

Tentamen Octrooigemachtigden

Tentamen “Verdedigen van een octrooiaanvraag” (deel B)

chemie

4 oktober 2022

13.30 – 17.30 uur

BELANGRIJK: LEES DE ONDERSTAANDE INSTRUCTIES GOED – ZE GEVEN AAN WAT VAN U VERWACHT WORDT!

Beste Octrooigemachtigde,

- 5 Ons bedrijf houdt zich bezig met de synthese en toepassing van groepen verbindingen die toegepast kunnen worden bij de behandeling van huidinfecties.

Op 4 april 2022 hebben we een octrooiaanvraag ingediend die gepubliceerd is onder nummer NL 1042222. Een kopie van die aanvraag gaat bij. Deze aanvraag roept de prioriteit in van NL 1041111 die op 5 april 2021 is ingediend. Ik merk hierbij op dat de passages in NL 1042222 die afwijken van NL 1041111 in de vorm van een afwijkende kleur (rood) en dubbel ondersteept in de kopie van de aanvraag aangegeven staan.

Intussen is het search report en de bijbehorende search opinion ontvangen.

Ik wil van u gedetailleerd en gemotiveerd weten, voor iedere conclusie afzonderlijk, welke materie recht heeft op prioriteit en welke materie niet.

- 15 Verder wil ik gedetailleerd weten waarom in de search opinion de conclusies 1-4 en 6-10 niet nieuw worden bevonden ten opzichte van D4.

Tot slot zie ik van u graag een set conclusies, uitsluitend op basis van de huidige conclusies 1-10 (zie de laatste paragraaf hieronder), eventueel in aangepaste vorm, die op grond van de bijgaande literatuur een geldig octrooi kan opleveren. Ik verneem graag waarom elk van die conclusies nieuw is ten opzichte van elk van de publicaties D1-D5. Verder zie ik graag bij de inventiviteit een volledig uitgewerkte problem-solution approach in al haar stappen.

Dus samengevat zou ik graag een advies van u ontvangen dat uit drie delen bestaat, waarin de volgende vragen worden beantwoord:

- 25 Deel 1: Welke materie in conclusies 1 t/m 10 heeft recht op prioriteit, en welke niet? Geef daarbij een motivering. (27 punten)

Deel 2: Wilt u een analyse geven van het gebrek aan nieuwheid van de conclusies 1 t/m 4 en 6 t/m 10 in het licht van D4? (26 punten)

- 30 Deel 3: Welke van de oorspronkelijke conclusies 1-10 kunnen, eventueel in enigszins aangepaste vorm, leiden tot een geldig octrooi? Geef daarbij de argumenten voor nieuwheid, basis in de oorspronkelijke aanvraag en inventiviteit. (47 punten)

Tot slot nog het volgende: voor ons zijn uit commercieel oogpunt alleen de huidige conclusies 1 t/m 10 interessant. We hebben gekeken of er nog andere materie in de aanvraag staat die voor ons van belang is, maar dit is niet het geval. U kunt uw advies dus beperken tot een bespreking (en waar nodig eventuele aanpassing) van de huidige conclusies 1 t/m 10 en u hoeft naast deze (eventueel aangepaste) conclusies geen nieuwe of andere conclusies voor te stellen of toe te voegen (dit zou ook niet op prijs worden gesteld).

Met vriendelijke groet,

Uw cliënt

Publicatiedatum: 6 oktober 2022

Indieningsdatum: 4 april 2022

Prioriteit: NL 1041111 van 5 april 2021

5 ASYMMETRISCHE BICYCLINE-DERIVATEN EN HUN GEBRUIK.

De onderhavige aanvraag heeft betrekking op gealkyleerde derivaten van bicycline en het gebruik hiervan.

Bicycline (1,5-diazabicyclo[3.3.1]nonaan) is een bicyclische triamine-verbinding. Bicycline is opgebouwd uit twee stikstofatomen die zijn verbonden door een methyleen-brug en twee propylgroepen (zie Tabel 1).

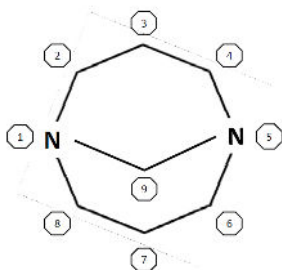
Bicycline kan worden gesynthetiseerd uit methaandiamine en 1,3-dibroompropan. Het is zeer stabiel bij kamertemperatuur en de hydrochloride- en hydrobromide-zouten van bicycline zijn goed oplosbaar in water. Om deze redenen is bicycline in het voormalige Oostblok op grote schaal toegepast als ontsmettingsmiddel (bijvoorbeeld in handzeep en in schoonmaakmiddelen) en als conserveringsmiddel, bijvoorbeeld voor het conserveren van vlees en fruit (zie bijvoorbeeld "Appendix 256" van het "Handboek van de Chemische Vereniging van de Unie der Sovjetrepublieken", jaargang 1967; D1).

TABEL 1: BICYCLINE

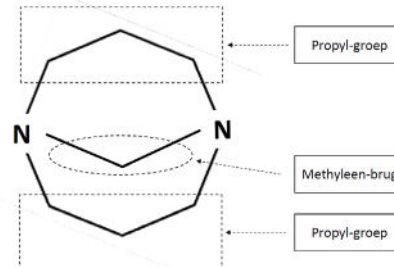
De nummering van de koolstofatomen is aangegeven in Figuur 1 A.

Zoals te zien in Figuur 1B is bicycline opgebouwd uit 2 stikstofatomen, twee propylgroepen (zie de twee gestippelde rechthoeken) en een methyleenbrug (zie het gestippeld ovaal).

Figuur 1A:



Figuur 1B



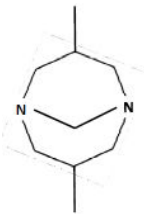
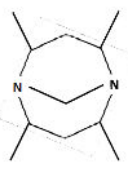
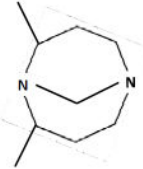
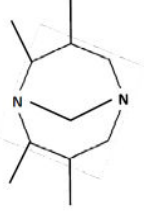


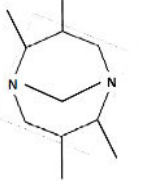

20

Derivaten van bicycline worden gekenmerkt door de aanwezigheid van substituenten op de bicycline ring, zoals alkylsubstituenten. Afhankelijk van de aard van deze substituenten en hun positie(s) op de bicycline-ring kunnen bicycline derivaten worden onderverdeeld in "symmetrische", "pseudo-symmetrische" en "asymmetrische" derivaten. In symmetrische en pseudosymmetrische

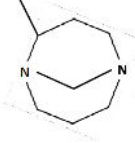
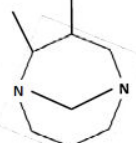
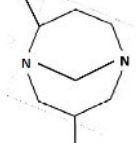
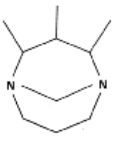
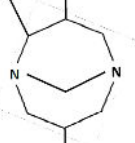
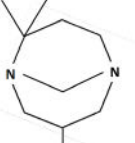

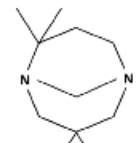


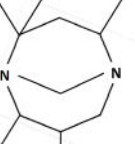
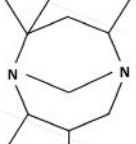


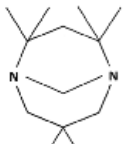
bicycline-derivaten zijn de twee propylgroepen in de bicycline-ring hetzelfde; er is alleen een verschil in de oriëntatie van deze propylgroepen (zie de voorbeelden Tabel 2).

TABEL 2: VOORBEELDEN VAN "SYMMETRISCHE" EN "PSEUDO-SYMMETRISCHE" BICYCLINEN (BC).

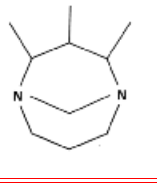
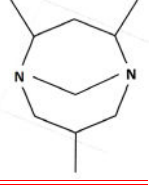
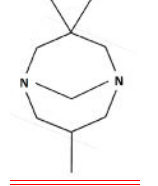
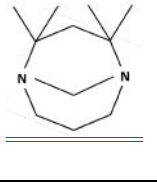
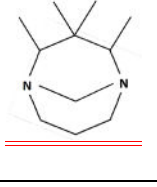
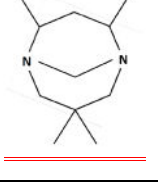
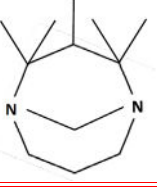
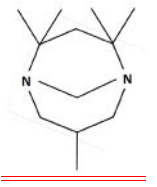
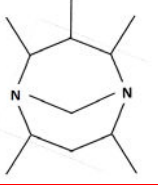
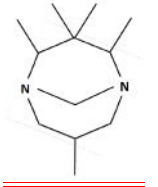
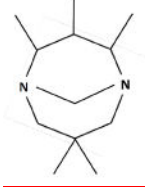
De bovenste rij toont een aantal symmetrische BC derivaten en de onderste rij toont de overeenkomstige "pseudo-symmetrische" BC derivaten.

SYMMETRISCH	3,7-dimethyl-BC	2,4,6,8-tetramethyl-BC	2,8-dimethyl-BC	2,3,7,8-tetramethyl-BC	2,2,8,8-tetramethyl-BC
					
PSEUDO-SYMMETRISCH	[--]	[--]	2,6-dimethyl-BC	2,3,6,7-tetramethyl-BC	2,2,6,6-tetramethyl-BC
					

- 5 Asymmetrische bicycline-derivaten hebben twee verschillende propylgroepen in de bicycline-ring (zie Tabellen 3A en 3B).

