



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑪ CH 657 049 A5

⑤① Int. Cl.⁴: A 61 K 37/22

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENTSCHRIFT** A5

⑳ Gesuchsnummer: 6272/83

㉔ Anmeldungsdatum: 22.11.1983

㉓ Priorität(en): 22.11.1982 JP 57-203684
01.03.1983 JP 58-31752

㉔ Patent erteilt: 15.08.1986

④⑤ Patentschrift
veröffentlicht: 15.08.1986

㉗ Inhaber:
Teijin Limited, Osaka-shi/Osaka (JP)

㉗ Erfinder:
Yoshida, Tsunemasa, Hachioji-shi/Tokyo (JP)
Kokubo, Masayuki, Hino-shi/Tokyo (JP)
Takada, Yoshinori, Hino-shi/Tokyo (JP)
Kobayashi, Tsutomu,
Kanazawa-shi/Ishikawa-ken (JP)

㉗ Vertreter:
E. Blum & Co., Zürich

⑤④ **Künstliches oberflächenaktives Mittel für die Lunge und Heilmittel für Syndrome von Atemnot, die dieses als aktive Komponente enthalten.**

⑤⑦ Ein künstliches oberflächenaktives Mittel für die Lunge, das als aktive Komponente von Heilmitteln zur Behandlung von Atemnot eingesetzt werden kann. Dieses oberflächenaktive Mittel enthält

(a) ein Phosphatidyl-cholin und als Zusatz Cardiolipin und/oder Phosphatidyl-glycerin, wobei der Gesamtgehalt an diesen Phospholipiden 80 - 95 Gew.-%, bezogen auf das Gewicht der gesamten Zusammensetzung ausmacht,

(b) neutrale Lipide, in einer Menge von 5 - 20 Gew.-% bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung und ferner

(c) Fettsäuren, in einer Menge von 0 - 10 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung.

Dieses oberflächenaktive Mittel für die Lunge ist frei von störenden Proteinmaterialien, die in aus natürlichen Quellen isolierten oberflächenaktiven Materialien für die Lunge im allgemeinen vorhanden sind.

PATENTANSPRÜCHE

1. Künstliches oberflächenaktives Mittel für die Lunge, welches die folgenden Bestandteile enthält:

a) Phosphatidyl-cholin und ferner zusätzlich Cardiolipin und/oder Phosphatidyl-glycerin als Phospholipide, wobei der Gesamtgehalt an diesen Phospholipiden 80 bis 95 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung beträgt,

b) neutrale Lipide, wobei der Gesamtgehalt an diesen 5–20 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung beträgt und ferner

c) Fettsäuren, wobei der Gehalt an diesen 0–10 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung beträgt.

2. Künstliches oberflächenaktives Mittel für die Lunge gemäss Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Gehalt an solchem Phosphatidyl-cholin, welches 2 gesättigte geradkettige Fettsäurereste aufweist, die 14–25 Kohlenstoffatome besitzen, 55–80 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung beträgt, dass ferner der Gehalt an Phosphatidyl-glycerin, welches 2 geradkettige Fettsäurereste mit 14–25 Kohlenstoffatomen aufweist, 10–35 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung beträgt und dass der Gehalt an neutralen Lipiden im Bereich von 5–20 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung liegt.

3. Künstliches oberflächenaktives Mittel für die Lunge gemäss Patentanspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Hauptanteil an neutralen Lipiden aus solchen Triglyceriden besteht, die gesättigte geradkettige Fettsäurereste aufweisen, die 14–25 Kohlenstoffatome besitzen.

4. Künstliches oberflächenaktives Mittel für die Lunge gemäss einem der Patentansprüche 1–3, dadurch gekennzeichnet, dass die in ihm enthaltenen Fettsäuren geradkettige Fettsäuren sind, die 14–25 Kohlenstoffatome aufweisen.

5. Heilmittel zur Heilung von Syndromen mit Atemnot, dadurch gekennzeichnet, dass sie als aktiven Bestandteil ein künstliches oberflächenaktives Mittel für die Lunge gemäss Patentanspruch 1 enthalten, wobei in diesem künstlichen oberflächenaktiven Mittel die Phospholipide, einschliesslich von Phosphatidyl-cholin, Cardiolipin und/oder Phosphatidyl-glycerin, 80–95 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht des oberflächenaktiven Mittels ausmachen und die neutralen Lipide 5–20 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht des oberflächenaktiven Mittels, und die Fettsäure 0–10 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht des oberflächenaktiven Mittels ausmachen.

6. Heilmittel für Syndrome mit Atemnot gemäss Patentanspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass das künstliche oberflächenaktive Mittel für die Lunge in Wasser oder einem wässrigen System dispergiert ist, vorzugsweise einer Lösung eines Elektrolyten, beispielsweise einer physiologischen Kochsalzlösung.

7. Heilmittel für Syndrome mit Atemnot gemäss Patentanspruch 5 oder 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Heilmittel das künstliche oberflächenaktive Mittel für die Lunge und pharmazeutisch annehmbare wasserlösliche pulverförmige Substanzen enthält, wobei das Mischungsverhältnis ein Gewichtsteil des oberflächenaktiven Mittels auf 2–50 Gew.-% Teile der pulverförmigen Substanzen beträgt.

8. Heilmittel für Syndrome mit Atemnot gemäss Patentanspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die wasserlöslichen pulverförmigen Substanzen Aminosäuren, Zucker, beispielsweise Saccharose oder Mischungen aus mehreren derartigen Komponenten sind.

Die vorliegende Erfindung betrifft ein künstliches oberflächenaktives Mittel für die Lunge, welches eine solche Oberflächenaktivität besitzt, die ähnlich dem natürlich vorkommenden oberflächenaktiven Mittel der Lunge ist. Des weiteren betrifft die vorliegende Erfindung Heilmittel für Syndrome mit Atemnot, die dieses künstliche oberflächenaktive Mittel für die Lunge als aktiven Bestandteil enthalten.

In den Lungenbläschen, also den Alveolen der Tierlungen liegt eine physiologisch aktive Substanz vor, die als «oberflächenaktives Mittel für die Lunge» oder als «oberflächenaktive Substanz der Lunge» bezeichnet wird, wobei diese natürlich vorkommende Substanz hauptsächlich Phospholipide enthält.

Diese oberflächenaktive Substanz bedeckt die inneren Wände der Lungenbläschen um das Epithel der Lungenbläschen, also das Alveolar-epithelium, zu schützen und sie vollbringt auch eine wichtige physiologische Funktion für die Tiere um ihr Atmungssystem funktionierend zu erhalten. Im einzelnen wird das oberflächenaktive Mittel der Lunge als eine Substanz betrachtet, die eine spezielle oberflächenaktive Funktion ausübt, um die Oberflächenspannung der Innenwände der Lungenbläschen in Übereinstimmung mit der Ausatmung und der Einatmung der Brust zu verändern und diese oberflächenaktive Substanz trägt auch zur Aufrechterhaltung der funktionellen Stabilität des Inter-alveoliums bei, indem sie eine anti-atelectatische Wirkung ausübt.

Nach jahrelangen Untersuchungen, die von medizinischen Kreisen unter Verwendung von verschiedenen Tierarten bezüglich des oberflächenaktiven Mittels der Lunge durchgeführt wurden, wurden nun detaillierte Einzelheiten der Aktivitäten dieses oberflächenaktiven Mittels nach und nach klarer. Es wurde festgestellt, dass diese aktive Substanz Phospholipide, neutrale Lipide, Protein und weitere Substanzen als Bestandteile enthält und dass der Hauptbestandteil des oberflächenaktiven Mittels das Dipalmitoyl-lecithin ist, von dem bekannt ist, dass es eines der Phospholipide ist.

Von T. Fujiware et al. wurde in jüngster Zeit berichtet, dass sie ein künstlich hergestelltes oberflächenaktives Mittel für die Lunge entwickelt haben, das eine höhere

Oberflächenaktivität aufweist als das natürlich vorkommende oberflächenaktive Mittel. Dieses künstliche oberflächenaktive Mittel wurde erhalten, indem man Dipalmitoyl-lecithin und weitere Bestandteile zu einem oberflächenaktiven Mittel zusetzte, das aus der Lunge von Rindern erhalten wurde und sie erreichten gute Resultate bei einer Therapie von Syndromen von Atemnot bei Kindern, indem sie in den Atmungstrakt von zu früh geborenen Säuglingen eine Dispersion dieses oberflächenaktiven Mittels für die Lunge einflössten. Die Syndrome der Atemnot von Kindern wurden aufgrund der englischen Bezeichnung dieser Syndrome, die «infantile respiratory distress syndrome» genannt werden, mit «IRDS» abgekürzt. Im Zusammenhang mit diesen Arbeiten sei auf die Veröffentlichung in «Pediatric Clinics», Band 32, Nr. 7, Seite 1343, Jahrgang 1979 verwiesen.

Auch Kobayashi et al. erzeugten ein oberflächenaktives Mittel für die Lunge, und zwar ausgehend von einer Substanz, die aus Lösungen, die beim Waschen von Schweinelungen gewonnen wurde, isoliert wurde, wobei in der so isolierten aktiven Substanz zweiwertige Kalziumionen der Formel Ca^{++} zur Koexistenz gebracht wurden, um die Aktivität zu erhöhen. Bei der Verwendung dieses oberflächenaktiven Mittels wurden gute Resultate bei der Substitutionstherapie von IRDS erzielt. Es sei in diesem Zusammenhang auf das «Journal of Japanese Medical Society for Biological Interface», Band 12, Nr. 1, Jahrgang 1981 verwiesen.

Bei den oben beschriebenen Arbeitsmethoden war man bestrebt, Phospholipide nur aus dem natürlich vorkommenden oberflächenaktiven Mittel der Lunge nach dem Arbeits-

verfahren von Folch zu extrahieren. Bei diesem Arbeitsverfahren werden Substanzen, die im organischen Lösungsmittel löslich sind, durch die Verwendung von gemischten Lösungsmitteln extrahiert, die aus Chloroform und Methanol bestehen, wobei dadurch Fremdproteine, die von den Rindern und Schweinen stammen, eliminiert werden. In diesem Falle ist jedoch die Eliminierung der Fremdproteine unvollständig und eine Mischung mit Fremdproteinen, die bis zu etwa 1–3% betragen kann, wurde bei den so erhaltenen Phospholipiden festgestellt.

Von King et al. wurde auch das Vorkommen von Protein, welches lungeneigenes Protein ist, das sich jedoch von üblichem Serumalbumin unterscheidet, in dem von natürlichen Quellen gewonnenen oberflächenaktiven Mittel der Lunge festgestellt. Es sei in diesem Zusammenhang auf die Veröffentlichung von King S. in «Am. J. Physio.» 224, Seiten 788–795, Jahrgang 1973 und im «Fed. Proc.» 33, Seiten 2238–2241, Jahrgang 1974 verwiesen.

Es ist bekannt, dass dieses Protein ein lipoidlösliches Protein ist, das hauptsächlich ein Molekulargewicht von 34,000 aufweist, das eine hydrophobe Aminosäure in grossen Mengen enthält.

Aus den oben erläuterten Tatsachen nimmt man an, dass in denjenigen Fällen, wo ein oberflächenaktives Mittel für die Lunge aus solchen Lipiden hergestellt wird, die aus dem natürlich vorkommenden oberflächenaktiven Mittel der Lunge nach dem Folch-Verfahren extrahiert wurden, nicht nur die erwünschten Phospholipide, neutralen Lipide und übrigen Bestandteile extrahiert werden, sondern auch Protein extrahiert wird, das aus der Lunge stammt und dass dieses Protein dann unvermeidlicherweise in das oberflächenaktive Mittel für die Lunge hineingelangt. Vom medizinischen Gesichtspunkt her ist es jedoch nicht wünschenswert, dass derartige Protein in dem oberflächenaktiven Mittel für die Lunge vorkommt, weil dieses Protein mit hoher Wahrscheinlichkeit zu antigenetischen Erscheinungen und zu dem Auftreten von Nebenwirkungen führt, einschliesslich einer Anaphylaxie.

Mit dem Zweck, die oben erwähnten Nachteile zu beseitigen, versuchten C.J. Morley et al. die Herstellung eines künstlichen oberflächenaktiven Mittels für die Lunge, das kein Fremdprotein enthält. Sie hatten mit diesem Produkt bei der klinischen Anwendung bei IRDS Erfolg. Es sei in diesem Zusammenhang auf die Veröffentlichung in «The Lancet», 10. Januar 1981, verwiesen. Das künstliche oberflächenaktive Mittel wird jedoch in Form eines Pulvers hergestellt, das Dipalmitoyl-phosphatidyl-cholin und Phosphatidyl-glycerin in einem Gewichtsverhältnis von 7:3 enthält und die Anwendung dieses Produktes ist beschränkt auf eine Pulveranwendung, bei der einige technische Schwierigkeiten bei der Verabreichung des Pulvers in die Lungenbläschen auftreten.

Es wurden jetzt sehr ausgedehnte Forschungsarbeiten durchgeführt, um ein künstliches oberflächenaktives Mittel für die Lunge zu entwickeln, welches kein Fremdprotein enthält, als Bestandteile leicht erhältliche Verbindungen enthält und solche physikochemische Eigenschaften aufweist, wie zum Beispiele eine spezielle Oberflächenaktivität, die charakteristisch für ein oberflächenaktives Mittel für die Lunge ist. Ferner sollte dieses neue Produkt sofort in die Grenzfläche zwischen Gas und Flüssigkeit eindispersierbar sein, die Fähigkeit haben eine beständige Schicht an dieser Grenzfläche auszubilden und ferner die Fähigkeit besitzen, die Oberflächenspannung auf $10 \cdot 10^{-3}$ N/m oder weniger zu verringern.

Überraschenderweise zeigte es sich, dass eine bestimmte spezielle Zusammensetzung diese ganz spezifische Oberflächenaktivität besitzt und dass sie eine ausgezeichnete physiologische Wirksamkeit bei den durchgeführten Tests in vivo

zeigt, und zwar bei der Behandlung von Kaninchen, die Ausspülungen der Lunge unterworfen worden waren.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind daher künstliche oberflächenaktive Mittel für die Lunge, welche die folgenden Komponenten enthalten:

(a) als Phospholipide Phosphatidyl-cholin, das auch einen Zusatz an Cardiolipin und/oder Phosphatidyl-glycerin enthält, wobei der Gehalt an diesen Phospholipiden 80–95 Gew.-%, bezogen auf das Gewicht der Gesamtzusammensetzung beträgt,

(b) neutrale Lipide, wobei der Gehalt an diesen 5–20 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung beträgt, und ferner

(c) Fettsäuren, wobei der Gehalt an diesen 0–10 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung beträgt und ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Heilmittel zur Behandlung des Syndroms der Atemnot, das dieses künstliche oberflächenaktive Mittel für die Lunge als aktiven Bestandteil enthält.

Die vorliegende Erfindung sei auch anhand der Zeichnungen näher erläutert.

Fig. 1 zeigt ein Diagramm, bei dem auf der Abszisse die Oberfläche in Quadratcentimetern aufgetragen ist. Auf der Ordinate ist die Oberflächenspannung in 10^{-3} N/m aufgetragen.

Anhand der Figuren 2 und 3 soll die Veränderung des Partialdruckes des Sauerstoffes im Blut, die nach der Verabreichung einer Dispersion des oberflächenaktiven Mittels in die Lunge bei Kaninchen festgestellt wurde, die einer derartigen Waschung der Lunge unterworfen worden waren, dargestellt werden.

In Fig. 2 und 3 ist auf der Abszisse die Zeit nach der Verabreichung in Stunden aufgetragen, und auf der Ordinate ist der Partialdruck des Sauerstoffes im Blut in mm Quecksilbersäule aufgetragen.

In Fig. 2 und 3 ist die Kurve, deren Messpunkte mit ausgefüllten Kreisen dargestellt sind, diejenige, die bei Verwendung einer Vergleichssubstanz erhalten wurden.

In Fig. 2 und 3 ist diejenige Kurve, deren Messpunkte mit unausgefüllten Kreisen dargestellt sind, diejenige, die erhalten wurde, wenn die entsprechende Behandlung nur mit physiologischer Kochsalzlösung durchgeführt wurde.

