


PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
 Internationales Büro
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A61K 49/00</p>	A2	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 97/26016</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 24. Juli 1997 (24.07.97)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP97/00208</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 16. Januar 1997 (16.01.97)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: 196 02 930.9 18. Januar 1996 (18.01.96) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Müllerstrasse 178, D-13353 Berlin (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BERGMANN, Martina [DE/DE]; Kurfürstenstrasse 15, D-12249 Berlin (DE). HELDMANN, Dieter [DE/DE]; Krefelder Strasse 3, D-10555 Berlin (DE). WEITSCHIES, Werner [DE/DE]; Gneisenaustrasse 65, D-10961 Berlin (DE).</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, EE, GE, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SD, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>
<p>(54) Title: GAS BUBBLE SUSPENSIONS AND THEIR APPLICATION AS AN ULTRASOUND CONTRAST MEDIUM</p> <p>(54) Bezeichnung: GASBLASENSUSPENSIONEN UND DEREN VERWENDUNG ALS ULTRASCHALLKONTRASTMITTEL</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention concerns porous matrices of low molecular substances for generating stable gas bubble suspensions, their application as an ultrasound contrast medium and the process for producing the matrices and medium.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Die Erfindung betrifft poröse Matrices aus niedermolekularen Substanzen zur Generierung stabiler Gasblasensuspensionen, deren Verwendung als Ultraschallkontrastmittel sowie Verfahren zur Herstellung der Matrices und Mittel.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Rumänien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	LI	Liechtenstein	SK	Slowakei
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	UG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

**GASBLASENSUSPENSIONEN UND DEREN VERWENDUNG
ALS ULTRASCHALLKONTRASTMITTEL**

5

Die Erfindung betrifft den in den Patentansprüchen gekennzeichneten Gegenstand, daß heißt poröse Matrices zur Generierung stabiler Gasblasensuspensionen, deren Verwendung als Ultraschallkontrastmittel sowie Verfahren zur Herstellung der Matrices und Mittel.

10

Die Ultraschalldiagnostik bietet die Möglichkeit ohne belastende ionisierende Strahlen wie bei Röntgen- oder Radionucliduntersuchungen und relativ kostengünstig im Vergleich zur Magnetresonanzbildgebung physiologische und pathophysiologische Zustände zu diagnostizieren. Ultraschallwellen werden je nach akustischen

15

Eigenschaften des Gewebes reflektiert oder absorbiert. Für die Bildgebung werden unterschiedliche akustische Eigenschaften von Geweben und Körperflüssigkeiten ausgenutzt. Aufgrund des großen Dichteunterschiedes zwischen Körpergewebe oder -flüssigkeiten einerseits und Gasblasen andererseits sind Gase in Form von Mikrobäschen als Kontrastmittel für Ultraschall besonders gut geeignet.

20

Ultraschallkontrastmittel werden daher im wesentlichen auf der Basis von Gasblasen und/ oder gasenthaltenen Substanzen erforscht und entwickelt.

Der einfachste Typ Ultraschallkontrastmittel kann durch Methoden wie Schütteln, Beschallen oder Umpumpen eines wäßrigen Suspensionsmediums zwischen zwei
25 Spritzen erhalten werden. Die eingebrachten Bläschen können durch geeignete Additive wie Tenside und/ oder viskositätserhöhende Substanzen stabilisiert werden. Derartige Kontrastmittel sind z.B. in der EP 0 077 752 beschrieben. Problematisch ist die starke Abhängigkeit der Gasblasenanzahl und -größe von der Agitationsart, -dauer und -intensität. Dies macht die Herstellung schwer reproduzierbar und das Risiko
30 einer Embolie aufgrund zu großer Gasblasen unkontrollierbar.

Ein ähnlicher Kontrastmitteltyp wird in der WO 93/05819 beschrieben, wobei jedoch anstelle der atmosphärisch vorkommenden Gase wie Luft, Stickstoff, Kohlendioxid und Edelgasen, Gase mit einem bestimmten Q-Faktor für die Herstellung der
35 Blasensuspensionen vorgeschlagen werden. Hierbei handelt es sich in der Regel um halogenierte Kohlenwasserstoffe, die sich durch geringe Löslichkeiten in physiologischen Medien auszeichnen. Insbesondere perfluorierte Verbindungen sind als Austauschgase geeignet. Da aber auch in diesem Fall - wie zuvor beschrieben - die

Blasensuspension durch Umpumpen zwischen zwei Spritzen über einen Dreiwegehahn in das Suspensionsmedium eingebracht werden, zeigen diese Mittel eine inhomogene und schlecht reproduzierbare Blasengrößenverteilung. Das Risiko einer Embolie durch zu große Gasblasen wird dadurch erhöht.

5

Neben der Möglichkeit, die Gasblasensuspension direkt vor der Anwendung durch Agitation des Mediums herzustellen, können auch feste Träger formuliert werden, aus denen nach Resuspendierung in einem geeigneten Diluent Blasen freigesetzt werden. Zur Applikation kommt hier eine Mikropartikelsuspension. Derartige feste Träger
10 können Mikropartikel sein, die beispielsweise aus einer Mischung mindestens einer grenzflächenaktiven Substanz mit mindestens einem nicht grenzflächenaktiven Feststoff bestehen, wie sie in EP 0 365 467 offenbart werden.

Nicht grenzflächenaktive Feststoffe können neben den in EP 0 365 467 genannten
15 Substanzen auch Substanzen sein, die als Röntgenkontrastmittel (WO 93/00930 und WO 92/21382) Verwendung finden, wobei im Falle der letztgenannten Schrift die Röntgenkontrastmittel über funktionelle Gruppen und Crosslinker miteinander vernetzt sind.

20 Die genannten Mikropartikelsuspensionen sind Ultraschallkontrastmittel, mit denen Kontrasteffekte im arteriellen System erzielt werden können. Kontrastintensität und Dauer scheinen jedoch verbesserungswürdig.

Weitere Beispiele für mikropartikuläre Ultraschallkontrastmittel werden in
25 WO 95/21631 offenbart. Hier werden wasserunlösliche Wandbildner in einem organischen Lösungsmittel (Toluol) gelöst, anschließend in eine wäßrige Tensidlösung einemulgiert und gefriergetrocknet. Durch Resuspendierung wird eine Mikropartikelsuspension erhalten, die in vivo Ultraschallkontrast zeigt.
Die Verwendung bestimmter fluorierter Substanzen wird auch für den Typ
30 mikropartikulärer Ultraschallkontrastmittel beschrieben.

So offenbart die EP 0 554 213 Mikropartikel auf Galaktosebasis, die anstelle von Luft SF₆ enthalten. Die kontrastverlängernden Effekte für dieses Mittel sind allerdings
35 schwach.

Auch die WO 95/22994 offenbart fluoridierte Substanzen enthaltende Mikropartikeln. Die Blasengrößenverteilung ist standardisiert und die Blasenanzahl deutlich erhöht, so

daß die für eine Ultraschallkontrastmittelapplikation notwendige Dosis erheblich reduziert werden kann.

In der WO 95/03835 werden Ultraschallkontrastmittel auf Basis von Partikeln
5 beansprucht, die definierte Gasmischungen enthalten. Die Gasmischungen bestehen aus
mindestens einer fluorierten, gasosmotisch wirksamen Komponente und mindestens
einem herkömmlichen Gas wie Stickstoff, Sauerstoff und / oder Kohlendioxid. Die
Partikel sind aus Proteinen, Dextrinen, Stärke und Stärkederivaten, wie z.B.
Hydroxyethylstärke, aufgebaut. Wie in der Schrift angegeben, werden unter den
10 genannten Substanzen solche mit hohem Molekulargewicht (> 500,000 Dalton)
bevorzugt, da andernfalls die Stabilisierung der Gasblasen unzureichend ist. Derartige
Substanzen sind jedoch nicht renal filtrierbar und müssen unter anderem über die
Leber abgebaut werden. Dadurch erhöht sich die Verweilzeit im Körper. Die genannte
Hydroxyethylstärke wird beim Abbau zu substituierten Oligosacchariden gespalten, die
15 primär nach Unterschreiten der Nierenschwelle renal eliminiert werden. Als mögliches
Problem wird die Speicherung der Hydroxyethylstärke in den Zellen des
retikuloendothelialen Systems diskutiert. Die Ethyletherbindung ist dabei dem
enzymatischen Abbau nicht zugänglich. Der Metabolismus und die Elimination der
Hydroxyethylglucose, sowie deren mögliche pharmakologische Wirkung ist zur Zeit
20 nicht geklärt [Krech, I.; Wind, S. (1995) Krankenhauspharmazie 16(2), 62-63].
Darüber hinaus bergen höhermolekulare Substanzen aufgrund ihrer schlechteren
Löslichkeit die Gefahr, daß nach dem Resuspendieren der Kontrastmittelpräparation
partikuläre Anteile unkontrollierter Größe appliziert werden. Hieraus resultiert eine
Emboliegefährdung des Patienten.

25 Fluorierte Gase und Luft enthaltende Partikel werden auch in der WO 95/16467
beansprucht, wobei der Anteil der fluorierten Komponente hier auf 41 % beschränkt
ist.

30 WO 94/09829 beschreibt Liposomenhaltige Ultraschallkontrastmittel. Als Gasbläschen
stabilisierendes Tensid werden Phospholipide aber auch andere schwer in Wasser
lösliche Tenside genannt. Die Herstellung derartiger liposomaler Systeme erfolgt in
der Regel durch Lyophilisation aus gefriertrockenbaren Lösungsmitteln wie z.B.
tertiär-Butanol oder $C_2Cl_4F_2$. Die Verwendung organischer Lösungsmittel zur
35 Herstellung dieser Mittel erfordert einen hohen Aufwand zur
Lösungsmittelrückgewinnung und macht eine sorgfältige Überprüfung des Produktes
hinsichtlich des Restlösungsmittelgehaltes erforderlich. Die als Lösungsmittel
verwendeten halogenierte Kohlenwasserstoffe, insbesondere fluorierte

Chlorkohlenwasserstoffe (FCKW) wie $C_2Cl_4F_2$ sind darüber hinaus wegen ihres ozonschädigenden Potentials als außerordentlich kritisch zu betrachten.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es daher, Verbindungen zur Herstellung von
5 Ultraschallkontrastmitteln bereitzustellen, die die Nachteile des Standes der Technik überwinden, d.h. die

- die bestehenden pharmazeutischen und pharmakologischen Probleme überwinden,
- 10 • die leicht und ohne Verwendung organischer Lösungsmittel herstellbar sind,
- eine reproduzierbare Bläschengröße und -zahl generieren,
- in gelöster Form zu einer hohen Kontrastintensität,
- zu langanhaltenden Kontrasteffekten führen,
- eine hohe Bläschenstabilität aufweisen und die darüber hinaus
- 15 • renal filtrierbar und somit schnell ausscheidbar sind.

Diese Aufgabe wird durch die vorliegende Erfindung gelöst.

Es wurde gefunden, daß Zubereitungen, bestehend aus einer porösen, festen,
20 wasserlöslichen Matrix enthaltend einen niedermolekularen Gerüstbildner, ein Tensid und ein Gas, wobei das Gas in den Poren der Matrix eingeschlossen ist, hervorragend zur Herstellung eines Präparates für die Ultraschalldiagnostik geeignet sind.

Im Unterschied zu den mikropartikulären Kontrastmitteln des Standes der Technik
25 werden die erfindungsgemäßen Kontrastmittel aus einer partikelfreien, porösen, festen Struktur generiert, die im folgenden als poröse Matrix bezeichnet wird. Zur Verdeutlichung der grundlegenden strukturellen Unterschiede sei auf die Figuren 1 und 2 verwiesen. Figur 1 zeigt eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer mikropartikulären Präparation des Standes der Technik (EP 0 365 467), Figur 2 zeigt
30 eine Aufnahme einer erfindungsgemäßen Präparation hergestellt nach Beispiel 19 bei gleicher Vergrößerung (1 cm auf den Abbildungen entspricht $1,1\mu\text{m}$ in der Realität). Deutlich zu erkennen, die gleichmäßigen Poren, aus denen nach Auflösen der Matrix Gasbläschen freigesetzt werden. Größe und Anzahl der Poren weisen eine hohe Reproduzierbarkeit auf. Dabei ist die Bläschengröße im wesentlichen durch die
35 Porengröße limitiert. Ebenfalls durch die Porösität der Matrix bestimmt, wird die aus der Matrix freisetzbare Bläschenanzahl. Die genannten Parameter (Bläschengröße und Anzahl) können leicht über verschiedene Herstellungsparameter gesteuert werden und haben einen wichtigen Einfluß auf die Effektivität des Kontrastmittels.

Auch ist die Formation der Gasblasen nicht an eine Agitation des Mediums vor der Applikation gebunden, so daß die Gasblasen in unveränderter Form freigesetzt werden können. Die freigesetzten Gasblasen sind mit besonderem Vorteil mit Hilfe von Tensiden, die gegebenenfalls Bestandteil der Matrix sind, stabilisierbar. Somit kommt
5 im Fall der erfindungsgemäßen Mittel in der Regel eine stabilisierte Gasblasensuspension zur Applikation.

Auf Grund der hohen Reproduzierbarkeit der generierten Bläschen wird auch die Gefahr einer Embolisierung der Lunge durch zu große Blasen minimiert. Darüber
10 hinaus senkt die Verwendung niedermolekularer und somit gut löslicher Substanzen zur Matrixbildung das Risiko, nicht aufgelöste, partikuläre Formulierungsbestandteile zu applizieren.

