anal. 6, 40 (1952).
- 30) Ramaswani D., Kirch E. R.: J. Amer. pharm. Ass. 42, 495 (1953).
- 31) Snedecor G. W.: Statistical Methods, Ames 1946.
- 32) Steudel H.: Zeitschr. physiol. Chem. 211, 253 (1932).
- 33) Treadwell F. P.: Lehrb. Analytisch. Chemie, Wien 1940, I, 380.
- 34) Wandokanty F. i in.: Medycyna Wet. 10, Nr 5, 289 (1954).
- 35) Wandokanty F. i in.: Medycyna Wet. 11, Nr 3, 148 (1955).
- 36) Weinhouse S., Friedman B.: J. Biol. Chem., 191, 707 (1951).

M. A. РНИЦКИЙ И С. КОЛАЧИК

## ВЫДЕЛЕНИЕ ИЗ ГРИБА *PORIA OBLIQUA* BRES. ФАКТОРА ЗАДЕРЖИВАЮЩЕГО РОСТ И ЕГО ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Исследовано содержание веществ гриба *Poria obliqua* Bres, известного простонародного лекарства против рака, способных тормозить рост.

2. Констатировано, что водные экстракты из гриба отчетливо тормозят прорастание семян, причем источником этого действия не являются физико-химические факторы.

3. Химические исследования и попытки применения селективных растворителей для выделения активного вещества не дали удовлетворительных результатов.

4. Для разделения элементов гриба был применен хроматографический метод, причем хроматограммы были разделены на полосы. Затем исследовано активность полученных из этих полос элюатов. После ориентировочной локализации ингибитора, зона хроматограмма была разделена под лампой UV на точно обрисованные полосы, из которых сделаны элюаты, подвергнутые биологическому исследованию. Констатировано, что фактором тормозящим рост являются соли щавелевой кислоты. Подтверждено это, между прочим, проведением пробы прорастания, с применением химически чистых солей щавелевой кислоты. Этот препарат, при одинаковой с экстрактом из гриба концентрации и при таких же физико-химических условиях, вызывал то же самое торможение. Из вышеуказанного сделан вывод, что кроме солей щавелевой кислоты в экстрактах нет никаких серьезных ингибиторов роста.

5. Приведен короткий обзор новой литературы о существовании и роли щавелевой кислоты в животном организме.

M. A. JANICKI & S. KOŁACZYK

## SEPARATION AND IDENTIFICATION OF THE GROWTH INHIBITING FACTOR IN *PORIA OBLIQUA* BRES

### Summary

1. *Poria obliqua* Bres, a familiar medicine used in popular therapy to cure neoplastic diseases, was subjected to investigation regards to agents capable of inhibiting growth.

2. It was found that a water infusion of *Poria obliqua* Bres. exhibited a definite inhibiting effect on the germination of seeds, and that the effect does not depend on factors of physico-chemical nature.

3. No satisfactory results were obtained from chemical analyses. Attempts of applying selective solvents for separation of the active substance failed.

4. The chromatographic method was therefore used for partition of the infusion ingredients, and the chromatograms were divided into strips, the extracts therefrom obtained being then subjected to germination tests. After a superficial localisation of the inhibitor, the area in question placed under a UV-lamp was divided into clearly-outlined strips and the extracts obtained from these were subjects of biological tests. Oxalates were found to constitute the growth inhibi-



ting factor. This was confirmed among others by a germination test using chemically pure preparation which, used in an identical strength and under identical physico-chemical conditions as the infusion, produced exactly the same inhibiting effect. It was the-

refore concluded that no significant growth inhibitors are contained in the infusion besides the exalates.

5. The paper presents also a brief survey of literature dealing with problems of occurrence of oxalates and the part played by them in animal organism.

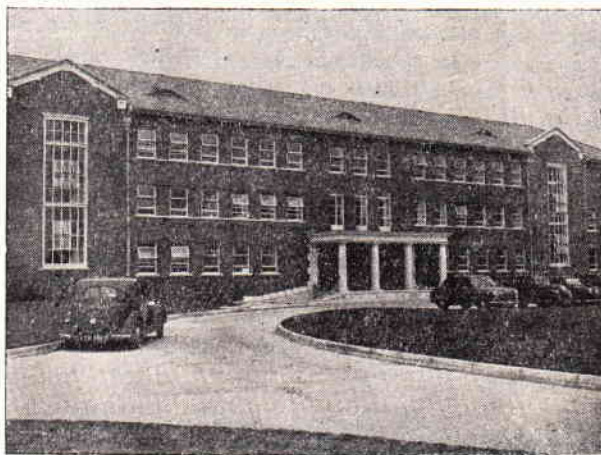
## Z ZAGRANICZNEJ WETERYNARII

ALFRED TRAWINSKI

### Nieco o weterynarii w Anglii

W miesiącu wrześniu u. r. przebywałem w Anglii na zaproszenie Wydziału weterynaryjnego w Cambridge. W niniejszym artykule pragnę podzielić się wrażeniami dotyczącymi studiów weterynaryjnych w szczególności w Cambridge, oraz organizacji administracji weterynaryjnej.

