



⑫

## EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT

④⑤ Veröffentlichungstag der Patentschrift :  
**04.03.92 Patentblatt 92/10**

⑤① Int. Cl.<sup>5</sup> : **F26B 5/06**

②① Anmeldenummer : **89109246.2**

②② Anmeldetag : **23.05.89**

⑤④ **Behälter zum Gefriertrocknen unter sterilen Bedingungen.**

③⑩ Priorität : **26.05.88 DE 3817906**

⑦③ Patentinhaber : **BOEHRINGER MANNHEIM  
GMBH  
Sandhofer Strasse 112-132  
W-6800 Mannheim-Waldhof (DE)**

④③ Veröffentlichungstag der Anmeldung :  
**29.11.89 Patentblatt 89/48**

⑦② Erfinder : **Bergmann, Thomas, Dr. rer. nat.  
Frauenschuhrasse 3  
W-8122 Penzberg (DE)**  
Erfinder : **Brustmann, Herbert  
Nordbadstrasse 2 a  
W-8132 Tutzing (DE)**

④⑤ Bekanntmachung des Hinweises auf die  
Patenterteilung :  
**04.03.92 Patentblatt 92/10**

⑧④ Benannte Vertragsstaaten :  
**AT BE CH DE ES FR GB GR IT LI LU NL SE**

⑦④ Vertreter : **Huber, Bernhard, Dipl.-Chem. et al  
Patentanwälte H. Weickmann, Dr. K. Fincke  
F.A. Weickmann, B. Huber Dr. H. Liska, Dr. J.  
Prechtel Kopernikusstrasse 9 Postfach 86 08  
20  
W-8000 München 86 (DE)**

⑤⑥ Entgegenhaltungen :  
**CH-A- 394 945  
FR-A- 2 284 842  
GB-A- 995 930  
US-A- 3 391 466  
KUNSTSTOFFE, Band 71, Nr. 5, Mai 1981, Sei-  
ten 287-293, München, DE; H. RODER:  
"Kunststoffe in der Verpackung. Kunststoff-  
Verpackungsfolien"**

**EP 0 343 596 B1**

Anmerkung : Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

## Beschreibung

Der Erfindung betrifft einen Behälter zum Gefriertrocknen unter sterilen Bedingungen, insbesondere zum Trocknen von biologischem und/oder pharmazeutischem Material.

5 Bei biologischem und pharmazeutischem Material ist es häufig notwendig, die Substanzen bis zu ihrer Verwendung völlig trocken zu lagern. Meist sind diese empfindlichen Substanzen nur durch Gefriertrocknung zugänglich. Zudem besteht in der Regel die Notwendigkeit, diese Substanzen völlig frei von mikrobiologischen Keimen zu halten, und zwar sowohl wegen der durch Mikroben verursachten Zersetzung von biologischen Substanzen als auch, um mögliche Infektionen bei ihrer Verwendung zu verhindern.

10 Das Gefriertrocknen von biologischen und pharmazeutischen Substanzen ist allgemein bekannt (siehe auch Ullmans Enzyklopädie der Technischen Chemie, 3. Aufl., Bd. I, S. 556 ff.) Dabei werden, um eine Kontamination des getrockneten Gutes mit Keimen und anderen Verunreinigungen zu vermeiden, aufwendige apparative und verfahrenstechnische Maßnahmen getroffen.

15 Beim Trocknen von pharmazeutischen Präparaten in Ampullen oder Fläschchen wird beispielsweise so vorgegangen, daß Fläschchen, die das gefrorene Gut enthalten, mit einem Bakterienfilter versehen werden und das Gut in den Fläschchen in einem ersten Trocknungsschritt so weit getrocknet wird, bis die Sublimation des gefrorenen Lösungsmittels abgeschlossen ist.

20 Anschließend wird in einem zweiten Trocknungsabschnitt, der sogenannten Nach- oder Resttrocknung, dem Gut die noch verbliebene Restfeuchtigkeit entzogen. Da dieser zweite Trocknungsschritt meist in einer besonderen Apparatur durchgeführt wird, müssen die Ampullen oder Phiolen in einem weiteren kontaminationsempfindlichen Arbeitsgang der ersten Trocknungsapparatur entnommen und in die zweite Trocknungsapparatur eingebracht werden. Dazu werden die Bakterienfilter entfernt und durch eine mit einem Gummidiaphragma und einer Hohnadel versehenen Aluminiumkappe ersetzt. Nach einer je nach Art des zu trocknenden Gutes mehrtägigen Resttrocknung wird der Trockenraum mit einem Inertgas und mit leichtem  
25 Überdruck gefüllt und die Diaphragmaöffnung durch eine Vergußmasse möglichst dampfdicht verschlossen.

