



PATENTNI SPIS BR. 9689

Mc Kesson & Robins, Incorporated, Bridgeport, Connecticut, U. S. A.

Postupak za proizvodnju jednog ljekovitog preparata kao sredstvo za regeneraciju haemoglobina.

Prijava od 27 juna 1931.

Važi od 1 maja 1932.

Traženo pravo prvenstva od 30 juna 1930 (U. S. A.).

Predležeci pronalazak se odnaša sveopće na proizvodnju nekog ljekovitog preparata za liječenje malokrvnosti (anemije) i (ili) prirodene malokrvnosti a napose na jedan takav preparat, koji služi za regeneraciju haemoglobina u krvi. Haemoglobin sadrži željeza, kao jedan od njegovih sastavnih djelova. Radi toga se je težilo za tim, da se pri liječenju malokrvnosti poglavito obnovi haemoglobin uvadanjem željeza u različitim spojevima u kruženje krvi.

Predmet ovog pronalaska je dakle proizvodnja nekog preparata, koji osobito pospješuje asimilaciju željeza ili stvaranje krvi, povisuje sadržinu na haemoglobinu u krvi i time stvarno djeluje kao lijek za malokrvnost i (ili) prirodenu malokrvnost.

Stoga razloga sadrži preparat neki željeni spoj, najzgodnije u obliku proteida, a još bolje u obliku željeznog nukleinata ili željeznog peptona a osim toga kao zgodan dodatak neki agens, koji djeluje vjerojatno kao katalizator za asimilaciju željeza ili za stvaranje haemoglobina. Taj dodatni agens je neki osobito zgodan bakreni spoj, kao bakreni proteid ili još bolje bakreni nukleinat ili bakreni kazein ili njihova mješavina.

Najzgodniji oblik preparata sadrži dakle željezo i bakar, koji mu se dodaju u jednom ili u više gore napomenutih spojeva.

Svaki od u slijedećem navedenih preparata pokazao se je uspješan za liječenje malokrvnosti i (ili) prirodene malokrvnosti:

1. Rastopina bakrenog nukleinata i željeznog nukleinata.

2. Rastopina bakrenog nukleinata i željeznog peptona.

3. Rastopina bakrenog kazeina i željeznog peptona.

Od gornjih preparata imaju prednost oni, koji sadržu oboje, željezo i bakar, u obliku nukleinata. Nukleoproteini uopće a nuklein-kiselina napose igraju važnu ulogu za asimilaciono tijelo. Uvadanje željeza i bakra u takovim oblicima vrlo je zgodno za apsorpciju ovih elemenata u krvi i sposobno za stvaranje haemoglobina. Osim toga posjeduju željezni i bakreni spojevi uopće svojstvo stezanja i toksično svojstvo a pošto se kriju pod oblikom organskih spojeva a osobito pod oblikom proteida, svladana su ta neželjena svojstva.

Slijedeći podatci su rezultat pokusa sa malokrvnim parcovima.

Za dobijanje malokrvnih parcova za pokuse našlo se je kao probitačno, da se hrane majke za vrijeme dojenja posebnom hranom (Pharmakopö United States IX. izdanje) k tome s toplim mljekom od punomlječnog praška, ali bez vegetabilnih tvari i mesa. U 21 danu starosti oduzmu se legla i stave na hranu sa punim kravjim mljekom. Kod na ovaj način hranjenih pokusnih životinja pokazalo se je vidljivo razvijanje malokrvnosti, što se je moglo dokazati nakon 3—4 tjedna sadržinom haemoglobina u krvi i promjenom boje na očima, ušesima, nogama i repovima. Sadržina na haemoglobinu iznašala je kod

tih životinja na koncu te periode oko 5 grama na 100 cm³ krvi.

