



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑤ Int. Cl.³: A 61 K 49/02
G 01 N 33/60

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENTSCHRIFT** A5

⑪

642 852

<p>⑰ Gesuchsnummer: 1770/78</p> <p>⑳ Anmeldungsdatum: 17.02.1978</p> <p>㉓ Priorität(en): 01.04.1977 US 783673</p> <p>㉔ Patent erteilt: 15.05.1984</p> <p>④⑤ Patentschrift veröffentlicht: 15.05.1984</p>	<p>⑦③ Inhaber: New England Nuclear Corporation, Boston/MA (US)</p> <p>⑦② Erfinder: Eugene L. Saklad, Sudbury/MA (US) Warren W. Layne, Boston/MA (US)</p> <p>⑦④ Vertreter: E. Blum & Co., Zürich</p>
--	---

⑤④ **Material, das zur Markierung mit einem Radionuklid geeignet ist, Verfahren zu dessen Herstellung und dessen Verwendung.**

⑤⑦ Es wird ein Material beschrieben, das zur Markierung mit einem Radionuklid geeignet ist und eine Mischung aus einem Serumalbumin mit einem verminderten Lipidgehalt und einem Reduktionsmittel ist. Bei der Herstellung dieser Materialien werden die Lipide aus dem Serumalbumin, vorzugsweise so weit entfernt, dass weniger als 2 Mol Lipide pro Mol Albumin vorliegen.

Bei der Verwendung dieser Produkte vermischt man sie mit einem Radionuklid und erhält so ein mit einem Radionuklid markiertes Produkt, welches während mehrerer Stunden stabil ist und nicht trüb wird. Mit diesem radioaktiv markierten Produkt können während relativ langer Zeiträume Radioaktivitätsscanning oder Radioscintigraphien durchgeführt werden.

PATENTANSPRÜCHE

1. Material, das zur Markierung mit einem Radionuklid geeignet ist, dadurch gekennzeichnet, dass es eine Mischung aus einem Reduktionsmittel und einem Serumalbumin mit vermindertem Lipidgehalt ist.

2. Material nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Menge an Lipiden weniger als 2 Mol pro Mol Albumin beträgt.

3. Material nach Patentanspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Menge an Fettsäuren weniger als 0,1 Mol pro Mol Albumin beträgt.

4. Material nach einem der Patentansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass es als Reduktionsmittel eine Zinn-II-Verbindung enthält, und dass diese vorzugsweise in einer Menge von 0,0005 bis 10 Gew.-%, bezogen auf das Gewicht des Albumines, anwesend ist.

5. Material nach einem der Patentansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Albumin ein makroaggregiertes Albumin ist.

6. Material nach einem der Patentansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Albumin ein mikroaggregiertes Albumin ist.

7. Material nach einem der Patentansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass das in ihm enthaltene Albumin mit vermindertem Lipidgehalt ein aggregiertes Albumin ist, in welchem die Aggregate eine Teilchengrösse von 0,1 bis 100 μm aufweisen.

8. Material nach Patentanspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass das in ihm enthaltene Albumin ein denaturiertes makroaggregiertes Albumin ist, in welchem die Aggregate eine Teilchengrösse von 15-50 μm aufweisen.

9. Material nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass es in einem abgedichteten sterilen nicht-pyrogenen Behälter verpackt ist.

10. Material nach Patentanspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass es in dem abgedichteten Behälter in Form eines gefriergetrockneten Feststoffes enthalten ist und dass das Material als Reduktionsmittel vorzugsweise zweiwertiges Zinn enthält.

11. Verfahren zur Herstellung des Materiales gemäss Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man den Lipidgehalt eines Serumalbumins vermindert und dem so erhaltenen Albumin das Reduktionsmittel zusetzt.

12. Verfahren nach Patentanspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Mischung herstellt, die als Albumin mit vermindertem Lipidgehalt ein normales menschliches Serumalbumin mit vermindertem Lipidgehalt enthält, indem man Lipide aus normalem menschlichem Serumalbumin entfernt, vorzugsweise dadurch, dass man das normale menschliche Serumalbumin mit Kohlenstoff zusammenbringt und den Kohlenstoff und die sorbierten Fettsäuren anschliessend von dem Albumin abtrennt.

13. Verfahren nach Patentanspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass man aus dem Albumin mit vermindertem Lipidgehalt Aggregate herstellt, die eine Teilchengrösse von 0,1 bis 100 μm aufweisen.

14. Verfahren nach Patentanspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass man aus dem Albumin mit vermindertem Lipidgehalt Aggregate herstellt, die eine Teilchengrösse von 15-50 μm aufweisen.

15. Verfahren nach einem der Patentansprüche 11 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass man als Reduktionsmittel ein Zinn-II-Ionen lieferndes Material verwendet und dieses mit dem Albumin mit vermindertem Fettgehalt bei einem pH-Wert unterhalb von 7 vermischt.

16. Verwendung des Materials gemäss Patentanspruch 1 zur Herstellung eines mit einem Radionuklid markierten

Produktes, dadurch gekennzeichnet, dass man das Material mit einem Radionuklid vermischt.

17. Verwendung nach Patentanspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass man ein mit einem Radionuklid markiertes Produkt herstellt, das für das Radioaktivitätsscanning, bzw. in der Radioscintigraphie eingesetzt werden kann.

18. Verwendung nach Patentanspruch 16 oder 17, dadurch gekennzeichnet, dass man als Radionuklid Technetium-99m verwendet.

19. Verwendung nach einem der Patentansprüche 16 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass man eine wässrige Lösung des Radionuklides zusetzt, wobei man eine wässrige Lösung erhält, die während mindestens einer Stunde bei einem pH-Wert von 4 oder einem tieferen pH-Wert nicht trüb wird.

20. Verwendung nach einem der Patentansprüche 16 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass die verwendete Mischung als Reduktionsmittel zweiwertiges Zinn enthält.

21. Verwendung nach einem der Patentansprüche 16 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass man eine liophilisierte Mischung aus dem Serumalbumin mit vermindertem Lipidgehalt und dem Reduktionsmittel verwendet und dieser das Radionuklid zusetzt.

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Material, das zur Markierung mit einem Radionuklid geeignet ist. Bei der Verwendung dieses Materials wird es mit einem Radionuklid vermischt, und man erhält so ein mit einem Radionuklid markiertes Produkt. Mit einem Radionuklid markierte Produkte werden in der Medizin als Hilfsmittel bei der Entdeckung und Diagnose von Krankheiten, bei der Überprüfung und Auswertung von Körperorganen und/oder zu anderen Zwecken eingesetzt. Produkte, die mit Radionuklid-tracern markiert sind, können beispielsweise bei der radiologischen Sichtbarmachung von verschiedenen Gewebearten, einschliesslich Blut, Körperorganen, wie Herz, Leber und Lungen und anderen Organen verwendet werden.

Die Verwendung von Traceverbindungen, welche Strahlung innerhalb des Körpers ausstrahlen, als Hilfsmittel in der Medizin ist bereits seit langem bekannt. In früheren Arbeiten wurden derartige Materialien zur Testung der Leberfunktion und der Gallentätigkeit und zur Analyse von physiologischen Strukturen und Funktionen, beispielsweise der Nieren, verwendet.

