

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-501366

(P2004-501366A)

(43) 公表日 平成16年1月15日(2004.1.15)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/497	GO 1 N 33/497	A
GO 1 N 27/416	GO 1 N 27/62	V
GO 1 N 27/62	GO 1 N 30/88	E
GO 1 N 30/88	GO 1 N 27/46	G

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 32 頁)

(21) 出願番号	特願2002-502440 (P2002-502440)	(71) 出願人	501023292
(86) (22) 出願日	平成13年5月29日 (2001.5.29)		インスティテュート フェーア ヒェモー
(85) 翻訳文提出日	平成14年12月4日 (2002.12.4)		ウント ビオゼンゾリック ミュンスタ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2001/006101		ー アインゲトラーゲナー フェライン
(87) 国際公開番号	W02001/094942		ドイツ国 D-48149 ミュンスター
(87) 国際公開日	平成13年12月13日 (2001.12.13)		, メンデルシュトラーセ 7
(31) 優先権主張番号	100 28 548.1	(74) 代理人	100104156
(32) 優先日	平成12年6月9日 (2000.6.9)		弁理士 龍華 明裕
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)	(72) 発明者	クライブーマ ウォルフギャング
			ドイツ連邦共和国, ミュンスター 481
			55, ドルトムンダーシュトラーセ 27
		(72) 発明者	シュルツェーペレンガール ウタ
			ドイツ連邦共和国, アッシュェベルク 59
			387, イム ホイブク 13

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 患者の全血、血漿および（または）血清中のアルファ・オキシアルデヒドを検出する方法

## (57) 【要約】

【課題】簡単、経済的、そして確実な方法で実施できる、患者の全血、血漿および（または）血清のアルファ・オキシアルデヒドを検出する方法を提供する。

【解決手段】本発明は、患者の全血、血漿および（または）血清中のアルファ・オキシアルデヒドを検出する方法に関し、当該方法は、呼気試料を前記患者の全血、血漿および（または）血清中の少なくとも1つ又は複数のアルファ・オキシアルデヒドの存在を確認するために分析し、この分析結果から推定される。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

患者の全血、血漿および（または）血清中のアルファ・オキソアルデヒドを検出する方法であって、呼気試料が、前記患者の全血、血漿および（または）血清中の少なくとも1つ又は複数のアルファ・オキソアルデヒドの存在を確認するために分析され、前記方法は当該分析結果から推定される。

**【請求項 2】**

請求項 1 に記載の方法であって、前記呼気試料中のアルファ・オキソアルデヒドの濃度が測定され、そこから、患者の前記全血、血漿および（または）、血清中のアルファ・オキソアルデヒドの濃度が推定される。

10

**【請求項 3】**

請求項 1 又は 2 に記載の方法であって、メチルグリオキサール、グリオキサールおよび（または）3 - デオキシグルクロンが、アルファ・オキソアルデヒドとして検出される。

**【請求項 4】**

請求項 1 ないし 3 のいずれかに記載の方法であって、前記呼気試料は、試料バッグおよび（または）適当な試料コンテナで密封され、並びに（または）インピンジャーを通して導かれる。

**【請求項 5】**

請求項 1 ないし 4 のいずれかに記載の方法であって、呼気試料中のアルファ・オキソアルデヒドが誘導体化媒体によって誘導体化され、生じた誘導体が測定される。

20

**【請求項 6】**

請求項 5 に記載の方法であって、前記誘導体は、蛍光分析器、測光器、および（または）クロマトグラフィーで検出される。

**【請求項 7】**

請求項 1 ないし 4 のいずれかに記載の方法であって、呼気試料中のアルファ・オキソアルデヒドは、電気化学的により、分光法により、酵素により、および（または）免疫化学的により検出されるアルファ・オキソアルデヒドによって測定される。

**【請求項 8】**

請求項 1 ないし 4 のいずれかに記載の方法であって、呼気試料中のアルファ・オキソアルデヒドが、質量分析計によって測定される。

30

**【請求項 9】**

請求項 1 ないし 4 のいずれかに記載の方法であって、呼気試料に含まれているメチルグリオキサールがグリオキサラーゼを伴った乳酸塩に変換され、続いて当該乳酸塩がセンサにより検出される。

**【発明の詳細な説明】****【0001】****【発明の属する技術分野】**

本発明は、患者の全血中、血漿中、および（または）血清中におけるアルファ・オキソアルデヒドを検出する方法に関する。

**【0002】**

40

**【従来技術】**

腎臓障害あるいは目のレンズの曇りのように、長年の糖尿病疾患（つまりインシュリン依存、又は非インシュリン依存の糖尿病）の結果発生する合併症は、決まって発見が困難であり、しかもしばしば遅いステージでしか発見されない。これら合併症および間接疾患に共通する原因は、しばしば、コラーゲン、酵素あるいは他の細胞の成分と共にグリコレートを形成し、このメカニズムによってセル毒素の役割を果たすことが可能な反応的代謝産物にある。この疾患に対応するマーカーは、研究所における複雑な血液解析を経てのみ得られる最新の技術によって検出できる。

**【0003】**

最近の3～4年で、長年の糖尿病における間接疾患を解明するための実験は、細胞毒素の

50

アルファ・オキソアルデヒドが重大かつ原因的な役割を果たすことを示した (Beis swengerら (1999) 糖尿病、48巻、頁198-202)。従ってこれに関連して、特に、アルファ・オキソアルデヒドの役割、例えばメチルグリオキサール、グリオキサールあるいは3-デオキシグルクロン等が議論された。これらの物質は赤血球中で形成され、全血中の、血漿中の、および血清中の非常にわずかな濃縮において生じる。

【0004】

これに関連して、アルファ・オキソアルデヒド、メチルグリオキサールに特に注目する。メチルグリオキサールは、トリオースリン酸(ケトン体の変形現象化)から、およびさらにトレオニンの変形現象化中に発生可能であり、グリオキサラーゼによってさらに分解される。その後、メチルグリオキサールは、イミダゾロン誘導体およびビス・リシル架橋の構成を備えた蛋白質と反応する。蛋白質のこの架橋は、コラーゲンの安定化、およびその結果としての細胞膜の肥厚に結びつくことが可能である。従って、これらの反応は、少なくとも腎不全およびレンズ曇りのような糖尿病合併症の一部について説明する。

10

【0005】

単独の血糖測定は、糖尿病患者の場合には現在のところ通常のことであるが、全血、血しょう、又は血清中の短時間のメチルグリオキサール濃縮に関して直接の結論を導かない。

【0006】

従来技術によれば、アルファ・オキソアルデヒドの測定は従ってもっぱら侵襲的に、つまり血漿から達成される。インシュリン依存の糖尿病を患った患者の場合には、Thornally T. J. の「糖化および糖尿病合併症の進行。グルコース、メチルグリオキサールおよび酸化ストレスの関与の一元化」(内分泌学および新陳代謝、1996年、3月、頁149-166)により検出できる。血しょうの中の直接のメチルグリオキサール濃度は、健康な比較被験者と比較して5~6倍高く、インシュリン依存の糖尿病を患った患者の場合には2~3倍高い。また、アルファ・オキソアルデヒドの測定は尿において可能であるが、生理学条件的に尿中に期待される濃度が非常に低く、あまりに高度な分析の複雑さを要するので、文献に記載されていない。従って、血しょうの中のアルファ・オキソアルデヒドの直接の測定が要求される。

20

【0007】

従来技術に基づくこれら検査方法の結果、定期的な検査、および全血、血漿、及び血清中のメチルグリオキサールなどのアルファ・オキソアルデヒドの低減を目的として、可能な限り必要に応じて投薬することは、非常に高価である。

