



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

(51) Internationale Patentklassifikation ⁵ : A61K 39/385	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 92/03163 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 5. März 1992 (05.03.92)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/CH91/00016 (22) Internationales Anmeldedatum: 17. Januar 1991 (17.01.91) (30) Prioritätsdaten: 2720/90-7 22. August 1990 (22.08.90) CH (71)(72) Anmelder und Erfinder: CERNY, Erich, Hugo [CH/CH]; 1, rue Piachaud, CH-1204 Genf (CH). (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), JP, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent), US.		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Mit geänderten Ansprüchen und Erklärung.</i>
(54) Title: VACCINE AND IMMUNOSERUM AGAINST DRUGS OF ABUSE (54) Bezeichnung: IMPFSTOFF UND IMMUNSERUM GEGEN DROGEN (57) Abstract <p>Addictive drugs like cocaine, heroin or amphetamines are spreading in an epidemic manner in the western world and are an important factor in the spread of the acquired immune deficiency syndrome AIDS (multiple use of infected needles among drug addicts). The present invention describes a vaccine and immunoserum against drugs. The vaccine contains the drugs bound to a carrier protein in order to produce antibodies against the drugs in the affected person. The use of the drug in the presence of the antibodies deactivates the drug. The desired drug effect is thus eliminated and the vicious circle between stimulation and application is broken.</p> (57) Zusammenfassung <p>Drogen, welche eine Abhängigkeit erzeugen wie Kokain, Heroin oder Amphetamine breiten sich in der westlichen Welt epidemisch aus und sind ein wichtiger Faktor in der Ausbreitung der erworbenen Immunschwäche AIDS (Mehrfachgebrauch von infizierten Spritzen unter Drogenabhängigen). Die vorliegende Erfindung beschreibt einen Impfstoff und Immunserum gegen Drogen. Der Impfstoff enthält die Droge an ein Trägerprotein gebunden um im Süchtigen Antikörper gegen die Droge hervorzurufen. Der Gebrauch der Droge in der Gegenwart der Antikörper inaktiviert die Droge. Der gewünschte Drogeneffekt ist daher eliminiert und der Teufelskreis zwischen Stimulation und Applikation unterbrochen.</p>		

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	Mongolci
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		

+ Die Bestimmung der "SU" hat Wirkung in der Russischen Föderation. Es ist noch nicht bekannt, ob solche Bestimmungen in anderen Staaten der ehemaligen Sowjetunion Wirkung haben.

- 1 -

Impfstoff und Immunserum gegen Drogen

Die Erfindung betrifft ein Verfahren gemäss Patentanspruch 1 und 2 zur Herstellung eines Impfstoffes gegen Drogen, welche eine Abhängigkeit erzeugen können. Die Erfindung beschreibt auch ein Verfahren gemäss Patentanspruch 10 zur Erzeugung von Antikörper gegen Drogen, welche eine Abhängigkeit erzeugen können. Diese Antikörper können zur Entgiftung von Drogensüchtigen, die eine Überdosis der Droge zu sich genommen haben, verwendet werden.

Drogenabhängigkeit wird oft als eine physische und eine psychische Abhängigkeit verstanden. Die eine oder die andere Komponente kann dominieren, aber beide Komponenten finden sich normalerweise bei einem Süchtigen. Drogen welche eine physische Abhängigkeit hervorrufen sind zum Beispiel Opiate, Barbiturate, Alkohol, Zigaretten, angstlösende Medikamente und einige Sedativa. Psychologische Abhängigkeit auf der anderen Seite ist beschrieben als ein Verlangen für eine Droge, das temporär erlischt, wenn der gewünschte Effekt nach Einnahme der Droge auftritt. Beispiele für eine Droge die auch eine psychische Abhängigkeit erzeugen kann sind Opiate und Zigaretten.

Ein Therapieerfolg bedingt eine Befreiung sowohl von der psychischen als auch von der physischen Suchtkomponente. Die klassische Therapie versucht

- 2 -

eine Entgiftung durch die sukzessive Verringerung oder in einigen Fällen (Methadon) Substituierung der Droge. Die physische Suchtkomponente wird durch ein Rehabilitierungsprogramm behandelt.

