



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 697 20 979 T2 2004.02.26**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 885 016 B1**

(51) Int Cl.7: **A61K 49/00**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **697 20 979.2**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/GB97/00458**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **97 903 507.8**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 97/029782**

(86) PCT-Anmeldetag: **19.02.1997**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **21.08.1997**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **23.12.1998**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **16.04.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **26.02.2004**

(30) Unionspriorität:

9603466	19.02.1996	GB
9611894	07.06.1996	GB
9624919	29.11.1996	GB

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI,
LU, MC, NL, PT, SE**

(73) Patentinhaber:

Amersham Health AS, Oslo, NO

(72) Erfinder:

**SWAERD-NORDMO, Marit, N-0401 Oslo, NO;
GULLIKSEN, Helge, Per, N-0401 Oslo, NO;
BRAENDEN, Undheim, Jorunn, N-0401 Oslo, NO;
FAHLVIK, Kjersti, Anne, N-0401 Oslo, NO**

(74) Vertreter:

**TER MEER STEINMEISTER & Partner GbR
Patentanwälte, 81679 München**

(54) Bezeichnung: **THERMOSTABILISIERTES KONTRASTMITTEL**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft thermisch stabilisierte gefriergetrocknete vesikelhaltige Ultraschallkontrastmittel sowie ein Verfahren zu deren Herstellung.

[0002] Vesikel (dieser Begriff wird hierin verwendet, um unilamellare und multilamellare Strukturen zu bezeichnen, z. B. Strukturen, welche verschiedentlich als Liposome, Micellen, Mikrobällchen und Mikroballone bezeichnet werden) werden häufig als Mittel zur Gabe beziehungsweise Verabreichung von therapeutisch oder diagnostisch wirksamen Stoffen verwendet. In dem Gebiet der Ultraschallbildgebungs-kontrastmedien können Vesikel, welche Materialien enthalten (hierin als vesikuläre Materialien bezeichnet), die bei Körpertemperatur gasförmig sind, als echogene Kontrastmittel verwendet werden, insbesondere zur Verabreichung in das Gefäßsystem.

[0003] Vesikuläre Kontrastmedien werden im Allgemeinen in der Form einer wässrigen Dispersion verabreicht, welche eine niedrige Konzentration der Vesikel relativ zu dem wässrigen Trägermedium enthält. Dementsprechend wird die Lagerung und der Transport solcher vesikulären Kontrastmittel deutlich effizienter, wenn die Vesikel in getrockneter Form gelagert werden können.

[0004] Das Gefrier-trocknen von vesikulären Zusammensetzungen ist möglich, und daher werden im Allgemeinen Formulierungshilfsmittel in die Zusammensetzung eingeschlossen, um die Trockentechnik zu unterstützen. Solche Hilfsmittel dienen im Allgemeinen zu einer von zwei Funktionen. Es werden Füllmittel zugesetzt, um den Gesamtfeststoffgehalt zu erhöhen, so dass ein mechanisch robusteres Produkt erreicht wird. Stabilisatoren, anders auch als Kryoprotektanden oder Lyoprotektanden bezeichnet, werden zugesetzt, um die Bildung des Glaszustandes zu unterstützen, welcher während der Entwässerung gebildet wird, und um dem getrockneten Produkt physikalische Festigkeit zu verleihen. Beispiele für auf diese Weise verwendete Stabilisatoren umschließen Mannit und Glukose.

[0005] Gefriergetrocknete vesikuläre Ultraschallkontrastmittel vermitteln ebenso Probleme, obwohl sie Vorteile hinsichtlich des Transports und der Lagerung auf Grund der Verminderung in der Masse relativ zu den wässrigen zur Verwendung fertigen Dispersionen zu Verfügung stellen, da das gefriergetrocknete Produkt in dem Bereich von Umgebungstemperaturen normalerweise im Zusammenhang mit dem Transport und der Lagerung thermisch nicht stabil ist, und als ein Ergebnis muss es vor der sekundären Bildung beziehungsweise Herstellung in einer Umgebung gehalten werden, in welcher die Temperatur unterhalb der Umgebungstemperatur gehalten wird (z. B. bei 5 bis 10°C).

[0006] Es wurde nun überraschenderweise gefunden, dass durch die geeignete Wahl des Stabilisators, welcher zum Gefrier-trocknen verwendet wird, es möglich ist, gefriergetrocknete vesikuläre Ultraschallkontrastmittel herzustellen, welche bei Umgebungstemperaturen und oberhalb davon und in der Tat bei allen Temperaturen, welche im Normalfall während des Transports und der Lagerung auftreten, thermisch stabil sind.

[0007] Das thermisch stabile gefriergetrocknete Produkt kann anschließend ohne den Bedarf einer Temperaturkontrolle von dessen Umgebung gelagert und transportiert werden und kann insbesondere an Krankenhäuser und Ärzte für die Vor-Ort-Formulierung in eine verabreichbare Dispersion geliefert werden, ohne dass es erforderlich ist, dass solche Verwender spezielle Lagerungsvorrichtungen besitzen.

[0008] Von einem Aspekt betrachtet stellt somit die vorliegende Erfindung ein gefriergetrocknetes, vesikelhaltiges Ultraschallkontrastmittel zur Verfügung, enthaltend einen Gefrier-trocknungsstabilisator oder eine Mischung von Stabilisatoren, wobei (i) das Gewichtsverhältnis des Stabilisators oder der Mischung von Stabilisatoren zu den Vesikeln in dem Mittel mindestens 10 : 1 beträgt, (ii) der Stabilisator oder die Mischung von Stabilisatoren einen Tg-Wert oberhalb von 20°C (bevorzugt von mindestens 22°C, insbesondere bevorzugt von mindestens 25°C, ganz besonders bevorzugt von mindestens 30°C und äußerst bevorzugt von mindestens 40°C, z. B. bis zu 65°C oder höher) und einen Tg'-Wert von -37°C oder darüber (bevorzugt oberhalb von -36°C, besonders bevorzugt oberhalb von -35°C, z. B. von -10 bis -37°C) aufweist, und (iii) das Mittel bei Temperaturen oberhalb von 20°C (bevorzugt von mindestens 22°C, besonders bevorzugt von mindestens 25°C, ganz besonders bevorzugt von mindestens 30°C und äußerst bevorzugt von mindestens 40°C, z. B. von bis zu 65°C oder höher) thermisch stabil ist.