Ein grosses Ausmass an Informationen über den Körper kann erhalten werden, indem man Tracerzusammensetzungen verwendet, welche im allgemeinen als Mittel für den Blutstrom bezeichnet werden. Als Beispiele für derartige Mittel werden normales, mit Radionukliden markiertes Serumalbumin, normales, mit Radionukliden markiertes menschliches Serumalbumin für am Menschen durchgeführte Tests oder menschliches Serumalbumin oder Serumalbumin anderer Tiere, wie zum Beispiel Rinderserumalbumin für Tests bei anderen Tieren genannt. Derartige Reagenzien verwenden einen Träger auf Proteinbasis, an welchen ein Radionuklid, wie zum Beispiel Technetium-99m oder Jod-131, gebunden ist. Diese Mittel können verwendet werden um sehr viele Ergebnisse und Daten zu erhalten, einschliesslich des Volumens von Blut und Plasma, regionale und globale dynamische Verhältnisse bei Herz und Gefässen (regionale, bzw. globale Kardiovaskulär-dynamik) zu untersuchen, und sie sind auch geeignet um die aus dem Herz austretende Blutmenge, die Zirkulationszeiten, den Proteinumsatz, die Lage der Placenta und die Lage eines Gehirntumores zu bestimmen, und sie dienen ferner bei der Abbildung des Herzens und der Leberabbildung. Beispielsweise kann man das

Plasmavolumen bestimmen, indem man mit Radionuklid markiertes menschliches Serumalbumin verwendet, das in der Folge auch als «markiertes HSA» bezeichnet wird, und zwar indem man ein gesamtes Volumen einer bekannten Konzentration an markiertem HSA in den zu untersuchenden Patienten intravenös injiziert. Das Albumin ist im wesentlichen auf das Plasma im Blut beschränkt, und die Konzentration des mit Radionuklid markierten Albumines im Plasma ist eine Funktion des gesamten Plasmavolumens. Wenn man nach kurzen Zeiträumen Blutproben entnimmt, dann kann die Gesamtmenge an dem feststehenden Volumen berechnet werden, und zwar basierend auf der gesamten injizierten Aktivität und auf der Aktivität pro Volumeneinheit gemessen wird. Es ist auch möglich das Gesamtblut zu zählen, um das Volumen des Gesamtblutes mit einem vernünftigen Ausmass der Genauigkeit zu bestimmen. Es sei in diesem Zusammenhang auf das hingewiesen, was in dem Buch «Physician's Desk Reference for Radiology and Nuclear Medicine», Seite 17, 6. Ausgabe 1976, gesagt wird. Es wird eine Blutprobe oder eine Plasmaprobe von dem Patienten entnommen und gezählt und das Blutvolumen oder Plasmavolumen ist gleich der radioaktiven Dosierung, die ursprünglich injiziert worden war, dividiert durch die Aktivitätskonzentration in der Probe. Dieser Test ist gut reproduzierbar und er wird Werte ergeben, die für das jeweils untersuchte Individuum innerhalb von etwa 5% schwanken. Das Plasmavolumen erhält man, indem man eine Probe entnimmt und das Plasma von dem Rest des Gesamtblutes entfernt, ehe man die Konzentration in dem Plasma bestimmt. Das Volumen des Gesamtblutes hingegen wird bestimmt, indem man die Konzentration der aktiven Bestandteile misst, ohne dass vorher eine Auftrennung in die Blutkomponente der Probe vorgenommen wurde.

Ein mit Radionuklid markiertes HSA kann auch für andere Bestimmungen herangezogen werden. Beispielsweise können die Bestimmung der Blutdurchsätze durch das Herz dort von Bedeutung sein, wo bei Patienten Abnormalitäten in der Herzfunktion festgestellt wurde, wobei diese Patienten beispielsweise einen Grenzlinienherzfehler oder andere Myokard-abnormalitäten aufweisen. Wenn man beispielsweise eine kleine Pille an mit einem Radionuklid markiertem HSA injiziert und den Eintritt dieser Pille in das Herz und den Austritt der Radioaktivität aus dem Herzen beobachtet, kann der Blutaustritt aus dem Herzen bestimmt werden. Andere wirksamere Methoden, die eine abgeblendete Abbildung anwenden, sind ebenfalls bekannt. In gleicher Weise sind Blutstrommittel auch geeignet bei der Diagnose eines Herzbeutel-Ergusses (Perikardial-Effusion), der Feststellung von Nebenwegen oder anderen Abnormalitäten innerhalb des Herzens (Intrakardial-Abnormalitäten), zur Durchführung einer Differenzialdiagnose der Mittellinie der zum Mittelfell gehörenden Massen (Mediastinalmassen), zur Durchführung einer Diagnose einer lokalisierten Erweiterung (Aneurysma) einer Herzkammer (Ventrikular-Aneurysma) oder eines Hauptgefässes, und ferner zur Auswertung des Verlaufes des Hauptarterien und Hauptvenen. Eine statische radiologische Abbildung sowie auch eine Radionuklid-angiographie werden verwendet. Eine Anwendung dieser Techniken zur Feststellung eines Herzbeutelergusses, von Nebenwegen oder anderen Abnormalitäten im Herzen, sowie zur Feststellung der Mittellinie der zum Mittelfell gehörenden Massen, zur Feststellung von Erweiterungen in Gefässen und in Herzkammern, zur Feststellung des Verlaufes der Hauptarterien und -venen, und zur Feststellung der Lage der Placenta, insbesondere zur Feststellung eines Placentavorfalles wurden in dem oben genannten Buch «Physician's Desk Reference for Radiology and Nuclear Medicine», auf den Seiten 44-46 beschrieben.

Andere ähnliche Materialien wurden mit besseren Vorteilen bei anderen Teilen des Körpers eingesetzt. Beispielsweise kann ein mit Radionuklid markiertes denaturiertes makroaggregiertes HSA mit Erfolg verwendet werden, um Pulmonar-perfusions-Untersuchungen bei den Lungen durchzuführen. Zu diesem Zweck wurden auch bereits markierte Mikroaggregat an denaturiertem Albumin eingesetzt.

Blutstrommittel wurden auch bereits verwendet, um die Leber abzubilden, insbesondere um den Gefässteil, also den vaskulären Teil, der Leber abzubilden. Auch Mikroaggregate, die eine Teilchengröße von weniger als 5 μm , und vorzugsweise Teilchengrößen im Bereich von 0,1 bis 5 μm besitzen, wurden mit besonderem Vorteil bei der Durchführung von Leberuntersuchungen eingesetzt. Mikroaggregiertes Serumalbumin wird in der Folge auch als MIA bezeichnet, und es ist dieses Produkt von dem makroaggregierten Albumin das in der Folge mit MAA abgekürzt wird, zu unterscheiden.

Im wesentlichen alle Einsatzgebiete in welchen menschliches Serumalbumin, also HSA, verwendet wurde wiesen den Nachteil von besonders schwierigen Problemen auf, die in erster Linie von der geringen Beständigkeit der Produkte hervorgerufen werden, die standardisiertes menschliches Albumin enthalten, und zwar insbesondere bei Vorliegen tiefer pH-Werte. Beispielsweise bei Präparaten ist dies der Fall, die Mischungen aus zweiwertigem Zinn und Albumin enthalten, wenn in diesen diejenigen pH-Werte angewandt werden, die notwendig sind um die Zinn-II-Ionen in Lösung zu halten. Standardisiertes menschliches Serumalbumin führt zu einem Produkt, das trüb wird und rasch aus der Lösung ausfällt. Selbst dann, wenn es kurz nach seiner Herstellung gefriergetrocknet wird, also lyophilisiert wird, und wenn es dann nachher wieder in den alten Zustand übergeführt wird, also rekonstituiert wird, dann bildet sich bereits eine Stunde nach dieser Rekonstitution eine Trübheit aus. Dies ist ein ernst zu nehmender Nachteil, insbesondere dann, wenn das HSA als Teil einer Ausrüstung zur Durchführung eines vollen radiologischen Tests vorgesehen ist, und zwar deshalb, weil das HSA, wie bereits vorher bekannt war, so unbeständig ist, dass diese Ausrüstung nicht verwendet werden kann um die Arbeit eines einzigen Tages durchzuführen, d.h. das HSA wird trüb und es werden Niederschläge gefunden. Dennoch sind diese pH-Werte, beispielsweise um 3 herum notwendig, um sicher zu gehen, dass eine hohe Aufnahme an markiertem HSA-Komplex im Blut stattfindet. Ausserdem ist die effektive Lebensdauer von einigen bekannten HSA-diagnostischen Mitteln so kurz, dass sie üblicherweise verwendet werden müssen, ehe sie wirksam getestet werden können um sicher zu gehen, dass sie keine Fieber hervorrufenden Eigenschaften besitzen, also nicht pyrogen sind, und dass sie tatsächlich steril sind.

