



PATENTNI SPIS BR. 12465

I. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft, Leverkusen — I. G. Werk, Nemačka.

Postupak za izradu jednog vitaminskog preparata.

Prijava od 9 oktobra 1935.

Važi od 1 januara 1936.

Traženo pravo prvenstva od 30 oktobra 1934 (Nemačka).

Poznato je, da razni životinjski organi sadrže supstancu sličnu vitaminima, koja je u stanju da sprečava kožna oboljenja kod pacova i istovremeno da leči oboljenja kože kod čoveka. Naročito su bogati bubrezima i džigerica (crna) tom sada uopšte „vitamin H“ nazvanom biološkom aktivnom materijom. Pošto je ta aktivna materija sigurno vezana u organima intercelularno i ne može se na pr. presovanjem ili ekstrakcijom izdvojiti, oslobođenje iste vrši se pomoću varenja sa proteolitičnim fermentima. Ali takav jedan postupak ima nedostatke usled svojstava pri tome nastalih različitih proizvoda razlaganja, a i iskorišćenje je nezadovoljavajuće.

Sada je pronađeno, da se iz džigerice i bubrega može dobiti kožni faktor, koji utiče na izmenu materija kože, ako se ti organi, probitačno po prethodnom usitnjavanju, zagrevaju na višoj temperaturi, probitačno iznad 100° i ako se pri tome dobiveni rastvor odvoji od nerastvorenog, eventualno koncentriše i podvrgne daljnjem prečišćavanju. Usled jačeg zagrevanja, koje se na normalan način vrši pod pritiskom, oslobađa se aktivna materija i postaje rastvorljiva u vodi. Pri tome je veoma iznenađujuće, kada se uzme u obzir poznata osetljivost spram temperature većine aktivnih materija iz organa, da kožni faktor, čak i pri mnogočasovnom zagrevanju na temperaturama od 100—300° ostaje potpuno stabilan. Pomoću zagrevanja postiže se potpuna rastvorljivost ishodnog materijala

u odnosu na sadržinu vitamina H, tako da se na taj način vitamin H može skoro kvantitativno osloboditi i iskoristiti. Sveži organi mogu se obrađivati kao takvi ili eventualno uz dodatak vode i/ili organskih rastvornih sredstava. Dodatak sredstava za razređivanje kao vode i/ili organskih rastvornih sredstava, kao acetona, potreban je tada, ako se radi sa suvim supstancama organa. Zavisno od prirode ishodne materije, može se preporučiti, da se reakcionj mešavini dodaju elektroliti, kao na pr. neutralne ili puferne soli, razređene kiseline, ili alkalije. Rastvori dobiveni pri takvom načinu rada mogu se podvrgnuti uobičajenim postupcima za prečišćavanje, na pr. absorpciji i eluciji, postupku taloženja i ekstrakcije i sl.

Kao naročito probitačna pokazala se jedna dalekosežna hidroliza u kiseloj ili alkalnoj sredini, jer je ustanovljeno, da se na taj način rastvorljivost vitamina H u organskim rastvornim sredstvima može promeniti iz osnove, tako da vitamin H postaje u većini organskih rastvornih sredstava rastvorljiv. Ovo je u toliko čudnovatije, kada se uzme u obzir, da je vitamin H, koji je učinjen rastvorljivim u vodi pomoću svarivanja sa proteolitičnim fermentima ili pomoću grejanja pod pritiskom sa vodom, jedva rastvorljiv u organskim rastvornim sredstvima. Stoga se za odvajanje vitamina H iz kiselog ili alkalnog hidrolizata, poslednji oslobađa pomoću dodatka organskih rastvornih sredstava, koja se mešaju sa vo-

dom, na pr. acetona ili alkohola, ili se ekstrahuje pomoću dodatka tečnosti, koje se ne mešaju sa vodom, na pr. viših alkohola, kiselinskih estera, na pr. sirćetnog estera, ili hlornih ugljovodonika, kao metilenhlorida.

Kao ishodni materijal za ovaj postupak, mogu se upotrebiti preparati, koji sadrže vitamin H već u rastvorljivom stanju, kao na primer ishodne materije sa vitaminom H, koje se dobivaju pomoću svarivanja papainom, ili takvi preparati kod kojih je vitamin H još intracelularno vezan, na pr. sveži, sušeni, autolizirani, ili vodom i/ili organskim rastvornim sredstvima ekstrahirani bubrezi i džigerica (crna). Takođe preparati, dobiveni iz materijala koji sadrži vitamin H, pomoću zagrevanja sa vodom pod pritiskom, mogu se naknadno podvrgnuti još jednoj kiseloj odn. alkalnoj hidrolizi i preraditi pomoću oslobađanja ili ekstrakcije, kao što je to napred opisano.

Kisela odn. alkalna hidroliza, može se vršiti na pr. pomoću dužeg kuvanja ili zagrevanja pod pritiskom u kiseloj odn. alkalnoj sredini. Kao naročito probitačno pokazalo se, da se ishodni materijal koji sadrži vitamin H, a u kome je vitamin H još intercelularno vezan, na pr. sveža ili sušena džigerica (crna) ili bubrezi, zagreva pod pritiskom uz dodatak kiseline, na pr. sumporne ili hlorovodonične kiseline.

Rastavljanje mešavine rastvora dobivenih pomoću dalekosežne hidrolize, vrši se probitačno pomoću dodatka acetona. Takođe su se pokazali kao pogodni metanol, etanol i izopropanol. Za ekstrakciju vitamina iz rastvora dobivenih posle hidrolize, pogodni su naročito butanol, pentanol i sirćetni ester. Za odmešavanje ili ekstrakciju mogu se upotrebiti i mešavine pomenutih rastvornih sredstava, na pr. mešavina od propanola i acetona. U nekim slučajevima pokazao se kao probitačan i dodatak etra. Pre odmešavanja ili ekstrakcije preporučuje se smanjivanje kiselosti ili alkalnosti rastvora pomoću dodatka neke baze, na pr. natrijeve lužine, amonijaka, piridina ili sl., odn. neke kiseline, na pr. hlorovodonične kiseline.

Za preradu rastvora vitamina H, dobivenih na gore opisan način u suv preparat, isparavaju se rastvori do suva.

Mogu se takođe uključiti i uobičajeni postupci za prečišćavanje, na pr. između kisele odn. alkalne hidrolize i odmešavanja odn. ekstrakcije, ili priključno odmešavanje odn. ekstrakciju. Kao primer navodi se taloženje vitamina sa fosforvolframskom kiselnom u kiselom rastvoru, razlaganje taloga sa baritom i odstranjivanje barita pomoću sumporne kiseline iz tako dobivenog

rastvora. Ali se može i vitamin H, na pr. adsorbovati ugljen i dobiveni adsorbat eluirati sa piridinom. Posle odstranjivanja piridina i rastvaranja ostatka sa vodom, vrši se rastavljanje mešavine, odnosno ekstrakcija.

Ovaj način rada odlikuje se prema dosad primenjenim postupcima svojom jednostavnošću i time uslovljenom manjom potrebom vremena i novca, pri vrlo dobrom iskorišćenju i čistoći dobivenog preparata.

Primer 1.

5 kgr. na mašini što je moguće finije usitnjenih bubrega, razmeša se sa 5 litara 4% -ne hlorovodonične kiseline i zagreva se u autoklavu uz mešanje na 140° (3.5 at). Posle tri časa rastvor se odvaja, a ostatak se još jednom podvrgava istoj obradi. Združeni rastvori koncentrišu se, ostave se da stoje nekoliko dana u hladnjači i oslobađaju se filtrisanjem od staloženih balastnih materija. Oni sadrže skoro celokupnu količinu vitamina H, koji se nalazio u ishodnom materijalu.

Primer 2.

5 kgr. praha od džigerice (crne) koji je dobiven pomoću savesnog ekstrahiranja usitnjene džigerice sa 40% -nim alkoholom i naknadnog sušenja, zagreva se sa 15 litara vode u autoklavu sa mešalicom na 160° (6 at) u toku od 6 časova. Rastvor se vruć ocedi, a ostatak se podvrgava još jednom istoj obradi. Združeni filtrati otpare se u vakumu na 5 litara i dovedu se pomoću hlorovodonične kiseline na P_H 3. Talože se tamne smolaste mase koje se odvajaju filtrisanjem. Rastvor sadrži skoro celokupan vitamin H, koji se nalazio u prahu od džigerice (crne).

Primer 3.

5. kgr. bubrega fino se usitni, podvrgne se na P_H 5 papainskom varenju pri 70°C, ekstrahira se sa vodom i posle odvajanja nerastvorljivog koncentriše se na 5 litara. Dodaje se 2 litara 50% -ne sumporne kiseline i rastvor se uz stalno mešanje održava u toku od 9 časova u ključanju. Posle rashlađenja aciditet se smanjuje na P_H 4 pomoću natrijeve lužine, otpari se do slabo sirupaste konzistencije i tome se uz snažno mešanje postepeno dodaje trostruka zapremina izopropanola. Koncentrat se meša sa rastvornim sredstvom do odnosa otprilike 1:1. Pri daljem dodavanju taloži se zejtinasti tamni uljan talog, koji naposljetku pada na dno u vidu žilavog blata. Svetli gornji sloj se odvaja, rastvorno sredstvo se otpari, a ostatak se rastvori u vodi. Taj rastvor sadrži 80—90% vitamina H, koji se nalazio u bubrezima,

Primer 4:

5 kgr. praha od džigerice (crne) zagreva se sa 20 litara vode u autoklavu uz mešanje na 180°C, u toku od 6 časova. Posle rashlađenja odvaja se od nerastvorenog, koncentriše se na 5 litara i kuva se u toku od 6 časova sa 2 litra 50 %-ne sumporne kiseline. Zatim se aciditet smanjuje sa P_H 3 pomoću natrijeve lužine koncentriše se na oko 4 litara i to me se uz snažno mešanje dodaje postepeno 12 litara acetona. Prva 3—4 litra daju sa koncentratom bistar rastvor. Pri daljem dodavanju taloži se neko mrko ulje, koje naposljetku stvara na dnu jedan žilavi tamni talog. Acetonski rastvor se odvaja, otpari se do suvog i ostatak se rastvara u vrućoj vodi. Pri rashlađenju taloži se još jednom mrko ulje. Vodeni deo sadrži oko 90 % vitamina H, koji se nalazio u prahu od džigerice.

Mesto da se u rastvor dobiven energičnom hidrolizom doda 12 litara acetona, može se dodati i mešavina od 7. 2 l. acetona i 4. 8 l. propanola.

Između kisele hidrolize i odmešavanja, može se u svrhu daljnjeg prečišćavanja uključiti još jedno taloženje sa fosforvolframskom kiselinom. Tako dobiveni talog razlaže se pomoću barita, barit se vezuje pomoću odgovarajuće količine sumporne kiseline, a staloženi barijev sulfat se odvaja filtrisanjem.

Primer 5:

5 kgr. praška od džigerice (crne) zagreva se sa 15 litara 15 %-ne sumporne kiseline u autoklavu u toku od 4 časa na 160°C. Posle rashlađenja aciditet se smanjuje bez filtrisanja pomoću natrijeve lužine na P_H 3.5, koncentriše se na 10 l. i to me se uz snažno mešanje dodaje postepeno 40 l. sirćetnog estera. Posle 2 časa odvaja se žuto obojeni estar od tamnog taloga, rastvor se otpari od suvog i ostatak se rastvori u vodi. Tako dobiveni rastvor sadrži oko 80 % vitamina H, koji se nalazio u prahu od džigerice.

Primer 6:

3 kgr. praha od džigerice (crne) zagreva se sa 9 l. 10 %-ne natrijeve lužine u autoklavu sa mešalicom na 150°C, u toku od 4 časa. Posle rashlađenja ispere se želatinozna masa vodom, zakiselji se sa koncent. hlorovodoničnom kiselinom na P_H 3.5 i koncentriše se u vakumu na 3 litra. U sirupasti rastvor dodaje se zatim uz snažno mešanje petostruka količina acetona. Filtriše se od postepeno staloženog zejtinastog tamnog uljanog blata, gornji svetli sloj se otpari do suva i ostatak se rastvara u vrućoj vodi. Posle rashlađenja odvaja se nerastvoreno filtrisanjem. Rastvor sadrži 80 % vitamina, koji se nalazio u prahu od džigerice i to u veoma prečišćenom obliku.

Patentni zahtevi:

1) Postupak za dobivanje jednog vitaminskog preparata koji utiče na izmenu materije kože, naznačen time, što se džigerica (crna) ili bubrezi, probitačno posle prethodnog usitnjavanja i eventualno uz dodatak vode i ili organskih rastvornih sredstava i/ili neutralnih, kiselih ili alkalnih elektrolita, zagreva na višim temperaturama, probitačno iznad 100°C, što se dobiveni rastvor odvaja, eventualno koncentriše i podvrgava daljem prečišćavanju.

2) Postupak prema zahtvu 1, naznačen time, što se hidroliza vrši u keiseljoj ili alkalnoj sredini, u datom slučaju uz zagrevanje pod pritiskom.

3) Postupak prema zahtvu 2, naznačen time, što se hidrolizat dobiven prema zahtvu 2 oslobađa pomoću dodatka organskih rastvornih sredstava, koje se mešaju sa vodom, kao alkohola i acetona, ili što se ekstrahira pomoću organskih tečnosti, koje se ne mešaju sa vodom, kao što su viši alkoholi, kiselinski esteri i hlorni ugljovodoniči.

4) Postupak prema zahtvu 2 do 3, naznačen time, što se uključuje daljnji uobičajeni stupnjevi prečišćavanja, kao na pr. taloženje sa fosforvolframskoj kiselinom.

