[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl[7]
B01F 17/00
A61K 49/00

[12]发明专利说明书

[21] ZL 专利号 94193813.1

[45]授权公告日 2001 年 10 月 10 日

[11]授权公告号 CN 1072521C

[22]申请日 1994.9.5
[21]申请号 94193813.1
[30]优先权
[32]1993.9.3 [33]GB [31]9318288.9
[86]国际申请 PCT/GB94/01923 1994.9.5
[87]国际公布 WO95/06518 英 1995.3.9
[85]进入国家阶段日期 1996.4.17
[73]专利权人 奈科姆成像有限公司
地址 挪威奥斯陆
[72]发明人 H·达格斯塔德 P·A·弗斯
J·克莱文尼斯 K·雷德弗德
P·隆格维德 R·斯库尔特韦特
[56]参考文献

CN1082924	1994. 2. 2	A61K49/00
CN1084410	1994. 3. 3	A61K49/00
WO9318070	1993. 9.16	C08F8/14

审查员 金泽俭
[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所
代理人 周中琦

权利要求书 2 页 说明书 47 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 造影剂及其应用和制备方法

[57]摘要

本发吸公开了一种造影剂，它包括由不能聚合的成壁嵌段或接枝共聚物表面活 性剂包裹的微气泡。还公开了所述造影剂在成像方面的应用以及制备所述造影剂的方法。本发明造影剂体现出优异的贮存稳定性，而且经施用后在体内有良好 的稳定性和造影效果，在施用后可快速生物降解。

ISSN1008-4274

00·12·26

权　利　要　求　书

1. 一种造影剂，它包括由不能聚合的成壁嵌段共聚物表面活性剂包裹的微气泡，其中共聚物表面活性剂含有一个或多个亲水性区或域和一个或多个疏水性区或域，其中亲水性区或域选自聚糖类、聚醇类、聚乙烯基吡咯烷酮、聚乙二醇和聚氨基酸，其中疏水性区或域选自聚(甲基)丙烯酸酯、聚原酸酯、乙烯基和苯乙烯基聚合物、聚缩醛类、聚酸酐类、聚乳酸类、聚乙醇酸类和它们的醚类和酯类、聚乳酸/聚乙醇酸共聚物，以及含有一个或多个长链脂族基的聚酯基团。

2. 根据权利要求 1 所要求的造影剂，其中共聚物表面活性剂含有一个或多个主要由聚乙二醇单元组成的亲水性区或域。

3. 根据权利要求 1 或 2 所要求的造影剂，其中共聚物表面活性剂含有一个或多个疏水性区或域，该区或域包含含有一个或多个长链脂族基的聚酯基团，所述一个或多个长链脂族基选自含有 10—20 个碳原子的多亚甲基。

4. 根据权利要求 1 所要求的造影剂，其中共聚物表面活性剂是扩链的聚合物。

5. 根据权利要求 1 所要求的造影剂，其中共聚物表面活性剂是生物降解性的。

6. 根据权利要求 1 所要求的造影剂，进一步包括至少一种附加的乳化剂。

7. 根据权利要求 6 所要求的造影剂，含有至少一种选自脂肪酸及其糖酯和三酸甘油酯、磷脂、蛋白质、聚乙二醇和嵌段共聚物的乳化剂。

8. 根据权利要求 1 所要求的造影剂，其中被包裹的气体选自空气、氮气、氧气、氢气、一氧化二氮、二氧化碳、氦气、氩气、六氟化硫和在 37℃下为气态的非必选氟化的烃。

9. 根据权利要求 8 所要求的造影剂，其中包裹的气体是全氟丁烷或全氟戊烷。

10. 根据权利要求 1 所要求的造影剂在诊断成像方面的用途。

11. 根据权利要求 1 所要求的造影剂在诊断超声波成像方面的用途。

12. 根据权利要求 1 所要求的造影剂在磁共振成像方面的用途。

13. 产生人体或非人类的动物体的增强影像的方法，它包括对该体施用权利要求 1 所要求的造影剂并产生该体的至少一部分的超声波或磁共振影像。

14. 制备权利要求 1 所要求的造影剂的方法，它包括让气体与权利要求 1 中定义的不能聚合的成壁嵌段共聚物表面活性剂相互作用以制成该造影剂。

15. 根据权利要求 14 所要求的方法，是在至少一种附加的乳化剂存在下进行的。

00·12·26

说　　明　　书

造影剂及其应用和制备方法

本发明涉及新型的造影剂，尤其涉及用于诊断成像的含气体的造影剂，以及涉及用来制造它们的新型聚合物。

众所周知的是，超声波成像构成了一种有潜在价值的诊断工具，例如在脉管系的研究中，尤其在心动描记法中，和在组织微脉管系统的研究中。曾经推荐了各种造影剂以增强所获得的声像，包括固体颗粒的悬浮液、乳化液滴、气泡和包裹的气体或液体。一般被人们接受的是易压缩的低密度造影剂就它们产生声波反向散射而言特别有效，因而大量的兴趣都表现在含有气体和产生气体的体系的制备。

含有气体的造影介质也已知在磁共振(MR)成像上十分有效，例如作为磁化率造影剂，它的作用是降低MR信号强度。含氧的造影介质也代表了潜在有用的顺磁共振造影剂。

此外，在X—射线成像领域中，已观察到气体如二氧化碳可用作负性口服造影剂。

最初有关心内注射生理上可接受的物质在体内产生游离气泡的研究已表明，这类气泡作为造影剂在超声波心动描记法中有潜在效能；然而，这类技术在实际应用中受到游离气泡寿命短的严重限制。因而，兴趣都表现在超声波心动描记法中稳定气泡的方法和其它超声波研究中，例如，使用乳化剂、油、增稠剂或糖类，或在各种聚合物体系中夹带或包裹气体或其前体，比如作为含气体的聚合物微颗粒。

因而，例如 WO80/02365 公开了明胶包裹的气泡在增强超声波图象时的应用。但是，由包裹涂层的细薄看来，这类微泡在为超声波心动描记法中所优选使用的尺寸(1—10μm)下没有足够的稳定性。

US—A—4774958 公开了通过包裹在变性蛋白质(例如人体血清清蛋白)中而稳定的微泡分散体的应用。这类体系能够形成尺寸为(例如)2—5μm 的微泡体系，但却不能有效地使左心和心肌层显像。这类蛋白质衍生来的试剂的使用还会产生潜在过敏性反应的问题。

EP—A—0327490 尤其披露了一种包含微粒状合成的可生物降解聚合物的超声波造影剂，它含有游离或键合形式的气体或挥发性流体(即沸点低于 60℃)。代表性的合成的可生物降解聚合物包括羟基碳酸的聚酯类，聚氰基丙烯酸烷基酯、聚氨基酸、聚酰胺、聚丙烯酰化糖类和聚原酸酯类。

基于聚合物的醛类的类似性可生物降解微粒状聚合物在 EP—A—0441468 中有叙述，而基于微粒状聚(氨基酸)—聚(环状酰亚胺)衍生物的体系在 EP—A—0458079 中有叙述。

由微粒构成的超声波造影剂在 WO89/06978 中有描述，该微粒由直链淀粉或合成的可生物降解聚合物和气体或挥发性流体组成。

EP—A—0458745 公开了空气或气体填充的微球体，其中包裹材料是可变形的和弹性的界面沉积聚合物，它优选是可生物降解的，例子包括聚糖类、聚氨基酸、聚交酯、聚乙交酯、交酯/内酯共聚物、多肽、蛋白质、聚原酸酯、聚二氧杂环己酮(polydioxanone)、聚—β—氨基酮类、聚磷腈类、聚酸酐类和聚氰基丙烯酸烷基酯。一般由乳液技术制备微球体，使聚合物沉积在挥发性液体的液滴周围，随后蒸发掉液体。此类技术一般要使用表面活性剂，例如卵磷脂、脂肪酸或其与

聚氧化烯化合物如聚氧化乙烯二醇或聚氧亚丙基二醇的酯类，为的是稳定乳液。

普遍认为基于聚合物的造影剂希望是可生物降解的，以便有利于最终从试验主体消失或被试验主体吸收。因而在许多情况下推荐使用诸如聚酯、聚酸酐、聚碳酸酯、聚酰胺和聚氨酯的聚合物，它们是可生物降解的，这是它们的酯基、酰胺基或氨基甲酸酯基对体内酶催水解有敏感性的结果。

在我们的已公开国际专利申请 No. WO93/17718 中，描述了基于聚合物的造影剂，它经设计后具有高的和可控制的体内生物降解水平，这是由于在聚合物中存在以下结构式的亚甲基二酯单元：

$$—(O)_m—CO—O—C(R^1R^2)—O—CO—(O)_n—\qquad (I)$$

（其中 R^1 和 R^2 各自代表氢原子或碳连接的单价有机基或 R^1 和 R^2 一起形成碳连接的二价有机基，m 和 n 各自是 0 或 1）。这类单元可由普通的酯酶非常快速地降解，但在没有酶存在的情况下较稳定。

这些聚合物可配制成含微粒和/或微球的造影剂，例如借助在上述 EP—A—0458745 中所描述的那些乳液技术。一般有必要在这类加工过程中存在分散剂，例如表面活性剂；只要该表面活性剂是生理上可接受的，它可以（如果需要的话）留在最终产物中，例如为了增强造影剂微粒和/或微球在预定的载体介质中的分散性和/或稳定性。

WO92/17212 描述了包含由非蛋白质的交联或聚合的亲水亲油结构部分所包裹的气体或气体前体的微泡的一种基于聚合物的造影剂，如果需要，该结构部分可含有如上所述结构式（I）的亚甲基二酯单元。这些造影剂例如可通过以下步骤制备：将可聚合的两亲物乳化，例如以便获得水包油型乳液，其中挥发性与水不混溶的有机溶剂

