



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 697 37 412 T2 2007.11.29

(12)

## Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 0 889 739 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 697 37 412.2

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/US97/00486

(96) Europäisches Aktenzeichen: 97 902 912.1

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 1997/035622

(86) PCT-Anmeldetag: 10.01.1997

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 02.10.1997

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 13.01.1999

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 28.02.2007

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 29.11.2007

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: A61K 51/00 (2006.01)

A61M 36/14 (2006.01)

A61K 51/12 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

619140 25.03.1996 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI,  
LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:

Advanced Breath Diagnostics LLC, New York,  
N.Y., US

(72) Erfinder:

KLEIN, Peter D., Houston, TX 77025, US

(74) Vertreter:

Dr. Hoffmeister & Tarvenkorn, 48147 Münster

(54) Bezeichnung: MESSUNG DER MAGENENTLEERUNG

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung****Fachgebiet der Erfindung**

**[0001]** Diese Erfindung betrifft im Allgemeinen die Diagnose von Magen-Darm-Erkrankungen bei Menschen und im Besonderen die Messung der Rate, mit der im Magen verdaute Nahrungsmittel in den Dünndarm entleert werden, um abnorme Verzögerung oder Sturzentleerung zu bestimmen.

**Hintergrund der Erfindung**

**[0002]** Die Verdauung aller Nahrungsmittel bei Menschen beginnt im Magen, wo sowohl feste als auch flüssige Substanzen mit Magensaften vermischt werden, die von den Magenwänden abgesondert werden. Der Magensaft besteht überwiegend aus Salzsäure, enthält jedoch auch Enzyme, die Nahrungsbestandteile abbauen, sodass sie absorbiert und verwertet werden können. Die Mageninhalte werden über den Magenpfortner-Schließmuskel [Pylorusring, Musculus sphincter pylori] in den Dünndarm entleert, wobei sich ersterer öffnet und schließt, um Stöße von vermischten Feststoffen und Flüssigkeiten freizugeben. Die Rate dieser Entleerung wird mit diesem Schließmuskel reguliert und ist bei Flüssigkeiten höher als bei Feststoffen. In beiden Fällen wird die Rate durch den Kaloriengehalt der Mahlzeit bestimmt. Je höher der Kaloriengehalt, desto geringer die Entleerungsrate. Außerdem muss die Festphase der Nahrung zerkleinert bzw. deren Teilchengröße verringert werden, was durch Kontraktionen der Magenwände bewirkt wird, bis eine Teilchengröße von etwa 1 mm Durchmesser erreicht ist.

**[0003]** Eine Störung bei der Magenentleerungsrate kann entweder eine zu schnelle oder eine verzögerte Entleerung zur Folge haben. Wenn die Rate beschleunigt ist, erfolgt eine vorzeitige „Sturzentleerung“ der Nahrung in den Dünndarm.

**[0004]** Bei einer Verzögerung wird zur Entleerung des Magens übermäßig viel Zeit benötigt. Eine verzögerte Entleerung des Magens tritt häufig bei Diabetespatienten auf und kann mit Bauchschmerzen, -krämpfen und Blähungen bzw. Völlegefühl verbunden sein. Obwohl einige Medikamente entwickelt wurden, um die Entleerung des Magens zu beschleunigen, wird ihre Wirksamkeit noch immer untersucht.

**[0005]** Gegenwärtig ist eine Diagnose und Messung der Entleerung des Magens nur bei hoch spezialisierten Einrichtungen der Nuklearmedizin möglich. Eine Untersuchung erfordert die Verwendung eines radioaktiven Markierungsstoffs [Tracers] für die Flüssigphase und eines zweiten radioaktiven Markierungsstoffs für die Festphase. Die Bewegung derartiger Markierungsstoffe wird überwacht, indem ein liegender Patient zwischen zwei großen, auf Gammastrah-

len reagierenden Szintillationszählern positioniert wird, welche beim Patienten von vorne nach hinten die Lage und Menge jedes Isotyps messen. Die Durchführung dieses Verfahrens dauert 3 bis 9 Stunden.

**[0006]** Wenn der Markierungsstoff in der Flüssigphase vollkommen löslich ist, stellt seine Einbringung kein besonderes Problem dar, da der Markierungsstoff dann mit den Magensaften mischbar ist und zusammen mit der Bewegung der Flüssigphase aus dem Magen entleert wird. Das Einbringen des radioaktiven Markierungsstoffes in die Festphase ist jedoch schwieriger, da er derart an das Protein geheftet werden muss, dass er nicht von Magensaften ausgelöst wird, sondern an einzelnen Teilchen klebt bzw. hängt bleibt, die den Magen verlassen. Schließlich geht der Markierungsstoff verloren, wenn die Nahrungsteilchen im Dünndarm enzymatisch verdaut werden. Ein Verfahren beinhaltet das „Brutzeln“ des Isotyps mit einem Püree aus Hühnerleber und das Vermischen der halbfesten Nahrungsmasse mit einem Snack-Becher Rindsragout.

**[0007]** In letzter Zeit wurden alternative Markierungsstoffe für Flüssig- und Festphasen vorgeschlagen. Diese Markierungsstoffe sind <sup>13</sup>C-markierte Moleküle, die, wenn sie vom Darm absorbiert werden, schnell zu Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>) oxidiert werden. Die Oxidation kann aus einer Zunahme der Konzentration von <sup>13</sup>C-CO<sub>2</sub> im Atem bestimmt werden. Diese Markierungsstoffe haben die Vorteile, dass sie nicht radioaktiv sind, der Patient keinen schädlichen Strahlen ausgesetzt ist und Atemproben ohne invasive Verfahren genommen werden können. Zum Beispiel wurde Natrium-[1-<sup>13</sup>C]Acetat als Flüssigphasen-Marker verwendet (Braden et al., Gastroenterology, 1995, Bd. 108, Nr. 4, S. 1048-1055); das Auftreten von markiertem CO<sub>2</sub> nach Verabreichung des Markers in einer Flüssigmahlzeit wurde mit der Entleerung eines gleichzeitig verabreichten radioaktiven Flüssigphasen-Markers korreliert. Für die Festphase von Nahrung wurden die Marker 1-<sup>13</sup>C-Octansäure vorgeschlagen (Maes et al., Gut, 1995, Bd. 36, Nr. 2, S. 183-188). Diese Säure wird zu einem rohen Eigelb hinzugefügt, das mit Mikrowellen bestrahlt wird. Das Eiweiß wird separat gekocht; dann wird beides zu einem belegten Eierbrot zusammengefügt, welches vom Patienten verspeist wird (Maes et al., Gut, 1996, Bd. 38, Nr. 1, S. 23-27, und Journal of Nuclear Medicine, 1994, Bd. 35, Nr. 5, S. 824-831).

**[0008]** Die Verwendung der oben genannten nicht radioaktiven Substrate wurde gegenüber den früheren radiologischen Verfahren mit akzeptabler Korrelation validiert. Ungeachtet dessen, welcher Typ Markierungsstoff verwendet wird, sind Messungen der Festphasen-Entleerung klinisch von besserem Nutzen als solche der Flüssigphasen-Entleerung. Es bestehen jedoch noch immer Probleme bei der Verwen-

dung eines der Festphasen-Marker, da beide erfordern, dass die von außen stammende Substanz der Probemahlzeit hinzugefügt und an diese angeheftet wird. Wenn ein mit Technetium markiertes Serumalbumin-Kolloid verwendet wird, wird das Metallion an das Protein gebunden; wird Octansäure verwendet, wird die Fettsäure in der Lipidphase des Eigelb-Lipoproteins aufgelöst. Beide Markierungsverfahren erfordern, dass der Arzt die Mahlzeit vor der Verabreichung der Probe zubereitet und kocht. Es liegt in der Natur einer solchen Prozedur, dass diese die Entwicklung eines Standardprotokolls bzw. -verfahrens für Festphasen-Entleerung erschwert und die kommerzielle Entwicklung eines Verfahrens für niedergelassene Ärzte behindert.

**[0009]** Die Hauptaufgabe der vorliegenden Erfindung besteht darin, eine neue und verbesserte Messtechnik bereitzustellen, um die Magenentleerung zuverlässiger, sicherer und genauer bestimmen zu können.

**[0010]** Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht darin, eine neue und verbesserte Technik zur Diagnose von Störungen bei der Magenentleerung durch Verwendung von intrinsisch markierten Organismen als Marker für Festnahrung bereitzustellen.

#### Zusammenfassung der Erfindung

**[0011]** Diese und weitere Aufgaben werden gemäß den Ideen der vorliegenden Erfindung durch die Bereitstellung eines Verfahrens und Mittels zur Messung der Magenentleerung erfüllt, bei dem intrinsisch markierte einzellige Organismen als Marker für Festnahrung verwendet werden. Die intrinsisch markierten einzelligen Marker-Organismen, -Proteine, -Lipide oder -Kohlenhydrate werden in einem gebackenen Produkt verarbeitet, das vom Patienten verspeist wird. Das Produkt mit den Marker-Organismen ist vorzugsweise ein Brötchen mit einer essbaren, photosynthetischen Alge wie z. B. Spirulina platensis, welche in einer Atmosphäre von etwa 99 %  $^{13}\text{CO}_2$  gezüchtet wurde. Das Brötchen mit einer einzigartigen Zusammensetzung einschließlich der Alge wird vorzugsweise mit einem fetthaltigen Aufstrich sowie einer kleinen Portion Fruchtsaft abgepackt. Nachdem der Patient eine Zeit lang gefastet hat, sodass eine Atemprobe zur Festlegung einer Basismessung gesammelt werden kann, nimmt er das Brötchen mit dem Aufstrich und den Saft zu sich; danach werden Atemproben in Intervallen von ungefähr 10 Minuten über einen Zeitraum von mehreren Stunden gesammelt. Die Daten des  $^{13}\text{CO}_2$ -Gehaltes dieser Proben werden mit den Basisdaten zur Analyse und Berechnung der Magenentleerungszeit verglichen, woraus eine Diagnose einer abnormalen Entleerung gestellt werden kann.

#### Kurze Beschreibung der Zeichnungen

**[0012]** Die vorliegende Erfindung hat die oben genannten sowie weitere Aufgaben, Merkmale und Vorteile, welche in Zusammenhang mit der folgenden ausführlichen Beschreibung einer bevorzugten Ausführungsform deutlich klarer werden, die in Verbindung mit der beigefügten Zeichnung dargelegt wird: Die Zeichnungsfigur ist eine grafische Darstellung, welche die Konzentrationsänderung von  $^{13}\text{C}$  in Atemproben im Vergleich zum Zeitablauf zeigt, um diese Erfindung zu veranschaulichen.

