

A61k 25/02

URZĄD PATENTOWY



RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 18583.

Kl. 30 h, 3.

Mckesson & Robbins, Incorporated
(Bridgeport, Connecticut, Stany Zjednoczone Ameryki).

Sposób otrzymywania środka leczniczego przeciwko anemji.

Zgłoszono 1 czerwca 1931 r.

Udzielono 8 czerwca 1933 r.

Pierwszeństwo: 30 czerwca 1930 r. (Stany Zjednoczone Ameryki).

Niniejszy wynalazek dotyczy sposobu wytwarzania preparatu do zwalczania anemji, a w szczególności takiego preparatu, który ułatwia odbudowę hemoglobiny we krwi. Jak wiadomo, hemoglobina zawiera żelazo jako jeden z zasadniczych składników. Już dawniej próbowano zwalczać anemję, a zwłaszcza regenerować hemoglobinę przez wprowadzanie do organizmu żelaza pod różnymi postaciami. Przedmiotem niniejszego wynalazku jest sposób otrzymywania środka leczniczego, który wzbogaca krew w hemoglobinę i skutecznie zwalcza anemję.

Środek leczniczy według wynalazku zawiera związek żelaza, najlepiej w postaci

proteidu, a zwłaszcza połączenie nukleino-
we lub peptonowe żelaza, oraz składnik działający prawdopodobnie katalitycznie w procesie przemiany żelaza w organizmie lub tworzenia hemoglobiny. Tym katalizatorem jest odpowiedni związek miedzi, jak np. połączenie proteinowe miedzi, a najlepiej połączenie nukleinowe lub kazeinowe miedzi lub też ich mieszanina.

Najwłaściwiej jest, gdy preparat zawiera żelazo i miedź w jednej lub więcej z przytoczonych postaci. Stwierdzono, iż każdy z następujących preparatów działa skutecznie przy zwalczaniu anemji.

1. Roztwór związku nukleinowego miedzi i związku nukleinowego żelaza,

2. roztwór związku nukleinowego żelaza i związku peptonowego żelaza,

3. roztwór związku kazeinowego miedzi i związku peptonowego żelaza.

Z powyższych preparatów najlepszy jest roztwór, zawierający połączenia nukleinowe miedzi i żelaza. Nukleoproteidy w ogólności, a w szczególności kwas nukleinowy odgrywa ważną rolę w rozwoju organizmu. Przez wprowadzenie żelaza i miedzi w postaci wyżej wymienionych związków ułatwia się przyswajanie tych pierwiastków przez organizm, co działa skutecznie na proces tworzenia się hemoglobiny. Ponadto związki żelaza i miedzi posiadają naogół własności toksyczne, dzięki wprowadzeniu jednak tych pierwiastków w postaci organicznych połączeń, a zwłaszcza w postaci proteidów, usunięte zostają w znacznej mierze powyższe niekorzystne właściwości.

Poniżej podane dane przedstawiają wynik doświadczeń z anemicznymi szczurami.

Celem wywołania anemii u szczurów doświadczalnych okazało się korzystnym utrzymanie matek na djecie z dodatkiem ciepłego mleka, przygotowanego z sproszkowanego pełnego mleka, lecz bez roślin albo mięsa w czasie okresu karmienia młodych szczurów. W dwudziestym pierwszym dniu odłączono od matki młode szczury i dawano im pełne krowie mleko. U traktowanych w ten sposób doświadczalnych szczurów można było zauważyć wyraźne

objawy niedokrwistości w okresie od 3—4 tygodnia, co stwierdzono na podstawie koloru oczu, po uszach, nogach i ogonie. Przeciętna zawartość hemoglobiny wynosiła u szczurów pod koniec tego okresu około 5 gramów na 100 cm³ krwi.

Począwszy od tego okresu umieszczono szczury w osobnych klatkach i dawano codziennie, przez 6 dni w tygodniu, jeden cm³ roztworu środka według wynalazku w 5 cm³ mleka. Po spożyciu tej porcji otrzymywał każdy szczur dodatkowo 50 cm³ mleka dziennie. Oznaczenie hemoglobiny wykonywano co tydzień przy pomocy hemoglobi-nomierza Newcomer'a z próbki krwi, wziętej z ogona szczura. Podczas doświadczenia ważono szczury co tydzień.

Tablica pierwsza podaje przeciętne wyniki oznaczenia hemoglobiny i wagę trzech szczurów doświadczalnych i trzech kontrolnych. Zwierzęta doświadczalne otrzymywały, jak widać z tablicy I, 0,25 mg miedzi w postaci związku nukleinowego (29,72% Cu) i 0,50 mg żelaza w postaci związku nukleinowego (8,89% Fe). Tablica wykazuje, że w ciągu jednego tygodnia, pod wpływem związków żelaza i miedzi, wzrasta hemoglobina z 6,7 gramów do 14,6 gramów na 100 cm³ krwi.

Tablica I. Średnie wagi i zawartości hemoglobiny u zwierzęcia, otrzymującego 0,25 g miedzi w postaci połączenia nukleinowego miedzi (29,72% Cu) i 0,50 mg żelaza w postaci połączenia nukleinowego żelaza (8,89% Fe).

Doświadczalne zwierzęta (trzy).			Kontrolne (trzy).		
Hemoglobina			Hemoglobina		
w gramach na 100 cm ³ krwi			w gramach na 100 cm ³ krwi		
Na początku doświadczenia	6,7	71	6,1	76	
Koniec 1 tygodnia	14,6	80	4,9	86	
" 2 "	14,2	94	4,1	96	
" 3 "	15,2	103	3,9	99	
" 4 "	16,3	111	4,1	100	

Tablica II zawiera wyniki średnie z oznaczeń hemoglobiny i wag czterech szczurów doświadczalnych, otrzymujących podobną ilość miedzi i żelaza jako połączenia nukleinowe miedzi (29,72% Cu) i połączenia peptonowe żelaza (17,5% Fe).

Tablica II. Średnie wagi i zawartości hemoglobiny u zwierząt, otrzymujących 0,25 mg miedzi w postaci połączenia nukleinowego miedzi (29,72% Cu) i 0,50 mg żelaza w postaci połączenia peptonowego żelaza (17,5% Fe).

Doświadczalne zwierzęta (cztery).		
Hemoglobina	w grama- mach na 100 cm ³ krwi	waga w grama- mach
Na początku doświadczenia	7,0	61
Koniec 1 tygodnia	13,4	71
" 2 "	13,7	71
" 3 "	14,4	89

Tablica III zawiera przeciętne wyniki z oznaczeń hemoglobiny i wag czterech doświadczalnych zwierząt, otrzymujących podobną ilość miedzi i żelaza, w postaci połączenia nukleinowego miedzi (9,82% Cu) połączenia peptonowego żelaza (17,5% Fe).

Tablica III. Średnie wagi i zawartości hemoglobiny zwierząt, otrzymujących 0,25 mg miedzi w postaci połączenia nukleinowego miedzi (9,82% Cu) i 0,50 mg żelaza w postaci połączenia peptonowego żelaza (17,5% Fe).

Doświadczalne zwierzęta (cztery).		
Hemoglobina	w grama- mach na 100 cm ³ krwi	waga w grama- mach
Na początku doświadczenia	3,7	80
Koniec 1 tygodnia	9,9	84
" 2 "	13,8	104
" 3 "	14,3	133

Tablica IV i V zawiera średnie wyniki oznaczeń hemoglobiny i wagi sześciu do-

świadczalnych zwierząt, otrzymujących 0,25 mg miedzi w postaci połączenia kazeinowego miedzi (4,87% Cu) i 0,50 mg żelaza w postaci połączenia peptonowego żelaza (17,5% Fe).

Tablica IV i V. Średnie wagi i zawartości hemoglobiny u szczurów, otrzymujących 0,25 mg miedzi w postaci połączenia kazeinowego miedzi (4,87% Cu) i 0,50 mg żelaza w postaci połączenia peptonowego żelaza (17,5% Fe).

Tablica IV.

Doświadczalne zwierzęta (dwa).		
Hemoglobina	w grama- mach na 100 cm ³ krwi	waga w grama- mach
Na początku doświadczenia	3,5	99
po 4 dniach	7,6	100
po 11 dniach	13,1	108
po 18 dniach	14,4	108

Tablica V.

Doświadczalne zwierzęta (cztery).		
Hemoglobina	w grama- mach na 100 cm ³ krwi	waga w grama- mach
Na początku doświadczenia	6,6	61
Koniec 1 tygodnia	12,1	72
" 2 "	12,9	78
" 3 "	14,0	85

Przygotowanie związku nukleinowego miedzi z drożdży.

Związek nukleinowy miedzi przygotowano z suchych drożdży browarnianych następującym sposobem. Dwieście gramów drożdży zadano 1000 cm³ destylowanej wody i mieszano, dodając 100 gramów NaOH w postaci stężonego roztworu. Następnie chłodzono lodem, około 80% ługu zobojętniono stężonym HCl (20 gramów) a następnie zakwaszono aż do zabarwienia papierka lakmusowego przy pomocy 30% kwasu octowego. Celem opadnięcia osadu

pozostawiono mieszaninę przez noc, a następnie roztwór klarowny sączono przez sączek fałdowany i dodano tyle chemicznie czystego siarczynu miedzi, aby roztwór zawierał go 4½%, poczem mieszano silnie, aż cały siarczan miedzi przeszedł do roztworu. Powstał natychmiast jasno niebiesko-zielony pulchny osad, który pozostawiono celem osadzenia się. Płyn z nad osadu dekantowano i osad przemyto dwukrotnie, dekantując wodę. Pozostałość sączono na lejku Büchnera przy pomocy pompy ssącej i przemyto starannie wodą destylowaną aż do zaniku reakcji na siarczany. Następnie osad roztarto z 95% alkoholem w szklanym moździerzu, odsączono zapomocą pompy i po przemyciu dwukrotnie alkoholem traktowano w podobny sposób eterem. Osad wysuszono wreszcie na powietrzu, kładąc go na papierze do filtrowania i otrzymano go w postaci jasno niebiesko-zielonego bezpostaciowego proszku. Wydajność związku nukleinowego miedzi wynosi 6,24 gramów. Analitycznie stwierdzono w otrzymanym związku 29,72% Cu i 10,3% fosforu; siarczanów nie można było wykazać.

Przygotowanie związku nukleinowego żelaza z drożdży.

Związek nukleinowy żelaza przygotowano z drożdży browarnianych w mniej więcej podobny sposób, jak związek miedzi, używając zamiast siarczynu miedzi, chemicznie czysty chlorek żelaza. Związek żelaza należy strącić w 60% alkoholu wskutek częściowej rozpuszczalności związku nukleinowego żelaza. Po przemyciu osadu 60% alkoholem i 95% alkoholem, osad przemyto następnie eterem, jak związek miedzi. Otrzymano bezpostaciowy jasno brązowy związek, w którym analitycznie stwierdzono 8,89% żelaza i 4,21% fosforu. Wydajność z dwustu gramów drożdży wynosi 7,0 gramów.

Przygotowanie związku nukleinowego miedzi z kwasu nukleinowego.

5 gramów kwasu nukleinowego dodano do 300 cm³ destylowanej wody w zlewce na 800 cm³, następnie dodano roztworu NaOH małymi dawkami, aż się nie rozpuścił kwas nukleinowy. Roztwór zakwaszono następnie słabo 30% kwasem octowym i dodawano siarczan miedzi chemicznie czysty, stale mieszając, aż nie przestał wydzielać się osad. Natychmiast utworzył się zielony osad. Po opadnięciu osadu dekantowano płyn z nad osadu. Pozostałość przemyto dwukrotnie przez dekantację aż do zaniku reakcji na siarczany. Następnie roztarto osad z 95% alkoholem w szklanym moździerzu, odsączono i przemyto alkoholem. To postępowanie powtórzono z eterem. Otrzymano jasno zielony bezpostaciowy proszek, zawierający 9,82% miedzi i 7,05% fosforu. Wydajność 5,08 gramów.

Przygotowanie związku kazeinowego miedzi z kazeiny.

100 gramów oczyszczonej kazeiny dodano do 1500 cm³ wody destylowanej, mieszając przez pewien czas, poczem dodano 119 cm³ normalnego NaOH dawkami dopóty, aż kazeina nie rozpuściła się w zupełności. Następnie dodano 21 gramów siarczynu miedzi w 120 cm³ wody, mieszając aż do całkowitego wydzielenia się osadu. Związek kazeinowy miedzi, który wydziela się jako pulchny zielony osad, odsączono następnie przy użyciu pompy ssącej i przemywano wodą aż do zaniku reakcji na siarczany. Po przemyciu 50% alkoholem i 95% alkoholem a następnie eterem, wysuszono osad na powietrzu, rozkładając go na sączku papierowym. Otrzymano niebieskawo-zielony krystaliczny proszek, zawierający 4,8% miedzi. Wydajność 101 gramów.

Związek peptonowy żelaza użyty w tych próbach był proszkiem N. F. V. (National Formulary Fifth Edition) i zawierał 17,5% żelaza.

Jak widać z powyższego można roztworami wymienionych organicznych zwią-

ków żelaza i miedzi zwalczać skutecznie wszystkie przypadki anemji. Preparat można przygotować w roztworze, który jest nadzwyczaj smaczny, a konieczna dawka dzienna niewielka.

Roztwór związku nukleinowego miedzi i żelaza stosowany do doświadczeń przygotowuje się w ten sposób, iż preparaty wyżej wymienione zadaje się odpowiednią ilością wody destylowanej i dodaje cytrynian sodu, alkohol, syrop cukrowy, glicerynę, olejek pomarańczowy, octan etylowy i wanilinę tak, aby 1 cm³ roztworu zawierał 0,25 mg Cu, 0,50 mg Fe i 8 mg cytrynianu sodu.

Następująca tablica podaje korzystne zestawienie tych składników w zastosowaniu do ludzkiego organizmu, przyczem zaznacza się, iż zestawienie to podano tylko dla przykładu i że stosunek poszczególnych składników może się wahać w szerokich granicach, a nawet niektóre z nich mogą być zupełnie pominięte. Istotną cechą sposobu otrzymywania tych preparatów stanowi to, aby każdy z nich zawierał miedź i żelazo w postaci odpowiedniej; żelazo wprowadza się, jak wspomniano wyżej, celem odtworzenia hemoglobiny, miedź spełnia tylko prawdopodobnie rolę katalizatora.

Przykład.

Związek nukleinowy miedzi	
(29,72% miedzi)	0,421 g
związek nukleinowy żelaza	
(8,89% żelaza)	11,424 „
cytrynian sodu	9,000 „
alkohol	150,000 cm ³
cukier	42,500 g
gliceryna	50,000 cm ³
olejek pomarańczowy (słodki	
włoski)	0,160 „
eter octowy (octan etylowy)	0,160 „
wanilina	0,020 g
wodą destylowaną dopełnić	
do	1000,000 cm ³

Powyższy roztwór zawiera 14,25% alkoholu (teoretycznie).

Największa dawka = 8 cm³ zawiera około:

0,001 g miedzi albo 0,0033 g związku nukleinowego miedzi,

0,008 g żelaza albo 0,0913 g związku nukleinowego żelaza.

Zamiast używać związek nukleinowy miedzi oraz nukleinowy żelaza można również stosować do powyższych preparatów związek nukleinowy miedzi oraz związek peptonowy żelaza, lub związek kazeinowy miedzi i związek peptonowy żelaza.

Zastrzeżenia patentowe.

1. Sposób otrzymywania środka leczniczego przeciwko anemji, zawierającego organiczny związek żelaza, znamienny tem, że do organicznego związku żelaza dodaje się przyswajalny organiczny związek miedzi, działający katalitycznie przy przemianie żelaza.

2. Sposób według zastrz. 1, znamienny tem, że przynajmniej związek miedzi stosuje się w postaci proteinianu, zwłaszcza nukleinianu lub kazeinianu.

3. Sposób według zastrz. 1—3, znamienny tem, że zarówno związek żelaza jak i miedzi stosuje się w postaci proteinianu, najlepiej nukleinianu.

4. Sposób według zastrz. 1—3, znamienny tem, że rozpuszczalność związku miedzi zwiększa się i przyspiesza, a trwałość produktu, składającego się z żelaza i miedzi, polepsza się przez dodanie cytrynianu sodu lub innych soli kwasów owocowych.

McKesson & Robbins,
Incorporated.

Zastępca: Dr. inż. M. Kryzan,
rzecznik patentowy.