

Warszawa, 3 sierpnia 1935 r.

URZĄD PATENTOWY



C 07 c 167/42

RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 21686.

Kl. 12 p, 17/10.

Gesellschaft für Chemische Industrie in Basel
(Bazylea, Szwajcaria).

Sposób oczyszczania hormonu ciała żółtego (corpus luteum).

Zgłoszono 21 sierpnia 1934 r.

Udzielono 22 czerwca 1935 r.

Pierwszeństwo: 6 września 1933 r. (Szwajcaria).

Wykryto, że hormon ciała żółtego (corpus luteum) można oczyścić, zadając preparaty, zawierające ten hormon, odczynnikami karbonyłowymi, oddzielając produkt reakcji od składników, które nie wzięły udziału w reakcji, i odszczepiając hormon od tego produktu. Jako odczynniki karbonyłowe może znaleźć zastosowanie np. dwusiarczyn, hydroksylamina lub hydrazyna i ich pochodne, jak np. semikarbazyd, kwas fenylohydrynosulfonowy i związki podobne.

Oddzielenie otrzymanych produktów reakcji od substancji, które nie wzięły udziału w reakcji, jest możliwe mianowicie wówczas, gdy obie grupy tych ciał różnią się bardzo swą rozpuszczalnością. Po od-

szczepieniu użytego odczynnika karbonyłowego, otrzymuje się wogóle hormon ciała żółtego (corpus luteum) już w postaci krystalicznej, którą można ewentualnie oczyścić jeszcze lepiej, przekrystalizowując ją zapomocą ponownie dodanych odczynników karbonyłowych, jak hydroksylaminy, lub przez sublimację w wysokiej próżni.

Przykład I. 2,5 g wyciągu ciała żółtego, otrzymanego według patentu Nr 21580 przez oczyszczanie mocnym np. 75 % -owym kwasem siarkowym, rozpuszcza się w 60 cm³ alkoholu absolutnego, dodaje roztwór 2,23 g chlorowodoru semikarbazynu i 2,72 g krystalicznego octanu sodowego w 60 cm³ wody i utrzymuje w temperaturze wrzenia w

ciągu 2 godzin. Powstały osad po odstaniu w ciągu kilku godzin w niskiej temperaturze odsącza się, poczem w celu oczyszczenia wyciąga się go ponownie zapomocą alkoholu uodnionego, a następnie alkoholu absolutnego. Semikarbazon, otrzymany w ten sposób, rozpuszcza się w 6 cm³ lodowatego kwasu octowego i po dodaniu 80 cm³ 20%-owego kwasu siarkowego ogrzewa na wrzącej kąpeli wodnej, często poruszając. Przy stygnięciu powstają kryształy w postaci igieł, rozpuszczalnych w eterze. Przez wyciągnięcie produktu reakcji eterem i odparowanie wyciągu eterowego otrzymuje się hormon ciała żółtego w postaci kryształów, które przez wielokrotne przekrystalizowanie lub zabieg podobny dają się rozdzielić na swe składniki: właściwy hormon ciała żółtego o wzorze: $C_{21}H_{30}O_2$ oraz jego oksyketon o wzorze: $C_{21}H_{34}O_2$.

Przykład II. 4,16 g preparatu ciała żółtego (corpus luteum), otrzymanego i oczyszczonego według W. M. Allen'a (J. Biol. Chem. 98, 591, 1932), rozpuszcza się w 100 cm³ alkoholu absolutnego i ogrzewa w ciągu 3 godzin z roztworem 2,8 g chlorowodoru hydroksylaminy i 5,6 g krystalicznego octanu sodowego w 60 cm³ wody. Następnie mieszaninę reakcyjną odparowuje się do objętości mniej więcej 50 cm³. Wydzielający się przytem gęsty olej wyciąga się przedewszystkiem, w celu usunięcia domieszek nieorganicznych, kilkakrotnie wodą, poczem rozpuszcza na gorąco w alkoholu metylowym i powstały roztwór zadaje wodą aż do wystąpienia zmętnienia. Podczas stania, w niskiej temperaturze krystalizuje z roztworu tego oksym surowy. Pozostałe jego ilości otrzymuje się z ługów macierzystych tej masy krystalicznej.

Surowy oksym można przekrystalizować z alkoholu rozcieńczonego i absolutnego. Otrzymany związek o punkcie topnienia 240°C na podstawie wyników analitycznych stanowi dwuoksym dwuketonu o wzorze: $C_{21}H_{30}O_2$. Przez dalsze przekrystalizowy-

wanie można go jednak ewentualnie rozdzielić na dwa dwuoksymy o wyższym punkcie topnienia.

