



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0049759
(43) 공개일자 2020년05월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 49/22 (2006.01) A61B 8/08 (2006.01)
A61K 41/00 (2020.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/107 (2006.01) A61K 9/127 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 49/227 (2013.01)
A61B 8/0883 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7003616
- (22) 출원일자(국제) 2018년07월06일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년02월06일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/041095
- (87) 국제공개번호 WO 2019/010418
국제공개일자 2019년01월10일
- (30) 우선권주장
62/529,700 2017년07월07일 미국(US)

- (71) 출원인
드렉셀유니버시티
미국 펜실베이니아주 19104 필라델피아 체스트넛 스트리트 3141
- (72) 발명자
웬 스티븐
미국, 펜실베이니아 19081, 스위스모어, 415 드렉셀 플레이스
앤젤 브렛
미국, 펜실베이니아 19146, 필라델피아, 1517 로드 맨 스트리트
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인한얼

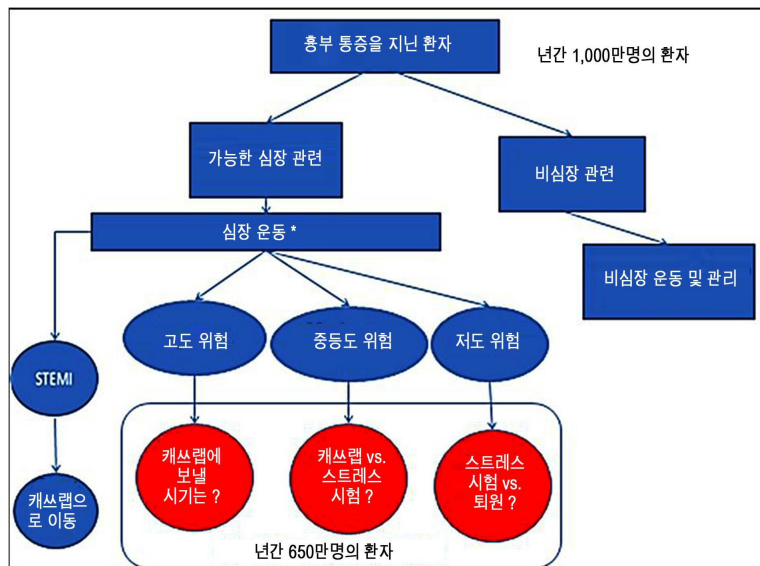
전체 청구항 수 : 총 47 항

(54) 발명의 명칭 전압-활성화 치료, 진단, 및/또는 치료진단 컨스트럭트

(57) 요약

본 발명은 치료제 및/또는 진단제를 대상체의 조직 또는 기관에 전달하는데 사용될 수 있는 컨스트럭트를 제공한다. 특정 실시형태에서, 본 발명은 이중 초음파-전압-활성화 영상화제를 제공한다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 대상체의 신체 일부분을 선택적으로 영상화하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61B 8/481 (2013.01)
A61K 41/0028 (2013.01)
A61K 9/0009 (2013.01)
A61K 9/1075 (2013.01)
A61K 9/127 (2013.01)
A61K 2121/00 (2013.01)
A61K 2123/00 (2013.01)

(72) 발명자

코헛 앤드류

미국, 펜실베니아 19129, 필라델피아, 2806 미드베
일 애비뉴

파파르만 아론

미국, 펜실베니아 19143, 필라델피아, 5024 오세이
지 애비뉴

시모렐리 마이클

미국, 뉴저지 08012, 터너스빌, 9 페론 로드

명세서

청구범위

청구항 1

네스팅 셸(nesting shell)을 포함하는 리포솜을 포함하는 컨스트럭트로서, 네스팅 셸이 내부 코어 액체 및 적어도 하나의 액체 소적(droplet)을 포함하는 내부 구획을 봉입하고, 적어도 하나의 액체 소적이 내부 코어 액체에 불용성인, 컨스트럭트.

청구항 2

제1항에 있어서, 전기장 부재 시보다 전기장 존재 시에 음향학적으로 더 활성적인, 컨스트럭트.

청구항 3

제2항에 있어서, 적어도 하나의 액체 소적이 에코발생제(echogenic agent)를 포함하고, 이는 (a) 컨스트럭트가 전기장의 부재 시에 초음파에 적용되는 경우 음향 활성이 없고, 컨스트럭트가 전기장의 존재 시에 초음파에 적용되는 경우 음향 활성을 갖거나, 또는 (b) 컨스트럭트가 전기장의 부재 시에 비해 존재 시에 초음파에 적용되는 경우 더 높은 음향 활성을 갖는 것인, 컨스트럭트.

청구항 4

제1항에 있어서, 내부 구획이 치료제, 진단제, 및/또는 치료진단제(theranostic agent)를 추가로 포함하고, 이는 전기장의 부재 시보다 전기장의 존재 시에 더 높은 속도로 네스팅 셸을 가로지르는 것인, 컨스트럭트.

청구항 5

제1항에 있어서, 적어도 하나의 액체 소적이 퍼플루오로카본을 포함하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 6

제5항에 있어서, 적어도 하나의 액체 소적이 퍼플루오로프로판, 퍼플루오로부탄, 퍼플루오로펜탄, 퍼플루오로헥산, 및 이들의 임의의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 것인, 컨스트럭트.

청구항 7

제1항에 있어서, 적어도 하나의 액체 소적이 내부 코어 액체와 적어도 하나의 액체 소적의 접촉을 방지하는 코팅으로 코팅되는 것인, 컨스트럭트.

청구항 8

제7항에 있어서, 코팅이 내부 코어 액체 내에서 적어도 하나의 액체 소적의 용해를 방지하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 9

제7항에 있어서, 전기장의 부재 시에 코팅이 액체 소적의 응집, 융합, 및 유착으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 방지 또는 최소화하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 10

제7항에 있어서, 코팅이 폴리소르베이트 20, 알부민, 갈락토스, 및 폴리에틸렌 글리콜로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 11

제1항에 있어서, 네스팅 셸이 인지질 및 중합체로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 12

제11항에 있어서, 중합체가 중합체성이거나 또는 자가-조립되는 것인, 컨스트럭트.

청구항 13

제11항에 있어서, 적어도 하나의 인지질이 포화 인지질, 불포화 인지질, 하전된 인지질, 및 비하전 또는 양쪽성 인지질로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 인지질을 포함하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 14

제11항에 있어서, 네스팅 셸이 비하전 또는 양쪽성 인지질 및/또는 중합체만을 포함하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 15

제11항에 있어서, 네스팅 셸이 적어도 2개의 지질을 포함하고, 여기서 적어도 2개의 지질 중 하나는 포화이고 다른 지질은 불포화이고, 적어도 2개의 지질 중 하나는 하전되고 다른 지질은 비하전 또는 양쪽성인 것인, 컨스트럭트.

청구항 16

제15항에 있어서, 2개 이상의 지질이 스테아로일, 올레오일포스파티딜글리세롤(SOPG); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 스테아로일, 올레오일포스파티딜콜린(SOPC); 디스테아로일포스파티딜글리세롤(DSPG); 콜레스테롤; 및 트리올레인으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인, 컨스트럭트.

청구항 17

제15항에 있어서, 네스팅 셸이 (a) SOPG 및 SOPC; (b) SOPG 및 DSPG; (c) DSPC 및 SOPC; 및 (d) DSPC 및 DSPG로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 지질 쌍을 포함하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 18

제15항에 있어서, 적어도 하나의 포화 지질 및 적어도 하나의 불포화 지질이 (a) SOPG 및 DSPC; 및 (b) SOPC 및 DSPG로 구성된 군으로부터 선택되는 것인, 컨스트럭트.

청구항 19

제1항에 있어서, 네스팅 셸이 적어도 하나의 폐쇄화된 지질을 추가로 포함하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 20

제1항에 있어서, 네스팅 셸이 폴리(비닐 알코올)을 추가로 포함하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 21

제1항에 있어서, 네스팅 셸이 DSPC, SOPG, 콜레스테롤 및 트리올레인을 포함하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 22

제21항에 있어서, 네스팅 셸이 약 10 내지 32.5 wt% DSPC, 약 10 내지 32.5 wt% SOPG, 약 15 내지 50 wt% 콜레스테롤, 및 약 10 내지 40 wt% 트리올레인을 포함하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 23

제1항에 있어서, 네스팅 셸이 DSPG, SOPC, 콜레스테롤 및 트리올레인을 포함하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 24

제23항에 있어서, 네스팅 셸이 약 10 내지 32.5 wt% DSPG, 약 10 내지 32.5 wt% SOPC, 약 15 내지 50 wt% 콜레스테롤, 및 약 10 내지 40 wt% 트리올레인을 포함하는 것인, 컨스트럭트.

청구항 25

하기 단계를 포함하는, 대상체의 신체 일부분에 치료제, 영상화제 및/또는 치료진단제를 선택적으로 전달하는 방법:

대상체에 제1항의 컨스트럭트를 투여하는 단계로, 내부 구획이 치료제, 영상화제 및/또는 치료진단제를 포함하고,

대상체의 신체 일부분이 전압 구배의 부재 시보다 네스팅 셸이 내부 코어 액체에 더 투과성이 되게 하기에 충분한 전압 구배를 생산하는 경우, 더 이상의 추가 전압 구배가 대상체의 신체 일부분에 적용되지 않거나; 또는

대상체의 신체 일부분이 네스팅 셸이 내부 코어 액체에 투과성이 되게 하기에 충분한 전압 구배를 생산하지 않는 경우, 추가 전압 구배가 네스팅 셸이 내부 코어 액체에 투과성이 되게 하도록 대상체의 신체 일부분에 적용되는 것인, 단계.

청구항 26

하기 단계를 포함하는, 대상체의 신체 일부분을 선택적으로 영상화하는 방법:

대상체에게 제1항의 컨스트럭트를 투여하는 단계로, 적어도 하나의 액체 소적이 에코발생체를 포함하고, 이는 (a) 컨스트럭트가 전기장 부재 시에 초음파에 적용되는 경우 음향 활성이 없고 컨스트럭트가 전기장 존재 시에 초음파에 적용되는 경우 음향 활성을 갖거나, 또는 (b) 컨스트럭트가 전기장 부재 시에 비해 전기장 존재 시에 초음파에 적용되는 경우 더 높은 음향 활성을 갖는 것인, 단계; 및

초음파 방사를 대상체의 신체 일부분에 적용하는 단계로, 여기서:

대상체의 신체 일부분이 컨스트럭트가 음향적으로 더 활성적이게 하기에 충분한 전압 구배를 생산하는 경우, 더 이상의 추가 전압을 대상체의 신체 일부분에 적용하지 않거나; 또는

대상체의 신체 일부분이 컨스트럭트가 전압 구배의 부재 시보다 음향적으로 더 활성적이게 하기에 충분한 전압 구배를 생산하지 않는 경우, 컨스트럭트가 음향적으로 더 활성적이 되도록 추가 전압 구배가 대상체의 신체 일부분에 적용되는 것인, 단계.

청구항 27

제26항에 있어서, 적어도 하나의 액체 소적이 퍼플루오로카본을 포함하는 것인, 방법.

청구항 28

제26항에 있어서, 적어도 하나의 액체 소적이 퍼플루오로프로판, 퍼플루오로부탄, 퍼플루오로펜탄, 및 퍼플루오로헥산으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 29

제26항에 있어서, 적어도 하나의 액체 소적이 전압 구배의 부재 시에 내부 코어 액체와 적어도 하나의 액체 소적의 접촉을 방지하는 코팅으로 코팅되는 것인, 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 하기 중 적어도 하나가 적용되는 것인, 방법: (a) 코팅이 내부 코어 액체 내부에서 적어도 하나의 액체 소적의 용해를 방지하고; (b) 코팅이 액체 소적의 응집, 융합, 및 유착으로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 방지 또는 최소화함.

청구항 31

제26항에 있어서, 코팅이 폴리소르베이트 20, 알부민, 갈락토스, 및 폴리에틸렌 글리콜로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는 것인, 방법.

청구항 32

제25항 또는 제26항에 있어서, 대상체의 신체 일부분이 심장, 폐, 간, 쓸개, 비장, 췌장, 신장, 방광, 자궁, 난

소, 눈, 갑상선, 부갑상선, 음낭, 고환 및 복강으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 33

제25항 또는 제26항에 있어서, 대상체의 신체 일부분이 심장 또는 이의 절편인 것인, 방법.

청구항 34

제25항 또는 제26항에 있어서, 대상체가 포유동물인 것인, 방법.

청구항 35

제34항에 있어서, 대상체가 사람인 것인, 방법.

청구항 36

제25항 또는 제26항에 있어서, 네스팅 셸이 인지질 및 중합체로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나를 포함하는 것인, 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 적어도 하나의 인지질이 포화 인지질, 불포화 인지질, 하전된 인지질, 및 비하전 또는 양쪽성 인지질로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 인지질을 포함하는 것인, 방법.

청구항 38

제36항에 있어서, 네스팅 셸이 적어도 2개의 지질을 포함하고, 여기서 적어도 2개의 지질 중 하나는 포화이고 다른 지질은 불포화이고, 적어도 2개의 지질 중 하나는 하전되고 다른 지질은 비하전 또는 양쪽성인 것인, 방법.

청구항 39

제37항에 있어서, 2개 이상의 지질이 SOPG, DSPC, SOPC, DSPG, 콜레스테롤, 및 트리올레인으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인, 방법.

청구항 40

제37항에 있어서, 네스팅 셸이 (a) SOPG 및 SOPC; (b) SOPG 및 DSPG; (c) DSPC 및 SOPC; 및 (d) DSPC 및 DSPG로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 지질 쌍을 포함하는 것인, 방법.

청구항 41

제37항에 있어서, 적어도 하나의 포화 지질 및 적어도 하나의 불포화 지질이 (a) SOPG 및 DSPG; 및 (b) SOPC 및 DSPG로 구성된 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 지질 쌍을 포함하는 것인, 방법.

청구항 42

제25항 또는 제26항에 있어서, 네스팅 셸이 적어도 하나의 폐쇄화된 지질을 추가로 포함하는 것인, 방법.

청구항 43

제25항 또는 제26항에 있어서, 네스팅 셸이 폴리(비닐 알코올)을 추가로 포함하는 것인, 방법.

청구항 44

제25항 또는 제26항에 있어서, 네스팅 셸이 DSPC, SOPG, 콜레스테롤 및 트리올레인을 포함하는 것인, 방법.

청구항 45

제44항에 있어서, 네스팅 셸이 약 20 내지 22.5 wt% DSPC, 약 20 내지 22.5 wt% SOPG, 약 25 내지 40 wt% 콜레스테롤 및 약 20 내지 30 wt% 트리올레인을 포함하는 것인, 방법.

청구항 46

제25항 또는 제26항에 있어서, 네스팅 셸이 DSPG, SOPC, 콜레스테롤 및 트리올레인을 포함하는 것인, 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 네스팅 셸이 약 20 내지 22.5 wt% DSPG, 약 20 내지 22.5 wt% SOPC, 약 25 내지 40 wt% 콜레스테롤 및 약 20 내지 30 wt% 트리올레인을 포함하는 것인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

배경 기술

- [0001] 관련 출원에 대한 상호 참조
- [0002] 본 출원은 2017년 7월 7일자로 출원된 미국 가출원 제62/529,700호에 대한 우선권을 35 U.S.C. § 119(e)에 따라 주장하며, 상기 가출원의 전문은 참고로 본 명세서에 포함된다.
- [0003] 발명의 배경
- [0004] 표적화된 약물 전달, 또는 스마트 약물 전달은 페이로드(예컨대, 치료제, 진단제, 및/또는 "치료진단제(theranostic agent)"라고도 알려진, 치료-진단제(therapeutic-diagnostic agent))를 대상체에게 전달하는 방법을 지칭하며, 페이로드는 다른 부분에 비해 대상체의 신체의 특정 부분에, 우선적으로(또는 전적으로) 전달되거나, 그 안에서 방출된다. 종래의 전신 약물 전달의 몰락을 극복하는 것을 목표로 하여, 나노입자를 이용한 표적화된 약물 전달이 시도되었다. 원칙적으로, 나노입자는 관심 작용제로 로딩되고, 치료 또는 진단이 필요한 특정 신체 부위를 표적으로 삼는다. 이러한 방식으로, 나노입자의 사용은 작용제와 건강한 조직과의 상호작용을 피하거나 최소화한다. 이상적으로, 표적화된 약물 전달 컨스트럭트는 페이로드 작용제와 관심 조직과의 상호작용을 연장시키고 국소화해야 한다. 또한, 표적화된 약물 전달은 감소된 투여 빈도, 보다 일관된 효과, 임의의 부작용의 감소, 및 순환하는 작용제 수준의 감소된 요동을 초래하여야 한다.
- [0005] 기존의 표적화된 약물 전달 시스템은 리포솜, 미셀, 덴드리머, 생분해성 입자, 및 인공 DNA 나노구조를 포함한다. 그러나, 기존의 스마트 약물 전달 컨스트럭트는 아쉬운 점이 많고, 치료 및/또는 영상화될 조직 또는 기관의 국소 물리적 특성에 반응하는 신규 전달 컨스트럭트를 확인하는데 적극적인 관심을 기울이고 있다.
- [0006] 흉부 통증은 생명을 위협하는 급성 심근 경색(AMI)에서부터 근육 긴장과 같은 가벼운 자기-제한 장애에 이르기까지 무수한 장애에서 가장 흔하게 나타나는 신체적 이상이다. 심근 허혈과 일치하는 흉부 통증 및 증상은 미국에서 응급실(ED) 평가의 일반적인 이유이며, 매년 1억 1,900만 ED 방문자 중 약 8 내지 10 %를 차지한다. 미국에서 매년 650만명 이상의 환자가 흉부 통증에 대한 신체 검사를 받아야 한다. 또한 8백만명을 넘는 흉부 통증 환자는 매년 외래환자 환경에서 평가되어, 상당한 건강 부담을 안고 있다. 건강 관리 전문가들은 생명을 위협하는 흉부 통증의 심장 원인을 비-심장 병인과 구별해야 하는 도전에 직면하고 있으며, 이는 시기 적절하고 효율적인 방식으로 수행될 필요가 있다. 미국에서는 흉부 통증이 있는 ED 환자의 약 60 %가 병원에 추가로 입원한다. 그러나, 이러한 높은 입원률에도 불구하고, AMI 환자의 3 내지 4 %는 부주의로 퇴원하게 되는 반면, 중환자실(CCU: critical care unit)에 입원한 흉부 통증이 있는 환자의 40 %에서는 결국 모든 허혈성 심장 질환이 배제되었다.
- [0007] 지속기간이 12시간 미만인 흉부 통증의 진단은 중요한 도전과제인데, 이는 대부분의 급성 관상 동맥 증후군(ACS: acute coronary syndrome)-관련 사망이 이 기간 내에 발생하기 때문이다. 불행하게도, 개별 생화학적 마커는 흉부 통증의 초기 12시간 기간에서 심근 경색을 효과적으로 배제할 수 없다. ACS를 앓고 있는 모든 환자를 식별하는 것이 필수적이지만, 의료 비용을 통제하고, 불필요한 검사, 비용-집약적인 입원환자 관리 및 결과적인 심리적 스트레스의 발생을 최소화하는 것이 중요하다. 이러한 평가를 위한 현재의 최선의 기준(gold-standard)은 12 내지 36 시간의 지속적인 병원 모니터링뿐만 아니라, 방사선, 고가의 영상화 장비, 및/또는 침습적 카테터-기반 혈관조영술의 사용을 포함한다.
- [0008] 치료제, 진단제, 및/또는 치료진단제를 관심 조직 또는 기관에 전달할 수 있는, 신규한 표적화된 약물 전달 컨

스트럭트에 대한 필요성은 해당 기술분야에 여전히 존재한다. 이러한 컨스트럭트는 사용하기 안전하고, 쉽고, 빨라야 하며, 정확한 작용제 전달이 가능해야 한다. 방사선, 침습성 시험, 및/또는 장기간의 입원을 필요로 하지 않으면서 환자의 심혈관계를 영상화하는데 사용할 수 있는 신규한 컨스트럭트에 대한 필요성 또한 해당 기술 분야에 여전히 존재한다. 본 발명은 이러한 필요성을 해결하고 충족시킨다.

