

derzeit ausreichend beherrscht werden und daß dies in Anbetracht der intensiven Forschungsarbeiten über Sicherheitsfragen auch für den weiteren Ausbau der Kernenergie gelte“. „Die verbleibenden Restrisiken werden“, so heißt es in dem offenen Brief, „von uns ernst genommen. Sie erscheinen jedoch vertretbar, wenn man sie am zivilisatorischen Gesamtrisiko mißt, und sie sind kleiner als manche Risiken, die um geringerer Vorteile willen in Kauf genommen werden.“ Kurz danach wurde von zahlreichen anderen Wissenschaftlern – wie es hieß – eine Erklärung unterzeichnet, in der eine drastische Reduzierung und Verlangsamung der bestehenden Kernkraftwerksplanung gefordert wurde. Dies wurde unter anderem damit begründet, daß die mit der großtechnischen Erschließung von Kernenergie auftretenden Sicherheitsprobleme keineswegs als gelöst angesehen werden könnten. Auf die Konsequenzen der Plutoniumgewinnung wurde hingewiesen. Nur durch polizeistaatliche Maßnahmen könne der Diebstahl und Mißbrauch von Plutonium verhindert werden. Außerdem schaffe der Export von Kernkraftwerken durch die Bundesrepublik zusätzliche Möglichkeiten des Mißbrauchs. Die meisten Unterzeichner dieser Erklärung waren keine in den Sachfragen kompetente Naturwissenschaftler oder Techniker, sondern Soziologen, Theologen und Publizisten. Trotzdem lief die Meldung über die Erklärung unter der Überschrift „Tausend Wissenschaftler mahnen“ durch Presse und Fernsehen. Die Bonner Parlamentarier hatten nun zwei einander widersprechende Er-

klärungen auf dem Tisch, beide ausgestellt im Namen der Wissenschaft. Da die Massenmedien in der Bundesrepublik nur die „Erklärung der Sechzehnhundert“ breit herausgestellt und kommentiert haben, wurde bei der in Sachen Kernenergie ohnehin verunsicherten Bevölkerung der Eindruck erweckt, daß die Wissenschaft nahezu geschlossen den weiteren Ausbau der Kernenergieerzeugung ablehne.

Ich glaube, wir dürfen so nicht weitermachen. Um der Wissenschaft willen müssen wir der Hybris entgegentreten, Wissenschaftler seien die moralischen Lehrmeister der Nation und die Schiedsrichter in den Dingen des politischen Gewissens. Mit diesem Anspruch „kritischer Wissenschaft“ hat sich die Universität übernommen. Die Wissenschaft kann den Menschen nicht verbindlich sagen, was „gut“ ist und was „schön“ ist; wohin das Menschenleben und das Menschengeschlecht geht. Man kann im Rahmen der Wissenschaft die Fragen nach dem „Sinn“ und nach dem „Ziel“ nicht verbindlich beantworten. Erkenntnis ist zwar eine Voraussetzung, aber kein hinreichender Grund für richtiges Handeln, für die richtige Führung unseres Lebens.

Hat die Wissenschaft versagt? – Nein, wenn man auf ihre Leistungen und auf ihr Ethos blickt. Ja, in dem Maße, in dem sie es versäumt hat und weiterhin versäumt, sich über die Grenzen ihrer Leistungsfähigkeit Rechenschaft zu geben.

Eingegangen am 27. Dezember 1977 [A 232]

Perfluor-Verbindungen als Blutersatzmittel

Von Jean G. Riess und Maurice Le Blanc^[*]

Es klingt fast unglaublich: Tiere, deren Blut überwiegend oder sogar vollständig gegen Emulsionen von perfluorierten Verbindungen in Salzlösungen ausgetauscht wird, können überleben. So überstanden Ratten, die eine Perfluor-tributylamin-Suspension anstelle von Blut enthielten, einen 5 Stunden langen Aufenthalt in einer Atmosphäre aus 50 % Sauerstoff und 50 % Kohlenmonoxid, d. h. sie blieben unter Bedingungen am Leben, unter denen der Transport von Sauerstoff durch die Erythrocyten vollständig blockiert ist. In diesem Aufsatz werden 1. die Experimente behandelt, die gezeigt haben, daß Blutersatzmittel auf der Basis perfluorierter Verbindungen das Leben erhalten können, 2. Synthese und Eigenschaften der wichtigsten perfluorierten Verbindungen sowie deren Verarbeitung zu Emulsionen besprochen und 3. die „Physiologie“ dieser Verbindungen erörtert, d. h. Toxizität, Verweildauer im Blutkreislauf, Wirkung auf die Organe und Ausscheidung. – Ehe Perfluor-Verbindungen als sicheres Blutersatzmittel in die medizinische Praxis eingeführt werden können, müssen folgende Voraussetzungen erfüllt sein: Es müssen viele Reihen gut definierter, reiner und inerte Perfluor-Verbindungen zur Verfügung stehen, aus den Verbindungen müssen sich stabile Emulsionen herstellen lassen, das Flüssigkeitsgleichgewicht muß optimiert sein, und es müssen vernünftige Ausscheidungsgeschwindigkeiten erzielt werden.

1. Einleitung

Die Bluttransfusion ist ein alltäglicher Vorgang zur Lebensrettung geworden. Da weniger Blut gespendet als benötigt

wird, besteht ein chronischer Mangel an Blut, Plasma, Albumin und anderen Blutbestandteilen, und der Bedarf steigt von Jahr zu Jahr an^[1]. Daher stellt sich die Frage, ob das Blut durch synthetische Stoffe ersetzt werden kann.

Brauchbares künstliches Blut besäße einige Eigenschaften, aufgrund deren es natürliches Blut verdrängen könnte. Es wäre universell verwendbar – Probleme durch Unverträglichkeitsreaktionen träten nicht auf, und deshalb müßte weder eine Blutgruppe bestimmt noch eine Kreuzprobe vorgenommen wer-

[*] Prof. Dr. J. G. Riess, Dr. M. Le Blanc
Laboratoire de Chimie Minérale Moléculaire
Equipe de Recherche Associée au CNRS
Parc Valrose, F-06034 Nice Cedex (Frankreich)

den. Das künstliche Blut wäre unbegrenzt haltbar und würde nach Belieben zur Verfügung stehen; die Gefahr einer Übertragung von Krankheiten wie Hepatitis, die immer größer wird, wäre beseitigt; die aufwendige Blutentnahme, das Verpacken, Handhaben, Aufbewahren und Verteilen des äußerst empfindlichen natürlichen Blutes würde entfallen. Weiter würde künstliches Blut Transfusionen auch in Ländern ermöglichen, die noch nicht die Voraussetzungen für die Handhabung und Lagerung von natürlichem Blut besitzen. Darüber hinaus gibt es sowohl in der Therapie als auch in der experimentellen Biomedizin viele Fragen^[2], die mit natürlichem Blut nicht geprüft werden können. Die wichtigsten Anwendungsmöglichkeiten von Blutersatzmitteln auf der Basis von Perfluor-Verbindungen werden in Abschnitt 5.1 zusammengefaßt.

In diesem Aufsatz wird ein Überblick über die Forschung auf dem Gebiet der Blutersatzmittel gegeben, in denen Perfluor-Verbindungen^[*] als Sauerstoffträger dienen. Mehrere kurze Übersichten^[3-7] sowie die Berichte über drei Symposien^[8] zu diesem Thema liegen bereits vor. Da Fortschritte auf diesem Gebiet sehr stark von der Verfügbarkeit geeigneter Perfluor-Verbindungen abhängen, kommt der Chemie eine besondere Rolle zu. Hier wird im wesentlichen die Herstellung und Verwendung von Emulsionen von Perfluor-Verbindungen als Blutersatzmittel behandelt. Auf andere Aspekte des Problems Blutaustausch, wie die Verwendung von Stroma-freiem Hämoglobin^[9], quervernetztem Hämoglobin^[10] oder synthetischen Sauerstoff-bindenden Chelaten^[11] sowie auf andere biomedizinische Anwendungen von Perfluor-Verbindungen, besonders bei der Flüssigkeitsatmung^[12] und Lungen-spülung^[13], bei der Sauerstoffanreicherung von Blut außerhalb des Körpers^[14] oder als Kontrastmittel^[15] wird hier nicht eingegangen.

2. Die Möglichkeit, mit Blutersatzmitteln auf der Basis von Perfluor-Verbindungen Leben zu erhalten

Wahrscheinlich hat die Entwicklung von neuen Blutersatzmitteln 1962 mit der Veröffentlichung „Of Mice as Fish“ von *Kylstra et al.* begonnen, in der sie zeigten, daß Mäuse in wäßrigen Salzlösungen leben können, die unter einem Sauerstoffüberdruck stehen^[17]. 1966 fanden *Gollan und Clark*, daß man zum gleichen Ergebnis auch bei normalem Druck gelangt, wenn man statt Wasser Perfluor-Verbindungen verwendet^[18]. *Howlett et al.* hatten diese Verbindungen bereits 1965 zur Anreicherung von Blut mit Sauerstoff benutzt^[19]. Abbildung 1 zeigt eine Maus in einem Becherglas, welches mit einer mit Sauerstoff gesättigten Perfluor-Verbindung gefüllt ist. Die Maus atmet die Flüssigkeit ein und aus.

Gollan und Clark waren auch die ersten, die Perfluor-Verbindungen anstelle von Blut zur Sauerstoffversorgung eines Organs verwendeten. Sie zeigten, daß sich isolierte Rattenherzen weiter kräftig kontrahieren, wenn sie mit einer mit Sauerstoff gesättigten Perfluor-Verbindung durchströmt werden^[20]. Die Perfusionslösung mußte jedoch alle Stunde gegen sauerstoffhaltiges, verdünntes Blut ausgetauscht werden, um die Ver-

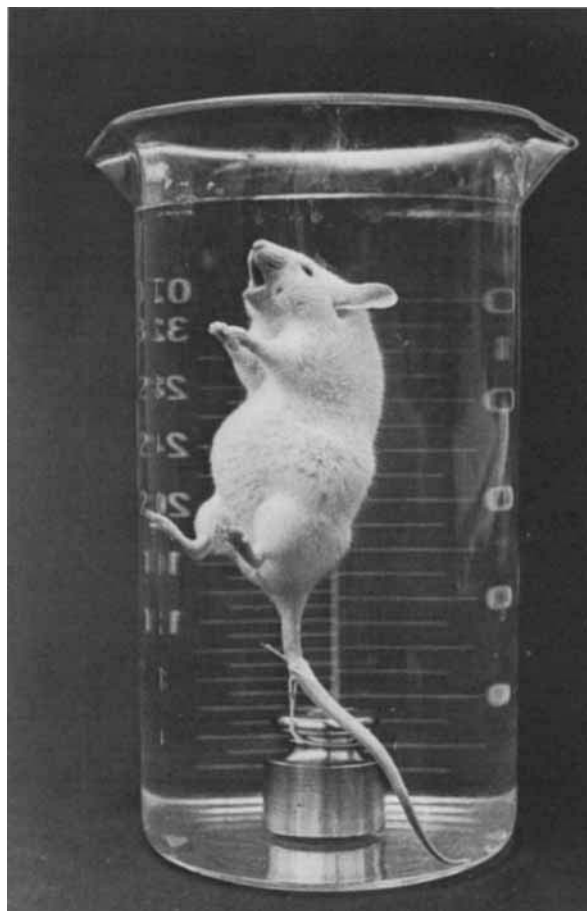
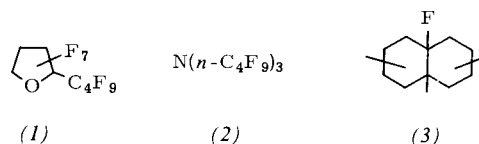


Abb. 1. Maus beim Atmen einer flüssigen, mit Sauerstoff gesättigten Perfluor-Verbindung (mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. L. C. Clark, Jr., Department of Pediatrics, University of Cincinnati).

sorgung mit Mineralsalzen sicherzustellen, die in den Perfluor-Verbindungen unlöslich sind.

1967, also unmittelbar danach, wurde ein beachtlicher Fortschritt erzielt, als *Sloviter et al.* die reine Perfluor-Verbindung durch eine Emulsion dieser Verbindung in einem Plasma ersetzten^[21]. Auf diese Weise lösten sie das Problem des Transports von Mineralsalzen und Stoffwechselprodukten. Die Autoren verwendeten ziemlich grobe Emulsionen (2–3 µm Durchmesser), die 20 % FX-80 enthielten. FX-80 ist eine Mischung von Perfluor-Verbindungen der 3M Company mit dem Hauptbestandteil *F-2-Butyltetrahydrofuran* (1). Die Mischung ist



in einem Plasma aus einer Krebs-Ringer-Hydrogencarbonat-Pufferlösung emulgiert, die Rinder-Serumalbumin als oberflächenaktive Substanz enthält. Die Fähigkeit dieser Emulsion, Sauerstoff an Gewebe abzugeben, wurde an isolierten Rattenhirnen getestet. Als Vergleichslösungen dienten eine Erythrocyten-Suspension im gleichen Plasma sowie Plasma allein. Die Spontanschwankungen im EEG (größer als 5 µV) hielten mit dem Erythrocyten-haltigen Plasma ebenso wie mit der Emulsion der Perfluor-Verbindung über 2 Stunden, mit dem Plasma alleine hingegen nur weniger als 5 Minuten an (Abb. 2).

[*] Die auf diesem Gebiet verwendeten Perfluor-Verbindungen wurden oft vereinfacht als Fluorkohlenstoff-Verbindungen bezeichnet, auch wenn sie Sauerstoff-, Stickstoff- oder Wasserstoffatome enthielten. Wir werden sie in der Regel Perfluor-Verbindungen nennen und ein „F“ vor den Namen einer gegebenen Verbindung setzen [16], um die Perfluorierung anzuzeigen. Perfluorodekalin wird z. B. „F-Dekalin“ geschrieben. Etwa vorhandene Wasserstoffatome werden hier durch Hydro-Präfixe kenntlich gemacht.

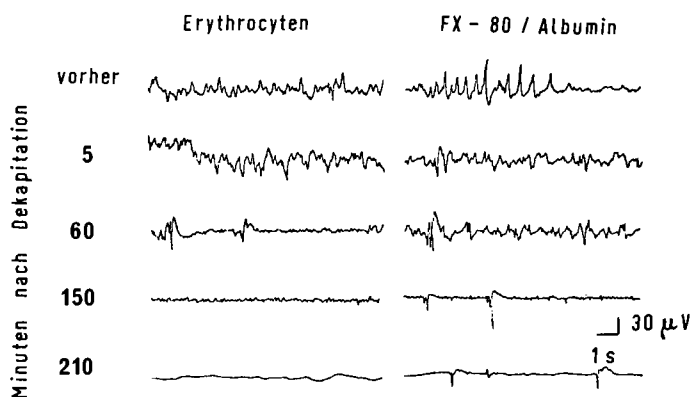


Abb. 2. Vergleich der spontanen EEG-Aktivität eines isolierten Rattenhirns, das mit einer Erythrocyten-Suspension oder mit einer Emulsion des Perfluor-Präparats FX-80 durchströmt wird (nach [21]).

