VORRICHTUNG ZUR FILTRATION, TROCKNUNG UND LAGERUNG

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Filtration, Trocknung und Lagerung von Festsstoffen aus einer Suspension (FDS-Unit) und ein in dieser Anlage durchgeführtes Verfahren zur Aufarbeitung und Trocknung von einer Festsstoff -Suspension insbesondere von kristallisierbaren therapeutischen Proteinen oder Wirkstoffen. Die für den Einsatz als Einwegsystem konzipierte FDS-Unit, ist eine Vorrichtung, mit der Wirkstoffkristalle, bei geschlossener Prozessführung, d.h. ohne zwischenzeitliches Öffnen oder Umfüllen, schonend und sicher filtriert, getrocknet, gelagert und rekonstituiert werden können.

Die Herstellung pharmazeutisch aktiver Peptide und Proteine sowie therapeutischer Antikörper erfolgt im sog. „Upstream Processing" (USP) durch Fermentation. Anschließend werden die Proteine im sog. „Downstream Processing" (DSP) gereinigt und per Formulierung in eine für die medizinische Anwendung geeignete Darreichungsform übergeführt.

Für das DSP werden heute in der Regel auf Chromatographie basierte Trennverfahren eingesetzt. Die Anforderungen an die aus mehreren Trennschritten aufgebauten Reinigungsverfahren bezüglich Reinheit und Kontaminationsfreiheit werden nach den Erfahrungen der letzten Jahre ständig erhöht. Dies trifft besonders auf die Herstellung von pharmazeutischen Wirkstoffen wie etwa therapeutischen Peptiden und Proteinen zu, um nicht beabsichtigte biologische Nebenwirkungen durch die während der Fermentation entstehenden zahlreichen Nebenprodukte auszuschließen. Zum weitest gehenden Vermeiden der Kontaminationen werden zum Teil sehr aufwendige und teure DSP-Schritte benötigt. Dies beeinflusst die Wirtschaftlichkeit des Gesamtprozesses entscheidend, zumal in den letzten Jahren bedingt durch die Effizienzsteigerung im USP eine erhebliche Kostenverschiebung zu Ungunsten des DSP stattgefunden hat. Experten prognostizieren eine Fortsetzung dieses Trends sowie ein sich noch weiter verstärkendes Kapazitätsdefizit, das heute bereits als der entscheidende Engpass vieler Bioprozesse anzusehen ist (http://biopharminternational.findpharma.com/biopharm/Trends/Downstream-Processing/ArticleStandard/Article/detail/627965).

Um dem starken Kostendruck zu begegnen zu können, werden in der biopharmazeutischen Industrie neue hocheffiziente, preiswerte und ressourcenschonende Reinigungs- und Lagerverfahren für therapeutische Proteine und Peptide benötigt. Diese Verfahren haben einen entscheidenden Einfluss darauf, ob biotechnologische Verfahren langfristig im Wettbewerb bestehen können (Presse-Information; ACHEMA 2009; 29. Internationaler Ausstellungskongress für Chemische Technik,

Umweltschutz und Biotechnologie; Frankfurt am Main, 11. – 15. Mai 2009; Trendbericht Nr. 20: Selektive Trenntechniken).

Im Vergleich zu den heute für die Herstellung therapeutischer Proteine vorwiegend eingesetzten chromatographischen Trenntechniken kann die hochselektive Proteinkristallisation eine wirtschaftliche Alternative darstellen. Die ursprünglich zur Aufklärung der dreidimensionalen Molekülstruktur durch Röntgenkristallographie angewendete Methode erhält als technische Proteinkristallisation zunehmend Zugang in die modernen Aufreinigungsverfahren. Bei dieser Reinigungsmethode wird die Löslichkeit der Proteine durch den vorsichtigen Zusatz von Fällungsmitteln allmählich herabgesetzt, bis sich nach wenigen Minuten bis Stunden erste Kristalle zeigen. Die Vorteile der Technologie gegenüber den Alternativverfahren bestehen im Wesentlichen in der Kombination folgender Merkmale:

- hohe Reinheitsgrade, die in einem einzigen Prozessschritt erzielt werden,
- hohe Spezifität mit der sich u.a. auch Protein-Isoformen und/oder glykosylierte Varianten trennen lassen,
- niedrige Kosten,
- hohe Lagerstabilität der Kristalle,
- reduzierte Produktverluste während der Lagerung,
- hohe Konzentration der Kristalle mit relativ kleinen Apparatevolumina für die Lagerung,
- kosteneffizienter Einsatz klassischer Fest-Flüssig-Trennmethoden nach der Kristallisation,
- die Option einer Slow-Release-Formulierung zur Vergleichmäßigung der Bioverfügbarkeit der Wirkstoffe

Navarro *et al.* (Separation and Purification Technology 2009, 68: 129-137) fassen die Vorteile der Proteinkristallisation wie folgt zusammen:

Bedingungen	**Kristallisation**	**Chromatographie**
Temperatur	Gering (0-50°C)	Gering (0-50°C)
Zeit	länger	Kürzer
Kosten Instrumente	$2/Monat	$20/Tag ohne Säulen und
Laborkosten	$30/Stunde	$30/Stunde
Separation	einstufig	mehrstufig

Lösungsmittelqualität	geringer	höher

Aufgrund der chemischen und thermischen Instabilität von Proteinen sind die einzusetzenden Verfahren bei einer großtechnischen Produktion gerade im Downstream Processing begrenzt. Bei Lagerung von Proteinen in Lösung können geringfügige physikochemische Änderungen in der Mikroumgebung der Proteine (pH-Verschiebungen, Änderung der Ionenstärke oder der Temperatur) zu einer reversiblen oder aber meist zu einer irreversiblen Änderung der Tertiärstruktur führen, die mit einem Aktivitätsverlust einhergeht. Zusätzlich kommt hinzu, dass Proteine durch u.a. Aggregation, Hydrolyse, Deamidierung, Isomerisierung, Deglykosylierung und Oxidation oder Reduktion deaktiviert werden können.

