



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0056081  
(43) 공개일자 2011년05월26일

(51) Int. Cl.

A61K 49/04 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0112766

(22) 출원일자 2009년11월20일

심사청구일자 2009년11월20일

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울 서대문구 신촌동 134 연세대학교

(72) 발명자

임준석

서울특별시 서대문구 신촌동 134 연세의료원 세  
브란스 병원 건물 4층 영상의학과 사무실

형우진

경기도 고양시 일산구 일산3동 후곡마을  
1003-1201

임수정

서울특별시 광진구 군자동 세종대학교 충무관 61  
5호

(74) 대리인

특허법인다나

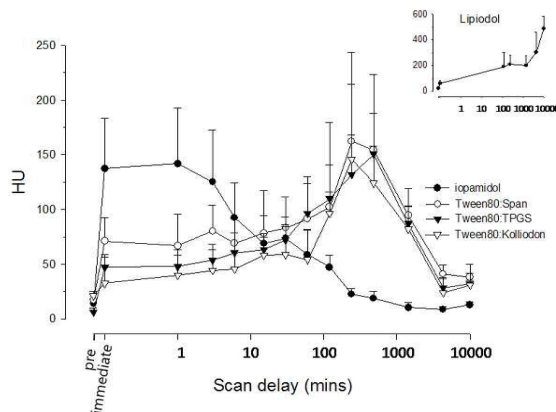
전체 청구항 수 : 총 15 항

#### (54) 의료 및 진단 절차에 사용하기 위한 조영제

##### (57) 요약

본 발명은 요오드계 조영물질 및 계면활성제를 혼합하여 유화 및 균질화시킨 요오드화 오일 에멀전 조영제에 관한 것으로서, 본 발명의 조영제의 경우, 충분한 CT 타임 윈도우 확보가 가능하고, 빠른 정맥으로의 역류, CT와 동시에 내시경을 시행해야 하는 문제점을 해결할 수 있고, 및 암전이 여부 진단을 위하여 감시림프절 생검을 위한 감시림프절 국소화를 가능케 한다.

대표도 - 도2



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

요오드계 조영물질 및 계면활성제를 포함하는 감시림프절 탐색용 조영제(contrast media).

### 청구항 2

제1항에 있어서

조영제의 하운스필드 단위가 1500 이상인 것을 특징으로 하는 조영제.

### 청구항 3

제1항에 있어서

하운스필드 단위 피크가 조영제 투약 후 2 내지 10시간 사이에 나타나는 것을 특징으로 하는 조영제.

### 청구항 4

제1항에 있어서

조영 증강 효과가 2 시간 이상 지속되고, 7일 이내에 효과가 소멸되는 것을 특징으로 하는 조영제.

### 청구항 5

제1항에 있어서

요오드계 조영물질이 리피오돌인 것을 특징으로 하는 조영제.

### 청구항 6

제1항에 있어서

계면활성제가 폴리옥시에틸렌소르비탄 에스테르계, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌계, 소르비탄 에스테르계, 폴리옥시에틸렌알킬에테르계, 인지질계, 포비돈계 계면활성제 및 이들의 혼합물로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조영제.

### 청구항 7

제1항에 있어서

계면활성제가 트윈(Tween)류, 폴록사머(Poloxamer)류, 스팬(Span)류, 플루론(Pluron)류, Brij류, DMPC(dimyristoyl phosphatidylcholine), 콜린산, 콜리돈(Kollidon)류, 알파-토코페릴 폴리에틸렌 글리콜 속 시네이트(TPGS) 및 이들의 혼합물로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조영제.

### 청구항 8

제1항에 있어서

조영제 중  $I_2$ 의 농도가 20 내지 200 mg/mL 인 것을 특징으로 하는 조영제.

#### 청구항 9

제1항에 있어서

안정화제 및 삼투제로 이루어진 그룹에서 선택되는 하나 이상의 첨가제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조영제.

#### 청구항 10

(a<sub>1</sub>) 요오드계 조영물질 및 계면활성제를 용매 중에서 혼합하는 단계; 및

(b) 상기 혼합물을 균질화시키는 단계를 포함하는 조영제의 제조방법.

#### 청구항 11

제10항에 있어서

단계 (a<sub>1</sub>) 이후

(a<sub>2</sub>) 동결 건조시키는 단계; 및

(a<sub>3</sub>) 생리 식염수를 첨가하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조영제의 제조방법.

#### 청구항 12

제10항에 있어서

계면활성제가 폴리옥시에틸렌소르비탄 에스테르계, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌계, 소르비탄 에스테르계, 폴리옥시에틸렌알킬에테르계, 인지질계, 포비돈계 계면활성제 및 이들의 혼합용매로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조영제의 제조방법.

#### 청구항 13

제10항에 있어서

계면활성제가 트윈(Tween)류, 폴록사머(Poloxamer)류, 스팬(Span)류, 플루론(Pluron)류, Brij류, DMPC(dimyristoyl phosphatidylcholine), 콜린산, 콜리돈(Kollidon)류, 알파-토코페릴 폴리옥시에틸렌 글리콜 숙시네이트 및 이들의 혼합물로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조영제의 제조방법.