Der Impfstoff der vorliegenden Erfindung erlaubt ein neues Vorgehen zur Therapie und Prävention von Patienten, die von Drogen abhängig sind. Weiterer Gebrauch der Droge in der Gegenwart des Antikörpers nach der Impfung inaktiviert die Droge und stimuliert die Produktion von neuen spezifischen Antikörpern. Der gewünschte Drogeneffekt ist daher eliminiert und der Teufelskreis zwischen Stimulation und Applikation unterbrochen.

Der neue Impfstoff erweitert die Anwendung von Vaccinen auf das Gebiet der Drogen. Die folgenden fundamentalen Unterschiede bestehen zwischen einer klassischen Vaccine und dem vorliegenden Impfstoff: 1) der Impfstoff ist nicht gegen einen infektiösen Erreger sondern gegen eine Droge gerichtet. 2) Die typische Anwendung dieses Impfstoffes ist nicht präventiv sondern therapeutisch 3) Das Antigen gegen das der Impfstoff gerichtet ist, ist in den meisten Fällen selber nicht antigenisch sondern muss an ein Trägerprotein gebunden sein, um Antikörper hervorzurufen. 4) der Abhängigkeit erzeugende Effekt der Droge ist die Interaktion der Droge mit dem Rezeptor. Diese Interaktion ist durch das Binden des Antikörpers mit der Droge unterbunden.

Es ist daher eines der Ziele dieser Erfindung einen Impfstoff gegen Drogen zu beschreiben:

- 1) der gegen eine oder mehrere Abhängigkeit erzeugende Drogen gerichtet ist und der diese Drogen an eine Trägerprotein gebunden enthält, um die Droge immunogen zu machen.
- 2) der sowohl gegen Drogen, die eine physische , als auch gegen Drogen, die eine psychische Abhängigkeit erzeugen, wirksam ist.
- 3) der therapeutisch (der Drogenabhängige ist geimpft um die Droge zu inaktivieren), als auch präventiv (zum Beispiel um den Fetus einer drogenabhängigen Schwangeren vor der direkten Drogenschädigung als auch späterer Abhängigkeit zu schützen) , verwendet werden kann.
- 4) der gegen all Arten von Drogen gerichtet sein kann: zum Beispiel Opiate und Opiat- ähnliche Drogen, Marihuana, Kokain, Amphetamine, Antipsychotische Drogen, Barbiturate und andere Sedativa, psychomimetische Drogen, anticholinergische Drogen als auch Substanzen, welche diese Drogen kontaminieren.
- 5) der typischerweise den B- Zell Arm des Immunsystemes aktiviert, der aber auch eine zusätzliche Wirksamkeit erlangen kann durch eine Aktivierung des T-Zell Armes des Immunsystemes oder durch einen allergenen Effekt .
- 6) der als ein Komplement zu einer anderen Therapieform verwendet werden kann.

Definitionen:

Drogen welche eine Abhängigkeit erzeugen koennen:
Alle Substanzen, die im weitesten Sinne eine physische oder eine psychische Abhängigkeit nach einer oder mehrmaliger Anwendung hervorrufen. Eine Droge ruft eine physische Abhängigkeit hervor, wenn

ein Entzugssymptom nach abruptem Entzug der Droge auftritt. Psychische Abhängigkeit auf der anderen Seite wird hervorgerufen durch eine Droge, an die sich der Abhängige gewöhnt hat und die im Süchtigen ein Verlangen nach einem bestimmten Effekt erzeugt.

Drogen, die Abhängigkeit erzeugen können sind unter anderem : Kokain und Kokainderivate (Kokain, das von Drogenabhängigen konsumiert wird enthält zusätzlich häufig Mannitol, Laktose, Nikotin, Effedrin, Kaffein, Prokain und Amphetamine), Barbiturate und andere Sedativa, Benzodiazepine, Methaqualon, Glutethimid, Chloral Hydrat, Methyprylon, Paraldehyd und Bromide, antipsychotische Drogen, psychomimetische Drogen wie Phenylcyclidin oder LSD (Lysergic Acid Diethylamide), Phenylcyclidin und Analoga, Amphetamin und Tryptamin Derivate, Psylocybin, volatile Nitrite und anticholinergische Drogen.

Komponenten von Drogen : Drogen werden nicht immer in chemisch reiner Form verwendet und sind oft mit anderen Substanzen vermischt. Es mag unter gewissen Umständen vorteilhaft sein, den Impfstoff gegen mehrere Substanzen gleichzeitig zu richten um einen breiteren Schutzeffekt zu erhalten.