발명의 내용

- [0009] 발명의 간단한 요약
- [0010] 본 발명은 네스팅 셸(nesting shell)을 포함하는 리포솜을 포함하는 컨스트럭트를 제공한다. 본 발명은 추가로 치료제, 영상화제 및/또는 치료진단제를 대상체의 신체 일부분에 선택적으로 전달하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 대상체의 신체 일부분을 선택적으로 영상화하는 방법을 제공한다.
- [0011] 특정 실시형태에서, 네스팅 셸은 내부 코어 액체 및 적어도 하나의 액체 소적(liquid droplet)을 포함하는 내부 구획을 둘러싼다. 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 액체 소적은 내부 코어 액체에 불용성이다.
- [0012] 특정 실시형태에서, 컨스트럭트는 전기장 부재 시에 비해 전기장 존재 시에 음향학적으로 더 활성이다.
- [0013] 특정 실시형태에서, 적어도 하나의 액체 소적은, 컨스트럭트가 전기장 부재 시에 초음파에 적용될 때는 음향 활성이 없고, 컨스트럭트가 전기장 존재 시에 초음파에 적용될 때는 음향 활성을 갖는, 에코발생제(echogenic agent)를 포함한다.
- [0014] 특정 실시형태에서, 적어도 하나의 액체 소적은, 컨스트럭트가 전기장의 부재 시에 비해 전기장의 존재 시에 초음파에 적용될 때 더 높은 음향 활성을 갖는, 에코발생제를 포함한다.
- [0015] 특정 실시형태에서, 내부 구획은, 전기장의 부재 시에 비해 전기장의 존재 시에 더 높은 속도로 네스팅 셸을 가로지르는, 치료제, 진단제, 및/또는 치료진단제를 추가로 포함한다.
- [0016] 특정 실시형태에서, 적어도 하나의 액체 소적은 퍼플루오로카본을 포함한다. 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 액체 소적은 퍼플루오로프로판, 퍼플루오로부탄, 퍼플루오로펜탄, 퍼플루오로헥산, 및 이들의 임의의 혼합물로 구성된 균으로부터 선택된다. 또 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 액체 소적은 내부 코어 액체와 적어도 하나의 액체 소적의 접촉을 방지하는 코팅으로 코팅된다. 또 다른 실시형태에서, 코팅은 내부 코어 액체 내부에서 적어도 하나의 액체 소적의 용해(dissolution)를 방지한다. 또 다른 실시형태에서, 전기장 부재 시, 코팅은 액체 소적의 응집, 융합, 및 유착(coalescence)으로 구성된 균으로부터 선택된 하나 이상을 방지하거나 최소화한다. 또 다른 실시형태에서, 코팅은 폴리소르베이트 20, 알부민, 갈락토스, 및 폴리에틸렌 글리콜로 구성된 균으로부터 선택된 하나 이상을 포함한다.
- [0017] 특정 실시형태에서, 네스팅 셸은 인지질 및 중합체(polymer)로 구성된 균으로부터 선택된 하나 이상을 포함한다. 다른 실시형태에서, 중합체는 중합성이거나 또는 자가-조립성이다. 또 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 인지질은 포화 인지질, 불포화 인지질, 하전된 인지질, 및 비하전되거나 또는 양쪽성(zwitterion) 인지질로 구성된 균으로부터 선택된 적어도 하나의 인지질을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 비하전되거나 또는 양쪽성인 인지질 및/또는 중합체만을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 2개 이상의 지질을 포함하며, 여기서 2개 이상의 지질 중 하나는 포화된 것이고 다른 지질은 불포화된 것이며, 여기서 2개 이상의 지질 중 하나는 하전된 것이고 다른 지질은 비하전되거나 또는 양쪽성인 것이다. 또 다른 실시형태에서, 2개 이상의 지질은 스테아로일, 올레오일포스파티딜 글리세롤(SOPG); 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC); 스테아로일, 올레오일포스파티딜콜린(SOPC); 디스테아로일포스파티딜 글리세롤(DSPG); 콜레스테롤; 및 트리올레인으로 구성된 균에서 선택된다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은, SOPG 및 SOPC; SOPG 및 DSPG; DSPC 및 SOPC; 및 DSPC 및 DSPG로 구성된 균에서 선택된 적어도 하나의 지질 쌍을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 포화 지질 및 적어도 하나의 불포화 지질은, SOPG 및 DSPC; 및/또는 SOPC 및 DSPG이다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 적어도 하나의 폐길화된(pegylated) 지질을 추가로 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 폴리(비닐 알코올)을 추가로 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 DSPC, SOPG, 콜레스테롤 및 트리올레인을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 약 10 내지 32.5 wt% DSPC, 약 10 내지 32.5 wt% SOPG, 약 15 내지 50 wt% 콜레스테롤, 및 약 10 내지 40 wt% 트리올레인을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 DSPG, SOPC, 콜레스테롤 및 트리올레인을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 약 10 내지 32.5 wt% DSPG, 약 10 내지 32.5 wt% SOPC, 약 15 내지 50 wt% 콜레스테롤, 및 약 10 내지 40 wt% 트리올레인을 포함한다.

- [0018] 특정 실시형태에서, 본 방법은 대상체에게 본 발명의 컨스트럭트를 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 내부 구획은 치료제, 영상화제 및/또는 치료진단제를 포함한다. 다른 실시형태에서, 대상체의 신체 일부분이 전압 구배의 부재 시에 비해 내부 코어 액체에 대해 네스팅 셀을 더 투과성으로 만들기에 충분한 전압 구배를 생성하는 경우, 추가의 전압 구배가 대상체의 신체 일부분에 적용되지 않는다. 또 다른 실시형태에서, 대상체의 신체 일부분이 내부 코어 액체에 대해 네스팅 셀을 더 투과성으로 만들기에 충분한 전압 구배를 생성하지 않는 경우, 네스팅 셀을 내부 코어 액체에 대해 투과성으로 만들기 위해 추가의 전압 구배가 대상체의 신체 일부분에 적용된다.
- [0019] 특정 실시형태에서, 본 방법은 대상체에게 본 발명의 컨스트럭트를 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 적어도 하나의 액체 소적은 에코발생체를 포함한다. 다른 실시형태에서, 에코발생체는 컨스트럭트가 전기장 부재 시에 초음파에 적용될 때는 음향 활성이 없고, 컨스트럭트가 전기장 존재 시에 초음파에 적용될 때는 음향 활성을 갖는다. 또 다른 실시형태에서, 에코발생체는 컨스트럭트가 전기장의 부재 시에 비해 전기장의 존재 시에 초음파에 적용될 때 더 높은 음향 활성을 갖는다. 다른 실시형태에서, 본 방법은 대상체의 신체 일부분에 초음파 조사(radiation)를 적용하는 단계를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 대상체의 신체 일부분이 컨스트럭트를 음향적으로 더 활성적하게 만들기에 충분한 전압 구배를 생성하는 경우, 추가의 전압 구배는 대상체의 신체 일부분에 적용되지 않는다. 또 다른 실시형태에서, 대상체의 신체 일부분이 전압 구배 부재 시에 비해 컨스트럭트를 음향적으로 더 활성적하게 만들기에 충분한 전압 구배를 생성하지 않는 경우, 컨스트럭트를 음향적으로 더 활성적하게 만들기 위해 추가의 전압 구배가 대상체의 신체 일부분에 적용된다.
- [0020] 특정 실시형태에서, 대상체의 신체의 일부분은 심장, 폐, 간, 쓸개, 비장, 췌장, 신장, 방광, 자궁, 난소, 눈, 갑상선, 부갑상선, 음낭, 고환, 및 복강으로 구성된 군으로부터 선택된다. 다른 실시 형태에서, 대상체의 신체의 일부분은 심장 또는 이의 절편(section)이다.
- [0021] 특정 실시형태에서, 대상체는 포유동물이다. 다른 실시형태에서, 대상체는 사람이다.

도면의 간단한 설명

- [0022] 본 발명의 특정 실시형태에 대한 이하의 상세한 설명은 첨부된 도면과 연계하여 읽을 때 더 잘 이해될 것이다. 본 발명을 설명하기 위해, 특정 실시형태가 도면에 도시되어 있다. 그러나, 본 발명은 도면에 도시된 실시형태의 정확한 배열 및 수단으로 제한되지 않음이 이해되어야 한다.
 - 도 1은 흉부 통증을 지닌 환자를 진단하기 위한 해당 기술분야의 표준 절차를 상세히 설명하는 알고리즘 차트이다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물 및 방법은 강조된 세그먼트 내에 속하는 환자를 평가하기 위해 사용될 수 있다.
 - 도 2a 내지 2b는, 비제한적인 방식으로, 본 발명의 전압-활성화 치료진단 컨스트럭트를 예시하는 카툰 다이어그램이다. 도 2a는 전압 구배 부재 시의 본 발명의 비제한적인 컨스트럭트를 도시한다. 도 2b는, 예를 들어, 심장의 탈분극시에 발생하는 것과 같은, 전압 구배 존재 시의 본 발명의 비제한적인 컨스트럭트를 도시한다. 이러한 특정 경우에, 전압 구배는 네스팅 셀과 상호작용하여, 네스팅 셀이 수성 내부에 더 투과성이 되도록 야기하고, 네스팅 셀을 통해 또는 이를 가로질러(또는 둘 다로) 물질의 운반을 가능케한다.
 - 도 3a 내지 3b는 본 발명의 특정 이중 전압/초음파-활성화 치료진단 컨스트럭트를 나타내는 비제한적 카툰 다이어그램이다. 도 3a는 초음파에만 적용된 이중-활성화 컨스트럭트를 도시한다. 전압 구배가 없으면, 네스팅 셀은 수성 내부에 대한 낮은 투과성(또는 전혀 없음)을 갖는다. 특정 실시형태에서, 이들 조건은 내부에서의 조영제(contrast agent) 소적의 증발을 방지한다. 다른 실시형태에서, 초음파 그 자체로는 전압-활성화 컨스트럭트를 유의하게 활성화시키거나 검출하지 않는다. 도 3b는 초음파 및 전압 구배 둘 다에 적용되는 이중-활성화 컨스트럭트를 도시한다. 전압 구배(전기장)는 네스팅 셀이 수성 내부에 더 투과성 있게 되도록 야기한다. 특정 실시형태에서, 수성 내부의 적어도 부분적인 누출은 조영제 소적의 증발을 가능케한다. 다른 실시형태에서, 전압 구배로 인한 네스팅 셀에서의 변화는 컨스트럭트의 음향 활성을 증가시킨다.
 - 도 4a 내지 4d는 0.28 MI(MI는 MHz 단위인 초음파 주파수의 제곱근으로 나눈, MPa 단위인 피크 음압으로 정의됨), 2.0/4.0 MHz의 연속적이고, 일정한 초음파의 존재 시의 시험관내에서 사용되는 본 발명의 컨스트럭트를 나타내는 비제한적 영상이다. 도 4a는 컨스트럭트가 시험 챔버(chamber)에 주입되기 전에 획득한 영상이다. 도 4b는 적용된 전압 부재 시의, 2 mL의 컨스트럭트를 시험 챔버에 주입한 후 획득한 영상이다. 도 4c는 초음파 및 1.25 V/cm의 전기장의 존재 시의 컨스트럭트가 있는 시험 챔버의 영상으로서, 도 4b와 비교하여 명암의 밝기에서 약간의 시각적 차이를 보여준다. 도 4d는 초음파 및 3.25 V/cm의 전기장의 존재 시의 컨스트럭트가

있는 테스트 챔버의 영상이다. 도 4d는 도 4b 내지 도 4c에 비해 더 큰 음향 활성을 보여주며, 이는 컨스트럭트가 적용된 전기장에 민감함을 제시한다.

도 5a 내지 5c는 도 4a 내지 도 4d의 영상을 도출하기 위해 사용한 시험관내 시험 장치의 영상이며, 심장의 임상 영상을 모사하기 위한 것이다. 함수 발생기(도 5a)에 의해 프로그램된 전기 신호는 임상 초음파 장치(도 5c)에 결합된, 조직 모사체(도 5b)의 금속판으로 전송된다.

도 6a 내지 6b는 랫트 심장의 좌심실의 생체내 영상이다(장축 단면도). 도 6a는 주사 전에 획득되었다. 도 6b는 전압-활성화 컨스트럭트의 주입 후 획득되었다; 구체적으로, 제형은 22.5 wt% DSPG, 22.5 wt% SOPC, 25% 콜레스테롤, 30 wt% 트리올레인을 포함하는 이중층으로 네스팅되고 저분자량 PVA를 함유하는 물 중에 현탁된, 폴리소르베이트 20(5 vol% PFP, 0.1 vol% PS20, 균형수) 및 50 vol% PBS의 단층으로 코팅된 50 vol% PFP 소적을 포함하였다. 도 6a 내지 6b의 비교는 도 6b에서의 심근의 에코발생 향상을 나타낸다.

도 7a 내지 7b는 돼지 심장의 좌심실의 생체내 영상이다(단축 단면도). 도 7a는 주입 전에 획득되었다. 도 7b는 전압-활성화제 주입 후 획득되었다. 도 7a 내지 7b의 비교는 도 7b에서의 심근의 에코발생 향상을 나타낸다.

도 8은 돼지에서의 심근 관류 영상을 보여주는 영상이다. 기준선(본 발명의 컨스트럭트 없음; 왼쪽 영상)에서의 그리고 본 발명의 컨스트럭트의 주입 후(오른쪽 영상)의 돼지 좌심실을 보여주는 B-모드 초음파 영상. 컨스트럭트의 존재는 심근 내에서 향상된 밝기를 야기하는 한편, 심실은 향상되어 있지 않다.

도 9는 돼지에서의 심근 경색 검출을 나타내는 영상이다. 도 8에서와 같이, 기준선(본 발명의 컨스트럭트 없음; 왼쪽 영상)에서의 그리고 본 발명의 컨스트럭트의 주입 후(왼쪽 영상)의 돼지 좌심실을 나타내는 B-모드 초음파 영상이나, 컨스트럭트는 풍선이 좌측 전방 하강 관상 동맥(left anterior descending coronary artery)에서 팽창된 후 주입되었다. 컨스트럭트의 존재는, 풍선으로 인해, 관류의 부재에 상응하는 심근 내 영역에서는 그렇지 않지만, 심근 내에서 향상된 밝기를 야기한다. 역시, 심실은 향상되어 있지 않다.

도 10은 본 발명의 비제한적인 컨스트럭트를 도시한다. 특정 실시형태에서, 컨스트럭트는 음으로 하전된 리포솜의 수성 코어 내에 네스팅된 코팅된 퍼플루오로 카본(상변화제) 소적을 포함한다. 다른 네스팅 셸 재료가 사용될 수 있지만, 본 명세서에 예시된 네스팅 셸은 인지질을 도시한다. 인지질 이중층 네스팅 셸의 경우, 특정 실시형태에서, 제형은 추가의 종(예를 들어, 콜레스테롤 또는 트리글리세리드, 또는 둘 다)을 포함할 수 있다. 또한, 사슬 길이 및 포화도, 헤드 그룹 유형, 크기, 및 하전(양이온성, 음이온성, 양쪽성, 또는 비이온성)이 상이한 인지질 종이 사용될 수 있으며, 여기에 도시된 것 이외의 다른 구조가 제형으로부터 발생할 수 있다. 도면의 대시는 음전하를 나타낸다; (양의) 반대 이온은 도시되어 있지 않고, 본 연구에서의 제타 전위는 막관통 전위와 혼동되어서는 안된다. 전기장의 존재는 네스팅 셸에 영향을 미치며, 이는 차례로 증가된 음향 활성을 생성한다. 전기장에 대한 네스팅 셸의 반응(들)은, 이들로 제한되는 것은 아니지만, 도메인 및/또는 분자의 형상 변화, 재배치 및/또는 재배향, 확대(expansion), 박화(thinning), 팽창(dilation), 상 변화, 및/또는 상 분리를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, 이들 반응 중 하나 이상은 네스팅 셸의 투과성 증가를 유도한다. 다른 실시형태에서, 이들 반응 중 하나 이상은 향상된 음향 활성을 초래하며, 여기서 증가된 음향 활성은 향상된 산란(셸 내 또는 코어 내 중 어느 하나 또는 둘 다의, 구조 내에서 전체 또는 엔티티(entities)로서 네스팅된 구조로부터; 예를 들어, 소적이 유착될 수 있고, 도메인이 유착될 수 있고/거나, 네스팅은 형상이 변할 수 있음)으로부터 또는 미세기포 진동(여기서 미세기포는 소적 또는 소적 내에 용해된 기체의 부분 또는 완전한 증발을 발생시킴)으로부터 발생할 수 있다.

도 11a 내지 11b는 초음파 또는 전기장, 또는 둘 다의 존재 시에 라이브 형광 측정을 위한 맞춤형 3D 프린팅된 하우징을 도시한다. 도 11a: 형광 분석 실험 설정의 예시. 초음파 트랜스듀서는 여기 광선이 샘플을 통과하는 높이에서 큐벳 내에 위치한 7.5 cm의 초점 거리를 갖는 3D 프린팅된 베이신(basin) 상단에 배치된다. 티타늄 전극은 1 cm 간격으로 위치하고, 약어 클립이 함수 발생기를 사용하여 다양한 정현파(sinusoidal) 전위를 생성하는데 사용되고; 방출 모노크로메터를 마주하는 전극은 검출기로 빛을 통과시키는 홀을 갖는다. 도 11b: A-710 정치-상태 형광 분광계(Photon Technology International Inc., Birmingham, NJ) 내부의, 맞춤형 3D 프린팅된 하우징 사진.

도 12a 내지 12b는 조직 모사 팬텀을 도시한다. 도 12a: GE Vivid *i*의 초음파 트랜스듀서가 PVA 크리오겔(cryogel) 조직 팬텀과 접촉하는 것을 보여주는 사진. 2개의 알루미늄 판이 6 cm 간격으로 팬텀에 삽입되고 직경이 3 cm인 샘플 영역에 걸쳐 있다. 도 12b: GE Vivid *i*를 사용하여 생성된 영상의 스크린 샷으로서, 콘트라

스트 대 조직 비(CTR: contrast-to-tissue ratio) 방법론을 보여준다. 밝기 분석을 위해 선택된 두 영역은 트랜스듀서가 팬텀에 결합되는 위치에서 약 6 cm 이격되어 있다. 샘플 "콘트라스트"(CTR의 C) 섹션은 3 cm 원형 샘플 캐비티 내부에서 보여지는 반면, "조직"(CTR의 T) 섹션은 샘플 캐비티 외부에 있다.

도 13은 초음파 및 전기장에 의해 야기된 상승적 칼세인 방출을 예시한다. 0.25 V/cm 단독의 전기장(빈 원), 0.5 MPa PNP 단독의 초음파(채워진 원) 및 0.25 V/cm의 전기장 및 0.5 MPa PNP의 초음파 둘 다(x로 채워진 원)에 노출된 샘플에 대해 일시적(temporal) 칼세인 누출이 나타난다. 기호가 없는 가는 선은 "계산된 부가 효과"를 나타내며, 이는 개별 모달리티(modality)의 결과를 부가하여 획득된 누출 프로파일이다. 조합된 모달리티가 "계산된 부가 효과"보다 높은 누출 프로파일을 발생시킨다는 사실은 초음파와 전기장 사이의 상승작용(synergy)을 나타낸다. 시야를 돕기 위해 데이터 포인트를 통과하여 선이 그려져 있다.

도 14는 조직-모사 팬텀에서의 전압-활성화 초음파 밝기를 도시한다. 초음파 영상화(GE Vivid i, 0.28 MI, 2.0/4.0 MHz) 밝기에 대한 전기장의 영향이 네스팅 셀 화학 I 및 II에 대해 나타나 있는데, 각각 ~ -60 mV(상단 행) 및 ~ -70 mV(하단 행)의 제타 전위를 초래하였다. 패널 A 및 E는 샘플이 첨가되기 전에 촬영한 영상이며, 이 시점에서 샘플 챔버는, 전기장 부재 하에서, DI 물만 함유했다. 패널 B 및 F는 팬텀에 2 mL의 샘플을 첨가한 직후와 전기장을 적용하기 전에 촬영한 영상이다. 패널 C 및 G는 전기장이 1.0 V/cm이었을 때 촬영한 영상이고; 영상 G는 영상 F와 비교할 때 향상된 밝기를 나타내는 반면, 패널 B에 비해 패널 C의 밝기는 구별하기가 더 어렵다. 패널 D 및 H는 전기장이 3.0 V/cm이었을 때 촬영한 영상이고; 영상 H는 영상 G에 비해 향상된 밝기를 나타내는 반면, 패널 C에 대한 패널 D의 밝기는 분명하지 않다. 이러한 정성적 밝기 결과는 CTR 방법론을 통해 정량화되고 도 15에 도시된다.

도 15는 CTR에 의해 정량화된 조직-모사 팬텀에서의 전압-활성화 초음파 밝기를 도시한다. 도 14의 결과는 CTR 방법론을 사용하여 정량되었고 CTR 대 시간으로 제시되었다. 삽입 그래프는 조직-모사 팬텀에서 두 금속판 사이의 전압 차이가 실험 내내 어떻게 변했는지를 보여준다.

도 16은 래트 심장에서의 전압-활성화 초음파 콘트라스트를 도시한다. 확장기 동안 래트 심장(비개흉)의 B-모드 영상이 하기 조건에 대해 제시된다: (A) 임의의 작용제의 투여 전 기준선; (B) 셀 화학 II로 네스팅된 제형의 투여 후; (C) 셀 화학 I로 네스팅된 제형의 투여 후; 및 (D) 포화 인지질로 코팅된 육불화황(sulfur hexafluoride)의 비-네스팅된 미세기포의 투여 후. LV = 좌심실, MC = 심근. 네스팅 셀 화학 II는 기준선에 비해 밝아진 심근을 나타내고, 좌심실 내에서의 활성화의 일부 증거를 보여준다(패널 B와 A 비교). 그러나, 비-네스팅된 미세기포로 획득된 것보다, 심실의 밝아짐은 훨씬 더 적고, 심근의 밝아짐은 훨씬 더 크다(패널 B와 D 비교). 네스팅된 셀 화학 I은, 효과가 덜 두드러지긴 했지만, 네스팅 셀 화학 II와 비슷한 결과를 나타냈다(패널 B와 C 비교).