30

【0008】

WO\_98/57\_145\_A1は、適当なガスの試料の分析によって、病気など生物学上の状態の早期発見用の方法について記述する。

【0009】

WO\_99/56\_790\_A2は、糖尿病の診断のために使用される呼気テストの実施用の診断キットについて記述する。

【0010】

DD\_219\_287\_A1は、測定用キュベット、フィルタ、レンズおよび電源ユニットを使用して、放射線吸収に基づく呼気ガス中のアセトンの濃度の選択的な測定に基づき糖尿病患者の血糖をチェックする測定器について記述する。

40

【0011】

従来技術によるこれらの方法は、結果的に非常に複雑で高価で、それ故、現在まで、全血、血漿あるいは血清中のアルファ・オキソアルデヒド含有量を測定するための定期的な検査用には適切ではなかった。

【0012】

【発明が解決しようとする課題】

したがって本発明の目的は、簡単、経済的、そして確実な方法で実施できる、患者の全血、血漿および(または)血清のアルファ・オキソアルデヒドを検出する方法を提供することである。

50

## 【 0 0 1 3 】

## 【 課題を解決するための手段 】

この目的は、請求項 1 の特徴を備えた方法によって達成される。本発明による方法の有利な展開は従属項において提供される。

## 【 0 0 1 4 】

本発明による方法は、例えば、検査が患者自身に行なわれるのではなく、単に、患者の呼気試料（つまり呼気ガスおよび（または）呼気凝縮物）が検査されることに基づく。この方法により、アルファ・オキソアルデヒドも呼気において検出される。さらに、主として血漿の中に存在するアルファ・オキソアルデヒドは明らかに、細胞膜を容易に通過することができる。その結果、これらは呼気ガスあるいは呼気凝縮物において検出できる。更に、アセトンなど他の既知のマーカースとは対照的に、それらは代謝に特有で、大気に遍在して存在することがない。従って、1つの簡単で、経済的で、確実で、定期的で、かつ非侵襲性の、全血、血漿および血清中のアルファ・オキソアルデヒド組成物のモニタリングが、糖尿病患者の場合に可能である。その結果、適当な薬物治療によって、糖尿病に起こり得る間接疾患の危険は低減できる。従って、長年の糖尿病を患った患者の場合に、糖尿病合併症の回避用の新しい方策を導入する可能性がある。例えば、いわゆる腐食性合成物の処理により血液中のアルファ・オキソアルデヒドの濃度を減じられることが可能である。このタイプの治療は、発明による非侵襲性の検査方法に支持され、単に通常の方法で可能である。

10

## 【 0 0 1 5 】

試料の取得は、対応する試料採取バッグおよび（または）適当な試料コンテナに息を吹き込むことによって、あるいはインピンジャーを通して呼気を導くことにより達成できる。このインピンジャーは、直接検出（蛍光、あるいは測光器による）の、あるいはクロマトグラフィーによる測定のために誘導体化媒体で満たすことができる。さらに、電気化学的、分光法（例えば IR 分光法）、酵素あるいは免疫化学的な検出のための試薬でインピンジャーを充填することも可能である。

20

## 【 0 0 1 6 】

1つの検査法は、グリオキサラーゼによる、メチルグリオキサルの乳酸塩への酵素変換、および続く、乳酸塩の改良されたセンサでの測定にある。

## 【 0 0 1 7 】

そのために、本発明において、呼気試料（つまり呼気、呼気凝縮物の両方）の成分がすべて、アルファ・オキソアルデヒド含有量の分析に適しているということが重要である。

30

## 【 0 0 1 8 】

なお上記の発明の概要は、本発明の必要な特徴の全てを列挙したものではなく、これらの特徴群のサブコンビネーションも又発明となりうる。

## 【 0 0 1 9 】

## 【 発明の実施の形態 】

本実施例において、タイプ II 糖尿病を患った女性患者の呼気試料が、アルファ・オキソアルデヒド、グリオキサールおよびメチルグリオキサルのために採取され検査された。検査方法として、Zurck 他（分析者、1999年、124巻、頁1291-1295）によるDNPH法が用いられた。

40

## 【 0 0 2 0 】

呼気の試料採取は以下のように実施された：

チューブを備えた吹き口を介して、容積30リットルの試料バッグ（ここではTedlar（登録商標）バッグ）が検査人/患者によって息を吹き込まれた。

## 【 0 0 2 1 】

続いてTedlarバッグによる試料採取は、収集過程にわたって、規定された体積を管理することができるように実施された。

## 【 0 0 2 2 】

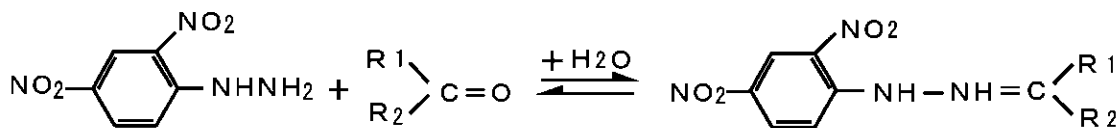
試料採取に続き、規定された空气体積（体積流れ < 2リットル/min の場合の20リッ

50

トル)が、集めた物質を含むカルトウーシュを介して、ポンプによってバッグから吸い取られる。購入可能なカルトウーシュは、集めた物質としての2、4-ジニトロフェニルヒドラジン(Supelco:項目番号505358)で覆われたシリカゲルで満たされる。アルファ・オキソアルデヒドは以下の等式で反応して2、4-ジニトロヒドラゾンになり、シリカゲル上に保持される。

【0023】

【化1】



10

【0024】

結果として生ずる誘導体は、4mlのアセトニトリルによりカルトウーシュから続いて溶離される。また、得られた溶離液は、乾燥により体積が減少する。残りの残留物は、500μlのアセトニトリルによって再び溶かされる。20μlの部分標本は分析用のHPLCシステムへ転送される。

【0025】

逆相クロマトグラフィーの原理によるHPLC方法は、分析のために以下の順序立ったパラメーターと共に用いられる。:

20

【0026】

カラム: Hyperasil BDS C18、カラム長10cm、カラム径: 4mm、粒子サイズ: 3μm

移動相: アセトニトリルおよび水の混合物(0.5ml/minの体積流れ)

出発状態: アセトニトリルおよび水の混合物(50:50;体積比率)

変化率: 10分以上にわたる固定の出発状態、その後27分以内にアセトニトリルの体積比率を100%に。データは360および404nmのUV検出によって検出され、ヒューレット・パッカートのケム・ステーション(Hewlett Packard Chem-Station)で記録した。

【0027】

図1: 中味の識別を保護するために、収集カルトウーシュの溶離物の一部は、上記の条件の下でHPLCシステムを用いて分析された。HPLCシステムは、UV検知器に加えて質量分析計を利用可能な状態で備える(図1)。後者の中味の識別は、それらの分子量によって、およびさらに分子が特有の分子破片へ分解することにより可能になる。

30

【0028】

アルファ・オキソアルデヒドの誘導体の規定された量が、溶離液のさらなる部分に加えられ、溶体は、HPLCおよびUV検出によって分析された(標準添加の原理)(図2)。誘導体の添加量に依存して、対応する合成物のクロマトグラム中の信号が増加する。そしてこれにより、識別が確かになる。

【0029】

図1では、アセトンのピークおよびメチルグリオキサルのピークが直ちに検出される。従って、さらに呼気試料の中で代謝産物メチルグリオキサルを検出できる。そしてその結果、非侵襲的に、かつ直ちに、患者の血漿中にメチルグリオキサルが存在することを代謝の特異性に基づいて示す。