U tom stanju pokusa stavile su se životinje pojedince u kaveze i hranile kroz 6 dana u tjednu dnevno sa jednim cm³ pokusne mješavine, rastopljene u po prilici pet cm³ mljeka. Kada se je taj obrok potrošio, dobila je svaka životinja dnevno po prilici pedeset cm³ mljeka. Istraživanje haemoglobina izvadalo se je svakog tjedna pomoću Newcomerovog mjerila za haemoglobin na pr. u krvi, koja se je kako je to uobičajeno, izuzimala repovima parcova. Izvaganje se je vršilo svakog tjedna za vrijeme pokusne periode.

U tablici I navedeni su poprečni rezultati ustanovljenog haemoglobina i težine za tri pokusne životinje i tri kontrole. Pokusne životinje dobivale su, kako je to prikazano u tablici I, 0,25 mg bakra kao nukleinat (29,72% Cu) i 0,50 mg željeza, kao željezni nukleinat (8,89% Fe). Iz toga razabiremo, da je porasla sadržina na haemoglobinu nakon davanja bakra i željeza u jednom tjednu od 6,7 grama na 100 cm³ krvi, na 14,6 grama.

Tablica I.

Pokusne životinje (3)		Kontrole (3)	
	Haemoglobin grama, težina na 100 cm ³ krvi		Haemoglobin gr. na 100 cm. težina grama.
početkom	6,7	71	6,1
koncem 1. tjedna	14,6	50	4,9
„ 2. „	14,2	94	4,1
„ 3. „	15,2	103	3,9
„ 4. „	16,3	111	4,1

Tablica II sadrži poprečne rezultate ustanovljenog haemoglobina i težine od četiri pokusna parceva, koji su dobivali 0,25 mg bakra kao bakreni nukleinat (29,72% Cu) i 0,50 mg željeza kao željezni pepton (17,5% Fe).

Tablica II.

Pokusne životinje (4)

	Haemoglobin grama na 100 cm ³ krvi	težina grama.
Početkom	7,0	61
koncem 1. tjedna	13,4	71
„ 2. „	13,7	81
„ 3. „	14,4	89

U tablici III navedeni su rezultati ustanovljenog haemoglobina i težina od četiri pokusnih životinja, koje su dobile 0,25 mg

bakra kao bakreni nukleinat (9,82% Cu) i 0,50 mg željeza kao željezni pepton (17,5% Fe).

Tablica III.

Pokusne životinje (4)

	Haemoglobin grama na 100 cm ³ krvi	težina grama
Početkom	3,7	80
koncem 1. tjedna	9,9	84
„ 2. „	13,8	104
„ 3. „	14,3	133

U tablicama IV i V navedeni su poprečni rezultati ustanovljenog haemoglobina i težine od šest pokusnih životinja, koje su dobile 0,24 mg bakra kao bakreni kasein (4,87% Cu) i 0,50 mg željeza kao željezni pepton (17,5% Fe).

Tablica IV.

Pokusne životinje (2)

	Haemoglobin grama na 100 cm ³ krvi	težina grama
Početkom	3,5	99
nakon 4 dana	7,6	100
nakon 11 dana	13,1	108
nakon 18 dana	14,4	108

Tablica V.

Pokusne životinje (4)

	Haemoglobin grama na 100 cm ³ krvi	težina grama
Početkom	6,6	61
koncem 1. tjedna	12,1	72
„ 2. „	12,9	78
„ 3. „	14,0	85

Proizvodnja bakrenog nukleinata iz kvasa.

Bakreni nukleinat proizvodio se je iz kvasa na slijedeći način: dvesta grama kvasa pomješala su se sa 1000 m³ destilovane vode i mješala uz dodavanje od 10 gr koncentrovane rastopine NaOH. Za vrijeme hlađenja ledom neutralizovalo se je 0,8 od alkalija pomoću koncentrovanog HCl (20 grama) i konačno ukisla rastopina uz upotrebu Lakmusove hartije sa 30% octene kiseline. Oborina se je otaložila preko noći a tekući dio procijedio kroz složenu hartiju za filtrisanje. Zatim se je dodala koncentracija od po prilici 4½% bakrenog sulfata i rastopina temeljito promješala, dok se je cijeli bakreni sulfat rastopio.

