



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 367 850**

51 Int. Cl.:
B01D 39/20 (2006.01)
B01J 20/14 (2006.01)
B01J 20/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07250624 .9**
96 Fecha de presentación : **15.02.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **1820555**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.08.2007**

54 Título: **Procedimiento de fabricación de un medio filtrante adsorbente desprovisto de celulosa para la eliminación de contaminantes biológicos para el tratamiento de líquidos.**

30 Prioridad: **17.02.2006 US 774773 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
10.11.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
10.11.2011

73 Titular/es: **MILLIPORE CORPORATION**
290 Concord Road
Billerica, Massachusetts 01821, US

72 Inventor/es: **Yavorsky, David P.**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 367 850 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de fabricación de un medio filtrante adsorbente desprovisto de celulosa para la eliminación de contaminantes biológicos para el tratamiento de líquidos.

Antecedentes de la invención

5 Los filtros de profundidad de celulosa, tales como los filtros Millistak®+ comercializados por Millipore Corporation, se utilizan normalmente en la producción de productos biofarmacéuticos, como derivados del cultivo de células de mamíferos con el propósito de clarificar diversos fluidos de productos brutos. Estos filtros compuestos incluyen una capa de medios de profundidad de celulosa muy estructurada, y se pueden optimizar para una aplicación específica, tal como la retención de partículas coloidales y residuos celulares o para retener células enteras y residuos más grandes. Estos combinan calidades secuenciales de los medios en un cartucho de un solo filtro. Estos filtros se utilizan más comúnmente en procesos de pulido o de aclarado secundario para eliminar pequeñas cantidades de materia en suspensión de corrientes (proteínas) de productos acuosos. La función principal de estos filtros es proteger y prolongar la vida útil de los procesos de separación corriente abajo más costosos, tales como la filtración estéril y cromatografía de afinidad. Es decir, una aplicación común para estos filtros es como "prefiltros", protegiendo los equipos y los medios, corriente abajo, de los contaminantes coloidales y de los residuos de células. Además, tales filtros de profundidad también se utilizan para la protección de los filtros de eliminación del virus mediante la eliminación decantidades trazas de proteínas aglomeradas.

Los inventores son conscientes de la Publicación de Patente Internacional WO 03/084639 (BASF AG), que describe el uso de polímeros que comprenden polímeros termoplásticos como adyuvantes de filtración y/o agentes de estabilización para la filtración o estabilización de líquidos acuosos. También los inventores son conscientes de la patente de Estados Unidos US 4344846 (Klein) que desvela (a) un procedimiento de filtración que utiliza (i) micro-bits producidos a partir de un polímero termoplástico expandido no frágil en la forma expandida y seleccionado a partir de un polímero de estireno y una poliolefina de polietileno a poli-metilpenteno o (ii) mezclas de estos micro-bits y adyuvantes de filtración inorgánicos como tierra de diatomeas y perlita, y (b) estas mezclas de adyuvantes de filtración. Estos micro-bits y las mezclas son adyuvantes de filtración útiles en varias maneras diferentes. Una de ellas es preparar una suspensión de estos en un medio líquido y alimentar esta suspensión a un elemento filtrante (como tela filtrante de tejido o tela filtrante metálica o filtro de cerámica) para proporcionar en dicho lado de alimentación del elemento un revestimiento previo del adyuvante de filtración y el líquido sale como filtrado de su lado de filtrado. De otra manera estos micro-bits y mezclas se utilizan mezclándose en el líquido (inerte para ellos) que contiene material finamente dividido suspendido o disperso en el líquido y que tiene que eliminarse. Además, estos micro-bits individuales o mezclados con tierra de diatomeas o perlita se puede mezclar en el medio líquido. Otra forma de usar los micro-bits o su mezcla es mediante el uso de la ruta de revestimiento previo y con la dispersión de líquido a filtrar que contiene en su interior estos micro-bits individuales o mezclados con cualquier otro adyuvante de filtración inorgánico.