40

【0030】

メチルグリオキサルは遍在して発生しないので、患者の環境に起因する測定のみずみや測定結果の虚偽は起こり得ない。

【0031】

健康な比較被験者によるさらなる比較検査中において、アルファ・オキソアルデヒドは、その呼気中において現在まで検出できなかった。

50

## 【0032】

実施例として、健康な比較被験者の呼気試料が、上記の方法に対応して検査された。図3は、健康な被験者に結果として生ずるクロマトグラムを示す。アルファ・オキソアルデヒドの保持時間領域において検討可能な信号は検出されない。図4に示すように、クロマトグラムにおいてメチルグリオキサルの追加の後、19.50分に信号が現われた。

## 【0033】

以上、本発明を実施形態を用いて説明したが、本発明の技術的範囲は上記実施形態に記載の範囲には限定されない。上記実施形態に、多様な変更または改良を加えることができる。そのような変更または改良を加えた形態も本発明の技術的範囲に含まれ得ることが、特許請求の範囲の記載から明らかである。

10

## 【図面の簡単な説明】

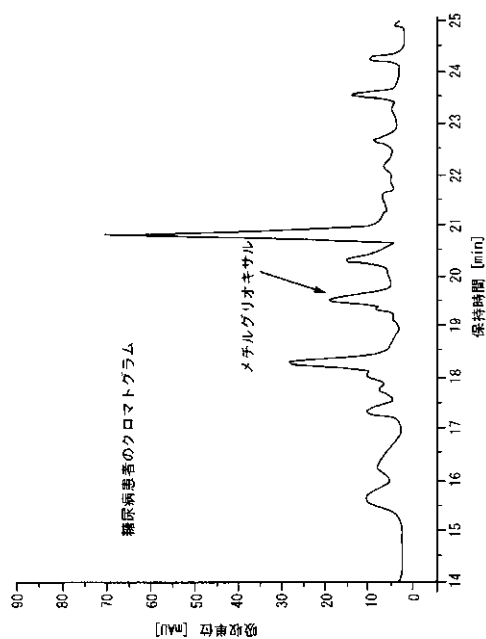
【図1】糖尿病患者のクロマトグラムである。

【図2】メチルグリオキサルによるピークを有する糖尿病患者のクロマトグラムである。

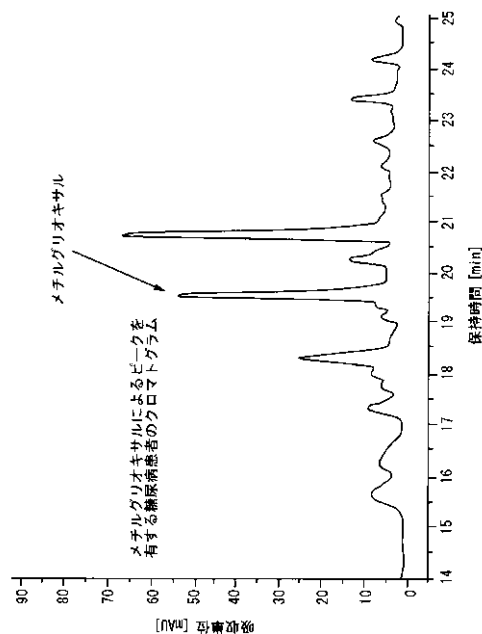
【図3】非糖尿病患者の呼気試料である。

【図4】非糖尿病患者のピーク有り試料である。

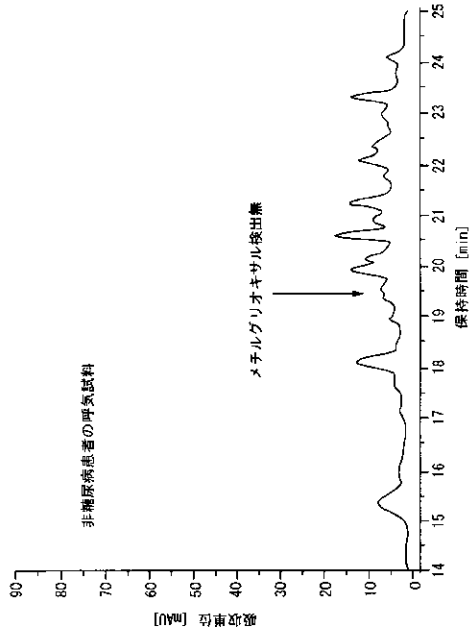
【図1】



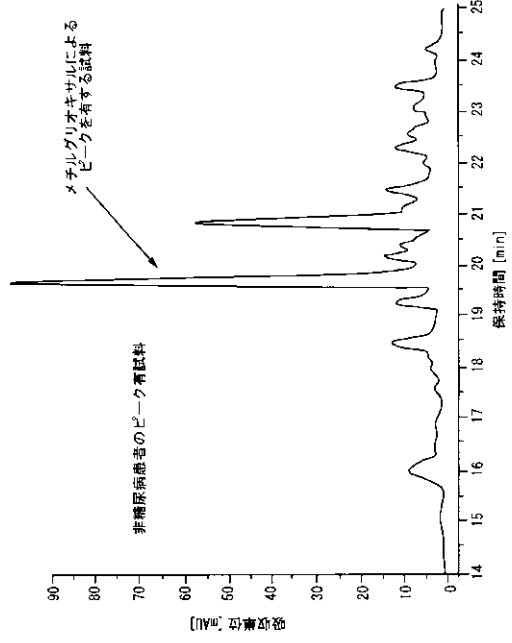
【図2】



【 図 3 】



【 図 4 】



## 【国際公開パンフレット】

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

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
13. Dezember 2001 (13.12.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 01/94942 A1

(51) Internationale Patentklassifikation: G01N 33/52. (74) Anwalt: PFENNING, MEINIG & PARTNER GBR; Mozartstrasse 17, 80336 München (DE).

(21) Internationales Akrenzzeichen: PCT/EP01/06101

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

(12) Internationales Anmeldedatum: 29. Mai 2001 (29.05.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität: 9. Juni 2000 (09.06.2000) DE 100 28 548.1

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): INSTITUT FÜR CHEMIE- UND BIOSSENSORIK MÜNSTER E.V. [DE/DE]; Mentelstrasse 7, 48149 Münster (DE).

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), europäisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht: — mit internationalem Recherchenbericht

(72) Erfinder: und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KLEIBÖHMER, Wolfgang [DE/DE]; Dortmundstrasse 27, 48155 Münster (DE); SCHULZE-FELLENGAHR, Uta [DE/DE]; Im Heubrok 13, 59287 Ascheberg (DE).

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

(54) Title: METHOD FOR DETECTING ALPHA OXOALDEHYDES IN THE WHOLE BLOOD, BLOOD PLASMA AND/OR SERUM OF A PATIENT

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM NACHWEIS VON ALPHA-OXOALDEHYDEN IN VOLLBLUT, BLUTPLASMA AND/ODER SERUM EINES PATIENTEN

(57) Abstract: The invention relates to a method for detecting alpha-oxoaldehydes in the whole blood, blood plasma and/or serum of a patient. A respiratory air sample is analysed for the presence of at least one alpha-oxoaldehyde, and the presence of alpha-oxoaldehydes in the whole blood, blood plasma and/or serum of the patient is determined from the results of said analysis.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Nachweis von  $\alpha$ -Oxoaldehyden in Vollblut, Blutplasma und/oder Serum eines Patienten, bei dem eine Atemluftprobe auf Vorhandensein mindestens eines  $\alpha$ -Oxoaldehyden analysiert und aus dem Analyseergebnis auf das Vorhandensein von  $\alpha$ -Oxoaldehyden im Vollblut, Blutplasma und/oder Serum des Patienten geschlossen wird.