Da die Sublimationsgeschwindigkeit bei dieser Art der Gefriertrocknung nur etwa halb so grob ist wie diejenige von offen ausgebreitetem Material, wird die Gefriertrocknung von biologischem und pharmazeutischem Material auch auf Platten unter sterilen Bedingungen durchgeführt. Dabei wird eine Lösung des zu trocknenden Gutes zuerst sterilisiert, beispielsweise durch Filtration über einen Sterilfilter, anschließend unter sterilen  
30 Bedingungen auf Platten gegossen und mittels bekannter Methoden gefriergetrocknet. Dieses Verfahren setzt jedoch voraus, daß die gesamte Gefriertrocknungsanlage sterilisierbar ist. Zudem ist es erforderlich, auch die Umgebung der Trocknungsanlage keimfrei zu halten.

Nach erfolgter Trocknung ist es notwendig, das Gut in der Trocknungsanlage selbst oder in ihrer Umgebung mit mechanischen Verfahren von den Platten unter sterilen Bedingungen zu entfernen und in ebenfalls sterile  
35 Aufbewahrungsbehältnisse zu füllen. Dieses Verfahren erfordert aufwendige Anlagen und sterile Räume sowie ein besonders sorgfältiges Arbeiten mit dem zu trocknenden bzw. dem bereits getrockneten Gut bis zu seiner gebrauchsfertigen Konfektionierung.

Aus der GB-A-995 930 war es schon bekannt, radioaktive wäßrige Lösungen in dampfdurchlässigen Beuteln gefrierzutrocknen um dadurch für die Sublimation eine größere Oberfläche als beim Trocknen in Flaschen zur Verfügung zu stellen. Das Problem einer mikrobiellen Kontamination des zu trocknenden Guts stellte sich dabei nicht.

Die Erfindung hat nun zum Ziel, die oben aufgezeigten Nachteile zu überwinden und einen einfachen Behälter bereitzustellen, mit dessen Hilfe ohne die oben angeführten aufwendigen Sterilitätsanforderungen an die Trocknungsanlage sowie an den diese umgebenden Raum ein steriles, gefriergetrocknetes Material gewonnen werden kann.  
45

Dieses Ziel wird erfindungsgemäß erreicht durch einen Behälter zum Gefriertrocknen von insbesondere biologischem oder pharmazeutischem Material unter sterilen Bedingungen, der dadurch gekennzeichnet ist, daß dessen Seiten zumindest teilweise aus zwei an ihren Rändern dicht- und druckfest miteinander verbundenen Wänden bestehen, von denen die eine Wand aus flüssigkeitsdichtem Material und die andere Wand aus einer hydrophoben, porigen, keimdichten, wasserdampfdurchlässigen Membran gebildet wird.  
50

Die Erfindung beruht auf der Erkenntnis, daß der durch die Sublimation von Lösungsmittelmolekülen, insbesondere von Wassermolekülen, entstehende Dampfstrom, der vom zu trocknenden Gut hin zum Kondensator fließt, durch die im erfindungsgemäßen Behälter verwendete Membran nur in geringem Umfang behindert wird. Somit läuft das Gefriertrocknen von Material, das von der Membran umschlossen ist, nahezu gleich  
55 schnell ab wie das Gefriertrocknen desselben offenen, nicht verpackten Materials. Bei den erfindungsgemäß verwendeten Membranen handelt es sich um hydrophobe Membranen, die Poren enthalten, die einerseits für Wasserdampf durchlässig, andererseits jedoch so klein sind, daß sie von Mikroorganismen nicht mehr passiert werden können. Solche Poren haben vorzugsweise eine Größe von  $\leq 0,5 \mu\text{m}$ , insbesondere von  $\leq 0,2 \mu\text{m}$ .

Vorzugsweise werden Membranen verwendet, die auch noch im nassen Zustand unter den jeweiligen Verfahrensbedingungen reißfest sind. Allerdings ist der erfindungsgemäße Behälter auch mit weniger stabilen Membranen brauchbar, sofern diese mit einem Trägermaterial verstärkt sind oder nicht übermäßig mechanisch beansprucht werden.

