



(10) **DE 10 2017 103 600 A1** 2018.08.23

(12)

Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2017 103 600.8**

(22) Anmeldetag: **22.02.2017**

(43) Offenlegungstag: **23.08.2018**

(51) Int Cl.: **A61K 51/04** (2006.01)

(71) Anmelder:

**Eberhard Karls Universität Tübingen
Medizinische Fakultät, 72074 Tübingen, DE**

(74) Vertreter:

**WITTE, WELLER & PARTNER Patentanwälte mbB,
70173 Stuttgart, DE**

(72) Erfinder:

**Cotton, Jonathan, 72070 Tübingen, DE; Kühn,
Anna, 72379 Hechingen, DE; Maurer, Andreas,
72076 Tübingen, DE; Pichler, Bernd, Prof. Dr.,
85298 Scheyern, DE; Schulze-Osthoff, Klaus,
Prof. Dr., 72070 Tübingen, DE; Fuchs, Kerstin,
71144 Steinenbronn, DE; Krüger, Marcel André,
72764 Reutlingen, DE; Zender, Lars, Dr., 72108
Rottenburg, DE**

(56) Ermittelter Stand der Technik:

**CELEN, Sofie [et al.]: Synthesis and
evaluation of 18F- and 11C-labeled phenyl-**

**galactopyranosides as potential probes for in
vivo visualization of LacZ gene expression using
positron emission tomography. In: Bioconjugate
Chemistry, Vol. 19, 2008, No. 2, S. 441-449. - ISSN
1043-1802**

**CHITNENI, Satish K. [et al.]: Efficient
purification and metabolite analysis of
radiotracers using high-performance liquid
chromatography and on-line solid-phase
extraction. In: Journal of chromatography. A, Vol.
1189, 2008, No. 1-2, S. 323-331. - ISSN 0021-9673**

**Ferreira, Cara L. [et al.]: Carbohydrate-
appended 3-hydroxy-4-pyridinone complexes of
the [M(CO)₃]⁺ core (M = Re, 99mTc, 186Re). In:
Bioconjugate chemistry, Vol. 17, 2006, No. 5, S.
1321-1329. - ISSN 1043-1802**

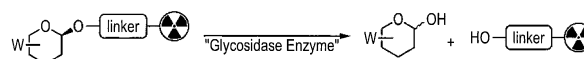
**Ruoho, Arnold E.; Rashidbaigi, Abbas;
Hockerman, Gregory H.; Larsen, Martha J.;
Resek, John F.; Malbon, Craig C.: Development of
novel photoaffinity ligands for the β -adrenergic
receptor. In: NeuroProtocols (1994), 4(1), 50-65;
ISSN: 1058-6741, DOI 10.1006/ncmn.1994.1007**

Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen.

(54) Bezeichnung: **Radioaktiv markiertes beta-Galactosidase Substrat für PET Bildgebung der Seneszenz**

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft neue Verbindungen, die zur Visualisierung der Zellseneszenz in vitro und in vivo von Nutzen sind, die Zubereitung der Verbindungen und ihre Verwendung. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung neue Hexose- und insbesondere Galactosederivate, die als Seneszenztracer in vitro und in vivo von Nutzen sind.



Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft Verbindungen, die in vitro und in vivo zur Visualisierung der Zellseneszenz von Nutzen sind, die Zubereitung der Verbindungen und deren Verwendung. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung neue Hexose- und insbesondere Galactosederivate, die in vitro und in vivo als Seneszenztracer von Nutzen sind.

[0002] Zellseneszenz ist der biologische Vorgang bei dem die Zellen den Wachstumszyklus beenden. Zellseneszenz wurde zuerst in Fibroblasten charakterisiert, die lediglich einer begrenzten Zahl von Passagen unterzogen werden konnten, bevor das Wachstum fortdauernd zum Stillstand gekommen ist. Dieses Phänomen wird Hayflick Grenze genannt und dient dazu den physiologischen Verlauf der Alterung zu erklären. Es wird durch deutliche Veränderung in den Stoffwechselwegen begleitet (Roninson, E.B., Tumor Cell Senescence in Cancer Treatment, Cancer Res., 2003, 63:2705-2715).

[0003] Senescente Zellen weisen einen mit Seneszenz verbundenen sekretorischen Phänotyp auf, der pro-entzündliche Cytokine und Wachstumsfaktoren beinhaltet. In bestimmten Fällen kann die Entfernung der seneszenten Gewebe einem Patienten von großem Nutzen sein. Es ist anerkannt, dass die Seneszenz eine wichtige Rolle bei der Krebsbehandlung und Therapieresistenz innehat. Die mit der Behandlung zusammenhängende Seneszenz markiert einen stabilen klinischen Endpunkt und kann daher als ein Maß für den chemotherapeutischen Erfolg dienen. Der Nachweis der seneszenten Zellen könnte ebenso diagnostische Gelegenheiten bieten, um präneoplastische Läsionen nachzuweisen (Roninson, E.B., Tumor Cell Senescence in Cancer Treatment, Cancer Res., 2003, 63:2705-2715; and Campisi, J. and d'Adda di Fagagna, F., Cellular Senescence: when bad things happen to good cells, Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2007, 8:729-740).

[0004] Der am häufigsten verwendete Surrogatmarker für Seneszenz Zellen ist die mit Seneszenz zusammenhängende beta-Galactosidase (Roninson, E.B., Tumor Cell Senescence in Cancer Treatment, Cancer Res., 2003, 63:2705-2715). Derartige beta-Galactosidase Substrate weisen jedoch den Nachteil auf, dass sie lediglich ex vivo und in vitro zum Verfolgen der beta-Galactosidase Expression verwendet werden können.

[0005] Die vorliegende Erfindung liegt daher zugrunde die mit Verbindungen des Stands der Technik zusammenhängenden Schwierigkeiten zu lösen.

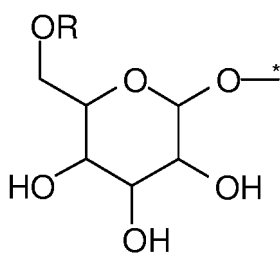
[0006] Es besteht daher ein unbefriedigter Bedarf an weiteren Verbindungen, die als Tracer für Zellseneszenz fungieren, die in vitro und in vivo gleichermaßen verwendet werden können. Es besteht ferner ein Bedarf bei der Entwicklung verbesserter Verfahren bei der Behandlung von mit Zellseneszenz zusammenhängenden Erkrankungen, wie beispielsweise Krebs. Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht in der Bereitstellung alternativer Verfahren zur selektiven Eliminierung seneszenten Zellen in vivo. Noch eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht in der Bereitstellung alternativer Mittel zum Nachweisen der Effizienz von Krebsbehandlungen.

[0007] Die vorliegende Erfindung beruht auf der Erkenntnis, dass Hexosederivate, vorzugsweise Galactosid-derivate und mehr bevorzugt beta-Galactosid-derivate, die radioaktive Marker tragen, sich in seneszenten Zellen anreichern und verwendet werden können, um die seneszenten Zellen sowohl in vitro als auch in vivo verlässlich zu markieren und nachzuweisen. Der in vivo Nachweis seneszenten Zellen bietet wiederum einen verbesserten Zugriff auf derartige Zellen mittels Operation oder Therapie.

[0008] Die vorliegende Erfindung stellt daher eine Verbindung der Formel bereit:

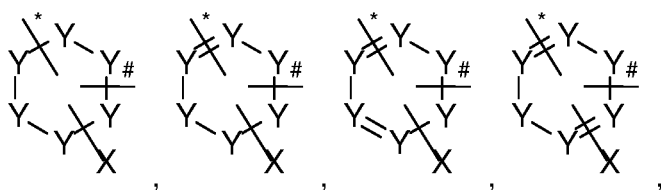
G-S-L,

wobei
G

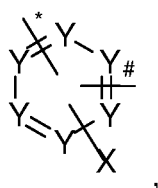


ist,

wobei R ausgewählt ist aus H, substituiertem oder unsubstituiertem C₁ bis C₅ Alkyl, substituiertem oder unsubstituiertem C₁ bis C₁₀ Cycloalkyl, oder substituiertem oder unsubstituiertem C₁ bis C₁₀ Heterocycloalkyl, und wobei * die Bindungsstelle zwischen G und S darstellt, S ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus



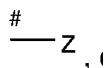
oder



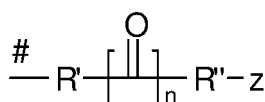
wobei X unabhängig voneinander aus der Gruppe ausgewählt bestehend aus H, Halogen, Methylhalogen, OH und SH ist,

wobei Y unabhängig voneinander aus der Gruppe ausgewählt bestehend aus C, S, N, und O ist, unter der Maßgabe, dass zumindest 3 C-Atome vorliegen,

wobei # die Bindungsstelle zwischen S und L darstellt, und L



oder



ist,

wobei R' CH₂, NH, S, oder O ist,

wobei n 0 oder 1 ist,

wobei R'' ein substituiertes oder unsubstituiertes C₁ bis C₅ Alkyl ist,

wobei Z ein radioaktiv nachweisbarer Marker, ein radioaktiver therapeutischer Rest, ein Chelator, der einen radioaktiv nachweisbaren Marker koordiniert, oder ein Chelator ist, der einen radioaktiven therapeutischen Rest koordiniert;
oder ein Salz davon.

[0009] Es wurde überraschenderweise gefunden, dass die vorliegenden Verbindungen in seneszenten Zellen hoch- und selektiv angereichert vorliegen. Ohne durch eine Theorie gebunden zu sein wird angenommen, dass die eher geringe Größe des radioaktiv nachweisbaren Markers im Vergleich zu herkömmlichen nicht-radioaktiven Markern, die häufig auf dem Nachweis voluminöser Enzyme, wie der Meerrettich Peroxidase, alkalinen Phosphatase, oder voluminöser Farbstoffverbindungen, beruhen und einen verbesserten Zugriff der vorliegenden Verbindungen auf die Zellen und die Bindungsstelle der beta-Galactosidase ermöglichen. Die Verwendung der radioaktiven Marker bietet darüber hinaus den Vorteil einer stark verbesserten Sensitivität gegenüber herkömmlichen Markierungsstrategien. Dies beruht zum Teil auf der hohen Gewebepenetration der hierdurch entstandenen Gammaphotonen und einer hohen Sensitivität der verwendeten Radiodetektoren. Dies ermöglicht wiederum den bezeichneten Verbindungen in vivo translatierbar zu sein, was sie gegenüber nicht radioaktiven Alternativen überlegen macht. Die vorliegenden Verbindungen bieten daher die Möglichkeit seneszente Zellen, insbesondere Tumore, quantitativ, selektiv und sensitiv in vivo nachzuweisen. Diese hoch-selektive Anreicherung seneszenten Zellen kann bei der Diagnose oder Behandlung der mit Seneszenz zusammenhängenden Erkrankungen durch Verwenden radioaktiv nachweisbarer Marker oder radioaktiver therapeutischer Reste in den vorliegenden Verbindungen verwendet werden.

[0010] Ein weiterer Vorteil besteht in der Möglichkeit Tumore mit nichtinvasiven Techniken zu behandeln, d.h. durch Verabreichen der vorliegenden Verbindungen, die einen radioaktiven therapeutischen Rest aufweisen, und die beinahe ausschließlich in Tumorgewebe aufgenommen werden. Ein weiterer Vorteil der Verwendung der vorliegenden Verbindungen besteht darin, dass diese einfach an die sich ändernden Erfordernisse im klinischen Gebiet angepasst werden können, da die vorliegende Verbindung ohne Weiteres mit einem weiteren radioaktiv nachweisbaren Marker oder einem radioaktiven therapeutischen Rest bereitgestellt werden kann.

[0011] Die erfindungsgemäßen Verbindungen können, in Abhängigkeit von ihrer Struktur, in stereoisomeren Formen (Enantiomere, Diastereomere) vorliegen. Die Erfindung weist daher ebenso die Enantiomere oder Diastereomere und entsprechende Mischungen davon auf. Die stereoisomeren einheitlichen Bestandteile können auf eine bekannte Weise von derartigen Mischungen von Enantiomeren und/oder Diastereomeren isoliert werden.

[0012] Es ist klar, dass die Salze, die für die Zwecke der vorliegenden Erfindung bevorzugt sind, pharmazeutisch akzeptierbare Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen sind. Jedoch sind ebenso Salze beinhaltet, die selbst nicht für pharmazeutische Anwendungen geeignet sind, jedoch beispielsweise bei der Isolierung oder Aufreinigung der erfindungsgemäßen Verbindungen verwendet werden.

[0013] Salze sind allgemein aus einer zusammenhängenden Anzahl von Kationen und Anionen derart zusammengesetzt, dass das Produkt elektrisch neutral ist. Es wird gewürdigt werden, dass ein entsprechendes Gegenion Gegenstand bei dem Herstellungsverfahren des Salzes ist und nicht ausdrücklich genannt werden muss.

[0014] Pharmazeutisch akzeptierbare Salze, ebenso wie die Zubereitung davon, sind im Stand der Technik gut bekannten. Arten und Zubereitung derartig pharmazeutisch akzeptierbarer Salze kann aus Stahl, P.H. and Wermuth, C.G., Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, Weinheim/Zürich: Wiley-VCH/VHCA, 2002 entnommen werden.

