

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
27. März 2003 (27.03.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 03/024587 A2**

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **B01J 20/00** (74) **Anwalt: MAINITZ, Stephan**; Hohenzollerndamm 10, 10717 Berlin (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE02/03527
- (22) Internationales Anmeldedatum:  
20. September 2002 (20.09.2002)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:  
101 47 463.6 20. September 2001 (20.09.2001) DE
- (71) **Anmelder** (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **HEMOTEQ GMBH** [DE/DE]; Adenauerstrasse 15, 52146 Würselen (DE).
- (72) **Erfinder; und**
- (75) **Erfinder/Anmelder** (nur für US): **HOFFMANN, Michael** [DE/DE]; Bergratherstrasse 13, 52249 Eschweiler (DE). **HORRES, Roland** [DE/DE]; Am Dorfweiher 1, 52223 Stolberg (DE). **HOFFMANN, Erika** [DE/DE]; Bergratherstrasse 13, 52249 Eschweiler (DE). **KÜSTERS, Sabine** [DE/DE]; Am Weiherhof 31, 52382 Niederzier (DE). **ERDTMANN, Martin** [DE/DE]; Ginsterweg 42, 52428 Jülich (DE).
- (81) **Bestimmungsstaaten** (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) **Bestimmungsstaaten** (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Veröffentlicht:**  
— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.



WO 03/024587 A2

(54) **Title:** METHOD FOR PURIFYING FULL BLOOD

(54) **Bezeichnung:** VERFAHREN ZUR AUFREINIGUNG VON VOLLBLUT

(57) **Abstract:** The invention relates to a method for producing an adsorber for removing noxious substances from full blood and/or plasma and cell culture media. The invention further relates to an adsorber in the form of hollow fibers or non-aggregated particles and to the use of said adsorber, and to a method for removing noxious substances from full blood and/or plasma using a device that comprises the adsorber according to the invention.

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Adsorbers zur Abtrennung von schädlichen Stoffen aus Vollblut und/oder Plasma als auch Zellkulturmedien, einen Adsorber in Form von Hohlfasern oder nicht-aggregierten Teilchen sowie die Verwendung dieser Adsorber und ein Verfahren zur Abtrennung von schädlichen Stoffen aus Vollblut und/oder Plasma unter der Verwendung einer Vorrichtung, welche den erfindungsgemäßen Adsorber enthält.

## Verfahren zur Aufreinigung von Vollblut

### Beschreibung

5

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Adsorbers zur Abtrennung von schädlichen Stoffen aus Vollblut und/oder Plasma, einen Adsorber in Form von Hohlfasern oder nicht-aggregierten Teilchen sowie die Verwendung dieser Adsorber und ein Verfahren zur Abtrennung von schädlichen  
10 Stoffen aus Vollblut und/oder Plasma unter der Verwendung einer Vorrichtung, welche den erfindungsgemäßen Adsorber enthält.

Eine große Anzahl von Erkrankungen werden dadurch verursacht, daß sich schädliche Substanzen im Blut befinden. Im Falle der Autoimmunerkrankungen  
15 handelt es sich hierbei um Autoantikörper. Bei der Sepsis sind es bakterielle Toxine. Wenn es gelingt, diese Schadstoffe aus dem Blut zu entfernen, tritt eine Heilung oder zumindest eine deutliche Verbesserung des Krankheitsbildes auf.

Um derartige Schadstoffe aus dem Vollblut zu entfernen, werden Materialien  
20 benötigt, welche eine Vollblutverträglichkeit besitzen. Derartige Materialien dürfen nicht zur Komplement- und/oder Gerinnungsaktivierung führen und/oder eine Thrombozytenaggregation bzw. Thrombozytenadhäsion verursachen.

Aus dem Stand der Technik sind Adsorptionsmaterialien für die Medizintechnik  
25 bekannt. DE 39 32 971 offenbart beispielsweise Adsorptionsmaterialien, welche aus Blut oder Blutbestandteilen Lipoproteine mit niedriger Dichte (LDL: low density lipoprotein) entfernen bzw. deren Konzentration herabsetzen. Bei diesem Adsorptionsmaterial handelt es sich um einen organischen Träger mit festgelegter Partikelgröße und Ausschlußgrenze. Zudem trägt dieses Adsorptionsmaterial auf  
30 seiner Oberfläche Funktionalisierungen, welche LD-Lipoproteine binden können.

Derartige LDL-Adsorbtsionsmaterialien können beispielsweise aus Polymethacrylatteilchen bestehen, welche mit Polyacrylsäure (PAS) beschichtet sind, wobei PAS sowohl auf den äußeren als auch den im Inneren liegenden  
35 Oberflächen des LDL-Adsorbers gebunden vorliegen kann. Ein derartiges Adsorptionsmaterial ist vollblutverträglich, da PAS nur geringe Wechselwirkungen mit Blutzellen aufweist. In dieser Weise modifizierte Adsorptionsmaterialien

schädigen, binden oder aktivieren Blutzellen nur in geringem Maße aufgrund der schwachen Wechselwirkungen.

Die Vollblutverträglichkeit ist im wesentlichen von der verwendeten  
5 Oberflächenbeschichtung abhängig. Bei der Verwendung bestimmter funktioneller Gruppen ist eine Vollblutverträglichkeit nicht gegeben, da aufgrund von Wechselwirkungen mit Blutzellen diese zu stark geschädigt oder gebunden werden.

10 Aus diesem Grunde trennen einige aus dem Stand der Technik bekannte Verfahren vor der Aufreinigung des Blutes das Blutplasma von den zellulären Bestandteilen ab. In einem zweiten Schritt wird nun das Plasma durch ein Behältnis gepumpt, in dem sich poröse meist sphärische Partikel befinden, die Liganden tragen, welche die Schadstoffe an sich binden. Ein Filter am Boden des  
15 Behältnisses trennt die sphärischen Adsorberpartikel vom Plasma ab, das anschließend mit den zellulären Blutbestandteilen vereinigt und dem Patienten wieder zugeführt wird.

Dieses Verfahren des Standes der Technik [Samuelsson G.: Extracorporeal  
20 immunoadsorption with protein A: technical and clinical results. J. Clin. Apheresis 2001, 16, 49-52] hat einige Nachteile. Es besteht das Risiko, daß durch ein Versagen des Filters Adsorberpartikel in den Blutkreislauf des Patienten geraten und dort einen Hirnschlag, einen Herzinfarkt, eine Lungenembolie oder ähnliches auslösen. Die Trennung in Plasma und zelluläre Bestandteile stellt eine  
25 zusätzliche Belastung für den Patienten dar, ist aber bisher nötig, da die schadstoffbindenden Liganden zellschädigend wirken. Da diese Trennung nie vollständig sein kann, verbleibt ein Teil des Plasmas bei den zellulären Bestandteilen und wird daher nicht von Schadstoffen befreit. Der zusätzliche apparative Aufwand für die Trennung in Plasma und zelluläre Bestandteile führt  
30 dazu, daß dem Patienten ein größeres Blutvolumen entzogen werden muß. Somit weist das Verfahren des Standes der Technik in Bezug auf die Anwendungsfreundlichkeit, den apparativen Aufwand, den Wirkungsgrad und die Belastung des Patienten einige Nachteile auf.

35 Dräger et al. (Eur. J. Clin. Invest. 1998, 28, 12; US-A-5 476 715) offenbaren ein vollblutverträgliches Adsorbtionsmaterial, welches aus Teilchen besteht, die so groß sind, daß sie Zwischenräume bilden, in die die Blutzellen eindringen können. Zusätzlich weisen die Teilchen Poren auf, welche innere Hohlräume formen.

Diese Poren gestatten aufgrund ihrer Größe Makromolekülen das Eindringen, verhindern jedoch, daß die wesentlich größeren Blutzellen diese inneren Hohlräume erreichen können. Dies hat zur Folge, daß die Blutzellen nur Kontakt zur äußeren Oberfläche haben, aber nicht zur Oberfläche der inneren Hohlräume.

5 Gemäß EP 0 424 698 sollten derartige Teilchen möglichst sphärisch und unaggregiert aufgebaut sein, um eine äußere Oberfläche aufzuweisen, welche den Kontakt zu den Blutzellen und somit auch deren Bindung und/oder Schädigung minimiert.

10 DE-A-198 42 785 offenbart poröse Materialien mit einer derartig chemisch modifizierten Oberfläche, daß die äußere Oberfläche des Materials elektroneutrale und hydrophile Eigenschaften aufweist, die innere Oberfläche hingegen mit funktionellen Liganden beschichtet sein kann. Eine Vollblutverträglichkeit dieser Materialien wird jedoch nicht beschrieben oder beansprucht.

15 Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es nun, ein Verfahren zur Abtrennung schädlicher Stoffe aus Vollblut sowie Adsorptionsmaterialien, welche in diesem Verfahren eingesetzt werden können, und Verfahren zur Herstellung dieser Adsorptionsmaterialien bereitzustellen.

20 Diese Aufgabe wird durch die technische Lehre des Hauptanspruchs der vorliegenden Erfindung gelöst. Weitere vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen, der Beschreibung, der Figur und den Beispielen der vorliegenden Patentanmeldung.

25 Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Adsorbers, umfassend die folgenden Schritte:

30 a) Bereitstellen eines porösen Trägermaterials, welches auf seinen inneren Oberflächen O1 und seinen äußeren Oberflächen O2 modifizierbare funktionelle Gruppen aufweist;

b) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O1 und O2 zu den Oberflächenmodifizierungen L;

35 c) Füllen der Poren P des porösen Trägermaterials mit mindestens einem unter den Bedingungen des Füllens flüssigen Medium, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den

äußeren Oberflächen O2 mit einer Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 des porösen Trägermaterials im wesentlichen vollständig modifiziert werden können;

5

d) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der Oberflächenmodifizierungen L zu den Oberflächenmodifizierungen L' auf den äußeren Oberflächen O2; und

10

e) Entfernen des Mediums, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 mit einer Lösung, mit welcher die Oberflächenmodifizierungen L im wesentlichen vollständig modifiziert werden können, im wesentlichen nicht mischbar ist, aus den Poren P.

15

Bei diesem Verfahren wird ein poröses Trägermaterial bereitgestellt, welches aufgrund seiner Porosität äußere Oberflächen O2 sowie Oberflächen O1 aufweist, welche in den Poren des Trägermaterials liegen. Zudem weist das Trägermaterial auf den Oberflächen O1 und O2 modifizierbare funktionelle Gruppen auf, welche durch chemische Reaktion zu Oberflächenmodifizierungen L umgesetzt werden können. Bevorzugt werden derartige chemische Reaktionen eingesetzt, welche im wesentlichen eine vollständige bzw. quantitative Oberflächenmodifizierung bewirken. Erfindungsgemäß werden nun die Poren P des porösen Trägermaterials mit einem Medium gefüllt, welches unter den Bedingungen des Füllens flüssig ist und daher im wesentlichen vollständig die Oberflächen O1 der Poren P bedeckt. Zudem ist dieses Medium im wesentlichen nicht mischbar mit einer Lösung, die anschließend zur Modifizierung der Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 eingesetzt wird. Aufgrund der Tatsache, daß das Medium die inneren Oberflächen O1 im wesentlichen vollständig bedeckt und mit der Lösung zur Modifizierung der äußeren Oberflächen nicht mischbar ist, kann die Lösung zur Modifizierung der äußeren Oberflächen O2 die Oberflächenmodifizierungen L auf den inneren Oberflächen O1 nicht modifizieren, so daß eine Reaktion nur an den Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 stattfinden kann.

35

Nach der Modifizierung der Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2, welche bevorzugt im wesentlichen vollständig bzw. quantitativ abläuft, wird das Medium aus den Poren P des porösen Trägermaterials entfernt.

Man erhält einen Adsorber, der auf seinen äußeren Oberflächen O2 die Oberflächenmodifizierungen L' und auf seinen inneren Oberflächen O1 die Oberflächenmodifizierungen L trägt. Durch das Befüllen der Poren P des Trägermaterials konnten somit gezielt bestimmte Bereiche des Trägermaterials, nämlich die Oberflächen O1 der Poren P vor der Modifizierung der Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen geschützt werden.

