

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro



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

<p>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> : <b>B01D 15/02</b></p>	<p><b>A1</b></p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: <b>WO 00/37156</b>  (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 29. Juni 2000 (29.06.00)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/09495 (22) Internationales Anmeldedatum: 4. Dezember 1999 (04.12.99)  (30) Prioritätsdaten: 198 58 892.5 19. Dezember 1998 (19.12.98) DE  (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Postfach, D-64271 Darmstadt (DE).  (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BRITSCH, Lothar [DE/DE]; Möslestrasse 20, D-79276 Reute (DE). SCHULTE, Michael [DE/DE]; Im grossen Ramsee 20, D-65428 Rüsselsheim (DE). STRUBE, Jochen [DE/DE]; Letterhausstrasse 22, D-58099 Hagen (DE).</p>		<p>(81) Bestimmungsstaaten: CZ, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p>
<p>(54) Title: CONTINUOUS METHOD FOR SEPARATING SUBSTANCES ACCORDING TO MOLECULAR SIZE (54) Bezeichnung: KONTINUIERLICHES VERFAHREN ZUR TRENNUNG VON STOFFEN NACH MOLEKÜLGRÖSSE (57) Abstract The invention relates to continuous methods of separation, notably using simulated moving bed techniques, according to which the analytes are separated by size exclusion chromatography. (57) Zusammenfassung Kontinuierliche Trennverfahren, insbesondere unter Verwendung von SMB-Verfahren, werden offenbart, wobei die Analyte durch Size Exclusion Chromatographie (Gelpermeationschromatographie) getrennt werden.</p>		

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

## Kontinuierliches Verfahren zur Trennung von Stoffen nach Molekülgröße

5 Die Erfindung betrifft die Übertragung von chromatographischen Trennverfahren nach dem Size Exclusion Prinzip (Size Exclusion Chromatography; SEC) auf kontinuierliche Chromatographieverfahren, insbesondere auf die simulierte Gegenstrom-Chromatographie (Simulated Moving Bed (SMB) Chromatographie).

10 Die Trennung von Stoffen, insbesondere Makromolekülen, nach Molekülgröße ist ein verbreitetes chromatographisches Trennprinzip. Besonders in der Aufreinigung von Peptiden und Proteinen werden Verfahren wie die Size Exclusion Chromatographie (SEC), häufig auch Gelpermeationschromatographie genannt, im großem Umfang eingesetzt. So werden  
15 beispielsweise in dem Übersichtsartikel von G. Subramanian, Process scale liquid chromatography (VCH Weinheim 1995) präparative Anwendungen dieser Trennmethode dargestellt. Alle diese Anwendungen beruhen jedoch auf batch-Verfahren, die sich durch eine schlechte Raum-Zeit-Ausbeute auszeichnen. Die Ursache liegt zum einen in den langen  
20 Retentionszeiten der Komponenten, die eine große Zykluszeit (Zeit zwischen zwei Injektionen) bedingen. Da die meisten in der SEC eingesetzten Materialien nur eine geringe Druckstabilität aufweisen, können die Flußraten nicht erhöht werden, um eine schnellere Trennung zu erzielen. Zudem weisen die meisten Trägermaterialien eine schlechte  
25 Beladbarkeit auf (< 5% des Gelvolumens). Manche dieser Probleme ließen sich durch die Anwendung kontinuierlicher Verfahren verbessern. Es ist bisher jedoch nicht möglich, diese SEC-Trennverfahren auf kontinuierliche Verfahrensweisen anzuwenden; die Parameter für ein derartiges kontinuierliches Trennverfahren müßten durch geeignete Modellrechnungen  
30 bestimmt werden. Außerdem müssen die erhaltenen Prozeßparameter einen stabilen kontinuierlichen Betrieb erlauben.

Kontinuierliche chromatographische Verfahren, wie z.B. die Simulated Moving Bed (SMB)- Chromatographie werden traditionell im großen Maßstab in der petrochemischen und der Zuckerindustrie eingesetzt.

5 Mittlerweile finden diese Verfahren jedoch auch in der feinchemischen und pharmazeutischen Industrie Anwendung, hauptsächlich zur Trennung von Isomeren und Enantiomeren, d.h. bei Trennproblemen von klassischen Zweistoffgemischen. Erste Versuche zur Isolierung von Komponenten aus Mehrstoffgemischen wurden ebenfalls beschrieben.

10

Um geeignete Prozeßparameter für die SMB-Chromatographie zu gewinnen, wurden mehrere Simulationsmodelle entwickelt, von denen das rigoreuse SMB-Prozeßmodell den weitreichenden Ansatz aufweist. Simulationsansätze sind beispielsweise von Nicoud et al. (Nancy, 1993) und in

15 WO 97/34 918 offenbart. Gemeinsam ist diesen Verfahren, daß für die Analyte Adsorptionsisotherme ermittelt werden; diese Meßergebnisse sind dann die Grundlage der Modellrechnungen. Bei Weiterentwicklungen aus jüngerer Zeit wurden auf der Grundlage des True Counter Current Modells Trennungen von binären Mischungen im Modell dargestellt: G. Storti et al.

20

(1993) AIChE Journal **39**, Seiten 471 - 472 und von E. Francotte et al. (1998) J. Chromatogr. A **796**, Seiten 239 - 248. Bei einer weiteren Entwicklung werden ausgehend von einem ersten Parametersatz unter Anwendung von detaillierter Prozeßsimulation die Parameter optimiert: J. Strube, U. Altenhöner, M. Meurer und H. Schmidt-Traub (1997) Chem.-Ing. Tech. **69**, Seiten 328 - 331, sowie Dissertation J. Strube (Universität Dortmund, 1996). Alle diese Modelle beruhen jedoch auf der Bestimmung von Adsorptionsisothermen.

