

**PCT**WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁵ : A61K 39/395, 45/06 // (A61K 39/395 A61K 37/38) (A61K 39/395 A61K 31/135)	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 91/10449 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 25. Juli 1991 (25.07.91)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP91/00004		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>
(22) Internationales Anmeldedatum: 4. Januar 1991 (04.01.91)		
(30) Prioritätsdaten: P 40 00 327.2 8. Januar 1990 (08.01.90) DE		
(71)(72) Anmelder und Erfinder: HEIDEN, Stefan [DE/DE]; Hessebergstrasse 4, D-3405 Rosdorf 3 (DE).		
(74) Anwalt: JAHN-HELD, Wilhelm, W.; Schöne Aussicht 8, D-3513 Staufenberg-Landwehrhagen (DE).		
(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), AU, BE (europäisches Patent), CA, CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent), US.		
(54) Title: DRUG FOR IMPROVING THE REACTIONS OF THE OVARY AND THE PRODUCTION OF OVA AND EMBRYOS IN DOMESTIC MAMMALS IN CONNECTION WITH BIOTECHNOLOGICAL EMBRYO TRANSFER		
(54) Bezeichnung: ARZNEIMITTEL ZUR VERBESSERUNG DER OVARREACTIONEN UND DER EIZELL- UND EMBRYONEN-PRODUKTION BEI HAUSSÄUGETIEREN IN VERBINDUNG MIT BIOTECHNOLOGISCHEM EMBRYONENTRANSFER		
(57) Abstract		The drug for improving the reaction of the ovary and the production of ova and embryos in domestic mammals in connection with biotechnological embryo transfer is characterized in that it consists of inhibin-neutralizing antibodies or of said antibodies in combination with hormones which promote superovulations, which are directed against animal and human, natural or recombinant inhibin or its subunits, fragments and derivatives, and can neutralize the biological activity of the inhibin produced in the gonads and thereby bring about, within one reproductive cycle, multiple follicle growth and multiple follicle ripening up to multiple ovulation by passive immunization, and by its alternative embodiment and by a process for producing it.
(57) Zusammenfassung		Das Arzneimittel zur Verbesserung der Ovarreaktionen und der Eizell- und Embryonen-Produktion bei Haussäugetieren in Verbindung mit biotechnologischem Embryonentransfer ist dadurch gekennzeichnet, dass dieses aus Inhibin-neutralisierenden Antikörpern oder aus solchen in Verbindung mit Superovulationen fördernden Hormonen besteht, die gegen tierartlich und humanes, natürlich vorkommendes oder rekombinantes Inhibin oder seinen Untereinheiten, Fragmenten, Derivate, gerichtet sind und die biologische Aktivität des in den Gonaden gebildeten Inhibins aufheben können und dadurch innerhalb eines Fortpflanzungszyklus multiples Follikelwachstum und multiple Follikelreifung bis zur Mehrfachovulation durch passive Immunisierung bewirken, und durch seine alternative Ausgestaltung und durch ein Verfahren zu seiner Applikation.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	ES	Spanien	ML	Mali
AU	Australien	FI	Finnland	MN	Mongolei
BB	Barbados	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BE	Belgien	GA	Gabon	MW	Malawi
BF	Burkina Faso	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BG	Bulgarien	GN	Guinea	NO	Norwegen
BJ	Benin	GR	Griechenland	PL	Polen
BR	Brasilien	HU	Ungarn	RO	Rumänien
CA	Kanada	IT	Italien	SD	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SE	Schweden
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SU	Soviet Union
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE	Deutschland	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		

"Arzneimittel zur Verbesserung der Ovarreaktionen und der Eizel- und Embryonen-Produktion bei Haussäugertieren in Verbindung mit biotechnologischem Embryonentransfer"

1 Es ist bekannt für Säugetiere, die innerhalb eines Fortpflanzungszyklus in der Regel natürlicherweise nur eine befruchtete Eizelle produzieren (monotope Tierarten),

5 eine Steigerung der Produktion von Eizellen und daraus von Embryonen durch Einsatz von Gonadotropinen, wie beispielsweise HCG, HMG, PMSG, FSH, LH und/oder GnRH, das die Freisetzung von Gonadotropinen aus der Hypophyse steuert, zu

10 bewirken.

Es ist dadurch möglich, hintereinander eine Serie von befruchtungsfähigen Eizellen zu produzieren und diese nach der Befruchtung als Embryonen zu gewinnen und auf Empfängertiere zu transferieren.

15 Diese Stimulationsmethode zur Erzielung von Superovulationen hat den Nachteil, dass diese nur durch Überdosierung von gonadotropen Hormonen erreicht werden kann.

20 Aufgrund der endogenen Gegenregulation gegen Mehrfachovulationen besonders bei monotypen Haussäugetierarten resultieren aus solchen bekannten Stimulationsmethoden

25 unbefriedigende Ovarreaktionen, insbesondere hinsichtlich der starken zwischen- und innerartlichen und individuellen Variabilität, sowie der daraus resultierenden Anzahl qualitativ hochwertiger Embryonen.

