[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl[7]
A61K 49/00

[12]发明专利说明书

[21] ZL 专利号 96195574.0

[45]授权公告日 2002 年 4 月 10 日

[11]授权公告号 CN 1082380C

[22]申请日 1996.6.7 [24]颁证日 2002.4.10
[21]申请号 96195574.0
[30]优先权
[32]1995.6.7 [33]GB [31]9511488.0
[86]国际申请 PCT/GB96/01362 1996.6.7
[87]国际公布 WO96/40275 英 1996.12.19
[85]进入国家阶段日期 1998.1.15
[73]专利权人 奈科姆成像有限公司
地址 挪威奥斯陆
[72]发明人 H·杜格斯塔 J·克拉维尼斯
P·罗格威德 R·斯库特伟特
[56]参考文献

WO9217212A	1992.10.15	A61K49/00
WO9428780A	1994.12.22	A61K49/00
WO9506518A	1995. 3. 9	A61K49/00
审查员 刘菊芳

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所
代理人 黄泽雄

权利要求书 1 页 说明书 13 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 造影剂的改进

[57]摘要

本发明公开了一种含有由一种或多种其亲水部分交联或聚合的成膜类 脂类稳定的气体或气体前体微泡的图象造影剂,这种造影剂显示高度稳定 性和造影效率。

ISSN1008-4274

权 利 要 求 书

1. 一种含有由非蛋白质交联或聚合的两亲物稳定的气体微泡或气体前体的诊断造影剂，其特征在于所述交联或聚合的两亲物包括在其亲水部分交联或聚合的二链烷酰基磷脂酰丝氨酸，二链烷酰基磷脂酰甘油，二链烷酰基磷脂酰乙醇胺或二链烷酰基磷脂酰肌醇。

2. 权利要求 1 的造影剂，其中所述两亲物包括一种或多种二链烷酰基磷脂酰丝氨酸与一种或多种二酰基卵磷脂和/或二酰基磷脂酸的混合物。

3. 权利要求 1 的造影剂，其中所述两亲物还包括甾醇。

4. 权利要求 1 的造影剂，其中所述两亲物还包括聚乙二醇部分。

5. 权利要求 1 的造影剂，其中所述交联的或聚合的两亲物是含有 2 - 20 个重复单元的低聚体。

6. 权利要求 1 的造影剂，其中气体微泡包括一种或多种选自空气，氮气，氧气，氢气，一氧化二氮，二氧化碳，氦气，氩气，氟化硫和任意氟化的低分子量的烃的气体。

7. 权利要求 6 的造影剂，包括六氟化硫和/或一种或多种全氟化低分子量烃的微泡。

8. 权利要求 7 的造影剂，其中全氟化低分子量烃为全氟丙烷、全氟丁烷或全氟戊烷。

9. 一种制备权利要求 1 的造影剂的方法，该方法包括形成含有由两亲物稳定的气体，气体前体或挥发性有机液体的微泡的水分散体，该两亲物包括二链烷酰基磷脂酰丝氨酸、二链烷酰基磷脂酰甘油、二链烷酰基磷脂酰乙醇胺或二链烷酰基磷脂酰肌醇，在这种微泡形成之前，之中或之后，交联或聚合其亲水部分中的至少部分两亲物，和如果需要，除去微泡中的气体或液体部分并引入所需气体。

10. 权利要求 9 的方法，其中形成含有挥发性卤代烃，六氟化硫或全氟代烷烃气体或气体混合物的微泡的水分散体。

11. 权利要求 9 或 10 的方法，其中接着将交联或聚合的微泡分散体冷冻干燥。

说　　明　　书

造影剂的改进

本发明涉及新的造影剂，更具体地，本发明涉及用于诊断成像的含气体或产生气体的造影剂。

公开的国际专利申请 WO92/17212（其内容在此引作参考）公开了含有由非蛋白质交联的或聚合的两亲部分包封的气体微泡和气体前体的超声造影剂。在这种造影剂中的两亲物的表面活性使气体微泡稳定，例如，通过减少与周围液体，如载体液体或体液的界面处的表面张力，或在这种界面通过形成单层或多层，例如一个或多个双层来稳定气泡，同时这种两亲物的化学键产生进一步的稳定性。