5 Der im erfindungsgemäßen Behälter jeweils gewählte Anteil der Membran an der Wandfläche hängt von den jeweils gewählten Bedingungen und der Trocknungsdauer ab und kann vom Fachmann mittels einfachem Ausprobieren leicht herausgefunden werden. In einer bevorzugten Ausführungsform besteht die gesamte Wandfläche aus der Membranfolie, in einer weiteren bevorzugten Ausführungsform etwa zu Hälfte. Der erfindungsgemäße Behälter ist auch noch dann vorteilhaft brauchbar, wenn die Wandfläche nur zu 10 % aus der  
10 Membranfolie besteht.

Im besonderen eignen sich halbdurchlässige Papiere aus Cellulose und üblichen Cellulosederivaten, wie Celluloseacetat. Vorzugsweise finden auch Membranen aus Folien von Polymerverbindungen, wie Polytetrafluorethylen oder Polypropylen, Verwendung. Ganz besonders eignen sich als wasserdampfdurchlässige Membranen auch Folien aus Sterilisationspapier nach DIN 58 953. In weiteren bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung werden Goretex- und ähnliche Membranen oder auch handelsübliche Folienschläuche eingesetzt. Im Prinzip ist jede Folienmembran unabhängig von ihren Bestandteilen verwendbar, sofern sie die in  
15 der DIN-Norm 58 953 angegebenen Anforderungen bezüglich Keimdichte, Luftdurchlässigkeit und insbesondere Festigkeit erfüllt.

In einer bevorzugten Ausführungsform besteht der erfindungsgemäße Behälter aus einem Beutel oder  
20 Schlauch, der aus den zwei an ihren Rändern miteinander dicht und druckfest verbundenen Wänden besteht, wovon die eine Wand aus flüssigkeitsdichtem Material besteht und die andere Wand von der Membran gebildet wird.

Die Membran ist mit dem Gefäß vorzugsweise verschweißt oder verklebt. Als Gefäße eignen sich erfindungsgemäß besonders Wannen.

25 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform besteht die Wanne aus flüssigkeitsdichtem Kunststoff und hat vorzugsweise eine Wandstärke von 0,5 bis 1 mm.

Die günstigsten Trocknungsbedingungen, wie Druck, Temperatur und Menge, sind abhängig von dem jeweils zu trocknenden Material, der Dicke der Membran sowie der Größe und Anzahl ihrer Poren und müssen durch übliches und einfaches Ausprobieren für das jeweilige Material und die Verpackung bestimmt werden.

30 Im folgenden wird die Erfindung anhand einiger Ausführungsbeispiele näher erläutert.

### **Beispiel 1**

Die Prüfung der Keimdichte einer Membran wurde gemäß DIN 58 953 so durchgeführt, daß Mikroorganismen in Wassertropfen auf die Probestücke gebracht wurden und nach dem Antrocknen der Wassertropfen  
35 untersucht wurde, ob Mikroorganismen auf die Unterseite der Probestücke durchgetreten sind.

Die zu prüfende Membranfolie wurde in Quadrate von etwa 50 mm Kantenlänge geschnitten. Die Probestücke wurden sterilisiert und getrocknet. Jedes Probestück der sterilisierten Membran wurde mit der Seite, die bei der Anwendung kontaminiert werden kann, nach oben auf eine sterilisierte Unterlage gelegt und mit 5  
40 Tropfen zu je 0,1 ml (entsprechend  $10^6$  bis  $10^7$  Keimen) beimpft. Die Probestücke wurden bei Raumtemperatur von 20 bis 25 °C unter einer relativen Luftfeuchte von 40 bis 60 % gelagert. Die Tropfen müssen innerhalb von 6 h vollständig getrocknet sein. Jedes Probestück wurde mit der beimpften Fläche nach oben auf die Oberfläche einer Blutagarplatte (1,5 % Agar) gelegt, so daß die ganze Foliensfläche mit dem Agar in Kontakt kam. Nach 5 bis 6 sec wurde das Papier entfernt. Die Platten wurden 16 bis 25 h bei 37 °C bebrütet. Weisen die mit solchen  
45 Folienproben behandelten Agarplatten kein Wachstum auf, gilt die Folie als ausreichend keimdicht. Weitere Angaben über die Prüfung der Keimdichtigkeit von Membranen, insbesondere die Herstellung von Testkeimsuspensionen, können dem Teil 6 der DIN-Norm 58 953 entnommen werden.

