

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 94191154.3

[45] 授权公告日 2001 年 7 月 11 日

[11] 授权公告号 CN 1068229C

[22] 申请日 1994.12.1 [24] 颁证日 2001.4.12

[21] 申请号 94191154.3

[30] 优先权

[32] 1993.12.15 [33] EP [31] 93810885.9

[86] 国际申请 PCT/IB94/00376 1994.12.1

[87] 国际公布 WO95/16467 英 1995.6.22

[85] 进入国家阶段日期 1995.8.11

[73] 专利权人 勃勒柯研究有限公司

地址 瑞士卡罗奇

[72] 发明人 颜 峰 M·施奈德 J·布罗肖

[56] 参考文献

CN1074619A 1993.7.28 A61K49/00

WO9306869 1993.4.15 A61K49/00

审查员 刘菊芳

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所

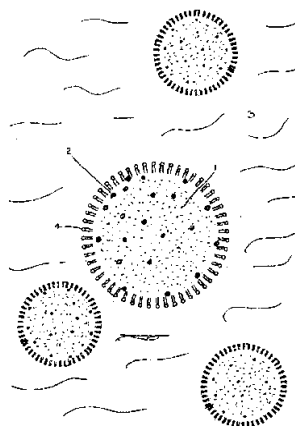
代理人 章鸣玉

权利要求书 3 页 说明书 23 页 附图页数 6 页

[54] 发明名称 超声对比介质、含该介质的对比剂及方法

[57] 摘要

本发明涉及以微气泡或微气球形式用于超声回波描记术的可注射的介质,它包含至少两种生物相容性的物质 A 和 B (在体温下是气体),形成混合物,当其 与通常的表面活性剂、添加剂和稳定剂形成混悬液时产生有用的超声对比剂。混合物中至少组分之一(B)是分子量 > 80 道尔顿,标准状态下的水中溶解度 < 0.0283ml/ml 水的气体,超声对比介质中第一组分(B)的量可在 0.5—41 体积% 之间变化,另一组分(A)为分子量 < 80 道尔顿的气体或 气体混合物。第二组分以 59—99.5 体积% 的比例存在,且可较佳地选自 氧气、空气、氮气、二氧化碳或其混合物。所述气体混合物作为超声对比介质 被证明为非常有效。本发明还包括制备超声对比介质、对比剂和超声试剂盒的 方法。





权 利 要 求 书

1. 一种超声对比介质, 包含体温下为气体的生物相容性物质, 其特征在于: 所述介质是气体(A)和(B)的混合物, 其中, 气体(B)以 0.5—41%(体积)的量存在, 其分子量大于 80 道尔顿, 在标准状态下测得的水中溶解度低于 0.0283ml 气体/ml 水, 混合物的剩余部分为气体(A)。

2. 按权利要求 1 所述的超声对比介质, 其中气体(B)为含氟的生物相容性气体。

3. 按权利要求 2 所述的超声对比介质, 其中含氟气体选自 SF₆、CF₄、C₂F₆、C₃F₆、C₃F₈、C₄F₆、C₄F₈、C₄F₁₀、C₅F₁₀、C₅F₁₅ 及其混合物。

4. 按权利要求 3 所述的超声对比介质, 其中含氟气体为六氟化硫或八氟环丁烷。

5. 按权利要求 1 所述的超声对比介质, 其中气体(A)选自空气、氧气、氮气、二氧化碳及其混合物。

6. 一种可注射的超声对比剂, 包含在含通常的表面活性剂、添加剂和稳定剂的生理学上可接受的水质载体中的充气微气泡或微气球的混悬液, 其特征在于: 所述充气微气泡或微气球中的气体是包含两种生物相容性气体(A)和(B)的气体混合物, 其中气体(B)以 0.5—41%(体积)的量存在, 其分子量大于 80 道尔顿, 在标准状态下的水中溶解度低于 0.0283ml/ml 水, 混合物的剩余部分是气体(A)。

7. 按权利要求 6 所述的超声对比剂, 其中气体(B)是含氟生物相容性气体。

8. 按权利要求 7 所述的超声对比剂, 其中含氟气体选自 SF₆、CF₄、C₂F₆、C₃F₆、C₃F₈、C₄F₆、C₄F₈、C₄F₁₀、C₅F₁₀、C₅F₁₂ 及其混合物。

9. 按权利要求 6 或 7 所述的超声对比剂, 其中气体(A)选自氧气、

氮气、二氧化碳或其混合物。

10. 按权利要求 6 所述的超声对比剂，其中表面活性剂包括至少一种以层状和/或片状存在的成膜表面活性剂，以及，任选地，包括亲水性稳定剂。

11. 按权利要求 10 所述的超声对比剂，其中成膜表面活性剂为磷脂。

12. 按权利要求 11 所述的超声对比剂，其中磷脂选自磷脂酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰甘油、磷脂酰肌醇、心磷脂、鞘磷脂及其混合物。

13. 按权利要求 11 所述的超声对比剂，其中除磷脂外，水质载体还包括聚氧乙烯和聚氧丙烯的共聚物及甘油。

14. 按权利要求 6 所述的超声对比剂，其中表面活性剂为豆油、吐温[®]和/或山梨醇。

15. 一种干制剂，包含表面活性剂、添加剂和稳定剂，贮存于在体温下为生物相容性气体的物质的混合物下，所述气体混合物中气体(B)是分子量大于 80 道尔顿、标准状态下的水中溶解度低于 0.0283ml/ml 水的气体，其量为 0.5-41%(体积)。

16. 按权利要求 15 所述的干制剂，其中所述气体(B)为含氟生物相容性气体。

17. 按权利要求 16 所述的干制剂，其中所述气体混合物剩余的 58—99.5%(体积)部分为空气、氧气、氮气、二氧化碳及其混合物。

18. 一种两组分试剂盒，包括贮存于体温下为气体的物质混合物下的表面活性剂、添加剂和稳定剂的干制剂作为第一组分，以及生理学上可接受的载体液作为第二组分，当其与第一组分混合时，便产生超声对比剂，是一种两组分的混悬液，其中，混合物中一种气体是含氟生物相容性气体，其分子量大于 80 道尔顿、在标准状态下

的水中溶解度低于 0.0283ml 气体/ml 水，其量为 0.5-41%(体积)，混合物的剩余部分为空气、氧气、氮气、二氧化碳或其混合物。

19. 按权利要求 18 所述的两组分试剂盒，其中含氟气体选自 SF₆、CF₄、C₂F₆、C₃F₆、C₃F₈、C₄F₆、C₄F₈、C₄F₁₀、C₅F₁₀、C₅F₁₂ 及其混合物。

20. 制备权利要求 6 的超声对比剂的方法，该超声对比剂包含两种生物相容性组分(A)和(B)的气体混合物混悬在含通常的表面活性剂和稳定剂的生理学上可接受的水质载体液中以便形成充分微气泡或微气球，方法的特征在于，按如下标准确定在所述气体混合物中气体组分(B)的最小有效比例：

$$B_c\% = K / e^{bMwt} + C$$

其中 B_c% (体积) 为混合物中组分 B 的总量，K、C 及 b 分别为数值为 140、-10.8 和 0.012 的常数，Mwt 表示超过 80 的组分 B 的分子量。

21. 按权利要求 20 所述的制备超声对比剂的方法，其中表面活性剂为选自磷脂酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰甘油、磷脂酰肌醇、心磷脂、鞘磷脂及其混合物的磷脂。

22. 权利要求 1 的超声对比介质在超声对比剂制造上的应用。

说明书

超声对比介质、含该介质的对比剂及方法

技术领域

本发明涉及用于超声回波描记术的对比介质及包含携带该对比介质的微粒(微气泡、微气球或微胶囊)混悬液的可注射的超声对比剂。除了微粒外,对比剂还包含生理学上可接受的水质载体液,后者包括表面活性剂、添加剂和稳定剂。本发明还涉及制备超声对比介质和对比剂的方法及使用它们的方法。

背景技术

一种认识,即可注射的气体微粒混悬液用作诊断目的的有用的超声对比剂,引发了相当多的研究和开发,旨在改善具有较高稳定性的充气的微气球或微气泡的分散性,对压力变化的抗性变得更好,有较好的回波源性,使其易于制造、实地应用和贮存。关于具有这种混悬液的超声对比剂已提出过很多建议。例如,WO-A-91/15244 (Schneider et. al.) WO-A-92/11873 (Beller et. al.) 或 EP-A-0077752 (Schering) 公开了水混悬液在超声回波描记术中用作造影剂。

WO-A-91/15244 (Schneider et. al.) 公开了含薄片状和/或层状成膜表面活性剂及任选地含亲水性稳定剂的微泡混悬液。将成薄片状的表面活性剂在与水相混合前或后与空气或气体接触,得到混悬液。成膜表面活性剂转变成层状是按各种技术进行的,包括高压匀浆化或在声频或超声频率下作声波处理。已报告的这些混悬液中微泡的浓度在 10^8 — 10^9 个气泡/毫升之间。所公开的混悬液在贮存过程中显示较高的稳定性。

在 WO-A-94/09829 (Schneider et. al.) 中, 用于制备非常稳定的水混悬液的薄片状和/或层状磷脂的浓度可低至相当于以单分子层磷脂围绕混悬液中的微泡。稳定的低磷脂含量(低至几 $\mu\text{g}/\text{ml}$)的混悬液曾被长时间贮存而无微泡总数和回波源性的明显缺失。

