

Wydano 28 lutego 1941 r.

URZĄD PATENTOWY w WARSZAWIE OPIS PATENTOWY

Nr 28679.

Kl. 12 p, 17/10.

Société de l'Institut
de Sérothérapie hémopoïétique S. A.*), Romainville, Seine.

MKI 0079 15/00
161K 17/06

Sposób otrzymywania hormonów gonadotropowych z surowicy żrebných klaczy.

Zgłoszono 17 grudnia 1937 r.

Udzielono 22 czerwca 1939 r.

Pierwszeństwo: 19 grudnia 1936 r. (Niemcy).

Wiadomo, że surowica klaczy żrebných jest w pewnym ograniczonym okresie doskonałym materiałem wyjściowym do otrzymywania hormonów gonadotropowych (porównać Goss i Cole, Endocrinology, tom 15, str. 214, 1931; patent angielski nr 440 530 i patent amerykański nr 2 027 446).

Za pomocą sposobu według wspomnianego patentu amerykańskiego otrzymuje się hormon gonadotropowy przez wylugowanie przysadki mózgowej albo osadu, o-

trzymywanego przez strącanie acetonem białka surowicy klaczy, za pomocą bardzo rozcieńzonego roztworu alkoholu (6%owego), o napięciu powierzchniowym zależnym od zawartości alkoholu.

Ten sposób pracy powoduje straty hormonu, który zostaje w znacznej mierze zatrzymany w osadzie strąconym acetonem, i wymaga poza tym bardzo powolnego i długiego odparowywania 6%-owych roztworów alkoholowych w temperaturze 40°C.

**) Właścicielka patentu oświadczyła, że wynalazcą jest Casimir Funk (Francja).*

Sposób według wynalazku niniejszego jest znacznie prostszy w porównaniu ze znanymi dotychczas metodami. Do przeprowadzania tego sposobu stosuje się jedynie alkohol, rozcieńczony kwas solny i nieco rozcieńczonego ługu sodowego, przy czym otrzymuje się końcowy produkt bardzo czysty z wydajnością, prawie równą teoretycznej.

Stwierdzono, że z surowicy żrebných klaczy o $p_h = 5$ można strącić większą część białka za pomocą mniej więcej jednej objętości słabego alkoholu, podczas gdy hormony w tych warunkach pozostają w roztworze, z którego można je otrzymać w stanie bardzo czystym przez strącenie mocniejszym alkoholem, najkorzystniej aż do uzyskania roztworu o mocy 77%, i wielokrotne rozpuszczanie w rozcieńczonych ługach potasowcowych oraz ponowne wytrącanie alkoholem po zobojętnieniu zasadowego roztworu. Hormony mogą być również wylugowywane nie tylko za pomocą słabych ługów, ale również za pomocą jedynie wody. Jednakże ten sposób pracy wymaga więcej czasu i daje mniejsze wydajności.

Przykład. Do 45 l surowicy żrebných klaczy dodaje się 2 l normalnego kwasu solnego i 47,6 l alkoholu o mocy 96% (objętościowych). W tych warunkach po dodaniu alkoholu o obranym stężeniu strąca się wyłącznie białko o dużym ciężarze cząsteczkowym, hormon zaś gonadotropowy zostaje w roztworze. Powstały osad białka usuwa się, a do przesączu dodaje się nieco soli kuchennej oraz 1,5 części objętościowej świeżego alkoholu o większym stężeniu. W ten sposób otrzymany drugi osad zostaje zebrany dokładnie, przy czym zawiera on całkowitą ilość surowych hormonów w stężonej postaci. Następne oczyszczanie przeprowadza się, jak następuje:

Otrzymany produkt zarabia się na papkę za pomocą 500 cm³ wody, dodaje się rozcieńczonego ługu sodowego, aż do uzy-

skania słabego odczynu zasadowego o $p_h = 9$, po czym odwirowuje się od składników nierozpuszczalnych, zobojętnia, dodaje 1 część objętościową alkoholu i znów odwirowuje. Produkt odwirowany zadaje się w końcu 1,5 części objętościowej alkoholu. Otrzymany produkt zawiera już oczyszczone hormony (drugi stopień oczyszczenia), ale rozpuszczanie i strącanie surowego produktu należy powtórzyć co najmniej jeszcze czterokrotnie. Praktycznie biorąc ługowanie przeprowadza się dopóty, aż 48%-owy roztwór alkoholowy, zadany 1,5 części objętościowej alkoholu, da jedynie nieznaczny osad.

Wreszcie ostateczne oczyszczenie produktu przeprowadza się rozpuszczając go i strącając po raz piąty w ten sposób, że prawie oczyszczony hormon zostaje ponownie zarobiony na papkę, papka zostaje doprowadzona do odczynu zasadowego, odwirowana i potraktowana alkoholem jak wyżej.

Otrzymany w ten sposób produkt końcowy, zawiera 7 g białego proszku, doskonale rozpuszczalnego w wodzie, którego działanie fizjologiczne, tak zwana jednostka Evansa, jest zawarta w granicach 10 — 15 γ ($\gamma = 1/1000$ miligrama). Jednostka Evansa jest to taka ilość hormonu, która zastrzyknięta w trzech dawkach trzytygodniowej samicy szczura powoduje na piąty dzień pięciokrotne powiększenie jajników.

Zastrzeżenia patentowe.

1. Sposób otrzymywania hormonów gonadotropowych z surowicy żrebných klaczy, znamienny tym, że z surowicy o $p_h = 5$ usuwa się większą część białka za pomocą mniej więcej jednej objętości alkoholu, po czym surowy hormon zawarty w przesączu, wydziela się z przesączu przez dodawanie alkoholu, najkorzystniej aż do uzyskania roztworu o mocy 77%.

2. Sposób według zastrz. 1, znamien-
ny tym, że z otrzymanego surowego pro-
duktu uzyskuje się hormony w dwóch stop-
niach, przy czym surowy produkt, zawiera-
jący hormon, rozpuszcza się w rozcieńczo-
nym ługu potasowcowym, a po zobojętnie-
niu rozcieńczonym kwasem solnym zadaje
się go 1 częścią objętościową alkoholu, od-
dziela od składników nierozpuszczalnych i

powtórnie odzyskuje z roztworu przez do-
danie 1,5 części objętościowej alkoholu.

Société de l'Institut
de Sérothérapie
hémopoiétique S. A.
Zastępca: inż. B. Müller,
rzecznik patentowy.