

A tőzegfulvosavak ferri-ionra kifejtett redukáló hatásának vizsgálata II.

BÉRES TIBOR és KIRÁLY ILONA

Orvostudományi Egyetem, Gyógyszerismereti Intézete, Budapest

A fulvosavak redukáló tulajdonságának felismerése és vizsgálata során elsősorban a ferrivasra kifejtett hatását [1], annak körülményeit és feltételeit igyekeztünk tisztázni [2], mivel a biológiai folyamatokban a redukált ferrovas mennyisége, illetve a ferri-ferro vas viszonyának alakulása döntő tényező.

A fulvosavak ferrivasra kifejtett redukáló hatásának vizsgálata során az oldat pH-ját változtatva megállapítottuk, hogy a ferri-ferro vas viszonya a savkoncentrációval arányosan változik: mégpedig a n savas közegből a semleges felé haladva a viszony a ferrovas javára tolódik el. A ferrovas mennyiség növekedése a 0,01 n sósavas (pH 2—3) oldatban az általunk használt módszerekkel még jól mérhető volt. A pH 5-ös közegben a ferrovas mennyisége tovább növekedett. Az oldat pH-jának a semleges felé való további közelítések azonban az oldatból a vasnak bizonyos fokú kicsapódásával kell számolnunk, ami a mérések eredményeit bizonytalanná teszi.

Különböző töménységű (0,01—1%-os) fulvosavas-oldatokkal végzett kísérleteink azt a meglepő eredményt adták, hogy a híg fulvosav oldatoknak a ferrivasra kifejtett redukáló képessége viszonylagosan összehasonlíthatatlanul nagyobb, mint a töményebb oldatoké. Pl. az 0,01 %-os oldatban a fulvosav redukáló képessége az aszkorbinsav redukáló képességét is eléri.

Feltűnő továbbá, hogy a különböző koncentrációjú fulvosavoldatokban a redukció időbeli lefolyása is lényeges különbségeket mutat: míg a kis töménységű (0,35%-osnál hígabb) oldatokban szobahőmérsékleten a redukció maximális értékeit az első órákban éri el — és később lényeges reoxidáció következik be — addig az ennél nagyobb koncentrációjú oldatokban a redukció lassan tovább folyik.

A hőmérséklet szerepét vizsgálva megállapítottuk, hogy a különböző töménységű fulvosav-oldathoz adott ferrivasból a 10 perces forralás alatt redukálódott vas mennyisége határozott értékeket mutat és matematikai képlettel kifejezhető görbét ad. Ennek alapján, megadott feltételek mellett, a fulvosavak ferrivasra kifejtett redukáló hatása alkalmasnak látszik a fulvosavak kvantitatív meghatározására is. Tehát pl. 0,1 n sósav oldatban 30 mg % ferri-ion hozzáadására a különböző koncentrációjú (0,01—1%-os) oldatokban végzett komplexometriás ferrivas meghatározásokból a képlet alapján az oldat fulvosav koncentrációja kiszámítható [2].

A továbbiakban azt vizsgáltuk, hogy a redukció mértéke és befolyása függ-e az oldathoz adott ferri-ionok mennyiségétől, tehát az előbbi görbe érvényes-e bármely ferri-ion koncentráció esetében is.

