



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년08월17일
(11) 등록번호 10-1545045
(24) 등록일자 2015년08월10일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 49/04 (2006.01) A61K 49/06 (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2012-7010930</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2010년10월28일
심사청구일자 2013년09월09일</p> <p>(85) 번역문제출일자 2012년04월27일</p> <p>(65) 공개번호 10-2012-0091149</p> <p>(43) 공개일자 2012년08월17일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/EP2010/066351</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2011/051387
국제공개일자 2011년05월05일</p> <p>(30) 우선권주장
09174413.6 2009년10월29일
유럽특허청(EPO)(EP)</p> <p>(56) 선행기술조사문헌
KR100189271 B1
KR1020100033405 A</p> | <p>(73) 특허권자
지이 헬스케어 에이에스
노르웨이 오슬로 니코비엔 2(우편번호 0485)</p> <p>(72) 발명자
비스트란트, 라르스-피란
노르웨이 엔-0401 오슬로 니코비엔 1-2 피.오. 박스 4220 니달렌 지이 헬스케어 에이에스
타닝, 미켈
노르웨이 엔-0401 오슬로 니코비엔 1-2 피.오. 박스 4220 니달렌 지이 헬스케어 에이에스
뉴튼, 벤
영국 에이취피이7 9엘엘 버킹엄셔어주 아머삼 화이트 라이언 로드 더 그로브 센터 지이 헬스케어 리미티드</p> <p>(74) 대리인
양영준, 김영</p> |
|--|--|

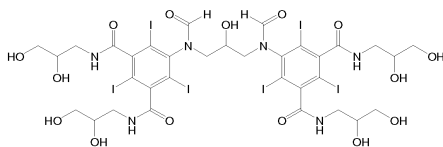
전체 청구항 수 : 총 16 항

심사관 : 최원철

(54) 발명의 명칭 **탁월한 안전성 프로파일을 갖는 혈장 양이온을 포함하는 진단학적 조성물**

(57) 요약

본 발명은 탁월한 심장 안전성 프로파일을 나타내는 신규 진단학적 X-선 조성물에 관한 것이다. 상기 조성물은 제약상 허용되는 담체 중의 비-이온성 아이오딘화 이량체를 포함한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 하기 화합물 I, 제약상 허용되는 담체, 및 거기에 용해된, 40-50 mM의 나트륨 이온 농도 및 0.1-0.7 mM의 칼슘 이온 농도를 제공하는 나트륨 화합물 및 칼슘 화합물을 포함하는 진단학적 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한 이러한 진단학적 조성물을 사용한 영상화 방법에 관한 것이다.



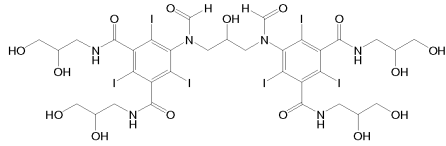
화합물 I

명세서

청구범위

청구항 1

하기 화합물 I



제약상 허용되는 담체; 및

거기에 용해된, 40-50 mM의 나트륨 이온 농도 및 0.1-0.7 mM의 칼슘 이온 농도를 제공하는 나트륨 화합물 및 칼슘 화합물

을 포함하는 진단학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 42-47 mM의 나트륨 이온 농도를 제공하는 나트륨 화합물을 포함하는 진단학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 44-46 mM의 나트륨 이온 농도를 제공하는 나트륨 화합물을 포함하는 진단학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 45 mM의 나트륨 이온 농도를 제공하는 나트륨 화합물을 포함하는 진단학적 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 0.3-0.6 mM의 칼슘 이온 농도를 제공하는 칼슘 화합물을 포함하는 진단학적 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 0.4-0.5 mM의 칼슘 이온 농도를 제공하는 칼슘 화합물을 포함하는 진단학적 조성물.

청구항 7

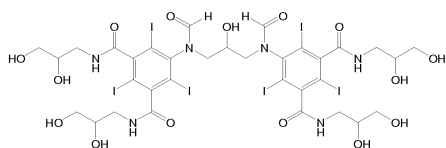
제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 0.5 mM의 칼슘 이온 농도를 제공하는 칼슘 화합물을 포함하는 진단학적 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 나트륨 이온 농도와 칼슘 이온 농도 사이의 비가 63 내지 117인 진단학적 조성물.

청구항 9

하기 화합물 I



제약상 허용되는 담체; 및

거기에 용해된, 나트륨 이온 농도와 칼슘 이온 농도 사이의 비가 40 내지 45인 나트륨 화합물 및 칼슘 화합물을 포함하는 진단학적 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제4항, 제8항 및 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 나트륨 화합물 및 칼슘 화합물이, 클로라이드, 술페이트, 포스페이트 및 히드로젠 카르보네이트의 군으로부터 선택된 반대이온을 포함하는 염인 진단학적 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 나트륨 화합물이 염화나트륨이고, 칼슘 화합물이 염화칼슘인 진단학적 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제4항, 제8항 및 제9항 중 어느 한 항에 있어서, EDTA 또는 TRIS 또는 이들 둘 다를 추가로 포함하는 진단학적 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제4항, 제8항 및 제9항 중 어느 한 항에 따른 진단학적 조성물을 포함하며, 상기 진단학적 조성물을 인간 또는 동물 신체에 투여하고, 상기 신체를 진단 장치를 사용하여 검사하고, 상기 검사로부터의 데이터를 수집하는 것을 포함하는 X-선 시험 방법에 사용하기 위한, 상기 진단학적 조성물을 포함하는 조성물.

청구항 14

i) 검출가능한 양의 제1항 내지 제4항, 제8항 및 제9항 중 어느 한 항에 따른 진단학적 조성물을 투여하는 단계;

ii) 투여된 조성물이 분포되도록 하는 단계;

iii) 분포된 조성물의 화합물 I에 의해 방출되는 신호를 검출하는 단계; 및

iv) 상기 신호의 위치 및 양 중 어느 하나, 또는 이들 둘 다를 나타내는 영상을 생성하는 단계

를 포함하는, 생체내 영상의 검출 방법에 사용하기 위한, 제1항 내지 제4항, 제8항 및 제9항 중 어느 한 항에 따른 진단학적 조성물을 포함하는 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 방법은 관상동맥 조영술 방법인 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제4항, 제8항 및 제9항 중 어느 한 항에 있어서, X-선 진단 또는 X-선 영상화에서 X-선 조영 매질로서 사용하기 위한 진단학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 탁월한 심장 안전성 프로파일을 나타내는 신규 진단학적 X-선 조성물에 관한 것이다. 상기 조성물은 제약상 허용되는 담체 중의 비-이온성 아이오딘화 이량체를 포함한다. 본 발명은 또한 이러한 진단학적 조성물을 사용한 영상화 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

모든 진단 영상은 신체 내 다양한 구조로부터 달성되는 상이한 신호 수준을 기초로 한다. 따라서, 예를 들어, 영상으로 보려고 하는 일정한 신체 구조에 대한 X-선 영상에서, 상기 구조에 의한 X-선 감쇠는 주위 조직의 것

과 차이가 있어야 한다. 신체 구조와 이의 주위조직 간의 신호 차이는 종종 콘트라스트(contrast)라고 일컬어지며, 신체 구조와 이의 주위조직 간의 콘트라스트가 크면 클수록 영상의 질은 더욱 높아지고 진단을 수행하는 내과의에게 그 가치가 보다 커지기 때문에, 진단 영상에서 콘트라스트를 증진시키는 수단에 많은 노력을 기울이고 있다. 더욱이, 콘트라스트가 클수록, 영상화 절차에서 가시화될 수 있는 신체 구조의 규모는 작아지며, 즉, 콘트라스트의 증가는 증가된 공간 해상도를 야기할 수 있다. 영상의 진단 품질은 영상화 절차에서 고유 노이즈(noise) 수준에 따라 크게 좌우되며, 이에 따라 콘트라스트 수준 대 노이즈 수준의 비는 진단 영상에 대해 효과적인 진단 품질 요인을 나타내는 것으로 볼 수 있다. 이러한 진단 품질 요인의 개선은 오랫동안 이루어져 왔으나, 여전히 중요한 목표로 남아있다.

[0003] X-선과 같은 기법에서, 진단 품질 요인을 개선시키기 위한 한 접근법은 조영 매질로서 제제화된 콘트라스트 증진 물질을 영상화될 신체 영역 내에 도입하는 것이다. 따라서, X-선용 초기 조영제의 예는, 이들이 분포되는 신체 대역에서 X-선 감쇠를 증진시키는 불용성 무기 바륨 염이었다. 최근 50년 동안, X-선 조영제 분야는 가용성 아이오딘 함유 화합물이 압도적이었다. 아이오딘화 조영제를 함유하는 상업적으로 입수가능한 조영 매질(CM)은 통상적으로 이온성 단량체, 예컨대 디아트리지오이트(예를 들어 상표명 가스트로그라펜(Gastrografen)TM으로 시판됨), 이온성 이량체, 예컨대 아이오사클레이트(예를 들어 상표명 헥사브릭스(Hexabrix)TM로 시판됨), 비-이온성 단량체, 예컨대 아이오hex올(예를 들어 상표명 옴니파크(Omnipaque)TM로 시판됨), 아이오파미돌(예를 들어 상표명 이소부에(Isovue)TM로 시판됨), 아이오메프롤(예를 들어 상표명 아이오메론(Iomeron)TM으로 시판됨), 및 비-이온성 이량체 아이오디사놀(상표명 비지파크(Visipaque)TM로 시판됨)로 분류된다. 아이오딘화 X-선 조영 매질의 임상적 안전성은 최근 수십년에 걸쳐 이온성 단량체(이소파크(Isopaque)TM)에서부터 비-이온성 단량체(예를 들어, 옴니파크TM) 및 비-이온성 이량체(예를 들어, 비지파크TM)로의 신규 작용제의 개발을 통해 꾸준히 개선되어왔다. 그러나, 현재 시판되고 있는 고도로 개선된 X-선 조영 매질조차도 낮은 수준의 바람직하지 않은 임상적 부작용, 예컨대 조영제로 인한 신장병증(CIN), 심장 역효과 및 지연된 이상 반응(DAR)을 나타낸다. 결과적으로, 특히 이러한 부작용의 위험이 높은 환자와 관련한 진단학적 조사에 대해 신규하고 보다 안전한 X-선 조영 매질이 임상적으로 요구된다.

