(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3854630号
(P3854630)
(45)発行日　平成18年12月6日(2006.12.6)　(24)登録日　平成18年9月15日(2006.9.15)

(51)Int.Cl.		F I	
A61K 31/02	(2006.01)	A61K	31/02
A61K 31/08	(2006.01)	A61K	31/08
A61K 31/47	(2006.01)	A61K	31/47
A61K 47/24	(2006.01)	A61K	47/24
A61K 49/00	(2006.01)	A61K	49/00

請求項の数 34　(全 21 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号	特願平6-511273
(86)(22)出願日	平成5年10月27日(1993.10.27)
(65)公表番号	特表平8-502753
(43)公表日	平成8年3月26日(1996.3.26)
(86)国際出願番号	PCT/US1993/010286
(87)国際公開番号	WO1994/009625
(87)国際公開日	平成6年5月11日(1994.5.11)
審査請求日	平成12年10月5日(2000.10.5)
(31)優先権主張番号	07/967,700
(32)優先日	平成4年10月27日(1992.10.27)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者　500372452
アライアンス　ファーマシューティカル　コーポレイション
アメリカ合衆国　９２１２１　カリフォルニア　サン　ディエゴ　サイエンス　パーク　ロード　３０４０
(74)代理人　100100549
弁理士　川口　嘉之
(74)代理人　100090516
弁理士　松倉　秀実
(74)代理人　100106622
弁理士　和久田　純一
(74)代理人　100089244
弁理士　遠山　勉

最終頁に続く

(54)【発明の名称】フルオロカーボンエマルジョンの安定化

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

連続水性相；

有効量の乳化剤；並びに、

90％から99％の１つまたはそれより多い第１のフルオロカーボンと、前記各第１のフルオロカーボンより大きい分子量を有する1％から10％までの１つまたはそれより多い第２のフルオロカーボンであってＢｒ，Ｃｌ，Ｉ，Ｈからなる群から選ばれる少なくとも１つの親油性部分を有するものとを含む、不連続フルオロカーボン相；

を含む貯蔵安定フルオロカーボンエマルジョン。

【請求項２】

前記第１のフルオロカーボンがビス（Ｆ－アルキル）エテンである請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項３】

前記第１のフルオロカーボンが一般構造：$C_nF_{2n+1}-O-C_{n'}F_{2n'+1}$（式中、ｎとｎ'の合計は６から８である）を有するパーフルオロエーテルである請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項４】

前記第１のフルオロカーボンがパーフルオロメチルビシクロ［３．３．１］－ノナン、パーフルオロジメチルビシクロノナン、パーフルオロ－２，２，４，４－テトラメチルペンタン、パーフルオロトリプロピルアミン、ビス（Ｆ－ブチル）エテン、（Ｆ－イソプロピ

ル）（Ｆ－ヘキシル）エテン、パーフルオロメチルアダマンタン、パーフルオロジメチルアダマンタン、Ｆ－Ｎ－メチルデカヒドロイソキノリン、またはＦ－４－メチルオクタヒドロキノリジジンである請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項５】

前記第１のフルオロカーボンが臭化パーフルオロオクチルである請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項６】

前記第１のフルオロカーボンがパーフルオロデカリンである請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項７】

前記第１のフルオロカーボンが460ダルトンから550ダルトンまでの分子量を有する請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項８】

前記第１のフルオロカーボンが４週間未満のインビボ半減期を有する請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項９】

前記第２のフルオロカーボンが一般構造：

$C_nF_{2n+1}R$または$C_nF_{2n}R_2$（式中、ｎは８から１２までの整数でありそしてＲは前記親油性部分である）を有する脂肪族パーフルオロカーボンである請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項１０】

前記第２のフルオロカーボンが、α，ω－ジブロモ－Ｆ－デカン、α，ω－ジクロロ－Ｆ－デカンからなる群から選択される請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項１１】

前記第２のフルオロカーボンが臭化パーフルオロデシルを含む請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項１２】

前記第２のフルオロカーボンが以下の一般構造：

（C_nF_{2n+1}－Ｏ－$C_{n'}F_{2n'+1}$Ｂｒ）（式中、ｎおよびｎ'は各々少なくとも２でありそしてｎとｎ'の合計は８であるか若しくはそれより大きい）を有する線状または分枝状の臭素化パーフルオロエーテルを含む請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項１３】

前記第２のフルオロカーボンが540ダルトンより大きい分子量を有する請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項１４】

前記第２のフルオロカーボンが実質的に同一の分子量を有する完全にフッ素化されたフルオロカーボンより少なくとも10℃低いヘキサン中臨界溶液温度を有するか、または前記第２のフルオロカーボンが実質的に同一の分子量の他の完全にフッ素化された非親油性フルオロカーボンより少なくとも30％短い器官半減期を有する請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項１５】

前記乳化剤が卵黄リン脂質を含む請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項１６】

前記有効量の乳化剤が0.1％～10％（ｗ／ｖ）の卵黄リン脂質を含む請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項１７】

前記乳化剤がフッ素化界面活性剤を含む請求項１に記載のエマルジョン。

【請求項１８】

１つまたはそれより多い第１のフルオロカーボンの不連続相と、有効量の乳化剤と、連続水性相とを有するフルオロカーボンエマルジョンに粒子サイズ安定性を付与する方法であ

って、前記第１のフルオロカーボンに、前記各第１のフルオロカーボンより大きい分子量を有しＢｒ，Ｃｌ，Ｉ，Ｈからなる群から選ばれる少なくとも１つの親油性部分を含有している１つまたはそれより多い第２のフルオロカーボンをフルオロカーボン総量の1%から10%（W/W）まで加えることを含む、方法。

【請求項１９】

前記第１のフルオロカーボンがビス（Ｆ－アルキル）エテンである請求項１８に記載の方法。

【請求項２０】

前記第１のフルオロカーボンが一般構造：$C_nF_{2n+1}-O-C_{n'}F_{2n'+1}$（式中、ｎとｎ'の合計は６から１０である）を有するパーフルオロエーテルである請求項１８に記載の方法。

【請求項２１】

前記第１のフルオロカーボンがパーフルオロメチルビシクロ［３．３．１］－ノナン、パーフルオロジメチルビシクロノナン、パーフルオロ－２，２，４，４－テトラメチルペンタン、パーフルオロトリプロピルアミン、ビス（Ｆ－ブチル）エテン、（Ｆ－イソプロピル）（Ｆ－ヘキシル）エーテル、パーフルオロメチルアダマンタン、パーフルオロジメチルアダマンタン、Ｆ－Ｎ－メチルデカヒドロイソキノリンまたはＦ－４－メチルオクタヒドロキノリジジンである請求項１８に記載の方法。

【請求項２２】

前記第１のフルオロカーボンが臭化パーフルオロオクチルである請求項１８に記載の方法。

【請求項２３】

前記第１のフルオロカーボンがパーフルオロデカリンである請求項１８に記載の方法。

【請求項２４】

前記第１のフルオロカーボンが460ダルトンから550ダルトンまでの分子量を有する請求項１８に記載の方法。

【請求項２５】

前記第１のフルオロカーボンが４週間末満のインビボ半減期を有する請求項１８に記載の方法。

【請求項２６】

前記第２のフルオロカーボンが、α，ω－ジブロモ－Ｆ－デカン、α，ω－ジクロロ－Ｆ－デカンからなる群から選択される請求項１８に記載の方法。

【請求項２７】

前記第２のフルオロカーボンが一般構造：$C_nF_{2n+1}R$または$C_nF_{2n}R_2$（式中、ｎは８から１２までの整数でありそしてＲは前記親油性部分である）を有する脂肪族パーフルオロカーボンである請求項１８に記載の方法。

【請求項２８】

前記第２のフルオロカーボンが臭化パーフルオロデシルを含む請求項１８に記載の方法。

【請求項２９】

前記第２のフルオロカーボンが以下の一般構造：$Br-(C_nF_{2n+1}-O-C_{n'}F_{2n'+1})$（式中、ｎおよびｎ'は各々少なくとも２でありそしてｎとｎ'の合計は８であるか若しくはそれより大きい）を有する線状または分枝状の臭素化パーフルオロエーテルを含む請求項１８に記載の方法。

【請求項３０】

前記第２のフルオロカーボンが540ダルトンより大きい分子量を有する請求項１８に記載の方法。

【請求項３１】

前記第２のフルオロカーボンが、実質的に同一の分子量を有する完全にフッ素化されたフルオロカーボンより少なくとも10℃低いヘキサン中臨界溶液温度を有するか、または前記第２のフルオロカーボンが実質的に同一の分子量の他の完全にフッ素化された非親油性フ