EP-A-0 554 213 (Schneider 等) 公开了赋予用作超声对比剂的微气泡或微气球混悬液抗压力变化的稳定性。在该专利申请中, 证明了如果通常用的空气、氮气或其他气体至少部分地被一些气体所取代时, 该气体的溶解度(升气体/升水)在标准条件下除以分子量(道尔顿)其值不超过 0.003, 则微泡抵抗因注射时压力变化所致的塌陷的稳定性有明显增强。该申请公开中的满足上述标准的气体为 SeF_6 , SF_6 , CF_4 , C_2F_6 , C_4F_{10} 等。业已发现, 这些气体产生持续时间长、在体内很稳定的微泡, 后者因而能提供高质量的回波描记图象。

WO-A-92/17212 和 WO-A-92/17213 (Klaveness 等) 公开了含具有非蛋白质类交联或聚合的两亲物质(如磷脂)和交联蛋白质(如白蛋白)形成的外壳的微气泡的超声对比剂。微气球系将气体, 如空气、氧气、氩气、氮气、氦气、氙气、 CH_4 、 SF_6 或气体前体如碳酸氢钠或铵进行微囊包封而成。

WO-A-93/06869 (Mallinckrodt Medical Inc) 公开了温血动物超声成象方法, 其中将药学上可接受的气体或气体混合物给予动物, 并用超声探头对动物进行扫描。气体或气体混合物经吸入而给予, 因为显然在吸入混合物几分钟时, 在温血动物的血流中会形成微气泡, 组织的回波成象会改变。所公开的气体和气体混合物包括氧气、氧化亚氮、 C_2H_6 、 SF_6 、氩气、全氟化碳等。有用的气体和气体混合物是在血液中有形成较大气泡倾向的那些气体和气体混合物, 可以氙气和氧化亚氮及其它弱活性的全身麻醉剂如六氟化硫为典型例子。作为例子的混合物含有 20% 氧、60—80% 六氟化硫和/或 20% 氮、氩、氧化亚氮或乙烯; 或 20% 氧、20% 氮和 60% 氩或氧化亚氮。该方法的基

本点是比较两次不同扫描时得到的超声信号。第一次在吸入气体混合物前,第二次在吸入后某个时间。

WO-A-93/05819 (Quay)揭示了一个有趣的概念。该文件公开了液体十二氟戊烷或十氟丁烷和山梨醇的水乳剂,它在注射后形成气体微泡,这种微泡耐压力变化,能提供好的回波源信号。乳剂中的物质,虽在室温时呈液体,但挥发度高,在体温下容易挥发,从而在含添加剂和稳定剂如山梨醇的液体载体中形成气体分散体。注射后,高挥发度物质滴迅速解聚,产生大量很有持久性的微泡。仅含纯净形式的选定物质如十二氟戊烷、排除空气或任何其它气体的微泡被存在于乳剂载体液体中的稳定剂如山梨醇、吐温 20 和豆油所稳定。通过概括,Quay 发现,上述技术可用在大量其他非液体(气体)化学物质上,这些化学物质通过容积密度、溶解度和扩散系数(系数 Q)之间的关系所规定的标准而被引入应用中。该文件要求保护凡系数 Q 大于 5 可作为潜在的回波描记剂之用的任何生物相容性气体,并列出了满足此标准的约 180 对气体/液体。从该文件得出,为获得所需性质,必须用系数 Q 大于 5 的物质来制成对比剂。规定的标准为 $Q=4.0 \times 10^{-7} \times \rho / C_s D$,其中 ρ 为气体密度, D 为气体在溶液中的扩散系数, C_s 为气体的水溶解度,而且它已通过一简单模型的使用而得到了发展,在该模型中,所用的气体在水中的扩散系数和溶解度几乎是最接近真实的值。从按上述标准选出的纯的即非混合的物质得到的对比剂显示了令人鼓舞的结果。在实验犬上的试验报导了对比剂经外周静脉注射后在心肌的回波描记上提供有希望的结果(见 Beppu S. et al. in Proceedings from 66th Scientific Session of the American Heart Association, Atlanta, October 1993)。已发现十二氟戊烷的 2.2%乳剂的注射能在长达 85 分钟内产生中等的乳浊化作用,视剂量而异。但是,在能使左心的乳浊化成为均匀的剂量下,观察到了动脉血氧饱和度降低及肺动脉收缩压升高。

现有技术组合物中很多有其长处，很多正在作深入的临床试验。很多处于开发的各种阶段。然而，从很多报告看来，至今只有极少数对比剂有开发成为基本上由超声回波描记术提供的全方位诊断可能性。事实上，只有少量对比剂是真正有用的，它们帮助医学同行得益于该诊断技术，后者代表着分析人体内器官的最好的非侵袭性方法之一。并非很多对比剂都能允许超声概念的全部潜能的开发，这阻碍了该技术和/或造影剂的较广泛的使用。用已知的回波描记剂的实验法证明，其中某些不能提供足够的反散射以确保好的强度和对比度，或只以一定的百分比提供有用的图象，这限制了它们作为一般用途诊断工具的应用，另一些由于对压力变化耐力差而寿命短，不能提供有意义的测量或有用的图象。有代表性的是，其微气泡或微气球被高水溶性的气体所充填的对比剂抗压力变化性差。外壳由坚固物质组成的微气球的混悬液也是无效的，因为它们在对声波的响应上共振不足。对压力变化抗力高的值得注意的对比剂是使用在水载体中溶解度低的气体的对比剂。溶解度低的直接后果是消溶率低，从体内消除慢。这种难溶气体制的造影剂在血循环中长时间保留，引起气体微泡回复或再循环，对试验初始阶段产生的图象引起干扰。这样的对比剂一般对于左心造影有用，但因消溶和消除缓慢，它们不能有效地用于灌注测量。灌注测量通常是由回波描记响应曲线积分而进行的，这是在造影剂“单次通过”后出现的典型的高斯函数。因此“单次通过”后的回复或再循环是不合需要的，因为重复会使最终结果迭加和受损。因此，一般承认，赋予高的压力抗性的微气泡或微气球的经历一定时间的存留是扰乱大于帮助。具有很长存留时间的微泡的回波描记对比剂仅仅对某些研究，如血管多普勒(Doppler)研究，是有用的。用于左心和心肌造影的对比剂应当提供清晰的图象，且应对压力变化有高的抗性，但不应持续过长时间，并且不干扰注射后即刻建立的图象。对于拟用于覆盖各种应用范围并有清晰图象的对比剂而言，再

循环不是这类对比剂合乎需要的特征。显然,非常合乎需要的是在注射后调节对比剂的压力抗性或存留时间,即,使用设计成对压力有足够抗性但在循环中有效时间受到控制的气泡(或微气球)的混悬液。这一要求在下面的本发明中得到了满足。

发明概述

简言之,本发明涉及微气泡或微气球形式的可注射的超声对比剂,包含至少两种形成混合物的生物相容性的、在体温下为气体的物质 A 和 B,当其与通常的表面活性剂、添加剂和稳定剂形成混悬液时,成为有用的超声对比剂。混合物中的至少一种组分(B)是气体,其分子量 > 80 道尔顿,标准状态下的在水中的溶解度低于 0.0283ml 气体/ ml 水。在整个本申请文件中,气体溶解度指相应于本生系数,分子量大于 80 道尔顿被认为相对较高,而分子量小于 80 道尔顿被认为相对较低。因此,本发明的混合物可定义为这样的混合物,即其中混合物的大部分由“相对较低”分子量的一种或几种气体组成,而混合物的小部分由“相对较高”分子量的气体或气体混合物组成。对比介质中的这“小部分”或活性组分(B)的量实际上总是在 0.5 — 41 体积%之间。超声对比介质的另一组分(A)可以是气体或气体混合物,它在水中的溶解度大于氮(在标准状态下为 $0.0144\text{ml}/\text{ml}$ 水),它在混合物中的量实际上总是在 59 — 99.5 体积%之间。这“大部分”或占优势的组分最好是分子量相对较低(通常在 80 道尔顿以下)的一种或几种气体,且选自诸如氧气、空气、氮气、二氧化碳或其混合物之类的气体。

在本发明的超声对比介质中,分子量 > 80 道尔顿的气体可以是气体混合物或在体温下为气体、在室温下为液态的物质的混合物。只要每一种这样的物质的分子量大于 80 道尔顿,在标准状态下,每种物质的水中溶解度低于 0.0283ml 气体/ ml 水,这样的气体或液体物质就可能在本发明的对比介质中是有用的。

当充填了本发明的对比介质并分散在含有用的表面活性剂、添加剂和稳定剂的水性载体中时,所形成的微气泡提供了对压力变化的抗性受到控制,注射后存留时间得到调整的,用于超声成象的可注射的对比剂。除含微气泡外,本发明的对比剂还可含有表面活性剂,它们稳定短暂的气/液外壳,还可任选地含有亲水性试剂和其它添加剂。添加剂可包括聚氧丙烯和聚氧乙烯(聚氧单体)的嵌段共聚物、聚氧乙烯-脱水山梨醇、山梨醇、甘油-聚硬脂酸亚烷基酯、甘油-聚蓖麻醇酸亚乙酯、聚二醇、豆油及氢化衍生物的均聚和共聚物、蔗糖或其他碳水化合物与脂肪酸、脂肪醇的醚和酯、豆油、葡聚糖、蔗糖和碳水化合物的甘油酯。表面活性剂可以是成膜的和不成膜的,可包括亚油酰卵磷脂或聚十二酸亚乙酯。表面活性剂最好包括一种或几种选自磷脂酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰甘油、磷脂酰肌醇、心磷脂、鞘磷脂及其混合物的层状或片状成膜表面活性剂。