Además, los inventores son conscientes de la publicación de patente de Estados Unidos US 2004/159605 (HUGHES), que describe un procedimiento y dispositivo para la filtración y/o purificación de fluidos de agua u otras soluciones que contienen contaminantes microbiológicos y químicos, tales como los quistes que contienen líquidos, bacterias y/o virus y los metales pesados y/o plaguicidas, en el que el fluido se hace pasar a través de un material de purificación compuesto por magnesio que contiene minerales, y más preferentemente silicatos que contengan magnesio, óxidos que contengan magnesio, hidróxidos que contengan magnesio, y fosfatos que contengan magnesio y medios de absorción en una matriz aglutinante fija.

Además, los inventores son conscientes de la publicación de patente Alemana DE 3719233 (BUSCH), que describe una unidad filtrante mecanizable autónoma para purificar el agua corriente que comprende partículas de carbón activado en polvo y las partículas de un aglutinante termoplástico, que se unen a las partículas de carbón activado bajo el efecto de la presión y del calor. Las partículas del aglutinante tienen una forma nodular, no esférica y se componen de una sustancia que se vuelve viscosa y elástica cuando se calienta.

También se le conoce en la industria de que los filtros de profundidad compuestos pueden retener también, en diversos grados, algunos contaminantes solubles que se encuentran normalmente en cultivos de células de mamíferos, tales como ácidos nucleicos, proteínas de la célula huésped, lípidos, tensioactivos, etc. Esta capacidad de retención para ciertos contaminantes solubles se basa en las propiedades de adsorción de los medios filtrantes de profundidad.

El medio filtrante utilizado típicamente en estos filtros de profundidad incluye fibras de celulosa refinada (pulpa de madera y/o derivados del algodón), tierra de diatomeas, y un aglutinante de resina termoendurecible soluble en agua. La tierra de diatomeas (una forma natural de sílice que contiene trazas de varios silicatos) en estos compuestos es típicamente de 40-60% en peso, y se cree que es el componente esencial, que adsorbe la materia biológica de tamaño coloidal tales como fragmentos de células, orgánulos y proteínas aglomeradas, así como diversos productos bioquímicos solubles, tales como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos.

60 Sin embargo, uno de los principales inconvenientes de la utilización de estos filtros de profundidad de celulosa para

la producción de fármacos por vía parenteral y otros productos farmacéuticos es el nivel relativamente alto de los contaminantes solubles en agua que se liberan en el sistema. De hecho, se requiere un pre-lavado abundante para reducir el nivel de estos contaminantes orgánicos e inorgánicos a niveles aceptables antes de su uso. Además, la carga máxima de tierra de diatomeas, absorbente dentro del medio filtrante de profundidad se limita a aproximadamente un 60% en peso, y el tamaño de partícula mínimo para el adsorbente a retenerse en la matriz de fibra es de aproximadamente 10 micras.

Por lo tanto, un objeto de la presente invención es reducir o eliminar la liberación de contaminantes de los filtros de adsorbentes.

Otro objeto de la presente invención es aumentar el contenido o la carga de adsorbente en los medios filtrantes.

Un objeto adicional de la presente invención es proporcionar un procedimiento para la producción de un filtro con partículas adsorbentes más pequeñas para maximizar el área superficial disponible para la adsorción.

Otros objetos y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y de los dibujos adjuntos.

Sumario de la invención

Las características esenciales de la invención se exponen en la reivindicación principal adjunta.

Por tanto, los problemas de la técnica anterior se han superado mediante el procedimiento de la presente invención, que proporciona medios filtrantes absorbentes particularmente adecuados para la eliminación de contaminantes biológicos en procesos líquidos. Se puede formar un lecho poroso fijo de material adsorbente, utilizando sólo un adsorbente granular y un aglutinante termoplástico insoluble en agua. El filtro compuesto resultante permite una mayor cantidad de adsorbente con partículas adsorbentes más pequeñas a diferencia de los filtros de profundidad convencionales. La eliminación de la fibra de celulosa, así como la eliminación del aglutinante termoendurecible soluble en agua, da como resultado una menor contaminación del proceso líquido. Como resultado, ya no es necesario un pre-lavado abundante para reducir los contaminantes externos. Se obtiene un rendimiento del medio mejorado incrementando el contenido de material adsorbente, y/o utilizando un medio adsorbente más pequeño para maximizar el área superficial disponible para la adsorción.

