

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202090139** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2020.08.06

(51) Int. Cl. *A61K 49/00* (2006.01)
A61K 49/04 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.07.27

(54) **КОНТРАСТНЫЙ АГЕНТ ДЛЯ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ**

(31) **17185185.0**

(32) **2017.08.07**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2018/070501**

(87) **WO 2019/030024 2019.02.14**

(71) Заявитель:

ЮНИВЕРСИТИ ОФ ЖЕНЕВА (CH)

(72) Изобретатель:

**Вине Лоран, Бабич Андрей (FR),
Аллеманн Эрик (CH)**

(74) Представитель:

Нилова М.И. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к йодированному контрастному агенту для КТ, выполненному из производных жирных кислот, для неинвазивной визуализации и количественной оценки бурой и/или бежевой жировой ткани (БЖТ) или для визуализации сердца и/или печени субъекта. Полезно, что этот контрастный агент принимают перорально, что является прорывом в КТ-визуализации. Разрешение изображения, полученного методом КТ, значительно улучшается по сравнению с ПЭТ.

A1

202090139

202090139

A1

КОНТРАСТНЫЙ АГЕНТ ДЛЯ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к йодированному контрастному агенту для КТ, выполненному из производных жирных кислот, для неинвазивной визуализации и количественной оценки бурой и/или бежевой жировой ткани или для визуализации сердца и/или печени субъекта. Полезно, что этот контрастный агент принимают перорально, что является прорывом в КТ-визуализации. Разрешение изображения, полученного методом КТ значительно улучшается по сравнению с ПЭТ.

10

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Ожирение является серьезной угрозой здоровью. Одним из его основных последствий является развитие диабета 2 типа. Основной причиной является рацион с высоким содержанием сахара и высоким уровнем жира, а также недостаток физической активности и, соответственно, недостаточный расход энергии. Этот избыток потребляемой энергии запасается в основном в виде триглицеридов в белой жировой ткани (ВАТ, БЖТ). Один вариант противодействия этому избытку потребления энергии (калорий) заключается в том, чтобы повысить расход энергии, что может компенсировать высокое потребление калорий. Многие исследования продемонстрировали, что бурая жировая ткань (ВАТ, БЖТ) или бежевая жировая ткань рассеивают избыток энергии в виде тепла, повышая расход энергии (энерготраты). Также было показано, что БЖТ присутствует в основном у животных, впадающих в спячку, она также была обнаружена у младенцев человека, а также у взрослых людей.

20

Бурая жировая ткань или бежевые клетки потребляют глюкозу и жирные кислоты, и рассеивают их в тепло, снижая, таким образом, циркуляцию жирных кислот¹ и улучшая метаболизм глюкозы. В БЖТ за это рассеивание энергии в форме тепла отвечает белок, называемый разобщающим белком один (UCP1). Этот белок, присутствующий во внутренней мембране митохондрий, разобщает дыхательную цепь, что приводит к снижению продукции АТФ и рассеиванию избытка градиента протонов в виде тепла. Позднее, было показано, что адипоциты, экспрессирующие UCP1, присутствуют в белой жировой ткани (БЖТ), и они были названы бежевыми или светлыми адипоцитами¹. К сожалению, их роль и активность пока плохо изучены, как и их доля в

30

метаболизме по сравнению с бурными адипоцитами. Этот вопрос представляет большой интерес, поскольку у взрослых людей, по-видимому, очень мало БЖТ, в то время как в подкожной БЖТ присутствует много индуцибельных бежевых адипоцитов ².

5 Разработка и оценка агентов, преобразующих БЖТ в коричневую, приобретают всё большее и большее значение. Соответственно, для способов оценки *in vivo* и во времени, влияние этих агентов на присутствие и функцию бурных адипоцитов становится критическим. ¹⁸ФДГ-ПЭТ является превалирующей методикой визуализации для оценки бурой жировой ткани, но у нее есть несколько ограничений ¹.
10 Несмотря на то, что глюкоза поглощается при активации БЖТ, основным субстратом считаются жирные кислоты ³. Соответственно, поглощение глюкозы, измеренное методом ¹⁸ФДГ-ПЭТ могло давать заниженную оценку БЖТ в физиологически важных условиях, таких как умеренное охлаждение. Кроме того, некоторые патологические состояния, такие как инсулинорезистентность при диабете 2 типа (T2D), могут ослаблять или вносить системные отклонения в количественную оценку активности
15 БЖТ методом ¹⁸FDG-PET. Дополнительно меченые жирные кислоты для ПЭТ, такие как ¹⁸F-фтор-гептадекановая кислота (¹⁸FTHA) ⁴ уже были ранее протестированы для визуализации БЖТ, но оказалось, что они дают низкий сигнал у человека.

Липиодол (Lipiodol, называемый в США Ethiodol -этиодол), также известный как этийодированное масло, представляет собой масло семян мака, применяемое путем
20 инъекций в качестве рентгенонепрозрачного контрастного агента, который применяют для определения очертаний структур в радиологических исследованиях. Он также применяется в приложениях, связанных с хемозмболизацией, в качестве контрастного агента для последующей визуализации. Lipiodol также применяют в лимфангиографии, визуализации лимфатической системы. Кроме того оно находит применения в
25 облитерации варикозных вен желудка в качестве разжижающего вещества, поскольку он не влияет на полимеризацию цианоакрилата.

В последнее время наблюдается растущий интерес к применению липиодола (Lipiodol) в качестве терапевтического средства в лечении бесплодия невыясненной этиологии с использованием процедуры, называемой промывкой липиодолом. Было проведено
30 небольшое число исследований, указывающих на то, что промывка этой средой маточных труб обеспечивает кратковременное повышение плодовитости у пациентов с бесплодием невыясненной этиологии. Систематический обзор указывает на

значительное повышение фертильности, особенно у женщин с эндометриозом, при использовании промывки липиодолом.

Исторически, липиодол часто использовали в качестве контрастной среды для гистеросальпингографии (ГСГ: процедуры для определения проходимости маточных труб, используемой для исследования пониженной фертильности). Его стали применять
5 реже в 1960х – 1980х, поскольку более современные водорастворимые среды давали изображения, которые легче интерпретировать. Также существуют сомнения в безопасности липиодола, поскольку в прошлом интравазация (просачивание) жидкости в венозную систему вызывала осложнения. Этиозированное масло состоит из йода
10 (иода), объединено со сложными этиловыми эфирами жирных кислот масла семян мака, в первую очередь, этилмонодийодостеаратом и этилдийодостеаратом. Точная структура неизвестна.

Липиодол также можно применять перорально для предотвращения нарушений, связанных с дефицитом йода, таких как зоб, задержка роста и умственная отсталость
15 или кретинизм. Липиодол и другие йодированные масла также успешно применялись для предотвращения дефицита йода у беременных женщин, когда йодирование пищевой соли ещё не было достаточно развито.

В работе François Hallouard et al. “Iodinated nano-emulsions as contrast agents for preclinical X-ray imaging: Impact of the free surfactants on the pharmacokinetics” European
20 Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, vol. 83, no. 1, 1 января 2013г., стр 54-62, XP055443136, представлены важные аспекты разработки контрастных агентов для доклинической рентгеновской визуализации. Первый представляет собой простой препарат контрастных агентов с длительным периодом циркуляции, изготовленный из коммерческого йодированного масла, и дает в результате контрастные агенты для КТ,
25 концентрация йода в которых более чем в 2 раза превосходит концентрацию в коммерческих контрастных агентах. Второй момент представляет собой методологический аспект, включающий тангенциальную фильтрацию остаточных поверхностно-активных веществ в общей массе, и служащий также концентрирования
капель (и йода) в суспензии. Последний момент представляет собой более общий
30 аспект, касающийся влияния свободного поверхностно-активного вещества на фармакокинетику и биораспределение капель нано-эмульсии на мышах.

Кроме того, в работе Soo-Jeong Lim et al. “Nanoscaled Iodized Oil Emulsion as a CT Contrast Agent for the Detection of Experimental Liver Tumors in a Rat Model”, Academic Radiology, Elsevier, Volume 17, Issue 8, 1 августа 2010 г., стр. 985-991, XP027119104 раскрыта эмульсия йодированного масла для визуализации методом компьютерной томографии (КТ) экспериментальных опухолей печени в моделях на крысах.

5 Контрастирование печени достигается за счет того, что эмульсия йодированного масла является специфичной для ретикулоэндотелиальной системы, обладает свойством контрастирования пула крови и действует дольше, чем современные водорастворимые агенты. Соответственно, этот агент может дать значительные преимущества для
10 диагностирования метастазов в печени.

EP 0 294534 A1 (KABIVITRUM AB [SE]) относится к эмульсии для применения в качестве рентгеновского контрастного агента, содержащей один или более йодированных липидов, эмульгированных в водной фазе. Эмульсия содержит одну или более аминокислот, жирных кислот или их солей, жирорастворимые витамины и/или
15 мочевины для повышения их стабильности. Кроме того, эмульсия может содержать одно или более фармакологически приемлемых масел или жиров. Благодаря агентам повышающим стабильность, стало возможным получать эмульсии йодированных липидов, которые можно стерилизовать в автоклаве, и которые можно хранить
длительное время без разрушения эмульсии.

20 В работе Zhuang Zhen W et al. “CT Molecular Imaging of Perivascular Adipose Tissue and Its Linkage to Vascular Disease” CIRCULATION, vol. 134, no. Suppl. 1, 11 ноября 2016 г., XP002777573, раскрыто, что периваскулярная жировая ткань (PVAT, ПВЖТ) окружает основные артерии и регулирует функционирование эндотелия. Здоровая ПВЖТ гистологически имеет фенотип бурой жировой ткани (БЖТ) и обладает
25 противовоспалительными и вазорелаксантами свойствами, которые не наблюдаются при ожирении. В этом исследовании выдвинута гипотеза, что молекулярная визуализация с использованием микро-компьютерной томографии (микроКТ) в комбинации с йодированными жирными кислотами, позволяет выявлять здоровую ПВЖТ у мышей в покое и идентифицировать динамические изменения ПВЖТ после
30 фармакологических или физиологических вмешательств.

Тем не менее, на сегодняшний день существует недостаток специфичных контрастных агентов для КТ для визуализации бурой и бежевой жировой ткани, что означает, что

эту ткань трудно выявлять, визуализировать и мониторировать *in vivo*. Несмотря на тот факт, что некоторые области на КТ-скане можно определить как бурую жировую ткань без применения контрастного агента для КТ, неспециалист оценит значительный прогресс в выявлении границ, количественном и качественном анализе бурой и бежевой жировой ткани с применением нового поколения контрастных агентов для КТ. Это особенно верно, учитывая, что адипоциты рассеяны в белой жировой ткани и их невозможно визуализировать без контрастного агента.

Кроме того, среди многочисленных путей введения, пероральное введение считается наиболее приемлемым и экономичным способом. Инъекции обычно делают в условиях лечебного учреждения, и для введения контрастного агента обычно необходим опытный профессионал, особенно для внутривенных (в.в.) инфузий. Обычно пациента просят подписать "форму информированного согласия" перед в.в. КТ-исследованием с использованием йодсодержащего контрастного агента. В этой форму описаны потенциальные побочные эффекты йода. Серьезные реакции могут включать затрудненное дыхание, опухание горла или опухание других частей тела. В отличие от этого пероральные препараты легче вводить, они безопасны и достигают желаемых концентраций, что делает пероральный (п.о.) путь идеальным выбором.

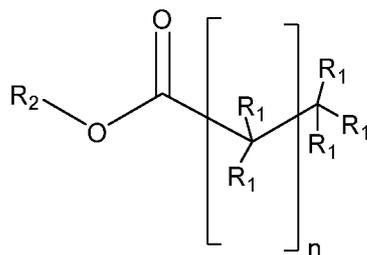
Пероральное контрастирование часто применяется для контрастирования КТ – изображений желудочно-кишечного тракта. Для перорального контрастирования в КТ применяют два различных типа веществ. Первый, сульфат бария, представляет собой наиболее распространенный контрастный агент, применяемый в КТ. Второй тип контрастного агента иногда применяется в качестве замены бария и называется гастрोगрафин. Пациентам обычно нужно выпить по меньшей мере от 1000 до 1500 см³ чтобы в достаточной степени заполнить желудок и кишечник пероральным контрастным веществом. Контрастный согласно изобретению возможно не очень хорошо подходит для визуализации желудочно-кишечного тракта, поскольку он будет всасываться кишечником аналогично пищевому жиру. После всасывания в компартмент крови он будет преимущественно поглощаться несколькими органами как описано ниже. В отличие от этого, сульфат бария или йодированный контрастный агент для исследования желудочно-кишечного тракта применяют для визуализации кишечника без цели визуализировать внутренние (парентеральные) органы.

К сожалению, в настоящее время не существует контрастного агента для КТ, который можно было бы принимать перорально для визуализации и количественной оценки метаболизма жира в бурой и бежевой жировой ткани или для визуализации сердца или печени субъекта. Соответственно, задача настоящего изобретения заключается в том, чтобы преодолеть эти значительные технические проблемы путем обеспечения перорального контрастного агента для КТ.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Одной из задач настоящего изобретения является обеспечение способа *in vivo* визуализации методом компьютерной томографии (СТ) парентеральных органов включающий введение перорально субъекту контрастного агента, содержащего биосовместимую нано-эмульсию йодированных жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложных эфиров, и/или солей, и/или смесей, в соответствии с общей формулой I:

15



Формула I

где $n = 2-22$;

R_1 представляет собой H или I, при условиях, что число атомов йода составляет от 1 до 6, и что атомы йода не являются ни геминальным, ни вицинальными; и где R_2 представляет собой H, ненасыщенные, линейные или разветвленные алкилы, алкоксиалкил, гидроксиалкоксиалкил, полигидроксиалкил, гидроксиполиалкиленоксиалкил.

Неожиданно, указанный контрастный агент для КТ подходит для орального применения (т.е., является пероральным).

Другой задачей настоящего изобретения является обеспечение способа *in vivo* визуализации методом компьютерной томографии бурой и/или бежевой жировой ткани (БЖТ) у субъекта, включающего введение перорально контрастного агента,

содержащего биосовместимую нано-эмульсию йодированных жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложных эфиров, и/или солей, и/или смесей, в соответствии с общей формулой I (определенной выше).

- 5 Другая задача изобретения состоит в том, чтобы обеспечить способ *in vivo* визуализации методом компьютерной томографии сердца или печени у субъекта, включающий введение перорально контрастного агента, содержащего биосовместимую нано-эмульсию йодированных жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложных эфиров, и/или солей, и/или смесей, в соответствии с общей
10 формулой I, описанной выше.

Другие задачи и преимущества настоящего изобретения станут понятны специалистам из обзора нижеследующего ПОДРОБНОГО ОПИСАНИЯ, сделанного со ссылками на следующие иллюстративные чертежи и прилагающуюся формулу изобретения.

15 **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР**

Фигура 1: показывает распределение по размерам нано-эмульсии, приготовленной из дийодостеаровой кислоты и вспомогательных веществ (Tween 80, Span 80) в воде.

- 20 Средний размер капель масла, определенный методом динамического рассеяния света, составлял около 100 нм.

Фигура 2: иллюстрирует график тройной нано-эмульсии из дийодостеаровой кислоты, вспомогательных веществ (Tween 80, Span 80) и воды. Белые точки представляют нано-эмульсии, а черные точки представляют отсутствие нано-эмульсии или разделение фаз.

- 25 Фигура 3: показывает КТ-изображение мышцы до и через 24 ч после перорального введения нано-эмульсии.

- 30 Фигура 4: показывает кинетику контрастирования бурой жировой ткани до и после перорального введения нано-эмульсии.

Фигура 5: показывает 3D-представления бурой и бежевой жировой ткани у мыши, которую содержали при 6 градусах, и подробное описание каждого бурого и бежевого депо в теле мыши.

Фигура 6: Показывает КТ-скан аксиальных проекций мышцы без и через 7 ч после перорального введения nano-эмульсии, демонстрирующий контрастирование сердечной мышцы (Фиг. 6a) и печени (Фиг. 6b).

5

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

За последние 20 лет контрастные агенты для компьютерной томографии (КТ) видели лишь незначительный прогресс. Несмотря на это, Заявители разработали йодированный контрастный агент для КТ, состоящий из производных жирных кислот, для неинвазивной визуализации и количественной оценки бурой и бежевой жировой ткани (БЖТ). Полезно, что этот контрастный агент принимают перорально, что является прорывом в КТ-визуализации. В настоящее время не существует контрастного агента для КТ, который можно было бы принимать перорально для визуализации и количественной оценке бурой жировой ткани или для визуализации сердца и печени субъекта. Разрешение изображения, полученного методом КТ значительно улучшается по сравнению с ПЭТ.