도 17은 돼지 심근에서의 전압-활성화 초음파 콘트라스트를 도시한다. 네스팅 화학 II의 주입 전(왼쪽 영상) 및 주입 30초후(오른쪽 영상)를 보여주는 돼지 심장(비개흉)의 장축 단면도. LV는 좌심실, RV는 우심실을 나타낸다. 심근과 좌심실 사이의 콘트라스트 향상은 본 발명의 전압-활성화 컨스트럭트의 주사시 36.4 dB ± 0.2까지 증가한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0023] 발명의 상세한 설명
- [0024] 일 양상에서, 본 발명은 특정 페이로드를 대상체의 관심 조직 및/또는 기관에 전달하고/하거나, 대상체의 관심 조직 및/또는 기관의 특정 영상화를 가능케하는데 사용될 수 있는 치료, 진단, 및/또는 치료진단 컨스트럭트를 제공한다.
- [0025] 다른 양상에서, 본 발명은 네스팅 셀을 포함하는 리포솜을 포함하는 컨스트럭트를 제공하며, 여기서 셀은 내부 코어 액체 및 액체 소적을 포함하는 내부 구획을 형성하고, 여기서 액체 소적은 내부 코어 액체에 불용성이다. 특정 비제한적인 실시형태에서, 네스팅 셀은 전기장(전압 구배) 부재 시에 내부 코어 액체에 대해 불투과성이거나, 더 낮은 투과성을 갖는다. 전기장을 인가할 때, 네스팅 셀은 전기장(전압 구배) 부재 시에 비해 내부 코어 액체에 대해 더 투과성이 된다. 특정 실시형태에서, 내부 구획은 치료제, 진단제, 및/또는 치료진단제를 추가로 포함하며, 여기서 네스팅 셀은 전기장 부재 시에 비해 전기장 존재 시에 작용체에 대해 더 투과성이 된다. 다른 실시형태에서, 액체 소적은, 컨스트럭트가 전기장 부재 시에 초음파에 적용되는 경우, 음향 활성이 없거나, 낮은 음향 활성을 갖지만, 컨스트럭트가 전기장 존재 시에 초음파에 적용되는 경우, 음향 활성을 갖거나, 전기장 부재시에 비해 더 높은 음향 활성을 갖는, 에코발생제를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 컨스트

력트는, 전기장 부재 시에 초음파에 적용되는 경우, 음향 활성이 없거나, 또는 낮은 음향 활성을 갖지만, 전기장 존재 시에 초음파에 적용되는 경우, 음향 활성을 갖거나, 전기장 부재시에 비해 더 높은 음향 활성을 갖는다.

- [0026] 본 발명은 전기장에 의한 컨스트럭트의 활성화로 제한되는 것으로 해석되어서는 안된다. 실제로, 본 발명은 컨스트럭트가, 임의의 자극의 부재와 비교하여, 네스팅 셸이 내부 코어 액체 및/또는 치료제, 진단제 및/또는 치료진단제에 대해 더 투과성이 되게하는 임의의 자극에 의해, 또는 컨스트럭트를 음향적으로 더 활성적이 되게하였던 임의의 자극에 의해 활성화될 수 있는 것으로 고려한다. 본 발명 내에서 고려되는 자극의 비제한적인 예는 (예를 들어, 신체 내, 예컨대 신체 구획 및/또는 혈관 내에서) 컨스트럭트에 적용되는 압력의 변화, 및/또는 세포 표적, 예컨대, 수용체, 효소, 또는 임의의 다른 생물학적 분자에 대한 컨스트럭트의 결합을 포함한다.
- [0027] 특정 실시형태에서, 액체 소적은 퍼플루오로카본을 포함한다. 다른 실시형태에서, 액체 소적은 코팅으로 코팅된다. 또 다른 실시형태에서, 코팅은 폴리소르베이트, 계면활성제, 단백질 및/또는 중합체를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 코팅은 내부 코어 액체와 액체 소적의 접촉을 방지한다. 또 다른 실시형태에서, 코팅은 내부 코어 액체 내에서 액체 소적의 용해를 방지한다. 또 다른 실시형태에서, 코팅은 액체 소적의 응집, 융합, 및/또는 유착을 방지하거나 최소화한다.
- [0028] 특정 실시형태에서, 네스팅 셸은 적어도 하나의 인지질 및/또는 중합체를 포함한다. 중합체는, 이로만 제한되는 것은 아니지만, PLA와 같은, 중합성이거나, 또는 이로만 제한되는 것은 아니지만, 이차-블록, 삼차-블록, 및/또는 양친매성 공중합체와 같은, 자가-조립성일 수 있다.
- [0029] 특정 실시형태에서, 적어도 하나의 인지질은 포화, 불포화, 하전, 및/또는 비하전 또는 양쪽이온성 인지질을 포함한다. 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 비하전 또는 양쪽이온성 인지질 및/또는 중합체만을 포함한다.
- [0030] 특정 실시형태에서, 네스팅 셸은 콜레스테롤을 추가로 포함한다. 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은, 이로만 제한되는 것은 아니지만, 트리올레인과 같은, 트리글리세린을 추가로 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸 중의 적어도 하나의 지질은 폐길화된다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 폴리(비닐 알코올)을 포함한다.
- [0031] 특정 실시형태에서, 내부 코어 액체는 물을 포함한다. 다른 실시형태에서, 내부 코어 액체는 염을 포함한다. 다른 실시형태에서, 내부 코어 액체는 오일을 포함한다.
- [0032] 임의의 이론에 의해 제한되는 것을 원치 않으면서, 네스팅 셸을 가로질러 전압 구배(전기장)를 적용하는 것은 네스팅 셸 내에서 분자의 적어도 일부의 섭동(perturbation)을 야기하여, 이들 분자의 재배향 및/또는 재배치, 및/또는 네스팅 셸의 미세구조에서의 수반되는 변화를 생성한다. 특정 비제한적인 실시형태에서, 분자의 적어도 일부의 섭동은 전체 네스팅된 구조, 및/또는 그 내부에 네스팅된 임의의 구조가, 전압 구배 부재 시에 비해 음향적으로 더 활성적이 되게 야기한다. 특정 비제한적인 실시형태에서, 분자의 적어도 일부의 섭동은 셸 형태의 변화를 야기하여, 향상된 음향 산란을 생성한다. 다른 비제한적인 실시형태에서, 분자의 적어도 일부의 섭동은 셸에서 변형을 야기하여, 네스팅된 소적의 적어도 부분 기화를 가능케한다. 또 다른 비제한적인 실시형태에서, 분자의 적어도 일부의 섭동은 네스팅 셸이 "누출"(즉, 내부 구획 내의 성분에 대해 적어도 부분적으로 투과성)이 되게 야기한다. 네스팅 셸이 일단 "누출"되면, 컨스트럭트가 활성화되고, 임의의 기존 페이로드를 관심 조직 또는 기관에 전달할 수 있다. 특정 실시형태에서, 활성화된 컨스트럭트는 심근 관류의 영상화를 가능케하기 위해 초음파와 조합된다(도 6a 내지 6b, 및 7a 내지 7b의 비제한적 예시 참조).
- [0033] 특정 실시형태에서, 본 발명의 컨스트럭트는 대상체의 신체 일부분을 선택적으로 영상화하는데 사용될 수 있다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 초음파 조사(및/또는 체온) 및 전압 구배에 동시에 노출될 때만 초음파 활성화되는, "이중-활성화" 초음파 컨스트럭트를 제공한다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 컨스트럭트는 혈관과 조직 사이뿐만 아니라, 혈관의 상이한 영역(동맥, 소동맥, 모세혈관, 소정맥, 및 정맥을 포함) 사이에 향상된 초음파 콘트라스트를 제공할 수 있다. 이러한 특징은 심장의 관류를 검출하기에 적합하며, 따라서 대상체가 심장 마비를 지니고 있는지, 또는 이를 가질 경향이 있는지를 결정하기 위한 테스트를 제공할 수 있다. 임의의 이론에 의해 제한되는 것을 원치 않으면서, 본 발명의 영상화 컨스트럭트는, 리포솜의 수성 코어 내부에, 리포솜이 소적의 기체 기포로의 적어도 부분적인 상 전이(및 수반되는 팽창)를 허용하는 경우에만 기체성(gaseous) 미세기포로 전이될 가능성을 갖는 코팅된, 액체 소적의 에멀전을 포함한다. 체온 및/또는 충분한 규모의 초음파 장이 존재하지만, 전압 구배가 없는 경우, 리포솜은 액체 소적의 미세기포로의 전이를 허용하지 않는다. 리포솜이 충분한 규모의 전압 구배에 적용되는 동안(및 장소에서), 충분한 규모의 초음파가 적용되거나, 또는 컨스트럭트

가 체온에 노출되면, 그러면 리포솜은 액체 소적의 미세기포로의 전이를 허용하며, 작용제는 음향적으로 활성화적(즉, 초음파로 검출가능함)이게 된다. 특정 비제한적인 실시형태에서, 전압 구배가 셀 형태를 변화시키고/시키거나, 셀에서의 변형을 야기시키고/시키거나, 네스팅 셀이 "누출"되게 야기하는 경우, 적어도 부분 기화가 일어난다. 임의의 이론에 의해 제한되는 것을 원치 않으면서, 전압 구배는, 향상된 음향 산란을 초래하는, 리포솜 및/또는 그 내부의 임의의 구조의 변화를 야기한다.

[0034] 임의의 이론에 의해 제한되는 것을 원치 않으면서, 본 발명의 컨스트럭트에 대한 전압 구배의 적용은 네스팅 셀의 특성 및/또는 구조의 변화를 야기하여, 향상된 음향 활성을 초래한다. 특정 실시형태에서, 전압 구배의 적용은 향상된 음향 산란을 초래한다. 다른 실시형태에서, 전압 구배의 적용은 액체 소적의 미세기포로의 전이를 가능케한다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 컨스트럭트에 대한 전압 구배의 적용은 물 및/또는 염과 같은 화합물에 대한 네스팅 셀의 투과성을 변경시킨다. 다른 실시형태에서, 충분한 규모의 전압 구배는, 전압 구배 부재시에 네스팅 셀 내에서 엔트로피적으로 분포되는, 네스팅 셀 내의 하전된 지질이 리포솜 이중층 내에서 재배열되도록 야기한다. 이는 물 및/또는 염 및/또는 페이로드제와 같은 화합물에 대한 네스팅 셀의 투과성의 변화를 생성한다.

[0035] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법은 대상체에게 본 발명의 컨스트럭트를 투여하는 단계를 포함하며, 이 컨스트럭트는 일단 특정 전압 구배에 노출되면, "활성화"된다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 컨스트럭트의 활성화는 대상체 내에서 본 발명의 컨스트럭트로부터 적어도 하나의 활성 작용제의 방출을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 컨스트럭트의 활성화는, 대상체 내에서, 비-활성화된 컨스트럭트와 비교하여, 본 발명의 활성화된 컨스트럭트를 물리적 및/또는 화학적으로 검출하는 활성을 포함한다. 전압 구배는 필요에 따라 대상체에 적용될 수 있거나, 대상체의 대사의 일부로서(예컨대, 영상화되는 대상체의 신체 일부분에 의해) 대상체 내에서 생성될 수 있다.

[0036] 특정 실시형태에서, 본 발명의 컨스트럭트는 심장 조직의 관류 영상화에 사용될 수 있다. 다른 실시형태에서, 심장 근육의 모세관 내의 전압 구배는 작용제를 활성화시키기 위해 충분한 규모인 반면, 심장의 챔버(심실, 심방) 내의 전압 구배는 그렇지 않다. 따라서, 초음파가 적용될 때, 작용제는 모세관 영역 및 혈관계에서만 활성화되어, 심근 내에 존재하는 혈관 구조 내의 혈액의 흐름을(초음파를 사용하여) 심장의 챔버 내의 혈액과 구별할 수 있게 한다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 컨스트럭트는 전기적으로 생존가능한 살아있는, 탈분극 조직 내에서만 초음파의 존재 시에 활성화되고; 본 발명의 컨스트럭트는 허혈성 또는 흉터성 심근에서와 같이, 관류될 수 있지만 전기적으로 초기(nascent)이거나 죽은 심근 부위를 조명(illumination)하지 않는다. 이러한 허혈 또는 흉터 부위의 식별은 심근 관류를 평가하는데 필수적인 부분이다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 컨스트럭트는, 약리학적 또는 운동 스트레스를 포함하는, 혈관확장제 스트레스 프로토콜과 결합되어, 생존가능한 조직이 작용제를 활성화시킬 수 있는 방식으로 동적 변화를 평가하고 시각화할 수 있다.

[0037] 특정 실시형태에서, 탈분극 파가 심장 근육을 통해 이동함에 따라 국소 조직 전압 변화에 소요되는 시간과 비슷한 반응 및 활성화 시간을 갖는 본 발명의 컨스트럭트는 초음파에 의해 실시간으로 조직을 통한 실제 탈분극 파의 시각화를 가능케한다. 조직을 통한 실제 탈분극 파의 시각화는 회기 회로(reentrant circuits), 접근 경로 또는 초점 조기 탈분극에 의해 조기에 비정상적으로 탈분극되는 근육 영역을 보여주며, 절제와 같은, 요법으로 개선될 수 있거나, 또는 가이드 페이스메이커(guiding pacemaker) 재동기화 치료를 포함하는, 특정 조율 개입(pacing intervention)으로부터의 이익을 얻을 수 있는 전기적 이상 부위를 국소화하기 위한 비침습적 전기생리학 시험을 용이하게 한다.

[0038] 특정 실시형태에서, 본 발명의 컨스트럭트는, 예컨대, 사지(extremities) 및 머리에서, 혈관을 통한 혈류, 조직 관류, 및 말초 혈관계 내의 전기생리학적 활성을 평가하는데 임상적으로 유용하다. 컨스트럭트는 팔다리 또는 목에 쉽게 적용되는 밴드, 커프, 패드, 전극 또는 바늘 팁 형태의 "전기 활성화기(electrical activator)"를 사용하여 활성화될 수 있다. 이 활성화기는 작용제의 활성화에 충분한 전기 구배를 생성한다.

[0039] 따라서, 본 발명의 컨스트럭트는 흉부 통증을 지니는 환자를 평가 및 치료하고 전기생리학적 패턴 및 이상(부정맥 및 탈분극 이상)의 연구를 돕기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 컨스트럭트는, 쉽게 이용가능한 임상 초음파 장치와 조합하여 환자가 심장 마비(심장의 특정 영역에서의 혈류 감소)를 갖는지 여부를 신속하고, 정확하며, 비교적 저렴하게 결정하는 것을 가능케할 뿐만 아니라, 사멸 또는 허혈성일 수 있는 심근 부위를 보여준다. 또한, 본 발명의 컨스트럭트는 실제 탈분극 파기 심근을 통과함에 따라 이의 실시간 시각화를 제공하여, 비정상적인 활성화 부위 또는 부정맥 패턴을 입증할 수 있다. 본 발명의 컨스트럭트는 급성/긴급 관리 및 외래(ambulatory) 환경 둘 다에서 스크리닝 도구로서 사용될 수 있다. 본 발명의 컨스트럭트는 심장 수술실(카

테더삽입법, 전기생리학 등)에서 주변-절차적으로 직접 심근 관류 평가 및/또는 전기생리학적 맵핑을 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 컨스트럭트는 추가로 스크리닝 도구로서 사용될 수 있고, 혈관 및 신경학적 수술을 위해 주변-절차적으로 사용될 수 있다.

[0040] 특정 실시형태에서, 본 발명의 컨스트럭트는 막을 갖는 적어도 하나의 리포솜을 포함하고, 여기서 리포솜은 수성 코어 및 적어도 하나의 액체 소적을 캡슐화하고, 이는 특정 실시형태에서 적어도 하나의 초음파 활성 화합물, 예컨대 퍼플루오로카본을 포함한다.

[0041] 정의

[0042] 본 명세서에서 사용된, 하기 용어 각각은 이 섹션에서 이와 관련된 의미를 갖는다. 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 기술자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에 기재된 것과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 예시적인 방법 및 재료가 기재된다.

[0043] 일반적으로, 본 명세서에 사용된 명명법 및 초음파 영상화, 동물 시험 및 지질 화학에서의 실험실 절차는 해당 기술분야에 널리 공지되고 일반적으로 사용되는 것들이다.

[0044] 본 명세서에서 사용된, 관사 "하나(a)" 및 "한(an)"은 본 관사의 문법적 대상 중 하나 또는 하나 이상(즉, 적어도 하나)을 지칭한다. 예를 들어, "요소"는 하나의 요소 또는 적어도 하나의 요소를 의미한다.

[0045] 본 명세서에 사용된, 용어 "약"은 해당 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되고 그것이 사용되는 문맥 상에서 어느 정도 달라진다. 양, 일시적 기간 등과 같은 측정가능한 값을 지칭할 때 본 명세서에서 사용된, 용어 "약"은 지정된 값으로부터 $\pm 20\%$ 또는 $\pm 10\%$, 보다 바람직하게는 $\pm 5\%$, 더욱더 바람직하게는 $\pm 1\%$, 훨씬 더 바람직하게는 $\pm 0.1\%$ 의 변동을 포함하는 것을 의미하며, 이러한 변동은 개시된 방법을 수행하기에 적절하다.

[0046] 본 명세서에 사용된, 용어 화합물, 조성물, 또는 컨스트럭트의 "유효량" 또는 "치료학적 유효량" 또는 "약제학적 유효량"은 상호교환적으로 사용되어 화합물이 투여되는 대상체에게 유리한 효과를 제공하기에 충분한 화합물, 조성물 또는 컨스트럭트의 양을 지칭한다.

[0047] 본 명세서에 사용된, "지침 자료"는 간행물, 기록물, 도표, 또는 기타 표현 매체를 포함하며, 이는 본 명세서에 설명된 방법을 수행하기 위한 키트에서 본 발명의 화합물 및/또는 조성물의 유용성을 전달하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 키트의 지침 자료는, 예를 들어, 본 발명의 화합물 및/또는 조성물을 함유하는, 용기에 부착되거나 화학 조성물 및/또는 조성물을 함유하는, 용기와 함께 적재될 수 있다. 대안적으로, 지침 자료는 수령인이 지침 자료 및 화합물을 협력적으로 사용하도록 하기 위한 의도로 용기와 별개로 적재될 수 있다.

[0048] 본 명세서에 사용된, 용어 "네스팅 웰"은, 특정 실험 조건 하에서 내부 코어가 네스팅 웰을 가로지를 수 없게 하거나, 또는 내부 코어가 다른 실험 조건에 비해 네스팅 웰을 더 낮은 비율로 가로지르도록, 내부 코어를 캡슐화할 수 있는 웰(또는 막)을 지칭한다. 본 발명 내에서 고려되는 실험 조건은, 이로만 제한되는 것은 아니지만, 전기장, 초음파, 압력, 온도, 유동 응력 등을 포함한다.

[0049] 본 명세서에 사용된, 용어 "약제학적 조성물" 또는 "조성물"은 본 발명에서 유용한 적어도 하나의 화합물과 약제학적으로 허용되는 담체의 혼합물을 지칭한다. 약제학적 조성물은 화합물을 대상체에게 투여하는 것을 용이하게 한다.

[0050] 본 명세서에 사용된, 용어 "약제학적으로 허용되는"은, 본 발명 내에서 유용한 화합물의 생물학적 활성 또는 특성을 손상시키지 않으며, 비교적 비독성인, 물질, 예컨대, 담체 또는 희석제를 지칭하며, 즉 이 물질은 바람직하지 않은 생물학적 효과를 야기하거나 그것이 함유된 조성물 중의 임의의 성분과 유해한 방식으로 상호작용하지 않고 대상체에게 투여될 수 있다.

[0051] 본 명세서에 사용된, 용어 "약제학적으로 허용되는 담체"는, 본 발명 내에서 유용한 화합물을 이의 의도된 기능을 수행할 수 있도록 대상체 내로 또는 대상체에 운반 또는 수송하는데 관여하는, 약제학적으로 허용되는 물질, 조성물 또는 담체, 예컨대, 액체 또는 고체 충전제, 안정화제, 분산제, 현탁제, 희석제, 부형제, 증점제, 용매 또는 캡슐화 물질을 의미한다. 전형적으로, 이러한 컨스트럭트는 하나의 기관, 또는 신체 일부분에서 다른 기관, 또는 신체 일부분으로 운반 또는 운송된다. 각각의 담체는, 본 발명 내에서 유용한 화합물을 포함하는, 제형의 다른 성분과 양립가능하다는 의미에서 "허용가능한" 것이어야 하고, 대상체에 해롭지 않아야 한다. 약제학적으로 허용되는 담체로서 제공될 수 있는 물질의 일부 예는 하기를 포함한다: 당, 예컨대, 락토스, 글루코스

및 수크로스; 전분, 예컨대, 옥수수 전분 및 감자 전분; 셀룰로스 및 그의 유도체, 예컨대, 소듐 카르복시메틸 셀룰로스, 에틸 셀룰로스 및 셀룰로스 아세테이트; 분말 트라가칸트; 맥아; 젤라틴; 탈크; 부형제, 예컨대, 코코아 버터 및 좌제 왁스; 오일, 예컨대, 땅콩유, 면실유, 홍화유, 참기름, 올리브유, 옥수수유 및 대두유; 글리콜, 예컨대, 프로필렌 글리콜; 폴리올, 예컨대, 글리세린, 소르비톨, 만니톨 및 폴리에틸렌 글리콜; 에스테르, 예컨대, 에틸 올리에이트 및 에틸 라우레이트; 한천; 완충제, 예컨대, 수산화 마그네슘 및 수산화 알루미늄; 표면활성제; 알긴산; 무-발열원 물; 등장 염수; 링거액; 에틸 알코올; 인산염 완충 용액; 및 약제학적 제형에 사용되는 다른 비독성의 양립가능한 물질. 본 명세서에 사용된, "약제학적으로 허용되는 담체"는 또한 본 발명 내에서 유용한 화합물의 활성과 양립가능하고, 대상체에 생리학적으로 허용가능한 임의의 모든 코팅, 항균 및 항진균제, 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 보충 활성 화합물이 또한 조성물에 혼입될 수 있다. "약제학적으로 허용되는 담체"는 본 발명 내에서 유용한 화합물의 약제학적으로 허용되는 염을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 실시예에 사용되는 약제학적 조성물에 포함될 수 있는 다른 추가 성분은 해당 기술 분야에 공지되어 있으며, 예를 들어, 본 명세서에 참조로 포함되는, 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences (Genaro, Ed., Mack Publishing Co., 1985, Easton, PA)에 기재되어 있다.