El medio filtrante compuesto resultante está sustancialmente o completamente desprovisto de celulosa y de aglutinante termoendurecible, y se puede colocar en un sistema de aclarado corriente abajo de un biorreactor y corriente arriba de un filtro estéril. Otras aplicaciones incluyen el tratamiento previo de los fluidos de cultivo celular antes de la filtración de eliminación del virus, así como separaciones cromatográficas.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un gráfico que compara la permeabilidad al agua de los compuestos formados por el procedimiento de la presente invención con compuestos convencionales;

La figura 2 es un gráfico de presión diferencial pre-filtro frente al rendimiento;

La figura 3 es un gráfico de la presión diferencial del filtro estéril frente al rendimiento, y

La figura 4 es un gráfico de valores de conductividad del efluente que pasa a través de diversos medios.

Descripción detallada de la invención

El medio filtrante formado por el procedimiento de la presente invención incluye un material adsorbente y un aglutinante termoplástico insoluble en agua. Esta combinación se puede utilizar para formar un lecho poroso fijo de material adsorbente con propiedades mecánicas adecuadas para su aplicación, que incluyen la permeabilidad, resistencia a la tracción y resistencia a la flexión. El medio filtrante es particularmente útil como un filtro de profundidad.

El material adsorbente es tierra de diatomeas. Adicionalmente, se pueden utilizar los medios de cromatografía, en cualquier variedad de formas (lechos, polvo, etc.) y químicas de superficies (intercambio iónico, hidrófobo, etc.) como adsorbentes en tales medios porosos. El aglutinante termoplástico es polietileno o una mezcla del mismo con polipropileno. El aglutinante se utiliza preferentemente en polvo. Mediante la elección adecuada del aglutinante (en términos de un punto de fusión o de ablandamiento suficientemente alto), el medio se puede introducir en un autoclave o de lo contrario esterilizarse con vapor o irradiarse con rayos gamma para ayudar a reducir o eliminar los contaminantes biológicos en su interior.

El procedimiento de fabricación del medio puede depender de la forma de aglutinante utilizado. El medio se puede preparar mezclando el aglutinante con el material adsorbente, seguido por la fusión de las partículas adsorbentes en conjunto, tal como fusionando o reblandeciendo parcialmente el aglutinante. Por tanto, el polvo de polietileno se mezcla en seco (por ejemplo, por agitación/volteo durante varios minutos) con las partículas absorbentes, como

tierra de diatomeas, en proporciones de 1:1 a 1:3 aglutinante: adsorbente, en peso. El material mezclado resultante se coloca en un molde y se calienta (por ejemplo, en una prensa hidráulica calentada) a una temperatura adecuada para fundir las partículas adsorbentes, tal como de 130°C a 160°C. La tierra de diatomeas y los lechos de sílice unidos en almohadillas de 2-4 mm que utilizan polvo de polietileno con peso molecular ultra alto (Mipelon™) disponible en el mercado por Mitsui Chemical, se han formado mediante este procedimiento, con un diámetro de lecho medio de 20-30 micrómetros. A medida que el material se calienta y se ablanda en la prensa, se debe ajustar periódicamente la fuerza de compresión para mantener una fuerza constante durante el ciclo de calentamiento (de aproximadamente 5 a 10 minutos).

Los materiales compuestos construidos como se ha expuesto anteriormente exhiben alta permeabilidad (alta porosidad) y bajas propiedades de retención de partículas en relación con el medio filtrante de profundidad de celulosa convencional disponible en el mercado. El asentamiento por gravedad de las partículas de tierra de diatomeas con fibra o polvo de polietileno produce una estructura compuesta de baja densidad con espacios vacíos relativamente grandes.

Para mejorar las propiedades de separación de los materiales compuestos de tierra de diatomeas de la presente invención, el material se compacta o comprime antes y/o durante el calentamiento. Se ha encontrado que es eficaz comprimir las muestras del medio filtrante, por ejemplo, durante unos 30 segundos utilizando una prensa neumática en el intervalo de 6,89-22,39 bar (100-325 psi). Las muestras del medio no se relajan sustancialmente después de la compresión, después del calentamiento para fundir la estructura en un monolito, el medio mantiene su dimensión de espesor comprimido. El compuesto se comprime a aproximadamente un 50-70% de su volumen original en función de la composición y de la fuerza de compresión.