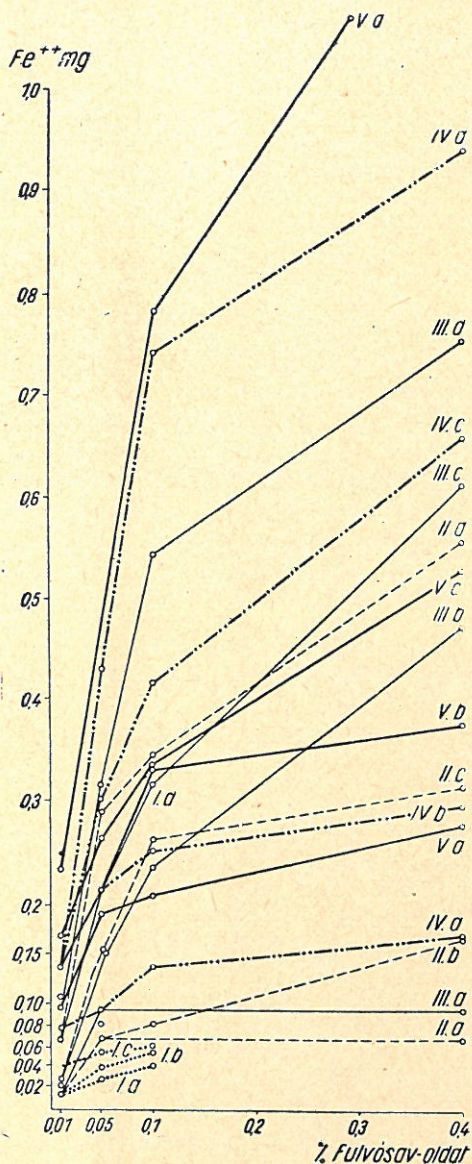
Kísérleti rész

Vizsgálati módszer: 0,01, 0,05, 0,1 és 0,4%-os nyers tőzegfulvosav 0,1 n sósavas oldatának 100 ml-éhez 3,5, 7, 12, 16, 18, 19, 20 és 22 mg ferrivasat tartalmazó ferri-klorid-oldatot adtunk és szobahőmérsékleten 0, 6 és 24 órai állás után, illetve 10 perces

forralás után komplexometriás módszerrel [2, 8] meghatározzuk az oldat ferrivas tartalmát. Kísérleti eredményeinket az 1. ábrán grafikusán közöljük.

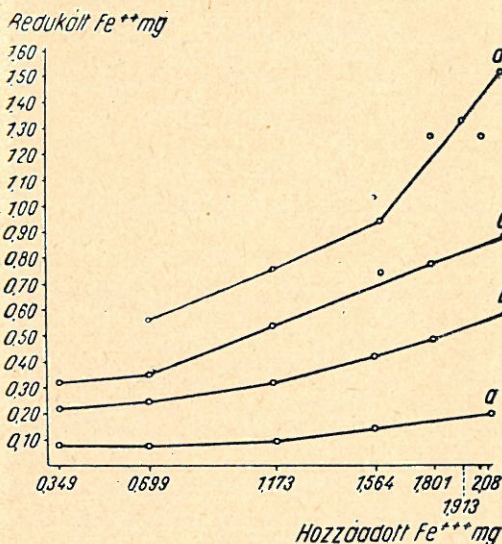
Az 1. ábrából megállapítható, hogy ugyanolyan töménységű fulvosav-oldatok a hozzáadott nagyobb mennyiségű ferrivasból abszolút értékben nagyobb mennyiséget redukálnak ferrovassá. A hőmérséklet, az időtartam és a savkoncentráció befolyása a redukcióra változatlanul érvényesül ezekben az esetekben is, előző dolgozatunkban leírt tapasztalatokkal megegyezően.

A 2. ábrán az oldathoz adott különböző ferrivas mennyiségből különböző töménységű fulvosav-oldatok által redukált ferrovassá mennyiségét (az eredetileg hozzáadott ferrivas mennyiségének és a 10 perces forralás után mért ferrivasértékének különbségét) ábrázoljuk grafikusán.



1. ábra

Különböző töménységű fulvosav-oldatokhoz adott különböző mennyiségű ferrivasból redukálódott vas mennyisége. 0, 6, 24 órás állás, illetve 10 perces forralás után 0,1 n sósavas oldatban a: 0 órai, b: 6 órai, c: 24 órás állás után, d: 10 perces forralás után. Ferrivas hozzáadása esetében mg%: I: 3,5, II: 7, III: 12, IV: 16, V: 18.



2. ábra

Különböző töménységű fulvosav-oldatok által különböző mennyiségű ferrivasból redukált ferrovassá mennyisége 10 perces forralás után. a: 0,01, b: 0,05, c: 0,1, d: 0,4%-os fulvosav oldatban

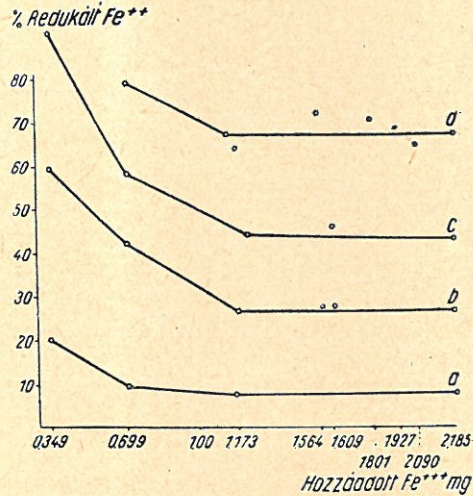
A 2. ábrából is megállapítható, hogy az oldathoz adott ferrivas mennyiségének növelésével a redukálódott ferrovas mennyisége abszolút értékben emelkedik. Ez az emelkedés a fulvosavoldat töménységével nő ugyan, de a redukálódott vas mennyisége viszonylag a híg oldatokban a legnagyobb. Ez a kísérleti eredmény még szemléletesebben látható a 3. ábrán, ahol az oldathoz adott különböző mennyiségű ferrivasból redukálódott ferrovas mennyiségét %-osan fejeztük ki.

