(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3787639号
(P3787639)
(45)発行日　平成18年6月21日(2006.6.21)　(24)登録日　平成18年4月7日(2006.4.7)

(51)Int.Cl.　F I
A61K 49/00 (2006.01)　A61K 49/00 C
A61K 9/107 (2006.01)　A61K 9/107

請求項の数 13　(全 10 頁)

(21)出願番号　特願平6-520775
(86)(22)出願日　平成6年3月16日(1994.3.16)
(65)公表番号　特表平8-509706
(43)公表日　平成8年10月15日(1996.10.15)
(86)国際出願番号　PCT/GB1994/000521
(87)国際公開番号　WO1994/021301
(87)国際公開日　平成6年9月29日(1994.9.29)
審査請求日　平成13年3月16日(2001.3.16)
(31)優先権主張番号　9305349.4
(32)優先日　平成5年3月16日(1993.3.16)
(33)優先権主張国　英国(GB)

(73)特許権者
ジー・イー　ヘルスケア　アクスイェ　セルスカプ
ノルウェー国，エン-０４０１　オスロ、ニイダレン、ポストボクス　４２２０　ニイコベイエン　２
(74)代理人
弁理士　高木　千嘉
(74)代理人
弁理士　佐藤　辰男
(74)代理人
弁理士　西村　公佑

最終頁に続く

(54)【発明の名称】造影剤におけるまたは造影剤に関する改良

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

少なくとも一つの生物相容性乳化剤により安定化された生物相容性の水中油乳濁液より成る超音波造影剤であって、その乳濁液の油相が、少なくとも一つの親油性溶媒に溶解された油溶性気体、油溶性の揮発性液体または油溶性気体前駆体より成る上記超音波造影剤。

【請求項２】

気体または揮発性液体が不活性気体、炭化水素、ハロゲン化されたまたはハロゲン化以外により置換された炭化水素、脂肪族または環式エーテル、シラン化合物、アルシン化合物またはハロゲン化硫黄である請求項１記載の造影剤。

【請求項３】

気体または揮発性液体がペルフルオロアルカンである請求項２記載の造影剤。

【請求項４】

気体または揮発性液体がキセノン、ｎ－ペンタン、フラン、テトラメチルシラン、六弗化硫黄およびペルフルオロ－ｎ－ブタンより選択される請求項２記載の造影剤。

【請求項５】

気体前駆体が有機カーボネート；ピラゾリン、ピラゾール、トリアゾリン、ジアゾケトン、ジアゾニウム塩、テトラゾール、アジドまたはアジド／カーボネート混合物；光分解性環状ケトン、ラクトンまたはカーボネート；過酸；熱分解性カルボン酸；酵素的に分解され得るメチレンジエステルまたは過酸化水素である請求項１記載の造影剤。

【請求項６】

親油性溶媒が大豆油、脂肪族および環式脂肪族ペルフルオロカーボンおよびそれらのブロモ置換アナローグ、脂肪族および環式脂肪族ペルフルオロアミン、ペルフルオロエーテルおよび以上のうちの任意のものの混合物より選択される請求項１～５のいずれかに記載の造影剤。

【請求項７】

親油性溶媒がペルフルオロオクチルブロマイド、ペルフルオロデカリンまたはペルフルオロデカリンとペルフルオロトリプロピルアミンの混合物である請求項６記載の造影剤。

【請求項８】

脂肪アルコール、脂肪酸のアルカリ金属塩、アルカリ金属アルキルサルフェートおよびスルホネート化エステル、ポリオキシエチレン－ポリオキシプロピレン共重合体、ソルビタン脂肪酸エステルおよびそのポリオキシエチル化アナローグ、燐脂質、脂肪酸のポリエチレングリコールエステル、重合性両親媒性物質および多隔室ベシクル界面活性剤系より選択される少なくとも一つの生物相容性乳化剤を含有する請求項１～７のいずれかに記載の造影剤。

