

Warszawa, 8 lipca 1935 r.

URZĄD PATENTOWY



C 07c 167/42
2

RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 21577.

Kl. 12 p, 17/10.

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

Sposób oczyszczania i wzbogacania hormonu ciała żółtego.

Zgłoszono 17 marca 1933 r.

Udzielono 24 maja 1935 r.

Pierwszeństwo: 27 kwietnia 1932 r. (Szwajcaria).

Jak wynika z prac nowszych ciało żółte (corpus luteum) zawiera hormon płciowy, który między innymi przeprowadza śluzówkę macicy, pobudzoną zapomocą hormonu pęcherzykowego (rujowego), w postać charakterystyczną dla macicy ciężarnej.

Dotychczas znane sposoby otrzymywania hormonu ciała żółtego polegają na traktowaniu wyciągów z ciała żółtego rozmaitymi rozpuszczalnikami organicznymi albo na zastosowaniu reakcji strącania.

Sposób oczyszczania i wzbogacania hormonu ciała żółtego według wynalazku

niniejszego polega na tem, że w dowolnej fazie procesu oczyszczania stosuje się zabieg adsorbcji. W tym celu roztwory hormonu, zwłaszcza surowe lub oczyszczone wstępnie wyciągi z corpus luteum w niemieszających się z wodą rozpuszczalnikach lub mieszaninach rozpuszczalników traktuje się jednym lub kilkoma środkami chłoniemymi (adsorbcyjnemi) i z adsorbentu wyciąga hormon rozpuszczalnikami organicznymi lub ich mieszaninami, po ewentualnem usunięciu innych zanieczyszczeń.

Nieoczekiwanie udało się z roztworu

wyjściowego tą drogą wyciągnąć hormon ciała żółtego w ilości, odpowiadającej ilości teoretycznej, przy jednoczesnym oddzieleniu wielu nieczynnych zanieczyszczeń, a następnie z adsorbentu udało się hormon odzyskać ponownie.

Jako rozpuszczalnik hormonu względnie wyciągów, zawierających hormon, stosuje się celowo np. benzen, toluen, eter naftowy, dwusiarczek węgla albo ich mieszaniny. Odpowiednimi środkami adsorbcyjnymi są: ziemia folarska, glina, glina włóknista, ziemia krzemkowa, żel krzemionkowy, kaolin, węglan wapnia, węgiel i inne ciała.

Adsorbcję dobrze jest uskutecznić bez dostępu wilgoci, stosując zupełnie suche rozpuszczalniki oraz środki adsorbcyjne.

Do wyciągania hormonu ciała żółtego z adsorbentów nadaje się, zależnie od rodzaju środka adsorbcyjnego, np. eter, alkohol, aceton, chloroform albo też mieszaniny rozpuszczalników, jak np. alkohol metylowy z eterem naftowym.

Sposób według wynalazku niniejszego można przeprowadzić w ten sposób, że roztwór, zawierający hormony, miesza się z nadmiarem środka chłonnego. Można jednak środek chłonny dodawać porcjami i poszczególne adsorbenty przerabiać dalej osobno. W ten sposób można oddzielić zanieczyszczenia, ulegające wchłanianiu stopniowo coraz trudniej. Ten sam cel osiąga się również, prowadząc roztwór powolnym strumieniem, np. według zasad analizy adsorbcyjnej Wislicenus'a albo metody chromatograficznej Tswett'a przez kolumnę środka chłonnego i wyciągając osobno poszczególne warstwy adsorbentu.

Z adsorbentów, zawierających hormony, dalsze zanieczyszczenia dają się często usuwać w ten sposób, że na podstawie różnego stopnia rozpuszczalności zanieczyszczeń i hormonów, zanieczyszczenia te wyciąga się np. rozpuszczalnikami względnie mieszaninami rozpuszczalników, niemożącymi rozpuścić

hormonu, a dopiero następnie uskutecznia się właściwe wyciąganie hormonu.

Obróbkę frakcjonowaną można również celowo powtórzyć natychmiast albo po dalszych stopniach oczyszczania.

Przykład I. 15 g wyciągu z ciała żółtego (corpus luteum), otrzymanego przez G. W. Corner'a i W. M. Allen'a (American Journal of Physiology, tom 88, 1929, str. 326) wyciąga się zapomocą 300 cm³ dwusiarczku węgla. Powstały roztwór zadaje się 50 g ziemi folarskiej i dobrze wstrząsa. Po odsączeniu osadu zapomocą pompy ssącej przemywa się go stopniowo 150 cm³ dwusiarczku węgla i połączone przesącze traktuje w taki sam sposób ponownie ziemią folarską. Przesącz, otrzymany po odparowaniu, jest to olej, stanowiący główną część pierwotnego wyciągu, lecz zupełnie nieczynny. Połączone adsorbenty wyciąga się dwulub trzykrotnie porcjami po 300 cm³ mieszaniny alkoholu metylowego z eterem naftowym (9 : 1), stosując krótkotrwałe gotowanie i wstrząsanie. Pozostałości każdorazowo odsącza się i przemywa rozpuszczalnikiem. Po odparowaniu otrzymanego wyciągu pozostaje niewielka ilość substancji, podobnej do stearyny i zawierającej cały hormon ciała żółtego, znajdujący się w materiale wyjściowym.

Przykład II. 15 g wyciągu z ciała żółtego (corpus luteum), otrzymanego przez G. W. Corner'a i W. M. Allen'a (American Journal of Physiology tom 88, 1929, str. 326) oraz przez W. M. Allen'a (American Journal of Physiology tom 92, 1930 str. 174), albo też otrzymanego przez wymrożenie zanieczyszczeń z wodnego roztworu alkoholu metylowego i następnie oczyszczonego, rozpuszcza się w 450 cm³ wysuszonego eteru naftowego. Powstały roztwór przesącza się zapomocą pompy ssącej powoli przez kolumnę z ziemią folarską, zwilżoną wysuszonym eterem naftowym, następnie przemywa się ją taką samą ilością rozpuszczalnika. Otrzymany przesącz, po odparowaniu tworzy du-

z dużą ilością jasnego, jednakże nieczystego oleju. Następnie poszczególne warstwy adsorbentu wyciąga się kolejno przez krótki czas ciepłym alkoholem etylowym, za każdym razem odsącza, przemywa, poszczególne pozostałości wyciąga jeszcze raz w taki sam sposób i z otrzymanych przesączów odpędza się rozpuszczalnik. Preparat, otrzymany z górnych warstw, zawiera całkowitą ilość hormonu ciała żółtego (corpus luteum) użytego wyciągu w postaci substancji, podobnej do stearyny.

Przykład III. 10 g wyciągu z ciała żółtego, otrzymanego według G. W. Corner'a i W. M. Allen'a (tamże), rozpuszcza się w 150 cm³ dwusiarczku węgla i dobrze wstrząsa z 10 g wysuszonego węgla aktywnego. Następnie odsącza się, przemywa adsorbent 75 cm³ dwusiarczku węgla i zebrane przesącze w taki sam sposób traktuje 10 g, a wreszcie 3 g węgla. Tak otrzymany, słabo żółto zabarwiony roztwór tworzy po odparowaniu zupełnie nieczysty olej, stanowiący główną część materiału wyjściowego. Połączone adsorbenty węglowe wyciąga się dwukrotnie, każdorazowo 150 cm³ mieszaniny alkoholu etylowego z eterem naftowym (9 : 1), stosując w tym celu krótkie gotowanie i mocne wstrząsanie. Każdorazowo odsącza się pozostałość i przemywa ją zapomocą 75 cm³ cieplej mieszaniny rozpuszczalników. Podczas odparowywania połączonych wyciągów pozostaje niewielka ilość substancji, podobnej do stearyny. Zawiera ona całą ilość hormonu ciała żółtego, zawartą w wyciągu produktu wyjściowego.

Przykład IV. 1 kg ciała żółtego (corpus luteum) wyciąga się eterem naftowym. Otrzymany suchy roztwór wstrząsa się mocno ze 100 g ziemi folarskiej, odsącza zapomocą pompy ssącej, przemywa adsorbent eterem naftowym i zebrane przesącze traktuje się jeszcze raz ziemią folarską w taki sam sposób. Otrzymany przytem roztwór po odparowaniu tworzy dużą ilość zu-

pełnie nieczystego oleju. Połączone adsorbenty traktuje się dwukrotnie alkoholem metylowym w aparacie Soxleth'a. Po odparowaniu tych wyciągów otrzymuje się małą ilość substancji w rodzaju stearyny. Zawiera ona całkowitą ilość hormonu ciała żółtego (corpus luteum), zawartą w pierwotnym wyciągu eteru naftowego.

Przykład V. 5 g preparatu z ciała żółtego, oczyszczonego wstępnie według przykładu I, II lub IV, rozpuszcza się w 75 cm³ octanu etylowego i mocno wstrząsa z 5 g węgla aktywnego. Po odsączeniu na pompie ssącej przemywa się adsorbent rozpuszczalnikiem i traktuje przesącz jeszcze raz w taki sam sposób, a następnie po raz trzeci, lecz już tylko 2 g węgla. Przesącz zawiera tylko nieczynne składniki materiału wyjściowego.

Wyciągając połączone adsorbenty węglowe w ciągu 3 godzin w aparacie Soxleth'a alkoholem absolutnym, otrzymuje się roztwór, który po odparowaniu tworzy ciemną masę, podobną do stearyny i również nieczystą. Przy ponownym 3 godzinnym traktowaniu adsorbentu węglowego w aparacie Soxleth'a mieszaniną, składającą się z 3 części objętościowych chloroformu, 4 części objętościowych metanolu i 1 części objętościowej eteru naftowego, otrzymuje się po odparowaniu wyciągu małą ilość słabo zabarwionego oleju, krzepnącego podczas stania w zimnie i bardzo czystego.

Zastrzeżenia patentowe.

1. Sposób oczyszczania i wzbogacania hormonu ciała żółtego, znamienny tem, że roztwory tego hormonu, a zwłaszcza surowe lub oczyszczone wyciągi ciała żółtego (corpus luteum) traktuje się w rozpuszczalnikach, mieszających się z wodą, lub mieszaninach takich rozpuszczalników jednym albo kilkoma środkami adsorbentnymi, poczem hormon wyciąga z adsorbentu, ewentualnie po ponownym usunięciu zanieczy-

szczeń, rozpuszczalnikami organicznymi lub mieszaninami takich rozpuszczalników.

2. Odmiana sposobu według zastrz. 1, znamienna tem, że roztwory hormonu poddaje się adsorbcji cząstkowej.

3. Sposób według zastrz. 1 i 2, znamienny tem, że z adsorbentu hormonowego usuwa się zanieczyszczenia zapomocą obróbki wstępnej rozpuszczalnikami względ-

nie mieszaninami rozpuszczalników, w których hormon pozostaje nierozpuszczony.

4. Sposób według zastrz. 1, 2 i 3, znamienny tem, że adsorbcję powtarza się.

Gesellschaft für Chemische
Industrie in Basel.

Zastępca: M. Skrzykowski,
rzecznik patentowy.