

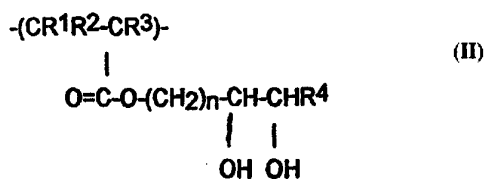


PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(15) Internationale Patentklassifikation ⁶ : B01J 20/32, G01N 30/48</p>	A1	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 95/10355</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 20. April 1995 (20.04.95)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP94/03197</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 24. September 1994 (24.09.94)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: P 43 34 353.8 8. Oktober 1993 (08.10.93) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MÜLLER, Egbert [DE/DE]; Elbestrasse 70, D-64390 Erzhausen (DE).</p> <p>(74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH; Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE).</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></p>

(54) Title: **PROCESS AND SUBSTRATES FOR GEL PERMEATION CHROMATOGRAPHY**

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN UND TRÄGER FÜR DIE GELPERMEATIONSCHROMOTOGRAPHIE**



(57) Abstract

The invention relates to an improved process for gel permeation chromatography and substrate materials therefor based on hydroxyl-group-containing substrates on the surface of which polymers are covalently bonded, in which: a) the substrate contains aliphatic hydroxyl groups; b) the covalently bonded polymers are bonded to the substrate via a final-position monomer unit; c) the linear polymers contain monomer units of formula (II) in which: R¹, R² and R³ are mutually independently H or CH₃, R⁴ is H or alkyl with 1-5 C atoms, and n is a whole number between 1 and 5; d) the polymers are cross-linked by ether bridges.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein verbessertes Verfahren für die Gelpermeationschromatographie und Trägermaterialien für dieses Verfahren auf der Grundlage von Hydroxylgruppenhaltigen Basisträgern, auf deren Oberflächen Polymere kovalent gebunden sind, worin a) der Basisträger aliphatische Hydroxylgruppen enthält, b) die kovalent gebundenen Polymeren über eine endständige Monomereinheit an den Träger gebunden sind, c) die linearen Polymeren Monomereinheiten der Formel (II) enthalten, worin R¹, R² und R³ unabhängig voneinander H oder CH₃, R⁴ H oder C₁-C₅-Alkyl und n eine ganze Zahl zwischen 1 und 5 bedeuten; d) die Polymeren durch Etherbrücken vernetzt sind.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Verfahren und Träger für die Gelpermeationschromatographie

Die Erfindung betrifft ein verbessertes Verfahren für die Gelpermeationschromatographie und Trägermaterialien für dieses Verfahren.

5

Die Gelpermeationschromatographie (GPC) zur Größentrennung von Makromolekülen ist zu einer Standardmethode für die Trennung von Biopolymeren, insbesondere von Proteinen geworden. Dazu werden Trägermaterialien benötigt, die eine hydrophile Oberfläche besitzen, und die möglichst kein unspezifisches Adsorptionsverhalten aufweisen.

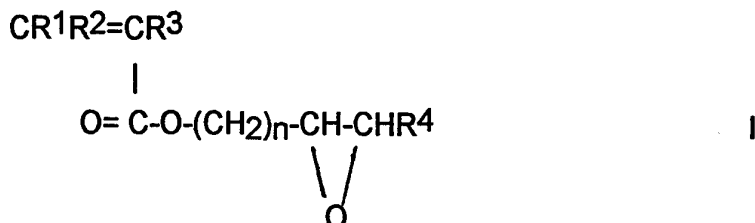
10

Weiterhin sollen die verwendeten Träger druckstabil sein, um hohe Durchflußraten zu erzielen. Insbesondere bei weitporigen Trägern ist diese Bedingung schwierig zu erfüllen.

