

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2005-306878

(P2005-306878A)

(43) 公開日 平成17年11月4日(2005.11.4)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 49/00	A 6 1 K 49/00	4 C 0 7 6
A 6 1 B 8/00	A 6 1 B 8/00	4 C 0 8 5
A 6 1 K 9/00	A 6 1 K 9/00	4 C 6 0 1

審査請求 有 請求項の数 42 O L (全 24 頁)

(21) 出願番号	特願2005-143292 (P2005-143292)	(71) 出願人	505099853
(22) 出願日	平成17年5月16日 (2005. 5. 16)		アイエムシーオーアール ファーマシュー
(62) 分割の表示	特願平8-511948の分割		ティカル カンパニー
原出願日	平成7年9月26日 (1995. 9. 26)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2 1
(31) 優先権主張番号	08/314, 074		2 1 サン ディエゴ ラスク ブールバ
(32) 優先日	平成6年9月28日 (1994. 9. 28)		ード 6 1 7 5
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100100549
			弁理士 川口 嘉之
		(74) 代理人	100090516
			弁理士 松倉 秀実
		(74) 代理人	100089244
			弁理士 遠山 勉
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 微小気泡による調波超音波撮像

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 血管撮像に有用な造影性が強化された超音波調波撮像方法及び造影強化剤を提供する。

【解決手段】 球形の膜を有し且つ23トールより高い37℃における蒸気圧、水中での約1重量%より小さい溶解度／混和度、2%モル分率より大きい検出時の気相における濃度、およびその飽和濃度の50%より大きい濃度を有する気体状物質、例えば炭化水素またはフルオロカーボン、を含有する微小気泡を含む造影剤を撮像しようとする対象または身体の中に導入し、そして、該対象または身体の一部を超音波撮像することを含む、撮像しようとする対象または身体に対して超音波源により伝達される超音波エネルギーを使用する超音波調波撮像方法および当該造影剤。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

一般的に球形の膜を有し且つ 23 トールより高い 37℃における蒸気圧、水中での約 1 重量／重量％より小さい溶解度／混和度、2％モル分率より大きい検出時の気相における濃度、およびその飽和濃度の 50％より大きい濃度を有する気体状物質を含有する微小気泡を含む造影剤を撮像しようとする対象または身体の中に導入し、そして該対象または身体の一部を超音波撮像することを含む、撮像しようとする対象または身体に対して超音波源により伝達される超音波エネルギーを使用する超音波調波撮像方法。

【請求項 2】

該物質がパーフルオロヘキサン、パーフルオロペンタン、パーフルオロシクロペンタン、1,1,2-トリクロロトリフルオロエタン、六弗化硫黄、シクロペンタン、塩化メチレン、ペンタンおよびヘキサンよりなる群から選択される、請求の範囲第 1 項記載の方法。

10

【請求項 3】

該濃度が 25％である、請求の範囲第 1 項記載の方法。

【請求項 4】

該濃度が 100％である、請求の範囲第 1 項記載の方法。

【請求項 5】

該膜が界面活性剤を含む、請求の範囲第 1 項記載の方法。

【請求項 6】

一般的に球形の膜を有し且つ約 10 モル／モル％より大きい 37℃におけるヘキサン中のその液相の溶解度、および約 1 重量／重量％より小さい 37℃における水中でのその液相の水溶解度／混和度を有する気体を少なくとも 2％モル分率で含む物質を含有する微小気泡を含む造影剤を、撮像しようとする対象または身体の中に導入し、そして該対象または身体の一部を超音波撮像することを含む、撮像しようとする対象または身体に対して超音波源により伝達される超音波エネルギーを使用する超音波調波撮像方法。

20

【請求項 7】

該気体が炭化水素またはフルオロカーボンである、請求の範囲第 6 項記載の方法。

【請求項 8】

該気体がパーフルオロヘキサン、パーフルオロペンタン、パーフルオロシクロペンタン、1,1,2-トリクロロトリフルオロエタン、六弗化硫黄、シクロペンタン、塩化メチレン、ペンタン、ヘキサン、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロモノフルオロメタン、パーフルオロブタン、パーフルオロシクロブタン、パーフルオロプロパン、ブタン、シクロブタン、プロパン、メタン、およびエタンよりなる群から選択される、請求の範囲第 6 項記載の方法。

30

【請求項 9】

該膜が界面活性剤を含む、請求の範囲第 6 項記載の方法。

【請求項 10】

該界面活性剤が弗素化されている、請求の範囲第 9 項記載の方法。

【請求項 11】

該物質が少なくとも約 25％モル分率の該気体を含む、請求の範囲第 6 項記載の方法。

40

【請求項 12】

該物質が約 100％モル分率の該気体を含む、請求の範囲第 6 項記載の方法。

【請求項 13】

少なくとも 1 種の界面活性剤で安定化された微小気泡を含み、該安定化された微小気泡が自由空気気泡より大きい効率で調波を発生するような造影剤を、撮像しようとする対象または身体の中に導入し、そして該対象または身体の一部を超音波撮像することを含む、撮像しようとする対象または身体に対して超音波源により伝達される超音波エネルギーを使用する超音波調波撮像方法。

【請求項 14】

50

該界面活性剤が、界面活性剤の分子当たりの面積がラングミュアの表面圧計で測定して10%変化した時に、水の表面張力を5ダイン/cmを超えて変化させる、請求の範囲第13項記載の方法。

【請求項15】

該界面活性剤が、11より小さい親水親油バランスを有する成分を有する、請求の範囲第13項記載の方法。

【請求項16】

該親水親油バランスが、8より小さいかもしくはそれと同等である、請求の範囲第15項記載の方法。

【請求項17】

該界面活性剤が、1,000より大きい分子量を有し且つ水の表面張力を40ダイン/cmもしくはそれより低く下げることができる成分を有する、請求の範囲第13項記載の方法。

【請求項18】

該界面活性剤が水の表面張力を40ダイン/cmもしくはそれより低く下げることができ且つ水中での0.3もしくはそれより小さい容量分率の臨界ミセル濃度を有する、請求の範囲第13項記載の方法。

【請求項19】

該界面活性剤が非ニュートン性である、請求の範囲第13項記載の方法。

【請求項20】

造影剤を対象または身体の中に導入して超音波源からの超音波エネルギーを該対象または身体に伝達させ、該対象物または身体からの放射エネルギーを検知することを含む対象または身体の超音波調波撮像方法において、該造影剤が、該超音波源が微小気泡の共鳴周波数以外の周波数で伝達する時に撮像可能な超音波エネルギーを放射する性質を有する微小気泡を含むこと、及び該検知段階が伝達段階とは異なる周波数を使用することを含む改良。

【請求項21】

該微小気泡が気体または気体混合物を含有する、請求の範囲第20項記載の方法。

【請求項22】

該微小気泡がそれらの気体または気体混合物の内容物により安定化される、請求の範囲第21項記載の方法。

【請求項23】

生体適合性の膜形成性物質を含有する液体調合物を噴霧乾燥してそこから微球粉末を形成し、該微球を気体浸透剤と組み合わせ、そして水相を該粉末と混合することにより該微小気泡が製造され、該粉末が水相中に実質的に溶解して微小気泡を形成する、請求の範囲第20項記載の方法。

【請求項24】

該微小気泡が界面活性剤の単層でコーティングされている、請求の範囲第22項記載の方法。

【請求項25】

微小気泡を利用する調波超音波撮像方法における、少なくとも1種の炭化水素気体またはフルオロカーボン気体を該微小気泡中に少なくとも2%モル分率の濃度で供給することを含む改良。

【請求項26】

少なくとも1種の界面活性剤で安定化され、自由空気気泡より大きい効率で調波を発生する微小気泡を含む造影剤を供給し、該造影剤を入射周波数を含む超音波エネルギーに露呈し、そして該造影剤から放射される超音波エネルギーを該入射周波数以外の周波数において検出する段階を含む、超音波により得られる像を強化する方法。

【請求項27】

少なくとも1種の界面活性剤で安定化された該微小気泡が、23トールより高い37℃

10

20

30

40

50

における蒸気圧、水中での約 1 重量／重量％より小さい溶解度／混和度、2 ％モル分率より大きい検出時の気相における濃度、およびその飽和濃度の 50 ％より大きい濃度を有する気体状物質を含有する、請求の範囲第 26 項記載の方法。

【請求項 28】

少なくとも 1 種の界面活性剤で安定化された該微小気泡が、約 10 モル／モル％より大きい 37℃におけるヘキサン中でのその液相の溶解度および約 1 重量／重量％より小さい 37℃における水中でのその液相の水溶解度／混和度を有する気体を少なくとも 2 ％モル分率で含む物質を含有する、請求の範囲第 26 項記載の方法。

【請求項 29】

少なくとも 1 種の界面活性剤で安定化された微小気泡を含む造影剤を対象または身体の中に導入し、そこで該微小気泡が自由空気気泡より大きい効率で調波を発生し、該対象または身体の一部を入射周波数を含む超音波エネルギーに露呈しそして該造影剤から放射される超音波エネルギーを該入射周波数以外の周波数において検出することによる、超音波調波撮像のための造影剤の製造における界面活性剤の使用。 10

【請求項 30】

少なくとも 1 種の界面活性剤で安定化された該微小気泡が、23 トールより高い 37℃における蒸気圧、水中での約 1 重量／重量％より小さい溶解度／混和度、2 ％モル分率より大きい検出時の気相における濃度、およびその飽和濃度の 50 ％より大きい濃度を有する気体状物質を含有する、請求の範囲第 29 項記載の使用。

【請求項 31】

少なくとも 1 種の界面活性剤で安定化された該微小気泡が、約 10 モル／モル％より大きい 37℃におけるヘキサン中でのその液相の溶解度および約 1 重量／重量％より小さい 37℃における水中でのその液相の水溶解度／混和度を有する気体を少なくとも 2 ％モル分率で含む物質を含有する、請求の範囲第 29 項記載の使用。 20

【請求項 32】

通常は球形の膜を有し、且つ 23 トールより高い 37℃における蒸気圧、水中での約 1 重量／重量％より小さい溶解度／混和度、2 ％モル分率より大きい検出時の気相における濃度、およびその飽和濃度の 50 ％より大きい濃度を有するか、或いは約 10 モル／モル％より大きい 37℃におけるヘキサン中でのその液相の溶解度および約 1 重量／重量％より小さい 37℃における水中でのその液相の水溶解度／混和度を有する気体を少なくとも 2 ％モル分率で含む気体状物質を含有する微小気泡を含む、超音波調波撮像用の造影剤。 30

【請求項 33】

該物質がパーフルオロヘキサン、パーフルオロペンタン、パーフルオロシクロペンタン、1,1,2-トリクロロトリフルオロエタン、六弗化硫黄、シクロペンタン、塩化メチレン、ペンタン、ヘキサン、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロモノフルオロメタン、パーフルオロブタン、パーフルオロシクロブタン、パーフルオロプロパン、ブタン、シクロブタン、プロパン、メタン、およびエタンよりなる群から選択される、請求の範囲第 32 項記載の超音波調波撮像用の造影剤。

【請求項 34】

該膜が界面活性剤を含む、請求の範囲第 32 項記載の超音波調波撮像用の造影剤。 40

【請求項 35】

該気体が炭化水素またはフルオロカーボンである、請求の範囲第 32 項記載の超音波調波撮像用の造影剤。

【請求項 36】

該界面活性剤が、界面活性剤の分子当たりの面積がラングミュアの表面圧計で測定して 10 ％変化した時に、水の表面張力を 5 ダイン／cm を超えて変化させることができる、請求の範囲第 34 項記載の超音波調波撮像用の造影剤。

【請求項 37】

該界面活性剤が 11 より小さい親水親油バランスを有する成分を有する、請求の範囲第 34 項記載の超音波調波撮像用の造影剤。

【請求項 38】

水の表面張力を 40 ダイン/cm もしくはそれより低く低下させることができる該界面活性剤が、1,000 より大きい分子量の成分を有するか、または水中での 0.3 もしくはそれより小さい容量分率の臨界ミセル濃度を有する、請求の範囲第 34 項記載の超音波調波撮像用の造影剤。

【請求項 39】

該界面活性剤が弗素化されているかまたは非ニュートン性である、請求の範囲第 34 項記載の超音波調波撮像用の造影剤。

【請求項 40】

該微小気泡が、伝達された超音波エネルギーに微小気泡の共鳴周波数以外の周波数で露呈された時に撮像可能な超音波エネルギーを放射する性質を有しており、該撮像可能な超音波エネルギーは該伝達された超音波エネルギーとは異なる周波数を含む、請求の範囲第 32 項記載の超音波調波撮像用の造影剤。 10

【請求項 41】

生体適合性の膜形成物質を含有する液体調合物を噴霧乾燥してそこから微球粉末を形成し、該微球を気体浸透剤と組み合わせ、そして水相を該粉末と混合し、ここで該粉末が水相中に実質的に溶解して微小気泡を形成する段階を含む方法により該微小気泡が得られる、請求の範囲第 32 項記載の超音波調波撮像用の造影剤。

【請求項 42】

通常は球形の膜を有し、そして 23 トールより高い 37℃ における蒸気圧、水中での約 1 重量/重量% より小さい溶解度/混和度、2% モル分率より大きい検出時の気相における濃度、およびその飽和濃度の 50% より大きい濃度を有するか、或いは少なくとも約 10 モル/モル% より大きい 37℃ におけるヘキサン中でのその液相の溶解度および約 1 重量/重量% より小さい 37℃ における水中でのその液相の水溶解度/混和度を有する気体を、少なくとも 2% モル分率で含む気体状物質を含有する微小気泡を製造し、そして超音波調波撮像の前に、撮像しようとする対象に該微小気泡を造影剤として投与することを含む、超音波調波撮像において造影性を増加させる方法。 20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は調波周波数に戻すように特別に設計された造影剤を使用する改良された調波超音波撮像方法に関する。

【背景技術】

【0002】

技術の背景

超音波技術は、イオン化放射線を使用する撮像技術の重要かつより経済的な代用法を提供するものである。多くの従来の撮像技術、例えば磁気共鳴撮像 (MRI)、コンピューター処理される断層写真 (CT)、および位置発光断層写真 (PET) が利用可能であるが、これらの技術はいずれも非常に高価な装置を使用する。さらに、CT および PET はイオン化放射線を使用する。こうした技術とは異なり、超音波撮像装置は相対的に安価である。さらに、超音波撮像はイオン化放射線を使用しない。 40

【0003】

超音波技術の使用においては、音波は対象または患者に変換器を介して伝達される。音波が対象または身体中を伝搬するにつれて、それらは組織および流体により反射または吸収される。反射された音波は受信機により検出され、処理されて像を形成する。組織および流体の音性質が、形成される像において現れるコントラストを決める。

【0004】

従って、超音波撮像は、組織による音波の反射に影響を及ぼす組織の密度および組成における差を利用している。例えば、組織界面における組織密度または圧縮性に顕著な変動 50

があると、像は特に鮮明となる。固体組織、骨格系、並びに種々の器官および／または腫瘍の間の界面は超音波で容易に撮像される。

【0005】

従って、多くの撮像用途では、超音波は造影強化剤を使用しなくても適当に機能するが、他の用途、例えば組織中の流動する血液の視覚化の如き用途のためには、造影強化剤を開発する努力が続けられてきている。そのような造影剤が特に重要となる用途の一つが血管撮像分野である。そのような超音波造影剤があれば心臓、腎臓、肺、および他の組織中の流動する血液の撮像を改良することができるであろう。これはまた、撮像される組織に関する研究、診断、手術、および治療をも促進させることになるだろう。血液プール造影剤はまた、血液内容物（例えば腫瘍および炎症組織）を基にした撮像を可能にし、母体の循環系だけを強化することにより胎盤および胎児の視覚化を助けるであろう。 10

【0006】

種々の超音波造影強化剤が提案されている。最大の成功を収めた強化剤は、一般的に静脈内に注射できる微小気泡からなっていた。それらの最も簡単な態様では、微小気泡は、例えば空気の如き気体を含有する小気泡であり、それらは発泡剤、界面活性剤、あるいはカプセル化剤の使用により製造される。そうすると、微小気泡は、流動する血液の中に周囲の流体組織および血液とは異なる密度およびそれよりはるかに高い圧縮性を有する物理的対象物を供給する。その結果、これらの微小気泡は超音波で容易に撮像できるのである。

【0007】

しかしながら、超音波撮像用にこれまで開発された造影剤は、種々の問題を有している。蛋白質水溶液を含有する造影剤は外来の蛋白質の使用を必要とし、その蛋白質は抗原であるかもしれないし有毒である可能性もある。内部にカプセル化された気体を有するリポソームからなるリポソーム造影剤には、不均一な寸法分布および不十分な安定性に起因する問題がある。現存する造影剤の多くは、改良された撮像を提供できておらず、そしてさらに造影剤を製造するために使用される方法の多くは非効率的で、費用がかかり、たとえそうでなくても満足のいくものではない。 20

【0008】

従来の超音波システムは、与えられた周波数の超音波のパルスを送達し、そしてこの送達と撮像しようとする対象または身体内からの反射された反響の検出との間の時間間隔を測定することにより機能する。多数の微小気泡が大きな反射体として集合的に作用する。このシステムは、像を形成するために送達されるものと同じ周波数の反射された音波の測定に依存している。 30

【0009】

特に生物学的用途では、組織および骨の如き他の対象により反射された超音波信号を抑制しながら超音波造影剤を検出または撮像することが有利であることが判明している（特許文献1参照）。造影剤気泡が異なる周波数（基準周波数）において超音波線で励起された際の、反響における調波周波数を検出することにより血液中の超音波造影剤気泡を撮像する能力は、有機体中の他の非気泡対象により散乱される背景基準周波数信号を無視することにより造影剤検出感度を大きく増加させる。それはちょうど、周波数変動光線により蛍光色素を検出する場合の方が光吸収性色素をそれらの照射光強度の変調により検出する場合より元来感度がいいのと似ている。微小気泡と異なり、動物の組織はほとんど調波周波数を返さない。従って、背景撮像は調波撮像によって実質的に除去される。 40

【特許文献1】国際公開第91／15999号パンフレット

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

超音波撮像用の現存の造影強化剤および方法が完全に満足のいくものであるとは思われていないため、改良された超音波造影剤および改良された超音波像の製造をもたらす超音波撮像方法を提供することに対するかなりの要望がある。 50

【課題を解決するための手段】

【0011】

発明の要旨

本発明の一つの側面によれば、撮像しようとする対象または身体に対して超音波源により伝達される超音波エネルギーを使用する超音波調波撮像方法が提供される。この方法は、一般的に球形の膜を有し且つ23トールより高い37℃における蒸気圧、水中での約1重量／重量%より小さい溶解度／混和度、2%モル分率より大きい検出時の気相における濃度、およびその飽和濃度の50%より大きい濃度を有する気体状物質を含有する微小気泡を含む造影剤を、撮像しようとする対象または身体の中に導入し、そして該対象または身体の少なくとも一部を超音波撮像することを含む。

10

【0012】

好適には、気泡中に含有される該気体状物質はパーフルオロヘキサン、パーフルオロペンタン、パーフルオロシクロペンタン、1,1,2-トリクロロトリフルオロエタン、六弗化硫黄、シクロペンタン、塩化メチレン、ペンタンおよびヘキサンよりなる群から選択される。好適には、検出される時の気相中の濃度は25%、または100%である。好適な態様では、膜が界面活性剤よりなる。

【0013】

本発明の他の面によれば、撮像すべき対象または身体に対して超音波源により伝達される超音波エネルギーを使用する超音波調波撮像方法が提供され、それは微小気泡を含む造影剤を撮像すべき前記対象または身体に導入することを含む。

20

【0014】

これらの微小気泡は、一般に球形の膜を有し且つ約10モル／モル%より大きい37℃におけるヘキサン中でのその液相の溶解度および約1重量／重量%より小さい37℃における水中でのその液相の水溶解度／混和度を有する気体を、少なくとも2%モル分率で含む物質を含有する。そして、対象または身体の少なくとも一部を超音波により撮像する。

【0015】

好適な態様では、この気体は炭化水素またはフルオロカーボンである。より好適には、この気体はパーフルオロヘキサン、パーフルオロペンタン、パーフルオロシクロペンタン、1,1,2-トリクロロトリフルオロエタン、六弗化硫黄、シクロペンタン、塩化メチレン、ペンタン、ヘキサン、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロモノフルオロメタン、パーフルオロブタン、パーフルオロシクロブタン、パーフルオロプロパン、ブタン、シクロブタン、プロパン、メタン、およびエタンよりなる群から選択される。

30

【0016】

好適には、膜は界面活性剤を含む。界面活性剤は好適には弗素化されている。他の好適な態様では、微小気泡中に含有される物質は少なくとも約25%モル分率の該気体、または約100%モル分率の該気体を含む。

【0017】

本発明のさらに他の態様によれば、少なくとも1種の界面活性剤で安定化された微小気泡を含む造影剤を撮像しようとする対象または身体中に導入することを含む、撮像しようとする対象または身体に対して超音波源により伝達される超音波エネルギーを使用する超音波調波撮像方法が提供される。そして、対象または身体の少なくとも一部を超音波により撮像する。

40

【0018】

好適な態様では、界面活性剤の分子当たりの面積がラングミュアの表面圧計で測定して10%変化した時に、該界面活性剤は水の表面張力を5ダイン／cm以上変化させる。他の好適な態様では、界面活性剤は11より小さい、または8より小さいかもしくはそれと同等の親水親油バランスを有する成分を有する。さらに他の好適な態様では、界面活性剤は1,000より大きい分子量を有し、水の表面張力を40ダイン／cmもしくはそれより低く下げることができる成分を有する。さらに他の好適な態様では、界面活性剤は水の表面張力を40ダイン／cmもしくはそれより低く下げることができ且つ水中での0.3

50

もしくはそれより小さい容量分率の臨界ミセル濃度を有する。好適には、界面活性剤は非ニュートン性である。

【0019】

本発明のさらに他の面によれば、造影剤を対象または身体中に導入し、超音波源からの超音波エネルギーを該対象または身体に伝達させて該対象または身体から放射されるエネルギーを検出することを含む、対象または身体の超音波調波撮像方法において、該造影剤が、該超音波源から伝達される周波数とは異なる周波数であって微小気泡の共鳴周波数からは独立した周波数において撮像可能な超音波エネルギーを放射する性質を有する微小気泡を含むような改良が提供される。

【0020】

この方法では、検出段階は、伝達段階とは異なる周波数を利用する。

【0021】

好適な態様では、微小気泡は気体または気体混合物を含有しており、微小気泡はそれらの気体または気体混合物の内容物により安定化される。他の好適な態様では、生体適合性の膜形成性物質を含有する液体調合物を噴霧乾燥してそこから微球粉末を形成し、該微球を気体浸透剤と組み合わせ、そして水相を該粉末と混合することにより、該微小気体が製造される。この粉末が水相中に実質的に溶解して微小気泡を形成する。好適には、微小気泡は界面活性剤の単層でコーティングされている。

【0022】

本発明のさらに他の面によれば、微小気泡を利用する調波超音波撮像方法における、少なくとも1種の炭化水素気体またはフルオロカーボン気体を該微小気泡中に少なくとも2%モル分率の濃度で供給することを含む改良も提供される。

【発明の効果】

【0023】

本発明は、特別に設計された微小気泡を超音波造影剤として使用する調波超音波撮像方法を提供する。これらの気泡が、それらが受ける超音波放射線の周波数（基準周波数）を変換させる能力を利用することにより、撮像が強化される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0024】

発明の詳細な記述

はじめに

この記述および請求の範囲中で使用される時には、「蒸気」および「気体」という語は交換可能に使用されている。同様に、液体中に溶解した気体の張力を称する時には、よりなじみの深い「圧力」という語が「張力」と交換可能に使用される。「気体浸透圧」は以下でさらに完全に定義されるが、簡単に述べると、微小気泡膜が気体に対して透過性である時、微小気泡内部の気体の分圧と微小気体外部におけるその気体（気相中または液相中に溶解されたいずれか）の圧力または張力との間の差であると考えられる。さらに詳しく述べると、それは膜を横切る気体拡散速度における差に関連する。「膜」という語は微小気泡を取り囲むかまたはそれを規定している物質を称するために使用され、それは界面活性剤、他の膜形成性液体、または膜形成性固体もしくは半固体のいずれかである。「微小気泡」は（微小気泡組成物の平均数重量直径として測定された）約0.5～300 μmの間の直径を有する、好適には約200、100、または50 μm以下の、そして静脈内使用のためには好適には約10、8、7、6、または5 μm以下の、直径を有する気泡であると考えられる。「気体」と言った場合には、文脈が別のものを要求しない限り、必要な性質を有する気体の混合物がこの定義の中に入ると理解されたい。

【0025】

気泡が、空洞形成および細胞組織損傷のために生物学的系では実用的でない高圧振幅超音波に曝されるか、あるいは気泡の共鳴周波数近くの低振幅励起超音波エネルギーに曝される時には、それは非リニア型に作用する。すなわち、気泡容量における変化はもはやその周囲の圧力の変化と比例しない。この非リニア的なふるまいにより励起周波数とは異な

10

20

30

40

50

る周波数の再放射超音波エネルギー成分が生成される。Eatock, J. Soc. Acoust. Am. 77:1692-1701(1985); de Jong 他、Ultrasonics, 29:324-330(1991); および Miller, Ultrasonics, (1981)を参照のこと。入射周波数の上および下の両方の周波数におけるこれらの調波は、この系の動作機構の結果である。医学的に有用な超音波励起振幅においては、意義ある調波は共鳴直径を含む狭い寸法範囲内の気泡によってのみ発生する。例えば、3メガヘルツの励起周波数に関しては、水中で1.1ミクロンの直径を有する気泡が共鳴し調波を発生するが、これらの調波の振幅は共鳴直径と12%しか変わらない直径に関し、2の因数だけ低下する。この寸法範囲の気泡は大方の微小気泡のかなり広い寸法分布のうちのごく小さな部分にしかすぎない(de Jong 他、Ultrasonics, 30(2):95-103(1992))。固体または半固体の殻、例えば変性アルブミン、を用いて製造された気泡(米国特許第 4,957,656号; de Jong 他、Ultrasonics, 30(2):95-103(1992); および de Jong, Acoustic Properties of Ultrasound Contrast Agents, Ph.D. thesis, Erasmus University, Rotterdam(1993))は、粘性の殻による増加された減衰を示し、かつそのため、散乱された(再放射された)信号に有意な調波成分を製造するのに必要な共鳴時の大きな半径の振れを有しない。したがって、本発明は、医学的に有用な超音波励起振幅において調波を発生させることのできる微小気泡の使用法を有利に提供するものである。

【0026】

微小気泡により発生する再放射超音波エネルギーを検出するために、本発明は改変された従来の超音波走査システムを使用する。このシステムは超音波像を作り出すための微小気泡により放射された新しい周波数、または調波、の1つもしくはそれ以上を検出または選択することができる。換言すると、それは放射された周波数とは異なる周波数を検出する。調波超音波撮像に適した装置はウィリアムズ他の W091/15999 に開示されている。しかしながら、多くの従来の撮像装置は広い帯域走査が可能な変換器を利用しており、そして変換器に送られる流出波形はソフトウェアで調節されている。この理由から、検出されたものとは異なる波形を放出させるための再プログラミングは当該技術の専門家の水準内に入るものである。

【0027】

本発明の実施においては、伝達される超音波のパラメータ(例えば、周波数、パルス間隔、および強度)は特定の環境に応じて変えることができ、またどの場合においても最適な変数は当該技術の専門家により容易に決めることができる。

【0028】

気泡は静脈内超音波造影剤中での使用のための最も有効な超音波散乱剤であることを示してきたが、本発明の造影強化剤は、予期せぬほど優れた撮像を提供する。例えば、心臓および腎臓を通して流れる血液のはっきりした、鮮やかな、且つ明瞭な像が得られる。本発明は血液流の研究に特に適するが、他の液体または組織の研究にも同等に適用できる。少量の無毒な薬用量を末梢静脈またはリンパ管内に投与し、身体の一部または一部の像を強化するために使用できる。微小気泡を導入することのできる身体内の空洞または区域は、本発明の方法により撮像することができる。このようにして、本発明は従来の技術では撮像が困難な種々の身体空洞および血管系を撮像する手段を提供する。

【0029】

撮像される対象は必ずしも有機組織である必要はない。本発明の方法は、むしろ、造影剤を取り囲む物質が超音波放射に対して透過性であり且つ微小気泡の選択された調波を妨害するような方法でそれ自身で共鳴せず且つ微小気泡の共鳴を遮蔽しない限り、造影剤を導入することのできる空間を有するいかなるものの撮像にも使用可能である。

【0030】

本発明の方法は、最初に伝達された周波数とは異なる1つの受信された周波数の測定値を使用して、一つの撮像を形成してもよい。或いは、励起周波数とは異なる数種の周波数を検出して、複数の像を形成するために使用することもでき、それらは別個に見ることもできるし、電子的に処理して複合像にすることもできる。

【0031】

10

20

30

40

50

受信された1つもしくは複数の周波数は当該技術の専門家に既知の種々の方法により処理することができる。これらには、例えば、希望する1つもしくは複数の調波に対して選択的な受信変換器を製造して基準周波数を無視するようにすることや、ソフトウェアまたはハードウェアフィルタを使用して種々の周波数を分離または単離することが含まれる。

【0032】

気泡の性質

驚くべきことに、気泡超音波造影剤のある種の性質は、それらの調波を生成する能力を強化できるということが発見された。気泡が、静脈内超音波造影剤における使用に最も有効な超音波散乱剤であることは分かっているが、これには、懸濁液中で毛管を通るのに必要な小さい（典型的には5ミクロンより小さい直径）

10

【0033】

気泡の寿命が極端に短いという一つの欠点がある。この短い寿命は気泡内部の気圧の増加により引き起こされ、それは気泡に働く表面張力から生ずる。この高められた内圧は、気泡の直径が減少するにつれて増加する。増加した内気圧は気泡内部の気体を溶解させて、気体が強制的に溶液化されて気泡の崩壊をもたらす。

【0034】

ラプラスの式、 $\Delta P = 2\gamma / r$ （ここで ΔP は気泡内部の気圧増加分であり、 γ は気泡膜の表面張力であり、 r は気泡の半径である）は、取り囲んでいる気泡表面または膜により気泡にかけられる圧力を記載している。ラプラスの圧力は気泡半径と反比例する。従って、気泡が収縮するにつれて、ラプラスの圧力は増加して気泡からの気体の拡散速度および気泡収縮速度を増加させる。

20

【0035】

ラプラスの圧力に対抗して気体浸透圧をかけることができる気体および気体蒸気混合物が、これらの小直径気泡の崩壊を大きく遅らせることが発見されている（米国特許出願番号08/284,083、および米国特許出願番号08/099,951参照）。これらの発明は、気体浸透剤を該気体浸透剤の蒸気圧より小さい分圧まで希釈する一次変性剤気体または気体混合物の使用を含んでいる。1種もしくは複数の気体浸透剤は、一般に相対的に疎水性であり且つ相対的に気泡膜不透過性であり、さらに相対的に低い蒸気圧において75または100トールより大きい気体浸透圧を生ずる能力も有する。1種もしくは複数の気体浸透剤が、気泡内の浸透圧を調節するように作用する。気泡の浸透圧の調節により、気体浸透剤（ここでは単一または混合物状の化学物質として定義されている）が気泡内に圧力をかけて、気泡の崩壊の予防を助ける。

30

【0036】

選択されたパーフルオロカーボン類を飽和させた空気の気泡は、液体中に溶解された空気に曝される時に、パーフルオロカーボン蒸気により課される気体浸透圧のために、収縮ではなくむしろ成長することができる。パーフルオロカーボン蒸気は気泡膜に対して相対的に不透過性であり、従って気泡の内部に残る。気泡内部の空気はパーフルオロカーボンにより希釈され、それが気泡からの空気拡散流を遅らせるように作用する。この気体浸透圧は、気泡膜を横切るパーフルオロカーボン蒸気の濃度勾配、気泡周囲の空気の濃度、並びに空気およびパーフルオロカーボンに対する気泡膜の透過速度に比例する。

40

【0037】

既に論じたように、ラプラスの圧力は気泡の半径に反比例する。従って、気泡が収縮するにつれてラプラスの圧力は増加して、ラプラスの圧力と外部圧力との組み合わせが、浸透剤を、その分圧が液体浸透剤の蒸気圧に達するまで濃縮させるため、気泡からの気体の拡散速度および気泡収縮速度を増加させ、そして場合によっては気泡中の気体の液化および事実上の消滅をもたらす。

【0038】

任意の1種の気体を含有する従来の微小気泡は、血液中にある時間にわたり存在するが、存在時間は主として動脈圧、気泡直径、気泡表面に対する気体の膜透過性、気泡表面の

50

機械的強度、血液または血清中に通常存在する気体の存在、不在、および濃度、並びに気泡の表面に存在する表面張力（それは主として気泡表面を形成する界面活性剤の種類および濃度に依存する）に依存する。これらの変数の各々は相互に関連しており、それらは気泡中で相互作用して気泡が血液中に留まる時間の長さを決めている。

【0039】

驚くべきことに、気泡が有用な温度（例えばヒトでは37℃）および圧力において液化可能な蒸気を含む時には、気体または蒸気から液体への相の変化により気泡の容量が、リニアシステムで予期される変化よりはるかに急速に変化することが発見された。この非リニア性が調波の発生をもたらす。この効果が有意であるためには、蒸気は気泡の気相中に約2%より大きい、そして好適には約5%、10%、25%、50%、または100%のモル分率濃度で存在していなければならない。気泡内部の蒸気は、好適には試験条件下で飽和近くであり、好適には飽和濃度の少なくとも約50%、75%または100%である。このようにして、ヒトの撮像用に使用される微小気泡に関しては、気泡中の蒸気の液相は気泡内部の圧力（1気圧プラス試験されるヒトの血圧プラス気泡の表面張力により生じるラプラスの圧力）の2%より大きい37℃における蒸気圧を有していなければならない。3ミクロンの気泡に対するこの合計圧力は1.5バールに達し、従って、気泡中の蒸気の液相は約23トールより大きい37℃における蒸気圧を有することが必要である。蒸気の液相は、水中で低い、好適には1重量/重量%より低い溶解度を有していなければならない。パーフルオロヘキサン、パーフルオロペンタン、パーフルオロシクロペンタン、フレオン113、六弗化硫黄、シクロペンタン、塩化メチレン、ペンタンおよびヘキサンの如き物質の蒸気が特に適する。

【0040】

他の気体で希釈された蒸気の凝縮は、形成される液体膜への気体の拡散を含み、従って凝縮の完了には一定の時間を必要とするが、気泡を取り囲む体温水の表面近くの蒸気部分は、診断超音波のマイクロ秒以下という時間枠内で、急速に凝縮することができる。高強度超音波空洞形成中に起こる水蒸気の気泡のように、純粋な蒸気、例えばパーフルオロペンタン、を含む気泡はほぼ瞬間的に凝縮可能である。これらの空洞形成性気泡が高強度調波を製造することは知られているが（Welsby 他、Acustica 22:177-182(1969)参照）、水蒸気気泡に関しては生物学的に有毒な強度で製造する。

【0041】

上記のような増加した調波発生をもたらす相の変化は、気体が気泡表面において界面活性剤の疎水性領域の中に溶解または吸収される時にも生ずる。この吸収または溶解平衡は気泡内部の気体の分圧により、従って気泡内部の全圧に影響される。励起超音波光線により加えられる圧力の増加が、平衡を、界面活性剤層中へ溶解または吸収する方向へとシフトさせて、リニアシステムから予期されるものとは異なる体積変化を生ずる。好適な気体は、界面活性剤の疎水性領域のモデルであるヘキサンに対するそれらの液体形での37℃における溶解度/混和度が10モル/モル%より大きいものである。37℃より低い沸点を有する気体、例えばブタンおよびパーフルオロブタン、に関しては、この測定は高められた圧力において実施すべきである。吸収性気体は、気泡気相中に気体混合物の2%モル分率より大きい濃度において、好適には約5%、10%、25%、50%、または100%において存在すべきである。弗素化された気体とともに、弗素化された界面活性剤の使用が好ましい。吸収性気体の液相は、水に対して相対的に不溶性、すなわち溶解度/混和度が1重量/重量%未満でなければならない。

【0042】

超音波により励起された気泡の機構の予備処理で、気泡が膨張および収縮しても気泡の表面張力を一定にする。小気泡の表面における表面張力は、ラプラスの法則により定義されているように、気泡内部の圧力に意義ある影響を与え、ここで気泡内部の圧力（外部周囲以上）は気泡の直径に反比例しておりそして界面活性剤膜の表面張力に正比例している。例えば、40ダイン/平方センチメートルの表面張力を有する3ミクロンの気泡は、その周囲よりも1/4バール大きい内部圧力を有する。いくつかの界面活性剤は非ニュート

ン性であり、すなわち界面活性剤層が圧縮された時に、標準的ラングミュアトラフ中で測定されるように、それらの表面張力が急速に変化する。表面積の変化に伴う界面活性剤膜の表面張力の変化は表面拡張率により定量的に定められる。これは

【0043】

【数1】

$$E = \frac{-d\gamma}{d\ln A}$$

【0044】

10

として定義され、ここでEは表面拡張率であり、dγは表面張力における変化であり、そしてd ln Aは表面積の自然対数における変化である。面積変化速度に由来する表面張力の付随的变化は表面拡張粘度により定められる。これは

【0045】

【数2】

$$\Delta\gamma = K \frac{1}{A} \frac{dA}{dt}$$

20

【0046】

として定義され、ここでΔγは表面張力における変化であり、Kは表面拡張粘度であり、Aは界面活性剤膜表面の面積であり、そしてdA/dtは界面活性剤膜表面積の変化速度である(Adamson, Physical Chemistry of Surfaces, 5th ed., John Wiley & Sons, Inc. New York, 1990 参照)。

【0047】

非ニュートン性界面活性剤を使用して気泡を形成する時には、気泡の表面積が励起超音波圧力に応答して変化するにつれて、気泡の表面張力、従ってその内圧が変化する。表面張力における変化に応答するこの追加膨張および収縮がより大きな非リニア性の圧縮をもたらし、従ってより高強度の調波の生成をもたらす。

30

【0048】

上昇する表面張力がそれ以上の膨張に対抗するまで、膨張性気泡は界面活性膜の表面積を増加させる。励起超音波サイクルの高圧域中では、表面張力が突然減少するまで圧縮性気泡は気泡表面積を減少させて、それ以上の圧縮を制限し、正弦曲線容量変化波形をゆがめ、調波を発生させる。

【0049】

本発明での使用に適した界面活性剤は、界面活性剤の分子当たりの面積がラングミュア膜バランス法で測定して10%だけ変化した時に水の表面張力を5ダイン/cmよりも大きく変化させる成分を有する、炭化水素もしくは弗素化された界面活性剤または混合物である。

40

【0050】

他の好適な界面活性剤は、11より小さい、好適には8以下の、親水疎水バランスを有する成分を有する界面活性剤である。

【0051】

高分子量(例えば1,000以上)の界面活性剤は超音波のマイクロ秒という時間枠に比べてゆっくりと拡散し、従って、1,000以上の分子量を有する成分を含み水の表面張力を40ダイン/cm以下に低下させることのできる界面活性剤が、上記のものとは独立して適している。

【0052】

拡散性、溶解度およびマイクロ秒時間目盛りを考慮すると、他の適する界面活性剤とし

50

ては、水の表面張力を40ダイン/cm以下に低下させることができ且つ水中での0.3以下の容積分率のCMC（臨界ミセル濃度）を有する界面活性剤がある。

本発明で使用する界面活性剤の例には、未変性のヒトアルブミン、磷脂質（例えば、ホスファチジルコリン）、糖エステル類（例えばステアリン酸スクロース、ジステアリン酸スクロース、トリステアリン酸スクロース）、ブロック共重合体（プルロニックF-68、プルロニックP-123）、ゾニル界面活性剤（例えばFSK、FSC、FSO、FSN、FSE、FSP、FSA、FSJ、UR、TBS）、脂肪酸（例えばステアリン酸、オレイン酸）およびそれらの塩（例えばステアリン酸ナトリウム、オレイン酸カリウム）が含まれる。

【0053】

これらの特別な操作制約を考慮すると、第一のタイプの好適な微小気泡（気泡が振れる時に部分的に凝縮する気体を含有する）は、有利にはパーフルオロヘキサン、パーフルオロペンタン、パーフルオロシクロペンタン、フレオン113、六弗化硫黄、シクロペンタン、塩化メチレン、ヘキサンおよびペンタンを含むことができる。

同様に、第二のタイプの好適な微小気泡（界面活性剤中に可溶性の気体）は、有利にはパーフルオロヘキサン、パーフルオロペンタン、パーフルオロシクロペンタン、フレオン113、六弗化硫黄、シクロペンタン、塩化メチレン、ヘキサン、ペンタン、パーフルオロブタン、パーフルオロシクロブタン、パーフルオロプロパン、フレオン12（ジクロロジフルオロメタン）、フレオン11（トリクロロモノフルオロメタン）、ブタン、シクロブタン、プロパン、メタン、およびエタンを含むことができる。

【0054】

粘性の殻（例えば米国特許第4,957,656の変性蛋白質ゲル、米国特許第5,141,738および4,657,756の飽和糖溶液）により安定化された気泡は、共鳴時に気泡の浸透を弱め、その結果、調波を製造するために必要な大容量の振れを妨害する（de Jong 他、Ultrasonics, 29:324-330(1991); de Jong 他、Ultrasonics, 30(2):95-103(1992); および de Jong, Acoustic Properties of Ultrasound Contrast Agents, Ph.D. thesis, Erasmus University, Rotterdam(1993)）。血液流中での実用的な使用にとって十分な長さにわたり安定化させるためには、上で論じたような気相内容物（例えば、高度に弗素化された化合物のような物質、例えばパーフルオロヘキサン、パーフルオロペンタン、パーフルオロブタン）により安定化された気泡は、界面活性剤の単分子層（単層）を必要とするだけである（米国特許出願番号第08/284,083、米国特許出願番号第08/099,951 および Quay, PCT/US92/07250 と PCT/US94/00422 参照のこと）。このようにして共鳴および非共鳴時の両者において、その気体内容物により安定化されそしてその表面上に界面活性剤の単層を有する気泡は、励起超音波圧力波の励起エネルギーの拡散を弱め、その結果として比較的大きい量の振れを受けて、励起周波数以外の周波数における調波成分としてそのエネルギーの多くを再放射または散乱させる。ステアリン酸スクロースおよびプルロニックF-68が、微小気泡を単層でコーティングし、その結果として気体/蒸気で安定化された気泡の浸透を弱めない界面活性剤の2つの例である。

【0055】

これらの特別な変数を考慮にいて、好適な微小気泡の構造の詳細を以下に記す。気体および/または界面活性剤が、調波再放射が本発明における使用に十分なものとなるようにここに記載されている通りに選択される限り、特に記載されている微小気泡の他に、例えば Quay の PCT/US92/07250 および PCT/US94/00422に記載されているような他の微小気泡を使用することもできる。

【0056】

微小気泡構造

A. 膜形成性液相

気泡を内包する外側の連続的な液相は、典型的には界面活性剤または発泡剤を含む。本発明の使用に適した界面活性剤には、相と相の間の界面において層を形成することにより気泡膜の形成および維持を助け、且つ上記の基準を有する化合物または組成物が含まれる

10

20

30

40

50

。発泡剤または界面活性剤は、単独化合物または、例えば共一界面活性剤の場合のような化合物の組み合わせを含んでいてもよい。

【0057】

広範囲の界面活性剤を使用できることが認識されよう。実際には、微小気泡の形成を促進させることができ且つ上記した性質を有する事実上全ての界面活性剤または発泡剤（開発中のものも含む）を本発明で 사용할 ことができる。所与の用途のために最適な界面活性剤もしくは発泡剤またはそれらの組み合わせは、面倒な実験を必要としない経験的な研究により決めることができる。従って、本発明の技術の実施者は、例えば生体適合性、界面活性剤中の気相の溶解度、およびそれらの非ニュートン性作用の如き性質に基づいて、界面活性剤もしくは発泡剤またはそれらの組み合わせを選択すべきである。

10

【0058】

B. 気相

本発明の主要な側面は気相の選択にある。既に論じたように、本発明は、最初に伝達される超音波周波数の調波を発生させる能力を有する微小気泡の使用に依存する。そのような微小気泡は、分圧における差を活用または引き起こし、気泡を安定化させる気体浸透圧を発生させるための気体または気体の組み合わせを含有することができる。さらに、微小気泡は体温（一般的には約 35.5°C ～ 約 40°C ）および有用な圧力（一般的には約 1 – 2 気圧）において、状態を気体から液体または固体に変化させることができる物質を含有する。或いは、微小気泡は上で論じたような気泡膜の疎水性部分中に吸収または溶解する物質を含有することもできる。

20

【0059】

従って、室温または体温において気体ではないフルオロカーボンまたは他の化合物でも、それらが体温において十分な蒸気圧、好適には少なくとも約 10 – 20 トール、そしてより好適には 30、40、50 または 100 トール、またはより好適には少なくとも約 150 もしくは 200 トール、を有する限り、使用することができる。しかしながら、第一のタイプの微小気泡（凝縮気体）では、その少なくとも一種の成分の蒸気圧は約 900 または 1000 トールより低くして、十分な濃度の気体が気泡中に存在する時に撮像中に気泡内の気体に適用される絶対圧がその気体により気泡内に与えられる部分分圧により割算された該成分の蒸気圧を越えるようにしなければならない。すなわち、 $P_A < P_V / P_{PF}$ であり、ここで P_A は超音波により圧縮された時の気泡内の絶対圧であり、 P_V は関連する気体状化合物の体温における蒸気圧であり、 P_{PF} は気泡内の合計気体圧力の分数として表されるその気体の分圧である。例えば、気泡中の圧力が 1000 トール（760 トールの大気圧プラス収縮期の圧力により起因する 100 トールプラス音波圧縮に起因する瞬間的な 140 トール）であるなら、気泡中の気体分圧の 50 % に寄与する液化気体は体温において 500 トール以下の蒸気圧を有していなければならない。

30

【0060】

既に示唆したように、フルオロカーボン気体が特に好ましい。ここで使用されているフルオロカーボンという語には、完全に弗素化された化合物（パーフルオロカーボン類）並びに部分的に弗素化された炭化水素／フルオロカーボン物質が含まれ、それらは全て未置換であるか或いは他のハロゲン、例えば Br、Cl、もしくは F、または他の置換基、例えば O、OH、S、NO などにより置換されている。好適な溶解度および／または蒸気圧の基準を有する物質には、パーフルオロヘキサン、パーフルオロペンタン、パーフルオロシクロペンタン、パーフルオロブタン、パーフルオロシクロブタン、およびパーフルオロプロパンがある。

40

【0061】

上記の溶解度および蒸気圧の基準の両者を満たさないが本発明で適切に作用すると思われる他の化合物を、当該技術の専門家であれば容易に決められることを認識されたい。むしろ、ある種の化合物が他の範疇における逸脱性を補い、水中での優れた不溶性または高い蒸気圧もしくは使用される界面活性剤中に溶解する親和性を与えるなら、これらの化合物は溶解度または蒸気圧において好適な範囲外であると考えられている可能性もあるとい

50

うことを理解されたい。

【0062】

医学用途のためには、気体は生体適合性であり又は生理的に非変性でなければならないことも注意すべきである。最終的には、気相を含有する微小気泡は衰微し、気相は、溶解された気体又は凝縮された液体のミクロン以下の小滴として血液中に放出されるであろう。気体は、主として肺呼吸によりまたは呼吸と細網内皮系における他の代謝経路との組み合わせにより身体から除去されることが理解されるであろう。

【0063】

他の成分

他の成分を本発明の微小気泡調合物中に含有できることは理解されよう。例えば、浸透剤、安定剤、キレート剤、緩衝剤、粘度調節剤、空気溶解度変性剤、塩、および糖を加えて、最大限の寿命と造影強化効果のために、微小気泡懸濁液を微細調節することができる。例えば殺菌性、等張性、および生体適合性の如き考慮点が注射用組成物に対するそのような従来からの添加剤の使用を支配するかもしれない。そのような剤の使用は当該技術の専門家に理解され、そしてこれらの剤の特定の量、割合、およびタイプは面倒な実験なしに経験的に決めることができる。

【0064】

本発明の微小気泡の調合

本発明に従って微小気泡を製造するために使用できる種々の方法がある。噴霧乾燥された中空微球の再水和が好ましい。音波処理、すなわち超音波伝達隔膜によるまたは超音波的に振動する皮下注射針を含む超音波プローブで隔膜を貫通することによる処理、も微小気泡の好適な形成方法である。しかしながら、気泡形成用には種々の他の技術があることも認識されよう。例えば、気体注入技術、例えばベンチュリ気体注入法を使用することができる。

【0065】

微小気泡を製造するための他の方法には、モレキュラー・バイオシステムズ・インコーポレーテッドによるヨーロッパ特許出願 0,359,246 に記載されているようなアルブミンまたは他の蛋白質の超音波処理による粒状微球の形成が含まれ、張力剤および粘度増加剤の使用は米国特許第 4,446,442 に記載されており、脂質でコーティングされた非リポソーム性の微小気泡は米国特許第 4,684,479 に記載されており、捕獲された気体を有するリポソームは米国特許第 5,088,499 および 5,123,414 に記載されており、そして変性アルブミン粒状微球の使用は米国特許第 4,718,433 に記載されている。

【0066】

音波処理は多くの方法で実施することができる。例えば、界面活性剤溶液および気体をバイアルの頭部空間に含有するバイアルを、薄膜を通して音波処理することができる。許容可能な伝達性を与えそして膜の加熱を最少にするためには、好適には、膜は約 0.5 または 0.4 mm 未満の厚さであり、そしてより好適には約 0.3 または 0.2 mm 未満の厚さであり、すなわち物質中の超音波の波長より薄い。膜は、例えばゴム、テフロン（登録商標）、マイラ、ウレタン、アルミニウム処理されたフィルム、または他の音波的に透明な合成もしくは天然の重合体フィルムもしくはフィルム形成性物質のような物質から作成することができる。音波処理は、膜を超音波プローブとまたは焦点を合わせた超音波「光線」と接触させるかまたはそれで膜を押し下げることにより実施できる。超音波プローブは使い捨て用のものであってもよい。いずれの場合でも、プローブを膜に対して置くこともできまたは膜を通して且つ液体中に挿入することもできる。音波処理が行われると、微小気泡溶液はバイアルから取り出されそして患者に与えられる。

【0067】

音波処理は、インクジェットプリンターと同様な注射器上の低動力超音波振動吸引組み立て体を用いて、注射器内で行うこともできる。また、注射器またはバイアルを、エネルギーを容器内の一点に集める低動力超音波浴内に置いてその中で音波処理してもよい。

【0068】

10

20

30

40

50

他のタイプの微小気泡の機械的形成法も考えられる。例えば、気泡を機械的高剪断弁（または二重注射器針）および二つの注射器、または注射器上の吸引器組み立て体を用いて生成することができる。簡単な振盪を使用してもよい。ここに記載されている収縮気泡技術は、音波処理された気泡より低いエネルギー入力を有する機械的に製造される気泡用に特に適する。そのような気泡は、典型的には最終的に希望される生体適合性の撮像剤よりはるかに大きい直径を有するであろうが、非浸透性気体の消失により好適な寸法に収縮させ、浸透剤を飽和近くまで濃縮させることができる。

他の方法では、微小気泡は、界面活性剤溶液に加えられる高められた圧力において変性剤気体を過飽和させた液体浸透剤エマルジョンの使用により製造することができる。この製造方法は、ソーダポップの開放におけるのと同様に作用し、そこでは気体が圧力の解放時に発泡し、気泡を形成する。

10

【0069】

他の方法では、気泡はシェーピングクリームの発泡と同様にして、パーフルオロブタン、フレオン、または他の圧力が解放される時に沸騰する物質のようなものを用いて製造することができる。しかしながら、この方法では、乳化された液体が十分低い温度において沸騰すること、またはそれが水相の過熱または過飽和を防止するために多数の気泡核形成部位を含有していることが肝要である。この過飽和は、望まれる多数の小さい気泡（各々の小滴当たり一つ）より、むしろ限られた数の核形成部位上での少数の大きな気泡を形成することになるであろう。

【0070】

20

さらに他の方法では、急速に溶解または水和する、好適には水溶液中に溶解または水和する乾燥した空所を含有する粒子または他の構造物（例えば中空球もしくはハニカム構造物）、例えばアルブミン、微細糖結晶、中空の噴霧乾燥された糖、塩、中空の界面活性剤球、乾燥された多孔性重合体球、乾燥された多孔性ヒアルロン酸、または置換されたヒアルロン酸球、または商業的に入手できる乾燥されたラクトース微細球を使用して、本発明の微小気泡を製造することができる。

【0071】

例えば、界面活性剤溶液を例えば空気、二酸化炭素、窒素などの加熱された気体中に噴霧して乾燥された1-10ミクロンまたはそれより大きい中空のまたは多孔性の球を得ることにより噴霧乾燥された界面活性剤溶液を製造することができ、それを、ここに記載された浸透性気体または望ましい気体混合物が充填されたバイアルの中に詰める。気体は球の空所内に拡散するであろう。拡散は加圧または真空循環により助けられる。殺菌性溶液を用いて再構成される時に、球は急速に溶解しそしてバイアルの中に浸透性気体で安定化された気泡が残る。さらに、澱粉もしくはデキストリン類、糖ポリエステルおよび／または膨張剤、例えば塩化メチレン、1,1,2-トリクロロトリフルオロエタン（フレオン113、ニュージャージー州、ギブスタウン、EMサイエンス）もしくはパーフルオロヘキサンを含めることにより、生体内の高められた半減期を有する微小気泡を生ずるであろう。微小気泡の形成における使用に特に好適な澱粉には、約500,000ダルトンを超える分子量または約12未満のデキストロース当量（DE）値を有するものが含まれる。DE値は澱粉重合体加水分解度の量的測定値である。それは100のデキストロース標準と比べた還元力の測定値である。DE値が高くなればなるほど、澱粉加水分解度が大きくなる。そのような好適な澱粉には、ナショナル・スターチ・アンド・ケミカル・カンパニー（ニュージャージー州、ブリッジウォーター）により商標N-LOKおよびCAPSULEとして販売されているもの、誘導体化された澱粉、例えばヒドロキシエチル澱粉（デュポン・ファーマシューティカルズから商標HETASTARCHおよびHESPANとして入手できる）（M-ヒドロキシエチル澱粉、日本、東京、味の素（株））を含む食品産業において商業的に入手できるタイプの食品等級の植物澱粉が含まれる。（短鎖澱粉は良好に噴霧乾燥され、微小気泡の製造用に使用することができるが、約500,000未満の分子量のものは微小気泡を安定化させないため好ましくないことに注意すること。しかしながら、それらは本発明において更なる安定化を必要としない用途では使用することがで

30

40

50

きる。)別法では、微小な孔構造を有するように製造された界面活性剤および塊状化試薬の凍結乾燥されたケーキを殺菌性溶液と頭部空間に浸透性気体混合物の入ったバイアルの中に入れることができる。この溶液を急速に冷凍して微小な氷結晶構造を形成することができ、従って、凍結乾燥時に微小な孔(氷結晶が除去される空所)を製造する。

【0072】

或いは、溶媒和可能なまたは可溶性の空所形成性構造物を使用してもよい。この態様では、空所形成性物質が界面活性剤から製造されないかまたは界面活性剤を含有しない場合には、界面活性剤および液体の両者をこの構造物および望ましい1種または複数の気体を有する容器の中に供給する。再構成により、これらの空所が浸透性気体を捕獲し、そして固体ケーキの溶解で、内部に1種または複数の気体を有する微小気泡を形成する。

10

【0073】

本発明における使用のための微小気泡は、微小気泡の製造用の上記の1種または複数の気体、液体、および界面活性剤を封入する容器を使用して製造することができる。この容器は、殺菌された乾燥成分の全ておよび気体を一つの室に収容し、殺菌された水性液体を同じ容器の第二の室に含有している。好適な二室バイアル容器は、例えば、ウィートン・グラス・カンパニー(ニュージャージー州、ミルヴィル)から商標WHEATONS 177FLWまたはS-1702FLとして入手できる。

或いは、逆の二室バイアルを微小気泡製造用にも使用することもできる。この微小気泡形成方法に関する利点は、水相を最初に加えそしてオートクレーブ処理または他の手段により殺菌し、その後に噴霧乾燥された微球を設置できることである。これが殺菌前の水相中で

20

【0074】

他の好適な装置も既知であり商業的に入手できる。例えば、B-D HYPACK液体/乾燥 5+5ml二重室予備充填注射器システム(ベクトン・ディッキンソン、ニュージャージー州、フランクリン・レークス、米国特許 4,613,326 に記載されている)の如き二室ガラス注射器を有利に使用して噴霧乾燥された粉末を再構成することができる。

【0075】

噴霧乾燥された粉末を殺菌された状態で水溶液と組み合わせうる他の二室再構成システムも、本発明の範囲内であることは当該技術の専門家は認識できることであろう。そのようなシステムでは、水相を水不溶性浸透性気体と環境との間に介在させて製品の貯蔵寿命

30

【0076】

或いは、容器は、空所形成性物質および1種または複数の気体を収容することもでき、そして界面活性剤および液体を加えて微小気泡を形成することができる。1つの態様では、界面活性剤が容器中の他の物質と共存できるため、微小気泡を形成するために液体を加えることが必要となるだけである。微小気泡を形成するために必要な物質がすでに容器内に存在しているのでない場合は、それをキットの他の成分と共に、好適にはキットの他の成分との迅速な結合を促進させるように適合された形または容器中に詰めることができる。

【0077】

キット中で使用される容器は、ここの他の箇所で記載されているタイプであってもよい。1つの態様では、容器は従来の隔膜密封バイアルである。他では、それは容器の内容物中への十分な気泡形成エネルギーの適用を指示または許容するための手段を有する。この手段は、例えば、前記の薄いウェブまたはシートを含んでいてもよい。

微小気泡の殻の中に界面活性剤および湿潤剤を含有させることにより比較的低い界面活性剤濃度の使用が可能になる。微球殻が溶解するにつれて、それは、その内部で形成した微小気泡を、界面活性剤で飽和された水相の層で一時的に取り囲んで、微小気泡表面上へそれらが沈着するのを促進させる。従って、微球を含有する噴霧乾燥された界面活性剤は、局部的に高濃度の界面活性剤だけを必要とし、水相全体における高い界面活性剤濃度の必要がなくなる。

40

50

【0078】

撮像方法

本発明の微小気泡調合物は、いずれも脊椎動物、例えば鳥または哺乳動物に、脊椎動物の部分超音波撮像用の造影剤として投与することができる。好適には、脊椎動物はヒトであり、そして撮像される部分は脊椎動物の血管系である。この態様では、少量の微小気泡（例えば、脊椎動物の体重を基にして $0.1 \text{ ml} / \text{Kg}$ ）を動物に対して静脈内投与する。他の量の、例えば約 $0.005 \text{ ml} / \text{Kg}$ ～ 約 $1.0 \text{ ml} / \text{Kg}$ の、微小気泡を使用することもできる。心臓、動脈、静脈、並びに血液に富んだ器官、例えば肝臓および腎臓をこの技術で超音波撮像することができる。超音波撮像機械を特定の周波数で撮像するように設定したと仮定すると、音波変換器に供給される流出波形は撮像周波数の分数（例えば、 $1/2$ 、 $2/3$ 、 $1/3$ 、など）または撮像周波数の整数または分数の倍数（例えば、 2 、 $3/2$ 、 3 、 4 、など）であることができる。微小気泡組成物および励起エネルギーの特定の組み合わせを用いると、ある種の調波が優勢になるであろう。副調波は一般的な例である。明白な理由のためにこれらの最も強い調波が好ましいが、例えば複合像の製造または背景の除去の如き理由のために他の調波を選択することもできる。優勢な調波は微小気泡溶液の簡単な経験的試験により決めることができる。

10

【実施例】

【0079】

以上の記述は下記の実施例を参照することにより、さらに完全に理解されるであろう。しかしながら、そのような実施例は本発明の好適な実施方法の例示であり、本発明の範囲または添付されている請求の範囲を限定するものではない。

20

【0080】

<実施例1>

音波による超音波造影剤の製造

界面活性剤として2%のプルロニックF-68および1%のステアリン酸スクロース、変性剤気体としての空気、並びに37℃における飽和付近濃度のパーフルオロヘキサンを含有する等張性水相の音波処理により、5ミクロンの平均数重量寸法を有する微小気泡を製造した。

【0081】

0.9%のNaCl、2%のプルロニックF-68および1%のステアリン酸スクロースを含有する殺菌性水溶液1.3mlを、2.0mlのバイアルに加えた。バイアルは、最初は空気が入っている0.7mlの残存頭部空間を有していた。25℃のパーフルオロヘキサン蒸気を飽和させた空気（220トールのパーフルオロヘキサンと540トールの空気）を使用してバイアルの頭部空間に流した。バイアルを薄い0.22mmのポリテトラフルオロエチレン（PTFE）隔膜で密封した。バイアルを水平に回転させ、そしてソニックス・アンド・マテリアルスから得られる50ワット音波発生器モデルVC50と連結された1/8"（3mm）の音波処理プローブを隔膜に静かに押しつけた。この位置で、隔膜はプローブを溶液から隔離している。次に、動力がプローブに与えられ、溶液が15秒間にわたり音波処理され、ホリバLA-700レーザー光線散乱粒子分析器により測定して5ミクロンの平均数重量寸法を有する微細分割された微小気泡の白色溶液が生成した。

30

40

【0082】

<実施例2>

音波処理された造影剤の使用

2匹のウサギに、実施例1に従い製造された造影剤の0.1～0.3mlの範囲の薬用量を、1匹のウサギ当たり合計5回の注射で注射した。ウサギを次にカナダ、オンタリオ州、ノース・ヨーク、ベイビュー・アベニュー2075、トロント大学、サニーブルック・ヘルス・サイエンス・センターで実験的超音波装置を用いて撮像した。この装置は正常のグレースケールおよびドップラー方式並びに調波強化グレースケールおよびドップラー方式で撮像可能であった。心臓、大静脈内部、動脈、腎臓および肝臓の像を試験した。ウサ

50

ギの像は、調波強化方式で撮像する際にこの造影剤が注射された時に非常に強化された。造影剤注射後には小血管が明白に見えたが、非血管クラッター信号は大きく減少した。この強化は約2～3分間持続した。強化された像は優れた調波超音波信号を発生する造影剤の結果であった。

【0083】

<実施例3>

噴霧乾燥された超音波造影剤である調合物1の製造

各々1リットルの下記の溶液を、水を使用して注射用に製造した：4.0重量／容量%のN-Lok植物澱粉（ニュージャージー州、ブリッジウォーター、ナショナル・スターチ・アンド・ケミカル・カンパニー）および1.9重量／容量%の塩化ナトリウム（ミズリー州、セントルイス、マリクロッド）を含有する溶液A並びに2.0%のスーパーロニックF-68（ドイツ、ハイデルベルグ、セルヴァ）および2.0重量／容量%のリョートー・スクロース・ステアレートS-1670（日本、東京、三菱化成食品株式会社）を含有する溶液B。溶液Bは高剪断ミキサーに加え、氷浴中で冷却した。40mlの1,1,2-トリクロロトリフルオロエタン（フレオン113、ニュージャージー州、ギブスタウン、EMサイエンス）の粗い懸濁液を1リットルの溶液B中で製造した。この懸濁液をマイクロフルイダイザー（マサチューセッツ州、ニュートン、マイクロフルイディックス・コーポレーション；モデルM-110F）を用いて10,000psiにおいて5℃で5回乳化した。生じたエマルジョンを溶液Aに加えて噴霧乾燥用の下記の調合物を製造した：

【0084】

2.0重量／容量%のm-HESヒドロキシエチル澱粉（日本、東京、味の素（株））
2.0重量／容量%の塩化ナトリウム（マリクロッド）
0.87%の二塩基性燐酸ナトリウム（マリクロッド）
0.26%の一塩基性燐酸ナトリウム（マリクロッド）
1.7重量／容量%のスーパーロニックF-68（セルヴァ）
0.3重量／容量%のスクロースステアレートS-1670（三菱化成食品株式会社）
0.1重量／容量%のスクロースステアレートS-570（三菱化成食品株式会社）
4.0重量／容量%の1,1,2-トリクロロトリフルオロエタン（フレオン113；EMサイエンス）

【0085】

このエマルジョンを二液噴霧器が装備されたニロ・アトマイザー・プータブル・スプレイ・ドライヤー（デンマーク、コペンハーゲン、ニロ・アトマイザー）中で下記の設定を使用して噴霧乾燥した：

【0086】

熱空気流速 = 39.5 CFM
入り口空気温度 = 25.5℃
出口空気温度 = 109℃
噴霧器空気流 = 110リットル／分
エマルジョン供給速度 = 1リットル／時

【0087】

乾燥した中空の球形生成物は約1μM～約15μMの間の直径を有しており、この乾燥器に関する標準の通りにしてサイクロン分離器で集められた。粉末のアリコート（250mg）を重量測定して10mlの管状バイアル中に入れ、パーフルオロヘキサン飽和窒素（1mlの気体当たり2mgのパーフルオロヘキサン）を13℃で流して密封した。窒素を、13℃の水浴中に浸漬された3個のパーフルオロヘキサン充填気体洗浄瓶の中に通すことにより、パーフルオロヘキサンで飽和させた。

【0088】

水が注入される間に圧力を抜くための排気口として18-ゲージ針を挿入した後に、400mgの噴霧乾燥された粉末に5mlの水を加えて注射用にバイアルを再構成した。

【0089】

<実施例4>

粉末乾燥された超音波造影剤である調合物1の使用

実施例3に記載された造影剤の注射液1mlを2匹のウサギに投与した。ウサギを次に上記の実施例2に記載された通りにして撮像した。

【0090】

この調合物は、微小気泡により発生する調波信号を強化した。調合物#1の噴霧乾燥された造影剤は、上記の実施例1に記載された音波処理された造影剤より大きい強化をもたらし、そしてこの強化は約4分間持続した。この改良された調波応答および持続性は、より最適に選択された非ニュートン性界面活性剤システムの結果である。

10

この調合物は、凝縮可能な蒸気、吸収可能な蒸気、非ニュートン性界面活性剤およびフルオロカーボン蒸気で安定化された単層界面活性剤気泡が、優れた生体内撮像用の強化された調波を発生することを示した。

【0091】

<実施例5>

噴霧乾燥された超音波造影剤である調合物2の製造

各々1リットルの下記の溶液を、水を使用して注射用に製造した：4.0重量/容量%のN-Lok植物澱粉（ニュージャージー州、ブリッジウォーター、ナショナル・スターチ・アンド・ケミカル・カンパニー）および1.9重量/容量%の塩化ナトリウム（ミズリー州、セントルイス、マリンクロッド）を含有する溶液A並びに2.0%のスーパーロニックF-68（ドイツ、ハイデルベルグ、セルヴァ）および2.0重量/容量%のリョートー・スクロースステアレートS-1670（日本、東京、三菱化成食品株式会社）を含有する溶液B。溶液Bは高剪断ミキサーに加え、氷浴中で冷却した。40mlの1,1,2-トリクロロトリフルオロエタン（フレオン113、ニュージャージー州、ギブスタウン、EMサイエンス）の粗い懸濁液を1リットルの溶液B中で製造した。この懸濁液をマイクロフルイダイザー（マサチューセッツ州、ニュートン、マイクロフルイディックス・コーポレーション；モデルM-110F）を用いて10,000psiにおいて5℃で5回乳化した。生じたエマルジョンを溶液Aに加えて噴霧乾燥用の下記の調合物を製造した：

20

【0092】

2.0重量/容量%のm-HESヒドロキシエチル澱粉（日本、東京、味の素（株））
3.0重量/容量%の塩化ナトリウム（マリンクロッド）
1.7重量/容量%のスーパーロニックF-68（セルヴァ）
0.2重量/容量%のスクロースステアレートS-1670（三菱化成食品株式会社）
0.1重量/容量%のスクロースステアレートS-570（三菱化成食品株式会社）
4.0重量/容量%の1,1,2-トリクロロトリフルオロエタン（フレオン113；EMサイエンス）

30

【0093】

このエマルジョンを二液噴霧器が装備されたニロ・アトマイザー・プータブル・スプレイ・ドライヤー（デンマーク、コペンハーゲン、ニロ・アトマイザー）中で下記の設定を使用して噴霧乾燥した

40

【0094】

熱空気流速 = 39.5 CFM

入り口空気温度 = 220℃

出口空気温度 = 103℃

噴霧器空気流 = 110リットル/分

エマルジョン供給速度 = 1リットル/時

【0095】

乾燥した中空の球形生成物は約1μM～約15μMの間の直径を有しており、この乾燥器に関する標準の通りにしてサイクロン分離器で集められた。粉末のアリコート（250mg）を重量測定して10mlの管状バイアル中に入れ、パーフルオロヘキサンー飽和窒

50

素（1 m l の気体当たり 2 m g のパーフルオロヘキサン）を 1 3 °C で流して密封した。窒素を、1 3 °C の水浴中に浸漬された 3 個のパーフルオロヘキサン充填気体洗浄瓶の中に通すことにより、パーフルオロヘキサンで飽和させた。

【0096】

水が注射される間に圧力を抜くための排気口として 1 8 - ゲージ針を挿入した後に、3 5 0 m g の噴霧乾燥された粉末に 5 m l の水を加えて注射用にバイアルを再構成した。

【0097】

<実施例 6>

粉末乾燥された超音波造影剤である調合物 2 の使用

実施例 5 に記載された造影剤の注射液 1 m l、2 本を 2 匹のウサギに投与した。ウサギを次に上記の実施例 2 に記載された通りに撮像した。 10

【0098】

この調合物は微小気泡により発生する調波信号を強化した。調合物 # 2 の噴霧乾燥された造影剤は、上記の実施例 1 に記載された音波処理された造影剤および実施例 3 に記載された調合物 # 1 の噴霧乾燥された造影剤より大きい強化をもたらし、そしてこの強化は約 5 分間持続した。この改良された調波応答および持続性は、改良された界面活性剤調合物の結果である。この調合物も凝縮可能な蒸気、吸収可能な蒸気、非ニュートン性界面活性剤およびフルオロカーボン蒸気で安定化された単層界面活性剤気泡が優れた生体内撮像用の強化された調波を発生することを示した。

【0099】

<実施例 7>

噴霧乾燥された超音波造影剤である調合物 3 の製造

各々 1 リットルの下記の溶液を、水を使用して注射用に製造した：4.0 重量／容量 % の N - L o k 植物澱粉（ニュージャージー州、ブリッジウォーター、ナショナル・スターチ・アンド・ケミカル・カンパニー）および 1.9 重量／容量 % の塩化ナトリウム（ミズリー州、セントルイス、マリクロッド）を含有する溶液 A 並びに 2.0 % のスーパーロニック F - 6 8 （ドイツ、ハイデルベルグ、セルヴァ）および 2.0 重量／容量 % のリョートー・スクロースステアレート S - 1 6 7 0 （日本、東京、三菱化成食品株式会社）を含有する溶液 B。溶液 B は高剪断ミキサーに加え、氷浴中で冷却した。4 0 m l の 1, 1, 2 - トリクロロトリフルオロエタン（フレオン 1 1 3、ニュージャージー州、ギブスタウン、E M サイエンス）の粗い懸濁液を 1 リットルの溶液 B 中で製造した。この懸濁液をマイクロフルイダイザー（マサチューセッツ州、ニュートン、マイクロフルイディックス・コーポレーション；モデル M - 1 1 0 F）を用いて 1 0, 0 0 0 p s i において 5 °C で 5 回乳化した。生じたエマルジョンを溶液 A に加えて噴霧乾燥用の下記の調合物を製造した： 30

【0100】

3.9 重量／容量 % の m - H E S ヒドロキシエチル澱粉（日本、東京、味の素（株））
 3.2 5 重量／容量 % の塩化ナトリウム（マリクロッド）
 2.8 3 % の二塩基性リン酸ナトリウム（マリクロッド）
 0.4 2 % の一塩基性リン酸ナトリウム（マリクロッド）
 2.1 1 重量／容量 % のスーパーロニック F - 6 8 （セルヴァ）
 0.3 2 重量／容量 % のスクロースステアレート S - 1 6 7 0 （三菱化成食品株式会社）
 0.1 6 重量／容量 % のスクロースステアレート S - 5 7 0 （三菱化成食品株式会社）
 3.0 重量／容量 % の 1, 1, 2 - トリクロロトリフルオロエタン（フレオン 1 1 3；E M サイエンス）

【0101】

このエマルジョンを二液噴霧器が装備されたノロ・アトマイザー・プータブル・スプレイ・ドライヤー（デンマーク、コペンハーゲン、ニロ・アトマイザー）中で下記の設定を使用して噴霧乾燥した：

【0102】

熱空気流速 = 3 1 C F M

20

30

40

50

入り口空気温度 = 37.0℃

出口空気温度 = 12.0℃

噴霧器空気流 = 290リットル/分

エマルジョン供給速度 = 1.5リットル/時

【0103】

乾燥した中空の球形生成物は約1μM～約15μMの間の直径を有しており、この乾燥器に関する標準の通りにしてサイクロン分離器で集められた。粉末のアリコート(250mg)を重量測定して10mlの管状バイアル中に入れ、パーフルオロヘキサン-飽和窒素(1mlの気体当たり2mgのパーフルオロヘキサン)を13℃で流して密封した。窒素を、13℃の水浴中に浸漬された3個のパーフルオロヘキサン充填気体洗浄瓶の中に通すことにより、パーフルオロヘキサンで飽和させた。

【0104】

水が注射される間に圧力を抜くための排気口として18-ゲージ針を挿入した後に、100mgの噴霧乾燥された粉末に5mlの水を加えて注射用にバイアルを再構成した。

【0105】

<実施例8>

粉末乾燥された超音波造影剤である調合物3の使用

通常のグレースケールおよびドップラー方式並びに調波強化されたグレースケールおよびドップラー方式で撮像可能な実験的な超音波撮像装置を用いる試験用に体重が約20Kgの麻酔をかけた犬をミネソタ州、ロチェスター、ファースト・ストリート・サウスウェスト200の Mayo Clinic で準備した。この装置は上記の実施例で使用されたものとは独立して設計されていた。犬の心臓を、全ての方式で、0.5ml、1.5mlおよび2ml薬用量の実施例7に記載された微小気泡超音波造影剤の注射前および後に撮像した。

【0106】

心臓壁の動きや室容量の規定および心筋を灌流する造影剤の観察において、調波強化方式の像は通常方式の像よりはるかに優れていた。心臓の隔膜中の個別の穿孔器容器が観察された。この造影剤は血液中で約5分間の有効寿命を有していた。

【0107】

上記の実験は、(1) 23トールより高い37℃における蒸気圧、水中での約1重量/重量%より小さい溶解度を有し、そして凝縮により調波の発生を強める2%モル分率より大きい気相における濃度およびその飽和濃度の50%より大きい濃度で存在するパーフルオロヘキサンを含有しているか、(2) (a) 10モル/モル%より大きい37℃におけるヘキサン中でのその液相の溶解度を有し且つ (b) 1重量/重量%より小さい37℃における水中でのその液相の溶解度を有し、そしてその結果として界面活性剤層中での吸収/溶解により調波発生を強化する2%モル分率より大きいパーフルオロヘキサンを有する気体を含有するか、(3) 調波発生を強化する非ニュートン性界面活性剤を含有するか、または(4) パーフルオロヘキサンにより安定化された微小気泡、気体浸透剤、および調波発生を強化する界面活性剤の単層を含有する微小気泡造影剤の強化された調波発生を示している。

【0108】

<実施例9>

音波処理された超音波造影剤の使用

音波処理前のバイアル内の雰囲気(従って微小気泡中の気体)が100%パーフルオロブタンであり、音波処理されたバイアル中の溶液が0.9%の食塩水および3%のプルロニックF-68(単層が加圧された時に表面張力における小さい変化しか示さないニュートン性水溶性界面活性剤)であること以外は、上記の実施例1の通りにして音波処理により微小気泡造影剤を製造する。

【0109】

0.3mlのこの造影剤の注射後に、ウサギを実施例2の通りにして撮像する。この調合物の血管持続性および調波発生性は最適ではないが、パーフルオロブタンがプルロニック

10

20

30

40

50

ク F-68 単層の疎水性領域中に溶解するかもしれないもしくはそれに吸収される能力のために、空気充填微小気泡と比べてより高水準の調波強化が得られる。これはパーフルオロブタンが 10 モル／モル% より大きいヘキサン中の溶解度および 1 重量／重量% より小さい水溶解度を有するためである。さらに、気泡はそれらの気体内容物により安定化されそして界面活性剤の単層を有している。

【0110】

<実施例 10>

音波処理された超音波造影剤

実施例 9 に記載された造影剤を 13℃ のパーフルオロヘキサンで飽和された窒素を含有する気泡を用いて製造する。ウサギを上記の通りにしてこの造影剤を使用して撮像する。実施例 9 に記載された吸収および気体安定化された単層の効果に加えて、パーフルオロヘキサンが励起時に凝縮可能であるため、この調合物の調波強化は実施例 9 より良好であり、例えば、それは気相の 2% モル分率より多くそしてその飽和濃度の 50% を超える濃度で存在しており、水中で 1 重量／重量% 未満の可溶性であり、そして 23 トールより大きい 37℃ における蒸気圧を有する。

10

【0111】

<実施例 11>

アルブミンコーティングされた微小気泡を含有する超音波造影剤の使用

13℃ のパーフルオロヘキサンを飽和させた窒素を気泡の形成中に存在する気体混合物として使用して米国特許第 4,957,656 に記載された方法に従う音波処理により商業的に入手できる微小気泡調合物であるアルブネックス（カリフォルニア州、サンディエゴ、モレキュラー・バイオシステムズ・インコーポレーテッド）を製造する。上記の実施例 2 の通りにしてこの造影剤をウサギに注射しそして撮像する。この剤はアルブミン界面活性剤の多数の層により弱められそして非ニュートン性界面活性剤を含有していないが、励起中に液化しそして吸収して強化された超音波像を生成するであろうパーフルオロヘキサンの存在によりその調波強化は増加する。

20

【0112】

<実施例 12>

液体パーフルオロペンタンエマルジョンを有する弗素化された界面活性剤を含有する超音波造影剤の使用

30

パーフルオロペンタンエマルジョンを Quay の PCT 出願番号 PCT/US94/00422 の実施例 42 に開示されている方法に従い製造する。エマルジョンをウサギに投与し、それを上記の実施例 2 に記載されている通りにして調波強化方式を使用して撮像する。注射時に、このパーフルオロペンタンエマルジョンはウサギの体温において沸騰して約 100% のパーフルオロペンタン気体を含有する微小気泡を形成する。この気体は前記の開示に記載されているように励起時には液化して、強化された調波信号を発生するであろう。

【0113】

水およびヘキサン中でのパーフルオロペンタンの溶解度は、強化された調波信号を発生する微小気泡の界面活性剤層中での吸収に関する上述した基準に合致する。この調合物は、弗素化された非ニュートン性界面活性剤であるゾニル FSO 界面活性剤を含有しており、その表面張力は、単層が加圧された時に急速に変化して、強化された調波信号を発生する。造影剤中で使用される界面活性剤混合物（プルロニック P-123 およびゾニル FSO）は、気泡上で単層を形成するものであり、この気泡はその気体内容物により安定化されており、従って励起時における気泡の容積浸透の衰退を回避しそして強化された調波信号発生をもたらす。

40

【0114】

以上の記載は本発明のある種の好適な態様を詳述しておりそして意図する最適方式を記載している。しかしながら、明細書中で以上のことがいかに詳述されようとも、本発明は多くの方法で実施することができそして本発明は添付された請求の範囲およびその均等物に従って構成されるべきであることは認識されよう。

50

フロントページの続き

(72)発明者 シュット, アーネスト, ジー.

アメリカ合衆国, 9 2 1 2 1 カリフォルニア,

サン ディエゴ, サイ

エンス パーク ロード, 3 0 4 0 番地

F ターム(参考) 4C076 AA99 BB11 DD09 FF16 GG32 GG44

4C085 HH09 JJ20 KA16 KB38 KB39 KB52 LL07

4C601 DE07 DE10 EE03 EE10

专利名称(译)	具有微气泡的谐波超声成像		
公开(公告)号	JP2005306878A	公开(公告)日	2005-11-04
申请号	JP2005143292	申请日	2005-05-16
[标]申请(专利权)人(译)	Hayem SHIO伯爵制药公司		
申请(专利权)人(译)	Hayem SHIO伯爵制药公司		
[标]发明人	シュットアーネストジー		
发明人	シュット,アーネスト,ジー.		
IPC分类号	A61K9/00 A61B8/00 A61K49/00 A61K49/22 G01N29/00 G01N29/02		
CPC分类号	A61B8/481 A61K49/223		
FI分类号	A61K49/00.C A61B8/00 A61K9/00 A61K49/00 A61K49/22		
F-TERM分类号	4C076/AA99 4C076/BB11 4C076/DD09 4C076/FF16 4C076/GG32 4C076/GG44 4C085/HH09 4C085/JJ20 4C085/KA16 4C085/KB38 4C085/KB39 4C085/KB52 4C085/LL07 4C601/DE07 4C601/DE10 4C601/EE03 4C601/EE10		
代理人(译)	川口义行 远山 勉		
优先权	08/314074 1994-09-28 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种超声谐波成像方法和对比度增强剂，它们可用于血管成像并具有增强的对比度。 解决方案：在37°C时的蒸气压具有球形膜且高于23 Torr，在水中的溶解度/溶混度小于约1重量%，在检测时气相浓度大于2%摩尔分数，然后，将含有微泡的造影剂（其包含浓度大于其饱和浓度的50%的气态物质，例如碳氢化合物或碳氟化合物）引入要成像的对象或物体，然后将对象或一种使用由超声源传输到要成像的物体或物体的超声能量的超声谐波成像方法，包括对身体的至少一部分的超声成像以及造影剂。 [选择图]无