

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
5. Januar 2012 (05.01.2012)

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer

WO 2012/000863 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

C12N 15/115 (2010.01) G01N 33/60 (2006.01)
G01N 33/58 (2006.01) A61K 51/08 (2006.01)
G01N 33/534 (2006.01) A61K 51/06 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2011/060430

(22) Internationales Anmeldedatum:
22. Juni 2011 (22.06.2011)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2010 026 062.2 30. Juni 2010 (30.06.2010) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Wittelsbacherplatz 2, 80333 München (DE). MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V. [DE/DE]; Hofgartenstr. 8, 80539 München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KOLB, Hartmuth, C. [DE/US]; 6413 Pacific Avenue, Playa Del Rey, CA 90293 (US). KRÜGER, Ursus [DE/DE]; Krampnitzer Weg 11, 14089 Berlin (DE). LADE, Oliver [DE/DE]; Hohenheimer Straße 9, 13465 Berlin (DE). STECKENBORN, Arno [DE/DE]; Stadtrandstr. 467B, 13589 Berlin (DE). WEIL, Tanja [DE/SG]; Hinter dem Brot, 89073 Ulm (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT; Postfach 22 16 34, 80506 München (DE).

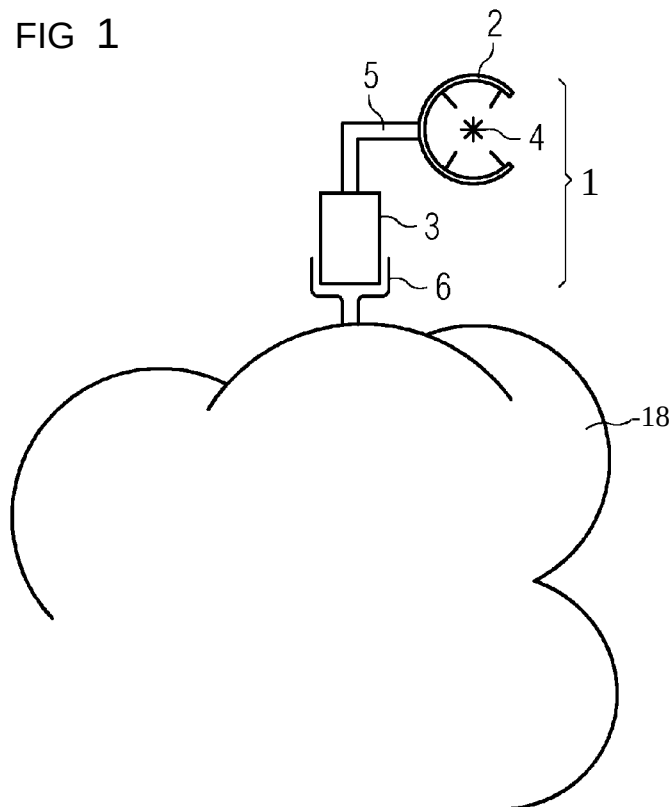
(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: APTAMER COMPLEX FOR DETECTING A DISEASED TISSUE

(54) Bezeichnung : APTAMER-KOMPLEX ZUR DETEKTION EINES KRANKHAFTEN GEWEBES

FIG 1



(57) Abstract: There are described a complex (1) and its use for the preparation of an agent for detecting a diseased tissue (18). The complex (1) has the formula I: A - V - B, where A represents an aptamer (2), V is absent or represents a linker molecule (5), and B represents a biomolecule (3). The biomolecule (3) binds to the diseased tissue (18), and the aptamer (2) is bound to a detectable chemical element (4). There is furthermore described a diagnostic for locating a diseased tissue (18), which diagnostic includes such a complex (1).

(57) Zusammenfassung: Es werden ein Komplex (1) und dessen Verwendung zur Herstellung eines Agens zur Detektion eines krankhaften Gewebes (18) beschrieben. Der Komplex (1) hat die Formel I: A - V - B, bei der A für ein Aptamer (2) steht, V fehlt, oder für ein Verbindungsmolekül (5) steht, und B für ein Biomolekül (3) steht. Dabei bindet das Biomolekül (3) an das krankhafte Gewebe (18), und das Aptamer (2) ist an ein detektierbares chemisches Element (4) gebunden. Des Weiteren wird ein Diagnostikum zur Lokalisation eines krankhaften Gewebes (18) beschrieben, das einen solchen Komplex (1) aufweist.



MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG,
NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS,
IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO,
RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD,
RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY,

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz
V

Beschreibung

Aptamer-Komplex zur Detektion eines krankhaften Gewebes

5 Die Erfindung betrifft die Verwendung eines Komplexes umfassend ein Aptamer und ein Biomolekül zur Herstellung eines Agens zur Detektion eines krankhaften Gewebes. Sie betrifft ferner ein Diagnostikum zur Lokalisation eines krankhaften Gewebes, das einen solchen Komplex umfasst.