#### 청구항 14

제10항에 있어서

용매가 물, C<sub>1-5</sub>저급알코올, C<sub>3-10</sub>사이클로알칸계 유기용매, 카르복시산, 케톤계, 유기시아나이드계 용매, DMSO(dimethyl sulfoxide) 및 이들의 혼합용매로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조영제의 제조방법.

#### 청구항 15

제10항에 있어서

용매가 물, 시클로헥산, 아세트산, 아세톤, 아세토니트릴, DMSO 및 이들의 혼합용매로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 조영제의 제조방법.

## 명세서

### 발명의 상세한 설명

#### 기술 분야

[0001] 본 발명은 의료 또는 진단 절차, 또는 치료에 사용하기 위한 조영제에 관한 것으로서, 요오드계 조영물질 및 계면활성제를 혼합하여 유화, 균질화시킨 요오드화 오일 에멀전을 조영제로 사용함으로써 충분한 CT 타임 윈도우 확보가 가능하고, 정맥으로의 역류 및 CT와 동시에 내시경을 시행해야 하는 문제점을 해결할 수 있는 조영제의 제공이 가능하다.

#### 배경 기술

[0002] 조영제란 자기공명영상(MRI) 촬영이나 컴퓨터단층(CT) 촬영과 같은 방사선 검사 때에 조직이나 혈관을 잘 볼 수 있도록 각 조직의 X선 흡수차를 인위적으로 크게 함으로써 영상의 대조도를 크게 해주는 약품으로서, 조영제를 사용함으로써 생체 구조나 병변을 주위와 잘 구별할 수 있게 해 주어 진단적 가치를 향상시켜 준다.

[0003] 수술전 위암의 감시림프절의 정확한 확인이 가능한 새로운 방법이 필요하며, 이것이 가능하다면 감시림프절 개념이 갖는 수술범위의 축소를 통한 삶의 질 향상이라는 기본적인 필요성을 충족시킬 수 있는 다양한 저 침습 치료의 적용을 보다 많이 할 수 있고 기존의 감시림프절 탐색법의 제한점들을 극복할 수 있는 많은 장점을 갖는다. 또한 수술 전에 감시림프절을 확인할 수 있다면 현재 이용되고 있는 수술 중 감시림프절을 확인하는 과정을 생략할 수 있어 수술 시간을 줄일 수 있고 수술 중 감시림프절을 확인하지 못하는 점 등의 단점을 극복할 수 있는 등 여러 장점을 가지게 된다.

[0004] 최근 수술전에 정확한 감시림프절 확인을 위해 내시경을 이용하여 일반적인 정맥주사용 요오드(iodine) CT조영제를 종양 주위에 주사한 후 촬영한 CT에서 감시림프절을 확인하였다는 보고가 있었으나, 정맥주사용 수용성 요오드 CT 조영제의 빠른 정맥 역류로 인해 감시림프절 탐색이 어려울 수 있고, 또한 CT실에서 내시경을 해야만 하는 방법상의 복잡성을 야기시킨다.

[0005] 따라서 림프액 컴포넌트(lymphatic fluid components)와 유사한 림프친화성 조영 물질(lipophilic contrast material)을 포함하는 전달 비히클 (delivery vehicle)을 제조한다면 간질 주사(interstitial injection)를 통한 CT 림프관 조영(lymphography)에 유용한 조영 물질이 될 것이라는 점에 착안하였다.

#### 발명의 내용

##### 해결 하고자하는 과제

[0006] 질병에 대한 진단을 쉽게 하고 수술 부위를 최소화 하는 것이 현대 의학의 대표적 추세이다. 이런 추세에 발맞추어 암질환의 경우에 있어서도 암의 전이 여부를 쉽게 판별해 불필요한 수술을 가급적 자제하는 방향으로 나아가고 있다.

[0007] 기존에는 예컨대 유방암 환자의 경우, 겨드랑이에 있는 림프절을 광범위하게 잘라내는 방법을 사용하는 것이 표준적인 치료법으로 인식되어 왔으나, 실제로는 겨드랑이의 림프절을 잘라낸 환자의 30~40% 정도만 암이 전이되었고, 나머지 환자는 암이 전이되지 않은 것으로 보고되고 있다. 즉, 유방암 환자의 60~70%는 불필요하게 겨드랑이의 림프절을 잘라내고 있고, 이로 인하여 많은 유방암 환자들이 수술을 받은 부위의 림프 부종이나 어깨의 운동장애, 통증 등의 부작용에 시달리고 있는 것으로 나타났다.

[0008] 또한 예컨대, 위암의 경우 최근의 추세는 감시림프절의 생검이 아니라 감시림프절이 있는 구역의 제한된 림프절 광검이 가장 적합한 것으로 받아들여지고 있어 유방암이나 악성흑색종과 같이 적용이 쉬운 장기에 발생하는 암 뿐만 아니라 복강내 장기에 발생하는 암에서도 안정적으로 감시림프절 탐색을 할 수 있는 방법의 개발로 이어질

수 있다.

