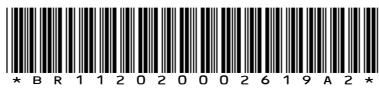




República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112020002619-0 A2



* B R 1 1 2 0 2 0 0 2 6 1 9 A 2 *

(22) Data do Depósito: 27/07/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 28/07/2020

(54) Título: NANOEMULSÃO DE ÁCIDOS GRAXOS IODADOS PARA IMAGEAMENTO DE CT

(51) Int. Cl.: A61K 49/00; A61K 49/04.

(30) Prioridade Unionista: 07/08/2017 EP 17185185.0.

(71) Depositante(es): UNIVERSITY OF GENEVA.

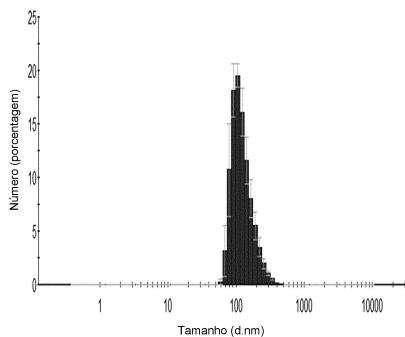
(72) Inventor(es): LAURENT VINET; ANDREJ BABIC; ERIC ALLEMANN.

(86) Pedido PCT: PCT EP2018070501 de 27/07/2018

(87) Publicação PCT: WO 2019/030024 de 14/02/2019

(85) Data da Fase Nacional: 07/02/2020

(57) Resumo: Agente de contraste de tomografia computadorizada (CT) iodado produzido a partir de derivados de ácido graxo para visualização não invasiva e quantificação do tecido adiposo marrom e/ou bege (BAT) ou para imageamento do coração e/ou fígado de um indivíduo. Vantajosamente, esse agente de contraste deve ser tomado oralmente, o que é uma inovação em imageamento de CT. A resolução de imagem por CT é significativamente aprimorada em comparação com tomografia por emissão de pósitrons (PET).



**“NANOEMULSÃO DE ÁCIDOS GRAXOS IODADOS PARA IMAGEAMENTO
DE CT”**

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A invenção se refere a um agente de contraste de tomografia computadorizada (CT) iodado produzido a partir de derivados de ácido graxo para visualização não invasiva e quantificação do tecido adiposo marrom e/ou bege ou para imageamento do coração e/ou fígado de um indivíduo. Vantajosamente, esse agente de contraste deve ser tomado oralmente, o que é uma inovação em imageamento de CT. A resolução de imagem por CT é significativamente aprimorada em comparação com tomografia por emissão de pósitrons (PET).

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[002] A obesidade é uma grande questão de saúde. Uma de suas principais consequências é desenvolvimento de diabetes tipo 2. A mesma se deve principalmente a uma dieta com muito açúcar e muita gordura, bem como uma ausência de exercício e, portanto, gasto de energia insuficiente. Esse excesso de ingestão de energia é armazenado principalmente como triglicerídeos em tecido adiposo branco (WAT). Uma opção para combater esse excesso de ingestão de energia poderia ser forçar um aumento em gasto de energia que compensaria essa alta ingestão calórica. Muitos estudos demonstraram que o tecido adiposo marrom (BAT) ou tecido adiposo bege dissipam o excesso de energia como calor, aumentando o gasto de energia. Também foi mostrado que mesmo se BAT estiver principalmente presente em animais em hibernação, o mesmo também é constatado em crianças humanas, bem como em humanos adultos.

[003] O tecido adiposo marrom ou células bege consomem glicose e ácido graxo, e dissipam estes em forma de calor, reduzindo, dessa maneira, circulação de ácido graxo¹, e aprimorando metabolismo de glicose. No BAT, uma proteína chamada proteína de desacoplamento um (UCP1) é responsável por essa dissipação de energia, como calor. Essa proteína, presente na membrana interna da mitocôndria, desacopla a cadeia respiratória, reduzindo a produção de ATP e dissipando o excesso de gradiente de prótons como calor. Mais recentemente,

adipócitos que expressam UCP1 foram mostrados como estando presentes no tecido adiposo branco (WAT) e foram nomeados adipócitos brite ou bege¹. Infelizmente, seu papel e atividade permanecem insuficientemente conhecidos, bem como sua participação no metabolismo em comparação com os adipócitos marrons. Essa questão é de grande interesse, uma vez que humanos adultos parecem ter muito pouco BAT, enquanto há muitos adipócitos bege induzíveis no WAT subcutâneo².

[004] O desenvolvimento e avaliação de agentes de amarronzamento de WAT está adquirindo cada vez mais importância. Portanto, métodos para avaliar in vivo e ao longo do tempo, o efeito desses agentes na presença e função de adipócitos marrons e bege se torna crucial. ¹⁸FDG-PET é a modalidade de imageamento dominante para avaliar tecido adiposo marrom, mas sofre de diversas limitações³. Embora a glicose seja tomada mediante ativação de BAT, acredita-se que o substrato principal seja ácidos graxos³. Portanto, ingestão de glicose medida por ¹⁸FDG-PET poderia subestimar atividade de BAT sob condições fisiologicamente significativas, como exposição ao frio branda. Ademais, algumas afecções patológicas como resistência à insulina em diabetes tipo 2 (T2D) poderia mitigar ou influenciar a quantificação da atividade de BAT com ¹⁸FDG-PET. Além disso, marcadores de ácidos graxos para PET, como ¹⁸ácido F-fluoro-tia-heptadecanoico (18FTHA)⁴ já foi testado para imageamento de BAT, mas parece oferecer baixo sinal em seres humanos.

[005] Lipiodol (identificado Ethiodol nos EUA), também conhecido como óleo etiodizado, é um óleo de semente de papoula usado por injeção como um agente de contraste radiopaco que é usado para ressaltar as estruturas em investigações radiológicas. O mesmo também é usado em aplicações de quimioembolização como um agente de contraste em imageamento de acompanhamento. Lipiodol também é usado em linfangiografia, o imageamento do sistema linfático. O mesmo tem um uso adicional em obliteração de varizes gástricas como um diluente que não afeta polimerização de cianoacrilato.

[006] Recentemente, houve um interesse crescente no uso de Lipiodol como um agente terapêutico no gerenciamento de infertilidade não explicada, com o uso de um procedimento chamado descarga de Lipiodol. Houve um

pequeno número de estudos que sugerem que descarregamento do meio através dos tubos fornece um aumento a longo prazo em fecundidade em pacientes com infertilidade não explicada. Uma revisão sistemática sugeriu um aumento significativo em fertilidade, especialmente naquelas mulheres que tinha, endometriose ao usar descarga de Lipiodol.

[007] Historicamente, Lipiodol foi geralmente usado como um meio de contraste em histerossalpingografia (HSG: um procedimento para determinar permeabilidade tubária, usado na investigação de subfertilidade). O mesmo se tornou menos comumente utilizado nos anos 1960 a 1980 devido ao fato de que os meios solúveis em água mais modernos fornecem imagens que são mais fáceis de interpretar. Também é uma questão de segurança importante com Lipiodol no intravazamento (vazamento) do fluido no sistema venoso o fato de ter ocasionado complicações no passado. O óleo etiodizado é composto por iodo combinado com ésteres etílicos de ácidos graxos de óleo de semente de papoula, principalmente como monoiodoestearato de etila e diiodoestearato de etila. A estrutura precisa não é conhecida.

[008] Lipiodol também pode ser usado oralmente para a prevenção de distúrbios de deficiência de iodo como bócio, crescimento e retardamento mental ou cretinismo. Lipiodol e outros óleos iodados também foram empregados de modo bem-sucedido para prevenir deficiência de iodo em mulheres grávidas, em que iodização de sal dietético ainda não foi estabelecida de modo bem sucedido.

[009] Em 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 de Pharmaceutics and Biopharmaceutics, vol. 83, no. 1, 1 de janeiro de 2013, pp 54-62, XP055443136, aspectos importantes no projeto de agentes de contraste para imageamento pré-clínico de raios X são apresentados. O primeiro é uma formulação simples de agentes de contraste de circulação longa, formulados a partir de um óleo iodado comercial, e que resulta em agentes de contraste CT que contêm mais de duas vezes os concentração de iodo que agentes de contraste comerciais. O segundo ponto é um aspecto metodológico, que utiliza filtragem tangencial para reduzir os tensoativos residuais na fase a granel e que serve bem para concentrar gotículas

(e iodo) na suspensão. O último ponto é um aspecto mais geral relacionado à influência dos tensoativos livres nos farmacocinéticos e biodistribuição das gotículas de nanoemulsão em camundongo.

[0010] Além disso, 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, Edição 8, 1 de agosto 2010, Páginas 985-991, XP027119104 revela uma emulsão de óleo iodado para imageamento experimental de tomografia computadorizada (CT) em tumores hepáticos em modelos de rato. O aperfeiçoamento hepático alcançado pela emulsão de óleo iodado é específico de sistema reticuloendotelial com a propriedade de aperfeiçoamento de pool sanguíneo e duração mais longa que aquela alcançável com os agentes solúveis em água atuais. Desse modo, esse agente pode oferecer vantagens significativas para diagnóstico de metástases hepáticas.

[0011] O documento EP 0 294534 A1 (KABIVITRUM AB [SE]) se refere a uma emulsão para uso como um agente de contraste de raios X e que contém um ou mais lipídios iodados emulsificados em uma fase aquosa. A emulsão contém um ou mais aminoácidos, ácidos graxos ou seus sais, vitaminas solúveis em gordura e/ou ureia para aumentar sua estabilidade. Ademais, a emulsão pode conter um ou mais óleos ou gorduras farmacologicamente aceitáveis. Pelos agentes de aumento de estabilidade, foi possível preparar emulsões de lipídios iodados que podem ser esterilizados em uma autoclave e ser armazenados por um longo tempo sem a ruptura de emulsão.

[0012] 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 de novembro de 2016, XP002777573, revela que tecido adiposo perivascular (PVAT) envolve as maiores artérias e regula funcionamento endotelial. PVAT saudável tem o fenótipo de tecido adiposo marrom (BAT) histologicamente, e possui características anti-inflamatórias e vasorelaxantes, que não são observadas em obesidade. A hipótese desse estudo é que imageamento molecular com o uso de tomografia microcomputadorizada (microCT) combinada com um ácido graxo iodado pode detectar PVAT de murina

saudável em repouso e identificar alterações dinâmicas de PVAT após intervenções farmacológicas ou fisiológicas.

[0013] Independentemente, há uma ausência de agentes de contraste CT específicos para imageamento de tecido marrom e bege atualmente, o que significa que é difícil detectar, imagear e monitorar esse tecido *in vivo*. Independente do fato de que algumas áreas em uma varredura de CT podem ser definidas como tecido adiposo marrom sem o uso de agente de contraste de CT, um não especialista observará um avanço considerável em limites, quantificação e qualidade de detecção de tecido adiposo bege ou marrom com o uso de nova geração de agentes de contraste CT. Isso é especialmente verdadeiro ao se levar em consideração adipócitos bege que são dispersados dentro do tecido adiposo branco e impossíveis de visualizar sem agente de contraste.

[0014] Ademais, dentre as diversas vias de administração, administração oral é considerada como sendo a mais aceitável e método econômico. As injeções são geralmente administradas em um hospital, configuradas uma vez que se exige um profissional experiente para administrar o agente de contraste, especialmente infusões intravenosas (IV). Tipicamente, será pedido que um paciente assine um "formulário de consentimento informado" antes de realizar um exame de CT IV que usa contraste de iodo. Esse formulário ressaltará os efeitos colaterais em potencial do iodo. Reações sérias podem incluir dificuldade para respirar, inchaço da garganta ou inchaço de outras partes do corpo. Essas reações podem ser mais sérias se não tratadas imediatamente. Inversamente, formulações orais são mais fáceis de administrar, seguras e alcançam concentrações desejadas, tornando, desse modo, a via peroral (PO) uma escolha ideal.

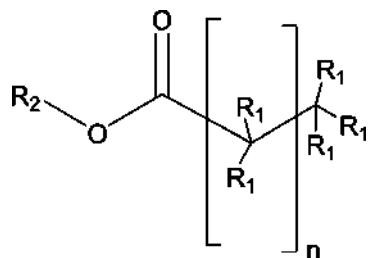
[0015] Contraste oral é geralmente usado para aperfeiçoar imagens de CT do trato gastrointestinal. Há dois tipos diferentes de substâncias usadas para contraste oral de CT. O primeiro, sulfato de bário, é o oral agente de contraste mais comum usado em CT. O segundo tipo de agente de contraste é, algumas vezes, usado como um substituinte para bário e é chamado Gastrografina. Os pacientes, em geral, precisam ingerir pelo menos 1.000 a 1.500 cm³ para

preencher de modo suficiente o estômago e intestinos com contraste oral. O agente de contraste da invenção pode não ser bem adequado para imageamento de trato gastrointestinal devido ao fato de que o mesmo será absorvido de modo similar como gordura dietética por intestinos. Após a absorção no compartimento sanguíneo, os mesmos serão preferencialmente admitidos por diversos órgãos descritos abaixo. Inversamente, sulfato de bário ou agente de contraste iodado para exame do trato gastrointestinal são usados para imagear os intestinos sem qualquer objetivo de imagear órgãos internos (parenterais).

[0016] Infelizmente, atualmente, não há agente de contraste de CT que possa ser tomado oralmente para visualizar e quantificar metabolismo de gordura do tecido adiposo bege e marrom ou para imageamento do coração ou fígado de um indivíduo. Desse modo, é um objetivo invenção superar esses problemas técnicas significativos ao fornecer um agente de contraste de CT iodado peroral.

BREVE DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[0017] Um dos objetivos da presente invenção é fornecer um método de *imageamento in vivo* com Tomografia Computadorizada (CT) de órgãos parentais que compreende administrar oralmente em um indivíduo um agente de contraste que compreende uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I:



FÓRMULA I

em que $n = 2-22$;

R_1 é H ou I, com a provisão de que o número de átomos de iodo seja 1 a 6, e que os átomos de iodo não sejam geminais nem vicinais;

e em que R_2 é H, alquila, alcoxialquila, hidroalcoxialquila, polihidroxialquila, hidróxi poli alquilenoxialquila insaturada ou saturada, linear ou

ramificada.

[0018] Surpreendentemente, o dito agente de contraste de CT é adaptado para um uso oral (isto é, peroral).

[0019] Outro objetivo da presente invenção é fornecer um método de *imageamento in vivo* com Tomografia Computadorizada de tecido adiposo marrom e/ou bege (BAT) em um indivíduo, que compreende administrar oralmente um agente de contraste que compreende uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I (como definido acima).

[0020] Um objetivo adicional da invenção é fornecer um método de *imageamento in vivo* com Tomografia Computadorizada do coração ou do fígado em um indivíduo, que compreende administrar oralmente um agente de contraste que compreende uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I, como descrito acima.

[0021] Outros objetivos e vantagens da invenção se tornarão evidentes para aqueles versados na técnica a partir de uma revisão da descrição detalhada subsequente, que prossegue com referência aos desenhos ilustrativos a seguir, e as reivindicações assistentes.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[0022] Figura 1: Mostra a distribuição de tamanho da nanoemulsão preparada com ácido diiodo-esterárico, excipientes (Tween 80, Span 80) em água. O tamanho médio das gotículas de óleo era em torno de 100 nm determinado por difusão de luz dinâmica.

[0023] Figura 2: Ilustra o agrupamento de nanoemulsão ternário com ácido diiodo-esterárico, excipientes (Tween 80, Span 80) e água. Os pontos brancos representam nano-emulsões e os pontos pretos representam ausência de nano-emulsões ou separação de fase.

[0024] Figura 3: Mostra uma vista axial de varredura de CT de um camundongo antes e 24h após a administração oral da nanoemulsão.

[0025] Figura 4: Mostra a cinética aperfeiçoada de tecido adiposo marrom

antes e após a ingestão oral da nanoemulsão.

[0026] Figura 5: Mostra representação em 3D de tecido adiposo bege e marrom em um camundongo alojado em 6 graus e a descrição detalhada de cada depósitos bege e marrom no corpo do camundongo.

[0027] Figura 6: Mostra vistas axiais de varredura de CT de um camundongo sem e 7h após a administração oral da nanoemulsão que revela o aperfeiçoamento do músculo cardíaco (Fig. 6a) e do fígado (Fig. 6b).

