



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 10 2005 019 130 B4** 2009.10.22

(12)

Patentschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2005 019 130.4**

(22) Anmeldetag: **19.04.2005**

(43) Offenlegungstag: **26.10.2006**

(45) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung: **22.10.2009**

(51) Int Cl.⁸: **B01D 71/10** (2006.01)

Innerhalb von drei Monaten nach Veröffentlichung der Patenterteilung kann nach § 59 Patentgesetz gegen das Patent Einspruch erhoben werden. Der Einspruch ist schriftlich zu erklären und zu begründen. Innerhalb der Einspruchsfrist ist eine Einspruchsgebühr in Höhe von 200 Euro zu entrichten (§ 6 Patentkostengesetz in Verbindung mit der Anlage zu § 2 Abs. 1 Patentkostengesetz).

(73) Patentinhaber:
RenaSelect GmbH & Co.KG, 01796 Pirna, DE

(72) Erfinder:
Nguyen, Thanh D., Dr., Richardson, Tex., US;
Hausbrand, Gudrun, Dipl.-Chem., 01809 Heidenau,
DE; Pilop, Christiane, Dipl.-Nat., Bern, CH

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:

DE 40 16 328 A1
US 2001/0 06 160 A1

(54) Bezeichnung: **Membran für Flüssigphasenseparationsprozesse und Verfahren zu ihrer Herstellung**

(57) Hauptanspruch: Membran für Flüssigphasenseparationsprozesse, bestehend aus Cellulose und darin homogen verteilt bis zu 2,5 Ma.-% Vinylpyrrolidon-Vinylimidazol-Copolymere (VP-VI).

Beschreibung

Anwendungsgebiet der Erfindung

[0001] Die Erfindung bezieht sich auf das Gebiet der Chemie, insbesondere der Flüssigphasenpermeation und betrifft eine Membran für Flüssigphasenseparationsprozesse, wie sie beispielsweise in Ultrafiltrationsprozessen, bei der reversiblen Osmose, in Dialyseprozessen und Hemoperfusion zum Einsatz kommen kann und ein Verfahren zu ihrer Herstellung.

Stand der Technik

[0002] Die ersten Cellulosemembranen für Verfahren zur Blutdetoxikation wurden aus Baumwoll-Linters hergestellt und darauf bezogen als „natürliche“ Membranen bezeichnet. Derartige Membranen weisen aber eine nicht ausreichende Biokompatibilität auf, da sie eine Komplement- und Leukozytenaktivierung des Blutes auslösen und dadurch entzündliche Reaktionen hervorgerufen werden können (Craddock, P. R. u. a., J. Clin. Invest 1977, 59, S. 879–888).

[0003] Chemisch hergestellte „synthetischen“ Membranen verringerten diese Aktivierung und wiesen dadurch eine bessere Verträglichkeit auf (Henderson, L. W. u. a., J. Lab. Clin. Med. 1975, 85, S. 191–197).

[0004] Weiterhin gelang es durch Maskierung von Hydroxylgruppen der Cellulose, welche als verantwortlich für die Komplementaktivierung der Cellulose beschrieben werden, eine Verbesserung der Blutverträglichkeit zu erreichen (Hoenich, N. A. u. a., Biomaterials 1995, 16, S. 587–592).

[0005] Daraus abgeleitet werden Cuprophan-Membranen und dessen Analoge auch „unmodifizierte“ und im Gegensatz die dazu später entwickelten mehr biokompatiblen Membranen „modifizierte“ Regeneratcellulosemembranen genannt.

[0006] Materialien mit guter Biokompatibilität sind Materialien, die nur geringe biochemische und/oder biologische Effekte bei dem im Kontakt befindlichen biologischen Material auslösen.

[0007] Die Parameter Blutkoagulation, Leukozyten- und Komplementaktivierung sind insbesondere beim Einsatz von „unmodifizierten“ Cellulosemembranen von Bedeutung. Die Aktivierung von Leukozyten im Blut führt zu Entzündungsreaktionen, die zu Gefäßkrankheiten führen können, der hauptsächlichsten Todesursache von Dialysepatienten (Am. J. Kidney Dis. 1999, 34, S. 87–94).

