



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0058726
(43) 공개일자 2018년06월01일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 49/10 (2006.01) *A61B 5/00* (2006.01)
A61B 5/055 (2006.01) *A61K 47/02* (2006.01)
A61K 47/26 (2017.01) *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 49/10 (2013.01)
A61B 5/0042 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2018-7008638
(22) 출원일자(국제) 2016년09월29일
 심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2018년03월27일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/054481
(87) 국제공개번호 WO 2017/059092
 국제공개일자 2017년04월06일
- (30) 우선권주장
 62/234,986 2015년09월30일 미국(US)
 62/291,138 2016년02월04일 미국(US)

- (71) 출원인
 듀크 유니버시티
 미국, 노스캐롤라이나 27705, 더럼, 슈트 306, 에
 르윈 로드 2812
- (72) 발명자
 라스콜라 크리스토퍼 데이비드
 미국 27707 노스 캐롤라이나 더럼 도버로드 3414
- (74) 대리인
 특허법인 피씨알

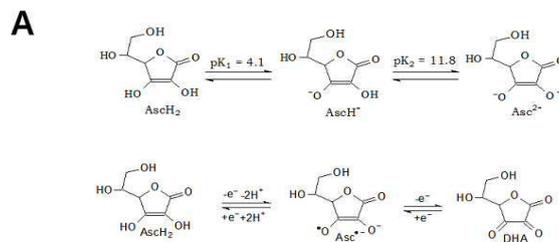
전체 청구항 수 : 총 24 항

(54) 발명의 명칭 아스코르브산염 제제 및 조영제로서의 사용 방법

(57) 요약

MRI 조영제로 사용하기에 적합한 멸균 수성 조성물이 아스코르브산염 100 내지 600 mM; 및 나트륨, 메글루민, 또는 이들의 조합 100-600 mM을 포함한다. 상기 조성물은 바람직하게는 200 내지 1400 mOsm/L의 오스몰 농도를 갖는다.

대표도 - 도1



$$k_{\text{obs}} (7.4) = 1.4 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

이 속도 상수는 인산염이 존재할 때 ≈10배 증가한다.

(52) CPC특허분류

A61B 5/0044 (2013.01)

A61B 5/055 (2013.01)

A61K 47/02 (2013.01)

A61K 47/26 (2013.01)

A61K 9/0019 (2013.01)

A61K 9/08 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

MRI 조영제로 사용하기에 적합한 멸균 수성 조성물로서, 상기 조성물은:

아스코르브산염 100-600 mM; 및

나트륨, 메글루민, 또는 이들의 조합 100-600 mM을 포함하고,

상기 조성물은 200-1400 mOsm/L의 오스몰 농도(osmolality)를 갖는 것인 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 조성물은 선택적으로 나트륨과 조합된, 메글루민을 포함하는 것인(예를 들어, 상기 조성물은 아스코르브산 메글루민과 아스코르브산 나트륨을 10:90, 20:80, 30:70, 또는 40:60 내지 최대 90:10, 80:20, 70:30, 또는 60:40(아스코르브산 메글루민:아스코르브산 나트륨)의 몰비 또는 밀리몰(mM)비로 포함하는 것인) 조성물.

청구항 3

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서,

상기 조성물은 탄산염 및/또는 인산염을 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 4

청구항 1 내지 청구항 3에 있어서,

상기 조성물은 환원당을 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 5

청구항 1 내지 청구항 4에 있어서,

상기 조성물은 비환원당을 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 6

청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 200-1200 mOsm/L의 오스몰 농도를 갖는 것인 조성물.

청구항 7

청구항 1 내지 청구항 6 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 6.5 내지 7.5의 pH를 갖는 것인 조성물.

청구항 8

청구항 1 내지 청구항 7 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 안정화제(stability agent)(예를 들어, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA)과 같은 킬레이터)를 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 9

청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조성물은 단위 투여 제형(unit dosage form)으로 제공되는 것인 조성물.

청구항 10

청구항 9에 있어서,

상기 단위 투여 제형은 10 내지 100 그램의 아스코르브산염을 포함하는 것인 조성물.

청구항 11

아스코르브산염;

나트륨, 메글루민, 또는 이들의 조합;

선택적으로, 탄산염 및/또는 인산염; 및

선택적으로, 환원당 또는 비환원당을 포함하는 분말 조성물로서,

상기 조성물은 멸균 액상 담체의 첨가 시, 개체 내의 기관(organ) 또는 기관 영역(organ region)과 같은 신체(body) 또는 신체 영역(body region)의 자기 공명 이미징(MRI) 이미지를 증강하는데 사용하기에 적합한 것인 조성물.

청구항 12

청구항 11에 있어서,

상기 조성물은 선택적으로 나트륨과 조합된, 메글루민을 포함하는 것인(예를 들어, 상기 조성물은 아스코르브산 메글루민과 아스코르브산 나트륨을 10:90, 20:80, 30:70, 또는 40:60 내지 최대 90:10, 80:20, 70:30, 또는 60:40(아스코르브산 메글루민:아스코르브산 나트륨)의 몰비 또는 밀리몰(mM)비로 포함하는 것인) 조성물.

청구항 13

청구항 1 내지 청구항 10 중 어느 한 항에 따른 멸균 수성 조성물을 MRI 이미지-증강량(MRI image-enhancing amount)으로 개체에 비경구로 투여하는 단계; 및 그 후

상기 개체의 MRI에 의하여, 신체 또는 신체 영역의 이미지를 생성하는 단계;를 포함하는, 개체 내의 기관 또는 기관 영역과 같은 신체 또는 신체 영역의 자기 공명 이미징(MRI) 이미지를 증강시키는 방법으로서,

상기 방법에 의해 상기 MRI 이미지가 증강되는 것인 방법.

청구항 14

청구항 13에 있어서,

상기 신체 영역은 두부, 경부, 흉부, 복부, 골반, 사지(limb), 근육, 지방, 또는 뼈인 것인 방법.

청구항 15

청구항 13에 있어서,

상기 기관은 부신, 뇌하수체, 가슴샘, 황체, 망막, 뇌, 비장, 폐, 고환, 림프절, 간, 갑상샘, 소장 점막, 백혈구, 췌장, 신장, 또는 침샘 조직을 포함하는 것인 방법.

청구항 16

청구항 13에 있어서,

상기 신체 영역은 뇌인 것인 방법.

청구항 17

청구항 13에 있어서,

상기 신체 영역은 심장인 것인 방법.

청구항 18

청구항 13 내지 청구항 17 중 어느 한 항에 있어서,

상기 투여하는 단계는 정맥 내 주사와 같은 정맥 내 투여로 수행되는 것인 방법.

청구항 19

청구항 13 내지 청구항 18 중 어느 한 항에 있어서,

상기 투여하는 단계는 복강 내 주사와 같은 복강 내 투여로 수행되는 것인 방법.

청구항 20

청구항 13 내지 청구항 19 중 어느 한 항에 있어서,

상기 이미지는 T₂ 강조 이미지(T₂ weighted image)를 포함하는 것인 방법.

청구항 21

청구항 13 내지 청구항 20 중 어느 한 항에 있어서,

상기 이미지는 신진대사 이미지(metabolism image)(예를 들어, 중앙 신진대사 이미지 또는 뇌 신진대사 이미

지)를 포함하는 것인 방법.

청구항 22

선행하는 항에 있어서,

상기 이미지는 관류 이미지(예를 들어, 심혈관 관류 이미지)를 포함하는 것인 방법.

청구항 23

선행하는 항에 있어서,

상기 이미지를 생성하는 단계는 상기 멸균 수성 조성물을 비경구로 투여하는 단계 동안, 또는 최대 5, 10, 30, 40, 60, 90, 또는 120 분 후, 또는 최대 1, 2, 3, 또는 4 시간 후에 수행되는 것인 방법.

청구항 24

청구항 13 내지 청구항 23 중 어느 한 항에 따른 방법을 수행하거나, 청구항 13 내지 청구항 23 중 어느 한 항에 따른 방법을 수행하기 위한 약제 또는 조영제의 제조를 위한 청구항 1 내지 청구항 10 중 어느 한 항의 멸균 수성 조성물의 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원**

[0002] 본 출원은 2015년 9월 30일에 출원된 미국 가특허출원 제 62/234,986호, 및 2016년 2월 4일에 출원된 미국 가특허출원 제 62/291,138호의 이익을 주장하고, 이들 모두의 개시는 그 전체가 본 명세서에 참조로 포함된다.

[0003] **발명의 분야**

[0004] 본 발명은 아스코르브산염의 비경구 투여에 유용한 조성물 및 그의 방사선학적 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 자기 공명 이미징(magnetic resonance imaging)(MRI)는 높은 공간 해상도에서 정교한 인체 해부학적 및 병리학 적 렌더링(rendering)을 제공한다. 암, 감염, 신경 질환 및 심혈관 질환을 위한 이미징(imaging)과 같은 MRI의 진단 민감도 및 특이성을 높이기 위하여, 조영 물질이 종종 이미징 전 및/또는 이미징 중에 신호를 개선하기 위하여 정맥 내 투여된다.

[0006] 가장 일반적인 MRI 조영 물질은 상자성(paramagnetic) 금속인 가돌리늄(Gadolinium)(Gd)을 함유하는 분자 착물(molecular complex)을 기반으로 한다. 가돌리늄은 자연에서 결합된(염) 형태로만 발견되는 중금속이다. Gd는 수용성 염에서는 고도로 독성이지만, 킬레이트화된 Gd는 감소된 독성을 가진다. 미국에서, 미국 식품 의약국(Food and Drug Administration)(FDA)에 의해 허가된 9 개의 모든 조영제가 Gd-기반(Gd-based)이다. 가돌리늄은 T₁-강조 이미지(T₁-weighted image)에서, 국부적으로 증가된 MRI 신호를 초래하는 강한 상자성을 갖는다. 하지만, Gd-기반의 조영제는 피부, 관절, 눈 및 내장 기관의 광범위한 섬유화를 수반하는 중후군인 신원성 전신 섬유증(nephrogenic systemic fibrosis)(NSF)이라는 드물지만 심각한 소모성 질환(debilitating condition)을 유발할 수 있다. 세계 보건 기구(World Health Organization)(WHO) 및 FDA는 신부전(renal insufficiency/failure)이 있는 환자에 대한 이러한 가돌리늄 제(Gd agent) 사용의 제한을 발표하였으며, FDA는 Gd를 함유하는 모든 시판 조영제에 대하여 블랙박스("black box") 경고를 요구하였다. 결과적으로, 미국에서 수백만명, 및 전세계적으로 훨씬 많은 환자가 MRI용 조영 물질을 더 이상 사용할 수 없게 되어, 여러 질병의 검

출(detection) 및 규명(characterization)이 심각하게 제한되고 있다. 또한, 2015년에 FDA는 가돌리늄이 콩팥 기능이 정상인 개체에서도, 뇌에 잔류할 수 있음을 나타내는 인간 및 동물에 대한 최근의 연구 때문에 FDA가 가돌리늄 기반의 MRI용 조영제의 반복된 사용에 따른 뇌 침착(brain deposit)의 위험을 조사하고 있음을 나타내는 약물 안전 커뮤니케이션(drug safety communication)을 발행하였다.

[0007] 연구용으로 또는 "오프라벨(off-label)"로도 더 드물게 사용되는 기타 상자성 착물은 대개 정맥 내 철 대체 요법(예를 들어, FERAHEME® (ferumoxytol) 주사제)으로 개발되어 판매되는 대형 산화철 계 나노입자(large iron oxide-based nanoparticle)를 기반으로 한다. 하지만, 이들의 큰 분자 크기로 인해, 이러한 조영제는 세망내피계(reticuloendothelial system)(즉, 대식 세포, 간, 비장)에 의하여 최종적으로 제거될 때까지 개체의 혈액 풀(blood pool)에 갇히게 되므로, 이러한 착물을 MRI에 사용하는 것은 제한된다.

[0008] Van Zijl 등의 미국 특허 출원 공개 제2014/0154185호는 MRI 증강을 위한 비경구 글루코오스의 용도를 검토한다. 또한, Yadav NN, XuJ, Bar-Shir A, Qin Q, Chan KW, Grgac K, Li W, McMahon MT, van Zijl PC, Natural D-glucose as a biodegradable MRI contrast agent for detecting cancer. Magn Reson Med. 2012 Dec;68(6):1764-73; Yadav NN, XuJ, Bar-Shir A, Qin Q, Chan KW, Grgac K, Li W, McMahon MT, van Zijl PC, Natural D-glucose as a biodegradable MRI relaxation agent. Magn Reson Med. 2014 Sept;72(3):823-28.을 참조한다.

[0009] MRI 스캐닝(scanning) 기술에 유용한 대체/추가 조영제 조성물에 대한 요구가 남아있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0010] **발명의 요약**

[0011] 방사능, 또는 화학적 표지의 필요 없이, 인간 및 비-인간 조직 내의 관류, 신진대사, 및 산화 스트레스의 검출(detection) 및 규명(characterization)을 위한 조영제로서, 아스코르브산염(비타민 C)을 포함하는 자기 공명 이미징(magnetic resonance imaging)(MRI)의 수행에 유용한 조성물이 제공된다.

