



SCHWEIZERISCHE EidGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

① CH 679 209 A5

⑤ Int. Cl.⁵: A 61 K 31/70

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENTSCHRIFT** A5

⑳ Gesuchsnummer: 6493/83

⑦ Inhaber:
Solco Basel AG, Basel

㉒ Anmeldungsdatum: 05.12.1983

⑦ Erfinder:
Tschannen, Roland, Dr., Basel
Fraefel, Wolfgang, Prof. Dr., Grolley

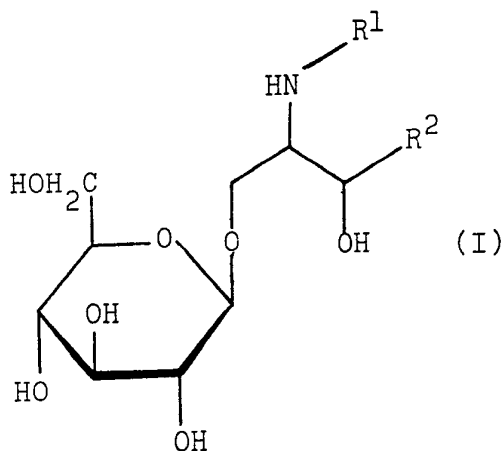
㉔ Patent erteilt: 15.01.1992

④ Patentschrift
veröffentlicht: 15.01.1992

⑦ Vertreter:
A. Braun, Braun, Héritier, Eschmann AG,
Patentanwäite, Basel

⑤ **Biologisch aktive Glukosyl-ceramide.**

⑤ Die Verbindungen der Formel:



jeglicher Genese, z.B. bei Ulcus cruris und Verbrennungen wirksam. In der Formel I bedeutet R₁ den Tetradecanoyl-, Hexadecanoyl- oder Octadecanoylrest oder die entsprechenden Acylreste mit einer α-Hydroxygruppe oder mit einer oder zwei Doppelbindungen in cis-Konfiguration, R₂ stellt den Pentadecanyl- oder Heptadecanylrest oder die entsprechenden Reste mit einer, zwei oder drei Doppelbindungen, von welchen jeweils eine in 1,2-Stellung sitzt und trans-Konfiguration aufweist, die andere oder anderen, wenn vorhanden, cis-Konfiguration aufweisen, dar.

entfalten eine zell- und geweberegenerierende Wirkung. Pharmazeutische Zubereitungen, die diese Verbindungen als Wirkstoff enthalten, sind zur Behandlung von Wunden

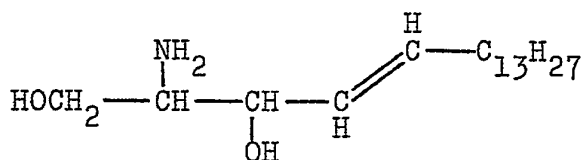
Beschreibung

Bei den bisher bekannten, im menschlichen Organismus vorkommenden Lipiden unterscheidet man zwei Gruppen: die humoralen, nicht strukturgebundenen Lipide und solche, welche Bestandteile von Zellstrukturen sind.

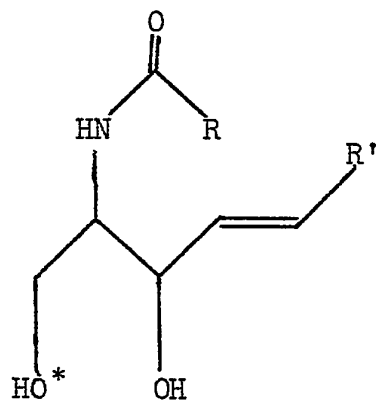
Zu den humoralen Lipiden, welche bei höheren Organismen eine biologische Funktion ausüben, gehören beispielsweise Steroidhormone und Prostaglandine. Letztere spielen bei entzündlichen Reaktionen der Gewebe eine Rolle.