25

30

Während bisher für SMB-Verfahren angewandte chromatographische Trennverfahren, beispielsweise die Enantiomerentrennung oder die Ionenaustauschchromatographie, auf adsorptiven Vorgängen beruht,

beruht die SEC auf einem gänzlich anderen Prinzip: Für Analyte unterschiedlicher Molekülgröße stehen wegen der Porengrößenverteilung im Sorbens unterschiedliche Volumina zur Verteilung offen; somit eluieren größere Moleküle früher als kleinere. Die SEC beruht also auf einem  
5 diffusiven Mechanismus unter Einschluß eines Größenausschlußmechanismus, eine Adsorption der Analyte an das Sorbens findet nicht statt. Phasengleichgewichte wie bei der Adsorptionschromatographie liegen folglich nicht vor. Somit sind die bisher bekannten Modellierungsverfahren, die die Parameter für die SMB-Chromatographie liefern, für die  
10 SEC nicht anwendbar. Insbesondere tritt das Problem auf, die Raffinatfront der am kürzesten retinierten Komponente im Bereich der Sektion IV, d.h. zwischen Raffinat- und Eluentenleitung, zu stabilisieren. Dieses Problem wird weiter verstärkt, da bei vielen SEC Trennverfahren ein Teil der Analyte im Ausschlußvolumen (void volume) eluiert. Solche  
15 Komponenten werden durch die Zone IV transportiert und verunreinigen die Extraktkomponente. Es ist bisher unmöglich, für SEC-Trennverfahren die Prozeßparameter von batch-Rechnermodellen auf kontinuierliche Trennverfahren (z.B. SMB-Trennverfahren) zu übertragen, und somit gezielt Trennparameter für kontinuierliche Trennverfahren zu gewinnen, die  
20 einen stabilen Betrieb erlauben.

Aufgabe der Erfindung ist es also, Modelle und Verfahren zu entwickeln, die es erlauben, für SEC-Trennverfahren gezielt Trennparameter für  
25 kontinuierliche Trennverfahren zu gewinnen, die einen stabilen Betrieb erlauben.

Gegenstand der Erfindung sind kontinuierliche Trennverfahren, insbesondere unter Verwendung von SMB-Verfahren, bei denen die Analyte durch Size Exclusion Chromatographie (Gelpermeationschromatographie)  
30 getrennt werden.

Abbildung 1 zeigt die SEC-Trennung von Magermilchpulver auf einer Superformance<sup>®</sup> Säule 600 \* 16 mm, gefüllt mit Fractogel<sup>®</sup> EMD BioSEC (S), die Abbildungen 2 – 4 zeigen die Chromatogramme der Einzelkomponenten:

5	Abbildung 2	Casein-Fraktion	RT 39,5; 53,92 min
	Abbildung 3	$\beta$ -lactoglobulin A	RT 63.52 min
	Abbildung 4	alpha-Lactalbumin	RT 71,60 min

10 Abbildung 5 stellt ein Elutionschromatogramm der Einzelkomponenten dar, das als Ergebnis der erfindungsgemäßen rigorose Modellierung der Einzelsubstanzen ermittelt wurde.

15 Abbildung 6 zeigt das interne axiale Konzentrations-Profil einer SEC-SMB Anlage mit den Konzentrationen der Einzelkomponenten in den einzelnen Zonen zum Ende einer Taktzeit.

20 Eine theoretische Modellrechnung für einfache Stoffsysteme für SEC-Trennungen im batch-Verfahren wurde von Tien Gu beschrieben (Mathematic Modelling of Liquid Chromatography; Springer Verlag, 1995).

Es wurde gefunden, daß stabile Prozeßparameter für die Anwendung von SEC Trennungen in SMB-Verfahren erhalten werden können, wenn man erfindungsgemäß folgendermaßen vorgeht:

- 25 a) Die Verweilzeiten der zu trennenden Substanzen in der Trennsäule und die Bandenverbreiterung der Substanzpeaks werden berechnet. Für die Berechnung der Verweilzeiten dient beispielsweise das bereits genannte von Tien Gu (1995) angegebene Verfahren.
- 30 b) Aus den Daten, die mittels (analytischer) batch-Chromatogramme erhalten werden, werden die effektiven Porositäten für jede Komponente und die Verweilzeiten berechnet.

- 5 c) Die Bandenverbreiterung kann beispielsweise aus den effektiven molekularen Diffusionskoeffizienten berechnet werden. Die effektiven molekularen Diffusionskoeffizienten können auf der Grundlage der Stokes-Einstein-Relation und den Molekulargewichten der Komponenten abgeschätzt werden.
- d) Die Übereinstimmung der berechneten Daten (Schritte b) und c)) mit dem beobachteten Elutionsprofil wird überprüft und gegebenenfalls die berechneten Daten in weiteren Iterationsschritten besser an die experimentellen Daten angepaßt.
- 10 e) Aus den Parametern der angepaßten Modellrechnung werden, nach prinzipiell bekannten Verfahren, wie sie beispielsweise in den bereits genannten Publikationen G. Storti et al. (1993) oder Dissertation Strube (1996) angegeben sind, die notwendigen Nettoflußratenverhältnisse des SMB-Prozesse berechnet.