Vaccine: Eine Präparation, bestehend aus einem Immunogen , welche den B-Zell Arm und eventuell auch den T-Zell Arm des Immunsystemes zu aktivieren vermag. Das Immunogen des Impfstoffes dieser Erfindung ist typischerweise eine Droge, welche als Hapten an eine Trägersubstanz gebunden ist. Die Bindung zwischen Hapten und Träger kann kovalent oder ionisch sein oder auf Van der Waals oder Wasserstoff Brücken beruhen . Die Bindung kann aber

auch ein oder mehrere Atome als Brücke enthalten. Eine Droge kann auch immunogen gemacht werden durch einfaches chemisches Vernetzen der Droge (zum Beispiel mit Glutaraldehyd) um ein Molekulargewicht über 5000 Dalton zu erhalten. In diesen Fällen kann auf eine Trägersubstanz verzichtet werden.

Der Fabrikationsprozess der Vaccine enthält typischerweise zwei Schritte: 1) Konjugation: Die Droge wird an die Trägersubstanz gebunden 2) Purifikation: das Hapten-Trägersubstanz Konjugat wird von Beiprodukten des Kuppelungsprozesses gereinigt und in eine physiologische Lösung gegeben. Die Konjugation kann in organische Lösungsmittel oder in wässrigem Milieu erfolgen. Häufig verwendete Kuppelungssubstanzen sind: Karbodiimide, Imidoester, N-Hydroxysuccinimid Ester oder ihre wasserlöslichen Sulfo-Derivate, Maleimid-Derivate und Phenyl Azide. Die Purifikation erfolgt üblicherweise durch eine Dialyse oder mit Hilfe von Gel oder Ionen Chromatographie. Das Hapten-Trägersubstanz Konjugat hat meistens ein Molekulargewicht über 100 000 Dalton und kann daher leicht von den Verunreinigungen wie zum Beispiel Überschuss der Kuppelungssubstanz gereinigt werden, die typischerweise ein Molekulargewicht unter 500 Dalton haben. Bevorzugte Trennmethode sind extensive Dialyse in einem Dialyseschlauch mit einer wässrigen Lösung, beispielsweise mehrmaliger Puffer Wechsel mit Phosphate gepufferter Saline (PBS) oder Chromatographie über eine Sephadex G 25 Kolonne (Pharmacia LKB Biotechnology, Bromma, Schweden). Sterilfiltration mit einem Filter von 0,2 micrometer

und Entfernung von pyrogenem Material sind die Endschritte der Purifikation.

Vaccine für präventive Zwecke:

Die Person, die geimpft werden soll ist noch nicht drogenabhängig. Eine Person geeignet für eine präventive Impfung wäre zum Beispiel ein Säugling, der die Droge über die Muttermilch einnimmt.

Vaccine für therapeutische Zwecke:

Die Person, die geimpft werden soll ist bereits drogenabhängig oder hat begonnen die Droge zu verwenden. Eine Person geeignet für die Impfung ist beispielsweise ein Morphin Süchtiger, der eine Entziehungskur untergehen will.

Immunisierung gegen Drogen: Bei Patienten, die an Vergiftungs-erscheinungen einer Droge leiden, bleibt keine Zeit um Antikörper durch eine Vaccine zu erzeugen. Solchen Fällen kann durch direkte Applikation von spezifischen humanen oder tierischen Antikörpern geholfen werden. Der spezifische Antikörper bindet sich nach Applikation in kurzer Zeit an die noch ungebundene Droge und die Immunkomplexe werden durch das retikulo-endotheliale System eliminiert. Dadurch wird der Körper entgiftet. Es besteht die Möglichkeit eine Mischung von Antikörpern gegen mehrere Drogen zu verwenden, da in vielen Fällen nicht klar ist, mit welcher Droge sich der Patient vergiftet hat.

Die Antikörper welche verwendet werden, können monoklonale oder polyklonale Antikörper sein. Monoklonale Antikörper werden in vitro durch Fusion

- 7 -

einer B-Zelle, welche die Geninformation für das spezifische Immunoglobulin enthält, mit einer B-Zell Linie erzeugt. Die so entstandene hybride Zell Linie sekretiert nun Antikörper der gewünschten Spezifität. Es besteht auch die Möglichkeit, monoklonale Antikörper durch Transformation einer B-Zelle in eine B-Zell Linie mit Hilfe einer Epstein-Barr Virus Infektion der B-Zelle zu erhalten.

