



EB. -

186224

MEMORIA DESCRIPTIVA

para una patente de Invención, por veinte años, por: = PROCEDIMIENTO PARA AISLAR EL PRINCIPIO HEMOPOYETICO ALMACENADO EN EL HIGADO = a favor de Don Fidel Gonzalez - Bárcena Fonsdeviela, residente en Madrid, calle Leocadia Alba, 4. ==

La presente solicitud de patente de Invención se refiere a un procedimiento para aislar el principio hemopoyético almacenado en el hígado.

De todos es sabido el amplio empleo que se hace de los preparados de hígado para combatir las anemias y especialmente la anemia perniciosa desde que por Minot y Murphy se descubrió en 1926 su acción curativa contra esta última enfermedad. Los trabajos de Castle y sus colaboradores pusieron más tarde en claro el fundamento de esta acción curativa del hígado, debida a una sustancia denominada principio hemopoyético, y además explicaron el mecanismo de formación de este principio en condiciones normales y la razón de su ausencia en la anemia perniciosa.

A estos estudios y a los buenos resultados conseguidos en las anemias gracias a la administración de hígado, se ha debido que su empleo se generalice. Como las altas temperaturas destruyen el principio hemopoyético, el hígado comenzó a propinarse en crudo;

186224

2. -



1948

pero ante la repugnancia de los enfermos, se procuró obtener extractos que en el menor volúmen contuviesen la mayor cantidad posible del principio activo.

5 Hasta la fecha los procedimientos seguidos para obtener los indicados extractos consisten en todos ellos, con ligeras variantes, en someter el hígado fresco a ciertos procedimientos químico-mecá-
nicos, en desecar los extractos obtenidos, generalmente por evapo-
ración al vacío, y en preparar luego disoluciones para su adminis-
10 tración por vía oral o parenteral. Como consecuencia del proceso de elaboración, todos estos preparados contienen materias proteí-
cas ajenas al principio hemopoyético, materias inútiles e incluso nocivas, que pudieramos calificar de -ganga- del principio activo y a las que indudablemente se deben las intolerancias observadas
15 en los enfermos sometidos a la hepatoterapia (alergia, urticaria, etc.).

Los procedimientos de preparación de estas soluciones de hígado y las mismas disoluciones, adolecen de defectos importantes. En primer lugar la eficacia de los extractos hepáticos así obteni-
dos viene reducida como consecuencia de la necesidad de disminuir
20 las dosis para evitar, en lo posible, las indicadas intolerancias a que se ha hecho referencia. En segundo lugar, siguiendo los mé-
todos hasta hoy utilizados, resulta imposible conocer la verdade-
ra concentración en sustancia activa de los preparados hepáticos. La titulación de los extractos de hígado, en efecto, se hace según
25 la fórmula $1 : X$, en la que X representa la cantidad de hígado fresco de que se ha partido y 1 su reducción a un litro de solu-
ción. Por consiguiente, si se ha partido, por ejemplo, de 100 kg., de hígado fresco y por concentración se ha llegado a un litro de
solución, el título del extracto será $1 : 100$, lo que quiere decir
30 que un litro de extracto contiene el principio antianémico de 100



186224

kg., de órgano fresco. Pero como no todos los hígados contienen igual cantidad de principio hemopoyético, tal titulación nos deja ignorantes de la concentración y valor absoluto de este principio en el extracto preparado.

5 El procedimiento objeto de este invento, evita totalmente los inconvenientes acabados de citar, gracias a que realiza artificialmente todos los trabajos que el organismo humano efectúa al destruir las sustancias protéicas que acompañan al principio hemopoyético contenido en los extractos de hígado, lo cual permite entregar al torrente circulatorio la cantidad necesaria de dicho principio, sin necesidad de que el organismo gaste sus energías en destruir y expeler las indicadas sustancias protéicas, no solo innecesarias, sino en este caso inconvenientes.

15 Como se podrá apreciar por la siguiente descripción del presente procedimiento, este ejecuta artificialmente todo el proceso de digestión, desde la masticación a la expulsión de los excrementos.

