

(12) **Patentschrift**

(21) Anmeldenummer: A 1964/2008
(22) Anmeldetag: 16.12.2008
(45) Veröffentlicht am: 15.01.2012

(51) Int. Cl. : **C07D 211/46** (2006.01)
C07H 5/04 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)

(56) Entgegenhaltungen:
WO 2006125141A2
WO 200047198A2 EP 0494850A2

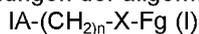
Chemistry & Biology 2005, 12(11), 1235-1244

(73) Patentinhaber:
FORSCHUNGSHOLDING TU GRAZ GMBH
A-8010 GRAZ (AT)
TECHNISCHE UNIVERSITÄT GRAZ
A-8010 GRAZ (AT)

(72) Erfinder:
STÜTZ ARNOLD E. PROF. DR.
GRAZ (AT)
WRODNIGG TANJA M. PROF. DR.
GRAZ (AT)
STEINER ANDREAS DR.
GRAZ (AT)
THONHOFER MARTIN
LINZ (AT)
SCHEUCHER ELISABETH DIPL.ING.
GRAZ (AT)

(54) **FLUOROPHILE GLYKOSIDASEHEMMER**

(57) Die Erfindung betrifft die Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



worin

IA eine Iminoaldit-Gruppe, ausgewählt aus
1-Desoxynojirimycin, 1-Desoxyidonojirimycin,
1-Desoxymannojirimycin,
1-Desoxygalacto-nojirimycin,
1-Desoxyxylonojirimycin,

1,2-Didesoxy-2-NHAc-nojirimycin,
1-Desoxyfuconojirimycin, 2,
5-Didesoxy-2,5-imino-D-mannitol oder
2,5-Didesoxy-2,5-imino-D-glucitol ist;

n 1 bis 12 ist;

X (O-CH₂-CH₂)₁, (O-CH₂-CH₂)₁O-, (O-CO-), O-,
NH-, N(CH₃)-, NR¹-CO-(CH₂)_k-,
(O-CH₂-CH₂)₁-NR¹-CO-, O-, NR¹-CO-NR¹-,
NR¹-CH₂-p-Phenyl-, NR¹-CO-O-,
NR¹-CO-O-CH₂-p-Phenyl-CH₂-CH₂-, NR¹SO₂- oder
(CH₂-O-CH₂)_j-CH₂-CO-NR¹-(CH₂)_k- ist; und

Fg eine Fluorgruppe, ausgewählt aus (CF₂)_i-CF₃,
CH(CF₃)₂,

C (CF₃)₂-Phenyl, C(CF₃)₃, CF₃ oder (CF₂)_j-CO-NR¹-R⁴ ist,

wobei

l 1 bis 10,

k 0 bis 2,

j 1 bis 10 und

i 1 bis 12 ist;

R¹ H, C₁-C₁₆-Alkyl oder Oligofluoralkyl mit der Formel
(CH₂)_k-Fg; R² H, CF₃, Phenyl oder CH₃; R₃ H, CH₃
oder CF₃; und R⁴ ,H, Alkyl oder (O-CH₂-CH₂)₁ ist;
wobei Phenyl mit einem oder mehreren F und/oder
CF₃ substituiert sein kann;

zur Bindung an Glykosidasen, ausgewählt aus
α-Iduronidase, Iduronate Sulfatase,
N-Acetylglucosaminidase, β-Galactosidase,
Hyaluronidase, α-Mannosidase, β-Mannosidase,
α-Fucosidase, α-Acetylglucosaminidase,
β-Galactosidase, α-Untereinheit der
β-Hexosaminidase, β-Untereinheit der
Hexosaminidase,
β-Glucocebrosidase, α-Galactosidase,
Sphingomyelinase und Saure Ceramidase.

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft fluorophile Glykosidasehemmer, deren Herstellung und deren Verwendung.

[0002] Glykosidasen sind Enzyme, die zur Enzymklasse der Hydrolasen gehören und in Pflanzen, Tieren, Pilzen und Protisten vorkommen. Glykosidasen katalysieren reversibel die Hydrolyse einer glykosidischen Bindung in einem Glykosid, wobei ein Zucker (Glykon) und das sogenannte Aglykon unter Addition eines Wassermoleküls freigesetzt werden. Sie sind meist spezifisch für den abzusplattenden Zucker, die Art des Aglykons spielt hingegen eine geringere Rolle.

[0003] Glykosidasehemmer sind Inhibitoren dieser Enzyme und stellen wichtige biologische und biotechnologische Diagnostika, Tools und Therapeutika dar. Derartige Glykosidasehemmer können Glykosidasen reversibel oder irreversibel hemmen, wobei die reversible Hemmung kommerziell besonders interessant ist. Der wichtigste Typ derartiger reversibler Glykosidaseinhibitoren sind Iminoaldit-Verbindungen (vgl.: „Iminosugars - From synthesis to therapeutic applications", Compain et al., Eds., Wiley, Chichester, 2007/ Martin et al., Curr. Top. Med. Chem. 2003, 3, 471-591; Lillelund et al., Chem. Rev. 2002, 102, 515-553; „From lianas to glycobiology tools: Twenty-five years of 2,5-dideoxy-2,5-imino-D-mannitol", Wrodnigg et al., in: „Timely Research Perspectives in Carbohydrate Chemistry", Schmid et al., Eds., Springer: Vienna, New York, 2002, pp 43-76; Heightman et al., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1999, 38, 750-770; „Iminosugars as Glycosidase Inhibitors", Stütz, Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 1999; WO 2006/125141 A2; Sawkar et al., Chem & Biol. 12 (2005), 1235-1244).

[0004] Die Aufreinigung organischer Verbindungen stellt eine der wesentlichen Tätigkeiten in der chemischen Industrie und Forschung dar. Diese Aufreinigung ist oft für einen beträchtlichen Teil der Herstellungskosten verantwortlich. Chromatographische Verfahren zur Reinigung von organisch-chemischen Substanzen sind zwar sehr wichtig, jedoch auch kostspielig und zeitraubend. Einfachere aber manchmal weniger wirkungsvolle Verfahren basieren auf Techniken der Phasentrennung. Vier Phasen werden in den Standard-Labor-Trennverfahren allgemein verwendet: eine Gasphase, ein fester Aggregatzustand und zwei flüssige Phasen, organisch und wässrig. Unter den Phasentrennungs-Techniken spielen vor allem Flüssigkeit/Flüssigkeit-Extraktionen eine wichtige Rolle bei der Reinigung von organischen (aber auch anorganischen) Verbindungen. Diese Extraktionen werden fast immer mit einem organischen Lösungsmittel und einer wässrigen Phase durchgeführt. Eine weniger häufige aber dennoch wichtige Anwendung der organische/wässrige Phase-Extraktionen ist die Säure/Base-Extraktion.

[0005] Erst seit kurzem wird in der synthetischen organischen Chemie jedoch auch von einer „dritten flüssigen Phase" gesprochen, die fluorogene Phase oder fluorophile Phase. Fluorige, insbesondere perfluorierte Verbindungen weisen deutliche Anomalien in ihren physikochemischen Eigenschaften auf. Im Hinblick auf die Aufreinigung von Stoffen ist dabei die charakteristischste Eigenschaft, dass sich derartige fluorogene Verbindungen nicht mit wässrigen oder organischen Phasen mit geringem Fluorgehalt mischen. Daneben weisen diese Verbindungen eine sehr gute Löslichkeit für Gase, eine thermoregulierbare Mischbarkeit, eine ausgeprägte Inertheit, eine hohe Dichte und eine geringe Oberflächenspannung auf.