[0004] 조영 매질의 효용성은 그의 독성, 그의 진단 효능, 조영 매질이 투여되는 대상체에서 일어날 수 있는 부작용, 및 제조, 저장 및 투여 용이성에 의해 크게 영향을 받는다. 조영 매질의 독성 및 생물학적 역효과는 제제화 매질, 즉, 진단학적 조성물의 성분, 예를 들어 용매 또는 담체 뿐만 아니라, 조영제 그 자체 및 그의 성분, 예컨대 이온성 조영제에 대한 이온, 및 또한 그의 대사산물에 의해 초래된다.

[0005] 관상동맥 조영술 수술의 횟수는 경피경혈관 심장동맥성형술, 스텐트의 삽입 및 치료제의 심장내 투여를 비롯한 심장 시술 가능성이 확대되면서 계속 증가하고 있다. 대부분이 심장과 관련된 연간 7 천만 건 초과 수술이 전세계적으로 시행되고 있다. 아이오딘화 방사선촬영 조영 매질에 의해 유발되는 심각한 부작용은 거의 없으나, 부작용은 고위험 환자에서 그리고 경피 심장 시술 동안에 발생할 수 있다.

[0006] 관상동맥 조영술에서, 관상 동맥 내 혈액은 이상적으로는 아이오딘화 방사선촬영 조영 매질의 불투스에 의해 완전히 대체되어 방사선사진의 감쇠가 최대화되며, 이에 의해 진단 영상이 최적화된다. 조영 매질이 혈액을 대체한 경우, 조영 매질 분자는 동맥 혈관에서 화학독성 및 삼투 효과를 일으키고, 또한 전해질 농도, 점도 및 산소 분압을 변경시킨다. 이러한 변경은 수축력 및 심장 리듬에 영향을 미칠 수 있고, 심실세동(VF)을 유발할 수 있다. 관상 동맥 내 조영 매질의 선택적 주입은 국소 전기생리학적 및 혈류역학적 효과를 유도한다. 심각한 심실 부정맥 및 심장압박은 조영 매질과 관련될 수 있는 관상동맥 조영술의 잘 알려진 합병증이다.

[0007] 니코메드 에이에스(Nycomed AS)(현재는 지이 헬스케어 에이에스(GE Healthcare AS))의 W091/13636 및 W090/11094는 X-선 조영 매질, 및 다양한 염을 포함하는 그의 제제에 관한 것이다. 또한, 문헌에서는 염, 주로 NaCl을 포함하는 X-선 조영제의 제제의 이점에 대해 수차례 연구되었다. 연구는 래트(문헌 [Jynge et al., Investigative Radiology 1993, 28, 20-25]) 및 래빗(문헌 [Baath et al., Investigative Radiology 1993, 28, 223-227])으로부터 단리된 심장에 대해, 개에서(문헌 [Pedersen et al., Acad. Radiol. 1994, 1, 136-144]) 및 피그에서 수행되었다. 특히 적절한 것은, 19 mM NaCl 및 0.3 mM CaCl₂를 함유하는 아이오디사놀 제제가 아이오디사놀 단독보다 낮은 빈도의 심실세동을 나타내는 것을 보여주는 차이(Chai) 등에 의한 연구이다(문헌 [Acad. Radiol. 2004, 11, 583-593]).

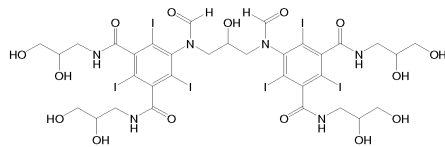
[0008] 문헌 [Jacobsen et al., Investigative Radiology 1993; 28, 917-924]은 개의 조영 매질의 빠른 반복적 주입이 수축촉진성 및 단상 활동 전위에 대해 부가 효과를 야기하는 반면, 링거액은 효과를 나타내지 않음을 보여준다. 이는 반복적 주입이 관상 전가지(whole tree)를 채우는데 있어 드문 일이 아닌 임상적 시험 지침의 혈관조

영술이 어떻게 심장 파라미터의 변화를 유도할 수 있고 합병증을 일으킬 수 있는지를 이해하기 위해 연구되었다.

[0009] 현재 시판되는 아이오디사놀 제제 320 mgI/ml는 19 mM 나트륨 이온 및 0.3 mM 칼슘 이온을 함유한다 (비지파크™). 상기 제제는 주로 심장병이 있는 피그 모델에서의 생체내 연구를 통해, 그리고 또한 단리된 동물 심장에 대한 연구를 통해, 염이 첨가되지 않은 아이오디사놀과 비교하여 탁월한 심장 안전성 프로파일을 나타내는 것으로 실험적으로 입증되었다. 유사한 연구에서, 아이오덱솔은 또한 염, 주로 NaCl을 첨가하여 제제화된 경우, 증가된 심장 내성을 나타냄을 보여주었다.

[0010] 지이 헬스케어 에이에스의 WO 2009/008734는 신규 부류의 화합물, 및 X-선 조영제로서의 그의 용도를 개시하고 있다. 이 화합물은 2개의 연결된 아이오딘화 페닐기를 함유하는 이량체이다. 2개의 아이오딘화 페닐기를 연결하는 브릿지(bridge)는, 1개 내지 6개의 -OH 또는 OCH₃ 기에 의해 임의로 치환된 직쇄 C₃ 내지 C₈ 알킬렌이다. 다양한 화합물이 명세서의 화학식 I에 포함되며, 다수의 특정 화합물이 제시되었다.

[0011] WO2009/008734의 화학식 I에 속하는 하나의 특정 이량체성 X-선 조영제인 하기 화합물 I은 본 출원인에 의해 바람직한 특성을 갖는 것으로 밝혀졌다:



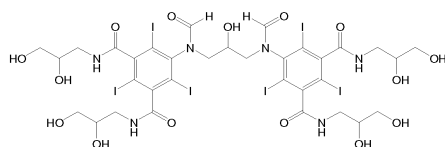
[0012] [0013] 화합물 I: 5-[포르밀-[3-[포르밀-[3,5-비스(2,3-디히드록시프로필카르바모일)-2,4,6-트리아이오도페닐]아미노]-2-히드록시프로필]아미노]-N,N'-비스(2,3-디히드록시프로필)-2,4,6-트리아이오도벤젠-1,3-디카르복사미드.

발명의 내용

[0014] 본 출원인은 놀랍게도, 본 발명에 이르러, 상기 제시된 것과 유사한 생체내 연구에서 입증된 바와 같이, 비지파크™과 비교하여 탁월한 심장 안전성 프로파일을 나타내는 신규 진단학적 X-선 조성물을 확인하였다.

[0015] 따라서, 제1 측면에서, 본 발명은

[0016] 하기 화합물 I



[0017] [0018] 제약상 허용되는 담체; 및

[0019] 거기에 용해된, 40-50 mM의 나트륨 이온 농도 및 0.1-0.7 mM의 칼슘 이온 농도를 제공하는 나트륨 화합물 및 칼슘 화합물

[0020] 을 포함하는 진단학적 조성물을 제공한다.

[0021] 화합물 I의 생리화학적 특성은 하기에서 발견된다. 생체분포 및 급성 독성 정보 이외에, 사용되는 방법에 대한 추가 정보는 실시예 1에 제공된다.

[0022] 단백질 결합: 인간 혈청 알부민 (HSA)에의 화합물 I의 결합을 평형 투석 방법을 사용하여 측정하였다. 인간 혈청 알부민에의 화합물 I의 결합은 3.1 ± 1.3%로 매우 낮은 것으로 측정되었으며, 이로써 물질과 내인성 단백질과의 상호작용은 무시해도 될 수준이라는 것이 확인되었다.

[0023] 분배 계수: 옥탄올과 물 사이의 분배를 통해 측정된 화합물 I의 친수성을 보면, logP가 -4.28로 화합물 I이 매우 친수적임을 알 수 있다.

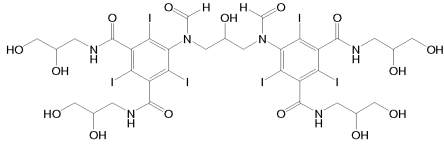
[0024] 점도: 화합물 I의 점도를 3개의 상이한 농도에서 20°C 및 37°C에서 측정하였다. 결과는 도 4에 나타났다. 320 mgI/ml 및 20°C에서의 점도는 대략 24 mPas였다.

- [0025] 삼투질농도: 화합물 I의 삼투질농도를 4개의 상이한 농도, 204, 254, 310 및 324 mgI/ml에서 측정하였다. 320 mgI/ml에서의 화합물 I의 삼투질농도는 136 mOsm/kg였다.
- [0026] 비지파크™과 비교하여 탁월한 심장 안전성 프로파일을 나타내는 신규한 진단학적 X-선 조성물이 확인되었다. 화합물 그 자체, 즉, 콘트라스트를 제공하는 화합물의 안전성 이외에, 진단학적 조성물의 추가 성분이 중요하다.
- [0027] 차이 등에 의한 연구는 19 mM NaCl 및 0.3 mM CaCl₂를 함유하는 아이오디사놀 제제가 아이오디사놀 단독보다 낮은 빈도의 심실세동 (VF)을 나타냄을 보여준다. 이 연구는 이전에 폐색된 적이 있는 좌관상 동맥 (LCA)에 매질을 직접 주입한 피그에서 수행되었다. 비지파크™의 주입에 대해 심실세동의 발생은 관찰되지 않았다. 화합물 I의 안전성 시험, 및 이를 위한 제제의 확인의 부분으로서, 화합물 I의 제제를 시험하고 비지파크™과 비교하였다. 이전에 공개된 연구 (상기)에서, 20 ml의 아이오디사놀의 심장내 주입은 40초의 주입 시간에 걸쳐 수행되었고 VF는 발생하지 않았기 때문에, 비교 목적상 주입 용적을 62.5초의 시간에 걸쳐 25 ml로 증가시켜 VF의 사례를 증가시켰다. 또한, 모델의 감수성을 더욱 증가시키기 위해, 시험 및 기준 용액을 좌전하 관상 동맥 (LAD)에 선택적으로 주입하였다. 상기 고용량에서, 비지파크도 100%의 상당한 심실세동 빈도를 나타냈다 (도 3). 실험은 실시예 2에 개략하여 나타내었다.
- [0028] 놀랍게도, 신규 X-선 조영제인 화합물 I은, 40-50 mM NaCl 및 0.1-0.7 mM CaCl₂ 만큼의 양을 갖는 진단학적 조성물로 제제화되는 경우, 심실세동이 발생하지 않았다 (상세사항에 대해서는 도 3 및 표 3 참조).
- [0029] 2 가지 상이한 연구로부터의 결과를 비교하였을 때, 비지파크의 경우 0%에서부터 100%까지 심실세동의 빈도 증가가 관찰되었다. 그러나, 고용량에서도, 이량체성 X-선 조영제인 화합물 I은 심실세동을 나타내지 않았다. 주요 차이점은, 화합물 I이 이 연구에서 비지파크의 NaCl (19 mM)보다 유의하게 높은 45 mM NaCl과 함께 제제화된 것이다. 0.1 내지 0.7 mM의 칼슘 이온 농도로의 유의한 효과가 심실세동 (VF)에서는 발견되지 않았지만, 칼슘이 더 적게 존재하는 경우, 수축기 동맥압 (SAP) 및 좌심실 수축기압 (LVP)에서 유의한 감소가 있었다 (표 3). 이들 데이터는 심실세동의 빈도에 영향을 미치는 주요인이 염화나트륨의 농도이고, 칼슘은 수축기 동맥압 및 좌심실 수축기압 (LVSP)에 대해 유의한 영향을 미친다는 것을 나타낸다. 실제로, 정상 피그에서의 연구는 45 mM NaCl을 함유하고 CaCl₂는 첨가되지 않은 화합물 I의 조성물의 LAD 주입이 주입 45 내지 70초 후에 LVSP의 감소 (-5.7 mm Hg의 평균치, 락테이트 링거액에 대해 정규화됨)를 야기하는 반면, 45 mM NaCl 및 0.5 mM CaCl₂를 함유하는 화합물 I의 조성물의 주입은 비지파크 (각각 -0.3 및 +0.1 mm Hg, 락테이트 링거액에 대해 정규화됨)와 유사한 방식으로 LVSP를 유지함을 보여준다 (실시예 2b). 또한, 상기 속도 및 용적으로 아이오파미돌의 주입은 모든 경우 (3 마리의 피그에서 총 9회 주입), 주입한지 대략 27초 내지 50초 후에 VF를 유도하였다 (이는 임의의 LVSP 반응 분석을 제한함). 이들 결과는 추가로, 화합물 I의 조성물 중의 0.5 mM CaCl₂의 존재는 유익하고, 비지파크와 유사한 방식으로 LVSP에 대해 임의의 부정적 효과를 제한함을 시사한다. 추가로, 화합물 I의 진단학적 조성물 및 비지파크에 존재하는 첨가된 전해질은 전해질이 첨가되지 않은 아이오파미돌과 비교하여 VF를 유발하는 경향을 보다 낮출 수 있다. 연구되는 전해질의 양 및 비율은 실시예 2b의 표 4에 제시되어 있다.
- [0030] 보다 빠른 주입의 연구에서 (40 ml, 5 ml/초), 45 mM NaCl 및 0.5 mM CaCl₂를 갖는 조성물 중의 화합물 I이 정상 피그의 LAD에 선택적으로 주입된 경우, 좌심실 수축기압은 유지되었고, 락테이트 링거액 및 비지파크 투여 후에 관찰된 것과 유사하였다. 첨가된 전해질이 없는 아이오파미돌 주입과 대조적으로, LVSP에서의 유의한 감소가 야기되었다 (실시예 2c). 추가로, 아이오파미돌은 dP/dt의 상당한 증가 (69%)를 초래하는 반면, 화합물 I은 이에 대해 락테이트 링거액 및 비지파크와 유사하였다 (최대 30%의 보통의 증가율). 락테이트 링거액 및 간질액의 나트륨 (Na)/칼슘 (Ca)의 평형 조성물과 유사한, 연구되는 화합물 I의 제제 및 비지파크 제제에서의 전해질 Na 및 Ca의 존재 및 비율이 전해질이 첨가되지 않은 아이오파미돌 주입에 따른 경우와 비교하여 심장 기능을 탁월하게 유지시킬 수 있는 것으로 여겨진다. 전해질의 양 및 비율은 실시예 2b의 표 5에 제시되어 있다.
- [0031] 본 발명의 추가 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 42-47 mM의 나트륨 이온 농도, 훨씬 더 바람직하게는 44-46 mM의 나트륨 이온 농도, 가장 바람직하게는 45 mM의 나트륨 이온 농도를 제공하는 나트륨 화합물을 포함한다.
- [0032] 본 발명의 다른 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 0.3-0.6 mM의 칼슘 이온 농도, 훨씬 더 바람직하게는 0.4-0.5 mM의 칼슘 이온 농도, 가장 바람직하게는 0.5 mM의 칼슘 이온 농도를 제공하는 칼슘 화합물을 포함한다.
- [0033] 상기 측면에서, 나트륨 이온 농도와 칼슘 이온 농도 사이의 비는 57 내지 500, 예컨대 63 내지 117, 보다 바람

직하계는 70 내지 156, 보다 바람직하게는 85 내지 115, 가장 바람직하게는 88 내지 95이어야 한다.

[0034] 제2 측면에서, 본 발명은

[0035] 하기 화합물 I



[0036]

[0037] 제약상 허용되는 담체; 및

[0038] 거기에 용해된, 나트륨 이온 농도와 칼슘 이온 농도 사이의 비가 40 내지 45, 바람직하게는 43인 나트륨 화합물 및 칼슘 화합물

[0039] 을 포함하는 진단학적 조성물을 제공한다. 이는 락테이트 링거액 조성물의 전해질 농도를 반영하는 것이다.

[0040] 조성물의 나트륨 화합물 및 칼슘 화합물은 염의 형태로 제공될 수 있으며, 즉, 화합물은 생리적으로 허용되는 반대이온, 예를 들어 클로라이드, 술페이트, 포스페이트 및 히드로젠 카르보네이트의 군으로부터 선택된 이온을 포함한다. 바람직하게는, 나트륨 화합물은 염화나트륨이고, 칼슘 화합물은 염화칼슘이다.

[0041] 제약상 허용되는 담체는 수용액, 바람직하게는 순수(pure water)이다.

[0042] 나트륨은 심근 탈분극에 대해 필수적이며, 이는 내향 Na^+ 전류에 따라 좌우된다. 본 발명자들은 40-50 mM 나트륨 이온, 바람직하게는 45 mM NaCl을 화합물 I에 첨가함으로써 아이오딧사놀 + 19 mM Na^+ /L보다 정상 Na^+ 간질 농도에 더 근접할 수 있을 것이라고 믿는다. 이로써, 화합물 I은 더욱 생리적일 수 있고, 빠른 나트륨 채널의 활동 전위를 보다 잘 유지할 수 있어 나트륨이 너무 적거나 또는 나트륨이 전혀 없어서 초래되는 "느린 반응" 활동 전위를 상쇄시킬 수 있다.

[0043] 이전의 연구는 비-이온성 조영 매질에의 소량의 나트륨 (10-30 mmol/L)의 첨가가 상기 조영 매질로부터의 심실 세동 (VF)의 위험을 줄일 수 있음을 제시한다. 그러나, 연구들은 또한, 조영 매질에 보다 많은 양의 나트륨을 첨가하면 수축기 동맥압/좌심실 수축기압 (SAP/LVP)의 감소로 제시된 바와 같이, 수축성 저하(negative inotropy)가 증가될 수 있음을 보여준다. 정상적 세포의 및 세포내 나트륨-칼슘 (Na-Ca) 관계를 유지하기 위해, 비-이온성 조영 매질에 칼슘을 첨가하여 수축성 저하 효과를 감소시킨다. 이를 통한 주요 문제는, 수축성 저하의 증가를 막기 위해 얼마나 많은 칼슘이 첨가되어야 하는가이다. 비지파크 제제의 경우 320 mg I/mL의 아이오딧사놀에의 19 mM NaCl 및 0.3 mM CaCl_2 의 첨가가 생리 장애, 예컨대 관상 혈관조영술 동안 VF 및 수축성 저하 증가를 최소화하기 위해 최적의 것으로 여겨진다.

[0044] 본 발명의 연구에서, 45 mM NaCl을 함유하는 화합물 I에 대한 CaCl_2 의 이점을 확인하였다 (표 3). 0.1 mM CaCl_2 를 함유하는 제제 (F1)은 각각 0.3 mM CaCl_2 (F3) 또는 0.7 mM CaCl_2 (F5)를 갖는 제제보다 유의하게 낮은 SAP 및 LVP를 야기하였다. 0.3 mM CaCl_2 를 갖는 화합물 I의 제제는 0.7 mM CaCl_2 를 갖는 제제보다 SAP를 낮추었다. 이에 따라, 조영 매질에의 칼슘 이온의 첨가는 나트륨 첨가에 의해 유발되는 수축성 저하를 상쇄시킬 수 있다.

[0045] 그러나, 나트륨 이온과 칼슘 이온 사이의 임계 균형이 있다. 비-이온성 조영 매질에의 적절한 농도의 나트륨 및 칼슘의 첨가는 VF의 위험을 줄이고 수축력에 대한 역효과를 감소시킨다. 너무 많은 나트륨을 첨가하면, 심근 수축력이 감소된다. 상기 후자의 결과는 Ca-이온의 첨가에 의해 상쇄된다. 45 mM NaCl 및 0.7 mM CaCl_2 를 함유하는 화합물 I의 제제 (F5)는 어떠한 VF도 일으키지 않고 F1 및 F3 제제보다 수축성을 잘 유지하기 때문에, 가장 우수한 제제인 것으로 보인다. 그러나, 화합물 I의 F5 제제의 혈류역학적 효과는 비지파크의 것과 동등하므로, F3과 F5 사이의 칼슘 농도가 바람직하다. 따라서, 특히 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 45 mM NaCl 및 0.5 mM CaCl_2 를 포함한다.

[0046] 상기 화합물 I의 조성물의 정맥내 및 동맥내 안전성은 별도의 연구에서 확인되었다. 이 연구에서, 45 mM NaCl 및 0.5 mM CaCl_2 를 갖는 조성물 중의 화합물 I의 심혈관 효과를 예민한 돼지 모델에서 생체내 3 가지 용량 수준

에서 평가하였다. 요약하면, 조성물이 정맥내 및 동맥내 경로를 통해 투여되는 경우, 심근 성능에 대한 전반적인 변화는 없었다. 연구는 실시예 3에 더욱 자세하게 기재하였다.

[0047] 일반적으로, 아이오딘화 조영 매질은 노출 1시간 내지 수일 후 민감한 환자에서 만기 과민 반응을 유발할 수 있다. 이러한 반응은 주로 심각하지 않은 피부 발진, 예컨대 반점, 반점구진 및 두드러기성 발진이다. 조영 매질로 인한 지연된 이상 반응 (DAR), 예컨대 피부 발진은 조영 매질을 인지하자마자 피부에서 염증 반응을 확산시키고 후속적으로 이를 조직화하는(orchestrate) 조영 매질-반응성 T 세포에 의해 유발되는 것처럼 보인다. 본 출원인은 조영 매질, 예컨대 화합물 I을 혈관내 투여한 후 환자에서 만기 피부 반응이 일어나는 상대적 빈도수를 예측하기 위해 고안된 시험관내 T 세포 증식 모델을 평가하였다. 지연된 피부 반응의 공지된 속도를 갖는 2 가지 조영 매질인 아이오디사놀 및 아이오헥솔, 및 신규 조영 매질인 화합물 I을 세계 인구 HLA-DR 빈도수를 나타내는 100개의 공여체로부터의 CD25⁺-고갈된 말초 혈액 단핵 세포에서 시험관내 T 세포 증식에 대해 스크리닝하였다 (2 및 5 mg I/mL). 양성 T 세포 반응은 공개된 프로토콜 및 자극 지수 값 (양성 반응 ≥ 1.9)에 따라 평가하였다. 시험관내 독성은 시험 조영 매질 (5 mg I/mL)과 함께 인큐베이션된 처음 10개의 공여체 샘플의 세포 생존력을 측정하여 시험하였다. 결과는 모든 주요 HLA-DR 동종이형이 전세계 인구와 동등한 빈도로 나타났다. 시험된 조영 매질은 세포 생존력에 대해 중요한 영향을 미치지 않음을 알 수 있다. 화합물 I은 상기 두 농도에서 아이오디사놀 및 아이오헥솔에 비해 적은 양성 T 세포 증식 공여체 샘플을 가졌다. 아이오디사놀 및 아이오헥솔의 경우, 대부분의 공여체에 대한 T 세포 증식 반응은 7일째 및 8일째에서 일어났고, 통계적 유의성은 8일째에 화합물 I에 대해 감소된 증식 반응을 뒷받침한다. 결론적으로, 모델은 상대적 빈도수를 시험관내 T 세포 활성화율 야기하는 조영 매질로 성공적으로 확립되었다. 결과로부터, 만기 피부 반응의 보고된 빈도수와 2 가지 시판용 조영 매질이 상관관계가 있으며, 화합물 I에 대해 더 낮은 빈도수를 확인하였다.

[0048] 상기 결과에 따라, 화합물 I은 아이오디사놀 및 아이오헥솔과 비교하여, 시험관내 T 세포 증식을 가장 낮게 자극할 수 있다. DAR과 이량체성 조영 매질과의 연관성이 더 흔하다는 것을 고려해 볼 때, 아이오디사놀과 밀접하게 관련된 비-이온성 이량체가 아이오디사놀과 동일한 정도로 또는 실제로는 단량체 아이오헥솔과 동일한 정도로 시험관내에서 T-세포 증식을 자극하지 않는다는 발견은 매우 흥미로운 것이다. 현재 T-세포 증식은 DAR의 기본이 되는 것으로 알려져 있기 때문에, 본 발명의 데이터는 이량체 구조 그 자체가 그것만으로는 더 빈번하게 T 세포 증식을 일으킬 수 없음을 시사한다. 화합물 I과 아이오디사놀 간의 주요 구조적 차이는 아이오디사놀에서의 2개의 아세틸기가 화합물 I에서 2개의 포르밀기로 대체된 것이다. 이러한 변형은 분자의 링커 구조, 입체 형태 및 물리화학적 거동, 및 놀랍게도, 아이오디사놀 및 아이오헥솔보다 낮은 시험관내 T 세포 증식 자극 능력으로서의 화합물 I에 영향을 미친다. 이에 따라, 본 발명의 제1 측면에 따른 진단학적 조성물은 시판되는 조영 매질, 예컨대 유니파크™ (아이오헥솔) 및 비지파크™ (아이오디사놀)보다 적은 만기 과민 반응을 유발할 것으로 기대된다.

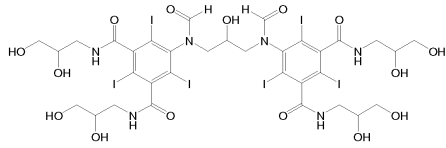
[0049] 화합물 I은 WO 2009/008734에 개략된 바와 같이 제조할 수 있다. 일반적 절차는 WO 2009/008734의 16-20 페이지에 개략되어 있고, 특정 제조 방법은 실시예 1에 제시되어 있다. WO 2009/008734 출원서 및 제조 방법에 대한 기재는 본원에 참고로 도입되어 있다.

[0050] 화합물 I은 키랄 탄소 원자로 인해 몇몇 이성질체 형태로 존재할 수 있다. 또한, 화합물은 근접한 벌크 아이오딘 원자에 의해 야기되는 포르밀 관능기의 N-CO 결합의 제한된 회전으로 인해 엑소/엔도 이성질현상을 나타낸다. 거울상 이성질체적으로 순수한 생성물, 및 광학 이성질체의 혼합물 모두 본 발명에 포함된다.

[0051] 본 발명의 진단학적 조성물은 즉시 사용가능한(ready to use) 농축된 형태이다. 일반적으로, 즉시 사용가능한 형태의 조성물은 100 mg I/ml 이상, 바람직하게는 150 mg I/ml 이상의 아이오딘 농도를 가질 것이고, 300 mg I/ml 이상의 농도, 예를 들어 320 mg I/ml가 바람직하다. 진단학적 조성물은 바람직하게는, 제약상 허용되는 담체 또는 부형제를 추가로 포함한다. 이의 예로는 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA) 및 트리스(히드록시메틸)아미노 메탄 (TRIS)이 있다.

[0052] 본 발명의 진단학적 조성물은 바람직하게는 X-선 진단 또는 X-선 영상화에서 X-선 조영 매질로서 사용하기 위한 것이다. 조성물은 볼루스 주사로 또는 주입에 의해 투여될 수 있다. 추가로, 조성물은 혈관내, 정맥내 또는 동맥내 투여에 의해 투여될 수 있다. 별법으로, 조성물은 또한 경구로 투여될 수 있다.

[0053] 제3 측면에서, 본 발명은 제약상 허용되는 담체; 및 거기에 용해된, 40-50 mM의 나트륨 이온 농도 및 0.1-0.7 mM의 칼슘 이온 농도를 제공하는 나트륨 화합물 및 칼슘 화합물을 포함하는, X-선 진단에서 사용하기 위한 진단학적 조성물의 제조를 위한, 하기 화합물 I의 용도를 제공한다.



화합물 I

[0054]

[0055]

다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 진단학적 조성물을 인간 또는 동물 신체에 투여하고, 상기 신체를 진단 장치를 사용하여 검사하고, 상기 검사로부터의 데이터를 수집하는 것을 포함하는, 진단 방법을 제공한다. 진단 방법에서, 신체는 또한 진단학적 조성물로 예비투여될 수 있다.

[0056]

다른 측면에서, 본 발명은

[0057]

i) 검출가능한 양의 본 발명의 진단학적 조성물을 투여하는 단계;

[0058]

ii) 투여된 조성물이 분포되도록 하는 단계;

[0059]

iii) 분포된 조성물의 화합물 I에 의해 방출되는 신호를 검출하는 단계; 및

[0060]

iv) 상기 신호의 위치 및/또는 양의 대표적 영상을 생성하는 단계

[0061]

를 포함하는, 생체내 영상의 검출 방법을 제공한다.

[0062]

영상화 방법은 X-선 영상화 방법이고, 이러한 측면의 바람직한 실시양태에서, 검출 방법은 관상동맥 조영술 방법이며, 보다 바람직하게는, 진단학적 조성물은 관상 동맥에 볼루스 주사로서 투여된다.

[0063]

이외의 다른 측면에서, 본 발명은 X-선 영상화 또는 진단에서, 예컨대 관상동맥 조영술에서 사용하기 위한 본 발명의 조성물을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0064]

도 1은 [¹²³I] 표지된 화합물 I을 투여한지 48시간 후 수컷 및 암컷 위스타(Wistar) 래트에서의 방사성의 분포 비교를 도시한다.

도 2는 만니톨, 만니톨 + 나트륨 및 칼슘의 첨가, 아이오디사놀 + 만니톨, 비지파크™ 및 링거액의 주입에 의해 야기되는 심실세동의 빈도를 도시한다. 데이터는 차이 등의 문헌으로부터 획득하였다.

도 3은 비지파크의 주입과 비교하여, 상이한 농도의 염화칼슘을 포함하는 화합물 I의 조성물의 주입에 의해 야기되는 심실세동의 빈도를 도시한다. 주입 용적은 62.5초에 걸쳐 25 ml였고, 용액은 LAD 내에 선택적으로 주입되었다.

도 4는 20°C 및 37°C에서 화합물 I의 점도 vs. 농도를 도시한다.

도 5는 락테이트 링거액 (LR) 주입에 대해 정규화된, 정상 피그의 LAD에 주입한지 45초 내지 70초 후 LVSP에 대한 화합물 I (Ca의 첨가 및 첨가 없이) 및 비지파크의 효과를 도시한다.

도 6은 정상 피그의 LAD에 락테이트 링거액, 화합물 I, 비지파크 또는 아이오파미돌을 40 ml (5 ml/초) 주입한 후 심혈관 지표에 대한 영향을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0065]

실시예:

[0066]

실시예 1. 화합물 I에 대한 생리화학적 특성, 급성 독성 및 생체분포 데이터.

[0067]

단백질 결합

[0068]

인간 혈청 알부민 (HSA)에의 화합물 I의 결합을 평형 투석 방법을 사용하여 측정하였다. 화합물 I의 원액 (인산염 완충 염수 (PBS) 중 5.0 mg/ml)을 1:9 비의 시트레이트:인간 혈장과 혼합하였다. 평형화를 다이아켄 (Diachem) 10.17 MW 컷오프(cutoff) 10000 멤브레인을 사용하여 수성 인산염 완충 염수에 대해 다이아켄 다이아노름(Diachem Dianorm) 투석기로 25시간 동안 수행하였다. 용액의 분석은 ICP-AES 기기를 사용하여 수행하였다. 또한, 스파이크(spiked) PBS 용액을 시트레이트화된 인간 혈장 용액에 대해서도 평형화시켜 평형 상태가 되도록 하였다. 인간 혈청 알부민에의 화합물 I의 결합은 3.1 ± 1.3%로 매우 낮은 것으로 측정되었으

며, 이로써 물질과 내인성 단백질과의 상호작용은 무시해도 될 수준이라는 것이 확인되었다. 참고로, HSA에의 아이오딧사놀의 결합은 $0.4 \pm 0.9\%$ 로 측정되었다.

[0069] 분배 계수

[0070] 화합물 I의 친수성의 척도로서, 옥탄올과 물 사이의 분배 계수를 측정하였다. 시험 물질 (0.3 mg/ml)을 함유하는 물 (5 ml)을 평형상태가 될 때까지 n-옥탄올 15 ml와 함께 진탕시켰다. 수성 상을 원심분리에 의해 분리하고, 244 nm에서의 UV 검출 및 0.3 ml/분의 유속을 사용한 HPLC (디스커버리(Discovery) C18 컬럼 (100 x 2.1 mm)이 장착된 HP1100)로 분석하였다. 물 중 8% 아세토니트릴 (v/v)의 등용매 HPLC 조건을 사용하였다. 옥탄올 상 (12.5 ml)을 물 (0.75 ml)을 사용하여 평형상태가 될 때까지 추출하고, 상을 원심분리에 의해 분리하였다. 수성 상을 상기 상세하게 기재된 조건을 사용하여 HPLC로 분석하였다. 옥탄올 및 물 둘 다를 분배 계수 실험 전에 각각 물 및 옥탄올로 예비-포화시켰다. 옥탄올과 물 사이의 분배를 통해 측정된 화합물 I의 친수성을 보면, logP가 -4.28로 화합물 I이 매우 친수적임을 알 수 있다. 비교로서, 아이오딧사놀의 상응하는 logP는 -4.02로 측정되었다. 보고된 문헌값은 -4.05였다. 아이오딧사놀과 비교하여 화합물 I의 증가된 친수성은 그의 HPLC 거동에 의해 확인되었다.

[0071] 점도

[0072] 화합물 I의 점도는 2개의 상이한 온도 20°C 및 37°C, 및 3개의 상이한 농도 246 mgI/ml, 295 mgI/ml 및 313 mgI/ml에서 측정하였다. 시험 용액은 NaCl로의 삼투질농도의 조정을 통해 등장성이었고, 가압멸균처리에 의해 멸균되었다. 용액의 밀도는 밀도계 DMA58 (안톤 파르(Anton Paar))을 사용하여 측정하였다. 보정된 유-튜브 (U-tube) 기술을 사용하였고, 낙하 시간이 동적 점도의 척도로서 사용되었다. 화합물 I의 점도는 3개의 상이한 농도에서, 20°C 및 37°C에서 측정하였다. 결과를 도 4에 나타냈다. 비지파크와 비교시, 320 mgI/ml 및 20°C에서의 점도가 대략 24 mPas로 유사하였다.

[0073] 삼투질농도

[0074] 화합물 I의 삼투질농도는 4개의 상이한 농도 204 mgI/ml, 254 mgI/ml, 310 mgI/ml 및 324 mgI/ml에서 측정하였다. 바프로 인크.(Vapro Inc.)로부터의 바프로 5520 증기압 삼투압계를 사용하였다. 화합물 I의 삼투질농도는 선형에 가까운 농도와의 관계를 보여준다. 320 mgI/ml에서의 화합물 I의 삼투질농도는 320 mgI/ml에서의 아이오딧사놀의 삼투질농도보다 낮았다 (136 mOsm/kg vs 210 mOsm/kg).

[0075] 급성 독성

[0076] 체중이 200 ± 20 g인 청년 수컷 Sca:SD 래트 (스웨덴 소재의 스칸부르(Scanbur))에 화합물 I (340 mgI/mL, 286 mosmol/kg), 아이오딧사놀 (321 mgI/mL, 284 mosmol/kg), 삼투 대조군 만니톨 (283 mosmol/kg) 또는 염수 (290 mosmol/kg) 중 하나를 1.2 ml/분의 속도로 정맥내 주입하였으며, 4시간 간격으로 2회분으로 나누어 투여하였다. 중간에 죽은 동물에 대해 (처치후 2일째), 화합물 I 및 아이오딧사놀을 각각 23.7, 29.7 및 38.0 ml/kg 과 25, 31.3 및 40 ml/kg의 총 투여 용적에 상응하는 8, 10 및 12.8 gI/kg의 용량으로 투여한 반면, 만니톨 및 염수의 경우, 투여량은 40 ml/kg였다. 7일째 말기에 죽은 동물에 대해, 4 개의 투여군이 존재하였다: 화합물 I 및 아이오딧사놀 (12.8 gI/kg), 및 염수 및 만니톨 (40 mL/kg). 모든 경우, 각각의 그룹은 8 마리의 동물로 구성되었다.

[0077] 하기 평가를 연구 도중에 행하였다; 0일째, 2일째 및 7일째에 혈액학 및 임상 화학에 대한 임상 징후, 체중 및 혈액, 및 2일째 또는 7일째에 과도한 정맥내 티오펜탈 주입에 의해 살해된 동물로부터의 육안 관찰, 기관 무게 및 조직의 조직형태학적 검사. 투여한 날을 0일째로 정하였다. 임상 생화학 파라미터 (Na, K, Cl, PO₄, Ca, AST, ALT, ALP, 콜레스테롤, 크레아티닌, CK, GGT, TG (트리글리세리드), 총 빌리루빈, 총 단백질, 우레아, 알부민, LDH 및 GLDH)를 37°C에서 베크만 싱크론(Beckman Synchron) CX5 상에서 측정하였다. 혈액학 파라미터 (WBC, 감별 WBC, RBC, WBC/RBC 비, Hgb, PLT, HCT, MCH, MCHC, MCV, MPV 및 RDW)를 애보트 셀-다인(Abbott Cell-Dyn) 3500 CS 자동화된 혈액학 분석기를 사용하여 분석하였다. 염수 대조군, 및 12.8 gI/kg의 화합물 I 및 아이오딧사놀 군으로부터의 신장을 10% 완충된 중성 포르말린에 침지시켜 고정시키고, 파라핀 왁스로 가공 처리하고, 5 μm의 공칭 두께로 절단하고, 헤마톡실린 및 에오신으로 염색하고, 광학 현미경으로 검사하였다.

[0078] 2일째 및 7일째에서 아이오딧사놀 및 화합물 I 군과의 비교를 위해, 2일째 및 7일째에서 염수 군을 사용하여 데이터를 모수적(parametric) 1-원 ANOVA에 의해 분석한 다음, 던넛(Dunnett)의 사후 시험에 의해 분석하였다. 통계학적 분석은 -1일째 (기저선), 2일째 및 7일째에 행하였다.

[0079]

생체분포

[0080]

각각의 시점 (2분, 20분, 1시간, 2시간, 4시간, 24시간, 48시간)에 대해, 각 성별의 3 마리의 동물을 이소플루란으로 마취시켰다. 각 연구 동물에 대략 20초 안에 2회 주입하였다. 먼저 주입되는 것은 특정 꼬리 정맥 (좌 또는 우)을 통해 대략 1.6 gI/kg의 총 화학적 용량을 제공하기 위해 투여되는 대략 320 mgI/ml의 화합물 I의 제제 (비-방사성)였다. 가능한 한 나중에 (대략 20초 내에), 방사성 [¹²³I] 화합물 I 시험 항목 (대략 1 내지 대략 8 MBq, 최대 350 ug)을 반대쪽 꼬리 정맥에 정맥내 볼루스로서 주사하였다. 이 접근법은 화합물 I의 총 화학적 용량을 유의하게 변경시키지 않으면서 투여되는 방사성의 양이 절개 시점 (연구 1일, 2일 또는 3일째)에 따라 조절되도록 한다. 이어서, 동물을 노 및 분변의 수집을 위해 표지된 화합물 I의 주입후 적절한 시간까지 대사 케이지 안에 두었다. 이 때, 동물을 다시 이소플루란으로 마취시키고, 목뼈를 탈구시켜 희생시켰다. 선별된 기관 및 조직 (혈액, 신장, 방광 및 뇨, 폐, 간, 위, 소장 및 대장, 심장, 고환, 난소, 자궁 및 분변)을 주입 부위로서 분석되는 꼬리와 함께 제거하였다. 이어서, 선별된 기관, 조직 및 배설물에서의 방사성 양을 자동 쌍결정 감마 계수기 및 분석 시스템을 사용하여 분석하였다.

[0081]

급성 독성 결과:

[0082]

염수 또는 만니톨로 처치된 래트에서 반대의 임상 징후는 나타나지 않은 반면, 화합물 I 및 아이오디사놀로 처치된 래트에서는, 경도 내지 중등도의 우울증 및 부조화 운동 및 쇠약/무기력뿐만 아니라 사지 부종 및 흥반이 나타났다. 상기 부작용은 제1 투여 10-20분 후부터 시작되었고, 2-3시간 지속되었으나, 명백한 용량-반응은 없었다. 혈액학 및 임상 화학 데이터의 분석 결과, 어떠한 그룹에서도 독성학적으로 유의한 부작용은 나타나지 않았다.

[0083]

신장에서, 주요 처치-관련 소견은 근위세관의 세포질 공포형성이었고, 사구체에서는 단백질성 물질을 함유하는 바우만(Bowman) 공간의 팽창이었다. 2일째에, 공포형성의 경중도는 화합물 I에 비해 주어진 아이오디사놀에서 더 컸다. 7일째까지, 공포형성의 경중도는, 바우만 공간 팽창이 있고 단백질성 물질이 존재하는 모든 그룹에서 2일째에 비해 다소 적었다.

표 1

신장에서의 주요 조직형태학적 소견의 요약

그룹	래트 수	부검 일	시험 항목	용량 (gI/kg)	근위세관 공포형성		사구체: 바우만 공간 팽창		사구체: 바우만 공간 단백질성 물질	
					좌	우	좌	우	좌	우
1	8	2	염수	-	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
5	8	2	화합물 I	12,8	3,3,3,3	3,4,3,3	P,P,0,P	0,0,0,0	P,P,0,P	0,0,0,0
			아이오디사놀	12,8	4,4,4,4	4,4,4,4	P,P,0,0	P,P,P,P	P,P,0,0	P,P,P,P
8	8	2	아이오디사놀	12,8	4,4,4,4	4,4,4,4	P,0,P,P	P,P,P,P	P,0,P,P	P,P,P,P
9	8	7	염수	-	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
			화합물 I	12,8	3,3,2,2	3,3,2,2	0,0,P,P	0,P,0,0	0,0,P,P	0,P,0,0
10	8	7	염수	-	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
			아이오디사놀	12,8	2,2,3,3	3,2,3,3	0,0,P,0	0,0,0,P	0,0,P,0	0,0,P,0
11	8	7	염수	-	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0
			아이오디사놀	12,8	3,3,2,2	3,3,2,2	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0	0,0,0,0

소견에 대한 기호설명: 0 = 나타나지 않음; P = 나타남; 1 = 미미함; 2 = 경도; 3 = 중등도; 4 = 중중도; 5 = 고도.

[0084]

[0085]

생체분포 결과:

[0086]

정맥내 투여 후, [¹²³I] 표지된 화합물 I은 주입 2시간 후 방광 및 뇨에 제공된 주입 용량 (id)의 80% 초과가 빠르게 배설되었다. 혈액 수준은 주입 2분 후 21% id에서부터 주입 2시간 후에 0.6% id까지 감소하였다. 적지만 유의한 양이 분변 경로를 통해 배설되었고, 이는 주입 48시간 후에 수컷 동물 (분변에서 8.2% id)에 비해 암컷 동물 (분변에서 14.3% id)에서 약간 더 높은 것처럼 보였으나, 상기 차이는 통계학적으로 유의하지 않았다. 표지된 화합물 I을 주입한지 48시간 후 체내에 2% 미만의 id가 체류하며, 신장에서는 대략 0.5%, 간에서는 0.1%가 체류하고, 나머지 시체에서는 1% 미만이 잔류하였으며 (도 1), 이들 모두 24시간 시점으로부터 더욱 감소하였다. 이는 초기의 빠른 배설 단계 후 신체 내 체류된 화합물 I이 지속적으로 천천히 배설된다는 사실을 반영한다. 생식 기관에서는 방사성의 체류가 없었다. 종합적으로, 표지된 화합물 I의 생체분포 프로파일

은 다른 이량체성 아이오딘화 조영제와 유사하였다.

[0087] 실시예 2. 비교 연구

[0088] 2a) 피그 LAD 폐색 모델에서 화합물 I의 진단학적 조성물과 비지파크™의 심장독성의 비교

[0089] 19 mM NaCl 및 0.3 mM CaCl₂를 함유하는 아이오디사놀 제제가 아이오디사놀 단독보다 낮은 빈도의 심실세동을 나타냄을 보여주는 차이 등에 의한 연구를 참조하였다 (문헌 [Acad. Radiol. 2004, 11, 583-593]). 연구는 이전에 폐색된 적이 있는 좌관상 동맥 (LCA)에 매질을 직접 주입한 피그에서 수행되었다. 도 2로부터, 19 mM NaCl 및 0.3 mM CaCl₂를 함유하는 아이오디사놀 제제가 아이오디사놀 단독보다 낮은 빈도의 심실세동을 나타낸다는 것이 명백하였다 (P<0.01). 이 경우, 비지파크™의 주입에 대해 심실세동의 발생은 관찰되지 않았다. 이 실험에서 제시된 투여량은 2.0 ml/분의 주입 속도로 20 ml였다.

[0090] 차이 등에 의한 연구에서, 20 ml의 아이오디사놀 (비지파크로서 제제화됨)의 심장내 주입은 40초의 주입 시간에 걸쳐 수행되었고 VF는 발생하지 않았기 때문에, 본 발명자들은 비교 목적상 주입 용적을 62.5초의 시간에 걸쳐 25 ml로 증가시켜 VF의 사례를 증가시킨 연구를 수행하였다. 또한, 모델의 감수성을 더욱 증가시키기 위해, 시험 및 기준 용액을 좌전하 관상 동맥 (LAD)에 선택적으로 주입하였다. 시험 용액의 물리적 및 화학적 특성을 표 2에 제시하였고, 결과는 도 3에 나타났다.

표 2

시험 용액의 물리적 및 화학적 특성

시험 작용제	아이오딘	전해질	
	농도 (mg I/mL)	Na	Ca
F1: 화합물 I + NaCl + CaCl ₂	320	45	0.1
F3: 화합물 I + NaCl + CaCl ₂	320	45	0.3
F5: 화합물 I + NaCl + CaCl ₂	320	45	0.7
아이오디사놀 + NaCl + CaCl ₂ (비지파크)	320	19	0.3

[0091]

[0092] 상기 높은 주입 용적에서, 비지파크™도 100%의 상당한 심실세동 빈도를 나타냈다 (도 3).

[0093] 그러나, 놀랍게도, 신규 X-선 조영제인 화합물 I은, 45 mM NaCl 및 0.1-0.7 mM CaCl₂와 함께 제제화되는 경우, 심실세동이 발생하지 않았다 (상세사항에 대해서는 도 3 및 표 3 참조).

[0094] 2 가지 상이한 연구로부터의 결과를 비교하였을 때, 비지파크™의 경우 0%에서부터 100%까지 심실세동의 빈도 증가가 관찰되었다. 그러나, 고용량에서도, 이량체성 X-선 조영제인 진단학적 조성물의 화합물 I은 심실세동을 나타내지 않았다. 주요 차이점은, 화합물 I이 비지파크의 NaCl (19 mM)보다 유의하게 높은 45 mM NaCl과 함께 제제화된 것이다. VF에 대해 0.1 내지 0.7 mM의 칼슘 이온 농도로의 유의한 효과가 VF에서는 발견되지 않았지만, 칼슘이 더 적게 존재하는 경우에 SAP 및 LVP에서 유의한 감소가 있었다 (표 3).

표 3

주입 개시 50초 후에 혈류역학적 변화 (주입전 값의 %)

	F1	F3	F5	비지파크
SAP	-18% ± 11	-9% ± 7.2*	-4% ± 6.1†‡	-5% ± 4.5†§
LVP	-16% ± 10	-7% ± 8*	-3 ± 7†	-4% ± 5†
dP/dt max	+10% ± 27	+31% ± 38	+34% ± 29	+21% ± 10.8
HR	-1% ± 1.0	0% ± 0.8	-2% ± 3.0	0% ± 3.5

SAP: 수축기 동맥압 (mm Hg)

LVP: 좌심실 수축기압 (mm Hg)

dP/dt max: LV 압력 생성의 최대 속도 (mm Hg/초)

HR: 심박수 (박동/분)

* F1에 대해 P<0.05.

† F1에 대해 P<0.01.

‡ F3에 대해 P<0.05.

§ F3에 대해 P<0.01.

[0095]

[0096]

이들 데이터는 심실세동의 빈도에 영향을 미치는 주요인이 염화나트륨의 농도이고, 칼슘은 수축기 동맥압 및 좌심실 수축기압에 대해 유의한 영향을 미친다는 것을 나타낸다.

[0097]

2b) CaCl₂가 첨가된 및 첨가되지 않은 조성물에서의 화합물 I과 비지파크 및 아이오파미들의 비교

[0098]

풍선 폐색술을 받지 않은 정상 피그의 LAD에의 선택적 투여 후 CaCl₂가 첨가된 및 첨가되지 않은 화합물 I의 조성물의 혈류역학적 효과를 비지파크 및 아이오파미들과 비교하였다. 각 조영 매질의 효과는 용적 및 전해질 - "비례" 대조군으로서 작용하는 동등량의 락테이트 링거액의 주입으로 확인된 임의의 효과에 대해 정규화되었다. 이 연구에서 총 12 마리의 피그가 사용되었고, 각각의 피그에 단일 CM을 10 ml (4 ml/초), 20 ml (1 ml/초) 및 25 ml (0.4 ml/초)의 용적으로 3회 주입하여 제공하였다 (각 피그에서 총 9회 CM 주입). 각각의 CM은 대조군인 락테이트 링거액의 주입 이전에 또는 이후에 주입되었고, 각각의 주입 순서 (용적)은 각 피그에서 불규칙적이었다. 표 4는 사용되는 나트륨 및 칼슘 전해질의 양 및 비를 제공한다.

표 4

전해질	비지파크 (mM)	화합물 I (mM)	화합물 I +CaCl ₂ (mM)	락테이트 링거액 (mM 또는 (비))	인간 간질액 (mM 또는 (비))
Na	19	45	45	130	140 (135-145)
Ca	0.3	-	0.5	3	1.2 (1.2-1.3)
Na / Ca	63	-	90	43	117

[0099]

[0100]

25 ml의 주입 용적에서, CaCl₂가 첨가되지 않은 조성물의 화합물 I은 주입한지 45초 내지 70초 후에 LVSP를 감소시키는 반면 (-5.7 mm Hg의 평균치, 락테이트 링거액에 대해 정규화됨), CaCl₂가 첨가된 조성물의 화합물 I 및 비지파크는 이러한 효과가 거의 없거나 전혀 없었다 (각각 -0.3 및 +0.1 mm Hg, 락테이트 링거액에 대해 정규화됨) (도 5). CaCl₂가 첨가되지 않은 화합물 I의 조성물에 대해 관찰된 LVSP의 감소는, 비지파크와 크게 다르지 않은 CaCl₂가 첨가된 경우와 매우 상이하다. 또한, 25 ml의 주입 개시 후 대략 27초 내지 50초 사이에서 VF가 각각의 경우에서 관찰되었기 때문에, 아이오파미들 주입에 상응하는 반응은 분석할 수 없었다. 이러한 결과는 화합물 I의 조성물 중의 0.5 mM CaCl₂의 존재는 유익하고, 비지파크와 유사한 방식으로 LVSP에 대해 임의

의 부정적 효과를 제한함을 시사한다. 또한, 화합물 I의 진단학적 조성물 및 비지파크에 존재하는 추가의 전해질은 전해질이 첨가되지 않은 아이오파미돌과 비교하여 VF를 유발하는 경향을 보다 낮출 수 있다.

[0101] **2c) 주입 속도가 빠른 정상 피그에서 화합물 I의 조성물과 비지파크, 아이오파미돌 및 락테이트 링거액의 비교**

[0102] 추가 연구에서, 빠른 주입 속도 (5 ml/초)로 정상 피그의 LAD에 선택적으로 투여한 후 45 mM NaCl 및 0.5 mM CaCl₂를 갖는 조성물 중의 화합물 I의 혈류역학적 효과를 비지파크 및 아이오파미돌과 비교하였다. 락테이트 링거액은 또한 용적 및 전해질의 "비례" 대조군으로서 연구되었다. 총 3 마리의 피그에서 연구하였고, 각각의 CM을 불규칙한 순서로 각각의 피그에 2회 투여하였다. 사용되는 주입 속도는 5 ml/초였고, 총 주입 용적은 40 ml였다. 표 5는 사용되는 나트륨 및 칼슘 전해질의 양 및 비를 제공한다.

표 5

전해질	비지파크 (mM)	화합물 I (mM)	락테이트 링거액 (mM 또는 (비))	인간 간질액 (mM 또는 (비))
Na	19	45	130	140 (135-145)
Ca	0.3	0.5	3	1.2 (1.2-1.3)
Na / Ca	63	90	43	117

[0103]

[0104] 화합물 I 및 비지파크 주입은, 락테이트 링거액 투여와 매우 상이한 기저선으로부터의 LVSP 또는 dP/dt의 변화를 야기하지 않은 반면, 아이오파미돌은 LVSP 및 dP/dt 값을 각각 유의하게 감소 및 증가시켰다 (도 6). 아이오파미돌의 투여 후에 LVSP는 9% ± 6 만큼 감소하였고, dP/dt는 69% ± 16 만큼 증가하였다. 이는 LVSP가 약간 증가하고 (대략 5%) dP/dt가 보통 정도로 증가한 (대략 최대 30%) 결과를 보인 락테이트 링거액, 화합물 I 및 비지파크 주입과는 대조적이다. 이러한 결과는 정상 피그의 LAD에의 빠른 주입 후, 45 mM NaCl 및 0.5 mM CaCl₂를 갖는 조성물의 화합물 I가 비지파크 또는 생리학적인 링거액과 유사한 혈류역학적 파라미터에 대해 최소의 영향을 미친다는 사실을 제시한다. 이에 따라 락테이트 링거액 및 간질액의 평형 조성과 더 유사한, 연구되는 화합물 I의 제제 및 비지파크 제제 내의 전해질의 존재가 첨가된 전해질이 없는 아이오파미돌 주입에 따른 경우와 비교하여 심장 기능을 탁월하게 유지시킬 수 있는 것으로 여겨진다.

[0105] **실시예 3. 화합물 I의 진단학적 조성물의 정맥내 및 동맥내 안전성**

[0106] 화합물 I의 조성물의 정맥내 (i.v.) 및 동맥내 (i.a.) 안전성은 별도의 연구에서 확인되었다 (ref. B145095). 이 연구에서, 45 mM NaCl 및 0.5 mM CaCl₂를 갖는 조성물 중의 화합물 I의 심혈관 효과를 예민한 돼지 모델에서 생체내 3 가지 용량 수준에서 평가하였다.

[0107] 방법: 조성물을 3 마리 동물의 그룹에서 3 가지 용량 수준 중 하나로 (2 ml/kg의 표준 용적의 1배, 2배 또는 3 배) 동맥내 또는 정맥내 투여하였다. 각각의 동물에 또한 용적 대조군으로서 동등량의 락테이트 링거액을 제공하였다. CV 효과: 심박수 (HR), 맥박산소측정, 심전도 (ECG), 대동맥압 (수축기, 이완기 및 평균), 좌심실 이완기말압 (LVEDP)을 평가하였다. 일회박출량, 박출 분율 및 심장 수축성을 평가하기 위한 초음파 / 심장초음파 검사가 또한 수행되었다.

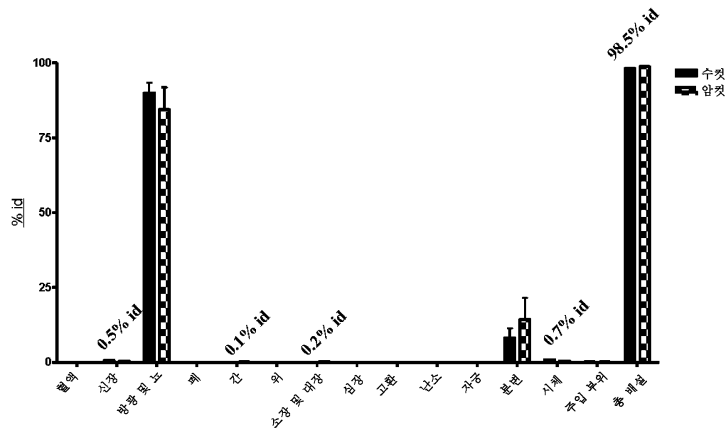
[0108] 결과: 사전 데이터 평가 요약서는 돼지 심장에서 HR, 맥박산소측정 및 ECG에 대해 중요한 용량 또는 경로-관련된 화합물 I의 효과가 없었음을 제시한다. 맥박산소측정 분석에 따르면, 투여 전반에 걸쳐 산소 포화도는 대략 98%로 유지되었다. HR 또한 정상 범위 내에 있다. 화합물 I-관련된 리듬 장애는 없었으며, QT 간격은 화합물 I의 i.a. 또는 i.v. 투여와 무관하게 정상 범위 내에 있다. 유사하게, 전체 투여량 범위에 걸쳐 대동맥압 (수축기, 이완기 및 평균)에 대한 화합물 I의 효과는 거의 또는 전혀 없는 것으로 관찰되었다. 대동맥압의 변화는 화합물 I이 i.v. 경로에 의해 투여되든지 i.a. 경로에 의해 투여되든지 유사하게 나타났다. 화합물 I의 투여량의 증가에 따라 LVEDP가 약간 증가하였고, 효과는 화합물 I이 i.v. 경로에 의해 투여되든지 i.a. 경로에 의해 투여되든지 유사하였다. 또한, LVEDP의 증가율은 락테이트 링거액의 용적을 증가시켜 투여한 후 발견되는 것과 유사한 규모였다. 심장초음파검사에 의한 일회박출량, 박출 분율 및 심장 수축성의 분석은 이완기말용적 (EDV)에서 단지 약간의 변화만을 보였으며, 이로써 임의의 효과는 용적-관련되고, 화합물 I의 투여에 대해 비-특이적임이 확인되었다.

[0109] 따라서, 화합물 I이 i.a. 또는 i.v. 경로를 통해 투여되는 경우, 심근 성능에 대한 전반적인 변화는 없었다.

CV 기능 파라미터의 작은 변화는 투여되는 용적으로 인한 것이며, 유사한 효과가 락테이트 링거액으로의 주입에 대해서도 나타나기 때문에, 시험 항목인 화합물 I의 결과가 아니다. 모든 심근 파라미터는 2 ml/kg의 표준 용량의 3배 이하 용적의 화합물 I의 정맥내 또는 동맥내 투여 후 정상 범위 내에 있었다.

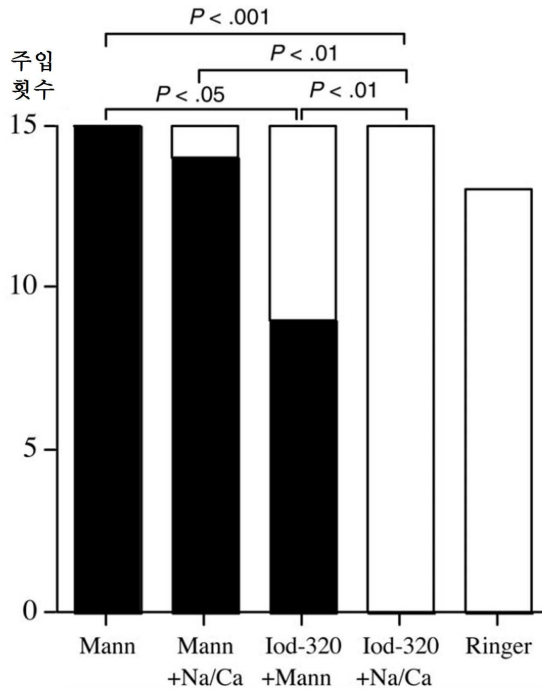
도면

도면1



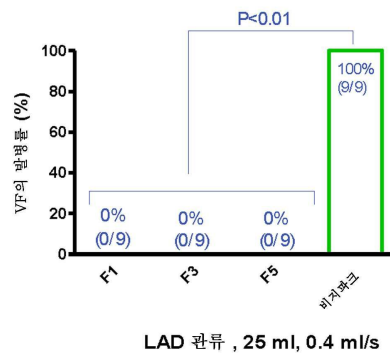
[¹²³I] 표지된 화합물 I을 투여한지 48시간 후 수컷 및 암컷 위스타 레트에서의 방사성의 분포 비교. 총 배설 = 방광 및 뇨 + 분변에서의 방사성의 합계.

도면2



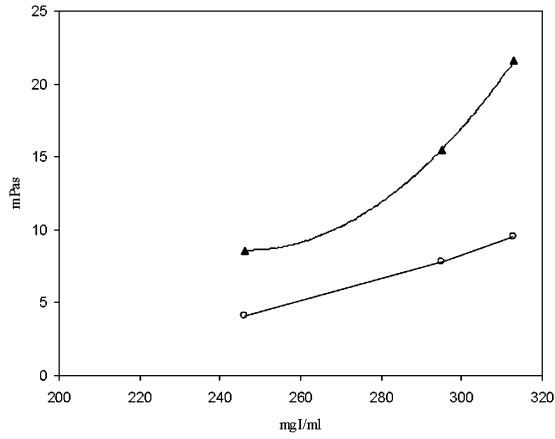
만니톨 (Mann; 275 mM), 만니톨 + 나트륨 및 칼슘의 첨가 (Mann+ Na/Ca; 240 mM 만니톨, 19 mM NaCl 및 0.3 mM CaCl₂), 아이오덕사놀 + 만니톨 (Iod-320 + Mann; 320 mgI/ml 아이오덕사놀 및 50 mM 만니톨), 비지파크™ (Iod-320+ Na/Ca; 320 mgI/ml 아이오덕사놀, 19 mM NaCl 및 0.3 mM CaCl₂) 및 링거액 (Ringer, 스웨덴의 카비비트룸 아베(KabiVitrum AB)로부터의 아세이트 링거액)의 주입에 의해 야기되는 심실세동의 빈도. 흑색 봉은 VF를 나타내고, 백색 봉은 VF가 없음을 나타낸다. 데이터는 차이 등의 문헌으로부터 획득하였다.

도면3



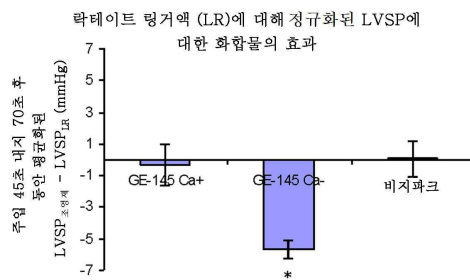
화합물 I, 0.1 mM CaCl₂ (F1, 320 mgI/ml의 화합물 I, 45 mM NaCl 및 0.1 mM CaCl₂); 화합물 I, 0.3 mM CaCl₂ (F3, 320 mgI/ml의 화합물 I, 45 mM NaCl 및 0.3 mM CaCl₂); 화합물 I, 0.7 mM CaCl₂ (F5, 320 mgI/ml의 화합물 I, 45 mM NaCl 및 0.7 mM CaCl₂), 비지파크의 주입에 의해 야기되는 심실세동의 빈도

도면4



20°C (▲) 및 37°C (○)에서 화합물 I의 점도 vs 농도.

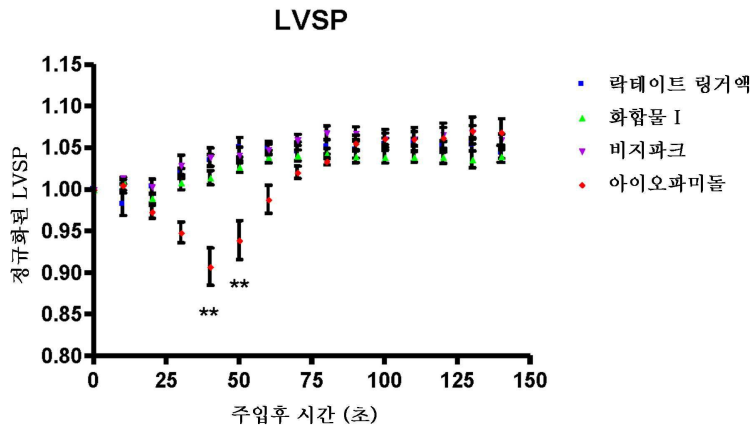
도면5



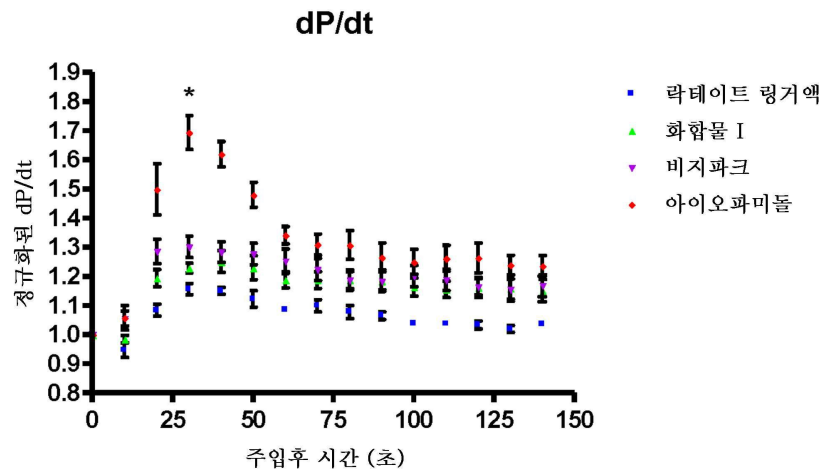
락테이트 링거액 (LR) 주입에 대해 정규화된, 정상 피그의 LAD에 주입한지 45초 내지 70초 후 LVSP에 대한 화합물 I (Ca의 첨가 및 첨가 없이) 및 비지파크의 효과. 주입량은 25 ml (0.4 ml/초)였다. “GE-145 Ca+”는 45 mM Na 및 0.5 mM Ca를 함유한 화합물 I의 조성물이고, “GE-145 Ca-”는 45 mM Na를 함유하고 Ca는 첨가되지 않은 화합물 I의 조성물이다. 평균 ± SEM. * = p<0.05, 던넛 양방 검정법(two-tailed Dunnett’s test)을 사용한 GE-145 Ca+ 에 대한 유의적 차이.

도면6

a)



b)



정상 피그의 LAD에 락테이트 링거액, 화합물 I, 비지파크 또는 아이오파미들을 40 ml (5 ml/초) 주입한 후 심혈관 지표에 대한 영향. a) 기저선에 대해 정규화된 LVSP의 변화. b) 기저선에 대해 정규화된 dP/dt의 변화. 평균 ± SD. * = 2-원 ANOVA 및 본페로니(Bonferroni) 사후평가를 사용한 락테이트 링거액에 대한 유의적 차이. * p<0.05, **p<0.01.