20 La primera fase de este nuevo procedimiento en nada se diferencia de los seguidos hasta ahora, pues consiste en picar el hígado en máquina adecuada hasta reducirlo a una masa y en mezclar esta masa con agua destilada hasta lograr una mezcla uniforme. La segunda fase ya es característica del nuevo invento, pues a la mezcla anterior se le agrega pepsina o bien una cantidad igual de estómago a la empleada de hígado y luego se procede al picado simultáneo de ambas sustancias. La mezcla de hígado y pepsina o de hígado y estómago se acidifica luego hasta obtener un pH de 2 como mínimo o de 4 como máximo. El valor pH depende de las calidades de hígado, estómago o pepsina utilizados. La masa acidificada se deja luego en una estufa durante un plazo mínimo de 8 horas y máximo de 12 a una temperatura entre 30° y 40°. El tiempo y tempera.

25

30

186224

4. -



tura dependen del pH obtenido anteriormente.

5 Durante su permanencia en la estufa se producen en la mezcla dos capas perfectamente definidas, que deben volverse a mezclar mediante un batido ligero, dejando luego reposar y enfriar hasta la temperatura ambiente. Acto seguido se procede a su neutralización por alcali hasta obtener un pH de 6 como mínimo y de 8 como máximo. La fijación exacta de este último depende del tiempo de permanencia en la estufa.

10 Por cualquiera de los procedimientos usuales se filtra después la masa obtenida para eliminar la materia sólida. En el líquido remanente se procede luego a precipitar las proteínas existentes por medio de sulfatos (amónico, magnésico, cinc, etc.), y luego se repite la filtración. La porción sólida resultante de la última filtración, se disuelve en alcohol de 70° a 80° y se vuelve a filtrar. Se repite el tratamiento con alcohol de 90 a 98°; 15 la solución filtrada, se la deja en reposo durante 2 a 4 horas y nuevamente se vuelve a filtrar. El precipitado que queda en el filtro y que debe secarse a la temperatura ambiente, es el principio hemopoyético de hígado en condición ya de ser administrado al organismo humano. 20

Si se quiere depurar todavía más el producto obtenido, el último precipitado se disuelve en agua destilada y a esta solución se agrega otra de alcohol de 96° y éter sulfúrico al 20 %, agitando y dejando reposar. Se filtra y el precipitado que queda en el 25 filtro, se seca a temperatura ambiente y el polvo blanquecino resultante es el principio hemopoyético de hígado.

30 Para titular este preparado no se puede seguir el procedimiento que arriba se ha explicado, por lo que para su valoración se parte de su actividad biológica, para la cual se ha aceptado el concepto de Unidad Clínica, que se define diciendo que "Unidad



186224

Clínica es la cantidad que diariamente se debe administrar de principio antianémico de hígado para que en un plazo máximo de 8 semanas se restablezca el cuadro hemático de un enfermo de anemia perniciosa, siempre que no padezca otras enfermedades ni trastornos nerviosos". Pues bien, el principio hemopoyético de hígado obtenido por el presente procedimiento, restablece el cuadro hemático de enfermos de las condiciones señaladas en un plazo máximo de 8 semanas mediante una administración de 2 mg., diarios. Por consiguiente, el preparado obtenido según el procedimiento contiene 500 unidades clínicas por gramo y su contrastación por los medios acostumbrados para ello, es en extremo sencilla.

EJEMPLO DE EJECUCION

Se tomarón 200 kg., de hígado fresco de vaca, privado de tejido conjuntivo, y después de lavado al chorro de agua, se redujo a trozos y se picó en una máquina y luego se le agregaron 35 a 40 litros de agua destilada y se batió el conjunto hasta obtener una mezcla uniforme.

A continuación se acidificó la anterior mezcla hasta alcanzar un pH 2.

Se puso la mezcla resultante en recipientes adecuados de cristal y se introdujo en una estufa donde se la dejó a la temperatura de 40° durante 8 horas.

Extraída esta papilla de la estufa se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente, previo un batido de la misma, y luego se le neutralizó hasta un pH 6.

La masa obtenida se filtró por filtro a presión (también pueden utilizarse coladores de tela).

Al líquido resultante se le agregaron 300 gramos por cada litro, de sulfato amónico (lo mismo puede utilizarse el magnésico,

1 86224

6. -



el cínico, etc.), se disolvió el sulfato, se precipitó la solución durante 4 horas y luego se procedió a nuevo filtrado.

