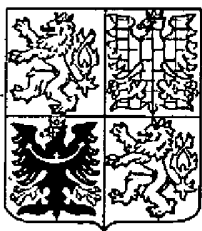


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(21) 59.94

(13) A3

5(51)

C 08 B 31/04

C 08 B 35/02

(22) 09.07.92
(32) 09.07.92, 11.07.91
(31) 92EP/9201553, 91/4123000
(33) WO, DE
(40) 13.07.94

(71) LAEVOSAN-GESELLSCHAFT mbH, Linz/Donau, AT;

(72) Förster Harald, Frankfurt/Main, DE;
Asskali Fatima, Frankfurt/Main, DE;
Nitsch Ernst, Linz, AT;

(54) Způsob výroby ve vodě rozpustných,
fyziologicky přijatelných esterů škrobu

(57) Postup spočívá v tom, že se škroby převedou hydrolýzou působením kyseliny nebo enzymu na částečný hydrolyzát se střední molekulovou hmotností M_w v rozmezí 10 000 až 500 000, částečný hydrolyzát se acyluje ve vodném roztoku působením anhydridu nebo halogenitu alifatické mono-karboxylové kyseliny o 2 až 4 atomech uhlíku nebo alifatické-dikarboxylové kyseliny o 3 až 6 atomech uhlíku nebo směsi těchto látek a alkylizačního činidla až do molekulární substituce 0,1 až 1,0 mol/mol a z reakční směsi se odstraní soli. Takto získané estery škrobů jsou vhodné pro klinické, zejména parenterální podávání a k dietetickým účelům.

Způsob výroby ve vodě rozpustných, fyziologicky přijatelných esterů škrobu

Oblast techniky

Vynález se týká způsobu výroby ve vodě rozpustných, fyziologicky přijatelných esterů škrobu pro klinické, zvláště parenterální použití.

Dosavadní stav techniky

Pro infuzní roztoky, náhrady plasmy, roztoky k ředění krve nebo roztoky pro peritoneální dialýzu a umělou výživu jsou zapotřebí ve vodě rozpustné, biologicky kompatibilní polymery. Až dosud se pro tyto účely používá zvláště želatina, deriváty želatiny, dextran a hydroxyethylované škroby, jak bylo popsáno například v US patentovém spisu č. 3 937 821, DE 3 313 600 a v publikaci Römpf's Chemie Lexikon, 9. vydání, str. 919 a 1509.

Pro klinické použití, zvláště jako náhrady plasmy se používají převážně roztoky polysacharidu dextranu a hydroxyethylovaného škrobu. Podstatnou nevýhodou dextranu je skutečnost, že při přítomnosti předem vytvořených protilátek může dojít k anafylaktickým reakcím, takže použití této látky je nebezpečné nebo je nezbytné předem podat neutralizující nízkomolekulární haptén. Při krátkodobém podání hydroxyethylovaného škrobu je možno jen zřídka pozorovat vedlejší účinky, avšak při dlouhodobém podávání dochází k ukládání této látky, zvláště v retikuloendoteliální tkáni, takže dlouhodobé použití tohoto derivátu je silně omezeno. Hydroxyethylované škroby mohou být enzymy tělesných tkání odbourávány jen pomalu nebo jen neúplně, vzhledem k tomu, že etherifikace ztěžuje účinek glykosidáz tělesných tkání.

Až dosud nebylo s jistotou prokázáno, zda ukládání uvedených látek může ovlivnit funkční vlastnosti retikuloendotheliálního systému, dochází však ke vzniku svědivé vyrážky a z tohoto důvodu je nutno podávání přerušit. V poslední době se navrhuje také použití esterů škrobů s nižšími alifatickými monokarboxylovými nebo dikarboxylovými kyselinami, zvláště acetylovaných derivátů škrobu, jejich výhoda spočívá především v tom, že nevyvolávají tvorbu protilátek a úplně se vylučují nebo metabolizují.

Polymer, určený pro klinické, zvláště parenterální podání musí splnit kromě dobré rozpustnosti ve vodě ještě následující požadavky:

- Roztok polymeru musí mít při koncentraci, používané k léčebným účelům viskozitu, která není vyšší než viskozita krevní plasmy.
- Látka musí v organismu přetrvávat po dobu, která odpovídá účelu použití a po parenterálním podání musí být po určité době úplně odbourána. Tento požadavek je možno u acylovaných derivátů škrobu upravit stupněm esterifikace, při stoupající molární substituci dochází ke zpomalení odbourávání alfa-amylázami z organismu.
- Látka musí být netoxická, apyrogenní a nesmí vyvolávat tvorbu protilátek.