[0009] Von einem weiteren Aspekt betrachtet stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines thermisch stabilen gefriergetrockneten vesikelhaltigen Ultraschallkontrastmittels zur Verfügung, welches bei Temperaturen oberhalb von 20°C (bevorzugt von mindestens 22°C, besonders bevorzugt von mindestens 25°C, ganz besonders bevorzugt von mindestens 30°C und äußerst bevorzugt von mindestens 40°C, z. B. bis zu 65°C oder höher) thermisch stabil ist, wobei das Verfahren das Gefrier-trocknen einer wässrigen Dispersion, umfassend ein vesikuläres Ultraschallkontrastmittel und einen Gefrier-trocknungsstabilisator oder eine Mischung von Stabilisatoren, umfasst, welches dadurch gekennzeichnet ist, dass der Stabilisator oder die Mischung von Stabilisatoren in der Dispersion in einem Gewichtsverhältnis bezüglich der Vesikel darin von mindestens 10 : 1 vorliegt, und dass der Stabilisator oder die Mischung von Stabilisatoren einen Tg-Wert oberhalb von 20°C (bevorzugt von mindestens 22°C, besonders bevorzugt von mindestens 25°C, ganz besonders bevorzugt von mindestens 30°C und äußerst bevorzugt von mindestens 40°C, z. B. bis zu 65°C oder höher) und

- einen Tg'-Wert von -37°C oder darüber (bevorzugt oberhalb von -36°C , besonders bevorzugt oberhalb von -35°C , z. B. von -10 bis -37°C) besitzt.
- [0010] Von noch einem weiteren Aspekt betrachtet stellt die vorliegende Erfindung die Verwendung eines gefriergetrockneten Stabilisators oder eine Mischung von Stabilisatoren mit einem Tg-Wert oberhalb von 20°C (bevorzugt von mindestens 22°C , besonders bevorzugt von mindestens 25°C , ganz besonders bevorzugt von mindestens 30°C und äußerst bevorzugt von mindestens 40°C , z. B. bis zu 65°C oder höher) und einen Tg'-Wert von -37°C oder darüber (bevorzugt oberhalb -36°C , besonders bevorzugt oberhalb -35°C , z. B. von -10 bis 37°C) in der Herstellung eines vesikelhaltigen Ultraschallkontrastmittels zur Verfügung, welches bei Temperaturen oberhalb von 20°C (bevorzugt von mindestens 22°C , besonders bevorzugt von mindestens 25°C , ganz besonders bevorzugt von mindestens 30°C und äußerst bevorzugt von mindestens 40°C , z. B. bis zu 65°C oder höher) thermisch stabil ist und welches den Stabilisator oder die Mischung von Stabilisatoren in einem Gewichtsverhältnis bezüglich des Vesikels darin von mindestens 10 : 1 enthält.
- [0011] Von einem weiteren Aspekt betrachtet stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Lagerung und zum Transport eines gefriergetrockneten vesikelhaltigen Ultraschallkontrastmittels, wie es oben definiert wurde, zur Verfügung, worin die Lagerung oder der Transport ohne Kühlung stattfindet.
- [0012] Von noch einem weiteren Aspekt betrachtet stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines vesikelhaltigen Ultraschallkontrastmittels zur Verfügung, welches das Dispergieren eines gefriergetrockneten vesikelhaltigen Ultraschallkontrastmittels, wie es oben definiert wurde, in einem physiologisch tolerierbaren wässrigen Dispersionsmedium umfasst.
- [0013] Für ein jedes Material ist Tg die Glasübergangstemperatur des getrockneten Materials, während Tg' die Glasübergangstemperatur der maximal gefrieraufkonzentrierten reinen wässrigen Lösung des Materials darstellt.
- [0014] Neben der verbesserten thermischen Stabilität erhöhen die gefriergetrockneten vesikulären Kontrastmittel gemäß der vorliegenden Erfindung ebenso überraschenderweise die Fähigkeit der Vesikel, Halocarbon-gase und Gasvorstufen, welche in herkömmlichen Ultraschallkontrastmitteln verwendet werden, zurückzuhalten.
- [0015] In der Erfindung können die Ultraschallkontrastmittel jegliche physiologisch tolerierbare echogene vesikuläre Mittel sein. Bevorzugt enthalten die Vesikel jedoch ein Gas oder eine Gasvorstufe beziehungsweise einen Gasvorläufer (z. B. eine Verbindung oder eine Verbindungsmischung, welche im wesentlichen gasförmig (einschließlich Dampf bei normaler Temperatur des menschlichen Körpers (37°C) vorliegt). Ein jegliches biokompatibles Gas, Gasvorläufer oder Mischung kann eingesetzt werden. Das Gas kann daher zum Beispiel umfassen Luft; Stickstoff; Sauerstoff; Kohlendioxid; Wasserstoff; und Stickoxid; ein Inertgas, wie Helium, Argon, Xenon oder Krypton; ein Schwefelfluorid, wie Schwefelhexafluorid, Dischwefeldekafluorid, oder Trifluormethylschwefelpentafluorid; Selenhexafluorid; ein wahlweise halogeniertes Silan, wie Tetramethylsilan; einen niedermolekulargewichtigen Kohlenwasserstoff (z. B. enthaltend bis zu 7 Kohlenstoffatome), beispielsweise ein Alkan, wie Methan, Ethan, ein Propan, ein Butan oder ein Pentan, ein Cycloalkan, wie Cyclobutan oder Cyclopentan, ein Alken, wie Propen oder ein Buten, oder ein Alkin, wie Acetylen; einen Ether; ein Keton; einen Ester; einen halogenierten niedermolekulargewichtigen Kohlenwasserstoff (z. B. enthaltend bis zu 7 Kohlenstoffatome); oder eine Mischung irgendwelcher der vorstehend genannten Materialien. Mindestens einige der Halogenatome in den halogenierten Gasen sind vorteilhafterweise Fluoratome. Daher können beispielsweise biokompatible halogenierte Kohlenwasserstoffgase ausgewählt sein aus Bromchlordifluormethan, Chlordifluormethan, Dichlordifluormethan, Bromtrifluormethan, Chlortrifluormethan, Chlorpentafluorethan, Dichlortetrafluorethan und Perfluorkohlenstoffen, z. B. Perfluoralkanen, wie Perfluormethan, Perfluorethan, Perfluorpropanen, Perfluorbutanen (z. B. Perfluor-n-butan, wahlweise in Mischung mit anderen Isomeren, wie Perfluorisobutan), Perfluorpentanen, Perfluorhexanen und Perfluorheptanen; Perfluoralkenen, wie Perfluorpropen, Perfluorbutenen (z. B. Perfluorbut-2-en) und Perfluorbutadien; Perfluoralkinen, wie Perfluorbut-2-in; und Perfluorcycloalkanen, wie Perfluorcylobutan, Perfluormethylcylobutan, Perfluordimethylcylobutanen, Perfluortrimethylcylobutanen, Perfluorcylopentan, Perfluormethylcylopentan, Perfluordimethylcylopentanen, Perfluorcyclohexan, Perfluormethylcyclohexan und Perfluorcycloheptan. Andere halogenierte Gase umschließen fluorierte, z. B. perfluorierte, Ketone, wie Perfluoraceton, und fluorierte, z. B. perfluorierte, Ether, wie Perfluordiethylether.
- [0016] Besonders bevorzugt enthalten die Vesikel ein Perfluoralkan, insbesondere ein Perfluorbutan, Perfluoropentan oder Perfluorhexan, insbesondere n-Perfluorbutan.
- [0017] In den Vesikeln kann die Membran aus jeglichen physiologisch tolerierbaren membranbildenden Materialien gebildet sein, insbesondere Phospholipiden, und kann entweder vernetzt oder nicht vernetzt sein. Die aus Mischungen von geladenen und nicht geladenen Phospholipiden gebildeten Membranen sind insbesondere bevorzugt, und es ist besonders bevorzugt, dass die Vesikel eine Nettooberflächenladung tragen sollten, bevorzugt eine negative Ladung. Solche Phospholipid-Vesikel haben besonders günstige Blutverweilzeiten.
- [0018] Die Vesikel können weiter mit einem Blutaufenthaltsverlängerungsmittel versehen sein, z. B. durch, Konjugieren solch eines Mittels an die Membran oder an eine lipophile Gruppe, welche sich in der Membran verankert. Solche Blutaufenthaltsverlängerungsmittel, z. B. Polyalkylenoxide, wie Polyethylenglykol, können