ルオロカーボンより少なくとも30％短い器官半減期を有する請求項１８に記載の方法。
【請求項３２】
前記乳化剤が卵黄リン脂質を含む請求項１８に記載の方法。
【請求項３３】
前記有効量の乳化剤が0.1％～10％（ｗ／ｖ）の卵黄リン脂質を含む請求項１８に記載の方法。
【請求項３４】
前記乳化剤がフッ素化界面活性剤を含む請求項１８に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
発明の背景
本願発明は高度にフッ素化または過フッ素化された化合物を含むエマルジョンに関するものである。更に詳細には、本願発明は貯蔵中に優れた粒子サイズ安定性を有するフルオロカーボンエマルジョンに関するものである。
フルオロカーボンエマルジョンは治療および診断剤としての用途が見い出されている。フルオロカーボンの治療用途の大部分はこれら化合物の顕著な酸素輸送能力に関係している。１つの市販生物医薬剤フルオロカーボンエマルジョン、フルオゾル（Fluosol）（日本国大阪のミドリ十字（株））は経皮経内腔的冠血管形成術中に心筋に酸素を付加する気体担体として現在使用されている（R. Naito、K. Yokoyama、技術情報シリーズ第５および７号、1981年）。フルオロカーボンエマルジョンはまた画像化のような診断用途にも使用されている。パーフルブロン（perflubron）（臭化パーフルオロオクチルまたは$C_8F_{17}Br$）のような放射線不透過性フルオロカーボンは特にこの目的に有用である。
医学用途を意図したフルオロカーボンエマルジョンは粒子サイズの安定性を示すことが重要である。実質的な粒子サイズ安定性を欠くエマルジョンは長期間貯蔵に不適当であるか、またはこのようなエマルジョンは凍結状態で貯蔵しなければならない。貯蔵寿命が短いエマルジョンは望ましくない。凍結エマルジョンの貯蔵は不便である。更に、凍結エマルジョンは注意深く解凍し、幾つかの調製物を混合して再構成し、その後使用前に温めなければならず、このこともまた不便である。
デービス（Davis）等の米国特許第4,859,363号は少量のより高い沸点パーフルオロカーボンをパーフルオロデカリンと混合することによるパーフルオロデカリンエマルジョン組成物の安定化を開示している。より高い沸点を有する好ましいフルオロカーボンは過フッ素化飽和多環式化合物、例えばパーフルオロパーヒドロフルオランセンであった。他にも、エマルジョンを安定化するために少量のより高い沸点を有するフルオロカーボンを使用した例がある。例えば、マイナート（Meinert）の米国特許第5,120,731号（フッ素化モルホリンおよびピペリジン誘導体）およびカバルノフ（Kabalnov）等、Kolloidn Zh. 48: 27～32（1986年）（F－N－メチルシクロヘキシルピペリジン）を参照されたい。
デービス等は、小粒子サイズのフルオロカーボンエマルジョンの不安定性の原因となる主要な現象はオストワルド熟成であることを示唆した。オストワルド熟成中に、不連続相の分子のより小さい小滴からより大きい小滴への移動によってエマルジョンは粒子が粗くなる。一般的には、カバルノフ等、Adv. Colloid Interface Sci. 38: 62～67（1992年）を参照されたい。オストワルド熟成を推進する力は別個の小滴間に存在する蒸気圧の差に関係があるように思われる。このような蒸気圧の差は、より小さい小滴の方がより大きい小滴より高い蒸気圧を有しているために生じる。しかし乍ら、オストワルド熟成は、パーフルオロカーボン分子が不連続相小滴間の連続相を移動できる場合にだけ進行する。リフシツ－スレゾフ（Lifshitz－Slezov）式はオストワルド熟成を不連続相の水溶解性と直接関連づけている。リフシツ等、Sov Phys. JETP 35: 331（1959年）参照。
より低い蒸気圧とより低い溶解度を有するより大きい分子量の化合物を連続相に添加すると、このような粒子間移動が減少することが知られている。これによって、順次、オストワルド熟成が減少しそして粒子サイズの安定性が改善される。それ故、粒子サイズ安定性の問題に対する慣用の先行技術の解決法は一定量（例えば、フルオロカーボン含量の10～30％）のより大きい分子量のフルオロカーボンを不連続相に添加することである。

フルオロカーボンエマルジョン粒子は摂取されると、細網内皮系（ＲＥＳ）の細胞で一時的に保持される。この保持時間を最小限にすることが望ましい。残念なことに、先行技術でフルオロカーボンエマルジョン中により大きい分子量のフルオロカーボンを含めたとき、器官保持時間もかなり増加した。大部分のフルオロカーボンの器官保持時間はフルオロカーボンの分子量と指数的関係を有している。Ｊ．Ｇ．リース（Riess）、Artificial Organs 8: 44、49～51; Ｊ．Ｇ．リース、血液代用品に関する国際シンポジウム、イタリア国バリ、1987年6月19～20日、議事録135～166頁参照。

非冷凍状態で貯蔵安定性を示しそして身体から急速度で消失するパーフルオロカーボンエマルジョンの需要がある。従って、本発明の目的はこれらの特徴を有するフルオロカーボンエマルジョンを提供することである。

発明の要約

本願発明は、親油性部分を含有するより大きい分子量のフルオロカーボンでフルオロカーボンエマルジョンを安定化することに係わるものである。或いは、分子量で予測されるより10℃またはそれ以上低い臨界溶液温度を有するかまたは分子量で予測されるより少なくとも約30％短い器官半減期を有する任意のフルオロカーボンを本願発明に従って使用してフルオロカーボンエマルジョンを安定化することができる。

本願発明の主要な利点は、安定化したエマルションの驚くほど短い器官保持時間である。例えば、臭化パーフルオロデシルの細網内皮系（ＲＥＳ）器官でのインビボ半減期は23日から66日までの間であると測定されており、一方概ね同じ分子量を有する非親油性パーフルオロカーボンの半減期は約90日から385日まで変動する（表ＩＶ参照）。これらの半減期は、ヤマノウチ（Yamanouchi）等（Chem. Pharm. Bull. 33（1985年）1221）の28日方法を使用して測定された。この差は決定的に重要である。それは生理学的に受容可能な製剤とそうでない製剤間の差を意味する。先行技術の安定化剤はどれも親油性ではない。それ故、先行技術の安定化剤はどれも本願発明の有利な特性を有していないことに注意されたい。例えば、表ＩＶおよび図５を参照すると、本願発明の安定化剤は全てデービス等、カバルノフおよびマイナートの先行技術の安定化剤よりはるかに低い臨界溶液温度（ＣＳＴｓ）および企図された器官保持時間を有している。本願発明の安定化剤を除いて、慣用のフルオロカーボンはＲＥＳ器官内保持時間と分子量間の直接的な相関関係を示している。更に、本願発明で使用される親油性フルオロカーボンを除いて、パーフルオロ化学構造は保持時間／分子量の明確な関係に対して殆ど影響を有していない。それ故、異種原子または環状構造の存在は器官保持時間に対して殆ど影響を有していない。

先行技術を超える本願発明の主要なもう１つの利点は、エマルジョンが著しく安定なことである。これは、主要な（第１の）フルオロカーボンおよび安定化用の（第２の）フルオロカーボンの両方が親油性部分を含有しているときに特に当てはまる。

それ故、本願発明の１つの特徴に従って、連続水性相、有効量の乳化剤、並びに約50％から約99.9％までの１つまたはそれより多い第１のフルオロカーボンおよびこの第１の各フルオロカーボンより大きい分子量を有する約0.1％から約50％までの１つまたはそれより多い第２のフルオロカーボンを含む不連続フルオロカーボン相を含む貯蔵安定性のフルオロカーボンエマルションが提供され、その際上記第２の各フルオロカーボンは少なくとも１つの親油性部分を含有している。

第１のフルオロカーボンは、ビス（Ｆ－アルキル）エテン、一般構造$C_nF_{2n+1}-O-C_{n'}F_{2n'+1}$（式中、ｎとｎ'の合計は６から８である）を有するパーフルオロエーテル、パーフルオロメチルビシクロ［３．３．１］－ノナン、パーフルオロ－2,2,4,4－テトラメチルペンタン、パーフルオロトリプロピルアミン、ビス（Ｆ－ブチル）エテン、（Ｆ－イソプロピル）（Ｆ－ヘキシル）エテン、パーフルオロメチルアダマンタン、パーフルオロジメチルアダマンタン、Ｆ－Ｎ－メチルデカヒドロイソキノリン、Ｆ－４－メチルオクタヒドロキノリジジン、パーフルオロデカリンまたは最も好ましくは、臭化パーフルオロオクチルを含む多種の材料から選択することができる。１つの実施態様では、第１の各フルオロカーボンは約460ダルトンから約550ダルトンまでの分子量を有しており、そして好ましくは、約４週間、好ましくは２または３週間未満、そして最も好ましくは７日間またはそ

れ未満のインビボ半減期も有している。第２のフルオロカーボンにおいては、１個または複数個の親油性部分は有利にはＢｒ、Ｃｌ、Ｉ、Ｈ、CH_3または炭素数２若しくは３の飽和若しくは不飽和炭化水素鎖である。１つの好ましい実施態様では、第２のフルオロカーボンは、一般式$C_nF_{2n+1}R$または$C_nF_{2n}R_2$（式中、ｎは９から12までの整数でありそしてＲは親油性部分である）を有する脂肪族パーフルオロカーボンである。種々の好ましい実施態様では、第２のフルオロカーボンは、臭化パーフルオロデシル、パーフルオロオクチルエタン、α，ω－ジブロモ－Ｆ－デカン、α，ω－ジクロロ－Ｆ－デカン、$C_{10}F_{21}Br$または$C_{10}F_{21}-CH=CH_2$、Ｂｒ－（CF_2）$_{10}$－Ｂｒ、線状若しくは分枝状の臭素化過フッ素化アルキルエーテルからなる群から選択される。最も好ましくは、第２のフルオロカーボンは臭化パーフルオロデシルまたはパーフルオロデシルエタンを含む。第２の各フルオロカーボンは約550ダルトンより大きい分子量を有していることが望ましい。第２のフルオロカーボンの別の定義に従うと、第２の各フルオロカーボンはヘキサン中で、実質的に同じ分子量（即ち、10ダルトンを超えない範囲、そして好ましくは３、４または５ダルトンを超えない範囲内の分子量）を有する完全にフッ素化されたフルオロカーボンより少なくとも10℃低い臨界溶液温度を有している。或いは、第２のフルオロカーボンは、同様な（実質的に同じ）分子量の他の非親油性のフルオロカーボン、例えば完全にフッ素化されたフルオロカーボンより少なくとも約30％、好ましくは少なくとも50％少ない器官半減期を有している。好ましいエマルジョンは、不連続フルオロカーボン相は約60％から約99.5％までの第１のフルオロカーボンと約0.5％から約40％までの第２のフルオロカーボン；更に好ましくは約80％から約99％間での第１のフルオロカーボンと約１％から約30％までの第２のフルオロカーボンを含む。特に好ましい乳化剤は卵黄リン脂質であり、そしてこの乳化剤の好ましい量は１％～10％（ｗ/ｖ）である。フッ素化した界面活性剤も好ましい。