[0006] Bei der Flüssigphasen-Extraktion mit einer derartigen fluorogenen Phase werden demgemäß „fluorophile" Verbindungen in der fluorogenen Phase angereichert. Fluorophile Verbindungen sind daher jene, die eine chemische Affinität zu Substanzen mit perfluorierten Kohlenstoffketten aufweisen. Es ist auch möglich, fluorophile Substanzen an andere chemische Verbindungen zu koppeln oder zu binden, so dass die beiden Substanzen zusammen in die fluorophile Phase gelangen und so von den meisten Verunreinigungen effizient abgetrennt werden (da eben die meisten anorganischen oder organischen Verbindungen in der fluorogenen Phase entweder gar nicht oder nur in äußerst geringem Umfang löslich sind). In der EP 0494850 A2 und der WO 00/47198 A werden u.a. Iminoaldit-Verbindungen als antivirale Verbindungen vorgeschlagen.

[0007] Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist, neue fluorophile Glykosidasehemmer zur Verfü-

gung zu stellen, die verbesserte Eigenschaften aufweisen, insbesondere im Hinblick auf ihre medizinische Verwendung oder auf ihre Eignung, Glykosidasen zu extrahieren.

[0008] Demgemäß betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



[0009] worin

[0010] IA eine Iminoaldit-Gruppe, ausgewählt aus 1-Desoxynojirimycin, 1-Desoxyidonojirimycin, 1-Desoxymannojirimycin, 1-Desoxygalactonojirimycin, 1-Desoxyxylojirimycin, 1,2-Didesoxy-2-NHAc-noji-rimycin, 1-Desoxyfucono-jirimycin, 2,5-Didesoxy-2,5-imino-D-mannitol oder 2,5-Didesoxy-2,5-imino-D-glucitol ist;

[0011] n 1 bis 12 ist;

[0012] X (O-CH₂-CH₂)₁, (O-CH₂-CH₂)₁O-, (O-CO-) , O-, NH-, N(CH₃)-, NR¹-CO-(CH)_k-, (O-CH₂-CH₂)₁-NR¹-CO-, O-, NR¹-CO-NR¹-, NR¹CH₂-p-Phenyl-, NR¹CO-O-, NR¹CO-O-CH₂-p-Phenyl-CH₂-CH₂-, NR¹SO₂- oder (CH₂-O-CH₂)_jCH₂-CO-NR¹-(CH₂)_k- ist; und

[0013] Fg eine Fluorgruppe, ausgewählt aus (CF₂)_i-CF₃, CH(CF₃)₂, C(CF₃)₂Phenyl, C(CF₃)₃, CF₃ oder (CF₂)_i-CO-NR¹-R⁴ ist,

[0014] wobei

[0015] l 1 bis 10,

[0016] k 0 bis 2,

[0017] j 1 bis 10 und

[0018] i 1 bis 12 ist;

[0019] R¹ H, C₁-C₁₆-Alkyl oder Oligofluoralkyl mit der Formel (CH₂)_k-Fg; R² H, CH₃, CF₃, Phenyl, p-NH₂-Phenyl oder p-CH₃-Phenyl; R³ H, CH₃ oder CF₃; und R⁴ H, Alkyl oder (O-CH₂-CH₂)₁ ist;

[0020] wobei Phenyl mit einem oder mehreren F und/oder CF₃ substituiert sein kann;

[0021] zur Bindung an Glykosidasen ausgewählt aus α-Iduronidase, Iduronate Sulfatase, N-Acetylglucosaminidase, β-Galactosidase, Hyaluronidase, α-Mannosidase, β-Mannosidase, α-Fucosidase, α-Acetylglucosaminidase, β-Galactosidase, α-Untereinheit der β-Hexosaminidase, β-Untereinheit der Hexosaminidase, β-Glucocerebrosidase, α-Galactosidase, Sphingomyelinase und Saure Ceramidase.

[0022] Es hat sich erfindungsgemäß gezeigt, dass diese Verbindungen effektiv an Glykosidasen binden können und so optimal für deren Bindung, Trennung, Anreicherung und Detektion genutzt werden können. Diese Eigenschaften können auch für eine therapeutische Nutzung eingesetzt werden.

[0023] Die erfindungsgemäßen Verbindungen können alleine oder gekoppelt an andere Substanzen (wie z.B. Glykosidasen) in eine fluorophile Phase extrahiert werden, also z.B. in perfluorierte Kohlenwasserstoffe. Dadurch wird es möglich, dass Enzyme, die um die erfindungsgemäßen Inhibitoren gefaltet sind, in eine fluorophile Phase übergehen, aus der sie dann - in gereinigter Form - freigesetzt werden können. Damit kann eine bedeutend verbesserte und kostengünstige Aufarbeitung von Glykosidasen erreicht werden - ganz im Gegensatz zu der bislang zur Verfügung stehenden umständlichen Aufarbeitung aus einer wässrigen Phase.

[0024] Extraktionsverfahren mit Hilfe fluorierter Lösungsmittel sind an sich bekannt, so dass die Extraktion und die Gewinnung der Glykosidasen in an sich bekannter Weise vorgenommen werden können (vgl. auch die einleitenden Bemerkungen oben zur fluorophilen Extraktion, auf die hier nochmals ausdrücklich Bezug genommen wird).

[0025] Die erfindungsgemäßen Inhibitoren sind Iminoaldite, eine an sich bekannte Klasse von Glykosidase-Inhibitoren. Diese Stoffklasse ist dem Fachmann insbesondere bekannt im Hinblick

auf ihre hervorragenden Eigenschaften bei der Bindung an die entsprechenden Enzyme. Die in den erfindungsgemäßen Verbindungen enthaltenen Iminoaldit-Gruppen („IA-Gruppen“) binden reversibel an die Glykosidasen, so dass sie nach Überführung in die fluorophile Phase leicht von den Enzymen getrennt werden können, ohne dass die Enzyme ihre Funktion verlieren (z.B. denaturieren). Die Reversibilität ist insbesondere beim therapeutischen Einsatz und bei präparativen Verfahren für die Enzyme wesentlich. Bekannte geeignete Iminoaldit-Gruppen sind dem Fachmann z.B. aus den in der Einleitung zitierten Dokumenten bekannt (z.B.: Compain et al., (2007); Martin et al., (2003); Lillelund et al., (2002); Wrodnigg et al., (2002); Heightman et al., (1999); Stütz, (1999); die in diesen Arbeiten geoffenbarten Iminoaldite sind hierin mitaufgenommen).

[0026] Besonders bevorzugte Verbindungen der Formel (I) weisen als R^1 H auf. Vorzugsweise ist n 1 bis 6. Bei Verbindungen mit einem 6-gliedrigen Ring (z.B. IIa oder III) ist n vorzugsweise 2 (oder zumindest größer als 1, also z.B. 2 bis 9, insbesondere 2 bis 6); bei Verbindungen mit einem 5-er Ring (insbesondere bei IIc) ist n vorzugsweise 1.

[0027] Gemäß einem besonderen Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung einer Verbindung der allgemeinen Formel (I), wie oben definiert, zur Reinigung von Stoffen im Zuge einer Extraktion in eine fluorige Phase, wobei die Verbindung der allgemeinen Formel (I) in einer nicht-fluorigen Phase mit dem zu reinigenden Stoff in Kontakt gebracht wird, worauf die Verbindung der allgemeinen Formel (I) an den zu reinigenden Stoff bindet und der zu reinigende Stoff über die an den Stoff gebundene Verbindung der Formel (I) in eine fluorige Phase übergeführt wird.