被亲水亲油性结构部分包裹(例如以微泡孔的形式),然后使亲水亲油结构部分交联或聚合,以及,如果需要,除去挥发性有机溶剂(例如通过蒸发)。可以认识到,可聚合的两亲物的表面活性使得在这些方法的乳化操作过程中外加表面活性剂的使用成为多余。可聚合的两亲物例如本身可以含有聚合物基团,例如亲水性聚合物基团如聚氧化乙烯链,以及含有可聚合的基团,例如(甲基)丙烯酸或其它可聚合的链烯基或炔基,和疏水性基团如长链烷基。

本发明基于以下发现:基于聚合物的含有气体的造影剂具有许多有利的性能,其中气体微泡由不能聚合的成壁嵌段或接枝共聚物表面活性剂包裹。因此,这些造影剂表现出优异的贮存稳定性,而且经施用后在体内有良好的稳定性和造影效果,在静脉注射施用的情况下通常几个循环通道时也如此;它们经设计在施用后快速生物降解。而且,通过选择嵌段或接枝共聚物的各种区或域的性质和尺寸,有可能影响造影剂的性能如它们的稳定性、分散性、生物性能等。

本发明的造影剂可以方便和容易地直接从嵌段或接枝共聚物表面活性剂制备(例如按下文所述)的这一事实也是有利的。所以,预聚合的成壁共聚物表面活性剂起始原料的使用避免了交联或聚合反应(例如按 WO92/17212 中描述的那样)的需要,及为了使产物在生理上可接受随后从产物除去副产物和/或来自原料如引发剂的残余物的附加需要;直接从聚合物起始原料获得的造影剂还显示出比由交联或聚合反应获得的造影剂更好的结构完整性。而且,作为嵌段或接枝共聚物表面活性剂起始原料的表面活性的结果,有可能不使用外加的表面活性剂/乳化剂,由乳化技术制备本发明的造影剂,但在下文中描述到没有排除这类乳化剂的使用,在本发明的特定实施方案

中还是需要的。

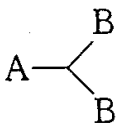
根据本发明的一个方面，提供了一种包含由不能聚合的成壁嵌段或接枝共聚物表面活性剂包裹的微气泡的造影剂。

这里针对共聚物表面活性剂使用的术语“不能聚合的”是指这一物质一般不会进一步聚合，例如在本发明的造影剂的制备或使用过程中。可以认识到，但是在比这类环境更极端的条件下，共聚物表面活性剂能够进一步进行聚合反应。

这里针对共聚物表面活性剂使用的术语“成壁”是指这一物质本身能够相互作用形成一种具有所需完整度的包裹结构，而不需要化学反应如交联或进一步聚合反应来稳定这一结构。此类结构例如可采取固体微粒（例如包含一种或多种包裹了的微气泡）的形式，或采取包裹分散在液体载体中的微气泡的薄膜或膜的形式。

在本发明造影剂中使用的共聚物的表面活性剂的性能一般归因于在共聚物中存在具有不同亲液性的单独的区或域。最常见的是，一个或多个这样的区或域是亲水性的及一个或多个其它的区或域是疏水性，以使共聚物具有亲水亲油性。但是，还有可能使用含有（例如）具有不同程度亲液性的单独的区或域的共聚物。

可用于本发明造影剂中的嵌段共聚物表面活性剂包括具有两个或多个不同亲液性的嵌段的嵌段共聚物，例如按线性二嵌段、三嵌段或多嵌段的排列方式，比如 A－B 型、A－B－A 型、B－A－B 型或 A－B－A－B－A－B 型，其中 A 和 B 是不同亲液性的聚合物嵌段，例如分别是亲水和疏水性嵌段。还可以采取例如以下类型



的支化结构和以下类型

$$\overline{A\ B}$$

的大环结构。

如果需要，一种或另一种嵌段的尺寸可以选择较小一些，为的是获得所需要的亲水/亲油平衡。所以，例如，在含有亲水和疏水嵌段的嵌段共聚的情况下，有利的是选择小尺寸的疏水性嵌段，为的是赋予共聚物水溶性。

一般来说，在存在小尺寸嵌段的情况下，它们可以包括低聚合基团和准聚合基团(包括单体基团)，它可以(例如)显示出聚合物特性(例如存在长链单元的结果)，同时不严格地具有可定义的重复单元。含有此类低聚合或准聚合嵌段的共聚物有时在现有技术中被描述为“扩链的聚合物”。用于本发明造影剂的一类这样的扩链聚合物包括由低聚合或准聚合疏水性区或域连接的亲水性聚合物嵌段。

可用于本发明造影剂的接枝共聚物表面活性剂通常包括一种沿其长度方向有不同亲液性的第二种聚合物支链的第一种聚合物；如果需要，第一种或第二种聚合物可以是嵌段共聚物，在这种情况下该表面活性剂可取名嵌段—接枝共聚物。一种有用类型的接枝共聚物表面活性剂包括沿长度方向有亲水性聚合物支链的疏水性聚合物主链。

本发明的造影剂中的共聚物表面活性剂例如可含有从诸如聚糖、聚醇(例如聚乙烯醇)、聚乙烯基吡咯烷酮、聚乙二醇和聚氨基酸的聚合物衍生而来的亲水性区或域。聚合物如聚原酸酯、聚缩醛、聚酸酐、聚乙醇酸、聚(甲基)丙烯酸和其衍生物如酯类，必要时可被亲

水基取代，也是非常有用的。包含了其中亲水区或域主要由聚乙二醇单元组成的共聚物表面活性剂的造影剂是特别理想的。

亲水性区或域中带电荷基团的存在是非常有利的，由于它们的高度水溶性使得能够使用较小的亲水区或域；这类带电基团之间的相互作用还可以通过抑制聚集而增强共聚物表面活性剂的分散体的稳定性。

在用于本发明造影剂的共聚物表面活性剂中的疏水性区或域例如可以从油溶的缩合物、离子和自由基产生的聚合物形成，例如，聚(甲基)丙烯酸酯、聚原酸酯、乙烯和苯乙烯聚合物、聚缩醛、聚酸酐、聚乙醇酸和其醚和酯，以及聚乳酸/聚乙醇酸共聚物；此类聚合物可引入例如疏水基如烷基、芳烷基或芳基或者被它们取代，以提高它们的疏水性。疏水区或域优选可包括含有一个或多个长链脂族基(例如C_{10-20}多亚甲基)的聚酯链(它可以是低聚合部分或准聚合部分)。

疏水嵌段的尺寸特别影响共聚物表面活性剂的成壁性能，该嵌段具有低的水溶性，例如这些性能是(至少部分地)疏水(嵌段)相互作用的结果。疏水嵌段的物理状态，例如，是否它趋向于形成结晶或无定形结构，及它的硬度和柔软性也是十分重要的。

共聚物表面活性剂的不同的区或域可以被直接连接或通过连接基连接，连接基例如包括多价原子或无机基团或多官能团有机基，比如存在于一个区或域中的单体单元。

正如前面所指出的，基于聚合物的造影剂最好应该是可生物降解性的，为的是有利于它们最终从试验主体中消失或被它吸收。本发明的造影剂因而优选是可生物降解性的，即它包括一种引入了在体内不稳定的基团或键的共聚物表面活性剂。所以，这类共聚物表面活

性剂最好含有酸—不稳定的键，例如在聚原酸酯、聚缩醛、聚酸酐、聚乙醇酸以及其醚类、酯类和聚乳酸共聚物中。显示出生物降解性的其它有潜力应用的共聚物组分包括聚糖、聚氨基酸、聚交酯、交酯/内酯共聚物、多肽、蛋白质、聚二氧杂环己酮、聚—β—氨基酮、聚磷腈、和聚(氰基丙烯酸烷基酯)。

在本发明造影剂中的特别有用的一类共聚物表面活性剂含有酶催生物降解性亚甲基二酯基，例如以上所定义的结构式(Ⅰ)的基团。此类基团的例子在所述已公开的国际专利申请 WO92/04392 和 WO93/17718 中有描述，它们的内容引入本文供参考。

在结构式(Ⅰ)的这类单元中，R^1 和 R^2(当不是氢时)，例如可以各自代表碳连接的烃基或杂环基(例如具有 1—20 个碳原子)，例如脂族基如烷基或链烯基(优选具有至多 10 个碳原子)、环烷基(优选具有至多 10 个碳原子)、芳脂族基如芳烷基(优选具有至多 20 个碳原子)、芳基(优选具有至多 20 个碳原子)或具有至多 20 个碳原子和一个或多个选自 O、S 和 N 的杂原子的杂环基。这类烃基或杂环基可带有一个或多个官能基，如卤素原子或通式—NR^3R^4、—$CONR^3R^4$、—OR^5、—SR^5 和—$COOR^6$ 的基团，基中 R^3 和 R^4 各自是氢原子、酰基或如 R^1 和 R^2 定义的烃基；R^5 是氢原子、酰基或 R^1 和 R^2 定义的基团；及 R^6 是氢原子或 R^1 或 R^2 定义的基团。当 R^1 和 R^2 代表二价基时，例如可以是 α,α—亚烷基、α,α—亚链烯基、α,ω—亚烷基或 α,ω—亚链烯基(优选具有至多 10 个碳原子)，它可以带一个或多个如上定义的官能基。

优选的一类结构式(Ⅰ)单元包括其中 R^1 和 R^2 各自选自氢原子和甲基的那些，例如其中 R^1 代表氢原子和 R^2 代表甲基的那些。

如果需要，成壁聚合物的性能可以按照在EP－A－0458745中所描述的那样由软化剂或增弹剂改性。

在本发明的造影剂中可使用任何生物相容性气体，例如空气、氮气、氧气、氢气、一氧化二氮、二氧化碳、氦、氩、六氟化硫及低分子量的任意被氟化的烃类如甲烷、乙炔或四氟化碳。使用全氟链烷烃如全氟丁烷或全氟戊烷是理想的。气体可以在由共聚物表面活性剂形成的包裹结构内以游离的形式存在或者可以夹带在包裹结构内的内含结构中。可以想到，本文使用的术语"气体"包括在人体温度37℃下是气体形式的任何物质。

如果需要，本发明的造影剂可引入一种或多种附加乳化剂，例如可以选自脂肪酸（例如直链饱和或不饱和脂肪酸，例如含有10—20个碳原子）和其糖酯和甘油三酸酯、磷脂（例如卵磷脂）、蛋白质（例如清蛋白，如人体血清清蛋白）、聚乙二醇和嵌段共聚物（例如，聚（氧乙烯）—聚（氧丙烯）—聚（氧乙烯）嵌段共聚物如Pluronics）（包括扩链聚合物）。嵌段共聚物乳化剂例如可具有与用作成壁聚合物表面活性剂的嵌段共聚物类似的总体组成，但因例如在亲水和疏水嵌段之间的不同比率，而显示出不同的亲水/亲油平衡。

如果需要，本发明的微粒状造影剂例如可涂覆一种或多种涂料如聚乙二醇、蛋白质或多糖，例如为了改善它们的聚集趋势和/或生物性能。

本发明的造影剂可用于各种诊断成像技术，包括超声波、MR和X—射线成像。它们在诊断超声波成像和在MR成像中的应用（例如作为磁化率造影剂）构成了本发明的优选特征。

对于超声波应用如超声波心动描记法，为了可以自由通过肺系

统和与优选的约 0.1—15MH_z 的成像频率获得共振，比较方便的是使用平均尺寸为 0.1—10μm(例如 1—7μm)的微泡。然而，非常大的泡(例如平均尺寸高达 500μm)在其它应用中很有用，例如胃肠成像或子宫或输卵管的研究。

本发明的微粒状造影剂例如可以干燥形式贮存和运输，在这一条件下一般是长时期稳定的，施用前与合适的载体(例如注射用的消毒水、生理盐水或磷酸盐缓冲液)混合。这样，以注射或其它方式施用的造影剂的浓度可以随意改变，这取决于预定应用的准确性质。本发明的造影剂还能以在这类载体中的悬浮液形式贮存，尤其当聚合物包裹膜的孔隙度较低时，和/或被包裹的气体在载体液中溶解度低时。

本发明的造影剂可由任何方便的方法制备。这些方法(它一般涉及让气体与不能聚合的成壁嵌段或接枝表面活性剂相互作用以便产生所需要的造影剂)构成本发明的又一特征。

用来制备由聚合物材料的壁或膜包裹的物质的代表性微囊包封技术已经在文献如"Microencapsulation and Related Drug Processes"(P. D. Deasy 著，Marcel Dekker Inc. New York (1984))中有描述。

本发明的造影剂可方便地由聚合物技术领域中已知的乳液技术来制备。这些方法一般包括(i)产生包含亲水相和疏水相的乳液，其中共聚物表面活性剂优先溶于乳液的被分散相或分布于这两种相之间的界面处和(ii)从乳液获得所需要的造影剂。可产生单重或多重乳液；在后一情况下，共聚物表面活性剂希望优先溶于或分布于最细的(即最内部的)被分散相的界面处。代表性的多重乳液技术在

WO93/17718 中有描述。

选择共聚物表面活性剂起始原料的亲水/亲油平衡，以得到适合于特殊形式的乳液加工的共聚物。所以，例如，油溶性共聚物表面活性剂使用水包油型乳液的处理方式是比较理想的。还可能使用水包油型乳液处理具有一定水溶性的共聚物表面活性剂，其中水溶性嵌段能够产生强烈的相互吸引作用，足够迟缓溶解的动力学速度，以便在水存在下充分地形成微粒；还可以使用油包水型乳液和使用具有一定油溶性的共聚物表面活性剂，采取类似的措施。

若希望使用那些可分布在相界面处的共聚物表面活性剂（例如以膜或单独的相的形式），使用能够聚集成液晶结构的共聚物表面活性剂是十分有用的，例如作为层状相、六方形或反六方形相、立方相、或者共聚物表面活性剂与其它组分混合的液相或固相。

根据本发明方法的这一方面产生的乳液的疏水相例如可包括与水不混溶的有机溶剂如脂族、环脂环或芳脂族烃（例如含有至多 10 个碳原子），例如正辛烷、环辛烷、二甲基环己烷、乙基环己烷、甲基庚烷、乙基己烷、甲苯、二甲苯或萜烯、萜类化合物或类异戊二烯如茨烯或 1,8 一萜二烯；卤代烷烃如二氯甲烷、氯仿、四氯化碳、甲基溴或氟里昂；酯类如乙酸乙酯或丙酯、甲酸丁酯或丁酸（或异丁酸）丙酯（或异丙酯）；或合适的醚或其它亲油性溶剂。

这一乳液例如通过使用常规的技术来制备，比如搅拌、声波处理、机械搅拌（优选高速搅拌）或其它形式的混合（例如高剪切混合），共聚物表面活性剂最好预先溶于将成为被分散相的物质。可以知道，诸如搅拌速度的因素会影响最终制得的被包裹微泡的尺寸；所以，例如，较快的搅拌趋向于获得较小的微泡。

本发明这一方法的一个有用的实施方案包括产生单重或多重乳液，其中共聚物表面活性剂优先被分布于两相之间的(如果合适，在最内部)界面处，以及除去被分散相或两相，例如通过蒸发、喷雾干燥或更优选地冻干，从而产生所需要的微粒状造影剂。乳液，它例如可以是水包油型、油包水型或油包水—水包油型乳液，优选被冻干或另外在将被引入造影剂的气体的氛围下进行处理，如果需要，在减压下进行。如果需要，在乳化过程中可使用乳化剂如脂肪酸和酯类、磷脂、蛋白质、聚乙二醇和嵌段共聚物(例如，如上所述的那些)。

如果在此方法中只除去分散相，微粒可以通过例如浮选或过滤方法从分散相中回收。

在另外的方法中，共聚物表面活性剂在合适的质子惰性极性有机溶剂(例如亚砜，如二甲亚砜、环醚如四氢呋喃或N,N—二取代酰胺如二甲基甲酰胺)中的溶液与含水相(例如使用高速搅拌器)混合，以沉淀聚合物材料，可将它收集和冻干获得本发明的微粒状造影剂。含水相优选含有聚合物材料如聚乙烯醇或poloxamer(例如Pluronic即环氧乙烷—环氧丙烷嵌段共聚物)。此类技术在上述EP—A—0458079中有描述。

又一种方法，包括将共聚物表面活性剂在合适的有机溶剂中的溶液注入到液氮中；如果需要，该溶液还可含有添加剂如羟丙基纤维素。另外，共聚物表面活性剂可溶于合适的溶剂或被分散在例如水包油型、油包水型或多重乳液中，该溶液或乳液喷雾干燥(例如，按EP—A—0514790中所述那样。)

凝聚技术(例如在本技术领域中已知的)也可用来制备本发明的造影剂。

本发明的造影剂还可通过选择具有良好成膜性能(是它们亲水/亲油平衡的结果)的共聚物表面活性剂和分子大小来制备,从而有能力自己组织成胶束或微脂粒状结构。此类共聚物表面活性剂可用来制备片状或层状两亲物的溶液或分散体,再用来产生含有气体的泡,如 WO91/15244 中所述。共聚物表面活性剂与磷脂(以及合成的生物降解的一种共聚物表面活性剂的磷脂衍生物,例如按照由 Laschewsky 等人在 J. Am. Chem. Soc. 109 (1987),P 788 中所描述的那样)的混合物,任意性地引入增溶剂或增粘剂如甘油、丙二醇、葡萄糖或乳糖,还可用来制备一种产生回波的(echogenic)泡,例如按照在 EP—A—0554213 中的描述。

在本发明方法的再一种派生形式中,制备一种液体包裹气体的乳液,其中被分散相包括被包裹的气体和其中共聚物表面活性剂优先溶于液体连续相中,从而产生包括气体微泡(由包裹共聚物表面活性剂稳定)的分散体的一种造影剂。在这一方法的优选实施方案中,气态分散相是疏水性全氟烷烃如全氟丁烷或全氟戊烷,分散相是水溶性共聚物表面活性剂(例如扩链的聚合物)的水溶液。

用来制备本发明造影剂的共聚物表面活性剂例如可通过现有技术中已知的方法来制备,如按照由 Irja Piirma 在"聚合物表面活性剂"(Surfactant Science Series Vol. 42 — Marcel Dekker, New York, 1992)中所描述的那样。所以,例如嵌段共聚物可由诸如活性端基方法、阴离子聚合方法、阳离子聚合方法或预聚物的缩合等技术来制备。接枝共聚物例如可由在可聚合基团上有在一端终结的聚合物的一种大单体与第二种单体进行共聚合或由"接枝到"或"从…接枝"方法制得。合适的嵌段和嵌段—接枝共聚物由 D. C. Allport 和

W. H. Janes 在"Block Copolymers"(Applied Sciences Publishers Ltd. London 1973)中进行过描述。

共聚物表面活性剂的亲水/亲油平衡由一些因素决定，如构成不同嵌段的聚合物的性质和(例如)亲水和疏水嵌段的总体积之间的相对比例。所以，选择这一平衡，可得到适合于特殊形式的乳液处理的聚合物，如上所述。