10

In der modernen Diagnostik werden zur Charakterisierung von Krankheiten vor allem biochemische Analysen von Blut, anderen Körperflüssigkeiten und Gewebeproben eingesetzt. Dabei wird die Anwesenheit und Menge von Molekülen untersucht, die für
15 eine bestimmte Krankheit typisch sind. Neben Fremdstoffen werden auch körpereigene Stoffe nachgewiesen, die beispielsweise nur bei einer Infektion durch Viren oder Bakterien gebildet werden. Insbesondere Tumorzellen bilden häufig große Mengen bestimmter Proteine, insbesondere zelluläre Rezeptoren, deren Expression für eine Tumorart spezifisch ist. Viele
20 der Proteine, die speziell von krankhaften Zellen gebildet werden, sind Oberflächenmoleküle, die in der Membran der erkrankten Zellen verankert werden. Diese Oberflächenmoleküle können mit entsprechenden diagnostischen Verfahren nachgewiesen werden. Dazu werden üblicherweise Zellen aus Gewebe- oder
25 Blutproben mit Antikörpern untersucht, die an bestimmte für eine Krankheit spezifische Oberflächenmoleküle binden. Durch derartige *in vitro* Untersuchungen kann das Vorliegen einer Krankheit diagnostiziert werden. Es ist aber nicht möglich, auch den genauen Ort des erkrankten Gewebes festzustellen. Zu
30 diesem Zweck werden in der Regel bildgebende Verfahren, wie beispielsweise Röntgen, Ultraschall und Kernspintomographie verwendet. Mit ihnen lassen sich vor allem ektopische Zellansammlungen, wie etwa Tumore, oder Schwellungen einzelner Or-

gane lokalisieren. Zeigt ein krankhaftes Gewebe jedoch keine deutlichen morphologischen Auffälligkeiten, oder ist es verhältnismäßig klein, kann es bei traditionellen Untersuchungen leicht übersehen werden.

5

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde ein Agens bereitzustellen, mit dem ein krankhaftes Gewebe spezifisch und unabhängig von seiner Größe detektiert werden kann. Diese Aufgabe wird durch die Verwendung eines Komplexes der Formel

10 I:



bei der A für ein Aptamer steht, V fehlt, oder für ein Verbindungs-molekül steht, und B für ein Biomolekül steht, zur Herstellung eines Agens zur Detektion eines krankhaften Gewebes gelöst. Indem das Biomolekül an das krankhafte Gewebe bindet und das Aptamer an ein detektierbares chemisches Element gebunden ist, können selbst wenige Zellen eines krankhaften Gewebes an Hand des detektierbaren Signals des chemischen Elements lokalisiert werden.

20

Der Begriff "Aptamer" bezeichnet kurze, einzelsträngige Nukleinsäure-Oligomere, die sowohl RNA als auch DNA Moleküle umfassen können. In Abhängigkeit von ihrer jeweiligen Sequenz bilden Aptamere vielfältige Strukturen und binden an Ziel-moleküle der verschiedensten Stoffklassen. Dabei kommt es zu einer spezifischen Strukturkompatibilität zwischen einem Aptamer und seinem Zielmolekül, ähnlich einer Antigen-Antikörper-Bindung. Die Strukturkompatibilität der Moleküle erfolgt über elektrostatische Wechselwirkungen, ionische Bindungen, van-der-Waals Wechselwirkungen, Wasserstoffbrücken und sog. Stacking Interactions zwischen den aromatischen Ringen der Basen der Nukleinsäuren. Aptamere, die ein bestimmtes Zielmolekül binden, werden durch *in vitro* Selektionsverfahren und Amplifikationstechniken, sog. SELEX-Prozesse (Systematic

30

Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) identifiziert und produziert. Aptamere umfassen regelmäßig 8 bis 220 Nukleotide, vorzugsweise 20 bis 60 Nukleotide. Es können aber auch Aptamere mit bis zu 500 Nukleotiden verwendet werden. Sie
5 können synthetisch hergestellt oder durch enzymatischen Abbau genomischer DNA gewonnen werden (Kulbachinskiy AV, 2007) .

Unter Verwendung umfangreicher Aptamer-Bibliotheken, können Aptamere identifiziert werden, die ein spezifisches Zielmolekül binden. Dabei kann es sich sowohl um größere Biomoleküle,
10 beispielsweise Proteine, als auch um einzelne chemische Elemente handeln.

Der Begriff "detektierbares chemisches Element" umfasst die chemischen Elemente, die auf Grund ihrer radioaktiven oder lumineszierende Strahlung oder ihrem magnetischen Moment detektiert werden können. Dazu zählen, nicht abschließend,
15 ⁶⁸Gallium, Gadolinium, Europium ²⁺, Europium ³⁺ Terbium ³⁺ und ⁶⁴Kupfer. Aptamere, die spezifisch an eines dieser Elemente binden, werden unter Verwendung von Selex-Verfahren aus Aptamer-Bibliotheken isoliert. Sie können dann durch die Strahlung, bzw. den Paramagnetismus ihres gebundenen chemischen Elements detektiert werden.

Der Begriff "Biomolekül" umfasst Moleküle, die biologischen Ursprungs sind oder aus natürlichen Bestandteilen aufgebaut sind und die Fähigkeit besitzen, spezifisch mit anderen Molekülen zu interagieren und an diese zu binden. Jede Zelle trägt auf ihrer Oberfläche, verankert in ihrer Zellmembran,
20 eine Vielzahl unterschiedlicher Moleküle, wobei die meisten zur Stoffklasse der Proteine gehören. Neben Molekülen mit grundlegenden biologischen Funktionen, die in nahezu jeder Zelle vorkommen, werden viele Moleküle nur von Zellen eines bestimmten Gewebes oder eines bestimmten Zelltyps exprimiert.

