



* B R 1 1 2 0 2 0 0 0 5 2 4 B 1 *

República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 11202000524-0 B1

(22) Data do Depósito: 10/07/2018

(45) Data de Concessão: 05/09/2023

(54) Título: MÉTODO PARA INCUBAR UMA MISTURA DE PELO MENOS DOIS LÍQUIDOS E MÉTODO PARA PREPARAÇÃO UM FÁRMACO BIOFARMACÊUTICO

(51) Int.Cl.: A61L 2/00; B01F 5/06; C07K 1/36; C12N 7/06.

(30) Prioridade Unionista: 10/07/2017 EP 17180477.6; 30/01/2018 EP 18154196.2.

(73) Titular(es): TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED.

(72) Inventor(es): NIKOLAUS HAMMERSCHMIDT; JURE SENCAR; ALOIS JUNGBAUER; DUARTE LIMA MARTINS.

(86) Pedido PCT: PCT EP2018068628 de 10/07/2018

(87) Publicação PCT: WO 2019/011900 de 17/01/2019

(85) Data do Início da Fase Nacional: 09/01/2020

(57) Resumo: A presente invenção refere-se um método para a incubação líquidos, a um método para a preparação de um medicamento biofarmacêutica, e a um dispositivo para a preparação de um medicamento biofarmacêutica.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**MÉTODO PARA INCUBAR UMA MISTURA DE PELO MENOS DOIS LÍQUIDOS E MÉTODO PARA PREPARAÇÃO UM FÁRMACO BIOFARMACÊUTICO**".

CAMPO DA INVENÇÃO

[001] A presente invenção refere-se a um método para a incubação de líquidos, a um método para a preparação de um fármaco biofarmacêutico, e a um dispositivo para a preparação de um fármaco biofarmacêutico.

ANTECEDENTES

[002] Em muitos processos de operação contínua, os líquidos são misturados e a seguir incubados ao serem passados através de equipamentos de processamento, tais como tubos ou colunas. No entanto, quando da passagem através de uma estrutura que é usada no processo, as partes do líquido que ficam mais perto da superfície da estrutura tendem a fluir a uma velocidade mais baixa do que as partes do líquido que ficam mais distantes da superfície da estrutura. Por exemplo, quando uma mistura líquida flui através de um tubo oco, as partes do líquido no centro do tubo tendem a fluir a uma velocidade mais elevada do que as partes do líquido na periferia. Em consequência disto, as partes diferentes do líquido têm tempos de residência diferentes, mesmo quando todas as partes do líquido entram na estrutura ao mesmo tempo. Em outras palavras, as partes diferentes do líquido apresentam uma distribuição de tempos de residência. Se houver uma grande diferença no fluxo através do tempo entre as partes diferentes do líquido, a distribuição do tempo de residência é ampla; se houver uma pequena diferença no fluxo através do tempo entre as partes diferentes do líquido, a distribuição do tempo de residência é estreita.

[003] Uma distribuição estreita do tempo de residência é vantajosa quando as misturas líquidas devem ser incubadas por um período de

tempo definido. Por exemplo, em um processo de produção biofarmacêutica contínuo, a inativação contínua do vírus pode ser obtida ao misturar um líquido contendo produtos biofarmacêuticos com os agentes de inativação de vírus e ao incubar a mistura ao passar a mesma através de uma estrutura usada no processo por um período de tempo definido. Uma distribuição estreita do tempo de residência permite que todas as partes do líquido da mistura sejam incubadas com agente de inativação de vírus para um período de tempo similar, ou seja, aquele desejado. Dessa maneira, poderia ser evitado que algumas partes do líquido fossem expostas ao agente de inativação de vírus por um tempo suficientemente longo, o que poderia prejudicar o fármaco biofarmacêutico, ao passo que outras partes do líquido não são expostas ao agente de inativação de vírus por um tempo suficiente, o que poderia conduzir à inativação de vírus incompleta.

[004] Os métodos atualmente conhecidos para a incubação de líquidos fluentes não conferem uma distribuição estreita do tempo de residência, ou padecem de outros inconvenientes graves. Por exemplo, a abordagem mais simples para a incubação de uma mistura líquida em um processo de produção contínuo deve ser a passagem da mesma através de um tubo oco que é suficientemente longo para prover o tempo de residência mínimo desejado. No entanto, a distribuição do tempo de residência em um tubo oco é extremamente ampla e irreproduzível. Misturadores estáticos podem ser adicionados ao tubo para promover a misturação radial (Ref. 1). No entanto, para tal configuração, a escalação pode ser um problema, bem como o encaixe de misturadores estáticos em extensões longas do tubo.

[005] Alternativamente, os chamados inversores de fluxo enrolados (CFI) trabalham com a passagem de uma mistura líquida através de um tubo enrolado que tem dobras de 90° adicionais (Ref. 2). Se supõe que essa configuração aumenta a misturação radial enquanto

minimiza a misturação axial, estreitando desse modo a distribuição da residência. O sistema foi descrito recentemente para o uso na inativação de vírus contínua (Ref. 3, 4), e a mesma configuração foi usada recentemente para estreitar a distribuição do tempo de residência em uma etapa de precipitação de impurezas (Ref. 5). No entanto, o CFI provou trabalhar somente com diâmetros de tubo de 2 a 3 mm, e a escalação continua sendo um desafio porque a dinâmica de fluido no sistema muda com as dimensões do tubo. O CFI também é limitado a uma única vazão para cada desenho em questão.

[006] Recentemente, a segmentação de uma corrente do produto em um microrreator mediante a introdução de um meio de separação imiscível foi sugerida para a inativação de vírus contínua com uma distribuição estreita do tempo de residência (Ref. 6). No entanto, tal método é limitado ao uso de microrreatores, o que torna a escalação muito difícil.

[007] Devido à falta descrita acima de métodos apropriados para a incubação de líquidos fluentes com uma distribuição estreita do tempo de residência, atualmente a incubação sensível ao tempo é executada frequentemente no modo descontínuo e não no modo contínuo. No modo descontínuo, a mistura líquida é incubada em um recipiente enquanto o fluxo é interrompido pelo tempo da incubação. Em consequência disto, a produtividade (por exemplo, em termos da quantidade de líquido incubada por período de tempo, ou em termos da quantidade de um fármaco biofarmacêutico produzido por período de tempo) no modo descontínuo é geralmente menor do que a produtividade no modo contínuo.

[008] Em vista do acima exposto, há uma grande demanda quanto a métodos melhorados que permitam a incubação de líquidos por um período de tempo definido, quanto é provida uma alta produtividade.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[009] A presente invenção preenche as necessidades descritas acima e resolve os problemas acima mencionados no estado da técnica ao prover as modalidades descritas a seguir:

[0010] Em particular, os autores da presente invenção verificaram de maneira surpreendente que a passagem de um líquido através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados propicia uma distribuição mais estreita do tempo de residência do que os métodos previamente conhecidos. Desse modo, de acordo com a invenção, uma mistura de pelo menos dois líquidos pode ser incubada ao misturar pelo menos dois ditos líquidos, e ao passar a mistura através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados, em que a mistura e a passagem são executadas continuamente.

[0011] Os autores da presente invenção também verificaram que a estrutura que tem múltiplos canais interconectados pode ser um leito compactado de grânulos não porosos. Nesta modalidade, os canais interconectados são formados pelos espaços entre os grânulos não porosos. Os autores da presente invenção realizaram então numerosos experimentos para constatar que as propriedades afetam a distribuição do tempo de residência. Os autores da presente invenção verificaram de maneira surpreendente que o diâmetro médio de partícula e a distribuição de tamanho de partícula dos grânulos que formam o leito compactado têm o maior impacto na distribuição do tempo de residência na faixa testada. Especificamente, os autores da presente invenção verificaram que o dito leito compactado de grânulos não porosos provê uma distribuição particularmente estreita do tempo de residência quando os grânulos têm um diâmetro médio de partícula na faixa de 0,05 mm a 1 mm, e quando a distribuição de tamanho de partícula é estreita. Além disso, os autores da presente invenção verificaram que volumes maiores dos leitos compactados de grânulos não porosos resultam em distribuições mais estreitas do tempo de residência. Além

disso, de acordo com a invenção, leitos mais longos de grânulos (por exemplo, na forma de colunas) também resultam em distribuições mais estreitas do tempo de residência.

[0012] Ao contrário de muitos métodos atualmente usados, os métodos da presente invenção podem ser escalados facilmente. Isto ocorre porque o método da presente invenção não é muito sensível às mudanças nas vazões e às velocidades lineares da superfície, e porque a distribuição do tempo de residência fica mais estreita quando são usados leitos compactados de grânulos não porosos que têm volumes maiores e são mais longos. Desse modo, o método da presente invenção pode ser facilmente integrado a processos de produção comerciais.

[0013] De modo geral, a presente invenção fornece um meio melhorado para a incubação de líquidos mediante a provisão das modalidades preferidas descritas a seguir:

[0014] 1. Um método para a incubação de uma mistura de pelo menos dois líquidos, em que o método compreende:

i) misturação de pelo menos dois ditos líquidos para obter uma mistura; e

ii) passagem da dita mistura através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados, desse modo incubando a dita mistura.

[0015] 2. O método de acordo com o artigo 1, em que o método é um método de fluxo contínuo.

[0016] 3. O método de acordo com o artigo 1 ou 2, em que a dita misturação e passagem são executadas continuamente.

[0017] 4. O método de acordo com qualquer um dos artigos precedentes, em que a estrutura que tem múltiplos canais interconectados é um leito compactado de grânulos não porosos.

[0018] 5. O método de acordo com o artigo 4, em que os grânulos

não porosos são grânulos não porosos inertes.

[0019] 6. O método de acordo com o artigo 4 ou o artigo 5, em que os grânulos não porosos são grânulos de vidro, ou grânulos de cerâmica, ou grânulos de plástico tais como grânulos de PMMA, ou grânulos de aço.

[0020] 7. O método de acordo com qualquer um dos artigos 4 a 6, em que o diâmetro médio de partícula dos grânulos não porosos fica na faixa de 0,05 a 1 mm, de preferência na faixa de 0,05 a 0,6 mm, com mais preferência de 0,05 a 0,5 mm, e com mais preferência na faixa de 0,05 a 0,3 mm.

[0021] 8. O método de acordo com qualquer um dos artigos 4 a 7, em que 95% dos grânulos não porosos não desviam do diâmetro médio de partícula em mais do que 50%, de preferência não mais do que 35%, e com mais preferência não mais do que 20%.

[0022] 9. O método de acordo com qualquer um dos artigos 1 a 8, em que a estrutura que tem múltiplos canais interconectados tem um comprimento de pelo menos 5 cm, ou de pelo menos 10 cm, ou de pelo menos 20 cm, ou de pelo menos 30 cm, ou de pelo menos 50 cm, ou de pelo menos 70 cm, ou de pelo menos 100 cm.

[0023] 10. O método de acordo com qualquer um dos artigos 1 a 9, em que a estrutura que tem múltiplos canais interconectados tem um comprimento de pelo menos 20 cm.

[0024] 11. O método de acordo com qualquer um dos artigos 4 a 10, em que o leito compactado de grânulos não porosos pode ser obtido por um método que compreende a sujeição dos ditos grânulos não porosos a um tratamento de vibração.

[0025] 12. O método de acordo com qualquer um dos artigos 4 a 11, em que para o leito compactado de grânulos não porosos, a fração entre o volume de espaços vazios e o volume total fica na faixa de 0,2 a 0,45.

[0026] 13. O método de acordo com qualquer um dos artigos 4 a 12,

em que para o leito compactado de grânulos não porosos, a fração entre o volume de espaços vazios e o volume total fica na faixa de 0,37 a 0,42.

[0027] 14. O método de acordo com qualquer um dos artigos 4 a 13, em que o leito compactado de grânulos não porosos é contido em uma coluna e/ou em um reator.

[0028] 15. O método de acordo com o artigo 14, em que a coluna tem um diâmetro de mais de 5 mm, de preferência um diâmetro de pelo menos 10 mm.

[0029] 16. O método de acordo com qualquer um dos artigos 4 a 15, em que o volume de espaços vazios do leito compactado de grânulos não porosos é pelo menos 10 ml, de preferência de pelo menos 40 ml, com mais preferência de pelo menos 150 ml, ainda com mais preferência de pelo menos 470 ml e ainda com maior preferência de pelo menos 700 ml.

[0030] 17. O método de acordo com qualquer um dos artigos 1, 9 e 10, em que a estrutura que tem múltiplos canais interconectados é um monólito ou uma estrutura pré-fundida tal como uma geometria impressa em 3D.

[0031] 18. O método do artigo 17, em que a estrutura que tem múltiplos canais interconectados é um monólito, e em que para o monólito, a fração entre o volume de espaços vazios e o volume total fica na faixa de 0,5 a 0,75.

[0032] 19. O método de acordo com qualquer um dos artigos 1 a 18, em que o método é para a inativação do vírus, e em que um primeiro de pelo menos dois ditos líquidos é um líquido que contém potencialmente um vírus, e em que um segundo líquido de pelo menos dois ditos líquidos compreende um agente de inativação de vírus.

[0033] 20. O método de acordo com o artigo 19, em que o dito primeiro líquido compreende um fármaco biofarmacêutico.

[0034] 21. O método de acordo com o artigo 19 ou 20, em que o

método é para a inativação do vírus de vírus envelopados.

[0035] 22. O método de acordo com qualquer um dos artigos 19 a 21, em que o dito vírus é um retrovírus e/ou um vírus da família Flaviviridae.

[0036] 23. O método do artigo 22, em que o dito vírus é um retrovírus, de preferência X-MuLV.

[0037] 24. O método do artigo 22, em que o dito vírus é um vírus da família Flaviviridae, de preferência BVDV.

[0038] 25. O método de acordo com qualquer um dos artigos 19 a 24, em que o agente de inativação de vírus é uma mistura de solvente/detergente apropriada para o tratamento de inativação de vírus com solvente/detergente, ou uma solução ácida apropriada para o tratamento de inativação de vírus de baixo pH.

[0039] 26. O método de acordo com qualquer um dos artigos 19 a 25, em que o agente de inativação de vírus é uma mistura de solvente/detergente para o tratamento com solvente-detergente.

[0040] 27. O método de acordo com qualquer um dos artigos 19 a 26, em que o método provê pelo menos um valor de redução 1 Log₁₀ (LRV), pelo menos um 2 LRV, pelo menos um 4 LRV ou pelo menos um 6 LRV para pelo menos um vírus.

[0041] 28. O método de acordo com o artigo 27, em que pelo menos um dito vírus é um vírus de acordo com qualquer um dos artigos 22 a 24.

[0042] 29. O método de acordo com qualquer um dos artigos 1 a 28, em que a velocidade linear da superfície da dita estrutura da dita mistura é igual a ou menor do que 600 cm/h, ou igual a ou menor do que 300 cm/h, ou igual a ou menor do que 200 cm/h, ou igual a ou menor do que 100 cm/h, ou igual a ou menor do que 50 cm/h, ou igual a ou menor do que 20 cm/h.

[0043] 30. O método de acordo com qualquer um dos artigos 1 a 29,

em que o número de Bodenstein da dita mistura quando passa através da dita estrutura que tem múltiplos canais interconectados é igual a ou maior do que 50, de preferência igual a ou maior do que 300, com mais preferência igual a ou maior do que 400, ainda com maior preferência igual a maior do que 500, ainda com mais preferência igual a ou maior do que 600, e com a máxima preferência igual a ou maior do que 800.

[0044] 31. Um método para a preparação de um fármaco biofarmacêutico, em que o método que compreende a execução do método de qualquer um dos artigos 20 a 31, e a recuperação do dito fármaco biofarmacêutico.

[0045] 32. Um dispositivo para a preparação de um fármaco biofarmacêutico, em que o dispositivo compreende um leito compactado de grânulos não porosos.

[0046] 33. O dispositivo de acordo com o artigo 32, em que os grânulos não porosos são grânulos não porosos inertes.

[0047] 34. O dispositivo de acordo com o artigo 32 ou o artigo 33, em que os grânulos não porosos são grânulos de vidro, ou grânulos de cerâmica, ou de grânulos plástico tais como grânulos de PMMA, ou grânulos de aço.

[0048] 35. O dispositivo de acordo com qualquer um dos artigos 32 a 34, em que o diâmetro médio de partícula dos grânulos não porosos fica na faixa de 0,05 a 1 mm, de preferência na faixa de 0,05 a 0,6 mm, com mais preferência na faixa de 0,05 a 0,5 mm, e com mais preferência na faixa de 0,05 a 0,3 mm.

[0049] 36. O dispositivo de acordo com nenhum dos artigos 32 a 35, em que os grânulos não porosos não desviam do diâmetro médio de partícula em mais do que 50%, de preferência não mais do que 35%, e com mais preferência não mais do que 20%.

[0050] 37. O dispositivo de acordo com qualquer um dos artigos 32 a 36, em que o leito compactado de grânulos não porosos tem um

comprimento de pelo menos 5 cm, ou de pelo menos 10 cm, ou de pelo menos 20 cm, ou de pelo menos 30 cm, ou de pelo menos 50 cm, ou de pelo menos 70 cm, ou de pelo menos 100 cm.

[0051] 38. O dispositivo de acordo com qualquer um dos artigos 32 a 37, em que o leito compactado de grânulos não porosos tem um comprimento de pelo menos 20 cm.

[0052] 39. O dispositivo de acordo com qualquer um dos artigos 32 a 38, em que o leito compactado de grânulos não porosos pode ser obtido por um método que compreende a sujeição dos ditos grânulos não porosos a um tratamento de vibração.

[0053] 40. O dispositivo de acordo com qualquer um dos artigos 32 a 39, em que para o leito compactado de grânulos não porosos, a fração entre o volume de espaços vazios e o volume total fica na faixa de 0,2 a 0,45.

[0054] 41. O dispositivo de acordo com qualquer um dos artigos 32 a 39, em que para o leito compactado de grânulos não porosos, a fração entre o volume de espaços vazios e o volume total fica na faixa de 0,37 a 0,42.

[0055] 42. O dispositivo de acordo com qualquer um dos artigos 32 a 41, em que o leito compactado de grânulos não porosos é contido em uma coluna e/ou em um reator.

[0056] 43. O dispositivo de acordo com o artigo 42, em que a coluna tem um diâmetro de mais de 5 mm, de preferência um diâmetro de pelo menos 10 mm.

[0057] 44. O dispositivo de acordo com qualquer um dos artigos 32 a 43, em que o volume de espaços vazios do leito compactado de grânulos não porosos é de pelo menos 10 ml, de preferência de pelo menos 40 ml, com mais preferência de pelo menos 150 ml, ainda com mais preferência de pelo menos 470 ml e ainda com maior preferência de pelo menos 700 ml.

[0058] 45. O dispositivo de acordo com qualquer um dos artigos 32 a 44, em que o dispositivo compreende adicionalmente um ou múltiplos misturadores, que são conectados ao leito compactado de grânulos não porosos.

[0059] 46. O dispositivo de acordo com o artigo 45, em que o misturador é um misturador estático tal como um misturador de junção em T, ou em que o misturador é um misturador dinâmico tal como um agitador dinâmico.

[0060] 47. O dispositivo de acordo com qualquer um dos artigos 32 a 46, em que o dispositivo compreende adicionalmente um filtro, e em que o filtro é posicionado de preferência entre o leito compactado de grânulos não porosos e um misturador estático de acordo com o artigo 45 ou 46.

[0061] 48. O dispositivo de acordo com o artigo 47, em que o filtro tem um tamanho de poro de 0,2 μm .

[0062] 49. O dispositivo de acordo com qualquer um dos artigos 32 a 48, em que o dispositivo é um reator de fluxo contínuo.

[0063] 50. Um método para a modificação de um processo de inativação de vírus de fluxo contínuo, em que a modificação compreende o uso de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados para a inativação de fluxo contínuo do vírus, e a passagem de uma mistura de pelo menos dois líquidos através da dita estrutura, desse modo incubando a dita estrutura para a inativação de vírus.

[0064] 51. O método de acordo com o artigo 50, em que o dito processo de inativação de vírus de fluxo contínuo é um processo para a preparação de um fármaco biofarmacêutico.

[0065] 52. O método de acordo com qualquer um dos artigos 50 a 51, em que o dito processo de inativação de vírus usa um agente de inativação de vírus para a inativação do vírus, e em que um primeiro de

pelo menos dois ditos líquidos é um líquido que contém potencialmente um vírus, e em que um segundo líquido de pelo menos dois ditos líquidos compreende um agente de inativação de vírus.

[0066] 53. O método de acordo com qualquer um dos artigos 50 a 52, em que o dito processo de inativação de vírus é para a inativação de vírus de vírus envelopados.

[0067] 54. O método de acordo com o artigo 52 ou 53, em que o agente de inativação de vírus usado no dito processo de inativação de vírus é uma mistura de solvente/detergente apropriada para o tratamento de inativação de vírus com solvente/detergente, ou uma solução ácida apropriada para o tratamento de inativação de vírus de baixo pH.

[0068] 55. O método de acordo com o artigo 54, em que o agente de inativação de vírus usado no dito processo de inativação de vírus é uma mistura de solvente/detergente para o tratamento com solvente-detergente.

[0069] 56. O método de acordo com qualquer um dos artigos 50 a 55, em que a modificação compreende a modificação do processo de inativação de vírus para obter pelo menos um valor de redução 1 Log₁₀ (LRV), pelo menos um 2 LRV, pelo menos um 4 LRV ou pelo menos um 6 LRV para pelo menos um vírus.

[0070] 57. O método de acordo com qualquer um dos artigos 50 a 56, em que a modificação compreende a modificação do processo de inativação de vírus de maneira tal que o número de Bodenstein da mistura que passa através da dita estrutura que tem múltiplos canais interconectados é igual a ou maior do que 50, de preferência igual a ou maior do que 300, com mais preferência igual a ou maior do que 400, ainda com mais preferência igual a ou maior do que 500, ainda com maior preferência igual a ou maior do que 600, e com a máxima preferência igual a ou maior do que 800.

[0071] 58. O método de acordo com qualquer um dos artigos 50 a 57, em que a modificação compreende a modificação do processo de inativação de vírus de maneira tal que a velocidade linear da superfície da mistura através da dita estrutura é igual a ou menor do que 600 cm/h, ou igual a ou menor do que 300 cm/h, ou igual a ou menor do que 200 cm/h, ou igual a ou menor do que 100 cm/h, ou igual a ou menor do que 50 cm/h, ou igual a ou menor do que 20 cm/h.

[0072] 59. O método de acordo com qualquer um dos artigos 50 a 58, em que a modificação compreende o uso de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados tal como definido em qualquer um dos artigos 4 a 18.

[0073] 60. O método de acordo com qualquer um dos artigos 56 a 59, em que a modificação compreende o ajuste do fluxo através do tempo da dita mistura na dita estrutura para obter o dito valor de redução Log10 (LRV), e em que o fluxo através do tempo é ajustado ao ajustar a velocidade linear da superfície da mistura e/ou o volume de espaços vazios da dita estrutura.

[0074] Deve ser compreendido que, embora as modalidades preferidas acima recitem "a incubação de uma mistura de pelo menos dois líquidos" e "a mistura de pelo menos dois ditos líquidos para obter uma mistura", a invenção não fica limitado ao uso de pelo menos dois líquidos. Por exemplo, um método da invenção também pode ser um método para a incubação de uma mistura de pelo menos um líquido e pelo menos um sólido, em que o método compreende i) a mistura de pelo menos um dito líquido e pelo menos um dito sólido para obter uma mistura; e ii) a passagem da dita mistura através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados, desse modo incubando a dita mistura. Por exemplo, em um método para a inativação de vírus de acordo com a invenção, um agente de inativação de vírus pode ser adicionado na forma de pelo menos um sólido. De preferência, o sólido

pode estar na forma de um pó. Também deve ser compreendido que todas as modalidades preferidas indicadas acima também se aplicam a este método que usa pelo menos um líquido e pelo menos um sólido.