TABEL 3A: VOORBEELDEN VAN ASYMMETRISCHE BICYCLINE (BC) DERIVATEN.				
2-methyl-BC	2,3-dimethyl-BC	2,7-dimethyl-BC	2,3,4-trimethyl-BC	2,3,7-trimethyl-BC
				
2,2,7-trimethyl-BC	3,3,7-trimethyl-BC	2,2,7,7-tetramethyl-BC	2,4,7,7-tetramethyl-BC	2,2,6,8-tetramethyl-BC
				
2,2,4,7,8-penta-methyl-BC	2,2,4,7,8-penta-methyl-BC	2,3,4,6,7-penta-methyl-BC	2,3,3,6,7,8-hexa-methyl-BC	2,2,4,4,7,7-hexa-methyl-BC
				

TABEL 3B: GEPREFEREERDE BICYCLINE (BC) DERIVATEN

Drie methyl-groepen	<u>2,3,4-trimethyl-BC</u>	<u>2,4,7-trimethyl-BC</u>	<u>3,3,7-trimethyl-BC</u>		
				[--]	[--]
Vier methyl-groepen	<u>2,2,4,4-tetramethyl-BC</u>	<u>2,3,3,4-tetramethyl-BC</u>	<u>2,4,7,7-tetramethyl-BC</u>		
				[--]	[--]
Vijf methyl-groepen	<u>2,2,3,4,4-pentamethyl-BC</u>	<u>2,2,4,4,7-pentamethyl-BC</u>	<u>2,3,4,6,8-pentamethyl-BC</u>	<u>2,3,3,4,7-pentamethyl-BC</u>	<u>2,3,4,7,7-pentamethyl-BC</u>
					

Wij hebben een reeks van ongeveer 1200 gealkyleerde bicycline-derivaten getest op activiteit tegen *Staphylococcus aureus*, een micro-organisme dat betrokken is bij verschillende soorten huidinfecties, zoals folliculitis, cellulitis en impetigo. Wij hebben hierbij verrassenderwijs gevonden dat pseudosymmetrische bicycline-derivaten actiever zijn tegen *S. aureus* dan symmetrische bicycline-derivaten, en dat asymmetrische bicycline-derivaten nog actiever zijn dan pseudosymmetrische bicycline-derivaten (zie de resultaten in Tabel 4).

Wij hebben verder gevonden dat bicycline-derivaten met (in totaal) 5 of minder alkylsubstituenten op de bicycline-ring sneller door de huid opgenomen dan bicycline derivaten met (in totaal) meer dan 5 alkylsubstituenten.

Wij hebben tevens gevonden dat bicycline-derivaten met (uitsluitend) methylsubstituenten op de bicycline-ring sneller door de huid worden opgenomen dan bicycline-derivaten met die ethyl- of propylsubstituenten op de bicycline-ring dragen.

Wij hebben ook gevonden dat bicycline-derivaten met (in totaal) minder dan drie methylsubstituenten op de bicycline-ring aanzienlijk beter (met een factor 10 tot 20 of meer) oplosbaar zijn in zweet dan bicycline-derivaten met (in totaal) drie of meer methylsubstituenten op de bicycline-ring. Dit is van groot praktisch belang, omdat dit betekent dat deze derivaten weliswaar snel door de huid worden opgenomen, maar daarna ook weer snel met het zweet uit de huid worden afgevoerd. Hierdoor hebben bicycline-derivaten met 3 of minder methylsubstituenten op de bicycline-ring een aanzienlijk kortere werkingsduur dan andere bicycline derivaten.

Wij hebben ook gevonden dat de specifieke bicycline-derivaten die zijn weergegeven in de bovenstaande Tabel 3B zeer goed werken tegen folliculitis, en met name tegen de daardoor veroorzaakte furunkels (beter bekend als “steenpuisten”; dit zijn sterk gelokaliseerde *S.aureus* infecties die zich in haarzakjes (follikels) bevinden). De derivaten in Tabel 3B vormen een vrij bijzondere groep bicycline-derivaten: aan de ene kant is hun ringsysteem opgebouwd uit verschillende propylgroepen (*i.e.* met verschillende alkylsubstituenten) zodat ze “asymmetrisch” zijn, maar aan de andere kant vertonen ze toch een zekere vorm van symmetrie, zoals kan worden afgeleid uit de structuurformules in Tabel 3B.

Wij nemen aan dat de derivaten in Tabel 3B zeer goed oplosbaar zijn in talg (latijn: sebum), de vetachtige substantie die wordt aangemaakt door talgklieren die zich rond ieder haarzakje bevinden en die de opperhuid vettig houdt en beschermt tegen uitdroging. Daarnaast maakt talg de huid beter waterafstotend en verhoogt talg de weerstand tegen ziekteverwekkers, schimmels en irriterende stoffen. Aangenomen wordt dat de hoge(re) oplosbaarheid van de genoemde bicycline-derivaten in talg er toe leidt dat deze specifieke derivaten langer en in hogere concentratie in en rond een ontstoken haarzakje aanwezig zijn (en blijven) dan andere bicycline-derivaten.

De hierin beschreven bicycline-derivaten kunnen eenvoudig worden verwerkt tot een zalf, creme of tinctuur, die bijvoorbeeld tussen 0,1 en 10 gewichtsprocent (betrokken op het gewicht van de zalf, creme of tinctuur), zoals tussen 1 en 5 gewichtsprocent, van het bicycline-derivaat bevat. Hiervoor kunnen gangbare bestanddelen worden gebruikt die algemeen bekend zijn voor het samenstellen van een zalf, creme of tinctuur die een wateroplosbare werkzame stof bevat.

Een dergelijke zalf, creme of tinctuur kan bijvoorbeeld eenmaal daags tot viermaal daags plaatselijk op de ontstoken huid worden aangebracht, bijvoorbeeld gedurende 3 tot 5 dagen of anders totdat de ontsteking genezen is.

10 **VOORBEELD 1: BICYCLINE-DERIVATEN MET ACTIVITEIT TEGEN S. AUREUS.**

Een bibliotheek van ongeveer 1200 bicycline-derivaten (Bayldon, G.: “*A combinatorial library of bicycline derivatives*”, Journal of Combinatorial Chemistry, 2009, pages 3476-3480; **D2**) werd onderzocht op activiteit tegen *Staphylococcus aureus*, door toepassing van de standaard “Growth Inhibition Assay” die wordt beschreven in Hoofdstuk 7 van het Handbook of Dermatology (4^e Editie, 15 1993; **D3**). Ter vergelijking werd ook bicycline zelf getest.

Hierbij werd gevonden dat pseudosymmetrische bicycline-derivaten actiever zijn tegen *S. aureus* dan symmetrische bicycline-derivaten, en dat asymmetrische bicycline-derivaten nog actiever zijn dan pseudosymmetrische bicycline-derivaten. Zoals kan worden gezien in Tabel 4 gaf bicycline in deze assay een MIC waarde van 0,35; gaven symmetrische bicycline-derivaten MIC waarden tussen 20 0,18 en 0,25; gaven pseudosymmetrische bicycline-derivaten MIC waarden tussen 0,10 en 0,15 en gaven asymmetrische bicycline-derivaten MIC waarden van minder dan 0,05.

De bicycline-derivaten die in deze assay een MIC waarde van minder dan 0,05 microgram/ml vertoonden werden getest op penetratie van de huid (Voorbeeld 2).

25 **VOORBEELD 2: PENETRATIE VAN DE HUID.**

Een reeks bicycline-derivaten met vergelijkbare MIC waarden van minder dan 0,05 microgram/ml in de Growth Inhibition Assay (Voorbeeld 1) werden geformuleerd tot een standaard creme op waterbasis met 2 gewichtsprocent van het derivaat. Deze creme werd getest in een *ex vivo* model voor het testen van cosmetica (het hOSEC model). 1 gram van de creme (hetgeen 30 overeenkomt met 20 milligram van het derivaat) werd aangebracht op een laag *ex vivo* gekweekte humane keratinocyten (huidcellen). Na 5 minuten werd de laag huidcellen afgespoeld met 1 ml gedestilleerd water. Het spoelwater werd opgevangen en de hoeveelheid van het bicycline-derivaat in het spoelwater werd bepaald. De hoeveelheid opgenomen derivaat werd berekend volgens de formule: $[20 \text{ mg}] \text{ minus } [\text{hoeveelheid derivaat in het spoelwater (in milligram)}]$

35 De resultaten zijn weergegeven in Tabel 4.

VOORBEELD 3: OPLOSBAARHEID IN ZWEET

Een waterige oplossing met de volgende samenstelling werd bereid: natrium 1200 mg/l, chloride 1000 mg/l, kalium 300 mg/l, calcium 160 mg/l, magnesium 36 mg/l, ureum 700 mg/l, ammoniak 80 mg/l, fosfaten / sulfaten 40 mg/ml, pH 6,5. De samenstelling van deze oplossing is representatief voor de samenstelling van menselijk zweet. De oplosbaarheid van verschillende bicycline-derivaten in deze oplossing werd bepaald. De resultaten zijn ook weergegeven in Tabel 4.

