

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7210542号  
(P7210542)

(45)発行日 令和5年1月23日(2023.1.23)

(24)登録日 令和5年1月13日(2023.1.13)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	49/04	(2006.01)	A 6 1 K	49/04	2 1 0
A 6 1 B	6/03	(2006.01)	A 6 1 B	6/03	3 7 5
A 6 1 K	51/04	(2006.01)	A 6 1 K	51/04	2 0 0
A 6 1 K	51/12	(2006.01)	A 6 1 K	51/12	2 0 0
A 6 1 K	9/107	(2006.01)	A 6 1 K	9/107	

請求項の数 15 (全35頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-506159(P2020-506159)

(86)(22)出願日 平成30年7月27日(2018.7.27)

(65)公表番号 特表2020-529441(P2020-529441  
A)

(43)公表日 令和2年10月8日(2020.10.8)

(86)国際出願番号 PCT/EP2018/070501

(87)国際公開番号 WO2019/030024

(87)国際公開日 平成31年2月14日(2019.2.14)

審査請求日 令和3年7月20日(2021.7.20)

(31)優先権主張番号 17185185.0

(32)優先日 平成29年8月7日(2017.8.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
欧州特許庁(EP)

(73)特許権者 503083421

ユニベルシテ ドゥ ジュネーブ  
スイス国, 1 2 1 1 ジュネーブ 4, リ  
ュ デュ ジェネラル デュフル, 2 4

(74)代理人 100120891

弁理士 林 一好

(74)代理人 100165157

弁理士 芝 哲央

(74)代理人 100205659

弁理士 齋藤 拓也

(74)代理人 100126000

弁理士 岩池 満

(74)代理人 100185269

弁理士 小菅 一弘

(72)発明者 ヴィネット ローレン

最終頁に続く

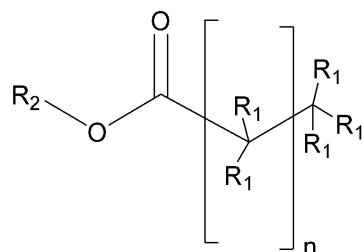
(54)【発明の名称】 C Tイメージング用のヨウ素化脂肪酸のナノエマルジョン

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

被験体における褐色および/またはベージュ脂肪組織(BAT)のコンピュータ断層撮影による *in vivo* イメージング方法であって、一般式 I による 4 ~ 24 の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および/またはエステルおよび/または塩および/またはそれらの混合物の生体適合性ナノエマルジョンを含む造影剤を経口投与することを含む方法:

【化1】



式 I

式中、n = 2 ~ 22 であり；

R<sub>1</sub> は H または F であり、ただしヨウ素原子の数は 1 ~ 6 であり、前記ヨウ素原子は一つの原子に同種原子が二つ結合したものでなく隣接でもなく；

かつ式中 R<sub>2</sub> は H、不飽和または飽和、直鎖または分枝状アルキル、アルキル、アルコキシアルキル、ヒドロキシアルコキシアルキル、ポリヒドロキシアルキル、ヒドロキシポリ

アルキレンオキシアルキルである。

【請求項 2】

一般式 I による 4 ~ 24 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および / またはエステルおよび / または塩および / またはそれらの混合物は、生体適合性ナノエマルジョンの形態である、請求項 1 に記載の CT による *in vivo* イメージング方法。

【請求項 3】

前記造影剤が、前記被験体における褐色および / またはベージュ脂肪組織 (BAT) の活性の非侵襲的な *in vivo* イメージング、定量化、および / またはモニタリングに適応される、請求項 1 または 2 に記載の CT による *in vivo* イメージング方法。

【請求項 4】

前記造影剤が、一般式 I による 10 ~ 20 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸の生体適合性ナノエマルジョンからなる、請求項 2 または 3 に記載の CT による *in vivo* イメージング方法。

【請求項 5】

前記造影剤が、一般式 I による 16 ~ 18 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸の生体適合性ナノエマルジョンからなる、請求項 2 ~ 4 のいずれか一項に記載の CT による *in vivo* イメージング方法。

【請求項 6】

前記ヨウ素化脂肪酸がヨウ素化リノレン酸である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の CT による *in vivo* イメージング方法。

【請求項 7】

前記ナノエマルジョンが、レシチン、脂肪アルコールとのポリエチレングリコールエーテル、ポリソルベートおよびソルビタンエステルまたはそれらの混合物の中から選択される生体適合性乳化剤を含む、請求項 2 ~ 6 のいずれか一項に記載の CT による *in vivo* イメージング方法。

【請求項 8】

前記ナノエマルジョン中の前記生体適合性乳化剤の量が、総ナノエマルジョンの 5 ~ 30 % (w/w) の間である、請求項 7 に記載の CT による *in vivo* イメージング方法。

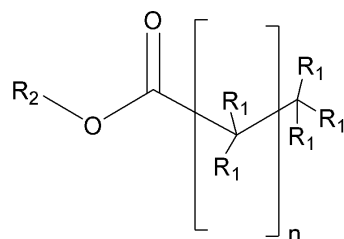
【請求項 9】

前記経口 CT 造影剤が、体重 1 グラム当たりヨウ素 0.5 ~ 1.6 mg に相当する用量で投与される、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の CT による *in vivo* イメージング方法。

【請求項 10】

被験体における心臓のコンピュータ断層撮影による *in vivo* イメージング方法であって、一般式 I による 4 ~ 24 の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および / またはエステルおよび / または塩および / またはそれらの混合物の生体適合性ナノエマルジョンを含む造影剤を経口投与することを含む方法：

【化 2】



式 I

式中、 $n = 2 \sim 22$  であり；

$\text{R}_1$  は H または I であり、ただしヨウ素原子の数は 1 ~ 6 であり、前記ヨウ素原子は一つの原子に同種原子が二つ結合したものでも隣接でもなく；

かつ式中  $\text{R}_2$  は H、不飽和または飽和、直鎖または分枝状アルキル、アルキル、アルコキ

10

20

30

40

50

シアルキル、ヒドロキシアルコキシアルキル、ポリヒドロキシアルキル、ヒドロキシポリアルキレンオキシアルキルである。

【請求項 1 1】

一般式 I による 4 ~ 24 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および / またはエステルおよび / または塩および / またはそれらの混合物は、生体適合性ナノエマルジョンの形態である、請求項 1 0 に記載の C T による *in vivo* イメージング方法。

【請求項 1 2】

前記造影剤が、一般式 I による 16 ~ 18 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸の生体適合性ナノエマルジョンからなる、請求項 1 1 に記載の C T による *in vivo* イメージング方法。

10

【請求項 1 3】

前記ヨウ素化脂肪酸がヨウ素化リノレン酸である、請求項 1 0 ~ 1 2 のいずれか一項に記載の C T による *in vivo* イメージング方法。

【請求項 1 4】

前記造影剤が、前記被験体における心臓の可視化およびその機能の評価のためのものである、請求項 1 0 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の C T による *in vivo* イメージング方法。

【請求項 1 5】

前記経口 C T 造影剤が、体重 1 グラム当たりヨウ素 0.5 ~ 1.6 mg に相当する用量で投与される、請求項 1 0 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の C T による *in vivo* イメージング方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、褐色脂肪組織および / もしくはベージュ脂肪組織の非侵襲的可視化および定量化、または被験体の心臓および / もしくは肝臓のイメージングのための脂肪酸誘導体で作られたヨウ素化 C T 造影剤に関する。有利なことに、この造影剤は、経口摂取されるべきであり、それは、C T イメージングにおける飛躍的進歩である。C T によるイメージング分解能は、PET と比較して有意に増強される。

【背景技術】

30

【0002】

肥満は、主要な健康問題である。その主な結果の 1 つは、2 型糖尿病発症である。それは、主に高糖質食と高脂肪のほか、運動不足によるものであり、そのためエネルギー消費が不十分である。この過剰なエネルギー摂取は、主に白色脂肪組織 (WAT) 中のトリグリセリドとして貯蔵される。この過剰なエネルギー摂取を打ち消す 1 つの選択肢は、この高カロリー摂取を補うことができるエネルギー消費の増加を強制することであろう。多くの研究は、褐色脂肪組織 (BAT) またはベージュ脂肪組織が熱として過剰なエネルギーを放散し、エネルギー消費を増加させることを実証した。また、BAT が主に冬眠動物に存在するとしても、成人と同様にヒト乳児にも認められることが示されている。

【0003】

40

褐色脂肪組織またはベージュ細胞は、グルコースと脂肪酸を消費し、熱中に放散し、このようにして脂肪酸循環を減少させ<sup>1</sup>、グルコース代謝を改善する。BAT では、脱共役タンパク質 1 (UCP1) と名づけられたタンパク質が、熱としてこのエネルギー放散を担っている。ミトコンドリアの内膜に存在するこのタンパク質は呼吸鎖を脱共役させ、ATP の産生を減少させ、熱として過剰なプロトン勾配を放散させる。さらに最近では、UCP1 を発現する脂肪細胞が白色脂肪組織 (WAT) に存在することが示され、ベージュまたはブライト脂肪細胞と命名されている<sup>1</sup>。残念ながら、それらの役割と活性はほとんど知られておらず、褐色脂肪細胞と比較して代謝におけるそれらの部分も同様である。成人のヒトは BAT が非常に少ないと思われ、一方皮下 WAT には誘導性ベージュ脂肪細胞が多いので、この質問は非常に興味深い<sup>2</sup>。

50

## 【 0 0 0 4 】

W A T 褐変剤の開発と評価はますます重要視されている。したがって、*in vivo* および経時的に評価する方法では、ベージュ脂肪細胞および褐色脂肪細胞の存在および機能に対するこれらの剤の効果が極めて重要となる。 $^{18}\text{F}$  D G - P E T は褐色脂肪組織を評価するための優れたイメージング様式であるが、いくつかの限界がある<sup>1</sup>。グルコースは B A T 活性化時に取り込まれるが、主な基質は脂肪酸と考えられている<sup>3</sup>。したがって、 $^{18}\text{F}$  D G - P E T で測定したグルコース取込は、軽度の低温曝露のような生理的に有意な条件下で B A T 活性を過小評価し得た。さらに、2 型糖尿病 ( T 2 D ) におけるインスリン抵抗性のようないくつかの病的状態は、 $^{18}\text{F}$  D G - P E T による B A T 活性の定量化を緩和またはバイアスし得た。さらに、 $^{18}\text{F}$  - フルオロ - チアヘプタデカン酸 (  $^{18}\text{F}$  T H A ) のような P E T のための脂肪酸トレーサは、B A T イメージングのために既に試験されたが、ヒトにおいて低シグナルを提供すると思われる。

10

## 【 0 0 0 5 】

リピオドール ( 米国では E t h i o d o l と名前を付けられている ) は、エチオジン化油としても知られており、放射線不透過性造影剤として注射によって使用されるケシの実油であり、放射線学的検査における構造の輪郭を描出するために使用される。また、フローアップイメージングにおける造影剤として化学塞栓術の適用にも使用される。リピオドールは、リンパ系のイメージングであるリンパ管造影でも用いられる。それは、シアノアクリレートの重合に影響しない希釈剤として、胃静脈瘤閉塞に追加的に使用される。

## 【 0 0 0 6 】

近年、原因不明の不妊症の管理における治療薬としてのリピオドールの使用に関心が高まっており、リピオドールフラッシングと呼ばれる手順を用いている。原因不明の不妊症患者において、試験管を通して媒体を洗い流すと短期的に生殖能力が上昇することを示唆する少数の研究がある。系統的レビューでは、特にリピオドールフラッシングを使用している子宮内膜症の女性では、生殖能力が有意に増大することが示唆されている。

20

## 【 0 0 0 7 】

歴史的に、リピオドールは、子宮卵管造影 ( H S G : 卵管開存性を決定するための手順、低妊孕率の調査に用いられる ) で造影剤としてしばしば使用された。1960 年代から 1980 年代にかけて、より現代的な水溶性媒体が解釈しやすい画像を与えるため、それは、あまり一般的に利用されなくなった。また、静脈系への流体の血管内漏出 ( リーク ) が過去に合併症を引き起こしているという点で、リピオドールの安全性上の重要な問題がある。ヨード化ケシ油エチルエステルは、主としてモノヨードステアリン酸エチルおよびジヨードステアリン酸エチルとして、ケシ油の脂肪酸のエチルエステルとヨウ素とを配合したものである。正確な構造は知られていない。

30

## 【 0 0 0 8 】

リピオドールはまた、甲状腺腫、成長および精神遅滞、またはクレチン症などのヨウ素欠乏性疾患の予防のために経口で使用する事ができる。リピオドールおよび他のヨウ素添加油も、食塩によるヨウ素化がまだ成功に確立されていない妊婦のヨウ素欠乏症を予防するために成功に使用されている。

## 【 0 0 0 9 】

非特許文献 1 において、X 線前臨床イメージングのための造影剤の設計における重要な側面が提示される。第 1 のものは、市販のヨウ素化油から調合された長い循環造影剤の単純な製剤であり、その結果、市販の 2 倍を超えるヨウ素濃度の造影剤を含む C T 造影剤が得られる。第二の点は、バルク相における残留界面活性剤を減少させ、懸濁液中の液滴 ( およびヨウ素 ) を濃縮するのに役立つ接線濾過を利用する方法論的側面である。最後の点は、マウスに対するナノエマルジョン液滴の薬物動力学および生体内分布に対する遊離界面活性剤の影響に関するより一般的な側面である。

40

## 【 0 0 1 0 】

さらに、非特許文献 2 は、ラットモデルにおける実験的肝腫瘍のコンピュータ断層撮影 ( C T ) イメージングのためのヨウ素化油エマルジョンを開示している。ヨウ素化油エマ

50



ルジョンによって達成される肝臓の増強は、血液プール増強の特性を有して細網内皮系特異的であり、現在の水溶性剤で達成可能なものよりも長く持続する。したがって、この薬剤は、肝転移の診断に有意な利点をもたらす可能性がある。