本願発明のもう１つの特徴は、１つまたはそれより多い第１のフルオロカーボンを有する混合物に、上記第１のフルオロカーボンより大きい分子量を有する１つまたはそれより多い第２のフルオロカーボンのエマルジョン安定化量を加える工程を含む、上記の１つまたはそれより多い第１のフルオロカーボンの不連続相および連続水性相を有するフルオロカーボンエマルジョンに小さい初期粒子サイズを与える方法を含み、その際上記各第２のフルオロカーボンはその構造内に親油性部分を含有している。（この）方法において、第１および第２のフルオロカーボン、界面活性剤並びに種々のエマルジョンパラメータの定義はエマルジョンに関して考察した定義と同一であることができる。

【図面の簡単な説明】

図１は、臭化パーフルオロオクチルおよび臭化パーフルオロデシルの混合物を含有する90％（ｗ／ｖ）フルオロカーボンと４％（ｗ／ｖ）卵黄リン脂質のエマルジョンの加速安定性試験（Ｔ＝40℃）を示す。０％、１％および10％（ｗ／ｗ）の臭化パーフルオロデシルを有するエマルジョンの安定性は直径の３乗（μm^3）対時間（月）のプロットで示す。

図２（ａ、ｂ）は、図１の同様な条件下で調製した臭化パーフルオロオクチル対臭化パーフルオロデシルの95／５％（ｗ／ｗ）混合物を含有する90％（ｗ／ｖ）フルオロカーボンエマルジョンの40℃の３ヶ月貯蔵後の粒子サイズのヒストグラム（光沈降によって得たもの）を示す（図２Ａ）。図２Ｂは、臭化パーフルオロデシルを4.5％含有する85.5％（ｗ／ｖ）フルオロカーボンエマルジョンの40℃で３ヶ月貯蔵後の粒子サイズヒストグラム（光沈降によって得たもの）を示すエマルジョンは４％（ｗ／ｖ）の卵黄リン脂質で安定化する。（図面で報告したエマルジョン粒子直径は、ヒストグラムの最初の棒のピークとして現れる小胞フラクションに関しては補正していないことに注意されたい）。図２Ａから求められる粒子サイズ直径の中央値は、S.D.＝0.25μｍ、およびS.W.＝14.093(m^2/g)で、0.45μｍである。図２Ｂから求められる粒子サイズ直径の中央値は、S.D.＝0.15μｍ、およびS.W.＝17.095(m^2/g)で、0.26μｍである。この分布図（容量）は、カマック補正により標準のＫ［Ｄ］を用いた。

図３は、臭化パーフルオロオクチルと臭化パーフルオロデシルの混合物を含有する60％（ｗ／ｖ）フルオロカーボンと４％（ｗ／ｖ）卵黄リン脂質のエマルジョンの加速安定性試

験（Ｔ＝40℃）を示す。０％および10％（ｗ／ｗ）の臭化パーフルオロデシルを有するエマルジョンの安定性は直径の３乗（μm^3）対時間（月）のプロットで示す。
図４は、マウスの致死率パーセント対３％卵黄リン脂質と90％／10％（ｗ／ｗ）臭化パーフルオロオクチル／臭化パーフルオロデシルを含有する90％（ｗ／ｖ）フルオロカーボンエマルジョンの投与量のプロットを示す。このエマルジョンの$ＬＤ_{50}$は約48ml／kgである。
図５は、デービス、マイナートおよびカバルノフが提案した先行技術のエマルジョン安定化剤を含有する種々のフルオロカーボンに関してヘキサンに対するフルオロカーボンの分子量（ｇ／モル）対臨界溶液温度（°Ｋ）を示す。
図６は、器官半減期（日）対フルオロカーボンの分子量（ｇ/モル）のプロットである。
親油性化合物は、それらの分子量で予測されるより短い器官保持時間を有する点で一般的傾向に当てはまらないことが明白である。ＰＦＤＢは予め定めた３週間の打ち切りより短い半減期を有している。（注意－器官半減期は投与量および測定方法に依存するので、ＰＦＯＢとＰＦＤＢの値は、ＰＦＯＢ／ＦＤＣの半減期の比が４／７であると理解して、Ｆ－デカリンと相関させて評価されている）。尚、ＰＭＣＰはＦ－Ｎ－メチルシクロヘキシルピペリジン、ＦＰＨＰはＦ－パーヒドロフェナンスレン、ＦＴＰＡはＦ－トリプロピルアミン、ＰＦＯＢは臭化Ｆ－オクチル、ＰＦＤＢは臭化Ｆ－デシル、および、ＰＰＥＢは臭化Ｆ－ポリエーテルである。
図７は、90％（ｗ／ｖ）のＰＦＯＢと90％（ｗ／ｖ）のＰＦＯＢ／ＰＦＤＢ（90／10 ｗ／ｗ）混合物における初期直径の中央値対［ＰＦＣ］／［ＥＹＰ］のプロットであり、第２のフルオロカーボンが初期粒子サイズへ与える影響を示している。たとえ［ＥＹＰ］が増加してもＰＦＯＢエマルジョンの約0.2mm未満の小滴直径を達成することはできないが、ＰＦＤＢを添加して小滴の直径を顕著に低下させることができる。ＰＦＤＢは小滴中でのオストワルド熟成を減少させ、それによってより小さい初期サイズを達成できると考えられる。
図８は、ＰＦＯＢ／ＰＦＤＢ混合物の薬物動態学のプロットであり、ＲＥＳからのＰＦＯＢ／ＰＦＤＢ混合物の排出について考察するためのものである。90／10（ｗ／ｗ）および70／30（ｗ／ｗ）のＰＦＯＢ／ＰＦＤＢ混合物を、それぞれ5.4ｇＰＦＣ／kgおよび2.7ｇＰＦＣ／kgの投与量で静脈内注入した後のＲＥＳ（肝臓および脾臓）中の総臭素含量。重複指数関数的薬物動態学モデル（MinsqII、MicroMath, Inc.）を使用してデータを当てはめた。90／10（ｗ／ｗ）混合物の臭素の初期および終期半減期はそれぞれ５および23日であり、これらは多分ＰＦＯＢとＰＦＤＢ成分に対応している。70／30（ｗ／ｗ）のＰＦＯＢ／ＰＦＤＢ混合物の半減期はそれぞれ４および43日であった。ＰＦＯＢ／ＰＦＤＢ混合物中のＰＦＤＢの半減期は複雑は変数であり、総フルオロカーボン投与量、２つのフルオロカーボン成分の比率、試験した組織および実験期間に決定的に依存する。

好ましい実施態様の説明

Ｉ．序

本願発明のフルオロカーボンエマルジョンは次の２つの相を含んでいる：連続水性相および不連続フルオロカーボン相。浸透性およびｐＨを維持して生理学的（認容性）を促進するために、一般に浸透化剤や緩衝液も連続相に含まれている。
治療用途用の現代のフルオロカーボンエマルジョンの不連続相は一般に、20％（ｗ／ｖ）から125％（ｗ／ｖ）までのフルオロカーボンまたは高度にフッ素化された化合物（以下、「フルオロカーボン」または「パーフルオロカーボン」と称する）を含む。本願明細書で使用するとき、「容量当たりの重量」または「ｗ／ｖ」の表現は100立方センチメートルまたは100ミリリットル当たりのグラム数を意味する。更に、本願明細書で使用するとき、「重量当たりの重量」または「ｗ／ｗ」の表現は、所望の容量当たりの重量が得られるまで添加された成分の重量フラクションを意味するように使用されそしてそのように理解される。
本願発明は、少なくとも２つのフルオロカーボンの混合物から不連続相を形成することによって安定なフルオロカーボンエマルジョンを提供し、その際上記フルオロカーボンの少

なくとも１つは相対的に高い分子量を有し、且つその分子構造中に親油性部分を含有している。より大きい分子量のフルオロカーボンを含有させてオストワルド熟成を妨げている先行技術のエマルジョンとは異なって、本願で添加されるフルオロカーボンは生理学的に受容可能な速度で排泄される。約50nmほどの小さい粒子サイズを有する安定なフルオロカーボンエマルジョンは、良好な粒子サイズ安定性を伴って製造することができる。驚くべきことに、本願発明のエマルジョンは、20℃から40℃の比較的高い温度で粒子が殆ど成長しないかまたは全く成長しない状態で貯蔵することができる。

好ましい実施態様では２つのフルオロカーボンが使用される。しかし乍ら、以下で考察する「第１」および「第２」のフルオロカーボンは、その代わりに各々が特定の特徴を有するフルオロカーボンの混合物を含むことができる。

第１のフルオロカーボンは好ましくは約460から550ダルトンまでの分子量を有しており、そして50%から99.9重量%の相対比率で使用される。第２のフルオロカーボンは好ましくは脂肪族フルオロカーボンであり、その分子構造内に少なくとも１つの親油性部分を含有しており、そして約550ダルトンより大きい分子量を有しており、相対比率は50%から0.1%である。第１および第２のフルオロカーボンは両方とも線状フルオロカーボンが好ましい。第２のフルオロカーボンは、他の位置での置換も考えられるが、好ましくは末端が親油性部分で置換されている。