Пероральный путь обычно используют для введения йодированных масел для лечения зоба или в случае ядерной аварии, но этот путь введения не был ранее описан в качестве средства доставки контрастного агента для КТ-визуализации парентеральных органов. Дополнительно, эксперименты, проведенные Заявителями, показали токсичность после в.в. (внутривенной) инъекции йодированных жирных кислот и прекрасное и быстрое всасывание без побочных эффектов после перорального введения.

Применение этого йодированного контрастного агента для КТ на доклиническом или клиническом уровне также делает возможной оценку и мониторинг средств лечения, нацеленных на повышение активности бурой и бежевой жировой ткани, которые представляют собой перспективный подход к лечению диабета и ожирения.

ПЭТ с использованием ^{18}F -дезоксиглюкозы является преобладающей методикой визуализации для неинвазивной оценки БЖТ, но у нее есть несколько ограничений. Поглощение глюкозы, измеряемое методом ^{18}F ФДГ-ПЭТ, может занижать оценку

активности в физиологически важных условиях, таких как умеренное охлаждение..

Кроме того, некоторые патологические состояния, такие как инсулинорезистентность при диабете 2 типа (T2D), могут ослаблять или вносить системные отклонения в количественную оценку активности БЖТ методом ^{18}FDG -PET.

- 5 По сравнению с ПЭТ, КТ дает гораздо лучшее разрешение изображения, позволяет снижать дозу облучения, и методика КТ значительно более доступна в клиниках всего мира.

Хотя способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые описаны здесь, могут использоваться при практическом применении или испытании настоящего
10 изобретения, подходящие способы и материалы описаны ниже. Все публикации, заявки на патенты, патенты и другие источники, упомянутые здесь, включены во всей их полноте посредством ссылки. Публикации и заявки, обсуждаемые здесь, приведены исключительно в силу их раскрытия до даты подачи настоящей заявки. Ничто в настоящем документе не должно быть истолковано как признание того, что настоящее
15 изобретение не может считаться предшествующим такой публикации за счет того, что было сделано ранее. Кроме того, материалы, методы и примеры являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения

В случае противоречия силу имеет настоящее описание, включая определения. При
20 отсутствии иного определения, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют значение, обычно придаваемое им специалистами в области, к которой относится объект, описанный в настоящем документе.

Термин “содержат” обычно применяют в смысле включать, т.е. он допускает
25 присутствие одного или более признаков или компонентов.

В настоящем описании и формуле изобретения формы единственного числа (соотв. “a”, “an” и “the” в первоначальном тексте на английском языке) включают указание на
множественное число, если контекст явно не указывает на иное.

30

Используемые в настоящем документе термины "субъект" или "пациент" хорошо известны в данной области и используются взаимозаменяемо для обозначения млекопитающего, включая собаку, кошку, крысу, мышь, обезьяну, корову, лошадь, козу, овцу, верблюда и, наиболее предпочтительно, человека. В некоторых вариантах

реализации субъект представляет собой субъекта, нуждающегося в диагностике заболевания или нарушения. Однако в других вариантах субъект может представлять собой здорового субъекта. Этот термина не обозначает конкретный возраст или пол. Соответственно, предполагается, что этот термин охватывает взрослые и

5 новорожденных субъектов, как мужского, так и женского пола.

Термин “эмульсия” обычно интерпретируют как относящийся к коллоидной системе, в которой капли одной жидкости диспергированы в другой жидкости, с которой она не смешивается; такое определение охватывало бы только системы из воды и жидких

10 жирные кислоты или их производны, но не дисперсии твердых жирных кислот или их производных.

Термин “нано-эмульсия” используется в настоящем документе для описания коллоидных систем твердых или жидких жирных кислот или их производных в воде;

15 точная физическая форма дисперсных частиц масляной фазы не известная точно, но частицы вероятно являются твердыми, полутвердыми или жидкими. Средний размер нано-эмульсии Средний размер нано-эмульсии будет лежать в нм диапазоне, предпочтительно, ниже 1000 нм. (см. Фиг. 1).

Термины “парентеральные органы” в контексте настоящего изобретения относятся к визуализации органов, в любому месте организма, отличном от рта и/или

20 пищеварительного тракта (т.е., желудочно-кишечного тракта). Парентеральные органы представляют органы, расположенные или существующие вне кишечника, соответственно, этот термин относится к конечному положению органов, а не к пути

25 введения. Это определение относится к органам (также называемым “внутренними органами”), расположенным внутри тела, но вне кишечника или пищеварительного тракта.

Термин “йодированные жирные кислоты”, применяемые для осуществления

30 настоящего изобретения, могут быть линейными или разветвленными, насыщенными алифатическими карбоновыми кислотами, содержащими по меньшей мере 4, и предпочтительно не более 24 атомов углерода в молекуле, такие как йодированная олеиновая, линоевая, линоленовая, стеридоновая, арахидоновая, элаидиновая, гондовая (gondoic), эруковая, докозатетраеновая, эйкозапентаеновая или докозагексаеновая

кислота и аналогичные, применяемые по отдельности или вводимые друг с другом или с небольшими количествами других жирных кислот. Они содержат максимальное число атомов йода в результате реакции гидройодирования двойных алкеновых связей в природной или синтетической жирной кислоте. Настоящее изобретение также охватывает “перйодинированные” жирные кислоты и/или их сложные эфиры, этот 5 относится к йодированным жирным кислотам и/или сложным эфирам, которые имеют максимально возможное количество атомов йода в химических структурах. В соответствии с конкретным вариантом реализации изобретения предпочтительны жирные кислоты и/или их сложные эфиры.

10

В соответствии с настоящим изобретением также предусмотрены фармацевтически приемлемые соли йодированных жирных кислот согласно изобретению.

В настоящем тексте фраза “фармацевтически приемлемая соль” (которая также обозначается как “соль”) относится к соли, которая сохраняет биологическую

15

эффективность свободных кислот йодированных жирных кислот согласно изобретению, и которые не являются нежелательными с биологической или другой точки зрения. Фармацевтически приемлемые соли йодированных жирных кислот общей формулы (I) представляют собой соли присоединения кислот с фармацевтически приемлемыми кислотами.

20

Целевая соль может быть получена любым подходящим способом, известным в данной области, включая обработку свободной кислоты неорганическим основанием, таким как гидроксид лития, гидроксид натрия, гидроксид калия, гидроксид кальция, гидроксида магния, гидроксид цинка, или органическим основанием, таким как 25 гидроксид аммония, метиламин, диметиламин, триметиламин, диэтиламин, триметиламин, морфолин, пиперазин, L-аргинин, 4-фенил-циклогексиламин, бенетамин, бензатин, бетаин, гидрабамин, 4-(2-гидроксиэтил) морфолин, 1-(2-гидроксиэтил)-пирролидин, 1-(2-гидроксиэтил)пиперазин, N-метилглюкамин, N,N,N-триметил этаноламин гидроксид, трометамин и т.п.

30

Обычно соли получают, помещая свободную кислоту в органический растворитель, такой как низший алканол, симметричные или несимметричные эфиры, содержащие от 2 до 10 атомов углерода, сложный алкиловый эфир, или их смеси, а затем обрабатывая стехиометрическими количествами или избытком образующего целевую соль органическим или неорганическим основанием с получением соответствующей соли.

Соль выделяют с применением стандартных методик выделения, например, путем выпаривания раствора или фильтрации целевой соли из смеси, или ее можно осадить путем добавления растворителя, в котором эта соль не растворяется, и выделения соли из него.

5

Примеры подходящих неорганических и органических растворителей для осуществления различных реакций включают любые неорганические или органические растворители, которые не оказывают отрицательного влияния на итоговый продукт, включая галогенированные растворители, такие как метилен хлорид, хлороформ, эфирные растворители, такие как диэтиловый эфир, и другие растворители растворители, такие как тетрагидрофуран, диоксан, диглим, циклооктан, бензол или толуол, гептан, циклогексан, алифатические, а также циклоалифатические и ароматические углеводородные растворители, вода, водные растворы, смешанные органические и неорганические растворы, этилацетат, пропилацетат и их смеси.

10

Предпочтительными неорганическими катионами, содержащимися в солях, являются литий, натрий, калий, рубидий, аммоний, кальций, магний, цинк и марганец.

15

В химии термин “геминальный”, используемый в настоящем документе, относится к взаимному расположению двух атомов или функциональных групп, которые присоединены к одному и тому же атому.

20

Родственный термин “вицинальный” относится к взаимному расположению двух функциональных групп, которые присоединены к соседним атомам. В настоящее время почти невозможно синтезировать йодированные жирные кислоты и/или их сложные эфиры, в которых атомы йода присоединены к соседним атомам углерода (т.е., вицинально). Из-за стерических затруднений эти молекулы нестабильны и их нельзя использовать для целей настоящего изобретения. Однако может быть возможно, что в будущем специалисты в данной области найдут техническое решение этой задачи.

25

Соответственно, в случае получения йодированных жирных кислот и/или их сложных эфиров, считается, что эти соединения также будут подходить для решения технической задачи настоящего изобретения.

30

В настоящем тексте термин “алкил” включает любую длинноцепочечную или короткоцепочечную, линейную или разветвленную алифатическую насыщенную или

ненасыщенную углеводородную группу. Ненасыщенные алкильные группы могут быть моно- или полиненасыщенными и включают как алкенильные, так и алкинильные группы. Такие группы могут содержать до 40 атомов углерода. Однако предпочтительны алкильные группы, содержащие до 10, например, 8, более предпочтительно до 6, и, в частности, предпочтительно до 4 атомов углерода.

Термин “алкоксил” представляет -О-алкил. Примером алкоксила является C1-C6 алкоксил, который представляет линейную или разветвленную алкильную цепь, цепь, содержащую от одного до шести атомов углерода, присоединенную к атому кислорода. Примеры C1-C6 алкоксильных групп groups включают метоксил, этоксил, пропоксил, изопропоксил, бутоксил, сек-бутоксил, трет-бутоксил, пентоксил, гексоксил и т.п. В определении C1-C6 алкоксила включаются C1-C4 алкоксил.

Термин “арил” в настоящем документе относится к карбоциклическому или гетероциклическому, ароматическому, 5- 14-членному моноциклическому или полициклическому кольцу. Примеры арилов включают фенил, нафтил, антрил, фенантрил, тиенил, пирролил, имидазолил, пиразолил, фурил, изотиазолил, фуразанил, изоксазолил, тиазолил, пиридил, пиразинил, пиримидинил, пиридазинил, триазинил, бензо[b]тиенил, нафто[2,3-b]тиантренил, изобензофуранил, хроменил, ксантенил, феноксатиенил, индолизинил, изоиндолил, индолил, индазолил, пуринил, изохинолил, хинолил, фтализинил, нафтиридинил, хиноксинаинил, хинозолинил, бензотиазолил, бензимидазолил, тетрагидрохинолинил, циннолинил, птеридинил, карбазолил, бета-карболинил, фенантридинил, акридинил, перимидинил, фенантролинил, феназинил, изотиазолил, фенотиазинил и феноксазинил.

В органической химии “насыщенное” соединение представляет собой химическое соединение, которое содержит цепь из атомов углерода, соединенных друг с другом одинарной связью. Алканы представляют собой насыщенные углеводороды.

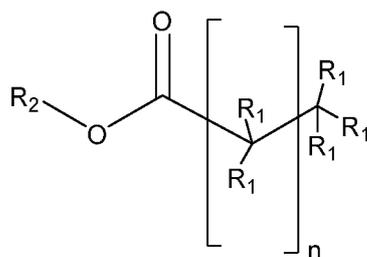
“Ненасыщенное” соединение представляет собой химическое соединение, которое содержит углерод-углеродные двойные связи или тройные связи, такие как присутствующие в алкенах или алкинах, соответственно. Насыщенные и ненасыщенные соединения не обязательно состоят только из цепи атомов углерода. Они могут образовывать линейную цепь, разветвленную цепь или кольцевые структуры. Они также могут содержать функциональные группы. С учетом этого

жирные кислоты определяют как насыщенные или ненасыщенные. Степень ненасыщенности жирной кислоты можно определить, найдя ее водное число.

Ненасыщенными соединения – это соединения, которые могут участвовать в реакции соединения. В цепи атомов углерода, такой как жирная кислота, присутствие двойной или тройной связи приводит к появлению перегиба цепи. Эти перегибы имеют макроструктурные применения. Ненасыщенные жиры имеют тенденцию быть жидкими при комнатной температуре, а не твердыми, поскольку эти перегибы в цепи не дают молекулам укладываться близко друг к другу, образуя твердое вещество, эти жиры называют маслами.

- 5
- 10 Термин “полигидрокси” или «многоатомный» относится к химическому соединению, содержащему две или более а гидроксильных групп на молекулу.

Задачей настоящего изобретения является обеспечение способа *in vivo* визуализации методом компьютерной томографии (КТ) парентеральных органов включающий введение перорально субъекту контрастного агента, содержащего биосовместимую нано-эмульсию йодированных жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложных эфиров, и/или солей, и/или смесей, в соответствии с общей формулой I:



Формула I

20

где $n = 2-22$;

R_1 представляет собой H или I, при условиях, что число атомов йода составляет от 1 до 6, и что атомы йода не являются ни геминальным, ни вицинальными; и где R_2 представляет собой H, ненасыщенные, линейные или разветвленные алкилы, алкоксиалкил, гидроксиалкоксиалкил, полигидроксиалкил, гидроксиполиалкиленоксиалкил.

25

Неожиданной, указанный контрастный агент для КТ подходит для орального применения (т.е., являются пероральными).

В предпочтительном варианте группа R_2 может быть моно- или поли-замещенной.

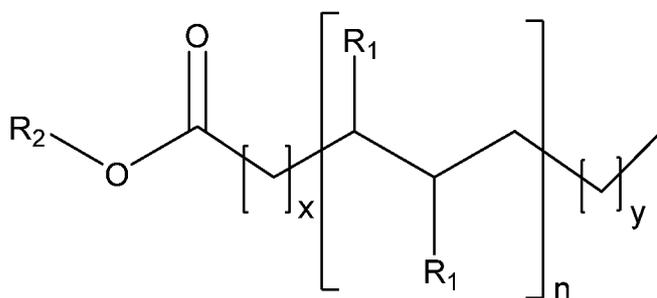
- 5 Подходящая группа R_2 может включать может включать такие алкильные заместители как указанные в следующем наборе, но не ограничивается только ими: метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, трет-бутил, циклопропилметил, пентил, изопентил, гексил, изогексил, гепти, изогептил, октил, изоктил, 2-пропенил, аллил, кротил, 1-бутенил, 2-бутенил, бутадиенил, этинил, 1-пропинил, 2-пропинил, 1-бутинил, 10 2-бутинил, 3-бутинил и пропагил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, адмантил; арильные заместители, такие как фенил, нафтил, анизил, толуоил, ксиленил, арилокси, агалкил, агалкилокси, гетероарильные группы (пиримидин, морфолин, пиперазин, пиперидин, тиофен), 1-циклогексилпропил, или галогеналкильные заместители, такие как фторметил, 1-фторэтил, 2-фторэтил, дифторметил, трифторметил и пентафторэтил, 15 хлордиметил, хлорметил, 2-хлорэтил, 2,4-дихлорфенил, 1,1,2,2-тетрахлорэтил, 1-хлорбутил и 4-хлорбензил.

Она может содержать замещенные алкильные группы, такие как 9-флуоренилметил, метоксиэтоксиметил, тетрагидропиранил, пивалилоксиметил, фенилацетоксиметил, фенацил и замещенный фенацил, такой как п-бромфенацил, п-метоксифенацил, а также 20 трет-бутил, 3-метил-3-пентил, циклопентил, циклогексил, аллил, 3-бутен-1-ил, циннамил, оксазол и 2-алкил-1,3-оксазолин.