W celu zmydlenia powyższą pochodną oksymu o punkcie topnienia 240°C wprowadza się do gorącego 15-owego kwasu solnego, ogrzewa przez czas pewien na wrzącej kąpeli wodnej i zmydloną mieszaninę wyciąga aż do wyczerpania eterem. Przez odparowywanie i przekrystalizowywanie roztworu eterowego względnie przez sublimację w próżni otrzymuje się związek dwuketonowy, będący podstawą dwuoksymu.

Z ługów macierzystych dwuoksymów można przez zmydlenie otrzymać, jak to opisano powyżej, oksyketon ciała żółtego o wzorze: $C_{21}H_{34}O_2$ o punkcie topnienia 195°C.

Przykład III. 300 mg wyciągu ciała żółtego, otrzymanego według W. M. Allen'a (J. Biol. Chem. 98, 591, 1932), rozpuszcza się wraz z 300 mg fenylohydrazyny w 10 cm³ alkoholu metylowego i 0,4 cm³ lodowatego kwasu octowego i ogrzewa w ciągu 2 godzin na wrzącej kąpeli wodnej. Następnie do mieszaniny reakcyjnej dodaje się na gorąco, ostrożnie, wody aż do rozpoczynającego się zmętnienia i pozostawia osad do odstania się na zimno przez czas dłuższy. Wydzielony fenylohydrazon surowy odsącza się i z odparowanego ługu macierzystego otrzymuje się pozostałe jego ilości. Można go, podobnie do oksymu surowego, opisanego w poprzednim przykładzie, przekrystalizować z alkoholu metylowego lub etylowego i rozłożyć przez ogrzewanie z rozcieńczonym kwasem.

W taki sam sposób otrzymuje się, stosując *p*-nitro-fenylohydrazynę, nieco trudniej rozpuszczalny, ciemnoceglastoczerwony *p*-nitro-fenylohydrazon hormonu ciała żółtego o wzorze: $C_{21}H_{30}O_2$ oraz oksyketon o wzorze $C_{21}H_{34}O_2$.

Przykład IV. 100 mg preparatu ciała żółtego, otrzymanego i oczyszczonego według W. M. Allen'a (J. Biol. Chem. 98, 591,

1932), rozpuszcza się w 50 cm³ eteru, wolnego od nadtlenu. Powstały roztwór eterowy energicznie wyklóca się pięciokrotnie, każdorazowo z 20 cm³ dwusiarczynu sodowego, oddzielając za każdym razem warstwę wodną w lejku rozdzielczym od warstwy eterowej. Roztwór eterowy tworzy po odparowaniu olej żółtawy. Połączone roztwory dwusiarczynu ogrzewa się z rozcieńczonym kwasem nieorganicznym, przepuszczając przez nie azot, i następnie wyciąga eterem. Z roztworu eterowego otrzymuje się przy stężaniu go hormon w postaci oczyszczonej.

Przykład V. 100 mg preparatu ciała żółtego (corpus luteum), otrzymanego według G. W. Corner'a i W. M. Allen'a (Amer. J. of Physiol. tom 88, 326, 1929) i oczyszczonego przez adsorbcję czynnych jego składników z roztworu estru etylowego kwasu octowego zapomocą węgla zwierzęcego, jak również przez wyługowanie środka adsorbcyjnego zapomocą mieszaniny alkoholu metylowego i chloroformu, rozpuszcza się wraz ze 150 mg kwasu fenylohydrazyno-sulfonowego w 20 cm³ alkoholu 60%-owego (objęt.). Roztwór ten ogrzewa się przez

czas dłuższy do wrzenia, poczem odparowuje w próżni większą część alkoholu, a pozostałość, zawierającą wodę, wyciąga się kilkakrotnie eterem. Połączone roztwory eterowe tworzą przy odparowywaniu jasno-żółty olej prawie zupełnie nieczynnny. Natomiast z fazy wodnej, ogrzanej z dodatkiem kwasu, otrzymuje się wyciąg eterowy, zawierający wzbogacony hormon ciała żółtego.

Zastrzeżenie patentowe.

Sposób oczyszczania hormonu ciała żółtego (corpus luteum), znamienny tem, że preparaty, zawierające ten hormon, zadaje się odczynnikami karbonylowymi, następnie produkt reakcji oddziela od składników, które nie wzięły udziału w reakcji, i od produktu tego odszczepia hormon.

Gesellschaft für Chemische
Industrie in Basel.

Zastępca: M. Skrzykowski,
rzecznik patentowy.