Bedenkt man, wie empfindlich das Gehirn auf Sauerstoffmangel reagiert – die elektrische Aktivität erlischt bereits, wenn die Perfusion 30 Sekunden unterbrochen wird – so kann man aus diesen Versuchen schließen, daß die Emulsion der Perfluor-Verbindungen die Sauerstoffversorgung ebenso sicherstellen kann wie eine Erythrocyten-Suspension. Die Kurven für die Glucose-Oxidation und die Lactat-Bildung verlaufen in beiden Perfusionsflüssigkeiten fast gleich. Das zeigt, daß auch die Stoffwechselaktivität des Gehirns von der Emulsion aufrecht erhalten wird.

1968 berichtete Geyer über den ersten *vollständigen* Austausch des Blutes von Ratten durch eine FC-47-Emulsion. FC-47 ist ebenfalls ein Produkt der 3M Company, dessen Hauptbestandteile *F*-Tri-*n*-butylamin (2) und Pluronic F-68 sind. Letzteres ist ein Polyethylenoxid-Polypropylenoxid-Blockpolymer, das als oberflächenaktive Substanz dient. Die Tiere überlebten jedoch nur wenige Stunden^[22–25].

In einem weiteren wichtigen Versuch zeigte Sloviters Gruppe, daß Mäuse, deren Blut 10–20 % einer FX-80-Emulsion enthielt, erheblich länger in einer Atmosphäre mit 4 % Kohlenmonoxid überlebten als Vergleichstiere. Unter diesen Bedingungen ist der Sauerstofftransport durch die Erythrocyten fast vollständig durch Kohlenmonoxid blockiert^[26].

1969 war somit bekannt, daß man mit emulgierten Perfluor-Verbindungen Gewebe, Organe und ganze Tiere wie Ratten, Mäuse, Meerschweinchen, Frösche, Kaninchen, Hühner, Katzen und Hunde mit Sauerstoff versorgen kann. Die Verbindungen versagten jedoch im Langzeitversuch: Die Tiere überlebten in der Regel nur wenige Stunden. Ab 1970 wurde über Versuche berichtet, bei denen die Tiere einen weitgehenden, aber nicht vollständigen Austausch ihres Blutes gegen solche Emulsionen überlebten^[24,25] und sich anschließend offenbar völlig normal weiterentwickelten. So erwähnten Clark et al., daß Hunde drei Jahre nach einer Infusion von 50 ml/kg Körpergewicht einer 25proz. FC-47-Emulsion noch völlig gesund waren^[27,28]. Fujita et al.^[29] berichteten über ähnliche Experimente, in denen Hunde den Austausch von 80–85 % ihres Blutes überlebten.

Daß Perfluor-Verbindungen anstelle von Blut das Leben erhalten können, zeigte Geyer 1973 endgültig durch Versuche, in denen das Blut von Ratten schrittweise bis zu 100 % durch Emulsionen mit 12 % FC-47 ausgetauscht wurde und in denen die Tiere überlebten^[30,31] (Abb. 3, siehe auch Tabelle 3 in Abschnitt 3.6). Beim Blutaustausch wird der Gehalt des Blutes an Erythrocyten (Hämatokrit-Wert) auf weniger als 1 Vol.-% gesenkt. Dazu perfundierte Geyer die Tiere unter Narkose

mit bis zum 30fachen ihres normalen Blutvolumens (bei einem Menschen von 70 kg Gewicht wären das etwa 160 l Emulsion!). Nach dem Aufwachen im Anschluß an die Perfusion benahmen sich die „blutlosen“ Tiere offensichtlich ganz normal, sie begannen zu fressen, zu trinken, Harn zu lassen, den Darm zu entleeren, Nester zu bauen usw. Nach etwa 7 bis 10 Tagen lagen der Plasmaprotein-Spiegel und der Hämatokrit-Wert wieder im normalen Bereich. Die Tiere wuchsen und entwickelten sich offensichtlich während der üblichen Lebenszeit völlig normal. Abbildung 4 zeigt die Überlebenszeiten „blutloser“ und normaler Ratten in einer Atmosphäre aus CO und O₂.

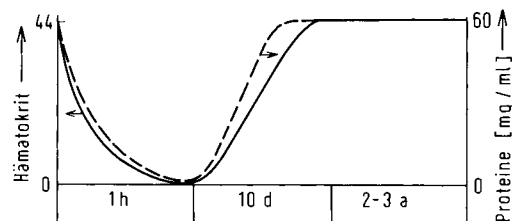


Abb. 3. Übersicht über die aufeinanderfolgenden Phasen in Geyers Versuchen zum vollständigen Blutersatz (nach [30]): Austausch-Perfusion (1 Stunde), Regenerationsphase (10 Tage), normale Lebensdauer (2–3 Jahre).

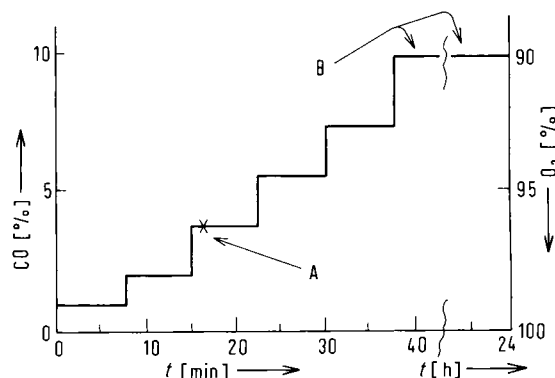


Abb. 4. Überlebensdauer „blutloser“ und normaler Ratten in einer Atmosphäre aus CO und O₂ (nach [4]). A: Kontrolltiere tot; B: „blutlose“ Ratten immer noch lebendig und aktiv.

Leider lagert sich *F*-Tri-*n*-butylamin jedoch im Körper der Tiere, hauptsächlich in der Leber, ab und bleibt dort sehr lange, vielleicht das ganze Leben lang. Clark et al.^[32] und Naito et al.^[33] gelang unabhängig voneinander die wichtige Entdeckung, daß Perfluor-Verbindungen wie *F*-Dekalin (3) aus dem Körper viel schneller ausgeschieden werden als andere.

Inzwischen wurde auch mit Experimenten an Affen begonnen. Einem wachen Rhesus-Affen war überhaupt nicht anzumerken, daß etwa ein Drittel seines Blutvolumens durch eine *F*-Dekalin/Pluronic-F-68-Emulsion ersetzt worden war^[34]. Sein Puls änderte sich nicht merklich, und es waren keine physiologischen und chemischen oder Verhaltensstörungen feststellbar. Nach über einem Jahr lebte er noch. Acht von zehn Rhesus-Affen überlebten den Austausch von ungefähr der Hälfte ihres Blutes gegen eine 10proz. *F*-Dekalin-Emulsion, ohne daß gesundheitliche Schäden auftraten (die beiden anderen Tiere starben infolge chirurgischer Zwischenfälle). Bei etwa 20 Blutbestandteilen, die analysiert wurden, konnten keine signifikanten Veränderungen festgestellt werden^[35]. Sehr unterschiedlich waren bei den einzelnen Affen die Mengen Perfluor-Verbindung, die sich in Leber und Niere ablagerten,

und die Geschwindigkeiten, mit der sie diese wieder verließen. Die Halbwertszeit von *F*-Dekalin in der Leber liegt wahrscheinlich bei ungefähr zwei Wochen. Morphologische Untersuchungen ergaben, daß durch die vorübergehende Ablagerung der Substanz in der Leber keine Schäden oder bleibende Veränderungen auftreten.

Obwohl alle oben geschilderten Versuche letztlich dem Ziel dienten, synthetische Blutersatzmittel zu schaffen, sind die Aussagen dieser Versuche sehr unterschiedlich. Die Versuche am isolierten Gehirn oder die zum Schutz von Mäusen gegen Kohlenmonoxid-Vergiftung zeigen, daß die Emulsionen den Sauerstofftransport sicherstellen und die Erythrocyten in dieser einen Funktion ersetzen können. Die Tatsache, daß Tiere einen massiven, wenn auch partiellen Blutersatz überleben, beweist, daß der Organismus hohe Dosen an fremden Perfluor-Verbindungen verträgt. Sie beweist aber nicht, daß die Sauerstoffversorgung von den Perfluor-Verbindungen sichergestellt werden kann, denn es ist bekannt, daß bereits 10–20 % der Erythrocyten ausreichen, um das Leben zu erhalten. Es müssen lediglich das Blutvolumen, der osmotische und onkotische [*] Druck sowie die Fließeigenschaften des Blutes aufrechterhalten bleiben. Demnach beweisen nur die Versuche, in denen die Tiere den vollständigen Blutersatz überlebten, daß die Emulsionen als Blutersatzmittel dienen können, weil hier eine Beteiligung von Bestandteilen des normalen Blutes ausgeschlossen ist.

Einer der in dieser Hinsicht bedeutendsten Versuche ist kürzlich von Geyer durchgeführt worden: Seine „blutlosen“ Ratten überstanden einen 20stündigen Aufenthalt in einer 10 % Kohlenmonoxid enthaltenden Atmosphäre^[4] und sogar einen 5stündigen Aufenthalt in einer 50 % Kohlenmonoxid enthaltenden Atmosphäre^[36]. Die Tiere wurden anschließend wieder in eine Stickstoff/Sauerstoff-Atmosphäre gebracht, in der sie weiterlebten. Unter diesen Versuchsbedingungen wurden nicht nur alle etwa noch vorhandenen Erythrocyten, sondern auch die neuen Erythrocyten, die fortlaufend im Tier gebildet werden, sofort durch Kohlenmonoxid blockiert. Das beweist eindeutig, daß die emulgierte Perfluor-Verbindung den Sauerstoffbedarf für wenigstens 20 Stunden sichergestellt hatte. Das weitere Überleben der Tiere beweist darüber hinaus, daß die Gewebe und Organe in diesen 20 Stunden genügend Sauerstoff erhalten hatten und eine Vergiftung durch Kohlenmonoxid nicht auftrat.

3. Synthese der Perfluor-Präparate und Herstellung von Blutersatzmitteln

3.1. Anforderungen an ein synthetisches Blutersatzmittel

Ein synthetisches Blutersatzmittel muß folgende Bedingungen erfüllen:

1. Es muß das Blutvolumen aufrecht erhalten. Sein osmotischer und onkotischer Druck sowie seine Fließeigenschaften müssen denen von normalem Blut sehr ähnlich sein. Außerdem muß die Einhaltung des korrekten pH-Wertes sichergestellt sein. Alle diese Anforderungen werden auch von einem brauchbaren Plasmaersatzmittel erfüllt.

2. Es muß den Transport und Austausch von O₂ und CO₂ gewährleisten.

3. Es muß „chemische Intelligenz“ besitzen, darf nicht mit O₂ oder CO₂ reagieren und während seiner Funktion keine toxischen Verunreinigungen entwickeln.

4. Es darf keinen Bestandteil des natürlichen Blutes störend beeinflussen, keine irreversiblen Schäden an Geweben und Organen hervorrufen und deren normale Funktion nicht beeinträchtigen.

5. Es muß die Neubildung von Erythrocyten, Proteinen und anderen Blutbestandteilen mit vernünftiger Geschwindigkeit ermöglichen.

6. Es darf das Weiterleben, das Wachstum und die Entwicklung nach einem vollständigen Blutaustausch nicht behindern.

7. Schließlich muß es wieder aus dem Körper ausgeschieden werden.

Ein Blutersatzmittel, welches diese Bedingungen erfüllt, ist mehr als ein Plasma, weil es Sauerstoff transportiert, d.h. die Erythrocyten in dieser Funktion ersetzt. Die oben genannten Punkte geben natürlich nur einen Teil der vielfältigen und komplexen Aufgaben des natürlichen Blutes wieder, wie Transport, Regulation, Gerinnung und Abwehr. In dieser Hinsicht ist der Ausdruck „künstliches Blut“ für ein Medium, welches nur diese Bedingungen erfüllt, zweifellos eine Übertreibung.

3.2. Löslichkeit und Verfügbarkeit von Sauerstoff in Perfluor-Verbindungen

Die Perfluor-Verbindungen wurden als Gasträger gewählt, weil sie große Gasmengen lösen^[37–42], chemisch inert und in der Regel nicht toxisch sind^[41, 43]. Die Perfluor-Verbindungen selbst müssen zwar die in Abschnitt 3.1 genannten Anforderungen nicht erfüllen, wohl aber ihre Emulsionen. Die Menge des gelösten Sauerstoffs kann gaschromatographisch^[37b] oder durch Umwandlung von Fe²⁺ in Fe³⁺ und anschließende Titration mit TiCl₃ bestimmt werden^[44].

In Tabelle 1 werden die Löslichkeiten von O₂ und CO₂ in Plasma, Blut, mehreren häufig verwendeten Perfluor-Verbindungen und zwei Emulsionen, die jetzt im Handel für biomedizinische Versuche erhältlich sind (Fluosole)^[41], miteinander verglichen. Man sieht, daß das Plasma 2 Vol.-%, die reinen Perfluor-Verbindungen 40–50 % und die käuflichen Emulsionen 7–9 % Sauerstoff lösen. Diese Emulsionen nehmen also etwa viermal mehr Sauerstoff auf als Plasma. Dieser Vergleich bedeutet allerdings wenig, da die Mechanismen, nach denen der Sauerstoff fixiert wird, und damit dessen Verfügbarkeit in beiden Fällen völlig verschieden sind.

Abbildung 5 erläutert diesen Sachverhalt: In ihr ist das Volumen des gelösten oder fixierten Sauerstoffs gegen den Sauerstoffpartialdruck aufgetragen. Im Blut ist Sauerstoff koordinativ an das Eisenatom des Hämoglobins gebunden; die S-förmige Sauerstoffbindungskurve erreicht rasch ein Plateau. Das Sauerstoffvolumen, welches in den Emulsionen der Perfluor-Verbindungen gelöst wird, hängt nach dem Henryschen Gesetz in erster Näherung linear vom Partialdruck ab.

Unter biologischen Bedingungen liegt der Sauerstoffgehalt des arteriellen Blutes bei 20 Vol.-%. Er fällt für venöses Blut nach der Sauerstoffabgabe an das Gewebe auf etwa 15 % ab. Aus Abbildung 5 sieht man, daß natürliches Blut diese 5 Vol.-% leicht abgeben kann, wenn Luft eingeatmet wird. Das entspricht auf der Kurve einem Abfall des Sauerstoff-

[*] Der onkotische Druck ist der osmotische Druck, der von Proteinen erzeugt wird.

Tabelle 1. Löslichkeit von Gasen (Vol.-% bei 1 bar).