Die Stabilitätsprobleme können minimiert werden, indem Proteinlösungen bei möglichst niedrigen Temperaturen gelagert werden. Dadurch wird die Geschwindigkeit möglicher chemischer Modifikationsreaktionen reduziert. Außerdem kann das umgebende Milieu der Proteine so optimiert werden, dass die Einflüsse der Denaturierung minimiert sind. Eine Stabilisierung der Proteine kann ebenfalls durch Trocknung erfolgen, da durch Entzug des Wassers die Reaktionen verlangsamt werden, so dass sie während der Lagerung nicht mehr oder erheblich verlangsamt auftreten. Stellen Deamidierung und Hydrolyse der Proteine in Lösungen die Hauptprobleme dar, so spielen diese Vorgänge im getrockneten Zustand eine untergeordnete Rolle (McNally, E. J.; Pharm. Sci., 2000; 99). Zusätzlich wurde beobachtet, dass Oxidationsreaktionen mit abnehmendem Restfeuchtegehalt abnehmen (Franks, F., Bio/Technology. 1994, 12, 253-256; Christensen, H.; Pain, R. H. Molten globule intermediates and protein folding. Eur. Biophys. J. 1991, 19, 221-229). Der wesentliche Vorteil bei der Trocknung von Proteinen liegt in der erhöhten thermischen Stabilität, die wiederum zu einer verbesserten Lagerstabilität führt.

Das aktuelle Standardverfahren in der pharmazeutischen Industrie stellt die Gefriertrocknung (Lyophilisation) dar (Cleland, J. L et al., Critical reviews in therapeutic drug carrier systems. 1993, 10,307-377; Wang, W., Int. J. Pharm. 2000, 203, 1-60). Dieses kontinuierlich oder diskontinuierlich zu betreibende Verfahren trocknet gleichmäßig bei niedrigen Temperaturen. Die Rekonstitution der Proteine verläuft in der Regel schnell und problemlos. Der erhöhte Zeit- (bis zu einer Woche) und Energiebedarf führen jedoch zu einem sehr kostenintensiven Verfahren, welches zudem auch denaturierend auf Proteine wirken kann. Die Lyophilisation ist nur als finaler Verfahrensschritt zur kurz- und langfristigen Lagerung einsetzbar. Eine Reinigung wie bei der technischen Proteinkristallisation findet nicht statt.

Somit stellt die Proteinkristallisation mit der kombinierten Möglichkeit der hochspezifischen Produktreinigung bei gleichzeitiger Verbesserung der Lagerstabilität ein besonders kosteneffizientes Verfahren dar.

Im Rahmen des DSP von getrockneten Kristallen verursacht das Umfüllen der wirksamen Produkte erhebliche Kontaminationsrisiken für Umgebung (Exposition des Personals) und Produkt (Kreuzkontamination. Ein sehr hohes Risikopotential birgt dabei insbesondere der Umgang mit trockenen pulverförmigen Substanzen. Um Kreuzkontamination zwischen den Produktchargen und besonders zwischen unterschiedlichen Produkten auszuschließen, müssen die zur Fest-Flüssig-Behandlung verwendeten Gerätschaften vor einem wiederholten Einsatz einer intensiven Reinigungsprozedur mit anschließender Reinigungsvalidierung unterzogen werden, was hohen personellen und zeitlichen Aufwand verursacht. Zudem erfordert die offene Handhabung teure Reinraumumgebung sowie aufwändige Sicherheitsmaßnahmen (Expositionsschutz, Schutz vor Staubexplosion etc.).

Eine Verarbeitung von pharmazeutisch wirksamen Protein-Kristallen (oder von Kristallen anderer pharmazeutisch aktiver Substanzen) einschließlich Separation, Trocknung, Transport, Lagerung und Rekonstitution sollte daher so erfolgen, dass weder Mitarbeiter durch Stoffaustritt gefährdet werden, noch eine Kontaminationsgefahr für das Produkt besteht. Die fehlerfreie Anwendung der aufgeführten Verfahrensschritte sowie die Reduzierung von personellem und zeitlichem Aufwand sind für die sichere und wirtschaftliche Anwendung der Kristallisation im DSP von ausschlaggebender Bedeutung. Bisher ist für diese Fragestellung noch keine ausreichende technische Lösung im Hinblick auf die besonderen Anforderungen für die Handhabung biotechnologischer Wirkstoffe beschrieben worden.

In der gängigen Literatur sind nur wenige Verfahren beschrieben, die sich mit der technischen Aufarbeitung von Proteinkristallen und deren Lagerung beschäftigen.

So beschreibt das Patent WO 00/44767 A2 die Nutzung eines Zentrifugaltrockners für die Isolierung (Filtration), Waschung und Trocknung und Weiterverarbeitung von Insulin-Kristallen. Besonderes Augenmerk liegt dabei auf der Einbringung eines Trocknungsmediums, das aus einer Mischung von Wasser und einem nicht-wässrigen, mit Wasser in jedem Verhältnis mischbaren Lösungsmittel besteht, welches einen niedrigeren Dampfdruck als Wasser besitzt. Zudem wird zur Trocknung ein mit Wasser angefeuchteter Stickstoffstrom verwendet. Die Menge an Wasser ergibt sich aus der für das Protein (Insulin und Insulinderivate) bestimmten optimale Restfeuchte. Nachteilig bei dieser Vorgehensweise

sind die große apparative Komplexität des Zentrifugaltrockners und der damit verbundene Aufwand für die Reinigung und die Reinigungsvalidierung.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung bestand daher darin, eine Vorrichtung zur Filtration, zum Waschen, zur Trocknung, zum Transport, zur Lagerung und ggf. zur Re-Suspension/-Re-Solubilisierung von kristallinen Wirkstoffprodukten bereitszustellen, die einfach, sicher und produktschonend handhabbar ist, wobei ein Kontaminationsrisiko minimiert bzw. ausschlossen wird.

Die oben genannte Aufgabe wurde durch die Bereitstellung einer als Einwegsystem verwendbaren Vorrichtung gelöst, welche in einem einzigen Gefäß – d.h. ohne ein zwischenzeitliches Öffnen - die sequentiellen Schritte Filtration, Waschen, Trocknung, Probeentnahme, Transport ,Lagerung und Re-Suspension/Re-Solubilisierung ermöglicht – im Weiteren als **„FDS-Unit“** bezeichnet. Mit Hilfe der FDS-Unit lassen sich produktschonend kristalline Proteine oder Peptide ohne die Gefahr von Produktverunreinigungen für die nachfolgenden Formulierungsschritte bereitstellen. Produktverluste oder die Gefährdung der Mitarbeiter durch unbeabsichtigte Produktfreisetzung, z.B. gefährliche Staubemissionen, können durch die geschlossene Prozessführung auf ein Minimum reduziert werden.

