

19



Bureau voor de  
Industriële Eigendom  
Nederland

11 1003375

12 C OCTROOI<sup>20</sup>

21 Aanvraag om octrooi: 1003375

51 Int.Cl.<sup>6</sup>  
C12P19/00, C07H13/04, C07H13/06

22 Ingediend: 19.06.96

41 Ingeschreven:  
23.12.97 I.E. 98/03

47 Dagtekening:  
23.12.97

45 Uitgegeven:  
02.03.98 I.E. 98/03

73 Octrooihouder(s):  
Instituut voor Agrotechnologisch Onderzoek  
(ATO-DLO) te Wageningen.

72 Uitvinder(s):  
Theodoor Maximiliaan Slaghek te Rotterdam  
Maria Christina de Zoete te Leidschendam  
Kornelis Fester Gotlieb te Veendam  
Jacobus van Haveren te Wageningen  
Marcus Filipus Maria Kneepkens te Tiel  
Marjolein van Woudenberg-Oosterom te Elst

74 Gemachtigde:  
Ir. L.C. de Bruijn c.s. te 2517 KZ Den Haag.

54 Werkwijze voor de verestering van koolhydraten.

57 Beschreven wordt een werkwijze voor de enzymatische verestering van koolhydraten met een C<sub>6</sub>-C<sub>24</sub>-vetzuur of actief derivaat daarvan, volgens welke men het koolhydraat voorafgaande aan de enzymatische behandeling acyleert met een C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-vetzuur of actief derivaat daarvan. Bij disachariden en trisachariden, in het bijzonder sucrose of lactose, kan men de enzymatische verestering uitvoeren zonder oplosmiddel. Bij oligo- of polysachariden voert men de enzymatische verestering uit in een organisch oplosmiddel zoals t-butylalcohol.

NL C 1003375

De inhoud van dit octrooi komt overeen met de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekeningen.

## Werkwijze voor de verestering van koolhydraten

De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor de enzymatische verestering van koolhydraten.

5 Vetzuresters van koolhydraten, zowel van mono-, di- en oligo-sachariden als van polysachariden, hebben nuttige eigenschappen zoals oppervlakte-actieve, emulgerende en in enkele gevallen geneeskrachtige eigenschappen. Van oudsher werden dergelijke esters gewoonlijk langs chemische weg, in het bijzonder door base gekatalyseerde reactie met vetzuurderivaten, bereid.

10 De chemische verestering van koolhydraten is echter weinig selectief. Bovendien zijn daarbij drastische omstandigheden vereist, waardoor het koolhydraat zelf kan worden aangetast. Daardoor ontstaan talrijke ongedefinieerde en/of ongewenste bijproducten. Verder zijn voor voedingstoepassingen chemische behandelingen minder gewenst.

15 Enzymen zoals lipasen blijken ook in staat de verestering van koolhydraten te katalyseren, en wel met meer selectiviteit, in hoofdzaak alleen primaire hydroxylgroepen, en onder mildere omstandigheden. Wanneer enzym-gekatalyseerde verestering van koolhydraten in een watermedium wordt uitgevoerd, ligt het evenwicht sterk aan de kant van de hydrolyse, en zijn de opbrengsten aan esters bijgevolg laag. Verschillende enzymen, zoals lipasen en proteasen, blijken echter ook in organische oplosmiddelen werkzaam te zijn. Veel gebruikte oplosmiddelen voor enzym-gekatalyseerde veresteringen zijn pyridine, dimethylformamide, tetrahydrofuran e.d.. Door Woudenberg et al (*Biotechn. Bioeng.* 49, 328-333 (1996)) is onlangs de selectieve verestering van disachariden met C<sub>4</sub>/C<sub>12</sub>-acylgroepen onder invloed van lipase van *Candida antarctica* in tert-butylalcohol beschreven. De esters van maltose en trehalose worden daarbij in  
20 goede opbrengst verkregen, maar sucrose en lactose worden onder die omstandigheden nauwelijks veresterd.

30 Leiden de bekende enzymatische veresteringen dus niet altijd tot de gewenste opbrengst, een bijkomend nadeel van deze werkwijzen is het gebruik van organische oplosmiddelen. Het gebruik van organische oplosmiddelen gaat doorgaans gepaard met afvalproblemen en met residuen in het veresteringsproduct, hetgeen zeker voor levensmiddel-toepassingen ongewenst is. Enzymatische verestering zonder oplosmiddel lukt

1 0 0 3 3 7 5

alleen voor sorbitol en fructose in enige bruikbare mate (Ducret et al. *Biotechn. Bioeng.* 48, 214–221 (1995); Guillardet et al. *Tenside Surf. Det.* 49, 342–344 (1992)). Andere, vooral de grotere, koolhydraten mengen onvoldoende met de vetzuurderivaten, zeker wanneer die lange ketens hebben, zodat nauwelijks of geen resultaat wordt verkregen.

5           Gevonden is nu dat men koolhydraten langs enzymatische weg doelmatig met lange acylgroepen kan veresteren, wanneer men het koolhydraat vooraf langs chemische weg licht acyleert met een korte acylgroep. Bij koolhydraten met korte keten, met een DP (degree of polymerisation) tot ongeveer 4–6, is hiervoor in het geheel geen organisch oplosmiddel nodig. Deze werkwijze zonder oplosmiddel is geschikt voor de  
10       verestering van monosachariden en vooral van di- en oligosachariden, zoals sucrose, lactose, maltose, isomaltose, lactulose, raffinose, stachyose, verbascose, kortketenig inuline, amyloextrinen e.d., in het bijzonder sucrose en lactose. Ook suikeralcoholen, in het bijzonder van disachariden zoals lactitol en maltitol, kunnen langs deze weg worden veresterd.

15           Bij koolhydraten met lange keten, in het bijzonder met een DP van meer dan 5, kan men de verestering langs enzymatische weg met lange acylgroepen geschikt uitvoeren in organische oplosmiddelen, na voorafgaande acylering met een korte acylgroep. Deze werkwijze is vooral geschikt voor de verestering van langketenig inuline, zetmeel en zetmeelderivaten zoals amylopectine en amylose, cellulose,  
20       hemicellulose, microbiële koolhydraten zoals curdlan en scleroglucan, levan e.d.

          De uitgangsstoffen voor de werkwijze kunnen natuurlijke koolhydraten zijn, zoals sucrose, lactose, raffinose, zetmeel, inuline, cellulose e.d., of voorbewerkte natuurlijke koolhydraten. De eventuele voorbewerking kan bij voorbeeld een hydrolyse, in het bijzonder een enzymatische hydrolyse zijn, zoals een ketenverkorting van zetmeel  
25       (amylyase), cellulose (cellulase), hemicellulose (xylanase) en inuline (inulinase). Ook (semi)synthetische koolhydraten kunnen worden gebruikt.

          Onder verestering zonder oplosmiddel wordt verstaan een verestering waarbij geen noemenswaardige hoeveelheden van een niet reagerend oplosmiddel – dit ter onderscheiding van het vetzuur of derivaat daarvan – wordt toegepast.

30           In het algemeen volstaat het als gemiddeld per monosacharide-eenheid van het te acyleren koolhydraat 0,1 hydroxylgroep vooraf met een korte acylgroep wordt veresterd. De voorkeur heeft het echter wanneer ten minste 0,2 en liever nog ten minste

**1 0 0 3 3 7 5**

0,5 hydroxylgroepen per monosacharide-eenheid wordt geacyleerd. Het is minder gewenst, indien bij de voorafgaande acylering alle hydroxylgroepen worden veresterd, en derhalve voert men bij voorkeur niet meer dan 3 acylgroepen en in het bijzonder niet meer dan 2 acylgroepen per monosacharide-eenheid in. De acylgroepen zijn korte  
5 groepen, d.w.z. met ten hoogste 4 koolstofatomen, zoals acetyl, propionyl, (iso)butyryl en (meth)acryloyl. De acylering geschiedt met een reactief derivaat van het zuur, zoals een anhydride, een chloride of een ester, in het bijzonder een vinylester.

De voorafgaande acylering kan zonder oplosmiddel of met oplosmiddel worden uitgevoerd. Een geschikt oplosmiddel is water, of het zuur van het acyl derivaat waarmee  
10 men acyleert, in het bijzonder azijnzuur. In het algemeen voegt men ongeveer 1 equivalent van een base zoals natriumacetaat, triethylamine o.i.d., ten opzichte van de verwachte of gewenste graad van acylering, toe. Ook kan een basisch oplosmiddel zoals pyridine worden toegepast.

Bij wijze van voorbeeld kan de volgende algemene werkwijze voor de vooraf-  
15 gaande acylering worden gegeven. Aan 10 tot 100 mmol (monosacharide-eenheden) koolhydraat in 100 ml water wordt 10 tot 300 mmol C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-carbonzuurester (bij voorbeeld vinylacetaat) toegevoegd. De pH wordt op 9,4 ingesteld en gehouden door toevoeging van 1 N NaOH. Na enige uren (gewoonlijk 3 à 4 uur) is de acylering klaar en wordt het reactiemengsel met 1 N HCl aangezuurd tot pH 6. Het mengsel wordt  
20 ingedampt en is gereed voor enzymatische verestering.

De uiteindelijke enzymatische verestering geschiedt met een lang vetzuur of derivaat daarvan, zoals een ester. De ethylester heeft daarbij voorkeur, omdat deze, anders dan bij voorbeeld de methylester, niet storend werkt op het veresteringsenzym. In het algemeen is de werkwijze geschikt voor het invoeren van acylgroepen met ten  
25 minste 6 koolstofatomen, waarbij de voorkeur gaat naar acylgroepen met ten minste 10 koolstofatomen, tot ongeveer 24 koolstofatomen. Een product met bruikbare eigenschappen wordt al verkregen met gemiddeld 0,2 lange acylgroepen per monosacharide-eenheid of met ten minste 1 lange acylgroep per molecule. In het bijzonder bereidt men een product met 0,5-1,0 C<sub>6</sub>-C<sub>24</sub>-acylgroepen per monosacharide-eenheid. Bij de  
30 disachariden bij voorbeeld bereidt men bij voorkeur een mono-C<sub>6</sub>-C<sub>24</sub>-acyl- of een di-C<sub>6</sub>-C<sub>24</sub>-acyl-derivaat of een mengsel daarvan. De lange acylgroepen worden in hoofdzaak op de primaire posities ingevoerd, bij sucrose het eerst of de 6-positie van de

**1 0 0 3 3 7 5**

fructose-eenheid. In het uiteindelijke product kunnen ook nog de aanvankelijk ingevoerde korte acylgroepen geheel of gedeeltelijk aanwezig zijn.

Bij de enzymatische verestering wordt een geschikt enzym toegepast, in het bijzonder een lipase. Een voorbeeld van een bruikbare lipase is die van *Candida antarctica*, die in de handel onder de naam Novozym 435 verkrijgbaar is. Ook andere enzymen, waaronder bepaalde proteasen zoals subtilisine, kunnen voor de enzymatische verestering worden toegepast.

Indien men voor de enzymatische verestering een oplosmiddel gebruikt, kan dat een polair organisch oplosmiddel zijn, zoals een alcohol, ether, keton, amide, nitril, chloride, sulfon, sulfoxide, nitril of nitroverbinding. Bij voorkeur gebruikt men een tertiaire alcohol, zoals t-butylalcohol, of bij voorbeeld dichloormethaan of dimethylformamide. Bij voorkeur is weinig of geen water aanwezig.

De uitvinding heeft ook betrekking op veresterde koolhydraten die gemiddeld met dan 0,2, in het bijzonder 0,5–2,0 C<sub>2</sub>–C<sub>4</sub>-acylgroepen en 0,2–1,5, in het bijzonder 0,5–1,0 C<sub>6</sub>–C<sub>24</sub>-acylgroepen per monosacharide-eenheid bevatten, waarbij bij voorkeur per molecule gemiddeld ten minste 1 C<sub>2</sub>–C<sub>4</sub>-acylgroepen en ten minste 1 C<sub>6</sub>–C<sub>24</sub>-acylgroep aanwezig is.

## Voorbeelden

### Voorbeeld 1

#### 20 *Voorverestering van sucrose*

Aan 34 g (100 mmol) fijngewreven sucrose, opgelost in 70 ml water, wordt 25,5 g (300 mmol) vinylacetaat in een keer toegevoegd. De pH van het reactiemengsel wordt met 1 M NaOH op 9,4 gebracht. Vervolgens wordt 3,5 uur geroerd bij kamertemperatuur, waarbij de pH van het reactiemengsel met een pH-stat op 9,4 wordt 25 gehouden. Hierna wordt het mengsel aangezuurd tot pH 6. Opbrengst 55,7 g. Acetyleringsgraad: gemiddeld 2,0 acetylgroepen per sucrose molecuul (DS = 1,0).

### Voorbeeld 2

#### *Verestering van sucrose met ethyloctanoaat*

Aan een suspensie van geacetylerde sucrose (500 mg, gemiddeld acetylgehalte 2,0) en ethyloctanoaat (5 ml) wordt 50 mg Novozym 435 toegevoegd. De verestering 30

**1 0 0 3 3 7 5**

wordt uitgevoerd bij 80°C. Na 48 uur blijkt uit GC en TLC dat een omzetting van meer dan 50% (van de monosacharide-eenheden) is bereikt. Het blijkt dat niet alleen de geacetyleerde sucrose, maar ook sucrose zelf heeft gereageerd.

### **Voorbeeld 3**

#### **5** *Verestering van sucrose met methylstearaat*

Aan een suspensie van geacetyleerde sucrose (500 mg, gemiddeld acetylgehalte 2,0) en methylstearaat (2,5 g) wordt 100 mg Novozym 435 toegevoegd. De verestering wordt uitgevoerd bij 90°C en onder verminderde druk. Na 48 uur blijkt uit GC en TLC dat een omzetting van meer dan 50% (van de monosacharide-eenheden) is bereikt. Het  
10 blijkt dat niet alleen de geacetyleerde sucrose, maar ook sucrose zelf heeft gereageerd.

**1 0 0 3 3 7 5**

## Conclusies

1.       Werkwijze voor de enzymatische verestering van koolhydraten met een  $C_6-C_{24}$ -vetzuur of actief derivaat daarvan, *met het kenmerk* dat men het koolhydraat voorafgaande aan de enzymatische behandeling acyleert met een  $C_2-C_4$ -vetzuur of  
5       actief derivaat daarvan.
  
2.       Werkwijze volgens conclusie 1, waarbij men bij de voorafgaande acylering 0,1-3,0  $C_2-C_4$ -acylgroepen per monosacharide-eenheid, in het bijzonder 0,5-2,0  $C_2-C_4$ -acylgroepen per monosacharide-eenheid, invoert.
  
3.       Werkwijze volgens conclusie 1 of 2, waarbij men de voorafgaande acylering  
10       uitvoert met een vinylester.
  
4.       Werkwijze volgens een der conclusies 1-3, waarbij men bij de enzymatische verestering 0,5-1,0  $C_6-C_{24}$ -acylgroepen per monosacharide-eenheid invoert.
  
5.       Werkwijze volgens een der conclusies 1-4, waarbij men de enzymatische verestering uitvoert met een ethylester van het  $C_6-C_{24}$ -vetzuur.
  
- 15       6.       Werkwijze volgens een der conclusies 1-5, waarbij het koolhydraat een mono-, di- of oligo-sacharide is.
  
7.       Werkwijze volgens de conclusie 6, waarbij het koolhydraat een disacharide of trisacharide, in het bijzonder sucrose of lactose is.
  
8.       Werkwijze volgens conclusie 6 of 7, waarbij men de enzymatische verestering  
20       uitvoert zonder oplosmiddel.
  
9.       Werkwijze volgens een der conclusies 1-5, met het kenmerk dat het koolhydraat een oligo- of poly-sacharide is en men de enzymatische verestering uitvoert in een organisch oplosmiddel.

**1 0 0 3 3 7 5**

10. Werkwijze volgens conclusie 8, waarbij het koolhydraat zetmeel, cellulose, hemicellulose, een microbiel polysacharide, levan of inuline, of een derivaat daarvan is.
11. Werkwijze volgens conclusie 9 of 10, waarbij het organische oplosmiddel wordt  
5 gekozen uit dimethylformamide, dichloormethaan en in het bijzonder t-butyl- of t-amyl-alcohol.
12. Geacyleerd koolhydraat, met het kenmerk dat het koolhydraat 0,5-2,0 C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-acylgroepen en 0,5-1,0 C<sub>6</sub>-C<sub>24</sub>-acylgroepen per monosacharide-eenheid bevat.

1003375

SAMENWERKINGSOVERENKOMST (PCT)  
**RAPPORT BETREFFENDE  
 NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN INTERNATIONAAL TYPE**

IDENTIFIKATIE VAN DE NATIONALE AANVRAGE	Kenmerk van de aanvrager of van de gemachtigde  N.O. 40578 TM
Nederlandse aanvrage nr.  1003375	Indieningsdatum  19 juni 1996
	Ingevoerd voorrangsdatum
Aanvrager (Naam)  INSTITUUT VOOR AGROTECHNOLOGISCH ONDERZOEK (ATO-DLO)	
Datum van het verzoek voor een onderzoek van internationaal type  --	Door de Instantie voor Internationaal Onderzoek (ISA) aan het verzoek voor een onderzoek van internationaal type toegekend nr.  SN 27779 NL
<b>I. CLASSIFICATIE VAN HET ONDERWERP</b> (bij toepassing van verschillende classificaties, alle classificatiesymbolen opgeven)	
Volgens de internationale classificatie (IPC)  Int. Cl. <sup>6</sup> : C 12 P 19/12, C 12 P 19/02, C 12 P 19/04, C 07 H 13/06	
<b>II. ONDERZOCHE GEBIEDEN VAN DE TECHNIEK</b>	
<b>Onderzochte minimum documentatie</b>	
Classificatiesysteem	Classificatiesymbolen
Int. Cl. <sup>6</sup>	C 12 P, C 07 H, C 11 C
Onderzochte andere documentatie dan de minimum documentatie voor zover dergelijke documenten in de onderzochte gebieden zijn opgenomen	
III. <input type="checkbox"/> GEEN ONDERZOEK MOGELIJK VOOR BEPAALDE CONCLUSIES (opmerkingen op aanvullingsblad)	
IV. <input type="checkbox"/> GEBREK AAN EENHEID VAN UITVINDING (opmerkingen op aanvullingsblad)	

A. CLASSIFICATIE VAN HET ONDERWERP  
IPC 6 C12P19/12 C12P19/02 C12P19/04 C07H13/06

Volgens de Internationale Classificatie van octrooien (IPC) of zowel volgens de nationale classificatie als volgens de IPC.

B. ONDERZOCHETE GEBIEDEN VAN DE TECHNIEK

Onderzochte minimum documentatie (classificatie gevolgd door classificatiesymbolen)  
IPC 6 C12P C07H C11C

Onderzochte andere documentatie dan de minimum documentatie, voor dergelijke documenten, voor zover dergelijke documenten in de onderzochte gebieden zijn opgenomen

Tijdens het internationaal nieuwheidsonderzoek geraadpleegde elektronische gegevensbestanden (naam van de gegevensbestanden en, waar uitvoerbaar, gebruikte trefwoorden)

C. VAN BELANG GEACHTE DOCUMENTEN

Categorie *	Geciteerde documenten, eventueel met aanduiding van speciaal van belang zijnde passages	Van belang voor conclusie nr.
A	BIOTECHNOL. BIOENG. (1993), 42(6), 788-91 CODEN: BIBIAU;ISSN: 0006-3592, XP002025123 IKEDA, ISAO ET AL: "Lipase -catalyzed acylation of sugars solubilized in hydrophobic solvents by complexation" zie het gehele document ---	1
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 124, no. 8, 19 Februari 1996 Columbus, Ohio, US; abstract no. 87558, PLOU, F. J. ET AL: "Enzymic synthesis of partially acylated sucroses" XP002025124 zie samenvatting & ANN. N. Y. ACAD. SCI. (1995), 750(ENZYME ENGINEERING XII), 332-7 CODEN: ANYAA9;ISSN: 0077-8923, ---	1
	-/--	

Verdere documenten worden vermeld in het vervolg van vak C.