La aplicación de compresión mecánica a los materiales compuestos también se puede utilizar para regular la permeabilidad al agua, que puede acercarse a aquella de almohadillas de filtros de profundidad de celulosa estándares. La figura 1 muestra las mediciones de permeabilidad al agua (caudal en relación con la presión diferencial) de compuestos fabricados a partir de tierras de diatomeas Celpure™ (Advanced Minerals) y microfibras de polietileno Fybre™ (Mitsui Chemical), en comparación con muestras de filtro de profundidad Millistak®+ A1HC convencionales. La figura muestra que las permeabilidades al agua de los compuestos instantáneos tienen un intervalo consistente con aquellas del medio filtrante de profundidad de celulosa comercial.

Un tercer componente granular o fibroso se puede añadir a la mezcla de adsorbentes/aglutinante como un medio para manipular la permeabilidad del producto para permitir un uso más eficaz del adsorbente contenido. El aditivo puede ser un material adsorbente o inerte funcional, pero debe tener un tamaño y cantidad para afectar sensiblemente la permeabilidad del medio. Los resultados de las pruebas han demostrado que afectar la permeabilidad del medio de esta manera no pone en peligro (reduce) sustancialmente la capacidad adsorbente del medio. La creación de grandes canales de flujo de forma selectiva dentro del medio permite una penetración más profunda/más ancha del fluido de proceso dentro de la matriz porosa que puede compensar de manera eficaz el contenido más bajo de adsorbente global del medio.

Además de la captura de las partículas, los monolitos porosos adsorbentes de la presente invención tienen ventajas significativas sobre los filtros de profundidad adsorbentes de celulosa convencionales, particularmente con respecto a extraíbles en agua. Cualquier material extraíble es un problema serio en la producción de fármacos por vía parenteral. Se sabe que el medio de profundidad de celulosa convencional tiene una carga extraíble relativamente alta que requiere lavados abundantes antes de su uso. Los presentes inventores han demostrado que los extraíbles que contribuyen a la conductividad (inorgánicos) no se derivan exclusiva o principalmente de la tierra de diatomeas. De hecho, los materiales compuestos de la presente invención, desprovistos de celulosa y del aglutinante termoendurecible, dan como resultado una disminución de la conductividad del efluente en 75-90% en comparación con el medio de celulosa convencional. La eliminación de la celulosa y la sustitución del aglutinante de resina termoendurecible solubles en agua con un aglutinante insoluble en agua tal como polietileno, da como resultado medios en base a DE que tienen una cantidad mucho menor de extraíbles inorgánicos. Para los usuarios de estos materiales, hay un beneficio considerable en la reducción de los requisitos de lavado con un menor riesgo de contaminación del producto.

En términos generales, un procedimiento preferido para preparar un medio filtrante compuesto preferido de la presente invención es como sigue. Se mezclan en seco polvo de polietileno de ultra alto peso molecular, con un tamaño de partícula medio de 25 µm, y diatomita natural que tiene un tamaño de partícula que varía de 0.2-25 µm, de forma discontinua en un mezclador con forma de V giratorio que incluye un agitador interno de alta velocidad. La mezcla se transfiere del mezclador al dispensador (o aplicador) de polvo. El aplicador distribuye los polvos mezclados en una banda en movimiento de material de poliéster poroso no tejido a temperatura ambiente en un espesor controlado de hasta 12,7 mm (0,5 pulgadas). Se podría aplicar múltiples aplicaciones de mezclas en polvo diferentes de forma similar para crear un medio adsorbente de composición gradiente.

La capa de polvos mezclados sueltos es entonces ligeramente compactada y nivelada por el contacto con un rodillo superior antes de calentarse desde la parte inferior por las placas eléctricamente calentadas y al mismo tiempo desde la parte superior por las lámparas de IR para ablandar el polvo de polietileno. La temperatura de las placas calentadas se intensifica a lo largo de la trayectoria de producción hasta una temperatura final de aproximadamente

171°C (340°F). La temperatura de la mezcla en polvo se mantiene a un máximo de aproximadamente 171°C (340°F) durante varios minutos antes de la aplicación de una banda adicional de poliéster no tejido en la parte superior.