### **Beispiel 2**

50 Es wurde eine Nährlösung hergestellt, die aus 10 g Pepton, 5 g Glucose, 5 g NaCl, 0,084 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,187 g  $\text{Na}_2\text{-HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  und pyrogenfreiem Wasser ad 1,0 l bestand und die auf pH 7,0 eingestellt wurde. Anschließend wurde sie in einer verschlossenen Durchstichflasche endsterilisiert.

Zur Aufnahme der sterilen, zu lyophilisierenden Nährlösung wurde ein Klarsichtsterilbeutel, bestehend aus  
55 einer Klarsichtfolie und einem geeigneten Papier, angefertigt. Hierzu wurde von der handelsüblichen Klarsichtsterilisierungsbeutel folie der Firma Wipak Medical, Typ Steri-King R 47, die sich schlauchförmig, d.h. beiderseits verschweißt, sonst offen, auf einer Rolle (Breite der Rolle 400 mm) befindet, ein Stück von einer Länge von 800 mm abgeschnitten. Dieser Schlauch wurde an den beiden offenen Seiten zu einem Beutel mit einem

handelsüblichen Foliengerät verschweißt. Anschließend wurde dieser Beutel in einem Autoklaven mit Filterprogramm bei 123 °C und 2 bar Dampfdruck sterilisiert, der sterile Beutel mit der Klarsichtfolie nach unten zur besseren Handhabung in eine unsterile Blechwanne (VA-Blech, Abmessungen: Länge 800 mm, Breite 400 mm, Höhe 30 mm) gelegt und in einer Laminar-Flowbox unter sterilen Bedingungen mit einer desinfizierten Schere durch Abschneiden einer Ecke geöffnet. Durch diese Öffnung von etwa 30 mm zwischen Folie und Papier wurden 1,5 l der sterilen Nährlösung über einen in die Öffnung geschobenen sterilen Schlauch eingefüllt. Der so gefüllte Beutel wurde noch in der Laminar-Flowbox unter sterilen Bedingungen mittels eines handelsüblichen Folienschweißgeräts durch Verschweißen über Eck verschlossen.

Die gesamte Anordnung (Blechwanne, Beutel und sterile Nährlösung) wurde auf eine auf -45 °C vorgekühlte Platte einer handelsüblichen, nicht sterilisierbaren Gefriertrocknungsanlage der Firma Edwards + Knieze mit einer Gesamtstellfläche von 1,5 m<sup>2</sup> verbracht und die Lösung eingefroren. Nach vollständigem Einfrieren der Lösung unter nichtsterilen Bedingungen wurde bei einem Druck von 10<sup>-1</sup> torr und einer Plattentemperatur von 22 °C gefriergetrocknet und das Produkt bei 10<sup>-3</sup> torr, ebenfalls unter nichtsterilen Bedingungen, nachgetrocknet. Die Gesamttrocknungsdauer betrug ca. 72 h.

Das so erhaltene, als hellbraunes Pulver im Klarsichtsterilisierbeutel vorliegende gefriergetrocknete Gut wurde einschließlich Beutel in eine Laminar-Flowbox verbracht und in 1,5 l sterilem Wasser gelöst. Hierzu wurde auf der Papierseite die vorgesehene Einstichstelle mit Alkohol desinfiziert, mittels einer sterilen Kanüle und geeigneten sterilen Spritze insgesamt 1,5 l steriles Wasser in den Beutel gegeben, das getrocknete Gut gelöst und die Lösung in eine sterile Flasche überführt. Diese Lösung wurde 4 Tage bei 37 °C bebrütet und anschließend die Keimzahl der bebrüteten Lösung nach der Membranfiltermethode bestimmt.

Es zeigte sich, daß durch die Gefriertrocknung keine Keime eingeschleppt werden.

## Patentansprüche

1. Behälter zum Gefriertrocknen von insbesondere biologischem oder pharmazeutischem Material unter sterilen Bedingungen, **dadurch gekennzeichnet**, daß dessen Seiten zumindest teilweise aus zwei an ihren Rändern dicht- und druckfest miteinander verbundenen Wänden bestehen, von denen die eine Wand aus flüssigkeitsdichtem Material und die andere Wand aus einer hydrophoben, porigen, keimdichten, wasserdampfdurchlässigen Membran gebildet wird.