含有上文所定义的通式(Ⅰ)的生物降解性连接基的嵌段和接枝共聚物表面活性剂本身是新颖的，因而构成了本发明的进一步的特征，对于包括此类共聚物表面活性剂的乳液也是如此，例如包括不同亲液性的相的乳液，其中共聚物表面活性剂被优先溶于其分散相或分布于这些相之间的界面处。最常见的是，这些相分别是亲水性相和疏水性相，尽管共聚物表面活性剂也可用来稳定不混溶油类的油包油型乳液。

本发明的新型共聚物表面活性剂例如可含有代表性的或优选的原子/基团 R^1 和 R^2 以及如前所述的亲水性和疏水性区或域。生物降解性连接基团例如包括以下通式的单元：

$$—(CH_2)_a—(O)_m—C(O)—O—C(R^1R^2)—O—CO—(O)_n—(CH_2)_b—$$

(Ⅱ)

(其中 R^1、R^2、m 和 n 如前面所定义，及 a 和 b 各自是 1—30 之间的整数，优选 10—18 之间的整数)。

根据本发明这一实施方案的优选的共聚物表面活性剂是嵌段共聚物，包括扩链的聚合物。除了它们用作制备本发明造影剂的起始原料之外，含有通式(Ⅰ)的生物降解性连接基团的这些新型的嵌段共聚物表面活性剂可具有大范围的其它用途，例如类似于已知的嵌段

共聚物表面活性剂(例如参见 Encyclopedia of Polymer Science Vol. 2 pp412—434 —John Wiley and Sons, New York (1985))。

所以,本发明的嵌段共聚物表面活性剂在许多应用中找到用处,比如:食品,例如在油包水型乳液中如蛋黄酱和人造黄油和在水包油型乳液中如合成牛奶和冰淇淋;油漆、涂料和浸渍剂,例如作为颜料的分散剂或作为使材料如纸张或纸板具有耐水性或光泽等性能的生物降解性涂料;化妆品,例如保湿霜和美容品;洗涤剂,例如供一般性洗涤和清洗如用在洗衣中,或用于浮油的分散;相转移催化剂;药物配制剂,例如作为药物(包括水不溶性药物)的分散剂、增溶剂、胶凝剂和乳化剂;药物释放体系,例如作为载体(包括胶束载体)以促进药物的定位释放和/或缓释,如果合适的话,伴随减少毒副作用;外科材料,如植入物、绷带、粘合剂等,如受控释放植入物,骨折固定用植入物,筋和韧带代用物、生物降解性绷带、受控释放的绷带、缝线、受控释放霜和膏、粘合剂和骨胶接剂;颗粒涂料,例如使活性治疗剂对准所需部位如淋巴系统;医学装置的涂层,例如提高蛋白质耐受性;织物,例如作为抗静电剂;热塑性弹性体(与传统的非熔融可加工的交联弹性体相反),它可用来通过热加工制造缓慢生物降解的代用人体部件如血管;生物降解性透明包装膜,其中聚合物嵌段的域尺寸小于可见光波长;聚合物性能改性剂,例如作为另一种聚合物基料中的分散颗粒,例如以改进其断裂性质;自润滑材料,例如其中生物降解作用产生低分子量化合物,它提供润滑效果;聚合物共混物的配相容剂,例如为了促进一种聚合物在另一种聚合物中的分散作用(共聚物表面活性剂的生物降解性可用来促进其它较稳定的聚合物共混物的降解);显示出选择性输运特性的分离膜,例如作为伤口涂覆剂,允许

气体输送至伤口但隔绝脏物和防止感染；防污涂料，例如，使自表面的连续的受控生物降解作用阻止器官的粘合，任意性地引入第二毒性组分，以便通过其受控释放提供进一步的保护；发泡材料，例如用来分散发泡剂或产生生物降解性的泡沫体，该泡沫体用来将细胞引入例如骨髓、胰脏、肝和软骨移植物中；消泡剂，例如用于机器洗碟和甜菜工业；以及用于制造水凝胶，例如用于药物或农用化学品的控制释放，用于化妆品和化妆用品，和作为高吸附性材料，例如用于尿布或溢漏液容器。

下面的非限制性实施例是为了说明本发明。

缩写表

AIBN： 2,2'—偶氮二异丁腈

DMF： N,N—二甲基甲酰胺

DBU： 1,8—二氧杂双环〔5.4.0〕十一碳—7—烯(1,5—5)

GPC： 气相色谱

$MgSO_4$ 硫酸镁

Mp： 熔点

PEG： 聚乙二醇

THF： 四氢呋喃

SEC： 尺寸筛析色谱法

Mw： 重均分子量

Mn： 数均分子量

实施例1—中间体和预聚物的制备

a)亚甲基双(16—羟基十六烷酸酯)

在室温下向16—羟基十六烷酸(15.0g,0.055mol)在DMF中

的溶液添加DBU(8.65g,0.55mol)。在搅拌5分钟后,添加二碘甲烷(7.37g,0.028mol)。混合物在室温下搅拌保持2天。在减压下蒸发DMF,通过添加氯仿(100ml)和水(50ml)将残余物溶解。在将两相分离之后,水层用氯仿(3×100ml)萃取,并干燥合并的有机相($MgSO_4$)。在减压下除掉溶剂,残余物从乙酸乙酯重结晶得到10.17g(65%)白色固体形式的标题产物。Mp:96.2℃。

^{1}HNMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 1.2-1.4 (m, 44H), 1.5-1.6 (m, 8H), 2.35 (t, 4H), 3.64 (t, 4H), 5.75 (s, 2H).
^{13}CNMR (75MHz, $CDCl_3$): δ 24.43, 25.55, 28.81, 29.42, 32.63, 33.80, 62.91, 78, 172.20.

b)氯化酰基终端的聚甲基丙烯酸甲酯1000

酸终端的聚甲基丙烯酸甲酯由匹配的链转移聚合反应合成。2—乙氧基乙醇(160g)加热至120℃。经1.5小时向它添加由2—乙氧基乙醇(80g)、甲基丙烯酸甲酯(160g,1.6mol),巯基乙醇酸(14.4g,0.156mol)和4,4'—偶氮双(4—氰基戊酸)(14.4g,0.1mol)组成的混合物。在冷至室温之前反应在120℃下进一步进行0.5小时。聚合物沉淀到冷氯化钠溶液(5%W/V)中。聚合物反复从热甲醇沉淀入冷蒸馏水中(3次)而得以提纯。端基分析得到数均分子量910道尔顿。将酸终端的聚甲基丙烯酸甲酯(105g,0.115mol)溶于干燥甲苯(300ml)中。溶液被冷至0℃,缓慢添加草酰氯(15g,0.118mol)。让反应升温至室温,然后在减压下除掉多余的草酰氯,得到标题产物。

c)α—甲基丙烯酰基—ω—甲氧基(PEG)2000

将干燥α—羟基—ω—甲氧基PEG2000(6.40g,3.20mmol)溶

于 THF(160ml)，并将溶液冷至 10℃。用 THF(4ml)稀释吡啶(0.38g，4.78mmol)，并在干氮气气氛下加入到该溶液中。甲基丙烯酰氯(0.50g，4.78mmol)稀释在 THF(12ml)中并滴加到溶液中。温度逐渐升至室温，混合物在搅拌下保持 24 小时，过滤反应混合物，在减压下除掉残余的氯化酰基和溶剂。残余物溶于 THF，通过添加乙醚沉淀，得到 4.50g(68%)标题产物。

d)双金属 μ—氧代烷氧化物催化剂：$Zn\{OAl[OCH(CH_3)_2]_2\}_2$

按照 US—A—3432445 的方法，将无水乙酸锌(23.00g，125.4mmol)加入到异丙氧基铝(51.20g，250.7mmol)在十氢萘(130ml)中的溶液中。混合物在氮气气氛下搅拌升温至 190℃，让反应进行 3 小时，在此过程中在沸程 73—88℃内收集到 20ml 蒸馏物。然后在减压下于 160—180℃除掉十氢萘。将产物，树脂状桔红色固体，溶于蒸馏过的正庚烷中，溶液离心处理，除掉任何残余的固体。通常的制备得到低收率，Al 和 Zn 含量的分析得到 Al/Zn 摩尔比 1.98。

e)α，α—亚乙基双〔16—(5—氯羰基戊酰氧基)十六烷酸酯〕

在装有回流冷凝器、导气玻璃管和等压滴液漏斗的三颈圆底烧瓶中加入新近蒸馏过的、已溶于无水氟仿(15ml)中的己二酰氯(2.60ml，17.50mmol)。温度升至约 50℃，向溶液通入缓和的氮气流，然后滴加 α，α—亚乙基双(16—羟基十六烷酸酯)(1.0g，1.75mmol)在无水氟仿(30ml)中的溶液，加料后在这一温度下进一步保持 3 小时。混合物然后冷至室温，快速转移至为减压蒸馏备装的 50ml 圆底烧瓶中，首先在常压下蒸出氟仿，然后，造成油泵真空，在约 75℃、5 毫巴压力下蒸出过量的己二酰氯，留下残余的标题化合物(1.56g)。

f)16—十六烷酰氧基十六烷酸

将16－羟基十六烷酸(5.43g，19.9mmol)溶于四氢呋喃(190ml)中，加入吡啶(2.36g，29.9mmol)。将棕榈酰氯(5.48g，19.9mmol)溶于四氢呋喃(10ml)，然后在室温下滴加进去。在室温下搅拌16小时之后，过滤混合物，滤液在减压下蒸发。将残余物溶于氯仿，用水洗涤(3×50ml)，干燥有机相($MgSO_4$)。在减压下蒸馏后，残余物在硅石柱上提纯，用氯仿与渐增浓度(从甲醇在氯仿中的浓度1%至2%)的甲醇洗脱，得到8.41g(83%)的标题化合物。

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 0.85 (t, 3H, CH_3), 1.20-1.35 (s, 46H, $-CH_2-$), 1.55-1.70 (m, 6H, $-CH_2-$), 2.25 (t, 2H, $-CH_2-C(O)-O$), 2.45 (t, 2H, $-CH_2-$COOH), 4.05 (t, 2H, $-O-CH_2$). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 14.01, 22.57, 24.10, 24.91, 25.82, 28.53, 28.75, 28.94, 29.08, 29.15, 29.25, 29.36, 29.54, 31.81, 34.29, 35.16, 64.27, 76.48, 76.90, 77.10, 77.32, 169.50, 173.91.

g)16－十六烷酰氧基十六烷酰氯

将按以上(f)那样制备的16－十六烷酰氧基十六烷酸(7.73g，15.13mmol)溶于四氢呋喃(140ml)中，滴加草酰氯(4.80g，37.83mmol)。混合物在室温下搅拌3天，然后在减压下蒸发溶剂和未反应的草酰氯，得到8.0g(100%)的标题化合物。

h)16－羟基十六烷酸1－〔16－(16－十六烷酰氧基十六烷酰氧基)－十六烷酰氧基乙基酯

将α，α－亚乙基双(16－羟基十六烷酸酯)(4.38g，7.67mmol)溶于THF(80ml)中，添加吡啶(0.61g，7.71mmol)。将十六烷酰氧基十六烷酰氯(4.18g，7.90mmol)溶于THF(20ml)，并滴加进去。在室

温下保持3天之后，过滤混合物，滤液在20℃下保持2小时。过滤所沉淀的产物，由急骤层析法提纯（硅胶，氯仿）得到2.4g（29%）的标题化合物。^1H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 0.85 (t, 3H, CH_3), 1.2-1.4 (s, 90H, $-CH_2-$), 1.45 (d, 3H, $-O-CH(CH_3)-O-$), 1.5-1.7 (m, 14H, $-CH_2-$), 2.25 (m, 8H, $-CH_2-C(O)-O-$), 3.60 (t, 2H, $-CH_2-OH$), 4.05 (t, 4H, $-C(O)-O-CH_2-$), 6.85 (q, 1H, $-O-CH(CH_3)-O-$). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 13.7, 19.1, 22.2, 24.2, 24.6, 25.2, 25.5, 28.2, 28.5, 28.7, 28.8, 29.0, 29.2, 31.5, 32.3, 33.7, 34.0, 62.5, 64.0, 88.0, 171.5, 173.5.

i）甲氧基封端的PEG的制备

典型聚合物（MeO—PEG2000）的制备

通过小心地在惰性气氛下将金属钾（0.400g，10.23mmol）加入到甲醇（1.300g，40.57mmol）中制备引发剂溶液。将这一引发剂溶液（0.220g，1.32mmol 甲氧基钾）注射到含有环氧乙烷（10.000g，227.00mmol）的安瓿中。密封的安瓿在室温下放置过夜。然后升温至60℃，反应进行72小时。在除去未反应的单体之后，将安瓿内容物溶于二氯甲烷，溶液用稀盐酸溶液中和。用蒸馏水洗涤聚合物溶液3次。旋转蒸发，然后真空干燥。MeO—PEG聚合物的确定。^1H—NMR：δ2.7（OH），3.2（OCH_3），3.5（$-CH_2-$主链），3.4（$-CH_2OCH_3$）。^{13}NMR：δ58.5（$-OCH_3$），61.2（$-CH_2OH$），70.5（$-CH_2-$主链），71.3（$-CH_2OCH_3$），72.2（$-CH_2CH_2OH$）。记录GPC结果（在THF中），分子量校正由PEG标准物进行。典型样品的GPC数据：Mp：2679，Mn：2012，Mw：2283。多分散性：1.135。

j)甲氧基PEG氯甲酸酯的一般操作程序

PEG2000单甲醚(6.00g，3.00mmol)溶于甲苯(50ml)中，在迪安—斯达克榻装置中回流进行干燥。在室温下加入吡啶(0.24g，3.00mmol)。将氯甲酸三氯甲酯("双光气")(0.60g，3.00mmol)溶于甲苯(10ml)，并滴加进去。混合物在室温下搅拌12小时，接着过滤。在减压下蒸发溶剂，以定量收率得到标题化合物。

实施例2—嵌段和接枝共聚物的制备

a)亚甲基双(16—羟基十六烷酸酯)& 己二酰氯—嵌段—PEG5000的PEG5000—嵌段—聚酯

将亚甲基双(16—羟基十六烷酸酯)(0.56g，1.0mmol)和干燥的数均分子量为5000的α—甲氧基—ω—羟基PEG(0.5g，0.1mmol)溶于二甲苯/三氯乙烯(80：20，100ml)的混合物中，并加热至60℃。添加己二酰氯(0.192g，1.05mmol)。混合物在中，混合物减压下和60℃下回流24小时。聚合物于4℃从二甲苯/三氯乙烯(80:20)分级沉淀得以回收。产物由SEC显示Mn为3800和Mw为8000(聚苯乙烯当量)。

b)亚甲基双(16—羟基十六烷酸酯)& 己二酰氯—嵌段—PEG2000的PEG2000—嵌段—聚酯(方法1)

将亚甲基双(16—羟基十六烷酸酯)(0.56g，1.0mmol)和干燥的数均分子量为2000的α—甲氧基—ω—羟基PEG(0.0572g，0.0286mmol)溶于二甲苯/三氯乙烯(80：20，100ml)的混合物中，并加热至60℃。添加己二酰氯(0.186，1.014mmol)。混合物在减压下和60℃下回流24小时。聚合物于4℃从二甲苯/三氯乙烯(80：20)分级沉淀得以回收。产物由SEC显示Mn为3400和Mw为12700(聚

苯乙烯当量)。

c)亚甲基双(16－羟基十六烷酸酯)& 己二酰氯－嵌段－PEG2000 的 PEG2000－嵌段－聚酯(方法 2)

将亚甲基双(16－羟基十六烷酸酯)(0.56g，1.0mmol)溶于二甲苯/三氯乙烯(80：20，100ml)的混合物中，并加热至 60℃。添加己二酰氯(0.201，1.1mmol)。混合物在减压下和 60℃下回流 35 分钟。将干燥的数均分子量为 2000 的 α－甲氧基－ω－羟基 PEG(0.4g，0.2mmol)添加到反应混合物中，混合物在减压下和 60℃下回流 24 小时。聚合物于 4℃从二甲苯/三氯乙烯(80：20)分级沉淀得以回收。产物由 SEC 显示 Mn 为 5200 和 Mw 为 17500 的(聚苯乙烯当量)。

d)聚甲基丙烯酸甲酯 1000 和 PEG2000 的二嵌段共聚物

将数均分子量为 2000 的 α—羟基－ω—甲氧基 PEG(40g，0.02mmol)溶于甲苯并用分子筛 4Å 干燥。向它添加在实施例 1(b)中所制备的氯化酰基终端的聚甲基丙烯酸甲酯(20g，0.02mol)在甲苯中的溶液。混合物回流 24 小时。通过用石油醚(40－60)沉淀分离聚合物。经过离子交换(IRA－400，Fisons)，溶于水中，加热到共聚物的浊点以上和渗析(三次)，提纯聚合物。所得产物最终溶于甲苯，用石油醚(40－60)沉淀得到白色粉末形式的标题产物。

e)聚甲基丙烯酸甲酯 1000 和 PEG4000 的二嵌段共聚物

将数均分子量为 4000 的 α－羟基－ω—甲氧基 PEG(80g，0.02mmol)溶于甲苯并用分子筛 4Å 干燥。向它添加在实施例 1(b)中所制备的氯化酰基终端的聚甲基丙烯酸甲酯(20g，0.02mol)在甲苯中的溶液。混合物回流 24 小时。通过用石油醚(40－60)沉淀分离聚

合物。经过离子交换(IRA－400,Fisons),溶于水中,加热到共聚物的浊点以上和浅析(三次),提纯聚合物。所得产物最终溶于甲苯,用石油醚(40－60)沉淀得到白色粉末形式的标题产物。

f)聚甲基丙烯酸甲酯－接枝－PEG2000

将按照实施例1(c)合成的、数均分子量为2000的α－甲基丙烯酰基－ω－甲氧基PEG(0.50g,0.25mmol)和AIBN(2mg,0.012mmol)溶于THF(3.0ml)中,并通过重复冷冻、抽真空和熔化循环(4次)来脱气。甲基丙烯酸酯(0.5ml,4.7mmol)直接蒸馏到安瓿中,并将安瓿密封。在60℃的油浴中聚合22.75小时。

通过用石油醚(40－60)沉淀来回收聚合物,然后通过溶于少量THF中并加入到水(200ml)中来提纯。升温至60℃以上,聚合物脱离溶液。在减压下干燥标题产物。

g)PEG和聚(亚甲基－双(16－羟基十六烷酸酯))加己二酰氯(1∶3∶4)的多嵌段共聚物

1)聚酯的制备

将亚甲基－双(16－羟基十六烷酸酯)(1.392g,2.50mmol)溶于二甲苯/三氟乙烯混合物(80∶20)中,升温至60℃。添加己二酰氯(0.610g,3.33mmol)。混合物在减压和60℃下回流4小时。

2)嵌段的偶联得到多嵌段共聚物

将干α,ω－二羟基PEG1500(1.25g,0.833mmol)添加到上面的反应混合物中。继续在减压下回流2天。通过减压干燥回收聚合物。残余物溶于二氯甲烷并从甲醇沉淀。SEC显示产物的Mn为5600和Mw为9400(聚苯乙烯当量)以及证明没有存在PEG均聚物。^{1}HNMR表明形成了嵌段共聚物,其中聚酯与聚环氧乙烷的摩尔

组成为 2.6：1。

h)PEG2000 和聚乳酸 2000 的二嵌段共聚物

将 α—羟基—ω—甲氧基 PEG2000(10.0g,5.0mmol)溶于甲苯(300ml),并通过在迪安—斯达克榻分水器中回流 12 小时加以干燥。添加聚乳酸(Resomer L—104,分子量 2000)(1.0g,0.5mmol)和对甲苯磺酸一水合物(2mg,0.001mmol)。混合物经迪安—斯达克榻回流三天之后,在减压下除掉溶剂,残余物用水洗涤并过滤。

i)亚甲基双(16—羟基十六烷酸酯),己二酰氯和 α—羟基—ω—甲氧基 PEG2000 的嵌段共聚物

将亚甲基双(16—羟基十六烷酸酯)(8.0g,14.37mmol)溶于二甲苯/三氯乙烯混合物(4：1)(250ml)中,升温至 60℃。滴加己二酰氯(新近蒸馏过的)(2.92g,15.97mmol),混合物在真空(100 毫巴)和 60℃下回流 5 小时。将溶于甲苯(58ml)的干燥 α—羟基—ω—甲氧基 PEG2000(6.39g,3.19mmol)与三氯乙烯(14ml)一起加进去。混合物在真空(100 毫巴)和 60℃下再回流 14 小时。在冷至室温和在冷藏箱中沉淀之后,过滤混合物。沉淀物溶于氯仿,再次从己烷沉淀,然后从甲醇沉淀两次。将一部分粗产物(4.25g)溶于氯仿并再次从甲醇沉淀得到标题化合物(3.78g)。

^{1}H NMR 200 MHz δ: 1.3 (s, CH_2), 1.5-1.7 (m, CH_2), 2.2-2.4 (m, CH_2CO), 3.6 (s, OCH_2CH_2O), 4.0-4.1 (m, CH_2O), 5.7 (s, OCH_2O). SEC: Mp=21,191; Mn=5,571; Mw=21,079 (聚苯乙烯当量)

j)亚甲基双(16—羟基十六烷酸酯),己二酰氯和 α—羟基—ω—甲氧

基 PEG2000 的嵌段共聚物。

将亚甲基双(16—羟基十六烷酸酯)(7.50g,13.47mmol)溶于二甲苯/三氯乙烯(4：1)(235ml)中并升温至 70℃。滴加己二酰氯(新近蒸馏过的)(2.74g，14.97mmol)，混合物在 70℃。滴加乙二酰氯(新近蒸馏过的)(0.73g,3.99mmol)，混合物在 70℃和真空(100 毫巴)下回流 5 小时。将溶于甲苯(53ml)的干燥 α—羟基—ω—甲氧基 PEG2000(5.99g,2.99mmol)与三氯乙烯(13ml)一起加进去。混合物在真空(100 毫巴)下再回流 40 小时。在冷至室温和在冷藏箱中沉淀之后，过滤出聚合物。将沉淀物溶于氯仿并再次从己烷沉淀和然后再次从甲醇沉淀。一半的粗产物由急骤层析法提纯(硅石，洗脱液：氯仿与浓度逐步增加(从 0—5%)的甲醇)得到标题化合物(1.50g)。

^{1}H NMR 300 MHz δ: 1.23 (s (br), CH_2), 1.57-1.65 (m, CH_2), 2.31-2.36 (m, CH_2CO), 3.37 (s, CH_3O), 3.63 (s, OCH_2CH_2O), 4.01-4.06 (m, CH_2O), 5.73 (s, OCH_2O). SEC: Mp=13,313; Mn=6,357; Mw=12,351, (聚苯乙烯当量)

k)α,α—亚乙基双(16—羟基十六烷酸酯)，己二酰氯和 α—羟基—ω—甲氧基 PEG2000 的嵌段共聚物

将 α,α—亚乙基双(16—羟基十六烷酸酯)(2.00g，3.50mmol)溶于二甲苯/三氯乙烯(4：1)(70ml)并升温至 70℃。滴加己二酰氯(新近蒸馏过的)(0.73g,3.99mmol)，混合物在 70℃和真空(100 毫巴)下回流 6 小时。将溶于甲苯(15ml)的干燥 α—羟基—ω—甲氧基 PEG2000(1.72g，0.86mmol)与三氯乙烯(3ml)一起滴加。混合物在真空(100 毫巴)下回流另外的 40 小时。在冷至室温和在冷藏箱中沉

淀之后，过滤出聚合物。将沉淀物溶于氯仿并由急聚层析法提纯(硅石，洗脱液：氯仿与0.75%甲醇)得到标题化合物(0.42g)。

^{1}H NMR 300 MHz δ: 1.24 (s (br), CH_2), 1.44 (d, CH_3-CH), 1.59-1.64 (m, CH_2), 2.26-2.31 (m, CH_2CO), 3.37 (s, CH_3O), 3.64 (s, OCH_2CH_2O), 4.04 (t, CH_2O), 6.85 (q, CH). SEC: Mp=12,410; Mn=3,830; Mw=8,715 (聚苯乙烯当量)

1—r)二嵌段共聚物的制备：一般操作过程

通过顺序聚合环氧乙烷(EO)与己内酯(CPL)，聚合环氧乙烷与丙交酯(LD)，和聚合环氧乙烷与己内酯和丙交酯来制备二嵌段共聚物。该聚合反应由按照在实施例1(d)中所制备的双金属μ—氧代烷氧基化物催化。

将干燥溶剂、甲苯或四氢呋喃蒸馏到焰烧过的玻璃安瓿中。环氧乙烷经氢化钙干燥，并在高真空度下冷凝到该玻璃安瓿中。通过在氮气气氛下注射入该玻璃安瓿中来添加合适用量(能得到所需长度的环氧乙烷嵌段)的催化剂。密封安瓿，升温至60℃，让反应进行24小时。接着在氮气气氛下，通过注射合适的用量，将溶于四氢呋喃的己内酯、丙交酯或己内酯和丙交酯混合物添加进安瓿。安瓿升温至60℃并保持24小时，然后通过添加异丁基胺终止聚合反应。聚合物溶液用四氢呋喃稀释，并用柠檬酸稀水溶液洗涤，除去催化剂残余物。聚合物溶液进一步用蒸馏水洗涤至中性，用正庚烷沉淀高分子量的聚合物。沉淀的聚合物最终真空干燥，得到白色聚合物。所进行的聚合反应的实际情况和结果概括在表1中。

表 1

实施例	单体重量份数 EO	CPL	LD	稀释剂	催化剂/单体	转化率%	MW by ^{1}H-NMR
l	1.0	7.6		甲苯	0.26	88	EO1,000/CPL5,700
m	1.0	1.1		甲苯	0.30	93	EO2,500/CPL2,800
n	1.0	3.0		THF	0.32	74	EO4,000/CPL12,000
o	1.0	1.7		甲苯	0.33	68	EO3,000/CPL5,900
p	2.0	7.4	1.0	THF	0.44	48	EO2,400/(CPL8,600-LD700)
q	1.7		1.0	THF	1.69	49	EO6,400/LD900
r	1.4	1.0		THF	1.82	56	EO3,500/CPL500

s)由异丙氧基铝催化的聚合反应

在室温下和在高真空度下，将异丙氧基铝(1.19g，5.8mmol)在玻璃安瓿中干燥4小时。在高真空下将干燥甲苯蒸馏到该安瓿中，并溶解异丙氧基铝。环氧乙烷(7.42g，168.6mmol)经氢化钙干燥并在高真空下冷凝到玻璃安瓿中。密封安瓿，升温至45℃，让反应进行39小时。接着，通过在氮气气氛下注射到安瓿中来添加己内酯(8.63g，75.6mmol)。安瓿在45℃下进一步加热24小时。将高粘稠性产物溶于二氯甲烷，用稀乙酸溶液终止聚合反应，然后，用正庚烷沉淀高分子量的聚合物。由^{1}H—NMR测定分子量，表明环氧乙烷嵌段和己内酯嵌段长度分别为500和5,200。

t—y)聚(甲基丙烯酸甲酯)—接枝—PEG的制备：一般操作过程

将在实施例1(c)中合成的α—甲基丙烯酰基—ω—甲氧基PEG2,000加入到玻璃反应器中的AIBN中，然后抽真空。在真空下将甲苯(约40ml)蒸馏到反应器中，接着同样是已去稳定的甲基丙烯酸甲酯(MMA)单体。密封反应器，升温至50℃加热大约20小时。通过沉淀到庚烷中回收标题聚合物。通过溶于最小量的THF中，将这一溶液加入到水中，然后加热升温超过聚合物的浊点(在这一点聚合物从溶液中跑出)，最终得以提纯聚合物。再一次重复这一提纯过程。所制得的接枝共聚物由^{1}H—NMR表征(表2)：

表 2

实施例	甲基丙烯酰基—PEG (g)	MMA 单体 (ml)	AIBN (mg)	NMR 分析 PEG 含量 (wt-%)
t	4.0	4.0	6.6	34
u	2.0	4.0	6.6	24
v	4.0	2.0	3.5	50
w	3.0	4.5	8.1	27
x	4.5	3.0	5.7	41
y	0.5	10	16.5	1.3

z)PEG1500，己二酰氯和 α,α—亚乙基双(16—羟基十六烷酸酯)(0.37：1.85：1.75)无规扩链聚合物，多嵌段

在室温下向 α,α—亚乙基双(16—羟基十六烷酸酯)(1.0g，1.75mmol)在二甲氧基乙烷(10ml)中的悬浮液中添加新近蒸馏过的己二酰氯(270 微升，1.85mmol)。混合物的温度逐渐升至 60℃，获得无色的溶液。在这一温度下保持 5 小时之后，添加 PEG1500(0.55g，0.37mmol)并且在混合物被冷至室温之前继续加热 17 小时，蒸发掉溶剂，固体残余物在石油醚(沸点 40—60℃)中搅拌 15 分钟，过滤得到白色固体形式的标题化合物(1.30g)。

aa)来自 PEG1500 和 α,α—亚乙基双〔16—(5—氟羰基戊酰氧基)—十六烷酸酯〕的扩链聚合物(A—B—A)

在装有玻璃导气管和回流冷凝器的 100ml 三颈圆底烧瓶中，将在实施例 1(e)中制备的 α,α—亚乙基双〔16—(5—氟羰基戊酰氧基)—十六烷酸酯〕(0.88g，1.02mmol)溶于甲苯(15ml)中。添加 PEG1500(3.06g，2.04mmol)，混合物在 60℃加热 22 小时，冷至室温，在减压下除掉溶剂，得到白色蜡状标题化合物(4.12g)。

ab)来自 PEG1500 和 α,α—亚乙基双〔16—(5—氟羰基戊酰氧基)十六烷酸酯〕的扩链聚合物(多嵌段)

按照实施例 2(aa)那样进行反应，但用 α,α—亚乙基双〔16—(5—氟羰基戊酰氧基)—十六烷酸酯(1.02g，1.18mmol)(在甲苯(20ml)中)和 PEG1500(1.77g，1.18mmol)，得到白色蜡状标题化合物(2.29g)。

ac—af)PEG，己二酸和 α,α—亚乙基双(16—羟基十六烷酸酯)的扩链聚合物(无规多嵌段)

在氮气气氛下，将PEG2000(A)(4.14g，2.07mmol)在1,1,2—三氯乙烯(26ml)中的溶液经注射器加入到含有α,α—亚乙基双(16—羟基十六烷酸酯)(B)(118mg，0.207mmol)的圆底烧瓶中。所得混合物升温至60℃，当得到透明溶液时，经注射器加入己二酰氯(C)(417mg，2.277mmol)。压力降至250毫巴，溶液在60℃下搅拌92小时以上。保留的氯化氢(在反应中放出的)和溶剂在减压和60℃下在旋转蒸发器中经3小时，然后在真空(＜0.1mmHg)和60℃下经24小时除去。最后，通过添加石油醚，在冰浴中冷却2小时，从丙酮溶液沉淀出聚合物。过滤得到3.5g白色蜡状固体形式的聚合物。

由这一方法总共制得了起始PEG的分子量不同的四种不同的嵌段共聚物；为每一聚合反应所特定的条件给出在下表3中。聚合物的^{13}C NMR谱和^{1}H NMR谱与预定产物的一致。

表 3

途径	起始PEG的 M_w	摩尔比 A:B:C[1]	溶剂	反应时间（小时）
ac	400	10:1:11	二甘醇二甲醚-二甲苯	21
ad	600	10:1:11	二甘醇二甲醚	24
ae	1500	10:1:11	DME	21
af	2000	10:1:11	三氯乙烯	92

1) 字母指在上文中所规定的反应物。

ag)PEG2300 甲基醚 16－十六烷酰氧基－十六烷酸酯

将 PEG2300 甲基醚(10.000g，4.35mmol)溶于四氢呋喃(90ml)，添加吡啶(0.413g，5.22mmol)。将 16－十六烷酰氧基十六烷酰氯(2.301g，4.35mmol)溶于四氢呋喃(10ml)，并滴加进去。在室温下搅拌 3 天以后，过滤混合物，在减压下蒸发掉溶剂。残余物(12.08g)在硅石柱上提纯，用氯仿与渐增浓度(从 1%－3%甲醇(在氯仿中))的甲醇洗脱，得到 5.20g(43%)的标题化合物。

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 0.80-0.87 (m, CH_3), 1.21 (s, (br), CH_2), 1.53-1.62 (m, CH_2), 2.20-2.35 (m, CH_2CO), 3.34 (s, CH_3O), 3.61 (s, OCH_2CH_2O), 4.02 (t, $COOCH_2\underline{CH_2}O$), 4.19 (t, $COO\underline{CH_2}CH_2O$). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 13.95, 22.49, 24.71, 24.83, 25.74, 28.45, 28.95, 29.07, 29.16, 29.28, 29.34, 29.40, 29.46, 31.72, 34.05, 34.21, 58.85, 63.15, 64.19, 69.01, 70.37, 71.73, 173.64, 173.82.

ah)PEG5000 甲基醚 16－十六烷酰氧基十六烷酸酯

将 PEG5000 甲醚(7.500g，1.50mmol)溶于甲苯(90ml)，并在迪安－斯达克榻装置中回流干燥。添加吡啶(0.143g，1.80mmol)，随后添加(滴加)已溶于甲苯(10ml)的 16—十六烷酰氧基十六烷酰氯(1.191g，2.25mmol)。混合物加热回流，并在回流下搅拌 3 天之后，将混合物冷至室温，沉淀到己烷中。过滤后，沉淀物用己烷洗涤并加以干燥($MgSO_4$)。在减压下蒸发之后，残余物在硅石柱上提纯，用氯仿与渐增浓度的甲醇(从 1%－3%甲醇(在氯仿中))洗脱，得到 5.93g(72%)标题化合物。

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 0.82-0.86 (m, CH_3), 1.22 (s, (br), CH_2), 1.53-1.62 (m, CH_2), 2.20-2.35 (m, CH_2CO), 3.34 (s, CH_3O), 3.61 (s, OCH_2CH_2O), 4.01 (t, $COOCH_2\underline{CH_2}O$), 4.18 (t, $COO\underline{CH_2}O$). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 13.66, 22.21, 24.43, 24.54, 25.46, 28.17, 28.67, 28.79, 28.87, 28.99, 29.06, 29.11, 29.17, 31.44, 33.73, 33.93, 58.57, 62.87, 63.90, 68.72, 69.62, 69.86, 70.09, 71.45, 76.85, 173.35, 173.53.

ai)PEG10000 甲醚 16－十六烷酰氧基十六烷酸酯

将 PEG10000 甲醚(7.500g, 0.75mmol)溶于甲苯(140ml),添加吡啶(0.107g, 1.35mmol)。溶液升温至 60℃,滴加已溶于甲苯(10ml)中的 16－十六烷酰氧基十六烷酰氯(0.595g, 1.12mmol)。混合物加热回流,在回流下搅拌 3 天之后,混合物冷至室温并沉淀到己烷中。过滤后,沉淀物用己烷洗涤并加以干燥。在硅石柱上进行急骤层析,用含有 5%甲醇的氯仿洗脱,得到 5.39g(68%)的标题化合物。

^{1}H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 0.84 (t, CH_3), 1.21 (s, (br), CH_2), 1.55-1.60 (m, CH_2), 2.20-2.35 (m, CH_2CO), 3.34 (s, CH_3O), 3.61(s, OCH_2CH_2O), 4.01 (t, $COOCH_2\underline{CH_2}O$), 4.18 (t, $COO\underline{CH_2}CH_2O$). ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 13.94, 22.48, 24.70, 24.82, 25.73, 28.94, 29.05, 29.14, 29.26, 29.33, 29.39, 29.45, 31.71, 34.00, 58.84, 63.14, 68.99, 69.36, 69.86, 69.97, 70.01, 70.36, 70.74, 70.82, 70.86, 71.72, 77.10, 173.62, 173.80.

aj)16－〔ω－甲氧基－PEG2000－羰氧基〕十六烷酸 1－〔〔16－

(16—十六烷酰氧基十六烷酰氧基)十六烷酰氧基〕乙基酯

将甲氧基 PEG2000 氯甲酸酯(1.90g，0.95mmol)溶于甲苯(90ml)，加入吡啶(0.09g，1.13mmol)。将1—〔〔16—(16—十六烷酰氧基—十六烷酰氧基)十六烷酰氧基〕乙基 16—羟基十六烷酸酯(1.00g，0.95mmol)溶于甲苯(10ml)并滴加进去。混合物加热回流，在回流下搅拌 10 小时之后，将混合物冷至室温并过滤。在减压下蒸发溶剂。残余物在硅石柱上使用含 2%甲醇的氯仿进行提纯，得到 1.00g (35%)标题化合物。

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 0.85 (t, CH_3), 1.20-1.33 (m, CH_2), 1.45 (d, -O-CH($\underline{CH_3}$)-O), 1.5-1.7 (m, CH_2), 2.0 (H_2O), 2.2-2.3 (m, -CH_2-C(O)-O), 3.35 (s, CH_3-O-), 3.5-3.7 (s, -OCH_2CH_2O-), 4.03 (t, -C(O)-O-$\underline{CH_2}$-), 4.10 (t, -$\underline{CH_2}$-O-C(O)-O-), 4.26 (m, -O-C(O)-O-$\underline{CH_2}$-CH_2-O-), 6.8-6.9 (q, -O-$\underline{CH}$(CH_3)-O). ^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ 13.7, 19.2, 22.1, 24.2, 24.6, 25.2, 25.5, 28.2-29.2, 31.5, 33.9, 34.0, 58.7, 64.0, 66.3, 67.9, 68.5, 70.0, 71.5, 87.9, 171.5, 173.7.

ak)16—〔ω—甲氧基 PEG5000 羰氧基〕十六烷酸 1—〔16—(16—十六烷酰氧基十六烷酰氧基)—十六烷酰氧基〕乙基酯

将甲氧基 PEG5000 氯甲酸酯(8.50g，1.70mmol)溶于甲苯(90ml)，添加吡啶(0.146g，1.85mmol)。将1—〔16—(16—十六烷酰氧基十六烷酰氧基)十六烷酰氧基〕乙基 16—羟基十六烷酸酯(1.79g，1.70mmol)溶于甲苯(10ml)并滴加进去。混合物加热回流，在

回流下搅拌3天以后，将混合物冷至室温并过滤。在减压下蒸发溶剂，残余物在硅石柱上提纯，用氯仿与渐增浓度的甲醇(从3%—5%甲醇(在氯仿中))洗脱，得到3.90g(38%)的标题化合物。

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 0.85 (t, CH_3), 1.20-1.33 (m, CH_2), 1.45 (d, -O-CH($\underline{CH_3}$)-O), 1.5-1.7 (m, CH_2), 1.8 (H_2O), 2.2-2.3 (m, -CH_2-C(O)-O), 3.35 (s, CH_3-O-), 3.5-3.7 (s, -OCH_2CH_2O-), 4.03 (t, -C(O)-O-$\underline{CH_2}$-), 4.10 (t, $\underline{-CH_2}$-O-C(O)-O-), 4.26 (m, -O-C(O)-O-$\underline{CH_2}$-CH_2-O-), 6.8-6.9 (q, -O- $\underline{CH}$(CH_3)-O).

a1)16—〔ω—甲氧基PEG10000羰氧基〕十六烷酸1—〔16—(16—十六烷酰氧基十六烷酰氧基)十六烷酰氧基〕乙基酯

将甲氧基PEG10000氯甲酸酯(7.50g，0.75mmol)溶于甲苯(90ml)，添加吡啶(0.063g，0.80mmol)。将1—〔16—(16—十六烷酰氧基十六烷酰氧基〕十六烷酰氧基〕乙基16—羟基十六烷酸酯(0.79g，0.75mmol)溶于甲苯(10ml)并滴加进去。混合物加热回流，在回流下搅拌3天之后，将混合物冷至室温并过滤。在减压下蒸除溶剂。残余物在硅石柱上提纯，用氯仿与渐增浓度的甲醇(从3%—5%甲醇(在氯仿中))洗脱，得到1.60g(19%)的标题化合物。

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 0.85 (t, CH_3), 1.20-1.33 (m, CH_2), 1.45 (d, -O-CH($\underline{CH_3}$)-O), 1.5-1.7 (m, CH_2), 2.2-2.3 (m, -CH_2-C(O)-O), 3.35 (s, CH_3-O-), 3.5-3.7 (s, -OCH_2CH_2O-), 4.03 (t, -C(O)-O-$\underline{CH_2}$), 4.10 (t, -$\underline{CH_2}$-O-C(O)-O-), 4.26 (m, -O-C(O)-O-$\underline{CH_2}$-CH_2-O-), 6.8-6.9 (q, -O-$\underline{CH}$(CH_3)-O).

实施例 3—聚合物颗粒的制备

a—e)一般操作过程

制得一种共聚物在甲苯中的溶液。将这一溶液加入到水(25—30% 甲苯 v/v)中并用高速混合器(20500rpm，40—60 秒)混合。所得乳液冻干，得到白色细粉。

实施例	来自实施例 2 的聚合物	共聚物在甲苯中的浓度 (wt/wt)
3a	a	10
3b	b	10
3c	c	10
3d	d	10
3e	e	10

f)来自实施例2(f)的聚合物的颗粒

将来自实施例2(f)的聚合物(70mg)溶于甲苯(1ml)并加入到水(3ml)中。混合物用手摇晃30秒,用干冰/甲醇冷冻并冻干。

g)来自实施例2(g)的聚合物的颗粒

将来自实施例2(g)的聚合物(100mg)溶于甲苯(1ml)中并加入到水(3ml)中。混合物用手摇晃30秒,用干冰/甲醇冷冻并冻干。

h—i)来自PEG的AB嵌段共聚物,聚己内酯和聚乳酸的颗粒

一般操作过程:

在甲苯中制得嵌段共聚物的溶液。将约2ml溶液加入到10ml水中,在一些情况下在该水中溶解了额外的乳化剂。混合物用高速混合器混合。样品立即冷冻,并冻干得到白色细粉。

实施例	来自实施例№的嵌段共聚物/浓度	额外的乳化剂	混合速度 (rpm)	混合时间（秒）
3h	2p/13wt%	2.5 wt% pluronic F68	8,000	15
3i	2p/13wt%	1.25 wt% pluronic F68	8,000	15
3j	2p/13wt%	0.63 wt% pluronic F68	8,000	15
3k	2p/10wt%	无	8,000	15
3l	2n/10wt%	无	8,000	15

m－p）来自聚（甲基丙烯酸甲酯）－接枝－PEG 的颗粒

一般操作过程：

在甲苯中制得接枝共聚物的溶液。将约 2ml 溶液加入到 10ml 水中，在一些情况下在该水中溶有额外的乳化剂。混合物用高速混合器混合。样品立即冷冻，并冻干，得到白色细粉。

实施例	来自实施例№的接枝共聚物/浓度	额外的乳化剂	混合器速度 (rpm)	混合时间（秒）
3m	2t/4wt% 和 2y/6wt%	无	20500	30
3n	2w/5wt% 和 2y/5wt%	无	8000	30
3o	2w/6wt% 和 2y/ 4wt%	无	20500	30
3p	2w/5wt% 和 2y/5wt%	1.0wt% pluronic F68	8000	30

q)来自亚甲基双(16—羟基十六烷酸酯),己二酰氯和α—羟基—ω—甲氧基 PEG2000 的嵌段共聚物的颗粒

将实施例 2(i)的聚合物(0. 1g)溶于 1. 9g 甲苯中,并通过使用 Ystal 混合器在 10,000 rpm 下与 3ml 水混合 1 分钟,形成油包水型乳液。然后将油包水型乳液在水(3ml)中乳化,形成油包水—水包油型乳液,经冻干得到空气填充的颗粒。

r)来自亚甲基双(16—羟基十六烷酸酯),己二酰氯和α—羟基—ω—甲氧基 PEG2000 的嵌段共聚物的颗粒

重复实施例 3(q)的操作过程,只是油包水—水包油型乳液的第二水相含有 2%明胶。

s)用全氟正丁烷填充的一种来自实施例 2(ab)的扩链聚合物的微泡的制备(通过振荡)

将来自实施例 2(ab)的聚合物(0. 02g)溶于蒸馏水(1ml)中,溶液被脱气,容器的上部空间充有全氟正丁烷。溶液在 Capmix® 上振荡 18 秒。由显微镜观察到尺寸适合于静脉注射的全氟正丁烷填充的微泡。微泡能稳定数天。

t)用全氟正丁烷填充的一种来自实施例 2(ab)的扩链聚合物的微泡的制备(通过声波处理)

将来自实施例 2(ab)的聚合物(0. 25g)溶于蒸馏水(5ml)中。溶液被脱气,然后在全氟正丁烷气流下用近距离声电定位器处理 1 分钟。在显微镜下观察到尺寸适合于静脉注射的全氟正丁烷填充的微泡。微泡能稳定数天。

u)用全氟正丁烷填充的一种来自实施例 2(ab)和 2(ai)的扩链聚合物的微泡的制备(通过振荡)

将来自实施例2(ab)的聚合物(0.01g)溶于蒸馏水(0.5ml)中并加入到0.5ml实施例2(ai)的聚合物的水溶液(1%)中。溶液被脱气，容器上部空间充有全氟正丁烷，并在Capmix®上振荡99秒。在显微镜上观察到尺寸适合于静脉注射的全氟正丁烷填充的微泡。微泡能稳定数天。

v)用全氟正丁烷填充的Hypermer B246的微泡的制备(通过振荡)

将Hypermer B246®(0.01g)(ICI)溶于4.1%(重量)甘油和1.4%(重量)丙二醇在水中的溶液中。样品被脱气，容器上部空气充有全氟正丁烷，并在Capmix®上振荡99秒。在显微镜上观察到尺寸适合于静脉注射的稳定的全氟正丁烷填充的微泡。

实施例4—声像表征(在玻璃试管内)

一般操作过程

通过在实验用振荡器上振荡合适的时间，将样品再分散于MilliQ™水中。然后由光学显微镜观察分散体，测定粒径。

实施例	来自实施例3的颗粒	粒径 (μm)
4a	a	3-35
4b	b	5-70
4c	c	3-15
4e	e	1-5
4f	f	50-70
4g	g	1-5
4h	h	2-12
4i	i	4-10
4j	j	3-12
4k	k	4-12
4l	l	1-12
4m	m	2-25
4n	n	4-20
4o	o	2-40
4p	p	2-44

通过在脉冲反射技术中使用 3.5MHz 宽带换能器测量超声波透过颗粒水分散体的透射率，来表征这些颗粒。含水溶剂用作参比。

实施例	来自实施例 3 的颗粒	结果
4a	a	显影
4b	b	显影
4c	c	显影
4d	d	显影
4e	e	显影
4g	g	显影
4h	h	显影
4i	i	显影
4j	j	显影
4k	k	显影
4l	l	显影
4m	m	显影
4n	n	显影
4o	o	显影
4p	p	显影