Ugyanezen ábrából megállapítható az is, hogy a hozzáadott kisebb mennyiségű ferrivasból a különböző koncentrációjú fulvosavoldatok egyaránt %-osan nagyobb mennyiséget redukálnak. Megállapítható továbbá, hogy a kb. 10—12 mg %-nál nagyobb mennyiségű ferrivasat tartalmazó oldatokban a redukált vas mennyisége %-osan gyakorlatilag állandónak mutatkozik az általunk vizsgált 22 mg %-ig.

A továbbiakban azonos feltételek között, de 0,01 n sósavas oldatban végeztük el az előbbi kísérletet, melynek eredményeit a 4. ábrán foglaltuk össze.

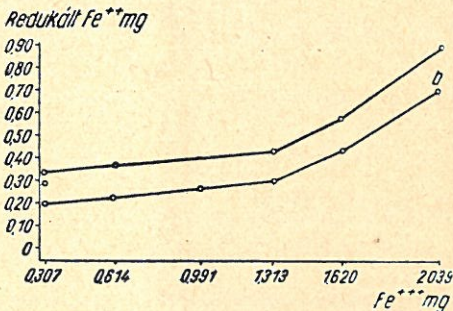
A 4. ábra lényegében a 2. ábra grafikonjaival egyezik: tehát a 0,1 és 0,01 n sósavas oldatban a redukció gyakorlatilag hasonlóan megy végbe.

Kísérleteink eredményei biológiai szempontból is felvilágosítást adnak számos olyan kérdés magyarázatára, melyek növényélettani közleményekből ismeretesek. Így pl. magyarázatot adhatnak arra a megállapításra, mely szerint a humin-, ill. fulvosavak a gyökérképződésre [7, 9] és a növényi sejtlélegzésre [4] gyakorolt serkentő hatásukat nagy hígításokban fejtik ki a legerőteljesebben.



3. ábra

Az oldathoz adott különböző mennyiségű ferrivasból redukálódott ferro vas %-os mennyisége 10 perces forralás után különböző töménységű fulvosav-oldatokban. a: 0,01, b: 0,05, c: 0,1, d: 0,4 %-os fulvosav-oldat



4. ábra

Az oldathoz adott különböző mennyiségű ferrivasból redukálódott vas mennyisége 10 perces forralás után 0,05 és 0,1 %-os fulvosav 0,01 n sósavas oldatában. b: 0,05, c: 0,1 %-os fulvosav-oldat

Niklowsky [9] adatai szerint víz és homok kultúrában az oldható humuszanyag optimális töménysége 0,007% (a homok mennyiségéhez viszonyítva). Hriszteva [7] kísérleti eredményei szerint pedig az oldott huminsavas sók 0,01—0,001 %-os töménységben fejtik ki legszebben serkentő hatásukat. — Ha a ferri ion redukációja ferrová, vagyis e reakció alkalmával felszabaduló elektron valami szerepet játszik a serkentő hatás létrejöttében, akkor — kísérleti eredményeink szerint a fulvosavak ilyen hígításban relatíve maximális elektron felszabadító tulajdonsággal rendelkezvén — a serkentő hatás egyik eredőjét így létrehozhatják.

Állatkísérletekben megállapítottuk [3], hogy a tőzegfulvosav — per os, vagy

parenterálisan adva — kis dózisokban, tehát nagy hígításokban alkalmazva, olyan megcélzó májvédő hatást fejt ki bizonyos májkárosító, mérgező anyagokkal szemben, mely a gyógyszerhatástan tapasztalatai szerint eddig egyetlen más vegyülettel (gyógyszerrel) sem volt elérhető. Ezek a májkárosító anyagok, mint pl. a széntetraklorid, arzéntrioxid, gyilkos galóca (*Amanita phalloides*) mérge, továbbá a csersav, allil-alkohol stb. az eddigi kutatások alapján, illetve az irodalom mai felfogása szerint azáltal fejtik ki májkárosító hatásukat, hogy az egyes enzimek szulfhidril-csoportját lekötik és ezáltal az enzimműködést bénítják [5, 6]. A fulvosav ezekkel a mérgező anyagokkal szemben nagyszámú állatkísérleteinkben szövettani vizsgálatokkal igazolt szignifikáns májvédő hatást fejtett ki [3].