Die Antikörper können auch per oral verabreicht werden, da Patienten, die Symptome einer Ueberdosis zeigen, bei denjenigen Drogen, die oral genommen werden, oft noch nicht alles resorbiert haben. Die Antikörper sind in solchen Fällen, in einer Kapsel zu verabreichen, die sie vor Verdauung im Magen und Dünndarm schützt.

Antikörper: Eine Klasse von Plasmaproteinen, die durch die B-Zellen des Immunsystemes nach Stimulation durch ein Antigen erzeugt werden. Humane Antikörper sind Immunoglobuline der Ig G, M A, E oder D Gruppe.

Antigene: Eine Substanz, die fähig ist, eine Immunantwort hervorzurufen. Die Antigene sind typischerweise Proteine, aber sie können auch Zucker und Lipidgruppen enthalten. Antigene haben typischerweise ein Molekulargewicht über 10 000 Dalton.

Haptene: Dies sind kleine Moleküle, die für sich selbst nicht Antikörper hervorrufen können. Um antigenisch zu werden muss ein Hapten an einen Träger gebunden werden. Die Immunantwort gegen ein Hapten kann gegen das Hapten gerichtet sein, gegen

den Träger oder gegen beide Substanzen. Das Hapten der vorliegenden Erfindung ist normalerweise eine Droge, ein Metabolit der Droge oder ein Bestandteil einer Droge wie zum Beispiel eine Komponente von Zigarettenrauch.

Einige Drogen sind schnell metabolisiert nach Aufnahme durch den Körper. Morphin zum Beispiel ist schnell in Morphin-3-Glucuronat und Morphin-6-Glucuronat umgewandelt. Es mag daher in gewissen Fällen von Vorteil sein, wenn Metaboliten als Hapten verwendet werden an Stelle der ursprünglichen Droge.

Trägersubstanz: Das Problem Antikörper gegen ein kleines Molekül (Hapten) hervorzurufen wird dadurch gelöst, dass das kleine Molekül an einen Träger gebunden wird. Diese Bindung macht das Hapten immunogen, das heißt es werden nach Injektion in den Körper Antikörper hervorgerufen. Die Bindung des Haptens an das Trägerprotein ist oft kovalent, kann aber auch ionisch sein oder über eine chemische Komponente erfolgen, die als Brücke zwischen Hapten und Trägersubstanz dient. Die Trägersubstanz ist typischerweise ein Protein, kann aber auch Zucker und Lipide in mono- oder polymerer Form enthalten. Unter besonderen Umständen ist es auch möglich das Hapten zu vernetzen so dass das Hapten keine Trägersubstanz mehr benötigt um immunogen zu werden.

Antigen/ Antikörper Interaktion: Die Kombination von einem spezifischen Antikörper mit der Oberflächen Determinante von einem korrespondierenden Antigen (= Hapten plus Trägersubstanz) ist reversibel und der Komplex kann dissoziieren in Abhängigkeit von der Bindungsstärke. Dadurch dass die beiden Partner eine komplementäre Form der Elektronenwolken an der

Oberfläche haben (ähnlich wie ein Schlüssel mit dem Schloss) gibt es eine Interaktion, welche durch die Wasserstoffbrücken, die Van der Waals Kraft, die electrostatische Kraft und die hydrophobe Interaktion determiniert ist.

Adjuvans: Dies ist eine Substanz oder Mischung von Substanzen, die zur Vaccine dazugegeben werden um die Effizienz der Antikörperbildung zu erhöhen oder um sicherzustellen, dass eine bestimmte Klasse von Antikörpern wie IgM Immunglobuline oder Komplement bindende Antikörper erzeugt werden. Substanzen welche als Adjuvantien gebraucht werden, sind beispielsweise Mineralöle, Derivate von Aluminium oder Bestandteile von Mykobakterien. Die Vaccinen dieser Erfindung können mit oder ohne Adjuvantien verwendet werden.

Applikationsarten: Die Vaccine kann intravenös, intramusculär, subkutan, oder intradermal iniziert werden. Sie kann aber auch oral (z. B. Kapsel, die gegen Verdauung im Magen und Dünndarm schützt) verabreicht werden. Die Vaccine kann ebenfalls in bestimmten Fällen als Aerosol gegeben werden oder auf der Haut zur perkutanen Resorption verabreicht werden. Die Vaccine kann einmal oder mehrere Male verabreicht werden.