2. Behälter nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Poren der Membran eine Größe von  $\leq 0,5 \mu\text{m}$  aufweisen.

3. Behälter nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Poren der Membran eine Größe von  $\leq 0,2 \mu\text{m}$  aufweisen.

4. Behälter nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Membran eine Folie mit den Eigenschaften gemäß DIN 58 953 ist.

5. Behälter nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Membran aus halbdurchlässigem Papier, vorzugsweise aus Cellulose und Cellulosederivaten, besteht.

6. Behälter nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Membran aus Celluloseacetat besteht.

7. Behälter nach Anspruch 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Membran eine Folie aus einer Polymerverbindung, vorzugsweise aus Polytetrafluorethylen oder Polypropylen ist.

8. Behälter nach Anspruch 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß er als Schlauch oder Beutel ausgebildet ist.

9. Behälter nach Anspruch 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß er als Flasche, Ampulle oder Phiolen ausgebildet ist, die mit der Membran verschlossen ist.

10. Behälter nach Anspruch 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet**, daß er als Wanne ausgebildet ist, die mit der Membran als Abdeckung druckfest verbunden ist.

## Claims

1. Container for freeze drying of especially biological or pharmaceutical material under sterile conditions, characterised in that its sides consist at least partly of two walls connected hermetically and pressure-proof with one another on their edges, one wall of which is made from liquid-tight material and the other wall of a hydrophobic, porous, germ-tight water vapour-permeable material.

2. Container according to claim 1, characterised in that the pores of the membrane have a size of  $\leq 0.5 \mu\text{m}$ .

3. Container according to claim 2, characterised in that the pores of the membrane have a size of  $\leq 0.2$

µm.

4. Container according to one of claims 1 to 3, characterised in that the membrane is a film with the properties according to DIN 58 953.

5 5. Container according to one of claims 1 to 4, characterised in that the membrane consists of semi-permeable paper, preferably of cellulose and cellulose derivatives.

6. Container according to claim 5, characterised in that the membrane consists of cellulose acetate.

7. Container according to claim 1 to 4, characterised in that the membrane is a film of a polymer compound, preferably of polytetrafluoroethylene or polypropylene.

8. Container according to claim 1 to 7, characterised in that it is formed as tube or bag.

10 9. Container according to claim 1 to 7, characterised in that it is formed as flask, ampoule or vial which is closed with the membrane.

10. Container according to claim 1 to 7, characterised in that it is formed as trough which is connected pressure-proof with the membrane as covering.

15

### Revendications

1. Récipient pour la lyophilisation en particulier d'un produit biologique ou pharmaceutique dans des conditions stériles, caractérisé en ce que ses côtés consistent au moins en partie en deux parois reliées entre-elles de manière étanche et résistante à la pression, l'une des parois consistant en un matériau étanche aux liquides et l'autre paroi consistant en une membrane hydrophobe, poreuse, imperméable aux germes, perméable à la vapeur d'eau.

2. Récipient selon la revendication 1, caractérisé en ce que les pores de la membrane ont une taille  $\leq 0,5$  µm.

25 3. Récipient selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que les pores de la membrane ont une taille  $\leq 0,2$  µm.

4. Récipient selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que la membrane est une feuille présentant les caractéristiques selon DIN 58 953.

30 5. Récipient selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que la membrane consiste en papier semi-perméable, de préférence en cellulose et en dérivés cellulosiques.

6. Récipient selon la revendication 5, caractérisé en ce que la membrane consiste en acétate de cellulose.

7. Récipient selon les revendications 1 à 4, caractérisé en ce que la membrane est une feuille d'un composé polymérique, de préférence de polytétrafluoroéthylène ou de polypropylène.

35 8. Récipient selon les revendications 1 à 7, caractérisé en ce qu'il est sous forme de tuyau souple ou de poche.

9. Récipient selon les revendications 1 à 7, caractérisé en ce qu'il est sous forme de bouteille, d'ampoule ou de fiole fermée par la membrane.

10. Récipient selon les revendications 1 à 7, caractérisé en ce qu'il est sous forme de cuve qui est reliée de manière résistante à la pression à la membrane formant couvercle.

40

45

50

55