Die strukturgebundenen Lipide spielen, neben der Energiespeicher-Funktion, vor allem in den Zellstrukturen, welche verschiedene Kompartimente der Zellen trennen, eine wichtige Rolle. In zunehmendem Mass wird erkannt, wie einzelne Lipide die Signalübertragung durch diese Membranen, z.B. durch die Veränderung der Membranfluidität (laterale Diffusionsgeschwindigkeit der Membranlipide) beeinflussen und steuern können. Im Verlauf eines Teilungszyklus der Zellen ändern sich die Membranzusammensetzung und damit die physikalischen Eigenschaften kontinuierlich. Als Komponenten dieser Membranen gelten vor allem Phospholipide, Sterine und Glykosphingolipide.

Die Glykosphingolipide sind Abkömmlinge der Ceramide, welche aus einem Aminodiol wie das Sphingosin



und einem langkettigen Fettsäurerest (RCO-) bestehen und der folgenden allgemeinen Formel entsprechen:



R, R' = langkettige
aliphatische
Radikale

Ceramide

An die mit * bezeichnete Hydroxylgruppe der Ceramide ist ein Kohlehydratanteil gebunden, welcher aus 1 bis 20 oder sogar mehr Zuckereinheiten bestehen kann.

Je nach der Natur des Kohlehydratanteils fallen die Glykosphingolipide in zwei Hauptklassen. Bei Verknüpfung des Ceramids mit einem oder mehreren Monosacchariden sind es die neutralen Glykosphingolipide – auch Cerebroside genannt, während die Verknüpfung mit einem Oligosaccharid, welches durch Acylneuraminsäuren (auch Sialinsäuren genannt) substituiert ist, die sauren Glykosphingolipide – auch Ganglioside genannt – ergibt. Letzteren werden Rezeptorfunktionen, z.B. für Viren und Toxine zugeschrieben; ferner sollen sie eine neuro-regenerative Wirkung haben.

Dieser Stand der Technik wird insbesondere durch folgende Abhandlungen veranschaulicht:

– K. Jungermann und H. Möhler: Biochemie, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York 1980, 448–452;

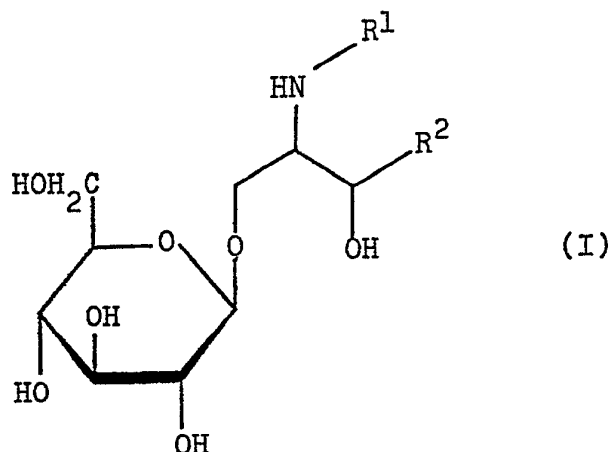
– S. Hakomori, Annual Review of Biochemistry 52 (1981), 733–764.

Bei den eigentlichen, aus dem Hirn stammenden Cerebroside besteht die Fettsäurekomponente meistens aus einer C₂₄-Carbonsäure, welche eine Hydroxylgruppe in α-Stellung oder eine Doppelbindung tragen kann. Beispielsweise findet sich im Kerasin die Lignocerinsäure C₂₄H₄₈O₂, im Nervon die Nervonsäure C₂₄H₄₆O₂, im Cerebron oder Phrenosin die Cerebronsäure C₂₄H₄₈O₂ und im Hydroxynervon die Hydroxynervonsäure C₂₄H₄₆O₃. In diesen und in den meisten Cerebroside besteht der Kohlehydratanteil aus 1 Mol Galaktose.