Um das Verständniss der Erfindung noch zu verbessern, sind folgende Beispiele angegeben.

Beispiel 1:

Dieses Beispiel zeigt am Mausmodell wie nach Impfung Antikörper gegen Morphinderivate oder

Barbiturate erzeugt werden und die Droge nach Injektion innert kurzer Zeit aus dem Kreislauf entfernt wird.

Hapten-Trägersubstanz Konjugation:

Die Methode von Wainer wird verwendet um das Morphin-6-Hemisuccinat zu synthetisieren und an Bovines Serum Albumin (BSA) zu binden (Wainer B.H. et al. , 1972, Science 176, 1143-45 , Wainer B. H. et al., 1972, Science 178, 647-8). Eine andere Präparation wird zubereitet indem Morphin zu 3-o-Karboxymethylmorphin umgewandelt wird durch Reaktion der freien Base mit Natrium-beta-Chlorazetat in absolutem Alkohol. Karboxymethylmorphin (8 mg) wird dann in 2 ml von destilliertem Wasser welches 10 mg BSA enthält aufgelöst und 8 mg von 1-Athyl-3-(3-dimethylaminopropyl)Karbodiimid werden dazugegeben nach Adjustieren des pH der Lösung auf 6. Die Mischung wird nach Inkubation in Raumtemperatur über Nacht extensiv gegen PBS , pH 7,6 dialysiert.

Die folgende Methode wird verwendet um Barbiturat - Keyhol Lympet Hemocyanin (KLH, Sigma, St. Louis, USA) Konjugate für die Vaccine zu erhalten: 5-allyl-5-(1-karboxyisopropyl)barbitursäure wird umgewandelt zu 5-allyl-5-(1-p-nitrophenyloxykarbonylisopropyl)barbitursäure durch Reaktion von 10 mg von der freien Base mit p-Nitrophenol (12 mg) in einer N,N-Dimethylformamid Lösung während 24 Stunden bei 4° C. Die Kupplung an KLH (19 mg) wird dann in einer Lösung ausgeführt die gleiche Volumina von Glycerin und Wasser und 10 mg Dicyclohehylkarbodiimid enthält. Die Mischung ist nach 24 stündiger Inkubation bei 4° C mit mehrmaligem Pufferwechsel gegen PBS pH 7.6

dialyziert. Der Substitutionsgrad der Droge an der Trägersubstanz wird berechnet als ein Ansteigen der Absorption vom Konjugat bei 202 nm verglichen mit einer KLH Kontrollösung (molarer Extinktionskoeffizient der Barbiturate = 19500).

Immunisation: 5 weibliche Balb/ C Mäuse werden subkutan 8 mal in 2 wöchigen Intervallen mit 40 Mikrogramm des Morphin-BSA Konjugates per Maus und Dose iniziert. Eine weitere Gruppe von 5 weiblichen Balb/C Mäusen erhält das Barbiturat-KLH Konjugat unter den gleichen Bedingungen, und eine Kontrollgruppe von 10 gleichaltrigen weiblichen Balb/C Mäusen wird unter den gleichen Konditionen mit dem Puffer des Impfstoffes ohne Vaccine behandelt.

Blutproben: Die Blutproben werden von der Schwanzvene entnommen.

Messung des Drogengehaltes: Die High Pressure Liquid Chromato-graphy (HPLC) Methode von Joel et al. (1988, Chromatography, 430: 394-9 wird als Referenzmethode verwendet um Morphin, Morphin-6-Glucuronid und Morphin-3-Glucuronid zu messen. Die Morphine, als auch die Barbiturate werden auch mit einem kommerziellen Enzyme Multiplikation Immunoassay (EMIT, Syva Corp., Palo Alto, USA) in Uebereinstimmung mit der Gebrauchsanweisung (EMIT operator's manual, Shiva Corporation, Palo Alto, USA) bestimmt. Es ist für die Evaluierung der Vaccine wichtig, freie Droge von Antikörper gebundener Droge zu differenzieren: der EMIT Test

- 12 -

wird daher folgendermassen modifiziert: die verdünnte Serumprobe wird vor Durchführung des EMIT Testes von Antikörpern gereinigt, durch eine zwei stündige Inkubation bei Zimmer Temperatur in einem PBS Puffer, pH 7,6 , der CnBr- aktivierte Sepharose 4 B enthält, an welche polyklonale Kaninchenantikörper gegen humane leichte Ketten der Immunglobuline gebunden sind (Pharmacia LKB Biotechnology, Bromma, Schweden).