#### 【 0 0 1 1 】

特許文献 1 は、X 線造影剤として使用され、水相で乳化された 1 つ以上のヨウ素化脂質を含有するエマルジョンに関する。エマルジョンは、その安定性を高めるために、1 以上のアミノ酸、脂肪酸またはそれらの塩、脂溶性ビタミンおよび / または尿素を含有する。さらに、エマルジョンは、1 つ以上の薬理学的に許容される油脂を含有していてもよい。安定性増強剤により、オートクレープで滅菌可能で、エマルジョン切断なしに長期間保存できるようなヨウ素化脂質のエマルジョンを調製することができた。

10

#### 【 0 0 1 2 】

非特許文献 3 は、血管周囲脂肪組織 ( P V A T ) が主要動脈を取り囲み、内皮機能を調節することを開示する。健常 P V A T は組織学的に褐色脂肪組織 ( B A T ) 表現型を有し、抗炎症、血管弛緩特性を有し、肥満では認められない。本研究の仮説は、ヨウ素化脂肪酸と組み合わせたマイクロコンピュータ断層撮影 ( m i c r o C T ) を用いた分子イメージングが、安静時の健常マウス P V A T を検出し、薬理学的または生理学的介入後の P V A T の動的变化を同定できるというものである。

#### 【 0 0 1 3 】

それにもかかわらず、今日では、褐色およびベージュ状組織のイメージングのための特定の C T 造影剤が不足しており、これは、この組織を i n v i v o で検出、イメージングおよびモニタリングすることが困難であることを意味している。C T スキャン上のいくつかの領域は、C T 造影剤を利用せずに褐色脂肪組織と定義することができるという事実にもかかわらず、非専門家は、新世代の C T 造影剤の利用による褐色脂肪組織またはベージュ脂肪組織の検出限界、定量化および品質のかなりの進歩を評価するであろう。白色脂肪組織内に散在し、造影剤なしでは可視化できないベージュ脂肪細胞を考える場合に特に当てはまる。

20

#### 【 0 0 1 4 】

また、種々の投与経路のうち、経口投与が最も受け入れやすく、経済的な方法であると考えられる。注射剤は、造影剤、特に静脈内 ( I V ) 注入を投与する経験豊富な専門家が必要であるため、通常、病院で投与される。典型的には、ヨード造影剤を使用する静注 C T 検査を受ける前に、患者に「インフォームド・コンセント用紙」に署名してもらう。この書式では、ヨウ素の潜在的な副作用について概説する。重篤な反応としては、息苦しさ、のどの腫れ、体の他の部位の腫れが挙げられ得る。これらの副作用は、ただちに処置しなければ、より重篤になる可能性がある。反対に、経口製剤は投与がより容易で、安全で望ましい濃度を達成するため、経口 ( P O ) 経路を理想的な選択とする。

30

#### 【 0 0 1 5 】

経口造影剤は、消化管の C T 画像を強調するためにしばしば使用される。経口 C T 造影剤には 2 種類の異なる物質が使用されている。第 1 の造影剤である硫酸バリウムは、C T で使用される最も一般的な経口造影剤である。第 2 の種類の造影剤はバリウムの置換として使用されることがあり、ガストログラフィンと呼ばれている。患者は通常、経口造影剤で胃と腸を十分に満たすために、少なくとも 1 0 0 0 ~ 1 5 0 0 c c を飲む必要がある。本発明の造影剤は、腸によって食事性脂肪と同様に吸収されるので、消化管イメージングには十分に適していない可能性がある。血液コンパートメントに吸収された後、それは、後述するいくつかの器官に優先的に取り込まれるであろう。逆に、消化管検査のための硫酸バリウムまたはヨード造影剤は、内部 ( 非経口 ) 臓器をイメージングするためのいかなる目標もなく腸をイメージングするために使用される。

40

#### 【 先行技術文献 】

#### 【 特許文献 】

#### 【 0 0 1 6 】

【 文献 】 欧州特許第 0 2 9 4 5 3 4 A 1 号 ( K A B I V I T R U M A B [ S E ] )

50

## 【非特許文献】

【0017】

【文献】Francois Hallouard et al. "Iodinated nano-emulsions as contrast agents for preclinical X-ray imaging: Impact of the free surfactants on the pharmacokinetics" European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, vol. 83, no. 1, 1, 2013年1月、pp 54 - 62, XP055443136

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, 2010年8月1日、Pages 985 - 991, XP027119104

10

Zhuang Zhen W et al. "CT Molecular Imaging of Perivascular Adipose Tissue and Its Linkage to Vascular Disease" CIRCULATION, vol. 134, no. Suppl. 1, 2016年11月11日、XP002777573

## 【発明の概要】

20

## 【発明が解決しようとする課題】

【0018】

残念ながら、現在のところ、褐色脂肪組織およびベージュ脂肪組織の脂肪代謝を視覚化および定量化するため、または被験体の心臓もしくは肝臓をイメージングするために経口摂取することができるCT造影剤はない。従って、経口ヨウ素化CT造影剤を提供することによって、これらの重大な技術的問題を克服することが本発明の目的である。

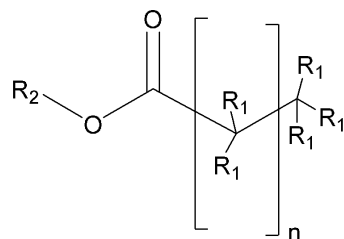
## 【課題を解決するための手段】

【0019】

本発明の目的の1つは、一般式Iによる4～24個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および/またはエステルおよび/または塩および/またはそれらの混合物の生体適合性ナノエマルジョンを含む造影剤を被験体に経口投与することを含む、コンピュータ断層撮影(CT)非経口器官によるin vivoイメージングの方法を提供することであり：

30

【化1】



式I

40

式中、 $n = 2 \sim 22$ であり；

$\text{R}_1$ はHまたはIであり、ただしヨウ素原子の数は1～6であり、ヨウ素原子は一つの原子に同種原子が二つ結合したものでも隣接でもなく；

かつ式中 $\text{R}_2$ はH、不飽和または飽和、直鎖または分枝状アルキル、アルコキシアリル、ヒドロキシアリル、ポリヒドロキシアリル、ヒドロキシポリアルキレンオキシアリルである。

【0020】

驚くべきことに、前記CT造影剤は、経口使用(すなわち経口)に適応されている。

【0021】

本発明の別の目的は、被験体におけるコンピュータ断層撮影褐色および/またはベージュ

50

ユ脂肪組織（B A T）による *i n v i v o* イメージングの方法を提供することであり、一般式 I（上記で定義したように）による 4 ~ 24 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および／またはエステルおよび／または塩および／またはそれらの混合物の生体適合性ナノエマルジョンを含む造影剤を経口投与することを含む。

【0022】

本発明のさらなる目的は、上述の一般式 I による 4 ~ 24 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および／またはエステルおよび／または塩および／またはそれらの混合物の生体適合性ナノエマルジョンを含む造影剤を経口投与することを含む、被験体における心臓または肝臓のコンピュータ断層撮影による *i n v i v o* イメージングの方法を提供することである。

10

【0023】

本発明の他の目的および利点は、以下の図示図面および付随するクレームを参照しながら進める、続く詳細な説明のレビューから、当業者に明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0024】

【図1】ジヨードステアリン酸、賦形剤（T w e e n 80、S p a n 80）で調製したナノエマルジョンの水中での径分布を示す。油滴の平均サイズは、動的光散乱によって決定して約 100 nm であった。

【図2】ジヨードステアリン酸、賦形剤（T w e e n 80、S p a n 80）および水を用いた三元ナノエマルジョンプロットを図示する。白い点はナノエマルジョンを表し、黒い点はナノエマルジョンまたは相分離がないことを表す。

20

【図3】ナノエマルジョンの経口投与前と24時間後のマウスのC T スキャン軸方向像を示す。

【図4】ナノエマルジョン経口摂取前後の褐色脂肪組織増強動態を示す。

【図5】6度で飼育したマウスの褐色脂肪組織およびベージュ脂肪組織の3D表示、ならびにマウス体内の褐色脂肪およびベージュ脂肪の各デポの詳細な説明を示す。

【図6】ナノエマルジョンの経口投与なしの、および7時間後のマウスのC T スキャン軸方向像を示し、心筋（図6a）および肝臓（図6b）の増強を明らかにする。

【発明を実施するための形態】

【0025】

30

コンピュータ断層撮影（C T）造影剤は、過去20年間で漸進的な改善を見るに過ぎない。それにもかかわらず、本出願人らは、褐色脂肪組織およびベージュ脂肪組織（B A T）の非侵襲的可視化および定量化のための脂肪酸誘導体で作られたヨウ素化C T造影剤を開発している。有利なことに、この造影剤は、経口摂取されるべきであり、それは、C Tイメージングにおける飛躍的進歩である。現在、褐色脂肪組織の脂肪代謝を視覚化および定量化するため、または被験体の心臓および肝臓をイメージングするために経口摂取できるC T造影剤はない。C Tによる画像分解能は、P E Tと比較して有意に増強される。

【0026】

甲状腺腫を処置するため、または原発事故の場合には、ヨウ素化油の投与に経口経路が一般的に用いられているが、この投与経路は、非経口器官のC Tイメージングのための造影剤を送達するための手段として記載されたことはない。また、本出願人らが実施した実験では、ヨウ素化脂肪酸の *i v*（静脈内）注射後に毒性が認められ、完全かつ速やかな吸収が認められ、経口投与後の悪影響は認められなかった。

40

【0027】

このヨード化C T造影剤を前臨床または臨床レベルで使用することで、褐色脂肪組織およびベージュ脂肪組織の活性を高めることを目的とした処置の評価およびモニタリングも可能となり、糖尿病および肥満を処置する有望なアプローチである。

【0028】

放射性  $^{18}\text{F}$ -デオキシグルコース-P E Tは、B A Tを非侵襲的に評価するための優位なイメージング様式であるが、いくつかの限界に悩まされている。 $^{18}\text{F}$ D G-P E T

50

で測定したグルコース取込は、軽度の風邪のような生理学的に有意な条件下でB A T活性を過小評価し得た。さらに、2型糖尿病におけるインスリン抵抗性のようないくつかの病理状態は、 $^{18}\text{F}$  D G - P E TによるB A T活性の定量化を緩和またはバイアスする可能性がある。P E Tと比較して、C Tによる画像分解能は有意により良好であり、放射線量を減らすことができ、C T技術は世界中の臨床でより広く利用可能である。

【0029】

ここに記載のものと類似または同等の方法および材料は本発明の実行または試験に使用できるが、適切な方法および材料は下記に記載されている。すべての刊行物、特許出願、特許、ならびにここで言及されている他の参考文献が、その全体において参考文献として取り入れられている。本明細書で考察される刊行物および出願は、本出願日前の開示のみを目的として提供されるものである。本明細書のいかなるものも、本発明が先行発明のためにそのような刊行物に先行する権利を与えられないという承認として解釈されるべきではない。加えて、材料、方法および実施例は説明的なものに過ぎず、限定的なことを意図しない。

【0030】

抵触する場合は、定義を含む本明細書が支配する。

別途定義されない限り、本明細書で使用される全ての専門用語および科学用語は、本明細書の主題が属する当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書中で使用されるように、本発明の理解を促進するために、以下の定義が提供される。

【0031】

用語「含む」は、包含する意味で一般的に使用され、すなわち、1以上の特徴または構成要素の存在を許容する。

【0032】

明細書および特許請求の範囲で使用されるように、文脈が別途明確に指示する場合を除き、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」および「その(the)」に複数の参照を含む。

【0033】

本明細書中で使用される用語「被験体」または「患者」は、当技術分野において十分に認識されており、本明細書中では、イヌ、ネコ、ラット、マウス、サル、ウシ、ウマ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、ラクダ、および最も好ましくはヒトを含む哺乳動物に言及するために互換可能に使用する。いくつかの実施形態において、被験体は、診断を必要とする被験体、または診断された疾患もしくは障害を有する被験体である。しかしながら、他の実施形態では、被験体は健常な被験体であり得る。この用語は、特定の年齢または性別を示さない。したがって、成人および新生児の被験体は、男女を問わず、対象とすることが意図されている。

【0034】

用語「エマルジョン」は、通常、不混和性である他の液体中に分散された1つの液体の液滴のコロイド系を指すと解釈される；このような定義は、水および液体脂肪酸またはその誘導体の系のみを包含し、固体脂肪酸またはその誘導体の分散体を包含しないであろう。

【0035】

用語「ナノエマルジョン」は、固体または液体の脂肪酸またはそれらの誘導体のコロイド系を水中に包含するために本明細書で使用される；油相の分散粒子の正確な物理的形態は確かではないが、粒子はおそらく固体、半固体または液体である。ナノエマルジョンの平均サイズはnm範囲であり、好ましくは1000nm以下である(図1参照)。

【0036】

本発明の文脈における「非経口器官」という用語は、口および/または消化管(すなわち、胃腸管)よりも身体の他の箇所の器官をイメージングすることを指す。非経口器官は、腸の外に位置するかまたは発生する器官を表し、従って、器官の最終的な位置を指し、投与経路を指さない。この定義は、体内ではあるが、腸または消化管の外に位置する器官(また本明細書中で「内臓」という)を指す。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 3 7 】

本発明を効果的に運ぶ際に使用される用語「ヨウ素化脂肪酸」は、分子中に少なくとも 4 個および好ましくは 2 4 個以下の炭素原子を含む直鎖状または分枝状の飽和脂肪族カルボン酸、例えば、ヨウ素化オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、ステリドン酸、アラキドン酸、エレイン酸、ゴンド酸、エルカ酸、ドコサテトラエン酸、エイコサペンタエン酸またはドコサヘキサエン酸および類似のものであり、互いに単独で使用されるかまたは少量の他の脂肪酸と共に投与され得る。それらは、天然または合成脂肪酸アルケン二重結合のヒドロヨウ素化 (hydroiodination) 反応の結果として、最大数のヨウ素原子を含む。本発明はまた、「過ヨウ素化」脂肪酸および/またはそのエステルを包含し、この用語は、その化学構造内に可能な最大量のヨウ素原子を有するヨウ素化脂肪酸および/またはエステルを指す。本発明の特定の実施形態によれば、過ヨウ素化脂肪酸および/またはそのエステルが好ましい。