[0015] Beispiele pharmazeutisch akzeptierbarer Salze der vorliegenden Verbindungen beinhalten Salze auf anorganischer Grundlage, wie Ammoniumsalze, Alkalimetallsalze, Erdalkalimetallsalze, Salze auf organischer Grundlage, oder Salze mit basischen Aminosäuren. Ebenso sind anorganische Säuren oder Salze sauren Aminosäuren beinhaltet. Bevorzugte pharmazeutisch akzeptierbare Salze beinhalten.

[0016] Es wird gewürdigt werden, dass die Verbindungen der vorliegenden Erfindung ebenso wie die Salze davon in Form von Solvaten vorliegen können. In einem derartigen Fall bilden die vorliegenden Verbindungen oder Salze davon, insbesondere die pharmazeutisch akzeptierbaren Salze davon, im festen oder flüssigen Zustand einen Komplex durch Koordination mit Lösungsmittelmolekülen. Hydrate sind eine spezifische Form der Solvate, bei denen sich die Koordination mit Wasser zeigt.

[0017] Sofern die Verbindungen der vorliegenden Erfindung in tautomeren Formen auftreten können, weist die vorliegende Erfindung alle tautomeren Formen auf.

[0018] Der Ausdruck „C₁-C₅ Alkyl“ betrifft im Allgemeinen ein verzweigtes oder geradkettiges Alkyl, vorzugsweise (C₁-C₄)-Alkyl, wie beispielsweise insbesondere Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl, Isopropyl, Isobutyl und tert.-Butyl.

[0019] Der Ausdruck „C₁-C₁₀ Cycloalkyl“ betrifft im Allgemeinen einen gesättigten oder teilweise ungesättigten monozyklischen oder polyzyklischen Ring, der Kohlenstoff- und Wasserstoffatome aufweist.

[0020] Der Ausdruck „C₁-C₁₀ Heterocycloalkyl“ betrifft einen nicht-aromatischen monozyklischen oder polyzyklischen Ring, der Kohlenstoff- und Wasserstoffatome und zumindest ein Heteroatom, vorzugsweise 1 bis 4 Heteroatome, ausgewählt unter Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel, aufweist. Eine Heterocycloalkylgruppe kann eine oder mehrere Kohlenstoff-Kohlenstoff Doppelbindungen oder Kohlenstoff-Heteroatom Doppelbindungen in dem Ring aufweisen, sofern der Ring durch ihre Anwesenheit nicht aromatisch wird. Beispiele von Heterocycloalkylgruppen beinhalten Aziridinyl, Pyrrolidinyl, Pyrrolidino, Piperidinyl, Piperidino, Piperazinyl, Piperazino, Morpholinyl, Morpholino, Thiomorpholinyl, Thiomorpholino, Tetrahydrofuranyl, Tetrahydrothiofuranyl, Tetrahydropyranlyl, und Pyranlyl. Vorzugsweise ist die Heterocycloalkylgruppe ein monozyklischer oder bipyklischer Ring, mehr bevorzugt ein monozyklischer Ring, wobei der Ring 2 bis 6 Kohlenstoffatome und 1 bis 3 Heteroatome aufweist. Mehr bevorzugt weist das Molekulargewicht eines Heterocycloalkylrests ein Molekulargewicht von ≤ 200 g/Mol, wie beispielsweise ≤ 150 g/mol, ≤ 120 g/mol oder ≤ 100 g/mol, auf.

[0021] Der Ausdruck „substituiert“ wie hierin verwendet betrifft ein oder mehrere Reste, die mit C₁-C₅ Alkyl, C₁-C₁₀ Cycloalkyl und C₁-C₁₀ Heterocycloalkyl verbunden sind, und/oder eine Modifikation der Kohlenstoffkette durch Einfügen eines oder mehrerer Heteroatome, wie beispielsweise N, S oder O. Ein Rest kann darüber hinaus ausgewählt unter der Gruppe bestehend aus Halogen, Methyl, Ethyl oder eine funktionelle Gruppe, wie beispielsweise eine Hydroxylgruppe, Aminogruppe oder Carboxylgruppe, sein. Das gesamte Molekulargewicht der Reste, das insbesondere mit C₁-C₅ Alkyl, C₁-C₁₀ Cycloalkyl oder C₁-C₁₀ Heterocycloalkyl verbunden ist, beträgt vorzugsweise ≤ 250 g/Mol, mehr bevorzugt ≤ 150 g/Mol oder ≤ 100 g/Mol. Beispiele bevorzugter substituierter C₁-C₅ Alkylreste weisen Verbindungen wie beispielsweise CH₂-O-CH₂, C₂H₄-O-CH₂, CH₂-O-CH₂-O-CH₂, CH₂-O-CH₂-O-CH₂-O-CH₂, C₂H₄-O-CH₂-O-CH₂, CH₂-O-C₂H₄-O-CH₂, C₂H₄-O-C₂H₄-O-CH₂, C₂H₄-O-CH₂-O-C₂H₄, CH₂-O-CH₂-O-CH₂-O-CH₂, C₂H₄-O-CH₂-O-CH₂-O-CH₂, und CH₂-O-C₂H₄-O-CH₂-O-CH₂ auf.

[0022] Der Ausdruck „Halogen“ oder Halo betrifft Fluor, Chlor, Brom oder Iod; vorzugsweise Fluor, Chlor oder Brom. In einigen Ausführungsformen betrifft der Ausdruck Halogen oder Halo vorzugsweise ⁷⁶Br, ⁷⁵Br, ¹⁹F und ¹⁸F.

[0023] Der Ausdruck „Methylhalogen“ betrifft eine Methylgruppe mit einem einzelnen Fluor, Chlor, Brom oder Iod, oder zwei oder drei Halogenen, die unabhängig voneinander ausgewählt unter Fluor, Chlor, Brom oder Iod sind. In einigen Ausführungsformen weist das Methylhalogen vorzugsweise ⁷⁶Br, ⁷⁵Br, ¹⁹F und ¹⁸F auf.

[0024] Der Ausdruck „radioaktiv nachweisbarer Marker“ weist beispielsweise ¹¹C, ⁴⁰K, ¹³N, ¹⁵O, ¹⁸F, ⁷⁵Br, ⁷⁶Br, ⁸²Rb, ⁶⁸Ga, ⁶⁴Cu, ⁶²Cu, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I, ²¹⁰At, ²¹¹At und ¹¹¹In auf. Bevorzugte radioaktiv nachweisbare Marker sind ¹¹C, ¹⁸F, ⁶⁸Ga, ⁶⁴Cu, und ¹²⁴I. Mehr bevorzugt ist ¹⁸F. Der radioaktiv nachweisbare Marker ermöglicht die quantitative und/oder qualitative Beurteilung seneszenten Zellen ebenso wie ihre Lagebestimmung, insbesondere in vivo. Seneszenten Gewebe kann daher genau identifiziert und beispielsweise mit hoher Selektivität operativ entfernt werden.

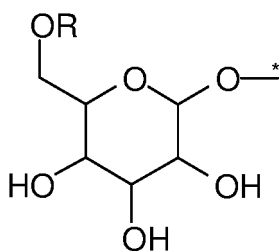
[0025] Alternativ ist ein Komplex beinhaltet, der ein derartiges Atom in einer koordinierten Form aufweist. In einem solchen Fall kann der Komplex als ein Chelator bezeichnet sein, der einen radioaktiv nachweisbaren Marker koordiniert. Ein (Koordinations-) Komplex besteht aus einem Zentral-Atom oder Ion, das für gewöhnlich metallisch ist, und eine umgebenden Anordnung von Liganden oder Komplexbildnern. Das Zentral-Atom oder Ion ist für gewöhnlich der radioaktiv nachweisbare Marker. Der Rest Z weist daher das Zentral-Atom oder Ion ebenso wie die umgebende Anordnung der Liganden oder Komplexbildner auf. Beispiele derartiger Chelatoren, die einen radioaktiv nachweisbaren Marker koordinieren, sind dem Fachmann gut bekannt. Vorzugsweise ist ein derartiger Chelator eine Aminosäure, vorzugsweise eine proteinogene/ natürliche Aminosäure, wie beispielsweise Histidin. Andere geeignete Beispiele von Chelatoren weisen DOTA, NOTA, NODAGA und Desferrioxamin, wie beispielsweise Desferrioxamin B, auf.

[0026] Der Ausdruck „radioaktiver therapeutischer Rest“ wie hierin verwendet betrifft ein Atom, wie beispielsweise ^{32}P , ^{60}Co , ^{89}Sr , ^{186}Re und ^{153}Sm . Andere Beispiele radioaktiver therapeutischer Reste weisen ^{125}I und ^{131}I auf, die bereits als Beispiele für radioaktiv nachweisbare Marker, ebenso wie ^{86}Y , ^{111}In , ^{177}Lu und ^{67}Cu , aufgeführt wurden. Alternativ ist ein Komplex, der ein derartiges Atom in einer koordinierten Form enthält, beinhaltet. In einem derartigen Fall kann der Komplex ebenso als ein Chelator bezeichnet werden, der einen radioaktiven therapeutischen Rest koordiniert. Die Verwendung der vorliegenden Verbindungen mit therapeutischen Resten bei der Behandlung von Erkrankungen, die mit Zellseneszenz, insbesondere Krebs, zusammenhängen, vereint den Vorteil der Zielselektivität mit jenem systemisch zu sein, wie auch bei der Chemotherapie, und kann als ein Teil einer therapeutischen Strategie mit kurativer Absicht oder zur Krankheitskontrolle und Palliation verwendet werden.

[0027] Es wird gewürdigt werden, dass entsprechende radioaktive therapeutische Reste may erzeugt und an die vorliegenden Verbindungen auf die gleiche Art wie radioaktiv nachweisbare Marker angebracht werden können. Vorzugsweise sind der therapeutische Rest und der nachweisbare Marker identisch, was die Diagnose und Behandlung von Erkrankungen, die mit Zellseneszenz, insbesondere Krebs, zusammenhängen, ermöglicht.

[0028] Die Gruppe, die durch G dargestellt ist, ist in Formel der Endpunkt angrenzend zu dem Punkt an dem sich ein * befindet, es handelt sich nicht um ein Kohlenstoffatom oder CH_2 -Gruppe sondern vielmehr ein Bestandteil der Bindung an dem Atom an welchem G angebracht ist.

[0029] In ihrer breitesten Form weist die Gruppe G die Formel



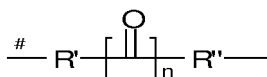
auf

und kann ebenso als Hexosederivat, einschließlich Allose-, Altrose-, Glucose-, Mannose-, Gulose-, Idose-, Galactose- oder Talose-Derivat jeweils mit Rest R, bezeichnet werden. Die Hexosederivate sind vorzugsweise D-Isomere. Das am meisten bevorzugte Hexosederivat ist ein beta-D-Galactopyranosid.

[0030] R ist wie vorstehend aufgeführt ausgewählt aus H, substituiertem oder unsubstituiertem C_1 bis C_5 Alkyl, substituiertem oder unsubstituiertem C_1 bis C_{10} Cycloalkyl, oder substituiertem oder unsubstituiertem C_1 bis C_{10} Heterocycloalkyl. Sofern R ein substituiertes oder unsubstituiertes C_1 bis C_5 Alkyl, vorzugsweise unsubstituiertes C_1 bis C_5 Alkyl, mehr bevorzugt Methyl, ist, können prolongierte Retentionszeiten der vorliegenden Verbindung in Vergleich zu $\text{R} = \text{H}$ aufgrund einer behinderten enzymatischen Spaltung erwartet werden. Die Verbindungen können daher mit höheren Werten innerhalb seneszenten Zellen vorliegen.

[0031] Die Gruppe, die durch S dargestellt ist, ist in Formeln der Endpunkt angrenzend der Linie an der sich ein * oder # befindet, es handelt sich nicht um ein Kohlenstoffatom oder eine CH_2 -Gruppe sondern vielmehr einen Bestandteil der Bindung an dem Atom an welchem S angebracht vorliegt.

[0032] Die Gruppe, die durch L dargestellt ist, ist in Formeln der Endpunkt angrenzend der Linie an der sich ein # befindet, es handelt sich nicht um Kohlenstoffatom oder eine CH_2 -Gruppe sondern vielmehr einen Bestandteil der Bindung an dem Atom an welchem L angebracht vorliegt. Der Rest L kann entweder Z, wobei Z ein radioaktiv nachweisbarer Marker, ein radioaktiver therapeutischer Rest, ein Chelator, der einen radioaktiv nachweisbaren Marker koordiniert, oder ein Chelator sein, der einen radioaktiven therapeutischen Rest koordiniert. In diesem Fall ist Z unmittelbar an S angebracht. Alternativ ist der Rest Z über einen Abstandshalter/Spacer an S angebracht. In diesem Fall weist der Abstandshalter die Formel



auf.

[0033] Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung betrifft der Ausdruck „aufweisen/ enthalten“ oder „aufweisend/ enthaltend“ eine offene Aufzählung und schließt andere Bestandteile abseits von den ausdrücklich genannten Bestandteilen nicht aus.

