(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
14. März 2002 (14.03.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/021136 A3

(51) Internationale Patentklassifikation[7]: G01N 33/68, 33/50

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE01/03419

(22) Internationales Anmeldedatum:
1. September 2001 (01.09.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 44 639.6 8. September 2000 (08.09.2000) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US)*: **TERAKLIN AKTIENGESELLSCHAFT** [DE/DE]; Friedrich-Barnewitz-Strasse 4, 18119 Rostock (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: **MUNZERT, Eberhard** [DE/DE]; An den Buhnen 19, 18119 Rostock (DE).

(74) Anwalt: **WEBER-SEIFFERT-LIEKE**; Dr. R. Weber, Taunusstrasse 5a, 65183 Wiesbaden (DE).

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

(84) Bestimmungsstaaten *(regional)*: ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),

*[Fortsetzung auf der nächsten Seite]*

(54) Title: METHOD FOR QUANTITATIVELY DETERMINING THE AVAILABLE BINDING CAPACITY IN AN AQUEOUS PROTEIN SOLUTION

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DER VORHANDENEN BINDUNGSKAPAZITÄT IN EINER WÄSSRIGEN PROTEINLÖSUNG

$$K = \frac{(S_{L1}-S_{L2})}{(S_{L3}-S_{L4})-(S_{L5}-S_{L6})} \times 100\% \qquad (I)$$

(57) Abstract: The invention relates to a method for quantitatively or semi-quantitatively determining the available binding capacity in an aqueous test protein solution. According to the invention: a) six solutions (L1 to L6) of the following composition are prepared: L1 consisting of LM + A + B; L2 consisting of LM + A; L3 consisting of LM + B + C; L4 consisting of LM + C; L5 consisting of LM + B, and; L6 consisting of LM, wherein A represents the test protein, C represents a reference protein, B represents a marker substance (for example, 5,5'-dibromo-o-cresolsulphonphthalein), which can form on at least one determined binding site of the test protein (A) and of the reference protein (C), and LM represents a solvent for A, B and C, and whereby the same amounts of A and C are contained in solutions L1 to L4 each time; b) a defined physical property is determined for each solution L1 to L6 and is registered as an output signal S¿L1? to S¿L6?, and; c) the binding capacity (K) of the test protein is determined according to formula (I).

(57) Zusammenfassung: Bei einem Verfahren zur quantitativen oder halbquantitativen Bestimmung der freien Bindungskapazität in einer wässrigen Testprotein-Lösung (z.B. Albumin) werden a) sechs Lösungen (L1 bis L6) von der folgenden Zusammensetzung bereitet: L1: LM+A+B; L2: LM+A; L3: LM+B+C; L4: LM+C; L5: LM+B; L6: LM, worin A das Testprotein, C ein Referenzprotein, B eine Markersubstanz (z.B. 5,5'Dibrom-O-kresolsulphonphtalein), welche an wenigstens einer bestimmten Bindungsstelle des Testproteins (A) und des Referenzproteins (C) binden kann, und LM ein Lösungsmittel für A, B und C bedeutet und wobei A und C in den Lösungen L1 bis L4 jeweils in gleicher Menge enthalten sind, b) für jede Lösung L1 bis L6 eine bestimmte physikalische Eigenschaft bestimmt und als Ausgangssignal $S_{L1}$ bis $S_{L6}$ erfasst und, c) die Bindungskapazität (K) des Testproteins nach der Formel (I) bestimmt.

WO 02/021136 A3

OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**
— *mit internationalem Recherchenbericht*

**(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts:** 12. Juni 2003

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

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internati pplication No
PCT/DE 01/03419

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N33/68 G01N33/50

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 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)
EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category ° | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| P,X | KLAMMT S (REPRINT) ET AL: "Assessment of Albumin Binding Capacity (ABiC) for characterization of albumin transport function by a new method" JOURNAL OF HEPATOLOGY, (APR 2001) VOL. 34, SUPP. '1!, PP. 197-197. PUBLISHER: ELSEVIER SCIENCE BV, PO BOX 211, 1000 AE AMSTERDAM, NETHERLANDS. ISSN: 0168-8278., XP002225213 Univ Rostock, Dept Internal Med Gastroenterol, Inst Clin Chem & Pathobiochem, TERAKIN AG, D-2500 Rostock 1, Germany | 1,2,5,6 |
| Y | abstract | 4 |

---

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[X] Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report |
|---|---|
| 9 January 2003 | 24/02/2003 |

| Name and mailing address of the ISA | Authorized officer |
|---|---|
| European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016 | Vadot-Van Geldre, E |