[0008] Verglichen mit „unmodifizierter“ Cellulose ist der Anteil an C-reaktivem Protein, das ein Indikator für Entzündungen ist, niedriger, wenn synthetische biokompatible Polysulfonmembranen zum Einsatz kommen (Schnuten, W. E. u. a., Nephrol. Dial. Transplant 2000, 15, S. 379–384).

[0009] Darüber hinaus führt bei „natürlichen“ Membranen eine funktionale Beeinträchtigung der Leukozyten zu Infektionen, der zweithäufigsten Todesursache von Dialysepatienten (Vanholder, R. u. a.; Kidney Int. 1991, 39, S. 320–327). Auch hier zeigt der Einsatz von synthetischen Membranen oder modifizierten Cellulosemembranen bessere Verträglichkeiten.

[0010] Bekannt ist nach der DE 27 05 735 B2 die Herstellung einer Dialysemembran für die Hämodialyse mit verminderter thrombogener Wirkung mit an die Cellulose chemisch gebundenen antithrombogenen Verbindungen. Diese Membran, basierend auf dem Cuoxamverfahren, besteht aus zwei oder mehreren Celluloseschichten, die jeweils aus getrennt gespeisten Schlitzen einer Spindüse erhalten werden, wobei mindestens die auf der Blutseite angeordnete Celluloseschicht ganz oder teilweise eine modifizierte Cellulose ist, die antithrombogene Wirkstoffe chemisch gebunden enthält.

[0011] Hergestellt wird diese Membran, indem aus mindestens zwei getrennt gespeisten Schlitzen einer Spindüse jeweils eine Cuoxamcelluloselösung austritt, die unmittelbar anschließend zusammengeführt werden. Dabei enthält mindestens eine der Cuoxamcelluloselösungen eine modifizierte Cellulose.

[0012] Die zusammengeführten Ströme durchlaufen eine Luftstrecke und das Fällbad, werden in bekannter Weise gewaschen, getrocknet und aufgewickelt. Nachfolgend wird die die modifizierte Cellulose enthaltende Schicht mit einem antithrombogenen Wirkstoff umgesetzt.

[0013] Weiterhin bekannt ist nach der DE 17 20 087 A1 ein Verfahren zur Herstellung einer nichtthrombogenen Kunststoffmembran, bei dem ein filmbildendes Polymermaterial, vorrangig Cellulose und Celluloseacetat, mit über Esterbindungen an die Polymerketten gebundenen Dialkylaminoalkylgruppen mit einem Alkylhalogenid umgesetzt wird. Anschließend wird das Produkt mit einem Alkalisalz einer kationische Gruppen aufweisenden antithrombogenen Verbindung (Heparin, heparinartige Verbindungen) umgesetzt.

[0014] Nach der US 4,668,396 ist die Herstellung einer Dialysemembran aus modifizierter Cellulose mit verbesserter Biokompatibilität bekannt, bei der modifizierte Cellulose mit einem durchschnittlichen Substitutionsgrad von 0,02 bis 0,07 entsteht und die eine Struktur nach der Formel

Cellulose-Z

aufweist, wobei Z die Gruppen R'-X-Y repräsentiert und R' ein Alkyl, ein Cycloalkyl oder ein Aryl mit 1 bis 25 C-Atomen ist.

[0015] Die bekannten „natürlichen“ Dialysemembranen zeigen alle noch keine ausreichenden Verbesserungen der Biokompatibilität.

[0016] Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht in der weiteren Verbesserung der Biokompatibilität von Cellulose-Membranen für den Einsatz in Flüssigphasenseparationsprozessen unter gleichzeitiger Bewahrung ihrer positiven Eigenschaften bezüglich Plättchenfaktor 4 (PF4) als Parameter für die Aktivierung der Thrombozyten und Thrombin-Antithrombin-Komplex (TAT) als Parameter für die Gerinnungsaktivierung.

[0017] Die Aufgabe wird durch die in den Ansprüchen angegebenen Erfindung gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind Gegenstand der Unteransprüche.

[0018] Die erfindungsgemäße Membran für Flüssigphasenseparationsprozesse besteht aus Cellulose und darin homogen verteilt bis zu 2,5 Ma.-% Vinylpyrrolidon-Vinylimidazol-Copolymere (VP-VI).

[0019] Vorteilhafterweise sind 1,0 bis 2,0 Ma.-% VP-VI-Copolymer enthalten.

[0020] Weiterhin vorteilhafterweise ist ein Verhältnis von Vinylpyrrolidon zu Vinylimidazol von 50%:50% oder von 20%:80% bis zu 80%:20% im Copolymer enthalten ist.

[0021] Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren zur Herstellung von Membranen für Flüssigphasenseparationsprozesse wird aus Vinylpyrrolidonen und Vinylimidazolen ein Copolymer (VP-VI) hergestellt und nachfolgend bis zu 2,5 Ma.-% des Copolymers homogen mit einer Cellulosexanthogenatlösung vermischt und daraus eine Membran hergestellt.

[0022] Von Vorteil ist es, wenn 1,0 bis 2,0 Ma.-% des Vinylpyrrolidon-Vinylimidazol-Copolymer (VP-VI) mit der Cellulosexanthogenatlösung homogen vermischt werden.

[0023] Ebenfalls von Vorteil ist es, wenn das Vinylpyrrolidon-Vinylimidazol-Copolymer als Feststoff oder als wässrige Lösung der Cellulosexanthogenatlösung zugegeben wird.

[0024] Weiterhin von Vorteil ist es, wenn das Vinylpyrrolidon-Vinylimidazol-Copolymer vorgemischt mit Zusatzstoffen der Cellulosexanthogenatlösung zugegeben wird, wobei als Zusatzstoff vorteilhafterweise Porenbildner zugegeben werden und noch vorteilhafterweise als Porenbildner Polyol zugegeben wird.

[0025] Es ist ebenfalls von Vorteil, wenn die homogene Mischung aus Cellulosexanthogenatlösung und Vinylpyrrolidon-Vinylimidazol-Copolymer vor der Membranherstellung einem Alterungsprozess unterworfen wird.

[0026] Durch die erfindungsgemäße Lösung wird es möglich, eine hochhydrophile, semipermeable Cellulose-Membran herzustellen, die neben einer exzellenten Permeabilität auch eine sehr gute Biokompatibilität aufweist. Eine Interaktion mit Blut ist durch die sehr gute Hydrophilie deutlich vermindert. Die verbesserten Eigenschaften sind in den Messergebnissen für die Parameter Komplementfragment C5a als Parameter für die Komplementaktivierung (C5a) und Zellzahl der Leukozyten im Blut (Leukozyten) beispielhaft dargestellt. Weiterhin weist die erfindungsgemäße Membran eine sehr gute Faserfestigkeit und eine hochhydrophile poröse Wandstruktur auf.

[0027] Die an sich bekannte Copolymerisation von Vinylpyrrolidonen (VP) mit Vinylimidazolen (VI) führt zu einem Copolymer (VP-VI), welches die Eigenschaften beider Polymerkomponenten verbindet und teilweise verbessert.

[0028] Während der Pyrrolidon-Teil zuerst eine Wasserstoffbindung eingeht, hat der Imidazol-Teil eine deutliche Neigung zur Komplexbildung mit organischen Substanzen, wie Proteinen und Enzymen.

[0029] Dementsprechend maskiert der hydrophile Pyrrolidon-Teil mittels Wasserstoffbrücken die Hydroxylgruppen der Cellulose, die für die Inkompatibilität von bekannten Cellulosemembranen verantwortlich sind. Der hydrophobe Imidazol-Teil führt aufgrund der Neigung des VI-Teiles zur Komplexbildung mit organischen Substanzen zu einer verbesserten Biokompatibilität und befördert während des Kontaktes mit Blut die Entstehung von zusätzlichen Protein-Schutzschichten auf der Membranoberfläche, was zu einer weiteren Vermeidung von Interaktionen mit beispielsweise Blutzellen führt.

[0030] Ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Lösung besteht darin, dass aufgrund der starken Hydrophilie des Vinylpyrrolidon-Teiles das Copolymer homogen in die Cellulosexanthogenatlösung eingemischt werden kann.

[0031] Desweiteren bewahrt die erfindungsgemäße Membran die positiven Eigenschaften einer hochhydrophilen Membran, ausgedrückt durch die Parameter PF4 und TAT.

[0032] Das in die Cellulose eingedrungene Copolymer bildet eine gute Verbindung mit der Cellulose aus und führt zu einer noch festeren aber auch sehr porösen Struktur der erfindungsgemäßen Membran.

[0033] Nachfolgend wird die Erfindung an mehreren Ausführungsbeispielen näher erläutert.

Beispiele

[0034] Eine vorgegebene Menge VP-VI-Copolymerlösung (Luvitec VPI 55 K 72 W), dargestellt in Tabelle 1, wird jeweils in 900 g Triethylenglykol (98%) gelöst. Diese Lösung wird anschließend zu 8.800 g Cellulosexanthogenatlösung der Zusammensetzung Cellulosegehalt 8,05%, NaOH-Gehalt 5,60%, gegeben. Vor der der Zugabe der Copolymerlösung wurden der Cellulosexanthogenatlösung zusätzlich nacheinander zuerst NaOH und unmittelbar anschließend Triethylenglykol zugemischt. Die konkret eingesetzten Mengen der Ausführungsbeispiele zeigt Tabelle 1.

[0035] In Tabelle 2 sind die Zusammensetzungen der erhaltenen Polymer-/Spinnlösungen dargestellt.

Tabelle 1: Polymermischung:Dosiermengen

Beispiel	Cellulose-Xanthogenat (g)	NaOH Konzentration (%) (g)		Triethylenglykol (g)	VP-VI-Copolymerlösung VP-VI Triethylenglykol	
					(g)	(g)
1	8800	28	823	512	730	900
2	8800	21,5	1010	44	955	900
3	8800	38	607	512	950	900
4	8800	28	830	262	830	900

Tabelle 2: Zusammensetzung Polymermischung

Beispiel	Cellulose (%)	NaO H (%)	VP-VI-Copolymer (%)	Triethylenglykol (%)
1	6,0	6,12	1,3	12,0
2	6,0	6,12	1,7	8,0
3	6,0	6,12	1,7	12,0
4	6,1	6,22	1,5	10,0

[0036] Die Polymer-/Spinnlösung wird gemischt und anschließend entgast. Nach einem Alterungsprozess durch Lagerung der Mischung 20 Stunden bei 12°C wird die Polymermischung durch eine Hohlkerndüse (Ringspaltbreite 120 µm, Kreisringaußendurchmesser 540 µm) in ein wässriges Fällbad, welches 8% Schwefelsäure und 25% Ammoniumsulfat enthält, gedrückt. Der Innenhohlraum der Membran wird durch Einblasen von hochgereinigter Luft gebildet. Nach der Fällung wird die hergestellte Membran in bekannter Weise nachzeretzt, neutral gewaschen, präpariert, getrocknet und spannungsarm aufgewickelt.

[0037] Die erfindungsgemäßen Hohlfasern besitzen einen mittleren inneren Durchmesser von 210 µm und eine mittlere Wanddicke von 12 µm.

[0038] An den Membranen wurden zur Eigenschaftsbestimmung die Permeabilitäten für Natriumchlorid (NaCl) und Vitamin B12 bestimmt.

[0039] Dazu werden Minimodule gefertigt, die aus 100 Einzelmembranen einer ungefähren Länge von 11 cm bestehen. Beide Enden des Bündels werden in Polyurethan eingebettet. Getestet wird mit einer Prüflösung aus 0,1 g Vitamin B12, gelöst in 2 l einer 0,9 g/l enthaltenen wässrigen NaCl-Lösung, temperiert auf 37°C in einem ebenfalls auf 37°C temperierten Wasserbad. In der Prüflösung (Prüflösungseinlauf/Prüflösungsauslauf) und im Wasser werden mittels Leitfähigkeitsmessung für NaCl und UV-Spektroskopie für Vitamin B12 die Konzentrationen gemessen. Aus diesen Konzentrationen werden unter Berücksichtigung der effektiven Membranaustauschfläche des Prüfmoduls die entsprechenden Permeabilitäten ermittelt.

[0040] Die Ergebnisse enthält Tabelle 3.

Tabelle 3: Permeabilitäten NaCl und Vitamin B12

Beispiel	UFR l/h × m ² × mmHg	NaCl-Permeabilität × 10 ⁻³ , cm/min	Vitamin B12-Permeabilität × 10 ⁻³ , cm/min
1	NA	70 ± 3	10,6 ± 0,3
2	NA	73 ± 5	11,5 ± 0,2
3	15	84 ± 3	13,1 ± 0,2
4	NA	69 ± 1	10,7 ± 0,2

NA – keine Messung

[0041] Die Hämokompatibilität der erfindungsgemäßen Membran gemäß der Beispiele 1 bis 4 wurde im Vergleich zu zwei Referenzmaterialien getestet:

Referenzmaterial 1 (RPS): Synthetische Membran: Polysulfonmembran, hergestellt nach EP 0168738

Referenzmaterial 2 (RC): Natürliche Membran: Regeneratcellulosemembran, hergestellt nach DD 300 037 und DD 301 749

[0042] Für die Tests wurden Hohlmembranproben jeder Variante in kleine Stücke mit je 2 mm Länge unterteilt und in ein 2 ml Eppendorfcap gefüllt. Unter Berücksichtigung der Innen- und Außendurchmesser der Probe im feuchten Zustand wurde die Probemenge jeweils so gewählt, dass eine vergleichbare das Blut kontaktierende Kontaktfläche bei allen Proben erreicht wurde.

[0043] Die entsprechenden Daten sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: Abmessungen und Blutkontaktflächen

Beispiel	Materiallänge (mm)	Anzahl Probestücke vor Schneiden	Innenfläche der Probe AI (cm ²)	Gesamtfläche der Probe AG (cm ²)	AG/Blutvolumen (cm ⁻¹)	AI/Blutvolumen (cm ⁻¹)
Vergleich RPS	105	20	12,6	31,5	13,1	5,2
Vergleich RC	101	20	14,9	32,3	13,1	6,0
1	97	20	14,6	32,2	13,2	6,1
2	98	20	14,4	32,1	13,1	5,9
3	98	20	14,6	32,3	13,1	5,9
4	97	20	14,4	32,1	13,1	5,9

[0044] Die Blutverdrängung durch die Membranmasse war bei allen Proben zu vernachlässigen und lag zwischen 0,03 bis 0,09 cm³ gegenüber einer Gesamtmenge Blut von 2,5 ml.

[0045] Die geschnittenen Proben wurden in den Caps vor der Inkubation mit steriler NaCl-Lösung gespült. Zwischen den einzelnen Stücken verblieb ein gewisses Restvolumen NaCl. Die Proben wurden an zwei unterschiedlichen Tagen untersucht. An beiden Versuchstagen wurde Blut des gleichen Spenders verwendet und zu den

[0046] Beispielproben wurden parallel Vergleichsproben der Referenzmaterialien sowie ein Cap ohne Material untersucht.

[0047] Die Inkubation des Blutes erfolgte unter Verwendung von frisch gewonnenem humanen Vollblut in 2-ml-Eppendorfcaps, die zur Vermeidung von Luftkontakt des Blutes während der Inkubation mit 2,5 ml Blut vollständig gefüllt wurden.