Erster Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher eine Filtereinheit (FDS-Unit) zur Filtration von festen Partikeln aus einer Suspension umfassend:

- ein Filtergehäuse (10) umfassend eine Filterkammer (13), einen Flüssigkeitsverteiler (50) am Ende mindestens eines Einlaufs (15) zur Filterkammer (13) und ein Boden (12) sowie ein Filtermedium (11), wobei die Filterkammer (13) und der Boden (12) im Bereich des Filtermediums (11) durch eine Verbindung dichtend gegen die Umgebung und gegen das Filtermedium (11) verbunden werden,
- mindestens einen Ablauf (14) am Boden (12) des Filtergehäuses (10).

Das Material der FDS-Unit ist so ausgewählt, dass die in der pharmazeutischen Industrie üblichen Reinigungs- und Sterilisationsverfahren, wie das Autoklavieren oder die Gamma-Bestrahlung anwendbar sind.

Als Filtermedien (11) werden üblicherweise aus Fasern oder Sintermaterialien hergestellte, für pharmazeutische Zwecke geeignete Filterplatten oder Filtergewebe verwendet, die aus geeigneten, dem Fachmann bekannten Werkstoffen wie Kunststoffen, Glas, Metallen oder keramischen Werkstoffen

bestehen und eine auf den Filtrationsprozess bzw. die Produktbeschaffenheit hinsichtlich Produktverlust, Durchsatz bzw. Druckverlust optimierte Porengröße besitzen. Besonders bevorzugt für den Einsatz als der FDS-Unit als Einwegsystem ist die Verwendung preiswerter Materialien wie beispielsweise Sinterplatten oder Sintergewebe aus Edelstahl oder Kunststoffmaterialien, wie z.B. Polyethylen, Polyester, Polyphenylensulfid, Polytetrafluorethylen. Je nach der im Kristallisationsprozess erreichbaren Partikelgröße bzw. Partikelgrößenverteilung des kristallinen Wirkstoffes werden Porengrößen von 0.2 bis 50 µm verwendet. Für den optimalen Filtrationsprozess wird individuell für jedes Produkt eine maximal mögliche Porengröße ausgewählt, mit der hohe Durchsätze bzw. Filterflächenbelastungen erzielbar sind, ohne eine Verstopfung der Filterplatte durch eindringendes Produkt oder ein Ausschwemmen der Suspension zu verursachen.

Bevorzugt wird das Filtermedium (11) horizontal als Filterplatte (17) in das Filtergehäuse (10) eingespannt. Zur Vergrößerung der spezifischen Filterfläche kann es sinnvoll sein, das Filterelement als durchgängiges, bevorzugt zylindrisches Rohr oder als Filterkerze (18) (Fig. 2 und 6) auszuführen, das umgeben sein kann von einem konzentrischen äußeren Filterrohr (19) (Fig. 6). In diesem Fall findet die Filtration in einem vom Filterrohr (19) und der Filterkerze (18) gebildeten Ringraum mit der Spaltweite (58) statt.

Das Filtergehäuse (10) ist üblicherweise aus für Arzneimittelproduktion zugelassenen Kunststoffen gefertigt. Zur Herstellung der Filtergehäuse werden Standardmethoden zur Verformung von Kunststoffen (Spritzgießen, Extrudieren, usw.) verwendet. Vorzugsweise werden die Filtergehäuse aus thermoplastischen, dem Fachmann bekannten Kunststoffen wie z. B. Polyethylen, Polypropylen, PMMA, POM, Polycarbonat (insbesondere Makrolon) hergestellt.

Die produktberührenden Wände der Filterkammer (13) wie unter Umständen auch des Bodens (12) sind in einer bevorzugten Ausführungsform auch aus Kunststofffilmen hergestellt und somit das Filtergehäuse ganz oder teilweise als Kunststoffbeutel ausgeführt. In diesem Fall wird der zur Filtration erforderliche Überdruck zumindest innerhalb der Filterkammer (13) über die Beutelwände an eine druckstabile Haltevorrichtung übertragen. Diese Lösung wird bevorzugt für größere Maßstabe ab ca. 5-50L eingesetzt, ab dem die Kosten der FDS-Unit ansonsten eine Single-use-Anwendung erschweren könnten. Um als einfach lösbare Verbindung zwischen Filterkammer (13) und Boden (12) typische Klemmverbindungen mit Verschlussklammer (z. B. Triclamp) verwenden zu können, kann es sinnvoll sein, Filterkammer (13) und Boden (12) mit entsprechenden Anschlussflanschen zu versehen. Alternativ können die Filtergehäuse miteinander verschraubt (z.B. mittels Gewinde oder

Bajonettverschluss) werden. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform werden Filterkammer (13) und Boden (12) mittels Schweiß-, Klebe- oder Pressverbindung nicht lösbar mit einander verbunden.

Eine Re-Suspension/Re-Solubilisierung der Proteinkristalle innerhalb der FDS-Unit ist für das geschlossene Prozessieren des Produktes in verschließbaren FDS-Units wünschenswert, jedoch bei nicht-lösbaren Verbindungen zwischen Filterkammer (13) und Boden (12) zur Produktentnahme zwingend erforderlich. Der für eine beschleunigte Re-Suspension/Re-Solubilisierung erforderliche Energieeintrag wird dabei bevorzugt nicht-invasiv, d.h. ohne Eingriff in das geschlossene System z.B. über orbitales oder rotatorisch oszillierendes Schütteln in die Filterkammer (13) eingetragen. Um die Mischmethode der rotatorischen Oszillation einsetzen zu können, kann es sinnvoll sein, das Filtergehäuse (10) zumindest im Bereich der Filterkammer (13) mit strombrechenden Elementen (z.B. Stromstörer oder einen vieleckigen Querschnitt) zu versehen.