[0075] Além disso, também deve ser compreendido que, quando as modalidades preferidas acima recitam "a incubação de uma mistura de pelo menos dois líquidos" e "a misturação de pelo menos dois ditos líquidos para obter uma mistura", a invenção não fica limitado a essas etapas do método, mas também pode ser executada como um método no qual a etapa de misturação é omitida. Por exemplo, a invenção também se refere a um método para a incubação de um líquido ou para a incubação de uma mistura de pelo menos dois líquidos, em que o método compreende a passagem do dito líquido ou da dita mistura através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados, desse modo incubando o dito líquido ou a dita mistura. Também deve ser compreendido que todas as modalidades preferidas indicadas acima também se aplicam a este método. A invenção também se refere a um método para a incubação de uma mistura de pelo menos um líquido e pelo menos um sólido, em que o método compreende a passagem da dita mistura através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados, desse modo incubando a dita mistura. Outra vez será compreendido que todas as modalidades preferidas indicadas acima também se aplicam a este método.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[0076] Figura 1: A) Exemplo de um perfil UV de um experimento de ruptura. Os volumes da eluição (EV) aos sinais de 5% e de 50% são indicados pelas linhas verticais tracejadas. B) Perfis de ruptura diferentes com números de EV/EV e números de Bodenstein correspondentes. O começo do perfil (que é crucial para a inativação do vírus) é mais bem refletido no número de EV/EV do que no número de Bodenstein.

[0077] Figura 2: A comparação entre os experimentos de ruptura ao usar um tampão de acetona e um tampão contendo solvente/detergente. São listadas as colunas e as velocidades lineares de superfície às quais os pares de experimentos com sistemas de tampão diferentes foram executados. Os parâmetros das curvas de ruptura (ou seja, $EV_{5\%}/EV_{50\%}$ e números de Bodenstein) foram calculados para cada sistema de tampão. SD = combinação do tampão fluido do processo e do tampão fluido do processo com a adição de produtos químicos solventes/detergentes.

[0078] Figura 3: A comparação entre os experimentos de ruptura ao usar um tampão de acetona e um tampão contendo solvente/detergente. Cada ponto de dado representa um par de experimentos com os mesmos ajustes e sistemas de tampão diferentes: Água e acetona a 2% (Acetona), tampão fluido do processo com a adição de produtos químicos solventes/detergentes (SD). Os parâmetros calculados das curvas de ruptura $EV_{5\%}/EV_{50\%}$ e número de Bodenstein são muito bem correlacionados entre os sistemas de tampão.

[0079] Figura 4: Influência de parâmetros da coluna e da velocidade linear da superfície no número de Bodenstein e $EV_{1\%}/EV_{50\%}$.

[0080] Figura 5: Influência do comprimento da coluna no número de Bodenstein e $EV_{1\%}/EV_{50\%}$ como uma medida da excelência para RTD. As colunas foram compactadas com grânulos do mesmo grupo. A nomenclatura da coluna usada por todas as presentes figuras segue o seguinte princípio: Por exemplo, para uma coluna denominada "JS_10_ceramic_HR_26/19.5_0.125_0.25mm", "10" é um número inteiro singular dado à coluna, "cerâmica" denota o material de grânulos não porosos, "26" é o diâmetro da coluna [mm], "19.5" é uma altura do leito compactado [cm] e "0.125_0.25mm" é a faixa de tamanho de partícula indicada pelos dados do fabricante dos grânulos.

[0081] Figura 6: Influência das velocidades lineares da superfície em $EV_{1\%}/EV_{50\%}$.

[0082] Figura 7: Modelo de predição de menores quadrados parciais (PLS) para os parâmetros de excelência de RTD. A predição é baseada no comprimento da coluna, no volume da coluna, na velocidade linear da superfície, no diâmetro médio do grânulo e na faixa de diâmetro de grânulo.

[0083] Figura 8: Modelo da predição de PLS para os parâmetros de excelência de RTD. A predição é baseada no comprimento da coluna, no volume da coluna, no diâmetro médio do grânulo e na faixa de diâmetro de grânulo.

[0084] Figura 9: A influência da qualidade da compactação em RTD. A coluna JS_07 foi compactada à mão com muitas bolhas de ar (isto é, a qualidade da compactação era má). A baixas velocidades lineares da superfície baixas, a coluna mal compactada também teve um desempenho similar àquele das colunas compactadas com grânulos maiores. No entanto, a velocidades lineares da superfície mais elevadas teve um mau desempenho.

[0085] Figura 10: Redução do limite de detecção (LOD). Os experimentos de ruptura foram executados ao usar acetona a 10%. A correlação entre $EV_{0,03\%}/EV_{50\%}$ ($\theta_{0,03\%}$) e $EV_{1\%}/EV_{50\%}$ ($\theta_{1\%}$) foi boa, especialmente para colunas bem compactadas.

[0086] Figura 11: Comparação das colunas compactadas com grânulos não porosos de acordo com a presente invenção e inversores de fluxo enrolados conhecidos (CFI) em termos de números de Bodenstein. Grânulos de vidro não porosos foram usados no leito compactado.

[0087] Figura 12: Comparação das colunas compactadas com grânulos não porosos de acordo com a presente invenção e inversores de fluxo enrolados conhecidos (CFI) em termos de números de

Bodenstein. Grânulos de cerâmica não porosos foram usados no leito compactado.

[0088] Figura 13: Comparação das colunas compactadas com grânulos não porosos de acordo com a presente invenção e inversores de fluxo enrolados conhecidos (CFI) em termos de números de Bodenstein. Grânulos de vidro não porosos, grânulos de plástico de PMMA, ou grânulos de cerâmica foram usados no leito compactado.

[0089] Figura 14: Modalidade exemplificadora do dispositivo para a preparação de um fármaco biofarmacêutico que pode ser usada para a inativação de vírus.

[0090] Figura 15: As respostas da injeção de pulso são derivadas suavizadas de curvas de ruptura experimentais. A linha cinzenta grossa representa o perfil de eluição do pior caso quando o ponto de LOD é mantido fixo em ambas as dimensões. A curva preta grossa representa os dados experimentais. A queda de sinal no começo é uma consequência dos tubos de descarga no desvio antes de redirecionar a amostra através da coluna.

[0091] Figura 16: A, B: O tempo de residência requerido do começo da curva de ruptura detectável (tempo de LOD) dependendo do limite da detecção (LOD) e da razão de redução viral requerida que assume o mesmo LRV é obtido no modo de incubação do grupo em 60 minutos e uma cinética de redução de vírus logarítmica.

[0092] Figura 17: Misturação dos líquidos antes de entrar no reator de inativação de vírus contínua (CVI). A: Misturação de dois líquidos. B: Misturação de três líquidos. C: Misturação de qualquer número de líquidos.

[0093] Figura 18: Ordem de misturação dos líquidos antes de entrar no reator de inativação de vírus (CVI). A: Misturação de dois líquidos. B: Misturação de três líquidos onde dois líquidos são misturados antes que o terceiro líquido seja misturado com a mistura resultante. C: A

misturação de qualquer número de líquidos antes da mistura de líquidos adicionais é possível.

[0094] Figura 19: Etapas do processo exemplificadoras (e unidades correspondentes do reator) a montante da inativação de vírus (CVI). A: Um tanque de surto é incorporado antes da inativação de vírus. (esquerda) Cromatografia de batelada a montante da CVI. (meio) Cromatografia de carregamento em contracorrente de CVI. (direita) Cromatografia de leito móvel simulada a montante de CVI. B: Processamento direto sem emenda sem um tanque de surto. (esquerda) Cromatografia de batelada. (meio) Cromatografia de carregamento em contracorrente. (direita) Cromatografia de leito móvel simulada.

[0095] Figura 20: Etapas do processo exemplificadoras (e unidades correspondentes do reator) de inativação de vírus. A: extração de solvente-detergente no modo de contracorrente. B: extração de solvente-detergente no modo de concorrente. C: Cromatografia de batelada. D: Cromatografia de carregamento em contracorrente. E: Cromatografia de leito móvel simulado.

[0096] Figura 21: A: Uma grande coluna de 1,75 l tem um número de Bodenstein muito maior (distribuição do tempo de residência muito mais estreita) do que qualquer coluna (menor) de escala de laboratório, ao passo que algumas das colunas de escala de laboratório já superam completamente os reatores do inversor de fluxo enrolado em termos do número de Bodenstein. B: O mesmo que o painel A, exceto pelo fato que as escalas estão na forma logarítmica. C: A grande coluna de 1,75 l tem um desempenho muito bom. Em comparação, uma coluna menor ($d = 26 \text{ mm}$, $l = 19,5 \text{ cm}$) compactada com o mesmo grupo de grânulos que atingiu uma contagem de $EV_{1\%}/EV_{50\%}$ na faixa de 0,88 a 0,92 e números de Bodenstein na faixa de 800 a 1.800.

[0097] Figura 22: Representação de um exemplo ilustrativo de um dispositivo de vibração usado para a compactação da coluna. 1. Motor

de vibração, 2. Quadro de aço, 3. Coluna, 4. Sensor de movimento, 5. Registrador de dados, 6. Controle de potência.

[0098] Figura 23: Explicação ilustrativa da velocidade linear da superfície [cm/h]: A velocidade linear da superfície é a velocidade linear à qual o fluido se desloca supondo que a estrutura (por exemplo, o leito compactado de grânulos não porosos) está vazia, por exemplo, não preenchida com os grânulos. Uma estrutura exemplificadora (ilustrada na forma de um cilindro que é preenchido com canais interconectadas (B) ou vazio (A)) é mostrada na figura.

[0099] Figura 24: Diagrama da configuração de CVI. A instalação consiste em duas bombas, um misturador e a CVI.

[00100] Figura 25: Perfil da concentração na saída para o processo de CVI. O gráfico mostra a concentração de saída (C) normalizada para a concentração na entrada (C_0). O processo é dividido em duas fases: uma fase de partida (ou latência) e uma fase de estado estável. A fase de partida é representada por uma porção de 0% de concentração inicial da curva e uma transição subsequente de 0 a 100% da concentração. A fase de partida representa o deslocamento e o esmaecimento da fase líquida previamente dentro do CVIR até que a concentração na saída combine com aquela na entrada. A fase de estado estável é representada pela porção de 100% de concentração da curva. Neste exemplo, o estado estável começa antes de $2 V_R$.

[00101] Figura 26: Resultados do título do vírus para o processo de CVI a um tempo de incubação de 30 e 60 minutos (no gráfico da esquerda e da direita, respectivamente). O marcador a $0 V_R$ representa o título de X-MuLV do item de teste encravado antes de misturar com os componentes de S/D. Os marcadores a 1, 2, 3, 4 e $5 V_R$ representam os títulos de X-MuLV na saída de CVIR após a operação para 1, 2, 3, 4 e 5 volumes do reator, respectivamente. Os marcadores totais mostram que o título do vírus e os marcadores abertos representam amostras

com os títulos abaixo de LOD.

[00102] Figura 27: O LRV para várias amostras coletadas durante o processo de inativação de vírus contínua com tempos de incubação de 30 e 60 minutos (topo e fundo, respectivamente). As amostras mostradas foram tomadas depois de 1, 2, 3, 4 e 5 V_R da operação e também incluem um controle de contenção (HC). A amostra de HC foi extraída da mesma seringa que contém o tempo de teste encravado depois que o CVI foi terminado (depois de 5 V_R). As barras com carga completa mostram os dados de LRV e as barras preenchidas com padrões diagonais representam o mínimo LRV devido às amostras que caem abaixo de LOD.

[00103] Figura 28: O LRV para várias amostras coletadas durante o processo de inativação de vírus de batelada tradicional. As amostras mostradas foram tomadas depois de 60 minutos de incubação e também incluem um controle de contenção (HC). A amostra de HC foi obtida pela incubação do item de teste encravado sem produtos químicos de S/D sob as mesmas condições que a corrida de inativação contendo S/D. As barras carregadas completas mostram os dados de LRV e as barras preenchidas com padrões diagonais representam o mínimo LRV devido às amostras que caem abaixo de LOD.

[00104] Figura 29: Resultados do título do vírus para o processo CVI a tempos de incubação de 30 e 60 minutos (no gráfico da esquerda e da direita, respectivamente). O marcador em 0 V_R representa o título de BVDV do item de teste encravado antes de misturar com os componentes de S/D. Os marcadores em 1, 2, 3, 4 e 5 V_R representam os títulos de BVDV na saída de CVIR após a operação para 1, 2, 3, 4 e 5 volumes do reator, respectivamente. Os marcadores completos mostram o título do vírus e os marcadores abertos representam amostras com títulos que caíram abaixo de LOD.

[00105] Figura 30: O LRV para várias amostras coletadas durante o

processo de inativação de vírus contínuo com tempos de incubação de 30 e 60 minutos (topo e fundo, respectivamente). As amostras mostradas foram tomadas depois de 1, 2, 3, 4 e 5 V_R da operação e também incluem um controle de contenção (HC). A amostra de HC foi extraída da mesma seringa que contém o tempo de teste encravado depois que a CVI foi terminada (depois de 5 V_R). As barras carregadas completas mostram os dados de LRV e as barras preenchidas com padrões diagonais representam o mínimo LRV devido às amostras que caem abaixo de LOD.

[00106] Figura 31: O LRV para várias amostras coletadas durante o processo de inativação de vírus de batelada tradicional. As amostras mostradas foram tomadas depois de 60 minutos da incubação e também incluem um controle de contenção (HC). A amostra de HC foi obtida pela incubação do item de teste encravado sem produtos químicos de S/D sob as mesmas condições que a corrida de inativação contendo S/D. As barras carregadas completas mostram os dados de LRV e as barras preenchidas com padrões diagonais representam o mínimo LRV devido às amostras que caem abaixo de LOD.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Definições

[00107] A menos que esteja definido de alguma outra maneira a seguir, os termos usados na presente invenção serão compreendidos de acordo com seu significado comum conhecido do elemento versado no estado da técnica.

[00108] Todas as publicações, patentes e pedidos de patente citados no presente documento são incorporadas por este meio a título de referência em sua totalidade para todas as finalidades.

[00109] O termo de "tempo residência", tal como usado no presente documento, refere-se de maneira geral à quantidade de tempo que transcorre do momento no qual uma parte do líquido entra em uma parte

do equipamento de processamento até que a mesma parte do líquido sai da parte do equipamento de processamento. Se a velocidade linear média de uma parte do líquido for elevada, o tempo de residência é curto. Se a velocidade linear média de uma parte do líquido for baixa, o tempo de residência é longo. Em uma modalidade preferida da invenção, o termo "tempo de residência" refere-se à quantidade de tempo que transcorre do momento no qual uma parte do líquido entra na estrutura que tem múltiplos canais interconectados até que a mesma parte do líquido sai da estrutura que tem múltiplos canais interconectados. Alternativamente, e com mais preferência, o termo refere-se ao número de volumes da coluna que passam do momento no qual uma parte do líquido entra na estrutura que tem múltiplos canais interconectados até que a mesma parte do líquido sai da estrutura que tem múltiplos canais interconectados. O tempo de residência e o volume de eluição são relacionados pela fórmula a seguir:

Volume de eluição (medido em volumes da coluna) = tempo de residência. seção transversal da coluna. velocidade linear da superfície [00110] Quando partes diferentes do líquido têm tempos de residência diferentes, mesmo que todas as partes do líquido entrem em uma parte do equipamento de processamento (por exemplo, a estrutura que tem múltiplos canais interconectados de acordo com a invenção) ao mesmo tempo, as partes do líquido são distribuídas com respeito ao seu tempo de residência. Em outras palavras, as partes diferentes do líquido exibem uma distribuição de tempos de residência, a qual também é indicada como "distribuição do tempo de residência" ou "RTD". Se houver uma grande diferença entre as velocidades do fluxo entre as partes diferentes do líquido, a distribuição do tempo de residência é ampla; se houver uma diferença pequena nas velocidades do fluxo entre as partes diferentes do líquido, a distribuição do tempo de residência é estreita. Uma das vantagens da estrutura que tem múltiplos canais

interconectados de acordo com a invenção é que ela permite obter uma distribuição estreita do tempo de residência.

[00111] Deve ser compreendido que o termo "mistura de pelo menos um líquido e pelo menos um sólido" define que, no momento em que pelo menos um dito líquido e pelo menos um sólido são misturados, o sólido estava presente no estado sólido. Isto não exclui a possibilidade que, na dita mistura de pelo menos um líquido e pelo menos um sólido, o sólido pode se dissolver, por exemplo, enquanto outras etapas do método de acordo com a invenção são executadas.

[00112] De acordo com todas as outras modalidades da invenção, a mistura de dois líquidos ou a mistura de pelo menos um líquido e pelo menos um sólido pode ser uma solução aquosa.

[00113] O termo "canais interconectados", tal como usado no presente documento, refere-se aos canais em uma estrutura que são acessíveis aos líquidos da parte externa da dita estrutura. Pelo menos alguns dos canais são interconectados uns com os outros. Desta maneira, quando a estrutura é exposta a um líquido, o líquido pode passar através da estrutura através desses canais que são interconectados uns com os outros. Deve ser compreendido que a estrutura que tem múltiplos canais interconectados indicada em relação à invenção é tal que é apropriada para passar a mistura de pelo menos dois líquidos de acordo com a invenção através da estrutura.

[00114] O termo "contínuo" ou "continuamente" ou "de fluxo contínuo", tal como usado no presente documento em relação ao método ou ao processo da invenção ou com suas etapas, tem o significado que é normalmente conhecido no estado da técnica. Ele descreve um método ou um processo ou suas etapas que ocorre(m) sem interrupção. Se o termo "contínuo" ou "continuamente" ou "de fluxo contínuo" for usado no presente documento de acordo com etapas do método ou do processo em particular (por exemplo, com a etapa de

misturação e passagem de acordo com a invenção), significa que essa etapa ocorre sem interrupção. Se o termo "contínuo" ou "continuamente" ou "de fluxo contínuo" for usado no presente documento de acordo com um método ou um processo da invenção, significa que o dito método ou processo ocorre sem interrupção. De preferência, onde o método ou o processo é executado continuamente, todas as etapas do método ou do processo são executadas continuamente. Alternativamente, também é possível que somente a saída do método ou do processo seja contínua, ao passo que as partes do dito método ou processo (por exemplo, etapas do método ou do processo em particular) são executadas descontinuamente ou semicontinuamente. Por exemplo, uma série de processos descontínuos pode aplicar uma saída contínua com o passar do tempo, embora os processos individuais sejam operados descontinuamente.

[00115] O termo "grânulos não porosos", tal como usado no presente documento, refere-se a todos os grânulos não porosos apropriados que podem ser usados para um leito compactado de grânulos não porosos de acordo com a invenção. Os "grânulos não porosos" podem ser esféricos ou de formato irregular. Em uma modalidade preferida de acordo com todas as outras modalidades da invenção, os grânulos não porosos são de preferência esféricos. Os "grânulos não porosos" podem, por exemplo, ser feitos de qualquer material particulado sólido que seja compatível com processamento biofarmacêutico, por exemplo plásticos, vidro ou metal.

[00116] Os grânulos não porosos são conhecidos no estado da técnica e são comercialmente disponíveis.

[00117] Os grânulos de vidro são conhecidos no estado da técnica e podem, por exemplo, ser feitos de vidro de sílica. Por exemplo, os grânulos de vidro podem ser adquiridos junto à Cospheric LLC.

[00118] Os grânulos de plástico também são conhecidos e podem,

por exemplo, ser feitos de poli(metacrilato de metila) (PMMA), polietileno (PE), polipropileno (PP), ou poliestireno (PS). Por exemplo, os grânulos de plástico podem ser adquiridos junto à Cospheric LLC, Altuglas Arkema e Kisker Biotech.

[00119] Os grânulos de aço também são conhecidos no estado da técnica e podem, por exemplo, ser feitos de aço inoxidável. Por exemplo, os grânulos de aço podem ser adquiridos junto à Cospheric LLC.

[00120] O termo "grânulos de cerâmica", tal como usado no presente documento, refere-se a todos os grânulos de cerâmica que são apropriados para a formação de "um leito compactado de grânulos não porosos" de acordo com a invenção. Por exemplo, os grânulos de cerâmica podem ser adquiridos junto à Kuhmichel Abrasiv GmbH.

[00121] O leito compactado de grânulos não porosos de acordo com a invenção não é particularmente limitado e pode, por exemplo, ser contido em recipientes de vários formatos, tais como colunas ou reatores. O tamanho do recipiente não é particularmente limitado, e pode ser selecionado com base no tempo desejado de rendimento e incubação.

[00122] O termo "inerte" em conexão com os grânulos não porosos da invenção tem o significado do termo que é conhecido no estado da técnica. Em uma modalidade preferida, os grânulos não porosos inertes não são funcionalizados de nenhuma maneira. Os materiais inertes para os grânulos não porosos da invenção podem ser escolhidos por um elemento versado no estado da técnica. Por exemplo, em um método ou um processo da invenção, será possível selecionar materiais inertes conhecidos apropriados de maneira tal que eles não reagem ou não reagem substancialmente (por exemplo, não mensuravelmente) com o líquido ou a mistura de líquidos que é passado através do leito de grânulos. Por exemplo, os grânulos não porosos inertes da invenção

são de preferência grânulos que não reagem ou não reagem substancialmente quimicamente com a mistura líquida da presente invenção. Os grânulos não porosos inertes da invenção são de preferência grânulos que não adicionam componentes à mistura líquida. Os grânulos não porosos inertes da invenção de preferência não absorvem nem adsorvem componentes da mistura líquida.

[00123] O termo "desvia do diâmetro médio de partícula" por uma dada porcentagem tal como usado no presente documento refere-se a um desvio que depende do diâmetro médio de partícula. Por exemplo, se os grânulos com um diâmetro médio de partícula de 0,2 mm não desviam do diâmetro médio de partícula em mais de 50%, 95% dos grânulos têm um diâmetro da partícula de não mais de 0,3 mm e de não menos de 0,1 mm. Similarmente, se os grânulos com um diâmetro médio de partícula de 0,2 mm não desviam do diâmetro médio de partícula em mais de 20%, 95% dos grânulos têm um diâmetro da partícula de não mais de 0,24 mm e de não menos de 0,16 mm. Para as partículas a serem usadas de acordo com a presente invenção que não são esféricas, o diâmetro refere-se ao eixo mais longo das partículas.

[00124] O termo "tratamento de vibração", tal como usado no presente documento, refere-se a qualquer tratamento que envolve a vibração e que é apropriado aumentar a densidade de compactação do leito compactado de grânulos não porosos. Por exemplo, um dispositivo vibracional pode ser usado para sujeitar o leito compactado de grânulos não porosos ao tratamento de vibração.

[00125] Um dispositivo vibracional preferível contém uma cremalheira na qual a coluna é imobilizada. Em um exemplo de um tratamento de vibração que usa um dispositivo vibracional, a coluna vazia é imobilizada, e os grânulos são adicionados durante a vibração. A cremalheira é vibrada então ao usar um motor de vibração. O dito

motor pode, por exemplo, ser energizado elétrica ou pneumáticamente. Os leitos compactados de grânulos não porosos podem ser compactados ao usar uma frequência de vibração de menos de 40 kHz, de preferência de 1 a 10 kHz, uma aceleração menor do que 10 g, de preferência de 0 a 5 g, e uma amplitude de vibração menor do que 5 mm, de preferência de até 2 mm. Um exemplo ilustrativo de um dispositivo vibracional usado para a compactação da coluna é mostrado na Figura 22.

[00126] O termo "reator", tal como usado no presente documento, refere-se a qualquer recipiente ou uma outra estrutura que é apropriada para conter líquidos. O reator pode ser usado a fim de permitir que os líquidos reajam quimicamente. No entanto, na presente invenção o termo "reator" também se refere aos reatores nos quais não ocorre nenhuma reação química. Deve ser compreendido que o reator pode ser ajustado com base no uso pretendido. Por exemplo, deve ser compreendido que um reator que é usado para a inativação do vírus será apropriado para a inativação do vírus. Do mesmo modo, se o reator for usado para a preparação de um fármaco biofarmacêutico ele será apropriado para a preparação desse fármaco.

[00127] O termo de "geometria impressa em 3D", tal como usado no presente documento, refere-se a qualquer estrutura porosa pré-fundida que é impressa ao usar uma impressora 3D.