15

Aus der Anmeldung DE 43 10 964 sind oxiranhaltige aktivierte Trägermaterialien bekannt, bei denen Monomere der Formel I auf einen hydroxylgruppenhaltigen Basisträger aufgepfropft sind,

20



25

worin

R₁, R₂ und R₃ unabhängig voneinander H oder CH₃,

30

R₄ H oder C₁-C₅-Alkyl

und

n eine ganze Zahl zwischen 1 und 5

35

bedeuten. Es wurde gefunden, daß sich diese aktivierten Trägermaterialien zu den erfindungsgemäßen vernetzten Pfropfpolymerisaten

umsetzen lassen. Dabei werden auf das bekannte Pfropfpolymerisat mit linearer Polymerkette beispielsweise durch Reaktion mit Bortrifluorid-Etherat vernetzt; die verbleibenden Epoxidgruppen werden gegebenenfalls anschließend hydrolysiert.

5

Es wurde gefunden, daß sich die Trenneigenschaften von Fractogel® TSK HW 65 (S), einem porösen Mischpolymerisat auf Vinylbasis, das aliphatische Hydroxylgruppen enthält (1 mÄq OH/g), erheblich veränderten, wenn man dieses Basismaterial einer Pfropfpolymerisation mit Glycidylmethacrylat und einer anschließenden Vernetzung unterwarf. Durch diese Maßnahmen werden Gelpermeationsträger mit verbesserten Trenneigenschaften zugänglich.

10

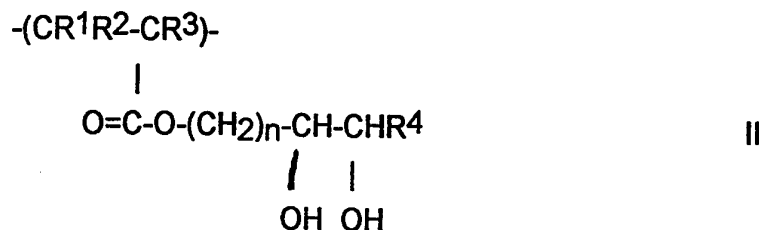
Die Erfindung betrifft Trägermaterialien für die Gelpermeationschromatographie auf der Grundlage von hydroxylgruppenhaltigen Basisträgern, auf deren Oberflächen Polymere kovalent gebunden sind, dadurch gekennzeichnet, daß

15

- a) der Basisträger aliphatische Hydroxylgruppen enthält,
- b) die kovalent gebundenen Polymeren über eine endständige Monomereinheit an den Träger gebunden sind,
- c) die linearen Polymeren Monomereinheiten der Formel II enthalten,
- d) die Polymeren durch Etherbrücken vernetzt sind,

20

25



30

worin

R¹, R² und R³ unabhängig voneinander H oder CH₃,

35

R⁴ H oder C₁-C₅-Alkyl

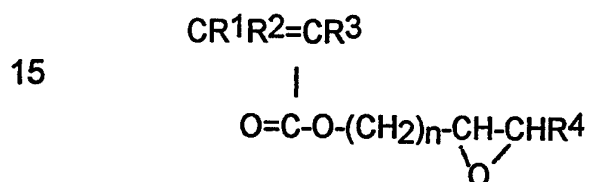
- 3 -

und

n eine ganze Zahl zwischen 1 und 5

5 bedeuten.

Die Erfindung betrifft Verfahren zur Herstellung von Trägermaterialien auf Grundlage von hydroxylgruppenhaltigen Basisträgern, auf deren Oberflächen Polymere durch Pfropfpolymerisation kovalent gebunden werden, dadurch gekennzeichnet, daß die hydroxylgruppenhaltigen Basisträgerteilchen in Gegenwart von Cer(IV)-Ionen in einer Lösung enthaltend Monomere der Formel I



worin

20

R₁, R₂ und R₃ unabhängig voneinander H oder CH₃R₄ H oder C₁-C₅-Alkyl

25 und

n eine ganze Zahl zwischen 1 und 5

bedeuten,

30

suspendiert und polymerisiert werden, und anschließend Etherbrücken hergestellt werden und schließlich die restlichen Epoxidgruppen zu Hydroxylgruppen umgewandelt werden.

35

Die Erfindung betrifft die Verwendung eines erfindungsgemäßen Trägermaterials für die Gelpermeationschromatographie, sowie Verfahren zur Trennung mindestens zweier Substanzen in einem Gemisch mittels Gelpermeationschromatographie unter Verwendung eines erfindungsgemäßen Trägermaterials.

Basisträger im Sinne der vorliegenden Erfindung sind Partikel, auf die Polymere aufgepfropft werden. Als Basisträger können allgemein übliche poröse oder unporöse Trägerteilchen eingesetzt werden, soweit sie primäre oder sekundäre aliphatische Hydroxylgruppen an ihrer Oberfläche aufweisen, oder in die nach an sich bekannten Verfahren aliphatische Hydroxylgruppen eingeführt werden können. Geeignet als Basisträger sind insbesondere Polymere auf Polyvinylalkohol-Basis oder Copolymere aus (Meth)acrylatderivaten und Comonomeren mit aliphatischen Hydroxylgruppen oder diolmodifizierte Kieselgele oder Mischpolymerisate auf Polyvinylbasis, die aliphatische Hydroxylgruppen enthalten. Derartige Basisträger sind kommerziell erhältlich; z.B. Fractogel® TSK HW 65 (S) (Fa. E. Merck), ein poröses Mischpolymerisat auf Vinylbasis, das aliphatische Hydroxylgruppen enthält (1 mÄq OH/g).

Überraschenderweise wurde gefunden, daß (Meth)acrylsäureester, die eine Oxirangruppe enthalten, auf Basisträger, die aliphatische Hydroxylgruppen auf ihrer Oberfläche enthalten, aufgepfropft werden können. Dabei wird erfindungsgemäß die Polymerisation mit Cer(IV)-Ionen gestartet: G. Mino und S. Kaizerman (1958) J.Polymer Science 31, 242-243; G. Mino et al. (1959) J.Polymer Science 38, 393-401. Die nach dieser Methode erhältlichen aktivierten Trägermaterialien lassen sich erfindungsgemäß weiter zu den vernetzten Trennmaterialien für die Gelpermeationschromatographie umsetzen.

Die Pfropfpolymerisation nach Mino und Kaizerman wird nach bekannten Verfahren in rein wäßriger, salpetersaurer Lösung ausgeführt. Deswegen kann diese Reaktion nur mit gut wasserlöslichen Monomeren ausgeführt werden. Es zeigte sich jedoch überraschenderweise, daß die Umsetzung mit Cer(IV)-salzen auch möglich ist, wenn als Lösungsmittel eine

5 Mischung aus Wasser und organischen Lösungsmitteln, die keine Hydroxylgruppen enthalten, benutzt wird. Besonders bevorzugt sind dabei Dioxan oder Tetrahydrofuran. Der Anteil des organischen Lösungsmittels im Reaktionsansatz beträgt bevorzugt 10-80 Volumen-%, besonders bevorzugt 20-50 Volumen-%.

10 Im Gegensatz zu makroporigen Materialien auf der Grundlage von bekannten vernetzten Dextran- oder Agarosegelen, sind die erfindungsgemäßen Gele druckstabil und erlauben hohe Durchflußraten.

15 Auch ohne weitere Ausführungen wird davon ausgegangen, daß ein Fachmann die obige Beschreibung in weitestem Umfang nutzen kann. Die bevorzugten Ausführungsformen sind deswegen lediglich als beschreibende, keineswegs als in irgendeine Weise limitierende Offenbarung aufzufassen.

20 Die vollständige Offenbarung aller vor- und nachstehend aufgeführten Anmeldungen, Patente und Veröffentlichungen, sowie der korrespondierenden Anmeldung DE 43 34 353, eingereicht am 08.10.1993, sind durch Bezugnahme in diese Anmeldung eingeführt.

Die folgenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern, sie stellen keinen Einschränkung der Erfindung dar.

25

Beispiele

30 In den folgenden Herstellungsbeispielen bedeutet Raumtemperatur (RT) 15-30 °C. Die Polymerisation wird in einem Dreihalskolben geeigneter Größe, der mit Rührer, Tropftrichter und Thermometer ausgerüstet ist, ausgeführt. Gewaschen wird durch Absaugen auf einer Nutsche.

35

Beispiel 1: Herstellung eines oxiran-aktivierten Trägers ausgehend von Fractogel®-TSK HW 65 (S)

5 Zu einer Suspension aus 100 ml sedimentiertem Fractogel®-TSK HW 65 (S) und 50 ml Wasser werden mit 4 g Ammoniumcer(IV)nitrat (gelöst in 50 ml 2 M HNO₃) bei Raumtemperatur unter starkem Rühren vermischt. Nach 1 Minute erfolgt die Zugabe einer Lösung von 6 g (2,3-Epoxypropyl)-methacrylat in 60 ml Dioxan. Es wird 3 Stunden weitergerührt. Anschließend wird die Reaktionssuspension erst mit 10 destilliertem Wasser und dann mit 0.05 M EDTA-Lösung gewaschen.

Beispiel 2: Vernetzung der Poly-(2,3-epoxypropyl)-methacrylat-Ketten

15 Das modifizierte Gel aus Beispiel 1 wird durch Waschen mit je 200 ml wäßrigem Dioxan 25, 50 und 75 Vol.-% entwässert und abschließend mit 200 ml reinem Dioxan gewaschen. Für die folgende Reaktion wird das Gel in 100 ml getrocknetem Dioxan suspendiert und die Suspension in einen Dreihalskolben überführt. Unter Luftabschluß wurden 25 ml 20 Bortrifluorid-Etherat unter Rühren zugegeben und noch eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Gel abfiltriert und mit je 200 ml Dioxan, Aceton und Wasser gewaschen.

25 Die nicht umgesetzten Oxirangruppen werden schließlich durch Behandlung mit 200 ml 0,5 M Schwefelsäure (2 Stunden, 45 °C) hydrolysiert. Anschließend wird das Material mit Phosphatpuffer (0,1 M; pH 7) neutral gewaschen und abschließend mit Wasser gewaschen.

30 Das folgende Anwendungsbeispiel zeigt die Wirkung der erfindungsgemäß modifizierten Trennmaterialien.

35

Beispiel 3: Vergleich des modifizierten Trennmaterials mit dem unmodifizierten Ausgangsprodukt

5 Je ein Chromatographierohr aus Glas (Länge 30 cm, innerer Durchmesser 10 mm; SuperFormance®, Fa. E. Merck) werden mit unmodifiziertem Trennmateri-
 10 al Fractogel®-TSK HW 65 (S) und mit nach Beispiel 2 modifiziertem Trennmateri-
 15 al gefüllt. Verschiedene Kalibratorproteine und Dextranblau werden in 0,15 M NaCl in 20 mM Phosphatpuffer pH 7 gelöst und auf beiden Säulen bei einem Fluß von 1 ml/min eluiert. Es werden folgende Elutionsdaten gefunden:

	Analyt	Molgewicht	Elution nach Minuten	
			modifiziert	unmodifiziert
	Dextranblau	2.000.000	15,9	8,5
15	Thyreoglobulin	660.000	14,9	8,55
	Rinderserumalbumin	67.000	16,0	16,6
	Myoglobin	12.000	16,3	17,0

20 Es zeigt sich, daß das Elutionsverhalten für Analyte mit hohem Molekulargewicht (Dextranblau und Thyreoglobulin) deutlich verändert wird, während dies bei Proteinen mit mittlerem oder niedrigem Molekulargewicht (Rinderserumalbumin und Myoglobin) nicht der Fall ist.

25

30

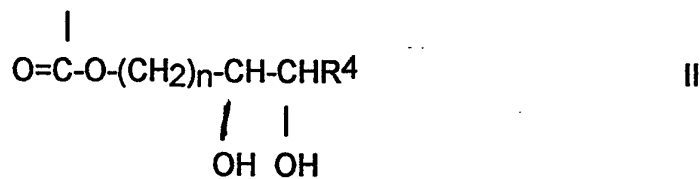
35

Patentansprüche

1. Trägermaterial für die Gelpermeationschromatographie auf der Grundlage von Hydroxylgruppenhaltigen Basisträgern, auf deren Oberflächen Polymere kovalent gebunden sind, dadurch gekennzeichnet, daß

- a) der Basisträger aliphatische Hydroxylgruppen enthält,
 b) die kovalent gebundenen Polymeren über eine endständige Monomereinheit an den Träger gebunden sind,
 c) die linearen Polymeren Monomereinheiten der Formel II enthalten,
 d) die Polymeren durch Etherbrücken vernetzt sind,

-(CR₁R₂-CR₃)-



worin

R₁, R₂ und R₃ unabhängig voneinander H oder CH₃,

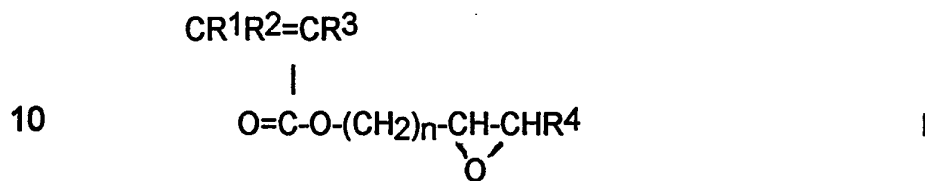
R₄ H oder C₁-C₅-Alkyl

und

n eine ganze Zahl zwischen 1 und 5

bedeuten.

2. Verfahren zur Herstellung von Trägermaterialien auf Grundlage von hydroxylgruppenhaltigen Basisträgern, auf deren Oberflächen Polymere durch Pfropfpolymerisation kovalent gebunden werden, dadurch gekennzeichnet, daß die hydroxylgruppenhaltigen Basisträgerpartikel in Gegenwart von Cer(IV)-Ionen in einer Lösung enthaltend Monomere der Formel I



worin

- 15 R¹, R² und R³ unabhängig voneinander H oder CH₃

R⁴ H oder C₁-C₅-Alkyl

und

20

n eine ganze Zahl zwischen 1 und 5

bedeuten,

- 25 suspendiert und polymerisiert werden, und anschließend Etherbrücken hergestellt werden und schließlich die restlichen Epoxidgruppen zu Hydroxylgruppen umgewandelt werden.

- 30 3. Verwendung eines Trägermaterials mit den Merkmalen nach Anspruch 1 für die Gelpermeationschromatographie.

4. Verfahren zur Trennung mindestens zweier Substanzen in einem Gemisch mittels Gelpermeationschromatographie unter Verwendung eines Trägermaterials nach Anspruch 1.

35

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 94/03197

<p>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 B01J20/32 G01N30/48</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>																							
<p>B. FIELDS SEARCHED</p> <p>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 B01J G01N</p> <p>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched</p> <p>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)</p>																							
<p>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category *</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>US,A,4 029 583 (HO CHANG) 14 June 1977 see column 5, line 46 - column 10, line 46 see column 16; claims 1-3 ---</td> <td>1-4</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US,A,4 332 694 (KALAL) 1 June 1982 see column 9-12; claims 1-8 ---</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>EP,A,0 337 144 (MERCK PATENT) 18 October 1989 see page 9-10; claims 1,6 ---</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>EP,A,0 425 848 (MACHEREY NAGEL) 8 May 1991 ---</td> <td></td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>EP,A,0 006 199 (TOYO SODA MANUF.) 9 January 1980 ---</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">-/--</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>			Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	A	US,A,4 029 583 (HO CHANG) 14 June 1977 see column 5, line 46 - column 10, line 46 see column 16; claims 1-3 ---	1-4	A	US,A,4 332 694 (KALAL) 1 June 1982 see column 9-12; claims 1-8 ---	1	A	EP,A,0 337 144 (MERCK PATENT) 18 October 1989 see page 9-10; claims 1,6 ---	1	A	EP,A,0 425 848 (MACHEREY NAGEL) 8 May 1991 ---		A	EP,A,0 006 199 (TOYO SODA MANUF.) 9 January 1980 ---			-/--	
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																					
A	US,A,4 029 583 (HO CHANG) 14 June 1977 see column 5, line 46 - column 10, line 46 see column 16; claims 1-3 ---	1-4																					
A	US,A,4 332 694 (KALAL) 1 June 1982 see column 9-12; claims 1-8 ---	1																					
A	EP,A,0 337 144 (MERCK PATENT) 18 October 1989 see page 9-10; claims 1,6 ---	1																					
A	EP,A,0 425 848 (MACHEREY NAGEL) 8 May 1991 ---																						
A	EP,A,0 006 199 (TOYO SODA MANUF.) 9 January 1980 ---																						
	-/--																						
<p><input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.</p>																							
<p>* Special categories of cited documents :</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"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)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"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.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>																							
<p>Date of the actual completion of the international search</p> <p style="text-align: center;">4 January 1995</p>		<p>Date of mailing of the international search report</p> <p style="text-align: center;">16. 01. 95</p>																					
<p>Name and mailing address of the ISA</p> <p>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</p>		<p>Authorized officer</p> <p style="text-align: center;">Wendling, J-P</p>																					