Der erhaltene Adsorber weist aufgrund der Oberflächenmodifizierungen L' auf seinen äußeren Oberflächen und den Oberflächenmodifizierungen L in den Poren, auf seinen äußeren Oberflächen O2 andere Eigenschaften auf, als in den Poren P.

Wählt man beispielsweise als Oberflächenmodifizierungen L' blutverträgliche Substanzen und als Oberflächenmodifizierungen L solche Modifizierungen, die fähig sind, Biomoleküle und/oder pathogene Stoffe natürlicher Herkunft als auch synthetisch und/oder rekombinant hergestellten Ursprungs aus Vollblut oder Plasma abzutrennen, so lassen sich derartige Adsorber zur Aufreinigung von Vollblut und/oder Blutplasma einsetzen.

Zu den Biomolekülen und/oder pathogenen Stoffen, welche mit derartigen Adsorbieren aus Vollblut und/oder Plasma abgetrennt werden können, zählen Toxine biologischer und chemisch-synthetischer Herkunft, deren Metaboliten und Abbauprodukte, sei es im Zusammenhang mit einer Infektionskrankheit, mit der Ernährung (z.B. Pilzgifte, Nikotin, Ethanol, Botulismus), aus beruflich bedingten und kriminellen Handlungen heraus (Bleiacetat als Gift, B- und C-Waffen), als Gas, Aerosol, Flüssigkeit und Feststoff.

Als Beispiele sind zu nennen CO, Phosgen, Chlor, Blausäure, Nitrosamine, Oxalsäure, Benzpyrene, Solanin, Nitrate, Nitrite, Amine, Dichlordisulfid, halogenierte Kohlenwasserstoffe, Toxine bakterieller (z.B. Bakteriämie), mykotischer (Mykotoxine wie Epoxytrichotecene, Ochratoxin A, Zearalenon) und protozoonaler Herkunft und deren Bestandteile (z.b. Exotoxine, Endotoxine, Pilzsporen) und deren Abbauprodukte, biologische Kampfgifte wie Microcystine, Anatoxine, Saxitoxine beispielsweise stammen aus bakterieller Produktion und deren Abbauprodukte, Insektizide, Bakterizide, Drogen und deren Metaboliten, (Alkohole, Nikotin, Rauschmittel, Prodrugs, Arzneimittel und deren Metaboliten und ihre Abbauprodukte, Antigene, DNA, RNA, ENA, Immunglobuline, Autoimmunantikörper, Antikörper, auch Anti-DNA-Antikörper, Anti Nuclear-

Antikörper, Viren, Retroviren und Virenbestandteile (z.B. Hepatitisvirenpartikel), Immunkomplexe (z.B. Immunkomplex Hepatitis-C Virus), Lipide, Proteine, Peptide, Proteolipide, Glycoproteine und Proteoglycane, Fibrinogen, Fibrin, Blutersatzprodukte und Plasmaersatzprodukte, Prionen, NanoWaffen, Metalle (z. B. Hg, Cd, Pb, Cr, Co, Ni, Zn, Sn, Sb) sowie Ionen dieser Metalle, Halbmetalle (z. B. As) sowie Ionen dieser Halbmetalle.

Wählt man nun ein poröses Trägermaterial mit einer Porengröße kleiner als der Durchmesser einer Blutzelle, so können die Blutzellen nicht in die Poren des Trägermaterials eindringen und auch nicht mit den Oberflächen O1 wechselwirken. Somit ist es bei derartigen Adsorbentien nicht erforderlich, daß die inneren Oberflächen O1 der Kontaktaktivierung Rechnung tragen müssen, d.h. daß durch die Oberflächen O1 Blutzellen nicht aggregiert, verletzt, zerstört oder aktiviert werden, da die Blutzellen mit diesen Oberflächen nicht in Kontakt kommen.

Der Begriff "Wechselwirkung" umfaßt eine Aktivierung, Anbindung, Umsetzung und/oder Schädigung von im Vollblut enthaltenen Substanzen und/oder Zellen. Erfindungsgemäß ist eine selektive Wechselwirkung bevorzugt. Die Wechselwirkung kann auch gemäß einer weiteren Ausführungsform spezifisch sein.

Vorteilhaft ist ein Adsorbent in Form von im wesentlichen sphärischen, nicht aggregierten Teilchen, wobei die Blutzellen, wie die Thrombozyten als kleinste der Blutzellen, weitgehend ungehindert durch die Zwischenräume der Teilchen wandern können. Die maximale mittlere Porengröße wird durch die Größe der kleinsten Blutzellen bestimmt. Eine mittlere Porengröße von  $\leq 1,5 \mu\text{m}$  ist bevorzugt, mehr bevorzugt ist eine mittlere Porengröße von  $\leq 1,0 \mu\text{m}$ , da die maximale mittlere Porengröße von  $1,5 \mu\text{m}$  kleiner ist als die kleinsten Blutzellen, welche einen Durchmesser von etwa  $2 \mu\text{m}$  haben.

Bei einer, wie gemäß der vorliegenden Erfindung definierten maximalen mittleren Porengröße ist sichergestellt, daß im wesentlichen keine Blutzellen in die Poren P eindringen können. Sofern nur sehr kleine oder gelöste Teilchen aus dem Blut abgetrennt werden sollen, ist es bevorzugt, ein poröses Trägermaterial mit einer geringeren mittleren Porengröße zu wählen, beispielsweise  $1 \mu\text{m}$ ,  $0,5 \mu\text{m}$  oder  $0,3 \mu\text{m}$ .

Vorteilhaft ist ferner eine Korngröße der Teilchen von 50 bis 500  $\mu\text{m}$ , vorteilhafter eine Korngröße von 100 bis 300  $\mu\text{m}$ . Zudem ist bevorzugt, daß maximal 50% des Porenvolumens in Poren vorliegt, welche eine Porengröße von  $> 1,5 \mu\text{m}$  aufweisen.

5

Die Oberflächen von Hohlfasern lassen sich in drei Kategorien einteilen. Zum einen in die äußere, die Fasern umgebende Oberflächen O2, die Oberflächen O1 der Poren P sowie die luminalen Oberflächen O3, welche die inneren Hohlräume umgeben.

10

Erfindungsgemäß wird unter den "äußeren Oberflächen" O2 der porösen Teilchen oder der Hohlfasern die das Teilchen bzw. die Hohlfasern umschließenden Oberflächen verstanden.

15

Unter dem Begriff "innere Oberflächen" eines Teilchens oder einer Hohlfaser werden die Oberflächen O1 bezeichnet, welche die Poren P der Teilchen oder der Hohlfasern umschließen, d.h. die Oberflächen der Poren P.

20

Der Begriff "luminale Oberfläche" bezeichnet die Oberflächen O3 der inneren Hohlräume H der Hohlfasern.

Eine weitere vorteilhafte Ausführungsform der Erfindung verwendet als Trägermaterial Hohlfasern. Die vorliegende Erfindung offenbart ein Verfahren zur Herstellung eines Adsorbers, umfassend die folgenden Schritte:

25

a) Bereitstellen von porösen Hohlfasern, welche auf den Oberflächen O1, O2 und O3 modifizierbare funktionelle Gruppen aufweisen;

30

b) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O1, O2 und O3 zu den Oberflächenmodifizierungen L;

35

c) Füllen der Poren P der Hohlfasern mit mindestens einem unter den Bedingungen des Füllens flüssigen Medium, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den Oberflächen O2 und O3 mit einer Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die Oberflächenmodifizierungen L auf den Oberflächen O2 und O3 der Hohlfasern im wesentlichen vollständig modifiziert werden können;

- d) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der Oberflächenmodifizierungen L zu den Oberflächenmodifizierungen L' auf den Oberflächen O2 und O3; und
- 5 e) Entfernen des Mediums, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den Oberflächen O2 und O3 mit einer Lösung, mit welcher die Oberflächenmodifizierungen L auf den Oberflächen O2 und O3 im wesentlichen vollständig modifiziert werden
- 10 können, im wesentlichen nicht mischbar ist, aus den Poren P.

Bei diesem Verfahren werden die Poren mit einem Medium gefüllt, welches unter den Bedingungen des Füllens flüssig ist und, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den Oberflächen O2 und O3

15 mit einer Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die Oberflächenmodifizierungen L auf den Oberflächen O2 und O3 der Hohlfasern im wesentlichen vollständig modifiziert werden können.

Ein weiteres Verfahren zur Herstellung eines Adsorbers, umfaßt die folgenden

20 Schritte:

- a) Bereitstellen von porösen Hohlfasern, welche auf den Oberflächen O1, O2 und O3 modifizierbare funktionelle Gruppen aufweisen;
- b) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen auf
- 25 den Oberflächen O1, O2 und O3 zu den Oberflächenmodifizierungen L;
- c) Füllen der Poren P und der inneren Hohlräume H der Hohlfasern mit mindestens einem unter den Bedingungen des Füllens flüssigen Medium, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 mit einer
- 30 Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 der Hohlfasern im wesentlichen vollständig modifiziert werden können;
- d) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der Oberflächenmodifizierungen L zu den Oberflächenmodifizierungen L' auf den äußeren Oberflächen O2; und
- 35

- e) Entfernen des Mediums, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 mit s  
äußeren Oberflächen O2 im wesentlichen vollständig modifiziert werden  
können, im wesentlichen nicht mischbar ist, aus den Poren P und den  
5 inneren Hohlräumen H.

Bei diesem Verfahren werden im Gegensatz zum vorgenannten die inneren  
Hohlräume sowie die Poren mit einem Medium gefüllt, welches unter den  
Bedingungen des Füllens flüssig ist und, welches unter den Bedingungen des  
10 Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den Oberflächen O2 mit einer  
Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die  
Oberflächenmodifizierungen L auf den Oberflächen O2 der Hohlfasern im  
wesentlichen vollständig modifiziert werden können.

- 15 Somit lassen sich Adsorber herstellen, welche entweder nur auf den Oberflächen  
O1 der Poren P oder auf den Oberflächen O1 der Poren P sowie der luminalen  
Oberflächen O3 der Innenräume H die Oberflächenmodifizierungen L' aufweisen.

Erfindungsgemäß können als poröses Trägermaterial verschiedenartigste  
20 Materialien verwendet werden. Zudem eignen sich diese Materialien auch zur  
Herstellung der verwendeten Hohlfasern. Beispiele für geeignete  
Trägermaterialien bzw. Hohlfasern umfassen Silica, Silicone, Polytetrafluorethylen  
(Teflon<sup>®</sup>), Polyesterurethane, quervernetztes Polyvinylalkohol, quervernetzte  
Cellulose, quervernetzte Agarose, quervernetztes Dextran, verseifte Ethylen-  
25 Vinylacetate, Polyetherurethane, Polyurethane, Polyethylenterephthalate,  
Polysaccharide, Polypeptide, Polyethylene, Polyester, Polystyrole, Polyolefine,  
Polysulfonate, Polypropylen, Polyethersulfone, Polypyrrole, Polyvinylpyrrolidone,  
Polymilchsäure, Polyglycolsäure, Polyorthoester, Aluminiumoxid, Gläser,  
Sephrose, Kohlenhydrate sowie organische Materialien, wie Copolymere von  
30 Acrylaten oder Methacrylaten sowie Polyamiden. Vorzugsweise besteht das  
Trägermaterial aus organischem Material und besonders bevorzugt sind  
Copolymere von Acrylsäureestern oder Methacrylsäureestern und/oder  
Acrylsäureamiden oder Methacrylsäureamiden, beispielsweise Polyacrylsäure-  
Polyethylen-Copolymere, Polyacrylamid-Polyethylen-Copolymere. Ferner ist  
35 zudem vorteilhaft, wenn derartige Copolymere Epoxidgruppen als funktionelle  
Gruppen tragen.

