

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
19. Februar 2004 (19.02.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/015406 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **G01N 27/26**,
33/487, 13/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/AT2003/000229

(22) Internationales Anmeldedatum:
8. August 2003 (08.08.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
A 1208/2002 9. August 2002 (09.08.2002) AT

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: **STROHMAIER, Wolfgang** [AT/AT]; Mar-
garetenstrasse 71/1/18, A-1050 Wien (AT).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **RIBITSCH,**

Volker [AT/AT]; Rudolfstrasse 23, A-8010 Graz (AT).
SINITSCH-PFEILER, Claudia [AT/AT]; Europastrasse
1d/27, A-8330 Feldbach (AT).

(74) Anwalt: **MIKSOVSKY, Alexander**; Miksovsky & Poll-
hammer OEG, Währinger Strasse 3, A-1096 Wien (AT).

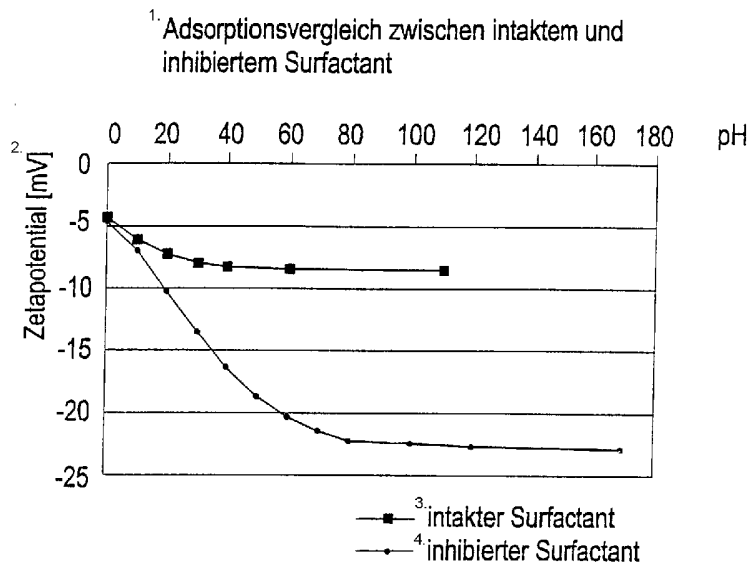
(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR DETERMINING THE QUALITY OR FUNCTIONAL CAPACITY OF A SURFACTANT

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR BESTIMMUNG DER GÜTE BZW. FUNKTIONSFÄHIGKEIT VON SURFAKTANT



1. ADSORPTION COMPARISON BETWEEN AN INTACT SURFACTANT AND AN INHIBITED SURFACTANT
2. ZETA POTENTIAL
3. INTACT SURFACTANT
4. INHIBITED SURFACTANT

(57) Abstract: The invention relates to a method for determining the quality or functional capacity of a surfactant. According to the invention, the electrokinetic potential or zeta potential of a polymer surface is determined after a surfactant has been adsorbed, enabling the quality or functional capacity of an especially pulmonary surfactant to be rapidly and easily determined, for example for therapeutic purposes.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2004/015406 A1



DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Veröffentlicht:

- *mit internationalem Recherchenbericht*
- *vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen*

(57) Zusammenfassung: Bei einem Verfahren zur Bestimmung der Güte bzw. Funktionsfähigkeit von Surfactant, wird vorgeschlagen, dass das elektrokinetische Potential bzw. Zeta-Potential einer Polymeroberfläche nach einer Adsorption von Surfactant bestimmt wird, wobei sich beispielsweise für Therapiezwecke rasch und einfach die Güte bzw. Funktionsfähigkeit von insbesondere pulmonalem Surfactant bestimmen lässt.

VERFAHREN ZUR BESTIMMUNG DER GÜTE BZW.FUNKTIONSFÄHIGKEIT VON SURFAKTANT

- 5 Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Bestimmung der Güte bzw. Funktionsfähigkeit von Surfactant.

Die Bestimmung der Güte bzw. Funktionsfähigkeit von
10 pulmonalem Surfactant ist beispielsweise im Zusammenhang mit der Behandlung der sogenannten Schocklunge bzw. dem sogenannten Atemnotsyndrom von wesentlichem Interesse, da es bereits vor einem Auftreten des voll ausgeprägten, klinischen Bilds eines ARDS (Acute Respiratory Distress Syn-
15 drome, Atemnotsyndrom) bzw. ALI möglich ist, aus dem Zustand bzw. der Beschaffenheit des pulmonalen Surfactants therapeutische Maßnahmen zu treffen und somit vor dem vollständigen Auftreten des klinischen Bilds des ARDS eine Therapie zu beginnen. ARDS/ALI bzw. Atemnotsyndrom bezeichnet
20 den rapiden Beginn einer progressiven Funktionsstörung der Lungen und ist im wesentlichen charakterisiert durch eine diffuse, mikrovaskuläre Lungenschädigung, die in einer erhöhten Permeabilität der kleinen Gefäße und Alveolarmembran resultiert und zu einem nicht-kardiogenen Lungenödem führt.
25 Es ist derzeit bekannt, mit Hilfe einer sogenannten Broncho Alveolar Lavage (BAL) pulmonalen Surfactant der Lunge eines Patienten zu entnehmen, worauf beispielsweise in einem aufwendigen Verfahren zur Bestimmung der Oberflächenspannung die Güte bzw. der Zustand des pulmonalen Surfactants be-
30 stimmt wird. Diese derzeit bekannten Verfahren sind nicht nur äußerst zeitaufwendig und erfordern eine komplizierte Apparatur, sondern erfordern zum Teil auch eine vergleichsweise große Menge an zu überprüfendem Surfactant und bedeu-