Dosud známé estery škrobů tyto požadavky nemohou splnit nebo alespoň nesplňují všechny tyto požadavky.

Pro použití v potravinářství se požadují acetylové deriváty škrobů s vyšší viskositou s obsahem acetylových skupin maximálně 2,5 %, což odpovídá molární substituci (MS) nejvýše 0,064 mol/mol. Tyto produkty jsou vzhledem ke své

lepivé povaze ve vodných disperzích a vzhledem k rychlému odbourávání vzhledem k nízké molární substituci pro klinické použití nevhodné. Acetylové deriváty škrobu s nízkou viskositou a nízkou molekulovou hmotností se užívají ke škrobení textilních materiálů a ke klížení papíru. Tyto produkty jsou vzhledem k nízké molární substituci, nedefinované - mu rozdělení molekulové hmotnosti a malé čistotě rovněž nevhodné pro klinické použití, jak je uvedeno například v publikacích O. B. Wurzburg, Modified Starches, Properties and Uses, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1986, str. 55 - 74.

V US patentovém spisu č. 2 362 282 se popisuje výroba acetylových derivátů škrobu, při níž mají být získány hydrolyzáty škrobu s nízkou hodnotou dextrosového ekvivalentu (D.E.), tyto látky jsou navrhovány pro použití jako lepidla. Současně se provádí depolymerace a acetylace zahříváním ve vysokoprocenním roztoku kyseliny octové. Tuto hydrolýzu působením kyseliny je nesnadné řídit a výsledný produkt není přijatelný z fyziologického hlediska, mimo jiné s ohledem na svou příliš nízkou molekulovou hmotnost.

V britském patentovém spisu č. 1 476 057 se popisuje použití směsi s obsahem derivátů škrobu k výrobě pastilek proti zánětům hltanu. Jako derivát škrobu se užívá amylopektin, esterifikovaný působením vinylacetátu, aniž by bylo uvedeno, jak se tato látka vyrábí a jaký má stupeň substituce a molekulovou hmotnost. Pro parenterální podání je takový produkt zřejmě nevhodný.

V US patentovém spisu č. 3 639 389 se popisují škrobové sirupy s nízkým stupněm substituce, rozpustné na čirý roztok a získané při použití hydrolyzátní škrobu s hodnotou D.E. nižší než 30. Již vzhledem k nízké molekulové hmotnosti jsou tyto produkty pro parenterální podání nepoužitelné.

Vynález si klade za úkol navrhnout ve vodě rozpustné, fyziologicky přijatelné estery škrobů, vhodné pro klinické a zvláště parenterální použití, jimiž by bylo možno odstranit nevýhody až dosud používaných produktů. Uvedené estery by měly splnit všechny požadavky, které jsou kladeny na polymery pro klinické, zejména parenterální použití.

Podstata vynálezu

Podstatu vynálezu tvoří způsob výroby ve vodě rozpustných, fyziologicky přijatelných esterů škrobu, postup spočívá v tom, že se škroby převedou hydrolýzou působením kyseliny nebo enzymu na částečný hydrolyzát se střední molekulovou hmotností M_w v rozmezí 10 000 až 500 000, tento částečný hydrolyzát se pak acyluje ve vodném roztoku působením anhydridu nebo halogenidu alifatické monokarboxylové kyseliny o 2 až 4 atomech uhlíku nebo alifatické dikarboxylové kyseliny o 3 až 6 atomech uhlíku nebo směsi těchto látek a alkalizačního činidla až do molární substituce v rozmezí 0,1 až 1,0 a z takto získané reakční směsi se odstraní soli.

Jako škroby se při provádění způsobu podle vynálezu užívají takové škroby, které jsou tvořené amylopektinem, prakticky prostým amylosy a obsahujícím nejvýše 1 % hmotnostní amylázy. Výhodnými příklady takových škrobů jsou škroby z kuřice, rýže nebo čiroku ve voskové zralosti.

Molekulová struktura amylopektinu odpovídá struktuře glykogenu, který je v živočišném organismu běžný, takže není nutno očekávat žádnou toxicitu nebo antigenní působení. Po odštěpení acylových skupin, snadno hydrolyzovatelných enzymy z organismu není prakticky zbývající molekulu možno odlišit od glykogenu, metabolismus rovněž probíhá stejným způsobem jako v případě glykogenu.

Částečným odbouráním škrobů způsobem podle vynálezu je možno upravit viskozitu roztoků, určených k léčebnému použití na požadované rozmezí. S výhodou se škroby hydrolyzují až do dosažení střední molekulové hmotnosti v rozmezí 40 000 až 250 000.