10

## 【 0 0 3 8 】

本発明によれば、本発明のヨウ素化脂肪酸化合物の薬学的に許容可能な塩も包含される。

## 【 0 0 3 9 】

本明細書中で使用される場合、語句「薬学的に許容可能な塩」(本明細書中では「塩」とも呼ばれる)は、本発明のヨウ素化脂肪酸化合物の遊離酸の生物学的有効性を保持し、かつ生物学的にまたは他の点で所望されないものではない塩を指す。一般式 (I) のヨウ素化脂肪酸化合物の薬学的に許容可能な塩は、薬学的に許容可能な酸を有する酸付加塩である。

20

## 【 0 0 4 0 】

無機塩基、例えば水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウム、水酸化亜鉛、水酸化亜鉛、または有機塩基、例えば水酸化アンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリメチルアミン、モルホリン、ピペラジン、L-アルギニン、4-フェニル-シクロヘキシルアミン、ベネタミン (benethamine)、ベンザチン、ベタイン、ヒドラバミン、4-(2-ヒドロキシエチル)モルホリン、1-(2-ヒドロキシエチル)-ピロリジン、1-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン、N-メチルグルカミン、N,N,N-トリメチルエタノールアミンヒドロキシド、トロメタミン等による遊離酸の処理を含む当技術分野で公知の任意の適切な方法によって、所望の塩を調製することができる。

30

## 【 0 0 4 1 】

一般に、塩は、遊離酸を、2 ~ 10 個の炭素原子を含む低級アルカノール、対称もしくは不斉エーテル、アルキルエステル、またはそれらの混合物のような有機溶媒中に充填し、次いで化学量論的量で処理するか、または無機もしくは有機塩基を形成する所望の塩の過剰で処理して、対応する塩を形成することによって調製される。塩は、例えば溶液の蒸発によって、または混合物から所望の塩の濾過によって、標準的な回収技術によって回収されるか、または塩が不溶性であり、そこから回収される溶媒の添加によって沈殿させることができる。

## 【 0 0 4 2 】

種々の反応を行うのに適した無機溶媒および有機溶媒の例としては、反応物または生成物に悪影響を及ぼさない任意の無機溶媒または有機溶媒が挙げられ、これには、塩化メチレンなどのハロゲン化溶媒、クロロホルム、ジエチルエーテルなどのエーテル溶媒、およびテトラヒドロフラン、ジオキサン、ジグリム、シクロオクタン、ベンゼンまたはトルエン、ヘプタン、シクロヘキサン、脂肪族ならびに脂環式および芳香族炭化水素溶媒、水、水溶液、有機および無機混合溶液、酢酸エチル、酢酸プロピルなどの他の溶媒およびそれらの混合物が含まれる。

40

## 【 0 0 4 3 】

塩中に含まれる好ましい無機カチオンは、リチウム、ナトリウム、カリウム、ルビジウム、アンモニウム、カルシウム、マグネシウム、亜鉛およびマンガンである。

## 【 0 0 4 4 】

50

化学において、本明細書で使用される用語「一つの原子に同種原子が二つ結合した」は、同一原子に結合している2つの原子または官能基の間の関係を指す。

【0045】

関連する用語「隣接」とは、隣接する原子に結合している2つの官能基間の関係を指す。現在、隣接する炭素原子（すなわち隣接）にヨウ素原子を結合したヨウ素化脂肪酸および/またはそのエステルを合成することはほとんど不可能である。立体障害のため、これらの分子は不安定であり、本発明の目的に使用することができない。しかし、将来的には、当業者がこの問題に対する技術的解決策を見出すことが可能であろう。したがって、隣接位置にヨウ素原子を有する安定なヨウ素化脂肪酸および/またはそのエステルが提供される場合には、これらの化合物は本発明の技術的問題を解決するのにも適していると考えられる。

10

【0046】

本明細書中で使用する場合、用語「アルキル」は、任意の長鎖または短鎖、直鎖または分枝脂肪族飽和または不飽和炭化水素基を含む。不飽和アルキル基はモノ-またはポリ不飽和であってよく、アルケニル基およびアルキニル基の両方を含む。このような基は、40個までの炭素原子を含むことができる。しかしながら、最大10個、例えば8個、より好ましくは最大6個、特に好ましくは最大4個の炭素原子を含むアルキル基が好ましい。

【0047】

用語「アルコキシル」は、-O-アルキルを表す。アルコキシルの例は、C1~C6アルコキシルであり、これは、酸素原子に1から6個の炭素原子が結合している直鎖または分枝したアルキル鎖を表す。例示的なC1~C6アルコキシル基は、メトキシル、エトキシル、プロポキシル、イソプロキシル、ブトキシル、sec-ブトキシル、t-ブトキシル、ペントキシル、ヘキシル等を含んでいる。C1~C6アルコキシルは、その定義内でC1~C4アルコキシルを含む。

20

【0048】

本明細書中で使用される用語「アリール」は、炭素環または複素環、芳香族、5~14員環単環式または多環式環を指す。例示的なアリールは、フェニル、ナフチル、アントリル、フェナントリル、チエニル、ピロリル、イミダゾリル、ピラゾリル、フリル、イソチアゾリル、フラザニル、イソオキサゾリル、チアゾリル、ピリジル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、トリアジニル、ベンゾ[b]チエニル、ナフト[2,3-b]チアントレニル、イソベンゾフラニル、クロメニル、キサンテニル、フェノキサチエニル、インドリジニル、イソインドリル、インドリル、インダゾリル、プリニル、イソキノリル、キノリル、フタラジニル、ナフチリジニル、キノキシアリニル、キンゾリニル、ベンゾチアゾリル、ベンズイミダゾリル、テトラヒドロキノリニル、シンノリニル、プテリジニル、カルバゾリル、-カルボリニル、フェナントリジニル、アクリジニル、ペリミジニル、フェナントロリニル、フェナジニル、イソチアゾリル、フェノチアジニル、およびフェノキサジニルを含む。

30

【0049】

有機化学では、「飽和」化合物とは、炭素原子が単結合でつながった鎖をもつ化合物である。アルカンは、飽和炭化水素である。「不飽和」化合物とは、それぞれアルケンまたはアルキンにみられるような炭素-炭素二重結合または三重結合を含む化合物である。飽和および不飽和化合物は、炭素原子鎖のみからなる必要はない。これらは、直鎖、分枝鎖、または環状配列を形成することができる。それらはまた、官能基をもつこともある。この意味では、脂肪酸は飽和または不飽和に分類される。脂肪酸の不飽和の量は、そのヨウ素数を知ることによって決定できる。

40

【0050】

不飽和化合物は、付加反応を得ることができるものである。脂肪酸のような炭素鎖では、二重または三重結合が鎖にねじれを起こす。これらのねじれは、マクロ構造的に意味がある。不飽和脂肪は固体ではなく、室温で液体になる傾向があり、これは、鎖のねじれが分子同士が密に詰まって固体を形成するのを妨げるためであり、これらの脂肪は油と呼ば

50

れる。

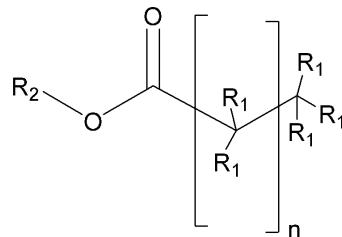
【 0 0 5 1 】

用語「ポリヒドロキシ」またはポリヒドリックとは、1分子あたり2つ以上の水酸基を含む化合物を指す。

【 0 0 5 2 】

本発明の目的は、一般式 I による 4 ~ 24 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および / またはエステルおよび / または塩および / またはそれらの混合物の生体適合性ナノエマルジョンを含む造影剤を被験体に経口投与することを含む、コンピュータ断層撮影 (CT) 非経口器官による *in vivo* イメージングの方法を提供することである：

【化 2】



式 I

式中、 $n = 2 \sim 22$  であり；

$R_1$  は H または I であり、ただしヨウ素原子の数は 1 ~ 6 であり、ヨウ素原子は一つの原子に同種原子が二つ結合したものでも隣接でもなく；

かつ式中  $R_2$  は H、不飽和または飽和、直鎖または分枝状アルキル、アルコキシアリル、ヒドロキシアリル、ポリヒドロキシアリル、ヒドロキシポリアリレンオキシアリルである。

【 0 0 5 3 】

驚くべきことに、前記 CT 造影剤は、経口使用（すなわち経口）に適応されている。

【 0 0 5 4 】

好ましくは、 $R_2$  基は単置換または多置換であり得る。適当な  $R_2$  基は、アルキル置換基の組、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、*t*-ブチル、シクロプロピルメチル、ペンチル、イソペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、ヘプチル、イソヘプチル、オクチル、イソオクチル、2-プロペニル、アリル、クロチル、1-ブテニル、2-ブテニル、ブタジエニル、エチニル、1-プロピニル、2-プロピニル、1-ブチニル、2-ブチニル、3-ブチニルおよびプロパギル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、アダマンチル；アリール置換基、例えばフェニル、ナフチル、アニシル、トルイル、キシレニル、アリーロキシ、アラルキル、アラルキルオキシ、ヘテロアリール基（ピリミジン、モルホリン、ピペラジン、ピペリジン、チオフェン）、1-シクロヘキシルプロピル、またはハロアルキル置換基、例えばフルオロメチル、1-フルオロエチル、2-フルオロエチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメチルおよびペンタフルオロエチル、クロロジメチル、クロロメチル、2-クロロエチル、2,4-ジクロロフェニル、1,1,2,2-テトラクロロエチル、1-クロロブチル、および4-クロロベンジルを含むことができるが、それらに限定されない。

【 0 0 5 5 】

それは、置換アルキル基、例えば9-フルオレニルメチル、メトキシエトキシメチル、テトラヒドロピラニル、ピパリルオキシメチル、フェニルアセトキシメチル、フェナシル、および置換フェナシル、例えば *p*-プロモフェナシル、*p*-メトキシフェナシル、およびまた *t*-ブチル、3-メチル-3-ペンチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、アリル、3-ブテン-1-イル、シンナミル、オキサゾール、および2-アルキル-1,3-オキサゾリンを含むことができる。

【 0 0 5 6 】

それはまた、アルキルアリール、例えばベンジル、置換ベンジル、例えばトリフェニルメチル、*p*-メトキシベンジル、4-ピコリル、ジポフェニルメチルフェニルエチル、置

10

20

30

40

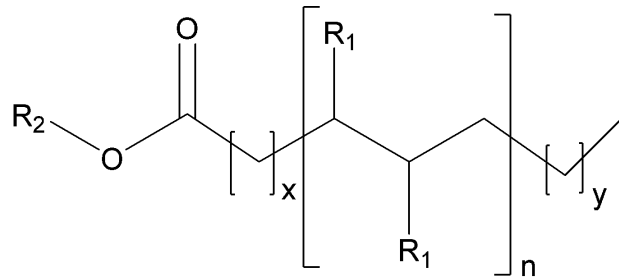
50

換フェニルエチル、しかしまたアルコキシアルキル、例えばメトキシメチル、エトキシメチル、プロポキシメチル、ブトキシメチル、メトキシエチル、エトキシエチル、プロポキシエチル、イソプロポキシエチル、ブトキシエチル、イソブトキシエチル、ヒドロキシアルコキシアルキル、例えばヒドロキシメトキシメチル、2 - ヒドロキシエトキシメチル、3 - ヒドロキシプロポキシメチル、4 - ヒドロキシブトキシメチル、ヒドロキシメトキシエチル、ヒドロキシメトキシプロピルヒドロキシメトキシブチル、ヒドロキシメトキシペンチル、ヒドロキシメトキシヘキシル、ポリヒドロキシアルキル、およびヒドロキシポリアルキレンオキシアルキルを含むことができる。

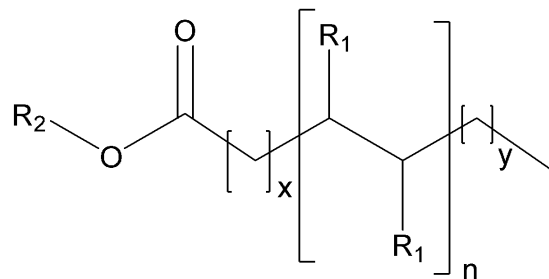
【 0 0 5 7 】

一般式 I による 4 ~ 24 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および / またはエステルおよび / または塩および / またはそれらの混合物は、使用される出発物質に応じて、以下のサブ式 A、B および C を含む。

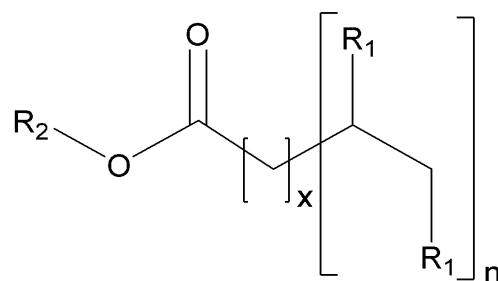
【 化 3 】



式 A



式 B



式 C

式中、n は 1 ~ 6 の整数であり、x、y は  $x = 0 \sim 20$  および  $y = 0 \sim 20$  および  $x + y \leq 20$  の炭素原子であり、ただし式 A、B または C の炭素原子の総数はそれぞれ 24 以下であり；

かつ式中  $R_2$  基は、単置換または多置換であってもよい。

【 0 0 5 8 】

したがって、適切な  $R_2$  基には、例えば非置換アルキル、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、ペンチル、イソペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、ヘプチル、イソヘプチル、オクチル、イソオクチル、および類似の、しかしまた置換されたアルキル基、例えば 9 - フルオレニルメチル、メトキシエトキシメチル、テトラヒドロピラニル、ピバリルオキシメチル、フェニルアセトキシメチル、フェナシルおよ