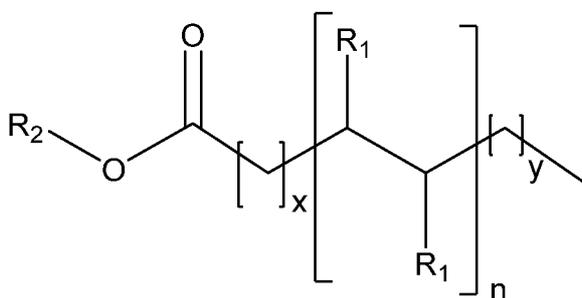
Она также включает алкиларил, такой как бензил, замещенный бензил, такой как трифенилметил, п-метоксибензил, 4-пиколил, дифенилметил фенилэтил, замещенный фенилэтил, а также алкоксиалкил, такой как метоксиметил, этоксиметил, 25 пропоксиметил, бутоксиметил, метоксиэтил, этоксиэтил, пропоксиэтил, изопропоксиэтил, бутоксиэтил, изобутоксиэтил, гидроксиалкоксиалкил, такой как гидроксиметоксиметил, 2-гидроксиэтоксиметил, 3-гидроксипропоксиметил, 4-гидроксибутоксиметил, гидроксиметоксиэтил, гидроксиметоксипропил гидроксиметоксибутил, гидроксиметоксипентил, гидроксиметоксигексил, 30 полигидроксиалкил и гидроксиполиалкиленоксиалкил.

Йодированные жирные кислоты, содержащие от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложные эфиры, и/или соли, и/или смеси, в соответствии с общей формулой I, содержат

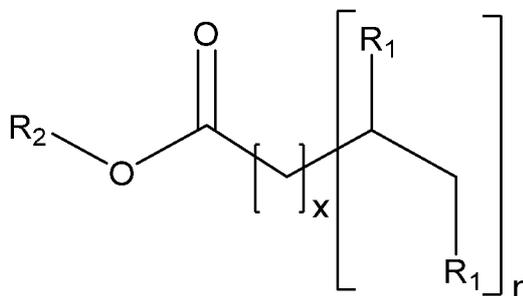
варианты формул А, В и С, показанные ниже, в зависимости от применяемого исходного материала.



Формула А



5 Формула В



Формула С

где n представляет собой целое число от 1 до 6, и x, y представляют собой атомы углерода, причем $x=0-20$ и $y=0-20$, и $x+y \leq 20$, при условии, что общее число атомов углерода в Формулах А, В или С, соответственно, ≤ 24 ;

и где группа R_2 может быть моно- или поли-замещенной.

Подходящие группы R_2 включают например, незамещенный алкил, такой как метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, пентил, изопентил, гексил, изогексил, гептил, изогептил, октил, изоктил и аналогичные, но также замещенные алкильные группы, такие как 9-флуоренилметил, метоксиэтоксиметил, тетрагидропиранил, пивалилоксиметил, фенилацетоксиметил, фенацил, и замещенный фенацил, такой как п-бромфенацил, п-метоксифенацил, а также трет-бутил, 3-метил-3-пентил,

циклопентил, циклогексил, аллил, 3-бутен-1-ил, циннамил, оксазол, 2-алкил-1,3-оксазолин, и т.п. Она также включает алкиларил, такой как бензил, замещенный бензил, такой как трифенилметил, п-метоксибензил, 4-пиколил, дифенилметил фенилэтил, замещенный фенилэтил, а также алкоксиалкил, такой как метоксиметил, 5 этоксиметил, пропоксиметил, бутоксиметил, метоксиэтил, этоксиэтил, пропоксиэтил, изопропоксиэтил, бутоксиэтил, изобутоксиэтил, гидроксиалкоксиалкил, такой как гидроксиметоксиметил, 2-гидроксиэтоксиметил, 3-гидроксипропоксиметил, 4-гидроксибутоксиметил, гидроксиметоксиэтил, гидроксиметоксипропил гидроксиметоксибутил, гидроксиметоксипентил, гидроксиметоксигексил, 10 полигидроксиалкил, гидроксиполиалкиленоксиалкил и подобные группы.

Йодированные жирные кислоты, содержащие от 4 до 24 атомов углерода, из и/или сложные эфиры и/или смеси согласно настоящему изобретению могут существовать в виде изомерных смесей или отдельных изомеров. Если не указано, подразумеваются 15 обе изомерные формы. Если соединение согласно изобретению содержит один хиральный центр, йодированное соединение может быть представлено в виде единственного изомера (R или S) или в виде смеси изомеров, например, рацемической смеси. Если йодированное соединение согласно изобретению содержит более одного хирального центра, йодированное соединение может быть представлено в виде 20 энантимерно чистого диастереоизомера или в виде смеси диастереоизомеров.

В одном варианте реализации йодированные жирные кислоты, содержащие от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложные эфиры, и/или смеси, в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере один асимметричный центр. Вследствие 25 присутствия этого хирального центра йодированное соединение согласно настоящему изобретению может присутствовать в любой из возможных стереоизомерных форм, и может применяться в смесях стереоизомеров, которые могут быть оптически активными или рацемическими, или может использоваться отдельно в виде по существу чистых стереоизомеров, т.е., имеющих по меньшей мере 95% чистоту. Все 30 всимметричные формы, отдельные стереоизомеры и их комбинации, входят в объем настоящего изобретения.

В соответствии с одним из вариантов реализации изобретения пероральный контрастный агент, состоящий из биосовместимой нано-эмульсии йодированных

жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложные эфиры, можно применять в смеси, содержащей несколько или по меньшей мере две йодированные жирных кислоты с разными углеродными цепями из от 4 до 24 атомов углерода.

5 В одном из предпочтительных вариантов реализации изобретения контрастный агент состоит из биосовместимой нано-эмульсии йодированных жирных кислот, содержащих предпочтительно от 10 до 20 атомов углерода, а более предпочтительно от 16 до 18 атомов углерода в соответствии с общей формулой I.

10 В ещё более предпочтительном варианте реализации йодированная жирная кислота представляет собой йодированную линоленовую кислоту.

В предпочтительном варианте йодированные жирные кислоты являются перйодированными.

15 В частности, в предпочтительном варианте нано-эмульсия содержит биосовместимые эмульгаторы выбранные из лецитина, эфиров полиэтиленгликоля с жирными спиртами, полисорбатов и сложных эфиров сорбитана или их смесей. Лецитины, полисорбаты (Tween) и сложные эфиры сорбитана (Span) предпочтительны в качестве поверхностно-активных веществ, поскольку они давно применяются в косметике, пищевых продуктах и фармацевтических препаратах (оральных, парентеральных и местных), и это
20 применение хорошо задокументировано

В предпочтительном варианте количество биосовместимых эмульгаторов в указанной нано-эмульсии лежит в диапазоне 5 - 30 % (масс./масс.) от общего количества нано-эмульсии.

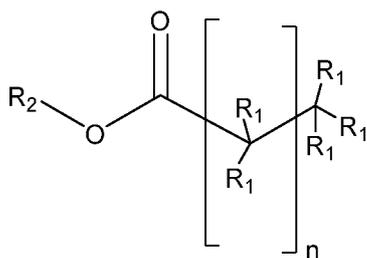
25 В одном варианте реализации пероральный контрастный агент для способа КТ согласно настоящему изобретению адаптирован () для неинвазивной *in vivo* визуализации, количественной оценки и/или мониторинга активности бурой и/или бежевой жировой ткани (БЖТ) у субъекта.

30 В соответствии с другим вариантом реализации пероральный контрастный агент для способа КТ согласно настоящему изобретению адаптирован для неинвазивной *in vivo* визуализации и/или количественной оценки стеатоза печени или опухолей печени у субъекта.

В соответствии с другим вариантом реализации пероральный контрастный агент для способа КТ согласно настоящему изобретению адаптирован для неинвазивной *in vivo* визуализации сердца и оценки функции сердца.

В соответствии с одним из предпочтительных вариантов реализации пероральный контрастный агент для способа КТ согласно настоящему изобретению вводят в дозе, соответствующей от 0.5 до 1.6 мг йода на грамм массы тела.

Другой задачей настоящего изобретения является обеспечение способа *in vivo* визуализации методом компьютерной томографии бурой и/или бежевой жировой ткани (БЖТ) у субъекта, включающий введение перорально контрастного агента, содержащего биосовместимую nano-эмульсию йодированных жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложных эфиров, и/или солей, и/или смесей, в соответствии с общей формулой I (определенной выше):



15 Формула I

где $n = 2-22$;

R_1 представляет собой H или I, при условиях, что число атомов йода составляет от 1 до 6, и что атомы йода не являются ни геминальными, ни вицинальными; и где R_2 представляет собой H, ненасыщенные, линейные или разветвленные алкилы, алкилы, алкоксиалкил, гидроксиалкоксиалкил, полигидроксиалкил, гидроксиполиалкиленоксиалкил.

В частности, контрастный агент согласно изобретению состоит из биосовместимой nano-эмульсии йодированных жирных кислот, содержащих, предпочтительно от 10 до 20 атомов углерода, и, более предпочтительно, от 16 до 18 атомов углерода, в соответствии с общей формулой I. В ещё более предпочтительном варианте реализации йодированная жирная кислота представляет собой йодированную линоленовую кислоту.

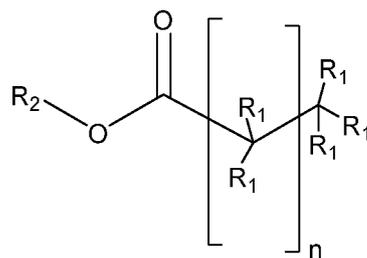
Как описано, в предпочтительном варианте нано-эмульсия содержит биосовместимые эмульгаторы выбранные из лецитина, эфиров полиэтиленгликоля с жирными спиртами, полисорбатов и сложных эфиров сорбитана или их смесей.

В предпочтительном варианте количество указанных биосовместимых эмульгаторов в 5 указанной нано-эмульсии лежит в диапазоне 5 - 30 % (масс./масс.) от общего количества нано-эмульсии.

В одном из вариантов реализации контрастный агент для способа *in vivo* визуализации методом КТ согласно изобретению адаптирован для неинвазивной *in vivo* 10 визуализации, количественной оценки и/или мониторинга активности бурой и/или бежевой жировой ткани (БЖТ) у субъекта.

В соответствии с одним из предпочтительных вариантов реализации пероральный контрастный агент для способа КТ согласно настоящему изобретению вводят в дозе, 15 соответствующе от 0.5 до 1.6 мг йода на грамм массы тела.

Другая задача настоящего изобретения заключается в обеспечении способа *in vivo* визуализации методом компьютерной томографии сердца или печени у субъекта, включающий введение перорально контрастного агента, содержащего биосовместимую 20 нано-эмульсию йодированных жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложных эфиров, и/или солей, и/или смесей, в соответствии с общей формулой I (определенной выше):



Формула I

где $n = 2-22$;

25 R_1 представляет собой H или I, при условиях, что число атомов йода составляет от 1 до 6, и что атомы йода не являются ни геминальным, ни вицинальными; и где R_2 представляет собой H, ненасыщенные, линейные или разветвленные алкилы, алкилы, алкоксиалкил, гидроксиполиалкиленоксиалкил, полигидроксиалкил, гидроксиполиалкиленоксиалкил.

В частности, контрастный агент способа согласно настоящему изобретению состоит из биосовместимой нано-эмульсии йодированных жирных кислот, содержащих предпочтительно 10-20 атомов углерода, а более предпочтительно, от 16 до 18 атомов углерода, в соответствии с общей формулой I. В ещё более предпочтительном варианте реализации йодированная жирная кислота представляет собой йодированную линоленовую кислоту.

Как указано выше, в предпочтительном варианте нано-эмульсия содержит биосовместимые эмульгаторы выбранные из лецитина, эфиров полиэтиленгликоля с жирными спиртами, полисорбатов и сложных эфиров сорбитана или их смесей.

Согласно одному варианту реализации пероральный контрастный агент для способа КТ согласно настоящему изобретению адаптирован для визуализации и/или количественной оценки стеатоза печени или опухолей печени у субъекта.

15

Печень регулирует поток метаболитов в организме. Гепатоциты, которые являются основным типом клеток печени, выводят многие материалы из кровеносного русла, в частности, липиды. Это свойство играет ключевую роль в развитии стеатоза печени, который представляет собой накопление жиров в гепатоцитах. Важным источником липидов для гепатоцитов являются свободные циркулирующие жирные кислоты (FFA, СЦЖК), образующиеся в результате липолиза запасенных триглицеридов и пищевого жира. Поскольку контрастный агент согласно изобретению принимают перорально, он усваивается как пищевой жир. Это обеспечивает то преимущество, что нано-эмульсия йодированных жирных кислот (т.е., контрастный агент согласно изобретению) поглощается гепатоцитами и это поглощение будет повышенным в случае стеатоза.

20

25

В соответствии с другим вариантом реализации пероральный контрастный агент для способа КТ согласно настоящему изобретению адаптирован для визуализации сердца и оценки его функции у субъекта.

30

Длинноцепочечные жирные кислоты обеспечивают 70-80% энергии для сократительной активности сердца. Жирные кислоты могут попадать внутрь кардиомиоцитов путем простой диффузии *via* или по механизму, опосредуемому

белками. Соответственно, контрастный агент согласно изобретению будет поглощаться сердечной мышцей, обеспечивая видимое контрастирование сердечной мышцы на КТ-изображении.

- 5 В предпочтительном варианте пероральный контрастный агент для способа КТ согласно настоящему изобретению вводят в дозе, соответствующей от 0.5 до 1.6 г йода на кг массы тела.

Однако в некоторых вариантах реализации нано-эмульсия может включать, например, по меньшей мере примерно 0.01 мг йода на г массы тела перорального контрастного агента для КТ согласно изобретению. В других вариантах реализации нано-эмульсия может содержать от примерно 0.1% до примерно 75% массы единицы, или от примерно 2% до примерно 20%, например, а также любой диапазон, который можно получить из этого.

- 15 В других неограничивающих примерах доза может содержать от примерно 1 мкг/кг/массы тела, примерно 100 мкг/кг/массы тела, примерно 500 мкг/кг/массы тела, примерно 1 мг/кг/массы тела, примерно 5 мг/кг/массы тела, примерно 10 мг/кг/массы тела, примерно 50 мг/кг/массы тела, примерно 100 мг/кг/массы тела, примерно 200 мг/кг/массы тела, примерно 300 мг/кг/массы тела, примерно 350 мг/кг/массы тела, примерно 400 мг/кг/массы тела, примерно 450 мг/кг/массы тела, примерно 500 мг/кг/массы тела, примерно 600 мг/кг/массы тела, примерно 700 мг/кг/массы тела, примерно 800 мг/кг/массы тела, примерно 900 мг/кг/массы тела, примерно 1000 мг/кг/массы тела, примерно 2000 мг/кг/массы тела до примерно 5000 мг/кг/массы тела или более на введение, и любой диапазон, который можно получить из указанных значений. В неограничивающих примерах диапазона, полученной их перечисленных здесь чисел, можно вводить диапазон от примерно 350 мг/кг/массы тела до примерно 1000 мг/кг/массы тела, от примерно 50 мкг/кг/массы тела до примерно 500 мг/кг/массы тела и т.п.

- 30 В любом случае, доза нано-эмульсии для применения зависит от конкретного диагностированного состояния, тяжести состояния, параметров конкретного пациента, включая возраст, физическое состояние, размер и массу, продолжительность визуализации, природу сопутствующей терапии (если есть) и другие аналогичные факторы, в пределах знаний и опыта специалиста по здоровью. Эти факторы известны

специалистам в данной области, и вопросы, связанные с ними, можно решить путем проведения минимальных рутинных экспериментов. Соответственно, специалист, осуществляющий диагностику конкретного пациента, сможет определить оптимальную дозировку.

5

Действительно, основным субстратом бурых или бежевых адипоцитов считаются жирные кислоты, а не глюкоза¹. Это также может быть причиной, по которой указанный контрастный агент для КТ сильнее поглощается бурыми адипоцитами, когда мышей помещают в условия холода или подвергают фармацевтической обработке для активации бурой жировой ткани, что означает возможность получить анатомическую и функциональную информацию из одного КТ-изображения (скана). Другие способы визуализации для БЖТ, такие как ¹⁸ФДГ-ПЭТ, требуют активации БЖТ, но заявители Обнаружили, что БЖТ и даже бежевую жировую ткань можно было визуализировать с применением нового контрастного агента для КТ без предварительной активации этих тканей.

10

15

Во-вторых, разрешение микро-КТ значительно лучше (от 10 до 100 микрометров), чем разрешение микро-ПЭТ (порядка 1 миллиметра), и дает возможность точного определения очертаний бежевых депо в белой жировой ткани. Это последнее свойство является особенно важным, поскольку до настоящего времени ни один метод визуализации не был способен выделить бежевую жировую ткань в белой жировой ткани с такой точностью. Действительно, бежевые адипоциты будут поглощать контрастный агент, чтоб будет значительно увеличивать контрастирование между бежевыми и белыми адипоцитами. С другой стороны, контрастный агент не определяется в белых адипоцитах.