WO 01/94942 A1

Verfahren zum Nachweis von  $\alpha$ -Oxoaldehyden in Voll-  
blut, Blutplasma und/oder Serum eines Patienten

5 Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Ver-  
fahren zum Nachweis von  $\alpha$ -Oxoaldehyden in Vollblut,  
im Blutplasma und/oder im Serum von Patienten.

10 Infolge von langjährigen Diabetes-Erkrankungen, d.h.  
insulinabhängiger und/oder insulinunabhängiger Diabe-  
tes, auftretende Komplikationen, wie Nierenschädigun-  
gen oder Trübungen der Augenlinsen lassen sich nur  
schwer und oft erst spät erkennen. Mitverantwortlich  
für diese Komplikationen und Folgeerkrankungen sind  
15 oftmals reaktive Stoffwechselprodukte, die mit Kolla-  
gen, Enzymen oder anderen zellulären Bestandteilen  
Glykolate bilden und durch diesen Mechanismus als  
Zellgifte wirken können. Entsprechende Marker für  
diese Erkrankung sind nach dem Stand der Technik nur  
20 über eine aufwendige Blutanalytik im Labor erfassbar.

In den letzten drei bis vier Jahren haben Untersuchungen zur Aufklärung von Folgeerkrankungen im Verlauf einer langjährigen Diabetes gezeigt, daß die cytotoxischen  $\alpha$ -Oxoaldehyde eine wichtige und ursächliche Rolle spielen (Beisswenger et al. (1999) Diabetes, Band 48, S. 198-202). Daher wird in diesem Zusammenhang insbesondere die Rolle der  $\alpha$ -Oxoaldehyde wie Methylglyoxal, Glyoxal oder 3-Deoxyglucuron diskutiert. Diese Stoffe werden in den roten Blutkörperchen gebildet und liegen in sehr geringen Konzentrationen im Vollblut, im Blutplasma und im Serum vor.

Von besonderem Interesse ist hierbei das  $\alpha$ -Oxoaldehyd Methylglyoxal. Methylglyoxal kann aus Triosephosphat, der Metabolisierung von Keton-Körpern sowie bei der Verstoffwechslung von Threonin entstehen und wird durch Glyoxalase weiter abgebaut. Methylglyoxal reagiert dann mit Proteinen unter Bildung von Imidazol-Derivaten und his-Lysyl-Quervernetzungen. Diese Quervernetzung der Proteine kann zur Stabilisierung von Kollagen und damit zur Verdickung von Membranen führen. Damit erklären diese Reaktionen zumindest einen Teil der diabetischen Komplikationen, wie Nierenversagen und Linsentrübung.

Die alleinige Blutzuckerbestimmung, wie sie bisher bei Diabetikern üblich ist, gibt keinen direkten Rückschluß auf die momentane Methylglyoxalkonzentration im Vollblut, im Plasma oder im Serum.

Nach dem Stand der Technik erfolgt die Bestimmung von  $\alpha$ -Oxoaldehyden daher ausschließlich invasiv, d.h. aus dem Blutplasma. Bei Patienten mit einer insulinabhängigen Diabetes konnte von Thornally T.J., "Advanced Glycation and the development of diabetic complications. Unifying the involvement of glucose, methyl-

glyoxal and oxidative stress" Endocrinology and Metabolism, 1996, 3, 149-166, direkt im Plasma im Vergleich zu gesunden Vergleichsprobanden eine fünf- bis sechsfach höhere, bei Patienten mit insulinabhängiger Diabetes eine zwei- bis dreifach höhere Methylglyoxalkonzentration nachgewiesen werden. Alternativ wäre eine Bestimmung von  $\alpha$ -Oxoaldehyd im Urin möglich, ist jedoch in der Literatur nicht beschrieben, da die zu erwartenden physiologisch bedingt sehr niedrigen Konzentrationen im Urin einen zu hohen Analyseaufwand erfordern würden. Daher ist eine direkte Bestimmung der  $\alpha$ -Oxoaldehyde im Plasma erforderlich.

Aufgrund dieser Untersuchungsmethoden nach dem Stand der Technik sind regelmäßige Kontrollen und eine eventuelle bedarfsorientierte Dosierung von Medikamenten zur gezielten Reduzierung von  $\alpha$ -Oxoaldehyden wie Methylglyoxal im Vollblut, Blutplasma und Serum sehr aufwendig.

Die WO 98/57 145 A1 beschreibt ein Verfahren zur frühzeitigen Erkennung von biologischen Zuständen wie Krankheiten durch die Analyse von geeigneten gasförmigen Proben.

Die WO 99/56 790 A2 beschreibt ein diagnostisches Kit zur Durchführung von Atemtests, die für die Diabetikdiagnose verwendet werden.

Die DD 219 287 A1 beschreibt ein Meßgerät zur Kontrolle von Blutzucker bei Diabetikern auf Basis der selektiven Bestimmung der Konzentration von Aceton im Atemgas auf der Grundlage der Strahlungsabsorption unter Verwendung einer Meßküvette, von Filtern, Linsen und einem Stromversorgungsteil.

5 Diese Verfahren nach dem Stand der Technik sind folglich extrem aufwendig und kostenträchtig und eignen sich daher bisher nicht für eine regelmäßige Routinekontrolle zur Bestimmung des  $\alpha$ -Oxoaldehydgehaltes im Vollblut, Blutplasma oder Serum.

10 Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, ein Verfahren zum Nachweis von  $\alpha$ -Oxoaldehyden im Vollblut, Blutplasma und/oder Serum eines Patienten zur Verfügung zu stellen, das einfach, kostengünstig und sicher durchgeführt werden kann.

15 Diese Aufgabe wird durch ein Verfahren mit den Merkmalen des Anspruches 1 gelöst. Vorteilhafte Weiterbildungen des erfindungsgemäßen Verfahrens werden in den abhängigen Ansprüchen gegeben.

20 Das erfindungsgemäße Verfahren beruht darauf, daß nicht etwa eine Untersuchung am Patienten selbst durchgeführt wird, sondern lediglich eine Atemluftprobe (also Atemgas und/oder Atemkondensat) des Patienten untersucht wird. Mit diesem Verfahren werden,  $\alpha$ -Oxoaldehyde auch in der Atemluft nachgewiesen. Offenbar sind  $\alpha$ -Oxoaldehyde, die hauptsächlich im Blutplasma vorliegen, zusätzlich leicht membrangängig, so daß diese im Atemgas oder im Atemkondensat nachgewiesen werden können. Weiterhin sind sie im Gegensatz zu anderen bekannten Markern wie Aceton, stoffwechselspezifisch und in Luft nicht ubiquitär auftretend. Damit ist eine einfache, kostengünstige und sichere, regelmäßige und nicht invasive Überwachung der  $\alpha$ -Oxoaldehydbildung im Vollblut, Blutplasma und Serum bei Diabetikern möglich, so daß durch geeignete Medikation das Risiko möglicher Folgeerkrankungen von Diabetes reduziert werden kann. Damit besteht die Möglichkeit bei Patienten mit Langzeit-Diabetes neue

25

30

35

Strategien zur Vorbeugung von diabetischen Komplikationen einzuführen. Zum Beispiel ist es möglich, daß durch Verabreichung von sogenannten Scavenger-Verbindungen die Konzentration von  $\alpha$ -Oxoaldehyden im Blut reduziert werden kann. Derartige Therapien werden durch das erfindungsgemäße nichtinvasive Testverfahren unterstützt und erst routinemäßig möglich.