5

TABEL 4. RESULTATEN VAN VOORBEELDEN 1, 2 EN 3 (Opmerking: het symbool “[--]” geeft aan dat de betreffende waarde niet werd bepaald):

Derivaat	Substituenten	Symmetrie	MIC (Voorbeeld 1)	Penetratie (Voorbeeld 2)	Oplosbaarheid in zweet (Vb 3)
Bicycline (referentie)	[Geen]	[NVT]	0,35	[--]	[--]
2,8-di-n-propyl-BC	2 x n-propyl	Symmetrisch	0,20	[--]	[--]
2,3,7,8-tetra-n-propyl-BC	4 x n-propyl	Symmetrisch	0,22	[--]	[--]
2,6-di-n-propyl-BC	2 x n-propyl	Pseudo-symmetrisch	0,13	[--]	[--]
2,3,6,7-tetra-n-propyl-BC	4 x n-propyl	Pseudo-symmetrisch	0,12	[--]	[--]
2,7-di-n-propyl-BC	2 x n-propyl	Asymmetrisch	0,04	5,1 mg	<u>160 mg/ml</u>
2,2,6,8-tetra-n-propyl-BC	4 x n-propyl	Asymmetrisch	0,03	4,8 mg	<u>134 mg/ml</u>
2,3,4,6,8-penta-n-propyl-BC	5 x n-propyl	Asymmetrisch	0,04	4,6 mg	<u>142 mg/ml</u>
2,2,4,4,6,6-hexa-n-propyl-BC	6 x n-propyl	Asymmetrisch	0,03	1,5 mg	[--]
2,8-diethyl-BC	2 x ethyl	Symmetrisch	0,25	[--]	[--]
2,3,7,8-tetra-ethyl-BC	4 x ethyl	Symmetrisch	0,23	[--]	[--]
2,6-diethyl-BC	2 x ethyl	Pseudo-symmetrisch	0,10	[--]	[--]
2,3,6,7-tetra-ethyl-BC	4 x ethyl	Pseudo-symmetrisch	0,11	[--]	[--]
2,7-diethyl-BC	2 x ethyl	Asymmetrisch	0,02	5,7 mg	[--]
2,2,6,8-tetra-ethyl-BC	4 x ethyl	Asymmetrisch	0,03	5,2 mg	[--]
2,3,5,6,8-penta-ethyl -BC	5 x ethyl	Asymmetrisch	0,03	4,9 mg	[--]
2,2,4,4,6,6-hexa-ethyl -BC	6 x ethyl	Asymmetrisch	0,03	2,3 mg	[--]

TABEL 4 (VERVOLG):

Derivaat	Substituenten	Symmetrie	MIC (Voorbeeld 1)	Penetratie (Voorbeeld 2)	<u>Oplosbaarheid in zweet (Vb 3)</u>
Bicycline (referentie)	[Geen]	[NVT]	0,35	[--]	[--]
2,8-di-methyl-BC	2 x methyl	Symmetrisch	0,19	[--]	[--]
2,3,7,8-dimethyl-BC	4 x methyl	Symmetrisch	0,21	[--]	[--]
2,3,4,6,7,8-hexamethyl-BC	6 x methyl	Symmetrisch	0,18	[--]	[--]
2,2,4,4,6,6,8,8-octamethyl-BC	8 x methyl	Symmetrisch	0,20	[--]	[--]
2,6-dimethyl-BC	2 x methyl	Pseudo-symmetrisch	0,11	[--]	[--]
2,3,6,7-tetramethyl-BC	4 x methyl	Pseudo-symmetrisch	0,13	[--]	[--]
2,2,4,6,6,7-hexamethyl-BC	6 x methyl	Pseudo-symmetrisch	0,12	[--]	[--]
2,2,4,4,6,6,8,8-octamethyl-BC	8 x methyl	Pseudo-symmetrisch	0,11	[--]	[--]
2,7-dimethyl-BC	2 x methyl	Asymmetrisch	0,03	10,5 mg	<u>138 mg/ml</u>
2,2,4,4-tetramethyl-BC	4 x methyl	Asymmetrisch	0,01	11,3 mg	<u>9,8 mg/ml</u>
2,3,3,4-tetramethyl-BC	4 x methyl	Asymmetrisch	0,02	11,7 mg	<u>9,6 mg/ml</u>
2,4,7,7-tetramethyl-BC	4 x methyl	Asymmetrisch	0,01	11,5 mg	<u>9,9 mg/ml</u>
2,2,7,7-tetramethyl-BC	4 x methyl	Asymmetrisch	0,02	11,2 mg	<u>9,7 mg/ml</u>
2,2,6,8-tetramethyl-BC	4 x methyl	Asymmetrisch	0,01	11,3 mg	<u>9,8 mg/ml</u>
2,2,4,4,6,6-hexamethyl-BC	6 x methyl	Asymmetrisch	0,02	5,4 mg	[--]
2,2,3,3,4,4,7,7-octamethyl-BC	8 x methyl	Asymmetrisch	0,02	4,4 mg	[--]

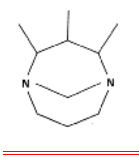
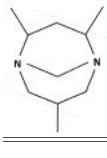

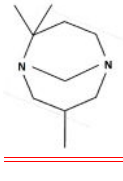
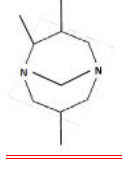
TABEL 4 (VERVOLG):

Derivaat	Substituenten	Symmetrie	MIC (Voorbeeld 1)	Penetratie (Voorbeeld 2)	<u>Oplosbaarheid in zweet (Vb 3)</u>
Bicycline (referentie)	[Geen]	[NVT]	0,35	[--]	[--]
2-methyl-BC	1 x methyl	Asymmetrisch	0,03	10,8 mg	<u>136 mg/ml</u>
3-methyl-BC	1 x methyl	Asymmetrisch	0,02	11,1 mg	<u>152 mg/ml</u>
2,3,4-trimethyl-BC	3 x methyl	Asymmetrisch	0,01	11,5 mg	<u>11,5 mg/ml</u>
2,4,7-trimethyl-BC	3 x methyl	Asymmetrisch	0,02	11,2 mg	<u>10,9 mg/ml</u>
3,3,7-trimethyl-BC	3 x methyl	Asymmetrisch	0,03	11,4 mg	<u>10,0 mg/ml</u>
2,2,7-trimethyl-BC	3 x methyl	Asymmetrisch	0,02	10,9 mg	<u>11,3 mg/ml</u>
2,3,7-trimethyl-BC	3 x methyl	Asymmetrisch	0,01	11,0 mg	<u>11,1 mg/ml</u>
2,2,3,4,4-pentamethyl-BC	5 x methyl	Asymmetrisch	0,01	10,7 mg	<u>9,3 mg/ml</u>
2,2,4,4,7-pentamethyl-BC	5 x methyl	Asymmetrisch	0,02	10,9 mg	<u>9,1 mg/ml</u>
2,3,4,6,8-pentamethyl-BC	5 x methyl	Asymmetrisch	0,03	11,1 mg	<u>9,5 mg/ml</u>
2,3,3,4,7-pentamethyl-BC	5 x methyl	Asymmetrisch	0,01	11,2 mg	<u>9,2 mg/ml</u>
2,3,4,7,7-pentamethyl-BC	5 x methyl	Asymmetrisch	0,04	10,8 mg	<u>9,0 mg/ml</u>
2,2,4,7,8-pentamethyl-BC	5 x methyl	Asymmetrisch	0,02	10,9 mg	<u>9,4 mg/ml</u>
2,3,4,6,7-pentamethyl-BC	5 x methyl	Asymmetrisch	0,01	10,6 mg	<u>9,3 mg/ml</u>
2,2,3,4,4,7,7-heptamethyl-BC	7 x methyl	Asymmetrisch	0,02	5,2 mg	[--]
2,2,4,4,6,7,8-heptamethyl-BC	7 x methyl	Asymmetrisch	0,03	4,8 mg	[--]

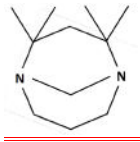

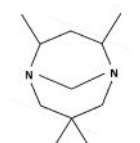
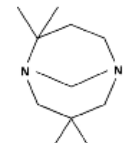
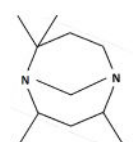
VOORBEELD 4: WERKZAAMHEID TEGEN FURUNKELS (STEENPUISTEN):

Een aantal bicycline-derivaten met vergelijkbare MIC waarden in Voorbeeld 1, vergelijkbare snelheid van huidopname in Voorbeeld 2 en een vergelijkbare oplosbaarheid in zweet in Voorbeeld 3 werden geformuleerd als een standaard creme op waterbasis met 2 gewichtsprocent van het derivaat en klinisch onderzocht op werking tegen furunkels. 1 gram van deze creme werd eenmaal daags, twee maal daags en driemaal daags aangebracht op de huid van een patient met een furunkel, op en direct rond de plaats van de ontsteking. Daarna werd bepaald hoe lang het duurde tot de ontsteking was verdwenen. De resultaten zijn weergegeven in Tabel 5.

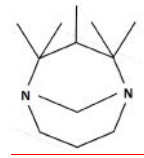
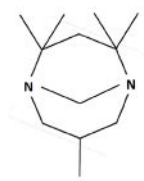
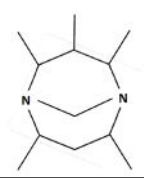
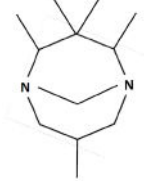
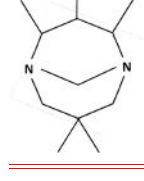
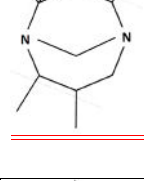
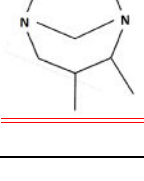
TABEL 5: WERKZAAMHEID TEGEN FURUNKELS (STEENPUISTEN):

	<u>Derivaat</u>	<u>Formule</u>	<u>1 x daags</u>	<u>2x daags</u>	<u>3x daags</u>
<u>drie methylgroepen op de bicyclinering</u>	<u>2,3,4-</u> <u>trimethyl-BC</u>		<u>5 dagen</u>	<u>4 dagen</u>	<u>3 dagen</u>
	<u>2,4,7-</u> <u>trimethyl-BC</u>		<u>5 dagen</u>	<u>4 dagen</u>	<u>3 dagen</u>
	<u>3,3,7-</u> <u>trimethyl-BC</u>		<u>5 dagen</u>	<u>4 dagen</u>	<u>3 dagen</u>
	<u>2,2,7-</u> <u>trimethyl-BC</u>		<u>9 dagen</u>	<u>7 dagen</u>	<u>5 dagen</u>
	<u>2,3,7-</u> <u>trimethyl-BC</u>		<u>9 dagen</u>	<u>7 dagen</u>	<u>5 dagen</u>

TABEL 5 (VERVOLG):