[0034] Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung betrifft der Ausdruck „bestehen aus“ oder „bestehend aus“ eine geschlossene Aufzählung und schließt andere Bestandteile abseits von den ausdrücklich genannten Bestandteilen aus.

[0035] Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung betrifft der Ausdruck „im Wesentlichen bestehen aus“ oder „im Wesentlichen bestehend aus“ eine teilweise geschlossene Aufzählung und bezeichnet Zubereitungen, die abseits von den genannten Bestandteilen, lediglich derartige weitere Bestandteile aufweisen, die den Charakter der erfindungsgemäßen Zubereitung nicht materiell verändern.

[0036] Sofern im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung eine Zubereitung beschrieben ist, sind mit der Verwendung des Ausdrucks „aufweisen“ oder „aufweisend“ ausdrücklich Zubereitungen eingeschlossen, die aus den Bestandteilen bestehen oder im Wesentlichen aus den Bestandteilen bestehen.

[0037] Radiologie, wie hierin verwendet, betrifft jegliche Art von Gerät oder Vorrichtung, die ein visuelles Signal oder ein Bild beim Nachweisen des vorliegenden Restes Z, d.h. einem radioaktiv nachweisbaren Marker, einem radioaktiven therapeutischen Rest, einem Chelator, der einen radioaktiv nachweisbaren Marker koordiniert, oder einem Chelator, der einen radioaktiven therapeutischen Rest koordiniert, erzeugen kann. Vorzugsweise ermöglicht das Gerät die Lagebestimmung des Restes Z innerhalb eines Säugetiers. Nicht begrenzende Beispiele der Radiologie schließen Positronenemissiotomographie (PET) ein, die ein dreidimensionales Bild oder eine Karte funktionaler Vorgänge in dem Körper erzeugt. Das System weist Paare von Gammastrahlen nach, die durch ein Positronen emittierendes Radioisotop mittelbar/indirekt emittiert werden, das auf einem metabolisch aktiven Molekül, d.h. einem Substrat der beta-Galactosidase, in den Körper eingebracht wurde. Bilder der metabolischen Aktivität im Raum werden anschließend durch Computeranalyse rekonstruiert, die durch einen CT Röntgenstrahlenscan unterstützt werden kann, die in der gleichen Sitzung, vorzugsweise zur gleichen Zeit und in der gleichen Vorrichtung, an dem Patienten durchgeführt wird, um ein dreidimensionales Bild zu erhalten, das eine Lagebestimmung des Gewebe ermöglicht, in dem die Prodrug angereicht ist. Bei der Positronenemission wird ein Proton mittels der schwachen Kraft in ein Neutron, Positron und Neutrino umgewandelt. Isotope, die den sogenannten Beta-Plus-Zerfall durchlaufen, emittieren dabei Positronen. Geeignete Positronen emittierende Radionukleotide für diesen Zweck weisen ^{11}C , ^{40}K , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{89}Zr , ^{82}Rb , ^{68}Ga , ^{62}Cu und ^{64}Cu auf, von denen ^{11}C und ^{18}F bevorzugt sind. Andere nützliche Radionukleotide weisen ^{121}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{210}At , ^{211}At und ^{111}In auf. Die vorliegenden Verbindungen können ebenso mit Technetium- und Rheniumisotopen unter Verwendung bekannter Chelatkomplexe markiert werden. Verfahren zur Zubereitung der Radionukleotide, ebenso wie die Radiomarkierung der Verbindungen, sind dem Fachmann gut bekannt. Die US 2007/0273308 und WO 2007/122488 betreffen bspw. die Zubereitung von Radionukleotiden. Radiomarkierung wird beispielsweise in der WO 2007/148089 und WO 2007/148083 aufgeführt.

[0038] PET ist vorzugsweise mit einer Computertomographie (CT) verbunden. Derartige PET/CT Vorrichtungen ermöglichen den quantitativen Nachweis und die Lagebestimmung der Signale, die in bestimmten Geweben nachgewiesen werden, d.h. eine Lagebestimmung der verwendeten Radionukleotide und damit der daran angebrachten Prodrugs. Funktion und Betrieb von PET/CT ebenso wie der Vorrichtungen sind dem Fachmann gut bekannt. Andere geeignete Techniken weisen Einzelphotonen-Emissions-Computertomographie (SPECT) und Techniken auf, die auf magnetischer Kernresonanz (NMR) beruhen, wobei die quantenmechanischen magnetischen Eigenschaften eines Atomkerns nachgewiesen werden.

[0039] Die verwendete Radiologievorrichtung ist vorzugsweise eine PET Vorrichtung, mehr bevorzugt eine PET/CT Vorrichtung oder eine PET/MR Vorrichtung.

[0040] In den Figuren zeigt

Fig. 1 ein Motiv, das das Funktionieren eines radiomarkierten Hexosesubstrats zeigt;

Fig. 2 den Tracer 9 als ein Substrat kommerziell verfügbarer beta-Galactosidase;

Fig. 3 die Stabilität des Tracers 9 unter in-vivo Bedingungen;

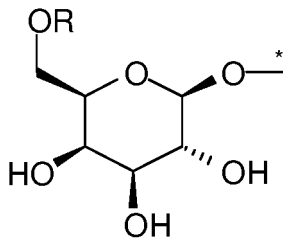
Fig. 4 die in vitro Validierung des Tracers in HCT116 und H-RAS Zellen;

Fig. 5 die Aufnahme des Tracers 9 in seneszenten gegenüber Kontroll- HCT116 Tumoren;

Fig. 6 die Aufnahme des Tracer 9 in seneszenten H-RAS Tumoren; und

Fig. 7 die immunhistochemische Färbung von (a) HCT116 und (b) H-RAS geführten Tumormodellen.

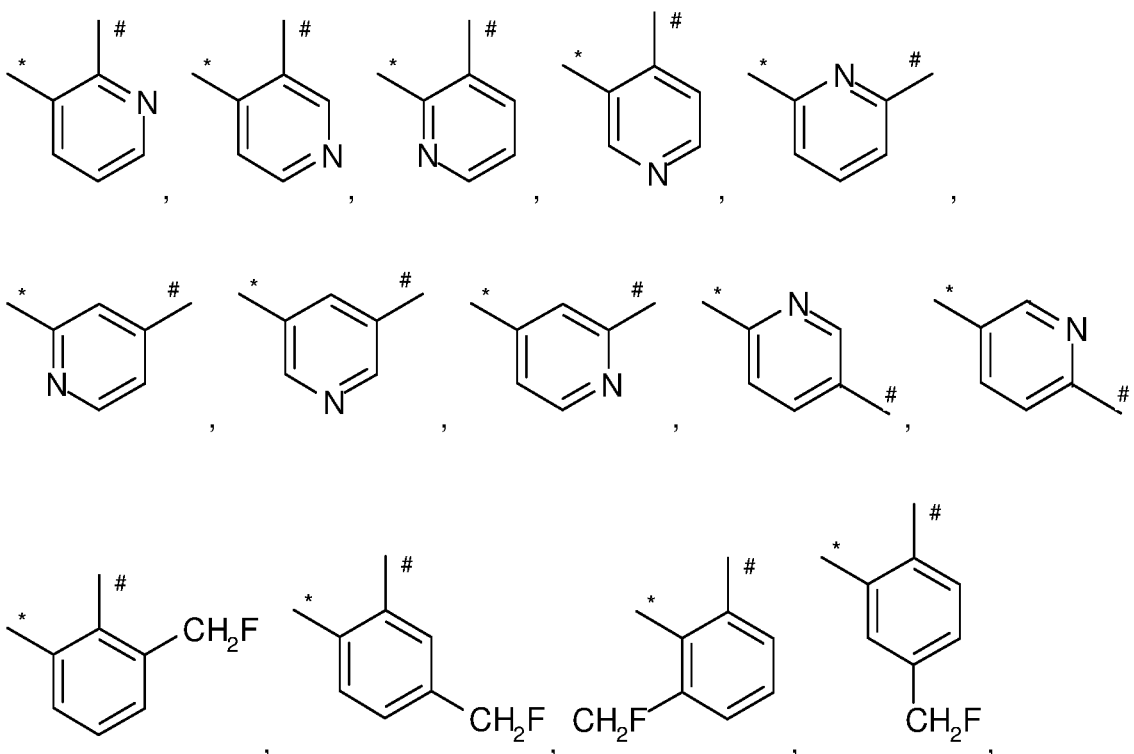
[0041] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung G ist

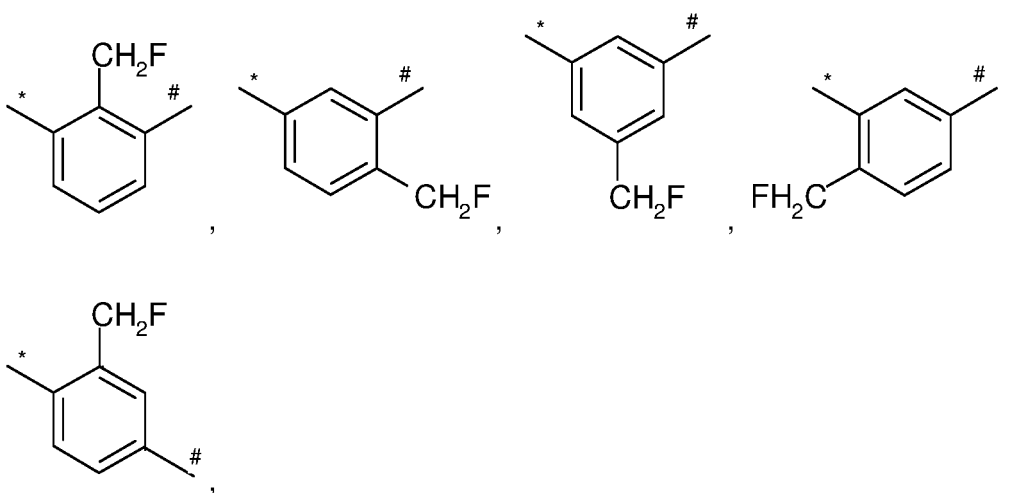


. R ist wie vorstehend gezeigt. Vorzugsweise ist R H, dadurch wird ein beta-D-Galactoserest, insbesondere ein beta-D-Galactopyranosid, festgelegt, das den bestmöglichen Zuckerrest für eine Spaltung durch beta-Galactosidase darstellt.

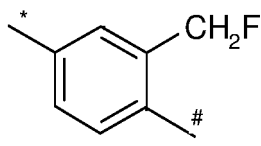
[0042] Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist R H oder CH₃, X ist unabhängig voneinander ausgewählt unter H oder Methylhalid, Y ist unabhängig voneinander ausgewählt unter C und N, unter der Maßgabe, dass zumindest 5 C-Atome vorliegen, R' ist NH, n ist 1, und R'' ist ein linearer Ether mit 2 bis 5 C-Atomen.

[0043] Gemäß noch einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist R H, S ist ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus

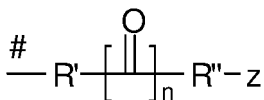




und



[0044] In den Verbindungen kann L, wie vorstehend beschrieben,

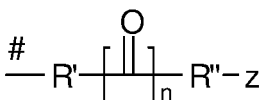


oder



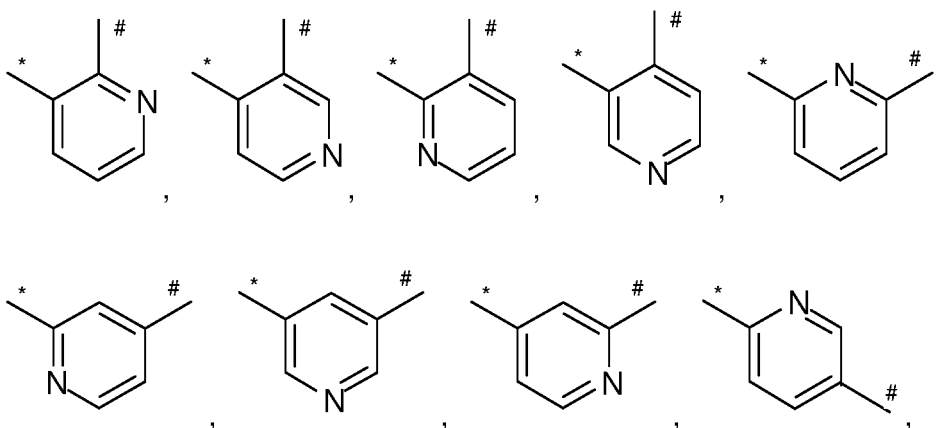
sein.