本发明还包括制备超声对比剂的方法,即在含有用的表面活性剂和稳定剂的生理学上可接受的载体中混悬含气体混合物的充气微气泡或微气球,气体混合物中至少有一种气体其在混合物中的最小有效量可按下式确定:

$$B_c\% = K/e^{bM_{wt}} + C$$

其中 $B_c\%$ (体积) 是混合物中组分 B 的总量, K 、 C 和 b 是数值分别为 140、-10.8 和 0.012 的常数, M_{wt} 表示超过 80 的组分 B 的分子量。按本发明方法制得的对比剂包含对压力变化抗性极好、消溶率受到控制的微气泡或微气球的混悬液。

本发明还包括一种试剂盒,它包含通常贮存在气体和/或液体的混合物下的,可在体温下被转变为气体的干制剂。当分散在生理学上可接受的载体液中时,含有气体和/或液体混合物的干制剂就产生本发明的超声对比剂。本发明还揭示了在超声对比剂存在下冻干的干

制剂的贮存方法。

本发明进一步包括具有含超声对比介质的微气泡的对比剂的制备方法,以及它们在人或动物体内器官的造影方面的用途。

附图的简要说明

图 1 是按本发明的超声对比介质的示意图。

图 2 是对比介质的临界压力(P_c)作为所选气体在混合物中的量的函数所作的图。

图 3 表示以八氟环丁烷(C_4F_8)(图 3B)和十二氟戊烷(C_5F_{12})(图 3A)制成的对比介质的临界压力(P_c)作为混合物中气体量的函数所作的图。

图 4 是混合物中气体最小量作为分子量的函数所作的图。

图 5(小猪静脉注射后左心乳浊化)是静脉注射含各种浓度 SF_6 的对比介质后小猪左心中得到的体内回波描记响应作为时间的函数所作的图。

图 6(家兔主动脉内注射后心肌乳浊化)表示用含各种浓度 C_4F_8 的对比介质得到的体内回波描记响应作为时间的函数所作的图。

发明的详述

本发明建立在如下意想不到的发现的基础上:包含充有至少两种生物相容性气体或在体温下为气体的物质 A(大部分或相对较低的分子量)和 B(活性化的或相对较高的分子量)的混合物的气泡的超声对比介质,在含通常的表面活性剂、添加剂和稳定剂的混悬液中时,提供了可注射的超声对比剂;它既有合乎要求的对压力的抗性,在循环中存在时间又较短,这两个参数均可随意控制。只要在混合物中的(活性)物质或组分中至少一种,其分子量大于 80 道尔顿(相对较高的分子量),以某一最小比例存在,只要它在标准状态下在水中的溶解度低于 0.0283ml 气体/ml 水,超声对比介质就能提供与单用纯物质时所得到的同样好的回波描记性质。所谓“活性化”,是指将其

物理性质赋予混合物中其他组分的物质或组分,使混合物在回波源性和对压力变化的抗性上与单一该物质或组分(纯的形式)表现相同或几乎相同。在大多数情况下,对比介质中活性化或高分子量的第一种组分的量从低至 0.5 体积%(对于高分子量和低水溶性的物质而言)到 41 体积%。实验证明,分子量低于 80 道尔顿(低分子量)的物质不适于作为活性化组分,而分子量的上限难以确定,因为只要它们的分子量相对较高,即 >80 ,所有受试化合物均有效。因而发现,分子量约 240 道尔顿的化合物如十氟丁烷或分子量 290 道尔顿的化合物如全氟戊烷是有效的活性化组分。还有迹象表明,分子量略高于 500 道尔顿的物质,如 1,2,3-十九烷三羧酸、2-羟基-三甲酯也可用作活性化的高分子量组分。另一相应地以 59—99.5 体积%的量存在的“大部分”的组分,可以是其水中溶解度大于氮(在标准状态下为 0.0144ml/ml 水)的一种或几种气体。第二种组分以氧气、空气、氮气、二氧化碳或其混合物为佳,而以氧气或空气为更佳。但是,对于组分 A,其他较不常用的气体如氩、氙、氪、 CHClF_2 或氧化亚氮也可使用。这些较不常用的气体中有些分子量高于 O_2 、 N_2 、空气、 CO_2 等,例如 >80 道尔顿,但即使这样的话,它们在水中的溶解度仍将超过 B 类气体,即 $>0.0283\text{ml/ml}$ 水。

相当令人意想不到的,发现由少至 0.5 体积%的诸如十二氟戊烷或 0.8 体积%的十氟丁烷之类的物质与空气混合形成的混合物在水质载体中会生成微气泡,它在体内产生极好的回波描记图象,且对压力变化有抗性。这是特别令人惊奇的,因为迄今认为,为了得到好的左心和心肌回波描记图象,这些物质及就此而言的其他很多物质,必须使用 100%浓度,即纯的形式(无空气)。用含不同量的这些低水溶性物质和空气的混合物进行的实验证明,其回波描记图象和只用纯物质制的回波描记剂在同样条件下得到的回波描记图象一样好。

早期的研究证明,在循环中空气微泡发生迅速消除,因为这个另外方面在生理学上较佳的气体由于稀释而快速消溶,还证明了微气泡的消散可通过各种表面活性剂、添加剂和稳定剂的使用而减少。在开发的早期,作为消散问题的对策,曾提出过有形物质作壁的微气球或微气泡。有人曾提出用天然或合成聚合物如脂质双层(脂质体)或变性蛋白质如白蛋白作壁的充以空气或 CO_2 而制成的微气泡。较老的对比剂对压力变化的抗性差及由此而产生的回波源性丧失促使寻找对存在于血流中的压力变化有较大抗性的气体粒子。因而提出了如六氟化硫或新近提出的十二氟戊烷之类的气体。用这些气体所作的实验表明,注射后,单独用这些气体制得的微泡悬液在血循环中确实对塌陷有很大抗性。作为这些初始发现的结果,鉴定出了近 200 种不同的气体对于制备超声对比剂是潜在有用的,从而令人意外地发现,将氧气或空气与这些对压力有抗性的气体中某些气体混合,人们可得到比纯六氟化硫或十二氟戊烷具有生理学上更好的耐受性和/或较短的消溶半衰期的超声剂,而仍保留这些气体单独使用时好的压力抗性。假定本发明的超声介质如此惊人的性能是出自如下事实:即在含气体混合物的微泡中,由于存在一种或几种气体大分子,其水溶性与空气或氧气大致相同或低一些,因而空气向周围液体中的扩散减慢。尽管这种惊人的行为的理由尚未被解释,但可以假定,高分子量气体的分子,即使很少量,实际上确实“堵住微泡边界上的孔”,从而阻止低分子量气体通过跨膜扩散而逃逸。此模式的图示见图 1,其中,含与分子量 >80 道尔顿的气体(2)混合的空气(1)的微泡悬浮在水介质(3)中。用表面活性剂(如磷脂)稳定的短暂的外层(4)使气体混合物保留在给微泡定界的包容容积内。均匀分散在整个微泡容积中的活性或小量气体 B 会较慢的扩散,最终阻塞在水溶液中自发形成的表面活性剂样的外壳的孔,从而阻止较小的及典型地较易溶解的多量组分 A 的迅速离散。另一方面,活性或小量组分气体

(B)比氧或空气显示对用于稳定短暂外壳的表面活性剂的磷脂部分更大的亲和力。因此按照另一假说,这些气体有在膜附近浓缩的趋势,从而阻止或减缓较小气体跨膜扩散。即使如此,收集到的实验资料提示,为制备本发明的回波描记介质,混合物中活性气体的需要量相当于阻塞给定的膜材料的孔的量或相当于在微泡内壁形成单分子层所需的量。因此,需要的最小量是阻塞孔或复盖膜内表面以阻止低分子量组分逃逸和消溶所需要的量。

还认为,本发明的超声对比介质的优良性能来自氮气、二氧化碳、氧气或空气(主要为一种氧气/氮气混合物)与其它气体的联合使用。从功能上来说,这些生物学上和生理学上相容的气体提供所述介质以重要的特性,从而确保其优越的性质。尽管本发明的超声对比介质可用很多起大量或组分 A 作用的其它气体制成,但以氧气和空气为佳。在本文件的上下文中,将空气作为一种“一组分”气体。

按照本发明,使用分子量 >80 道尔顿的一种或几种气体,与水中溶解度 $>0.0144\text{ml/ml}$ 水、分子量通常 <80 道尔顿的一种或几种气体混合,可得到对压力变化抗性高,又相对快速消溶即在体内清除的超声对比介质。诸如氧气或空气之类的气体与在体温下为气体而在室温下可为液态的物质混合,可提供具有混合物中各气体的所有优点的回波描记介质。换言之,这些混合物以微泡悬浮液形式注射时,会提供有鲜明对比的清晰和干净利落的图象(对于对压力变化抗性好的微泡来说尤为典型),同时基本上象只充填空气或氧气那样容易被消溶。从而,通过将空气、氮气、二氧化碳或氧气与一定控制量的在体温下为气体的任何已知生物相容性高分子量物质合用,可得具有重大的、完全意想不到的优点的超声对比介质。如上所述,这些介质提供了每一组分的优点,即从一个组分得到对压力变化的好的抗性,从另一个组分得到相对快速的消溶,与此同时,消除了介质中每一组分单用时的各自缺点。这是特别令人惊奇的,因为人们原本意