Weitere erfindungsgemäß einsetzbare Copolymere können beispielsweise durch Suspensionspolymerisation hergestellt werden. Ein derartiges Copolymer ist im Handel unter der Bezeichnung Toyopearl AF-Epoxy-650M (TosoHaas) erhältlich. Bevorzugt sind zudem statistische Copolymere hergestellt durch Polymerisation  
5 von Ethylenglycoldiacrylat oder Ethylenglycoldimethacrylat und Glycidylacrylat oder Glycidylmethacrylat und/oder Allylglycidether.

Für Honirasern eignen sich insbesondere Silicone, Polytetrafluorethylen (Teflon®), Polyesterurethane, Polyetherurethane, Polyurethane, Polyethylenterephthalate,  
10 Polysaccharide, Polypeptide, Polyethylene, Polyester, Polystyrole, Polyolefine, Polysulfonate, Polysulfone, Polypropylen, Polyethersulfone, Polypyrrole, Polyvinylpyrrolidone, Polymilchsäure, Polyglycolsäure und Polyorthoester.

Ein weiteres erfindungsgemäßes Verfahren zur Herstellung eines Adsorbers,  
15 umfaßt die folgenden Schritte:

- a) Bereitstellen von porösen Hohlfasern, welche auf den Oberflächen O1, O2 und O3 modifizierbare funktionelle Gruppen aufweisen;
- b) Füllen der Poren P der Hohlfasern mit mindestens einem unter den Bedingungen des Füllens flüssigen Medium, welches unter den  
20 Bedingungen des Modifizierens der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 und O3 mit einer Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 und O3 der Hohlfasern im wesentlichen vollständig modifiziert werden können;
- c) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen zu  
25 den Oberflächenmodifizierungen L' auf den Oberflächen O2 und O3; und
- d) Entfernen des Mediums, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 und O3 mit einer Lösung, mit welcher die funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 und O3 im wesentlichen vollständig modifiziert werden können, im wesentlichen  
30 nicht mischbar ist, aus den Poren P.

Bei diesem Verfahren werden Hohlfasern eingesetzt, deren Poren P mit einem flüssigen Medium gefüllt werden, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 und O3 mit einer  
35 Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 und O3 der Hohlfasern im wesentlichen vollständig modifiziert werden können, bevor die besagte Modifizierung der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 und O3 durchgeführt wird.

Erfindungsgemäß bedeutet der Begriff "im wesentlichen vollständiges Modifizieren", daß im wesentlichen alle auf einer Oberfläche des Trägermaterials oder der Hohlfasern vorhandenen nicht durch das Medium bedeckten funktionellen Gruppen oder Oberflächenmodifizierungen umgesetzt werden, und somit im wesentlichen keine freien bzw. modifizierbaren funktionellen Gruppen oder Oberflächenmodifikationen mehr auf der jeweiligen Oberfläche des Trägermaterials bzw. der Hohlfaser verbleiben. Um eine derartige, im wesentlichen vollständige Modifizierung zu bewirken, enthalten die jeweiligen Reaktionslösungen vorzugsweise jeweils einen Überschuß an Modifizierungsmittel.

Der Begriff "Modifizieren" umfaßt das Verändern, Umsetzen, Schaffen und/oder Zerstören von funktionellen Gruppen auf den jeweiligen Oberflächen. Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform umfaßt der Begriff des Modifizierens das Umsetzen der funktionellen Gruppen oder der Oberflächenmodifikationen mit Nucleophilen, Electrophilen oder Radikalen. Nach der im wesentlichen vollständigen Modifizierung wird die verwendete Lösung wieder entfernt.

Ein weiteres erfindungsgemäßes Verfahren beschreibt die Herstellung eines Adsorbers, umfassend die folgenden Schritte:

- a) Bereitstellen von porösen Hohlfasern, welche auf den Oberflächen O1, O2 und O3 modifizierbare funktionelle Gruppen aufweisen;
- b) Füllen der Poren P und der inneren Hohlräume H der Hohlfasern mit mindestens einem unter den Bedingungen des Füllens flüssigen Medium, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 mit einer Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 der Hohlfasern im wesentlichen vollständig modifiziert werden können;
- c) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen zu den Oberflächenmodifizierungen L' auf den Oberflächen O2; und
- d) Entfernen des Mediums, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 mit einer Lösung, mit welcher die funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 im wesentlichen vollständig modifiziert werden können, im wesentlichen nicht mischbar ist, aus den Poren P und den inneren Hohlräumen H.

Bei diesem Verfahren hingegen werden nicht nur die Poren P sondern auch die inneren Hohlräume H mit einem Medium gefüllt, bevor die anschließende Modifizierung der funktionellen Gruppen vorgenommen wird. Nachdem nun entsprechend der beiden vorgenannten Verfahren die funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 bzw. auf den Oberflächen O2 und O3 zu den Oberflächenmodifizierungen L' umgesetzt worden sind, kann nach dem Entfernen des Mediums optional noch ein weiterer Verfahrensschritt durchgeführt werden, wobei die noch verbliebenen funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O1 und O3 bzw. O1 zu den Oberflächenmodifizierungen L umgesetzt werden.

10

Erfindungsgemäß weist das zu verwendende poröse Trägermaterial bzw. die zu verwendenden Hohlfasern auf ihren Oberflächen O1, O2 sowie O3 modifizierbare funktionelle Gruppen auf. Diese funktionellen Gruppen können chemisch oder auch durch eine Strahlung, welche bevorzugt im UV- oder sichtbaren Bereich liegt, zu den Oberflächenmodifizierungen L bzw. L' umgesetzt werden. Je nach verwendetem Trägermaterial und je nach verwendeter Strahlung kann diese das Trägermaterial teilweise durchdringen oder nicht durchdringen, so daß zum einen mittels dieser Strahlung alle funktionellen Gruppen der Oberflächen O1, O2 sowie O3 modifiziert werden können oder bei einer das Trägermaterial nicht durchdringenden Strahlung die Modifizierung der funktionellen Gruppen nur auf den Oberflächen O2 stattfinden kann.

Als modifizierbare funktionelle Gruppen sind gespannte heterocyclische Systeme bevorzugt, welche durch nucleophile oder electrophile Ringöffnung modifiziert werden können. Hierbei ist die nucleophile Ringöffnung bevorzugt. Durch eine derartige Ringöffnung lassen sich kovalent weitere funktionelle Reste, chemische Gruppen oder Moleküle an die funktionellen Gruppen binden, so daß sich die Oberflächenmodifikationen L bzw. L' ergeben, wobei die Oberflächenmodifikation L' mit den funktionellen Gruppen identisch sein können.

30

Weitere funktionelle Gruppen, welche erfindungsgemäß Verwendung finden können, umfassen Amine, bevorzugt primäre Amine, welche sich mit Carbonylverbindungen zu Iminen umsetzen lassen und anschließend gegebenenfalls durch Hydrierung zu einer stabileren Aminbindung umgesetzt werden können. Darüber hinaus können an Amine Carbonsäuren über eine Amidbindung immobilisiert werden. Verwendung finden zudem Aziridine, Oxirane, Oxaziridine, Maleinimide, N-Succinimidylester, N-Hydroxysuccinimide, Hydrazide, Azide, Aldehyde, Ketone, Carbonsäuren, Carbonsäureester,

35

Säureanhydride, Thiole, Silanole, Nitrile sowie Verbindungen mit Chlormethylgruppen und Gemische der vorgenannten funktionellen Gruppen.

5 Durch diese chemische oder photochemische Modifizierung erhält man Adsorber, welche auf den Oberflächen O2 bzw. den Oberflächen O2 und O3, je nachdem welches erfindungsgemäße Verfahren eingesetzt wird, mindestens eine Oberflächenmodifizierung L' aufweisen, wodurch diese Oberflächen im wesentlichen nicht mit Blutzellen wechselwirken. Eine bevorzugte Oberflächenmodifizierung der Oberflächen O1 bzw. der Oberflächen O1 und O3  
10 stellt die Aminierung dar.

Ferner weisen die durch die erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Adsorber auf ihren Oberflächen O1 bzw. je nach verwendetem Herstellungsverfahren des Adsorbers auf den Oberflächen O1 sowie O3 mindestens eine  
15 Oberflächenmodifizierung L auf, welche mit im Blut enthaltenen Substanzen wechselwirkt. Bei diesen im Blut enthaltenen Substanzen handelt es sich vorrangig um die eingangs erwähnten Schadstoffe, welche aus dem Vollblut oder Plasma zu entfernen sind. Zudem ist bevorzugt, daß die Oberflächenmodifikationen L und L' durch kovalente Bindungen mit den  
20 entsprechenden Oberflächen verknüpft werden. Eine andersartige Anbindung, beispielsweise durch hydrophobe, elektrostatische und/oder ionische Wechselwirkungen, ist jedoch auch möglich.

Erfindungsgemäß wird unter "Oberflächenmodifizierung" eine organische  
25 Endgruppe, ein organischer Rest, eine Substanz, ein Teil einer Substanz oder ein Molekül bzw. ein Teil eines Moleküls verstanden, welches geeignet ist, an eine funktionelle Gruppe des porösen Trägermaterials bzw. der Hohlfasern gebunden zu werden.

30 Die Oberflächenmodifikationen L' weisen erfindungsgemäß die Eigenschaft auf, im wesentlichen keine Wechselwirkungen mit Blutzellen zu haben, so daß die äußeren Oberflächen des Trägermaterials bzw. der Hohlfasern gegenüber den Blutzellen inert sind. Dies bedeutet, daß diese Oberflächen mit Vollblut kompatibel sind und im Vollblut enthaltene Blutzellen bzw. Blutkörperchen im  
35 wesentlichen nicht schädigen, verletzen, adsorbieren und/oder aktivieren.

Derartige mit Vollblut kompatiblen Oberflächenmodifizierungen L' umfassen mindestens eine Substanz ausgewählt aus der Gruppe, welche Carbonsäuren,

Polycarbonsäuren, Polyacrylsäuren, Oligoacrylsäuren, Albumin, Heparin, Heparinderivate, Heparansulfat, Glykosaminoglykane, Oligosaccharide, Polysaccharide und Chitosanderivate umfaßt.

5 Für die Oberflächen der porösen Teilchen bzw. der Hohlfasern, welche aufgrund ihrer inneren Lage nicht mit Blutzellen oder Blutkörperchen in Kontakt kommen, ist eine oben beschriebene Kompatibilität nicht nötig. Diese Oberflächen O1 bzw. je nach verwendetem Verfahren zur Herstellung des Adsorbers O1 und O3 tragen erfindungsgemäß Oberflächenmodifikationen L, welche im Vollblut oder Plasma  
10 enthaltene Schadstoffe oder Moleküle binden können. Die Fähigkeit, vorzugsweise selektive Wechselwirkungen mit bestimmten, in einer Lösung enthaltenen Substanzen, Teilen von Substanzen oder Substanzgruppen zu zeigen, besitzen sogenannte Immunadsorber. Diese Immunadsorber eignen sich somit insbesondere als Oberflächenmodifikation L. Vorteilhaft ist es im  
15 speziellen, als mindestens eine Oberflächenmodifizierung L mindestens eine Substanz aus der Gruppe auszuwählen, welche Peptide, Proteine, monoklonale Antikörper, polyklonale Antikörpern, Fragmente von Antikörpern, synthetische Antigene, natürliche Antigene, Autoimmunantikörper, Monosaccharide, Oligosaccharide, Polysaccharide, Thiole, Oligonucleotide, Polynucleotiden,  
20 Peptidantibiotika, native sowie rekombinante DNA bzw. RNA als auch Aminosäuren und deren Derivate, insbesondere Histidin oder Tryptophan, Polyaminosäuren, heterocyclische Amine wie Tryptamin oder Histamin, Glycoproteine, Lipide, Lipoproteine, Komplement, Antiimmunoglobulinantikörper, synthetische Polyanionen wie Polyvinylsulfat, Polyacrylsäure  
25 Polyphosphorsäureester und deren Kombinationen umfaßt.