Die erfindungsgemäßen porösen Matrices sind aufgebaut aus einem wasserlöslichen Gerüstbildner, der in der Regel ein Molekulargewicht < 15000 Dalton aufweist und
15 einem sich schnell und gut in Wasser lösendem Tensid, wobei der Tensidanteil an der Matrix 0,01 bis 10 % (m/m) beträgt. Dadurch, daß der Gerüstbildner nicht notwendigerweise in einem organischen Lösungsmittel löslich sein muß, eröffnet sich eine breitere Auswählmöglichkeit an gut verträglichen Gerüstbildnern.

20

Als Gerüstbildner kommen in Frage:

Aminosäuren, Polyaminosäuren, Peptide, Proteine, Mono, Di, Tri, Tetra, Oligo- und polymere Saccharide, sowie deren Derivate, synthetische Saccharide und Saccharidderivate. Beispielhaft genannt seien L-Glycin, L-Alanin, L-Valin, L-leucin,
25 L-Isoleucin, L-Phenylalanin, L-Prolin, L-Hydroxyprolin, L-Serin, L-Threonin, L-Tryptophan, L-Asparagin, L-Glutamin, L-Arginin, L-Histidin, Glycyl-glycin, Glycyl-glycyl-glycin, Glucose, Galaktose, Fructose, Mannose, Sorbose, Saccharose, Lactose, Maltose, Trehalose, Gentiobiose, Lactulose, Turanose, Maltotriose, Melibiose, Melizitose, Maltotetraose, Maltopentaose, Stachyose, Arabinose, Xylose, Ribose,
30 Dulcitol, Xylitol, Mannitol, Ribitol, Inositol, Sorbitol, α , β , γ - Cyclodextrine, Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin und andere Derivate sowie polymere Saccharide mit einem Molekulargewicht < 15,000 Dalton, wie z.B Dextran 8, Dextrine oder synthetische Saccharidpolymerisate, wie z.B. Ficoll.

35 Als Gerüstbildner sind weiterhin geeignet Röntgenkontrastmittel und Kontrastmittel für die Magnetresonanzbildgebung. Beispielhaft genannt seien Iopromid, Iotrolan, Iopamidol, Iohexol, sowie Gd-DTPA (Gadopentetsäure), Gd-DTPA-dimegluminsalz (Magnevist), Gd-EOB-DTPA (Gadoxetsäure, dinatriumsalz) und Gadobutrol.

Erfindungsgemäß bevorzugt sind renal ungehindert filtrierbare Substanzen mit einem Molgewicht < 15,000 Dalton (Silbernagl S., Despopoulos A., Taschenatlas der Physiologie, S. 132), wobei Saccharide mit mindestens zwei Zuckereinheiten, Röntgenkontrastmittel und Kontrastmittel für die Magnetresonanzbildung besonders geeignet sind. Die Verwendung von Substanzen mit einem Molgewicht < 15,000 Dalton bedingt einen deutlichen Vorteil gegenüber Mitteln des Standes der Technik, da für derartige Substanzen eine renale Elimination sichergestellt ist. Eine Belastung des Körpers durch lange Verweilzeiten einer Kontrastmittelkomponente, sowie durch Metabolite wird somit vermieden. Da mit abnehmendem Molekulargewicht in der Regel die Wasserlöslichkeit zunimmt, wird darüber hinaus die Gefahr der Applikation von nicht gelösten Formulierungsbestandteilen reduziert.

Als Tenside kommen in Frage wasserlösliche, nichtionische Tenside, wobei solche mit einem perfluorierten Kohlenwasserstoffbaustein und/oder mit einem Molekulargewicht < 15,000 Dalton bevorzugt sind. Beispielhaft genannt seien Sorbitanfettsäureester, Polyoxyethylensorbitanfettsäureester, Polyoxyethylensorbitolfettsäureester, Polyoxyethylenfettsäureester, Glycerinpolyoxyethylenfettsäureester, ethoxylierte Mono-, Di-, Triglyceride, die gewünschtenfalls teilweise hydriert sein können sowie ethoxylierte Mischungen aus diesen, ethoxylierte Rizinusöle, ethoxylierte Phenole, Polyoxyethylenfettalkoholether, Polyglycerolfettsäureester, Sorbitanperfluorfettsäureester, Polyoxyethylensorbitanperfluorfettsäureester, Polyoxyethylensorbitolperfluorfettsäureester, Polyoxyethylenperfluorfettsäureester, Polyoxyethylenperfluorfettalkoholether, Polyglycerolperfluorfettsäureester, Polyoxyethylenpolyoxypropylen-Polymere und/oder Fluoralkyl Poly(ethylenoxid) Alkohole wie z.B. Zonyl[®], Saccharidfettsäureester, Saccharidfettsäureether, ethoxylierte Saccharidfettsäureester, ethoxylierte Saccharidfettsäureether, Fettsäureethanolamide und/oder ethoxylierte Fettsäureethanolamide.

Als Tenside sind weiterhin geeignet Phospholipide, insbesondere hydriertes Phosphatipylcholin.

Als Gase kommen neben den in der Ultraschall Diagnostik bereits etablierten Gasen wie Stickstoff, Sauerstoff, CO₂ oder Luft insbesondere auch fluoridierte Gase zum Einsatz. Überraschenderweise werden bereits bei Verwendung der "klassischen" Gase stärkere und länger andauernde in vivo Kontrasteffekt beobachtet, als sie bei den partikulären Präparationen des Standes der Technik erreicht werden.

Bei Verwendung fluorierter Gase kann überraschenderweise auf die Verwendung von Gasmischungen, wie sie bei den Präparationen des Standes der Technik erforderlich sind, verzichtet werden.

- 5 Erfindungsgemäß bevorzugt sind die folgenden, bei Raumtemperatur und Normaldruck gasförmige Substanzen:
Tetrafluorallene, Hexafluor-1,3-butadien, Decafluorbutan, Perfluor-1-butene,
Perfluor-2-butene, Perfluor-2-butin, Octafluorcyclobutan, Perfluorcyclobuten,
Perfluorcyclopentan, Perfluordimethylamin, Hexafluorethan, Tetrafluorethylene,
10 Pentafluorthio(trifluor)methan, Tetrafluormethan, Perfluorpropan und
Perfluorpropylen.

Unter den genannten sind die perfluorierte Substanzen besonders bevorzugt.

- 15 Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Matrices. Die erfindungsgemäßen Matrices lassen sich mit einem geringeren Aufwand unter aseptischen Bedingungen herstellen, indem zunächst eine wäßrige Gerüstbildnerlösung bereitgestellt wird, welcher mit besonderem Vorteil gasblasen-stabilisierende Tenside zugefügt werden. Die getrennten oder vereinigten
20 Lösungen können zunächst sterilfiltriert werden, anschließend wird die so hergestellte Mischung schnell eingefroren. Die Entfernung des Wasser erfolgt unter Bedingungen, die einen direkten Übergang des Eises in den gasförmigen Zustand erlauben, ohne das der flüssige Aggregatzustand durchschritten wird. Mögliche geeignete Bedingungen können dem Phasendiagramm des Wassers entnommen werden (siehe Figur 3). Zurück
25 bleibt eine poröse Matrix, die mit dem jeweils gewünschten Gas belüftet wird. Zum vollständigen Gasaustausch (d.h. zur Entfernung der in den Poren der Matrix enthaltenden Restluft, bzw. des Wasserdampfs) empfiehlt sich ein wiederholtes Evakuieren mit nachfolgendem Druckausgleich. Um eine möglichst reine Gasphase zu erhalten, sollte unmittelbar vor dem Druckausgleich ein Vakuum von $< 0,1$ mbar
30 herrschen. Zweckmäßigerweise erfolgt die Herstellung bereits in unter der gewünschten Gasphase verschließbaren Behältern, die später direkt als Teil eines Kits verwendet werden können.

- Ein besonderer Vorteil des erfindungsgemäßen Verfahrens ist es, daß auf die
35 Verwendung organischer Lösungsmittel verzichtet werden kann. Auch erübrigt sich eine technologisch aufwendige Verarbeitung, wie sie im Falle von schlecht oder langsam löslichen oder nur wasserdispergierbaren Substanzen erforderlich wäre. Restlösungsmittelgehalte als kritisches Qualitätsmerkmal spielen somit für die

erfindungsgemäßen Mittel keine Rolle. Dies ist sowohl aus ökologischer Sicht, als auch im Sinne der Produktsicherheit von erheblichem Vorteil. So stehen viele organische Lösungsmittel selbst in kleinsten Mengen oder Konzentrationen unter dem Verdacht der Kanzerogenität und/oder Mutagenität.

5

Aus den erfindungsgemäßen Matrices lassen sich durch Zugabe eines wäßrigen Mediums leicht die gewünschten, partikelfreien Ultraschallkontrastmittel herstellen. Die Zugabe des wäßrigen Mediums erfolgt unmittelbar vor der Anwendung durch den behandelnden Arzt. Das wäßrige Medium kann die in der Galenik üblichen Hilfsstoffe,
10 wie z.B. isotonisierende und viskositätserhöhende Zusätze, enthalten. Ein Schütteln der mit dem Fluid versetzten Matrix ist nicht erforderlich. Die so hergestellten Kontrastmittel zeichnen sich dadurch aus, daß sie blutisoton bzw. nahezu blutisoton sind. Sie können unmittelbar nach Resuspendierung injiziert werden. Die
Konzentration der Kontrastmittel beträgt 10 bis 600 mg, bevorzugt 50 bis 400 mg
15 Matrixmaterial pro Milliliter Suspension. Die Mittel werden je nach Anwendung in einer Dosis von 0,01 bis 0,20 ml / kg Körpergewicht verabreicht.

Die erfindungsgemäßen Mittel sind für alle bildgebenden Modi der Sonographie, wie z. B. M-, B-, Dopplermode aber auch für Modi in denen nichtlineare Effekte genutzt
20 werden wie z.B. Harmonic- und Harmonic Power Mode gleichermaßen geeignet und lassen sich mit hoher Reproduzierbarkeit herstellen.

Die aus der Matrix generierten Blasen zahlen liegen deutlich über denen der Mittel des Standes der Technik, die Mittel zeigen daher deutlich verbesserte Kontrasteffekte,
25 insbesondere konnte das für die Untersuchung bereitstehende Zeitfenster deutlich verlängert werden (siehe dazu auch die in-vivo Versuche 41-52).

Die nachfolgenden Beispiele dienen der näheren Erläuterung des Erfindungsgegenstandes, ohne ihn auf diese beschränken zu wollen.

Beispiel 1

20 g Dextran (MG: ~ 1200 g/mol) werden mit 0,2 g Zonyl® FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 80 g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt.
5 Die Lösung wird à 5 g abgefüllt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Nach Entfernung des Wassers unter Bedingungen, die einen direkten Übergang vom festen in den gasförmigen Zustand ermöglichen ohne, daß der flüssige Aggregatzustand durchschritten wird, wird ein Gasaustausch mit Decafluorbutan durchgeführt. Es verbleibt eine poröse Matrix, aus der nach Resuspendierung in 10 ml Wasser pro
10 Gramm Matrixmaterial $12,3 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm generiert werden können. Die Bestimmung der Blasenanzahl und -größe erfolgte mit einem Laserdiffraktometer der Firma Melvern Instruments, Typ Master Sizer 1000.

Beispiel 2

10 g Dextran (MG: ~ 1200 g/mol) werden mit 0,1 g Zonyl® FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 90 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 10 ml Wasser werden pro Gramm Substanz
20 $3,7 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

Beispiel 3

25 20 g Dextran 8 (MG: ~ 8000 g/mol) werden mit 0,2 g Zonyl® FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 80 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 10 ml Wasser werden pro Gramm Substanz
 $10,5 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

30

Beispiel 4

30 g Raffinose (MG: 594 g/mol) werden mit 0,3 g Zonyl® FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 70 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben
35 verfahren. Nach Resuspendierung in 10 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 262 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $14,6 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

Beispiel 5

20 g Trehalose (MG: 342 g/mol) werden mit 0,2 g Zonyl® FSO-100 (MG: ~ 725
5 g/mol) und 80 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben
verfahren. Nach Resuspendierung in 10 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die
mit einer Osmolalität von 272 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden
 $9,4 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

10

Beispiel 6

20 g Maltose (MG: 342 g/mol) werden mit 0,2 g Zonyl® FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol)
und 80 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben
15 verfahren. Nach Resuspendierung in 10 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die
mit einer Osmolalität von 281 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden
 $8,2 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

Beispiel 7

40 g Maltooligosaccharid (MG: ~ 684 g/mol) werden mit 0,4 g Zonyl® FSO-100
(MG: ~ 725 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1
beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 10 ml Wasser wird eine Zubereitung
25 erhalten, die mit einer Osmolalität von 314 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm
Substanz werden $30,0 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

Beispiel 8

30

20 g Maltooligosaccharid (MG: ~ 684 g/mol) werden mit 0,2 g Zonyl® FSO-100
(MG: ~ 725 g/mol) und 80 g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung
gerührt. Die Lösung wird à 10 g abgefüllt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren.
Nach vollständiger Entfernung des Wassers verbleibt eine poröse Matrix. Bei der
35 Resuspendierung in 10 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer
Osmolalität von 310 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $19,1 \times 10^9$
Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

Beispiel 9

30 g Melezitose (MG: 522 g/mol) werden mit 0,3 g Zonyl[®] FSO-100 (MG: ~ 725
5 g/mol) und 70 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben
verfahren. Nach Resuspendierung in 10 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die
mit einer Osmolalität von 315 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden
4,3x10⁹ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 µm freigesetzt.