[0009] 상기와 같은 문제점들을 해결하기 위해 조영 물질을 이용하여 감시림프절을 탐색하여 진단하는 것이 필요하다. 즉, 암 부위 근처에 조영제를 주사한 다음 그 부위의 림프절을 일정한 시간 간격으로 사진을 찍은 후 해당 부위에 조영제가 도달했을 때 검출기로 감시림프절-암이 전이할 경우 가장 먼저 도달하게 되는 림프절-을 찾아내 암의 전이 여부를 밝혀내는 것이다.

[0010] 따라서, 충분한 조영 증강 효과와 CT 타임 윈도우 확보가 가능한 조영제가 개발된다면 기존의 수술 중 감시림프절 생검 방법을 보완 대체하여 다양한 저침습 치료의 확대 임상적용이 이루어질 수 있다.

[0011] 이와 같은 맥락에서, 본 발명에서는 기존의 수용성 요오드 제제 조영제와 비교하여 충분한 조영 증강 효과와 적절한 CT 이미징을 위한 타임 윈도우(time window)를 갖는 물질을 제공하고자 한다. 즉, 충분한 하운스필드 단위(Hounsfield unit)를 확보하고, 충분한 CT 타임 윈도우 확보가 가능한 조영제를 제공하고자 한다.

### 과제 해결수단

[0012] 본 발명은 요오드계 조영물질 및 계면활성제를 유화 및 균질화시킨 조영제를 제공함으로써 충분한 하운스필드 단위(Hounsfield unit)를 확보하고, 충분한 CT 타임 윈도우 확보가 가능하게 되었다. 즉, 본 발명의 지용성 조영제는 장시간 투여 부위에 머무를 수 있기 때문에 기존의 수용성 조영제를 사용하였을 경우 나타나는 다양한 문제점을 해결할 수 있다.

[0013] 본 발명은 요오드계 조영물질 및 계면활성제를 포함하는 감시림프절 탐색용 조영제를 제공하며, 본 발명의 조영제는 하운스필드 단위가 1500 이상이고, 하운스필드 단위 피크가 조영제 투약 후 2 내지 10시간, 보다 구체적으로 3 내지 9시간, 보다 구체적으로 4 내지 8시간 사이에 나타난다.

[0014] 본 발명의 조영제 투약시 조영 증강 효과는 2 시간 이상 지속되고, 7일 이내에 효과가 소멸될 수 있다.

[0015] 본 발명은 또한 (a) 요오드계 조영물질 및 계면활성제를 용매 중에서 혼합하는 단계; 및 (b) 상기 혼합물을 균질화시키는 단계를 포함하는 조영제의 제조방법을 제공한다.

### 효 과

[0016] 본 발명의 요오드계 조영물질 및 계면활성제를 포함하는 조영제를 이용하여, 내시경화 CT 림프구 조영법(endoscopic CT lymphangiography)과 같은 수술 전 영상검사를 수행함으로써 감시림프절을 탐색할 수 있고 이를 통해 정확한 위치의 확인 가능하므로 기존의 감시림프절 탐색자들을 이용하는 경우에 발생하는 감시림프절의 탐색에 실패하더라도 위치를 고려한 감시림프절의 절제가 가능하다.

[0017] 또한 본 발명의 지용성 조영제는 장시간 림프절 내에 머물러 기존에 시도되었던 수용성 요오드 조영제를 이용하는 경우 발생할 수 있는 문제점인 빠른 정맥으로의 역류나 CT와 동시에 내시경을 시행해야 하는 등의 문제를 해결할 수 있는 장점이 있다.

### 발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0018] 본 발명은 요오드계 조영물질 및 계면활성제를 포함하는, 개체의 해부학적 부분을 영상화하는 데 사용되며, 특히 감시림프절을 탐색하기 위한 조영제(contrast media)에 관한 것이다.

[0019] 본 발명은 하운스필드 단위가 1500이상인 조영제에 관한 것이다. 본 발명의 조영제 투약시 하운스필드 단위 피크는 조영제 투약 후 2 내지 10시간, 보다 구체적으로 3 내지 9시간, 보다 구체적으로 4 내지 8시간 사이에 나타난다.

[0020] 본 발명 조영제의 조영 증강 효과는 투약 후 2시간 이상 지속되고, 7일 이내에 효과가 소멸되는 것이 바람직하다.