Noch weitere Probleme und Komplikationen werden bei der Herstellung von radioaktiv markiertem mikroaggregiertem menschlichem Serumalbumin und makroaggregiertem menschlichem Serumalbumin angetroffen, weil eine Schwierigkeit bei der Einstellung des Aggregationsvorganges besteht, der durchgeführt wird, um die gewünschte Teilchengröße zu erreichen. die in Übereinstimmung mit der vorgesehenen diagnostischen Verwendung des Materials steht. Mikroaggregiertes HSA, das eine Teilchengröße aufweist die üblicherweise im Bereich von 0,1 bis 5 μm liegt, wird in erster Linie verwendet um die Leber und die Milz abzubilden. Mikroaggregiertes HSA, das eine Teilchengröße von mehr als 5 μm , vorzugsweise weniger als 100 μm , und insbesondere eine Teilchengröße im Bereich von 15 bis 50 μm besitzt, ist ein hervorragend gut geeignetes Mittel, um die Lungen sichtbar zu machen. Diese Materialien werden selektiv in denjenigen Organen aufgefangen, für deren Diagnose sie eingesetzt werden, und sie werden im wesentlichen nur in den-

jenigen Teilen der Organe aufgefangen, die eine ausreichende Blutversorgung besitzen, so dass sie eine wirksame Sichtbarmachung solcher Bereiche ermöglichen, die eine gute Blutversorgung oder eine behinderte Blutversorgung aufweisen. Diese proteinartigen Materialien lösen sich gegebenenfalls auf und sie verhindern daher nicht, dass das Blut die Bereiche erreicht, in welchen sie während wesentlichen Zeiträumen lokalisiert sind.

Ziel der vorliegenden Erfindung war es, ein Material bereitzustellen, das zur Markierung mit einem Radionuklid geeignet ist, welches ein Serumalbumin enthält und die Nachteile bisher bekannter derartiger Produkte nicht aufweist. Insbesondere soll das Material in weiten pH-Bereichen stabil sein.

Überraschenderweise zeigte es sich, dass die angestrebten Ziele durch eine Mischung aus einem Reduktionsmittel und einem Serumalbumin mit vermindertem Lipidgehalt erreicht werden können.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher ein Material, das zur Markierung mit einem Radionuklid geeignet ist und das dadurch gekennzeichnet ist, dass es eine Mischung aus einem Reduktionsmittel und einem Serumalbumin mit vermindertem Lipidgehalt ist.

In bevorzugten erfindungsgemässen Materialien beträgt die Menge an Lipiden weniger als 2 Mol pro Mol Albumin. Die Menge an Fettsäuren ist vorzugsweise geringer als 0,1 Mol pro Mol Albumin.

Das bevorzugte in den erfindungsgemässen Materialien enthaltene Reduktionsmittel ist eine Zinn-II-Verbindung und diese ist vorzugsweise in einer Menge von 0,0005 bis 10 Gew.-%, bezogen auf das Gewicht des Albumines, anwesend.

Das Albumin kann ein makroaggregiertes Albumin oder ein mikroaggregiertes Albumin sein.

In einem bevorzugten, in dem Material enthaltenen aggregierten Albumin liegt die Teilchengrösse der Aggregate im Bereich von 0,1 bis 100 μm und speziell bevorzugt im Bereich von 15-50 μm .

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung des erfindungsgemässen Materials und dieses Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass man den Lipidgehalt eines Serumalbumins vermindert und dem so erhaltenen Albumin das Reduktionsmittel zusetzt.

Gemäss einem bevorzugten Herstellungsverfahren wird eine Mischung erzeugt, die als Albumin mit vermindertem Lipidgehalt ein normales menschliches Serumalbumin mit vermindertem Lipidgehalt enthält, indem man aus normalem menschlichem Serumalbumin Lipide entfernt, vorzugsweise dadurch, dass man das normale menschliche Serumalbumin mit Kohlenstoff zusammenbringt und den Kohlenstoff und die sorbierten Fettsäuren anschliessend von dem Albumin abtrennt.

Aus dem Albumin mit vermindertem Lipidgehalt können Aggregate hergestellt werden, die eine Teilchengrösse von 0,1-100 μm , und vorzugsweise 15-50 μm aufweisen.

Wenn man bei der Herstellung des Mittels als Reduktionsmittel ein Zinn-II-Ionen lieferndes Material verwendet, dann wird dieses mit dem Albumin mit vermindertem Fettgehalt zweckmässigerweise bei einem pH-Wert von unter 7 vermischt.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung des erfindungsgemässen Materials zur Herstellung eines mit einem Radionuklid markierten Produktes. Diese Verwendung ist dadurch gekennzeichnet, dass man das Material mit einem Radionuklid vermischt.

Durch diese Verwendung kann ein mit einem Radionuklid markiertes Produkt hergestellt werden, das für das Radioaktivitätsscanning, bzw. in der Radioscintigraphie ein-

gesetzt werden kann. Dabei ist das bevorzugt eingesetzte Radionuklid Technetium-99m.

Bei der Verwendung wird zweckmässigerweise dem erfindungsgemässen Material eine wässrige Lösung eines Radionuklides zugesetzt und man erhält so eine radioaktiv markierte wässrige Lösung, die während mindestens einer Stunde bei einem pH-Wert von 4 oder einem tieferen pH-Wert nicht trüb wird. Speziell vorteilhaft ist es, als erfindungsgemässes Mittel eine lipophilisierte Mischung aus dem Serumalbumin mit vermindertem Lipidgehalt und dem Reduktionsmittel zu verwenden und dieser das Radionuklid zuzusetzen.

Um die Verwendung des erfindungsgemässen Materials besonders einfach zu gestalten, ist es vorteilhaft, wenn dieses verpackt in einem abgedichteten sterilen nicht-pyrogenen Behälter vorliegt. In diesem abgedichteten Behälter kann das erfindungsgemässe Material beispielsweise in Form eines gefriergetrockneten Feststoffes enthalten sein, wobei auch hier das bevorzugt eingesetzte Reduktionsmittel Zinn ist.

Wenn man zu dem erfindungsgemässen Mittel ein Radionuklid zugebt, erhält man ein markiertes Produkt, das sehr gut geeignet ist, ein Radioaktivitätsscanning, bzw. eine Radioscintigraphie, durchzuführen. Bei der Verwendung derartiger markierter Produkte im lebenden Organismus liefern sie eine maximale Information, während sie gleichzeitig den Körper einer minimalen Strahlungsdosis aussetzen. Die unter Verwendung der erfindungsgemässen Materialien hergestellten markierten Produkte enthalten mit einem Radionuklid markierte Serumalbuminverbindungen oder Komplexe, die auch bei tiefen pH-Werten löslich bleiben und während relativ langer Zeiträume für die beabsichtigten Untersuchungen, insbesondere das Radioaktivitätsscanning oder die Radioscintigraphie verwendet werden können. Die radioaktiv markierten Produkte sind zur Durchführung der gesamten Testvorgänge bei radiologischen Tests geeignet, beispielsweise zur Bestimmung von Blutvolumen, von Plasmavolumen, von Stoffwechsel- und Umsatzstudien, von Analysen der Lungen bei Lungenembolie, von Bronchialkarzinom, von Lungenentzündung, von Lungenemphysem, von chronischer Lungentuberkulose, von Verwachsungen der Lungengefässe (Pulmonarvaskular-obliterationen), von Neoplasmen, von Blutleere in der Lunge (Pulmonar-ischämie) oder von Lungeninfarkt, von Störungen in der Zirkulation in der Lungen und anderen Störungen, zur Lokalisierung von Gehirntumor, zur Cisternographie, zur Untersuchung des Blutflusses, zur Untersuchung der dynamischen Verhältnisse im Herz und den Gefässen (Kardiovaskulär-dynamik), einschliesslich des Blutaustrittes aus dem Herz, des Blutvolumens im Herz, sowie ferner zur Feststellung von Zirkulationszeiten, zur Untersuchung des Proteinumsatzes, zur Lokalisierung der Placenta, zur Abbildung des Gehirnes und des Herzens, zur Abbildung von Leber, Milz und Knochenmark, zur Lokalisation des Wachstums von Abszessen und zu anderen Verwendungszwecken.