Zur Durchführung der Filtration wird eine Suspension (30) aus Proteinkristallen in die Filterkammer (13) eingespeist. Die Filterkammer (13) wird hierbei über ein verschließbares Entlüftungsrohr (22) entlüftet. Die übliche Größe der FDS-Unit für den kleinen Maßstab beträgt von 5 mL und 500 mL. Im großen Maßstab sind aber auch FDS-Units mit einem Gesamtvolumen von bis zu 50 L oder größer herstellbar. Die Schlankheitsgrade (Verhältnis aus Höhe zu Durchmesser H/D) der Filterkammer (13) hängen von der Art und Effizienz der Flüssigkeitsverteilung am Kopf des Filtergehäuses (10) sowie der optimalen erreichbaren Höhe des Filterkuchens (20) ab. Der Schlankheitsgrad wird üblicherweise so ausgewählt, dass eine Filterkuchenhöhe von 1 bis 20 cm, bevorzugt zwischen 2 bis 8 cm besonders bevorzugt zwischen 3 und 5 cm in der Vorrichtung erreicht werden kann, wobei die spezifischen Eigenschaften der zu filtrierenden Proteinkristalle insbesondere Größe, Stabilität und Kompressibilität der Kristalle berücksichtigt werden.

Wegen möglicher Druckverlustprobleme (der Druckverlust hängt neben der Größenverteilung, Stabilität und Kompressibilität der Kristalle, der Viskosität der Lösung erheblich von der Kuchenhöhe ab) ist eine annähernd konstante Kuchenhöhe bei der Maßstabsvergrößerung vorteilhaft. Das bedingt bei der Verwendung von horizontalen Filterplatten (17), dass das H/D-Verhältnis der Filterkammer mit der Maßstabsvergrößerung kontinuierlich abnimmt. Um dennoch eine gleichmäßige Kuchenhöhe zu realisieren wird bei größeren Maßstäben ggf. ein Mittel zur effektiven Flüssigkeitsverteilung notwendig.

Üblicherweise wird die Suspension (30) aus Proteinkristallen über den Flüssigkeitsverteiler (50) mit mindestens einem Einlauf (15) in die Filterkammer (13) eingespeist (Fig.1, 2, 4, 5, 6 und 7).

Vorzugsweise wird die Suspension (20) so in die FDS-Unit eingeführt, dass ein gleichmäßiger Aufbau des Filterkuchens (20) erfolgt. Der gleichmäßige Aufbau des Filterkuchens (20) ist für die Funktion der FDS-Unit von essentieller Bedeutung, weil dieser die Dauer und Intensität der Trocknung und damit das Ausmaß unerwünschter, Produktverunreinigungen und Aktivitätsverluste verursachender Nebenreaktionen bestimmt.

Bei kleinen Baugrößen von 5 mL und 500 mL und/oder großen Schlankheitsgraden von H/D $\geq$ 1 der FDS-Unit wird die Suspension (30) über einen Flüssigkeitsverteiler (50) bevorzugt bestehend aus einem einzigen Einlauf (15) mit einer tangentialen oder zentrischen-axialen Einlaufrichtung zugeführt (Fig. 1 und 2).

Bei großen Filterkammern (13) von bis zu 50 L und/oder kleinen Schlankheitsgraden H/D << 1 ist dagegen eine erheblich bessere Verteilung der Suspension über den Querschnitt der Filterkammer (13) vorteilhaft. Der Flüssigkeitsverteiler (50) werden dazu bevorzugt mit einer Verteilerplatte (54) ausgestattet.

Flüssigkeitsverteiler mit Verteilerplatte werden in der Chromatographie oft eingesetzt, sind aber meistens für die Verteilung von Suspension aufgrund der geringen Kanalhöhe, wegen scharfen Knicken, toten Räumen und mangelnder fallender Orientierung der Leitungen (Absetzen von Feststoff) ungeeignet. WO2010/138061 A1 beschreibt ein baumförmiger Flüssigkeitsverteiler mit Verteilerplatte, bei der die Austrittöffnungen gitterförmig arrangiert sind. Das komplizierte baumförmige Leitungskonstrukt wird durch „Free Form Fabrication" hergestellt und ist besonders einfach zu reinigen. Der beschriebene Verteiler wäre für die Verteilung einer Suspension durchaus geeignet, ist aber in der Herstellung kompliziert und teuer für die hier angestrebte Einweg-Anwendung.

Es bestand daher die Aufgabe einen Flüssigkeitsverteiler bereit zu stellen, der zur gleichmäßigen Verteilung einer Suspension geeignet ist, d. h. keine toten Räume aufweist und ein durchgehendes regelmäßigen Fallen der Suspension über die Verteilerplatte ermöglicht, wobei dieser Verteiler einfach und günstig erstellt werden sollte.

Der erfindungsgemäße für Einweganwendungen geeignete Flüssigkeitsverteiler (50) weist einen Vorverteiler (56) verbunden mit einer Verteilerplatte (54) mittels Schlauchleitungen (52) gleicher Länge und gleicher Durchmesser und somit etwa gleicher Druckverluste auf (Fig. 4). Die Schlauchleitungen (52) münden unter Aufspreizung und möglichst stetigem Gefälle (Vermeidung von Feststoffablagerungen) in vertikalen Austrittsöffnungen (53) einer Verteilerplatte (54). Sinnvolle Anstellwinkel der äußeren Schlauchfasern liegen je nach Durchmesser der FDS-Unit zwischen 5° und 75° besonders bevorzugt sind Anstellwinkel von 20 – 60°. Die Verteilung der Austrittöffnungen (53)

auf der Verteilerplatte (54) ist üblicherweise so gestaltet (Fig. 5), dass sie die Öffnungen einerseits analog einer 60°-Teilung einen ungefähr konstanten Abstand zueinander aufweisen und andererseits dennoch auf einer Kreislinie (57) positioniert sind, um auch in Wandnähe eine gleichmäßige Verteilung zu erreichen. Der Wandabstand der Austrittöffnungen (53) entspricht dabei bevorzugt dem halben Abstand der Kreislinien (57) zueinander. Die Anzahl der Bohrungen pro Kreislinienumfang wird bei diesem für vertikal angeordnete Filterplatten (17) geeigneten Konzept konstant gehalten und steigt um jeweils 6 Austrittöffnungen (53) beim Sprung auf die nächst größere Kreislinie (57). Die für eine ausreichende Feststoffverteilung benötigte Anzahl der Austrittöffnungen pro Fläche hängt von zahlreichen Faktoren ab, wie z.B. der Partikeldichte und –größenverteilung, bzw. der Sinkgeschwindigkeit der Partikel, der Filtrationsgeschwindigkeit, der Höhe des Filterkuchens (20) dem Schlankheitsgrad der Filterkammer (13). Eine über den erfindungsgemäßen Verteiler beschickte Filterkammer (13) mit dem Durchmesser von 190 mm lieferte in einem Modellexperiment mit 10g/L PANX-Partikeln einen mittleren absoluten Höhenunterschied von ca. 2% -3% bezogen auf die Kuchenhöhe ca. 40 mm und damit bei einem H/D – Verhältnis von H/D = 0.5 bereits eine ausreichend gute Partikelverteilung. Der hierfür benutzte Verteiler besitzt bei einem Bohrungsabstand von ca. 63 mm bei 7 Austrittöffnungen.

In einer besonderen Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verteiler wird jede Austrittöffnung mit Hilfe einer nicht verzweigten Schlauchleitung (52) mit einem Vorverteiler (56) verbunden. Üblicherweise werden als Schlauchleitung Silikonschläuchen verwendet. Üblicherweise werden die Schlauchleitungen in dem Vorverteiler aufgesteckt, eingegossen, verschweißt oder verklebt gebündelt (Fig 4).

Der Vorverteiler wird üblicherweise über einen axial oder tangential angeordneten Zulauf (15) mit der Suspension (30) versorgt.

Bei einer weiteren Vergrößerung des Prozessmaßstabes oder bei schwer filtrierbaren Produkten kann es vorteilhaft sein, den Filterkuchen nicht flächig, sondern im Ringraum zwischen einer Filterkerze (18) und einem Filterrohr (19) aufzubauen (Fig. 6). Hierdurch entsteht der große Vorteil, dass der Druckverlust unabhängig von der Höhe des Filterkuchens einstellbar ist. Hierdurch lässt sich unabhängig vom Maßstab eine schlanke Geometrie realisieren, die u.a. erhebliche Vorteile beim Platzbedarf oder der Druckbelastbarkeit der Apparate generiert. Bei dieser Anordnung sollten die Höhe der Filtereinrichtung (18, 19) bevorzugt möglichst exakt der Höhe des Filterkuchens (20) entsprechen. Während die Filtration durch gleichzeitigen Abzug über beide Filterelemente (18 und 19) bzw. die Abläufe (14 und 16) erfolgt, wird die Trocknung durch Zugabe des Trocknungsgases entweder über Ablauf (14) bei Abzug über Ablauf (16), also von innen nach außen, oder durch Vertauschen der

Anschlüsse in umgekehrter Richtung durchgeführt. Bei identischer Kuchen- und Filterhöhe ergibt sich der Vorteil einer gleichmäßigen Druckverlustverteilung im Kuchen, und einer sehr gleichmäßigen Trocknung des Produktes. Es kann vorteilhaft sein, einen kleinen Begasungsanteil an Trocknungsgas zusätzlich über der Einlauf (15) einzuleiten, um insbesondere bei zu hohen Füllgraden die obersten Schichten besser trockenen zu können und den ansonsten entstehenden Totraumbereich über dem Filterkuchen (20) zu eliminieren. Die Anordnung der Austrittbohrungen des fraktalen Flüssigkeitsverteilers in der Verteilerplatte (54) erfolgt bevorzugt bei einem Verhältnis von Lochabstand L (59) zur Breite B (58) des Ringkanals von L/B = 1 auf der mittleren Kreislinie (57) des Ringkanales.

Das Filtrat (40), das durch das Filtermedium (11) strömt, kann durch den vorzugsweise zentralen Ablauf (14) am Boden (12) des unteren Filtergehäuses abgeführt werden.

Der Filterkuchen (20) kann nach der Filtration in der FDS-Unit gewaschen werden.

Die erfinderische FDS-Unit wird vorzugsweise in einer Anlage wie auf Fig. 3 dargestellt verwendet, ohne sich darauf zu begrenzen. Vor der Trocknung der Proteinkristalle wird üblicherweise das restliche Filtrat (40) bestehend aus Mutterlauge oder Waschflüssigkeit aus dem Filterkuchen (20) mittels eines Gases (140), bevorzugt steril filtrierte Luft- oder Stickstoff, verdrängt. Der Gaseintritt erfolgt üblicherweise über den Einlauf (15), der Gas- und/oder Flüssigkeitsaustritt über den Ablauf (14). Vorzugsweise wird spätestens zur Trocknung das Gas (140) mittels Gaserhitzer (160) auf eine definierte Temperatur angehoben und mittels einer Gasbefeuchter (165) auf einen minimalen Restfeuchtegehalt eingestellt. Letzterer soll verhindern, dass das Produkt bei zu geringen Feuchtegehalten z.B. durch Verklumpung, Verfärbung oder Karamellisierung irreversibel geschädigt wird. Insbersondere kann eine falsche Restfeuchte zu einer Denaturierung oder zu Schwierigkeiten bei der Resolubilisierung (Aktivitätsverluste inklusive) führen.

Nach erfolgter Trocknung können Zu- bzw. Ablauf der FDS-Unit abgeklemmt werden. Hierzu eignen sich beispielsweise Schlauchklemmen (67) mit den auf dem Einlauf (15)- und Ablauf (14) – stutzen aufgezogene flexiblen Schlauchleitungen (66), bevorzugt aus pharma-konformem Silikon oder C-Flex, abgeklemmt werden können. So können die filtrierten, gewaschenen und getrockneten Proteinkristalle auch während des Transportes und der anschließenden Lagerung ohne ein zwischenzeitliches Öffnen in der FDS-Unit belassen werden. Auf diese Weise wird eine vollständig geschlossene Handhabung ermöglicht.

Sollen die Proteinkristalle wieder rückgelöst werden, so empfiehlt sich eine Produktentnahme nach Öffnen der Filtereinheit. Bevorzugt wird jedoch unter Wahrung der geschlossenen Betriebsweise eine

Re-Solubilisierung oder Re-Suspension innerhalb der FDS-Unit durchgeführt. Dies kann nicht-invasiv bei mäßigem Energieeintrag z.B. durch Rückwärtsspülung (zuerst über den Ablauf (14) und anschließend über den Einlauf (15) mit einer geeigneten Flüssigkeit erfolgen. Zur Verbesserung der hydrodynamischen Mischleistung, der Suspendierung der Kristalle bzw. letztlich der Vergrößerung der Solubilisierungsgeschwindgkeit kann die FDS-Unit auf einem speziellen orbitalen Schüttler (60) bewegt werden (Fig. 8). Der Schüttler (60) besitzt einen Behälter (62) für die Aufnahme der FDS-Unit einschließlich der Schlauchleitungen (66) und der Schlauchklemmen (67) und wird über einen Exzenter (63) in eine orbital oszillatorische Bewegung versetzt. Im Falle der Integration strömungsbrechender Elemente (z.B. vieleckiger Querschnitt oder Strombrecher) in die Filterkammer (13) der FDS-Unit kann auch eine vertikal-rotatorisch oszillierende Reaktorbewegung für einer intensive Durchmischung, Suspendierung und beschleunigte Solubilisierung sorgen.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher eine Anlage zum Betrieb der erfindungsgemäßen FDS-Unit umfassend:

- ein Kristallisationskessel (100), welcher über Leitungen an einem oder mehreren Reservoirs für Kristallisations- bzw. Fällungs- und Korrekturmittel (101) und andererseits an eine oder mehrere erfindungsgemäße FDS-Units im parallelen, sequentiellen oder intermittierendem Betrieb angeschlossen ist,

- ein Mutterlaugenreservoir (110), das über an den Ablauf (14) der FDS-Unit angeschlossen ist.

Die technische Kristallisation von Proteinen (pharmazeutisch aktive Peptide und Proteine sowie therapeutische Antikörper) oder andere kristallisierbare oder fällbare Wirkstoffe findet in dem Kristallisationskessel (100) statt, welcher über eine ausreichende Anzahl von Anschlüsse zu den Reservoirs für alle notwendigen Kristallisations- und Korrekturmittel verfügt.

Nach der Kristallisation wird die Suspension (30) möglichst ohne Partikelschädigung unter Vermeidung von Pumpen bevorzugt mittels eines leichten Überdruckes bei moderaten Transportgeschwindigkeiten in die Filterkammer (13) der FDS-Unit geleitet. Dazu wird ein Gasdruck z.B. über einen Drei-Wege-Hahn (120) auf den Kopf des Kristallisationskessels aufgeschaltet und über eine Druckmessung (230) justiert. Die Filtration der Kristallsuspension erfolgt üblicherweise bei einem Filtrationsvordruck von 0.2 bis 1.5 bar, bevorzugt bei 0.5 bis 1.0 bar. Die Suspension (30) wird durch das Filtermedium (11, 17, 18 oder 19 je nach Aufbau der FDS-Unit) zurückgehalten. Das aus dem Ablauf (14) der FDS-Unit abgeleitete Filtrat (40) wird in einer bevorzugten Ausführung über einen weiteren Drei-Wege-Hahn (130) dem Filtratreservoir (110) zugeführt.

Die Filtration ist beendet, wenn die gesamte Flüssigkeit aus Kristallisationskessel (100) und FDS-Unit herausgedrückt wurde, so dass nur noch der vorgetrocknete Filterkuchen (20) in der FDS-Unit verbleibt.

Der Filterkuchen (20) ist nach der Filtration noch von der Kristallisationsflüssigkeit umgeben. Vorzugsweise wird die Kristallisationsflüssigkeit nun durch ein Trocknungsgas ersetzt.

Dazu kann das Trocknungsgas durch die Filtrationseinheit geleitet werden. Üblicherweise wird zur Trocknung komprimiertes Gas definierter Restfeuchte mit einem Vordruck von 1 bis 3 bar, bevorzugt bei 2 bis 3 bar verwendet. Ein apparativer Umbau für die Trocknung wird so vermieden.

In einer bevorzugten Ausführungsform weist die Anlage für die Trocknung eine Trocknungseinheit auf, die eine separate Trocknungsgasleitung, und Drei-Wege-Hähne (120, 130) umfasst. Diese werden derart eingestellt, dass das Trocknungsgas (mit entsprechender Feuchtigkeitslast) über einen Bypass am den Kristallisationsreaktor vorbeigeführt wird. Zum Transport und zur Erwärmung des Trocknungsgases kann als Gaserhitzer (160) z.B. eine Rohrleitung mit Heizmantel eingesetzt werden. Es wird außerdem bevorzugt der Feuchtigkeitsgehalt des Trocknungsgases auf einen Mindestwert eingestellt. Hierfür wird vorzugsweise die Feuchtigkeit des Trockengases vor Einleitung in die Trocknungseinheit eingestellt und mittels eines Feuchtigkeitssensors (210) kontrolliert. Bei einem größeren Feuchtigkeitsbedarf kann die Mindestfeuchte über eine Befeuchtungseinrichtung (165) im Gasstrom eingestellt werden.

Vorzugsweise wird die Trocknung des Filterkuchens ebenfalls mittels eines Feuchtigkeitssensors (220) am Ausgang der Einweg-FDS-Unit überwacht.

Das bei der Filtration im Reservoir (110) aufgefangene Filtrat (40) dient bei der Trocknung als Waschflüssigkeit für das Abgas (150), um potentiell bei der Trocknung auftretende Staubemissionen zu minimieren.

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung weist die erfindungsgemäße FDS-Unit ein Mittel zur minimal-invasiven Beprobung des Filterkuchens auf. Zum Beispiel verfügt die FDS-Unit über eine verschließbare Öffnung zur Einführung eines Stechspatens in den Filterkuchen. Vorzugsweise kann ein Stechspaten horizontal und vertikal in den Filterkuchen eingeführt werden.

Die im Folgenden beschriebene Erfindung ermöglicht die Verbindung gleich mehrerer Verfahrensschritte des Down Stream Processing von einer Festsstoff-Suspension.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher ein Verfahren zur Aufarbeitung von einer Festsstoff-Suspension, umfassend folgende Schritte:

1) Filtration einer Festsstoff-Suspension in einer einzelnen oder in parallel geschalteten Filtereinheit nach einem der Ansprüche 1 bis 6 in einer Anlage gemäß einem der Ansprüche 10 bis 12;

2) Waschen bzw. Mediumwechsel der zurückgehaltenen Festsstoffe und optional Konvektionstrocknung der zurückgehaltenen Festsstoffe mittels eines Trocknungsgases;

3) Abnehmen der mit Festsstoffe gefüllten Filtrationseinheit aus der Anlage;

4) Transportieren und Lagern der mit Festsstoffe gefüllten Filtrationseinheit und, optional, Rekonstitution der Proteine durch Auflösen bzw. Resuspendieren in der Filtereinheit.

Vorzugsweise wird die Konvektionstrocknung mit regulierbaren Parametern wie Temperatur, Volumenstrom oder Feuchtegehalt oder mit einer Kombination davon durchgeführt.

Durch den Einsatz von Filterplatten mit unterschiedlichen Porengrößen können alle dargelegten Schritte an die jeweilige Applikation bzw. an die jeweilige Proteinkristallsuspension angepasst werden. Verglichen mit Edelstahl- oder Glasausführungen wird durch den Einweg-Aufbau der erfindungsgemäßen FDS-Unit der Aufwand der Reinigung und der Reinigungsvalidierung stark reduziert.

Die erfindungsgemäße Einweg-FDS-Unit eignet sich insbesondere zur Abtrennung von Proteinkristallen (pharmazeutisch aktive Peptide und Proteine sowie therapeutische Antikörper) ohne sich darauf zu begrenzen. Sie ist zur Abtrennung anderer kristalliner Verbindungen insbesondere in Fällen, wo Vorschriften der guten Herstellpraxis für Arzneimittel beachtet werden müssen, ebenfalls vorteilhaft einsetzbar.

Die erfindungsgemäße FDS-Unit sowie die Anlage zur ihrer Anwendung werden beispielhaft in den Figuren 1 bis 6 schematisch dargestellt, ohne sich auf die gezeigten Ausführungsformen zu begrenzen.

Fig.1: FDS-Unit mit Filterplatte

Fig. 2: FDS-Unit mit Filterkerze

Fig. 3 : Einbindung der FDS-Unit in den erfindungsgemäßen Anlage zur Durchführung der der Filtration (Filtration), Trocknung (Drying) und Bereitstellung für Transport und Lagerung (Storage)

Fig. 4: Fraktaler Flüssigkeitsverteiler (Seitenansicht: Vorverteiler, Verteilerplatte)

Fig.5: Fraktaler Verteiler (Draufsicht: Verteilerplatte mit Beispiel für die Aufteilung der Austrittsöffnungen)

Fig. 6 FDS-Unit mit Filterkerze, Filterrohr und fraktalem Verteiler für den von beiden Filterrrohren gebildeten Ringraum für den großen Maßstab

Fig. 7 Draufsicht auf FDS-Unit für den großen Prozessmaßstab

Fig.8: Orbitale Schütteleinrichtung für den nicht-invasiven Energieeintrag in die FDS-Unit zum Zwecke der Suspendierung und Resolubilisierung bei geschlossener Prozessführung.

Zeichenerklärungen

10 Filtergehäuse
11 Filtermedium
12 Boden
13 Filterkammer
14 Ablauf
15 Einlauf
16 Ablauf
17 Filterplatte
18 Filterkerze
20 Filterkuchen
22 Entlüftungsrohr
30 Suspension
40 Filtrat
50 Flüssigkeitsverteiler
51 60°-Teilung
52 Schlauchleitung
53 Austrittsöffnung
54 Verteilerplatte
56 Vorverteiler
57 Kreislinie
58 Ringspaltbreite
59 Lochabstand
60 Schüttler
62 Behälter
63 Exzenter

66 Schlauchleitung
67 Schlauchklemme
100 Kristallisationskessel / Fällungskessel
101 Korrekturmittel
110 Reservoir
120 Drei-Wege-Hahn / Ventil
130 Drei-Wege-Hahn / Ventil
140 Gas
150 Abgas
160 Gaserhitzer
165 Gasbefeuchter
200 Durchflussmessung
210 Feuchtigkeits- / Temperatursensor
220 Feuchtigkeitssensor
230 Druckmessung

Beispiel:

Für die Filtration eines Modellproteins wurde eine FDS-Unit gemäß Fig. 1 aus einem Filtergehäuse (10) mit einem Volumen der Filterkammer (13) von 100 mL, einem Durchmesser von 26 mm und einem Schlankheitsgrad von 5,8 und einem verschraubbaren Bodenteil (12) aus Polyoxymethylen (POM) angefertigt. Die Wandstärken des Filtergehäuses (10) und Boden (12) wurden für die gewählten Bedingungen eines Betriebsdruckes bis 3 bar und einer Temperatur von $-10 \leq [T\ °C] \leq 60°$ dimensioniert. Als Filtermedium (11) wurden Sintermetallplatten mit einer Porengröße von 5µm eingesetzt (Durchmesser 34 mm; Dicke 5 mm). Filterkammer (13), Filtermedium (11) und Boden (12) wurden mittels Klemmverbindungen mit Verschlussklammer (Triclamp) zusammen befestigt.

Kristallisation

Das Modellprotein wurde in einer Konzentration von 10 g/L in 40 mM Na-Citrat (initialer pH-Wert 2,7) gelöst vorgelegt. Es folgte die Zugabe des Präzipitanten (Natronlauge 0,75 M; Zugabe von 15 mL in 5 Minuten) bis zu einem Nukleations-pH-Wert von 3,2. Bei diesem pH-Wert wurde die Lösung für weitere 3 Stunden gerührt (Rührgeschwindigkeit 200 rpm). Nach der Nukleationszeit wurde der Präzipitant bis zu einem finalen pH-Wert von 4,5 in die Lösung gegeben. Die Lösung wurde bei Raumtemperatur für weitere 17 Stunden gerührt.

Die Ermittlung optimaler Prozessparameter der anschließenden Filtration und Trocknung der Proteinkristalle erfolgte durch statistische Versuchsplanung („design-of-experiments"). Es wurde ein Wirkungsflächenmodell („response surface model") erstellt, aus dem die Haupt- und Zwei-Faktor-Wechselwirkungen sowie die optimalen Prozessparameter hervorgehen.