Die Oberflächenmodifikation L wechselwirkt somit mit im Blut enthaltenen Substanzen, wobei nur solche Substanzen mit den Oberflächenmodifikationen L in Kontakt treten können, welche abhängig von der gewählten Porengröße klein  
30 genug sind, um in die Poren P eindringen zu können. Die Oberflächenmodifikation L ist daher eine sogenannte funktionelle Oberflächenmodifizierung, wobei unter funktioneller Oberflächenmodifizierung beispielsweise Separationseffektoren oder auch Katalysatoren oder Enzyme verstanden werden. Derartige Separationseffektoren erzeugen selektive  
35 Wechselwirkungen, die für chromatographische Trennungen oder andere Verteilungsverfahren, Trennungs- oder Reinigungsverfahren, wie der Flüssig-Flüssig-Verteilung, eingesetzt werden können. Somit eignen sich die erfindungsgemäßen Adsorber nicht nur zur Entfernung von Substanzen aus

Vollblut oder Plasma, sondern allgemein zur selektiven Entfernung von bestimmten Substanzen aus einem komplexen Gemisch verschiedenster Stoffe, Substanzen und/oder Zellen oder anderer Teilchen, welche neben chemischen Stoffen, Metallen oder Metallionen sowie Biomolekülen auch ganze Zellen, Blutkörperchen, Bakterien, Viren oder ähnliches umfassen.

Ein weiteres erfindungsgemäßes Verfahren zur Herstellung eines Adsorbers ist nicht auf Hohlfasern beschränkt, sondern verwendet beliebige poröse Trägermaterialien und umfaßt die folgenden Schritte:

- 10 a) Bereitstellen eines porösen Trägermaterials, welches auf seinen inneren Oberflächen O1 und seinen äußeren Oberflächen O2 modifizierbare funktionelle Gruppen aufweist;
- b) Füllen der Poren P des porösen Trägermaterials mit mindestens einem unter den Bedingungen des Füllens flüssigen Medium, welches unter den  
15 Bedingungen des Modifizierens der funktionellen Gruppen auf den äußeren Oberflächen O2 mit einer Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die funktionellen Gruppen auf den äußeren Oberflächen O2 des porösen Trägermaterials im wesentlichen vollständig modifiziert werden können;
- 20 c) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen zu den Oberflächenmodifizierungen L' auf den äußeren Oberflächen O2;
- d) Entfernen des Mediums, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der funktionellen Gruppen auf den äußeren Oberflächen O2 mit einer Lösung, mit welcher die funktionellen Gruppen auf den äußeren  
25 Oberflächen O2 im wesentlichen vollständig modifiziert werden können, im wesentlichen nicht mischbar ist, aus den Poren P; und gegebenenfalls
- e) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen zu den Oberflächenmodifizierungen L auf den inneren Oberflächen O1.

30 Bei diesem Verfahren erfolgt als letzter Schritt die Umsetzung der funktionellen Gruppen auf den inneren Oberflächen O2 zu den Oberflächenmodifizierungen L.

Bevorzugt wird zur Modifizierung der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 oder auf den Oberflächen O2 sowie O3 eine auf Wasser basierende Lösung  
35 verwendet. Eine weitere vorteilhafte Ausführungsform verwendet für diese Modifizierung eine das Trägermaterial oder die Hohlfaser im wesentlichen durchdringende oder eine im wesentlichen nicht durchdringende Strahlung.

Der Begriff "unter den Bedingungen des Füllens flüssiges Medium" umfaßt erfindungsgemäß Medien, welche in die Poren eines Trägermaterials oder der Hohlfasern eingebracht bzw. eingefüllt und aus diesen Poren wieder im wesentlichen vollständig entfernt werden können.

5

Derartige Medien umfassen vor allem hydrophobe organische Medien. Beispiele für hydrophobe organische Medien sind lineare C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkane, verzweigte C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkane, cyclische C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkane, lineare oder verzweigte Alkanketten-tragende C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Cycloalkane, C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Arylalkane, lineare oder verzweigte Alkanketten-tragende C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Aromaten, C<sub>6</sub>- bis C<sub>22</sub>-Aromaten, lineare C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkanole, verzweigte C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkanole, cyclische C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkanole, lineare oder verzweigte Alkanketten-tragende C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Cycloalkanole, C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Hydroxyarylalkane, lineare oder verzweigte Hydroxyalkanketten-tragende C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Aromaten, lineare C<sub>6</sub>- bis C<sub>30</sub>-Carbonsäureester, verzweigte C<sub>6</sub>- bis C<sub>30</sub>-Carbonsäureester, cyclische C<sub>6</sub>- bis C<sub>30</sub>-Carbonsäureester, cyclische mit linearen oder verzweigten Alkanketten substituierte C<sub>6</sub>- bis C<sub>30</sub>-Carbonsäureester, C<sub>6</sub>- bis C<sub>30</sub>-Arylcarbonsäureester, aromatische mit linearen oder verzweigten Alkanketten substituierte C<sub>6</sub>- bis C<sub>30</sub>-Carbonsäureester. Auch Mischungen der vorbezeichneten Substanzen können erfindungsgemäß eingesetzt werden.

20

Zu den C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkanen zählen beispielsweise Hexan, Heptan, Octan, Nonan, Decan, Cyclohexan, und Dodecan.

Zu den C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkanolen zählen beispielsweise Hexanol, Octanol, Decanol, Undecanol und Dodecanol.

25

In der Regel wird es sich bei dem besagten Medium um eines handeln, welches bei Raumtemperatur flüssig ist. Gemäß einer besonderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung kann jedoch auch ein bei Raumtemperatur gasförmiges Medium verwendet werden. Dann werden die Poren P beispielsweise bei erniedrigter Temperatur und/oder erhöhtem Druck mit dem unter den Bedingungen des Füllens flüssigen Mediums gefüllt. Unter vergleichbaren Bedingungen werden sodann die funktionellen Gruppen auf den Oberflächen modifiziert. Diese Ausführungsform hat den Vorteil, daß ein bei Raumtemperatur gasförmiges Medium besonders leicht wieder aus den Poren P zu entfernen ist.

30  
35

Gemäß einer weiteren besonderen Ausführungsform kann auch ein Medium eingesetzt werden, welches unter den Bedingungen des Füllens flüssig, bei

Raumtemperatur und Normaldruck jedoch fest ist. Die Poren der Hohlfasern bzw. des porösen Trägermaterials werden dann bei erhöhter Temperatur mit dem Medium gefüllt. Diese Ausführungsform weist den Vorteil einer besonders dauerhaften und inerten Füllung der inneren Poren P bzw. Hohlräume H auf, 5 wodurch zur Modifizierung der funktionellen Gruppen der äußeren Oberflächen auch drastischere Bedingungen, d.h. chemisch aggressivere Bedingungen, verwendet werden können.

In der Praxis kann dieses Füllen der Poren P bzw. Hohlräume H mit einem 10 Medium durchgeführt werden, indem im einfachsten Fall die Hohlfasern bzw. die Teilchen des porösen Trägermaterials in ein bei Raumtemperatur flüssiges Medium eingetaucht und mit diesem aufgequollen werden, so daß die Luft im wesentlichen vollständig aus den Poren P und je nach verwendetem Verfahren aus den Hohlräumen H verdrängt wird. Ferner können die Teilchen bzw. 15 Hohlfasern auch in einen luftdichten Behälter gegeben werden, woraufhin die Luft aus dem Behälter und somit auch aus den Poren bzw. Hohlräumen durch Anlegen eines Vakuums entfernt wird, und das Medium, welches unter diesen Bedingungen flüssig ist, in die Poren P bzw. Hohlräume H eindringen kann.

Nach dem Aufquellen der Teilchen bzw. Hohlfasern kann das überschüssige 20 flüssige Medium beispielsweise mit einer Nutsche von den Hohlfasern bzw. Trägermaterialteilchen abgesaugt werden, ohne daß das in den Poren P bzw. Hohlräumen H enthaltene Medium wieder entfernt wird. Anschließend wird die Reaktionslösung zum Modifizieren der funktionellen Gruppen der äußeren 25 Oberflächen O<sub>2</sub> bzw. je nach verwendetem erfindungsgemäßem Verfahren der äußeren Oberflächen O<sub>2</sub> sowie der luminalen Oberflächen O<sub>3</sub> zugegeben. Die Lösung zum Modifizieren der durch das Medium nicht bedeckten funktionellen Gruppen ist im wesentlichen mit dem besagten Medium nicht mischbar, um ein Freilegen der durch das Medium bedeckten Gruppen zu verhindern.

30 Nach der erfolgten Modifizierung wird das Medium beispielsweise durch Absaugen, Auswaschen, Erwärmen, Anlegen von Vakuum und/oder Zentrifugation wieder entfernt.

35 Des weiteren offenbart die vorliegende Erfindung Adsorber, welche nach einem der vorgenannten Verfahren hergestellt werden.

Besonders bevorzugt sind Adsorber in Form von Hohlfasern mit einer mittleren Porengröße von  $\leq 1,5 \mu\text{m}$ . Der innere, luminale Durchmesser (D1) der porösen Hohlfasern kann zwischen 0 und 5 mm, bevorzugt zwischen 0 und 1 mm liegen.

- 5 Die vorliegende Erfindung offenbart weiterhin eine Vorrichtung zur Abtrennung von Biomolekülen und/oder pathogenen Stoffen aus Vollblut und/oder Plasma, umfassend ein Gehäuse, in dem der Adsorber in Form von porösen Teilchen oder Hohlfasern als lose Teilchen oder Fasern und/oder als Bündel lose und/oder fest mit dem Gehäuse verklebt, enthalten ist, wobei das Gehäuse mindestens einen  
10 Einlaß und mindestens einen gegebenenfalls mit einem Partikelfilter versehenen Auslaß aufweist.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung umfaßt ein Gehäuse mit vorzugsweise einem Volumen von 10 ml bis 1250 ml.

15

Die vorliegende Erfindung offenbart ferner ein Verfahren zur Abtrennung von Biomolekülen und/oder pathogenen Stoffen aus Vollblut und/oder Plasma, umfassend die Schritte:

- a) Bereitstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung;  
20 b) Durchleiten von Vollblut und/oder Plasma; und gegebenenfalls  
c) Regeneration des Adsorbers.

Insbesondere wird ein Adsorber für Vollblut in Form von im wesentlichen hohlen, nicht-aggregierten Teilchen bereitgestellt. Eine bevorzugte Ausführungsform  
25 verwendet Hohlfasern als Adsorptionsmaterial. Derartige Hohlfasern haben vorzugsweise einen Innendurchmesser (D1) von  $\leq 5 \text{ mm}$  und einen Außendurchmesser (D2) von  $\leq 6 \text{ mm}$ .

Die äußere Oberfläche O2 des Adsorptionsmaterials weist mindestens eine  
30 Oberflächenmodifizierung L' auf und die Oberfläche O1 der Poren P mindestens eine Oberflächenmodifizierung L. Die Oberflächen O3 der inneren Hohlräume H können je nach verwendetem Verfahren zur Herstellung des Adsorbers entweder die Oberflächenmodifikation L oder die Oberflächenmodifikation L' aufweisen.

35 Durch die Oberflächenmodifikationen L' der äußeren Oberfläche O2 wird im wesentlichen eine Vollblutverträglichkeit erhalten, da die äußere Oberfläche fast ausschließlich in Wechselwirkung mit den Blutzellen tritt. Je nach verwendetem erfindungsgemäßen Verfahren weisen die Oberflächen O1 oder zusätzlich auch

die Oberflächen O3 bevorzugt Oberflächenmodifizierungen L auf, welche mit im Blut enthaltenen Substanzen wechselwirken können.

Die vorliegende Erfindung beseitigt dadurch die erwähnten Nachteile der  
5 Verfahren des Standes der Technik.