- 2 -

ten insbesondere aufgrund ihres Zeitaufwands die Gefahr, daß Therapievorschläge zu spät aus derartigen Messungen abgeleitet werden. Daher werden diese Methoden in der Routine nicht angewendet.

5

Die vorliegende Erfindung zielt daher darauf ab, ein Verfahren zur Bestimmung der Güte bzw. Funktionsfähigkeit von Surfactant, insbesondere pulmonalem Surfactant, zur Verfügung zu stellen, mit welchem eine rasche und genaue Bestimmung des Zustands des Surfactants möglich wird. Im Zusammenhang mit der Untersuchung von pulmonalem Surfactant soll möglichst frühzeitig eine Therapie insbesondere für die Behandlung eines ARDS und/oder ALi, beispielsweise durch Bestimmung einer Gabe von exogenem Surfactant ermöglicht werden.

15

Zur Lösung dieser Aufgaben ist das erfindungsgeme Verfahren zur Bestimmung der Güte bzw. Funktionsfähigkeit von Surfactant im wesentlichen dadurch gekennzeichnet, daß das elektrokinetische Potential bzw. Zeta-Potential einer Polymeroberfläche nach einer Adsorption von Surfactant bestimmt wird. Da Surfactant fähig ist, beispielsweise auf Polymeroberflächen zu absorbieren und damit deren Oberflächeneigenschaften zu verändern, wird erfindungsgemä vorgeschlagen, das elektrokinetische Potential bzw. daraus abgeleitet das Zeta-Potential einer Polymeroberfläche nach Adsorption des Surfactants zu bestimmen, um daraus Rückschlüsse betreffend den Zustand bzw. die Güte bzw. Funktionsfähigkeit eines zu untersuchenden Surfactants zu ermöglichen. Es läßt sich somit mit einem einfachen und kurzen Verfahren selbst bei geringen Mengen von zur Verfügung stehendem Surfactant dessen Zustand bzw. Eigenschaften bestimmen, so daß beispielsweise bei einer Veränderung des

20

25

30

- 3 -

Zustands des pulmonalen Surfactants unmittelbar entsprechende Maßnahmen bzw. Therapien, beispielsweise durch Verabreichung einer individuell abgestimmten Gabe von exogenem Surfactant, an einen Patienten bzw. in einer Probe
5 eingeleitet werden können. Neben einer raschen Ermittlung des Zustands bzw. der Güte von Surfactant ergibt sich durch das erfindungsgemäß vorgeschlagene Verfahren der Bestimmung des elektrokinetischen Potentials bzw. des Zeta-Potentials auch die Möglichkeit, eine gegebenenfalls benötigte Surfactantgabe genau abzustimmen, so daß eine Kostenoptimierung
10 bei Einsatz von exogenem Surfactant möglich wird.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird vorgeschlagen, daß natürlicher, synthetischer und/oder rekombinanter, pulmonaler Surfactant ein-
15 gesetzt wird. Neben den oben bereits angedeuteten Möglichkeiten der Bestimmung der Güte bzw. Funktionsfähigkeit von natürlichem Surfactant insbesondere zur Unterstützung von Therapien, beispielsweise zur Behandlung von ARDS und/oder
20 ALI, ist es mit dem erfindungsgemäßen Verfahren auch möglich, synthetischen und/oder rekombinanten, pulmonalen Surfactant auf seine Funktionsfähigkeit und Güte dahingehend zu überprüfen, inwieweit beispielsweise neu entwickelte Surfactants tatsächlich für bestimmte, vorgegebene Einsatz-
25 zwecke verwendbar sind. Es müssen somit nicht teure und aufwendige Untersuchungsverfahren durchgeführt werden, sondern es kann unmittelbar die Qualität bzw. Einsatzfähigkeit eines beispielsweise neu entwickelten, synthetischen Surfactants durch Bestimmung des elektrokinetischen Potentials
30 bzw. Zeta-Potentials überprüft bzw. ermittelt werden. Weiters ist es beispielsweise möglich, nach Festlegung bzw. Ermittlung von Kalibrier- bzw. Eichkurven bzw. -meßwerten für das elektrokinetische Potential bzw. Zeta-Potential von