20

25

Насколько известно заявителям, это первый случай, когда кому-то удалось достичь такого качества неинвазивно и *in-vivo*. Это позволяет точно определять очертания маленьких бежевых депо вокруг сердца и сосудов, что почти невозможно при использовании ¹⁸ФДГ-ПЭТ, из-за вторичного эффекта от сигнала самого сердца.

30

Возможность неинвазивного и точного изучения превращения в бурый жир ПВЖТ (PVAT, париваскулярной жировой ткани) и сердечной жировой ткани, может также помочь в оценке их роли в сердечно-сосудистых заболеваниях, таких как атеросклероз или гипертензия. Заявитель также явно идентифицировали у мышей новые бежевые

депо, которые до настоящего момента были плохо описаны, такие как паховая или за коленями в подколенной области. Кроме того, Заявители также смогли регионализацию в различных долях пахового жирового тела.

- 5 Заявители также ввели КТ-сканирования в качестве инструмента мониторинга показателя метаболической активности ткани, что обычно было закреплено за ПЭТ-сканированием. Действительно, Заявители показали, что условия, которые активируют бурый или бежевый жир, такие как низкая температура или адренергическая активация через бета-3 рецепторы приводит к повышению поглощения контрастного агента для
- 10 КТ. Что более удивительно, Заявители также продемонстрировали, что указанный контрастный агент для КТ согласно изобретению, состоящий из жирных кислот, детектируется даже в условиях низкой активации жировой ткани, которые являются действительно сложными для применения ПЭТ, принимая во внимание допустимые пределы лучевой нагрузки для добровольцев. Меченые жирные кислоты для ПЭТ,
- 15 такие как ^{18}F -фтор-триагептадекановая кислота (^{18}F ТНА)⁴ уже были ранее протестированы для визуализации БЖТ, но оказалось, что они дают низкий сигнал у человека.

Получение:

- Понятно, что любой подходящий способ получения йодированных жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или из сложные эфиры Формулы (I),
- 20 известные в данной области, могут быть включены в объем настоящего изобретения.

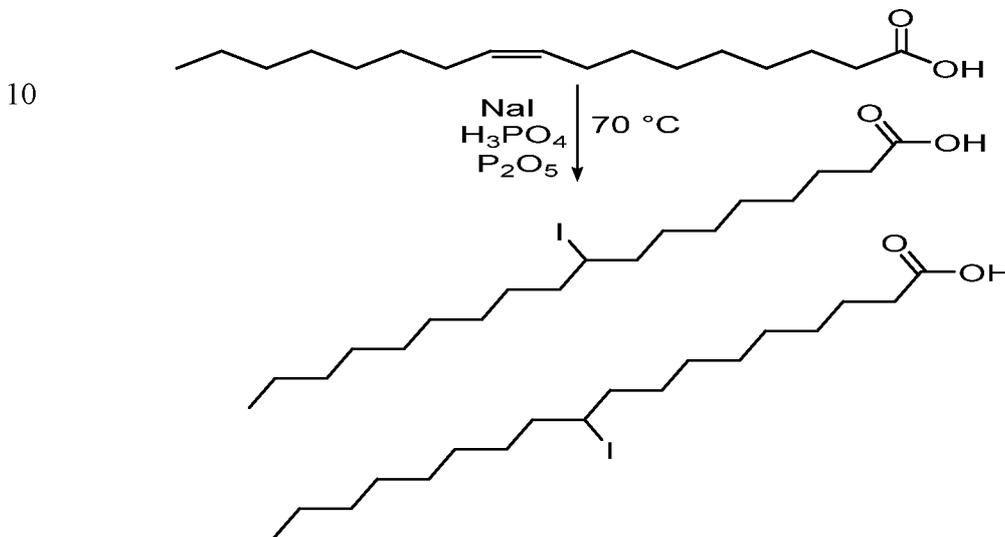
Химический синтез

- Линейные или разветвленные ненасыщенные жирные кислоты или их производные природного, полусинтетического или синтетического происхождения можно применять
- 25 в качестве исходных материалов для получения целевых йодированных молекул. Число двойных связей может варьировать от 1 до 6.

Синтез монойодостеаровая кислота

- Пентоксид фосфора (170 мг, 1.0 ммоль) медленно добавляли к ортофосфорной кислоте (1.0 мл) при перемешивании магнитной мешалкой. Добавляли олеиновую кислоту (141
- 30 мг, 0.5 ммоль) и йодид натрия (150 мг, 1.0 ммоль) и нагревали реакционную смесь при

70 °С при дефлегмации с обратным холодильником. Через 24 ч реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и отделяли кислоту от неочищенного продукта. Добавляли дихлорметан (20 мл) и промывали органическую фазу тиосульфатом натрия (0.1 М) до тех пор пока органическая фаза становилась бесцветной. Органическую фазу промывали солевым раствором и сушили с использованием сульфата натрия. Растворитель выпаривали при пониженном давлении, в результате чего получали бесцветное масло, которое очищали флэш-хроматографией с применением градиента дихлорметан/метанол (181 мг, 0.44 ммоль, 88% выход).



Синтез этил монодостеаровая кислота

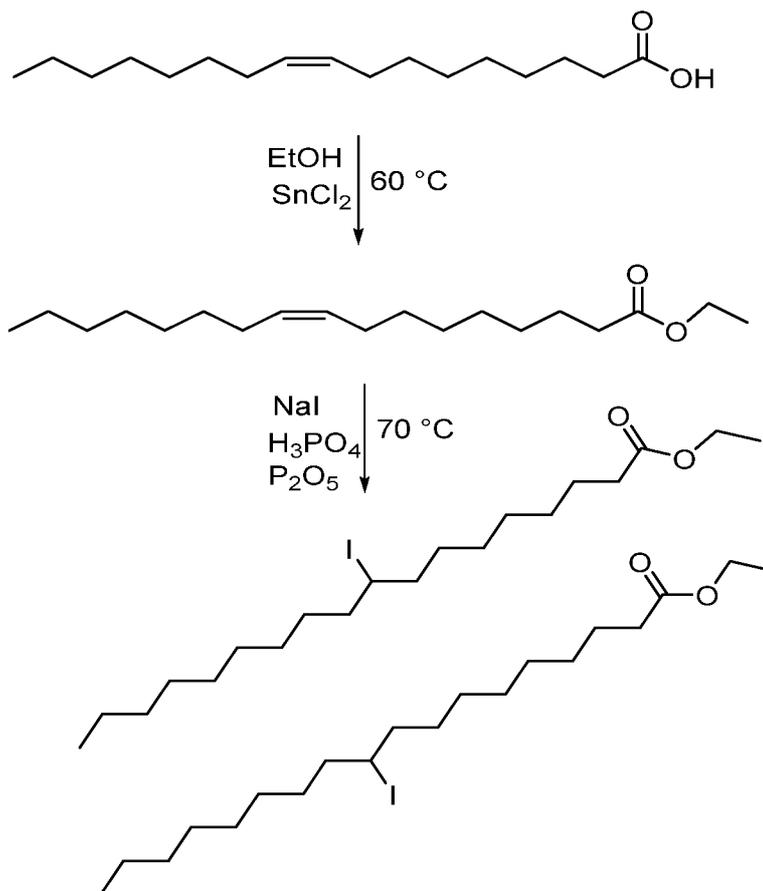
Этилолеат синтезировали в соответствии с опубликованной процедурой ⁵. Вкратце, олеиновую кислоту (282 мг, 1 ммоль), этиловый спирт (170 ммоль, 15 мл) и SnCl₂ (19 мг, 0.1 ммоль) перемешивали при 60° С. Через 16 ч реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и выпаривали растворитель при пониженном давлении. Добавляли дихлорметан (50 мл) и промывали органическую фазу водой, насыщенный раствором NaHCO₃ и солевым раствором. Органическую фазу сушили при помощи Na₂SO₄ и выпаривали растворитель при пониженном давлении, в результате чего получали бесцветное масло (282 мг, 95 % выход).

Пентоксид фосфора (170 мг, 1.0 ммоль) медленно добавляли к ортофосфорной кислоте (1.0 мл) при перемешивании магнитной мешалкой. Добавляли этилолеат (148 мг, 0.5 ммоль) и йодид натрия (150 мг, 1.0 ммоль) и нагревали реакционную смесь при 70 °С при нагревании с обратным холодильником. Через 24 ч реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и отделяли кислоту от неочищенного продукта.

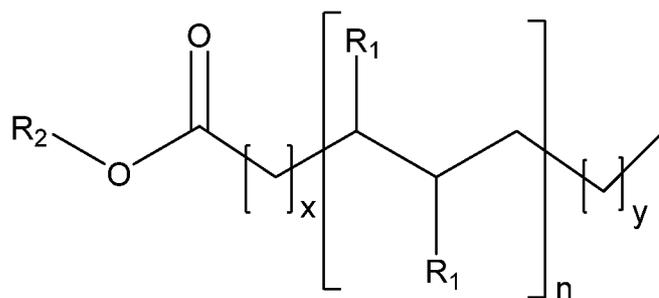
Добавляли дихлорметан (20 мл) и промывали органическую фазу тиосульфатом натрия (0.1 М) до тех пор пока органическая фаза становилась бесцветной. Органическую фазу промывали солевым раствором и сушили с использованием сульфата натрия.

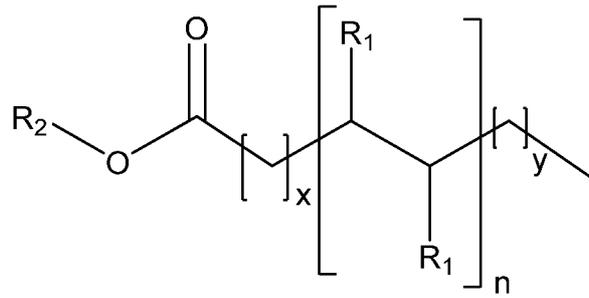
Растворитель выпаривали при пониженном давлении, в результате чего получали

- 5 бесцветное масло, которое очищали флэш-хроматографией с применением градиента дихлорметан/метанол (170 мг, 0.39 ммоль, 78% выход).

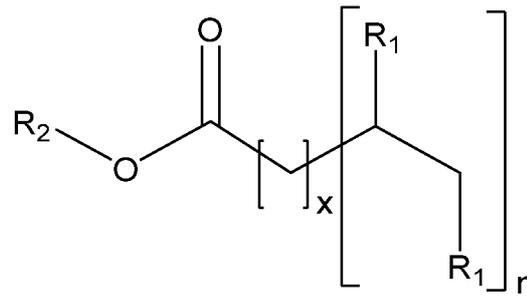


Описанные процедуры синтеза давали структуры со вариантами формул А, В и С, приведенными ниже, в зависимости от того, какой исходный материал применялся.





Формула В



Формула С

- 5 где n представляет собой целое число=1-6, и $x=0-20$, и $y=0-20$, и $x+y \leq 20$, при условии, что общее число атомов углерода в Формулах А, В или С, соответственно, ≤ 24 ;
- и где группа R_2 может быть моно- или поли-замещенной.
- 10 В предпочтительном варианте группа R_2 может включать такие алкильные заместители как указанные в следующем наборе, но не ограничивается только ими: метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, трет-бутил, циклопропилметил, пентил, изопентил, гексил, изогексил, гепти, изогептил, октил, изоктил, 2-пропенил, аллил, кротил, 1-бутенил, 2-бутенил, бутадиенил, этинил, 1-пропинил, 2-пропинил, 1-бутинил,
- 15 2-бутинил, 3-бутинил и пропагил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, адмантил; арильные заместители, такие как фенил, нафтил, анизил, толуоил, ксиленил, арилокси, агалкил, агалкилокси, гетероарильные группы (пиримидин, морфолин, пиперазин, пиперидин, тиофен), 1-циклогексилпропил, или галогеналкильные заместители, такие как фторметил, 1-фторэтил, 2-фторэтил, дифторметил, трифторметил и пентафторэтил,
- 20 хлордиметил, хлорметил, 2-хлорэтил, 2,4-дихлорфенил, 1,1,2,2-тетрахлорэтил, 1-хлорбутил, and 4-хлорбензил.

Она также включает замещенные алкильные группы, такие как 9-флуоренилметил, метоксиэтоксиметил, тетрагидропиранил, пивалилоксиметил, фенилацетоксиметил,

фенацил и замещенный фенацил, такой как п-бромфенацил, п-метоксифенацил, а также трет-бутил, 3-метил-3-пентил, циклопентил, цикогексил, аллил, 3-бутен-1-ил, циннамил, оксазол и 2-алкил-1,3-оксазолин.

- 5 Она также включает алкиларил, такой как бензил, замещенный бензил, такой как трифенилметил, п-метоксибензил, 4-пиколил, дифенилметил фенилэтил, замещенный фенилэтил, а также алкоксиалкил, такой как метоксиметил, этоксиметил, пропоксиметил, бутоксиметил, метоксиэтил, этоксиэтил, пропоксиэтил, изопропоксиэтил, бутоксиэтил, изобутоксиэтил, гидроксиалкокксиалкил, такой как
- 10 гидроксиметоксиметил, 2-гидроксиэтоксиметил, 3-гидроксипропоксиметил, 4-гидроксибутоксиметил, гидроксиметоксиэтил, гидроксиметоксипропил гидроксиметоксибутил, гидроксиметоксипентил, гидроксиметоксигексил, полигидроксиалкил и гидроксиполиалкиленоксиалкил.

Нано-эмульсия:

- 15 Состав оптимизировали посредством экспериментальных исследований. Оценивали несколько параметров, включая активный ингредиент для КТ, тип и количество вспомогательного вещества (веществ), их совместимость и способ получения. Выбор оптимального состава был основан на физико-химических свойствах, стабильности и биосовместимости.
- 20 Готовили нано-эмульсии типа “масло-в-воде” для того чтобы растворять йодированные жирные кислоты в воде для улучшения их всасывания в кишечнике. Состав эмульсии улучшали для достижения самой быстрого и более полного всасывания контрастного агента. Целью этого последнего этапа является достижения наивысшего усиления при более низкой возможной дозе. После этого контрастный агент исследовали в
- 25 различных условиях активации бурого жира чтобы показать его потенциал в оценки метаболизма бурого жира.

Достигаются следующие характеристики:

- 30
- нано-эмульсия «масло-в-воде»
 - Минимальное количество эмульгаторов
 - Низкая вязкость
 - Биосовместимость (нетоксичный и не раздражающий в необходимых дозах)
 - Увеличенный период стабильности нано-эмульсии после хранения при 4 °С

- Экономичность материалов и процесса

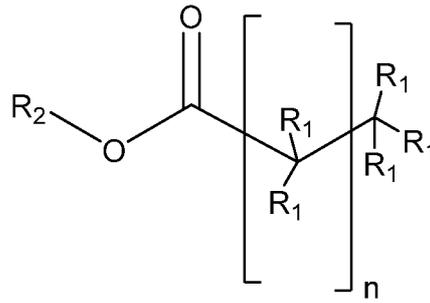
Был протестирован предложенный шорт-лист вспомогательных веществ и их смесей:

- Полисорбаты (Tween) 20, 40, 60, 80
- 5 • Сложные эфиры сорбитана (Span) 20, 40, 60, 80, 85
- Эфиры полиоксиэтилена с жирными спиртами (Brij) 30, 35, 52, 58, 72, 78, 92, 98)
- Лецитины
- Алкилполиглицозиды
- Цетомакрогол 1000
- 10 • Цетостеариловый спирт
- Цетиловый спирт
- Кокамид моноэтаноламин (MEA)
- Коакмид диэтаноламин (DEA)
- Децилглюкозид
- 15 • Децилполиглюкозид
- Глицерин моностеарат
- Изоцетет-20
- лаурилглюкозид
- мальтозиды
- 20 • монолаурин
- микосубтилин
- нонидет Р-40
- ноноксинол-9
- ноноксинолы
- 25 • NP-40
- монододециловый эфир ктаэтиленгликоля
- N-октил-бета-D-тиоглюкопиранозид
- Октилглюкозид
- олеиловый спирт
- 30 • PEG-10 глицериды подсолнечника
- монододециловый эфир пентаэтиленгликоля
- Полидоканол
- Полоксамер
- Полоксамер407
- 35 • Полиэтоксिलированный талловый амин
- полиглицерил полирицинолеат
- тристеарат сорбитана
- Стеариловый спирт
- Сурфактин
- 40 • Triton X-100

Лецитины, полисорбаты (Tween) и сложные эфиры сорбитана (Span) предпочтительны в качестве поверхностно-активных веществ, поскольку они давно применяются в

косметике, пищевых продуктах и фармацевтических препаратах (оральных, парентеральных и местных), и это применение хорошо задокументировано.