als Oponisationsinhibitoren wirken, wobei die Aufnahme der Vesikel aus dem Gefäß durch das Retikuloendothelialsystem verzögert wird.

[0019] Wünschenswerterweise bestehen mindestens 75%, bevorzugt im wesentlichen das gesamte Phospholipidmaterial in dem Kontrastmittel gemäß der Erfindung aus Molekülen, welche einzeln eine Nettogesamtladung unter Bedingungen der Herstellung und/oder der Verwendung tragen, wobei die Ladung positiv oder, besonders bevorzugt, negativ sein kann. Repräsentative positiv geladene Phospholipide umschließen Ester von Phosphatidsäuren, wie Dipalmitoylphosphatidsäure oder Distearoylphosphatidsäure, mit Aminoalkoholen, wie Hydroxyethylendiamin. Beispiele für negativ geladene Phospholipide umschließen natürlich auftretende (z. B. abgeleitet von Soya oder Eidotter), semisynthetische (z. B. teilweise oder vollständig hydrierte) und synthetische Phosphatidylserine, Phosphatidylglycerine, Phosphatidylinositole, Phosphatidsäuren und Kardioline. Die Fettsäuregruppen solcher Phospholipide enthalten typischerweise ungefähr 14–22 Kohlenstoffatome, wie beispielsweise in Palmitoyl- und Stearoyl-Gruppen. Lysoformen solcher geladenen Phospholipide sind ebenso gemäß der vorliegenden Erfindung nützlich, wobei der Begriff "Lyso" Phospholipide bezeichnet, welche nur eine Fettsäuregruppe enthalten, wobei diese bevorzugt an das Kohlenstoffatom der 1-Position der Glycerylreihe estergebunden ist. Solche Lysoformen geladener Phospholipide können vorteilhafterweise in Mischung mit geladenen Phospholipiden, welche zwei Fettsäuregruppen enthalten, verwendet werden.

[0020] Phosphatidylserine repräsentieren besonders bevorzugte Phospholipide zur Verwendung in Kontrastmitteln gemäß der vorliegenden Erfindung und stellen bevorzugt einen wesentlichen Teil, z. B. mindestens 80% des anfänglichen Phospholipidgehalts davon, beispielsweise 85–92%, dar, obwohl dieser in der nachfolgenden Verarbeitung, wie der Wärmesterilisation, nachträglich leicht vermindert werden kann, z. B. auf ca. 70%. Ohne an irgendeine theoretische Betrachtung gebunden sein zu wollen, wird angenommen, dass das ionische Verbrücken zwischen den Carboxyl- und Aminogruppen der benachbarten Serin-Einheiten zu der Stabilität solcher Systeme beiträgt. Bevorzugte Phosphatidylserine umschließen gesättigtes (z. B. hydriertes oder synthetisches) natürliches Phosphatidylserin und synthetische oder semisynthetische Dialkanoylphosphatidylserine, wie Distearoylphosphatidylserin, Dipalmitoylphosphatidylserin und Diarachidoylphosphatidylserin.

[0021] Ein wichtiger Vorteil der Verwendung solcher Phosphatidylserin-basierten Kontrastmittel liegt darin, dass der Körper gealterte rote Blutzellen und Blutplättchen durch hohe Konzentrationen von Phosphatidylserin auf deren Oberfläche erkennt und solche Kontrastmittel aus dem Blutkreislauf in einer ähnlichen Weise wie die Eliminierung von gealterten roten Blutzellen eliminieren kann. Darüberhinaus können sie, da die Oberfläche solcher Kontrastmittel als vom Körper endogen registriert werden kann, die Induktion von nachteilhaften systemischen Nebeneffekten, wie haemodynamischen Effekten und von anderen anaphylaktischen Reaktionen, vermeiden, welche die Verabreichung einiger Liposomzubereitungen begleiten können (siehe zum Beispiel die WO-A-95/12386).

[0022] Liposomale Ultraschallkontrastmittel, welche zur Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung geeignet sind, können hergestellt werden, wie es in der Literatur beschrieben ist, siehe beispielsweise die WO-A-92/22247, WO-A-94/28780, WO-A-93/05819, WO-A-95/16467, die PCT/GB96/01361 und Unger et al. Invest. Radiol. 29 (Suppl. 2): S134–S136 (1994).