5 La porción sólida que queda sobre el papel de filtro, se disolvió en 20 litros de alcohol de 70° y seguidamente se filtró por papel. La solución filtrada se volvió a tratar con 60 litros de alcohol de 90°, se la agitó y se dejó reposar durante 2 horas. Se repitió varias veces esta agitación y filtración por papel, hasta agotamiento.

10 El precipitado que quedó sobre el filtro, es el principio hemopoyético de hígado.

15 La calidad de hígado empleado se debe calificar de óptima y a ella se refieren los índices de pH, de temperatura y tiempo antes indicados, los cuales naturalmente variarían dentro de los límites señalados según que varíen las calidades y condiciones de la primera materia.

20 De lo expuesto anteriormente se deducen claramente las importantísimas ventajas que el presente procedimiento introduce en la hepatoterapia. Las materias proteínicas y todos los demás acompañantes molestos del principio hemopoyético, quedan eliminados y consiguientemente los efectos perjudiciales de los mismos en el organismo. La dosis del medicamento puede precisarse con toda exactitud y en general todo el tratamiento se facilita de modo extraordinario.

 N O T A

25 La presente patente de Invención, consta de las siguientes reivindicaciones:

1. - Procedimiento para aislar el principio hemopoyético almacenado en el hígado, caracterizado porque las sustancias pro -



7. -

186224

teícas que acompañan al principio hemopoyético contenido en los extractos de hígado se eliminan totalmente siguiendo un proceso análogo al de la digestión natural.

5 2. - Procedimiento para aislar el principio hemopoyético almacenado en el hígado, según lo reivindicado en el punto 1, caracterizado porque preparada una masa uniforme con hígado picado y agua destilada, se le incorpora pepsina o una cantidad igual de estomago (en este último caso las dos visceras se pican simultáneamente) y la mezcla obtenida se acidifica hasta un pH de 2 como mínimo o de 4 como máximo.

10 3. - Procedimiento para aislar el principio hemopoyético almacenado en el hígado, según lo reivindicado en los puntos 1 y 2, caracterizado porque la masa acidificada se deja en una estufa a una temperatura de 30 a 40° durante un plazo mínimo de 8 horas y máximo de 12, según el pH obtenido.

15 4. - Procedimiento para aislar el principio hemopoyético almacenado en el hígado, según lo reivindicado en los puntos 1 a 3, caracterizado porque mezcladas por un batido ligero las dos capas perfectamente definidas que se originan en la estufa, se deja 20 la masa reposar y enfriar hasta la temperatura ambiente y luego se neutraliza por álcali hasta un pH de 6 como mínimo y de 8 como máximo, según el mayor o menor tiempo de permanencia en la estufa y según el pH inicial.

25 5. - Procedimiento para aislar el principio hemopoyético almacenado en el hígado, según lo reivindicado en los puntos 1 a 4, caracterizado porque se filtra la masa obtenida, en el líquido se precipitan las preteínas por medio de sulfatos (amónico, magnésico, cálcico, etc); se repite la filtración, la porción sólida resultante de esta última precipitación se disuelve en alcohol de 70 30 a 80°; se filtra de nuevo y se repite el tratamiento con alcohol

186224

8. -



de 90 a 98°, se deja reposar durante 2 a 4 horas y se vuelve a filtrar y el precipitado que queda en el filtro se seca a la temperatura ambiente y constituye el principio hemopoyético de hígado en condición ya de ser propinado.

5

6. - Procedimiento para aislar el principio hemopoyético almacenado en el hígado, según lo reivindicado en el punto 5, caracterizado porque para purificar todavía más el producto obtenido, se le disuelve en agua destilada, a esta disolución se agrega otra de alcohol de 96° y éter sulfúrico al 20 %, se agita, se deja reposar, se filtra y el precipitado se seca a la temperatura ambiente.

10

7. - Procedimiento para aislar el principio hemopoyético almacenado en el hígado -

Según se describe y reivindica en esta memoria descriptiva.

15

va. X

La cual consta de ocho hojas, foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, a 9 de Diciembre de 1948. -