第２のフルオロカーボンの第１の代替的定義は臨界溶液温度（ＣＳＴ）に焦点を当てるものである。この定義に従うと、第２のフルオロカーボンは、実質的に同一の分子量を有する完全にフッ素化されたフルオロカーボン（親油性部分を欠く）のＣＳＴより低いＣＳＴを有している。好ましくは、第２のフルオロカーボンのＣＳＴは上記の完全にフッ素化されたフルオロカーボンより少なくとも10°低い。

第２のフルオロカーボンの第２の代替的定義はその器官半減期に焦点を当てるものである。フルオロカーボンの分子量の対数プロットから器官半減期を予測することができる。本願発明では、第２のフルオロカーボンは好ましくは、上記対数プロットで予測されるより短くそして分子量が類似している他のフルオロカーボンより著しく短い器官半減期を有している。

エマルジョンは、本願発明の方法によって非常に高いフルオロカーボン濃度（125%（ｗ／ｖ）までの）で、実際上任意の所望の粒子サイズで、および非常に低量の乳化剤を用いて、安定性を失うことなく製造することができる。先行技術の安定化したフルオロカーボンエマルジョンとは異なって、添加されたフルオロカーボンの器官保持時間は十分に受容限界内である。更なる利点および特質は以下で考察する。

II．組成物

Ａ．不連続相

本願発明で使用するのに適するフルオロカーボンの特徴を以下で更に詳細に考察する。好適なフルオロカーボンの例を提供する。

１．第１のフルオロカーボン

第１のフルオロカーボンは、短い器官保持時間および生物適合性を求めて選択される。一般に、器官における半減期は好ましくは約４週間未満、更に好ましくは約２または３週間未満、そして最も好ましくは７日またはそれ未満である。分子量は約460から約550ダルトンまでである。

このようなフルオロカーボンには、ビス（Ｆ－アルキル）エテン、例えば$C_4F_9CH=CHC_4F_9$（「Ｆ－44Ｅ」）、ｉ－$CF_3CF_9CH=CHC_6F_{13}$（「Ｆ－ｉ36Ｅ」）および環状フルオロカーボン、例えば$C_{10}F_{18}$（Ｆ－デカリン、パーフルオロデカリンまたはＦＤＣ）；Ｆ－アダマンタン（ＦＡ）；パーフルオロインダン；Ｆ－メチルアダマンタン（ＦＭＡ）；Ｆ－1,3－ジメチルアダマンタン（ＦＤＭＡ）；パーフルオロ－2,2,4,4－テトラメチルペンタン；Ｆ－ジ－またはＦ－トリメチルビシクロ［３．３．１］ノナン（ノナン）；C_{7-12}過フッ素化アミン、例えばＦ－トリプロピルアミン、Ｆ－４－メチルオクタヒドロキノリジン（ＦＭＯＱ）、Ｆ－ｎ－メチルデカヒドロイソキノリン（ＦＭＩＱ）、Ｆ－ｎ－メチルデカヒドロキノリン（ＦＨＱ）、Ｆ－ｎ－シクロヘキシルピロリジン（Ｆ

ＣＨＰ）およびＦ－２－ブチルテトラヒドロフラン（ＦＣ－75またはＲＭ101）が含まれる。
適当な第１のフルオロカーボンの他の例には、臭素化したパーフルオロカーボン、例えば臭化パーフルオロオクチル（$C_8F_{17}Br$、ＵＳＡＮパーフルブロン）、１－ブロモペンタデカフルオロヘプタン（$C_7F_{15}Br$）および１－ブロモトリデカフルオロヘキサン（$C_6F_{13}Br$、臭化パーフルオロヘキシルまたはＰＦＨＢとしても知られている）並びにα－ωジブロモ－Ｆ－オクタン（$C_8F_{16}Br_2$）が含まれる。他の臭素化したフルオロカーボンはロング（Long）に付与された米国特許第3,975,512および4,987,154号に開示されている。
他の非フッ素置換基を有するフルオロカーボン、例えば１－クロロヘプタデカフルオロオクタン（$C_8F_{17}Cl$、塩化パーフルオロオクチルまたはＰＦＯＣｌとも称される）、α－ωジクロロ－Ｆ－オクタン（$C_8F_{16}Cl_2$）、水素化パーフルオロオクチルおよび種々の炭素原子数を有する類似の化合物も意図される。
本願発明に従って考えられる更に他の第１のフルオロカーボンにはパーフルオロアルキル化エーテル、ハロゲン化エーテル（特に、臭素化エーテル）またはポリエーテル、例えば$(CF_3)_2CFO(CF_2CF_2)_2OCF(CF_3)_2$；$(C_4F_9)_2O$が含まれる。更に、例えば、一般式$C_nF_{2n+1}Cn'H_{2n'+1}$；$C_nF_{2n+1}OC_{n'}H_{2n'+1}$；または$C_nF_{2n+1}CH=CHC_{n'}H_{2n'+1}$（式中、ｎおよびｎ'は同一または異なっており、そして約１から約10までである（化合物が室温で液体である限り））を有する化合物のようなフルオロカーボン－炭化水素化合物を使用することができる。このような化合物には、例えば、$C_8F_{17}C_2H_5$および$C_6F_{13}CH=CHC_6H_{13}$が含まれる。
第１のフルオロカーボンとして使用するのに特に好ましいフルオロカーボンには、パーフルオロアミン、一般構造：
$C_nF_{2n+1}R$または$C_nF_{2n}R_2$（式中、ｎは６から８までの整数でありそしてＲはＢｒ、Ｃｌ、Ｉ、CH_3または２若しくは３炭素原子の飽和若しくは不飽和炭化水素の群から選択された親油性部分を含む）
を有する末端が置換された線状脂肪族フルオロカーボン、一般構造：
$C_nF_{2n+1}-CH=CH-C_{n'}F_{2n'+1}$（式中、ｎとｎ'の合計は６から10である）
を有するビス（Ｆ－アルキル）エテン、および一般構造：
$C_nF_{2n+1}-O-C_{n'}F_{2n'+1}$（式中、ｎとｎ'の合計は６から９である）
を有するパーフルオロエーテルが含まれる。
更に、パーフルオロシクロアルカンまたはパーフルオロアルキルシクロアルカン、パーフルオロアルキル飽和複素環式化合物またはパーフルオロ三級アミンの一般的な群から選択したフルオロカーボンを第１のフルオロカーボンとして適切に使用することができる。一般的には、シュバイグハート（Schweighart）の米国特許第4,866,096号を参照されたい。エステル、チオエーテルおよび他の種々の修正された混合フルオロカーボン－炭化水素化合物も、異性体も含めて、本願発明の第１のフルオロカーボンとして使用するのに好適なフルオロカーボン材料の広範な定義内に含まれると考えられる。他の適当なフルオロカーボン混合物も意図されている。
本願明細書に示されていないが、治療用途に役立つ本願開示に記載した特性を有する更に他のフルオロカーボンも意図されている。このようなフルオロカーボンは市販で入手できるかまたは特別に製造することができる。当業者が理解しているように、当該技術分野で周知であるフルオロカーボンの種々の製造方法が存在している。例えば、シュバイグハートの米国特許第4,895,876号を参照されたい。
２．第２のフルオロカーボン
第２のフルオロカーボンは、１つまたはそれより多い親油性部分で置換されそして第１のフルオロカーボンより大きい分子量を有する脂肪族フルオロカーボンである。有利には、親油性部分はフルオロカーボン分子の末端置換である。好ましくは、第２のフルオロカーボンの分子量は約540ダルトンより大きい。第２のフルオロカーボンの分子量の上限に関する制約は一般には、その器官保持時間および第１のフルオロカーボンによる被溶解力に