5 El material compuesto se comprime después continuamente a aproximadamente 6,89 bar (100 psi) a un espesor de 2,54-5,08 mm (0,10-0,20"), pasando a través de dos rodillos de calandra calentados ajustados también a una temperatura de aproximadamente 171°C (340°F). El medio final se deja enfriar después en una placa de metal expuesta al aire.

Ejemplo 1

10 Se sometieron a ensayo muestras de varias mezclas de tierra de diatomeas y microfibras de polietileno fundidas en almohadillas de aproximadamente 2-4 mm de espesor, en una etapa del proceso de clarificación estándar relacionada con la recuperación de productos proteicos a partir de cultivos celulares de mamíferos. El ensayo era desafiado el medio adsorbente con una suspensión de Lisado E. coli (en tampón) bajo condiciones de flujo constante, mientras que se controlaba el incremento de presión en la muestra del medio (tasa de obturación), así como la calidad del efluente en relación con el volumen de fluido procesado. La calidad del efluente o filtrado se ha medido filtrando directamente el fluido a través de un filtro de membrana de grado estéril de 0,2 micras, en este caso
15 Durapore®GV. Estas muestras compuestas experimentales se compararon de nuevo con el medio filtrante de profundidad de celulosa Millistak®+.

Las figuras 2 y 3 muestran los perfiles de presión para las muestras del medio adsorbente y almohadillas Millistak®+ y los correspondientes perfiles de filtro estéril. El rendimiento se presenta como el volumen del fluido procesado en relación con el volumen del medio filtrante de profundidad utilizado (volumen del lecho).

20 Como se muestra en las figuras, los compuestos de fibra DE/PE han sido capaces de igualar la calidad más fuerte o de mayor retención del medio de Millistak®+ (calidad 75), tanto en el rendimiento como en retención. Las diferentes muestras compuestas tienen tasas de incremento de presión que se encuentran en o por debajo de la del medio 75DE Millistak®+. Además, las tasas de incremento de presión en filtros estériles corriente abajo son casi equivalentes a los compuestos de la invención, en comparación con el medio de 75DE Millistak®+, lo que indica un
25 nivel comparable de retención de partículas.

Ejemplo 2

30 Se sometieron a ensayo muestras de tierra de diatomeas fundidas en una almohadilla de lecho fijo utilizando polvo de polietileno (Mipelon™, Mitsui Chemical) para muestrear su capacidad para proteger una membrana de retención viral, PFN Viresolve 180. En este ensayo, el compuesto de DE/PE (de aproximadamente 3 mm de espesor) se ha desafiado con una solución de proteínas policlonal IgG humana a una concentración de 0,5 g/L. La membrana Viresolve® alcanza normalmente una capacidad de aproximadamente 150 L/m² para esta materia prima. Utilizando el filtro de profundidad Millistak®+ A1HC para pre-tratar esta materia prima para la extracción de aglomerados de proteínas, la capacidad de la membrana Viresolve se puede aumentar hasta el intervalo de 750-1.500 L/m². Dos
35 muestras de tierra de diatomeas (Celpure 25 y Celpure 300 (Advanced Minerals)) se mezclaron con el polvo Mipelon PE y se formaron en almohadillas de 2-3mm después del calentamiento (sin compresión). Las muestras compuestas de DE/EP se han utilizado después para pre-tratar la materia prima de IgG y el filtrado se ha procesado nuevamente a través de Viresolve 180 para determinar el efecto en la capacidad de la membrana.

40 El Celpure 25 (un DE de calidad fina) alcanzó una capacidad de 440 l/m² y el Celpure 300 (un DE de grano más grueso) alcanzó una capacidad de Viresolve de >1000 l/m². Estos ensayos indican que un monolito de tierra de diatomeas, formado con un aglutinante en polvo de PE puede proporcionar el mismo nivel de protección para la membrana de retención viral (mediante la eliminación de aglomerados de proteínas), como se ha proporcionado recientemente por los filtros de profundidad de celulosa, tales como los filtros de profundidad Millistak®+.