A fentebb felsorolt anyagokkal szemben — ahol a szulfhidril-csoport lekötésével magyarázható az enzimműködés bénítása — a cisztein és közeli kémiai rokonai fejtenek ki még bizonyos fokú, bár kisebb mértékű májvédő hatást. Ezek alapján feltételezhetjük, hogy a fulvosav májvédő hatásának mechanizmusa a cisztein-csoportéhoz hasonló alapokon mehet végbe. Kísérleti eredményeink tehát kiindulási alapul szolgálhatnak a májvédőhatás mechanizmusának megismeréséhez, melyben a fulvosav mint egy enzimszisztéma egyik faktora szerepelhet.

Összefoglalás

Összefoglalva a kísérletek eredményeit, bebizonyítottuk, hogy a fulvosavaknak a ferrivasra kifejtett redukáló hatása igen bonyolult, de meghatározott törvényszerűségek mellett végbemenő kémiai folyamat. A redukció folyamatát befolyásolja a pH, a hőmérséklet, az időtartam, a fulvosav-oldat koncentrációja, sőt a hozzáadott ferrivas mennyisége is.

Feltűnő az, hogy a redukció az igen kis fulvosav és ferri-ion koncentráció esetében még végbe viszonylag a legnagyobb mértékben (1. ábra). Az oldathoz adott ferri-ion mennyiségét az általunk vizsgált legmagasabb koncentrációig (22 mg%) növelve azt tapasztaltuk, hogy ezzel párhuzamosan a redukálódott ferrovassal növekszik a ferrivas mennyisége, vagyis az oldatban a ferrivas mennyisége csökken. A redukálódott ferrovassal növekszik a 2., 3., 4. ábrán közölt grafikonok szerint változik az oldathoz adott ferrivas mennyiségének változtatásával.

A bevezetésben hivatkozott növényélettani irodalmi adatok [4, 7, 9], az általunk végzett állatkísérletek eredményei [3], továbbá a jelenleg közölt kísérleteink tapasztalatai alapján a *fulvosavak-ferro-ferri-ion* rendszert mint egy enzimszisztéma egyik tagjaként foghatjuk fel. Kutatásainkat ebben az irányban kívánjuk folytatni a fulvosavak hatásmechanizmusának további tisztázása céljából.

Érkezett: 1958. május 10.

Irodalom

- [1] Béres, T. & Király, I.: A fulvosavak vassal képzett vegyületeiről. Agrokémia és Talajtan. 6. 167—176. 1957.
- [2] Béres, T. & Király, I.: A tőzegfulvosavak ferri-ionra kifejtette redukáló hatásának vizsgálata. Agrokémia és Talajtan. 7. 151—162. 1958.
- [3] Béres, T., Kabdebo, S., Kovács, F., Nemeséri, L., Székely, A. & Vízny, L.: Vizsgálatok a fulvosav terápiás alkalmazásáról, különös tekintettel májvédő hatására. Magyar Állatorvosok Lapja. 11. 351—52. 1957.
- [4] Biber, V. A. & Magazinov, K. M.: O vlijanii guminovüh i fulvovüh kizsot na duhanie izolirovanüh rasztitel'nh tkanej. Dokladi Akad. Nauk SSSR. 76. 609—612. 1951.
- [5] Eger, W.: Arzneiforschung 7. 601. 1957.

- [6] *Himsworth, H. P.*: Lectures on the liver and the diseases comprising the Lowell lectures delivered. 2, ed. Blackwell, Oxford. 1950.
- [7] *Hriszteva, L. A.*: Rabotü o organicesezskomu vzeszesztvu pocsvü. Izd. Akad. Nauk SSSR. Moszkva. 1951.
- [8] *Magyar Gyógyszerkönyv. V. kiadás. Egészségügyi kiadó. Budapest. 1954.*
- [9] *Niklewsky, B. & Wojciechowszky, Y.*: Über den Einfluss der wasserlöslichen Humusstoffe auf die Entwicklung einiger Kulturpflanzen. Bodenkunde Pflernähr. 4. 294—327. 1937.

ИЗУЧЕНИЕ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ФУЛЬВОКИСЛОТ ТОРФА НА ФЕРРИ — ИОНЫ. II.

