

ADREN DOKUSUNDAN KORTİKOİDLERİN YENİ BİR METODLA  
EKSTRAKSİYONU VE BU EKSTRAKTIN SAFLAŞTIRILMASI  
EİNE NEUE METHODE ZUR EXTRAKTİON DER CORTICOİDE  
VON DEM NN-GEWEBE UND REİNİGUNG DER EXTRAKTİON

Doç. Dr. M. Münip YEĞİN  
(Atatürk Üniv. Tıp Fakültesi Biokimya Kürsüsü / Erzurum)

Muhtelif araştırmacılar tarafından Adren dokusunun ihtiva ettiği Kortikoidlerin kalitatif ve kantitatif tayinleri yapılmış ve yapılmaktadır. Birçok yazarlar, bu ekstraksiyonun pek zor ve mevzubahis hormonlardan çok büyük kısmının kaybına sebep olduğunu yazmaktadırlar<sup>1)</sup>. Nitekim, zayi edilen miktar üzerinde eluasyon, filtrasyon ve kromatografik incelemenin sebep olduğu müşterek nisbetler, % 75 civarında bulunmaktadır<sup>2,3,4,5)</sup>.

Biz önce bazı araştırmacıların metodlarını aynen tatbik ederek, Adren kortikoidlerinin ekstraksiyon ve saflaştırılmasını temine çalıştık<sup>6, 7)</sup>. Bunlardan en iyisi NEHER'in metodu idi. Bununla beraber, daha hassas bir ekstraksiyon ve saflaştırma imkânı elde edebilmek için 20 den fazla yeni metod denemeleri yapıldı ve sonunda, aşağıdaki bahis konusu modifiye metod ikame edildi.

Adren dokusundan kortikoid hormonların ekstraksiyonu ve saflaştırılması için ikame olunmuş bulunan

*NEHER'den modifiye YEĞİN Metodu*

Ekstraksiyon : Taze Adren'ler, canlı vücudundan alındıktan sonra, dış kısmındaki yağları temizlenir ve derhal CO<sub>2</sub>-Kar'ı içine bırakılarak dondurulur.

Bundan sonra tartılır ve bir porselen havan içinde üzerine tahminen kendi hacmi kadar susuz  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ilâve edilerek, homogenize edilir.

Her miligram Adren başına, birer mililitre taze distile edilmiş Kloroform hesaplanarak bununla adrenler iyice ezilir ve ince bir suspensyon haline getirilir. Sonra yavaş yavaş, yıkantılarıyla beraber bir ayırma hunisine alınır. Bunda bir çalkalama makinası vasıtasıyla bir saat müddetle çalkalanır. Sonunda, durulması için 2 saat kadar dinlendirilir.

Ekstraksiyonun saflaştırılması : Ayırma hunisinde dinlendirilmiş bulunan muhteviyat üzerine, içindeki kloroform hacminin 2/10 si kadar distile su ilâve olunup hafif hareketlerle elde 100 defa çalkalanır, tabakalanması için tahminen 15 dakika kadar beklenir ve sonra sulu faz atılır.

(Bu işlemler için, eldeki adrenlerin miktarına göre muhtelif büyüklükte ayırma hunilerine ihtiyaç vardır. Kullanılan kloroform, daima taze distile edilmiş bulunmalıdır, çünkü kloroform 4 saat zarfında Fosgen teşkil etmeğe başlar; Fosgen, ekstraksiyon işleminde zararlıdır<sup>8</sup>).

Ayırma hunisinde kalan kloroformlu ekstrakt üzerine, kendi hacminin 1/10 ri kadar 0,1 n - NaOH ilâve edilip, onunla yıkanır (yukarıda olduğu gibi).

Tekrar kendi hacminin 1/2 si kadar distile su ile de yıkanan kloroform, üzerine bir miktar susuz  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  konulmuş filtre kâğıdından dikkatlice süzülür. Kap ve filtre yine taze kloroformla durulanır.

Böylece yıkanmış bulunan kloroform, bir vakum yardımıyla ve 50 C° deki su banyosunda yine dikkatle 1-2 mililitre kalıncıya kadar, uçurulur. Bundan sonra:

Bakiye kloroform, kendi ilk hacminin 2/10 si kadar Petroleter ilâvesiyle eritilir ve içersine birkaç çakı ucu kadar NaCl konur ve karıştırılır.

Petroleter, kendi hacminin 1/3 ri kadar % 60 lık metanol ile 2 defa yıkanıp, metanoller ayrı bir ayırma hunisinde toplanır. Sonra bu metanol, kendi hacminin 1/4 ri kadar Petroleter ile bir defa daha yıkanır. Bakiye Petroleter de kendi hacminin 1/4 ri kadar % 60 lık metanol ile yıkandıktan sonra, metanoller cem edilir, Petroleterler atılır.

Toplanan metanol faz'ı, su banyosunda yarı hacma kadar uçurulur. Sonra çok taze ve kendi hacmi kadar kloroform ile ekstrakte edilir. Metanol, bir daha az kloroformla yıkandıktan sonra, atılır.

Kloroform ekstraktı bir miktar susuz Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilâvesiyle, yarım saat kadar kurumağa terkedilir. Sonra süzülür, taze kloroformla kap ve süzgeç kâğıdı durulanır.

Kurutulup süzülen kloroform, vakum yardımıyla 50 C° de dikkatlice ve tamamen uçurulur.

Balon'un dibinde kalan sarımsı renkte bakiye, saflaştırılmış kortikoid hormonların karışımından ibarettir. Ya topluca veya kromatografik metodlarla herbirlerini ayrı ayrı tesbit ve tayin etmek mümkündür. Bunun için, adı geçen bakiye 1-2 ml. absolut Etanolde eritilir ve sonra kromatogramlara tatbik olunur<sup>8)</sup>.

Sonuç : İkame ettiğimiz bu modifiye ekstraksiyon metodu ile, dananın yağsız eti'ne ilâve olunmuş korteks hormonlarından ekstraksiyon ve saflaştırma sonunda % 65 şî ve müteakiben kromatografik analiz ile ise ancak % 40'ı tekrar elde edilebilmiştir. Şu halde bahis konusu metod, sadece adren dokusu için değil, sair vücut dokularında da korteks hormonlarının ekstraksiyonuna elverişli ve şayanı tavsiyedir.

### ZUSAMMENFASSUNG

Um das Kortikoidhormongehalt der Nebennierenrinde festzustellen, wurde einer von uns modifizierten Extraktions- und Säuberungsmethode gearbeitet. Bei der Fleischgewebe ist es festgestellt, daß ca. % 65 von Kortikoidgehalt des erprobten Gewebes durch Extraktion und Säuberung wieder erhalten ist.

### LİTERATÜR

- 1) SEEBER, E. : Nauyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. u. Pharmak. 242, 110-116 (1961).
- 2) COPE (1960) 1 sıra No. lı esere istinaden alınmıştır.
- 3) HAINES, W. J. : Recent. Progr. Hormone Research 7, 255 (1952).
- 4) REUBER - R. und SCHMİDT - THOME : Hoppe-Seyler/Thiefelder Handbuch der phys. - und path. - chem. Anal. 10. A. III/2, Springer-Verlag (1955).
- 5) BUCH, I., E. : Ciba Found. coll. Endocr. 5, 203 (1955).
- 6) WLODZİMİERT, P. : Endokr. Pol. 13, 111-112 (1962).

- m saat  
ve süz-
- 7) NEHER, R. J. und CHURCHILL, A. : Ltd. (1958), Helvetica Chim.  
acta XXXIX, VII, 293, 2062 (1956).
- 8) YEĞİN, M. M. : Endokrinologie Bd. 49, Heft 5-6, 205-223 (1966).
- katlice

Yazarın Adresi :

Doç. Dr. M. Münip YeğİN  
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Biokimya Kürsüsü

*Erzurum/Türkiye*

korti-  
ografik  
ündür.  
sonra

dana-  
yon ve  
ile ise  
metod,  
cs hor-

stellen,  
ethode  
35 von  
Säube-

armak.

52).  
felder  
inger-