Fünf Mäuse, die geimpft wurden und fünf Mäuse der Kontrollgruppe werden 2 Wochen nach der letzten Immunisation mit 0,5 mg Morphin pro Maus iniziert. Die Serumproben werden unmittelbar nach der Injektion und 2 Stunden nach der Injektion entnommen und die Menge der Droge im Serum wird mit Hilfe des modifizierten EMIT Testes bestimmt. Die Droge kann in den Proben, die gerade nach Injektion der Droge entnommen wurden noch festgestellt werden, ist aber 2 Stunden nach Injektion nicht mehr feststellbar. Die Diskrimination im Testsystem zwischen positiver und negativer Probe wird sowohl für die Barbiturate als auch Morphin auf 5 ng/ml festgelegt. Die Interpretation der Testresultate ist, dass nach erfolgreicher Impfung, sich die spezifischen Antikörper an die Droge gebunden haben und die freie Droge daher nicht mehr feststellbar ist.

Beispiel 2:

Dieses Experiment demonstriert, dass die "Immunität" gegen die Droge auch nach Monaten noch vorhanden ist. Zwei der immunisierten Mäuse von Beispiel 1 und drei Mäuse der Kontrollgruppe werden 2 und 4 Monate nach dem ersten Experiment mit 0,5 mg Morphin iniziert. Eine Blutprobe wird wie im

ersten Experiment unmittelbar nach der Injektion und 2 Stunden nach der Injektion entnommen und sad Serum wird im EMIT Test für Morphin getestet.

Das Serum der Mäuse, welche vorher mit dem Morphin-BSA Konjugat getestet wurden, ist wieder negativ und nur die Proben, die unmittelbar nach der Injektion entnommen werden, zeigen ein positives Resultat. Die Kontrollgruppe zeigt in allen Untersuchungen erkennbare Spuren von Morphin. Es wird der Schluss gezogen, dass die Vaccine über längere Zeit wirksam ist.

Beispiel 3:

Dieses Beispiel dient dazu, die Schutzwirkung der spezifischen Antikörper, respektive des spezifischen Immunserums welches die Antikörper enthält, zu zeigen.

Jeweils zwei Mäuse der Kontrollgruppe erhalten 0,5 mg Morphin (Maus A und B) und 0.5 mg Phenobarbital (Maus C und D). Maus A und C erhalten jeweils 0,5 ml des Serums der Mäuse welche vorher mit dem Anti-Morphin Impfstoff geimpft wurden und Maus B und D erhalten 0,5 ml des Serums der Mäuse welche vorher mit dem Anti-Barbiturat Impfstoff geimpft wurden. Zwei Stunden nach der Injektion des Immunserums werden Blutproben entnommen und für die Gegenwart der Drogen untersucht (modifizierter EMIT Test). Die Maus welche Morphin und anti-Morphin Serum bekommen hat, zeigt keine freie Droge im Test. Die Maus welche Morphin und anti-Barbiturat Serum bekommen hat, zeigt freies Morphin im Serum. Das analoge Phänomen zeigt sich bei den Mäusen welche Phenobaribal erhalten haben: bei der Maus welche das spezifische Immunserum erhalten hat lässt sich

keine freie Droge mehr nachweisen (Maus D). Die Maus mit dem Anti-Morphin Serum (Maus C) zeigt immer noch Spuren des Barbiturates im Serum.

