



Patent dodatkowy
do patentu _____

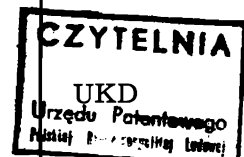
Zgłoszono: 05.V.1966 (P 114 414)

Pierwszeństwo: _____

Opublikowano: 25.I.1969

Kl. 6 a, 22/07

MKP C 12 d 13/10



Współtwórcy wynalazku: dr Stefan Marcinkiewicz, mgr Jan Kruk, mgr Jerzy Gębski, mgr Helena Gawle, mgr Maria Budzyńska

Właściciel patentu: Tarchomińskie Zakłady Farmaceutyczne, Warszawa (Polska)

**Sposób wydzielania enzymów proteolitycznych
z pozostałości trzustki po wyodrębnieniu insuliny**

1 Przedmiotem wynalazku jest sposób wydzielania enzymów proteolitycznych z pozostałości trzustki po wyodrębnieniu insuliny.

Enzymy te stosuje się jako półprodukt do otrzymywania enzymów w czystej postaci przeznaczonych dla lecznictwa oraz do obróbki niektórych artykułów przemysłowych, głównie do garbowania skór.

Zagadnienie wykorzystania poinsulinowych osadów trzustkowych jest przedmiotem licznych publikacji np. opisów patentowych Nr 51230 i 52283.

Znane metody postępowania sprawdzają się do obniżenia stężenia alkoholu w pozostałości trzustki po wyodrębnieniu insuliny przez wypłukanie kilka lub kilkunastokrotną, w stosunku do wagi osadu, ilością wody, a następnie ekstrakcję wodną i wytrącanie enzymów za pomocą rozpuszczalników organicznych lub wysolenie za pomocą soli mineralnych. Według niektórych sposobów stosuje się ekstrakcję wodną z dodatkiem soli mineralnych lub związków organicznych.

Sposoby powyższe mają niewielkie znaczenie techniczne ze względu na znaczną pracochłonność oraz duże straty rozpuszczalników i soli mineralnych.

Według wyżej wspomnianych opisów patentowych poinsulinowe pozostałości trzustki przemycia się w celu usunięcia alkoholu i kwasu małą ilością wody lub rozpuszczalnika organicznego jak octan etylu, octan metylu, aceton, następnie otrzymany

2 produkt zobojętnia się zwłaszcza amoniakiem i poddaje autolizie. Autolizę przeprowadza się w temperaturze pokojowej w ciągu kilku dni, a dla zapoczątkowania i przyspieszenia procesu dodaje się do substratu autolizat trzustkowy. Po ukończonej autolizie, autolizat ekstrahuje się rozpuszczalnikiem mieszającym się z wodą lub mieszaniną takich rozpuszczalników jak alkohole rozpuszczalne w wodzie, estry kwasów organicznych lub ketony. Pozostałość po ekstrakcji stanowiącą koncentrat enzymów proteolitycznych poddaje się suszeniu.

Według opisu patentowego Nr 52238 autolizat oczyszcza się przez suszenie substratu w suszarni rozpyłowej bezpośrednio po autolizie, a następnie jego ekstrakcję rozpuszczalnikami organicznymi.

Omawiany sposób wytwarzania wykazuje poważne niedogodności technologiczne. Metoda jest kosztowna i trudna do realizacji z powodu trwającego kilka dni procesu autolizy oraz kosztownej i trudnej w zakupie i montażu aparatury do suszenia rozpyłowego.

Według wynalazku enzymy proteolityczne wydzielają się z pozostałości trzustki po wyodrębnieniu insuliny, uwolnionej od alkoholu, w ten sposób, że pozostałość tę miesza się z solami amonowymi, korzystnie z siarczanem amonu w ilości 5 do 15% wagowych w stosunku do ciężaru pozostałości oraz trzustką w ilości 10 do 40% wagowych w stosunku do ciężaru pozostałości po czym

doprowadza się pH mieszaniny do wartości 8,0—8,5, korzystnie za pomocą wody amoniakalnej utrzymując powyższą mieszaninę w temperaturze 25—50°C w ciągu 7—15 godzin. Otrzymany w ten sposób hydrolizat zawierający sole nieorganiczne odwadnia się przez zmieszanie z rozpuszczalnikiem organicznym mieszającym się z wodą, korzystnie z acetonem lub etanolem, odwirowanie, a następnie wysuszenie pod próżnią. Odwodniony produkt w znany sposób rozdrabnia się, następnie uwalnia od substancji balastowych na drodze ekstrakcji rozpuszczalnikiem, korzystnie acetonem lub trójchloroetylenem, po czym suszy się, korzystnie pod próżnią.

Zastosowana w procesie technologicznym hydroliza ma na celu rozbicie połączenia enzymu związanego z częścią strukturalną komórki i nadania mu aktywnej formy.

Prowadzenie hydrolizy w środowisku alkalicznym w podwyższonej temperaturze, w obecności soli amonowych, zamiast podanej w opisie patentowym Nr 51 230 autolizy w środowisku obojętnym w temperaturze pokojowej pozwoliło skrócić czas przebiegu procesu wydzielania enzymów z kilku dni do kilkunastu godzin.

Sposobem według wynalazku otrzymuje się ponadto wyższą wydajność oraz wzrost aktywności preparatu.

Sposób według wynalazku wyjaśnia podany niżej przykład.

Przykład. 50 kg wolnych od insuliny pozostałości gruczołu trzustkowego przemywa się 2-krotnie podwójną ilością wody i odwirowuje. Osad wprowadza się do podgrzewanego mieszalnika dodaje 5 kg trzustki, rozpuszczonej w 5 l wody, 5 kg siarczanu amonowego i doprowadza się do wartości pH 8,0—8,5 za pomocą wody amoniakalnej. Mieszaninę podgrzewa się, mieszając, do tempera-

tury 25°—30°C, a następnie pozostawia w tej temperaturze w ciągu 7 godzin. Po ukończonej hydrolizie produkt zalewa się 1,5 częściami wagowymi, w stosunku do wagi substratu, acetonu lub etanolu i dokładnie miesza. Mieszaninę przenosi się na wirówkę w celu oddzielenia części uwodnionego rozpuszczalnika.

Osad z resztą rozpuszczalnika rozkłada się na tace i poddaje suszeniu w suszarni próżniowej w możliwie niskiej temperaturze.

Po wysuszeniu rozdrabnia się i poddaje ekstrakcji za pomocą acetonu lub trójchloroetyleny w ilości 25 litrów. Wyekstrahowany osad suszy się. Otrzymuje się około 15 kg suchego proszku o aktywności powyżej 25000 jednostek Fuld-Grossa w 1 gramie.

Zastrzeżenie patentowe

1. Sposób wydzielania enzymów proteolitycznych z pozostałości trzustki po wyodrębnieniu insuliny uwolnionych od alkoholu, **znamienny tym**, że pozostałość tę miesza się z solami amonowymi, korzystnie z siarczanem amonu w ilości 5—15% wagowych w stosunku do ciężaru pozostałości oraz z trzustką w ilości 10—40% wagowych w stosunku do ciężaru pozostałości, po czym doprowadza się pH mieszaniny do wartości 7,5—9,5, korzystnie za pomocą wody amoniakalnej, utrzymując mieszaninę w temperaturze 25—50°C w ciągu 7—15 godzin, po czym otrzymany hydrolizat odwadnia się przez zmieszanie z rozpuszczalnikiem organicznym, mieszającym się z wodą, korzystnie z acetonem lub etanolem, odwirowanie i wysuszenie pod próżnią, a z uzyskanego produktu usuwa się substancje balastowe w znany sposób przez ekstrakcję i suszenie.