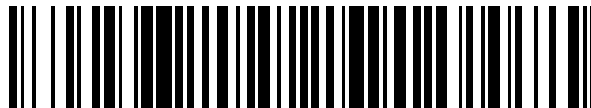


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 626 001**

51 Int. Cl.:

F26B 5/06

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.03.2012 PCT/US2012/030854**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.10.2013 WO13147759**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.03.2012 E 12716817 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.02.2017 EP 2831526**

54 Título: **Optimización de la nucleación y cristalización en la liofilización utilizando una congelación con intersticios**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.07.2017

73 Titular/es:

**BAXTER INTERNATIONAL INC (50.0%)
One Baxter Parkway
Deerfield, IL 60015, US y
BAXTER HEALTHCARE SA (50.0%)**

72 Inventor/es:

**KUU, WEI-YOUH;
DOTY, MARK, J.;
HURST, WILLIAM, S. y
REBBECK, CHRISTINE, L.**

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 626 001 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**Optimización de la nucleación y cristalización en la liofilización utilizando una congelación con intersticios**

5 CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a métodos utilizados para liofilizar soluciones líquidas de solutos. La descripción proporciona un método para optimizar la nucleación y cristalización de una solución líquida durante la congelación para producir tortas liofilizadas de solutos con tamaños de poro grandes y uniformes. La descripción también proporciona un método para la liofilización rápida de una solución líquida congelada. La descripción proporciona además aparatos para su uso en el método y cámaras de liofilización.

BREVE DESCRIPCIÓN DE TECNOLOGÍA RELACIONADA

La conservación de materiales incluye diversos métodos. Un método importante, la liofilización, implica la deshidratación por congelación de solutos. Normalmente, se carga una solución en una cámara de liofilización, ésta se congela y el disolvente congelado se elimina por sublimación a presión reducida.

15 Un problema bien conocido asociado a la liofilización de materiales (por ejemplo azúcares) es la formación de una o más capas de soluto (materiales disueltos) en la parte superior de la solución congelada. En el peor de los casos, el soluto forma un sólido amorfo que es prácticamente impermeable e impide la sublimación del disolvente congelado. Estas capas de soluto concentrado pueden inhibir la sublimación del disolvente congelado y pueden requerir el uso de temperaturas de secado más altas y/o tiempos de secado más largos.

20 Temperaturas de secado más altas pueden afectar negativamente a la integridad del soluto y tiempos de secado más largos puede tener un efecto negativo en el aspecto económico del proceso. El documento DE2235483 describe un sistema para liofilizar soluciones que incluye múltiples niveles sobre los que descansan múltiples botellas.

La US4953299 describe un proceso y un aparato de deshidratación por congelación, comprendiendo el aparato estantes de deshidratación por congelación dispuestos dentro de una cámara de deshidratación por congelación sobre los que se pueden colocar productos o soluciones a deshidratar por congelación, que pueden estar contenidos en recipientes abiertos, así como medios de refrigeración y/o calefacción asociados a dichos estantes y preferiblemente incorporados en los mismos, estando dispuestos unos medios que forman un blindaje térmico entre los estantes de deshidratación por congelación, posibilitando así una ralentización de los intercambios de calor entre la superficie del producto a deshidratar por congelación y los elementos de calefacción y/o refrigeración asociados a los estantes.

SUMARIO

La invención se refiere al método indicado en la reivindicación 1. En las reivindicaciones 2 a 16 se indican realizaciones preferentes de la invención. Una realización de la descripción es un artículo adaptado para ser utilizado en una cámara de liofilización que comprende un disipador de calor con una superficie de disipador de calor en comunicación térmica con un refrigerante; una superficie de bandeja; y un aislante térmico dispuesto entre la superficie de disipador de calor y la superficie de bandeja. El artículo puede incluir un conducto de refrigerante en comunicación térmica con la superficie de disipador de calor y un medio de disipador de calor dispuesto entre el conducto de refrigerante y la superficie de disipador de calor.

40 El aislante térmico puede definir una distancia fija, por ejemplo superior a aproximadamente 0,5 mm, que separa la superficie del disipador de calor y la superficie de la bandeja durante uno o más pasos de un proceso de liofilización. Esta distancia puede ser mantenida por el aislante si éste comprende un separador dispuesto entre la superficie de disipador de calor y la superficie de bandeja, teniendo el separador un espesor superior a, por ejemplo, aproximadamente 0,5 mm. En una realización, el aislante térmico puede soportar una bandeja que porta la superficie de bandeja. En otra realización, el aislante térmico puede conformar la superficie de bandeja.

Una realización adicional de la descripción es el dispositivo de liofilización que incluye el artículo. En esta realización, el dispositivo de liofilización puede incluir múltiples disipadores de calor que tienen en cada caso una superficie de disipador de calor en comunicación térmica con un refrigerante, estando dispuesto al menos uno de dichos disipadores de calor encima de otro para así formar los disipadores de calor superior e inferior; una superficie de bandeja dispuesta entre el disipador de calor superior y una superficie de disipador de calor inferior; y un aislante térmico dispuesto entre la superficie de bandeja y el disipador de calor inferior.

En el dispositivo de liofilización, la distancia entre la superficie de disipador de calor y la superficie de bandeja puede estar fijada por el aislante térmico. El aislante térmico puede comprender el separador, o un puente fijado en una pared interior (fijo o ajustable) del dispositivo de liofilización, u otras realizaciones pueden mantener una distancia entre la superficie de disipador de calor inferior y la superficie de bandeja durante uno o más pasos en el proceso de liofilización.

5 Otra realización más de la descripción es un vial que comprende un recipiente de muestras que se puede sellar y que presenta una parte superior y una parte inferior y un aislante térmico comprende un soporte aislante térmico fijado a la parte inferior del recipiente de muestras que se puede sellar, teniendo el soporte aislante térmico una conductividad térmica inferior a aproximadamente 0,2 W/mK a 25°C. El recipiente de muestras y el soporte aislante están hechos de materiales diferentes.

10 Otra realización es un método de liofilización de una solución líquida utilizando el artículo, el dispositivo de liofilización y/o el vial aquí descritos. El método incluye cargar un recipiente que comprende una solución líquida dentro de una cámara de liofilización que comprende un disipador de calor; comprendiendo la solución líquida un soluto y un disolvente y estando caracterizada por una superficie superior y una superficie inferior; disponer un aislante térmico entre el recipiente y el disipador de calor; bajar la temperatura del disipador de calor, y por tanto la temperatura ambiente en la cámara de liofilización que contiene el recipiente, hasta una temperatura suficiente para congelar la solución líquida desde las superficies superior e inferior aproximadamente a la misma temperatura y formar una solución congelada. El método incluye después la liofilización de la solución congelada reduciendo la presión ambiente. En otra realización, el método puede incluir la retirada del aislante térmico antes del paso de liofilización o durante el mismo.

15 El método puede incluir la cámara de liofilización que tiene múltiples disipadores de calor y la carga del recipiente que comprende la solución líquida dentro de la cámara de liofilización entre dos disipadores de calor paralelos.

20 Otra realización de la descripción incluye un método para congelar una solución líquida para su posterior liofilización, comprendiendo el líquido una superficie superior y una superficie inferior y estando dispuesto en un recipiente, y estando dispuesto el recipiente en una cámara de liofilización que comprende un disipador de calor, comprendiendo la mejora la formación del aislante térmico mediante la separación del recipiente del contacto directo con el disipador de calor para así congelar la solución desde las superficies superior e inferior aproximadamente a la misma temperatura.

25 Otra realización más de la descripción es una torta liofilizada que comprende un material liofilizado esencialmente seco y múltiples poros en el material liofilizado que básicamente tienen el mismo tamaño de poro; habiendo sido producida la torta liofilizada mediante el método aquí descrito. La torta liofilizada puede tener un tamaño de poro sustancialmente más grande que el tamaño de poro de una torta liofilizada de referencia que comprende el mismo material que la torta liofilizada, pero que ha sido producida mediante un método de referencia que consiste en cargar un recipiente que comprende una solución líquida dentro de una cámara de liofilización que comprende un disipador de calor; comprendiendo la solución líquida el material y un disolvente; excluir un aislante térmico entre el recipiente y el disipador de calor; bajar la temperatura del disipador de calor y por tanto la temperatura ambiente en la cámara de liofilización para congelar la solución líquida; congelar la solución líquida; y liofilizar la solución congelada para formar la torta liofilizada de referencia.

30 Otro aspecto de la descripción es un método que incluye proporcionar una cámara de liofilización que incluye una superficie de disipador de calor en comunicación térmica con un refrigerante, cargar un recipiente que incluye una solución líquida dentro de la cámara de liofilización, incluyendo la solución líquida un soluto y un disolvente y estando caracterizada por una superficie superior y una superficie inferior, y bajar la temperatura del disipador de calor, y por tanto la temperatura ambiente en la cámara de liofilización que contiene el recipiente, hasta una temperatura suficiente para congelar la solución líquida, estando cargado el recipiente dentro de la cámara de liofilización a una distancia separada verticalmente del disipador de calor para formar así un aislante térmico intermedio, seleccionándose dicha distancia para proporcionar una congelación de la solución líquida desde la superficie superior y la superficie inferior aproximadamente a la misma temperatura y así formar una solución congelada.