- [0021] 본 발명에서 요오드계 조영물질로는 리피오돌을 사용할 수 있으나, 요오드를 함유하는 지용성 조영물질이라면 사용될 수 있으며 특별히 한정되지 않는다.
- [0022] 본 발명에서, 해부학적 부분은 림프절, 감시림프절일 수 있으나, 이로 한정되지 않는다.
- [0023] 조영제의 하운스필드 단위는 해당 분야에 잘 알려진 방법을 이용한 CT에 의해 판정될 수 있다. 본 발명에서 말하는 하운스필드 단위는 CT 스캔에 사용되는 X-레이 감쇠(attenuation)의 단위이다. 각각의 화소에 대해 공기=-1000, 물= 0, 및 고밀도 골(compact bone)= 1000으로 스케일 상의 값이 할당된다. 본 발명에서, 조영제의 하운스필드 단위는, 포물레이션의 하운스필드 단위를 판정하기 위해, HDPE 용기 내에 조영제를 넣고 상기 용기를 CT 스캐너에 용기를 넣어 측정할 수 있다. 상기 용기는 CT용 비-방사성 경구 조영제의 패키징용으로 의료 산업에서 사용되는 임의의 공지된 HDPE를 포함할 수 있다.
- [0024] 본 발명의 실시예에 적합한 장치의 예로는, 제한되지는 않지만, 다중 검출기/다중 슬라이스 능력을 구비한 나선형 CT 스캐너가 포함된다. 다른 장치로는, 제한되지는 않지만, GE: CT: LightSpeed 시리즈 및 HiSpeed MR: Signa Excite 시리즈 CT/PET: Discovery 시리즈 Philips: CT: Mx8000 시리즈 MR: Intera 시리즈 CT/PET: Gemini Siemens: CT: Somatom MRT: Magnetom CT/PET: biograph Toshiba: CT: Aquilion Steion Multi MR: Ultra, Excelart and flat panel 등이 포함된다.
- [0025] 본 발명의 일 실시태양에서, 계면활성제로는 이로 제한되지는 않으나 폴리옥시에틸렌소르비탄 에스테르계, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌계, 소르비탄 에스테르계, 폴리옥시에틸렌알킬에테르계, 인지질계, 포비돈계 계면활성제 및 이들의 혼합용매, 구체적으로 트윈(Tween)류, 폴록사머(Poloxamer)류, 스팬(Span)류, 플루론(Pluronic)류, Brij류, DMPC(dimyristoyl phosphatidylcholine), 콜린산, 콜리돈(Kollidon)류, 알파-토코페릴 폴리옥시글리콜 숙시네이트(TPGS) 및 이들의 혼합용매가 사용될 수 있다.
- [0026] 본 발명에서, 조영제의 적용량은 여러 가지 투여 형태를 통해 투여될 수 있다. 조영제는, 제한되지는 않지만, 액체, 현탁액, 페이스트, 분말, 농축액, 적절한 농도로 혼합하기 위한 과립화 분말 또는 고체 형태를 포함한 여러 가지 형태를 가질 수 있다. 예컨대, 본 발명의 조영제는 주사제, 경피 투여용 제제, 삼관용 제제, 경구용 제제, 직장투여용 제제의 형태로 제조될 수 있다.
- [0027] 본 발명의 또 다른 실시 태양에서, 의료 활동 이전 또는 도중에 개체에게 투여되는 조영제(활성 성분)의 총량은 약 0.01g, 0.025g, 0.05g, 0.075g, 0.1g, 0.5g, 1g, 5g, 10g, 20g, 30g, 50g 이상일 수 있다. 구체적으로, 약 0.5g 내지 약 3g, 보다 구체적으로 약 1g 내지 약 2.5g이다.
- [0028] 조영제는 약 10ml 내지 약 10L, 약 100ml 내지 약 5L, 또는 약 200ml, 250ml, 300ml, 350ml, 400ml, 450ml, 500ml, 550ml, 600ml, 650ml, 700ml, 750ml, 800ml, 850ml, 900ml, 1L, 1.5L, 2L의 체적을 가진 조영제로 제공될 수 있다.
- [0029] 조영제는 단일 용량으로 투여되거나, 다중 용량으로 분할하여 투여될 수 있다. 예를 들면, 조영제가 2L일 경우, 환자는 진단 절차에 들어가기 약 2시간 전에 1L를 소비하고, 절차에 들어가기 약 1시간 전에 나머지 1L를 소비할 수 있다. 또 다른 방법은 특정 절차에 필요한 총량이 소비될 때까지 매 5분마다 150ml를 환자가 소비하도록 하는 것이다.
- [0030] 본 발명의 또 다른 실시태양에서, 본 발명의 조영제는 조영제 1mL당 2 내지 200mg의 조영 활성물질을 포함할 수 있다. 즉, 본 발명은 리피오돌을 조영제 1mL 당 약 2 내지 200mg의 양으로 포함할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 또 다른 일 실시 태양에서, 본 발명의 조영제는 안정화제를 추가로 포함할 수 있다. 그러한 안정화제는 임의의 유체, 반-유체 또는 고체를 포함하는, 물질의 점도를 변경시키는 임의의 화합물을 포함할 수 있다.
- [0032] 본 발명에서 적합하게 사용되는 안정화제로는, 제한되지는 않지만, 셀룰로오스, 젤라틴, 천연 하이드로콜로이드, 벤토나이트, 로커스트 빈 겔 또는 영상 공정을 용이하게 하도록 물질의 점도를 적절히 변경

시키는 임의의 화합물이 포함될 수 있다. 본 발명의 조성물 내 사용에 적합한 천연 하이드로콜로이드는, 제한되지는 않으나, 카라기난, 알긴산염, 한천, 아가로스, 푸셀란(fucellan) 및 크산탄 검과 같은 천연 해초 추출물; 구아 검, 로커스트 빈 검, 타라검, 타마린드 검 및 프실리움(psillium) 검과 같은 천연 시드(seed) 검; 아카시아, 트라가칸트, 카라야 및 가티(ghatti) 검과 같은 천연 식물 삼출물; 저-메톡실 펙틴 및 고-메톡실 펙틴과 같은 천연 과일 추출물; 벤토나이트 및 비검과 같이, MR 영상법의 성능을 향상시키도록 점도를 변경시키고 신호/노이즈 비를 낮추기 위한 천연 및 정제 클레이를 포함한다.

[0033] 일 구현예에서, 본 발명의 조영제 중 약 0.001 중량% 내지 약 70 중량%의 안정화제, 또는 약 0.05 중량% 내지 약 25 중량%의 안정화제, 또는 약 0.1 중량% 내지 약 10 중량%의 안정화제를 포함할 수 있다.

[0034] 본 발명의 또 다른 일 구현예에서, 본 발명의 조영제는, 신체로부터 해부학상 부분 내로의 유체의 전달을 촉진시키고, 신체에 의한 해부학상 부분 내 유체의 재흡수를 적어도 실질적으로 억제하는 삼투제를 포함할 수 있다. 조합되어 사용될 경우, 안정화제 및 삼투제는 상승 작용하여 진단 영상과 같은 의료 진단 절차에서 사용을 위한 향상된 포물레이션을 형성하는 것으로 밝혀졌다. 삼투제는 적합한 양의 유체의 관심 해부학상 부분 내로의 전달을 촉진시키고, 안정화제 및 삼투제는 충분한 양의 유체가 관심 해부학상 부분 내에 유지되도록 하는 것으로 여겨진다. 따라서, 해부학상 부분은 진단 영상을 위해 충분히 팽창 또는 확장되어, 상기 해부학상 부분이 영상화되면, 얻어진 진단 영상 상에서 충분히 윤곽이 그려진다.

[0035] 본 발명에 사용하기에 적합한 삼투제는 이에 제한되는 것은 아니지만 당계 (sugar based) 화합물을 포함한다. 본원에 사용되는 당계 화합물은 이에 제한되는 것은 아니지만, 수크로오스, 글루코오스, 프럭토오스(fructose), 만니톨, 만노오스, 갈락토오스, 알도헥소오스(aldohexose), 알트로오스(allose), 탈로오스(talose), 소르비톨, 크실리톨, 락토오스, 비이온성 시드 폴리사카라이드, 하나의 갈락토오스 단위에 의해 각각의 만노오스에서 브랜칭으로 그루핑하는 직쇄 만난(mannan), 베타-D-man, 알파-D-gal, D-glcA, D-gal A, L-gul, 베타-D-man, 알파-D-gal(4:1), D-글루쿠론산, D-갈락투론산, 및 L-글루쿠론산을 포함하는 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 폴리사카라이드를 포함한다.

[0036] 본 발명의 조영제는 약 0.005 중량% 내지 약 45 중량%의 삼투제, 또는 약 1 중량% 내지 약 4 중량%의 삼투제를 포함할 수 있다.

[0037] 본 발명은 또한,

[0038] (a<sub>1</sub>) 요오드계 조영물질 및 계면활성제를 용매 중에서 혼합하는 단계; 및

[0039] (b) 상기 혼합물을 균질화시키는 단계를 포함하는 조영제의 제조방법을 제공한다.

[0040] 본 발명의 제조방법에서, 단계 (a<sub>1</sub>) 이후

[0041] (a<sub>2</sub>) 동결 건조시키는 단계; 및

[0042] (a<sub>3</sub>) 생리 식염수를 첨가하는 단계를 추가로 포함할 수 있으며, 동결 건조는 구체적으로 -10℃ 이하, 보다 구체적으로 -40℃ 이하, 보다 구체적으로 -70℃ 이하에서 수행할 수 있다. 생리 식염수는 적하하는 방식으로 첨가할 수 있다.

[0043] 본 발명의 제조방법에서 사용 가능한 용매로 물, C<sub>1-5</sub>저급알코올, C<sub>3-10</sub>사이클로알칸계 유기용매, 카르복시산, 케톤계, 유기시아나이드계 용매, DMSO(dimethyl sulfoxide) 및 이들의 혼합용매가 사용될 수 있고, 보다 구체적으로 물, 시클로헥산, 아세트산, 아세톤, 아세토니트릴, DMSO 및 이들의 혼합용매가 사용될 수 있으나, 이로 제한되지 않는다.



[0044] 본 발명에서 사용되는 용어 중, "감시림프절(sentinel lymph node)"이란 일차 종양으로부터 처음으로 연결된 림프관을 말하며, 수술 전 검사를 통해 전이 여부를 파악하고 수술범위를 결정하는 데 이용될 수 있다.

[0045] 랫트를 이용한 동물실험에서 본 발명의 조영제는 기존의 조영물질인 수용성 요오드계 조영제와 동등한 정도의 평균 하운스필드 단위를 확보하였으며, 기존의 수용성 조영제는 15분 이내에 조영 증강이 워시아웃(washout)되는 문제점을 보이나, 본 발명의 조영제는 4시간에 peak HU를 보여 좀더 충분한 CT 타임 윈도우를 확보하는 것이 가능하다.

[0046] 이하, 본 발명에 따르는 실시예 및 본 발명에 따르지 않는 비교예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하나, 본 발명의 범위가 하기 제시된 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[0047] <실시예> 조영제의 제조

[0048] 하기 표 1에 나타낸 바와 같은 각 계면활성제 282 mg 및 리피오돌 300 uI 을 3급 부틸 알코올 2~4 mL에 넣고 혼합한 후 배쓰 소니케이터로 37℃에서 소니케이션 시켜주었다. -70℃에서 동결시킨 후, 혼합물을 동결건조기(FDU-1200, EYELA, Japan)에 넣고 하루 동안 건조시켰다. 상기 건조된 혼합물에 700 uI의 생리식염수(0.9% NaCl)를 적하한 후 37℃에서 조 에멀전이 생성될 때까지 약 20분간 소니케이션 시켰다.

[0049] 생성된 조 에멀전을 아이스 배쓰에 넣은 후, ULTRA-TURRAX T10 homogenizer (IKA-WERKE)에서 10분간 11,000rpm으로 돌려 균질화 시켰다. 실온에 5분간 방치한 후, 에멀전을 다시 10분간 균질화시켜 에멀전 크기를 감소시켰다.

[0050] 수득된 에멀전 조영제를 사용하기 전까지는 4℃에 저장하였다.

[0051] <표 1> 조영제 조성

실시예	계면활성제 종류 (사용량)	리피오돌 (사용량)
실시예 1	트윈80 (254 mg):Span (28 mg)	300 uI
실시예 2	트윈80 (254 mg):TPGS (28 mg)	300 uI
실시예 3	트윈80 (254 mg):Kollidon (28 mg)	300 uI

[0053] (조영제 최종 mL당의 사용량)

[0054] <실험예 1> 입자직경 및 분포 측정

[0055] 파이버-옵틱 입자 분석기(fiber optic particle analyzer)를 사용하여 동적광산란법(dynamic light scattering method)으로 에멀전의 평균 입자크기 및 다분산 지수(polydispersity index)를 측정하였다. 측정 전에, 에멀전을 여과한 생리식염수로 희석시켰다. 자동측정 모드를 사용하였다. 조금 큰 입자도 관측하기 위하여 부피 분포를 사용하여 입자크기 분석 데이터를 평가하였으며, 다분산 지수(PDI)는 통상 주어진 폴리머 샘플의 분자량 분포를 측정한 값을 말하며, 본 실험에서는 콜로이드성 분산액 중의 입자크기 분포 균일도의 측정값이다 (도 1 참조).

[0056] 트윈 80의 양을 282mg/mL로 고정하고, 리피오돌의 양을 20, 30, 40, 50%로 하여 실시예에 기재된 방법에 따라 에멀전을 제조하였고, 리피오돌의 함량에 따른 리피오돌 에멀전의 입자크기를 측정한 결과, 40%인 경우 평균입자크기가 가장 큰 것으로 나타났다 (도 1의 A 참조). 도 1의 B는 계면활성제의 종류에 따른 평균입자크기 측정 결과를 도시한 것으로서, 실험샘플은 하기 표 2에 도시한 바와 같은 조성의 9:1의 계면활성제 혼합물 또는 트윈 80단독 282mg 및 리피오돌 30vol%를 함유하는 에멀전이다.



표 2. 실험샘플의 조성

	계면활성제(사용량)	리피오돌 사용량
S1	트윈80: 스팬85=9:1 (282mg/mL)	30vol%
S2	트윈80: 플루로닉L-10=9:1 (282mg/mL)	30vol%
S3	트윈80: TPGS=9:1 (282mg/mL)	30vol%
S4	트윈80: 폴록사머407=9:1 (282mg/mL)	30vol%
S5	트윈80: 폴록사머188=9:1 (282mg/mL)	30vol%
S6	트윈80: 콜리돈 12PF=9:1 (282mg/mL)	30vol%
S7	트윈80 (282mg/mL)	30vol%

도 1의 C는 30% 리피오돌 및 트윈80: 스팬 85의 9:1 혼합물로부터 제조된 에멀전의 시간의 경과에 따른 크기 변화를 측정된 결과를 도시한 것으로서, 크기변화가 크지 않았다.

<실험예 2> 조영제의 하운스필드 단위 측정

이오파미돌 300 mg/ml 용액을 생리식염수로 다음 표 2와 같은 농도로 희석한 후, 각 희석액 500  $\mu$ l를 1.5 ml 에 펜도르프 튜브에 넣어 각각의 하운스필드 단위(Hounsfield Unit, HU) 값을 CT 스캔에 의해 구했다.

그 결과 HU value = 26.90 X 샘플 중 요오드(iodine) 농도 + 16.3 의 농도-HU 값 직선을 얻을 수 있었으며, 이 검량선의  $r^2$  값은 0.998로 직선성이 매우 우수하였다.