[0023] Wie vorstehend angegeben wurde, ist der Stabilisator, welcher gemäß der vorliegenden Erfindung verwendet wird, ein physiologisch tolerierbarer Gefrieretrocknungsstabilisator (oder eine Mischung) mit einer Glasübergangstemperatur (Tg) oberhalb von 20°C, z. B. in dem Bereich von 25 bis 70°C, und mit einem Tg-Wert von –37°C oder darüber. Beispiele geeigneter Stabilisatoren umschließen Saccharose, Maltose, H₂O, Trihalose, Raffinose, und Stachyose. Ein besonders geeignetes Beispiel ist Saccharose, wahlweise in Mischung mit geringeren Mengen (z. B. bis zu 20 Gew.-%, bevorzugt bis zu 10 (Gew.-%) anderer Stabilisatoren).

[0024] Wiederum, wie oben bereits verzeichnet wurde, liegt der Stabilisator in der Zusammensetzung in einem Gewichtsverhältnis von mindestens 10 : 1, bevorzugt von mindestens 20 : 1, optimalerweise in der Höhe von 200 : 1, z. B. bis zu 5000 : 1 oder sogar darüber, vor. Dementsprechend ist der Beitrag der Glasübergangstemperatur (Tg) des getrockneten Produkts relativ unabhängig von der vesikulären Komponente, und Stabilisatorkandidaten können leicht durch Routinetechniken gescreent werden, wobei bestimmt wird, ob sie in Kombination mit den anderen Bestandteilen, welche in dem wässrigen Trägermedium vorliegen, unter Bildung eines Produkts mit einer Glasübergangstemperatur (Tg) oberhalb von 20°C trocknen.

[0025] Herkömmlich liegt der Stabilisator in 1 bis 50 Gew.-%, bevorzugt in 5 bis 30 Gew.-%, besonders bevorzugt in ungefähr 10 bis 20 Gew.-% in der Zusammensetzung vor, welche einer Gefrieretrocknung unterzogen wird. Die Konzentration des Stabilisators kann, wenn dies gewünscht ist, ebenso oberhalb der isotonischen Konzentrationen liegen, da das Produkt unter Wiederherstellung nach dem Gefrieretrocknen verdünnt werden kann. Die Vesikelkomponente liegt bevorzugt in 0,01 bis 5 Gew.-%, bevorzugt in 0,1 bis 3 Gew.-%, besonders bevorzugt in ungefähr 0,5 bis 1,5 Gew.-% vor (wobei angenommen wird, dass dessen Gewicht nur das Gewicht des membranbildenden Materials ist). Die Menge an Stabilisator in Bezug auf das Wiederherstellungsfluid, welches zur Umwandlung des gefrieretrockneten Produkts in eine verabreichbare Dispersion verwendet wird, wird in Abhängigkeit der Körperregion oder des Organs, welche/welches einem Bildgebungsverfahren unterzogen werden soll, und in Abhängigkeit des gewählten Verabreichungsmodus ausgewählt. Zum Beispiel kann sie

mindestens zweimal die in der Zusammensetzung darstellen, welche der Gefriertrocknung unterzogen wurde. [0026] Für Ultraschallanwendungen, wie die Echocardiographie, kann es angenehm sein, um einen freien Durchgang durch das Lungensystem zu erlauben und um eine Resonanz mit den bevorzugten Bildgebungsfrequenzen von ungefähr 0,1 bis 15 MHz zu erreichen, dass Vesikel eingesetzt werden, welche eine mittlere Größe von 0,1 bis 10 μm , z. B. 1–7 μm , aufweisen. Die Vesikel können mit einer sehr schmalen Größenverteilung innerhalb des für die Echocardiographie bevorzugten Bereichs hergestellt werden, wodurch deren Echogenizität sowie deren in-vivo-Sicherheit stark verbessert wird, und wodurch den Kontrastmitteln ein besonderer Vorteil in Anwendungen verliehen wird, wie in Blutdruckmessungen, Blutflußüberwachung und Ultraschalltomographie. Somit können beispielsweise Produkte, in denen über 90% (z. B. mindestens 95%, bevorzugt mindestens 98%) der Vesikel Durchmesser in dem Bereich von 1–7 μm aufweisen und weniger als 5% (z. B. nicht mehr als 3%, bevorzugt nicht mehr als 2%) der Vesikel Durchmesser oberhalb von 7 μm aufweisen, leicht hergestellt werden.

[0027] In Ultraschallanwendungen können die Kontrastmedien beispielsweise in Dosen verabreicht werden, so dass die Menge des membranbildenden Materials (z. B. Phospholipid) in dem Bereich von 0,1–10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht, besonders bevorzugt 1–5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ eingespritzt wird. Es ist verständlich, dass die Verwendung solcher niedrigen Teile an membranbildendem Material von substantiellem Vorteil in der Minimierung möglicher toxischer Nebeneffekte ist.

[0028] Die Gesamtkonzentration des membranbildenden Materials in den zur Verwendung fertigen Zusammensetzungen, welche unter Verwendung des getrockneten Produkts der Erfindung hergestellt sind, liegt wünschenswerterweise in dem Bereich von 0,01 bis 5 Gew.-%, bevorzugt von 0,05 bis 2,0 Gew.-%, und insbesondere bei ungefähr 0,5 Gew.-%.

[0029] Die der Gefriertrocknung unterzogene Zusammensetzung enthält vorteilhafterweise mindestens einen Füllstoff, z. B. ein Polyol (z. B. ein C₃-Polyol, wie Glycerin oder Propylenglykol) oder ein Polysaccharid wie Dextran, oder ein Polyglykol, wie Polyethylenglykol, oder Mischungen davon. Typischerweise kann das Füllmittel in Konzentrationen verwendet werden, welche ähnlich zu denen oder geringfügig niedriger als die des Stabilisators sind, z. B. 3 bis 10 Gew.-%, bevorzugt ungefähr 5 Gew.-%. Die Füllmittel sollten dazu in der Lage sein, während des Gefriertrocknungsverfahrens zu kristallisieren, da sie nur in diesem Zustand einen neutralen Effekt auf die Produktstabilität ausüben. Sie unterscheiden sich somit von den Stabilisatoren, welche während des Gefriertrocknens in dem amorphen Zustand vorliegen sollten.

[0030] Andere Bestandteile beziehungsweise Hilfsmittel können, wenn dieses erwünscht ist, in der Zusammensetzung, welche getrocknet werden soll, vorliegen oder können bei der Formulierung zur Verabreichung zugesetzt werden. Solche Bestandteile können beispielsweise pH-Regulatoren, Osmolalitätseinsteller, Viskositätssteigerungsmittel, Emulgatoren etc. einschließen und können in herkömmlichen Mengen verwendet werden.