[00128] O termo "vírus envelopado", tal como usado no presente documento, tem o significado conhecido do elemento versado no estado da técnica. Por exemplo, os vírus envelopados podem ser Herpesviridae, tais como vírus de herpes simplex, vírus de varicela-zoster, o cytomegalovirus ou vírus de Epstein Barr; Hepadnaviridae, tal como o vírus de hepatitis B; Togaviridae tal como o vírus de rubéola ou alphavirus; Arenaviridae, tal como o vírus de coriomeningite linfocítica; Flaviviridae, tais como o vírus da dengue ou o vírus da diarreia viral de

bovinos (BVDV), o vírus de hepatite C ou o vírus da febre amarela; Orthomyxoviridae, tais como o vírus de influenza A, o vírus de influenza B, o vírus de influenza C, o isavírus ou o thogotovírus; Paramyxoviridae, tais como o vírus do sarampo, o vírus da caxumba, o vírus sincicial respiratório, o vírus de Rinderpest ou o vírus de cinomose canina; Bunyaviridae, tais como o vírus ou da encefalite da Califórnia ou hantavírus; Rhabdoviridae, tal como o vírus da raiva; Filoviridae, tais como o vírus de Ébola ou o vírus de Marburg; Coronaviridae, tal como o vírus de corona; Bornaviridae, tal como o vírus da doença de Borna; ou Arteriviridae tal como o arterivírus ou vírus de artrite equina; Retroviridae, tal como vírus de imunodeficiência humana (HIV) ou o vírus de leucemia de murinho xenotrópico (X-MuLV), vírus humano T-linfotrópico humano 1 (HTLV-1); Poxviridae, tal como Orthopoxvirus variolae (vírus da varíola).

[00129] O termo "mistura de solvente/detergente", tal como usado no presente documento, tem o significado conhecido do elemento versado no estado da técnica. O termo "mistura de solvente/detergente" também se refere às misturas que contêm somente solventes ou somente detergentes. Em uma modalidade preferida, a mistura de solvente/detergente usada de acordo com a invenção contém pelo menos um solvente que não a água e pelo menos um detergente. O número de solventes e/ou detergentes diferentes contidos na mistura não é particularmente limitado. Por exemplo, a mistura de solvente/detergente pode ser composta de fosfato de tri-n-butila, polissorbato 80 e Triton X-100.

[00130] O termo "tratamento de inativação de vírus com solvente-detergente", tal como usado no presente documento, tem o significado conhecido do elemento versado no estado da técnica. Em uma modalidade preferida, os tratamentos com solvente-detergente podem ser usados contra vírus envelopados, por exemplo, mediante a remoção

da membrana de lipídio dos vírus envelopados. No entanto, o "tratamento de inativação de vírus com solvente-detergente" da presente invenção não é limitado a isso. Por exemplo, "um tratamento de inativação de vírus com solvente-detergente" da presente invenção também pode incluir tratamentos de vírus não envelopados que, por exemplo, agem de modo a desnaturar as proteínas na superfície de um vírus tal como um vírus não envelopado.

[00131] O termo "valor de redução Log10" ou "LRV", tal como usado no presente documento, é uma medição da redução de partículas de vírus infeccioso em um fluido, definida como o logaritmo (base 10) da razão da concentração de partículas de vírus infeccioso antes da inativação de vírus e a concentração de partículas de vírus infeccioso após a inativação do vírus. O valor de LRV é específico a um dado tipo de vírus. É evidente para um elemento versado no estado da técnica que qualquer valor de redução Log10 (LRV) acima de zero é vantajoso para melhorar a segurança dos métodos e dos processos tais como métodos e processos de produção biofarmacêuticos. De acordo com a invenção, os LRVs podem ser medidos por quaisquer métodos apropriados conhecidos no estado da técnica. De preferência, os LRVs indicados no presente documento são LRVs tal como medidos pelo ensaio de placa ou tal como medidos pelo ensaio TCID50, com mais preferência tal como medidos pelo ensaio TCID50. Estes ensaios são conhecidos do elemento versado no estado da técnica. De preferência, os LRVs indicados de acordo com a invenção são LRVs de um vírus envelopado. Por exemplo, "um ensaio TCID50", tal como usado no presente documento, refere-se a um ensaio de dose infecciosa de cultura de tecido. O ensaio TCID50 é um teste de diluição do ponto final, no qual o valor TCID50 representa a concentração viral necessária para induzir a morte da célula ou mudanças patológicas em 50% das culturas de células inoculadas.

[00132] Os termos de "vazão" e "vazão volumétrica", tal como usados de acordo com a invenção, são usados intercambiavelmente e se referem ao volume da mistura que passa através da estrutura que tem múltiplos canais interconectados de acordo com a invenção por uma quantidade de tempo. A vazão volumétrica (ou vazão) é de preferência medida em ml/min. A vazão volumétrica (ou vazão) é constante, independentemente do diâmetro da tubulação, independentemente do diâmetro da estrutura que tem múltiplos canais interconectados (por exemplo, a coluna), e independentemente do pistão da bomba. Ela é ajustada tipicamente ao mudar a velocidade da bomba até a vazão desejada. Por exemplo, se uma ou mais bombas forem usadas a montante da estrutura que tem múltiplos canais interconectados, a vazão volumétrica (ou vazão) é o volume total deslocado pelas ditas bombas por uma quantidade de tempo. Por exemplo, as bombas de pistão aplicam, por exemplo, um volume definido de fluido em cada curso do pistão. As bombas de seringa são impelidas por um motor linear. Ao usar o diâmetro da seringa e a distância na qual o pistão da seringa é empurrado pelo motor, pode ser calculado o volume deslocado por uma quantidade de tempo. Alternativamente, a vazão também pode ser medida pelos medidores de fluxo que são conhecidos no estado da técnica.

[00133] De maneira geral, uma "velocidade linear" é definida como uma vazão dividida pela área em seção transversal da estrutura através da qual o líquido está passando:

$$\text{velocidade linear} = (\text{vazão volumétrica})/(\text{área em seção transversal})$$

[00134] O termo "velocidade linear", tal como usado em relação às estruturas da invenção, refere-se à vazão volumétrica dividida pela área de seção transversal da estrutura que tem múltiplos canais interconectados. A seção transversal pode ser tipicamente circular, isto é, a seção transversal é um círculo.

[00135] Em uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados da invenção, tal como um leito compactado de grânulos não porosos, duas velocidades lineares de fluido diferentes podem ser distintas:

a) Velocidade linear da superfície (indicada de preferência em [cm/h]): A velocidade linear da superfície é a velocidade linear à qual o fluido se desloca supondo que a estrutura (por exemplo, o leito compactado de grânulos não porosos) está vazia, por exemplo, não preenchida com grânulos. Uma estrutura exemplificadora (ilustrada na forma de um cilindro que é preenchido com os canais interconectados (B) ou vazio (A)) é mostrada na Figura 23.

b) Velocidade linear intersticial (indicada de preferência em [cm/h]): A velocidade intersticial é a velocidade do fluido real através da estrutura que tem múltiplos canais interconectados (por exemplo, através do leito compactado de grânulos não porosos). Uma vez que o fluxo de fluido só pode fluir através dos canais interconectados (por exemplo, em torno dos grânulos), a velocidade intersticial é sempre mais elevada do que a velocidade superficial.

[00136] A menos que esteja indicado de alguma outra maneira, todas as ocorrências do termo "velocidade linear", tal como usado no presente documento, referem-se à velocidade linear da superfície. A velocidade linear da superfície pode ser calculada ao dividir a vazão (ou vazão volumétrica) pela área em seção transversal da estrutura que tem múltiplos canais interconectados, supondo que a estrutura esteja vazia.

[00137] O termo "limite de detecção" ou "LOD", tal como usado no presente documento, refere-se à menor porção detectável de uma substância, por exemplo, à menor porção detectável dos grânulos na suspensão. O termo "limite de tempo de detecção" ou "tempo LOD", tal como usado no presente documento, refere-se ao ponto no tempo no qual o sinal que emana de uma substância, por exemplo, de uma substância de rastreador, tais como grânulos em suspensão, excede o

limite de detecção (LOD).

[00138] O termo "número de Bodenstein", tal como usado no presente documento, tem o significado conhecido do elemento versado no estado da técnica. Por exemplo, ele é descrito em Levenspiel, Chemical Reaction Engineering, 3ª ed., John Wiley & Sons, 1999 (Ref. 8), que é incorporado a título de referência em sua totalidade para todas as finalidades. O número de Bodenstein não é dimensionado e caracteriza a retromisturação dentro de um sistema. Desse modo, o número de Bodenstein pode indicar a extensão até a qual os volumes de líquidos ou compostos de retromisturam. Por exemplo, um número Bodenstein pequeno indica um grande grau de retromisturação, ao passo que um grande número de Bodenstein indica um grau pequeno de retromisturação. Tal como deve ser conhecido de um elemento versado no estado da técnica, o número de Bodenstein pode ser usado como uma medida da distribuição do tempo de residência e pode ser determinado pelos métodos conhecidos no estado da técnica. Na presente invenção, o número de Bodenstein pode ser de preferência calculado ao ajustar a função F às curvas de ruptura (tal como exemplificado nos exemplos; vide, por exemplo, a Figura 1A), onde $F(EV)$ representa a integral de um pico de Gauss (por exemplo, um sinal de UV de uma substância de rastreador adicionada à mistura que é passada através da estrutura que tem múltiplos canais interconectados de acordo com a invenção) e Bo representa o número de Bodenstein, EV representa o volume de eluição em um dado ponto do tempo e $EV_{50\%}$ representa o volume de eluição no tempo de residência médio:

$$F(EV) = 1/2 (\operatorname{erf}(1/2 \sqrt{Bo}(EV/EV_{50\%} - 1)) + 1)$$

[00139] A Figura 1B representa alguns perfis de ruptura diferentes com os números de EV/EV e os números de Bodenstein correspondentes. A figura demonstra que o começo do perfil (que é crucial em particular para a inativação de vírus) é muito mais bem

refletido no número de EV/EV do que no número de Bodenstein.

[00140] De acordo com a presente invenção, cada ocorrência do termo "que compreende" pode ser opcionalmente substituída pelo termo "que consiste".

[00141] A seguir serão descritas modalidades específicas da invenção, mas a invenção não é limitada às mesmas. Além disso, algumas das modalidades a seguir podem ser combinadas com qualquer uma das outras modalidades a seguir de acordo com a presente invenção.

[00142] A estrutura que tem múltiplos canais interconectados a ser usada de acordo com a invenção pode ser um monólito ou uma estrutura pré-fundida tal como uma geometria impressa em 3D, mas é de preferência um leito compactado de grânulos não porosos. Desse modo, em particular o leito compactado de grânulos não porosos pode ser combinado com quaisquer outras modalidades da presente invenção.

[00143] O leito compactado dos grânulos não porosos a ser usado de acordo com a presente invenção pode ser contido em recipientes de vários formatos, tais como colunas e/ou reatores. De preferência, o leito compactado de grânulos não porosos preenche completamente o recipiente, isto é, não deixa nenhuma grande lacuna. De preferência, o recipiente compreende pelo menos uma entrada e pelo menos uma saída que são posicionadas em extremidades opostas do recipiente. Dessa maneira, um fluido pode entrar no recipiente através da entrada, passar através do leito compactado de grânulos não porosos, e sair do recipiente através da saída. De preferência, o recipiente é uma coluna.

[00144] O recipiente para o leito compactado dos grânulos não porosos a ser usado de acordo com a presente invenção pode ter qualquer formato, por exemplo, pode ter uma base circular, uma base angular, ou uma base retangular. De preferência, o recipiente tem uma

base circular. Em uma modalidade particularmente preferida da invenção, o leito compactado dos grânulos não porosos a ser usado de acordo com a presente invenção é contido em uma coluna com uma base circular.

[00145] O comprimento do leito compactado dos grânulos não porosos a ser usado de acordo com a presente invenção não é particularmente limitado, e pode ser ajustado ao levar em conta o rendimento desejado, a velocidade linear da superfície desejada e o tempo de residência médio desejado do líquido. Em particular, o comprimento do leito compactado de grânulos não porosos pode ser selecionado com base na velocidade linear da superfície desejada e no tempo de residência médio desejado do líquido. Por exemplo, se a velocidade linear da superfície desejada for de 20 cm/h e a porosidade do leito compactado de grânulos não porosos for suposta como sendo igual a 0,4, e o tempo de residência médio desejado for de pelo menos 1 h, então o comprimento do leito compactado de grânulos não porosos precisa ser de pelo menos 50 cm. Se a velocidade linear da superfície desejada for de 20 cm/h, e o tempo de residência médio desejado for de pelo menos 3 h, então o comprimento do leito compactado de grânulos não porosos precisa ser de pelo menos 150 cm. Em uma modalidade preferida, a velocidade linear da superfície desejada é de cerca de 20 cm/h e o tempo de residência médio desejado é de pelo menos 1 hora, de modo que o leito compactado de necessidades de grânulos não porosos precisa ter um comprimento de pelo menos 50 cm. Os autores da presente invenção verificaram que, quanto mais longo o leito compactado dos grânulos não porosos a ser usado de acordo com a presente invenção, mais estreita a distribuição do tempo de residência de um líquido que é passado através do leito de grânulos não porosos. Desse modo, se o leito compactado de grânulos não porosos a ser usado de acordo com a presente invenção for mais longo

(por exemplo, se tiver um comprimento de pelo menos 5 cm, ou de pelo menos 10 cm, ou de pelo menos 20 cm, ou de pelo menos 30 cm, ou de pelo menos 50 cm, ou de pelo menos 70 cm, ou de pelo menos 100 cm) isto é vantajoso para uma distribuição estreita do tempo de residência.

[00146] A largura ou o diâmetro do leito compactado de grânulos não porosos a ser usado de acordo com a presente invenção não são particularmente limitados, e podem ser selecionados com base no rendimento desejado, na velocidade linear da superfície desejada e no tempo de residência médio desejado do líquido. É aparente ao elemento versado na técnica que a largura ou o diâmetro do leito compactado de grânulos não porosos serão selecionados ao levar em conta o tamanho dos grânulos. Em outras palavras, a largura ou o diâmetro do leito compactado de grânulos não porosos serão escolhidos de maneira tal que sejam suficientes a fim de acomodar os grânulos. Em uma modalidade preferida da invenção, o diâmetro da coluna é de 5 mm, e de preferência de pelo menos 10 mm.

[00147] O volume do leito compactado dos grânulos não porosos a ser usado de acordo com a presente invenção não é particularmente limitado, e pode ser selecionado ao levar em conta o rendimento desejado, a velocidade linear da superfície desejada e o tempo de residência médio desejado do líquido. No entanto, os autores da presente invenção verificaram de modo surpreendente que os grandes volumes do leito compactado de grânulos não porosos propiciam distribuições do tempo de residência mais estreitas do que os volumes pequenos quando um líquido é passado através ao leito de grânulos não porosos. Desse modo, os volumes grandes do leito compactado de grânulos não porosos são os preferidos, por exemplo, volumes de espaços vazios de pelo menos 10 ml, de preferência de pelo menos 40 ml, com mais preferência de pelo menos 150 ml, ainda com mais preferência de pelo menos 470 ml e ainda com maior preferência de

pelo menos 700 ml.

[00148] Os grânulos não porosos que formam o leito compactado de grânulos não porosos para o uso de acordo com a presente invenção podem ter vários diâmetros médios de partícula. Deve ser compreendido que o diâmetro dos grânulos não porosos pode ser facilmente selecionado de maneira tal que os canais interconectados formados pelos espaços entre os grânulos são apropriadas para os componentes (por exemplo, fármacos biofarmacêuticos) do líquido (por exemplo, da mistura usada de acordo com a presente invenção) passarem através do leito compactado de grânulos não porosos. Por outro lado, os autores da presente invenção verificaram de modo surpreendente que, quanto menor o diâmetro médio de partícula dos grânulos que formam o leito compactado de grânulos não porosos de acordo com a presente invenção, mais estreita a distribuição do tempo de residência de um líquido que é passado através do leito compactado. Desse modo, os grânulos a serem usados de acordo com a presente invenção ficam de preferência na faixa de 0,05 mm a 1 mm, com mais preferência na faixa de 0,05 mm a 0,6 mm, ainda com mais preferência na faixa de 0,05 mm a 0,5 mm e com ainda com maior preferência na faixa de 0,05 mm a 0,3 mm. Além disso, os autores da presente invenção verificaram de maneira surpreendente que, quanto mais homogêneo o diâmetro médio de partícula dos grânulos a serem usados de acordo com a presente invenção, mais estreita a distribuição do tempo de residência de um líquido que é passado através do leito compactado de grânulos não porosos. Desse modo, os grânulos a serem usados de acordo com a presente invenção de preferência não desviam do diâmetro médio de partícula em mais do que 50%, com mais preferência não mais do que 35%, e com maior preferência ainda não mais do que 20%.

[00149] De preferência, os grânulos não porosos que formam o leito compactado de grânulos não porosos para o uso de acordo com a

presente invenção são inertes.

[00150] De preferência, os grânulos não porosos que formam o leito compactado de grânulos não porosos para o uso de acordo com a presente invenção são esféricos.

[00151] Os grânulos não porosos podem ser compactados por vários meios para formar o leito compactado de grânulos não porosos para o uso de acordo com a presente invenção. Os autores da presente invenção verificaram que as diferenças na qualidade da compactação afetam os trajetos do fluxo dos líquidos que são passados através do leito compactado de grânulos não porosos, e desse modo a distribuição do tempo de residência.

[00152] Os meios exemplificadores para compactar os grânulos não porosos para o uso de acordo com a presente invenção são a compactação a seco ou a compactação a úmido, com e sem tratamento de vibração. A compactação do líquido pode ser pela gravidade ou sob um fluxo. Os meios preferidos para compactar os grânulos não porosos para o uso de acordo com a presente invenção são o tratamento de vibração com compactação. Também é preferida a compactação a úmido, com mais preferência em combinação com o tratamento de vibração. A qualidade da compactação pode ser determinada, por exemplo, ao determinar a distribuição do tempo de residência de um líquido que é passado através do leito compactado de grânulos não porosos. Uma distribuição estreita do tempo de residência é indicativa de uma boa qualidade de compactação, e uma ampla distribuição do tempo de residência é indicativa de uma má qualidade de compactação.

[00153] O método para a incubação de uma mistura de pelo menos dois líquidos de acordo com a presente invenção compreende a mistura de pelo menos duas ditas misturas para obter uma mistura e a passagem da dita mistura através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados, incubando desse modo a dita mistura.

De preferência, as ditas misturação e passagem são executadas continuamente. De maneira surpreendente, os autores da presente invenção verificaram que, quando um líquido tal como uma mistura de pelo menos dois líquidos de acordo com a invenção é passado através da estrutura que tem múltiplos canais interconectados a fim de incubar o dito líquido (por exemplo, a dita mistura), a incubação ocorre com uma distribuição particularmente estreita do tempo de residência. Tal distribuição estreita do tempo de residência é vantajosa para todos os tipos de processos de operação contínua nos quais os líquidos têm que ser misturados e incubados por períodos de tempo definidos, uma vez que permite escolher com mais precisão os tempos de incubação.

[00154] No método para a incubação de acordo com a invenção, a velocidade linear da superfície da mistura que é passada através de uma estrutura que tem múltiplos poros interconectados não é particularmente limitada, e pode ser selecionada com base no rendimento desejado. Os autores da presente invenção verificaram que as velocidades lineares da superfície mais baixas de um líquido da invenção (por exemplo, a mistura usada de acordo com a invenção) que é passado através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados propiciam distribuições mais estreitas do tempo de residência do que as velocidades lineares da superfície mais altas. Desse modo, a velocidade linear da superfície no método para a incubação de acordo com a presente invenção é de preferência igual a ou menor do que 600 cm/h, ou igual a ou menor do que 300 cm/h, ou igual a ou menor do que 200 cm/h, ou igual a ou menor do que 100 cm/h, ou igual a ou menor do que 50 cm/h, ou igual a ou menor do que 20 cm/h. Com mais preferência, a velocidade linear da superfície é igual a ou menor do que 50 cm/h.

[00155] Tal como deve ser conhecido de um elemento versado no estado da técnica, o número de Bodenstein pode ser usado como uma

medida da distribuição do tempo de residência. Um número de Bodenstein pequeno é indicativo de uma ampla distribuição do tempo de residência, e um grande número de Bodenstein é indicativo de uma distribuição estreita do tempo de residência. Tal como descrito acima, no método para a incubação de acordo com a presente invenção, é muito preferível que a mistura que passa através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados tenha uma distribuição estreita do tempo de residência. Por conseguinte, no método para a incubação de acordo com a presente invenção, é preferível que o número de Bodenstein da mistura que passa através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados seja igual a ou maior do que 50, com mais preferência igual a ou maior do que 300, ainda com mais preferência igual a ou maior do que 400, ainda com maior preferência igual a ou maior do que 500, com mais preferência ainda igual a ou maior do que 600, e com a máxima preferência igual a ou maior do que 800.

[00156] Um exemplo para um processo no qual os líquidos (por exemplo, misturas de pelo menos dois líquidos) são incubados por um período de tempo definido enquanto são passados através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados é a inativação contínua de vírus. Desse modo, em uma modalidade preferida da presente invenção, o método para a incubação de acordo com a presente invenção é para a inativação contínua de vírus. Nesta modalidade preferida, um primeiro líquido de pelo menos dois ditos líquidos é um líquido que contém potencialmente um vírus, e um segundo líquido de pelo menos dois ditos líquidos compreende um agente de inativação de vírus. Quando a mistura de um líquido que contém potencialmente um vírus e um líquido que compreende um agente de inativação de vírus é misturada, o tempo de incubação pode ser selecionado de maneira tal que seja suficientemente longo para obter o valor de redução Log10 suficiente (LRV) para um determinado

vírus. Por outro lado, o tempo de incubação também é selecionado de preferência de maneira tal que seja curto o bastante para assegurar que outros componentes que podem estar contidos nos líquidos (por exemplo, um biofarmacêutico) não sejam danificados pelo agente de inativação de vírus. Se para todas (ou pelo menos uma maior parte de) as partes do líquido (por exemplo, uma mistura de pelo menos dois líquidos) o tempo de incubação for similar, então um tempo de incubação apropriado que não seja nem curto demais, nem longo demais, pode ser obtido mais facilmente. Desse modo, as distribuições estreitas do tempo de residência que são obtidas de acordo com a invenção são vantajosas uma vez que, por exemplo, elas permitem selecionar tais tempos de incubação apropriados.

[00157] Em processos de produção biofarmacêutica, os vírus na mistura que contém o fármaco biofarmacêutico são tipicamente inativados para assegurar que, após a formulação do fármaco biofarmacêutico em uma composição farmacêutica, a composição farmacêutica não cause nenhum dano aos pacientes. Desse modo, o método ou o processo para a inativação do vírus de acordo com a presente invenção são particularmente úteis em processos de produção biofarmacêutica. Por conseguinte, em uma modalidade preferida do método ou do processo para a inativação do vírus de acordo com a presente invenção, o primeiro líquido da mistura de pelo menos dois líquidos que é passada através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados compreende um fármaco biofarmacêutico. Por conseguinte, a presente invenção também se refere a um método para a preparação de um fármaco biofarmacêutico, em que o dito fármaco biofarmacêutico é recuperado depois de ter sido executado o método para a incubação de acordo com a presente invenção.

[00158] Os métodos para a recuperação de um fármaco biofarmacêutico que pode ser apropriadamente usado depois de ter sido

executado o método de incubação de acordo com a presente invenção são bem conhecidos de um elemento versado no estado da técnica. Por exemplo, vários métodos de cromatografia podem ser usados para a recuperação de um fármaco biofarmacêutico. Tais métodos podem ser selecionados por um elemento versado no estado da técnica ao levar em consideração as propriedades do fármaco biofarmacêutico, a fonte da qual é obtida (por exemplo, de modo recombinante ou de outras fontes tais como do plasma humano) e a aplicação biofarmacêutica desejada (por exemplo, se vai ser administrada subcutânea ou intravenosamente, etc.).

[00159] Os fármacos biofarmacêuticos de acordo com a invenção não são particularmente limitados. Eles incluem fármacos biofarmacêuticos recombinantes e fármacos biofarmacêuticos de outras fontes tais como os fármacos biofarmacêuticos obtidas do plasma humano. Os fármacos biofarmacêuticos de acordo com a invenção incluem, sem limitação, fatores do sangue, imunoglobulinas, enzimas de substituição, vacinas, vetores de terapia de genes, fatores do crescimento e seus receptores. Os fatores do sangue preferidos incluem o fator I (fibrinogênio), o fator II (protrombina), o fator de tecido, o fator V, o fator VII e o fator VIIa, o fator VIII, o fator IX, o fator X, o fator XI, o fator XII, o fator XIII, o fator de von Willebrand (VWF), a precalicreina, o quininogênio de elevado peso molecular (HMWK), a fibronectina, a antitrombina III, o cofactor de heparina II, a proteína C, a proteína S, a proteína Z, o plasminogênio, a alfa 2-antiplasmina, o ativador de plasminogênio de tecido (tPA), a urocinase, o inibidor de ativador de plasminogênio 1 (PAI1), e o ativador de inibidor de plasminogênio 2 (PAI2). Os fatores do sangue que podem ser usados de acordo com a presente invenção devem incluir as variantes de polipeptídeos funcionais e os polinucleotídeos que codificam os fatores do sangue ou codificam tais polipeptídeos de variantes funcionais. As imunoglobulinas

preferidas incluem imunoglobulinas do plasma humano, os anticorpos monoclonais e os anticorpos recombinantes. Os fármacos biofarmacêuticos de acordo com a invenção são de preferência as respectivas proteínas humanas ou humanas recombinantes ou as suas variantes funcionais.