【請求項９】

乳化剤が親油性溶媒としても働く請求項１～８のいずれかに記載の造影剤。

【請求項１０】

親油性溶媒が大豆油および卵黄燐脂質より成りそして水性相がグリセリンおよび注射用水より成る請求項１～５のいずれかに記載の造影剤。

【請求項１１】

一以上の生物許容性無機質の微小粒子が油相に懸濁される請求項１～10のいずれかに記載の造影剤。

【請求項１２】

親油性溶媒中における油溶性気体、油溶性の揮発性液体または油溶性気体前駆体の溶液から成る油相を、少なくとも一つの生物相容性乳化剤の存在下で水性相に乳化して水中油乳濁液を形成することより成る請求項１記載の超音波造影剤の調製方法。

【請求項１３】

油溶性気体、油溶性の揮発性液体または油溶性気体前駆体を予め形成された生物相容性乳化剤含有水中油乳濁液の親油性溶媒含有油相中に導入することより成る請求項１記載の超音波造影剤の調製方法。

【発明の詳細な説明】

本発明は、新規な造影剤、より詳細には超音波画像診断法に有用な新しい造影剤に関する。

超音波画像法は、例えば１～10MHzの周波数域の超音波が人間または動物対象中に振動子を介して侵入しその超音波が体組織および体液の界面と相互作用することに基づいている。超音波画像におけるコントラストはそのような界面における音波の示差反射／吸収に由来していて、血流測定のためのカラードップラーの使用を含むドップラー法を用いることにより結果を強調することができる。

造影剤を用いて異なる組織／液の音響学的性質の相違を増大させることが有益であろうことは以前から分っており、またインドシアニングリーンが1968年に最初の超音波造影剤として用いられて以来、多くの他の可能性ある剤が検討された。これらには懸濁液、固体粒子、水溶性化合物、自由気泡および各種の被包された気体含有系が含まれる。一般的に認められていることであるが、容易に圧縮可能な低密度造影剤はそれらの生じる音響学的後方散乱の点で特に効率的である。従って気体含有系および気体発生系は他のタイプの造影剤よりも著しく高い効率を示す傾向がある。

三種類の超音波造影剤が現在商業的に入手可能であるか、または最近臨床的に開発されているが、これらは気体含有ガラクトースマイクロクリスタルに基づくEchovist▲R▼；脂肪酸で被覆された気体含有ガラクトースマイクロクリスタルより成るLevovist▲R▼；および部分変性ヒト血清アルブミンにより被包された気泡より成るAlbunex▲R▼である。

しかしながら、これらの剤の臨床的使用は、それらのコントラスト半減期が短いため（す

なわち生体内で比較的安定性を欠くため）、また貯蔵寿命が限られているため制限される。そのため、特に心臓および非心臓かん流検査に対して、良好な貯蔵安定性を有すると共に、好ましくは心臓内注入の場合に少なくとも数回の循環通過の間、生体内安定性を有する超音波造影剤が引き続き必要とされている。

Echovist▲R▼およびLevovist▲R▼などの微粒状超音波造影剤のもう一つの短所は、それらは例えば適宜の担体液を添加しそして振盪により撹拌するなどして、投与前に組成させる必要がある点である。このため不可避的になにがしかの遅れが生じ、従って“使用用意の整った（ready to use）”形で実質的な期間（例えば、少なくとも12ケ月、好ましくは２～３年）貯蔵できる改良された超音波造影剤が必要とされている。

本発明は、この目的を油溶性の気体／液体または気体前駆体を分散された油相中に凝縮されまたは溶解された形で含む水中油懸濁液ベースの造影剤により満たすことができるとの我々の知見に基づくものである。

すなわち、本発明の一特徴によれば、その油相が油溶性の気体／液体または気体前駆体を含む、生物相容性（バイオコンパチブル）水中油懸濁液より成る超音波剤が提供される。

本発明の造影剤に特有の一つの特徴は、それらが投与前の貯蔵状態では実質的に完全に気体泡／微小泡を含まないが、投与後に、例えば静脈内または動脈内注射により、速やかな微小泡発生を生じ、あるいはかかる投与直前に例えば後で詳述するように誘導することができることにある。この点、本発明製品は、一般に貯蔵形態中に自由気体を、例えばEchovist▲R▼およびLevovist▲R▼などの微粒物質の場合には結晶構造の空隙中の封入体としておよび／またはそれらの表面に付着された形で、あるいはAlbunex▲R▼などの物質の場合には被包された形で包んでいる従来の超音波造影剤とは対照的である。