Das erfindungsgemäße Verfahren hat den Vorteil, daß das Blut nicht in Plasma und zelluläre Bestandteile getrennt zu werden braucht, sondern als Ganzes durch ein Adsorptionsmaterial geleitet werden kann, das vorzugsweise fest mit und/oder  
10 in einem Gehäuse gelagert ist. Der Adsorber trägt die schadstoffbindenden Liganden, welche die im Vollblut enthaltenen Schadstoffe adsorbieren nur in seinen Poren P bzw. inneren Hohlräumen H, die zu klein sind, um die zellulären Bestandteile des Vollblutes aufzunehmen. Dadurch, daß der Adsorber fest mit dem Gehäuse verbunden ist, besteht kein Risiko, daß Adsorberpartikel in den  
15 Blutkreislauf geraten. Da die schadstoffbindenden Oberflächenmodifikationen L sich nur in den für Zellen unzugänglichen Poren P bzw. inneren Hohlräumen H befinden, können sie keine zellschädigende Wirkung entfalten. Die Entfernung der Schadstoffe ist wesentlich vollständiger, da das gesamte Blutvolumen mit dem Adsorber in Kontakt kommt und nicht nur das von den zellulären Bestandteilen abgetrennte Plasma. Die zusätzliche Belastung des Patienten durch die  
20 Trennung in Plasma und zelluläre Bestandteile entfällt.

Ferner können die erfindungsgemäßen Adsorber nicht nur für die Entfernung von schädlichen Stoffen aus Vollblut oder Plasma eingesetzt werden, sondern finden  
25 überall dort Verwendung, wo chemische Stoffe jeglicher Art aus einer lebende Zellen enthaltenden Lösung oder Suspension abgetrennt werden sollen.

Dementsprechend können die erfindungsgemäßen Adsorber zur zellschonenden Abtrennung von zytotoxischen Stoffen aus Zellkulturlösungen oder  
30 Fermentationslösungen verwendet werden, indem der Adsorber mit und/oder in einem geeigneten Gehäuse verklebt wird oder durch einen Partikelfilter im Gehäuse zurückgehalten wird und man die entsprechende Zellkulturlösung oder Fermentationslösung durchleitet. Bevorzugt ist der Einsatz dieser Adsorber zur zellschonenden Abtrennung extrazellulär gebildeter Biomoleküle aus Zellkultur- oder Fermentationsmedien, ohne daß zelluläre Bestandteile und Nährmedium  
35 voneinander getrennt werden müßten. Bei diesen Biomolekülen kann es sich um Proteine, Enzyme oder andere Substanzen bevorzugt mit pharmakologischer Wirksamkeit handeln.

## Figurenbeschreibung

- Figur 1 zeigt schematisch einen Querschnitt durch eine Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Adsorbers in Form einer porösen Hohlfaser, welche auf ihren äußeren Oberflächen O<sub>2</sub> und den luminalen Oberflächen O<sub>3</sub> der Hohlräume H die Oberflächenmodifikationen L' trägt, wodurch eine Blutverträglichkeit erreicht wird, und auf den inneren Oberflächen O<sub>1</sub> der Poren P die Oberflächenmodifikationen L aufweist, welche die Fähigkeit haben, schädliche Stoffe aus dem Vollblut zu adsorbieren. Ein derartiger Hohlfaseradsorber kann beispielsweise nach einem erfindungsgemäßen Verfahren gemäß Anspruch 2 oder Ansprüche 4 und 5 hergestellt werden.
- Figur 2 zeigt schematisch einen Querschnitt durch eine Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Adsorbers in Form einer porösen Hohlfaser, welche auf ihren äußeren Oberflächen O<sub>2</sub> die Oberflächenmodifikationen L' trägt, wodurch eine Blutverträglichkeit erreicht wird, und auf den inneren Oberflächen O<sub>1</sub> der Poren P und den luminalen Oberflächen O<sub>3</sub> der Hohlräume H die Oberflächenmodifikationen L aufweist, welche die Fähigkeit haben, schädliche Stoffe aus dem Vollblut zu adsorbieren. Ein derartiger Hohlfaseradsorber kann beispielsweise nach einem erfindungsgemäßen Verfahren gemäß Anspruch 3 oder Ansprüche 6 und 7 hergestellt werden.
- Figur 3 zeigt schematisch einen Querschnitt durch eine Ausführungsform eines erfindungsgemäßen Adsorbers in Form eines porösen Teilchens, welches auf seiner äußeren Oberflächen O<sub>2</sub> die Oberflächenmodifikationen L' trägt, wodurch eine Blutverträglichkeit erreicht wird, und auf seinen inneren Oberflächen O<sub>1</sub> der Poren P die Oberflächenmodifikationen L aufweist, welche die Fähigkeit haben, schädliche Stoffe aus dem Vollblut zu adsorbieren. Ein derartiger Adsorber kann beispielsweise nach einem erfindungsgemäßen Verfahren gemäß Anspruch 1 oder Anspruch 8 hergestellt werden.
- Figur 4 ist die graphische Darstellung eines Elutionsdiagramms zur Bestimmung der TSST 1 Adsorption durch Induktion der TNF- $\alpha$  Ausschüttung von Lymphozyten.

## Beispiele

### Beispiel 1:

5

In 200 ml einer 0,1 M MES (2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure) Pufferlösung (pH 4,75) werden 75mg CME-CDI (N-Cyclohexyl-N'-(2-morpholinoethyl)carbodiimid-methyl-p-toluolsulfonat) bei 4°C vollständig aufgelöst. 75 mg Polyacrylsäure, in 25 ml MES-Puffer gelöst, werden zur Lösung gegeben und auf pH 4,75 bei 4°C eingestellt 75 ml aminierte Trägermaterialteilchen der Firma TosoHaas mit einer Partikelgröße von 65µm und einer durchschnittlichen Porengröße von 1,5 µm (Toyoparl AF-Amino-650M mit 100µmol NH<sub>2</sub>/ml ) werden mit der oben beschriebenen Lösung versetzt, geschüttelt und in einem Rundkolben über Nacht bei 4°C rotiert.

15

Die Trägermaterialteilchen werden abgesaugt mit Wasser, 4M NaCl und wieder mit Wasser gewaschen und im Vakuumexsiccator über CaCl<sub>2</sub> getrocknet.

20

Zur Aktivierung der Carboxylgruppe werden die derart modifizierten Teilchen wieder mit 200 ml der oben genannten CME-CDI -Lösung bei 4°C für 30 Minuten in einem Rundkolben rotiert und möglichst schnell mit 250 ml 4°C kaltem 0,1 M MES Puffer (pH4,75) gespült. Nach Entfernung der Spüllösung wird eine Lösung von 1 g TSST 1-bindendes Peptid (TSST: toxic shock syndrom toxin 1 bindendes Peptid, Auftragsynthese bei Bachem, Sequenz: GADRSYLSFIHLYPELAGA) in 200 ml 0,1 M MES Puffer bei 4°C für 18 Stunden zugesetzt und rotiert. Danach wird mit Wasser, mit 4 M Kochsalzlösung und wieder mit Wasser gespült und im Vakuum vollständig getrocknet.

25

Die getrockneten Teilchen werden vollständig mit Dodecanol gefüllt und nach 10 Minuten wieder abgesaugt und auf 4°C gekühlt.

30

Entfernung des TSST 1-bindenden Peptides von der äußeren Oberfläche:

35

Die gekühlten Teilchen werden mit 4°C kalter 6 M Salzsäure gefüllt und 15 Stunden bei 4°C gelagert. Anschließend wird abdekantiert, mit 4°C kaltem Wasser pH neutral gespült und anschließend mit 40°C warmem Isopropanol gespült. Es wird erneut mit Wasser, mit 4 M NaCl und erneut mit Wasser gespült und im Vakuumexsiccator über CaCl<sub>2</sub> getrocknet.

Beispiel 2:

Ein Mikrofiltrationsmodul der A/G Technology Corporation mit der Porengröße 0,65 µm, einem inneren Durchmesser der Hohlfasern von 0,5 mm und einer Membranfläche von 0,14 m<sup>2</sup> wurde im Kreis mit einer Lösung von 94 mg FeSO<sub>4</sub> X 7 H<sub>2</sub>O und 84 mg Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in 200 ml Wasser durchspült. Nach 15 Minuten werden in das Vorratsgefäß zuerst 3,4 ml Methacrylsäure und 2 Minuten danach 3,4 ml Wasserstoffperoxyd (30%ig) gegeben. Anschließend wird die Lösung noch 2 weitere Stunden im Kreis gepumpt. Danach wird das Mikrofiltrationsmodul zur Entfernung von Reagenzienresten gleichzeitig auf der Innen- und Außenseite der Hohlfasern 4 Stunden lang mit fließendem Wasser gespült. Das Mikrofiltrationsmodul wird danach vollständig entleert.

In 220 ml einer 0,1 M MES (2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure) Pufferlösung (pH 4,75) werden 7,5g CME-CDI (N-Cyclohexyl-N'-(2-morpholinoethyl)carbodiimidmethyl-p-toluolsulfonat) bei 4°C vollständig aufgelöst. Diese Lösung wird bei 4°C 30 Minuten im Kreis durch das Mikrofiltrationsmodul gepumpt. Anschließend wird das Modul leergepumpt und möglichst schnell mit 250 ml 4°C kaltem 0,1 M MES Puffer (pH4,75) gespült. Nach Entfernung der Spüllösung wird eine Lösung von 1 g TSST 1-bindendes Peptid (TSST: toxic shock syndrom toxin 1 bindendes Peptid, Auftragssynthese bei Bachem, Sequenz: GADRSYLSFIHLYPELAGA) in 200 ml 0,1 M MES Puffer bei 4°C für 18 Stunden im Kreis gepumpt. Danach wird das Modul leergepumpt und mit Wasser, mit 4 M Kochsalzlösung und wieder mit Wasser gespült und im Vakuum vollständig getrocknet.

Das getrocknete Mikrofiltrationsmodul wird vollständig mit Dodecanol gefüllt und nach 10 Minuten wieder vollständig geleert. Das Modul wird auf 4°C gekühlt.

Entfernung des TSST 1-bindenden Peptides von der äußeren und luminalen Oberfläche:

Das gekühlte Modul wurde mit 4°C kalter 6 M Salzsäure in und um die Hohlfasern gefüllt und 15 Stunden bei 4°C gelagert. Anschließend wird das Modul geleert, mit 4°C kaltem Wasser pH neutral gespült und anschließend mit 40°C warmem Isopropanol gespült. Danach wurde noch einmal mit Wasser, mit 4 M Kochsalzlösung und erneut mit Wasser gespült und getrocknet.

Beispiel 3:

Immobilisierung von Heparin auf der äußeren und luminalen Hohlfaseroberfläche:

- 5 Zur Heparinisierung der äußeren und luminalen Hohlfaseroberfläche wird das wie in Beispiel 2 beschriebene Modul vollständig mit Dodecanol gefüllt und nach 10 Minuten derart geleert, dass die Poren mit Dodecanol gefüllt bleiben und anschließend auf 4°C gekühlt.
- 10 In 220 ml einer 0,1 m MES (2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure) Pufferlösung (pH 4,75) werden 7,5g CME-CDI (N-Cyclohexyl-N'-(2-morpholinoethyl)carbodiimidmethyl-p-toluolsulfonat) bei 4°C vollständig aufgelöst. Diese Lösung wird zur Aktivierung der Carboxylgruppen bei 4°C 30 Minuten im Kreis durch das Mikrofiltrationsmodul gepumpt. Nach Entfernen der Aktivierungslösung wird
- 15 möglichst schnell mit 250 ml kaltem MES-Puffer gründlich gespült und mit der Immobilisierungslösung versetzt.

- Die Immobilisierungslösung wird durch Lösen von 1,5 g Heparin in 275 ml einer 0,1 m MES-Pufferlösung (pH 4,75) hergestellt. Die Immobilisierungslösung wird
- 20 bei 4°C über Nacht, (18h) durch das Modul umgepumpt.

- Zur Entfernung des nicht kovalent gebundenen Heparins wird bei 4°C mit 4 M NaCl<sub>aq</sub> und anschließend mit Wasser für 30 Minuten und anschließend mit 40°C
- 25 warmem Isopropanol zur Entfernung des Dodecanols gespült. Danach wird noch einmal mit Wasser, mit 4 M Kochsalzlösung und erneut mit Wasser gespült und getrocknet.