- 5 Жирную кислоту или ее производное (в растворе в органическом растворителе или без примечай) можно добавлять в деионизованную воду, предпочтительно содержащую эмульгатор, при интенсивном перемешивании (встряхивании) при температуре выше точки плавления жирной кислоты, с получением тонкодисперсной эмульсии масло-в-воде. Перемешивание можно осуществлять любыми известными средствами, например, при помощи мешалки с большим сдвиговым усилием или ультразвуковых средств.
- 10 Количество йодированной жирной кислоты или ее производного должно составлять по меньшей мере 10 %, а предпочтительно по меньшей мере 20 % от массы концентрированной эмульсии; в целом предпочтительно содержание, соответствующее 30 %; но могут быть приготовлены эмульсии с концентрацией до 40 %, в некоторых случаях предпочтительно добавлять в композицию небольшое количество эмульгатора.
- 15 В случае применения эмульгатора, вязкость эмульсии будет варьировать в зависимости от соотношения вода/ водная фаза, и обычно проходит через максимальное значение при увеличении соотношения вода/жирная кислота. Для получения тонкой эмульсии предпочтительно осуществлять перемешивание в течение некоторого времени при соотношении вода/жирная кислота, близком к или слегка превосходящем значение, 20 необходимое для максимальной вязкости, а затем добавить дополнительное количество деионизованной воды, продолжая перемешивание до получения желаемой концентрации йодированной жирной кислоты. Затем эмульсии дают остыть до комнатной температуры.
- 25 Также задачей настоящего изобретения является обеспечение способа *in vitro* визуализации бурой и бежевой жировой ткани образца, взятого у субъекта, такого как орган или культуры клеток, с использованием контрастного агента для Компьютерной томографии, состоящего из биосовместимой нано-эмульсии йодированных жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложных эфиров, и/или солей, и/или смесей, в соответствии с общей формулой I:



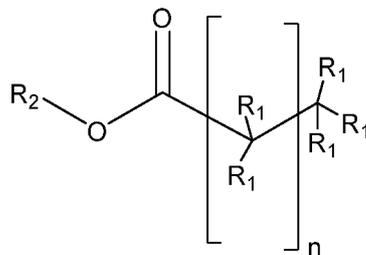
Формула I

где $n = 2-22$;

R_1 представляет собой H или I, при условиях, что число атомов йода составляет от 1 до 6, и что атомы йода не являются ни геминальным, ни вицинальными;

и где R_2 представляет собой H, ненасыщенные, линейные или разветвленные алкилы, алкоксиалкил, гидроксиалкоксиалкил, полигидроксиалкил, гидроксиполиалкиленоксиалкил.

10 Другой задачей настоящего изобретения является обеспечение биосовместимой наноэмульсии йодированных жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложных эфиров, и/или солей, и/или смесей, в соответствии с общей формулой I (определенной выше):



15 Формула I

где $n = 2-22$;

R_1 представляет собой H или I, при условиях, что число атомов йода составляет от 1 до 6, и что атомы йода не являются ни геминальным, ни вицинальными;

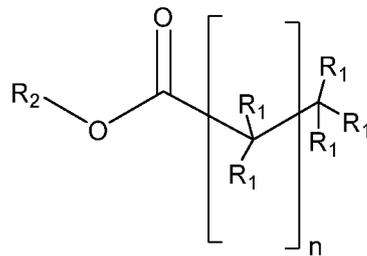
и где R_2 представляет собой H, ненасыщенные, линейные или разветвленные алкилы, алкилы, алкоксиалкил, гидроксиалкоксиалкил, полигидроксиалкил, гидроксиполиалкиленоксиалкил;

20 для применения в качестве неинвазивного перорального контрастного агента для компьютерной томографии для *in vivo* визуализации бурой и/или бежевой жировой ткани в организме субъекта.

В частности, контрастный агент согласно изобретению состоит из биосовместимой
 5 нано-эмульсии йодированных жирных кислот, содержащих предпочтительно 10-20
 атомов углерода, и, более предпочтительно, от 16 до 18 атомов углерода, в
 соответствии с общей формулой I. В ещё более предпочтительном варианте реализации
 йодированная жирная кислота представляет собой йодированную линоленовую
 кислоту.

Как определено выше, нано-эмульсия предпочтительно содержит биосовместимые
 10 эмульгаторы, выбранные из лецитина, эфиров полиэтиленгликоля с жирными
 спиртами, полисорбатов и сложных эфиров сорбитана или их смесей.

Еще одной задачей настоящего изобретения является обеспечение композиции,
 содержащей биосовместимую нано-эмульсию йодированных жирных кислот,
 15 содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложных эфиров, и/или солей, и/или
 смесей, в соответствии с общей формулой I (определенной выше):



Формула I

где $n = 2-22$;

20 R_1 представляет собой H или I, при условиях, что число атомов йода составляет
 от 1 до 6, и что атомы йода не являются ни геминальным, ни вицинальными;
 и где R_2 представляет собой H, ненасыщенные, линейные или разветвленные
 алкилы, алкилы, алкоксиалкил, гидроксиполиалкиленоксиалкил,
 гидроксиполиалкиленоксиалкил;

25 для применения в качестве неинвазивного перорального контрастного агента для
 применения для *in vivo* визуализации сердца или печени у субъекта.

В частности, контрастный агент согласно изобретению состоит из биосовместимой
 нано-эмульсии йодированных жирных кислот, содержащих предпочтительно от 10 до
 30 20 атомов углерода, а в более предпочтительном варианте от 16 до 18 атомов углерода

в соответствии с общей формулой I. В еще более предпочтительном варианте реализации йодированная жирная кислота представляет собой йодированную линоленовую кислоту.

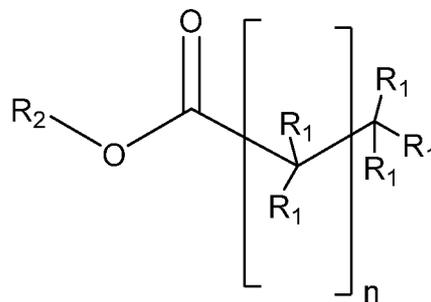
- 5 Как определено выше, nano-эмульсия в предпочтительном варианте содержит биосовместимые эмульгаторы выбранные из лецитина, эфиров полиэтиленгликоля с жирными спиртами, полисорбатов и сложных эфиров сорбитана или их смесей.

- 10 В соответствии с одним из вариантов реализации изобретения пероральный контрастный агент для КТ согласно изобретению адаптирован для визуализации и/или количественной оценки стеатоза печени или опухолей печени у субъекта.

Также предусмотрены наборы, содержащие контрастный агент для компьютерной томографии согласно изобретению.

- 15 Другой задачей настоящего изобретения является обеспечение способа предотвращения и/или лечения пациента, который страдает или предположительно страдает от заболевания сердца и печени, причем указанный способ включает этапы:

- а) введения указанному пациенту контрастного агента для компьютерной томографии согласно изобретению, состоящего из биосовместимой nano-эмульсии йодированных жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложных эфиров, и/или солей, и/или смесей, в соответствии с общей формулой I:
- 20



Формула I

- 25 где $n = 2-22$;

R_1 представляет собой H или I, при условиях, что число атомов йода составляет от 1 до 6, и что атомы йода не являются ни геминальным, ни вицинальными;

и где R_2 представляет собой H, ненасыщенные, линейные или разветвленные алкилы, алкоксиалкил, гидроксиалкоксиалкил, полигидроксиалкил, гидроксиполиалкиленоксиалкил.

- 5 b) и затем назначения (применения) указанному пациенту адаптированной терапии в зависимости от результата *in vitro* визуализации этапа а) сердца и/или печени указанного пациента.

10 Специалистам в данной области будет понятно, что изобретение, описанное в данном документе, можно подвергать вариациям и модификациям, отличным от тех, которые конкретно описаны. Следует понимать, что изобретение включает все такие вариации и модификации без отклонения от его сущности или существенных характеристик. Изобретение также включает все этапы, признаки, композиции и соединения, упомянутые или указанные в данном описании, по отдельности или совместно, и любые и все комбинации или любые два или более из указанных этапов или признаков. Соответственно, настоящее раскрытие следует рассматривать во всех аспектах как
15 иллюстративное, а не как ограничивающее, причем объем настоящего изобретения определяется прилагающейся формулой изобретения, и предполагается, что в него включены все изменения, которые охватываются значением и диапазоном эквивалентов.

- 20 Предшествующее описание будет более полно понято при обращении к следующим примерам. Такие примеры, однако, являются примерами способов практического применения настоящего изобретения и не предназначены для ограничения объема изобретения.

25 **ПРИМЕРЫ**

In vivo КТ-сканирование проводили до и в несколько моментов времени после применения контрастных агентов на мышах. Мышь анестезировали изофураном и помещали в КТ-томограф, имеющийся в лаборатории для визуализации мелких
30 животных. Сканирование продолжалось в течение приблизительно 10 минут на мышь. Затем мышь помещали в ее клетку для восстановления после анестезии в течение нескольких минут. Затем изображения переносили на другой компьютер для анализа контрастирования бурого жира.

In vivo активация или ингибирование бурой жировой ткани выполняли путем модулирования температуры, при которой содержатся мыши. Мышей содержат в течение 1 недели в специальной термостатической камере для активации термогенеза в бурой жировой ткани (при 6° C). Через 1 неделю мышам дают контрастный агент перорально и сканируют мышей в КТ-сканере для оценки контрастирования бурого жира при этих условиях активации.

Пример 1: Синтез 9(10)-йодооктадекановой кислоты

Пентоксид фосфора (170 мг, 1.0 ммоль) медленно добавляли к ортофосфорной кислоте (1.0 мл) при перемешивании магнитной мешалкой. Добавляли олеиновую кислоту (141 мг, 0.5 ммоль) и йодид натрия и нагревали реакцию смесь при 70 °C при дефлегмации с обратным холодильником. Через 24 ч реакцию смесь охлаждали до температуры окружающей среды и отделяли кислоту от неочищенного продукта. Добавляли дихлорметан (20 мл) и промывали органическую фазу тиосульфатом натрия (0.1 М) до тех пор пока органическая фаза станет бесцветной. Органическую фазу промывали солевым раствором и сушили с использованием сульфата натрия. Растворитель выпаривали при пониженном давлении, в результате чего получали бесцветное масло, которое очищали флэш-хроматографией с применением градиента дихлорметан/метанол (181 мг, 0.44 ммоль, 88% выход). ¹H-ЯМР (600 МГц, CDCl₃) δ 4.07 – 4.02 (m, 1H), 2.28 (t, *J* = 7.5 Гц, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.60 (m, 4H), 1.45 (m, 2H), 1.36 – 1.16 (m, 22H), 0.81 (t, *J* = 7.0 Гц, 3H). Масс-спектрометрия с низкой разрешающей способностью (ионизация электрораспылением): *m/z* расч. для [M+K]⁺ 449.1, эксп 448.1.

Пример 2: Синтез 9(10), 12(13)-дийодооктадекановой кислоты

Пентоксид фосфора (340 мг, 2.0 ммоль) медленно добавляли к ортофосфорной кислоте (2.0 мл) при перемешивании магнитной мешалкой. Добавляли линолевую кислоту (280 мг, 1.0 ммоль) и йодид натрия (500 мг, 3.33 ммоль) и нагревали реакцию смесь при 70 °C при дефлегмации с обратным холодильником. Через 24 ч реакцию смесь охлаждали до температуры окружающей среды и отделяли кислоту от неочищенного продукта. Дихлорметан (20 мл) добавляли и промывали органическую фазу тиосульфатом натрия (0.1 М) до тех пор пока органическая фаза станет бесцветной. Органическую фазу промывали солевым раствором и сушили с использованием

сульфата натрия. Растворитель выпаривали при пониженном давлении, в результате чего получали бесцветное масло, которое очищали флэш-хроматографией с применением градиента дихлорметан/метанол (407 мг, 0.76 ммоль, 76% выход). ^1H -ЯМР (600 МГц, CDCl_3) δ 4.15 – 4.07 (m, 2H), 2.41 – 2.34 (m, 2H), 2.11 – 2.02 (m, 2H), 1.96 – 1.82 (m, 2H), 1.76 – 1.62 (m, 4H), 1.58 – 1.50 (m, 2H), 1.46 – 1.23 (m, 16H), 0.95 – 0.88 (m, 3H). Масс-спектрометрия с низкой разрешающей способностью (ионизация электрораспылением): m/z расч. для $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 559.0, found 558.9.

Пример 3: Приготовление nano-эмульсии

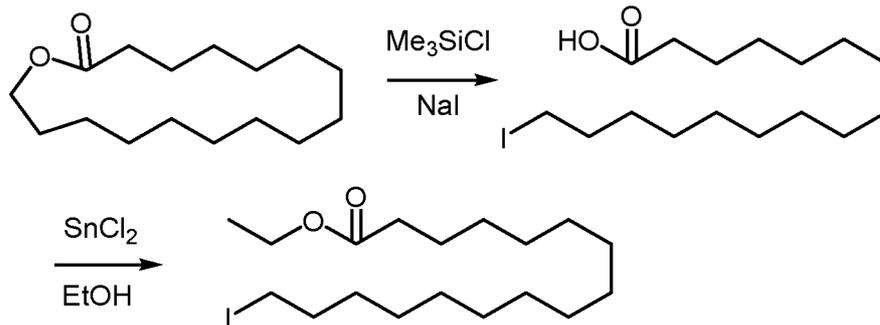
10 Nano-эмульсию получали путем смешивания 200 мг йодированной линолевой кислоты, 100 мг вспомогательных веществ (например, при соотношении Tween 80/Span 80, 90/10) и 200 мг воды MilliQ. Смесь охлаждали при помощи ванны со льдом при
одновременной гомогенизации ультразвуком. Амплитуду ультразвукового
гомогенизатора устанавливали на 30 % в течение 2 мин с использованием импульсов
15 продолжительностью 5 с последующей 5-секундной паузой, в результате чего получали
гомогенную nano-эмульсию.

Пример 4: Синтез и исследование контрастного агента для СТ, применяемого для визуализации и измерения метаболической активности БЖТ

20 Для исследования бурых и бежевых адипоцитов *in vivo* nanoэмульсию давали перорально мышам, которую содержали при 6°C в течение 1 недели для активации активности бурого жира. Проводили КТ-сканирование до и после перорального введения контрастного агента для КТ согласно изобретению (Фиг. 3), содержащего этил-9(10),12(13)дийодооктадеканоеат. Как показано на Фиг. 4, кинетика поглощения
25 бурой жировой тканью достигала плато приблизительно через 24 ч после попадания в активированную БЖТ. Кроме того, как показано на Фигуре 5, указанный контрастный агент для КТ позволял построить карту всех разных депо бурого и бежевого жира во всем теле мыши в исследовании *in vivo*. Благодаря высокому разрешению КТ, каждое депо было четко идентифицировано, как показано на Фиг. 5. Дополнительно, заявители
30 не только смогли идентифицировать все известные бурые и бежевые депо, но также некоторые депо, которые ранее не удавалось увидеть *in vivo*, такие как в паховой и подколенной областях.

Результаты, полученные путем классического иссечения депо бурого и белого жира, и результаты, полученные с помощью нового подхода, предложенного Заявителями, сравнивали как показано на Фиг. 5, на которой представлено каждое отдельное депо бурой или бежевой жировой ткани, полученное с использованием контрастного агента для КТ согласно настоящему изобретению.