	<u>Derivaat</u>	<u>Formule</u>	<u>1 x daags</u>	<u>2x daags</u>	<u>3x daags</u>
<u>vier methylgroepen op de bicyclinering</u>	<u>2,2,4,4-</u> <u>tetramethyl-</u> <u>BC</u>		<u>5 dagen</u>	<u>4 dagen</u>	<u>3 dagen</u>
	<u>2,3,3,4-</u> <u>tetramethyl-</u> <u>BC</u>		<u>5 dagen</u>	<u>4 dagen</u>	<u>3 dagen</u>
	<u>2,4,7,7-</u> <u>tetramethyl-</u> <u>BC</u>		<u>5 dagen</u>	<u>4 dagen</u>	<u>3 dagen</u>
	<u>2,2,7,7-</u> <u>tetramethyl-</u> <u>BC</u>		<u>9 dagen</u>	<u>7 dagen</u>	<u>5 dagen</u>
	<u>2,2,6,8-</u> <u>tetramethyl-</u> <u>BC</u>		<u>9 dagen</u>	<u>7 dagen</u>	<u>5 dagen</u>

TABEL 5 (VERVOLG):

	<u>Derivaat</u>	<u>Formule</u>	<u>1 x daags</u>	<u>2x daags</u>	<u>3x daags</u>
<u>vijf methylgroepen op de bicyclinering</u>	<u>2,2,3,4,4-</u> <u>pentamethyl-</u> <u>BC</u>		<u>5 dagen</u>	<u>4 dagen</u>	<u>3 dagen</u>
	<u>2,2,4,4,7-</u> <u>pentamethyl-</u> <u>BC</u>		<u>5 dagen</u>	<u>4 dagen</u>	<u>3 dagen</u>
	<u>2,3,4,6,8-</u> <u>pentamethyl-</u> <u>BC</u>		<u>5 dagen</u>	<u>4 dagen</u>	<u>3 dagen</u>
	<u>2,3,3,4,7-</u> <u>pentamethyl-</u> <u>BC</u>		<u>5 dagen</u>	<u>4 dagen</u>	<u>3 dagen</u>
	<u>2,3,4,7,7-</u> <u>pentamethyl-</u> <u>BC</u>		<u>5 dagen</u>	<u>4 dagen</u>	<u>3 dagen</u>
	<u>2,2,4,7,8-</u> <u>penta-</u> <u>methyl-BC</u>		<u>9 dagen</u>	<u>7 dagen</u>	<u>5 dagen</u>
	<u>2,3,4,6,7-</u> <u>pentamethyl-</u> <u>BC</u>		<u>9 dagen</u>	<u>7 dagen</u>	<u>5 dagen</u>

CONCLUSIES

1. Zalf, creme of tinctuur voor het behandelen van huidinfecties, die een werkzame hoeveelheid van een bicycline-derivaat bevat, waarbij:
 - a) het bicycline-derivaat een of meer alkylsubstituenten draagt op de propylgroepen van het bicycline-ringsysteem; en
 - b) het bicycline-derivaat een asymmetrisch bicycline-derivaat is.
2. Zalf, creme of tinctuur volgens conclusie 1, waarin de bicycline-ring van het asymmetrische bicycline derivaat vijf of minder alkyl groepen draagt.
3. Zalf, creme of tinctuur volgens een der voorafgaande conclusies, waarin de bicycline-ring van het asymmetrische bicycline derivaat uitsluitend methyl-substituenten draagt.
4. Zalf, creme of tinctuur volgens een der voorafgaande conclusies, waarin de bicycline-ring van het asymmetrische bicycline-derivaat in totaal drie, vier of vijf methylsubstituenten draagt.
5. Zalf, creme of tinctuur volgens een der voorafgaande conclusies, waarin het bicycline-derivaat is gekozen uit de groep bestaande uit:
 - 2,3,4-trimethyl-bicycline;
 - 2,4,7-trimethyl-bicycline;
 - 3,3,7-trimethyl-bicycline;
 - 2,2,4,4-tetramethyl-bicycline;
 - 2,3,3,4-tetramethyl-bicycline;
 - 2,4,7,7-tetramethyl-bicycline;
 - 2,2,3,4,4-pentamethyl-bicycline;
 - 2,2,4,4,7-pentamethyl-bicycline;
 - 2,3,4,6,8-pentamethyl-bicycline;
 - 2,3,3,4,7-pentamethyl-bicycline; en
 - 2,3,4,7,7-pentamethyl-bicycline.
6. Zalf, creme of tinctuur volgens een der voorafgaande conclusies, waarbij de huidinfectie wordt veroorzaakt door *Staphylococcus aureus*.

7. Zalf, creme of tinctuur volgens een der voorafgaande conclusies, voor het behandelen van onderhuidse huidinfecties.
8. Zalf, creme of tinctuur volgens conclusie 7, voor het behandelen van folliculitis.
9. Zalf, creme of tinctuur volgens conclusie 8, voor het behandelen van furunkels.
10. Zalf, creme of tinctuur volgens een der voorafgaande conclusies, voor het behandelen van zadelpijn bij wielrenners.

NL 1042222 – geciteerde documenten en opinie over octrooieerbaarheid:

Document		Publicatie	Relevantie	Opmerkingen
D1	Handboek van de Chemische Vereniging van de Unie der Sovietrepublieken, jaargang 1967, Appendix 256	1967	Y	In aanvraag genoemd
D2	Bayldon, G.: “A combinatorial library of bicycline derivatives”, Journal of Combinatorial Chemistry, 2009, blz. 3476-3480	2009	Y	In aanvraag genoemd
D3	Handbook of Dermatology, 4 ^e Editie, 1993, hoofdstuk 7.	1993	A	In aanvraag genoemd
D4	EP 2,345,678	2022	X	Niet-voorgepubliceerde Europese octrooi-aanvraag die NL designeert (zie hieronder)
D5	Ventoux ! Het tijdschrift voor de avontuurlijke fietser.	2005	Y	

1. De onderhavige aanvraag NL 1042222 is ingediend op 4 april 2022 en roept de prioriteit in van de Nederlandse aanvraag NL 1041111 van 5 april 2021. Hierbij wordt opgemerkt dat de onderhavige aanvraag een aantal gedeelten bevat die op het eerste gezicht niet terug te vinden zijn in deze prioriteitsaanvraag (met name: Tabel 3B; de paragraaf op blz. 5, regels 13 t/m 33; Voorbeeld 3 en de resultaten van dit Voorbeeld 3 in laatste kolom in Tabel 4; Voorbeeld 4 en Tabel 5; en huidige conclusies 4, 5, 9 en 10).
2. De onderhavige aanvraag heeft betrekking op asymmetrische derivaten van bicycline en het gebruik ervan bij het behandelen van ontstekingen van de huid.
3. Document D4 beschrijft gealkyleerde bicycline-derivaten die worden gebruikt voor het behandelen van huidinfecties.

4. Document D4 is een Europese octrooiaanvraag die Nederland designeert. Uit raadpleging van het register van het Europees Octrooibureau is gebleken dat voor D4 tijdig aan alle voorwaarden is voldaan die vereist zijn voor de “entry into the regional phase”.

Meer in detail is D4 ingediend (als PCT aanvraag PCT/US/2020/12345) op 15 juli 2021 onder inroeping van de prioriteit van een Amerikaanse provisional die op 16 juli 2020 is ingediend. D4 heeft exact dezelfde tekst als het prioriteitsdocument, zij het dat bij het indienen van D4 in 2021 Voorbeelden (“Examples”) 3 en 4 en de daarbij horende tabellen en claim 7 zijn toegevoegd.

D4 is gepubliceerd op 18 januari 2022, dat wil zeggen na de ingeroepen prioriteitsdatum voor de onderhavige aanvraag maar voorafgaand aan de indieningsdatum van de onderhavige aanvraag.

D4 wijst net als de aanvraag op D1 (blz. 28, 3^e alinea), D2 (blz. 31, 2^e alinea) en D3 (blz. 29, 3^e alinea).

5. Dit brengt met zich mee dat materie uit D4 die reeds in het prioriteitsdocument van D4 werd omvat schadelijk is voor de nieuwheid van de onderhavige aanvraag. Zie voor de ingediende conclusies 1-4 en 6-10 van de octrooiaanvraag met name de voorbeelden 2 en 4 van D4 in het licht van de alinea op pagina 29, regels 3-7. Voor conclusie 10 hierbij nog de opmerking dat niet wordt ingezien waarin fietsers met furunkels zich onderscheiden van andere patiënten met furunkels (anders dan dat zij fietsen en de andere patiënten niet).

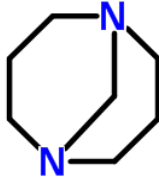
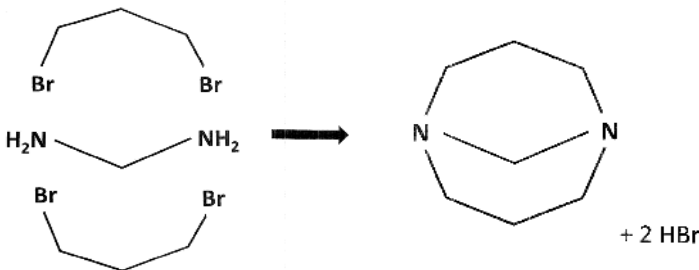
6. D4 is volledige stand der techniek voor de materie uit de onderhavige aanvraag die niet was omvat in de ingeroepen prioriteitsaanvraag NL 1041111. Hierbij wordt verder opgemerkt dat de bicycline-derivaten die in de onderhavige aanvraag worden beschreven reeds voorafgaand zowel aan ingeroepen prioriteitsdatum als de prioriteitsdatum van document D4 bekend waren (zie document D2). Ook het gebruik van bicycline als bacteriedodend middel was algemeen bekend (zie document D1). Tenslotte lijkt het gebruik van bicycline voor het behandelen van furunkels (steenpuisten) reeds beschreven in de stand der techniek (zie document D5). Overtuigende argumenten zijn daarom nodig voor de octrooieerbaarheid van de materie waarvoor de prioriteit niet geldend kan worden gemaakt.

7. Samengevat wordt niet ingezien welke materie uit de onderhavige aanvraag kan dienen als basis voor rechtsgeldige conclusies.