[00160] Depois de ter sido recuperada o fármaco biofarmacêutico obtido pelo método para preparação de um fármaco biofarmacêutico de acordo com a presente invenção, o fármaco biofarmacêutico pode ser formulado em uma composição farmacêutica. Tal composição farmacêutica pode ser preparada de acordo com padrões conhecidos para a preparação de composições farmacêuticas. Por exemplo, a composição pode ser preparada de uma maneira que possa ser armazenada e administrada apropriadamente, por exemplo, ao usar componentes farmacologicamente aceitáveis tais como veículos, excipientes ou estabilizantes. Tais componentes farmacologicamente aceitáveis não são tóxicos nas quantidades usadas quando a composição farmacêutica é administrada a um paciente.

[00161] Em conexão com todas as modalidades do método ou do processo para a inativação do vírus de acordo com a presente invenção, o dito método ou processo é de preferência um método ou um processo para a inativação contínua de vírus.

[00162] Particularmente, no método ou no processo para a inativação de vírus de acordo com a presente invenção, pode ser vantajoso monitorar o tempo de residência do líquido na estrutura que tem múltiplos canais interconectados, e a sua distribuição do tempo de residência. Tal monitoramento deve permitir o reconhecimento se qualquer parte do líquido da mistura que é passada através da estrutura que tem múltiplos canais interconectados não gaste tempo suficiente na estrutura que tem múltiplos canais interconectados. No método para a inativação contínua de vírus de acordo com a presente invenção, pode

ser vantajoso o reconhecimento se qualquer parte do líquido da mistura que é passada através da estrutura que tem múltiplos canais interconectados não gaste tempo suficiente na estrutura que tem múltiplos canais interconectados, uma vez que em tal caso o primeiro líquido (por exemplo, que compreende um fármaco biofarmacêutico) pode não ser exposto ao agente de inativação de vírus por um tempo suficiente para obter o valor de redução Log10 desejado para um determinado vírus. Em tal caso, o elemento versado na técnica pode modificar o método ou o processo para a inativação do vírus de acordo com a invenção, por exemplo, ao aumentar o comprimento da estrutura que tem múltiplos canais interconectados e/ou ao reduzir a velocidade linear da superfície.

[00163] No método ou no processo para a inativação do vírus de acordo com a presente invenção, a fim de monitorar o tempo de residência do líquido na estrutura que tem múltiplos canais interconectados e a sua distribuição do tempo de residência, uma amostra de rastreador pode ser encravada periodicamente a montante da estrutura que tem múltiplos canais interconectados. Por exemplo, uma amostra de rastreador pode ser encravada periodicamente em um primeiro líquido, o qual é misturado subsequentemente com um segundo líquido e opcionalmente outros líquidos. Alternativamente, uma amostra de rastreador pode ser encravada periodicamente na mistura de pelo menos dois líquidos e misturada com a dita mistura. Subsequentemente, quando a mistura que compreende o rastreador é passada através da estrutura que tem múltiplos canais interconectados de acordo com a presente invenção, a concentração de rastreador na mistura pode ser monitorada a montante e a jusante da estrutura que tem múltiplos canais interconectados. Esse monitoramento pode ser executado por qualquer método apropriado. Os métodos analíticos apropriados são conhecidos de um elemento versado no estado da

técnica. Tais métodos podem ser baseados, por exemplo, na detecção da fluorescência, na detecção da absorbância ou na ressonância magnética nuclear (NMR). Por conseguinte, em uma modalidade preferida, o método ou o processo para a inativação do vírus de acordo com a presente invenção compreende uma etapa de monitoramento da distribuição do tempo de residência e do tempo de residência do líquido (por exemplo, a mistura de pelo menos dois líquidos usados de acordo com a invenção) na estrutura que tem múltiplos canais interconectados, em que a dita etapa compreende a encravação periódica de uma amostra de rastreador no dito líquido (por exemplo, na dita mistura de pelo menos dois líquidos usados de acordo com a invenção) e o monitoramento da concentração do dito rastreador (por exemplo, na dita mistura de pelo menos dois líquidos usados de acordo com a invenção) a montante e a jusante da estrutura que tem múltiplos canais interconectados. Esta etapa é vantajosa, uma vez que ela permite monitorar a qualidade da estrutura que tem múltiplos canais interconectados durante um processo de produção contínuo, por exemplo, a fim de detectar o entupimento potencial ou outros distúrbios da estrutura. Além disso, esta etapa também é vantajosa, uma vez que ela permite monitorar se a distribuição do tempo de residência da estrutura que tem múltiplos canais interconectados permanece suficientemente estreita a fim de obter o LRV desejado, por exemplo, um LRV igual a 4.

[00164] No método ou no processo para a inativação do vírus de acordo com a presente invenção, é preferível que o agente de inativação de vírus seja uma mistura de solvente/detergente apropriada para o tratamento de inativação de vírus com solvente/detergente. A mistura de solvente/detergente de acordo com a invenção não é particularmente limitada. Por exemplo, a mistura de solvente/detergente pode compreender um único solvente orgânico e uma pluralidade de

tensoativos, uma pluralidade de solventes orgânicos e um único tensoativo, ou uma pluralidade de solventes orgânicos e uma pluralidade de tensoativos. Deve ser compreendido que o tipo de detergente e/ou solvente e as suas respectivas concentrações podem ser apropriadamente escolhidos por um elemento versado na técnica, ao levar em conta, por exemplo, os vírus potenciais presentes no líquido, o LRV desejado, as propriedades do fármaco biofarmacêutico e as características do processo de fabricação do fármaco biofarmacêutico (por exemplo, a que temperatura a inativação será executada). Tipicamente, as concentrações finais de um solvente orgânico e um único tensoativo durante a incubação de acordo com a invenção são de cerca de 0,1% (v/v) a cerca de 5% (v/v) do solvente orgânico e de cerca de 0,1% (v/v) a cerca de 10% (v/v) de tensoativo. Quando é usada uma pluralidade de tensoativos, a concentração final de um solvente orgânico é de cerca de 0,1% (v/v) a cerca de 5% (v/v), a concentração final de um tensoativo é de cerca de 0,1% (v/v) a cerca de 10% (v/v), de cerca de 0,5% (v/v) a cerca de 5% (v/v), ou de cerca de 0,5% (v/v) a cerca de 1,0% (v/v), e a concentração final do restante dos tensoativos é de cerca de 0,1% (v/v) a cerca de 5% (v/v), de cerca de 0,1% (v/v) a cerca de 1,0% (v/v), ou de cerca de 0,2% (v/v) a cerca de 4% (v/v).

[00165] Em uma modalidade da presente invenção, a mistura de solvente/detergente compreende o fosfato de tri-(n-butila) e o éter octil fenílico de polioxietileno (também conhecido, por exemplo, como TRITON® X-100). Em uma outra modalidade, a mistura de solvente/detergente compreende o fosfato de tri(n-butila) e o mono-oleato de polioxietileno sorbitano (80) (também conhecido, por exemplo, como polissorbato 80 ou TWEEN® 80).

[00166] Em uma outra modalidade da presente invenção, a mistura de solvente/detergente compreende o fosfato de tri(n-butila), o éter octil

fenílico de polioxietileno (TRITON® X-100), e o mono-oleato de polioxietileno sorbitano (80) (também conhecido, por exemplo, como polissorbato 80 ou TWEEN® 80).

[00167] Em uma modalidade preferida do método ou do processo para a inativação do vírus de acordo com a presente invenção, um primeiro líquido que compreende um fármaco biofarmacêutico e um segundo líquido que compreende uma mistura de solvente/detergente apropriada para o tratamento de inativação de vírus de solvente/detergente são misturados e a mistura é passada subsequentemente através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados. Como deve ser aparente a um elemento versado no estado da técnica, as concentrações de um ou mais componentes da mistura para o tratamento de inativação de vírus com solvente/detergente podem ser monitoradas na mistura que é passada através da estrutura que tem múltiplos canais interconectados, por exemplo, a montante da estrutura que tem múltiplos poros interconectados, ou a jusante da estrutura que tem múltiplos poros interconectados. Por exemplo, um ou mais componentes da mistura que é passada através da estrutura com múltiplos canais interconectadas podem ser rastreados ao usar a espectroscopia UV VIS e a espectroscopia infravermelha com transformação de Fourier (FTIR), que são bem conhecidas de um elemento versado no estado da técnica.

[00168] Alternativamente, no método para a inativação contínua de vírus de acordo com a presente invenção, o agente de inativação de vírus pode ser uma solução ácida apropriada para o tratamento de inativação de vírus de baixo pH. Uma solução ácida apropriada para o tratamento de inativação de vírus de baixo pH pode compreender qualquer ácido inorgânico ou orgânico apropriado para o tratamento de inativação de vírus de baixo pH.

[00169] No método ou no processo para a inativação do vírus de

acordo com a presente invenção, é preferível que o método atinja pelo menos um valor de redução Log10 (LRV) 1 para pelo menos um vírus, ou pelo menos um valor de redução Log10 (LRV) 2 para pelo menos um vírus, ou pelo menos um valor de redução Log10 (LRV) 3 para pelo menos um vírus, ou pelo menos um valor de redução Log10 (LRV) 4 para pelo menos um vírus, ou pelo menos um valor de redução Log10 (LRV) 5 para pelo menos um vírus, ou pelo menos um valor de redução Log10 (LRV) 6 para pelo menos um vírus, ou pelo menos um valor de redução Log10 (LRV) 7 para pelo menos um vírus, ou pelo menos um valor de redução Log10 (LRV) 8 para pelo menos um vírus, e com mais preferência pelo menos um valor de redução Log10 (LRV) 4 para pelo menos um vírus. Naturalmente, é evidente a um elemento versado no estado da técnica que qualquer valor de redução Log10 (LRV) para pelo menos um vírus é vantajoso, uma vez que melhora a segurança, por exemplo, do processo de produção biofarmacêutica. O LRVs indicados de acordo com a invenção são de preferência LRVs de um vírus envelopado.

[00170] O valor de redução Log10 (LRV) que é atingido pelo método para a inativação contínua de vírus de acordo com a presente invenção é determinado como sendo conhecido de um elemento versado no estado da técnica. Por exemplo, o LRV pode ser determinado ao determinar a concentração de partículas de vírus infeccioso em um líquido que antes e depois da sujeição do líquido ao método para a inativação contínua de vírus de acordo com a presente invenção. Mais especificamente, o LRV pode ser determinado ao determinar a concentração de partículas de vírus infeccioso em um primeiro líquido, ao misturar o primeiro líquido com um segundo líquido que compreende um agente de inativação de vírus a fim de submeter o primeiro líquido ao método para a inativação contínua de vírus de acordo com a presente invenção, e ao determinar a concentração das partículas de

vírus infeccioso na mistura do primeiro líquido e do segundo líquido depois de ter sido executado o método para a inativação contínua de vírus de acordo com a presente invenção. Depois da determinação das concentrações das partículas de vírus infeccioso antes e depois da inativação de vírus, o LRV para qualquer vírus pode ser determinado ao calcular o logaritmo (base 10) da razão entre as partículas de vírus infeccioso antes da inativação de vírus (= concentração das partículas de vírus infeccioso antes da inativação de vírus * volume antes de inativação de vírus, por exemplo, o volume do primeiro líquido) e as partículas de vírus infeccioso após a inativação de vírus (= concentração de partículas de vírus infeccioso após a inativação do vírus, por exemplo, na mistura do primeiro e do segundo líquidos * (volume após a inativação de vírus, por exemplo, o volume do primeiro líquido + o volume do segundo líquido)).

[00171] O elemento versado na técnica está ciente que há numerosos métodos para determinar as concentrações de partículas de vírus infeccioso em um líquido. Por exemplo, e sem limitação, as concentrações de partículas de vírus infeccioso em um líquido podem ser de preferência medidas pelo ensaio de placa ou pelo ensaio de TCID₅₀, e com mais preferência pelo ensaio de TCID₅₀.

[00172] Tal como deve ser conhecido de um elemento versado no estado da técnica, a inativação de vírus ao misturar um líquido com uma mistura de solvente/detergente apropriada para o tratamento de inativação de vírus com solvente/detergente e a inativação de vírus ao misturar um líquido com uma solução ácida apropriada para o tratamento de inativação de vírus de baixo pH são particularmente eficazes para a inativação de vírus envelopados. Desse modo, em uma modalidade preferida, o método ou o processo para a inativação do vírus de acordo com a presente invenção são para a inativação contínua de vírus de vírus envelopados.

[00173] A presente invenção também apresenta um dispositivo para a preparação de um fármaco biofarmacêutico de acordo com os métodos da presente invenção. O dito dispositivo compreende um leito compactado de grânulos não porosos. Uma vez que o dispositivo que inclui o leito compactado de grânulos não porosos é usado de preferência em um método de acordo com a presente invenção, o leito compactado de grânulos compreendido no dispositivo tem de preferência as mesmas modalidades que o leito compactado de grânulos não porosos para o uso de acordo com a presente invenção tal como descrito acima.

[00174] No método para a preparação de um fármaco biofarmacêutico de acordo com a presente invenção, um primeiro líquido que compreende um fármaco biofarmacêutico e um segundo líquido que compreende um agente de inativação de vírus são misturados e a mistura é passada subsequentemente através de uma estrutura que tem múltiplos canais interconectados. Em uma modalidade opcional da presente invenção, um misturador estático pode ser usado para misturar pelo menos os dois líquidos antes de passar a mistura através da estrutura que tem múltiplos canais interconectados. Desse modo, em uma modalidade da invenção o dispositivo para a preparação de um fármaco biofarmacêutico de acordo com a presente invenção compreende um misturador estático. Em um aspecto preferido desta modalidade, o dito misturador estático é posicionado a montante do leito compactado de grânulos não porosos. Em um aspecto preferido adicional desta modalidade, o dito misturador estático é um misturador de junção em T.

[00175] No método para a preparação de um fármaco biofarmacêutico de acordo com a presente invenção, a mistura de pelo menos dois líquidos pode conter resíduos, por exemplo, resíduos celulares, ou outros componentes insolúveis do processo de produção

biofarmacêutica a montante. Desse modo, pode ser desejável remover os ditos componentes insolúveis da mistura, por exemplo, por meio de filtração. Por conseguinte, em uma modalidade da invenção o dispositivo para a preparação de um fármaco biofarmacêutico de acordo com a presente invenção compreende um filtro. Em um aspecto preferido desta modalidade, o dito filtro é posicionado a montante do leito compactado de grânulos não porosos. Em um aspecto ainda mais preferido desta modalidade, o filtro é posicionado a montante do leito compactado de grânulos não porosos, e a jusante de um misturador, tal como um misturador de junção em T ou um misturador dinâmico. O tamanho de poro do filtro não é particularmente limitado e será selecionado por um elemento versado no estado da técnica, por exemplo, ao levar em conta o tamanho do fármaco biofarmacêutico que precisa passar no filtro e o tamanho dos componentes (por exemplo, os resíduos celulares ou outros componentes insolúveis do processo de produção biofarmacêutica a montante) que devem ser removidos do processo. Em uma modalidade preferida, o filtro tem um tamanho de poro de 0,2 μm .

[00176] Em uma outra modalidade de acordo com as modalidades acima, o dispositivo para a preparação de um fármaco biofarmacêutico de acordo com a presente invenção é um reator de fluxo contínuo, o qual compreende um leito compactado de grânulos não porosos. Como deve ser aparente a um elemento versado no estado da técnica, o reator de acordo com a presente invenção pode ser combinado com quaisquer outras modalidades do dispositivo para a preparação de um fármaco biofarmacêutico de acordo com a presente invenção. Por exemplo, o reator pode compreender um misturador tal como um misturador de junção em T a montante do leito compactado de grânulos não porosos. Alternativamente, o reator pode compreender um filtro, por exemplo, um filtro com um tamanho de poro de 0,2 μm , a montante do leito

compactado de grânulos não porosos. Como uma outra alternativa, o reator pode compreender um filtro, por exemplo, um filtro com um tamanho de poro de 0,2 μm , a montante do leito compactado de grânulos não porosos, e um misturador tal como um misturador de junção em T a montante do filtro. Em um aspecto preferido desta modalidade, o reator é uma coluna, a qual compreende um filtro, por exemplo, um filtro com um tamanho de poro de 0,2 μm , a montante do leito compactado de grânulos não porosos, e um misturador estático tal como um misturador de junção em T a montante do filtro.

[00177] Em uma modalidade de acordo com todas as outras modalidades da invenção, o reator de fluxo contínuo é apropriado para a inativação contínua de vírus. O reator de fluxo contínuo para a inativação contínua de vírus da invenção compreende de preferência misturadores para dois líquidos, três líquidos, ou quatro ou mais líquidos que são conectados ao leito compactado de grânulos não porosos. Esses misturadores são posicionados a montante do leito compactado de grânulos não porosos de maneira tal que os líquidos podem ser misturados antes da entrada do leito compactado de grânulos não porosos. Os exemplos não limitadores de tais configurações de misturação são fornecidos na Figura 17. A ordem de misturação não é particularmente limitada. Por exemplo, três líquidos podem ser misturados de uma maneira na qual dois líquidos são misturados antes que o terceiro líquido seja misturado com a mistura resultante, ou qualquer número de líquidos pode ser misturado antes da mistura de líquidos adicionais. Os exemplos não limitadores de tais configurações de misturação são fornecidos na Figura 18.

[00178] O reator de fluxo contínuo para a inativação contínua de vírus da invenção compreende de preferência outras unidades a montante do leito compactado dos grânulos não porosos, as quais podem incluir um tanque de surto. Em modalidades não limitadoras, o tanque de surto

pode ser conectado a uma unidade de cromatografia de batelada a montante do tanque de surto, ou a uma unidade de cromatografia de carregamento em contracorrente a montante do tanque de surto, ou a uma unidade para a cromatografia de leito móvel simulada a montante do leito do tanque de surto. Os exemplos não limitadores de tais unidades a montante do leito compactado de grânulos não porosos são mostrados na Figura 19A. Alternativamente, o reator de fluxo contínuo para a inativação contínua de vírus da invenção compreende de preferência outras unidades a montante do leito compactado de grânulos não porosos, as quais incluem uma unidade para o processamento direto sem emenda sem um tanque de surto. Em modalidades não limitadoras, a unidade para o processamento direto sem emenda pode ser uma unidade de cromatografia de batelada, uma unidade para a cromatografia de carregamento em contracorrente, ou uma unidade para a cromatografia de leito móvel simulada. Os exemplos não limitadores de tais unidades a montante do leito compactado de grânulos não porosos são mostrados na Figura 19B.

[00179] O reator de fluxo contínuo para a inativação contínua de vírus da invenção compreende de preferência outras unidades a jusante do leito compactado de grânulos não porosos incluindo, mas sem ficar a elas limitado, uma unidade para a extração de solvente-detergente no modo de contracorrente, uma unidade para a extração de solvente-detergente no modo de concorrente, uma unidade de cromatografia de batelada, uma unidade para a cromatografia de carregamento em contracorrente e uma unidade para a cromatografia de leito móvel simulada. Os exemplos não limitadores de tais unidades a jusante do leito compactado de grânulos não porosos são mostrados na Figura 20.

[00180] Deve ser compreendido que as unidades descritas acima do reator para a inativação contínua de vírus da invenção também podem ser usadas em conexão com os processos e os métodos da invenção.

[00181] A seguir, a presente invenção será ilustrada por meio de exemplos, sem ficar limitada aos mesmos.

EXEMPLOS

Exemplo 1: Configuração geral de experimentos de ruptura

[00182] A distribuição cumulativa do tempo de residência em uma coluna compactada com grânulos não porosos pode ser obtida pelos chamados experimentos de ruptura. Para os exemplos da presente invenção, os experimentos de ruptura foram realizados nas três etapas a seguir:

[00183] 1. Inundação da coluna com tampão de equilíbrio

[00184] Nos experimentos da presente invenção, a água foi usada para o equilíbrio.

[00185] 2. Inundação da tubulação extracoluna com o tampão que contém a acetona de analito (com a válvula da coluna em desvio)

[00186] Se não estiver indicado de alguma outra maneira, nos exemplos da presente invenção, foi usada acetona a 2%. Foi mostrado que a acetona a 2% é um sistema modelo apropriado para uma mistura que compreende a mistura de solvente/detergente apropriada para o tratamento de inativação de vírus com solvente/detergente de acordo com a presente invenção (vide o Exemplo 2). O uso de um sistema de acetona em vez de uma mistura que compreende a mistura de solvente/detergente permitiu um trabalho de laboratório mais conveniente. Quando indicado, experimentos adicionais foram realizados com acetona a 10% para uma sensibilidade maior.

[00187] 3. Começo da medição da ruptura ao comutar a válvula da coluna para a coluna selecionada

[00188] A resposta UV foi detectada a jusante da coluna compactada com grânulos não porosos ao usar um detector de radiação UV. A resposta UV normalizada representa a distribuição cumulativa do tempo de residência (Figura 1A).

[00189] Nos exemplos da presente invenção, o detector de radiação UV foi ajustado a um comprimento de onda de 280 nm, a menos que uma mistura que compreende a mistura de solvente/detergente apropriada para o tratamento de inativação de vírus com solvente/detergente de acordo com a presente invenção fosse usada. Se a mistura que compreende uma mistura de solvente/detergente fosse usada, o detector de radiação UV era ajustado a um comprimento de onda de 300 nm, uma vez que ao comprimento de onda com o sinal UV máximo (isto é, a 280 nm), o detector de radiação UV era saturado. Os experimentos de ruptura foram realizados no sistema cromatográfico Aekta Avant da GE Healthcare a velocidades lineares da superfície diferentes que variam entre 2 cm/h e 300 cm/h. Para os exemplos da presente invenção, os espectros UV foram processados com certificados de processamento in-house no ambiente de programação Matlab®. A resposta UV foi normalizada para variar de 0% a 100%. O volume de eluição (EV) é expresso em volumes da coluna (CV). Os volumes de eluição a concentrações diferentes do fluxo através da solução (acetona em água) foram calculados (por exemplo, o volume de eluição a 5% e o volume de eluição a 50%, vide a Figura 1A).

[00190] Quando são usadas colunas compactadas, espera-se que a parte posterior de pico de baixa intensidade seja mais longa do que a parte anterior de pico de baixa intensidade. No entanto, no método para a inativação contínua de vírus de acordo com a presente invenção, a parte posterior de pico não é tão relevante quanto a parte anterior de pico, uma vez que a inativação viral aumenta com o passar do tempo. Desse modo, a estreiteza dos perfis de UV obtidos pode ser descrita de preferência pelo parâmetro a seguir:

$$\theta_x = EV_x/EV_{50\%}$$

[00191] $EV_{50\%}$ é a média da distribuição do tempo de residência, ao passo que EV_x representa tipicamente o volume de eluição quando o

sinal atinge o limite de detecção menos confiável ("limite de detecção", LOD). Nos exemplos da presente invenção, $EV_{1\%}$ e $EV_{5\%}$ são normalmente usados. Deve ser compreendido que, independente dos presentes exemplos, $EV_{1\%}$ e $EV_{5\%}$ podem ser geralmente usados de acordo com todas as modalidades da invenção. Ao usar a configuração destes exemplos, os volumes de eluição descendentes até $EV_{0,03\%}$ podem ser detectados quando a solução de acetona a 10% é usada. Se θ_x se aproximar 1, o RTD é muito estreito, isto é, o fluxo de líquido através da coluna compactada com grânulos não porosos se aproxima do fluxo de tampão ideal. Por outro lado, se θ_x se aproximar 0, o RTD é muito amplo, isto é, o RTD exibe uma parte anterior de pico intensa. Falando de modo geral, quanto mais θ_x for próximo de 1, mais aguda a curva de RTD.