Beispiel 4:

- 30 Quantitative Bestimmung des immobilisierten Heparins auf den Hohlfaseroberflächen:

Das Modul wird geöffnet und mit Heparin modifizierte Proben werden entnommen.

- 35 Die für die Analytik zur Verfügung stehende Oberfläche sollte dabei 20 cm<sup>2</sup> nicht unterschreiten. Die Probe wird nach genauer Bestimmung der vorhandenen Oberfläche zerschnitten und in ein Hydrolyserohr gegeben.

Für die Heparinbestimmung werden als Heparinstandardlösung 2-4 mg Heparin genau eingewogen und in ein Hydrolyserohr gegeben.

Nach Zugabe von 10 ml 8M HCl<sub>aq</sub> werden die Hydrolyserohre dicht verschlossen  
 5 und 4h auf 100°C im Trockenschrank erwärmt. Anschließend wird die Lösung quantitativ in einen Rundkolben überführt, wobei die Polymerüberreste im Hydrolyserohr verbleiben. Nach Einengen der Lösung zur Trockne werden einige ml dest. Wasser zugegeben und wieder zur Trockne eingeeengt. Dies wird dreimal  
 10 wiederholt. Der Rückstand wird in 10 ml dest. Wasser gelöst. Die Heparinstandardlösung wird 1:100 mit dest. Wasser verdünnt.

Die Proben werden mit Hilfe der Anionenaustauschchromatographie mit gepulster amperometrischer Detektion vermessen.

Berechnungsformel :

$$15 \quad X_{\text{Heparin}} [\text{pmol}/\text{cm}^2] = \frac{\text{Hep}_{\text{Einwaage}} [\text{mg}] \cdot S_{\text{FI}}}{\text{Hep}_{\text{FI}} \cdot F_{\text{Probe}} [\text{cm}^2] \cdot 13.000.000 [\text{mg}/\text{mol}] \cdot 100}$$

$X_{\text{Heparin}}$	=	Heparingehalt auf der Probenoberfläche
$\text{Hep}_{\text{Einwaage}}$		Heparin-Einwaage zur Herstellung der Heparinstandardlösung
20 $S_{\text{FI}}$		Peakfläche (Glucosaminpeak) der Probe im Chromatogramm
$\text{Hep}_{\text{FI}}$		Peakfläche (Glucosaminpeak) des Heparinstandards im Chromatogramm
$F_{\text{Probe}}$		Oberfläche des eingesetzten Materials
13.000.000		durchschnittliche Molmasse des Heparin
100		Verdünnungsfaktor der Heparinstandardlösung

25

Es wird ein Heparingehalt von 7,3 pmol/cm<sup>2</sup> ermittelt.

### Beispiel 5:

30

Messung der TSST 1 Adsorption durch Induktion der TNF- $\alpha$  Ausschüttung von Lymphozyten:

200 ml Blut wurde mit 40  $\mu\text{g}$  TSST 1 (Sigma) versetzt und davon eine 1 ml Probe  
 35 als positive Referenz entnommen. Der Rest wurde mit einer Flußrate von 1 ml/min durch den gemäß Beispiel 2 hergestellten Adsorber gepumpt. Von dem austretenden Blut wurden 10 ml Fraktionen aufgefangen. Dann wurden die Fraktionen und die positive Referenz 4 Stunden bei 37°C unter leichtem Schütteln

inkubiert. Danach wurden die Proben 15 min bei 600 g zentrifugiert und von allen Proben Plasma abpipettiert. Mit den so gewonnenen Plasmaproben wurde ein hTNF- $\alpha$  ELISA (human Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Emzyme Linked Immuno Sorbent Assay) der Firma Roche nach Gebrauchsanleitung durchgeführt:

5

Fraktion Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Pg TNF- $\alpha$ /ml	2	0	2	1	0	0	2	0	0	3	0
Fraktion Nr.	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	K
Pg TNF- $\alpha$ /ml	0	1	1	2	0	0	2	0	1	3	90

K = Kontrolle

Graphisch ist das Versuchsergebnis wiedergegeben in Figur 4.

10

#### Beispiel 6:

Das Mikrofiltrationsmodul der A/G Technology Corporation wird vollständig mit Dodecanol gefüllt und nach 10 Minuten wieder geleert. Das Modul wird auf 4°C gekühlt. Es folgt die Durchspülung des Moduls im Kreis mit einer Lösung von 94 mg FeSO<sub>4</sub> X 7 H<sub>2</sub>O und 84 mg Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> in 200 ml Wasser bei einer Temperatur von 15°C. Nach 15 Minuten werden in das Vorratsgefäß zuerst 3,4 ml Methacrylsäure und 2 Minuten danach 3,4 ml Wasserstoffperoxyd (30%ig) gegeben. Anschließend wird die Lösung noch 3 weitere Stunden im Kreis gepumpt. Danach wird das Mikrofiltrationsmodul zur Entfernung von Reagenzienresten gleichzeitig auf der Innen- und Außenseite der Hohlfasern 4 Stunden lang mit kaltem fließendem Wasser gespült. Das Mikrofiltrationsmodul wird danach vollständig entleert. Anschließend wird mit 40°C warmem Isopropanol zur Entfernung des Dodecanols gespült. Danach wird noch einmal mit Wasser, mit 4 M Kochsalzlösung und erneut mit Wasser gespült und getrocknet.

#### 30 Beispiel 7:

Eine Lösung von 220 ml 0,02 m PBS-Puffer (pH 7,4), die 5 mg Streptavidin beinhaltet, wird 2h im Kreis durch das in vorangehenden Beispiel 6 modifizierte

Mikrofiltrationsmodul gepumpt. Anschließend wird mit 220ml PBS-Puffer unter Zugabe von 1%  $\text{NaN}_3$  gespült. Die Lagerung des Moduls erfolgt in feuchtem Zustand bei 4-8°C.

5

Beispiel 8:

Sichtbarmachung des Streptavidin mit labelled Biotin-HRP/TMB:

10 220  $\mu\text{g}$  horseradish peroxidase-labelled biotin (Biotin-HRP, biotinamidocaproyl-labelled Peroxidase von Sigma P2907) werden in 220 ml PBS-Puffer pH=7,4 0,05% Tween 20 gelöst und auf der Filtratseite 0,5h bei RT im Kreis durch das Filtrationsmodul gepumpt.

15 Anschließend wird 15 min mit PBS-Puffer gewaschen und 220 ml präzipitierendes TMB (3, 3', 5, 5'-Tetramethyl-Benzidine in saurem Puffer pH 5,5 mit 0,01%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) unter Lichtausschluß 1/2h bei RT inkubiert. Die folgenden Waschschrte mit PBS-Puffer (5min) und anschließend mit Wasser (10min) werden ebenfalls unter Ausschluß von Licht durchgeführt.

20

Das Modul wird sofort geöffnet und einige Fasern statistisch 5 Querschnitte genommen. Das Streptavidin in den Poren wird innerhalb der nächsten 15 Minuten durch eine intensive Blaufärbung eindeutig in den Poren der Faser lokalisiert (bei 80acher Vergrößerung, Stereolupe).

25

Beispiel 9:

Das Mikrofiltrationsmodul der A/G Technology Corporation wird nur von der Blutkreislaufseite aus mit Dodecanol gefüllt (50ml/min), so dass kein Dodecanol auf die Filtratseite austreten kann. Das Modul wird sofort auf 4°C gekühlt. Es folgt die Durchspülung des Moduls auf der Filtratseite im Kreis mit einer Lösung von 94 mg  $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$  und 84 mg  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  in 200 ml Wasser bei einer Temperatur von 15°C. Nach 15 Minuten werden in das Vorratsgefäß zuerst 3,4 ml Methacrylsäure und 2 Minuten danach 3,4 ml Wasserstoffperoxyd (30%ig) gegeben. Anschließend wird die Lösung noch 3 weitere Stunden im Kreis gepumpt. Danach wird das Mikrofiltrationsmodul zur Entfernung von Reagenzienresten auf der Außenseite der Hohlfasern 4 Stunden lang mit kaltem

30

35

fließendem Wasser gespült. Das Mikrofiltrationsmodul wird danach vollständig entleert. Anschließend wird mit 40°C warmem Isopropanol zur Entfernung des Dodecanols gespült. Danach wird noch einmal mit Wasser, mit 4 M Kochsalzlösung und erneut mit Wasser gespült und getrocknet.

5

Beispiel 10:

10 Eine Lösung von 220 ml 0,02 m PBS-Puffer (pH 7,4), die 5 mg Streptavidin beinhaltet, wird 2h im Kreis durch das in vorangehenden Beispiel 9 modifizierte Mikrofiltrationsmodul gepumpt. Es wird mit PBS-Puffer gespült unter Zugabe von 1%  $\text{NaN}_3$ . Die Lagerung des Moduls erfolgt in feuchtem Zustand bei 4-8°C.

15 Beispiel 11:

Sichtbarmachung des Streptavidin mit labelled Biotin-HRP/TMB:

20 220 µg horseradish peroxidase-labelled Biotin (Biotin-HRP, biotinamidocaproyl-labelled Peroxidase von Sigma P2907) werden in 220 ml PBS-Puffer pH=7,4 0,05% Tween 20 gelöst und auf der Filtratseite 0,5h bei RT im Kreis durch das Filtrationsmodul gepumpt.

25 Anschließend wird 15 min mit PBS-Puffer gewaschen und 220 ml präzipitierendes TMB (3, 3', 5, 5'-Tetramethyl-Benzidine in saurem Puffer pH 5,5 mit 0,01%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) unter Lichtausschluß 1/2h bei RT inkubiert. Die folgenden Waschschrte mit PBS-Puffer (5min) und anschließend mit Wasser (10min) werden ebenfalls unter Ausschluß von Licht durchgeführt.

30 Das Modul wird sofort geöffnet und statistisch einige Fasern entnommen. Pro Faser werden 5 Querschnitte hergestellt und das Streptavidin auf der luminalen Seite der Faser als auch in den Poren innerhalb der nächsten 15 Minuten durch eine intensive Blaufärbung lokalisiert (bei 80acher Vergrößerung, Stereolupe).

## Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung eines Adsorbers, umfassend die folgenden Schritte:
- 5
- a) Bereitstellen eines porösen Trägermaterials, welches auf seinen inneren Oberflächen O1 und seinen äußeren Oberflächen O2 modifizierbare funktionelle Gruppen aufweist;
  - b) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O1 und O2 zu den Oberflächenmodifizierungen L;
  - 10 c) Füllen der Poren P des porösen Trägermaterials mit mindestens einem unter den Bedingungen des Füllens flüssigen Medium, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 mit einer Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 des porösen Trägermaterials im wesentlichen vollständig modifiziert werden können;
  - 15 d) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der Oberflächenmodifizierungen L zu den Oberflächenmodifizierungen L' auf den äußeren Oberflächen O2; und
  - e) Entfernen des Mediums, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 mit einer Lösung, mit welcher die Oberflächenmodifizierungen L im wesentlichen vollständig modifiziert werden können, im wesentlichen nicht mischbar ist, aus den Poren P.
  - 20
  - 25
2. Verfahren zur Herstellung eines Adsorbers, umfassend die folgenden Schritte:
- a) Bereitstellen von porösen Hohlfasern, welche auf den Oberflächen O1, O2 und O3 modifizierbare funktionelle Gruppen aufweisen;
  - 30 b) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O1, O2 und O3 zu den Oberflächenmodifizierungen L;
  - c) Füllen der Poren P der Hohlfasern mit mindestens einem unter den Bedingungen des Füllens flüssigen Medium, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den Oberflächen O2 und O3 mit einer Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die Oberflächenmodifizierungen L auf den
  - 35

Oberflächen O2 und O3 der Hohlfasern im wesentlichen vollständig modifiziert werden können;

- 5 d) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der Oberflächenmodifizierungen L zu den Oberflächenmodifizierungen L' auf den Oberflächen O2 und O3; und
- e) Entfernen des Mediums, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den Oberflächen O2 und O3 mit einer Lösung, mit welcher die Oberflächenmodifizierungen L auf den Oberflächen O2 und O3 im
- 10 im wesentlichen vollständig modifiziert werden können, im wesentlichen nicht mischbar ist, aus den Poren P.