Hydrolýzu je možno uskutečnit známým způsobem působením kyseliny nebo enzymu. V případě použití kyseliny se s výhodou používá silná minerální kyselina, například kyselina chlorovodíková nebo sírová. Z enzymů je pro uskutečnění hydrolýzy výhodná alfa-amyláza. Je také možné kombinovat hydrolýzu s použitím kyseliny i enzymu v libovolném pořadí.

Stupeň hydrolýzy je možno snadno sledovat měřením viskozity vzorku, zředěného vodou a tak upravit průběh a ukončení hydrolýzy pro dosažení požadovaného stupně odbourání.

Po uskutečnění hydrolytického odbourání se částečně hydrolyzovaný škrob acyluje ve vodném roztoku působením anhydridu nebo halogenidu alifatické monokarboxylové kyseliny o 2 až 4 atomech uhlíku nebo alifatické dikarboxylové kyseliny o 3 až 6 atomech uhlíku až do molární substituce v rozmezí 0,1 až 1,0 mol/mol, výhodné rozmezí je 0,3 až 0,7 mol/mol. Použitý anhydrid nebo halogenid se odvodí od alifatické monokarboxylové kyseliny o 2 až 4 atomech uhlíku nebo alifatické dikarboxylové kyseliny o 3 až 6 atomech uhlíku. Z alifatických monokarboxylových kyselin je vhodná například kyselina máselná, isomáselná, propionová a zvláště octová. Z alifatických dikarboxylových kyselin o 3 až 6 atomech uhlíku je možno užít kyseliny nasycené nebo nenasycené, s výhodou se derivát odvodí od alfa, -dikarboxylové kyseliny, například od kyseliny glutarové, adipové a zvláště jantarové nebo maleinové. Z halogenidů jsou výhodné chloridy, avšak použít je možno i bromidy a jodidy. Zvláště dobře probíhá způsob podle vynálezu s acetylchloridem a zvláště anhydridem kyseliny octové.

Je možno použít také směs dvou nebo většího počtu svrchu uvedených monokarboxylových nebo dikarboxylových kyselin.

Acylace se provádí v přítomnosti alkalizačního činidla, takže vznikající kyseliny jsou současně neutralizovány. Jako alkalizační prostředky se s výhodou užijí hydroxidy, uhličitany nebo oxidy alkalických kovů nebo kovů alkalických zemin, zvláště hydroxid sodný, uhličitán sodný, hydroxid vápenatý a/nebo oxid hořečnatý.

Reakční podmínky při acylaci anhydridem nebo halogenidem kyseliny odpovídají běžným podmínkám pro tuto reakci, reakce se s výhodou provádí za energického míchání při teplotě místnosti.

Odstranění solí ze směsi, získané po acylaci je možno s výhodou uskutečnit dialýzou, ultrafiltrací (diafiltrací) nebo výměnou iontů. Je možno použít po sobě také dva stejné nebo různé stupně nebo větší počet stupňů, v nichž se odstraní soli.

Podle předpokládaného použití esteru škrobu může být účelné odstranit kromě solí také další složky s nízkou molekulovou hmotností, například nízkomolekulární produkty odbourání výchozího škrobu, s výhodou co nejúplněji. Toto odstranění je možno uskutečnit před a/nebo po acylačním stupni například dialýzou a zvláště ultrafiltrací (diafiltrací), přičemž podle předpokládaného použití je možno volit membránu s odstraněním odpovídajících složek. Účelně se odstraní nízkomolekulární složky společně se solemi po provedené acylaci. Podle požadovaného stupně čistoty je možno uskutečnit dva nebo větší počet čistících stupňů.

Reakční směs, získaná po hydrolýze (částečný hydrolyzát) a/nebo zejména reakční směs, získaná po odstranění solí a popřípadě dalších nízkomolekulárních složek se před dalším zpracováním nebo před použitím s výhodou sterilizuje filtrací.

Roztok esteru škrobu, získaný po odstranění solí a popřípadě dalších nízkomolekulárních složek je možno použít jako takový, pro lepší skladovatelnost se však roztok obvykle převádí na sušený produkt. K tomuto účelu je možno roztok šetrně zahustit ve vakuu s následným sušením produktu ve vakuu, je však také možno roztok esteru lyofilizovat za vzniku dobře skladovatelného produktu.

Na základě svých vlastností, zvláště dobré rozpustnosti ve vodě a fyziologické přijatelnosti jsou estery škrobu podle vynálezu velmi vhodné pro klinické, zvláště parenterální podávání.

