

URZĄD PATENTOWY w WARSCHAU A61K 17/08 OPIS PATENTOWY

Nr 31203

Kl. 30 h, 7

Państwowy Zakład Higieny, Warschau*)

Sposób otrzymywania hormonu thyreotropowego

Zgłoszono 4 maja 1938
Udzielono 1 grudnia 1942

Stosowane dotąd metody otrzymywania hormonu thyreotropowego, pobudzającego czynności tarczycy, z przedniego płatu wółowej lub cielęcej przysadki mózgowej polegały przede wszystkim na uprzednim odwadnianiu i odtłuszczaniu materiału wyjściowego za pomocą acetonu. Przedni płat przysadki mózgowej przygotowany w sposób powyższy, krajano następnie i suszono w aparacie próżniowym, po czym rozcierano na proszek, z którego otrzymywano wyciągi oczyszczane za pomocą rozmaitych rozpuszczalników. Z wyciągów tych strącano w końcu substancję czynną i oczyszczano ją odpowiednimi odczynnikami.

Metody te posiadają znaczne wady, albowiem odwadnianie i odtłuszczanie pł-

tów za pomocą acetonu wymaga długiej i kosztownej przeróbki.

Sposób według wynalazku niniejszego usuwa wady dotychczas znanych i stosowanych sposobów otrzymywania hormonu thyreotropowego. Według wynalazku miazgę z surowego przedniego płatu przysadki mózgowej zalewa się alkoholem etylowym, zawierającym dodatek kwasu octowego; alkohol ten przy odpowiednim stężeniu służy jako rozpuszczalnik hormonu oraz środek zapobiegający psuciu się materiału przerabianego. Obecność w alkoholu kwasu octowego już w pierwszym okresie przeróbki miazgi z przedniego płatu przysadki mózgowej strąca większą część białka

*) Właściciel patentu oświadczył, że wynalazcą jest Tomasz Spasowicz, Warschau.

i nie dopuszcza do rozpuszczania się dużych ilości białka obojętnego.

Oczyszczania i stężanie roztworów hormonu thyreotropowego przeprowadza się przy użyciu sączków wytwarzanych z kolidium. Otrzymywanie hormonu thyreotropowego sposobem według wynalazku wykonywa się w uproszczonej aparaturze przy zastosowaniu tanich odczynników, co obniża wydatnie koszty produkcji. Przez bezpośrednie przerabianie świeżej przysadki mózgowej unika się stosowanego przy poprzednich metodach długotrwałego i niedogodnego suszenia, krajania oraz uciążliwego mielenia suszonych gruczołów. Ponadto cały proces przygotowania hormonu thyreotropowego sposobem według wynalazku odbywa się w temperaturze nie przekraczającej $+20^{\circ}\text{C}$, przy czym unika się gotowania i odparowywania roztworów hormonu, wrażliwego na wyższe temperatury.

Poniżej podaje się szczegółowy przykład otrzymywania hormonu thyreotropowego sposobem według wynalazku.

Przedni płat, wyłuskany ze świeżej lub w stanie świeżym zamrożonej wołowej albo cielęcej przysadki mózgowej, po usunięciu płatu tylnego, miele się dokładnie na miazgę, którą następnie zalewa się 50%-ym alkoholem etylowym, zawierającym 0,1%—0,8% stężonego kwasu octowego na 1 litr alkoholu, w ilości podwójnej w stosunku do wagi miazgi wziętej do przeróbki. Istotne znaczenie posiada końcowe stężenie wyciągu alkoholowego, w którym zawartość alkoholu winna się wahać w granicach 15%—30%, przy czym najlepsze wyniki uzyskano przy stężeniu w granicach 20%—22,5%. Mieszaninę miazgi z alkoholem etylowym, uzyskaną w ten sposób, miesza się mechanicznie z przerwami w przeciągu 24 godzin a następnie wiruje na wirówce szybkiej. Ciecz zlewa się do odpowiedniego naczynia i przechowuje w chłodni w temperaturze $+3^{\circ}$ — 4°C , a pozostałą miazgę rozrabia się 22%-owym alkoholem w ilo-

ści 1,5 objętości na jednostkę wagi, np. 1,5 l alkoholu na 1 kg miazgi, w przeciągu 8—12 godzin, następnie mieszaninę poddaje odwirowywaniu, a otrzymany wtórny wyciąg łączy z wyciągiem pierwszym.

Przez zmieszanie połączonych wyciągów o reakcji kwaśnej z 10-ciokrotną ilością alkoholu etylowego, zawierającego 5%—10% alkoholu metylowego, strąca się substancję czynną wraz z białkiem obojętnym. W wyniku otrzymuje się osad cielistego koloru, który po 12—18 godzinach opada na dno naczynia. Ciecz odlewa się, osad przemyciwa kilkakrotnie na wirówce 96%-owym alkoholem etylowym z dodatkiem 5%—10% alkoholu metylowego, a następnie eterem i suszy w temperaturze $+15^{\circ}$ — 20°C pod ciśnieniem zmniejszonym. Proszek, otrzymany w ten sposób, rozciera się, po czym traktuje go rozcieńczonym kwasem octowym o stężeniu jonów wodorowych $p_{\text{H}}=3$ i pozostawia na kilkanaście godzin w chłodni, a w końcu poddaje odwirowywaniu. Ciecz zawierającą hormon zlewa się do naczynia. Osad zaś rozciera się powtórnie z kwasem octowym o stężeniu jonów wodorowych $p_{\text{H}}=3$ w ilości około 5-krotnej w stosunku do wagi osadu i poddaje odwirowywaniu. Oba wyciągi wodne z wirówki łączy się ze sobą i strąca 10-krotną ilością stężonego alkoholu etylowego z dodatkiem 5%—10% alkoholu metylowego. Cały zabieg opisany w niniejszym ustępie powtarza się trzykrotnie. W wyniku otrzymuje się biały proszek, rozpuszczający się w kwasie octowym o stężeniu jonów wodorowych $p_{\text{H}}=3$, lekko opalizujący. Jeden miligram tego proszku zawiera 2—3 jednostki hormonu thyreotropowego. Proszek ten przechowuje się w ampułkach zatopionych, z których uprzednio usunięto powietrze.

W celu otrzymania roztworu hormonu thyreotropowego, nadającego się do celów leczniczych, rozpuszcza się otrzymany w powyższy sposób proszek w kwasie octowym o stężeniu jonów wodorowych $p_{\text{H}}=3$.

Ciecz pozostawia się w chłodni na przeciąg około 12 godzin, następnie poddaje odwirowywaniu w celu usunięcia nieznacznego osadu, po czym filtruje. Przefiltrowaną ciecz, zawierającą hormon thyreotropowy, oczyszcza się przez przepuszczanie jej przez 2,5%-owy sączek z kolodium, przez który przechodzi hormon, natomiast obce substancje pozostają na filtrze.

Z przesączu, otrzymanego w przedstawiony powyżej sposób i zawierającego hormon thyreotropowy, można otrzymać hormon w roztworze o dowolnym stężeniu przez dalsze przepuszczanie przesączu przez sączki z 10%-owego kolodium, które przy tym stężeniu przepuszcza wodę i sole, natomiast nie przepuszcza hormonu.

Zastrzeżenia patentowe.

1. Sposób otrzymywania hormonu thyreotropowego z przedniego płatu surowej wołowej lub cielęcej przysadki mózgowej;

znamienny tym, że zmieloną na miazgę przysadkę zalewa się mniej więcej 50%-ym roztworem wodnym alkoholu etylowego, zawierającym 0,1%—0,8% kwasu octowego, przy czym alkoholu bierze się tyle, aby końcowe jego stężenie w wyciągu wynosiło 15%—30%, po czym wyciąg traktuje się 10-ciokrotną ilością alkoholu etylowego, zawierającego 5%—10% alkoholu metylowego, a otrzymany osad odwirowuje i suszy pod ciśnieniem zmniejszonym.

2. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że w celu dalszego oczyszczania hormonu thyreotropowego wysuszony i sproszkowany osad traktuje się rozcieńczonym kwasem octowym, a otrzymany roztwór przepuszcza się najpierw przez 2,5%-owy, a następnie przez 10%-owy sączek z kolodium.

Państwowy Zakład Higieny
Zastępca: dr A. Ponikło
rzecznik patentowy