1967 Handbook of the Chemical Society of the Union of Soviet Socialist Republics

Appendix 256.

[Note: Original publication in Russian; translated from Russian original]

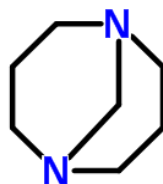
Common name: Bicycline
Molecular formula: C ₇ H ₁₄ N ₂
Molecular mass: 126.2 Da
Formula:

Synthesis: from methanedi-amine (H ₂ N-CH ₂ -NH ₂) and 1,3-dibromopropane (CH ₂ Br-CH ₂ -CH ₂ Br). Reaction performed in acetone or acetonitrile.

$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{NH}_2 + 2 \text{CH}_2\text{Br}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{Br} \rightarrow \text{C}_7\text{H}_{14}\text{N}_2 + 2 \text{HBr}$
Use: General-purpose disinfectant (e.g. in household soap and other cleaning agents), food preserving agent, microbicide

Journal of Combinatorial Chemistry, 2009, pages 3476-3480

Bayldon, Geoffrey: A combinatorial library of alkyl-substituted bicyclic derivatives.¹

Bicyclines are organic tri-amines that are characterized by the presence of the so-called “bicyclic ring system” (often abbreviated as “BC”), which is comprised of two nitrogen atoms, two propyl groups and a methylene “bridge”. The bicyclic ring system is illustrated in Figure 1 by means of bicyclic itself, which is the simplest bicyclic-compound in the sense that it does not carry any substituents on its rings. More complex derivatives of bicyclic will generally carry one or more substituents, usually on one or more of the propyl groups (less often on the methylene bridge).

Figure 1: bicyclic (IUPAC name 1,5-diazabicyclo[3.3.1]nonane)



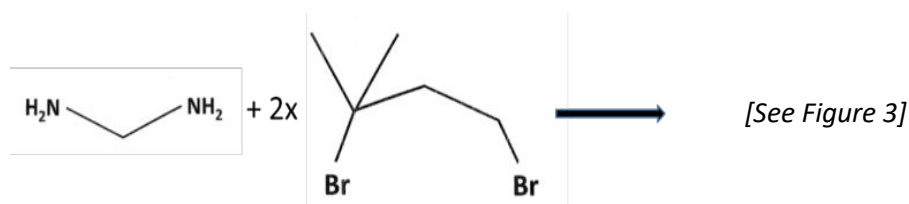
Established methods for synthesizing bicyclic derivatives make use of well-established chemical reactions for making tri-amines from di-amines or mono-amines, which are described in the standard handbooks of organic chemistry.

These so-called “amine alkylation” reactions can be performed under mild reaction conditions using well-known solvents (such as acetone, DMF, toluene or acetonitrile).

Using such well-known basic chemistry, the synthesis of symmetric bicyclic derivatives can conveniently be carried out in a one-step reaction by letting diaminomethane ($\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$) react with the desired 1,3-dihalogen propane. This is illustrated in Figure 2 by means of the reaction between diamino methane and 1,3-dibromo-1,1 dimethyl-propane (1, 3-dibromo-2-methyl-butane):

¹ Note from the editor: in accordance with the advertising policies of the *Journal of Combinatorial Chemistry*, this article is classified as an advertisement.

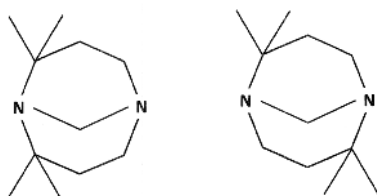
Figure 2: Example of a “one-step” synthesis of alkylated bicyclines



As shown in Figure 3, such conventional “one step” reactions will generally lead to a 50/50 mixture of two isomers, one of which will be a so-called “symmetric” bicycline (as illustrated by the bicycline derivative shown on the left hand side of Figure 3) and the other one of which will be the corresponding “pseudo-symmetric” derivative (as illustrated by the derivative shown on the left hand side of Figure 3). Separating these isomers to provide the isolated compounds will often be difficult, because they will usually have very similar physical-chemical properties. In any case, the fact that two isomers are obtained in equal amounts means that the overall yield of this synthesis will never exceed 50%.

Figure 3: bicycline derivatives obtained from the reaction shown in Figure 2

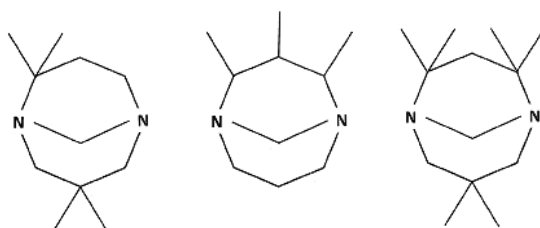
Left hand side: 2,2,8,8-tetramethyl-BC. Right hand side: 2,2,6,6-tetramethyl-BC.



Also, these known “one-step” methods cannot be used to make so-called “asymmetric” bicyclines, *i.e.* bicyclines in which the substituents on the “top” part of the ring system are different from those on the “bottom” part of the ring system (see, for example, the compounds in Figure 4).

Figure 4: Examples of so-called asymmetric bicyclines.

From left to right: 2,2,7,7-tetramethyl-BC; 2,3,4-trimethyl-BC and 2,2,4,4,7,7-hexamethyl-BC.



For these reasons, we have developed a chemical synthesis that allows us to efficiently generate any desired symmetric, pseudo-symmetric or asymmetric bicyclic-derivative in an overall yield of about 60-70 percent.

We have also been able to adapt our process for library generation using automated combinatorial chemistry techniques.

Modern combinatorial chemistry or “combiChem” techniques allow for the quick and easy generation of libraries of small molecules with related chemical structures. In combinatorial chemistry, the different “building blocks” for carrying out the reactions are arrayed in different wells on multi-well plates (*e.g.* 48-well plates or 96-well plates). Robots are then used to perform reactions between the building blocks to generate a library of essentially all possible combinations of said building blocks. Thus, for example, when a standard reaction $[A] + [B] \rightarrow [AB]$ is performed using building blocks $[A_1]$, $[A_2]$ and $[A_3]$ on the one hand and building blocks $[B_1]$, $[B_2]$ and $[B_3]$ on the other hand, combiChem techniques will afford a library that comprises all possible combinations of these building blocks (*i.e.* $[A_1B_1]$, $[A_1B_2]$, $[A_1B_3]$, $[A_2B_1]$, $[A_2B_2]$, $[A_2B_3]$, $[A_3B_1]$, $[A_3B_2]$ and $[A_3B_3]$).

Modern combiChem techniques have been used to generate compound libraries that in some cases comprise tens-of-thousands or even millions of different compounds. These compound libraries, which can be prepared and stored in the format of multi-well plates, can then be screened for compounds with desired or optimal properties, using robotic screening systems such as the Tecan® system.

Currently, there are service companies that have built up large compound libraries and are making these available on a commercial, “fee-for-service” basis. Generally, these companies screen their compound library for their customers (*i.e.* against a target designated by the customer or using an assay provided by the customer) and provide the customer with the “hits” from these screens. The customer can then use these hits or further optimize them for the intended final use.

Nowadays, combiChem techniques and combinatorial libraries are regularly used in the pharmaceutical industry to generate hits and leads against targets of therapeutic interest, *i.e.* for the treatment of diseases that can be treated by compounds that are directed against the target. The hits from the initial screening steps are then developed further into compounds for (pre-)clinical testing and later on into pharmaceutical products, using standard methodology in the field of medicinal chemistry such as “hits-to-leads” chemistry and “ADME-tox”.

Starting from our proprietary synthesis of alkylated bicyclic derivatives, we have used combinatorial chemistry techniques to generate a combinatorial library of symmetric, pseudosymmetric and asymmetric alkyl-substituted bicyclines, starting from diaminomethane and the 53 building blocks shown in Figure 5. Taking into account the degeneracy in the library, the

symmetry/asymmetry of the compounds obtained, as well as reactions that failed or did not provide useable amounts of end product, the final library obtained from the building blocks in Figure 5 was estimated to contain about 1200 different alkylated bicycline derivatives. These compounds were arrayed on fifteen 96-well plates, with each plate also containing a number of individually synthesized bicycline derivatives of known chemical structure which can serve as reference compounds during screening (for the same purpose, each of our plates also contains a well with bicycline itself). The plates can be used for screening purposes using standard robotic screening systems.

The compound library described in this paper is available from CombiChem Inc., Cambridge, MA for commercial screening purposes.

Figure 5: building blocks used to generate the library of alkylated bicyclines.

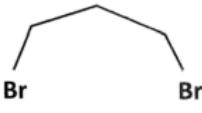
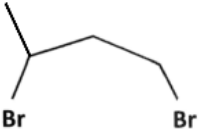
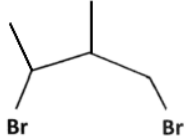
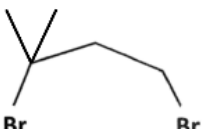
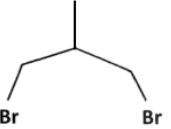
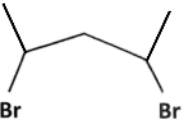
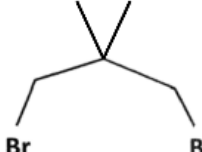
Notes:			
<ul style="list-style-type: none"> - In the table below, an ethylgroup is indicated with "C₂", an n-propylgroup is indicated with "nC₃", and an isopropylgroup is indicated with "iC₃". - The building blocks shown below provide a library of bicycline derivatives with between 0 alkylsubstituents (bicycline, reference) and 12 alkylsubstituents. For example, the reaction of building block with 3 alkyl substituents with a building block with 5 alkylsubstituents will result in a bicycline-derivative with 8 alkylsubstituents in total. 			
No substituents, 1 methyl-substituent or 2 methyl-substituents			
No substituent	1 methylgroup	2 methylgroups	3 methylgroups
			
			

Figure 5: (continued)

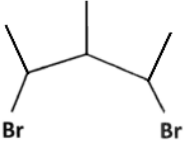
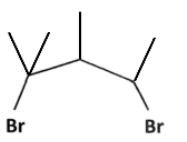
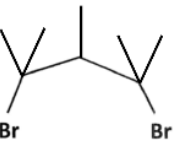