関係がある。通常、第２のフルオロカーボンは約700ダルトン未満の分子量を有している。
最も好ましい第２のフルオロカーボンは約150℃より高い沸点および約１×10^{-9}モル／リットル未満の水溶解度を有している。
勿論、当業者が理解するように、種々の異なる親油性基で置換された多数のフルオロカーボンは本願発明の第２のフルオロカーボンとして適切に使用することができよう。このようなフルオロカーボンにはエステル、チオエーテルおよび種々のフルオロカーボン－炭化水素化合物が、異性体も含めて、包含される。本願明細書に記載した規準を充足する２つまたはそれより多いフルオロカーボンの混合物も本願発明の第２のフルオロカーボンとして使用するのに適するフルオロカーボン材料の広範な定義の範囲内に入る。本願明細書に挙げられていなくても、治療用途に役立つ本願開示に記載した特性を有するフルオロカーボンは追加的に意図される。
親油性部分は最適には、Ｂｒ、Ｃｌ、Ｉ、CH_3または炭素原子が２若しくは３個の飽和若しくは不飽和炭化水素からなる群から選択される。従って、好ましい第２のフルオロカーボンは、一般式：
C_nF_{2n+1}または$C_nF_{2n}X_2$（式中、ｎは８またはそれより大きく、好ましくは10から12であり、そしてＸはＢｒ、ＣｌまたはＩからなる群から選択されるハロゲン化物である）によって表わされる末端が置換されたハロゲン化パーフルオロカーボン；
一般式：
$C_nF_{2n+1}-(CH_2)_{n'}CH_3$（式中、ｎは９またはそれより大きく、好ましくは10から12であり、そして好ましくは10から12であり、そしてｎ'は０から２である）
で表わされる１－アルキル－パーフルオロカーボンまたはジアルキルパーフルオロカーボン；
一般式：
$C_nF_{2n+1}-C_{n'}H_{(2n'-1)}$（式中、ｎは９またはそれより大きく、好ましくは10から12であり、そしてｎ'は２かまたは３である）
で表わされる１－アルケニル－パーフルオロカーボン；または下記一般構造：
$Br-(C_nF_{2n+1}-O-C_{n'}F_{2n'+1})$（式中、ｎおよびｎ'は少なくとも２でありそしてｎとｎ'の合計は８であるかまたはそれより大きい）
を有する線状若しくは分枝状の臭素化パーフルオロエーテル若しくはポリエーテル、
の群から選択することができる。
最も好ましくは、本願発明の第２のフルオロカーボンは線状または分枝状の臭素化した過フッ素化アルキルエーテル、臭化パーフルオロデシル（$C_{10}F_{21}Br$）；臭化パーフルオロドデシル（$C_{12}F_{25}Br$）；１－パーフルオロデシルエタン（$C_{10}F_{21}CH_2CH_3$）；パーフルオロデシルエテン（$C_{10}F_{21}-CH=CH_2$）；α－ω－ジブロモ－Ｆ－デカン（$Br-(CF_2)_{10}-Br$）；α－ωジクロロ－Ｆ－デカン（$Cl-(CF_2)_{10}-Cl$）からなる群から選択され、臭化パーフルオロデシルおよびパーフルオロデシルエタンが好ましい。
第１の代替的定義に従えば、上記の定義を充足しようとそうでなかろうと、ヘキサンに対する臨界溶液温度（ＣＳＴｓ）が、実質的に同一の分子量（約10ダルトンまでの変動が許容される）を有するフルオロカーボンのＣＳＴより10℃以上低いフルオロカーボンもまた、本願発明で使用するのに適している。多数のパーフルオロカーボンのＣＳＴと分子量間の比較は下記表ＩＶに示す。ＣＳＴを決定する方法論は実施例９に示す。
第２のフルオロカーボンの第２の代替的定義は図６（実施例８）および表ＩＶから明白である。好適な第２のフルオロカーボンは、実質的に同一の分子量の非親油性フルオロカーボンより著しく短い半減期を有するものから選択することができる。図６で明らかなように、好適な第２のフルオロカーボンの半減期（日）は対応する非親油性フルオロカーボンより少なくとも30％短いか、または好ましくは50％以上短くてもよい。
３．乳化剤
フルオロカーボンエマルジョンは乳化剤も含有している。本願明細書で使用するとき、乳

化剤は、不連続相と連続相間の界面に層を形成することによって不連続相の小滴の形成および維持を助ける任意の化合物または組成物である。乳化剤は単一の化合物、また共界面活性剤の場合のような化合物の任意の組合せを含むことができる。
本願発明では、好ましい乳化剤はリン脂質、非イオン界面活性剤、中性または陰イオン性であることができるフッ素化界面活性剤、およびこれら乳化剤の組合せ物からなる群から選択される。
レシチンは、フルオロカーボン乳化剤として頻繁に使用されてきたリン脂質であり、これは米国特許第4,865,836号に更に十分に記載されている。卵黄リン脂質はフルオロカーボン用の乳化剤として優れた有望性を示している。例えば、ロングの米国特許第4,987,154号を参照されたい。
フルオロ界面活性剤としても知られるフッ素化した界面活性剤のような他の乳化剤を良好な効果で使用することができる。安定なエマルションを提供できるフルオロ界面活性剤にはトリパーフルオロアルキルクロレート；パーフルオロアルキルコレスタノール；パーフルオロアルキルキシメチルコレート；
$C_3F_7O(CF_2)_3C(=O)NH(CH_2)_3N(O)(CH_3)_2$（ＸＭＯ－10）；並びに、例えば、Ｊ．Ｇ．リース（Riess）等；Biomat. Artif. Cells Artif. Organs 16: 421～430（1988年）による「インビボ適用のフルオロカーボンおよび界面活性剤、新規パーフルオロアルキル化ポリヒドロキシル化界面活性剤の設計、合成および評価」で考察されているようなフッ素化ポリヒドロキシル化界面活性剤が含まれる。
本願発明で使用するのに適する非イオン界面活性剤にはポリオキシエチレン－ポリオキシプロピレンコポリマーが含まれる。このようなクラスの化合物の例はプルロニック（Pluronic）Ｆ－68のようなプルロニックである。陰イオン界面活性剤、特に12から24個の炭素原子を有する脂肪酸（またはそれらの塩）も使用することができる。適当な陰イオン界面活性剤の１つの例はオレイン酸またはその塩、オレイン酸ナトリウムである。
特定の乳化剤の選択は本願発明の中心をなすものでないと理解されよう。事実、フルオロカーボンの水中エマルジョンの形成を促進できる実際上いかなる乳化剤（将来開発されるものを含む）も、本願発明で使用すれば、改善されたエマルジョンを形成することができる。所定の用途用の最適乳化剤または乳化剤の組合せは、経験的考察で決定することができ、過度な実験を必要としない。従って、本願発明の技術の１つを実施する場合は、生物適合性のような特性を得るように乳化剤または乳化剤の組合せを選択すべきである。

Ｂ．連続相

連続相は水性媒体を含んでいる。好ましくは、該媒体は生理学的に受容可能なものである。例えば、好ましいエマルジョンは適当な浸透性を提供するだけでなく、ｐＨを緩衝化し維持する能力を有している。これは典型的には、水性相に１つまたはそれより多い慣用の緩衝化剤および／または浸透化剤、またはこれら特性を組み合わせた物質を加えて当該技術分野で達成することができる。
更に、エマルジョンの安定化または他のエマルションの有益な特徴を高めるような他の試薬若しくは助剤を連続相に補充することができる。これらの試薬または助剤には次のものが含まれる：ステロイドホルモン、コレステロール、トコフェロールおよび／またはそれらの混合物若しくは組合せ。適当なステロイドホルモンにはフッ素化コルチコステロイドが含まれる。

Ｃ．エマルジョンの調製

本発明に従うフルオロカーボンエマルジョンは、例えば、実施例１に記載されたマントン－ガウリン（Manton－Gaulin）混合器またはマイクロフルダイザー（Microfluidizer）（マサチューセッツ州ニュートンのMicrofluidics Corp.）中でエマルジョン処方物の機械的または超音波乳化のような慣用の乳化方法によって調製される。
第１および第２のフルオロカーボンは所望の比率で、界面活性剤と一緒に水性相と組み合わせる。通常、種々の成分を単に混合するかまたは調和させてプレエマルジョン混合物を調製する。次にこのプレエマルジョンを所望の乳化装置で乳化する。
第２のフルオロカーボンはフルオロカーボン総量の約0.1%から50%（ｗ／ｗ）までを構

成することができ；好ましい実施態様では、第２のフルオロカーボンはフルオロカーボン総量の約0.5%から約40%までを構成し、第１のフルオロカーボンは総フルオロカーボンの残部を構成する。エマルジョン中の合せたフルオロカーボン濃度は好ましくは、約20%から約125%（ｗ／ｖ）までの範囲内のいずれかである。好ましいエマルジョンでは、総パーフルオロカーボン濃度は約30%、40%または50%から約70%、80%、90%または100%（ｗ／ｖ）までである。乳化剤は約0.1%から10%、好ましくは１％または２％から約６％（ｗ／ｖ）、までの濃度で加える。

４．エマルジョン粒子サイズを与える安定化剤の効果

臭化パーフルオロオクチルを含む90%パーフルオロカーボンエマルジョンに臭化パーフルオロデシルのような第２のフルオロカーボン安定化剤を添加することによって粒子サイズの範囲はかなり減少しそして粒子サイズの安定性が改善される（実施例３、表１）。１%および10%の臭化パーフルオロデシル（ＰＦＤＢ）を含有する90%（ｗ/ｖ）のパーフルオロカーボンエマルジョンの平均粒子サイズの成長を示す図１のデータは、粒子サイズに与えるＰＦＤＢの安定化効果が僅か１％（ｗ／ｗ）のＰＦＤＢを含むエマルジョンで観察され、そして実質的な改善が10%（ｗ／ｗ）の濃度のレベルで生じることを示している。図２のデータは、4.5%（ｗ／ｖ）（総パーフルオロカーボンの５％（ｗ／ｗ）と等しい）の中間濃度のＰＦＤＢも、非安定化エマルションと比べると、３ヶ月の期間経過後の90%（ｗ/ｖ）パーフルオロカーボンエマルジョンにおいて、より狭い粒子サイズ分布を維持することを示している。ＰＦＤＢで安定化したパーフルブロンエマルションもより小さい初期粒子サイズを有している（表ＩおよびII、図２）。図７のデータは、二次的なフルオロカーボン成分なしで可能な初期粒子サイズより著しく小さい初期粒子サイズを有するエマルジョンを調製できることを示している。

パーフルオロカーボンエマルジョンにおけるＰＦＤＢの安定化効果は総フルオロカーボン濃度とも無関係である（表II、図３）。10%（ｗ／ｗ）ＰＦＤＢおよび90%（ｗ／ｗ）パーフルブロンからなり、60%（ｗ／ｖ）または90%（ｗ／ｖ）のパーフルオロカーボンを含むエマルジョンは同様の初期平均粒子サイズおよび所定期間経過後の粒子サイズ安定性を示した。ＰＦＤＢの安定化効果はパーフルオロデカリンエマルジョン（実施例６、表III）においても生じて、小さい初期粒子サイズを有するエマルジョンを生成しそして40℃で３ヶ月置いた期間中、その大きさを実質的に保持している。

ＰＦＤＢの安定化効果は、60%かまたは90%かのどちらかを含むパーフルブロンおよびパーフルオロデカリンエマルジョンの両方で生じて、小さい初期平均粒子サイズを有するエマルジョンを生成しそしてこの大きさを保持し、そして40℃で３ヶ月置いた期間中、この大きさを実質的に保持する。