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[0028] Agentes de contraste de tomografia computadorizada (CT) observaram apenas aprimoramentos graduais ao longo dos últimos 20 anos. Não obstante, os Requerentes desenvolveram um agente de contraste de CT iodado produzido a partir de derivados de ácido graxo para visualização não invasiva e quantificação do tecido adiposo bege e marrom (BAT). Vantajosamente, esse agente de contraste deve ser tomado de modo peroral, o que é uma inovação em imageamento de CT. Atualmente, não há agente de contraste de CT que pode ser tomado oralmente para visualizar e quantificar metabolismo de gordura do tecido adiposo marrom ou para imageamento do coração e fígado de um indivíduo. A resolução de imagem por CT é significativamente aprimorada em comparação com tomografia por emissão de pósitrons (PET).

[0029] A rota oral é comumente usada para administração de óleos iodados a fim de tratar bócio ou, no caso de um acidente nuclear, mas essa via de administração nunca foi descrita como um meio de entregar um agente de contraste para imageamento de CT de órgãos parentais. Além disso, experimentos realizados por Requerentes mostraram toxicidade após injeção iv (intravenosa) dos ácidos graxos iodados e uma absorção perfeita e rápida com nenhum efeito adverso após administração oral.

[0030] O uso desse agente de contraste de CT iodado em nível pré-clínico ou clínico também permite a avaliação e monitoramento de tratamentos que buscam o aumento da atividade do tecido adiposo bege e marrom, que é uma abordagem promissora para tratar diabetes e obesidade.

[0031] ¹⁸F-deoxiglicose-PET radioativo é a modalidade de imageamento dominante para avaliar de modo não invasivo BAT, mas a mesma sofre de

diversas limitações. A ingestão de glicose medida por $^{18}\text{FDG-PET}$ poderia subestimar atividade de BAT mediante condições fisiologicamente significativas como leve constipação. Ademais, algumas afecções patológicas como resistência à insulina em diabetes tipo 2 poderia mitigar ou influenciar a quantificação da atividade de BAT com $^{18}\text{FDG-PET}$. Em comparação com tomografia por emissão de pósitrons (PET), resolução de imagem por CT é significativamente melhor, a dose de radiação poderia ser reduzida e tecnologia de CT é mais amplamente disponível nas clínicas em todo o mundo.

[0032] Embora métodos e materiais similares ou equivalentes àqueles descritos no presente documento possam ser usados na prática ou teste da presente invenção, métodos e materiais adequados são descritos abaixo. Todas as publicações, pedidos de patente, patentes, e outras referências mencionadas no presente documento são incorporadas a título de referência em sua totalidade. As publicações e pedidos discutidos no presente documento são fornecidos apenas para sua revelação antes da data de depósito do presente pedido. Nada no presente documento deve ser interpretado como uma admissão de que a presente invenção não é designada para antedatar tal publicação por virtude de invenção anterior. Além disso, os materiais, métodos, e exemplos são apenas ilustrativos e não se destinam a ser limitantes.

[0033] No caso de conflito, o presente relatório descritivo, incluindo definições, terá prioridade. Exceto onde definido em contrário, todos os termos científicos e técnicos usados no presente documento têm o mesmo significado conforme é entendido comumente por uma pessoa versada na técnica para a qual a matéria reivindicada pertence. Conforme usado no presente documento, as seguintes definições são supridas a fim de facilitar o entendimento da presente invenção.

[0034] O termo "compreende" é geralmente usado no sentido de incluir, isto é, permitir a presença de um ou mais recursos ou componentes.

[0035] Conforme usado neste relatório descritivo e nas reivindicações, as formas singulares de "um", "uma", "o" e "a" incluem referentes plurais, a menos que o contexto indique claramente o contrário.

[0036] Como usado no presente documento, os termos "indivíduo" ou

"paciente" são bem reconhecidos na técnica, e, são usados de modo intercambiável no presente documento para se referir a um mamífero, incluindo cachorro, gato, rato, camundongo, macaco, vaca, cavalo, cabra, ovelha, porco, camelo e, com máxima preferência, um ser humano. Em algumas modalidades, o indivíduo é um indivíduo que necessita de um diagnóstico ou um indivíduo com uma doença ou distúrbio diagnosticado. No entanto, em outras modalidades, o indivíduo pode ser um indivíduo saudável. O termo não representa uma idade ou sexo particular. Desse modo, indivíduos adultos e recém-nascidos, homem ou mulher, se destinam a ser abrangidos.

[0037] O termo "emulsão" é geralmente interpretado para se referir a um sistema coloidal de gotículas de um líquido disperso em outro líquido com o qual é imiscível; tal definição não abrange apenas sistemas de água e ácidos graxos líquidos ou seus derivados e não dispersões de ácidos graxos sólidos ou seus derivados.

[0038] O termo "nanoemulsão" é usado no presente documento para abranger sistemas coloidais de ácidos graxos líquidos ou sólidos ou seus derivados em água; a forma física precisa das partículas dispersas de fase oleosa não é certa, mas as partículas são provavelmente sólidas, semissólidas ou líquidas. O tamanho médio da nanoemulsão estará na faixa de nm, de preferência, abaixo de 1.000 nm (consulte Fig. 1).

[0039] Os termos "órgãos parentais" no contexto da invenção se referem a imageamento de órgãos em outra parte do corpo além da boca e/ou o canal alimentar (isto é, trato gastrointestinal). Os órgãos parentais representam órgãos situados ou que estão fora do intestino, em conformidade, se referem à localização final dos órgãos e não à via de administração. Essa definição se refere a órgãos (também denominados no presente documento de "órgãos internos") localizados dentro do corpo, mas fora do intestino ou trato digestivo.

[0040] O termo "ácidos graxos iodados" usado ao longo da invenção em efeito pode ser ácidos carboxílicos alifáticos retos ou ramificados, saturados que contêm pelo menos 4 e, de preferência, não mais de 24 átomos de carbono na molécula, como ácido oleico, linoleico, linolenico, estearinídico, araquidônico, elaídico, gondoíco, erúcico, docosatetraenoico, eicosapentaenoico ou docosa-

hexaenoico iodado e similar, usados sozinhos ou administrados um com o outro ou com quantidades pequenas de outros ácidos graxos. Os mesmos contêm número máximo de átomos de iodo como uma consequência de reação de hidroiodinação de ligações duplas de alceno de ácido graxo sintético ou natural. A invenção também abrange ácidos graxos e/ou ésteres “periodizados” dos mesmos, esse termo se refere a ácidos graxos iodados e/ou ésteres que possuem a quantidade máxima possível de átomos de iodo dentro de suas estruturas químicas. De acordo com uma modalidade particular da invenção ácidos graxos e/ou ésteres periodizados dos mesmos são preferenciais.

[0041] De acordo com a presente invenção, sais farmaceuticamente aceitáveis do composto de ácidos graxos iodados da invenção também são abrangidos.

[0042] Como usado no presente documento, a expressão "sal farmaceuticamente aceitável" (também denominado no presente documento como "sal") se refere a um sal que retém a eficácia biológica dos ácidos livres do composto de ácidos graxos iodados da invenção e que não é biologicamente ou, de outro modo, indesejável. Os sais farmaceuticamente aceitáveis do composto de ácidos graxos iodados de fórmula geral (I) são sais com adição de ácido com ácidos farmaceuticamente aceitáveis.

[0043] Um sal desejado pode ser preparado por qualquer método adequado conhecido na técnica, incluindo tratamento do ácido livre com uma base inorgânica, como hidróxido de lítio, hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, hidróxido de cálcio, hidróxido de magnésio, hidróxido de zinco, ou base orgânica, como hidróxido de amônio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, dietilamina, trimetilamina, morfolina, piperazina, L-arginina, 4-fenil-ciclo-hexilamina, benetamina, benzatina, betaína, hidrabamina, 4-(2-hidroxietil) morfolina, L-(2-hidroxietil)-pirrolidona, L-(2-hidroxietil)piperazina, N-metilglucamina, hidróxido de N,N,N- trimetil etanolamina, trometamina e similares.

[0044] Em geral, os sais são preparados carregando-se o ácido livre em um solvente orgânico, como um alkanol inferior, éteres simétrico ou assimétrico que contêm 2 a 10 átomos de carbono, um alquil éster, ou misturas dos mesmos e, então, tratados com quantidade estequiométricas ou com um excesso do sal

desejado que forma base orgânica ou inorgânica para formar o sal correspondente. O sal é recuperado por técnicas de recuperação padrão, por exemplo, por evaporação da solução, ou por filtragem do sal desejado da mistura, ou o mesmo pode ser precipitado pela adição de um solvente no qual o sal é insolúvel e recuperado a partir do mesmo.

[0045] Exemplos de solventes inorgânicos e orgânicos adequados para realizar as diversas reações incluem qualquer solvente orgânico ou inorgânico que não afeta de modo adverso os reagentes ou o produto resultante, incluindo solventes halogenados, como cloreto de metileno, clorofórmio, solventes de éter, como éter dietílico, e outros solventes, como tetra-hidrofuran, dioxano, diglima, ciclooctano, benzeno ou tolueno, heptano, ciclo-hexano, solventes de hidrocarboneto alifáticos, bem como cicloalifáticos e aromáticos, água, soluções aquosas, soluções orgânicas e inorgânicas misturadas, acetato de etila, acetato de propila e misturas dos mesmos. Cátions inorgânicos preferenciais compreendidos nos sais são lítio, sódio, potássio, rubídio, amônio, cálcio, magnésio, zinco e manganês.

[0046] Em química, o termo “geminal” usado no presente documento se refere à relação entre dois átomos ou grupos funcionais que são fixados ao mesmo átomo.

[0047] O termo relacionado “vicinal” se refere à relação entre dois grupos funcionais que são fixados a átomos adjacentes. Atualmente, é quase impossível sintetizar ácidos graxos iodados e/ou ésteres dos mesmos que têm átomos de iodo fixados a átomos de carbono adjacentes (isto é, vicinal). Devido ao impedimento estérico, essas moléculas são instáveis e não podem ser usadas para o propósito da presente invenção. No entanto, pode ser possível que, no futuro, o versado na técnica encontre uma solução técnica para esse problema. Desse modo, em caso de ácidos graxos iodados estáveis e/ou ésteres dos mesmos que têm átomos de iodo em posições vicinais são fornecidos, acredita-se que esses compostos também sejam adequados para solucionar o problema técnico da presente invenção.

[0048] Como usado no presente documento, o termo "alquila" inclui qualquer grupo de hidrocarboneto alifático saturado ou insaturado, ramificado ou de

cadeira reta, de cadeia longa ou curta. Os grupos alquila insaturada podem ser grupos mono- ou poli-insaturados e incluem tanto grupos alquenila quanto alquinila. Tais grupos podem conter até 40 átomos de carbono. No entanto, grupos alquila que contêm até 10, por exemplo, 8, mais preferencialmente até 6 e, especialmente de preferência, até 4 átomos de carbono são preferenciais.

[0049] O termo "alcoxila" representa -O-alquila. Um exemplo de uma alcoxila é uma C1-C6 alcoxila, que representa uma cadeia de alquila reta ou ramificada que tem de um a seis átomos de carbono fixados a um átomo de hidrogênio. Os C1-C6 grupos alcoxila exemplificativos incluem metoxila, etoxila, propoxila, isopropoxila, butoxila, sec-butoxila, t-butoxila, pentoxila, hexoxila, e similares. C1-C6 alcoxila inclui dentro de sua definição uma C1-C4 alcoxila.

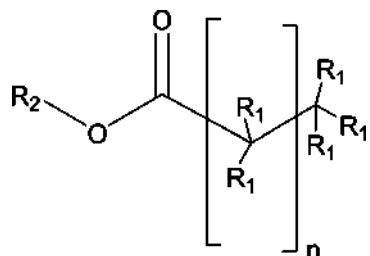
[0050] O termo "arila" como usado no presente documento se refere a anel carboxílico ou heterocíclico, aromático, 5 a 14 membros monocíclico ou policíclico. Arilas exemplificativas incluem fenila, naftila, antrila, fenantrina, tienila, pirrolila, imidazolila, pirazolila, furila, isotiazolila, furazanila, isoaxazolila, tiazolila, piridila, pirazinila, pirimidinila, piridazinila, triazinila, benzo[b]tienila, nafto[2,3-b]tianthrenila, isobenzofuranila, cromenila, xantenila, fenoxatienila, indolizinila, isoindolila, indolila, indazolila, purinila, isoquinolila, quinolila, ftalazinila, naftiridinila, quinoxalinila, quinzolinolina, benzotidolinila, benzotidolinila, tetra-hidroquinolinila, cinolinila, pteridinila, carbazolila, beta-carbolinila, fenatridinila, acridinila, perimidinila, fenantrolinila, fenazinila, isotiazolila, fenotiazinila e fenoxazinila.

[0051] Em química orgânica, um composto "saturado" é um composto químico que tem uma cadeia de átomos de carbono unidos por ligações únicas. Alcanos são hidrocarbonetos saturados. Um composto "insaturado" é um composto químico que contém ligações triplas ou ligações duplas carbono-carbono, como aquelas constatadas em alcenos ou alcinos, respectivamente. Compostos saturados e insaturados não precisam consistir apenas em uma cadeia de átomo de carbono. Os mesmos podem formar cadeia reta, cadeia ramificada, ou disposições de anel. Os mesmos também podem ter grupos funcionais. É nesse sentido que os ácidos graxos são classificados como saturado ou insaturado. A quantidade de insaturação de um ácido graxo pode

ser determinada constatando-se seu número de iodo. Os compostos insaturados são aqueles nos quais a reação de adição pode ser obtida. Em uma cadeia de carbonos, como um ácido graxo, uma ligação dupla ou tripla ocasionará uma dobra na cadeia. Essas dobras têm implicações macroestruturais. As gorduras insaturadas tendem a ser líquidas em temperatura ambiente, em vez de sólidas, uma vez que as dobras na cadeia impedem que as moléculas sejam acondicionadas em grande proximidade para formar um sólido, essas gorduras são chamadas óleos.

[0052] O termo “poli-hidróxi” ou poli-hídrico se refere a um composto químico que contém dois ou mais grupos hidroxila por molécula.

[0053] É um objetivo da presente invenção fornecer um método de *imageamento in vivo* com Tomografia Computadorizada (CT) de órgãos parentais que compreende administrar oralmente em um indivíduo um agente de contraste que compreende uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I:



FÓRMULA I

em que $n = 2-22$;

R_1 é H ou I, com a provisão de que o número de átomos de iodo seja 1 a 6, e que os átomos de iodo não sejam geminal nem vicinal;

e em que R_2 é H, alquila, alcoxialquila, hidroalcoxialquila, polihidroxialquila, hidróxi poli alquilenoxialquila insaturada ou saturada, linear ou ramificada.

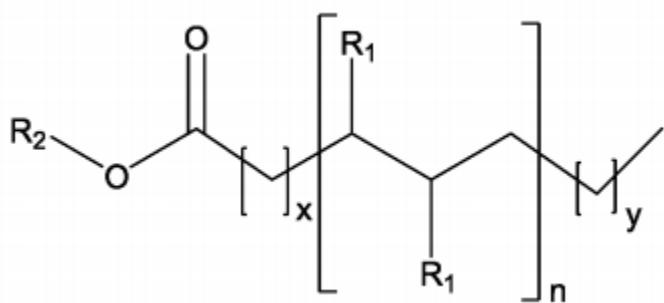
[0054] Surpreendentemente, o dito agente de contraste de CT é adaptado para um uso oral (isto é, peroral).

[0055] De preferência, o grupo R_2 pode ser mono ou polissubstituído. Os grupos R_2 adequados podem incluir, porém, sem limitação, um conjunto de

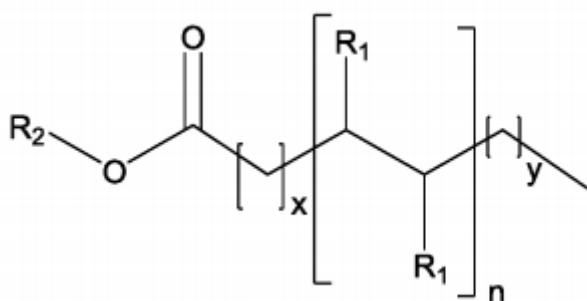
substituintes de alquila, como metila, etila, propila, isopropila, butila, isobutila, t-butila, ciclopripilmetila, pentila, isopentila, hexila, iso-hexila, heptila, iso-heptila, octila, iso-octila, 2-propenila, alila, crotila, 1-butenila, 2-butenila, butadienila, etinila, 1-propinila, 2-propinila, 1-butinila, 2-butinila, 3-butinila e propagila, ciclopentila, ciclo-hexila, ciclo-heptila, adamantila; substituintes de arila, como fenila, naftila, anisila, toluila, xilenila, arilóxi, aralquila, aralquilóxi, grupos heteroarila (pirimidina, morfolina, piperazina, piperidina, tiofeno), 1-ciclohexilpropila, ou substituintes de haloalquila, como fluorometila, 1-fluoroetila, 2-fluoroetila, difluorometila, trifluorometila e pentafluoroetila, clorodimetila, clorometila, 2-cloroetila, 2,4-diclorofenila, 1,1,2,2-tetracloroetila, 1-clorobutila, e 4-clorobenzila.