Estery škrobů, připravené uvedeným způsobem je možno použít pro přípravu farmaceutických prostředků pro peritoneální dialýzu a také pro přípravu náhrad krevní plasmy, například podle SRN patentové přihlášky č. P 41 22 999.1 "Metabolisierbarer Plasmaersatz" a P 41 23 001.9 "Pharmazeutische Zusammensetzung für die Peritonealdialyse" (Laevoşan-Gesellschaft mbH se stejným dnem podání jako předmětná přihláška).

Praktické provedení vynálezu bude osvětleno následujícími příklady. Není-li uvedeno jinak, jsou všechny procentuální údaje a podíly hmotnostní a teploty uvedeny ve °C.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Příprava částečného hydrolyzátu škrobu z kukuřice ve voskové zralosti (M_w přibližně 200 000)

4000 g škrobu z kukuřice voskové zralosti s obsahem vody 10,0 %, což odpovídá 3600 g bezvodého škrobu se uvede do suspenze ve 12,5 kg vody, zbavené solí, přidá se 3,85 g dihydrátu chloridu vápenatého a 1 g alfa-amylázy (Termamyl 60 L, NOVO, Kodaň) a směs se za míchání rychle zahřeje na 95 °C. Škroby přejdou do roztoku, aniž by došlo ke vzniku vysoce viskosní fáze. Směs se udržuje na teplotě 95 °C tak dlouho, až je viskozita vzorku, zředěného vodou na 20 % 1,5, vztaženo na viskozitu vody při teplotě 20 °C. Odbourání se zastaví okyselením směsi kyselinou chlorovodíkovou až na pH 3,0, reakční směs se pak míchá ještě 10 minut při teplotě 95 °C a pak se zchladí na teplotu místnosti, pH se upraví přidáním roztoku hydroxidu sodného na 5,5 a směs se zfiltruje přes sterilní vrstvy. Světležlutě zbarvený roztok odbouraného škrobu v množství 15,6 kg s obsahem sušiny 22,4 % se k odstranění nízkomolekulárních složek podrobí diafiltraci přes ultrafiltrační membránu, oddělující látky od molekulové hmotnosti 30 000, čímž se získá 10,2 kg 19,6% roztoku, který obsahuje 2,0 kg produktů odbourání amylopektinu. Podíly tohoto roztoku se pak užijí jako výchozí materiál v následujících příkladech 2 a 3.

Příklad 2

Příprava acetylovaného škrobu (Mw 200 000, MS 0,35)

K 826,5 g roztoku odbouraného škrobu, získaného způsobem podle příkladu 1, s obsahem 162 g sušiny (1 mol $\text{CH}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$) se za energického míchání magnetickým míchadlem v průběhu jedné hodiny po jednotlivých podílech rovnoměrně přidá 40,8 g, 0,40 molu anhydridu kyseliny octové a současně se přidává za sledování hodnoty pH 2N roztok hydroxidu sodného tak, aby hodnota pH byla udržována v rozmezí 8,0 až 8,5. Spotřebuje se 225 ml, 0,45 molu roztoku.

Získaný roztok se podrobí diafiltraci přes ultrafiltrační membránu, oddělující látky od molekulové hmotnosti 30 000 až do dosažení vodivosti nižší než 1 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Po přidání 1,6 g aktivního uhlí se roztok zfiltruje přes sterilní vrstvy, zahustí se ve vakuu na hustý sirup a pak se ve vakuu v sušicí peci usuší na křehkou bílou hmotu. Tato hmota se umele, výtěžek je 165,0 g produktu. Molární substituce je 0,355 mol/mol. Materiál byl zkoušen na králících podle evropského lékopisu a bylo prokázáno, že je prostý pyrogenních látek, zvířata jej snášela bez jakékoliv reakce.

Příklad 3

Příprava acetylovaného škrobu (Mw 200 000, MS 0,50)

K 826,5 g roztoku odbouraného škrobu s obsahem 162 g sušiny (1 mol $\text{CH}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$) se za energického míchání magnetickým míchadlem v průběhu 2 hodin po částech rovnoměrně přidá 64,85 g, 0,635 molu anhydridu kyseliny octové, současně se při sledování pH přidává 2N roztok hydroxidu sodného tak, aby pH bylo v rozmezí 8,0 až 8,5. Spotřebuje se 500 ml roztoku (1,0 molu).

