

Warszawa, 7 lutego 1935 r.

URZĄD PATENTOWY



Abak 17/06

RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 20869.

Kl. 12 p, 17/10.

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

Sposób otrzymywania żeńskich hormonów płciowych w postaci krystalicznej.

Zgłoszono 16 marca 1933 r.

Udzielono 11 grudnia 1934 r.

Pierwszeństwo: 25 kwietnia 1932 r. (Szwajcaria).

Dotychczas jedynie wielostopniowymi, nadzwyczaj uciążliwymi sposobami oczyszczania udawało się wyciągi surowe, otrzymywane z ludzkiego lub zwierzęcego moczu i zawierające hormony, doprowadzać do stopnia czystości, zapewniającego krystaliczne wydzielenie materiałów czynnych. Obecnie okazało się, że z łatwością udaje się otrzymywać żeńskie hormony płciowe w stanie krystalicznym z zawierających hormony wyciągów z moczu ciężarnych kobiet lub samic w ten sposób, że wyciągi te zadaje się w obecności wody wodorotlenkami lub

tlenkami metali drugiej grupy układu okresowego pierwiastków aż do wytworzenia łatwo rozpadającego się proszku, następnie wytworzony osad odsącza się, dokładnie przemywa, zebrane wyciągi wodne zakwasza się, wyługowuje rozpuszczalnikami, niemieszącym się z wodą, i oczyszcza w znany sposób.

Traktowanie gruczołów płciowych względnie łożysk, albo wyciągów z tych organów roztworami wodorotlenków wapniowców w celu otrzymywania żeńskich hormonów płciowych jest już znane. Jednakże nie

udało się dotychczas otrzymać w postaci krystalicznej hormonów z tych organów. Nie można było przewidzieć, że proces niniejszy w tak bardzo prosty sposób doprowadzi do celu, podczas gdy inne metody, stosowane do oczyszczania gruczołów płciowych zawodziły w zastosowaniu ich do wyciągów z moczu. Zwłaszcza zaś według Doisy, Veler'a & Thayer'a (Journal of Biological Chemistry, tom 86, 1930, str. 499) zanieczyszczenia, występujące w wyciągach z moczu i różniące się od zanieczyszczeń, znajdujących się w wyciągach, otrzymywanych z gruczołów płciowych, nie dają się usunąć w taki sam sposób. Podczas traktowania wyciągów z gruczołów płciowych względnie z łożysk wodnymi roztworami wodorotlenków wapniowców powstają trudne do obróbki mazi, co utrudnia w wysokim stopniu rozdzielanie składników takiej mazi, natomiast takąż obróbką wyciągów z moczu prowadzi do otrzymywania drobno sproszkowanych osadów, z których przylegające do nich hormony łatwo dają się wyjąć.

Przykład I. Wyciąg, otrzymany zapomocą butanolu z 500 litrów moczu kobiet ciężarnych, po oddestylowaniu rozpuszczalnika, poddaje się kilkugodzinnej destylacji z parą wodną, w celu usunięcia substancji lotnych. Otrzymany wyciąg surowy zagniatą się w temperaturze łaźni wodnej z mlekiem wapiennym aż do trwałej reakcji fenoloftaleinowej i dekantuje żółto zabarwiony przezroczysty wodny wyciąg. Przy ponownym powtórzeniu tej obróbki żywicowata masa rozpada się na drobny brunatny proszek, dający się łatwo odsączyć na ssawce. Proszek ten miele się w bębnie w ciągu kilku godzin z wodą, zawierającą wodorotlenek wapnia, odsącza zapomocą pompy ssącej i, mieszając, wyciąga kilkakrotnie wodą o temperaturze 90 — 100°C. Połączone wyciągi wodne zakwasza się kwasem solnym i wyciąga dwukrotnie czteroma oraz sześciokrotnie dwoma litrami eteru (każdo-

razowo), wolnego od nadttlenków (zamiast eteru można również stosować np. benzen, octan etylu, butanol lub chloroform). Wyciągi eterowe przemywa się dwukrotnie 3-litrowymi porcjami 1%-wego wodnego roztworu dwuwęglanu sodowego oraz dwukrotnie taką samą ilością 0,33%-wej sody, a następnie stęża do małej objętości. Podczas odparowywania wydziela się krystaliczny osad żeńskich hormonów płciowych. Substancję wykryształizowaną, przesiąkniętą jeszcze masą oleistą, zadaje się niewielką ilością octanu etylowego i pozostawia przez pewien czas w temperaturze —10°C. Następnie papkę krystaliczną odsącza się zapomocą pompy ssącej, rozpuszcza we wrzącym alkoholu, otrzymany roztwór odbarwia węglem kostnym i przesącza, poczem przesącz zagęszcza na łaźni wodnej aż do rozpoczęcia krystalizacji, wreszcie oziębia do —10°C i powstały osad odsącza. Otrzymuje się hormony w postaci czysto białego osadu o temperaturze topnienia 272 — 276°C (bez poprawki). Chodzi tu o trójhydroestrynę o wzorze $C_{18}H_{24}O_3$. Z alkoholowych ługów pokrystalicznych można otrzymać dalsze ilości tego hormonu. Jest to ketohydroksyestryna o wzorze $C_{18}H_{22}O_2$, w drodze krystalizacji można ją oczyścić jeszcze dokładniej. Jeśli odparować ług pokrystaliczny z octanu etylowego, to z pozostałości można otrzymać dalsze ilości hormonów w postaci bezbarwnych kryształów o temperaturze topnienia około 250°C.

Przykład II. Surowy wyciąg, otrzymany według przykładu I, z 10 litrów moczu kobiet ciężarnych po destylacji z parą wodną rozciera się z 5 g tlenku magnezowego (magnesia usta) i 75 cm³ wody na wrzącej łaźni wodnej oraz przesącza się zapomocą pompy ssącej. Składnik nierozpuszczony proszkuje się i kilkakrotnie wyciąga ponownie na wrzącej łaźni wodnej wodą, zawierającą wodorotlenek magnezu, przyczem pozostałość każdorazowo odsącza się zapomocą pompy ssącej. Otrzymane wyciągi

wodne zakwasza się kwasem solnym, wyciąga eterem i przerabia, jak w przykładzie I, otrzymując opisane tam hormony.

Przykład III. Surowy wyciąg z 20 litrów moczu kobiet ciężarnych, otrzymany według przykładu I i przedestylowany z parą wodną, rozciera się z 20 g tlenku cynkowego i wodą w temperaturze 90—100°C, poczem wodny wyciąg odsąca. Ekstrakcję powtarza się kilkakrotnie i wodne wyciągi przerabia według przykładu I i II na wykrystalizowane hormony.

Przykład IV. Surowy olej, otrzymany według przykładu I przez ekstrakcję eterem zakwaszonego moczu ciężarnych kobiet, traktuje się mlekiem wapiennym i otrzymane wyciągi alkaliczne przerabia dalej według tegoż przykładu. Otrzymuje się wykrystalizowane hormony o wyżej podanych właściwościach.

Przykład V. Wyciąg butanolowy, otrzymany z 500 litrów moczu kobiet ciężarnych, odparowuje się w próżni, a pozostałość destyluje z parą wodną, dopóki przechodzą substancje lotne. Następnie dodaje się 750 cm³ 3-normalnego mleka wapiennego i w dalszym ciągu destyluje z parą wodną aż do całkowitego odpędzenia amoniaku i innych, zwłaszcza zasadowych substancyj. Pozostałość odsąca się i miele w obecności 1,5 litra wody i 50 cm³ mleka wapiennego. Po odsączeniu zapomocą pompy ssącej powstały miątki proszek rozrabia się kilkakrotnie z 1,5 l gorącej wody i odsysa. Połączone wyciągi następnie zakwasza się kwasem solnym do słabej reakcji wobec wskaźnika kongo i wyciąga kilkakrotnie eterem, wolnym od nadtlenu. Wyciągi eterowe przemywa się najpierw rozcieńczonym roztworem dwuwęglanu sodowego, a następnie takim samym roztworem, zawierającym ponadto nieco węglanu sodowego. Po oddestylowaniu roztworu eterowego, przemytego wodą, pozostają hormony w stanie wykrystalizowanym. W celu ich wyosobnienia można je

np. wyciągać na ciepło 1% -ym ługiem sodowym, przyczem pozostają nieznaczne ilości nierozpuszczonych zanieczyszczeń, które się odsąca. Przezroczysty przesącz wyciąga się kilkakrotnie eterem i połączone wyciągi przemywa wodą. Po odparowaniu eteru pozostaje żółtawa masa żywicowata, krystalizująca szybko po dodaniu niewielkiej ilości octanu etylowego i ewentualnie nieco eteru naftowego. Po zakończeniu krystalizacji w lodówce, substancję odsąca się zapomocą pompy ssącej, przemywa niewielką ilością octanu etylowego i suszy. Przedstawia ona czysty hormon o składzie $C_{18}H_{22}O_2$ (ketohydroksyestryna) o temperaturze topnienia 256 — 258°C.

Alkaliczny roztwór, wyciągnięty eterem, nasycza się dwutlenkiem węgla i kilkakrotnie wyciąga eterem. Połączone wyciągi eterowe przemywa się rozcieńczonym wodnym roztworem dwuwęglanu sodowego oraz wodą. Po odparowaniu eteru pozostaje hormon o składzie $C_{18}H_{24}O_3$ (trójhydroksyestryna) w postaci krystalicznej. Daje się on otrzymywać w stanie zupełnie czystym przez działanie octanem etylowym i przekrystalizowanie z alkoholu w obecności niewielkiej ilości węgla zwierzęcego. Wykazuje on temperaturę topnienia 276 — 277°C.

Przykład VI. Wyciąg z moczu ciężarnych klaczy, otrzymany według przykładu I, przerabia się według przykładu V. Otrzymuje się przytem wykrystalizowane hormony o składzie $C_{18}H_{22}O_2$ (ketohydroksyestryna).

Przykład VII. Zastępując w przykładzie V mleko wapienne wodnym roztworem wodorotlenku barowego, otrzymuje się również krystaliczne hormony o składzie $C_{18}H_{22}O_2$ i $C_{18}H_{24}O_3$.

Zastrzeżenie patentowe.

Sposób otrzymywania żeńskich hormonów płciowych w postaci krystalicznej z zawierających hormony wyciągów z moczu

ciężarnych kobiet lub samic, znamienny tem,
że wyciągi te poddaje się w obecności wody
działaniu wodorotlenków lub tlenków metali
drugiej grupy układu okresowego aż do wy-
tworzenia łatwo rozpadającego się proszku,
poczem osad odsącza się i dokładnie prze-
mywa, a zebrane wodne wyciągi zakwasza,
następnie wyciąga rozpuszczalnikiem, nie-

mieszającym się z wodą, i wreszcie tak o-
trzymane wyciągi oczyszcza w znany spo-
sób.

Gesellschaft für Chemische
Industrie in Basel.

Zastępca: M. Skrzypkowski,
rzecznik patentowy.