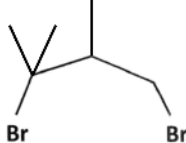
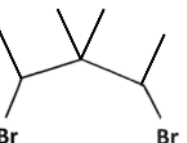
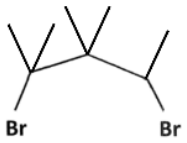
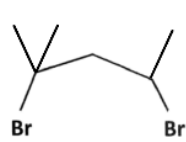
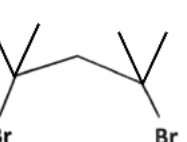
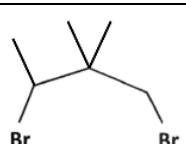
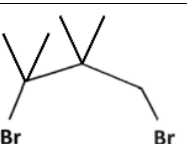
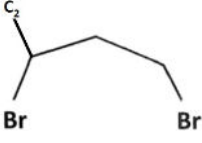
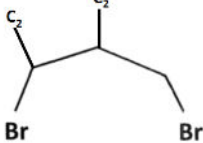
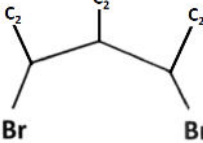
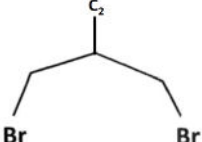
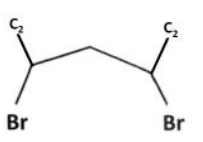
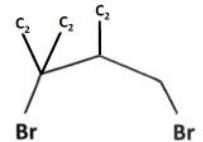
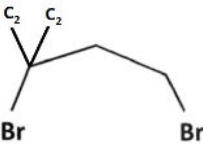
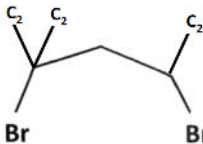
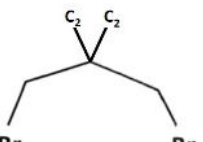
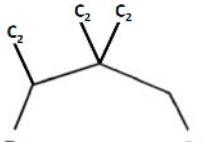
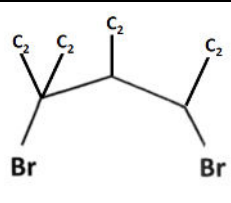
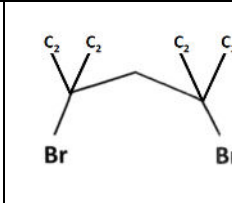
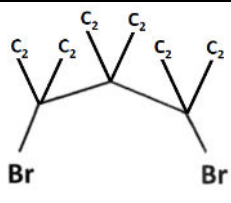
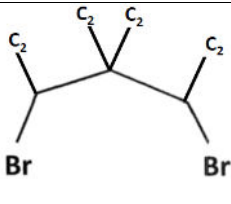
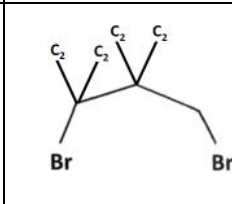

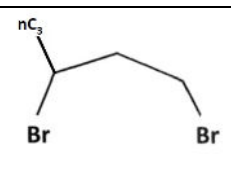
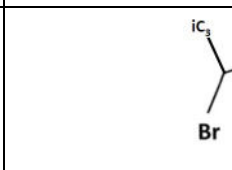
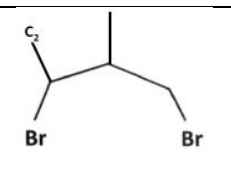
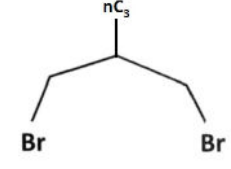

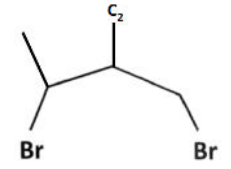
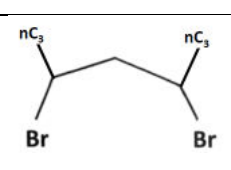
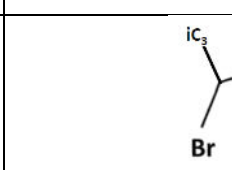
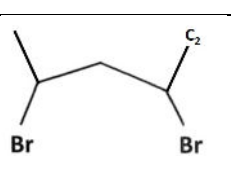
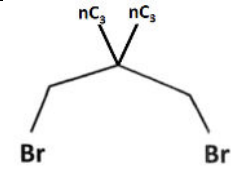
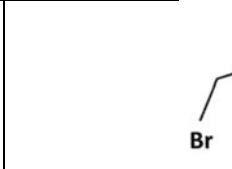
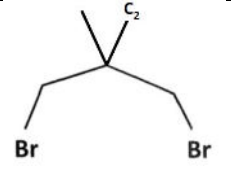
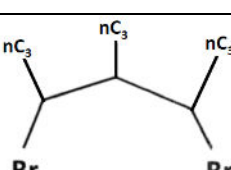
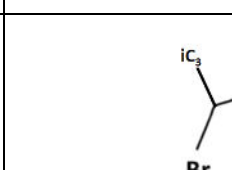
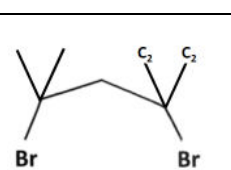
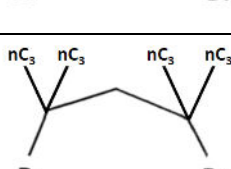
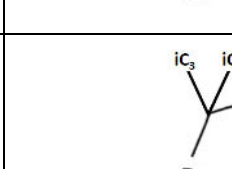
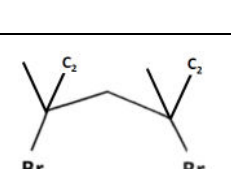
4 to 6 methyl-substituents			
3 methylgroups	4 methylgroups	5 methylgroups	6 methylgroups
			
			
			
			
1 to 3 ethyl-substituents (C ₂ = ethyl)			
1 ethyl group	2 ethylgroups	3 ethylgroups	
			
			
			
			

Figure 5: (continued)

4 to 6 ethyl-substituents (C_2 = ethyl)		
4 ethyl groups	5 ethylgroups	6 ethylgroups
		
		
other building blocks (C_2 = ethyl; nC_3 = n-propyl; iC_3 =isopropyl)		
n-propyl groups	isopropylgroups	mixed substituents
		
		
		
		
		
		

Handbook of Dermatology, 4th Edition, 1993.

Chapter 7: staphylococcal and streptococcal skin infections

The most common bacterial skin infections caused by *Staphylococcus* or *Streptococcus* are:

- **Folliculitis.** Folliculitis is an infection of the hair follicle that lies below the surface of the the skin. Folliculitis is most commonly caused by the bacteria *Staphylococcus aureus*. The infection generally manifests itself as a local, warm, painful, red-colored area of the skin, which is also known as a “boil” or “furuncle”. Boils can range in size from a pea to a golf-ball and can occur on all parts of the body, in particular those parts of the body where the skin is rubbing against clothing or where the skin is exposed to moisture (e.g. from sweating). Folliculitis should not be confused with acne, which is a common skin disease caused by clogged hair follicles becoming infected with the bacterium *Propionibacterium acnes*.

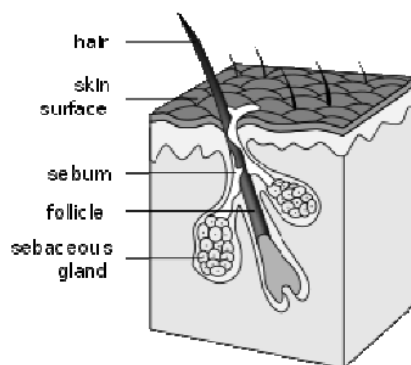


Figure 1: schematic view of a hair follicle, showing the follicle and the sebaceous gland.

- **Cellulitis.** Cellulitis is a bacterial infection of the inner layers of the skin, causing large areas of redness and swelling. Cellulitis is most commonly caused by either *Staphylococcus aureus* or *Streptococcus pyogenes*. Cellulitis should not be confused with the cosmetic condition known as “cellulite”.
- **Impetigo.** Impetigo is a bacterial infection occurring on the surface of the skin, causing yellowish crusts to form on top of the skin. Impetigo occurs in adults but most commonly in children, and in most cases is caused by either *Staphylococcus aureus* or *Streptococcus pyogenes*.
- **Hidradenitis.** Hidradenitis suppurativa is a localized infection of the sweat glands, causing cysts to develop. Hidradenitis is usually caused by *Staphylococcus* strains, such as *S. lugdunensis*.

Bacterial skin infections should be treated by application of antibiotics, either topically or systemically. For mild infections, topical treatment with an antibiotic cream or ointment is usually preferred as it is convenient and avoids the side-effects that may be associated with systemic use of antibiotics.

Active ingredients for use in such antibiotic creams or ointments should be tested for activity against *S. aureus*, for example using the following protocol:

Growth inhibition assay for determining the MIC against *S. aureus*:

The minimum inhibitory concentration (MIC) of a candidate antibiotic can be determined using one or more clinical *S. aureus* isolates known to cause skin infections (for example the isolates 04-227-3567, MW2 or RPAH18).

To perform the assay, an overnight bacterial culture (about 100 CFU/mL, as determined by CFU counting) is inoculated into the wells of a sterile 96-well flat-bottomed plate. Various concentrations of the test compound are then added to the wells according to a two-fold serial dilution with TSB growth medium to a final volume of 150 μ L. A negative control (TSB growth medium without test compound) is also used, and one or more positive controls may also be added. The optical density (OD) of each well is then measured using a plate reader. The plates are then incubated for 24 hours at 37°C and the OD is measured again. The difference between the OD value before incubation and the OD value after incubation is taken as a measure of bacterial cell growth.

The MIC value is then defined as the lowest concentration of the test compound that is capable of inhibiting 99% of *S. aureus* growth compared to the negative control (TSB growth medium without test compound).