15

Durch die oben angegebene Vorgehensweise zur Berechnung von Verweilzeit und Bandenverbreiterung und den daraus resultierenden Parametern, können die vorbekannten Modelle (G. Storti et al. (1993) oder Dissertation Strube (1996)) auch ohne Ermittlung von Adsorptionsisothermen

20 angewandt werden.

Das vorgeschlagene Modell erwies sich als hinreichend genau als es für verschiedene Konzentrationen und lineare Geschwindigkeiten an einer Einzelsäule überprüft wurde. Dabei wird die Verteilung der Verweilzeiten

25 durch die Diffusionsparameter bestimmt, wie sie für die Innenvolumina der Sorbenspartikel gelten. Aus den Molekulargewichten der Komponenten werden nach der Stokes-Einstein Relation die effektiven molekularen Diffusionskoeffizienten abgeschätzt und in dem Modell als Stofftransportkoeffizienten berücksichtigt.

30

Erfindungsgemäß können allgemein bekannte SEC-Träger verwendet werden; bevorzugt sind druckstabile SEC-Träger, die ebenfalls kommerziell

angeboten werden, beispielsweise Fraktogel<sup>®</sup> EMD BioSEC, wie es in DE 43 16 136 offenbart ist.

5 Erfindungsgemäß werden SMB-Anlagen verwendet, wie sie ebenfalls kommerziell erhältlich sind. Dies sind beispielsweise Anlagen, welche durch Verschaltung von Zweiwegeventilen aufgebaut sind, oder Anlagen mit einem Multiportventil. Die Trennung wird unter isokratischen Bedingungen durchgeführt und kann somit in einem Simulated Moving Bed-System automatisiert werden.

10 Bei der Isolierung von Komponenten aus Mehrstoffgemischen können Komponenten, die als erste oder letzte eluieren direkt in reiner Form abgezogen werden. Zur Isolierung von Substanzen, die von beiden Seiten durch Verunreinigungen flankiert werden, kann durch Kombination  
15 mehrerer SMB-Reinigungsschritte, wie z.B. in WO 97/34 918 offenbart, eine Aufreinigung erzielt werden.

Um den speziellen Anforderungen von biotechnologischen Aufgabenstellungen an den Prozeß zur Mehrkomponententrennung  
20 gerecht zu werden, ist die sogenannte offene Betriebsweise mit 3-Zonen ohne Schließen des Kreislaufstroms besonders gut geeignet, um großmolekulare Verunreinigungen oder Anreicherungen aus dem Prozeß auszuschleusen, wenn die niedermolekulare Fraktion gewonnen werden soll, und auch um großmolekulare Produkte direkt abzuziehen.

25 Um CIP (Cleaning in Place) Anforderungen nachzukommen, ist die Betriebsweise mit Ausschleusen von Säulen in der Zone 1 oder 4 (mit den Funktionen Adsorbensregeneration und Desorbensreinigung) und Spülen sowie Regeneration und Reinigung des Adsorbens und abschnittsweise  
30 auch der Rohrleitungsteile und Bauelemente mit z.B. NaOH entscheidend zur Funktionsfähigkeit und um Anreicherungen zu vermeiden.



- Das erfindungsgemäße Trennverfahren erlaubt eine verbesserte Auftrennung von Proteinen nach Molekülgröße, da es sich in großen Anlagen kontinuierlich und vollautomatisch durchführen läßt; diese
- 5 Trennverfahren sind insbesondere auf folgenden Anwendungsgebieten anwendbar:
- Aufreinigung von Proteinen aus Milch transgener Tiere;
  - Aufreinigung von Proteinen, beispielsweise der Faktoren VIII, vW oder IX, aus Blutplasma;
  - 10 • Aufreinigung von Plasmiden;
  - ein weiteres großvolumiges Verfahren stellt die Entsalzung von Feedgemischen dar, dessen Ökonomie durch ein kontinuierliches SEC-Verfahren verbessert wird.
  - Im sogenannten Drug Targeting wird angestrebt, Arzneistoffe gezielt an
  - 15 den Ort der Wirkung zu befördern. Hierzu werden u.A. mit Arzneistoff beladene Liposomen eingesetzt. In der Herstellung dieser Liposomen besteht ein Problem in der Abtrennung nicht-eingeschlossenen Arzneistoffs von den beladenen Liposomen. Dies kann durch ein kontinuierliches SEC-Verfahren im großen Maßstab geleistet werden.
  - 20 • Neben der Fraktionierung natürlicher Makromoleküle kann das Verfahren natürlich auch auf synthetische Polymere, z.B. Polyethylenoxide, Silicone etc., angewendet werden.
  - In der Kombination mit einem Reaktivträger, wie sie in der Reaktiv-SMB eingesetzt werden, können Reaktion und Trennung in einem Schritt
  - 25 durchgeführt werden. Ein denkbarer Einsatzzweck ist die Abspaltung der TAG-Einheiten rekombinanter Proteine durch eine Protease und die gleichzeitige Abtrennung der TAG-Einheiten von den Zielproteinen durch SEC-SMB.
  - Weiterhin sind erfindungsgemäße Verfahren geeignet, Viren aus
  - 30 biologischen Produkten abzureichern, Endotoxine, besonders in aggregierter Form, zu entfernen oder auch Viren aufzureinigen.

5 Weitere Anwendungsmöglichkeiten ergeben sich aus der Variation der Porengrößenverteilung der verwendeten Träger. Beispielsweise können Systeme mit kleinporigen Gelen zur Aufreinigung von Peptiden, wie beispielsweise Insulin, eingesetzt werden.

10 Auch ohne weitere Ausführungen wird davon ausgegangen, daß ein Fachmann die obige Beschreibung im weitesten Umfang nutzen kann. Die bevorzugten Ausführungsformen und Beispiele sind deswegen lediglich als beschreibende, keineswegs als in irgendeiner Weise limitierende Offenbarung aufzufassen.

15 Die vollständige Offenbarung aller vor- und nachstehend aufgeführten Anmeldungen, Patente und Veröffentlichungen sind durch Bezugnahme in diese Anmeldung eingeführt.

20

25

30

### Anwendungsbeispiel

Die Abtrennung der Casein-Fraktion aus Magermilchpulver wird beschrieben: Für die Ermittlung der Prozeßparameter wird die Probe, sowie die wesentlichen Einzelkomponenten im batch chromatographiert:

Abbildung 1 zeigt die SEC-Trennung von Magermilchpulver auf einer Superformance® Säule 600 \* 16 mm, gefüllt mit Fractogel® EMD BioSEC (S), die Abbildungen 2 – 4 zeigen die Chromatogramme der Einzelkomponenten:

10

Abbildung 2	Casein-Fraktion	RT 39,5; 53,92 min
Abbildung 3	β-lactoglobulin A	RT 63.52 min
Abbildung 4	alpha-Lactalbumin	RT 71,60 min

15

Abbildung 5 stellt ein Elutionschromatogramm der Einzelkomponenten dar, das als Ergebnis der Iterationen bei der erfindungsgemäß vorgesehenen rigorosen Modellierung der Einzelsubstanzen ermittelt wurde.

20

Abbildung 6 zeigt das interne axiale Konzentrations-Profil einer SEC-Trennung in einer SMB Anlage mit den Konzentrationen der Einzelkomponenten in den einzelnen Zonen zum Ende einer Taktzeit. Die Prozeßparameter wurden nach dem erfindungsgemäßen Verfahren bestimmt.

Zuordnung der Komponenten:

25

Komponente	Retentionszeit	
A	106,86	
B	98,64	
C	71,39	α-Lactalbumin
D	64,16	β-Lactoglobulin
E	50,00	Casein
F	43,26	Casein

30

Eine SMB-Anlage mit folgenden Parametern ist in der Lage die Komponenten E und F (Casein) und A-D in Reinheiten > 99% zu produzieren:

5 **Prozeßparameter**

	Säulendurchmesser	26 mm
	Säulenlänge	150 mm
	Säulenanzahl	8
	Segmentierung	2:2:2:2
	Flußraten:	
10	interne Geschw. Zone I	2.7 ml/min
	Eluent	1.506 ml/min
	Extract	1.578 ml/min
	Feed	0.84 ml/min
	Feedkonzentration	100 mg/ml
	Taktzeit	21 min

15

**Vergleich Batch-Verfahren gegenüber erfindungsgemäßem SMB-**

**Verfahren:**

	Parameter	Batch	SMB
	Säulendurchmesser	26 mm	26 mm
	Säulenlänge	600 mm	150 mm
20	Säulenanzahl	1	8
	Gesamtes Säulenvolumen	319 cm <sup>3</sup>	637 cm <sup>3</sup>
	Feedkonzentration	100 mg/ml	100 mg/ml
	Feedflußrate	-	0.84 ml/min
	Injektionsvolumen	200 µl	-
	Zykluszeit	120 min	-
	Feeddurchsatz/Tag	0.636 g/d	120.96 g/d
25	Produktivität (g Feeddurchsatz/d* L Säulenvolumen)	1.99 g/d*L	189.9 g/d*L
	Eluentverbrauch (ml/g Feed)	723.6 ml/g	17.78 ml/g

30

<b>Leistungsvergleich Produktivität</b>	<b>1</b>	<b>95.43</b>
<b>Leistungsvergleich Eluentverbrauch</b>	<b>40.69</b>	<b>1</b>

5

Ein Vergleich der Produktivitäten von Batch- und SMB-Verfahren zeigt den großen Vorteil des kontinuierlichen Gegenstromverfahrens aufgrund der wesentlich ökonomischeren Ausnutzung der stationären Phase:

10

15

Erfindungsgemäß werden im Gegensatz zu adsorptiven Trennmechanismen keine Phasengleichgewichtsisothermen beschrieben, sondern erstmals für kontinuierliche Verfahren die für die Stofftrennung nach dem SEC-Verfahren charakteristischen unterschiedlichen Diffusionsgeschwindigkeiten in den Sorbenspartikeln sowie die unterschiedlichen verfügbaren Porenvolumina als Kenngrößen verwendet. Beide für die Trenneffekte von SEC-Trennverfahren charakteristischen Größen werden erstmals in dem der Erfindung zugrundeliegenden Modell realistisch berücksichtigt.

20

25

30

**Ansprüche**

1. Kontinuierliches chromatographisches Trennverfahren, dadurch  
gekennzeichnet, daß die Analyte durch Size Exclusion Chromatographie  
5 (Gelpermeationschromatographie) getrennt werden.

2. Trennverfahren nach Anspruch 1, wobei das kontinuierliche chroma-  
tographische Trennverfahren ein SMB-Verfahren darstellt.

10

15

20

25

30

Fig.1

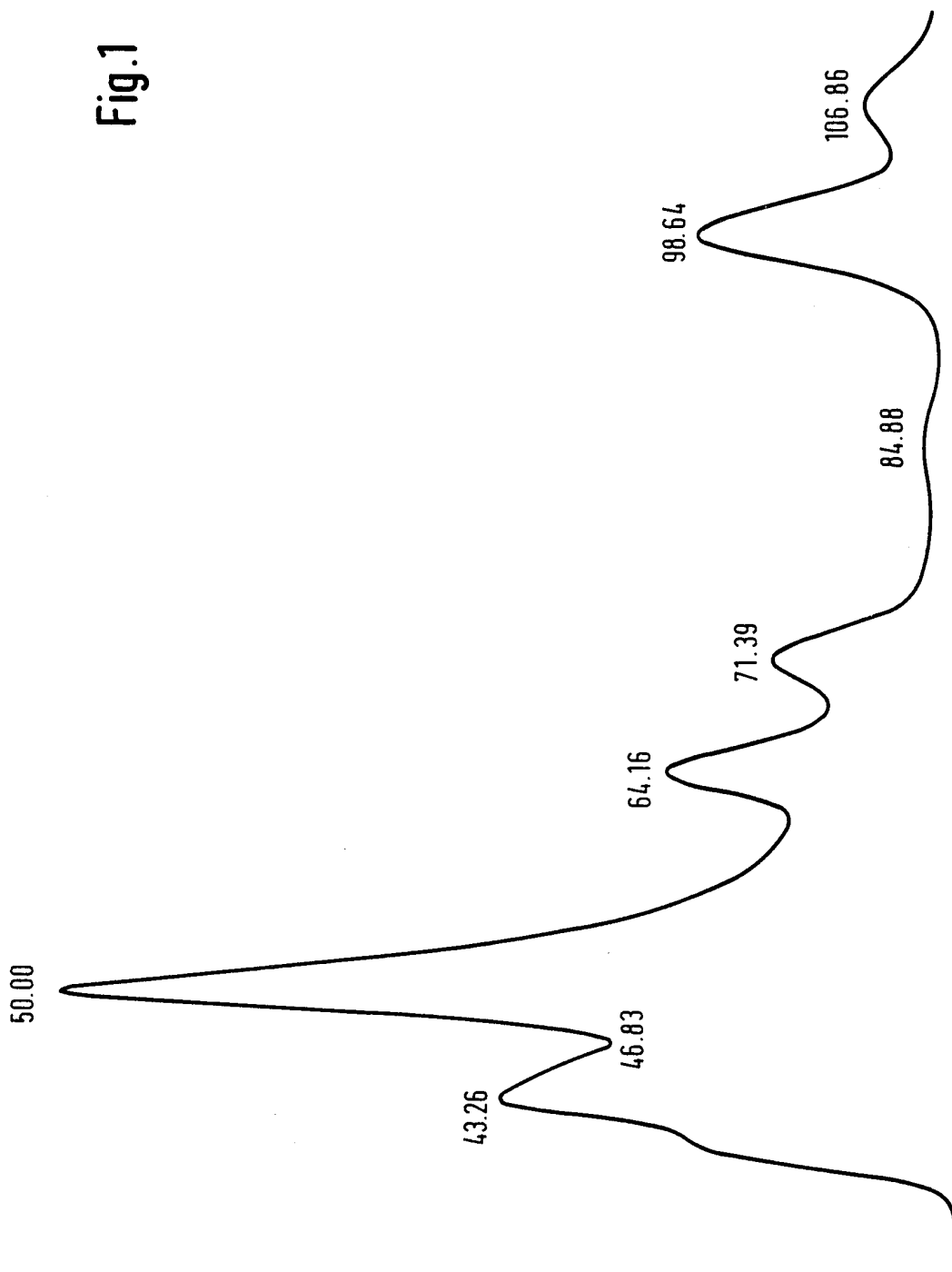


Fig.2

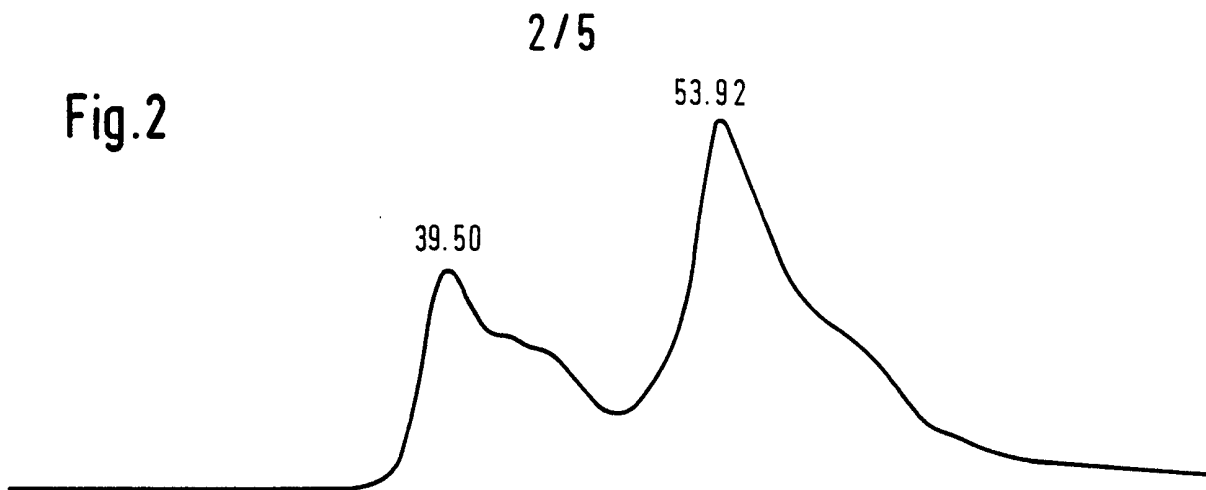


Fig.3

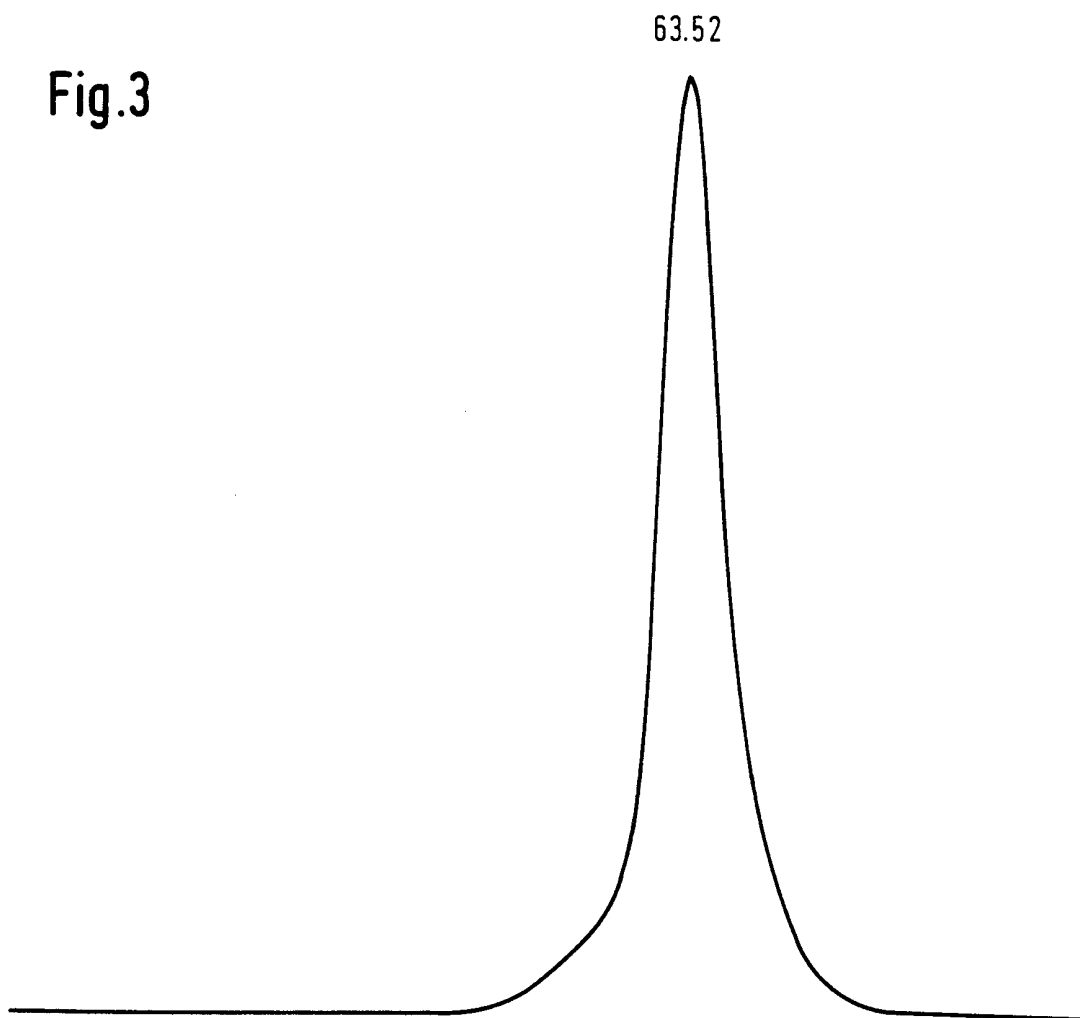




Fig.4

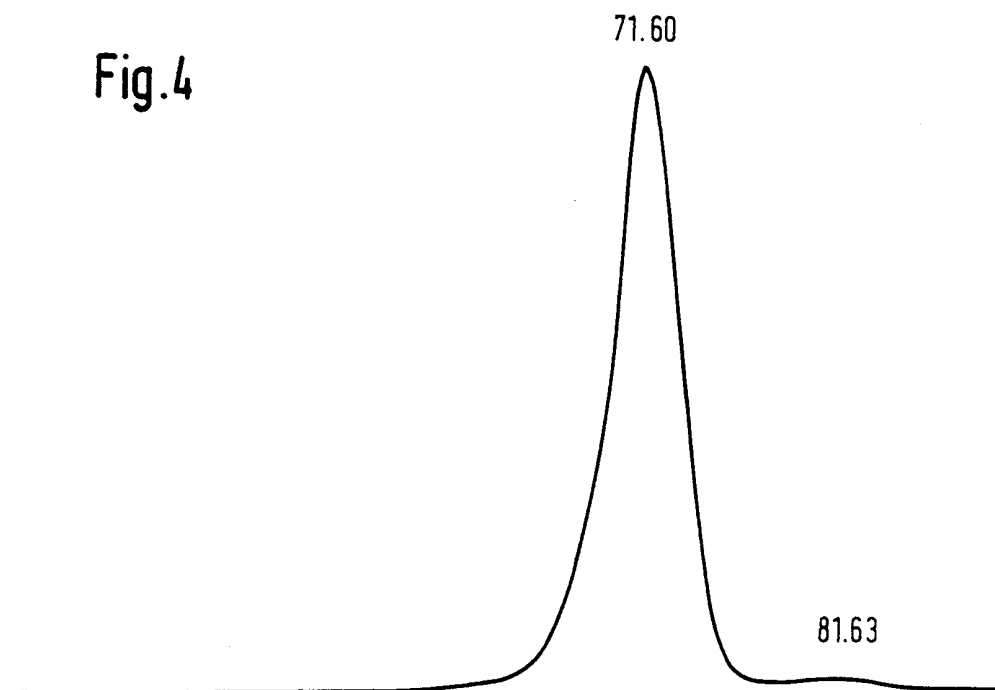
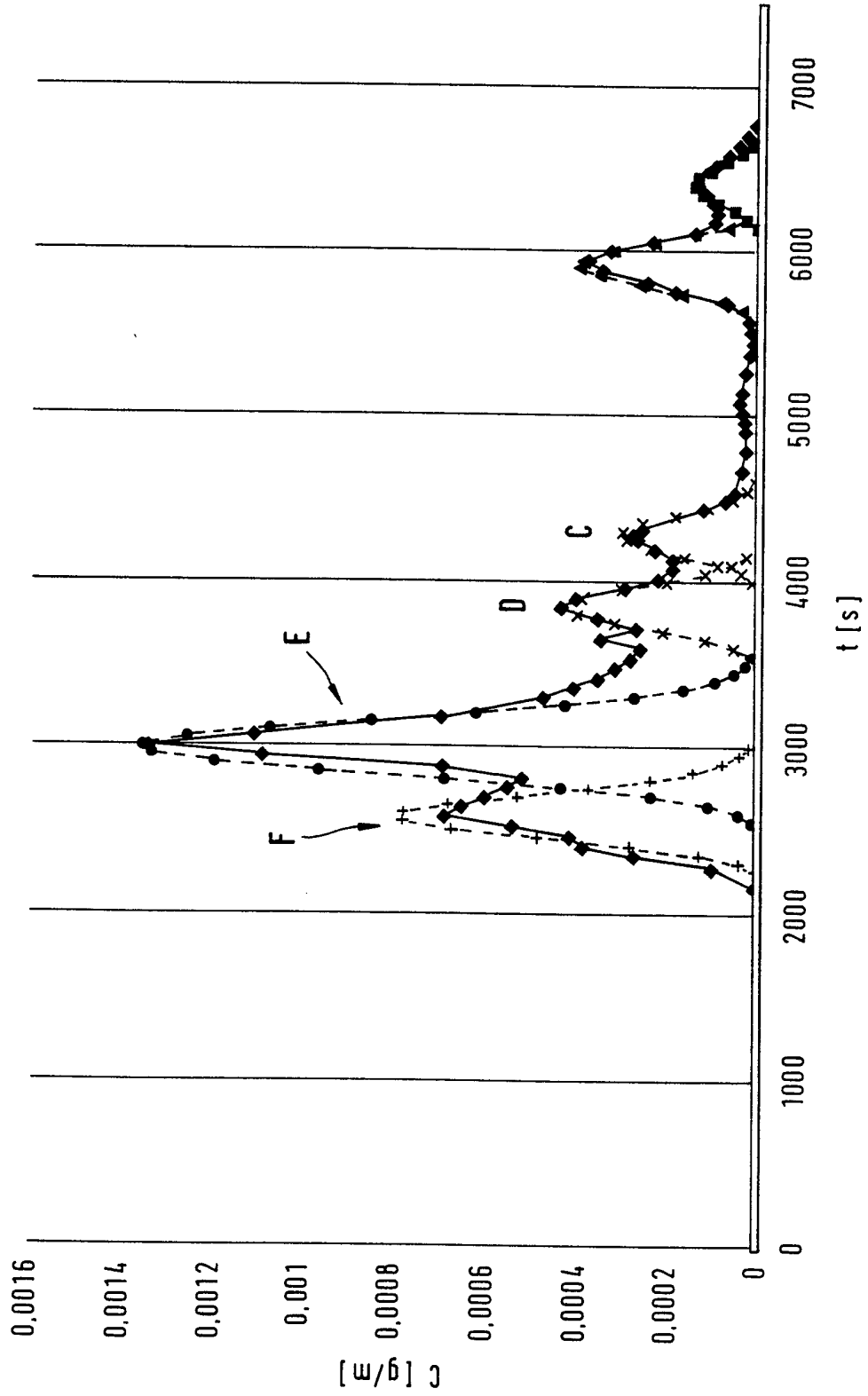
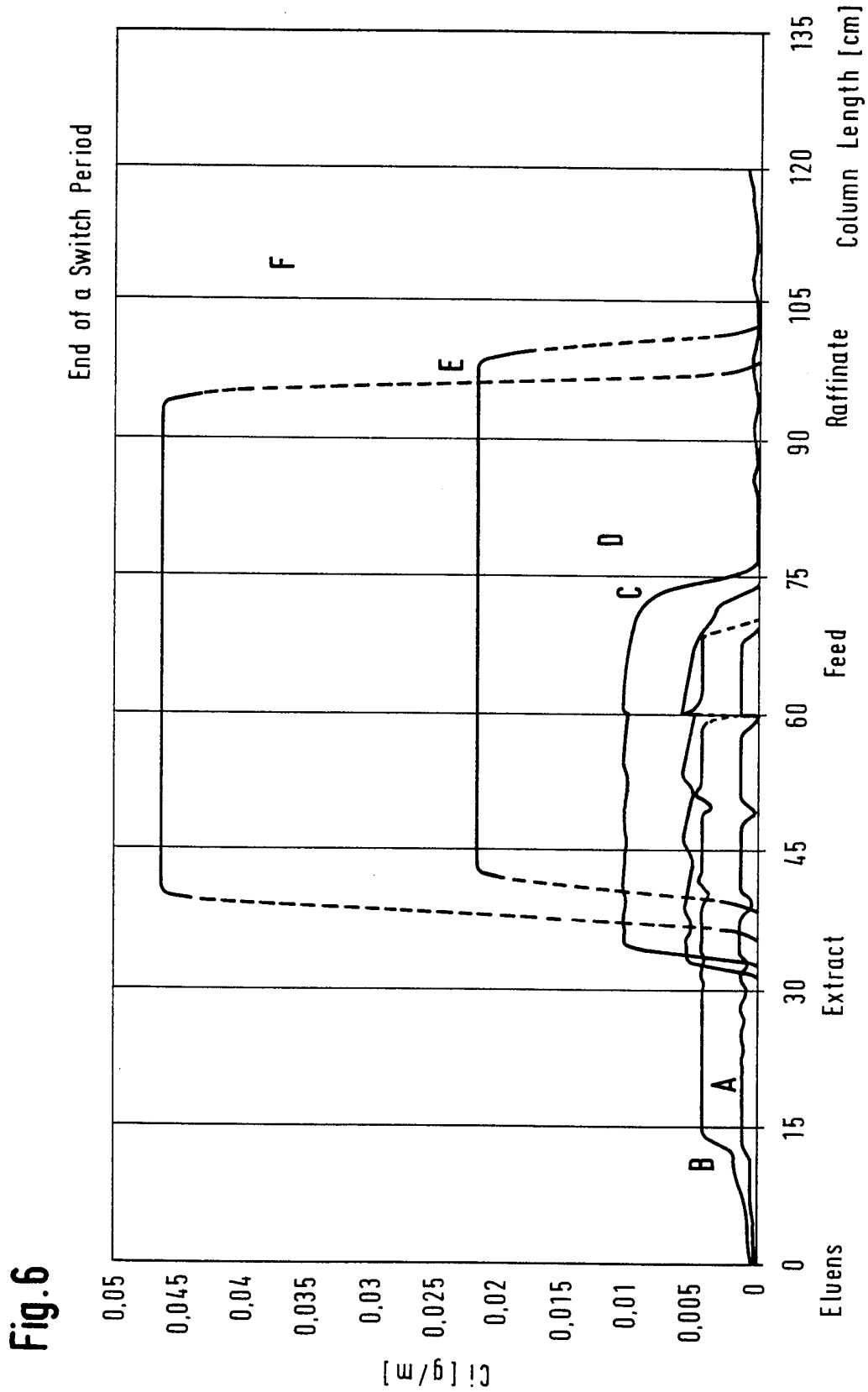