Die Probenahme kann entweder durch das Aufblasen entsprechender Probenahmebeutel und/oder geeigneter Probenbehälter oder durch das Durchleiten von Atemluft durch einen Impinger erfolgen. Dieser Impinger kann mit einem Derivatisierungsmittel zum direkten Nachweis (durch Fluoreszenz oder photometrisch) oder für eine chromatographische Bestimmung gefüllt sein. Möglich ist auch die Befüllung der Impinger mit Reagenzien zur elektrochemischen, spektrometrischen (z.B. IR-spektrometrischen), enzymatischen oder immunchemischen Detektion.

Ein Nachweisverfahren besteht in der enzymatischen Umsetzung von Methylglyoxal mit Glyoxalase zu Lactat und die anschließende Bestimmung von Lactat mit einem modifizierten Sensor.

Wesentlich bei dem vorliegenden Verfahren ist dabei, daß sämtliche Bestandteile einer Atemluftprobe, d.h. sowohl die Atemluft als auch das Atemkondensat sich zur Analyse des  $\alpha$ -Oxoaldehydgehaltes eignen.

Im folgenden wird ein Beispiel für das erfindungsgemäße Verfahren beschrieben.

Bei diesem Beispiel wurde eine Atemluftprobe einer Patientin mit Diabetes vom Typ II genommen und auf die  $\alpha$ -Oxoaldehyde Glyoxal und Methylglyoxal unter-

WO 01/94942

6

PCT/EP01/06101

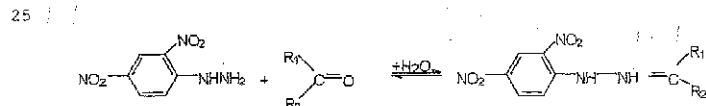
sucht. Als Untersuchungsverfahren wurde die DNPH-Methode gemäß Zurek et al., Analyst 1999, Bd. 124, S. 1291-1295 verwendet.

5 Die Probenahme der Atemluft wurde wie folgt durchgeführt: Über ein Mundstück mit Schlauch wurde von der Testperson/ dem Patienten ein Probenahmebeutel (hier ein Tedlar<sup>®</sup>-Beutel) mit einem Volumen von 30 Litern aufgeblasen.

10 Die Probenahme über einen Tedlar-Beutel wurde durchgeführt, um anschließend ein definiertes Volumen über die Sammelphase leiten zu können.

15 Im Anschluss an die Probenahme wurde mit Hilfe einer Pumpe ein definiertes Luftvolumen (20 L bei einem Volumenstrom von < 2 l/min) aus dem Beutel über eine Kartusche, die das Sammelmaterial enthält, gesaugt.

20 Die kommerziell erhältliche Kartusche war mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin belegtem Kieselgel (Supelco: Artikelnummer 505358) als Sammelmaterial befüllt. Die  $\alpha$ -Oxoaldehyde reagierten entsprechend der folgenden Gleichung zu 2,4-Dinitrohydrazonen und wurden auf dem Kieselgel zurückgehalten.



30 Die entstandenen Derivate wurden anschließend mit 4ml Acetonitril von der Kartusche eluiert und das erhaltene Eluat bis zur Trockne eingeeengt. Der verbleibende Rückstand wurde mit 500  $\mu$ l Acetonitril wieder aufgelöst. Ein Aliquot von 20  $\mu$ l wurde in das HPLC-System zur Analyse überführt.

35

WO 01/94942

7

PCT/EP01/06101

Zur Analyse wurde ein HPLC-Verfahren nach dem Prinzip der Umkehrphasenchromatographie mit folgende methodischen Parametern verwendet:

5 **Säule:** Hypersil BDS C18, Säulenlänge: 10 cm, Säulendurchmesser: 4mm, Teilchengröße: 3µm  
**Mobile Phase:** Gemisch aus Acetonitril und Wasser, Volumenstrom von 0,5 ml/min  
10 **Startbedingungen:** Gemisch aus Acetonitril und Wasser (50:50;Volumenverhältnisse)  
**Gradient:** Konstante Startbedingungen über 10 Minuten, dann innerhalb von 27 Minuten auf einen Volumenanteil Acetonitril von 100%. Die Daten wurden mittels UV-Detektion bei 360 und 404 nm erfaßt und mit einer  
15 Hewlett-Packard Chem-Station aufgezeichnet.

**Figur 1:**

Zur Absicherung der Identifizierung der Substanzen wurde ein Teil des Eluates der Sammelkartusche unter den oben beschriebenen Bedingungen mit einem HPLC-System analysiert, das zusätzlich zum UV-Detektor über einen Massenspektrometrischen Detektor verfügte (Fig. 1). Dieser erlaubt die Identifizierung der Substanzen anhand ihrer Molekülmasse sowie durch den Zerfall des Molekül in charakteristische Molekülfragmente.  
20  
25

Einen weiteren Teil des Eluates wurden definierte Mengen der Derivate der  $\alpha$ -Oxaldehyde zugesetzt und die Lösung anschließend mittels HPLC und UV-Detektion analysiert (Prinzip der Standardaddition) (Fig. 2). In Abhängigkeit von der zugegebenen Menge an Derivat wird im Chromatogramm das entsprechende Signal der Verbindung erhöht und somit die Identifizierung bestätigt.  
30  
35

WO 01/94942

8

PCT/EP01/06101

In Figur 1 ist unmittelbar der Peak für Aceton und der Peak für Methylglyoxal zu erkennen. Damit ist gezeigt, daß das Stoffwechselprodukt Methylglyoxal auch in der Atemluftprobe und damit nichtinvasiv nachgewiesen werden kann und aufgrund einer Stoffwech-

5 selepezifität unmittelbar auf das Vorhandensein von Methylglyoxal im Blutplasma der Patientin hinweist. Da Methylglyoxal nicht ubiquitär auftritt, sind Störungen der Messungen und Verfälschungen des Meßergebnisses durch das Umfeld der Patientin nicht zu erwarten.

10

Bei weiteren Vergleichsversuchen mit gesunden Vergleichsprobanden konnte bisher kein  $\alpha$ -Oxaldehyd in deren Atemluft nachgewiesen werden.

15

Beispielsweise wurde die Atemluftproben gesunder Vergleichsprobanden entsprechend dem oben beschriebenen Verfahren untersucht. Das resultierende Chromatogramm für einen gesunden Probanden zeigt Figur 3. Im Retentionszeitbereich der  $\alpha$ -Oxaldehyde ist kein auswertbares Signal zu erkennen. Nach Zusatz eines Methylglyoxal-Standards erscheint bei 19,50 Minuten im Chromatogramm ein Signal, wie in Figur 4 gezeigt ist.

20

25

5

**Patentansprüche**

1. Verfahren zum Nachweis von  $\alpha$ -Oxoaldehyden in  
Vollblut, Blutplasma und/oder Serum eines Pati-  
10 enten, wobei eine Atemluftprobe auf Vorhanden-  
sein mindestens eines  $\alpha$ -Oxoaldehydes analysiert  
wird und aus dem Analyseergebnis auf das Vorhan-  
densein von  $\alpha$ -Oxoaldehyden im Vollblut, Blut-  
plasma und/oder Serum des Patienten geschlossen  
15 wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Konzentra-  
tion von  $\alpha$ -Oxoaldehyden in der Atemluftprobe be-  
stimmt wird und hieraus auf die Konzentration  
20 von  $\alpha$ -Oxoaldehyden im Vollblut, Blutplasma  
und/oder Serum eines Patienten geschlossen wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei als  $\alpha$ -  
Oxoaldehyd Methylglyoxal, Glyoxal und/oder 3-  
25 Deoxyglucuron nachgewiesen wird.