미지 요오드(iodine) 농도의 각 조영제 샘플을 CT 스캔하여 하운스필드 단위값을 얻었고, 검량선을 이용하여 요오드(iodine)농도로 환산하여 최종 요오드 농도를 결정하였다. 조영제 샘플의 하운스필드 단위값이 표의 범위를 넘어서는 경우는 조영제를 생리식염액으로 2배 희석 후 다시 CT 스캔하여 하운스필드 단위값을 얻어 검량선을 이용하여 요오드 농도로 환산 후 X 2 하여 최종 iodine 농도를 결정하였다.

<표 2>

이오파미돌(mg/ml)	요오드(mg/ml)	HU value
0	0	13.3
20	9.88	293.8
40	19.76	568.8
60	29.64	796.2
100	49.4	1255
150	74.1	1978
200	98.8	2654

실험 결과, 기존의 상용화된 조영제인 이오파미돌(iopamidol)에 비해 본 발명 실시예 1 내지 3의 조영제가 지속적인 조영 증강을 보이고 피크 HU는 거의 유사한 것으로 나타났다. 리피오돌(Lipiodol)의 경우 피크 HU 값은 이오파미돌(iopamidol)과 실시예 1 내지 3의 조영제에 비해 현저히 높으나 1주일 지연 CT영상에도 wash-out없이 지속적인 조영 증강을 보였다.

<실험예 3> 조영제 투여 후 CT 영상촬영

24 마리의 암컷 Crj/Bgi-Sprague-Dawley 랫트 (9주령; 370 -550g)를 사용하였다. (time density curve evaluation,  $n=15$ ; histologic evaluation of targeted lymph node,  $n=3$ ; evaluation of inflammation degree,  $n=6$ )

조영제로는 요오드화 오일 에멀전 (Tween 80:Span 85, Tween 80:Kollidon 12 PF, 또는 Tween 80:TPGS의 9:1 계면활성제 혼합물)이 사용되었고, 대조군으로는 동일 요오드 농도의 이오파미돌 용액과 스쿠알렌으로 희석된 리

피오들을 사용하였다. 모든 조영 물질의 투여된 부피는 0.5ml였고, 포함된 요오드의 양은 72mg (144mgI)였다.

- [0072] **CT 촬영 방법:** 대상 동물의 마취 시행 후 16 채널 다중감지로우 CT 스캐너(channel multidetector row CT scanners, Sensation 64, Siemens Medical Solutions, Forchheim, Germany)를 사용하여, 조영 전 영상을 획득한 후 도설 힌드 포(dorsal hind paw)의 진피내 피부두(intradermal skinfold)에 조영제 (144 mgI/mL)를 주입한 후 시간차를 두고 CT 영상을 획득하였다 (1 분, 3분, 6분, 15분, 120분, 240분, 480분, 1440분, 72시간, 1주).
- [0073] CT 스캔 파라미터는 다음과 같이 설정하였다. (Sensation 64: 350 mAs; 120 kVp table speed, 24 mm per rotation; detector collimations, 0.6 mm and gantry rotation time, 0.5 second).
- [0074] 시계(field of view)는 대상동물의 크기에 따라서 결정하였다. 획득된 미가공 데이터(raw data)를 이용하여 1mm 섹션 두께(section thickness)의 축상면 영상과 관상면 영상을 획득하여 조영 증강되는 림프절을 관찰하였다. 모든 영상들은 영상 분석을 위해 PACS 시스템 (Centricity General Electric Medical Systems, Milwaukee, WI)으로 전송하여 분석 하였다.
- [0075] ROI (Operator-defined region of interest) 를 각각의 조영 증강된 슬와 림프절에 위치하고 림프절 주위의 지방을 포함하지 않도록 림프절의 내측선을 따라서 신중하게 그려서 그 평균 감쇠치(mean attenuation value) (HU)를 측정하였다. 이를 바탕으로 조영제별 시간별 시간대별 증강도(time course of enhancement)를 플롯하였다. 조영 증강 정도의 분석을 위해서, 각 조영제의 평균 피크 HU와 시간에 따른 피크 HU(time to peak HU)를 계산하고, 100 HU이상 지속되는 평균 지속 증강기간(mean sustained enhancement duration)을 계산하였다.
- [0076] CT 영상 촬영 결과, 슬와 림프절 (popliteal LN)의 조영제별 CT 림프관 조영 (lymphangiography) 결과에서 보여지는 바와 같이 이오파미들의 급속한 증가 및 위시 아웃 패턴과는 달리 본 발명 조영제의 경우 지속적인 조영 증강을 보였다.