[0056] Os mesmos podem incluir grupos alquila substituídos, como 9-fluorenilmelila, metoxietoximetila, tetra-hidropiranila, pivaliloximetila, fenilacetoximetila, fenacila e fenacila substituída, como p-bromofenacila, p-metoxifenacila, e também /-butila, 3-metil-3-pentil, ciclopentila, cico-hexila, alil, 3-buten-1-ila, cinamila, oxazol e 2-alquila-1,3-oxazolina. Os mesmos também podem incluir alquilarila como benzila, benzila substituída, como trifenilmelila, p-metoxibenzila, 4-picolila, difoenilmelila feniletila, feniletila substituída, mas também alcoxialquila, como metoximetila, etoximetila, propoximetila, butoximetila, metoxietila, etoxietila, propoxietila, isopropoxietila, butoxietila, isobutoxietila, hidroalcoxialquila, como hidroximetoximetila, 2-hidroxietoximetila, 3-hidroxipropoximetila, 4-hidroxibutoximetila, hidroximetoxietila, hidroximetoxipropil hidroximetoxibutil, hidroximetoxipentila, hidroximetoxihexila, poli-hidroxialquila, e hidroxipolialquilenooxialquila.

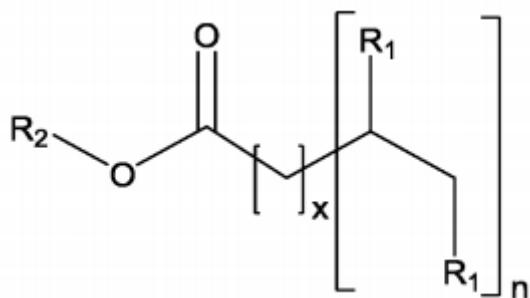
[0057] Os ácidos graxos iodados que têm 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I compreendem as subfórmulas A, B, e C a seguir, dependendo do material de partida usado.



Fórmula A



Fórmula B



Fórmula C

em que n é um número inteiro de 1-6, e x , y são átomos de carbono, nos quais $x=0-20$ e $y=0-20$ e $x+y\leq 20$ com a provisão de que o número total de átomos de carbono nas Fórmulas A, B ou C, respectivamente, seja ≤ 24 ;

e em que grupo R_2 pode ser mono ou polissubstituído.

[0058] Desse modo, grupos R_2 adequados incluem, por exemplo, alquila não substituída, como metila, etila, propila, isopropila, butila, isobutila, pentila, isopentila, hexila, iso-hexila, heptila, iso-heptila, octila, isoocnila e similares, mas também grupos alquila substituídos, como 9-fluorenilmetila, metoxietoximetila, tetra-hidropiranila, pivaliloximetila, fenilacetoximetila, fenacila e fenacila substituída, como p-bromofenacila, p-metoxifenacila, e também /-butila, 3- metil-

3-pentila, ciclopentila, ciclo-hexila, alila, 3-buten-lila, cinamila, oxazol, 2-alquila-1,3-oxazolina e similares. Os mesmos também incluem alquilarila, como benzila, benzila substituída, como trifenilmetila, p-metoxibenzila, 4-picolila, diphenilmetilfeniletila, feniletila substituída, mas também alcoxialquila, como metoximetila, etoximetila, propoximetila, butoximetila, metoxietila, etoxietila, propoxietila, isopropoxietila, butoxietila, isobutoxietila, hidroalcoxialquila, como hidroximetoximetila, 2-hidroxietoximetila, 3-hidroxipropoximetila, 4-hidroxibutoximetila, hidroximetoxietila, hidroximetoxipropil hidroximetoxibutila, hidroximetoxipentila, hidroximetoxihexila, poli-hidroxialquila, hidroxipolialquilenooxialquila e grupos similares.

[0059] Os ácidos graxos iodados que têm 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou misturas dos mesmos de acordo com a invenção podem existir como misturas isoméricas ou isômeros únicos. Se não especificado, ambas as formas isoméricas são previstas. Quando um composto da invenção contém um centro quiral, o composto iodado pode ser fornecido como um isômero único (R ou S) ou como uma mistura de isômeros, por exemplo, uma mistura racêmica. Quando um composto iodado da invenção contém mais de um centro quiral, o composto iodado pode ser fornecido como um diastereoisômero enantiometricamente puro ou como uma mistura de diastereoisômeros.

[0060] Em uma modalidade, os ácidos graxos iodados que têm 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou misturas dos mesmos de acordo com a presente invenção têm pelo menos um centro assimétrico. Como consequência desse centro assimétrico, o composto iodado da presente invenção pode ocorrer em qualquer uma das formas estequiométricas possíveis, e pode ser usado em misturas de estereoisômeros, que podem ser opticamente ativas ou racêmicas, ou podem, ser usadas sozinhas como estereoisômeros essencialmente puros, isto é, pelo menos 95% puros. Todas as formas assimétricas, estereoisômeros individuais e combinações dos mesmos, estão dentro do escopo da presente invenção.

[0061] De acordo com uma modalidade da invenção, o agente de contraste peroral que consiste em uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres dos mesmos pode ser

usado em uma mistura que compreende diversos ou pelo menos dois ácidos graxos iodados que têm cadeias de carbono diferentes de 4 a 24 átomos de carbono.

[0062] Em uma modalidade preferencial da invenção, o agente de contraste consiste em uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que têm, de preferência, 10 a 20 átomos de carbono e, mais preferencialmente, 16 a 18 átomos de carbono de acordo com a fórmula geral I. Em uma modalidade ainda mais preferencial, o ácido graxo iodado é um ácido linolênico iodado. De preferência, os ácidos graxos iodados são periodinados.

[0063] Em particular, a nanoemulsão de preferência compreende emulsificantes biocompatíveis selecionados dentre lecitina, éteres de polietilenoglicol com álcoois graxos, polissorbatos e ésteres de sorbitano ou suas misturas. Lecitinas, polissorbatos (Tweens) e tensoativos de ésteres de sorbitano (Spans) são preferenciais visto que os mesmos têm um uso seguro e longo documentado em cosméticos, produtos alimentícios e formulações farmacêuticas (oral, parenteral e tópica). De preferência, a quantidade dos emulsificantes biocompatíveis na nanoemulsão é entre 5 a 30% (p/p) da nanoemulsão total.

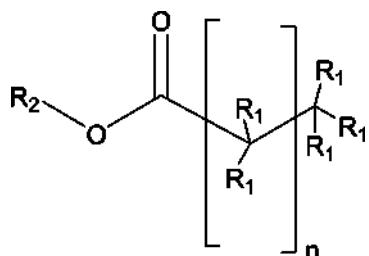
[0064] Em uma modalidade, o agente de contraste de CT peroral do método de acordo com a invenção é adaptado para imageamento *in vivo* não invasivo, quantificação, e/ou monitoramento da atividade do tecido adiposo marrom e/ou bege (BAT) em um indivíduo.

[0065] De acordo com outra modalidade, o agente de contraste de CT peroral do método de acordo com a invenção é adaptado para visualização *in vivo* não invasiva e/ou quantificação de esteatose de fígado ou tumores de fígado em um indivíduo.

[0066] De acordo com uma modalidade adicional, o agente de contraste de CT peroral do método de acordo com a invenção é adaptado para visualização *in vivo* não invasiva do coração e avaliação da função cardíaca.

[0067] De acordo com uma modalidade preferencial, o agente de contraste de CT peroral do método de acordo com a invenção é administrado em uma dose que corresponde a entre 0,5 e 1,6 mg de iodo por grama de peso corporal.

[0068] É outro objetivo da presente invenção fornecer um método de *imageamento in vivo* com Tomografia Computadorizada de tecido adiposo marrom e/ou bege (BAT) em um indivíduo, que compreende administrar oralmente um agente de contraste que compreende uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I (como definido acima).



FÓRMULA I

em que n = 2-22;

R₁ é H ou I, com a provisão de que o número de átomos de iodo seja 1 a 6, e que os átomos de iodo não sejam geminal nem vicinal;

e em que R₂ é H, alquila, alcoxialquila, hidroalcoxialquila, polihidroxialquila, hidróxi poli alquilenoxialquila insaturada ou saturada, linear ou ramificada.

[0069] Em particular, o agente de contraste da invenção consiste em uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem, de preferência, 10 a 20 átomos de carbono e, mais preferencialmente, 16 a 18 átomos de carbono de acordo com uma fórmula geral I. Em uma modalidade ainda mais preferencial, o ácido graxo iodado é um ácido linolênico iodado.

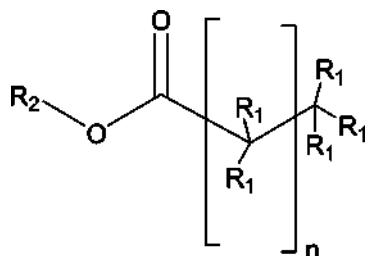
[0070] Conforme definido acima, a nanoemulsão, de preferência, compreende emulsificantes biocompatíveis selecionados dentre lecitina, éteres de polietilenoglicol com álcoois graxos, polissorbitos e ésteres de sorbitano ou suas misturas. De preferência, a quantidade dos ditos emulsificantes biocompatíveis na nanoemulsão é entre 5 a 30% (p/p) da nanoemulsão total.

[0071] Em uma modalidade, o agente de contraste para o método de *imageamento in vivo* com CT da invenção é adaptado para *imageamento in vivo*

não invasivo, quantificação e/ou monitoramento da atividade do tecido adiposo marrom e/ou bege (BAT) em um indivíduo.

[0072] De acordo com uma modalidade preferencial, o agente de contraste de CT peroral do método de acordo com a invenção é administrado em uma dose que corresponde a entre 0,5 e 1,6 mg de iodo por grama de peso corporal.

[0073] É um objetivo adicional da invenção fornecer um método de *imageamento in vivo* com Tomografia Computadorizada do coração ou do fígado em um indivíduo, que compreende administrar oralmente um agente de contraste que compreende uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I, como descrito acima.



FÓRMULA I

em que n = 2-22;

R₁ é H ou I, com a provisão de que o número de átomos de iodo seja 1 a 6, e que os átomos de iodo não sejam geminal nem vicinal;

e em que R₂ é H, alquila, alcoxialquila, hidroalcoxialquila, polihidroxialquila, hidróxi poli alquilenoxialquila insaturada ou saturada, linear ou ramificada.

[0074] Em particular, o agente de contraste do método de acordo com a invenção consiste em uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem, de preferência, 10 a 20 átomos de carbono e, mais preferencialmente, 16 a 18 átomos de carbono de acordo com a fórmula geral I. Em uma modalidade ainda mais preferencial, o ácido graxo iodado é um ácido linolênico iodado.

[0075] Conforme definido acima, a nanoemulsão, de preferência, compreende emulsificantes biocompatíveis selecionados dentre lecitina, éteres de polietilenoglicol com álcoois graxos, polissorbitos e ésteres de sorbitano ou

susas misturas.

[0076] De acordo com uma modalidade, o agente de contraste de CT peroral do método de acordo com a invenção é adaptado para a visualização e/ou quantificação de esteatose de fígado ou tumores de fígado em um indivíduo.

[0077] O fígado regula fluxo metabólico no corpo. Hepatócitos, que são o principal tipo de célula no fígado removem muitos materiais de circulação, especialmente lipídios. Essa propriedade é de extrema importância para o desenvolvimento de esteatose de fígado, que é uma acumulação de lipídios em hepatócitos. Uma fonte importante de lipídio para o hepatócito é livre circulação de ácidos graxos (FFAs) que advêm da lipólise de triglicerídeos armazenados e gordura dietética. Visto que o agente de contraste da invenção é tomado oralmente, o mesmo é assimilado como gordura dietética. Desse modo, vantajosamente, a nanoemulsão de ácidos graxos iodados (isto é, o agente de contraste da invenção) é tomada por hepatócitos e essa ingestão será aumentada no caso de esteatose.

[0078] De acordo com outra modalidade, o agente de contraste de CT peroral do método de acordo com a invenção é adaptado para a visualização do coração e avaliação de sua função em um indivíduo.

[0079] Ácidos graxos de cadeia longa fornecem 70 a 80% da energia para atividade contrátil cardíaca. Ácidos graxos podem entrar nos cardiomiócitos através de difusão simples, ou através de um mecanismo mediado por proteína. O agente de contraste da invenção será, portanto, admitido pelo músculo do coração levando a aperfeiçoamento visível do músculo cardíaco na varredura de CT. De preferência, o agente de contraste de CT peroral do método de acordo com a invenção é administrado em uma dose que corresponde a entre 0,5 e 1,6 g de iodo por kg de peso corporal.

[0080] No entanto, em determinadas modalidades, a nanoemulsão pode compreender, por exemplo, pelo menos cerca de 0,01 mg de iodo por g de peso corporal do agente de contraste de CT peroral da invenção. Em outras modalidades, a nanoemulsão pode compreender entre cerca de 0,1% a cerca de 75% do peso da unidade, ou entre cerca de 2% a cerca de 20%, por exemplo, e qualquer faixa derivável dos mesmos.

[0081] Em outros exemplos não limitantes, uma dose também pode compreender de cerca de 1 µg/kg/peso corporal, cerca de 100 µg/kg/peso corporal, cerca de 500 µg/kg/peso corporal, cerca de 1 mg/kg/peso corporal, cerca de 5 mg/kg/peso corporal, cerca de 10 mg/kg/peso corporal, cerca de 50 mg/kg/peso corporal, cerca de 100 mg/kg/peso corporal, cerca de 200 mg/kg/peso corporal, cerca de 300 mg/kg/peso corporal, cerca de 350 mg/kg/peso corporal, cerca de 400 mg/kg/peso corporal, cerca de 450 mg/kg/peso corporal, cerca de 500 mg/kg/peso corporal, cerca de 600 mg/kg/peso corporal, cerca de 700 mg/kg/peso corporal, cerca de 800 mg/kg/peso corporal, cerca de 900 mg/kg/peso corporal, cerca de 1.000 mg/kg/peso corporal, cerca de 2.000 mg/kg/peso corporal a cerca de 5.000 mg/kg/peso corporal ou mais por administração, e qualquer faixa derivável dos mesmos. Em exemplos não limitantes de uma faixa derivável dos números listados no presente documento, uma faixa de cerca de 350 mg/kg/peso corporal a cerca de 1.000 mg/kg/peso corporal, cerca de 50 µg/kg/peso corporal a cerca de 500 mg/kg/peso corporal, e similares, podem ser administrados.

[0082] Em todo caso, a dose da nanoemulsão que deve ser usada depende da afecção particular que é diagnosticada, a gravidade da afecção, os parâmetros individuais de paciente, incluindo idade, condição física, tamanho e peso, a duração do imageamento, a natureza de terapia concomitante (se houver) e outros fatores similares que estão dentro do conhecido e experiência do médico da saúde. Esses fatores são conhecidos por aqueles de habilidade na técnica e podem ser abordados com experimentação mínima de rotina. Consequentemente, a dosagem ideal pode ser determinada pelo médico que está diagnosticando qualquer paciente particular.

[0083] De fato, o substrato principal de adipócitos marrom ou bege é considerado como ácidos graxos mais do que glicose¹. Essa também pode ser a razão pela qual o agente de contraste de CT é mais admitido por adipócitos marrons quando camundongos são colocados em ambiente frio ou farmaceuticamente tratados a fim de ativar tecido adiposo marrom, o que significa que um indivíduo pode obter informações anatômicas e funcionais da mesma varredura de CT. Outros métodos de imageamento para BAT, como

¹⁸FDG-PET exigem ativação de BAT, mas os requerentes observaram que BAT e mesmo tecidos adiposos marrons poderiam ser imageados com o uso do agente de contraste de CT inovador sem ativação anterior desses tecidos.

[0084] Segundo, a resolução de micro-CT é bem melhor (entre 10 e 100 micrômetros) que a resolução de micro-PET (na ordem de 1 milímetro), permitindo o delineamento preciso de depósitos bege dentro de tecido adiposo branco. Essa última propriedade é de importância particular devido ao fato de que nenhum método de imageamento até hoje teve capacidade de ressaltar o tecido adiposo bege dentro do tecido adiposo branco com tal precisão. De fato, adipócitos bege irão admitir o agente de contraste, o que resultará em aperfeiçoamento considerável do contraste entre adipócitos bege e branco. Por outro lado, o agente de contraste não é detectado em adipócitos brancos.

[0085] De acordo com o conhecimento dos Requerentes, é a primeira vez que um indivíduo pode alcançar esse desempenho de modo não invasivo e in-vivo. Isso permite delinear de modo preciso depósitos pequenos bege em torno do coração e vasos o que é quase impossível com ¹⁸FDG-PET devido ao efeito de transbordamento do próprio sinal do coração. A possibilidade de estudar de modo não invasivo e preciso a amarronzamento de PVAT (tecido adiposo perivascular) e tecido adiposo cardíaco também poderia ajudar na avaliação de seu papel em doença cardiovascular, como aterosclerose ou hipertensão. Requerentes também puderam identificar claramente no camundongo novos depósitos bege que foram descritos de modo insuficiente até o momento, como na área da virilha ou atrás do joelho na área da poplítea. Ademais,

[0086] Requerentes puderam mostrar uma regionalização do depósito bege em lóbulos diferentes dentro do bloco de gordura inguinal. Requerentes também introduzem a varredura de CT como uma ferramenta para monitorar uma indicação de atividade metabólica de um tecido, geralmente reservada para varredura por PET. De fato, Requerentes mostraram que afecções que ativam gordura marrom ou bege, como baixa temperatura ou ativação adrenérgica através de receptores beta-3 leva a um aumento na ingestão do agente de contraste de CT. De modo mais marcante, Requerentes também mostraram que o agente de contraste de CT da invenção, composto por ácidos graxos é

detectável mesmo na afecção de baixa ativação de tecido adiposo marrom que é realmente desafiador com o uso de PET devido aos limites aceitáveis de exposição à radiação de voluntários. Os marcadores de ácidos graxos para PET, como 18ácido F-fluoro-tia-heptadecanoico (18FTHA) 4 já foi testado para imageamento de BAT, mas parece oferecer baixo sinal em seres humanos.

PREPARAÇÃO:

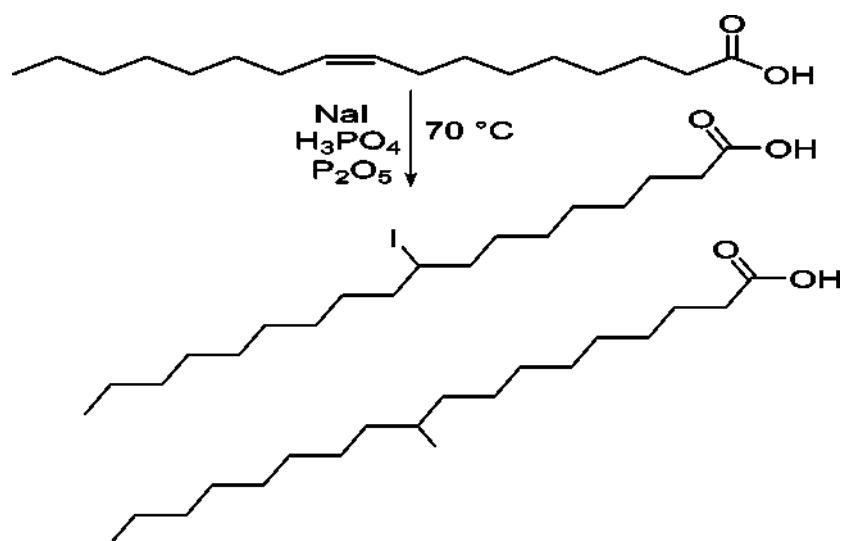
[0087] É entendido que qualquer método adequado para preparar os ácidos graxos iodados que têm 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres dos mesmos de fórmula (I) conhecida para o versado na técnica pode ser abrangido pelo escopo da presente invenção.

SÍNTESE QUÍMICA

[0088] Os ácidos graxos insaturados lineares ou ramificados ou seus derivados de origem natural, semissintética ou sintética pode, ser usados como materiais de partida para produzir moléculas iodadas de interesse. O número de ligações duplas pode variar de 1 a 6.

SÍNTESE DE ÁCIDO MONOIODOESTEÁRICO

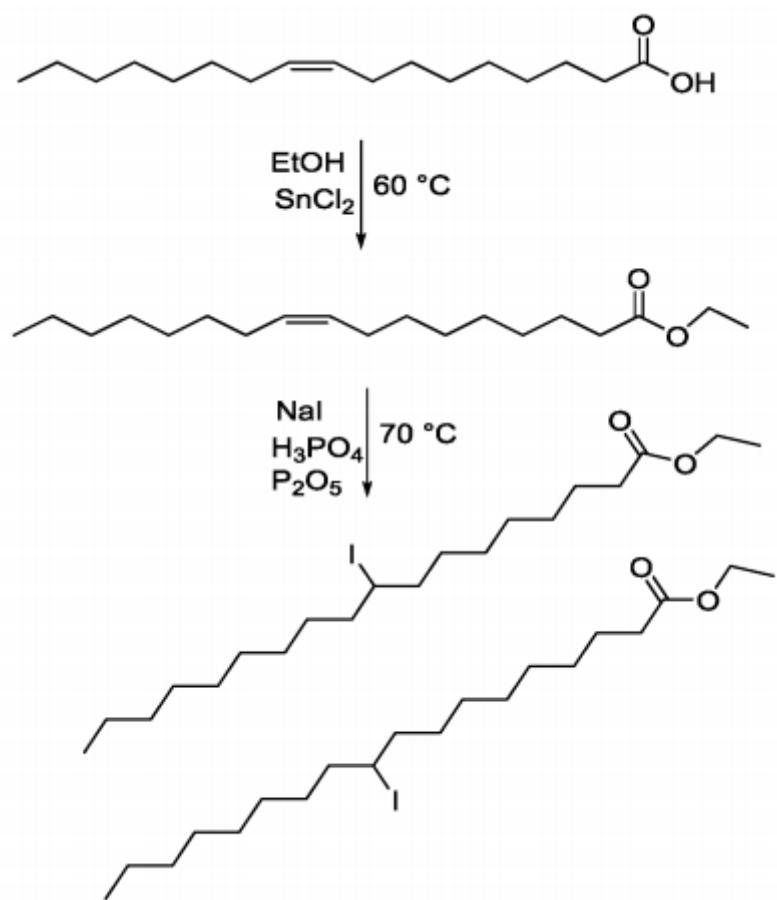
[0089] Pentóxido fosforoso (170 mg, 1,0 mmol) foi adicionado lentamente a ácido ortofosfórico (1,0 ml) mediante agitação magnética. Ácido oleico (141 mg, 0,5 mmol) e iodeto de sódio (150 mg, 1,0 mmol) foram adicionados e a mistura de reação aquecida a 70 °C mediante resfriamento de refluxo. Após 24 h, a mistura de reação foi resfriada para temperatura ambiente e o ácido separado do produto bruto. Diclorometano (20 ml) foi adicionado e a fase orgânica lavada com tiossulfato de sódio (0,1 M) até a fase orgânica se tornar incolor. A fase orgânica foi lavada com salmoura e seca com sulfato de sódio. O solvente foi evaporado mediante pressão reduzida devido ao óleo incolor que foi purificado por cromatografia Flash com o uso de gradiente de diclorometano/metanol (181 mg, 0,44 mmol, 88% de rendimento).



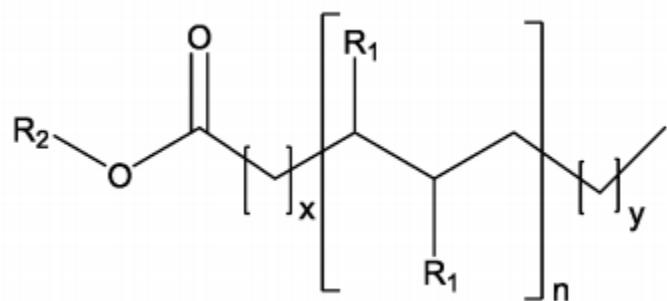
SÍNTSE DE ÁCIDO ETIL MONOIODOESTEÁRICO

[0090] Oleato de etila foi sintetizado de acordo com o procedimento publicado⁵. Brevemente, ácido oleico (282 mg, 1 mmol), álcool etílico (170 mmol, 15 ml) e SnCl₂ (19 mg, 0,1 mmol) foram agitados a 60 °C. Após 16 h, a mistura de reação foi resfriada para temperatura ambiente e o solvente evaporado mediante pressão reduzida. Diclorometano (50 ml) foi adicionado e a fase orgânica lavada com água, solução saturada de NaHCO₃ e salmoura. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ e o solvente evaporado mediante pressão reduzida, produzindo óleo incolor (282 mg, 95 % de rendimento).

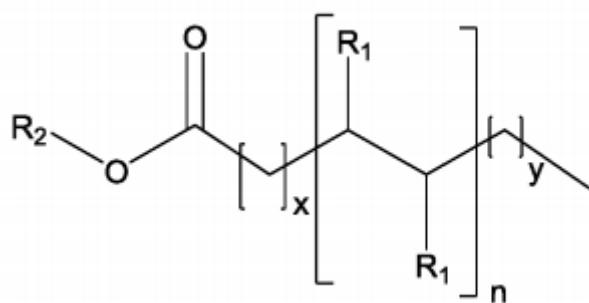
[0091] Pentóxido fosforoso (170 mg, 1,0 mmol) foi adicionado lentamente a ácido ortofosfórico (1,0 ml) mediante agitação magnética. Oleato de etila (148 mg, 0,5 mmol) e iodeto de sódio (150 mg, 1,0 mmol) foram adicionados e a mistura de reação aquecida a 70 °C mediante resfriamento de refluxo. Após 24 h, a mistura de reação foi resfriada para temperatura ambiente e o ácido separado do produto bruto. Diclorometano (20 ml) foi adicionado e a fase orgânica lavada com tiossulfato de sódio (0,1 M) até a fase orgânica se tornar incolor. A fase orgânica foi lavada com salmoura e seca com sulfato de sódio. O solvente foi evaporado mediante pressão reduzida devido ao óleo incolor que foi purificado por cromatografia Flash com o uso de gradiente de diclorometano/metanol (170 mg, 0,39 mmol, 78% de rendimento).



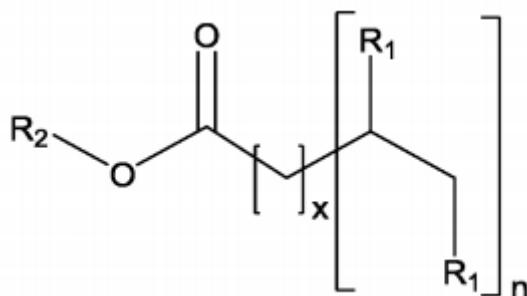
[0092] A síntese descrita fornece estruturas com as subfórmulas A, B, e C a seguir, dependendo do material de partida usado.



Fórmula A



Fórmula B



Fórmula C

em que n é um número inteiro=1-6, e x=0-20 e y=0-20 e x+y≤20 com a provisão de que o número total de átomos de carbono nas Fórmulas A, B ou C respectivamente seja ≤24; e em que o grupo R₂ pode ser mono ou polissubstituído.

[0093] De preferência, os grupos R₂ adequados podem incluir, porém, sem limitação, um conjunto de substituintes de alquila, como metila, etila, propila, isopropila, butila, isobutila, t-butila, ciclopropilmetila, pentila, isopentila, hexila, iso-hexila, heptila, iso-heptila, octila, isoocnila, 2-propenila, alila, crotila, 1-butenila, 2-butenila, butadienila, etinila, 1-propinila, 2-propinila, 1-butinila, 2-butinila, 3-butinila e propagila, ciclopentila, ciclo-hexila, ciclo-heptila, adamantila; substituintes de arila, como fenila, naftila, anisila, toluila, xilenila, arilóxi, aralquila, aralquilóxi, grupos heteroarila (pirimidina, morfolina, piperazina, piperidina, tiofeno), 1-ciclo-hexilpropila, ou substituintes de haloalquila, como fluorometila, 1-fluoroetila, 2-fluoroetila, difluorometila, trifluorometila e pentafluoroetila, clorodimetila, clorometila, 2-cloroetila, 2,4-diclorofenila, 1,1,2,2-tetracloroetila, 1-clorobutila, e 4-clorobenzila.

[0094] Os mesmos também podem incluir grupos alquila substituídos, como

9-fluorenilmetila, metoxietoximetila, tetra-hidropiranila, pivaliloximetila, fenilacetoximetila, fenacila e fenacila substituída, como p-bromofenacila, p-metoxifenacila, e também /-butila, 3-metil-3-pentil, ciclopentila, cico-hexila, alil, 3-buten-1-ila, cinamila, oxazol e 2-alquila-1,3-oxazolina.

[0095] Os mesmo também podem incluir alquilarila como benzila, benzila substituída, como trifenilmelila, p- metoxibenzila, 4-picolila, difenoilmelila feniletila, feniletila substituída, mas também alcoxialquila, como metoximetila, etoximetila, propoximetila, butoximetila, metoxietila, etoxietila, propoxietila, isopropoxietila, butoxietila, isobutoxietila, hidroalcoxialquila, como hidroximetoximetila, 2-hidroxietoximetila, 3- hidroxipropoximetila, 4-hidroxibutoximetila, hidroximetoxietila, hidroximetoxipropil hidroximetoxibutil, hidroximetoxipentila, hidroximetoxihexila, poli-hidroxialquila, e hidroxipolialquilenooxialquila.

NANO-EMULSAO:

[0096] Otimização de formulação foi realizada por projeto experimental. Diversos parâmetros foram avaliados, incluindo ingrediente ativo de CT, tipo de excipiente (ou excipientes) e quantidade, sua compatibilidade, e método de preparação. A escolha de formulação ideal teve como base propriedades físico-químicas, estabilidade e biocompatibilidade.

[0097] Nanoemulsões de óleo em água foram preparadas a fim de dissolver os ácidos graxos iodados em água, o que aprimorará sua absorção intestinal. A formulação de emulsão foi aprimorada a fim de alcançar a absorção mais rápida e mais completa do agente de contraste. O objetivo dessa última etapa é alcançar o maior aperfeiçoamento com a menor dose possível. Então, o agente de contraste foi testado em condições diferentes de ativação de gordura marrom a fim de mostrar seu potencial na avaliação do metabolismo de gordura marrom.

[0098] As características a seguir devem ser alcançadas:

- nanoemulsão O/W
- Quantidade mínima de emulsificantes
- Viscosidade baixa
- Biocompatibilidade (não tóxico e não irritante em doses necessárias)
- Estabilidade prolongada de nanoemulsões em armazenamento a 4

°C

- Eficácia de custo de materiais e processo

A curta lista proposta de excipientes e suas misturas foi testada:

- Polissorbatos (Tween) 20, 40, 60, 80
- Ésteres de sorbitano(Span) 20, 40, 60, 80, 85
- Éteres de álcool graxo de polioxietileno (Brij) 30, 35, 52, 58, 72, 78,

92, 98)

- Lecitinas
- Alquil poliglicosídeos
- Cetomacrogol 1000
- Álcool cetostearílico
- Álcool Cetílico
- Cocamida MEA
- Cocamida DEA
- Decil glicosídeo
- Decil poliglicosídeo
- Monostearato de glicerol
- Isoceteth-20
- Lauril glicosídeo
- Maltosídeos
- Monolaurina
- Micosubtilina
- Nonidet P-40
- Nonoxinol-9
- Nonoxinóis
- NP-40
- Éter monododecílico de octaetenoglicol
- N-Octil beta-D-tioglucopiranossídeo
- Octilglicosídeo
- Álcool oleico
- Glicerídeos de girassol PEG-10
- Éter monododecílico de pentaetenoglicol

- Polidocanol
- Poloxâmero
- Poloxâmero 407
- Amina de sebo polietoxilada
- Polirricinoleato de poliglicerol
- Tristearato de sorbitano
- Álcool estearílico
- Surfactina
- Triton X-100

[0099] Lecitinas, polissorbatos (Tweens) e tensoativos de ésteres de sorbitano (Spans) são preferenciais visto que os mesmos têm um uso seguro e longo documentado em cosméticos, produtos alimentícios e formulações farmacêuticas (oral, parenteral e tópica).

