



NORGE

(12) PATENT

(19) NO

(11) 313577

(13) B1

(51) Int Cl⁷ A 61 K 49/00

Patentstyret

(21) Søknadsnr	19940956	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	1992.09.02, PCT/US92/07250
(22) Inng. dag	1994.03.16	(85) Videreferingsdag	1994.03.16
(24) Løpedag	1992.09.02	(30) Prioritet	1991.09.17, US, 761311
(41) Alm. tilgj.	1994.03.16		1992.06.05, US, 893657
(45) Meddelt dato	2002.10.28		

(71) Patenthaver	Amersham Health AS, Postboks 4220 Nydalen, 0401 Oslo, NO
(72) Oppfinner	Steven C Quay, Pacific Palisades, CA 90272, US
(74) Fullmektig	Amersham Health AS v/Tove Aas Helge, 0401 Oslo

(54) Benevnelse **Gassformige ultralydkontrastmedia og gasser for anvendelse i fremstilling av ultralydkontrastmedia**

(56) Anførte publikasjoner Ingen

(57) Sammendrag

Midler for å forsterke kontrasten på et ultralydbilde er her redegjort for. Disse midler er ekstremt små bobler, eller "mikrobobler", som utgjøres av spesielt valgte gasser. De her beskrevne mikrobobler oppviser lange levetider i oppløsning og kan produseres med en størrelse som er tilstrekkelig liten til å traversere lungene, hvorved forbedret ultralydabbildning av det kardiovaskulære system og andre vitale organer muliggjøres. En fremgangsmåte for å velge gasser fra hvilke kontrastmidler kan produseres er også her redegjort for. Fremgangsmåten er basert på beregninger under anvendelse av ibboende fysikalske egenskaper til gasser og beskriver et middel for å assosiere egenskapene til en gass med tiden for oppløsning av mikrobobler som utgjøres av gassen.

5

Beskrivelse

Denne oppfinnelse angår midler som forsterker kontrasten i et ultralydbilde utviklet for anvendelse ved medisinsk diagnose. De kontrastforsterkende media som det her er redegjort for, utgjøres av ekstremt små gassbobler som er tilstede i en oppløsning som blir infusert inn i legemet under eller like før et ultralydbilde blir utviklet. Denne oppfinnelse er også rettet på anvendelse av gasser fra hvilke en samling av frie gassmikrobobler kan fremstilles som har nye og overlegne egenskaper. Disse mikrobobler som består av gassene hvis valg er gjort mulig ifølge denne oppfinnelse, kan ha en ekstremt liten størrelse og likevel overleve i blodstrømmen tilstrekkelig lenge til å muliggjøre kontrastforsterket avbildning av deler av det kardiovaskulære system, perifere vaskulære system og vitale organer som tidligere ble antatt å være utilgjengelige for frie gassmikrobobler.

Bakgrunn

Når ultralyd anvendes for å få et bilde av de innvendige organer og strukturer hos et menneske eller et dyr, blir ultralydbølger -- bølger av lydenergi med en frekvens over den som kan skjernes av det menneskelige øre -- reflektert etterhvert som de passerer gjennom legemet. Forskjellige typer av kroppsvev reflekterer ultralydbølgene forskjellig, og de refleksjoner, ofte betegnende beskrevet som "ekkoer", som produseres av ultralydbølgene som blir reflektert fra forskjellige innvendige strukturer, blir detektert og elektronisk omdannet til en synlig fremvisning. Denne fremvisning kan vise seg å være uvurderlig for en lege eller annen diagnostiker på mange måter, innbefattende vurdering av forløpet av kardiovaskulær sykdom eller forekomsten eller arten av en svulst.

For enkelte medisinske tilstander er oppnåelse av et nyttig bilde av organet eller strukturen av interesse spesielt vanskelig på grunn av at strukturens detaljer

kan hende ikke er mulig å skjelne fra det omgivende vev på et ultralydbilde produsert ved refleksjon av ultralydbølger i fravær av et kontrastforsterkende middel. I tillegg har tradisjonelle ultralydbilder notorisk dårlig kvalitet og oppløsning. Av disse grunner kan deteksjon og observasjon av visse fysiologiske tilstander bli vesentlig forbedret ved å

5 forsterke kontrasten på et ultralydbilde ved å infusere et middel i et organ eller en annen struktur av interesse. I andre tilfeller er deteksjon av det kontrastforsterkende middels bevegelse som sådan av spesiell viktighet. For eksempel kan et tydelig blodstrøm-mønster som vites å være resultatet av spesielle kardiovaskulære abnormaliteter bare kunne identifiseres ved infusjon av et kontrastmiddel i blodstrømmen og ved å ob-

10 servere blodstrømmens dynamikk.

Medisinske forskere har gjort omfattende undersøkelse av bruk av faste stoffer, gasser og væsker i et forsøk på å oppdage ultralydkontrastforsterkende midler som er egnede for spesielle diagnostiske formål. Sammensatte stoffer, så som gelatininnkapslede mikrobobler, gassinneholdende liposomer, ultralydbehandlede delvis

15 denaturerte proteiner og emulsjoner som inneholder sterkt fluoreerte organiske forbindelser, er også blitt undersøkt i et forsøk på å utvikle et middel som har visse ideelle kvaliteter, primært stabilitet i legemet og evnen til å gi betydelig forsterket kontrast på et ultralydbilde.

Små bobler av en gass, betegnet som "mikrobobler", kan lett oppdages på

20 et bilde produsert under anvendelse av standard ultralydabildningsmetoder. Når de infuseres i blodstrømmen eller på et spesielt sted i legemet, forsterker mikroboblene kontrasten mellom området som inneholder mikroboblene og det omgivende vev.

En vesentlig del av forskningsinnsatsen som er blitt rettet mot kontrastforsterkende midler, er blitt fokusert på anvendelse av ekstremt små gassbobler.

25 Forskere har lenge kjent til at frie gassbobler gir et sterkt effektivt kontrastmiddel på grunn av at en gassboble har unike fysikalske kjennetegn som påvirker ultralydenergi når denne dirigeres gjennom legemet. De fordeler som frie gassbobler byr på, i motsetning til flytende eller faste midler som oppviser kontrastforsterkning, er detaljert beskrevet nedenfor i sammenheng med omtalen av ultralyddiagnostiseringsmetoder.

30 Til tross for de kjente fordeler begrenser imidlertid den hurtige oppløsning av frie gassbobler i oppløsninger, så som blod eller mange vandige intravenøse oppløsninger, deres anvendelse som et ultralydkontrastforsterkende middel alvorlig. De

viktigste begrensninger er mikroboblens størrelse og lengden av den tid som en mikroboble vil eksistere før den oppløses.

I henhold til nærmere undersøkelse av størrelseskravene til mikrobobler må gassboblene selvfølgelig være tilstrekkelig små til at en suspensjon av boblene ikke medfører embolirisiko for organismen i hvilken de infuseres. Samtidig oppløses
5 ekstremt små frie gassbobler bestående av gassene som generelt anvendes ved ultralydkontrastavbildning, i oppløsning så hurtig at deres bildeforsterkende evne bare eksisterer umiddelbart nær infusjonsstedet. En ytterligere hindring forekommer for ultralydabildning av det kardiovaskulære system. Medisinske forskere har studert den
10 tid som er nødvendig for at mikrobobler som består av vanlig luft, rent nitrogen, rent oksygen eller karbondioksid, skal bli oppløst i oppløsning. Mikrobobler av disse gasser som er tilstrekkelig små til at de kan passere gjennom lungene og nå til det venstre hjerte, med diameter som er mindre enn ca. 8 μm , har en levetid på mindre enn ca. 0,25 sekunder. Meltzer, R.S., Tickner, E.G., Popp, R.L., "Why Do the Lungs Clear
15 Ultrasonic Contrast?" Ultrasound in Medicine and Biology, Vol. 6, s. 263, 267 (1980). Da det tar over 2 sekunder for blod å passere gjennom lungene, vil mikrobobler av disse gasser blir fullstendig oppløst når de passerer gjennom lungene, og vil aldri nå frem til det venstre hjerte. Ibid. Primært på grunn av dette kompromiss mellom boblestørrelse og levetid har mange forskere konkludert med at frie gassmikrobobler ikke var nyttige som
20 kontrastforsterkende middel for ultralyddiagnose av visse deler av det kardiovaskulære system.

De her beskrevne ultralydforsterkende media omfatter imidlertid mikrobobler, som består av de biokompatible gasser hvis valg også tilveiebringes ved oppfinnelsen, som er tilstrekkelig små til at de passerer gjennom den pulmonale kapil-
25 lardiameter på ca. 8 μm og tillater derved kontrastforsterket ultralyddiagnose av hjertets venstre kammere. De frie gassmikrobobler overlever tilstrekkelig lenge i blodstrømmen til at de kan perifert infuseres intravenøst, vandre gjennom det høyre hjerte, gjennom lungene og inn i de venstre hjertekammere uten å gå i oppløsning. Dessuten har visse av disse media ekstremt lang varighet i oppløsning og vil muliggjøre kontrastforsterkning
30 av mange andre organer og strukturer.

Oppfinnelsen overvinner mange av de iboende begrensninger som må antas å eksistere i forbindelse med anvendelsen av frie gassmikrobobler, ved valg av

spesielle gasser basert på spesielle fysikalske kriterier, slik at mikrobobler som består av disse gasser, ikke er beheftet med de samme begrensninger som de mikrobobler som tidligere er blitt undersøkt. De her beskrevne ultralydkontrastforsterkende media som omfatter en sammensetning av mikrobobler produsert under anvendelse av en

5 biokompatibel gass eller kombinasjon av gasser valgt etter de fysikalske og kjemiske parametre som her er redegjort for, kan eksistere i tilstrekkelig lang tid og ha tilstrekkelig liten størrelse til at deres stabilitet i blodstrømmen tillater forsterket ultralydkontrastavbildning av spesielle strukturer i legemet som tidligere ble antatt å være utilgjengelige for frie gassmikrobobler.

10 Ved å anvende betegnelsen "bioforenlig gass" menes en kjemisk enhet som er istand til å utfolde sine funksjoner i eller på en levende organisme på en akseptabel måte uten utillatelig giftighet eller fysiologiske eller farmakologiske virkninger og som ved temperaturen til den levende organisme befinner seg i en fysikalsk tilstand som er forskjellig fra de faste eller flytende tilstander, ved meget lav

15 tetthet og viskositet, relativt stor ekspansjon og kontraksjon med endringer i trykk og temperatur og spontan tendens til å bli jevnt fordelt gjennom en hvilken som helst beholder. Den følgende Tabell inneholder den antatte kroppstemperatur for forskjellige levende organismer:

20	Organisme	Rektumtemperatur (grader Celcius)
	Svin (<i>Sus Scrofa</i>)	38,6 - 39,2
	Får (<i>Ovis sp.</i>)	38,3 - 39,4
	Kanin (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	38,9 - 39,7
25	Rotte (<i>Tattus morvegicus</i>)	37,5 - 38,1
	Apekatt (<i>Macaca mulatta</i>)	38,3 - 38,9
	Mus (<i>Mus Musculus</i>)	36,7 - 38,3
	Geit (<i>Capra hircus</i>)	38,3 - 39,4
	Marsvin (<i>Cavia porcellus</i>)	38,9 - 40,0
30	Hamster (<i>Mesocricetus sp.</i>)	38,3 - 39,4
	Menneske (<i>Homo sapiens</i>)	37,0 - 38,0
	Hest (<i>Equus sp.</i>)	38,3 - 39,2

	Hund (Canin familiaris)	38,3 - 38,9
	Bavian (Papio)	36,7 - 37,8
	Katt (Felis catus)	38,3 - 38,9
	Kveg (Bos taurus)	38,6 - 39,2
5	Sjimpanse (Pan)	35,6 - 37,8

Metoder for å måle ultralydkontrastforsterkede fenomener

For mer fullstendig å forstå den foreliggende oppfinnelses gjenstand er det nyttig å beskrive hva som for tiden er kjent angående teknologien ved ultralyd-
 10 og å gi en oversikt over forskningen på forbedrede ultralydkontrastforsterkende midler i lys av dette.

Materialer som kan anvendes som ultralydkontrastmidler opererer ved at de utøver en virkning på ultralydbølger etterhvert som de passerer gjennom legemet og blir reflektert for å danne bildet fra hvilket en medisinsk diagnose gjøres. I et forsøk på å
 15 utvikle et effektivt bildekontrastmiddel erkjenner en fagmann at forskjellige typer av stoffer påvirker ultralydbølger på forskjellige måter og i varierende grad. Dessuten kan visse effekter forårsaket av kontrastforsterkende midler lettere måles og observeres enn andre. Ved valg av en ideell sammensetning for et kontrastforsterkende middel vil man således foretrekke det stoff som har den mest dramatiske virkning på ultralydbølgen
 20 etterhvert som denne passerer gjennom legemet. Dessuten bør effekten på ultralyd- bølgen lett kunne måles. Det er tre hovedkontrastforsterkende effekter som kan ses på et ultralydbilde: birefleks, stråledempning og lydforskjellshastighet. Hver av disse effekter vil bli beskrevet i sin tur.

25 A. BIREFLEKS

Når en ultralydbølge som passerer gjennom legemet, støter på en struktur, så som et organ eller annet kroppsvev, reflekterer strukturen en del av ultralydbølgen. Forskjellige strukturer i legemet reflekterer ultralydenergi på forskjellige måter og med varierende styrke. Den reflekterte energi oppdages og anvendes for å danne et bilde av
 30 strukturene gjennom hvilke ultralydbølgen har passert. Betegnelsen "birefleks" refererer seg til det fenomen hvor ultralydenergi av et stoff med visse fysiske egenskaper blir kastet spredt tilbake mot kilden.

Det har lenge vært erkjent at kontrasten iakttatt på et ultralydbilde kan forsterkes ved nærvær av stoffer som vites å forårsake sterk birefleks. Når et slikt stoff gis til en bestemt del av legemet, blir kontrasten mellom ultralydbildet av denne del av legemet og de omgivende vev som ikke inneholder stoffet, forsterket. Det er klart
5 forstått at på grunn av deres fysikalske egenskaper forårsaker forskjellige stoffer birefleks i varierende grad. Jakten på kontrastforsterkende midler er derfor blitt fokusert på stoffer som er stabile og ugiftige og som oppviser den maksimale mengde birefleks.

Under visse antagelser angående måten et stoff reflekterer ultralydenergi på, er matematiske formler blitt utviklet som beskriver birefleksfenomenet. Ved bruk av
10 disse formler kan en dyktig forsker anslå gassformige, flytende og faste kontrastforsterkende midlers evne til å forårsake birefleks, og den grad med hvilken et spesielt stoff forårsaker målbar birefleks kan sammenlignes med andre stoffer basert på de fysikalske kjennetegn som vites å forårsake birefleksfenomenet. Som et enkelt eksempel kan det angis at et stoffs A evne til å forårsake birefleks, vil være større enn stoffets B
15 dersom stoffet A er større enn stoffet B idet alle andre faktorer er like. Når således begge stoffer påtreffes av en ultralydbølge, vil det større stoff kaste en større mengde av ultralydbølgen tilbake.

Et stoffs evne til å forårsake birefleks av ultralydenergi er også avhengig av andre kjennetegn ved stoffet, så som dets evne til å bli sammenpresset. Av spesiell
20 viktighet er den dramatiske økning i birefleks forårsaket av gassbobler på grunn av bobleresonansfenomenet som er beskrevet nedenfor. Når forskjellige stoffer undersøkes, er det nyttig å sammenligne ett spesielt mål på et stoffs evne til å forårsake birefleks og som er kjent som "spredningstverrsnitt".

Spredningstverrsnittet til et spesielt stoff er proporsjonalt med
25 spredningsstoffets radius og er også avhengig av ultralydenergiens bølgelengde og av andre av stoffets fysikalske egenskaper, J. Ophir og K.J. Parker, Contrast Agents in Diagnostic Ultrasound, Ultrasound in Medicine & Biology, vol. 15, n. 4, s. 319, 323 (1989).

Spredningstverrsnittet til et lite spredningsstoff, a , kan bestemmes ved hjelp av en kjent ligning:

$$\sigma = \left[\frac{4}{9} \pi a^2 (ka)^4 \right] \left[\left| \frac{\kappa_s - \kappa}{\kappa} \right|^2 + \frac{1}{3} \left| \frac{3(\rho_s - \rho)}{2\rho_s - \rho} \right|^2 \right]$$

hvor $k = 2\pi/\lambda$, hvori λ er bølgelengden, a = spredningsstoffets radius, κ_s =

- 5 spredningsstoffets adiabatisk sammenpressbarhet, κ = adiabatisk sammenpressbarhet til det medium i hvilket spredningsstoffet foreligger, ρ_s = spredningsstoffenes tetthet og ρ = tettheten til det medium i hvilket spredningsstoffet foreligger. P.M. Morse og K.U. Ingard, Theoretical Acoustics, s. 427, McGraw Hill, New York (1968).

- Ved vurdering av nytten av forskjellige stoffer som bildekontrastmidler
10 kan denne ligning anvendes for å bestemme hvilke midler som har det høyere spredningstverrsnitt og dermed hvilke midler som vil gi den sterkeste kontrast på et ultralydbilde.

- Under henvisning til den ovenstående ligning kan den første kvantitet i klammerparentes i den ovenstående ligning antas å være konstant for sammenligning av
15 faste, flytende og gassformige spredningsstoffer. Det kan antas at sammenpressbarheten til en fast partikkel er langt mindre enn til det omgivende medium og at partikkelens tetthet er langt større. Med denne antagelse er spredningstverrsnittet for et kontrastforsterkende middel i form av en fast partikkel blitt anslått til 1,75. Ophir og Parker, supra, s. 325.

- 20 For et rent flytende spredningsstoff er spredningsstoffets adiabatisk sammenpressbarhet og tetthet $\hat{e}_s$ og til det omgivende medium $\hat{e}$ sannsynligvis tilnærmet like hvilket, ut fra den ovenstående ligning, vil gi det resultat at væsker vil ha et spredningstverrsnitt på null. Væsker kan imidlertid oppvise en del spredt tilbakekasting dersom store volum av et flytende middel er tilstede, antagelig fordi betegnelsen a i den
25 første kvantitet i klammerparentes i den ovenstående ligning kan bli tilstrekkelig stor. Hvis for eksempel et flytende middel passerer fra en meget liten beholder til en meget stor beholder slik at væsken okkuperer i det vesentlige hele beholderen, kan væsken oppvise målbar spredt tilbakekasting. Ikke desto mindre vil fagfolk forstå i lys av den

ovenstående ligning og av det følgende at rene væsker er relativt ineffektive spredere sammenlignet med frie gassmikrobobler.

Det er kjent at endringer i de akustiske egenskaper til et stoff er fremherskende på grenseflaten mellom to faser, dvs. væske/gass, fordi refleksjons-
 5 kjennetegnene til en ultralydbølge endrer seg markert på denne grenseflate. Dessuten er spredningstverrsnittet til en gass sterkt forskjellig fra en væske eller et faststoff, til dels på grunn av at en gassboble kan sammenpresses i langt sterkere grad enn en væske eller et faststoff. De fysikalske kjennetegn til gassbobler i oppløsning er kjente, og standardverdier for sammenpressbarhet og tetthetstall for vanlig luft kan anvendes i den
 10 ovenstående ligning. Under anvendelse av disse standardverdier er resultatet for uttrykket i den annen klammerparentes alene i den ovenstående ligning ca. 10^{14} , Ophir og Parker supra, s. 325, idet det samlede spredningstverrsnitt varierer etterhvert som boblens radius a varierer. Dessuten oppviser frie gassbobler i en væske oscillerende bevegelse slik at ved visse frekvenser vil gassbobler svinge med ved en frekvens nær
 15 den til ultralydbølgene som er vanlig anvendt for medisinsk avbildning. Resultatet er at en gassbobles spredningstverrsnitt kan være over tusen ganger større enn dens fysikalske størrelse.

Det erkjennes derfor at gassmikrobobler er overlegne spredere for ultralydenergi og at de ville være et ideelt kontrastforsterkende middel dersom
 20 hindringen på grunn av deres hurtige oppløsning over i oppløsning vil kunne overvinnes.

B. STRÅLEDEMPNING

En annen effekt som kan iakttas ved nærvær av visse faste kontrast-
 25 forsterkende midler er dempningen av ultralydbølgen. Bildekontrast er blitt iakttatt ved tradisjonell avbildning på grunn av lokale dempningsforskjeller mellom visse vevstyper. K.J. Parker og R.C. Wang, "Measurement of Ultrasonic Attenuation Within Regions selected from B-Scan Images," IEEE Trans. Biomed. Engr. BME 30(8), s. 431-37 (1983); K.J. Parker, R. C. Wang, og R.M. Lerner, "Attenuation of Ultrasound
 30 Magnitude and Frequency Dependence for Tissue Characterization," Radiology, 153(3), s. 785-88 (1984). Den hypotese er blitt fremsatt at målinger av dempningen innen et vevsområde tatt før og etter infusjon av et middel kan gi et forsterket bilde. Teknikker

basert på dempningskontrast som et middel for å måle kontrastforsterkningen med et flytende middel har imidlertid ikke blitt godt utviklet og vil, selv dersom de hadde vært fullt utviklet, kunne være beheftet med begrensninger hva gjelder de interne organer eller strukturer med hvilke denne teknikk kan anvendes. Det er for eksempel

usannsynlig at et dempningstap på grunn av flytende kontrastmidler vil kunne bli iaktatt på bildet av det kardiovaskulære system på grunn av det høye volum av flytende kontrastmiddel som ville måtte være tilstede i en gitt beholder før en vesentlig forskjell i dempning kunne bli målt.

Måling av dempningskontrasten forårsaket av mikrokuler av Albunex

TM(Molecular Biosystems, San Diego, CA) in vitro er blitt oppnådd, og det er blitt foreslått at in vivo dempningskontrastmåling vil kunne oppnås. H. Bleeker, K. Shung, J. Burnhart, "On the Application of Ultrasonic Contrast Agents for Blood Flowometry and Assessment of Cardiac Perfusion", J. Ultrasound Med. 9:461-471 (1990). Albunex TM er en suspensjon av 2-4 µm innkapslede luftfylte mikrokuler som er blitt iaktatt å ha akseptabel stabilitet in vivo og har en tilstrekkelig liten størrelse til at kontrastforsterkning kan forekomme i det venstre forkammer eller ventrikkel. Dessuten er dempningskontrast som skyldes jodipamidetyler (IDE)-partikler akkumulert i leveren blitt iaktatt. Under slike omstendigheter antas kontrastforsterkningen å være resultatet av dempning av ultralydbølgen som oppstår ved nærværet av tette partikler i et mykt medium. Partiklenes energiabsorpsjon finner sted ved hjelp av en mekanisme som refereres til som "relativ bevegelse". Dempningsendringen forårsaket av relativ bevegelse kan påvises å øke lineært med partikkelkonsentrasjonen og med kvadratet av tetthetsforskjellen mellom partiklene og det omgivende medium. K.J. Parker, et al., "A Particulate Contrast Agent with Potential for Ultrasound Imaging of Liver," Ultrasound in Medicine & Biology, Vol. 13, nr. 9. s. 555, 561 (1987). Der hvor en vesentlig ansamling av faste partikler forekommer, kan derfor dempningskontrast være en brukbar mekanisme for å iaktta bildekontrastforsterkning selv om effekten er av langt mindre størrelsesorden enn spredningsfenomenet og forekommer å være av liten nytte for kardiovaskulære diagnoser.

C. LYDHASTIGHETSFORSKJELL

En ytterligere mulig teknikk for å forsterke kontrast på et ultralydbilde er

blitt foreslått og er basert på den kjensgjerning at lydhastigheten varierer i avhengighet av de media gjennom hvilke den passerer. Hvis et tilstrekkelig stort volum av et middel gjennom hvilket lydhastigheten er forskjellig fra gjennom det omgivende vev, kan infuseres i et måleområde, kan forskjellen i lydhastighet gjennom måleområdet være

5 målbar. For tiden er denne teknikk bare på eksperimentstadiet.

Hvis de tre ovenfor beskrevne teknikker for kontrastforsterkning av et ultralydbilde vurderes, er den markerte økning i refleksjon forårsaket av de frie gassmikrobobler den mest dramatiske effekt, og kontrastforsterkende midler for hvilke det trekkes fordel av dette fenomen vil være de mest ønskelige dersom hindringen som

10 beror på deres begrensede stabilitet i oppløsning kan overvinnes.

Materialer som for tiden anvendes som kontrastforsterkende midler

I lys av det som er kjent angående de forskjellige teknikker som er beskrevet ovenfor, har forsøk på å utvikle et kontrastforsterkende middel hvis nærvær

15 genererer vesentlig kontrast på et ultralydbilde og hvis overlevelse in vivo er tilstrekkelig lang til å muliggjøre kontrastforsterket avbildning av det kardiovaskulære system, ført til undersøkelse av en stor variasjon av stoffer -- gasser, væsker, faste stoffer og kombinasjoner av disse -- som potensielle kontrastforsterkende midler.

A. FASTE PARTIKLER

De faste stoffer som er blitt undersøkt som potensielle kontrastforsterkende midler er typisk ekstremt små partikler som produseres med jevn størrelse. Store antall av disse partikler kan infuseres og sirkulere fritt i blodstrømmen eller de kan injiseres i en spesiell struktur eller område i legemet.

25 IDE-partikler er faste partikler som kan produseres i store mengder med en relativt snever størrelsesfordeling på ca. 0,5-2,0 μm . Sterile saltoppløsningsinjeksjoner av disse partikler kan injiseres og er tilbøyelige til å bli akkumulert i leveren. Straks en vesentlig akkumulering finner sted, kan kontrastforsterkning oppnås enten ved dempningskontrast eller spredningsmekanismer. Selv om suspensjoner som omfatter

30 disse faste partikler dispergert i en væske kan oppvise akseptabel stabilitet, er sprednings- eller dempningseffektene relativt små sammenlignet med frie gassbobler, og en vesentlig akkumulering av partiklene må finne sted før nevneverdig kontrast iakttas

på et ultralydbilde. Anvendelse av disse suspensjoner er således blitt begrenset til visse celletyper i hvilke partiklene er tilbøyelige til å koagulere fordi kontrastforsterkningen vil være liten med mindre suspensjonen blir sterkt konsentrert i spesielt vev.

SHU-454 (Schering, A.G., Vest Berlin, Tyskland) er et eksperimentelt
5 kontrastforsterkende middel i pulverform som når det er blandet med et sakkarid-
tynningsmiddel, lager en suspensjon av krystaller med forskjellige romboide og poly-
edriske former som varierer i størrelse fra 5 til 10 μm . Selv om den nøyaktige
mekanisme ved hvilken disse krystaller forsterker ultralydkontrast ikke er helt forstått,
er det mistanke om at krystallene kan fange opp mikrobobler i deres struktur eller at
10 krystallene som sådanne kan kaste ultralydenergi tilbake ved en mekanisme som hittil
ikke er blitt bestemt.

B. VÆSKER OG EMULSJONER

I et annet forsøk på å oppnå et tilfredsstillende middel fremstilles
15 emulsjoner ved å kombinere en kjemisk stoff som er forlikelig med kroppsvev, og et
stoff som gir høy ultralydkontrastforsterkning. Europeisk patentsøknad 0231091 rede-
gjør for emulsjoner av olje i vann som inneholder sterkt fluorerte organiske forbindelser
som er blitt studert i forbindelse med deres mulige anvendelse som bloderstatning og
som også er istand til å gi forsterket kontrast på et ultralydbilde.

20 Emulsjoner som inneholder perfluoroktylbromid (PFOB) er også blitt
undersøkt. Perfluoroktylbromidemulsjoner er flytende forbindelser som vites å være
istand til å transportere oksygen. PFOB-emulsjoner har oppvist begrenset anvendbarhet
som ultralydkontrastmidler på grunn av tilbøyelighet til å bli akkumulert i visse typer av
celler. Selv om mekanismen ikke er helt forstått, kan PFOB-emulsjoner gi
25 ultralydkontrast på grunn av deres høye tetthet og relativt store sammenpress-
barhetskonstant.

US patent nr. 4900540 beskriver anvendelse av fosfolipidbaserte
liposomer som inneholder en gass eller gassforløper som et kontrastforsterkende middel.
Et liposom er en mikroskopisk, sfærisk vesikkel som inneholder et dobbeltlag av
30 fosfolipider og andre amfipatiske molekyler og et innvendig vandig hulrom, hvorav alle
er forlikelige med cellene i legemet. For de fleste formål blir liposomer anvendt som et
middel for å innkapsle biologisk aktive materialer. Den ovenstående henvisning

referanse for anvendelse av en gass eller gassforløpere innarbeidet i liposomkjernen for gi lengre levealder for gassen når den infuseres i legemet. Fremstilling av stabile liposomer er en kostbar og tidkrevende prosess som krever spesialiserte råmaterialer og utstyr.

5

C. MIKROBOBLER

Som nevnt ovenfor er størrelse en kritisk parameter som må tilfredsstilles av en mikroboble anvendt som et kontrastforsterkende middel. Frie gassmikrobobler som er større enn ca. 8 μm kan fremdeles være tilstrekkelig små til å unngå hindring av blodstrømmen eller inneslutning i det vaskulære system. Mikrobobler som er større enn 8 μm blir imidlertid fjernet fra blodstrømmen når blod strømmer gjennom lungene. Som nevnt ovenfor har medisinske forskere rapportert i den medisinske litteratur at mikrobobler som er tilstrekkelig små til å passere gjennom lungene, vil bli oppløst så hurtig at kontrastforsterkning av bilder av det venstre hjerte ikke er mulig med en fri gassmikroboble. Meltzer, R.S., Tickner, E.G., Popp, R.L., "Why Do the Lungs Clear Ultrasonic Contrast?" Ultrasound in Medicine and Biology, vol. 6, s. 263, 267 (1980).

15

Imidlertid er i erkjennelsen av fordelene som kan oppnås ved anvendelse av mikrobobler som kontrastforsterkende midler på grunn av deres store spredningstverrsnitt, betraktelig oppmerksomhet blitt fokusert på utvikling av blandinger som inneholder mikrobobler som gjøres stabile i oppløsning. Forsterkning av gassmikroboblers stabilitet kan oppnås ved hjelp av flere metoder.

20

Hver av de følgende metoder innbefatter i det vesentlige suspensjon av en samling av mikrobobler i et substrat i hvilket en boble av vanlig gass er mer stabil i blodstrømmen.

25

Ifølge ett forsøk blir mikrobobler dannet i viskøse væsker som injiseres eller infuseres i legemet mens ultralyddiagnosen er i gang. Teorien bak anvendelsen av viskøse fluider innbefatter et forsøk på å redusere den hastighet med hvilken gass oppløses i væsken og, når dette gjøres, for å tilveiebringe en mer stabil kjemisk omgivelse for boblene slik at deres levetid forlenges.

30

Flere variasjoner av den generelle metode er blitt beskrevet. EPO søknad nr. 0324938 beskriver en viskøs oppløsning av et bioforlikelig materiale, så som et humant protein, i hvilket mikrobobler er inneholdt. Dersom en viskøs proteinoppløsning

utsettes for ultralydbehandling, blir mikrobobler dannet i oppløsningen. Delvis denaturering av proteinet ved kjemisk behandling eller varme gir ytterligere stabilitet til mikroboblene i oppløsningen ved minskning av overflatespenningen mellom boble og oppløsning.

5 De ovenstående forsøk kan derfor klassifiseres som et forsøk på å forsterke stabiliteten til mikrobobler ved anvendelse av et stabiliserende medium i hvilket mikroboblene er inneholdt. Ingen av disse forsøk har imidlertid vært rettet på de primære fysikalske og kjemiske egenskaper til gass som alvorlig har begrenset anvendelsen av frie gassmikrobobler for ultralyddiagnose, spesielt med hensyn til det
10 kardiovaskulære system. Ingen av disse forsøk foreslår at valg av gassene, ved presise kriterier, vil gi evne til å produsere stabile mikrobobler med en størrelse som vil muliggjøre transpulmonal kontrastforsterket ultralydabildning.

Oppførselen til mikrobobler i oppløsning kan beskrives matematisk basert på visse parametre og kjennetegn for gassen fra hvilken boblen blir dannet og
15 oppløsningen i hvilken boblen er tilstede. I avhengighet av den grad med hvilken en oppløsning mettes med gassen fra hvilken mikroboblene blir dannet, kan mikroboblens overlevelsestid beregnes. P.S. Epstein, M.S. Plesset, "On the Stability of Gas Bubbles in Liquid-Gas Solutions," The Journal of Chemical Physics, Vol. 18. n. 11, 1505 (1950). Basert på beregninger er det klart at når boblens størrelse avtar, øker overflate-
20 spenningen mellom boble og omgivende oppløsning. Når overflatespenningen øker, øker den hastighet med hvilken boblen oppløses i oppløsningen hurtig, og boblens størrelse minsker derfor mer og mer hurtig. Den hastighet med hvilken boblen krymper øker således etterhvert som boblens størrelse minsker. Den endelige effekt av dette er at en populasjon av små frie gassbobler bestående av vanlig luft oppløses så hurtig at den
25 kontrastforsterkende effekt blir ekstremt kortvarig. Ved å anvende kjente matematiske formler kan man beregne at en mikroboble av luft som har en diameter på 8 μm , hvilken er tilstrekkelig liten til å passere gjennom lungene, vil oppløses i fra 190 til 550 milli-
sekunder avhengig av metningsgraden til den omgivende oppløsning. Basert på disse beregninger har medisinske forskere som studerer den måte på hvilken lungene fjerner
30 ultralydkontrastmiddel, beregnet oppløsningstidene for oksygen- og nitrogengass-
mikrobobler i menneske- og kaninblod og har konkludert at frie gassmikroboble-
kontrastmidler ikke vil muliggjøre kontrastforsterket avbildning av den venstre

ventrikkel på grunn av mikroboblenes ekstremt kortvarige levetid.

De fysikalske egenskaper til de systemer som omfatter gassbobler eller gasser oppløst i flytende oppløsninger, er blitt detaljert undersøkt, innbefattende diffusjonen av luftbobler dannet i kavitasjonsstrømmen av en væske og spredningen av lys og lyd i vann forårsaket av gassbobler.

Stabiliteten til gassbobler i væske-gassoppløsning er blitt undersøkt både teoretisk, Epstein P.S. og Plesset M.S., On the Stability of Gas Bubbles in Liquid-Gas Solutions, J. Chem. Phys. 18:1505-1509 (1950), og eksperimentelt, Yang WJ Dynamics of Gas Bubbles in Whole Blood and Plasma, J. Biomech 4:119-125 (1971); Yang WJ, Echigo R., Wotton DR, og Hwang JB, Experimental Studies of the Dissolution of Gas Bubbles in Whole Blood and Plasma-I. Stationary Bubbles. J. Biomech 3:275-281 (1971); Yang WJ, Echigo R., Wotton DR, Hwang JB, Experimental Studies of the Dissolution of Gas Bubbles in Whole Blood and Plasma-II. Moving Bubbles or Liquids. J. Biomech 4:283-288 (1971). De fysikalske og kjemiske egenskaper til væsken og gassen bestemmer systemets kinetiske og termodynamiske oppførsel. Systemets kjemiske egenskaper som påvirker en bobles stabilitet, og derved levetiden, er hastigheten og omfanget av reaksjon som enten forbruker, transformerer eller genererer gassmolekyler.

For eksempel finner en reaksjon som iakttas mellom en gass og en væske sted når karbondioksidgass er tilstede i vann. Etterhvert som gassen oppløses i den vandige oppløsning blir karbonsyre dannet ved hydratisering av karbondioksidgassen. Fordi karbondioksidgass er sterkt oppløselig i vann, diffunderer gass hurtig inn i oppløsningen, og boblestørrelsen avtar hurtig. Nærværet av karbonsyren i oppløsningen endrer syre-base-kjemien til den vandige oppløsning, og etterhvert som oppløsningens kjemiske egenskaper endres ved oppløsning av gassen, endres stabiliteten til karbondioksidgassboblene etterhvert som oppløsningen blir mettet. I dette system er oppløsningshastigheten for en gassboble delvis avhengig av konsentrasjonen av karbondioksidgass som allerede er oppløst i oppløsningen.

I avhengighet av den spesielle gass eller væske som er tilstede i systemet, kan imidlertid gassen være i det vesentlige uoppløselig i væsken, og oppløsning av en gassboble vil bli langsommere. I denne situasjon er det blitt oppdaget at det er mulig å beregne boblestabilitet i et gass-væske-system ved å undersøke visse fysikalske

parametre for gassen.

KORTFATTET BESKRIVELSE AV METODEN

Det er blitt oppdaget at det er mulig å identifisere kjemiske systemer hvor
5 ekstremt små gassbobler ikke er reaktive i en vandig oppløsning. Ved benyttelse av den
her beskrevne metode kan en fagmann spesielt velge spesielle gasser basert på deres
fysikalske og kjemiske egenskaper for anvendelse ved ultralydabildning. Disse gasser
kan anvendes for å produsere de kontrastforsterkende media som også er den fore-
liggende oppfinnelses gjenstand. Mikroboblene kan produseres under anvendelse av
10 visse eksisterende metoder for hvilke vanlig luft anvendes, og kan infuseres som ved
tradisjonell ultralyddiagnose.

Metoden krever at beregninger utføres i overensstemmelse med de her
presenterte ligninger, basert på de egne fysikalske egenskaper til en gass og en væske.
Spesielt anvendes tettheten til en gass, oppløseligheten til en gass i oppløsning og
15 diffunderbarheten til en gass i oppløsning, som på sin side er avhengig av det molare
volum av gassen og oppløsningens viskositet, i de ligninger som er presentert nedenfor.
Ved den her beskrevne metode kan således de fysikalske egenskaper til et gitt gass-
væske-system vurderes, hastigheten og omfanget av boblekollaps kan anslås, og gasser
som vil utgjøre effektive kontrastforsterkende midler, kan velges på basis av disse be-
20 regninger. Ved anvendelse av eksisterende metoder kan så sterkt forbedrede kontrast-
forsterkende media fremskaffes og anvendes for å forbedre kvaliteten og nytten av
ultralydabildning.

DETALJERT BESKRIVELSE AV METODEN

25 For å forstå fremgangsmåten er det av nytte å utlede de matematiske
relasjoner som beskriver parameterne til et gass-væske-system, og virkningen av boble-
stabilitet som forekommer når en verdi for én eller flere av disse parametre endres. Det
antas at, på et opprinnelig tidspunkt, T_0 , blir en sfærisk gassboble av gass X, med en
radius R_0 , plassert i en oppløsning i hvilken den opprinnelige konsentrasjon av gass X
30 oppløst i oppløsningen er lik null. Over en viss tidsperiode vil boblen av gass X bli
oppløst i løsningsmidlet på hvilket tidspunkt dens radius R vil være lik null. Anta videre
at oppløsningen er ved konstant temperatur og trykk og at den oppløste

gasskonsentrasjon for en oppløsning mettet med den spesielle gass betegnes med C_s .

Ved T_0 er således konsentrasjonen av gassen i oppløsningen null, hvilket betyr at intet av gassen hittil er blitt oppløst, og at all gass som er tilstede, fremdeles er inneholdt i boblen med radius R_0 .

Etterhvert som tiden går vil boblen på grunn av forskjellen i konsentrasjon mellom gassen i boblen og gassen i oppløsningen være tilbøyelig til å krympe etterhvert som gass i boblen blir oppløst i væsken ved diffusjonsprosessen. Endringen i bobleradius fra dens opprinnelige radius R_0 til en mindre radius R etter at en spesiell tidsmengde har passert, er uttrykt ved en ligning (1),

$$\frac{R}{R_0} = \left[1 - \left(\frac{2DC_s}{\rho R_0^2} \right) T \right]^{1/2}$$

hvor R er bobleradiusen på tidspunktet T , D er diffusjonskoeffisienten for den spesielle gass i væsken, og ρ er tettheten til den spesielle gass som boblen består av.

Det følger at tiden T som er nødvendig for at en boble skal bli fullstendig oppløst, kan bestemmes ut fra ligning (1) ved å sette $R/R_0 = 0$ og å løse med hensyn til T :

Ligning (2)

$$T = \frac{R_0^2 \rho}{2DC_s}$$

Dette resultat indikerer kvalitativt at boblestabilitet, og dermed levetid, forsterkes ved å øke den opprinnelige boblestørrelse R_0 eller ved å velge en gass med høyere tetthet ρ , lavere oppløselighet C_s i den flytende fase eller en lavere diffusjonskoeffisient D .

Diffusjonsevnen D til en gass i en væske er avhengig av det molare volum av gassen (V_m) og oppløsningens viskositet (η) som uttrykt ved en kjent ligning:

(Ligning 3)
$$D = 13,26 \times 10^{-5} \cdot \eta^{-1,14} \cdot V_m^{-0,589}$$

Ved å erstatte uttrykket for D som er gitt i ligning (3), over i ligning (2) viser det seg at boblestabilitet forsterkes ved å anvende gasser med større molart volum V_m , hvilke er tilbøyelige til å ha en høyere molekylvekt, og væsker med høyere viskositet.

Som et eksempel kan en sammenligning mellom stabiliteten til luftmikrobobler og mikrobobler bestående av gasser spesielt valgt ved den her beskrevne fremgangsmåte, foretas. Dersom verdien til D for luft i vann ved 22°C settes til $2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ sek}^{-1}$ og forholdet $C_s/\rho = 0,02$ (Epstein og Plesset, Ibid.), fås de følgende data for tiden t for fullstendig

oppløsning av luftbobler i vann (umettet med luft):

Tabell I

OPPRINNELIG BOBLEDIAMETER, μm	TID, millisekunder
12	450
10	313
8	200
6	113
5	78
4	50
3	28
2	13
1	3

Dersom blodovergangstiden fra de pulmonale kapillarer til den venstre ventrikkle er to sekunder eller mer (Hamilton, W.F. redaktør, Handbook of Physiology, Vol. 2, del 2, CIRCULATION. American Physiology Society, Washington, D.C., s. 709, (1963)), og idet det erkjennes at bare mikrobobler på ca. 8 μm eller mindre vil være tilstrekkelig små til å passere gjennom lungene, er det klart at ingen av disse bobler har en levetid i oppløsning som er tilstrekkelig lang til at de vil være nyttige kontrastmidler for ultralyd-kontrastforsterket avbildning av den venstre ventrikkle.

Fremgangsmåten muliggjør identifikasjon av potensielt anvendbare gasser ved å sammenligne egenskapene til en hvilken som helst spesiell gass, betegnes som

gass X i den følgende beskrivelse, med luft. Ved å benytte ligningene (2) og (3) ovenfor kan en koeffisient Q uttrykkes for en spesiell gass X som vil beskrive stabiliteten til mikrobobler som består av gass X i en gitt væske. Verdien for koeffisienten Q bestemt ved hjelp av denne metode for en spesiell gass X kan også anvendes for å bestemme anvendbarheten av gass X som et ultralydkontrastforsterkende middel sammenlignet med vanlig luft.

Ut fra ligning (2) ovenfor kan en ligning beskrives som beskriver tiden for fullstendig oppløsning av en boble av gass X sammenlignet med den samme boblestørrelse av vanlig luft under identiske betingelser for oppløsningstemperatur og oppløsningsviskositet, basert på de fysiske egenskaper til gass X og luft:

Ligning (4)

$$T_x = T_{air} \left[\frac{\rho_x}{\rho_{air}} \right] \left[\frac{(C_s)_{air}}{(C_s)_x} \right] \left[\frac{D_{air}}{13.26 \times 10^{-5} \cdot \eta^{-1.14} \cdot (V_m)_x^{-0.589}} \right]$$

eller, dersom D er kjent for gass X,

Ligning (5)

$$T_x = T_{air} \left[\frac{\rho_x}{\rho_{air}} \right] \left[\frac{(C_s)_{air}}{(C_s)_x} \right] \left[\frac{D_{air}}{D_x} \right]$$

For å uttrykke denne ligning slik at verdien Q kan oppnås for å muliggjøre sammenligning mellom gass X og luft kan den ovenstående ligning omskrives:

Ligning (6) $T_x = QT_{\text{luft}}$ hvor

$$Q = \left[\frac{\rho_x}{\rho_{\text{air}}} \right] \left[\frac{(C_s)_{\text{air}}}{(C_s)_x} \right] \left[\frac{D_{\text{air}}}{D_x} \right]$$

Anta for sammenlignings skyld at for en oppløsning av vann ved 22°C er tettheten, diffunderbarheten og oppløseligheten til luft i oppløsningen kjente størrelser som kan
5 innføres i den ovenstående ligning, slik at det fås:

Ligning (7)

$$Q = 4.0 \times 10^{-7} \left[\frac{\rho_x}{(C_x)_x D_x} \right]$$

Dersom ligning (3) settes inn ovenfor for gasser hvis diffunderbarhet D_x ikke er enkel å
10 kjenne til, og dersom det antas at viskositetsbetegnelsen η nedenfor for vann ved 22°C er tilnærmet lik 1,0 cP,

Ligning (8)

$$Q = 3.0 \times 10^{-3} \left[\frac{\rho_x}{(C_s)_x (V_m)_x^{-.589}} \right]$$

15 Hvis således tettheten, oppløseligheten og det molare volum til en gass er kjent, muliggjør således denne metode beregningen av verdien for koeffisienten Q.

Dersom Q er mindre enn én, vil mikrobobler av gass X være mindre stabile i et gitt løsningsmiddel enn mikrobobler av luft. Dersom Q er større enn én, er mikrobobler dannet av gass X mer stabil enn mikrobobler av luft og vil overleve lengre i
20 oppløsning enn luftbobler. Dersom alle andre egenskaper er de samme for en gitt mikroboblestørrelse, er tiden for fullstendig oppløsning av en mikroboble av gass X lik tiden for fullstendig oppløsning av en mikroboble av vanlig luft multiplisert med koeffisienten Q. Hvis for eksempel koeffisienten Q for gass X er 10000, vil en

mikroboble av gass X overleve ti tusen ganger lengre i oppløsning sammenlignet med en mikroboble av luft. En Q-verdi kan bestemmes for en hvilken som helst gass i en hvilken som helst oppløsning idet det antas at de her identifiserte størrelser er kjente eller kan anslås.

5 Forskjellige metoder for å bestemme eller anslå verdier for de enkelte parametre for tetthet, diffunderbarhet og oppløselighet kan være nødvendige i avhengighet av gassens kjemiske struktur. Verdier for disse parametre kan være tilgjengelige fra kjente vitenskapelige litteraturkilder eller ikke, så som Gas Encyclopedia eller de tabeller som publiseres av American Chemical Society. Verdier for tettheten til
10 de fleste gasser er lett tilgjengelige fra slike kilder som Handbook of Chemistry and Physics, CRC Press, 72. utgave (1991-92). I tillegg er oppløseligheten i vann og det molare volum til en del gasser blitt målt med nøyaktighet. I mange tilfeller kan imidlertid beregninger for de numeriske verdier for molart volum og oppløselighet måtte beregnes eller anslås for å få de data som anvendes for å bestemme verdien for koef-
15 fisienten Q for en individuell gass ved hjelp av den ovenfor beskrevne metode. Et eksempel på beregningen av Q-verdier for et foretrukket utvalg av gasser illustrerer hvorledes metoden ifølge oppfinnelsen kan anvendes for individuelle gasser.

Mange fluorholdige gasser oppviser generelt ekstremt lav oppløselighet i vann og har relativt høye molekylvekter, høye molare volumer og høye tettheter. For å
20 bestemme Q-verdien for flere gasser bestemmes oppløseligheten, det molare volum og tettheten for de enkelte masser, og verdiene innføres i ligningene (7) eller (8) ovenfor.

Bestemmelse av gassoppløselighet for fluorkarboner

Denne metode for å anslå gassoppløseligheten for fluorkarboner benytter
25 seg av ekstrapolering av forsøksdataene ifølge Kabalnov AS, Makarov KN, og Scherbakova OV. "Solubility of Fluorocarbons in Water as a Key Parameter Determining Fluorocarbon Emulsion Stability," J. Fluor. Chem. 50, 271-284, (1990). Gassoppløseligheten til disse fluorkarboner bestemmes i forhold til perfluor-n-pentan som har en vannoppløselighet på $4,0 \times 10^{-6}$ mol pr. liter. For en homolog rekke av
30 uforgrenede fluorkarboner kan gassoppløseligheten anslås ved å øke eller redusere denne verdi med en faktor på ca. 8,0 for hver økning eller reduksjon i antallet av ytterligere $-CF_2$ -grupper som er tilstede i molekylet.

Bestemmelse av molart volum

Det molare volum (V_m) anslås ut fra dataene ifølge Bondi A., "Van der Waals Volumes and Radii, "J. Phys. Chem. 68, 441-451 (1964). Det molare volum til en gass kan anslås ved å identifisere antallet og typen av atomer som utgjør molekylet til den angjeldende gass. Ved å bestemme antallet og typen av atomer som er tilstede i molekylet og hvorledes de enkelte atomer er bundet til hverandre, kan kjente verdier anvendes for de enkelte atomers molekylære volum. Ved å vurdere bidraget fra hvert enkelt atom og den hyppighet med hvilken det forekommer, kan man beregne det samlede molare volum for et spesielt gasmolekyl. Denne beregning lar seg best demonstrere ved hjelp av et eksempel.

Det er kjent at et karbonmolekyl i en alkan-karbon-karbon-binding har et molart volum på 3,3 kubikkcentimeter pr. mol, at et karbonatom i en alken-karbon-karbon-binding har et molart volum på 10,0 kubikkcentimeter pr. mol og at når flere fluoratomer er bundet til et alkankarbon, har et fluoratom et molart volum på 6,0 kubikkcentimeter pr. mol.

En undersøkelse av oktafluorpropan viser at dette molekyl inneholder tre karbonatomer i alkan-karbon-karbon-bindinger (3 atomer på 3,3 kubikkcentimeter pr. mol) og 6 fluoratomer bundet til alkankarboner (6 atomer på 6,0 kubikkcentimeter pr. mol), og oktafluorpropan har derfor en molar tetthet på 58 kubikkcentimeter pr. mol.

Når tetthet, molart volum og oppløselighet er bestemt, beregnes Q-verdien under anvendelse av den ovenstående ligning 8.

I den nedenstående Tabell er Q-verdien for en rekke gasser basert på de ovenfor detaljert forklarte beregninger listet opp.

Tabell II

GASS	TETTHET kg/m ³	OPPLØSELIGHE T mikromol/ liter	MOLART VOLUM cm ³ /mol	Q
Argon	1,78	1500	17,9	20

n-butan	2,05	6696	116	5
Karbondioksid	1,98	33000	19,7	1
Dekafluorbutan	11,21	32	73	13154
Dodekafluorpentan	12,86	4	183	207437
Etan	1,05	2900	67	13
Etyleter	2,55	977058	103	0,1
Helium	0,18	388	8	5
Heksafluorbuta-1,3-dien	9 (*)	2000	56	145
Heksafluor-2-butyn	9(*)	2000	58	148
Heksafluoretan	8,86	2100	43	116
Heksafluorpropan	10,3	260	58	1299
Krypton	3,8	2067	35	44
Neon	0,90	434	17	33
Nitrogen	##	##	##	1
Oktafluor-2-buten	10(*)	220	65	1594
Oktafluorsyklo- butan	9,97	220	61	1531
Oktafluorpropan	10,3	260	58	1299
Pentan	2	1674	113	58
Propan	2,02	2902	90	30
Svovelheksafluorid	5,48	220	47	722
Xenon	5,90	3448	18	28

* Disse tetthetsverdier er anslått ut fra den kjente tetthet til homologe fluorkarboner.

Oppløselighets/tetthetsforholdsverdien på 0,02

5 (ovenfor) og diffunderbarheten på $2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ sek}^{-1}$ gitt ovenfor ble anvendt i ligning 7 for denne Q-verdibestemmelse.

Når Q-verdien er blitt bestemt, kan nytbarheten av en individuell gass som ultralydkontrastforsterkende middel analyseres ved å bestemme levetiden for en samling av mikrobobler bestående av den angjeldende gass og med forskjellige størrelser, hvilket ble gjort for luft i den ovenstående Tabell I. Dersom verdien for Q for dekafluorbutan tas og den tid som er nødvendig for at bobler med forskjellige størrelser skal bli oppløst i vann undersøkes, får man verdiene i den nedenstående Tabell III ved å multiplisere hver av tidsverdiene i Tabell I med Q-verdien for dekafluorbutan:

15

Tabell III

	OPPRINNELIG BOBLEDIAMETER, μm	TID, minutter
	12	99
20	10	69
	8	44
	6	25
	5	17
	4	11
25	3	6,1
	2	2,9
	1	0,7

30 Bemerk at tidsskalaen i Tabell III er i minutter istedenfor i millisekunder som tilfellet var for luft. Alle bobler av dekafluorbutan, endog så små som 1 μm , kan injiseres perifert og vil ikke gå over i oppløsning under de ca. 10 sekunder som er nødvendige for å nå frem til den venstre ventrikkel. Lignende beregninger kan utføres

for en gass med en hvilken som helst Q-koeffisient. Litt større bobler vil være istand til å passere gjennom lungene og likevel overleve tilstrekkelig lenge til å muliggjøre både undersøkelse av myokardial perfusjon og dynamisk underlivsorganavbildning. På samme måte som for mange av gassene som er blitt identifisert ved denne metode, byr
5 dessuten dekafluorbutan på lav giftighet i små doser og vil derfor by på vesentlige fordeler som et kontrastforsterkende middel ved vanlig ultralyddiagnose.

Fremstilling av en mikroboblesuspensjon kan oppnås ved hjelp av flere metoder. US patent 4832941 refererer til en metode for fremstilling av en suspensjon av mikrobobler med en diameter som er mindre enn syv μm , dannet ved å sprøyte en væske
10 gjennom en gassmengde under anvendelse av en tre-veis ventil. Selv om metodene kunne variere i praksis, er tre-veis ventilen en foretrukken metode for manuelt å suspendere en mengde av gass med høy Q-koeffisient for fremstilling av de her beskrevne kontrastforsterkende media.

De generelle metoder for anvendelse av en tre-veis ventilinnretning er
15 velkjent i forbindelse med fremstilling av det vanlige Freund's hjelpestoff for immunisering av forskningsdyr. Typisk utgjøres en tre-veis ventil av et par injeksjonssprøyter som begge er forbundet med et kammer. Kammeret har utløp fra hvilket suspensjonen kan oppsamles eller tilføres direkte.

Metoder for anvendelse av tre-veis ventilen kan være forskjellige fra den
20 som er beskrevet i US patent nr. 4832941 fordi forskjellige gasser anvendes ved denne metode. For eksempel kan anvendelse av én av de her beskrevne gasser med høy Q-koeffisient være mer effektiv dersom systemet spyles rent for vanlig luft eller spyles med en annen gass før mikroboblesuspensjonen dannes.

I henhold til en foretrukken utførelsesform blir en 40-50% Sorbitol (D-glucitol)-oppløsning blandet med ca. 1-10 volum% av en gass med høy Q-koeffisient
25 idet ca. 5% gass er en optimal verdi. Sorbitol er en i handelen tilgjengelig forbindelse som når den blandes i en vandig oppløsning, øker oppløsningens viskositet betraktelig. Oppløsninger med høyere viskositet, som vist ved ligning 3 ovenfor, forlenger levetiden til en mikroboble i oppløsning. En 40-50% sorbitoloppløsning foretrekkes å bli opprettholdt som en stor enhetsdose ved injeksjon, dvs. så intakt som mulig uten å
30 overskride et tolererbart injeksjonstrykk. For å produsere suspensjonen av mikrobobler blir et kvantum av den valgte gass oppsamlet i en injeksjonssprøyte. I den samme in-

jeksjonssprøyte kan et volum av sorbitoloppløsningen være inneholdt. Et kvantum av sorbitoloppløsning trekkes inn i den ytre injeksjonssprøyte, slik at summen av de to volum gir den korrekte prosent med gass basert på volumprosenten av ønskede mikrobobler. Ved å anvende de to injeksjonssprøyter, som hver oppviser en meget liten
5 åpning, blir væsken sprøytet inn i gassatmosfæren ca. 25 ganger eller så mange ganger som er nødvendig for å danne en suspensjon av mikrobobler hvis størrelsesfordeling er akseptabel for de her beskrevne formål. Denne metode kan selvfølgelig varieres noe på en hvilken som helst måte som gir den resulterende suspensjon av mikrobobler med den ønskede størrelse i en ønsket konsentrasjon. Mikroboblestørrelsen kan kontrolleres
10 visuelt eller elektronisk under anvendelse av en Coulter-teller (Coulter Electronics) ved hjelp av en kjent metode, Butler, B.D., "Production of Microbubble for Use as Echo Contrast Agents," J. Clin. Ultrasound, V. 14 408 (1986).

BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

15 I henhold til foreliggende oppfinnelse tilveiebringes det således kontrastmedia for ultralydbildeforsterkning som kjennetegnes ved at det omfatter mikrobobler av en bioforenelig gass eller en kombinasjon av gasser i en bioforenelig, vandig, flytende bærer der gassen eller gassene er valgt blant heksafluorpropylen, oktafluorpropan, oktafluor-2-buten, heksafluor-2-butyn, heksafluorbuta-1,3-dien,
20 oktafluorsyklobutan og dekafluorbutan og likeledes kontrastmedia for ultralydbildeforsterkning som kjennetegnes ved at det omfatter mikrobobler av en bioforenelig gass eller en kombinasjon av gasser i en bioforenelig vandig flytende bærer der gassen eller gassene omfatter dodekafluorpentan.

Kontrastmedia i henhold til oppfinnelsen omfatter foretrukket
25 mikrobobler som har en diameter på mindre enn $8\mu\text{m}$, og det er videre foretrukket at mediene omfatter en vandig løsning av sorbitol som en viskositetsforsterkende forbindelse, og at de foretrukket også omfatter polyetoksysorbitanlaurat.

Oppfinnelsen omfatter også anvendelse av en eller flere av forbindelsene heksafluorpropylen, oktafluorpropan, oktafluor-2-buten, heksafluor-2-butyn,
30 heksafluorbuta-1,3-dien, oktafluorsyklobutan, dekafluorbutan og dodekafluorpentan for fremstilling av et kontrastforsterkende media for ultralyd avbildning som angitt ovenfor. Anvendelse av de ovenfor nevnte forbindelsene er fordelaktig for fremstilling av et

kontrastmiddel for kontrastforsterkende ultralyddiagnose av det kardiovaskulære system, og spesielt fordelaktig for anvendelse for fremstilling av et kontrastmiddel for ultralyd-avbildning av den venstre ventrikkle i hjertet.

Videre er det fordelaktig å anvende forbindelsene som nevnt ovenfor for fremstilling av et kontrastforsterkende media for ultralyd-avbildning i form av gass-emulsjoner i en bioforenelig vandig flytende bærer.

Oppfinnelsen tilveiebringer videre kontrastmedia for ultralydbildeforsterkning som nevnt ovenfor med de ytterligere kjennetegn at det omfatter liposomer fylt med mikrobobler av gass som forsterkende middel, der nevnte gass, i det minste delvis, er en fluorholdig gass utvalgt fra gruppen bestående av dodekafluorpentan, dekafluorbutan og oktafluorpropan.

Kontrastmedia for ultralydbildeforsterkning som nevnt ovenfor kjennetegnes også ved at det omfatter innkapslede gassfylte mikrosfærer der nevnte gass, i det minste delvis, er en fluorholdig gass utvalgt fra gruppen bestående av dodekafluorpentan, dekafluorbutan og oktafluorpropan.

Kontrastmedia for ultralydbildeforsterkning som nevnt ovenfor har de ytterligere kjennetegn at det omfatter en suspensjon av krystaller i et sakkarid-tynningsmiddel der nevnte suspensjon omfatter mikrobobler av en fluorholdig gass utvalgt fra gruppen bestående av dodekafluorpentan, dekafluorbutan og oktafluorpropan.

For ytterligere beskrivelse av oppfinnelsen henvises det til patentkravene.

EKSEMPLER

EKSEMPEL 1.

Et ultralydkontrastmiddel ble fremstilt under anvendelse av dekafluorbutan som den mikrobobledannende gass. En oppløsning ble laget som inneholdt:

sorbitol	20,0g
NaCl	0,9 g
soyabønneolje	6,0 ml
Tween 20	0,5 ml
vann q.s	100,00 ml

En såpeaktig, klar, gul oppløsning ble oppnådd under omrøring. Et 10 ml aliquot av denne oppløsning ble tatt opp i en 10 ml glassinjeksjonsprøyte. Injeksjonssprøyten ble deretter festet til en tre-veis stoppeventil. En annen 10 ml injeksjonssprøyte ble festet til stoppeventilen, og 1,0 cm³ dekafluorbutan (PCR, Inc., Gainesville, FL) ble avlevert til den tomme injeksjonssprøyte. Stoppeventilen ble åpnet for injeksjonssprøyten som inneholdt oppløsningen, og væske- og gassfasene ble hurtig blandet med hverandre 20-30 ganger. En resulterende melkehvitt, svakt viskøs oppløsning ble erholdt.

EKSEMPEL 2

Gassemulsjonen oppnådd i Eksempel 1 ble fortynnet med vann (1:10 til 1:1000), fylt i et tellekammer og undersøkt under mikroskop under anvendelse av en oljeneddykkingslinse. Emulsjonen besto hovedsakelig av bobler på 2-5µm. Tettheten var 50-100 millioner mikrobobler pr. ml av opprinnelig ufortynnet preparat.

EKSEMPEL 3

Preparatet ifølge Eksempel 1 ble fremstilt, og ekkokardiografi ble utført på en kaninmodell. En bastardhund på 17,5 kg ble bedøvet med isofluran, og monitorer ble anvendt for å måle EKG, blodtrykk, hjertevirksomhet og arterieblodgasser i overensstemmelse med metodene beskrevet av Keller, MW, Feinstein, SB, Watson, DD: Successful left ventricular opacification following peripheral venous injection of sonicated contrast agent: An experimental evaluation. Am Heart J 114:570d (1987).

Resultatene av sikkerhetsvurderingen er som følger:

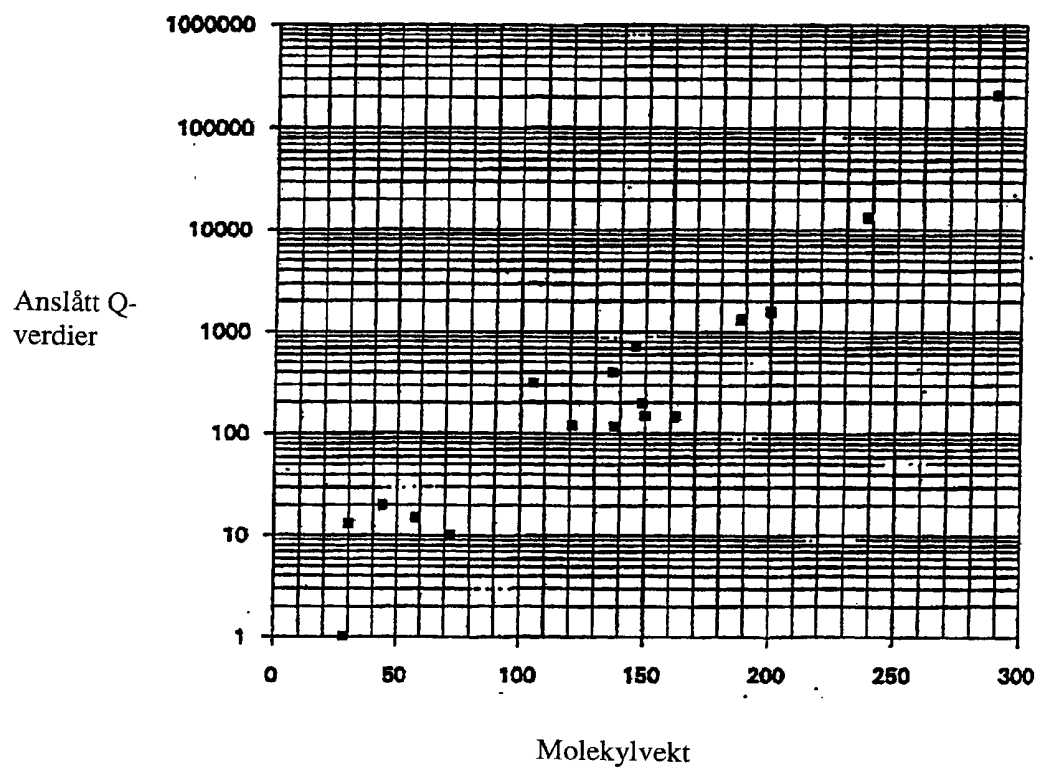
MAKSIMAL PROSENTUELL ENDRING I MÅLT PARAMETER
I LØPET AV 5 MIN FRA INNSPRØYTNING

DOSE	AORTATRYKK						BLODGASSER			HJERTE- VIRKSOMHET	
	Systolisk		Diastolisk		Middel		PaO2	PaCO2	pH		
	mm Hg										
0,5 mL	+6	-14	+9	0	+8	-6	329	58.1	7.26	+10	-19
1,0 mL	+9	-2	+5	-1	+4	-4				+1	-4
2,0 mL	+5	-3	+5	-1	+5	-1				0	-1
3,0 mL	+6	-2	+7	0	+4	-3				0	-3
4,0 mL	+5	-1	+3	-3	+5	-3				0	-3
5,0 mL	0	-10	+1	-3	0	-4				+1	-1
7,0 mL	0	-13	0	-8	0	-9	313	28.6	7.36	0	-1

Alle endringer var forbigående og vendte tilbake til grunnlinjeverdier typisk i løpet av 3-6 minutter. De ovenstående sikkerhetsdata demonstrerer minimale endringer i den målte hemodynamiske parameter. Alle doser ga opasifisering av både høyre og det venstre ventrikkellammer. Intensiteten økte med økende dose.

EKSEMPEL 4

De ovenstående spesifikke bestemmelser av egnetheten til en spesiell gass for anvendelse som ultralydmiddel kan approksimeres dersom molekylvekten til en spesiell gass er kjent, kan beregnes eller kan måles. Denne approksimasjon er basert på den bestemmelse at det foreligger et lineært forhold mellom logaritmen til Q-verdien og molekylvekten til en gass, som vist på den nedenstående figur.



Basert på denne figur kan de følgende retningslinjer anvendes for å anslå en Q-verdi:

Molekylvekt	Anslått Q-verdi
<35	<5
35-70	5-20
71-100	21-80
101-170	81-1000
171-220	1001-100000
>270	>100000

Den følgende Tabell inneholder en rekke gasser med de relevante data angående molekylvekt og anslått Q-verdi. Jo høyere Q-verdien er, desto mer lovende er den spesielle gass. Gasser med Q-verdier på over 5 er spesielt lovende. Ytterligere forhold, innbefattende, men ikke begrenset til, pris og giftighet, bør tas i betraktning i tillegg til de avledede mikroboblers levetid (som anslått ved hjelp av Q-verdien) ved bestemmelse av egnetheten til enhver spesiell gass som et ultralydkontrastmiddel.

TABELL IV

<u>Kjemisk navn</u>	<u>Molekyl-vekt</u>	<u>Anslått Q-verdi</u>
Aceton, heksafluor	166,02	81-1000
Acetylen, isopropyl	68	5-20
Luft	28,4	<5
Allen	40,06	5-20
Allen, tetrafluor	112,03	81-1000
Argon	39,98	5-20
Bornen, dimetyl,metoksy	71,19	21-80
Bornen, trimetyl	55,91	5-20
Borfluoriddihydrat	103,84	81-1000
1,2-butadien	54,09	5-20
1,3-butadien	54,09	5-20
1,3-butadien, 1,2,3-triklor	157,43	81-1000
1,3-butadien, 2-fluor	72,08	21-80
1,3-butadien, 2-metyl	68,12	5-20
1,3-butadien, heksafluor	162,03	81-1000
Butadiyn	50,06	5-20
n-butan	58,12	5-20
butan, 1-fluor	76,11	21-80
butan, 2-metyl	72,15	21-80
butan-dekafluor	238,03	10001-100000

1-buten	56,11	5-20
2-buten {cis}	56,11	5-20
2-buten {trans}	56,11	5-20
1-buten, 2-metyl	70,13	5-20
1-buten, 3-metyl	70,13	5-20
2-buten, 3-metyl	68	5-20
1-buten, perfluor	200,03	1001-10000
2-buten, perfluor	200,03	1001-10000
3-buten-2-on, 4-fenyl {trans}	146,19	81-1000
1-buten-3-yn, 2-metyl	66,1	5-20
butylnitritt	103,12	81-100
1-butyn	54,09	5-20
2-butyn	54,09	5-20
butyn, 2-klor-1,1,1,4,4,4- heksafluor	199	1001-10000
1-butyn, 3-metyl	68,12	5-20
2-butyn, perfluor	162,03	81-1000
butyraldehyd, 2-brom	151	81-1000
Karbondioksid	44,01	5-20
Karbonylsulfid	60,08	5-20
Krotonnitril	67,09	5-20
Syklobutan	56,11	5-20
Syklobutan, metyl	70,13	5-20
Syklobutan, oktafluor	200,03	1001-100000
Syklobuten, perfluor	162,03	81-1000
Syklopenten, 3-klor	102,56	81-1000
Syklopropan	42,08	5-20
Syklopropan, 1,2-dimetyl		
{trans, dl}	70,13	5-20
Syklopropan, 1,1-dimetyl	70,13	5-20
Syklopropan, 1,2-dimetyl {cis}	70,13	5-20
Syklopropan, 1,2-dimetyl		
{trans, l}	70,13	5-20

Syklopropan, etyl	70,13	5-20
Syklopropan, metyl	56,11	5-20
Deuterium	4,02	<5
Diacetylen	50,08	5-20
Diaziridin, 3-etyl-3-metyl	86,14	21-80
Diazoetan, 1,1,1-trifluor	110,04	81-1000
Dimetylamin	45,08	5-20
Dimetylamin, heksafluor	153,03	81-1000
Dimetyldisulfid, heksafluor	202,13	1001-10000
Dimetyletylamin	73,14	21-80
bis(dimetylfosfin)amin	137,1	81-1000
2,3-dimetyl-2-norbornan	140,23	81-1000
Dimetylamin, perfluor	171,02	1001-10000
Dimetyloksoniumklorid	82,53	21-80
1,3-dioksan-2-on, 4-metyl	102,09	81-1000
Etan	30,07	<5
Etan, 1,1,1,2-tetrafluor	102,03	81-1000
Etan, 1,1,1-trifluor	84,04	21-80
Etan, 1,1,2,2-tetrafluor	102,03	81-1000
Etan, 1,1,1-triklor-		
1,2,2-trifluor	187,38	1001-10.000
Etan, 1,1-diklor	98	21.80
Etan, 1,1-diklor-		
1,2,2,2-tetrafluor	170,92	1001-10.000
Etan, 1,1,-diklor-1-fluor	116,95	81-1000
Etan, 1,1-difluor	66,05	5-20
Etan, 1,2-diklor-		
1,1,2,2-tetrafluor	170,92	1001-10.000
Etan, 1,2-difluor	66.05	5-20
Etan, 1-klor-		
1,1,2,2,2-pentafluor	154,47	81-1000
Etan, 1-klor-		
1,1,2,2-tetrafluor	136,48	81-1000

Etan, 2-klor, 1,1-difluor	100	21-80
Etan, 2-klor-1,1,1-trifluor	118,49	81-1000
Etan, klor	64,51	5-20
Etan, klorpentafluor	154,47	81-1000
Etan, diklortrifluor	152	81-1000
Etan, fluor	48,06	5-20
Etan, heksafluor	138,01	81-1000
Etan, nitropentafluor	165,02	81-1000
Etan, nitrosopentafluor	149,02	81-1000
Etan, perfluor	138,01	81-1000
Etylamin, perfluor	171,02	1001-100000
Etyleter	74,12	21-80
Etylmetyleter	60,1	5-20
Etylvinyleter	72,11	21-80
Etylen	28,05	<5
Etylen, 1,1-diklor	96,94	21-80
Etylen, 1,1-diklor-2-fluor	114,93	81-1000
Etylen, 1,2-diklor-1,2-difluor	132,92	81-1000
Etylen, 1,2-difluor	64	5-20
Etylen, 1-klor-1,2,2-trifluor	116,47	81-1000
Etylen, klortrifluor	116,47	81-1000
Etylen, diklordifluor	132,92	81-1000
Etylen, tetrafluor	100,02	21-80
Fulven	78,11	21-80
Helium	4	<5
1,5-heptadiyn	92,14	21-80
Hydrogen (H ₂)	2,02	<5
Isobutan	58,12	5-20
Isobutan, 1,2-epoksy-3-klor	106,55	81-1000
Isobutylen	56,11	5-20
Isopren	68,12	5-20
Krypton	83,8	21-80
Metan	16,04	<5

Metansulfonylklorid, trifluor	168,52	81-1000
Metansulfonylfluorid, trifluor	152,06	81-1000
Metan, (pentafluortio)trifluor	196,06	1001-10000
Metan, bromdifluornitroso	159,92	81-1000
Metan, bromfluor	112,93	81-1000
Metan, bromklorfluor	147,37	81-1000
Metan, bromtrifluor	148,91	81-1000
Metan, klordifluornitro	131,47	81-1000
Metan, klordinitro	140,48	81-1000
Metan, klorfluor	68,48	5-20
Metan, klortrifluor	104,46	81-1000
Metan, klordifluor	86,47	21-80
Metan, dibromdifluor	209,82	1001-10000
Metan, diklordifluor	120,91	81-1000
Metan, diklorfluor	102,92	81-1000
Metan, difluor	52,02	5-20
Metan, difluorjod	177,92	1001-10000
Metan,disilan	76,25	21-80
Metan, fluor	34,03	<5
Metan,jod-	195,91	1001-10000
Metan,jodtrifluor	195,91	1001-10000
Metan,nitrotrifluor	115,01	81-1000
Metan, nitrosotrifluor	99,01	21-80
Metan, tetrafluor	88	21-80
Metan, triklorfluor	137,37	81-1000
Metan, trifluor	70,01	5-20
Metansulfenylklorid, trifluor	136,52	81-1000
2-metylbutan	72,15	21-80
Metyleter	46,07	5-20
Metylisopropyleter	74,12	21-80
Metylnitritt	61,04	5-20
Metylsulfid	62,13	5-20
Metylvinyleter	58,08	5-20

Neon	20,18	<5
Neopentan	72,15	21-80
Nitrogen (N2)	28,01	<5
Dinitrogenoksid	44,01	5-20
1,2,3-nonadekantrikarboksylsyre, 2-...hydroksytrimetylester	500,72	>100000
1-nonen-3-yn	122,21	5-20
Okseygen (O2)	32	5-20
1,4-pentadien	68,12	5-20
n-pentan	72,15	21-80
Pentan,perfluor	288,04	>100000
2-pentanon, 4-amin-4-metyl	115,18	81-1000
1-penten	70,13	5-20
2-penten {cis}	70,13	5-20
2-penten {trans}	70,13	5-20
1-penten, 3-brom	149,03	81-1000
1-penten, perfluor	250,04	10001-100000
Ftalsyre,tetraklor	303,91	>100.000
Piperidin, 2,3,6-trimetyl	127,23	81-1000
Propan	44,1	5-20
Propan, 1,1,1,2,2,3-heksafluor	152,04	81-1000
Propan, 1,2-epoksy	58,08	5-20
Propan, 2,2-difluor	80,08	21-80
Propan, 2-amino	59,11	5-20
Propan, 2-klor	78,54	21-80
Propan, heptafluor-1-nitro	215,03	1001-10.000
Propan, heptafluor-1-nitroso	199,03	1001-10000
Propan, perfluor	188,02	1001-10000
Propen	42,08	5-20
Propyl, 1,1,1,2,3,3-heksafluor- 2,3-diklor	221	10001-100000
Propylen, 1-klor	76,53	21-80
Propylen, 1-klor-{trans}	76,53	5-20

Propylen, 2-klor	76,53	5-20
Propylen, 3-fluor	60,07	5-20
Propylen, perfluor	150,02	81-1000
Propyn	40,06	5-20
Propyn, 3,3,3-trifluor	94,04	21-80
Styren, 3-fluor	122,14	81-1000
Svovelheksafluorid	146,05	81-1000
Svovel(di),dekafluor (S2F10)	298	>100000
Toluen, 2,4-diamin	122,17	81-1000
Trifluoracetoneitril	95,02	21-80
Trifluormetylperoksid	170,01	81-1000
Trifluormetylsulfid	170,07	81-1000
Wolframheksafluorid	298	>100000
Vinylacetylen	52,08	5-20
Vinyleter	70	5-20
Xenon	131,29	81-1000

EKSEMPEL 5

Relasjonen mellom en beregnet Q-verdi for en gitt gass og varigheten til mikrobobler av denne gass ble undersøkt for å bestemme hvilken Q-verdi som ville være en nedre grense for anvendelse som et ultralydkontrastmiddel. For disse forsøk ble en 190 x 100 mm Pyrex® (nr. 3140) inndampningsskål fylt med ca. 2000 ml vann ved 37°C. 5 ml av en 20% sorbitol-oppløsning ble tatt opp i en 10 ml injeksjonssprøyte som var forbundet med en tre-veis stoppeventil. En 10 ml injeksjonssprøyte inneholdende 2 kubikkcentimeter av den angjeldende gass (eller lavkokende væske, etter behov) ble festet til injeksjonssprøyten som inneholdt sorbitoloppløsningen. Sorbitolen og gassen eller væsken blandes hurtig med hverandre 25 ganger for dannelsen av en suspensjon av mikrobobler eller dispergert væske, for deretter hurtig å bli tilsatt til vannet. Mikroboblene ifølge denne metode har generelt en størrelse på 100 µm, og dersom de hadde bestått av luft, ville de ha en beregnet varighet på 31 sek (0,5 min). Ultralydskanninger før, under og etter tilsetningen ble foretatt med en ultralydskanner av typen Hewlett-Packard Model Sonos 500 som opererte ved 5 MHz. Den tid i løpet av hvilken mikroboblene kunne iakttas, ble registrert. Resultatene er inneholdt i Tabell V nedenfor. De eksperimentelle Q-verdier ble oppnådd ved å dele den målte varighet

for en gitt gass med den målte varighet for luft.

TABELL V
RELASJON MELLOM Q-VERDI FOR EN GASS
OG VARIGHETEN TIL MIKROBOBLER

GASS	Q-VERDI (Beregnet)	VARIGHET (Eksperimentell Q-verdi)
Dietyleter	0,1	0,1 min (0,2)
Luft	1	0,6 min (1,0)
Butan	5	1,5 min (2,6)
Helium	5	2,0 min (3,5)
Propan	30	3,2 min (6,0)
Pentan	58	20,6 min (36)
Dodekafluorpentan	207437	>5760 min (>10105)

Disse forsøk indikerer en utmerket overensstemmelse mellom den beregnede Q-verdi og de eksperimentelt bestemte verdier. Basert på disse data bør gasser med Q-verdier beregnet til å være større enn 5 være potensielt anvendbare som kontrastmidler for ultralydavgivning.

EKSEMPEL 6

Relasjonen mellom materialtilstanden for en gitt kjemisk enhet med en høy Q-koeffisient og dens anvendbarhet som et ultralydkontrastmiddel ble testet ved å sammenligne perfluorpentan og perfluorheksans effektivitet til å virke som et ultralydkontrastmiddel. Perfluorpentan (dodekafluorpentan) har en beregnet Q-koeffisient på 207437 og et kokepunkt under standard trykkbetingelser på 29,5°C. Perfluorheksan (PCR, Inc., Gainesville, FL) har en beregnet Q-koeffisient på 1659496 og et kokepunkt under standard trykkbetingelser på 59-60°C. Ved 37°C, dvs. kroppstemperaturen til mennesker, er perfluorpentan derfor en gass

mens perfluorheksan er en væske.

Vandige dispersjoner av perfluorpentan og perfluorheksan (2% vekt/volum) ble dannet ved 4°C ved kraftig homogenisering. Et plastbeger som inneholdt ca. 1000 ml vann ved 37°C ble fremstilt for å simulere blod fra mennesker og ble ultralydskannet, som angitt i Eksempel 5 ovenfor, før og etter tilsetningen av prøver på hver av de ovenstående dispersjoner.

Mindre enn 1,0 ml av perfluorpentandispersjonen produserte da den var blandet med det simulerte blod, et ekstremt klart ultralydsignal som varte i minst 30 minutter. En fortynning på 1:10000 kunne fremdeles påvises.

I motsetning hertil kunne en 1,0 ml prøve av perfluorheksandispersjonen ikke påvises ved ultralydskanning under de samme betingelser på samme måte som endog en 10 ml prøve (fortynning 1:100).

Den konklusjon som kan trekkes er at både en høy Q-koeffisient og gassformig tilstand ved kroppstemperaturen til organismen som skannes, er nødvendig for at et stoff skal være effektivt som et ultralydkontrastmiddel i overensstemmelse med den fremgangsmåte som utgjør oppfinnelsens gjenstand.

Selv om oppfinnelsen er blitt beskrevet i visse henseender under henvisning til spesifiserte foretrukne utførelsesformer av denne, vil variasjoner og modifikasjoner fremstå for fagfolk. I dette henseende gjør oppfinnelsen det mulig for fagfolk å bestemme forskjellige kjemikaliers egnethet som ultralydkontrastmidler når tetthets-, oppløselighets- og molare volumdata er tilgjengelige.

P a t e n t k r a v

1. Kontrastmedia for ultralydbildeforsterkning,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter mikrobobler av en bioforenelig gass eller en kombinasjon av gasser i en bioforenelig, vandig, flytende bærer der gassen eller gassene er valgt blant heksafluorpropylen, oktafluorpropan, oktafluor-2-buten, heksafluor-2-butyn, heksafluorbuta-1,3-dien, oktafluorsyklobutan og dekafluorbutan.
2. Kontrastmedia for ultralydbildeforsterkning,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter mikrobobler av en bioforenelig gass eller en kombinasjon av gasser i en bioforenelig vandig flytende bærer der gassen eller gassene omfatter dodekafluorpentan.
3. Kontrastmedia i følge kravene 1 eller 2,
k a r a k t e r i s e r t v e d at mikroboblene har en diameter på mindre enn 8 µm.
4. Kontrastmedia i følge hvilket som helst av kravene 1-3,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter en vandig løsning av sorbitol som en viskositetsforsterkende forbindelse.
5. Kontrastmedia i følge hvilket som helst av kravene 1-4,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det videre omfatter polyetoksysorbitanlaurat.
6. Anvendelse av en eller flere av heksafluorpropylen, oktafluorpropan, oktafluor-2-buten, heksafluor-2-butyn, heksafluorbuta-1,3-dien, oktafluorsyklobutan og dekafluorbutan for fremstilling av et kontrastforsterkende media for ultralyd avbildning, som angitt i krav 1.
7. Anvendelse av dodekafluorpentan for fremstilling av et kontrastforsterkende media for ultralyd avbildning, som angitt i krav 2.
8. Anvendelse i følge hvilket som helst av kravene 6 og 7 for fremstilling av et kontrastmiddel for kontrastforsterkende ultralyddiagnose av det kardiovaskulære system.

9. Anvendelse i følge hvilket som helst av kravene 6-8 for fremstilling av et kontrastmiddel for ultralydabbildning av den venstre ventrikkel i hjertet.
10. Anvendelse i følge hvilket som helst av kravene 6-9 for fremstilling av et kontrastforsterkende media for ultralydabbildning i form av gassemulsjoner i en bioforenelig vandig flytende bærer.
11. Kontrastmedia for ultralydbildeforsterkning ifølge krav 1 eller 2, k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter liposomer fylt med mikrobobler av gass som forsterkende middel, der nevnte gass, i det minste delvis, er en fluorholdig gass utvalgt fra gruppen bestående av dodekafluorpentan, dekafluorbutan og oktafluorpropan.
12. Kontrastmedia for ultralydbildeforsterkning i følge kravene 1 eller 2, k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter innkapslede gassfylte mikrosfærer der nevnte gass, i det minste delvis, er en fluorholdig gass utvalgt fra gruppen bestående av dodekafluorpentan, dekafluorbutan og oktafluorpropan.
13. Kontrastmedia for ultralydbildeforsterkning i følge kravene 1 eller 2, k a r a k t e r i s e r t v e d at det omfatter en suspensjon av krystaller i et sakkaridtynningsmiddel der nevnte suspensjon omfatter mikrobobler av en fluorholdig gass utvalgt fra gruppen bestående av dodekafluorpentan, dekafluorbutan og oktafluorpropan.