料到的是分开使用的组分的性质平均起来的性质。

只要这些生物相容性物质(B)的分子量 >80 道尔顿,在标准状态下它们在水中的溶解度 $<0.0283\text{ml}$ 气体/ ml 水,则这些气态或液态物质对于本发明的对比介质都是有用的。虽然和合适的表面活性剂和稳定剂合用,在B类中可使用如下的气体,如六氟化硫、四氟甲烷、氯代三氟甲烷、二氯二氟甲烷、溴代三氟甲烷、溴代氯代二氟甲烷、二溴二氟甲烷、二氯四氟乙烷、氯代五氟乙烷、六氟乙烷、六氟丙烯、八氟丙烷、六氟丁二烯、八氟-2-丁烯、八氟环丁烷、十氟丁烷、全氟环戊烷、十二氟戊烷、较佳的为六氟化硫和/或八氟环丁烷。本发明的介质宜含选自如下气体的气体B:六氟化硫、四氟甲烷、六氟乙烷、六氟丙烯、八氟丙烷、六氟丁二烯、八氟-2-丁烯、八氟环丁烷、十氟丁烷、全氟环戊烷、十二氟戊烷,较好的是含六氟化硫和/或八氟环丁烷。

本发明的另一个意想不到的惊人的特征是这样一个事实:当WO93/05819的标准应用于本发明的介质时,用本气体混合物所得的Q系数低于5。这是令人震惊的,因为按照WO93/05819,Q系数低于5的介质是被排除在适于制备有用的超声对比介质的气体之外的。然而,本发明者发现,本发明的均匀气体混合物虽然Q系数远远低于5,仍为超声成象提供了有用的对比剂。

当充填了本发明的对比介质并分散在含通常的表面活性剂、添加剂和稳定剂的水质载体中而形成的微泡为超声成象提供了有用的对比剂。除了微泡外,本发明的对比剂还将含有表面活性剂、添加剂和稳定剂。可包含一种或几种层状或片状形式的成膜表面活性剂的表面活性剂被用于稳定微泡的短暂气/液外壳。还可使用水合剂和/或亲水性稳定剂化合物如聚乙二醇,碳水化合物如乳糖或蔗糖、葡聚糖、淀粉及其它多糖类,或其它常规添加剂,如聚氧丙二醇和聚氧乙二醇;脂肪醇和聚氧亚烷基二醇的醚;脂肪酸和聚氧烷基化脱水山梨

醇的酯；皂类；甘油-聚亚烷基硬脂酸酯；甘油-聚氧乙烯蓖麻酸酯；聚亚烷基二醇的均聚和共聚物；聚乙氧基化豆油和蓖麻油及氢化衍生物；蔗糖或其他碳水化合物与脂肪酸、脂肪醇的醚和酯，它们是任意地聚氧烷基化的；饱和或不饱和脂肪酸的甘油一酯、二酯和三酯；豆油和蔗糖的甘油酯类。表面活性剂可以是成膜和不成膜的，可包括亚油酰基卵磷脂类可聚合的两亲化合物或聚十二烷酸亚乙基酯。表面活性剂以成膜的为宜，选自磷脂酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰甘油、磷脂酰肌醇、心磷脂、鞘磷脂及其混合物的磷脂类则更好。

应该理解，本发明并不限于只用微泡作本发明超声对比介质的载体的对比剂。任何合适的充有超声对比介质的粒子，如具有合成或天然聚合物或蛋白质制的外壳的脂质体或微气球，均可方便地被使用。因此，现已被确定，填充了本发明的超声对比介质的用白蛋白、或脂质体囊或胆影酸乙酯多孔粒子制成的微气球提供了好的回波描记对比剂。与单用纯物质制成的原制剂的混悬液相比，其中微泡用山梨醇或聚氧乙烯/聚氧丙烯共聚物(市售品称作 Pluronic®)之类非离子型表面活性剂稳定的混悬液表明有同样好的造影能力，因此相信，本发明提供了更有概括性的超声介质概念，提供了对超声成象问题的更深入的洞悉以及对对比剂性能的更好的控制。因此，本发明的介质和含介质的对比剂被认为是使该技术在其发展中更进一步的产品。

本发明还包括制备超声对比剂的方法，该超声对比剂中至少含两种组分的气体混合物混悬在含通常的表面活性剂和稳定剂的生理学上可接受的水质载体液中以便形成充气微气泡或微气球，方法的特征在于，按如下标准确定在所述气体混合物中至少一种气体组分(B)的最小有效比例：

$$B_c\% = K/e^{bM_{wt}} + C$$

其中 $B_c\%$ (体积)为混合物中组分 B 的总量，K 和 C 分别为数值为

140 和 -10.8 的常数, M_{wt} 表示超过 80 的组分 B 的分子量, b 的量是操作温度和稳定微气泡的膜(脂质膜)的厚度的复合函数;然而,因为体温是基本恒定的,稳定剂膜结构基本上不依赖脂质浓度,因此 b 值保持在 0.011—0.012 的间距中,可认为是常数。按本方法制得的对比剂包含对压力变化具有极好抗性和相对快速消溶的微气泡或微气球的混悬液。这两种性质被控制到实际上现在可能按顾客要求定制回波描记剂的程度。用上面的标准,从在体温下为气体,其分子量和水中溶解度如上所述的任何可购得的无毒(“架子上的”)物质出发,可制得具有合乎需要的特性的对比剂。

本发明还包括含表面活性剂、添加剂和稳定剂的干制剂,它贮存在这样一些物质的混合物下:即它们在体温下是气体,其中至少一种是分子量大于 80 道尔顿、在标准状态下其在水中的溶解度低于 0.0283ml/ml 水的气体。在注射前,将含冻干的成膜表面活性剂和任选地含聚乙二醇或其它常规亲水物质之类水合剂的制剂与生理学上可接受的载体液混合,以制得本发明的超声对比剂。成膜表面活性剂较佳地为选自磷脂酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰甘油、磷脂酰肌醇、心磷脂、鞘磷脂及其混合物的磷脂。

在一种变体中,通过非离子型表面活性剂如聚氧乙烯和聚氧丙烯的共聚物和成膜表面活性剂如二棕榈酰磷脂酰甘油合用可保证微气泡短暂的气/液外壳的稳定性。如前所述,水质液体载体可进一步包含亲水性添加剂,如甘油、PEG、山梨醇等。此外,可用含吐温[®] 20、山梨醇、豆油和任选地含其他添加剂的盐水溶液制备本发明的有用的对比剂。

本发明还公开了一种两组分试剂盒,包括贮存于气体混合物下的表面活性剂、添加剂和稳定剂的干制剂作为第一组分,生理学上可接受的载体液为第二组分,当其与第一组分接触时便产生超声对比介质。试剂盒可包括两个分开的小瓶的体系,每个小瓶含一种组分,

两瓶靠近放,以便可在使用对比剂前方便地将两组分合并。显然,含干制剂的小瓶将可同时含本发明的超声介质。方便的做法是,试剂盒可以是预先充满的两个分隔空间的注射器形式,也可进一步包括装在其两端之一上的一根针作为连通时用的工具。

本发明还包括具有含超声对比介质的微泡的对比剂的制备方法,以及它们在人或动物体中器官造影上的应用。

当用于人或动物体中器官的造影时,以在上述生理学上可接受的载体液中的水混悬液形式对患者投与本发明的超声对比介质,用超声探头对患者进行扫描,由此得到被造影的器官或身体部分的图象。

下面的实施例进一步阐明本发明。

实施例 1

将 120mg 二花生酰磷脂酰胆碱(DAPC,购自 Avanti Polar Lipids)和 5mg 二棕榈酰磷脂酸(DPPA 酸型,购自 Avanti Polar Lipids)溶于 25ml 己烷/乙醇(8/2,v/v),然后用旋转式蒸发器在圆底烧瓶中将溶剂蒸发至干,制成多层囊泡(MLVs)。在真空干燥器中使残留的脂质膜干燥,加入水(5ml)后,在搅拌下将混合物 90℃保温 30 分钟。将所得溶液于 85℃挤压通过 0.8 μ m 聚碳酸酯滤器(Nuclepore®)。将制得物加到 45ml 葡聚糖 10,000 MW(Fluka)水溶液(167mg/ml 溶液)中。充分混合该溶液,转入 500ml 圆底烧瓶,冷冻于-45℃并在 13.33Nt/m²(0.1 托)下冻干。过夜,达到冰的完全升华。将所得冻干物每份 100mg 装入 20ml 玻璃小瓶。用橡皮塞盖紧小瓶,真空抽吸除去小瓶中的空气。经针头通过塞子将含各种量的六氟化硫的空气混合物注入小瓶。

通过在每个小瓶中注入 10ml 3%甘油水溶液,接着剧烈混合,得到气泡混悬液。用血球计数计对所得微气泡混悬液计数。平均气泡大小为 2.0 μ m。在临界压力(Pc)的体外测量(如 EP-A-0554213 所

设定的)中,完成对各种样品的回波源性(即反散射系数)测量和气泡计数。

如可从结果中看到的那样,含 100%空气(样品 A)的微气泡对压力的抗性低。但是,仅含 5%SF₆ 时,对压力的抗性有相当程度的增加,含 25%SF₆ 时,对压力的抗性几乎与 100%SF₆ 的相同。另一方面,气泡浓度、平均气泡大小和反散射系数几乎与 SF₆ 的百分率无关。

表 1

样品	空气 体积%	SF ₆ 体积%	Q 系数	Pc mmHg	回波源性 1/(cm. sr)×100	浓 度 (气泡/ml)
A	100	0	1.0	43	1.6	1.5×10 ⁸
B	95	5	1.3	68	2.1	1.4×10 ⁸
C	90	10	1.6	85	2.4	1.5×10 ⁸
D	75	25	3.1	101	2.3	1.4×10 ⁸
E	65	35	4.7	106	2.4	1.5×10 ⁸
F	59	41	5.8	108	2.4	1.6×10 ⁸
G	0	100	722.3	115	2.3	1.5×10 ⁸

以 0.5ml/10kg 的剂量将所得混悬液静脉注射到小猪体内,在视频信号记录器上记录左心室腔的图象。用 Acuson×P128 超声系统(Acuson Corp. USA)和 7MHz 扇形传感器进行体内回波描记测量。采用视频显象测密术,用图象分析仪(Dextra Inc.)测量对比剂的密度。图 5 表示在小猪左心的视频显象测密记录。在 100%空气的实例(样品 A)和 95%空气的实例(样品 B)之间又观察到相当大的差异。特别是,有 5% SF₆ 时,早已几乎达到最大密度,在循环中的半衰

期也显示非常快的增加。有 10%SF₆ 时,密度不再增加而仅有半衰期的延长。从本实施例可以推断,在气体混合物中用大于 10%—25% 的 SF₆,并不能提供实际的好处。可以很有趣地注意到,从所用混合物得到的 Q 系数都远远低于 WO-A-93/05819 规定的临界值。

实施例 2

将按实施例 1(用 PEG4000 代替葡聚糖 10,000)所得的 PEG/DAPC/DPPA 冻干物的等分样品(25mg)加到 10ml 玻璃小瓶中。将两只 Tedlar[®] 样品袋分别充以空气和八氟环丁烷(C₄F₈)。用各注射器从袋中抽出一定体积并经三通活栓系统混合其中内容物。然后将选定的气体混合物引入(预先抽空过的)玻璃小瓶。然后将冻干物混悬在 2.5ml 盐水(0.9%NaCl)中。下面给出的结果显示混悬液对压力的抗性、气泡浓度和反散射系数。在 100%C₄F₈ 的情况下,对压力的抗性达到 225mmHg(与空气的情况下的 43mmHg 相比)。再次说明,仅 5%C₄F₈ 就已可观察到压力抗性的相当大的增加了(P_c=117-mmHg)。

给家兔主动脉内注射对比剂(0.03ml/kg)后,含有 2%C₄F₈ 时就已可注意到对比剂效应在心肌中的略微延长了(与空气相比较)。然而含有 5%C₄F₈ 时,对比剂的持续时间增加很多,好象在对压力抗性的阈值之上,气泡的存留时间极大地增加(见图 6)。

表 2

样品	空气 体积%	C ₄ F ₈ 体积%	Q 系数	P _c mmHg	回波源性 1/(cm. sr)×100	浓度 (气泡数/ml)
A	100	0	1.0	43	1.6	1.8×10 ⁸
B	95	5	1.4	117	2.2	3.1×10 ⁸
C	90	10	1.7	152	3.1	4.7×10 ⁸

D	75	25	3.3	197	3.5	4.9×10^8
E	65	35	4.6	209	3.4	4.3×10^8
F	59	41	5.5	218	2.8	4.0×10^8
G	0	100	1531	225	2.3	3.8×10^8

此处又证明,混合物中气体 B 占 5%的这种气体混合物能产生很好的图象,而用含 $\leq 25\%$ 八氟环丁烷的气体混合物则可得到极好的左心图象。

临界压力作为 C_4F_8 在与空气所组成的混合物中的百分率的函数所作的相关图示于图 2 中。本实施例再次表明,使用气体混合物时仅仅通过加入小百分率的高分子量/低溶解度的气体就可相当大程度地改善空气泡对压力的抗性。附图还表明,通过气体混合物的适当选择,任何合乎需要的对压力的抗性都将是可能的。

实施例 3

使用如实施例 5 所述同样的冻干物。气相由十二氟戊烷(C_5F_{12})和空气组成。 C_5F_{12} 在室温下是液体,沸点 $29.5^\circ C$ 。将每瓶含有按实施例 5 所述而获得的 50mg PEG/DSPC/DPPG 冻干物的 24ml 玻璃小瓶置于真空下,在真空下密封,然后 $45^\circ C$ 加热。通过塞子将小体积(几微升) C_5F_{12} 注入仍置于 $45^\circ C$ 下的小瓶中。然后在小瓶中引入空气以恢复大气压。于室温下冷却后,通过塞子注入盐水(5ml),并剧烈振摇小瓶。计算在气相中的 C_5F_{12} 的实际百分率,假定引入的液体完全挥发。这是一个过高估计,因为在此温度下,部分液体不呈气态。如图 3 所示,在空气中仅含 $0.5\% C_5F_{12}$ 时已可检出对压力的抗性的增加。在含 $1.4\% C_5F_{12}$ 时,对压力的抗性超过 130mmHg。还将这些混悬液静脉注入小猪体内(0.5ml/15kg)。如实施例 1 所述,用视频测密术测量密度。如表 3 所示,含 $1.4\% C_5F_{12}$ 时已达到最大密度,较高

百分率的 C_3F_{12} 导致半衰期延长, AUC 增加。半衰期 $t_{1/2}$ 定为注射和密度降至其最大值的 50% 之间过去的时间。曲线下面积 (AUC) 测至 $t_{1/2}$ 。

表 3

样品	空气 体积%	C_3F_{12} 体积%	Q 系数	Pc mmHg	回波源性 (cm. sr) ⁻¹	浓度 (气泡数/ml)	半衰期 ($t_{1/2}$) 秒	Inten Gray 水平	AUC ($t_{1/2}$)
A	100	0	1.0	43	0.017	1.8×10^8	11	22	78
B	99.5	0.5	1.0	80*	—	—	—	—	—
C	98.6	1.4	1.1	133	0.026	3.9×10^8	14	97	609
D	97.1	2.9	1.4	182	0.028	3.9×10^8	17	98	860
E	94.2	5.8	1.7	295	0.040	5.2×10^8	59	99	3682
F	85.5	14.5	3.4	394	0.036	4.5×10^8	78	97	5141

* 估计

实施例 1—3 还证明, 与 WO-A-93/05819 中所述相反, 从 Q 值较小、有时远小于 5 的气体混合物可得到优异的对比增强剂。

实施例 4

将购自 Avanti Polar Lipids (USA) 的 58mg 二花生酰磷脂酰胆碱 (DAPC)、2.4mg 二棕榈酰磷脂酸 (DPPA) 和购自 Siegfried 的 3.94g 聚乙二醇 (PEG4000) 于 60°C 下溶于圆底玻璃器皿中的叔丁醇 (20ml) 中。将澄清的溶液快速冷却于 -45°C 并冻干。将所得白色饼状物的各等分样品 (25mg) 装入 10ml 玻璃小瓶。

用气体充填 Tedlar® 气体取样袋, 一个袋中充以空气, 一个袋中充以六氟化硫 (SF_6)。用分开的两个注射器通过隔膜从每个袋中取预定体积的气体, 经三通活栓混合两内容物。将得到的气体混合物注入已抽空并用橡皮塞塞住仍处于真空下的 10ml 玻璃小瓶中。7 个小瓶含不同比例的空气和 SF_6 的气体混合物。 SF_6 浓度在 0—100% 之

间。SF₆在气相中的实际百分率用光密度分析法(A. Paar 光密度计)确定。然后通过塞子将盐水(0.9% NaCl)注入每个小瓶(5ml/瓶),激烈振摇使粉末溶解。体外或体内评估形成的微泡混悬液。用浊度测定法测定对压力的抗性 P_c,用脉冲回波装置测定反散射系数(均在 EP-A-0 554 213 中有描述)。用 Coulter Multisizer II (Coulter Electronics Ltd.)分析以确定气泡浓度和平均气泡大小。所得结果实际上和实施例 1 所得者相同。

表 4

气体 A	气体 B	气体 B 体积 %	P _c mmHg	气体 A Mwt	气体 B Mwt	溶解度* 气体 A	溶解度* 气体 B
O ₂	C ₄ F ₈	0	40	32	200	0.083	0.016
	C ₄ F ₈	5	112				
	C ₄ F ₈	10	148				
CO ₂	C ₄ F ₈	0	50	44	200	0.74	0.016
	C ₄ F ₈	5	-				
	C ₄ F ₈	10	204				
CHClF ₂	C ₄ F ₈	0	-	86.5	200	0.78	0.016
	C ₄ F ₈	5	106				
	C ₄ F ₈	10	163				
氙	C ₄ F ₈	0	50	131	200	0.108	0.016
	C ₄ F ₈	5	147				
	C ₄ F ₈	10	181				

SF ₆	C ₄ F ₈	0	124	146	200	0.005	0.016
	C ₄ F ₈	5	159				
	C ₄ F ₈	10	193				
N ₂	SF ₆	0	55	28	146	0.0144	0.005
	SF ₆	5	80				
	SF ₆	10	108				
CF ₄	SF ₆	0	84	182	146	0.0038	0.005
	SF ₆	5	91				
	SF ₆	10	106				
氙	SF ₆	0	50	131	146	0.108	0.005
	SF ₆	5	67				
	SF ₆	10	83				

* 本生系数

实施例 5

如实施例 4 所述,用 30mg 二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)和 30mg 二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)(均购自瑞士 SYGENA 公司),制得 PEG/DSPC/DPPG 冻干物。将所得饼状物的各个等分样品(25mg)装入 10ml 玻璃小瓶。从充填各种气体的 Tedlar® 袋中取出适当体积,在各小瓶中充入不同的气体混合物。表 4 列出所研究的气体,其分子量、溶解度(表示为本生系数)及所得微气泡的对压力的抗性。特别有趣的是可以注意到,单独使用高度溶解的气体如 CO₂、氙、CHClF₂ 时,形成稳定和有抗性的气泡的能力很差,而如果加入少量 SF₆ 或 C₄F₈ 等气体时则产生高度稳定的气泡。

实施例 6

将本发明的方法应用于如 WO 92/11873 的实施例 1 中所述制成的微泡混悬液中。将 3g Pluronic® F68(分子量为 8400 的聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物)、1g 二棕榈酰磷脂酰甘油和 3.6g 甘油加到 80ml 蒸馏水中。于约 80°C 加热后得到澄清的均匀溶液。将该表面活性剂溶液冷却至室温,体积调节至 100ml。用经三通活栓连接的两个注射器得到气泡混悬液。一支注射器充以 5ml 表面活性剂溶液,而另一支充以 0.5ml 空气或空气/C₄F₈ 混合物(见表 5)。三通活栓在与含气体注射器连接前先充满表面活性剂溶液。通过交替操纵两个活塞,在两个注射器之间来回转送表面活性剂溶液(每个方向 5 次),得到乳状混悬液。用饱和了空气的蒸馏水稀释(1/50)后,测定对压力的抗性(Pc)。将各个等分样品静脉内注入麻醉家兔(0.03ml/kg),记录左心室的回波图象。测定曲线下面积(AUC)和半衰期(t_{1/2})。当使用 5% C₄F₈ 时观察到半衰期和 AUC 有明显增加(与空气比较)。同样的结果见于用 5% C₅F₁₂ 时。

表 5

空气 体积%	C ₄ F ₈ 体积%	Pc (mmHg)	右心室乳浊化			左心室乳浊化		
			t _{1/2}	强度	AUC	t _{1/2}	强度	AUC
100	0	54	4	96	280	9	101	514
99	1	89	7	98	377	12	98	632
95	5	136	14	94	829	40	101	2693

空气 C₅F₁₂

95	5	177	*	*	*	43	111	3249
----	---	-----	---	---	---	----	-----	------

* 变朦胧

实施例 7

如 WO-A-93/05819 所述,用空气和八氟环丁烷 C_4F_8 混合物得到微泡混悬液。制备含山梨醇(20g)、NaCl(0.9g)、豆油(6ml)、吐温 20(0.5ml)的水溶液并用蒸馏水调节至 100ml。取 10ml 此溶液于一支 10ml 注射器中,另一支 10ml 注射器充以空气和 C_4F_8 的混合物。两支注射器经三通活栓而连接。通过交替操作两个活塞之一共 20 次,得到乳状混悬液。试验这些混悬液对压力的抗性。还将各个等分样品静脉注射到麻醉家兔体内(0.1ml/kg),记录左心室的回波图象。有趣地发现,用 1% 或甚至 5% C_4F_8 时,在左心室未检出对比剂。但用 1% 甚至高于 5% C_5F_{12} 时,得到了左心室的乳浊化作用。

表 6

空气 体积%	C_4F_8 体积%	右心室 乳浊化	左心室 乳浊化	空气 体积%	C_5F_{12} 体积%	右心室 乳浊化	左心室 乳浊化
100	0	+	-	100	0	+	-
99	1	+	-	99	1	+	+
95	5	++	-	95	5	++	++

“-”无乳浊化

“+”中度乳浊化

“++”良好乳浊化

实施例 8

如实施例 4 所述,用 30mg 二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC)和 30mg 二棕榈酰磷脂酰甘油(DPPG)(均购自瑞士 SYGENA 公司)制得 PEG/DSPC/DPPG 冻干物。将所得饼状物的各个等分样品

(25mg)加入 10ml 玻璃小瓶中。从充以各种气体的 Tedlar® 袋中取出适当体积,在各小瓶中充入不同的气体混合物。表 7 列出所研究的气体混合物及所得微泡对压力的抗性。值得注意的是,高分子量气体甚至可以是具有高分子量和溶解度(表示为本生系数)低于 0.0283 的两种或两种以上气体的混合物。

表 7

样品	C ₄ F ₈ 体积%	CF ₄	air 体积%	Pc mmHg	吸光度
A ₁	5	15	80	113	0.284
A ₂	10	10	80	147	0.281
A ₃	15	5	80	167	0.281

由此可见,也可用两种或两种以上活性或少量组分气体的混合物代替单一的气体(B)。虽然,在此实施例中,临界压力与两组分中较重者的百分率成正比,但可以认为,另外的气体组合可能会通过协同作用而进一步降解混合物中不溶性气体的总量。