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 94/03197

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE WPI Week 8613, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 86-086136 & JP,A,61 034 463 (JAPAN EXLAN) 18 February 1986 see abstract</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 94/03197

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A-4029583	14-06-77	NONE	
US-A-4332694	01-06-82	CA-A- 1119476 DE-A- 2750595 FR-A, B 2397421 FR-A, B 2422679 GB-A- 1589620 JP-A- 53084043 SE-A- 7712058	09-03-82 27-07-78 09-02-79 09-11-79 13-05-81 25-07-78 12-05-78
EP-A-0337144	18-10-89	DE-A- 3811042 AU-A- 3233189 CA-A- 1330074 CN-B- 1023298 JP-A- 1310744	19-10-89 05-10-89 07-06-94 29-12-93 14-12-89
EP-A-0425848	08-05-91	DE-A- 3934068 DE-D- 59004504 JP-A- 3170862 US-A- 5091433 US-A- 5164427	18-04-91 17-03-94 24-07-91 25-02-92 17-11-92
EP-A-0006199	09-01-80	JP-C- 1368920 JP-A- 54160300 JP-B- 61036177 AU-B- 527554 AU-A- 4757679 CA-A- 1116584 US-A- 4246362 US-A- 4256842 US-A- 4256843	11-03-87 18-12-79 16-08-86 10-03-83 13-12-79 19-01-82 20-01-81 17-03-81 17-03-81

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 6 B01J20/32 G01N30/48		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 6 B01J 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)		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US,A,4 029 583 (HO CHANG) 14. Juni 1977 siehe Spalte 5, Zeile 46 - Spalte 10, Zeile 46 siehe Spalte 16; Ansprüche 1-3 ---	1-4
A	US,A,4 332 694 (KALAL) 1. Juni 1982 siehe Spalte 9-12; Ansprüche 1-8 ---	1
A	EP,A,0 337 144 (MERCK PATENT) 18. Oktober 1989 siehe Seite 9-10; Ansprüche 1,6 ---	1
A	EP,A,0 425 848 (MACHEREY NAGEL) 8. Mai 1991 ---	
A	EP,A,0 006 199 (TOYO SODA MANUF.) 9. Januar 1980 ---	
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> 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		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
4. Januar 1995		16. 01. 95
Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Wendling, J-P

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DATABASE WPI Week 8613, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 86-086136 & JP,A,61 034 463 (JAPAN EXLAN) 18. Februar 1986 siehe Zusammenfassung -----	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 94/03197

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US-A-4029583	14-06-77	KEINE	
US-A-4332694	01-06-82	CA-A- 1119476	09-03-82
		DE-A- 2750595	27-07-78
		FR-A, B 2397421	09-02-79
		FR-A, B 2422679	09-11-79
		GB-A- 1589620	13-05-81
		JP-A- 53084043	25-07-78
		SE-A- 7712058	12-05-78
EP-A-0337144	18-10-89	DE-A- 3811042	19-10-89
		AU-A- 3233189	05-10-89
		CA-A- 1330074	07-06-94
		CN-B- 1023298	29-12-93
		JP-A- 1310744	14-12-89
EP-A-0425848	08-05-91	DE-A- 3934068	18-04-91
		DE-D- 59004504	17-03-94
		JP-A- 3170862	24-07-91
		US-A- 5091433	25-02-92
		US-A- 5164427	17-11-92
EP-A-0006199	09-01-80	JP-C- 1368920	11-03-87
		JP-A- 54160300	18-12-79
		JP-B- 61036177	16-08-86
		AU-B- 527554	10-03-83
		AU-A- 4757679	13-12-79
		CA-A- 1116584	19-01-82
		US-A- 4246362	20-01-81
		US-A- 4256842	17-03-81
		US-A- 4256843	17-03-81