40 En cualquiera de los métodos aquí descritos que emplean un aislante térmico entre el recipiente y el disipador de calor durante la congelación, también está previsto que el aislante térmico pueda retirarse, poniendo de así el recipiente en contacto conductor térmico (es decir, directo o indirecto) con el disipador de calor durante o después de la congelación de la solución, para así facilitar una deshidratación por congelación más rápida en el proceso de sublimación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Para una comprensión más completa de la descripción se hace referencia a la siguiente descripción detallada y a las figuras adjuntas, en las que:

55 Figura 1: dibujo del interior de un dispositivo de liofilización que muestra una cámara de liofilización y múltiples disipadores de calor en una disposición vertical;

Figura 2: dibujo compuesto de un artículo que muestra una disposición de una superficie de disipador de calor y una superficie de bandeja;

Figura 3: otro dibujo compuesto de un artículo que muestra una disposición de múltiples disipadores de calor y el emplazamiento y la separación de la superficie de disipador de calor y la superficie de bandeja;

- Figura 4: muestra ilustraciones de recipientes de muestras, en este caso viales, (4a) dispuestos sobre una bandeja, (4b) dispuestos directamente sobre un aislante térmico, o (4c) combinados con un soporte aislante térmico;
- 5 Figura 5: dibujo de un vial de muestras que incluye una solución líquida, que muestra la disposición de termopares útiles para medir las temperaturas de la parte superior y la parte inferior de la solución;
- 10 Figura 6: representación gráfica de las temperaturas de la parte superior y la parte inferior de una solución acuosa de sacarosa al 10% en peso congelada utilizando un intersticio de 3 mm entre una superficie de disipador de calor y una bandeja (la bandeja con un espesor de aproximadamente 1,2 mm), que muestra un evento de nucleación, las diferencias de temperatura entre la parte superior y la parte inferior de la solución y la reducción de la temperatura de la parte superior de la solución después de la meseta del punto de congelación;
- Figura 7: representaciones gráficas de los índices de conversión agua-hielo para una solución acuosa de sacarosa al 5% en peso en función de la distancia (espacio de aire) desde una superficie de disipador de calor hasta una bandeja (la bandeja con un espesor de aproximadamente 1,2 mm);
- 15 Figura 8: representación gráfica de las temperaturas internas de viales durante un proceso de secado primario, que ilustra el efecto de la congelación con intersticio en la temperatura del producto durante la deshidratación por congelación;
- Figura 9: representación gráfica de los radios de poro efectivos correspondientes a muestras congeladas sobre una bandeja con un intersticio de 6 mm y muestras congeladas directamente sobre la superficie de disipador de calor;
- 20 Figuras 10 y 11: diagramas de sonda de temperatura para viales de estante superior y de estante inferior de acuerdo con el Ejemplo 2;
- Figuras 12 y 13: comparaciones del tiempo de secado aproximado para viales sobre el estante superior y el estante inferior, de acuerdo con el Ejemplo 2;
- 25 Figura 14: comparación de temperaturas de producto de viales del centro del estante superior y viales del centro del estante inferior durante el secado, de acuerdo con el Ejemplo 2;
- Figura 15: comparación de temperaturas de producto de viales del centro del estante superior y viales marginales TP04 y TP07 durante el secado, de acuerdo con el Ejemplo 2; y
- 30 Figura 16: comparación de temperaturas de producto de viales del centro del estante inferior y viales marginales durante el secado, de acuerdo con el Ejemplo 2.
- Aunque los métodos y artículos descritos se pueden realizar de diversas formas, en los ejemplos y figuras se ilustran realizaciones específicas (que se describirán más abajo) de los métodos y artículos, entendiéndose que la descripción está concebida para ser ilustrativa y no para limitar la invención a las realizaciones específicas descritas e ilustradas aquí.
- 35 DESCRIPCIÓN DETALLADA
- Un problema bien conocido asociado a la liofilización de materiales (por ejemplo azúcares) es la formación de una o más capas del soluto (los materiales disueltos) sobre la parte superior de la solución congelada. Estas capas se forman durante la congelación de la solución porque, normalmente, las soluciones se disponen dentro de la cámara de liofilización sobre un disipador de calor cuya temperatura disminuye rápidamente y hace que la solución se congele de abajo arriba. Esta congelación de abajo arriba empuja el soluto en la fase líquida acercándolo a la parte superior de la solución y aumenta la concentración de soluto en la solución todavía líquida. La alta concentración de soluto puede formar entonces una masa sólida que puede inhibir el flujo de gases a su través. En el peor de los casos, el soluto forma un sólido amorfo que es prácticamente impermeable e impide la sublimación del disolvente congelado. Estas capas de soluto concentrado pueden inhibir la sublimación del disolvente congelado y pueden requerir el uso de temperaturas de secado más altas y/o de tiempos de secado más largos.
- 40 Aquí se describe un aparato y un método para congelar un material, por ejemplo para una liofilización posterior, que puede evitar la formación de dichas capas y proporcionar así una sublimación eficiente del disolvente congelado.
- 45 La liofilización o deshidratación por congelación de solutos es la sublimación de líquidos congelados, dejando un material que no se sublima como producto final. Aquí, el material que no se sublima se denomina en general como soluto. Un procedimiento de liofilización común incluye la carga de una cámara de liofilización con un recipiente que contiene una solución líquida de al menos un soluto. Después, la solución líquida se congela. Tras la congelación, la presión en la cámara se reduce lo suficiente para sublimar el disolvente
- 55 congelado, como agua, de la solución congelada.

El dispositivo o cámara de liofilización está adaptado para la deshidratación por congelación de muestras en recipientes mediante la inclusión de al menos una bandeja para soportar el recipiente y medios para reducir la presión en la cámara (por ejemplo una bomba de vacío). Existen muchos dispositivos y cámaras de liofilización comerciales.

- 5 Con referencia a las Figuras 1-3, la cámara de liofilización incluye un disipador de calor 101 que facilita la disminución de la temperatura dentro de la cámara. El disipador de calor 101 incluye una superficie de disipador de calor 102 que está expuesta al volumen interior de la cámara de liofilización y en comunicación térmica con un refrigerante 103. El refrigerante 103 puede ser transportado en el disipador de calor 101 dentro de un conducto de refrigerante 104. El conducto de refrigerante 104 puede portar la superficie de disipador de calor 102 o puede estar en comunicación de fluido con la superficie de disipador de calor 102, por ejemplo a través de un medio de disipador de calor 105. El medio de disipador de calor 105 es un conductor térmico, no aislante, y preferiblemente tiene una conductividad térmica superior a aproximadamente 0,25, 0,5 y/o 1 W/mK a 25°C.
- 10
- 15 De acuerdo con el nuevo método aquí descrito, los recipientes de muestras 106 no están situados sobre el disipador de calor 101 ni esencialmente en conductividad térmica directa con el mismo durante la congelación. En una realización, los recipientes de muestras 106 están colocados sobre una superficie de bandeja 107 o son portados por ésta, que está aislada térmicamente con respecto al disipador de calor 101. En otra realización, los recipientes de muestras 106 están aislados térmicamente al estar suspendidos por encima del disipador de calor 101.
- 20 La superficie de bandeja 107 está aislada térmicamente con respecto al disipador de calor 101 mediante un aislante térmico 108. El aislante térmico 108 tiene una conductividad térmica de menos de aproximadamente 0,2, menos de 0,1 y/o menos de 0,05 W/mK a 25°C. El aislante térmico 108 puede ser un gas, un vacío parcial o completo, un papel, una espuma (por ejemplo una espuma que tenga flexibilidad a temperaturas criogénicas), un material polimérico o una combinación y otra mezcla de los mismos. El material polimérico puede estar libre o esencialmente libre de células abiertas, o puede ser una espuma polimérica (por ejemplo una espuma endurecida). Tal como se utiliza aquí, el aislante térmico 108 se refiere al material, objeto y/o espacio que proporciona aislamiento térmico con respecto al disipador de calor 101. El aire todavía se considera un aislante térmico en un método o aparato en el que la presión del aire disminuye debido a la evacuación de la cámara de liofilización.
- 25
- 30 El nivel de aislamiento térmico proporcionado por el aislante térmico 108 puede depender del espesor del aislante térmico 108. Este espesor se puede medir mediante la distancia 109 desde la superficie de disipador de calor 102 hasta la superficie de bandeja 107, por ejemplo. Esta distancia 109, limitada por el tamaño interno de la cámara de liofilización, puede oscilar entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 50 mm, por ejemplo, o menos si el aislamiento térmico es muy alto. Esta distancia 109 se puede optimizar para volúmenes de cámara de liofilización específicos y preferiblemente es mayor de aproximadamente 0,5, 0,75, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, o 50 mm. Si bien la distancia 109 puede ser mayor de aproximadamente 10 mm, el volumen dentro del dispositivo de liofilización normalmente se utiliza mejor optimizando las distancias por debajo de aproximadamente 20 mm. En particular, la distancia entre la superficie de disipador de calor 102 y la superficie de bandeja 107 solo está limitada por la distancia entre la superficie de disipador de calor 102 y el disipador de calor 101 superior menos la altura de un vial 106. La distancia 109 preferente puede depender del modelo específico y la condición de la cámara de liofilización, el disipador de calor, el refrigerante y similares, y puede ser optimizada fácilmente por el experto medio una vez conocida la presente descripción para evitar una congelación irregular desde las superficies superior e inferior de la solución en el recipiente.
- 35
- 40
- 45 En una realización en la que la superficie de bandeja 107 está térmicamente aislada del disipador de calor 101, la superficie de bandeja 107 está soportada por una bandeja 110, preferiblemente una bandeja rígida. En particular, la superficie de bandeja 107 puede consistir en un aislante térmico (por ejemplo poliuretano expandido) o un conductor térmico (por ejemplo acero inoxidable). En una realización de este tipo, el aislante térmico 108 puede comprender un gas, un vacío parcial o un vacío completo.
- 50 La bandeja 110 se mantiene preferentemente a una distancia fija entre la superficie de disipador de calor 102 y la superficie de bandeja 107 durante la congelación. La bandeja 110 puede estar separada de la superficie de disipador de calor 102 mediante el aislante térmico 108 formado en una realización incluyendo un separador 111 dispuesto entre la bandeja 110 y la superficie de disipador de calor 102 o puede estar separada de la superficie de disipador de calor 102 para formar el aislante térmico 108 acoplado funcionalmente la bandeja 110 con una escuadra 112 fijada a una superficie interior 113 (por ejemplo una pared) de la cámara de liofilización. En otra realización, la bandeja 110 se mantiene a una distancia de la superficie de disipador de calor 102 para formar el aislante térmico 108 mediante múltiples puntales (no mostrados) que se acoplan funcionalmente con la bandeja 110 y la superficie de disipador de calor 102. En una realización en la que un separador 111 soporta la bandeja 110, la distancia entre la superficie de disipador de calor 102 y la superficie de bandeja 107 es el espesor del separador 111 más el espesor de la bandeja 110. De acuerdo con las distancias indicadas más arriba, el separador 111 puede tener un espesor en un intervalo de aproximadamente 0,5 mm a aproximadamente 10 mm, de aproximadamente 1 mm a
- 55
- 60

aproximadamente 9 mm, de aproximadamente 2 mm a aproximadamente 8 mm, y/o de aproximadamente 3 mm a aproximadamente 7 mm, por ejemplo. La bandeja 110 puede estar soportada por o uno o más separadores 111 dispuestos entre la superficie de disipador de calor 102 y la bandeja 110.

5 En otra realización, la bandeja 110 puede estar soportada por el aislante térmico 108 que comprende un aislante térmico rígido. Por ejemplo, la bandeja 110 puede consistir en un conductor térmico (por ejemplo acero inoxidable) y estar soportada por (por ejemplo apoyada sobre) un aislante térmico (por ejemplo poliuretano expandido). En otra realización, el aislante térmico rígido puede estar combinado con separadores para portar la bandeja. De acuerdo con las distancias indicadas más arriba, el aislante térmico rígido (con o sin el separador) puede tener un espesor en un intervalo de aproximadamente 0,5 mm a 10 aproximadamente 10 mm, de aproximadamente 1 mm a aproximadamente 9 mm, de aproximadamente 2 mm a aproximadamente 8 mm, y/o de aproximadamente 3 mm a aproximadamente 7 mm, por ejemplo.

10 El dispositivo de liofilización puede incluir múltiples disipadores de calor 101 que tienen individualmente una superficie de disipador de calor 102 en comunicación térmica con un refrigerante 103. En este dispositivo de liofilización, los disipadores de calor 101 pueden estar dispuestos verticalmente en la cámara de liofilización respectivamente entre sí, formando los disipadores de calor 101 superior e inferior (véase la Figura 1). Convencionalmente, la superficie de disipador de calor 102 inferior está dispuesta entre los disipadores de calor superior e inferior y la superficie de bandeja 107 está dispuesta entre el disipador de calor 101 superior y la superficie de disipador de calor 102 inferior. En esta disposición, el aislante térmico 108 está dispuesto entre la superficie de bandeja 107 y el disipador de calor 101 inferior.

15 En otra realización, cada recipiente de muestras 106 individual puede estar dispuesto sobre un aislante térmico 108 o estar soportado por éste (véase por ejemplo la Figura 4b). Por ejemplo, cuando el recipiente de muestras es un vial con una parte superior y una parte inferior, el aislante térmico 108 puede comprender un soporte aislante térmico 114 fijado a la parte inferior del vial 115 (véase por ejemplo la Figura 4c). El soporte aislante térmico 114 puede tener una conductividad térmica inferior a aproximadamente 0,2 W/mK, inferior a 20 aproximadamente 0,1 W/mK, y/o inferior a aproximadamente 0,05 W/mK a 25°C, por ejemplo. En una realización, el vial 106 y el soporte aislante 114 son de materiales diferentes (por ejemplo, el vial puede ser de vidrio y el soporte aislante puede ser una espuma o un polímero). El vial puede ser un vial sellable.

25 La invención incluye un método para congelar una solución líquida para su posterior liofilización. En una realización del método, la cámara de liofilización tal como se describe más arriba se carga con una solución líquida contenida en un recipiente, que incluye un soluto (por ejemplo, un agente farmacéuticamente activo) y un disolvente. La solución líquida tendrá una superficie superior 116 y una superficie inferior, estando la superficie inferior 117 más cerca del disipador de calor 101 (véase la Figura 5). El recipiente está separado del disipador de calor 101 mediante la disposición de un aislante térmico 108 entre el recipiente y el disipador de calor 101, teniendo el aislante térmico las características aquí descritas. Por tanto, el recipiente está separado verticalmente del disipador de calor con un aislante térmico 108 intermedio, seleccionándose la distancia y el aislante térmico 108 para proporcionar una congelación de la solución líquida desde las superficies superior e inferior aproximadamente a la misma velocidad. Una vez cargada en la cámara de liofilización, la solución líquida se puede congelar bajando la temperatura del disipador de calor 101 y, por consiguiente, la temperatura ambiente en la cámara de liofilización. La solución líquida ventajosamente se congela desde las superficies superior e inferior aproximadamente a la misma velocidad para formar una solución congelada. Otra ventaja es que la conversión simultánea de agua en hielo en la parte superior y la parte inferior de la solución evita la problemática concentración de congelación y la formación de piel observadas cuando la parte inferior de la solución se congela más rápidamente que la parte superior.

30 De acuerdo con la invención, una vez congelada, la solución líquida (ahora la solución congelada) se liofiliza para producir una torta liofilizada. En un tipo de realización, el recipiente que tiene la solución líquida congelada se pone en contacto conductor térmico con el disipador de calor durante la congelación o después de la misma, por ejemplo retirando el aislante térmico 108 y colocando la bandeja 107 o los recipientes directamente sobre el estante. Las realizaciones de la retirada pueden comprender la retirada del separador 111, el movimiento de las escuadras 112 o la modificación de la longitud de los puntales (no mostrados). También está previsto no poner en contacto el recipiente aislante térmico en contacto conductor térmico con el disipador de calor, sino alterar las características de aislamiento del aislante térmico 108, por ejemplo disminuyendo significativamente las características de aislamiento mediante la reducción de la separación entre la bandeja y el disipador de calor a una distancia mínima.

35 Tal como se señala en relación con el Ejemplo 2 más abajo, cuando se congela y deshidrata una disposición de recipientes, los recipientes situados en los bordes de dicho conjunto ordenado, y en especial los situados en las esquinas, pueden experimentar temperaturas diferentes a las de los recipientes centrales, debido al calor radiante desde paredes laterales. Por tanto, en el método de acuerdo con la invención, está previsto que el aislante térmico 108 o partes del mismo entre uno o más de los recipientes y el disipador de calor puedan variar en sus dimensiones con respecto al aislante térmico o partes del mismo entre uno o más de los recipientes restantes. En una realización, el espesor del aislante térmico 108 se puede reducir para los recipientes marginales y/o de esquina, en relación con el espesor del aislante térmico 108 entre los recipientes centrales y el disipador de calor, con el fin de contrarrestar el calor radiante experimentado por

dichos recipientes marginales y de esquina desde las paredes laterales y así lograr perfiles de temperatura más uniformes en toda la disposición.

De acuerdo con la invención, el aislante térmico posibilita la congelación fácil de la solución líquida desde la parte superior y la parte inferior dentro de la cámara de liofilización aproximadamente a la misma velocidad.

5 La congelación de la solución líquida desde la parte superior y la parte inferior se puede determinar midiendo la temperatura de la solución durante el proceso de congelación. La temperatura se puede medir insertando al menos dos termopares en un vial que contiene la solución. Un primer termopar 118 se puede disponer en la parte inferior de la solución, aproximadamente en el centro del vial, por ejemplo, y un segundo termopar 119 se puede disponer en la parte superior de la solución, justo por debajo de la superficie de la solución,

10 aproximadamente en el centro del vial, por ejemplo. Una vez que un ciclo de congelación ha sido optimizado para una combinación de solución líquida, configuración del recipiente y cámara de liofilización, en el procesamiento posterior de lotes adicionales no es necesario controlar la temperatura de los recipientes (por ejemplo viales).

Para congelar la solución líquida desde las superficies superior e inferior aproximadamente a la misma velocidad, el aislante térmico (por ejemplo el tipo y el espesor) se puede seleccionar para que proporcione un valor de índice de conversión agua-hielo dentro de un intervalo de aproximadamente -2°C a aproximadamente 2°C , o de aproximadamente -1°C a aproximadamente 1°C , y/o de aproximadamente $-0,5^{\circ}\text{C}$ a aproximadamente $0,5^{\circ}\text{C}$. Preferiblemente, el índice de conversión agua-hielo es cero o tiene un valor positivo. El índice de conversión agua-hielo es cero o un valor positivo. El índice de conversión agua-hielo se determina mediante un método que incluye realizar en primer lugar un gráfico de las temperaturas de los termopares en la parte superior (T_t) y en la parte inferior (T_b) de la solución en función del tiempo. El índice de conversión agua-hielo es el área entre las curvas, en $^{\circ}\text{C}\cdot\text{minuto}$, entre un primer evento de nucleación y el final de la conversión agua-hielo dividido entre el tiempo de conversión de agua-hielo, en minutos. El tiempo de conversión agua-hielo es el tiempo necesario para que la temperatura en la parte superior (T_t) de la solución se reduzca a un valor por debajo de la meseta del punto de congelación para la solución.

15

20

25

Los datos de temperatura se recogen cargando viales rellenos de solución en una cámara de liofilización. Después, la bandeja de liofilización, en $t = 0$ minutos, se enfría a aproximadamente -60°C . La temperatura se puede registrar entonces hasta un tiempo después del cual la parte superior y la parte inferior de la solución se enfría a una temperatura por debajo de la meseta del punto de congelación.

Las áreas, positiva y negativa, se miden desde el primer evento de nucleación (observable en el gráfico de temperaturas, por ejemplo como en la Figura 6) 122 hasta que los dos valores de temperatura se enfrían por debajo de la meseta del punto de congelación 123. La suma de estas áreas proporciona el área entre las curvas. Cuando se calcula el área entre las curvas, el valor es positivo cuando la temperatura en la parte inferior del vial (T_b) es mayor que la temperatura en la parte superior del vial (T_t) 120, y el valor es negativo cuando la temperatura en la parte superior del vial (T_t) es mayor que la temperatura en la parte inferior del vial (T_b) 121. Preferiblemente, el índice de conversión agua-hielo es cero o tiene un valor positivo. Esta condición evitará la consecuencia de que la velocidad de congelación en la parte inferior de la solución sea significativamente mayor que la de la parte superior de la solución. Por tanto, por ejemplo, el valor del índice de conversión agua-hielo en un tipo de realización estará en un intervalo de aproximadamente 0°C a aproximadamente 2°C , o de aproximadamente 0°C a aproximadamente 1°C , o de aproximadamente 0°C a aproximadamente $0,5^{\circ}\text{C}$. Para una solución y una configuración de recipiente particulares, la velocidad de enfriamiento, la temperatura de la bandeja y el aislante térmico se pueden optimizar para obtener un área entre las curvas igual o aproximadamente igual a $0^{\circ}\text{C}\cdot\text{minuto}$. Por ejemplo, la Figura 7 muestra los índices de conversión agua-hielo para soluciones acuosas de sacarosa al 5% en viales sobre una bandeja de acero inoxidable en función de la distancia desde la superficie de disipador de calor hasta la bandeja de acero inoxidable, comprendiendo el aislante térmico 108 aire dentro de un intersticio entre la superficie de disipador de calor y la parte inferior de la bandeja de acero inoxidable. La bandeja tenía un espesor de aproximadamente 1,2 mm.

30

35

40

45

Otra realización más que no forma parte de la invención es una torta liofilizada producida mediante un método aquí descrito. La torta liofilizada puede incluir un material liofilizado esencialmente seco y múltiples poros en el material liofilizado que tienen esencialmente el mismo tamaño de poro. En una realización, la torta liofilizada tiene un tamaño de poro que es esencialmente más grande que el tamaño de poro de una torta liofilizada de referencia que comprende el mismo material que la torta liofilizada pero que ha sido producida mediante un proceso de liofilización estándar (por ejemplo, disponiendo un vial 106 que comprende una solución líquida sobre un disipador de calor 101 dentro de una cámara de liofilización, excluyendo un aislante térmico entre el vial y el disipador de calor 101, bajando la temperatura del disipador de calor 101 y congelando así la solución líquida, y liofilizando después la solución congelada). El área de sección transversal de los poros cilíndricos de la torta liofilizada es preferiblemente al menos 1, 2 y/o 3 veces mayor que el área de sección transversal de la torta liofilizada de referencia. En otra realización, la torta liofilizada tiene un tamaño de poro esencialmente uniforme en toda la torta.

50

55

60

El tamaño de poro de la torta liofilizada se puede medir con un analizador de área superficial BET. El radio de poro efectivo (r_e), una medida del tamaño de poro, se puede calcular a partir del área superficial medida de

los poros (SSA) suponiendo que se trata de poros cilíndricos. El radio de poro efectivo r_e se puede determinar mediante la ecuación $r_e = 2\varepsilon/SSA \cdot \rho_s \cdot (1-\varepsilon)$, en la que SSA es el área superficial de los poros, ε es la fracción de volumen vacío o porosidad ($\varepsilon = V_{\text{vacío}}/V_{\text{total}} = n \cdot r_e^2/V_{\text{total}}$), $(1-\varepsilon)$ es la concentración de soluto en las unidades de fracción de volumen, y ρ_s es la densidad del sólido.

5 EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar la invención, pero no están concebidos para limitar su alcance.

Ejemplo 1. Efecto de la congelación con intersticios en la disminución de la temperatura del producto y en el aumento del tamaño de poro

10 Se estudió el efecto de la congelación con intersticios en el aumento del tamaño de poro en una solución acuosa de sacarosa al 10% liofilizada. Múltiples viales de tubo Schott de 20 ml se rellenaron con 7 ml de una solución acuosa de sacarosa al 10%. Estos viales rellenos se dispusieron en un liofilizador LyoStar IItm (FTS SYSTEMS, INC. Stone Ridge, NY) bien directamente en contacto con un estante superior (superficie de disipador de calor), bien sobre una bandeja con un intersticio de 6 mm. Véase, por ejemplo, la Figura 1. Se produjeron múltiples viales con sonda insertando dos termopares en las soluciones, uno en el centro de la parte inferior del vial y el otro aproximadamente 2 mm por debajo de la superficie del líquido. Véase la Figura 5. Los viales rellenos se liofilizaron después mediante el siguiente procedimiento:

- 1) el estante se enfrió a 5°C y se mantuvo a esta temperatura durante 60 minutos; a continuación
- 20 2) el estante se enfrió a -70°C y se mantuvo a esta temperatura durante 200 minutos (las temperaturas internas de los viales que contenían termopares se registraron durante la congelación);
- 3) después de la congelación, se retiró la bandeja con intersticio de 6 mm y los viales se dispusieron directamente sobre el estante inferior (de este modo se proporcionaba a los viales de los estantes superior e inferior el mismo coeficiente de transferencia de calor de estante durante la liofilización y así se podía realizar una comparación directa del efecto de los diferentes métodos de congelación); a continuación
- 25 4) la cámara de liofilización se evacuó a un valor de ajuste de 70 mTorr; y
- 5) se inició un ciclo de secado primario, durante el cual se registraron las temperaturas internas de las muestras congeladas. El ciclo de secado primario incluía (a) mantener las muestras durante 10 minutos a -70°C y 9,33 Pa (70 mTorr), después (b) aumentar la temperatura a una velocidad de 1°C/min hasta -40°C manteniendo 9,33 Pa (70 mTorr), después (c) mantener las muestras durante 60 minutos a -40°C y 9,33 Pa (70 mTorr), después (d) aumentar la temperatura a una velocidad de 0,5°C/min a -25°C manteniendo 9,33 Pa (70 mTorr), y después (e) mantener las muestras durante 64 horas a -25°C y 6,67 Pa (50 mTorr); y
- 30 6) después siguió un secado secundario, que incluía aumentar la temperatura a una velocidad de 0,5°C/min hasta 30°C y 13,33 Pa (100 mTorr), y después mantener las muestras durante 5 horas a 30°C y 13,33 Pa (100 mTorr).

La Figura 8 presenta las temperaturas de producto medias de las muestras congeladas en viales sobre los estantes superior e inferior (bandeja con intersticio), durante el secado primario. Se puede ver que el perfil de temperaturas de las muestras sobre el estante inferior es mucho más bajo que el de las muestras sobre el estante superior, lo que implica que el tamaño de poro en la capa seca de las muestras del estante inferior es mucho más grande que el de las muestras del estante superior, debido al efecto de la "congelación con intersticios". Teóricamente, las temperaturas son diferentes a las temperaturas de valor de ajuste debido a la refrigeración por evaporación y/o al efecto aislante de los tamaños de poro más grandes.

45 El radio de poro efectivo r_e de las tortas liofilizadas individuales se determinó mediante un modelo de difusión de poros. Véase Kuu et al. "Product Mass Transfer Resistance Directly Determined During Freeze-Drying Using Tunable Diode Laser Absorption Spectroscopy (TDLAS) and Pore Diffusion Model." Pharm. Dev. Technol. (disponible en línea en: <http://www.nc-bi.nlm.nih.gov/pubmed/20387998> y publicada posteriormente en Vol. 16, nº 4, p. 343-357, 2011) e incorporado aquí. Los resultados se presentan en la Figura 9, donde se puede ver que el radio de poro de las tortas del estante inferior es mucho mayor que el de las tortas del estante superior. Los resultados demuestran que la bandeja con intersticio de 6 mm es muy eficaz para aumentar el tamaño de poro.

Ejemplo 2. Aceleración de la velocidad de secado mediante la retirada del intersticio después de la congelación

55 Se desarrolló un procedimiento de liofilización alternativo para aumentar la velocidad de deshidratación por congelación mediante la retirada del intersticio entre el estante de disipador de calor y el estante cargado de recipientes después de la congelación.

Múltiples viales de tubo Schott de 20 ml se rellenaron con 5 ml de una solución acuosa de sacarosa al 5% (p/v). Dos bandejas que contenían estos viales rellenos se dispusieron en un liofilizador LyoStar IItm (FTS SYSTEMS, INC. Stone Ridge, NY) en la parte superior y la parte inferior de la cámara. Las bandejas se

separaron del contacto con los estantes de disipador de calor mediante un aislante térmico que comprendía un separador hecho de tubos de plástico dispuestos sobre cada estante de disipador de calor, para obtener un intersticio de aproximadamente 6,5 mm entre cada bandeja y cada estante de disipador de calor.

- 5 Para controlar la temperatura del producto en cada estante se colocaron dos termopares en viales centrales y seis termopares sobre los emplazamientos marginales de los estantes, tal como muestran las Figuras 10 y 11, donde los números indican los viales-sondas de temperatura.

- 10 La temperatura de estante (en cada caso) se enfrió a -70°C , y después el estante se mantuvo a -70°C durante 90 minutos. Con esta baja temperatura de estante, el enfriamiento de los viales se puede acelerar, ya que el enfriamiento con un intersticio tiene lugar principalmente mediante radiación. Después, el estante se calentó a -50°C , y después el estante se mantuvo a -50°C durante 60 minutos. Una vez que la solución se congeló, la temperatura de estante se aumentó a una temperatura mayor de -50°C , ya que después de la congelación completa de la solución no es necesario mantener ésta a -70°C para la aplicación de vacío. En una de las bandejas, el aislante térmico 108 se retiró quitando el separador antes de aplicar el vacío.

- 15 Para el secado primario: (a) la cámara de liofilización se evacuó después a un valor de ajuste de 13,33 Pa (100 mTorr), (b) la temperatura de estante se mantuvo a -50°C a 13,33 Pa (100 mTorr) durante 30 minutos; (c) la temperatura de estante se aumentó después a -15°C a 13,33 Pa (100 mTorr) a una velocidad de $0,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$; y (d) la temperatura de estante se mantuvo a -15°C (a 100 mTorr) hasta el final del secado primario.

- 20 Para el secado secundario: (e) la temperatura de estante se aumentó a 30°C a 13,33 Pa (100 mTorr) a una velocidad de $0,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$; y (f) la temperatura de estante se mantuvo después a 30°C a 13,33 Pa (100 mTorr) hasta el final del secado secundario.

- 25 Únicamente los perfiles de temperatura de los viales centrales (TP01, TP02, TP09 y TP10) y de los viales marginales a lo largo de las paredes laterales (TP04, TP07, TP12 y TP15) se utilizan para la comparación. Los perfiles de temperatura de producto de los viales de esquina (TP03, TP05, TP06, TP08, TP11, TP13, TP14 y TP16) no son representativos de un liofilizador a escala de fabricación debido a la fuerte radiación térmica experimentada por los viales de esquina desde las paredes delantera y trasera en este liofilizador. La pared delantera del liofilizador LyoStarTM II es de acrílico sin aislamiento. La pared trasera de la cámara tiene aislamiento, pero la gran cantidad de calor producido por la bomba de fluidos penetra a través del aislamiento y aumenta la temperatura del producto en cierta medida.

- 30 *Comparación del tiempo de secado aproximado de viales del estante superior frente a viales del estante inferior*

- 35 Como muestran las Figuras 12 y 13, el tiempo de secado en el estante superior (Figura 12, aislante térmico mantenido durante la aplicación de vacío) es mucho más largo que el tiempo en el estante inferior (Figura 13, aislante térmico retirado antes de la aplicación de vacío) debido al coeficiente de transferencia de calor mucho más alto en el estante inferior sin aislante térmico. En la Figura 12 se puede ver que el secado primario todavía no se había completado después de un tiempo de ciclo de aproximadamente 2670 minutos, ya que la temperatura en el vial central, TP02, no salió del nivel de meseta durante el secado primario. Por otro lado, la Figura 13 muestra que el secado primario estaba completo después de un tiempo de ciclo de aproximadamente 1690 minutos, ya que las temperaturas en los viales centrales, TP09 y TP10, salieron de los niveles de meseta del secado primario. Las temperaturas de entrada de los fluidos refrigerantes de estante se representan como T_f en cada una de las Figuras 12 y 13.

Comparación de las temperaturas de producto de los viales centrales TP01 y TP02 en el estante superior con TP09 y TP10 en el estante inferior

- 45 La Figura 14 muestra la comparación, en la que la diferencia entre TP02 y TP09 es de aproximadamente $1,7^{\circ}\text{C}$.

Comparación de las temperaturas de producto de los viales centrales TP01 y TP02 con los viales marginales TP04 y TP07 en el estante superior

La Figura 15 muestra la comparación, en la que la diferencia entre TP02 y TP07 es de aproximadamente $1,5^{\circ}\text{C}$.

- 50 *Comparación de las temperaturas de producto de los viales centrales TP09 y TP10 con los viales marginales TP12 y TP15 en el estante inferior*

La Figura 16 muestra la comparación, en la que la diferencia entre TP09 y TP12 es tan solo de aproximadamente $0,2^{\circ}\text{C}$, que es mucho menor que los $1,5^{\circ}\text{C}$ en el estante superior.

- 55 Utilizando el mismo ciclo de liofilización, los viales sobre la bandeja sin aislante térmico entre la bandeja y el estante durante el secado se secan mucho más rápidamente que los que disponen de un aislante térmico entre la bandeja y el estante durante el secado. La bandeja sin aislante térmico durante el secado tiene

además la ventaja de reducir la diferencia de temperatura entre los viales centrales y marginales, lo que podría ser importante para algunas formulaciones sensibles a la temperatura.

REIVINDICACIONES

1. Método que comprende:
 proporcionar una cámara de liofilización que incluye una superficie de disipador de calor (102) en comunicación térmica con un refrigerante (103);
- 5 cargar una disposición de recipientes (106) que incluyen una solución líquida dentro de la cámara de liofilización encima de la superficie de disipador de calor, incluyendo la solución líquida un soluto y un disolvente y caracterizada por una superficie superior (116) y una superficie inferior (117), y comprendiendo la disposición recipientes centrales, recipientes marginales y opcionalmente recipientes de esquina;
- 10 formar un aislante de la conducción térmica (108) entre la parte inferior de los recipientes y la superficie de disipador de calor para aislar el recipiente de la conductividad térmica con el disipador de calor, donde: a) bien las dimensiones de una parte del aislante de la conducción térmica para los recipientes centrales son diferentes a las dimensiones de una parte del aislante de la conducción térmica para los recipientes marginales, b) o bien la conductividad térmica de la parte del aislante de la conducción térmica entre los recipientes centrales y el disipador de calor es diferente a la conductividad térmica de la parte del aislante de la conducción térmica entre los recipientes marginales y el disipador de calor;
- 15 bajar la temperatura del disipador de calor, y por tanto la temperatura ambiente en la cámara de liofilización que contiene el recipiente, hasta una temperatura suficiente para congelar la solución líquida, seleccionándose el aislante térmico para proporcionar una congelación de la solución líquida desde la superficie superior y la superficie inferior aproximadamente a la misma temperatura y de este modo formar una solución congelada;
- 20 durante la congelación o después de la misma, alterar el aislante de la conducción térmica y reducir la presión ambiente en la cámara para liofilizar la solución congelada después de alterar el aislante de la conducción térmica.
- 25
2. Método según la reivindicación 1, en el que el aislante térmico (108) comprende aire, un gas o un espacio vacío.
3. Método según la reivindicación 1, en el que el aislante térmico (108) tiene una conductividad térmica inferior a aproximadamente 0,2 W/mK.
- 30
4. Método según la reivindicación 2, que adicionalmente comprende proporcionar una bandeja (110), sobre la que descansa el recipiente, entre el recipiente y el aislante térmico, siendo la bandeja opcionalmente conductora térmica.
5. Método según la reivindicación 1, en el que el disipador de calor (101) comprende un conjunto de refrigerante en comunicación térmica con la superficie de disipador de calor (102).
- 35
6. Método según la reivindicación 1, en el que el recipiente (106) comprende un vial.
7. Método según la reivindicación 6, en el que el aislante térmico (108) comprende un elemento de soporte aislante térmico (114) fijado a la parte inferior del vial y el elemento de soporte aislante térmico descansa sobre el disipador de calor (101).
- 40
8. Método según la reivindicación 1, en el que la cámara de liofilización incluye al menos dos disipadores de calor (101) paralelos, y que adicionalmente comprende cargar el recipiente (106) que contiene la solución líquida dentro de la cámara de liofilización entre los dos disipadores de calor paralelos a distancias separadas verticalmente de cada disipador de calor con un aislante térmico (108) intermedio, seleccionándose las distancias y el aislante térmico para proporcionar una congelación de la solución líquida desde la superficie superior (116) y la superficie inferior (117) aproximadamente a la misma temperatura y así obtener una solución congelada.
- 45
9. Método según la reivindicación 1, en el que las dimensiones de una parte del aislante térmico para los recipientes centrales son diferentes a las dimensiones de una parte del aislamiento térmico para los recipientes marginales.
- 50
10. Método según la reivindicación 1, que adicionalmente comprende colocar los recipientes (106) sobre una bandeja (110), comprendiendo el aislante térmico (108) una distancia de separación entre la bandeja y el disipador de calor (101).
11. Método según la reivindicación 10, en el que el paso de alteración comprende poner en contacto térmico la bandeja (110) y el disipador de calor (101).
- 55
12. Método según la reivindicación 1, en el que la conductividad térmica de la parte del aislante térmico (108) entre los recipientes centrales (106) en el disipador de calor (101) es diferente a la

conductividad térmica de la parte del aislante térmico entre los recipientes marginales y el disipador de calor.

- 5
- 13.** Método según la reivindicación 12, en el que el paso de alteración comprende poner el recipiente (106) que contiene solución líquida congelada en contacto conductor térmico con el disipador de calor (101).
- 14.** Método según la reivindicación 1, en el que el paso de formación incluye la colocación de al menos un separador (111) entre el recipiente (106) y el disipador de calor (101) y el paso de alteración incluye la retirada del separador o los separadores.
- 10
- 15.** Método según la reivindicación 14, que adicionalmente comprende colocar los recipientes (106) sobre una bandeja (101), comprendiendo el aislante térmico (108) una distancia de separación entre la bandeja y el disipador de calor (101), y estando dispuesto(s) el o los separadores (11) entre la bandeja y el disipador de calor.
- 16.** Método según la reivindicación 11, en el que el paso de puesta en contacto comprende la puesta en contacto después de la congelación.
- 15

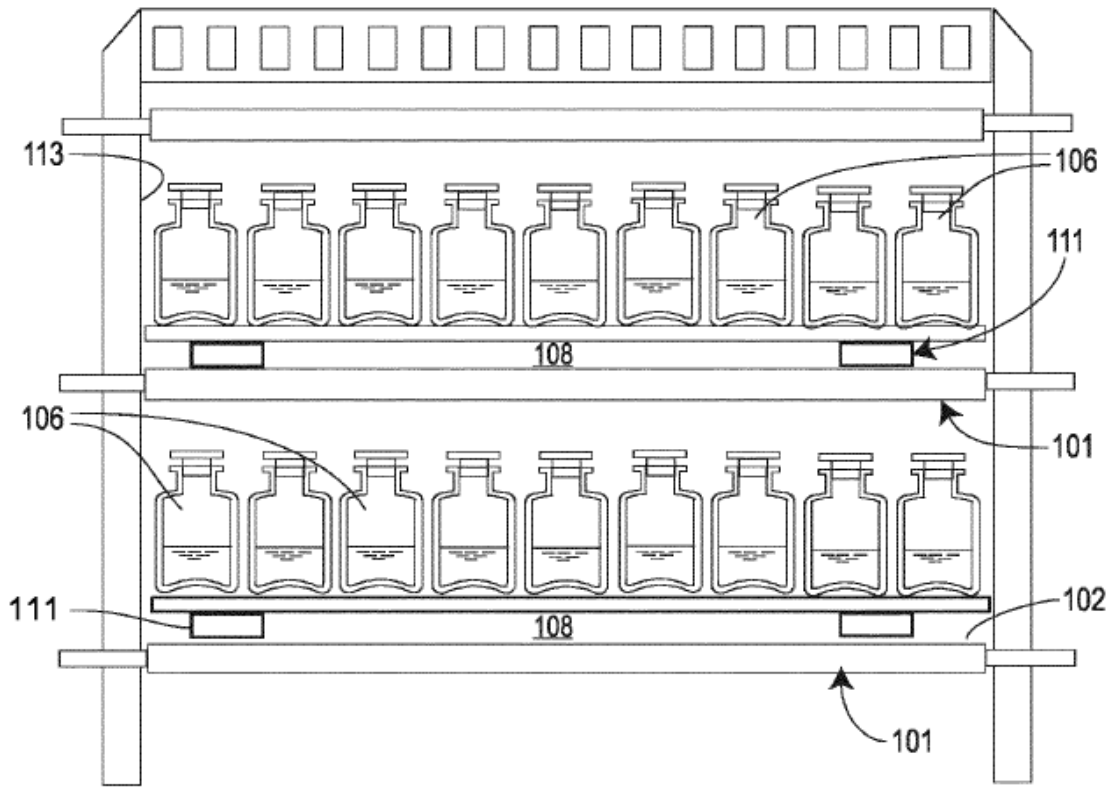


FIG. 1

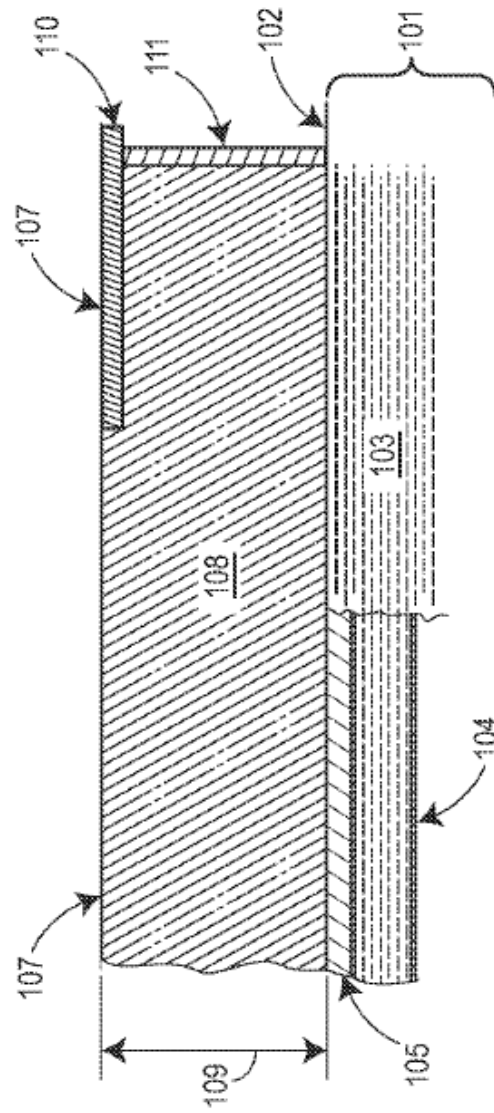


FIG. 2

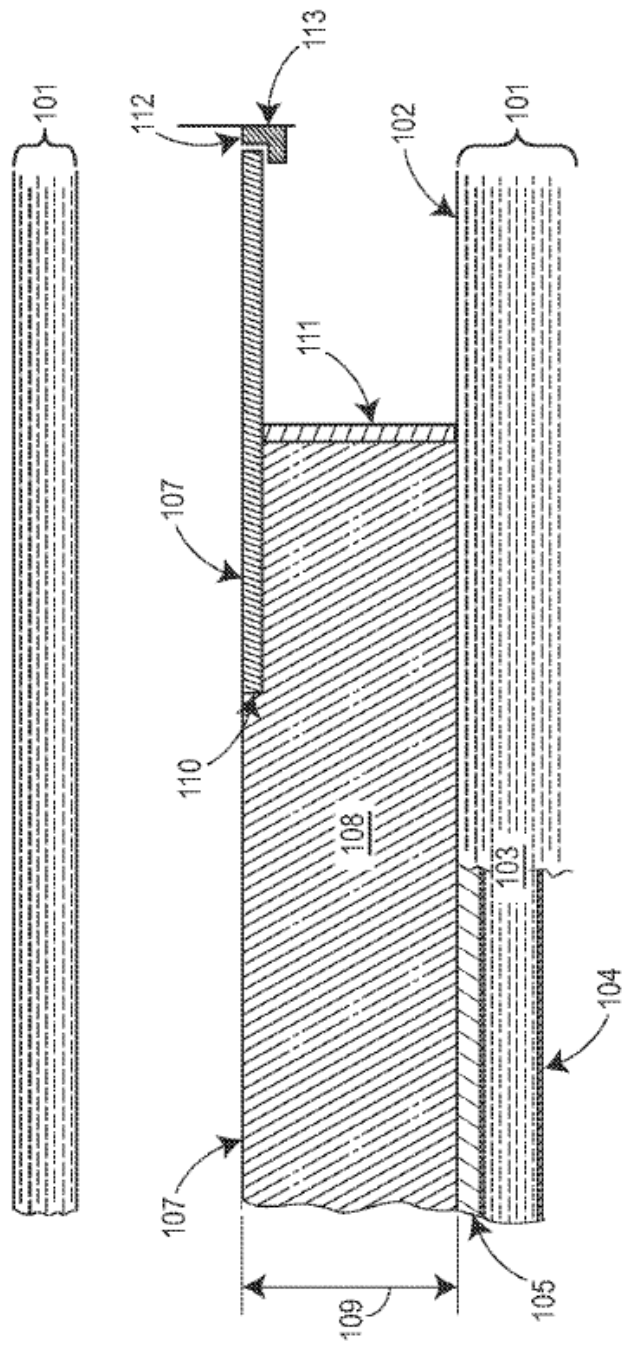


FIG. 3

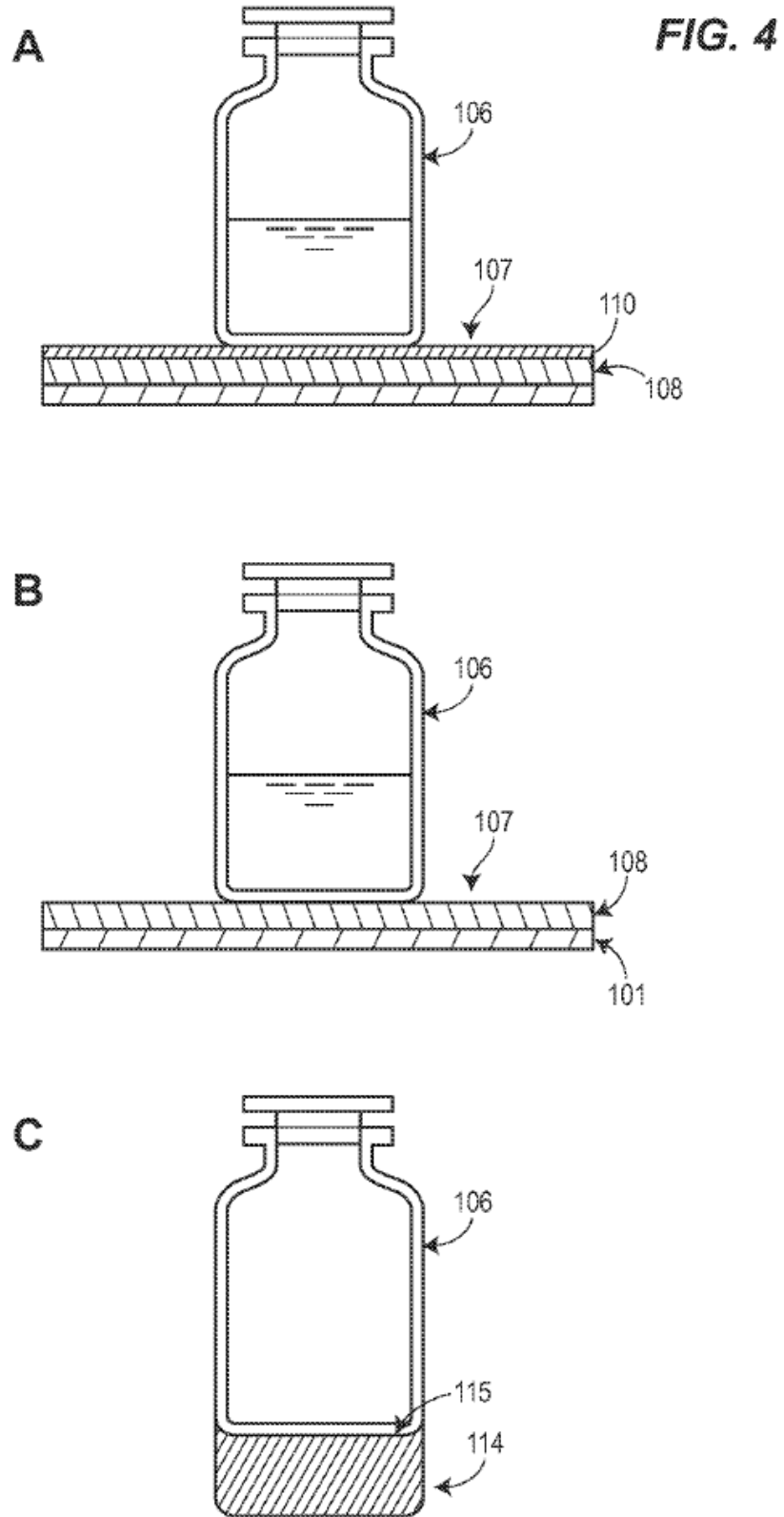


FIG. 5

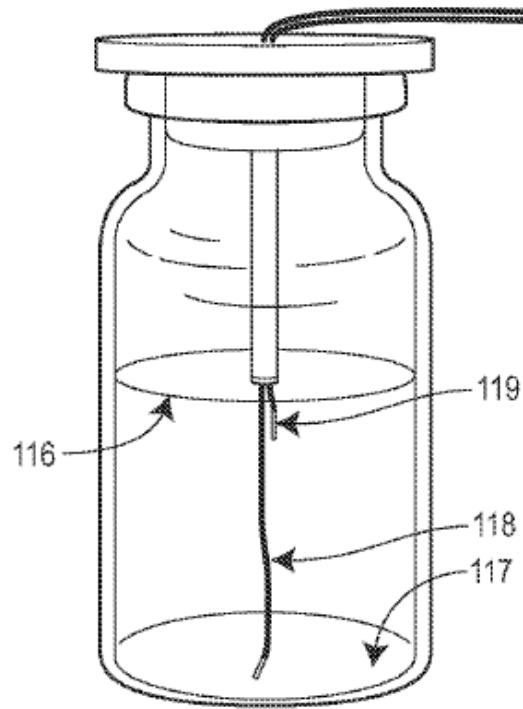


FIG. 6

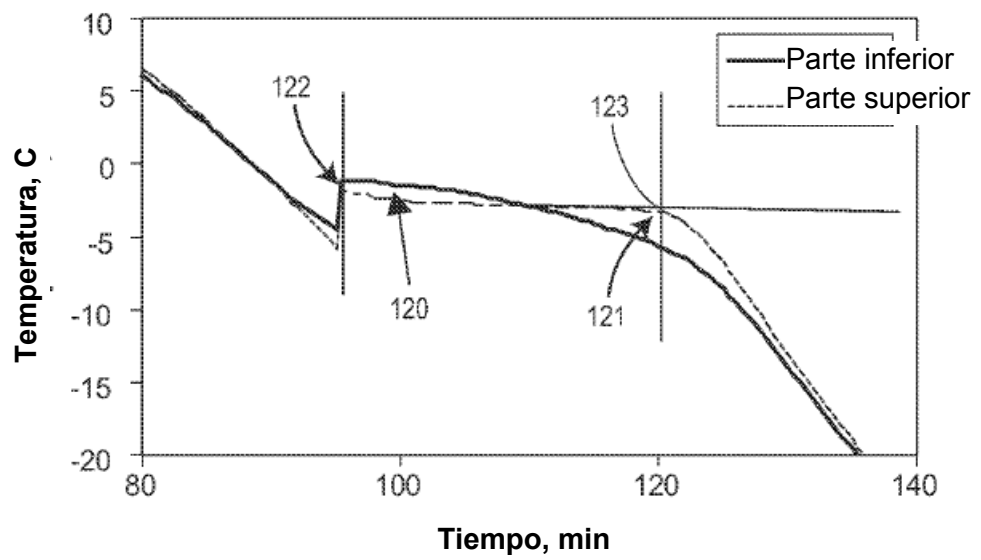


FIG. 7A

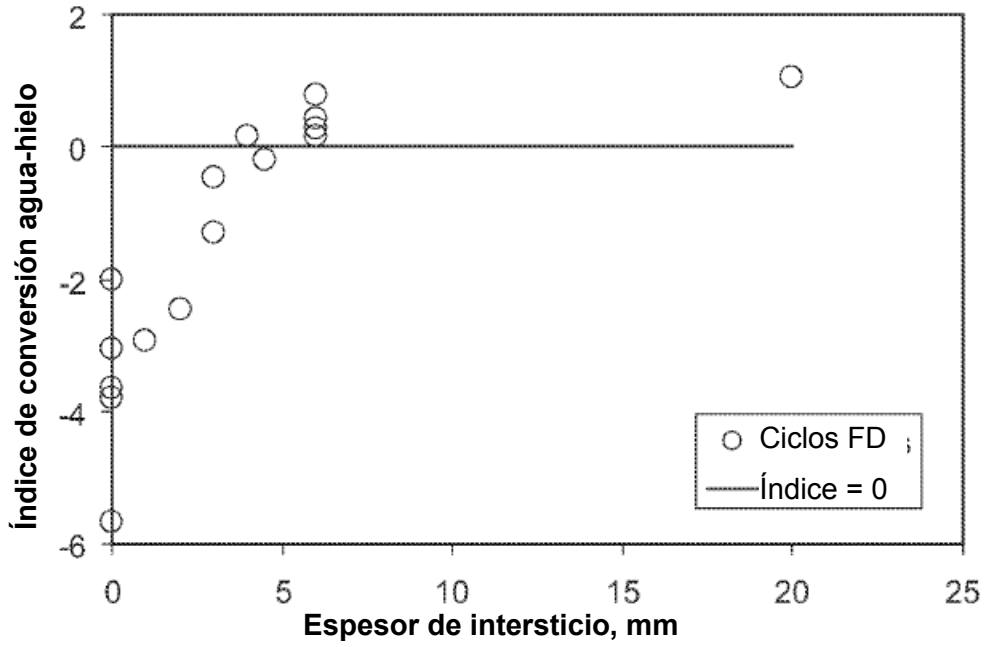
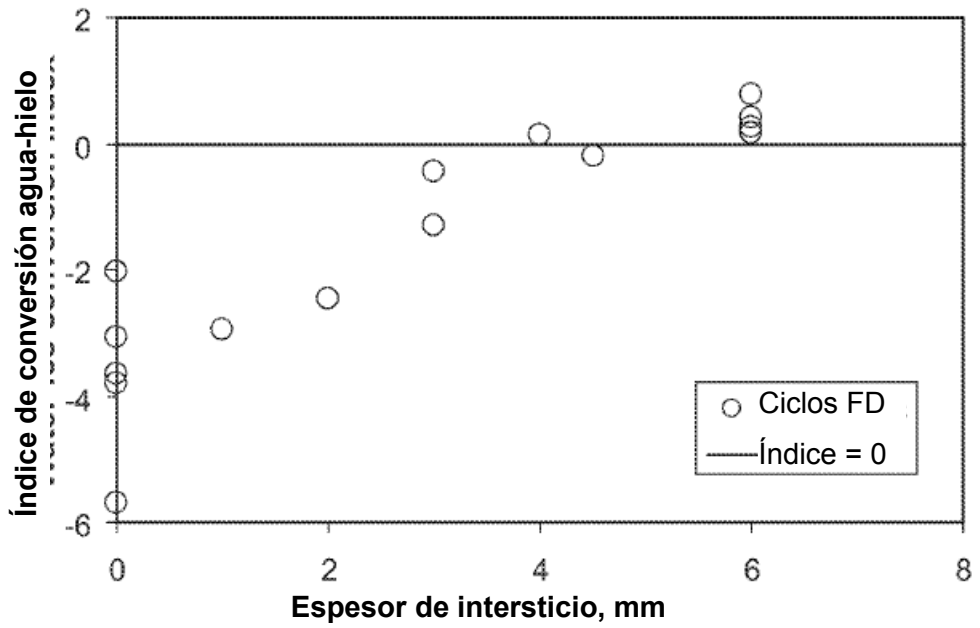


FIG. 7B



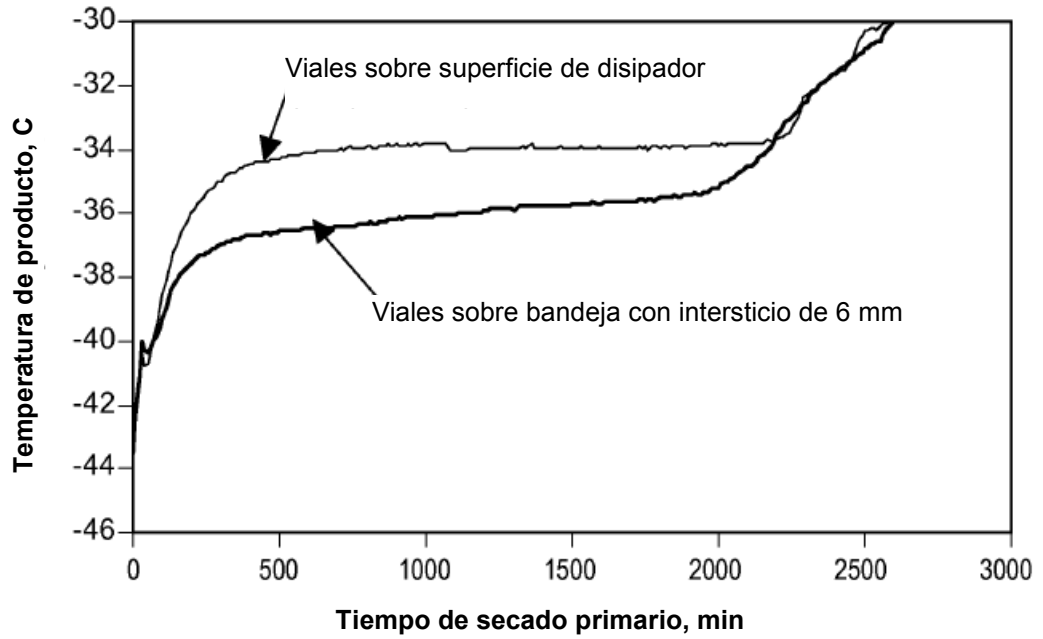


FIG. 8

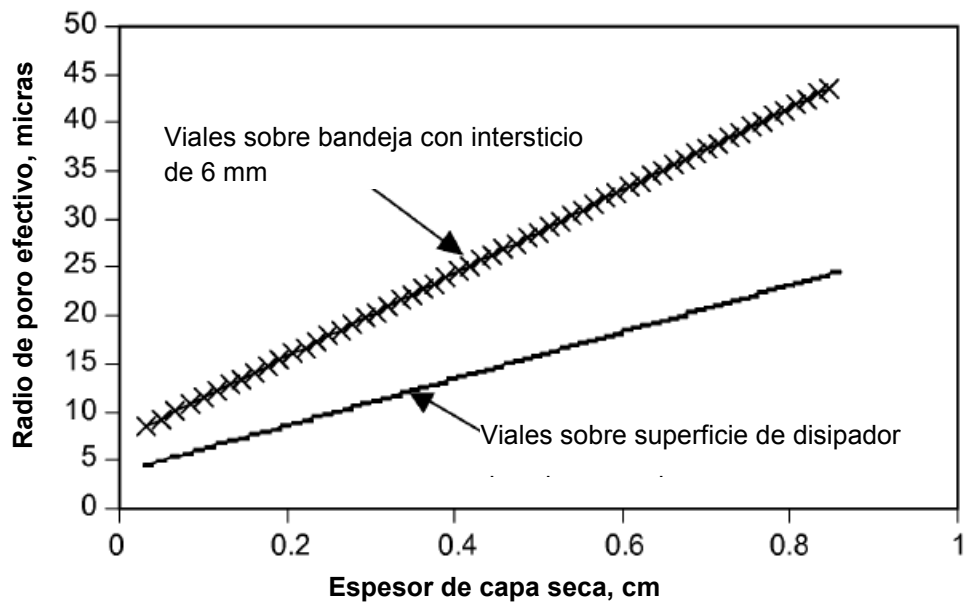


FIG. 9

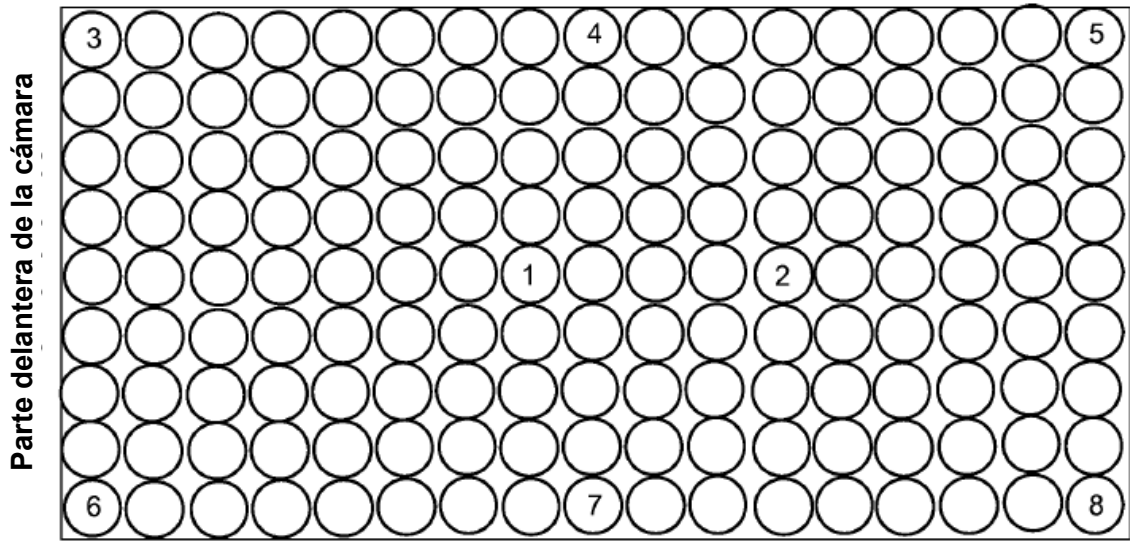


FIG. 10

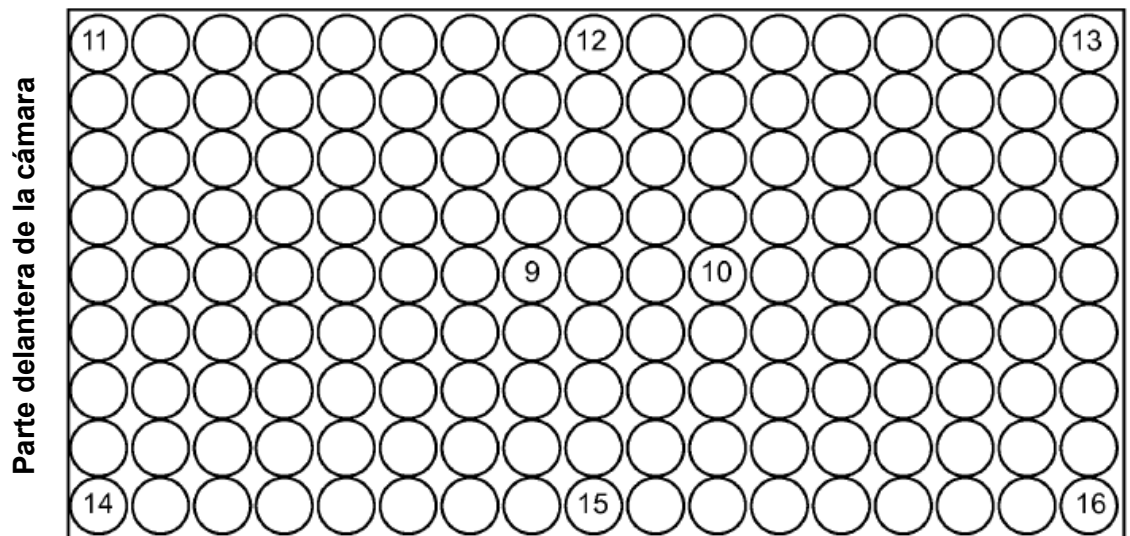


FIG. 11

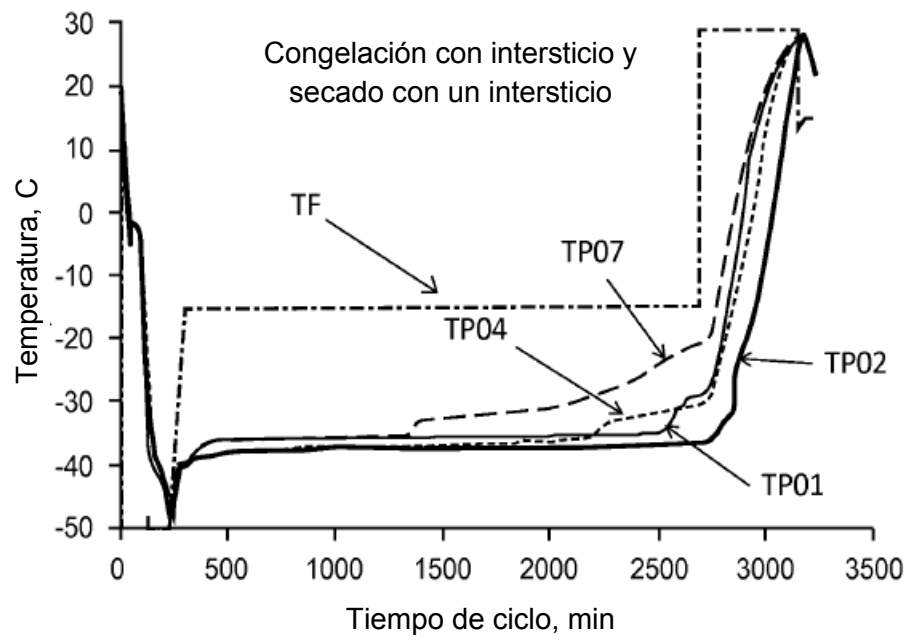


FIG. 12

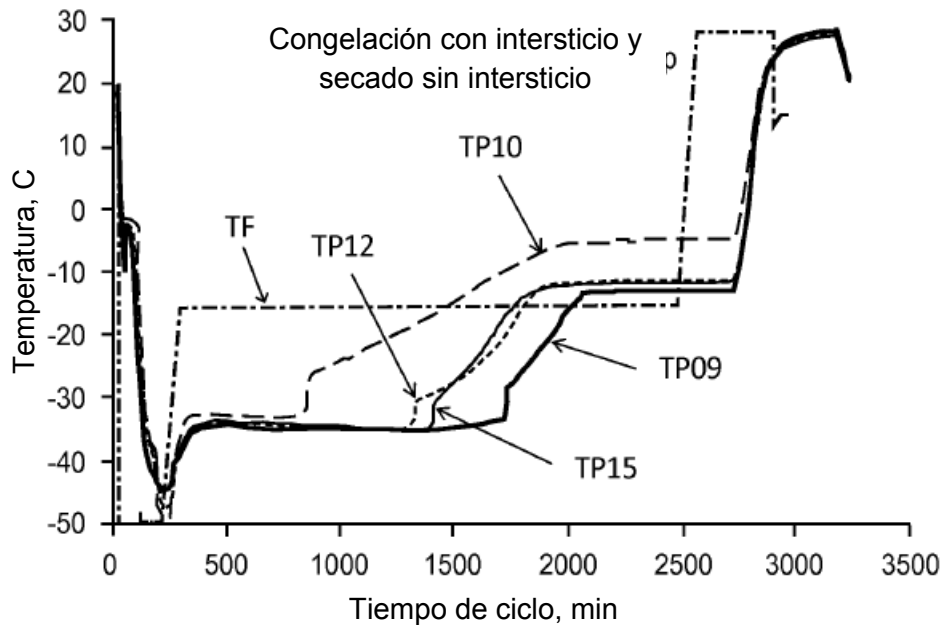


FIG. 13

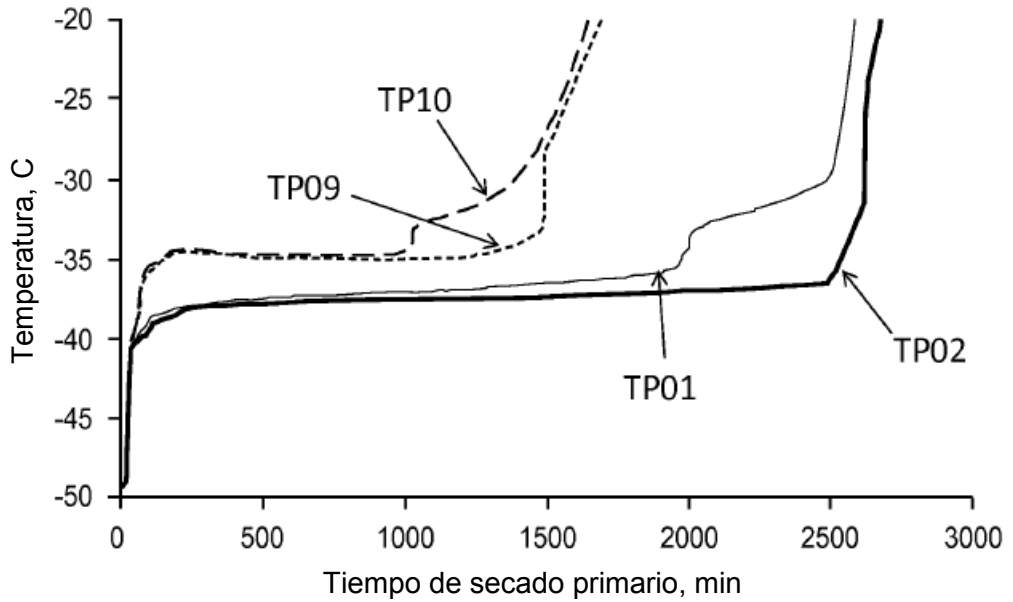


FIG. 14

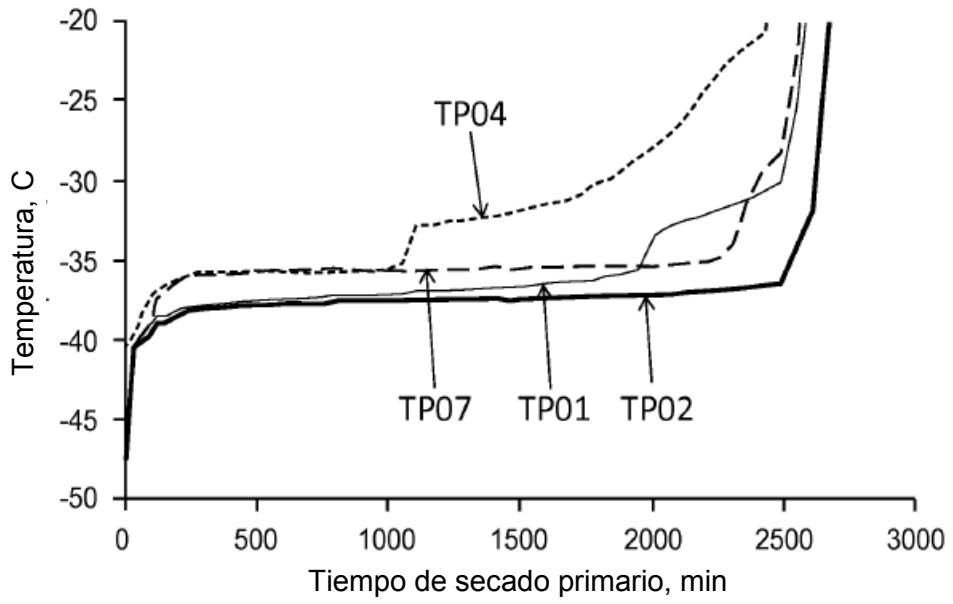


FIG. 15

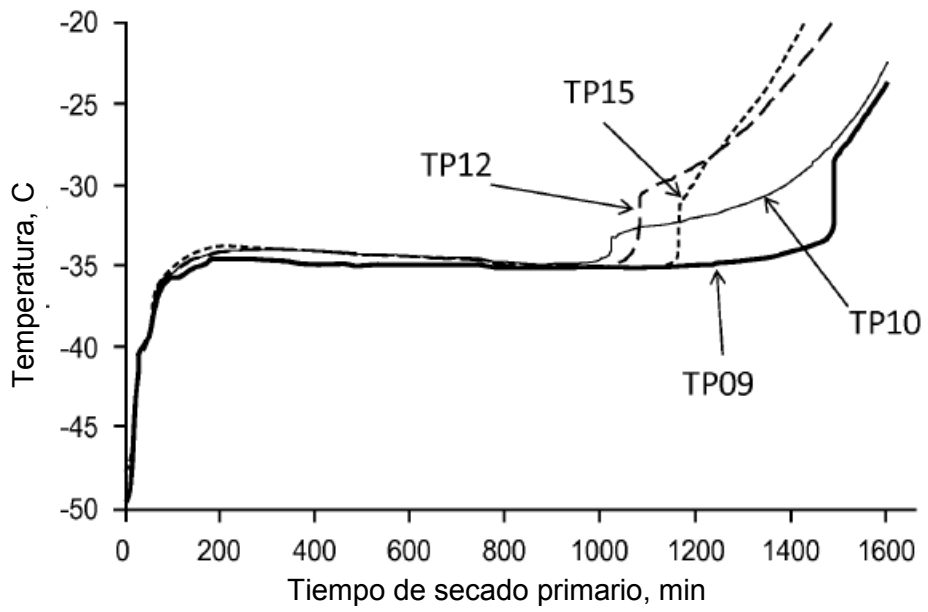


FIG. 16