说明书附图

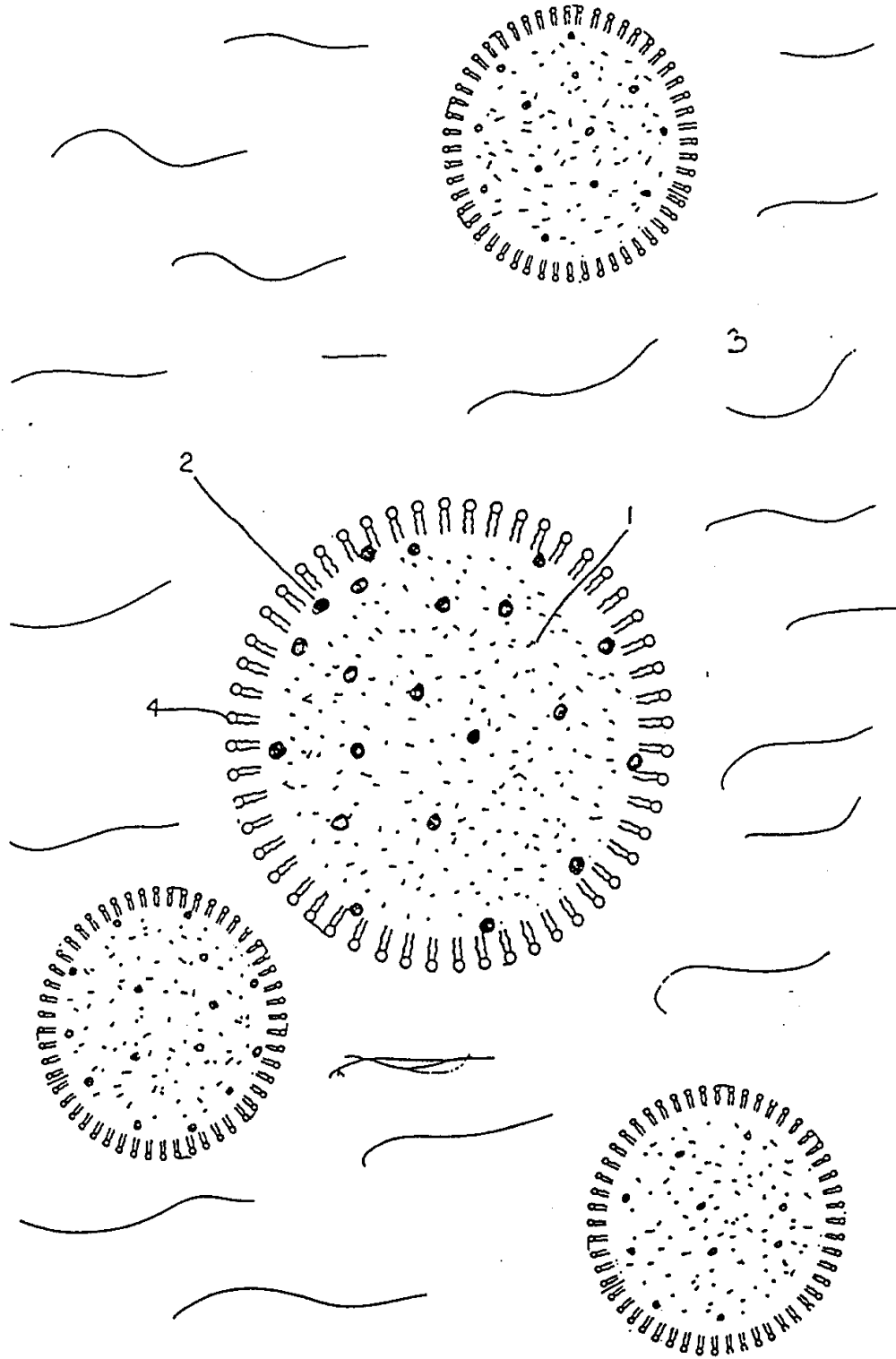


图 1

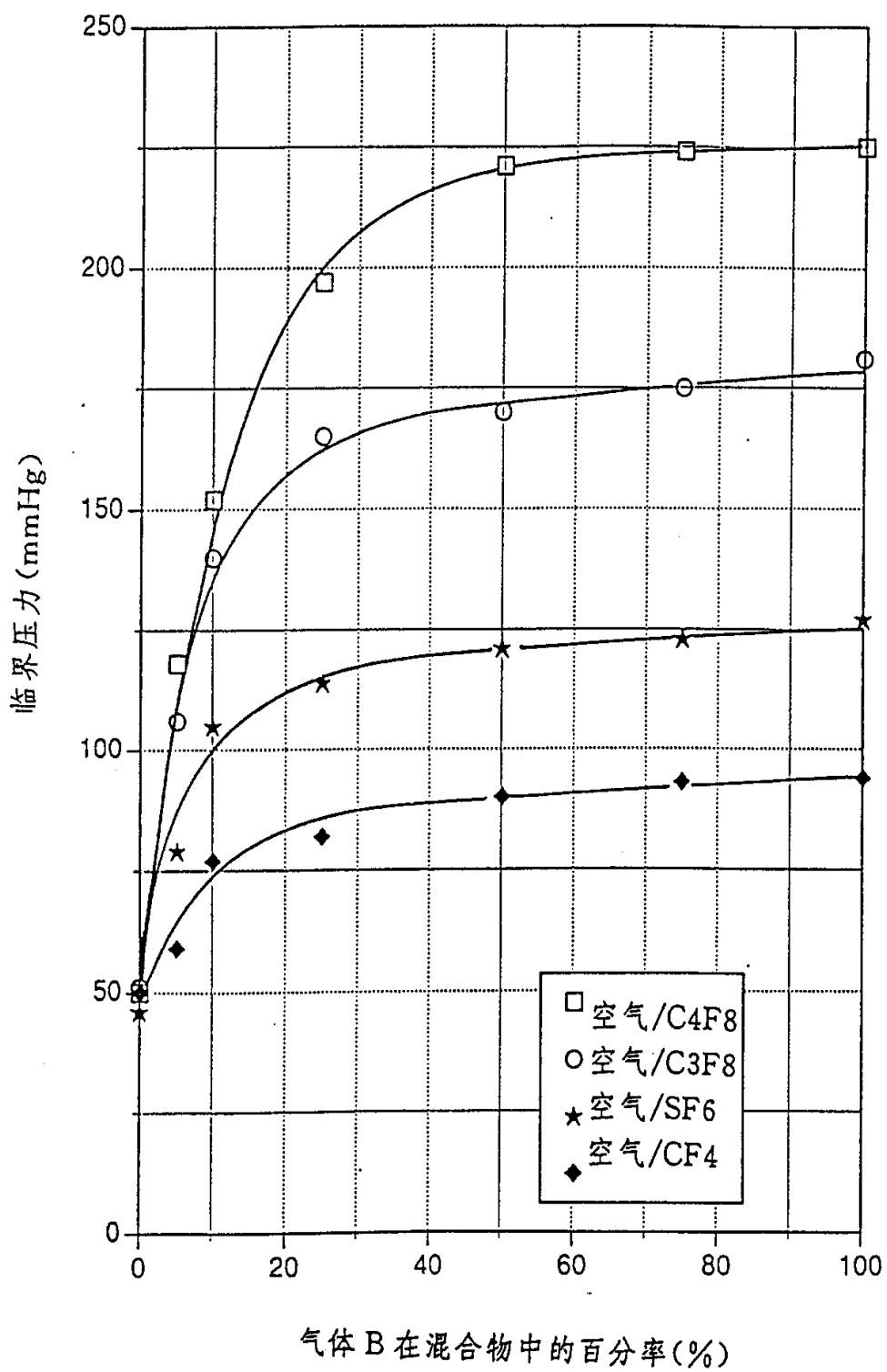


图 2

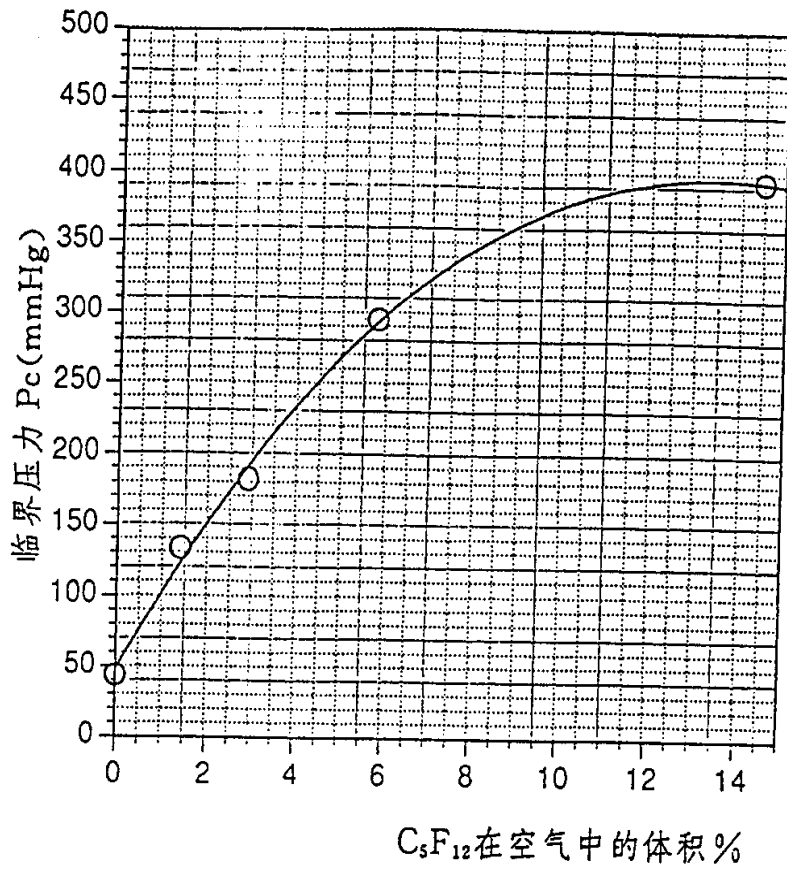


图 3A

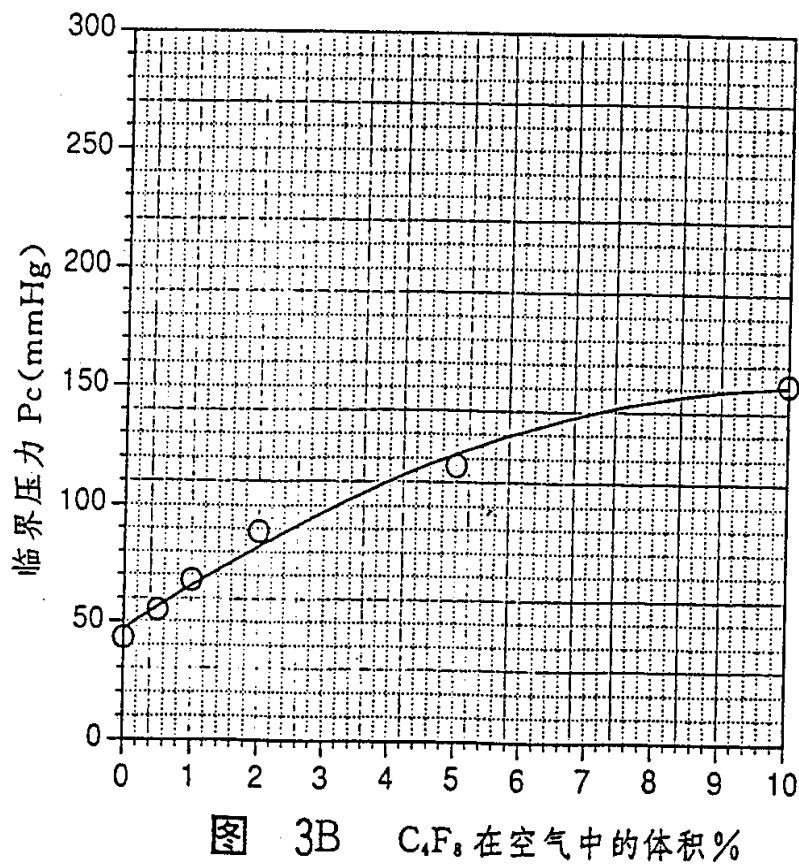