3. Verfahren zur Herstellung eines Adsorbers, umfassend die folgenden Schritte:

- 15 a) Bereitstellen von porösen Hohlfasern, welche auf den Oberflächen O1, O2 und O3 modifizierbare funktionelle Gruppen aufweisen;
- b) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O1, O2 und O3 zu den Oberflächenmodifizierungen L;
- 20 c) Füllen der Poren P und der inneren Hohlräume H der Hohlfasern mit mindestens einem unter den Bedingungen des Füllens flüssigen Medium, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 mit einer Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die
- 25 Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 der Hohlfasern im wesentlichen vollständig modifiziert werden können;
- d) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der Oberflächenmodifizierungen L zu den Oberflächenmodifizierungen L' auf den äußeren Oberflächen O2; und
- 30 e) Entfernen des Mediums, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 mit einer Lösung, mit welcher die Oberflächenmodifizierungen L auf den äußeren Oberflächen O2 im wesentlichen vollständig modifiziert werden können, im wesentlichen
- 35 nicht mischbar ist, aus den Poren P und den inneren Hohlräumen H.

4. Verfahren zur Herstellung eines Adsorbers, umfassend die folgenden Schritte:

- 5
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35
- a) Bereitstellen von porösen Hohlfasern, welche auf den Oberflächen O1, O2 und O3 modifizierbare funktionelle Gruppen aufweisen;
  - b) Füllen der Poren P der Hohlfasern mit mindestens einem unter den Bedingungen des Füllens flüssigen Medium, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 und O3 mit einer Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 und O3 der Hohlfasern im wesentlichen vollständig modifiziert werden können;
  - c) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen zu den Oberflächenmodifizierungen L' auf den Oberflächen O2 und O3; und
  - d) Entfernen des Mediums, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 und O3 mit einer Lösung, mit welcher die funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 und O3 im wesentlichen vollständig modifiziert werden können, im wesentlichen nicht mischbar ist, aus den Poren P.
5. Verfahren nach Anspruch 4 umfassend zusätzlich den Schritt e):
- e) Im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen zu den Oberflächenmodifizierungen L auf den Oberflächen O1.
6. Verfahren zur Herstellung eines Adsorbers, umfassend die folgenden Schritte:
- a) Bereitstellen von porösen Hohlfasern, welche auf den Oberflächen O1, O2 und O3 modifizierbare funktionelle Gruppen aufweisen;
  - b) Füllen der Poren P und der inneren Hohlräume H der Hohlfasern mit mindestens einem unter den Bedingungen des Füllens flüssigen Medium, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 mit einer Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 der Hohlfasern im wesentlichen vollständig modifiziert werden können;
  - c) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen zu den Oberflächenmodifizierungen L' auf den Oberflächen O2; und
  - d) Entfernen des Mediums, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 mit einer Lösung, mit welcher die funktionellen Gruppen auf den

Oberflächen O2 im wesentlichen vollständig modifiziert werden können, im wesentlichen nicht mischbar ist, aus den Poren P und den inneren Hohlräumen H.

- 5 7. Verfahren nach Anspruch 6 umfassend zusätzlich den Schritt e):
- e) Im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen zu den Oberflächenmodifizierungen L auf den Oberflächen O1 und O3.
- 10 8. Verfahren zur Herstellung eines Adsorbers, umfassend die folgenden Schritte:
- a) Bereitstellen eines porösen Trägermaterials, welches auf seinen inneren Oberflächen O1 und seinen äußeren Oberflächen O2 modifizierbare funktionelle Gruppen aufweist;
- 15 b) Füllen der Poren P des porösen Trägermaterials mit mindestens einem unter den Bedingungen des Füllens flüssigen Medium, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der funktionellen Gruppen auf den äußeren Oberflächen O2 mit einer Lösung im wesentlichen nicht mischbar ist, mit welcher die funktionellen Gruppen auf den äußeren Oberflächen O2 des porösen Trägermaterials im wesentlichen
- 20 vollständig modifiziert werden können;
- c) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen zu den Oberflächenmodifizierungen L' auf den äußeren Oberflächen O2;
- 25 d) Entfernen des Mediums, welches unter den Bedingungen des Modifizierens der funktionellen Gruppen auf den äußeren Oberflächen O2 mit einer Lösung, mit welcher die funktionellen Gruppen auf den äußeren Oberflächen O2 im wesentlichen vollständig modifiziert werden können, im wesentlichen nicht mischbar ist, aus den Poren P;
- und
- 30 e) im wesentlichen vollständiges Modifizieren der funktionellen Gruppen zu den Oberflächenmodifizierungen L auf den inneren Oberflächen O1.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 – 8, wobei zum Modifizieren der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O2 oder auf den Oberflächen O2
- 35 sowie O3 eine auf Wasser basierende Lösung verwendet wird.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 – 8, wobei zum Modifizieren der funktionellen Gruppen auf den Oberflächen O<sub>2</sub> oder auf den Oberflächen O<sub>2</sub> sowie O<sub>3</sub> eine Strahlung verwendet wird.
- 5 11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 – 10 wobei zum Füllen der Poren P oder zum Füllen der Poren P sowie der inneren Hohlräume H ein hydrophobes organisches Medium verwendet wird.
- 10 12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei das hydrophobe organische Medium eine Substanz oder eine Mischung von Substanzen ist, welche aus der Gruppe ausgewählt wird, die umfaßt:  
lineare C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkane, verzweigte C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkane, cyclische C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkane, lineare oder verzweigte Alkanketten-tragende C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Cycloalkane, C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Arylalkane, lineare oder verzweigte Alkanketten-tragende C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Aromaten, C<sub>6</sub>- bis C<sub>22</sub>-Aromaten, lineare C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkanole, verzweigte C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkanole, cyclische C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Alkanole, lineare oder verzweigte Alkanketten-tragende C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Cycloalkanole, C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Hydroxyarylalkane, lineare oder verzweigte Hydroxyalkanketten-tragende C<sub>6</sub>- bis C<sub>20</sub>-Aromaten, lineare C<sub>6</sub>- bis C<sub>30</sub>-Carbonsäureester, verzweigte C<sub>6</sub>- bis C<sub>30</sub>-Carbonsäureester, cyclische C<sub>6</sub>- bis C<sub>30</sub>-Carbonsäureester, cyclische mit linearen oder verzweigten Alkanketten substituierte C<sub>6</sub>- bis C<sub>30</sub>-Carbonsäureester, C<sub>6</sub>- bis C<sub>30</sub>-Arylcarbonsäureester, aromatische mit linearen oder verzweigten Alkanketten substituierte C<sub>6</sub>- bis C<sub>30</sub>-Carbonsäureester.  
25
13. Adsorber erhältlich nach einem der Verfahren gemäß mindestens eines Anspruchs 1 – 12.
14. Adsorber gemäß Anspruch 13 in Form von porösen Hohlfasern mit einer mittleren Porengröße von  $\leq 1,5 \mu\text{m}$ .  
30
15. Adsorber nach Anspruch 13 oder 14, wobei der innere Durchmesser der porösen Hohlfasern zwischen 0 und 5 mm liegt.
- 35 16. Adsorber gemäß Anspruch 13 in Form von im wesentlichen sphärischen, nicht aggregierten Teilchen mit einer mittleren Porengröße von  $\leq 1,5 \mu\text{m}$ .

17. Adsorber nach Anspruch 13 oder 16, wobei die Teilchen eine Korngröße von 50 bis 500 µm aufweisen.
18. Adsorber gemäß einem der Ansprüche 13 – 17, wobei maximal 50% des Porenvolumens in Poren vorliegt, welche eine Porengröße von > 1,5 µm aufweisen.
19. Adsorber nach einem der Ansprüche 13 – 18, wobei die Oberflächen O2 oder die Oberflächen O2 sowie O3 mindestens eine Oberflächenmodifizierung L' aufweisen, wodurch diese Oberflächen im wesentlichen nicht mit Blutzellen wechselwirken.
20. Adsorber nach einem der Ansprüche 13 – 19, wobei die Oberflächen O1 oder die Oberflächen O1 sowie O3 mindestens eine Oberflächenmodifizierung L aufweisen, welche mit im Blut enthaltenen Substanzen wechselwirkt.
21. Adsorber nach einem der Ansprüche 13 – 20, wobei die Oberflächen O2 oder die Oberflächen O2 sowie O3 durch kovalente Bindung mindestens einer Oberflächenmodifizierung L' modifiziert sind.
22. Adsorber nach einem der Ansprüche 13 – 21, wobei die Oberflächen O1 oder die Oberflächen O1 sowie O3 durch kovalente Bindung mindestens einer Oberflächenmodifizierung L modifiziert sind.
23. Adsorber nach einem der Ansprüche 13 – 22, wobei die mindestens eine Oberflächenmodifizierung L' mindestens eine Substanz ausgewählt aus der Gruppe ist, welche umfaßt: Carbonsäuren, Polycarbonsäuren, Polyacrylsäuren, Oligoacrylsäuren, Albumin, Heparin, Heparinderivate, Heparansulfate, Glykosaminoglykane, Oligosaccharide, Polysaccharide und Chitosanderivate.
24. Adsorber nach einem der Ansprüche 13 – 23, wobei die mindestens eine Oberflächenmodifizierung L ein Immunadsorber ist.
25. Adsorber nach einem der Ansprüche 13 – 24 wobei die mindestens eine Oberflächenmodifizierung L mindestens eine Substanz ausgewählt aus der Gruppe ist, welche umfaßt: Peptide, Proteine, monoklonale Antikörper,

- polyklonale Antikörpern, Fragmente von Antikörpern, synthetische Antigene, natürliche Antigene, Autoimmunantikörper, Monosaccharide, Oligosaccharide, Polysaccharide, Thiole, Oligonucleotide, Polynucleotiden, Peptidantibiotika, native und/oder rekombinante DNA sowie RNA, D- und L-Aminosäuren und deren Derivate, Polyaminosäuren und heterocyclische Amine wie Tryptamin und Histamin, Glycoproteine, Lipide, Lipoproteine, Komplement, Antiimmunoglobulinantikörper, synthetische Polyanionen wie Polyvinylsulfat, Polyacrylsäure, Polyphosphorsäureester und deren Kombinationen.
- 5
- 10
26. Adsorber nach einem der Ansprüche 13 – 24, wobei die modifizierbaren funktionellen Gruppen aus der Gruppe ausgewählt werden, welche Amine, Aziridine, Oxirane, Oxaziridine, Maleinimide, N-Succinimidylester, N-Hydroxysuccinimide, Hydrazide, Azide, Aldehyde, Ketone, Carbonsäuren, Carbonsäureester, Säureanhydride, Thiole, Silanole, Nitrile, Verbindungen mit Chlormethylgruppen oder Gemische dieser funktionellen Gruppen umfaßt.
- 15
27. Adsorber nach einem der Ansprüche 13 – 26, wobei das Trägermaterial ein von Acrylaten, Methacrylaten, Acrylsäureestern oder Methacrylsäureestern und/oder Acrylsäureamiden oder Methacrylsäureamiden abgeleitetes Copolymer ist oder aus Silica, Silicone, Polytetrafluorethylen, Polyesterurethanen, quervernetztem Polyvinylalkohol, quervernetzter Cellulose, quervernetzter Agarose, quervernetztem Dextran, verseifte Ethylen-Vinylacetate, Polyetherurethane, Polyurethane, Polyethylenterephthalate, Polysaccharide, Polypeptide, Polyethylene, Polyester, Polystyrole, Polyolefine, Polysulfonate, Polysulfone, Polypropylen, Polyethersulfone, Polypyrrole, Polyvinylpyrrolidone, Polymilchsäure, Polyglycolsäure, Polyorthoester, Aluminiumoxid, Gläser, Sepharose, Kohlenhydrate und/oder Polyamiden besteht.
- 20
- 25
- 30
28. Adsorber nach Anspruch 27, wobei das Copolymer ein durch Polymerisation von Ethylenglycoldiacrylat oder Ethylenglycoldimethacrylat und Glycidylacrylat oder Glycidylmethacrylat und/oder Allylglycidether hergestelltes, statistisches Copolymer ist.
- 35
29. Adsorber nach Anspruch 27 oder 28, wobei das Copolymer durch Suspensionspolymerisation hergestellt wird.