- 4 -

gesundem, pulmonalem Surfactant dadurch das Auslangen zu finden, daß zu überprüfender, natürlicher, synthetischer und/oder rekombinanter, pulmonaler Surfactant mit derartigen kalibrierten Meßwerten verglichen wird und daß daraus
5 eine relative Güte bzw. Funktionsfähigkeit abgeleitet wird, während gegebenenfalls schwieriger zu ermittelnde, absolute Werte hierfür derart nicht unbedingt erforderlich sind. Die Wiederholung dieser Messungen kann auch zu einer Überprüfung des Therapieerfolges herangezogen werden.

10

Gemäß einer besonders bevorzugten Verfahrensführung wird vorgeschlagen, daß das elektrokinetische Potential durch eine Bestimmung des Strömungspotentials bzw. Strömungsstroms durch Elektroosmose, Elektrophorese oder Mikroelektrophorese bestimmt wird. In Abhängigkeit von dem Einsatz bzw.
15 Verwendungszweck kann somit das elektrokinetische Potential bzw. daraus abgeleitet das Zeta-Potential des Surfactants, insbesondere des pulmonalen Surfactants, bei einer Adsorption auf einer Polymeroberfläche auf unterschiedliche Arten
20 bestimmt werden.

In diesem Zusammenhang wird gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform vorgeschlagen, daß der Surfactant in eine mit einer makroskopischen Polymeroberfläche und mit
25 zwei Elektroden ausgestattete Meßzelle eingebracht wird und das Strömungspotential bestimmt wird, wobei es dadurch möglich wird, mit einer einfachen Vorrichtung zuverlässige Resultate zur Bestimmung der Güte bzw. Funktionsfähigkeit von Surfactant zu erhalten. Das Strömungspotential einer Flüssigkeit, beispielsweise enthaltend den Surfactant, gegen-
30 über einer mit einer Polymeroberfläche ausgestatteten Meßzelle wird hierbei durch Anwenden bzw. Aufbringen von unterschiedlichen Drücken auf die Flüssigkeit bei gleichzeitiger

- 5 -

Ermittlung des Potentials bzw. des Stroms an den Elektroden der Meßzelle bestimmt. Zur weiteren Verbesserung bzw. Vereinfachung der Verfahrensführung kann das in der Meßzelle aufgenommene Flüssigkeitsvolumen einer oszillierenden bzw.
5 sich periodisch ändernden Druckbeaufschlagung unterworfen werden.

Zur Erzielung eines entsprechend aussagekräftigen Resultats betreffend die Güte bzw. Funktionsfähigkeit von Surfactant, insbesondere pulmonalem Surfactant, wird gemäß einer
10 weiters bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens vorgeschlagen, daß die makroskopische Polymeroberfläche von Fasern, Folien bzw. Membranen, insbesondere aus Zelluloseacetat oder Zellulosenitrat, gebildet wird.
15 Eine derartige makroskopische Polymeroberfläche weist genau definierte bzw. definierbare Eigenschaften auf, so daß in Kenntnis der Beschaffenheit der Polymeroberfläche unmittelbar Rückschlüsse auf den Zustand des Surfactants in Kenntnis des elektrokinetischen Potentials bzw. Zeta-Potentials
20 möglich sind.

Zur Vermeidung einer Verfälschung des Ergebnisses bei der Ermittlung der Bestimmung der Güte bzw. Funktionsfähigkeit von natürlichem, pulmonalem Surfactant wird gemäß einer
25 weiters bevorzugten Ausführungsform vorgeschlagen, daß natürlicher, pulmonaler Surfactant vorgereinigt, insbesondere physikalisch vorgereinigt, wird, wobei beispielsweise Zellen, Zellbestandteile oder dgl., entfernt werden. Eine derartige Vorreinigung, insbesondere physikalische Reinigung,
30 ist mit bekannten Methoden ebenfalls einfach und rasch durchführbar und ermöglicht eine zuverlässigere Ermittlung des elektrokinetischen Potentials bzw. Zeta-Potentials des

- 6 -

zu untersuchenden pulmonalen Surfactants ohne gegebenenfalls erforderliche, aufwendige Korrekturen.