10

20

30

40

50



び置換フェナシル、例えば p - ブロモフェナシル、p - メトキシフェナシル、ならびにまた t - ブチル、3 - メチル - 3 - ペンチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、アリル、3 - ブテン - 1 イル、シンナミル、オキサゾール、2 - アルキル - 1, 3 - オキサゾリンおよび類似の基が含まれる。それはまた、アルキルアリアル、例えばベンジル、置換ベンジル、例えばトリフェニルメチル、p - メトキシベンジル、4 - ピコリル、ジフェニルメチルフェニルエチル、置換フェニルエチル、しかしまたアルコキシアルキル、例えばメトキシメチル、エトキシメチル、プロポキシメチル、ブトキシメチル、メトキシエチル、エトキシエチル、プロポキシエチル、イソプロポキシエチル、ブトキシエチル、イソブトキシエチル、ヒドロキシアルコキシアルキル、例えばヒドロキシメトキシメチル、2 - ヒドロキシエトキシメチル、3 - ヒドロキシプロポキシメチル、4 - ヒドロキシブトキシメチル、ヒドロキシメトキシエチル、ヒドロキシメトキシプロピルヒドロキシメトキシブチル、ヒドロキシメトキシペンチル、ヒドロキシメトキシヘキシル、ポリヒドロキシアルキル、ヒドロキシポリアルキレンオキシアルキルおよび類似の基を含む。

#### 【 0 0 5 9 】

本発明による 4 ~ 2 4 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および / またはエステルおよび / またはそれらの混合物は、異性体混合物または単一異性体として存在し得る。特定されていない場合には、両異性体を意図する。本発明の化合物が 1 つのキラル中心を含む場合、ヨウ素化化合物は、単一異性体 ( R もしくは S ) として、または異性体の混合物、例えばラセミ混合物として提供することができる。本発明のヨウ素化化合物が 1 つより多いキラル中心を含む場合、ヨウ素化化合物は、エナンチオマー的に純粋なジアステレオ異性体として、またはジアステレオ異性体の混合物として提供することができる。

#### 【 0 0 6 0 】

一実施形態では、本発明に係る 4 ~ 2 4 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および / またはエステルおよび / またはそれらの混合物は、少なくとも一つの不斉中心を有する。この不斉中心の結果として、本発明のヨウ素化化合物は、可能な立体異性体形態のいずれにおいても発生することができ、光学活性もしくはラセミ体であり得る立体異性体の混合物中で使用することができ、または単独で本質的に純粋な立体異性体、すなわち少なくとも 9 5 % 純粋なものとして使用することができる。すべての不斉形態、個々の立体異性体およびそれらの組み合わせは、本発明の範囲内である。

#### 【 0 0 6 1 】

本発明の実施態様によれば、4 ~ 2 4 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および / またはそのエステルの生体適合性ナノエマルジョンからなる経口造影剤は、4 ~ 2 4 個の炭素原子からなる異なる炭素鎖を有するいくつかまたは少なくとも 2 つのヨウ素化脂肪酸を含む混合物中で使用することができる。

#### 【 0 0 6 2 】

本発明の好ましい実施態様において、造影剤は、一般式 I による好ましくは 1 0 ~ 2 0 個の炭素原子およびより好ましくは 1 6 ~ 1 8 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸の生体適合性ナノエマルジョンからなる。

さらに好ましい実施態様において、ヨウ素化脂肪酸は、ヨウ素化リノレン酸である。

好ましくは、ヨウ素化脂肪酸は過ヨウ素化されている。

#### 【 0 0 6 3 】

特に、ナノエマルジョンは、レシチン、脂肪アルコールとのポリエチレングリコールエーテル、ポリソルベートおよびソルビタンエステルまたはそれらの混合物の中から選択される生体適合性乳化剤を含むことが好ましい。レシチン、ポリソルベート ( T w e e n s ) およびソルビタンエステル ( S p a n s ) 界面活性剤は、化粧品、食品、ならびに医薬処方物 ( 経口、非経口、および局所 ) において長期にわたり安全に使用されていることが立証されているため、好ましい。

好ましくは、ナノエマルジョン中の生体適合性乳化剤の量は、総ナノエマルジョンの 5 ~ 3 0 % ( w / w ) の間である。

#### 【 0 0 6 4 】

1つの実施形態において、本発明の方法の経口CT造影剤は、被験体における褐色および/またはベージュ脂肪組織(BAT)の活性の非侵襲的な*in vivo*イメージング、定量化、および/またはモニタリングに適応される。

【0065】

別の実施形態によれば、本発明の方法の経口CT造影剤は、被験体における肝脂肪症または肝腫瘍の非侵襲的な*in vivo*可視化および/または定量化に適応される。

【0066】

さらなる実施形態によれば、本発明の方法の経口CT造影剤は、心臓の非侵襲的な*in vivo*可視化および心機能の評価に適応される。

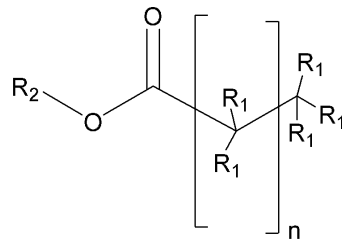
好ましい実施態様によれば、本発明の方法の経口CT造影剤は、体重1g当たりヨウ素0.5~1.6mgに相当する用量で投与される。

10

【0067】

本発明の別の目的は、被験体におけるコンピュータ断層撮影褐色および/またはベージュ脂肪組織(BAT)による*in vivo*イメージングの方法であって、一般式I(上記で定義したように)による4~24個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および/またはエステルおよび/または塩および/またはそれらの混合物の生体適合性ナノエマルジョンを含む造影剤を経口投与することを含む方法を提供することである：

【化4】



20

式I

式中、 $n = 2 \sim 22$ であり；

$\text{R}_1$ はHまたはIであり、ただしヨウ素原子の数は1~6であり、ヨウ素原子は一つの原子に同種原子が二つ結合したものでも隣接でもなく；

かつ式中 $\text{R}_2$ はH、不飽和または飽和、直鎖または分枝状アルキル、アルキル、アルコキシアルキル、ヒドロキシアルコキシアルキル、ポリヒドロキシアルキル、ヒドロキシポリアルキレンオキシアルキルである。

30

【0068】

特に、本発明の造影剤は、一般式Iによる好ましくは10~20個の炭素原子およびより好ましくは16~18個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸の生体適合性ナノエマルジョンからなる。さらに好ましい実施態様において、ヨウ素化脂肪酸は、ヨウ素化リノレン酸である。

【0069】

上記で定義したように、ナノエマルジョンは、レシチン、脂肪アルコールとのポリエチレングリコールエーテル、ポリソルベートおよびソルビタンエステルまたはそれらの混合物の中から選択される生体適合性乳化剤を含むことが好ましい。

40

好ましくは、ナノエマルジョン中の前記生体適合性乳化剤の量は、総ナノエマルジョンの5~30%(w/w)の間である。

【0070】

一実施形態では、本発明のCTによる*in vivo*イメージング方法のための造影剤は、被験体における褐色および/またはベージュ脂肪組織(BAT)の活性の非侵襲的な*in vivo*イメージング、定量化、および/またはモニタリングに適応される。

【0071】

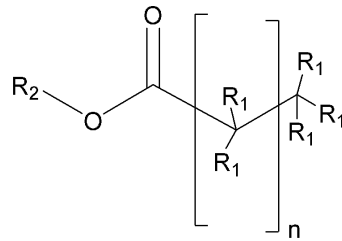
好ましい実施態様によれば、本発明の方法の経口CT造影剤は、体重1g当たりヨウ素0.5~1.6mgに相当する用量で投与される。

【0072】

50

本発明の更なる目的は、一般式 I（上記で定義したように）による 4 ~ 24 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および / またはエステルおよび / または塩および / またはそれらの混合物の生体適合性ナノエマルジョンを含む、被験体における心臓または肝臓のコンピュータ断層撮影による *in vivo* イメージングの方法を提供することである：

【化 5】



式 I

式中、 $n = 2 \sim 22$  であり；

$R_1$  は H または I であり、ただしヨウ素原子の数は 1 ~ 6 であり、ヨウ素原子は一つの原子に同種原子が二つ結合したものでも隣接でもなく；

かつ式中  $R_2$  は H、不飽和または飽和、直鎖または分枝状アルキル、アルキル、アルコキシアルキル、ヒドロキシアルコキシアルキル、ポリヒドロキシアルキル、ヒドロキシポリアルキレンオキシアルキルである。

【0073】

特に、本発明の造影剤は、一般式 I による好ましくは 10 ~ 20 個の炭素原子およびより好ましくは 16 ~ 18 個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸の生体適合性ナノエマルジョンからなる。さらに好ましい実施態様において、ヨウ素化脂肪酸は、ヨウ素化リノレン酸である。

【0074】

上記で定義したように、ナノエマルジョンは、レシチン、脂肪アルコールとのポリエチレングリコールエーテル、ポリソルベートおよびソルビタンエステルまたはそれらの混合物の中から選択される生体適合性乳化剤を含むことが好ましい。

【0075】

1 つの実施形態によれば、本発明の方法の経口 CT 造影剤は、被験体における肝脂肪症または肝腫瘍の可視化および / または定量化に適応される。

【0076】

肝臓は、体内の代謝産物の流れを調節する。肝臓の主要な細胞型である肝細胞は、循環血中から多くの物質、特に脂質を除去する。この特性は、肝細胞への脂質の蓄積である肝脂肪症の発症に重要である。肝細胞にとって重要な脂質の源は、貯蔵されたトリグリセリドと食物性脂肪の脂肪分解に由来する循環遊離脂肪酸 (FFA) である。本発明の造影剤は経口摂取されるため、食事性脂肪として同化される。したがって、有利には、ヨウ素化脂肪酸のナノエマルジョン（すなわち、本発明の造影剤）は肝細胞により取り込まれ、この取り込みは脂肪症の場合に増加するであろう。

【0077】

別の実施形態によれば、本発明の方法の経口 CT 造影剤は、被験体における心臓の可視化およびその機能の評価に適応される。

【0078】

長鎖脂肪酸は、心収縮活性のエネルギーの 70 ~ 80 % を供給する。脂肪酸は、単純な拡散、またはタンパク質を介した機構を介して心筋細胞に入ることができる。したがって、本発明の造影剤は、心筋により取り込まれて、CT スキャンで心筋の目に見える増強をもたらすであろう。

【0079】

好ましくは、本発明の方法の経口 CT 造影剤は、体重  $kg$  当たり 0.5 ~ 1.6  $g$  のヨウ素に相当する用量で投与される。

【0080】

10

20

30

40

50

しかしながら、ある実施形態では、ナノエマルジョンは、例えば、本発明の経口CT造影剤の体重g当たり少なくとも約0.01mgのヨウ素を含むことができる。他の実施形態では、ナノエマルジョンは、単位の重量の約0.1%～約75%、または約2%～約20%の間、例えば、そこで導出可能な任意の範囲を含み得る。

#### 【0081】

他の非限定的な例において、用量はまた、投与あたり約1μg/kg/体重、約100μg/kg/体重、約500μg/kg/体重、約1mg/kg/体重、約5mg/kg/体重、約10mg/kg/体重、約50mg/kg/体重、約100mg/kg/体重、約200mg/kg/体重、約300mg/kg/体重、約350mg/kg/体重、約400mg/kg/体重、約450mg/kg/体重、約500mg/kg/体重、約600mg/kg/体重、約700mg/kg/体重、約800mg/kg/体重、約900mg/kg/体重、約1000mg/kg/体重、約2000mg/kg/体重から約5000mg/kg/体重以上、およびその中で導出可能なあらゆる範囲を含んでもよい。本明細書に列挙した数から導出可能な範囲の非限定的な例では、約350mg/kg/体重～約1000mg/kg/体重、約50μg/kg/体重～約500mg/kg/体重等の範囲を投与することができる。

10

#### 【0082】

いずれにせよ、使用されるナノエマルジョンの用量は、診断される特定の状態、状態の重症度、年齢、身体状態、サイズおよび重量を含む個々の患者パラメータ、イメージングの継続期間、同時療法の性質（もしあれば）ならびに健康開業医の知識および専門知識の範囲内にある他の類似の因子に依存する。これらの因子は当業者に知られており、最小限のルーチンの実験で対処することができる。従って、最適投与量は、あらゆる特定の患者を診断している開業医によって決定され得る。

20

#### 【0083】

実際、褐色脂肪細胞またはベージュ脂肪細胞の主な基質は、グルコースよりも脂肪酸であると考えられている<sup>1</sup>。また、褐色脂肪組織を活性化するために、マウスを低温環境に置くかまたは薬学的に処理すると、CT造影剤が褐色脂肪細胞によってより多く取り込まれる理由である可能性もあり、同じCTスキャンから解剖学的および機能的情報を得ることができることを意味している。<sup>18</sup>FDG-PETのようなBATのための他の撮像方法は、BATの活性化を必要とするが、本出願人は、これらの組織の事前の活性化なしに、新規CT造影剤の使用により、BATおよびベージュ脂肪組織さえもイメージング可能であることを観察した。

30

#### 【0084】

第二に、マイクロCTの分解能は、マイクロPETの分解能（1mmオーダー）よりもはるかに優れており（10～100μm）、白色脂肪組織内のベージュ貯蔵物の正確な描出が可能である。白色脂肪組織内のベージュ脂肪組織をこのような精度で強調することができた画像法はこれまでにないため、この最後の特性は特に重要である。実際、ベージュ脂肪細胞は造影剤を取り込み、結果としてベージュ脂肪細胞と白色脂肪細胞のコントラストをかなり高めることになる。一方、白色脂肪細胞では造影剤は検出されない。