Außerdem bilden Zellen, die von Krankheitserregern befallen sind oder gestörte Zellfunktionen aufweisen, wie beispielsweise Tumorzellen, spezielle, für die Erkrankung kennzeichnende Moleküle. Viele dieser Moleküle sind membranständig und können auf der Oberfläche der jeweiligen Zelle nachgewiesen werden. Indem das Biomolekül mit einem krankheitsspezifischen Molekül interagiert, bindet es an das krankhafte Gewebe. Vorzugsweise wird das Biomolekül dabei so gewählt, dass die Bindung zwischen dem Biomolekül und dem Zielmolekül auf der Oberfläche des krankhaften Gewebes einen linearen Koeffizient, sog. kD-Wert, von ≤ 100 nM, bevorzugt von ≤ 10 nM, am meisten bevorzugt von 7,5 nM aufweist.

Der Begriff "krankhaftes Gewebe" bezeichnet Zellen, Teile von Organen oder ganze Organe, die ihre physiologische Funktion nicht oder nicht in vollem Umfang erfüllen. Dazu zählen beispielsweise mit Viren oder Bakterien infizierte Zellen, hypertrophes Gewebe, entzündete Gewebe und Organe, hyperplastisches und neoplastisches Gewebe, etwa Geschwüre, Tumore und Karzinome. Krankhafte Zellen bilden häufig Proteine, deren Expression für eine bestimmte Erkrankung kennzeichnend ist, beispielsweise weil sie vom genetischen Material eines Virus oder eines Bakteriums abstammen. Handelt es sich bei diesen Molekülen um Zelloberflächenmoleküle, werden sie auf der Zellmembran verankert. Indem das Biomolekül speziell ein Oberflächenmolekül eines krankhaften Gewebes bindet, ermöglicht es eine zuverlässige Lokalisation dieses Gewebes.

Der Begriff "Verbindungsmolekül" umfasst chemische Verbindungen, die geeignet sind zwei individuelle chemische Moleküle so zu verknüpfen, dass ein stabiler Komplex entsteht. Auf diese Weise wird das Aptamer, das an ein detektierbares chemisches Element gebunden ist, mit dem Biomolekül verknüpft, das seinerseits spezifisch an das krankhafte Gewebe bindet.

Geeignete Verbindungsmoleküle sind unter anderen verzweigte und unverzweigte Alkyle und Alkene, sowie Aldehyde, die gegebenenfalls zusätzlich Aminogruppen tragen können. Auf das Verbindungsmolekül kann aber auch verzichtet werden, sofern
5 das Aptamer und das Biomolekül direkt aneinander gebunden sind. Der resultierende Komplex wird einem Patienten verabreicht, lagert sich in dessen Körper an das krankhafte Gewebe an und kann über das detektierbare chemische Element nachgewiesen und lokalisiert werden. Dadurch ist es möglich, selbst
10 wenige Zellen eines krankhaften Gewebes nachzuweisen.

Ein Vorteil der Komplexierung eines Biomoleküls mit einem Aptamer, das an ein detektierbares chemisches Element gebunden ist, besteht darin, dass keiner der üblichen Komplexbildner,
15 wie Diethylentriaminpentaacetat (DTPA), 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1, 4,7,10-tetraacetic acid (DOTA) verwendet werden muss, um das Biomolekül mit einer Markierung zu versehen. Bei diesen Komplexbildnern handelt es sich um große körperfremde Moleküle, die bei Patienten negative Reaktionen auslösen können. Der erfindungsgemäß verwendete Komplex aus Aptamer und Biomolekül weist dagegen körpereigene Moleküle auf,
20 wodurch er für den Organismus besonders verträglich ist. Sowohl das Aptamer und seine einzelnen Nukleinsäuren, als auch das Biomolekül sind nicht toxisch, sie können natürlich
25 verstoffwechselt, abgebaut und ausgeschieden werden.

Ein weiterer Vorteil des Komplexes liegt in dem günstigen Signal/Hintergrund Verhältnis während der Detektion. Über das Biomolekül bindet der Komplex an das krankhafte Gewebe, wo-
30 hingegen freie, ungebundene Komplexe rasch verstoffwechselt und aus dem Organismus ausgeschieden werden, weil sie von endogenen Enzymen zügig abgebaut werden. Dadurch entsteht ein starkes und spezifisches Signal an der Position des krankhaften Gewebes, und das Hintergrundsignal wird minimiert.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist das detektierbare chemische Element ein radioaktives, paramagnetisches oder fluoreszierendes chemisches Element. Zur Detektion solcher Elemente stehen etablierte Verfahren und Geräte zur Verfügung. Das Agens zur Detektion eines krankhaften Gewebes kann daher unmittelbar eingesetzt werden, ohne dass neue Verfahren oder Geräte zum Nachweis entwickelt oder angeschafft werden müssen. Radioaktive Elemente, wie beispielsweise ¹¹Kohlenstoff oder ⁶⁸Gallium werden mittels Szintigraphie, Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) oder Positronen-Emissions-Tomographie (PET) detektiert. Die PET ist ein etabliertes Verfahren um die Strahlung radioaktiver Elemente zu erfassen und ihre Position zu bestimmen (Massoud TF, Gambhir SS, 2003). Mit Hilfe von ringförmig um den Patienten angeordneten Detektorgeräten werden Schnittbilder erstellt, auf denen die Zerfallereignisse in ihrer räumlichen Verteilung im Körperinneren dargestellt werden. Die PET ermöglicht es auch, die Menge an markierten Molekülen in einem Gewebe quantitativ zu bestimmen. Paramagnetische Elemente, wie beispielsweise Gadolinium (Gd), werden durch Magnetresonanztomographie (MRT) nachgewiesen, wobei es sich ebenfalls um ein in der Medizin seit langem verwendetes Verfahren handelt. Fluoreszierende Elemente, wie beispielsweise Europium³⁺, werden mit optischen Geräten, die zur Aufnahme von Fluoreszenzsignalen geeignet sind, aufgezeichnet. Letztere sind insbesondere für online-Beobachtungen geeignet und können auch während einer Operation eingesetzt werden. Radioaktive und paramagnetische Elemente sind dagegen vor allem für die prä- und postoperative Diagnostik geeignet. Die wichtigsten Anwendungsgebiete sind dabei die Onkologie, Kardiologie und Neurologie, aber auch die Arzneimittelforschung.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist das Biomolekül ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Peptiden, Aptameren, Micro-Antikörpern und Rezeptorliganden. Diese Moleküle sind geeignet, spezifisch Oberflächenmoleküle eines krankhaften Gewebes zu binden. Sie sind zudem aus körpereigenen Bausteinen, Nukleinsäuren oder Aminosäuren aufgebaut, wodurch sie besonders gut verträglich sind. Sowohl Peptide als auch Aptamere können so ausgewählt bzw. gestaltet werden, dass sie ein bestimmtes Oberflächenmolekül eines krankhaften Gewebes binden. Außerdem steht eine wachsende Zahl an Micro-Antikörpern zur Verfügung, die gegen krankheitsspezifische Moleküle gerichtet sind. Diese können mit einem Aptamer, das ein detektierbares chemisches Element bindet, verknüpft werden. Rezeptorliganden sind besonders geeignet um Tumore zu detektieren, da Tumorzellen häufig große Mengen spezieller Rezeptoren auf ihrer Zelloberfläche exprimieren.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Diagnostikum zur Lokalisation eines krankhaften Gewebes, das einen Komplex der Formel I: A - V - B umfasst. Indem das Biomolekül des Komplexes an den Tumor bindet und das Aptamer an ein detektierbares chemisches Element gebunden ist, ist das Diagnostikum geeignet, selbst wenige Zellen eines krankhaften Gewebes nachzuweisen .

Auf Grund ihrer unphysiologischen Bestandteile führen herkömmliche Diagnostika häufig zu Nebenwirkungen, wie anaphylaktischen oder allergischen Reaktionen im Körper eines Patienten. Die Verwendung eines Komplexes aus körpereigenen Bausteinen reduziert diese Gefahr deutlich, weil weder der Komplex selbst, noch seine Abbauprodukte toxisch sind. Das erfindungsgemäße Diagnostikum bietet, durch die Vorteile des enthaltenen Komplexes, ein sensitives und gut verträgliches Agens, um die Position eines krankhaften Gewebes *in vivo* zu

bestimmen. Das Diagnostikum wird dem Patienten verabreicht, und die darin enthaltenen Komplexe verteilen sich auf Grund ihrer geringen Größe schnell und effizient im Körper. Sie binden an dem krankhaften Gewebe und sammeln sich an dessen Oberfläche. Die Häufung der Komplexe wird, entsprechend dem an das Aptamer gebundenen chemischen Element, mittels PET, MRT oder optischen Geräten beobachtet und so die genaue Position des krankhaften Gewebes im Körper des Patienten bestimmt.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist das detektierbare chemische Element ein radioaktives oder paramagnetisches chemisches Element. Ein Diagnostikum, das einen Komplex aufweist, dessen Aptamer an ein radioaktives oder paramagnetisches chemisches Element gebunden ist, ist vor allem für prä- und postoperativen Untersuchungen geeignet. Dabei können neben der Position auch die Größe und Ausdehnung eines krankhaften Gewebes dargestellt werden.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung umfasst das Diagnostikum einen weiteren Komplex der Formel I: A - V - B, in dem das Aptamer an ein fluoreszierendes chemisches Element gebunden ist. Durch einen solchen Komplex lässt sich das krankhafte Gewebe mittels optischer Geräte abbilden und direkt beobachten. Das ist besonders für Beobachtungen während eines operativen Eingriffs geeignet. Das Diagnostikum kann dabei so gestaltet sein, dass beide Komplexe gleichzeitig oder getrennt voneinander, beispielsweise in getrennten Dosen an den Patienten verabreicht werden. Die radioaktive Dosis des Diagnostikums wird dabei im präoperativen Stadium verwendet um das krankhafte Gewebe im Körper des Patienten zu lokalisieren. Die fluoreszierende Dosis wird später verwendet, um das krankhafte Gewebe während des Eingriffs sichtbar zu machen. Dadurch kann visuell verfolgt werden, ob alle markier-

ten krankhaften Zellen aus dem Körper entfernt werden. Nach der Operation kann, wiederum mit einem radioaktiv oder paramagnetisch markierten Komplex, überprüft werden, ob krankhafte Zellen im Organismus zurückgeblieben oder nachgewachsen sind. Indem das Biomolekül der verwendeten Komplexe stets identisch ist, wird sichergestellt, dass immer dieselben krankhaften Zellen detektiert werden, unabhängig davon, welches Nachweisverfahren eingesetzt wird.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Komplex der Formel I:



bei der A für ein Aptamer steht, V fehlt, oder für ein Verbindungsmolekül steht, und B für ein Biomolekül steht. Das Biomolekül des Komplexes bindet dabei an ein bestimmtes Gewebe und das Aptamer ist an ein detektierbares chemisches Element gebunden. Dieser Komplex ist insbesondere geeignet um krankhaftes Gewebe nachzuweisen, kann aber auch verwendet werden um gesunde Zellen zu lokalisieren. Dazu wird das Biomolekül so gewählt, dass es an ein Molekül bindet, das kennzeichnend für die zu detektierenden Zellen ist.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Aptamer, das ein detektierbares chemisches Element bindet. Zu diagnostischen Zwecken werden in der Medizin verschiedene bildgebende verfahren verwendet, vor allem Röntgen, PET und MRT. Dabei werden neben einfachen Kontrastmitteln auch spezielle Tracer verwendet, die sich beispielsweise in Tumorgewebe vermehrt ansammeln. Diese Tracer, überwiegend Zuckermoleküle und andere Stoffwechselprodukte, werden bisher über chemisch aufwendige Chelatormoleküle mit detektierbaren Elementen verbunden. Die so entstehenden Komplexe sind in der Regel für Patienten schlecht verträglich und verbleiben besonders lange im Körper, weil sie nicht durch endogene Mechanismen abgebaut wer-

den können. Das erfindungsgemäße Aptamer hingegen ist aus körpereigenen Bausteinen, nämlich Nukleinsäuren aufgebaut und daher gut verträglich und verstoffwechselbar. Es kann durch einfache molekulare Verbindungen an beliebige Moleküle gebunden werden, die als Tracer oder auch als spezifische Nachweismoleküle dienen.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist das detektierbare chemische Element ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus $^{68}\text{Gallium}$, Gadolinium , Europium^{2+} , Europium^{3+} , Terbium^{3+} und $^{64}\text{Kupfer}$. Aptamere, die an eines dieser Elemente gebunden sind, sind besonders vorteilhaft, da diese Elemente mit bereits etablierten Nachweisverfahren detektiert werden können.

Außerdem wird ein Verfahren zur Lokalisation eines krankhaften Gewebes in einem Organismus offenbart umfassend die Schritte a) Bereitstellen eines Komplexes der Formel I: A - V - B, bei der A für ein Aptamer steht, V fehlt, oder für ein Verbindungsmolekül steht, und B für ein Biomolekül steht, b) Verabreichen des Komplexes an den Organismus, und c) Detektieren des Komplexes in dem Organismus. Dabei bindet das Biomolekül an das krankhafte Gewebe, und das Aptamer ist an ein detektierbares chemisches Element gebunden.

Mit dem erfindungsgemäßen Komplex wird ein krankhaftes Gewebe im Inneren eines Organismus detektiert und lokalisiert, und kann so, im Körper eines Patienten, beobachtet werden. Auf diese Weise kann beispielsweise die Größe oder Ausdehnung einer Infektion oder eines Tumors bestimmt werden. Der erfindungsgemäße Komplex ist daher hervorragend zur Beobachtung von Verlauf und Erfolg einer Behandlung, sog. Therapiemonitoring, geeignet.

Im Folgenden werden bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung anhand der beigefügten schematischen Zeichnungen erläutert.

5 Figur 1 zeigt schematisch einen Komplex 1 aus einem Aptamer 2 und einem Biomolekül 3, die über ein Verbindungsmolekül 5 verknüpft sind. Das Aptamer 2 ist dabei an ein detektierbares chemisches Element 4, nämlich ein ^{68}Ga Gallium, gebunden. Das ^{68}Ga Gallium ist durch einen Stern (*) dargestellt. Der Komplex
10 1 ist an ein krankhaftes Gewebe 18 gebunden, indem das Biomolekül 3 mit einem Zelloberflächenrezeptor 6, der auf dem krankhaften Gewebe 18 lokalisiert ist, interagiert. Die spezifische Bindungsaffinität zwischen dem Komplex 1 und dem krankhaften Gewebe 18 kommt auf Grund chemischer Wechselwirkungen
15 zwischen dem Biomolekül 3 und dem Zelloberflächenrezeptor 6 des krankhaften Gewebes 18 zustande.

Das krankhafte Gewebe 18 bildet einen Zelloberflächenrezeptor 6, der für die Erkrankung des Gewebes kennzeichnend ist. Um
20 das krankhafte Gewebe 18 an Hand dieses Zelloberflächenrezeptors 6 im Körper eines Patienten zu lokalisieren, wird ein Biomolekül 3 ausgewählt, das an diesen Zelloberflächenrezeptors 6 bindet. Anschließend wird das Biomolekül 3 über ein Verbindungsmolekül 5 mit dem Aptamer 2, das an das ^{68}Ga Gallium
25 gebunden ist, verknüpft. Die beim Zerfall des ^{68}Ga Gallium abgegebenen Positronen werden mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET) detektiert. Der Ort der Positronenemission entspricht dem Ort des Komplexes 1, und somit dem des krankhaften Gewebes 18, an das der Komplex 1 gebunden ist.

30

Der Komplex 1 wird einem Patienten in Form eines Arzneimittels verabreicht, bindet an das krankhafte Gewebe 18 und sammelt sich an dessen Zellen. Diese Anhäufung wird bei einer Positronen-Emissions-Tomographie (PET) sichtbar, so dass die

Verteilung des Komplexes 1 bzw. die Position des krankhaften Gewebes 18 im Körper des Patienten bestimmt werden können.