本願発明の方法の更なる詳細は、以下の説明的な実施例を参照して更に完全に理解することができる。

実施例１

参照エマルジョンの調製

参照エマルジョンの組成：

パーフルブロン／レシチン（90／4% ｗ/ｖ）

90ｇのＰＦＯＢ、４ｇの卵黄リン脂質（ＥＹＰ）並びに生理学的値の塩および緩衝液を含有する参照エマルジョンは、ロング（米国特許第4,987,154号）の方法に従って高圧ホモジネーションによって調製した。

実施例２

90%（ｗ/ｖ）フルオロカーボンエマルジョンの安定化（臭化パーフルオロオクチル／臭化パーフルオロデシル）

実施例１のプロトコールを繰り返して４つの更なるエマルジョンを形成させたが、一連のエマルジョンにおいて、フルオロカーボンはそれぞれ１％、２％、５％および10%（ｗ／ｗ）の臭化パーフルオロデシルを含有する臭化パーフルオロオクチルであった。

実施例３

エマルジョンの安定性

実施例１および２の方法で調製したエマルジョンは、40℃で３ヶ月の加速安定性試験に委ねた。表Ｉは90％（ｗ／ｖ）フルオロカーボンエマルジョンの期間中の粒子サイズ安定性を示すものである。このようなエマルジョンには、フルオロカーボン相の100％が臭化パーフルオロオクチルである対照標準、および、フルオロカーボン相が99％から90％（ｗ／ｗ）の臭化パーフルオロオクチルであり安定化剤として１％から10％（ｗ／ｗ）までのパーフルオロデシルが添加されている本願発明のエマルジョンが含まれる。図１および表Ｉにおいて、「ＥＹＰ」は卵黄リン脂質であり、「パーフルブロン」は臭化パーフルオロオクチル」であり、「ＰＦＤＢ」は臭化パーフルオロデシルであり、そして「Ｓ」はμm^3／月の単位での粒子の成長速度である。図１は、これらのエマルジョンのd^3の典型的なリフシツ－スレゾフ図を時間の関数として示す。リフシツ－スレゾフ理論でd^3対時間のプロットが直線になると予測されているので、縦座標として３乗項を選択する。事実、この直線従属性はフルオロカーボンエマルジョンで一般的に観察される。

表Ｉ

臭化パーフルオロデシルの安定化効果

（４％ＥＹＰと90％(w/v)パーフルブロン／臭化パーフルオロデシル(PFDB)を含有するエマルジョン、T=40℃）

PFDB % w/w	初期サイズ（μm）	１ヶ月後のサイズ	２ヶ月後のサイズ	３ヶ月後のサイズ	S × 1000
0%	0.23 (0.13)	0.39 (0.19)	0.49 (0.20)	0.52 (0.23)	44.4
1%	0.23 (0.12)	0.29 (0.16)	0.37 (0.19)	0.37 (0.18)	14.2
2%	0.19 (0.09)	0.23 (0.12)	0.26 (0.14)	0.32 (0.17)	8.3
5%	0.18 (0.08)	0.20 (0.10)	0.24 (0.13)	0.28 (0.14)	5.4
10%	0.20 (0.12)	0.25 (0.13)	0.27 (0.14)	0.27 (0.16)	3.9

（括弧内は粒子サイズ分布の標準偏差を示す）

実施例４

60％（ｗ/ｖ）フルオロカーボンエマルジョンの安定化（臭化パーフルオロオクチル／臭化パーフルオロデシル）

表IIは、臭化パーフルオロデシルを含有する60％（ｗ／ｖ）パーフルブロンエマルジョンの粒子サイズ増大を、ＰＦＤＢを含有していない参照エマルジョンの粒子サイズ増大と比較したものである。

表II

60%(w/v)フルオロカーボンエマルジョンの安定化

（臭化パーフルオロオクチル／臭化パーフルオロデシル）

試料	初期サイズ（μm）	１ヶ月後のサイズ（40℃）	２ヶ月後のサイズ（40℃）	３ヶ月後のサイズ（40℃）	S×1000（μm^3/mo）
0% w/v PFDB	0.20	0.34	0.38	0.39	16.9
10% w/v PFDB	0.18	0.20	0.23	0.23	2.3

実施例５

インビボデータ

図４は、３％（ｗ／ｖ）のＥＹＰと一緒に、９０％（ｗ／ｗ）の臭化パーフルオロオクチルと１０％（ｗ／ｗ）の臭化パーフルオロデシルを含有する９０％（ｗ／ｖ）フルオロカーボンの種々の投与量を注射したマウスの致死率％を図示するものである。LD_{50}は概ね48ml／kgであった。図９は、３％（ｗ／ｖ）の卵黄リン脂質で乳化した、第１のフルオロカーボンとして90%（ｗ／ｗ）パーフルブロンおよび第２のフルオロカーボンとして10%臭化パーフルオロデシルからなる90%（ｗ／ｖ）パーフルオロカーボンエマルジョンのマウスでのＬＤ50を図示するものである。LD_{50}は概ね48ml／kgであった。

実施例６

パーフルオロデカリン／臭化パーフルオロデシルエマルジョンの安定性

実施例１および２の方法に従って調製した濃縮パーフルオロデカリンエマルジョンは、実施例３に記載した安定性について試験した。安定性データは表IIIに示す。

表III

濃縮パーフルオロデカリンエマルジョンに与える臭化パーフルオロデシルの安定化効果

試料	初期サイズ（μm）	1ヶ月後のサイズ（40℃）	2ヶ月後のサイズ（40℃）	3ヶ月後のサイズ（40℃）	S×1000（μm^3/mo）
58.2% w/v FDC 4.6% w/v EYP	0.17	0.33	0.40	0.49	36.6
58.2% w/v FDC 10% w/v PFDB 4.6% EYP	0.18	0.19	0.22	0.25	3.3
81% w/v FDC 3% w/v EYP	0.24	0.34	0.45	0.57	56.6
81% w/v FDC 9% w/v PFDB 3% EYP	0.19	0.22	0.25	0.27	4.3

実施例７

予測器官保持時間

表ＩＶは先行技術で示唆されたフルオロカーボン安定化の物理的データ（器官保持時間を含む）を本願発明の化合物と共通するデータと比較したものである。臭化Ｆ－デシルの分子量は他の先行技術の安定化剤に比肩し得るものであるが、臨界溶液温度（これは器官半減期に関係がある）が劇的に低いことに注意されたい。

図５は、幾つかのフルオロカーボンの臨界溶液温度を分子量の関数として示すものである。デービス等、マイナート、パーフトラン（Perftoran）およびミドリ十字（Ｆ－トリプロピルアミン）の先行技術の安定化剤並びに50種の他の種々のフルオロカーボンは全てＣＳＴと分子量との間で予測可能な関係を示すことに注意されたい。他方、本願発明の親油性安定化剤は実質的により低いＣＳＴＨ、そしてそれ故実質的により短い予測器官半減期を有している。ヤマノウチ等（Chem. Pharm. Bull.、33（1985年）1221）は、器官半減期とＣＳＴＨとの間の実験的関係を明らかにしており、そしてこれは表ＩＶの予測値の根拠をなしている。この実験的関係は親油性パーフルオロカーボンには殆ど有効に作用しないことに注意されたい。尚、図５中の番号を付した測定点についての説明は、表Ｖに示した。

表ＩＶ

文献で考察された少量成分の物理的特性

（提案された少量成分はボールド体の文献に示されている）

名　称	化学式	分子量 (g/モル)	沸点 (℃)	CSTH (℃)	$t_{1/2}$ (日)
	デービス等（米国特許第4,859,363号）				
F-ﾊﾟｰﾋﾄﾞﾛﾌﾙｵﾚﾝ	$C_{13}F_{22}$	574	192-193	測定せず	測定せず
F-ﾊﾟｰﾋﾄﾞﾛﾌｪﾅﾝｽﾚﾝ	$C_{14}F_{24}$	624	215-216	48	測定せず
F-ﾊﾟｰﾋﾄﾞﾛﾌﾙｵﾗﾝｾﾝ	$C_{16}F_{26}$	686	242-243	測定せず	測定せず
	カルバノフ等（Kolloidin Zh. 48:27-32(1986)）				
F-N-ﾒﾁﾙｼｸﾛﾍｷｼﾙ ﾋﾟﾍﾟﾘｼﾞﾝ	$C_{12}F_{21}N$	557	測定せず	40	60
	マイナート（米国特許第5,120,731号）				
F-N-ｼｸﾛﾍｷｼﾙﾓﾙﾎﾘﾝ	$C_{10}F_{18}NO$	492	測定せず	31	13
F-ｼﾞﾓﾙﾎﾘﾉｴﾀﾝ	$C_{10}F_{20}N_2O_2$	560	164	38	24
F-ｼﾞﾓﾙﾎﾘﾉﾌﾟﾛﾊﾟﾝ	$C_{11}F_{22}N_2O_2$	610	182	45	50
F-ｼﾞﾓﾙﾎﾙﾎﾘﾉﾍﾟﾝﾀﾝ	$C_{13}F_{26}N_2O_2$	710	215	60	280
F-ｼﾞﾋﾟﾍﾟﾘｼﾞﾝ	$C_{10}F_{16}N_2$	452	145-150	36	24
F-ｼﾞﾋﾟﾍﾟﾘｼﾞﾉﾒﾀﾝ	$C_{11}F_{18}N_2$	502	165-175	42	55
F-ｼﾞﾋﾟﾍﾟﾘｼﾞﾉｴﾀﾝ	$C_{12}F_{20}N_2$	552	181-186	49	124
F-ｼﾞﾋﾟﾍﾟﾘｼﾞﾉﾌﾟﾛﾊﾟﾝ	$C_{13}F_{22}N_2$	602	195-203	56	282
F-ｼﾞﾋﾟﾍﾟﾘｼﾞﾉﾌﾞﾀﾝ	$C_{14}F_{24}N_2$	652	231-238	72	1460
	本願試験				
F-デカリン	$C_{10}F_{18}$	462	142	22	7
臭化F-ヘキシル	$C_6F_{13}Br$	399	測定せず	測定せず	2
臭化F-オクチル	$C_8F_{17}Br$	499	143	(-19)[a]	4
臭化F-デシル	$C_{10}F_{21}Br$	599	(198)[b]	(19)[a]	(18)
F-ﾌﾞﾛﾓﾎﾞﾘｴｰﾃﾙ	$C_{11}F_{23}O_3Br$	697	測定せず	32	30