Т. Береш и И. Кирай

Институт испытания лекарств Медицинского Университета, Будапешт (Венгрия)

Резюме

Подводя итоги результатов исследований можно сказать, что восстановительное действие фульвокислот на ферри — железо зависит от рН, от температуры, продолжительности воздействия, концентрации растворов фульвокислот, а так же от количества прибавленного ферри — железа. Интересно, что восстановление происходит относительно наиболее интенсивно при очень низких концентрациях фульвокислот и ферри — ионов (см. рис. 1). При увеличении количества прибавленных к раствору ферри — ионов до изученной наивысшей концентрации (22 мл/%) оказалось, что параллельно увеличивается и количество восстановленного ферро — железа, т. е. в растворе количество ферри — железа снижается. Количество восстановленного ферро — железа изменяется при различных количествах прибавленного к раствору ферри — железа, что видно на рисунках 2, 3, 4.

На основе приведенных в вводной части литературных данных по физиологии растений (4, 3, 7), так же на основе наших опытов с животными (3) и на основе данных настоящей статьи, автор делает вывод, что между этими явлениями существует тесная связь и систему фульвокислоты — ферро — ферри — ионов можно считать ферментной системой. Дальнейшие исследования проводятся по выяснению механизма действия фульвокислот.

Рисунок 1. Количество восстановленного железа, образованного из ферри — железа, прибавленного в разном количестве к растворам фульвокислот различной концентрации после стояния в течение 0, 6, 24 часа и после кипячения в 0,1 n соляной кислоте в течение 10 минут.

a	}	после стояния	0	}	часов	
b						6
c						24

d после кипячения в течении 10 минут.

I.	}	в случае прибавления ферри железа	3,5
II.			7
III.			12
IV.			16
IV.)		в мг %	18

Рисунок 2. Количество восстановленного железа, образованного из ферри — железа, прибавленного к растворам фульвокислот различной концентраций, после кипячения в течение 10 минут. a) 0,01, b) 0,05, c) 0,1, d) 0,4 в процентных растворах фульвокислот.

Рисунок 3. Процентное количество восстановленного железа, образованного из прибавленного к раствору ферри — железа в различных количествах, после кипячения в течение 10 минут в растворах фульвокислот различной концентрации.

a) 0,01, в) 0,05, c) 0,1, д) 0,4 в процентных растворах фульвокислот.

Рисунок 4. Количество восстановленного железа, образованного из прибавленного к раствору ферри — железа в различных количествах после кипячения в течение 10 минут в 0,05 и 0,01 % -ых растворах фульвокислот в 0,01 солянокислой среде.

Further Studies on the Capacity of Peat Fulvic Acid to Reduce Ferric Ions

T. BÉRES and I. KIRÁLY

Institute for Pharmacognosy, Medical University, Budapest (Hungary)

Summary

Temperature and duration of the experiment, pH, concentration of fulvic acid, and even the amount of ferric ions present in the system have been found to affect the reduction of ferric iron by fulvic acid (figs. 1—4.). As the most conspicuous feature of these results, it is stressed, that relative reduction is greatest in systems containing ferric ions and/or fulvic acid in extreme dilution (fig. 1.), though the amounts of ferrous iron are increased by increasing the concentration of ferric iron and/or fulvic acid (figs. 2., 3., and 4.).

The possibility of a close correlation between the results of in vitro experiments with the pure chemical system described above, and various data concerning the biological effectivity of fulvic acids obtained by the authors in earlier toxicological studies [3] is discussed in detail. It is suggested, supported also by the literature on the physiological effects of fulvic acids on plants [4, 7, 9], that fulvic acid — ferro — ferri ion systems might operate in most respects like enzyme systems. To test this hypothesis, further investigations are under way to elucidate the mode of biological action of fulvic acids.

Fig. 1. Amounts of ferrous iron reduced in 0,1 N HCl from different amounts of the ferric form as a function of fulvic acid concentration. Treatments: mixture standing at room temperature for a = 0 hours, b = 6 hours, c = 24 hours, and d = boiled for ten minutes. The amounts of ferric iron added: I = 3,5 mg%, II = 7 mg %, III = 12 mg %, IV = 16 mg % and V = 18 mg %.

Fig. 2. The amount of ferrous iron reduced by fulvic acid as a function of ferric ion concentration. Treatment: boiling for 10 minutes in 0,1 N HCl. Fulvic acid concentration: a = 0,01%, b = 0,05%, c = 0,1%, and d = 0,4%.

Fig. 3. Percentage amount of ferrous iron reduced by fulvic acid as a function of ferric ion concentration. Experimental treatment: boiling for 10 minutes in 0,1 N HCl. Fulvic acid concentration: a = 0,01%, b = 0,05%, c = 0,1%, and d = 0,4%.

Fig. 4. The amount of ferrous iron reduced by fulvic acid as a function of ferric ion concentration. Treatment: boiling for 10 minutes in 0,01 N HCl. Fulvic acid concentration: b = 0,05%, c = 0,1%.