Ejemplo 3

45 Para calibrar la limpieza de los materiales compuestos de la invención, se han lavado muestras de materiales con agua desionizada limpia y se ha medido la conductividad del efluente, después de un volumen de lavado prescrito. Los valores de conductividad se han tomado para representar el nivel de metales solubles existentes en el medio filtrante. La Figura 4 muestra los valores de conductividad obtenidos para diversas muestras compuestas de DE/PE en relación con las muestras de filtros de profundidad comercializados Millistak®+.

50 El medio de DE Millistak®+ es un compuesto de celulosa y tierra de diatomeas, más un aglutinante de resina termoendurecible soluble en agua. El medio CE sólo contiene fibra de celulosa y aglutinante. Es evidente a partir de estas mediciones que los extraíbles que contribuyen a la conductividad (inorgánicos) no se derivan predominantemente de la tierra de diatomeas. Comparando estos valores con los compuestos de DE/PE sometidos a ensayo, existe una disminución de la conductividad del efluente de 75-90%.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la formación de un medio filtrante compuesto, que tiene tierra de diatomeas como un material adsorbente y polvo de polietileno como un aglutinante termoplástico insoluble en agua, estando dicho medio filtrante compuesto desprovisto de celulosa y de un aglutinante termoplástico, en el que dicha relación aglutinante a material adsorbente es de 1:1 a 1:3 en peso, procedimiento que incluye:
- 5
- a) mezclar en seco el aglutinante con el material adsorbente para formar un material filtrante compuesto mezclado en seco,
 - b) utilizar una prensa neumática para comprimir el material filtrante compuesto mezclado en seco a 6,89-22,39 bar (100-325 psi) hasta un 50-70% del volumen original del material filtrante compuesto; y
 - 10 c) colocar el material filtrante compuesto mezclado en seco en un molde y calentarlo hasta una temperatura en la que dicho aglutinante se funde o ablanda al menos parcialmente para unir térmicamente dicho medio filtrante compuesto comprimido conjuntamente;
- en el que dicha etapa de compresión ocurre antes de y/o durante dicha etapa de calentamiento.

15

FIGURA 1

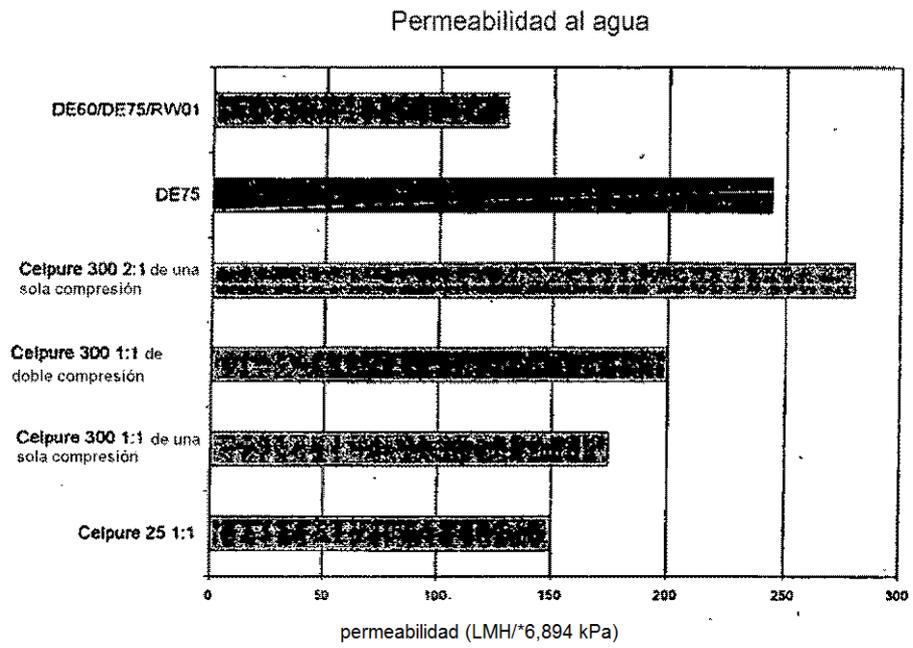


FIGURA 2

Clarificación de lisado *E. coli*
MS+ frente a compuestos de fibra DE/PE (comprimidos)