In neuerer Zeit sind weitere neutrale Glykosphingolipide entdeckt worden, welche eine Fettsäurekomponente mit kürzerer aliphatischer Kette und einen aus mehreren Zuckereinheiten bestehenden Kohlehydratanteil aufweisen. Diese Verbindungen sind aber nicht im Gehirn, sondern in anderen Organen, beispielsweise im Darm, in der Milz, in der Leber und in den Erythrozyten, gefunden worden, weshalb der Name Cerebroside nicht mehr oder nur für die zuvor erwähnte Gruppe verwendet werden sollte.

Überraschenderweise wurde nun eine neue Gruppe der neutralen Glykosphingolipide gefunden, welche sich gegenüber den oben erwähnten, bereits bekannten Verbindungen durch eine andere Fettsäurekomponente und/oder einen anderen Kohlehydratanteil, nämlich 1 Mol D-Glukose, auszeichnen. Diese neue chemische Struktur widerspiegelt sich in einer bei den Glykosphingolipiden bisher ebenfalls unbekannteren wundheilungsfördernden bzw. einer zell- und geweberegenerierenden Wirkung.

Diese Verbindungen lassen sich durch folgende Formel wiedergeben:



in welcher R¹ den Acylrest der Myristin-, Palmitin- oder Stearinsäure oder die entsprechenden Acylreste mit einer Hydroxylgruppe in α -Stellung oder mit einer oder zwei Doppelbindungen in cis-Konfiguration und R₂ den Pentadecanyl- oder Heptadecanylrest oder die entsprechenden C₁₅- und C₁₇-Reste mit einer, zwei oder drei Doppelbindungen, von welchen jeweils eine in 1,2-Stellung sitzt und trans-Konfiguration aufweist, die andere oder anderen, wenn vorhanden, cis-Konfiguration aufweisen, bedeutet.

Die chemische Struktur ist im Kohlehydratanteil homogen; dennoch ist die Vielfalt der wundheilungsfördernden Glukosphingolipide bemerkenswert. Dabei ist jedoch zu beachten, dass diese Vielfalt alleine durch Variation des Lipidanteils zustandekommt. Das erscheint biologisch sinnvoll, denn hauptsächlich die aus einer Membran nach aussen exponierten Teile eines Moleküls sind für die biologische Aktivität bestimmend. Die Fluidität von Membranen wird z.B. von Glukosphingolipiden beeinflusst, indem das Amidproton des Ceramids mit den Phosphatgruppen von Phospholipiden in Wechselwirkung treten kann und somit einer Lipidmembran mehr Stabilität verleiht als sie nur durch eine Phospholipid/Steroid-Wechselwirkung allein zustande kommen kann.

Als Quelle für die Glukosphingolipide eignen sich Organe und Körperflüssigkeiten von Säugetieren, z.B. Herz, Lunge, Muskeln, Milz, Eingeweide und Blut, vorzugsweise jedoch letzteres. Dabei ist zu beachten, dass dieses Ausgangsmaterial zur Anreicherung des Glukosphingolipids einer Autolyse unterworfen wird, wobei aber schnellwachsende Mikroorganismen zuerst entfernt, abgetötet oder zumindest deren Wachstum durch Zugabe von bakteriostatisch wirkenden Mitteln verhindert werden muss. Im Verlaufe dieser Autolyse werden durch nicht gesteuerte Enzymaktivitäten, wie z.B. Hydrolyse, längere Zuckerketten bis auf das beschriebene Grundgerüst abgebaut, so dass die Anwendung der Autolyse zu einer wesentlich höheren Ausbeute an den Glukosphingolipiden führt.