本发明涉及落入上述 WO92/17212 总范围内但没有具体公开的造影剂，并且以发现其中两亲物含有成膜类脂类的造影剂显示特别有利的性质为基础。

因此，本发明提供用于诊断研究的造影剂，其含有稳定的气体微泡或气体前体，例如，至少部分被其亲水部分中交联的或聚合的成膜类脂类包封。

在表面活性剂领域大家公认形成膜的类脂类在水介质中具有形成液晶双层的特点。其分子几何形状中亲水和疏水部分一般是大小相近的。成膜类脂类还包括在气－水界面（例如，在 Langmuir-Blodget 膜中）形成单层或单个双层的两亲物。优选成膜类脂类包括如在生物膜中发现的并且具有低水溶性和在水溶液中有降低表面张力(例如几乎降为 0)趋势的类脂类；这种类脂类在水介质中一般形成低浓度凝胶状或液晶双层。

我们发现含有这种类脂类的造影剂显著增加造影效果，例如，被与具体公开在 WO92/17212 的超声造影剂相比，其灰度、多普勒效应和/或二次谐波效率有所提高所证实。

由于成膜类脂类赋予的高度稳定性，将其它组分如表面活性剂或辅助表面活性剂加到稳定交联的或聚合的成膜的类脂物质中是可能的，甚至在某种程度，这种交联的或聚合的成膜类脂仅占稳定例如包封用物质的很小部

分，同时保持足够的产物稳定性。类似地，例如，在本发明造影剂中使用低度交联或聚合来提高包封用物质的柔性是可能的，同样将提高造影剂的图象密度。

这里所用术语“交联的”指至少两个成膜类脂分子的化学键形成例如聚合结构，并且包括与所谓零交联剂反应制备的系统。术语“聚合的”和“聚合结构”包括低分子量系统如二聚体和其它低聚体。根据本发明，含有例如 2 - 20 个重复单元的低聚体是优选的成膜类脂类。

用于制备本发明造影剂的一类优选的成膜类脂类包括磷脂如二酰基卵磷脂，二酰基磷脂酰丝氨酸，特别是二链烷酰基磷脂酰丝氨酸如二棕榈酰基和二硬脂酰基磷脂酰丝氨酸。相应的二酰基磷脂酰甘油，磷脂酰乙醇胺和磷脂酰肌醇也是优选的。其它可使用的类脂类包括一和二脂肪酸甘油酯，鞘脂类，糖脂类，甘油类脂类，脂肪酸糖酯类。应当理解，至少一个成膜类脂应在其疏水部分含有所需功能基，该功能基能在适当条件下和/或与适当试剂反应进行所需的交联和/或聚合，进而产生可生物降解键，例如包括酰胺，亚酰胺，亚胺，酯，酐，缩醛，氨基甲酸酯，碳酸盐，碳酸酯或二硫化物基团。

本发明产物可包括混合的成膜类脂类，例如，以使成膜性质优于单个组分的性质。例如，这些成膜类脂类的混合物可包括二酰基磷脂酰丝氨酸和二酰基卵磷脂的混合物或二酰基磷脂酰丝氨酸和二酰基磷脂酸的混合物。这种混合物的其它组分可包括改善膜性质如稳定性，分散性，聚集趋势，生物活性，柔性和极性的物质。代表性的添加剂包括甾醇，如胆甾醇，带有改善表面基团如聚乙二醇部分的物质，和非交联和非聚合的磷脂。另外，这种成膜类脂可经过相对的低度交联或聚合以使造影剂产品中包封性膜物质包括未反应的（例如单体的）成膜类脂部分。

在本发明造影剂中可使用任何可生物相容的气体，例如空气，氮气，氧气，氢气，一氧化二氮，二氧化碳，氦气，氩气，氟化硫如六氟化硫，十氟化二硫和三氟甲基五氟化硫，低分子量（例如 C_{1-6}）的任意氟代烃如甲烷，乙炔，四氟化碳和其它全氟烷类如全氟丙烷，全氟丁烷和全氟戊烷以及上述物质的任意混合物（例如在 WO95/03835 中公开的，其内容在此引作参考）。这里所用术语“气体”包括在 37 ℃为气体或蒸汽形式的任何物质