[00192] Além disso, para cada curva de ruptura, o número de Bodenstein foi calculado pelo ajuste da função F ao sinal UV normalizado, onde $F(EV)$ representa a integral do pico de Gauss e Bo representa o número de Bodenstein, EV representa o volume de eluição em um determinado ponto do tempo e $EV_{50\%}$ representa o volume de eluição à média de RTD:

$$F(EV) = 1/2 (\text{erf}(1/2 \sqrt{Bo}(EV/EV_{50\%} - 1)) + 1)$$

[00193] Como é conhecido de um elemento versado no estado da técnica, o número de Bodenstein também pode ser usado como uma medida da distribuição do tempo de residência. Um número de Bodenstein pequeno é indicativo de um RTD amplo, ao passo que um número de Bodenstein grande é indicativo de um RTD estreito.

Exemplo 2: Comparação do desempenho entre a acetona e a mistura que compreende solventes/detergentes

[00194] Trabalhar com misturas de solvente/detergente pode ser perigoso, o que torna inconveniente o trabalho de laboratório. Desse modo, a fim de permitir um trabalho de laboratório mais conveniente, foi

testado se uma solução de acetona é um sistema modelo apropriado para uma mistura que compreende a mistura de solvente/detergente apropriada para o tratamento de inativação de vírus com solvente/detergente de acordo com a presente invenção.

[00195] Várias colunas foram compactadas com grânulos de vidro. Os experimentos de ruptura foram realizados tal como descrito acima (vide o Exemplo 1) ao usar uma mistura de acetona em água a 2%, ou uma combinação de tampão de fluido do processo e de tampão de fluido do processo com a adição de produtos químicos solventes/detergentes. A razão entre $EV_{5\%}$ e $EV_{50\%}$ ($\theta_{5\%}$) e os números de Bodenstein foram calculados para cada experimento.

[00196] Tal como pode ser visto nas Figuras 2 e 3, $\theta_{5\%}$ e os números de Bodenstein eram muito similares para os experimentos, que diferiam se fosse usada uma mistura de acetona em água a 2% ou uma combinação do tampão de fluido do processo e de tampão de fluido do processo com produtos químicos solventes/detergentes. Desse modo, somente a combinação de água e acetona a 2% foi usada em outros experimentos, a menos que esteja indicado de alguma outra maneira.

Exemplo 3: Influência de parâmetros da coluna na distribuição do tempo de residência

[00197] A fim de investigar a influência de vários parâmetros das colunas compactadas com os grânulos não porosos na distribuição do tempo de residência, os dados resumidos na Figura 2 foram analisados levando em consideração as alturas da coluna, os diâmetros da coluna, as velocidades lineares, os diâmetros dos grânulos e as faixas de diâmetro de grânulo. De modo geral, em conexão com a presente invenção, os termos "altura" e "comprimento" são usados intercambiavelmente e sempre se referem à altura da estrutura, por exemplo, a altura do leito compactado.

[00198] Especificamente, a análise dos menores quadrados parcial

(PLS) foi realizada nos dados resumidos na Figura 2 para os parâmetros da entrada (altura da coluna, volume da coluna, velocidade linear, diâmetro médio de grânulo, distribuição de diâmetro de grânulo) e para dois parâmetros de saída (número de Bodenstein e $\theta_{1\%}$). A regressão ortogonal de PLS (OPLS) foi usada para representar a influência de parâmetros individuais de entrada na saída.

[00199] No presente caso, OPLS é o mesmo que PLS com o sistema de coordenadas girado para a representação mais intuitiva (Ref. 7). Mais particularmente, a influência de parâmetros individuais na saída pode ser observada do 1º componente de OPLS. Os parâmetros com valor positivo aumentam a saída se eles forem aumentados. Os parâmetros com valor negativo diminuem a saída se eles forem diminuídos. Se o valor absoluto do 1º componente de OPLS de um determinado parâmetro for alto, então o parâmetro tem uma alta influência na saída. (O 2º componente de OPLS não é relevante neste caso – em uma explanação simplificada poderia ser interpretado de uma maneira que se relaciona à variabilidade do parâmetro).

[00200] O traçado dos dois primeiros componentes principais revelou que a influência de dimensões de partícula de grânulo é o parâmetro mais significativo na faixa investigada (Figura 4). Quanto menores e mais uniformes os grânulos, mais estreito é o RTD. Um outro fator significativo era o comprimento da coluna. Colunas mais longas resultaram em um RTD mais estreito. Os fatores de menos influência foram o volume da coluna e a velocidade linear. Este último significa que, para a escalação, o diâmetro da coluna pode ser alterado e/ou o tempo de residência pode ser aumentado ao usar velocidades lineares decrescentes com pouca influência no RTD na faixa testada. No entanto, foi observado que velocidades lineares mais baixas e volumes de coluna maiores resultaram ambos em um RTD um tanto melhor. As considerações acima eram consistentes para ambos os parâmetros que

descrevem o RTD, isto é, o número de Bodenstein e $\theta_{1\%}$.

[00201] Um outro experimento foi realizado para confirmar a influência do comprimento da coluna em RTD. Colunas de tamanhos diferentes foram compactadas com grânulos de cerâmica da mesma batelada, e os experimentos de ruptura foram realizados a várias velocidades lineares. Também neste experimento foi verificado que colunas mais curtas têm um $\theta_{1\%}$ mais baixo, isto é um RTD amplo (Figura 5).

[00202] Um outro experimento foi realizado para confirmar a influência da velocidade do fluxo linear em RTD. Uma coluna apropriada para o método da inativação contínua de vírus de acordo com a presente invenção ("MP_7_PMMA_HS_16/13.2_0.2-0.4mm; material: Plástico de PMMA; diâmetro: 16 mm; altura: 13,2 cm; tamanho de grânulo: $0,3 \mu\text{m} \pm 0,1 \mu\text{m}$) foi compactada ao usar uma estação de compactação de coluna vibracional. Tempos de fluxos passantes diferentes devem resultar em vazões diferentes e desse modo RTDs diferentes. Desse modo, o RTD foi avaliado ao usar $EV_{1\%}/EV_{50\%}$ ($\theta_{1\%}$), por toda a faixa de tempos de fluxos passantes de 1 minuto a 30 minutos. Supondo uma porosidade de $0,4 \pm 0,05$, a velocidade linear da superfície do fluxo deve ficar na faixa entre 5 cm/h e 180 cm/h. Em tal faixa, o RTD fica mais amplo, isto é, $\theta_{1\%}$ fica menor, em relação a velocidades mais elevadas (Figura 6). A faixa de velocidades lineares testadas, o desempenho da coluna em termos de $\theta_{1\%}$ cai em 4%. De modo marcante, a coluna usada neste experimento é curta em comparação ao que se espera que seja usado em um processo de produção biofarmacêutica. Uma vez que as colunas mais longas acarretam um RTD mais estreito (vide acima), em um processo de produção biofarmacêutica é esperado um RTD ainda mais estreito.

Exemplo 4: Predição da influência de parâmetros da coluna e da velocidade do fluxo linear em RTD

[00203] É importante poder prever com precisão a influência de parâmetros da coluna e da velocidade do fluxo linear em RTD, por exemplo, quando da escalação das colunas para a integração em um processo de produção biofarmacêutica. A predição de RTD PLS foi executada para todos os 5 parâmetros de entrada (comprimento da coluna, volume da coluna, velocidade do fluxo linear, diâmetro médio de grânulo e faixa de diâmetro de grânulo), e para os mesmos parâmetros de entrada com exceção da velocidade linear. Tal como pode ser visto nas Figuras 5 e 6, respectivamente, a predição da influência dos parâmetros de entrada em RTD ao usar o modelo de predição de PLS teve uma boa correlação com os dados experimentais observados, independente do fato se $EV_{1\%}$ a $EV_{50\%}$ ($\theta_{1\%}$) ou os números de Bodenstein foram usados avaliar o RTD. No entanto, $\theta_{1\%}$ foi mais correlacionado linearmente com os parâmetros de entrada do que o número de Bodenstein.

Exemplo 5: Influência da compactação da coluna em RTD

[00204] Para avaliar a influência da compactação da coluna em RTD, colunas de mesmo diâmetro (1 cm) e de comprimentos similares (28,5 cm a 30,5 cm) foram compactadas manualmente com grânulos de cerâmica. Uma delas (JS_07) foi mal compactada de propósito, isto é, ela continha muitas bolhas de ar após a compactação. A baixas velocidades lineares da superfície, coluna mal compactada teve um desempenho similar àquele das colunas bem compactadas com tamanhos de grânulos maiores (Figura 7). No entanto, a velocidades lineares da superfície mais elevadas a coluna mal compactada, teve um desempenho muito pior, isto é, $\theta_{1\%}$ era muito mais baixo, indicando um RTD amplo. Esses resultados mostram que a qualidade da compactação da coluna afeta o RTD. De modo marcante, a compactação de alta qualidade da coluna pode ser obtida ao usar, por exemplo, uma estação de vibração construída sob medida.

Exemplo 6: Redução do limite de detecção

[00205] Ao usar acetona a 2%, o limite de detecção (LOD) nos experimentos de ruptura fica na faixa de 1% do volume de eluição ($EV_{1\%}$). No entanto, o método para a inativação contínua de vírus de acordo com a presente invenção atinge de preferência um valor de redução Log10 (LRV) de pelo menos 4. Um LRV de 4 seria equivalente a uma redução das partículas de vírus infeccioso de 100% para 0,01% partículas de vírus infeccioso. A este respeito, um limite de detecção de $EV_{1\%}$ é relativamente grande.

[00206] A fim de obter um LOD mais baixo, foi usada acetona a 10%. Neste caso, o LOD pode ser ajustado em 0,03 % a 280 UV nm. Quando os experimentos de ruptura foram realizados ao usar acetona a 10% e as colunas compactadas com grânulos de cerâmica, $\theta_{0,03\%}$ ($EV_{0,03\%}/EV_{50\%}$) e $\theta_{1\%}$ ($EV_{1\%}/EV_{50\%}$) tiveram uma boa correlação, especialmente quando foram usadas colunas bem compactadas (vide a Figura 11). Desse modo, o uso de $\theta_{1\%}$ para avaliar a influência de vários parâmetros no RTD é justificado. De modo marcante, experimentos de fluorescência puderam ser usados para obter limites de detecção ainda menores.

Exemplo 7: Comparação a métodos conhecidos

[00207] Nos métodos conhecidos, inversores de fluxo enrolados (CFI) foram usados para obter um RTD estreito. No entanto, a escalabilidade do leito compactado de grânulos não porosos de acordo com o presente é muito melhor do que a escalabilidade de CFIs uma vez que, para o leito compactado de grânulos não porosos, o RTD fica mais estreito ao usar leitos mais longos, e o leito não é muito sensível a mudanças nas vazões. Por outro lado, foi demonstrado que os CFIs só trabalham com diâmetros de tubo de 2 a 3 mm, e as capacidades de escalação são questionáveis devido à dinâmica de fluido não ideal. Além disso, os CFIs são limitados a uma única vazão para cada

desenho em questão.

[00208] A fim de comparar o RTD de CFIs com o RTD das colunas compactadas com grânulos não porosos de acordo com o presente, os números de Bodenstein obtidos com CFIs e publicados em Klutz et al. (Ref. 2) foram comparados aos números de Bodenstein obtidos pelas colunas compactadas da presente invenção. É marcante o fato que os números de Bodenstein de colunas com diâmetros de mais de 5 mm, comprimentos de mais de 10 cm, e com grânulos que eram menores do que 600 μm de diâmetro eram mais elevados do que os números de Bodenstein dos CFIs descritos nos métodos conhecidos, independente do fato se foram usados grânulos de vidro (Figura 11), grânulos de cerâmica (Figura 12), ou grânulos de plástico de PMMA (Figura 13).

Exemplo 8: Distribuição do tempo de residência para colunas da invenção e colunas comparativas a tamanhos de coluna diferentes

[00209] A seguir, os autores da presente invenção investigaram a influência do tamanho das colunas na distribuição do tempo de residência e também compararam as colunas da invenção às colunas do inversor de fluxo convertido (CFI). Os resultados são mostrados na Figura 21. Na Figura 21A, cada círculo representa um experimento. O tamanho do círculo é proporcional ao número de Bodenstein. Desse modo, quanto maior o círculo, maior o número de Bodenstein, o que significa que o sistema é mais próximo do fluxo de tampão ideal. No eixo x, é mostrado o tempo de residência médio (ou tempo de fluxo passante), e no eixo y é a vazão. Os círculos vazios representam experimentos com as colunas compactadas de acordo com a invenção, e os círculos cheios representam os dados de um inversor de fluxo enrolado (CFI) comparativo. As linhas tracejadas estão representando a trajetória que pode ser obtida ao usar um único reator (ou múltiplos reatores com os mesmos volumes de espaços vazios) a vazões diferentes. A finalidade desse gráfico é colocar a comparação em

perspectiva com respeito à vazão e ao tamanho do reator usado, uma vez que seria inadequado comparar os números de Bodenstein entre dois métodos executados a vazões muito diferentes ou em uma escala diferente.

[00210] Embora os autores da presente invenção já tenham demonstrado que as colunas de acordo com a invenção têm volumes de espaços vazios menores do que as configurações de CFI e que a distribuição do tempo de residência (RTD) fica mais estreita com a escalação da coluna, os autores da presente invenção também fizeram uma comparação direta adicional na forma de um gráfico. No gráfico da Figura 21A, também são mostrados os resultados de uma coluna compactada grande. Embora as outras colunas tenham volumes de espaços vazios menores do que a maior parte das configurações de CFI apresentadas, essa coluna grande era maior do que todas as configurações de CFI. A coluna grande tem um desempenho substancialmente maior em relação a todas as colunas menores (escala de laboratório), bem como todas as configurações de CFI (deve ser observado que os círculos claros grandes pertencem à coluna grande).

[00211] A Figura 21B é a mesma que a Figura 21A, exceto pelo fato que as escalas estão na forma logarítmica. Desse modo, os experimentos com o mesmo volume de espaços vazios (o mesmo reator) ficam em uma linha reta.

[00212] Os experimentos, que foram realizados para a coluna grande, são mostrados em mais detalhes na Figura 21C. Em particular, uma coluna (GE Healthcare XK 50/100) com um diâmetro de 5 cm e um comprimento de 89 cm foi compactada com grânulos de cerâmica com um diâmetro entre 125 μm e 250 μm . O volume total da coluna compactada era de 1,75 litro, e o volume de espaços vazios era de 0,7 litro. A coluna foi compactada ao usar uma estação de compactação de coluna de vibração. A finalidade era confirmar a tendência de uma

distribuição mais estreita do tempo de residência (RTD) com escalação da coluna, assim como também demonstrar o RTD estreito para uma coluna maior do que os reatores do inversor de fluxo enrolado (CFI) comparativos.

[00213] Os experimentos foram realizados com uma velocidade linear da superfície de 5 cm/h, 10 cm/h, 15 cm/h, 20 cm/h e 30 cm/h. A faixa de vazões volumétricas era ainda mais ampla no limite superior e inferior do que para as vazões usadas nos reatores de CFI.

[00214] A coluna grande produziu um RTD muito estreito, tal como esperado de acordo com a invenção (Figura 21C). Em comparação, uma coluna menor ($d = 26$ mm, $l = 19,5$ cm) compactada com a mesma batelada de grânulos atingiu uma contagem de $EV_{1\%}/EV_{50\%}$ na faixa de 0,88 a 0,92 e em um número de Bodenstein em uma faixa de 800 a 1.800.

Exemplo 9: Modalidade exemplificadora do dispositivo para a preparação de um fármaco biofarmacêutico

[00215] Uma modalidade exemplificadora do dispositivo para a preparação de um fármaco biofarmacêutico é mostrada na Figura 14. O fluido do processo é misturado com as soluções de partida dos produtos químicos solventes/detergentes individuais. Os balanços provêm o controle de feedback para assegurar as vazões corretas de todos os componentes para atingir as concentrações finais desejadas. Os misturadores em linha homogeneizam as soluções. A solução homogênea entra na coluna de inativação após a passagem através de um filtro absoluto (por exemplo, um filtro de $0,2$ μm) para remover os particulados.

Exemplo 10: Abordagem matemática para estimar a inativação de vírus

[00216] Duas abordagens para reivindicar a inativação viral foram sugeridas para configurações contínuas de Klutz et al. (Ref. 3). A primeira abordagem é baseada na detecção inicial de pico (com o limite

de detecção estipulado em 0,5% da ruptura), onde o tempo de eluição inicial de pico deve ser o mesmo que o tempo de inativação viral no reator de batelada correspondente. 99,5% de fluido do processo devem ter um tempo de incubação mais longo do que no processo descontínuo, e desse modo espera-se que o valor de redução de log (LRV) da configuração contínua seja mais elevado do que a operação descontínua.

$LRV = \log_{10} \frac{\text{Título do vírus antes da inativação}}{\text{Título de vírus após a inativação}}$

Título de vírus após a inativação

[00217] A segunda abordagem está supondo uma natureza exponencial de inativação viral (que é confirmada por resultados cinéticos da inativação descontínua experimental). O LRV eficaz para a segunda abordagem é definido como LRV médio ponderado pela distribuição do tempo de residência (RTD). Esta abordagem permite então tempos de residência mais curtos no reator porque o objetivo consiste em atingir o mesmo LRV que na operação descontínua. No entanto, as sugestões não foram acompanhadas por cálculos.

[00218] O início do pico de RTD é a parte crítica, uma vez que os vírus que eluem logo bem no início do pico têm um tempo de incubação relativamente curto. O estudo do início do pico não foi considerado nos métodos conhecidos no estado da técnica.

[00219] No método baseado na coluna compactada da presente invenção, portanto, é sugerida a divisão do perfil da ruptura em duas seções – antes e depois de ser possível detectar o início da curva da ruptura. Isto ocorre uma vez que o sinal supera o limite de detecção (LOD) inferior. O perfil antes da detecção não é conhecido. O perfil da ruptura representa a distribuição cumulativa do tempo de residência, ao passo que um perfil de injeção de pulso deve representar uma distribuição do tempo de residência normal. Desse modo, o tempo de eluição no qual a curva da ruptura se eleva em relação ao LOD (tempo

de LOD, t_{init}) é o tempo no qual a parte φ_{init} do pico de RTD deve eluir:

$$\varphi_{init} = \text{LOD}(\text{sinal de UV})/\text{max}(\text{sinal de UV})$$

[00220] Se for suposto que não há nenhuma inativação viral na parte inicial antes do limite de detecção (φ_{init}), então o limite de detecção deve ser muito baixo a fim de obter LRV requerido.

[00221] Em nossa coluna não há nenhuma ligação a e nenhum poro nas partículas, e desse modo espera-se que o RTD tenha somente um pico. Se houver somente um pico, o cenário teórico no pior caso com o tempo de residência médio mais baixo, ao supor um único perfil de pico, deve ser uma concentração de amostra constante antes da eluição do pico de eluição detectável, ou seja, parte anterior de pico extrema (Figura 15).

[00222] Supondo uma natureza exponencial da inativação viral e o cenário da parte anterior de pico no pior caso descrito acima, a razão da redução de vírus para φ_{init} pode ser calculada (notado por RV_{init}):

$$RV_{init} = \frac{1 - \exp_{10}(-k t_{init})}{k t_{init} \ln(10)}$$

[00223] O coeficiente para a deterioração da inativação viral exponencial (k) pode ser calculado a partir do tempo de incubação da inativação viral descontínua (t_0) e do limite inferior correspondente para a inativação viral (RV_{min} = valor da redução).

$$RV_{min} = \exp_{10}(-k t_0)$$

[00224] O tempo de incubação do material eluido depois do LOD é ajustado ao tempo de LOD. O valor de redução unido (RV_{total}) é calculado a partir de ambas as contribuições e deve ser igual a RV_{min} .

$$\begin{aligned} RV_{total} &= \varphi_{init} * RV_{init} + (1 - \varphi_{init}) * \exp_{10}(-k t_{init}) = \\ &= \varphi_{init} * \frac{1 - \exp_{10}(-k t_{init})}{k t_{init} \ln(10)} + (1 - \varphi_{init}) * \exp_{10}(-k t_{init}) = RV_{min} \end{aligned}$$

a

RV_{\min} requerido e para o LOD dado pode ser calculado (Figura 16).

Exemplo passo a passo:

[00227] 1) Foi mostrado acima que $LOD < 0,03\%$ pode ser obtido mediante o uso de acetona a 10% e do detector de radiação UV. Desse modo, neste exemplo os autores da presente invenção usaram $\varphi_{\text{init}} = 0,03\%$, requereram logs de LRV 4 e um tempo de incubação descontínua (t_0) de 1 hora. O tempo requerido de LOD pode ser estimado a partir do gráfico na Figura 16. Um valor preciso pode ser obtido pela solução numérica da última equação. O valor estimado do gráfico é 1,05. $t_{\text{init}} = 1,05$; $t_0 = 1,05 * 60 = 63$ minutos.

[00228] 2) Os autores da presente invenção também mostraram acima que para $LOD < 0,03\%$ a razão entre o tempo de LOD e o tempo de residência médio acima de 0,8 pode ser obtida $(EV_{0,03\%}) / (EV_{50\%}) = 0,8$. Desse modo, o tempo de residência médio (t_{mean}) é: $t_{\text{mean}} = t_{\text{LOD}} / 0,8 = 79$ minutos.

[00229] 3) Uma porosidade típica é $\approx 0,4$. Ela depende da distribuição de tamanho da partícula. Para este exemplo é possível supor que a porosidade seja = 0,4 e o rendimento desejado do método $\Phi_{\text{throughput}} = 1$ l/h. Neste caso, o volume total da coluna (CV) deve ser:

$$CV = \frac{t_{\text{mean}} * \Phi_{\text{throughput}}}{\varepsilon} = 3,3 \text{ l}$$

ε

Exemplo 11: Inativação de vírus

[00230] Uma inativação de vírus exemplificadora de acordo com a invenção pode ser executada tal como segue. No exemplo a seguir, toda a configuração, bem como todas as soluções, está na temperatura ambiente. O processo inteiro de inativação é operado continuamente.

[00231] Uma solução tamponada que contém um produto proteínico (20 mM de MES, 10 mM de CaCl_2 , 0,1% de polissorbato 80, 500 mM de NaCl, pH 6,35) é misturada continuamente com uma solução de partida de produtos químicos solventes-detergentes: fosfato de tri-n-

butila, Triton X-100 e polissorbato 80 (porcentagens em massa dos três produtos químicos na solução de partida: 17,47%:63,25%:19,28%). Um misturador em linha dinâmico é usado para misturar as duas soluções. As vazões volumétricas das duas correntes são de 0,161 ml/min e 10,0 ml/min para o material solvente-detergente e para a corrente contendo produto, respectivamente. A mistura homogênea resultante passa por um filtro em linha para remover todos os particulados. A solução é alimentada então diretamente na coluna de inativação compactada com grânulos não porosos e um volume da coluna de 2.134 ml. A altura da coluna é de 27,2 cm e o diâmetro da coluna é de 10 cm. A coluna é uma coluna equilibrada com tampão (20 mM de MES, 10 mM de CaCl₂, 0,1% de polysorbato 80, 500 mM de NaCl, pH 6,35) com a mesma concentração de SD que está presente na mistura da solução do produto e da solução de partida química de SD.

[00232] O fluxo de saída da coluna de inativação de vírus é filtrado através de um filtro, diluído em linha a 1:4,5 com uma solução tampão (50 mM de Tris, 5 mM de CaCl₂, 0,1% de polissorbato 80) e carregado em uma coluna de troca de ânions de abertura ampla.

Exemplo 12: Inativação de vírus (X-MuLV a 5% de S/D)

[00233] É descrito a seguir um exemplo experimental para a inativação viral contínua (CVI), no qual o processo de solvente/detergente (S/D) foi usado, e em que a inativação viral contínua foi comparada contra a incubação descontínua de SD do padrão da indústria.

[00234] Por conseguinte, os experimentos foram realizados com as diretrizes relevantes da indústria tais como, mas sem ficar elas limitadas, a diretriz ICH Q5A(R1) 1999, a diretriz ICH CPMP/BWP/268/95 1996 e a diretriz EMEA CHMP/BWP/398498/2005 2009.

[00235] O título do vírus foi determinado pelo método de Dose Infectiva de Cultura de Tecido a 50% (TCID₅₀). O limite da detecção

(LOD) e a falta de interferência de amostra foi avaliado para a TCID₅₀ por um elemento versado no estado da técnica.

[00236] O reator de inativação contínua de vírus (CVIR) foi usado para a inativação viral no modo de operação contínua. O volume do reator (V_R) é equivalente a $EV_{1\%}$ e foi avaliado pela análise do tempo de residência. O reator foi projetado e operado para obter um tempo de incubação de 30 e 60 minutos. O volume de pré-CVIR é pequeno em comparação com o volume de CVIR e não foi considerado na análise da distribuição do tempo de residência.