[a] ヘキサンによる臨界溶液温度の値は臨界溶液温度対炭化水素鎖長の直線プロットから外挿で概算した。

[b] 臭化Ｆ－デシルの沸点値はヒルデブラント溶液理論から概算した。

表V

フルオロカーボン

◆親油性フルオロカーボン

1. BrC_4F_8Br

2. $ClC_6F_{12}Cl$

3. $C_8F_{17}C_2H_5$

4. $C_8F_{17}Cl$

5. $C_8F_{17}Br$

6. $C_{10}F_{21}Br$ （臭化Ｆ－デシル）

7. $C_{11}F_{23}O_3Br$

ミドリ十字－フルオゾル

◇ 8. $(C_3F_7)_3N$ （Ｆ－トリプロピルアミン）

パーフロラン（カバルノフ等；Kolloidn Zh. 48: 27-32 (1986)）

◇ 9. $C_{12}F_{23}N$ （Ｆ－メチルシクロヘキシルピペリジン）

デービス（米国特許第 4,859,363 号）

◇ １０. $C_{14}F_{24}$ （Ｆ－パーヒドロフェナンスレン）

□ ５０種の他のフルオロカーボン－白抜き四角印

（ヤマノウチ等； Chem. Pharm. Bull. 33: 1221 (1985)）

■ マイナート（米国特許第 5,120,731 号）

１１. $C_{10}F_{20}O_2N_2$ （Ｆ－ジモルホリノエタン）

１２. $C_{11}F_{22}O_2N_2$ （Ｆ－ジモルホリノプロパン）

１３. $C_{12}F_{24}N_2$ （Ｆ－ジピペリジノエタン）

１４. $C_{12}F_{24}O_2N_2$ （Ｆ－ジモルホリノブタン）

１５. $C_{13}F_{26}N_2$ （Ｆ－ジピペリジノプロパン）

１６. $C_{13}F_{26}O_2N_2$ （Ｆ－ジモルホリノペンタン）

１７. $C_{14}F_{28}N_2$ （Ｆ－ジピペリジノブタン）

１８. $C_{14}F_{28}O_2N_2$ （Ｆ－ジモルホリノヘキサン）

１９. $C_{15}F_{30}N_2$ （Ｆ－ジピペリジノペンタン）

２０. $C_{16}F_{32}N_2$ （Ｆ－ジピペリジノヘキサン）

実施例８

器官保持時間対フルオロカーボンの分子量

図６は、多数のフルオロカーボンの器官保持時間対分子量のデータを示すものである。マイナート、カバルノフおよびデービスのフルオロカーボンは全て、器官保持時間とフルオロカーボン分子量との間の密接な関係を示す大きい群の範囲内に含まれている。有効なエ

マルジョン安定化剤は一般に、約550ｇ／モル、更に好ましくは約600ｇ／モルより大きい分子量を有している。約600ｇ／モルの分子量の非親油性フルオロカーボンは約23から66日の間、即ち、非親油性の別のものより著しく短い器官半減期を有している。このことに基づいて、血液代用適用での最適分子量は460～550ｇ／モルであると定義される。親油性フルオロカーボンＰＦＯＢ、ＰＦＤＢおよび臭化パーフルオロポリエーテル（ＰＰＥＢ）は全て、これらの分子量で予測されるより著しく短い器官半減期を有していることが図６および表ＩＶから明らかである。水溶解度の低下（これは分子量に従う）により、ＰＦＤＢおよびＰＰＥＢはオストワルド熟成を減少させることによってフルオロカーボンエマルジョンを安定化させると考えられる。

実施例９

臨界溶液温度（ＣＳＴ）の測定

フルオロカーボン液体の臨界溶液温度は次のようにして測定した：試験フルオロカーボンと炭化水素（例えば、ヘキサン）の等量混合物を密封バイアルに入れ、そして温度制御水浴中に浸漬した。試料は、２つの明瞭な相が現れるまで冷却する。この時点で、温度を徐々に上昇させる。２つの相が完全に混合し得る（即ち、単一の液体相）最も低い温度をＣＳＴと定義する。

比較目的のために、本願特許で使用したＣＳＴ温度は全てヘキサンに対して報告している。しかし乍ら、親油性フルオロカーボンのＣＳＴは非常に低いので、これら物質のヘキサンに対するＣＳＴはしばしば測定できない。それ故、親油性物質のＣＳＴはしばしばより長い鎖長の炭化水素中で測定し、そしてヘキサンに対する値はＣＳＴ対アルカン鎖長の線状プロットを外挿して決定する。

本願発明は或る好ましい実施態様に関連して開示しているが、発明の範囲は後述する請求の範囲によって判断されるように意図され、これら好ましい実施態様に限定されるものではない。

実施例１０

ＰＦＯＢ／ＰＦＤＢ混合物中のＰＦＤＢのＲＥＳ半減期の測定：

ＸＲＦデータ

ＲＥＳ半減期（肝臓および脾臓）は、5.4ｇＰＦＣ／kg（90／10 ｗ／ｗ ＰＦＯＢ／ＰＦＤＢ）または2.7ｇＰＦＣ／kg（70／30 ｗ／ｗ ＰＦＯＢ／ＰＦＤＢ）の投与量のエマルジョンを静脈内投与後に雄および雌ウイスターラットで測定した。組織は投与後３、７、14、28および56日目に集め、そしてＸ線蛍光法（ＸＲＦ）によって臭素含量を分析した。ＸＲＦはＰＦＯＢとＰＦＤＢを識別できないので、重複薬物動態学外挿モデルを使用して個々のＰＦＯＢとＰＦＤＢの割合定数を得る。次に、割合定数を比較目的のために半減期に変換する。図８はデータの曲線適合化を示す。ＰＦＤＢの半減期は、90／10（ｗ／ｗ）ＰＦＯＢ／ＰＦＤＢ混合物の約23日から70／30（ｗ／ｗ）ＰＦＯＢ／ＰＦＤＢ混合物の43日まで増加する。

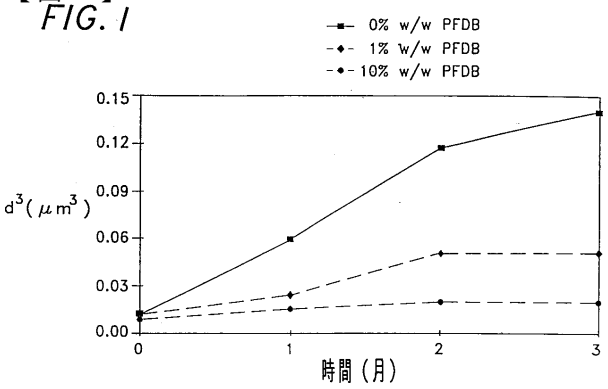
実施例１１

ＰＦＯＢ／ＰＦＤＢ混合物中のＰＦＤＢのＲＥＳ半減期の測定：

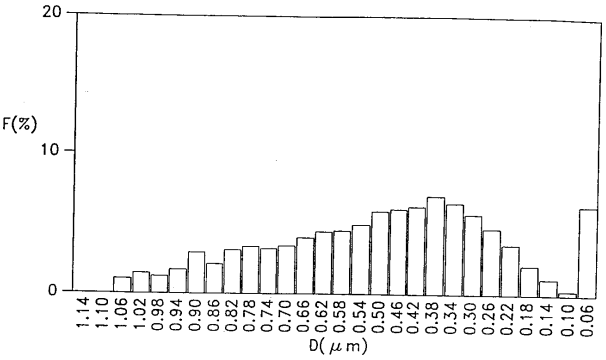
ヘッドスペースガスクロマトグラフィー測定

ＰＦＯＢおよびＰＦＤＢの個々の排出データはヘッドスペースガスクロマトグラフィーによって得ることができる。これは70／30（ｗ／ｗ）ＰＦＯＢ／ＰＦＤＢのエマルジョンで実施した。ＰＦＤＢの半減期（１次対数プロットから得た）はヤマノウチ等の28日従来法に従って66日であると計算された。ＰＦＯＢ／ＰＦＤＢ混合物中のＰＦＤＢの半減期はフルオロカーボンの総投与量、エマルジョン中の２つのフルオロカーボン成分の比率、試験期間、試験組織および適用する薬物動態学モデルの明確な関数であることが明らかである。図６の目的では、23日の下限値と66日の上限値を平均し、その結果ＰＦＤＢの半減期は44日であると報告する。この値は予測される低いＣＳＴＨほど低くはないが、匹敵する分子量の他のパーフルオロカーボン（半減期＞90日）よりやはり著しく低い。もう１つの親油性フルオロカーボン、臭化パーフルオロポリエーテル（ＰＰＥＢ）はその分子量で予測されるより著しく短い半減期を有している。