Fig. 5





# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In International Application No

PCT/EP 99/09495

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 B01D15/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 97 34918 A (ARZNEIMITTELWERK DRESDEN GMBH) 25 September 1997 (1997-09-25) cited in the application the whole document ---	1,2
A	DE 43 16 136 A (MERCK PATENT GMBH ) 17 November 1994 (1994-11-17) cited in the application the whole document -----	1,2

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 May 2000

Date of mailing of the international search report

10/05/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bertram, H

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

In International Application No <b>PCT/EP 99/09495</b>
---

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9734918      A	25-09-1997	DE 19611094 A	25-09-1997
		CN 1212703 A	31-03-1999
		CZ 9802999 A	13-10-1999
		DE 19716167 A	22-10-1998
		EP 0888382 A	07-01-1999
		HU 9901801 A	28-09-1999
		NO 984133 A	08-09-1998
		PL 329113 A	15-03-1999
		SK 122298 A	06-08-1999
DE 4316136      A	17-11-1994	AT 183937 T	15-09-1999
		DE 59408696 D	07-10-1999
		WO 9426379 A	24-11-1994
		EP 0697905 A	28-02-1996
		JP 8510327 T	29-10-1996

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In **ionales Aktenzeichen**

PCT/EP 99/09495

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
 IPK 7 B01D15/02

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RESEARCHIERTE GEBIETE**

Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
 IPK 7 B01D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 97 34918 A (ARZNEIMITTELWERK DRESDEN GMBH) 25. September 1997 (1997-09-25) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1,2
A	DE 43 16 136 A (MERCK PATENT GMBH) 17. November 1994 (1994-11-17) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1,2

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- \*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

2. Mai 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

10/05/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Bertram, H

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

In. onales Aktenzeichen  
PCT/EP 99/09495

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9734918 A	25-09-1997	DE 19611094 A CN 1212703 A CZ 9802999 A DE 19716167 A EP 0888382 A HU 9901801 A NO 984133 A PL 329113 A SK 122298 A	25-09-1997 31-03-1999 13-10-1999 22-10-1998 07-01-1999 28-09-1999 08-09-1998 15-03-1999 06-08-1999
DE 4316136 A	17-11-1994	AT 183937 T DE 59408696 D WO 9426379 A EP 0697905 A JP 8510327 T	15-09-1999 07-10-1999 24-11-1994 28-02-1996 29-10-1996