包括混合物。一般地，这种气体在微泡中是游离的或被吸收或夹带在所含物质中。

当稳定的膜具有低渗透性时，例如，由于成膜类脂的高度交联或聚合，优选使用在水和体液中具有较高溶解性的气体。如果使用更多孔的膜，例如成膜类脂有较低度交联或聚合，优选使用低水溶性的气体或气体混合物，例如，包括六氟化硫，十氟化二硫，氟利昂或碳氟化合物如全氟乙烷，全氟丙烷，全氟丙烯，全氟丁烷，全氟环丁烷，全氟丁－2－烯，全氟丁－1，3－二烯，全氟丁－2－炔或全氟戊烷。其它低水溶性气体公开在 EP－A－0554213 和 WO93/05819 中，所述文献内容在此引作参考。

气体前体包括碳酸盐和碳酸氢盐，例如，碳酸氢钠或碳酸氢铵和氨基马来酸酯。其它优良的气体前体公开在 WO 94/21302 中，其内容在此引作参考。这里所用术语“气体前体”也包括如挥发性烃的物质，这种烃开始被包封着或者是稳定的，但是通过例如蒸发或冷冻干燥可以部分或全部被除去，被气体代替。

本发明造影剂可以用于各种诊断成像技术，包括超声，MR 和 X－射线成像；其在诊断超声成像和 MR 成像中的应用，如作为灵敏的造影剂构成了本发明的优选特征。

对于超声应用如回声心动描记术，为了允许自由通过肺系统和获得约 0.1-15MHz 的好的图象频率响应，一般使用平均大小为 0.1-10μm，如 1－7μm 的稳定微泡。但是，比较大的微泡，例如平均大小高达 500μm，可用于其它应用，例如胃肠成像或子宫或输卵管的检查。

本发明造影剂可通过任何常规方法制备，例如形成含有被一种或多种成膜类脂类稳定的气体，气体前体或挥发性有机液体的微泡的水分散体，在这种微泡形成之前，之中或之后，交联或聚合其亲水部分中的至少部分类脂或类脂类混合物，如果需要，除去微泡中的气体或液体部分并引入所需气体。

应该理解，该方法中所用任何挥发性有机液体应理想地至少是与水基本上不溶的并且对于成膜类脂为非溶剂。代表性的液体包括，例如卤代烃如氟里昂。

微泡可通过例如在适当的气体、气体前体或有机液体的存在下搅拌成膜类脂（如果需要，这种类脂至少已经是部分交联或聚合的形式）的水溶液形成，例如通过在含有这种气体和/或有机液体的封闭容器中振荡或声处理上述溶液，以便形成所需尺寸范围的微泡。这种水溶液优选用脱气水制备并且，如果需要，含有附加组分如缓冲剂，增粘剂等。当在上述方法阶段使用气体时，气体优选是六氟化硫，全氟烷烃如全氟丁烷，或任何具有类似低水溶性的其它气体或气体混合物，以保证在稳定的成膜类脂微泡形成和其交联或聚合期间微泡足够的持续性。

可以使用的其它微泡形成技术包括机械均化，例如，用旋转定子或竖式转锥磨机；微液化，其中两相的射流碰撞形成乳液；挤出，例如，其中包括大气泡的两相流通过微孔如喷嘴或过滤器的微孔（过滤器优选单粒的）以形成含有小气泡的乳液；和气体喷射，例如通过微孔如喷嘴或玻璃盘的微孔将气体注入液体。

然后，如果需要，将成膜类脂类与适当的交联剂或聚合活化剂反应，这种交联剂或聚合活化剂与或使至少一种成膜类脂中的官能团反应。可以理解，反应参数如试剂的量，反应时间，温度和 pH，搅拌速度，催化剂的存在和性质等可根据需要进行调整以得到所需交联或聚合度。如果需要，可通过使用三官能或多官能交联剂增加交联度。

交联剂或聚合活化剂的精确性质将明显取决于成膜类脂的性质，特别是其中存在的活性官能团的性质。许多互补对的相互作用官能团在本领域中是已知的，例如，在 WO 92/17436 中综述的那些，该部分内容在此引作参考。作为实例，含有游离氨基的成膜类脂类可与二醛类如戊二醛反应。既含游离氨基又含羧基的成膜类脂类可通过与羧基活化剂如碳化二亚胺，优选水溶性碳化二亚胺如 N－乙基－N′－（3－二甲氨基丙基）碳化二亚胺盐酸盐（该化合物还可被认为是零交联剂）反应被聚合形成酰胺聚合物。还可缩合分别含有适当官能团的两个或多个类脂类。可以使用的交联剂通常至少含有二个活性官能团并且包括，例如偕－二卤化物，磷酸和硫酸。