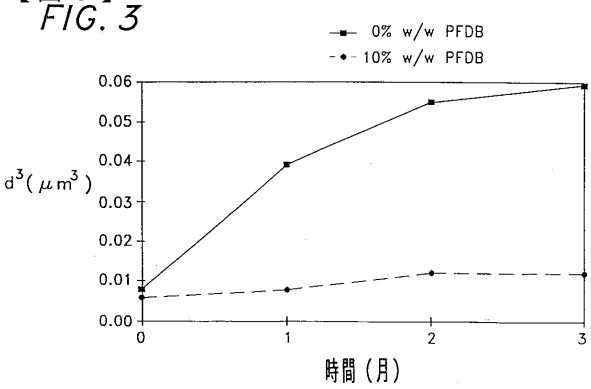
【図１】
FIG. 1



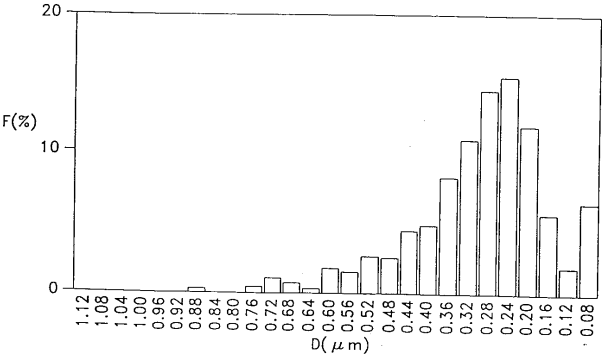
【図２Ａ】
FIG. 2A



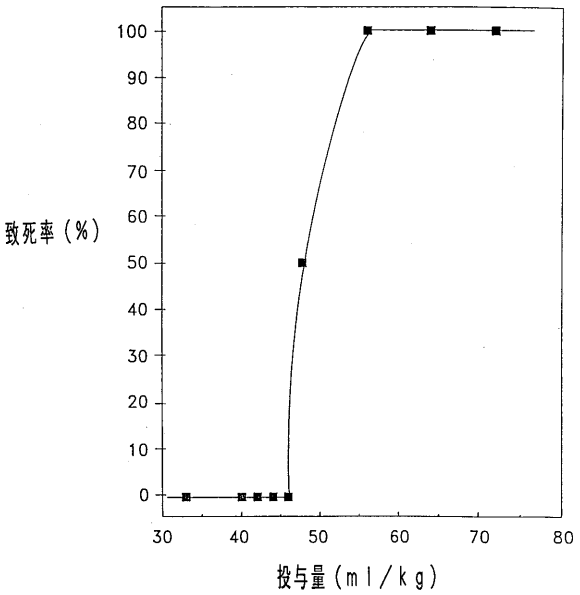
【図３】
FIG. 3



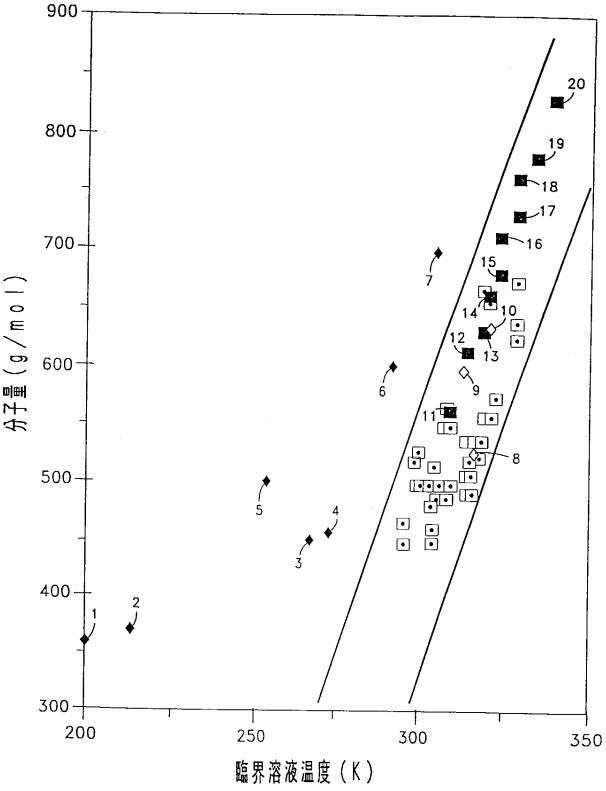
【図２Ｂ】
FIG. 2B



【図４】
FIG. 4

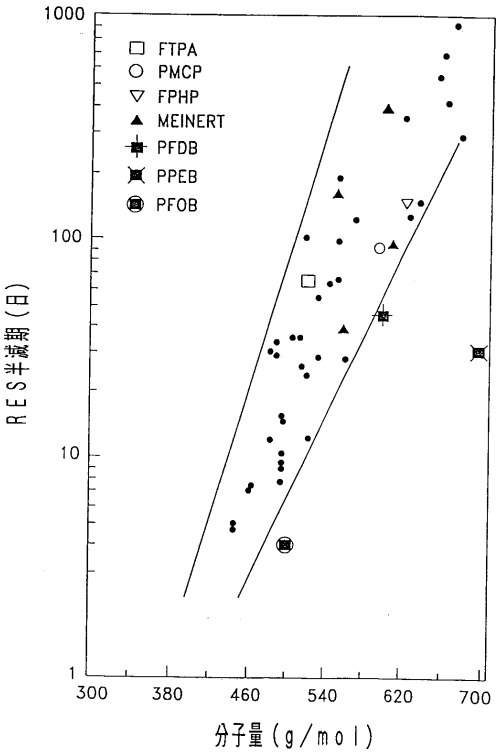


【図５】
FIG. 5



【図６】

FIG. 6



【図７】

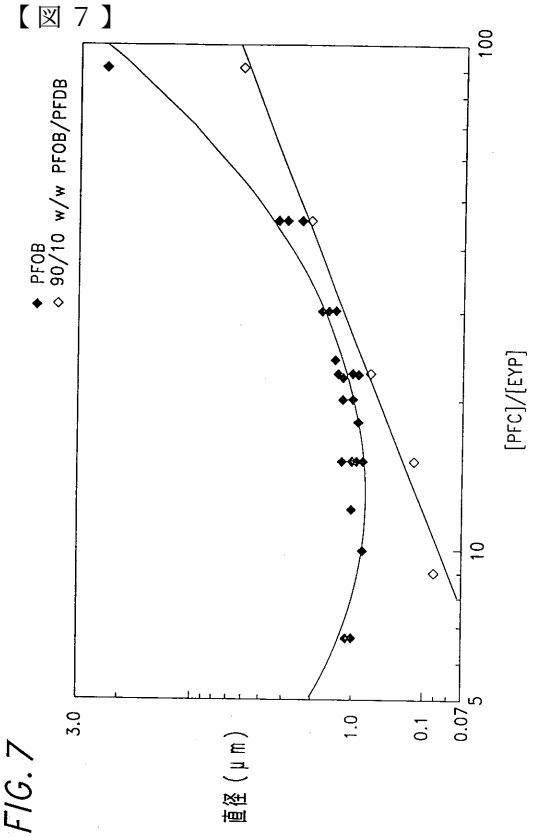
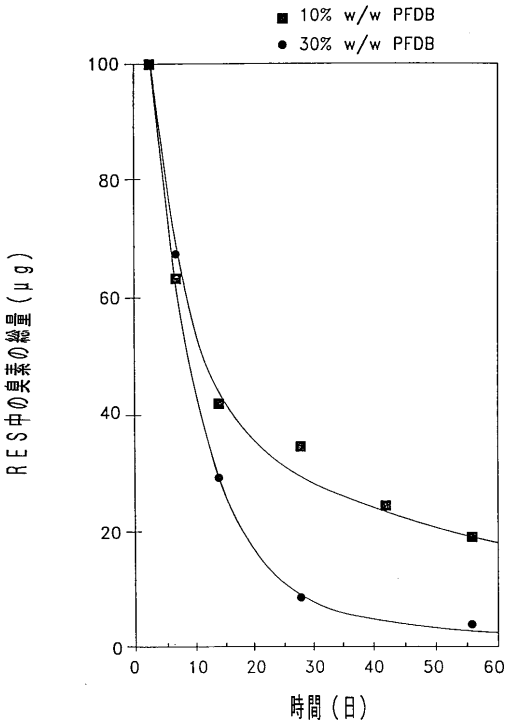


FIG. 7

【図８】

FIG. 8



フロントページの続き

(51)Int.Cl. FI
A61P 7/08 (2006.01) Ａ６１Ｐ 7/08

(72)発明者 ウィアーズ，ジェフェリー，グレグ
アメリカ合衆国，９２１２９ カリフォルニア，サン ディエゴ，サリックス ウェイ １２１９１番地
(72)発明者 クレイン，デビッド，ヘンリー
アメリカ合衆国，９２００８ カリフォルニア，カールスバッド，バッキンガム レーン ４６１５番地
(72)発明者 ジョンソン，シンディ，シズコ
アメリカ合衆国，９２０５６ カリフォルニア，オーシャン サイド，アベニーダ ギラーモ １６７６番地

審査官 井上 明子

(56)参考文献 特開昭５８－０３２８２９（ＪＰ，Ａ）
特開昭６２－２２８０１０（ＪＰ，Ａ）
特開昭６１－２４２６３２（ＪＰ，Ａ）
特表平０６－５０９９０２（ＪＰ，Ａ）
国際公開第９１／０００１１０（WO，Ａ１）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
A61K 31/02
A61K 31/08
A61K 31/47
A61K 47/24
A61K 49/00
CAOLD(STN)
CAplus(STN)
REGISTRY(STN)