[0012] 일부 구체예에서, MRI 조영제로 사용하기에 적합할 수 있는 평균 수성 조성물이 제공되고, 상기 조성물은 아스코르브산염 100-600 mM; 및 나트륨, 메글루민, 또는 이들의 조합 100-600 mM (예를 들어, 아스코르브산 메글루민, 아스코르브산 나트륨, 또는 이들의 조합)(예를 들어, 아스코르브산염 100-300 mM)을 포함한다(예를 들어, 상기 조성물은 아스코르브산 메글루민과 아스코르브산 나트륨을 10:90, 20:80, 30:70, 또는 40:60 내지 최대 90:10, 80:20, 70:30, 또는 60:40(아스코르브산 메글루민:아스코르브산 나트륨)의 몰비 또는 밀리몰비로 포함한다).

[0013] 일부 구체예에서, 상기 조성물은 200-1400 mOsm/L(예를 들어, 200-1200 mOsm/L)의 오스몰 농도를 갖는다.

[0014] 일부 구체예에서, 상기 조성물은 탄산염 및/또는 인산염을 더 포함한다.

[0015] 일부 구체예에서, 상기 조성물은 환원당 및/또는 비환원당을 더 포함한다.

[0016] 일부 구체예에서, 상기 조성물은 안정화제(stability agent)(예를 들어, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA)과 같은 킬레이터)를 더 포함한다.

[0017] 일부 구체예에서, 상기 조성물은 단위 투여 제형(unit dosage form)으로 제공된다.

[0018] 일부 구체예에서, 아스코르브산염; 나트륨, 메글루민, 또는 이들의 조합(예를 들어, 아스코르브산 나트륨, 아스코르브산 메글루민, 또는 이들의 조합); 선택적으로, 탄산염 및/또는 인산염; 및 선택적으로, 환원당 또는 비환원당을 포함하는 분말 조성물이 또한 제공된다. 일부 구체예에서, 상기 조성물은 단위 투여 제형이다. 일부 구체예에서, 상기 분말 조성물은 평균 액상 담체(예를 들어, 물, 생리식염수, 유산화 링거(lactated Ringer), 또는 비경구 약물 전달에 적합한 기타 수용성 운반체)의 첨가 시, 개체 내의 기관 또는 기관 영역과 같은 신체 또는 신체 영역의 자기 공명 이미징(MRI) 이미지(image)를 증강하는데 사용하기에 적합하다.

[0019] 비경구 투여 시, 시간-의존성 자기 공명(MR) 신호 변화가 아스코르브산염이 흡수 및/또는 통과되는 조직 및/또

는 체액(fluid)에서 검출된다. 이러한 MRI 신호 변화는 통상적인 스핀 에코(spin echo) 또는 구배 에코-기반 (gradient echo-based) T₂-강조 MRI 시퀀스(sequence)를 사용하여, 검출 가능하고, T₂ 매핑(mapping)으로 정량화할 수 있다. 이외에도, 스핀-스핀 이완(spin-spin relaxation)에 민감한, 덜 일반적인 획득 기법이 MR 신호를 코딩(encode)하기 위해 또한 사용될 수 있다.

[0020] 개체 내의 기관 또는 기관 영역과 같은 신체 또는 신체 영역의 MRI 이미지를 증강하는 방법이 또한 제공되고, 상기 방법은 비경구 아스코르브산염 제제를 상기 개체에 MRI 이미지-증강량(MRI image-enhancing amount)으로 비경구로(예를 들어, 정맥 내, 복강 내, 동맥 내, 골 내, 또는 경막 내 투여) 투여하는 단계; 및 그 후, 상기 개체의 MRI에 의하여, 상기 신체 또는 신체 영역의 이미지를 생성하는 단계를 포함하고, 상기 아스코르브산염 또는 그의 약제학적으로 허용 가능한(pharmaceutically acceptable) 염이 MRI 이미지를 증강시킨다.

[0021] 일부 구체예에서, 상기 MRI 이미지는 비경구 아스코르브산염 제제를 비경구 투여하는 동안, 또는 최대 5, 10, 30, 40, 60, 90, 또는 120분 후, 또는 최대 1, 2, 3, 또는 4시간 후에 생성된다.

[0022] 본 명세서에 교시된 방법을 수행하기 위한, 또는 본 명세서에 교시된 방법을 수행하기 위한 약제(medicament) 또는 이미징제의 제조를 위한 본 명세서에 교시된 아스코르브산염 제제의 용도가 더 제공된다.

[0023] 본 발명은 아래에 기재된 도면 및 명세서에서 보다 자세하게 설명된다. 본 명세서에서 인용된 모든 미국 특허 문헌에 개시된 내용은 그 전체가 참조에 의해 본 명세서에 포함된다.

도면의 간단한 설명

[0024] **도 1. 아스코르브산염 및 아스코르브산염 라디칼의 불균화(dismutation).** A, 아스코르브산염은 이산성(di-acid)이지만, 7.4의 생리적 pH에서는, 아스코르브산염의 99%가 그의 단일 음이온(mono anion)(Asc⁻)으로 존재한다. 아스코르브산염 라디칼(Asc[•])은 산화 및 환원된 형태의 아스코르브산염과 평형 상태로(또한, 훨씬 낮은 농도로도) 존재한다. B, Asc⁻의 불균화가, NMR 시간 규모(timescale) 상의 "중간(intermediate)" 양성자 교환 속도에 속하는 속도 상수(k_{obs})에 의한, 그의 변형의 주된 경로이다. 이러한 속도 상수는 인산염과 같은 양성자 교환 촉매의 존재 하에서 10 배(a factor of 10) 정도 증가할 수 있다(Bors W, BuettnerGR. (1997) The vitamin C radical and its reactions in *Vitamin C in Health and Disease*, ed. by L. Packer and J. Fuchs, Marcel Dekker, Inc., New York, Chapter 4, pp75-94).

도 2. 당, 당 알코올, 및 아스코르브산염의 T₂ 이완도(r₂ = mM⁻¹sec⁻¹). 비교는 단당류 및 이당류 모두를 포함한다. 본문에서 논의되는 바와 같이, 유사한 모이어티(moiety)의 자가 결합(self-association) 및 감소된 양성자 교환에 부차적인 것으로 여겨지는, 보다 높은 농도에서의 감소되는 콘트라스트 효과에 주목한다.

도 3a 및 도 3b. 아스코르브산염 스핀-스핀 이완(T₂-강조) MRI 콘트라스트의 인 비트로(in vitro)("팬텀(phantom)") 실험. **도 3a의 A**는 5개의 팬텀에서의 점진적인 아스코르브산염 증가에 따른 정량적 T₂ 매핑(T₂ mapping)을 보여준다. 통계적으로 유의한 "음의 T₂ 콘트라스트(negative contrast)"(신호 손실(signal loss))가 기존의 고속 스핀 에코(fast spin echo)(FSE) 득(acquisition)에 의한 대조군(인산염-완충 식염수)(phosphate-buffered saline)에 비해 1-5mM로 낮은 것으로 보여진다. 따라서, 민감도는 높은 흡수 조직 중 아스코르브산염의 약리학적 용량의 투여(예를 들어, 종양 및 뇌, 10-30 mM) 후 예상되는 조직/세포 농도의 하한(lower end)에 있다. 이 결과는 또한 조직 산화 기질 또는 생리학적 교환 촉매(physiological)로부터의 어떠한 상승 효과(synergistic effects)도 고려하지 않는다. **도 3b의 B**는 H₂O₂의 아스코르브산염 T₂ 증강(enhancement)에 대한 상승 효과를 나타낸다. 비경구 아스코르브산염 투여 후 인 비트로(in vivo), 뇌 및 종양에서 100-200 마이크로몰까지 증가하는, H₂O₂는 아스코르브산으로부터의 T₂ 콘트라스트 효과에 현저한 상승을 일으킨다. 상승 효과는 도시된 바와 같이 팬텀 내에서 30분에 걸쳐 시간 경과에 따라 천천히 감소하지만, 아스코르브산염 투여 후에 H₂O₂가 생성되는 한 인 비트로에서 지속될 것이다. **도 3a의 C**는 중성/생리적 pH(7.0-7.4)에서 최대화되는 아스코르브산염의 T₂ 효과에 대한 pH의 영향을 나타낸다. 이러한 결과는 평형 상태에서 아스코르브산염의 그의 라디칼과 산화된 형태와의 불균화 반응의 반응 속도론(rate kinetics)에 대한 이전의 연구(도 1)와 일치한다. **도 3b의 D**는 아스코르브산염이 여러 FDA-허가 약제 및 콘트라스트 제제에서 부형제로서 일반적으로 이용되는 소르비톨(sorbital)의 아민 당 유도체인 메글루민(N-methyl-D-glucamine)에 의해 염화(salified, salted)되는 경우의

뚜렷한 상승 효과를 나타낸다.

도 4. 나트륨 또는 메글루민 염으로서의 아스코르브산염의 비교. 용액들은 $PO_4(2mM)$ 및 $HCO_3^-(25mM)$ 완충액의 생리적 농도로 제조하였다.

도 5. 아스코르브산 나트륨 + 생리적 교환 촉매. 각각의 용액은 탈이온수에서 중성(pH = 7.0)으로 설정되었다. 생리적 교환 촉매의 농도는 혈청(serum) 및 세포외 공간(extracellular space) 중 **인 비보**와 같다: $PO_4 = 2mM$, 글루코오스 = 5mM, 및 $HCO_3^- = 25mM$.

도 6. 아스코르브산 나트륨/메글루민과 글루코오스 간의 교환 상승작용. 용액들은 교환 촉매로서도 기여하는 $PO_4(2mM)$ 및 $HCO_3^-(25mM)$ 생리적 완충액의 설정에서 비교된다.

도 7. 아스코르브산 나트륨/메글루민(Na Asc/Meglumine)과 당 알코올, 단당류, 및 이당류의 교환 상승작용. 모든 용액은 2mM PO_4 및 25mM HCO_3^- 의 공존(co-presence) 하에 제조한다.

도 8. 아스코르브산 나트륨/메글루민과 당 알코올, 단당류, 및 이당류의 교환 상승작용에 대한, 대조군 불포함 재조정(rescaled) 데이터. 모든 용액들은 2mM PO_4 및 25mM HCO_3^- 로 제조한다.

도 9a 및 도 9b. 고용량(high-dose) 비경구 아스코르브산염 투여(2g/kg, 우측 내경정맥(right IJ) 정맥 내 주사) 후의 인 비보 아스코르브산염 T2 콘트라스트 변화. **도 9a**는 정상 C57 블랙 마우스(C57 black mouse)의 중뇌를 통과한 종래의 단일 슬라이스 축 방향(axial) FSE T2WI 이미지를 나타내고, 우측 두개의 이미지는 정맥 내 아스코르브산염 투여 동안 및 후에 콘트라스트 변화의 '초회 통과(first pass)' 추출을 나타낸다. 뇌 조직 내의 T2 신호는 아스코르브산염 투여 직후, 및 10 분 후에 수득하고, 그 후, 아스코르브산염 투여 전에 수득된 뇌 T2 신호로부터 차감된다(subtracted). 아스코르브산염은 신호 강도의 감소를 초래하기 때문에, 보다 높은 신호의 투여 전 스캔(pre-dose scan)으로부터의 차감은 뇌 조직을 통한 통과(flow-through) 관류(혈류)의 순 양성 '맵'(net positive 'map')을 초래한다. 10분차에, 관류 효과는 거의 해소되었고, 조직 흡수와 관련된 초기 신호 강도 변화들이 관찰되기 시작한다. **도 9b**는 고-용량(high-dose) 아스코르브산염의 조직 흡수에 의한 신호 변화를 나타낸다. 신호 강도의 색-류트 맵(color-lute map)은 투여-전(pre-dose) 스캔에서 차감되지 않고, 따라서 정상 C57 마우스(mice)에서는 30-60 분 사이에 최대화되는 시간 경과에 따른 T2 신호의 예상된 감소를 나타낸다.

도 10. 신피질 확산 억제(neocortical spreading depression)(SD)의 설치류 모델 아스코르브산염 T2 증강. 예시된 실험에서, 하단 열의 이미지는 인접하는 두정 피질 내부로 국부적으로 확산되는, 고농도의 염화칼륨에 적셔진 젤폼(gelfoam)을 이용한 소규모 두개골 절제(tiny crainectomy)(붉은색 화살표)를 나타낸다. 두개골 절제 부는 밑에 있는 뇌(underlying brain)의 뒷부분 3 분의 1을 나타내는 두개골 기준점(skull landmark)인 정수리점(bregma)보다 1 mm 뒤에 있다. 상단 두개의 열은 정수리점 보다 3 및 4 mm 앞에 있는, 즉 SD 유도 부위에서 멀리 떨어져 있는, 설치류 뇌내 신호 변화의 T2 이미지 및 정량적 색 류트 T2 맵(color lute T2 map)을 나타낸다. 전방 슬라이스(anterior slice)에서의 T2 신호 변화는 좌측 대비 우측 대뇌피질 내의 명백한 T2 비대칭을 나타낸다(다시, SD는 우측 반구에 국한된다). 이와 같은 현저한 피질 신호 변화는 ^{18}F -FDG PET, 및 직접적인 미세투석법(direct microdialysis)과 신진대사 측정(metabolomic determinations)에서도 관찰되는 것과 같이, SD에서 일어나는 공지된 대사항진 활동(hypermetabolic activity)과 일치한다. 주목할 것은, KCl 주입 부위에 국부화된 부종(증가된 유리 수)과 일치하게, 상반되는 관찰(T2 신호의 초점적인 증가)이 두개골 절제 부위 자체 하에서 직접적으로 보여진다는 것(세번째 열)이다.