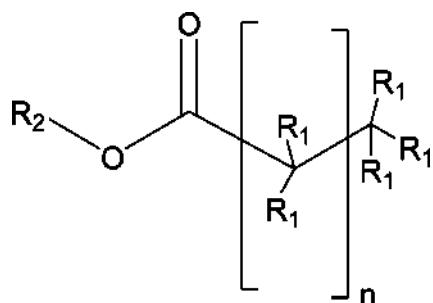
[00100] O ácido graxo ou seus derivados (dissolvidos em um solvente orgânico ou puro) podem ser adicionados água livre de íons, de preferência, que contém um emulsificante, com agitação vigorosa em uma temperatura acima do ponto de fusão do ácido graxo, para produzir uma emulsão de óleo em água bem dispersa. A agitação pode ser efetuada por qualquer meio conhecido, por exemplo, usando-se um agitador de alto cisalhamento ou de modo ultrassônico.

[00101] A quantidade de ácido graxo iodado ou seus derivados deve ser de pelo menos 10% e, de preferência, pelo menos 20% em peso da emulsão concentrada; um teor de 30% é geralmente preferencial; mas emulsões como concentradas como 40% podem ser preparadas, em alguns casos, uma quantidade pequena de um agente emulsificante é, de preferência, incluída na composição.

[00102] Quando um emulsificante é usado, a viscosidade da emulsão irá variar com a razão água/fase oleosa e, geralmente, passa através de um valor máximo uma vez que a razão de água/ácido graxo é aumentada. A fim de obter uma boa emulsão, é preferencial agitação por um tempo com a razão água/ácido graxo próxima a ou ligeiramente em excesso daquela necessária para viscosidade máxima e, então, adiciona-se ainda água livre de íons com agitação continuada para fornecer a concentração de ácido graxo iodado desejada. A emulsão é,

então, resfriada para temperatura ambiente.

[00103] Também é um objetivo da presente invenção fornecer um método de imageamento *in vitro* para o tecido adiposo bege e marrom de uma amostra do indivíduo, como um órgão ou culturas de célula com o uso de um agente de contraste de Tomografia Computadorizada que consiste em uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que têm 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I:



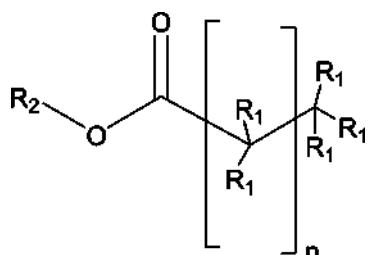
FÓRMULA I

em que n = 2-22;

R₁ é H ou I, com a provisão de que o número de átomos de iodo seja 1 a 6, e que os átomos de iodo não sejam geminal nem vicinal;

e em que R₂ é H, alquila, alcoxialquila, hidroalcoxialquila, polihidroxialquila, hidróxi poli alquilenoxialquila insaturada ou saturada, linear ou ramificada.

[00104] É outro objetivo da presente invenção fornecer uma composição que compreende uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que têm 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I (como definido acima):



FÓRMULA I

em que n = 2-22;

R₁ é H ou I, com a provisão de que o número de átomos de iodo seja

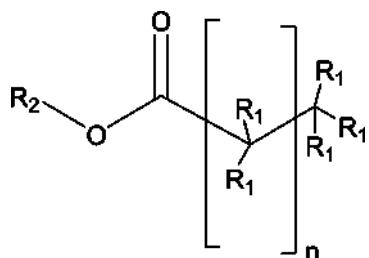
1 a 6, e que os átomos de iodo não sejam geminal nem vicinal;

e em que R₂ é H, alquilas, alquilas, alcoxialquila, hidroalcoxialquila, poli-hidroxialquila, hidróxi poli alquilenoxialquila insaturado ou saturado, linear ou ramificadas; para uso como um agente de contraste peroral de Tomografia Computadorizada não invasivo para imageamento *in vivo* do tecido adiposo marrom e/ou bege em um indivíduo.

[00105] Em particular, o agente de contraste da invenção consiste em uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem, de preferência, 10 a 20 átomos de carbono e, mais preferencialmente, 16 a 18 átomos de carbono de acordo com uma fórmula geral I. Em uma modalidade ainda mais preferencial, o ácido graxo iodado é um ácido linolênico iodado.

[00106] Conforme definido acima, a nanoemulsão, de preferência, compreende emulsificantes biocompatíveis selecionados dentre lecitina, éteres de polietilenoglicol com álcoois graxos, polissorbitos e ésteres de sorbitano ou suas misturas.

[00107] É ainda objetivo adicional da presente invenção fornecer uma composição que compreende uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que têm 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I (como definido acima):



FÓRMULA I

em que n = 2-22;

R₁ é H ou I, com a provisão de que o número de átomos de iodo seja 1 a 6, e que os átomos de iodo não sejam geminal nem vicinal;

e em que R₂ é H, alquila, alcoxialquila, hidroalcoxialquila, poli-hidroxialquila, hidróxi poli alquilenoxialquila insaturada ou saturada, linear ou ramificada;

para uso como um agente de contraste peroral de Tomografia

Computadorizada não invasivo para imageamento *in vivo* do coração ou do fígado em um indivíduo.

[00108] Em particular, o agente de contraste da invenção consiste em uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem, de preferência, 10 a 20 átomos de carbono e, mais preferencialmente, 16 a 18 átomos de carbono de acordo com uma fórmula geral I. Em uma modalidade ainda mais preferencial, o ácido graxo iodado é um ácido linolênico iodado.

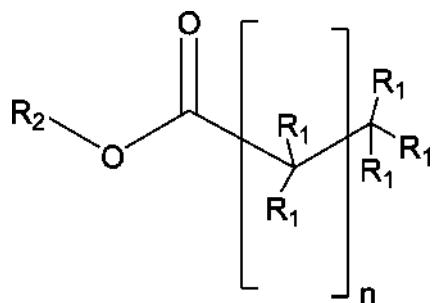
[00109] Conforme definido acima, a nanoemulsão, de preferência, compreende emulsificantes biocompatíveis selecionados dentre lecitina, éteres de polietilenoglicol com álcoois graxos, polissorbitos e ésteres de sorbitano ou suas misturas.

[00110] De acordo com uma modalidade da invenção, o agente de contraste de CT peroral da invenção é adaptado para a visualização e/ou quantificação de esteatose de fígado ou tumores de fígado em um indivíduo.

[00111] Kits que compreendem o agente de contraste de Tomografia Computadorizada da invenção também são previstos.

[00112] Outro objetivo da presente invenção é fornecer um método para prevenir e/ou tratar um paciente que sob suspeita de estar sofrendo ou que está sofrendo de uma doença do coração ou fígado, em que o dito método compreende as etapas de:

a) administrar ao dito paciente o agente de contraste peroral de Tomografia Computadorizada da invenção que consiste em uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I:



FÓRMULA I

em que n = 2-22;

R₁ é H ou I, com a provisão de que o número de átomos de iodo seja 1 a 6, e que os átomos de iodo não sejam geminal nem vicinal;

e em que R₂ é H, alquila, alcoxialquila, hidroalcoxialquila, polihidroxialquila, hidróxi poli alquilenoxialquila insaturada ou saturada, linear ou ramificada.

b) e, de modo subsequente, administrar ao dito paciente a terapia adaptada dependendo dos resultados da etapa de imageamento *in vitro*) do coração e/ou fígado do dito paciente.

[00113] Aqueles que são versados na técnica observarão que a invenção descrita no presente documento é susceptível a variações e modificações além daquelas especificamente descritas. Deve ser entendido que a invenção inclui todas tais variações e modificações sem se afastar do espírito ou características essenciais da mesma. A invenção também inclui todas as etapas, recursos, composições e compostos denominados ou indicados neste relatório descriptivo, de modo individual ou coletivo, e qualquer um e todas as combinação ou qualquer duas ou mais das ditas etapas ou recursos. A presente revelação, portanto, deve ser considerada como em todos os aspectos ilustrada e não restritiva, o escopo da invenção é indicado pelas reivindicações anexas, e todas as alterações que estão dentro do significado e faixa de equivalência se destinam a ser abrangidos na mesma.

[00114] A descrição anterior será melhor completamente entendida em referência aos Exemplos a seguir. Tais Exemplos, são, no entanto, exemplificativos de métodos de prática da presente invenção e se destinam a limitar o escopo da invenção.

EXEMPLOS

[00115] A varredura de CT *In vivo* foi realizada antes e em diversos pontos no tempo após a aplicação dos agentes de contraste no camundongo. O camundongo é anestesiado com isoflurano e colocado na varredura de CT disponível na instalação de imageamento animal pequena. A varredura dura aproximadamente 10 minutos por camundongo. Em seguida, o camundongo é colocado em sua gaiola e se recuperará da anestesia dentro de alguns minutos. Em seguida, as imagens são transferidas a outro computador para análise do

aperfeiçoamento de gordura marrom.

[00116] A ativação ou inibição *in vivo* do tecido adiposo marrom é feita modulando-se a temperatura de alojamento do camundongo. Os camundongos são alojados por 1 semana em uma câmara termostática a fim de ativar a termogênese de tecido adiposo marrom (a 6 °C). Após 1 semana, o agente de contraste é fornecido oralmente à camundongos, e o camundongo são submetido à varredura no dispositivo de varredura por CT a fim de avaliar o aperfeiçoamento de gordura marrom nessas diferentes condições de ativação.

EXEMPLO 1: SÍNTESE DE ÁCIDO 9(10)-IODO-OCTADECANOICO

[00117] Pentóxido fosforoso (170 mg, 1,0 mmol) foi adicionado lentamente a ácido ortofosfórico (1,0 ml) mediante agitação magnética. O ácido oleico (141 mg, 0,5 mmol) e iodeto de sódio foram adicionados, e a mistura de reação foi aquecida a 70 °C sob resfriamento de refluxo. Após 24 horas, a mistura de reação foi resfriada à temperatura ambiente, e o ácido foi separado do produto cru. O diclorometano (20 ml) foi adicionado, e a fase orgânica foi lavada com tiossulfato de sódio (0,1 M) até que a fase orgânica se tornasse incolor. A fase orgânica foi lavada com salmoura e seca sobre sulfato de sódio. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida fornecendo um óleo incolor que foi purificado por cromatografia instantânea com o uso de um gradiente de diclorometano/metanol (181 mg, 0,44 mmol, rendimento a 88%). RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ 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/z calculado para $[\text{M}+\text{K}]^+$ 449,1, constatado 448,1.

EXEMPLO 2: SÍNTESE DE ÁCIDO 9(10), 12(13)-DI-IODO-OCTADECANOICO

[00118] O pentóxido fosforoso (340 mg, 2,0 mmol) foi adicionado lentamente ao ácido ortofosfórico (2,0 ml) sob agitação magnética. O ácido linoleico (280 mg, 1,0 mmol) e iodeto de sódio (500 mg, 3,33 mmol) foram adicionados, e a mistura de reação aquecida a 70 °C sob resfriamento por refluxo. Após 24 horas, a mistura de reação foi resfriada à temperatura ambiente, e o ácido foi separado do produto cru. O diclorometano (20 ml) foi adicionado, e a fase orgânica foi lavada com tiossulfato de sódio (0,1 M) até que a fase orgânica se tornasse incolor. A fase orgânica foi lavada com salmoura e seca sobre sulfato de sódio.

O solvente foi evaporado sob pressão reduzida fornecendo um óleo incolor que foi purificado por cromatografia instantânea com o uso de um gradiente de diclorometano/metanol (407 mg, 0,76 mmol, rendimento a 76%). RMN de ^1H (600 MHz, 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). LRMS (ESI): m/z calculado para $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 559,0, constatado 558,9.

EXEMPLO 3: PREPARAÇÃO DE NANOEMULSÃO

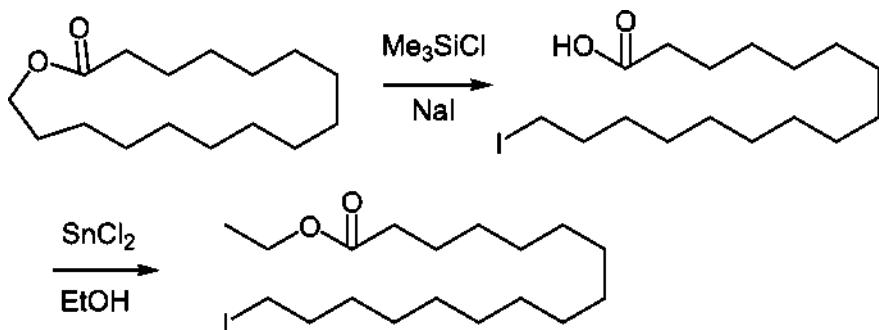
[00119] A nanoemulsão foi preparada misturando-se os 200 mg de ácido linoleico iodado, 100 mg de excipientes (por exemplo, Tween 80/Span 80, razão de 90/10) e 200 mg de água MilliQ. A mistura foi resfriada com o uso de um banho de gelo ao mesmo tempo que foi homogeneizado por ultrassonicação. O ultrassonicador foi definido a 30% de amplitude por 2 minutos com o uso de um pulso de 5s seguido por uma sequência de pausas de 5s fornecendo uma nanoemulsão homogênea.

EXEMPLO 4: SÍNTESE E CARACTERIZADO DE UM AGENTE DE CONTRASTE DE CT USADO PARA IMAGEAR E QUANTIFICAR ATIVIDADE METABÓLICA DE BAT.

[00120] A fim de investigar *in vivo* os adipócitos marrom e bege, a nanoemulsão foi fornecida oralmente a um camundongo alojado a 6 °C durante 1 semana a fim de ativar atividade de gordura marrom. Uma varredura de CT foi realizada antes e após a ingestão oral do agente de contraste de CT da invenção (Figura 3), que contém 9 (10), 12 (13)dioiodo-octadecanoato de etila. Conforme mostrado na Figura 4, a cinética de ingestão por tecido adiposo marrom atingiu um platô de aproximadamente 24 horas pós-ingestão em BAT ativado. Ademais, conforme mostrado na Figura 5, o agente de contraste de CT permitiu construir um mapa de todos os depósitos diferentes de adipose marrom e bege em todo o corpo do camundongo estudado *in vivo*. Devido à alta resolução da CT, cada depósito foi claramente identificado, conforme ilustrado na Figura 5. Além disso, as Requerentes não apenas puderam identificar todos os depósitos marrom ou bege como também alguns depósitos não observados *in vivo* até então, como na virilha e nas áreas poplíteas.

[00121] Os resultados obtidos por dissecação clássica de depósito de gordura

marrom e branca e aqueles fornecidos pela abordagem inovadora *in vivo* da Requerente foram comparados, conforme retratado pela Figura 5, que é uma representação de cada um dentre o depósito individual de tecido adiposo bege ou marrom obtido com o agente de contraste de CT da invenção.



EXEMPLO 6: SÍNTESE DE ÁCIDO 16-IDEO-HEXADECANOICO

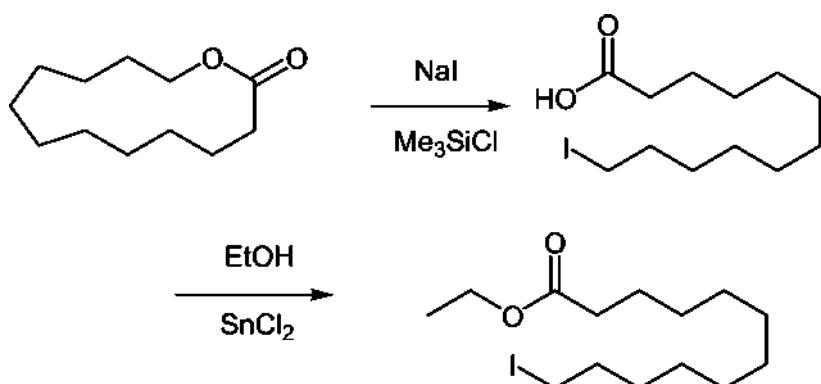
[00122] 16-hexadecanolida (2,00 g, 7,86 mmol, 1 eq.), iodeto de sódio (3,54 g, 23,6 mmol, 3 eq.), clorotrimetilsilana (2,99 ml (2,56 g), 23,6 mmol, 3 eq.) e acetonitrila (25 ml, $c=0,31$ M) foram agitados sob refluxo sob atmosfera de nitrogênio de um dia para o outro. Água (20 ml) e éter (50 ml) foram adicionados à mistura de reação. A fase orgânica foi lavada com água, tiossulfato de sódio, salmoura saturada e seca sobre sulfato de sódio. A fase orgânica foi removida por filtração e evaporada sob pressão reduzida para obter um sólido branco (2,88 g, 7,53 mmol, rendimento a 96%). RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ 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}C RMN de ^1H (151 MHz, CDCl_3) 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.

EXEMPLO 7: SÍNTESE DE 16-IDEOHEXADECANOATO DE ETILA

[00123] O ácido 16-ido-hexadecanoico (100 mg, 0,262 mmol, 1 eq.), cloreto de estanho (II) (19,8 mg, 0,105 mmol, 0,4 eq.) e etanol (5 ml, $c=0,052$ M) foram agitados sob atmosfera de nitrogênio de um dia para o outro sob refluxo. A mistura de reação foi evaporada sob pressão reduzida. O produto cru foi purificado por cromatografia instantânea com o uso de um gradiente de ciclohexano/éter para obter um sólido branco (94,0 mg, 0,229 mmol, rendimento a 88 %). ESI MS 433,2 [$\text{M}+\text{Na}]^+$. RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ 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}C RMN de ^1H (151 MHz, CDCl_3) 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.

EXEMPLO 8: SÍNTESE DE 12-IODODODECANOATO DE ETILA



EXEMPLO 9: SÍNTESE DE ÁCIDO 12-IODO-HEXADECANOICO

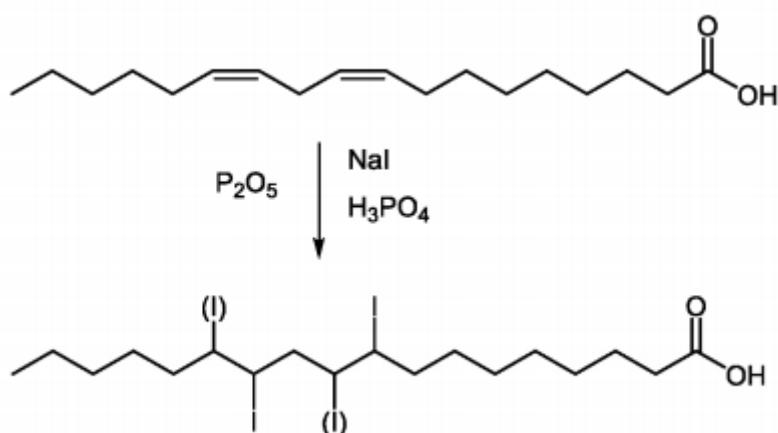
[00124] Oxaciclotridecan-2-ona (1,00 g, 5,00 mmol, 1 eq.) 16-hexadecanolida (2,00 g, 7,86 mmol, 1 eq.), iodeto de sódio (2,25 g, 15,0 mmol, 3 eq.) e clorotrimetilsilano (1,90 ml (1,63 g), 15,0 mmol, 3 eq.) e acetonitrila (25 ml, $c=0,31$ M) foram agitados sob refluxo sob atmosfera de nitrogênio de um dia para o outro. Água (20 ml) e éter (50 ml) foram adicionados à mistura de reação. A fase orgânica foi lavada com água, tiosulfato de sódio, salmoura saturada e seca sobre sulfato de sódio. A fase orgânica foi removida por filtração e vaporada sob pressão reduzida para obter um sólido amarelado claro (1,62 g, 4,97 mmol, rendimento a 98%). ESI MS 325,2 [M-H] $^-$. RMN de ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ 3,19 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 2,35 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H), 1,82 (p, $J = 7,1$ Hz, 2H), 1,63 (p, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,44-1,22 (m, 14H). ^{13}C RMN de ^1H (151 MHz, CDCl_3) 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.

EXEMPLO 10: SÍNTESE DE 12-IODODODECANOATO DE ETILA

[00125] O ácido 12-iodo-hexadecanoico (800 mg, 2,45 mmol, 1 eq.), cloreto de estanho (II) (200 mg, 1,05 mmol, 0,4 eq.) e etanol (50 ml, $c=0,052$ M) foram agitados sob atmosfera de nitrogênio de um dia para o outro sob refluxo. A mistura de reação foi evaporada sob pressão reduzida. O produto cru foi purificado por cromatografia instantânea com o uso de um gradiente de ciclohexano/éter para obter um sólido branco (1,06 g, 2,58 mmol, rendimento a 66%).

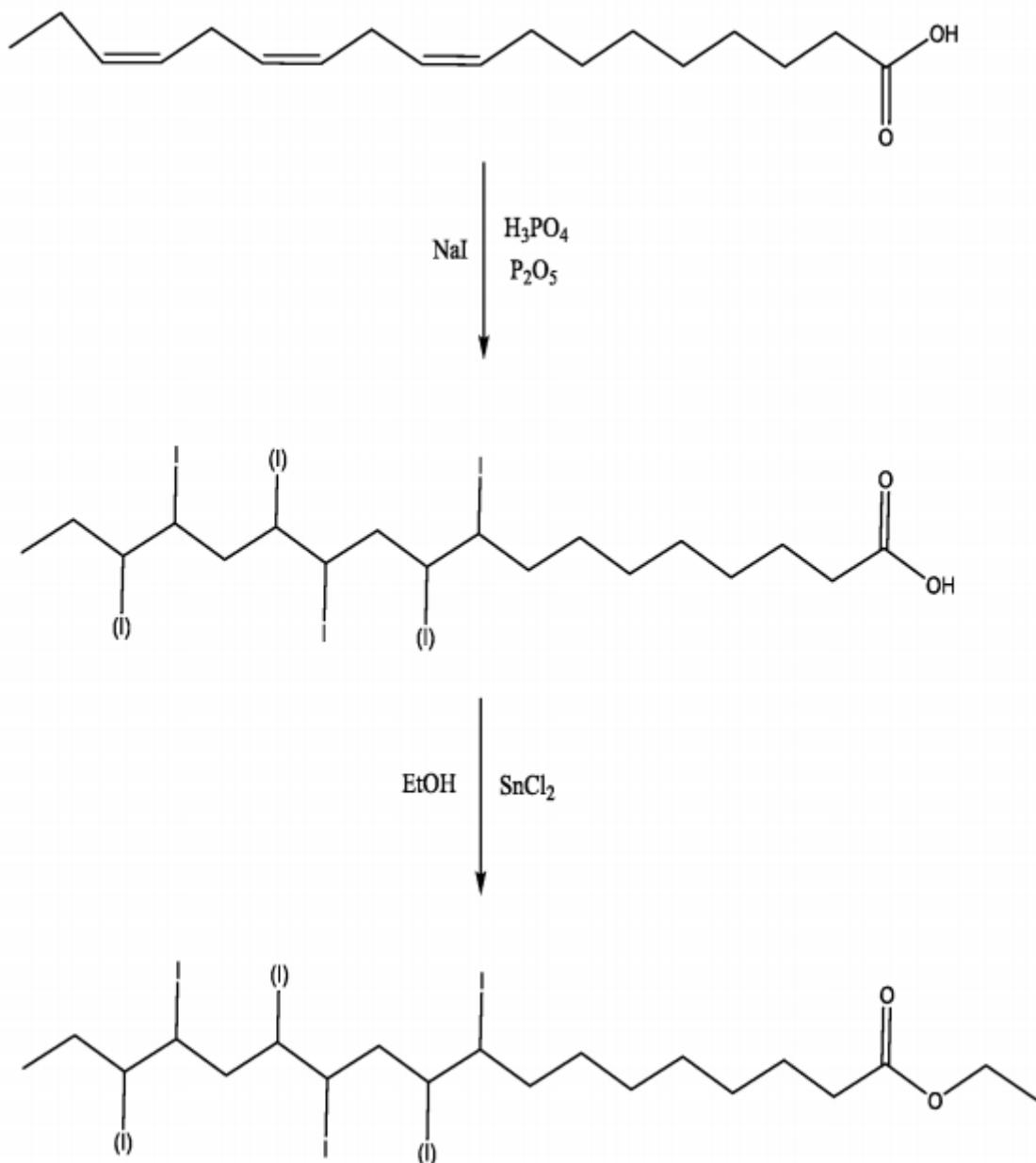
ESI MS 355,1 [M+H]⁺. RMN de ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ 4,11 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,18 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,27 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 1,81 (p, J = 7,1 Hz, 2H), 1,60 (p, J = 7,4 Hz, 2H), 1,37 (q, J = 6,8, 6,4 Hz, 2H), 1,33 - 1,20 (m, 15H). ¹³C RMN de ¹H (151 MHz, CDCl₃) δ 174,03, 60,28, 34,52, 33,69, 30,63,29,58, 29,51, 29,37,29,26, 29,25, 28,66,25,11, 14,40,7,51.

EXEMPLO 11: SÍNTESE DE ÁCIDO 9(10), 12(13)-DIODO-OCTADECANOICO

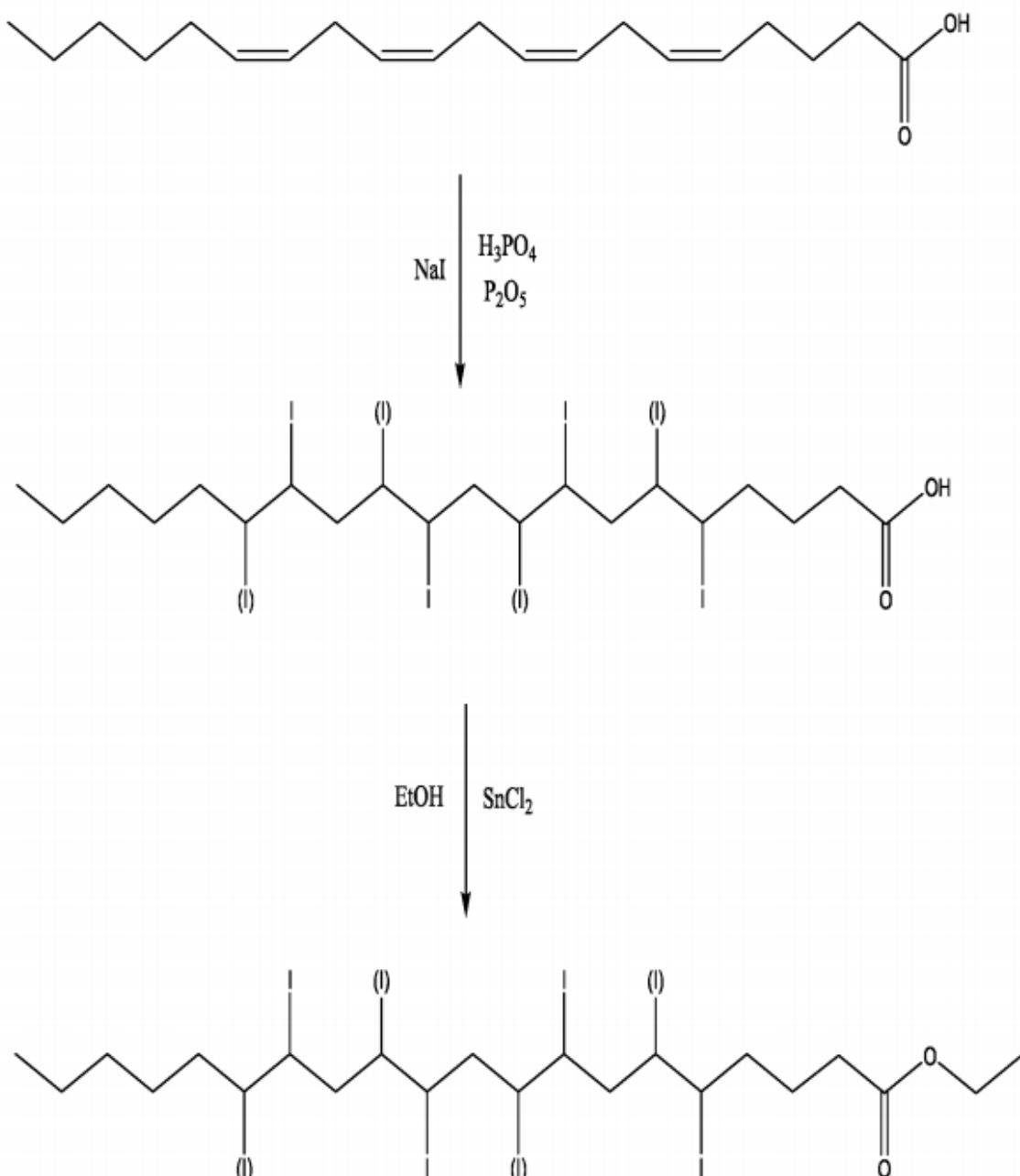


[00126] O pentóxido fosforoso (2,82 g, 20,0 mmol, 2 eq.), ácido linoleico (3,00 g, 10,7 mmol, 1 eq.), iodeto de sódio (6,00 g, 40,0 mmol, 4 eq.) e ácido fosfórico (20 ml, c=0,50 M) foram agitados sob uma atmosfera de nitrogênio a 70 °C por 12 horas e por 1 h 30 em temperatura ambiente sob baixa agitação. Éter (50 ml) e água (20 ml) foram adicionados à mistura de reação. A fase aquosa foi extraída com acetato de etila e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com tiosulfato de sódio (0,1 M), salmoura saturada, seca sobre sulfato de sódio, removida por filtração e evaporada sob pressão reduzida. O produto cru foi purificado por cromatografia instantânea com o uso de um gradiente de diclorometano/metanol +0,1% de ácido acético para obter um sólido amarelado claro (4,875 g, 9,09 mmol, 85% de rendimento). ESI MS 558,5 [M+Na]⁺, 553,5 [M+NH₄]⁺, 574,5 [M+K]⁺. RMN de ¹H (600 MHz, 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 Hz, 3H).

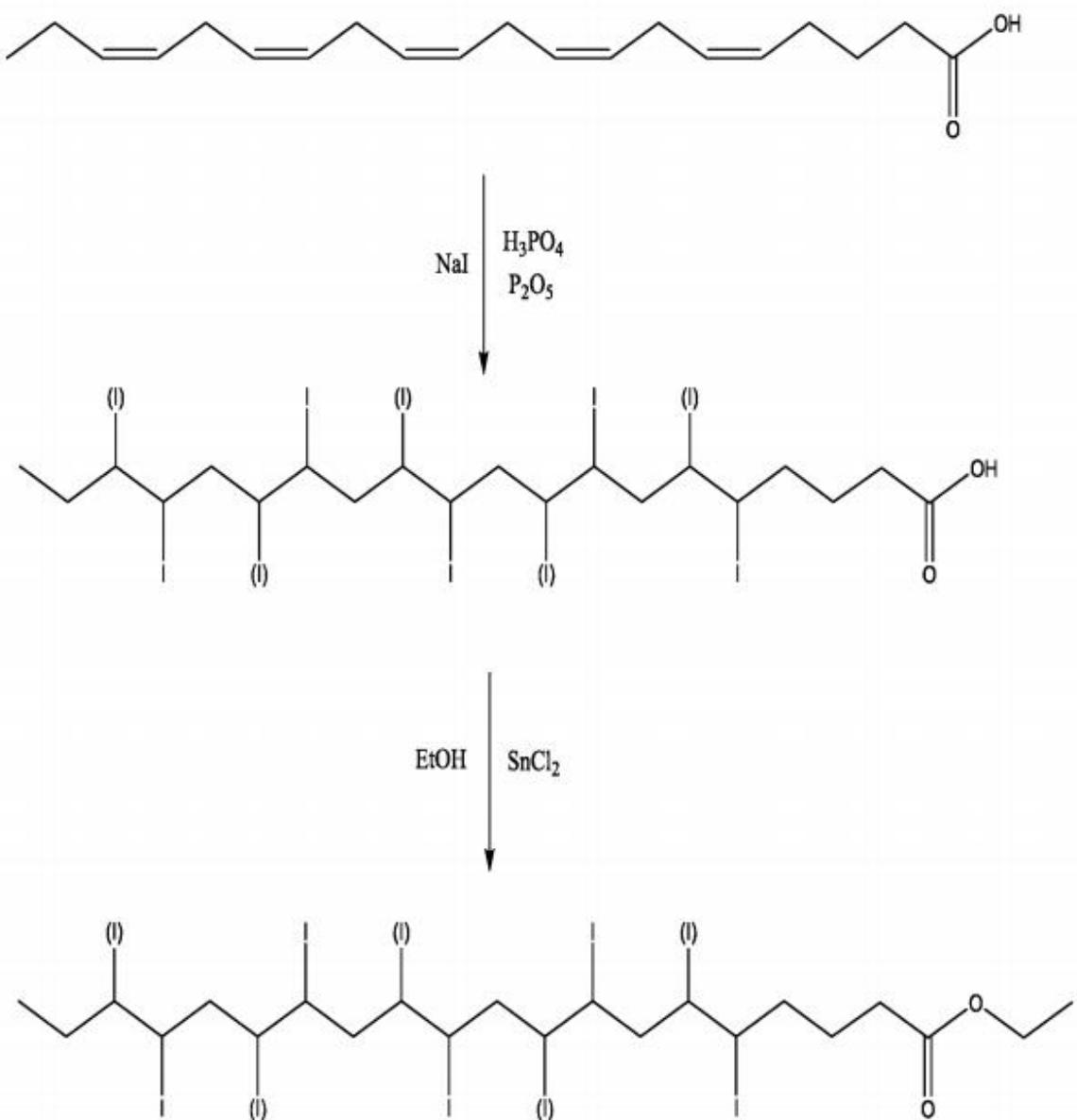
EXEMPLO 12: SÍNTESE DE ÁCIDO TRI-IODO-OCTADECANOICO E TRI-IODOOCTADECANOATO DE ETILA