Zur weiteren Erleichterung der Feststellung der Güte bzw.
5 Funktionsfähigkeit von pulmonalem Surfactant wird gemäß einer weiters bevorzugten Ausführungsform vorgeschlagen, daß in der Meßzelle ein Puffer, insbesondere ein Phosphatpuffer mit einem pH von etwa 7, eingesetzt wird, wobei durch eine derartige Pufferung ebenfalls aufwendige Korrekturverfahren vermieden werden können.
10

Anstelle der Bestimmung des Strömungspotentials zur Ermittlung des Zeta-Potentials ist es weiters möglich, insbesondere verdünnten Surfactant in eine Meßzelle einzubringen,
15 welche Latex- oder Pigmentpartikel enthält, wobei in diesen Meßzellen durch zwei Elektroden ein elektrisches Feld erzeugt wird, das die Wanderung der Latex- bzw. Pigmentpartikel verursacht. Im Fall der Anwendung dieser Methode der sogenannten Mikroelektrophorese wird die Wanderungsgeschwindigkeit der Partikel bestimmt und daraus wiederum das
20 Zeta-Potential abgeleitet, um die Güte bzw. Funktionsfähigkeit von insbesondere pulmonalem Surfactant zu ermitteln. In diesem Zusammenhang wird gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform vorgeschlagen, daß der Surfactant auf
25 Latex- oder Pigmentpartikeln immobilisiert wird und die Wanderung bzw. Bewegung der Latex- oder Pigmentpartikel im elektrischen Feld der Meßzelle bestimmt wird.

Die Erfindung wird nachfolgend anhand einer in der beiliegenden Zeichnung einer Vorrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens sowie daraus ableitbarer Resultate und auf Basis der angeschlossenen Ausführungsbeispiele näher erläutert. In dieser zeigen:
30

- 7 -

Fig. 1 eine schematische Ansicht einer Vorrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Bestimmung des elektrokinetischen Potentials bzw. Zeta-Potentials von insbesondere pulmonalem Surfactant;

5 Fig. 2 ein Diagramm des ermittelten Potentials für einen nicht-funktionsfähigen Surfactant im Vergleich zu den theoretisch angegebenen Ergebnissen für einen funktionsfähigen, insbesondere pulmonalen Surfactant; und

Fig. 3 ein Diagramm des ermittelten Zeta-Potentials in Abhängigkeit vom pH-Wert für unterschiedliche Adsorptionsmaterialien.

10

In Fig. 1 ist allgemein mit 1 eine Meßzelle bezeichnet, welche beispielsweise aus Plexiglas besteht, wobei darüber hinaus zwei Elektroden 2 und 3 vorgesehen sind, welche das Volumen der Meßzelle 1 begrenzen. Über eine Zuleitung 4 erfolgt eine Zufuhr der zu untersuchenden Flüssigkeit, enthaltend den zu überprüfenden, pulmonalen Surfactant, in den Bereich der Meßzelle 1, wobei weiters ersichtlich ist, daß die in Fig. 1 dargestellte, untere Elektrode 3 über einen Exzenterantrieb 5 und einen damit verbundenen Kolben 6 zu einer hin- und hergehenden Bewegung antreibbar ist, wodurch das Volumen in der Meßzelle 1 einer oszillierenden bzw. sich periodisch ändernden Druckbeaufschlagung unterworfen wird.

15

20

25

Im Kolben 6 kann unmittelbar ein Drucksensor integriert sein, wie dies mit 7 angedeutet ist, oder es kann aus der bekannten Bewegung des Exzenterantriebs 5 und somit des Kolbens 6 in Relation zu dem bekannten Volumen der Meßzelle 1 der in der Meßzelle 1 herrschende, sich periodisch ändernde bzw. oszillierende Druck unmittelbar ermittelt werden.

30

- 8 -

Der vom Drucksensor 7 ermittelte Druck wird über eine schematische Leitung 8 einer Auswerte- und Aufzeichnungseinheit 9 zugeführt, wobei dieser Auswerte- und Aufzeichnungseinheit 9 darüber hinaus zumindest das an den Elektroden 2 und 3 vorliegende Potential bzw. der Strom über eine Leitung 10 zugeführt wird.

Bei der in Fig. 1 gezeigten Vorrichtung läßt sich beispielsweise ein sich mit der Zeit änderndes Potential ermitteln, aus welchem sich das Zeta-Potential unmittelbar ableiten läßt, wie dies in Fig. 2 dargestellt ist.

In Fig. 2 ist neben den Ergebnissen für einen nicht-funktionsfähigen, insbesondere pulmonalen Surfactant auch eine Kurve einer theoretischen Berechnung der erwarteten Änderung des Potentials in Abhängigkeit von pH-Wert dargestellt, wobei ersichtlich ist, daß mit der in Fig. 1 dargestellten Vorrichtung rasch und in zuverlässiger Weise eine Bestimmung der Güte bzw. der Funktionsfähigkeit von insbesondere pulmonalem Surfactant möglich ist, da aus dem sich periodisch ändernden Potential unmittelbar das elektrokinetische Potential sowie das Zeta-Potential des pulmonalen Surfactants ermittelbar ist.

25

Der pulmonale Surfactant, welcher der in Fig. 2 dargestellten Untersuchung unterzogen wurde, wurde hiebei vorgeeignet, wobei beispielsweise Zellen, Zellbestandteile und dgl. entfernt wurden, um eine Beeinflussung des Meßresultats weitgehend ausschließen zu können. Zur Vereinfachung der Auswertung wird weiters in der Meßzelle 1 ein Puffer, beispielsweise ein Phosphatpuffer, mit einem pH von etwa 7 eingesetzt.

30

- 9 -

Zur Bestimmung des elektrokinetischen Potentials bzw. Zeta-Potentials des insbesondere pulmonalen Surfactants weist die Meßzelle 1 darüber hinaus eine makroskopische Polymer-
5 oberfläche auf, welche beispielsweise aus Zelluloseacetat oder Zellulosenitrat gebildet wird.

Anstelle der Bestimmung des elektrokinetischen Potentials bzw. Zeta-Potentials eines Surfactants unter Verwendung der
10 in Fig. 1 gezeigten Vorrichtung kann das Potential auch unter Durchleitung des zu untersuchenden Surfactants bei unterschiedlichem Druck durch eine mit der Meßzelle 1 vergleichbare Meßzelle erfolgen, wobei wiederum das Potential bzw. gegebenenfalls der Strom an Elektroden 2 und 3 festge-
15 stellt bzw. ermittelt wird und daraus das elektrokinetische Potential sowie das Zeta-Potential abgeleitet wird.

Neben einer derartigen Potentialbestimmung kann der Surfactant auf Latex- oder Pigmentpartikeln immobilisiert werden,
20 wobei in einer Meßzelle die Wanderung bzw. Bewegung der Latex- oder Pigmentartikel in einem elektrischen Feld, beispielsweise wiederum zwischen zwei Elektroden bestimmt wird, wobei aus der Wanderungsgeschwindigkeit der Partikel wiederum unter Ermittlung des elektrokinetischen Potentials
25 bzw. Zeta-Potentials die Güte bzw. Funktionsfähigkeit von Surfactant ermittelbar ist.

Ausführungsbeispiel 1

30 Einem Patienten wird mit Hilfe einer Broncho Alveolar Lavage (BAL) eine Menge von 30 ml unter Einsatz von 50 ml physiologischer Kochsalzlösung aus den Lungen entnommen, wobei in weiterer Folge eine Reinigung durch Filtration

- 10 -

durch vier Lagen chirurgischer Gaze und anschließender Zentrifugation (5 min x 200 x g) zur Entfernung von Zellen, Zellbestandteilen und dgl. erfolgt.

5 Das nach der Reinigung gewonnene Material, welches unter anderem den zu prüfenden, pulmonalen Surfactant enthält, wird in die Meßzelle eingebracht, worauf in der Vorrichtung gemäß Fig. 1 unter Einsatz einer makroskopischen Polymer-
oberfläche, bestehend aus Latex, ein Meßergebnis erhalten
10 wird, aus welchem das in Fig. 2 dargestellte Zeta-Potential ermittelbar ist.

Aus dem ermittelten Zeta-Potential sowie dem Unterschied gegenüber der in Fig. 2 ebenfalls dargestellten Kalibrier-
15 bzw. Eichkurve läßt sich ableiten, daß die Funktionsfähigkeit des untersuchten, pulmonalen Surfactants um 70 % reduziert ist.

In Kenntnis dieser Fehl- bzw. Minderfunktion des pulmonalen
20 Surfactants wird für eine unmittelbare Behandlung die Gabe von exogenem Surfactant vorgeschlagen.

In Fig. 3 ist ähnlich dem Diagramm von Fig. 2 das Zeta-Potential in Abhängigkeit von dem pH-Wert für unterschied-
25 liche Adsorptionsmaterialien dargestellt, woraus insbesondere bei Einsatz von unterschiedlichem Surfactant ein zur Ermittlung des Zeta-Potentials des jeweils zu untersuchen-
den Surfactants entsprechender pH-Wert eingestellt werden kann. Weiters ist aus Fig. 3 ersichtlich, daß bei Verwen-
30 dung einer kationischen Membran jeweils ein positives Zeta-Potential in einem weiten pH-Bereich erhältlich ist, während bei Verwendung einer anionischen Membran für unterschiedliche pH-Werte teils ein positives und teils ein ne-

- 11 -

gatives Zeta-Potential ermittelt wird, so daß in Kenntnis der Änderung des Zeta-Potentials eines zu untersuchenden Surfactants jeweils eine entsprechende Membran und ein entsprechender pH-Wert ausgewählt wird, um ein möglichst signifikantes Signal zu erhalten.

Es ist davon auszugehen, daß beispielsweise pulmonaler Surfactant, wie aus Fig. 2 ersichtlich, jeweils ein negatives Zeta-Potential aufweist, während andererseits Surfactants existieren, welche ein positives Zeta-Potential ergeben, so daß für die Ermittlung der Güte desselben beispielsweise eine kationische Membran zu wählen wäre, um zwischen einem intakten und inhibierten Surfactant entsprechend unterschiedliche Signale zu erhalten.