#### 【0085】

40

本出願人らの知る限り、この性能を非侵襲的かつin vivoで達成できるのは初めてである。<sup>18</sup>FDG-PETではほとんど不可能な心臓および血管周囲の小さなベージュ貯蔵物を、心臓信号自体からのスピルオーバー効果により正確に描出することが可能である。PVAT（血管周囲脂肪組織）および心臓脂肪組織の褐変を非侵襲的かつ正確に研究する可能性は、アテローム性動脈硬化症または高血圧症などの心血管疾患におけるそれらの役割の評価にも役立つ可能性がある。また、本出願人らは、鼠径部領域または膝窩領域の膝後方など、現在までほとんど記載されていなかったマウス新ベージュ貯蔵物においても、明確に同定することができた。さらに、本出願人らは、鼠径部脂肪パッド内の異なる小葉におけるベージュ貯蔵物の領域化を示すことができた。

#### 【0086】

50

また、本出願人らは、ＣＴスキャンを、通常ＰＥＴスキャンにのみ使用される、組織の代謝活性の指標をモニタリングするためのツールとして導入する。実際、 $\beta$ -３受容体を介した低温またはアドレナリン作動性活性化のような褐色またはベージュ脂肪を活性化する状態はＣＴ造影剤の取り込みの増加につながることを、本出願人らは示した。さらに驚くべきことに、本出願人らはまた、脂肪酸で構成される本発明のＣＴ造影剤が、志願者の放射線被曝の許容限界を考慮すると、ＰＥＴの使用で本当に困難である低い褐色脂肪組織活性化の状態でも検出可能であることを示した。 $^{18}\text{F}$ -フルオロ-チアヘプタデカン酸（ $^{18}\text{F}$ ＴＨＡ）<sup>４</sup>のようなＰＥＴのための脂肪酸トレーサは、ＢＡＴ画像のために既に試験されたが、ヒトにおいて低シグナルを提供すると思われる。

【００８７】

10

調製：

当業者に知られている式（Ⅰ）の４～２４個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および／またはそのエステルを調製するためのあらゆる適当な方法は、本発明の範囲に包含され得ると理解される。

【００８８】

化学合成

天然、半合成または合成起源の直鎖状または分枝状の不飽和脂肪酸またはその誘導体は、目的のヨウ素化分子を得るための出発材料として用いることができる。二重結合の数は、１～６で変化し得る。

【００８９】

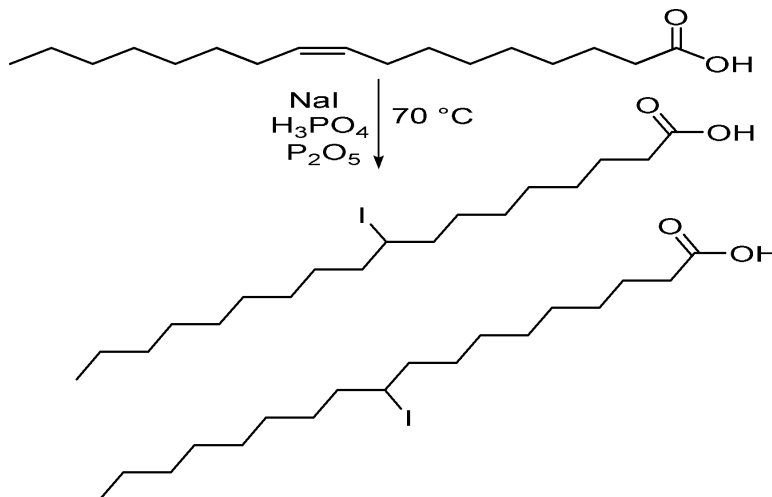
20

モノヨードステアリン酸の合成

磁気攪拌下でオルトリン酸（１．０ｍＬ）にリンペンチキシド（１７０ｍｇ、１．０ｍｍｏｌ）をゆっくり加えた。オレイン酸（１４１ｍｇ、０．５ｍｍｏｌ）およびヨウ化ナトリウム（１５０ｍｇ、１．０ｍｍｏｌ）を添加し、反応混合物を還流冷却下で７０℃で加熱した。２４時間後、反応混合物を周囲温度まで冷却し、酸を粗生成物から分離した。ジクロロメタン（２０ｍＬ）を加え、有機相をチオ硫酸ナトリウム（０．１Ｍ）で、有機相が無色になるまで洗浄した。有機相をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥した。溶媒を減圧下で蒸発させ、無色油状物を得、ジクロロメタン／メタノール勾配を用いたフラッシュクロマトグラフィーにより精製した（１８１ｍｇ、０．４４ｍｍｏｌ、収率８８％）。

30

【化６】



40

【００９０】

エチルモノヨードステアリン酸の合成

オレイン酸エチルは、公表されている手順<sup>５</sup>に従って合成した。簡単に説明すると、オレイン酸（２８２ｍｇ、１ｍｍｏｌ）、エチルアルコール（１７０ｍｍｏｌ、１５ｍＬ）および $\text{SnCl}_2$ （１９ｍｇ、０．１ｍｍｏｌ）を、６０℃で攪拌した。１６時間後、反

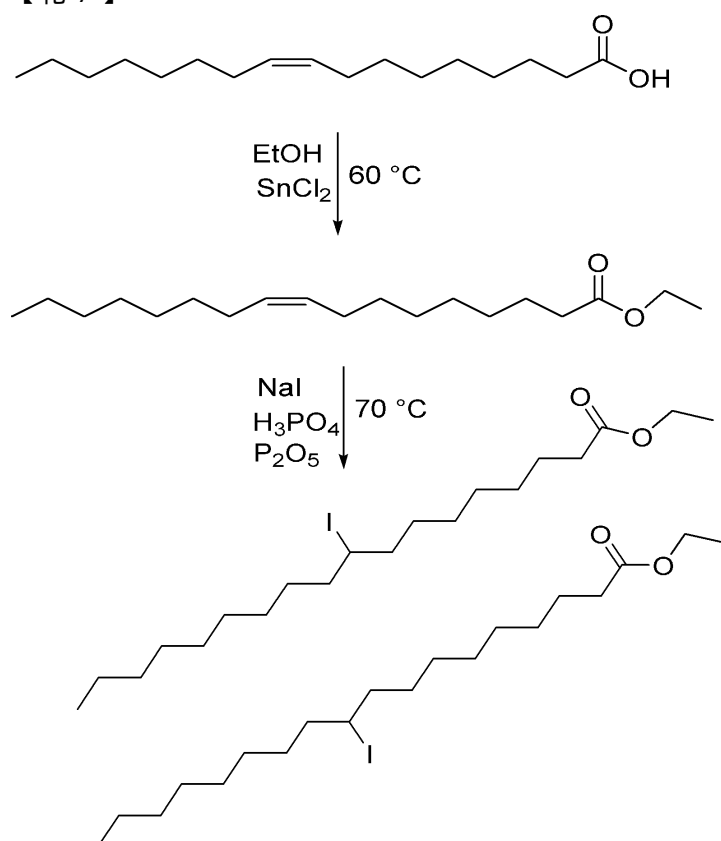
50

応混合物を周囲温度まで冷却し、溶媒を減圧下で蒸発させた。ジクロロメタン（50 mL）を加え、有機相を水、 $\text{NaHCO}_3$ の飽和溶液およびブラインで洗浄した。有機相を $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥し、溶媒を減圧蒸発して、無色油状物（282 mg、95%収率）を得た。

【0091】

磁気攪拌下でオルトリン酸（1.0 mL）にリンペントキシド（170 mg、1.0 mmol）をゆっくり加えた。オレイン酸エチル（148 mg、0.5 mmol）およびヨウ化ナトリウム（150 mg、1.0 mmol）を添加し、反応混合物を還流冷却下で70 で加熱した。24時間後、反応混合物を周囲温度まで冷却し、酸を粗生成物から分離した。ジクロロメタン（20 mL）を加え、有機相をチオ硫酸ナトリウム（0.1 M）で、有機相が無色になるまで洗浄した。有機相をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥した。溶媒を減圧下で蒸発させ、無色油状物を得、ジクロロメタン/メタノール勾配を用いたフラッシュクロマトグラフィーにより精製した（170 mg、0.39 mmol、収率78%）。

【化7】



【0092】

上記の合成では、使用する出発物質に応じて次のようなサブ式 A、B および C をもつ構造が得られる。

10

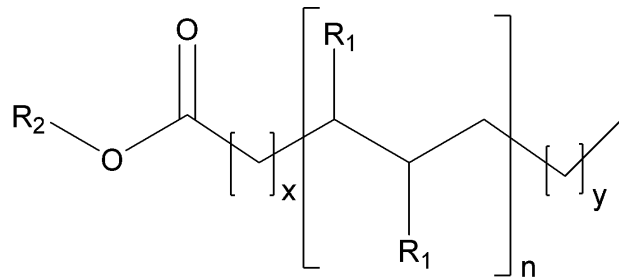
20

30

40

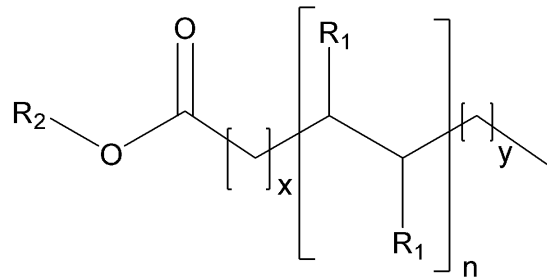
50

## 【化 8】



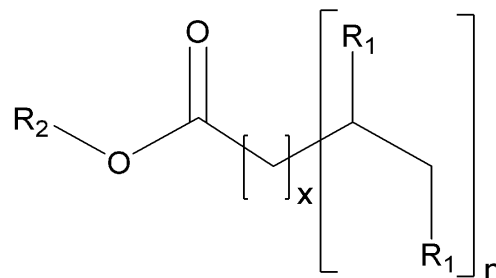
式 A

10



式 B

20



式 C

式中、 $n$  は整数 = 1 ~ 6 であり、 $x = 0 \sim 20$ 、 $y = 0 \sim 20$ 、 $x + y \leq 20$  であり、ただし式 A、B または C の炭素原子の総数はそれぞれ 24 以下であり；

30

かつ式中  $R_2$  基は単置換または多置換であってもよい。

## 【0093】

好ましくは、 $R_2$  基は、アルキル置換基の組、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、*t*-ブチル、シクロプロピルメチル、ペンチル、イソペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、ヘプチル、イソヘプチル、オクチル、イソオクチル、2-プロペニル、アリル、クロチル、1-ブテニル、2-ブテニル、ブタジエニル、エチニル、1-プロピニル、2-プロピニル、1-ブチニル、2-ブチニル、3-ブチニルおよびプロパギル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、アダマンチル；アリール置換基、例えばフェニル、ナフチル、アニシル、トルイル、キシレニル、アリールオキシ、アラルキル、アラルキルオキシ、ヘテロアリール基（ピリミジン、モルホリン、ピペラジン、ピペリジン、チオフェン）、1-シクロヘキシルプロピル、またはハロアルキル置換基、例えばフルオロメチル、1-フルオロエチル、2-フルオロエチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメチルおよびペンタフルオロエチル、クロロジメチル、クロロメチル、2-クロロエチル、2,4-ジクロロフェニル、1,1,2,2-テトラクロロエチル、1-クロロブチル、および4-クロロベンジルを含むことができるが、それらに限定されない。

40

## 【0094】

それはまた、置換アルキル基、例えば9-フルオレニルメチル、メトキシエトキシメチル、テトラヒドロピラニル、ピバリルオキシメチル、フェニルアセトキシメチル、フェナシル、および置換フェナシル、例えば *p*-プロモフェナシル、*p*-メトキシフェナシル、

50

およびまた *t* - ブチル、3 - メチル - 3 - ペンチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、アリル、3 - ブテン - 1 - イル、シンナミル、オキサゾール、および 2 - アルキル - 1 , 3 - オキサゾリンを含むことができる。

【 0 0 9 5 】

それはまた、アルキルアリアル、例えばベンジル、置換ベンジル、例えばトリフェニルメチル、*p* - メトキシベンジル、4 - ピコリル、ジボフェニルメチルフェニルエチル、置換フェニルエチル、しかしまたアルコキシアルキル、例えばメトキシメチル、エトキシメチル、プロポキシメチル、ブトキシメチル、メトキシエチル、エトキシエチル、プロポキシエチル、イソプロポキシエチル、ブトキシエチル、イソブトキシエチル、ヒドロキシアルコキシアルキル、例えばヒドロキシメトキシメチル、2 - ヒドロキシエトキシメチル、3 - ヒドロキシプロポキシメチル、4 - ヒドロキシブトキシメチル、ヒドロキシメトキシエチル、ヒドロキシメトキシプロピルヒドロキシメトキシブチル、ヒドロキシメトキシペンチル、ヒドロキシメトキシヘキシル、ポリヒドロキシアルキル、およびヒドロキシポリアルキレンオキシアルキルを含むことができる。

【 0 0 9 6 】

ナノエマルジョン：

配合物の最適化は、実験設計によって行った。活性 C T 成分、賦形剤（複数可）の種類および量、それらの適合性、および調製方法を含むいくつかのパラメータが評価されている。最適な製剤選択は、物理化学的性質、安定性および生体適合性に基づいた。

【 0 0 9 7 】

ヨウ素化脂肪酸を水に溶解するために水中油型ナノエマルジョンを調製し、それにより腸管吸収が改善される。エマルジョン製剤は、造影剤の最も速く、より完全な吸収に到達するために改良された。この最終段階の目的は、可能なより低い線量で最高の増強に到達することである。次に、褐色脂肪代謝の評価におけるその可能性を示すために、褐色脂肪活性化の異なる条件で造影剤を試験した。

【 0 0 9 8 】

以下の特性を達成すべきである：

- ・ O / W ナノエマルジョン
- ・ 最小量の乳化剤
- ・ 低粘度
- ・ 生体適合性（必要な用量で無毒性および非刺激性）
- ・ 4 保存時のナノエマルジョンの長期安定性
- ・ 材料とプロセスの費用対効果