30 Ein durch Überdosierung insbesondere von Gonadotropinen bedingter, erheblicher Mehrverbrauch von Oogenien und Oozyten führt zu einer Verminderung der potentiellen Lebensproduktionsleistung eines Spendertieres.

- 2 -

- 1 Ein solcher starker Eingriff in die
endogen endokrine Regulation von
Follikulogenese, Follikelreifung und in
die Ovulationsprozesse führen zu
5 temporären und auch zu bleibenden
Folgeschäden der Reproduktionsleistung
von Spendertieren.
- Diese Nachteile nach dem Stand der
Technik werden durch das Arzneimittel
10 der Erfindung vermieden.
- Soweit nach dem Stand der Technik
als Inhibin wirkende Stoffe einge-
setzt wurden, erfolgte diese Verwendung
als aktive Immunisierung oder zur
15 Untersuchung der Auswirkungen auf
physiologische Reproduktionsparameter.
- Soweit nach dem Stand der Technik
als Inhibin- neutralisierenden Anti-
körper wirkende Stoffe eingesetzt
wurden, erfolgte diese Verwendung
20 zum diagnostischen Nachweis und zur
Erzielung einer Profertilitäts-
wirkung bei individuellen, weiblichen
Säugetieren.
- 25 Fertilität bezeichnet die Fähigkeit
zur Fortpflanzung eines Individuums
und die Kapazität des Individuums,
eine bestimmte Anzahl lebender Nach-
kommen je Fortpflanzungsperiode
hervorzubringen.
- 30 Eine Einsetzung zur Herbeiführung von
Superovulation ist dagegen keine
Fruchtbarkeits- fördernde Massnahme.

- 3 -

1 Gegenstand der Erfindung ist ein
Arneimittel zur Verbesserung der
Ovarreaktionen und der Eizell- und
Embryonen- Produktion bei Haussäuge-
5 tieren in Verbindung mit biotechnolo-
gischem Embryonentransfer.

Es ist die Aufgabe des Arzneimittels der
Erfindung durch gezielten Eingriff in die
zentrale endogene endokrine Regulation
des Ovulationsraten- Kontrollsystems
10 die Superovulation einzuleiten und
dadurch eine universellere Methode zur
Superovulationsimulation für ver-
schiedene Haussäugetierarten zu ent-
wickeln.

Weiter ist es die Aufgabe der Erfindung
konstantere Ovarreaktionen und einen
höheren Anteil transfertauglicher, quali-
tativ hochwertiger Embryonen zu erzielen
20 und dadurch die Wirtschaftlichkeit des
Embryotransfers bei Haussäugetieren
zu steigern.

Die Lösung der Aufgabe der Erfindung
ist im kennzeichnenden Teil des
25 Patentanspruches 1 definiert.

Das Arzneimittel der Erfindung ist
alternativ und bevorzugt in den Unter-
ansprüchen definiert.

- 4 -

1 Das Arzneimittel der Erfindung ist
dadurch gekennzeichnet,
dass dieses aus Inhibin- neutralisierenden
Antikörpern besteht, die gegen tierartlich
5 unterschiedliches und humanes, natürlich
vorkommendes oder rekombinates (synthetisches)
Inhibin oder seiner Untereinheiten, oder
seiner Fragmente oder seiner Derivate
gerichtet sind, und welche die biologische
10 Aktivität des in Gonaden gebildeten
Inhibins aufheben können und dadurch
innerhalb eines Fortpflanzungszyklus
multiples Follikelwachstum und multiple
Follikelreifung bis zur Mehrfachovulation
15 (Superovulation) bei Haussäugetieren
durch Immunisierung bewirken.
Weiter ist das Arzneimittel der Erfin-
dung durch eine andere, unabhängige
Lösung gekennzeichnet. Diese ist
20 dadurch gekennzeichnet, dass dieses
aus Inhibin- neutralisierenden
Antikörpern in Verbindung mit
Mehrfachovulationen (Superovulation)
fördernden Hormonen, vorzugsweise
25 mit Gonadotropinen und/ oder
mit GnRH (Gonadotropin-Releasing-
Hormon, und / oder mit Antiöstrogenen
in Form von synthetischen Wirkstoffen
oder Antikörpern, vorzugsweise Glomiphen,

- 5 -

- 1 oder Tamoxifen, und/oder mit Anti-
androgenen in Form von synthetischen
Wirkstoffen oder Antikörpern, vorzugs-
weise gegen Androsteron, Testosteron,
5 Dihydrotestosteron, besteht dass gegen
tierartlich unterschiedliches,
und humanes, natürlich vorkommendes ,
oder rekombinantes (synthetisches)
Inhibin oder seiner Untereinheiten,
10 oder seiner Fragmente oder seiner
Derivate gerichtet ist,und welches
die biologische Aktivität des
in Gonaden gebildeten Inhibins
aufheben kann und dadurch innerhalb
15 eines Fortpflanzungszyklus multiples
Follikelwachstum und multiple
Follikelreifung bis zur Super-
ovulation durch Immunisierung
bewirkt .
- 20 Das Arzneimittel der Erfindung ist
dadurch alternativ und bevorzugt
gekennzeichnet, dass dieses aus
spezifischen, die biologische
Aktivität von Inhibin im lebende
Organismus neutralisierenden, poly-
25 klonalen oder monoklonalen Anti-
körpern (Antiserum) besteht.

- 6 -

- 1 Das Arzneimittel der Erfindung ist
 auch dadurch alternativ und bevorzugt
 gekennzeichnet, dass dieses aus
 Antikörpern gegen natürlich vorkommende
5 oder rekombinante Inhibine oder deren
 Untereinheiten, oder deren Fragmenten,
 oder deren Derivaten besteht und deren
 vollständiges Molekül ein Glykoprotein
 darstellt, die vorzugsweise als Heterodimer
10 aus zwei unterschiedlichen, durch Di-
 Sulfidbrücken verbundenen, Untereinheiten
 (α und β) bestehen und deren Molekulargewicht
 5 bis 120 kDalton (kDa) beträgt
 und die selektiv die FSH- Sekretion
15 unterdrücken.
- Das Arzneimittel der Erfindung ist
 auch dadurch alternativ und bevor-
 zugt gekennzeichnet, dass dieses
 in flüssiger Phase, vorzugsweise
20 durch intravenöse und/ oder durch
 subkutane und/ oder durch intramus-
 kuläre Applikation angewendet wird.
- Das Arzneimittel der Erfindung ist
 auch durch ein Verfahren zu
25 seiner Verwendung alternativ
 und bevorzugt gekennzeichnet.
 Dieses Verfahren ist dadurch gekennzeichnet,
 dass die Applikation als mehrma-
 lige Injektion in definierten
30 Zeitabständen, vorzugsweise von
 12 oder 24 Stunden, über mehrere,
 aufeinander folgende Tage,
 vorzugsweise von 3,5 bis 5 Tagen,
 erfolgt.

- 7 -

1 Dieses Verfahren ist auch
dadurch alternativ und bevorzugt
gekennzeichnet, dass
die Applikation in der mittleren
5 Lutealphase, vorzugsweise am
7. bis 11. Zyklustag, erfolgt.

Weiter ist das Verfahren der
Erfindung dadurch gekennzeichnet,
dass die Applikation in gleicher
10 oder absteigender Dosierung mit
je 2 gleichen, aufeinander fol-
genden Mengen erfolgt.

Die folgenden Autoren beschreiben die
Charakterisierung eines Inhibin
15 (Antigen) für die Tierart Rind.

Robertson, D.M., et all, Molecular
and cellular Endocrinology, 44 (1986)
271-277.

Forage, R.G., et all. Proc. Natl. Acad. Sci.,
20 USA (1986) 3091-3095.

Es wird die Isolierung und Charakte-
risierung durch Klonierung und
Sequenzanalyse von DNA, die für
die Untereinheiten von Inhibin
25 aus boviner Follikelflüssigkeit
(bFF) kodieren, beschrieben.

Es wurde die 31 kDa- Form des Inhibins
durch Einführung eines pH- 4,75- Präzi-
pitationsschrittes in die beschriebene

- 8 -

- 1 Reinigungsmethode für das 58 kDa-Inhibin aus bFF erzeugt. Dieses ist daher ein Spaltungsprodukt von 58 kDa-Inhibin.
- 5 Das Arzneimittel der Erfindung versteht unter Antikörpern solche, welche die biologische Aktivität der in Gonaden produzierten Inhibine im Tier neutralisieren und dadurch wirkungslos machen.
- 10 Miyamoto K. et all beschreiben in Biochemical and Biophysical Research communications, Vol.136, No.3 (1986), 1103 - 1109 Inhibin- Antikörper für die Tierart Rind. Dies sind monoklonale Antikörper gegen das bFF 32 kDa- Inhibin aus boviner Follikelflüssigkeit.
- 15 Monoklonale Antikörper sind gegen bFF 32 kDa- Inhibin unter Anwendung von Hybridisierungstechnik in Mäusen (Stamm Balb/c) bekannt.
- 20 Ein bestimmter Antikörper, Typ 256 H, erkennt spezifisch die bovine 20 kDa (α -Untereinheit) und 13 kDa (β - Untereinheit) von bovinem 32 kDa- Inhibin.
- 25 Dieser weist im Vergleich zu anderen Antikörpern eine strikte Spezifität für die bovine 20 kDa- Untereinheit auf.

- 9 -

- 1 Das Arzneimittel der Erfindung nach
Anspruch 1 ist vorteilhaft bei der
Tierart Pferd geeignet wegen der
fehlenden Ansprechbarkeit dieser
Tierart auf Gonadotropin- Präparate.
- 5 Das Arzneimittel nach Anspruch 2
ist bei den meisten Haussäugetieren
bezüglich der Ovarreaktionen überlegen.
- 10 Die Verwendung des Arzneimittels der
Erfindung nach Anspruch 2 wird
beispielsweise wie folgt beschrieben.
Es wird die Wirkung der Kombination
von Inhibin- neutralisierenden Anti-
körpern (Antiserum) in Verbindung
mit Superovulationen fördernden Hormonen
(Gonadotropin) nachgewiesen.
- 15 Es stehen 15 Rinder der Rasse " Deutsche
Schwarzbunte " mit etwa 75% " Holstein-
Frisian " - Einkreuzung in den Alters-
klassen 17,5 bis 25 Monate und mit den
Gewichtsklassen von etwa 350 bis 410 kg
aus einem landwirtschaftlichen Betrieb
zur Verfügung.
- 20 Diese Rinder wurden vorsynchronisiert
mit 2- maliger Injektion von je
500 µg Chloprostesterol der Handelsmarke
" Estrumate " , Handelsprodukt der
Coopers Tierarzneimittel GmbH, DE-
3006 Burgwedel.

- 10 -

- 1 Die Injektionen erfolgten im Abstand von 11 Tagen. Danach wurden die Rinder nach dem Zufallsprinzip einer von 2 Gruppen zugeteilt.
- 5 Die Rinder befanden sich zu Beginn der Behandlung am 9. Zyklustag. Es wurde den Rindern der Gruppe I, Kontrollgruppe, mit n = 8 Rindern, eine Gesamtdosis von 23,8 mg
- 10 NIH- FSH- Standart- Äquivalent (National Institute of Health- FSH) in 12-stündigem Abstand über 3,5 Tage in absteigender Dosierung mit 4,2 / 4,2/ 3,5 / 3,5 / 2,8 / 2,8 / 2,8 mg FSH- Äquivalent appliziert.
- 15 Es wurde zusätzlich zur 6. und 7. Injektion je 500 µg Chloprostenol zur Einleitung der Luteolyse verabreicht. Unter Chloprostenol wird das wasserlösliche Natriumsalz verstanden.
- 20 Die künstliche Besamung erfolgte 36, 48, 60, 72 Stunden nach Einleiten der Luteolyse mit tiefgefrorenem Sperma eines einzigen Bullen.
- 25 Den Rindern der Gruppe II mit n = 7 Rindern wurde zusätzlich zu der vorstehend beschriebenen Behandlung zugleich mit den FSH- Injektionen je 20 ml eines mit 4 Schafen gepoolten Antiserums gegen Inhibin S- Antiserum i.v. injiziert.

- 11 -

1 Zur Erzeugung dieses Serums wurden
4 Schafböcke mit einer gereinigten
Präparation von Inhibin aus boviner
Follikelflüssigkeit, bFF, die auf einem
5 Schlachthof von Rindern gewonnen wurde,
aktiv immunisiert.
Die Rinder, aus deren Ovarien die
Follikelflüssigkeit gewonnen wurde,
sind vorher mit PMSG zur Erhöhung der
10 Inhibin- Konzentration in der bFF
behandelt worden.
Die Schafböcke wurden zunächst mit
je 2,5 mg Protein einer gereinigten
Inhibin- Präparation, gelöst in 2,0
15 ml einer 0,9 %-igen NaCl- Lösung und
mit 2,0 ml kompletten Freundschen
Adjuvanz grundimmunisiert.
Die Boosterungen erfolgten am 20.
und 50. Tag nach der Grundimmunisierung
20 mit je 2,0 und 1,8 mg Protein, gelöst in
2,0 ml 0,9 %-igen NaCl- Lösung und
mit 2,0 ml inkomplettem Freudschem
Adjuvanz.
Die Serumgewinnung erfolgte am 7. und
25 10. Tag nach der 2. Boosterung. Das
Antiserum der 4 Schafböcke wurde zu
je gleichen Volumenteilen gepoolt
und fraktioniert, 150 ml, und bei
- 20°C gelagert.

- 12 -

Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Behandlung: Eizellen / Embryonen

Komponenten n Cl +/- total

Folltropin

23,8 mg 8 10,5 5,88 7,9

Folltropin

23,8 mg + 7 14,1 3,29 9,6

S- Antikörper

gegen Inhibin

Behandlung: Eizellen/Embryonen

Komponenten +/- befruchtet +/- % transfer-
tauglich +/- %

Folltropin 4,76 5,1 3,27 66 3,8 3,06 48
23,8 mg

Folltropin 2,64 8,6 2,44 90 8,3 2,21 86
23,8 mg +

S- Antikörper
gegen Inhibin

Die Zahlenwerte sind mit den mittleren
Abweichungen ($n - 1$) angegeben als
Durchschnittswerte, die sich aus dem
arithmetischen Mittel der Summe der
Einzelwerte der Tiere ergeben.

- 13 -

1 Folltropin ist eine aus Hyperphysenzellen
 von Schlachtschweinen gewonnenen Gonado-
 tropin- Präparation mit geringem LH- Anteil.
5 Es wurden verwendet: Folltropin, Handels-
 produkt der Vetrepharm Inc., London, Ontario.
 Vertrieb für DE: Praemix GmbH, Mannheim.

 Es bedeuten in der Tabelle:

 n = Anzahl der Versuchstiere,
10 G1 = Gelbkörper, ermittelt durch
 rektale Palpation, als Merkmal
 der Anzahl erfolgter Ovulationen.
 total = Anzahl aller gewonnenen Eizellen,
 unbefruchtet und der Embryonen,
 % = auf " total " bezogene Zahlenwerte,
15 Superovulation - förderndes Hormon =
 Folltropin, Handelsprodukt.