W Anglii wydziały weterynaryjne są w uniwersytetach w Glasgowie, Edynburgu, Liverpoolu, Bristolu, Londynie i w Cambridge najstarszym uniwersytecie obok Oxfordu. Organizacja uniwersytetów i studiów weterynaryjnych nie jest jednolita.

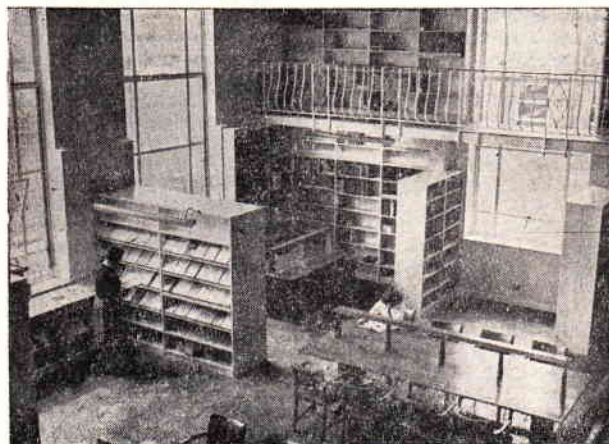


Ryc. 1. Wydział Weter. Uniwersytetu w Cambridge. Gmach teorii.

Dokładniej zajmę się Wydziałem weterynaryjnym w Cambridge. Jest on najmłodszy, powstał w r. 1951, a w r. 1955 otrzymał nowy budynek, w którym mieszczą się zakłady teoretyczne i kliniki. Na czele Uniwersytetu stoi kanclerz (chancellor), który jest osobą honorową, obecnie marszałek lotnictwa. Bierze on udział tylko w uroczystościach Uniwersytetu. Rektorem w naszym znaczeniu jest wicekanclerz (vice-chancellor) przez jeden rok; w niektórych uniwersytetach może być dożywotnie. Sprawuje on władzę w uczelni wspólnie z senatem, w którym zasiadają profesorowie poszczególnych Wydziałów, a tych jest nie wiele, na każdym Wydziale po 2 do 3. Profesorom podlega administracyjnie personel naukowy wraz z kierownikami poszczególnych katedr. Wydział weterynaryjny posiada dwu profesorów, jednemu z nich podlegają katedry teoretyczne, drugiemu kliniczne. Na Wydziale weterynaryjnym w Cambridge istnieje jeszcze ciało złożone z wszystkich wykładowców (regenthouse), odpowiadające w naszym pojęciu radzie wydziałowej, której uchwały przechodzą pod decyzję senatu. Kierownikami poszczególnych katedr są wykładowcy (lectors); niektórzy z nich tzw. readers odpowiadają w naszym pojęciu profesorom nadzwyczajnym. Są jeszcze zastępcy profesorów dla spraw naukowych (assistens directors of recherches). W skład pomocniczych sił naukowych wchodzi demonstratorzy, odpowiadający u nas asysten-

tom, w niektórych katedrach są nadto starsi asystenci specjalnie do badań naukowych (siniors assistens). Niektóre katedry na uniwersytetach są ustanowione przez prywatne fundacje i Państwo, na których profesorowie (regens professors) są zatwierdzani nie przez senat i wice-kanclerza, lecz przez króla; profesorowie ci są dożywotni. Na Wydziale weterynaryjnym w Cambridge pracują w charakterze wykładowców i kierowników katedr dwaj Polacy. Dr Sołtys jest kierownikiem katedry mikrobiologii; jest on ogólnie bardzo ceniony i znany ze swych prac zwłaszcza z dziedziny gruźlicy, odporności przeciw trypanosomom oraz stwierdzenia zarazków beztlenowych z grupy defterytycznej jako przyczyny zapalenia pęcherza moczowego i nerek u świń macior po odczuciu osesków. Dr Mann, kierownik katedry fizjologii i produkcji zwierząt, znany biotechnik, opracował test fruktolizowy, na podstawie którego ocenia się wartość spermy.

Zapis na Uniwersytet w Cambridge poprzedza obowiązkowo przyjęcie do koledżu (college) na podstawie świadectwa szkoły średniej oraz zdanego egzaminu wstępnego. Koledże są to domy wychowawcze, w których studenci mieszkają w czasie studiów. W Cambridge jest 21 koledżów, w których znajduje pomieszczenie około 7000 studentów; dwa koledże przeznaczone są dla studentek. Opłata roczna wynosi od studenta 500 funtów ang. Stypendia w kwocie do 350 funtów, państwowe i prywatne, mogą otrzymywać tylko ci studenci, których rodzice zarabiają mniej, niż 1500 funtów rocznie. W innych uniwersytetach, prócz Oxfordu, koledżów nie ma; studenci mieszkają we wspólnych domach lub prywatnie i są przyjmowani bezpośrednio na Uniwersytet. W r. 1955 otwarto nowo wybudowany budynek



Ryc. 2. Biblioteka

Wydziału weterynaryjnego w Cambridge w obecności Królowej, co świadczy o znaczeniu, jakie Państwo przywiązuje do weterynarii. Pomieszczenia poszczególnych zakładów są szczupłe, obejmują dwa do trzech pokoi, są natomiast dobrze wyposażone w aparaturę i sprzęt laboratoryjny. Obecnie buduje się jeszcze jed-