【 0 0 9 9 】

提案されている賦形剤およびその混合物のショートリストは試験されている：

- ・ ポリソルベート（T w e e n）2 0、4 0、6 0、8 0
- ・ ソルピタンエステル（S p a n）2 0、4 0、6 0、8 0、8 5
- ・ ポリオキシエチレン脂肪アルコールエーテル（B r i j）3 0、3 5、5 2、5 8、7 2、7 8、9 2、9 8）
- ・ レシチン
- ・ アルキルポリグリコシド
- ・ セトマクロゴール 1 0 0 0
- ・ セトステアリルアルコール
- ・ セチルアルコール
- ・ コカミド M E A
- ・ コカミド D E A
- ・ デシルグルコシド
- ・ デシルポリグルコース
- ・ モノステアリン酸グリセロール
- ・ アイソセテス - 2 0



- ・ラウリルグルコシド
- ・マルトシド
- ・モノラウリン
- ・M y c o s u b t i l i n
- ・ノニデットP - 40
- ・ノノキシノール - 9
- ・ノノキシノール
- ・NP - 40
- ・オクタエチレングリコールモノドデシルエーテル
- ・N - オクチル - D - チオグルコピラノシド
- ・オクチルグルコシド
- ・オレイルアルコール
- ・PEG - 10ヒマワリグリセリド
- ・ペンタエチレングリコールモノドデシルエーテル
- ・ポリドカノール
- ・ポロキサマー
- ・ポロキサマー407
- ・ポリエトキシ化タローアミン
- ・ポリグリセロールポリリシノレエート
- ・トリステアリン酸ソルビタン
- ・ステアシルアルコール
- ・サーファクチン
- ・トリトンX - 100

10

#### 【0100】

レシチン、ポリソルベート (Tweens) およびソルビタンエステル (Spans) 界面活性剤は、化粧品、食品、ならびに医薬処方物 (経口、非経口、および局所) において長期にわたり安全に使用されていることが立証されているため、好ましい。

#### 【0101】

脂肪酸またはその誘導体 (有機溶媒に溶解したかまたは純粋) を、好ましくは乳化剤を含むイオン非含有水に加え、脂肪酸の融点より高い温度で激しく攪拌して、微分散した水中油型エマルジョンを製造することができる。攪拌は、任意の公知の方法、例えば、高ずり攪拌器の使用または超音波の使用によって行うことができる。

30

#### 【0102】

ヨウ素化脂肪酸またはその誘導体の量は、濃縮エマルジョンの少なくとも10重量%および好ましくは少なくとも20重量%でなければならない; 一般的には、30%の含有量が好ましい; しかし、40%程度に濃縮されたエマルジョンをいくつかの場合において調製することができ、少量の乳化剤が組成物に含まれることが好ましい。

#### 【0103】

乳化剤を用いる場合、乳化剤の粘度は水/油相比によって変化し、通常、水/脂肪酸比が増加するにつれて最大値を通過する。微細なエマルジョンを得るためには、最大粘度に必要な水/脂肪酸比に近いかわずかにそれを超える水/脂肪酸比での時間攪拌し、次いで攪拌を継続しながらイオン非含有水を加えて、所望のヨウ素化脂肪酸濃度を得ることが好ましい。次いで、エマルジョンを室温に放冷する。

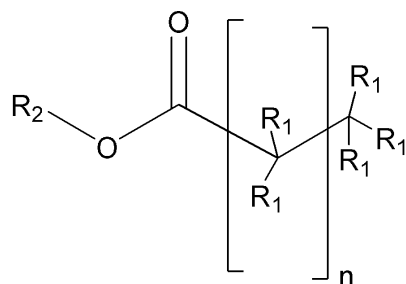
40

#### 【0104】

また、本発明の目的は、一般式Iによる4~24個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および/またはエステルおよび/または塩および/またはそれらの混合物の生体適合性ナノエマルジョンからなるコンピュータ断層撮影造影剤を用いて、被験体の試料の褐色およびベージュ脂肪組織、例えば臓器または細胞培養物のin vitroイメージングの方法を提供することである:

50

## 【化 9】



式 I

10

式中、 $n = 2 \sim 22$  であり；

$R_1$  は H または I であり、ただしヨウ素原子の数は  $1 \sim 6$  であり、ヨウ素原子は一つの原子に同種原子が二つ結合したものでも隣接でもなく；

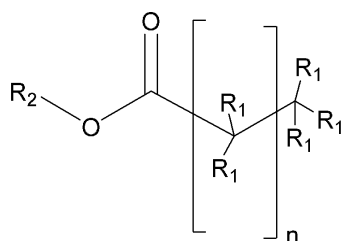
かつ式中  $R_2$  は H、不飽和または飽和、直鎖または分枝状アルキル、アルコシアルキル、ヒドロキシアルコシアルキル、ポリヒドロキシアルキル、ヒドロキシポリアルキレンオシアルキルである。

## 【0105】

本発明の別の目的は、一般式 I（上記定義）による  $4 \sim 24$  個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および／またはエステルおよび／または塩および／またはそれらの混合物の生体適合性ナノエマルジョンを含む組成物を提供することである；

20

## 【化 10】



式 I

式中、 $n = 2 \sim 22$  であり；

$R_1$  は H または I であり、ただしヨウ素原子の数は  $1 \sim 6$  であり、ヨウ素原子は一つの原子に同種原子が二つ結合したものでも隣接でもなく；

30

かつ式中  $R_2$  は H、不飽和または飽和、直鎖または分枝状アルキル、アルキル、アルコシアルキル、ヒドロキシアルコシアルキル、ポリヒドロキシアルキル、ヒドロキシポリアルキレンオシアルキルである；

被験体における褐色および／またはベージュ脂肪組織を *in vivo* イメージングするための非侵襲的経口コンピュータ断層撮影造影剤として使用するためである。

## 【0106】

特に、本発明の造影剤は、一般式 I による好ましくは  $10 \sim 20$  個の炭素原子およびより好ましくは  $16 \sim 18$  個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸の生体適合性ナノエマルジョンからなる。さらに好ましい実施態様において、ヨウ素化脂肪酸は、ヨウ素化リノレン酸である。

40

## 【0107】

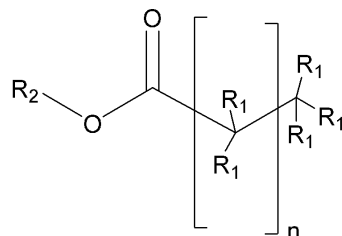
上記で定義したように、ナノエマルジョンは、レシチン、脂肪アルコールとのポリエチレングリコールエーテル、ポリソルベートおよびソルビタンエステルまたはそれらの混合物の中から選択される生体適合性乳化剤を含むことが好ましい。

## 【0108】

さらに本発明の目的は、一般式 I（上記で定義したように）による  $4 \sim 24$  個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および／またはエステルおよび／または塩および／またはそれらの混合物の生体適合性ナノエマルジョンを含む組成物を提供することである；

50

## 【化 1 1】



式 I

式中、 $n = 2 \sim 22$  であり；

$R_1$  は H または I であり、ただしヨウ素原子の数は  $1 \sim 6$  であり、ヨウ素原子は一つの原子に同種原子が二つ結合したものでも隣接でもなく；

かつ式中  $R_2$  は H、不飽和または飽和、直鎖または分枝状アルキル、アルキル、アルコキシアルキル、ヒドロキシアルコキシアルキル、ポリヒドロキシアルキル、ヒドロキシポリアルキレンオキシアルキルである；

被験体における心臓または肝臓の *in vivo* イメージングのための非侵襲的経口コンピュータ断層撮影造影剤として使用するためである。

## 【0 1 0 9】

特に、本発明の造影剤は、一般式 I による好ましくは  $10 \sim 20$  個の炭素原子およびより好ましくは  $16 \sim 18$  個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸の生体適合性ナノエマルジョンからなる。さらに好ましい実施態様において、ヨウ素化脂肪酸は、ヨウ素化リノレン酸である。

## 【0 1 1 0】

上記で定義したように、ナノエマルジョンは、レシチン、脂肪アルコールとのポリエチレングリコールエーテル、ポリソルベートおよびソルピタンエステルまたはそれらの混合物の中から選択される生体適合性乳化剤を含むことが好ましい。

## 【0 1 1 1】

本発明の一実施形態によれば、本発明の経口 CT 造影剤は、被験体における肝脂肪症または肝腫瘍の可視化および / または定量化に適応される。

## 【0 1 1 2】

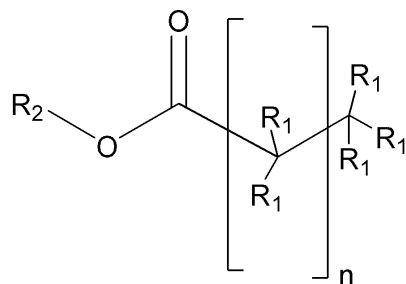
本発明のコンピュータ断層撮影造影剤を含むキットもまた想定される。

## 【0 1 1 3】

本発明の別の目的は、心臓または肝臓疾患に罹患していると疑われるかまたは罹患している患者を予防および / または処置するための方法を提供することであり、前記方法は以下のステップを含む：

a) 前記患者に、一般式 I による  $4 \sim 24$  個の炭素原子を有するヨウ素化脂肪酸および / またはエステルおよび / または塩および / またはそれらの混合物の生体適合性ナノエマルジョンからなる本発明の経口コンピュータ断層撮影造影剤を投与するステップ；

## 【化 1 2】



式 I

式中、 $n = 2 \sim 22$  であり；

$R_1$  は H または I であり、ただしヨウ素原子の数は  $1 \sim 6$  であり、ヨウ素原子は一つの原子に同種原子が二つ結合したものでも隣接でもなく；

かつ式中  $R_2$  は H、不飽和または飽和、直鎖または分枝状アルキル、アルコキシアルキル

、ヒドロキシアルコキシアルキル、ポリヒドロキシアルキル、ヒドロキシポリアルキレンオキシアルキルである、

b) その後、前記患者の心臓および/または肝臓のステップa)の*in vitro*イメージングの結果に応じて、前記患者に適応した療法を実施するステップ。

#### 【0114】

当業者は、本明細書で説明した発明に対し、特に説明したもの以外の変形および修正が可能である、ということを理解するであろう。本発明は、その精神または本質的特徴から逸脱することなく、そのような全ての変形および修正を含むことが理解されるべきである。本発明はまた、本明細書で言及されるかまたは示されるステップ、特徴、組成物および化合物の全てを、個々にまたはまとめて、ならびに前記ステップまたは特徴の任意の組合せおよび全ての組合せ、または任意の2つ以上を含む。従って、本開示は、例示された全ての局面において、限定的ではないと考えるべきであり、本発明の範囲は、添付した特許請求の範囲によって示されており、同等性の意味および範囲内に入る全ての変更は、そこに包含されることが意図されている。

10

#### 【0115】

上記の説明は、以下の実施例を参照して、より完全に理解されるであろう。しかしながら、そのような実施例は、本発明を実施する方法の例示であり、本発明の範囲を限定することを意図したものではない。

#### 【実施例】

#### 【0116】

20

*in vivo* CTスキャンは、マウスに造影剤を適用する前および適用した後のいくつかの時点で実施した。マウスをイソフルランで麻酔し、小動物イメージング施設で利用可能なCTスキャンに入れる。スキャンはマウスあたり約10分間続く。次にマウスをケージに入れ、数分以内に麻酔から回復する。その後、別のコンピュータに画像を転送し、褐色脂肪増強の分析を行う。

#### 【0117】

褐色脂肪組織の*in vivo*活性化または阻害は、マウスのハウジング温度を調節することによって行われる。マウスは、褐色脂肪組織熱産生(6)を活性化するために、特定の恒温室で1週間飼育される。1週間後、造影剤をマウスに経口投与し、マウスをCTスキャナーで走査して、活性化のこれらの異なる状態における褐色脂肪増強を評価する。

30

#### 【0118】

実施例1: 9(10) - ヨードオクタデカン酸の合成

磁気攪拌下でオルトリン酸(1.0 mL)に五酸化リン(170 mg、1.0 mmol)をゆっくり加えた。オレイン酸(141 mg、0.5 mmol)とヨウ化ナトリウムを加え、反応混合物を還流冷却下で70で加熱した。24時間後、反応混合物を周囲温度まで冷却し、酸を粗生成物から分離した。ジクロロメタン(20 mL)を加え、有機相をチオ硫酸ナトリウム(0.1 M)で、有機相が無色になるまで洗浄した。有機相をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥した。溶媒を減圧下で蒸発させ、無色油状物を得、ジクロロメタン/メタノール勾配を用いたフラッシュクロマトグラフィーにより精製した(181 mg、0.44 mmol、収率88%)。

40

#### 【数1】

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.07–4.02 (m, 1H), 2.28 (t,  $J=7.5$  Hz, 2H), 1.78 (m, 2H), 1.60 (m, 4H), 1.45 (m, 2H), 1.36–1.16 (m, 22H), 0.81 (t,  $J=7.0$  Hz, 3H).

LRMS (ESI):  $[M+K]^+$  に対して計算した  $m/z$  449.1、観測値 448.1。

#### 【0119】

実施例2: 9(10), 12(13) - ジヨードオクタデカン酸の合成

50

磁気攪拌下でオルトリン酸 (2.0 mL) に五酸化リン (340 mg、2.0 mmol) をゆっくり加えた。リノール酸 (280 mg、1.0 mmol) およびヨウ化ナトリウム (500 mg、3.33 mmol) を添加し、反応混合物を還流冷却下で70℃で加熱した。24時間後、反応混合物を周囲温度まで冷却し、酸を粗生成物から分離した。ジクロロメタン (20 mL) を加え、有機相をチオ硫酸ナトリウム (0.1 M) で、有機相が無色になるまで洗浄した。有機相をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥した。溶媒を減圧下で蒸発させ、無色油状物を得、ジクロロメタン/メタノール勾配を用いたフラッシュクロマトグラフィーにより精製した (407 mg、0.76 mmol、収率76%)。

#### 【数2】

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  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).