Die Verbindungen entfalten in vivo eine fördernde Wirkung auf die Zell- und Geweberegeneration. Diese Wirkung lässt sich auch in vitro, mit Hilfe von Zellkulturen, nachweisen. Wird nämlich in einer Zellkultur, beispielsweise eine Fibroblastenkultur, vorerst die Teilungsrate durch Einwirkung eines schädigenden Agens künstlich herabgesetzt und wird die Kultur danach mit den Verbindungen behandelt, so wird die Teilungsrate in kurzer Zeit wieder auf einen normalen, mit jenem einer gesunden, unbeschädigten Kultur vergleichbaren oder identischen Wert gebracht. Dieselbe Behandlung einer parallel geführten, aber gesunden Zellkultur bewirkt hingegen keine Veränderung der Teilungsrate. Es handelt sich also dabei nicht etwa um eine blosse mitotische Wirkung.

Infolge der beschriebenen fördernden Wirkung auf die Regenerationsmechanismen geschädigter Zellen eignen sich die Verbindungen für eine therapeutische Anwendung bei Wunden jeglicher Genese, insbesondere bei schlecht oder langsam heilenden Wunden oder Ulzerationen. In der Tat führen sie insbe-

sondere bei topischer Anwendung auf Wunden, wie Ulcus cruris, diabetischer Gangrän, Strahlenschäden, Verbrennungen und Hauttransplantationen zur Bildung von gesundem, gut durchblutetem neuen Gewebe ohne störende Narben.

Die beschriebenen Glukosphingolipide besitzen die gleiche wundheilungsfördernde Aktivität, ob sie nun in einer angereicherten Fraktion oder in gereinigter Form appliziert werden.

Im Tierversuch kann die erwähnte Heilwirkung wie folgt gezeigt werden:

Versuch 1

Ratten werden narkotisiert und die Fellhaare werden ihnen entfernt. Durch flaches Auflegen einer Metallscheibe von 2 cm Durchmesser und einer Temperatur von 270°C während 17 Sekunden wird beidseitig am Rumpf eine Verbrennungswunde verursacht. Die an Glukosphingolipiden angereicherte Fraktion oder die gemischten, im Lipidanteil heterogenen Glukosphingolipide werden in eine Geléegrundlage eingearbeitet und diese wird täglich zweimal auf die Wunde gestrichen. Es wird die Dauer bis zur Endheilung der Wunden gemessen. Gelées, welche die Glukosphingolipide enthalten, ergeben gegenüber der Kontrollgruppe eine Verkürzung der Abheilungsdauer um bis zu 21%.

Versuch 2

An Minipigs werden dorsal je vier Verbrennungswunden wie in Versuch 1 beschrieben und mit einem Hohlzylinder-Bohrer 4 Stanzwunden mit einem Durchmesser von 2,5 cm gesetzt. Die Wirkstoffe werden in eine Geléegrundlage eingearbeitet und die Wunden werden zweimal täglich mit dem Gelée bestrichen. Die Dauer bis zur Endheilung wird durch die Glukosphingolipide um bis zu 18% verkürzt.

Versuch 3

An Minipigs werden, wie in Versuch 1 beschrieben, Verbrennungswunden gesetzt. Nach 6, 12, 18 und 22 Tagen täglicher Wundbehandlung werden aus der Behandlungsgruppe Tiere entfernt und in Narkose getötet. Die Wunden werden ausgeschnitten, halbiert und in 4% gepuffertem Formalin fixiert. Diese Gewebestücke werden zu 4 µm dicken histologischen Paraffinschnitten verarbeitet. Folgende Parameter werden quantitativ erfasst:

1. Länge der epithelialisierten Wundoberfläche
2. Länge der nicht-epithelialisierten Wundoberfläche
3. Länge des Stratum basale der Epidermis
4. Fläche der neugebildeten Epidermis
5. Fläche von Haarfollikeln und Talgdrüsen

Die Auswertung der Parameter ergibt, dass die mit Glukosphingolipid-haltigem Gelée behandelten Tiere eine längere epithelialisierte Wundoberfläche und eine kürzere nicht-epithelialisierte Wundoberfläche haben als die mit einer wirkstofflosen Geléegrundlage behandelten Tiere.