15

- 12 -

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Verfahren zur Bestimmung der Güte bzw. Funktionsfähigkeit von Surfactant, dadurch gekennzeichnet, daß das elektrokinetische Potential bzw. Zeta-Potential einer Polymeroberfläche nach einer Adsorption von Surfactant bestimmt wird.
5
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Surfactant natürlicher, synthetischer und/oder rekombinanter, pulmonaler Surfactant eingesetzt wird.
10
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das elektrokinetische Potential durch eine Bestimmung des Strömungspotentials bzw. Strömungsstroms, durch Elektroosmose, Elektrophorese oder Mikroelektrophorese bestimmt wird.
15
4. Verfahren nach Anspruch 1, 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Surfactant in eine mit einer makroskopischen Polymeroberfläche und mit zwei Elektroden (2, 3) ausgestattete Meßzelle (1) eingebracht wird und das Strömungspotential bestimmt wird.
20
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die makroskopische Polymeroberfläche von Fasern, Folien bzw. Membranen, insbesondere aus Zelluloseacetat oder Zellulosenitrat, gebildet wird.
25
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß natürlicher, pulmonaler Surfactant vorgereinigt, insbesondere physikalisch vorgereinigt, wird, wobei beispielsweise Eiweiß, Hämoglobin, Fibrin oder dgl., entfernt werden.
30

- 13 -

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß in der Meßzelle (1) ein Puffer, insbesondere ein Phosphatpuffer mit einem pH von etwa 7, eingesetzt
5 wird.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß der Surfactant auf Latex- oder Pigmentpartikeln immobilisiert wird und die Wanderung bzw. Bewegung der Latex- oder Pigmentpartikel im elektrischen Feld
10 der Meßzelle (1) bestimmt wird.

1 / 2

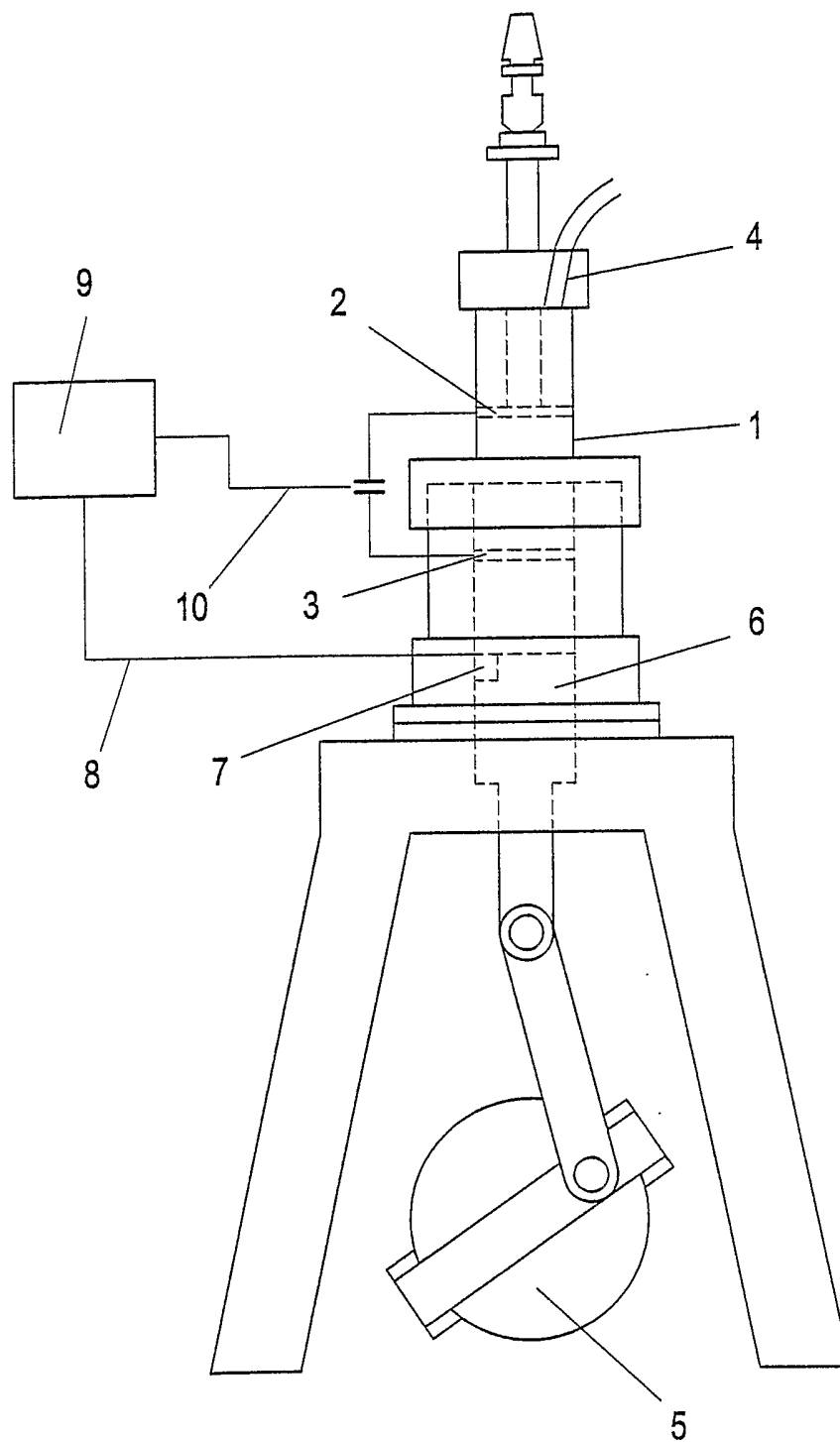


FIG. 1

2 / 2

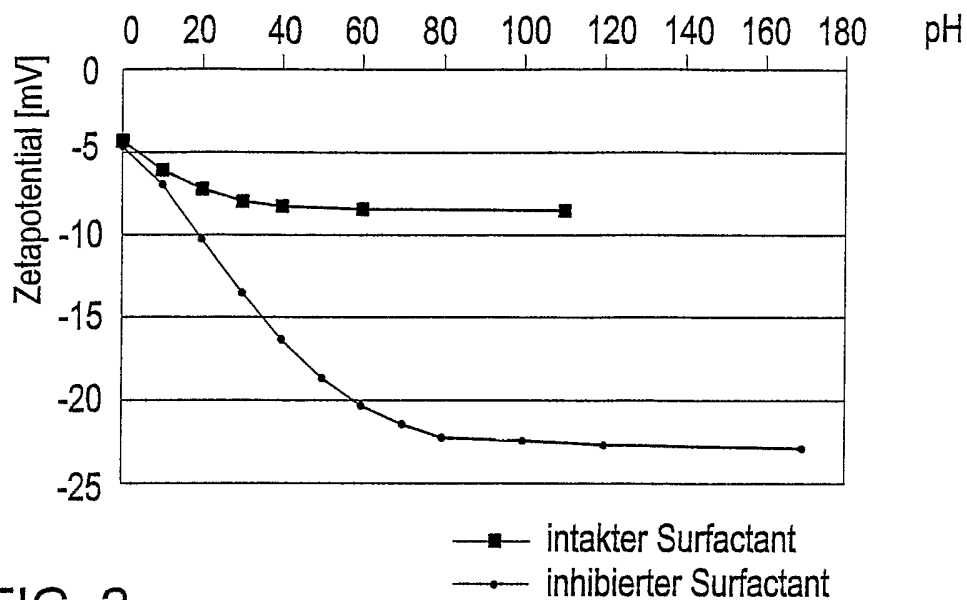
Adsorptionsvergleich zwischen intaktem und
inhibiertem Surfactant

FIG. 2

pH-Messung an unterschiedlichen Adsorptionsmaterial

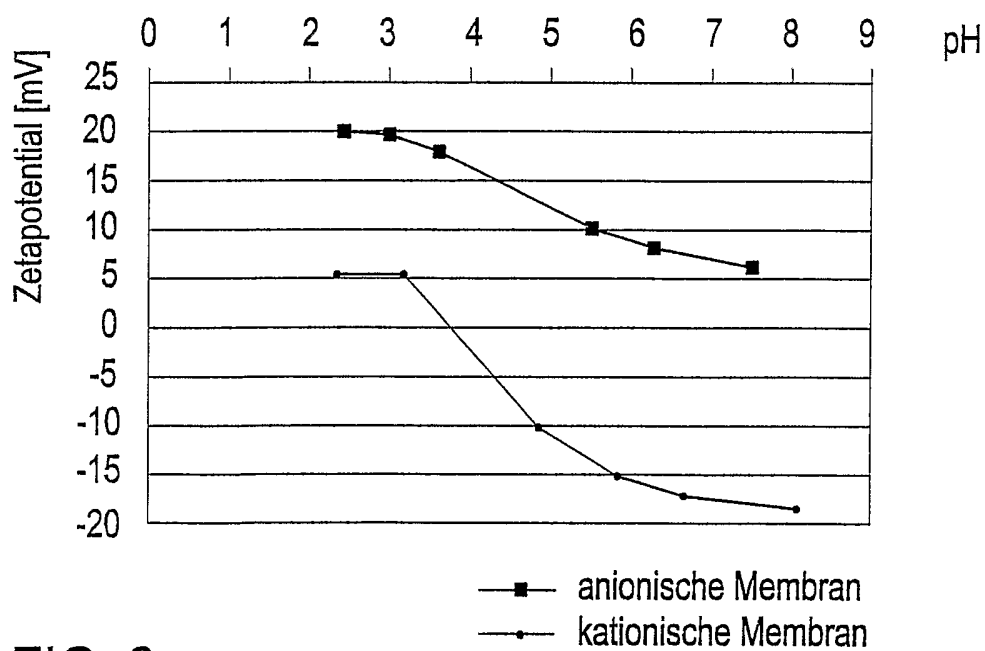


FIG. 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/AT-03/00229

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 G01N27/26 G01N33/487 G01N13/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