LRMS (ESI):  $[M + K]^+$  に対して計算した  $m/z$  559.0、観測値 558.9。

#### 【0120】

#### 実施例3：ナノエマルジョンの調製

ナノエマルジョンは、200 mg のヨウ素化リノール酸、100 mg の賦形剤 (例えば、Tween 80 / Span 80、90 / 10 比) および 200 mg の MilliQ 水を混合して調製した。超音波処理により均質化しながら氷浴を用いて混合物を冷却した。超音波処理装置は、5 秒パルスを用いて 2 分間 30 % 振幅に設定し、続いて均質なナノエマルジョンを与える 5 秒休止シーケンスを行った。

#### 【0121】

#### 実施例4：BAT代謝活性のイメージングと定量化に用いたCT造影剤の合成と特性評価

褐色脂肪細胞とベージュ脂肪細胞を *in vivo* で調べるために、ナノエマルジョンを1週間、6週で飼育したマウスに経口的に施与して、褐色脂肪活性を活性化した。9 (10), 12 (13) ジョードオクタデカン酸エチルを含む本発明のCT造影剤 (図3) の経口摂取の前後にCTスキャンを実施した。図4に示すように、活性化BATでは褐色脂肪組織による取り込み動力学は、摂取後約24時間で平坦に達した。さらに、図5に示すように、CT造影剤は、*in vivo* で研究したマウスの全身において、異なる褐色脂肪およびベージュ脂肪貯蔵物のすべてのマップを構築することを可能にした。CTの高解像度のおかげで、図5に示すように、各貯蔵物が明確に識別された。また、本出願人らは、既知の褐色またはベージュ色の貯蔵物をすべて同定することができただけでなく、鼠径部領域および膝窩領域など、現在まで *in vivo* では見られなかったいくつかの貯蔵物を同定することができた。

#### 【0122】

褐色および白色脂肪貯蔵物の古典的解剖によって得られた結果と、本出願人らの新規な *in vivo* アプローチによって提供された結果とを比較し、図5によって示される通りであり、本発明のCT造影剤で得られた個々の褐色またはベージュ色の脂肪組織貯蔵物の各々の表現である。

#### 【0123】

#### 実施例5：16-ヨードヘキサデカン酸エチルの合成

10

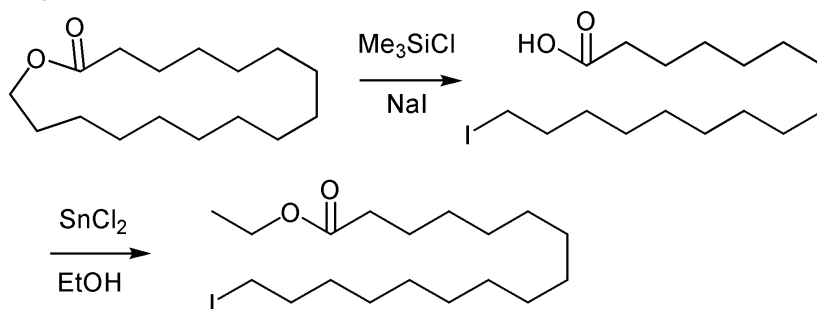
20

30

40

50

## 【化 1 3】



10

## 【0 1 2 4】

## 実施例 6：16-ヨードヘキサデカン酸の合成

16-ヘキサデカノリド (2.00 g、7.86 mmol、1 当量)、ヨウ化ナトリウム (3.54 g、23.6 mmol、3 当量)、クロロトリメチルシラン (2.99 mL (2.56 g)、23.6 mmol、3 当量) およびアセトニトリル (25 mL、 $c = 0.31$  M) を、窒素雰囲気下で一晩還流で撹拌した。反応混合物に水 (20 mL) およびエーテル (50 mL) を加えた。有機相を水、チオ硫酸ナトリウム、飽和ブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥した。有機相を濾別し、減圧下で蒸発して、白色固体 (2.88 g、7.53 mmol、96% 収率) を得た。

20

## 【数 3】

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.19 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 2.35 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 1.82 (p,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.63 (p,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 1.43 – 1.19 (m, 23H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  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.

## 【0 1 2 5】

## 実施例 7：16-ヨードヘキサデカン酸エチルの合成

16-ヨードヘキサデカン酸 (100 mg、0.262 mmol、1 当量)、塩化スズ (II) (19.8 mg、0.105 mmol、0.4 当量) およびエタノール (5 mL、 $c = 0.052$  M) を、還流で一晩窒素雰囲気下で撹拌した。反応混合物を減圧下で蒸発させた。粗製物を、シクロヘキサン/エーテル勾配を用いたフラッシュクロマトグラフィーにより精製して、白色固体 (94.0 mg、0.229 mmol、収率 88%) を得た。

30

## 【数 4】

ESI MS 433.2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.12 (m,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.19 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 2.28 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 1.82 (p,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.61 (p,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 1.45 – 1.19 (m, 23H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  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.

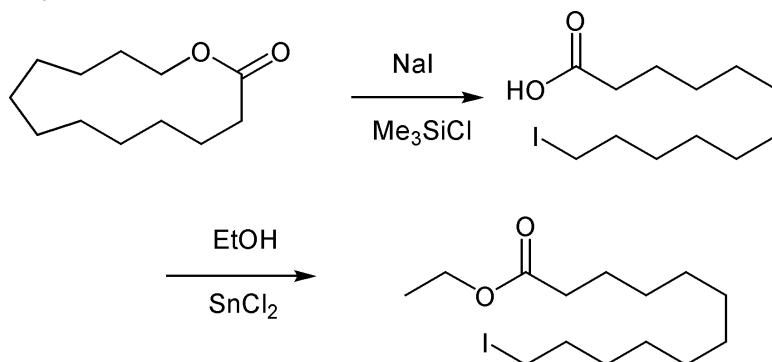
40

## 【0 1 2 6】

## 実施例 8：12-ヨードドデカン酸エチルの合成

50

## 【化 1 4】



10

## 【 0 1 2 7】

## 実施例 9：12 - ヨードヘキサデカン酸の合成

オキサシクロトリデカン - 2 - オン (1.00 g、5.00 mmol、1 当量)、16 - ヘキサデカノリド (2.00 g、7.86 mmol、1 当量)、ヨウ化ナトリウム (2.25 g、15.0 mmol、3 当量) およびクロロトリメチルシラン (1.90 mL (1.63 g)、15.0 mmol、3 当量) およびアセトニトリル (25 mL、c = 0.31 M) を、窒素雰囲気下で一晩還流で撹拌した。反応混合物に水 (20 mL) およびエーテル (50 mL) を加えた。有機相を水、チオ硫酸ナトリウム、飽和ブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥した。有機相を濾別し、減圧下で蒸発して、淡黄色を帯びた固体 (1.62 g、4.97 mmol、98% 収率) を得た。

20

## 【数 5】

ESI MS 325.2 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.19 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.35 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 1.82 (p, J = 7.1 Hz, 2H), 1.63 (p, J = 7.5 Hz, 2H), 1.44 – 1.22 (m, 14H). <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 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.

## 【 0 1 2 8】

## 実施例 10：12 - ヨードドデカン酸エチルの合成。

30

12 - ヨードヘキサデカン酸 (800 mg、2.45 mmol、1 当量)、塩化スズ (II) (200 mg、1.05 mmol、0.4 当量) およびエタノール (50 mL、c = 0.052 M) を、還流で一晩窒素雰囲気下で撹拌した。反応混合物を、減圧下で蒸発させた。粗製物を、シクロヘキサン / エーテル勾配を用いたフラッシュクロマトグラフィーにより精製して、白色固体 (1.06 g、2.58 mmol、66% 収率) を得た。

## 【数 6】

ESI MS 355.1 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.11 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.18 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 2.27 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.81 (p, J = 7.1 Hz, 2H), 1.60 (p, J = 7.4 Hz, 2H), 1.37 (q, J = 6.8, 6.4 Hz, 2H), 1.33 – 1.20 (m, 15H). <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 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.

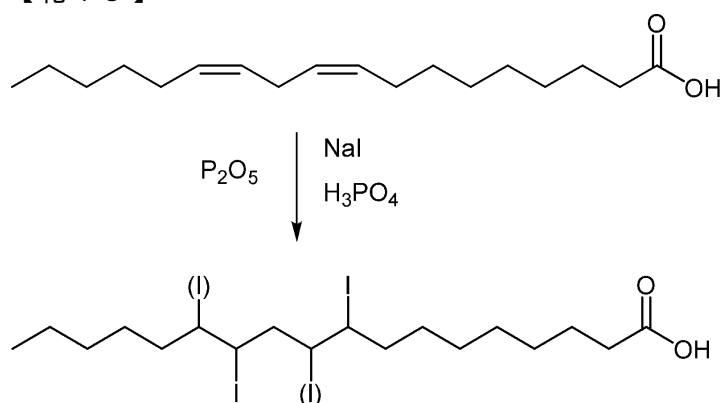
40

## 【 0 1 2 9】

## 実施例 11：9 (10) , 12 (13) - ジヨードオクタデカン酸の合成

50

## 【化 15】



10

五酸化リン (2.82 g、20.0 mmol、2 当量)、リノール酸 (3.00 g、10.7 mmol、1 当量)、ヨウ化ナトリウム (6.00 g、40.0 mmol、4 当量) およびリン酸 (20 mL、 $c = 0.50 M$ ) を、窒素雰囲気下で 70 ° で 12 時間および室温で 1 h 30 分低撹拌下で撹拌した。反応混合物にエーテル (50 mL) と水 (20 mL) を加えた。水相を酢酸エチルで抽出し、合わせた有機相をチオ硫酸ナトリウム (0.1 M)、飽和ブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥し、濾別し、減圧下で蒸発させた。粗生成物を、ジクロロメタン/メタノール勾配 + 0.1 % 酢酸を用いたフラッシュクロマトグラフィーにより精製して、淡黄色を帯びた固体 (4.875 g、9.09 mmol、85 % 収率) を得た。

20

## 【数 7】

ESI MS 558.5  $[M+Na]^+$ , 553.5  $[M+NH_4]^+$ , 574.5  $[M+K]^+$ .  $^1H$  NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$

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,  $J = 6.8$  Hz, 3H).

## 【0130】

実施例 12：トリヨードオクタデカン酸およびトリヨードオクタデカン酸エチルの合成

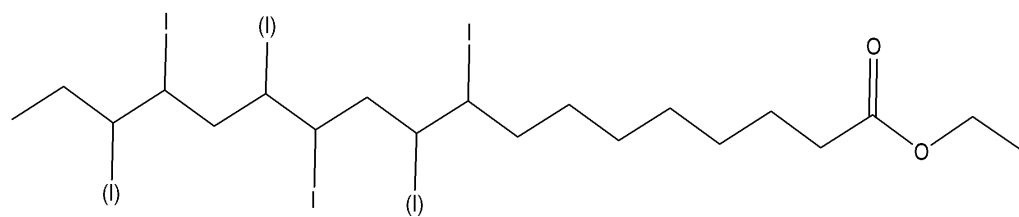
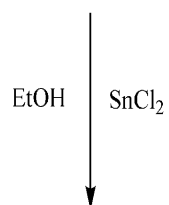
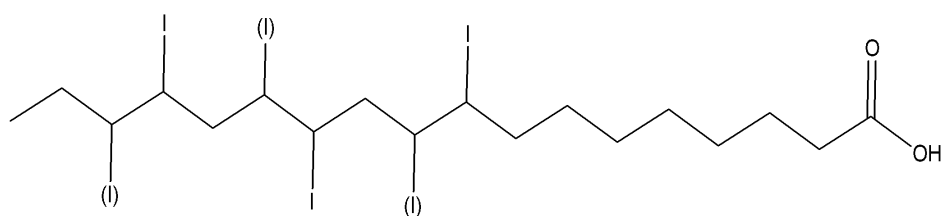
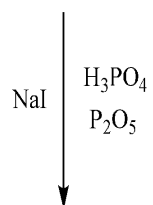
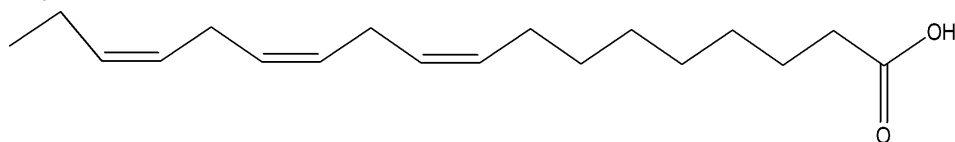
30

40

50



【化 1 6】



【 0 1 3 1】

実施例 1 3 : テトラヨードイコサン酸およびテトラヨードイコサノ酸エチルの合成

10

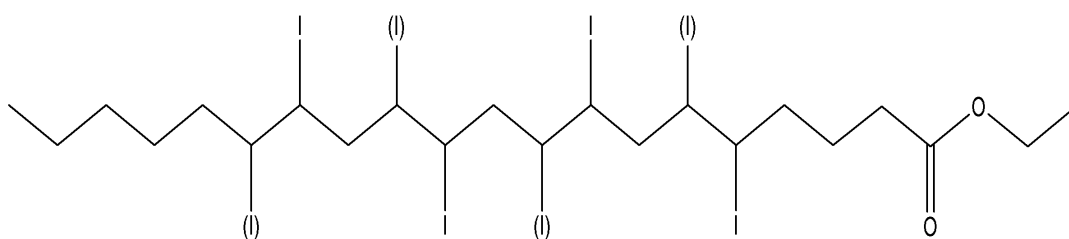
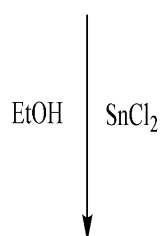
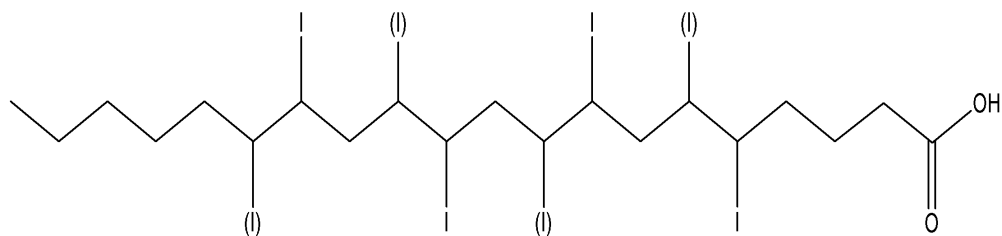
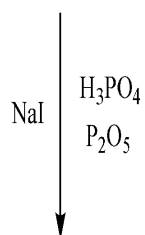
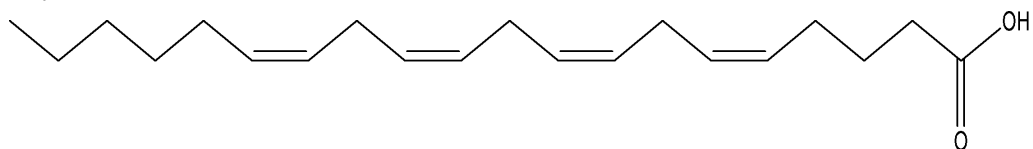
20