	O ₂		CO ₂		Luftsauerstoff		Lit.
	25°C	37°C	25°C	37°C	25°C	37°C	
Plasma		2.4		67			[38]
Blut		20		50		20	[38]
F-Tributylamin (2)	38.9	40.3	152	142	10.3	10.4	[39]
F-2-Butyltetrahydrofuran (1)	48.8	48.5	192	160	12.6	11.7	[39]
F-Dekalin (3)	40.3			134 [a]	8.6		[37 a]
Fluosol-43	9.3	8.7	84	72	1.9	1.7	[41]
Fluosol-DC	8.1	7.9	86	62	1.6	1.6	[41]

[a] Mit Pluronic F-68 in Wasser emulgiert [40].

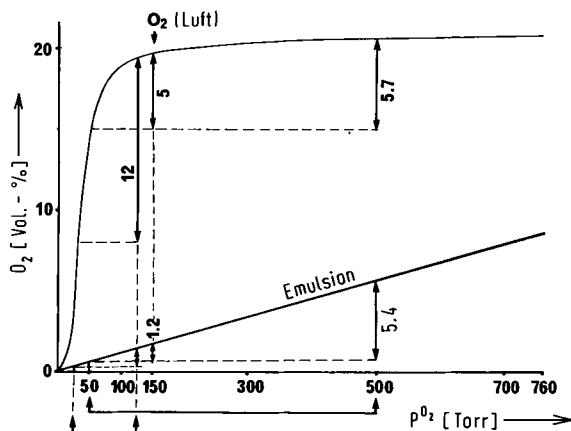


Abb. 5. Sauerstoffbindungskurven von Blut und einer 30proz. F-Tri-n-butylamin(FC-43)/Pluronic-F-68-Emulsion.

drucks pO_2 von 150 Torr – dem Partialdruck des Sauerstoffs in der Luft – auf 50 Torr. Unter denselben Bedingungen gibt die Emulsion nur etwa 1.2 Vol.-%, also viermal weniger O_2 ab. Erst bei einer Druckdifferenz von etwa 400 Torr besitzt die Emulsion dieselbe Kapazität. Der Unterschied im Verhalten beider Systeme ist noch entscheidender, wenn der Sauerstoff knapp ist. Auch in einer sauerstoffärmeren Atmosphäre kann Blut den Sauerstoffbedarf befriedigen. So werden z. B. rund 12 Vol.-% Sauerstoff frei, wenn der Sauerstoffdruck um dieselbe Differenz, jedoch von 125 auf 25 mm Hg fällt, während die Emulsion nach wie vor nur 1.2 Vol.-% O_2 abgibt. Daraus folgt, daß Tierversuche, in denen Blut durch Perfluor-Verbindungen ersetzt wird, in sauerstoffreichen Atmosphären durchgeführt werden müssen.

Wie kürzlich gezeigt wurde, vermindern Emulsionen von Perfluor-Verbindungen die O_2 -Aufnahme in isoliertem Gewebe. Das läßt sich jedoch weitgehend vermeiden, indem man die Emulsion vollständig mit O_2 sättigt. Die eingeatmete Luft muß also einen hohen O_2 -Gehalt besitzen, wenn Blutersatzmittel auf der Basis von Perfluor-Verbindungen benutzt werden^[50b].

3.3. Verfügbarkeit und Reinheit der Perfluor-Präparate

Die Arbeiten auf diesem Gebiet wurden – und werden – dadurch erschwert, daß die Perfluor-Präparate schlecht zugänglich sind. Die Verbindungen, die in Form von Emulsionen als Blutersatzmittel verwendet wurden, sind in Tabelle 2 aufgeführt. (Einige weitere Verbindungen sind gelegentlich vor allem in der Patentliteratur erwähnt worden, doch fehlen nähere Angaben.) Wie man sieht, ist für die meisten die akute Toxizität

(in der Regel nach i. v. Applikation geringer Mengen) ermittelt worden. Die Zahl der Verbindungen, die eingehender untersucht worden sind, ist sehr begrenzt. Erschwerend kommt hinzu, daß sie sich strukturell stark unterscheiden und normalerweise keine homogenen Reihen zur Verfügung stehen. Zuerst ist ein verzweigter cyclischer Ether verwendet worden, es folgten ein tertiäres Amin, einige Ether, gesättigte bicyclische Fluorkohlenstoff-Verbindungen usw. Leider unterscheiden sich diese Verbindungen in wesentlichen Eigenschaften außerordentlich stark, z. B. in der Stabilität ihrer Emulsionen, in der physiologischen Reaktion des Organismus auf ihre Injektion und in ihrer Ausscheidungsgeschwindigkeit. Es ist daher sehr wichtig, möglichst viele gleichartige Verbindungen zur Verfügung zu haben, um herauszufinden, welche strukturellen und physikochemischen Eigenschaften am günstigsten sind.

Leider benötigt man für diese Versuche relativ große Substanzmengen. Man war daher gezwungen, Verbindungen einzusetzen, die bereits industriell zugänglich waren.

Diese Stoffe, die bis vor kurzem für völlig andere Zwecke hergestellt wurden, erfüllen jedoch nicht die Bedingungen, die hinsichtlich Reinheit, chemischer Definition und Reproduzierbarkeit für biomedizinische Versuche gefordert werden. Das gilt besonders für elektrochemisch hergestellte Präparate: In der Regel liegen komplexe Mischungen vor, deren Zusammensetzung sogar von Ansatz zu Ansatz schwankt. Es ist notwendig, hier auf dieses Problem hinzuweisen und darauf zu bestehen, daß spezifische und eindeutige Methoden entwickelt werden, nach denen sich reinere und besser definierte Verbindungen herstellen lassen.

3.4. Synthese der Perfluor-Verbindungen

Die wichtigsten Methoden zur Synthese der Ausgangsstoffe für die Blutersatzmittel sollen kurz in Erinnerung gerufen werden. An erster Stelle steht die elektrochemische Fluorierung in wasserfreiem Fluorwasserstoff. Auf diese Weise wurden die ersten Perfluor-Präparate erhalten, die als Blutersatzmittel untersucht werden (FX-80^[97] und FC-47^[98]). Diese Reaktion, bei der eine C—H-Bindung (Bindungsenergie etwa 90 kcal/mol) durch eine C—F-Bindung (100–120 kcal/mol) ersetzt wird und bei der daher eine beträchtliche Energiemenge frei wird, ist sehr brutal und normalerweise von starker Zersetzung begleitet. So erhält man aus Octansäurefluorid und Fluorwasserstoff das Produkt FX-80, das aus den folgenden Hauptkomponenten besteht:

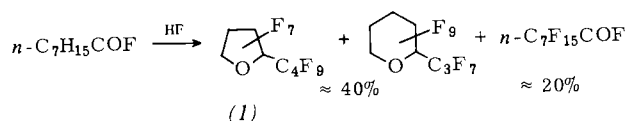


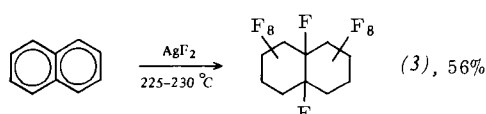
Tabelle 2. Als Blutersatzmittel getestete Perfluor-Verbindungen.

Perfluor-Verbindung	akute i.v.-Toxizität in Emulsion	Stabilität der Emulsion und Kontrolle	Retention im Körper	Starke Perfusion	Vollständiger Blutaustausch [a]	Untersuchungen von Organen und Blut nach i.v.-Perfusion	Perfusion isolierter Organe	Abkürzungen und Handelsnamen
<i>F-Alkane, Cycloalkane und Alkene</i>								
<i>n</i> -C ₈ F ₁₈	[27, 28]	[27, 69, 71]						
<i>n</i> -C ₁₀ F ₂₂	[27]	[27]						
<i>n</i> -C ₁₀ F ₂₁ H	[27]	[27]						
<i>n</i> -C ₈ F ₁₇ C ₂ H ₅	[27]				[48]			(Produits Chimiques Uguine Kuhlmann)
<i>n</i> -C ₁₀ F ₂₁ C ₂ H ₅		[27]						
<i>n</i> -C ₈ F ₁₇ CH=CH ₂		[71]						
<i>n</i> -C ₄ F ₉ CH=CH- <i>n</i> -C ₄ F ₉		[71]						
<i>n</i> -C ₆ F ₁₃ CH=CH- <i>n</i> -C ₆ F ₁₃		[71]						
<i>n</i> -C ₈ F ₁₇ CH=CH- <i>n</i> -C ₄ F ₉		[71]						[105 b, 105 c]
<i>F</i> -Methyladamantan	[88]	[88]	[88]					PFMA (Imperial Smelting)
<i>F</i> -Dimethyladamantan	[27, 28, 88]	[27, 35, 88]	[88]					PFDMA (Imperial Smelting)
<i>F</i> -Methyldekalin	[27, 28]	[68]	[28, 31, 88, 89]	[89]	[93*]	[55]	[62, 77]	MFD, PP9 (Imperial Smelting)
<i>F</i> -Dekalin (3)	[28, 31, 35, 88]	[27, 31, 35, 56, 57, 68]	[27, 31, 35, 41, 43, 58, 61, 72, 88, 89]	[31, 34, 35, 60, 61, 89]	[60, 61]	[27, 31, 34, 35, 55, 56, 72]	[62, 77]	FDC, PP5 (Imperial Smelting)
<i>F-Ether und verwandte Verbindungen</i>								
(CF ₃) ₂ CFOCF ₂ CF ₃		[70]						P-12F, Caroxin-F (Allied)
(CF ₃) ₂ CFO(CF ₂) ₄ OCF(CF ₃) ₂	[28]	[70]	[28, 91]	[91]				P-1D, Caroxin-D (Allied)
(CF ₃) ₂ CFO(CF ₂) ₈ OCF(CF ₃) ₂	[28, 45]		[28, 45, 89]	[45, 89]		[50]		P-11D (Allied)
CF ₃ CHF[OCF ₂ -CF(CF ₃)] _n								
n = 1	[24]							E ₁
2	[24, 45]		[45]					E ₂
3	[24, 28]		[28]	[91]				E ₃
4	[24, 28, 45]	[47, 49]	[31, 45, 47, 49]	[91]		[50]		E ₄
5	[24]							E ₅
9	[45]		[45]					E ₉
<i>F</i> -Isopentyltetrahydropyran		[46]	[46]			[55]		FTC (Dainippon Ink, 3M)
<i>F</i> -Butyltetrahydrofuran (1)	[24, 51, 84]	[27, 67, 69]		[26, 91]		[51, 84]	[21, 53, 62, 63, 65, 76, 77, 80, 81, 86, 96]	FC-75, FC-80, FX-80 (3M), (FC-77, FC-78)?
F(CF ₂ CF ₂ CF ₂ O) _n CCF ₂ CF ₃	[28]							Fomblin Y-04 (Montedison)
<i>F-Amine</i>								
<i>F</i> - <i>N</i> -Methyldibutylamin		[46]	[46]			[55]		FBA (Dainippon Ink, 3M)
<i>F</i> - <i>N,N</i> -Diethylcyclohexylamin		[46, 47, 68]	[46, 47]			[55]		FDEA (Dainippon Ink, 3M)
<i>F</i> -Tributylamin (2)	[24, 28, 45, 51, 54, 84, 87, 88, 94]	[24, 27, 35, 41, 52, 56, 57, 59, 66, 67, 69, 71, 72, 73]	[27, 29, 31, 41, 88, 89]	[24-26, 31, 52, 69, 89, 90, 91, 95]	[24?, 25, 30*, 36*?, 64*, 69*, 85, 92*, 95]	[27, 51, 52, 55, 56, 72, 73, 84, 90]	[74, 75, 78, 79, 81, 82, 83]	FC-43, FC-47 (3M), PFTBA

[a] *: erfolgreich; ?: fraglich.

Daneben bilden sich leichte Fluor-Kohlenstoff-Verbindungen, niedere cyclische Homologe mit kürzeren Seitenketten sowie Telomerisationsprodukte. Einige Präparate, die für die ersten biologischen Versuche verwendet wurden, enthielten bis zu 16 gaschromatographisch nachweisbare Bestandteile^[99].

Eine weitere Möglichkeit, zu Perfluor-Verbindungen zu gelangen, besteht in der Verwendung von Metallfluoriden als Fluorierungsmittel. So wurde *F*-Dekalin (3) zuerst durch Umsetzen von Naphthalin mit Silberfluorid erhalten^[100].



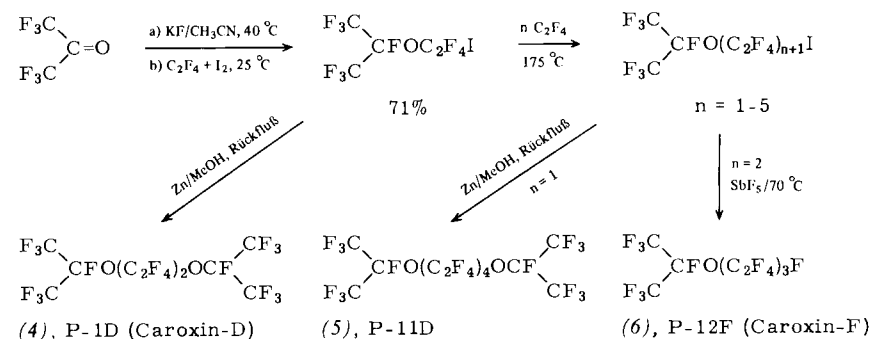
Ein Handelsprodukt, PP5 von der Firma Smelting, wird wahrscheinlich durch Fluorierung mit Cobalttrifluorid hergestellt. Auch diese ebenfalls recht drastische Methode führt zu komplexen Mischungen. Die rohe Handelsware besitzt Siedepunkte von 53 bis über 93 °C, und die leichten Bestandteile erwiesen sich eindeutig als toxisch^[27]. Sogar das *F*-Dekalin, welches durch Destillation an einer Drehbandkolonne gereinigt und von der Green Cross Corporation für medizinische Zwecke vertrieben wird, enthält neben *cis*- und *trans*-*F*-Dekalin immer noch Verunreinigungen^[41].

In der letzten Zeit sind neue Techniken entwickelt worden, durch welche die direkte Fluorierung organischer Verbindungen mit elementarem Fluor besser gesteuert werden kann^[101]. So lassen sich Adamantan und 2,2,4,4-Tetramethylpentan mit

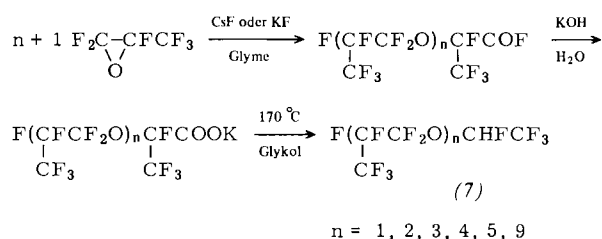
Helium-verdünntem Fluor bei -78°C in 1-Hydro-*F*-adaman-
tan (Ausbeute 44 %) bzw. 3-Hydro-*F*-tetramethylpentan (Aus-
beute ca. 60 %) umwandeln^[102]. Hier zeichnen sich interessan-
te Aussichten für die Synthese besser definierter Perfluor-Ver-
bindungen ab.

Die Perfluorisopropylether (4), (5) und (6) sind Beispiele
für Verbindungen, die durch spezifische chemische Synthese
erhalten wurden. Sie werden von der Allied Chemical Corpora-
tion^[103] in 99proz. Reinheit hergestellt.

Auch die Freone E (7) von du Pont, die als Blutersatzmittel
getestet wurden, werden auf chemischem Weg produziert^[104].



Gegenwärtig wird versucht, Verbindungen herzustellen, die
sich speziell zum Gastransport in Blutersatzmitteln eignen.



Diese Bemühungen konzentrieren sich einerseits auf eine besse-
re Kontrolle der elektrochemischen Fluorierung und der direk-
ten Fluorierung mit elementarem Fluor und andererseits auf
selektive chemische Wege, die von einfachen, aber bereits
perfluorierten Substanzen ausgehen.

Wir versuchen, Perfluor-Verbindungen nach der zuletzt ge-
nannten Methode maßzuschneidern, und gehen dabei von
folgendem Konzept aus^[105]:

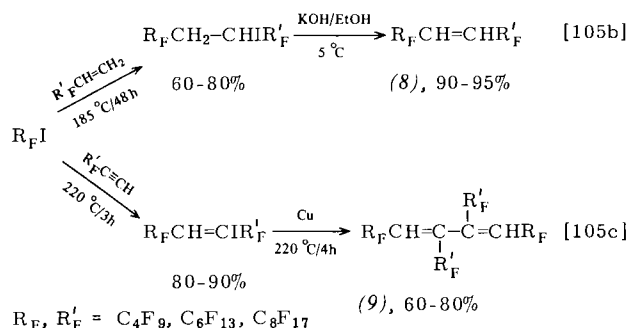
1. Als Ausgangsmaterial dienen von der Industrie erhält-
liche perfluorierte Bausteine wie die Perfluoralkyliodide
 $\text{C}_n\text{F}_{2n+1}\text{I}$ ($n=4, 6, 8$), die in genügender Reinheit von der
Firma Produits Chimiques Ugine Kuhlmann durch Telomeri-
sation von Tetrafluorethylen mit Perfluorethyliodid hergestellt
werden.

2. Mehrere Perfluoralkylgruppen werden auf speziellen che-
mischen Wegen mit Alkenen verknüpft.

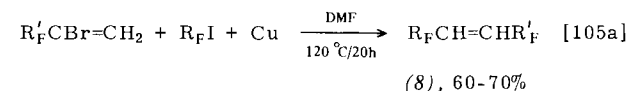
3. Die Perfluor-Verbindungen dürfen keine Heteroatome
wie Sauerstoff oder Stickstoff enthalten, die dafür verantwor-
tlich gemacht werden, daß die Verbindungen in der Leber
zurückgehalten werden^[89].

4. Es werden homologe Reihen von Verbindungen herge-
stellt, um kritische Parameter wie Dampfdruck oder Viskosität
schrittweise optimieren zu können. Beispiele hierfür sind die
Bis-*F*-alkylethene (8) und die Tetrakis-*F*-alkylbutadiene (9).

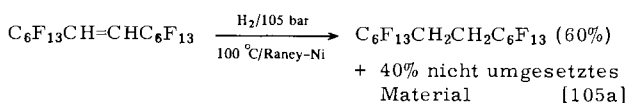
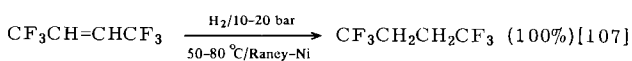
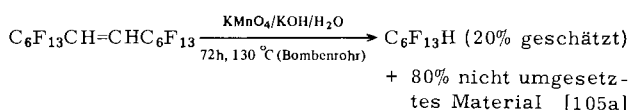
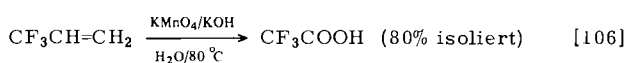
Bemerkenswerterweise sind die Bis-*F*-alkylethene (8) auch
aus 1-Iod-*F*-alkanen und 1-*F*-Alkyl-1-bromethen in Gegen-
wart von Kupferpulver zugänglich.



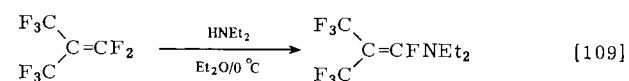
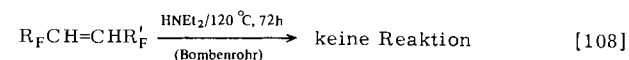
Diese Bis-*F*-alkylethene sind reaktionsträge. Das zeigen die
experimentellen Bedingungen für ihre Oxidation oder Reduk-
tion, die viel drastischer sind, als wenn $\text{R}_\text{F}=\text{CF}_3$.



Im Gegensatz zu den vollständig fluorierten Alkanen, die
leicht Amine addieren und anschließend bereits unterhalb



Raumtemperatur Fluorwasserstoff abspalten, reagieren diese
Verbindungen mit primären und sekundären Aminen prak-
tisch nicht.



3.5. Anforderungen an die Emulsionen

Alle bisher getesteten Perfluor-Präparate sind Flüssigkeiten
und müssen in emulgierter Form verwendet werden, weil 1.

reine Verbindungen sofort zu Embolien führen würden^[110], 2. nur so das Problem des gleichzeitigen Transports von Sauerstoff, Mineralsalzen und Stoffwechselprodukten gelöst werden kann, 3. die Fließeigenschaften von Emulsionen denen der kontinuierlichen Phase, d. h. des Plasmas, entsprechen, falls die Emulsionen nicht zu fein sind.

Herstellung und Eigenschaften der Emulsionen stellten sich sehr schnell als ein höchst kritisches Problem heraus. Einige Emulsionen erwiesen sich als gut, andere als toxisch, ohne daß ein Grund hierfür erkennbar war. Das führte die einzelnen Arbeitsgruppen oft zu einander widersprechenden Folgerungen^[53, 65].

Eine Emulsion ist ein komplexes System mit vielen Veränderungen^[111]. Ihre Eigenschaften hängen nicht nur von ihren Bestandteilen (Perfluor-Verbindung; salzhaltige, wäßrige Phase; oberflächenaktive Substanzen) und deren Mengenverhältnissen, sondern auch von der Größe und der Größenverteilung der Partikel ab. Die Größe der flüssigen Partikel ist ein alles entscheidender Faktor, nicht nur weil sie die Stabilität, die für den Gasaustausch verfügbare Oberfläche und – was besonders für feine Emulsionen gilt – die Viskosität der Emulsion bestimmt, sondern auch weil sie weitgehend deren Toxizität sowie die Verweilzeit der Perfluor-Verbindungen im Blutkreislauf beeinflußt. Vielleicht bestimmt sie auch das Ausmaß, in dem die Perfluor-Verbindungen von Phagocyten aufgenommen und in bestimmten Organen abgelagert werden.

Zwischen Partikelgröße und Toxizität besteht ein Zusammenhang. Die akute Toxizität steigt schnell, wenn der Anteil an Partikeln mit einem Durchmesser von über 0.4 µm zunimmt^[66]. Derzeit wird eine Partikelgröße von unter 0.1 µm empfohlen. Partikel, die größer als 0.6 µm sind, sollten vollständig fehlen^[40]. Diese Partikel sind viel kleiner als Erythrocyten (7–8 µm). Die normalerweise verwendeten Emulsionen enthalten also viel mehr Partikel pro Volumeneinheit als das Blut und besitzen deshalb eine 150- bis 300fach größere Oberfläche für den Gasaustausch. Emulsionen mit solch kleinen Partikeln sind fast optisch klar, d. h. transparent, werden aber mit zunehmender Partikelgröße milchig-weiß.

Selbstverständlich müssen die Emulsionen stabil sein, und die Größe der Partikel darf im Kreislauf nicht ansteigen. Die Stabilität hängt von der Art der Perfluor-Verbindung ab. So sind die *F*-Dekalin/Pluronic-Emulsionen weitaus weniger stabil als Emulsionen von *F*-Tributylamin, *F*-Dimethyladamantan oder Freon E₃ mit dem gleichen oberflächenaktiven Stoff^[28, 40, 57, 62]. Die Stabilität der *F*-Dekalin-Emulsionen kann durch Zugabe von Phospholipiden aus Eidotter, D-Sorbit^[57] und Spuren Fettsäuresalz^[67] als oberflächenaktiver Substanz verbessert werden^[40, 49]. Diese Emulsion ist jedoch im Kreislauf nur begrenzt stabil^[56], wahrscheinlich weil die Phospholipide schneller ausgeschieden werden, wodurch die Umhüllung der Partikel durch die oberflächenaktive Substanz zu stark abnimmt. Im Gegensatz dazu wird aber auch berichtet, daß einige Emulsionen in vivo stabiler als in vitro sind^[26]; dieser überraschende Befund bedeutet wahrscheinlich, daß in vivo die größeren Partikel schnell aus dem Blut entfernt werden.

Auch die Ladung auf der Oberfläche der Partikel kann von Bedeutung sein und die Geschwindigkeit beeinflussen, mit der sie von Phagocyten abgebaut werden. Weiter ist zu beachten, daß die negativ geladenen Erythrocyten an positiv geladenen Stellen aggregieren können, was zur Bildung von Thromben führen kann^[41, 49, 51, 73, 112].

3.6. Probleme der Emulsionsbildung

Die Herstellung der Emulsionen bereitet eine Reihe von Schwierigkeiten. Zunächst benötigt man eine oberflächenaktive Substanz, für deren Auswahl es noch keine Regeln gibt. Von den vielen oberflächenaktiven Stoffen, die für Blutersatzversuche herangezogen wurden, sind nur zwei besonders hervorgetreten: das Polyethylenoxid-Polypropylenoxid-Blockpolymer Pluronic F-68^[113] und die Phospholipide aus dem Eidotter^[67, 68]. Pluronic F-68, das am häufigsten verwendet wird, gehörte zu den ersten getesteten Substanzen. Das erwies sich als glücklicher Zufall, denn bis heute ist keine geeignetere Substanz bekannt. Pluronic F-68 ist nicht nur untoxisch, inert und ausscheidungsfähig, sondern es bewirkt im Gegensatz zu den meisten oberflächenaktiven Substanzen auch keine Hämolyse. Vielmehr ist es ein schwaches Antikoagulans^[45] und hat offenbar als einzige oberflächenaktive Substanz denselben osmotischen Druck wie die Blutproteine^[30, 111]. Einige andere oberflächenaktive Substanzen, z. B. Amin-*N*-oxide^[47, 114, 70] und Perfluoralkyl-Verbindungen^[55, 70, 71, 115], sind gelegentlich erwähnt worden.

Die Emulgierv Verfahren lassen sich grob in zwei Gruppen einteilen: solche, bei denen das Material einer hohen Energiezufuhr ausgesetzt wird und solche, bei denen das nicht der Fall ist. Zur ersten Gruppe gehört das am häufigsten benutzte Ultraschall-Verfahren (z. B. 20 kHz, 1000 W)^[3, 64]. Dabei werden jedoch Fluorid-Ionen abgespalten^[28], was den Abbau einiger Moleküle anzeigt und zur Bildung neuer Moleküle und Ionen in der Mischung führt. Die Mischungen werden also dadurch noch komplexer und in ihrer Zusammensetzung unsicherer. Aus manchen Ultraschall-Geräten gelangen sogar Titan-Partikel in die Emulsion^[45].

Obwohl die Toxizität dieser Emulsionen anschließend verringert (vgl. Abschnitt 3.7) und die Fluorid-Ionen entfernt werden können (es können viel höhere Fluorid-Mengen i. v. injiziert werden, die recht gut vertragen werden^[48]), scheint es doch wesentlich, nach Emulgiermethoden zu suchen, die die geprüften Verbindungen chemisch nicht verändern.

Ziemlich rätselhaft ist noch die Entdeckung, daß die Bildung von Fluorid-Ionen fast vollständig unterdrückt werden kann, wenn die Schallbehandlung unter Kohlendioxid durchgeführt wird^[64].

Ein weiteres Verfahren zur Herstellung von annähernd kolloidalen Emulsionen in großen Mengen bedient sich des Hochdruckhomogenisators von Manton-Gaulin. Auch bei diesem Verfahren, das auf der Anwendung von Scherkräften beruht, wird das Material einer großen Energiezufuhr ausgesetzt.

Neuerdings wird versucht, schonendere Emulgierverfahren zu entwickeln. Eine Möglichkeit bieten die selbstemulgierenden Systeme, bei denen zwei Emulgiermittel – ein stärker hydrophiles und ein stärker lipophiles – verwendet werden, die feine und in einem bestimmten Temperaturbereich stabile Emulsionen bilden. Ein Beispiel hierfür sind Mischungen von perfluoralkylierten oberflächenaktiven Substanzen des Typs R_F(C₂H₄O)_nH, mit einem Mittelwert von $n \approx 3$ für die „fluorophile“ und von $n \approx 12$ für die hydrophile oberflächenaktive Substanz^[71]. Die bis jetzt hergestellten Emulsionen sind jedoch ziemlich toxisch^[48].

Eine weitere neue Methode, die unter milden Bedingungen stabile Mikro-Emulsionen liefern soll, besteht darin, die Perfluor-Verbindungen in einem leichtflüchtigen Lösungsmittel wie Freon 113 (CF₂Cl–CCl₂F) aufzulösen und zur wäßrigen

Phase zu geben, die die oberflächenaktiven Substanzen enthält, von denen eine fluoriert ist. Bei leichtem Rühren entwickelt sich von selbst eine Mikro-Emulsion, und die Mischung wird transparent. Das Lösungsmittel wird anschließend abgezogen^[70].

Tabelle 3. Zusammensetzung des von Geyer [30] verwendeten künstlichen Blutersatzmittels für den vollständigen Austausch.

Perfluortributylamin FC-47	11.0–13.0 ml
Pluronic F-68 [a]	2.3–2.7 g
Hydroxyethylstärke	2.5–3.2 g
Glucose	0 oder 0.1 mg
NaCl	54 mg
KCl	32 mg
MgCl ₂	7 mg
CaCl ₂	10 mg
NaH ₂ PO ₄	9.6 mg
Na ₂ CO ₃	ad pH 7.44
H ₂ O	ad 100 ml
Penicillin, Streptomycin, Phenolrot	

[a] Polyethylenoxid-Polypropylenoxid-Blockpolymer.

Tabelle 3 gibt die Zusammensetzung eines typischen Blutersatzmittels wieder, welches Geyer bei seinen Versuchen zum vollständigen Ersatz des Blutes verwendet hat^[4, 64]. Die Zusammensetzung weiterer Ersatzmittel und experimentelle Details können der Literatur (z. B. ^[40, 41, 57, 61]) entnommen werden.

3.7. Emulsionskontrolle und -standardisierung

Es ist jetzt unbestritten, daß für den Blutersatz genau definierte Emulsionen zur Verfügung stehen müssen, die ihrerseits standardisierte und reproduzierbare Herstellungsverfahren erfordern, und es überrascht, daß dieser Punkt so lange übersehen worden ist.

Mittlerweile gilt als sicher, daß nur einige Bestandteile der früheren „toxischen“ Emulsionen toxisch sind. Das ergibt sich aus dem Befund, daß die Toxizität dieser Emulsionen durch einfache Filtration^[67], Durchlauf durch einen Ionenaustauscher^[3, 28] oder Dialyse^[3, 45] herabgesetzt werden kann. Dasselbe gilt für die Pluronic, die in reiner Form praktisch untoxisch sind. Verwendet man sie aber, ohne sie vorher durch ein Millipore-Filter filtriert zu haben, führen sie zu Komplikationen wie Lungenödem und Blutungen^[45, 52].

Die Perfluor-Verbindungen werden heute sorgfältig gewaschen und destilliert. Die Emulsionsbildung wird bisweilen optisch überwacht, und die Emulsionen werden durch Extinktionskurven charakterisiert. Die Ultraschallbehandlung wird beispielsweise so lange durchgeführt, bis die optische Dichte ein Plateau erreicht^[28]. Dadurch wird die reproduzierbare Herstellung einer Emulsion aus einer bestimmten Kombination von Fluor-Verbindung und oberflächenaktiver Substanz ermöglicht. Die Stabilität einer Emulsion kann auch nach der Geschwindigkeit beurteilt werden, mit der die optische Dichte zunimmt. Die Partikelgröße läßt sich durch Elektronenmikroskopie oder bequemer durch Ultrazentrifugation^[40, 59, 66] ermitteln. Der Einfluß des Viskositätsanstieges bei sehr kleiner Partikelgröße auf die Fließeigenschaften kann durch Zugabe von Hydroxyethylstärke ausgeglichen werden^[30, 31]. Der onkotische Druck wird osmometrisch eingestellt und kontrolliert^[93]. Es ist wichtig, unter welcher Atmosphäre gearbeitet wird. Eine CO₂-Atmosphäre erleichtert das

Emulgieren, vermindert die Schaumbildung und verhütet die Bildung von Fluorid-Ionen^[64]. Die Zubereitungen werden Hitze-sterilisiert^[27, 40, 67, 68] (weniger stabile Emulsionen werden pasteurisiert) oder durch Filtration durch Millipore-Filter^[64] keimfrei gemacht und zum Aufbewahren eingefroren^[57]. Zwei standardisierte Emulsionen sind jetzt von der Green Cross Corporation (Japan) im Handel^{[41][*]}.

Wenn man Untersuchungen verschiedener Arbeitskreise sinnvoll miteinander vergleichen und Beziehungen zwischen Struktur und Eigenschaften ermitteln will, müssen weitere Anstrengungen zur Kontrolle der Emulsionen unternommen werden. Außerdem müssen mehrere Typen von Standard-Emulsionen, die allen biomedizinischen Arbeitsgruppen zugänglich sind, entwickelt und Standard-Protokolle für biologische Untersuchungen geschaffen werden.

4. „Physiologie“ der neuen Blutersatzmittel

Der Blutersatz in einem lebenden Tier kann als Transplantation eines künstlichen Organs und zugleich als Perfusion vieler Organe angesehen werden. Es ist deshalb wichtig zu wissen, wie die Emulsionen toleriert werden, welche Wechselwirkungen mit den natürlichen Blutbestandteilen bestehen, welche Cytotoxizität die Emulsionen besitzen und wie sie die Organe und wesentlichen Funktionen des Organismus beeinflussen. Es sind vielerlei, in der Regel jedoch unzusammenhängende Untersuchungen in dieser Richtung vorgenommen worden. Leider waren oft die Perfluor-Verbindungen und die Emulgierbedingungen wenig geeignet, und häufig fehlte es auch an einer genauen Definition der Perfusionsmedien. Darüber hinaus benutzten niemals zwei Forscher dasselbe Verfahren zur Herstellung, Anwendung und Untersuchung der Emulsionen, was häufig zu kontroversen Interpretationen führte. Deshalb ist es auch oft illusorisch, definitive Schlüsse zu ziehen. Der Gehalt der Organe und Körperflüssigkeiten an Perfluor-Verbindungen läßt sich am besten gaschromatographisch^[46, 116, 117] oder pyknometrisch^[91] ermitteln.

4.1. Akute Toxizität

Es scheint jetzt festzustehen, daß eine Toxizität von Emulsionen, deren Bestandteile sorgfältig gereinigt wurden, nicht von chemischen Verunreinigungen herrührt. Vielmehr beruht sie darauf, daß bestimmte physikalische Grenzwerte, wie Partikelgröße oder Dampfdruck, nicht eingehalten worden sind, was zu Gasembolien (wie bei FX-80^[110]), Lungenödem oder falschem osmotischem Druck führt.

4.2. Verweilzeit im Blutkreislauf

Die Emulsionen müssen nicht nur untoxisch sein, die Perfluor-Verbindungen dürfen auch nicht zu schnell aus dem Blutkreislauf entfernt werden. Das ist gleichbedeutend mit

[*] Bei der Anwendung dieser Emulsion sind Zwischenfälle beobachtet worden, die zum Tod der transfundierten Tiere führten und die auf eine Bluteindickung durch Austritt von Wasser aus dem vaskulären System zurückgeführt werden. Das verursacht einen Anstieg der Konzentration an Perfluor-Verbindungen von 20 auf 60 % und damit eine Erhöhung der Viskosität [85]. Geyer wies auch darauf hin, daß die Elektrolyt-Zusammensetzung etwas angepaßt werden mußte, um die Emulsion mit Erfolg anzuwenden [93]. Das zeigt wiederum die Bedeutung einer ausreichenden Flüssigkeitsbilanz.

der Frage, wie lange das reticuloendotheliale System, dessen Aufgabe es ist, fremde Partikel aus dem Blut zu entfernen, getäuscht werden kann. Man weiß aber bis jetzt leider sehr wenig über die möglichen Reaktionen dieses Systems auf so unnatürliche Störenfriede wie Perfluor-Verbindungen. Deren Chance mag in der Tat darin bestehen, daß sie als völlig synthetische Schöpfung keine Ähnlichkeit mit irgendetwas besitzen, das der Organismus erkennen kann, der deswegen nur eine schwache Abwehr mobilisiert.

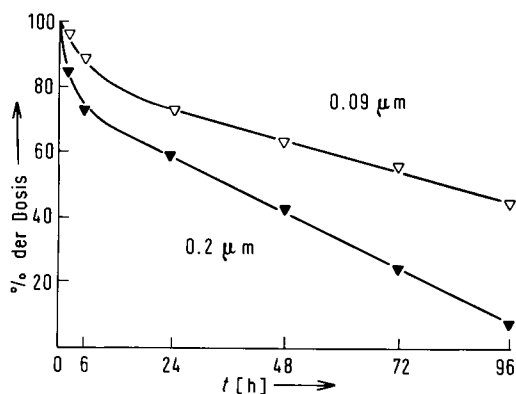


Abb. 6. Verweilzeit von feinen und groben *F*-Tri-*n*-butylamin(FC-43)-Emulsionen verschiedener Partikelgröße (mittlerer Durchmesser 0.09 bzw. 0.2 µm) im Gefäßsystem von Kaninchen (nach [40]).

Die Verweilzeit der Perfluor-Verbindungen im Kreislauf hängt weitgehend von der Größe der Partikel ab^[24, 40, 47, 52]. Bei einer Partikelgröße von unter 0.1 µm sind Halbwertszeiten von einigen Tagen möglich (Abb. 6). Die Verweilzeit der Perfluor-Verbindungen im Gefäßsystem wird auch drastisch von der Natur der oberflächenaktiven Substanz beeinflusst^[45, 47]. Es ist aber nicht geklärt, ob das auf einer direkten Wirkung dieser Substanz, auf ihrer schnelleren Ausscheidung oder auf Unterschieden in der Partikelgröße beruht.

Kleine Partikel scheinen nur einen geringen oder gar keinen Einfluß auf die phagocytische Aktivität des reticuloendothelialen Systems zu haben. Dennoch scheint Blut nach einigen Berichten die Stabilität von Emulsionen aus *F*-Dekalin und Eidotter-Phospholipiden und deren Partikelgröße verändern zu können^[56]. Das würde bedeuten, daß der Organismus über Mittel verfügt, fremde Partikel von fast kolloidaler Größe zu agglomerieren, bis sie von Phagocyten angreifbar werden. Andererseits werden Partikel, die größer als 1 µm sind, schnell aus dem Blutkreislauf entfernt und vorzugsweise in der Leber abgelagert. Grobe Emulsionen können sogar zu einer Blockierung des reticuloendothelialen Systems führen, welches dann injizierte Kohlenstoffpartikel nicht mehr aus dem Blut entfernen kann^[40].

4.3. Ablagerung in den Organen und Ausscheidung

Ein physiologisches Hauptproblem ist das Schicksal der Perfluor-Verbindungen, nachdem sie ihre Aufgabe erfüllt haben. Nach einer Verweilzeit im Blutkreislauf, die stark von der Größe der Partikel und der Natur der oberflächenaktiven Substanz abhängt, werden die Perfluor-Verbindungen aus dem Kreislauf entfernt und dabei teils ausgeschieden, teils im Körper abgelagert. Als Hauptsammelstellen für die Perfluor-Ver-

bindungen im Körper haben sich die verschiedenen Arten mononuklearer Phagocyten erwiesen, die in der Leber und Milz, aber auch in Knochenmark, Lymphknoten, lymphatischem Gewebe, Thymus u. a. vorkommen^[27, 28, 43, 47, 72, 73]. Unseres Wissens gibt es keine Beweise dafür, daß die Perfluor-Verbindungen im Körper abgebaut werden. Die Suche nach Fluorid-Ionen in Blut^[27], Plasma, Leber und Oberschenkelknochen mit Hilfe einer speziellen Fluorid-Elektrode^[43] und nach Stoffwechselprodukten in der ausgeatmeten Luft, in Leber und Milz durch Gaschromatographie/Massenspektroskopie^[43] blieb erfolglos. Wenn die Perfluor-Verbindungen ausgeschieden werden, dann in unveränderter Form mit der Atemluft oder durch die Haut^[27, 32a]. Die Ausscheidungsgeschwindigkeit hängt dabei stark vom Dampfdruck ab^[40, 49, 55] (Abb. 7). Bisweilen wurden Spuren an Perfluor-Verbindungen im Faeces, nicht aber im Urin entdeckt^[27, 55].

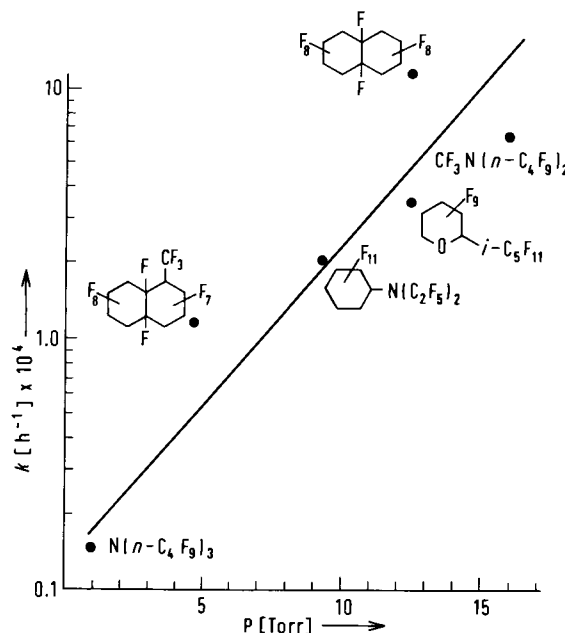


Abb. 7. Beziehung zwischen dem Dampfdruck *P* von Perfluor-Verbindungen bei 37°C und der Geschwindigkeitskonstante *k* für die Ausscheidung in der Atemluft (nach [49]).

Die Verweilzeit in den Organen hängt weitgehend davon ab, welche Perfluor-Verbindung verwendet wird. Einige scheinen fast unbegrenzt in den Organen zu bleiben, wie z. B. *F*-Tri-*n*-butylamin, während *F*-Dekalin (das leider weniger stabile Emulsionen bildet) innerhalb weniger Wochen ausgeschieden wird^[32, 33, 40]. Abbildung 8 zeigt, daß bei gleicher Dosis etwa 60 % *F*-Tri-*n*-butylamin (FC-43) in die Leber gehen, jedoch nur etwa 30 % *F*-Dekalin (FDC). Wichtiger ist jedoch, daß nach zwei Wochen nur noch weniger als 1 % des *F*-Dekalins in der Leber vorhanden ist, während die Menge des *F*-Tri-*n*-butylamins kaum oder gar nicht abgenommen hat. Die Ausscheidungsgeschwindigkeit von *cis*-*F*-Dekalin ist etwas größer als die des *trans*-Isomers^[58]. Die Ursache ist noch nicht klar. Eine früher geäußerte Ansicht, nach der die Verweildauer der Verbindungen in Leber und Milz mit der Anwesenheit von Heteroatomen wie Sauerstoff und Stickstoff zusammenhängt, scheint durch die lange Verweilzeit des *F*-Methyldekalin^[51] widerlegt zu sein, besonders da *F*-*N*-Methyldibutylamin rasch ausgeschieden wird^[55].

Die morphologischen Veränderungen, die *F*-Tri-*n*-butylamin und *F*-Dekalin in der Leber von Mäusen, Hunden und Katzen induzieren, wurden eingehend mikroskopisch untersucht. In der Leber wurden nur unwesentliche Änderungen beobachtet und keine Gewebetoxizität festgestellt. Das Parenchym, das Endothel und die Phagocyten gewannen nach dem Verschwinden der Fluor-Verbindungen ihr normales Aussehen zurück^[26, 72]. Neuere Versuche mit *F*-Tributylamin an Mäusen ergaben einige Veränderungen in Zellen von Histiocyten

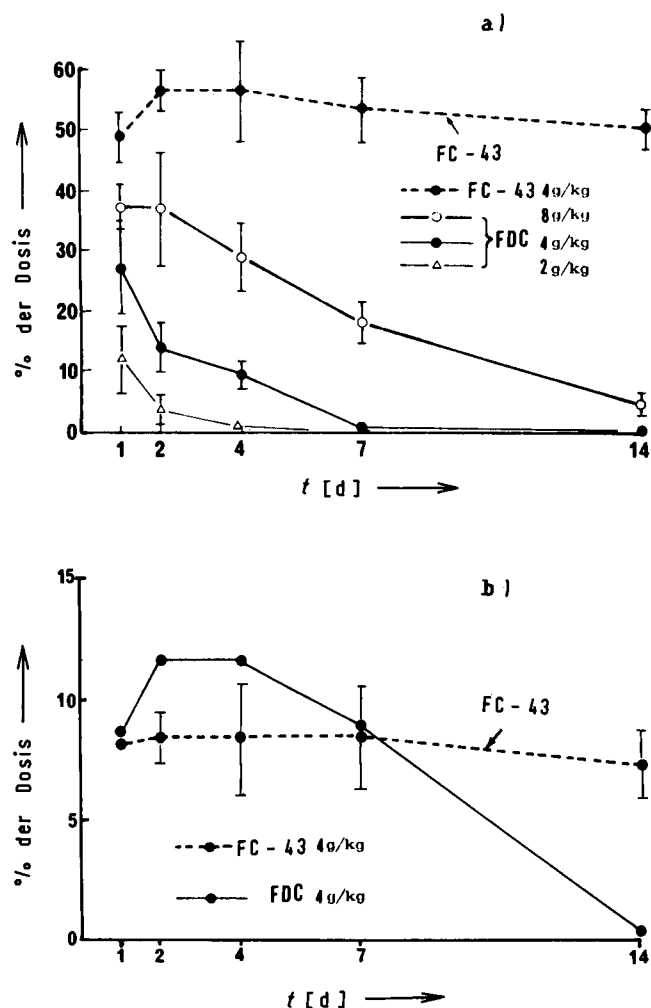


Abb. 8. Vergleich der Ausscheidungsgeschwindigkeiten von *F*-Dekalin (FDC) und *F*-Tri-*n*-butylamin (FC-43) aus a) Leber und b) Milz (nach [40]).

aus dem Reticuloendothel und in Zellen, in denen Hämopoetin entsteht^[73]. An Hunden, denen eine große Menge einer Emulsion aus *F*-Dekalin und Eidotter-Phospholipid infundiert wurde, zeigten sich keine irreversiblen Veränderungen in den Geweben von Leber, Milz, Niere, Lunge, Knochenmark, Testes, endokrinen Organen und in den Zellen, in denen Hämopoetin entsteht^[61].

4.4. Einfluß der Emulsionen auf die Organfunktionen

Das erste „Organ“, das betrachtet werden muß, ist das Blut selbst. In vitro beeinflussen *F*-Dekalin-Emulsionen die Sauerstoff-Bindungskurve von Blut nicht und umgekehrt^[44, 118]. In vivo wurde jedoch von einigen Autoren^[51] eine Wechselwirkung beobachtet, die zu einer Thrombocyten-

aggregation führt und für Lungenversagen und Tod durch Blockade der Blutkapillaren verantwortlich gemacht wird. Andere Autoren fanden hingegen weder eine Aggregation noch einen Rückgang der Thrombocytenzahl^[4]. Sie sehen darin eine überzeugende Bestätigung, wie stark die physiologische und biochemische Reaktion auf ein künstliches Blutersatzmittel von dessen Herstellung abhängt. Es wird empfohlen, vor der Infusion das Blut zu verdünnen, um solche Zwischenfälle zu vermeiden^[61]. Einige Präparate verursachten auch deutliche Veränderungen in den Blutgerinnungsmustern^[84], während andere weder die Sedimentationsgeschwindigkeit der Erythrocyten noch die Hämagglutination bei der Blutgruppenbestimmung beeinflussen^[49]. Es wird angenommen, daß Bluteindickung möglicherweise zu Dehnungen von Blutgefäßen und des rechten Ventrikels führt^[85]. Daß andererseits bestimmte Präparate blutverträglich sind, hat sich durch das Überleben von Tieren nach vollständigem Blutersatz sowie die Tatsache erwiesen, daß nach einem massiven Blutersatz bei Affen an etwa 20 geprüften Blutbestandteilen keine wesentlichen Veränderungen eintraten; auch die erfolgreiche Verwendung von Perfluor-Verbindungen bei der Sauerstoffanreicherung von Blut außerhalb des Körpers beweist die Verträglichkeit^[14, 119].

In gesunden Mäusen, bei denen durch Transfusion der Hämatokrit-Wert von ca. 45 auf 10–15 Vol.-% gesenkt worden war^[63], wurde die cerebrale Mikrozirkulation untersucht. Das mit der Perfluor-Verbindung beladene Blut konnte dabei die cerebrale Mikrozirkulation aufrecht halten und so viel Sauerstoff zum Gehirn transportieren, daß die elektrische Aktivität erhalten blieb und kurze Perioden von Sauerstoffmangel ausgeglichen werden konnten, wie sich an einem Anstieg der NADH- und Sauerstoff-Werte danach zeigte. Leider wurden diese Untersuchungen jedoch mit „toxischen“ FX-80-Emulsionen durchgeführt, und der Autor hält es selbst für ratsam, die Versuche mit besser geeignetem Material zu wiederholen.

Da die Rattenleber viele verschiedene Stoffwechselfunktionen erfüllen muß und sehr empfindlich auf Sauerstoffmangel reagiert, wurde an ihr die Kapazität von Emulsionen aus Perfluor-Verbindungen beim Gastransport studiert. Die Untersuchungen an lebenden Tieren dienten hauptsächlich dazu, die Perfluor-Verbindungen in den Organen zu lokalisieren^[27, 28, 50, 72, 73] (vgl. Abschnitt 4.4) und mögliche Schäden zu ermitteln. Die Versuche an isolierten Lebern dienten hingegen im wesentlichen der Entwicklung von Langzeit-Perfusionsystemen für isolierte Organe^[65, 74–77].

In einer repräsentativen Untersuchung^[74] wurde gezeigt, daß die Leberfunktion mindestens 20 Stunden lang mit einer FC-43/Pluronic-F-68-Emulsion vollständig aufrechterhalten werden kann. Zahlreiche typische Leberfunktionen – wie Bildung von Gallensaft, Aufrechterhaltung des Stoffgleichgewichts, lineare Freisetzung verschiedener Enzyme, Entfernung von Galaktose aus dem Perfusat, Induktion der Tyrosin-Aminotransferase durch Dexamethason – wurden 10 bis 20 Stunden lang überwacht und die Resultate mit denen verglichen, die man mit einem normalen Erythrocyten-haltigen Medium erhält. Es ergab sich, daß man mit der *F*-Tri-*n*-butylamin(FC-43)-Emulsion die Leberfunktion mindestens genauso gut aufrechterhalten kann wie mit einem Erythrocyten-haltigen Medium, dessen Funktion normalerweise bereits nach 5–6 Stunden beeinträchtigt ist. Dies beruht wahrscheinlich auf einer Aggregation von Erythrocyten, die durch die mechanische Wirkung des Perfusionsgerätes beschädigt wurden.

Andere Autoren fanden ebenfalls, daß die Funktion der isolierten Rattenleber bei der Perfusion mit FC-43- oder FC-80-Emulsionen für mindestens 6 Stunden erhalten bleibt, wie sich u. a. an der Synthese von Albumin und anderen Proteinen, am Einbau von ^{14}C -markiertem Lysin in Blutproteine, an der Gallensaftausscheidung, am Gehalt des Perfusats an Alanin-Aminotransferase, Harnstoff und Glucose, an der Vitamin-B $_{12}$ -Bindekapazität und am Flüssigkeitsdruck in der Pfortader zeigte^[62, 65, 75–78]. Sie schlossen daraus, daß die Perfluor-Verbindungen die Leber mit Sauerstoff versorgen können und deren Funktion nicht beeinträchtigen, wenn die optimale Fließgeschwindigkeit und ein hoher Sauerstoffdruck gewählt werden. Die Effektivität der FC-80-Emulsion im Vergleich zu anderen Perfusionsmedien hängt in der Tat sehr stark von der Fließgeschwindigkeit ab^[62, 75–77, 79]. Diese Beobachtung kann einige einander widersprechende Befunde^[53, 65, 79] erklären.

Einige Störungen des Stoffwechsels in Leberzellen verursacht die Verwendung von *F-n*-Hexan: Die Verbindung tritt ebenso wie Hexan oder Cyclohexan in Wechselwirkung mit Cytochrom P-450, welches die NADPH-Oxidation auslöst; im Gegensatz zu den Kohlenwasserstoff-Substraten widerstehen die C—F-Bindungen jedoch dem Angriff des aktiven Sauerstoffs. *F-n*-Hexan verhält sich deshalb wie ein Inhibitor, der den Elektronentransport und die Monooxygenierung entkoppelt^[120]. Die Bedeutung dieses Entkopplungsprozesses für mikrosomale Monooxygenasen ist jedoch schwer verständlich, da eine Teilentkopplung häufig vorzukommen scheint und sogar mit *n*-Hexan beobachtet wurde^[120b].

Es ist mehrfach versucht worden, Nieren mit reinen Perfluor-Verbindungen^[121] oder deren Emulsionen^[80, 81, 122, 123] zu konservieren. Anlaß für diese Versuche war die Beobachtung, daß sich die Nierenfunktion am isolierten, perfundierten Organ außerordentlich verbessert, wenn man das Plasma durch eine FX-80-Emulsion ersetzt^[80]. Es stellte sich jedoch heraus, daß die Retransplantation der 24 Stunden lang mit der FX-80-Emulsion behandelten Niere in das Spendertier – dessen andere Niere anschließend entfernt wurde – weniger erfolgreich verlief, als wenn die Niere nur mit Plasma durchströmt worden war. Günstigere Ergebnisse als mit Plasma allein – bessere Kreatinin-Clearance und Überleben aller fünf Hunde, an denen die Transplantation vorgenommen worden war^[81] – wurden mit FC-43-Emulsionen erhalten.

Isolierte menschliche Ovarien wurden mit einer FC-47/Pluronic-F-68-Emulsion perfundiert um festzustellen, wie sinnvoll die Versuche mit einem künstlichen Medium sind, bei dem die experimentellen Parameter genau eingestellt werden können^[82]. Es zeigte sich, daß während der 20 Stunden dauernden Infusion mit annähernd konstanter Geschwindigkeit Glucose verbraucht und Lactat gebildet wird, was eine beträchtliche Stoffwechselaktivität in den perfundierten Organen beweist. ^{14}C -Progesteron und ^{14}C -17 α -Hydroxyprogesteron wurden aus ^{14}C -Acetat synthetisiert, Östradiol wurde ausgeschieden, und Gonadotropine schienen die Bildung dieser Steroide zu beeinflussen.

Die hormonelle Steuerung der Tyrosin-Transaminase-Synthese wurde an der isolierten Rattenleber untersucht, die mit einer Perfluor-Verbindungen enthaltenden Emulsion perfundiert wurde^[83]. Es zeigten sich bemerkenswerte Unterschiede zu den Ergebnissen, die man mit natürlichen Perfusionsmedien erhält. Diese Methode eröffnet einen neuen Zugang zur Untersuchung der Steuerung von Organfunktionen.

5. Ausblick

5.1. Anwendungsmöglichkeiten der neuen Blutersatzmittel^[2]

Die künstlichen Blutersatzmittel sollten nicht als ein Ersatz für natürliches Blut angesehen werden, sondern als eine Ergänzung, die neue Anwendungsgebiete erschließt.

Als Blutersatzmittel, die den Gastransport, das Blutvolumen sowie den onkotischen und osmotischen Druck aufrechterhalten können, ergänzen die neuen Emulsionen die Anwendung von natürlichem Blut bei Blutverlusten, bei chirurgischen Eingriffen und bei Organperfusionen. Da keine Kreuzprobe erforderlich ist, können diese Blutersatzmittel in Not- oder Unglücksfällen sofort verwendet werden. Bei chirurgischen Eingriffen können beträchtliche Mengen an natürlichem Blut gespart werden. Das gilt besonders für Prozeduren, die außerhalb des Körpers vorgenommen werden müssen, was z. B. bei Lungenversagen der Fall ist. Da sich die neuen Blutersatzmittel besonders zur Organkonservierung eignen, werden sie den Betrieb von Organbanken erlauben, deren Möglichkeiten nicht durch die kurze in-vitro-Lebensdauer von Erythrocyten und Plasmaproteinen beschränkt sind, die ihrerseits auf der Empfindlichkeit der natürlichen Blutbestandteile gegen mechanische Einflüsse von Pumpen, Oxygenatoren und Filtern sowie auf der Bildung von Bruchstücken beruht, die die Mikrozirkulation in den Organen nach und nach blockieren können. Die neuen Blutersatzmittel werden auch „Bluttransfusionen“ in der Tierchirurgie und Tiermedizin ermöglichen, für die es keine Blutbanken gibt. Die Anwendung der künstlichen Blutersatzmittel unterliegt allerdings noch gewissen Grenzen. So fehlen Blutgerinnungsfaktoren und Antikörper.

Von der Sauerstofftransport-Funktion her könnten sich die künstlichen Blutersatzmittel zur Behandlung einer Reihe von Krankheiten eignen, z. B. von vielen Formen der Anämie (aplastische Anämie, Sichelzellenanämie, Leukämien) und anaeroben Infektionen wie Tetanus, welche auf einen Anstieg des Sauerstoffdrucks reagieren. In Fällen von Blutgefäßverschlüssen könnten die Perfluor-Verbindungen aufgrund ihrer geringen Partikelgröße möglicherweise einen Weg am Blutgerinnsel vorbei finden und so Sauerstoff zu den sauerstoffarmen Stellen bringen. Gleichzeitig könnten sie gerinnungslösende Stoffe an die verengten Stellen transportieren. Auch die vollständige Ausspülung des Körpers zwecks Entfernung von Viren, Toxinen (wie im Fall von Virus-Hepatitis-Coma) oder Überdosen an Arzneimitteln könnte breite Anwendung finden.

Durch die Blutersatzmittel wird auch die Anwendung von Stoffen möglich, deren Wirkung durch Bestandteile des natürlichen Blutes maskiert oder verändert wird. Beispielsweise könnten Arzneimittel – z. B. Tumor-Antikörper – verabfolgt werden, die sonst mit Blutbestandteilen reagieren oder von den normalerweise im Kreislauf vorhandenen Enzymen angegriffen werden, so daß sie ihre Wirkorte nicht erreichen können.

Blutlose Tiere sind sehr gut brauchbare neue Hilfsmittel für die biomedizinische Forschung, da es mit ihnen möglich sein sollte, die Anwesenheit der verschiedenen Blutbestandteile, Hormone, Enzyme usw. auszuschließen oder zu überwachen. So ließen sich Blutbildung und Plasmaproteinstoffwechsel sowie Produktion und Transport von Hormonen unter streng kontrollierten Bedingungen untersuchen und noch unbekannte Faktoren ermitteln. Ebenso könnten die Einflüsse verschiedener Faktoren auf die Hormonregulation in isolierten Organen einzeln unter klar umrissenen Bedingungen studiert

werden. Bei Abwesenheit von Erythrocyten, die empfindlich auf Änderungen in der Osmolarität reagieren, ließe sich vielleicht die Blut-Hirn-Schranke beeinflussen. Die Physiologie des Kreislaufs und die Hämodynamik könnten unter völlig neuen Bedingungen untersucht werden, da die Viskosität, der onkotische und osmotische Druck und die Fließeigenschaften der zirkulierenden Flüssigkeit in weiten Grenzen variabel wären. Weiter könnten die Wirkungen der verschiedenen Blutkörperchen auf den Kreislauf getrennt voneinander untersucht werden.

5.2. Noch zu überwindende Hindernisse; Aufgaben des Chemikers

Trotz der raschen Fortschritte müssen noch mehrere Hindernisse überwunden werden, – die meisten von ihnen gleichzeitig –, damit ein sicheres Blutersatzmittel in die medizinische Praxis eingeführt werden kann. Dem Chemiker kommt hierbei eine entscheidende Rolle zu:

1. Die Forschung auf diesem Gebiet ist darauf angewiesen, daß geeignete Perfluor-Verbindungen zur Verfügung stehen. Der Chemiker muß spezifische Wege zur Herstellung vieler (billiger), wohldefinierter, reiner, inerte und gegebenenfalls auch markierter Perfluor-Verbindungen entwickeln. Diese Verbindungen müssen homologe Reihen bilden, um die schrittweise Anpassung der entscheidenden Parameter zu ermöglichen und um zu entscheiden, welche Verbindungen und oberflächenaktive Substanzen sich am besten als Blutersatzmittel eignen. Zur Zeit sind erst etwa zwei Dutzend Verbindungen in gewissem Umfang untersucht worden (Tabelle 2). Die einzige vollständige Bluts substitution, die wiederholt werden konnte und bei der die Tiere überlebten, scheint diejenige mit *F*-Tri-*n*-butylamin gewesen zu sein (vgl. Tabelle 3). Andererseits sind weitgehende Substitutionen mit *F*-Dekalin gelungen. Auf das bisher viel verwendete FX-80 muß verzichtet werden, weil es zu flüchtig und daher mit Sicherheit toxisch ist. Keiner der anderen im Handel erhältlichen Ether (P-1D, P-11D, Freon E) ist akzeptiert worden. Ermutigende vorläufige Ergebnisse liegen mit Bis-*F*-alkylethenen vor; diese Substanzen ergeben stabilere Emulsionen als *F*-Dekalin, ermöglichen das Überleben von Ratten nach vollständiger Bluts substitution und führen zu größerer Ausscheidungsgeschwindigkeit als *F*-Tri-*n*-butylamin^[124].

2. Die Stabilität der Emulsionen *in vivo* ist von größter Wichtigkeit. So muß *F*-Dekalin trotz seiner bemerkenswerten Eigenschaften bei der Ausscheidung aufgegeben werden, wenn man nicht noch eine oberflächenaktive Substanz findet, die den Emulsionen dieser Substanz eine bessere *in-vivo*-Stabilität und eine längere Verweilzeit im Blutkreislauf verleiht als die gegenwärtig benutzten Phospholipide aus Eidotter. Daß präzise und reproduzierbare Standard-Herstellungsverfahren für die Emulsionen notwendig sind, wird jetzt allgemein anerkannt. Es müssen viele Anstrengungen unternommen werden, um mehrere Arten standardisierter Emulsionen für biomedizinische Versuche bereitzustellen. Der Chemiker kann zur Herstellung, Analyse und Charakterisierung dieser Emulsionen sowie zur Gewinnung und Untersuchung neuer oder modifizierter oberflächenaktiver Substanzen beitragen und günstige Kombinationen aus Perfluor-Verbindungen und oberflächenaktiven Substanzen entwickeln, um Emulsionen mit maximaler Stabilität zu erhalten.

3. Ein anderer wichtiger Aspekt betrifft die Optimierung des Flüssigkeitsgleichgewichts und die Kontrolle der Osmolarität. Der osmotische und onkotische Druck müssen sehr nahe am normalen Bereich liegen. Viele Arbeitsgruppen scheinen über diesen Punkt gestrauchelt zu sein. Die Wirkung von Hilfsstoffen auf diese Parameter sowie auf die Stabilität und Fließeigenschaften der Emulsionen erfordern mit Sicherheit weitere Aufmerksamkeit.

4. Die Retention einiger sonst sehr attraktiver Fluor-Verbindungen, z.B. *F*-Tri-*n*-butylamin, ist wahrscheinlich das größte Hindernis für deren Anwendung in Blutersatzmitteln für den Menschen. Ursache, Umfang und mögliche Langzeitwirkungen dieser Retention verdienen weitere Untersuchungen. Wegen dieser physiologischen Aspekte des Blutersatzes ist ein enger Kontakt zwischen Chemikern und Medizinern erforderlich.

5. Die Arbeit der Chemiker könnte auch zum Auffinden von Struktur/Wirkungs-Beziehungen beitragen. In dieser Richtung muß noch so gut wie alles getan werden.

6. Neben diesen wissenschaftlichen Problemen müssen vor der Einführung künstlicher Blutersatzmittel in die medizinische Praxis viele weitere Hindernisse überwunden werden, z.B. die Registrierung und die Akzeptierung durch Ärzte und Öffentlichkeit. Außerdem werden sich ökonomische, soziale und politische Fragen ergeben.

Trotz der noch bestehenden Nachteile scheint das Problem des Blutersatzes einschließlich des Sauerstofftransportes mit Fluor-Verbindungen am ehesten lösbar zu sein, vielleicht schon in naher Zukunft.

Für ihre Beiträge zur Synthese neuer Perfluor-Verbindungen danken wir unseren Mitarbeitern Dr. A. Cambon, Herrn F. Jeanneaux, Herrn J. Gallucci und Dr. G. Santini. Weiter möchten wir unseren Kollegen aus der Industrie, Dr. R. Lichtenberger und Dr. L. Foulletier, für anregende Diskussionen danken. Die finanzielle Unterstützung der Firma Produits Chimiques Ugine Kuhlmann wird dankbar anerkannt.

Eingegangen am 2. März 1978 [A 236]

Übersetzt von Dr. Wolfgang Karau, Neustadt/Weinstr.

- [1] a) S. N. Swisher, U. S. Nat. Res. Council, Okt. 1970; b) D. NacN. Surgenor, B. D. Mierzwa, Fed. Proc. 34, 1518 (1975).
- [2] R. P. Geyer, Fed. Proc. 34, 1525 (1975).
- [3] L. C. Clark, F. Becattini, S. Kaplan, Triangle 13, 85 (1973).
- [4] R. P. Geyer, Proc. Xth Int. Cong. for Nutrition: Symposium on Perfluorochemical Artificial Blood, Kyoto 1975, S. 3–19; Igakushobo (Medical Publisher), Osaka 1976.
- [5] N. Nakabayashi, J. Synth. Org. Chem. (Japan) 30, 500 (1972).
- [6] H. A. Sloviter, Med. Clin. North Am. 54, 787 (1970).
- [7] J. G. Riess, Actes du XXIV^e Congrès Français d'Anesthésie-réanimation, Nice 1975, S. 391.
- [8] a) Symposium on Artificial Blood, Bethesda 1974, Fed. Proc. 34, 1428 (1975); b) Symposium on Inert Organic Liquids for Biological Oxygen Transport, Atlantic City 1969, Fed. Proc. 29, 1695 (1970); c) Proc. Xth Int. Cong. for Nutrition: Symposium on Perfluorochemical Artificial Blood, Kyoto 1975; Igakushobo (Medical Publisher), Osaka 1976.
- [9] a) S. F. Rabiner, Fed. Proc. 34, 1454 (1975); b) H. R. Kaplan, V. S. Murthy, *ibid.* 34, 1461 (1975).
- [10] W. Mok, D. Chem, A. Mazur, Fed. Proc. 34, 1458 (1975).
- [11] a) F. Basolo, B. M. Hoffman, J. A. Ibers, Acc. Chem. Res. 8, 384 (1975); b) J. E. Baldwin, Fed. Proc. 34, 1441 (1975).
- [12] Siehe z.B.: a) J. A. Kylstra et al., Undersea Biomed. Res. 1, 259 (1974); b) 3, 113 (1976); c) J. H. Modell et al., Anesthesiology 38, 134 (1973); d) 39, 488 (1973); e) J. Appl. Physiol. 34, 160 (1973); f) V. Popovic, P. Popovic, J. Baughman, Rev. Med. Aeronaut. Spat. 46, 250 (1973); g) R. Rüfer, Fluoride 1973, 94; h) G. H. Schwieler, B. Robertson, Biol. Neonat. 29, 343 (1976); i) T. H. Shaffer, D. Rubenstein, G. D. Moskowitz, H. Devoria-Papadopoulos, Pediatr. Res. 10, 227 (1976); zit. Lit.
- [13] H. W. Calderwood, J. H. Modell, B. C. Ruiz, J. E. Brogdon, C. I. Hood, Anesthesiology 38, 141 (1973).

- [14] a) D. F. Dundas, Fed. Proc. 29, 1771 (1970); b) P. S. Malchesky, Y. Nose, Adv. Cardiol. 6, 72 (1971); c) Fluoride 1973, 84; d) H. W. Wallace, T. P. Stein, W. J. Asher, Fed. Proc. 34, 1506 (1975); e) K. Mottaghy, N. Mendler, H. Schmid-Schoenbein, R. Schroeck, F. Sebening, Eur. Surg. Res. 8, 196 (1976).
- [15] a) D. M. Long, M. S. Liu, G. D. Dobben, P. S. Szanto, A. S. Arambulo in R. Filler: Biochemistry Involving Carbon-Fluorine Bonds. ACS Symposium Series 28, Washington 1976; b) M. S. Liu, D. M. Long, Radiology 122, 71 (1977).
- [16] a) J. A. Young, J. Chem. Doc. 14, 98 (1974); b) J. Fluorine Chem. 6, 571 (1975).
- [17] J. A. Kylstra, M. O. Tissing, A. Van der Maen, Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs 8, 378 (1962).
- [18] a) L. C. Clark, F. Gollan, Science 152, 1755 (1966); b) F. Gollan, L. C. Clark, Trans. Assoc. Am. Physicians 31, 102 (1967); c) Ala. J. Med. Sci. 4, 336 (1967).
- [19] S. Howlett, D. Dundas, D. C. Sabiston, Arch. Surg. 91, 643 (1965).
- [20] F. Gollan, L. C. Clark, Physiologist 9, 191 (1966).
- [21] H. A. Sloviter, T. Kamimoto, Nature 216, 458 (1967).
- [22] R. P. Geyer, R. C. Monroe, K. Taylor in J. Norman: Organ Perfusion and Preservation. Appleton-Century-Crofts, New York 1968, S. 85.
- [23] R. P. Geyer, R. C. Monroe, K. Taylor, Fed. Proc. 27, 384 (1968).
- [24] R. P. Geyer, Fed. Proc. 29, 1758 (1970).
- [25] R. P. Geyer, Med. Ernähr. 11, 256 (1970).
- [26] H. A. Sloviter, M. Petkovic, S. Ogoshi, H. Yamada, J. Appl. Physiol. 27, 666 (1969).
- [27] L. C. Clark, E. P. Wesseler, M. L. Miller, S. Kaplan, Microvasc. Res. 8, 320 (1974).
- [28] L. C. Clark, E. P. Wesseler, S. Kaplan, M. L. Miller, C. Becker, C. Emory, L. Stanley, F. Becattini, V. Obrock, Fed. Proc. 34, 1468 (1975).
- [29] R. Fujita, S. Yamashita, S. Sugihara, H. Oyanagi, Y. Matsumoto, K. Matsumoto, Surg. Ther. (Jap.) 23, 573 (1970).
- [30] R. P. Geyer, N. Engl. J. Med. 289, 1077 (1973).
- [31] R. P. Geyer, R. C. Monroe, K. Taylor, Fed. Proc. 32, 927 (1973).
- [32] a) L. C. Clark, F. Becattini, S. Kaplan, V. Obrock, D. Cohen, C. Becker, Science 181, 680 (1973); b) L. C. Clark, E. P. Wesseler, S. Kaplan, V. Obrock, C. Becker, C. Emory, ACS 11nd Winter Fluorine Conf., St. Petersburg, Florida, Feb. 1974.
- [33] H. Okamoto, K. Yamanouchi, T. Imagawa, R. Murashima, K. Yokoyama, R. Watanabe, R. Naito, Proc. II. Intercompany Conf., Osaka 1973.
- [34] L. C. Clark, S. Kaplan, C. Emory, E. P. Wesseler in G. J. Brewer: Progress in Clinical Research. A. R. Liss Inc., New York 1975, Vol. 1, S. 589.
- [35] L. C. Clark, E. P. Wesseler, S. Kaplan, C. Emory, R. Moore, D. Denson in [15], dort S. 135.
- [36] R. P. Geyer, ACS 11rd Winter Fluorine Conference, St. Petersburg, Florida 1977.
- [37] a) E. P. Wesseler, R. Iltis, L. C. Clark, J. Fluorine Chem. 9, 137 (1977); b) M. K. Tham, R. D. Walker, J. H. Modell, J. Chem. Eng. Data 18, 385 (1973).
- [38] R. E. Peterson, Fed. Proc. 29, 1714 (1970).
- [39] J. W. Sargent, R. J. Seffl, Fed. Proc. 29, 1699 (1970).
- [40] K. Yokoyama, K. Yamanouchi, M. Watanabe, T. Matsumoto, R. Murashima, T. Daimoto, T. Hamano, H. Okamoto, T. Suyama, R. Watanabe, R. Naito, Fed. Proc. 34, 1478 (1975).
- [41] R. Naito, K. Yokoyama, Y. Doi, Fluosol-43, Fluosol-DC Technical Information Series n° 1 (1975). The Green Cross Corporation, 1/3 Gamou-cho, Jōko-ku, Osaka.
- [42] E. Wilhelm, R. Battino, Chem. Rev. 73, 1 (1973).
- [43] K. Yamanouchi, K. Yokoyama in [4], dort S. 91.
- [44] R. Watanabe, H. Inahara, Y. Motoyama in [4], dort S. 113.
- [45] L. C. Clark, S. Kaplan, F. Becattini, J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 60, 757 (1970).
- [46] K. Yamanouchi, R. Murashima, K. Yokoyama, Chem. Pharm. Bull. 23, 1363 (1975).
- [47] H. Okamoto, K. Yamanouchi, K. Yokoyama, Chem. Pharm. Bull. 23, 1452 (1975).
- [48] G. Fournier, A. Plumet, P. Felman, P. Richard, L. Foulletier, D. Vitrey, J. F. Bolot, Société de Réanimation de Langue Française, Réunion de Lyon du 18/6/76. Expansion Scientifique, Paris 1976, S. 195.
- [49] R. Naito, K. Yokoyama in [4], dort S. 55.
- [50] a) W. I. Rosenblum, M. G. Hadfield, A. J. Martinez, P. Schatzki, Arch. Pathol. Lab. Med. 100, 213 (1976); b) W. I. Rosenblum, R. M. Navari, J. E. Levasseur, J. L. Patterson, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 154, 346 (1977).
- [51] H. A. Sloviter, H. Yamada, S. Ogoshi, Fed. Proc. 29, 1755 (1970).
- [52] L. C. Clark, S. Kaplan, F. Becattini, G. Benzing III, Fed. Proc. 29, 1764 (1970).
- [53] L. Triner, M. Verovsky, D. V. Habif, C. G. Nahas, Fed. Proc. 29, 1778 (1970).
- [54] Y. Nose, T. Kon, D. Weber, G. Mrava, P. Malchesky, H. McDermott, C. Williams, L. Lewis, G. Hoffman, C. Willis, S. Deodhar, G. Harris, R. Anderson, Fed. Proc. 29, 1789 (1970).
- [55] K. Yokoyama, K. Yamanouchi, R. Murashima, Chem. Pharm. Bull. 26, 1368 (1975).
- [56] H. Okamoto, M. Iwai, Y. Tsuda, K. Yokoyama in [4], dort S. 73.
- [57] K. Yokoyama, K. Yamanouchi, R. Murashima, R. Naito in [4], dort S. 83.
- [58] K. Yokoyama, K. Yamanouchi, R. Murashima in [4], dort S. 103.
- [59] K. Yokohama, A. Suzuki, I. Utsumi, R. Naito, Chem. Pharm. Bull. 22, 2966 (1974).
- [60] T. Matsumoto, M. Watanabe, T. Hamano, T. Suyama, R. Naito in [4], dort S. 203.
- [61] T. Suyama, T. Matsumoto, M. Watanabe, T. Hamano, R. Naito in [4], dort S. 225.
- [62] V. Novakova, G. Birke, L. O. Plantin, A. Wretling, Fed. Proc. 34, 1488 (1975).
- [63] a) W. I. Rosenblum, Microvasc. Res. 7, 307 (1974); b) Fed. Proc. 34, 1493 (1975).
- [64] R. P. Geyer, Fed. Proc. 34, 1499 (1975).
- [65] H. Brown, W. G. Hardison, Surgery 71, 388 (1972).
- [66] T. Fujita, T. Suyama, K. Yokoyama, Eur. Surg. Res. 3, 436 (1971).
- [67] M. Samejima, I. Sugimoto, A. Suzuki, Y. Koida, G. Hirata, G. Tsukamoto, DOS 2224182 (1972), Green Cross Corp. and Tanabe Seiyaku Co. Ltd.; Chem. Abstr. 78, 71384z (1973).
- [68] K. Yokoyama, K. Yamanouchi, R. Murashima, R. Watanabe, DOS 2404564 (1975), Green Cross Corp.; Chem. Abstr. 83, 120852g (1975).
- [69] R. Watanabe, T. Suyama, K. Yokoyama, Y. Odaka, DOS 2144094 (1972), Green Cross Corp.; Chem. Abstr. 76, 131465x (1972).
- [70] M. I. Rosano, W. E. Gerbacia, DOS 2319971 (1973), Allied Chem. Corp.; Chem. Abstr. 80, 19595w (1974).
- [71] P. Chabert, L. Foulletier, A. Lantz, DOS 2452513 (1975), Produits Chimiques Ugine Kuhlmann; Chem. Abstr. 83, 152326n (1975).
- [72] M. L. Miller, L. C. Clark, E. P. Wesseler, L. Stanley, C. Emory, S. Kaplan, Ala. J. Med. Sci. 12, 84 (1975).
- [73] M. L. Miller, E. P. Wesseler, S. C. Jones, L. C. Clark, J. Reticuloendoth. Soc. 20, 385 (1976).
- [74] W. Krone, W. B. Huttner, S. C. Kampf, B. Rittich, H. J. Seitz, W. Tarnowski, Biochem. Biophys. Acta 372, 55 (1974).
- [75] V. Novakova, G. Birke, L. O. Plantin, A. Wretling, Acta Physiol. Scand. 98, 356 (1976).
- [76] V. Novakova, Acta Physiol. Scand. 98, 433 (1976).
- [77] V. Novakova, G. Birke, L. O. Plantin, Acta Physiol. Scand. 92, 289 (1974).
- [78] M. Höller, H. Breuer, Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 13, 319 (1975).
- [79] M. N. Goodman, R. Parrilla, C. J. Toews, Am. J. Physiol. 225, 1384 (1973).
- [80] H. D. Berkowitz, J. Mendham, L. D. Miller, H. Sloviter, Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs 27, 266 (1971).
- [81] H. D. Berkowitz, P. McCombs, S. Sheety, L. D. Miller, H. Sloviter, J. Surg. Res. 20, 595 (1976).
- [82] J. F. Kennedy, J. R. Schreiber, B. K. Andreassen, Am. J. Obstet. Gynecol. 122, 863 (1975).
- [83] H. Ohtsuka, J. Biochem. (Jap.) 75, 53 (1974).
- [84] P. Lau, V. S. Shankar, L. L. Mayer, H. A. Wurzel, H. A. Sloviter, Transfusion 15, 432 (1975).
- [85] G. Fournier, V. Barrois, C. Girard, D. Robert, L. Thomas, L. Foulletier, Fed. Proc., im Druck.
- [86] F. Rosa, F. de Venanzi, Acta Cient. Venez. 22, 10 (1971).
- [87] G. W. Harris, R. M. Anderson, R. P. de Filippi, Y. Nose, D. C. Weber, P. S. Malchesky, J. Biomed. Mater. Res. 4, 313 (1970).
- [88] R. E. Moore, L. C. Clark, DOS 2555408 (1974), Sun Ventures, Inc.; Children's Hospital; Chem. Abstr. 85, 99179e (1976).
- [89] L. C. Clark, DOS 2409598 (1974), Children's Hospital; Chem. Abstr. 82, 106605j (1975).
- [90] F. Gollan, J. McDermott, A. Dugger, G. Musil, Resuscitation 1, 235 (1972).
- [91] L. C. Clark, F. Becattini, S. Kaplan, Ala. J. Med. Sci. 9, 16 (1972).
- [92] R. P. Geyer, K. Taylor, R. Eccles, E. Duffett, Fed. Proc. 35, 828 (1976).
- [93] R. P. Geyer in [34], dort S. 565.
- [94] T. Maki, M. Hori, Y. Idezuki, J. Surg. Res. 2, 90 (1972).
- [95] F. Gollan, M. Aono, A. Flores, Am. J. Physiol. 229, 1045 (1975).
- [96] S. S. Wong, J. A. Di Micco, D. G. Staendaert, K. L. Dretchen, J. Gen. Physiol. 69, 655 (1977).
- [97] E. A. Kauck, J. H. Simons, US-Pat. 2644823 (1953), 3M Co.; Chem. Abstr. 48, 6469i (1954).
- [98] E. A. Kauck, J. H. Simons, US-Pat. 2616927 (1952), 3M Co.; Chem. Abstr. 47, 8771h (1953).
- [99] J. W. Sargent, Fed. Proc. 29, 1721 (1970).
- [100] E. T. McBee, L. D. Bechtol, Ind. Eng. Chem. 39, 380 (1947); US-Pat. 2459782 (1949); Chem. Abstr. 43, 4301c (1949).
- [101] a) J. L. Adcock, R. A. Beh, R. J. Lagow, J. Org. Chem. 40, 3271 (1975); b) N. J. Maraschin, B. D. Catsikis, L. H. Davis, G. Jarvinen, R. J. Lagow, J. Am. Chem. Soc. 97, 513 (1975).
- [102] L. A. Shimp, R. J. Lagow, J. Org. Chem. 42, 3437 (1977).
- [103] Zur Herstellung der Perfluorisorpropylether bei der Allied Chem. Corp. siehe a) M. H. Litt, F. W. Evans, Holl. Pat.-Anm. 6613848 (1967); Chem. Abstr. 68, 12475a (1968); b) L. G. Anello, R. F. Sweeney, M. H. Litt, US-Pat. 3514487 (1970); Chem. Abstr. 72, 100023g (1970); c) C. Cheng-Yu Yao, DOS 1815156 (1969); Chem. Abstr. 71, 90809p

- (1969); d) J. P. Sibilia, C. Woolf, J. Frank, US-Pat. 3657362 (1972); Chem. Abstr. 77, 4895h (1972); e) H. R. Nychka, L. G. Anello, US-Pat. 3435078 (1969); Chem. Abstr. 70, 114589z (1969); f) H. R. Nychka, R. E. Eyback, DOS 2253534 (1973); Chem. Abstr. 79, 18079y (1973).
- [104] S. Selman, W. S. Smith, Fr. Pat. 1373014 (1964), Du Pont; Chem. Abstr. 62, 13047g (1965).
- [105] a) G. Santini, M. Le Blanc, J. G. Riess, Tetrahedron 29, 2411 (1973); b) F. Jeanneaux, M. Le Blanc, A. Cambon, J. Guion, J. Fluorine Chem. 4, 261 (1974); c) F. Jeanneaux, G. Santini, M. Le Blanc, A. Cambon, J. G. Riess, Tetrahedron 30, 4197 (1974).
- [106] A. Y. Yakubovitch, V. Gogol, I. Borzova, Zh. Prikl. Khim. 32, 451 (1959); Chem. Abstr. 53, 13045i (1959).
- [107] R. N. Haszeldine, J. Chem. Soc. 1952, 2504.
- [108] M. Le Blanc, J. G. Riess, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [109] I. L. Knunyants, L. S. German, B. L. Dyatkin, Izv. Akad. Nauk SSSR, Otdel. Khim. Nauk 1956, 1353; Chem. Abstr. 51, 8037f (1957).
- [110] D. J. Sass, R. A. Van Dyke, E. H. Wood, S. A. Johnson, P. Didisheim, J. Appl. Physiol. 40, 745 (1976).
- [111] a) P. Becher: Emulsions. Theory and Practice. 2. Aufl. Reinhold, New York 1965; b) I. R. Schmolka, Fed. Proc. 29, 1717 (1970).
- [112] H. A. Sloviter, Fed. Proc. 34, 1484 (1975).
- [113] a) Wyandotte Chem. Corp., 1967; b) Péchiney Ugine Kuhlmann, note technique – 227/HU.
- [114] A. K. Price, A. N. Fenster, DOS 2132164 (1972), Allied Chem. Corp.; Chem. Abstr. 76, 72057r (1972).
- [115] P. L. Bartlett, US-Pat. 3644492 (1972), Du Pont; Chem. Abstr. 77, 6026z (1972).
- [116] D. A. Holaday, Fed. Proc. 29, 1815 (1970).
- [117] J. G. Modell, M. K. Tham, J. H. Modell, H. W. Calderwood, B. C. Ruiz, Toxicol. Appl. Pharmacol. 26, 86 (1973).
- [118] L. A. Kiesow, J. B. Shelton, J. W. Bless, Anal. Biochem. 58, 14 (1974).
- [119] H. W. Wallace, W. J. Asher, M. T. Zubrov, T. P. Stein, H. Brooks, J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 66, 887 (1973).
- [120] a) V. Ullrich, H. Diehl, Eur. J. Biochem. 20, 509 (1971); b) H. Staudt, F. Lichtenberger, V. Ullrich, ibid. 46, 99 (1974).
- [121] A. A. Beisang, J. Feemster, R. H. Dietzman, H. Uchida, J. E. Carter, E. F. Graham, R. C. Lillehei, Fed. Proc. 29, 1782 (1970).
- [122] B. S. Linn, W. Canaday, M. Breton, F. Gollan, Surg. Forum 18, 278 (1967).
- [123] W. McCullough, J. Jackobs, N. Halasz, Surg. Forum 20, 308 (1968).
- [124] R. P. Geyer, persönliche Mitteilung.

Phytoalexine, chemische Abwehrstoffe höherer Pflanzen?

Von Hans Grisebach und Jürgen Ebel^[*]

Phytoalexine sind Abwehrstoffe mit antimikrobiellen Eigenschaften, die nach einer Infektion von der Pflanze gebildet werden. Diese Verbindungen gehören verschiedenen Naturstoffgruppen an, z. B. Isoflavonoiden, Terpenoiden, Polyacetylenen und Dihydrophenanthrenen. Die Induktion der Phytoalexinbildung kann nicht nur durch lebende Mikroorganismen, sondern auch durch Produkte mikrobiellen Ursprungs (Elicitoren) oder durch Streßbehandlung (Kälte, UV-Licht) bewirkt werden. Der Elicitor aus der Myzelwand des Pilzes *Phytophthora megasperma* var. *sojae* (Pms) ist ein β -1,3-Glucan mit Verzweigungen an C-6. Die Biosynthese der Phytoalexine ist in einigen Fällen in ihren Grundzügen bekannt. Durch Elicitoreinwirkung auf pflanzliches Gewebe steigt die Aktivität der an der Phytoalexinbiosynthese beteiligten Enzyme an. Die Fähigkeit einiger Mikroorganismen, Phytoalexine chemisch zu verändern, könnte mit ihrer Pathogenität zusammenhängen. Die Rolle der Phytoalexine als Abwehrstoffe ist noch nicht eindeutig geklärt.

1. Einführung

Wie Mensch und Tier ist auch die Pflanze zahlreichen Mikroorganismen ausgesetzt. Dabei kommt den phytopathogenen Pilzen und Viren eine besondere Bedeutung als Krankheitserregern zu. Da Pflanzen kein Immunsystem besitzen, stellt sich die Frage, wie sich die Pflanze gegen Krankheitserreger wehren kann. Eine Abwehrmöglichkeit, die auf der induzierten Produktion chemischer Abwehrstoffe durch die Pflanze beruht, soll in diesem Aufsatz behandelt werden.

Bereits Ende des 19. Jahrhunderts wurde angenommen, daß Pflanzen eine erworbene Resistenz besitzen können und auf eine Infektion mit biochemischen Abwehrmechanismen reagieren^[42], aber erst die Untersuchungen von Müller und

Börger über die *Phytophthora*-Resistenz^[*] der Kartoffel^[43] brachten einen entscheidenden experimentellen Fortschritt bei der Aufklärung derartiger Abwehrmechanismen. Die wesentlichen Ergebnisse dieser Untersuchungen waren: 1. Das Absterben des Parasiten auf den Knollen der resistenten Sorten ist nicht durch einen schon vor der Infektion in den Knollen vorhandenen Stoff bedingt, „sondern durch eine Zustandsänderung bei den mit dem Pilz in Kontakt gelangten Wirtszellen“. 2. Unter Preisgabe der vom Pilz befallenen Gewebeschichten wehrt die Pflanze den Parasiten ab. Während dieser als „Abwehrnekrose“ bezeichneten Reaktion bildet sich ein Abwehrstoff, der als „Phytoalexin“ (phyton = Pflanze, alexein = abwehren) bezeichnet wurde. Phytoalexine können daher als

[*] Prof. Dr. H. Grisebach, Dr. J. Ebel
Lehrstuhl für Biochemie der Pflanzen, Biologisches Institut II der Universität
Schänzlestraße 1, D-7800 Freiburg

[*] Der Pilz *Phytophthora infestans* (Phytiacidae) ist der Erreger der Kartoffelfäule („late blight“). Er war die Ursache der Vernichtung der Kartoffelernte in Irland im Jahre 1845 und den folgenden Jahren, welche eine große Hungersnot zur Folge hatte.