(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년12월30일
(11) 등록번호 10-1477498
(24) 등록일자 2014년12월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 51/04 (2006.01) *A61K 49/06* (2006.01)
A61K 51/02 (2006.01) *A61P 9/10* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0020544
(22) 출원일자 2014년02월21일
심사청구일자 2014년02월21일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020100087511 A*
Irina Velikyan, Theranostics, Vol. 4(1), pages 47-80(2013.12.10. 공개)
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
서울대학교산학협력단
서울특별시 관악구 관악로 1 (신림동)
(72) 발명자
서홍석
서울특별시 용산구 한강대로 211 101-2804 (한강로1가, 대우 월드마크 용산)
김성은
서울특별시 강남구 도곡로78길 13 302동 101호 (대치동, 대치동삼성3차아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 4 항 심사관 : 정의준

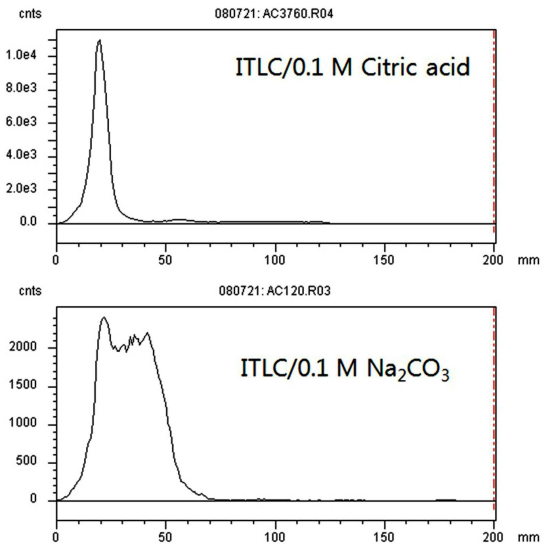
(54) 발명의 명칭 **죽상동맥경화 영상화용 조성물 및 이를 이용한 죽상동맥경화 진단방법**

(57) 요 약

본 발명은 죽상동맥경화 영상화용 조성물 및 이를 이용한 죽상동맥경화 진단방법 에 관한 것이다.

본 발명에 따른 죽상동맥경화 영상화용 조성물은 죽상동맥경화 진단의 정확도가 우수하며, 당뇨와 같은 혈당 조절이 필요한 질병 보유자를 대상으로 하여서도 죽상동맥경화의 진단을 가능하게 하며, 뇌와 심장에서 발생한 죽상동맥경화에 대하여도 효과적인 진단이 가능한 조성물이다. 또한 종래 죽상동맥경화 진단을 위한 영상화용 조성물에 비해 제조단가가 저렴하다. 그러므로 이를 이용하여 죽상동맥경화의 효과적인 진단이 가능하게 된다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

김응주

서울특별시 관악구 신림로23길 103 104-301(신림동, 신림현대맨션)

정재민

서울특별시 서초구 신반포로 45 23동1205호(반포동, 신반포한신아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 A070001

부처명 보건복지부

연구관리전문기관 보건사업진흥원

연구사업명 보건의료연구개발사업 국가임상시험사업단

연구과제명 죽상동맥경화 환자에서 68Ga-MSA (Gallium-68 neomannosyl human serum albumin)을 이용한 죽상동맥경화 부위에서 염증 영상의 유용성

기 여 율 1/2

주관기관 고려대학교 산학협력단

연구기간 2012.04.01 ~ 2014.03.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 NRF-2012M2A2A7035853

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 방사선기술개발사업

연구과제명 암표적치료를 위한 방사성동위원소 표지 나노입자의 개발 및 효과 검증

기 여 율 1/2

주관기관 서울대학교

연구기간 2012.07.16 ~ 2015.06.30

특허청구의 범위

청구항 1

양기능성킬레이트제-만노실 인혈청알부민, 양기능성킬레이트제-만노실 나노입자, 양기능성킬레이트제-만노실 폴리머로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나에, ^{68}Ga, ^{99m}Tc, ^{111}In, ^{18}F, ^{11}C, ^{123}I, ^{124}I 및 ^{131}I로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 방사성 동위원소를 표지한 방사성동위원소 표지 화합물을 포함하는 죽상동맥경화 영상화용 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 방사성 동위원소는 ^{68}Ga인 것을 특징으로 하는 죽상동맥경화 영상화용 조성물.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 양기능성킬레이트제는 [1,4,7-트리아자사이클로노난-1,4,7-트리아세트산(NOTA)], [1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산(DOTA)], 다이에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA), 하이드라지노니코틴산(HYNIC), N_2S_2 및 N_3S으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는 죽상동맥경화 영상화용 조성물.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 양기능성킬레이트제는 1,4,7-트리아자사이클로노난-1,4,7-트리아세트산(NOTA)인 것을 특징으로 하는 죽상동맥경화 영상화용 조성물.

청구항 6

삭제

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 죽상동맥경화 영상화용 조성물 및 이를 이용한 죽상동맥경화 진단방법 에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 죽상동맥경화증(atherosclerosis)이란 혈관의 가장 안쪽 막(내피)에 콜레스테롤 침착이 일어나고 혈관 내피세포의 증식이 일어나 혈관이 좁아지거나 막히게 되어 그 혈관이 말초로의 혈류 장애를 일으키는 질환을 말한다. 이러한 죽상동맥경화증을 보다 구체적으로 살펴보면 오래된 수도관이 녹이 슬고 이물질이 침착하여 지름이 좁아지게 되는 것처럼, 주로 혈관의 가장 안쪽을 덮고 있는 내막에 콜레스테롤이 침착하고 내피세포의 증식이 일어난

결과 죽종이 형성되는 혈관질환을 말한다. 죽종 내부는 죽처럼 묽어지고 그 주변 부위는 단단한 섬유성 막인 경화반으로 둘러싸이게 되는데, 경화반이 불안정하게 되면 파열되어 혈관 내에 혈전이 생긴다. 또한 죽종 안으로 출혈이 일어나는 경우 혈관 내부의 지름이 급격하게 좁아지거나 혈관이 아예 막히게 되고, 그 결과 말초로의 혈액순환에 장애가 생긴다.