Eine Form des normalen menschlichen Serumalbumins, USP, liegt beispielsweise als 25prozentige Lösung von menschlichem Serumalbumin in einem wässrigen Verdünnungsmittel vor, welches mit Natriumcarbonat oder einem anderen Puffermittel gepuffert ist. Typischerweise kann dieses Produkt mit kleinen Mengen, beispielsweise etwa 0,02 Mol, an Natriumcarpylat und kleinen Mengen, beispielsweise 0,02 Mol an Acetyltryptophan stabilisiert sein. Bei normalem menschlichem Serumalbumin ist nicht weniger als 96% seines Gesamtproteines Albumin. Es sind jedoch wesentliche Mengen an Lipoiden oder Lipiden, d.h. an Fetten oder Fettsäuren, im normalen Serumalbumin enthalten. Aus Erfahrungen in diesem Arbeitsgebiet sei darauf hingewiesen, dass käuflich erhältliches Serumalbumin im allgemeinen ziemlich etwas mehr als 3 Mol an Lipiden pro Mol Albumin ent-

hält, basierend auf ein Molekulargewicht des Albumines von 69'000.

Zur Herstellung der erfindungsgemässen Materialien wird die Menge an Lipid, die in dem Serumalbumin enthalten ist, vermindert, im allgemeinen auf weniger als 3 Mol Lipid pro Mol Albumin und vorzugsweise auf weniger als 2 Mol Lipid pro Mol Albumin. Speziell vorteilhaft werden in den erfindungsgemässen Materialien solche Albumine eingesetzt, die weniger als etwa 0,1 Mol Lipid pro Mol Protein enthalten. Vorzugsweise ist die Konzentration an Lipiden in dem Albumin so stark vermindert, dass bei der Verwendung der erfindungsgemässen Materialien das Mischungsprodukt aus Albumin + Reduktionsmittel + dem Radionuklid während mindestens einer Stunde nicht trüb wird, und vorzugsweise während 4 Stunden nicht trüb wird, und zwar dann, wenn der pH-Wert der Mischung etwa 3 beträgt oder tiefer liegt. Speziell bevorzugt sind solche Produkte, die bei dem angegebenen pH-Wert 8 Stunden lang nicht trüb werden.

Es kann eine Vielzahl an Arbeitsmethoden angewandt werden, um den Lipidgehalt von Serumalbumin zu vermindern. Das am meisten bevorzugte Verfahren besteht in einer Behandlung von Albuminlösungen mit Kohle bei niedrigen pH-Werten, beispielsweise in derjenigen Art, wie dies von R.F. Chen in der Veröffentlichung «Removal of Fatty Acids from Serum Albumin by Charcoal Treatment» beschrieben ist. Die dort beschriebenen Arbeitsverfahren können zur Herstellung des erfindungsgemäss benötigten Serumalbumins mit vermindertem Lipidgehalt herangezogen werden. Bei dem dort beschriebenen Verfahren wird eine käuflich erhältliche Lösung von menschlichem Serumalbumin, also eine HSA-Lösung, auf einen pH-Wert von unterhalb von 7 angesäuert, vorzugsweise auf einen pH-Wert im Bereich von 0 bis 5, und insbesondere auf einen pH-Wert von 1 bis 2,5, wobei ein speziell bevorzugter pH-Wert ein solcher von 1,5 ist. Dann wird die so angesäuerte Lösung mit Kohle behandelt. Der pH-Wert soll ausreichend tief sein, damit eine Abtrennung der Fettsäuren möglich ist, er soll jedoch nicht so tief liegen, dass eine Hydrolyse des Proteines eintritt. Die Kohle, vorzugsweise Holzkohle, wird bevorzugt in einer Menge von 0,1 g an Kohle pro Gramm Albumin bis 10 g Kohle pro Gramm Albumin zugegeben. Ein bevorzugter Zugabebereich beträgt dabei etwa 0,2 g Holzkohle pro Gramm Albumin bis 1,5 g Holzkohle pro Gramm Albumin. Speziell vorteilhaft kann die Entfernung der Lipide bei tiefen Temperaturen durchgeführt werden, um die Möglichkeit einer nachteiligen chemischen Reaktion mit dem sauren Medium zu vermeiden oder zumindestens auf ein Minimum herunterzudrücken. Die Temperatur soll im allgemeinen im Bereich von -2°C bis $+30^{\circ}\text{C}$ liegen, vorzugsweise zwischen 0°C und 10°C . Die Lösung kann mit der Holzkohle während eines Zeitraumes der zwischen wenigen Minuten bis 3 oder 4 Stunden liegt in Berührung gebracht werden, wobei die Berührungszeit von dem angewandten pH-Wert, der Temperatur und der Konzentration des Albumines abhängt. Normalerweise ist ein Zeitraum von etwa 1 Stunde eine ausreichende Berührungszeit. Es ist vorzuziehen die Mischung während dieser Berührungszeit zu rühren oder sonst in irgendeiner geeigneten Weise zu behandeln, damit die maximal mögliche Berührung zwischen dem Protein und der Kohle auftritt. Die Konzentration des Albumines in der Lösung, die in Berührung gebracht wird, kann im allgemeinen im Bereich von etwa 1 bis 25 Gew.-%, vorzugsweise im Bereich von etwa 3 bis 10 Gew.-%, und speziell bevorzugt im Bereich von 4 bis 6 Gew.-% liegen.

Eine grosse Anzahl an käuflich erhältlichen Kohlen kann zur Durchführung dieses Verfahrens herangezogen werden. Beispiele für geeignete Materialien sind das Produkt «Darco M», das von Atlas Chemical Industries vertrieben wird,

Kohlen mit der Markenbezeichnung Norit, wie zum Beispiel «Norit A» (diese Produkte werden von der Caswell-Massey Co. vertrieben). Ein weiteres Beispiel sind die Nuchar-Aktivkohlen, die von der West Virginie Pulp and Paper Co. vertrieben werden. Andere geeignete Kohlearten sind bekannt und es ist für den Fachmann auf diesem Gebiete klar, dass sie mit gutem Erfolg zu dem angestrebten Zweck eingesetzt werden können. Nachdem man die Kohle mit dem Albumin während der oben angegebenen Zeiträume in Berührung gebracht hat, wird dann die Kohle mit den sorbierten Lipiden von der restlichen Albuminlösung abgetrennt. Diese Abtrennung kann durch Zentrifugieren, durch Abfiltrieren, durch Sedimentation oder durch andere Arbeitsverfahren durchgeführt werden, die für den Fachmann auf der Hand liegend sind. Das bevorzugte Arbeitsverfahren zur Abtrennung ist die Durchführung einer Filtration, insbesondere einer Submikro-Filtration, insbesondere deshalb weil man dabei eine Albuminlösung erhält, die nicht nur frei von Kohlenstoff ist, sondern die auch steril ist und die deshalb direkt zur Durchführung der Testverfahren herangezogen werden kann. Einige andere Materialien, wie zum Beispiel Konservierungsmittel und eine kleine Menge an Albumin können auch auf den Kohlenstoffpartikeln absorbiert oder adsorbiert sein, aber es werden überraschend geringe Mengen an Albumin während dieses Entfettungsverfahrens oder Entlipidierungsverfahrens verloren, wenn es wie oben beschrieben durchgeführt wird.