도 11a-11b. 비경구 아스코르브산염을 이용한 관류 및 생존력 심장 이미징. **도 11a**는 7T에서의 랫트(rat) 심장 이미징을 위한 관상 및 축방향(coronal and axial)의 2 개의 주 이미징 평면(primary imaging plane)을 도시한다. **도 11b**는 정맥 내 아스코르브산염 주사의 초기 블루스에 의한 좌심실 전체(throughout the left ventricle)의 T2 신호 강도의 일시적인 감소를 보여준다.

도 12a 내지 도 12c. 3 개의 상이한 아스코르브산염 제제의 정맥 내 투여 후 기니어 피그 중 T2 콘트라스트 변화. **도 12a**는 아스코르브산염의 느린 주입 전 및 60 분 후 고속 스핀 에코(fast spin echo)(FSE) T2 이미지가 뇌 실질(parenchyma) 전체의 급격한 신호 강도 차이를 보여준다. **도 12b-c** 및 **도 12c**는 3 개의 상이한 아스코르

브산염 제제의 투여 후에 정규화된 신호 강도 변화 및 정량적 이완도 측정이 기니아 피그 대뇌피질 (guineacerebral cortex)(Cx) 및 기저핵(basal ganglia)(BG) 모두에 대해 표시된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025]

바람직한 구체예의 상세한 설명

[0026]

이하에서, 본 발명은 본 발명의 구체예가 표시된 첨부 도면을 참조하여 더욱 상세하게 설명된다. 다만, 본 발명은 다른 형태로 구현될 수 있으며, 본 명세서에 기재된 구체예들로 한정되는 것으로 해석되어서는 안되고; 오히려 이러한 구체예들은 본 개시가 빈틈없고 완전하게 하고, 본 발명의 범위가 당업자에게 완전히 전달되도록 제공된다.

[0027]

본 명세서에서 사용된, 단수 형태("a", "an", 및 "the")는, 그 문맥이 명백하게 달리 나타내지 않는 한, 복수의 형태도 포함하는 것으로 의도된다. 용어 "포함하다(comprises)" 또는 "포함하는(comprising)"은 명시된 특징, 정수, 단계, 작업, 요소, 성분 및/또는 이들의 군 또는 조합의 존재를 특정하나, 하나 이상의 다른 특징, 정수, 단계, 작업, 요소, 성분 및/또는 이들의 군 또는 조합의 존재 또는 부가를 배제하지 않는 것으로 더 이해될 것이다.

[0028]

본 명세서에서 사용된 용어 "및/또는(and/or)"은 관련된 열거 항목, 모든 가능한 조합 또는 그 중 하나 이상, 및 대안적으로("또는") 해석될 때 조합의 부재도 또한 포함한다.

[0029]

다르게 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 용어(기술적 및 과학적 용어를 포함)는 본 발명이 속하는 기술분야에서 당업자에게 일반적으로 이해되는 것과 같은 의미를 갖는다. 또한, 용어들, 예를 들면, 통상적으로 사용되는 사전에서 정의된 용어들은, 본 명세서 및 청구항의 문맥에 따른 의미와 일치하는 의미를 갖는 것으로 해석되어야 하고, 본 명세서에서 명시적으로 정의하지 않으면, 이상적이거나 지나치게 형식적인 의미로 해석되어서는 안된다고 더 이해될 것이다.

[0030]

아스코르브산염. 아스코르브산염("아스코르브산(ascorbic acid)", "L-아스코르브산(L-ascorbic acid)" 또는 "비타민 C(Vitamin C)"로도 알려짐)은 여러 콜라겐 합성 반응을 포함하는, 8개 이상의 효소 반응에서, 기능 이상(dysfunctional)일 때, 가장 뚜렷한 괴혈병 증상을 초래하는, 항산화제 및 보조 인자(co-factor)로서 중요한 성질을 갖는, 천연 유기 화합물이자 필수 영양소이다. 대부분의 포유류들은, 효소 L-글로노락톤 옥시다아제(L-gulonolactone oxidase)가 글루코오스를 아스코르브산으로 전환하는, 간에서, 아스코르브산을 만든다. 하지만, 인간, 고등 영장류(higher primates), 기니아 피그 및 대부분의 박쥐에서는, 돌연변이가 L-글로노락톤 옥시다아제의 저발현 또는 부재를 초래하여, 아스코르브산염이 반드시 식이(diet)를 통해 섭취되어야 한다(Lachapelle, M. Y.; Drouin, G. (2010). "Inactivation dates of the human and guinea pig vitamin C genes". *Genetica* **139** (2): 199-207). 모든 동물 중에서, L-아스코르브산/아스코르브산염은 가장 풍부한 세포 내 항산화제이고, 종양, 뇌세포, 및 일부 기타 조직에서 세포 내 농도가 10-30mM에 도달할 수 있다. 혈장 내 비타민 C 농도(level)의 100배 넘게 축적하는 조직은 부신, 뇌하수체, 가슴샘, 황체, 및 망막을 포함한다. 그 농도의 10 내지 50배의 농도를 갖는 조직은 뇌, 비장, 폐, 고환, 림프절, 간, 갑상샘, 소장 점막, 백혈구, 췌장, 신장, 및 침샘을 포함한다(Hediger MA (May 2002). "New view at C". *Nat. Med.* **8** (5): 445-6).

[0031]

과다 복용된 비타민 C는 흡수되지 못하고, 혈액 중 과량은 소변을 통하여 빠르게 배설된다. 비타민 C는 현저하게 낮은 독성을 보이고, 랫트에서 LD₅₀은 일반적으로 체중 킬로그램 당 ~11.9 그램으로 허용된다. 이러한 용량(체중의 1.2%, 또는 70kg 인간의 경우 0.84kg)에 따른 사망 기작(mechanism)은 알려져있지 않지만, 화학적 보다는 기계적(mechanical)일 것이다("Safety (MSDS) data for ascorbic acid". Oxford University. October 9, 2005. Retrieved February 21, 2007). 우발적이거나 의도적인 중독 사망 데이터가 없다는 점을 감안할 때, 인간의 LD₅₀은 불확실하다. 따라서, 랫트의 LD₅₀이 인간 독성에 대한 가이드로 이용된다.

[0032]

생리학적 pH에서, 99%의 아스코르브산염이 단일 음이온(mono anion)으로서 존재한다(도 1의 A). 비타민 C의 화학적 특성 및 이에 따른 이미징 특성은 이 모이어티(moiety)에 의해 지배된다. 도너 항산화제(donor antioxidant)로서, 이 단일 음이온은 공명-안정화된 트리카르보닐 아스코르브산염 자유 라디칼(Asc⁻)(도 1의 B)을 생성하기 위해서 수소 원자(H 또는 H⁺ e⁻)를 산화 라디칼에 제공한다. Asc⁻를 환원 또는 산화된 아스코르브산염으로 복귀시키는 Asc⁻의 불균화(dismutation) 반응(도 1의 C)은 인 비트로 제거의 주요 경로이다. 이 과정은 아스코르브산염 재생을 돕는 효소에 의해 인 비트로에서 보완된다(May JM, QuZC, Neel DR, Li X (May 2003)

"Recycling of vitamin C from its oxidized forms by human endothelial cells". *Biochim. Biophys. Acta* **1640** (2-3): 153-61). 라디칼의 아스코르브산염 또는 무수화아스코르브산염(dehydroascorbate)으로의 불균화는 전자 전달체 또는 더욱 전형적인 양이온으로서 작용하는, 수소의 소실 또는 획득을 통하여 발생한다. 또한, 아스코르브산 라디칼(ascorbic radical) 불균화의 반응속도 상수(rate constant)는 10^5 - 10^6 M⁻¹s⁻¹로, 불균화를 동반하는 수소 교환이 동일한 속도로 일어난다. NMR 시간 규모 상에서, 이러한 "중간(intermediate)" 교환 속도는 ¹H 스핀-스핀 이완을 변화시키기에 최적이다.

- [0033] **아스코르브산염의 비경구 제제.** 비경구 투여를 위한 아스코르브산염은 비경구 투여에 적합한 제제로서, 약제학적으로 허용 가능한 담체(예를 들어, 멸균수; 내독소-제거수(endotoxin-free water); 발열원-제거수(pyrogen-free water); 멸균, 내독소-제거 또는 발열원-제거 식염수 등)로 제공될 수 있다. 본 명세서에서 사용된 용어 "약제학적으로 허용 가능한(pharmaceutically acceptable)"은, 질병의 중증도(severity) 및 치료의 필요성에 비추어 과도하게 해로운 부작용 없이 화합물 또는 조성물이 본 명세서에 설명된 치료들을 달성하기 위해 개체에 투여하기에 적합하다는 것을 의미한다.
- [0034] 이러한 제제들은 단위-투여량(unit/dose) 또는 복수-투여량(multi-dose) 용기, 예를 들어 밀봉된 앰플(ampoule) 및 바이알(vial)로 제공될 수 있고, 사용하기 직전에, 멸균 액상 담체, 예를 들어, 식염수 또는 주사용수(water-for-injection의 첨가만 요구되는, 건조/분말화/동결-건조(동결건조) 상태로 보관될 수 있다. 즉석(extemporaneous) 주사 용액 및 현탁액은 멸균 분말, 과립, 및 정제(tablet)로부터 제조될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 일 양태에서, 밀봉된 용기에 담긴 단위 투여 제형의 아스코르브산염을 포함하는 주사 가능하고, 안정한, 멸균 조성물이 제공된다. 아스코르브산염은 개체로 주사하기에 적합한 액체 조성물을 형성하기 위하여, 약제학적으로 허용 가능한 담체를 이용하여 재구성(reconstitute)가능한 동결 건조된 형태로 제공될 수 있다.
- [0035] 적합한 제제의 예는, 아스코르브산 또는 그의 염(예를 들어, 나트륨 염, 메글루민(N-메틸-D-글루카민, N-methyl-D-glucamine) 염, 이들의 조합 등)을 10, 20, 30, 40, 또는 50, 내지 80, 90, 100, 150 또는 200 mg/mL 함유하는, 주사용수 중 아스코르브산의 멸균 수용액을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 일부 구체예에서, 제제는 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 또는 100 mM, 내지 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 또는 800 mM의 아스코르브산 또는 그의 염(예를 들어, 나트륨 염, 메글루민(N-메틸-D-글루카민)(N-methyl-D-glucamine) 염, 이들의 조합 등)을 포함할 수 있다. 예를 들면, 제제는 100 내지 700 mM, 또는 200 내지 650 mM, 또는 300 내지 600 mM, 또는 400 내지 550 mM의 아스코르브산염 또는 그의 염을 포함할 수 있다. 아스코르브산염의 농도는 투여의 경로(예를 들어, 정맥 내 투여 대 국부적 신체 영역 또는 구획으로의 직접 투여)에 의존하여 필요에 따라 조절될 수 있다.
- [0036] 일부 구체예에서, pH는 약 7(예를 들어, 6.5 내지 7.5의 pH)(예를 들어, 중탄산 나트륨 및/또는 수산화나트륨을 이용하여)로 조절될 수 있다.
- [0037] 비경구 투여에 적합한 제제는 안정화제를 포함할 수 있다. 예시적 안정화제는 EDTA(예를 들어, EDTA 이나트륨)와 같은 킬레이터를 포함한다. 제제는 이탄산염(HCO₃⁻) 및/또는 인산염(PO₄)과 같은 pH 완충제(buffer)를 또한 포함할 수 있다.
- [0038] 일부 구체예에 따른 제제는 환원당 또는 비환원당과 같은 당을 포함할 수 있다. "환원당(reducing sugar)"은 모든 단당류 및 일부 이당류, 올리고당류, 및 다당류를 포함하는, 자유 알데히드기 또는 자유 케톤기를 갖는 개방 사슬 당(open-chain sugar)이다. 환원당의 예는, 글루코오스, 갈락토오스, 글리세르알데히드, 프럭토오스, 리보오스, 크실로오스, 락토오스, 말토오스, 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. "비환원당(non-reducing sugar)"은 자유 알데히드기 또는 자유 케톤기가 없는 당이다. 비환원당의 예는 수크로오스, 트리할로오스, 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0039] 본 명세서에 교시된 아스코르브산염 제제에서 사용될 수 있는, 스핀-스핀 교환 촉매(spin-spin exchange catalyst)는 메글루민(N-메틸-D-글루카민), 환원당(예를 들어, 글루코오스, 갈락토오스, 글리세르알데히드, 프럭토오스, 리보오스, 크실로오스, 락토오스, 말토오스, 이들의 조합 등), 및 비환원당(예를 들어, 수크로오스, 트리할로오스, 이들의 조합 등)을 포함할 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0040] 비경구 투여에 적합한 제제는 200 내지 1200 또는 1400 mOsm/L 범위의 오스몰 농도를 가질 수 있다. 일부 구체예에서, 제제는 200, 300, 400, 500 또는 600 내지 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 또는 1400 mOsm/L의 오스몰 농도를 가질 수 있다.