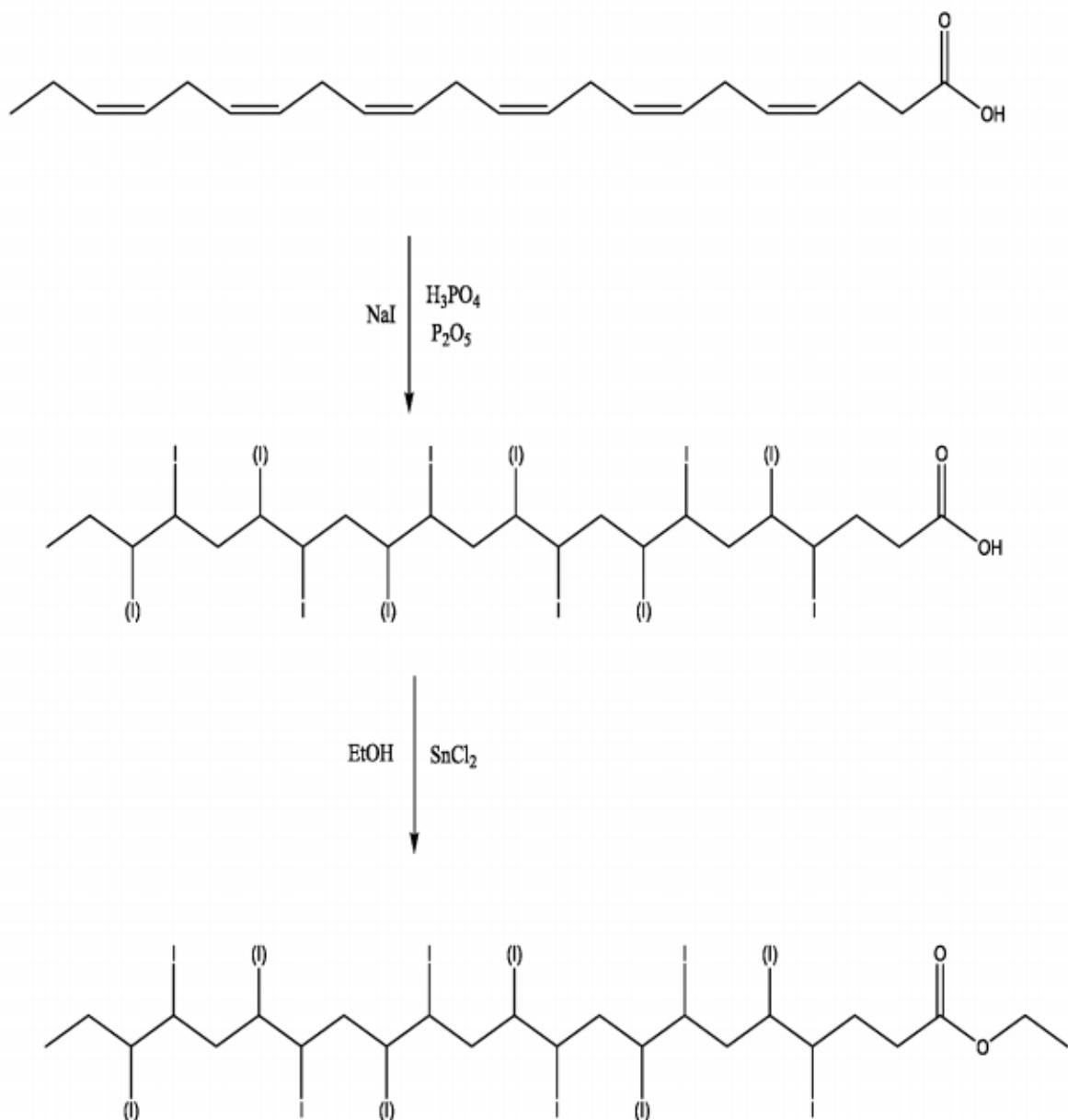
EXEMPLO 13: SÍNTSE DE ÁCIDO TETRAIODOICOSANOICO E TETRAIODOICOSANOATO DE ETILA



EXEMPLO 14: SÍNTSE DE ÁCIDO PENTAIODOICOSANOICO E PENTAIODOICOSANOATO DE ETILA



EXEMPLO 15: SÍNTESE DE ÁCIDO HEXAIODODOCOSANOICO E HEXAIODODOCOSANOATO DE ETILA



EXEMPLO 16: CARACTERIZAÇÃO DE UM AGENTE DE CONTRASTE DE CT USADO PARA IMAGEAR O CORAÇÃO E FÍGADO.

[00127] A fim de investigar *in vivo* o coração e fígado, a nanoemulsão da invenção foi fornecida oralmente 5 a um camundongo. Uma varredura de CT foi realizada anteriormente e 7 horas após a ingestão oral do agente de contraste de CT da invenção, contendo ésteres etílicos iodados de ácidos linoleico (65%),

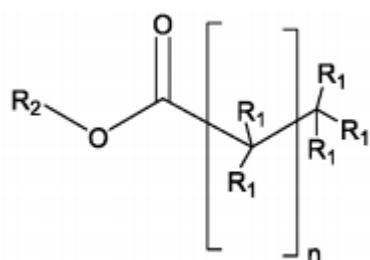
oleico (30%) e linolênico (4%) (Figura 6). Conforme mostrado na Figura 6a, o agente de contraste é absorvido pelos cardiomiócitos do coração, revelando as paredes do ventrículo esquerdo. O aperfeiçoamento de paredes do coração permite a medição de parâmetros anatômicos como a espessura ou o volume do músculo cardíaco. Conforme mostrado na Figura 6b, o agente de contraste também é absorvido pelo fígado, aumentando seu contraste.

REFERÊNCIAS

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 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 a 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.* 2013;143(II):1.240 a 1.246.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de *imageamento in vivo* com Tomografia Computadorizada de tecido adiposo marrom e/ou bege (BAT) em um indivíduo caracterizado pelo fato de que compreende administrar oralmente um agente de contraste que compreende uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I:



FÓRMULA I

em que $n = 2-22$;

R_1 é H ou I, com a provisão de que o número de átomos de iodo seja 1 a 6, e que os átomos de iodo não sejam geminal nem vicinal;

e em que R_2 é H, alquilas insaturada ou saturada, linear ou ramificada, alquilas, alcoxialquila, hidroxialcoxialquila, poli-hidroxialquila, hidróxi poli alquilenoxialquila.

2. Método de imageamento *in vivo* com CT, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que os ácidos graxos iodados com 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I estão na de uma nanoemulsão biocompatível.

3. Método de imageamento *in vivo* com CT, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o agente de contraste é adaptado para imageamento *in vivo* não invasivo, quantificação e/ou monitoramento da atividade do tecido adiposo marrom e/ou bege (BAT) no dito indivíduo.

4. Método de imageamento *in vivo* com CT, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que o agente de contraste consiste em uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos

iodados que tem 10 a 20 átomos de carbono de acordo com a fórmula geral I.

5. Método de imageamento *in vivo* com CT, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que o agente de contraste consiste em uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem 16 a 18 átomos de carbono de acordo com a fórmula geral I.

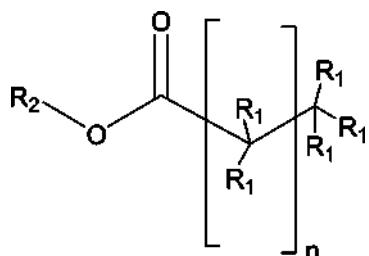
6. Método de imageamento *in vivo* com CT, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que o ácido graxo iodado é um ácido linolênico iodado.

7. Método de imageamento *in vivo* com CT, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que a nanoemulsão comprehende emulsificantes biocompatíveis selecionados dentre lecitina, éteres de polietilenoglicol com álcoois graxos, polissorbitos e ésteres de sorbitano ou suas misturas.

8. Método de imageamento *in vivo* com CT, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que a quantidade dos ditos emulsificantes biocompatíveis na nanoemulsão está entre 5 a 30 % (p/p) da nanoemulsão total.

9. Método de imageamento *in vivo* com CT, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que o agente de contraste peroral CT é administrado em uma dose correspondendo a entre 0,5 a 1,6 mg de iodo por grama de peso corporal.

10. Método de *imageamento in vivo* com Tomografia Computadorizada do coração ou do fígado em um indivíduo caracterizado pelo fato de que comprehende administrar oralmente um agente de contraste que comprehende uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I:



FÓRMULA I

em que n = 2-22;

R₁ é H ou I, com a provisão de que o número de átomos de iodo seja 1 a 6, e que os átomos de iodo não sejam geminal nem vicinal;

e em que R₂ é H, alquilas insaturada ou saturada, linear ou ramificada, alquilas, alcoxialquila, hidroxialcoxialquila, poli-hidroxialquila, hidróxi poli alquilenoxialquila.

11. Método de imageamento *in vivo* com CT, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que os ácidos graxos iodados com 4 a 24 átomos de carbono e/ou ésteres e/ou sais e/ou misturas dos mesmos de acordo com a fórmula geral I estão na de uma nanoemulsão biocompatível.

12. Método de imageamento *in vivo* com CT, de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que o agente de contraste consiste em uma nanoemulsão biocompatível de ácidos graxos iodados que tem 16 a 18 átomos de carbono de acordo com a fórmula geral I.

13. Método de imageamento *in vivo* com CT, de acordo com qualquer uma das reivindicações 10 a 12, caracterizado pelo fato de que o ácido graxo iodado à um ácido linolênico iodado.

14. Método de imageamento *in vivo* com CT, de acordo com qualquer uma das reivindicações 10 e 13, caracterizado pelo fato de que o agente de contraste é para a visualização do coração e avaliação de sua função no dito indivíduo.

15. Método de imageamento *in vivo* com CT, de acordo com qualquer uma das reivindicações 10 a 14, caracterizado pelo fato de que o agente de contraste de CT peroral é administrado em uma dose que corresponde a entre 0,5 e 1,6 mg de iodo por grama de peso corporal.

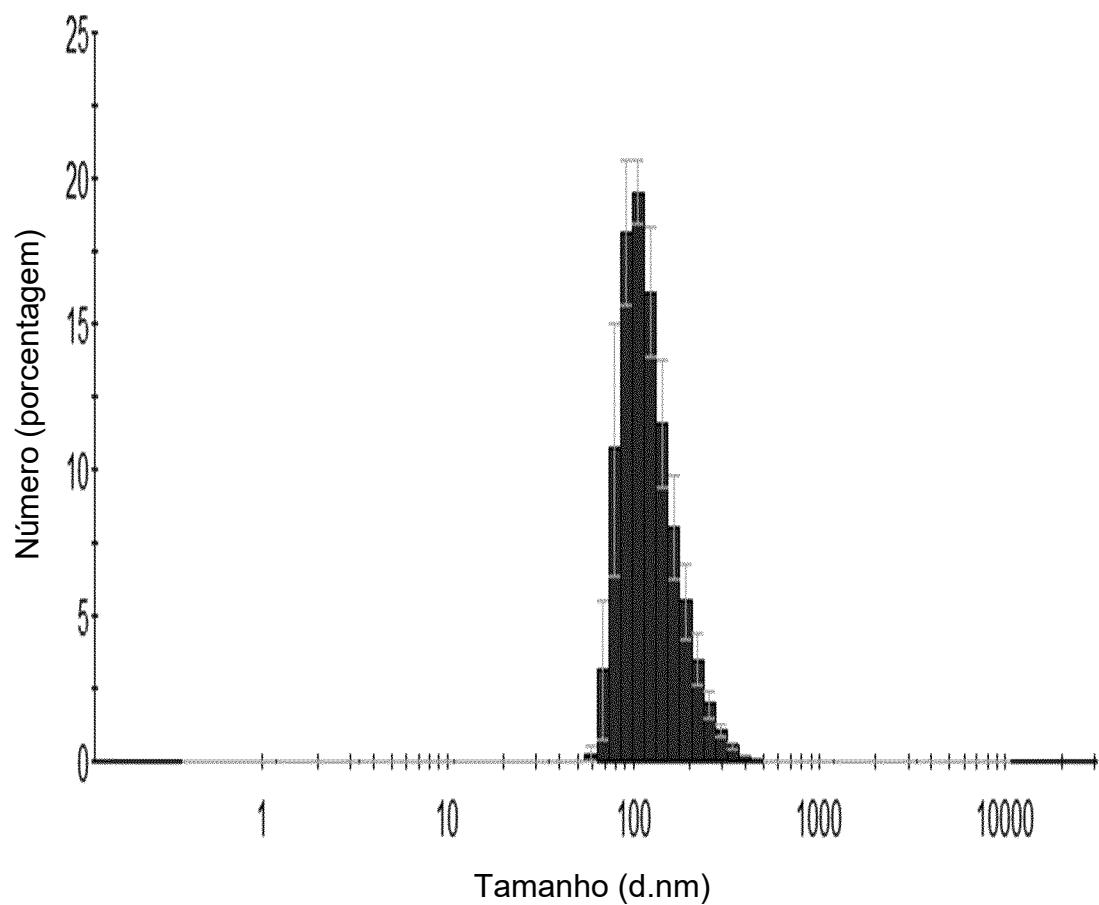


FIGURA 1

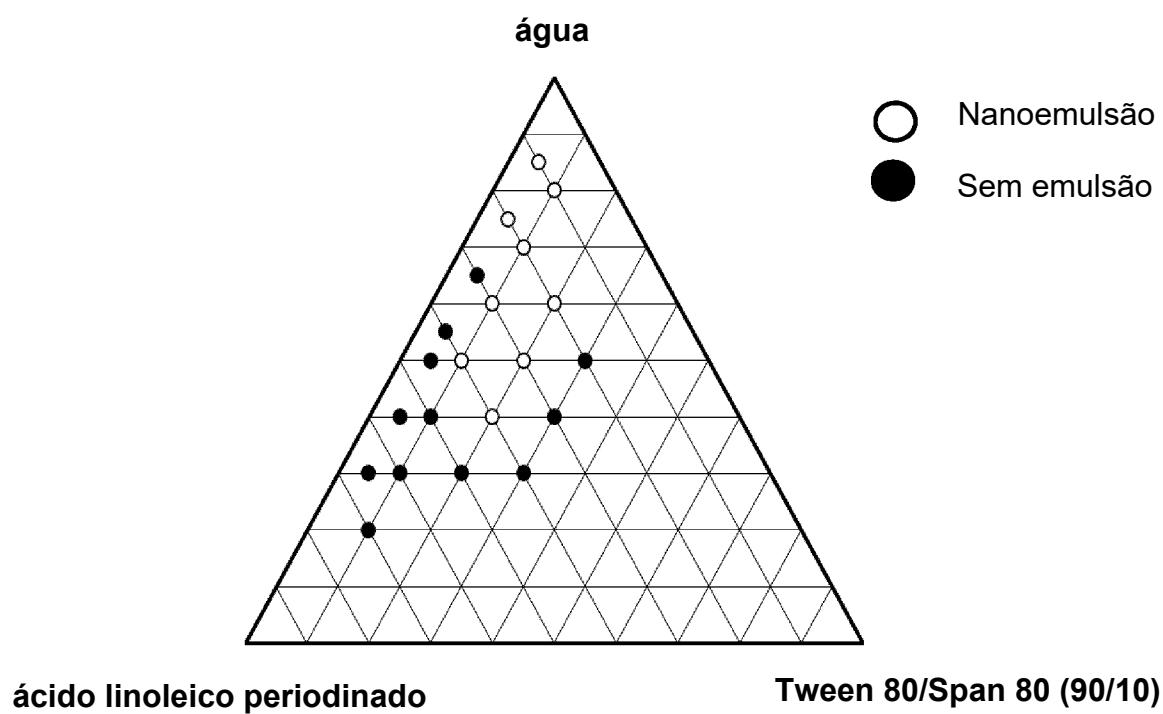


FIGURA 2

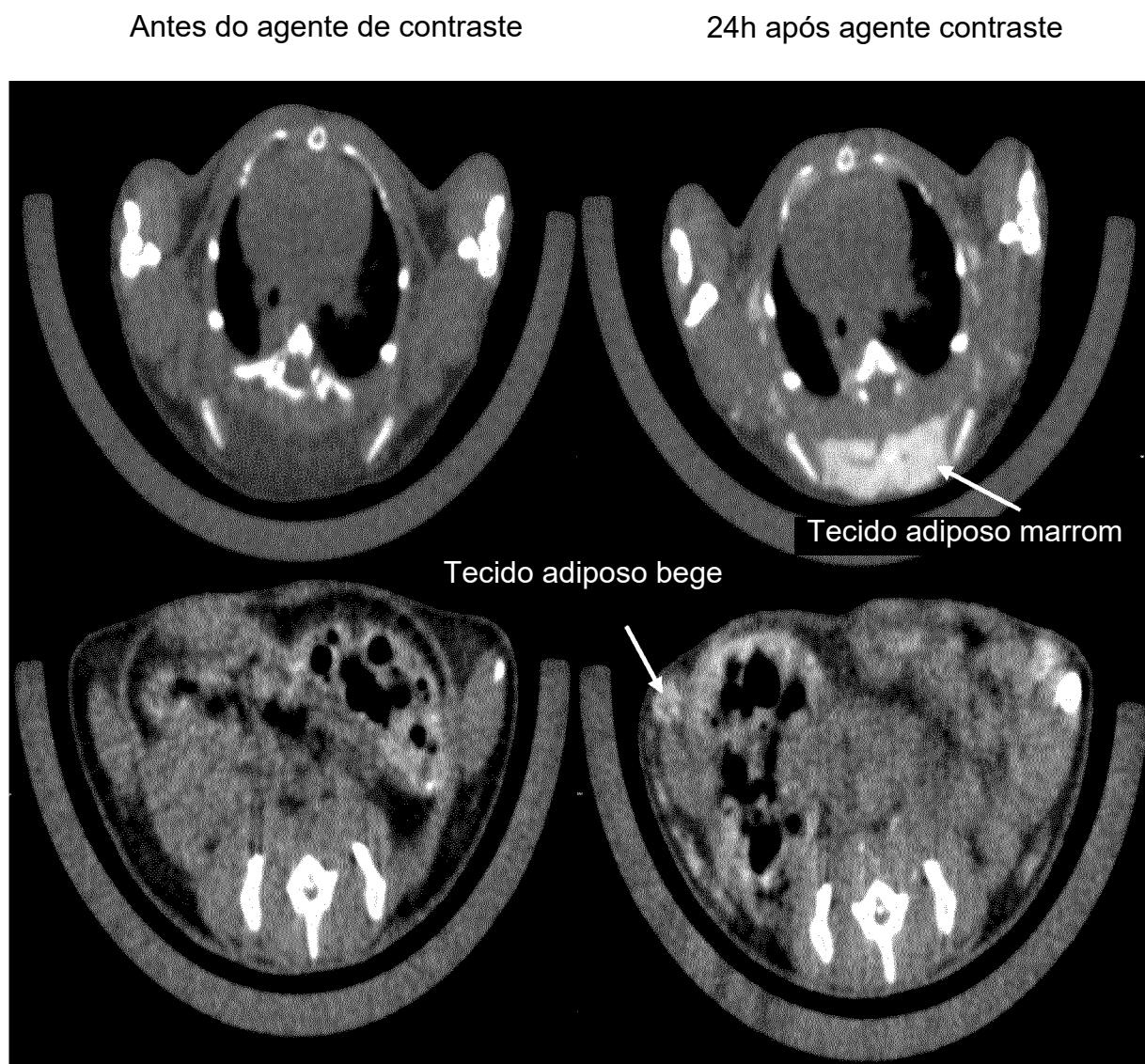


FIGURA 3

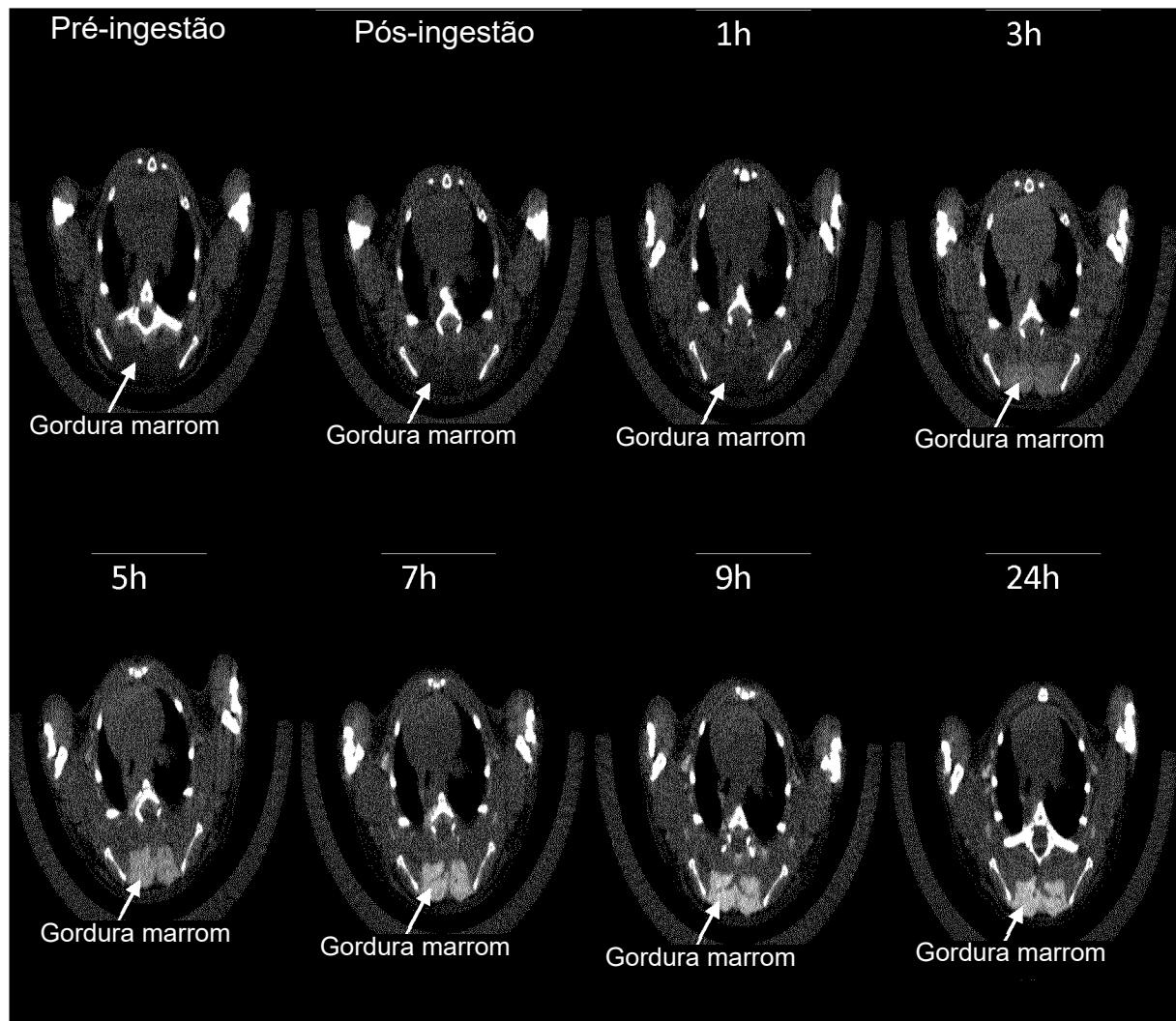
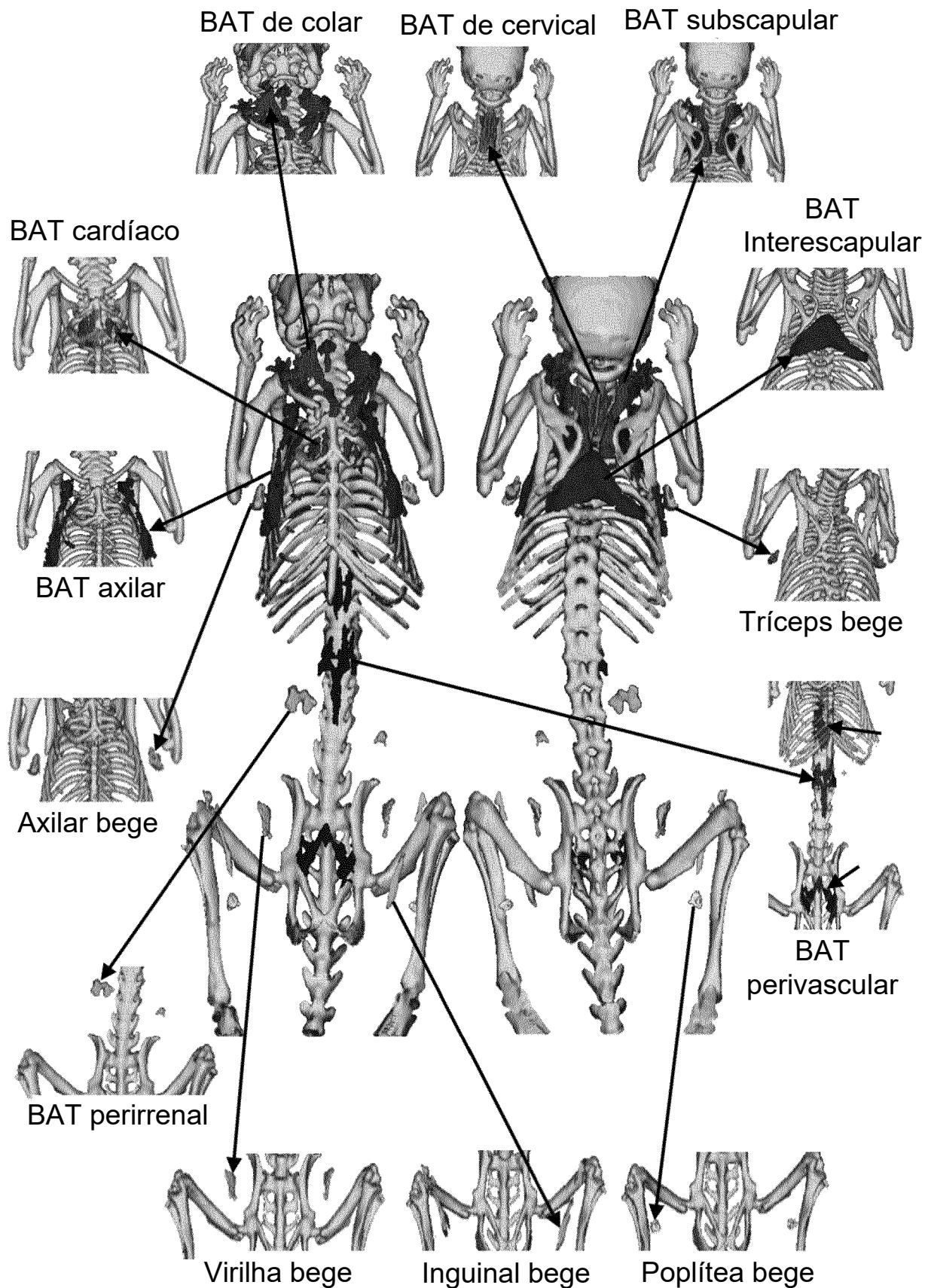


FIGURA 4

**FIGURA 5**

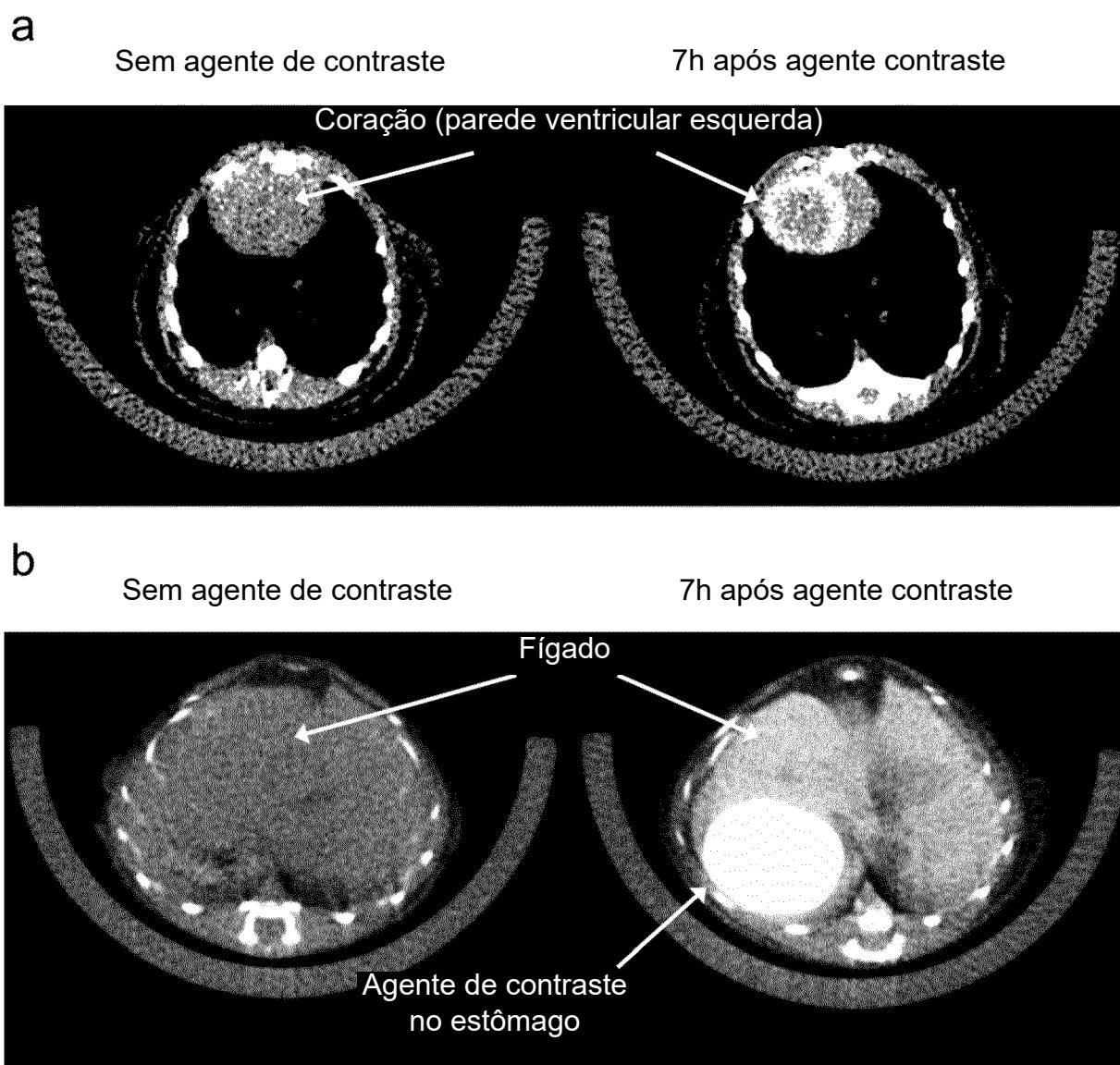


FIGURA 6

RESUMO

**“NANOEMULSÃO DE ÁCIDOS GRAXOS IODADOS PARA IMAGEAMENTO
DE CT”**

Agente de contraste de tomografia computadorizada (CT) iodado produzido a partir de derivados de ácido graxo para visualização não invasiva e quantificação do tecido adiposo marrom e/ou bege (BAT) ou para imageamento do coração e/ou fígado de um indivíduo. Vantajosamente, esse agente de contraste deve ser tomado oralmente, o que é uma inovação em imageamento de CT. A resolução de imagem por CT é significativamente aprimorada em comparação com tomografia por emissão de pósitrons (PET).