[0045] Sofern L

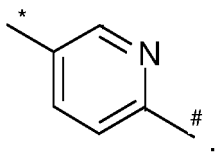
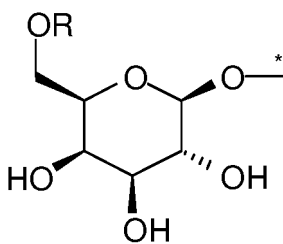


ist, ist R'' vorzugsweise ausgewählt unter der Gruppe bestehend aus CH₂-O-CH₂, C₂H₄-O-CH₂, CH₂-O-CH₂-O-CH₂, CH₂-O-CH₂-O-CH₂, C₂H₄-O-CH₂-O-CH₂, CH₂-O- C₂H₄-O-CH₂, C₂H₄-O-C₂H₄-O-CH₂, C₂H₄-O-CH₂-O-C₂H₄, CH₂-O-CH₂-O-CH₂-O-CH₂, C₂H₄-O-CH₂-O-CH₂-O-CH₂, und CH₂-O- C₂H₄-O-CH₂-O-CH₂. R' ist CH₂, NH oder O, vorzugsweise NH. Noch mehr bevorzugt ist Z ¹⁸F. Sofern R' CH₂ ist, ist es bevorzugt, dass n ist 0 und R'' ein unsubstituiertes C₁ bis C₅ Alkyl ist. Mehr bevorzugt Z ist ¹⁸F.

[0046] Sofern L

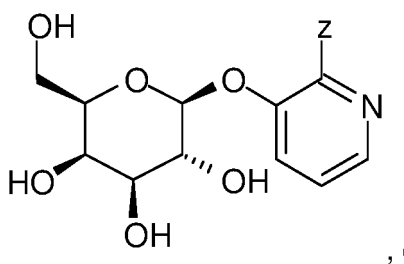
— Zist, ist Z vorzugsweise ^{18}F .**[0047]** Bei insbesondere bevorzugten Verbindungen der vorliegenden Erfindung ist R H, S ist ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus

und

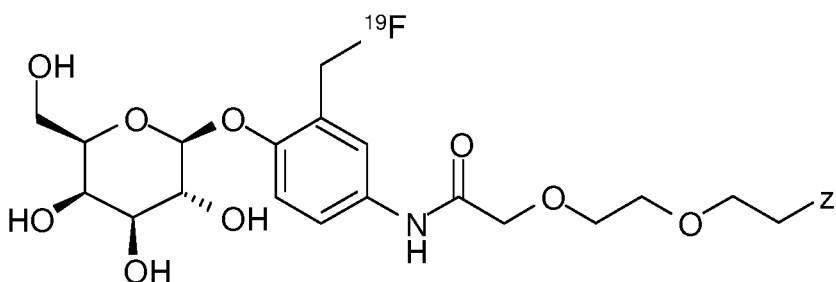
**[0048]** In den Verbindungen, ist G

, wobei R H ist.

[0049] L ist#
— ZMehr bevorzugt ist Z ^{18}F .**[0050]** Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die Verbindung



oder



[0051] Die zweite Struktur, bei der ein Spacermolekül verwendet wird, ist insbesondere für vergleichsweise große radioaktiv nachweisbare Marker, wie beispielsweise ^{121}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{210}At , ^{211}At und ^{111}In , und große radioaktive therapeutische Reste, wie beispielsweise ^{89}Sr , ^{186}Re und ^{153}Sm , geeignet. Es ist jedoch bevorzugt, dass Z ^{18}F ist.

[0052] Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist der radioaktiv nachweisbare Marker ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus ^{11}C , ^{40}K , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{82}Rb , ^{68}Ga , ^{64}Cu , ^{62}Cu , ^{89}Zr , ^{121}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{210}At , ^{211}At und ^{111}In , vorzugsweise ^{11}C , ^{18}F , ^{68}Ga , ^{64}Cu , und ^{124}I , mehr bevorzugt ^{18}F .

[0053] Gemäß noch einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist der radioaktive therapeutische Rest ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus ^{32}P , ^{60}Co , ^{64}Cu , ^{89}Sr , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{186}Re und ^{153}Sm .

[0054] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die vorliegende Verbindung zur Verwendung bei einer Operation vorgesehen. Die vorliegende Verbindung wird vorzugsweise in Kombination mit zumindest einem inerten, nicht-toxischen, pharmazeutisch geeigneten Exzipienten verwendet.

[0055] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die vorliegende Verbindung zur Verwendung als ein Medikament vorgesehen. Die vorliegende Verbindung wird vorzugsweise in Kombination mit zumindest einem inerten, nicht-toxischen, pharmazeutisch geeigneten Exzipienten verwendet.

[0056] Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die vorliegende Verbindung zur Verwendung in einem Verfahren zum Nachweis der Zellseneszenz vorgesehen.

[0057] Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die vorliegende Verbindung zur Verwendung in einem Verfahren zum Bestimmen der Wirksamkeit einer Krebsbehandlung vorgesehen.

[0058] Der durch die vorliegenden Verbindungen zu diagnostizierende und/oder zu behandelnde Krebs kann ausgewählt unter Prostatakarzinom, kolorektales Karzinom, Brustkrebs, Lungentumor, Tumor des männlichen oder weiblichen Urogenitalsystems, malignem Melanom, Zervix- und Hals-Tumor/ zervikaler Tumor, malignem Lymphom, Neoplasie des hämatopoetischen Systems und muskuloskelettalem Tumor sein.

[0059] Gemäß noch einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung weist das Verfahren für ein Nachweisen der Zellseneszenz ein in Kontakt bringen von Zellen mit der vorliegenden Verbindung auf.

[0060] Gemäß noch einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung das Verfahren für ein Bestimmen der Wirksamkeit der Krebsbehandlung comprises in Kontakt bringen von Zellen mit der vorliegenden Verbindung auf.

[0061] Gemäß noch einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird das Verfahren in vivo durchgeführt.

[0062] Gemäß noch einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird das Verfahren in vitro durchgeführt.

[0063] Das vorstehend genannte Verfahren kann sowohl in vivo, bspw. in einem menschlichen Patienten zur Kontrolle der Wirksamkeit der Krebsbehandlung, oder in vitro, bspw. für ein Screening auf neue Medikament, durchgeführt werden.

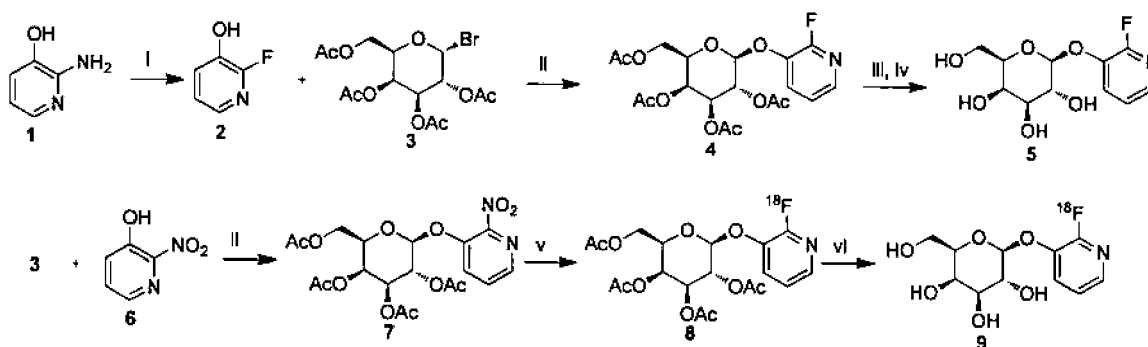
[0064] Die vorliegende Verbindung wird vorzugsweise parenteral verabreicht.

[0065] Die vorliegenden Verbindungen können für diesen Verabreichungsweg in geeigneten Verabreichungsformen verabreicht werden. Eine parenterale Verabreichung kann unter Vermeiden eines Absorptionsschritts (bspw. intravenös, intraarterial, intracardiac, intraspinal oder intralumbal) oder unter Einbeziehung eines Absorptionsschritts (bspw. intramuskulär, subkutan, intrakutan, perkutan oder intraperitoneal) stattfinden. Verabreichungsformen, die zur parenteralen Verabreichung geeignet sind, sind unter anderem Zubereitungen zur Injektion und Infusion in der Form von Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, Lyophilisaten oder sterilen Pulvern.

[0066] Die vorliegenden Verbindungen können in die genannten Verabreichungsformen umgewandelt werden. Dies kann auf eine an sich bekannte Weise durch Mischen mit inerten, nicht-toxischen, pharmazeutisch verträglichen Exzipienten erfolgen. Diese Exzipienten weisen unter anderem Träger (beispielsweise mikrokristalline Cellulose, Laktose, Mannitol), Lösungsmittel (bspw. flüssige Polyethylenglykole), Emulgatoren und Dispergenzien oder Benetzungsmittel (beispielsweise Natriumdodecylsulfat, Polyoxysorbitanoleat), Bindemittel (beispielsweise Polyvinylpyrrolidon), synthetische und natürliche Polymere (beispielsweise Albumin), Stabilisatoren (bspw. Antioxidantien, wie beispielsweise Ascorbinsäure), Farbstoffe (bspw. anorganische Pigmente, wie beispielsweise Eisenoxide), und Geschmacks- und/oder Geruchs-Korrigentien auf.

[0067] Das der vorliegenden Erfindung zugrunde liegende Prinzip wird allgemein in **Fig. 1** gezeigt. Ein radioaktiv markiertes Glycosidasesubstrat, d.h. eine Verbindung der vorliegenden Erfindung, wird durch eine Glycosidase, insbesondere beta-Galactosidase, in den entsprechenden Zucker und den radioaktiv markierten Alkohol umgewandelt. Die vorliegende Verbindung wird mit Rest W gezeigt, der die Reste anzeigt die ein Hexosederivat bilden, wie beispielsweise ein Galactosederivat, vorzugsweise beta-D-Galactose. Die Glycosidase, insbesondere die beta-Galactosidase, ist in seneszenten Zellen überexprimiert und angereichert. Der radioaktiv markierte Alkohol wird in sauren Lysosomen angereichert und kann durch eine Radiologievorrichtung, wie beispielsweise eine PET/CT Vorrichtung, nachgewiesen werden.

[0068] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung können allgemein durch den in Reaktionsschema I gezeigten Weg hergestellt werden.



[0069] In der oberen Reihe des Reaktionsschemas I wird die Erzeugung der Verbindung **5** gezeigt. Die Verbindung **5** weist keinen radioaktiven Marker auf, d.h. F ist ^{19}F . Die Reaktion I wird mit HBF_4 , NaNO_2 bei einer

Temperatur von 0°C durchgeführt. Die Ausbeute der Verbindung **2** beträgt 63% w/w. Die Reaktion II wird mit Ag_2CO_3 und bei einer Temperatur von 0°C durchgeführt. Die Ausbeute der Verbindung **4** beträgt zwischen 40 und 60% w/w. Die Reaktion III wird mit NaOMe und MeOH bei einer Temperatur im Bereich von 20 bis 25°C durchgeführt, gefolgt von der Reaktion IV in Anwesenheit von Amberlit IR_{120} .

[0070] Bei der unteren Reihe des Reaktionsschemas I wird die Erzeugung der Verbindung **9** (Tracer **9**), einer Verbindung gemäß der vorliegenden Erfindung, gezeigt. Die Reaktion II wird mit Ag_2CO_3 bei einer Temperatur von 0°C durchgeführt. Die Reaktion VI wird mit Ag_2CO_3 bei einer Temperatur von 0°C durchgeführt. Die Reaktion V wird mit ^{18}F - und DMSO bei einer Temperatur von 150°C für 5 Min. durchgeführt. Die Reaktion VI wird mit NaOMe/ MeOH, oder MeOH, Et_3N , H_2O (**10**:1:1) durchgeführt.

[0071] Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung zeigen eine nützliche Bandbreite pharmalogischer Wirkungen, die nicht vorhergesagt werden konnten. Sie können seneszente Zellen in vitro und in vivo markieren. Insbesondere eine in vivo Markierung erfolgt zu einem Ausmaß, dass seneszente Zellen eindeutig im Verlauf eines Operationsverfahrens identifiziert werden können, wodurch wiederum die gezielte Eliminierung derartiger Zellen, insbesondere von Krebszellen, ermöglicht wird.

[0072] Es ist klar, dass die vorstehend aufgeführte Beschreibung lediglich zur Illustration dient und nicht einschränkend ist. Viele Ausführungsformen werden dem Fachmann bei dem Studium der vorstehend aufgeführten Beschreibung offensichtlich werden. Die Erfindung wurde beispielhaft zuerst unter Bezug auf die Synthese, ebenso wie die Diagnose, des Tracers **9** beschrieben. Es sollte klar sein, dass alle Arten geeigneter nachweisbarer Reste und therapeutischer Reste synthetisiert und an die vorliegenden Verbindungen angebracht werden können. Der Schutzbereich der Erfindung sollte daher nicht unter Bezug auf die vorstehende Beschreibung, sondern stattdessen unter Bezug auf die beigefügten Ansprüche mitsamt dem vollständigen Schutzbereich von Äquivalenten, zu dem die Ansprüche berechtigt sind, erfolgen.

[0073] Die prozentualen Angaben bzw. Daten in den nachstehend aufgeführten Tests und Beispielen sind, solange nicht anderweitig bezeichnet, Gewichtsprozente; Teile sind Gewichtsteile. Lösungsmittelverhältnisse, Verdünnungsverhältnisse und Konzentrationsangaben flüssiger/flüssiger Lösungsmittel basieren in jedem Fall auf dem Volumen. Der Ausdruck „w/v“ bedeutet „Gewicht/Volumen“. Beispielsweise bedeutet „10% w/v“ daher: 100 ml Lösungsmittel oder Suspension enthalten 10 g Substanz.