- [0041] 일부 구체예에서, 제제는 정맥 또는 동맥으로의 주사 및/또는 기관 또는 기관 영역과 같은 신체 영역으로의 주사에 적합하다. 일부 구체예에서, 제제는 정맥 내 주입에 적합하다. 일부 구체예에서, 제제는 동맥 내 주입에 적합하다. 일부 구체예에서, 제제는 경막 내 주입에 적합하다.
- [0042] 일부 구체예에서, 제제는 산소가 제거된 것(de-oxygenated)일 수 있다. 수성 조성물의 산소 제거 방법, 예를 들어, 질소와 같은 비활성 기체 하에, 또는 이로 퍼징(purge)하며 제제를 제조하는 방법이 알려져있다. 예를 들면, Bodemann의 미국 특허 출원 공개 제 2014/0048290호를 참조한다.
- [0043] 일부 구체예에서, 제제는 교환 촉매, 킬레이터, 등의 존재 또는 부재 하에, 아스코르브산 메글루민, 아스코르브산 나트륨, 또는 이들 염의 조합의 건조/분말화/동결건조된 조성물로 제공되고, 이들은 투여 직전의 현장(point of cure)에서, 멸균 수성 매질(sterile aqueous media)(예를 들어, 물, 생리 식염수, 유산화 링거(lactated Ringer), 또는 비경구 약물 전달에 적합한 기타 수용성 운반체) 중에 재구성될 수 있다. 적합한 건조 제제는 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 또는 100 그램의 아스코르브산의 염을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0044] 일부 구체예에서, 제제는 불투명 플라스틱 또는 유리 용기(예를 들어, 고밀도 폴리에틸렌 용기, 흑색 염화폴리비닐로 코팅된 플라스틱 또는 유리 용기 등), 앰버 유리(amber glass) 등과 같은 감광성 액체 조성물에 적합한 용기로 제공된다. 예를 들어, Wang 등의 미국 특허 제 8,309,191호; Miyake 등의 미국 출원 공개 제 2004/004820호를 참조한다.
- [0045] 일부 구체예에서, 제제는 MRI 이미지를 위한 비경구 투여에 적합한 단위 투여 제형(unit dosage form)으로 제공된다. 비한정적인 예로서, 정맥 내 투여에 적합한 단위 투여 제형은: 1) 0.25 g/min, 최대 60 분, 최대 15 그램; 2) 0.5 g/min, 최대 60 분, 최대 30 그램; 3) 1.0 g/min, 최대 60 분, 최대 60 그램; 또는 4) 1.5 g/min, 최대 60 분, 최대 90 그램이다.
- [0046] **사용 방법.** 앞에서 언급한 바와 같이, 본 명세서에 교시된 비경구 아스코르브산염 조성물은 인간 및 비-인간 조직에서, 방사능, 또는 화학적 표지의 필요 없이, 관류, 신진대사, 및/또는 산화 스트레스의 검출 및 규명을 위한 조영제를 제공하여 자기 공명 이미징(MRI)에 유용하다.
- [0047] 아스코르브산염은 특히, 스핀-스핀 교환 촉매(예를 들어, 단순 당(simple sugar), 당 알코올, 또는 아미노산)가 존재하는 경우, 및 그와 공동-제제화(co-formulated)되는 경우, 금속(예를 들어, 가돌리늄 또는 철) 기반의 조영 물질 또는 전리 방사선 중 어떤 것의 사용도 요구되지 않는, 안전하고, 생분해성인 MRI 조영제이다. 이러한 기법은 조직 관류의 평가 및 ¹⁸F-FDG PET에 유사한 조직 생존력(tissue viability) 및 대사의 고해상도 분자 규명(characterization)이 가능하게 한다. 후자는 아스코르브산염의 ¹⁸F-FDG를 흡수하는 동일한 글루코오스 수송 메커니즘(즉, GLUT 1 및 3 수송체)을 통한 세포 안으로의 (무수화아스코르브산염을 통한) 아스코르브산염의 흡수에 의해 가능하다(Rumsey SC, Kwon O, XuGW, BurantCF, Simpson I, Levine M (July 1997). "Glucose transporter isoforms GLUT1 and GLUT3 transport dehydroascorbic acid". *J. Biol. Chem.* **272** (30): 18982-9).
- [0048] 본 명세서에서 사용된 "비경구 투여(parenteral administration)"는 정맥 내, 피하(subcutaneous), 근육 내, 복강 내, 동맥 내, 골 내, 경막 내 또는 심실 내 투여, 예를 들어, 주사(injection) 또는 주입(infusion)을 통한 투여를 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 비한정적인 예로서, 복강 내 또는 다른 비경구 투여는, 개체에 정맥 내 접근이 곤란한 경우(예를 들어, 저혈압), 또는 그 투여 경로가 적합한 MRI 이미지를 가져오는 경우에 사용될 수 있다.
- [0049] 일부 구체예에서, 아스코르브산염 조성물을 비경구로 투여하는 동안, 또는 최대 5, 10, 30, 40, 60, 90 또는 120 분 후, 또는 최대 1, 2, 3, 또는 4 시간 후에 MRI가 수행된다.
- [0050] 본 발명으로부터 이익을 얻는 개체는, 일반적으로, 진단, 치료, 연구, 또는 수의학적 목적을 위한, 인간 개체 및 동물 개체(예를 들어, 개, 고양이, 토끼, 소, 말, 등)를 모두 포함하는, 포유류 개체이다. 개체는 수컷 또는 암컷일 수 있고, 신생아, 영아, 유년(juvenile), 소년(adolescent), 성인(adult) 및 노년(geriatric) 개체를 포함할, 모든 연령대일 수 있다.
- [0051] MRI는 알려져 있고, 상업적으로 이용 가능한 장비 및 당업계에서 알려진 기술로 수행될 수 있다. 예를 들어, S. Bushongand G. Clarke, *Magnetic Resonance Imaging: Physical and Biological Principles* (Mosby, 4th Ed.

2014)를 참조한다. 일부 구체예에서, MRI는 관류(예를 들어, 혈류) 이미징이다. 일부 구체예에서, MRI는 신진대사 이미징이다. 대사과다증(hypermotabolism) 또는 대사저하증을 나타내는 종양 또는 기능장애 조직의 식별/규명화를 포함하나 이에 한정되지 않는 신진대사 영상화는 ¹⁸F FDG PET와 유사 진단 바이오마커(diagnostic biomarker)로 사용될 수 있다.

[0052] 본 명세서에 교시된 바와 같이, MRI로 이미지화(imaged)될 수 있는 "신체 또는 신체 영역(body or body region)"은 기관, 또는 기관계(organ system), 연조직(soft tissue), 뼈, 등과 같은 개체의 신체 또는 신체의 영역, 또는 그의 부분을 포함한다. 신체 영역의 예는 두부, 경부, 흉부, 복부, 골반, 사지(limb), 근육, 지방, 기타 연조직, 뼈, 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 기관의 예는 부신, 뇌하수체, 가슴샘, 황체, 망막, 뇌, 비장, 폐, 고환, 림프절, 간, 갑상샘, 소장 점막, 백혈구, 췌장, 신장, 침샘 조직, 심장 등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0053] 본 명세서에서 사용된 MRI 이미지의 "증강(enhancing)"은 MRI 신호에서 구조, 조직 또는 체액의 콘트라스트(contrast)를 강화시키는 것에 의해 MRI 시각화를 촉진하는 것을 포함한다.

[0054] "MRI 조영제(MRI contrast agent)"는 MRI 스캔(scan) 동안 신체 내의 구조, 조직 또는 체액의 콘트라스트를 증강시킬 수 있는 물질이다. 예는 Gd(가돌리늄)-함유 조영제, 또는 망간 킬레이트와 같은 상자성(paramagnetic) 조영제 및 철 백금 입자와 같은 초상자성(superparamagnetic) 조영제를 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. Axelsson 등의 미국 특허 출원 공개 제 2014/0350193호; 및 Lin 등의 미국 특허 출원 공개 제 2014/0234210호를 참조한다.

[0055] 아스코르브산염 MRI를 위한 잠재적인 응용은 현재 의료 관행이 종종 PET 스캐닝(scanning)을 활용하지만, 대안 스캐닝 기술로서 MRI를 사용하는 방법의 개선이, 잠재적으로 추가의 임상적 이익을 산출할 여러 임상 시나리오(clinical scenario)를 포함한다. 이러한 시나리오들은, 암, 신경계 질환(예를 들어, 치매, 외상 뇌손상(TBI), 및 간질) 및 심혈관 이미징에 대한 진단 연구를 포함한다. Tc-99m-표지된 조영제(예를 들어, Tc-99m 세스타미비(sestamibi) 또는 "Cardiolite")를 사용하는 심장 연구가 Tc-99m의 예상되는 공급 축소를 고려할 때, 대체 접근법이 요구되는, 특히 주목할 만한 잠재적인 진단 응용(diagnostic application)을 나타낸다. Tc-99m 관련 조영제를 이용한 심근 관류 및 생존력 이미징이, 광범위하게 수행되는 필수적인 기술이나, 아직까지는 이러한 Tc-99m 의존성 조영제를 대체할 수 있는, 상업적으로 실행 가능한 해결책이 개발되지 않았다.

[0056] **MR 이미징 및 조영 매질(contrast media)의 임상적 응용.** 임상적 자기 공명 이미징(MRI)은 조직 내의 수분(water) 및 거대분자(macromolecule)로부터의 양성자(¹H) 핵 자기 공명(NMR) 신호의 수득을 통해 신체의 고해상도 이미지를 생성한다. "T₁-강조(T₁-weighted)" MR 이미지에서, 신호 강도는 종단(longitudinal) 이완 속도(스핀 격자 이완 속도(spin lattice relaxation rate), 1/T₁)가 증가하는 부위에서 증가한다. "T₂-강조(T₂-weighted)" MRI의 경우, 신호 강도는 횡단(transverse) 이완 속도(스핀-스핀 이완 속도, 1/T₂)가 증가할 때 감소한다. 거의 대부분의 임상적 MRI 연구에서, T₁ 강조 이미지와 T₂ 강조 이미지가 모두 통상적으로 수득된다.

[0057] 정맥 조영제들은 정상 조직 대비 질병 조직(diseased tissue)을 더 잘 표시하고, 해부학적 추사력(definition)을 향상시키며, 생리적 또는 병리적 기능의 규명을 강화하기 위한 노력의 일환으로, 1/T₁ 또는 1/T₂를 더 증가시키기 위하여, MRI 시에, 통상적으로 투여된다. 현재 허가된 거의 모든 MRI 조영제들은 란탄족 금속인 Gd의 킬레이트 기반이고, 혈관 조영술 및 관류 연구의 작은 서브세트(subset)는 신부전/신기능상실 환자에서 산화철 물질(예를 들어, Feraheme)을 오프라벨(off-label)로 수행되었다. 상업적 가돌리늄(Gd) 기반의 물질은, 콘트라스트 물질이 축적되는 경향이 있는, 질병 조직의 1/T₁을 증가시키기 위해 가장 일반적으로 사용된다.

[0058] MRI를 이용한 조직 관류(tissue perfusion) 측정에서, 가돌리늄(Gd) 기반의 조영제 또는 산화철 나노입자가 사용될 수 있고, 1/T₂ 콘트라스트 접근이 갈수록 선호되는데 불구하고, 수득(acquisition) 전략은 1/T₁ 또는 1/T₂ 콘트라스트 중 하나를 기반으로 한다. 관류 이미징은 현재 종양 공격성, 치료에 대한 종양 반응(tumor response), 및 심장, 뇌 및 기타 기관에서의 조직 생존력을 규명하기 위해서 임상적으로 이용되고 있다.

[0059] 이론에 의하여 얽매이는 것을 원하지 않지만, "T₂-강조 콘트라스트(T₂-weighted contrast)"로도 기술되는, 상자성 없는 아스코르브산염의 신호 변화의 기작(mechanism)은 용매 물 양성자들이 아스코르브산염 분자 상의 수산기 양성자(hydroxyl proton)와 교환될 때, 물 양성자(¹H) 스핀-스핀 이완 속도 1/T₂(또는 역수로서, 스핀-스핀

이완 시간, T_2)의 증강을 기반으로 한다. T_2 콘트라스트에 대한 양성자 교환의 효과는 생리적 pH에서의 아스코르브산염 라디칼의 불균화 반응에 의해 더욱 증폭된다. 아스코르브산염 산화 및 아스코르브산염 불균화는 뒤이어, 과산화수소(H_2O_2) 및/또는 수소("양성자") 교환 촉매와 같은 산화 기질의 공존(co-presence)에 의해 추진된다.

[0060] **아스코르브산염 수송 및 배설.** 아스코르브산은 체내에서 능동 수송(active transport) 및 단순 확산(simple diffusion)에 의해 흡수된다. 두개의 주요 능동 수송 경로는, 나트륨-아스코르브산염 공동-수송체(sodium-ascorbate co-transporters)(SVCTs) 및 헥소오스 수송체(GLUTs)이다. GLUT1 및 GLUT3 글루코오스 수송체는 산화된 형태인 무수아스코르브산을 수송하는 반면(Rumsey SC, Kwon O, XuGW, BurantCF, Simpson I, Levine M (July 1997). "Glucose transporter isoforms GLUT1 and GLUT3 transport dehydroascorbic acid". *J. Biol. Chem.* **272** (30): 18982-9), SVCT1 및 SVCT2는 아스코르브산염의 환원된 형태를 원형질막을 통하여 내부로 수송(import)한다(Savini I, Rossi A, Pierro C, Avigliano L, Catani MV (April 2008). "SVCT1 and SVCT2: key proteins for vitamin C uptake". *Amino Acids* **34** (3): 347-55). 무수아스코르브산의 농도는 정상 조건 하, 혈장에서 낮음에도 불구하고, 산화된 분자는 환원된 형태가 SVCT를 통하여 흡수되는 것 보다 GLUT1 및 GLUT3을 통하여 훨씬 높은 속도로 흡수된다. 아스코르브산염 농도가 약리학적으로 상승되면, 무수아스코르브산염 농도 역시 증가하여, 뇌(및 혈뇌장벽) 및 종양 세포에서와 같이 GLUT 수송체가 높은 수준(high copy)으로 존재하는 곳에서 뚜렷한 흡수를 가능하게 한다. 일단 수송되면, 무수아스코르브산은 아스코르브산염으로 빠르게 환원된다.

[0061] 신장 재흡수 역치(renal re-absorption threshold) 이상의 아스코르브산염 농도는 소변으로 자유롭게 배출되고, 약 30분의 반감기로 배설된다. 높은 식이 용량에서(인간의 경우 수백 mg/일에 해당), 신장 재흡수 역치는 남성의 경우 1.5mg/dL이고, 여성의 경우 1.3mg/dL이다(Oreopoulos DG, Lindeman RD, VanderJagt DJ, Tzamaloukas AH, Bhagavan HN, Garry PJ (October 1993) "Renal excretion of ascorbic acid: effect of age and sex". *J Am Coll Nutr* **12** (5): 537-42). 소변을 통해 직접 배설되지 않거나, 기타 신체 신진대사에 의해 파괴되지 않은 아스코르브산염은 L-아스코르브산염 옥시다아제(L-ascorbate oxidase)에 의해 산화되어 제거된다.

[0062] 아스코르브산염은 반코마이신(vancomycin)과 유사한 약물동태학적 프로파일(pharmacokinetic profile)을 갖는 것으로 이해된다. 경구 아스코르브산염의 생체 분포(biodistribution)는 엄격한 제어 하에 있으며, 일일 허용 권장량의 100 배 이상 경구 투여량에서도, 혈장 농도는 200 μ M을 거의 초과하지 않는다(Levine M, Conry-Cantilena C, Wang Y, Welch RW, Washko PW, Dhariwal KR, Park JB, Lazarev A, Graumlich JF, King J, Cantilena LR (April 1996). "Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **93** (8): 3704-9). 그러나, 정맥 내로 투여된 아스코르브산염은 이러한 엄격한 제어 시스템을 우회하여 10mM 이상의 혈장 농도가 달성될 수 있다. 10mM 보다 높은 혈장 농도는 현저하게 낮은 독성으로 인체 내에서, 최대 4시간 동안 안전하게 유지된다(Hoffer LJ., Levine M., Assouline S., Melnychuk D., Padayatty SJ., Rosadiuk K., Rousseau C., Robitaille L., and Miller WH., Jr., Phase I clinical trial of i.v. ascorbic acid in advanced malignancy. *Ann Oncol* 19: 1969-1974, 2008).

[0063] 이하, 본 발명은 하기 비한정적인 실시예에서 보다 구체적으로 설명된다.

[0064] **인 비트로 실시예**

[0065] **스핀-스핀 이완 속도, $1/T_2$ 의 아스코르브산염 증강**

[0066] 이전의 연구는 저분자량 용질 및 거대분자(macromolecule)의 이동성(mobile) 양성자와 벌크(bulk) 물 양성자의 교환에서 발생하는 T_2 -강조(T_2 -weighting)에 대한 NMR/MRI 콘트라스트 효과를 보고했다(예를 들어, $-NH_2$, $-OH$, $-SH$, $-NH$). 이와 같은 양성자 교환으로부터의 $1/T_2$ 에 대한 콘트라스트 효과가 하기와 같이 기술된다:

$$\frac{1}{T_2} = \frac{1}{T_{2a}} + f_{CR}(P_b, \delta\omega_b, k, T_{2b}, \tau)$$

[0068] 벌크(bulk) 물은 a 와 관련되고, 교환 가능한 양성자(예를 들면, 아스코르브산염 OH 작용기로부터 유래되는 양성자)는 b 와 관련된다. f_{CR} 은, Carver 및 Richards로부터 유래되고, Hill 등에 의해 정립된, 5개의 파라미터의 폐함수(closed function)이다(Carver, J. P.; Richards, R. E. J. General 2-Site Solution For Chemical Exchange Produced Dependence Of T_2 Upon Carr-Purcell Pulse Separation *J. Magn. Reson.* 1972, 6, 89- 105; Hills, B. P.; Wright, K. M.; Belton, P. S. N.M.R. studies of water proton relaxation in Sephadex bead

suspensions Mol. Phys. 1989, 67, 1309-1326). 아스코르브산염의 히드록시 양성자(hydroxyl proton)에 있어서, P_1 는 교환 가능한 양성자의 분율이고, k 는 교환 가능한 양성자와 물 양성자의 교환 속도(exchange rate)이며, $\delta\omega_b$ 는 히드록시 양성자와 벌크 물의 양성자 사이의 화학적 이동(chemical shift)이고, T_{2b} 는 히드록시 양성자의 국부적 스핀-스핀 이완 시간이다. τ 는 T_2 -강조 수득 시퀀스에서의 펄스-간 간격(inter-pulse spacing)(90° - 180°)이다.

[0069] T_2 콘트라스트 상의 양성자 교환에 영향을 주는, 필수적이거나 종종 간과되는 파라미터는 교환 촉매작용(exchange catalysis)의 역할이다(Liepinsh E and Otting, G Proton exchange rates from amino acid side chains - implications for image contrast. Magn Reson Med. 1996 35(1): 30-42). OH 또는 NH 작용기와 물 사이의 양성자 교환에 대한 반응 속도 상수 k 는 하기 식에 의해 기술될 수 있다.

[0070]
$$k = k_a[H^+] + k_b[OH^-] + \sum k_c [\text{catalyst}]^y$$

[0071] K_a , K_b , 및 K_c 는 각각 H^+ , OH^- 및 기타 교환 촉매에 의한 촉매작용에 따른 교환 반응 속도 상수를 나타낸다. 지수 y 는 주어진 교환 촉매의 메커니즘에 따라, 1 또는 2이다. 반응 속도 상수 K_a 및 K_b 는 하기에 의해 계산될 수 있다:

[0072]
$$k_{a,b} = k_D \frac{1}{1 + 10^{pK_D - pK_A}}$$

[0073] 식 중, k_D 는 양성자 공여체(donor)와 수용체(acceptor)의 확산 제어 충돌(diffusion controlled encounter)의 속도 상수($\sim 10^{10} \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$)이고, pK_D 및 pK_A 는 양성자 공여체와 수용체의 pK 값이다. $pK_{H_3O^+}$ 및 $pK_{OH^-} = 15.7$ 이나, 양성자 전달의 촉매 농도에의 비선형적 종속성(nonlinear dependence) 때문에, K_c 는 예측하기가 더 어렵다. 그럼에도 불구하고, 적어도 $pK_D - pK_A$ 의 적당한(moderate) 차이, 및 생리적 pH에서 촉매적 활성(catalytically active) 산성 또는 염기성 형태인 교환 촉매의 상당한 농도로 인하여, 중성 pH에서의 효율적 교환 촉매화가 달성된다.

[0074] 주요 화학종(primary species, H_3O^+ 및 OH^-)의 pK_A 가 15.7이기 때문에, 이와 같이 H_2O 는 높은 농도에도 불구하고, 상대적으로 부족한 양성자 공여체이고, 따라서 생리적 pH에서는 비효율적 교환 촉매이다. 반면에, 생리적 조건에서 알려진 교환 촉매는 유기 인산염, 탄산염(예를 들어, 중탄산염, HCO_3^-), 및 카르복시기 및 아미노기를 갖는 분자들을 포함한다(Liepinsh E and Otting, G Proton exchange rates from amino acid side chains - implications for image contrast. Magn Reson Med. 1996, 35(1): 30-42).

[0075] 하기에 표시된 바와 같이, 4개의 위치(position)에서 유리한 $pK_A (= 6.75)$ 및 $pK_A = 7.0$ 의 불균화(disproportionation) 반응 평형을 갖는 하나의 히드록시기를 갖는 아스코르브산은 이전에 인식되지 않았던 또 다른 강력한 촉매이다. 이와 같이, 아스코르브산염은 '자기-촉매(self-catalyze)' 및, 당 및 기타 거대분자 상의 염기성 히드록시기를 위한 양성자 교환의 효율적인 촉매로도 가능성(potential)을 갖는다.

[0076] 도 2는 pH 7에서의 탈이온수(deionized water) 중, 수개의 당, 당 알코올, 및 아스코르브산염의 순수(pure) 용액의 T_2 증강에 대한 비교를 나타낸다. 데이터는 10 및 20 mM의 용질 농도에서, 최소 6개의 다른 에코(echo) 시간으로, RARE FSE 프로토콜을 이용한, 7T에서의 정량적 T_2 맵핑(mapping)에서 제공된다. 보이는 바와 같이, T_2 이완도는 대략 각 분자 상의 OH 양성자의 함수이고, 예상되는 바와 같이 이당류는 단당류보다 비례적으로 더 큰 콘트라스트 효과를 제공한다. 순수 용액 내에서, 당의 자가-결합(self-association)과 관계될 수도 있는 현상으로서, 농도가 증가함에 따라 이완도 증강이 감소하는, 용질 농도의 비선형적 종속성(nonlinear dependence)이 주목된다. 후자는, 아스코르브산염 및 당이, 더 높은 총 용질 농도에서 함께 혼합될 때, 전체(overall) T_2 효과가 대신에 상승적으로 증강되는, 아래에 설명된 관찰에 특히 관련된다. 아스코르브산염을 단당류 또는 이당류와 혼합하는 체계는, MR 이미징에서 T_2 콘트라스트 효과를 증가시키기 위하여 두개 모두의 종을 더 높은 농도로 전

달하는 수단을 제공한다.

- [0077] **도 3a의 A**는 중성 pH, 상이한 농도에서, 순수 아스코르브산염 용액의 T₂ 효과에 대한 보다 구체적인 설명 (demonstration)을 도시한다. **도 3b의 B**는 아스코르브산염이 단지 무수아스코르브산염의 산화 및 아스코르브산염 라디칼 불균화를 추진하는 과산화 수소(H₂O₂)의 μM 농도(즉, 생리적 농도)로 존재할 때, T₂ 효과의 뚜렷한 증강을 보여준다. 비록 H₂O₂는 그 자체로 교환 촉매로서 간주되나, H₂O₂가 아스코르브산염보다 100-배 낮은 농도로 존재할 때의, 아스코르브산염-매개(ascorbate-mediated) 1/T₂ 증강에 대해 관찰된 극적인 효과는, OH 아스코르빌(ascorbyl) 양성자로부터의 직접 교환보다는 H₂O₂-주도된(H₂O₂-driven) 아스코르브산염 산화/불균화로부터의 양성자 교환이, T₂ 변화를 담당하는 중요한 기여 기작(mechanism)임을 시사한다. 양성자 교환에 대한, 무수아스코르브산염 산화/불균화로부터의 기여의 추가 증거는, 아스코르브산염-무수아스코르브산염 불균화의 반응 속도도 최고인, 중성 pH에서의 1/T₂ 증강 효과가 가장 유리하다는 것을 나타내는 **도 3a의 C**에 도시된다.
- [0078] **도 3b의 D**의 데이터는 아스코르브산염과 적절한 pK를 갖는 수용체/공여체 분자 간의 적절한 pK로 교환 촉매작용이 1/T₂ 증강 변화를 현저하게 추진할 수 있다는 첫번째 시사를 제공한다. 여기의 데이터는 아스코르브산염 용액 (10 mM)과 나트륨 염 및 메글루민(아미노당) 염을 비교한다. 여기서 T₂ 콘트라스트 효과(ms로 표시된 T₂ 이완)는 중성 pH의 물 중 메글루민 또는 아스코르브산염을 단독 대비, 메글루민 아스코르브산염이 *약 4 배 더 크다*.
- [0079] 뒤이어, 메글루민과 아스코르브산염의 획기적인 상승 효과가 이론적으로(두 모이어티가 모두 물에 반드시 용해되어야 하는 것에도 불구하고) 염화 양이온(salting cation)으로서의 아스코르브산염과의 화학적 결합에 의존적 인지 여부가 조사되었다. **도 4**는 아마도 아스코르브산염과의 교환 촉매작용에 참여하기 위하여, 메글루민의 염기성 OH 작용기 외에, 아민 작용기를 남기는 Na⁺ 양이온에 의하여 '염화 기능(salting function)'이 수행될 때 양성자 교환이 상승적이라는 것을 밝힌다. 여기서는 실험군 사이의 차이를 보다 잘 설명하기 위하여, 대조군 T₂ 이완(ms) 값(T₂ = 840 ms)은 표시되지 않는다는 것에 유의하라.
- [0080] **도 5**는 아스코르브산염으로부터의 콘트라스트 효과에 대한 다양한 생리적 교환 촉매의 영향을 살펴보는 일련의 실험으로부터 유래된 T₂ 이완 데이터를 요약한다. 10 mM의 아스코르브산염과 함께, PO₄ = 2 mM, 글루코오스 = 5 mM, 및 25 mM의 HCO₃⁻의 알려진 혈청 및 세포의 농도를 이용하여, 이러한 모이어티 각각의 T₂ 이완을 개별적으로 및 함께 조사하였다. 표시된 바와 같이, 물 중 단독, 또는 PO₄와 조합된 아스코르브산염의 T₂ 이완 효과는 보통(modest)이지만, 글루코오스 또는 HCO₃⁻의 생리적 농도의 존재 시 급격하게 증가되고, 10 mM 아스코르브산염(비경구 투여로 쉽게 및 안전하게 달성되는 혈장 농도)은 T₂ 이완의 현저한 **50% 변화**를 생성한다. *인 비보*에서 알려진 농도의 글루코오스, HCO₃⁻ 및 PO₄의 존재 시 아스코르브산염이 가장 큰 증강을 보였다. 따라서, 단순히 정맥 내로 아스코르브산염을 투여함으로써, *인 비보* 아스코르브산염의 T₂ 증강 효과는, 펜텀 연구에서 생리적 교환 촉매 존재 없이 단지 아스코르브산염 단독을 관찰한 후에 기대될 수 있는 효과보다 훨씬 클 것이다.
- [0081] 실험으로부터 또한 예측되는 것은, *인 비보*에서 정상적으로 존재하지 않는 기타 당과의 아스코르브산염의 제제가 아스코르브산염 콘트라스트 효과를 더 촉매작용할 것이라는 가능성이 있다. **도 6**은, 예를 들어, 메글루민이 당량 농도(20 mM)의 아스코르브산 나트륨 용액 및 2 mM PO₄, 25 mM HCO₃⁻의 백그라운드(background)로 첨가될 때의 추가적인 상승 효과(synergism)를 보여준다. 데이터는 글루코오스의 생리적 농도(5 mM) 존재 또는 부재 시의 비교 및 단독으로 생리적 촉매에 첨가되는 메글루민의 효과를 나타낸다. 표시된 바와 같이, 가장 큰 콘트라스트 효과는 모든 모이어티가 조합될 때에 관찰된다. 따라서, 하나의 시사점은 보다 높은 콘트라스트 효과는 상이한 교환 촉매를 조합하고, 어느 하나의 외인적으로(exogenously) 투여된 화학종의 농도를 제한함으로써 달성될 수 있다는 것이다.
- [0082] **도 7**은 아스코르브산 나트륨 및 메글루민(Na Asc/Meg)이 다른 단당류 및 이당류, 및 당 알코올과 제제될 때의 잠재적인 상승효과를 평가하는, 개념을 확장하는 데이터를 요약한다. 표시된 바와 같이, 각각의 잠재적 제제에서 콘트라스트 효과는 극적이다. **도 8**에서, 그룹 간의 콘트라스트 변화의 차이를 잘 설명하기 위한 대조군 용액(control solution)은 2 mM PO₄ 및 25 mM HCO₃⁻이다. 아스코르브산염 및 메글루민이 일반적인 이당류 수크로오스

와 조합되었을 때, 가장 강한 효과가 관찰되고, 이는 모두 안전하게 비경구 투여될 수 있는 모이어티만을 사용하는 MRI를 위한 유망한 후보 제제(즉, 아스코르브산염/ 메글루민/ 수크로오스)를 제시한다.

[0083] **인 비보 실시예 1**

[0084] **정상 뇌 관류 및 신진대사 변화**

[0085] **도 9a 및 도 9b. 고용량 비경구 아스코르브산염 투여 후 인 비보 아스코르브산염 T2 콘트라스트 변화(2kg/kg, 우측 내경정맥, 정맥 내 주사).** 도 9a는 정상 C57 블랙 마우스(C57 black mouse)의 중뇌를 통과한 종래의 단일 슬라이스 축 방향(axial) FSE T2WI 이미지를 나타내고, 우측 두개의 이미지는 정맥 내 아스코르브산염 투여 동안 및 후에 콘트라스트 변화의 '초회 통과(first pass)' 추출을 나타낸다. 뇌 조직 내의 T2 신호는 아스코르브산염 투여 직후, 및 10 분 후에 얻고, 그 후, 아스코르브산염 투여 전에 획득된 T2 뇌 신호에서 차감된다. 아스코르브산염은 신호 강도의 감소를 초래하기 때문에, 보다 높은 신호의 투여 전 스캔(pre-dose scan)으로부터의 차감은 뇌 조직을 통한 통과(flow-through) 관류(혈류)의 순 양성 '맵'(net positive 'map')을 가져온다. 10분 차에, 관류 효과는 거의 해결되었고, 조직 흡수와 관련된 초기 신호 강도 변화들이 관찰되기 시작한다. 도 9b는 고용량 아스코르브산염의 조직 흡수에 의한 신호 변화를 나타낸다. 신호 강도의 색-류트 맵(color-lute map)은 투여 전 스캔에서 차감되지 않고, 따라서 정상 C57 마우스에서는 30-60분 사이에 최대화되는 시간 경과에 따른 T2 신호의 예상된 감소를 나타낸다.

[0086] **인 비보 실시예 2**

[0087] **신피질 확산 억제와 관련된**

[0088] **초점 뇌성 대사과다증(Focal cerebral hypermetabolism)**

[0089] **도 10. 신피질 확산 억제(neocortical spreading depression)(SD)의 설치류 모델 아스코르브산염 T2 증강.** 확산 억제(SD)는, 최초로 Loao에 의하여 60년 전에 기술된, 실험적으로 재현될 수 있는 CNS(Central Nervous System) 조직의 병리 생리적(pathophysiological) 현상이다. 피질의 초점 영역이 이온성 교란(perturbation)의 입계 역치에 도달한 후에, 세포 탈분극의 방대한 확산파가 개시되고, 회색질 조직을 통해 퍼질 수 있지만 이것이 유도된 곳인 회색질 영역에 한정되고 남아, 백색질 경로를 지나지 않는다. 만약 유도 기작(예를 들어, 적용된 염화 칼륨의 국부적 고농도)이 같은 영역에서 연속적인 경우, 이러한 확산 억제(SD)의 파장은 8-10분 마다 재발되고, 2-3 시간 동안 지속될 것이다. 뇌 신진대사의 뚜렷한 변화는 확산 억제를 동반하고, SD 후에 조직학적으로 검출 가능한 신경세포성 손상이 없으므로, 이러한 대사 변화는 간질성 초점(epileptogenic foci)과 같은 비허혈성(non-ischemic), 과흥분성 뇌 조직에서의 신진대사 플럭스(flux)와 유사(parallel)하다.

[0090] 전술된 실험에서, 하단 열의 이미지는 인접하는 두정 피질 내로 국부적으로 확산되는, 고농도의 염화칼륨에 적신 겔폼을 이용한 소규모 두개골 절제(tiny craniectomy)(붉은색 화살표)를 나타낸다. 두개골 절제부는 밑에 있는 뇌의 뒷부분 3 분의 1을 나타내는 두개골 기준점인 정수리점(bregma)보다 1 mm 뒤에 있다. 상단 두개의 열은 정수리점 보다 3 및 4 mm 앞에 있는, 즉 SD 유도 지점에서 멀리 떨어져 있는, 설치류 뇌내 신호 변화의 T2 이미지 및 정량적 색 류트 T2 맵(color lute T2 map)을 나타낸다. 전방 슬라이스(anterior slice)에서의 T2 신호 변화는 좌측 대비 우측 대비피질 내의 명백한 T2 비대칭을 나타낸다(다시, SD는 우측 반구에 국한된다). 이와 같은 현저한 피질 신호 변화는 ¹⁸F-FDG PET, 및 직접적인 미세투석법(direct microdialysis)과 신진대사 측정(metabolomic determination)에서도 관찰되는 것과 같이, SD에서 일어나는 공지된 대사항진 활동과 일치한다. 주목할 것은, KCl 주입 부위에 국부화된 부종(증가된 유리 수)과 일치하게, 상반되는 관찰(T2 신호의 초점적인 증가)이 두개골 절제 부위 자체 하에서 직접적으로 보여진다는 것(세번째 열)이다.

[0091] **인 비보 실시예 3**

[0092] **심장 관류 및 신진대사 이미징**

[0093] **도 11a 및 도 11b. 비경구 아스코르브산염을 이용한 관류 및 생존력 심장 이미징(viability cardiac imaging).** 도 11a는 7T에서의 랫트(rat) 심장 이미징을 위한 관상 및 축 방향(coronal and axial)의 2개의 주 이미징 평면을 도시한다. 7T에서의 이미지를 수집하기 위해 호흡기 결합을 통한 후향 동기(retrospective gating)가 사용되었다. 획득 시퀀스는 적절히 T2-강조되어, 이후 콘트라스트 효과를 증강시키기 위해 최적화될 수 있다. 도 11b는 정맥 내 아스코르브산염 주사의 초기 볼루스를 통한 좌심실 전체의 T2 신호 강도의 일시적인 감소를 보여준다. 초회 통과 흐름 또는 '관류 이미징'을 위한 초기 볼루스 후, 가변적 플립 각도(flip angle)를 이용한 정량적 T2 맵이 아스코르브산염 흡수를 반영한, 심장 조직 중 점진적인 T2 콘트라스트 변화를 보여준다. 생존 가능

하고, 대사적 활성 세포만이 아스코르브산염을 흡수할 것이다.

[0094] 실시예 4

[0095] 표 1: MRI 이미징에 유용한 예시적 비경구 제제

표 1

	T ₂ W 조영제	양이온	교환 촉매	오스몰 농도
I	아스코르브산염 100-600 mM	나트륨 100-600 mM*		200-1200 mOsm/L
II	아스코르브산염 100-600 mM	메글루민 100-600 mM	메글루민 100-600 mM	200-1200 mOsm/L
III	아스코르브산염 100-600 mM	나트륨 250-300 mM; N-메틸-D-글루카민 250-300 mM	메글루민 100-300 mM	200-1200 mOsm/L
IV	아스코르브산염 100-300 mM	나트륨 100-300 mM	메글루민 100-300 mM	200-1200 mOsm/L
V	아스코르브산염 100-300 mM	나트륨 100-300 mM	환원당 100-300 mM	200-1400 mOsm/L
VI	아스코르브산염 100-300 mM	나트륨 100-300 mM	비환원당 100-300 mM	200-1400 mOsm/L
VII	비환원당 ^a 0.1-1.0 M		메글루민 0.0-1.0 M	200-1400 mOsm/L
VIII	환원당 ^b 0.1-1.0 M		메글루민 0.0-1.0 M	200-1400 mOsm/L

[0097] * 나트륨, 예를 들면, NaOH 또는 NaHCO₃이 제공될 수 있다.

[0098] ^a 비환원당은 예를 들면, 수크로오스, 트리할로오스를 포함한다.

[0099] ^b 환원당은 예를 들면, 글루코오스, 갈락토오스, 글리세르알데히드(glyceradleyde), 프럭토오스, 리보오스, 크실로오스, 락토오스, 말토오스를 포함한다.

[0100] 실시예 5

[0101] MRI 이미징에 유용한 비경구 제제의 예시적 제조

[0102] 전술된 제제 II는 다음 방법으로 제조한다: 50 g의 아스코르브산(568 mM) 및 N-메틸-D-글루카민 55.4 g(568 mM)을 500 mL의 멸균수에 첨가한다. 용액이 투명해질 때까지 젓는다. mOsm/L ~ 1100, pH ~ 7.0. 장기 안정성을 향상시키기 위해서, 0.025% EDTA 디소디움을 첨가하고, 질소 블랭킷(blanket) 하에서, 및 감광성 조건 하에서 산소가 제거된(deoxygenated) 용액으로 제조한다.

[0103] 인 비보 실시예 6

[0104] 3개의 다른 아스코르브산염 제제의

[0105] 정맥내 투여 후 기니어 피그에서의 T2 콘트라스트 변화

[0106] 본 발명자들은 약하게 마취된(lightly anesthetized) 기니어 피그의 뇌 전체에서 7T에서의 T2 콘트라스트 변화를 조사하였다. 기니어 피그는 내생적으로(endogenously) 아스코르브산염을 합성할 수 없는, 인간의 불능을 공유하기 때문에, 이 모델에서의 MRI 효과는, 환자에서의 MRI 변화에 대해 더욱 예측 가능할 수 있다. 아스코르브산염을 대퇴부 또는 목정맥 통로를 통해, 60분 동안, 총 투여량 2g/kg를 위한, 제어 주입(controlled infusion)을 이용하여 비경구적으로 투여하였다. MRI는 90분동안 수행하였다.

[0107] 도 12a는 아스코르브산염의 느린 주입 전 및 60분 후 고속 스핀 에코(FSE) T2 이미지가 뇌 실질 전체의 극적인 신호 강도 차이를 보여준다는 것을 도시한다.

[0108] 도 12b 및 도 12c에서, 3 개의 상이한 아스코르브산염 제제의 투여 후에 정규화된 신호 강도 변화 및 정량화된

이완도 측정이 기니어 피그 대뇌피질 (guineacerebral cortex)(Cx) 및 기저핵(basal ganglia)(BG) 모두에 대해 표시된다: (1) 100% 아스코르브산 나트륨; (2) 50% 아스코르브산 나트륨 및 50% 아스코르브산 메글루민; 및 (3) 100% 아스코르브산 메글루민. 도 12b에서, 각 시점에서 신호 강도 변화는 50% Na AA: 50% Meg AA로 이루어진 두 번째 제제(2)의 투여 중, 및 투여 후에 가장 크고, 관찰된 피질 FSE T2 강도 감소는 40%를 초과한다. 또한, 도 12c에서 계산된 T2 이완도 값은 제제 (2)의 기준선으로부터 10% 이상 크고, 최대 값은 제제 (1) 또는 (3) 보다 통계적으로 더 크다는 것을 또한 보여준다. 또한, 전형적인 FSE T2 강조 이미지에서, Meg AA(3)에 의한 신호 강도 변화는 거의 모든 시점에서 아스코르브산 나트륨 (1)에 의해 관측되는 것보다 더 큰 것이 주목되나, T2 이완도 계산은 이러한 후자의 두가지 제제 사이의 통계적 차이를 보이지 않는다.

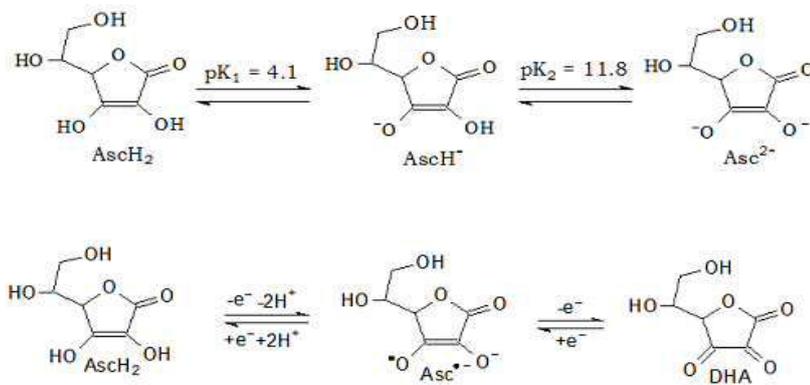
[0109]

전술은 본 발명의 예시이고, 이를 한정하는 것으로 해석되지 않는다. 본 발명은 하기 청구항에 의해 정의되고, 청구 범위의 균등물도 본 명세서에 포함된다.

도면

도면1

A



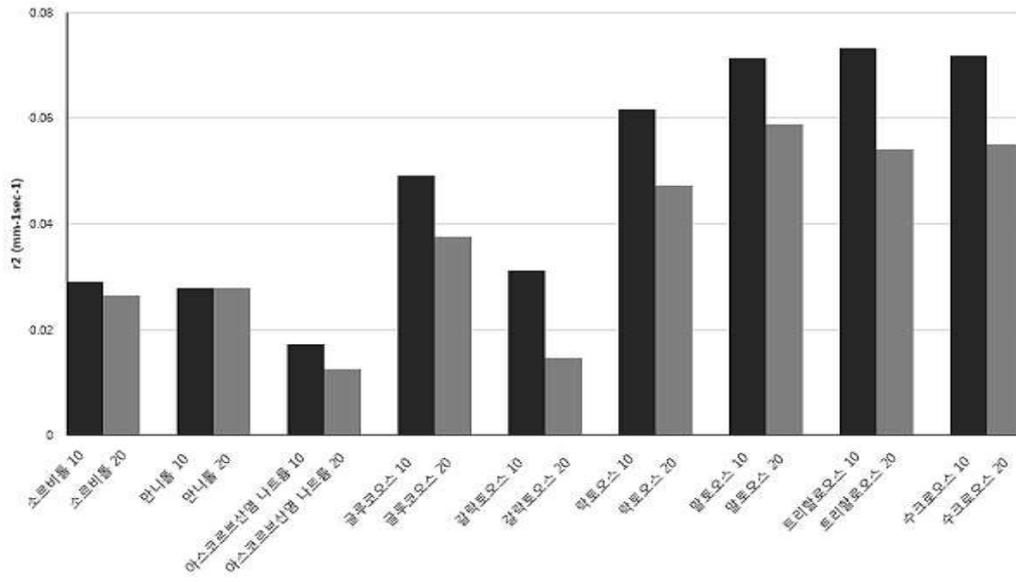
B



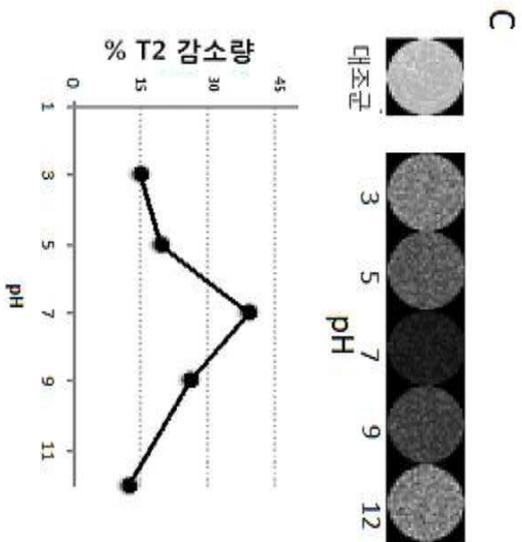
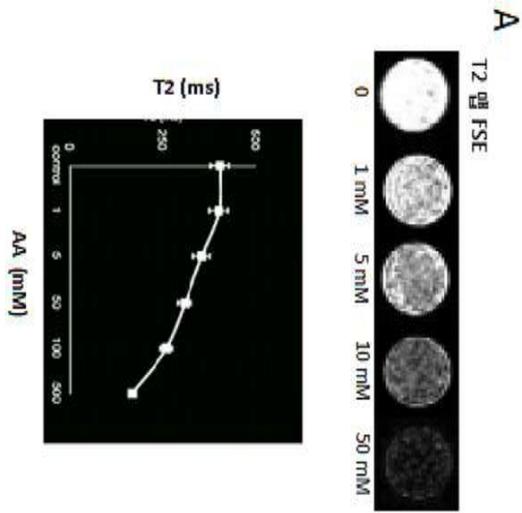
$$k_{\text{obs}} (7.4) = 1.4 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

이 속도 상수는 인산염이 존재할 때 ≈10배 증가한다.

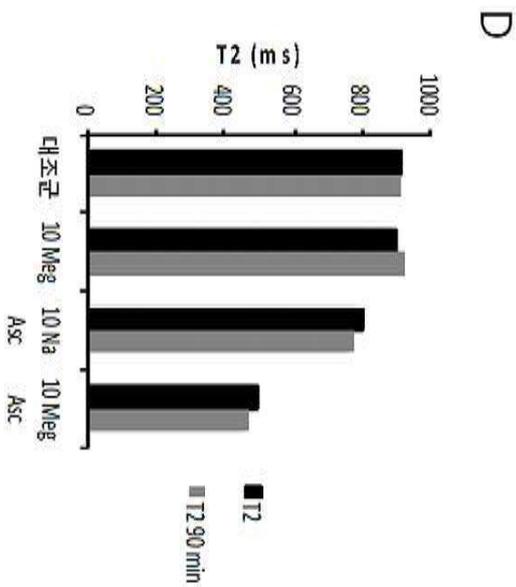
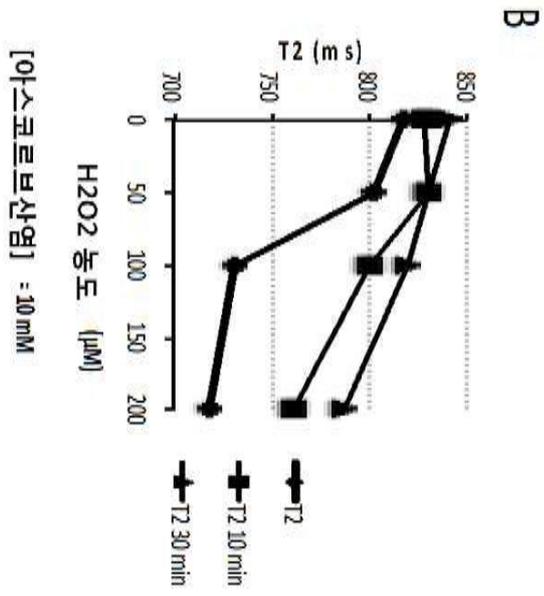
도면2



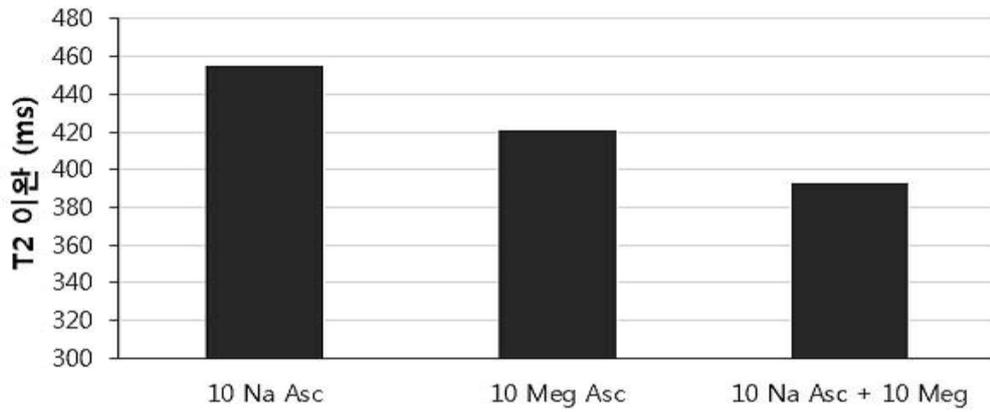
도면3a



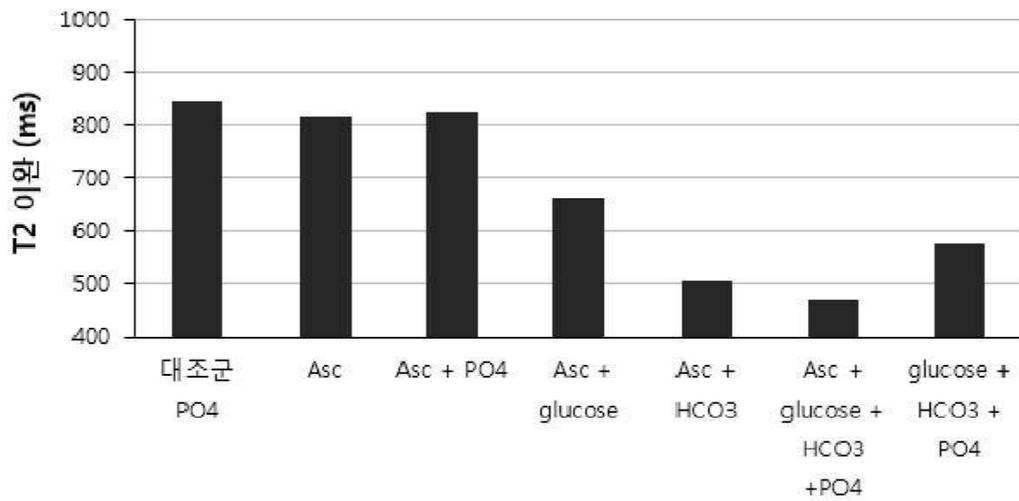
도면3b



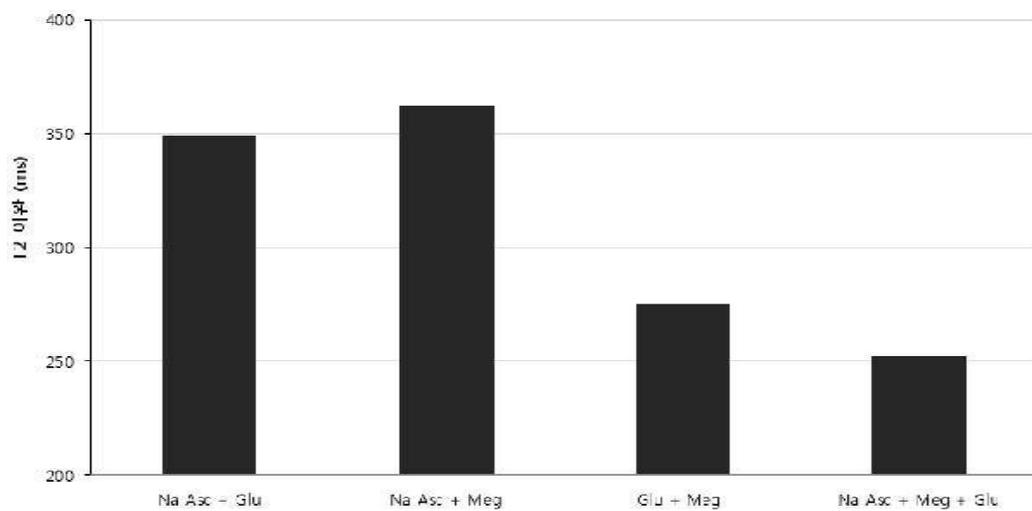
도면4



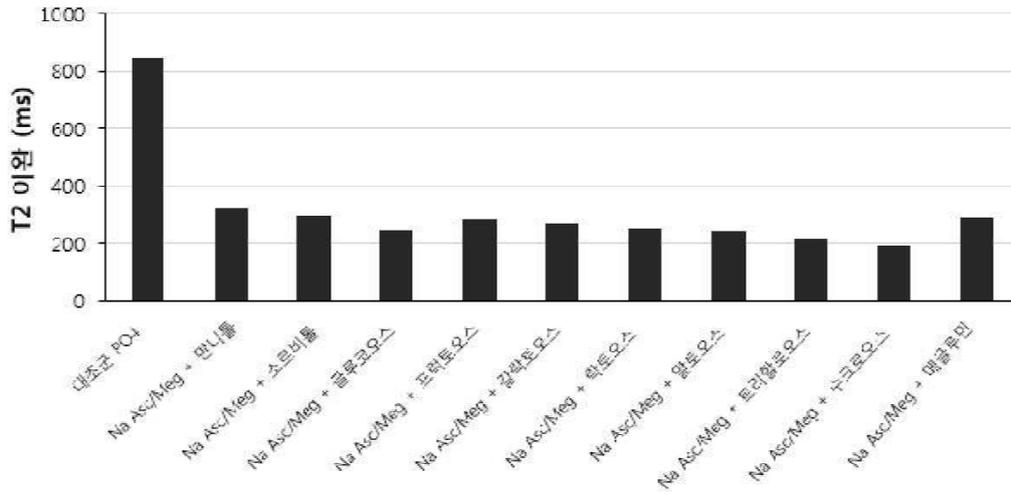
도면5



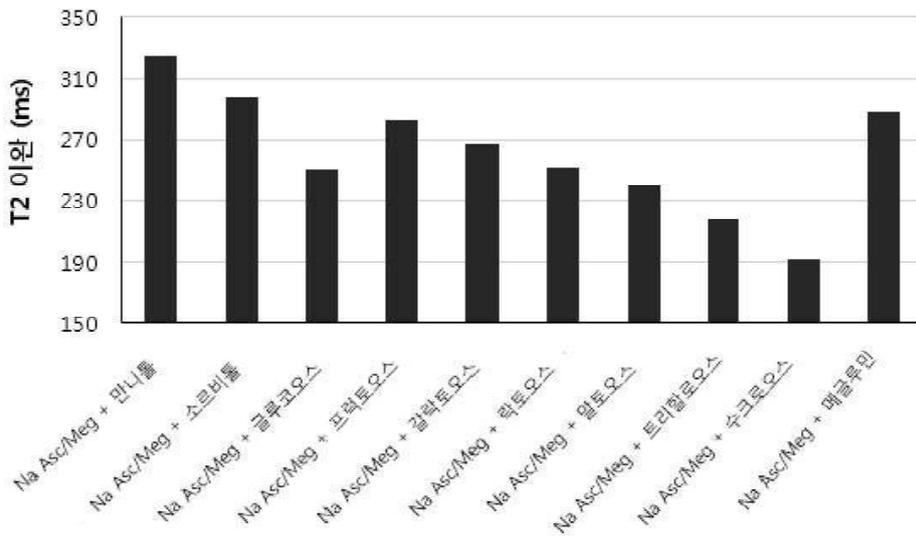
도면6



도면7

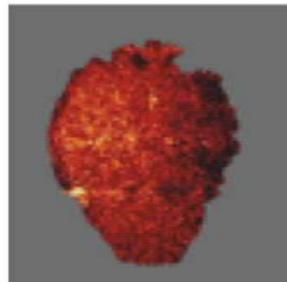
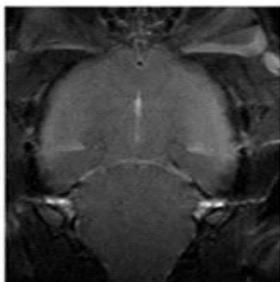


도면8

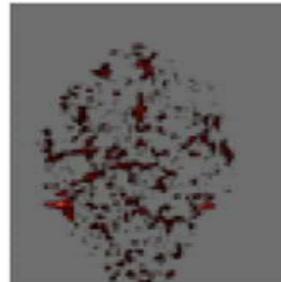


도면9a

T2WI FSE

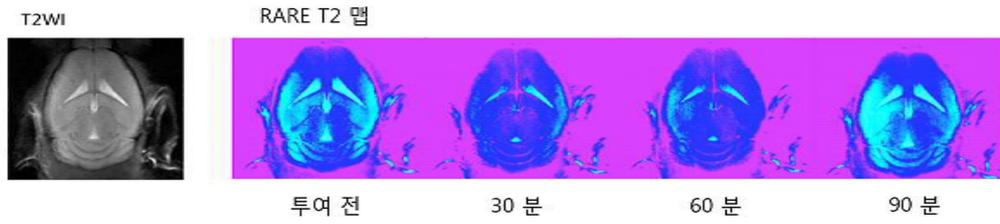


2 분

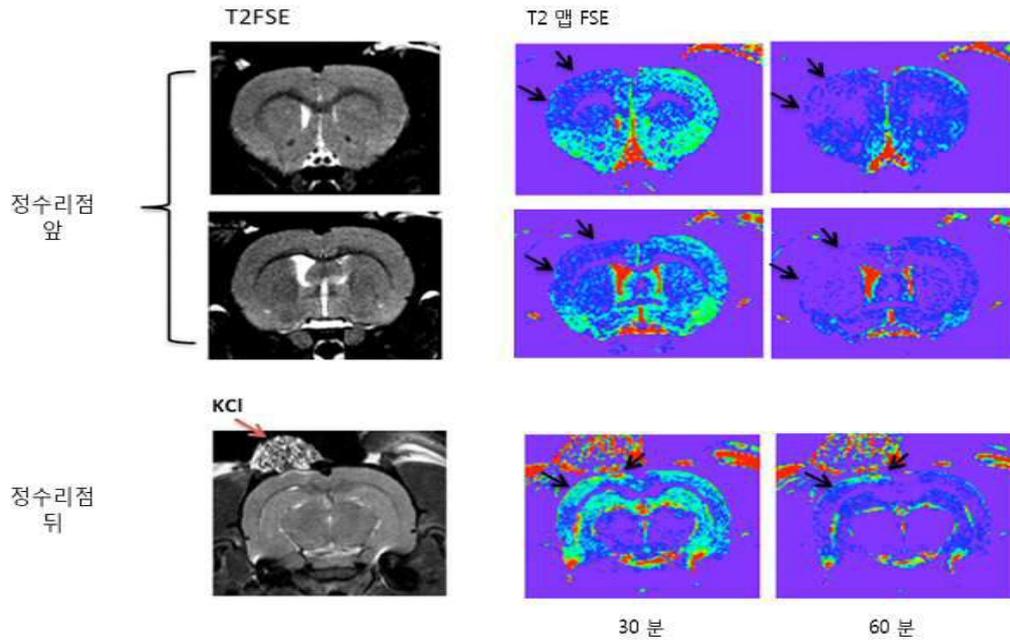


10 분

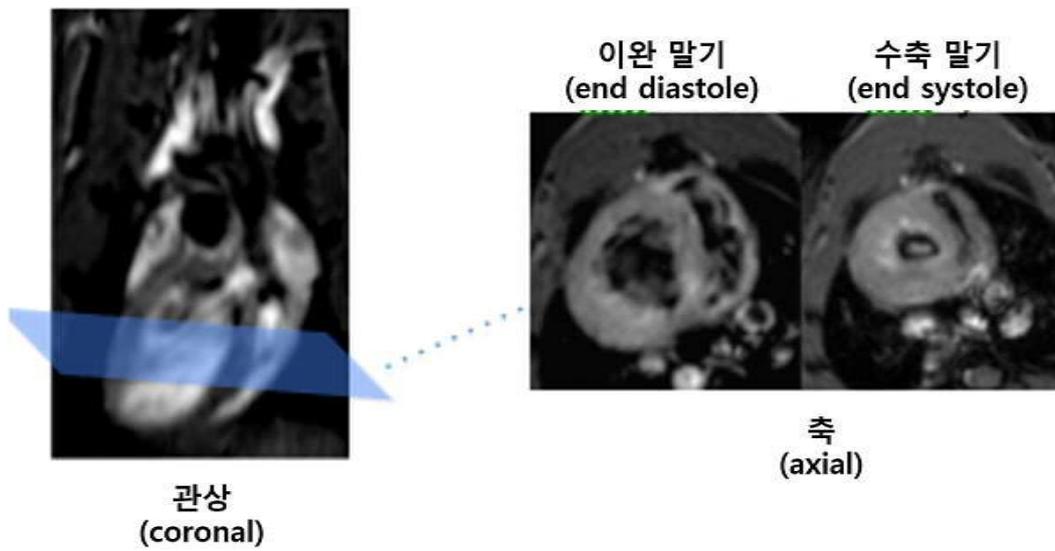
도면9b



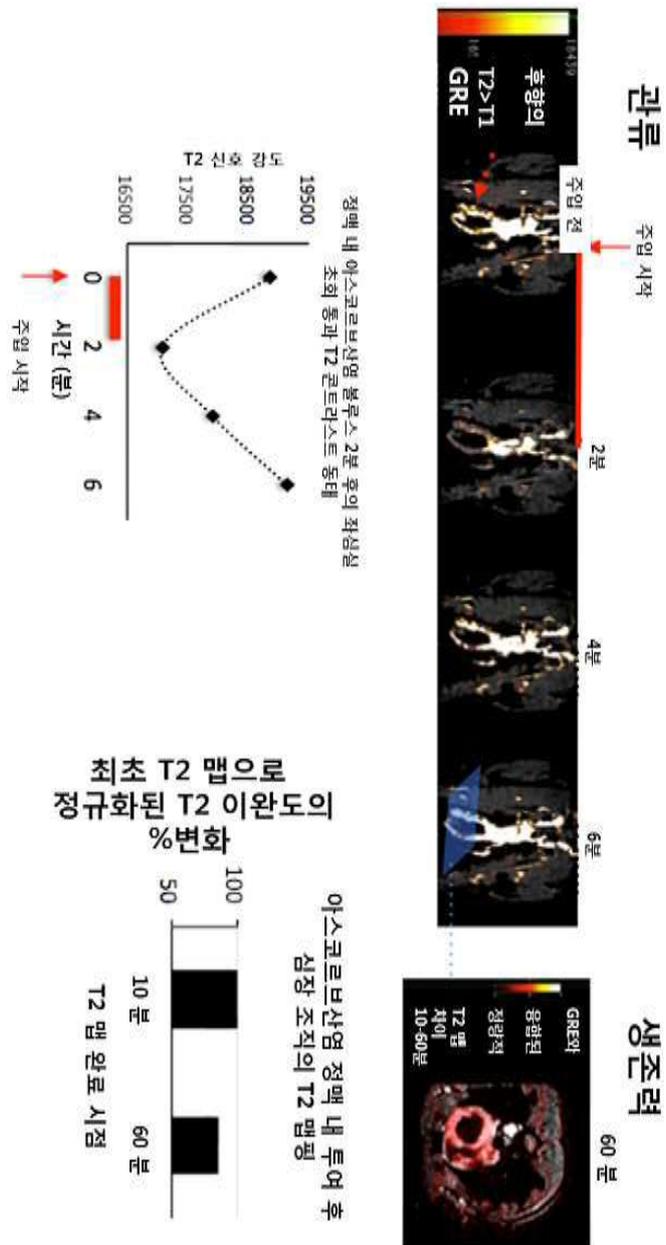
도면10



도면11a



도면11b



도면12c