10

Beispiel 10

30 g Melibiose (MG: 360 g/mol) werden mit 0,3 g Zonyl[®] FSO-100 (MG: ~ 725
g/mol) und 70 g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt.
15 Die Lösung wird à 4 g abgefüllt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Nach
vollständiger Entfernung des Wassers verbleibt eine poröse Matrix. Bei der
Resuspendierung in 8 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer
Osmolalität von 306 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden 4,3x10⁹
Blasen im Bereich von 0,56-7,46 µm freigesetzt.

20

Beispiel 11

30 g Maltotriose (MG: 504 g/mol) werden mit 0,3 g Zonyl[®] FSO-100 (MG: ~ 725
25 g/mol) und 70 g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt.
Die Lösung wird à 3 g abgefüllt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Nach
vollständiger Entfernung des Wassers verbleibt eine poröse Matrix. Bei der
Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer
Osmolalität von 296 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden 3,6x10⁹ Blasen
30 im Bereich von 0,56-7,46 µm freigesetzt.

Beispiel 12

35 30 g Gd-EOB-DTPA (MG: 726 g/mol) (Gadoxetic acid, disodium) werden mit 0,3 g
Zonyl[®] FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 70 g Wasser versetzt. Es wird bis zur
vollständigen Auflösung gerührt. Die Lösung wird à 3 g abgefüllt und mit flüssigem
Stickstoff eingefroren. Nach vollständiger Entfernung des Wassers verbleibt eine

poröse Matrix. Bei der Resuspendierung in 10 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 344 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $24,6 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

5

Beispiel 13

30 g Gadobutrol (MG: 605 g/mol) werden mit 0,3 g Zonyl® FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 70 g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt.

10 Die Lösung wird à 3 g abgefüllt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Nach vollständiger Entfernung des Wassers verbleibt eine poröse Matrix. Bei der Resuspendierung in 5 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 269 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $20,1 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

15

Beispiel 14

30 g Gadopentetsäure (MG: 548 g/mol) werden mit 0,3 g Zonyl® FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 70 g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt. Die Lösung wird à 3 g abgefüllt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren.

20 Nach vollständiger Entfernung des Wassers verbleibt eine poröse Matrix. Bei der Resuspendierung in 7 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 282 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $29,1 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

25

Beispiel 15

30 30 g Iopamidol (MG: 777 g/mol) werden mit 0,3 g Zonyl® FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 70 g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt.

Die Lösung wird à 4 g abgefüllt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Nach vollständiger Entfernung des Wassers verbleibt eine poröse Matrix. Bei der Resuspendierung in 5 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 268 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $26,3 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

35

Beispiel 16

15 g Iopamidol (MG: 777 g/mol) werden mit 0,15 g Zonyl[®] FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 85 g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt.
5 Die Lösung wird à 8 g abgefüllt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Nach vollständiger Entfernung des Wassers verbleibt eine poröse Matrix. Bei der Resuspendierung in 5 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 343 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $16,9 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

10

Beispiel 17

30 g Iohexol (MG: 821 g/mol) werden mit 0,3 g Zonyl[®] FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 70 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben
15 verfahren. Nach Resuspendierung in 5 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 264 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $24,4 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

20

Beispiel 18

20 g Iotrolan (MG: 1626 g/mol) werden mit 0,2 g Zonyl[®] FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 80g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt. Die
25 Lösung wird à 10 g abgefüllt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Nach vollständiger Entfernung des Wassers verbleibt eine poröse Matrix. Bei der Resuspendierung in 3 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 256 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $10,3 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

30

Beispiel 19

40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Zonyl[®] FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben
35 verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 289 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $22,4 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

Beispiel 20

5 20 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,2 g Zonyl® FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 80 g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt. Die Lösung wird à 10 g abgefüllt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Nach vollständiger Entfernung des Wassers verbleibt eine poröse Matrix. Bei der Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer
10 Osmolalität von 291 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $21,9 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

Beispiel 21

15

23 g Magnevist® (MG: 938 g/mol) werden mit 0,23 g Zonyl®- FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 77 g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt. Die Lösung wird à 3 g abgefüllt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Nach vollständiger Entfernung des Wassers verbleibt eine poröse Matrix. Bei der
20 Resuspendierung in 5 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 342 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $6,16 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

Beispiel 22

25 40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Triton®-X-100 (MG: ~ 874 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die
30 mit einer Osmolalität von 290 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $9,56 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

Beispiel 23

35

40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Tween® 20 (MG: 718 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer

Osmolalität von 289 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $16,55 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

5 **Beispiel 24**

40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Cremophor® RH 40 (MG: ~ 2700 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 291 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $11,05 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

15 **Beispiel 25**

40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Rewoderm® Li 48-50 (MG: ~ 3800 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 288 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $24,05 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

Beispiel 26

25 40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Solutol® HS 15 (MG: ~ 1000 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 289 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $13,46 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

30

Beispiel 27

35 40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Lutrol® F 68 (MG: ~ 8600 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 290 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $17,68 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

Beispiel 28

5 40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Span® 85 (MG: 1028 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 291 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $20,45 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

10

Beispiel 29

15 30 g Iohexol (MG: 821 g/mol) werden mit 0,3 g Zonyl®-FSN (MG: ~ 950 g/mol) und 70 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 5 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 269 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $23,81 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

20

Beispiel 30

25 30 g Gadobutrol (MG: 605 g/mol) werden mit 0,3 g Solutol® HS 15 (MG: ~ 1000 g/mol) und 70 g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt. Die Lösung wird à 3 g abgefüllt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Nach vollständiger Entfernung des Wassers verbleibt eine poröse Matrix. Bei der Resuspendierung in 5 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 271 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $6,64 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

30

Beispiel 31

35 40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Zonyl®-FSO-100 (MG: ~ 725 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach erfolgter Trocknung wird ein Gasaustausch mit Hexafluorethan vorgenommen. Bei der Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung

erhalten, die mit einer Osmolalität von 289 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $4,07 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

5 **Beispiel 32**

40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Triton[®]-X-100 (MG: 874 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach erfolgter Trocknung wird ein Gasaustausch mit Hexafluorethan
10 vorgenommen. Bei der Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 290 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $3,01 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

15 **Beispiel 33**

40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Tween[®] 20 (MG: 718 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach erfolgter Trocknung wird ein Gasaustausch mit Hexafluorethan
20 vorgenommen. Bei der Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 289 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $4,27 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

25 **Beispiel 34**

40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Cremophor[®] RH 40 (MG: ~ 2700 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach erfolgter Trocknung wird ein Gasaustausch mit Hexafluorethan
30 vorgenommen. Bei der Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 291 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $1,76 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

35 **Beispiel 35**

40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Rewoderm[®] Li 48-50 (MG: ~ 3800 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben

verfahren. Nach erfolgter Trocknung wird ein Gasaustausch mit Hexafluorethan vorgenommen. Bei der Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 288 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $9,58 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

5

Beispiel 36

40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Solutol[®] HS 15 (MG: ~ 1000 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach erfolgter Trocknung wird ein Gasaustausch mit Hexafluorethan vorgenommen. Bei der Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 289 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $2,52 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

10
15

Beispiel 37

40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Lutrol[®] F 68 (MG: ~ 8600 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach erfolgter Trocknung wird ein Gasaustausch mit Hexafluorethan vorgenommen. Bei der Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 290 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $4,32 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

20
25

Beispiel 38

40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,4 g Span[®] 85 (MG: 1028 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach erfolgter Trocknung wird ein Gasaustausch mit Hexafluorethan vorgenommen. Bei der Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 291 mosmol isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $6,65 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

30
35

Beispiel 39

30 g Iohexol (MG: 821 g/mol) werden mit 0,3 g Zonyl[®]-FSN (MG: ~ 950 g/mol) und 70 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren.
5 Nach erfolgter Trocknung wird ein Gasaustausch mit Hexafluorethan vorgenommen. Bei der Resuspendierung in 5 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 269 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $8,25 \times 10^9$ Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

10

Beispiel 40

30 g Gadobutrol (MG: 605 g/mol) werden mit 0,3 g Solutol[®] HS 15 (MG: ~ 1000 g/mol) und 70 g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt.
15 Die Lösung wird à 3 g abgefüllt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Anschließend wird wie in Beispiel 1 beschrieben, verfahren. Nach erfolgter Trocknung wird ein Gasaustausch mit Hexafluorethan vorgenommen. Bei der Resuspendierung in 5 ml Wasser wird eine Zubereitung erhalten, die mit einer Osmolalität von 271 mosmol nahezu isoton ist. Pro Gramm Substanz werden $2,11 \times 10^9$
20 Blasen im Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

Beispiel 41

25 In-vivo Anwendung eines erfindungsgemäßen Mittels hergestellt nach Beispiel 22:

Ein Beagle Hund [weiblich, 11,2 kg Körpergewicht (nachfolgend KGW)] wird anästhesiert (Inhalationsnarkose ca. 2/3 Sauerstoff, ca. 1/3 N₂O 1,5 - 2 % Enfluran; Spontanatmung) und für eine sonographische Untersuchung des Herzens vorbereitet.
30 Die Untersuchung erfolgt mit einem Ultraschallsystem der Marke HP (Typ 77020 E, 5 MHz Transducer) im B-mode. Das Versuchstier erhält eine intravenöse Applikation der Testsubstanz (erfindungsgemäßes Mittel hergestellt nach Beispiel 22). Als Referenzsubstanz dient ein Kontrastmittel, welches analog der WO 95/22994 (Beispiel 12) hergestellt wurde.

35

Die verwendeten Dosen betragen 0,1 ml/kg KGW sowohl für das erfindungsgemäße Mittel als auch für die Referenzsubstanz. Das Ergebnis ist in Form der Intensitäts-Zeitverläufe in der Figur 4 dargestellt. Die obere (langsamer abfallende) Kurve

entspricht dabei - wie auch in den nachfolgenden Figuren 5-8 - der erfindungsgemäßen Präparation. Es ist deutlich erkennbar, daß das erfindungsgemäße Mittel einen länger anhaltenden Kontrast nach intravenöser Injektion zeigen als die Mittel des Standes der Technik. Aus diesen Kontrastierungseigenschaften ergeben sich für den Arzt längere
5 Zeiträume für die Untersuchung (Untersuchungsfenster). Des Weiteren wird die Notwendigkeit für eine eventuell Nachinjektion deutlich vermindert, was die Belastung für den Patienten vermindert und zu einem günstigen Kosten/Nutzen Verhältnis beiträgt.

10

Beispiel 42

In-vivo Anwendung eines erfindungsgemäßen Mittels hergestellt nach Beispiel 27:

15 Es wird wie in Beispiel 41 beschrieben verfahren. Als Testsubstanz dient eine Präparation hergestellt wie in Beispiel 27) beschrieben, als Referenz wurde ein Mittel der WO 95/22994 (Beispiel 12) verwendet. Die Dosen für Referenz und Testsubstanz waren identisch und betragen jeweils 0,1 ml/kg KGW.

20 Die Intensitäts-Zeitverläufe sind in der Figur 5 dargestellt.

Beispiel 43

25 In-vivo Anwendung eines erfindungsgemäßen Mittels hergestellt nach Beispiel 28:

Es wird wie in Beispiel 41 beschrieben verfahren, wobei das Versuchstier jedoch ein KGW von 11,9 kg hatte. Als Testsubstanz dient eine Präparation hergestellt wie in Beispiel 28) beschrieben, als wurde ein Mittel der EP 0365467 (Beispiel 1) verwendet.
30 Die verwendeten Dosen waren 0,05 ml/kg KGW für das erfindungsgemäße Mittel nach Beispiel 28 sowie 0,2 ml/kg KGW für die Referenz. Das Ergebnis der Untersuchung ist in Form der Intensitäts-Zeitverläufe in der Figur 6 dargestellt. Auch in diesem Fall wird trotz geringer Dosis ein intensiverer und länger anhaltender Kontrast für die erfindungsgemäße Präparation beobachtet.

35

Beispiel 44

In-vivo Anwendung eines erfindungsgemäßen Mittels hergestellt nach Beispiel 29:

- 5 Es wird wie in Beispiel 43 beschrieben verfahren. Als Testsubstanz dient eine Präparation hergestellt wie in Beispiel 29) beschrieben, als Referenz wurde ein Mittel der EP 0365467 (Beispiel 1) verwendet.

10 Die verwendeten Dosen waren 0,05 ml/kg KGW für das erfindungsgemäße Mittel sowie 0,2 ml/kg KGW für die Referenz. Das Ergebnis der Untersuchung ist in Form der Intensitäts-Zeitverläufe in der Figur 7 dargestellt.

Beispiel 45

15

In-vivo Anwendung eines erfindungsgemäßen Mittels hergestellt nach Beispiel 19:

Ein Beagle Hund (weiblich, 9,7 kg KGW) wird anästhesiert, des weiteren wird wie in Beispiel 41 beschrieben verfahren. Als Testsubstanz dient eine Präparation hergestellt nach Beispiel 19, als Referenz wurde ein Mittel der WO 95/22994 (Beispiel 12) verwendet. Die Dosen für Referenz und Testsubstanz betragen je 0,1 ml/kg KGW.