[00237] A configuração usada para a inativação contínua de vírus é mostrada na Figura 24. Neste exemplo, duas bombas foram usadas para bombear o item de teste (uma substituta para o intermediário do processo) e o reagente de S/D, as duas correntes convergiram no misturador em linha, onde foram homogeneizadas. Uma vez homogênea, uma única corrente foi ainda bombeada através do CVIR, onde a inativação de vírus ocorreu continuamente.

[00238] O CVIR era um tubo cilíndrico compactado com grânulos não porosos esféricos de poli(metacrilato de metila) (PMMA) com diâmetros que variam de 200 a 400 μm com um diâmetro médio de 300 μm . O reator foi compactado ao usar uma estação de compactação auxiliada por vibração construída sob medida. A compactação resultou em um reator com uma altura compactada de 132 mm e um volume de espaços vazios de $10,66 \pm 0,06$ ml. O número de Bodenstein a 10 cm/h era > 875 . EV_1/EV_{50} a 10 cm/h era de 0,882, e desse modo o volume de CVIR foi calculado desse modo para ser igual a $9,40 \pm 0,15$ ml.

[00239] A vazão na entrada e na saída do CVIR era tal que o tempo de incubação era de 30 e 60 minutos, o que resultou em velocidades lineares dentro do CVIR de 4,68 e 9,35 cm/h, respectivamente.

[00240] O processo atingiu o estado estável antes de $2 V_R$ da operação, e a $2 V_R$ o sistema já estava no estado estável. Uma vez que

a concentração dos componentes de S/D na saída alcançou a mesma concentração que aquela na entrada, o sistema tinha atingido o estado estável, tal como mostrado na Figura 25. O processo de CVI exibiu uma fase de latência e um início atrasado do estado estável devido ao deslocamento da fase líquida dentro do CVIR, que não continha nenhum dos componentes de S/D, e desse modo não ocorreu nenhuma inativação de vírus ou então foi apenas limitada.

[00241] O item de teste consistiu em um tampão relevante da indústria com albumina de soro humano como um exemplo de um fármaco biofarmacêutico. O item de teste no presente exemplo reproduz as propriedades chaves (pH, condutividade, proteína total) de um intermediário do processo em um processo para a produção de um fármaco biofarmacêutico. Por conseguinte, o item de teste foi encravado de antemão com X-MuLV por um elemento versado no estado da técnica com as diretrizes relevantes.

[00242] O reagente de S/D deste exemplo não limitador era uma mistura de um solvente e um detergente com efeito de inativação de vírus. No presente exemplo, Triton X-100 (Tx-100), polissorbato 80 (PS80) e fosfato de tri-n-butila (TnBP) foram usados. O reagente de S/D foi diluído no misturador para obter a concentração alvo de 0,0473% (peso/peso) de TX-100, 0,0144% (peso/peso) de PS80 e 0,0131% (peso/peso) de TnBP durante a incubação CVI.

[00243] Uma amostra do item de teste encravado foi extraída antes de começar o experimento de CVI para estabelecer o título do vírus inicial. A corrente na saída de CVIR foi amostrada a 1, 2, 3, 4 e 5 V_R . As amostras de saída foram diluídas 20 vezes imediatamente para parar o processo de inativação de vírus e tituladas imediatamente para o título do vírus a fim de estabelecer o título após o processo de CVI. Uma amostra do item de teste encravado foi extraída depois de ter sido completado o experimento de CVI para servir como um controle de

contenção (HC).

[00244] A inativação de vírus foi medida ao calcular o valor de redução logarítmica (LRV) tal como na equação 1 a seguir. A equação 1 reflete a natureza específica da operação contínua e o fato que neste exemplo há duas correntes que estão sendo bombeadas através do CVIR e somente uma que sai do CVIR. Portanto, a entrada de vírus por unidade de tempo antes da inativação de vírus e a saída de vírus por unidade de tempo depois da inativação de vírus são calculadas com base no título do vírus da corrente e em sua respectiva vazão volumétrica. O título_{saída} foi corrigido para a diluição de parada de inativação de vírus.

$$\text{LRV} = \log_{10} \left(\frac{\text{título}_{\text{item de teste encravado}} \times \text{vazão}_{\text{item de teste encravado}}}{\text{título}_{\text{saída}} \times \text{vazão}_{\text{saída}}} \right)$$

[00245] Na Figura 26, é mostrado o perfil do título de X-MuLV depois de 30 e 60 minutos do processo de incubação CVI. Uma vez que a operação tenha atingido o estado estável, X-MuLV foi reduzido de $\geq 6,3E + 5$ TCID₅₀/ml na entrada do CVIR para $\leq 4,0E + 2$ TCID₅₀/ml na saída do CVIR para o tempo de incubação de 30 minutos e reduzido para $\leq 8,0E + 1$ TCID₅₀/ml para o tempo de incubação de 60 minutos. Antes de atingir o estado estável, isto é, a $1 V_R$, o título de X-MuLV de $2,5E + 2$ TCID₅₀/ml era mais elevado do que aqueles obtidos na fase de estado estável. Essa diferença pode ser explicada pela concentração dos componentes de S/D abaixo da concentração alvo a $1 V_R$ tal como descrito acima.

[00246] Uma vez no estado estável (de $2 V_R$ em diante) um LRV $\geq 3,5$ foi observado para o tempo de incubação de 30 minutos e um LRV $> 3,9$ para o tempo de incubação de 60 minutos (Figura 27). Para a incubação de 30 e 60 minutos, o controle da contenção mostrou uma perda de vírus abaixo de $1 \log_{10}$ – o valor de diferença mínima a ser considerado como significativo por um elemento versado no estado da

técnica e aceito nas diretrizes relevantes na indústria.

[00247] Os experimentos descontínuos foram realizados por um elemento versado no estado da técnica ao seguir as diretrizes relevantes na indústria para a comparação. Os dados que resultam da batelada tradicional (mostrados na Figura 28) mostraram um LRV = 3,8, que é comparável com aqueles obtidos no CVIR no modo de operação contínua. Esta comparação direta mostrou que a inativação contínua de vírus que usa o CVIR é tão eficaz quanto a operação descontínua tradicional.

[00248] Isto indica que a inativação contínua de vírus de acordo com a invenção é altamente vantajosa, uma vez que é tão eficaz quanto as condições de inativação ideais da inativação viral no modo descontínuo (por exemplo, um tempo de residência essencialmente igual para todas as partes da mistura devido a uma distribuição estreita do tempo de residência, conduzindo à inativação viral eficiente em todas as partes da mistura), enquanto propicia a vantagem adicional que pode ser executada continuamente.

[00249] Deve ser compreendido por um elemento versado no estado da técnica que as condições usadas no exemplo de inativação viral não são limitadoras do âmbito da invenção. Por exemplo, embora grânulos não porosos esféricos de poli(metacrilato de polimetila) (PMMA) com diâmetros que variam de 200 a 400 μm com um diâmetro médio de 300 μm tenham sido usados como um exemplo, qualquer estrutura que tem múltiplos canais interconectados, por exemplo, qualquer coluna compactada com grânulos não porosos, pode ser usada de acordo com a invenção. Similarmente, quando um tubo cilíndrico compactado ao usar uma estação de compactação auxiliada por vibração construída sob medida foi usado como CVIR que tem uma altura compactada de 132 mm, um volume de espaços vazios de $10,66 \pm 0,06$ ml e um volume de CVIR de $9,40 \pm 0,15$ ml, qualquer outro CVIR tal como definido pela

presente invenção pode ser usado.

Exemplo 13: Inativação de vírus (BVDV a 5% de S/D)

[00250] É descrito a seguir um exemplo experimental para a inativação viral contínua (CVI), em que o processo de solvente/detergente (S/D) foi usado, e em que a inativação viral contínua foi comparada contra a incubação descontínua de S/D padrão na indústria.

[00251] Por conseguinte, os experimentos foram realizados com as diretrizes relevantes na indústria tais como, mas sem ficar a elas limitadas, a diretriz ICH Q5A(R1) 1999, a diretriz ICH CPMP/BWP/268/95 1996 e a diretriz EMEA CHMP/BWP/398498/2005 2009.

[00252] O título do vírus foi determinado pelo método de Dose Infectiva de Cultura de Tecido a 50% (TCID₅₀). O limite da detecção (LOD) e a falta de interferência de amostra foi avaliado para a TCID₅₀ por um elemento versado no estado da técnica.

[00253] O reator de inativação contínua de vírus (CVIR) foi usado para a inativação viral no modo de operação contínua. O volume do reator (V_R) é equivalente a $EV_{1\%}$ e foi avaliado pela análise do tempo de residência. O reator foi projetado e operado para obter um tempo de incubação de 30 e 60 minutos. O volume de pré-CVIR é pequeno em comparação com o volume de CVIR e não foi considerado na análise da distribuição do tempo de residência.

[00254] A configuração usada para a inativação contínua de vírus é mostrada na Figura 24 do exemplo anterior. Neste exemplo, duas bombas foram usadas para bombear o item de teste (uma substituta para o intermediário do processo) e o reagente de S/D, as duas correntes convergiram no misturador em linha, onde foram homogeneizadas. Uma vez homogênea, uma única corrente foi ainda bombeada através do CVIR, onde a inativação de vírus ocorreu

continuamente.

[00255] O CVIR era um tubo cilíndrico compactado com grânulos não porosos esféricos de poli(metacrilato de metila) (PMMA) com diâmetros que variam de 200 a 400 μm com um diâmetro médio de 300 μm . O reator foi compactado ao usar uma estação de compactação auxiliada por vibração construída sob medida. A compactação resultou em um reator com uma altura compactada de 132 mm e um volume de espaços vazios de $10,66 \pm 0,06$ ml. O número de Bodenstein a 10 cm/h era > 875 . EV_1/EV_{50} a 10 cm/h era de 0,882, e desse modo o volume de CVIR foi calculado desse modo para ser igual a $9,40 \pm 0,15$ ml.

[00256] A vazão na entrada e na saída do CVIR era tal que o tempo de incubação era de 30 e 60 minutos, o que resultou em velocidades lineares dentro do CVIR de 4,68 e 9,35 cm/h, respectivamente.

[00257] O processo atingiu o estado estável antes de 2 volumes de reator (V_R) da operação, e a $2 V_R$ o sistema já estava no estado estável. Uma vez que a concentração dos componentes de S/D na saída alcançou a mesma concentração que aquela na entrada, o sistema tinha atingido o estado estável, tal como mostrado na Figura 25 do exemplo anterior. O processo de CVI exibiu uma fase de latência e um início atrasado do estado estável devido ao deslocamento da fase líquida dentro do CVIR, que não continha nenhum dos componentes de S/D, e desse modo não ocorreu nenhuma inativação de vírus ou então foi apenas limitada.

[00258] O item de teste consistiu em um tampão relevante da indústria com albumina de soro humano como um exemplo de um fármaco biofarmacêutico. O item de teste no presente exemplo reproduz as propriedades-chaves (pH, condutividade, proteína total) de um intermediário do processo em um processo para a produção de um fármaco biofarmacêutico. Por conseguinte, o item de teste foi encravado de antemão com X-MuLV por um elemento versado no estado da

técnica com as diretrizes relevantes.

[00259] O reagente de S/D era uma mistura de um solvente e detergentes com efeito de inativação de vírus. No presente exemplo, Triton X-100 (Tx-100), polissorbato 80 (PS80) e fosfato de tri-n-butila (TnBP) foram usados. O reagente de S/D foi diluído no misturador para obter a concentração-alvo de 0,0473% (peso/peso) de TX-100, 0,0144% (peso/peso) de PS80 e 0,0131% (peso/peso) de TnBP durante a incubação CVI.

[00260] Uma amostra do item de teste encravado foi extraída antes de começar o experimento de CVI para estabelecer o título do vírus inicial. A corrente na saída de CVIR foi amostrada a 1, 2, 3, 4 e 5 V_R . As amostras de saída foram diluídas 20 vezes imediatamente para parar o processo de inativação de vírus e tituladas imediatamente para o título do vírus a fim de estabelecer o título após o processo de CVI. Uma amostra do item de teste encravado foi extraída depois de ter sido completado o experimento de CVI para servir como um controle de contenção (HC).

[00261] A inativação de vírus foi medida ao calcular o valor de redução logarítmica (LRV) tal como na equação 1 do exemplo anterior. O fator de diluição serve para responder pela diluição da corrente de item de teste encravado com a corrente de reagente de S/D. O título_{saída} foi corrigido para a diluição com parada de inativação de vírus.

[00262] Na Figura 29 é mostrado o perfil do título de BVDV depois de 30 e 60 minutos do processo de incubação CVI. Uma vez que a operação tenha atingido o estado estável, BVDV foi reduzido de $\geq 7,9E + 5$ TCID₅₀/ml na entrada do CVIR para $\leq 2,5E + 2$ TCID₅₀/ml na saída do CVIR independentemente do tempo de incubação. Antes de atingir o estado estável, isto é, a 1 V_R , o título de BVDV de $\leq 5,0E + 2$ TCID₅₀/ml era mais elevado do que aqueles obtidos na fase de estado estável. Essa diferença pode ser explicada pela concentração dos componentes

de S/D abaixo da concentração alvo a $1 V_R$ tal como descrito acima.

[00263] Uma vez no estado estável (de $2 V_R$ em diante) um LRV $\geq 4,5$ foi observado para o tempo de incubação de 30 minutos e um LRV $> 4,9$ para o tempo de incubação de 60 minutos (Figura 30). Para a incubação de 30 e 60 minutos, o controle da contenção mostrou uma perda de vírus abaixo de $1 \log_{10}$ – o valor de diferença mínima a ser considerado como significativo por um elemento versado no estado da técnica e aceito nas diretrizes relevantes na indústria). Para a incubação de 60 minutos o controle de contenção exibiu um vírus acima de $1 \log_{10}$, no entanto, isso pode ser explicado pela duração do experimento. Embora para o experimento de CVI de 30 minutos o controle de contenção tenha sido recuperado cerca de 150 minutos (5×30 minutos) depois que o item de teste encravado foi preparado, para o experimento de CVI de 60 minutos o controle de contenção foi recuperado cerca de 300 minutos (5×30 minutos) depois que o item de teste encravado foi preparado. Portanto, a perda de vírus observada na amostra de controle de contenção pode ser explicada devido à exposição prolongada às condições físico-químicas (pH, sal, tampão, temperatura...) do item de teste encravado. Apesar da perda do vírus observada no HC para o experimento de 60 minutos, é evidente que a inativação de vírus era devida ao contato com os componentes de S/D, tal como observado a $2 V_R$, que ocorreu antes de 150 minutos após a preparação do item de teste encravado – o tempo transcorreu para a amostragem de HC no experimento de CVI de 30 minutos.

[00264] Os experimentos descontínuos foram realizados por um elemento versado no estado da técnica ao seguir as diretrizes relevantes na indústria para a comparação. Os dados que resultam da batelada tradicional (mostrados na Figura 31) mostraram um LRV de 3,5 a 3,7 a um tempo de incubação de 60 minutos, que é comparável com aqueles obtidos no CVIR no modo de operação contínua. Esta

comparação direta mostrou que a inativação contínua de vírus que usa o CVIR é tão eficaz quanto a operação descontínua tradicional.

[00265] Isto indica que a inativação contínua de vírus de acordo com a invenção é altamente vantajosa, uma vez que é tão eficaz quanto as condições de inativação ideais da inativação viral no modo descontínuo (por exemplo, um tempo de residência essencialmente igual para todas as partes da mistura devido a uma distribuição estreita do tempo de residência, conduzindo à inativação viral eficiente em todas as partes da mistura), enquanto propicia a vantagem adicional que pode ser executada continuamente.

[00266] Deve ser compreendido por um elemento versado no estado da técnica que as condições usadas no exemplo de inativação viral não são limitadoras do âmbito da invenção. Por exemplo, embora grânulos não porosos esféricos de poli(metacrilato de polimetila) (PMMA) com diâmetros que variam de 200 a 400 μm com um diâmetro médio de 300 μm tenham sido usados como um exemplo, qualquer estrutura que tem múltiplos canais interconectados, por exemplo, qualquer coluna compactada com grânulos não porosos, pode ser usada de acordo com a invenção. Similarmente, quando um tubo cilíndrico compactado ao usar uma estação de compactação auxiliada por vibração construída sob medida foi usado como CVIR que tem uma altura compactada de 132 mm, um volume de espaços vazios de $10,66 \pm 0,06$ ml e um volume de CVIR de $9,40 \pm 0,15$ ml, qualquer outro CVIR tal como definido pela presente invenção pode ser usado.

Aplicabilidade Industrial:

[00267] Os métodos, os processos e os produtos da invenção são úteis para a incubação de substâncias em processos de fabricação industriais. Por exemplo, a invenção pode ser usada para a produção industrial de produtos biofarmacêuticos. Desse modo, a invenção é industrialmente aplicável.

REFERÊNCIAS

- (1) WO 2015 158776 A1
- (2) Klutz S, Kurt SK, Lobedann M, Kockmann N. Narrow residence time distribution in tubular reactor concept for Reynolds number range of 10-100. Chem Eng Res Des 2015; 95:22-33.
- (3) Klutz S, Lobedann M, Bramsiepe C, Schembecker G. Continuous viral inactivation at low pH value in antibody manufacturing. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification 2016; 102:88-101.
- (4) WO 2015135844 A1
- (5) Kateja N, Agarwal H, Saraswat A, Bhat M, Rathore AS. Continuous precipitation of process related impurities from clarified cell culture supernatant using a novel coiled flow inversion reactor (CFIR). Biotechnology Journal 2016.
- (6) EP 3 088 006 A1
- (7) Wold, S. Wold, S., Sjöström, M., Eriksson, L., PLS-regression: a basic tool of chemometrics. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 2001, 58, 109-130.
- (8) Levenspiel, Chemical Reaction Engineering, 3rd ed., John Wiley & Sons, 1999

REIVINDICAÇÕES

1. Método para incubar uma mistura de pelo menos dois líquidos, caracterizado pelo fato de que compreende:

(i) misturar pelo menos dois ditos líquidos para obter uma mistura; e

(ii) passar a dita mistura através de um leito compactado de grânulos não porosos inertes para incubar a dita mistura para inativação de vírus,

em que o método é para a inativação de vírus, em que um primeiro de pelo menos dois ditos líquidos é um líquido que contém potencialmente um vírus, e em que um segundo líquido de pelo menos dois ditos líquidos compreende um agente de inativação de vírus.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que

o método é um método de fluxo contínuo, e/ou

em que a dita misturação e a dita passagem são executadas continuamente, e/ou

em que os grânulos não porosos inertes são grânulos de vidro, ou grânulos de cerâmica, ou grânulos de plástico tais como grânulos de PMMA, ou grânulos de aço.

3. Método de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o diâmetro médio de partícula dos grânulos não porosos inertes fica na faixa de 0,05 a 1 mm ou na faixa de 0,05 a 0,6 mm ou na faixa de 0,05 a 0,5 mm, ou na faixa de 0,05 a 0,3 mm, e/ou

em que 95% dos grânulos não porosos inertes não desviam do diâmetro médio de partícula em mais do que 50% ou não mais do que 35%, ou não mais do que 20%.

4. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que o leito compactado de grânulos

não porosos inertes tem um comprimento de pelo menos 5 cm, ou pelo menos 10 cm, ou pelo menos 20 cm, ou pelo menos 30 cm, ou pelo menos 50 cm, ou pelo menos 70 cm, ou pelo menos 100 cm.

5. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que o método apresenta pelo menos um dos seguintes:

(A) o leito compactado de grânulos não porosos inertes pode ser obtido por um método que compreende a sujeição dos ditos grânulos não porosos inertes a um tratamento de vibração,

(B) para o leito compactado de grânulos não porosos inertes, a fração entre o volume de espaços vazios e o volume total fica na faixa de 0,2 a 0,45 ou na faixa de 0,37 a 0,42,

(C) o leito compactado de grânulos não porosos inertes é contido em uma coluna e/ou em um reator, em que a coluna tem opcionalmente um diâmetro de mais de 5 mm ou um diâmetro de pelo menos 10 mm, e/ou

(D) o volume de espaços vazios do leito compactado de grânulos não porosos inertes é de pelo menos 10 mL, ou de pelo menos 40 mL, ou de pelo menos 150 mL, ou de pelo menos 470 mL ou de pelo menos 700 mL.

6. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que

o dito primeiro líquido compreende um fármaco biofarmacêutico, e/ou

em que o método é para a inativação de vírus de vírus envelopados, e/ou

em que o dito vírus é um retrovírus e/ou um vírus da família Flaviviridae, e em que o dito retrovírus é opcionalmente X-MuLV, e em que o dito vírus da família Flaviviridae é opcionalmente BVDV.

7. Método de acordo com a reivindicação 6, caracterizado

pelo fato de que o agente de inativação de vírus é uma mistura de solvente/detergente apropriada para o tratamento de inativação de vírus com solvente/detergente, ou uma solução ácida apropriada para o tratamento de inativação de vírus de baixo pH, e/ou

em que o agente de inativação de vírus é uma mistura de solvente/detergente para o tratamento com solvente-detergente, e/ou

em que o método provê pelo menos um 1 valor de redução de Log₁₀ (LRV), pelo menos um 2 LRV, pelo menos um 4 LRV ou pelo menos um 6 LRV para pelo menos um vírus, e em que pelo menos um dito vírus é opcionalmente um retrovírus e/ou um vírus da família Flaviviridae, e em que o dito retrovírus é opcionalmente X-MuLV, e em que o dito vírus da família Flaviviridae é opcionalmente BVDV.

8. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que a velocidade linear da superfície da dita mistura através do dito leito compactado de grânulos não porosos inertes é igual a ou menor do que 600 cm/h, ou igual a ou menor do que 300 cm/h, ou igual a ou menor do que 200 cm/h, ou igual a ou menor do que 100 cm/h, ou igual a ou menor do que 50 cm/h, ou igual a ou menor do que 20 cm/h, e/ou

em que o número de Bodenstein da dita mistura quando ela passa através do dito leito compactado de grânulos não porosos inertes é igual a ou maior do que 50, ou igual a ou maior do que 300, ou igual a ou maior do que 400, ou igual a ou maior do que 500, ou igual a ou maior do que 600, ou igual a ou maior do que 800.

9. Método para a preparação de um fármaco biofarmacêutico, caracterizado pelo fato de que o método compreende executar o método como definido em qualquer uma das reivindicações 6 a 8, em que o referido primeiro líquido compreende um fármaco biofarmacêutico e recuperar o dito fármaco biofarmacêutico.

10. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado

pelo fato de ser para a modificação de um processo de inativação de vírus de fluxo contínuo, em que a modificação compreende o uso de um leito compactado de grânulos não porosos inertes para a inativação de vírus de fluxo contínuo, e a passagem da mistura do pelo menos dois líquidos através do dito leito compactado de grânulos não porosos inertes, para incubar a dita mistura para a inativação do vírus, e

em que o dito processo de inativação de vírus de fluxo contínuo é opcionalmente um processo para a preparação de um fármaco biofarmacêutico.

11. Método de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que o dito processo de inativação de vírus é para a inativação de vírus de vírus envelopados, e/ou

em que o agente de inativação de vírus usado no dito processo de inativação de vírus é uma mistura de solvente/detergente apropriada para o tratamento de inativação de vírus com solvente/detergente, ou uma solução ácida apropriada para o tratamento de inativação de vírus de baixo pH, e

em que o agente de inativação de vírus usado no dito processo de inativação de vírus é opcionalmente uma mistura de solvente/detergente para o tratamento com solvente-detergente.

12. Método de acordo com a reivindicação 10 ou 11, caracterizado pelo fato de que o método apresenta pelo menos um dos seguintes:

(1) a modificação compreende a modificação do processo de inativação de vírus para obter pelo menos um valor de redução 1 Log₁₀ (LRV), pelo menos um 2 LRV, pelo menos um 4 LRV, ou pelo menos um 6 LRV para pelo menos um vírus,

(2) a modificação compreende a modificação do processo de inativação de vírus de maneira tal que o número de Bodenstein da mistura que passa através do dito leito compactado de grânulos não

porosos inertes que tem múltiplos canais interconectados é igual a ou maior do que 50, ou igual a ou maior do que 300, ou igual a ou maior do que 400, ou igual a ou maior do que 500, ou igual a ou maior do que 600, ou igual a ou maior do que 800,

(3) a modificação compreende a modificação do processo de inativação de vírus de maneira tal que a velocidade linear da superfície da mistura através do dito leito compactado de grânulos não porosos inertes é igual a ou menor do que 600 cm/h, ou igual a ou menor do que 300 cm/h, ou igual a ou menor do que 200 cm/h, ou igual a ou menor do que 100 cm/h, ou igual a ou menor do que 50 cm/h, ou igual a ou menor do que 20 cm/h, e/ou

(4) a modificação compreende o uso de um leito compactado de grânulos não porosos inertes como definido em qualquer uma das reivindicações 2 a 5.