Ein anderes Verfahren zur Entfettung der Albuminlösung, das angewandt werden kann, ist die saure Ausfällungsmethode, beispielsweise dasjenige Arbeitsverfahren das von Williams et al, in *J. Am. Chem. Soc.* 80 : 1789 (1958), und von Foster et al, in *J. Biol. Chem.* 240 : 2494-2502 (1965) beschrieben wird. Alle dort beschriebenen Arbeitsgänge können auch bei der Herstellung des erfindungsgemäss zu verwendenden Produktes angewandt werden. Dementsprechend können saure Albuminlösungen auf einen pH-Wert von beispielsweise 2,9 angesäuert werden, und bei dem angegebenen pH-Wert während 2 bis 3 Tagen belassen werden. Während dieser Zeit bilden die anwesenden Lipide eine getrennte Phase, die dann entfernt werden kann, beispielsweise durch Zentrifugieren. Es ist auch möglich konzentrierte Albuminlösungen auf niedrigere pH-Werte anzusäuern, beispielsweise pH-Werte die im Bereich von 1,0 bis 2,0 liegen, und in diesem Fall tritt die Abtrennung der Lipidphase rascher ein und es ist damit eine etwas raschere Abtrennung der Lipidphase von der Albuminlösung möglich.

Andere Verfahren der Entlipidisierung des Albumines können auch verwendet werden, einschliesslich einem in Berührungbringen mit Absorptionssäulen oder Adsorptionssäulen, und in diesem Zusammenhang sei beispielsweise auf die Veröffentlichung von Scheider et al, in *Biochim. Biophys. Acta* 221 : 376 (1970) hingewiesen. Ferner ist auch eine Lösungsmittelextraktion möglich, und es sei in diesem Zusammenhang beispielsweise auf die Veröffentlichung von Goodman, in *Science* 125 : 1296 (1957) hingewiesen. Ausserdem ist auch eine biologische Extraktion möglich, beispielsweise das Arbeitsverfahren das von Schneider et al, in *Biophys. J.* 16 : 417-31 (1976) beschrieben wird, sowie ferner andere in der Literatur beschriebene Arbeitsweisen. Obwohl bisher auf diesem Gebiet keine Klarheit herrscht, ist es dennoch möglich dass das Ansäuern zu Änderungen in der Molekularstruktur des Albumines führen kann. Derartige Änderungen könnten durch biologische Extraktionsverfahren vermieden werden.

Sobald die Lipidverunreinigungen entfernt sind, wird das entfettete Albumin mit dem Reduktionsmittel zusammengebracht, wobei sich ein Material bildet, das sehr leicht mit einem Radionuklid markiert werden kann. Bevorzugte Re-

duktionsmittel sind Materialien, die zweiwertige Eisen-Ionen liefern, wie zum Beispiel Eisen-II-ascorbat, und Materialien, die zweiwertige Zinn-Ionen liefern, wie zum Beispiel Zinn-II-Chlorid. Dabei sind die Zinn-II-Ionen besonders bevorzugt. Obwohl der Erfindungsgegenstand nicht durch irgend eine Theorie eingeschränkt werden soll, so kann man dennoch annehmen, dass dann wenn das Radionuklid, das Reduktionsmittel und das Protein gemeinsam in der Lösung anwesend sind, eine Reaktion stattfindet, durch welche das Radionuklid reduziert wird, und irgendeine Art der Kombination mit dem Protein eingeht. Diese Kombination könnte beispielsweise ein Komplex aus Radionuklid plus Reduktionsmittel plus Protein sein, vorzugsweise ein Technetium-Zinn-Albumin-Komplex. Bei der bevorzugten Ausführungsart werden das Albumin und das Reduktionsmittel in der Lösung vorgemischt, die Lösung wird dann gefriergetrocknet und als Teil der Ausrüstung zur Durchführung von radiologischen Untersuchungen verwendet. Wenn man diese Ausrüstung dann verwenden will, dann wird die Mischung aus Reduktionsmittel und Albumin wieder hergestellt, d.h. rekonstituiert, indem man eine Quelle für Radionuklid-Ionen verwendet, beispielsweise Pertechnat-Ionen. Dabei bildet sich dann das markierte Albumin. Es ist nicht genau bekannt was tatsächlich zwischen dem entfetteten Albumin und dem Reduktionsmittel in Abwesenheit des Technetiums abläuft, also zu demjenigen Zeitpunkt wo das entfettete Albumin mit dem Reduktionsmittel vermischt wird, und vor dem Zeitpunkt wo diese Mischung dann lyophilisiert wird. Es kann möglich sein, dass das Reduktionsmittel von den ziemlich grossen Albuminmolekülen, welche ein Molekulargewicht von 69'000 besitzen, sorbiert wird, und dass es in diesem Zustand während der Lyophilisierung gehalten wird bis die Vereinigung mit der die Technetium-Ionen enthaltenden Lösung durchgeführt wird.

Das Material, welches das Technetium liefert, also die Technetium-Quelle, soll wasserlöslich sein. Bevorzugte Quellen für Technetium sind Alkalimetall-pertechnate und Erdalkalimetall-pertechnate. Das Technetium wird vorzugsweise in Form von frischem Natriumpertechnat aus einem sterilen NEN ^{99m}Tc Generator erhalten. Beliebige andere Quellen von pharmakologisch annehmbarem ^{99m}Tc können ebenfalls verwendet werden, und es stehen eine Anzahl von ^{99m}Tc-Generatoren zur Verfügung.

Die maximale Menge an Reduktionsmittel, die verwendet werden kann, ist diejenige Menge über welcher eine Ausfällung des Reduktionsmittels auftritt. Die minimale Menge an Reduktionsmittel, die benötigt wird, ist diejenige welche notwendig ist um eine ausreichende Menge an ^{99m}Tc an das Protein zu binden um eine wesentliche Aufnahme im Plasma im Gewebe oder im Organ zu erreichen. Diese Mengen können leicht für die jeweilige Mischung aus Technetium und Reduktionsmittel durch übliche Vorversuche bestimmt werden. Sehr geringe Mengen an Reduktionsmittel sind zu diesem Zwecke wirksam, da jedoch derartige Mittel üblicherweise leicht oxydiert werden, besteht die Wahrscheinlichkeit, dass Mischungen in welchen extrem kleine Mengen an Reduktionsmittel eingesetzt werden, bezüglich ihrer Wirksamkeit während des Zeitraumes nach der Behandlung oder während der Verwendung Verluste erleiden. Dementsprechend soll als Minimum die Menge an Reduktionsmittel, die verwendet wird, so berechnet werden, dass ein ausreichender Vorrat von mindestens 0,1 µg Reduktionsmittel pro Milliliter des diagnostischen Mittels, das injiziert werden soll, vorliegt. Wenn die Menge an Reduktionsmittel erhöht wird, dann tritt bei jeder gegebenen Kombination von einem bestimmten Reduktionsmittel und Albumin ein Punkt auf, hinter welchem die Bindungswirksamkeit gegenüber dem Protein nicht mehr weiter ansteigt, und tatsächlich kann sogar eine

Abnahme eintreten, wenn man weitere Mengen an Reduktionsmittel zusetzt. Ein gewisses Niveau einer derartigen Bindungswirksamkeit dürfte sogar bei sehr hohen Niveaus an Reduktionsmittel erreicht sein. Vorteile können manchmal durch einen natürlichen Abbau des Reduktionsmittels infolge einer Oxydation während der Handhabung oder Lagerung entstehen, wenn man Mischungen herstellt, die mehr als die optimale Menge an dem Reduktionsmittel enthalten. In diesem Fall wird dann die über der optimalen Menge liegende Menge an Reduktionsmittel bis zur optimalen Menge durch diesen Abbau vor der Verwendung vermindert. Normalerweise wird das Albumin in einem grossen Überschuss, bezogen auf das Reduktionsmittel, vorliegen. Vorzugsweise soll das Reduktionsmittel in einer Menge vorliegen, die im Bereich von 0,0005 bis 100%, insbesondere im Bereich von 0,005 bis 1%, bezogen auf das Albumin, liegt.