图 3B C_4F_8 在空气中的体积%

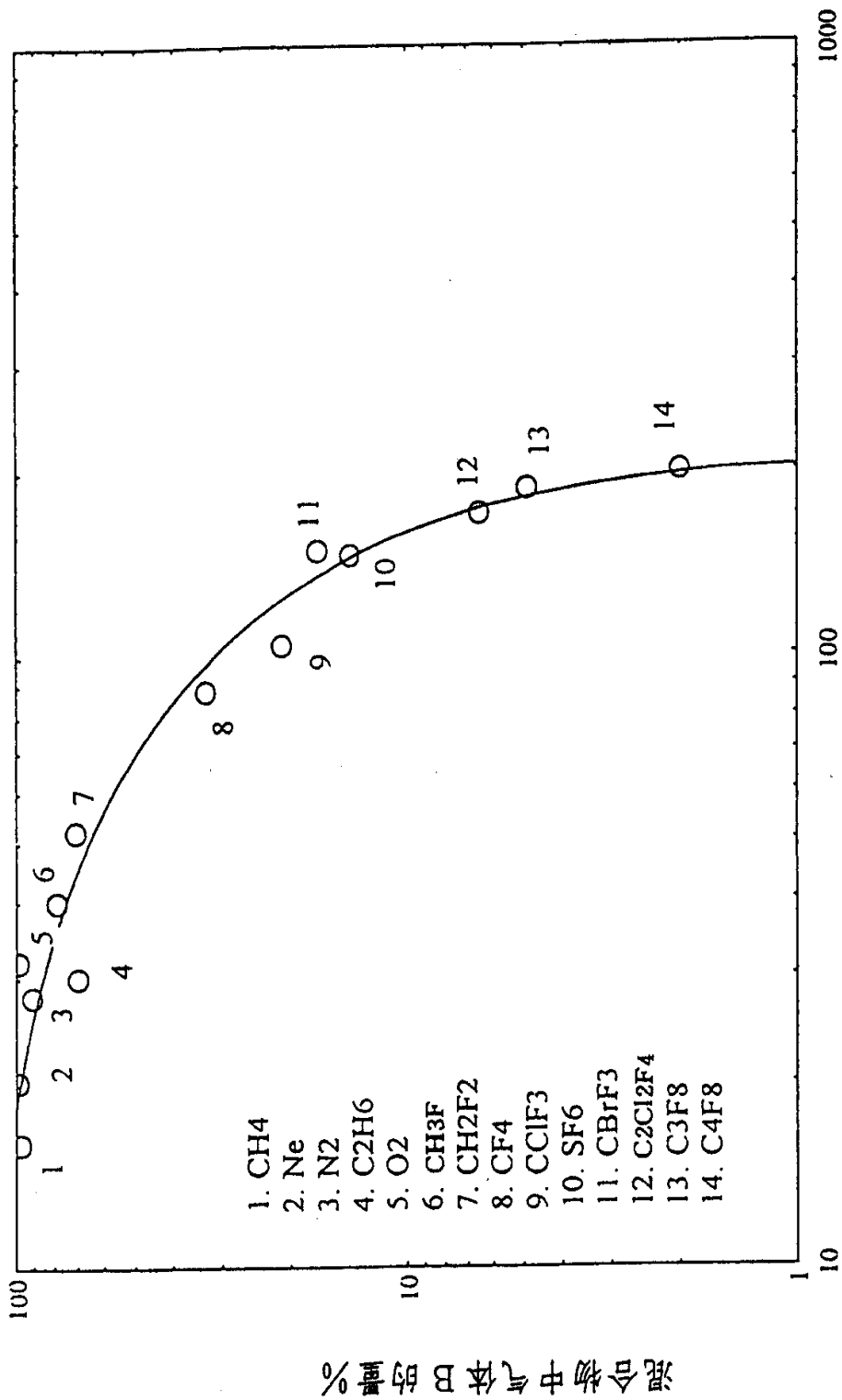


图 4 分子量

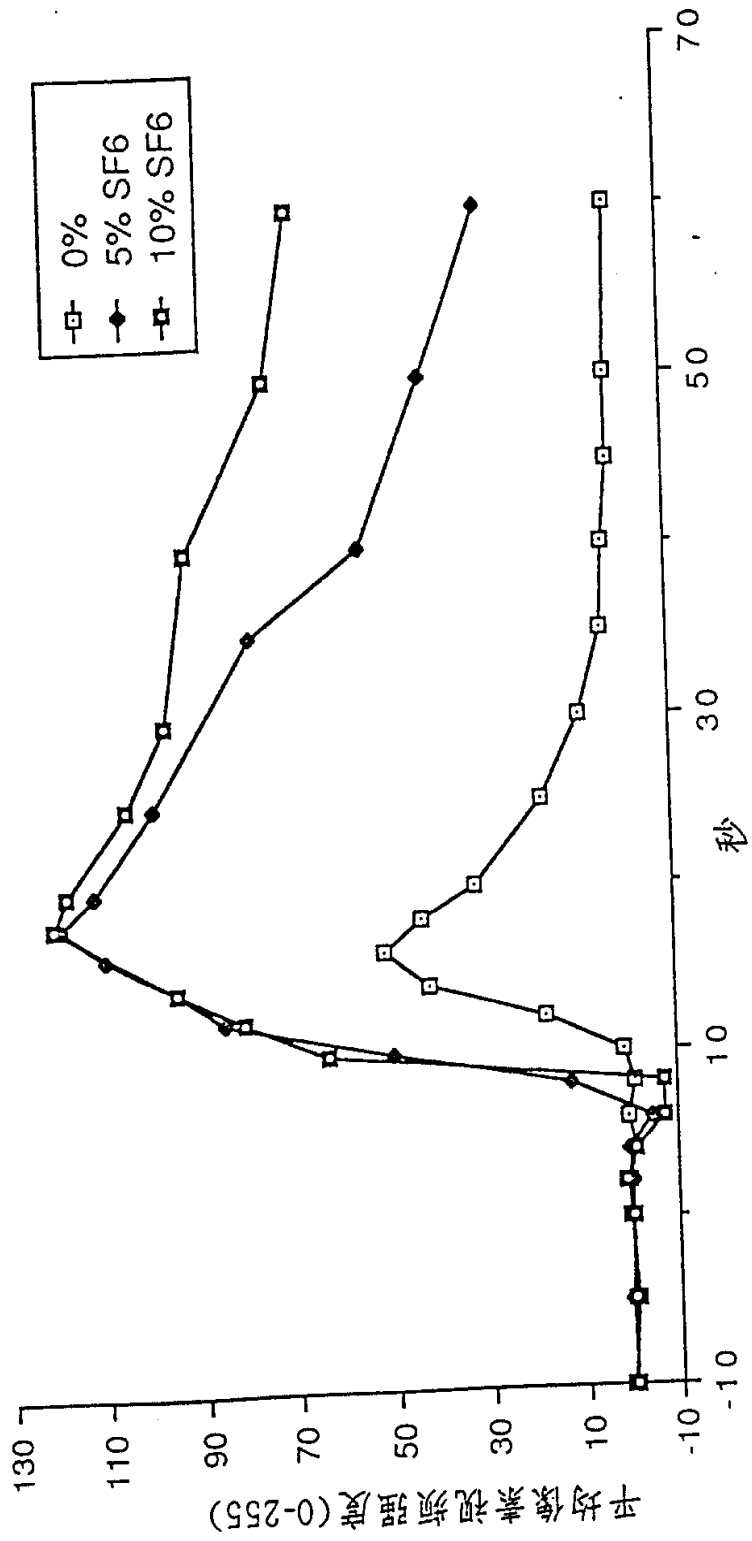


图 5

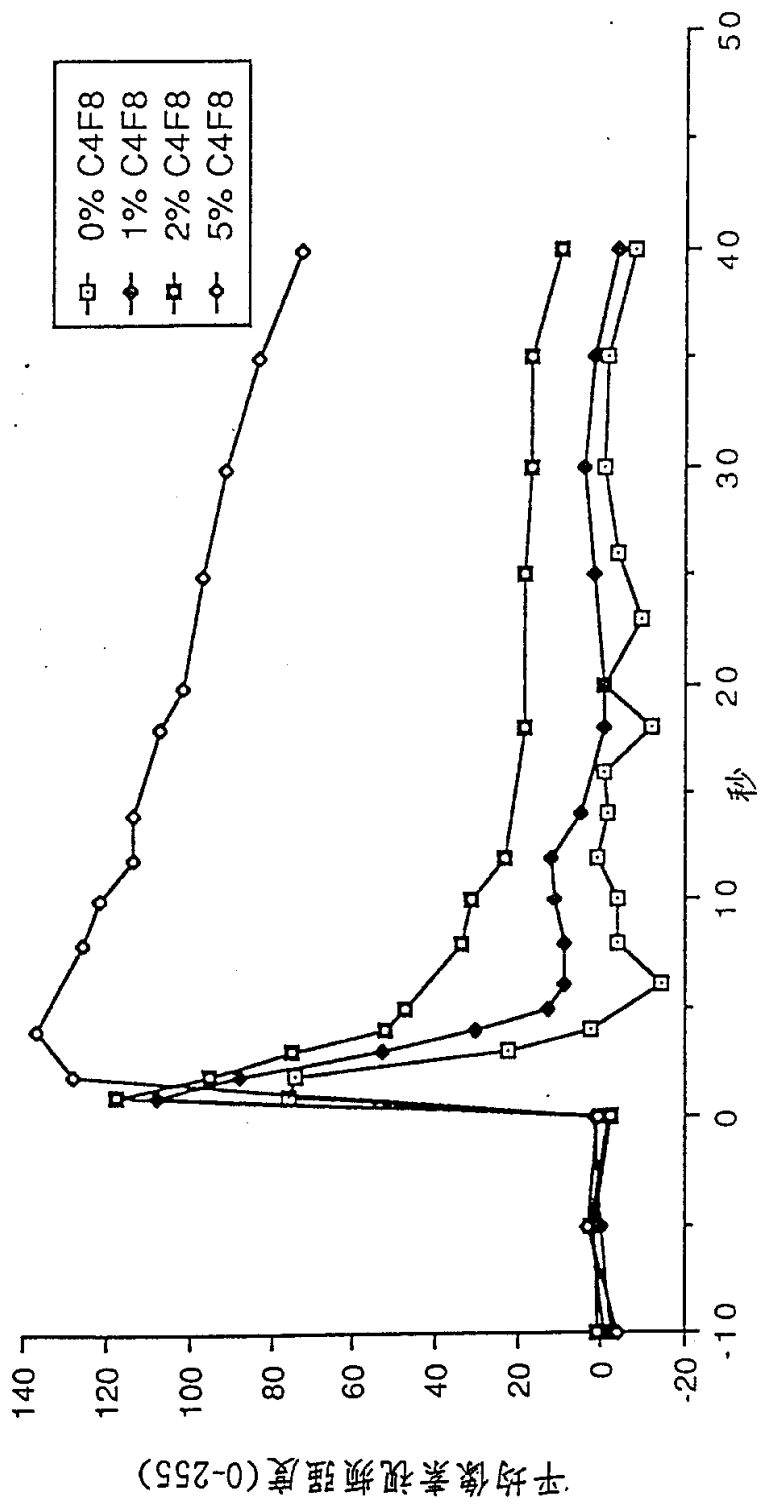


图 6