Smjesta se je stvorio modrozelenkasti svjetli pahuljasti talog, koji se je pustio sjesti. Gornji tekući dio odlijao se je a talog dva puta isprao dekantacijom vodom. Ostatak se je zatim filtrisao pomoću isisavanja u Buchnerovom filteru i temeljito isprao filtriranjem vodom do potpunog oslobodenja od sulfata. Talog se je zatim uisitnio sa 95 $\frac{1}{2}$ %-nim alkoholom u staklenom mužaru na prašak, filtrisao pomoću isisavanja a zatim dva puta isprao alkoholom i podvrgao istom postupku sa eterom. Konačno se je talog posušio na zraku na hartiji za filtrisanje i dobio u obliku svjetlog modrozelenkastog amorfne praška. Dobitak na bakrenom nukleinu iznašao je 6,24 grama. Analizom se je našlo, da sadrži taj spoj 29,72% bakra i 10,3% fosfora. Uobičajenim načinom ispitivanja nije se našlo ništa sulfata.

Proizvodnja željeznog nukleina iz kvasa.

Željezni nukleinat proizveo se je iz kvasa prilično na isti način, kao bakreni spoj time, da se je umjesto bakrenog sulfata C. P. upotrebio željezni klorid. Ipak je bilo potrebno, da se je izlučio željezni spoj u šesdeset postotnom alkoholu, što treba pripisati djelomičnoj rastopivosti željeznog nukleina u vodi. Ispiranje taloga sa šesdeset i devedesetpostotnim alkoholom slijedio je postupak sa eterom, kao kod proizvodnje bakrenog spoja. Dobio se je neki amorfni, svijetlo smeđi spoj, koji je sadržao po analizi 8,89% željeza i 4,21% fosfora. Dobitak iz 100 grama kvasa iznašao je 7,0 grama.

Proizvodnja bakrenog nukleina iz nukleinske kiseline.

Pet grama nukleinske kiseline dodalo se je ka 300 cm³ destilovane vode u nekoj posudi od 800 cm³ sadržine i pridodala uz neprestano mješanje rastopina NaOH u malim količinama dok je prešla nukleinska kiselina u rastopinu. Zatim se je ta rastopina ukiselila sa 30% octenom kiselinom i dodala rastopina bakrenog sulfata C. P. uz mješanje, dok se nije više stvarao nikakav talog. Smjesta je nastao svjetlozeleni pahuljasti talog. Nakon slegnuća taloga, dekantovala se je nad njim ležeća tekućina. Ostatak se je dva puta isprao dekantacijom, filtrisao isisavanjem i isprao do potpunog oslobodenja od sulfata. Zatim se je smrvio sa 95% alkoholom u staklenom mužaru, filtrisao i isprao alkoholom. Taj postupak ponovio se je eterom. Dobio se je svjetlozeleni amorfni prašak, koji je sadržao 9,82% bakra i 7,05% fosfora.

Dobitak 5,08 grama.

Proizvodnja bakrenog kazeinata iz kazeina.

Sto grama čistog kazeina pristavilo se je

sa 1500 cm³ destilovane vode i dodalo uz neprestano mješanje oko 119 cm³ običnog NaOH u partijama, dok se je kazein potpuno rastopio. Zatim se je dodalo uz mješanje 21 gram bakrenog sulfata, rastopljenog u 120 cm³ vode, dok se nije više obarao nikakav talog. Bakreni kazeinat, koji se je izlučio kao zeleni pahuljasti talog, filtrisao se je isisavanjem i oslobodio od sulfata ispiranjem vodom. Nakon ispiranja sa 50%-nim alkoholom, 59%-nim alkoholom i eterom, osušio se je ostatak na hartiji za filtrisanje na zraku. Dobio se je modrozelenkasti kristalinički prašak, koji je sadržao 4,87% bakra.