Dieses Experiment kann auch mit Antiserum durchgeführt werden, dass aus monoklonalen Antikörpern oder einer Mischung von monoklonalen Antikörpern gegen die Drogen besteht : es wird ein analoges Resultat erwartet.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung von Vaccinen gegen Drogen, welche eine Abhängigkeit erzeugen koennen, dadurch gekennzeichnet , dass man eine oder mehrere Drogen als Hapten an eine Trägersubstanz bindet um das Hapten antigenisch zu machen.
2. Verfahren zur Herstellung von Vaccinen gegen Drogen, welche eine Abhaengigkeit erzeugen koennen, dadurch gekennzeichnet, dass man eine oder mehrere Drogen als Hapten chemisch vernetzt, um einen antigenischen Effekt ohne Trägersubstanz zu erhalten.
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Drogen, welche eine Abhängigkeit erzeugen zu einer der folgenden Gruppen gehören : Opiate , Marihuana, Amphetamine, Kokain, Barbiturate, Sedativa, Methaqualon, Benzodiazepine, Lysergsäure Diäthylamid, psychomimetische Drogen, Nikotin, anticholinergische Drogen und antipsychotische Drogen.
4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Trägersubstanz eine oder mehrere der folgenden chemischen Bestandteile enthält : Proteine, Glycoproteine, Polysacharide, Liposacharide, Lipoproteine, Metalle.
5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Bindung zwischen der Droge, welche eine Abhängigkeit erzeugt und dem Hapten durch eine Brückensubstanz erfolgt.

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Vaccine ein Adjuvans beigemischt wird um den immunogenen Effekt zu verstärken.

7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man die Vaccine durch Sterilfiltration in eine physiologisch verträgliche Form bringt.

8. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine wässrige Lösung verwendet, deren pH-Wert mit einem Puffer zwischen 5,5 und 8 eingestellt worden ist.

9. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Vaccine nach Bindung des Haptens an die Trägersubstanz dialysiert wird um Beiprodukte der Herstellung zu entfernen.

10. Verfahren zur Herstellung von Antikörpern gegen Drogen, welche eine Abhängigkeit erzeugen koennen, dadurch gekennzeichnet, dass die Vaccine, welche gemäss dem Verfahren nach Anspruch 1 hergestellt worden ist, als Antigen zur Herstellung von Antikörpern gegen Drogen , welche eine Abkängigkeit erzeugen koennen, verwendet wird.

- 17 -

GEÄNDERTE ANSPRÜCHE

› [beim Internationalen Büro am 20. Dezember 1991 (20.12.91) eingegangen;
ursprünglicher Anspruch 10 gestrichen; alle weiteren Ansprüche unverändert
• (1 Seite)]

IN ARTIKEL 19 GENANNT ERKLÄRUNG

Der Anspruch 10, der die Herstellung von Antikörpern gegen Drogen, welche eine Abhängigkeit verursachen können, beschreibt, wurde nach Studium der einschlägigen Veröffentlichungen des internationalen Recherchenberichtes gestrichen.

Der Erfinder ist der Ansicht, dass sich die einschlägigen Veröffentlichungen welche mit der Kategorie "X" bezeichnet wurden, nur auf diesen Anspruch beziehen.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/CH 91/00016

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 39/385				
II. FIELDS SEARCHED				
Minimum Documentation Searched ⁷				
Classification System	Classification Symbols			
Int.Cl. ⁵ :	A 61 K; C 12 P			
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁸				
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ⁹				
Category [*]	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³		
X	US, A, 4375414 (M. STRAHILEVITZ) 1 March 1983 see column 1, line 10 - column 2, line 5 see column 9, lines 25 - 54 --	1-10		
X	SU, A, 792869 (CHEM BOND BIOLOG) 30 March 1982 see abstract, see column 1, lines 1-11, see column 5, line 15 - column 6, line 17 --	1-10		
X	SU, A, 1123704 (CHEM BOND BIOTESTS) 15 November 1984, see abstract, see column 4, lines 8 - 30 --	1-10		
X	DE, A, 2202441 (F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO., AG) 1 March 1973 see claims 1-7 --	1-10		
X	US, A, 4045420 (M. SOFFER ET AL.) 30 August 1977 see the whole document --	1-10		
X	DE, A, 2548196 (F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO., AG) 7 April 1977, see the whole document --	1-10		
X	EP, A, 363041 (UBE INDUSTRIES, LTD.) 11 April 1990 see page 4, line 1 - page 6, line 19 --	1-10		
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 2px;"> [*] 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 </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 2px;"> "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 </td> </tr> </table>			[*] 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
[*] 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			
24 April 1991 (24.04.91)	30 May 1991 (30.05.91)			
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer			
European Patent Office				

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
X	EP, A, 311383 (UBE INDUSTRIES, LTD.) 12 April 1989 see page 3, line 32 - page 5, line 35	1-10
	-.-	
X	ANNALES PHARMACEUTIQUES FRANÇAISES vol. 35, No: 7/8, 1977, Paris, France pages 257 - 264; PHAM HUY CHUONG et al.: "Etude des anticorps anti-aspirine obtenus chez le lapin après immunisation" see pages 1 - 2	1-10

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

PCT/CH 91/60012
SA 43183

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
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 24/04/91

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A-4375414	01-03-83	US-A- 4620977	04-11-86
		US-A- 4813924	21-03-89
		US-A- 4834973	30-05-89

SU-A-792869		None	

SU-A-1123704		None	


DE-A-2202441	01-03-73	CA-A- 956889	29-10-74
		GB-A- 1327545	22-08-73
		US-A- 3766162	16-10-73

US-A-4045420	30-08-77	US-A- 4123431	31-10-78

DE-A-2548196	07-04-77	US-A- 4053459	11-10-77
		US-A- 4182879	08-01-80
		US-A- 4107285	15-08-78

EP-A-363041	11-04-90	JP-A- 2086794	27-03-90
		JP-A- 2193070	30-07-90

EP-A-311383	12-04-89	JP-A- 1224662	07-09-89
		JP-A- 1224663	07-09-89
		JP-A- 1096198	14-04-89
		JP-A- 2110372	23-04-90

I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁶		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
Int.Kl. 5 A61K39/385		
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int.Kl. 5	A61K ; C12P	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN ⁹		
Art. ⁹	Kenzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
X	US,A,4375414 (M. STRAHILEVITZ) 01 März 1983 siehe Spalte 1, Zeile 10 - Spalte 2, Zeile 5 siehe Spalte 9, Zeilen 25 - 54 ---	1-10
X	SU,A,792869 (CHEM BOND BIOLOG) 30 März 1982 siehe Zusammenfassung siehe Spalte 1, Zeilen 1 - 11 siehe Spalte 5, Zeile 15 - Spalte 6, Zeile 17 ---	1-10
X	SU,A,1123704 (CHEM BOND BIOTESTS) 15 November 1984 siehe Zusammenfassung siehe Spalte 4, Zeilen 8 - 30 ---	1-10
X	DE,A,2202441 (F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO., AG) 01 März 1973 siehe Ansprüche 1-7 ---	1-10
-/--		
<p>⁹ Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen¹⁰ :</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"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)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"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</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
IV. BESCHLIEßUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
24. APRIL 1991		30. 05. 91
Internationale Recherchenbehörde		Unterschrift des bevollmächtigten Diensteten
EUROPAISCHES PATENTAMT		NOOIJ F.J.M. 

III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)		
Art °	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US,A,404542C (M. SOFFER ET AL.) 30 August 1977 siehe das ganze Dokument ----	1-10
X	DE,A,2548196 (F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO., AG) 07 April 1977 siehe das ganze Dokument ----	1-10
X	EP,A,363041 (UBE INDUSTRIES, LTD.) 11 April 1990 siehe Seite 4, Zeile 1 - Seite 6, Zeile 19 ----	1-10
X	EP,A,311383 (UBE INDUSTRIES, LTD.) 12 April 1989 siehe Seite 3, Zeile 32 - Seite 5, Zeile 35 ----	1-10
X	ANNALES PHARMACEUTIQUES FRANCAISES vol. 35, no. 7/8, 1977, Paris, Frankreich Seiten 257 - 264; PHAM HUY CHUONG et al.: "Etude des anticorps anti-aspirine obtenus chez le lapin après immunisation" siehe Seiten 1 - 2 ----	1-10

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

PCT/CH 91/00016
SA 43183

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
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

24/04/91

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US-A-4375414	01-03-83	US-A- 4620977	04-11-86
		US-A- 4813924	21-03-89
		US-A- 4834973	30-05-89

SU-A-792869		Keine	

SU-A-1123704		Keine	

DE-A-2202441	01-03-73	CA-A- 956889	29-10-74
		GB-A- 1327545	22-08-73
		US-A- 3766162	16-10-73

US-A-4045420	30-08-77	US-A- 4123431	31-10-78

DE-A-2548196	07-04-77	US-A- 4053459	11-10-77
		US-A- 4182879	08-01-80
		US-A- 4107285	15-08-78

EP-A-363041	11-04-90	JP-A- 2086794	27-03-90
		JP-A- 2193070	30-07-90

EP-A-311383	12-04-89	JP-A- 1224662	07-09-89
		JP-A- 1224663	07-09-89
		JP-A- 1096198	14-04-89
		JP-A- 2110372	23-04-90

EPO FORM P0473

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtshlatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82