Figur 2 zeigt eine schematische Darstellung (stark vereinfacht nach Faller A, Schünke M, Der Körper des Menschen, Thieme, 2008) eines Blutkreislaufsystems 10 eines Organismus und die Verteilung eines Komplexes 1 darin.

Das Blutkreislaufsystem 10 umfasst verschiedene schematisch dargestellte Organe, wie Lunge 12, Herz 13, Leber 14, Darm 15 und Niere 16 und die Hauptadern 11, welche diese Organe verbinden. Der Komplex 1 ist durch Dreiecke entlang der Adern 11 dargestellt. Die Abbauprodukte 17 des Komplexes 1 sind durch einzelne Striche innerhalb der Umrisse der Niere 16 dargestellt. Links der Mitte des Blutkreislaufsystems 10 ist zusätzlich ein krankhaftes Gewebe 18, zum Beispiel ein Tumor oder eine Entzündung, dargestellt, an das vermehrt Komplexe 1 angelagert sind.

Die Verteilung des Komplexes 1 im Blutkreislaufsystem 10 umfasst vier Phasen, die entlang der Darstellung von oben nach unten aufgeführt sind.

Phase I: Der Komplex 1 wird in das Blutkreislaufsystem 10 des Organismus injiziert.

Phase II: Über das Blutkreislaufsystem 10 wird der Komplex 1 in die Organe 12, 13, 14, 15, und 16 des Organismus transportiert.

30

Phase III: Der zirkulierende Komplex 1 bindet spezifisch an das krankhafte Gewebe 18.

Phase IV: Nicht gebundene Komplexe 1 werden schnell verstoffwechselt und enzymatisch abgebaut. Der Organismus unterscheidet nicht zwischen körpereigenen Molekülen und dem Komplex 1, weil er aus ähnlichen Bestandteilen aufgebaut ist. Die Abbauprodukte 17 des Komplexes 1 sammeln sich vorwiegend in der Niere 16, von wo aus sie über die Blase und den Harnleiter ausgeschieden werden.

Referenzen :

Faller A, Schünke M; Der Körper des Menschen; Thieme-Verlag;
2008

5

Ku1b_achinskiy AV; Methods for selection of aptamers to protein targets; Biochemistry (Mosc); 2007 Dec; 72 (13) :1505-18 .

10

Massoud TF, Gambhir SS; Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological processes in a new light; Genes Dev. 2003 Mar 1; 17 (5) :545-80 .

Patentansprüche

1. Verwendung eines Komplexes (1) der Formel I:



bei der A für ein Aptamer (2) steht, V fehlt, oder für ein Verbindungsmolekül (5) steht, und B für ein Biomolekül (3) steht, zur Herstellung eines Agens zur Detektion eines krankhaften Gewebes (18),

dadurch gekennzeichnet,

dass das Biomolekül (3) an das krankhafte Gewebe (18) bindet und das Aptamer (2) an ein detektierbares chemisches Element (4) unter Ausnutzung ihrer spezifischen Strukturkompatibilität gegenüber dem chemischen Element (4) als Zielmolekül gebunden ist.

2. Verwendung nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet,

dass das detektierbare chemische Element (4) ein radioaktives, paramagnetisches oder lumineszierendes chemisches Element ist.

3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2,

dadurch gekennzeichnet,

dass das Biomolekül (3) ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Peptiden, Aptameren, Antikörpern, Antikörperfragmenten und Rezeptorliganden.

4. Diagnostikum zur Lokalisation eines krankhaften Gewebes (18), umfassend einen Komplex (1) der Formel I: A - V -

B, bei der A für ein Aptamer (2) steht, V fehlt, oder für ein Verbindungsmolekül (5) steht, und B für ein Biomolekül (3) steht,

dadurch gekennzeichnet,

dass das Biomolekül (3) an das krankhafte Gewebe (18)

bindet und das Aptamer (2) an ein detektierbares chemisches Element (4) unter Ausnutzung ihrer spezifischen Strukturkompatibilität gegenüber dem chemischen Element (4) als Zielmolekül gebunden ist.

5

5. Diagnostikum nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass das detektierbare chemische Element (4) ein radioaktives oder paramagnetisches chemisches Element ist.

10

6. Diagnostikum nach Anspruch 5, umfassend einen weiteren Komplex (1) der Formel I: A - V - B, bei der A für ein Aptamer (2) steht, V fehlt, oder für ein Verbindungsmolekül (5) steht, und B für ein Biomolekül (3) steht, dadurch gekennzeichnet, dass das Aptamer (2) an ein lumineszierendes chemisches Element gebunden ist.

15

7. Komplex (1) der Formel I:

20



bei der A für ein Aptamer (2) steht, V fehlt, oder für ein Verbindungsmolekül (5) steht, und B für ein Biomolekül (3) steht,

dadurch gekennzeichnet,

25

dass das Biomolekül (3) an ein krankhaftes Gewebe (18) bindet und das Aptamer (2) an ein detektierbares chemisches Element (4) gebunden ist.

8. Aptamer (2),

30

dadurch gekennzeichnet,

dass es ein detektierbares chemisches Element (4) bindet.

9. Aptamer (2) nach Anspruch 8,
dadurch gekennzeichnet,
dass das detektierbare chemische Element (4) ausgewählt
ist aus der Gruppe bestehend aus ¹¹Kohlenstoff,
5 ⁶⁸Gallium, Gadolinium, Europium²⁺, Europium³⁺ Terbium³⁺
und ⁶⁴Kupfer.

FIG 1

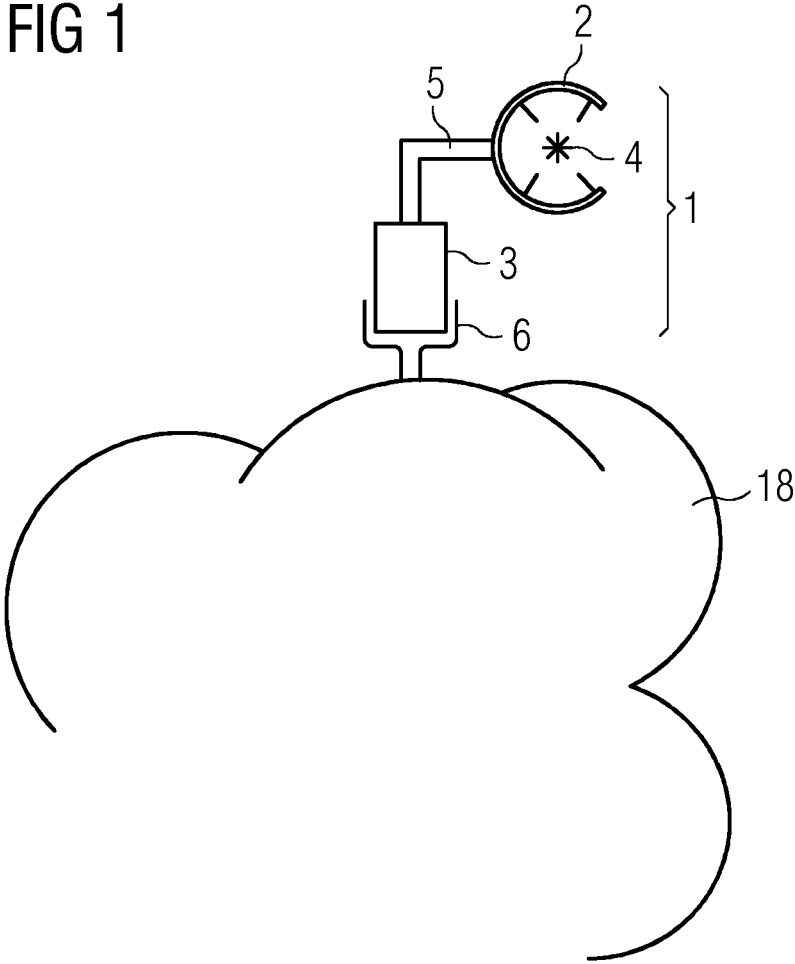
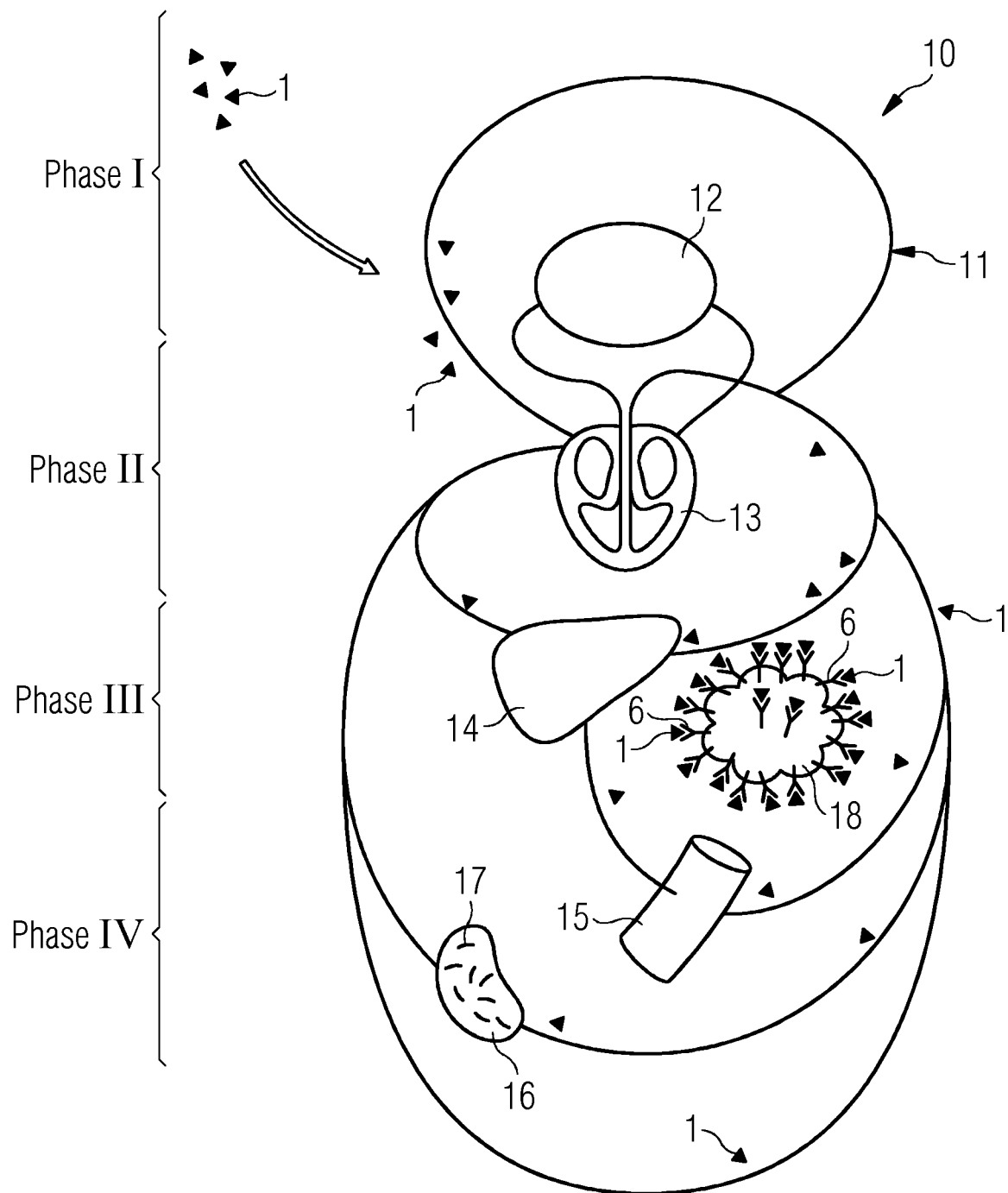