- 14 -

- 1 Die Behandlung mit Folltropin in der Gruppe I,
Kontrollgruppe zeigt eine durchschnittliche
Gewinnung von 7,9 Embryonen und Eizellen
pro Einzeltier. Der Anteil befruchteter
5 Embryonen beträgt 66 % (5,1) und der Anteil
an transfertauglichen Embryonen 48 % (3,8).
Das Arzneimittel der Erfindung mit der
Kombination von Antikörpern und Gonado-
tropinen führt zu einer unerwarteten und
10 erheblichen Steigerung der Gewinnung von
Eizellen und Embryonen auf 9,6 und des
Anteiles der befruchteten Embryonen auf
90 % (8,6) und der transfertauglichen
Embryonen auf 86 % (8,3).
- 15 Wenn eine durchschnittliche Trächtigkeits-
rate aus Embryonentransfer von 60 %
zugrunde gelegt wird, dann können aus 3,8
transfertauglichen Embryonen, Gruppe I,
in der Praxis im Durchschnitt 2,3 Trächtig-
keiten erwartet werden.
Die mit dem Arzneimittel der Erfindung erzeug-
ten 8,3 transfertauglichen Embryonen führen
dagegen unerwartet zu einer Steigerung
auf zu erwartende 5,0 Trächtigkeiten.
- 20 Das Arzneimittel der Erfindung führt also über-
raschend zu einer Verdoppelung der Anzahl an
Nachkommen eines Spendertieres gegenüber dem
Stand der Technik.

- 15 -

- 1 Ein weiterer, praktischer Versuch wurde
unter ähnlichen Bedingungen in einem anderen
Betrieb mit Rindern durchgeführt.
Es standen 7 Rinder der gleichen Rasse in
5 den Altersklassen von etwa 16 bis 19
Monaten und in den Gewichtsklassen von
etwa 320 bis 360 kg zur Verfügung.
Die Synchronisierung, sowie die weitere
Behandlung der Rinder erfolgte wie im
10 ersten Versuch.
Die Rinder in Gruppe I, Komtrollgruppe mit
n = 3, wurden abweichend von Versuch 1
mit einer Gesamtdosis von 16,9 mg NIH-FSH-
Standart- Äquivalent , Folltropin, in
15 gleicher Weise behandelt. Die Einzeldosie-
rungen betrugen 3,15 / 3,15 / 2,45 / 2,45/
1,9 / 1,9 mg für die jeweilige Injektion.
Den Rinder in Gruppe II, Versuchsgruppe mit
n = 4 Rindern, wurden zusätzlich zur Behand-
20 lung der Kontrollgruppe I zeitgleich mit
den FSH- Injektionen je 15 ml eines von 6
Kaninchen gepoolten Antiserums gegen Inhibin
i.v. injiziert.
Die Erzeugung des Kaninchen- Antiserums,
25 K- Antiserum, gegen Inhibin erfolgte analog
zur, bei den Schafböcken, angewandten Methode.

- 16 -

Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Behandlung: Eizellen/ Embryonen

Komponenten n Cl +/- total

Folltropin 3 14,7 4,9 5,3
16,9 mg

Folltropin 4 17,0 1,4 11,8
16,9 mg +
K- Antiserum
gegen Inhibin

Eizellen/Embryonen

Komponenten +/- befruchtet +/- % transfer- +/- %
tauglich

Folltropin 4,2 4,0 3,6 /5 2,0 2,0 38
16,9 mg

Folltropin 2,2 10,3 1,3 87 6,5 1,9 63
16,9 mg +
K- Antiserum
gegen Inhibin

Das Arzneimittel der Erfindung mit der Kombination von Antikörpern und Gonadotropinen führt auch in diesem Versuch zu einer erheblichen Steigerung

- 17 -

1 der durchschnittlich gewonnenen Eizellen und
Embryonen von 5,3 auf 11,8, sowie einer erheb-
lichen Steigerung des Anteiles befruchteter
Embryonen von 75 % (4,0) auf 87 % (10,3)
5 und der transfertauglichen Embryonen von
38 % (2,0) auf 63 % (6,5).

Bei einer erzielbaren Trächtigkeitsrate von
60 % aus Embryonentransfer können aus 2,0
transfertauglichen Embryonen durchschnittlich
10 1,2 Trächtigkeiten erwartet werden.

Die Anwendung des Arzneimittels der Erfindung
führt dagegen mit 6,5 transfertauglichen
Embryonen pro Spendertier zu einer
Steigerung auf 3,9 zu erwartende Trächtigkeiten.
15 Es wird damit das Ergebnis des ersten Versuches
unabhängig bestätigt. Dieses Ergebnis ist
überraschend.

Die Versuche wurden vom Erfinder durchgeführt.