Suitable compounds should have a minimum inhibitory concentration or “MIC” in this assay of less than 1 microgram/ml. For example, antibiotics that are commonly used for the topical treatment of skin infections with *S. aureus* (such as rifampicin, clindamycin, gentamicin and oxacillin) all have MIC-values in this assay that lie in the range of 0.1-0.01 microgram/ml.

Antibiotics that are intended for the treatment of staphylococcal and streptococcal infections that lie deep within the skin (such as folliculitis and cellulitis) may also be tested for their ability to penetrate into the skin, for example using the well-known *ex vivo* human skin model described by Weazle and coworkers (see Chapter 15 of this Handbook).

European Patent Application 2,345,678

Date of filing: July 15, 2021 (PCT/US2021/12345)

Publication Date: January 18, 2022 (WO2022/034567)

Priority: US 62/123,456 of July 16, 2020.

Opmerking: zoals aangegeven in de opinie over octrooieerbaarheid zijn bij het indienen van EP 2,345,678 in 2020 de Voorbeelden (“Examples”) 3 en 4 en de daarbij horende tabellen en claim 7 toegevoegd ten opzichte van de ingeroepen Amerikaanse prioriteit US 62/123,456. Deze toegevoegde gedeelten zijn hieronder in “rood en dubbel onderstreept” aangegeven.

COMPOSITIONS FOR THE TREATMENT OF SKIN INFECTIONS.

The present invention relates to the treatment of skin infections and to compositions for the same.

In particular, the present invention relates to compositions for the treatment of skin infections that comprise an active amount of an alkyl-substituted derivative of 1,5-diazabicyclo[3.3.1]nonane.

The compound 1,5-diazabicyclo[3.3.1]nonane (also known as “bicycline” or “BC”) has been described as a multi-purpose disinfectant, food preserving agent and general microbicide (see for example the 1967 Edition of the *Handbook of the Chemical Society of the Union of Soviet Socialist Republics*, Appendix 256).

Bicycline has only hydrogen atoms on the bicycline ring system (and no substituents). The compounds used in the present invention differ from bicycline in that they have at least one aliphatic substituent on at least one of the propyl groups that, together with two nitrogen atoms and a methylene-bridge, form the bicyclic ring system that is characteristic of bicycline and its derivatives.

Thus, the bicycline derivatives used in the present invention are such that they have at least one alkyl substituent on at least one of the following carbon atoms of the bicycline ring system: positions 2, 3, 4, 6, 7 or 8 (positions 1 and 5 are the nitrogen atoms and position 9 is the carbon atom of the methylene bridge). As each of the carbon atoms at these positions may carry up to 2 substituents, each of these positions may be independently be substituted by 0, 1 or 2 alkyl substituents (which may be the same or different), provided that at least one such alkyl substituent is present on the bicycline ring system. This also means that, in the compounds of the invention, the

bicycline ring system will carry a minimum of one alkyl substituent, and may in total carry up to 12 alkyl substituents. However, it is preferred that the compounds used in the present invention contain a total of no more than 5 alkyl substituents, such as 1, 2, 3, 4 or 5 alkyl substituents.

In the compounds used in the invention, each of the alkyl substituents may be independently chosen from C₁ to C₃ alkyl groups such as methyl, ethyl, n-propyl (*i.e.* 1-propyl) and iso-propyl (*i.e.* 2-propyl). The presence of methyl groups is generally preferred, and bicycline derivatives that only contain methylsubstituents are even more preferred for use in the present invention.

Some suitable but non-limiting examples of bicycline-derivatives that can be used in the present invention are listed in the Tables that are provided in the Experimental Section below. The Experimental Part also describes some bicycline-derivatives that are particularly preferred in the practice of the present invention, as well as some specific uses of the derivatives of the invention.

Other bicycline derivatives that are suitable for use as compounds of the present invention can be found by screening a library of bicycline derivatives (such as the combinatorial library described in *Journal of Combinatorial Chemistry*, 2009, pages 3476-3480, which is available for commercial screening purposes from CombiChem Inc., Cambridge, MA) using a suitable assay against *S. aureus*, such as the standard *S. aureus* growth inhibition assay described in Chapter 7 of the Handbook of Dermatology (4th Edition, 1993).

Generally, it was found that alkylated bicycline derivatives have a minimal inhibitory concentration ("MIC") in this assay of less than 0.25 microgram/ml; compared to an MIC value for bicycline of around 0.35 microgram/ml.

Preferred bicycline derivatives will generally have an MIC value in this assay of less than 0.15 microgram/ml, more preferably less than 0.05 microgram/ml.

The bicycline derivatives of the invention (either as explicitly described herein and/or as identified through screening of a library of alkylated bicycline derivatives) may be formulated in a manner known *per se* into a preparation for topical application to the skin, for example using well-known inert ingredients for skin creams, pastes, tinctures and ointments.

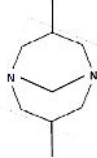
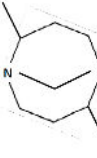
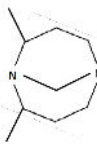
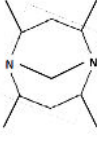

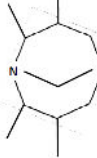
The cream, paste, tincture or ointment of the invention may generally be used to treat skin infections caused by *Staphylococcus* (such as *S. aureus*) or *Streptococcus* (such as *S. pyogenes*), including impetigo, folliculitis and cellulitis.

A suitable treatment regimen will generally comprise applying a cream, paste, tincture or ointment of the invention that comprises between 0.1 and 10 percent by weight of the bicycline derivative to the affected areas of the skin, once or multiple times per day, until the infection has abated.

In addition to the specific use against skin infections described herein, it is expected that the alkylated bicycline-derivatives disclosed herein may also be used for other applications and purposes for which the use of bicycline itself has been suggested or described. Such applications will be clear to the skilled person and may, for example and without limitation, include their use in soap and in other cleaning agents, as a food preserving agent, and more generally as a multi-purpose disinfectant and microbicide.

EXAMPLE 1: "SYMMETRIC" AND "PSEUDO-SYMMETRIC" BICYCLINE DERIVATIVES

The "symmetric" and "pseudo-symmetric" alkylated bicycline-derivatives shown in Table A were synthesized using well-known amine-alkylation reactions and tested for activity against *S. aureus*, using the *S. aureus* growth inhibition assay described in Chapter 7 of the Handbook of Dermatology (4th Edition, 1993). The results are shown in the Table on the next page.

Derivative (name)	Derivative (formula)	MIC (microgram/ml)
Bicycline (reference)	[--]	0.34 [± 0.01]
3,7-dimethyl-bicycline (<i>"Compound A"</i>)		0.22 [± 0.01]
2,6-dimethyl-bicycline (<i>"Compound B"</i>)		0.12 [± 0.01]
2,8-dimethyl-bicycline (<i>"Compound C"</i>)		0.22 [± 0.01]
2,4,6,8-tetramethyl-bicycline (<i>"Compound D"</i>)		0.21 [± 0.01]
2,3,6,7-tetramethyl-bicycline (<i>"Compound E"</i>)		0.13 [± 0.01]
2,3,7,8-tetramethyl-bicycline (<i>"Compound F"</i>)		0.21 [± 0.01]

EXAMPLE 2: PREPARATION OF OTHER “SYMMETRIC”, PSEUDO-SYMMETRIC” AND “ASYMMETRIC” BC-DERIVATIVES

The results mentioned in Example 1 demonstrate that alkylated bicycline-derivatives (which as indicated have MIC values of less than 0.25 microgram/ml in the assay used in Example 1) are more active against *S. aureus* than the reference compound bicycline (which has an MIC value in the same assay of about 0.35 microgram/ml).

Further “symmetric”, “pseudo-symmetric” and “asymmetric” BC-derivatives that are useful in the invention can be found by testing other alkylated bicycline-derivatives in the assay used in Example 1. For example, a library of about 1200 different alkylated bicycline derivatives, available from CombiChem Inc., Cambridge, MA, was screened for activity against *S. aureus*, using the *S. aureus* growth inhibition assay described in Chapter 7 of the Handbook of Dermatology (4th Edition, 1993).

Compounds from this library having an MIC value of less than 0.25 microgram/ml, and preferably less than 0.15 microgram/ml, and preferably less than 0.05 microgram/ml can be further characterized, optimized if needed, and used in the present invention. For this purpose, they can be formulated into a cream or ointment for the treatment of skin infections caused by *S. aureus* or *S. pyogenes*.

EXAMPLE 3: SKIN PENETRATION OF “SYMMETRIC” AND “PSEUDO-SYMMETRIC” BC-DERIVATIVES

A number of representative alkylated bicycline derivatives were tested in a skin penetration assay using a standard ex vivo skin model (the hOSEC model). The results are shown in the Table below, and show that bicycline derivatives with methyl groups penetrate the skin faster than the corresponding derivatives with ethyl- or n-propyl-groups.