Versuch 4

An narkotisierten Ratten werden 1 cm breite und 5 mm tiefe Stanzwunden gesetzt. In diese Wundlöcher werden Viskose-Zellulose-Hohlzylinder-Schwämme eingesetzt. In die innere Aushöhlung der Hohlzylinder werden täglich 100 µl einer glukosphingolipid-haltigen Lösung mit einem Gehalt an Glukosphingolipiden von 0,1 bis 15 µg/ml eingespritzt. 16 und 24 Tage nach der Implantation werden die Schwämme entnommen und auf den Gehalt an Hämoglobin, Desoxyribonukleinsäure und Hydroxyprolin untersucht. Die Wunden, welche mit den Glukosphingolipiden behandelt worden sind, haben einen signifikant höheren Hämoglobin-, DNS- und Hydroxyprolin-Gehalt in den Schwämmen als jene der Kontrolltiere.

Versuch 5

Fibroblasten-Zellkulturen, welche in einem Nährmedium, das mit Bicarbonat und CO₂-haltiger Atmosphäre bei pH 7,2 gepuffert ist, gewachsen sind, werden einem neuen Nährmedium ausgesetzt, das kein Bicarbonat enthält und das normaler Atmosphäre ausgesetzt ist, wobei der pH 7,2 durch Zugabe eines geeigneten, nicht-toxischen Puffers, wie 2-[4-(2-Hydroxyäthyl)-piperazin-1-yl]-äthansulfonsäure/NaOH-Lösung (HEPES), stabilisiert wird. Zellen, welche im Nährmedium kein Glukosphingolipid zur Verfügung haben, stellen das Wachstum nahezu ein, während sich Zellen in wirkstoffhaltigem Medium rasch erholen und die gleiche Wachstumsrate erlangen, wie Kontrollkulturen in bicarbonathaltigem Medium.

Gemessen wird die Wachstumsrate z.B. nach dreitägiger Glukosphingolipid-Wirkung, indem den Zellen während 5 Stunden ³H-Thymidin angeboten wird. Die Zellen werden danach durch osmotischen

Schock aufgeschlossen und die DNS wird auf einem Diäthylaminoäthyl-Filterpapier zurückgehalten. Die Radioaktivität dieser Filter wird gemessen.

Beispiel 1

5
10
15
Geschlachteten Kälbern wird das Blut entnommen und an Ort und Stelle sogleich mit Äthanol bis zu einer Konzentration von 20% behandelt, worauf die Bakteriostatika Methylparaben und Propylparaben – d.h. p-Hydroxybenzoesäure-methylester und -n-propylester – bis zu einer Konzentration von je 0,02% zugegeben werden. Während drei Tagen wird das Blut dann der Autolyse bei Raumtemperatur überlassen; es erfolgt dabei eine weitgehende Hämolyse und ein teilweiser Abbau von nicht beständigen Bestandteilen, gleichzeitig werden aus den Membranen Membrankomponenten herausgelöst. Das Autolysat wird nun vom Sediment durch Dekantieren befreit und die überstehende Flüssigkeit wird während drei Tagen statisch oder dynamisch durch eine Membran mit der Ausschlussgrenze 10 000 Daltons dialysiert. Bei Anwendung der dynamischen Dialyse werden das Dialysat und das Gegendialysat während drei Tagen im Gegenstromverfahren durch die Dialysmembran gepumpt, so dass immer ein optimales, d.h. möglichst grosses, Konzentrationsgefälle zugunsten der Substanzen mit einem Molekulargewicht unterhalb 10 000 Daltons, besteht.

Das Hämodialysat mit einem Trockengewicht von 5–80 mg/ml enthält Glukosphingolipide bis zu einem Gehalt von 15 µg/ml.