#### [0077] <실험예 4> 현미경관찰

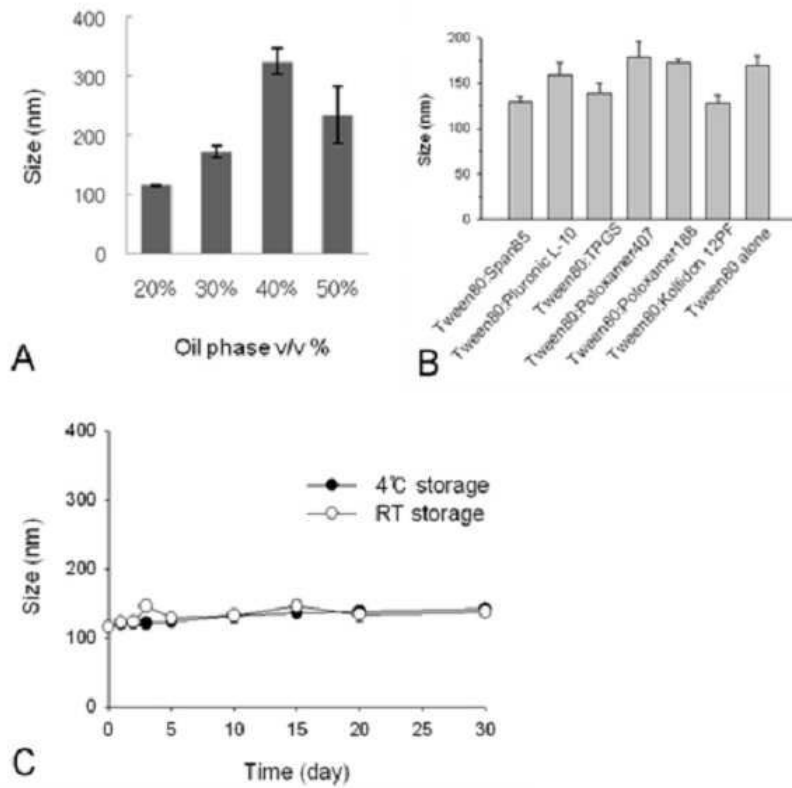
- [0078] 헤마톡실린-에오신 염색하여 현미경을 사용하여 100배율로 림프절을 관찰하였다 (도 4 참조). 그 결과 조영제를 투여한 림프절의 현미경사진은 이오파미들 그룹(A) 및 Tween 80:Span 85 에멀전 주사그룹 (B)가 모두 정상인 것으로 나타났다. 그러나, 리피오들을 투여한 군에서는 림프절낭하 부위에서 지방 소포(fat vesicles)가 관찰되었다 (도 4의 (C)).

#### 도면의 간단한 설명

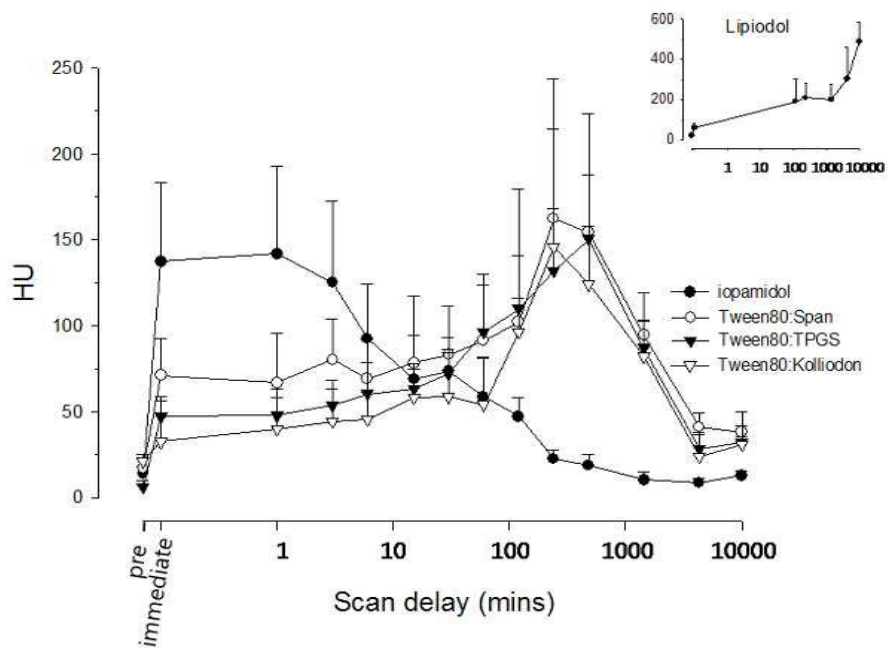
- [0079] 도 1은 리피오들 에멀전의 평균 입자크기를 측정한 결과를 도시한 것으로서,
- [0080] (A)는 리피오들 함량에 따른 평균 입자크기,
- [0081] (B)는 계면활성제의 종류에 따른 평균 입자크기,
- [0082] (C)는 시간의 경과에 따른 평균 입자크기 측정결과이다.
- [0083] 도 2는 조영제 투여 후의 조영 증강 정도를 측정한 결과를 도시한 것으로서, 도면 우측상단의 도는 리피오들의 타임 증강 곡선(time enhancement curve)이다.
- [0084] 도 3은 조영제 주사 후 림프절의 조영 증강 정도를 영상으로 촬영한 것이다.
- [0085] 도 4는 각 조영제 투여 후 림프절의 현미경적 구조를 영상화한 것이다 (Photomicrograph, original magnification X 100; hematoxylin-eosin stain).

도면

도면1



도면2



도면3



도면4