WO 01/94942

10

PCT/EP01/06101

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Atemluftprobe in einen Probenbeutel und/oder ein geeignetes Probenbehältnis eingeschlossen und/oder durch einen Impinger geleitet wird.
- 5
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die  $\alpha$ -Oxoaldehyde in der Atemluftprobe mittels eines Derivatisierungsmittels derivatisiert und die entstehenden Derivate bestimmt werden.
- 10
6. Verfahren nach Anspruch 5, wobei die Derivate flucrometrisch, photometrisch und/oder chromatographisch nachgewiesen werden.
- 15
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die  $\alpha$ -Oxoaldehyde in der Atemluftprobe bestimmt werden, indem die  $\alpha$ -Oxoaldehyde elektrochemisch, spektrometrisch, enzymatisch und/oder immunchemisch nachgewiesen werden.
- 20

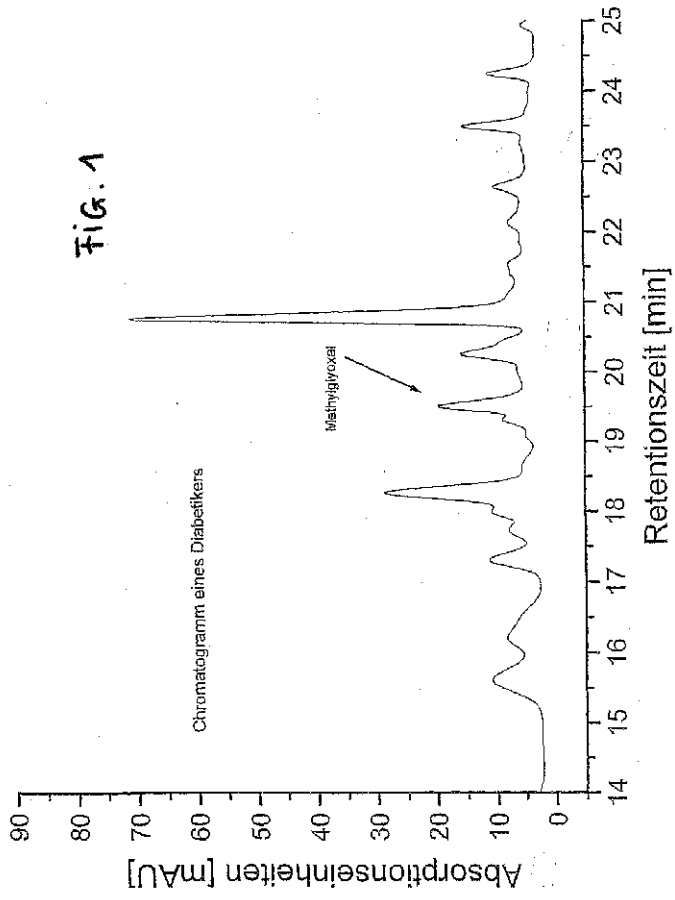
WO 01/94942

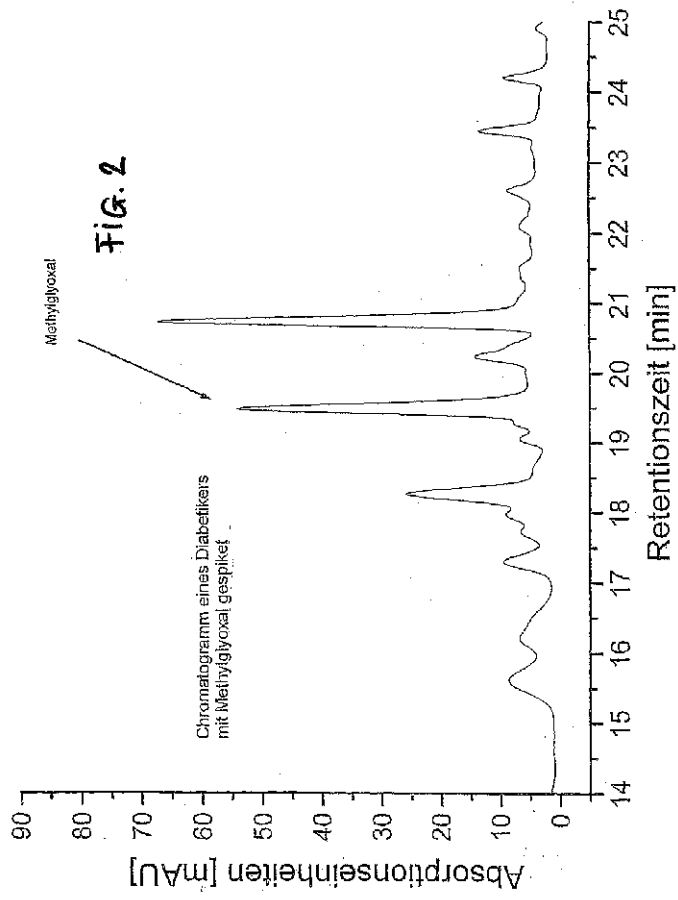
II

PCT/EP01/06101

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die  $\alpha$ -Oxoaldehyde in der Atemluftprobe massenspektrometrisch bestimmt werden.
- 5 9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei in der Atemluftprobe enthaltenes Methylglyoxal mit Glyoxalase zu Lactat umgesetzt wird und anschließend das Lactat mit einem Sensor nachgewiesen wird.