BIOSIS, EMBASE, INSPEC, WPI Data, EPO-Internal, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 452 233 A (JACHOWICZ J ET AL) 19 September 1995 (1995-09-19) column 1, line 17 -column 3, line 39 column 5, line 28 -column 7, line 34; figure 1; examples 1,2,4 ---	1,3-5
X	DD 235 492 A (AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN DER DDR) 7 May 1986 (1986-05-07) the whole document ---	1,3-5
X	DD 288 889 A (AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN DER DDR) 11 April 1991 (1991-04-11) ---	1,3
Y	figure 1; examples ---	2,4-8
	--- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- * & * document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 December 2003

Date of mailing of the international search report

17/12/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Johnson, K

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/AT 83/00229

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DAVIES R J ET AL: "The behaviour of lung surfactant in electrolyte solutions" BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA, vol. 878, 1986, pages 135-145, XP009022250 ISSN 0005-2760	2,5,6
A	the whole document	1,3,4
Y	LIGHT W G ET AL: "Surface charge and hemolytic activity of asbestos" ENVIRONMENTAL RESEARCH, vol. 13, 1977, pages 135-145, XP009022251 ISSN 0013-9351	8
A	the whole document	1-5
Y	DE 197 55 183 A (INSTITUT FÜR POLYMERFORSCHUNG DRESDEN) 24 June 1999 (1999-06-24)	4-7
A	the whole document	1-3
A	US 4 953 389 A (SCHURCH S) 4 September 1990 (1990-09-04)	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/AT-83/00229

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5452233	A	19-09-1995	NONE	
DD 235492	A	07-05-1986	DD 235492 A1	07-05-1986
DD 288889	A	11-04-1991	DD 288889 A5	11-04-1991
DE 19755183	A	24-06-1999	DE 19755183 A1	24-06-1999
			AT 208038 T	15-11-2001
			AU 2158999 A	28-06-1999
			DE 59802004 D1	06-12-2001
			WO 9930141 A1	17-06-1999
			EP 1040344 A1	04-10-2000
US 4953389	A	04-09-1990	CA 1323216 C	19-10-1993

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/AT 03/00229

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 G01N27/26 G01N33/487 G01N13/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

BIOSIS, EMBASE, INSPEC, WPI Data, EPO-Internal, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 452 233 A (JACHOWICZ J ET AL) 19. September 1995 (1995-09-19) Spalte 1, Zeile 17 -Spalte 3, Zeile 39 Spalte 5, Zeile 28 -Spalte 7, Zeile 34; Abbildung 1; Beispiele 1,2,4	1,3-5
X	DD 235 492 A (AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN DER DDR) 7. Mai 1986 (1986-05-07) das ganze Dokument	1,3-5
X	DD 288 889 A (AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN DER DDR) 11. April 1991 (1991-04-11)	1,3
Y	Abbildung 1; Beispiele	2,4-8
	--- -/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

5. Dezember 2003

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

17/12/2003

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Johnson, K

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/AT 03/00229

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^a	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	DAVIES R J ET AL: "The behaviour of lung surfactant in electrolyte solutions" BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA, Bd. 878, 1986, Seiten 135-145, XP009022250 ISSN 0005-2760	2,5,6
A	das ganze Dokument	1,3,4
Y	LIGHT W G ET AL: "Surface charge and hemolytic activity of asbestos" ENVIRONMENTAL RESEARCH, Bd. 13, 1977, Seiten 135-145, XP009022251 ISSN 0013-9351	8
A	das ganze Dokument	1-5
Y	DE 197 55 183 A (INSTITUT FÜR POLYMERFORSCHUNG DRESDEN) 24. Juni 1999 (1999-06-24)	4-7
A	das ganze Dokument	1-3
A	US 4 953 389 A (SCHURCH S) 4. September 1990 (1990-09-04)	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die der selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/AT 03/00229

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5452233	A	19-09-1995	KEINE
DD 235492	A	07-05-1986	DD 235492 A1 07-05-1986
DD 288889	A	11-04-1991	DD 288889 A5 11-04-1991
DE 19755183	A	24-06-1999	DE 19755183 A1 24-06-1999
		AT 208038 T	15-11-2001
		AU 2158999 A	28-06-1999
		DE 59802004 D1	06-12-2001
		WO 9930141 A1	17-06-1999
		EP 1040344 A1	04-10-2000
US 4953389	A	04-09-1990	CA 1323216 C 19-10-1993