30. Verwendung des Adsorbers gemäß einem der Ansprüche 13 – 29 zum Abtrennen von Biomolekülen und/oder pathogenen Stoffen aus Vollblut oder Plasma.
- 5
31. Verwendung nach Anspruch 30, wobei die abzutrennenden natürlichen, synthetischen und/oder rekombinanten Biomoleküle Immunglobuline, Toxine sowie deren Metaboliten und Abbauprodukte, Pilzgifte, Nikotin, Ethanol, Bleiacetat, CO, Phosgen, Chlor, Blausäure, Nitrosamine, Oxalsäure, Benzpyrene, Solanin, Nitrate, Nitrite, Amine, Dichlordisulfid, halogenierte Kohlenwasserstoffe, Epoxytrichotecene, Aflatoxine, Ochratoxin A, Zearalenon, Exotoxine, Endotoxine, Pilzsporen und deren Abbauprodukte, biologische Kampfgifte wie Microcystine, Anatoxine und Saxitoxine, Insektizide, Bakterizide, Drogen und deren Metaboliten, Prodrugs, Arzneimittel und deren Metaboliten und ihre Abbauprodukte, Antigene, DNA, RNA, ENA, Antikörper, Anti-DNA-Antikörper, Anti-Nuclear-Antikörper, Viren, Retroviren und Virenbestandteile, Immunkomplexe, Autoimmunkomplexe, Lipide, Proteine, Peptide, Proteolipide, Glycoproteine, Proteoglycane, Fibrinogen, Fibrin, Blutersatzprodukte und Plasmaersatzprodukte, Nanowaffen, Metalle sowie Halbmetalle und deren Ionen und/oder Immunkomplexe sind.
- 10
- 15
- 20
32. Verwendung des Adsorbers gemäß einem der Ansprüche 13 – 29 zum Abtrennen von Biomolekülen und/oder zytotoxischen Stoffen aus Zellkultur-  
lösungen oder Fermentationslösungen.
- 25
33. Vorrichtung zur Abtrennung von Biomolekülen und/oder pathogenen Stoffen aus Vollblut und/oder Plasma, umfassend ein Gehäuse, in dem ein Adsorber gemäß einem der Ansprüche 13 bis 29 in Form von porösen Teilchen oder Hohlfasern als lose Teilchen oder Fasern und/oder als Bündel lose und/oder fest mit dem Gehäuse verklebt, enthalten ist, wobei das Gehäuse mindestens einen Einlaß und mindestens einen im Fall der Verwendung von losen Teilchen oder losen Hohlfasern mit einem Partikelfilter versehenen Auslaß aufweist.
- 30
- 35
34. Vorrichtung gemäß Anspruch 33, wobei das Gehäuse ein Volumen von 10 ml bis 1250 ml umfaßt.

35. Verfahren zur Abtrennung von Biomolekülen und/oder pathogenen Stoffen aus Vollblut und/oder Plasma, umfassend die Schritte:
- a) Bereitstellung einer Vorrichtung gemäß Anspruch 33 oder 34;
  - b) Durchleiten von Vollblut und/oder Plasma; und gegebenenfalls
  - 5 c) Regeneration des Adsorbers.
36. Verfahren zur Abtrennung von Biomolekülen und/oder zytotoxischen Stoffen aus Zellkulturlösungen oder Fermentationslösungen umfassend die folgenden Schritte:
- 10 a) Bereitstellung einer Vorrichtung gemäß Anspruch 33 oder 34;
  - b) Durchleiten der Zellkulturlösung oder Fermentationslösung; und
  - c) Elution der Biomoleküle aus dem Adsorber oder gegebenenfalls Elution der zytotoxischen Stoffe aus dem Adsorber.

15

Figuren

Fig. 1

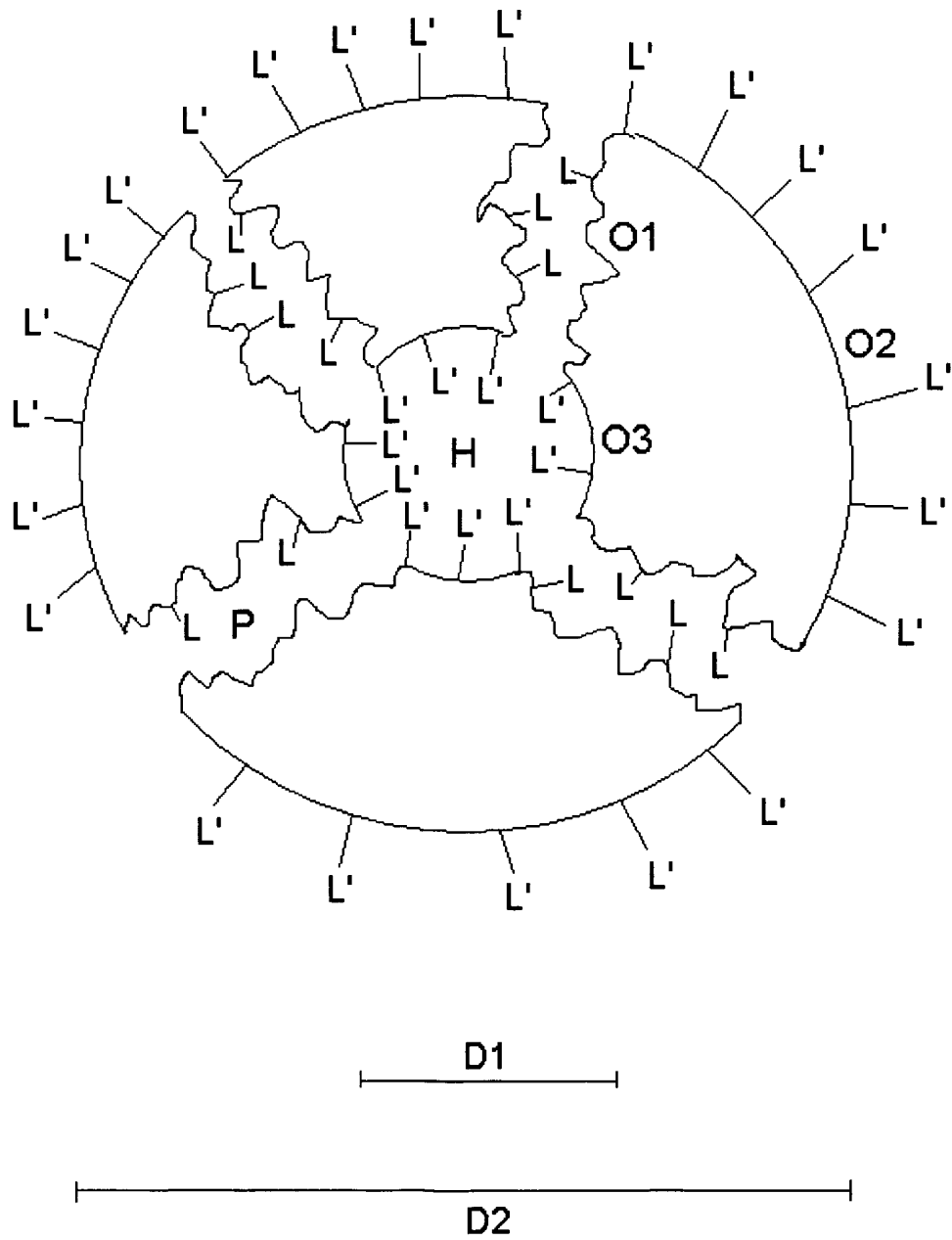


Fig. 2

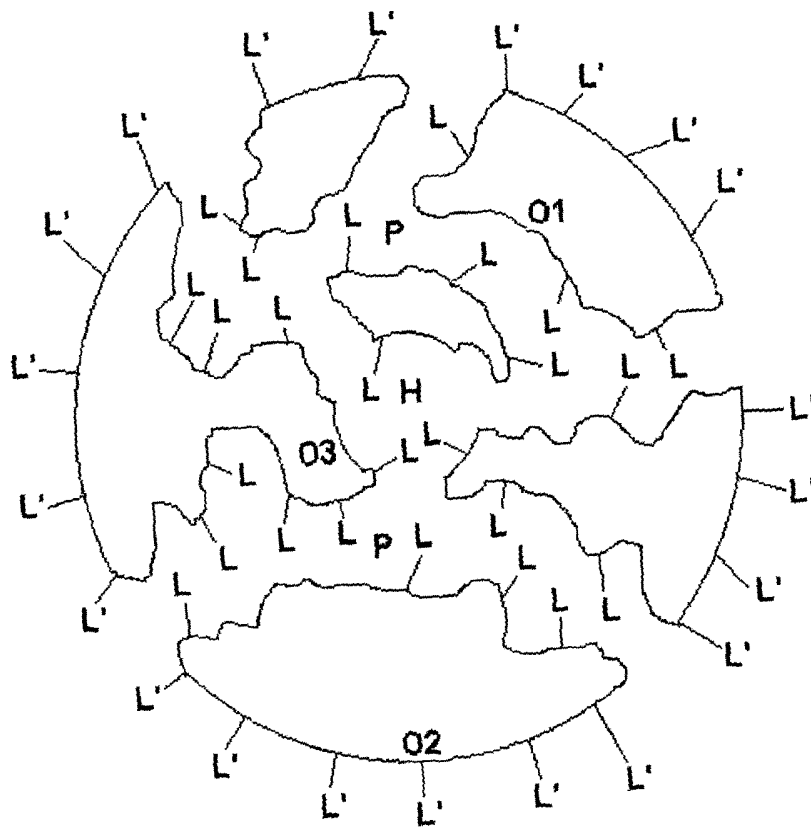


Fig. 3

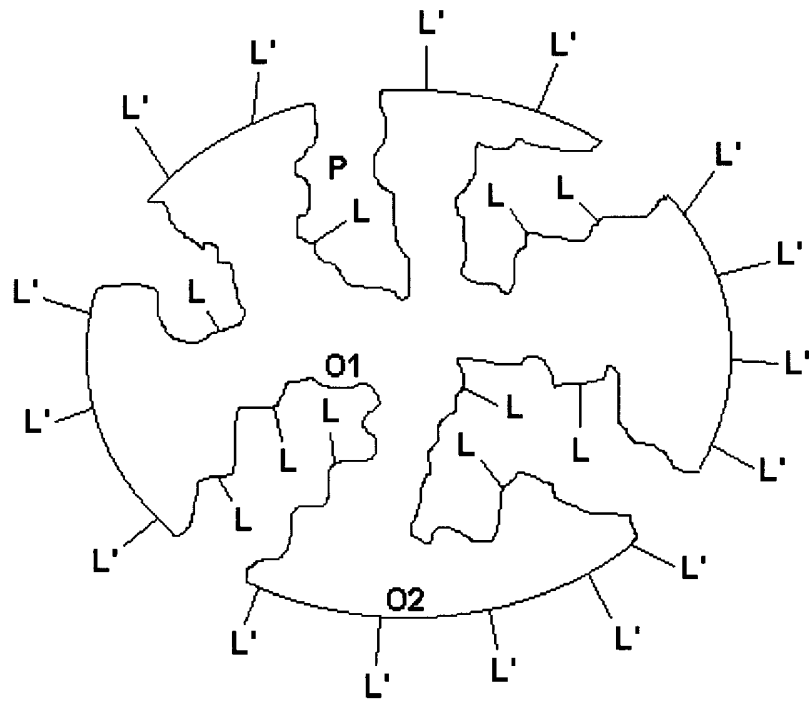


Fig. 4