[0003] 이러한 죽상동맥경화의 발생 및 진행 여부를 확인하기 위한 방법으로는 PET/CT를 통한 분자영상 기법을 활용하여 확인하는 방법이 있다. 이러한 PET/CT를 통한 분자영상 기법을 활용하여 죽상동맥경화 여부를 진단하기 위해 종래에는 Fluorine-18 fluorodeoxyglucose(F-18 FDG)이 활용되어 왔다. 이러한 F18-FDG를 이용한 죽상동맥경화증의 진단 원리는 거품세포에서 포도당 섭취 증가에 따른 FDG 섭취 증가의 원리를 이용하여 죽상동맥경화의 영상화를 구현하는 것이다.

[0004] 그러나 F18-FDG를 이용하여 죽상동맥경화를 영상화하여 진단하는 방법은 몇가지 문제점을 가지고 있다. 첫째, FDG가 포도당의 일종이기 때문에 혈중 포도당 및 대사관련 호르몬의 영향을 받을 수 있어 진단을 위한 일정한 신체 상태를 조절하는 데 한계가 있고, 결국에는 죽상동맥경화의 진단시 그 정확도가 떨어지게 된다는 문제점이 있다. 또한 이 경우에는 금식이나 혈당 조절 등의 조건을 맞추어야 하기 때문에 당뇨 등의 고위험군에서는 사용의 제한이 있다. 둘째로 뇌와 심장은 영양소로 혈당을 이용하는데, 정작 뇌와 심장은 죽상동맥경화가 빈번하게 발생하는 부위임에도 불구하고 F-18 FDG를 활용하기 어렵다는 문제점이 존재한다. 셋째, F-18 FDG를 생산하기 위해서는 cyclotron 등 고가의 장비가 필요하여 제조단가가 급격하게 상승한다는 문제점이 있다.

[0005] 이러한 본 발명과 관련되는 선행기술문헌으로는 대한민국 등록특허 제10-1351411호(특허문헌 1)와 대한민국 등록특허 제10-1055700호(특허문헌 2)에 개시되어 있으며, 구체적으로 상기 특허문헌 1은 F-18 FDG 양전자방출단층촬영에서 악성 종양과 염증 병변을 구분하여 악성 종양을 선택적으로 진단하는 방법에 관한 것이고, 특허문헌 2는 만노실알부민에 Ga-68을 표지한 물질에 관한 것이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 특허문헌 1. 대한민국 등록특허 제10-1351411호

(특허문헌 0002) 특허문헌 2. 대한민국 등록특허 제10-1055700호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 상술한 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로서, 본 발명의 목적은 죽상동맥경화 진단의 정확도를 높이고, 당뇨와 같은 질병 보유자에도 죽상동맥경화의 진단이 가능하며, 뇌와 심장에 발생한 죽상동맥경화의 진단이 가능한 죽상동맥경화 영상화용 조성물을 제공하는 것이다. 또한 높은 제조비용으로 죽상동맥경화 영상화용 조성물을 제공하고, 이를 이용하여 죽상동맥경화를 진단하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 위와 같은 과제를 해결하기 위한 본 발명의 한 특징에 따른 죽상동맥경화 영상화용 조성물은 양기능성킬레이트제-만노실 인혈청알부민, 양기능성킬레이트제-만노실 나노입자, 양기능성킬레이트제-만노실 폴리머로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나에 금속성 방사성 동위원소를 표지한 방사성동위원소 표지 화합물을 포함한다.

[0009] 본 발명의 또 다른 특징에 따른 죽상동맥경화 진단방법은 본 발명에 따른 상기 죽상동맥경화 영상화용 조성물을 이용한다.

발명의 효과

[0010] 본 발명에 따른 죽상동맥경화 영상화용 조성물은 죽상동맥경화 진단의 정확도가 우수하며, 당뇨와 같은 혈당 조절이 필요한 질병 보유자를 대상으로 하여서도 죽상동맥경화의 진단을 가능하게 하며, 뇌와 심장에서 발생한 죽상동맥경화에 대하여도 효과적인 진단이 가능한 조성물이다. 또한 종래 죽상동맥경화 진단을 위한 영상화용 조성물에 비해 제조단가가 저렴하다. 그러므로 이를 이용하여 죽상동맥경화의 효과적인 진단이 가능하게 된다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1 및 도 2는 실시예의 경우 ^{68}GaCl의 표지 효율을 TLC로 측정한 결과이다.

도 3은 방사화학적 순도를 측정하여 안정성을 검증한 결과이다.

도 4 는 토끼에게 ^{68}Ga-MSA를 1 mCi를 정맥 주사한 후 양전자방출 단층촬영을 시행한 결과를 나타낸 것이다. 도 5는 죽상경화 병소에 RITC 표지 MSA가 있음을 검증한 결과이다.

도 6, 도 7 및 도 8은 ^{18}F-FDG의 비교예와 ^{68}Ga-MSA의 실시예와 비교예의 경우를 가지고 죽상동맥경화 영상화 선명도를 비교한 것이다.

도 9, 도 10, 및 도 11은 실시예의 경우 임상에서의 적용 가능성을 비교예와 비교하여 측정한 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 이에 본 발명자들은 진단의 정확도가 우수하면서, 당뇨와 같은 병력을 가진 사람에게도 적용이 가능하고, 뇌와 심장 같은 부위에도 활용할 수 있는 죽상동맥경화 영상화용 조성물을 개발하기 위하여 예의 연구 노력한 결과, 본 발명에 따른 죽상동맥경화 영상화용 조성물을 발견하여 본 발명을 완성하였다.

[0013] 일반적으로 종래의 죽상동맥경화의 발생 및 진행여부를 진단하기 위한 영상화용 조성물은 F-18 FDG(18F-FDG)를 사용하여 시행되어 왔다. 하지만 이러한 종래 기술은 FDG가 포도당으로 구성되어 있기 때문에 정확도가 떨어지며, 당뇨병과 같은 병력을 가진 사람에게는 적용하기 어렵고, 죽상동맥경화의 발병으로부터 가장 문제가 되는 뇌와 심장 부위에는 적용하기 어렵다는 문제점이 있었다. 또한 F-18 FDG의 제조 단가가 비싸다는 문제점이 있었다.

[0014] 구체적으로 본 발명에 따른 죽상동맥경화 영상화용 약제학적 조성물은 양기능성킬레이트제-만노실 인혈청알부민, 양기능성킬레이트제-만노실 나노입자, 양기능성킬레이트제-만노실 폴리머로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나에 금속성 방사성 동위원소를 표지한 방사성동위원소 표지 화합물을 포함한다.

[0015] 상기 조성물 중 양기능성킬레이트제는 방사성동위원소와 결합하는데 작용을 하고, 만노즈기는 만노즈 수용체와 결합하는 작용을 하며, 인혈청알부민이나 나노입자 또는 폴리머는 모두 양기능성킬레이트제와 만노즈를 결합하는 운반지지체로 작용한다. 상기 조성물은 혈액 중에 잘 분산되어 혈류를 타고 혈관내를 돌아 다닐 수 있는 크기인 1-100 nm의 크기가 바람직한데 양기능성킬레이트제와 만노즈는 0.5 나노미터 정도의 크기밖에 되지 않으므로 대부분의 크기는 운반지지체인 인혈청알부민이나 나노입자 또는 폴리머가 차지한다. 인혈청알부민은 크기가 장축이 6 nm, 단축이 4 nm인 럭비공 모양이므로 이상적인 크기이고, 나노입자나 폴리머는 크기나 재질이 매우 다양하므로 적당한 크기와 재질을 선택하여 사용할 수 있다.

[0016] 즉, 본 발명에 따른 죽상동맥경화 영상화용 약제학적 조성물은 만노스 수용체의 리간드인 만노즈에 인혈청알부민(mannosylated human albumin, MSA)이나 나노입자 또는 폴리머를 결합한 후, 여기에 ^{68}Ga, ^{99m}Tc, ^{111}In, ^{18}F, ^{11}C, ^{123}I, ^{124}I 및 ^{131}I로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 방사성 동위원소를 붙여 이를 detection 함으로써 죽상동맥경화의 분자 영상을 구현하고, 이를 통해 죽상동맥경화의 발병 여부 및 진행과정을 진단하게 된다. 상기 만노스 수용체는 죽상동맥경화 내 거품세포에 존재하는 세포막 수용체 중 하나이다.

[0017] 상기 금속성 방사성 동위원소는 바람직하게는 ^{68}Ga, ^{99m}Tc, ^{111}In, ^{18}F, ^{11}C, ^{123}I, ^{124}I 및 ^{131}I로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하며, 가장 바람직하게는 ^{68}Ga일 수 있다.

[0018] 상기 조성물은 대사적 제한이 없기 때문에 금식할 필요가 없으며, 대사 관련 호르몬 상태와 연관성이 없기 때문에 당뇨 등의 병력을 가진 대상자에게도 적용이 가능하다. 또한 뇌와 심장 부위에 사용할 수 있어 종래 F-18 FDG가 가진 문제점을 해소하는 것이다. 또한 F-18 FDG와는 달리 복잡하거나 고가의 장비를 필요로 하는 것이 아니어서 제조 단가가 저렴해진다. 종래 F-18 FDG의 제조에는 cyclotron이라는 고가의 장비가 사용되었다. 하지만 본 발명과 같이 금속성 방사성 동위원소를 ^{68}Ga로 하는 경우에는 Galium generator이라는 작은 장비만으로도 손쉽게 제조가 가능하다. 또한 ^{68}Ga은 양성자 방출 능력이 우수하여 진단시 다른 방사성 동위원소를 표지한 경우나, F-18 FDG를 사용하여 영상화한 경우에 비해 보다 선명한 영상의 구현이 가능하여 바람직하다.

[0019] 한편 상기 금속성 방사성 동위원소를 ^{99m}Tc 또는 ^{111}In로 하는 경우에는 반감기가 길어 사용이 유용하다는 장점이 있다. 또한 ^{123}I, ^{124}I 및 ^{131}I의 경우에는 제조단가가 보다 저렴해 진다는 장점이 있다. 그리고 ^{68}Ga, ^{99m}Tc, ^{111}In, ^{18}F, ^{11}C, ^{123}I, ^{124}I 및 ^{131}I 중 둘 이상의 동위원소를 동시에 붙여 사용하게 되면, 각각의 동위원소가 가진 효과가 일체적으로 발현되게 된다. 가령 ^{68}Ga와 ^{99m}Tc를 동시에 붙여 사용하게 되면, 진단의 정확도를 높임과 동시에, 당뇨 등의 질환을 가진 대상자에게도 적용이 가능하고, 뇌와 심장 부위에도 적용이 가능하며, 반감기도 길어져 유용하게 활용할 수 있게 된다.

[0020] 상기 양기능성킬레이트제는 [1,4,7-트리아자사이클로노난-1,4,7-트리아세트산(NOTA)], [1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산(DOTA)], 다이에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA), 하이드라지노니코틴산(HYNIC), N_2S_2 및 N_3S으로부터 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하며, 특별한 제한이 있는 것은 아니지만 가장 바람직한 실시예는 NOTA일 수 있다. 이렇게 양기능성킬레이트제로서 NOTA를 사용하게 되면 ^{68}Ga로 특히 잘 표지되는 효과가 있어 바람직하다. 만약 ^{99m}Tc으로 표지하려면 HYNIC, N_2S_2, N_3S를 사용하고, ^{111}In로 표지하려면 DOTA를 사용하는 것이 좋다.

[0021]

[0022] 발명의 또 다른 특징에 따른 죽상동맥경화 진단방법은 본 발명에 따른 상기 죽상동맥경화 영상화용 조성물을 이용하며, 상기 진단방법은 당업계에 존재하는 공지의 진단방법을 모두 포함한다.

[0023] 이하 본 발명을 바람직한 실시예를 참고로 하여 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 상세히 설명한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0024] **실시예**

[0025] **실시예 1: Ga-68(^{68}Ga) 표지를 위한 NOTA-MSA의 제조**

[0026] <단계 1: 페닐 만노즈 결합 인혈청알부민의 제조>

[0027] 0.1 M 탄산완충액(pH 9.5) 5 ㎖에 20 mg의 인혈청알부민을 녹인 후 5.5 mg의 α-L-만노피라노실페닐이소티오시아네이트(α-L- mannopyranosylphenylisothiocyanate)를 가한 다음 실온에서 잘 저으면서 20 시간동안 반응시켰다. 반응액을 -70 ℃에 냉동 보관하였다.

[0028] <단계 2: 벤질 NOTA 및 페닐 만노즈 결합 인혈청알부민의 제조>

[0029] 상기 단계 1에서 제조한 1 ㎖ 만노실 인혈청알부민(13.6 mg/㎖)에 10 mg의 p-SCN-Bz-NOTA를 넣은 후 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후 세파덱스 G-25 칼럼을 이용하여 벤질 NOTA 및 페닐 만노즈 결합 인혈청알부민을 분리 정제하였다.

[0030] **실시예 2: 만노즈 수용체 영상화용 키트의 제조**

[0031] 1 ㎖ 벤질 NOTA 및 페닐 만노즈 결합 인혈청알부민(13.6 mg/㎖), 0.3 ㎖ 초산나트륨 완충용액(0.5 M, pH 5.5)을 첨가한 후 단백질 1 mg에 해당하는 양씩 바이알에 분주한 다음 -70 ℃에서 냉동하고 이를 냉동건조하여 보관하였다.

[0032] **실시예 3: 만노즈 수용체 영상화용 키트를 이용한 ^{68}Ga이 표지 화합물의 제조**

[0033] 상기 실시예 2의 키트에 ^{68}Ge/^{68}Ga-발생기(Cyclotron Co., Russia)에서 제조된 ^{68}GaCl의 0.1 M 염산 용액 1 ㎖를 각각 첨가하여 37℃에서 반응하면서 10분, 30분, 1시간, 2시간 후에 표지효율을 TLC로 측정하였다. 이때 고정상은 ITLC-SG (Gelman Co., USA)를 사용하였고 전개용매는 0.1 M 구연산 용액을 사용하였다. ITLC 플레이트 상의 방사능분포는 TLC-스캐너 (Bioscan Co.)를 사용하여 측정하였다. 표지된 ^{68}Ga은 원점에 남아 있고 표지 되지 않은 ^{68}Ga은 꼭대기로 움직였다(도 1). 또한 pH가 4~5 사이에서는 37℃에서 30분간 반응하면 표지가 거의 종료되는 것을 알 수 있었다(도 2). 이와 같이 표지한 ^{68}Ga-NOTA-MSA를 인혈청과 혼합하여 37 ℃에서 배양하였을 때의 방사화학적 순도를 측정하여 안정성을 검증하였다. 이 결과는 하기 도 3에 나타내었다. 도 3에서 보는 바와 같이, 혈청 중에서 37 ℃로 배양하였을 경우 2 시간 동안 99% 이상의 순도를 유지하였고, 실제 핵의학적 영상을 얻는 것은 표지 후 1 시간 이내에 대부분 주사하므로 충분히 실용적으로 안정함을 확인할 수 있었다.

[0034] **실시예 4: 만노즈 수용체 형광 영상화를 이용한 RITC-MSA 화합물의 제조**

[0035] 우선 상기 실시예 1의 단계 1과 같은 방법으로 MSA를 제조하였다. MSA 100 mg을 0.1 M 탄산나트륨 완충액 (pH 9.5) 13 mL에 녹인 16 mg(0.03 mmol)의 로다민 B 이소치오시아네이트 (RITC)와 20 시간 동안 실온 암소에서 반응시켰다. 생성된 RITC-MSA는 PD-10 칼럼으로 생리식염수를 사용하여 분리 정제한 다음 냉동 건조하였다. MSA당 결합한 RITC는 질소레이저 (337 nm)를 장착한 MALDI-TOF 질량 스펙트로미터로 분자량을 측정하여 계산하였다. 이를 위하여 선형모드에서 500 회의 레이저를 발사하여 측정하였다. 모든 샘플은 4회씩 분석하였고 MSA와 RITC-MSA의 분자량은 그 평균값을 취하였다.

[0036] 이러한 실시예의 과정을 통해 죽상동맥경화 영상화용 조성물을 제조하였다.

[0037] 또한 이렇게 제조된 죽상동맥경화 영상화용 조성물을 이용하여 죽상동맥경화 병증의 환자를 대상으로 PET/CT 영상을 촬영하였다. 이때 PET/CT 영상은 Philips사의 전용 워크스테이션 Extended Brilliance Workspace V3.5를 이용하여 얻었다. 구체적으로는 고려대학교 구로병원에서 실시하였으며, 이때의 실시자는 방사능 섭취가 최대인 부분이 가운데에 오게 대동맥에서 각각의 관심영역 (ROI, region of interest)을 잡았다. 상대동맥과 하대동맥의 축방향으로 인접한 슬라이스들에 대하여 이 관심영역들의 최대 표준섭취계수(SUV, standard uptake value)와 평균 표준섭취계수를 구하였다. 표준섭취계수는 조직의 방사능을 전체 체중에 대하여 총 투여한 방사능으로 나눈 값으로 하였다. 내부관찰자와 외부관찰자간에 평균 표준섭취계수 측정치의 상관계수는 0.9보다 컸다.

[0038] **추가 제조예: rMSA 키트를 이용한 Tc-99m-MSA(^{99m}Tc-MSA)의 제조**

[0039] 상기 실시예의 키트에 Mo-99/Tc-99m-제너레이터(삼영유니텍)에서 제조된 과테크네슘산염(^{99m}TcO4-)의 생리식염수 용액 2 ㎖ 또는 5 ㎖를 각각 첨가하여 실온에서 1~30 분 동안 반응하였다. 테크네슘의 방사성 동위원소 표지 효율은 ITLC(instant thin layer chromatography)에 소량의 반응물을 찍은 후 생리식염수로 전개한 다음 TLC-스캐너로 방사능 분포를 측정함으로써 결정하였다. 표지된 테크네슘은 원점에 남아 있었고, 다른 테크네슘은 모두 용매 전단을 따라 이동하였다. 표지 결과 항상 99% 이상의 효율을 나타내었다. 표지한 ^{99m}Tc-MSA를 실온에 그대로 두었을 때와 인혈청과 혼합하여 37 ℃에서 배양하였을 때의 시간에 따른 방사화학적 순도(%)를 통하여 안정성을 측정하였다. 상기 결과는 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

[0040]

시간	혈청	실온
0.5	96.0	94.5
1.0	92.2	96.4
2.0	96.0	91.1
3.0	94.4	94.0
6.0	97.4	N.D.
20.0	90.5	91.0
24.0	88.7	95.3

[0041] 상기 표 1에서 보는 바와 같이, 실온에 방치하였을 경우와 혈청 중에서 37 ℃로 배양하였을 경우 모두 20 시간 동안 90% 이상의 순도를 유지하였고, 혈청에서 37 ℃로 배양하였을 경우 24 시간째에 88.7%로 떨어지지만 실제 핵의학적 영상을 얻는 것은 표지 후 1 시간 이내에 대부분 주사하므로 충분히 실용적으로 안정함을 확인할 수 있었다.

[0042] **비교예**

[0043] 상기 실시예와는 다르게 죽상동맥경화 영상화용 조성물로 기존에 사용되는 F18-FDG를 본 비교예로 하였다.

[0044] **실험예**

[0045] **실험예 1: 실시예의 경우 토끼에서의 죽상동맥경화 분자 영상**

[0046] 12 주령의 일반 토끼(New Zealand white rabbits) 10 마리를 대상으로 하였다. 그리고 각각 5마리를 무작위로 배정하여 한 그룹은 정상의 먹이를 먹였으며, 나머지 한 그룹은 1 %의 콜레스테롤을 함유한 식이를 주고 아무런 조치를 취하지 않았다. 사육은 표준화된 조건(21 ℃, 습도 41 % - 62 %)에서 규칙적인 낮/밤 (10/14 시간) 주기로 물과 사료에 자유롭게 접근할 수 있게 하였다. 3개월의 식이 요법 후에 마취상태에서 ^{68}Ga-MSA를 1 mCi를 정맥주사하고 10 분 후부터 10 분간 전신을 대상으로 양전자방출 단층촬영을 시행하였다(도 4, 5). 다음날 토끼는 마취 후 RITC표지-MSA(42 μg/0.1 mL) 또는 RITC 를 0.9 % 식염수에 섞어 토끼의 귀정맥을 통해 주사한 10 분 후에 토끼를 안락사 시키고 대동맥을 박리하여, 섭씨 영하 20 ℃에 보관하였다. 대동맥 절편은 상온에서 30 분간 4 %(v/v) buffered formalin solution에서 고정하고 cold PBS (pH 7.4)로 세척 후 optimum cutting temperature compound(OCT compound, Sakura, Tokyo)에 embed시키고, 조직 투과를 위하여 하루 경과 후 섭씨 영하 80 ℃에 보관하였다. 조직 박편은 10 mm 두께로 절단 후 poly-D-lysine과 함께 슬라이드에 놓고 섭시 45 ℃에서 빛을 차단하고 말려서 상온에서 사용시까지 보관하였다. 슬리이드 조직편은 PBS (pH 7.4)에 2회 세척하여 조직 compound를 없애고, Fluoromount-G™ (SouthernBiotech, Birmingham, AL)를 이용하여 mount하였다. 형광 영상은 IX81-ZDC focus drift compensating microscope (Olympus, Tokyo, Japan)로 excitation 파장과 emission 파장을 각각 547 nm 및 572 nm에서 관찰하였다(도 5).

[0047] 도 4a는 정상 먹이를 먹인 토끼의 ^{68}Ga-MSA의 PET/CT영상으로서, 죽상동맥경화의 병소가 보이지 않으며 간과 골수 등의 조직에 ^{68}Ga-MSA의 uptake가 증가함을 확인할 수 있었다. 또한 도 4b는 콜레스테롤을 식이한 토끼의 ^{68}Ga-MSA의 PET/CT영상으로서, 복부에서 척추 앞부분의 죽상경화 병소가 초록색으로 길게 보인다. 도 4c는 도 4b 동물에서 죽상동맥경화 부위를 확대한 사진으로 척추의 노란색 앞에 초록색의 죽상경화 병소 부위가 관찰된다.

[0048] 도 5A에서는 형광 현미경을 통하여 콜레스테롤을 섭취한 토끼 대동맥의 죽상동맥경화 부위에서 MSA에 표지 RITC의 형광이 관찰되고 있으며, 도 5B는 같은 조직을 형광현미경대신 일반 현미경 상태로 관찰한 죽상경화조직이다. 도 5C에서는 형광 현미경을 통하여 토끼 대동맥의 죽상동맥경화 부위에서 MSA가 표지 되어 있지 않는 경우에 형광현미경으로 RITC의 형광을 관찰할 수 없었으며, 도 5D는 같은 조직을 형광현미경 대신 일반 현미경 상태로 관찰한 죽상경화조직이다. 즉, 표지 RITC를 이용하여 MSA가 죽상경화 부위에 잘 결합됨을 확인할 수 있었다.

[0049] **실험예 2: 실시예와 비교예의 죽상동맥경화 영상 비교**

[0050] 상기 실시예와 비교예의 경우를 가지고 죽상동맥경화 진단 영상이 선명함을 비교하는 실험을 진행하였다. 실험의 방법은 같은 토끼에 ^{68}Ga-MSA대신에 ^{18}F-FDG를 주사하는 방법으로 진행하였으며, 이의 결과는 도 6, 도 7 및 도 8에 나타내었다.

[0051] 도 6a는 정상 먹이를 먹인 토끼의 ^{18}F-FDG의 PET/CT영상으로서, 죽상동맥경화의 병소가 보이지 않으며 간과 골수 등의 조직에 ^{18}F-FDG의 uptake가 증가함을 확인할 수 있었다. 또한 도 6b는 콜레스테롤을 식이한 토끼의 ^{68}Ga-MSA의 PET/CT영상으로서, 복부에서 척추 앞부분의 죽상경화 병소가 초록색으로 길게 보인다. 도 6c는 도 6b 동물에서 죽상동맥경화 부위를 확대한 사진으로 척추의 회색 앞에 초록색의 죽상경화 병소 부위가 관찰된다.

[0052] 하기 도 7 에서 확인할 수 있는 바와 같이 비교 예의 경우에는 ^{18}F-FDG 와 ^{68}Ga-MSA 모두에서 죽상 동맥경화의 병소를 두 약제 모두 사용함으로써 확인할 수 있는 반면에, uptake가 증가함에 있어서는 ^{18}F-FDG 비교예에서 보다는 68Ga-MSA 를 이용한 실시예의 경우가 도 8에 나타나듯이 동맥경화 부위의 평균 SUV와 최고치 SUV 모두에서 유의하게 높음을 확인할 수 있어, 실시예의 경우가 비교예의 경우보다 죽상동맥경화 영상의 선명도가 더욱 우수함을 확인할 수 있었다.

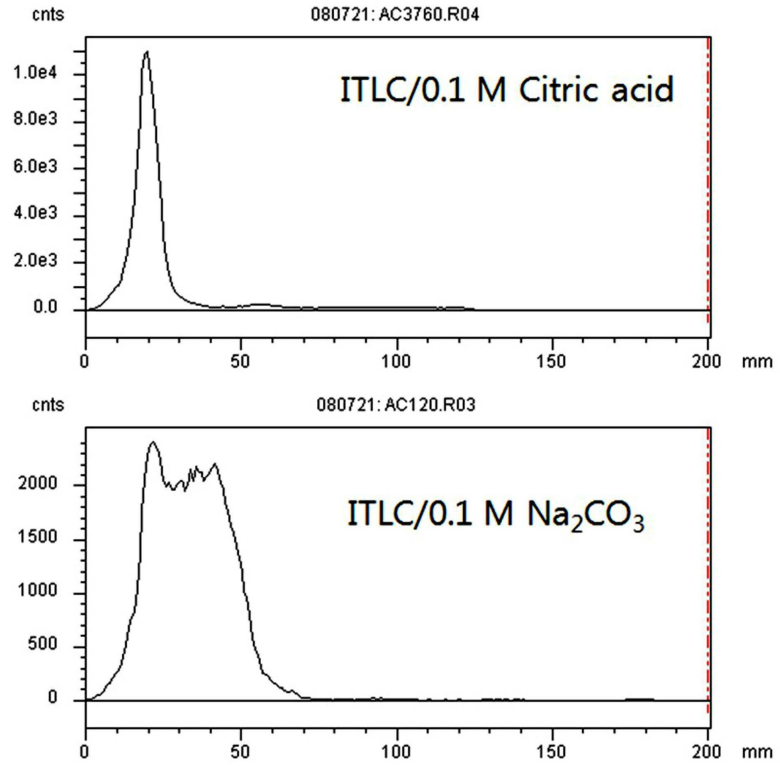
[0053] **실험예 3: 실시예의 경우 임상에서의 적용 가능 여부 측정**

[0054] 상기 실시예의 경우 임상에서 적용이 가능한 것인지를 비교예와 비교하여 측정하는 실험을 진행하였다. 이의 실험은 급성심근경색 환자군과 정상대조군을 대상으로 경동맥 부위의 죽상경화부위의 ^{68}Ga-MSA 영상을 비교하는 phase I 임상연구 방법으로 진행하였으며, 이의 결과는 하기 도 9, 도 10, 및 도 11 에 나타내었다. 하기 도 9은 급성심근경색 환자에서 초음파로 확진된 경동맥부위의 죽상동맥경화 병소 부위의 ^{68}Ga-MSA 영상을 나타낸 예로, 목부위의 초록색의 죽상경화부위가 잘 관찰되었고, 도 10은 경동맥에 죽상경화 병소가 없는 와 대조군에서의 ^{68}Ga-MSA 영상을 나타낸 예로 아무로 이상부위가 관찰되지 않음을 확인할 수 있었다. 또한 도 11에서 확인되듯이 경동맥에 죽상경화가 있는 심혈관질환자들에서 정상대조군에 비하여 ^{68}Ga-MSA PET/CT영상에서 시각적 판단(PET_visual_grade)과 SVU(PET_RCA_grade) 및 target SUV/background SUV ratio(PET_RCA_TBR)를 이용한 중증도 진단방법 모두에서 죽상동맥경화 병소의 영상을 이용하여 죽상동맥경화의 병소 유무의 판별이 쉽게 확인할 수 있어 실시예의 경우 임상에서도 적용 가능한 죽상동맥경화 영상화용 조성물에 해당하는 것임을 확인하였다.

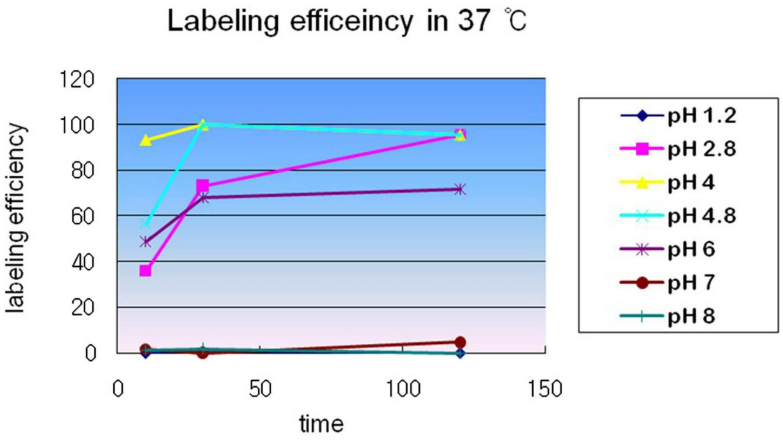
[0055] 상기에서는 본 발명의 바람직한 실시예에 대하여 설명하였지만, 본 발명은 이에 한정되는 것은 아니고, 본 발명의 기술 사상 범위 내에서 여러 가지로 변형하여 실시하는 것이 가능하고, 이 또한 첨부된 특허 청구 범위에 속하는 것은 당연하다.

도면

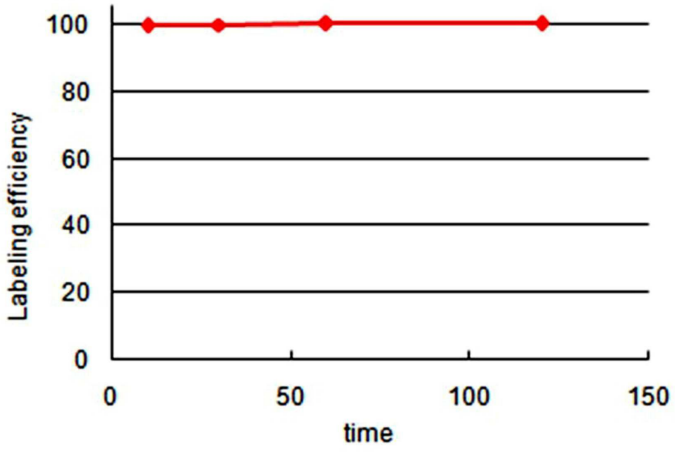
도면1


cnts
080721: AC3760.R04
ITLC/0.1 M Citric acid
1.0e4
8.0e3
6.0e3
4.0e3
2.0e3
0.0
0
50
100
150
200
mm
cnts
080721: AC120.R03
ITLC/0.1 M Na2CO3
2000
1500
1000
500
0
0
50
100
150
200
mm

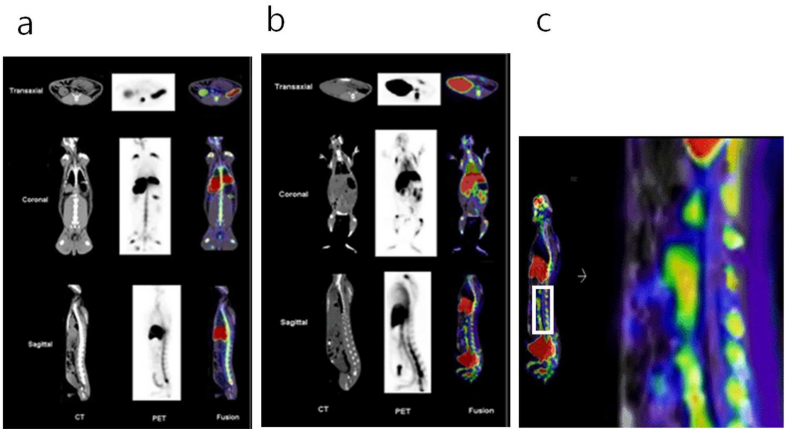
도면2


Labeling efficeincy in 37 ℃
labeling efficiency
120
100
80
60
40
20
0
0
50
100
150
time
pH 1.2
pH 2.8
pH 4
pH 4.8
pH 6
pH 7
pH 8

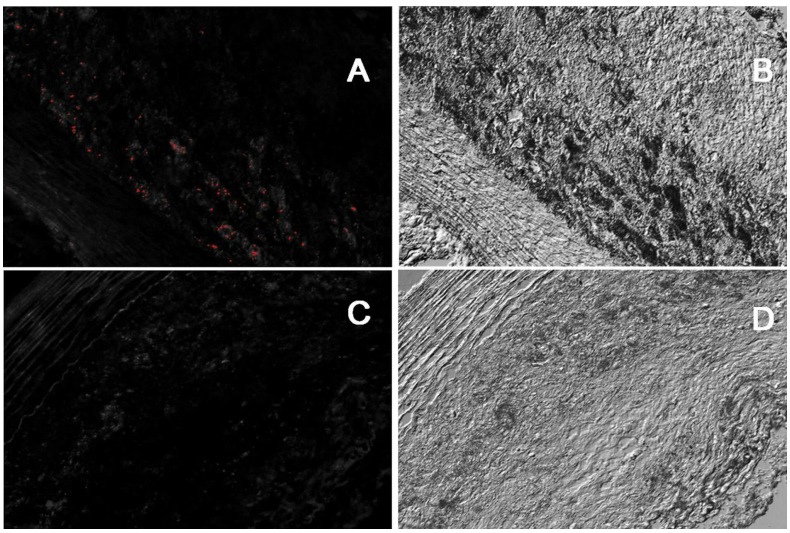
도면3


100
80
60
40
20
0
Labeling efficiency
0
50
100
150
time

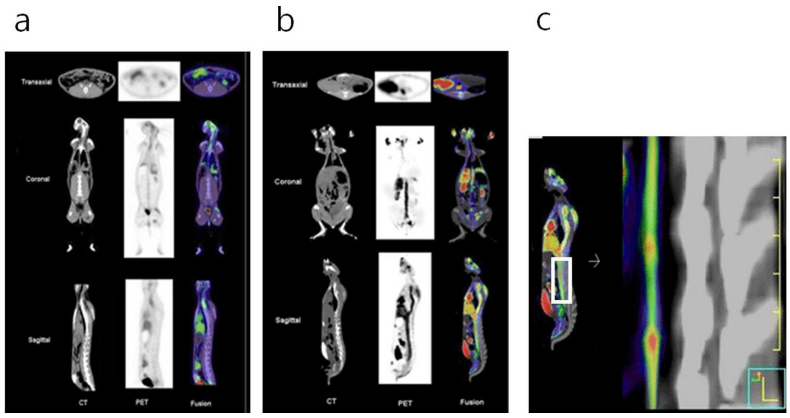
도면4


a
b
c
Transaxial
Coronal
Sagittal
CT
PET
Fusion

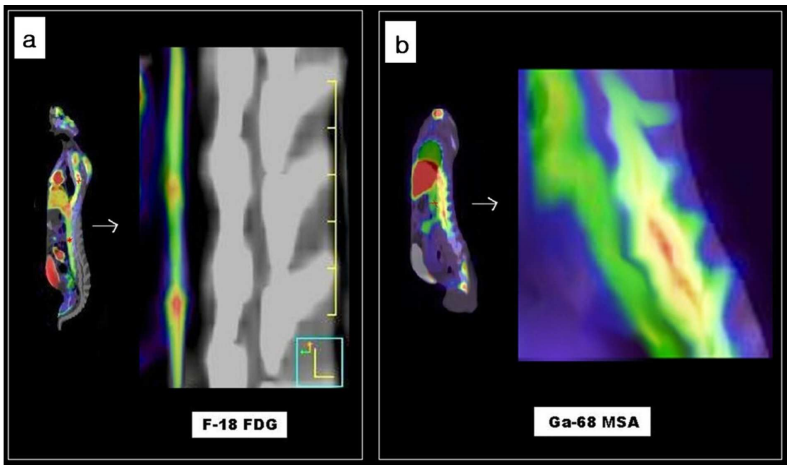
도면5


A
B
C
D

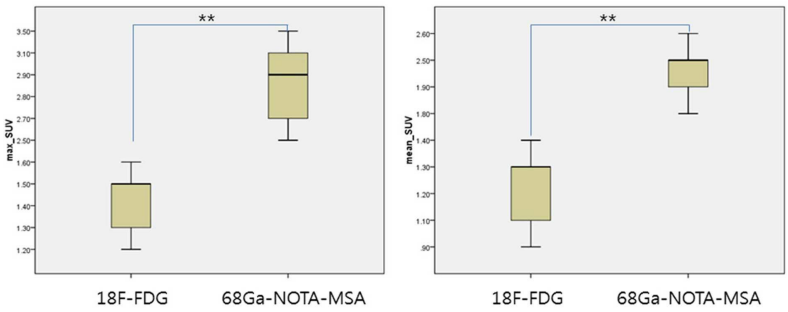
도면6


a
b
c
Transaxial
Coronal
Sagittal
CT
PET
Fusion

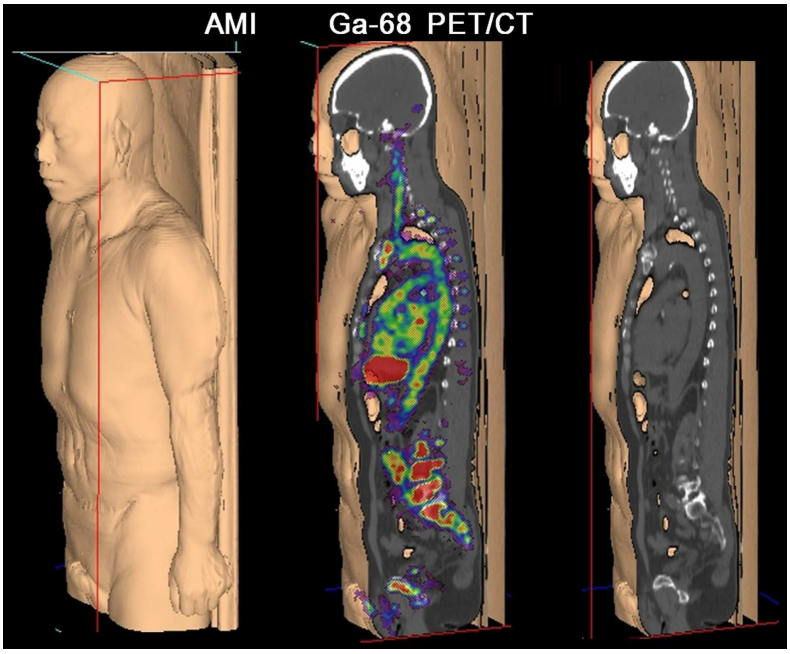
도면7


a
b
F-18 FDG
Ga-68 MSA

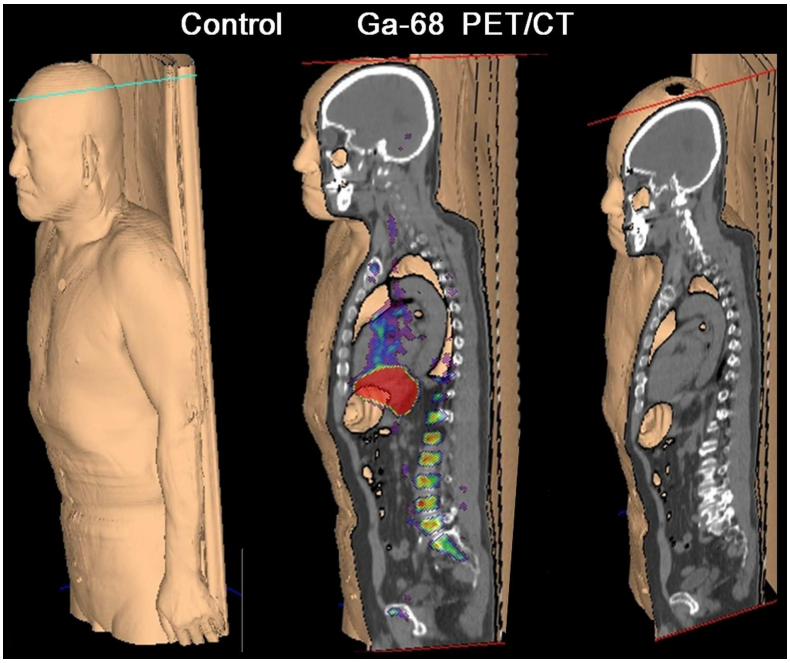
도면8


**
max_SUV
18F-FDG
68Ga-NOTA-MSA
**
mean_SUV
18F-FDG
68Ga-NOTA-MSA

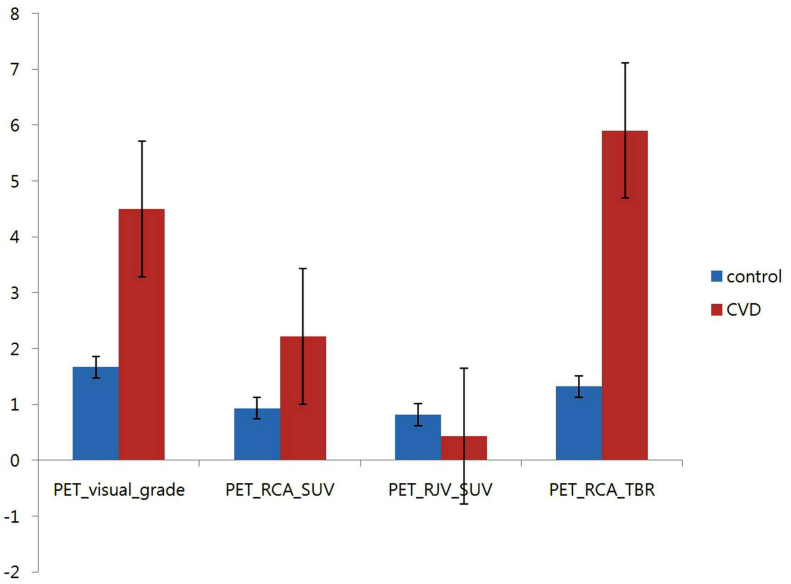
도면9



도면10



도면11


8
7
6
5
4
3
2
1
0
-1
-2
PET_visual_grade
PET_RCA_SUV
PET_RJV_SUV
PET_RCA_TBR
control
CVD