Dobitak 101 gram.

Željezni pepton, koji se je upotrebio za te procese, bio je prašak National Formulary fifth Edition, te je sadržao 17,5% željeza.

Iz gornjeg se može razabrati, da su rastopine željeznih i bakrenih spojeva u svim slučajevima vrlo zgodna sredstva za liječenje malokrvnosti. Ti preparati mogu se napraviti u vrlo ukusnom tekućem obliku te je potreban dnevno samo vrlo malen obrok. Cijena jednog dnevnog obroka je razmjerno niska. Za regeneraciju haemoglobina postignu se pozitivni rezultati.

Slijedeće tablice prikazuju specijalne rastopine spojeva, koje su se upotrebile za ovde tabelarno sastavljene spojeve.

Rastopina bakrenog nukleina i željeznog nukleina.

Bakreni nukleinat (proizveden iz kvasa, 29,72% bakra).

Željezni nukleinat (proizveden iz kvasa, 8,89% željeza).

Rastopina pripravljena tako, da sadrži jedan cm³:

0,25 mg bakra ili 0,842 mg bakrenog nukleina (29,72% bakra).

0,50 mg željeza ili 5,6 mg željeznog nukleina (8,89% željeza).

8,00 mg natriumcitrate (United States Pharmacopoeia IX Edition).

Uobičajen sastav (500 cm³ rastopine).

0,421 gram bakrenog nukleina.

2,800 grama željeznog nukleina.

4,000 grama natriumcitrate.

72,00 cm³ alkohola.

24,00 cm³ šećernog sirupa (85:100 H₂O).

24,00 cm³ glicerina.

0,08 cm³ narandžovog ulja (slatko, talijansko).

0,08 cm³ octenog etera (aethylacetat, bez vode).

0,01 grama vanilina.

destilovane vode toliko, da se dobije 100 cm³ rastopine.

Napomena.

Četiri (4) čajne kašike (4 cm³ svaka) gore navedene bakreno željezne rastopine sadrži 4,0 mg bakra i 8,0 mg željeza.

30 cm³ te rastopine sadrže:

0,026 grama bakrenog nukleinata.

0,168 grama željeznog nukleinata.

Rastopina bakrenog nukleinata i željeznog peptona.

Bakreni nukleinat (napravljen od kvasa, 29,72% bakra).

Željezni pepton (National Formulary V Edition-prašak 17,5% željeza).

Ta rastopina pripravljena tako, da sadrži jedan cm³:

0,25 mg bakra ili 0,842 mg bakrenog nukleinata (29,72% bakra).

0,50 mg željeza ili 2,85 mg željeznog peptona (17,5% željeza).

8,00 mg natriumcitrata (United States Pharmacopöia IX Edition).

Upotrebljeni sastav (500 cm³ rastopine).

0,421 gram bakreni nukleinat.

1,425 grama željezni pepton.

4,000 grama natriumcitrata.

72,00 cm³ alkohol.

24,00 cm³ šećerni sirup (85:100 H₂O).

0,08 cm³ narandžovo ulje (slatko, talijansko).

0,08 cm³ octeni eter (aethylacetat, bez vode).

0,01 gram vanilin.

destilovane vode toliko, da se dobije 500 cm³ rastopine.

Napomena:

Četiri (4) čajne kašike gornje bakrene rastopine treba da sadrže 4,0 mg bakra i 8,0 mg željeza.

30 cm³ te rastopine sadrži:

0,025 grama bakrenog nukleinata.

0,085 grama željeznog peptona.

Rastopina bakrenog kazeina i željeznog peptona.

Bakreni kazein (napravljen od čistog kazeina (4,87% bakra).

Željezni pepton (National Formulary V Edition-prašak, 17,5% željeza).