- 18 -

- 1 Es kann auch noch folgendes, überraschende Ergebnis aus den Versuchen festgestellt werden:
In beiden Versuchen ist die mittlere Abweichung der Einzelwerte vom Mittelwert (Durchschnittswert) bei höheren Absolutwerten aller untersuchten Parameter in den mit dem Arzneimittel der Erfindung behandelten Gruppen erheblich geringer als in den Kontrollgruppen.
- 5 Eine Verbesserung der Stimulation erfolgt insbesondere auch durch konstantere Ovarreaktionen des Arzneimittels der Erfindung.
- 10 Der Einsatz von Inhibin neutralisierenden Antikörpern erfolgt nach dem Stand der Technik durch Einzelinjektion am 2. oder am 8. Zyklustag.
Dies bestätigen die folgenden Veröffentlichungen:
- 15 J.H.M. Wrathall et all, Journal of Endocrinology (1990) 124, 167-176.
Siehe Seite 169, rechte Spalte, unter "Experiment 2", Zeile 7 - 9: "On day 2".
- 20 G.E. Mann et all. , l.c., (1989) 123, 383-391. Siehe Seite 385, linke Spalte, unter "Immunization experiment", Zeile 15:
" " On day 8 of the luteal phase".

- 19 -

- 1 Das Arzneimittel der Erfindung wird dagegen wie folgt appliziert:
Es erfolgen mehrmalige Injektionen in definierten Zeitabständen, vorzugsweise
5 in 12 oder 24 Stunden über mehrere, aufeinander folgende Tage, vorzugsweise zwischen 3,5 und 4 Tagen.
Die Behandlung erfolgt im allgemeinen am optimalsten in der Lutealphase, vorzugsweise vom 7. bis 11. Zyklustag. In diesem Intervall tritt auf den Ovarien eine neue Welle wachsender Follikel auf.
10 Ein ähnliches Behandlungsschema wird beim Embryonentransfer bei der Behandlung mit Gonadotropin angewendet.
Das Arzneimittel der Erfindung bietet den technischen Vorteil einer gesteigerten Produktion von qualitativ hochwertigen, transfertauglichen Embryonen pro Spülung
15 eines Spendertieres bei erheblich konstanteren Ovarreaktionen.
Die dadurch erhöhte Produktion an wertvollen Nachkommen bewirkt eine erhebliche Steigerung der Wirtschaftlichkeit von
20 Embryonentransfer- Programmen, ET-Pro-grammen), insbesondere bei Kindern.

- 20 -

- 1 Das Arzneimittel der Erfindung bietet den weiteren Vorteil, dass seine Anwendung auch bei solchen Tierarten möglich ist, die bisher nicht oder
- 5 nur mit geringem Erfolg stimuliert werden können, insbesondere bei Stuten.

-21 -

P a t e n t a n s p r ü c h e

- 1 1. Arzneimittel zur Verbesserung der Ovar-
reaktionen und der Eizell- und Embryonen-
Produktion bei Haussäugetieren in Ver-
bindung mit biotechnologischem
5 Embryotransfer, dadurch gekennzeichnet,
dass dieses aus Inhibin- neutralisierenden
Antikörpern besteht, die gegen tierartlich
unterschiedliches und humanes, natürlich
vorkommendes oder rekombinates (syntetisches)
10 Inhibin oder seiner Untereinheiten, oder
seiner Fragmente oder seiner Derivate
gerichtet sind, und welche die biologische
Aktivität des in Gonaden gebildeten
Inhibins aufheben können und dadurch
15 innerhalb eines Fortpflanzungszyklus
multiples Follikelwachstum und multiple
Follikelreifung bis zur Mehrfachovulation
(Superovulation) bei Haussäugetieren
durch Immunisierung bewirken.

ERSATZBLATT

- 28 -

- 1 2. Arzneimittel zur Verbesserung der
Ovarreaktionen und der Eizell-
und Embryonen- Produktion bei
Haussäugetieren in Verbindung mit
5 biotechnologischem Embryonentransfer,
in Abänderung von Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, dass dieses
aus Inhibin- neutralisierenden
Antikörpern in Verbindung mit
10 Mehrfachovulationen(Superovulation)
fördernden Hormonen, vorzugsweise
mit Gonadotropinen und/ oder
mit GnRH (Gonadotropin-Releasing-
Hormon, und / oder mit Antiöstrogenen
15 in Form von synthetischen Wirkstoffen
oder Antikörpern, vorzugsweise Glomiphen,
oder Tamoxifen, und/oder mit Anti-
androgenen in Form von synthetischen
Wirkstoffen oder Antikörpern, vorzugs-
weise gegen Androsteron, Testosteron,Dihydro-
20 testosteron, besteht, dass gegen
tierartlich unterschiedliches,
und humanes, natürlich vorkommendes ,
oder rekombinantes (synthetisches)
Inhibin oder seiner Untereinheiten,
25 oder seiner Fragmente oder seiner
Derivate gerichtet ist,und welches
die biologische Aktivität des
in Gonaden gebildeten Inhibins
aufheben kann und dadurch innerhalb
30 eines Fortpflanzungszyklus multiples
Follikelwachstum und multiple
Follikelreifung bis zur Super-
ovulation durch Immunisierung
35 bewirkt..

-23 -

- 1 3. Arzneimittel nach den Ansprüchen
 1 und 2, dadurch gekennzeichnet,
 dass dieses aus spezifischen, die
 biologische Aktivität von Inhibin
5 im lebenden Organismus neutralisie-
 renden, polyklonalen oder mono-
 klonalen Antikörpern besteht.
- 10 4. Arzneimittel nach den Ansprüchen 1 und 2,
 dadurch gekennzeichnet, dass dieses aus
 Antikörpern gegen natürlich vorkommende
 oder rekombinante Inhibine oder deren
 Untereinheiten, oder deren Fragmenten,
 oder deren Derivaten besteht und deren
 vollständiges Molekül ein Glykoprotein
15 darstellt, die vorzugsweise als Heterodimer
 aus zwei unterschiedlichen, durch Di-
 Sulfidbrücken verbundenen, Untereinheiten
 (α und β) bestehen und deren Molekulargewicht
 5 bis 120 kDalton (kDa) beträgt
20 und die selektiv die FSH- Sekretion
 unterdrücken.
- 25 5. Arzneimittel nach den Ansprüchen 1 bis 6,
 dadurch gekennzeichnet, dass dieses in flüssiger
 Phase, vorzugsweise durch intravenöse
 und/oder subkutane und/oder intramuskulär
 Applikation angewendet wird.

- 24 -

- 1 6. Verfahren zur Verwendung des
Arzneimittels nach den Ansprüchen
1 bis 5, dadurch gekennzeichnet,
dass die Applikation als mehrma-
5 lige Injektion in definierten
Zeitabständen, vorzugsweise von
12 oder 24 Stunden, über mehrere,
aufeinander folgende Tage,
vorzugsweise von 3,5 bis 5 Tagen,
10 erfolgt.
7. Verfahren zur Verwendung des
Arzneimittels nach Anspruch 6,
dadurch gekennzeichnet, dass
die Applikation in der mittleren
15 Lutealphase, vorzugsweise am
7. bis 11. Zyklustag, erfolgt.
8. Verfahren zur Verwendung des
Arzneimittels nach den Ansprüchen
6 und 7, dadurch gekennzeichnet,
20 dass die Applikation in gleicher
oder absteigender Dosierung mit je
2 gleichen, aufeinander folgenden
Mengen erfolgt.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP 91/00004

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) ⁶

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int.Cl. 5 A 61 K 39/395, A 61 K 45/06, // (A61 K 39/395, 37:38),
(A 61 K 39/395, 31:135)

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched ⁷

Classification System	Classification Symbols
Int.Cl. ⁵	A 61 K

Documentation Searched other than Minimum Documentation
to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁸

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT⁹

Category ¹⁰	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
X	WO, A, 8600078 (MONASH UNIVERSITY et al.) 3 January 1986, see claims 1-4,8,9,38,39,59,60; page 19, line 13 - page 20, line 9 ---	1,3-5
X	Chemical Abstracts, volume 112, No.1, 1 January 1990, (Columbus, Ohio, US), G.E. Mann et al.: "Passively immunizing ewes against inhibin during the luteal phase of the estrous cycle raises the plasma concentration of FSH", see page 90, abstract 915h, & J. Endocrinol. 1989, 123(3), 383-91 (cited in the application) ---	1,3-5
A	EP, A, 0276166 (L.E. DONALDSON) 27 July 1988, see claims ---	2
A	US, A, 4864019 (W.W. VALE et al.) 5 September 1989, see claims 1-9; column 15, lines 3-32 ---	1,3-5
A	Biological Abstracts, volume 82, No.10, 1986, (Philadelphia, PA, US), L.J. Cummins et al.: "Increase in ovulation rate after immunization of Merino ewes with a fraction of bovine /. .	1,3-5

* Special categories of cited documents: ¹⁰

- "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

"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

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report
12 April 1991 (12.04.91)	24 May 1991 (24.05.91)
International Searching Authority European Patent Office	Signature of Authorized Officer

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)

Category*	Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No
	<p style="text-align: center;">---</p> <p>follicular fluid containing inhibin activity", see page AB-1026, abstract 97579, & J. Reprod. Fertil., 77(2): 365-372, 1986</p>	
P,X	<p style="text-align: center;">---</p> <p>Chemical Abstracts, volume 112, No. 15, 9 April 1990, (Columbus, Ohio, US) ; M. Mizumachi et al.: "Superovulation of ewes immunized against the human recombinant inhibin alpha-subunit associated with increased pre- and postovulatory follicle- stimulating hormone levels", see page 89, abstract 132566e, & Endocrinology (Baltimore) 1990, 126 (2), 1058-63</p>	1,3-5
P,X	<p style="text-align: center;">---</p> <p>Chemical Abstracts, volume 112, No. 9, 26 February 1990, (Columbus, Ohio, US), J.H.M. Wrathall et al.: "Inhibin immunoneutrali- zation by antibodies raised against synthetic peptide sequences of inhibin alpha subunit: effects on gonadotropin concentrations and ovulation rate in sheep", see page 106, abstract 70202x, & J. Endocrinol. 1990, 124(1), 167-76 (cited in the application)</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1,3-5

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM THE SECOND SHEET

incompletely searched

V. OBSERVATIONS WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND INCOMPLETELY SEARCHED

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2) (a) for the following reasons:

1. Claim numbers 6-8, because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

See PCT rule 39.1(iv) : Methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy, as well as diagnostic methods.