Filtration

Für das verwendete Modellprotein wurde ein optimaler Filtrationsvordruck von 0.5 bar ermittelt. Für das verwendete Modellprotein wurde eine optimale Kuchenhöhe von 4,5 cm (±0.5) ermittelt.

Trocknung

Für das verwendete Modellprotein wurde ein optimaler Vordruck von komprimierter Luft von 2.5 bar (±0.5) ermittelt. Die Trocknungstemperatur (Temperatur des komprimierten Gases) ist von der Temperaturstabilität des Zielproteins abhängig und wurde zwischen 30°C bis 50°C eingestellt. Für das verwendete Modellprotein wurde komprimierte Luft mit einer optimalen Temperatur von 45°C (±5) verwendet. Die relative Feuchte der komprimierten Luft von 0.5-1.0%, konnte ohne zusätzlichen Luftbefeuchter vorgelegt werden. Sie war ausreichend bemessen, um eine Produktschädigung durch zu starkes Austrocknen des Filterkuchens zu verhindern. Für das verwendete Modellprotein wurde eine optimale Trocknungszeit von 17.5 h (±1) ermittelt. Mit dem aus einer Rohrleitung mit Heizmantel aufgebauten Gaserhitzer (160) ließen sich Volumenströme von bis 4 m^3/h auf eine Temperatur von 55 °C aufheizen.

Unter den oben genannten experimentellen Bedingungen wurden die folgenden Messwerte erfasst:

Kristallisationsausbeute: 98 [%]

Produktverlust in der Mutterlauge: 1 [%]

Filtrationsflux: 1556 [L/h x m^2 x bar]

Feststoff / FDS-Einheit (Beladbarkeit): 13 [g Kristallfeststoff / FDS-Einheit] (Vol: 22 cm^3)

Restfeuchtegehalt (Karl-Fisher-Methode): 4 [%]

Produktreinheit (RP-HPLC): 95 [%]

Ansprüche

1. Filtereinheit zur Filtration von festen Partikel aus einer Suspension umfassend:

   - ein Filtergehäuse (10) umfassend eine Filterkammer (13), einen Flüssigkeitsverteiler (50) am Ende mindestens eines Einlaufs (15) zur Filterkammer (13) und ein Boden (12) sowie ein Filtermedium (11), wobei die Filterkammer (13) und der Boden (12) im Bereich des Filtermediums (11) durch eine Verbindung dichtend gegen die Umgebung und gegen das Filtermedium (11) verbunden werden,

   - mindestens einen Ablauf (14) am Boden (12) des Filtergehäuses (10).

2. Filtereinheit nach Anspruch 1, wobei das Filtergehäuse aus Kunststoff gefertigt ist.

3. Filtereinheit nach einem der Ansprüche 1 oder 2 wobei das Filtergehäuse ganz oder teilweise als Kunststoffbeutel ausgeführt ist.

4. Filtereinheit nach einem der Ansprüche 1 bis 3 wobei das Filtermedium aus einer Gruppe bestehend aus einer oder mehreren Filterplatte, zylindrischer Filter, Kerze oder Kombination davon ausgewählt ist.

5. Filtereinheit nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die Filterkammer (13) und der Boden (12) unlösbar verbunden sind.

6. Filtereinheit nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei zur Flüssigkeitsverteilung ein Flüssigkeitsverteiler mit Filterplatte eingesetzt wird.

7. Flüssigkeitsverteiler bestehend aus einem Vorverteiler (56) verbunden mit einer Verteilerplatte (54) mittels Schlauchleitungen (52) gleicher Länge und gleicher Durchmesser, wobei die Schlauchleitungen (52) unter Aufspreizung und möglichst stetigem Gefälle in vertikalen Austrittsöffnungen (53) der Verteilerplatte (54) münden dadurch gekennzeichnet, dass die Austrittsöffnungen (53) auf konzentrischen Bahnen angeordnet sind.

8. Flüssigkeitsverteiler nach Anspruch 7, wobei die Austrittöffnungen mit einer 60°-Anordnung und in gleiche Abstände zueinander, mit einem konstanten Abstand zur Außenwand der Filterkammer angeordnet sind, oder mit einer bestmöglichen Kombination davon angeordnet sind.

9. Flüssigkeitsverteiler nach einem der Ansprüche 7 oder 8, wobei jede Austrittöffnung mit Hilfe einer nicht verzweigten Schlauchleitung (52) mit dem Vorverteiler (56) verbunden ist.

10. Anlage zur Filtration von festen Partikel aus einer Suspension umfassend:

- ein Kristallisationskessel (100), welcher über Leitungen an einem oder mehreren Reservoir für Kristallisations- und Korrekturmittel (101) einerseits und andererseits an eine Filtereinheit nach einem der Ansprüche 1 bis 6 oder mehrere parallel temporär angeschlossen ist und
- ein Mutterlaugenreservoir (110), welcher über Anschlüsse an dem Ablauf (14) der Filtereinheit temporär angeschlossen ist

11. Anlage nach Anspruch 10 umfassend eine Trocknungseinheit, eine Befeuchtungseinheit, oder beides.

12. Anlage nach Anspruch 11 umfassend ein Mittel zur nicht invasiven Bewegung des Inhalts der FDS – Unit ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus einem orbitalen Schüttler oder einem vertikal rotatorisch – oszillierenden Schüttler

13. Verfahren zum Down Stream Processing von einer Festsstoff-Suspension umfassend folgende Schritte:

- Filtration der Festsstoff-Suspension in einer einzelnen oder in parallel geschalteten Filtereinheit nach einem der Ansprüche 1 bis 6 in einer Anlage gemäß einem der Ansprüche 10 bis 12;
- Waschen bzw. Mediumwechsel der zurückgehaltenen Festsstoffe und optional Konvektionstrocknung der zurückgehaltenen Kristalle mittels eines Trocknungsgases;
- Abnehmen der mit Festsstoffe gefüllte Filtrationseinheit aus der Anlage;
- Transportieren und Lagern der mit Festsstoffe gefüllten Filtrationseinheit und optional Rekonstitution der Proteine durch Auflösen in der Filtereinheit.

14. Verfahren gemäß Anspruch 13, wobei die Konvektionstrocknung mit regulierbaren Temperatur, Volumenstrom oder Feuchtegehalt oder mit einer Kombination davon durchgeführt wird.