

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY 129 883

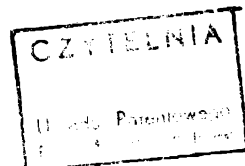
Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 81 07 30 /P.232413/

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 83 01 31

Opis patentowy opublikowano: 1985 11 30



Int. Cl.³ A61K 35/39
C07G 7/00

Twórcy wynalazku: Tadeusz Wojtarowicz, Feliojan Mozołowski, Lucyna
Aftarozuk

Uprawniony z patentu: Jeleniogórskie Zakłady Farmaceutyczne "Polfa",
Jelenia Góra /Polska/

SPOSÓB OTRZYMYWANIA WYSOKOAKTYWNEJ PANKREATYNY

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania wysokoaktywnej pankreatyny do celów farmaceutycznych, polegający na dwustopniowym odwodnieniu i odtłuszczeniu rozdrobnionej trzustki wieprzowej rozpuszczalnikami organicznymi lub ich mieszaninami w warunkach ograniczających dezaktywację enzymów. Pankreatyna otrzymana tym sposobem stanowi mieszaninę białek tworzących tkankę trzustki w tym również występujących w niej enzymów jak amylaza, lipaza, tripsyna i chymotrypsyna. Enzymy te w odpowiednio dobranych warunkach środowiska wodnego spełniają rolę biokatalizatorów enzymatycznej hydrolizy skrobi, tłuszczu i białek warunkujących procesy odżywiania i funkcyjowania żywych organizmów. Przydatność i zakres stosowania pankreatyny w produkcji farmaceutycznej zależą od aktywności występujących w niej enzymów oraz stopnia jej oczyszczania z tłuszczu, fosfolipidów i flory bakteryjnej.

Znane są sposoby otrzymywania pankreatyny z trzustki zwierzęcej, które w ogólnym ujęciu polegają na odwodnieniu etanolem rozdrobnionej trzustki względnie poddaniu jej częściowej autolizie enterokinazą i odwodnieniu acetonem, oddzieleniu rozpuszczalników przez filtrację i suszenie, a następnie rozdrobnieniu odwodnionej i wysuszonej tkanki. Te proste w stosowaniu sposoby dają pankreatynę o niskiej, szczególnie lipolitycznej aktywności enzymatycznej i wysokiej zawartości tłuszczu, co ogranicza zakres stosowania jej do celów farmaceutycznych.

Inne znane sposoby otrzymywania pankreatyny polegają na ekstrakcji wodnej enzymów z rozdrobnionej trzustki, oddzieleniu ekstraktu, wytrąceniu z niego enzymów acetonem, oddzieleniu rozpuszczalnika przez filtrację i suszenie lub na wytworzeniu wodnej zawiesiny dobrze rozdrobnionej trzustki, odtłuszczeniu jej niskowrzącymi mieszaninami chloro- wco- i fluorochloro- wco- węglowodorów alifatycznych, oddzieleniu fazy wodnej od organicznej w specjalnych separatorach i wysuszeniu fazy wodnej w wysokosprawnych suszarniach, zapobiegających dezaktywacji enzymów.

Sposoby te pozwalają uzyskiwać wysokoaktywną pankreatynę, ale wymagają stosowania wielkiej ilości rozpuszczalników organicznych, często drogich i trudno dostępnych jak również posiadania specjalistycznej i kosztownej aparatury.

Stwierdzono, że można prostym sposobem otrzymać pankreatynę o wysokiej aktywności enzymatycznej i niskiej zawartości tłuszczu jeżeli rozdrobnioną w stanie zamrożonym trzustkę wieprzową wymiesza się w temperaturze $0 - 10^{\circ}\text{C}$ z 1,5 - krotną ilością wagową wodno-acetonowego roztworu chlorku wapnia, a następnie z 4-krotną ilością acetonu, pozostawi przez 8 - 16 godzin zawieszinę trzustki w acetonie w temperaturze $0 - 4^{\circ}\text{C}$, oddzieli przez dekantację i/lub filtrację uwodniony aceton, a osad wstępnie odwodniony i odtłuszczonej tkanki wymiesza się w temperaturze $20 - 30^{\circ}\text{C}$ z 5-krotną ilością mieszaniny aceton-trójchloroetylen sporządzonej z tych rozpuszczalników najkorzystniej w stosunku objętościowym 2 : 1, oddzieli przez filtrację mieszaninę rozpuszczalników, a tkankę pozbawioną wody, tłuszczu i fosfolipidów wysuszy się w temperaturze $30 - 35^{\circ}\text{C}$ i rozdrobni do postaci drobnego proszku.

Można również wstępnie odwodnioną i odtłuszczoną acetonem tkankę trzustki wieprzowej w sposób wyżej opisany wysuszyć w temperaturze $30 - 35^{\circ}\text{C}$ rozdrobnić do postaci drobnego proszku i następnie oczyścić z tłuszczu i fosfolipidów przez wymieszanie jego w temperaturze $20 - 30^{\circ}\text{C}$ z 5-krotną ilością mieszaniny aceton-trójchloroetylen sporządzonej z tych rozpuszczalników najkorzystniej w stosunku objętościowym 1 : 1, oddzielić przez filtrację mieszaninę rozpuszczalników, a tkankę wysuszyć w temperaturze $30 - 35^{\circ}\text{C}$. Rozpuszczalniki poddaje się regeneracji i zwraca do procesu.

Sposób otrzymywania wysokoaktywnej pankreatyny wyjaśniają bardziej szczegółowo poniższe przykłady.

P r z y k ł a d I. 50 kg zamrożonej trzustki wieprzowej rozdrabnia się trójstopniowo do postaci pasty i dozuje ją porcjami do mieszaniny sporządzonej z 74 kg acetonu i 1 kg 10% roztworu chlorku wapnia ochłodzonej do temperatury $0 - 10^{\circ}\text{C}$. Następnie w ciągu 1 - 2 godzin wkrapla się 200 kg acetonu, ochłodzi się do temperatury $0 - 4^{\circ}\text{C}$ i pozostawia przez 8 - 16 godzin, po czym oddziela się uwodniony aceton od osadu przez dekantację i/lub filtrację. Wilgotny osad tkanki rozdrabnia się, miesza w temperaturze $20 - 30^{\circ}\text{C}$ przez 2 godziny z 5-krotną ilością wagową mieszaniny aceton-trójchloroetylen sporządzonej z tych rozpuszczalników w stosunku objętościowym 2 : 1. Mieszaninę rozpuszczalników odwirowuje się, regeneruje i zwraca do procesu a wilgotny osad suszy w temperaturze $30 - 35^{\circ}\text{C}$ w suszarni owiewowej lub fluidyzacyjnej. Wysuszoną tkankę rozdrabnia się w młynie kulowym, przesiewa przez sito i uzyskuje 11 kg pankreatyny w postaci drobnego sypkiego proszku o ciężarze nasypowym około $0,500 \text{ g/cm}^3$, w której aktywność enzymów oznaczana w jednostkach międzynarodowych metodą opisaną w Farmacji Polskiej nr 4 z 1976 r. str. 297-300 wynosi średnio: lipazy 700 jm/g , trypsyny 60 jm/g , chymotrypsyny 4 jm/g , amylazy $3,5 \times 10^5 \text{ jm/g}$, a zawartość tłuszczu nie przekracza 3%.

P r z y k ł a d II. 50 kg zamrożonej trzustki wieprzowej rozdrabnia się i miesza z wodno-acetonowym roztworem chlorku wapnia. Mieszaninę odwadnia się acetonem, a następnie oddziela uwodniony aceton jak w przykładzie I. Wilgotny osad tkanki suszy się w suszarni owiewowej lub fluidyzacyjnej w temperaturze $30-35^{\circ}\text{C}$, a po wysuszeniu rozdrabnia się w młynie kulowym do postaci drobnego proszku. Proszek przesiewa przez sito i miesza przez 2 godziny w temperaturze $20 - 30^{\circ}\text{C}$ z 5-krotną ilością wagową mieszaniny aceton-trójchloroetylen sporządzonej z tych rozpuszczalników w stosunku objętościowym 1:1. Mieszaninę rozpuszczalników oddziela się przez filtrację lub wirowanie, a wilgotny osad pozbawiony tłuszczu i fosfolipidów suszy jak wyżej. Uzyskuje się pankreatynę w postaci drobnego, sypkiego proszku o ciężarze nasypowym około $0,550 \text{ g/cm}^3$, w której aktywność enzymów oznaczana jak w przykładzie I wynosi średnio: lipazy 550 jm/g , trypsyny 50 jm/g , chymotrypsyny 3 jm/g , amylazy $2,5 \times 10^5 \text{ jm/g}$, a zawartość tłuszczu nie przekracza 3%.

Z a s t r z e ż e n i a p a t e n t o w e

1. Sposób otrzymywania wysokoaktywnej pankreatyny do celów farmaceutycznych, polegający na dwustopniowym odwodnieniu i odtłuszczeniu rozdrobnionej trzustki wieprzowej rozpuszczalnikami organicznymi lub ich mieszaninami w warunkach ograniczających dezaktywację enzymów, z n a m i e n n y t y m, że rozdrobnioną w stanie zamrożonym trzustkę wieprzową dozuje się porcjami w czasie mieszania najkorzystniej do 1,5-krotnej ilości wagowej wodno-acetonowego roztworu chlorku wapnia ochłodzonego do temperatury poniżej 10°C , wkrapla 4-krotną w stosunku do wsadu trzustki ilość acetonu, ochłodzi w czasie mieszania do temperatury $0 - 4^{\circ}\text{C}$ i pozostawia na okres 8 - 16 godzin, po czym oddziela uwodniony aceton od tkanki przez dekantację i/lub filtrację, a wilgotną tkankę miesza się w temperaturze $20 - 30^{\circ}\text{C}$ z 5-krotną ilością wagową mieszaniny aceton-trójchloroetylen sporządzonej z tych rozpuszczalników najkorzystniej w stosunku objętościowym 2 : 1, osad oddziela przez filtrację, suszy w temperaturze $30 - 35^{\circ}\text{C}$ i rozdrabnia do postaci drobnego proszku, a rozpuszczalniki regeneruje i zwraca do procesu.

2. Sposób otrzymywania wysokoaktywnej pankreatyny do celów farmaceutycznych, polegający na dwustopniowym odwodnieniu i odtłuszczeniu rozdrobnionej trzustki wieprzowej rozpuszczalnikami organicznymi lub ich mieszaninami w warunkach ograniczających dezaktywację enzymów, z n a m i e n n y t y m, że rozdrobnioną w stanie zamrożonym trzustkę wieprzową dozuje się porcjami w czasie mieszania do 1,5-krotnej ilości wagowej wodno-acetonowego roztworu chlorku wapnia ochłodzonego do temperatury poniżej 10°C , wkrapla 4-krotną w stosunku do wsadu trzustki ilość acetonu, ochłodzi w czasie mieszania do temperatury $0 - 4^{\circ}\text{C}$ i pozostawia na okres 8 - 16 godzin, po czym oddziela się uwodniony aceton od tkanki przez dekantację i/lub filtrację, a wilgotną tkankę suszy się w temperaturze $30 - 35^{\circ}\text{C}$, rozdrabnia do postaci drobnego proszku, miesza przez 2 godziny w temperaturze $20 - 30^{\circ}\text{C}$ z 5-krotną ilością wagową mieszaniny aceton-trójchloroetylen sporządzonej z tych rozpuszczalników najkorzystniej w stosunku objętościowym 1 : 1, osad oddziela przez filtrację i suszy w temperaturze $30 - 35^{\circ}\text{C}$, a rozpuszczalniki regeneruje i zwraca do procesu.