可以理解，成膜类脂稳定的微泡固有高稳定性有利于在交联和聚合反应过程中保持微泡结构。这种微泡惊人的高稳定性使其可以被洗涤和纯化，并且在交联或聚合前可以储存一段时间。因此，处理时间没有限制，如果

需要，该过程可以间断。

当达到了所需的交联或聚合度后，残余的一种或多种试剂可以被淬灭或除去，例如通过除去水反应混合物，如用重力沉降分离或离心。交联的或聚合的微泡可根据需要洗涤例如 2－5 次；如果需要，这种洗涤用水中可含有添加剂如渗透压调节剂，缓冲剂，低温保护剂等。这种洗涤步骤可通过除去尺寸过小的微泡（其具有最小的声（echogenic）响效果）和非气体填充的粒子来改进产物的大小分布特征。

如果需要制备无水产物，可将洗涤过的微泡分散体干燥并除去包封气体或液体核的物质，例如通过冷冻干燥，得到可无限期储存的含有空薄壁的胶囊的干粉，例如，在要加到产物中的气体或气体混合物的气氛下储存。然后，产物可以在，例如用于注射的无热原灭菌水中进行再生，得到可注射制剂。

如果需要，在上述干燥步骤前或后可将产物加热灭菌。

下列非限定性实施例用于说明本发明。

实施例 1－8

一般方法

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）溶解在 50mg 丙二醇/甘油（3: 10）的 1ml 水的溶液中得到最终浓度为 5mg 磷脂/ml 溶液。将该储存溶液的 0.8ml 转移至有螺旋盖的 2ml 小瓶中，然后用全氟丁烷气体冲洗其顶部空间。将小瓶剧烈振荡 45 秒，并转移至台辊（table roller）上约 30 秒。通过在水中溶解试剂达到 0.1ml 溶液含有 1 当量戊二醛或 2 当量 N－乙基－N′－（3－二甲氨基丙基）碳化二亚胺盐酸盐（EDC）的浓度来制备交联剂/聚合活化剂的储存溶液。在每个应用中，将试剂溶液经过移液管的尖头移至每个小瓶的底部，之后用全氟丁烷气体冲洗顶部空间，并将小瓶转移至台辊上并滚动约 3 小时。将小瓶在 2000rpm 和 20℃离心 5 分钟，之后用注射器从小瓶底部除去下浮物并用等体积的脱气水代替。用全氟丁烷气体冲洗顶部空间，继续滚动直到得到均一的分散体。该洗涤过程重复 2 次。

实施例 1

将磷脂与 0.1ml 戊二醛溶液反应。该产物用 Coulter 计数器分析（数

量和大小分布）和体外回声性（echogenicity）测量表征，发现其在室温可稳定几天。

实施例 2

将磷脂与 0.1ml EDC 溶液反应。该产物用 Coulter 计数器分析（数量和大小分布）和体外 echogenicity 测量表征，发现其在室温可稳定几天。

实施例 3

将磷脂在台辊上预洗 30 分钟，之后将小瓶在 2000rpm 和 20℃离心 5 分钟，用注射器从小瓶底部除去下浮物并用等体积的脱气水代替。用全氟丁烷气体冲洗顶部空间，继续滚动直到得到均一的分散体。将预洗的磷脂与 0.1ml 戊醛溶液反应。该产物用 Coulter 计数器分析（数量和大小分布）和体外 echogenicity 测量表征，发现其在室温可稳定几天。

实施例 4

将如实施例 3 预洗的磷脂与 0.1ml EDC 溶液反应。该产物用 Coulter 计数器分析表征（数量和大小分布）并进行体外 echogenicity 测定，发现其在室温可稳定几天。

实施例 5

将磷脂与 0.1ml 戊二醛溶液反应。将所得悬浮液冷冻并冷冻干燥。

实施例 6

将磷脂与 0.1ml EDC 溶液反应。将所得悬浮液冷冻并冷冻干燥。

实施例 7

将磷脂与 0.1ml 戊二醛溶液反应。在最后的洗涤步骤中，用 20％的作为低温保护剂的葡萄糖溶液代替下浮物。将所得悬浮液冷冻并冷冻干燥。

实施例 8

将磷脂与 0.1ml EDC 溶液反应。在最后的洗涤步骤中，用 20％的作为低温保护剂的葡萄糖溶液代替下浮物。将所得悬浮液冷冻并冷冻干燥。

实施例 9

a）用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠

盐）制备的全氟戊烷/空气微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）（5.0mg）的蒸馏水（1ml）溶液在一个 2ml 有隔膜的小瓶中剧烈振荡 15 秒，在 60℃加热 10 分钟后，冷却至 20℃。加入全氟戊烷（1.2μl）并将小瓶剧烈振荡 30 秒得到由光学显微镜测定全氟戊烷/空气微泡大小为 2－4μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。