[0031] Das getrocknete Produkt liegt im Allgemeinen in pulvriger Form vor und ist in Wasser, einer wässrigen Lösung, wie Kochsalzlösung (welche vorteilhafterweise derartig im Gleichgewicht gehalten wird, dass das fertige Produkt zur Injektion nicht hypotonisch ist) oder einer Lösung einer oder mehrerer Tonus- beziehungsweise Tonizität-einstellender Substanzen, wie Salze (z. B. von Plasmakationen mit physiologisch tolerierbaren Gegenionen) oder Zucker, Zuckeralkohole, Glykole und andere nichtionische Polyolmaterialien (z. B. Glukose, Saccharose, Sorbit, Mannit, Glycerin, Polyethylenglykole, Propylenglykole und ähnliches) leicht wiederherstellbar. Die Wiederherstellung beziehungsweise Rekonstitution erfordert im Allgemeinen nur minimale Bewegung, wie sie beispielsweise durch vorsichtiges Schütteln mit der Hand zur Verfügung gestellt wird. Die Größe der Vesikel, welche auf diese Weise gebildet werden, ist einheitlich reproduzierbar und ist in der Praxis unabhängig von der Menge der angewendeten Bewegungsenergie, welche durch die Größe der in der anfänglichen Vesikeldispersion gebildeten Vesikel bestimmt wird, wobei dieser Größenparameter überraschenderweise im wesentlichen in dem lyophilisierten und wiederhergestellten Produkt aufrecht erhalten wird. Da die Größe der Vesikel in der anfänglichen Dispersion durch die Verfahrensparameter, wie das Verfahren, die Geschwindigkeit und die Dauer der Bewegung, leicht reguliert beziehungsweise kontrolliert werden kann, kann somit die letztendliche Vesikelgröße leicht reguliert beziehungsweise kontrolliert werden.

[0032] Das Volumen und die Konzentrationen der Wiederherstellungs- beziehungsweise Rekonstitutionsflüssigkeit kann wünschenswerterweise derartig ausbalanciert sein, dass die resultierenden zur Verwendung fertigen Formulierungen im wesentlichen isotonisch sind. Demnach hängt das Volumen und die Konzentration der gewählten Rekonstitutionsflüssigkeit von dem Typ und der Menge des Stabilisators (und anderer Füllmittel) ab, welche in dem gefriergetrockneten Produkt vorliegen.

[0033] Die lyophilisierten Produkte gemäß der vorliegenden Erfindung haben bewiesen, dass sie innerhalb mehrerer Monate unter Umgebungsbedingungen lagerungsstabil sind. Die durch die Rekonstitution beziehungsweise Wiederherstellung in Wasser (oder anderen Rekonstitutionsflüssigkeiten, wie vorstehend diskutiert) gebildeten Vesikeldispersionen können innerhalb einer beachtlichen Zeitdauer, z. B. bis zu mindestens 12 Stunden, stabil sein, wobei eine beachtliche Flexibilität erlaubt wird, wenn das getrocknete Produkt vor der Injektion wiederhergestellt wird.

[0034] Wenn die Wiederherstellungs- beziehungsweise Rekonstitutionsflüssigkeit als ein Tonuseinstellungsmittel dieselbe Verbindung enthält wie sie als ein Stabilisator in der Lyophilisierung verwendet wird, muss die Menge des in der Zusammensetzung zum Gefriertrocknen anwesenden Stabilisators nur derartig ausreichend sein, das sie die optimale Stabilisierung während des Gefriertrocknens ergibt. Die Isotonizität des fertigen Produkts kann somit durch Auswahl einer adäquaten Menge und Konzentration der Rekonstitutions- beziehungsweise Wiederherstellungsflüssigkeit erhalten werden. Somit wird eine beachtliche Flexibilität in Abhängigkeit der Konzentration und dem Typ der Verbindung(en), welche als Stabilisatoren) während des Gefriertrocknungsschritts verwendet werden, und der Konzentration und dem Typ der Verbindungen) in der Rekonstitutionsflüssigkeit erlaubt, während weiterhin ein stabiles wiederhergestelltes Produkt erreicht wird.

[0035] Das Gefriertrocknen gemäß der vorliegenden Erfindung kann in einer konventionellen Weise bewirkt werden, obwohl die Verwendung von Stabilisatoren gemäß der Erfindung den zusätzlichen Vorteil aufweisen kann, dass kürzere Gefriertrocknungszyklen verwendet werden können, da die Zusammensetzungen vor dem Trocknen im Allgemeinen höhere Glastemperaturen (T_g) als gleichwertige Zusammensetzungen aufweisen, welche Kryoprotektanden, wie Glukose oder Mannit, enthalten.

[0036] Die Erfindung wurde oben in Hinblick auf vesikuläre Ultraschallkontrastmittel beschrieben. Sie ist jedoch ebenso auf vesikuläre Kontrastmittel für andere diagnostische Bildgebungsmodalitäten anwendbar (z. B. MRI, Röntgenstrahlen, SPECT, PET, magnetographische Bildgebung etc.).

[0037] Die Erfindung wird im Folgenden weiter durch Bezugnahme auf die folgenden nichtbegrenzenden Beispiele beschrieben:

BEISPIEL 1

Herstellung eines lyophilisierten Produkts

[0038] Es wurden 500,4 mg hydriertes Ei-Phosphatidylserin zu 100 ml Wasser, enthaltend 5,4% (w/w) einer Mischung von Propylenglykol und Glycerin (3 : 10 w/w) gegeben. Die Mischung wurde geschüttelt und auf 80°C fünf Minuten lang erwärmt, auf Raumtemperatur abkühlen gelassen, wiederum geschüttelt und über Nacht vor der Verwendung stehen gelassen.

[0039] Es wurden 50 ml der resultierenden Lösung in einem Rundbodenkolben mit einem konischen Hals transferiert. Der Kolben wurde mit einem Glasmantel mit einem Temperaturkontrolleingang und -ausgang versehen, verbunden mit einem Wasserbad, welches bei 25°C gehalten wurde. Ein Rotor-Stator-Mischschaft wurde in die Lösung eingeführt, und, um ein Austreten von Gas zu vermeiden, der Raum zwischen der Halswand und dem Mischschaft wurde mit einem speziell entworfenen Metallstopfen abgedichtet, ausgestattet mit einer Gaseinlass-/auslassverbindung für die Einstellung des Gasgehalts und zur Druckkontrolle beziehungsweise -regulierung. Der Gasauslass wurde an eine Vakuumpumpe angeschlossen, und die Lösung wurde eine Minute lang entgast. Eine Atmosphäre von Perfluor-n-butan-Gas wurde anschließend durch den Gaseinlass eingefüllt.

[0040] Die Lösung wurde bei 23000 U/min 10 Minuten lang homogenisiert, wobei der Rotor-Stator-Mischschaft derartig gehalten wurde, dass sich die Öffnungen leicht oberhalb der Oberfläche der Flüssigkeit befanden. Es wurde eine weiß gefärbte chremige Dispersion erhalten, welche in einen abschließbaren beziehungsweise versiegelbaren Behälter transferiert wurde und mit Perfluor-n-butan gespült wurde. Die Dispersion wurde anschließend in einen Scheidetrichter transferiert und bei 12000 U/min 30 Minuten lang zentrifugiert, wobei eine chremige Schicht von Bläschen am oberen Rand sowie eine trübe darunterliegende Schicht (infranatant) erhalten wurden. Die Unterschicht wurde entfernt und durch Wasser ersetzt. Das Zentrifugieren wurde anschließend zweimal wiederholt, allerdings jetzt bei 12000 U/min innerhalb von 15 Minuten. Nach dem letzten Zentrifugieren wurde der Überstand durch 10% (w/w) Saccharose ersetzt. Es wurden 2 ml-Portionen der resultierenden Dispersion auf 10 ml-Flachbodenfläschchen, welche speziell für die Lyophilisierung entworfen wurden, aufgeteilt, und die Fläschchen wurden auf -47°C abgekühlt und ungefähr 48 Stunden lang lyophilisiert, wobei eine weiße flockige Feststoffsubstanz erhalten wurde. Die Fläschchen wurden in eine Vakuumkammer gegeben, und die Luft wurde durch eine Vakuumpumpe entfernt und durch Perfluor-n-butan-Gas ersetzt. Vor der Verwendung wurde Wasser zugesetzt, und die Fläschchen wurden mehrere Sekunden lang vorsichtig mit der Hand geschüttelt, wobei Mikrobläschen erhalten wurden, welche als Ultraschallkontrastmittel geeignet waren.

Charakterisierung

[0041] Die Größenverteilung und Volumenkonzentration der Mikrobläschen wurde unter Verwendung eines Coulter-Counter-Mark-II-Apparates, ausgestattet mit einer 50 µm-Öffnung mit einem Meßbereich beziehungsweise einer -Blende von 1–30 µm, gemessen. Es wurden 20 µl-Proben in 200 ml Kochsalzlösung, gesättigt mit Luft bei Raumtemperatur, verdünnt, und man ließ 3 Minuten lang vor der Messung äquilibrieren.

[0042] Die Ultraschallcharakterisierung wurde mit einem experimentellen Aufbau, welcher von dem von de Jong, N. und Hoff, "Ultrasonics", 31: 175–181 (1993) leicht modifiziert wurde, durchgeführt. Dieses Instrument misst die Ultraschalldämpfungswirksamkeit (ultrasound attenuation efficacy) in dem Frequenzbereich von 2–8 MHz einer verdünnten Suspension von Kontrastmittel. Während der Dämpfungsmessung wurde ein Druckstabilitätstest durch Aussetzen der Probe einem Überdruck von 120 mmHg für 90 Sekunden durchgeführt. Typischerweise wurden 2–3 µl der Probe in 55 ml Isoton II verdünnt, und die verdünnte Probensuspension wurde 3 Minuten lang vor der Analyse gerührt. Als primärer Antwortparameter wurde die Dämpfung bei 3,5 MHz verwendet, zusammen mit dem Verzögerungsdämpfungswert (recovery attenuation value) bei 3,5 MHz nach dem Entlassen des Überdrucks.

Tabelle 1

[0043] In vitro-Eigenschaften der Bläschen-Dispersionen, hergestellt nach Beispiel 1. Anzahl- und Volumen-gewichtete Konzentrationen und mittlere Volumendurchmesser. Akustische Eigenschaften, gemessen gemäß der obigen Beschreibung.

Anzahl Konzentration [10^6 /ml]	Volumen Konzentration [%]	mittlerer Volumendurchmesser [μm]	Dämpfung bei 3,5 MHz [dB/cm]	Übrigbleiben nach Überdruck [%]	Frequenz bei maximaler Dämpfung [MHz]
10518	6,51	3,16	150,4	96	4,3

BEISPIEL 2

[0044] Der Gasgehalt der fünf Proben, welche gemäß Beispiel 1 oben hergestellt wurden, wurde jeweils durch Luft, Perfluorbutan, Schwefelhexafluorid, Trifluormethylschfelpentafluorid und Tetramethylsilan gemäß der folgenden Prozedur ersetzt:

[0045] Zwei Proben, enthaltend lyophilisiertes Produkt aus Beispiel 1, wurden in einen Exsikkator mit einem Gaseinlass und einem Gasauslass gegeben. Der Exsikkator wurde an einen Büchi 168 Vakuum/Destillations-Regulator angeschlossen, welcher die kontrollierte Evakuierung der Proben und den Einlass eines ausgewählten Gases erlaubt. Die Proben wurden fünf Minuten lang bei ungefähr 10 mbar evakuiert, woraufhin der Druck auf Atmosphärendruck durch Einlass des gewählten Gases erhöht wurde, gefolgt vom vorsichtigen Abdecken der Fläschchen. Das Verfahren wurde unter Verwendung weiterer Paare von Proben für jedes der gewählten Gase wiederholt.

[0046] Es wurde 2 ml destilliertes Wasser zu einem jeden Fläschchen zugesetzt, und die Fläschchen wurden vor der Verwendung vorsichtig mit der Hand geschüttelt. Die resultierenden Mikrobbläschen-Dispersionen wurden im Hinblick auf die Größenverteilungsmessungen, wie im Beispiel 1 beschrieben, charakterisiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2

[0047] In vitro-Eigenschaften von Phosphatidylserin-stabilisierten Mikrobbläschen-Dispersionen, hergestellt gemäß Beispiel 2 – Anzahl-, und Volumen-gewichtete Konzentrationen und mittlere Volumendurchmesser.

Gas	Anzahl-Konzentration [10 ⁶ /ml]	mittlerer Anzahl-Durchmesser [µm]	Volumen-Konzentration [%]	mittlerer Volumen-Durchmesser [µm]
Perfluorbutan	9756	1,8	4,9	5,8
Trifluoromethylschwefelpentafluorid	10243	1,9	5,9	3,5
Schwefelhexafluorid	9927	1,9	5,7	3,2
Tetramethylsilan	9947	1,9	6,1	3,7
Luft	9909	1,9	6,4	4,0

[0048] Wie aus den obigen Ergebnissen ersichtlich ist, kommt es zu keiner deutlichen Änderung in der Größenverteilung durch den Gasaustausch, was zeigt, dass die vorgebildete Mikrobläschengröße im wesentlichen erhalten bleibt während sowohl der Lyophilisierung als auch der Rekonstitution.

In vivo-Ergebnisse

[0049] Ein Ansatz, welcher mit jedem der fünf Gase hergestellt wurde, wurde in vivo hinsichtlich der Doppler-Verstärkungs-Eigenschaften bei 10 MHz evaluiert. Die Dispersionen wurden in Chinchillahäschen über eine Ohrvene injiziert und unter Verwendung einer Doppler-Technik gemessen, wobei ein Ultraschallfühler direkt an die Halsschlagader angelegt wurde. Die Signalintensitäten und -Dauer wurden aufgezeichnet, und das Integral der Doppler-Kurve wurde berechnet. Die erhaltenen Ergebnisse (siehe Tabelle 3 unten) zeigen, dass Mikrobläschen, welche Perfluorbutan enthalten, die stärkste Doppler-Intensitäts-Verstärkung ergeben. Die Mikrobläschen, welche Schwefelhexafluorid, Trifluormethylschwefelpentafluorid oder Tetramethylsilan enthalten, sind nur geringfügig weniger wirksam als Doppler-Verstärker als jene, welche Perfluorbutan enthalten, wobei Integrale in dem Bereich von 60–80% der Abbildung für Perfluorbutan erhalten werden.

Tabelle 3

[0050] Die Ergebnisse für die I.V.-Injektionen von Beispiel 2-Produkten in Hasen. Die Werte werden für die Drift in der Basislinie eingestellt. Die Doppler-Einheit wird als die Erhöhung in dem Doppler-Signal relativ zu dem von Blut definiert.

Gas	integrierte arterielle Doppler-Verstärkung (NDU.s)
Perfluorbutan	10361
Trifluormethylschwefelpentafluorid	8006
Tetramethylsilan	6370
Schwefelhexafluorid	6297
Luft	1024

* Mittelwert von zwei Injektionen

BEISPIEL 3

[0051] Ein Fläschchen, enthaltend lyophilisiertes Material unter einer Atmosphäre von Perfluorbutan, wurde wie in Beispiel 1 beschrieben hergestellt. Es wurde direkt vor der Verwendung Wasser zugesetzt, so dass eine Mikrobläschensuspension erhalten wurde.

[0052] Es wurden 200 ml Isoton II-Fluid mehrere Tage lang bei Raumtemperatur der Luft ausgesetzt, so dass eine vollständig Luft-gesättigte Lösung erhalten wurde. Es wurden weitere 200 ml des Fluids entgast in einem Vakuumkolben bei 60°C innerhalb von einer Stunde und auf Raumtemperatur unter Erhalt des Vakuums abgekühlt. Luft wurde direkt vor der Verwendung in den Kolben eingelassen.

[0053] Es wurden 10 µl-Portionen der Mikrobläschen-Suspension zu jedem der Fluide zugegeben, und die resultierenden Mischungen wurden fünf Minuten lang vor der Größe-Charakterisierung inkubiert (Coulter Multisizer Mark II).

[0054] In der entgasten Umgebung, wo keine Diffusion von Gasen aus dem Fluid in die Mikrobläschen erwartet wurde, betrug der mittlere Mikrobläschen-Durchmesser 1,77 µm, und 0,25% der Mikrobläschen waren größer als 5 µm. In dem Luftgesättigten Fluid betrug die entsprechenden Werte 2,43 µm und 0,67%; wiederholte Messungen, welche nach weiteren 5 Minuten durchgeführt wurden, zeigten an, dass die Mikrobläschengrößen einen stabilen Wert erreicht hatten.

[0055] Diese Ergebnisse zeigen, dass der mittlere Durchmesser der Mikrobläschen um nur 37% stieg, wenn sie einem Luft-gesättigten Fluid analog zu arteriellem Blut ausgesetzt wurden, wobei nur sehr wenige Mikrobläschen eine Größe erreichten, welche eine Blockade der kapillaren Blutgefäße hervorrufen könnte. Dieses könnte zu der Verdopplung in der Größe von Luft-/Perfluorhexan-enthaltenden Mikrobläschen in einer ähnlichen Umgebung einem Kontrast bilden (d. h. eine hochverdünnte Dispersion von Mikrobläschen in Wasser, enthaltend gelöste Luft), wie dies in Beispiel II der WO-A-95/03835 berichtet wird.

BEISPIEL 4

VERGLEICH

[0056] Beispiel 1 wurde wiederholt, wobei der Überstand vor der Lyophilisierung an Stelle mit (a) 65 mg/mL mit Saccharose plus 65 mg/mL Mannit, (b) 100 mg/mL Mannit plus 50 mg/mL Glucose, (c) 20 mg/mL Saccharose, 76 mg/mL Mannit und 38 mg/mL Glucose sowie (d) 90 mg/mL Saccharose ersetzt wurde.

[0057] Die Tg'- und Tg-Werte der nassen und getrockneten Zusammensetzungen ^{wurden} bestimmt und sind in Tabelle 4 unten dargestellt.

Tabelle 4

Formulierung	Tg'	Tg
(a)	-38 °C	19 °C
(b)	-43 °C	14 °C
(c)	-42 °C	12 °C
(d)	-32 °C	66 °C

[0058] Formulierungen (a) bis (c) benötigen längere Gefriertrocknungszyklen als die Formulierung (d) und müssen ungleich der Formulierung (d) unterhalb von Umgebungstemperatur zum Erhalt deren Integrität beziehungsweise Beständigkeit gelagert werden.

BEISPIEL 5

Gasretention

[0059] Das analog Beispiel 1, allerdings unter Verwendung von (a) 10% (w/w) Saccharose, (b) 5% (w/w) PEG 3000, (c) 2% (w/w) Mannit und 1% (w/w) Glucose, sowie (d) 5% (w/w) Trehalose zum Ersatz des Überstands

vor der Lyophilisierung hergestellte Material wurde einem ausgiebigen Spühlen mit N₂, einer Aussetzung von wiederholten Vakuumzyklen und einem Zerdrücken zum Testen der Fähigkeit des Produkts, Perfluorbutan zurückzuhalten, unterzogen. Nach der Beanspruchungs-Behandlung wurde der verbleibende Perfluorbutan-Gehalt bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 unten dargestellt.

Tabelle 5

Cryoprotektand	Molekulargewicht PFB/g Produkt
Saccharose	0,69 ± 0,10
PEG 3000	≤ 0,05
Mannit und Glukose	0,29 ± 0,10
Trehalose	1,24 ± 0,38

[0060] In den vorstehenden Beispielen können höhere Prozentteile an Stabilisator (z. B. 20% eher als 10%) verwendet werden, und andere Rekonstitutionsfluide als Wasser, z. B. Kochsalzlösung oder Polyollösungen, auf die oben Bezug genommen wurde, können eingesetzt werden. In ähnlicher Weise können die Portionen, welche lyophilisiert werden, größer sein (z. B. 4 mL eher als 2 mL), die Lyophilisierungs-Flaschen können größer sein (z. B. 20 mL) und die Lyophilisierung kann länger andauern (z. B. 60 Stunden).

Patentansprüche

1. Gefriergetrocknetes, vesikelhaltiges Ultraschallkontrastmittel, enthaltend einen Gefriertrocknungsstabilisator oder Mischung von Stabilisatoren, wobei (i) das Gewichtsverhältnis des Stabilisators oder der Mischung von Stabilisatoren zu den Vesikeln in dem Mittel mindestens 10 : 1 beträgt, (ii) der Stabilisator oder die Mischung von Stabilisatoren eine Tg-Wert oberhalb 20°C und einen Tg'-Wert von -37°C oder darüber aufweist, und (iii) das Mittel bei Temperaturen oberhalb 20°C thermisch stabil ist.
2. Kontrastmittel nach Anspruch 1, wobei der Stabilisator oder die Mischung von Stabilisatoren aus einem oder mehreren aus Saccharose, Maltose, H₂O, Trehalose, Raffinose und Stachyose gewählt ist.
3. Kontrastmittel nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, wobei der Stabilisator oder die Mischung von Stabilisatoren Saccharose umfasst.
4. Kontrastmittel nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche, wobei das Gewichtsverhältnis des Stabilisators oder der Mischung, von Stabilisatoren zu den Vesikeln in dem Mittel mindestens 20 : 1 beträgt.
5. Kontrastmittel nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Vesikel ein Halogenkohlenstoffgas oder Gasvorläufer oder ein Schwefelfluoridgas enthalten.
6. Kontrastmittel nach Anspruch 5, wobei das Halogenkohlenstoffgas ^{oder} Gasvorläufer ein Perfluoralkan ist.
7. Kontrastmittel nach Anspruch 6, wobei das Perfluoralkan Perfluorbutan oder Perfluorpentan ist.
8. Kontrastmittel nach Anspruch 6, wobei das Schwefelfluoridgas Schwefelhexafluorid, Dischwefeldecafluorid oder Trifluormethylschwefelpentafluorid ist.
9. Kontrastmittel nach mindestens einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die Vesikel Membranen

besitzen, welche ein Phosphorlipid umfassen.

10. Verfahren zur Herstellung eines gefriergetrockneten, vesikelhaltigen Ultraschallkontrastmittels, das bei Temperaturen oberhalb -20°C thermisch stabil ist, wobei das Verfahren das Gefriertrocknen einer wässrigen Dispersion, umfassend ein vesikuläres Ultraschallkontrastmittel und einen Gefriertrocknungsstabilisator oder eine Mischung von Stabilisatoren, umfasst, dadurch gekennzeichnet, dass der Stabilisator oder die Mischung von Stabilisatoren in der Dispersion in einem Gewichtsverhältnis bezüglich der Vesikel darin von mindestens 10 : 1 vorliegt, und dass den Stabilisator oder die Mischung von Stabilisatoren einen Tg-Wert oberhalb 20°C und einen Tg'-Wert von -37°C oder darüber besitzt.

11. Verfahren nach Anspruch 10, wobei die wässrige Dispersion 1 bis 50 Gew.-% des Stabilisators oder der Mischung von Stabilisatoren enthält.

12. Verfahren nach Anspruch 10 oder Anspruch 11, wobei das vesikuläre Kontrastmittel ein Halogenkohlenstoffgas oder Gasvorläufer oder ein Schwefelfluoridgas enthält.

13. Verfahren nach Anspruch 12, wobei das Halogenkohlenstoffgas oder der Gasvorläufer ein Perfluorbutan oder Perfluorpentan ist.

14. Verfahren nach Anspruch 12, wobei das Schwefelfluoridgas Schwefelhexafluorid, Dischwefeldecafluorid oder Trifluormethylschwefelpentafluorid ist.

15. Verfahren nach mindestens einem Ansprüche 10 bis 14, wobei die wässrige Dispersion weiterhin ein Füllmittel enthält.

16. Verfahren nach Anspruch 15, wobei das Füllmittel ein C_3 -Polyol ist.

17. Verfahren nach Anspruch 15 oder Anspruch 16, wobei die wässrige Dispersion 3 bis 10 Gew.-% des Füllmittels enthält.

18. Verfahren zum Lagern oder Transportieren eines gefriergetrockneten, vesikelhaltigen Ultraschallkontrastmittels wie in mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, wobei die Lagerung oder der Transport ohne Anwendung einer Kühlung stattfindet.

19. Verfahren zur Herstellung eines injizierbaren, vesikelhaltigen Ultraschallkontrastmittels, umfassend das Dispergieren eines gefriergetrockneten, vesikelhaltigen Ultraschallkontrastmittels wie in mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, in einem physiologisch annehmbaren, injizierbaren wässrigen Trägermedium.

20. Verwendung eines Gefriertrocknungsstabilisators oder einer Mischung ^{von} Stabilisatoren mit einem Tg-Wert oberhalb 20°C und einem Tg'-Wert von -37°C oder darüber bei der Herstellung eines vesikelhaltigen Ultraschallkontrastmittels, das bei Temperaturen oberhalb 20°C thermisch stabil ist, und das den Stabilisator oder die Mischung von Stabilisatoren in einem Gewichtsverhältnis bezüglich den Vesikeln darin von mindestens 10 : 1 enthält.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen