

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

**EP 1 206 670 B1**

(12)

## EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des Hinweises auf die Patenterteilung:

**09.02.2005 Patentblatt 2005/06**

(51) Int Cl.7: **F26B 5/06**

(86) Internationale Anmeldenummer:

**PCT/EP2000/007034**

(21) Anmeldenummer: **00954556.7**

(87) Internationale Veröffentlichungsnummer:

**WO 2001/009559 (08.02.2001 Gazette 2001/06)**

(22) Anmeldetag: **21.07.2000**

(54) **VERFAHREN ZUR GEFRIERTROCKNUNG**

LYOPHILIZATION METHOD

PROCEDE DE LYOPHILISATION

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**DE ES FR GB IT**

• **KRAMER, Martin**

**D-70435 Stuttgart (DE)**

(30) Priorität: **02.08.1999 DE 19936281**

(56) Entgegenhaltungen:

**US-A- 3 233 333**

**US-A- 4 520 574**

**US-A- 4 612 200**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:

**22.05.2002 Patentblatt 2002/21**

(73) Patentinhaber: **Bayer HealthCare AG**

**51368 Leverkusen (DE)**

• **ADAMS G D J: "FREEZE-DRYING OF BIOLOGICAL MATERIALS" , DRYING TECHNOLOGY,US,MARCEL DEKKER, NEW YORK, VOL. 9, NR. 4, PAGE(S) 891-925 XP000232604 ISSN: 0737-3937**

(72) Erfinder:

• **SENNHENN, Bernd**

**D-51377 Leverkusen (DE)**

**EP 1 206 670 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**

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Gefriertrocknung (Lyophilisation).

[0002] Die Gefriertrocknung ist ein wichtiges Verfahren zur Stabilisierung hydrolyseempfindlicher und thermolabiler Zubereitungen, sowie von Materialien biologischen Ursprungs, die unter schonenden Bedingungen getrocknet werden sollen. Mit Hilfe der Gefriertrocknung können Materialien ohne größere Veränderungen und Verluste an biologischer Aktivität getrocknet werden. Ein positiver Aspekt der Gefriertrocknung ist, daß die getrockneten, "lyophilen" Produkte aufgrund ihrer porösen Struktur und sehr großen spezifischen Oberfläche sehr schnell rekonstituierbar sind und ihre ursprünglichen Eigenschaften in Lösung wieder annehmen. Deshalb findet die Gefriertrocknung bevorzugt Anwendung bei therapeutischen Sera, Blutprodukten, biologisch aktiven Substanzen (Hormonen, Vitaminen, Enzymen, Arzneistoffen), Lebensmittelzubereitungen und Aromen. Zur Gefriertrocknung eignen sich flüssige und halbfeste wasserhaltige Zubereitungen, z.B. Lösungen, Emulsionen und Suspensionen.

[0003] Die Trocknung aus dem gefrorenen Zustand vereint die Vorteile von Einfrieren und Dehydratation bei niedriger Temperatur und wird im allgemeinen folgendermaßen durchgeführt:

- Abkühlung und Kristallisation des Lösungsmittels in der Zubereitung bei Atmosphärendruck.
- Haupttrocknung, d.h. Sublimation des kristallisierten Lösungsmittels.
- Nachtrocknung, d.h. Verdampfung von nicht kristallisierten Lösungsmittelanteilen.

[0004] Die beiden Trocknungsschritte unterscheiden sich prinzipiell: Bei der Haupttrocknung (Primärtrocknung) erfolgt die Sublimation des gefrorenen Lösungsmittels unter vermindertem Druck. Bei der fakultativen Nachtrocknung (Sekundärtrocknung) erfolgt die Verdampfung von nicht-gefrorenem Lösungsmittel bei vermindertem Druck und bei erhöhter Temperatur.

[0005] Bei den aus dem Stand der Technik bekannten Verfahren werden die zu trocknenden Zubereitungen in Gefäßen, z.B. sog. Vials, bei Atmosphärendruck eingefroren und die Temperatur des Produktes wird auf einen für den Start der Haupttrocknung geeigneten Wert eingestellt.

[0006] Auf das Einfrieren (Kristallisation) folgt die Haupttrocknung, bei der unter reduziertem Druck das gefrorene Lösungsmittel vom festen in den gasförmigen Aggregatzustand überführt, d.h. sublimiert wird. Die Energie, die bei der Sublimation verbraucht wird, wird z.B. über beheizbare Stellplatten nachgeliefert. Während der Haupttrocknung darf sich die gefrorene Zubereitung nicht über ihren Schmelzpunkt erwärmen. An die Haupttrocknung kann sich eine Nachtrocknung anschließen, bei der nicht-gefrorenes Lösungsmittel bei erhöhter Temperatur und reduziertem Druck entfernt wird. Dabei handelt es sich um Lösungsmittel, das z.B. an der Feststoffmatrix adsorbiert oder in amorphen Arealen eingeschlossen sein kann.

Unter Kristallisation wird in der vorliegenden Anmeldung das Einfrieren (Erstarren) des Lösungsmittelanteils in der Zubereitung verstanden. Unter Zubereitung wird in der vorliegenden Anmeldung jede Art von Material verstanden, das sich für die Gefriertrocknung eignet.

[0007] Der Temperaturverlauf während der Gefriertrocknung kann durch geeignete Vorrichtungen gesteuert werden. Dem Fachmann bekannt sind insbesondere temperierbare Stellplatten. Die Stellplatten können bei diesem Verfahren sowohl nach dem Beladen (Abkühlvariante A), als auch vor dem Beladen auf die gewünschte Einfriertemperatur gebracht werden (Abkühlvariante B). Möglich ist auch eine Vortemperierung der Platten und/oder der Zubereitung auf den Platten auf eine Temperatur oberhalb der eigentlichen Einfriertemperatur, um einen Temperaturangleich der einzelnen Vials zu gewährleisten, bzw. um die Abkühlzeit bis zum Einfrieren zu minimieren. Daran schließt sich das eigentliche Einfrieren mit weiterer Absenkung der Plattentemperatur an (Abkühlvariante C).

Die Varianten A-C beschreiben das Einfrieren auf Stellplatten. Weitere bekannte Verfahren sind Einfrierverfahren in Kältebädern und rotierenden Gefäßen (Shell Freezing, Spin Freezing) oder durch Sprühhvorrichtungen; sie unterscheiden sich prinzipiell von den oben beschriebenen Verfahren.

Üblicherweise handelt es sich bei den zu trocknenden Zubereitungen um wässrige Systeme. Prinzipiell sind auch andere Lösungsmittel oder deren Gemische mit wässrigen Systemen einsetzbar, wie z.B. Carbonsäuren (z.B. Eisessig), Dimethylsulfoxid (DMSO), Ether (z.B. Dioxan), Dimethylformamid oder Alkohole (z.B. t-Butanol).

[0008] Die verschiedenen, konventionellen Arten des Einfrierens und der Gefriertrocknung sind z.B. in einschlägigen Lehrbüchern hinlänglich beschrieben, so z.B. **Lyophilisation**, Essig, Oschmann, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart mbH, 1993; Seite 15-29, **Gefriertrocknen**, Georg-Wilhelm Oetjen, VCH Verlag, 1997; Seite 3-58 und **Freeze Drying**, Athanasios I. Liapis, in: Handbook of Industrial Drying, ed. by A.S. Mujumdar, Montreal, Seite 295-326.

[0009] Darüber hinaus beschreibt US 3,233,333 ein Verfahren zur Gefriertrocknung von Fleisch und anderen Lebensmitteln, die zelluläre Strukturen enthalten, wobei durch eine Durchführung in vier Schritten die physische Qualität nicht beeinträchtigt wird und Geschmack, Geruch und Struktur praktisch unverändert bleiben.

[0010] Allen Einfrierverfahren ist gemeinsam, daß bei Eignung der Zubereitung nach dem Einfrieren ein Temperaturschritt (Thermal Treatment oder Annealing) erfolgen kann. Dieser Temperaturschritt dient dazu, die Kristallisation von

amorph erstarrten Feststoffen und nicht gefrorenem Lösungsmittel zu fordern und somit eine erhöhte Kristallinität sowie eine verminderte Restfeuchte zu erreichen. Zur Durchführung wird die gefrorene Zubereitung auf eine Temperatur erwärmt, die über der Glasübergangstemperatur ( $T_g$ ) der amorph erstarrten Lösung und unter dem Schmelzpunkt der Lösung liegt. Die amorphe Phase, die in der Regel hohe Anteile an nicht kristallisiertem Lösungsmittel enthält, geht vom Glaszustand in den gummiartigen Zustand über und die Beweglichkeit von Molekülen wird erhöht. Folge ist die Bildung von Nukleoli, die zu Kristallen wachsen (sog. eruptive Rekristallisation) und die Anlagerung von Lösungsmittelmolekülen an bereits existierende Lösungsmittelkristalle.

**[0011]** Das Tempervverfahren ist ebenfalls literaturbekannt. Beschreibungen des Tempervverfahrens finden sich in **The Lyophilization of Pharmaceuticals: A Literature Review**, N.A. Williams and G. P. Polli, Journal of Parenteral Science and Technology, (1984 Mar-Apr) 38 (2) 48-59, **Basic Aspects and Future Trends in the Freeze-Drying of Pharmaceuticals**, L. Rey, Develop. biol. Standart., Vol. 74, (Karger, Basel, 1991), pp. 3-8 und **Fundamental Aspects of Lyophilization**, L. Rey, Researches and Development in Freeze-Drying, ed. by L. Rey, Paris, 1964, 24-47.

**[0012]** Die mit den Gefriertrocknungsverfahren nach dem Stand der Technik hergestellten Lyophilisate weisen meist einen hohen Strömungswiderstand auf, der das Entweichen des gasförmigen Lösungsmittels behindert. Zudem kann das Auskristallisieren der gelösten Inhaltsstoffe teilweise bis ganz unterbleiben, so daß Produkte erhalten werden, die teils bis ganz amorph vorliegen. Die Folgen, die daraus resultieren können, sind mechanische Beschädigung des Produktkuchens durch den entweichenden Lösungsmitteldampfstrom und dadurch potentieller Produktverlust, sowie Kollaps- und Auftauphänomene während der Trocknung. Darüberhinaus werden vom Endverbraucher besonders an pharmazeutische und Lebensmittelzubereitungen auch ästhetische Anforderungen gestellt, so daß starke Beschädigungen nicht erwünscht sind.

**[0013]** Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es deshalb, ein Verfahren zur Gefriertrocknung zu finden, mit dem sich Lyophilisate herstellen lassen, welche die oben genannten problematischen Eigenschaften nicht aufweisen und daher leichter handhabbar sind.

**[0014]** Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß man mechanisch stabilere Lyophilisate erhält, wenn man das Verfahren zur Gefriertrocknung folgendermaßen durchführt:

Phase 1: Erniedrigen des Druckes in der Trocknungskammer bis zum Einsetzen einer sichtbaren Kristallisation des Lösungsmittels bei einer Temperatur in der Trocknungskammer, die oberhalb des Festpunktes der Zubereitung liegt.

Phase 2: Erniedrigen der Temperatur in der Trocknungskammer auf eine Temperatur, die unter dem Festpunkt der Zubereitung liegt oder mit diesem identisch ist, bis zum Abschluß der Kristallisation des Lösungsmittels.

Phase 3: Sublimation des gefrorenen Lösungsmittels mittels vermindertem Druck.

**[0015]** Unter dem Festpunkt der Zubereitung wird in der vorliegenden Anmeldung diejenige Temperatur verstanden, bei der das Lösungsmittel in der Zubereitung in den festen Aggregatzustand übergeht.

**[0016]** Erfindungsgemäß wird der Druck in der Trocknungskammer anfänglich bei einer Temperatur in der Trocknungskammer, die oberhalb des Festpunktes der Zubereitung liegt, auf einen Druckwert unterhalb des Atmosphärendrucks (gemäß Fig. 1) reduziert. Dies hat eine oberflächliche Abkühlung der Zubereitung durch Verdampfung und eine partielle Kristallisation des Lösungsmittels an der Oberfläche zur Folge (Phase 1). In einer bevorzugten Ausführungsform beträgt der Druck hierbei bei wässrigen Lösungen 0,1 bis 6 mbar, insbesondere 0,2 bis 3 mbar. Für verschiedene Zubereitungen ist dieser Druck  $p$  in der Trocknungskammer (gemessen mit einem Kapazitätsmanometer) in Abhängigkeit von der Konzentration  $c$  (in mol/L) in Fig. 1 aufgetragen. Die Werte für verschiedene wässrige Zubereitungen wurde folgendermaßen dargestellt:

- durchgezogene Linie, Quadrate = Mannitol
- durchgezogene Linie, Kreise = Saccharose
- unterbrochene Linie, Rauten = Natriumchlorid
- unterbrochene Linie; Kreise = Glycin
- unterbrochene Linie, Dreiecke = Maltose
- Quadrat auf der Ordinate = Lösungsmittel Wasser

**[0017]** Diese Druckverminderung kann z.B. bei Raumtemperatur durchgeführt werden. In einer weiteren Ausführungsform werden die Zubereitungen vor oder während der Druckerniedrigung auf eine Temperatur, die zwischen Raumtemperatur und dem Festpunkt der Zubereitung liegt, vortemperiert. Diese Vortemperierung (z.B. auf Stellplatten) gewährleistet weiterhin, daß die Kühlvorrichtungen, die z.T. geringe Abkühlraten aufweisen, in kurzer Zeit auf die gewünschte Kristallisationstemperatur, d.h. in den Bereich des Festpunktes der Zubereitung gebracht werden können. Entscheidend ist, daß diese Vortemperierung nicht zur Kristallisation des Lösungsmittels führt.

**[0018]** Haben sich nun Kristalle, z.B. in Form eines Wasser/Eis-Gemisches oder einer auf der Oberfläche schwim-

menden Eisschicht gebildet, kann der Druck in der Trocknungskammer wieder auf Umgebungsdruck angehoben und die Temperatur in der Trocknungskammer zur Kristallisation auf oder unter den Festpunkt der Zubereitung gebracht werden (Phase 2). Es ist ebenso möglich, den Druck während der Kristallisation vermindert zu halten; dies hat keine relevanten Auswirkungen auf die Kristallisation des Lösungsmittels. Prinzipiell ist zur Kristallisation jede Temperatur geeignet, die unter dem Festpunkt der Zubereitung liegt oder mit ihm identisch ist. In einer bevorzugten Ausführungsform beträgt die Temperatur zur Kristallisation bei wässrigen Lösungen zwischen -60°C und 0°C.

**[0019]** Nach der Kristallisation wird die Zubereitung gegebenenfalls auf die endgültige Temperatur zum Beginn der Trocknung gebracht. Diese Temperatur ist dabei vom vorliegenden Produkt und über die Dampfdruckkurve des Lösungsmittels vom Druck, der in der Haupttrocknung verwendet werden soll, abhängig. In einer bevorzugten Ausführungsform beträgt diese Temperatur bei wässrigen Lösungen -60°C bis 0°C.

**[0020]** Danach schließt sich die Haupttrocknung an. Diese verläuft prinzipiell wie bei den Verfahren nach dem Stand der Technik. Bei einer weiteren Ausführungsform weist das Verfahren zusätzlich eine Nachtrocknungsphase (Phase 4) im Anschluß an die Haupttrocknung auf. Diese ist aber bei Vorliegen einer Temperphase (Phase 2a) in einigen Fällen nicht nötig.

**[0021]** Gemäß einer weiteren Ausführungsform wird an Phase 2 ein Tempervverfahren wie oben beschrieben angeschlossen. Dieses Tempervverfahren wird im folgenden als Phase 2a bezeichnet. Das Temperv liefert Produkte mit höherer Kristallinität und niedrigerer Restfeuchte nach der Haupttrocknung und verkürzt die Nachtrocknung bzw. macht sie überflüssig.

**[0022]** Das erfindungsgemäße Verfahren soll durch die Figuren 2 bis 7 genauer erläutert werden: Hierbei sind die Temperatur (T) und der Druck (p) in Millibar (mbar) in der Trocknungskammer gegen die Zeit t aufgetragen, wobei die Temperatur als durchgezogene, der Druck als unterbrochene Linie dargestellt ist. Zur besseren Verdeutlichung der Verfahren zeigen die Figuren stets Ausführungsformen mit Haupt- und Nachtrocknung.

**[0023]** Fig. 2 zeigt ein herkömmliches Herstellungsverfahren nach dem Stand der Technik.

**[0024]** Fig. 3 zeigt ein herkömmliches Herstellungsverfahren mit Tempersschritt nach dem Stand der Technik.

**[0025]** Fig. 4 zeigt das erfindungsgemäße Verfahren mit Druckverminderung (Phase 1), Kristallisation (Phase 2), Tempersschritt (Phase 2a) und anschließender Haupt- und Nachtrocknung (Phasen 3 und 4).

**[0026]** Fig. 5 zeigt das erfindungsgemäße Verfahren mit Vortemperierung und Druckverminderung (Phase 1), Kristallisation (Phase 2) und anschließender Haupt- und Nachtrocknung (Phasen 3 und 4).

**[0027]** Fig. 6 zeigt das erfindungsgemäße Verfahren mit Vortemperierung und Druckverminderung (Phase 1), Kristallisation (Phase 2), Tempersschritt (Phase 2a) und anschließender Haupt- und Nachtrocknung (Phasen 3 und 4).

**[0028]** Fig. 7 zeigt das erfindungsgemäße Verfahren mit Druckverminderung (Phase 1), Kristallisation (Phase 2), und anschließender Haupt- und Nachtrocknung (Phasen 3 und 4).

**[0029]** Die mit dem erfindungsgemäßen Verfahren herstellbaren Lyophilisate weisen einen verbesserten Strukturzusammenhalt auf und werden vom entweichenden Dampfstrom, auch bei erhöhten Sublimationsraten, weniger stark mechanisch beschädigt als Lyophilisate, die durch Verfahren nach dem Stand der Technik hergestellt werden. Sie zeigen weniger ausgeprägte Kollapsphänomene.

**[0030]** Die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erzielbaren Restfeuchtegehalte sind prinzipiell mit denjenigen vergleichbar, die durch Gefriertrocknung nach dem Stand der Technik erzielt werden (siehe Tab. 3)

**[0031]** Zur Verwendung im erfindungsgemäßen Verfahren eignen sich Zubereitungen mit oder ohne sogenannte Gerüstbildner. Mit solchen Gerüstbildnern kann bei der Gefriertrocknung ein poröses Gerüst bzw. eine Matrix erzeugt werden. Bevorzugt sind Gefriertrocknungsprodukte, die unter Verwendung von Gerüstbildnern bzw. anderen Substanzen, die aufgrund ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften als Gerüstbildner geeignet sind, hergestellt werden. Besonders bevorzugt sind Gefriertrocknungsprodukte, die unter Verwendung von Gerüstbildnern ausgewählt aus den Verbindungsklassen Aminosäuren, Kohlenhydrate (Mono-, Disaccharide, Zuckeralkohole, Oligo-, Polysaccharide), Peptide, polymere Verbindungen und Salze hergestellt werden. Am meisten bevorzugt sind solche, die unter Verwendung von Gerüstbildnern ausgewählt aus der Gruppe Mannitol, Saccharose, Maltose, Glycin und Natriumchlorid hergestellt werden.

Tab. 1 :

Liste der bevorzugt verwendeten Gerüstbildner	
<b>Aminosäuren</b>	<b>Glycin</b>
	<b>Alanin</b>
	<b>Asparaginsäure</b>
<b>Peptide</b>	<b>Gelatine</b>
	<b>Collagen</b>

Tab. 1 : (fortgesetzt)

Liste der bevorzugt verwendeten Gerüstbildner	
	<b>Albumin</b>
<b>Monosaccharide</b>	<b>Glucose</b>
	<b>Lactose</b>
<b>Disaccharide</b>	<b>Maltose</b>
	<b>Saccharose</b>
	<b>Trehalose</b>
<b>Oligosaccharide</b>	<b>Cyclodextrine</b>
	<b>Maltodextrine</b>
<b>Polysaccharide</b>	<b>Stärke und Stärkederivate</b>
	<b>Cellulose und Cellulosederivate</b>
<b>Polymere</b>	<b>Polyvinylpyrrolidone</b>
	<b>Polyethylenglycole</b>
<b>Salze</b>	<b>Natriumchlorid</b>
	<b>Calciumcarbonat</b>
<b>Zuckeralkohole</b>	<b>Mannitol</b>
	<b>Sorbitol</b>
	<b>Xylitol</b>

**[0032]** Für das erfindungsgemäße Verfahren kommt eine Vielzahl von Lösungsmitteln in Frage. Des besseren Verständnisses halber werden in der Beschreibung überwiegend wäßrige Systeme behandelt. Die Erfindung betrifft aber ausdrücklich auch nichtwäßrige Systeme. Bevorzugt werden wäßrige Lösungen eingesetzt.

#### **Ausführungsbeispiele**

#### **Durchführungsschemata von Gefriertrocknungen mit dem erfindungsgemäßen "vakuum-induzierten" Einfrieren sowie Verfahren nach dem Stand der Technik**

#### **Einsatzstoffe, Materialien und Geräte**

#### **[0033]**

- Es wurde eine 5%-ige, wäßrige Lösung von Mannitol hergestellt und über ein 0,2µm Membranfilter sterilfiltriert.
- Die Lösung wurde zu 3ml in 10R-Röhrnglasvials abgefüllt und Gefriertrocknungsstopfen aufgesetzt.
- Für die Gefriertrocknung wurden die befüllten Vials in einen Gefriertrockner der Fa. Kniese (Stellfläche 0,6 m<sup>2</sup>) verbracht.

#### **Durchführung:**

#### **[0034]**

- Die Lösung wurden auf den Stellplatten bei +10°C vortemperiert.
- Danach wurde der Kammerdruck auf 0,65 mbar erniedrigt (Parameterwahl siehe Fig. 1).
- Nach Erreichen des Druckwertes von 0,65 mbar und Einsetzen des partiellen Einfrierens an der Produktoberfläche, wurde auf Umgebungsdruck belüftet und gleichzeitig die Stellplatten auf eine Temperatur gebracht, die z.B. für Mannitol -7,5°C betragen kann.
- Die Produkte wurden jeweils 1 Stunde bei der jeweiligen Temperatur gehalten und anschließend auf -40°C abgekühlt (Einfriervariante III).

- An das Einfrieren schloß sich eine Haupttrocknung über 8 Stunden bei +40°C und 1,6 mbar ohne Nachtrocknung an. Die beobachteten Auffälligkeiten wurden in Tab. 2 angegeben.
- Als Referenz wurden entsprechende Lösungen herangezogen, die nicht dem "erfindungsgemäßen" vakuum-induziertem Einfrieren (Einfriervariante III) unterworfen wurden, sondern mit 2K/min auf -40°C (Einfriervariante I) und auftretender Unterkühlung eingefroren bzw. im Kältebad schnell auf -60°C (Einfriervariante II) eingefroren und dann unter gleichen Bedingungen gefriergetrocknet wurden.

Tab. 2:

Unerwünschte Veränderungen und Beschädigungen des Produktkuchens bei verschiedenen Einfrierverfahren und Haupttrocknung mit Plattentemperatur (+40°C). Eine Gewichtung von Stärke und Häufigkeit der aufgetretenen Beschädigungen wurde mit (-), d.h. keine, (+) schwach, (++) stark und (+++) sehr stark vorgenommen.	
Einfrierverfahren	5%-ige Mannitol-Lösung
Variante I	Oberfläche bei vielen Proben aufgerissen, Lyophilisate am Vialboden kollabiert (++)
Variante II	Viele Lyophilisate am Vialboden kollabiert; Produktkuchen auseinandergerissen (+++)
Variante III	(-)

**Durchführungsschemata von Gefriertrocknungen mit dem erfindungsgemäßen "vakuum-induziertem" Einfrieren (Variante III), sowie mit dem erfindungsgemäßen "vakuum-induziertem" Einfrieren mit anschließendem Tempervverfahren (Variante IV)**

#### Einsatzstoffe, Materialien und Geräte

##### [0035]

- Es wurde eine wäßrige, 2%-ige Lösung von Mannitol hergestellt und über ein 0,2µm Membranfilter sterilfiltriert.
- Die Lösung wurde zu 3 ml in 10R- Röhrenglasvials abgefüllt und Gefriertrocknungsstopfen aufgesetzt.
- Für die Gefriertrocknung wurden die Vials in einen Gefriertrockner der Fa. Kniese (Stellfläche 0,6 m<sup>2</sup>) verbracht.

#### Durchführung:

##### [0036]

- Die Lösungen wurden auf den Stellplatten bei +10°C vortemperiert.
- Danach wurde der Kammerdruck auf 0,65 mbar erniedrigt (Parameterwahl siehe Fig. 1).
- Nach Erreichen des Druckwertes von 0,65 mbar und Einsetzen des partiellen Einfrierens an der Produktoberfläche, wurde auf Umgebungsdruck belüftet und gleichzeitig die Stellplatten auf eine Temperatur gebracht, die z.B. für Mannitol -7,5°C betragen kann.
- Die Produkte wurden jeweils 1 Stunde bei der jeweiligen Temperatur gehalten und anschließend auf -40°C abgekühlt (Variante III).
- Für Variante IV wurden die Proben Proben im Anschluß an das Prozedere von Variante III auf -3°C erwärmt, 4 Stunden bei dieser Temperatur getempert und anschließend auf -40°C abgekühlt.
- Als Referenz wurden Proben mit einer Abkühlrate von 2 K/min auf -40 eingefroren. Die Proben unterkühlten dabei (Variante I).
- An das Einfrieren nach Variante I, III oder IV, schloß sich eine Haupttrocknung über 20 Stunden bei -10°C und 0,2 mbar und eine Nachtrocknung bei +40°C und 0,2 mbar über 2 Stunden an.

**[0037]** Nach der Gefriertrocknung wurde zusätzlich noch die Restfeuchte der Lyophilisate durch eine Karl-Fischer-Titration bestimmt:

Tab. 3:

Abhängigkeit von Restfeuchte und Trocknungszeit vom Einfrierverfahren.		
Mannitol 2%	Restfeuchte [%]	Sublimationsdauer [min]
<b>vakuum-ind. Einfrieren (Variante III)</b>	<b>1,41</b>	<b>810</b>
<b>vakuum-ind. Einfrieren und Tempervverfahren (Variante IV)</b>	<b>0,18</b>	<b>864</b>
<b>Referenz (Variante I)</b>	<b>0,86</b>	<b>1066</b>

### Patentansprüche

1. Verfahren zur Gefriertrocknung von Zubereitungen in einer Trocknungskammer, umfassend die Schritte Abkühlung der Zubereitung und Kristallisation des Lösungsmittels sowie Sublimation des gefrorenen Lösungsmittels mittels vermindertem Druck, wobei das Verfahren folgendermaßen durchgeführt wird:

Phase 1: Erniedrigen des Druckes in der Trocknungskammer bis zum Einsetzen einer sichtbaren Kristallisation des Lösungsmittels bei einer Temperatur in der Trocknungskammer, die oberhalb des Festpunktes der Zubereitung liegt.

Phase 2: Erniedrigen der Temperatur in der Trocknungskammer auf eine Temperatur, die unter dem Festpunkt der Zubereitung liegt oder mit diesem identisch ist, bis zum Abschluß der Kristallisation des Lösungsmittels.

Phase 3: Sublimation des gefrorenen Lösungsmittels mittels vermindertem Druck.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, daß** eine wäßrige Lösung vorliegt.

3. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, daß** der Druck in Phase 1 bei wässrigen Zubereitungen auf 0,1 bis 6 mbar abgesenkt wird.

4. Verfahren nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet, daß** der Druck in Phase 1 auf 0,2 bis 3 mbar abgesenkt wird.

5. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, daß** die Temperatur in Phase 2 bei wässrigen Zubereitungen auf -60 bis 0°C eingestellt wird.

6. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, daß** ein Tempersschritt (Phase 2a) durchgeführt wird, wobei eine Temperatur eingestellt wird, die über der Glasübergangstemperatur (Tg') der amorph erstarrten Lösung und unter dem Festpunkt der Zubereitung liegt.

7. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, daß** die Temperatur in zum Start der Haupttrocknung bei wässrigen Zubereitungen auf -60 bis 0°C eingestellt wird.

8. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, daß** ein Gerüstbildner eingesetzt wird.

9. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, daß** als Gerüstbildner Mannitol, Saccharose, Maltose, Glycin oder Natriumchlorid eingesetzt wird.

### Claims

1. Method for freeze-drying preparations in a drying chamber comprising the steps cooling the preparation and crystallizing the solvent and sublimation of the frozen solvent by means of reduced pressure, in which the method is carried out as follows:

phase 1: reducing the pressure in the drying chamber until the onset of a visible crystallization of the solvent at a temperature in the drying chamber which is above the solidification point of the preparation,

phase 2: reduction of the temperature in the drying chamber to a temperature which is below the solidification

point of the preparation or is identical to this, until completion of crystallization of the solvent,  
phase 3: sublimation of the frozen solvent by means of reduced pressure.

2. Method according to Claim 1, **characterized in that** an aqueous solution is present.
3. Method according to Claim 1, **characterized in that** the pressure in phase 1 is reduced to 0.1 to 6 mbar in the case of aqueous preparations.
4. Method according to Claim 3, **characterized in that** the pressure in phase 1 is reduced to 0.2 to 3 mbar.
5. Method according to Claim 1, **characterized in that** the temperature in phase 2 is set to -60 to 0°C in the case of aqueous preparations.
6. Method according to Claim 1, **characterized in that** a tempering step (phase 2a) is carried out, in which a temperature is set which is above the glass transition temperature (Tg') of the amorphously solidified solution and below the solidification point of the preparation.
7. Method according to Claim 1, **characterized in that** the temperature at the start of the primary drying is set to -60 to 0°C in the case of aqueous preparations.
8. Method according to Claim 1, **characterized in that** a cake-forming agent is used.
9. Method according to Claim 1, **characterized in that** the cake-forming agent is mannitol, sucrose, maltose, glycine or sodium chloride.

#### Revendications

1. Procédé de lyophilisation de préparations dans une chambre de dessiccation, comprenant les étapes de refroidissement de la préparation et cristallisation ainsi que sublimation sous pression réduite du solvant congelé, le procédé étant mis en oeuvre de la façon suivante :  
  
phase 1 : abaissement de la pression dans la chambre de dessiccation jusqu'à l'apparition d'une cristallisation visible du solvant à une température, dans la chambre de dessiccation, qui se trouve au-dessus du point de solidification de la préparation,  
phase 2 : abaissement de la température, dans la chambre de dessiccation, à une valeur qui est inférieure ou identique au point de solidification de la préparation, jusqu'à la fin de la cristallisation du solvant,  
phase 3 : sublimation sous pression réduite du solvant congelé.
2. Procédé suivant la revendication 1, **caractérisé par** la présence d'une solution aqueuse.
3. Procédé suivant la revendication 1, **caractérisé en ce que** la pression dans la phase 1 est abaissée à une valeur de 0,1 à 6 mbar dans le cas de préparations aqueuses.
4. Procédé suivant la revendication 3, **caractérisé en ce que** la pression dans la phase 1 est abaissée à une valeur de 0,2 à 3 mbar.
5. Procédé suivant la revendication 1, **caractérisé en ce que** la température dans la phase 2 est réglée à une valeur de -60 à 0°C dans le cas de préparations aqueuses.
6. Procédé suivant la revendication 1, **caractérisé par** une étape d'équilibrage de température (2a) dans laquelle est réglée une température qui est au-dessus de la température de transition vitreuse (Tg') de la solution à l'état solidifié amorphe et en dessous du point de solidification de la préparation.
7. Procédé suivant la revendication 1, **caractérisé en ce que** la température au début de la dessiccation principale est réglée à une valeur de -60 à 0°C dans le cas de préparations aqueuses.
8. Procédé suivant la revendication 1, **caractérisé en ce qu'une** substance de structuration est utilisée.



9. Procédé suivant la revendication 1, **caractérisé en ce qu'**on utilise comme substance de structuration le mannitol, le saccharose, le maltose, la glycine ou le chlorure de sodium.

5

10

15

20

25

30

35

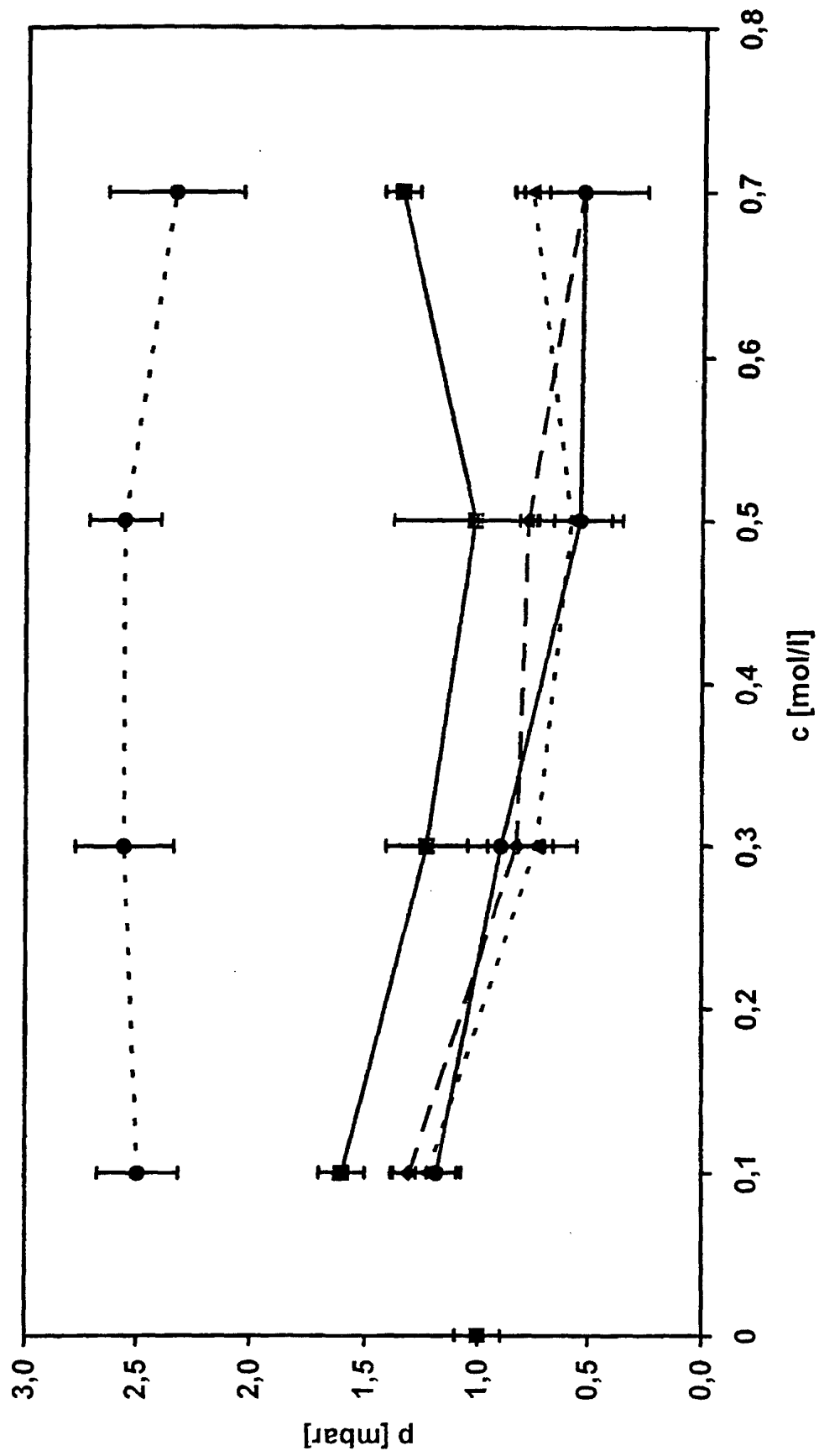
40

45

50

55

Fig. 1



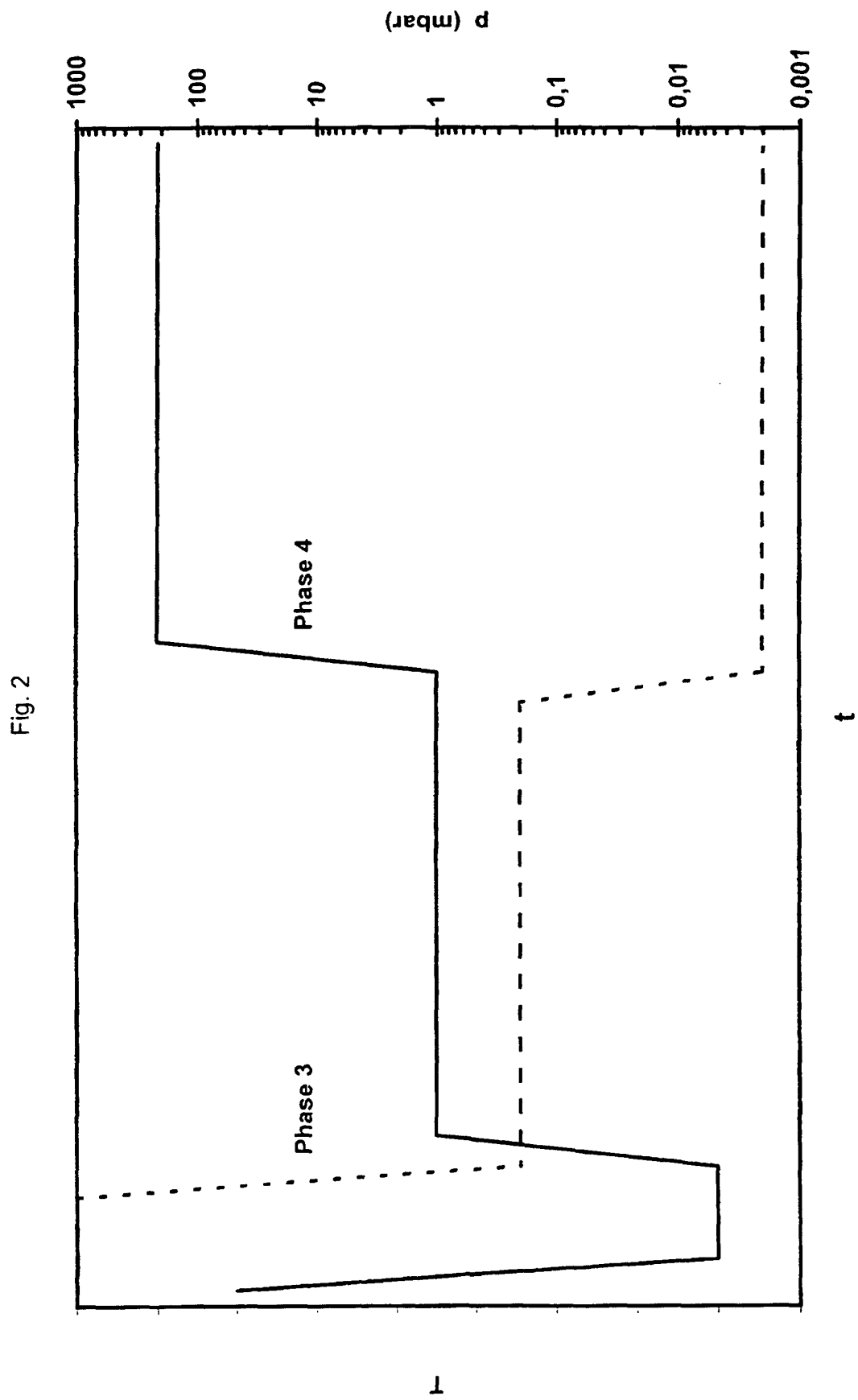


Fig. 3

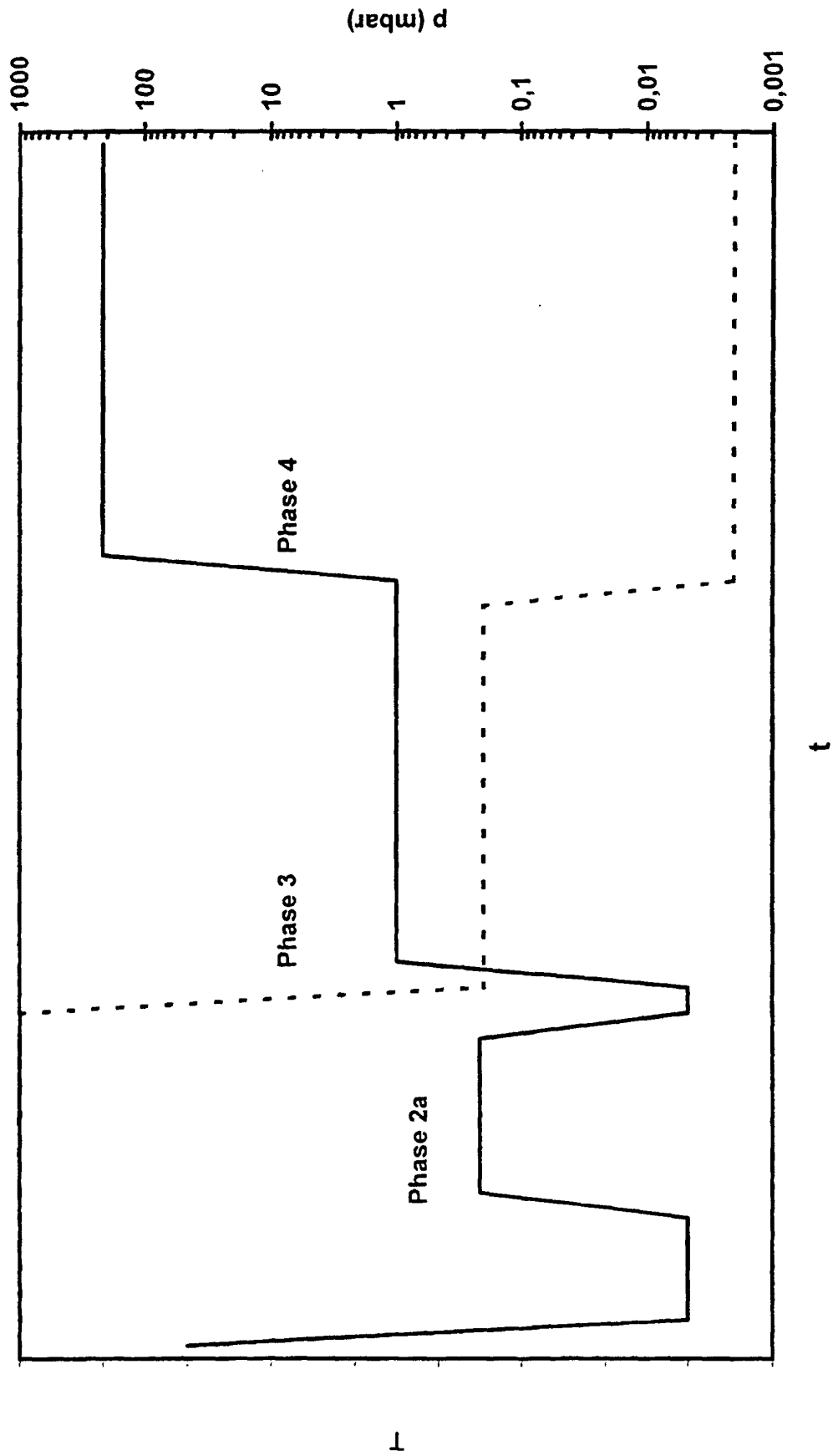


Fig. 4

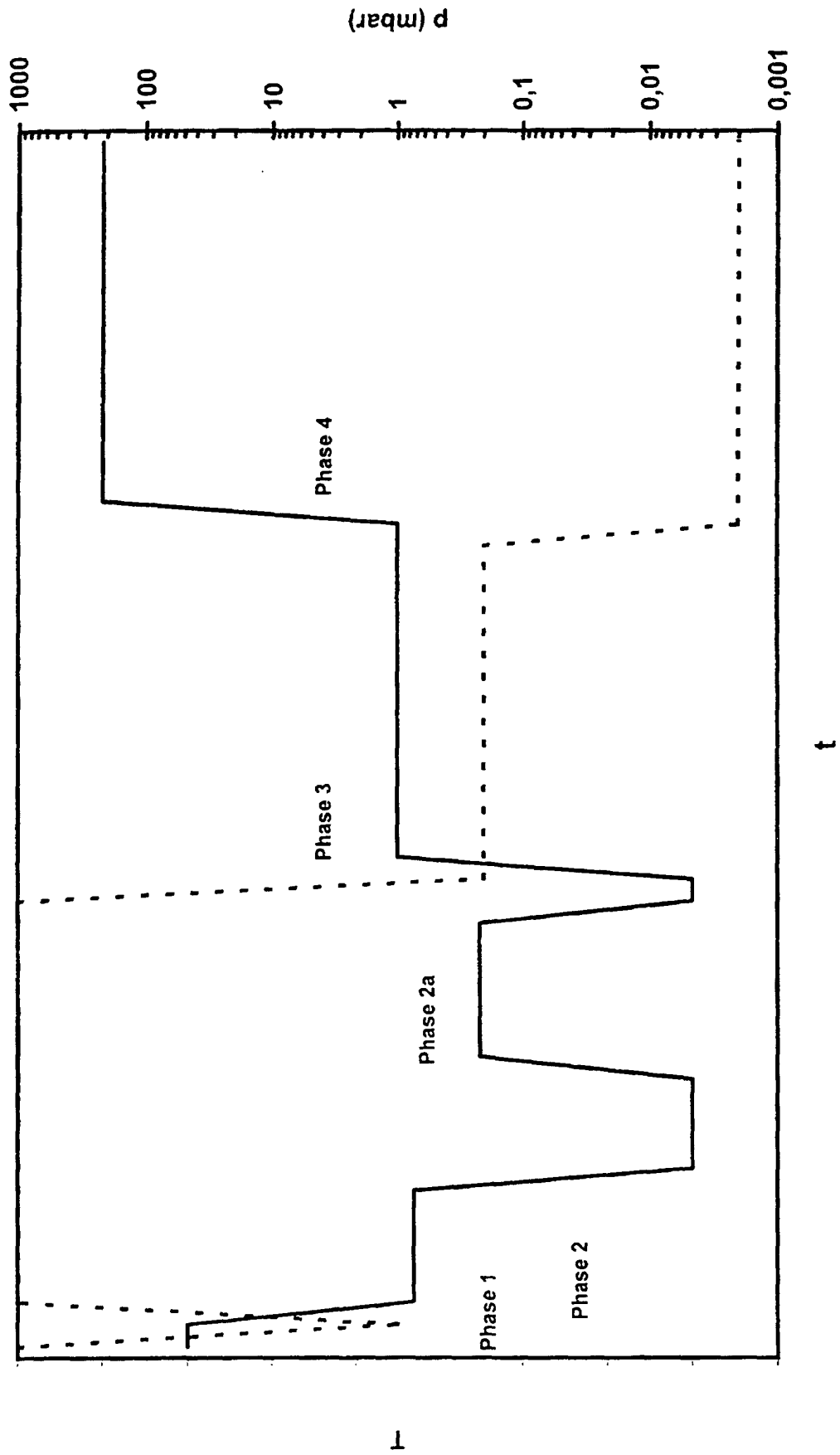
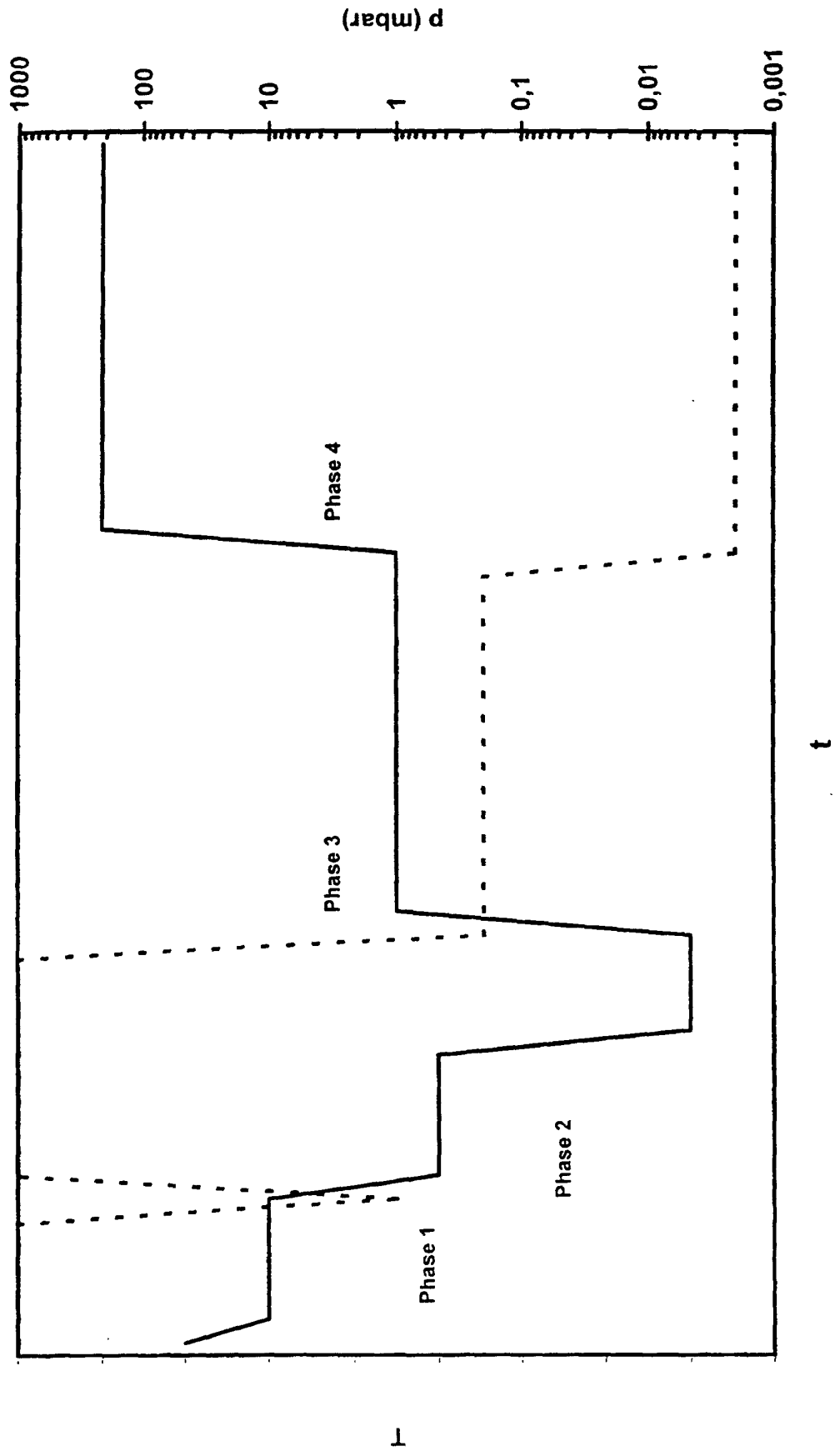