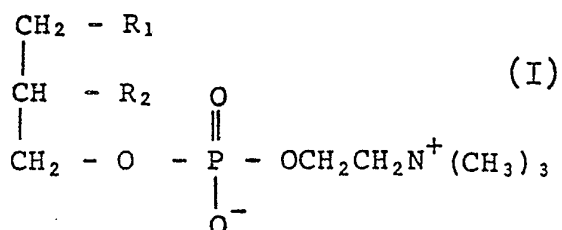
In Fig. 2 stellt diejenige Kurve, deren Messpunkte mit Kreuzchen eingetragen sind, die Ergebnisse dar, die bei Verwendung des Produktes gemäss Beispiel 1 erzielt wurden.

Ferner stellt in Fig. 2 diejenige Kurve, deren Messpunkte in unausgefüllten Dreiecken dargestellt sind, die Ergebnisse dar, die bei Verwendung des Produktes gemäss Beispiel 2 erhalten wurden.

In Fig. 3 zeigt diejenige Kurve, deren Messpunkte mit Kreuzchen eingetragen sind, die Ergebnisse, die bei Verwendung des Produktes gemäss Beispiel 5 erhalten wurden, während in Fig. 3 schliesslich diejenige Kurve, deren Messpunkte in Form von unausgefüllten Quadraten eingetragen sind, die Ergebnisse veranschaulicht, die bei Verwendung des Produktes gemäss Beispiel 6 erhalten wurden.

In der Folge werden nun bevorzugte Ausführungsarten der Erfindung näher beschrieben.

Das in den erfindungsgemässen Zusammensetzungen enthaltene Phosphatidyl-cholin ist eine Verbindung, die durch die folgende Formel I



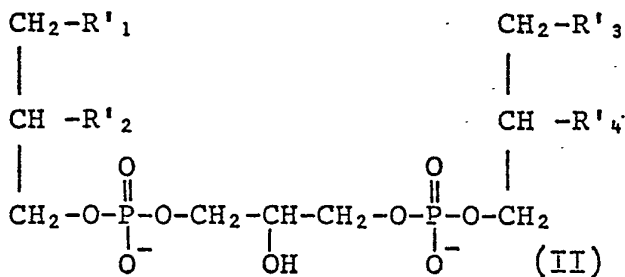
dargestellt werden kann. In dieser Formel stellen die Reste R_1 und R_2 Reste von gesättigten geradkettigen Fettsäuren dar.

Das in den erfindungsgemässen Zusammensetzungen verwendete Phosphatidyl-cholin kann entweder in Form der natürlich vorkommenden L-Substanz eingesetzt werden oder in Form der künstlich hergestellten entsprechenden DL-Substanz.

Von den Fettsäureresten, also den Resten R_1 und R_2 , die in diesem Phosphatidyl-cholin vorliegen, sind diejenigen bevorzugt, die 14–25 Kohlenstoffatome aufweisen. Als Beispiele für spezielle Phosphatidyl-choline der Formel I seien die folgenden Verbindungen genannt: das Dimyristoyl-phosphatidyl-cholin, das Dipalmitoyl-phosphatidyl-cholin, das Distearoyl-phosphatidyl-cholin, und ähnliche entsprechende Verbindungen.

Von den angeführten Verbindungen ist dabei das Dipalmitoyl-phosphatidyl-cholin speziell bevorzugt.

Das Cardiolipin, das in den erfindungsgemässen Zusammensetzungen enthalten sein kann, ist eine Verbindung, welche die folgende Formel II



aufweist, wobei in dieser Formel II R'_1 , R'_2 , R'_3 und R'_4 miteinander gleich oder voneinander verschieden sind und geradkettige Fettsäurereste darstellen.

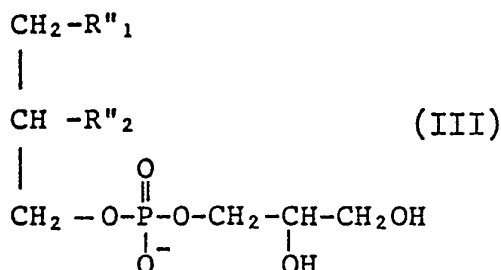
Sowohl natürlich vorkommendes Cardiolipin als auch künstlich hergestelltes Cardiolipin kann in den erfindungsgemässen Zusammensetzungen enthalten sein.

Das aus der Natur isolierte Cardiolipin wird hauptsächlich erhalten, indem man innere Organe, wie zum Beispiel die Herzmuskeln, also das Myocardium, die Lungen, die Nieren und andere innere Organe von Tieren extrahiert, beispielsweise von Rindern, Pferden, Schweinen oder anderen Tieren.

Das künstliche Cardiolipin kann man synthetisch herstellen, beispielsweise nach demjenigen Verfahren, das von Van Deenen et al. in «Advances in Lipid Research», Seite 167, Academic Press (1964) vorgeschlagen wird.

Unabhängig davon, ob ein synthetisch hergestelltes oder aus Naturprodukten gewonnenes Cardiolipin der Formel II eingesetzt wird, sind in diesem Produkt die Reste R'_1 , R'_2 , R'_3 und R'_4 geradkettige Fettsäurereste und es ist wünschenswert, wenn ein Teil dieser Fettsäurereste ungesättigte Fettsäurereste sind.

Das Phosphatidyl-glycerin, das in den erfindungsgemässen Zusammensetzungen eingesetzt wird, ist eine Verbindung, welche die folgende Formel III



aufweist. In dieser Formel III bedeuten die R''_1 und R''_2 geradkettige Fettsäurereste.

Das Phosphatidyl-glycerin, das in den erfindungsgemässen Zusammensetzungen eingesetzt werden kann, kann entweder eine entsprechende aus Naturprodukten gewonnene L-Substanz oder eine künstlich hergestellte entsprechende DL-Substanz sein.

In der Formel III bedeuten die Reste R''_1 und R''_2 geradkettige Fettsäurereste, und zwar vorzugsweise solche, die 14–25 Kohlenstoffatome aufweisen. Als Beispiele für derartige Fettsäurereste seien gesättigte geradkettige Fettsäurereste genannt, wie zum Beispiel die Reste der Myristinsäure, die Reste der Palmitinsäure, die Reste der Stearinsäure und ähnliche Reste.

Von den Verbindungen der Formel III ist das Dipalmitoyl-phosphatidyl-glycerin besonders bevorzugt.

Als Beispiele für ungesättigte Fettsäurereste, die in den Phosphatidyl-glycerinen der Formel III vorliegen können, seien die Reste der Ölsäure und die Reste der Linolensäure erwähnt.

Als weitere Komponenten müssen die erfindungsgemässen Zusammensetzungen, wie bereits erwähnt wurde, neutrale Lipide enthalten. Als Beispiele für derartige neutrale Lipide seien Triglyceride, Diglyceride, Monoglyceride, Cholesterinderivate und ähnliche neutrale Lipide genannt, wobei von diesen diejenigen Triglyceride oder Diglyceride speziell bevorzugt sind, deren Hauptbestandteile gesättigte geradkettige Fettsäurereste sind, die 14–25 Kohlenstoffatome aufweisen. Als Beispiele für neutrale Lipide, die in den erfindungsgemässen Zusammensetzungen eingesetzt werden können, seien genannt:

Trimyristin, Tripalmitin, Tristearin, Triarachidin, Dimyristin, Dipalmitin, Distearin, Diarachidin, Trilinolein, Triolein, Dilinolein und Diolein.

Fettsäuren, die als weitere Komponente vorzugsweise in den erfindungsgemässen Zusammensetzungen eingesetzt werden, sind vorteilhafterweise geradkettige Fettsäuren und als Beispiele für entsprechende gesättigte Fettsäuren seien die Myristinsäure, die Palmitinsäure, die Stearinsäure, die Arachidinsäure und ähnliche Fettsäuren genannt. Als Beispiele für entsprechende ungesättigte Säuren seien die Oleinsäure, die Elaidinsäure, die Linolsäure, die Linolensäure und ähnliche Fettsäuren genannt.

Als Phospholipide, die in den erfindungsgemässen künstlichen oberflächenaktiven Mitteln für die Lungen enthalten sein müssen, wird eine Mischung von Phosphatidyl-cholin und Cardiolipin oder eine Mischung aus Phosphatidyl-cholin und Phosphatidyl-glycerin oder auch eine Mischung aus Phosphatidyl-cholin, Cardiolipin und Phosphatidyl-glycerin eingesetzt.

Diese Phospholipide müssen in einer Menge von 80–95 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung vorhanden sein und vorzugsweise in einer Menge von 85–90 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung. Die neutralen Lipide müssen in einer Menge von 5–20 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung und vorzugsweise in einer Menge von 5–10 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung, enthalten sein. Die Fettsäuren müssen in der Zusammensetzung in einer Menge von 0–10 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung und vorzugsweise in einer Menge von 0–5 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung vorhanden sein.

Wenn nämlich diese angeführten Mengenverhältnisse bei den Hauptbestandteilen nicht eingehalten werden, dann sind die Vorteile der erfindungsgemässen künstlichen oberflächenaktiven Mittel für die Lunge nicht erreichbar.

Speziell bevorzugte Ausführungsarten der erfindungsgemässen oberflächenaktiven Mittel für die Lunge enthalten ein Phosphatidyl-cholin, das zwei gesättigte geradkettige Fettsäurereste aufweist, die 14–25 Kohlenstoffatome besitzen. Speziell vorteilhaft ist es, wenn diese bevorzugten Phosphatidyl-choline 55–80 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung ausmachen.

Von den Phosphatidyl-glycerinen sind diejenigen bevorzugt, die zwei geradkettige Fettsäurereste aufweisen, die jeweils 14–25 Kohlenstoffatome besitzen. Diese bevorzugten Phosphatidyl-glycerine machen vorzugsweise 10–35 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung aus. Die neutralen Lipide machen vorzugsweise 5–20 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung aus.

Speziell bevorzugt sind solche erfindungsgemässen oberflächenaktiven Mittel für die Lunge, welche sämtliche der oben genannten bevorzugten Bestandteile in den bevorzugten angeführten Gewichtsprozenten enthalten.

In den erfindungsgemässen künstlichen oberflächenaktiven Mitteln für die Lunge können noch andere Phospholipide, Kohlehydrate und sonstige weitere Bestandteile zusätzlich zu den oben erwähnten Komponenten enthalten sein, und zwar in einem solchen Ausmass, dass sie die oberflächenaktiven Eigenschaften der künstlichen oberflächenaktiven Mittel für die Lunge nicht nachteilig beeinflussen.

Die erfindungsgemässen künstlichen oberflächenaktiven Mittel für die Lunge können hergestellt werden, indem man das erwähnte Phosphatidyl-cholin und das Cardiolipin und/oder das Phosphatidyl-glycerin homogen miteinander vermischt. Dabei bestehen keinerlei Einschränkungen bezüglich des Arbeitsverfahrens und der Vorrichtungen, die zur Durchführung dieser Vermischung herangezogen werden. Um jedoch ein Beispiel anzuführen, kann eine homogene Mischung leicht dadurch erzeugt werden, indem man die einzelnen Bestandteile in einem üblichen Lösungsmittel auflöst, beispielsweise Chloroform oder einem ähnlichen Lösungsmittel und dann das Lösungsmittel aus der Lösung wieder entfernt.

Das so erhaltene künstliche oberflächenaktive Mittel für die Lunge liegt üblicherweise in einem wachsartigen Zustand vor. Wenn die Oberflächenaktivität dieses Mittels unter Verwendung einer Silhemywaage bestimmt wird, wie dies in der Folge noch näher erläutert wird, dann beträgt der Wert für die minimale Oberflächenspannung dieses Mittels $10 \cdot 10^{-3}$ N/m oder weniger und der maximale Wert für die Oberflächenspannung liegt im Bereich von $36 \cdot 10^{-3}$ – $70 \cdot 10^{-3}$ N/m. Der Stabilitätsindex des Mittels beträgt 1,2 oder liegt höher.

Diese oben angegebenen Werte führen eine spezifische Hysteresis-schleife herbei, wie sie in Fig. 1 gezeigt wird und diese ist ähnlich derjenigen, die bei einem natürlichen oberflächenaktiven Mittel für die Lunge zu finden ist. Dadurch sieht man, dass das erfindungsgemässe künstliche oberflächenaktive Mittel für die Lunge eine starke Oberflächenaktivität besitzt.

Da das erfindungsgemässe künstliche oberflächenaktive Mittel für die Lunge üblicherweise in einem wachsartigen Zustand erhalten wird, ist es ratsam, dieses zu verabreichen, indem man das wachsartige oberflächenaktive Mittel in Wasser oder einer Elektrolytlösung, beispielsweise einer Kochsalzlösung dispergiert oder indem man es unter Verwendung anderer, medizinisch zulässiger pulverartiger Verdünnungsmittel pulverisiert oder verreibt. Die Herstellung einer Flüssigkeit mit dispergierten Teilchen kann erreicht werden, indem man das wachsartige oberflächenaktive Mittel direkt in einer Flüssigkeit dispergiert. Unter Berücksichti-

gung der sanitären Aspekte und unter Berücksichtigung der Arbeitsverfahren bei der Herstellung, wird zweckmässigerweise ein Arbeitsverfahren angewandt, bei dem man zunächst eine Pulvermischung herstellt, indem man eine flüssige Dispersion einer geeigneten Konzentration, die aus dem wachsartigen oberflächenaktiven Mittel durch Zugabe von Verdünnungsmitteln hergestellt wurde, lyophilisiert. Je nachdem, wie dies im jeweiligen Fall speziell bevorzugt ist, wird dann diese so erhaltene Pulvermischung in Wasser zu demjenigen Zeitpunkt dispergiert, wo das Mittel verabreicht werden soll.

Als medizinisch zulässige Pulver sind diejenigen Pulver wünschenswert, die wasserlöslich und unschädlich sind und im allgemeinen setzt man diese pulverartigen Verdünnungsmittel in einer Menge von 2–50 Gew.-Teilen pro 1 Gew.-Teil des künstlichen oberflächenaktiven Mittels für die Lunge ein. Speziell bevorzugt werden 5–20 Gew.-Teile des pulverartigen Verdünnungsmittels pro 1 Gew.-Teil des künstlichen oberflächenaktiven Mittels für die Lunge verwendet. Wünschenswerte pulverartige Verdünnungsmittel können zu diesem Zweck beispielsweise Aminosäuren und verschiedene Zuckerarten oder Sachharide eingesetzt werden, denn diese Produkte führen zu keiner Verschlechterung der oberflächenaktiven Eigenschaften. Als Aminosäuren können beispielsweise essentielle Aminosäuren eingesetzt werden, wie zum Beispiel Glycin, Alanin, Tryptophan, Cystin und ähnliche.

Als Zuckerarten, zu denen auch die entsprechenden Zuckeralkohole gehören, beziehungsweise als Saccharide können beispielsweise Glucose, Mannit, Sorbit und ähnliche verwendet werden.

Als Verfahren zur Herstellung einer Pulverformulierung, kann eine einfache gründliche Durchmischung des künstlichen oberflächenaktiven Mittels für die Lunge mit den medizinisch annehmbaren Pulvern durchgeführt werden. Vorzugsweise wird jedoch die Pulverformulierung erzeugt, indem man das oberflächenaktive Mittel in einem organischen Lösungsmittel auflöst, zu dem man vorher eine geeignete Menge eines feinen Pulvers der Aminosäure zugesetzt hatte, sodass eine homogene Dispersion in der Flüssigkeit erreicht wird. Diese so erhaltene flüssige Dispersion wird dann in einen Rotationsverdampfer oder eine ähnliche Vorrichtung eingebracht und zur Trockene unter verminderten Druck unter Rotation oder unter Rührung eingedampft. Das erhaltene Pulver wird dann weiter pulverisiert, wobei man ein feines Pulver in Form einer einheitlichen Teilchengrösse erhält und so das erwünschte Präparat in Pulverform erzeugt.

Bei einem anderen Verfahren zur Herstellung einer pulverigen Formulierung, wird das oberflächenaktive Mittel in Wasser oder einer wässrigen Lösung eines Salzes oder ähnlicher Materialien einheitlich dispergiert. Eine entsprechende Menge an dem Zucker, Zuckerderivat oder Saccharid oder der Aminosäure wird in der erhaltenen flüssigen Dispersion aufgelöst, sodass man eine homogene Dispersion in der Lösung erhält. Diese Dispersionslösung wird dann lyophilisiert und das erhaltene Pulver weiter pulverisiert, bis ein feines Pulver der geeigneten Teilchengrösse erreicht ist, welches dann das erwünschte pulverförmige Präparat ist.

Das künstliche oberflächenaktive Mittel für die Lunge wird durch die beschriebenen Herstellungsverfahren fest an den Oberflächen der pulverförmigen Substanz angeheftet und einheitlich darin verteilt und dieses pulverförmige Material kann als solches als Präparat eingesetzt werden. Da das so hergestellte künstliche oberflächenaktive Mittel für die Lunge in Form eines Pulvers vorliegt, ist es keinen Veränderungen seiner Oberflächenaktivität unterworfen und es hat das gleiche Ausmass der Oberflächenaktivität, wie das natürlich vorkommende oberflächenaktive Produkt der Lunge,

das weiter vorne beschrieben wurde. Es kann angenommen werden, dass das in Form eines pulverigen Präparates vorliegende erfindungsgemässe künstliche oberflächenaktive Mittel für die Lunge auch eine ausreichende Wirksamkeit besitzt, um als Heilmittel für Syndrome der Atemnot eingesetzt zu werden, wie zum Beispiel zur Bekämpfung von IRDS und ähnlichen Zuständen, indem man dieses pulverförmige Präparat durch Inhalation oder durch Vernebelung verabreicht.

Im Zusammenhang mit der Entwicklung des Erfindungsgegenstandes wurde die Bestimmung der Oberflächenspannung und die Berechnung des Stabilitätsindex des künstlichen oberflächenaktiven Materials für die Lunge anhand der folgenden Arbeitsverfahren durchgeführt.

Zur Bestimmung der Oberflächenspannung wurde ein verbesserter Typ der Wilhelmy-Waage von Acoma verwendet. 50 ml einer Kochsalzlösung wurden in den Teflontrog der Waage gegeben und dann wurde die Oberflächenspannung des Wassers auf $72 \cdot 10^{-3}$ N/m eingestellt.

In denjenigen Fällen, wo die zu prüfende Probe eine flüssige Dispersion war, wurde die Bestimmung durchgeführt, nachdem man 50 ml Salzlösung bei der Einstellung verwendet hatte, wobei diese dann durch 50 ml der flüssigen Dispersion ersetzt wurde.

In denjenigen Fällen, wo die zu testende Probe eine trockene Substanz oder ein Pulver war, wurde eine sehr geringe Menge der Pulverprobe vorsichtig auf die 50 ml der Kochsalzlösung aufgebracht. Die Oberfläche des Oberflächenfilms wurde zylindrisch in einem Bereich von maximal 40 cm^2 bis auf ein Minimum von 13 cm^2 zusammengepresst, und zwar mit einer Geschwindigkeit von 0,3 Zyklen pro Minute, um ein Diagramm der Abhängigkeit der Oberflächenspannung von der Oberfläche zu erhalten, wie diese in Fig. 1 dargestellt ist. Zur Bestimmung dieses Diagrammes wurde ein X-Y Recorder verwendet. Der Wert γ_{min} und der Wert für die maximale Oberflächenspannung von γ_{max} und auch der Bereich, der von der Hysteresis-kurve eingeschlossen ist, wurde erhalten. Die Hysteresis-kurve näherte sich unverändert beim 5. oder 6. Zyklus beginnend vom Start.

Aus diesen Bestimmungen wurde der Stabilitätsindex, der mit S.I. bezeichnet wird, nach der folgenden Gleichung erhalten:

$$\text{S.I.} = \frac{2 \times (\gamma_{\text{max}} - \gamma_{\text{min}})}{\gamma_{\text{max}} + \gamma_{\text{min}}}$$

Die Bestimmung der Oberflächenaktivität in vivo wurde nach demjenigen Verfahren durchgeführt, das von Kataoka et al. im «Journal of Japanese Medical Society for Biological Interface» 13 (2) 61 (1982) vorgeschlagen wurde, und zwar mit Hilfe von Lungenwaschungen nach dem folgenden Arbeitsverfahren.

Bei einem erwachsenen Kaninchen wurde die Luftröhre unter Anästhesie aufgeschnitten und man führte fünf mal eine Lungenwaschung durch, und zwar in Intervallen von 10 Minuten mit 75 ml einer Kochsalzlösung mit Hilfe eines Rohres, das an der Schnitöffnung in die Luftröhre eingeführt worden war. Die Lungenwaschungen wurden durchgeführt, indem man langsam eine Kochsalzlösung einspritzte und dann diese absaugte um sie wieder aus der Lunge zu entfernen. Sobald fünf Minuten verstrichen waren, nachdem die Lungenwaschungen vorbei waren, verabreichte man an das Kaninchen 10 ml einer Dispersionsflüssigkeit, die 1% an am erfindungsgemässen künstlichen oberflächenaktiven Mittel für die Lunge enthielt, das nach dem Verfahren gemäss Beispiel 1 hergestellt wurde.

Das so behandelte Kaninchen wurde bezüglich seiner Atmung kontrolliert, indem man einen Respirator verwendete,

und zwar auf Basis eines bei der Einatmung innerhalb der Luftröhre herrschenden Druckes von 20 cm Quecksilbersäule und eines positiven Enddruckes bei der Ausatmung von 3 cm Quecksilbersäule unter reinem Sauerstoff.

Zu Vergleichszwecken wurde die gleiche Menge an Kochsalzlösung verabreicht und nach dem gleichen Arbeitsverfahren in die Lunge eingebracht, wie die Flüssigkeit, die das künstliche oberflächenaktive Mittel für die Lunge enthielt.

In dem folgenden Vergleichsbeispiel und auch in den Beispielen beziehen sich alle Prozentsätze auf das Gewicht. Anhand dieser Beispiele soll die Erfindung näher erläutert werden.

Vergleichsbeispiel

Herstellung von natürlichem oberflächenaktivem Mittel für die Lunge.

Ein oberflächenaktives Mittel der Lunge wurde nach dem unten beschriebenen Arbeitsverfahren, welches auf der Methodik basiert, die von M.E. Abrams im «J. Appl. Physiol.» 21, 718 – 720 vorgeschlagen wurde, abgetrennt.

2 kg an Rinderlunge wurden in dünne Stücke geschnitten und diese in 5 l Kochsalzlösung in einem Homogenisator homogenisiert und durch eine Gaze filtriert, um einen Extrakt zu erhalten. Der Extrakt wurde einer Zentrifugierung unter geringer Geschwindigkeit unterworfen, und zwar mit einer Geschwindigkeit von 1000 Umdrehungen pro Minute während 30 Minuten. Dabei wurde eine über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit gewonnen. Diese überstehende Flüssigkeit wurde mit einer hohen Geschwindigkeit von 7000 Umdrehungen pro Minute während 60 Minuten zentrifugiert, wobei man ein Zentrifugat erhielt. Das Zentrifugat wurde in einer gesättigten Kochsalzlösung eines spezifischen Gewichtes von 1,21, die vorher hergestellt worden war und vorher gekühlt worden war, dispergiert. Die flüssige Dispersion wurde mit einer Geschwindigkeit von 7000 Umdrehungen pro Minute während 30 Minuten zentrifugiert und die darüberstehende weisse Schicht wurde entnommen und dann gegen gekühltes destilliertes Wasser dialysiert.

Anschliessend lyophilisierte man dann und erhielt so das natürliche oberflächenaktive Mittel der Lunge.

Nach dem Arbeitsverfahren, das von Folch (siehe weiter vorne) vorgeschlagen wurde, wurde das so erhaltene natürliche oberflächenaktive Mittel der Lunge in einem gemischten Lösungsmittel aus Chloroform und Methanol im Volumenverhältnis von 2:1 aufgelöst und man liess dann die Lösung in Berührung mit einer 0,5-prozentigen Kochsalzlösung stehen um die Lipide zu erhalten. Es zeigte sich, dass die Lipide etwa 2% an Protein enthielten.

Die Oberflächenaktivität dieses natürlichen oberflächenaktiven Mittels der Lunge ist in der weiter hinten angeführten Tabelle 1 angegeben.

Die Lipide wurden unter Verwendung von SDS löslich gemacht und einer Elektrophorese-Analyse unterworfen. Zu diesem Zweck wurde eine Polyacrylamid-gel des Scheibentyps verwendet und man arbeitete nach dem üblichen Verfahren. Dabei wurde eine einzige Bande mit einer Mobilität von 0,72 festgestellt, und man schloss daraus, dass das Molekulargewicht der Substanz bei etwa 35,000 lag, und zwar im Vergleich mit der Mobilität der L-Kette und der H-Kette des Immunoglobulines für die als Vergleichssubstanz bei der gleichen Elektrophorese-Analyse eingesetzt wurden.

Beispiel 1

650 mg an L- α -Dipalmitoyl-phosphatidyl-cholin, abgekürzt als «L- α -DPPC», 250 mg an L- α -dipalmitoyl-phosphatidyl-glycerin, abgekürzt als L- α -DPPG und 100 mg an Tripalmitin wurden miteinander vermischt und in 50 ml an Chloroform gelöst, um eine homogene Lösung zu erhalten.

Die Lösung wurde dann in einen Rotationsverdampfer gebracht und man dampfte bei Zimmertemperatur unter vermindertem Druck zur Trockene ein und trocknete dann weiter unter Anwendung eines Hochvakuums, wobei man eine weisse wachsartige feste Substanz erhielt. 50 mg der so erhaltenen festen Substanz wurden homogen in 50 ml Kochsalzlösung dispergiert und die Oberflächenaktivität dieses Produktes wurde unter Verwendung eines verbesserten Typs der Wilhelmy-waage bestimmt.

Die dabei erzielten Ergebnisse sind ebenfalls in der weiter hinten angeführten Tabelle 1 angegeben.

Die Hysteresis-schleife war gross, d.h. sie umschloss einen grossen Bereich und die minimale Oberflächenspannung, also der Wert von γ min. betrug $10 \cdot 10^{-3}$ N/m oder lag noch tiefer.

Eine homogene 1%-ige Dispersion der erhaltenen festen Substanz in Flüssigkeit wurde hergestellt um die Wirkungsweise dieser Zusammensetzung in vivo auszuwerten, wenn diese Zusammensetzung an Kaninchen verabreicht wurde, die einer Lungenwaschung unterworfen worden waren. Wie man aus dem entsprechenden Diagramm in Fig. 2 sieht, wies der Partialdruck des Sauerstoffes, abgekürzt als Pa O₂ im Blut der Kaninchen, die der Lungenwaschung unterworfen worden waren, den gleichen Anstieg auf, wie in dem Fall, wo eine Waschung mit natürlichem oberflächenaktivem Mittel der Lunge durchgeführt wurde. Man sieht daraus, dass eine Erholung der Atmungsfunktion bei dem untersuchten Tier mit Hilfe der gemäss diesem Beispiel hergestellten Zusammensetzung erreicht werden konnte.

Beispiel 2

600 mg an L- α -DPPC, 300 mg an L- α -DPPG und 100 mg an Tripalmitin wurden gemischt und in 35 ml an Chloroform aufgelöst. Die Lösung wurde nach dem in Beispiel 1 beschriebenen Verfahren zur Trockene eingedampft und man erhielt dabei eine weisse wachsartige Festsubstanz.

Die Oberflächenaktivität dieser festen Zusammensetzung wurde nach dem im Beispiel 1 beschriebenen Verfahren bestimmt und die dabei erhaltenen Ergebnisse sind in der weiter hinten angeführten Tabelle 1 angegeben.

Anschliessend wurde eine homogene 1%-ige Dispersion dieses festen Materials in einer Flüssigkeit hergestellt und die Wirksamkeit dieser Dispersion wurde in vivo geprüft, wobei man sie an Ratten verabreichte, die einer Lungenpülung unterworfen worden waren.

Wie aus Fig. 2 ersichtlich ist, stieg der Partialdruck des Sauerstoffes, also der Wert von Pa O₂ im Blut der getesteten Tiere in der gleichen Weise an, wie dies bei Verwendung des natürlichen oberflächenaktiven Mittels der Lunge bei Verwendung des Produktes gemäss Beispiel 1 festgestellt wurde. Man sieht daraus, dass sich durch das Produkt des vorliegenden Beispiels die Atmungsfunktion des Tieres erholt hat.

Beispiel 3

750 mg an DL- α -DPPC, 150 mg an L- α -DPPG und 100 mg an Tripalmitin wurden miteinander vermischt und in 35 ml Chloroform aufgelöst.

Aus dieser Lösung erhielt man eine weisse Festsubstanz nach dem gleichen Arbeitsverfahren, das im Beispiel 1 beschrieben ist.

Dann wurden 100 mg dieser Substanz homogen in 50 ml Kochsalzlösung dispergiert und die Oberflächenaktivität wurde unter Verwendung einer Wilhelmy-waage bestimmt. Das Ergebnis zeigte, dass diese Zusammensetzung eine hervorragend gute Oberflächenaktivität besitzt und die Resultate sind ebenfalls in der weiter hinten aufscheinenden Tabelle 1 aufgeführt.

Beispiel 4

650 mg an L- α -DPPC, 250 mg an L- α -DPPG und 100 mg an Tristearin wurden jeweils eingewogen und man löste das Material in 50 ml Chloroform auf und verdampfte zur Trockene ein, wobei man eine wachsartige Substanz erhielt.

Die Ergebnisse, die bei der Bestimmung der Oberflächenaktivität dieser Zusammensetzung erhalten wurden, sind in Tabelle 1 angeführt. Es zeigte sich dabei, dass die Hysteresis-schleife eine grosse Fläche umschloss, wobei die minimale Oberflächenspannung, also der Wert für γ min. bei $10 \cdot 10^{-3}$ N/m oder tiefer liegt.

500 mg dieser Substanz wurden homogen in 50 ml einer 15 %-igen wässrigen Lösung von Mannit dispergiert. Diese Dispersionsflüssigkeit wurde dann lyophilisiert, wobei man eine weisse trockene Substanz erhielt. Die so erhaltene Substanz wurde in einer Kugelmühle geringer Grösse während 20 Stunden pulverisiert, wobei man ein feines weisses Pulver einheitlicher Teilchengrösse erhielt.

Die Oberflächenaktivität dieses feinen Pulvers ist in Tabelle 1 angeführt. Das weisse Pulver war auch sehr gut dispergierbar.

Tabelle 1

Probe	Form der Probe	Oberflächenaktivität		Stabilitätsindex	Fläche in cm ²
		max. Oberflächenspannung in 10^{-3} N/m	min. Oberflächenspannung in 10^{-3} N/m		
Vergleichsbeispiel 1	flüssige Dispersion	48	4	1,70	24,2
Beispiel 1	"	70	6	1,68	33,4
Beispiel 2	"	65	7,5	1,59	30,6
Beispiel 3	"	62	6	1,65	21,2
Beispiel 4	"	62	5	1,70	26,0
	Pulver	60	7	1,58	25,1

Beispiel 5

650 mg an L- α -DPPC, 250 mg des Natriumsalzes des Cardiolipines, welche eine Jodzahl von 77,7 besass und aus Rinderherzen extrahiert wurde, und 100 mg an Tripalmitin wurden jeweils eingewogen und miteinander vermischt. Diese Mischung wurde in 30 ml an Chloroform aufgelöst, wobei

man eine homogene Lösung erhielt. Die Lösung tat man dann in einen Rotationsverdampfer und dampfte bei Zimmertemperatur unter vermindertem Druck zur Trockene ein. Anschliessend erfolgte eine weitere Trocknung unter Hochvakuum, wobei man eine weisse wachsartige Substanz erhielt. Die Jodzahl dieser Zusammensetzung betrug 19,3.

Anschliessend wurden 100 mg dieser Zusammensetzung homogen in 50 ml einer Salzlösung dispergiert und die Oberflächenaktivität dieser Dispersion wurde mit Hilfe einer verbesserten Wilhelmy-waage bestimmt. Wenn eine flüssige Dispersion einer Probe eingegossen wurde, dann nahm die Oberflächenspannung sofort ab, woraus man sieht, dass diese Probe eine hervorragend gute Adsorptionsfähigkeit an der Grenzfläche besass. Die Probe lieferte eine Hysteresis-schleife, die einen grossen Bereich umschloss. Die dabei erzielten Ergebnisse sind in der weiter hinten angeführten Tabelle 2 angegeben und man sieht daraus, dass diese Zusammensetzung eine Oberflächenaktivität besitzt, die ähnlich derjenigen des natürlichen oberflächenaktiven Materials der Lunge ist.

Es wurde ferner auch eine homogene 1%-ige Dispersion dieser Substanz in Flüssigkeit hergestellt, um den therapeutischen Effekt in vivo zu bestimmen. Diese Dispersion wurde dann Kaninchen verabreicht, und zwar wurde eine Lungenwaschung in der gleichen Weise durchgeführt, wie dies weiter vorne im Vergleichsbeispiel 1 beschrieben ist.

Man sieht aus der Fig. 3, dass der Partialdruck des Sauerstoffes, also der Wert für P_{aO_2} im Blut der Kaninchen in der gleichen Weise anstieg, wie dies der Fall ist, wenn man eine entsprechende Behandlung mit natürlichem oberflächenaktivem Material der Lunge gemäss Vergleichsbeispiel 1 durchführt. Aus diesem Wert sieht man, dass sich durch die Behandlung mit der Zusammensetzung des vorliegenden Beispiels die Atmungsfunktion des Kaninchens erholt hatte.

Beispiel 6

600 mg an L- α -DPPC, 250 mg an Cardiolipin, 100 mg Tripalmitin und auch 50 mg Palmitinsäure wurden miteinander vermischt und diese Mischung wurde in 30 ml Chloroform aufgelöst und nach dem in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren zur Trockene eingedampft. Man erhielt dabei eine weisse wachsartige Substanz. Diese Substanz besass eine Iodzahl von 19,3 und ihre Oberflächenaktivität wurde nach dem in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren bestimmt.

Die dabei erhaltenen Ergebnisse sind in der weiter hinten angeführten Tabelle 2 zusammengestellt.

Anschliessend wurde eine 1%-ige homogene Dispersion dieser Zusammensetzung in Flüssigkeit hergestellt und diese flüssige Dispersion wurde bezüglich ihrer therapeutischen Wirksamkeit untersucht, indem man sie in vivo an Kaninchen verabreichte, die einer Lungenwaschung unterworfen worden waren.

Dann wurde eine homogene 1%-ige flüssige Dispersion dieser Substanz hergestellt, um deren therapeutischen Effekt in vivo zu überprüfen, indem man sie an Kaninchen verabreichte, die einer Lungenwaschung unterworfen wurden. Man sieht aus den in Fig. 3 angeführten Ergebnissen, dass der Partialdruck des Sauerstoffes, also der Wert P_{aO_2} im Blut der Kaninchen nahezu in der gleichen Weise anstieg, wie dies der Fall war, wenn die natürlich vorkommenden oberflächenaktiven Substanzen der Lunge in der gleichen Weise gemäss Vergleichsbeispiel 1 an die Kaninchen verabreicht wurden. Aus diesen Werten ersieht man, dass durch die Behandlung mit der Zusammensetzung des vorliegenden Beispiels eine Erholung der Atemfunktion erreicht wurde.

Beispiel 7

550 mg an DL- α -DPPC, 200 mg an Ei-lecithin, 100 mg an Cardiolipin, 75 mg an Tripalmitin und 75 mg Palmitinsäure wurden ausgewogen und diese Mischung wurde in 30 ml Chloroform gelöst. Das hier eingesetzte Ei-lecithin ist ein natürlich vorkommendes Phosphatidyl-cholin. Die Chloroformlösung wurde dann in der gleichen Weise eingedampft und getrocknet, wie dies im Beispiel 5 beschrieben

ist. Man erhielt dabei eine weisse wachsartige feste Substanz. Diese Substanz besass eine Iodzahl von 23,0. Dann wurden 100 mg dieser Zusammensetzung homogen in 50 ml Salzlösung dispergiert und die Oberflächenaktivität wurde gemessen, indem man eine verbesserte Wilhelmy-waage verwendete. Die dabei erzielten Ergebnisse sind in der weiter hinten angeführten Tabelle 2 angegeben. Man ersieht daraus, dass die Zusammensetzung des vorliegenden Beispiels eine hervorragend gute Oberflächenaktivität besitzt.

Beispiel 8

650 mg an DL- α -DPPC, 200 mg an Phosphatidyl-glycerin, 100 mg Tripalmitin und 50 mg Trilinolein wurden jeweils ausgewogen und das Gemisch in 30 ml Chloroform gelöst. Das verwendete Phosphatidyl-glycerin enthält ungesättigte Fettsäurereste mit 14–25 Kohlenstoffatomen, die aus dem Lecithin des Eigelbes stammen. Die Chloroformlösung wurde dann zur Trockene nach dem in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren eingedampft und man erhielt so eine gelblich-weisse feste wachsartige Substanz. Die Iodzahl dieses Materials betrug 24,1.

Eine 0,2%-ige Dispersion des Materials in einer Flüssigkeit wurde hergestellt um die Oberflächenaktivität unter Verwendung einer Wilhelmy-waage nach dem in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren zu messen. Die dabei erzielten Ergebnisse sind in der weiter hinten angeführten Tabelle 2 zusammengestellt. Man sieht daraus, dass die Zusammensetzung des vorliegenden Beispiels eine hervorragend gute Oberflächenaktivität besitzt.

Beispiel 9

600 mg an L- α -DPPC, 300 mg an Cardiolipin und 100 mg an Tripalmitin wurden ausgewogen und die Mischung dieser Materialien in 30 ml eines gemischten Lösungsmittels gelöst, das aus zwei Volumenteilen Chloroform und einem Volumenanteil Methanol bestand. Die Lösung wurde anschliessend zur Trockene eingedampft, wobei man eine weisse wachsartige Substanz erhielt. Dieses wachsartige Material besass eine Iodzahl von 28,0.

Die Oberflächenaktivität dieser Zusammensetzung wurde nach dem in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren bestimmt und die dabei erzielten Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle 2 angeführt.

Dieses Material ist ferner hervorragend gut absorbierbar und es zeigte eine Hysteresis-schleife, die eine grosse Fläche umschloss.

500 mg dieses Materials wurden homogen in 50 ml Wasser dispergiert, in welchem vorher 10 g Mannit aufgelöst worden waren, wobei man eine homogene Dispersionslösung erhielt. Diese Dispersionslösung wurde lyophilisiert und man erhielt so eine weisse Trockensubstanz. Diese Substanz wurde einer Pulverisierung unterworfen, indem man eine kleine Kugelmühle verwendete und während 15 Stunden darin pulverisierte. Man erhielt so ein weisses Pulver, in welchem die Teilchen eine einheitliche Teilchengrösse besaßen. Dieses Pulver hatte die Oberflächenaktivität, die in der nachfolgenden Tabelle 2 angeführt ist. Ferner war dieses Pulver auch sehr gut dispergierbar.

Beispiel 10

650 mg an L- α -DPPC, 300 mg des Natriumsalzes des Cardiolipines und 50 mg an Dilinolein wurden in 30 ml Chloroform gelöst und man dampfte nach dem in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren zur Trockene ein, wobei man eine weisse wachsartige Festsubstanz erhielt. Die Oberflächenaktivität dieser Substanz wurde bestimmt und die dabei erhaltenen Ergebnisse sind ebenfalls in der Tabelle 2 angeführt.

Tabelle 2

Probe	Form der Probe	Oberflächenaktivität max. Oberflächen- spannung in 10^{-3}N/m	min. Oberflächen- spannung in 10^{-3}N/m	Stabilitätsindex	Fläche in cm^2
Beispiel 5	flüssige Dispersion	46	2	1,83	27,4
Beispiel 6	"	48	6	1,56	24,4
Beispiel 7	"	39	8	1,32	20,3
Beispiel 8	"	60	7	1,58	25,3
Beispiel 9	"	40	6	1,48	20,2
Beispiel 10	Pulver	40	4	1,64	22,8
	wachsartiger Feststoff	48	4	1,7	24,5
	Pulver	45	5	1,6	24,0

Dieses wachsartige feste Material wurde auch homogen in 50 ml einer wässrigen Lösung dispergiert, die etwa 20 Gew.-% an Mannit enthält. Anschliessend wurde dann lyophilisiert. Man erhielt so eine weisse lyophile Substanz, die dann in einer kleinen Kugelmühle pulverisiert wurde und zwar bei einer niedrigen Raumtemperatur während eines Zeitraumes von 30 Stunden. Man erhielt so ein weisses Pul-

20 ver dessen Teilchen eine einheitliche Teilchengrösse besa-

sen.
Die Oberflächenaktivität dieses Pulvers wurde bestimmt und die dabei erzielten Ergebnisse sind ebenfalls in der vorangegangenen Tabelle 2 zusammengestellt.

25 Die Dispergierbarkeit dieses Materiales auf der Wasseroberfläche war hervorragend gut.

30

35

40

45

50

55

60

65

FIG. 1

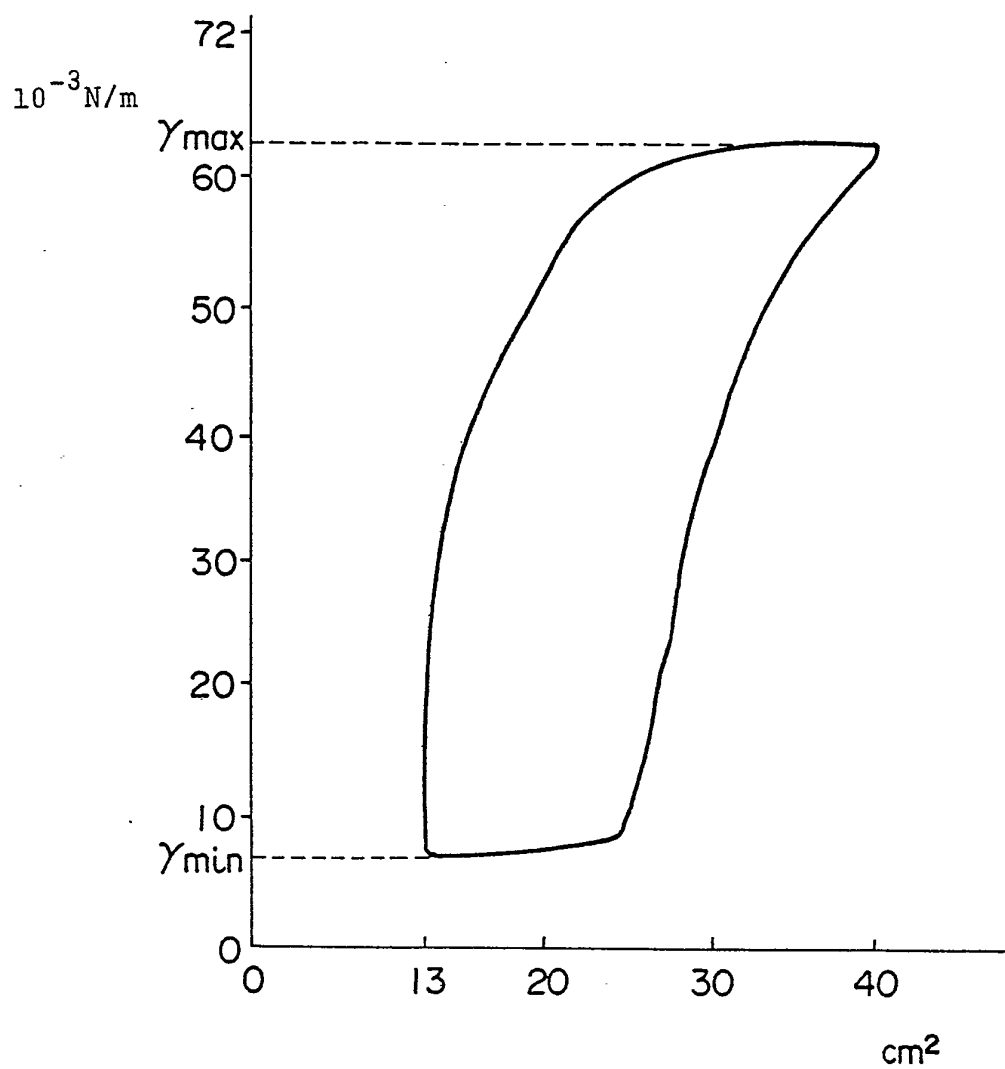


FIG. 2

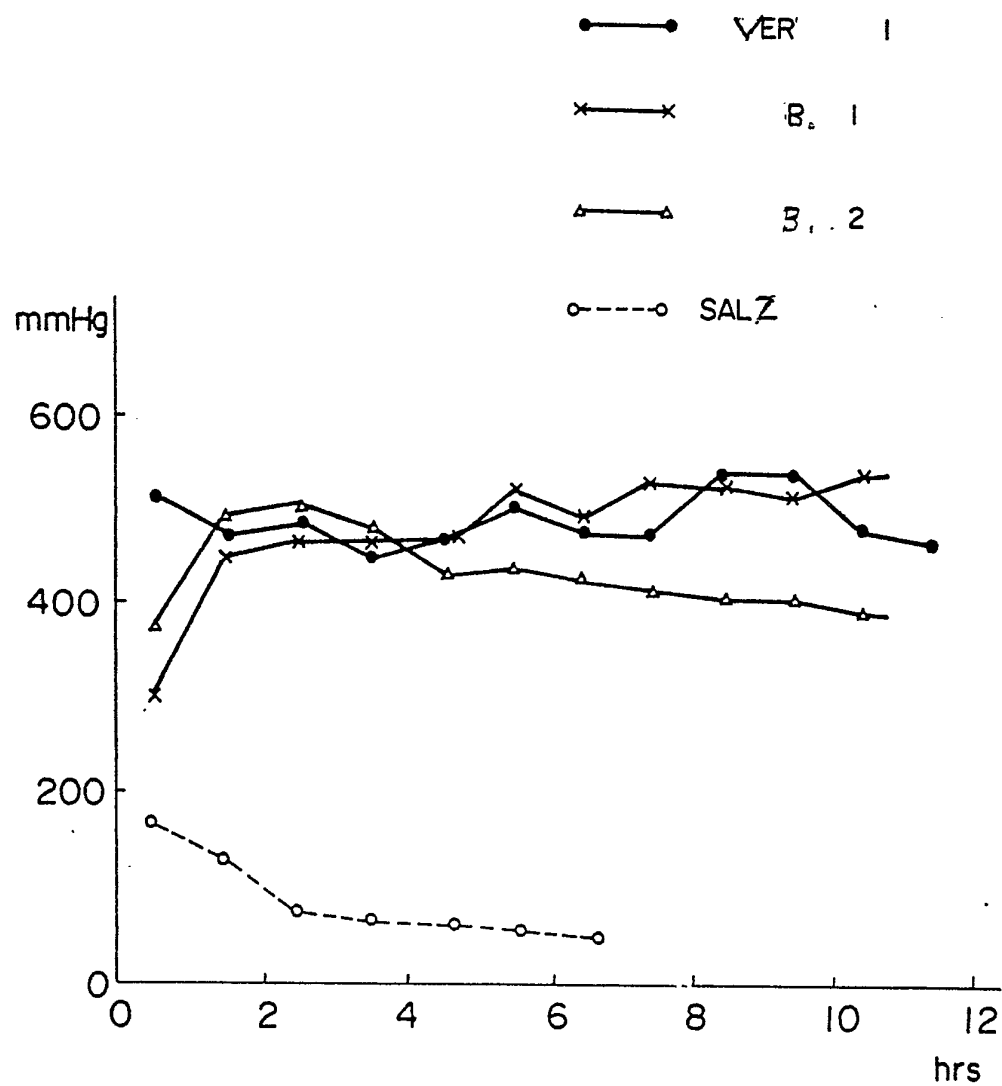


FIG. 3