In the table below, the skin penetration was calculated as:

$$\underline{[Skin\ penetration\ (in\ mg)] = [20\ mg] \text{ minus } [amount\ remaining\ after\ 5\ minutes\ (in\ mg)]},$$

in which the “amount remaining after 5 minutes (in mg)” is the amount of compound of compound (in mg) that remains on the skin after 5 minutes when the starting amount of 20 mg of the compound (formulated as a cream) is applied on the skin]

<u>Derivative (name)</u>	<u>Derivative (formula)</u>	<u>MIC-value</u> <u>(microgram/ml)</u>	<u>Skin penetration</u> <u>(see comment above)</u>
<u>3,7-dimethyl-bicycline</u> <u>("Compound A")</u>	<u>[See Table above]</u>	<u>0.22</u>	<u>10.3 mg</u>
<u>2,6-dimethyl-bicycline</u> <u>("Compound B")</u>	<u>[See Table above]</u>	<u>0.12</u>	<u>10.9 mg</u>
<u>2,8-dimethyl-bicycline</u> <u>("Compound C")</u>	<u>[See Table above]</u>	<u>0.22</u>	<u>10.7 mg</u>
<u>2,4,6,8-tetramethyl-bicycline</u> <u>("Compound D")</u>	<u>[See Table above]</u>	<u>0.21</u>	<u>11.1 mg</u>
<u>2,3,6,7-tetramethyl-bicycline</u> <u>("Compound E")</u>	<u>[See Table above]</u>	<u>0.13</u>	<u>11.0 mg</u>
<u>2,3,7,8-tetramethyl-bicycline</u> <u>("Compound F")</u>	<u>[See Table above]</u>	<u>0.21</u>	<u>11.2 mg</u>
<u>3,7-diethyl-bicycline</u>	<u>Ethyl-analog of</u> <u>Compound A</u>	<u>0.20</u>	<u>5.8 mg</u>
<u>2,6-diethyl-bicycline</u>	<u>Ethyl-analog of</u> <u>Compound B</u>	<u>0.10</u>	<u>5.6 mg</u>
<u>2,4,6,8-tetra-ethyl-bicycline</u>	<u>Ethyl-analog of</u> <u>Compound D</u>	<u>0.20</u>	<u>5.1 mg</u>
<u>2,3,6,7-tetra-ethyl-bicycline</u>	<u>Ethyl-analog of</u> <u>Compound E</u>	<u>0.14</u>	<u>5.2 mg</u>
<u>3,7-di-n-propyl-bicycline</u>	<u>n-propyl-analog of</u> <u>Compound A</u>	<u>0.23</u>	<u>5.3 mg</u>
<u>2,6-di-n-propyl-bicycline</u>	<u>n-propyl-analog of</u> <u>Compound B</u>	<u>0.13</u>	<u>5.0 mg</u>
<u>2,4,6,8-tetra-n-propyl-</u> <u>bicycline</u>	<u>n-propyl-analog of</u> <u>Compound D</u>	<u>0.21</u>	<u>4.7 mg</u>
<u>2,3,6,7-tetra-n-propyl-</u> <u>bicycline</u>	<u>n-propyl-analog of</u> <u>Compound E</u>	<u>0.11</u>	<u>4.8 mg</u>

EXAMPLE 4: ACTIVITY OF “ASYMMETRIC” BC-DERIVATIVES ON INFECTIONS OF THE SWEAT GLANDS IN THE SKIN

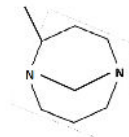
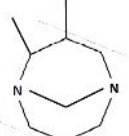
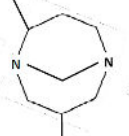
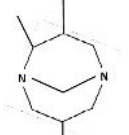
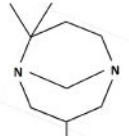
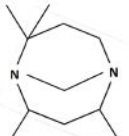
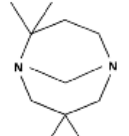

A number of asymmetric bicycline derivatives with only methyl substituents on the bicycline ring system were tested for activity against hidradentitis suppurativa, a localized infection of the sweat glands within the skin caused by *Staphylococcus lugdunensis*.

These bicycline derivatives were formulated into skin cream of the invention containing 1.5 percent by weight of the relevant bicycline derivative, using standard ingredients known per se. This skin cream was applied once daily or three times daily at the site of infection until the symptoms disappeared. Activity of the derivative was measured as the time (in days) until symptoms disappeared.

The results are shown in the Table below. From these results, it can be seen that:

- when applied once daily, asymmetric bicycline derivatives with 1 or 2 methylsubstituents on the bicycline ring system were less active than asymmetric bicycline derivatives with 3, 4 or 5 methylsubstituents on the bicycline ring system;
- asymmetric bicycline derivatives with 3, 4 or 5 methylsubstituents on the bicycline ring system, when applied once daily, were as active as asymmetric bicycline derivatives with 1 or 2 methylsubstituents on the bicycline ring system when applied three time daily;
- when applied three times daily, asymmetric bicycline derivatives with 1 or 2 methylsubstituents on the bicycline ring system were still somewhat less active than asymmetric bicycline derivatives with 3, 4 or 5 methylsubstituents on the bicycline ring system, but the difference was far less pronounced than when the derivatives were applied once daily.

Without being limited to any hypothesis or explanation, we believe this is due to the fact that derivatives with 3, 4 or 5 methylsubstituents show improved persistence at the site of infection compared to derivatives with only 1 or 2 methylsubstituents.

Derivative (name)	Derivative (formula)	No symptoms after once daily application	No symptoms after three times daily application
2-methyl-bicycline		After 11 days	After 7 days
2,3-dimethyl-bicycline		After 10 days	After 6 days
2,7-dimethyl-bicycline		After 10 days	After 6 days
2,3,7-trimethyl-BC		After 6 days	After 5 days
2,2,7-trimethyl-bicycline		After 6 days	After 5 days
2,2,6,8-tetramethyl-bicycline		After 6 days	After 5 days
2,2,7,7-tetramethyl-bicycline		After 6 days	After 5 days
2,3,4,6,8-pentamethyl-bicycline		After 6 days	After 5 days

CLAIMS

1. Preparation for the topical treatment of skin infections, comprising a derivative of bicycline that carries at least one C₁ to C₃ alkyl substituent on one of the following positions of the bicycline ring system: 2, 3, 4, 6, 7 and/or 8, and one or more further ingredients known per se to be suitable for a preparation for topical use on the skin.
2. Preparation according to claim 1, in which the total number of C₁ to C₃ alkyl substituents carried on positions 2, 3, 4, 6, 7 and/or 8 of the bicycline ring system is between 1 and 5 alkyl substituents.
3. Preparation according to claim 1 or 2, in which the substituents are methyl substituents.
4. Preparation according to any of claims 1 to 3, in which the bicycline derivative has an MIC value in the standard *S. aureus* growth inhibition assay of less than 0.25 mg/ml.
5. Preparation according to any of claims 1 to 4, in which the bicycline derivative has an MIC value in the standard *S. aureus* growth inhibition assay of less than 0.15 mg/ml.
6. Preparation according to any of claims 1 to 5, in which the bicycline derivative has an MIC value in the standard *S. aureus* growth inhibition assay of less than 0.05 mg/ml.
7. Preparation according to any of the preceding claims, in which the bicycline derivative is an asymmetric bicycline derivative in which the total number of C₁ to C₃ alkyl substituents carried on positions 2, 3, 4, 6, 7 and/or 8 of the bicycline ring system is between 3 and 5 alkyl substituents.
8. Preparation according to any of the preceding claims, which is a crème or ointment.
9. Preparation according to any of the preceding claims, for the treatment of skin infections caused by *Staphylococcus aureus* or *Streptococcus pyogenes*.
10. Preparation according to any of the preceding claims, for the treatment of impetigo, folliculitis or cellulitis.

Ventoux ! Hét tijdschrift voor de avontuurlijke fietser.

Jaargang 17, Maart 2005.

Eens een andere "heilige" berg: een tocht naar de Yeak Loum in Cambodja.

Door Jan Duikelkerke.

"Heilige bergen" - we kennen ze allemaal: de Ventoux, de Galibier, de Gavia en natuurlijk de 21 bochten van "onze" heilige berg, de Alpe d'Huez.

Maar er zijn ook andere heilige bergen, zoals de Ararat, de Nanda Devi in India en de Chomolungma (aan u en mij beter bekend als Mount Everest). Maar slechts weinige van deze zijn te bereiken met een racefiets of een mountainbike, laat staan te beklimmen.

Wij werden getroffen door de beschrijving in een reisgids van een andere heilige berg, de Yeak Loam vulkaan in de Rattanakiri provincie van Cambodja, ongeveer 600 km ten noordoosten van Phnom Penh en ongeveer 500 km ten noordwesten van Ho Chi Minh Stad in Vietnam.

"Surrounded by unspoilt forest, the clear turquoise waters of Yeak Laom lake, 800m across and up to 50m deep, are warm and inviting. There are wooden platforms for bathing, and the 3km track around the lake perimeter makes for a tranquil little hike. The setting is mesmerizing: stands of bamboo rim the lake, lush ferns sprout from fallen trees, the reflections of clouds skim across the lake's surface, and in the late afternoon an ethereal mist can be seen rising off the water."



Dus op 12 april vertrokken we met een groep van vier op de fiets uit Ho Chi Minh Stad (het vroegere Saigon). Het eerste stuk door Vietnam was geweldig: er zijn naar schatting meer dan 30 miljoen fietsen in Vietnam, en bijna net zoveel scooters. Het leek bij tijd en wijle wel of we over het Damrak reden !

Maar eenmaal in Cambodja werden de wegen slechter en begonnen de eerste ongemakken, vooral door de vele lekke banden, het vochtige, warme weer en het vele pittige eten. Het zweet kwam uit alle naden en kieren ! Vooral mijn broer Willem kreeg behoorlijk last van zadelpijn. Het bleek al snel dat het niet om gewoon wat irritatie door de gemaakte kilometers ging, maar om de onder profwielrenners zo gevreesde “derde bal”, een onderhuidse infectie op het zitvlak (zo groot als een ei !) die naar verluidt de Fransman Laurent Fignon ooit eens van een Tourzege heeft afgehouden (u weet wel, met die tijdrif op de Champs Élysées tegen Greg Lemond). Ik zal u de foto’s maar besparen.

Gelukkig vonden we in een klein dorpje een lokale apotheek. En leg dan maar eens uit wat het probleem is ! Uiteindelijk toch gelukt, en de apotheker maakte voor ons ter plekke een speciaal zalfje. Wat er allemaal precies in zat weten we niet: het enige woord dat we enigzins konden begrijpen was “bicycline”. Daar hadden we nog nooit van gehoord, maar het leek ons wel toepasselijk, en na een paar dagen smeren ging het al een stuk beter !

Zo konden we onze tocht voortzetten, en na een tocht van 10 dagen bereikten we ons doel, de Yeak Loam vulkaan in Cambodja. En ik kan u zeggen, de duik in het warme water was alle ongemakken meer dan waard !