2. Claim numbers , because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claim numbers....., because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of PCT Rule 6.4(a).

VI. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims of the international application.

2. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims of the international application for which fees were paid, specifically claims:

3. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim numbers:

4. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, the International Searching Authority did not invite payment of any additional fee.

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

EP 9100004
SA 43482

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 07/05/91. The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO-A- 8600078	03-01-86	EP-A-	0185034	25-06-86
		AU-A-	4437485	10-01-86
		JP-T-	61502399	23-10-86
EP-A- 0276166	27-07-88	US-A-	4780451	25-10-88
		AU-A-	1025988	28-07-88
US-A- 4864019	05-09-89	None		

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 91/00004

I. KLASSEKIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁶ Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC Int.Cl 5 A 61 K 39/395, A 61 K 45/06, // (A 61 K 39/395, 37:38), (A 61 K 39/395, 31:135)		
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int.Cl. ⁵	A 61 K	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN⁹		
Art*	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
X	WO, A., 8600078 (MONASH UNIVERSITY et al.) 3. Januar 1986 siehe Ansprüche 1-4, 8, 9, 38, 39, 59, 60; Seite 19, Zeile 13 - Seite 20, Zeile 9 --	1, 3-5
X	Chemical Abstracts, Band 112, Nr. 1, 1. Januar 1990, (Columbus, Ohio, US), G.E. Mann et al.: "Passively immunizing ewes against inhibin during the luteal phase of the estrous cycle raises the plasma concentration of FSH", siehe Seite 90, Zusammenfassung 915h, & J. Endocrinol. 1989, 123(3), 383-91 in der Anmeldung erwähnt	1, 3-5
A	EP, A, 0276166 (L.E. DONALDSON) 27. Juli 1988 siehe Ansprüche --	2 . / .
<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen¹⁰: "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</p> <p>"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 nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 12. April 1991	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 24.05.91	
Internationale Recherchenbehörde Europäisches Patentamt	Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten miss T. MORTENSEN 	

III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)

Art *	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US, A, 4864019 (W.W. VALE et al.) 5. September 1989 siehe Ansprüche 1-9; Spalte 15, Zeilen 3-32 --	1,3-5
A	Biological Abstracts, Band 82, Nr. 10, 1986, (Philadelphia, PA, US), L.J. Cummins et al.: "Increase in ovulation rate after immunization of Merino ewes with a fraction of bovine follicular fluid containing inhibin activity", siehe Seite AB-1026, Zusammenfassung 97579, & J. Reprod. Fertil., 77(2): 365-372, 1986 --	1,3-5
P,X	Chemical Abstracts, Band 112, Nr. 15, 9. April 1990, (Columbus, Ohio, US), M. Mizumachi et al.: "Superovulation of ewes immunized against the human recombinant inhibin alpha-subunit associated with increased pre- and postovulatory follicle- stimulating hormone levels", siehe Seite 89, Zusammenfassung 132566e, & Endocrinology (Baltimore) 1990, 126(2), 1058-63 --	1,3-5
P,X	Chemical Abstracts, Band 112, Nr. 9, 26. Februar 1990, (Columbus, Ohio, US), J.H.M. Wrathall et al.: "Inhibin immuno- neutralization by antibodies raised against synthetic peptide sequences of inhibin alpha subunit: effects on gonadotropin concentrations and ovulation rate in sheep", siehe Seite 106, Zusammenfassung 70202x, & J. Endocrinol. 1990, 124(1), 167-76 <u>in der Anmeldung erwähnt</u> -----	1,3-5

WEITERE ANGABEN ZU BLATT 2

unvollständig

V. X BEMERKUNGEN ZU DEN ANSPRÜCHEN, DIE SICH ALS NICHT/RECHERCHIERBAR ERWIESEN HABEN¹

Gemäß Artikel 17 Absatz 2 Buchstabe a sind bestimmte Ansprüche aus folgenden Gründen nicht Gegenstand der internationalen Recherche gewesen:

1. Ansprüche Nr., weil sie sich auf Gegenstände beziehen, die zu recherchieren die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich Sehe PCT Regel 39.1(iv): Verfahren zur chirurgischen oder therapeutischen Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers sowie Diagnostizierverfahren
2. Ansprüche Nr., weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr., weil sie abhängige Ansprüche und nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) PCT abgefaßt sind.

VI. BEMERKUNGEN BEI MANGELNDER EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG²

Die Internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich der internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich der internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren gezahlt worden sind, nämlich
3. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; sie ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
4. Da für alle recherchierbaren Ansprüche eine Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Internationale Recherchenbehörde eine solche Gebühr nicht verlangt.

Bemerkung hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

**ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 9100004
SA 43482

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 07/05/91.
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO-A- 8600078	03-01-86	EP-A-	0185034	25-06-86
		AU-A-	4437485	10-01-86
		JP-T-	61502399	23-10-86
EP-A- 0276166	27-07-88	US-A-	4780451	25-10-88
		AU-A-	1025988	28-07-88
US-A- 4864019	05-09-89	Keine		