

BIOLOOGILISELT AKTIIVSETEST AINETEST HAAPSALU RAVIMUDAS (HUMIINHAPPED)

E. KEEL

Mudade ravitoimet seostatakse tavaliselt nende füüsikalis-keemiliste omadustega, soojustoimega ja soolade sisaldusega [22]. Mudade orgaaniliste koostisainete spetsiifilist toimet pole seni veel tõsisemalt arvestatud, kuigi kirjanduses esineb vastavaid viiteid.

Viimase kümne aasta jooksul eraldati mudadest mitmeid ravimpreparaate (peloido-destillaat, peloidiin jt.), mida kasutati kui biogeenseid stimulaatoreid sisaldavaid ravimeid väga mitmesuguste haiguste raviks. Mudadest orgaaniliste lahustitega eraldatud fraktsioonidel täheldati antibakteriaalseid omadusi [6,7].

Uuemates uurimustes ravimudade orgaaniliste koostisainete alal on eriti esile tõsetud humiinhappeid kui bioloogiliselt aktiivseid aineid [18]. E. Hiller näitas, et salitsüli-seeritud humiinhapete kümblustega [16] võib saada hüpofüüsi — neerupealisekoore hormoonsüsteemi aktiveerimist ning humiinhapete kümblustega [17] olulist mõju ferment hüaluronidaasile. V. A. Biber ja N. S. Bogoljubova näitasid limaanimudast, mustmullast ja turbast eraldatud humiinhapete bioloogilise aktiivsuse ühtsust akadeemik V. P. Filatovi biogeensete stimulaatoritega [4,5]. Lahused, mis sisaldavad 0,001—0,0001% humiinhappeid, stimuleerivad taimede elutegevust, suuremates kontsentratsioonides aga pidurdavad [12]. Humiinhapped väldivad taimede raudkloroosi [19].

Mõned ravimudade orgaanilist koostist uurinud autorid täheldasid, et need sisaldavad mikroelemente kindlas kvantitatiivses vahekorras mudade orgaanilise ainega [11]. N. M. Tšistjakov [15] täheldas Varzi-Jattši ravimudades vase, nikli ja mangaani hulga olevust humiinhappeist. Üleliidulisel hüdrokeemia nõupidamisel juhiti tähelepanu ravimudade orgaaniliste ainete ja mikroelementide vastastikuse mõju ja seose selgitamise vajadusele [1].

Lähtudes vajadusest anda mudade ravitoime küsimusele senisest täielikumat selektust, eraldati käesolevas töös Haapsalu ravimudast humiinhapete fraktsioon, mille mõningaid üldisi bioloogilisi omadusi uuriti.

Humiinhapete eraldamine

Haapsalu ravimuda kuivjääk sisaldab N. A. Derbentseva [7] andmeil 7,35% orgaanilisi aineid, millest 59,01% moodustab ligniin-huumuselise kompleksi. Oma uurimisteks kasutasime 1954. a. sügisel võetud muda, mida säilitati hermeetiliselt suletud nõus. Humiinhapete eraldamiseks kasutati alljärgnevat, lihtsustatud tehnoloogilise protsessiga meetodit. Selles ei rakendatud, erinevalt kirjanduses esitatud eeskirjadest, dekaltsineerimise, biitumifraktsiooni eraldamise ja dialüüsi protsesse. Leelishüdroksüüd asendati leeliskarbonaadiga, humiinhappeid hapendumise eest kaitsva CO₂ atmosfääri tekitamiseks. Humiinhapete naatriumisoolad eraldati sadestamisega, lisades alkoholi.

Eraldamise käik. Muda (kasutatul oli kuivjääki 22,6%) ekstraheeritakse algul külmalt (seismisel üle öö) võrdse kaaluhulga 3%-lise Na₂CO₃ lahusega. Segu soojendatakse siis 1 tund vesivannil 70° juures. Peale jahtumist lahustamatud osad eraldatakse ekstraktist tsentrifugeerimisel. Algeks-trakti hapustatakse 2 N soolhappega (kuni pH 4) ja soojendatakse siis 1 tund keeval vesivannil. Pärast jahtumist neutraliseeritakse 0,5N naatriumkarbonaadilahuse lisamisega kuni pH 7,1. Humiinhapete eraldamiseks lisa-