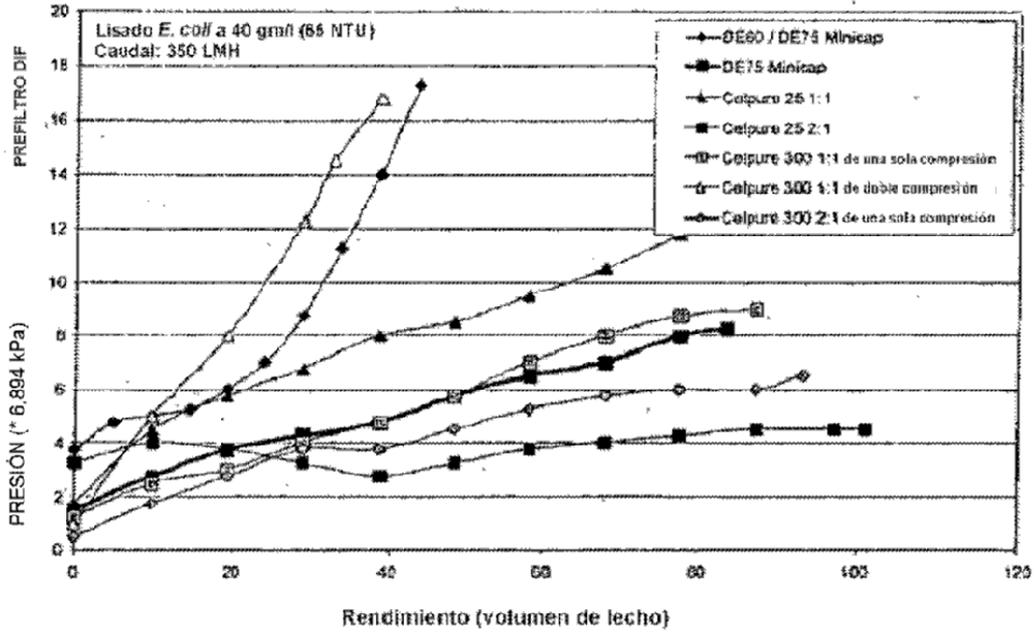


FIGURA 3

Clarificación de lisado *E. coli*
MS+ frente a compuestos de fibra DE/PE (comprimidos)

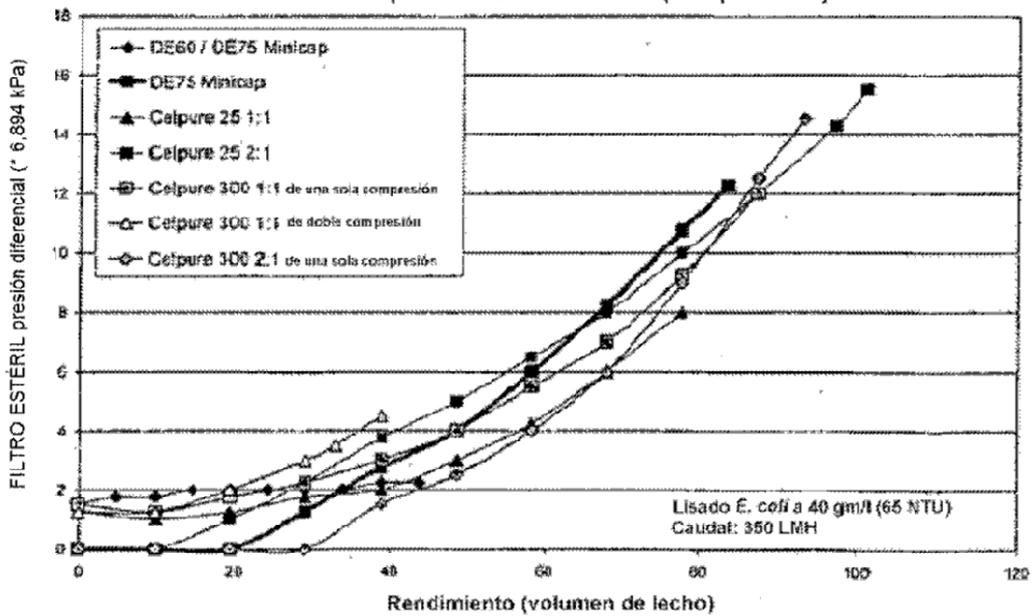


FIGURA 4

