



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 04.02.75 (P. 177780)

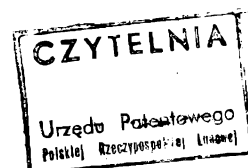
Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 09.10.76

Opis patentowy opublikowano: 15.03.1978

MKP A61k 17/18

Int. Cl.² A61K 31/725



Twórcy wynalazku: Waldemar Czarnota, Eliza Derlacka, Zbigniew Łopatek

Uprawniony z patentu: Warszawskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfarm”,
Warszawa (Polska)

Sposób wytwarzania soli sodowej heparyny ze śluzówki jelit zwierzęcych

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania soli sodowej heparyny ze śluzówki jelit zwierzęcych. Heparyna jest sulfonowanym mukopolisacharydem o ciężarze cząsteczkowym 12000—20000, występującym w tkankach zwierzęcych, głównie w wątrobie, płucach, śluzówce przewodu pokarmowego. Sól sodowa heparyny, jest białym drobno-kryształicznym lub bezpostaciowym higroskopijnym proszkiem, bez smaku i zapachu, dobrze rozpuszczalnym w wodzie, słabo w rozcieńczonych alkoholach, nierozpuszczalnym w alkoholach, acetonie, eterze, chloroformie i benzenie.

Cząsteczka heparyny posiada silny ujemny ładunek elektryczny, dzięki czemu jest zdolna do tworzenia kompleksów z niektórymi białkami, szczególnie protaminą, czwartorzędowymi solami amoniowymi, aminami alifatycznymi i aromatycznymi. W lecznictwie, diagnostyce, analizach laboratoryjnych i sztucznych hodowlach tkanek stosowana jest heparyna głównie w postaci soli sodowej, rzadziej wapniowej lub barowej.

Istnieje szereg metod wyodrębniania heparyny z tkanek zwierzęcych. Omawiają je L.B. Jaques i H. J. Bell w monografii „Methods of Biochemical Analysis” 253—309, Interscience Publ. L. T. D. Londyn oraz opis patentowy nr 61042.

Znany jest między innymi sposób wyodrębniania heparyny z tkanki płucnej według opisu patento-

2

wego nr 61042, polegający na autolizie tkanki płucnej w 0,9% wagowo roztworze chlorku sodu, w obecności środków konserwujących, takich jak toluen, chloroform, salicylan sodu, pod wpływem własnych enzymów lub wobec enzymów pankreatynowych, w temperaturze 35—40°C w ciągu 12—24 godzin, ekstrakcji heparyny siarczanem amonu, odbiażania ekstraktu, oddzieleniu białka i tkanki płucnej, kompleksowaniu heparyny z czwartorzędową solą amoniową, wyodrębnianiu kompleksu, rozłożeniu go i wyodrębnianiu soli sodowej heparyny z roztworu.

Wadą procesu według opisu patentowego nr 61042 jest zastosowanie tkanki płucnej, surowca drogiego, posiadającego wartość konsumpcyjną, wprowadzanie do procesu toluenu, chloroformu — rozpuszczalników organicznych toksycznych i łatwopalnych, zanieczyszczających ścieki produkcyjne, wprowadzanie do procesu siarczanu amonu w ilościach, przekraczających dopuszczalne zawartości w ściekach, długi czas trwania procesu.

Celem wynalazku jest wprowadzenie doskonalszej metody produkcji, wprowadzenie do procesu surowca tańszego, to jest śluzu jelitowego, nie mającego wartości konsumpcyjnych, skrócenie czasu produkcji, wyeliminowanie z procesu rozpuszczalników łatwopalnych — toluen, toksycznych — chloroform, wyeliminowanie surowców toksycznych ze ścieków produkcyjnych w ilościach, przekra-

czających dopuszczalne stężenie, zagospodarowanie surowca odpadowego — śluzówka jelit, zwiększenie wydajności procesu.

Sposobem według wynalazku, sól sodową heparyny wyodrębnia się ze śluzówki jelit zwierzęcych, poddając tkankę ekstrakcji w roztworze 20—28%, korzystnie 25%, wagowo chlorku sodu, 0,5—0,6%, korzystnie 0,55%, wagowo wodorotlenku sodu, 2,5—3,0%, korzystnie 2,5% wagowo chlorku wapnia w temperaturze 50—70°C, korzystnie 60°C, w ciągu 15—60, korzystnie 30, minut, podgrzaniu do temperatury 95°C, odsączeniu zakwaszeniu przesączu 60% wagowo roztworem kwasu siarkowego do pH=1, 2—2, 0, korzystnie 1,5—1,7, podgrzaniu płynu do temperatury 80—100°C, korzystnie 90°C, wymieszaniu płynu z 1,0 kg ziemi infuzorskiej na 100 kg śluzu i ponownym odsączeniu. Klarowny przesącz rozcieńcza się wodą w ilości 1:4—1:7, korzystnie 1:5, podgrzewa do temperatury 50—70°C, korzystnie 60°C, dodaje 8—12 kg, korzystnie 10 kg, 25% wagowo roztworu bromku laurylopirydynowego, 5 kg ziemi infuzorskiej na 2000 kg śluzówki jelitowej, miesza się w ciągu 30 minut i pozostawia do sedymentacji.

Po zdekantowaniu płynu, osad odsącza się, przemycywa 400—500 kg wody, podgrzanej do 60°C, korzystnie 3 razy po 150 kg, zawiesza w 50 kg 20% wagowo roztworu chlorku sodu, podgrzewa do temperatury 70—90°C, korzystnie 80°C, utrzymuje w tej temperaturze w ciągu 10—30, korzystnie 15 minut, i sączy. Czynności zawieszania w roztworze chlorku sodu, podgrzania i sączenia powtarza się jeszcze dwukrotnie.

Otrzymane przesącze łączy się, schładza do 20°C i wytrąca sól sodową heparyny za pomocą metanolu w ilości 1:1,5 — objętościowy stosunek roztworu do metanolu. Wytrąconą sól sodową heparyny odsącza się i suszy. Otrzymuje się na tym etapie 70000—80000 j.m. heparyny z 1 kg śluzówki jelitowej.

Proces produkcji soli sodowej według wynalazku charakteryzuje się: obniżeniem kosztu wytwarzania o około 50%, zastosowaniem w produkcji substytutu w miejsce cennego konsumpcyjnego surowca mięsnego, to jest tkanki płucnej, większą wydajnością z jednostki surowca, wyeliminowaniem z procesu uciążliwych surowców toluenu, chloroformu, siarczanu amonu, skróceniem czasu produkcji.

Przykład I. 2000 kg śluzówki jelitowej zawieszono w 1400 kg wody, podgrzanej do temperatury 60°C, dodano 400 kg chlorku sodu, 50 kg chlorku wapnia, 10 kg wodorotlenku sodu, całość podgrzano do temperatury 60°C i mieszając utrzymywano w tej temperaturze w ciągu 30 minut, po czym podgrzano do temperatury 95°C i odsączono płyn od tkanki śluzówki jelitowej.

Zebrany przesącz zakwaszano za pomocą 60% wagowo wodnego roztworu kwasu siarkowego do uzyskania pH = 1,5—1,7, podgrzano do tempera-

tury 90°C, dodano 20 kg ziemi infuzorskiej — Dicalite i odsączono płyn od osadu.

Przesącz rozcieńczono za pomocą 7000 kg wody, podgrzano do temperatury 60°C, dodano 10 kg 25% wagowo wodnego roztworu bromku laurylopirydynowego i 5 kg ziemi infuzorskiej Dicalite, całość mieszano w ciągu 30 minut, po czym odsławiono do sedymentacji.

Płyn z nad osadu zdekantowano, a osad przemycy to trzy razy po 150 kg wody, podgrzanej do temperatury 60°C. Przemity osad zawieszono w 50 kg 20% wagowo wodnego roztworu chlorku sodu, zawiesinę podgrzano do temperatury 80°C, utrzymywano w tej temperaturze w ciągu 15 minut i przesączono. Czynności zawieszania osadu w roztworze chlorku sodu, podgrzania i sączenia powtórzone jeszcze dwa razy.

Otrzymane trzy przesącze połączono, schłodzono do temperatury 20°C i dodano metanolu w ilości 1,5 objętości w stosunku do przesączu. Wytrąconą sól sodową heparyny odsączono, odwodniono etanolem i wysuszono.

Otrzymano 145.000.000 j.m. heparyny.

Przykład II. Postępowano analogicznie, jak w przykładzie I z tym, że zamiast 10 kg 25% wagowo wodnego roztworu bromku laurylopirydynowego dodano 10 kg 25% wagowo siarczanu laurylopirydynowego.

Otrzymano 140.000.000 j.m. heparyny.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób otrzymywania soli sodowej heparyny ze śluzówki jelitowej zwierzęcej przez ekstrakcję tkanki śluzówkowej, odbiałczenie ekstraktu, odsączenie białek, wyodrębnienie heparyny z roztworu za pomocą czwartorzędnych soli amoniowych, takich jak siarczan lub bromek laurylopirydynowy, rozłożenie kompleksu do soli sodowej, a następnie wytrącenie, odbarwienie i oczyszczenie heparyny, znamienny tym, że tkankę śluzówki poddaje się ekstrakcji w wodnym roztworze 20—28% wagowo chlorku sodu, 2,5—3% wagowo chlorku wapnia, 0,5—0,6% wagowo wodorotlenku sodu w temperaturze 50—70°C, wytrącenie kompleksu heparyny prowadzi się po rozcieńczeniu odbiałczonego ekstraktu tkanki śluzówkowej wodą w stosunku objętości ekstraktu do objętości wody 1:4 do 1:7 za pomocą 25% wagowo roztworu bromku laurylopirydynowego w ilości 4 do 6 g na 1 kg tkanki śluzówki w temperaturze 50—70°C lub za pomocą 25% wagowo roztworu siarczanu laurylopirydynowego w ilości 4—6 g na 1 kg tkanki śluzówki w temperaturze 50—70°C, przy czym wytrąca się kompleks z jedną z wymienionych soli amoniowych, który po wyosobnieniu z roztworu rozkłada się przez ogrzewanie w 20% wagowo wodnym roztworze chlorku sodu w temperaturze 80°C, po czym z tego roztworu wytrąca się sól sodową heparyny za pomocą metanolu.

GZYTEL NIA

DN-3, zam. 923/77
Urząd Patentowy
Cena 15 zł