#### Ausführliche Beschreibung einer bevorzugten Ausführungsform

**[0013]** Gemäß der vorliegenden Erfindung liegt die zur Einleitung eines Tests zur Messung der Magenentleerung zu kauende und zu schluckende feste Nahrung in Form eines essbaren Brötchens vor, das aus einem Teigrezept zubereitet wurde und etwa 150 Kalorien hat. Das Brötchen enthält Kohlenhydrate, Protein, Fett und eine bestimmte Menge an  $^{13}\text{C}$ -Spirulina, was eine einzigartige Verbindung von Zutaten bereitstellt. Die Alge ist photosynthetisch und wurde in einer Atmosphäre von etwa 99 %  $^{13}\text{CO}_2$  gezüchtet, so dass infolge der Photosynthese alle in der Alge enthaltenen Kohlenstoffatome  $^{13}\text{C}$  sind. Spirulina platensis ist ein einzelliger Organismus, und die zur Erzeugung eines detektierbaren Testsignals erforderliche Menge ist gering. Die Alge wird vor dem Backen in der Teigmischung verarbeitet. Das Brötchen der vorliegenden Erfindung wird vorzugsweise mit einer Einzelportion Frischkäse, Erdnussbutter oder einem anderen fetthaltigen Aufstrich sowie einer kleinen Portion Fruchtsaft abgepackt, um den Gesamtkalorienwert der Mahlzeit auf etwa 300 zu bringen.

**[0014]** Ein Rezept zur Zubereitung von vier (4) Brötchen gemäß dieser Erfindung hat folgende Zutaten:

- 100 g Weizenmehl
- 50 g Roggenmehl
- 90 ml kalter Kaffee
- 10 g Melasse
- 3 g Trockenhefe
- 4 g Salz
- 4 g Anissamen
- 2 g trockene, einheitlich mit  $^{13}\text{C}$  markierte Spirulina platensis

**[0015]** Die oben genannten Zutaten werden zubereitet, indem die Spirulina mit dem Weizen- und Roggenmehl zusammen gesiebt wird; in einer Viertelgallone [= ca. 0,95 l] fassenden Metallschüssel wird die Melasse in dem Kaffee aufgelöst, und die Hefe, das Salz und die Anissamen werden hinzugefügt. Dann wird das Mehl schrittweise zu der Flüssigkeit gegeben und zu einem Teigball verarbeitet. Der Teigball wird für etwa 5 Minuten geknetet und dann in 4 gleiche Stücke aufgeteilt, welche ausgerollt, zu Ku-

geln geformt und in eine Pfanne mit Antihaftbeschichtung gelegt werden. Die Kugeln werden zu runden Brötchen flachgedrückt, welche man für etwa 45 Minuten an einem warmen Ort gehen lässt. Die Brötchen werden für etwa 25 Minuten in einem auf 325 °F [= ca. 160 °C] vorgeheizten Ofen gebacken und dann in einzelnen, eine Achtelgallone [= ca. 0,47 l] fassenden Gefrierbeuteln aufbewahrt und bei -20 °F [= ca. -28 °C] in einer Gefriertruhe kühl gelagert, bis sie zur Verwendung benötigt werden.

**[0016]** Um einen Test zur Messung der Magenentleerung durchzuführen, fastet der Patient über Nacht, und am nächsten Morgen wird mit dem Apparat, der in dem Patent Nr. 5.140.993 über Atemproben von Opekun und Klein, erschienen am 25. August 1992, offenbart und beansprucht wurde, eine Basisprobe des Atems gesammelt. Die Probe kommt in ein leer gepumptes Prüfrohr in dem Reagensatz und wird dann analysiert, um einen Basispegel des Carbonats zu erhalten. Der Patient streicht dann den Käse oder eine andere Substanz auf ein Brötchen und nimmt es zusammen mit dem Fruchtsaft zu sich. Dann werden mittels des oben genannten Systems Atemproben genommen und in ca. 10-minütigen Intervallen über die folgenden etwa 4 Stunden gesammelt. Die Proben werden analysiert, um Datenpunkte für einen wie in der Zeichnungsfigur gezeigten Graph zu erhalten, welcher die Konzentrationsänderung von  $^{13}\text{C}$  im  $\text{CO}_2$  des Atems als Ordinate und die abgelaufene Zeit als Abszisse darstellt. Nach den höchsten Datenpunkten, wo die Änderungswerte zu fallen begannen, nimmt die Kurve exponentiell zur Basis ab. Der Graph ermöglicht eine Berechnung der Magenentleerungszeit bzw. -rate, so dass die Ergebnisse dem Arzt gemeldet werden können. Die Zeichnungsfigur zeigt die Kurve und ihre allgemeine Form bei normaler Entleerungszeit. Eine Abweichung davon zeigt eine Störung bei der Magenentleerung an.

**[0017]** Es wird nun anerkannt werden, dass ein neues und verbessertes, nicht invasives und strahlungsfreies Verfahren und Mittel zur Messung der Magenentleerung für diagnostische Zwecke offenbart wurde. An der offebarten Ausführungsform können gewisse Änderungen und Modifizierungen vorgenommen werden, ohne von den damit verbundenen erfinderrischen Ideen abzuweichen. Zum Beispiel könnte ein mit  $^{14}\text{C}$  markiertes Molekül verwendet werden, obwohl  $^{13}\text{C}$  bevorzugt wird.

### Patentansprüche

1. Ein Verfahren zur Messung der Entleerungszeit des Magens, aufweisend die folgenden Schritte: Vorbereiten eines Brötchens, das eine essbare, photosynthetische Alge enthält, die mit einem Kohlenstoffisotop markiert ist; Veranlassen eines Patienten, das besagte Brötchen zu sich zu nehmen, so dass die darin enthaltenen mit

Kohlenstoff markierten Nährstoffe im Dünndarm absorbiert und zu markiertem  $\text{CO}_2$  oxidiert werden; und Bestimmen des Anteils an  $\text{CO}_2$  in Atemproben, die von dem Patienten in periodischen Intervallen genommen werden, um die Rate der Entleerung des Magens zu bestimmen.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, worin es sich bei besagter Alge um *Spirulina platensis* handelt, die in einer  $^{14}\text{CO}_2$ -Atmosphäre gezüchtet wurde, wobei N die Zahl 13 oder 14 ist.

3. Verfahren gemäß Anspruch 2, worin das besagte Brötchen mit einem Teigrezept hergestellt wurde, das spezifisch markierte  $^{14}\text{C}$  Kohlenhydrate, Proteine und Fett enthält, und wobei N die Zahl 13 oder 14 ist.

4. Verfahren gemäß Anspruch 3, worin, wobei das Brötchen vor der Aufnahme mit einem Fett enthaltenden Aufstrich versehen wird.

5. Ein Nahrungsmittel, das so eingerichtet ist, dass es von einem Patienten in Zusammenhang mit einem Test zur Messung der Entleerung des Magens zu sich genommen werden kann, aufweisend: Ein Brötchen, dem vor dem Backen photosynthetische einzellige Organismen hinzugefügt wurden, die in einer Atmosphäre gezüchtet wurden, die einen hohen  $^{14}\text{CO}_2$ -Anteil aufwies, so dass, wenn sie oxidiert werden, ein detektierbarer Anstieg des  $^{14}\text{CO}_2$ -Gehaltes im Atem eines Patienten hervorgerufen wird, wobei N die Zahl 13 oder 14 ist.

6. Das Nahrungsmittel gemäß Anspruch 5, wobei die Organismen eine essbare Alge sind.

7. Das Nahrungsmittel gemäß Anspruch 6, wobei besagte Alge *Spirulina platensis* ist.

8. Das Nahrungsmittel gemäß Anspruch 7, wobei besagtes Brötchen einheitlich markierte Kohlenhydrate, Proteine und Fette enthält, um so einen Kalorienwert von ungefähr 150 zu erhalten.

9. Das Nahrungsmittel gemäß Anspruch 8, ferner enthaltend einen Fett enthaltenden Aufstrich, der auf dem Brötchen vor der Aufnahme angeordnet wird.

Es folgt ein Blatt Zeichnungen

## Anhängende Zeichnungen

Magenentleerung einer Festphase aus  $^{13}\text{C}$ -Brötchen**Solid Phase Gastric Emptying of  $^{13}\text{C}$ Biscuit**