[0028] Wie erwähnt, eignen sich die erfindungsgemäßen Verbindungen zur Reinigung von Glykosidasen aus komplexen Gemischen (z.B. aus pflanzlichen oder tierischen Rohstoffen oder im Zuge der Regeneration der Enzyme aus industrieller Verwendung). Auch aus menschlichen oder tierischen Quellen kann die erfindungsgemäße Aufarbeitung vorgenommen werden, beispielsweise aus menschlichen Blut-, Plasma-, Serum- oder Gewebeproben.

[0029] Eine besonders bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens betrifft die Aufarbeitung von Glykosidasen, die Marker für lysosomale Stoffwechselkrankheiten sind.

[0030] Die erfindungsgemäßen Verbindungen können dabei auch als Hilfsmittel zur Extraktion von Glykosidasen aus Zellaufschlüssen und ähnlichen Matrices durch „fluorous extraction“ verwendet werden. Hierbei wird mit Hilfe des „fluorous inhibitors“ gemäß der vorliegenden Erfindung ein Protein durch reversible, jedoch starke Inhibierung gebunden und der fluoridierte Teil des Inhibitors dazu verwendet, mit hoch fluorierten Oberflächen in Wechselwirkung zu treten und damit die jeweiligen Glykosidasen selektiv festzuhalten, während der Rest der Matrix ausgewaschen wird.

[0031] So kann man die Enzym-fluorierten Inhibitor-Komplexe auf hochfluoriertes Kieselgel aufgeben und mit Wasser/Acetonitril oder reinem Wasser die nicht fluoridierte Matrix auswaschen und danach den Komplex wieder ablösen und das intakte und aktive Enzym durch pH-Änderung oder Substratzugabe vom fluoridierten Inhibitor trennen, der danach rezykliert werden kann.

[0032] Der erfindungsgemäße fluoridierte Inhibitor kann ebenso an die hochfluorierte Oberfläche von Trägern wie z.B. Glaschips oder Kunststoffchips (nicht kovalent) gebunden werden, womit man Glykosidasen aus der Matrix „fischen“ könnte, die dann reversibel auf der Oberfläche des Chips sitzen und so Verdrängungsexperimenten, tagging und ähnlichem zur Verfügung stehen (siehe z.B. Nicola Pohl, Angew. Chemie, 2008, 3930-3932 und dort zitierte Lit.).

[0033] Lysosomale Speicherkrankheiten sind angeboren (vererbt) und werden nicht durch äußere Lebensumstände hervorgerufen.

[0034] Mit den erfindungsgemäßen Verbindungen kann im Rahmen einer „Alles-in-Einem“-Untersuchung die Quantifizierung aller lysosomalen Glykosidasen in einem Durchlauf vorgenommen werden.

[0035] Vorzugsweise werden die erfindungsgemäßen Verbindungen in der Massenspektrometrie oder der Kernresonanzspektroskopie verwendet, insbesondere in Verbindung mit einem Stoff, der an die Verbindung der allgemeinen Formel (I) gebunden ist.

[0036] Dabei ist es vorteilhaft, wenn mindestens zwei verschiedene Verbindungen der Formel (I) angewendet werden, insbesondere Verbindungen mit unterschiedlichen Affinitäten für verschiedene Glykosidasen. Das erfindungsgemäße Prinzip kann aber auch mit viel höherer Variabilität eingesetzt werden, so dass z.B. mindestens 4, vorzugsweise mindestens 10, insbesondere mindestens 30, verschiedene Verbindungen der Formel (I) angewendet werden. Diese verschiedenen Verbindungen können als spezifische „Barcodes“ für die einzelnen Enzyme verwendet werden. Dabei entsprechen die Barcodes der Zahl der Fluoratome im Molekül und unterscheiden sich in der Molekülmasse durch jeweils Massenzahldifferenz 19. Üblicherweise würde die Unterscheidung dabei um mehr oder weniger eine CF_2 -Einheit des Restes Fg in der Formel (I) vorgenommen, also Massendifferenzen von jeweils 38. Dazu können je nach Bedarf auch 1-3 CF_3 -Gruppen und 1-2 fluorierte Aromaten (je nach Substitutionsmuster 5 F oder 4 F) eingesetzt werden. Es ist daher einfach, mit dem erfindungsgemäßen System mehr als 10 verschiedene Barcodes für die zu markierenden Enzyme einzusetzen, obgleich in den meisten Fällen eine Zahl von 10 oder weniger ausreichend sein wird (man wird eher selten mehr als 10 wichtige Glykosidasen (gluko, manno, galakto, etc.) unterscheiden bzw., wenn es um unterschiedliche Vertreter einer Gruppe, z.B. β -Glukosidasen geht, meist 10 oder weniger gleichzeitig).

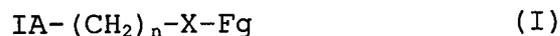
[0037] Ein Gemisch unterschiedlich konfigurierter erfindungsgemäßer Inhibitoren (Glukosidasehemmer, Mannosidasehemmer, Galaktosidasehemmer, etc.), die jeweils unterschiedliche Oligofluorsubstituenten tragen, können mit einer Matrix verschiedener Glykosidasen, wie sie z.B. bei Zellaufschlüssen auftritt, inkubiert werden und mittels Massenspektroskopie (MALDI) charakterisiert werden. Die unterschiedliche Anzahl der Fluoratome im jeweiligen Inhibitor erlaubt wie ein auf Molekülmasse basierendes Barcode die Zuordnung der Proteine zu den jeweiligen Konfigurationen. Anwesenheit und/oder Spezifität für eine interessierende Konfiguration und Konzentration von Glykosidasen können so bestimmt werden (z.B. analog zu Brittain et al., Nat. Biotech. 23 (2005), 463-468). Der Fluorgehalt (Barcode) gibt an, um welchen Enzymtyp (Glukosidase, Mannosidase, Hexosaminidase, etc.) es sich handelt. Auch für NMR lässt sich diese Methode anwenden, wobei die charakteristischen chemischen Verschiebungen im jeweiligen ^{19}F -NMR-Spektrum den „Barcode“ ergeben.

[0038] Eine weitere Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen betrifft die Herstellung von Medikamenten zur Behandlung von Mukopolysaccharidose I (Hurler, Schleie), Mukopolysaccharidose II (Hunter), Mukopolysaccharidose IIB (Sanfilippo B), Mukopolysaccharidose IVB (Morquio B), Mukopolysaccharidose IX, α -Mannosidose, β -Mannosidose, α -Fucosidose, Morbus Schindler, Morbus Kanzaki, GM1-Gangliosidose, GM2-Gangliosidose (Tay-Sachs), GM2-Gangliosidose (Sandhoff) und Morbus Fabry. Dabei können die erfindungsgemäßen Verbindungen in sub-inhibierenden Konzentrationen zur Stabilisierung von pathologischen Enzym-Mutanten verabreicht werden, die so in eine funktionelle Form gebracht werden können (molecular chaperoning), wodurch die Anreicherung toxischer Metaboliten in Organen und Knochen reduziert werden kann, wie sie bei lysosomalen Speichererkrankungen auftritt. Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeigen eine sehr gute Wirksamkeit als Chaperone für Enzym-Mutanten bei lysosomalen Speicherkrankheiten. Dabei wirken die erfindungsgemäßen Verbindungen als chemische Chaperone („Aktivatoren“) von Glykosidasenmutanten, die wegen ihrer zu geringen Enzymaktivität lysosomale Speicherkrankheiten verursachen. Die erfindungsgemäßen Verbindungen dienen dem nicht oder nur teilweise gefalteten Protein als Template für die korrekte Faltung, die gegeben sein muss, um Aktivität zu erlangen und dem Abbau durch das Qualitätskontrollsystem der Zelle zu entgehen. Auf diese Weise stehen für sehr viele dieser Krankheiten entsprechende neuartige Verbindungen für die meisten relevanten Konfigurationen bzw. Enzymspezifitäten zur Verfügung. Die erfindungsgemäßen Verbindungen können gemäß der Offenbarung von Beck (Hum. Genet. 121 (2007), 1-22) eingesetzt werden, insbesondere als „Chaperone“ („small molecules“ gemäß Beck).

[0039] Demgemäß betrifft die vorliegende Erfindung auch die Verwendung einer erfindungsgemäßen Iminoaldit-Verbindung als Chaperone im Rahmen einer chemischen (pharmazeutischen) Chaperone-Therapie. Bei der chemischen Chaperone-Therapie werden chemische Stoffe mit niedrigem Molekulargewicht („small molecules“) verabreicht, die in vitro eine enzymatische Aktivität inhibieren, jedoch intrazellulär (in vivo) einen Komplex mit diesem Enzym bilden, dieses Enzym stabilisieren und in katalytisch aktiver Form zu den Lysosomen transportieren. Unter den sauren Bedingungen in den Lysosomen dissoziiert der Komplex zwischen Enzym und chemischem Chaperone und das Enzym bleibt stabil und funktionell (s. z.B. Iwasaki et al., Brain & Development 28 (2006), 482-486; Beck, (2007); Maegawa et al., JBC 282 (2007), 9150-9162). Diese Therapie kann bei Stoffwechselstörungen, die z.B. auf ein mutiertes Enzym zurückzuführen ist, eingesetzt werden, um das mutierte Enzym trotz Mutation aktiv in die Lysosomen zu bringen, wo es - selbst nach Dissoziation des Komplexes - weiter stabil und aktiv bleibt. Es ist bekannt, dass zur Herbeiführung dieses „Chaperone-Effekts“ (zumindest 3-fache Steigerung der Enzymaktivität und zumindest 10 % eines Kontroll-Mittelwertes) in vivo nur geringe Konzentrationen eines chemischen Chaperones erforderlich sind (Iwasaki et al., (2006)). Die chemische Chaperone-Therapie hat mehrere Vorteile gegenüber z.B. Enzym-Ersatztherapie, u.a. die Möglichkeit oraler Gabe und Zugänglichkeit zum Gehirn. Obgleich oft eine Chaperone-Therapie nicht für alle Patienten einsetzbar bzw. wirksam ist, zeigt sich, dass zumindest bei einem Teil des Patientenkollektives (insbesondere bei Patienten mit einer einzigen lysosomalen Enzymdefizienz-Störung („single lysosomal enzyme deficiency disorder“)) mit diesem Ansatz sehr gute Resultate erzielt werden und zwar sowohl hinsichtlich des therapeutischen Effekts als auch im Hinblick auf einen prophylaktischen Einsatz bei einer ganzen Reihe unterschiedlicher Erkrankungen, bei welchen mutierte lysosomale Enzyme involviert sind (s. z.B. Iwasaki et al., (2006); Beck, (2007); Maegawa et al., (2007)). Besonders bevorzugte Erkrankungen, bei welchen die erfindungsgemäße Chaperone-Behandlung therapeutisch und prophylaktisch verwendet werden kann, sind die oben (bei der Aufarbeitung der Marker-Glykosidasen) erwähnten Erkrankungen, also Mukopolysaccharidose I (Hurler, Schleie), Mukopolysaccharidose II (Hunter), Mukopolysaccharidose IIB (Sanfilippo B), Mukopolysaccharidose IVB (Morquio B), Mukopolysaccharidose IX, α -Mannosidose, β -Mannosidose, α -Fucosidose, Morbus Schindler, Morbus Kanzaki, GM1-Gangliosidose, GM2-Gangliosidose (Tay-Sachs), GM2-Gangliosidose (Sandhoff) und Morbus Fabry.

[0040] Dabei dienen die erfindungsgemäßen Verbindungen als Chaperone für die angegebenen Enzyme.

[0041] Gemäß einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung eine Verbindung der allgemeinen Formel (I)



[0042] worin

[0043] IA eine Iminoaldit-Gruppe, ausgewählt aus 1-Desoxynojirimycin, 1-Desoxyidonojirimycin, 1-Desoxymannojirimycin, 1-Desoxygalactonojirimycin, 1-Desoxyxylojirimycin, 1,2-Didesoxy-2-NHAc-nojirimycin, 1-Desoxyfucono jirimycin, 2,5-Didesoxy-2,5-imino-D-mannitol oder 2,5-Didesoxy-2,5-imino-D-glucitol ist; n 1 bis 12 ist;

[0044] X (O-CH₂-CH₂)₁, (O-CH₂-CH₂)₁O-, (O-CO-), O-, NH-, N(CH₃)-, NR¹-CO-(CH)_k-, (O-CH₂-CH₂)₁-NR¹-CO-, O-, NR¹-CO-NR¹-, NR¹-CH₂-p-Phenyl-, NR¹-CO-O-, NR¹CO-O-CH₂-p-Phenyl-CH₂-CH₂-, NR¹SO₂- oder (CH₂-O-CH₂)_jCH₂-CO-NR¹-(CH₂)_k- ist; und

[0045] Fg eine Fluorgruppe, ausgewählt aus (CF₂)_r-CF₃, CH(CF₃)₂, C(CF₃)₂Phenyl, C(CF₃)₃, CF₃ oder (CF₂)_r-CO-NR¹R⁴ ist,

[0046] wobei

[0047] l 1 bis 10,

[0048] k 0 bis 2,

[0049] j 1 bis 10 und

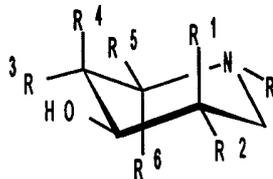
[0050] i 0 bis 12 ist;

[0051] R^1 H, C_1 - C_{16} -Alkyl, vorzugsweise C_1 - C_6 -Alkyl insbesondere C_1 - C_3 -Alkyl) oder Oligofluoralkyl mit der Formel $(CH_2)_k$ -Fg; R^2 H, CH_3 , CF_3 , Phenyl, p- NH_2 -Phenyl oder p- CH_3 -Phenyl; R^3 H, CH_3 oder CF_3 ; und R^4 H, Alkyl oder $(O-CH_2-CH_2-)_1$ ist;

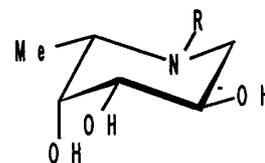
[0052] wobei Phenyl mit einem oder mehreren F und/oder CF_3 substituiert sein kann.

[0053] Besonders bevorzugte erfindungsgemäße Verbindungen werden im Folgenden näher beschrieben:

[0054] Besonders bevorzugte Konfigurationen am Iminoaldit-Ring sind (in den nachfolgenden Formeln (IVa) und (IVb) und in der nachfolgenden Tabelle 1 haben die Reste R^1 bis R^6 und R eine andere Bedeutung als in den übrigen Teilen der Anmeldung; R steht in (IVb) für $-(CH_2)_n$ -X-Fg in Formel (I)):



(IVa)



(IVb)

TABELLE 1

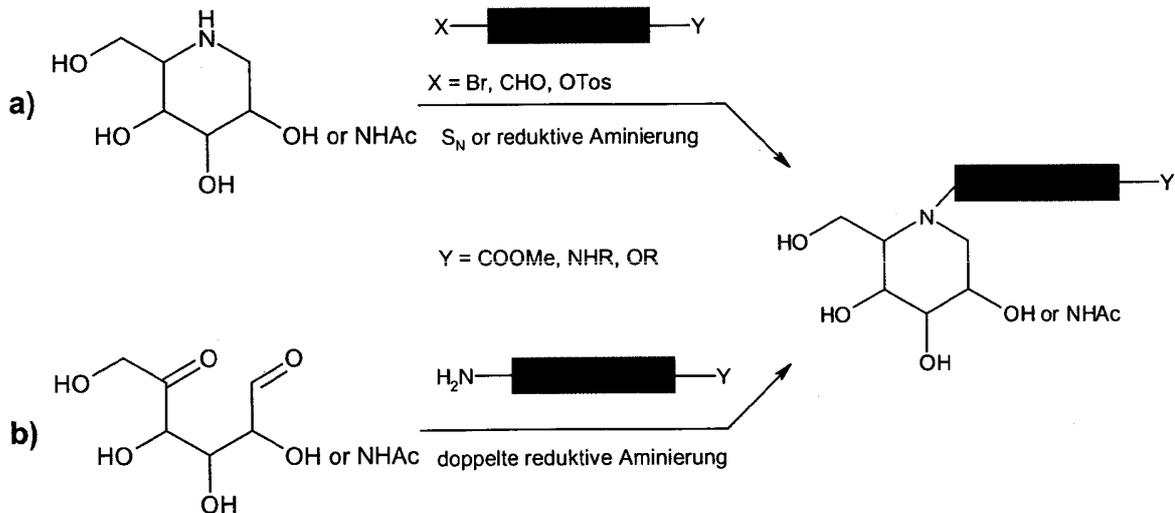
1-Desoxynojirimycin:	$R^1=H, R^2=OH, R^3=OH, R^4=H, R^5=CH_2OH, R^6=H$
1-Desoxyidonojirimycin:	$R^1=H, R^2=OH, R^3=OH, R^4=H, R^5=H, R^6=CH_2OH$
1-Desoxymannojirimycin:	$R^1=OH, R^2=H, R^3=OH, R^4=H, R^5=CH_2OH, R^6=H$
1-Desoxygalactonojirimycin:	$R^1=H, R^2=OH, R^3=H, R^4=OH, R^5=CH_2OH, R^6=H$
1-Desoxyxylonojirimycin:	$R^1=H, R^2=OH, R^3=OH, R^4=R^5=H, R^6=H$
1,2-Didesoxy-2-NHAc-nojirimycin:	$R^1=H, R^2=NHAc, R^3=OH, R^4=H, R^5=CH_2OH, R^6=H$
1-Desoxyfuconojirimycin:	identisch mit IVb

[0055] Bevorzugte Verbindungen der Formel (I) haben die folgenden Strukturmerkmale:

- (a) : $n = 2$ bis 11; $X = O-CH_2-CH_2-$; $i = 1$ bis 10;
- (b) : $n = 2$ bis 11; $X = O-CH_2-CH_2-$; $i = 1$ bis 10;
- (c) : $n = 2$ bis 11; $X = NP^1-CO-$; $i = 1$ bis 10;
- (d) : $n = 2$; $X = (O-CH_2-CH_2-)_1$; $1 = 1$ bis 10; $i = 1$ bis 10;
- (e) : $n = 2$; $X = (O-CH_2-CH_2-)_1-NR^1-CO-$; $1 = 1$ bis 10; $i = 1$ bis 10;
- (f) : $n = 2$ bis 12; $X = O-CR^2R^3-$; $R^3 = CF_3$; $i = O$;
- (g) : $n = 2$ bis 11; $X = NH-CO-$; Fg = $(CF_2)_j-CO-NHR^4$;
- (h) : $n = 2$ bis 11; $X = CO-NH-(CH_2)_2-$; $i = 1$ bis 10;
- (i) : $n = 2$ bis 11; $X = (CH_2-O-CH_2-)_j-CH_2-CO-NH-(CH_2)_2-$; $i = 1$ bis 10;
- (j) : $n = 2$; $X =$ nicht vorhanden; $i = 1$ bis 10; IA = Formel (IIb);
- (k) : $n = 1$; $X = NH-CO-$; $i = 1$ bis 10; IA = Formel (IIc).

[0056] Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen ist aus kommerziell erhältlichen, geeignet fluorierten Reagentien Ausgangsstoffen möglich.

[0057] Typische Synthesewege sind im folgenden Schema dargestellt:



Schema 1: N-Alkylierung oder (zweifache) reduktive Aminierung

[0058] Besonders bieten sich an: N-Alkylierung und gegebenenfalls weitere Bearbeitung des Grundkörpers (a) durch nukleophile Substitution einer geeigneten Austrittsgruppe am Spacerarm bzw. reduktive Aminierung (b), wenn das Substitutionsmuster des Spacers die reduzierenden Bedingungen zulässt (also keine hydrierbaren Gruppen wie halogeno (außer fluoro) oder benzyl, etc.).

[0059] Die Erfindung wird anhand der nachfolgenden Beispiele näher erläutert, ohne jedoch darauf beschränkt zu sein.

BEISPIELE:

BEISPIEL 1:

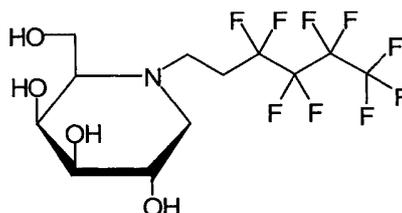
SYNTHESE DER ERFINDUNGSGEMÄSSEN VERBINDUNGEN

[0060] Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung von N-Fluoralkyliminogalactiten:

[0061] 1 Äquivalent 3,4-Isopropyliden-L-arabino-hexos-5-ulose wird in Methanol (60 mL/g) gelöst und mit 0,95 Äquivalenten des entsprechendenamins versetzt. Die Lösung wird mit 10 %mol Pd/C oder Pd(OH)₂/C versetzt und unter einer Wasserstoffatmosphäre bei Atmosphärendruck gerührt. Nach vollständigem Umsatz der Ulose wird der Katalysator abfiltriert, und die Reaktionslösung zur Trockne eingengt.

[0062] Der Rückstand wird in H₂O/MeOH 1:1 (15 mL/g) aufgenommen und mit 6M HCl (3 mL/g) versetzt. Nach vollständigem Umsatz des Ausgangsmaterials (DC) wird der Ansatz zur Trockne eingengt und das Endprodukt durch Säulenchromatographie isoliert.

[0063] N-(3,3,4,4,5,5,6,6,6-Nonafluorhexyl)-1,5-dideoxy-1,5-imino-D-galactit (Substanz 1)



[0064] 406 mg (1,72 mmol) 3,4-Isopropyliden-L-arabino-hexos-5-ulose werden mit 290 mg (1,00 mmol) 1-Azido-3,3,4,4,5,5,6,6,6-No-nafluorhexan gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift umgesetzt.

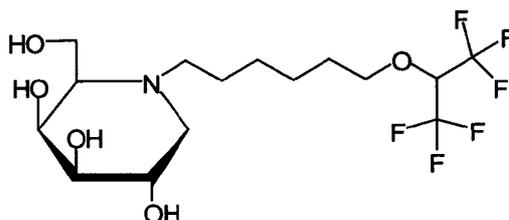
[0065] SC: DCM/MeOH/NH₃ 600/100/7

[0066] Ausbeute: 40 % d. Th.

[0067] $[\alpha]_D^{20} = -6.9$ (c=1.92 in MeOH)

[0068] ¹³C-NMR (MeOD), δ in ppm: 121.0-108.3 m, 75. 85, 71.4, 67.7, 63.6, 56.6, 44.0, 25.9, 25.7. ¹H-NMR (MeOD): δ in ppm: 3.87 (bs, 1H), 3.80 (m, 3H), 3.22 (d, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.32 (m, 1H), 2.86 (dd, 1H), 2.44 (bs, 1H), 2.25-2.60 (m, 2H), 2.20 (t, 1H).

[0069] N-{6-[2,2,2-Trifluor-1-(trifluormethyl)ethoxy]hexyl}-l,5-dides-oxy-1,5-imino-D-galactit (Substanz 2)



[0070] 415 mg (1,75 mmol) 3, 4-Isopropyliden-L-arabino-hexos-5-ulose und 670 mg Benzyl 6-[2,2,2-trifluor-1-(trifluormethyl)ethoxy]hexylcarbamate werden nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift umgesetzt.

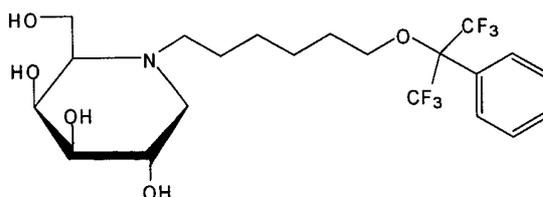
[0071] SC: DCM/MeOH/NH₃ 800/100/9

[0072] Ausbeute: 26 % d. Th.

[0073] $[\alpha]_D^{20} = -11.5$ (c = 0.81 in MeOH)

[0074] ¹³C-NMR (MeOD), δ in ppm: 121.2 q, 121.0, q, 76.1, 71.0, 70.0, 69.0 q, 67.8, 64.0, 61.2, 56.8, 52.8, 29.2, 26.9, 25.1, 23.8. ¹H-NMR (MeOD) : δ in ppm: 5.76 (m, n.a. 1H); 4.09 (s, 2H), 3.98 (s, 1H), 3.79 (m, n.a., 3H), 3.21 (d, 1H), 2.79 (d, 1H), 2.17 (dd, 1H), 2.50 (dd, 1H), 2.37 (s, 1H), 2.11 (t, 1H), 1.74 (t, 2H), 1.51-1.31 (m, n.a., 6H).

[0075] N-{6-[2,2,2-Trifluor-1-(trifluormethyl)-1-phenylethoxy]hexyl}-1,5-dideoxy-1,5-imino-D-galactit (Substanz 3)



[0076] 100 mg (0,63 mmol) 3,4-Isopropyliden-L-arabino-hexos-5-ulose werden mit 286 mg (0,60 mmol) Benzyl 6-[2,2,2-trifluor-1-(trifluormethyl)-1-phenylethoxy]hexylcarbamate gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift umgesetzt.

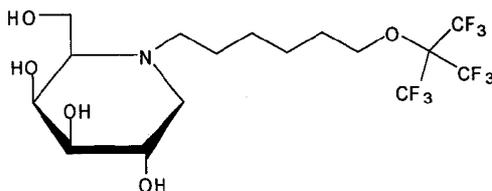
[0077] SC: CHC13/MeOH/NH₃ 800/100/9

[0078] Ausbeute: 47.9 % d. Th.

[0079] $[\alpha]_D^{20} = -15.2$ (c= 0.52 in MeOH)

[0080] ¹³C-NMR (MeOD), δ in ppm: 130.4, 128.7, 128.1, 128.0, 122.5, 82.9, 16.1, 71.1, 67.8, 66.4, 63.9, 31.2, 56.9, 52.8, 29.5, 27.1, 25.6, 23.7. ¹H-NMR(MeOD): δ in ppm: 7.46 (m, .n.a. 2H), 7.44 (m, n.a., 3H), 3.98 (m, n.a., 1H), 3.79 (m, 3H), 3.56 (t, 2H), 3.34 (s, 1H), 3.22 (dd, 1H), 2.97 (dd, 1H), 2.71 (m, 1H), 2.51 (m, 1H), 2.36 (m, 1H), 2.12 (t, 1H), 1.71 (m, 2H), 1.47 (m, 4H), 1.31 (m, 2H).

[0081] N-{6-[2,2,2-Trifluor-1,1-bis(trifluormethyl)ethoxy]hexyl}-1,5-dideoxy-1,5-imino-D-galactit (Substanz 4)



[0082] 100 mg (0,63 mmol) 3,4-Isopropyliden-L-arabino-hexos-5-ulose werden mit 281 mg (0,60 mmol) Benzyl 6-[2,2,2-trifluor-1,1-bis(trifluormethyl)ethoxy]hexylcarbammat gemäß der allgemeinen Arbeitsvorschrift umgesetzt.

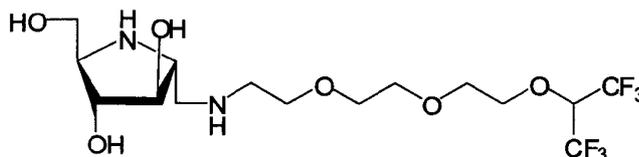
[0083] SC: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3$ 800/100/9

[0084] Ausbeute: 52 % d. Th.

[0085] $[\alpha]_D^{20} = -14.7$ ($c = 1.84$ in MeOH)

[0086] ^{13}C -NMR (MeOD), δ in ppm: 120.6, 79.9, 76.0, 70.9, 70.3, 67.8, 64.0, 61.2, 56.8, 52.8, 29.5, 26.9, 25.3, 23.7. ^1H -NMR (MeOD): δ in ppm: 4.07 (m, 2H), 3.82 (s, 1H), 3.78 (m, 3H), 3.20 (dd, 1H), 2.97 (dd, 1H), 2.71 (m, 1H), 2.50 (m, 1H), 2.37 (m, 1H), 2.11 (t, 1H), 1.70 (q, 2H), 1.50 (q, 2H), 1.44 (q, 2H), 1.31 (m, 2H).

[0087] 1-N-[10-Trifluormethyl-(11,11,11-trifluor-3,6,9-trioxaundecyl)]amino-1,2,5-trideoxy-2,5-imino-D-mannit (Substanz 5)



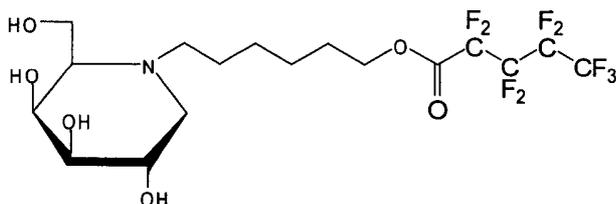
[0088] Eine 3%ige ethanolische Lösung von 5-Azido-5-desoxy-D-glucufuranose wird mit 1-Aminotriethylenglycol-1,1,1,3,3,3-hexafluoroisopropylether (1 Äquivalent) und Eisessig (5 Äquivalente) vier Stunden bei 40°C gerührt. Entfernen des Lösungsmittelgemisches bei reduziertem Druck und anschließende chromatographische Reinigung des Rückstandes (Cyclohexan/Ethylacetat 3:1) gaben 1-N-[10-Trifluormethyl-(11,11,11-trifluor-3,6,9-trioxaundecyl)]amino-5-azido-1,5-dideoxy-D-fructopyranose als schwach gelbliches Öl (50% Ausbeute): ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOH- d_4): δ 125.6-116.5 (m, 2x CF_3), 97.6 (C-2), 96.1-95.1 (m, C-7'), 70.5 (2 C, C-3, C-4), 70.8, 70.0 (2 C), 69.1 (2 C) (C-2', C-3', C-4', C-5', C-6'), 63.5 (C-5), 60.5 (C-6), 55.2, 55.1 (C-1, C-1').

[0089] Zu einer 3%igen methanolischen Lösung von 1-N-[10-Trifluormethyl-(11,11,11-trifluor-3,6,9-trioxaundecyl)]amino-5-azido-1,5-dideoxy-D-fructopyranose wurde Pd/C (10%; 10 Gew.%) gegeben und die Mischung unter einer Wasserstoffatmosphäre bei Raumtemperatur und Umgebungsdruck zwei Stunden hydriert. Nach Filtration vom Katalysator und Einengen des Lösungsmittels bei reduziertem Druck wurde das resultierende gelbliche Öl auf Kieselgel chromatographiert (Trichlormethan/MeOH 15:1).

[0090] 1-N-[10-Trifluormethyl-(11,11,11-trifluor-3,6,9-trioxaundecyl)]amino-1,2,5-trideoxy-2,5-imino-D-mannit wurde als farbloses Wachs erhalten (63% Ausbeute).

[0091] ^{13}C -NMR (125 MHz, MeOH- d_4): δ 124.6-116.5 (m, 2x CF_3), 96.1-95.1 (m, C-7'), 81.5, 78.5 (C-3, C-4), 70.5, 70.2, 69.4, 69.1, 69.1 (C-2', C-3', C-4', C-5', C-6'), 63.3, & 2.7 (C-2, C-5), 59.8 (C-1), 54.3 (C-1').

[0092] N-[6-(2,2,3,3,4,4,4-Heptafluorbutylcarbonylamino)hexyl]-1,5-des-oxy-1,5-imino-D-galactit



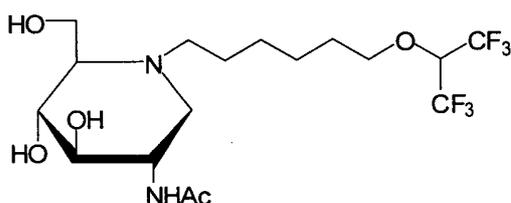
[0093] 1 Äq. N-(6-Aminoethyl)- 1,5-didesoxy-1,5-imino-D-galactit werden in DMF abs. gelöst und mit 1,5 Äq. Triethylamin versetzt. Anschließend werden 1,1 Äq. Perfluorbuttersäure und 1,2 Äq. TBTU zugegeben. Die Reaktionslösung wird bis zum vollständigen Umsatz des Startmaterials (DC) bei RT gerührt, mit MeOH gequench und anschließend zur Trockne eingengt. Das Endprodukt wird mittels Säulenchromatographie (DCM/MeOH/NH₃ 4/4/1) gereinigt.

[0094] Ausbeute: 20 % d. Th.

[0095] $[\alpha]_D^{20} = -10$ (c 0.8, MeOH)

[0096] ¹H-NMR (MeOD), δ /ppm: (multiplets not resolved) 4.12 (m, 1H) 3.98 (m, 1H), 3.92(m, 2H), 3.46 (m, 1H), 3.45 (m, 2H), 3.20 (m, 2H), 3.14 (m, 1H), 2.70 (m, 2H) 1.67 (m, 4H) 1.50-1.20 (m, 8H). ¹³C-NMR (MeOD), δ /ppm: 161.9, 109-85 (m), 74.2, 70.1, 65.8, 59.8, 45.0, 39.0, 34.3, 29.6, 26.3, 25.4, 23.0.

[0097] N-{6-[2,2,2-Trifluor-1-(trifluormethyl)ethoxy]hexyl}-1,2,5-tri-desoxy-1,5-imino-D-glucit



[0098] Eine Lösung von 1 Äq. (5R/S)-2-Acetamido-5-C-benzyloxy-2-desoxy- β -D-xylo-hexopyranosid wird mit 10 % mol Pd(OH)₂ / C versetzt und unter einer Wasserstoffatmosphäre bei Normaldruck bis zum vollständigen Umsatz des Ausgangsmaterials (DC, 2h) gerührt. Danach werden 0,95 Äq. Benzyl 6-[2,2,2-trifluor-1-(trifluormethyl)ethoxy]hexylcarbamate zugesetzt und weiter unter H₂-Atmosphäre bis zum vollständigen Umsatz (DC, 6h) gerührt. Der Katalysator wird abfiltriert und die Reaktionslösung im Vakuum zur Trockne eingengt.

[0099] Das Produkt wird mittels Säulenchromatographie (DCM/MeOH/NH₃600/100/7) gereinigt.

[00100] Ausbeute: 4 8 %

[00101] $[\alpha]_D^{20} = +7.0$ (c= 0,85, MeOH)

[00102] ¹³C-NMR(MeOD): δ /ppm: 172.4, 120.0, (2x q), 76.5, 71.5, 70.0, 69.1, (sext), 66.3, 58.6, 54.5, 52.2, 50.7, 29.2, 26.8, 25.1, 24.3, 21.5. ¹H-NMR (MeOD) : δ /ppm: 5,80 (sept., 1H), 4,09 (t, 2H), 3,88 (dd, 1H), 3,82 (m, 2H), 3,38 (t, 1H), 3,20 (dd, 1H), 2,82 (m, 1H), 2,54 (m, 1H), 2,10 (ddd, 1H), 1,95 (s, 3H), 1,48 (m, 4H), 1,32 (quint, 2H).

BEISPIEL 2:

BINDUNG DER ERFINDUNGSGEMÄßEN VERBINDUNGEN AN KOMMERZIELL ODER MEDIZINISCH INTERESSANTE GLYKOSIDASEN

[00103] Kinetische Untersuchungen wurden nach bekannten Standardverfahren durchgeführt (Greimel et al., Biorg. Med. Chem. Lett. 16 (2006), 2067-2070 sowie die dort zitierte Literatur).

[00104] Substanz 1: K_i (β -Galactosidase Agrobacterium sp.) 450 μ M
 K_i (β -Galactosidase E. coli) 3.5 μ M
 K_i (α -Galactosidase grüne Kaffeebohnen) 3.2 μ M

[00105] Substanz 2: K_i (β -Galactosidase Agrobacterium sp.) 17 μM
 K_i (β -Galactosidase E. coli) 0.55 μM
 K_i (α -Galactosidase grüne Kaffeebohnen) 4.0 μM

[00106] Substanz 3: K_i (β -Galactosidase Agrobacterium sp.) 0.7 μM
 K_i (β -Galactosidase E. coli) 0.37 μM
 K_i (α -Galactosidase grüne Kaffeebohnen) 0.36 μM

[00107] Substanz 4: K_i (β -Galactosidase Agrobacterium sp.) 2.1 μM
 K_i (β -Galactosidase E. coli) 1.1 μM
 K_i (α -Galactosidase grüne Kaffeebohnen) 1.4 μM

[00108] Substanz 5: K_i (β -Glucosidase Agrobacterium sp.) 51 μM

BEISPIEL 3:

THERAPEUTISCHE WIRKUNG DER ERFINDUNGSGEMÄSSEN VERBINDUNGEN BEI LY-SOSOMALEN SPEICHERERKRANKUNGEN

[00109] Untersucht wurde die Enzymaktivitätssteigerung der lysosomalen β -Galaktosidase-Mutante in GM1-Gangliosidosis-Patientenfibroblastenzelllinien in vitro (nach Iwasaki et al., Brain & Development 28 (2006), 482-486; bzw. analog zu Maegawa et al., JBC 282 (2007), 9150-9162):

[00110] Patient 1:

[00111] Substanz 1: 32% (100 μM)

[00112] Substanz 2: 43% (50 μM)

[00113] Substanz 3 (A1): 36% (5 μM)

[00114] Patient 2:

[00115] Substanz 1: 330% Aktivität der lysosomalen β -Galaktosidase (0,1 μM)

[00116] Substanz 2: 420% Aktivität der lysosomalen β -Galaktosidase (200 μM)

Patentansprüche

1. Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



worin

IA eine Iminoaldit-Gruppe, ausgewählt aus 1-Desoxynojirimycin, 1-Desoxyidonojirimycin, 1-Desoxymannojirimycin, 1-Desoxygalactonojirimycin, 1-Desoxyxylonojirimycin, 1, 2-Didesoxy-2-NHAc-nojirimycin, 1-Desoxyfuconojoirrimycin, 2,5-Didesoxy-2,5-imino-D-mannitol oder 2,5-Didesoxy-2,5-imino-D-glucitol ist;

n 1 bis 12 ist;

X (O-CH₂-CH₂)₁, (O-CH₂-CH₂)₁O-, (O-CO-), O-, NH-, N(CH₃)-, NR¹-CO-(CH)_k-, (O-CH₂-CH₂)₁-NR¹-CO-, O-, NR¹-CO-NR¹-, NR¹-CH₂-p-Phenyl-, NR¹CO-O-, NR¹CO-O-CH₂-p-Phenyl-CH₂-CH₂-, NR¹SO₂- oder (CH₂-O-CH₂)_jCH₂-CO-NR¹-(CH₂)_k- ist; und

Fg eine Fluorgruppe, ausgewählt aus (CF₂)_i-CF₃, CH(CF₃)₂,

C(CF₃)₂Phenyl, C(CF₃)₃, CF₃ oder (CF₂)_j-CO-NR¹-R⁴ ist,

wobei

l 1 bis 10,

k 0 bis 2,

j 1 bis 10 und

i 1 bis 12 ist;

R¹ H, C₁-C₁₆-Alkyl oder Oligofluoralkyl mit der Formel (CH₂)_k-Fg; R² H, CF₃, Phenyl oder CH₃; R³ H, CH₃ oder CF₃; und R⁴ ,H, Alkyl oder (O-CH₂-CH₂)₁ ist;

wobei Phenyl mit einem oder mehreren F und/oder CF₃ substituiert sein kann;

zur Bindung an Glykosidasen, ausgewählt aus α -Iduronidase, Iduronate Sulfatase, N-Acetylglucosaminidase, β -Galactosidase, Hyaluronidase, α -Mannosidase, β -Mannosidase, α -Fucosidase, α -Acetylglucosaminidase, β -Galactosidase, α -Untereinheit der β -Hexosaminidase, β -Untereinheit der Hexosaminidase, β -Glucocerebrosidase, α -Galactosidase, Sphingomyelinase und Saure Ceramidase.

2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass R^1 H ist.
3. Verwendung einer Verbindung der allgemeinen Formel (I), wie in Anspruch 1 oder 2 definiert, zur Reinigung von Stoffen im Zuge einer Extraktion in eine fluorige Phase, wobei die Verbindung der allgemeinen Formel (I) in einer nicht-fluorigen Phase mit dem zu reinigenden Stoff in Kontakt gebracht wird, worauf die Verbindung der allgemeinen Formel (I) an den zu reinigenden Stoff bindet und der zu reinigende Stoff über die an den Stoff gebundene Verbindung der Formel (I) in eine fluorige Phase übergeführt wird.
4. Verwendung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass der zu reinigende Stoff eine Glykosidase ist, insbesondere eine Glykosidase, die ein Marker für lysosomale Stoffwechselerkrankungen ist.
5. Verwendung einer Verbindung der allgemeinen Formel (I), wie in Anspruch 1 oder 2 definiert, als Markierungsmittel für Glykosidasen in der Massenspektrometrie oder der Kernresonanzspektroskopie.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens zwei verschiedene Verbindungen der Formel (I) angewendet werden, insbesondere Verbindungen mit unterschiedlichen Affinitäten für verschiedene Glykosidasen.
7. Verwendung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens 4, vorzugsweise mindestens 10 verschiedene Verbindungen der Formel (I) angewendet werden.
8. Verbindung der allgemeinen Formel (I)



worin

IA eine Iminoaldit-Gruppe, ausgewählt aus 1-Desoxynojirimycin, 1-Desoxyidonojirimycin, 1-Desoxymannojirimycin, 1-Desoxygalactonojirimycin, 1-Desoxyxylojirimycin, 1,2-Didesoxy-2-NHAc-nojirimycin, 1-Desoxyfuconojoirymycin, 2,5-Didesoxy-2,5-imino-D-mannitol oder 2,5-Didesoxy-2,5-imino-D-glucitol ist; n 1 bis 12 ist;

X $(O-CH_2-CH_2)_1$, $(O-CH_2-CH_2)_1O-$, $(O-CO-)$, O-, NH-, $N(CH_3)-$, $NR^1-CO-(CH)_k-$, $(O-CH_2-CH_2)_1-NR^1-CO-$, O-, $NR^1-CO-NR^1-$, NR^1-CH_2-p -Phenyl-, $NR^1-CO-O-$, $NR^1-CO-O-CH_2-p$ -Phenyl- CH_2-CH_2- , NR^1SO_2- oder $(CH_2-O-CH_2)_jCH_2-CO-NR^1-(CH_2)_k-$ ist; und

Fg eine Fluorgruppe, ausgewählt aus $(CF_2)_j-CF_3$, $CH(CF_3)_2$, $C(CF_3)_2$ Phenyl, $C(CF_3)_3$, CF_3 oder $(CF_2)_j-CO-NR^1-R^4$ ist,

wobei

l 1 bis 10,

k 0 bis 2,

j 1 bis 10 und

i 1 bis 12 ist;

R^1 H, C_1-C_{16} -Alkyl oder Oligofluoralkyl mit der Formel $(CH_2)_k-Fg$; R^2 H, CH_3 , CF_3 , Phenyl, p-NH₂-Phenyl oder p-CH₃-Phenyl; R^3 H, CH_3 oder CF_3 ; und R^4 H, Alkyl oder $(O-CH_2-CH_2)_1$ ist;

wobei Phenyl mit einem oder mehreren F und/oder CF_3 substituiert sein kann.

9. Verbindung nach Anspruch 8 zur Therapie von Mukopolysaccharidose I (Hurler, Schleie), Mukopolysaccharidose II (Hunter), Mukopolysaccharidose IIB (Sanfilippo B), Mukopolysaccharidose IVB (Morquio B), Mukopolysaccharidose IX, α -Mannosidose, β -Mannosidose, α -Fucosidose, Morbus Schindler, Morbus Kanzaki, GM1-Gangliosidose, GM2-Gangliosidose (Tay-Sachs), GM2-Gangliosidose (Sandhoff) und Morbus Fabry.

Hierzu keine Zeichnungen