Fig. 5



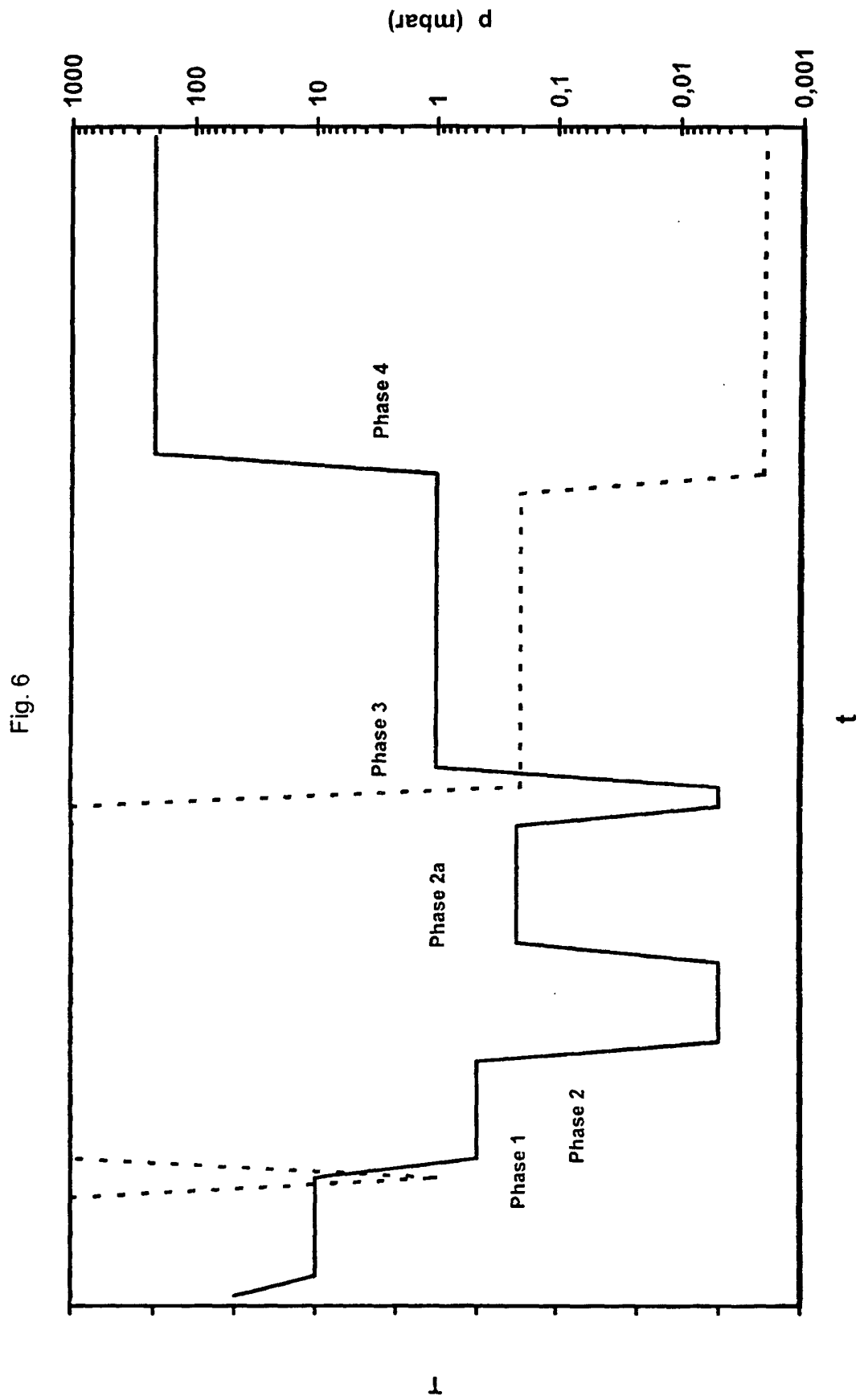


Fig. 7