[0052] 본 명세서에 사용된, 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은 약제학적으로 허용되는 비독성 산 및 염기로부터 제조된 투여되는 화합물의 염을 지칭하며, 이들의 무기산, 무기염기, 유기산, 무기염기, 용매화물, 수화물, 및 포접물(clathrate)을 포함한다. 적합한 약제학적으로 허용되는 산 부가염은 무기산 또는 유기산으로부터 제조될 수 있다. 무기산의 예에는 황산염, 황산수소염, 염화수소산, 브롬화수소산, 요오드화 수소산, 질산, 탄산, 황산 및 인산(인산수소 및 인산이수소 포함)이 포함된다. 적절한 유기산은 유기산의 지방족, 지환족, 방향족, 방향 지방족(araliphatic), 헤테로시클릭, 카르복실 및 술폰산 부류 중에서 선택될 수 있으며, 이의 예에는 포름산, 아세트산, 프로피온산, 숙신산, 글리콜산, 글루콘산, 젖산, 말산, 타르타르산, 시트르산, 아스코르브산, 글루쿠론산, 말레산, 푸마르산, 피루브산, 아스파르트산, 글루탐산, 벤조산, 안트라닐산, 4-히드록시벤조산, 페닐아세트산, 만델산, 엠보산(팜산), 메탄술폰산, 에탄술폰산, 벤젠술폰산, 판토텐산, 트리플루오로메탄술폰산, 2-히드록시에탄술폰산, p-톨루엔술폰산, 술폰닐산, 시클로헥실아미노술폰산, 스테아르 산, 알긴산, β-히드록시부티르산, 살리실산, 갈락타르산 및 갈락투론산을 포함한다. 본 발명의 화합물의 적합한 약제학적으로 허용되는 염기 부가염은, 예를 들어, 칼슘, 마그네슘, 칼륨, 나트륨 및 아연 염과 같은, 알칼리 금속, 알칼리 토금속 및 전이 금속염을 포함하는, 예를 들어, 금속염을 포함한다. 약제학적으로 허용되는 염기 부가염은 또한, 예를 들어, N,N'-디벤질에틸렌-디아민, 클로로프로 카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 메글루민(N-메틸글루카민) 및 프로카인과 같은 염기성 아민으로 제조된 유기 염을 포함한다. 이들 염 모두는, 예를 들어, 적절한 산 또는 염기를 화합물과 반응시킴으로써 상응하는 화합물로부터 제조 될 수 있다.

[0053] 본 명세서에 사용된, 투여가 고려되는 "대상체", "환자" 또는 "개체"라는 용어에는, 이로부터 제한되는 것은 아니지만, 사람(즉, 임의의 연령 그룹의 남성 또는 여성, 예를 들어, 소아 대상체(예를 들어, 유아, 아동, 청소년) 또는 성인 대상체(예를 들어, 청년, 중년 성인 또는 노인) 및/또는 다른 영장류(예를 들어, 시노몰구스 원숭이, 레수스 원숭이); 소, 돼지, 말, 양, 염소, 고양이 및/또는 개와 같은 상업적으로 적절한 포유동물을 포함하는, 포유동물; 및/또는 닭, 오리, 거위, 메추라기, 및/또는 칠면조와 같은 상업적으로 적절한 조류를 포함하는, 조류를 포함한다.

[0054] "치료학적" 처치는 병리의 징후를 나타내는 대상체에게 이러한 징후를 감소시키거나 제거할 목적으로 투여되는 처치이다.

[0055] 본 명세서에 사용된, "치료하는"은 환자 또는 대상체가 경험하는 증상의 빈도를 감소시키거나, 환자 또는 대상체가 경험하는 증상의 심각성을 감소시키기 위해 작용제 또는 화합물을 투여하는 것을 의미한다. 임의의 개별 사례에서의 적절한 치료량은 정규 실험을 이용하여 통상의 기술자에 의해 결정될 수 있다.

[0056] 본 명세서에 사용된, 용어 "트리올레인"은 2,3-비스[[*(Z)*-옥타데크-9-에노일]옥시]프로필 (*Z*)-옥타데크-9-에노에이트, 또는 그의 염 또는 용매화물을 지칭한다.

[0057] 본 개시 전반에 걸쳐, 본 발명의 다양한 양상은 소정 범위 형식으로 제시될 수 있다. 범위 형식의 설명은 단지의 및 간결성을 위한 것으로 이해되어야 하고 본 발명의 범위에 대한 융통성없는 제한으로 해석되어서는 안된다. 따라서, 범위의 설명은 모든 가능한 하위 범위뿐만 아니라 그 범위 내의 개별 수치 및 적절한 경우, 범위 내의 수치의 부분 정수를 구체적으로 개시한 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 1 내지 6과 같은 범위의 설명은 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 6, 3 내지 6 등과 같은 하위 범위뿐만 아니라, 해당 범위 내의 개별 숫자, 예를 들어, 1, 2, 2.7, 3, 4, 5, 5.3, 및 6을 구체적으로 개시한 것으로 간주되어야 한다. 이

는 범위의 폭에 관계없이 적용된다.

- [0058] 하기 약어가 본원에서 사용된다: ACS, 급성 관상동맥 증후군; AMI, 급성 심근 경색; DSPC, 디스테아로일포스파티딜콜린; DSPG, 디스테아로일포스파티딜글리세롤; PCA, 상변화제; PFC, 퍼플루오로카본; PFP, 퍼플루오로펜탄; PVA, 폴리비닐 산; SOPC, 스테아로일, 올레오일포스파티딜콜린; SOPG, 스테아로일, 올레오일포스파티딜글리세롤.
- [0059] **조성물**
- [0060] 본 발명은 본 발명의 약물 전달 방법 및/또는 영상화 방법에 사용될 수 있는 리포좀 컨스트럭트를 제공한다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 컨스트럭트는 막(네스팅 셸)을 갖는 적어도 하나의 리포좀을 포함하며, 여기서 네스팅 셸은 수성 코어 액체 및 적어도 하나의 액체 소적을 캡슐화하고, 이는 특정 실시형태에서 적어도 하나의 초음파 활성 화합물, 예컨대, 퍼플루오로카본을 포함한다.
- [0061] 특정 실시형태에서, 네스팅 셸은 콜레스테롤을 포함한다. 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 트리올레인을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 적어도 하나의 포화 지질 및 적어도 하나의 불포화 지질을 추가로 포함하고; 여기서 지질 중 하나는 하전된 것이고, 다른 지질은 비하전 또는 양쪽성인 것이다.
- [0062] 특정 실시형태에서, 네스팅 셸은 SOPG 및 DSPG로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 지질을 포함한다. 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 SOPC 및 DSPC로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 지질을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 SOPG 및 SOPC; SOPG 및 DSPG; DSPC 및 SOPC; 및 DSPC 및 DSPG로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 지질 쌍을 포함한다.
- [0063] 특정 실시형태에서, 액체 소적은 적어도 하나의 과불소화된 초음파 활성 화합물을 포함한다. 다른 실시형태에서, 액체 소적은 퍼플루오로프로판(C3)을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 액체 소적은 퍼플루오로부탄(C4)을 포함한다. 다른 실시형태에서, 액체 소적은 퍼플루오로펜탄(C5)을 포함한다. 다른 실시형태에서, 액체 소적은 퍼플루오로헥산(C6)을 포함한다. 다른 실시형태에서, 액체 소적은 육불화황을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 액체 소적은, 예를 들어, C3, C4, C5 및/또는 C6과 같은 약 5 % (부피)의 적어도 하나의 과불소화된 초음파 활성 화합물을 포함한다.
- [0064] 특정 실시형태에서, 액체 소적은 실온 및 압력 하에서 기체이나, (예를 들어, 기체 화합물에 대한 상승된 압력의 적용에 의해, 코팅 내에 기체 화합물의 구속(constraint)에 의해, 및/또는 다른 액체 화합물 내의 용해에 의해서와 같이) 액체 소적 내에서 제형화될 때 액체인, 기체 화합물을 포함한다. 다른 실시형태에서, 액화된 기체 화합물은 네스팅 셸이 본 명세서에서 고려되는 자극에 의해 활성화될 때 적어도 부분적으로 기체가 된다.
- [0065] 특정 실시형태에서, 소적은, 이로만 제한되는 것은 아니지만, N₂, O₂, CO₂, 헬륨, 네온, 아르곤, 크립톤, 크세논 등과 같은, 용해된 기체를 포함한다.
- [0066] 특정 실시형태에서, 소적은, 이로만 제한되는 것은 아니지만, 실리카 입자, 금 입자, 및/또는 자철광 입자와 같은 입자상 물질을 포함한다. 다른 실시형태에서, 입자상 물질은 약 1 nm 직경 내지 약 100 nm 직경의 범위이다.
- [0067] 특정 실시형태에서, 액체 소적은 폴리소르베이트 20, 알부민, 갈락토스, 및 폴리에틸렌 글리콜로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나를 포함하는 코팅을 포함한다. 다른 실시형태에서, 액체 소적 코팅은 폴리소르베이트 20을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 액체 소적은 약 0.1 % vol/vol 폴리소르베이트 20을 포함한다.
- [0068] 특정 실시형태에서, 네스팅 셸은 SOPG, DSPC, 콜레스테롤 및 트리올레인을 포함한다. 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 약 22.5 wt% DSPC, 약 22.5 wt% SOPG, 약 25 wt% 콜레스테롤 및 약 30 wt% 트리올레인을 포함한다. 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 약 20 wt% DSPC, 약 20 wt% SOPG, 약 40 wt% 콜레스테롤 및 약 20 wt% 트리올레인을 포함한다. 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 약 20 내지 22.5 wt% DSPC, 약 20 내지 22.5 wt% SOPG, 약 25 내지 40 wt% 콜레스테롤, 및 약 20 내지 30 wt% 트리올레인을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 약 17.5 내지 25 wt% DSPC, 약 17.5 내지 25 wt% SOPG, 약 22.5 내지 42.5 wt% 콜레스테롤, 및 약 17.5 내지 32.5 wt% 트리올레인을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 약 15 내지 27.5 wt% DSPC, 약 15 내지 27.5 wt% SOPG, 약 20 내지 45 wt% 콜레스테롤, 및 약 15 내지 35 wt% 트리올레인을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 약 12.5 내지 30 wt% DSPC, 약 12.5 내지 30 wt% SOPG, 약 17.5 내지 47.5 wt% 콜레스테롤, 및 약 12.5 내지 37.5 wt% 트리올레인을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셸은 약 10 내지 32.5 wt% DSPC, 약 10 내지 32.5 wt% SOPG, 약 15 내지 50 wt% 콜레스테롤, 및 약 10 내지 40 wt% 트리올레인을 포함한다.

DSPG를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셀은 약 10 내지 32.5 wt% SOPC를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셀은 약 15 내지 50 wt%의 콜레스테롤을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셀은 약 10 내지 40 wt%의 트리올레인을 포함한다.

[0071] 특정 실시형태에서, 컨스트럭트는 하기를 포함한다: 약 5 % vol/vol 퍼플루오로펜탄 및 약 0.1 % vol/vol 폴리소르베이트 20을 포함하는 액체 소적; 및 약 22.5 wt% DSPC, 약 22.5 wt% SOPG, 약 25 wt% 콜레스테롤, 및 약 30 wt% 트리올레인을 포함하는 네스팅 셀.

[0072] 다른 실시형태에서, 컨스트럭트는 하기를 포함한다: 약 5 % vol/vol 퍼플루오로펜탄 및 약 0.1 % vol/vol 폴리소르베이트 20을 포함하는 액체 소적; 및 약 22.5 wt% DSPG, 약 22.5 wt% SOPC, 약 25 wt% 콜레스테롤, 및 약 30 wt% 트리올레인을 포함하는 네스팅 셀.

[0073] 특정 실시형태에서, 컨스트럭트는 저 분자량 폴리(비닐 알콜)을 포함하는 수용액에 현탁된다.

[0074] 특정 실시형태에서, 본 발명의 컨스트럭트는 통상적인 부형제, 즉, 해당 기술분야에 공지된, 비경구, 정맥내, 동맥내, 피하, 장내, 또는 임의의 다른 적합한 투여 방식에 적합한 약제학적으로 허용가능한 유기 또는 무기 담체 물질과의 혼합물로 제형화된다. 약제학적 제조물은 멸균될 수 있고, 원한다면 보조제, 예를 들어, 윤활제, 보존제, 안정화제, 습윤제, 유화제, 삼투압 완충액에 영향을 미치는 염, 및/또는 착색 물질 등과 혼합될 수 있다. 이들은 또한 원하는 경우 다른 활성제와 조합될 수 있다.

[0075] 특정 실시형태에서, 컨스트럭트는 네스팅 셀을 캡슐화하는 추가의 외부 막을 추가로 포함한다. 특정 실시형태에서, 외부 막은 지질 이중층을 포함한다. 다른 실시형태에서, 외부 막은 네스팅 셀을 생물학적 조건 하에서의 분해로부터 보호한다.

[0076] **키트**

[0077] 본 발명은 또한 본 발명의 적어도 하나의 조성물 또는 컨스트럭트, 및 본 발명의 적어도 하나의 조성물 또는 컨스트럭트를 사용하여 진단 및/또는 치료하는 방법을 설명하는 지침 매뉴얼을 포함하는 키트를 제공한다. 특정 실시형태에서, 키트는 초음파 영상화 장치 및/또는 페이로드제를 추가로 포함한다. 다른 실시형태에서, 키트는 전압 구배를 적용하기 위한 장치를 추가로 포함한다.

[0078] **방법**

[0079] 본 발명은 페이로드제(치료제, 영상화제 및/또는 치료진단제일 수 있음)를 대상체의 신체 일부분에 전달하는 방법을 제공한다. 특정 실시형태에서, 본 방법은 대상체에게 본 발명의 컨스트럭트를 투여하는 단계를 포함하며, 여기서 페이로드제는 전압 구배 부재 시에 비해 전압 구배의 존재 시에 더 높은 속도로 컨스트럭트로부터 방출된다. 다른 실시형태에서, 컨스트럭트는 전압 구배 부재 시에 비해 전압 구배 존재 시에 페이로드제에 대해 더 투과성이다. 신체 일부분이 컨스트럭트를 활성화시키기에 충분한 전압 구배를 생성하는 경우, 더 이상의 추가의 전압 구배는 대상체의 신체 일부분에 적용되지 않는다. 신체 일부분이 컨스트럭트를 활성화시키기에 충분한 전압 구배를 생성하지 않는 경우, 컨스트럭트의 활성화를 위해 추가의 전압 구배가 대상체의 신체 일부분에 적용된다.

[0080] 본 발명은 또한 본 발명의 "이중-활성화" 컨스트럭트를 사용하여 대상체의 신체 일부분을 선택적으로 영상화하는 방법을 제공한다. 특정 실시형태에서, 본 방법은 대상체에게 본 발명의 컨스트럭트를 투여하는 단계를 포함하며, 컨스트럭트는 전압 구배 및 초음파 조사 둘 다의 부재 시에 초음파-비활성이다. 다른 실시형태에서, 본 방법은 대상체의 신체 일부분에 초음파 조사를 적용하는 단계를 포함한다. 신체 일부분이 컨스트럭트를 활성화시키기에 충분한 전압 구배를 생성하는 경우, 더 이상의 추가의 전압 구배가 대상체의 신체 일부분에 적용되지 않는다. 신체 일부분이 컨스트럭트를 활성화시키기에 충분한 전압 구배를 생성하지 않는 경우, 컨스트럭트의 활성화를 위해 추가의 전압 구배가 대상체의 신체 일부분에 적용된다. 또 다른 실시형태에서, 본 방법은 대상체의 신체 일부분을 영상화하는 단계를 포함한다.

[0081] 특정 실시형태에서, 대상체의 신체 일부분은 초음파 영상화를 사용하여 영상화된다.

[0082] 특정 실시형태에서, 초음파 콘트라스트 컨스트럭트는 네스팅 셀을 갖는 리포솜을 포함하고, 여기서 네스팅 셀은 수성 코어 액체 및 적어도 하나의 초음파 활성 화합물을 캡슐화하는 적어도 하나의 액체 입자를 캡슐화한다. 다른 실시형태에서, 리포솜의 네스팅 셀은 전압 구배에 적용될 때 수성 코어 액체에 대해 적어도 부분적으로 투과성이게 된다.

- [0083] 특정 실시형태에서, 적어도 하나의 초음파 활성 화합물은 해당 기술분야에 공지된 임의의 초음파 활성 화합물이다. 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 초음파 활성 화합물은 퍼플루오로프로판(C3)을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 초음파 활성 화합물은 퍼플루오로부탄(C4)을 포함한다. 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 초음파 활성 화합물은 퍼플루오로펜탄(C5)을 포함한다. 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 초음파 활성 화합물은 퍼플루오로헥산(C6)을 포함한다. 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 초음파 활성 화합물은 육불화황을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 초음파 활성 화합물은 퍼플루오로 프로판, 퍼플루오로부탄, 퍼플루오로펜탄 및 퍼플루오로헥산으로 구성된 군으로부터 선택된다. 또 다른 실시형태에서, 초음파 활성 화합물은 퍼플루오로펜탄이다.
- [0084] 임의의 이론에 의해 제한되는 것을 원치 않으면서, 본 발명의 컨스트럭트 내의 적어도 하나의 초음파 활성 화합물의 활성은 화합물의 끓는점, 화합물의 소적 크기, 내부 코어 액체에 용해된 기체(예컨대, 이로만 제한되는 것은 아니지만, O₂, N₂, CO₂ 등)의 존재, 및/또는 내부 코어 액체 중의 입자상 물질의 존재(또는 부재)에 의해 영향을 받을 수 있다.
- [0085] 특정 실시형태에서, 액체 소적은, 실온 및 압력 하에서 기체이지만, (예를 들어, 기체 화합물에 대한 고압의 적용에 의해, 코팅 내의 기체 화합물의 구속에 의해 및/또는 다른 액체 화합물 내의 용해에 의해서와 같이) 액체 소적 내에서 제형화될 때 액체인, 기체 화합물을 포함한다. 다른 실시형태에서, 액화된 기체 화합물은 네스팅 셀이 본 명세서에서 고려되는 자극에 의해 활성화될 때 적어도 부분적으로 기체가 된다.
- [0086] 특정 실시형태에서, 적어도 하나의 액체 입자는 폴리소르베이트 20, 알부민, 갈락토스 및 폴리에틸렌 글리콜로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나를 포함하는 코팅을 포함한다. 다른 실시형태에서, 코팅은 폴리소르베이트 20을 포함한다.
- [0087] 특정 실시형태에서, 적어도 하나의 액체 입자는 폴리소르베이트 20의 단일 층 내에 캡슐화된 퍼플루오로펜탄을 포함한다.
- [0088] 특정 실시형태에서, 네스팅 셀은 SOPG 및 DSPG로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 지질을 포함한다. 다른 실시형태에서, 네스팅 셀은 SOPC 및 DSPC로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 지질을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 네스팅 셀은 하기로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 지질 쌍을 포함한다: SOPG 및 SOPC; SOPG 및 DSPG; DSPC 및 SOPC; 및 DSPC 및 DSPG.
- [0089] 특정 실시형태에서, 네스팅 셀은 콜레스테롤을 추가로 포함한다. 다른 실시형태에서, 네스팅 셀은 트리올레인을 추가로 포함한다.
- [0090] 특정 실시형태에서, 컨스트럭트의 활성화를 위해 전압 구배가 대상체의 신체 일부분에 적용된다. 다른 실시형태에서, 적용된 전압 구배는 유의한 전기 천공을 유발하지 않는다. 또 다른 실시형태에서, 전압 구배는 약 10 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 구배는 약 0.01 V/cm 내지 약 10 V/cm의 범위이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 구배는 약 0.05 V/cm 내지 약 10 V/cm의 범위이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 구배는 약 0.1 V/cm 내지 약 10 V/cm의 범위이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 구배는 약 0.5 V/cm 내지 약 10 V/cm의 범위이다.
- [0091] 특정 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.01 V/cm 이상이다. 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.02 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.03 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.04 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.05 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.06 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.07 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.08 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.09 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.1 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.2 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.3 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.4 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.5 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.6 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.7 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.8 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 0.9 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 1.0 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 1.2 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 1.4 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 1.6 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 1.8 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 2.0 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 2.2 V/cm 이상이다. 또 다른 실시형태에서,

다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 7.4 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 7.6 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 7.8 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 8.0 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 8.2 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 8.4 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 8.6 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 8.8 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 9.0 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 9.2 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 9.4 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 9.6 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 9.8 V/cm 이하이다. 또 다른 실시형태에서, 전압 범위는 약 10 V/cm 이하이다.

[0093] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법은 심장, 폐, 간, 담낭, 비장, 췌장, 신장, 방광, 자궁, 난소, 눈, 갑상선, 부갑상선, 음낭, 고환, 및 복강으로 구성된 군으로부터 선택된 대상체의 신체 일부분을 영상화하는데 사용된다. 다른 실시형태에서, 대상체의 신체 일부분은 심장 또는 그의 절편이다. 또 다른 실시형태에서, 대상체의 신체 일부분은 대상체 심장의 심실이다. 또 다른 실시형태에서, 대상체의 신체 일부분이 내재적으로 전기적 활성을 생성하는지 여부에 관계없이, 외부 전기장이 대상체의 신체 일부분에 적용된다.

[0094] 특정 실시형태에서, 신체 일부분은 컨스트럭트를 활성화시키기에 충분한 전압 구배를 생성하고, 여기서 더 이상의 추가의 전압 구배가 대상체의 신체 일부분에 적용되지 않는다. 특정 실시형태에서, 컨스트럭트를 활성화시키기에 충분한 전압 구배를 생성하는 신체 일부분은 심장이다.