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category ° | Citation of document, with indication,where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X | PORTER E G ET AL: "A RAPID MICROMETHOD FOR MEASURING THE RESERVE ALBUMIN BINDING CAPACITY IN SERUM FROM NEWBORN INFANTS WITH HYPERBILIRUBINEMIA" JOURNAL OF LABORATORY AND CLINICAL MEDICINE, ST. LOUIS, MO, US, vol. 67, 1966, pages 660-668, XP008005424 ISSN: 0022-2143 | 1-3,5,6 |
| Y | abstract page 661, paragraph 4 -page 662, paragraph 2; figures 2,3 page 666, paragraph 5 page 667, paragraphs 1,2 --- | 4 |
| Y | NAKAMARU Y ET AL: "Identical independent sites for dye ligand on bovine serum albumin demonstrated by multivariate analysis" BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA. PROTEIN STRUCTURE AND MOLECULAR ENZYMOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM,, NL, vol. 1480, no. 1-2, 14 July 2000 (2000-07-14), pages 321-328, XP004278971 ISSN: 0167-4838 abstract page 326, column 2 -page 327 --- | 4 |
| X | MAURER ET AL: "Phenolsuphonphtalein binding capacity of serum in newborn" J PEDIAT, vol. 74, 1969, page 231 XP008011816 the whole document --- | 1-3,5,6 |
| X | CASHORE W J ET AL: "RAPID FLUOROMETRIC ASSAY OF BILIRUBIN AND BILIRUBIN BINDING CAPACITY IN BLOOD OF JAUNDICED NEO NATES COMPARISONS WITH OTHER METHODS" PEDIATRICS, vol. 66, no. 3, 1980, pages 411-416, XP008011815 ISSN: 0031-4005 the whole document --- | 1-3,5,6 |
| X | US 3 887 332 A (TAKASE KAZUEI ET AL) 3 June 1975 (1975-06-03) column 4 ----- | 1 |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

tion on patent family members

Internati ıpplication No
PCT/DE 01/03419

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---|---|---|
| US 3887332 A | 03-06-1975 | JP 885457 C | 12-10-1977 |
| | | JP 48104597 A | 27-12-1973 |
| | | JP 52009160 B | 14-03-1977 |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internati s Aktenzeichen
PCT/DE 01/03419

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**
IPK 7 G01N33/68 G01N33/50

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

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole )
IPK 7 G01N

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

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

| Kategorie° | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|---|---|---|
| P,X | KLAMMT S (REPRINT) ET AL: "Assessment of Albumin Binding Capacity (ABiC) for characterization of albumin transport function by a new method" JOURNAL OF HEPATOLOGY, (APR 2001) VOL. 34, SUPP. '1!, PP. 197-197. PUBLISHER: ELSEVIER SCIENCE BV, PO BOX 211, 1000 AE AMSTERDAM, NETHERLANDS. ISSN: 0168-8278., XP002225213 Univ Rostock, Dept Internal Med Gastroenterol, Inst Clin Chem & Pathobiochem, TERAKIN AG, D-2500 Rostock 1, Germany | 1,2,5,6 |
| Y | Zusammenfassung | 4 |
| | --- | |
| | -/-- | |

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

[X] Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

| Datum des Abschlusses der internationalen Recherche | Absendedatum des internationalen Recherchenberichts |
|---|---|
| 9. Januar 2003 | 24/02/2003 |

| Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde | Bevollmächtigter Bediensteter |
|---|---|
| Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL – 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl,<br>Fax: (+31–70) 340–3016 | Vadot-Van Geldre, E |

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie° | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|---|---|---|
| X | PORTER E G ET AL: "A RAPID MICROMETHOD FOR MEASURING THE RESERVE ALBUMIN BINDING CAPACITY IN SERUM FROM NEWBORN INFANTS WITH HYPERBILIRUBINEMIA" JOURNAL OF LABORATORY AND CLINICAL MEDICINE, ST. LOUIS, MO, US, Bd. 67, 1966, Seiten 660-668, XP008005424 ISSN: 0022-2143 | 1-3,5,6 |
| Y | Zusammenfassung Seite 661, Absatz 4 -Seite 662, Absatz 2; Abbildungen 2,3 Seite 666, Absatz 5 Seite 667, Absätze 1,2 --- | 4 |
| Y | NAKAMARU Y ET AL: "Identical independent sites for dye ligand on bovine serum albumin demonstrated by multivariate analysis" BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA. PROTEIN STRUCTURE AND MOLECULAR ENZYMOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM,, NL, Bd. 1480, Nr. 1-2, 14. Juli 2000 (2000-07-14), Seiten 321-328, XP004278971 ISSN: 0167-4838 Zusammenfassung Seite 326, Spalte 2 -Seite 327 --- | 4 |
| X | MAURER ET AL: "Phenolsuphonphtalein binding capacity of serum in newborn" J PEDIAT, Bd. 74, 1969, Seite 231 XP008011816 das ganze Dokument --- | 1-3,5,6 |
| X | CASHORE W J ET AL: "RAPID FLUOROMETRIC ASSAY OF BILIRUBIN AND BILIRUBIN BINDING CAPACITY IN BLOOD OF JAUNDICED NEO NATES COMPARISONS WITH OTHER METHODS" PEDIATRICS, Bd. 66, Nr. 3, 1980, Seiten 411-416, XP008011815 ISSN: 0031-4005 das ganze Dokument --- | 1-3,5,6 |
| X | US 3 887 332 A (TAKASE KAZUEI ET AL) 3. Juni 1975 (1975-06-03) Spalte 4 ----- | 1 |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internatic · Aktenzeichen
PCT/DE 01/03419

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|---|---|---|---|
| US 3887332 A | 03-06-1975 | JP 885457 C | 12-10-1977 |
| | | JP 48104597 A | 27-12-1973 |
| | | JP 52009160 B | 14-03-1977 |