



POLSKIEJ RZECZYPOSPOLITEJ LUDOWEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 40247

Kl. 30 h, 2/20

Jeleniogórskie Zakłady Farmaceutyczne *)

Jelenia Góra, Polska

Sposób otrzymywania ekstraktu wątrobowego

Patent trwa od dnia 23 kwietnia 1956 r.

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania ekstraktu wątrobowego.

Liczne patenty zagraniczne zawierają opisy różnych sposobów produkcji antyanemicznie działających wyciągów wątroby, jednakże z reguły wytwarzanie tego leku opiera się na kilkukrotnej ekstrakcji witaminy B₁₂ i innych substancji czynnych rozpuszczalnikami organicznymi. Sposoby te różnią się między sobą rodzajem rozpuszczalników i różną liczbą ekstrakcji.

Sposób otrzymywania ekstraktu wątrobowego według patentu nr 36789 polegał na 5-krotnej ekstrakcji 70%-owym alkoholem etylowym osadu substancji czynnych wątroby, uzyskanego przez wysolenie tych substancji siarczanem amonowym z masy wątrobowej.

Otrzymany z wysolenia osad, zawierający

obok witaminy B₁₂ i innych substancji antyanemicznych również znaczne ilości białka oraz siarczanu amonowego poddawano 5-krotnej ekstrakcji stosując kolejno 5, 3, 2, 1 1/3 i 1-krotną ilość (w stosunku do wagi osadu) 70%-go wodnego roztworu alkoholu etylowego. Roztwór ten zawierający 30% wody, w czasie trwania ekstrakcji oprócz substancji czynnych rozpuszczał znaczne ilości białka i siarczanu amonowego, które zanieczyszczały ekstrakt.

Tak więc połączone 5 wyciągów, stanowiące przeszło 12-krotną ilość alkoholu w stosunku do wagi osadu, zawierały sumę ilości białka i siarczanu amonowego z poszczególnych ekstrakcji.

Po ukończeniu ekstrakcji połączone wyciągi, a więc całą ilość alkoholu wraz z częścią wody oddestylowywano pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze 42° do objętości około 12-krotnie mniejszej w stosunku do ogólnej ilości ekstraktu. Czas destylacji wyciągu pochodzącego z ekstrakcji 800 kg wątroby wynosił 24 godziny.

Również ekstrakcję substancji czynnych wątro-

*) Właściciel patentu oświadczył, że współtwórcami wynalazku są Zygmunt Zborucki, Jan Flórek, Felicjan Mozołowski, Milan Pluhar, Fritz Wadehn, Jan Mullaer, Jan Musiał, Józef Kapusta i Stefan Zimny.

by, zaadsorbowanych na węglu aktywnym prowadziło się dotychczas 5-krotnie stosując 55, 33 i 2-krotną ilość 70% alkoholu etylowego licząc na wagę zużytego węgla. Ogółem więc do eluacji stosowano 18-krotną ilość świeżego 70%-owego alkoholu.

Eluację prowadzono w środowisku alkalicznym w temperaturze wrzenia alkoholu etylowego, a więc w temperaturze 78,3°. Czas eluacji substancji czynnych zaadsorbowanych przez węgiel dla szarży 800 kg wątroby wynosił około 22 godzin.

Po dalszych operacjach z 70 g wątroby wołowej uzyskiwano wyciąg zawierający 15 γ witaminy B₁₂ w 1 ml roztworu, średnio około 0,21 γ z 1 g wątroby. Wady występujące przy wyżej opisanym sposobie polegały na:

• stosunkowo niskiej wydajności witaminy B₁₂ uzyskanej z wyciągu, a stanowiącej zaledwie około 65% całkowitej ilości zawartej w wątrobie,

• znacznym zanieczyszczeniu ekstraktu białkami i siarczanem amonowym, a w związku z tym koniecznością stosowania 2-giej adsorpcji na węglu aktywnym.

• konieczności oddestylowywania znacznej ilości rozpuszczalników, co na skutek długotrwałości procesu destylacji powodowało ubytek witaminy B₁₂, która jako termolabilna w dużym stopniu ulegała inaktywacji, oraz na znacznej inaktywacji witaminy B₁₂ z powodu prowadzenia eluacji w temperaturze wrzenia alkoholu etylowego (78,3°).

Ujemny wpływ temperatury i czasu ogrzewania na trwałość witaminy B₁₂ widoczny jest z poniższego zestawienia.

W temperaturze 37° w czasie 96-godzinnego ogrzewania ubytek witaminy B₁₂ wynosił średnio 14%, natomiast już w 65° tylko 7-godzinne ogrzewanie powoduje ubytek, sięgający 15%.