Rastopina sastavljena tako, da sadrži jedan cm³:

0,25 mg bakra ili 5,13 mg bakrenog kazeina (4,87% bakra).

0,50 mg željeza ili 2,85 mg željeznog peptona (17,5% željeza).

8,00 mg natriumcitrata (United States Pharmacopöia IX Edition).

Upotrebljen sastav (500 cm³ rastopine).

2,565 grama bakrenog kazeina.

1,425 grama željeznog peptona.

4,000 grama natriumcitrata.

72,00 cm³ alkohola.

24,00 cm³ šećernog sirupa (85:100 H₂O).

24,00 cm³ glicerina.

0,08 cm³ narandžovog ulja (slatko, talijansko).

0,08 cm³ octenog etera (aethylacetat, bez vode).

0,01 grama vanilina.

Destilovane vode toliko, da se dobije 500 cm³ rastopine.

Napomena:

Četiri (4) čajne kašike gornje bakreno-željezne rastopine treba da sadrže 4,0 mg bakra i 8,0 mg željeza.

30 cm³ te rastopine sadrži:

0,154 grama bakrenog kazeina.

0,085 grama željeznog peptona.

Slični ljekoviti preparati sadrže pojedine od ovih sastavina u različitim odnošajima. Slijedeće tablice prikazuju najzgodnije spojeve. Razumije se, da se navedeni spojevi imaju smatrati samo kao primjer i da se mogu u pojedinim slučajevima ti sastavni djelovi mjenjati odnosno nekoji sasvim ostaviti. Glavno je za te preparate, da sadrži svaki bakra i željeza u zgodnom obliku, jer služi željezo za to, da se postigne ponovljenje haemoglobina i asimilacija na tijelo, dočim vrši bakar, kako se to čini, samo funkciju katalizovanja.

Rastopina bakrenog nukleinata i željeznog nukleinata.

Sastav (1000 cm³ rastopine)

Bakreni nukleinat (29,72 % bakra)	0,421 grama
Željezni nukleinat (8,89 % željeza)	11,424 grama
natriumcitrata	9,000 grama
alkohol	150,000 cm ³
šećer	42,500 grama
glicerina	50,000 cm ³
narandžovo ulje (slatko, talijansko)	0,160 cm ³
octeni eter (aethylacetat United States Pharmacopöia)	0,160 cm ³
vanilin	0,020 grama
destilovane vode za	1000,000 cm ³
Jakost alkohola prednje rastopine 14,25 % (teoretično).	

Jedan maksimalni obrok količina 8 cm³, sadrži:

0,001 grama bakra ili 0,0033 grama bakrenog nukleinata.

0,008 grama željeza ili 0,0913 grama željeznog nukleinata.

Preporučuje se za dnevni obrok:

1—2 čajne kašike u jednoj čaši mljeka tri puta ra dan neposredno prije jela.

Postupak za proizvodnju rastopine.

1. Rastopi bakreni nukleinat i natriumcitrat u 500 cm³ destilovane vode uz snažno mješanje. Kada se rastopi bakar, dodaj željezni nukleinat i mješaj dok se rastopi.

2. Rastopi vanilin, orandžovo ulje i octeni eter u alkoholu, dodaj tu rastopinu k predašnjoj uz neprestano mješanje.

3. Dodaj glicerini i šećer i mješaj dok se rastopi.

4. Dopuni na ispravnu količinu dodatkom destilovane vode.

Rastopina bakrenog nukleinata i željeznog peptona.

Sastav (1000 cm³ rastopine).

Bakreni nukleinat (29,72 % bakra)	0,421 grama
željezni pepton (17,5 % željeza)	5,700 grama
natriumcitrat	9,000 grama
alkohol	150,000 cm ³
šećer	42,500 grama
glicerini	50,000 cm ³
orandžovo ulje (slatko, talijansko)	0,160 cm ³
octeni eter (aethylacetat United States Pharmacopöia)	0,160 cm ³
vanilin	0,020 grama
destilovane vode za	1000,000 cm ³

Jakost alkohola gornje rastopine 14,25 % (teoretično).