Eine ausreichende Menge an dem Radionuklid, vorzugsweise Technetium-99m, soll anwesend sein, um eine leichte Feststellung dieses Materials im Körper zu gewährleisten. Die Menge die notwendig ist, dürfte im wesentlichen vollständig von dem Spiegel der Radioaktivität abhängen, der erwünscht ist, denn wenn die entsprechenden Mengen und Verhältnisse von Reduktionsmittel und Albumin anwesend sind, dann wird der grösste Teil des Technetiums, und zwar 90 bis 95% oder noch höhere Mengen, an das Albumin gebunden.

In dem zum gegenwärtigen Zeitpunkt bevorzugten System wird eine sterile, nicht pyrogene, lyophilisierte Mischung von etwa 0,1 mg Zinn-II-Chlorid-Dihydrat, welches als Reduktionsmittel dient, und etwa 25 mg an entfettetem menschlichem Serumalbumin in einer sterilen Ampulle hergestellt, wobei diese Lösung vorzugsweise mit 3 bis 7 ml des aus einem NEN ^{99m}Tc-Generator austretenden Materials kurz vor der Verwendung vermischt wird.

Die erfindungsgemässen diagnostischen Zusammensetzungen können auch zusätzliche, pharmakologisch annehmbare Bestandteile enthalten, die ihre diagnostische Funktion in keiner Weise behindern. Beispielsweise enthält das Eluat, das aus einem standardisierten ^{99m}Tc-Generator erhalten wird, Natriumsalze oder es können auch Kochsalzlösungen verwendet werden, um die Bestandteile zur geeigneten Konzentration vor der Lyophilisierung zu verdünnen, oder um die radioaktiven diagnostischen Zusammensetzungen auf das Niveau zu verdünnen, das zur Verabreichung geeignet ist. Ferner können auch nicht störende Säuren und Basen, wie zum Beispiel Chlorwasserstoffsäure oder Natriumhydroxyd verwendet werden, um den pH-Wert auf das gewünschte Niveau einzustellen, beispielsweise vor der Lyophilisierung des Materials aus Albumin und zweiwertigen Zinn-Ionen. Vorzugsweise enthält die Mischung aus lyophilisiertem Reduktionsmittel plus Albumin kleine Mengen an nichtionischen oberflächenaktiven Mitteln, vorzugsweise die normalerweise festen nicht-ionischen oberflächenaktiven Mittel, weil diese eine Wiederherstellung der lyophilisierten Mischung, also die sogenannte Rekonstitution, erleichtern. Als Beispiele für normalerweise feste oberflächenaktive Mittel seien die Kondensate aus Äthylenoxid, Propylenoxyd und Propylenglycol genannt, die unter dem Handelsnamen Pluronic von der BASF Wyandotte vertrieben werden, und speziell bevorzugt ist das Produkt Pluronic F68. Aseptische Arbeitsverfahren und sterile, nicht-pyrogene Bestandteile und Behälter sollen bei allen Verfahrensschritten angewandt werden, wobei derartige Arbeitsverfahren für den Fachmann auf diesem Gebiet üblich sind. Um eine Oxydation der Zinn-II-Ionen zu verhindern, die auf andere Reaktionen zurückzuführen ist, als die Bildung des Komplexes, soll man Sorge tragen, dass Oxydationsmittel aus den Ausgangsmaterialien ausgeschlossen sind. Aus diesem Grunde soll man zweckmässigerweise

keine solchen Quellen für Technetium-99m verwenden, die wesentliche Mengen an Oxydationsmittel enthalten. Auch Sauerstoff soll zweckmässigerweise ausgeschlossen werden, beispielsweise indem man die verschiedenen Behälter, die bei der Herstellung und Lagerung der Bestandteile oder Zwischenprodukte verwendet werden, mit einem inerten Gas ausspült, beispielsweise mit Stickstoff, wobei dieses Ausspülen während ausreichend langer Zeiträume zu erfolgen hat. Es ist jedoch nicht notwendig ein Inertgas-Ausspülsystem zu verwenden, obwohl die Verwendung eines derartigen Systemes sehr vorteilhaft ist.

Nach dem Vermischen kann die Lösung, die das Reduktionsmittel und das entfettete Albumin enthält, nach üblichen Arbeitsverfahren sterilisiert werden, wenn dies notwendig ist. Beispiele für derartige Sterilisationsverfahren sind das Filtrieren durch ein biologisches Filter, das eine Porengrösse von etwa 0,22 Mikron besitzt, wobei dies vorzugsweise unter einer Stickstoffatmosphäre durchgeführt wird. Anschliessend werden Anteile der sterilen Lösungen in einzelne sterile nicht-pyrogene Aufbewahrungsimpullen aus Glas unter einer Stickstoffatmosphäre gegeben. Diese Ampullen werden vorzugsweise dann lyophilisiert, indem man übliche Gefriertrocknungstechniken unter aseptischen Bedingungen zur Entfernung des Wassers anwendet. Man erhält dabei einen festen Komplex aus zweiwertigem Zinn und Albumin oder eine Mischung der gleichen Art, wobei dieses feste Material vorteilhaft zum Vertrieb und der Lagerung ist und stabiler ist als der Komplex in Lösung. Die Ampullen sollen dicht verschlossen werden und bis zum Gebrauch gelagert werden, wobei dann an der Verwendungsstelle das frische Mittel aus Technetium-99m-Zinn-II-Ionen und Albumin gebildet wird.

Obwohl es vorzuziehen ist, das Zinn-II-Chlorid und das entfettete Albumin miteinander zu vermischen ehe man dann das Technetium zusetzt, ist dennoch die Reihenfolge der Vermischung nicht kritisch und sie kann beispielsweise so durchgeführt werden, dass man zuerst das Technetium mit dem entfetteten Albumin vermischt, und dann erst das Zinn-II-Chlorid zusetzt.

Gemäss der vorliegenden Erfindung kann das lipidisierte Albumin auch mit Vorteil in diagnostischen Mitteln verwendet werden, welche denaturiertes (aggregiertes) Albumin enthalten, und zwar sowohl in Mitteln welche mikroaggregiertes Albumin enthalten als auch in solchen Mitteln welche makroaggregiertes Albumin enthalten. Sowohl die Mikroaggregate als auch die Makroaggregate können aus entlipidisiertem Albumin hergestellt werden, beispielsweise indem man eine Hitzebehandlung bei einer Temperatur im Bereich von 55 bis 100°C bei einem pH-Wert im Bereich von 4 bis 10 durchführt. Derartige Arbeitsverfahren sind für den Fachmann auf diesem Gebiet bekannt. Wenn man Makroaggregate herstellen will, dann kann man nach einer derartigen Behandlung eine weitere Hitzebehandlung durchführen, die etwa bei der gleichen Temperatur erfolgt, nachdem der pH-Wert auf etwa den isoelektrischen Punkt des Albumines eingestellt worden war, beispielsweise auf einen pH-Wert im Bereich von 5 bis 5,5. Vorzugsweise wird das makroaggregierte Albumin durch eine einzige Hitzebehandlung hergestellt, die bei einer Temperatur von etwa 55 bis 75°C während 10 Minuten bis 2 Stunden oder noch längeren Zeiten durchgeführt wird, bis die gewünschte Teilchengrösse und Festigkeit erreicht ist, damit bei der Verwendung eine geeignete biologische Klarheit erreicht wird. Es hat sich herausgestellt, dass durch die Verwendung von entlipidisiertem menschlichem Serumalbumin tatsächlich die Ausbeute an makroaggregiertem Albumin wesentlich verbessert ist, und zwar im Vergleich zu der Ausbeute an makroaggregiertem

Albumin, das ausgehend von unbehandeltem menschlichem Serumalbumin, hergestellt wurde.

Sowohl das mikroaggregierte als auch das makroaggregierte Serumalbumin können mit Vorteil 10 bis 75% an nicht denaturiertem Albumin enthalten und auch andere Materialien, von denen bekannt ist, dass sie dazu beitragen eine Matrix für die effektive Lyophilisierung und die Wiederherstellung zu liefern. Gemäss der vorliegenden Erfindung kann das undenaturierte Albumin, das in derartigen Mikroaggregaten oder Makroaggregaten enthalten ist, ebenfalls ein entlipidisiertes Albumin sein.

Wenn man den Komplex aus Technetium-99m plus Zinn-II-Ionen plus entfettetem Albumin oder eine Mischung aus diesen Materialien aseptisch in den Blutstrom injiziert, dann ist ein bevorzugter Bereich der Dosierung von 1 bis 400 μ Ci pro Kilogramm Körpergewicht, je nach der Art des durchzuführenden Tests und nach der Art des Individuums an dem der Test durchgeführt werden soll. Wenn man zum Beispiel bei normalen erwachsenen Personen mit einem Körpergewicht von etwa 70 kg eine statische Blutstromabbildung vornehmen will, dann können 3 bis 5 mCi Technetium markiertes Albumin intravenös verabreicht werden, und die Abbildung kann dann knapp danach beginnen. Wenn man eine Radionuklid-Angiokardiographie oder Herzuntersuchungen, beispielsweise abgeblendete Herzuntersuchungen, oder Herzgefässuntersuchungen, nämlich eine Kardialventrikulographie, durchführen will, dann kann die Dosierung im allgemeinen im Bereich von 10 bis 20 mCi liegen, und diese Dosierung wird in Form einer kleinen Pille einer Grösse von 1 bis 2 ml intravenös verabreicht.

Wenn man die Lage der Placenta feststellen will, dann beträgt die empfohlene intravenöse Dosis etwa 1 mCi. Wenn man das Blutvolumen bestimmen will, dann kann eine intravenöse Dosierung von etwa 0,2 bis 1 mCi ausreichend sein. Dosierungen, die an Kinder verabreicht werden, sind im allgemeinen geringer als die an Erwachsene verabreichten Dosierungen, und es ist im allgemeinen wünschenswert nicht mehr als 100 bis 200 mCi pro Kilogramm Körpergewicht des Kindes einzusetzen. Derartige überhöhten Betrachtungen bezüglich der Sicherheit sind jedoch nicht erforderlich, wenn man Untersuchungen an Tieren durchführt, beispielsweise mit Ratten, Mäusen, Hunden und ähnlichen. Die oben angegebenen Dosierungen sind typische Beispiele, und es können grössere oder geringere Mengen unter bestimmten Umständen eingesetzt werden, obwohl grössere Dosierungen natürlich die Strahlenbelastung des Patienten erhöhen.

Im allgemeinen kann die Untersuchung oder der Test unmittelbar nach der Verabreichung begonnen werden, entweder durch aufeinanderfolgende Vorrichtungen zur Sichtbarmachung, wie zum Beispiel Scintillationskameras oder durch Proben unterschiedlicher bekannter Arten. Für Herzuntersuchungen und ähnliches kann es wünschenswert sein die Strahlung im Herzen praktisch sofort nach der Einführung der Pille in dem Patienten zu beobachten. Andererseits kann es für manche Untersuchungen bei denen Blut benötigt wird, oder sonst irgendwelche Zustände ins Gleichgewicht kommen müssen, wünschenswert sein Wartezeiten einzuschalten, wie dies für den Fachmann auf diesem Gebiet klar auf der Hand liegt.

Die Erfindung sei nun anhand der folgenden Beispiele näher erläutert.

Beispiel 1

Befreiung des Albumines von Lipiden durch die Kohlenstoffmethode

Es werden 60 ml einer käuflich erhältlichen 25prozentigen Lösung von normalem menschlichem Serumalbumin

(Cutter) in einem reinen, nicht-pyrogenetischen Becherglas auf 0 bis 10°C abgekühlt. Das Becherglas wird in eine Eispackung eingebracht, um die Temperatur aufrechtzuerhalten. Dann wird die Lösung des menschlichen Serumalbumins auf einen pH-Wert von 2,2 bis 2,5 angesäuert, indem man 319 ml an 0,1-normaler Salzsäure zugibt, welche ebenfalls auf eine Temperatur von 0 bis 10°C gekühlt ist. Diese Zugabe der Salzsäure soll unter Rühren erfolgen. Dann werden 15,2 g Kohle, nämlich Nuchar-C-190-N-Kohle, in das Becherglas gegeben, und man rührt eine weitere Stunde bei 0 bis 10°C. Anschliessend erfolgt die Entfernung der auf der Kohle befindlichen Lipide durch Abfiltrieren des Ansatzes, wobei man aseptisch durch ein reines, nicht-pyrogenes Filter in einen reinen, nicht-pyrogenen Behälter filtriert. Vorzugsweise soll dieses Produkt durch Filtrieren durch mindestens ein sterilisierendes Filter oder eine sterilisierende Membran weiter sterilisiert werden. Als sterilisierendes Filter kann zu diesem Zweck beispielsweise ein Millipor 0,22 µm Filter verwendet werden. Bei diesem Arbeitsverfahren erhält man etwa 400 ml einer sterilen, nicht pyrogenen, von Lipiden befreiten menschlichen Serumalbuminlösung.

Beispiel 2

Befreiung des menschlichen Serumalbumins von Lipiden nach dem Ansäuerungsverfahren

Es werden 10 ml eines 25 Gew.-prozentigen menschlichen Serumalbumins (Cutter) unter Verwendung von 87 ml einer 0,1 normalen Salzsäure bis zur Erreichung eines endgültigen pH-Wertes von 1,5 angesäuert. Innerhalb von etwa 10 Minuten nach der Säurezugabe wird die gesamte Lösung in zwei sterile Ampullen eines Rauminhaltes von 50 ml durch ein Sterilfilter filtriert, nämlich ein 0,22 µm Millipor-Filter. Die so erhaltenen Ampullen werden etwa 16 Stunden lang bei einer Temperatur von 0 bis 10°C gelagert. Die Lösungen werden dann ziemlich stark trüb sein, wobei weisse Feststoffe sich abgeschieden haben. Dementsprechend ist es zweckmässig die Lösungen jetzt nochmals durch 0,22 µm sterile Filter zu filtrieren, um diese ausgefällte Säure zu entfernen. Es kann notwendig sein eine Anzahl an Filtern in diesem Arbeitsverfahren zu verwenden, weil Filter mit kleinen Poren leicht verstopft werden. Derartige Verstopfungen können manchmal bereits nach dem Durchfiltrieren von 8 bis 10 ml dieser Lösung auftreten. Das bei diesem zweiten Filtrationsschritt erhaltene Filtrat ist im allgemeinen klar und Filtrate, die in dieser Weise gewonnen werden, blieben während mehrerer Wochen lang klar, bis das gesamte Material verbraucht war. Die bei diesem Verfahren erhaltene Lösung enthält etwa 24,5 mg an Gesamtprotein pro Milliliter und etwa 1,7 Mol Fettsäure pro Mol menschlichem Serumalbumin.

Beispiel 3

Herstellung von gefriergetrockneten Ausrüstungen

Es wird 1 g an Zinn-II-Chlorid-Dihydrat in 1 ml konzentrierter Chlorwasserstoffsäure gelöst. Man verdünnt dann mit von Sauerstoff befreiter Kochsalzlösung bis zur Erreichung eines Gesamtvolumens von 10 ml. Dann wird ein Milliliter der so erhaltenen Lösung entfernt, und dieser eine Milliliter wird mit von Sauerstoff befreiter Kochsalzlösung auf 10 ml verdünnt. In einem getrennten Kolben werden 2 g des oberflächenaktiven Mittels Pluronic S68 in 100 ml einer Kochsalzlösung gelöst, welche vorher vom Sauerstoff befreit wurde.

Aus einer Analyse des entlipidisierten menschlichen Serumalbumins, das entweder nach der Kohlenstoffmethode

oder der Ansäuerungsmethode hergestellt wurde, stellte man fest welches Volumen dieses entlipidisierten menschlichen Serumalbumins 25 g an Albumin enthält. Zu dem so bestimmten Volumen an entlipidisiertem menschlichem Serumalbumin, das insgesamt 25 g Albumin enthält, gab man die gesamte Menge an 10 ml der zweiten Verdünnung an Zinn-II-Chlorid zu. Es wurde auch der gesamte Inhalt der Lösung von Pluronic F68 zu der Mischung aus Zinn-II-Chlorid und entlipidisiertem menschlichem Serumalbumin zugesetzt. Diese Lösung soll jetzt unter einem inerten Gas belassen werden, beispielsweise unter Stickstoff. Dann wird das Volumen dieser Mischung unter Verwendung von Kochsalzlösung, die von Sauerstoff befreit war, auf 1 Liter verdünnt, und man filtriert dann diese Mischung durch eine Sterilmembran mit einer Porengrösse von 0,22 µm. Anschliessend werden 1 ml Proben in Ampullen gegeben, und nach üblichen, in der Industrie angewandten Techniken, gefriergetrocknet. Diese Ampullen werden nach der Gefriergetrocknung unter einer Atmosphäre von Stickstoffgas gehalten.

Beispiel 4

Herstellung eines markierten Albumins das als Mittel zur Einführung in den Blutstrom dient

Jede der lyophilisierten Ampullen, die nach dem Verfahren gemäss Beispiel 3 hergestellt wurden, enthält etwa 25 mg an normalem menschlichem Serumalbumin sowie 0,1 mg an Zinn-II-Chlorid-Dihydrat und 2 mg an dem oberflächenaktiven Mittel Pluronic F68, wobei alle diese Materialien in der Ampulle in lyophilisierter Form enthalten sind. Jetzt injiziert man aseptisch 2 bis 7 ml eines Eluates aus einem NEN ^{99m}Tc-Generator. Dieses Eluat ist eine Lösung von Natriumpertechnat-Tc-99m, in isotoner Kochsalzlösung ohne Gehalt an einem Bakteriostatikum. Mit Hilfe dieser zwei bis sieben Millilitern des Technetium-Eluates werden die lyophilisierten Materialien wieder hergestellt, d.h. rekonstituiert, und man erhält dabei das Technetium-99m-Zinn-Albumin. Das Injizieren des Materials aus der Technetium-Quelle soll hinter einer Strahlungsabschirmung erfolgen, weil das Eluat aus dem ^{99m}Tc-Generator und auch der Komplex aus Technetium-99m plus Zinn plus Albumin, oder eine entsprechende Mischung, radioaktiv sind. Die Ampullen werden in Bewegung gehalten um die lyophilisierten Feststoffe vollständig aufzulösen. Wenn alle Materialien in Lösung gegangen sind, dann ist das Produkt verwendungsbereit.

Die Zusammensetzungen wurden getestet, indem man das lyophilisierte Albumin und Zinn enthaltende Material, das wie oben hergestellt wurde, unter Verwendung von 5 ml eines Eluates aus dem NEN ^{99m}Tc-Generator rekonstituierte. 0,25 ml dieser Lösung wurden in die Schwanzvene von erwachsenen Ratten injiziert, die 200 bis 300 g wogen. Diese Injektionen wurden etwa 1 Stunde nach der Wiederherstellung, also der Rekonstitution, des Materials verabreicht. Etwa 45 Minuten nach der Injektion wurden die Ratten getötet und das Blut gesammelt. Unter der Annahme, dass der Normalblutgehalt 5% des Körpergewichtes der Ratte ausmacht (in diesem Zusammenhang sei auf die Veröffentlichung von Sharpe et al, in Proc. Soc. Exp. Biol. 74 : 681 (1950), hingewiesen), da der Blutaufnahmewert für das diagnostische Mittel, das aus dem entlipidisierten Albumin hergestellt war, 36,5 plus oder minus 3,5% beträgt (es wurde ein Durchschnittswert von 30 Tieren und 10 Ampullen berechnet). Das verwendete Albumin war ein von Lipiden nach der Kohlenstoffmethode, die in Beispiel 1 beschrieben ist, befreites Albumin. Die Blutwerte, die bei den Ratten bestimmt wurden, indem man ein Ausgangsmaterial verwendete, das aus entlipidisiertem Albumin hergestellt wurde, welches nach der Säureausfällungsmethode hergestellt wurde,

die in Beispiel 2 beschrieben ist, waren mit den zuerst genannten Werten vergleichbar und sie betragen 36,7% plus oder minus 3%, wobei diese Werte Durchschnittswerte basierend auf einer Ampulle und drei Tieren sind.

Beispiel 5

Verwendung von entlipidisiertem menschlichem Serumalbumin zur Herstellung von einem Produkt aus zweiwertigen Zinn-Ionen und makroaggregiertem Albumin

Zu 463 ml an Wasser mit niedrigem Sauerstoffgehalt gab man unter Mischen 44 ml einer wässrigen Lösung von entlipidisiertem menschlichem Serumalbumin, wobei diese Lösung 38 mg pro ml entlipidisiertes menschliches Serumalbumin enthielt und einen pH-Wert von 2,5 besass. Ferner setzte man 0,17 g an Zinn-II-Chlorid zu, welches in 1,25 ml einer 12-normalen Chlorwasserstoffsäure gelöst war, sowie ferner 7,9 g an Natriumacetat und 1,33 ml einer wässrigen Lösung von Polysorbat 80 U.S.P., welche 50 mg des Polysorbates pro ml enthielt. Sobald sich das Natriumacetat voll-

ständig gelöst hatte, wurde die Lösung auf 63 bis 65°C erhitzt und unter Mischung bei dieser Temperatur während 30 Minuten belassen. Die so gebildeten Aggregate aus mit zweiwertigen Zinn-Ionen denaturiertem Albumin liess man sich absetzen. Dann wurde das darüber stehende Material entfernt und die Aggregate wurden zweimal in Wasser mit niedrigem Sauerstoffgehalt erneut suspendiert, wobei man eine Ausbeute von 92% der Makroaggregate, bezogen auf das Albumin das in der Lösung vor dem Aggregieren enthalten war, erhielt. Wenn man die Ausbeute auf das ungereinigte, normale menschliche Serumalbumin berechnet, beträgt sie charakteristischerweise 55 bis 70%. Die so hergestellten Aggregate besaßen eine Teilchengrösse von 30 bis 35 µm.

Ein mit ^{99m}Tc-markiertes Präparat aus diesen Aggregaten zeigte eine Aktivitätsverteilung bei Rattenlungen von etwa 98% der injizierten Dosis 15 Minuten nach der Injektion. Diese Aktivitätsverteilung fiel dann bei 24 Stunden auf etwa 2% ab. Diese Ergebnisse zeigen, dass die so erhaltenen Präparate Eigenschaften besitzen, die bei einem Mittel zur Abbildung der Lunge (Abbildung der Lungenperfusion) ausserordentlich wünschenswert sind.