Die Intensitäts-Zeitverläufe sind in der Figur 8 dargestellt.

25

Beispiel 46

In-vivo Anwendung eines erfindungsgemäßen Mittels hergestellt nach Beispiel 5:

- 30 Es wird wie in Beispiel 45 beschrieben verfahren. Als Testsubstanz dient eine Präparation hergestellt wie in Beispiel 5) beschrieben, als Referenz wurde ein Mittel der WO 95/22994 (Beispiel 12) verwendet. Die Dosen für Referenz und Testsubstanz waren identisch und betragen 0,1 ml/kg KGW.

35 Das Ergebnis der Untersuchung ist in der Figur 9 dargestellt. Abgebildet wurde das Herz des Hundes. Im einzelnen zeigen:

- (a) Vorkontrast
- (b) maximaler Kontrast der Referenzsubstanz

- (c) maximaler Kontrast der Testsubstanz
- (d) Kontrast 1 Minute nach maximal-Kontrast (Referenz)
- (e) Kontrast 1 Minute nach maximal-Kontrast (Testsubstanz)

Wie der Abbildung zu entnehmen ist, zeigt sich die Überlegenheit der
5 erfindungsgemäßen Präparationen insbesondere bei längerer Untersuchungsdauer.

Beispiel 47

10 In-vivo Anwendung eines erfindungsgemäßen Mittels hergestellt nach Beispiel 11:

Es wird wie in Beispiel 41 beschrieben verfahren. Als Testsubstanz dient eine
Präparation hergestellt wie in Beispiel 11) beschrieben, als Referenz wurde ein Mittel
der WO 95/22994 (Beispiel 12) verwendet. Die Dosen für Referenz und Testsubstanz
15 waren identisch und betragen auch hier 0,1 ml/kg KGW.

Das Ergebnis der Untersuchung ist in der Figur 10 dargestellt. Die Bedeutungen der
Nummern (a) bis (e) entsprechen denen der Abbildung 9

20

Beispiel 48

In-vivo Anwendung eines erfindungsgemäßen Mittels hergestellt nach einem der
Beispiele 31, 35, 39.

25

Ein Beagle Hund (weiblich, 9,6 kg KGW) wird anaesthetisiert (Inhalationsnarkose ca.
2/3 Sauerstoff, ca. 1/3 N₂O, 1,5 - 2 % Enfluran, Spontanatmung) und für eine
sonographische Untersuchung des Herzens vorbereitet. Die Untersuchung erfolgt mit
einem Ultraschallsystem der Marke HP (Typ 77020 E, 5 MHz Transducer) im B-
30 mode. Das Versuchstier erhält jeweils eine intravenöse Applikation eines
erfindungsgemäßen Mittels hergestellt nach einem der Beispiele 31, 35, 39 sowie als
Referenz eine Injektion eines Kontrastmittels nach Stand der Technik, welches analog
der WO 95/11994 (Beispiel 12) hergestellt worden ist.

35 Die verwendeten Dosen waren 0,1 ml/kg KGW für die erfindungsgemäßen Mittel und
für die Referenz. Das Ergebnis ist in Form der Intensitäts-Werte in Tabelle 1
dargestellt. Auch hier ist deutlich erkennbar, daß die erfindungsgemäßen Mittel ein

deutlich höheres Kontrastniveau nach intravenöser Injektion zeigen als das Referenzmittel.

Substanz	Kontrastintensität in Density-Units [DU]	
	absolut	relativ
hergestellt nach WO 95/22994 Beispiel 12	140	100
erfindungsgemäßes Mittel nach Beispiel 31	160	114
erfindungsgemäßes Mittel nach Beispiel 35	184	131
erfindungsgemäßes Mittel nach Beispiel 39	177	126

5 Tabelle 1

Beispiel 49

10 In-vivo Anwendung eines erfindungsgemäßen Mittels hergestellt nach einem der Beispiele 4, 8, 9.

Ein Beagle Hund (weiblich, 9,7 kg KGW) wird anaesthetisiert (Inhalationsnarkose ca. 2/3 Sauerstoff, ca. 1/3 N₂O, 1,5 - 2 % Enfluran, Spontanatmung) und für eine
 15 sonographische Untersuchung des Herzens vorbereitet. Die Untersuchung erfolgt mit einem Ultraschallsystem der Marke HP (Typ 77020 E, 5 MHz Transducer) im B-mode. Das Versuchstier erhält jeweils eine intravenöse Applikation eines
 erfindungsgemäßen Mittels hergestellt nach einem der Beispiele 4, 8, 9 sowie als
 Referenz eine Injektion eines Kontrastmittels nach Stand der Technik, welches analog
 20 der WO 95/22994 (Beispiel 12) hergestellt worden ist.

Die verwendeten Dosen waren 0,1 ml/kg KGW für die erfindungsgemäßen Mittel und für die Referenz. Das Ergebnis ist in Form der Flächenwerte unter der Intensitäts-Zeit-Kurve (Density units × sec) in Tabelle 2 dargestellt. Es ist deutlich erkennbar, daß die

erfindungsgemäßen Mittel ein höheres Flächenniveau nach intravenöser Injektion zeigen.

Substanz	Flächenwerte unter der Intensitäts-Zeit-Kurve (Density units × sec)	
	absolut	relativ
hergestellt nach WO 95/22994 Beispiel 12	5890	100
erfindungsgemäßes Mittel nach Beispiel 8	12337	209
erfindungsgemäßes Mittel nach Beispiel 4	9697	164
erfindungsgemäßes Mittel nach Beispiel 9	10258	174

5

Tabelle 2

Beispiel 50

10

In-vivo Anwendung eines erfindungsgemäßen Mittels hergestellt nach einem der Beispiele 8 und 19

15

Ein Beagle Hund (männlich, 15.5 kg KGW) wird anästhesiert (Inhalationsnarkose 23 % Sauerstoff, 1 - 3 % Enfluran, Rest Stickstoff; Spontanatmung) und zur Ableitung des Spektraldopplersignals aus der Arteria femoralis vorbereitet. Die Untersuchung erfolgt mit dem Ultraschallsystem ATL UM-9 mit dem Transducer Typ L 10-5. Das Versuchstier erhält je eine intravenöse Applikation der Prüfsubstanz hergestellt nach Beispiel 8 oder 19 sowie als Referenz eine Applikation eines Kontrastmittels hergestellt nach WO 95/22994 (Beispiel 12). Die Dosis betrug für alle Injektionen 0.1 ml/kg KGW.

20

Das Spektraldopplersignal wird intensitometrisch ausgewertet und gegen die Zeit aufgetragen. Die resultierenden Flächen unter den Intensitäts-Zeit-Kurven sind in Tabelle 3 dargestellt.

Substanz	Flächenwerte unter der Intensitäts-Zeit-Kurve (AUC)	
	absolut	relativ
hergestellt nach WO 95/22994 Beispiel 12	2079	100
erfindungsgemäßes Mittel nach Beispiel 8	3638	175
erfindungsgemäßes Mittel nach Beispiel 19	4318	208

5

Tabelle 3

Beispiel 51

10

Ein Beagle Hund (weiblich, 9,7 kg KGW) wird anästhesiert (Inhalationsnarkose ca. 2/3 O₂; ca. 1/3 N₂O; 1,5 - 3 % Enfluran, Spontanatmung) und zur Perfusionsuntersuchung der Niere vorbereitet. Die Untersuchung wird mit einem Ultraschallsystem der Marke HP (Typ Sonos 1000, 5MHz) im Farbdopplermode durchgeführt. Das Versuchstier erhält eine intravenöse Applikation eines erfindungsgemäßen Mittels nach Beispiel 22 (0,1 ml/kg KGW). Nach Gabe wird die Perfusionsdarstellung des Organs im Vergleich zur Darstellung vor der Applikation deutlich verbessert.

20

Beispiel 52

Ein Beagle Hund (weiblich, 9,7 kg KGW) wird anästhesiert (Inhalationsnarkose ca. 2/3 O₂; ca. 1/3 N₂O; 1,5 - 3 % Enfluran, Spontanatmung) und zur sonographischen Untersuchung der Aorta abdominalis vorbereitet. Die Untersuchung erfolgt mit einem Ultraschallsystem der Marke ATL Typ UM9 mit Schallkopf C10-5 im Harmonic B-

25

mode. Das Versuchstier erhält eine intravenöse Applikation eines erfindungsgemäßen Mittels hergestellt nach Beispiel 8 (Dosis 0,1 ml/kg KGW). Unmittelbar nach Beendigung der Injektion ist das Gefäßvolumen echogen markiert. Vor der Injektion war das Volumen ohne Enhancement.

5

Beispiel 53

40 g Iopromid (MG:791 g/mol) werden mit 0,4 g ethoxyliertem
10 Fettsäuremonoethanolamid (Aminol N®, MG:480 g/mol) und 60 g Wasser versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine isotone Zubereitung erhalten. Pro Gramm Substanz werden hierbei $20,34 \times 10^9$ Blasen im kontrastrelevanten Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

15

Beispiel 54

0,67 g Sucrosepalmitat-Stearat 7 werden mit 100g Wasser versetzt und in der
20 Mikrowelle erwärmt. Es wird nach dem Erkalten eine leicht trübe, stabile Lösung erhalten. 60 g dieser opaleszierenden Lösung werden mit 40g Iopromid (MG:791 g/mol) versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine isotone Zubereitung erhalten. Pro Gramm Substanz werden hierbei $62,01 \times 10^9$ Blasen im kontrastrelevanten Bereich von 0,56-
25 7,46 μm freigesetzt.

Beispiel 55

30 40 g Iopromid (MG:791 g/mol) werden mit 60 g einer Sucrosepalmitat-Stearat 15 - Lösung (w = 0,67%) versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine isotone Zubereitung erhalten. Pro Gramm Substanz werden hierbei $38,97 \times 10^9$ Blasen im kontrastrelevanten Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

35

Beispiel 56

0,67 g Sucrosepalmitat-Stearat 7 werden mit 100g Wasser versetzt und in der Mikrowelle erwärmt. Es wird nach dem Erkalten eine leicht trübe, stabile Lösung erhalten. 60 g dieser opaleszierenden Lösung werden mit 40g Iopromid (MG:791 g/mol) versetzt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Der Gasaustausch erfolgt mit Perfluorhexan. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine isotone Zubereitung erhalten. Pro Gramm Substanz werden hierbei $2,82 \times 10^9$ Blasen im kontrastrelevanten Bereich von $0,56-7,46 \mu\text{m}$ freigesetzt.

10

Beispiel 57

0,67 g Sucrosepalmitat-Stearat 7 werden mit 100g Wasser versetzt und in der Mikrowelle erwärmt. Es wird nach dem Erkalten eine leicht trübe, stabile Lösung erhalten. 60 g dieser opaleszierenden Lösung werden mit 40g Iopromid (MG:791 g/mol) versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt. Die gesammte Lösung wird durch Eintropfen in flüssigem Decafluorbutan eingefroren. Nach Entfernung des Wassers unter Bedingungen, die einen direkten Übergang vom festen in den gasförmigen Zustand ermöglichen ohne, daß der flüssige Aggregatzustand durchschritten wird, wird das Produkt à 1 g abgefüllt und ein Gasaustausch mit Decafluorbutan durchgeführt. Nach Resuspendierung in 3 ml Wasser wird eine isotone Zubereitung erhalten. Pro Gramm Substanz werden hierbei $34,07 \times 10^9$ Blasen im kontrastrelevanten Bereich von $0,56-7,46 \mu\text{m}$ freigesetzt.

25

Beispiel 58

0,4 g hydriertes Phosphatipylcholin (Pro Lipo H®) werden mit 60 g Wasser und anschließend mit 0,4 g Iopromid (MG:791 g/mol) versetzt. Nachfolgend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine isotone Zubereitung erhalten. Pro Gramm Substanz werden hierbei $27,97 \times 10^9$ Blasen im kontrastrelevanten Bereich von $0,56-7,46 \mu\text{m}$ freigesetzt.

35

Beispiel 59

0,4 g hydriertes, ölfreies Sojalecithin (Epikuron 100H®) werden mit 60 g Wasser und anschließend mit 0,4 g Iopromid (MG:791 g/mol) versetzt. Nachfolgend wird wie
5 unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine isotone Zubereitung erhalten. Pro Gramm Substanz werden hierbei $52,97 \times 10^9$ Blasen im kontrastrelevanten Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

10 Beispiel 60

1,5 g Sucrosepalmitat-Stearat 7 werden mit 100g Wasser versetzt und in der Mikrowelle erwärmt. Es wird nach dem Erkalten eine leicht trübe, stabile Lösung erhalten. 70 g dieser opalesierenden Lösung werden mit 30g Maltooligosaccharid
15 (MG:684 g/mol) und 0,1g PVA (MG:10000 g/mol) versetzt. Die Zubereitung wird à 4 g abgefüllt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine isotone Zubereitung erhalten. Pro Gramm Substanz werden hierbei $9,37 \times 10^9$ Blasen im kontrastrelevanten Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

20

Beispiel 61

0,6 g hydriertes Phosphatipylcholin (Pro Lipo H®) werden mit 70 g Wasser und
25 anschließend mit 30 g Maltooligosaccharid (MG:684 g/mol) versetzt. Die Zubereitung wird à 4 g abgefüllt. Nachfolgend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine isotone Zubereitung erhalten. Pro Gramm Substanz werden hierbei $21,08 \times 10^9$ Blasen im kontrastrelevanten Bereich von 0,56-7,46 μm freigesetzt.

30

Beispiel 62

40 g Iopromid (MG: 791 g/mol) werden mit 0,04 g Polyoxyethylensorbitan
35 Monolaurat Tween 21®) und 60 g Wasser versetzt. Es wird bis zur vollständigen Auflösung gerührt. Die Zubereitung wird à 5 g abgefüllt und in flüssigem Propan eingefroren. Nach Entfernung des Wassers unter Bedingungen, die einen direkten Übergang vom festen in den gasförmigen Zustand ermöglichen ohne, daß der flüssige

Aggregatzustand durchschritten wird, wird ein Gasaustausch mit Decafluorbutan durchgeführt. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine isotone Zubereitung erhalten. Pro Gramm Substanz werden hierbei $3,77 \times 10^9$ Blasen im kontrastrelevanten Bereich von $0,56-7,46 \mu\text{m}$ freigesetzt.

5

Beispiel 63

0,67 g Sucrosepalmitat-Stearat 7 werden mit 100g Wasser versetzt und in der Mikrowelle erwärmt. Es wird nach dem Erkalten eine leicht trübe, stabile Lösung erhalten. 60 g dieser opaleszierenden Lösung werden mit 40g Iopromid (MG:791 g/mol) versetzt. Die Zubereitung wird à 5 g abgefüllt und in flüssigem Butan eingefroren. Nach Entfernung des Wassers unter Bedingungen, die einen direkten Übergang vom festen in den gasförmigen Zustand ermöglichen ohne, daß der flüssige Aggregatzustand durchschritten wird, wird ein Gasaustausch mit Decafluorbutan durchgeführt. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine isotone Zubereitung erhalten. Pro Gramm Substanz werden hierbei $34,16 \times 10^9$ Blasen im kontrastrelevanten Bereich von $0,56-7,46 \mu\text{m}$ freigesetzt.

15
20

Beispiel 64

40g Iopromid (MG:791 g/mol) werden bis zur vollständigen Auflösung mit Wasser versetzt. 0,4g hydriertes Phosphatidylcholin aus Soja (Epikuron 200SH) werden bis zur vollständigen Auflösung mit Tertiär-Butanol versetzt. Die Lösungen werden vereint und mit Wasser zu 100g Gesamtgewicht aufgefüllt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 6 ml Wasser wird eine isotone Zubereitung erhalten. Pro Gramm Substanz werden hierbei $15,95 \times 10^9$ Blasen im kontrastrelevanten Bereich von $0,56-7,46 \mu\text{m}$ freigesetzt.

25
30

Beispiel 65

20 g Stachyose (MG:739 g/mol) werden mit 0,4g hydriertem Phosphatidylcholin (Pro Lipo H®) und 80 g Wasser versetzt. Die Zubereitung wird à 2,5 g abgefüllt. Anschließend wird wie unter Beispiel 1 beschrieben verfahren. Nach Resuspendierung in 2,5 ml Wasser wird eine isotone Zubereitung erhalten.

35

Beispiel 66

Ein Beagle Hund (weiblich, 11,8 kg Körpergewicht) wird anästhesiert
5 (Inhalationsnarkose 23 % Sauerstoff. 1 - 3 % Enfluran. Rest Stickstoff;
Spontanatmung) und zur Ableitung des Spektraldopplersignals aus der Arteria
femoralis vorbereitet. Die Untersuchung erfolgt mit dem Ultraschallsystem ATL UM-
9 mit dem Transducer Typ L 10-5. Das Versuchstier erhält je eine intravenöse
Applikation der Prüfsubstanz hergestellt nach Beispiel 54 (0,05 ml/kg) sowie als
10 Referenz eine Applikation eines Kontrastmittels hergestellt nach EP 0 365 467
(Beispiel 1, 0,2 ml/kg). Figur 11 zeigt die Intensitäts-Zeit-Verläufe der beiden
Injektionen. Der deutlich intensivere und länger andauernde Kontrast der
erfindungsgemäßen Präparation ist klar erkennbar.

15

Beispiel 67

Ein Beagle Hund (weiblich, 11,9 kg Körpergewicht) wird anästhesiert
(Inhalationsnarkose 23 % Sauerstoff. 1 - 3 % Enfluran. Rest Stickstoff;
20 Spontanatmung) und zur Ableitung des Spektraldopplersignals aus der Arteria
femoralis vorbereitet. Die Untersuchung erfolgt mit dem Ultraschallsystem ATL UM-
9 mit dem Transducer Typ L 10-5. Das Versuchstier erhält je eine intravenöse
Applikation der Prüfsubstanz hergestellt nach Beispiel 58 (0,05 ml/kg) sowie als
Referenz eine Applikation eines Kontrastmittels hergestellt nach EP 0365467 (Beispiel
25 1, 0,2 ml/kg). Figur 12 zeigt die Intensitäts-Zeit-Verläufe der beiden Injektionen. Der
deutlich intensivere und länger andauernde Kontrast der erfindungsgemäßen
Präparation ist klar erkennbar.

30 **Beispiel 68**

Ein Beagle Hund (weiblich, 12,1 kg Körpergewicht) wird anästhesiert
(Inhalationsnarkose 23 % Sauerstoff. 1 - 3 % Enfluran. Rest Stickstoff;
Spontanatmung) und zur Ableitung des Spektraldopplersignals aus der Arteria
35 femoralis vorbereitet. Die Untersuchung erfolgt mit dem Ultraschallsystem ATL UM-
9 mit dem Transducer Typ L 10-5. Das Versuchstier erhält je eine intravenöse
Applikation der Prüfsubstanz hergestellt nach Beispiel 59 (0,05 ml/kg) sowie als
Referenz eine Applikation eines Kontrastmittels hergestellt nach EP 0365467 (Beispiel

1, 0,2 ml/kg). Die Fläche unter der Intensitäts-Zeitkurve beträgt 252,2 % der Referenz.

5 **Beispiel 69**

Ein Beagle Hund (weiblich, 12,1 kg Körpergewicht) wird anästhesiert (Inhalationsnarkose 23 % Sauerstoff. 1 - 3 % Enfluran. Rest Stickstoff; Spontanatmung) und zur Ableitung des Spektraldopplersignals aus der Arteria femoralis vorbereitet. Die Untersuchung erfolgt mit dem Ultraschallsystem ATL UM-9 mit dem Transducer Typ L 10-5. Das Versuchstier erhält je eine intravenöse Applikation der Prüfsubstanz hergestellt nach Beispiel 64 (0,05 ml/kg) sowie als Referenz eine Applikation eines Kontrastmittels hergestellt nach EP 0365467 (Beispiel 1, 0,2 ml/kg). Die Fläche unter der Intensitäts-Zeitkurve beträgt 223,8 % der Referenz.

Beispiel 70

Ein Beagle Hund (männlich, 17,1 kg Körpergewicht) wird anästhesiert (Inhalationsnarkose 23 % Sauerstoff. 1 - 3 % Enfluran. Rest Stickstoff; Spontanatmung) und zur Ableitung des Spektraldopplersignals aus der Arteria femoralis vorbereitet. Die Untersuchung erfolgt mit dem Ultraschallsystem ATL UM-9 mit dem Transducer Typ L 10-5. Das Versuchstier erhält je eine intravenöse Applikation der Prüfsubstanz hergestellt nach Beispiel 65 (0,05 ml/kg) sowie als Referenz eine Applikation eines Kontrastmittels hergestellt nach EP 0 365 467 (Beispiel 1, 0,2 ml/kg). Die Fläche unter der Intensitäts-Zeitkurve beträgt 181,0 % der Referenz.

Patentansprüche

1. Zubereitungen zur Herstellung eines Präparates für die Ultraschalldiagnostik, bestehend aus einer porösen, festen, wasserlöslichen Matrix enthaltend einen niedermolekularen Gerüstbildner, ein Tensid und ein Gas, wobei das Gas in den Poren der Matrix eingeschlossen ist.
2. Poröse Matrix nach Anspruch 1 enthaltend als Gerüstbildner einen wasserlöslichen Gerüstbildner mit einem Molekulargewicht < 15.000 Dalton aus der Gruppe der Aminosäuren, Polyaminosäuren, Peptide, Proteine, Mono-, Di-, Tri-, Tetra-, Oligo- und polymeren Saccharide, sowie deren Derivaten, synthetischen Sacchariden und deren Derivaten.
3. Poröse Matrix nach Anspruch 1 oder 2 enthaltend als Gerüstbildner L-Glycin, L-Alanin, L-Valin, L-leucin, L-Isoleucin, L-Phenylalanin, L-Prolin, L-Hydroxyprolin, L-Serin, L-Threonin, L-Tryptophan, L-Asparagin, L-Glutamin, L-Arginin, L-Histidin, Glycyl-glycin, Glycyl-glycyl-glycin, Glucose, Galaktose, Fructose, Mannose, Sorbose, Saccharose, Lactose, Maltose, Trehalose, Gentiobiose, Lactulose, Turanose, Maltotriose, Melibiose, Melizitose, Maltotetraose, Maltopentaose, Stachyose, Arabinose, Xylose, Ribose, Dulcitol, Xylitol, Mannitol, Ribitol, Inositol, Sorbitol, α , β , γ -Cyclodextrine, Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin, Dextran 8, Dextrine und/oder Ficoll.
4. Poröse Matrix nach Anspruch 1 oder 2 enthaltend als Gerüstbildner Röntgenkontrastmittel oder Kontrastmittel für die Magnetresonanzbildgebung.
5. Poröse Matrix nach Anspruch 4 enthaltend als Gerüstbildner Iopromid, Iotrolan, Iopamidol und/oder Iohexol.
6. Poröse Matrix nach Anspruch 4 enthaltend als Gerüstbildner Gd-DTPA (Gadopentetsäure), Gd-DTPA-dimegluminsalz (Magnevist), Gd-EOB-DTPA (Gadoxetsäure, dinatriumsalz) und/oder Gadobutrol.
7. Poröse Matrix nach einem der Ansprüche 1 bis 6 enthaltend als Tensid ein wasserlösliches, nichtionisches Tensid, wobei der Tensidanteil an der Matrix 0,01 bis 10 % (m/m) beträgt.

8. Poröse Matrix nach einem der Ansprüche 1 bis 7 enthaltend als Tensid Sorbitanfettsäureester, Polyoxyethylensorbitanfettsäureester, Polyoxyethylensorbitolfettsäureester, Polyoxyethylenfettsäureester, Glycerinpolyoxyethylenfettsäureester, ethoxylierte Mono-, Di-, Triglyceride, die gewünschtenfalls teilweise hydriert sein können sowie ethoxylierte Mischungen aus diesen, ethoxylierte Rizinusöle, ethoxylierte Phenole, Polyoxyethylenfettalkoholether, Polyglycerolfettsäureester, Sorbitanperfluorfettsäureester, Polyoxyethylensorbitanperfluorfettsäureester, Polyoxyethylen-sorbitolperfluorfettsäureester, Polyoxyethylenperfluorfettsäureester, ethoxylierte Rizinusöle, Polyoxyethylenperfluorfettalkoholether, Polyglycerolperfluorfettsäureester, Polyoxyethylenpolyoxypropylen-Polymere, Fluoralkyl Poly(ethylenoxid) Alkohole Saccharidfettsäureester, Saccharidfettsäureether, ethoxylierte Saccharidfettsäureester, ethoxylierte Saccharidfettsäureether, Fettsäureethanolamide und/oder ethoxylierte Fettsäureethanolamide.
9. Poröse Matrix nach einem der Ansprüche 1 bis 7 enthaltend als Tensid Phospholipide.
10. Poröse Matrix nach einem der Ansprüche 1 bis 9 enthaltend als Tensid, ein Tensid mit einem perfluorierten Kohlenwasserstoffbaustein und/oder mit einem Molekulargewicht < 15,000 Dalton.
11. Poröse Matrix nach Anspruch 1 bis 10 enthaltend als Gas Stickstoff, Sauerstoff, CO₂, Luft und fluorierte gasförmige Verbindungen.
12. Poröse Matrix nach Anspruch 1 bis 11 enthaltend als Gas Tetrafluorallene, Hexafluor-1,3-butadien, Decafluorbutan, Perfluor-1-butene, Perfluor-2-butene, Perfluor-2-butin, Octafluorcyclobutan, Perfluorcyclobuten, Perfluorcyclopentan, Perfluordimethylamin, Hexafluorethan, Tetrafluorethylene, Pentafluorthio(trifluor)methan, Tetrafluormethan, Perfluorpropan und/oder Perfluorpropylen.
13. Poröse Matrix nach Anspruch 1 bis 12 enthaltend als Gas eine perfluorierte Substanz.
14. Ultraschallkontrastmittel generiert aus einer porösen Matrix nach einem der Ansprüche 1 bis 13 enthaltend als flüssiges Trägermedium, Wasser

gegebenenfalls mit den in der pharmazeutischen Technologie üblichen Zusätzen.