[0095] 특정 실시형태에서, 대상체의 신체 일부분은 단일 초음파 조사 주파수 및/또는 강도에 적용된다. 다른 실시형태에서, 대상체의 신체 일부분은 둘 이상의 상이한 초음파 조사 주파수 및/또는 강도에 적용된다. 특정 실시형태에서, 대상체의 신체 일부분에 적용되는 초음파는 1.9, 1.8, 1.7, 1.6, 1.5, 1.4, 1.3, 1.2, 1.1 또는 1.0 이하이다.

[0096] 특정 실시형태에서, "이중-활성화" 컨스트럭트는 하나 이상의 부형제를 추가로 포함하는, 약제학적 조성물의 일부로서 대상체에게 투여된다.

[0097] 특정 실시형태에서, "이중-활성화" 컨스트럭트는, 예를 들어, 주사 및/또는 주입을 사용하여 비경구, 정맥내, 동맥내 등으로 구성된 군으로부터 선택된 하나 이상의 방법을 통해 대상체에게 투여된다.

[0098] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법은 비침습적이다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 이온화 방사선의 사용을 포함하지 않는다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 해당 기술분야에서의 일반적인 다른 방법과 비교할 때 더 강한 초음파 영상 콘트라스트를 가능케한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 해당 기술분야에서의 통상적인 다른 방법과 비교할 때 더 적은 투여량의 "이중-활성화" 컨스트럭트로 유사한 초음파 영상 콘트라스트를 달성하는 것을 가능케한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 미세-혈관 관류의 평가를 가능케한다.

[0099] 특정 실시형태에서, 대상체는 포유동물이다. 다른 실시형태에서, 대상은 사람이다.

[0100] **투여/투여량/제형**

[0101] 투여 섭생은 유효량을 구성하는 것에 영향을 미칠 수 있다. 치료학적 제형, 조성물 및/또는 컨스트럭트는 본 발명에서 고려되는 질병 또는 장애의 발병 전 또는 후에 대상체에게 투여될 수 있다. 또한, 엇갈린(staggered) 투여량뿐만 아니라 여러개의 분할 복용량이 매일 또는 순차적으로 투여될 수 있거나, 투여량이 연속적으로 주입될 수 있거나, 또는 볼루스(bolus) 주사일 수 있다. 또한, 치료학적 제형의 투여량은 치료학적 또는 예방학적 상황의 긴급성에 의해 지시된 바와 같이 비례적으로 증가 또는 감소될 수 있다.

[0102] 본 발명의 조성물을 환자, 바람직하게는 포유동물, 보다 바람직하게는 사람에게 투여하는 것은 공지된 절차를 사용하여 본 발명에서 고려되는 질환 또는 장애를 치료하기에 효과적인 투여량 및 시간 동안 수행될 수 있다. 치료 효과를 달성하는데 필요한 치료 화합물의 유효량은 환자의 질환 또는 장애 상태; 환자의 연령, 성별 및 체중; 및 본 발명에서 고려되는 질환 또는 장애를 치료하기위한 치료 화합물의 활성과 같은 인자에 따라 변동될 수 있다. 투여량 섭생은 최적의 치료 반응을 제공하도록 조정될 수 있다. 예를 들어, 여러개의 분할 용량이 매일 투여될 수 있거나, 용량이 치료 상황의 긴급성에 의해 지시된 바와 같이 비례적으로 감소될 수 있다. 본 발명의 치료 화합물에 대한 유효 용량 범위의 비제한적인 예는 약 1 내지 5,000 mg/체중 kg/일이다. 본 발명을 실시하는데 유용한 약제학적 조성물은 1 ng/kg/일 및 100 mg/kg/일의 용량을 전달하도록 투여될 수 있다. 해당 기술분야의 통상의 기술자는 관련 인자를 연구하고 과도한 실험없이 치료 화합물의 유효량에 대해 결정할 수 있

을 것이다.

- [0103] 본 발명의 약제학적 조성물에서 활성 성분의 실제 투여량 수준은, 환자에게 유독하지 않으면서, 특정 환자, 조성물, 및 투여 방식에 대해 원하는 치료 반응을 달성하는데 효과적인 활성 성분의 양을 획득하도록 변동될 수 있다.
- [0104] 특히, 선택된 투여량 수준은 사용된 특정 화합물의 활성, 투여 시간, 화합물의 배설 속도, 처치 지속시간, 화합물과 조합하여 사용되는 다른 약물, 화합물 또는 물질, 치료되는 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 일반적인 건강 및 이전 병력, 및 의학 분야에 널리 공지된 기타 인자를 포함하는 다양한 인자에 좌우된다.
- [0105] 해당 기술분야의 통상적 기술을 보유한 의사, 예를 들어, 내과의사 또는 수의사는 필요한 약제학적 조성물의 유효량을 쉽게 결정하고 처방할 수 있다. 예를 들어, 내과의사 또는 수의사는 약제학적 조성물에 사용된 본 발명의 화합물의 용량을 원하는 치료 효과를 달성하기 위해 필요한 것 보다 낮은 수준으로 시작하여, 원하는 효과가 달성될 때까지 투여량을 점차적으로 증가시킬 수 있다.
- [0106] 특정 실시형태에서, 투여 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투여량 단위 형태로 화합물을 제형화하는 것이 유리하다. 본 명세서에 사용된 투여량 단위 형태는 치료될 환자를 위한 단일 투여량으로 적합한 물리적 분리 단위를 지칭하고; 각 단위는 필요한 약제학적 비히클과 연관되어 원하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 소정량의 치료 화합물을 함유한다. 본 발명의 투여량 단위 형태는 치료 화합물의 고유한 특성 및 달성될 특정 치료 효과, 및 본 발명에서 고려되는 질환 또는 장애의 치료를 위해 이러한 화합물을 배합/제형화하는 기술에 내재된 제약에 의해 좌우되고 이에 직접적으로 의존한다.
- [0107] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물 또는 컨스트럭트는 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 사용하여 제형화된다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 약제학적 조성물 또는 컨스트럭트는 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제를 사용하여 제형화되거나, 치료학적 유효량의 본 발명의 화합물 및 약제학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 화합물은 조성물에서 유일한 생물학적 활성제이다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 화합물은 조성물에서 치료학적 유효량의 유일한 생물학적 활성제이다.
- [0108] 담체는, 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 적합한 혼합물, 및 식물성 오일을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어, 레시틴과 같은 코팅의 사용에 의해, 분산의 경우 요구되는 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면 활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 미생물 작용의 예방은 다양한 항균제 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티메로살 등에 의해 달성될 수 있다. 많은 경우에, 조성물에 등장화제, 예를 들어, 당, 염화나트륨, 또는 만니톨 및 소르비톨과 같은 폴리알코올을 포함하는 것이 바람직하다. 주사가능한 조성물의 장기간 흡수는 조성물에 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어, 알루미늄 모노스테아레이트 또는 젤라틴을 포함시킴으로써 야기될 수 있다.
- [0109] 특정 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 1일 1 내지 5회 이상의 투여량으로 환자에게 투여된다. 다른 구체 예에서, 본 발명의 조성물은, 이로만 제한되는 것은 아니지만, 1일마다, 2일마다, 3일마다 한 번, 1주일마다 한 번, 그리고 2주마다 한 번을 포함하는, 투약량의 범위로 환자에게 투여된다. 본 발명의 다양한 조합 조성물의 투여 빈도는, 이로만 제한되는 것은 아니지만, 치료될 연령, 질환 또는 장애, 성별, 전반적인 건강, 및 기타 요인을 포함하는 다수의 인자에 의존하여 개체별로 변동된다는 것은 통상의 기술자에게 명백하다. 따라서, 본 발명은 임의의 특정 투여량 섭생으로 제한되는 것으로 해석되어서는 안되며, 임의의 환자에게 투여될 정확한 투여량 및 조성물은 환자에 관한 모든 다른 인자를 고려하여 주치의에 의해 결정된다.
- [0110] 투여를 위한 본 발명의 화합물은 약 1 μg 내지 약 10,000 mg, 약 20 μg 내지 약 9,500 mg, 약 40 μg 내지 약 9,000 mg, 약 75 μg 내지 약 8,500 mg, 약 150 μg 내지 약 7,500 mg, 약 200 μg 내지 약 7,000 mg, 약 3050 μg 내지 약 6,000 mg, 약 500 μg 내지 약 5,000 mg, 약 750 μg 내지 약 4,000 mg, 약 1 mg 내지 약 3,000 mg, 약 10 mg 내지 약 2,500 mg, 약 20 mg 내지 약 2,000 mg, 약 25 mg 내지 약 1,500 mg, 약 30 mg 내지 약 1,000 mg, 약 40 mg 내지 약 900 mg, 약 50 mg 내지 약 800 mg, 약 60 mg 내지 약 750 mg, 70 mg 내지 약 600 mg, 약 80 mg 내지 약 500 mg의 범위, 및 이들 사이의 임의의 및 모든 전체 또는 부분 증분일 수 있다.
- [0111] 일부 실시형태에서, 본 발명의 화합물의 용량은 약 1 mg 내지 약 2,500 mg이다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 조성물에 사용된 본 발명의 화합물의 용량은 약 10,000 mg 미만, 또는 약 8,000 mg 미만, 또는 약 6,000 mg 미만, 또는 약 5,000 mg 미만, 또는 약 3,000 mg 미만, 또는 약 2,000 mg 미만, 또는 약 1,000 mg 미만, 또는 약 500 mg 미만, 또는 약 200 mg 미만, 또는 약 50 mg 미만이다. 유사하게, 일부 실시형태에서, 본원에 기

제된 것과 같은 제2 화합물의 용량은 약 1,000 mg 미만, 또는 약 800 mg 미만, 또는 약 600 mg 미만, 또는 약 500 mg 미만, 또는 약 400 mg 미만, 또는 약 300 mg 미만, 약 200 mg 미만, 또는 약 100 mg 미만, 또는 약 50 mg 미만, 또는 약 40 mg 미만, 또는 약 30 mg 미만, 또는 약 25 mg 미만, 또는 약 20 mg 미만, 약 15 mg 미만, 또는 약 10 mg 미만, 또는 약 5 mg 미만, 또는 약 2 mg 미만, 또는 약 1 mg 미만, 또는 약 0.5 mg 미만, 및 상기의 임의의 및 모든 전체 또는 부분 증분이다.

[0112] 특정 실시형태에서, 본 발명은 치료학적 유효량의 본 발명의 화합물을 단독으로 또는 제2 약제학적 작용제와 조합하여 수용하는 용기; 및 본 발명에서 고려되는 질환 또는 장애의 하나 이상의 증상을 치료, 예방, 또는 감소시키기 위해 화합물을 사용하기 위한 지침서를 포함하는 패키징된 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0113] 제형은 통상적인 부형제, 즉 해당 기술분야에 공지된, 경구, 비경구, 비강, 정맥내, 피하, 장, 또는 임의의 다른 적합한 투여 방식에 적합한 약제학적으로 허용되는 유기 또는 무기 담체 물질과의 혼합물로 사용될 수 있다. 약제학적 제제물은 멸균될 수 있고, 원한다면 보조제, 예를 들어, 윤활제, 보존제, 안정화제, 습윤제, 유화제, 삼투압 완충제에 영향을 미치는 염, 착색제, 향료 및/또는 방향족 물질 등과 혼합될 수 있다. 이들은 또한 원하는 경우 다른 활성제와 조합될 수 있다.

[0114] 본 발명의 임의의 조성물의 투여 경로는, 예를 들어, 정맥내 또는 동맥내 주사 및/또는 주입을 포함한다.

[0115] 적합한 조성물 및 투여량 형태는, 예를 들어, 정제, 캡슐, 캐플릿, 환제, 겔 캡, 트로키, 분산액, 현탁액, 용액, 시럽, 과립, 비드, 경피 패치, 겔, 분말, 펠릿, 마그마, 로젠지(lozenges), 크림, 페이스트, 플라스틱, 로션, 디스크, 좌제, 비내 또는 경구 투여용 액체 스프레이, 흡입용 건조 분말 또는 에어로졸화된 제형, 정맥내 투여용 조성물 및 제형 등을 포함한다. 본 발명에 유용할 수 있는 제형 및 조성물은 본원에 기재된 특정 제형 및 조성물로 제한되지 않음이 이해되어야 한다.

[0116] *비경구 투여*

[0117] 본 명세서에 사용된, 약제학적 조성물의 "비경구 투여"는 대상체의 조직의 물리적 누출(bleaching) 및 조직 내의 누출을 통한 약제학적 조성물의 투여를 특징으로 하는 임의의 투여 경로를 포함한다. 따라서, 비경구 투여는, 이로만 제한되는 것은 아니지만, 조성물의 주사, 외과적 절개를 통한 조성물의 적용, 조직-침투성 비외과적 상처를 통한 조성물의 적용 등에 의해 약제학적 조성물의 투여를 포함한다. 특히, 비경구 투여는, 이로만 제한되는 것은 아니지만, 피하, 정맥내, 복강내, 근육내, 흉골내 주사, 및 신장 투석 주입 기술을 포함하는 것으로 고려된다.

[0118] 비경구 투여에 적합한 약제학적 조성물의 제형은 멸균수 또는 멸균 등장성 염수와 같은 약제학적으로 허용되는 담체와 조합된 활성 성분을 포함한다. 이러한 제형은 볼루스 투여 또는 연속 투여에 적합한 형태로 제조, 포장, 또는 판매될 수 있다. 주사가 가능 제형은 보존제를 함유하는 앰플 또는 다회 용량 용기와 같은 단위 투여 형태로 제조, 포장, 또는 판매될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제형은, 이로만 제한되는 것은 아니지만, 현탁액, 용액, 유성 또는 수성 비히클 중의 에멀전, 페이스트, 및 이식가능한 서방형 또는 생분해성 제형을 포함한다. 이러한 제제는, 이로만 제한되는 것은 아니지만, 현탁제, 안정화제, 또는 분산제를 포함하는 하나 이상의 추가 성분을 추가로 포함할 수 있다. 비경구 투여용 제형의 한 실시형태에서, 활성 성분은 재구성된 조성물의 비경구 투여 전에 적합한 비히클(예를 들어, 무-발열원 멸균수)로 재구성하기 위해 건조(즉, 분말 또는 과립) 형태로 제공된다.

[0119] 약제학적 조성물은 멸균 주사용 수성 또는 유성 현탁액 또는 용액의 형태로 제조, 포장, 또는 판매될 수 있다. 이 현탁액 또는 용액은 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있고, 활성 성분 이외에, 본 명세서에 기재된 분산제, 습윤제, 또는 현탁제와 같은 추가 성분을 포함할 수 있다. 이러한 멸균 주사용 제형은, 예를 들어, 물 또는 1,3-부탄디올과 같은 무독성의 비경구적으로 허용되는 희석제 또는 용매를 사용하여 제조될 수 있다. 다른 허용되는 희석제 및 용매는, 이로만 제한되는 것은 아니지만, 링거액, 등장성 염화나트륨 용액 및 합성 모노- 또는 디-글리세리드와 같은 고정유를 포함한다. 유용한 다른 비경구적으로-투여가능한 제형은 활성 성분을 미세 결정질 형태, 리포솜 제제, 또는 생분해성 중합체 시스템의 성분으로 포함하는 것을 포함한다. 서방형 또는 이식용 조성물은 약제학적으로 허용되는 중합성 또는 소수성 물질, 예컨대, 에멀전, 이온 교환 수지, 난용성 중합체, 또는 난용성 염을 포함할 수 있다.

[0120] *제어 방출 제형 및 약물 전달 시스템*

[0121] 특정 실시형태에서, 본 발명의 제형은 단기 방출, 신속-오프셋뿐만 아니라, 제어된, 예를 들어, 지속 방출, 지

연 방출 및 박동성(pulsatile) 방출 제형일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

- [0122] 용어 지속 방출은, 통상적인 의미로 연장된 기간에 걸쳐 약물의 점진적인 방출을 제공하고, 반드시 그런 것은 아니지만, 연장된 기간에 걸쳐 약물의 실질적으로 일정한 혈액 수준을 초래할 수 있는 약물 제형을 지칭한다. 기간은 1개월 또는 그 이상일 수 있으며, 동일한 양의 작용제가 볼루스 형태로 투여되는 것보다 긴 방출이어야 한다.
- [0123] 지속 방출을 위해, 화합물은 화합물에 지속 방출 특성을 제공하는 적합한 중합체 또는 소수성 물질로 제형화될 수 있다. 이와 같이, 본 발명의 방법에 유용한 화합물은 미세입자의 형태, 예를 들어, 주사로, 또는 이식되는 웨이퍼 또는 디스크의 형태로 투여될 수 있다.
- [0124] 본 발명의 일 실시형태에서, 본 발명의 화합물은 지속 방출 제형을 사용하여, 단독으로 또는 다른 약제와 조합하여, 환자에게 투여된다.
- [0125] 용어 지연 방출은, 본 명세서에서 이의 통상적인 의미로 약물 투여 후 약간의 지연 후 약물의 초기 방출을 제공하고, 반드시 그런 것은 아니지만, 약 10분 내지 최대 12분의 지연을 포함할 수 있는 약물 제형을 지칭하기 위해 사용된다.
- [0126] 용어 박동성 방출은, 본 명세서에서 이의 통상적인 의미로 약물 투여에 이은 약물의 박동 플라즈마 프로파일을 생성하는 방식으로 약물의 방출을 제공하는 약물 제형을 지칭하기 위해 사용된다.
- [0127] 용어 즉시 방출은, 이의 통상적인 의미로 약물 투여 직후 약물의 방출을 제공하는 약물 제형을 지칭하기 위해 사용된다.
- [0128] 본 명세서에 사용된, 단기는 임의의 최대 기간을 지칭하며, 약물 투여 후 약 8시간, 약 7시간, 약 6시간, 약 5시간, 약 4시간, 약 3시간, 약 2시간, 약 1시간, 약 40분, 약 20분, 약 10분, 또는 약 1분 및 이의 임의의 전부 또는 일부 증분을 포함한다.
- [0129] 본 명세서에 사용된, 신속-오프셋은 임의의 최대 기간을 지칭하며, 투여 후 약 8시간, 약 7시간, 약 6시간, 약 5시간, 약 4시간, 약 3시간, 약 2시간, 약 1시간, 약 40분, 약 20분, 약 10분, 또는 약 1분 및 이의 임의의 전부 또는 일부 증분을 포함한다.
- [0130] 투약
- [0131] 본 발명의 화합물의 적합한 용량은 1일 당 약 0.01 mg 내지 약 5,000 mg, 예컨대, 약 0.1 mg 내지 약 1,000 mg, 예를 들어, 약 1 mg 내지 약 500 mg, 예컨대, 일 당 약 5 mg 내지 약 250 mg의 범위일 수 있다. 용량은 단일 용량 또는 다중 용량, 예를 들어, 1일 당 1 내지 5회 이상 투여될 수 있다. 다중 투여량이 사용되는 경우, 각 투여량은 동일하거나 상이할 수 있다. 예를 들어, 1일 당 1 mg의 용량은 2개의 0.5 mg 용량으로, 용량 사이에 약 12시간 간격으로 투여될 수 있다.
- [0132] 1일 당 투약되는 화합물의 양은, 비제한적인 예에서, 매일, 격일, 2일마다, 3일마다, 4일마다 또는 5일마다 투여될 수 있는 것으로 이해된다. 예를 들어, 격일로 투여하는 경우, 1일 당 용량 5 mg을 월요일에 시작하여 수요일에 1일 당 5 mg의 첫 번째 후속 용량, 금요일에 1일 당 5 mg의 두 번째 후속 용량 등으로 투여할 수 있다.
- [0133] 환자의 상태가 실제로 개선되는 경우, 의사의 판단에 따라 본 발명의 억제제의 투여는 임의로 연속적으로 제공되고; 대안적으로, 투여되는 약물의 용량은 특정 기간 동안 일시적으로 감소되거나 일시적으로 중단된다(즉, "휴약기"). 휴약기의 길이는, 단지 예시의 일환으로, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 10일, 12일, 15일, 20일, 28일, 35일, 50일, 70일, 100일, 120일, 150일, 180일, 200일, 250일, 280일, 300일, 320일, 350일, 또는 365일을 포함하여, 2일 내지 1년 사이에서 선택적으로 변한다. 휴약일 동안의 용량 감소는, 단일 예시의 일환으로, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 또는 100 %를 포함하여, 10 % 내지 100 %를 포함한다.
- [0134] 일단 환자의 상태가 개선되면, 필요한 경우 유지 용량이 투여된다. 이어서, 투여량 또는 투여 빈도, 또는 둘 다, 질환 또는 장애의 함수로서, 개선된 질환이 유지되는 수준으로 감소된다. 특정 실시형태에서, 환자는 증상 및/또는 감염의 임의의 재발에 따라 장기간 간헐적인 치료를 필요로 한다.
- [0135] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 화합물은 단위 투여량 형태로 제형화될 수 있다. 용어 "단위 투여량 형태"는 치료를 받는 환자에 대한 단위 투여량으로 적합한 물리적 분할 단위를 의미하며, 각 단위는, 선택적으로 적절한 약제학적 담체와 연관되어, 원하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 소정량의 활성 물질을 함유한다. 단위 투여

량 형태는 단일 일일 용량 또는 다중 일일 용량 중 하나(예를 들어, 1일 당 약 1 내지 5회 또는 그 이상)일 수 있다. 다수의 일일 투여량이 사용될 때, 단위 투여량 형태는 각 용량에 대해 동일하거나 상이할 수 있다.

[0136] 이러한 치료 섭생의 독성 및 치료 효능은 세포 배양물 또는 실험 동물에서 선택적으로 결정되며, 이로만 제한되는 것은 아니지만, LD₅₀(집단의 50 %에 치명적인 양) 및 ED₅₀(집단의 50%에서 치료학적으로 유효한 용량)의 결정을 포함한다. 독성 효과와 치료 효과 사이의 용량 비율은 치료 지수이며, 이는 LD₅₀과 ED₅₀ 사이의 비율로 표현된다. 세포 배양물 분석 및 동물 연구로부터 획득된 데이터는 선택적으로 사람에게 사용하기 위한 투여량 범위를 제형화하는데 사용된다. 이러한 화합물의 투여량은 바람직하게는 독성이 최소인 ED₅₀을 포함하는 순환 농도 범위 내에 있다. 투여량은 채용된 투여 형태 및 사용된 투여 경로에 따라 이 범위 내에서 선택적으로 변동된다.

[0137] 통상의 기술자는 본 명세서에 기재된 특정 절차, 실시형태, 청구범위, 및 실시예에 대한 수많은 등가물을 단지 정규의 실험을 이용하여 인식하거나, 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 간주되고, 본 명세서에 첨부된 청구범위에 의해 포함된다. 예를 들어, 반응 시간, 반응 크기/부피, 및 실험 시약, 예컨대, 용매, 촉매, 압력, 대기 조건, 예를 들어, 질소 대기 및 환원제/산화제를 포함하는, 반응 조건에서 해당 기술분야에 공지된 대체물로 변경하고 단지 정규의 실험을 사용하는 것은 본 출원의 범위 이내에 있는 것으로 이해되어야 한다.

[0138] 본 명세서에서 값 및 범위가 제공되는 경우, 범위 형식의 설명은 단지 편의 및 간결성을 위한 것으로 이해되어야 하며 본 발명의 범위에 대한 융통성없는 제한으로 해석되어서는 안된다. 따라서, 이들 값 및 범위에 의해 포함되는 모든 값 및 범위는 본 발명의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다. 또한, 이들 범위에 속하는 모든 값뿐만 아니라 값 범위의 상한 또는 하한 역시 본 출원에 의해 고려된다. 범위의 설명은 가능한 모든 하위 범위뿐만 아니라 그 범위 내의 개별 숫자 값 및, 적절한 경우, 범위 내의 숫자 값의 부분 정수를 구체적으로 개시한 것으로 간주되어야 한다. 예를 들어, 1 내지 6과 같은 범위의 설명은 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 2 내지 4, 2 내지 6, 3 내지 6 등과 같은 하위 범위뿐만 아니라, 해당 범위 내의 개별 숫자, 예를 들어, 1, 2, 2.7, 3, 4, 5, 5.3 및 6을 구체적으로 개시한 것으로 간주되어야 한다. 이는 범위의 폭에 관계없이 적용된다.

[0139] 하기 실시예는 본 발명의 양상을 추가로 설명한다. 그러나, 이들은 본 명세서에 기재된 본 발명의 교시 또는 개시를 어떠한 식으로도 제한하는 것이 아니다.

[0140] **실시예**

[0141] 본 발명은 이제 이하의 실시예를 참조하여 설명된다. 이들 실시예는 단지 예시의 목적으로만 제공되며, 본 발명은 이들 실시예로 제한되지 않고, 오히려 본 명세서에 제공된 교시의 결과로 명백한 모든 변형을 포함한다.

[0142] **실시예 1: "이중-활성화" 조영제를 사용한 시험관내 실험**

[0143] 도 4a 내지 4d는 콜레스테롤- 및 트리올레인-함유 컨스트럭트를 사용한 개념 실험의 시험관내 증명을 도시한다. 본질적으로 어두운 탈이온수(도 4a)와 비교하여, 최고 전압 구배(3.33 V/cm, 도 4d)는 밝게 보인다.

[0144] **실시예 2: "이중-활성화" 조영제를 사용한 생체내 실험**

[0145] 도 6a 내지 6b는 랫트 심장의 좌심실의 생체내 영상이다(장축 단면도). 도 6a는 주사 전에 획득되었다. 도 6b는 전압-활성화 컨스트럭트의 주사 후 획득되었다; 구체적으로, 제형은 22.5 wt% DSPG, 22.5 wt% SOPC, 25% 콜레스테롤, 30 wt% 트리올레인을 포함하는 이중층으로 네스팅되고 저분자량 PVA를 함유하는 물 중에 현탁된, 폴리소르베이트 20(5 vol% PFP, 0.1 vol% PS20, 균형수) 및 50 vol% PBS의 단층으로 코팅된 50 vol% PFP 소적을 포함하였다. 도 6a 내지 6b의 비교는 도 6b의 심근에서의 에코발생 향상을 보여준다.

[0146] 도 7a 내지 7b는 돼지 심장의 좌심실의 생체내 영상이다(단축 단면도). 도 7a는 주사 전에 획득되었다. 도 7b는 전압-활성화된 작용제의 주사 후 획득되었다. 제형은 22.5 wt% DSPG, 22.5 wt% SOPC, 25% 콜레스테롤, 30 wt% 트리올레인을 포함하는 이중층으로 네스팅되고 저분자량 PVA를 함유하는 물 중에 현탁된, 폴리소르베이트 20(5 vol% PFP, 0.1 vol% PS20, 균형수) 및 50 vol% PBS의 단층으로 코팅된 50 vol% PFP 소적을 포함하였다. 도 7a 내지 7b의 비교는 도 7b의 심근에서의 에코발생 향상을 보여준다.

[0147] **실시예 3:**

[0148] **3.1. 재료**

[0149] 인지질, 스테롤 및 트리글리세리드는 Avanti Polar lipids(Alabaster, AL, USA)로부터 구입하였다. 퍼플루오로카본은 FluoroMed L.P.(Round Rock, TX, USA)에서 구입하였다. 칼세인, 염화코발트(II), 폴리비닐 알코올 (MW = 27,000 및 85,000 내지 124,000) 및 계면활성제(폴리소르베이트 20)는 Sigma Aldrich(St. Louis, MO)로부터 구입하였다. 모든 화학 종을 추가 정제없이 사용하였다.

[0150] **3.2. 방법**

[0151] **3.2.1. 상변화제(PCA) 나노에멀전:**

[0152] 퍼플루오로펜탄, 계면활성제 및 물을 포함하는 퍼플루오로카본 나노에멀전을 20 kHz 및 50 % 진폭에서 프로브 초음파처리(Model UP200S Hielscher - Ultrasound Technology, Teltow, Germany)를 통해 제조하였다. 전형적인 배치(batch)는, 동적 광산란(NanoBrook Omni, Brookhaven Instruments Corp., Holtsville, NY)으로 측정된, 대략 350 nm의 평균 직경을 산출하였다. 미세기포 응축을 통해 퍼플루오로부탄으로 나노 에멀전을 제조한 경우 대략 255 nm의 평균 직경이 얻어졌다. 나노에멀전을 제조하는데 사용된 퍼플루오로카본 및 계면활성제의 양은, 각각 5.00 % v/v 및 0.08 % v/v였다.

[0153] **3.2.2. PCA 나노에멀전 네스팅:**

[0154] 네스팅을 문헌(Wallace & Wrenn, 2015, Ultrasonics 63: 31-38)에 기재된 바와 같이, 이중 에멀전을 통해 진행한다. 본원에서는 상이한 막 성분을 사용하여 원하는 네스팅 셀 특성을 제공하였으며, 엄밀히 말하면, 특정 비제한적 실시형태에서, PCA의 네스팅은 삼중 에멀전(수중유중수중유, 또는 O/W/O/W)을 구성한다.

[0155] 전형적인 배치는 500 μ L의 제1 에멀전(즉, PCA 나노에멀전, O/W)을 500 μ L의 PBS(또는 형광 누출 실험의 경우, 1 mM 칼세인)로 희석하고, 이 제1 에멀전을 1 mL의 클로로포름 중의 지질 혼합물에 첨가하고, Polytron PT3100(Kinematica Inc., Lucerne, Switzerland)을 사용하여 12,000 RPM에서 1분간 균질화하여 이중 에멀전(O/W/O)을 획득하는 것을 포함하였다. 이어서, 이중 에멀전을 8 mL의 물 중의 2 % PVA(27,000 MW)에 첨가하여 삼중 에멀전(O/W/O/W)을 획득하였고, 이것을 2분 동안(Polytron PT3100으로 12,000 RPM에서 재차) 균질화하였다. 그 후에 잔존하는 삼중 에멀전을 추가 8 mL의 물 중의 2 % PVA(27,000 MW)에 첨가하고 24시간 동안 자석 스테러 상에 두었다.

[0156] 2개의 네스팅 셀 제형을 본 실험에 사용하였다: 제형 I은 20 몰% 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린(DSPC), 20 몰% 1-스테아로일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포-1'-rac-글리세롤(SOPG), 40 몰% 콜레스테롤, 및 20 몰% 트리올레인으로 구성되었고; 제형 II는 20 몰% 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포-1'-rac-글리세롤(DSPG), 20 몰% 1-스테아로일-2-올레오일-sn-글리세로-3-포스포콜린(SOPC), 40 몰% 콜레스테롤, 및 20 몰% 트리올레인으로 구성되었다.

[0157] 2개의 네스팅 셀 화학의 크기 분포를 Beckman Coulter 계수기(Multisizer 4E)로 측정하였다; 제형 I은 총 계수 3.00×10^9 개 입자/mL, 평균 크기 1.66 μ m, 및 중간 크기 1.42 μ m인 것으로 나타났고, 셀 II는 총 계수 3.13×10^9 개 입자/mL, 평균 크기 1.67 μ m 및 중간 크기 1.44 μ m인 것으로 나타났다.

[0158] **3.2.3. 형광 누출 실험:**

[0159] **3.2.3.1. 형광 분광계용 자체 제작(3D 프린팅된) 하우징:**

[0160] 초음파-유도 또는 전기장-유도, 또는 둘 다로 형광 누출을 실시간으로 측정하기 위해, CREO Panametrics 3.0 소프트웨어(PTC, Boston, MA)를 사용하여 맞춤형 하우징을 설계하고, Dimension Elite 3D 프린터(Stratasys, Eden Prairie, MN)로 3D 프린팅하였다. Drexel University의 Machine Shop에서 1.78 mm 두께의 ABS 필라멘트(ABS P430™ 모델(Ivory))와 견고한 내부 구조를 갖는 자체 제작 하우징을 인쇄한 후, 1시간 동안 아세톤 증기에 노출시켜 시스템을 수밀(water-tight)로 만들었다. 도 11은 기존 큐벳 홀더 대신 정치-상태 형광계(A-710, Photon Technology International Inc., Birmingham, NJ)의 베이스에 나사로 고정된, 하우징을 도시한다. 페그(pegs) 상단에 있는 베이스는 탈이온수를 유지하고 7.5 cm의 초점 거리를 제공한다. 베이스 내부(탈이온수가 베이스로부터 유출되지 않도록 보장하기 위해) 3층의 에폭시로 코팅하였다. 폴리비닐 클로라이드(PVC)의 얇은 시트는 샘플과 탈이온수를 분리하고; 이 시트는 음향적으로 투과성(transparent)이며 칼세인의 형광 강도에 영향을 미치지 않는다.

[0161] **3.2.3.2. 고주파수 초음파:**

[0162] 초음파는 + 55 dB ENI 3100LA 전력 증폭기 (ENI, NY, Rochester, NY)와 직렬로 연결된 8116A 함수 발생기 (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA)에 의해 구동되는, 5 MHz, 7.5 cm 집속 초음파 트랜스듀서(Olympus NDT, Waltham, MA, USA)를 사용하여 전달되었다. 이 연구에서, 보정된 HGL-0200 수중청음기(ONDA Corp., Sunnyvale, CA)를 사용하여 측정된, 원하는 피크 음압(PNP)을 전달하기 위해 트랜스듀서를 사용하였다. 여기 펄스는, 5 % 작동(duty) 사이클에 해당하는, 40 μ s 펄스 반복 시간을 갖는 10개의 정현파 파형을 포함한다. 초음파 트랜스듀서는, 그 초점 부피가 형광 분광광도계에 의해 추적된 광 경로 내에 있도록, 도 11에 도시된 3D 프린팅된 초음파 하우징에 장착된다. 정상파(standing waves)를 회피하기 위해 0.8 cm 실리콘 고무 시트를 석영 큐벳의 바닥에 놓았다.

[0163] **3.2.3.3. 전기장 매개변수:**

[0164] 도 11의 큐벳(1cm 폭) 내의 99.5 % 티타늄 전극(Alfa Aesar, Ward Hill)에 걸쳐 원하는 세기의 전기장을 생성하기 위해 Agilent 33220A 함수 발생기(Agilent, Santa Clara, CA)를 사용하여 1 Hz의 교류 전류에서 정현파 파형으로 원하는 전압의 전위를 인가하였다. 전기화학적 반응을 최소화하기 위해 주의를 기울였으며, 티타늄은 낮은 전위에서 일반적인 전기화학적 반응에 대해 비활성이고 매우 저항적이기 때문에 이를 전극 재료로 선택하였다. 순환 전압 전류법은 전기화학적 반응이 관심 전압 윈도우에 걸쳐 최소임을 나타내었고, 흡광도 스펙트럼으로는 전기화학적 반응이 감지될 수 없음을 확인하였다. 또한, 본 발명의 컨스트럭트 및 네스팅 셀 물질의 부재 시에 칼세인 및 염화코발트에 대한 비교 연구는 형광 강도에서의 관찰된 변화의 원인으로서 전기화학적 반응을 배제하였다. 방출 모노크로메이터를 마주한 전극을 통해 구멍을 뚫어 샘플로부터 검출기로 광을 투과시켰다.

[0165] **3.2.3.4. 칼세인 분석:**

[0166] 칼세인 누출을 표준 프로토콜(Wallace & Wrenn, 2015, Ultrasonics 63: 31-38)을 통해 측정하였다. 본 발명의 네스팅된 컨스트럭트의 현탁액을 염화코발트 용액에서 20배로 희석시켰다. 그렇지 않으면 널리 공지된 내부 필터 효과를 통한 광 산란으로 발생할 수 있는 형광 강도를 방지하기 위해 광학 밀도를 0.2 미만의 값으로 감소시키기 위한 희석이 필요했다. 희석은, 하기 두 가지의 비제한적인 이유 때문에, 물 기준으로 거의 1:1의 칼세인과 일치하는 농도의, 염화코발트로 수행되었다: 첫째, 희석은, 누출을 야기하고 분석을 복잡하게 할 수 있는, 리포좀 이중층에 걸친 이온 강도의 변화로 인한 삼투 스트레스를 최소화시켰다; 둘째, 희석은 외부 칼세인을 켜치시켰다. 샘플을, 본 명세서의 다른 곳에 기재된 3-D 프린팅된 하우징에 위치한, 석영 큐벳 내로 피펫팅하였다. 샘플을 변동되는 (고주파수 초음파) 초음파입사(insonation) 압력, 전위, 및 이 둘의 조합, 및 변동되는 음향 및 전기장 모달리티에 노출되는 동안 기록된 형광 강도에 노출시켰다. 고주파수 초음파 또는 전기장에 노출되지 않은 샘플을 대조군으로 삼았다.

[0167] 칼세인 누출을 2 nm 슬릿 폭, 1.0초 적분 시간, 및 1 nm 스텝 크기를 갖는 A-710 정치-상태 형광분광계(Photon Technology International Inc., Birmingham, NJ)를 사용하여 40분 간격에 걸쳐 측정하였다. 475 nm 여기 파장을 사용하여 방출 스펙트럼(490 내지 540 nm)을 획득하였다. 칼세인 누출(최대의 %)은 식 (1)로 계산하였으며, 여기서 F_t 는 시간 t에서의 샘플의 형광 강도이고, F_0 은 초기 형광 강도(0 % 방출을 정의함)이고, F_{100} 은 높은 강도 및 저주파수(20 kHz)(100 % 방출을 정의함)에서 프로브 초음파처리 후 실험이 끝날 때의 형광 강도이다.

[0168]
$$\text{누출율 \%} = (F_t - F_0) \times 100 / (F_{100} - F_0) \quad (1)$$

[0169] 임의의 이론에 의해 제한되는 것을 원치 않으면서, 본 명세서에 기록된 누출 값은 F_0 의 측정 전(적용된 장이 부재함을 의미함)에 발생할 수 있는 임의의 수동적 누출을 포착하지 못하며, 이는 분석법이 잠재적으로 실제로 발생한 누출량을 과소 보고할 수 있음을 의미한다. 그러나, 수동적 누출은 대조 샘플의 관찰에 기초하여 유의미한 것으로 보이지는 않는다. 구체적으로, 샘플 제조 후 즉시(수십 초 이내를 의미함) 측정된, F_0 의 값은 시간에 민감하지 않았다; 대조군 샘플은 실험 기간 동안 형광 강도의 거의 또는 전혀 변화를 나타내지 않았으며, 이는 만일 발생했다면, 수동적 누출이 F_0 을 측정하기 전에 완료되었음을 시사한다. 만약 그랬다면, 고강도의, 저주파수(20 kHz) 초음파처리에 대한 노출시, 추가적인 누출은 없을 것으로 예상할 수 있지만, 실험 기간 동안 형광 강도에서 거의 또는 전혀 변화를 나타내지 않는 동일한 대조군 샘플은 초음파를 처리했을 때 형광 강도에서 대략 4배의 변화를 보여 주었다. 이를 종합하면, 임의의 이론에 의해서 제한되기를 원치 않으면서, 이들 관찰은 적용된 장의 부재 시 인식가능한 누출이 없음을 지적한다.

[0170] 데이터는 표준 편차를 나타내는 오차 막대가 있는 시행의 평균으로 제시된다. Lambda 40 UV-VIS 분광계(Perkin

Elmer, Waltham, MA)로 흡광도를 측정하여 전기화학적 반응이 감지가능하지 않음을 확인하였다.

[0171] **3.2.4. 전기영동 이동성:**

[0172] 위상 분석 광산란(PALS)을 사용하는, Brookhaven NanoBrook Omni(Brookhaven Instruments Corp., NY Holtsville)에서 전기영동 이동성을 측정하였다. 이 시스템은 유효 산란 각도가 15 ° 인 640 nm의 공칭 파장으로 35 mW 적색 다이오드 레이저를 사용한다. 샘플을 탈이온수로 희석하고, 전기영동 이동성을 2 Hz에서 교류하는 4 V의 고정 전위에서 측정했다. 제타 전위는 Smoluchowski 한도에서 하기 식 (2)을 통해 계산되었다.

[0173]
$$U = [(\epsilon_r \epsilon_0) / \eta] \zeta f(\kappa a) \quad (2)$$

[0174] 여기서 U 는 전기영동 이동성, ϵ_r 은 매질의 상대 유전율, ϵ_0 는 진공의 유전율, κ 는 Debye 길이 역수, η 는 매질의 점도, a 는 이동하는 실체의 반경이다.

[0175] U 는 종단(terminal) 속도를 전기장으로 나눈 값($U = v/E$)이며 v 는 식 (3)으로 계산될 수 있음을 주목해야 한다:

[0176]
$$v = QE / (6 \pi \eta R) \quad (3)$$

[0177] 여기서 Q 는 실체의 총 전하이고, R 은 하전된 엔티티의 반경이며, η 는 매질의 점도이다.

[0178] **3.2.5. 조직 팬텀 실험:**

[0179] 조직 팬텀 준비:

[0180] 10 wt% PVA(85,000-124,000 MW)로 구성된 폴리(비닐 알콜)(PVA) 크리오겔 팬텀은 문헌(Surry, *et al.*, 2004, Phys. Med. Biol. 49(24):5529-5546)에 기재된 대로, 조직 모사 팬텀으로 사용된다.

[0181] 간단히 말하면, 10 wt% PVA의 1.5 L 용액을 12시간 동안 80 °C로 가열하여 중합체가 가용화되도록 한다. 비이커를 증발로 인한 물 손실을 최소화하기 위해 가열 과정 동안 알루미늄 호일로 덮는다. 용액이 완전히 용해되면, 도 12a에 도시된 바와 같이 원통형 샘플 챔버를 갖는 스테인레스 스틸 팬텀 몰드에 쏟아 붓고, 기포가 빠져나가도록 24시간 동안 실온에서 방치한다. 이어서, PVA가 단단한 결정 구조로 정렬되도록 용액을 3회의 동결-해동 사이클에 적용한다. 동결-해동 사이클에 따라 음향 속도 및 조직 밀도가 증가한다; 3회 사이클 후, 음향 특성은 사람 조직과 밀접하게 일치하며, 팬텀의 음향 속도는 1535 m/s로 측정되고 감쇠 계수는 0.075 내지 0.28 dB(cm MHz)⁻¹ 범위이다. 크리오겔의 탈수를 피하기 위해 PVA 크리오겔을 탈이온수에서 4 °C로 유지한다. 도 12a에 도시된 바와 같이 알루미늄 전극이 6 cm 이격되어 위치되도록 하기 위해 면도날을 사용하여 길이 5 cm 및 깊이 8 cm로 슬라이스를 자른다. 이 조직-모사 팬텀은 초음파 및 전기장 매개변수의 상이한 조합에 대해 샘플 영역 내의 강도와 PVA 조직-모사 영역 내의 강도를 비교하는 밝기 연구를 가능케한다.

[0182] **콘트라스트 대 조직 비(CTR):**

[0183] GE Vivid *i*(GE Medical Systems Information Technologies GmbH, Freiburg, Germany) 휴대용 임상 초음파 기계로부터 밝기(B) 모드 영상을 취하여 다양한 전기장과 함께 고정된 초음파 강도에 적용된 상이한 제형에 대한 콘트라스트 대 조직 비(CTR)를 평가하였다. GE Vivid *i*는 2 MHz 광대역 위상 배열 트랜스듀서(GE 3S-RS)를 사용하여 2.0 및 4.0 MHz(각각, 송신 및 수신) 주파수의 고조파 영상화 모드에서 0.28 MI로 설정되었으며, 전극 사이의 전기장은 0 V/cm에서 3 V/cm로 변동되었다. PVA 크리오겔 내의 샘플 챔버의 부피는 40 mL이었고; 전형적인 실험에서, 2 mL의 주어진 제형을 38 mL DI 물에 첨가하였다. 위상 배열 트랜스듀서를 커플링 젤을 사용하여 PVA 크리오겔의 전면에 대해 수평으로 위치시키고, 팬텀을 자석 교반 플레이트에 위치시켜 실험 진행 도중에 샘플 내용물이 혼합되도록 하였다.

[0184] 도 12b는 본 연구 동안 획득된 영상의 유형을 도시하고, 샘플 콘트라스트 영역 및 조직-모사 영역의 두 영역을 나타낸다. 이들 영역은 실험 전체에서 동일하게 유지된다. 기록된 영상을 디지털화하여, 0(검정) 내지 255(백색) 범위의 그레이스케일 강도로 변환하는, MATLAB 프로그램을 사용하여 획득된 영상으로부터 콘트라스트 대 조직 비를 계산하였다. 픽셀 밝기의 평균을 구하고, CTR 값은 식 (4)로 계산하였으며, 여기서 I_c 및 I_T 는, MATLAB 프로그램에 의해 계산된, 콘트라스트 및 조직 영역, 각각의 그레이스케일 강도이다(Bartolomeo, *et al.*, 2012, Bubble Sci. Eng. Technol. 4(2):78-84).

[0185]
$$\text{콘트라스트 대 조직 비} = 20 \log_{10}(I_c / I_T) \quad (4)$$

- [0186] **3.2.6. 동물 연구:**
- [0187] 소형 동물:
- [0188] 연구는 전신 마취하에 스프라그-돌리(Sprague-Dawley) 래트로 수행되었다. 생체 내 고해상도 마이크로-영상화를 위한 선형 어레이 기술 및 컬러 도플러 모드를 갖춘 고주파수, 고해상도 디지털 영상화 플랫폼을 (비개흉) 심초음파검사(VEVO® 2100 Imaging System, FUJIFILM VisualSonics Inc., Toronto, Canada)에 사용하였다. 적절한 해상도와 필요한 침투 깊이를 제공하기 위해, 고주파수 트랜스듀서 프로브(주파수 범위 18-38 MHz를 갖는 VisualSonics MS400; 21 MHz 및 5 % 전력에서 구동됨)를 심근의 심혈관 기능 및 향상의 평가에 사용하였다. 영상화에 사용한 VisualSonics 트랜스듀서 외에, 2 MHz 광대역 위상 배열 트랜스듀서(GE 3S-RS; 즉, 조직 모사 팬텀 연구에서 GE Vivid i와 함께 사용한 것과 거의 동일한 트랜스듀서)를 여기(0.07 내지 0.28 MI)에 사용하였다.
- [0189] 대형 동물:
- [0190] 전신 마취하에 돼지로 연구를 수행하였다. 영상화(비개흉) 및 여기는 조직 모사 팬텀 연구에 사용한 것과 동일한 GE Vivid i 및 프로브로 수행되었다.
- [0191] 선별된 실험 결과가 본 명세서에서 논의된다.
- [0192] **시험관내 연구:**
- [0193] **형광 누출 연구:**
- [0194] 도 13은 다음 3가지 조건 하에서 본 발명의 네스팅된 컨스트럭트의 제형으로부터의 칼세인 누출을 나타낸다: 0.25 V/cm의 전기장 단독 적용; 0.5 MPa PNP의 초음파 단독 적용; 및 0.25 V/cm의 전기장+0.5 MPa PNP의 초음파 동시 적용. 각 모달리티 단독만으로도 측정 가능한 누출이 발생하며, 두 모달리티를 조합하여 사용하면 상승효과가 나타난다. 이는 조합된 모달리티의 결과를, 개별 모달리티의 결과를 단순히 더함으로써 예상되는 결과와 비교하면 명백해지며, 그 중 후자는 기호가 없는 얇은 회색 선으로 도 13에 도시되어 있다.
- [0195] **조직-모사 팬텀에서의 CTR(밝기) 연구:**
- [0196] 도 14는 초음파 영상 밝기가 2개의 네스팅 셀 제형에 대한 전기장에 어떻게 반응하는지를 보여준다. ~ -60 mV의 제타 전위를 제공한, 첫 번째 네스팅 셀은 1.0 V/cm의 전기장을 적용했을 때 밝아지는 일부 시각적 증거를 보여 주지만, 전기장 강도를 3.0 V/cm로 증가시켰을 때 명백히 (육안으로) 구별가능한 추가의 밝아짐은 나타나지 않았다. ~ -70 mV의 제타 전위를 제공한, 두 번째 네스팅 셀은, 1.0 V/cm의 전기장의 적용 및 3.0 V/cm로의 전기장 강도의 증가 둘 다에서, 밝아짐에 대한 충분한 시각적 증거를 보여주었다. 정성적인 시각적 밝기 결과는 CTR 방법론을 사용하여 정량화되었고, 도 15에 제공되어 있는데, 이는 또한 조직 모사 팬텀에서 두 금속판 사이의 전압 차이가 실험 내내 어떻게 변했는지를 보여준다.
- [0197] **생체내 연구:**
- [0198] **래트 연구:**
- [0199] 도 16은 확장기 동안 래트 심장(비개흉)의 B-모드 영상을 도시한다. 패널 A는 임의의 작용제의 투여 전에 획득한 기준 영상을 보여준다. 패널 B는 조직 팬텀 연구에서 우수한 밝기를 나타낸, 네스팅 셀 화학 II로 네스팅된 제형을 투여한 후 획득한 영상이다. 패널 C는 네스팅 셀 화학 I로 네스팅된 제형을 투여한 후 획득한 영상이고, 패널 D는 포화 인지질로 코팅된 육불화황의 미세기포를 투여한 후 획득한 영상이다. 전통적인, 비네스팅된 미세기포는 심실을 밝아지게 만드나 심근을 밝아지게 만들지 않는 반면(패널 D를 패널 A와 비교), 본 발명의 네스팅된 컨스트럭트는 그 반대(converse)를 나타내고(예를 들어, 패널 B를 패널 A와 비교), 관찰된 콘트라스트 향상 수준은 사용된 네스팅 셀 제형에 좌우된다(패널 C를 패널 B와 비교).
- [0200] **돼지 연구:**
- [0201] 도 17은 기준선에서, 그리고 네스팅된 셀 화학 물질 II로 네스팅된 제형을 투여한 후의 GE Vivid i(조직-모사 팬텀 연구에 사용한 것과 매우 동일한 단위)로 획득한 돼지 심장(비개흉, 장축 단면도)의 B-모드 영상을 도시하며, 조직-모사 팬텀 및 래트 심장 영상 연구 둘 다에서 우수한 결과가 얻어졌다. 시험관내 및 래트 연구에서와 같이, 본 발명의 네스팅된 컨스트럭트는 돼지 심근 내에서 선택적 활성화를 나타냈다.
- [0202] 본 결과는 본 발명의 컨스트럭트를 사용하는 하기 적용을 예시한다: 내인성 전기장을 포함하는, 심근 관류 영상

화. 전기장을 제어하는 대신에, 본 적용은, 시간과 공간에 따라 변하는, 심장이 생성하는 전기장을 이용한다. 래트와 돼지 연구의 결과는 이러한 접근법의 타당성과 임상적 관련성을 입증하며, 심근 - 여기서 전기장은 향상을 적게 나타내는 다른 영역에 비해 더 강하다 - 에서의 선택적 향상된 초음파 콘트라스트를 보여준다. 돼지 연구에서는 가장 뚜렷한 선택적 콘트라스트 향상이 획득되었으며, 래트 연구에서는 좌심실 내에서 약간의 활성화가 나타났다. 임의의 이론에 의해 제한되는 것을 원치 않으면서, 이 결과는, 동물들 사이의, 침투 깊이(피부 대 장기)의 차이와 부분적으로 관련된, 감쇠의 차이에 의해 부분적으로 설명될 수 있다.

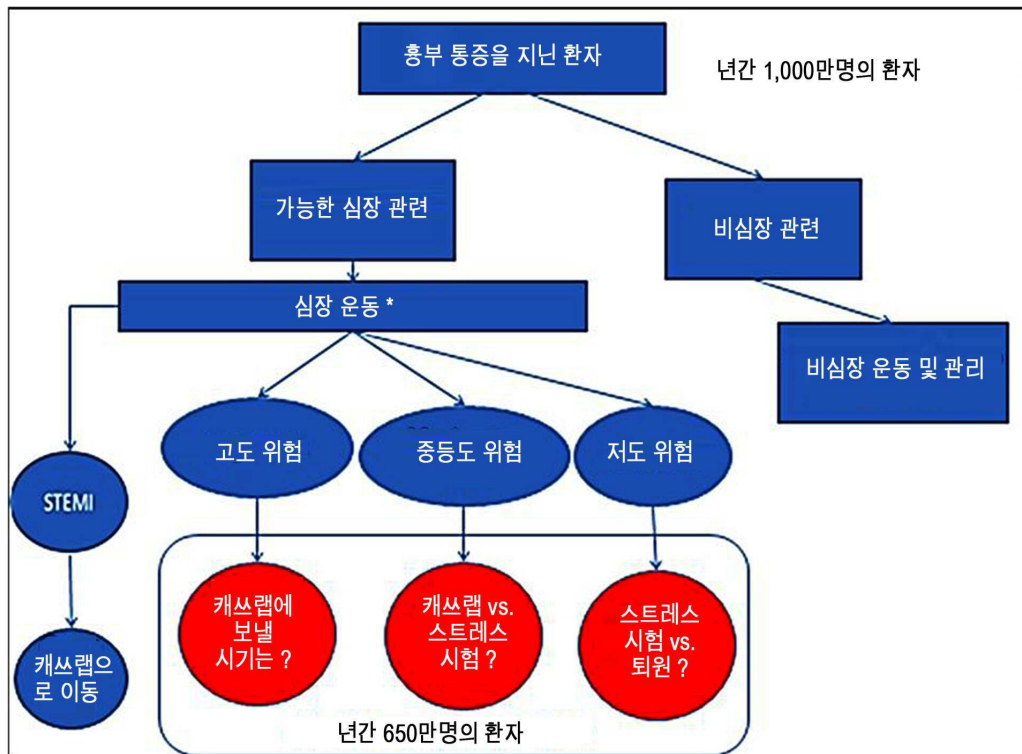
[0203] 시험관내 연구는 동물 연구의 결과를 확인하고, 전압-민감도가 화학으로 조정될 수 있음을 입증한다. 특히, 네스팅 셀 제형 II는 네스팅 셀 제형 I에 비해 활성화에 대한 더 큰 성향 및 전기장 강도의 변화에 대한 더 큰 민감성을 나타내었다. 2가지 제형은 상이한 제타 전위를 가지지만, 네스팅 셀 화학에서의 차이는 단지 하전된 종의 분율만의 차이는 아니었다. 따라서, 하전된 종의 양 이외에, 유형, 크기, 원자가, 및 위치가 전기장에 대한 반응에 영향을 줄 수 있다. 임의의 이론에 의해 제한되는 것을 원치 않으면서, 각각의 제형으로부터의 반응은 에코발생에 영향을 미치는 것으로 공지된, 소적 또는 기포의 수 또는 기체의 부피에서의 변화에 의해 조작될 수 있다.

[0204] 생체내 연구로부터의 증거는 고정 MI에서 전압-민감성 초음파 조영제의 선택적 활성화의 가능성을 보여준다. 조직-모사 팬텀에서의 시험관내 누출 연구는 생체내 발견을 지지하고, 시스템이 조정가능함을 입증한다. 전기장에 대한 네스팅된 컨스트럭트 구조의 민감도에 영향을 미치는 매개변수의 예는 네스트 곡률 및 하전이며, 전하의 유형, 하전된 엔티티의 크기, 전하량, 및 전하 위치를 포함한다. 비하전된 종의 화학적 조성이 또한 중요한 역할을 한다. 전압에 대한 민감도는, 고정된 초음파 강도에서, 네스팅된 액체 퍼플루오로카본 소적, 즉 전기장 존재 시의 그러한 것들의 서브세트의 활성화를 가능하게 한다. 네스팅 셀의 전기장에 대한 반응은, 우수한 MI에서의 활성화를 용이하게 하며, 그렇지 않으면 검출가능한 음향 활성을 생성하기에 불충분하다. 특정한 비제한적인 실시형태에서, 전기장의 존재로 인한 이중층의 적어도 부분적인 리모델링이 일어난다. 메커니즘에 관계없이, 전기장을 사용하는 선택적 활성화는 이 전압-민감성 상-변환제를 심근 관류 영상화에 매우 적합하게 만든다.

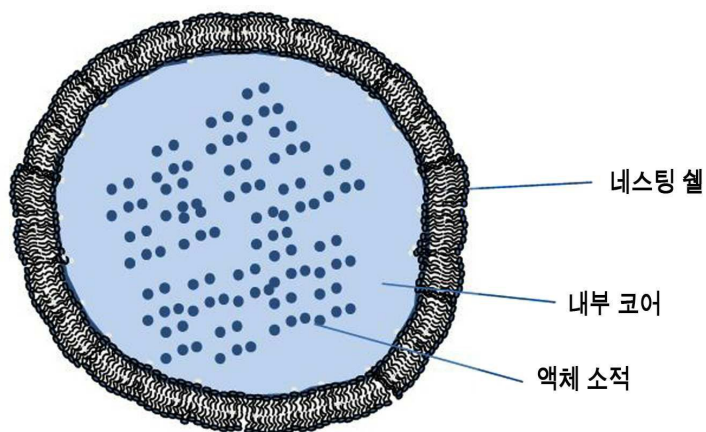
[0205] 본 명세서에 인용된 각각의 그리고 모든 특허, 특허 출원, 및 간행물의 개시는 이들 전문이 본 명세서에 참조로 포함된다. 본 발명은 특정 실시형태를 참조하여 개시되었지만, 본 발명의 진정한 사상 및 범위를 벗어나지 않으면서 본 발명의 다른 실시형태 및 변형이 통상의 기술자에 의해 고안될 수 있음은 명백하다. 첨부된 청구범위는 이러한 모든 실시형태 및 동등한 변형을 포함하는 것으로 간주되도록 의도된다.

도면

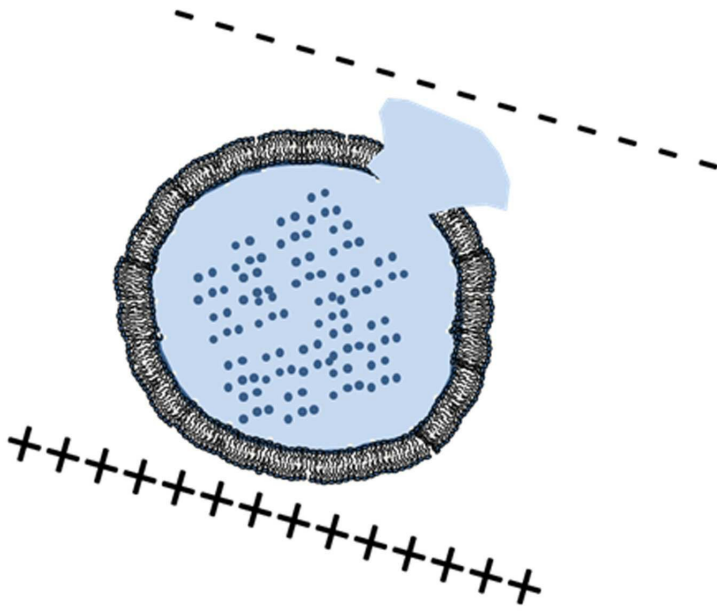
도면1



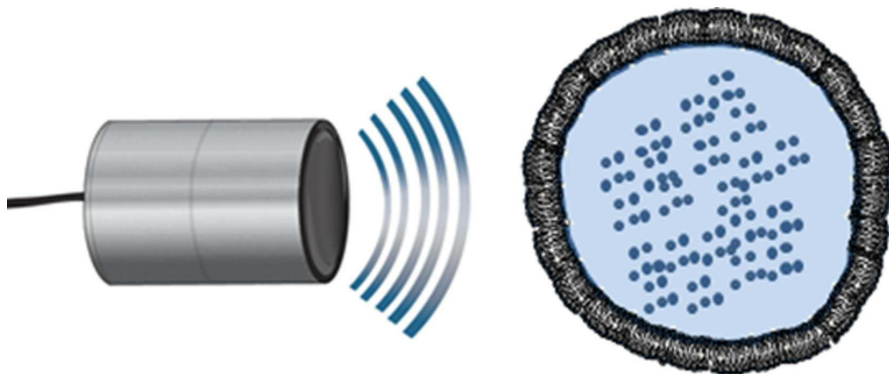
도면2a



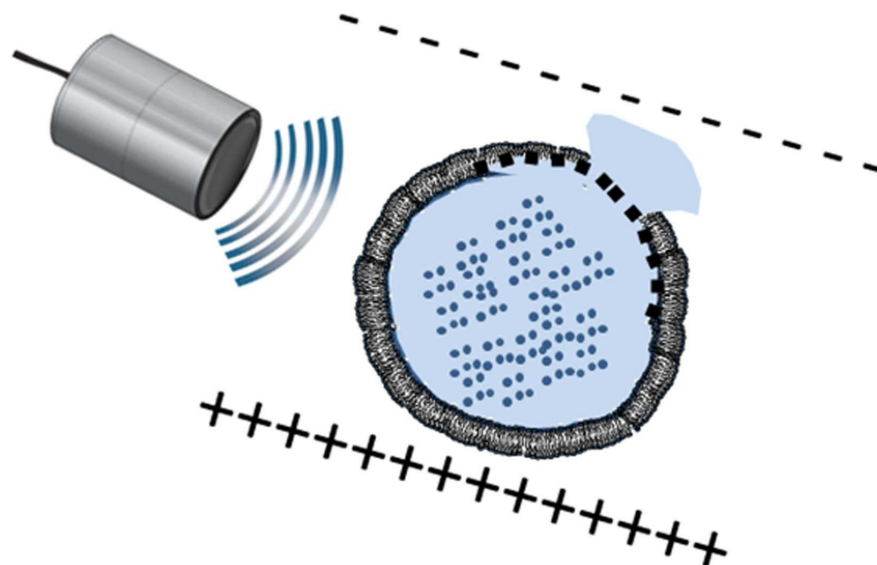
도면2b



도면3a



도면3b



도면4a



도면4b



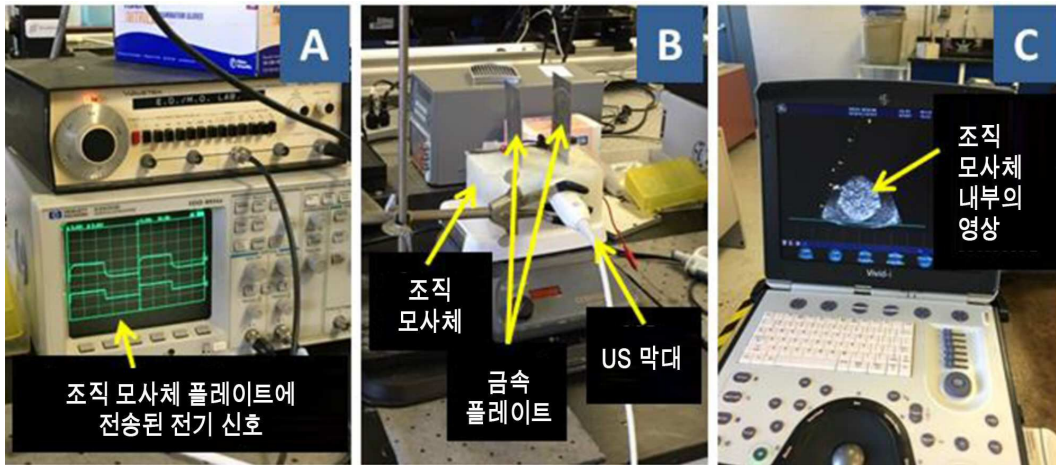
도면4c



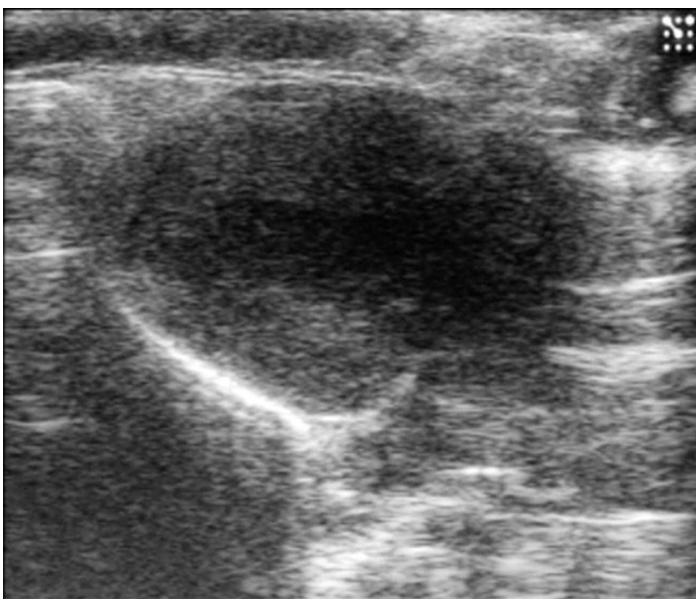
도면4d



도면5



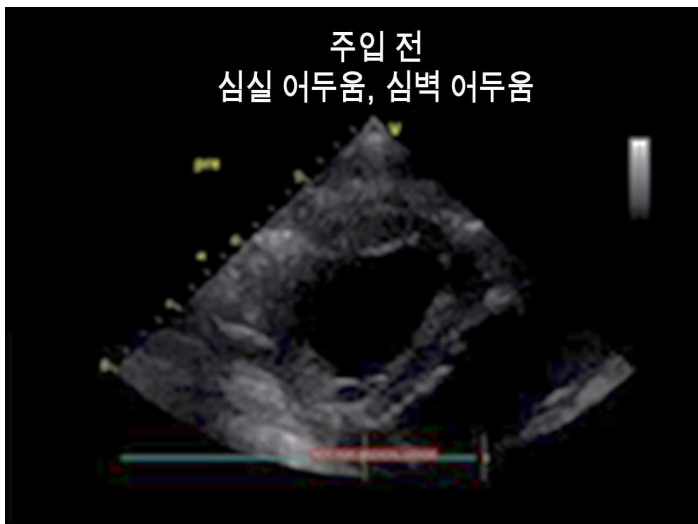
도면6a



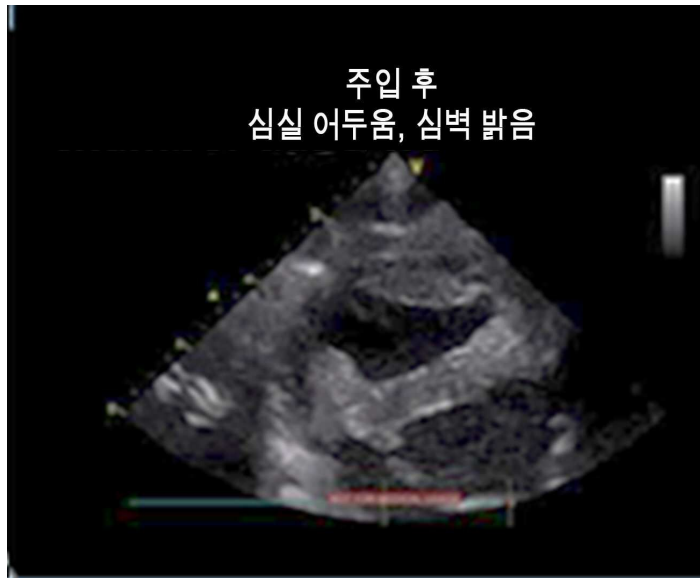
도면6b



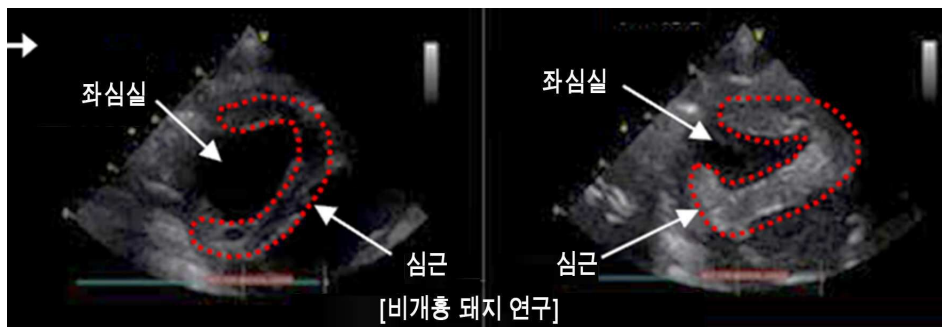
도면7a



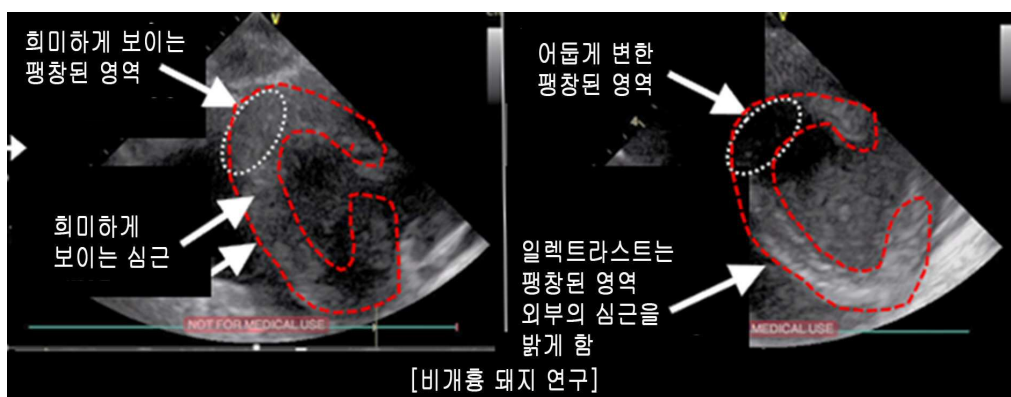
도면7b



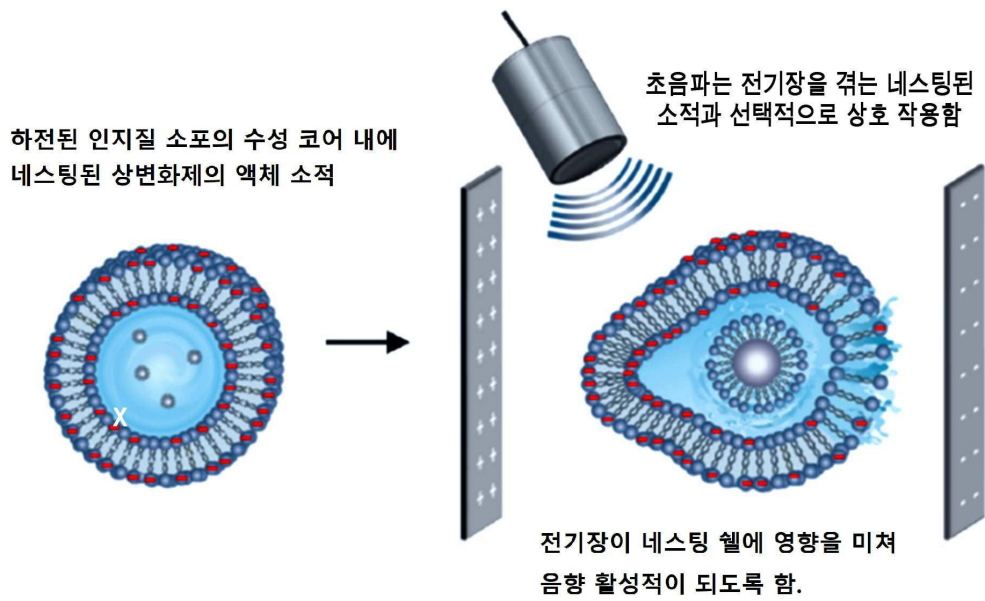
도면8



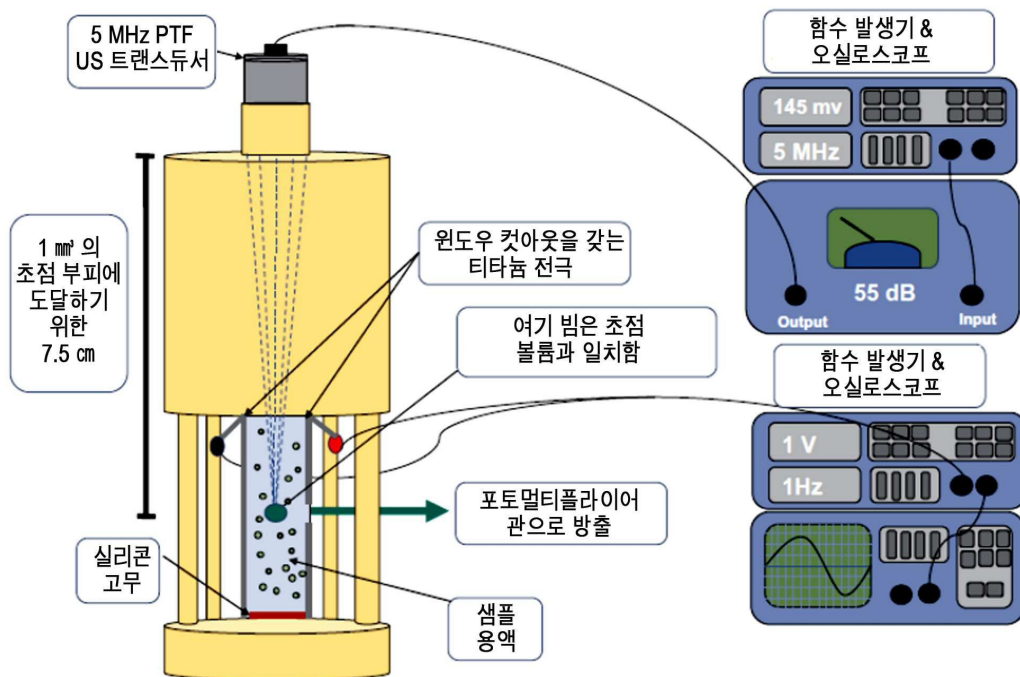
도면9



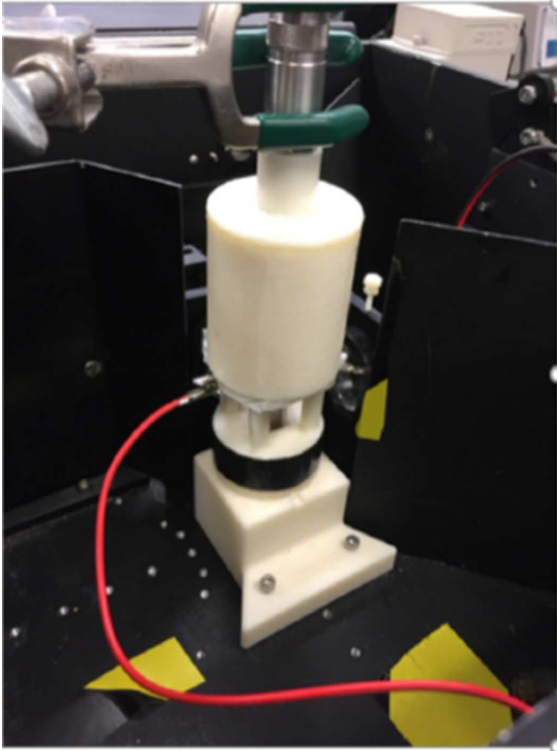
도면10



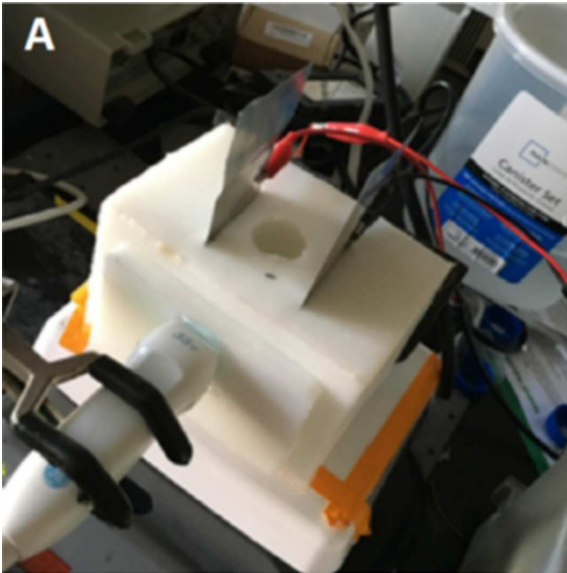
도면11a



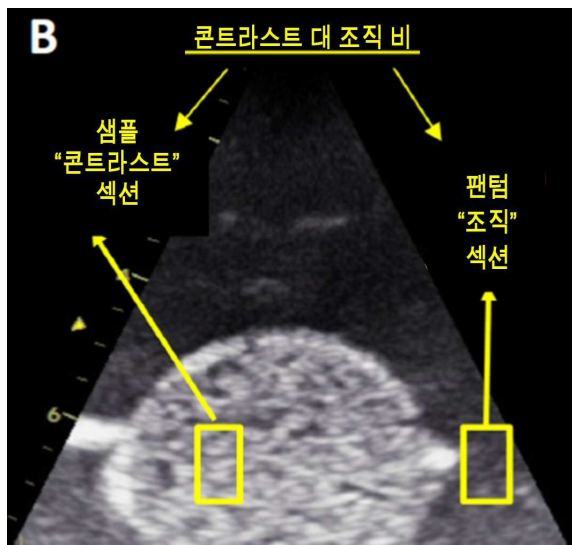
도면11b



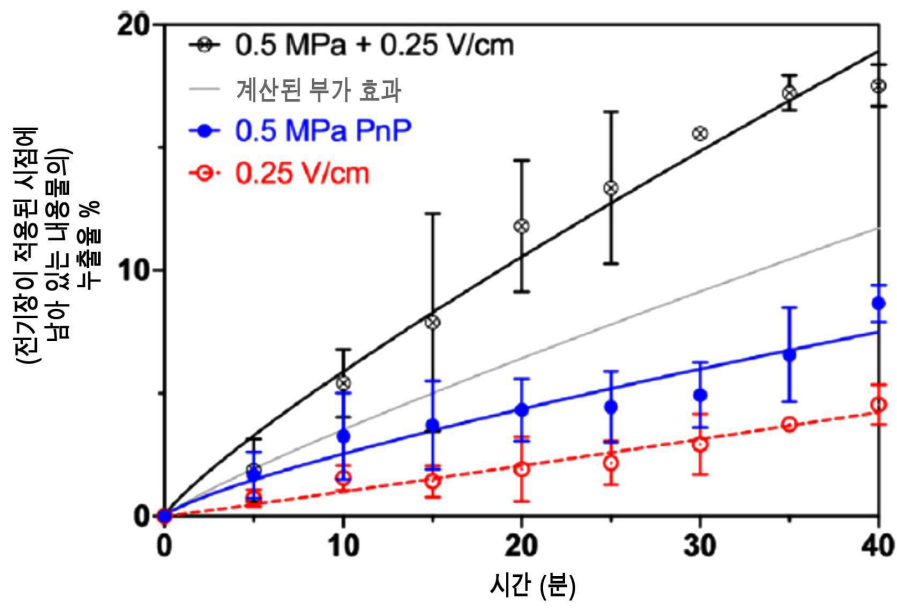
도면12a



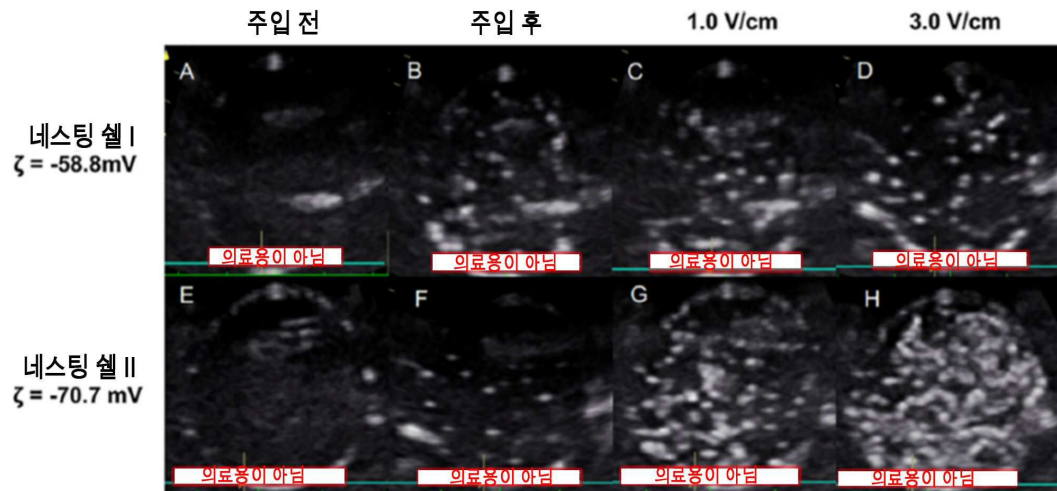
도면12b



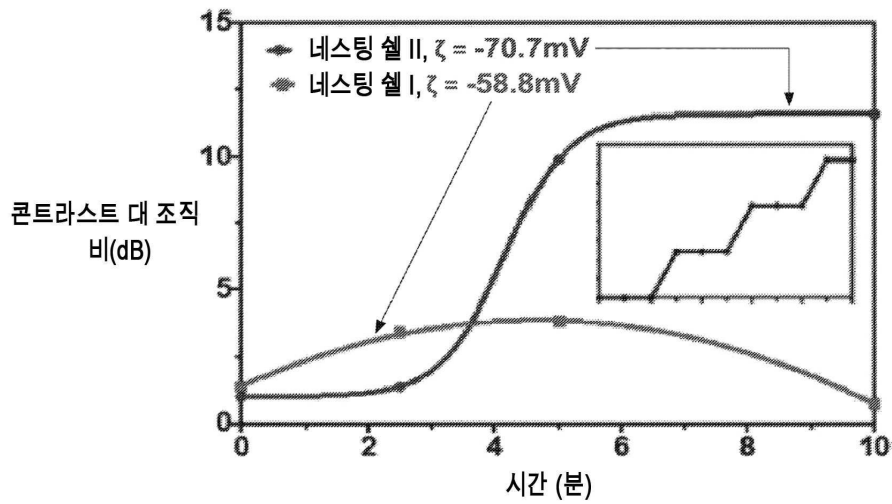
도면13



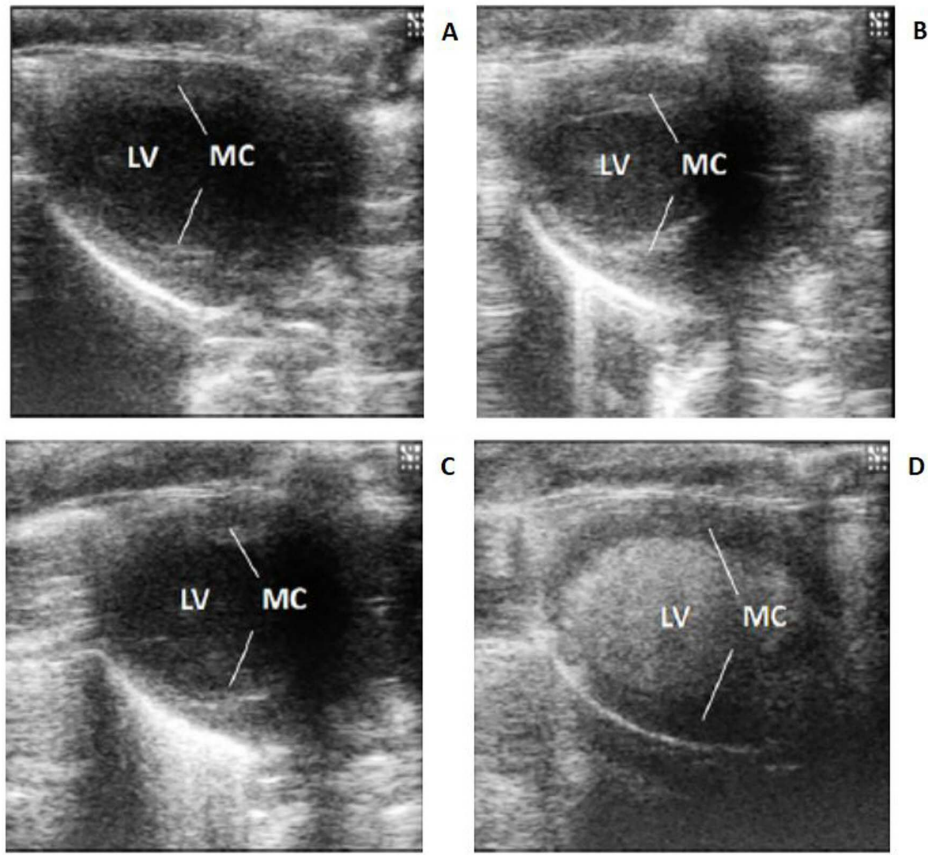
도면14



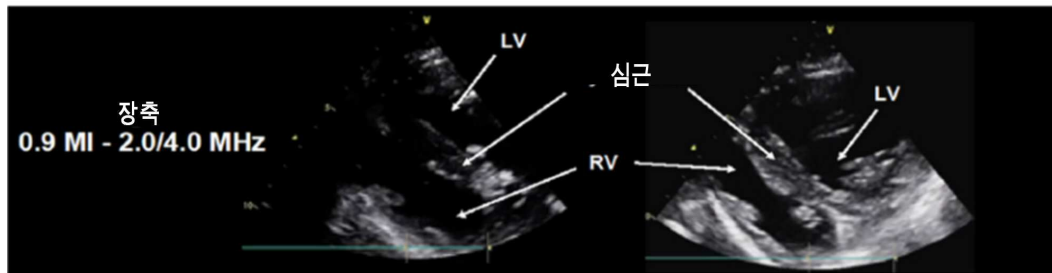
도면15



도면16



도면17



专利名称(译)	电压激活疗法，诊断和/或疗法诊断结构		
公开(公告)号	KR1020200049759A	公开(公告)日	2020-05-08
申请号	KR1020207003616	申请日	2018-07-06
[标]申请(专利权)人(译)	德雷克塞尔大学		
申请(专利权)人(译)	德雷克塞尔大学		
发明人	웬 스티븐 앤젤 브렛 코헛 앤드류 파파르만 아론 시모렐리 마이클		
IPC分类号	A61K49/22 A61B8/08 A61K41/00 A61K9/00 A61K9/107 A61K9/127		
CPC分类号	A61K49/227 A61B8/0883 A61B8/481 A61K41/0028 A61K9/0009 A61K9/1075 A61K9/127 A61K2121/00 A61K2123/00 A61N1/40		
优先权	62/529700 2017-07-07 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了可用于将治疗剂和/或诊断剂递送至受试者的组织或器官的构建体。在某些实施方案中，本发明提供了双倍超声电压激活的显像剂。在其他实施例中，本发明提供了选择性地对受试者的身体的一部分成像的方法。