[0048] Die Sedimentation von Hämatozyten wurde durch Rotation der Caps während der Inkubation verhindert. 2 × 30 ml Blut wurde einem gesunden Spender, der mindestens 10 Tage keine Medikamente eingenommen hatte, durch Venenpunktion entnommen. Zur Antikoagulation des Blutes wurde Heparin verwendet (1 U/ml H-3149). Die Spritzen wurden leicht geschwenkt und direkt in die auf 37°C vorgewärmten Caps gefüllt. Zur Bestimmung der Blutaussgangsparemeter wurde Blut direkt aus der Entnahmespritze entnommen und in der gleichen Weise wie das nach der Inkubation gewonnene Blut prozessiert. Die Inkubation erfolgte bei 37°C. Die Dauer der Inkubation betrug eine Stunde. Die Proben wurden jeweils doppelt getestet. Als Vergleich diente zusätzlich ein Cap ohne Probenmaterial (CAP).

[0049] Es wurden folgende Parameter bestimmt:

TAT

C5a

PF4

Zellzahl der Leukozyten im Blut (Messung mittels Blutbildautomaten).

[0050] Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 dokumentiert.

Tabelle 5: Ergebniszusammenstellung

Beispiel	Leukozyten $\times 10^9/l$	PF4 IU(ml)	TAT $\mu g/l$	C5a $\mu g/l$
Vergleich RPS	$3,2 \pm 0,1$	709 ± 325	1132 ± 444	4 ± 1
Vergleich RC	$2,8 \pm 0,1$	415 ± 89	525 ± 168	72 ± 10
1	$4,1 \pm 0,2$	199 ± 20	86 ± 20	17 ± 1
2	$3,8 \pm 0,5$	195 ± 5	85 ± 8	14 ± 2
3	$3,7 \pm 0,5$	199 ± 18	87 ± 33	17 ± 4
4	NA	161 ± 21	80 ± 26	8 ± 1
CAP	$4,6 \pm 0,1$	95 ± 48	28 ± 10	0

NA – keine Messung

Patentansprüche

1. Membran für Flüssigphasenseparationsprozesse, bestehend aus Cellulose und darin homogen verteilt bis zu 2,5 Ma.-% Vinylpyrrolidon-Vinylimidazol-Copolymere (VP-VI).

2. Membran nach Anspruch 1, bei der 1,0 bis 2,0 Ma.-% VP-VI-Copolymer enthalten sind.

3. Membran nach Anspruch 1, bei der ein Verhältnis von Vinylpyrrolidon zu Vinylimidazol von 50%:50% im Copolymer enthalten ist.

4. Membran nach Anspruch 1, bei der ein Verhältnis von Vinylpyrrolidon zu Vinylimidazol von 20%:80% bis zu 80%:20% im Copolymer enthalten ist.

5. Verfahren zur Herstellung von Membranen nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4, bei dem aus Vinylpyrrolidonen und Vinylimidazolen ein Copolymer (VP-VI) hergestellt wird und nachfolgend bis zu 2,5 Ma.-% des Copolymers homogen mit einer Cellulosexanthogenatlösung vermischt werden und daraus eine Membran hergestellt wird.

6. Verfahren nach Anspruch 5, bei dem 1,0 bis 2,0 Ma.-% des Vinylpyrrolidon-Vinylimidazol-Copolymer (VP-VI) mit der Cellulosexanthogenatlösung homogen vermischt werden.

7. Verfahren nach Anspruch 5, bei dem das Vinylpyrrolidon-Vinylimidazol-Copolymer als Feststoff oder als wässrige Lösung der Cellulosexanthogenatlösung zugegeben wird.

8. Verfahren nach Anspruch 5, bei dem das Vinylpyrrolidon-Vinylimidazol-Copolymer vorgemischt mit Zusatzstoffen der Cellulosexanthogenatlösung zugegeben wird.

9. Verfahren nach Anspruch 8, bei dem als Zusatzstoffe Porenbildner zugegeben werden.

10. Verfahren nach Anspruch 9, bei dem als Porenbildner Polyol zugegeben wird.

11. Verfahren nach Anspruch 5, bei dem die homogene Mischung aus Cellulosexanthogenatlösung und Vinylpyrrolidon-Vinylimidazol-Copolymer vor der Membranherstellung einem Alterungsprozess unterworfen wird.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen