

A61k 17/08

URZĄD PATENTOWY



RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 18614.

Kl. 30 h, 7.

I. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft
(Frankfurt n. M., Niemcy).

Sposób otrzymywania hormonów z całkowitej przysadki mózgowej.

Zgłoszono 1 lutego 1929 r.

Udzielono 13 czerwca 1933 r.

Pierwszeństwo: 4 lutego 1928 r. (Niemcy).

Sposoby otrzymywania wyciągów, zawierających hormony całkowitej przysadki mózgowej, nie są dotychczas znane. Wprawdzie w medycynie znajdują już od lat wielu zastosowanie wyciągi z płatów tylnych przysadki mózgowej do wywołania skurczów macicy, lecz o swoistem działaniu wyciągów, względnie przeszczepianiu płatów przednich przysadki mózgowej wzmiankują dopiero badania najnowsze. W pracach miarodajnych podkreślono jednak wrażliwość czynnych substancji płatów zarówno przednich, jak i tylnych przysad-

ki mózgowej. Stasiak stwierdził, na przykład (patrz I Pharm. and Exp. Ther. 28), iż czynne substancje wyciągów z przysadki mózgowej rozkładają się zapomocą gotowania w rozcieńczonym kwasie solnym lub pod działaniem alkaliów. Podobnie Abel, Guggenheim, Draper i inni wspominają o wrażliwości substancji czynnych płatu tylnego na alkalia.

Wykryto obecnie, że pomimo wspomnianej powyżej wrażliwości wyciągów względem kwasów i alkaliów można jednak otrzymać wyciągi czynnych substancji z

przysadki mózgowej, w drodze traktowania jej w temperaturze nieprzekraczającej 70°C, środkami hydrolizującymi. W tym celu nadają się zwłaszcza alkalia oraz kwasy organiczne lub nieorganiczne. Przy podobnym traktowaniu można stosować znacznie wyższe stężenia środka hydrolizującego, np. NaOH , HCl , niż znane dotychczas przy obróbce poszczególnych płatów przysadki mózgowej. Można nawet, na przykład, stosować $n/1$ ług sodowy i 10 $n/1$ kwas solny, należy jednak przestrzegać, aby traktowanie to odbywało się przez czas krótki w temperaturze nie przekraczającej 70°C, inaczej bowiem w pewnych okolicznościach może zachodzić daleko posunięty rozkład substancji płatów przednich lub tylnych. Należy to rozumieć w ten sposób, iż stosowanie środka hydrolizującego o wysokim stężeniu, jak to tytułem przykładu podano powyżej, wymaga krótszego czasu działania i niższej temperatury, np. około 30°C, podczas gdy przy stosowaniu słabszego stężenia, np. $n/100$ ługu sodowego lub $n/100$ kwasu siarkowego, można stosować dłuższy czas działania, np. 1 godzinę, i wyższą temperaturę, t. j. do 70°C. Czas działania i temperatura mogą się przytem znacznie zmieniać.

Zapomocą niniejszego sposobu ciała białkowe hydrolizują się w stopniu daleko posuniętym. Wytworzone alkali- lub acidoalbuminiany, względnie globuliniany, strąca się, w razie potrzeby, zapomocą zubożenia środka hydrolizującego, podczas gdy czynne substancje pozostają w roztworze.

Nie jest warunkiem koniecznym prowadzenie obróbki przysadki mózgowej w ten sposób, aby całkowitą ilość substancji czynnych otrzymać w jednym wyciągu. Hydrolizę przysadki mózgowej można też prowadzić stopniowo, co umożliwi oddzielne otrzymywanie substancji czynnych.

Proces otrzymywania czynnych wyciągów substancji przysadki mózgowej można prowadzić nietylko zapomocą przytoczonych

powyżej środków hydrolizujących, lecz można go również wywołać działaniem rozszczepiających białka fermentów, jako to papainy lub zapomocą autolizy.

W celu uniknięcia rozkładu przy przeprowadzaniu hydrolizy zapomocą słabego stężenia środka hydrolizującego, można dodać środka konserwującego, jak np. fenolu, trójkrezolu, lub acetonochloroformu.

Sposób niniejszy może być stosowany do wyosobniania czynnych substancji wszystkich części przysadki mózgowej, w jednym zabiegu pracy, zarówno z gruczołów świeżych jak i wysuszonych. Nadaje się on również do otrzymywania czynnych substancji z samych tylko płatów przednich.

Stopień działania otrzymanych tym sposobem wyciągów oznacza się wprost zapomocą doświadczeń na zwierzęciu lub wyciągi te oczyszcza się uprzednio zapomocą rozpuszczalników organicznych np. acetonu lub alkoholu.

Przykład I. 30 g świeżej przysadki mózgowej miele się i zalewa 50 cm³ wody; do zawiesiny wprowadza się w temperaturze około 15°C w ciągu 30 minut chlorowódor. Następnie masę reakcyjną odwirowuje się, jasno-brunatną ciecz odwirowaną odlewa się, a pozostałość obrabia powtórnie jak wyżej. Połączone odwirowane ciecze zubożają się mocnym ługiem sodowym, wydzielone albuminiany i globuliniany odwirowuje i stopień działalności przezroczystego, zabarwionego słabo na kolor żółty wyciągu oznacza bezpośrednio, działając na płyty tylne i przednie odpowiedniego zwierzęcia, lub oczyszcza wyciąg ten uprzednio organicznym rozpuszczalnikiem, np. acetonem, poczem określa się jego wartość zapomocą doświadczeń na zwierzęciu.

Przykład II. 1 g sproszkowanej przysadki mózgowej miesza się z 20 cm³ $n/2$ ługu sodowego w temperaturze 35° — 40°C w ciągu 20 minut i odwirowuje. Odwirowana ciecz zawiera przeważającą część czynnej

substancji płatów tylnych. Pozostałość po odwirowaniu obrabia się ponownie 20 cm³ n/1 ługu sodowego w temperaturze 25°C w ciągu 20 minut. Otrzymana obecnie ciecz zawiera po odwirowaniu główną ilość czynnej substancji płatów przednich. Z otrzymanych cieczy po odwirowaniu można oddzielić lub razem zapomocą 2 n/1 kwasu solnego strącić kłaczkowaty osad produktów rozpadu białka. Kłaczkowate osady odwirowuje się, zawierają one tylko ślady czynnych substancyj. Wartość otrzymanego przesączu określa się doświadczalnie.

Przykład III. Przygotowane z 34 g przysadki mózgowej płyty przednie i tylne wyciąga się 50 cm³ 3%-ego roztworu siarczku sodowego w ciągu 20 minut w temperaturze 15°C, poczem odwirowuje się. Po odwirowaniu alkaliczny roztwór zubożętnia się natychmiast. Ekstrahowanie to powtarza się jeszcze dwukrotnie, a połączone ciecze po odwirowaniu doprowadza się do $pH=5$, wskutek czego wydziela się kłaczkowaty osad, stanowiący produkty rozpadu białka, który się odsącza. Uwolniony siarkowodor usuwa się według jednej ze znanych metod, jednak bez stosowania wyższej temperatury, poczem stopień działania otrzyma-

negu wyciągu oznacza się zapomocą doświadczeń na odpowiednim zwierzęciu.

Zastrzeżenia patentowe.

1. Sposób otrzymywania hormonów z całkowitej przysadki mózgowej, znamieny tem, że cały gruczoł poddaje się przez czas krótki daleko posuniętej hydrolizie ciał białkowych zapomocą środków hydrolizujących w temperaturze nieprzekraczającej 70°C, następnie produkty rozpadu białka wydziela się z roztworu przez zmianę stężenia jonów wodorowych, poczem otrzymane wyciągi poddaje się ewentualnie dalszemu oczyszczaniu, traktując je naprzykład acetonem lub alkoholem.

2. Odmiana sposobu według zastrz. 1, znamienna tem, że obróbce poddaje się poszczególne płyty przysadki mózgowej.

3. Sposób według zastrz. 1, znamienny tem, że hydrolizę całkowitej przysadki mózgowej uskutecznia się stopniowo.

I. G. Farbenindustrie
Aktiengesellschaft.
Zastępca: M. Skrzypkowski,
rzecznik patentowy.