Пример 5: Синтез этил-16-йодогексадеканоат



Пример 6: Синтез 16-йодогексадекановой кислоты

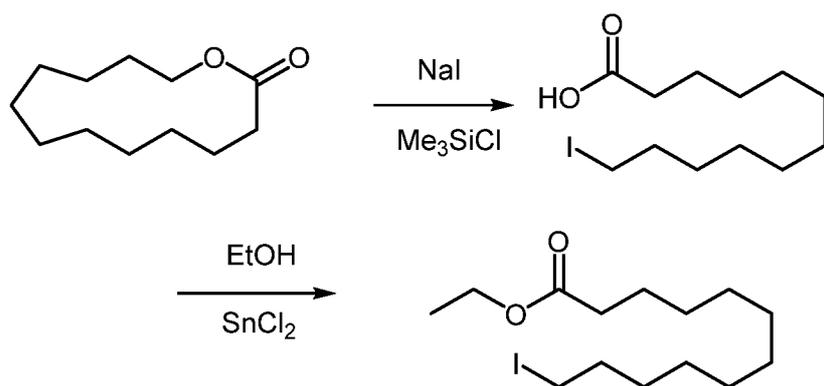
16-гексадеканолд (2.00 г, 7.86 ммоль, 1 экв.), йодид натрия (3.54 г, 23.6 ммоль, 3 экв.), хлортриметилсилан (2.99 мл (2.56 г), 23.6 ммоль, 3 экв.) и ацетонитрил (25 мл, с=0.31 М) перемешивали с обратным холодильником в атмосфере азота в течение ночи. К реакционной смеси добавляли воду (20 мл) и эфир (50 мл). Органическую фазу промывали водой, тиосульфатом натрия, насыщенным соевым раствором и сушили с использованием сульфата натрия. Органическую фазу отфильтровывали и выпаривали при пониженном давлении, в результате чего получали белое твердое вещество (2.88 г, 7.53 ммоль, 96 % выход). ¹H-ЯМР (600 МГц, CDCl₃) δ 3.19 (t, J = 7.1 Гц, 2H), 2.35 (t, J = 7.5 Гц, 2H), 1.82 (p, J = 7.1 Гц, 2H), 1.63 (p, J = 7.5 Гц, 2H), 1.43 – 1.19 (m, 23H). ¹³C-ЯМР (151 МГц, CDCl₃) δ 179.62, 34.09, 33.72, 30.66, 29.77, 29.75, 29.73, 29.69, 29.57, 29.39, 29.21, 28.70, 24.83, 7.71.

Пример 7: Синтез этил 16-йодогексадеканоата

16-йодогексадекановую кислоту (100 мг, 0.262 ммоль, 1 экв.), хлорид (II) олова (19.8 мг, 0.105 ммоль, 0.4 экв.) и этанол (5 мл, с=0.052 М) перемешивали в атмосфере азота в течение ночи при нагревании с обратным холодильником. Реакционную смесь выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией с использованием градиента циклогексан/эфир, в результате чего

получали белое твердое вещество (94.0 мг, 0.229 ммоль, 88 % выход). МС с ионизацией электрораспылением 433.2 [M+Na]⁺. ¹H-ЯМР (600 МГц, CDCl₃) δ 4.12 (m, J = 7.1 Гц, 2H), 3.19 (t, J = 7.1 Гц, 2H), 2.28 (t, J = 7.6 Гц, 2H), 1.82 (p, J = 7.1 Гц, 2H), 1.61 (p, J = 7.4 Гц, 2H), 1.45 – 1.19 (m, 23H). ¹³C-ЯМР (151 МГц, CDCl₃) δ 174.10, 60.31, 34.56, 33.72, 30.66, 29.78, 29.75, 29.74, 29.69, 29.60, 29.57, 29.42, 29.30, 28.70, 25.15, 14.41, 7.66.

Пример 8: Синтез этил 12-йодододеканоата



10

Пример 9: Синтез 12-йодогексадеканоевая кислота

Охациклотридекан-2-он (1.00 г, 5.00 ммоль, 1 экв.) 16-гексадеканолд (2.00 г, 7.86 ммоль, 1 экв.), йодид натрия (2.25 г, 15.0 ммоль, 3 экв.) и хлортриметилсилан (1.90 мл (1.63 г), 15.0 ммоль, 3 экв.) и ацетонитрил (25 мл, c=0.31 M) перемешивали с обратным холодильником в атмосфере азота в течение ночи. К реакционной смеси добавляли воду (20 мл) и эфир (50 мл). Органическую фазу промывали водой, тиосульфатом натрия, насыщенным соевым раствором и сушили с использованием сульфата натрия. Органическую фазу отфильтровывали и выпаривали при пониженном давлении, в результате чего получали светлое желтоватое твердое вещество (1.62 г, 4.97 ммоль, 98 % выход). МС с ионизацией электрораспылением 325.2 [M-H]⁻. ¹H-ЯМР (600 МГц, CDCl₃) δ 3.19 (t, J = 7.0 Гц, 2H), 2.35 (t, J = 7.5 Гц, 2H), 1.82 (p, J = 7.1 Гц, 2H), 1.63 (p, J = 7.5 Гц, 2H), 1.44 – 1.22 (m, 14H). ¹³C-ЯМР (151 МГц, CDCl₃) δ 179.47, 34.06, 33.70, 30.64, 29.59, 29.52, 29.50, 29.35, 29.18, 28.67, 24.82, 7.71.

Пример 10: Синтез этил-12-йодододеканоата

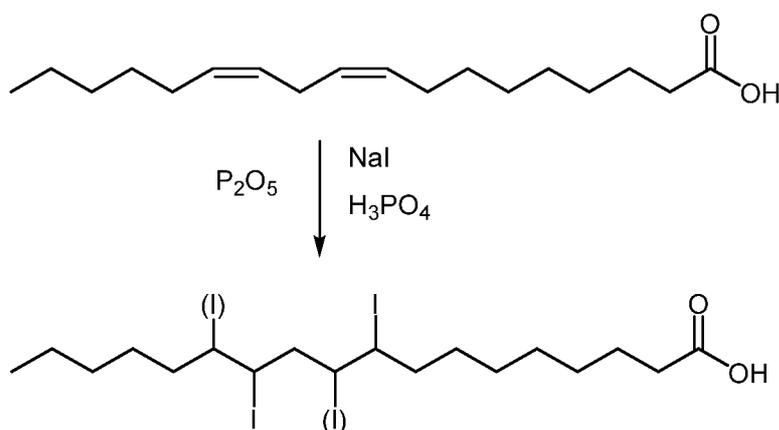
12-йодогексадеканоевую кислоту (800 мг, 2.45 ммоль, 1 экв.), хлорид (II) олова (200 мг, 1.05 ммоль, 0.4 экв.) и этанол (50 мл, c=0.052 M) перемешивали в атмосфере азота в

25

течение ночи при нагревании с обратным холодильником. Реакционную смесь выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией с использованием градиента циклогексан/эфир, в результате чего получали белое твердое вещество (1.06 г, 2.58 ммоль, 66 % выход). МС с ионизацией электрораспылением 355.1 [M+H]⁺. ¹H-ЯМР (600 МГц, CDCl₃) δ 4.11 (q, J = 7.1 Гц, 2H), 3.18 (t, J = 7.1 Гц, 2H), 2.27 (t, J = 7.6 Гц, 2H), 1.81 (p, J = 7.1 Гц, 2H), 1.60 (p, J = 7.4 Гц, 2H), 1.37 (q, J = 6.8, 6.4 Гц, 2H), 1.33 – 1.20 (m, 15H). ¹³C-ЯМР (151 МГц, CDCl₃) δ 174.03, 60.28, 34.52, 33.69, 30.63, 29.58, 29.51, 29.37, 29.26, 29.25, 28.66, 25.11, 14.40, 7.51.

10

Пример 11: Синтез 9(10),12(13)-дийодооктадекановой кислоты

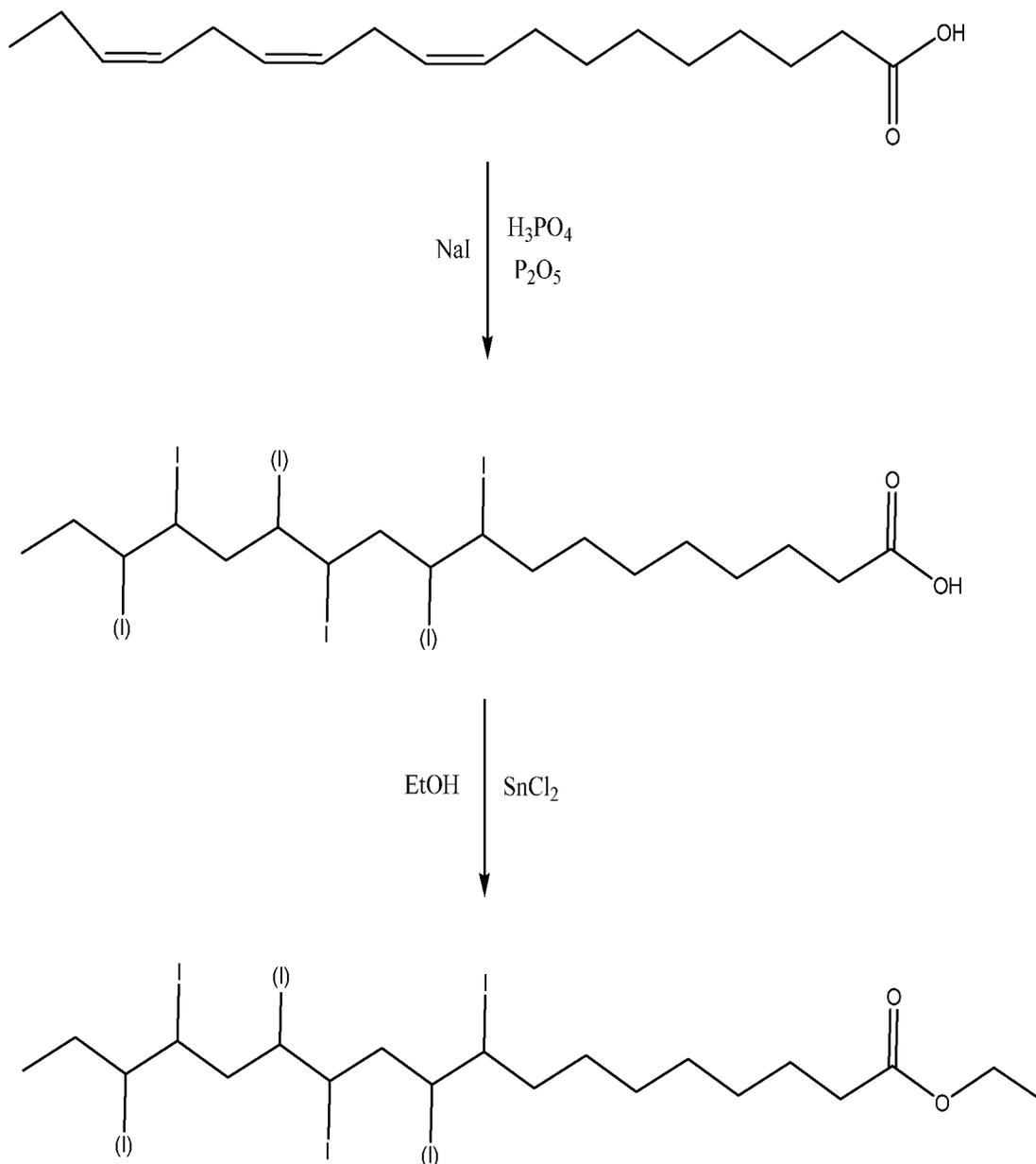


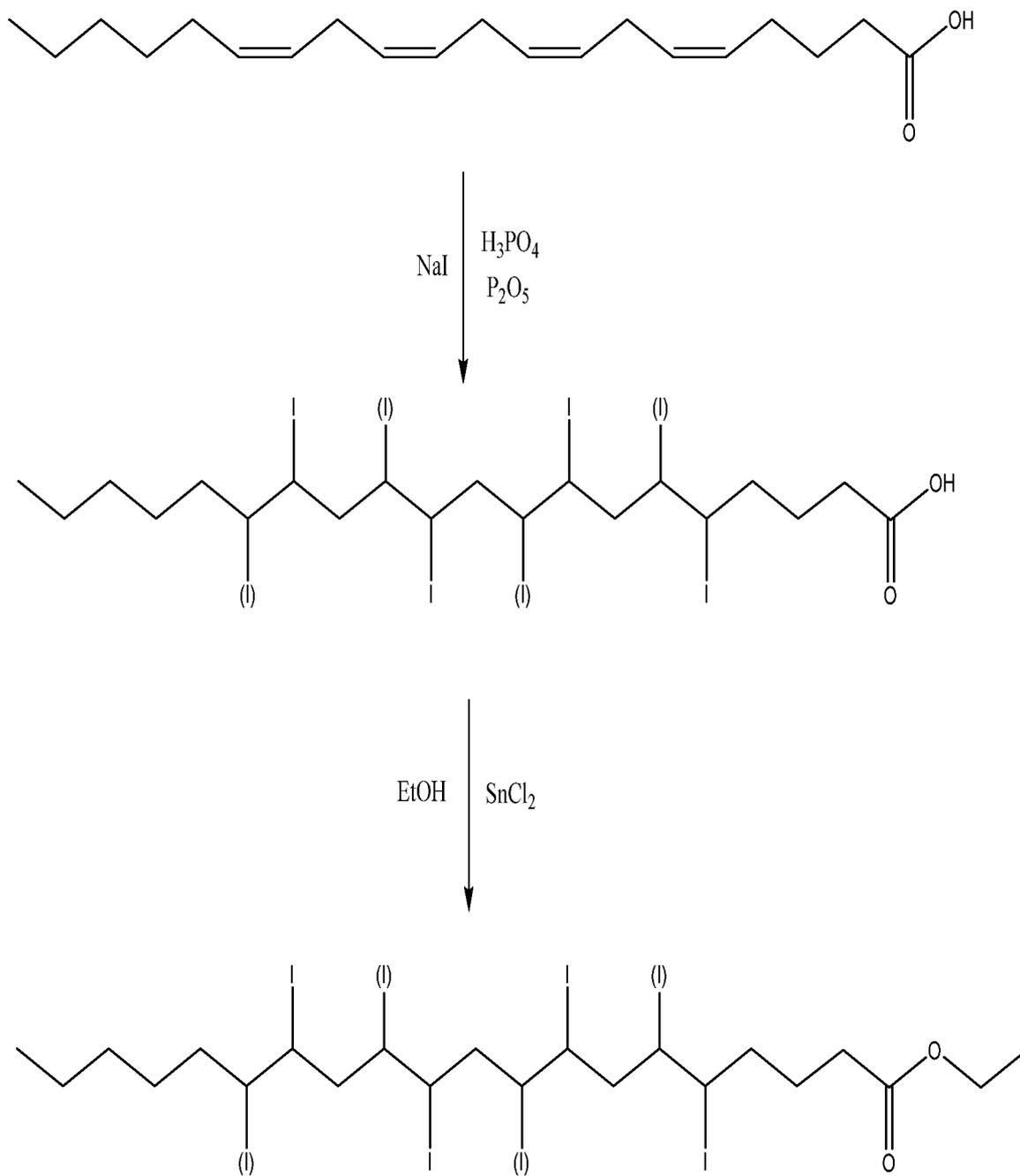
15 Фентоксид фосфора (2.82 г, 20.0 ммоль, 2 экв.), линолевую кислоту (3.00 г, 10.7 ммоль, 1 экв.), йодид натрия (6.00 г, 40.0 ммоль, 4 экв.) и фосфорную кислоту (20 мл, c=0.50 М) перемешивали в атмосфере азота при 70 °С в течение 12 ч и в течение 1 ч 30 при комнатной температуре при медленном перемешивании. К реакционной смеси добавляли эфир (50 мл) и воду (20 мл). Водную фазу экстрагировали этилацетатом и
20 промывали объединенные органические фазы тиосульфатом натрия (0.1 М), насыщенным солевым раствором, сушили с использованием сульфата натрия, от фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией с применением градиента дихлорметан/метанол + 0.1 % уксусной кислоты, в результате чего получали светлое желтоватое твердое вещество
25 (4.875 г, 9.09 ммоль, 85 % выход). МС с ионизацией электрораспылением 558.5 [M+Na]⁺, 553.5 [M+NH₄]⁺. 574.5 [M+K]⁺. ¹H-ЯМР (600 МГц, CDCl₃) δ 4.14 – 4.05 (m,

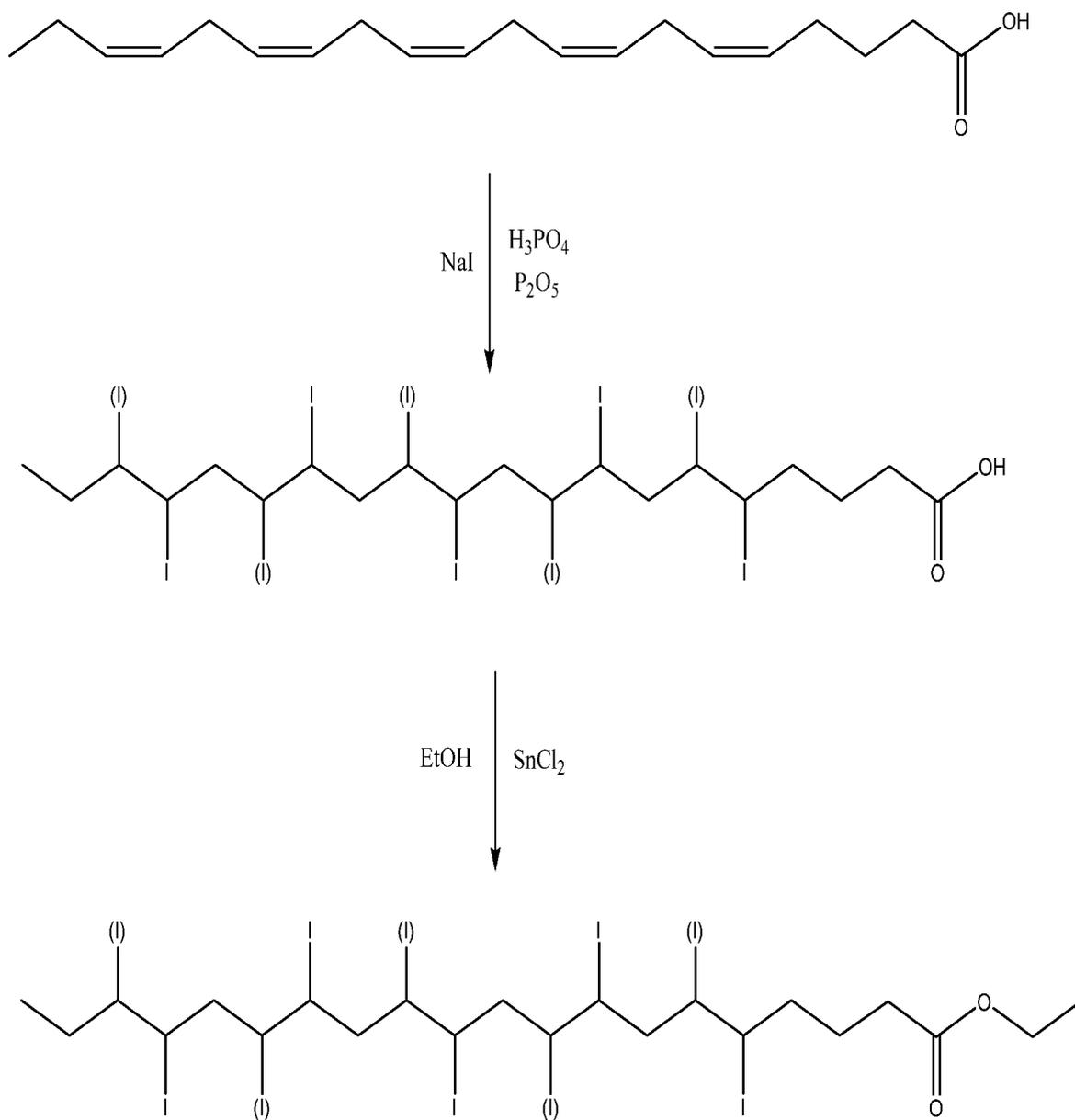
2H), 2.35 (m, 2H), 1.96 – 1.80 (m, 2H), 1.76 – 1.61 (m, 3H), 1.57 – 1.49 (m, 3H), 1.46 – 1.27 (m, 16 H), 0.90 (7, J = 6.8 Гц, 3H).

Пример 12: Синтез трийодооктадекановой кислоты и этилтрийодооктадеканата

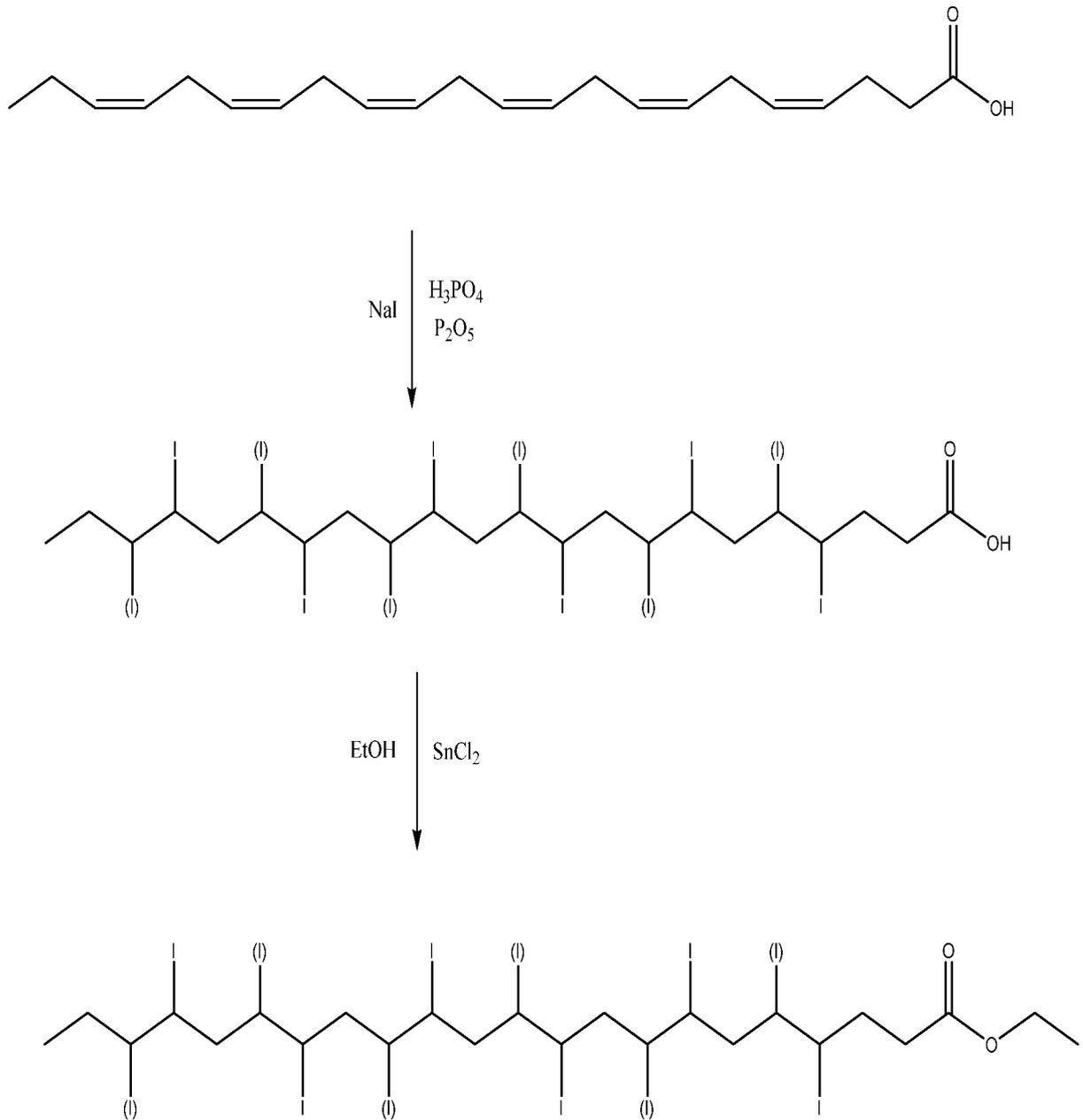
5



Пример 13: Синтез тетраидоикозановой кислоты и этил тетраидоикозаноата

Пример 14: Синтез пентайодокозановой кислоты и этилпентайодокозаноата

Пример 15: Синтез гексайдододокзановой кислоты и этилгексайдододокзаноата



5 Пример 16: Исследование контрастного агента для КТ, применяемого для визуализации сердца и печени.

Для *in vivo* исследования сердца и печени нано-эмульсию согласно изобретению давали перорально мыши. КТ-сканирование выполняли до и через 7 ч после перорального поглощения контрастного агента для КТ согласно изобретению, содержащего йодированные этиловые сложные эфиры линолевой (65%), олеиновой (30%) и линоленовой (4%) кислот (Фиг. 6). Как показано на Фиг. 6а, контрастный агент поглощается кардиомиоцитами сердца, что позволяет увидеть стенки левого

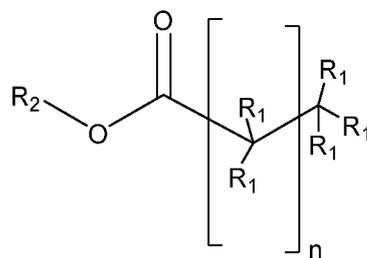
желудочка. Улучшение изображения сердечных стенок дает возможность измерять анатомические параметры, такие как толщина и объем сердечной мышцы. Как показано на Фиг. 6b, контрастный агент также поглощается печенью, повышая её контрастность.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Bartelt A, Bruns OT, Reimer R, et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. *Nat Med.* 2011;17(2):200-205.
- 5 2. Cannon B, Houstek J, Nedergaard J. Brown adipose tissue. More than an effector of thermogenesis? *Ann N Y Acad Sci.* 1998;856:171-187.
3. Guerra C, Koza RA, Yamashita H, Walsh K, Kozak LP. Emergence of brown adipocytes in white fat in mice is under genetic control. Effects on body weight and adiposity. *J Clin Invest.* 1998;102(2):412-420.
- 10 4. Blondin DP, Labbe SM, Noll C, et al. Selective Impairment of Glucose but Not Fatty Acid or Oxidative Metabolism in Brown Adipose Tissue of Subjects With Type 2 Диабет. *Диабет.* 2015;64(7):2388-2397.
5. Ferreira AB, Cardoso AL, da Silva MJ. Novel and Highly Efficient SnBr₂-Catalyzed Esterification Reactions of Fatty Acids The Notable Anion Ligand Effect. *Catal Lett.* 15 2013;143(11):1240-1246.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ *in vivo* визуализации методом компьютерной томографии парентеральных органов, включающий введение перорально субъекту контрастного агента, содержащего биосовместимую nano-эмульсию йодированных жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложных эфиров, и/или солей, и/или смесей, в соответствии с общей формулой I:



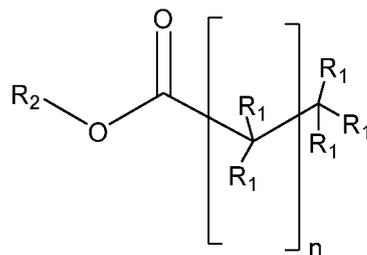
Формула I

где $n = 2-22$;

R_1 представляет собой H или I, при условиях, что число атомов йода составляет от 1 до 6, и что атомы йода не являются ни геминальным, ни вицинальными; и где R_2 представляет собой H, ненасыщенные, линейные или разветвленные алкилы, алкоксиалкил, гидроксиалкоксиалкил, полигидроксиалкил, гидроксиполиалкиленоксиалкил.

2. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по п. 1, где указанный контрастный агент состоит из биосовместимой nano-эмульсии йодированных жирных кислот, содержащих от 10 до 20 атомов углерода, в соответствии с общей формулой I.
3. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по любому из пп. 1-2, где указанный контрастный агент состоит из биосовместимой nano-эмульсии йодированных жирных кислот, содержащих от 16 до 18 атомов углерода, в соответствии с общей формулой I.

4. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по любому из пп. 1-3, где указанная йодированная жирная кислота представляет собой йодированную линоленовую кислоту.
5. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по любому из предшествующих пунктов, где указанная nano-эмульсия содержит биосовместимые эмульгаторы выбранные из лецитина, эфиров полиэтиленгликоля с жирными спиртами, полисорбатов и сложных эфиров сорбитана или их смесей.
- 10 6. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по п. 5, где количество указанных биосовместимых эмульгаторов в указанной nano-эмульсии лежит в диапазоне 5 - 30 % (масс./масс.) от общего количества nano-эмульсии.
- 15 7. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по любому из пп. 1-6, где указанный пероральный контрастный агент адаптирован для неинвазивной *in vivo* визуализации и/или количественной оценки стеатоза печени или опухолей печени у субъекта.
- 20 8. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по любому из пп. 1-6, где указанный пероральный контрастный агент адаптирован для неинвазивной *in vivo* визуализации сердца и оценки функции сердца.
- 25 9. Способ *in vivo* визуализации методом компьютерной томографии бурой и/или бежевой жировой ткани (БЖТ) у субъекта, включающий введение перорально контрастного агента, содержащего биосовместимую nano-эмульсию йодированных жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложных эфиров, и/или солей, и/или смесей, в соответствии с общей формулой I:



30 Формула I

где $n = 2-22$;

R_1 представляет собой H или I, при условиях, что число атомов йода составляет от 1 до 6, и что атомы йода не являются ни геминальным, ни вицинальными;

5

и где R_2 представляет собой H, ненасыщенные, линейные или разветвленные алкилы, алкилы, алкоксиалкил, гидроксиалкоксиалкил, полигидроксиалкил, гидроксиполиалкиленоксиалкил.

10

10. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по п. 9, где указанный контрастный агент адаптирован для неинвазивной *in vivo* визуализации, количественной оценки и/или мониторинга активности бурой и/или бежевой жировой ткани (БЖТ) у указанного субъекта.

15

11. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по любому из пп. 9-10, где указанный контрастный агент состоит из биосовместимой nano-эмульсии йодированных жирных кислот, содержащих от 10 до 20 атомов углерода, в соответствии с общей формулой I.

20

12. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по любому из пп. 9-11, где указанный контрастный агент состоит из биосовместимой nano-эмульсии йодированных жирных кислот, содержащих от 16 до 18 атомов углерода в соответствии с общей формулой I.

25

13. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по любому из пп. 9-12, где указанная йодированная жирная кислота представляет собой йодированную линоленовую кислоту.

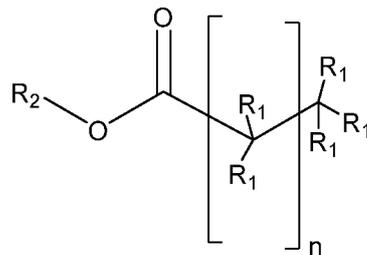
30

14. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по любому из пп. 9-13, где указанная nano-эмульсия содержит биосовместимые эмульгаторы выбранные из лецитина, эфиров полиэтиленгликоля с жирными спиртами, полисорбатов и сложных эфиров сорбитана или их смесей.

35

15. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по п. 14, где количество указанных биосовместимых эмульгаторов в указанной nano-эмульсии лежит в диапазоне 5 - 30 % (масс./масс.) от общего количества nano-эмульсии.