30

40

50

【化 1 7】



【 0 1 3 2】

実施例 1 4 : ペンタヨードイコサン酸およびペンタヨードイコサン酸エチルの合成

10

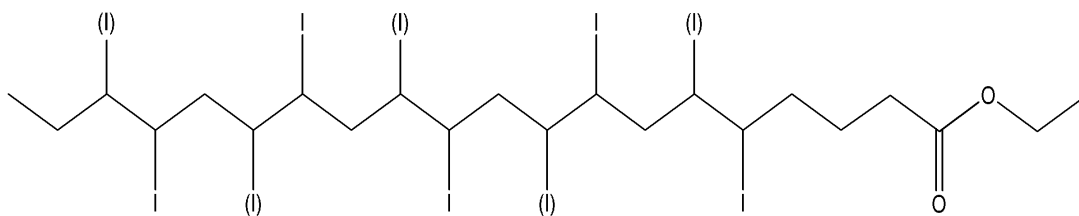
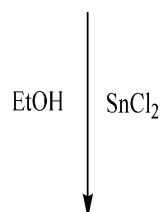
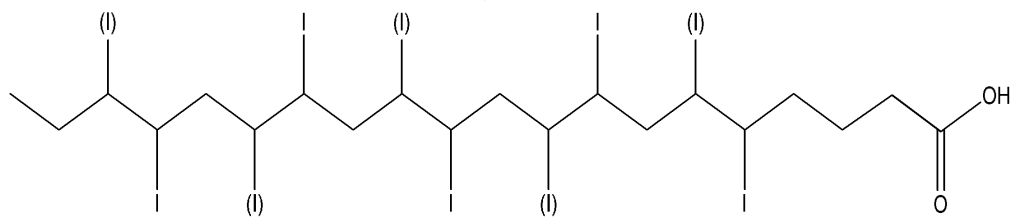
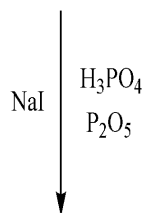
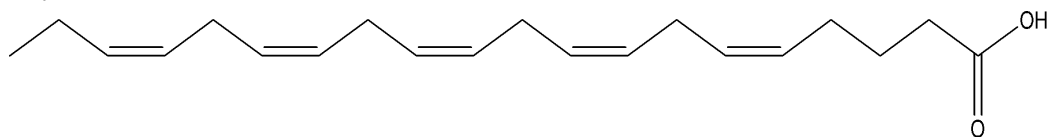
20

30

40

50

【化 1 8】



【 0 1 3 3】

実施例 1 5 : ヘキサヨードコサン酸およびヘキサヨードコサン酸エチルの合成。

10

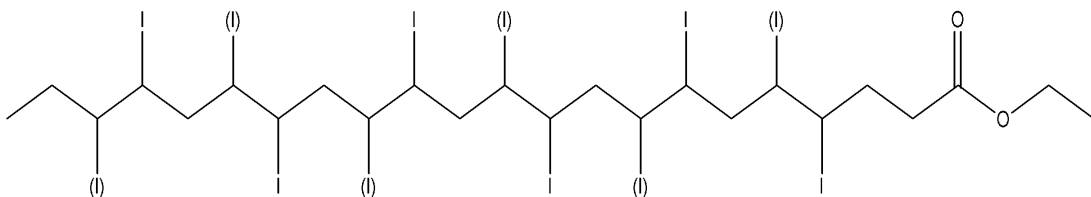
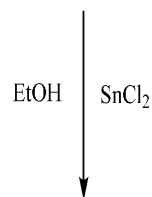
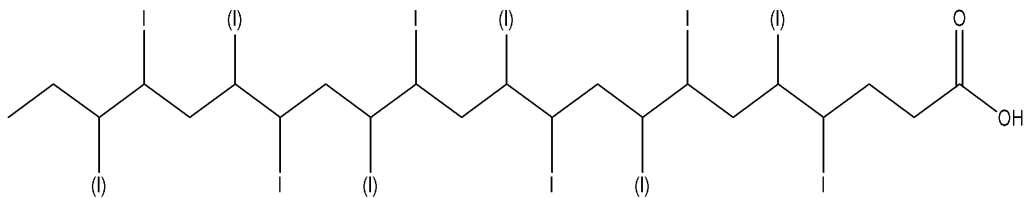
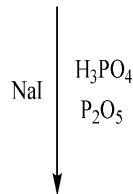
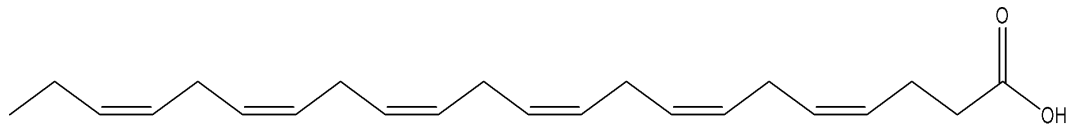
20

30

40

50

## 【化 19】



## 【0134】

実施例 16：心臓および肝臓のイメージングに使用される CT 造影剤の特性評価。

心臓と肝臓を *in vivo* で調べるために、本発明のナノエマルジョンをマウスに経口的に施与した。リノール酸（65%）、オレイン酸（30%）およびリノレン酸（4%）のヨード化エチルエステルを含む本発明の CT 造影剤の経口摂取の前および 7 時間後に CT スキャンを実施した（図 6）。図 6 a に示すように、造影剤は心筋細胞に取り込まれ、左心室の壁が明らかになる。心臓壁増強は、心筋の厚さまたは体積のような解剖学的パラメータの測定を可能にする。図 6 b に示すように、造影剤は肝臓にも取り込まれ、その

## 【0135】

## 参考文献

1. Bartelt A, Bruns OT, Reimer R, et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. *Nat Med*. 2011; 17(2): 200 - 205.
2. Cannon B, Houstek J, Nedergaard J. Brown adipose tissue. More than an effector of the thermogenesis? *Ann N Y Acad Sci*. 1998; 856: 171 - 187.

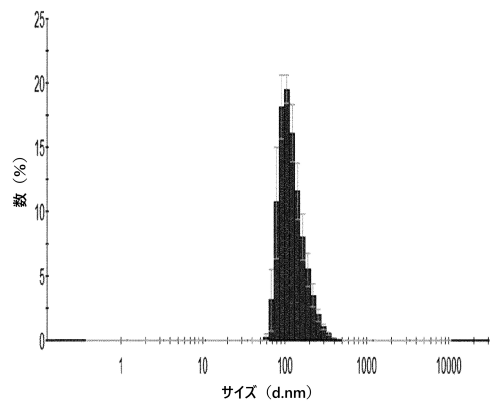
3. Guerra C, Koza RA, Yamashita H, Walsh K, Kozak LP. Emergence of brown adipocytes in white fat in mice is under genetic control. Effects on body weight and adiposity. J Clin Invest. 1998; 102(2): 412 - 420.

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 Diabetes. Diabetes. 2015; 64(7): 2388 - 2397.

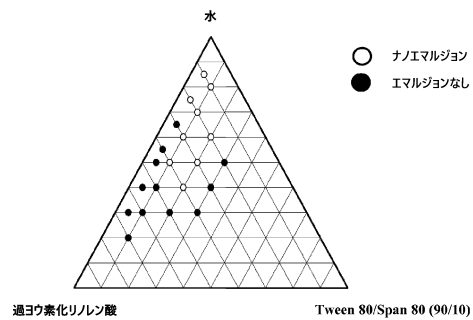
5. Ferreira AB, Cardoso AL, da Silva MJ. Novel and Highly Efficient SnBr<sub>2</sub>-Catalyzed Esterification Reactions of Fatty Acids: The Notable Anion Ligand Effect. Catal Lett. 2013; 143(11): 1240 - 1246.

【図面】

【図1】



【図2】



10

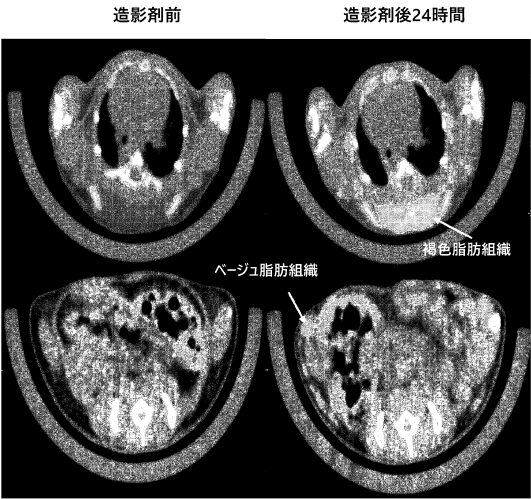
20

30

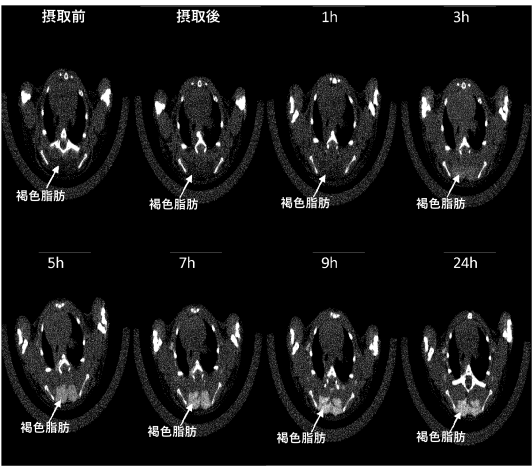
40

50

【 図 3 】

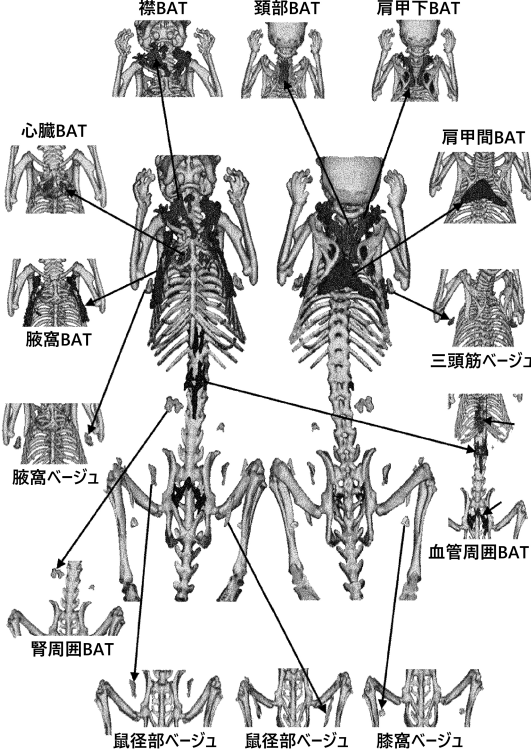


【 図 4 】

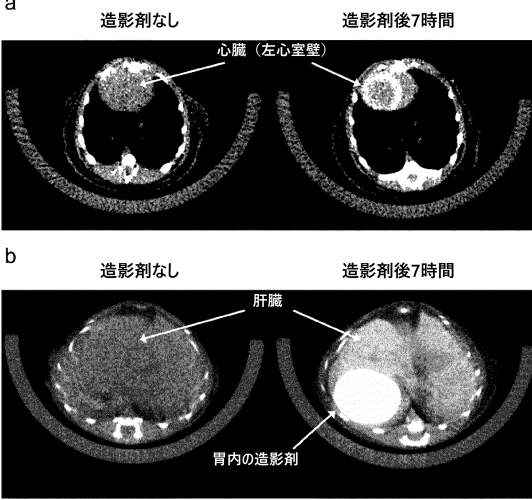


10

【 図 5 】



【 図 6 】



20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	47/10	(2006.01)	A 6 1 K	47/10
A 6 1 K	47/24	(2006.01)	A 6 1 K	47/24
A 6 1 K	47/14	(2006.01)	A 6 1 K	47/14

フランス国 7 4 1 3 0 コンタミーヌ シュル アルヴ ルート デ ラ グランジャット 5 9 5

(72)発明者 バビック アンドレイ

フランス国 7 4 1 4 0 ヴェジー - フォンスネ シュマン デ ポミエ 1 6 0

(72)発明者 アレマン エリック

スイス国 1 2 5 6 トロアネ シュマン ス - ル - クレ 2 3

審査官 植原 克典

## (56)参考文献

AMERICAN JOURNAL OF ROENTGENOLOGY , 1954年 , Vol. 72, No. 5 , pp. 795-800

Experimental Biology and Medicine , 1963年 , Vol. 112 , pp. 901-903

Eur J Pharm Biopharm. , 2013年 , Vol. 83 , pp. 54-62

Circulation , 2018年 , Vol. 134, No. suppl\_1 , Abstract 19281

## (58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 4 9 / 0 0 - 4 9 / 2 2

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )