

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

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
27. Dezember 2001 (27.12.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/98518 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12P 11/00,
13/00, 17/12, 17/14, 35/00, 37/00, C07C 235/60, C07D
501/18, 499/21, 499/68 // C12N 9/02

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/07152

(22) Internationales Anmeldedatum:
23. Juni 2001 (23.06.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 29 671.8 23. Juni 2000 (23.06.2000) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): GANOMYCIN GMBH [DE/DE]; Walther-Ra-
thenau-Strasse 49a, 17489 Greifswald (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): JÜLICH, Wolf-Di-
eter [DE/DE]; Wollweberstrasse 9, 17489 Greifswald

(DE). SCHAUER, Frieder [DE/DE]; Gedsering 7a,
17493 Greifswald (DE). LINDEQUIST, Ulrike [DE/DE];
Lise-Meitner-Strasse 6a, 17491 Greifswald (DE). HAM-
MER, Elke [DE/DE]; Am Ryck 23, 17498 Wackerow
(DE). SCHÄFER, Annett [DE/DE]; Rudolf-Petersha-
gen-Allee 20, 17489 Greifswald (DE). JONAS, Ulrike
[DE/DE]; Chodowieckistrasse 37, 10405 Berlin (DE).

(74) Anwälte: MEYERS, Hans-Wilhelm usw.; Postfach 10 22
41, 50462 Köln (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: BIOTRANSFORMATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS MADE OF VARIOUS CLASSES OF
CHEMICAL SUBSTANCES BY MEANS OF LACCASE AND MANGANESE PEROXIDASE ENZYMES

(54) Bezeichnung: BIOTRANSFORMATION VON BIOLOGISCH AKTIVEN VERBINDUNGEN AUS VERSCHIEDENEN
CHEMISCHEN STOFFKLASSEN MITTELS DER ENZYME LACCASE UND MANGANPEROXIDASE

(57) Abstract: The invention relates to a method for producing biologically active ingredients. Active ingredients comprising additional functional groups, a modified spectrum of activity and modified application properties can be obtained from medicaments or plant protection agents in the form of substrates which, as functional groups, carry at least one amino or hydroxyl group. Said active ingredients can be obtained by means of a one-electron reaction which is catalysed using enzymes or mixtures exhibiting enzymatic activity with a broad substrate spectrum. The method is characterised in that radical-forming enzymes are used as enzymes, and/or supernatants of ligninolytic mushrooms in an aqueous solution are used as mixtures exhibiting enzymatic activity. The following can be introduced in the form of additional functional groups: A) polyfunctional synthones which give the active ingredient a different solution behaviour in aqueous and lipophile systems, and high interfacial activity, B) aromatic molecules and heteroaromatic compounds, C) heterocyclic compounds, D) active ingredients with independent biological efficacy, and E) active ingredients which bring together independent activity and surfactant properties in one molecule. Together, said additional functional groups and the starting products produce covalently linked coupling products exhibiting modified distribution behaviour, by means of which polyfunctional interaction with the target organism is made possible.

(57) Zusammenfassung: Verfahren zur Herstellung von biologisch aktiven Wirkstoffen, wobei ausgehend von Arznei- und Pflanzenschutzmitteln als Substrate, die als funktionelle Gruppe mindestens eine Amino- oder Hydroxylgruppe tragen, mittels einer durch Enzyme oder Mischungen mit enzymatischer Aktivität mit breitem Substratspektrum katalysierten ein-Elektronen-Reaktion Wirkstoffe mit zusätzlichen funktionellen Gruppen und modifiziertem Wirkungsspektrum und modifizierten Anwendungseigenschaften erhältlich werden, dadurch gekennzeichnet, dass als Enzyme radikalbildende Enzyme und/oder als Mischungen mit enzymatischer Aktivität Überstände ligninolytischer Pilze in wässriger Lösung eingesetzt werden, wobei als zusätzliche funktionelle Gruppen A) polyfunktionelle Synthone, die dem Wirkstoff ein verändertes Lösungsverhalten in wässrigen und lipophilen Systemen und eine hohe Grenzflächenaktivität verleihen, B) aromatische Moleküle, heteroaromatische Verbindungen, C) Heterozyklische Verbindungen, D) Wirkstoffe mit eigenständiger biologischer Wirksamkeit, E) Wirkstoffe, die eine eigenständige Wirkung und Tensideigenschaften in einem Molekül vereinen, einführbar sind, die mit den Ausgangsstoffen kovalent verknüpfte Kopplungsprodukte mit verändertem Verteilungsverhalten ergeben, durch die polyfunktionale Interaktionen mit dem Zielorganismus ermöglicht werden.



WO 01/98518 A3



ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts:

20. Juni 2002

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- insgesamt in elektronischer Form (mit Ausnahme des Kopfbogens); auf Antrag vom Internationalen Büro erhältlich

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. :ional Application No

PCT/EP 01/07152

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12P11/00 C12P13/00 C12P17/12 C12P17/14 C12P35/00
C12P37/00 C07C235/60 C07D501/18 C07D499/21 C07D499/68
//C12N9/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N C12P C07C C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, PAJ, WPI Data, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BHALERAO UDAY T ET AL: "Laccase enzyme catalysed efficient synthesis of 3-substituted-1,2,4-triazolo(4,3-b)(4,1,2)-benzothiadiazine-8-ones." TETRAHEDRON, vol. 50, no. 13, 1994, pages 4019-4024, XP002183145 ISSN: 0040-4020 schemes I, II page 4023, line 16 - line 32 --- -/--	1,3-7

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 November 2001

Date of mailing of the international search report

11/01/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Schmitz, T

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int ernational Application No

PCT/EP 01/07152

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ANYANWUTAKU I ET AL: "Oxidative coupling of Mithramycin and Hydroquinone catalyzed by Copper Oxidases and Benzoquinone. Implications for the mechanism of action of aureolic acid antibiotics" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 2, no. 6, 1994, pages 543-551, XP001041413 abstract figures 2,5 ----	1,3,4,6,7
A	EP 0 960 945 A (UNIFAR KIMYA SANAYII VE TICARE) 1 December 1999 (1999-12-01) page 2 "Formelschema" examples 1,2 ----	
A	AGEMATU HITOSI ET AL: "Transformation of 7-(4-hydroxyphenylacetamido)cephalosporanic acid into a new cephalosporin antibiotic, 7-(1-oxaspiro(2.5)octa-6-oxo-4,7-diene-2-carboxamido)cephalosporanic acid, by laccase." BIOSCIENCE BIOTECHNOLOGY AND BIOCHEMISTRY, vol. 57, no. 8, 1993, pages 1387-1388, XP002183146 ISSN: 0916-8451 the whole document ----	
A	OSIADACZ J ET AL: "On the use of Trametes versicolor laccase for the conversion of 4-methyl-3-hydroxyanthranilic acid to actinocin chromophore" JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 72, no. 1-2, 11 June 1999 (1999-06-11), pages 141-149, XP004172894 ISSN: 0168-1656 the whole document ----	
A	EGGERT CLAUDIA ET AL: "Laccase-mediated formation of the phenoxazinone derivative, cinnabaric acid." FEBS LETTERS, vol. 376, no. 3, 1995, pages 202-206, XP002183621 ISSN: 0014-5793 the whole document -----	

Continuation of box I.2

Patent claim nos.: 13-25

Patent claims 13-25 relate to a disproportionately large number of possible compounds and the uses thereof. In fact, they cover so many compounds as to be so unclear under the terms of PCT Article 6 that a meaningful search is impossible. For this reason, the search was directed at parts of the claims which appear to be clear, i.e. referring to examples 1-17.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary report (PCT Rule 66.1 (e)). EPO policy, when acting as an International Preliminary Examining Authority, is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case, irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report (PCT Article 19) or during any Chapter II procedure whereby the applicant provides new claims.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 01/07152

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
EP 0960945	A	01-12-1999	DE	19823332 A1	16-12-1999
			EP	0960945 A2	01-12-1999
			TR	9901164 A2	21-12-1999
			US	6218138 B1	17-04-2001

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/07152

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12P11/00 C12P13/00 C12P17/12 C12P17/14 C12P35/00
C12P37/00 C07C235/60 C07D501/18 C07D499/21 C07D499/68
//C12N9/02

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

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N C12P C07C C07D

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, PAJ, WPI Data, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^o	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	BHALERAO UDAY T ET AL: "Laccase enzyme catalysed efficient synthesis of 3-substituted-1,2,4-triazolo(4,3-b)(4,1,2)-benzothiadiazine-8-ones." TETRAHEDRON, Bd. 50, Nr. 13, 1994, Seiten 4019-4024, XP002183145 ISSN: 0040-4020 schemes I, II Seite 4023, Zeile 16 - Zeile 32 --- -/--	1,3-7

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

^o Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:

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

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

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

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

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

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

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

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

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

21. November 2001

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

11/01/2002

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Schmitz, T

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	ANYANWUTAKU I ET AL: "Oxidative coupling of Mithramycin and Hydroquinone catalyzed by Copper Oxidases and Benzoquinone. Implications for the mechanism of action of aureolic acid antibiotics" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY, Bd. 2, Nr. 6, 1994, Seiten 543-551, XP001041413 Zusammenfassung Abbildungen 2,5 ----	1,3,4,6,7
A	EP 0 960 945 A (UNIFAR KIMYA SANAYII VE TICARE) 1. Dezember 1999 (1999-12-01) page 2 "Formelschema" Beispiele 1,2 ----	
A	AGEMATU HITOSI ET AL: "Transformation of 7-(4-hydroxyphenylacetamido)cephalosporanic acid into a new cephalosporin antibiotic, 7-(1-oxaspiro(2.5)octa-6-oxo-4,7-diene-2-carboxamido)cephalosporanic acid, by laccase." BIOSCIENCE BIOTECHNOLOGY AND BIOCHEMISTRY, Bd. 57, Nr. 8, 1993, Seiten 1387-1388, XP002183146 ISSN: 0916-8451 das ganze Dokument ----	
A	OSIADACZ J ET AL: "On the use of Trametes versicolor laccase for the conversion of 4-methyl-3-hydroxyanthranilic acid to actinocin chromophore" JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, Bd. 72, Nr. 1-2, 11. Juni 1999 (1999-06-11), Seiten 141-149, XP004172894 ISSN: 0168-1656 das ganze Dokument ----	
A	EGGERT CLAUDIA ET AL: "Laccase-mediated formation of the phenoxazinone derivative, cinnabarinic acid." FEBS LETTERS, Bd. 376, Nr. 3, 1995, Seiten 202-206, XP002183621 ISSN: 0014-5793 das ganze Dokument -----	

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 13-25

Die geltenden Patentansprüche 13-25 beziehen sich auf eine unverhältnismäßig große Zahl möglicher Verbindungen sowie deren Verwendungen. In der Tat umfassen sie so viele Verbindungen, daß sie im Sinne von Art. 6 PCT in einem solchen Maße unklar erscheinen, als daß sie eine sinnvolle Recherche ermöglichen. Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, die als klar gelten können, nämlich bezogen auf die Beispiele 1-17.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/07152

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0960945 A	01-12-1999	DE 19823332 A1	16-12-1999
		EP 0960945 A2	01-12-1999
		TR 9901164 A2	21-12-1999
		US 6218138 B1	17-04-2001