Jedan maksimalni obrok (količina 8 cm³) sadrži po prilici:

0,001 grama bakra ili 0,0033 grama bakrenog nukleinata.

0,008 grama željeza ili 0,0456 grama željeznog peptona.

Preporučuje se kao dnevni obrok:

1—2 čajne kašike u jednoj punoj čaši mlijeka tri puta dnevno neposredno prije jela.

Postupak za proizvodnju rastopine:

1. Rastopi bakreni nukleinat i natriumcitrat u 500 cm³ destilovane vode uz snažno mješanje. Čim se bakreni spoj rastopi dodaj željezni pepton i mješaj dok se rastopi.

2. Rastopi vanilin, orandžovo ulje i octeni eter u alkoholu, dodaj tu rastopinu k predašnjoj uz mješanje.

3. Dodaj glicerini i šećer i mješaj dok se rastope.

4. Popuni na ispravni volumen destilovanom vodom.

Rastopina bakrenog kazeina i željeznog peptona.

Sastav (1000 cm³ rastopine).

Bakreni kazein (4,87 % bakra)	2,565 grama
željezni pepton (17,5 % željeza)	5,700 grama
natriumcitrat	9,000 grama
alkohol	150,000 cm ³

šećer 42,500 grama
glicerini 50,000 cm³
narandžovo ulje (slatko, talijansko) 0,160 cm³

octeni eter (aethylacetat, United States Pharmacopöia) 0,160 cm³
vanilin 0,020 grama

destilovane vode toliko, da se napravi 1000,000 cm³

Jakost alkohola gornje rastopine 14,25 % (teoretično).

Jedan maksimalni obrok (količina 8 cm³) sadrži po prilici:

0,001 grama bakra ili 0,0205 grama bakrenog kazeina.

0,008 grama željeza ili 0,0456 grama željeznog peptona.

Preporučuje se kao dnevni obrok:

1—2 čajne kašike u jednoj punoj čaši mlijeka 3 puta dnevno neposredno prije jela.

Postupak za proizvodnju rastopine.

1. Rastopi bakreni nukleinat i natriumcitrat u 500 cm³ destilovane vode uz snažno mješanje. Kada se bakar rastopi dodaj željezni pepton i mješaj dok se rastopi.

2. Rastopi vanilin, orandžovo ulje i octeni eter u alkoholu i dodaj tu rastopinu k predašnjoj uz mješanje.

3. Dodaj glicerini i šećer i mješaj dok se rastope.

4. Dopuni destilovanom vodom na ispravni volumen.

Patentni zahtjevi:

1. Postupak za proizvodnju jednog lijekovitog preparata kao sredstvo za regenerisanje haemoglobina, naznačen time, što se primješa jedan organski željezni spoj nekom sredstvu za katalizovanje asimilacije željeza.

2. Postupak za proizvodnju jednog lijekovitog preparata po zahtjevu 1, naznačen time, što se pomješa jedan asimilacioni spoj bakra sa jednim organskim spojem željeza.

3. Postupak za proizvodnju jednog lijekovitog preparata po zahtjevu 1 ili 2, naznačen time, što ima bakreni spoj organsko svojstvo.

4. Postupak za proizvodnju jednog lijekovitog preparata po jednom od prednjih zahtjeva, naznačen time, što je spoj bakra kao i spoj željeza u obliku proteina.

5. Postupak za proizvodnju jednog lijekovitog preparata po jednom od prednjih zahtjeva, naznačen time, što se upotrebi željezni spoj u obliku željeznog nukleinata ili željeznog peptona a bakreni spoj u obliku bakrenog nukleinata ili bakrenog kazeina.

6. Postupak za proizvodnju jednog lijeko-