Beispiele:

Allgemeines

[0074] Die optimierte Radiosynthese erfolgt unter Verwendung eines TRACERlab FX N Pro (GE). ^{18}F wird als Fluorwasserstoffsäure (HF) unter Verwendung eines PETtrace Cyclotrons (GE) hergestellt. Die ^{18}F Markierung beruht auf der nukleophilen Substitution einer aromatischen Nitrogruppe. Der Syntheseweg ist in Reaktionsschema I beschrieben.

[0075] Die nachstehend aufgeführten subkutanen Tiermodelle werden zur Tracerevaluierung verwendet.

[0076] Ein Xenograftmodell der kolorektalen Krebszelllinie (HCT116) mit Therapie induzierter Seneszenz wird verwendet, wobei Doxorubicin als ein Chemotherapeutikum verwendet wird. Seneszenz wird in HCT116 Xenograft Tumoren durch intravenöse (i.v.) Verabreichung von Doxorubicin (10 mg/kg) induziert. Durch die Schwanzvene der Mäuse werden 5 Tage danach dynamische PET/MRT Untersuchungen (**1** h) mit Verbindung **9** vorgenommen.

[0077] Die transgene Leber-Vorläuferzelllinie (H-RAS) wurde für subkutane Allotransplantation in Nacktmäusen als zweites Modell verwendet. Die Zelllinie exprimiert H-RAS^{G12V} und p53shRNA unter Doxycyclin (Doxy) Bedingungen. Die p53 mRNA kann nach der Entfernung des Doxycyclins wiederhergestellt und in das p53 Protein translatiert werden. Die hohe Menge an p53 löst Seneszenz aus. Die Tiere, die H-RAS Tumore tragen, erhielten Doxy-Wasser (0,2 mg/ml) zur Tumorentwicklung und 14 Tag nach der Entfernung des Doxy-Wassers wurden PET/MRT Untersuchungen bzw. Aufnahmen mit Verbindung **9** durchgeführt.

Beispiel 1

[0078] Beispiel 1 offenbart die Synthese der Verbindungen gemäß dem Reaktionsschema I.

Synthese der Verbindung 4

[0079] (2R,3S, 4S, 5R,6S)-2-(Acetoxymethyl)-6-((2-fluorpyridin-3-yl)oxy)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triyl triacetat, 4: Eine Lösung, die 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-galactopyranosylbromid 3 (1.0 g, 2.4 mmol), Ag_2CO_3 (0.74 g, 2.7 mmol), MS-4 $\text{\AA}$ (5 g) und 2-Fluor-pyridin-3-ol 5 (0.33 g, 2.9 mmol) in wasserfreiem DCM (**15** mL) aufweist wird über Nacht im Dunklen, bei Raumtemperatur und unter Argonatmosphäre gerührt. Die TLC bzw. DC Analyse zeigte den vollständigen Verbrauch des anfänglich vorliegenden Bromids und die Bildung eines neuen unpolaren Produkts. Die Lösung wird durch ein Celit filtriert, das mit DCM (**3** x 10 mL) gespült wurde. Nachdem das Lösungsmittel unter verringertem Druck entfernt wurde, wurde der Rückstand unter Verwendung von Kieselgelsäulenchromatografie unmittelbar gereinigt, wobei ein zunehmender Gradient von EtOAc in PE verwendet wurde. Das erhaltene Produkt ist ein farbloser Feststoff (0.51 g, 51 %).

[0080] TLC: R_f = 0.5 (EtOAc: PE = 1: 1); ^1H NMR (600 MHz, Chloroform-d) δ 7.94 (d, J = 4.6 Hz, 1H, ArH), 7.58 (t, J = 7.8 Hz, 1H, ArH), 7.13 (dd, J = 7.8, 4.8 Hz, 1H, ArH), 5.50 (dd, J = 10.5, 7.9 Hz, 1H), 5.45 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 5.10 (dd, J = 10.5, 3.4 Hz, 1H), 4.96 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.22 (dd, J = 11.4, 6.8 Hz, 1H), 4.15 (dd, J = 11.4, 6.3 Hz, 1H), 4.01 (td, J = 6.8, 1.1 Hz, 1H), 2.19 (s, 3H, OAc), 2.11 (s, 3H, OAc), 2.04 (s, 3H, OAc), 2.02 (s, 3H, OAc); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 170.26 (CO_{quart}), 170.13 (CO_{quart}), 170.04 (CO_{quart}), 169.44 (CO_{quart}), 154.75 (d, J = 239.9 Hz), 141.59 (d, J = 13.4 Hz, ArC), 139.49 (d, J = 25.5 Hz, ArC), 130.22 (d, J = 3.5 Hz, ArC), 121.85 (d, J = 4.3 Hz, ArC), 121.23 (CH), 101.12 (CH), 71.38 (CH), 70.5 (CH), 68.29 (CH), 66.70 (CH), 61.17 (CH_2), 21.03 (OAc), 20.63 (OAc), 20.61 (OAc), 20.55 (OAc).

Synthese der Verbindung 5

[0081] (2S,3R,4S,5 R,6R)-2-((2-Fluorpyridin-3-yl)oxy)-6-(hydroxymethyl)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triol, 5: Katalytisches Natriummethoxid wird zu einer Lösung von 4 (0.5 g, 1.1 mmol) in trockenem Methanol (**5** mL) hinzugegeben. Die Lösung wird bei Raumtemperatur gerührt bis die TLC Analyse zeigte, dass die Hydrolyse des acetylierten Zuckers vollständig ist. Nach der Zugabe von Essigsäure (**0.2** mL) wird das Lösungsmittel unter verringertem Druck entfernt. Der verbleibende Feststoff war von hoher Reinheit, wobei allerdings durch eine anschließende Umkristallisation aus Methanol 6 als hochreiner kristalliner Feststoff (225 mg, 73 %) erhalten wurde.

[0082] TLC: R_f = 0.25 (EtOAc: MeOH = 9: 1); ^1H NMR (600 MHz, Deuteriumoxid) δ 7.79 (dd, J = 8.1, 5.0 Hz, 1H, ArH), 7.72 (t, J = 8.9, 8.1 Hz, 1H, ArH), 7.26 (dd, J = 8.0, 5.0 Hz, 1H, ArH), 5.06 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 3.95 (dd, J = 3.4, 1.8 Hz, 1H), 3.84 - 3.78 (m, 2H), 3.75 - 3.70 (m, 3H), 1.85 (dd, J = 2.3, 1.1 Hz, 1H); ^{13}C NMR (151 MHz, Deuteriumoxid) δ 153.70 (d, J = 238.5 Hz, CF), 141.49, 139.72 (d, J = 23.9 Hz, ArC), 139.29 (d, J = 11.6 Hz, ArC), 128.11 (d, J = 3.7 Hz, ArC), 122.75 (d, J = 4.2 Hz, ArC), 101.24 (CH), 75.68 (CH), 72.41 (CH), 70.31 (CH), 68.36 (CH), 60.68 (CH_2); HRMS (ESI): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (theor.) = 298,06974, gemessen = 298,06998.

Synthese der Verbindung 7

[0083] (2R,3S,4S,5R,6S)-2-(Acetoxymethyl)-6-((2-nitropyridin-3-yl)oxy)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triyltriacetat, 7: Eine Lösung, die 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-galactopyranosylbromid 3 (1.0 g, 2.4 mmol), Ag_2CO_3 (1.3 g, 4.8 mmol), MS-4 $\text{\AA}$ (5 g) und 2-Nitro-pyridin-3-ol 6 (1.4 g, 9.7 mmol) in wasserfreiem DCM (**10** mL) aufweist wird über Nacht im Dunklen, bei Raumtemperatur und unter Argonatmosphäre gerührt. Die TLC Analyse zeigte den vollständigen Verbrauch des anfänglich vorliegenden Bromids und die Bildung eines neuen unpolaren Produkts. Die Lösung wird durch ein Celit filtriert, das mit DCM (**3** x 10 mL) gespült wurde. Nachdem das Lösungsmittel unter verringertem Druck entfernt wurde, wurde der Rückstand unter Verwendung von Kieselgelsäulenchromatografie unmittelbar gereinigt, wobei ein zunehmender Gradient von EtOAc in PE verwendet wurde. Das erhaltene Produkt **7** ist ein farbloser Feststoff (0.51 g, 51 %).

[0084] TLC: R_f = 0.65 (EtOAc: PE = 4: 1); ^1H NMR (600 MHz, Chloroform-d) δ 8.26 (dd, J = 4.6, 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.82 (dd, J = 8.4, 1.4 Hz, 1H, ArH), 7.54 (dd, J = 8.4, 4.6 Hz, 1H, ArH), 5.51 (dd, J = 10.5, 7.9 Hz, 1H), 5.47 (dd, J = 3.4, 1.2 Hz, 1H), 5.10 (dd, J = 10.5, 3.4 Hz, 1H), 5.06 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 4.25 (dd, J = 11.4, 6.1 Hz, 1H), 4.16 (dd, J = 11.4, 6.1 Hz, 1H), 4.06 (ddd, J = 6.1, 6.1, 1.3 Hz, 1H), 2.19 (s, 3H, OAc), 2.14 (s, 3H, OAc), 2.06 (s, 3H, OAc), 2.01 (s, 3H, OAc); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 170.21 (CO_{quart}), 170.04 (CO_{quart}), 170.01 (CO_{quart}), 169.32 (CO_{quart}), 150.42 (ArC $_{\text{quart}}$), 144.25 (ArC $_{\text{quart}}$), 142.91 (ArC), 129.86 (ArC), 128.29 (ArC), 100.94 (CH), 71.65 (CH), 70.31 (CH), 67.64 (CH), 66.58 (CH), 61.26 (CH_2), 20.62 (OAc), 20.60 (OAc), 20.56 (OAc), 20.51 (OAc); HRMS (ESI): $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (theor.) = 493,10649 gemessen = 493,10686.

Synthese der Verbindungen 8 und 9

[0085] Die Radiomarkierung von 7 verläuft einfach in DMSO bei 150°C. Azeotropisch getrockneter $[K.2.2.2]^+$ ^{18}F -Fluoridkomplex wird verwendet, wobei das acetylierte ^{18}F -markierte Intermediat hergestellt wird, das unter Verwendung semi-präparativer HPLC gereinigt wird. Der Tracer wurde mittels Einfangen in eine C_{18} -SPE Kartusche konzentriert, mit NaOH (185 μ L, 2.0 M) zur Herstellung von Tracer 9 entschützt und mit 10% Ethanol in Wasser (3 mL) eluiert. Er wird geeigneterweise mit HCl (195 μ L, 2.0 M), $NaHCO_3$ (500 μ L, 1.0 M) und Wasser (5 mL) formuliert, um eine subisotonische Natriumkonzentration (0.1 M) und einen End-pH (7.5) sicherzustellen, der biologisch tolerierbar ist. Der Tracer wird mit einer radiochemischen Reinheit von >98% hergestellt, wobei die zerfallskorrigierte Ausbeute $18.6 \pm 2.5\%$ (n=10) mit einer molaren Radioaktivität von $18.8 \pm 3.5 \text{ GBq} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$ (n=5) betrug.

Beispiel 2

[0086] Zur Beurteilung ob der Tracer 9 ein Substrat der beta-Galactosidase darstellt, wird er bei 30 °C für 30 Minuten in Citratpuffer von pH 5.5 inkubiert, der kommerziell erhältliche beta-Galactosidase (Sigma) enthält. Die Reaktion wird durch Zugabe von 2 Volumenäquivalenten Acetonitril gestoppt, gefolgt von 5 Minuten Zentrifugation. Der Überstand wird unter Verwendung von Radio-HPLC unmittelbar untersucht. Die Reaktion erzeugt den radioaktiven Metaboliten mit der gleichen Retentionszeit wie das nichtradioaktive 2-Fluorpyridinol. Der voraussichtlich radioaktive Metabolit wird mit dem authentischen nicht-radioaktiven Standard (Fig. 2) verglichen. Namentlich die Verbindung 10 ist radioaktives 2-Fluorpyridinol (Fig. 2a), die Verbindung 9 ist Tracer 9 (Fig. 2b), und die Verbindungen 1 und 2 sind andere Verbindungen des Reaktionsschemas I (Fig. 2c). Verbindung 11 ist Galactose.

[0087] Der Tracer 9 wird bei 37 °C in Mausserum inkubiert, um seine Stabilität zu beurteilen. Nach 1 Stunde werden 2 Volumenäquivalente Acetonitril hinzugegeben und die Mischung wird für 5 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird unter Verwendung von Radio-HPLC unmittelbar untersucht. Die Serumstabilität des Tracers 9 nach 1 h (Fig. 3a) gegenüber Tracer 9 (Fig. 3b) kann aus der Fig. 3 entnommen werden. Der Versuch zeigt einige unbedeutende radioaktive Metaboliten, wobei jedoch die Integrität des Tracers größtenteils intakt verbleibt.

[0088] Die in-vitro Beurteilung der Verbindung 9 wird in der Fig. 4 gezeigt. HCT116 (Fig. 4a) und H-RAS Zellen (Fig. 4b) werden mit 100-200 μ Ci des Tracers behandelt und für 50 Minuten inkubiert. Die Zellen werden in einem Gammazähler gemessen, wobei die auf die Zellzahl normalisierte Aktivität verwendet wird. In beiden Fällen zeigen die seneszenten Zellen im Vergleich zu den Kontrollen eine signifikant erhöhte Aufnahme.

Beispiel 3

[0089] Der PET-Tracer wird in zwei verschiedenen Modellen in vitro getestet. In HCT116 Zellen wird Seneszenz durch Inkubation mit Doxorubicin über Nacht induziert, gefolgt von 4 Tagen Kultur unter gewöhnlichen Bedingungen. Seneszenz in einer H-RAS gesteuerten Leber Vorläuferzelllinie mit einer durch Doxycyclin regulierbaren p53-spezifischen shRNA. Nach Induktion der Seneszenz werden beide Zelllinien mit 3.7 - 7.4 MBq des Tracers für 50 Minuten inkubiert. Die Zellen werden anschließend gewaschen, und in einem Gammazähler gezählt und gemessen. Die von den Zellen aufgenommene Aktivität wird analysiert und auf eine Million Zellen normalisiert.

[0090] In vivo Tests werden in Nacktmäusen durchgeführt, die s.c. HCT116 oder H-RAS gesteuerte Leber Vorläuferzellen tragen. Mäuse, die HCT116 Tumore tragen, werden mit Doxorubicin (10 mg/Kg Körpergewicht) behandelt und 4 Tage nach dem Beginn der Seneszenz einem bildgebenden Verfahren unterzogen. Mäuse, die H-RAS gesteuerten bzw. durch H-RAS hervorgerufen Tumor tragen, werden mit Doxycyclin in ihrem Trinkwasser ergänzt, welches später zum Induzieren der Seneszenz entfernt wurde. Nach der Induktion der Seneszenz wird der Tracer i.v. verabreicht und PET Untersuchungen durchgeführt. Die %ID/cc und Tumor-Muskel Verhältnisse werden durch quantitative Analyse der PET Daten bestimmt, wodurch die Beurteilung der Tracer ermöglicht wird.

[0091] In vitro senescente HCT116 Zellen zeigen eine Aufnahme von 11 kBq/1 Mio. Zellen, wohingegen die Aufnahme in nicht-senescente Kontrollzellen lediglich 4 kBq/1 Mio. Zellen beträgt. In dem H-RAS gesteuerten Leber Vorläufermodell zeigen die seneszenten Zellen eine Aufnahme von 192 kBq/1 Mio. Zellen und ist im Vergleich zu nicht-seneszenten Zellen (63 kBq/1 mio Zellen) signifikant erhöht.

[0092] Die in vivo Aufnahme des Tracers in seneszenten und nicht-seneszenten HCT116 Tumoren (**Fig. 5**) beträgt entsprechend 1.7 ± 0.7 ($n=7$) gegenüber 1.1 ± 0.4 ($n=5$) %ID/cc; die entsprechenden TMR Werte betragen 1.7 und 1.1. Insbesondere die **Fig. 5** zeigt, dass der Tracer **9** eine höhere Aufnahme in seneszenten gegenüber Kontroll- HCT116 Tumoren zeigt. Sowohl %ID/cc und TMR sind in seneszenten gegenüber Kontroll-Tumoren erhöht. Die herausgeschnittenen Tumore werden ex vivo Analysen unterzogen. Die Autoradiographie bestätigt die Ergebnisse, wobei eine höhere Tracer Aufnahme in den seneszenten Tumor- gegenüber dem Kontroll-Schnitt gezeigt ist. Seneszente Tumorscheiben zeigten ebenso eine höhere X-Gal höhere X-Gal Färbung als die Kontrollschnitte.

[0093] In dem H-RAS gesteuerten Model (**Fig. 6**) ist die Aufnahme des Tracers in seneszenten Tumore im Vergleich zu jener von Kontrolltumoren (1.5 ± 0.3 ($n=16$) gegenüber 0.9 ± 0.3 ($n=11$) %ID/cc) signifikant erhöht; das TMR ist einem ähnlichen Trend mit entsprechenden Werten von 2.1 und 1.2 unterzogen. Die **Fig. 6** zeigt, dass der Tracer **9** eine höhere Aufnahme in seneszenten gegenüber Kontroll- H-RAS Tumore zeigt. Sowohl %ID/cc als auch TMR sind in seneszenten gegenüber Kontroll-Tumoren erhöht. Die herausgeschnittenen Tumore werden ex vivo Analysen unterzogen. Die Autoradiographie bestätigte die Ergebnisse, wobei eine höhere Tracer Aufnahme in den seneszenten Tumor- gegenüber dem Kontroll-Schnitt gezeigt ist. Seneszente Tumorscheiben zeigten ebenso eine höhergradige X-Gal Färbung als die Kontrollschnitte. Der nicht-seneszente Tumor exprimiert GFP, was mittels optischer Bildgebung visualisiert werden kann.

[0094] Die Induktion der Seneszenz wird durch die ex vivo beta-Gal Färbung und Immunhistologie von Ki67, Caspase3, HP1 γ , p53 und p16 (**Fig. 7**) bestätigt. Die **Fig. 7** zeigt immunhistochemisches Färben von HCT116 (**Fig. 7a**) und H-RAS (**Fig. 7b**) gesteuerten Tumormodellen. In beiden Fällen wurde eine immunhistochemische Analyse durchgeführt und zeigt eine Zunahme der erwarteten Seneszenzmarker HP1 γ und p53. Die H-RAS gesteuerten Tumore zeigen ebenso eine hohe Expression von ki67. Die geringe Abundanz an Caspase-3 in beiden Tumormodellen legt nahe, dass Apoptose keine Schlüsselfigur bei dem Tumorstatus darstellt und bestätigt die Aussage der Seneszenz.

ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

Zitierte Patentliteratur

- US 2007/0273308 [0037]
- WO 2007/122488 [0037]
- WO 2007/148089 [0037]
- WO 2007/148083 [0037]

Zitierte Nicht-Patentliteratur

- Roninson, E.B., Tumor Cell Senescence in Cancer Treatment, Cancer Res., 2003, 63: 2705-2715 [0002, 0003, 0004]
- Campisi, J. and d'Adda di Fagagna, F., Cellular Senescence: when bad things happen to good cells, Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2007, 8:729-740 [0003]

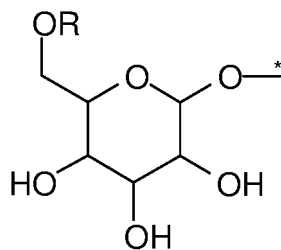
Patentansprüche

1. Verbindung der Formel:

G-S-L,

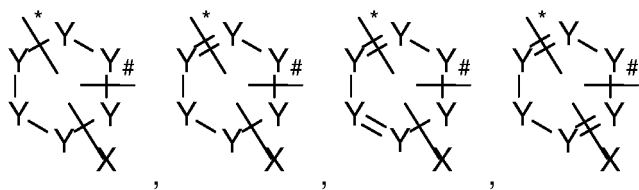
wobei

G

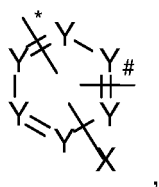


ist,

wobei R ausgewählt ist aus H, substituiertem oder unsubstituiertem C₁ bis C₅ Alkyl, substituiertem oder unsubstituiertem C₁ bis C₁₀ Cycloalkyl, oder substituiertem oder unsubstituiertem C₁ bis C₁₀ Heterocycloalkyl, und wobei * die Bindungsstelle zwischen G und S ist, S ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus



, oder



wobei X unabhängig voneinander aus der Gruppe ausgewählt ist bestehend aus H, Halogen, Methylhalogen, OH und SH,

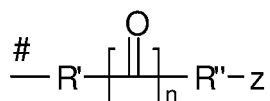
wobei Y unabhängig voneinander aus der Gruppe ausgewählt ist bestehend aus C, S, N, und O, unter der Maßgabe, dass zumindest 3 C-Atome vorliegen,

wobei # die Bindungsstelle zwischen S und L ist, und

L



, oder



ist,

wobei R' CH₂, NH, S, oder O ist,

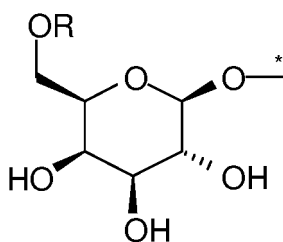
wobei n 0 oder 1 ist,

wobei R'' substituiertes oder unsubstituiertes C₁ bis C₅ Alkyl ist,

wobei Z ein radioaktiv nachweisbarer Marker, ein radioaktiver therapeutischer Rest, ein Chelator, der einen radioaktiv nachweisbaren Marker koordiniert, oder ein Chelator ist, der einen radioaktiven therapeutischen Rest koordiniert;

oder ein Salz davon.

2. Verbindung gemäß Anspruch 1, wobei G



ist.

3. Verbindung gemäß einem der vorstehenden Ansprüche, wobei

R H oder CH₃ ist,

X unabhängig voneinander ausgewählt unter H oder Methylhalid ist,

Y unabhängig voneinander ausgewählt unter C und N ist, unter der Maßgabe, dass zumindest 5 C-Atome vorliegen,

R' NH ist,

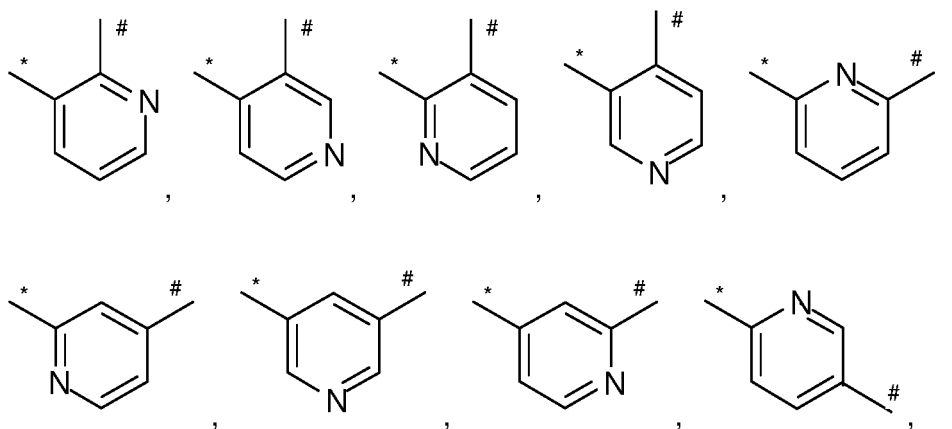
n 1 ist, und

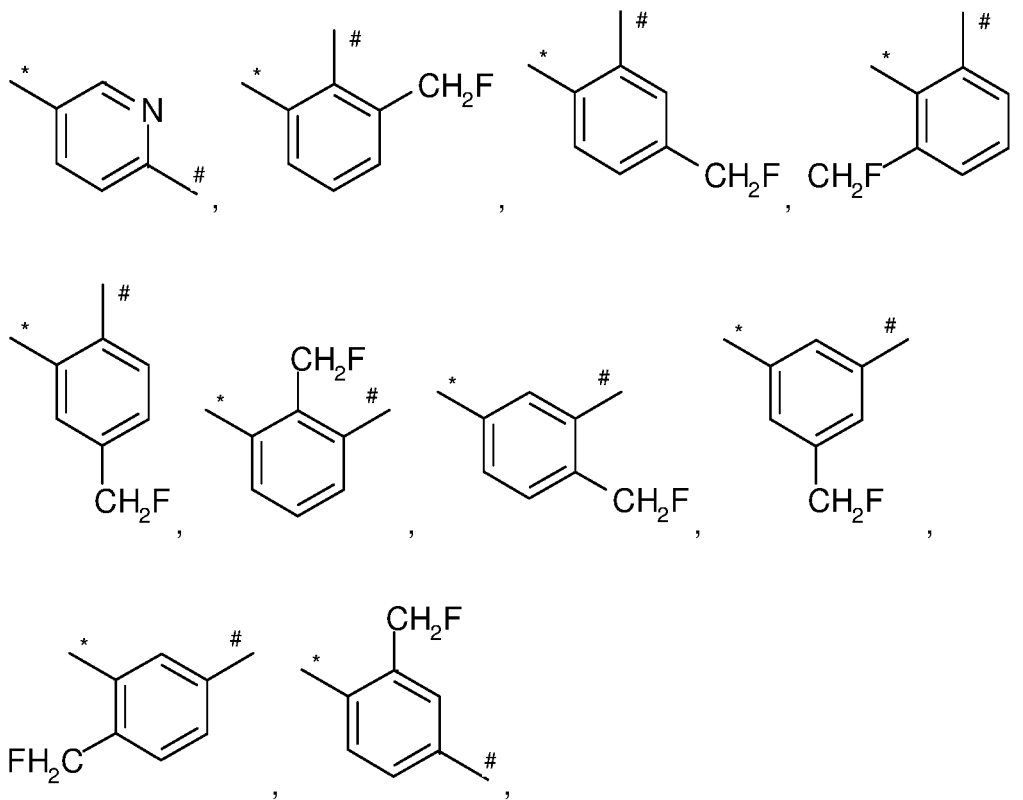
R'' ein linearer Ether mit 2 bis 5 C-Atomen ist.

4. Verbindung gemäß einem der vorstehenden Ansprüche, wobei

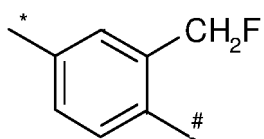
R H ist,

S ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus

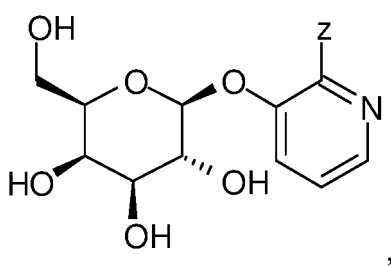




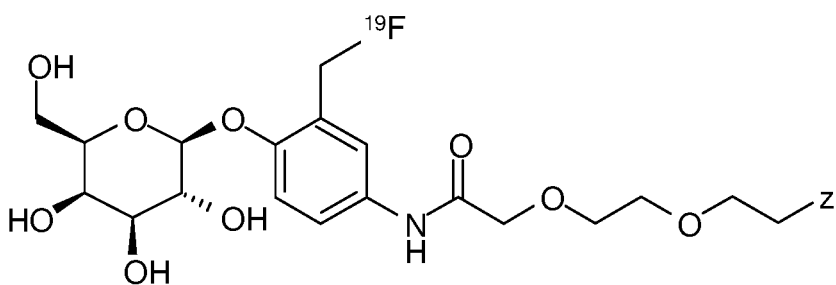
und



5. Verbindung gemäß einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Verbindung



oder



ist.

6. Verbindung gemäß einem der vorstehenden Ansprüche, wobei der radioaktiv nachweisbare Marker ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus ^{11}C , ^{40}K , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{82}Rb , ^{68}Ga , ^{64}Cu , ^{62}Cu , ^{89}Zr , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{210}At , ^{211}At und ^{111}In , vorzugsweise ^{11}C , ^{18}F , ^{68}Ga , ^{64}Cu , und ^{124}I , mehr bevorzugt ^{18}F .

7. The Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei der radioaktive therapeutische Rest ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus ^{32}P , ^{60}Co , ^{64}Cu , ^{89}Sr , ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{186}Re und ^{153}Sm .

8. Verbindung gemäß Anspruch 6 zur Verwendung bei einer Operation.

9. Verbindung gemäß Anspruch 7 zur Verwendung als ein Medikament.

10. Verbindung gemäß Anspruch 1 bis 7 zur Verwendung in einem Verfahren für ein Nachweisen von Zellseneszenz.

11. Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7 zur Verwendung in einem Verfahren zum Bestimmen der Wirksamkeit einer Krebsbehandlung.

12. Verfahren für ein Nachweisen von Zellseneszenz, aufweisend in Kontakt bringen von Zellen mit einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7.

13. Verfahren für ein Bestimmen der Wirksamkeit einer Krebsbehandlung, aufweisend in Kontakt bringen von Zellen mit einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7.

14. Verfahren gemäß Anspruch 12 oder 13, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Verfahren in vivo durchgeführt wird.

15. Verfahren gemäß Anspruch 12 oder 13, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Verfahren in vitro durchgeführt wird.

Es folgen 6 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

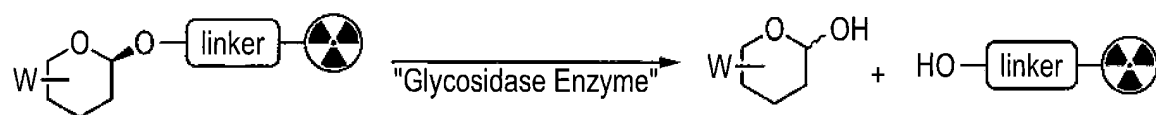
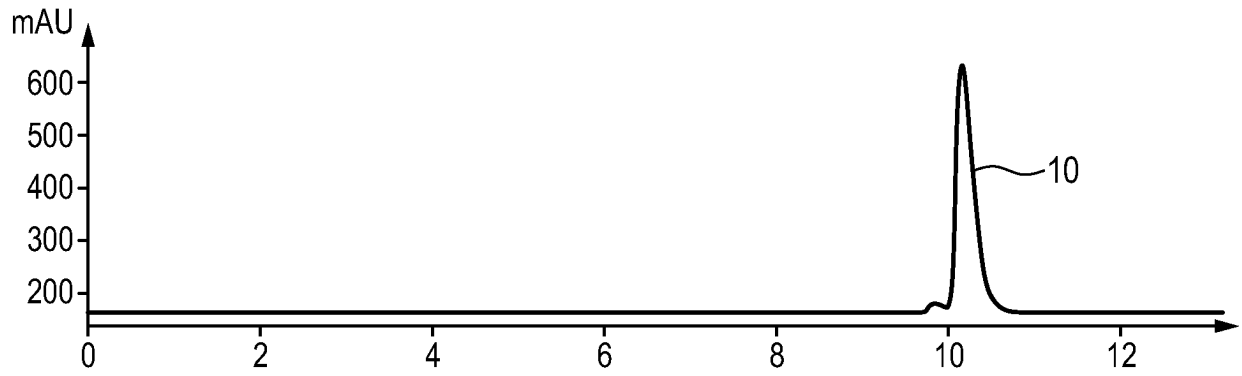
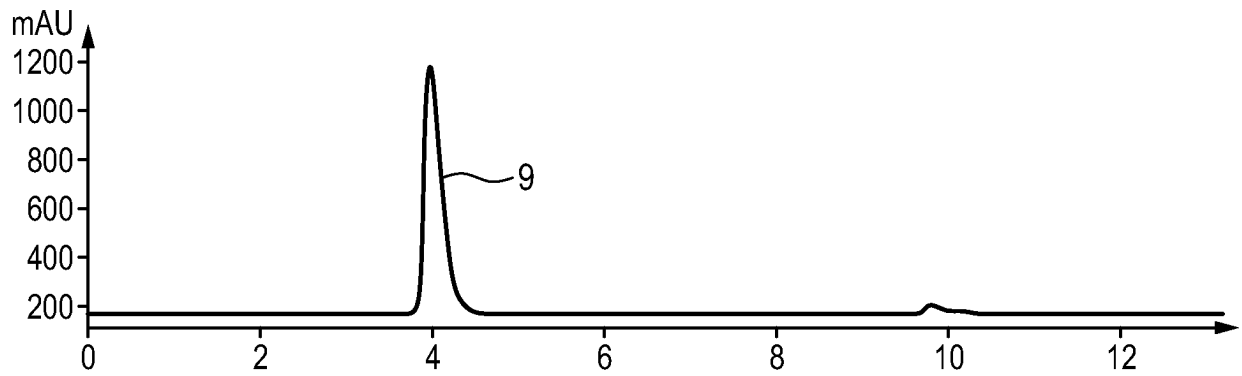
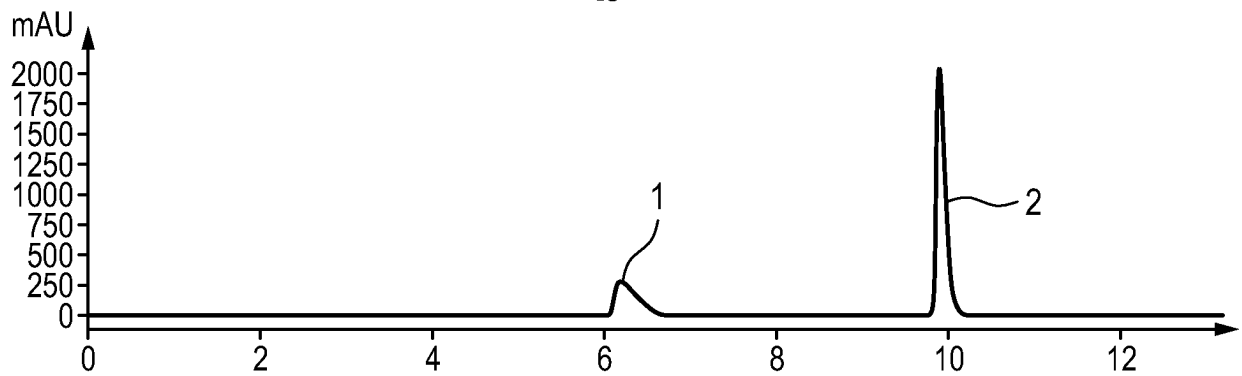
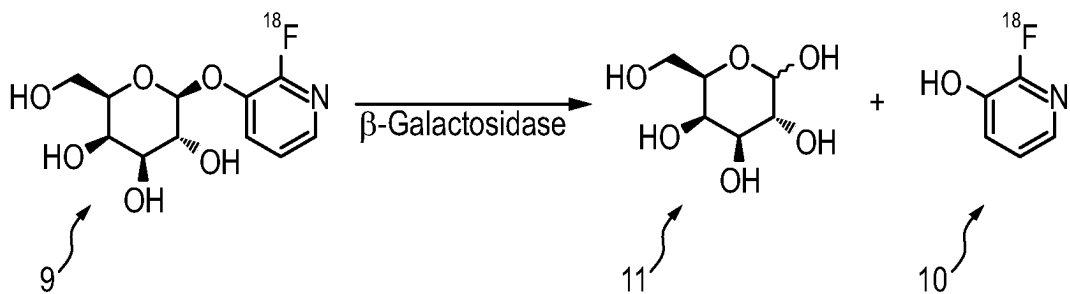
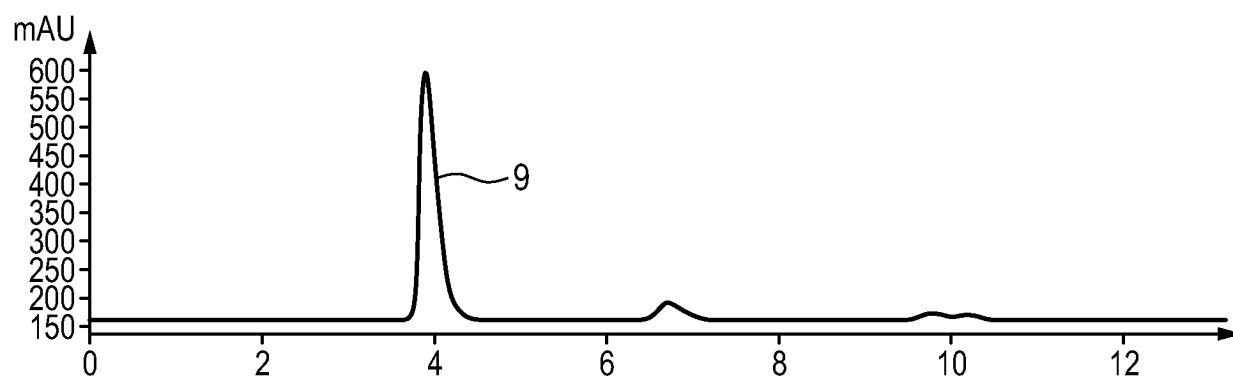
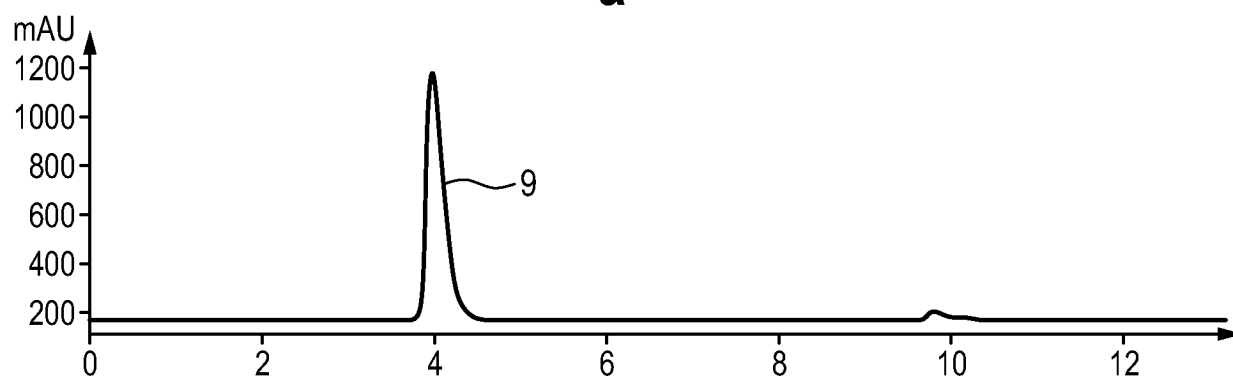


Fig. 1

**a****b****c****Fig. 2**

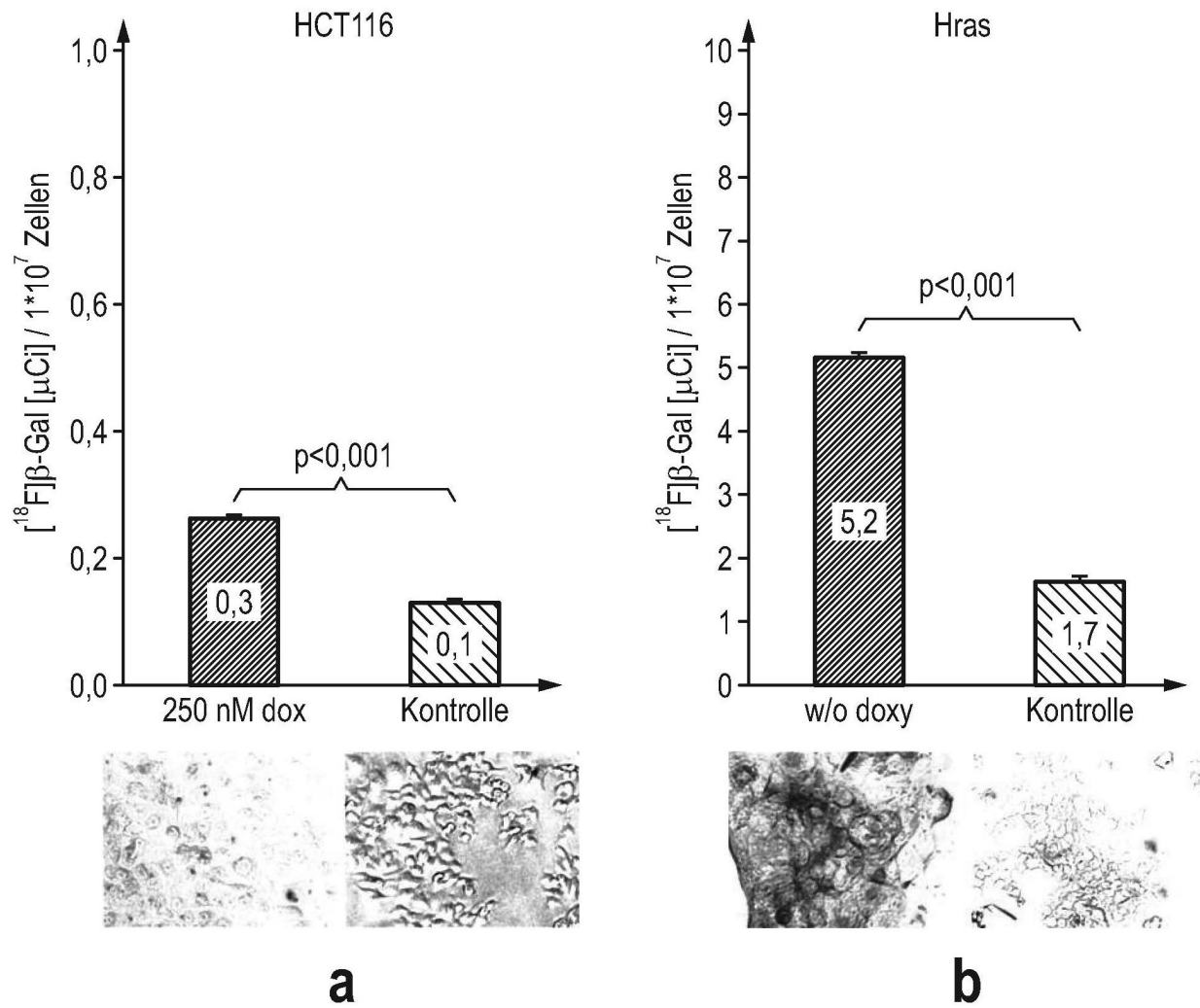


a



b

Fig. 3

**Fig. 4**

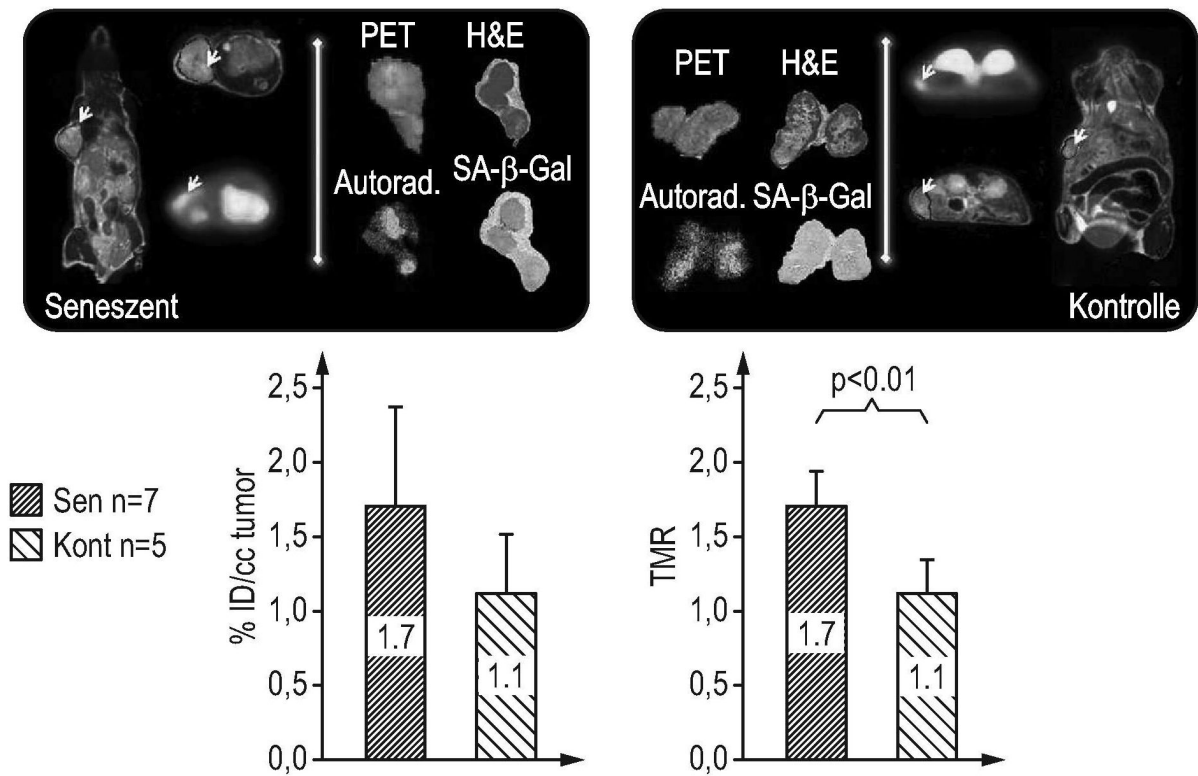


Fig. 5

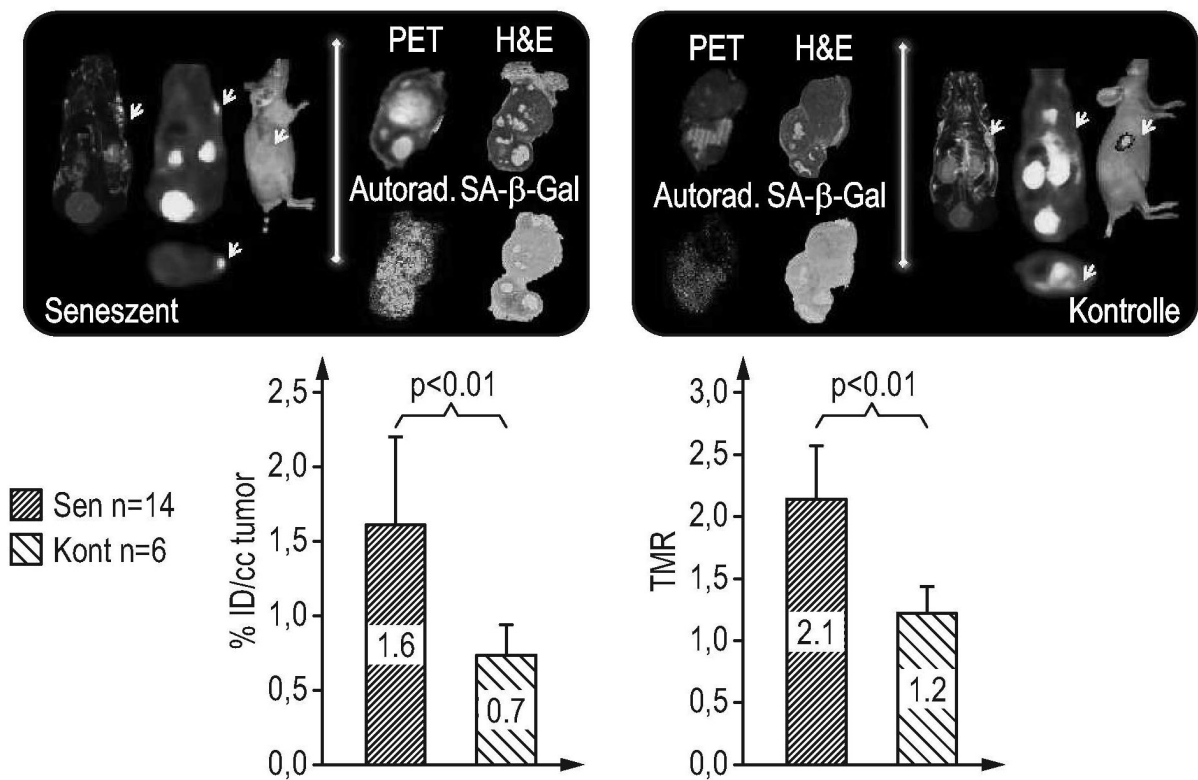


Fig. 6

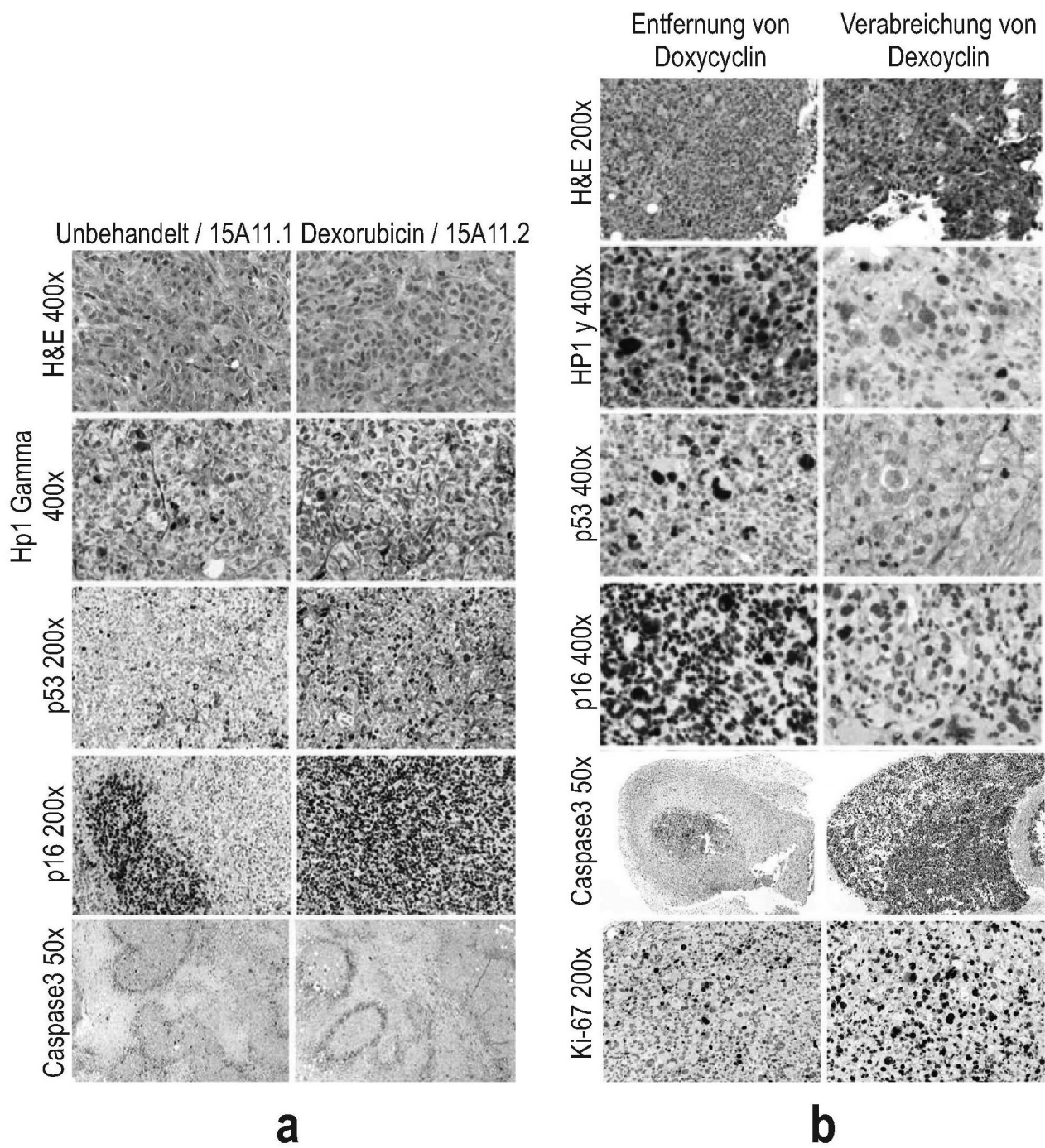


Fig. 7