

(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>  
A61K 49/00

(11) 공개번호 특2001-0030854  
(43) 공개일자 2001년04월16일

(21) 출원번호	10-2000-7003527	(87) 국제공개번호	WO 1999/17809
(22) 출원일자	2000년03월31일	(87) 국제공개일자	1999년04월15일
번역문제출일자	2000년03월31일		
(86) 국제출원번호	PCT/US1998/20182	(87) 국제공개번호	WO 1999/17809
(86) 국제출원출원일자	1998년09월24일	(87) 국제공개일자	1999년04월15일
(81) 지정국	AP ARIPO특허 : 케냐 레소토 말라위 수단 스와질랜드 우간다 가나 감비아 짐바브웨 EA 유라시아특허 : 아르메니아 아제르바이잔 벨라루스 키르기즈 카자 흐스탄 몰도바 러시아 타지키스탄 투르크메니스탄 EP 유럽특허 : 오스트리아 벨기에 스위스 독일 덴마크 스페인 프랑 스 영국 그리스 아일랜드 이탈리아 룩셈부르크 모나코 네덜란드 포 르투갈 스웨덴 핀란드 사이프러스 OA OAPI특허 : 부르키나파소 베냉 중앙아프리카 콩고 코트디부와르 카메룬 가봉 기네 말리 모리타니 니제르 세네갈 차드 토고 기네비 쏘 국내특허 : 알바니아 아르메니아 오스트리아 오스트레일리아 아제르바 이잔 보스니아-헤르체고비나 바베이도스 불가리아 브라질 벨라루스 캐나다 스위스 중국 쿠바 체코 독일 덴마크 에스토니아 스페인 핀 란드 영국 그루지야 헝가리 이스라엘 아이슬란드 일본 케냐 키르기 즈 북한 대한민국 카자흐스탄 세인트루시아 스리랑카 라이베리아 레 소토 리투아니아 룩셈부르크 라트비아 몰도바 마다가스카르 마케도니 아 몽고 말라위 멕시코 노르웨이 뉴질랜드 슬로베니아 슬로바키아 타지키스탄 투르크메니스탄 터어키 트리니다드토바고 우크라이나 우간 다 우즈베키스탄 베트남 폴란드 포르투갈 루마니아 러시아 수단 스 웨덴 싱가포르 인도네시아 가나 감비아 크로아티아 시에라리온 유고 슬라비아 짐바브웨 그레나다		
(30) 우선권주장	8/942,989 1997년10월02일 미국(US)		
(71) 출원인	에픽스 메디칼, 인코포레이티드 로퍼, 랜달 비. 미국 매사추세츠주 02142-1118 캄브리지 로저스 스트리트 71 로퍼랜달비 미국매사추세츠주02146브록라인서머로드23 더냄스티븐오 미국메인주04901워터빌메이플라워힐4025		
(72) 발명자	로퍼랜달비		
(74) 대리인	이상섭, 김승호, 나영환		

심사청구 : 없음

(54) 인터벤셔널 요법을 모니터하기 위한 콘트라스트 강화된진단 영상화 방법

요약

본 발명은 인터벤셔널(interventional) 요법의 효능을 모니터하기 위한 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법에 관한 것이다. 이와 같은 방법에 유용한 콘트라스트 제제는 영상 강화 부분(IEM) 및 상 의존성 조직 결합 부분(SDTBM)을 포함한다. 이러한 콘트라스트 제제는 표적화된 조직 또는 조직 성분의 1 이상의 성분에 상 의존성 결합성을 나타내며, 일단 표적화된 조직에 결합되면 콘트라스트 제제의 시그널 특성에서의 검출가능한 변화를 제공한다. 그 결과, 이와 같은 콘트라스트 제제는 요법 실시중에 조직 상이 변화됨에 따라 변화되는 표적화된 조직에 대한 결합 친화도를 나타내며, 그리하여 이의 영상 콘트라스트를 제공한다.

명세서

기술분야

본 발명은 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 특히 조직 또는 조직 성분을 표적화하고, 표적화한 조직(예, 변성, 괴사, 조직 응고, 세포소멸)에서의 상 변화를 모니터할 수

있도록 하는 콘트라스트 제제를 사용하는 광학 영상화 및 MRI 방법에 관한 것으로서, 이러한 상 변화는 인터벤셔널(interventional) 요법 중에 발생하거나 또는 이 요법 이후에 발생하는 것이다. 본 발명에서 사용한 콘트라스트 제제는 표적화된 조직의 1 이상의 성분에 상 의존성 결합성을 나타내며, 이는 조직에 결합된 콘트라스트 제제의 시그널 특성의 변화를 검출할 수 있다.

## 배경기술

진단 영상화 기법, 예컨대 자기 공명 영상화(MRI), X-선, 핵 방사 약학적 영상화, 광학(자외선, 가시광선 및/또는 적외선) 영상화, 초음파 영상화 등이 수년 동안 의학적 진단에 사용되어 왔다. 몇몇의 경우에는, 영상의 질을 높이거나 또는 특정 정보를 제공하기 위해 콘트라스트 매질을 사용하는 것이 수년간 수행되어 왔다. 광학 또는 초음파 영상화를 비롯한 기타의 경우에서, 콘트라스트 제제를 도입한 것은 절박한 사안이었거나 또는 최근의 일이었다.

MRI 및 광학 영상화 기법은 화학적 환경 및 표적화된 조직의 상에 대해 감수성을 지니는 복합 시그널을 생성하는 영상화 양식 중에서 매우 독특한 것에 해당한다. X-선 또는 방사핵종 제제로부터의 시그널은 제제가 혈장 중에 유리 상에 있거나, 단백질에 결합되어 있거나, 뼈의 내부 중에 포획되어 있거나 간에 동일하게 잔류하지만, MRI 및 광학 영상화에 사용되는 특정의 제제는 상이한 생리적인 환경 및 병리학적 상태에서는 상이한 시그널 특성을 갖게 된다. 예를 들면, 조직 성분에 결합되므로써, MRI 콘트라스트 제제는 인접하거나 또는 귀속된 핵의 유도된 이완을 또는 화학식 이동의 변화를 나타낼 수 있다. 유사하게, 광학적 안료는 결합시에 흡광도, 반사율, 형광, 인광, 화학발광, 산란 또는 기타의 분광학적 특성의 변화를 나타낼 수도 있다.

일반적으로, 진단학적 데이터를 제공하기 위해서는, 콘트라스트 제제는 영상화 기법에 사용된 전자기 방사선의 파장을 간섭하여야 하고, 조직의 물리적 특성을 변형시켜 변형된 시그널을 생성하거나 또는 방사성 약물의 경우에는 그 자체로서 방사원을 제공하여야만 한다. 통상적으로 사용되는 물질의 예로는 유기 분자, 금속 이온, 염 또는 킬레이트(금속 킬레이트 포함), 입자(특히 철 입자) 또는 표지된 펩티드, 항체, 단백질, 중합체 또는 리포좀 등이 있다.

제제의 투여후, 몇몇의 제제는 대사 및/또는 배설되기 이전에 신체의 구획(compartment)으로 비특이적으로 확산되는데, 이러한 제제는 일반적으로 비특이성 제제로 알려져 있다. 또는, 기타의 제제가 특성의 신체 구획, 세포, 세포성 성분, 기관 또는 조직에 대한 특이성 친화도를 지니는데, 이러한 제제를 표적화된 제제로 언급할 수 있다.

진단 영상화 기법의 한 예로서는 인터벤셔널 요법의 모니터에서 찾을 수 있다. 통상의 인터벤셔널 요법의 예로는 집속 초음파[예, Cline et al., "MR Temperature Mapping of Focused Ultrasound Surgery", *Mag. Resn. Med.*, 31:628-636 (1994)], 고주파 생성체[예, Rossi et al., "Percutaneous RF Interstitial Thermal Ablation in the Treatment of Hepatic Cancer," *AJR*, 167:759-768 (1996)], 극초단파 안테나[예, Schwarzmaier et al., "Magnetic Resonance Imaging of Microwave Induced Tissue Heating," *Mag. Resn. Med.*, 33:729-731 (1995)], 레이저[예, Vogl et al., "Recurrent Nasopharyngeal Tumors: Preliminary Clinical Results with MR Imaging-Controlled Laser-Induced Thermotherapy," *Radiology*, 196:725-733 (1995)]를 사용하는 고 열에너지로 원치 않는 조직 또는 조직 성분을 표적화시키는 것; 원치 않는 조직에 직접 저온 절제[예, 액체 질소] 및 변성 액체[예, 에탄올, 고온의 염수]의 주입을 사용하는 것[예, Nagel et al., "Contrast-Enhanced MR Imaging of Hepatic Lesions Treated with Percutaneous Ethanol Ablation Therapy," *Radiology*, 189:265-270 (1993) 및 Honda et al., "Percutaneous Hot Saline Injection Therapy for Hepatic Tumors: An Alternative to Percutaneous Ethanol Injection Therapy," *Radiology*, 190:53-57 (1994)]; 조직에 화학요법제 및/또는 카오트로픽 제제의 주사[예, Pauser et al., "Evaluation of Efficient Chemoembolization Mixtures by Magnetic Resonance Imaging of Therapy Monitoring: An Experimental Study on the VX2 Tumor in the Rabbit Liver," *Cancer Res.*, 56:1863-67 (1996)]; 세포독성제를 광 조사에 의해 생체내에서 활성화시키는 광역학 요법[예, Dodd et al., "MRI Monitoring of the Effects of Photodynamic Therapy on Prostate Tumors," *Proc. Soc'y Mag. Resn.*, 3:1368, ISSN 1065-9889 (1995년 8월 19-25일)] 등을 포함한다. 이와 같은 인터벤셔널 요법의 공통의 목표는 이러한 조직 또는 조직 성분(예, 암, 종양, 신생물 조직 또는 조직 성분)의 괴사, 절제(ablation), 응고 또는 변성을 야기함으로써 원치 않는 조직을 치료하는 것이다.

이와 같은 인터벤셔널 요법으로부터의 최대의 잇점을 얻고 부작용(예, 이웃 세포의 손상)을 최소화하기 위해서는, 생체내에서 이러한 요법의 효능을 모니터하는 것이 필수 요건이다. 사실상, 진정한 효능을 얻기 위해서는, 원치 않는 조직 또는 조직 성분이 절대적으로 "괴사"될 때까지 인터벤셔널 요법을 지속하여야만 하는 것이다. 그래서, 과도하게 처치되거나 또는 이웃 조직의 가능한 손상을 방지하기 위해 요법의 진행 정도를 정확하게 모니터할 수 있어야 할 뿐 아니라, 진정한 괴사 조직과, 어느 정도까지는 손상되었으나 그럼에도 불구하고 그 생존이 가능할 수 있는 조직을 정확하게 판별해 낼 수 있어야만 한다.

인터벤셔널 요법의 효능을 모니터하는 한 방법으로는 이와 같은 요법 실시동안 또는 요법 실시후에 원치 않는 조직 또는 조직 성분을 영상화시키는 것이 있다. 그러나, 이와 같은 어떠한 진단 영상화 방법도 하기와 같은 2 가지의 기본적인 정보를 제공하도록 서로 상이한 병리학적 상태(천연 대 변성, 생존 가능성 대 괴사성)의 조직의 콘트라스트를 증가시킬 수 있어야만 한다.

### 1) 검출 데이터

여기에는 영상화된 조직의 병리학적 상태를 결정하는데 있어서 필수적인 분광학적 정보가 포함된다. 이와 같은 유형의 정보를 제공하는 능력은 제제의 "특수성" 그리고 "감수성"과도 관련되어 있다.

### 2) 피이드백 및 해상도

이러한 유형의 정보는 조직 또는 조직 성분을 파괴 또는 분해시키는 인터벤셔널 요법 절차의 모니터를

제공한다. 인터벤셔널 기법 이외의 기타의 방법들은 후-치료 평가에 적절하지만, 몇몇의 인터벤셔널 기법을 사용할 경우 요법 진행의 "실시간" 피드백(약 1~10 초)에 바람직한 것으로 판단된다. 모든 인터벤셔널 요법을 사용할 경우, 처치한 조직 및 처치 동안 주변 조직에 대한 효과의 정확한 부분 해상(약 1~5 mm)이 가능하게 된다.

인터벤셔널 요법의 효능을 모니터하는 현행 MRI 기법은 (1) 외인성 콘트라스트 제제를 사용하지는 않지만 기타의 측정가능한 MR 변수(하기 참조)에 따라 결정되는 것 및 (2) 비-특이성, 세포외성 콘트라스트 제제를 사용하는 것 등 2 가지가 통상적으로 사용되고 있다. 그러나, 이들 기법은 인터벤셔널 요법으로 처치된 조직 또는 조직 성분의 병리학적 상태를 고려하여(예, 이들이 천연 또는 변성, 괴사 또는 생존 가능성이 있느냐의 여부에 따라) 직접적인 정보는 거의 제공하지 않는다. 또한, 이러한 기법은 주로 열 절제술을 모니터하는 것에 국한된 것으로서 열 유도된 조직 온도 변화에 대해서는 그 감수성이 제한되어 있다.

열 절제술을 모니터하기 위한 이들 몇몇의 MRI 기법은 이완 시간( $T_1$  및/또는  $T_2$ ), 물의 양성자 공명 주파수(PRF), 상 이동 및 확산 계수와 같은 온도 의존성 NMR 변수에 따라 결정된다. 그러나, 이들 기법은 많은 제한점을 갖는다.

예를 들면, 이들 기법 중 하나는 조직의  $T_1$  이완 시간에 대한 온도의 효과를 모니터하는 것을 포함한다.

참고 문헌[Cline et al., "MR Temperature Mapping of Focused Ultrasound Surgery," *Mag. Resn. Med.*, 31:628-636 (1994)]. 그러나, 이러한 접근 방법은 각각의 조직이 독특한  $T_1$  vs 온도 프로파일을 지니기 때문에 적합하지 않으며, 그래서, 이러한 방법은 각각의 조직 유형에 대한  $T_1$  감정을 필요로 하게 된다. 또한,  $T_1$  기법은 감수성이 제한되는데, 이러한 조직의  $T_1$  의존성 변화는 1°C당 0.01~1.5%가 될 뿐이다.

온도 측정을 이용하는 기타의 방법은 물의 양성자 공명 주파수(또는 화학적 이동)에 대한 온도의 영향을 모니터하는 것을 포함한다. 이러한 방법은 온도 변화에 의해 유도된 물 분자의 수소 결합 형성 및 분자 운동의 변화를 검출하는 것이다. 참조 문헌[J.D. Poorter et al., "Noninvasive MRI Thermometry with the Proton Resonance Frequency (PRF) Method: In Vivo Results in Human Muscle," *Mag. Resn. Med.*, 33:74-81 (1995)]. 그러나, 이러한 방법의 낮은 감수성(0.01 ppm/°C)으로 인해서 고 자기장 강도(예, > 4.7 T)를 사용할 것을 요구하고 있지만, 이는 임상적으로 바람직하지 않다. 또한, 물의 화학적 이동의 측정은 자기장의 절대적인 안정도를 필요로 하며, 이는 여러 가지의 조직 유형 중에서 급격하게 변화하는 조직의 자화율에 커다란 영향을 미친다. 그래서,  $T_1$  기법과 마찬가지로, 각각의 조직 유형에 대한 전반적인 감정을 필요로 하게 된다. 마지막으로, 이러한 기법은 열 유도된 조직 괴사 또는 분해와 관련된 정보를 제공하지는 않는다.

또 다른 공지의 방법으로는 물 양성자 확산 계수에 대한 온도의 영향을 모니터하는 것을 필요로 한다.

참고 문헌[H. Saint Jalmes, "Precision in Temperature Measurement via  $T_1$  or Diffusion Imaging," *Proc. Soc'y Mag. Resn.*, 2:1072, ISSN 1065-9889 (1995년 8월 19-25일)]. 그러나, 이러한 기법도 확산 계수가 조직 운동 및 확산에 대해서 민감하게 반응하기 때문에 한계가 있다.

전술한 모든 방법에 있어서, 증가된 혈류, 조직 대사 또는 유발된 부종으로 인한 생리학적 조직 변화로 인해서 예측할 수 없는 시그널 변화(예, 자화율 변화)가 생길 수도 있다. 이러한 효과는 표준 열 감정 곡선이 열 절제 요법에서의 정확한 모니터에 어떠한 거의 도움이 되지 않거나 또는 전혀 가치가 없게 된다. 또한, 온도만을 측정하는 것은 주변 조직에 대한 조직 절제의 효능 또는 부작용을 정확하게 측정하는데 있어서 충분하지 않을 수도 있다.

기타의 기법도 다른 자기 핵의 화학적 이동에 대한 온도의 영향을 모니터하는 것으로 보고되어 있다. 예를 들면, 코발트 NMR 화학적 이동이 온도에 대한 매우 민감한 탐침이 될 수 있다. 그러나,  $^{59}\text{Co}$ 의 낮은 수용성은 높은 장 세기( $\geq 4.7$  T), 고 농도 및 장시간의 측정 시간 등을 필요로 한다. 참고 문헌[A.G. Webb et al., "Measurement of Microwave Induced Heating of Breast Tumors in Animal Models Using Cobalt Based NMR," *Proc. Soc'y Mag. Resn.*, 1:72, ISSN 1065-9889(1995년 8월 19-25일)]. 또한, 코발트 제제는 그 독성으로 인해서 생체내에서의 사용에 있어서 심각한 제약점이 되고 있다.

불소( $^{19}\text{F}$ ) NMR도 리포솜-포획된 플루오로카본 및 불소화된 중합체의 온도 의존성 상 전이를 모니터하는데 사용되어 왔다. 참고 문헌[Webb et al., "Microencapsulation of Fluorine-Containing Phase Transition Agents for Monitoring Temperature Changes in vivo," *Proc. Soc'y Mag. Resn.*, 3:1574, ISSN 1065-9889(1994년 8월 6-12일)]. 그러나, 임상적으로  $^{19}\text{F}$ 를 사용하는 기법은 중합체 불소화된 화합물의 제한된 생체분배, pH 및 조직 유형에 대한 불소화 제제의 화학적 이동의 의존성 및 커다란 자기장을 필요로 하기 때문에 이는 실용적이지가 않다. 또한, 이러한 제제는 열 유도된 조직 괴사에 대해서도 보고되어 있지 않다.

또한, 상자성 금속 착물 함유 특정 콘트라스트 제제가 인터벤셔널 요법의 효능을 모니터하는 것으로 제안되어 있다. 이러한 제제는 물 공명 주파수의 통상의 범위로부터 킬레이트 리간드의 양성자 화학적 이동의 커다란 변화(20~40 ppm)를 유도할 수 있게 된다. 생체내에서 거대한 물 공명으로부터의 공명의 상자성 이동에 의해, 이들 공명이 관찰될 수 있다. 참고 문헌[Aime et al., "Yb(III)DOTMA as Contrast Agent in CSI and Temperature Probe in MRS," *Proc. Soc'y Mag. Resn.*, 2:1109, ISSN 1065-9889(1995년 8월 19-25일)]. 이러한 초미세 이동된 공명이 온도 의존성을 지닐 지라도, 이들은 온도 변화를 검출하는 임상적으로 실용성이 없는 고 자기장 및 고 농도의 상자성 착물을 사용해야 한다. 이러한 착물은 또한 열 유도된 조직 괴사에 대해서도 보고되어 있지 않다.

최근, 정상 간 조직과 괴사된 간 조직을 판별하는 기법이 문헌에 기재되어 있다. 참고 문헌[Dupas et al., "Delineation of Liver Necrosis Using Double Contrast-Enhanced MRI," *J. MRI*, vol. 7, no. 3,

pp. 472-77 (1997)]. 그러나, 이러한 기법은 바람직하지 않은 조직 또는 조직 성분의 상 변화를 특수하게 모니터하는 능력이 제한된 비-특수성 콘트라스트 제제를 사용하고 있다. 또한, 이러한 기법은 다수의 콘트라스트 제제를 투여할 것을 요하고 있다.

그래서, 이와 같은 종래의 진단 영상화 기법은 인터벤셔널 요법으로 처치한 특이성 조직 또는 조직 성분의 상에 대한 정확한 정보(즉, 조직이 천연 또는 변성 상, 또는 괴사 또는 생존 가능한지의 여부에 대한 정보)를 제공할 수 없는 제약점이 있다. 따라서, 특이성 조직 또는 조직 성분의 상을 비침입적으로 그리고 정확하게 모니터할 수 있는 진단 영상화 방법에 대한 수요가 있으며, 이는 인터벤셔널 요법 동안 유발된 조직 괴사의 급속한 피이드백을 임의로 제공할 수가 있다.

#### 발명의 개요

본 발명은 인터벤셔널 요법이 처치중이거나 또는 처치를 완료한 특이성 조직 또는 조직 성분의 콘트라스트 강화된 진단 영상화, 특히 MRI 및 광학 영상화 방법을 제공하고자 하는 것이다. 이 방법은

- (a) 인터벤셔널 요법을 처치중이거나 또는 처치를 완료한 표적화된 조직 또는 조직 성분에 결합될 수 있는 콘트라스트 제제를 환자에게 투여하는 단계,
- (b) 환자에게 MRI, 자외선광, 가시광선 또는 적외선광 영상화 중 하나로 처리하는 단계,
- (c) 인터벤셔널 요법이 완료되었는지의 여부를 결정하기 위해, 콘트라스트의 영상화 시그날의 특성을 모니터하는 단계를 포함한다.

본 발명에 사용된 콘트라스트 제제는 영상 강화(또는 시그날 생성) 부분("IEM") 및 상 의존성 조직 결합 부분("SDTM")을 포함한다. 이러한 콘트라스트 제제는 표적화된 조직 또는 조직 성분에 대한 상 의존성 결합을 예시할 수 있다. 이러한 결합으로 인해서 콘트라스트 제제의 시그날 특성에서의 변화를 검출할 수 있게 되며, 그리하여 인터벤셔널 요법 처치중이거나 또는 처치를 완료한 표적화된 조직내의 상 변화(예, 절제, 분해 또는 변성)를 측정할 수 있게 된다.

본 발명의 또다른 특징은 이러한 콘트라스트 제제를 사용함으로써 열 유발된 괴사의 열 인터벤셔널 요법 동안 모니터를 "실시간" 제공할 수 있다는 점이다. 이러한 콘트라스트 제제는 서로 다른 상의 조직 사이의 콘트라스트를 증가시키게 된다.

#### 도면의 간단한 설명

도 1은 콘트라스트 제제를 사용한 경우와 사용하지 않은 경우에서 온도 변화가 HSA 용액에 대해 측정된 이완율( $R_1$ )에 미치는 효과의 실험 데이터를 그래프로 도시한다.

도 2는 콘트라스트 제제를 사용한 경우와 사용하지 않은 경우에서 HSA 용액을 사용하여 생성된 MRI 영상에 대한  $R_0$  시그날 강도의 손실율의 실험 데이터를 그래프로 도시한다.

도 3은 콘트라스트 제제를 사용한 경우와 사용하지 않은 경우에서 에탄올 농도 변화가 HSA 용액에 대해 측정된 이완율( $R_1$ )에 미치는 효과의 실험 데이터를 그래프로 도시한다.

#### 발명의 상세한 설명

본 발명을 보다 완전하게 이해하는 것을 돕기 위해, 하기와 같은 기재가 제시한다.

본 발명은 인터벤셔널 요법의 효능을 정확하게 모니터하기 위한 (즉, 원치 않는 조직 또는 조직 성분의 상을 모니터하기 위한) 비침입적 방법을 제공하고자 한다. 특히, 본 발명은 표적화된 조직 또는 조직 성분에 상 의존성 결합을 형성하는 것을 예시하며 표적화된 조직에 결합시에 시그날 특성이 변경되는 콘트라스트 제제를 사용하는 것을 포함하는 진단 영상화 방법을 제공하고자 한다. 본 발명에 유용한 영상화 방법은 MRI(이는 자기 공명 분광학 기법을 포함) 및 광학 영상화 등이 있다.

본 명세서에서 사용된 용어 "인터벤셔널 요법"이란, 몇몇의 원치 않는 조직 또는 조직 성분(암, 종양, 신생종양)의 괴사, 절제 또는 응고를 유발하거나 또는 야기하는 것이 목적인 여러 치료 방법 중 하나를 의미한다.

또한, 본 명세서에서 사용된 용어 "병리학적 상" 또는 "상"라는 것은 인터벤셔널 요법으로 처치중인 조직 또는 조직 성분의 2 가지의 생리학적 상태를 포괄적으로 기재하고자 사용한 것이다, 상의 하나는 생존, 천연 또는 생육 가능한 것으로 간주할 수 있다. 이는 "초기" 상이란 통상적으로 어떠한 인터벤셔널 요법으로 처치하기 이전의 조직을 의미하며, 대사 및 호흡과 같은 조직 및/또는 세포성 메카니즘이 작용성을 띠는 조직을 의미한다. 성공적인 처치 동안 또는 처치후의 조직을 나타내는 "2차" 상이란 생존 가능성이 없고, 변성, 괴사, 또는 세포소멸인 것으로 간주될 수 있으며, 이러한 조직 및/또는 세포성 메카니즘은 비정상적, 비작용성이거나 또는 중지되는 것을 의미한다.

#### 본 발명의 방법

- (a) 인터벤셔널 요법을 처치중이거나 또는 처치를 완료한 표적화된 조직 또는 조직 성분에 결합될 수 있는 콘트라스트 제제를 환자에게 투여하는 단계,
- (b) MRI, 자외선광, 가시광선 또는 적외선광 영상화 중 하나로 환자를 처리하는 단계,
- (c) 인터벤셔널 요법이 완료되었는지의 여부를 결정하기 위해, 콘트라스트 제제의 영상화 시그날 특성을 모니터하는 단계를 포함한다.

본 발명에 사용된 콘트라스트 제제는 영상 강화(또는 시그날 생성) 부분("IEM") 및 상 의존성 조직 결합

부분("SDBM")을 포함한다. 이하에서 상세하게 설명될 이러한 부분의 조합으로 인해서, 콘트라스트 제제는 표적화된 조직 또는 조직 성분에 대한 상 의존성 결합을 예시할 수 있으며, 표적에 결합시 변경되는 시그널 특성을 예시할 수 있다.

상 의존성 결합이란 콘트라스트 제제가 표적화된 조직의 상에 따라 달라지는 표적화된 조직 또는 조직 성분에 대해 예시되는 상대적 친화도를 의미한다. 그래서, 본 발명에서 사용된 제제는 변성 또는 괴사 상에서의 1 이상의 조직 성분에 대한 결합이 천연 또는 생육 가능성 조직에 대한 제제의 결합 친화도에 비해 더 크거나 또는 더 적다.

결합에서의 이러한 상 의존성 변화로 인해서 발생하는 상 변화의 검출을 강화시키는 제제의 시그널 특성을 변화시킴과 동시에, 다른 상의 조직에 비해서 하나의 상의 조직으로 제제가 국부화된다. 예를 들면, 결합 친화도가 증가된 것은 시그널 강도가 더 강하게 나타나는 생육 가능 또는 천연 조직에 대해 제제의 결합 친화도가 높게 나타나는 경우, 생육 가능 조직이 "고온의 점"으로서 영상화 (또는 검출)된다. 인터벤셔널 요법의 진행 동안, 괴사 조직에 대한 제제의 결합 친화도가 감소되기 때문에 생육 가능 조직이 괴사될 수록 이러한 고온의 점은 "저온"으로 된다. 반대로, 이러한 제제가 괴사 또는 생육 가능하지 않은 조직에 대한 결합력이 높은 것으로 나타날 경우, 그 조직은 인터벤셔널 요법 진행 동안 고온의 점으로 전개된다.

이러한 제제의 상 의존성 결합 친화도는 생리적 상 변화에 대해 감수성이 높게 나타나는 것이 바람직하다. 바람직한 제제는 결합 친화도를 지니는 것이며, 이에 따라 민감하게 변화되는 시그널 변화는 조직 또는 조직 성분이 진행 중인 상 변화에 해당한다. 본 발명의 또다른 특징은 인터벤셔널 치료 절차 동안 시그널의 변화를 모니터링하고, 조직 절제의 효능 및 그 정도의 민감한 실시간 모니터링을 강화시키게 되는 것이다.

## 콘트라스트 제제의 구조

본 발명에 사용된 콘트라스트 제제는 최소한 영상 강화(또는 시그널 생성) 부분("IEM") 및 상 의존성 조직 결합 부분("SDBM")을 포함하여야만 한다. 생리적 혼화성을 갖는 결합기("L")는 SDBM에 IEM이 결합되는데 임의로 사용될 수도 있다. 결합기의 적절한 예로는 직쇄형, 분지쇄형 또는 고리형의 알킬, 알킬, 아릴, 에테르, 폴리히드록실, 폴리에테르, 폴리아민, 헥세고리형, 펩티드, 펩토이드, 포스페이트, 셀페이트 또는 기타의 생리적 혼화성을 갖는 공유 결합 등이 있다. 결합기는 혈액 또는 기타의 생물학적 액 및 구획에서의 반감기를 강화시키므로써 착물에 중요한 물리화학적 안정도를 제공할 수 있다. 또한, 결합기는 제제의 생분해 및 그 후의 배설을 위한 수단을 제공할 수 있다.

### 1. 영상 강화 부분(IEM)

본 발명에 사용된 콘트라스트 제제의 제1도메인은 IEM이며, 이는 영상화에서의 콘트라스트 또는 시그널을 제공하는데 사용되는 어떠한 화합물 또는 물질도 될 수 있다. IEM은 콘트라스트 제제가 조직 또는 조직 성분에 결합되는 경우 유리 제제와는 상이한 시그널을 생성할 수 있어야만 한다. 광학 영상화의 경우, 이는 흡광도, 반사율, 형광성, 산란, 인광성, 화학발광성, 흡광도, 피이크 개수의 증가 또는 감소 또는 최대 파장에서의 임의의 변화 또는 외부 검출에 의해 결합된 IEM에 해당하는 임의의 기타 변화 등이 될 수 있다. MRI의 경우, 이는 물의 양성자의 유도된 이완율( $1/T_1$  또는  $1/T_2$ ) 또는 임의의 기타 인접한 핵의 유도된 이완율에서의 변화 또는, IEM의 NMR 스펙트럼에서의 1 종 이상의 피이크 또는, SDBM에 대한 결합 부위에서 핵으로부터 형성된 피이크의 이동이 될 수 있다.

따라서, IEM은 유기 분자, 금속 이온, 염 또는 킬레이트(금속 킬레이트 포함); 금속 클러스터 또는 입자(특히 철 입자); 또는 표지된 펩티드, 단백질, 중합체 또는 리포좀 등이 될 수 있다. 광학 영상화(자외선, 가시광선 또는 적외선광을 사용함)의 경우, IEM은 임의의 유기 또는 무기 염료가 될 수 있다. 유용한 유기 염료의 예로는 인도시아닌 그린 및 플루오로세인 등이 있다. 무기 염료의 예로는 발광 금속 착물, 예컨대  $\text{Eu(III)}$ ,  $\text{Tb(III)}$  및 기타의 란타늄 이온(원자 번호 57~71) 등이 있다. 참조 문헌[W. Dew. Horrocks & M. Albin, Progr. Inorg. Chem. 1984, 31, pp. 1-104].

특히 유용한 IEM은 1 종 이상의 금속 이온에 착물이 형성된 1 종 이상의 고리형 또는 비고리형 유기 킬레이트화제로 구성된 생리학적 혼화성을 갖는 금속 킬레이트 화합물이다. 광학 영상화의 경우, 바람직한 금속 이온의 예로는 원자 번호 13, 21-31, 39-42, 44-50 또는 57-83의 것이다. MRI의 경우, 바람직한 금속 이온의 예로는 원자 번호 21-29, 42, 44 또는 57-83의 것, 더욱 바람직하게는 원자 번호 21-29, 42, 44 또는 57-83의 금속 이온의 상자성 형태의 것이 있다. IEM이 상자성 금속 킬레이트를 포함하는 경우, 상자성 금속은  $\text{Gd(III)}$ ,  $\text{Fe(III)}$ ,  $\text{Mn(II 및 III)}$ ,  $\text{Cr(III)}$ ,  $\text{Cu(II)}$ ,  $\text{Dy(III)}$ ,  $\text{Tb(III 및 IV)}$ ,  $\text{Ho(III)}$ ,  $\text{Er(III)}$ ,  $\text{Pr(III)}$  및  $\text{Eu(II 및 III)}$ 로 구성된 군에서 선택되는 것이 바람직하다.  $\text{Gd(III)}$ 가 가장 바람직하다.

IEM이 금속 킬레이트인 경우, 제제가 표적화된 조직을 비롯한 신체를 통과하는 동안 상당한 정도로 분해되지 않아야만 한다. 자유 금속 이온, 특히 자유 상자성 금속 이온이 상당량 방출된다는 것은 독성을 유발할 수 있으며, 이는 병리학적 조직에서만 허용가능하게 된다.

일반적으로, 금속 킬레이트가 독성도는 배설 이전의 생체내에서의 분해도와 관련이 있다. 독성은 일반적으로 자유 금속 이온의 함량을 증가시킨다. 역학적 불안정도가 높은 착물의 경우, 분해 및 이에 수반된 독성을 최소로 하기 위해서는 열역학적 안정도(형성 상수가  $10^{15} \text{ M}^{-1}$  이상, 더욱 바람직하게는  $10^{20} \text{ M}^{-1}$  이상)가 높은 것이 바람직하다. 역학적 불안정도가 비교적 낮은 착물의 경우, 형성 상수가  $10^{10} \text{ M}^{-1}$  이상으로 낮아서 분해를 최소로 할 수 있다.

또한, 독성도 착물 내에서의 개방 배위 부위 갯수의 함수가 된다. 일반적으로, 물 배위 부위가 적을 수록 킬레이트화제가 상자성 금속을 방출하는 경향이 줄어든다. 그러므로, 착물은 개방 배위 부위를 2개, 1개 또는 0개 함유하는 것이 바람직하다. 일반적으로 개방 부위가 2 개 보다 많이 존재하게 되면 생체내

에서의 금속 이온의 방출에 의해 독성이 증가하게 되어 바람직하지 않다.

MRI 영상을 효과적으로 강화시키기 위해, 착물은 물의 양성자 또는, 예컨대 IEM에서의 양성자, P-31, C-13, Na-23 또는 F-19와 같은 기타 영상화 또는 분광학적 핵, 기타의 생체분자 또는 주사된 바이오파마의 이완율  $1/T_1$ (종방향, 또는 스핀 격자) 및/또는  $1/T_2$ (횡방향, 또는 스핀-스핀)을 강화시킬 수 있어야만 한다. 이완율  $R_1$  및  $R_2$ 는 금속 이온 1 mM당 각각  $1/T_1$  또는  $1/T_2$  증분으로 정의된다.(단위:  $\text{mM}^{-1} \text{sec}^{-1}$ ). 임상학적 MRI, 물의 양성자 MRI에서 가장 흔한 형태의 경우, 이완율은 킬레이트 리간드에 결합된 상자성 이온이 물 교환에 대한 개방 배위 부위 1 이상을 갖는 것이 최적이다. 참고 문헌[R.B. Lauffer, Chemical Reviews, 87, pp. 901-923 (1987)]. 그러나, 이는 개방 배위 부위의 갯수가 증가함에 따라 일반적으로 금속 킬레이트의 안정도(이하 참조)가 감소되는 것의 균형을 고려하여야만 한다. 그러므로, 착물은 개방 배위 부위 1 또는 2 만을 함유하는 것이 더욱 바람직하다.

킬레이트 리간드의 유형은 MRI 제제에 대한 물 교환율에 커다란 영향을 미칠 수 있다. 특히, 물 교환율은 열 절제 요법에서 생성된 조직의 콘트라스트에서 중요한 역할을 할 수 있다. 일반적으로, 물 교환율이 높을수록  $R_1$ 이 높게 되는데, 이는 상자성 센터와 상호작용을 하는 물 분자의 수가 크기 때문이며, 반대로 교환율이 낮으면  $R_1$ 이 낮게 된다. 그래서, 물 교환율이 느린( $k_{\text{ex}}-298\text{K}=500-10,000 \text{ ns}$ ) 금속 킬레이트 착물은 온도가 증가함에 따라 일반적으로  $1/T_1(R_1)$ 이 증가하게 되는데, 이는 물 분자의 열 운동이 증가하게 되며, 상자성 센터 부근에서의 물 교환이 증가하며, 그리하여  $R_1$ 은 생리적 온도보다 높은 온도에서 최대의 콘트라스트값에 도달하는 긍정적인 효과를 반영하게 된다. 특정 온도에서는 콘트라스트가 최소치로 급락하게 되는데, 이는 물 교환이 증가된 이로인한 효과가, 각각의 물 분자가 상자성 센터 부근에서 소비되는 불충분한 양의 시간에 의해 상쇄되기 때문이다.

물 교환율이 적절하게 빠르( $k_{\text{ex}}-298\text{K} 10-100 \text{ ns}$ ) 금속 킬레이트는 온도에 대해서  $1/T_1(R_1)$ 의 비교적 균일한 의존도를 나타낸 후, 고온에서는 급락하게 되는데, 이는 이와 같은 조건에서 상자성 금속의 부근에서 각각의 물 분자가 소비되는 시간이 불충분하기 때문이다.

생리적 온도 및 그 보다 높은 온도에서 물 교환율이 매우 빠르( $k_{\text{ex}}-298\text{K} 0.1-10 \text{ ns}$ ) 금속 킬레이트는  $1/T_1$ 가 감소되는데, 이는 물 분자의 증가된 열 운동이 추가로 각각의 물 분자가 상자성 센터 부근에서 소비되는 시간을 제한하기 때문이다. 그러나, 이러한 킬레이트는 상자성 금속 부근에서 각각의 물 분자가 소비되는 시간이 증가하게 되어 저온(즉, 한계)에서  $1/T_1$ 가 증가하게 된다.

본 발명의 방법을 사용하여 열 절제 요법을 모니터하는 경우, 천연 또는 생육성 조직 상( $R_1$ -초기)와 변성 또는 괴사성 조직 상( $R_1$ -2차) 사이의 콘트라스트를 최대로 하기 위해, 물 교환이 적절히 빠른 킬레이트를 IEM으로서 사용하는 것이 바람직하다. 저온 기법을 사용하는 요법의 경우, 온도가 감소될때  $1/T_1(R_1)$ 이 증가하는 선택적인 잇점을 취하기 위해 물 교환율이 매우 빠른 킬레이트를 사용하는 것이 바람직할 수도 있다. 모든 인터벤셔널 요법의 기법에서, 조직 상에 대한  $R_1$  프로파일의 감수성은 해당 조직 또는 조직 성분의 변성 프로파일과 정확하게 일치하는 것이 바람직하다.

쌍극자-쌍극자 상호작용을 통한 조직 핵의  $1/T_1$  또는  $1/T_2$ 를 증가시키는 것 이외에, MRI 제제는 2 가지의 다른 자기 특성에 영향을 미칠 수 있으며, 그래서 임상적 용도를 갖게 된다.

1) 철 입자 또는 고 자화율을 갖는 금속 킬레이트, 특히 Dy, Gd 또는 Ho의 킬레이트는 미시적 자화율 구배를 생성하므로써 조직의 MRI 시그널 강도를 변경시킬 수 있다. 참조문헌[A. Villringer et al., Magn. Reson. Med. 6, pp 164-174 (1988)]. 이 경우에는 킬레이트상의 개방 배위 부위가 필요하지 않다.

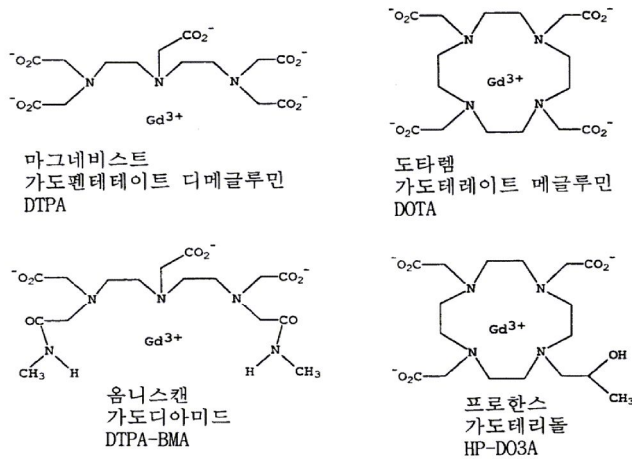
2) 또한, 철 입자 또는 금속 킬레이트를 사용하여 물 양성자 또는, 기타의 영상화 또는 분광학적 핵, 예컨대 주사한 제제 또는 이것이 결합되어 있는 조직 성분상의 양성자, P-31, C-13, Na-23 또는 F-19의 공명 주파수를 이동시킬 수 있다. 여기에서, 사용된 전략 및 핵에 따라서 0~3 개의 개방 배위 부위를 사용할 수 있다.

유기 킬레이트 리간드는 생리적으로 혼화성을 지녀야 한다. 킬레이트 리간드의 분자 크기는 상자성 금속의 크기와 혼화성을 지녀야만 한다. 그래서, Gd(III)는 결정 이온 반경이 0.938 Å이며, 이는 결정 이온 반경이 0.64 Å인 철(III)보다 더 큰 킬레이트 리간드를 필요로 하게 된다.

MRI 제제로서 적절한 킬레이트 리간드는 여러가지가 당업계에 공지되어 있다. 이들은 또한 생물학적 영



상화의 기타의 형태의 금속 킬레이트에 사용될 수 있다. IEM의 바람직한 예로는 다음과 같은 것이 있다.



특정의 예에서는 Gd<sup>3+</sup> 대신에 다른 금속을 사용할 수 있다는 것은 당업계에 공지되어 있다.

## 2. 상 의존성 조직 결합 부분(SDTBM)

본 발명에 사용된 콘트라스트 제제의 제2의 도메인은 상 의존성 조직 결합 부분(SDTBM)으로서, 이는 제제에 표적화 작용성을 제공하게 된다. SDTBM은 해당 용도에 따라서 크게 변형될 수 있다. 그래서, SDTBM의 특정 구조는 결합시키고자 하는 특정 조직 또는 조직 성분에 따라 달라지게 된다. 그러나, SDTBM은 표적화된 조직 또는 조직 성분에 대한 결합 친화도가 상 의존성에 따라 변화하는 콘트라스트 제제를 공급하여야만 한다. 또한, 이러한 결합 친화도에서의 상 의존성 변화로 인해서 콘트라스트 제제의 시그널 특성에서의 검출가능한 변화를 생성하여야만 한다. 결합 친화도에서의 변화는 충분히 감수성을 지녀야만 하며, 조직의 상이 변화될때 콘트라스트가 생성되도록 결합 부위의 수가 충분히 커야만 한다.

SDTBM은 소분자를 포함할 수 있거나 또는 생체분자를 포함할 수도 있다. 생체분자는 분자량 및 크기가 변화될 수도 있으나, 이들이 천연의 서브유닛(즉, 아미노산 또는 뉴클레오타이드)로부터 생물학적으로 유도되거나 또는 합성된다는 공통의 기본적인 특성을 모두 공유하여야 한다. 생체분자의 예로는 수용체 리간드, 당류, 지질, 호르몬, 펩티드, 단백질, 뉴클레오타이드 및 핵산(DNA, RNA), 이의 단편을 포함한 항체, 모노클로날 항체, 유전적으로 조작한 변형 항체 등이 있다.

또한, 소분자는 생체분자와 화학적 유사성이 거의 없거나 또는 전혀 없는 비교적 저분자량의 합성 유도된 유기 분자인 것으로 공지되어 있다. 소분자는 통상적으로 생체분자 서브유닛 및 결합(예, 아미드 결합에 의해 결합된 천연 아미노산)을 포함하지는 않는다. 소분자의 예로는 합성 약물, 지방친화성 또는 친양쪽성 유기 분자 및 포르피린 등이 있다.

SDTBM은 혈장, 간질성 공극(세포 사이의 체액) 또는 세포내 공극내에서 단백질에 가역적으로 결합하는 것이 바람직하다. 단백질에 결합되는 어떠한 생체분자 또는 소분자도 사용할 수 있으나, 고농도로 존재하거나 또는 특정의 리간드에 대해 다수의 결합 부위를 갖는 것으로서 단백질에 결합되는 것이 가장 유용하다. 조직, 혈장 또는 간질성 또는 세포내 공극내에서의 대다수의 단백질의 천연의 상이 일반적으로 변성 또는 해체된 상보다 구조적으로 그리고 화학적으로 잘 정렬되어 있기 때문에, 본 발명의 바람직한 특성은 해당 변성 상보다 천연의 상에 대해 더 큰 친화도로 결합되는 SDTBM을 디자인하는 것에 있다. 천연의 상과 변성 상 사이의 결합 친화도의 차이로 인해서 제제의 시그널 특성에서의 검출가능한 변화가 생성된다.

물 양성자를 이완시키고, 이에 따라서 MRI 영상에 영향을 미치는 콘트라스트 제제의 능력은 이완율에 의해 정량적으로 측정될 수 있다. 전술한 바와 같이, 이완율은 용액중의 상자성 금속 이온의 농도에 따른 물 양성자 시그널 강도의 의존도를 나타내는 것이다. 이완율은 콘트라스트 제제에 대해 측정된 단위 시간당 유도된 T<sub>1</sub> 또는 T<sub>2</sub> 이완율(R<sub>1</sub> 또는 R<sub>2</sub>, mM<sup>-1</sup> sec<sup>-1</sup> 단위)로서 정의되며, 이때 제제의 농도는 mM로 나타낸다.

가돌리늄 착물의 물성은 콘트라스트 제제의 이완율에 영향을 미친다. 가돌리늄 착물에 결합된 물 분자의 갯수, 물 분자와 벌크 용액과의 교환 속도, 7 개의 고립 전자의 이완 시간 및 용액 중의 콘트라스트 제제의 회전 텀블링 시간(회전 상관 시간으로 공지됨) 모두는 전체 이완율 관측치에 기여하게 된다. 이러한 물성에서의 변화는 이완율을 급격하게 변화시킬 수 있다. 이완율에 대한 물 교환율의 효과는 전술한 바와 같다. 또한, 커다란 거대 분자에 대한 작고 비교적 저분자량인 가돌리늄 킬레이트의 결합은 회전 텀블링 시간을 느리게 하며, 이완 강화를 3~10배로 증가시키게 된다. 단백질에 대한 콘트라스트 제제의 결합으로 인해서 상자성 이온과 물 양성자 사이의 자기 파동이 Larmor 주파수와 동일한 시간 척도로 발생하게 되는데, 이는 가능한한 가장 효율적인 종방향(T<sub>1</sub>) 이완 및 가능한한 가장 큰 이완율을 생성하게 된다. 단백질과 같은 커다란 거대 분자에 대한 MRI 콘트라스트 제제의 상 의존성 결합은 하나의 상이 다른 상에 대해서 MRI 시그널 (및 콘트라스트)을 증가시키는 효과적인 방법인 것이다. 영상 콘트라스트는 콘트라스트 제제에 대한 결합도가 상이한 부위 사이에서 생성된다. 영상 콘트라스트는 높은 결합 친화도(천연 상)와 낮은 결합 친화도(변성된 상) 사이에 생성되는 것이 본 발명의 바람직한 특성이 된다.

여러가지 상의 조직 또는 조직 성분 사이의 콘트라스트를 생성하기 위해서는, 조직의 상이 변화될때 콘트라스트 제제의 결합 친화도 변화율은 적어도 20% 이상이 될 것이 요구된다. 예를 들면 제제의 90%가

결합되어 표적화된 조직 또는 조직 성분(즉, HSA)의 생육 가능한 상이 되는 경우(즉, 10%가 유리 상태임), 제제는 비생육 가능한(즉, 변성된) 상에 대해 동일한 조건하에서 72% 이하로 결합되어야만 한다. 결합 친화도 차이가 큰 경우에는, 더 큰 콘트라스트가 생성된다. 제2의 조직 상(인터벤셔널 요법으로부터 생성되거나 또는 인터벤셔널 요법 중에 생성된)에 대한 콘트라스트 제제의 결합 친화도는 제2의 상에서의 결합 친화도와 비교시 제1의 조직 상에 대한 콘트라스트 제제의 결합 친화도의 80% 이하, 바람직하게는 50% 이하, 더욱 바람직하게는 30% 이하, 더더욱 바람직하게는 20% 이하, 가장 바람직하게는 10% 이하이다.

IEM이 광학 영상화에 사용하기에 적절한 발색단이 되는 경우, 본 발명에서는 조직 결합되지 않은 약물과 조직 결합된 콘트라스트 제제 사이의 광학 특성의 차이를 측정할 수 있다. 예를 들면, 인도시아닌 그린의 최대 흡광도는 혈장 또는 혈중에서 결합시에 770~780 nm에서 790~805 nm로 이동한다. 이러한 상의 존성 결합을 이용하면 조직이 변성되고 단백질이 더이상 결합되지 않을 경우 염료의 흡광도가 이동되는 것을 모니터함으로써 조직 변성을 검출할 수 있다. 당업자라면 본 발명에 유용한 광학적 제제가 조직 상에 대해 높은 감수성을 제공하는 경향이 있다는 것을 숙지하고 있을 것이다. 그러므로, 충분한 콘트라스트를 제공하기 위해서는 광학적 제제가 본 발명의 MR 제제와 같이 두 조직 상 사이의 그 결합 친화도 차이 또는 그 시그널 차이가 클 필요는 없다.

또한, 상 의존성 결합으로 인해서 콘트라스트 제제의 특징적인 시그널 변화가 생성되어야만 한다. MRI에서, 이러한 상 의존성 시그널 변화는 물 양성자의 유발된 이완율( $1/T_1$  또는  $1/T_2$ ) 또는 이완율( $R_1$  및  $R_2$ )의 변화로서 해석될 수 있다. 본 발명의 바람직한 특징에 있어서, 2차 조직 상에서의 제제의 이완율( $R_1$ -2차)은 초기 조직 상에서의 제제의 이완율( $R_1$ -초기)의 80% 이하인 것이 바람직하다.  $R_1$ -2차는  $R_1$ -초기의 바람직하게는 50% 이하, 더욱 바람직하게는 20% 이하, 가장 바람직하게는 10% 이하이다.

또한, 인터벤셔널 요법이 완료되고, 표적화된 조직이 생리적 조건으로 되돌아간 후(예를 들면 열적 변성된 경우에는 온도가 생리적 온도가 된 후), 제제의  $R_1$  이완율은 초기 조직 상에서의 제제의 이완율( $R_1$ -초기)보다 낮으며, 바람직하게는  $R_1$ -초기의 80% 이하, 더욱 바람직하게는  $R_1$ -초기의 50% 이하, 더더욱 바람직하게는 20% 이하, 가장 바람직하게는 10% 이하가 된다. 또한, 인터벤셔널 요법을 완료하고 표적화된 조직이 생리적 조건으로 되돌아간 후, 콘트라스트 제제의 이완율( $R_1$ )은 인터벤셔널 요법이 완료된 직후 측정된 제제의 이완율 정도로 유지되는 것이 바람직하다.

전술한 바와 같이, SDBM의 특정 구조는 결합시키고자 하는 특이성 조직 또는 조직 성분에 따라 달라지게 된다. 따라서, 어느 조직 또는 조직 성분을 표적화하느냐를 우선 결정하는 것이 필수 요건이 된다.

다수의 가능한 결합 부위를 고려할 수 있다. 이와 같은 결합 부위의 예로는 핵산, 글리코사미노글리칸(이전에는 산 유교 다당으로 공지되어 있음), 석회화된 조직, 뼈, 지방, 활액, 세포막, 단백질, 지단백질, 효소, 프로테오글리칸, 아밀로이드 및 세로이드 등이 있다. 결합 부위로는 단백질이 바람직하며, 혈청 및 구조/결합 단백질이 더욱 바람직하다.

표적이 단백질인 경우, 단백질의 예로는 사람의 혈청 알부민(HSA, 혈장 중의 0.7 mM; 간질성 공간에서는 농도가 이보다 낮음); 지방산 결합 단백질(FABP, 또한 Z-단백질 또는 단백질 A로 공지되어 있으며, 간, 신장, 심장 및 기타 조직의 1차 세포 중에는 대략 0.1 mM); 글루타티온-S-트랜스퍼라제(GST, 또한 리간딘으로 공지되어 있음; 간, 신장, 심장 및 기타의 조직의 1차 세포 중에서는 대략 0.1 mM);  $\alpha$  1-산 당단백질(AAG, 분자량 41,000, 0.55 g~1.4 g/l), 뿐 아니라 지단백질(예를 들면 아테롬성 경화증 플라크에 농축되어 있는 것) 등이 있다. 기타의 예로는 세포외 기질의 구조 단백질(콜라겐, 라미닌, 엘라스틴, 피브로넥틴, 엔탁틴, 비트로넥틴), 아밀로이드[예, 알츠하이머 질환의  $\beta$ -2 아밀로이드 단백질(A4)], 세로이드(또는 리포푸신) 및 당단백질(예를 들면 오스테오넥틴, 테나신 및 트롬보스폰딘) 등이 있다.

양으로 하전된 콘트라스트 제제 또는, 염기성 SDBM을 함유하는 양으로 콘트라스트 제제에 바람직한 단백질 표적은  $\alpha$  1-산 당단백질(AAG)이 될 수 있다. 이러한 양의 급성 상 단백질의 혈장 농도는 질환 상태에 따라서 크게 달라질 수 있다. 예를 들면, AAG의 농도는 이후의 염증성 자극의 2~4 배로 증가되며, AAG의 혈장 농도는 신경교종, 전이성 유방암종 및 기타의 암종, 신생아 감염 및 만성 통증에 대한 예후 보조로서 제안되어 왔었다. AAG의 혈장 농도가 높은 것은 아테롬성 경화증, 크론병, 심근경색, 신장염 및 박테리아, 바이러스 및 수술후 감염 등에서 나타난다. 용해도가 높은 AAG는 183 아미노산의 단일 폴리펩티드쇄를 지니며, 이는 높은 탄수화물 및 시알산 함량(각각 45% 및 12%) 및 pH 2.7의 낮은 등전점을 비롯한 몇몇의 특이한 특성을 그 특징으로 한다.  $\alpha$  1-산 당단백질은 프로판놀올( $K_a=11.3 \times 10^{-5}$ ), 이미 프라민( $K_a=2.4 \times 10^{-5}$ ) 및 클로로프로마진( $K_a=35.4 \times 10^{-5}$ )을 비롯한 다양한 염기성 약물의 결합을 함축한다.

자유 리그노케인의 비율은 환자의 AAG 농도( $0.4 \sim 3 \text{ g l}^{-1}$ )와 상관관계를 지니며, 그리하여 이는 혈장 중의 다른 단백질(예, HSA)이 아닌 AAG에 대한 선택적인 결합이 합리적인 약물 디자인 기법을 사용하여 얻을 수 있다는 것을 의미한다.

HSA, FABP 및 GST에 대한 리간드가 더욱 바람직한 SDBM이 될 수 있는데, 이는 이들이 음으로 하전된 분자이거나 또는 부분적으로 음으로 하전된 기(예, 에스테르, 아미드 또는 케톤 카르보닐 산소)와 중성이 되는 경향이 있으며, 이러한 화합물은 일반적으로 양으로 하전된 분자보다 독성이 적은 것으로 판단된다. 이들 3 가지의 단백질 중에서, HSA가 몇몇의 경우에 있어서는 가장 바람직한데, 이는 FABP 및 GST에 대한 리간드가 결합 이전에 약간의 세포내 흡수를 필요로 하기 때문이다. 일반적으로, 독성을 최소로 하기 위해서는 콘트라스트 제제가 세포내 흡수되는 것을 회피하여야 한다(간 내에서는 제외). HSA는 혈장, 정맥 및 암 조직 사이의 간질성 공간, 활액, 대뇌 척수액 및 염증성 또는 농양액 등을 비롯한 많은 세포외 체액 환경에서 상당량으로 존재한다. 종양, 염증, 아테롬성 경화증 플라크의 여러가지 병리학적 조직 또는 아테롬성 경화증의 동맥, 모세혈관의 벽은 누출될 수 있어 HSA의 농도가 훨씬 높아지게 된다. 이는 여러가지의 인터벤셔널 요법이 질환 조직을 표적화하고 있기 때문에 본 발명의 제제의 유용성을 향상시



킬 수 있게 된다.

또한, HSA는 일반적으로 다수의 결합 부위에서 구조적으로 상이한 여러가지의 분자를 결합시키는데 있어서 친화도가 우수하며 용량이 큰 것으로 알려져 있기 때문에 바람직하다. 그래서, 콘트라스트 제제의 디자인에는 많은 융통성이 존재하게 된다.

천연 상의 HSA에 결합시키기 위해서는, 광범위한 소수성 또는 양쪽성 물질이 SOTBM으로서 유용할 수 있다.[참고 문헌: U. Kragh-Hansen, Pharm. Rev., 33, pp. 17-53 (1981); X.M. He et al., Nature, 358, pp. 209-215 (1992); D.C. Carter, Adv. Protein Chem., 45, pp. 153-203 (1994)]. 이는 1 종 이상의 C<sub>1</sub>-C<sub>60</sub>의 지방족, 알콕시, 알킬티오, 알킬카르보닐, 알킬카르보닐옥시, 아릴 또는 헤테로고리기 및, 임의로, 1 종 이상의 질소, 산소, 황, 할로겐, 지방족 아미드, 에스테르 설포아미드, 아실, 설포네이트, 포스포이트, 히드록실 또는 유기 금속 치환체 등을 포함하는 소분자에 국한되는 것은 아니다. 또한, 덜 바람직하기는 하지만, SOTBM은 소수성 또는 친수성 말단기를 갖거나 또는 갖지 않는 소수성 아미노산 잔기 및/또는 치환체를 함유하는 펩티드와 같은 생체분자가 될 수도 있다.

전술한 바와 같이, HSA로의 결합의 경우, 광범위한 소수성 물질이 SOTBM으로서 유용할 수 있다. 일반적으로, HSA 및 가능한 기타의 단백질에 대한 결합 친화도는 SOTBM의 소수성에 따라 증가한다. SOTBM과 같은 치환체의 소수성의 이론치는 치환체에 대한 Hansch 1 상수를 사용한 TBM 자체에 대한 옥탄올-물(또는 옥탄올-완충액) 분배 계수(log P)의 log에 대한 기여도를 계산하여 얻을 수 있다. 참고 문헌[A. Leo 및 C. Hansch, "Partition Coefficients and their Uses," Chemical Reviews, 71, pp. E525-616 (1971); K.C. Chu, "The Quantitative Analysis of Structure-Activity Relationships," Burger's Medicinal Chemistry, 제1부, pp. 393-418, (4판 1980)]. 결합 친화도는 log P 기여도가 증가함에 따라 증가된다. 예를 들면, 지방족기에 대한 치환체의 경우, 하기 1 상수를 사용할 수 있다.

기	1-지방족
CH <sub>3</sub>	0.50
페닐	2.15

아릴기상에서의 치환체의 경우, 하기와 같은 상수를 사용할 수 있다.

기	1-지방족
CH <sub>3</sub>	0.56
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1.02
페닐	1.96

그래서, IEM에 부착된 p-메틸벤질기에 대한 log P 기여도는 하기와 같이 계산될 수 있다.(-CH<sub>2</sub>-기에 대한 예상치로서 CH<sub>3</sub>에 대한 1-지방족의 값을 사용함)

$$\log P \text{ 기여도} = 0.50 + 2.15 + 0.56 = 3.2$$

HSA에 대한 결합에서, 상당한 결합을 얻는데 있어서 최소 log P 기여도(4개의 CH<sub>3</sub>기 또는 1개의 페닐 고리에 해당)는 2인 것이 필요하다. log P 기여도는 3인 것이 더욱 바람직하다. log P 기여도는 4인 것이 가장 바람직하다.

HSA 결합은 pH 7.4의 완충액 중의 4.5% 중량/부피의 HSA를 사용한 평형 투석 또는 한외여과에 의해 평가할 수 있다. 바람직하게는 10 % 이상, 더욱 바람직하게는 50% 이상, 더더욱 바람직하게는 80% 이상, 가장 바람직하게는 95% 이상의 콘트라스트 제제가 생리적 관련 농도(MRI 및 광학적 영상화의 경우, 혈장내에서는 0.01~10 mM)에서 HSA의 천연 상에 결합된다. 이러한 적용예에서, HSA에 대한 콘트라스트 제제의 결합율(%)의 측정치는 약 ±5%의 오차를 갖는다. 기타의 단백질 또는 혈청에 대한 단백질 결합은 유사한 방식으로 평가될 수 있다.

콘트라스트 제제에 지방친화성기를 첨가하는 제제의 용해도를 감소시킬 수도 있다. 임상적으로 유효한 농도에서 또는 그보다 높은 농도에서 콘트라스트 제제의 유효한 용해도를 유지하기 위해서는, SOTBM에 1 이상의 수소 결합기(산소, 질소, 등)를 혼입시키는 것이 바람직할 수 있다.

순수한 지방족기를 SOTBM으로서 사용할 수 있을지라도, 이는 혼합 지방족-아릴기 또는 순수한 아릴기로서는 바람직하지 않을 수도 있다. 음전하가 순수한 지방족기에 존재할 경우, 특히 장쇄 및 가요성기 중에 존재할 경우, 콘트라스트 제제는 지방산과 같은 내인성 분자의 대사 또는, 막 단백질과 지질 사이의 상호작용을 방해할 수도 있다. 이는 제제의 독성을 증가시킬 수 있다. 그래서, SOTBM은 1 이상의 아릴 고리를 함유하는 것이 바람직하다.

종양 또는 조직 강화를 위한 천연 상의 HSA 결합된 MRI 제제의 경우, 단백질에 결합시 콘트라스트 제제는 이를 완전 부동화시키기 위해 2 이상의 뚜렷한 지방친화성기를 함유하는 것이 특히 바람직하다. 이러한 기가 1 개의 SOTBM상에 존재하거나 또는 콘트라스트 제제에 결합된 2 이상의 별도의 화학기로서 존재할 수도 있다. 이러한 기는 부피가 크며 강도 특성으로 인해서, 2 이상의 기 각각은 방향족 기로 구성되고, 전체 분자 중에서 2 이상의 고리는 강성, 비-평면 배향으로 배치된다.

콘트라스트 제제가 HSA에 거의 상응하는 회전 상관 시간을 가질 경우, MRI 제제의 자기 효율 또는 이완율은 일반적으로 높다[참고 문헌: R.B. Lauffer, Chemical Reviews, 87, pp. 901-927 (1987)]. Gd-DTPA

와 같은 소분자는 회전 상관 시간이 약 0.1 나노초(nsec)인 반면, HSA는 상관 시간이 5~10 nsec이며, 킬레이트가 더 긴 상관 시간을 가질 경우, 상자성 이온과 물 양성자 사이의 자기 파동은 Larmor 주파수와 동일한 시간 척도로 발생하며, 그리하여 종방향 ( $T_1$ ) 이완율이 가능한 효율적으로 되며 가능한 이완율이 가장 높게 된다. 킬레이트가 단백질에 결합되는 경우 킬레이트의 임의의 가요도는 효율적인 회전 상관 시간을 감소시키게 되어 이완율을 감소시키는 것으로 예상된다. 단백질 결합 부위 하나가 여러 방향으로의 가요성을 생성할 수 있기 때문에, 추가의 결합 부위가 존재하는 것이 바람직할 수 있다.

전술한 바와 같이, 상 의존성 결합으로 콘트라스트 제제의 특징적인 시그널 변화를 생성하여야만 한다. MRI에서, 이와 같은 상 의존성 시그널 변화는 물 양성자의 유도된 이완율( $1/T_1$  또는  $1/T_2$ ) 또는 이완율( $R_1$  및  $R_2$ )의 변화로서 해석될 수 있다. 그래서, HSA가 표적일 경우, 제제를 최대의 이완율로 조정 한 정도는 2개의 생리적 상태, 즉 천연 상과 변성 상에서 HSA의 존재하에 상 의존성 이완율-결합( $R_1$ -결합)을 측정하여 평가할 수 있다. 본 발명의 바람직한 실시태양에 의하면, 2차 조직 상에서의 제제의 이완율( $R_1$ -2차)은 초기 조직 상에서의 제제의 이완율( $R_1$ -초기)의 80% 이하인 것이 바람직하다.  $R_1$ -2차는  $R_1$ -초기의 바람직하게는 50% 이하, 더욱 바람직하게는 20% 이하, 가장 바람직하게는 10% 이하이다.

이는 자유 킬레이트의 이완율( $R_1$ -자유) 뿐 아니라, 2개의 생리적 상에서 4.5%의 HSA중에서의 제제의 이완율( $R_1$ -측정치) 및 이의 제제의 결합력(%)을 측정하여야 한다. 본 발명의 바람직한 실시태양에 있어서,  $R_1$ -자유는 변성 상에서 측정된  $R_1$ 에 해당한다.  $R_1$ -측정치는  $R_1$ -자유와  $R_1$ -결합의 물분율 중량 평균치이다.

$$R_1\text{-측정치} = (\text{분율-자유} * R_1\text{-자유}) + (\text{분율-결합} * R_1\text{-결합})$$

그리하여,

$$R_1\text{-결합} = \frac{[R_1\text{-측정치} - (\text{분율-자유} * R_1\text{-자유})]}{(\text{분율-결합})}$$

HSA에 대한 상 의존성 결합

전술한 바와 같이, 본 발명에 사용하고자 하는 콘트라스트 제제를 위한 표적화된 단백질은 HSA인 것이 바람직하다. 이와 같은 적용의 경우, 콘트라스트 제제는 제제가 혈중에 체류하게 되고(즉, HSA에 결합된 상으로) 그리하여 인터벤셔널 요법 동안 사용할 수 있는 정도를 증가시키기 위해 강화된 혈중 반감기를 나타내는 것이 바람직하다. 확장된 혈중 반감기는 혈중 반감기 확장 부분("BHEM")으로서 작용하는 결합기(L)를 포함하여 콘트라스트 제제의 간세포 흡수율을 감소시킬 수 있다. 본 명세서에서 참고로 인용하는 1995년 2월 1일자로 출원된 미국 특허 출원 번호 제08/382,317호를 참고한다. BHEM은 물과 수소 결합을 형성할 수 있는 친수성이 극도로 큰 기이다. 콘트라스트 제제상의 친수성 BHEM의 존재로 인해서, 제제의 간세포 흡수율을 감소시킨다.

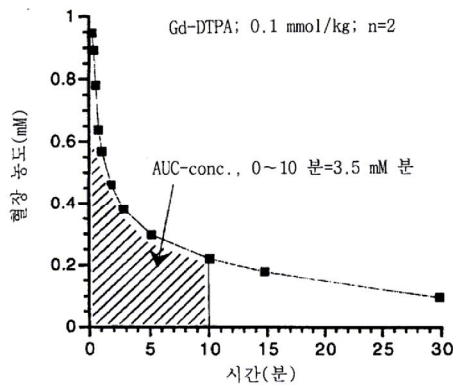
BHEM으로서 작용하는 화학기의 예로는 물과의 수소 결합을 형성하기 위해 2 종 이상의 고립 전자쌍(예, 완전 또는 부분 음전하) 또는 전기양성 수소 원자(예, 양성자화된 아민)를 포함하는 산소, 질소, 황 또는 할로겐(특히 불소)와 같은 하전되거나 또는 중성의 이종원자가 결합되어 있는 탄소, 인, 텅스텐, 몰리브덴 또는 황 원자 등이 있다. 이의 예로는 설펜, 에테르, 우레아, 티오-우레아, 아민 설펜아미드, 카르바메이트, 펩티드, 에스테르, 카르보네이트 및 아세탈 등의 기가 있다. 이들 기는 음으로 하전된 원자나 IEM에 공유 또는 배위 공유 결합에 의해 부분적으로 또는 완전 중화될 수 없는 생리적 pH에서 수용액 중에서 1 종 이상의 부분 또는 완전 음전하를 갖는 기가 바람직하다. 이와 같은 바람직한 BHEM의 예로는 포스포네이트 모노에스테르, 포스페이트 디에스테르, 카르복실레이트 및 설포네이트 등과 같은 음으로 하전된 기 등이 있다. 이러한 기의 예로는 포스페이트기 또는 이의 임의의 에스테르 형태를 갖는 기가 더욱 바람직하다. 포스페이트 디에스테르가 더욱 바람직한데, 이는 a) 4개의 수소 결합을 형성하는 산소 원자를 지녀서 친수성이 매우 크며, b) 후술하는 기법을 사용하여 비교적 용이하게 합성할 수 있고, c) IEM과 SDTBM 사이에서 우수한 링커로서 작용하며, d) 포스페이트 화합물은 인체내에 존재하며 자연 대사되기 때문에, 포스페이트 디에스테르 함유 콘트라스트 제제는 비독성인 것으로 예상되기 때문이다.

본 발명의 콘트라스트 제제에 BHEM을 혼입시킴으로써 제제의 혈중 체류 시간을 연장시키게 된다. 혈중 체류는 래트의 혈장 약력학 실험에서 특정의 시간(예, 0~10 분, 0~30 분, 0~60 분, 0~120 분 또는 0~무한)동안 혈장 농도 대 시간의 곡선에서의 곡선 아래 면적을 계산하여 측정하는 것이 바람직하다. 혈중 체류(AUC-conc에 의해 측정함)는 콘트라스트 제제를 래트, 토끼 또는 고등 포유 동물에게 투여하여 실험적으로 평가할 수 있다. 혈중 반감기 증가는 래트보다는 토끼와 고등 포유 동물에게서 더 컸다. 이러한 예에서, AUC-conc.에 의해 측정된 바와 같은 혈중 반감기 데이터는 래트에서의 실험에서 나타난다. 이러한 데이터와 관련된 오차는 대략  $\pm 10\%$ 이다.

반감기 측정치 자체를 사용하지 않는 이유는 이러한 수치의 수학적인 정의가 때때로 명료하지 않을 수 있기 때문에, 그로부터 얻은 예상치가 사용된 약력학적 모델 및 혈액 시료를 얻는데 소요된 시간에 따라서 달라지게 되기 때문이다.

예를 들면, 2 마리의 래트에서  $Gd^{153}$ -표지된  $Gd-DTPA$  0.1 mmol/kg을 꼬리 정맥 주사후 관찰된 평균 혈장 농도를 하기에 도시하였다. 매킨토시 프로그램 KaleidaGraph를 사용하여 0~10 분에서의 AUC-conc.를

3.5 mM 분으로서 계산하였다.



HSA와 같은 혈청 단백질을 표적화시키는데 있어서 유용한 본 발명의 콘트라스트 제제는 BHEM이 IEM 및 SDBM에 첨가되는 경우 20% 이상의 AUC-conc. 증가를 나타낸다. 이는 바람직하게는 40% 이상, 더욱 바람직하게는 70% 이상, 더더욱 바람직하게는 100% 이상의 AUC-conc. 증가를 나타낸다. 일반적으로, 혈장내의 결합이 20~50% 이상의 유의성을 지닐 경우, BHEM에 의해 야기되는 AUC-conc. 증가가 커지게 된다. AUC-conc. 증가율(%)의 이론치는 여러 시간에 걸쳐서 측정된 AUC-conc.에 따라서 상이할 수 있다. 일반적으로, BHEM에 의해 야기된 AUC-conc.의 증가율(%)은 장시간, 예를 들면 0~10 분이 아니라, 0~30 분에 걸쳐서 얻은 AUC-conc.값보다 크다.

전체 콘트라스트 제제 분자의 구조적 그리고 물리적 특성이 혈장내에서의 이의 결합에 의해 좌우되기 때문에, 소정의 결합 형성과 혼화성을 갖는 IEM 및 BHEM을 선택하는 것이 중요하다. 예를 들면, HSA상에서의 양으로 하전된 결합 부위에 대한 결합을 얻기 위해서는 반발력을 감소시키고, 결합 친화도를 증가시키기 위해 IEM 및 BHEM이 완전 중성 또는 완전한 음전하를 갖는 것이 바람직하다.  $\alpha$ -산 당단백질에 결합시키기 위해서는, 적어도 일부분의 콘트라스트 제제가 양으로 하전되어야만 한다. 글로블린에 결합시키기 위해서는, 적어도 일부분의 콘트라스트 제제가 그 특성상 스테로이드성을 지녀야만 한다. 지단백질에 결합시키기 위해서, 적어도 일부분의 콘트라스트 제제는 지방친화성 또는 유사 지방산의 성질을 지녀야만 한다.

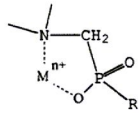
BHEM은 IEM 및 SDBM에 대해서 다양한 위치로 배치될 수 있는 것으로 판단된다. 그러나, 이러한 부분의 위치는 하나의 부분이 다른 부분의 의도한 작용을 방해하지 않아야 한다. 예를 들면, HSA 결합 콘트라스트 제제의 경우, BHEM의 배치는 콘트라스트 제제가 HSA에 결합되는 SDBM의 능력을 방해하지 않아야만 한다. HSA에서의 주요 결합 부위가 양말(sock)과 같은 형태를 띠고, 소수성 내부(특히 "발가락" 영역) 및 양으로 하전된 "발목" 영역을 갖기 때문에[참고 문헌: X.M. He et al., Nature, 358, pp. 209-215 (1992); D.C. Carter, Adv. Protein Chem., 45, pp. 153-203 (1994)], SDBM의 말단 부분의 친수성이 매우 크게 될 경우, SDBM의 결합 친화도는 감소하게 된다. 예로서, SDBM이 페닐 고리인 경우, 고리상의 BHEM 위치는 오르토 위치가 가장 바람직하며, 그 다음이 메타 위치이다. 파라 위치에 친수성기가 존재하는 것은 HSA에 대한 SDBM의 결합 친화도를 감소시키게 된다.

금속 킬레이트로 구성된 IEM의 경우, 금속 이온과 킬레이트화 리간드의 사이에서의 결합의 강도를 크게 감소시키도록 BHEM 및 SDBM은 IEM에 결합되지 않는 것이 바람직하다. 예를 들면, 킬레이트 아민이 아세테이트인 경우, BHEM 또는 SDBM은 아세테이트의 산소에 결합되지 않는 것이 바람직하다.

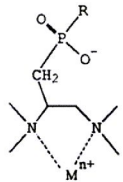
배치에 대한 또다른 요건으로는 BHEM의 음으로 하전된 원자가 IEM에 공유 결합 또는 배위 공유 결합 형성에 의해 부분적으로 또는 완전 중화될 수 없다는 점이며, 이는 수성계 중에서, BHEM의 친수성이 매우 큰 원자가 상당량 용매화될 수 있도록 한다. 예를 들면, IEM이 금속 킬레이트인 경우에는 BHEM의 음으로 하전된 원자가 가장 안전한 고리 크기인 5-원 또는 6-원 킬레이트 고리의 형성에 의해 배위 공유 결합 형성을 통해 IEM의 양으로 하전된 금속 이온( $M^{n+}$ )에 의해 중성화될 수 없도록 BHEM의 음으로 하전된 원자를 배치하는 것이 중요하다. 5-원 킬레이트 고리가 IEM에 대한 해당 금속 이온(예, 가돌리늄)에 대해 가장 안정하기 때문에, 이의 형성을 방지하는 것이 가장 중요하다. 그래서, 하기의 도면에 도시한 바와 같이, 포스포네이트( $-PO_2^-$ ) 또는 포스포네이트( $-PO_3^-$ ) BHEM이 가장 안전한 5-원 킬레이트 고리를 형성하기 때문에 이는  $-CH_2-$  링커를 경유하여 아미노카복실레이트 킬레이트화제의 질소 원자에 결합될 수가 없다. 유사하게, 포스포디에스테르( $-OPo_3-$ ) BHEM은 6-원 킬레이트 고리를 형성할 수 있기 때문에,  $-CH_2-$  링커를 경유하여 아미노카복실레이트 킬레이트화제의 질소 원자에 결합될 수가 없다. 그러나, 이들 BHEM 모두는 리간드의 에틸렌 주쇄와 같은 기타의 위치에 결합할 수도 있다. 몇몇의 경우에 있어서, 도시한 바와 같이 5-원 또는 6-원 고리가 형성될 수 없도록 하기 위해 링커기의 길이를 증가시키는 것이 바람직

할 수도 있다.

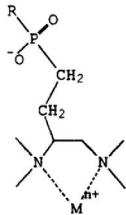
**포스페이트 BHEM**



매우 바람직하지 않음  
(5-원 킬레이트 고리임,  
중성으로 하전됨)

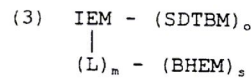
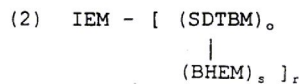
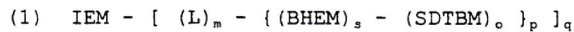


바람직하지 않음  
(6-원 킬레이트 고리임,  
중성으로 하전됨)



가장 바람직함  
(5-원 또는 6-원 킬레이트 고리 또는  
중성 하전의 가능성이 없음)

본 발명의 부분(moiety)은 하기와 같은 구조가 생성될 수 있도록 하기 위해 콘트라스트 제제에 배치될 수 있는 것으로 판단된다.



상기에서, m은 0~4가 될 수 있으며,

s, o 및 p는 서로 동일하거나 또는 상이할 수 있고, 1~4이며,

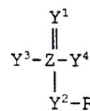
r 및 q는 1 이상이다.

본 발명의 부분이 상기 화학식 (1)과 같은 콘트라스트 제제에 배치될 경우, BHEM은 설펜, 우레아, 티오-우레아, 아민, 설펜아미드, 카르바메이트, 펩티드, 에스테르, 카르보네이트, 아세탈이 바람직하며,



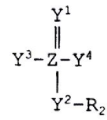
(여기서, Z는 P, W, Mo 또는 S이고, Y<sup>1</sup> 및 Y<sup>2</sup>는 O 또는 S이며, Y<sup>3</sup> 및 Y<sup>4</sup>는 O 또는 S이거나 또는 존재하지 않고, R<sub>2</sub>는 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>의 알킬이거나 또는 존재하지 않음) 또는 에스테르 형태가 더욱 바람직하다. BHEM은 포스페이트기인 것이 가장 바람직하다.

본 발명의 부분이 상기 화학식 (2)와 같은 콘트라스트 제제에 배치될 경우, BHEM은 설펜, 우레아, 티오-우레아, 아민, 설펜아미드, 카르바메이트, 펩티드, 에스테르, 카르보네이트, 아세탈인 것이 바람직하고,



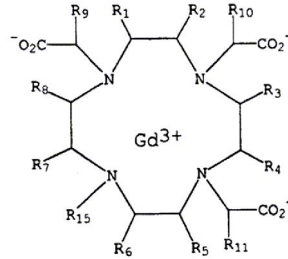
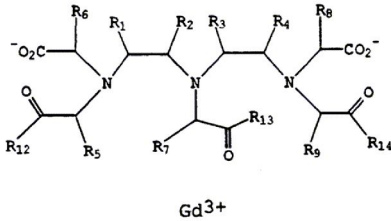
BHEM은 화학식 (여기서, Z는 P, W 또는 Mo이고, Y<sup>1</sup> 및 Y<sup>2</sup>는 O 또는 S이며, Y<sup>3</sup> 및 Y<sup>4</sup>는 O 또는 S이거나 또는 존재하지 않고, R<sub>2</sub>는 H, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>의 알킬이거나 또는 존재하지 않음) 또는 에스테르 형태가 더욱 바람직하다. BHEM은 포스페이트기인 것이 가장 바람직하다.

본 발명의 부분이 상기 화학식 (3)과 같은 콘트라스트 제제에 배치될 경우, BHEM은 SO<sub>3</sub><sup>-</sup> 또는 에스테르 형태, 설펜, 우레아, 티오-우레아, 아민, 설펜아미드, 카르바메이트, 펩티드, 에스테르, 카르보네이트,



아세탈인 것이 바람직하고, BHEM은 화학식 (여기서, Z는 P, W, Mo 또는 S이고,  $Y^1$  및  $Y^2$ 는 O 또는 S이며,  $Y^3$  및  $Y^4$ 는 O 또는 S이거나 또는 존재하지 않고,  $R_2$ 는 H,  $C_1-C_6$ 의 알킬이거나 또는 존재하지 않음) 또는 에스테르 형태가 더욱 바람직하다. BHEM은 포스페이트기인 것이 가장 바람직하다.

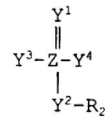
본 발명의 부분이 상기 화학식 (3)과 같은 콘트라스트 제제에 배치될 경우, 콘트라스트 제제는 화학식



또는 화학식

의 것이 바람직하며, 여기서  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}$  및  $R_{16}$ 은 서로 동일하거나 또는 상이할 수 있으며, H, SDTBM, BHEM 및  $C_1-C_6$  알킬로 구성된 군에서 선택되나, 이들 R기들 중 1 이상은 SDTBM이고, 나머지 중 1 이상은 BHEM이며,  $R_{12}, R_{13}$  및  $R_{14}$ 는 서로 동일하거나 또는 상이할 수 있고,  $O^-$  및  $N(H)R_{17}$ 로 구성된 군에서 선택되며,  $R_{15}$ 는 H,  $CH_2CH(OH)CH_3$ , 히드록시 알킬 또는  $CH(R_{16})COR_{12}$ 이고,  $R_{17}$ 은 H 또는  $C_1-C_6$  알킬이다.

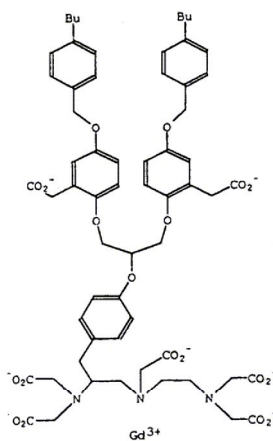
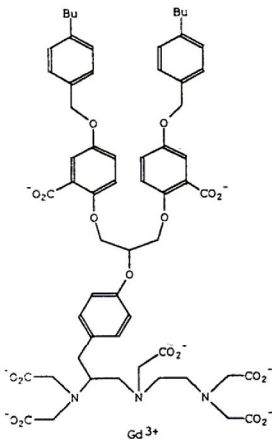
상기에 제시된 화학식을 포함하는 콘트라스트 제제의 경우, BHEM은 설펜, 에테르, 우레아, 티오-우레아, 아민, 아마이드, 설펜아마이드, 카르바메이트, 펩티드, 에스테르, 카르보네이트, 아세탈인 것이 바람직하고,

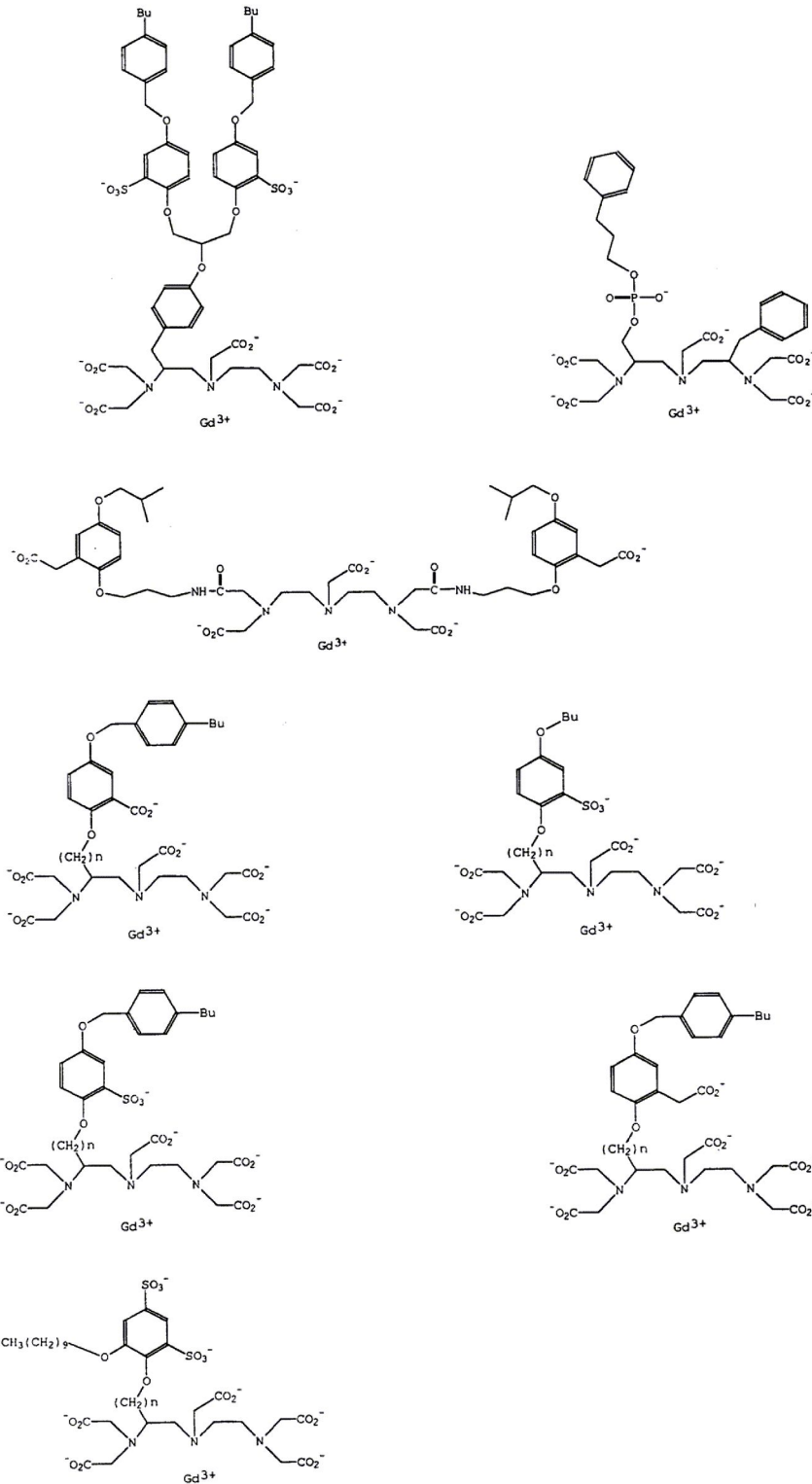


$COO^-$  또는 에스테르 형태,  $SO_3^-$  또는 에스테르 형태 및 (여기서, Z는 P, W, Mo 또는 S이고,  $Y^1$  및  $Y^2$ 는 O 또는 S이며,  $Y^3$  및  $Y^4$ 는 O 또는 S이거나 또는 존재하지 않고,  $R_2$ 는 H,  $C_1-C_6$ 의 알킬이거나 또는 존재하지 않음) 또는 에스테르 형태인 것이 더욱 바람직하다.

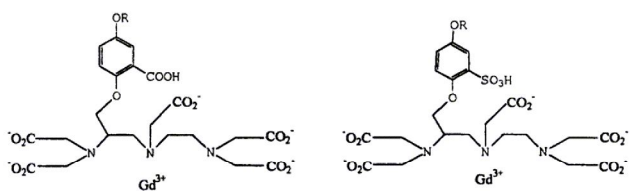
HSA 결합 콘트라스트 제제의 경우, BHEM은 화학식 (1)에서와 같은 IEM과 SDTBM 사이에 또는 화학식 (3)에서와 같이 SDTBM으로부터 떨어진 IEM에 배치될 수 있다. 이와 같은 방법으로, 소수성 SDTBM기의 완전 결합 가능성은 친수성 BHEM기를 방해하지 않으면서도 나타날 수 있다.

HSA에 대한 상 의존성 결합을 나타내는 본 발명에 유용한 콘트라스트 제제는 1995년 2월 1일자로 출원된 미국 특허 출원 제08/382,317호에 기재되어 있다. 예를 들면, 하기와 같은 제제가 유용하다.





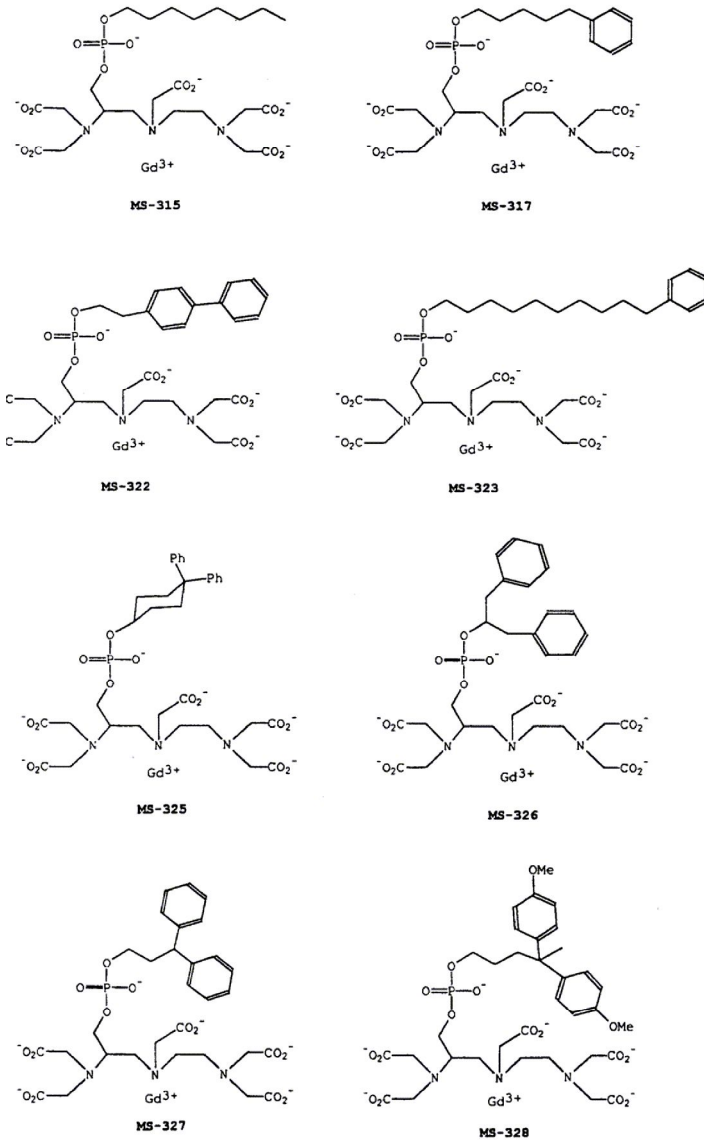
상기 화학식에서, n은 1~4가 될 수 있다.



상기 화학식에서, R은 지방족기 및/또는 1 이상의 아릴 고리이거나 또는 소수성 또는 친수성 말단기를 포함하거나 또는 포함하지 않는 소수성 아미노산 잔기 및/또는 치환체를 함유하는 펩티드일 수 있다.



본 발명에 유용한 콘트라스트 제제의 예로는 하기와 같은 것이 유용하다.



HSA에 대한 상 의존성 결합을 갖는 콘트라스트 제제는 MS-317, MS-322, MS-325 및 MS-328인 것이 더욱 바람직하다. 또한, MS-325인 것이 가장 바람직하다.

#### 콘트라스트 제제의 용도

본 발명에 사용되는 제제는 이의 약학적으로 허용가능한 유도체를 포함하는 것으로 정의된다. 용어 약학적으로 허용가능한 유도체라는 것은 수용체에게 투여시에 본 발명의 화합물 또는 이의 억제 활성을 갖는 대사산물 또는 이의 분해산물을 직접적으로 또는 간접적으로 제공할 수 있는 본 발명 화합물의 임의의 약학적으로 허용가능한 염, 에스테르, 에스테르의 염 또는 기타의 유도체를 의미한다. 이러한 본 발명의 화합물을 포유 동물에게 투여시(예를 들면 혈중의 흡수를 용이하게 하기 위해 화합물을 경구 투여하게 함으로써), 본 발명 화합물의 생체이용가능성을 증가시키거나 또는 생물학적 구획(예를 들면 뇌 또는 림프계)으로 모 화합물의 전달을 강화시키는 유도체인 것이 특히 바람직하다.

또한, 본 발명에 사용된 제제는 약학적으로 허용가능한 염을 포함할 수 있는 것으로 판단된다. 본 발명의 약학적으로 허용가능한 염은 무기 및 유기산 및 염기로부터 유도된 것 등이 있다. 이와 같은 산 염의 예로는 아세트이트, 아디페이트, 알기네이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 벤젠설포네이트, 비설페이트, 부티레이트, 시트레이트, 캄포레이트, 캄포르설포네이트, 시클로펜탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실설페이트, 에탄설포네이트, 푸마레이트, 글루코헥사노에이트, 글리세로포스페이트, 헤미설페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 염산염, 브롬화수소산염, 요오드화수소산염, 2-히드록시에탄설포네이트, 락테이트, 말레에이트, 메탄설포네이트, 2-나프탈렌설포네이트, 니코티네이트, 옥살레이트, 파모에이트, 펙티네이트, 퍼설페이트, 3-페닐-프로피오네이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 숙시네이트, 주석산염, 티오시아네이트, 토실레이트 및 운데카노에이트 등이 있다. 염기 염의 예로는 암모늄염, 알칼리 금속염, 예컨대 나트륨 및 칼륨염, 알칼리 토금속염, 예컨대 칼슘, 마그네슘 및 아연염, 유기 염기와 염, 예컨대 디시클로헥실아민염, N-메틸-D-글루카민, 아미노산과의 염, 예컨대 아르기닌, 리신 등이 있다. 또한, 염기성 질소 함유기는 저급 알킬 할로겐화물, 예컨대 알킬, 에틸, 프로필 및 부틸의 염화물, 브롬화물 및 요오드화물; 디알킬 설페이트, 예컨대 디메틸, 디에틸, 디부틸 및 디아릴 설페이트, 장쇄 할로겐화물, 예컨대 데실, 라우릴, 메리스틸 및 스테아릴의 염화물, 브롬화물 및

요오드화물, 아랄킬 할로겐화물, 예컨대 벤질 및 페닐 브롬화물 등이 있다. 그리하여 수용성 또는 유성 또는 분산성 생성물을 얻게 된다. 본 발명의 염은 N-메틸-D-글루카민, 칼슘염 및 나트륨염인 것이 바람직하다.

본 발명의 약학적 조성물은 본 발명의 착물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 중의 임의의 것과 임의의 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 비이클을 포함하는 것이다. 본 발명의 약학적 조성물에 사용될 수 있는 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 및 비이클의 비제한적인 예로는 이온 교환제, 알루미늄, 스테아르산알루미늄, 레시틴, 혈청 단백질, 예컨대 사람의 혈청 알부민, 완충 물질, 예컨대 포스페이트, 글리신, 소르브산, 소르브산칼륨, TRIS[트리스(히드록시메틸)아미노메탄], 포화 식물성 지방산, 물, 염 또는 전해질의 부분 글리세리드 혼합물, 예컨대 프로타민 설페이트, 인산수소이나트륨, 인산수소칼륨, 염화나트륨, 아연염, 콜로이드성 실리카, 트리규산마그네슘, 폴리비닐 피롤리돈, 셀룰로즈계 물질, 폴리에틸렌 글리콜, 나트륨 카르복시메틸셀룰로즈, 폴리아크릴레이트, 왁스, 폴리에틸렌-폴리옥시프로필렌-블록 중합체, 폴리에틸렌 글리콜 및 양지 등이 있다.

본 발명에 의하면, 약학적 조성물은 무균 주사 가능한 수성 또는 유성 현탁액과 같은 무균 주사가능한 제제의 형태가 될 수 있다. 이러한 현탁액은 적절한 분산제 또는 습윤화제 및 현탁제를 사용하여 당업자에게 공지된 기법에 의해 제제화될 수 있다. 또한, 무균 주사가능한 제제는 예를 들면 1,3-부탄디올 중의 용액으로서 비독성 비경구 허용가능한 희석제 또는 용매 중의 무균 주사 가능한 용액 또는 현탁액이 될 수 있다. 사용가능한 비이클 및 용매로서 허용가능한 것의 예로는 물, 링거액 및 등장성 염화나트륨 용액 등이 있다. 또한, 무균 비취발성 오일을 용매 또는 현탁 매질로서 통상적으로 사용할 수 있다. 이를 위해서는, 합성 모노글리세라이드 또는 디글리세라이드를 비롯한 어떠한 비자극성 비취발성 오일도 사용할 수 있다. 올레인 및 이의 글리세라이드 유도체와 같은 지방산은 천연의 약학적으로 허용가능한 오일, 예컨대 올리브 오일 또는 피마자 오일, 특히 이의 폴리옥시에틸화 변형물과 같은 주사액의 제조에 유용하다. 이러한 오일 용액 또는 현탁액은 또한 Ph. Helv 또는 유사 알콜과 같은 장쇄 알콜 희석제 또는 분산제를 함유할 수 있다.

본 발명의 콘트라스트 제제는 혈장 단백질에 결합될 수 있기 때문에, 투여량 및 주사 속도에 따라서 혈장 단백질상의 결합 부위는 포화될 수도 있다. 이는 콘트라스트 제제의 결합력을 감소시킬 수 있으며, 반감기 또는 내성을 감소시킬 수도 있다. 그래서, 무균 알부민 또는 혈장 대체 용액에 예비결합된 제제를 주사하는 것이 바람직할 수도 있다. 또는, 콘트라스트 제제를 함유하며 주사기로 빨아들인 혈액과 혼합하는 장치/주사기를 사용할 수 있으며, 그 후에 이를 환자에게 다시 주사한다.

본 발명의 화합물 및 약학적 조성물은 경구, 비경구, 흡입 스프레이, 국소, 직장, 비강, 협측, 질내 투여될 수 있거나 또는 통상의 비독성의 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 및 비이클을 함유하는 투여 제형내의 이식된 저장소를 경유하여 투여될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 용어 "비경구"의 예로는 피하, 정맥내, 근육내, 관절내, 활액낭내, 흉골내, 초내, 간내, 병소내 및 두개내로의 주사 또는 주입 기법 등이 있다.

경구 투여시에, 본 발명의 약학적 조성물은 캡슐, 정제, 수성 현탁액 또는 용제를 비롯한 어떠한 경구적으로 허용가능한 투여 제형으로도 투여할 수 있다. 경구용으로 투여하기 위한 정제의 경우, 통상적으로 사용되는 담체의 예로는 락토스 및 옥수수 전분 등이 있다. 스테아르산마그네슘과 같은 윤활제도 또한 통상적으로 첨가된다. 캡슐 제형으로 경구 투여하고자 하는 경우, 희석제로는 락토스 및 건조 옥수수 전분이 유용하다. 경구용으로 투여하기 위해 수성 현탁액을 필요로 할 경우, 활성 성분을 유효제 및 현탁제와 함께 혼합할 수 있다. 필요할 경우, 특정의 감미제, 향미제 또는 착색제를 첨가할 수도 있다.

또한, 직장 투여용 좌약의 제형으로 투여할 경우에는 본 발명의 약학적 조성물은 실온에서는 고형이지만 직장 온도에서는 액상인 적절한 비자극성 부형제와 콘트라스트 제제를 혼합하여 제조할 수 있으며, 그 후, 이러한 좌약은 직장내에서 용융되어 약물을 방출하게 된다. 이와 같은 물질의 예로는 코코아 버터, 밀납 및 폴리에틸렌 글리콜 등이 있다.

전술한 바와 같이, 본 발명의 약학적 조성물은 특히 치료하고자 하는 부위가 눈, 피부 또는 하부 장관 등을 비롯한 국소 투여에 의해 용이하게 근접가능한 부위 또는 기관을 포함하는 경우에 국소 투여할 수 있다. 국소 제형의 적절한 예로는 이들 부위 또는 기관 각각을 위해 용이하게 제조된다.

하부 장관을 위한 국소 투여는 직장 좌약 제형(상기 참조)으로 또는 적절한 관장 제형으로 수행할 수 있다. 국소 경피 패치도 사용할 수 있다.

국소 투여의 경우, 약학적 조성물은 1 이상의 담체 중에 현탁되거나 또는 용해된 활성 성분을 함유하는 적절한 연고로 제제화될 수 있다. 본 발명의 화합물의 국소 투여를 위한 담체의 비제한적인 예로는 광유, 유동 파라핀, 백색 와셀린, 프로필렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌, 폴리옥시프로필렌 화합물, 에멀전 왁스 및 물 등이 있다. 또한, 약학적 조성물은 1 이상의 약학적으로 허용가능한 담체중에 현탁되거나 또는 용해된 활성 성분을 함유하는 적절한 로션 또는 크림으로 제제화될 수 있다. 담체의 비제한적인 예로는 광유, 소르비탄 모노스테아레이트, 폴리소르베이트 60, 세틸 에스테르 왁스, 세테아릴 알콜, 2-옥틸도데칸올, 벤질 알콜 및 물 등이 적절하다.

안용으로 사용하고자 하는 경우, 약학적 조성물은 등장성 pH 조절된 무균 염수중의 미분쇄된 현탁액으로서 또는 바람직하게는 등장성 pH 조절된 무균 염수 중의 용제로서 염화벤즈알코늄과 같은 방부제를 사용하거나 또는 사용하지 않고 제제화될 수 있다. 또한, 안용으로 사용하고자 하는 경우, 약학적 조성물은 와셀린과 같은 연고로서 제제화될 수도 있다.

비강용 에어로졸 또는 흡입에 의해 투여하고자 하는 경우, 본 발명의 약학적 조성물은 약학적 제제 분야에서 공지된 기법에 의해 제조할 수 있으며, 벤질 알콜 또는 기타의 적절한 방부제, 생체 이용가능성을 강화하는 흡수 촉진제, 플루오로카본 및/또는 기타의 통상의 가용화제 또는 분산제를 사용하여 염수중의 용제로서 제조할 수 있다.

투여량은 진단 영상화 장치의 감도 뿐 아니라, 콘트라스트 제제의 조성에 따라 달라질 수 있다. 예를 들면, MRI 영상화의 경우, 상자성이 큰 물질, 예컨대 가돌리늄(III)을 함유하는 콘트라스트 제제는 일반적으로 자기 모멘트가 낮은 상자성 물질, 예를 들면 철(III)을 함유하는 콘트라스트 제제에 비해서 적은 투여량을 요한다. 투여량은 하루 체중 1 kg당 활성 금속-리간드 착물 약 0.001~1 mmol/kg의 범위내인 것이 바람직하다. 투여량은 하루 체중 1 kg당 약 0.005~약 0.05 mmol/kg 범위내인 것이 더욱 바람직하다.

광학 영상화를 사용하여 인터벤셔널 요법을 모니터하는 경우, 콘트라스트 제제의 투여량은 MRI와 거의 동일하다(0.001~10 mmol/kg). 또한, MRI 콘트라스트 제제를 사용하는 경우와 같이, 광학적 제제의 투여는 당업계에 공지되어 있다.

그러나, 임의의 특정 환자를 위한 특정의 투여 섭생은 연령, 체중, 전반적인 건강, 성별, 식이, 투여 시간, 배설 속도, 약물 조합 및 주치의의 판단 등을 비롯한 다양한 요인을 고려하여 결정한다.

콘트라스트 제제의 적절한 투여후, 환자에게 MRI 또는 광학 영상화(자외선광, 가시광선 또는 적외선광 영상화)로 처리한다. 이러한 영상화 기법 뿐 아니라, 데이터 수집 및 분석(예, 콘트라스트 제제의 시그널 특성을 모니터하는 것)을 수행하는데 적절한 조절 및 영상화 변수는 널리 공지되어 있거나 또는 통상적으로 용인되고 있는 원리와 연계되어 있다.

본 발명 방법의 최종 단계는 투여된 콘트라스트 제제의 영상화 시그널 특성을 모니터하는 것이다. 광학 영상화의 경우, 이와 같은 시그널 특성의 예로는 흡광도, 반사율, 형광 또는 인광 및/또는 이의 수명, 화학발광, 산란 또는 기타의 분광학적 특성 등이 있다. MRI 영상화의 경우, 이러한 시그널 특성의 예로는 이완율  $R_1$  및  $R_2$ (각각  $1/T_1$  및  $1/T_2$ ) 등이 있다.

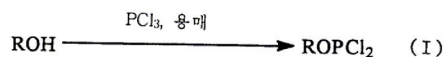
본 발명의 더욱 바람직한 실시태양에 있어서, "실시간" 모니터는 영상이 생성되고, 그리하여 인터벤셔널 요법 동안 시그널 특성을 주기적으로 모니터하는 것이 가능한 것을 의미한다. 영상이 생성되고 이를 모니터하는 빈도수는 치료 요법의 유형 및 기간에 따라 달라질 수 있다.

본 발명을 보다 명확하게 이해할 수 있도록 하기 위해, 하기의 실시예를 기재한다. 이러한 실시예는 본 발명을 예시하고자 하고자 하는 것이지, 이로써 본 발명의 영역을 어떠한 방법으로도 제한하고자 하는 것이 아니다.

### 실시예

이하의 기재는 본 발명의 방법에 유용한 바람직한 콘트라스트 제제의 합성 반응식으로서, 특히 MS-325에 관한 것이다. 본 명세서에서 참고로 인용하는 1997년 4월 11일자로 출원된 미국 특허 출원 제08/833,745호를 참조한다. 그리 바람직하지는 않지만, 이들 콘트라스트 제제의 또다른 유용한 합성 반응식은 본 명세서에서 참고로 인용하는 1995년 2월 1일자로 출원된 미국 특허 출원 제08/382,317호에 기재되어 있다.

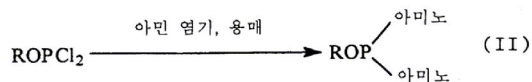
우선, 알콜 ROH를  $PCl_3$ 와 바람직하게는 1:1의 몰비로 반응시켜 디클로로포스핀 반응 생성물(I)을 형성한다.



상기에서, R은 직쇄형, 분지쇄형 또는 고리형의 지방족, 아릴, 헤테로고리, 펩티드, 펩토이드, 데옥시리보- 또는 리보뉴클레오타이드 또는 뉴클레오시드 또는 고리형 또는 비고리형 유기 킬레이트화제 기가 될 수 있으며, 질소, 산소, 황, 할로겐, 지방족, 아마이드, 에스테르, 설폰아미드, 아릴, 아실, 설포네이트, 포스페이트, 히드록실 또는 유기 금속 치환체로 임의로 치환될 수 있다.

이와 같은 반응은 에테레알 또는 탄화수소 용매의 존재하에서 수행하며, 약  $-50^\circ\text{C}$  ~ 약  $15^\circ\text{C}$ , 바람직하게는 약  $-10^\circ\text{C}$  ~ 약  $-5^\circ\text{C}$ 의 온도에서, 약 30 분 ~ 약 3 시간, 바람직하게는 약 1 시간 ~ 약 1.5 시간 동안 수행한다. 용매는 임의의 에테레알 또는 탄화수소 용매가 될 수 있으며, 헥산, 메틸-t-부틸 에테르, 디옥산, 테트라히드로푸란, 디에틸 에테르 및 에틸렌 글리콜 디알킬 에테르로 구성된 군에서 선택될 수 있는 것이 바람직하다. 용매는 테트라히드로푸란인 것이 더욱 바람직하다.

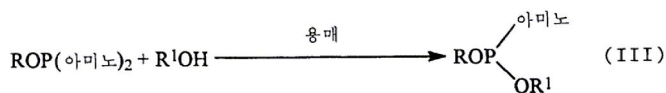
그후, 디클로로포스핀(I)을 약 5 ~ 약 6 당량의 아민 염기와 반응시켜 비스(아미노)포스피노 반응 생성물(II)을 형성한다.



이와 같은 반응은 또한 전술한 바와 같은 에테레알 또는 탄화수소 용매의 존재하에서 수행하며, 약  $-50^\circ\text{C}$  ~ 약  $15^\circ\text{C}$ , 바람직하게는 약  $-10^\circ\text{C}$  ~ 약  $-5^\circ\text{C}$ 의 온도에서, 약 30 분 ~ 약 3 시간, 바람직하게는 약 15 분 ~ 약 30 분 동안 수행한다. 반응 생성물(II)을 형성하는데 사용된 염기의 예로는 임의의 아민 염기, 바람직하게는 pKa값이 약 5 ~ 약 11인 염기, 더욱 바람직하게는 이미다졸, 2,4-디메틸이미다졸, 1H-테트라졸, 디알킬아민(메틸, 에틸, 부틸), 피리딘, 피페라진, 피페리딘, 피롤, 1H-1,2,3-트리아졸 및 1,2,4-트리아졸로 구성된 군에서 선택된다. 보다 바람직한 실시태양에서는 염기가 이미다졸이다.

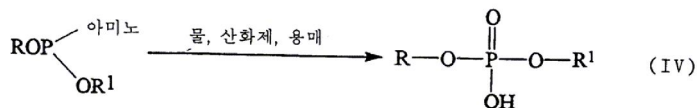
비스(아미노)포스피노 화합물(II)을 약 0.75 ~ 약 1.0 당량의 2차 알콜  $R^1OH$ (여기서,  $R^1$ 은 R기에 대해 상기에서 정의된 치환체 중 어떠한 것도 가능함)와 반응시켜 (아미노)포스피노 반응 생성물(III)을 형성한

다.



이와 같은 반응은 에테레알 또는 탄화수소 용매의 존재하에서 수행하며, 약  $-50^{\circ}\text{C}$  ~ 약  $15^{\circ}\text{C}$ , 바람직하게는 약  $-10^{\circ}\text{C}$  ~ 약  $-5^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서, 약 30 분 ~ 약 3 시간, 바람직하게는 약 1.0 시간 ~ 약 1.5 시간 동안 수행한다. 용매는 임의의 에테레알 또는 탄화수소 용매가 될 수 있으며, 헵탄, 메틸-t-부틸 에테르, 디옥산, 테트라히드로푸란, 1,3-디옥솔란, 디글림, 디에틸 에테르, 디알킬 에테르 및 에틸렌 글리콜 디알킬 에테르로 구성된 군에서 선택될 수 있는 것이 바람직하다. 용매는 테트라히드로푸란인 것이 더욱 바람직하다.

마지막으로, (아미노)포스포노 화합물(III)을 약 1 당량의 산성수, 바람직하게는 pH가 약 2.5 ~ 약 5인 산성수 및 약 1 당량 이상의 산화제와 반응시켜 소정의 포스포디에스테르 화합물(IV)을 형성한다.



산화제는 임의의 과산화물 유형의 산화제가 될 수 있으며, 과요오드산염으로 구성된 군에서 선택되는 것이 바람직하다. 산화제는 과요오드산나트륨인 것이 더욱 바람직하다.

상기의 가수분해 및 산화 반응은 용매 혼합물 중에서 약  $-15^{\circ}\text{C}$  ~ 약  $25^{\circ}\text{C}$ , 바람직하게는 약  $0^{\circ}\text{C}$  ~ 약  $2^{\circ}\text{C}$ 의 온도에서, 약 10 ~ 약 24 시간, 바람직하게는 약 10 ~ 약 15 시간 동안 수행한다. 용매 혼합물은 에테레알 또는 탄화수소 용매로 구성된 군에서 선택된 용매의 임의의 조합물을 포함한다. 용매 혼합물은 테트라히드로푸란, 헵탄 및 톨루엔을 10:10:1의 부피비로 포함하는 것이 바람직하다.

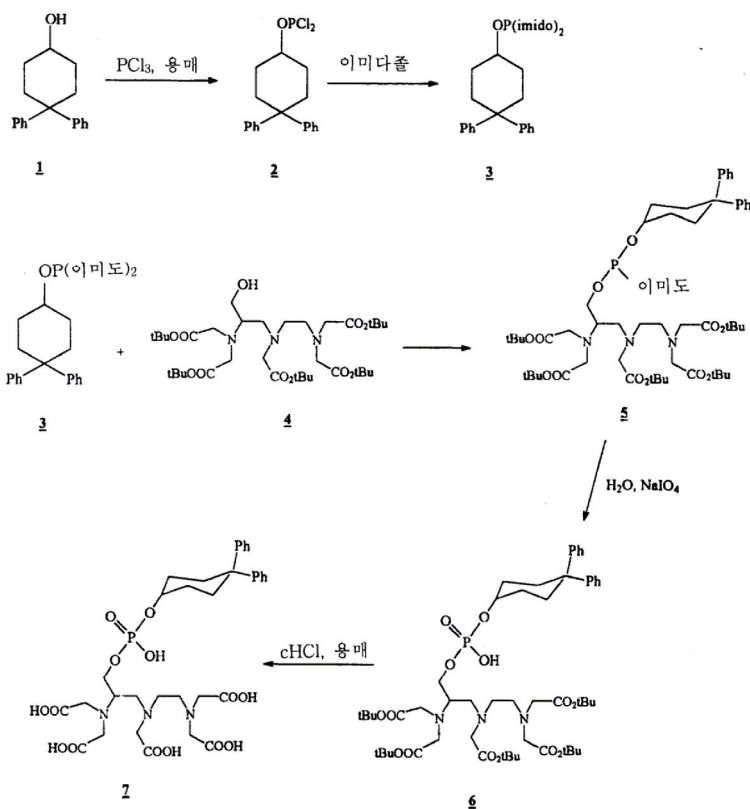
이와 같은 반응식에 의하면, MS-325 착물 중의 킬레이트화 리간드는 하기와 같이 제조된다.

[(4,4-디페닐시클로헥실)포스포옥시메틸]디에틸렌트리아민펜타아세트산

제조

MS-325 착물에 사용된 킬레이트화 리간드의 제조는 하기 반응식 1에 기재되어 있다.

#### 반응식 1



테트라히드로푸란(202 ml) 중의 삼염화인 용액(13.2 ml, 0.151 mol)을 함유하는 단일 반응 용기내에서 테트라히드로푸란(243 ml) 중의 4,4-디페닐-시클로헥산올(1)(38.34 g, 0.152 mol) 용액을 교반하면서 1.5 시간 동안 -6.2℃~-5.3℃의 내부 온도를 유지하면서 첨가하였다. 그후, 혼합물을 추가의 34 분 동안 교반하여 <sup>31</sup>P NMR 화학적 이동이 174.28 ppm인 디클로로포스핀 반응 생성물(2)을 형성하였다.

이 용액에, 테트라히드로푸란(243 ml) 중의 이미다졸(51.34 g, 0.753 mol)을 교반하면서 37 분 동안 -7.8℃~-3.6℃의 내부 온도를 유지하면서 첨가하였다. 그후, 생성된 혼합물을 추가의 20 분 동안 교반하여 <sup>31</sup>P NMR 화학적 이동이 106.36 ppm인 비스(아미노)포스포노 반응 생성물(3) 용액을 형성하였다.

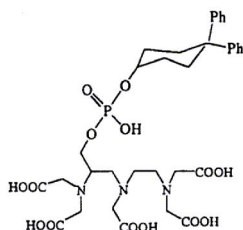
이 혼합물에 헵탄(114 ml) 중의 2-(R)-히드록시메틸디에틸렌트리아민 펜타아세트산, 펜타-t-부틸 에스테르(4)(160.0 g, 0.128 mol, 순도:56.32 중량%)으로 구성된 용액을 교반하면서 1 시간 6 분 동안 -6.8℃~-4.8℃의 내부 온도를 유지하면서 첨가하였다. 그후, 혼합물을 추가의 23 분 동안 교반하여 <sup>31</sup>P NMR 화학적 이동이 123.8 ppm인 화합물(5)의 용액을 형성하였다.

마지막으로, 물(202 ml)을 1 분 동안 -6.5℃~-6.5℃의 내부 온도를 유지하면서 첨가하였다. 그후, 혼합물을 5 분 동안 교반한 후, 헵탄(620 ml), 톨루엔(70 ml) 및 5 N의 수성 염산(202 ml)을 5 분에 걸쳐서 내부 온도를 1.0℃~12.1℃로 유지하면서 첨가하였다. 과요오드산나트륨(22.6 g, 0.106 mol)을 3 분에 걸쳐서 내부 온도를 10.5℃로 유지하면서 첨가하였다. 반응 혼합물을 35 분에 걸쳐서 실온으로 승온시키고, 추가의 2.5 시간 동안 교반하여 <sup>31</sup>P NMR 화학적 이동이 4.27 ppm인 화합물(6)의 용액을 형성하였다. 이 층을 분리하고, 유기층을 10%의 티오황산나트륨 수용액(2×809 ml)으로 세정하였다.

상기 유기층에 브롬화테트라옥틸암모늄(8.21 g, 0.015 mol)을 첨가하였다. 그후, 진한 염산(11.51 M, 405 ml)을 22 분에 걸쳐서 내부 온도는 22.8℃~25.0℃로 유지하면서 첨가하였다. 이 혼합물을 16.0 시간 동안 교반하여 <sup>31</sup>P NMR 화학적 이동이 7.78 ppm인 화합물(7)의 용액을 형성하였다. 층을 분리시키고, 유기층을 버렸다.

상기의 수성층에 pH가 6.56이 될 때까지 8 M의 수산화나트륨(630 ml) 수용액을 첨가하였다. 용매 400 ml가 얻어질 때까지(약 1 시간) 용액을 감압하에(50℃~55℃, 진공 85 mmHg) 농축시켰다. 이 용액을 실온으로 냉각시키고, 암버라이트 XAD-4 수지(92.0 g)를 첨가하였다. 현탁액을 50 분 동안 실온에서 교반하고, 여과하여 담황색의 수용액(1.1 l)을 얻었다.

이 용액을 C-18 역상 실리카 겔(271 g, 메탄올중에서 흡윤 충전시킨 후, 메탄올 800 ml, 메탄올/물 800 ml, 1:1 및 물 800 ml로 세척함)에 넣고, 물로 용리시켰다. 수집된 제1의 용리액 1.0 l를 버리고, 그후의 수집된 1.3 l를 얻었다. 얻은 용액에 6 N의 염산 수용액(pH 2.15가 될 때까지 60 ml) 및 3 N의 염산 수용액(pH 1.63이 될 때까지 30 ml)를 첨가하였다. 슬러리를 1.25 시간 동안 교반한 후, 여과하였다. 고형물을 pH 1.67의 수용액(500 ml)으로 세정하고, 일정한 중량이 될 때까지(18.0 시간) 건조(48℃~50℃, 4~6 mmHg)시켜 하기 화학식을 갖는 화합물의 고형물을 얻었다.



(65.5 g, 수율: 68.89%, 순도:99.45 중량%, 98.95 면적%, 3.02% 물 및 97.81% 킬레이트 형성 가능)

#### 실험

3 가지 유형의 시료를 제조하고, 이를 평가하였다. 제1의 시료는 콘트라스트 제제를 포함하지 않는 사람의 혈청 알부민(HSA)을 함유하는 대조용 시료이다. 나머지 2개지의 시료는 HSA를 함유하며, 각각 Gd-DTPA 및 HSA-특이성 제제 MS-325를 함유한다.

이러한 실시예에서, 종방향 이완율( $R_1$ ,  $\text{mM}^{-1} \text{sec}^{-1}$ )을 모니터하고, 4.5 중량%의 HSA 함유 PBS 용액 중에 또는 4.5 중량%의 HSA 및 1%의 한천을 함유하는 겔 중에서 인산염 완충 염수(PBS, 150 mM NaCl, 10 mM 포스페이트, pH 7.4) 중에서 물 양성자의 이완율( $1/T_1$ )을 측정하여 20 MHz에서 이를 얻었다. 순환수조를 사용하여 시료의 온도를 변화시키고, 열전대쌍을 사용하여 시료 온도를 모니터하여 이완율( $R_1$ )에 대한 온도의존도를 관측하였다.

#### 실시예 1

##### 4.5% HSA의 열적 과사의 모니터

4.5%의 HSA의 용액중에 (1) 콘트라스트 제제를 포함하지 않는 대조용 시료, (2) Gd-DTPA를 포함하는 비교용 시료 및 (3) MS-325를 포함하는 시료인 3 가지의 시료를 제조하였다. 4.5%의 HSA 용액에 Gd-DTPA 또는 MS-325를 포함하는 수성 제제(pH 7)를 첨가하여 Gd-DTPA 및 MS-325를 포함하는 시료를 제조하였다. 생성된 혼합물은 농도가 각각 Gd-DTPA 0.3 mM 및 MS-325 0.1 mM이다.

3 가지의 시료를 사용하여 4.5%의 HSA 용액의 열적 변성을 모니터하였다. 이를 수행하기 위해, 각 시료

의  $T_1$  데이터 [(및  $R_1$  데이터( $=1/T_1$ ))]를 20 MHz에서 20~60℃의 온도 범위에 걸쳐서 수집하였다. 각각의 시료를 NMR로부터 꺼내고, 85℃에서 15 분 동안 가열하여 HSA의 열적 변성을 유도하였다. 그후, 시료를 NMR에 다시 넣고,  $T_1$  데이터를 고온에서 수집하였다. 하기의 표 1 및 도 1을 참조한다.

[표 1]

온도(℃)	$R_1$ 4.5% HSA	$R_1$ Gd-DTPA	$R_1$ MS-325
7.3	0.396	9.4556	31.2
11.7	0.319	8.8125	33.4
16.2	0.246	8.0690	36.0
20.6	0.181	7.4182	38.6
25.0	0.123	6.7426	40.6
29.5	0.072	6.2117	42.0
33.9	0.033	5.7089	42.8
38.4	0.000	5.2984	42.4
42.8	-0.026	4.8917	42.3
47.3	-0.041	4.5992	41.3
51.7	-0.045	4.3083	39.5
56.2	-0.056	4.0592	37.5
60.6	-0.065	3.8806	33.3
85.0	0.084	4.2102	10.8

상기 표 1 및 도 1에 도시되어 있는 바와 같이, HSA 함유 용액의 열적 변성후, HSA 특이성 콘트라스트 제제인 MS-325를 함유하는 시료는 변성(56.2℃) 직전에서 변성(85℃) 직후까지 측정된 바에 의하면 HSA의 변성 동안 측정된  $R_1$ 이 상당히 감소되는 것으로 나타났다(손실율 26.7  $\text{mM}^{-1}\text{sec}^{-1}$ ). 그러나, 비특이성 콘트라스트 제제인 Gd-DTPA를 함유하는 시료는 MS-325 시료에 대해 사용된 것의 3배 농도에서조차도 변성 동안  $R_1$ 의 변화가 거의 적었다(손실율이 0.1  $\text{mM}^{-1}\text{sec}^{-1}$ ). 이는 Gd-DTPA가 천연 또는 변성의 HSA에 결합되지 않는다는 것을 나타낸다.

상기의 데이터를 얻은 후, 변성 시료를 생리적 온도(37℃)로 냉각되도록 하고,  $T_1$  데이터를 다시 수집하였다. MS-325를 함유하는 시료는  $R_1$ 의 손실율이 상당히 컸으나(총 손실율이 25  $\text{mM}^{-1}\text{sec}^{-1}$ ), Gd-DTPA를 함유하는 시료는  $R_1$ 이 조금 변한 것으로 나타났다(총 손실율 0.5  $\text{mM}^{-1}\text{sec}^{-1}$ ).

## 실시예 2

### 1.0 테슬라에서의 HSA의 열적 변성의 MRI 영상화

4.5%의 HSA를 함유하는 1% 한천 겔 중에서 (1) 콘트라스트 제제를 함유하지 않은 대조용 시료, (2) Gd-DTPA를 함유하는 비교용 시료, (3) MS-325를 함유하는 시료를 제조하였다. 콘트라스트 제제는 Gd-DTPA 및 MS-325의 농도가 각각 0.3 mM의 Gd-DTPA 및 0.1 mM의 MS-325가 되기에 충분한 함량으로 첨가하였다. 이러한 4.5%의 HSA를 함유하는 한천 겔을 "팬텀"으로 칭한다.

1.0 테슬라의 한천 팬텀에서의 초기  $T_1$  평량 MRI 스캔(FISP-3D, TR=15, TE=4,  $\alpha=30$ )을 약 25℃의 온도에서 얻었다. 초기 스캔에 의하면 MS-325를 함유하는 팬텀은 Gd-DTPA를 함유하는 팬텀(비교용 시료) 또는 4.5% HSA만을 함유하는 팬텀(대조용 시료)보다 더 밝은 것으로 나타났으며, 이러한 결과는 HSA에 MS-324가 특이적으로 결합하였기 때문인 것으로 예상된다.

그후, 팬텀을 순환수조내에서 가열하고, 시간 경과에 따른 추가의  $T_1$  평량 MRI 스캔을 얻었다. 온도가 증가할수록 MS-325를 함유하는 팬텀은 Gd-DTPA를 함유하는 팬텀 또는 4.5%의 HSA만을 함유하는 팬텀보다 훨씬 밝은 것으로 나타났다( $R_1$  손실율(%)(해당 영역)의 측정시 시그널 강도 손실이 적었다). 하기의 표 2 및 도 2를 참조한다.



[표 2]

시간 (분)	온도( ℃)	R01 손실율(%)4.5% HSA	R01 손실율(%)4.5% HSA중의0.3 mM의 Gd-DTPA	R01 손실율(%)4.5% HSA중의0.1 mM의 MS-325
0	25.3	-0.41519	-0.24557	0.0000
10	29.6	-4.2635	-5.1875	-4.4755
20	38.3	-6.8972	-12.806	-6.4144
30	45.0	-10.360	-18.985	-11.241
40	53.0	-15.205	-30.964	-26.153
50	64.7	-20.250	-43.833	-49.262
60	72.8	-20.667	-46.086	-69.499
70	87.1	-20.953	-47.529	-76.469
120	35.5	-4.9098	-10.190	-31.869

팬텀을 50℃~60℃로 가열하면, 팬텀은 색상이 불투명해지는데, 이는 HSA의 열적 변성에 의한 것이다. 동시에, 표 2 및 도 2에 도시된 바와 같이, MS-325를 함유한 팬텀의 경우에는 시그널 강도가 급격하게 감소된 것(강도 손실율 76%)을 알 수 있다. 그러나, Gd-DTPA 또는 HSA만을 함유하는 팬텀은 시그널 강도에 있어서 온화한 변화만을 생성하였다. MS-325 팬텀에 사용된 농도의 3 배의 농도를 갖는 Gd-DTPA에서조차 Gd-DTPA 팬텀은 열적 변성후 MRI 스캔 동안 일정하게 어두운 영상으로 남았다.

이와 같은 데이터를 수집한 후, 변성된 시료를 정상 생리 온도(37℃)로 냉각시켰다. MS-325를 함유하는 팬텀은 시그널 강도에서의 손실율이 유지되었다(손실율 32%). 대조용 팬텀 및 Gd-DTPA를 함유하는 팬텀은 변성후 시그널 강도가 각각 5% 및 10%만이 감소된 것으로 나타났다.

이와 같은 결과에 의하면, 본 발명의 방법에 유용한 콘트라스트 제제는 HSA의 열적 변성에 매우 민감한 징후를 나타내었다. 사실상, 3 배 농도의 다른 콘트라스트 제제를 용하더라도, 이와 같은 높은 농도에서는 HSA의 열적 변성을 모니터링하는데 요구되는 감도를 제공할 수가 없다.

### 실시예 3

#### HSA의 에탄올 변성

4.5%의 HSA를 함유하는 용액 중에서 (1) 콘트라스트 제제를 함유하지 않은 대조용 시료, (2) Gd-DTPA를 함유하는 비교용 시료, (3) MS-325를 함유하는 시료 3 가지를 제조하였다. Gd-DTPA 및 MS-325를 포함하는 수성 제제(pH 7)를 4.5%의 HSA 용액에 첨가하여 Gd-DTPA 및 MS-325를 포함하는 시료를 제조하였다. 생성된 혼합물은 Gd-DTPA 및 MS-325의 농도가 각각 0.31 mM의 Gd-DTPA 및 0.08 mM의 MS-325이었다.

그후, 각각의 시료에 무수 알콜로 역가측정하였다. 에탄올 첨가후, T<sub>1</sub> 데이터 [및 R<sub>1</sub> 데이터(=1/T<sub>1</sub>)]를 20 MHz 및 37℃에서 수집하였다. 하기의 표 3 및 도 3을 참조한다.

[표 3]

에탄올 (%)	R <sub>1</sub> 4.5% HSA	Gd-DTPA에대 한 에탄올 (%)	R <sub>1</sub> 0.31 mMGd-DTPA	MS-325에대 한 에탄올(%)	R <sub>1</sub> 0.08 mMMS-325
0.0000	-0.000	0.0	4.1737	0.0	42.216
8.7382	0.030	16.1	4.7191	0.9	40.848
16.072	0.060	27.8	5.0021	1.9	39.541
22.315	0.090	36.6	4.9347	2.8	38.423
27.693	0.109	43.5	4.7997	3.7	37.064
32.375	0.125	49.0	4.4623	4.5	36.375
36.487	0.128			5.4	35.234
40.128	0.142			6.2	34.576
43.375	0.153			7.1	33.895
46.287	0.168			7.9	33.099
				8.7	32.224
				10.2	31.689
				11.7	30.403
				16.4	26.939
				22.8	21.456

				28.3	17.428
				33.1	14.082
				37.3	11.187
				41.0	9.6943
				44.2	8.9506
				47.2	8.7970

표 3 및 도 3에 도시된 바와 같이, 4.5%의 HSA 용액의 에탄올 절제 동안, MS-325를 함유하는 시료는 이완율이  $33 \text{ mM}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 로 크게 감소하였으며, 그리하여 에탄올로 유도된 고사가 검출되었다. 그러나, Gd-DTPA를 함유하는 시료(MS-325 농도의 거의 4 배에 달하는 농도에서도)는 이완율이  $0.3 \text{ mM}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 로 그 변화가 적었다.

## (57) 청구의 범위

### 청구항 1

- (a) 표적화된 조직 또는 조직 성분에 결합될 수 있으며, 상기 조직 또는 조직 성분에 대한 특이성 친화도를 지니며, 영상 강화 부분(IEM) 및 상 의존성 조직 결합 부분(SDTBM)을 포함하는 콘트라스트 제제를 환자에게 투여하는 단계,
- (b) MRI, 자외선광, 가시광선 또는 적외선광 영상화 중 하나로 환자를 처리하는 단계,
- (c) 인터벤셔널 요법이 완료되었는지의 여부를 결정하기 위해 콘트라스트 제제의 영상화 시그널 특성을 모니터하는 단계를 포함하는, 인터벤셔널 요법의 실시중 또는 실시 완료후의 특이성 조직 또는 조직 성분의 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

### 청구항 2

제1항에 있어서, IEM은 유기 분자, 금속 이온, 염 및 킬레이트, 입자, 클러스트, 철 입자, 표지된 펩티드, 단백질, 중합체, 리포솜, 유기 염료 및 무기 염료로 구성된 군에서 선택되는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

### 청구항 3

제1항에 있어서, IEM은 원자 번호 13, 21~34, 39~42, 44~50 또는 57~83의 금속 이온 1 이상에 착물을 형성하는 고리형 또는 비고리형의 유기 킬레이트화제 1 이상을 포함하는 생리적 혼화성을 갖는 킬레이트를 포함하는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

### 청구항 4

제3항에 있어서, 금속 이온은 원자 번호가 21~29, 42, 44 또는 57~83인 상자성 금속 이온인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

### 청구항 5

제4항에 있어서, 상자성 금속 이온은 Gd(III), Fe(III), Mn(II), Mn(III), Cr(III), Cu(II), Dy(III), Tb(III), Ho(III), Er(III) 및 Eu(III)로 구성된 군에서 선택되는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

### 청구항 6

제5항에 있어서, 금속 이온은 Gd(III)인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

### 청구항 7

제5항에 있어서, 킬레이트화제는 DTPA, DOTA, DTPA-BMA 및 HP-D03A로 구성된 군에서 선택되는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

### 청구항 8

제1항에 있어서, IEM은 발광 금속 착물을 포함하는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

### 청구항 9

제1항에 있어서, IEM은 철 입자 또는, Dy, Gd 또는 Ho의 금속 킬레이트를 포함하는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

### 청구항 10

제1항에 있어서, SDTBM은 소분자 및 생체분자로 구성된 군에서 선택되는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

### 청구항 11

제10항에 있어서, SDTBM은 C<sub>1</sub>-C<sub>60</sub>의 지방족, 알콕시, 알킬티오, 알킬카르보닐, 알킬카르보닐옥시, 아릴

또는 헤테로고리기 중 1 이상 및, 임의로 질소, 산소, 황, 할로겐, 지방족 아미드, 에스테르, 설펜아미드, 아실, 설포네이트, 포스페이트, 히드록실 또는 유기금속 치환체 중 1 이상을 포함하는 소분자를 포함하는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 12

제11항에 있어서, SDTBM은 1 이상의 아릴 고리를 포함하는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 13

제11항에 있어서, SDTBM은 2 이상의 아릴 고리를 포함하는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 14

제10항에 있어서, SDTBM은 소수성 아미노산 잔기 및/또는, 소수성 또는 친수성 말단기를 포함하거나 또는 포함하지 않는 치환체를 포함하는 펩티드를 포함하는 생체분자를 포함하는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 15

제1항에 있어서, 콘트라스트 제제는 혈장, 간질성 공극, 활액, 대뇌 척수액, 염증성 체액, 농양액 또는 세포내 공극에서의 조직 또는 조직 성분에 대한 상 의존성 결합 친화도를 나타내는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 16

제1항에 있어서, 콘트라스트 제제는 사람의 혈청 알부민, 지방산 결합 단백질, 글루타티온-S-트랜스퍼라제 및 지단백질로 구성된 군에서 선택되는 단백질에 대한 상 의존성 결합 친화도를 나타내는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 17

제1항에 있어서, 콘트라스트 제제는, 음전하가 IEM에 대한 공유 또는 배위 공유 결합 형성에 의해 부분 또는 완전 중화될 수 없는 생리적 pH에서 수용액 중의 1 이상의 완전 또는 부분 음전하를 갖는 혈중 반감기 확장 부분(BHEM)을 더 포함하는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 18

제17항에 있어서, 콘트라스트 제제는 사람의 혈청 알부민에 대한 상 의존성 결합 친화도를 나타내는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 19

제18항에 있어서, 콘트라스트 제제의 10% 이상이 천연의 상에서 사람의 혈청 알부민에 결합하는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 20

제18항에 있어서, 콘트라스트 제제의 50% 이상이 천연의 상에서 사람의 혈청 알부민에 결합하는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 21

제18항에 있어서, 콘트라스트 제제의 80% 이상이 천연의 상에서 사람의 혈청 알부민에 결합하는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 22

제18항에 있어서, 콘트라스트 제제의 95% 이상이 천연의 상에서 사람의 혈청 알부민에 결합하는 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 23

제18항에 있어서, 콘트라스트 제제는, 변성 상에서 사람의 혈청 알부민에 대한 결합 친화도가 천연 상에서의 사람의 혈청 알부민에 대한 콘트라스트 제제의 결합 친화도의 약 80% 미만인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 24

제18항에 있어서, 콘트라스트 제제는, 변성 상에서 사람의 혈청 알부민에 대한 결합 친화도가 천연 상에서의 사람의 혈청 알부민에 대한 콘트라스트 제제의 결합 친화도의 약 50% 미만인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 25

제18항에 있어서, 콘트라스트 제제는, 변성 상에서 사람의 혈청 알부민에 대한 결합 친화도가 천연 상에서의 사람의 혈청 알부민에 대한 콘트라스트 제제의 결합 친화도의 약 20% 미만인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 26

제18항에 있어서, 콘트라스트 제제는, 변성 상에서 사람의 혈청 알부민에 대한 결합 친화도가 천연 상에서의 사람의 혈청 알부민에 대한 콘트라스트 제제의 결합 친화도의 약 10% 미만인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 27

제1항 또는 제18항에 있어서, 콘트라스트 제제는, 변성 상에서 조직 또는 조직 성분에 결합시  $R_1$  이완율이 천연 상에서 조직 또는 조직 성분에 결합시의 콘트라스트 제제의  $R_1$  이완율의 약 80% 미만인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 28

제1항 또는 제18항에 있어서, 콘트라스트 제제는, 변성 상에서 조직 또는 조직 성분에 결합시  $R_1$  이완율이 천연 상에서 조직 또는 조직 성분에 결합시의 콘트라스트 제제의  $R_1$  이완율의 약 50% 미만인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 29

제1항 또는 제18항에 있어서, 콘트라스트 제제는, 변성 상에서 조직 또는 조직 성분에 결합시  $R_1$  이완율이 천연 상에서 조직 또는 조직 성분에 결합시의 콘트라스트 제제의  $R_1$  이완율의 약 20% 미만인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 30

제1항 또는 제18항에 있어서, 콘트라스트 제제는, 변성 상에서 조직 또는 조직 성분에 결합시  $R_1$  이완율이 천연 상에서 조직 또는 조직 성분에 결합시의 콘트라스트 제제의  $R_1$  이완율의 약 10% 미만인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 31

제1항 또는 제18항에 있어서, 콘트라스트 제제는 인터벤셔널 요법이 완료되고, 표적화된 조직 또는 조직 성분이 생리적 조건으로 돌아가는 경우의  $R_1$  이완율이 천연 상에서 조직 또는 조직 성분에 결합시의 콘트라스트 제제의  $R_1$  이완율의 약 80% 미만인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 32

제1항 또는 제18항에 있어서, 콘트라스트 제제는 인터벤셔널 요법이 완료되고, 표적화된 조직 또는 조직 성분이 생리적 조건으로 돌아가는 경우의  $R_1$  이완율이 천연 상에서 조직 또는 조직 성분에 결합시의 콘트라스트 제제의  $R_1$  이완율의 약 50% 미만인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

#### 청구항 33

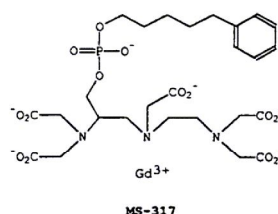
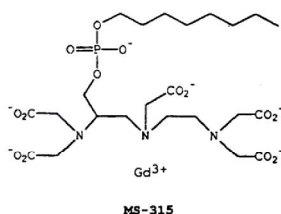
제1항 또는 제18항에 있어서, 콘트라스트 제제는 인터벤셔널 요법이 완료되고, 표적화된 조직 또는 조직 성분이 생리적 조건으로 돌아가는 경우의  $R_1$  이완율이 천연 상에서 조직 또는 조직 성분에 결합시의 콘트라스트 제제의  $R_1$  이완율의 약 20% 미만인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

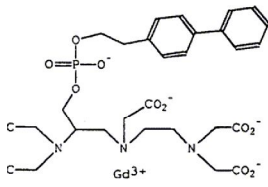
#### 청구항 34

제1항 또는 제18항에 있어서, 콘트라스트 제제는 인터벤셔널 요법이 완료되고, 표적화된 조직 또는 조직 성분이 생리적 조건으로 돌아가는 경우의  $R_1$  이완율이 천연 상에서 조직 또는 조직 성분에 결합시의 콘트라스트 제제의  $R_1$  이완율의 약 10% 미만인 것인 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

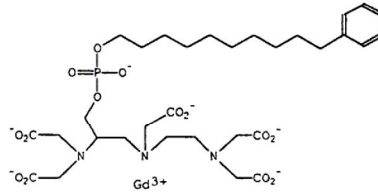
#### 청구항 35

- (a) 하기의 화학식 중 하나를 갖는 콘트라스트 제제를 환자에게 투여하는 단계,
- (b) MRI, 자외선광, 가시광선 또는 적외선광 영상화 중 하나로 환자를 처리하는 단계,
- (c) 인터벤셔널 요법이 완료되었는지의 여부를 결정하기 위해, 콘트라스트 제제의 영상화 시그널 특징을 모니터링하는 단계를 포함하는, 인터벤셔널 요법의 실시중 또는 실시를 완료한 특이성 조직 또는 조직 성분의 콘트라스트 강화된 진단 영상화 방법.

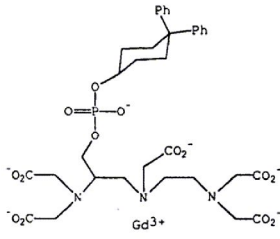




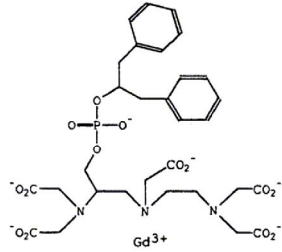
MS-322



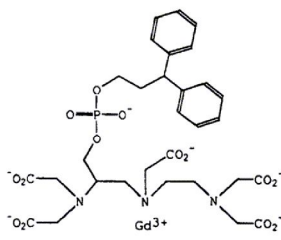
MS-323



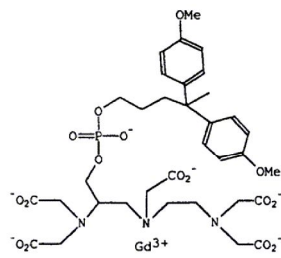
MS-325



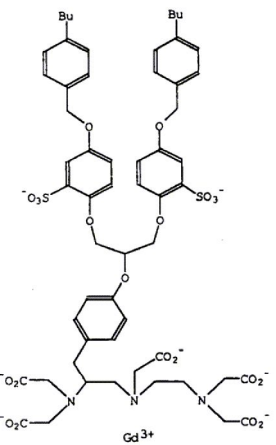
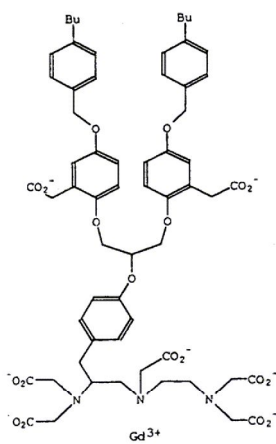
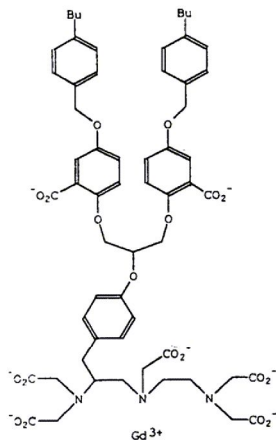
MS-326

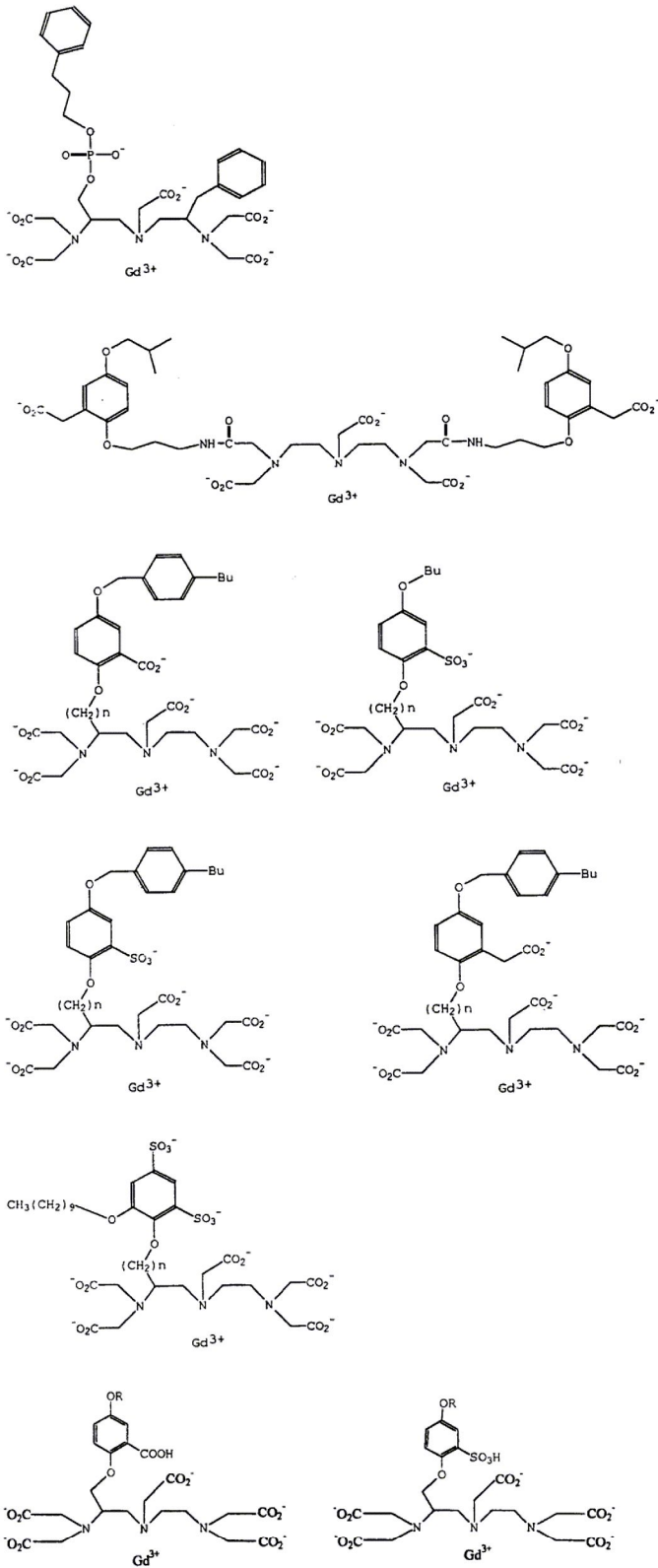


MS-327



MS-328



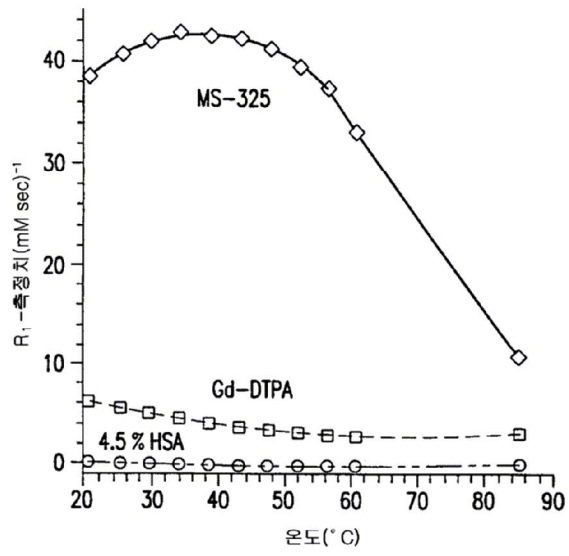


상기 화학식에서, n은 1~4가 될 수 있고, R은 지방족기 및/또는 1 이상의 아릴 고리를 포함한다.

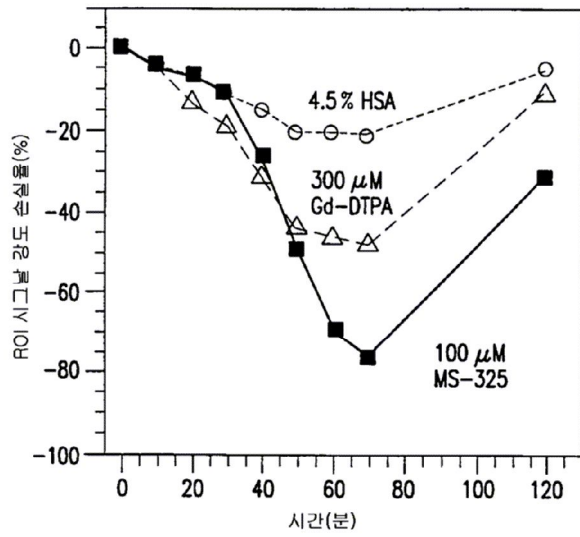
도면



도면1



도면2



도면3