Takto získaný roztok se podrobí diafiltraci přes ultrafiltrační membránu, oddělující látky od molekulové hmotnosti 30 000, až do vodivosti nižší než $1 \mu\text{S/cm}$. Po přidání 1,6 g aktivního uhlí se roztok zfiltruje přes sterilní vrstvy, odpaří ve vakuu na hustý sirup a pak suší ve vakuu v sušicí peci na křehkou bílou hmotu. Po umletí je výtěžek 166,4 g. Molární substituce je 0,502 mol/mol. Materiál byl zkoušen na králících podle evropského lékopisu, byl prostý pyrogenů a zvířata jej snášela bez reakce.

Příklad použití

Příprava roztoku k náhradě krevní plasmy

Jako estery škrobů byly užity acetylované škroby podle vynálezu se střední molekulovou hmotností 200 000 a stupněm substituce 0,3 nebo 0,5. Při jejich použití byly připraveny následující roztoky k náhradě plasmy:

1. Roztok acetylovaného škrobu s koncentrací 3, 6 a 10 % hmotnostních v 0,9% fyziologickém roztoku NaCl.
2. Roztok acetylovaného škrobu s koncentrací 6 % hmotnostních v roztoku glycerolu s koncentrací 2,5 % hmotnostních (roztok, prostý elektrolytů).

Sledování biologické odbouratelnosti

Svrchu připravené roztoky acetylovaných škrobů s koncentrací 3, 6 a 10 % hmotnostních (stupeň substituce 0,3 nebo 0,5) ve fyziologickém roztoku kuchyňské soli byly podány nitrožilně krysám v množství 18 ml za 3 hodiny.

Infuse byly velmi dobře snášeny a bezprostředně nebyly pozorovány žádné vedlejší účinky. Bezprostředně po

ukončení infuse byly změřeny koncentrace acetylovaných derivátů škrobu v krevní plasmě, v závislosti na koncentraci roztoku byly zjištěny hodnoty 6 až 25 mg/ml. Tyto hodnoty jsou srovnatelné s hodnotami, získanými při podání hydroxyethylovaných škrobů v roztoku (HES 200/0,5, Mw 200 000, molární substituce 0,5 molu). Po 3 hodinách po ukončení infuze bylo možno v krvi zvířat naměřit ještě 1,0 až 10 mg/ml acetylovaných škrobů. Také toto množství odpovídá množství, naměřenému po podání roztoku hydroxyethylovaného škrobu (HES 200/0,5) za srovnatelných podmínek. 24 hodin po ukončení infuse již nebylo možno prokázat v krvi žádný acetylovaný derivát škrobu.

Popis obrázků na výkresech

Na obr. 1 je zaznamenána koncentrace v séru, naměřená po tříhodinové infuzi, a to okamžitě po ukončení infuze (A až E) a 3 hodiny po jejím ukončení (F, G, H).

Na obr. 2 je zaznamenán obsah hydrokoloidu v ledvině v mg/g okamžitě po ukončení infuze (B, C, D, E a NaCl), 3 hodiny po jejím ukončení (F, G) a 18 až 24 hodin po jejím ukončení (I, J, K, L).

Na obr. 3 jsou uvedeny údaje, odpovídající obr. 2, avšak pro plíce.

Údaje A až L na obr. 1 až 3 se vztahují na následující roztoky k náhradě plasmy: A - 3 % acetylovaného škrobu, B - 6 % acetylovaného škrobu, C - 10 % acetylovaného škrobu, D - 6 % HES 200/0,5, E - 10 % HES 200/0,5, F - 6 % acetylovaného škrobu, G - 10 % acetylovaného škrobu, H - 3 % acetylovaného škrobu, I - 6 % acetylovaného škrobu, J - 10 % acetylovaného škrobu, K - 6 % HES 200/0,5, L - 10 % HES 200/0,5, NaCl = chlorid sodný.

Zastupuje:

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Způsob výroby ve vodě rozpustných, fyziologicky přijatelných esterů škrobu, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se škroby převedou hydrolýzou působením kyseliny nebo enzymu na částečný hydrolyzát se střední molekulovou hmotností M_w v rozmezí 10 000 až 500 000, tento částečný hydrolyzát se acyluje ve vodném roztoku působením anhydridu nebo halogenidu alifatické monokarboxylové kyseliny o 2 až 4 atomech uhlíku nebo alifatické dikarboxylové kyseliny o 3 až 6 atomech uhlíku nebo směsi těchto látek a alkalizačního činidla až do molární substituce v rozmezí 0,1 až 1,0 mol/mol a ze získané reakční směsi se odstraní soli a před a/nebo po acylací také nízkomolekulární složky směsi.

2. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se k provádění postupu užije jako škrob amylopektin, prakticky prostý amylosy.

3. Způsob podle nároků 1 nebo 2, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se jako škrob užije škrob z kukuřice, rýže nebo čiroku ve voskové zralosti.

4. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se škrob hydrolyzuje až do dosažení střední molekulové hmotnosti M_w v rozmezí 40 000 až 250 000.

5. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 4, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se enzymatická hydrolyza provádí při použití alfa-amylázy.

6. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 5, v y -
z n a ě u j í c í s e t í m , že se acylace provádí až
do dosažení molární substituce 0,3 až 0,7 mol/mol.

7. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 6, v y -
z n a ě u j í c í s e t í m , že se provádí s použitím
anhydridu nebo halogenidu kyseliny octové jako derivátu
monokarboxylové kyseliny.

8. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 6, v y -
z n a ě u j í c í s e t í m , že se jako anhydrid nebo
halogenid dikarboxylové kyseliny užije derivát kyseliny
jantarové nebo maleinové.

9. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 8, v y -
z n a ě u j í c í s e t í m , že se jako alkalizační či-
nidlo užije hydroxid sodný, uhličitan sodný, hydroxid vápe-
natý nebo hydroxid hořečnatý.

10. Způsob podle kteréhokoliv z nároků 1 až 9, v y -
z n a ě u j í c í s e t í m , že se odstranění solí
~~a/nebo nízkomolekulárních složek provádí dialýzou, ultra-~~
filtrací a/nebo výměnou iontů.

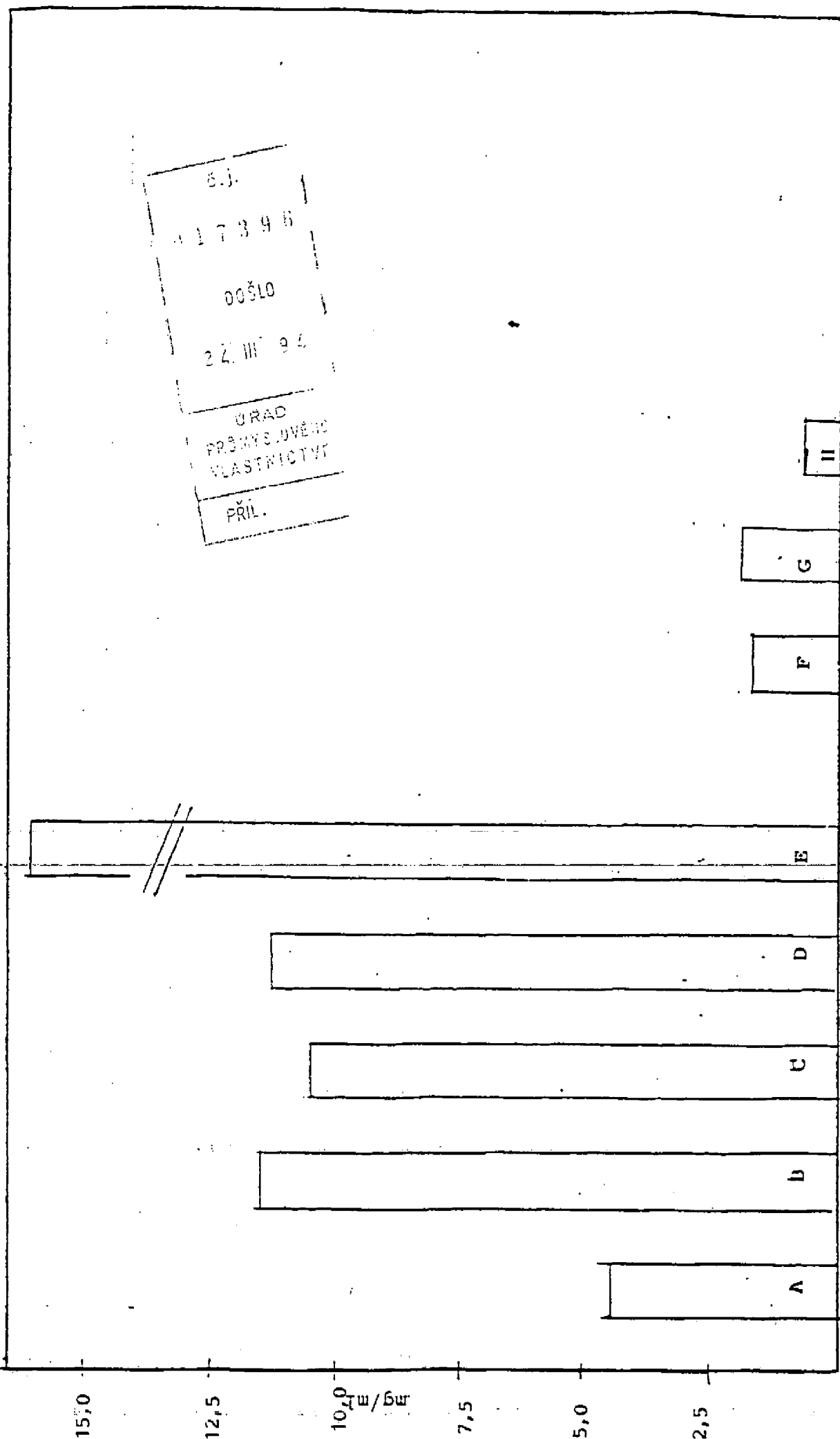
11. Estery škrobů, získatelné způsobem podle kterého-
koliv z nároků 1 až 10.

12. Použití esterů škrobů podle nároku 11 k přípravě
farmaceutických prostředků pro klinické, zvláště parente-
rální použití nebo k přípravě dietetických prostředků.

Zastupuje:

OBR. 1

=====



6.3.

17396

00510

22. III 94

URAD
PRŮMYŠLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

PŘÍL.

II

G

F

E

D

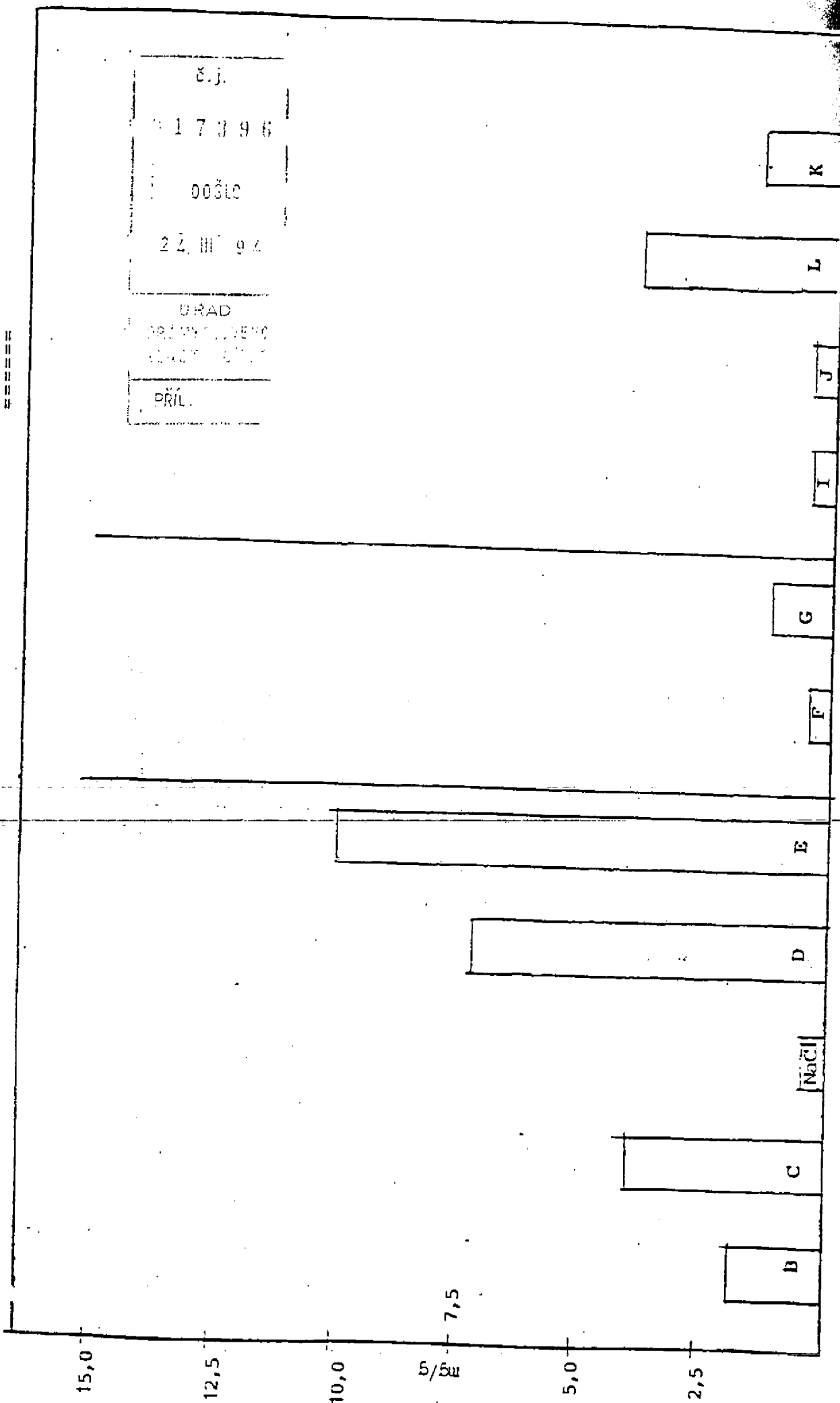
C

B

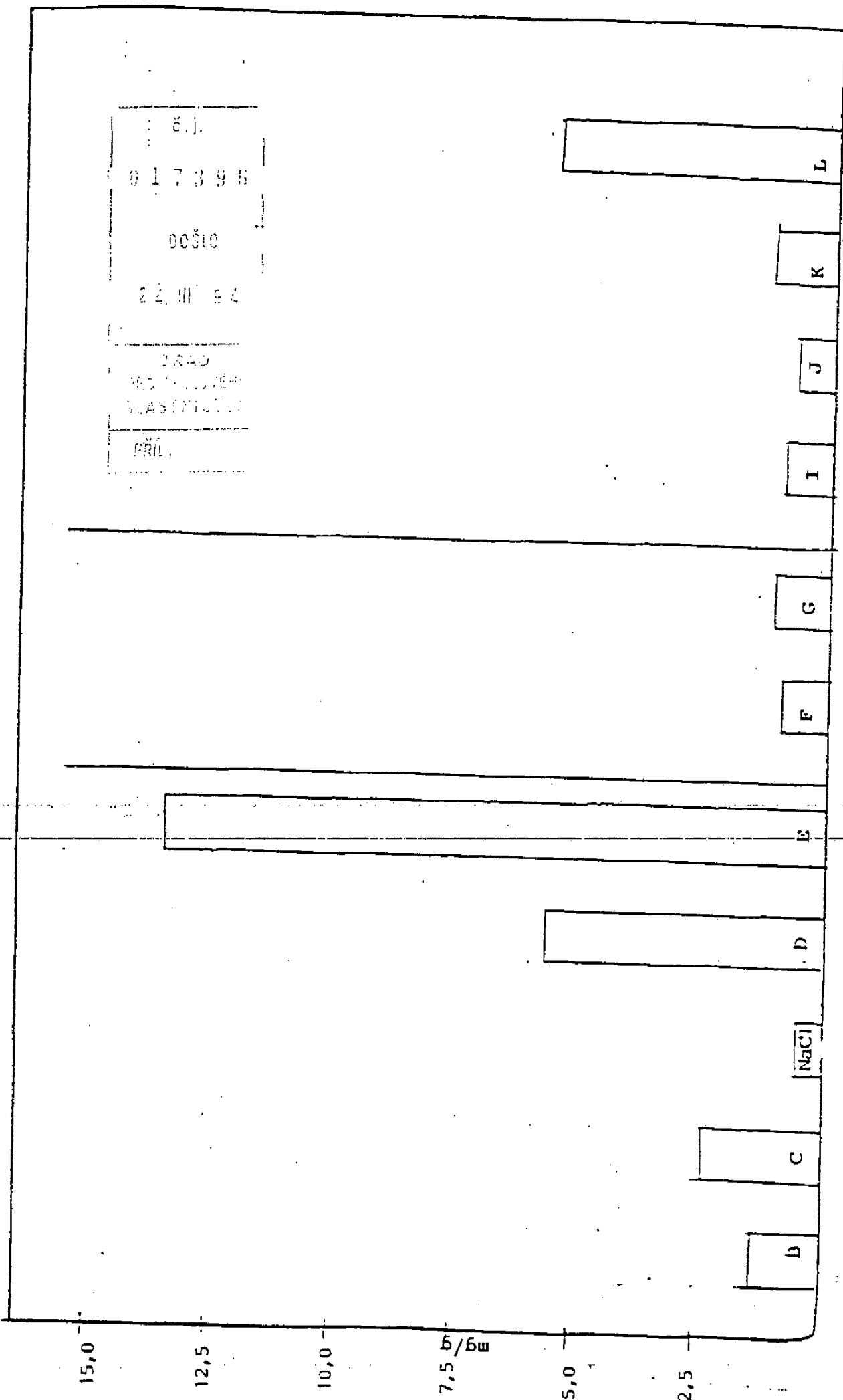
A

OBR. 2

=====



OBR. 3
=====



8.1.
017396
00810
22. III 64
DAG
WILHELM
GLAS (1914-1917)
PRIL.