16. Способ *in vivo* визуализации методом компьютерной томографии сердца или печени у субъекта, включающий введение перорально контрастного агента, содержащего биосовместимую nano-эмульсию йодированных жирных кислот, содержащих от 4 до 24 атомов углерода, и/или их сложных эфиров, и/или солей, и/или смесей, в соответствии с общей формулой I:

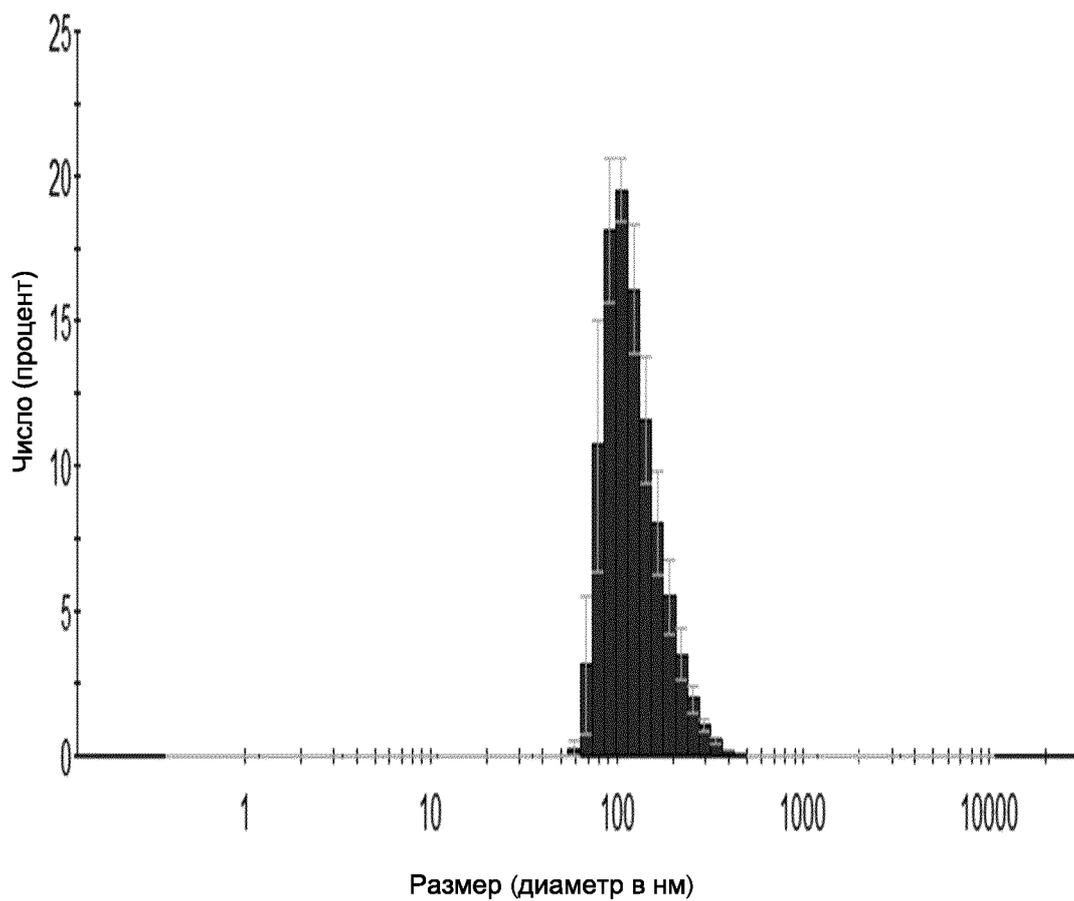


Формула I

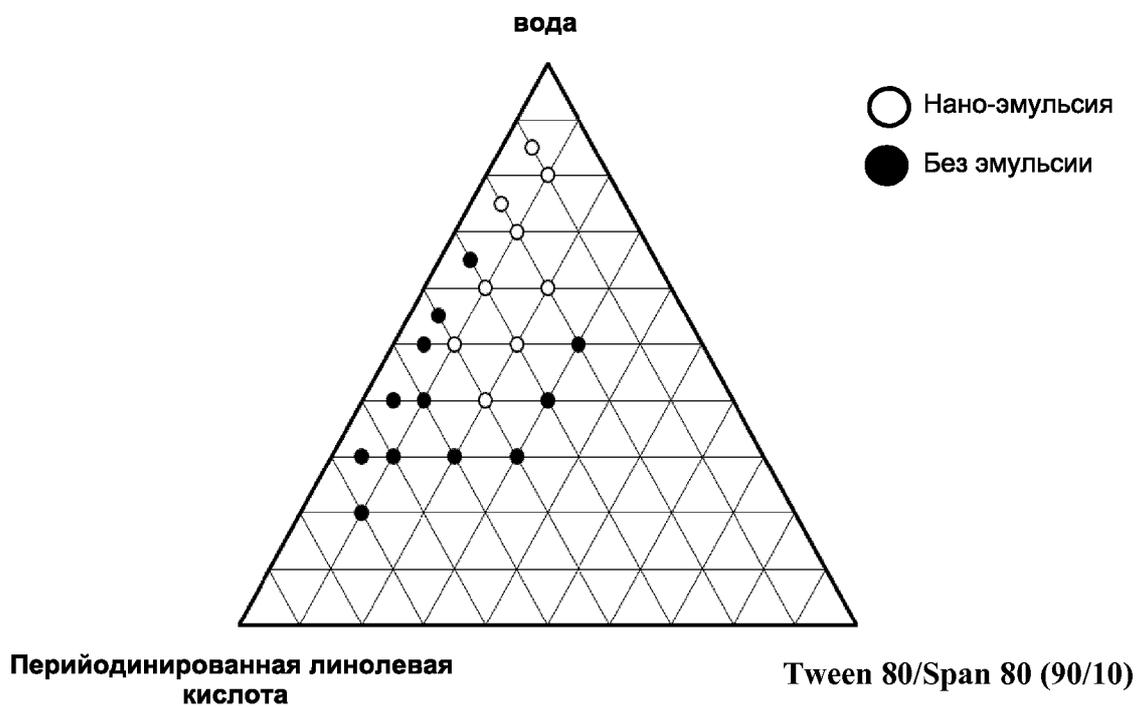
где $n = 2-22$;

- 10 R_1 представляет собой H или I, при условиях, что число атомов йода составляет от 1 до 6, и что атомы йода не являются ни геминальным, ни вицинальными; и где R_2 представляет собой H, ненасыщенные, линейные или разветвленные алкилы, алкилы, алкоксиалкил, гидроксиалкоксиалкил, полигидроксиалкил, гидроксиполиалкиленоксиалкил.
- 15
17. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по п. 16, где указанный контрастный агент состоит из биосовместимой nano-эмульсии йодированных жирных кислот, содержащих от 16 до 18 атомов углерода в соответствии с общей формулой I.
- 20
18. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по любому из пп. 16-17, где указанный контрастный агент адаптирован для визуализации и/или количественной оценки стеатоза печени или опухолей печени у указанного субъекта.
- 25
19. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по любому из пп. 16-17, где указанный контрастный агент адаптирован для визуализации сердца и оценки его функции у указанного субъекта.
- 30
20. Способ *in vivo* визуализации методом КТ по любому из пп. 1-19, где указанный пероральный контрастный агент для ТК вводят в дозе, соответствующей от 0,5 до 1,6 мг йода на грамм массы тела.

ФИГ. 1



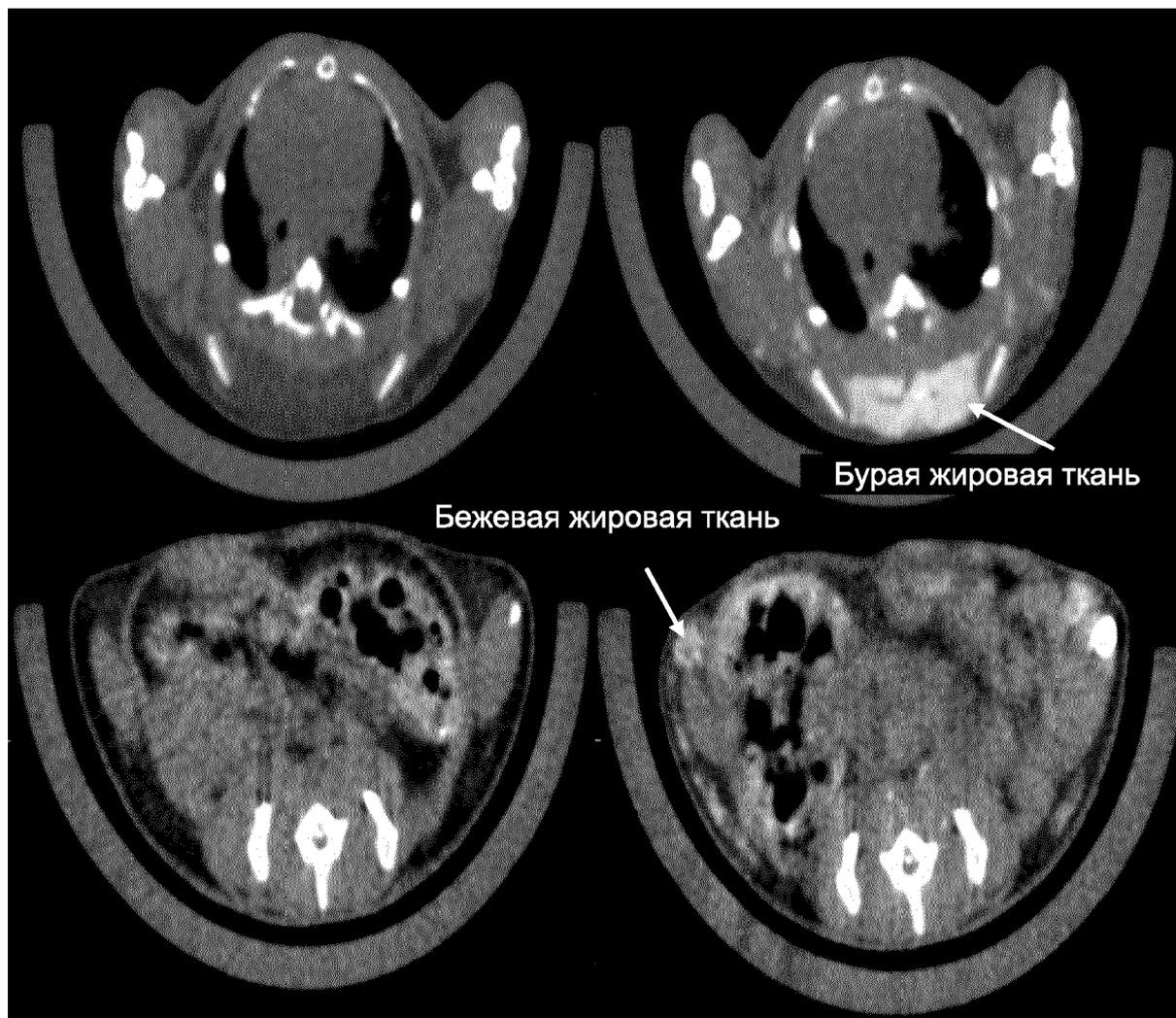
ФИГ. 2



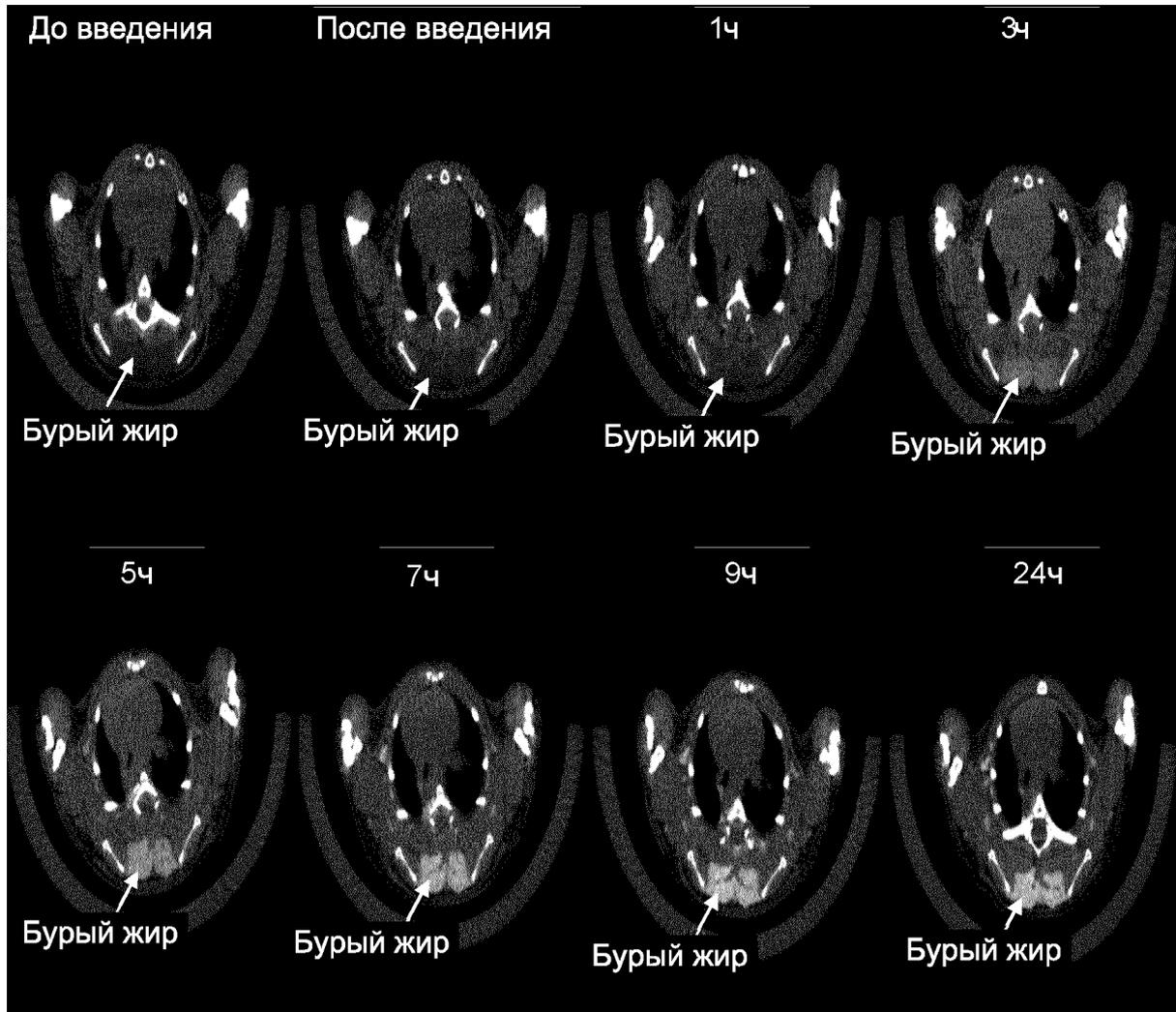
ФИГ. 3

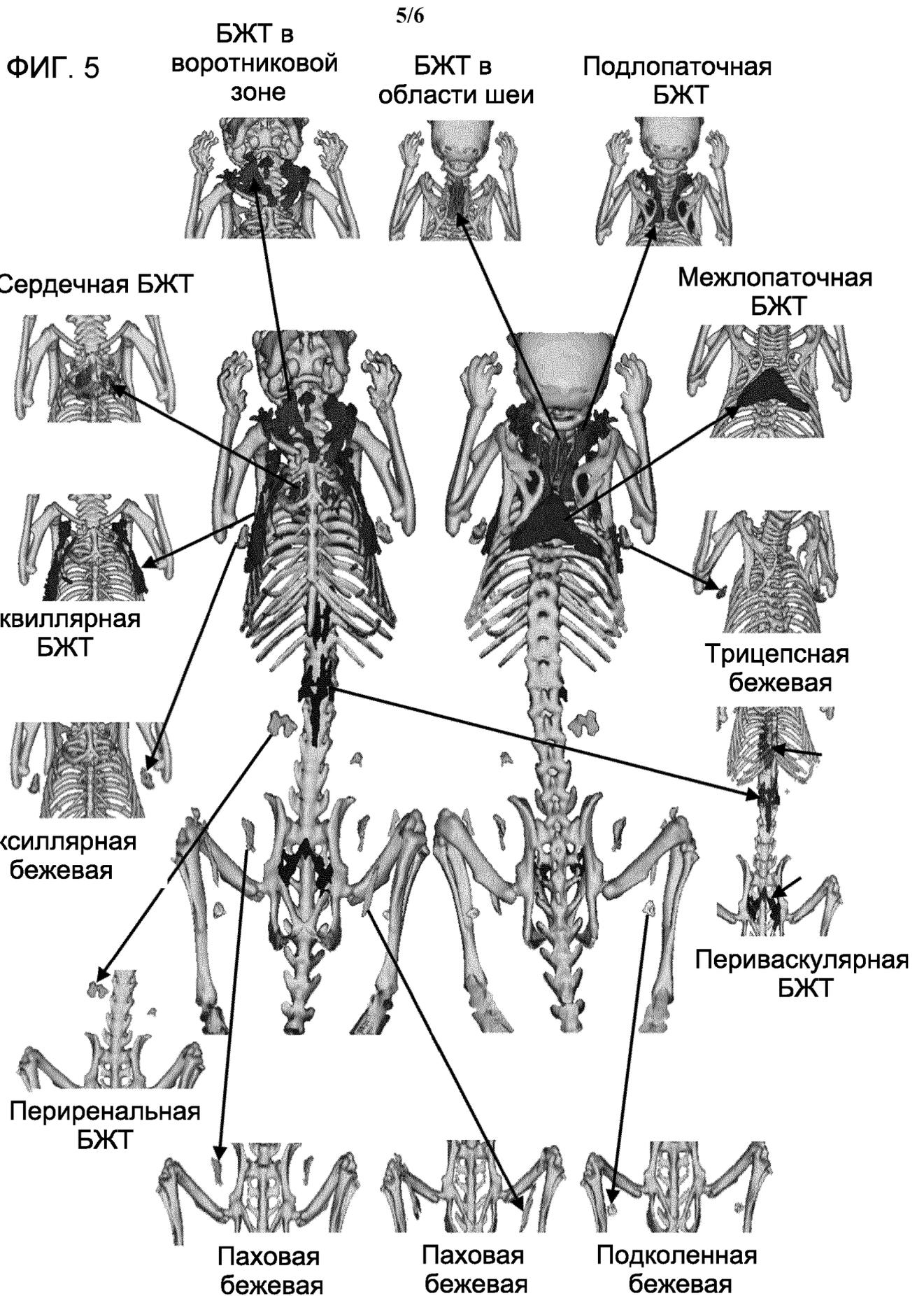
До введения контрастного агента

Через 24 ч. после введения контрастного агента



ФИГ. 4





ФИГ. 6