本発明の造影剤に有用な気体は、乳濁液の親油性油相への優先的溶解度を確保しかつ造影剤の静脈内または動脈内注射後に血流の水性環境中に発生する微小泡の安定性を高めるために、低い水溶性を有するのが好ましい。とはいえ、油相への気体溶解度は、好ましくは、投与後のそのような微小泡発生を阻害するほどに高くすべきでないが微小泡形成は、所望によりこのような状況の場合に、例えば、後で詳述するように、例えば投与に先立ってその乳濁液を予熱しておくことにより高めることができることは理解されよう。従って適切な気体には例えば不活性気体例えばヘリウム、ネオン、アルゴン、クリプトンまたはキセノン；炭化水素例えばメタン、アセチレンまたは３－メチルブテ－１－エン；ハロゲン化炭化水素、例えばハロアルカン例えば臭化メチル、C_{1-4}ハイドロフルオロアルカン例えばヘキサフルオロプロパン、そしてより好ましくはペルフルオロアルカン例えばペルフルオロメタンまたはペルフルオロブタンおよびハロゲン化硫黄例えば六弗化硫黄などが包含される。

ここで用いられる「気体」という用語は、37℃の人間の正常体温で気体状のいずれの物質も包含し、従って外界温度、例えば20～25℃において液体である様々な油溶性物質を包含する。その中に溶解されるという文脈において乳濁液の油送と相互混合されるとみなし得る最適な物質例には、所望によりハロゲン化されたおよび／またはハロゲン化以外により置換された炭化水素、脂肪族および環状エーテル、シラン類、アルシン類およびハロゲン化硫黄、例えば以下のものが包含される：

物　　質	沸点（℃）
4－メチル－1,3－ジオキソラン－２－オン	24.2
ジブロモジフルオロメタン	24.5
１－ニトロヘプタフルオロペンタン	25.0
テトラメチルシラン	26.5
ブチ－２－イン	27.0
２－メチルブタン	27.8
十弗化二硫黄	29.0
ペルフルオロペンテ－１－エン	29～30
ペンテ－１－エン	30.0
1,2－ジフルオロエタン	30.7
２－メチルブチ－１－イン	31.2
フラン	31.4
n－ブチルフルオライド	32.5
メチルイソプロピルエーテル	32.5
トリス－トリフルオロメチルアルシン	33.3
２－メチルブタ－1,3－ジエン	34.1
酸化プロピレン	34.2
ジエチルエーテル	34.5
イソプロピルクロライド	35～36
ペンタン	36.1
ペンテ－２－エン（trans, cis）	36.3～36.9

ここで用いられる「液体」という用語は、好ましくは60℃を超えない沸点を有する、揮発性有機物質を表わす。かかる液体に適用される低水溶性および優先的（ではあるが好ましくは過剰ではない）油溶性という前述の要件は混和性の要件として解されるべきこと、また、乳濁液油相への溶解要件はそれと相互混合される要件として解されるべきことは理解されよう。

液体例には、1,1－ジクロロエチレン、２－メチルブテ－２－エン、3,3－ジメチルブチ－１－イン、ジメチルアミノアセトン、ペルフルオロペンタン、シクロペンタン、シクロペンテンおよび2,3－ペンタジエンが包含される。このような、37℃を超える沸点を有する液体は一般に、投与後に気体微小泡を発生しないことは理解されよう。しかしながらそれらは、液体の比較的低い密度により超音波コントラスト効果を与える液体微小泡を発生する。

油溶性気体前駆体には有機カーボネート、例えば式

RO.CO.OM

（式中、Ｒは親油性有機基であり、そしてＭは生理学的に許容し得る陽イオンである）で示される化合物が包含される。このような物質は、約７またはそれ以下のpHで、例えば静脈内または動脈内投与後に血流中に広がる条件下で、二酸化炭素を発生する。pH活性化