20
25
30
1,5 Liter Hämodialysat wird mit dem fünffachen Volumen einer Lösung von Chloroform und Methanol im Verhältnis 2:1 während 2 Stunden heftig vermischt. Die Phasen werden getrennt und die organische Phase wird in einem Rotationsverdampfer unter Vakuum getrocknet. Die trockene Substanz wird in 1,5 Liter Wasser gelöst und der Extraktionsvorgang wird weitere zwei Mal in gleicher Weise wiederholt. Das resultierende trockene Material (1,5 bis 5 g) wird in 20 ml Chloroform: Methanol = 2:1 gelöst und auf eine Kieselgelsäule, welche 1 cm Durchmesser hat und 60 cm lang ist, aufgetragen. Die Kieselgelsäule wurde vorher in Hexan äquilibriert. Nach der Probenauftragung wird die Säule während 2 Stunden mit Hexan gespült mit einem Durchfluss von 3 ml/min. Danach wird mit einem linearen Gradienten über 4 Stunden von 100% Hexan noch 80% Hexan/20% Isopropanol mit 2 ml/min. Durchfluss eluiert. Die Glukosphingolipide werden bei 19% bis 20% Isopropanol eluiert.

Beispiel 2

35
Die gemäss dem Beispiel 1 gereinigten Glukosphingolipide werden getrocknet und in 1 ml Chloroform: Methanol = 2:1 gelöst. Von dieser Lösung werden 20 µl in einem Hochdruck-Flüssigchromatographen mit einer C18-Umkehrphasen-Säule eingespritzt und mit 2 ml/min. 98% Methanol/2% Wasser eluiert.

Die Glukosphingolipide werden mit diesem Verfahren anhand des unterschiedlichen Lipidanteils aufgetrennt. Die Absorption des Eluates wird bei 206 nm gemessen. Es werden dabei mindestens 6 verschiedene Glukosphingolipid-Gruppen festgestellt.

Strukturaufklärung

40
45
a) Die gemäss Beispiel 1 gereinigten Glukosphingolipide werden im Rotationsverdampfer getrocknet und in 5 ml 1-normaler Salzsäure in 80% Methanol gelöst. Die Lösung wird in einem stabilen verschlossenen Röhrchen während 18 Stunden auf 70°C erhitzt. Die Glukosphingolipide werden dabei in die Komponenten Fettsäuren, Sphingosine und Glukose hydrolysiert.

Das saure abgekühlte Hydrolysat wird 3 mal mit je 10 ml Diäthyläther intensiv gemischt und die organische Phase jeweils entfernt. Die Ätherphasen werden vereinigt, unter Stickstoffatmosphäre getrocknet und in einem kleinen Volumen Chloroform/Methanol gelöst.

50
55
Diese Lösung wird mit p-Brom-phenacylbromid verestert und das Produkt in einem Hochdruckflüssigchromatographen mit einer C-18-Umkehrphasen-Säule injiziert. Die Säule (25 cm × 0,4 cm) wird mit 1 ml/min. Methanol: Acetonitril: Wasser = 82:9:9 eluiert und die Absorption des Eluates bei 254 nm wird gemessen. Ein Vergleich der Retentionszeiten der eluierten Substanzen mit denjenigen von käuflichen Fettsäuren, welche in gleicher Weise mit p-Bromphenacylbromid verestert wurden, ergibt, dass die ursprünglich an das Glukosphingolipid gebundenen Fettsäuren folgende Moleküle sind:

Myristinsäure C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Palmitoleinsäure C ₁₆ H ₃₀ O ₂
Palmitinsäure C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Ölsäure C ₁₈ H ₃₄ O ₂
Stearinsäure C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Linolsäure C ₁₈ H ₃₂ O ₂
α-Hydroxypalmitinsäure C ₁₆ H ₃₂ O ₃	
α-Hydroxystearinsäure C ₁₈ H ₃₆ O ₃	

65

b) Die bei der Hydrolyse gemäss Abschnitt (a) verbleibende wässrige Phase wird mit 0,2 M Natriumboratpuffer auf pH 8,5 eingestellt und in gleicher Weise 3 mal mit je 10 ml Diäthyläther extrahiert. Die gesammelten Ätherphasen werden vereinigt und unter Stickstoffatmosphäre auf 1 ml eingeeengt. Dazu wird 1 ml einer Lösung von 1 mg/ml Fluorescamin in Diäthyläther gegeben. Das Fluorescamin bindet die durch die Hydrolyse freigesetzte Aminogruppe der Sphingosine und ergibt ein Produkt, welches durch Anregung bei 380 nm bei 480 nm fluoresziert.

10 µl dieser Lösung werden in einen Hochdruckflüssig-Chromographen mit einer C18-Umkehrphasen-Säule eingespritzt. Die Säule wird mit einem linearen Gradienten von 60/40 Methanol: Wasser bis 100% Methanol, 1 ml/min während 15 Minuten, eluiert und die Fluoreszenz des Eluates bei 380 nm Excitationswellenlänge und 480 nm Emissionswellenlänge gemessen.

Es werden peaks festgestellt, deren Retentionszeiten den Sphingosinen mit folgenden aliphatischen Ketten entsprechen:

C ₁₈ -Kette	4-Hydroxy-C ₁₈ -Kette
C ₂₀ -Kette	4-Hydroxy-C ₂₀ -Kette
C ₁₈ -Kette mit 2 Doppelbindungen	
C ₂₀ -Kette, gesättigt (Phytosphingosin)	

c) Die verbleibende wässrige Phase aus den Abschnitten (a) und (b) wird mit 0,3 M Triäthanolamin-Puffer auf pH 7,5 eingestellt. Zu dieser Lösung werden 6,8 µg/ml Hexokinase (1,0 Einheit/ml), 10 mM Adenosintriphosphat, 6,8 µg/ml Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (1,0 Einheit/ml) und 0,8 mM Nicotinsäureamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADP) gegeben. Nach 10-minütiger Inkubation wird die Absorption bei 340 nm gemessen. Dieser Wert ist ein Mass für die vorhandene Glukosemenge.

Charakterisierung

a) Von den gemäss Beispiel 1 gereinigten Glukosphingolipiden werden 5–50 µg auf eine Kieselgel-Dünnschichtplatte punktförmig aufgetragen. Die Platte wird in Chloroform: Methanol: Wasser = 85:14:1 entwickelt und dann getrocknet. Daraufhin wird sie um 90° gewendet in einem neuen Fließmittel, nämlich 90% Ameisensäure: Methanol: Chloroform = 12:18:90 entwickelt. Die Dünnschicht-Platte wird nach dem Trocknen mit einer Lösung von 0,1% Orcinol, 2 M H₂SO₄ und 50%igem Äthanol besprüht und dann während 2 bis 10 Minuten bei 120°C getrocknet. Die Glukosphingolipide erscheinen als violettblauer Fleck bei R_{fI} / R_{fII} = 0,20 / 0,42.

b) 1 mg der nach Beispiel 1 gereinigten Glukosphingolipide wird in 0,5 ml Dimethylsulfoxid gelöst. In einen Protonen-Kernresonanz-Spektrometer werden die chemischen Verschiebungen bei einer Anregung mit 360 MHz gemessen. Das Spektrum ergibt folgende, für Glukosphingolipide charakteristische funktionelle Gruppen:

Tabelle I

Proton(en)	δ (ppm)
Amidproton von Ceramid	7,5
Olefinische Protonen	5,4–5,6
1-H der Glukose	4,1
Methylengruppen	1,2
terminale Methylgruppen	0,85

c) Eine Lösung von 5 mg/ml der nach Beispiel 1 gereinigten Glukosphingolipide wird in Chloroform:Methanol = 2:1 gelöst und ein Teil dieser Lösung wird auf den Probenträgerdraht eines Felddesorptions-Massenspektrometers gebracht. Das Massenspektrum wird unter folgenden Bedingungen aufgenommen:

Gerät: MAT 212

Beschleunigungsspannung: + 3 kV

Kathoden-Potential: – 5,2 kV

Ionenquellen-Temperatur: 90°C

Emitter-Heizstrom: 23–26 mA

Es werden peaks mit folgenden Massenzahlen festgestellt:

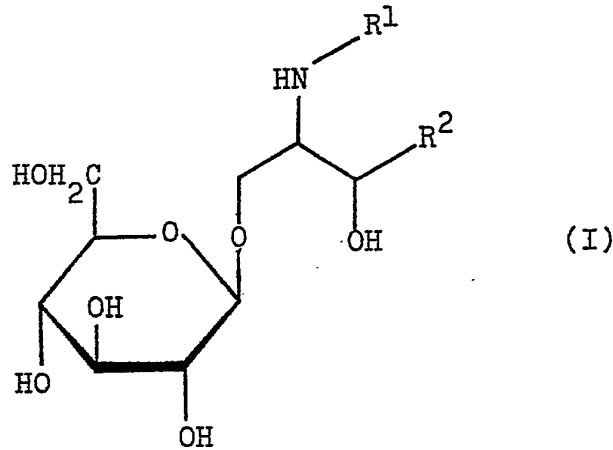
Tabelle II

	Fettsäuren	Sphingosin	Doppelbindung(en)	Massenzahl
5	C14	C18	1	671
	C16	C18	1	699
	C18	C18	1	727
10	C20	C18	1	755
	C14	C20	1	699
	C16	C20	1	727
	C18	C20	1	755
15	C20	C20	1	783
	C14	C18	2	669
	C16	C18	2	697
	C18	C18	2	725
20	C20	C18	2	753
	C14	C20	2	697
	C16	C20	2	725
	C18	C20	2	753
25	C20	C20	2	781
	C14	C18	3	667
	C16	C18	3	695
30	C18	C18	3	723
	C20	C18	3	751
	C14	C20	3	695
	C16	C20	3	723
35	C18	C20	3	751
	C20	C20	3	679
	C14	C18	0	673
	C16	C18	0	701
40	C18	C18	0	729
	C20	C18	0	757
	C14	C20	0	701
45	C16	C20	0	729
	C18	C20	0	757
	C20	C20	0	785
	C14, -OH	C18	0	687
50	C16, -OH	C18	0	715
	C18, -OH	C18	0	743
	C20, -OH	C18	0	771
	C14, -OH	C20	0	715
55	C16, -OH	C20	0	743
	C18, -OH	C20	0	771
	C20, -OH	C20	0	799
60				
65				

Patentansprüche

1. Als wundheilungsfördernde bzw. zell- und geweberegenerierende Stoffe die Verbindungen der Formel:

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



in welcher R¹ den Acylrest der Myristin-, Palmitin- oder Stearinsäure oder die entsprechenden Acylreste mit einer Hydroxylgruppe in α -Stellung oder mit einer oder zwei Doppelbindungen in cis-Konfiguration und R² den Pentadecanyl- oder Heptadecanylrest oder die entsprechenden C₁₅- und C₁₇-Reste mit einer, zwei oder drei Doppelbindungen, von welchen jeweils eine in 1,2-Stellung sitzt und trans-Konfiguration aufweist, die andere oder anderen, wenn vorhanden, cis-Konfiguration aufweisen, bedeutet.

2. Pharmazeutische Zubereitung zur Behandlung von Wunden, insbesondere Ulcus cruris, diabetische Gangrän, Strahlenschäden, Verbrennungen und Hauttransplantationen, dadurch gekennzeichnet, dass sie als Wirkstoff eine Verbindung der Formel I gemäss Anspruch 1 enthält.