Leden van dezelfde octrooifamilie zijn vermeld in een bijlage

\* Speciale categorieën van aangehaalde documenten

'A' document dat de algemene stand van de techniek weergeeft, maar niet beschouwd wordt als zijnde van bijzonder belang

'E' eerder document, maar gepubliceerd op de datum van indiening of daarna

'L' document dat het beroep op een recht van voorrang aan twijfel onderhevig maakt of dat aangehaald wordt om de publicatiedatum van een andere aanhaling vast te stellen of om een andere reden zoals aangegeven

'O' document dat betrekking heeft op een mondelinge uiteenzetting, een gebruik, een tentoonstelling of een ander middel

'P' document gepubliceerd voor de datum van indiening maar na de ingeroepen datum van voorrang

'T' later document, gepubliceerd na de datum van indiening of datum van voorrang en niet in strijd met de aanvraag, maar aangehaald ter verduidelijking van het principe of de theorie die aan de uitvinding ten grondslag ligt

'X' document van bijzonder belang; de uitvinding waarvoor uitsluitende rechten worden aangevraagd kan niet als nieuw worden beschouwd of kan niet worden beschouwd op inventiviteit te berusten

'Y' document van bijzonder belang; de uitvinding waarvoor uitsluitende rechten worden aangevraagd kan niet worden beschouwd als inventief wanneer het document beschouwd wordt in combinatie met één of meerdere soortgelijke documenten, en deze combinatie voor een deskundige voor de hand ligt

'&' document dat deel uitmaakt van dezelfde octrooifamilie

Datum waarop het nieuwheidsonderzoek van internationaal type werd voltooid

19 Februari 1997

Verzenddatum van het rapport van het nieuwheidsonderzoek van internationaal type

Naam en adres van de instantie

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

De bevoegde ambtenaar

Delanghe, L

C.(Vervolg). VAN BELANG GEACHTE DOCUMENTEN

Categorie *	Geciteerde documenten, eventueel met aanduiding van speciaal van belang zijnde passages	Van belang voor conclusie nr.
A	<p>CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 115, no. 17, 28 Oktober 1991 Columbus, Ohio, US; abstract no. 183801, MAREK, MIROSLAV ET AL: "Preparation of sucrose fatty acid esters using enzymatic hydrolysis of residual alkyl esters" XP002025125 zie samenvatting &amp; CS 269 749 A (CZECH.) ---</p>	1
A	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 8602 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 86-009992 XP002025126 &amp; JP 60 233 560 A (FUJI REBIO KK) , 20 November 1985 zie samenvatting ---</p>	1
A	<p>EP 0 594 428 A (ARCO CHEM TECH ;CPC INTERNATIONAL INC (US)) 27 April 1994 zie conclusies ---</p>	1
A	<p>EP 0 647 653 A (GEN FOODS INC) 12 April 1995 zie conclusies ---</p>	1
A	<p>EP 0 417 823 A (UNILEVER NV ;UNILEVER PLC (GB)) 20 Maart 1991 zie conclusies ---</p>	1
A	<p>WO 90 12858 A (NOVONORDISK AS ;LYSI HF (IS)) 1 November 1990 zie conclusies -----</p>	1

VERSLAG VAN HET NIEUWHEIDSONDERZOEK VAN  
INTERNATIONAAL TYPE  
Informatie over leden van dezelfde octroofamilie

Nummer van het verzoek om een nieuwheidsonderzoek  
NL 1003375

In het rapport genoemd octrooigeschrift	Datum van publicatie	Overeenkomend(e) geschrift(en)	Datum van publicatie
EP-A-0594428	27-04-94	US-A- 5298637	29-03-94
		AU-B- 667400	21-03-96
		AU-A- 5023593	05-05-94
		CA-A- 2108648	23-04-94
		JP-A- 6315348	15-11-94
-----			
EP-A-0647653	12-04-95	US-A- 5440027	08-08-95
		CA-A- 2131785	06-04-95
		FI-A- 944626	06-04-95
		NO-A- 943708	06-04-95
-----			
EP-A-0417823	20-03-91	GB-A- 2236537	10-04-91
		AU-B- 628644	17-09-92
		AU-A- 6236990	21-03-91
		CA-A- 2025124	14-03-91
		JP-A- 3109495	09-05-91
-----			
WO-A-9012858	01-11-90	CA-A- 2055455	20-10-90
		EP-A- 0469049	05-02-92
		JP-T- 4504659	20-08-92
-----			