FIG 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2011/060430

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12N15/115 G01N33/58 G01N33/534 G01N33/60 A61K51/08 A61K51/06 ADD.				
According to International Patent Classification (IPC) onto both national Classification and IPC				
B. FIELDS SEARCHED				
Minimum documentation searched (Classification System followed by Classification Symbols) C12N G01N A61K				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal , BIOSIS, CHEM ABS Data, Sequence Search , EMBASE, WPI Data				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No.		
X	wo 2008/028530 AI (BAYER SCHERING PHARMA AG [DE] ; FRIEBE MATTHIAS [DE] ; STEPHENS ANDREW []) 13 March 2008 (2008-03-13) pages 25-27 - paragraph 87-91 page 18, line 5 - page 23, line 30; Claims 8, 9, 16 -----	1-9		
X	EP 1 897 562 AI (BAYER SCHERING PHARMA AG [DE]) 12 March 2008 (2008-03-12) the whole document -----	1-9		
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.				
* Special categories of cited documents :				
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top; border: none;"> "A" document defining the general State of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; border: none;"> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family </td> </tr> </table>			"A" document defining the general State of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family
"A" document defining the general State of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search 7 October 2011	Date of mailing of the international search report 20/10/2011			
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Petri , Bernhard			

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2011/060430

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008028530	AI	13-03-2008	AR 062697 AI 26-11-2008
			CA 2662439 AI 13-03-2008
			CL 25762007 AI 23-05-2008
			EP 1897886 AI 12-03-2008
			EP 2074137 AI 01-07-2009
			JP 2010502657 A 28-01-2010
			PE 13692008 AI 05-12-2008
			US 2008207523 AI 28-08-2008
			UY 30575 AI 02-05-2008
			WO 2008028530 AI 13-03-2008

EP 1897562	AI	12-03-2008	AR 062698 AI 26-11-2008
			CA 2662693 AI 13-03-2008
			CL 25752007 AI 23-05-2008
			EP 1897562 AI 12-03-2008
			EP 2063917 AI 03-06-2009
			JP 2010502201 A 28-01-2010
			PE 06602008 AI 01-08-2008
			US 2009068103 AI 12-03-2009
			UY 30574 AI 02-05-2008
			WO 2008028534 AI 13-03-2008

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2011/060430

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

INV. C12N15/115 G01N33/58 G01N33/534 G01N33/60 A61K51/08
A61K51/06

ADD.

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
C12N G01N A61K

Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal , BIOSIS, CHEM ABS Data, Sequence Search , EMBASE, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	wo 2008/028530 AI (BAYER SCHERING PHARMA AG [DE] ; FRIEBE MATTHIAS [DE] ; STEPHENS ANDREW []) 13. März 2008 (2008-03-13) Seiten 25-27 - Absatz 87-91 Seite 18, Zeile 5 - Seite 23, Zeile 30; Ansprüche 8, 9, 16 -----	1-9
X	EP 1 897 562 AI (BAYER SCHERING PHARMA AG [DE]) 12. März 2008 (2008-03-12) das ganze Dokument -----	1-9



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

7. Oktober 2011

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

20/10/2011

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Petri , Bernhard

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2011/060430

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 2008028530	A I	13-03-2008	AR	062697 A I		26-11-2008
			CA	2662439 A I		13-03-2008
			CL	25762007 A I		23-05-2008
			EP	1897886 A I		12-03-2008
			EP	2074137 A I		01-07-2009
			JP	2010502657 A		28-01-2010
			PE	13692008 A I		05-12-2008
			US	2008207523 A I		28-08-2008
			UY	30575 A I		02-05-2008
			WO	2008028530 A I		13-03-2008

EP 1897562	A I	12-03-2008	AR	062698 A I		26-11-2008
			CA	2662693 A I		13-03-2008
			CL	25752007 A I		23-05-2008
			EP	1897562 A I		12-03-2008
			EP	2063917 A I		03-06-2009
			JP	2010502201 A		28-01-2010
			PE	06602008 A I		01-08-2008
			US	2009068103 A I		12-03-2009
			UY	30574 A I		02-05-2008
			WO	2008028534 A I		13-03-2008