に依存するかかる前駆体を用いる場合には、イオノホア、例えばナイジェリシンを乳濁液中に取り込ませて油相を通してのプロトン移動を容易にするのが有益であり得る。
その他の気体前駆躰には、窒素発生性物質例えばピラゾリン類、ピラゾール類、トリアゾリン類、ジアゾケトン類、ジアゾニウム塩、テトラゾール類、アジド類およびアジド／カーボネート混合物が包含されるところ、それらは例えば照射により、例えばUV光により、例えば投与直前に、活性化させることができる。光分解により二酸化炭素を発生する物質、例えばある種の環状ケトン、ラクトンおよびカーボネートなども同様に有用である得る。
酸素発生性気体前駆体には過安息香酸などの過酸が包含される。
投与後に体熱によって活性化される熱分解性気体前駆体を用いてもよい。そのような物質の一例は熱分解性カルボン酸例えば２－メチル乳酸である。
もう一つの気体前駆体群は、生体内で気体発生を伴って酵素的に分解される物質より成る。例えば、メチレンジエステル（これらは例えばWO-A-9317718およびWO-A-9318070（それらの内容を引用により本明細書の一部に含めることとする）に記載の方法を用いて調製される）が挙げられ、それらは通常のエステラーゼにより分解されて二酸化炭素を発生するに到る。もう一つの有用な物質は過酸化水素であり、これはエーテルなど親油性媒質中に可溶であり、また生体内で酸素発生を伴って酵素的に分解される。過酸化水素を用いる場合には、抗酸化剤安定化剤を配合しておくことも有益であり得る。
気体または液体がそれ自体で安定な乳濁液を形成できる状況にあっては、乳濁液の油相は、必要な生物相容性乳化剤と共に、本質的に気体／液体で構成されていてもよい。このような場合、臨界的要件はその気体または液体が、例えば必要に応じて加圧することにより、気体状態ではなく凝縮された形で存在することである。
より一般的には、油相は界面活性剤およびその他の安定化剤を含む必要な生体相容性乳化剤と共に、少なくとも一つの親油性溶媒成分中に溶解された気体／液体または気体前駆体より本質的に成る。かかる乳化剤が特定の乳濁液系に対し必要に応じて、油相または水性相中に優先的に溶解または分散されてもよいことは理解されよう。
本発明の乳濁液の油相のための一つの有用な親油性溶媒成分群は“人工血液(artificial bloods)”の成分として提案されている例えば高度弗素化有機化合物より成る（例えばEP-A-0231091およびWO-A-8910118（それらの内容を引用により本明細書の一部に含めることとする）参照）。留意すべきは、人工血液に用いられた場合、これらの弗素化化合物は酸素分子と複合体形成することにより酸素輸送を行うものと考えられるが、これに対し本発明ではそれらは脂質可溶性気体／液体のための溶媒媒質を効果的に提供する点である。
本発明に従って用いることができる高度弗素化有機化合物には（例えば20個までの炭素原子を含む）脂肪族および環式脂肪族ペルフルオロカーボン、例えばペルフルオロ-2,2,4,4-テトラメチルペンタン、ペルフルオロオクタン、ペルフルオロデカン、ペルフルオロトリメチルシクロヘキサン、ペルフルオロイソプロピルシクロヘキサン、ペルフルオロデカリン、ペルフルオロインダン、ペルフルオロトリメチルビシクロ〔3.3.1〕ノナン、ペルフルオロビシクロ〔5.3.0〕デカン、ペルフルオロメチルアダマンタンおよびペルフルオロジメチルアダマンタン；以上のもののブロモ－置換アナローグ、例えばペルフルオロロクチルブロマイド；（例えば20個までの炭素原子を含む）脂肪族および環式脂肪族ペルフルオロアミン、例えばペルフルオロトリプロピルアミン、ペルフルオロトリブチルアミン、ペルフルオロ－Ｎ－メチルデカヒドロキノリン、ペルフルオロ－４－メチルオクタヒドロキノリジジンおよびペルフルオロ－１－アザ三環式アミン；ペルフルオロエーテルおよび以上のうちの任意のものの混合物が包含される。このタイプの好ましい化合物にはペルフルオロオクチルブロマイドおよびペルフルオロデカリンが包含されるが、その後者は、例えばFlusol DA▲R▼製品における如く、例えばペルフルオロトリプロピルアミンと併用してもよい。
界面活性剤は乳濁液を安定化させるためのまたはそれら自身、気体／液体または気体前駆体が中に溶解される親油性溶媒成分を提供するための乳化剤として用いることができる。従って有用であり得る適切な生物相容性界面活性剤には、陰イオン界面活性剤、例えば脂

肪酸のアルカリ金属塩例えばドデカン酸ナトリウム、アルカリ金属アルキルサルフェート例えばラウリル硫酸ナトリウムおよびアルカリ金属スルホネート化エステル例えばナトリウムジオクチルスルホスクシネート（ドキュセート）およびより好ましくは非イオンまたは両性イオン界面活性剤が包含される。これら後者のカテゴリーの例には、脂肪アルコール例えばｎ－デカノール、ポリオキシエチレン－ポリオキシプロピレン共重合体（例えばポロキサマー、例えばPluronic▲R▼F68）、ソルビタン脂肪酸エステル例えばSpan型物質およびそれらのポリオキシエチル化アナローグ例えばTween型物質、燐脂質（例えばホスファチジルコリン（すなわちレシチン）またはジオレオイルホスファチジルジエタノールアミン）および脂肪酸のポリエチレングリコールエステル（例えばCremaphor▲R▼製品）が包含される。

重合性両親媒性物質、例えばWO-A-9217212（その内容を引用により本明細書の一部に含めることとする）に記載のものも界面活性剤として用いることができる。かかる両親媒性物質の例えばUV照射または他の適切な形の重合開始による重合を、所望に応じて乳化後に行うことができる。

適切な界面活性剤を、例えばKimらがBiochim. Biophys. Acta728（1983）p.339およびEP-A-0280503に記載しているような多隔室（multicompartment）ベシクルの形で用いることができる。これらは、複数の非同心コアを含む、すなわち準ハニカム構造を有する脂質二層膜より成るものとみてよい。複数の両親媒性脂質を都合よく用いることができるが、少なくともこれらのうちの一つが正味負電荷を有しているのが有利であり、また一以上の中性脂質が存在していてもよい。従って代表的成分にはホスファチジルセリン類、ホスファチジルグリセロール類、例えばジミリストイルホスファチジルグリセロール、ホスファチジン類、例えばジミリストイルホスファチジン酸、ホスファチジルコリン類例えばジオレオイルホスファチジルコリンまたジパルミトイルホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン類、ジオレオイルレシチン、コレステロール、トリオレイン、トリオクタノインおよびその他の油類／トリグリセライド類およびそれらの誘導体が包含される。

乳濁液中に、例えば安定化成分として、用いることができるその他の親油性物質には、抗酸化剤例えばトコフェロール類またはチオクト酸、脂質溶性の気体または気体前駆体を溶解しかつ安定化させるペルフルオロ化界面活性剤、液晶、ラングミュアープロジェット膜、および親油性生物分解性重合体、例えばブロック共重合体（例えばWO-A-9204392またはWO-A-9317718に記載されているもの）を製造する化合物が包含される。気体／液体のための油溶性担体分子を用いてもよく、この目的にはポルフィリン類が適切な担体であり得る。

界面活性剤助剤などの添加剤、例えば増粘剤、例えばスクロースなどの糖類を用いてもよい。

一つの特に有用な乳濁液群は脂肪ベースの乳濁液、例えば商業的に入手し得る静脈内投与可能な乳濁液Liposyn▲R▼（Abbot Laboratories）、Intralipid▲R▼（Kabi Vitrum）およびSoyacal▲R▼（Alpha Therapeutic）である。かかる乳濁液は、典型的には、大豆油、卵黄燐脂質、グリセリンおよび注射用水に基づいており、また典型的には、粒度的に天然キロミクロンに類似する、直径が0.5μm以下の乳濁液粒子を有している。それらの使用の利点には長い貯蔵寿命、改善された血管コトンラスト半減期および気体の徐放が含まれ得る。

所望により、本発明による造影剤の油相は、一以上の生物学的許容性（biotolerable）無機質の、例えば１ミクロン以下、好ましくは0.2ミクロン以下の粒度を有する懸濁された固体微粒子を付加的に含んでもよい。（例えばシリカまたは酸化鉄より成っていてもよい）かかる微粒子は、造影剤投与後に固／液界面での気体発生を促進する核形成部位として作用し得る。

本発明による造影剤の正確な構成は、使用される特定の成分、予定されている特定の用途および投与後に意図される微小泡サイズなどの要因により広く変わり得る。

すなわち、例えば投与後に形成される微泡のサイズは、一般に気体／液体濃度の増加と共に増大するほか、油相を形成する物質の性質により影響を受ける。造影剤が溶解された気

体を含む場合、これは一般に（例えば造影剤を加圧下に貯蔵するなどして）飽和レベルあるいは過飽和レベルまでもの任意の所望のレベルにすることができる。
加圧された造影剤の場合には、微小泡形成が剤投与の前に例えばバイアルまたはその他の形の容器の口開きと同時に始まることがあり、そして投与後生体内で続行する。加圧されていない造影剤は、例えば造影剤の体温への加温、血液成分の安定化物質中への拡散および／または乳濁液の漸進的破壊の結果として、生体内で微小泡を発生する。あるいはまた、微小泡発生を、例えば乳濁液を例えばマイクロ波加熱により予熱することにより、誘発することができる。
前述のように、好ましい油溶性気体は、低水溶性を有するものである。これによって気体と乳濁液の親油性成分との会合が促進され、それによって微小泡の安定性が一段と高められ、また例えば被覆された微小泡の形で、可撓性のある微小泡／親油性物質マトリックスの発生に到ることもある。当技術分野で認められていることであるが、このような可撓性構造は、より剛性のある被包された微小泡系に比べ、超音波コントラスト効果が高められるために特に有利である。
本発明による造影剤は任意の都合のよい方法により調製してよい。すなわち、例えば（例えば凝縮された油溶性気体／液体、または少なくとも一つの親油性溶媒媒質中の油溶性気体／液体または気体前駆体の溶液より成る）気体／液体含有または気体前駆体含有油相を水性相中に例えば（例えば均質化または音波処理などの）慣用技術を用いて乳荷して水中油乳濁液を形成することができ、あるいは、所望の気体／液体または気体前駆体を予め形成された水中油懸濁液の油相中に取り込んでもよい。
油溶性気体を用いる場合、これは例えば（例えば高められた圧力で）選択された脂溶性溶媒媒質に溶解でき、得られた油を次いで、有利には過剰気体の圧力下にそして必要に応じまたは所望により一種以上の生物相溶性乳化剤の存在下に乳化できる。同様の方法は油溶性液体または気体前駆体を用いる場合にも用いることができる。あるいはまた、気体を予め形成された乳濁液に、例えば気体をその乳濁液を通過させることによりおよび／またはその乳濁液を高められた圧力の気体下に保持することにより取り込んでもよい。
本発明の超音波造影剤は、例えば経腸的にまたは非経腸的に投与できるが、個々の応用例では卵管などの体腔中に直接投与することに利点が存在し得る。しかしながら一般的には血管画像を強調するために、心臓かん流および心臓外かん流を含む（極めて普通には静脈内注射による）血管内投与が採用される傾向が極めて高い。
静脈内投与用の造影剤は肺系の毛細血管床を通過するのに十分な程に小さい微小包を発生すべきであることは理解されよう。従って本剤は、好ましくは10μm未満、好ましくは0.2～８μm例えば0.3～７μmの範囲の直径を有する微小包を発生するようなものであるべきである。
以下に本発明を実施例を挙げて本発明を説明するがこれらに限定されるものではない。

実施例１

Span 20（0.1021g）をｎ－ペンタン（10ml）に溶解した。水（40ml）に溶解したTween 60（0.5466g）を添加し、そしてその混合物をYstralホモジナイザーを用いて０℃で乳化して微細で安定した乳濁液を得た。２mlのその乳濁液を５mlの蒸留水にｎ－ペンタンの沸点を超える37℃で注入することにより超音波減衰を測定した。得られた超音波減衰は20分間安定していた。

実施例２

Span 20（0.1193g）をテトラメチルシラン（TMS）（10ml）に溶解した。水（40ml）に溶解したTween 60（0.9535g）を添加し、そしてその混合物をYstralホモジナイザーを用いて０℃で乳化して微細で安定した乳濁液を得た。２mlのその乳濁液を５mlの蒸留水にTMSの沸点を超える37℃で注入することにより超音波減衰を測定した。強力な超音波減衰が得られ、また信号は20分間安定していた。

実施例３

前記実施例２の乳濁液（0.35ml）を蒸留水（6.65ml）にTMSの沸点を超える37℃で注入した。４分後に最大値を示すエコー源効果が得られ、またその信号は30分間安定していた。

実施例４
前記実施例２の乳濁液（２ml）を蒸留水（５ml）に０℃で注入し、そしてその希釈乳濁液を徐々に37℃まで過熱した。その加熱過程で超音波減衰を測定したところ経時的気体放出を示しつつコントラスト効果が20分間にわたり徐々に増大していった。
実施例５
Span 20（0.0987g）をフラン（10ml）に添加した。水（40ml）に溶解されたTween 60（1.0098g）を添加しそしてYstralホモジナイザーを用いて０℃で乳化したところ微細で安定した乳濁液が得られた。２mlのその乳濁液を５mlの蒸留水にフランの沸点を超える37℃で注入することにより超音波減衰を測定した。エコー源性効果が得られ。またその信号は20分間安定していた。
実施例６
ペンタン（５ml）を水（40ml）に溶解したジドデシルジメチルアンモニウムブロマイド（0.68g）に添加しそしてその混合物をYstralホモジナイザーを用いて０℃で乳化したところ、層状液晶相により安定化された微細乳濁液が得られた。２mlのその乳濁液を５mlの蒸留水に37℃で注入することにより超音波減衰を測定した。エコー源効果が得られ、またその信号は20分間安定していた。
実施例７
ペンタン（５ml）を水（40ml）に溶解したドデシル硫酸ナトリウム（0.56g）および１－デカノール（0.60g）に添加し、そしてその混合物をYstralホモジナイザーを用いて０℃で乳化したところ、層状液晶相により安定化された微細乳濁液が得られた。２mlのその乳濁液を５mlの蒸留水に37℃で注入することにより超音波減衰を測定した。エコー源性効果が得られ、またその信号は20分間安定していた。
実施例８
Span 20（0.10g）をペルフルオロデカリン（４ml）に分散した後六弗化硫黄で４℃で飽和させた。Tween 60（0.45g）を４℃に冷却された水（36ml）に溶解し、そしてそれら二溶液をYstralホモジナイザーを20000rpmで30秒間用いて４℃で乳化した。２mlのその乳濁液を６mlの蒸留水に４℃で注入しそして徐々に37℃に加熱することにより超音波減衰を測定した。２dB/cmまたはそれより大きい減衰が約120秒間みられた。
実施例９
ｎ－デカノール（0.5ml）およびドデカン酸ナトリウム（0.50g）を水（36ml）に分散した。ペルフルオロデカリン（４ml）を４℃に冷却しそして六弗化硫黄で飽和させた。それら二溶液をYstralホモジナイザーを20000rpmで30秒間用いて４℃で乳化した。２mlのその乳濁液を６mlの蒸留水と37℃で混合することにより超音波減衰を測定した。強力な減衰（＞２dB／cm）が約30秒間みられた。
実施例10
実施例９の乳濁液（２ml）を４℃で蒸留水（６ml）と混合しそしてその希釈乳濁液を徐々に37℃に加熱した。超音波減衰を測定したところ、2.7dB／cmの最大減衰が約30秒後にみられた。
実施例11
ｎ－デカノール（0.5ml）およびドデカン酸ナトリウム（0.50g）を水（36ml）に分散した。ペルフルオロデカリン（４ml）を４℃に冷却しそしてキセノンで飽和させた。それら二溶液をYstralホモジナイザーを20000rpmで30秒間用いて４℃で乳化した。２mlのその乳濁液を37℃で６mlの蒸留水と混合することにより超音波減衰を測定した。超音波減衰は５分間の間に１dB／cmから約３dB／cmに増加した。
実施例12
ｎ－デカノール（0.5ml）およびドデカン酸ナトリウム（0.50g）を水（36ml）に分散させる。ペルフルオロオクチルブロマイド（４ml）を４℃に冷却しそしてキセノンで飽和させる。それら二溶液をYstralホモジナイザーを20000rpmで30秒間用いて４℃で乳化する。２mlのその乳濁液を37℃で６mlの蒸留水と混合することにより超音波減衰を測定する。
実施例13