10

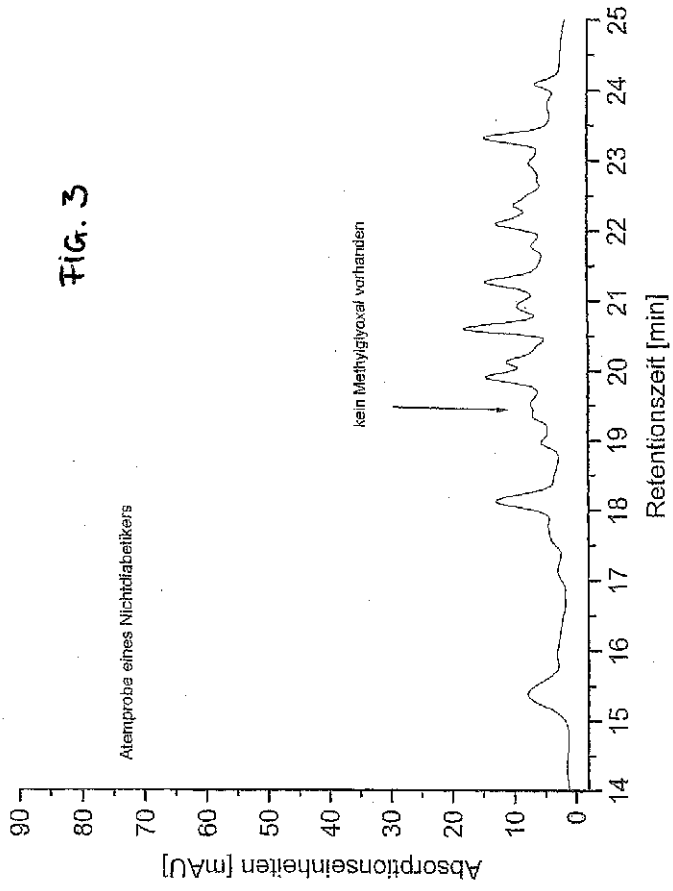




WO 01/94942

3/4

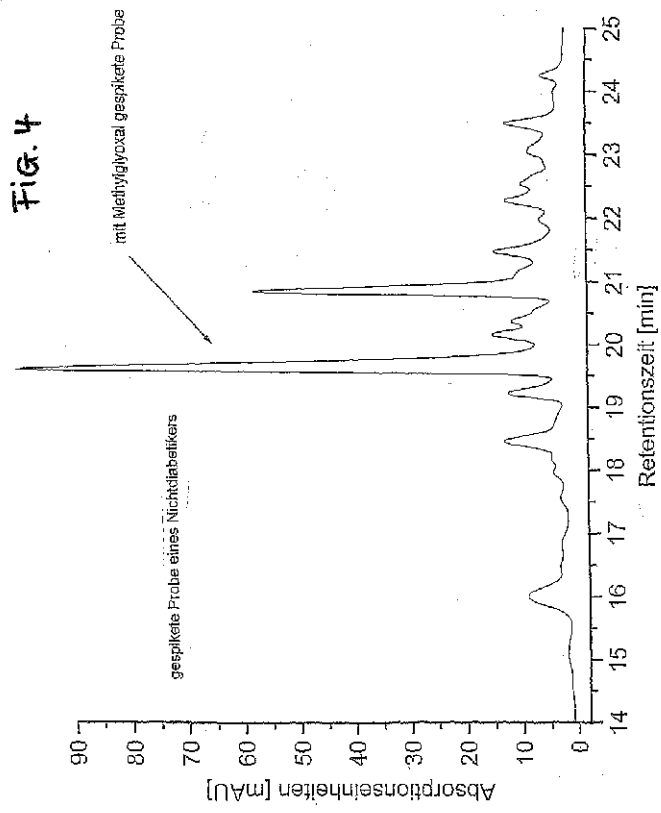
PCT/EP01/06101



WO 01/94942

4/4

PCT/EP01/06101



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. EP 01/06101
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 G01N33/52 G01N33/497		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC:		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) BIOSIS, MEDLINE, WPI Data, EPO-Internal, CHEM ABS Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KALAPOS MIKLOS PETER: "Methylglyoxal in living organisms: Chemistry, biochemistry, toxicology and biological implications." TOXICOLOGY LETTERS (SHANNON), vol. 110, no. 3, 22 November 1999 (1999-11-22), pages 145-175, XP002175623 ISSN: 0378-4274 paragraphs '02.2!', '3.1.1!', '3.1.2!', '05.1!' figure 1 --- ---	1-9
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents:		
*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *L* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claims) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (see Specialised) *C* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
23 August 2001	27/09/2001	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. Box 5518 Patentkanal 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 490-2040, Tx: 21 851 opt. nt, Fax: (+31-70) 499-3016	Authorized officer  Stricker, J-E	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. 121, EP 01/06101
C (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages.	Relevant to claim No.
Y	THORNALLEY PAUL J ET AL: "Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose." BIOCHEMICAL JOURNAL, vol. 344, no. 1, 15 November 1999 (1999-11-15), pages 109-116, XP002175624 ISSN: 0264-6021 abstract page 110, paragraph 2	1-8
Y	DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1995 LIN YUMEI ET AL: "Protocol for collection and HPLC analysis of volatile carbonyl compounds in breath." Database accession no. PREV199598370397 XP002175625 abstract & CLINICAL CHEMISTRY, vol. 41, no. 7, 1995, pages 1028-1032, ISSN: 0009-9147	1-9
Y	DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1980 STOWELL A R ET AL: "BREATH AND BLOOD ACETALDEHYDE CONCENTRATIONS AND THEIR CORRELATION DURING NORMAL AND CALCIUM CARBIMIDE MODIFIED ETHANOL OXIDATION IN MAN" Database accession no. PREV198070006603 XP002175626 abstract & BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY, vol. 29, no. 5, 1980, pages 783-788, ISSN: 0006-2952	1-4
Y	DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1980 YADIN H: "AEROSOL VACCINATION AGAINST NEWCASTLE DISEASE VIRUS INHALATION AND RETENTION DURING VACCINATION" Database accession no. PREV198070051000 XP002175627 abstract & AVIAN PATHOLOGY, vol. 9, no. 2, 1980, pages 163-170, ISSN: 0307-9457	4

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 01/06101

C (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>DATABASE BIOSIS 'OnLine!  BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE,  PHILADELPHIA, PA, US; 1988  SHANE B S ET AL: "COMPARATIVE MUTAGENICITY  OF NINE BRANDS OF COFFEE TO  SALMONELLA-TYPHIMURIUM TA100 TA102 AND  TA104"  Database accession no. PREV198885121681  XP002175690  abstract  &amp; ENVIRONMENTAL AND MOLECULAR MUTAGENESIS,  vol. 11, no. 2, 1988, pages 195-206,  ISSN: 0893-6692</p>	8
Y	<p>US 5 770 028 A (BODEN MARK W ET AL)  23 June 1998 (1998-06-23)  column 1, line 1 -column 4, line 24</p>	9
Y	<p>DATABASE BIOSIS 'OnLine!  BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE,  PHILADELPHIA, PA, US; 1995  MISRA KANIK A ET AL: "Glyoxalase III from  Escherichia coli: A single novel enzyme  for the conversion of methylglyoxal into  D-lactate without reduced glutathione."  Database accession no. PREV199598176476  XP002175628  abstract  &amp; BIOCHEMICAL JOURNAL,  vol. 305, no. 3, 1995, pages 999-1003,  ISSN: 0264-6021</p>	9
A	<p>WD 99 56790 A (LEWANCZUK RICHARD ;FOSTER  ROBERT T (CA); ISOTECHNIKA INC (CA); ASP)  11 November 1999 (1999-11-11)  cited in the application  the whole document</p>	
A	<p>DATABASE BIOSIS 'OnLine!  BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE,  PHILADELPHIA, PA, US; 1990  MUNGER J W ET AL: "POBWATER CHEMISTRY AT  RIVERSIDE CALIFORNIA USA"  Database accession no. PREV199090080547  XP002175629  abstract  &amp; ATMOSPHERIC ENVIRONMENT PART B URBAN  ATMOSPHERE,  vol. 24, no. 2, 1990, pages 185-206,  ISSN: 0957-1272</p>	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

JP 01/06101

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5770028 A	23-06-1998	US 5494562 A	27-02-1996
		AT 138741 T	15-01-2000
		AU 704637 B	29-04-1999
		AU 1229595 A	11-01-1996
		CA 2138856 A	28-12-1995
		DE 69514427 D	17-02-2000
		DE 69514427 T	24-08-2000
		DK 690134 T	01-05-2000
		EP 0690134 A	03-01-1996
		ES 2141893 T	01-04-2000
		JP 8193969 A	30-07-1996
		PL 306936 A	05-01-1996
		US 5529676 A	25-06-1996
		US 5573647 A	12-11-1996
		US 5616222 A	01-04-1997
US 5582698 A	10-12-1996		
US 5711868 A	27-01-1998		
US 5601694 A	11-02-1997		
WO 9956790 A	11-11-1999	AU 3725199 A	23-11-1999
		EP 1075286 A	14-02-2001

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationale Aktenzeichen  
PCT/EP 01/06101

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 G01N33/52 G01N33/497

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

B. RECHERSCHERTE GEBIETE

Technisches Merkmalssymbol (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 G01N

Forscherteile aber nicht zum Mindestmaßstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die nachfolgenden Gebiete fallen

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

BIOSIS, MEDLINE, WPI Data, EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGEGEBENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beit. Anspruch Nr.
Y	KALAPOS MIKLOS PETER: "Methylglyoxal in living organisms: Chemistry, biochemistry, toxicology and biological implications." TOXICOLOGY LETTERS (SHANNON), Bd. 110, Nr. 3, 22. November 1999 (1999-11-22), Seiten 145-175, XP002175623 ISSN: 0378-4274 Absätze '02.21, '3.1.11, '3.1.21, '05.11 Abbildung 1	1-9

<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Fakt C zu entnehmen	<input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik darstellt, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* atomares Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die gegliedert ist, d.h. den Prioritätsanspruch zweifach oder mehreren zu besagen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum eines anderen im Fachbereichsrecht geltenden Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angeschlossen zu sein ausgeschlossen ist *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung eines Besizers, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist	*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollektiv, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Thematik abgeglichen ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung zum alleinigen Gegenstand dieser Veröffentlichung macht als neu oder als erfindungsfähig betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als zum erfindungsfähigen Gegenstand betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschließens der internationalen Recherche	Abschließdatum des internationalen Recherchenberichts
23. August 2001	27/09/2001
Name und Zustellenschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5610 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040; 1x-21 651 epo.nl Fax: (+31-70) 340-3016	Bewillmähiger Bodensteller Stricker, J-E

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT		ationales Aktenzeichen TUL/EP 01/06101
C(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGEGEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Seit. Anspruch Nr.
Y	<p>THORNALLEY PAUL J ET AL: "Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose." BIOCHEMICAL JOURNAL, Bd. 344, Nr. 1, 15. November 1999 (1999-11-15), Seiten 109-116, XP002175624 ISSN: 0264-6021 Zusammenfassung Seite 110, Absatz 2</p>	1-8
Y	<p>DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1995 LIN YUMEI ET AL: "Protocol for collection and HPLC analysis of volatile carbonyl compounds in breath." Database accession no. PREV199598370397 XP002175625 Zusammenfassung &amp; CLINICAL CHEMISTRY, Bd. 41, Nr. 7, 1995, Seiten 1028-1032, ISSN: 0009-9147</p>	1-9
Y	<p>DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1980 STOWELL A R ET AL: "BREATH AND BLOOD ACETALDEHYDE CONCENTRATIONS AND THEIR CORRELATION DURING NORMAL AND CALCIUM CARBIMIDE MODIFIED ETHANOL OXIDATION IN MAN" Database accession no. PREV198070006603 XP002175626 Zusammenfassung &amp; BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY, Bd. 29, Nr. 5, 1980, Seiten 783-788, ISSN: 0006-2952</p>	1-4
Y	<p>DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1980 YADIN H: "AEROSOL VACCINATION AGAINST NEWCASTLE DISEASE VIRUS INHALATION AND RETENTION DURING VACCINATION" Database accession no. PREV198070051000 XP002175627 Zusammenfassung &amp; AVIAN PATHOLOGY, Bd. 9, Nr. 2, 1980, Seiten 163-170, ISSN: 0307-9457</p>	4
	-/-	

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internes Abkürzzeichen  
r.c./EP 01/06101

C (Fortsetzung) ALS WESSENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Bibl. Anz. Nr.
Y	<p>DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1988 SHANE B S ET AL: "COMPARATIVE MUTAGENICITY OF NINE BRANDS OF COFFEE TO SALMONELLA-TYPHIMURIUM TA100 TA102 AND TA104" Database accession no. PREV198885121681 XP002175690 Zusammenfassung &amp; ENVIRONMENTAL AND MOLECULAR MUTAGENESIS, Bd. 11, Nr. 2, 1988, Seiten 195-206, ISSN: 0893-6692</p>	8
Y	<p>US 5 770 028 A (BODEN MARK W ET AL) 23. Juni 1998 (1998-06-23) Spalte 1, Zeile 1 - Spalte 4, Zeile 24</p>	9
Y	<p>DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1995 MISRA KANIK A ET AL: "glyoxalase III from Escherichia coli: A single novel enzyme for the conversion of methylglyoxal into D-lactate without reduced glutathione." Database accession no. PREV199598176476 XP002175628 Zusammenfassung &amp; BIOCHEMICAL JOURNAL, Bd. 305, Nr. 3, 1995, Seiten 999-1003, ISSN: 0264-6021</p>	9
A	<p>WO 99 56790 A (LEWANCZUK RICHARD ; FOSTER ROBERT T (CA); ISOTECHNIKA INC (CA); ASP) 11. November 1999 (1999-11-11) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument</p>	
A	<p>DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1990 MUNGER J W ET AL: "FOGWATER CHEMISTRY AT RIVERSIDE CALIFORNIA USA" Database accession no. PREV199090080547 XP002175629 Zusammenfassung &amp; ATMOSPHERIC ENVIRONMENT PART B URBAN ATMOSPHERE, Bd. 24, Nr. 2, 1990, Seiten 185-206, ISSN: 0957-1272</p>	

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Ansprüche zu Veröffentlichung ... , die zur selben Patentfamilie gehören

Inhaltsverzeichnis

Publ./EP 01/06101

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5770028 A	23-06-1998	US 5494562 A	27-02-1996
		AT 188741 T	15-01-2000
		AU 704637 B	29-04-1999
		AU 1229595 A	11-01-1996
		CA 2138856 A	28-12-1995
		DE 69514427 D	17-02-2000
		DE 69514427 T	24-08-2000
		DK 690134 T	01-05-2000
		EP 0690134 A	03-01-1996
		ES 2141893 T	01-04-2000
		JP 8193969 A	30-07-1996
		PL 306936 A	08-01-1996
		US 5529676 A	25-06-1996
		US 5573647 A	12-11-1996
		US 5616222 A	01-04-1997
		US 5682698 A	10-12-1996
		US 5711868 A	27-01-1998
US 5601694 A	11-02-1997		
WO 9956790 A	11-11-1999	AU 3725199 A	23-11-1999
		EP 1075286 A	14-02-2001

---

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

Fターム(参考) 2G045 AA25 CA25 CA26 DA80 FA11 FA34 FB05 FB06

专利名称(译)	检测患者的全血，血浆和/或血清中的 $\alpha$ -氧代醛的方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP2004501366A</a>	公开(公告)日	2004-01-15
申请号	JP2002502440	申请日	2001-05-29
[标]申请(专利权)人(译)	研究所少数人的惠莫水泥比奥禅区里克·蒙斯特艾因金思维拉赫捐助吹的		
申请(专利权)人(译)	研究所Fuyua Hyemo - UND Biozenorikku明斯特艾因金思维拉赫捐助吹的		
[标]发明人	クライブーマウォルフギヤング シュルツェペレンガールウタ		
发明人	クライブーマ ウォルフギヤング シュルツェペレンガール ウタ		
IPC分类号	G01N27/62 A61B5/00 G01N27/416 G01N30/02 G01N30/88 G01N33/497 G01N33/52		
CPC分类号	G01N33/52 A61B5/082 A61B5/14532 G01N33/497 G01N2030/027		
FI分类号	G01N33/497.A G01N27/62.V G01N30/88.E G01N27/46.G		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/DA80 2G045/FA11 2G045/FA34 2G045/FB05 2G045/FB06		
代理人(译)	龙华 明裕		
优先权	10028548 2000-06-09 DE		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

解决的问题：提供一种检测患者全血，血浆和/或血清中的 $\alpha$ -氧代醛的方法，该方法可以通过简单，经济和可靠的方法进行。本发明涉及一种用于检测患者的全血，血浆和/或血清中的 $\alpha$ -氧代醛的方法，该方法包括使用呼吸样本来获得所述患者的全血，血浆和/或血清。进行分析以确认至少一种或多种 $\alpha$ -氧代醛的存在，并根据该分析结果进行估算。