Wszystkie wyżej wymienione wady dotychczas stosowanego sposobu usuwa sposób według wynalazku, który polega na prowadzeniu ekstrakcji metodą przeciwpłdową. Wskutek czego otrzymuje się wyciąg o znacznym stężeniu substancji czynnych zawierający nieznaczna ilość zanieczyszczeń oraz na stosowaniu przeciwpłdowej eluacji substancji czynnych z węgla aktywnego zalkalizowanym 70%-owym alkoholem w niskiej temperaturze.

Według wynalazku świeży osad wątrobowy ekstrahuje się 4-krotnie wyciągami, pochodzącymi z ekstrakcji poprzednich szarż przy czym

każda następna ekstrakcja daje wyciąg o stężeniu substancji czynnych mniejszym od poprzedniego.

Wreszcie do 5-ej ekstrakcji stosuje się świeży 70%-owy alkohol etylowy w ilości 3-krotnie większej od ilości ekstrahowanego osadu wątrobowego.

• Tak więc każdy wyciąg użyty do pierwszej ekstrakcji osadu wątrobowego przechodzi uprzednio przez cztery szarże tego osadu stopniowo wzbogacając się w substancje czynne.

Z jednej szarży osadu wątrobowego otrzymuje się skoncentrowany wyciąg w ilości równej 3-krotnej ilości w stosunku do wagi ekstrahowanego osadu zamiast 12-krotnej, jak to miało miejsce przy stosowaniu dawnego sposobu.

Jak to było do przewidzenia wyciąg otrzymany sposobem według wynalazku zawiera mniejszą ilość białek i siarczanu amonowego tak że tę ilość zanieczyszczeń można usunąć stosując tylko jedną adsorpcję na węglu, a więc można zaniechać drugiego odbiałczania, a tym samym wydatnie zmniejszyć nieuniknione straty produkcyjne.

Również 4-krotnie mniejsza ilość wyciągu odpowiednio skraca czas jego destylacji i samorzutnie ogranicza niekorzystny wpływ temperatury powodując tym samym zmniejszenie strat witaminy B₁₂.

W procesie eluacji węgla stosuje się 5-krotną eluację przeciwpłdową, przy czym węgiel z zaadsorbowanymi w nim substancjami czynnymi eluuje się 4-krotnie eluatami, pochodzącymi z poprzednich eluacji węgla a dopiero przy 5-ej eluacji stosuje się świeży 70%-owy alkohol w ilości 4-krotnie większej od ilości użytego węgla, a przy pierwszej eluacji dodaje się wodorotlenku sodu w celu zalkalizowania eluatu.

Według wynalazku pierwszą i drugą eluację prowadzi się w temperaturze 42°, trzecią w 60° zaś dopiero czwartą i piątą w temperaturze wrzenia alkoholu etylowego.

Z jednej szarży eluowanego węgla uzyskuje się skoncentrowany eluat alkoholowy w ilości 4-krotnie większej w stosunku do ilości użytego węgla zamiast 18-krotnej ilości, jak to miało dotychczas miejsce.

Stwierdzić należy, że straty witaminy B₁₂ powstałe wskutek destylacji eluatów są minimalne w stosunku do strat wynikających z długotrwałego ogrzewania witaminy B₁₂ w czasie prowadzenia eluacji w temperaturze wrzenia alkoholu etylowego.

Poniższe zestawienie wyraźnie uwidacznia korzyści osiągane przy zastosowaniu sposobu według wynalazku.

Zestawienie podaje zużycie 3-ch podstawowych surowców na 1 litr wyciągu wątrobowego, zawierający 15.000 γ witaminy B₁₂.

Nazwa surowca	Jednostka	Sposób dawny	Sposób wg wynalazku
Wątroba wołowa	kg	60	44,5
Alkohol etylowy litr (100%-owy)		20,5	9,5
Węgiel aktywny	kg	1,6	1,15

Według dawniej stosowanego sposobu otrzymywano średnio 0,25 γ witaminy B₁₂ z 1 g wątroby; przy zastosowaniu sposobu według wynalazku ilość ta wynosi 0,337 γ natomiast według patentów zagranicznych — 0,28 γ .

Zastrzeżenie patentowe

Sposób otrzymywania ekstraktu wątrobowego, znamienny tym, że wysolone w znany sposób substancje czynne wątroby poddaje się 5—6-krotnej ekstrakcji przeciuprądowej alkoholem etylowym, stosując do całkowitej ekstrakcji 3-krotną ilość alkoholu w stosunku do ilości osadu wątrobowego, po czym otrzymany wyciąg zagęszcza się i zawarte w nim substancje czynne adsorbują się za pomocą węgla aktywnego, który z kolei poddaje się 5—6-krotnej eluacji przeciuprądowej 4-krotną ilością zalkalizowanego alkoholu etylowego w stosunku do ilości węgla, przy czym pierwszą i drugą elucję prowadzi się w temperaturze 42°, trzecią w temperaturze 60°, zaś czwartą w temperaturze wrzenia alkoholu etylowego.

Jeleniogórskie

Zakłady Farmaceutyczne

Zastępca: Kolegium Rzeczników Patentowych