Intralipid▲R▼（Kabi Vitrum，ストックホルム，スウェーデン）、Fluosol▲R▼（Alpha Therapeutic Ltd，英国）またはペルフルオロオクチルブロマイド（10ml）をオートクレーブ内で４℃に冷却する。それら乳濁液をキセノン（20気圧）で16時間加圧しながら撹拌する。次に撹拌を止めそして圧力を徐々に解放する。２mlの各乳濁液を37℃で6mlの蒸留水と混合することにより超音波減衰を測定する。

実施例14

2.5気圧の圧力のペルフルオロ－ｎ－ブタン（1.6g）を、ペルフルオロ－ｎ－ブタンの沸点（約－２℃）より低い－５℃に冷却されたペルフルオロデカリン（0.4g）に添加した。得られた油を冷却された密閉プラスチック容器内で20分間音波処理することにより、Pluronic F68（１％w/w）およびスクロース（30％w/w）を含有する40mlの水性溶液で乳化した。このようにして得られた水中油乳濁液の小滴直径は顕微鏡的に約１ミクロンであることが認められ、そして１週間貯蔵後も有意変化は見られなかった。15ml容器内のその乳濁液の一部（５ml）を800Wマイクロ波オーブン内で80℃に加熱し（典型的加熱時間８～10秒）、冷却しそして濾過（Millipore，10μm）した。顕微鏡的にペルフルオロデカリンの安定化被覆を有するペルフルオロ－ｎ－ブタン微小泡の形成が確認された。総油含量が0.2％w/wとなるように希釈されたかかる微小泡分散液についての試験管内音響減衰は、１～６MHzの周波数範囲にわたり10dB／cmより大きく、また10分以上安定していた。その乳濁液を予熱することなく調製されそして37℃で試験された同様のサンプルの示した試験管内音響減衰は微小泡の自発的発生に伴って７分間の間に２dB／cmに増加した。

フロントページの続き

(72)発明者 ベルグ，アーネ
ノールウエー国エン－１３００ サンドヴイカ．スタシヨーンスヴエアイエン ３７デー
(72)発明者 デユグスター，ハーラル
ノールウエー国エン－０４８９ オスロ．ユーピテルヴエアイエン１３
(72)発明者 フオス，ペル・アントーニウス
ノールウエー国エン－０３７７ オスロ．コンヴエントヴエアイエン ３ベー
(72)発明者 クラーヴエネス，ヨー
ノールウエー国エン－１１６６ オスロ．ミツドトーセン５
(72)発明者 オエステンセン，ヨニユー
ノールウエー国エン－１０５３ オスロ．ロエンネヴエアイエン ８セー
(72)発明者 ロングヴエー，ポール
ノールウエー国エン－１４５０ ネソツドタンゲン．ホーヴデンスヴエアイ１１
(72)発明者 ストラーネ，ペル
ノールウエー国エン－０７５５ オスロ．ノルデングヴエアイエン ７８アー

審査官 榎本 佳予子

(56)参考文献 特開昭６３－３１０６３０（ＪＰ，Ａ）
米国特許第０４９００５４０（ＵＳ，Ａ）
特表平０７－５０１３１９（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
A61K 49/00 - 49/04
BIOSIS(STN)
CA(STN)
MEDLINE(STN)
EMBASE(STN)