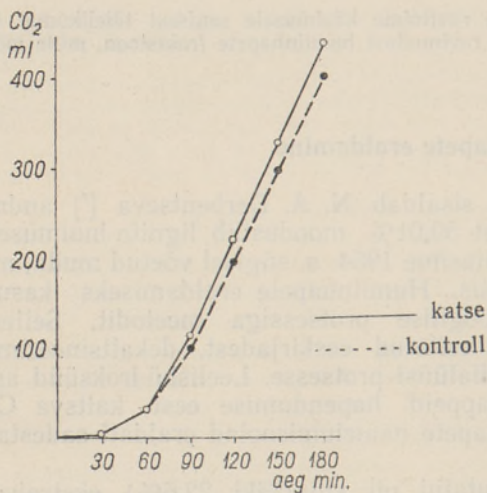
takse ekstraktile võrdne mahuosa etüülalkoholi, mis tekitab mahuka kolleidaalse sademe, mis eraldatakse tsentrifugeerimisega. Viimast tihendatakse ja puhastatakse alkoholi teistkordse lisamisega ja tsentrifugeerimisega. Sade lahustatakse destilleeritud vees, alkohol eemaldatakse soojendamise ja vesivannil ja lahust täiendatakse destilleeritud veega alg-ekstrakti kaaluni. Preparaat täidetakse ampullidesse, steriliseeritakse 1 tund 120° juures. Saadud humiinhapete lahus (HL) on pruuni värvusega neutraalse reaktsiooniga selge vedelik, mis sisaldab 0,24% kuivainet. Mineraalhapete, kaltsium- või raudkloriidi lisamisel annab mahuka pruuni sademe.

Humiinhapete lahuse lähemaks keemiliseks iseloomustamiseks hapustati lahust 2 N soolhappega, lisati võrdne maht alkoholi ja tsentrifugeeriti. Sadet pesti korduvalt alkoholiga ning lõpuks mitu korda bensooliga, pärast bensooli aurustumist kuivatati $80-90^{\circ}$ juures. Saadud jäägis määrati orgaaniliselt elementaaranalüüsil C ja H sisaldus. Leitud C hulk võeti humiinhapete kvantitatiivse sisalduse määramise aluseks, arvestades keskmise C-sisaldusena humiinhappeis 59% [21]. Humiinhapete lahuse kuivjäägist tuha ja humiinhapete hulga mahaarvamisel saadi teiste orgaaniliste ainete (töenäoliselt hümatomelaanhapped, biitumid) sisaldus. Selle järgi sisaldab HL tuhka 0,072%, humiinhappeid 0,095%, teisi orgaanilisi aineid 0,068% ning lahuse kuivjääk vastavalt 30,7% tuhka, 40,4% humiinhappeid, 28,9% teisi orgaanilisi aineid.

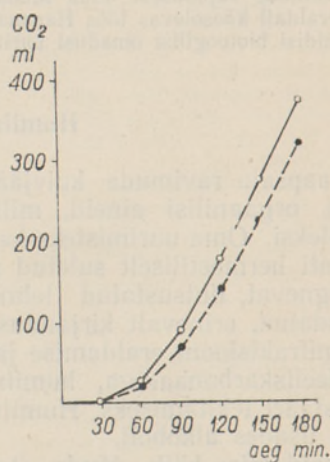
Ravimudast eraldatud humiinhapete fraktsiooni bioloogiline iseloomustus

Arvestades kirjanduse andmeid [4, 5], mille järgi mustmulla, turba ja limaanimuda humiinhapped osutuvad bioloogiliselt aktiivseteks aineteks, osutus vajalikuks anda ka käesolevas artiklis ravimudast eraldatud humiinhapete fraktsioonile bioloogiline iseloomustus. Testidena kasutati akadeemik V. P. Filatovi soovitatud pärmi käärimise [14], maisiseemnete idanemise ja nahadefekti paranemise [13] määramisi.

Joonistel 1 ja 2 esitatud kõverad näitavad, et humiinhapete mõõdukas



Joon. 1. HL mõju pärmi käärimisele. Pärmissuspensioon 0,85%-lises NaCl-lahuses — 200 ml + 20 g glükoosi + 5 ml HL (kontrollis 5 ml 0,85%-line NaCl-lahus) temp. 35° .



Joon. 2. HL ja $MnSO_4$ mõju pärmi käärimisele. Pärmissuspensioon 0,85%-lises NaCl-lahuses — 200 ml + 20 g glükoosi + 5 ml HL, 1 mg $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ (kontrollis 5 ml 0,85%-line NaCl-lahus) temp. 35° .

lisandamine aktiveerib käärimist, mida mangaansulfaadi lisandamine omakorda veel soodustab.

Katsetulemused HL mõjust maisiseemnete idanemisele on esitatud joonisel 3.

Nendest selgub, et HL lahjenduses 1 : 500 stimuleerib idanemisel juurte kasvu (pikkus, kaal) ning avaldab idandi kasvule pidurdavat toimet. Mangaansulfaadi lisandamine aga põhjustas idandi soodsamat kasvu.

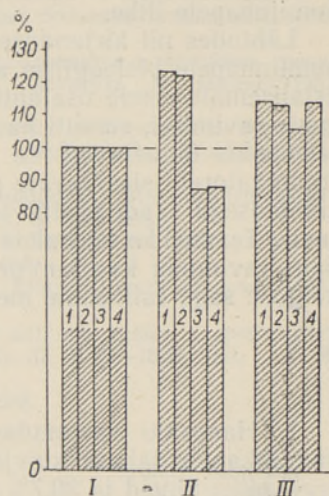
HL mõju selgitamisel nahadefekti paranemisele kasutati valgeid hiiri. Katsealustele hiirtele tekitati 5 mm läbimõõduga trepaniga selja tagumisel poolel depileeritud nahal tsirkulaarne defekt, mille paranemine toimub tsentrumi suunas. Ühele hiirte rühmale (5—8 hiirt) süstiti katse algul naha alla 0,2—0,4 ml 0,85% -list naatriumkloriidilahust, teisele rühmale sama kogus 0,85% -lise naatriumkloriidilahusega lahjendatud HL. Nahadefekti paranemist jälgiti defektivälja mõõtmisega iga 2 päeva järel.

Ilmselt nahadefekti paranemise kiirenemist täheldati katseseeriais, kus HL süstiti annuses 0,5—5 mikrolitrit ühekordselt. Suuremate annuste kasutamisel (0,01—0,2 ml = 10—200 mikrolitrit) ei esinenud nahadefekti paranemise kiirenemist.

Peale eeltoodud põhiliste näitajate kasutati HL bioloogilise aktiivsuse iseloomustamiseks veel ka katalaasi, mõjustades selle aktiivsust HL-ga. Määramisi teostati gasomeetriliselt reaktsiooni kiiruse jälgimisega 15 minuti vältel. Katalaasina kasutati veise vere erütrotsüütidest N. S. Drozdovi ja V. D. Kopõlova meetodi [8] järgi saadud fermentilahust. 0,6 ml fermentilahusele lisati 39,4 ml 0,1 M fosfaatpuhverlahust (pH = 6,8) ning 20 ml kaltsiumkarbonaadiga neutraliseeritud 1% -list vesinikülihapendilahust. Lisades sellele HL, lahjenduses 1 : 100, suurenes katalaasi aktiivsus 9%, võrreldes kontrolliga.

Kõnesoleva humiinhapete eraldamise katsega Haapsalu ravimudast saadi, arvestatult kuivainele, 0,7% humiinhappeid, mis on tunduvalt suurem mõnede lõunapoolsete ravimudade humiinhapete sisaldusest ning on ka kooskõlas meie ravimudade orgaanilise aine suurema sisaldusega üldse.

Arvestades asjaolu, et humiinhapped kujutavad endast väga keerulise struktuuriga kõrgmolekulaarseid aromaatseid happelise iseloomuga aineid, mille olemuse ja ühtsuse küsimused on kuni käesoleva ajani selgitamata, ei ole praegu võimalik ühe või teise lähteaine humiinhapete lähem iseloomustamine või keemiline analüüs. Seepärast osutus otstarbekohaseks iseloomustada Haapsalu ravimudast eraldatud humiinhapete fraktsiooni neile omase bioloogilise aktiivsuse mõningate näitajate kaudu. V. A. Biberi ja N. S. Bogoljubova andmetel soodustavad näiteks mustmulla humiinhapped palju tugevamini pärmi käärimisprotsessi, idanevate seemnete juurte kasvu ja nahadefekti paranemist, võrreldes turba humiinhapetega. Viimased avaldavad ainult vähest stimuleerivat toimet idandi arenemisele, pidurdades samal ajal juure kasvu pikkuses. Samade autorite järgi on limaanimuda humiinhapete bioloogiline toime võrdne mustmulla humiinhapete omaga. Mis puu-



Joon. 3. HL ja $MnSO_4$ mõju maisiseemnete idanemisele. I — juure pikkus, 2 — juure kaal, 3 — idandi pikkus, 4 — idandi kaal; I — kontroll, II — HL 1:500, III — HL 1:500 + $MnSO_4 \cdot 5H_2O$ 2 mg/L.

tub meie poolt Haapsalu ravimudast eraldatud humiinhapete bioloogilise aktiivsuse näitajate iseloomu, siis on need lähedased mustmulla ja limaanimudale. Seejuures näib tõenäolisena, et bioloogiliste näitajate hulga edasise laiendamisega võimaldub veelgi üksikasjalisemalt eristada mitmesuguseid humiinhapete liike.

Lähtudes nii kirjanduse andmeist kui ka meie endi tähelepanekutest humiinhapete bioloogilise aktiivsuse kohta, osutub vajalikuks uurida üksikasjalisemalt nende osatähtsust mudaravi faktoritena reuma ja teiste haiguste ravimisel, samuti ka nende rakendatavust ravimpreparaatidena. Seda seisukohta õigustavad rea autorite [^{2, 3, 9, 10, 20}] täheldused, kus biogeenseid stimulaatoreid sisaldavate preparaatide kasutamisega, samuti humiinhapete kumblusega saadi positiivseid tulemusi reuma ja infektsiooniliste artriitide ravil. Teaduslike uurimiste teostamist selles suunas nõuavad meilt nii laialdane ravimuda kasutamine meie vabariigi sanatooriumides kui ka reuma-haiguse sage esinemine meie elanikkonnas.

Järeldused

1. Haapsalu ravimudast lihtsustatud keemilise meetodiga eraldatud humiinhapete lahuse kuivjääk sisaldab 40,4% humiinhappeid, 28,9% teisi orgaanilisi aineid ja 30,7% anorgaanilisi ühendeid.

2. Haapsalu ravimudast eraldatud humiinhapete fraktsioon avaldab stimuleerivat toimet pärmi käärimise, maiseemnete idanemise, haava paranemisprotsessi ja ferment katalaasi aktiivsusse.

3. Seoses Haapsalu ravimudast saadud humiinhapete lahuse bioloogilise aktiivsuse sedastamisega osutuvad vajalikuks üksikasjalisemad uurimised humiinhapete osatähtsuse kohta mudaravi faktoreina reuma ja teiste haiguste ravil, samuti ka nende ainete rakendamiseks ravimpreparaatidena.

KIRJANDUS

1. Алекин О. А., Дацко В. Г. и Коновалов Г. С., Важные задачи гидрохимии. Вестник АН СССР, 1955, № 12, стр. 82—83.
2. Беленький М. С. и Рухельман Р. О., Грязевой раствор при лечении некоторых видов артритов. Врачебное дело 1950, № 7, стр. 613—618.
3. Беленький М. С., Дальнейшие наблюдения над применением грязевого раствора. Врачебное дело 1953, № 1, стр. 39—42.
4. Бибер В. А. и Боголюбова Н. С., О биологической активности почвенной и торфяной гуминовых кислот. ДАН СССР 1951, т. 76, № 2, стр. 313—316.
5. Бибер В. А. и Боголюбова Н. С., Гуминовая кислота лиманной грязи и ее биологическая активность. ДАН СССР 1952, т. 82, № 6, стр. 939—942.
6. Волкова О. Ю. и Шинкаренко А. Л., К вопросу о механизме бактерицидного действия тамбуканской грязи. Труды Государственного научно-исследовательского бальнеологического института на Кавказских Минеральных Водах. Пятигорск 1946, т. 23—25, стр. 92—99.
7. Дербенцева Н. А. и Хованова А. М., К вопросу о химическом составе и бактерицидных свойствах эстонских лечебных грязей. Известия АН ЭССР 1955, т. 4, № 1, стр. 123—133.
8. Дроздов Н. С. и Копылова В. Д., Каталаза эритроцитов быка. ДАН СССР 1953, т. 92, № 1, стр. 135—137.
9. Зворыкина В. Н., Применение тканевой терапии при ревматизме. Труды Куйбышевского мединститута. 1954, т. 5, стр. 276—281.
10. Ильинский П. И., Кольпиков и Королева Н. И., К вопросу лечения ревматизма у детей водным грязевым экстрактом. Вопросы педиатрии и охраны материнства и детства. 1950, т. XVIII, вып. 3, стр. 12—16.
11. Китаер Э. Ю., О микроэлементах лечебной грязи. Изыскание и использование курортных ресурсов. Тезисы докладов научной конференции 23.—26. I 1951. Москва, 1951, стр. 55—56.
12. Кухаренко Т. А., Гуминовые кислоты и их использование. Природа 1955, № 8, стр. 86—89.

13. Сысоев А. Ф. и Скрипченко С. Н., Биологическая активность отгона из морской воды. Ученые записки т. II. Украинский экспериментальный институт глазных болезней имени академика В. П. Филатова. Киев, 1952, стр. 30—34.
14. Филатов В. П., Бибер В. А. и Адаманис А. И., Определение активности биогенных стимуляторов на подъемную силу дрожжей. Ученые записки т. I. Украинский экспериментальный институт глазных болезней имени академика В. П. Филатова. Одесса 1949, стр. 106—113.
15. Чистяков Н. М., О содержании некоторых микроэлементов в лечебных грязях Варзи—Ятчи. Труды Ижевского медицинского института X. Ижевск 1951, стр. 9—12.
16. Hiller, E., Ein Beitrag zum Problem der Wirkungsweise balneologischer Massnahmen mit salzylisierten Huminsäuren. «Deutsche Medizinische Wochenschrift», 1952, 77, Nr. 27/28, S. 856—859.
17. Hiller, E., Untersuchungen zur Wirksamkeit balneologischer Massnahmen. «Deutsche Medizinische Wochenschrift», 1954, 79, Nr. 13, S. 500—503.
18. Internationales Balneologisches Kongress der ISMH in Deutschland 1952. «Schweizerische Medizinische Wochenschrift», 1954, Nr. 14, 404.
19. De Kock, P. C., Influence of Humic Acids on Plant Growth. «Science» 1955, 121, No. 3144, p. 473—474.
20. Pasquali, L., Arpesella, G., Considerazioni sull'uso clinico e sperimentale della terapia tessutale. «Riforma med.» 1953, 67, No 37, 1027—1028. Tsit. P. Ж. Биология 1955, № 8, 20057.
21. Souci, S. W., Die Chemie des Moores. Stuttgart, 1938.
22. Vadi, V., Eesti tervismuda. Tartu 1947, lk. 72—80.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalse ja Kliinilise Meditsiini Instituut

Saabus toimetusse
22. XII 1956

О БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВАХ В ХААПСАЛУСКОЙ ЛЕЧЕБНОЙ ГРЯЗИ (ГУМИНОВЫЕ КИСЛОТЫ)

Э. Ю. КЕЕЛЬ

Резюме

При помощи упрощенного химического метода из Хаапсалуской лечебной грязи была выделена фракция гуминовых кислот, содержащая 40,4% гуминовых кислот, 28,9% прочих органических соединений и 30,7% золы. Были определены некоторые биологические свойства 0,24-процентного раствора этой фракции (HL), выражающиеся в стимулирующем действии на брожение дрожжей, прорастание семян кукурузы, заживление кожного дефекта и активность фермента каталазы.

Необходимы дальнейшие подробные исследования о роли гуминовых кислот как фактора грязелечения при ревматизме и других заболеваниях, а также о возможности применения этих веществ в качестве лекарственных препаратов.

Институт экспериментальной и клинической медицины
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
22 XII 1956

BIOLOGISCH AKTIVE STOFFE IM HEILSCHLAMM VON HAAPSALU (HUMINSÄUREN)

E. Keel

Zusammenfassung

Mit Hilfe einer einfachen chemischen Methode wurde aus dem Heilschlamm von Haapsalu eine Huminsäurefraktion isoliert, deren Gehalt zu 40,4% aus Huminsäuren, zu 28,9% aus anderen organischen Verbindungen und zu 30,7% aus Salzen bestand. An einer 0,24%-gen Lösung dieser Fraktion (HL) wurden einige biologische Eigenschaften des Präparates untersucht, die in stimulierender Wirkung auf die Hefegärung, auf die Keimung der Maissamen, auf die Regeneration von Hautdefekten und auf die Aktivität der Katalase bestanden. Zu betonen ist die Zweckmässigkeit weiterer Untersuchungen über die Rolle der Huminsäuren bei der Schlammbatherapie des Rheumatismus und anderer Krankheiten, sowie über die Verwendung dieser Stoffe als Heilmittel überhaupt.

Institut für experimentelle und klinische Medizin
der Akademie der Wissenschaften der Estnischen SSR

Eingegangen
am 22. Dez. 1956