b）磷脂的聚合

将 EDC 的水溶液（3 滴水中含 0.1mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 2－4μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

c）磷脂的交联

将戊二醛水溶液（25%，16.5mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 2－4μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

实施例 10

用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）制备的全氟戊烷/空气微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）（4.6mg）的蒸馏水（1ml）溶液在一个 2ml 有隔膜的小瓶中剧烈振荡 15 秒，在 60℃加热 10 分钟后，冷却至 20℃。加入全氟戊烷（2.4μl）并将小瓶剧烈振荡 30 秒得到由光学显微镜测定全氟戊烷/空气微泡大小为 2－4μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。用类似实施例 9（b）和（c）的技术可将上述产物聚合或交联。

实施例 11

a）用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）制备的全氟戊烷/空气微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）（5.2mg）的蒸馏水（1ml）溶液在一个 2ml 有隔膜的小瓶中剧烈振

荡 15 秒，在 60℃加热 10 分钟后，冷却至 20℃。加入全氟戊烷（5mg）并将小瓶剧烈振荡 30 秒得到由光学显微镜测定全氟戊烷/空气微泡大小为 2－5μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。

b）磷脂的交联

将戊二醛水溶液（25%, 16.5mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 2－4μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

实施例 12

a）用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）制备的全氟丁烷/全氟己烷微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）（5.0mg）的蒸馏水（1ml）溶液在一个 2ml 有隔膜的小瓶中剧烈振荡 15 秒，在 60℃加热 10 分钟后，冷却至 20℃。将该小瓶在 10mmHg 下抽空 20 分钟除去空气，之后用全氟丁烷冲洗顶部空间。加入全氟己烷（1.4μl）并将小瓶剧烈振荡 30 秒得到由光学显微镜测定全氟丁烷/全氟己烷微泡大小为 1－10μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。

b）磷脂的聚合

将 EDC 的水溶液（3 滴水中含 0.1mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 2－4μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

实施例 13

a）用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）制备的全氟戊烷/空气微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）（3.0mg）和丙二醇/甘油（3: 10，46mg）的蒸馏水（1ml）溶液在一个 2ml 有隔膜的小瓶中剧烈振荡 1 分钟。加入全氟戊烷（4.5μl）并将小瓶剧烈振荡 30 秒得到由光学显微镜测定全氟戊烷/空气微泡大小为 2－10μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。

b) 磷脂的聚合

将 EDC 的水溶液（3 滴水中含 0.1mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中并将所得混合物剧烈振荡 5 秒。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 1－5μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

实施例 14

a) 用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸制备的全氟戊烷/空气微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）(2.5mg)和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸(0.5mg)的蒸馏水（1ml）溶液在 80℃加热 1 小时。加入全氟戊烷（1.2μl）后将混合物剧烈振荡 30 秒得到由光学显微镜测定全氟戊烷/空气微泡大小为 1－8μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。

b) 磷脂的交联

将戊二醛水溶液（25%，16.5mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中并将该混合物剧烈振荡 5 秒。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 1－5μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

实施例 15

a) 用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸制备的全氟戊烷/空气微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）(4.5mg)和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸(0.5mg)的蒸馏水（1ml）溶液在 80℃加热 1 小时。加入全氟戊烷（1.2μl）后将混合物剧烈振荡 30 秒得到由光学显微镜测定全氟戊烷/空气微泡大小为 1－10μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。

b) 磷脂的交联

将戊二醛水溶液（25%，16.5mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中并将

该混合物剧烈振荡 3 秒。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 1－5μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

c) 磷脂的聚合

将 EDC 的水溶液（3 滴水中含 0.1mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中并将该混合物剧烈振荡 3 秒。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 1－5μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

实施例 16

a) 用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸制备的全氟戊烷/空气微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）（2.5mg）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸（0.7mg）的蒸馏水（1ml）溶液在 80℃加热 1 小时。加入全氟戊烷（5mg）后将混合物剧烈振荡 30 秒得到由光学显微镜测定全氟戊烷/空气微泡大小为 1－8μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。

b) 磷脂的聚合

将 EDC 的水溶液（3 滴水中含 0.1mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中并将该混合物剧烈振荡 3 秒。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 1－5μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

实施例 17

a) 用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸制备的全氟戊烷/空气微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）（2.5mg）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸（0.6mg）和丙二醇/甘油（3：10，40mg）的蒸馏水（1ml）溶液在 80℃加热 1 小时。加入全氟戊烷（1.4μl）后将混合物剧烈振荡 30 秒得到由光学显微

镜测定全氟戊烷/空气微泡大小为 1－10μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。

b）磷脂的交联

将戊二醛水溶液（25%,16.5mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中并将该混合物剧烈振荡 3 秒。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 1－5μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

实施例 18

a）用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸制备的全氟戊烷/空气微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）（4.5mg）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸（1.0mg）和丙二醇/甘油（3: 10，45mg）的蒸馏水（1ml）溶液在 80℃加热 1 小时。加入全氟戊烷（1.2μl）后将混合物剧烈振荡 30 秒得到由光学显微镜测定全氟戊烷/空气微泡大小为 1－10μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。

b）磷脂的交联

将戊二醛水溶液（25%,16.5mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中并将该混合物剧烈振荡 3 秒。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 1－8μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

c）磷脂的聚合

将 EDC 的水溶液（3 滴水中含 0.1mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中并将该混合物剧烈振荡 3 秒。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 1－5μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

实施例 19

a）用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸制备的全氟戊烷/

空气微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）（2.5mg）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸（0.5mg）和丙二醇/甘油（3: 10，40mg）的蒸馏水（1ml）溶液在 80℃加热 1 小时。加入全氟戊烷（2.5μl）后将混合物剧烈振荡 30 秒得到由光学显微镜测定全氟戊烷/空气微泡大小为 1－10μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。

b）磷脂的交联

将戊二醛水溶液（25%，16.5mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中并将该混合物剧烈振荡 5 秒。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 1－7μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

c）磷脂的聚合

将 EDC 的水溶液（3 滴水中含 0.1mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中并将该混合物剧烈振荡 5 秒。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 1－5μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

实施例 20

a）用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸制备的全氟己烷/空气微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）（2.5mg）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸（0.5mg）的蒸馏水（1ml）溶液在 80℃加热 1 小时。加入全氟己烷（1.4μl）后将混合物剧烈振荡 30 秒得到由光学显微镜测定全氟己烷/空气微泡大小为 2－10μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。

b）磷脂的聚合

将 EDC 的水溶液（3 滴水中含 0.1mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中并将该混合物剧烈振荡 3 秒。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大

小为 2－10μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

实施例 21

a) 用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸制备的全氟己烷/空气微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）（2.5mg）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸（1.3mg）的蒸馏水（1ml）溶液在 80℃加热 1 小时。加入全氟己烷（1.4μl）后将混合物剧烈振荡 30 秒得到由光学显微镜测定全氟己烷/空气微泡大小为 2－10μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。

b) 磷脂的交联

将戊二醛水溶液（25%，16.5mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中并将该混合物剧烈振荡 3 秒。将小瓶放在有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 2－10μm。该悬浮液可在室温稳定几天。

实施例 22

a) 用 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸制备的全氟己烷/空气微泡

将 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－（磷酸－L－丝氨酸）（钠盐）（2.5mg）和 1，2－二棕榈酰基－sn－甘油基－3－胆碱磷酸（0.6mg）和丙二醇/甘油（3：10，45mg）的蒸馏水（1ml）溶液在 80℃加热 1 小时。加入全氟己烷（2.4μl）后将混合物剧烈振荡 30 秒得到由光学显微镜测定全氟己烷/空气微泡大小为 2－10μm 的悬浮液。该悬浮液可在室温稳定几天。

b) 磷脂的交联

将戊二醛水溶液（25%，16.5mg）加到上述（a）的悬浮水溶液中并将该混合物剧烈振荡 3 秒。将小瓶放在约有 60°倾斜的慢速旋转圆盘传送带上，并在 20℃放置 20 小时。用光学显微镜估计所得微泡的大小为 2－10μm。该悬浮液可在室温稳定几天。