- 5 15. Ultraschallkontrastmittel nach Anspruch 14 enthaltend als Trägermedium physiologische Elektrolytlösung, eine wäßrige Lösung von ein- oder mehrwertigen Alkoholen oder eine wäßrige Lösung eines Mono- oder Disaccharids.
- 10 16. Ein Kit für die Herstellung eines Gasbläschen enthaltenden Ultraschallkontrastmittels bestehend aus
- 15 a) einem ersten Behälter, versehen mit einem Verschuß, der die Entnahme des Inhalts unter sterilen Bedingungen ermöglicht und mit dem flüssigen Suspensionsmedium gefüllt ist und
- 20 b) einem zweiten Behälter, versehen mit einem Verschuß der die Zugabe des Suspensionsmediums unter sterilen Bedingungen ermöglicht, gefüllt mit der porösen Matrix nach einem der Ansprüche 1 bis 13 und einem Gas, wobei das Volumen des zweiten Behälters so bemessen ist, daß das Suspensionsmedium des ersten Behälters vollständig im zweiten Behälter Platz findet.
- 25 17. Verfahren zur Herstellung poröser Matrices nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß zunächst eine wäßrige Lösung des gewünschten Gerüstbildners hergestellt wird, welcher gegebenenfalls gasblasenstabilisierende Tenside zugefügt werden, anschließend die so hergestellte Lösung gefriergetrocknet wird wobei nach erfolgter Trocknung die poröse Matrix mit dem jeweils gewünschten Gas belüftet wird.
- 30

Fig. 1

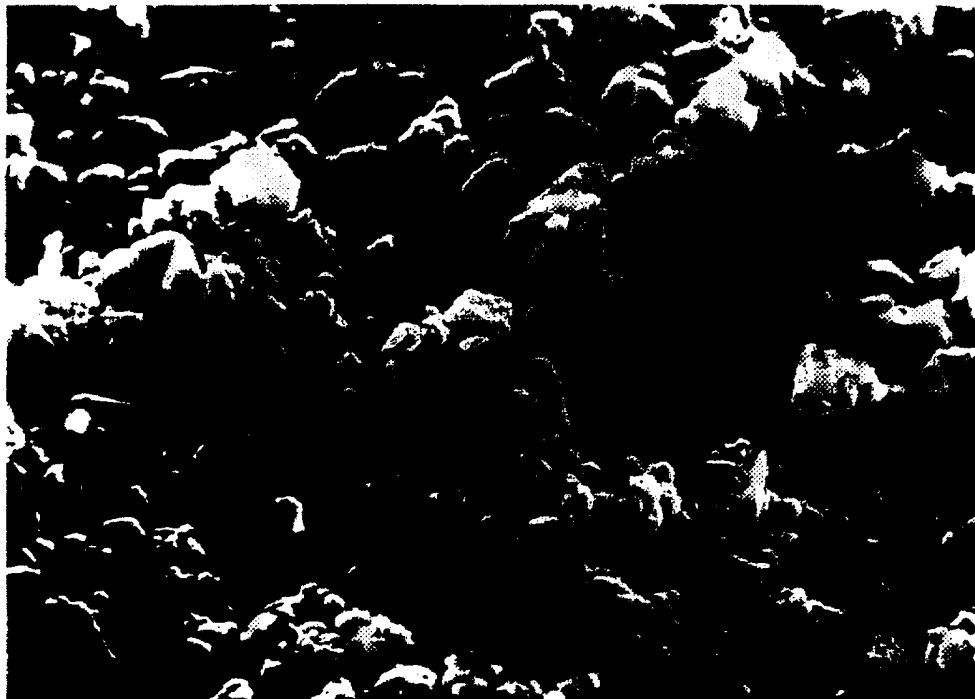


Fig. 2

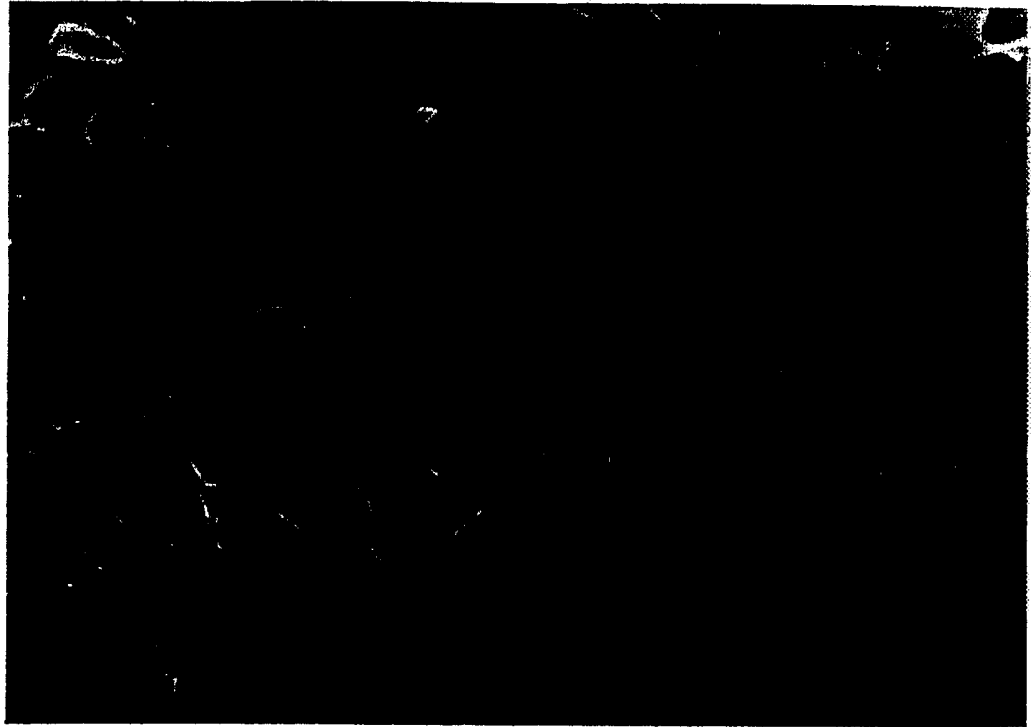
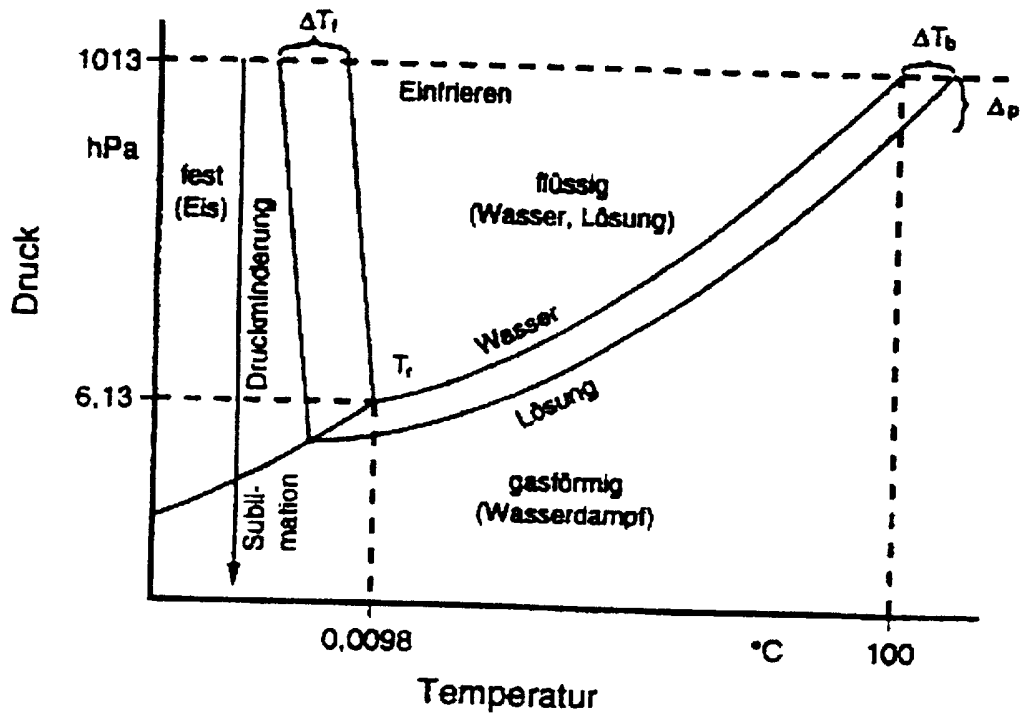


Fig. 3



Zustandsdiagramm des Wassers und einer wäßrigen Lösung

- ΔT_f = Gefrierpunktserniedrigung
- ΔT_b = Siedepunktserhöhung
- Δp = Dampfdruckerniedrigung
- T_r = Tripelpunkt

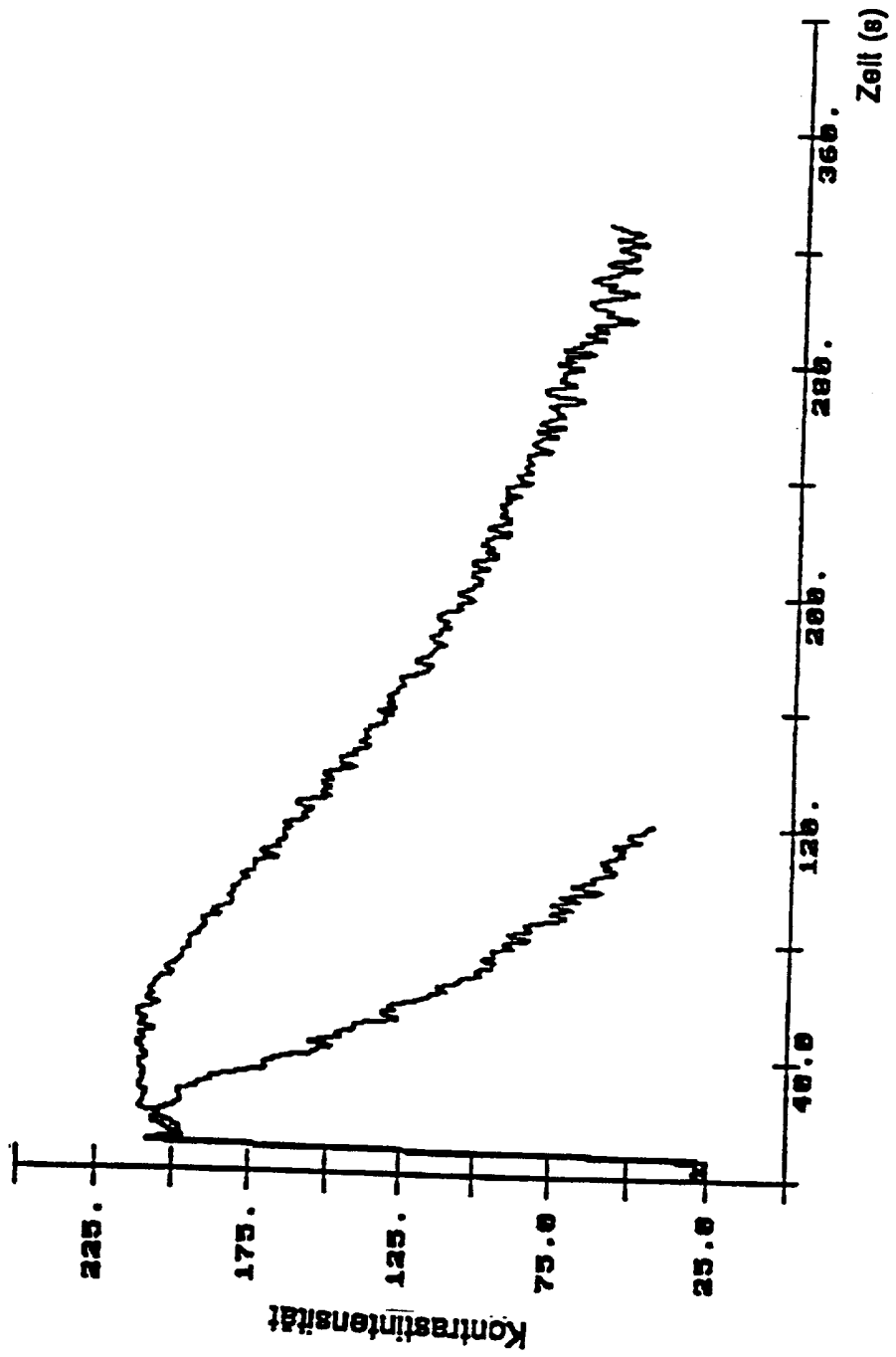


Fig. 4

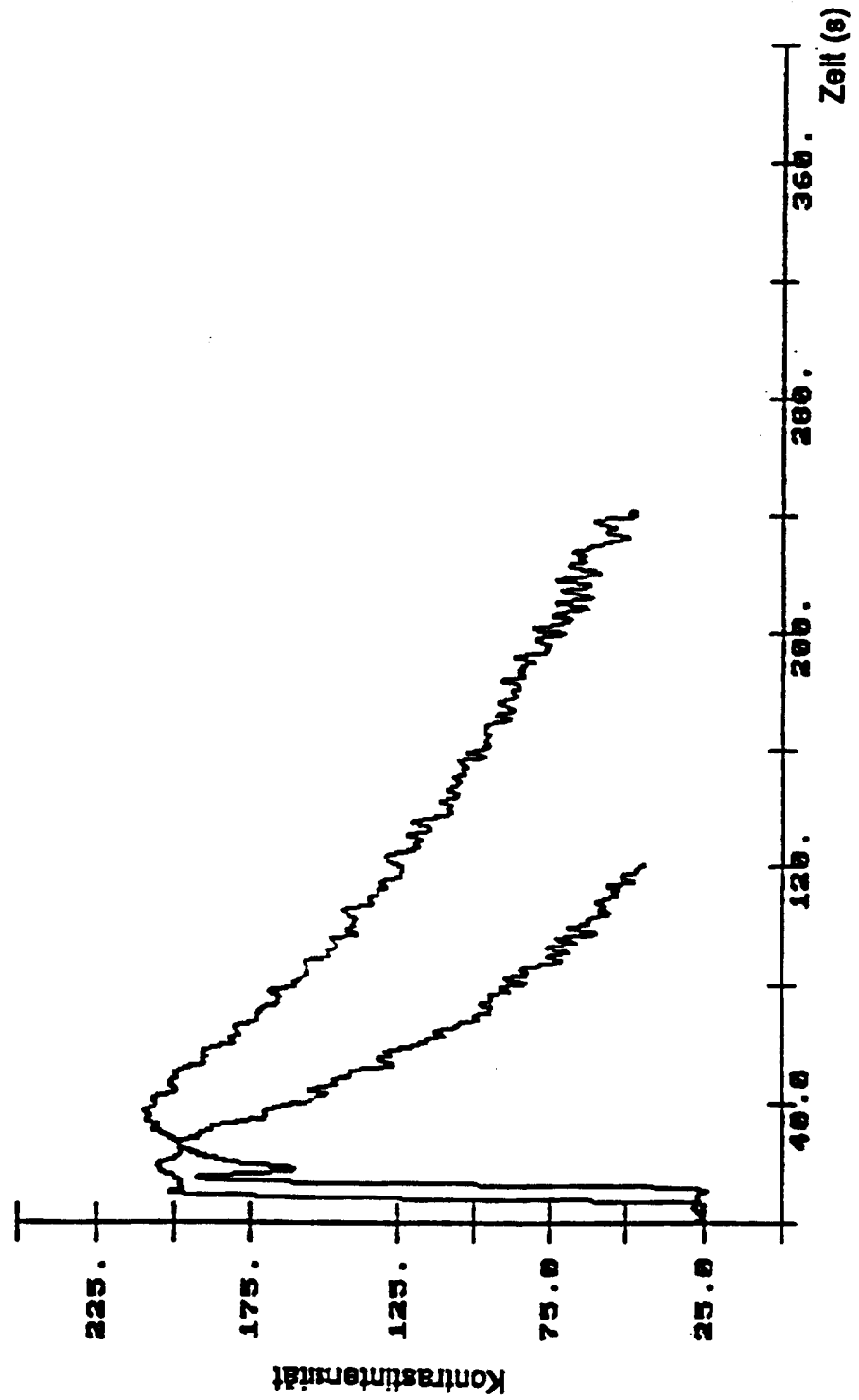


Fig. 5

6/12

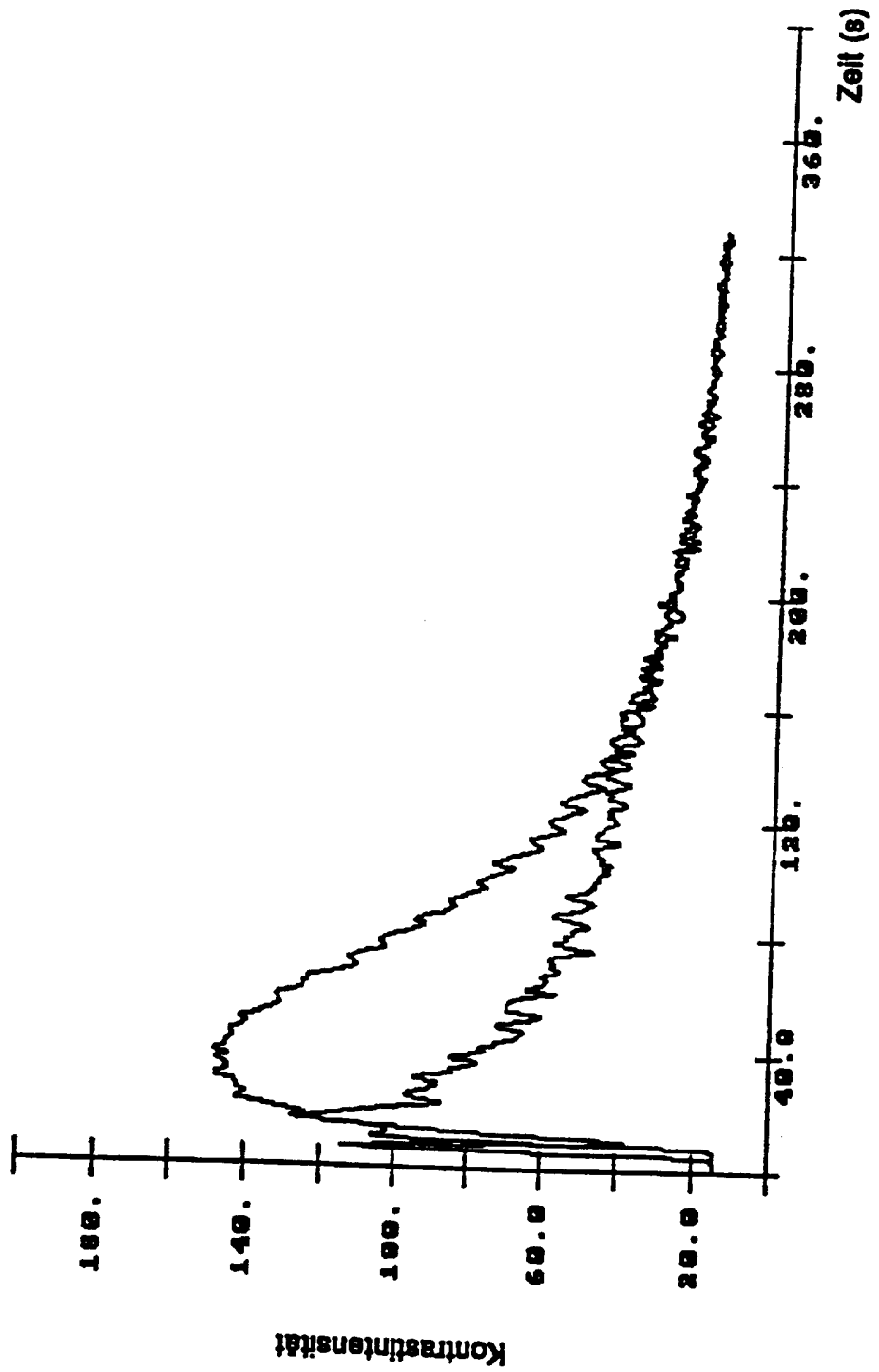


Fig. 6

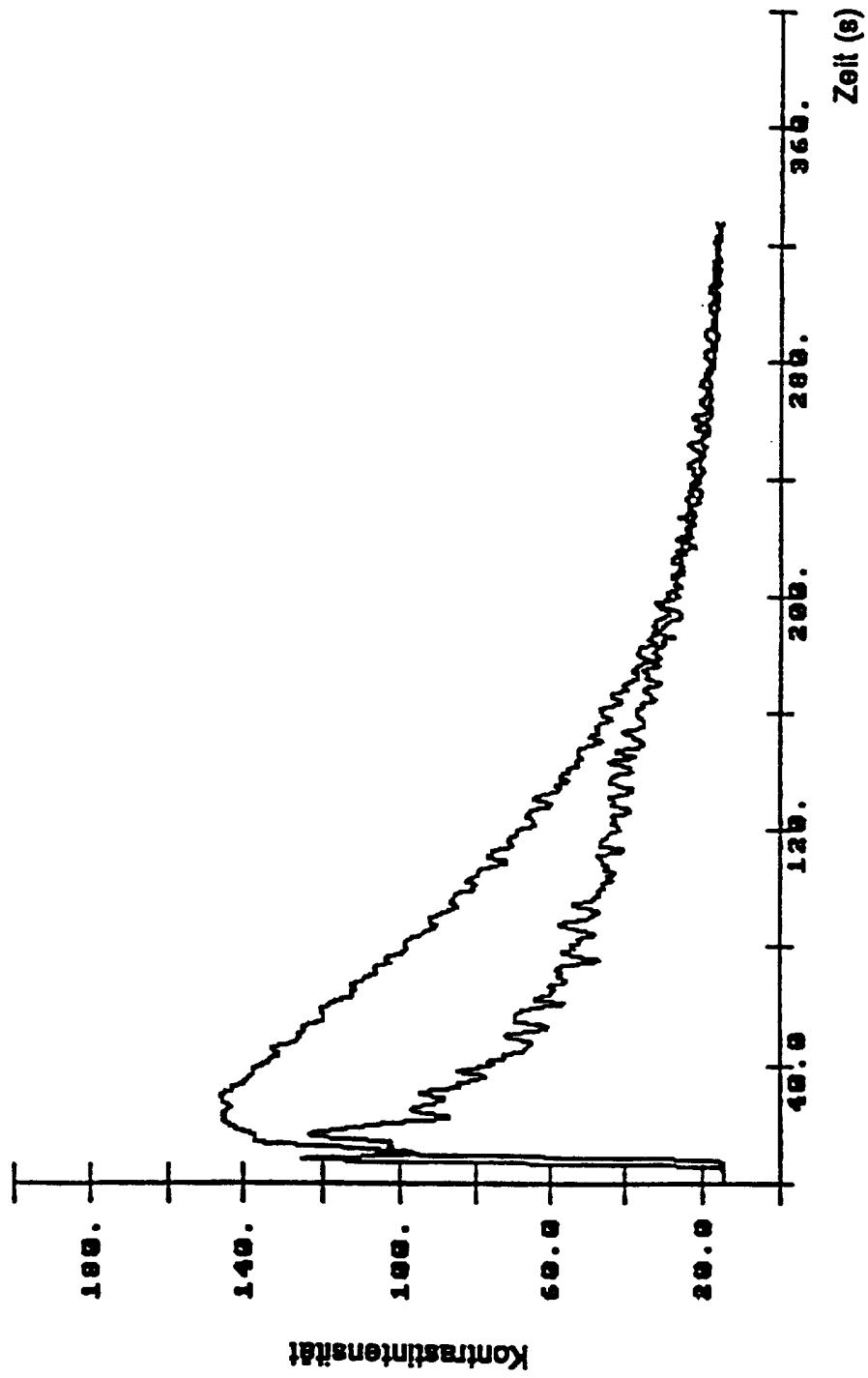


Fig. 7

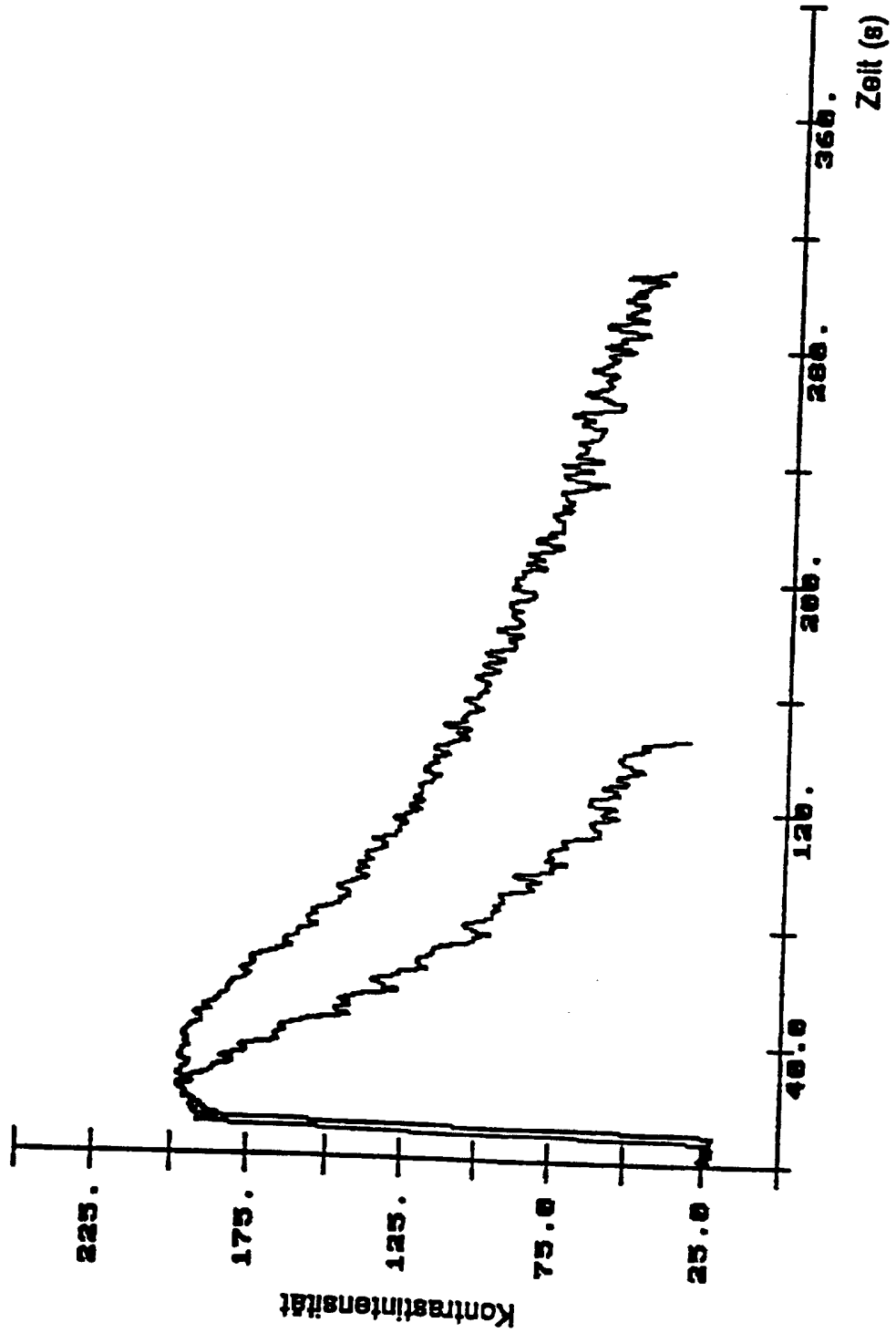
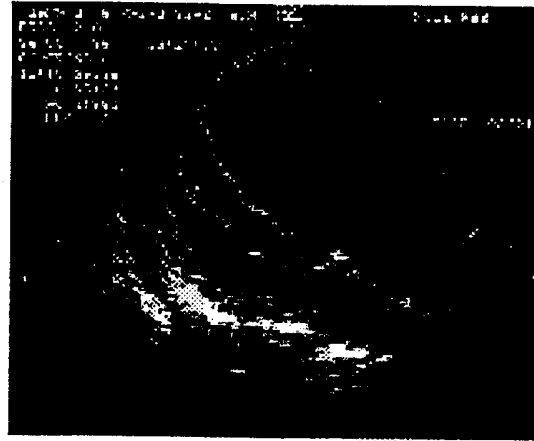
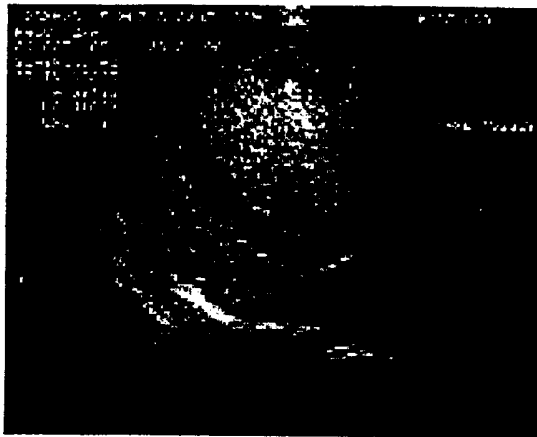


Fig. 8

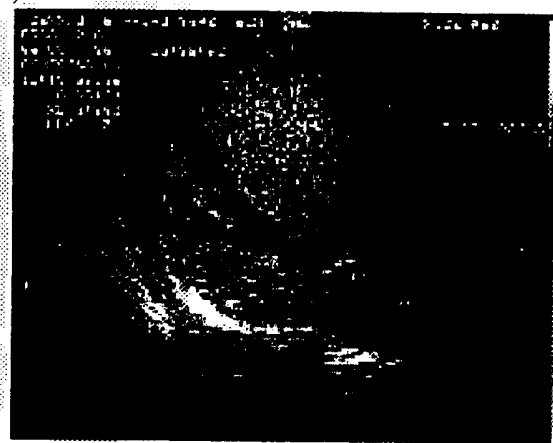
Fig. 9



(a)



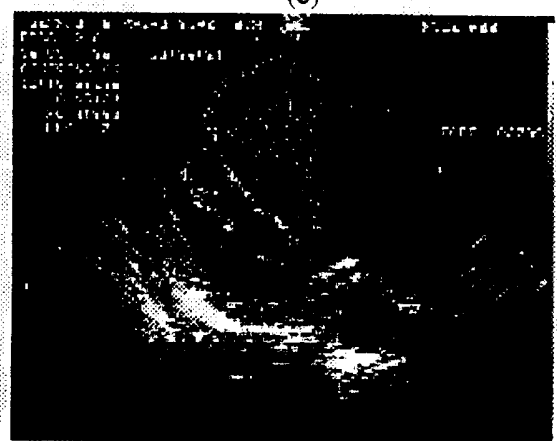
(b)



(c)

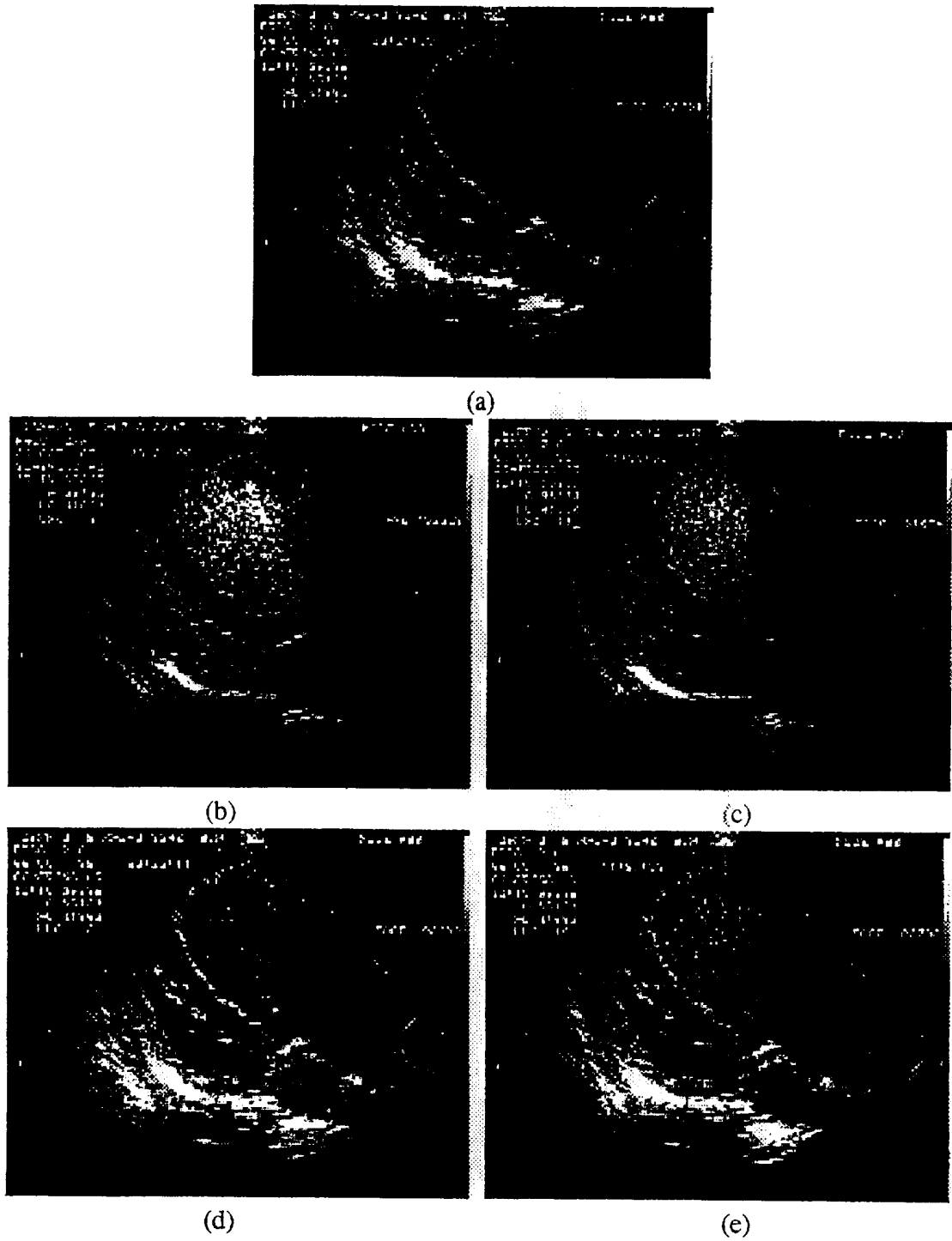


(d)



(e)

Fig. 10



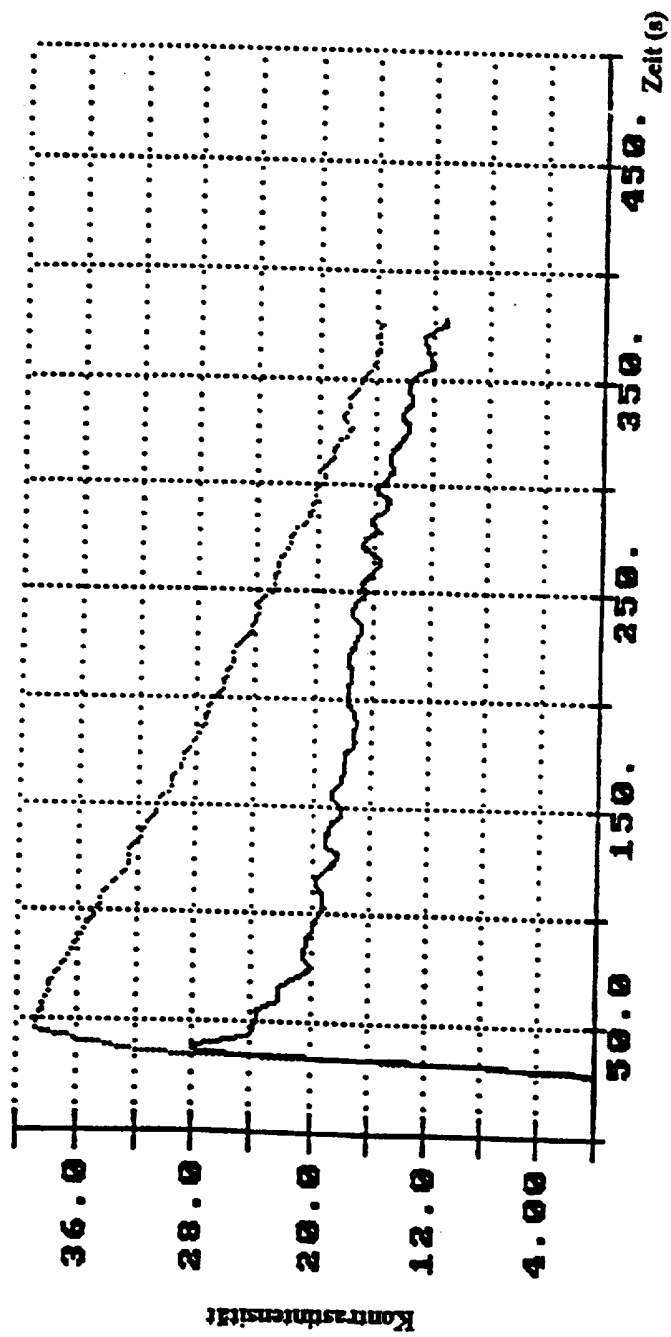


Fig. 11

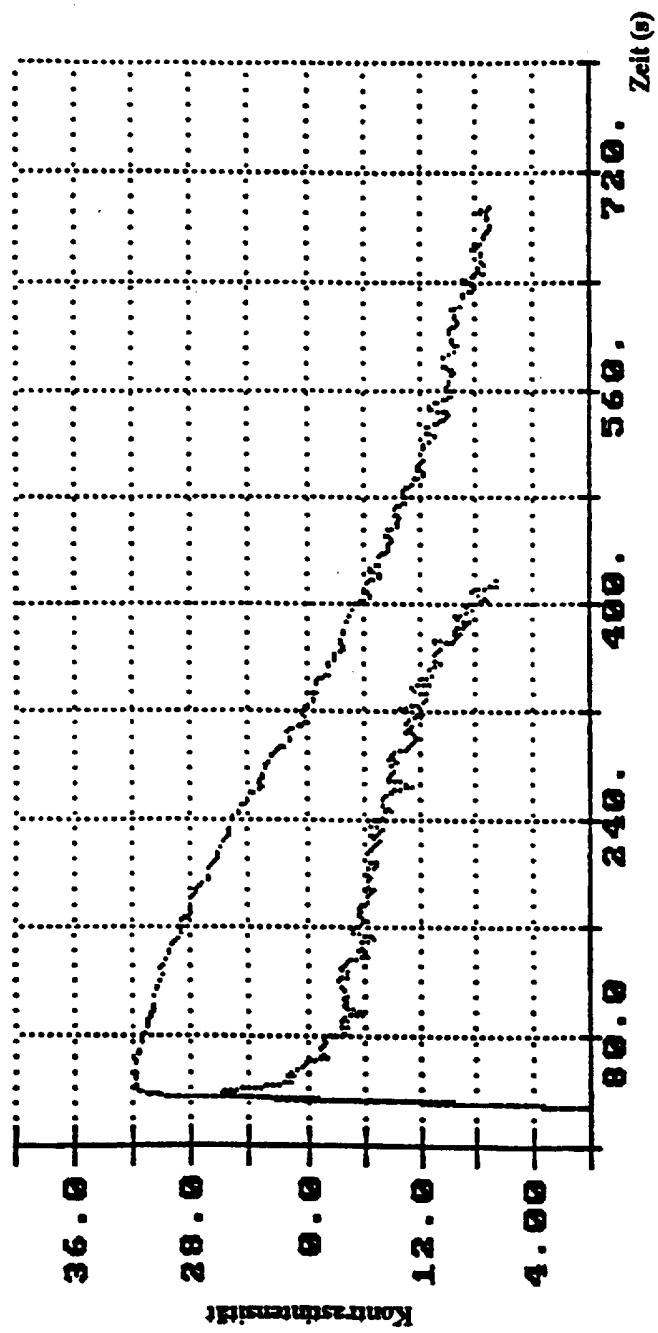


Fig. 12