13. Método de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pelo fato de que a modificação compreende o ajuste do fluxo através do tempo da dita mistura no dito leito compactado de grânulos não porosos inertes para obter o dito valor de redução Log₁₀ (LRV), e em que fluxo através do tempo é ajustado ao ajustar a velocidade linear da superfície da mistura e/ou o volume de espaços vazios do dito leito compactado de grânulos não porosos inertes.

FIG. 1
A

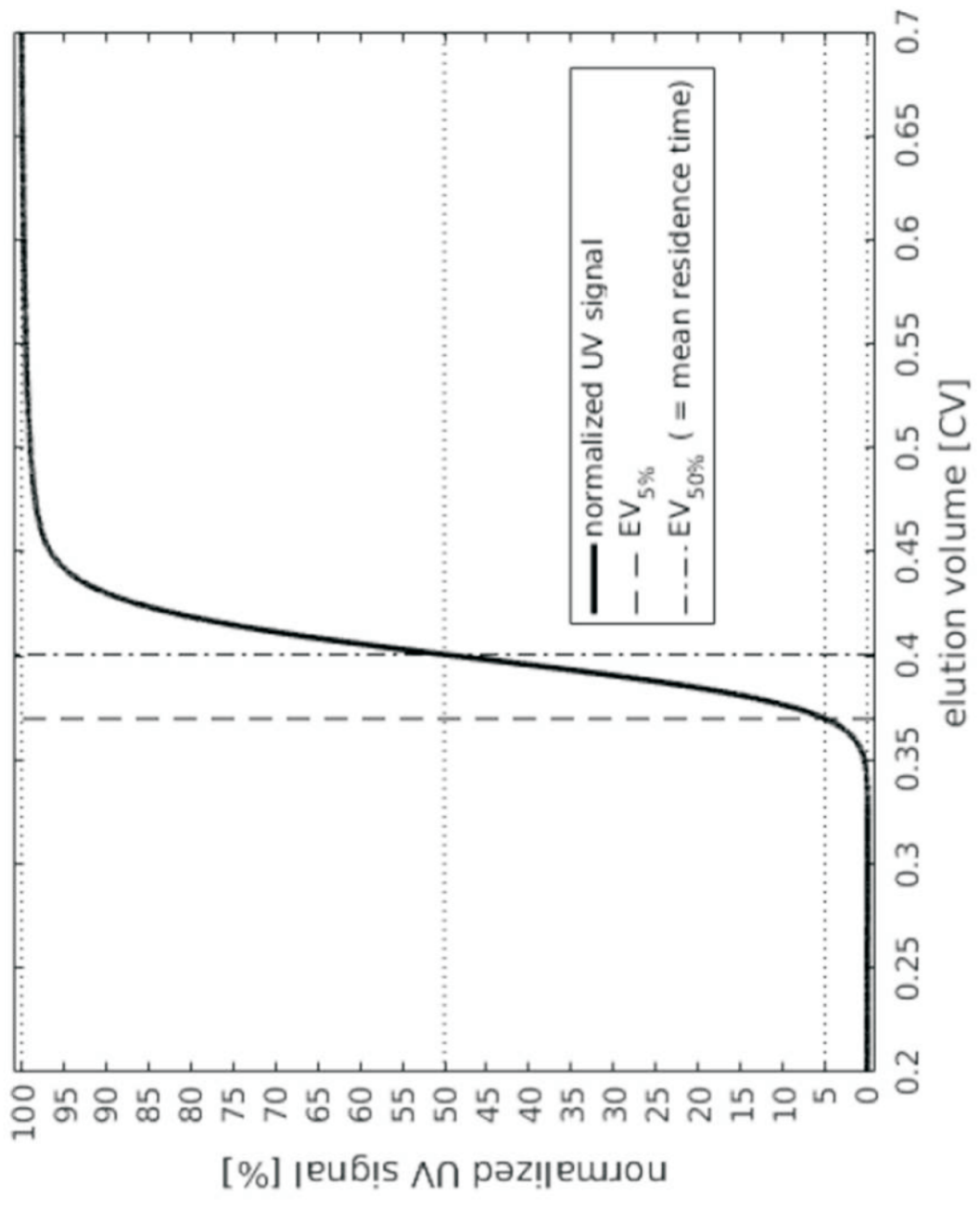


FIG. 1, continued
B

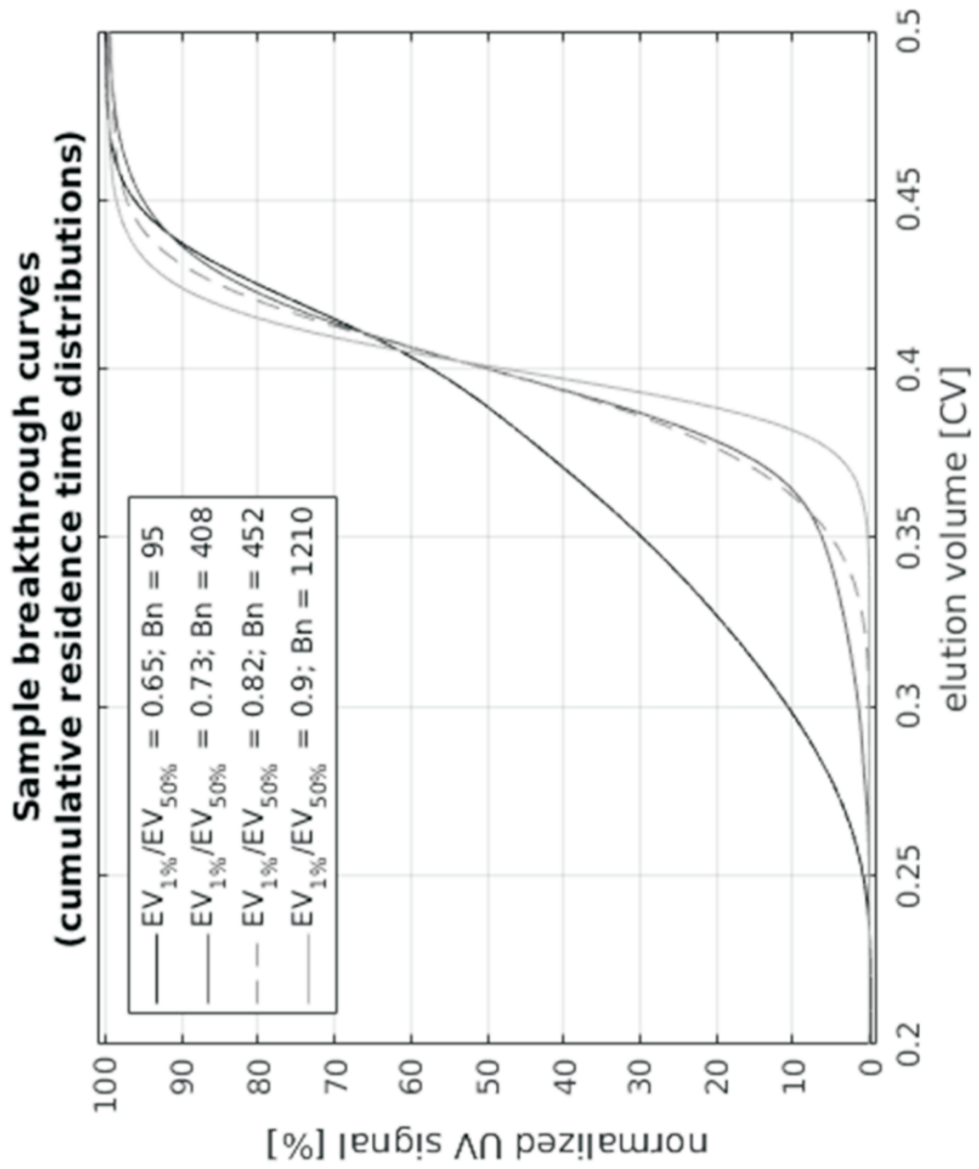


FIG. 2

Column number	Column height [cm]	Column diameter [mm]	Linear velocity [cm/h]	Beads diameter [mm]	Beads diameter range [mm]	EV _{5%} /EV _{50%} Acetone	EV _{5%} /EV _{50%} SD	Bodenstein number Acetone	Bodenstein number SD
2	29.3	10.00	50.00	0.375	0.250	0.896	0.899	589	634
2	29.3	10.00	100.00	0.375	0.250	0.887	0.888	516	543
2	29.3	10.00	200.00	0.375	0.250	0.880	0.879	477	477
2	29.3	10.00	300.00	0.375	0.250	0.875	0.875	452	446
4	28.8	10.00	50.00	0.350	0.100	0.915	0.912	793	726
4	28.8	10.00	100.00	0.350	0.100	0.906	0.903	671	652
4	28.8	10.00	200.00	0.350	0.100	0.897	0.895	578	565
4	28.8	10.00	300.00	0.350	0.100	0.893	0.890	540	527
15	10.9	16.00	50.00	1.150	0.300	0.815	0.830	149	166
15	10.9	16.00	100.00	1.150	0.300	0.805	0.814	129	139
15	10.9	16.00	200.00	1.150	0.300	0.795	0.801	114	121
15	10.9	16.00	300.00	1.150	0.300	0.794	0.797	110	114
5	28.5	10.00	50.00	0.150	0.100	0.933	0.896	965	647
5	28.5	10.00	100.00	0.150	0.100	0.930	0.927	889	824
5	28.5	10.00	200.00	0.150	0.100	0.926	0.923	799	752
5	28.5	10.00	300.00	0.150	0.100	0.924	0.921	765	719
6	28.5	10.00	50.00	1.150	0.300	0.838	0.846	167	203
6	28.5	10.00	100.00	1.150	0.300	0.797	0.828	84	161
6	28.5	10.00	200.00	1.150	0.300	0.816	0.813	140	136
6	28.5	10.00	300.00	1.150	0.300	0.799	0.806	119	127
7	10.2	10.00	50.00	1.150	0.300	0.779	0.796	97	108
7	10.2	10.00	100.00	1.150	0.300	0.773	0.776	92	91
7	10.2	10.00	200.00	1.150	0.300	0.750	0.759	75	80
7	10.2	10.00	300.00	1.150	0.300	0.740	0.751	71	75
14	11.6	16.00	50.00	0.350	0.100	0.906	0.903	523	492
14	11.6	16.00	100.00	0.350	0.100	0.898	0.898	428	448
14	11.6	16.00	200.00	0.350	0.100	0.892	0.891	395	399
14	11.6	16.00	300.00	0.350	0.100	0.889	0.888	373	376
10	10.4	5.00	50.00	0.250	0.100	0.861	0.852	192	175
10	10.4	5.00	100.00	0.250	0.100	0.843	0.837	151	141
10	10.4	5.00	200.00	0.250	0.100	0.834	0.827	147	132
10	10.4	5.00	300.00	0.250	0.100	0.827	0.825	141	137
11	10.5	5.00	50.00	0.375	0.250	0.883	0.880	265	257
11	10.5	5.00	100.00	0.375	0.250	0.868	0.865	207	199
11	10.5	5.00	200.00	0.375	0.250	0.860	0.856	205	189
11	10.5	5.00	300.00	0.375	0.250	0.853	0.853	189	186
12	21.3	5.00	50.00	0.375	0.250	0.901	0.898	410	390
12	21.3	5.00	100.00	0.375	0.250	0.888	0.881	324	245
12	21.3	5.00	200.00	0.375	0.250	0.877	0.874	297	277
12	21.3	5.00	300.00	0.375	0.250	0.871	0.869	277	267
13	10.3	16.00	50.00	0.375	0.250	0.893	0.889	377	351
13	10.3	16.00	100.00	0.375	0.250	0.886	0.883	339	315
13	10.3	16.00	300.00	0.375	0.250	0.877	0.872	292	272
2	29.3	10	50	0.375	0.25	/	0.899	/	634
2	29.3	10	100	0.375	0.25	/	0.888	/	543
2	29.3	10	200	0.375	0.25	/	0.879	/	477

FIG. 3

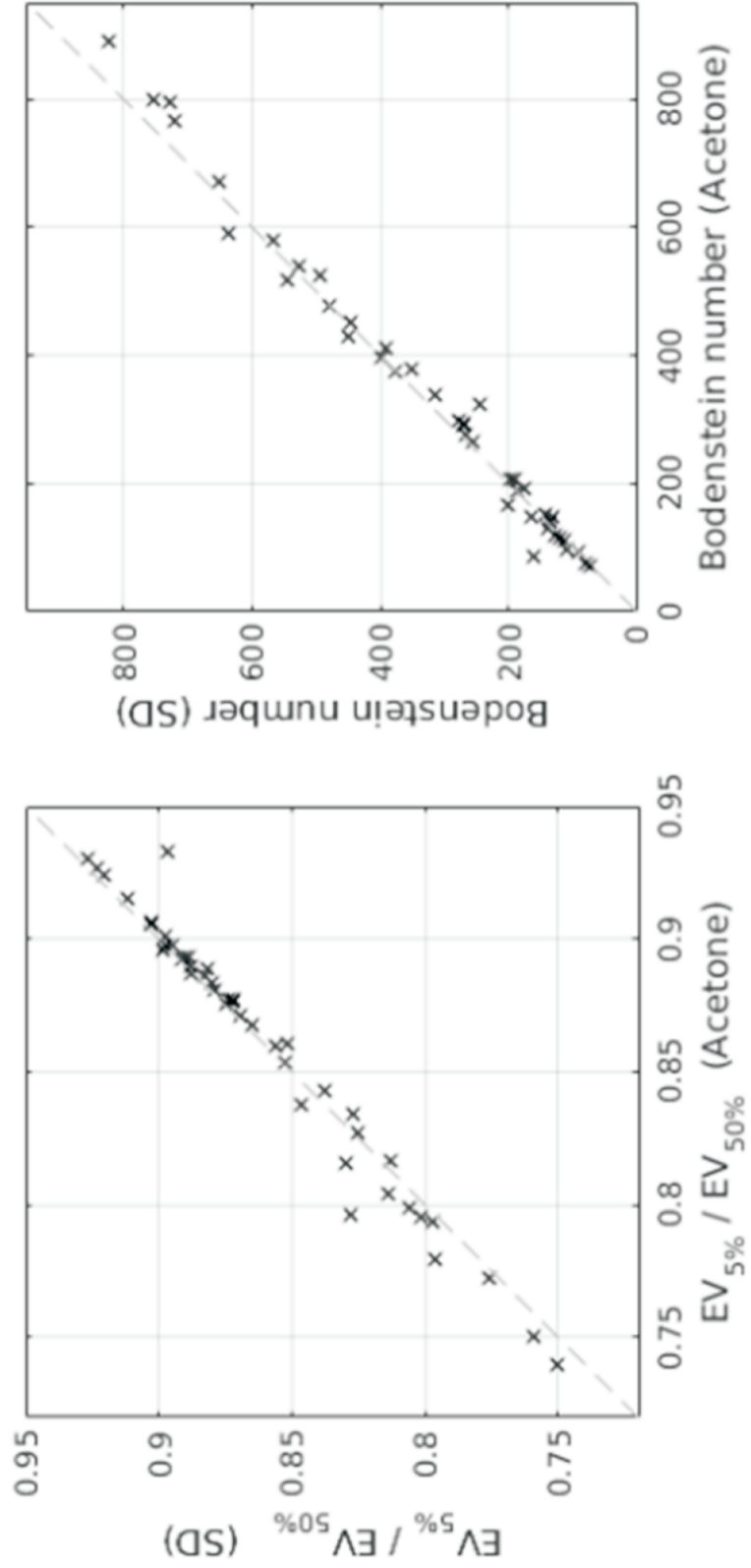
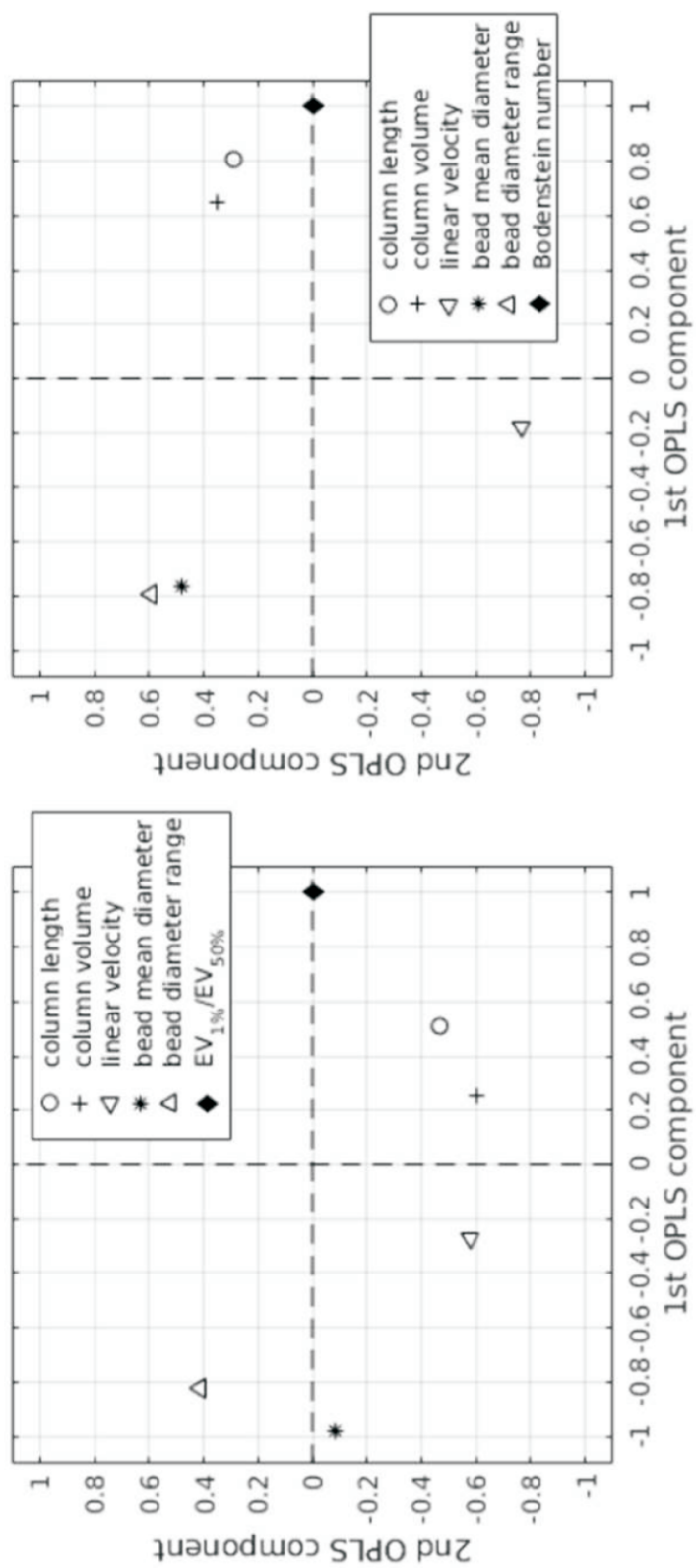


