



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

256 635

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 25 04 86
(21) PV 2994-86.F

(51) Int. Cl.⁴
B 01 D 11/00

(40) Zveřejněno 17 09 87
(45) Vydáno 01 03 89

(75)
Autor vynálezu

KRÁSL LUBOMÍR,
ČERVENKA JOSEF,
DURDIL PETR ing. CSc.,
REVAJNEC STANISLAV, PRAHA

(54)

Způsob extrahování polyvalentního inhibitoru
proteáz z živočišných žláz

Způsob extrakce polyvalentního inhibitoru proteáz ze živočišných žláz, například z hovězích plic, vodným roztokem organických rozpouštědel, například etanolu, s přídavkem rozpustných anorganických solí při zvýšené teplotě spočívá v tom, že živočišná tkáň se extrahuje ve dvou fázích, přičemž v první fázi se živočišná tkáň extrahuje za míchání v oblasti vysoké turbulence po dobu 3 až 8 hodin s výhodou 5 hodin při pH 5,5 až 6,7 s výhodou 6,5 při teplotě 40 až 45 °C vodným roztokem etanolu o hmotnostní koncentraci 70 až 80 % s přídavkem 1 až 3 % hmot. chloridu vápenatého, v druhé fázi se živočišná tkáň extrahuje za míchání v oblasti laminární za současného zředění směsí vodou na 10 až 90 % původní koncentrace etanolu s výhodou na 60 % původní koncentrace po dobu 1 až 18 hodin, s výhodou 16 hodin při pH 5,5 až 6,5 při teplotě 18 až 40 °C a ze získané suspenze se pevná fáze oddělí a extrakt se zpracuje známým způsobem.

Vynález se týká způsobu extrahování polyvalentního inhibitoru proteáz z živočišných žláz.

Postup získávání polyvalentního inhibitoru proteáz /Kallikrein inactivator, Aprotinin, Antilysin/ ze živočišných žláz je zpracován v řadě prací. Inhibitor je získáván například z pankreatu, jater, sleziny, plic a dalšího materiálu.

Při známých způsobech přípravy inhibitoru se používají k extrakci rozdrcených žláz vodné roztoky nebo roztoky vody s organickými rozpouštědly /alkoholy, organickými kyselinami, ketony a pod./ za přítomnosti solí kovů alkalických zemin, alkalických kovů, přechodných kovů a pod. /viz NSR patenty č. 1 014 288, 1 011 576, U.S. pat. 2 840 986/. Teploty při extrakcích se pohybují od 20 do 40 °C. Extrakce probíhají za míchání od několika minut po 3 hodiny.

Dle československého vynálezu AO č. 155 891 je postup extrakce následující: plíce čerstvé nebo rozmražené se rozemelou na kousky velikosti řádově milimetrů, extrakční prostředí tvoří vodní roztok etanolu s přísadkou chloridu vápenatého, teplota směsi obou fází /plic a roztoku/ se udržuje na hodnotě 40 až 42 °C, extrakce probíhá za promíchávání po dobu 2 hodiny a následuje oddělení pevné fáze od extraktu na odstředivce. Tímto způsobem extrakce se vyzíská ze žláz část inhibitoru. Výtěžnost není zdaleka optimální z hlediska skutečných možností využití suroviny, neboť se dosahuje stavu, který je velmi vzdálen od rovnováhy mezi extrahovanou surovinou a extrakčním prostředím.

Uvedené nedostatky odstraňuje způsob extrahování polyvalentního inhibitoru proteáz z živočišných žláz podle vynálezu, jehož podstata spočívá v extrakci živočišné tkáně probíhající ve dvou fázích, přičemž v první fázi extrakce probíhá za míchání v oblasti vysoké turbulence po dobu 3 až 8 hodin s výhodou 5 hodin při pH 5,5 až 6,7 s výhodou při teplotě 40 až 45 °C vodným roztokem etanolu o hmotnostní koncentraci 70 až 80 % s přídavkem 1 až 3 % hmot. chloridu vápenatého, v druhé fázi extrakce probíhá za míchání v oblasti laminární za současného zředění směsi vodou na 10 až 90 % původní koncentrace etanolu s výhodou na 60 % původní koncentrace po dobu 1 až 18 hodin s výhodou 16 hodin při pH 5,5 až 6,5 při teplotě 18 až 40 °C, ze získané suspenze se pevná fáze oddělí a extrakt se zpracuje známým způsobem.

Postupem dle vynálezu se dosáhne výtěžnosti inhibitoru 350 000 až 400 000 TIJ/kg plic, což ve srovnání s dosud známými postupy je o cca 30 % více.

Vlastním příkladem se demonstruje postup extrakce.

Příklad

10 kg plic se desintegruje na částice maximálních rozměrů 3 mm. Hmotu se okamžitě přenesse do extrakčního zařízení, v němž je směs etanolu a vody o koncentraci etanolu 75 % hmot. s přídavkem 3 % hmot. chloridu vápenatého. Směs se podrobí při teplotě 40 až 42 °C intenzivnímu míchání v oblasti vysoké turbulence po dobu 5 hodin, přičemž pH se průběžně udržuje na hodnotě 6,5 přídavkem minerální kyseliny /HCl/. Po této operaci se změní míchání a směs je dále promíchávána zvolna v laminární oblast proudění, po dobu 16 hodin, přičemž se sníží koncentrace etanolu na hodnotu 40 % hmot. a teplota se samovolně sníží až na 20 °C při pH 6. Dále se směs odstředí, pevná fáze je odpad. Inhibitor obsažený v roztoku se po několika operacích, při nichž se odstraňují balastní látky, vysráží. Získaný surový produkt se nejprve čistí frakcionací a pak následuje fáze čištění pomocí gelového molekulárního síta. Výtěžek inhibitoru činí 0,75 g o aktivitě 5 200 TIJ/mg.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

258 635

Způsob extrakce polyvalentního inhibitoru proteáz ze živočišných žláz, například z hovězích plic, vodným roztokem organických rozpouštědel, například etanolu, s přidavkem rozpustných anorganických solí při zvýšené teplotě, vyznačující se tím, že živočišná tkáň se extrahuje ve dvou fázích, přičemž v první fázi se živočišná tkáň extrahuje za míchání v oblasti vysoké turbulence po dobu 3 až 8 hodin s výhodou 5 hodin při pH 5,5 až 6,7 s výhodou 6,5 při teplotě 40 až 45 °C vodným roztokem etanolu o hmotnostní koncentraci 70 až 80 % s přidavkem 1 až 3 % hmot. chloridu vápenatého, v druhé fázi se živočišná tkáň extrahuje za míchání v oblasti laminární za současného zředění směsi vodou na 10 až 90 % původní koncentrace etanolu s výhodou na 60 % původní koncentrace po dobu 1 až 18 hodin, s výhodou 16 hodin při pH 5,5 až 6,5 při teplotě 18 až 40 °C a ze získané suspenze se pevná fáze oddělí a extrakt se zpracuje známým způsobem.