FIG. 4



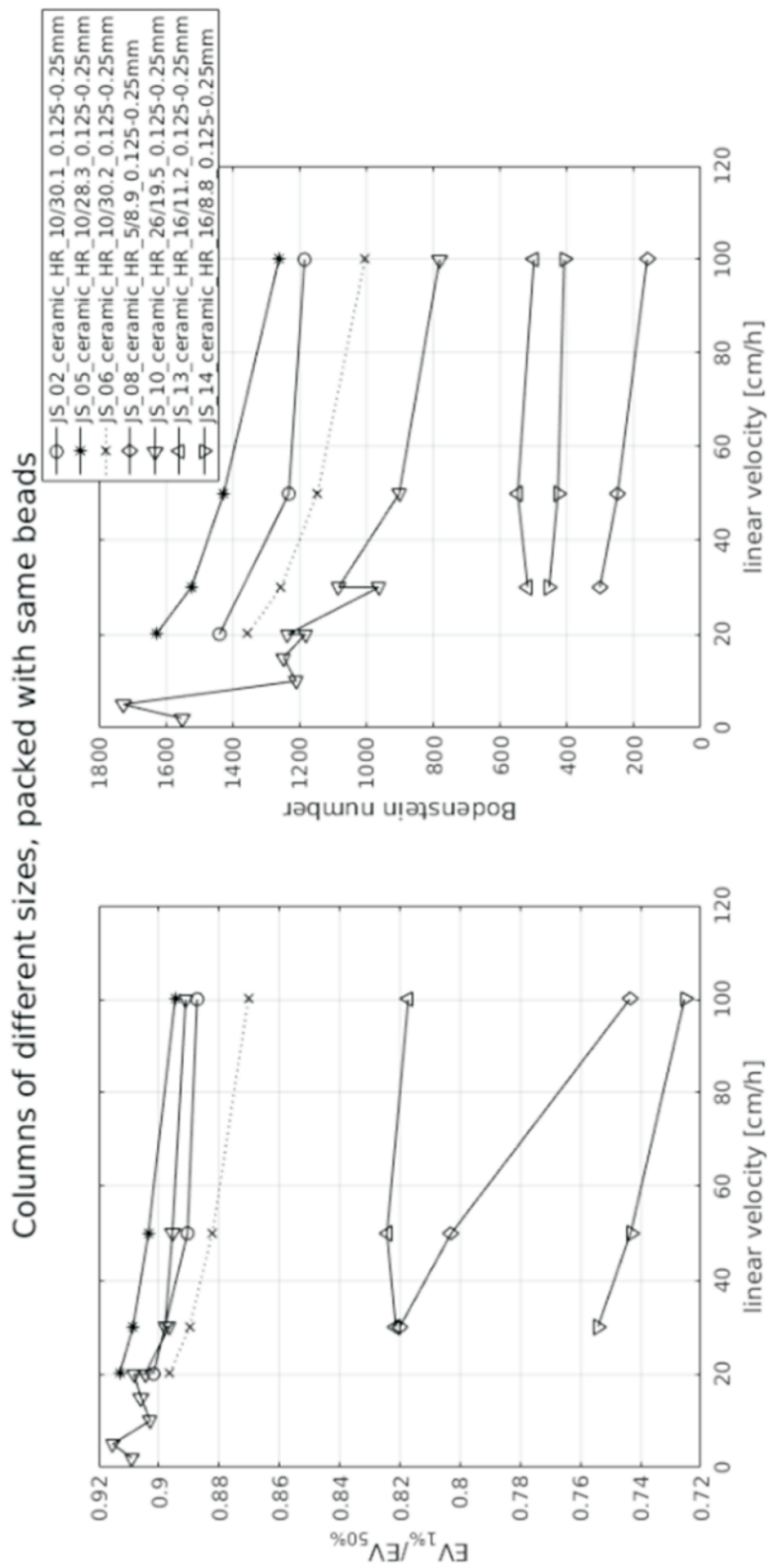


FIG. 5

FIG. 6

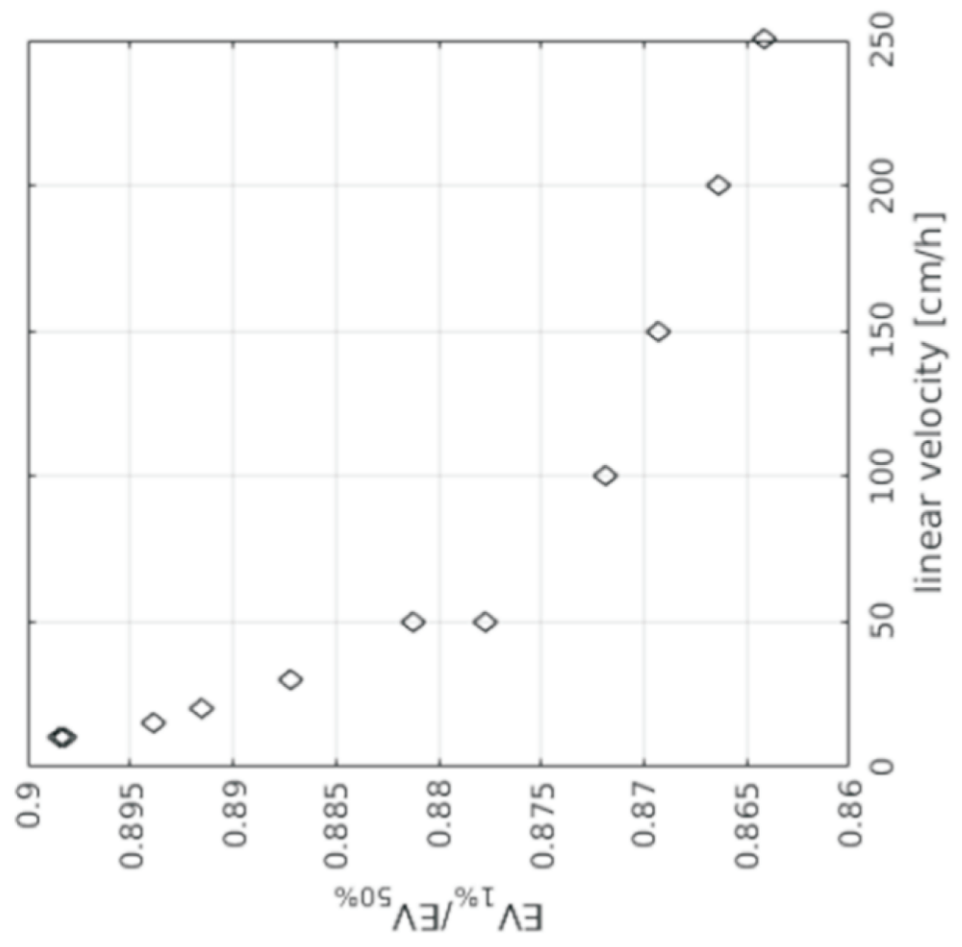


FIG. 7

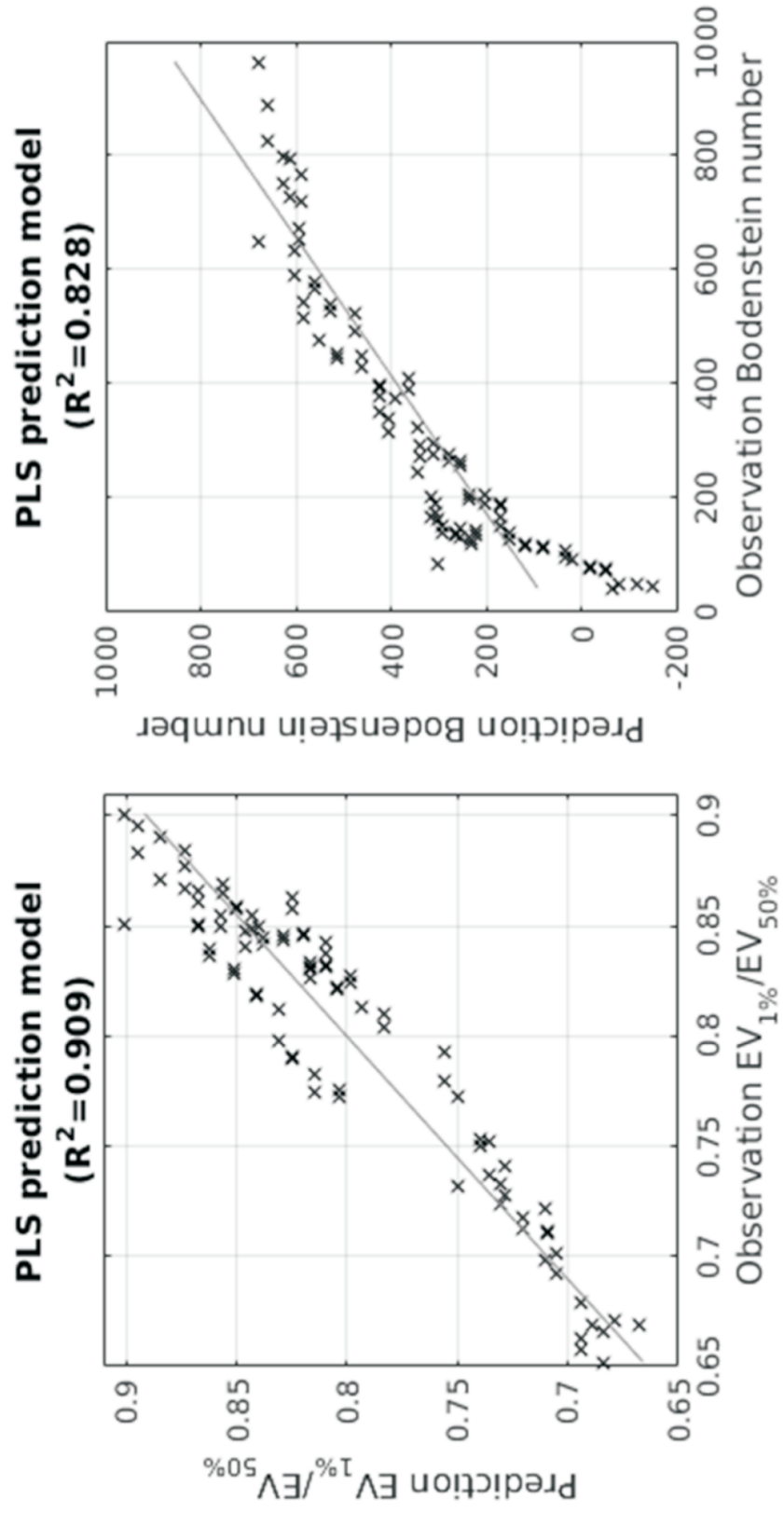
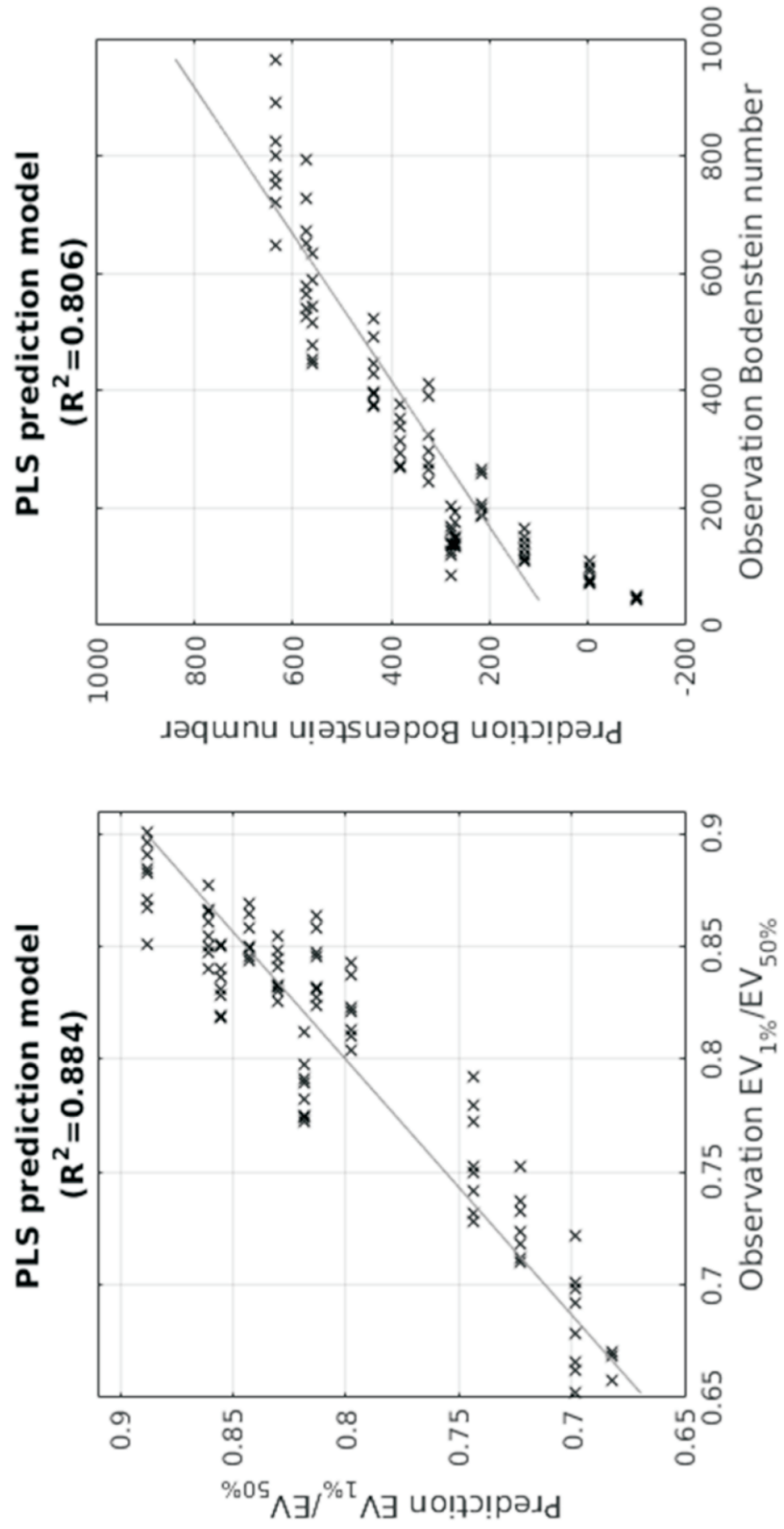


FIG. 8



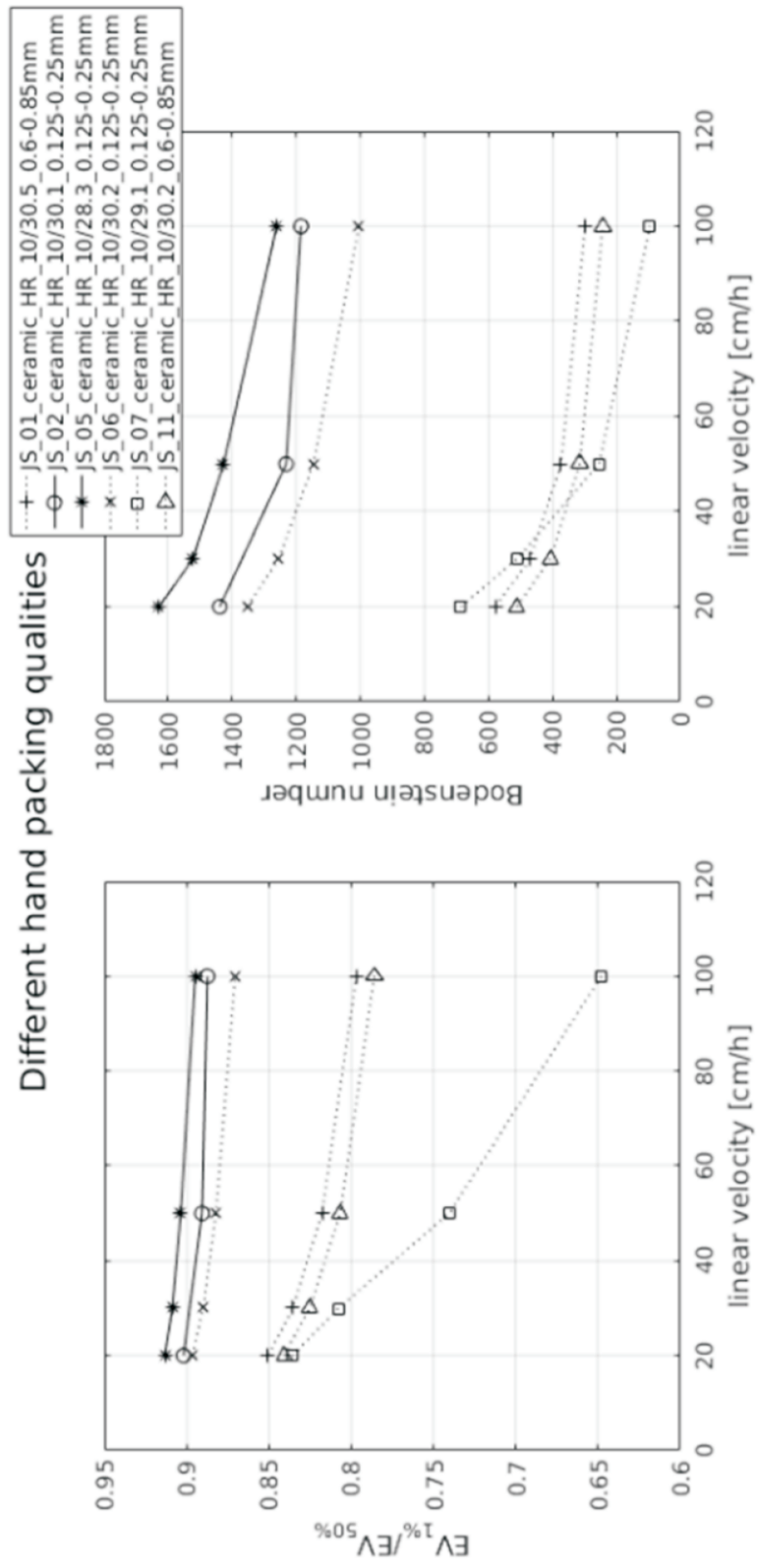


FIG. 9

FIG. 10

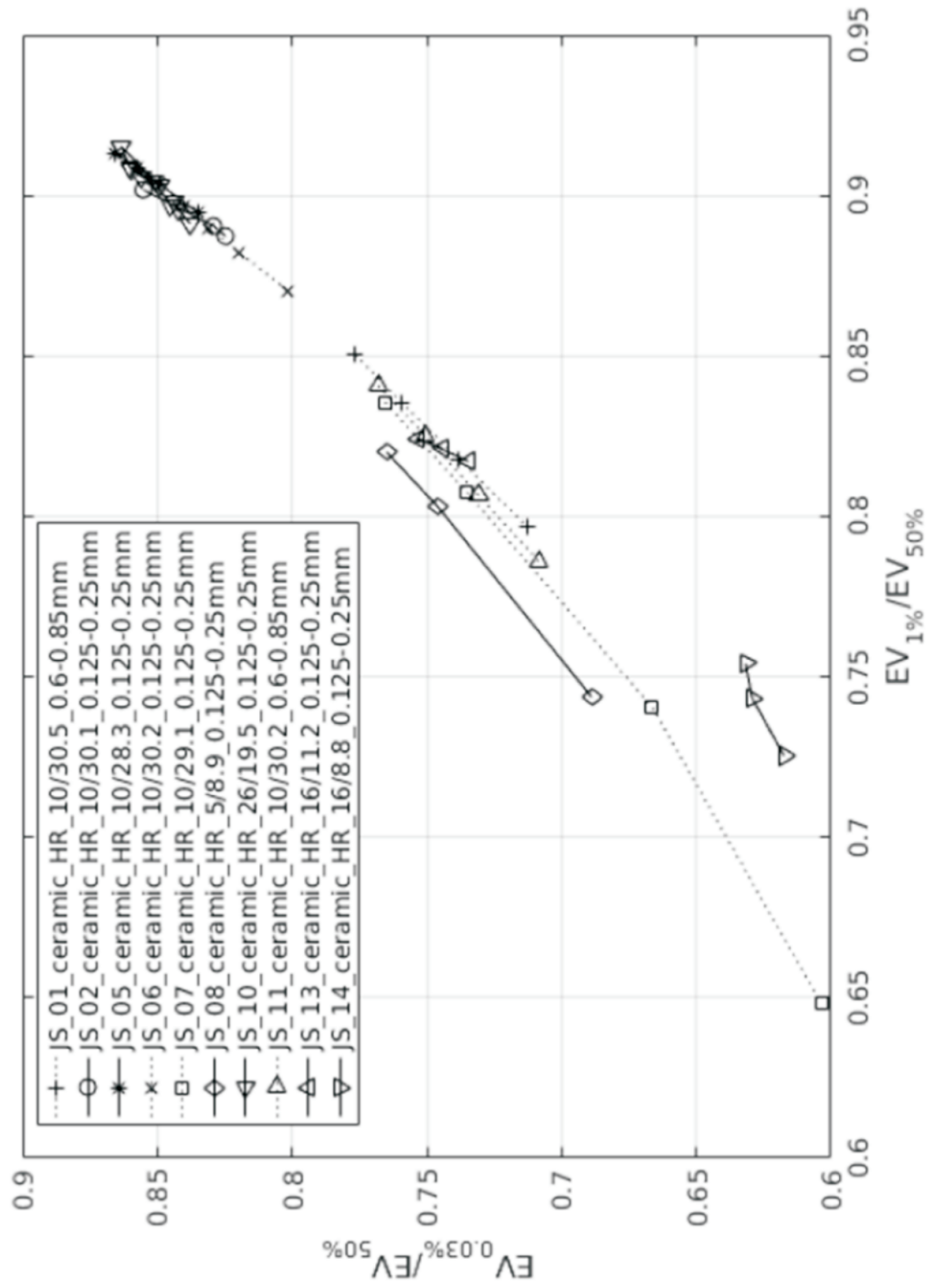


FIG. 11

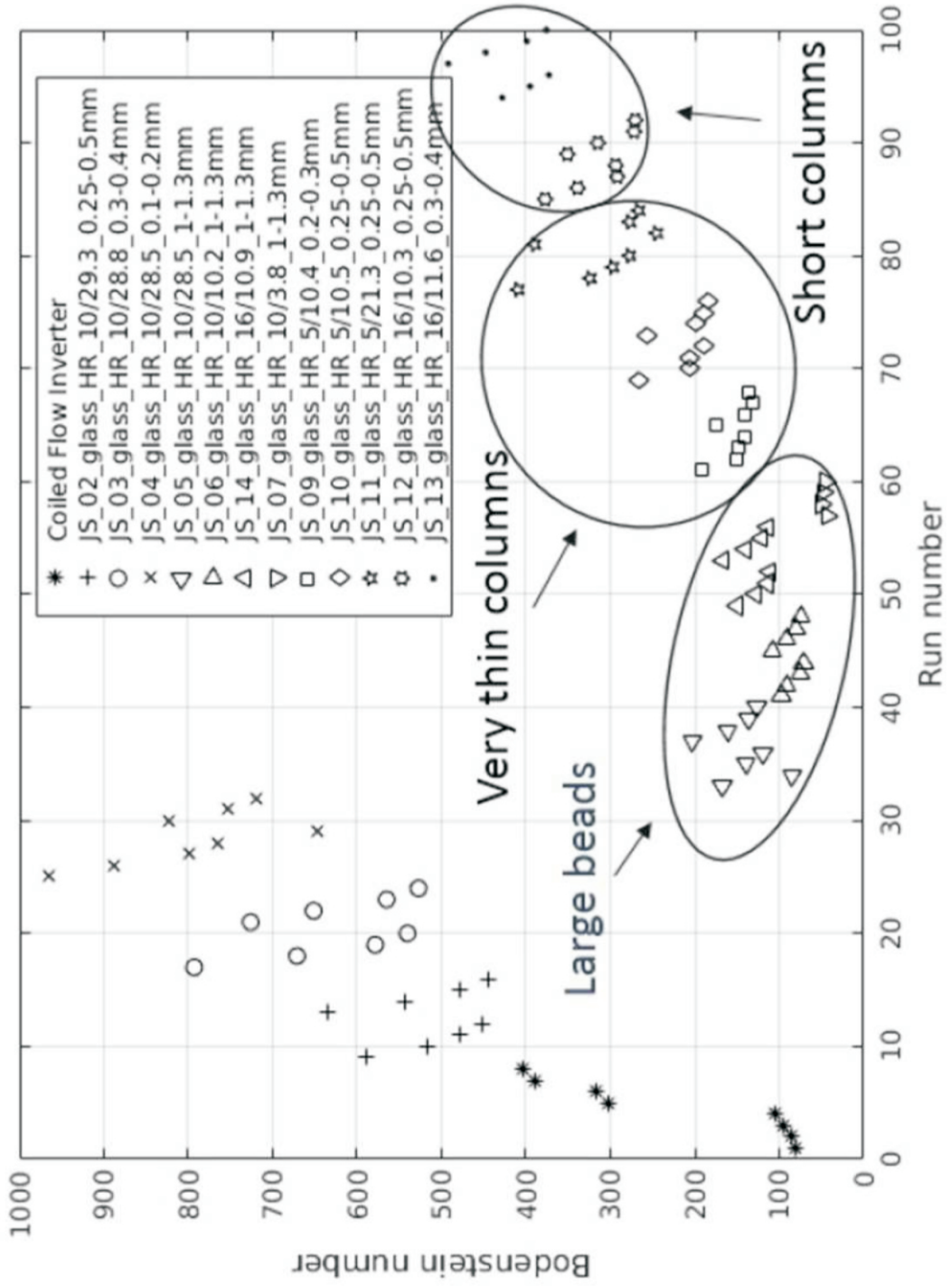


FIG. 12

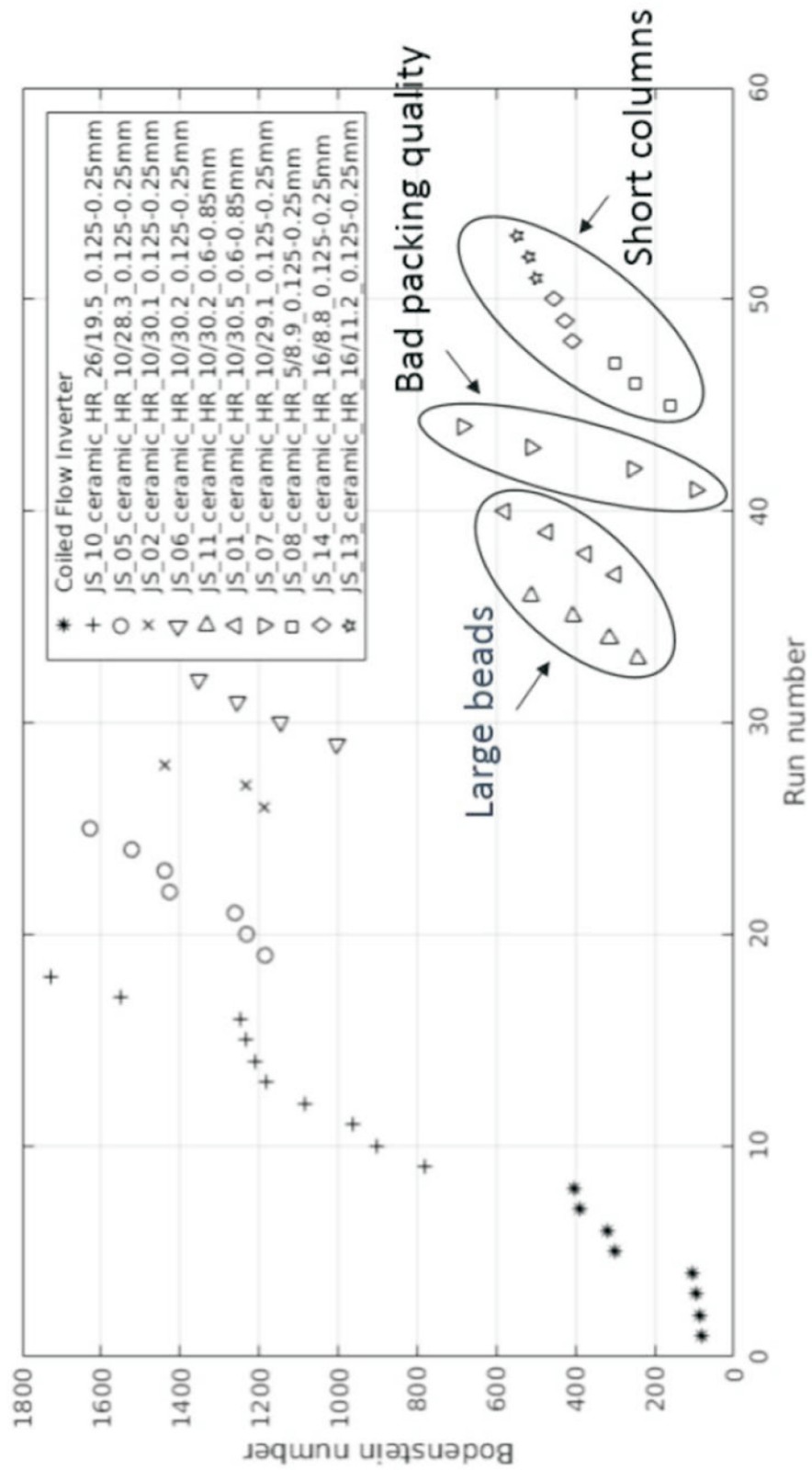
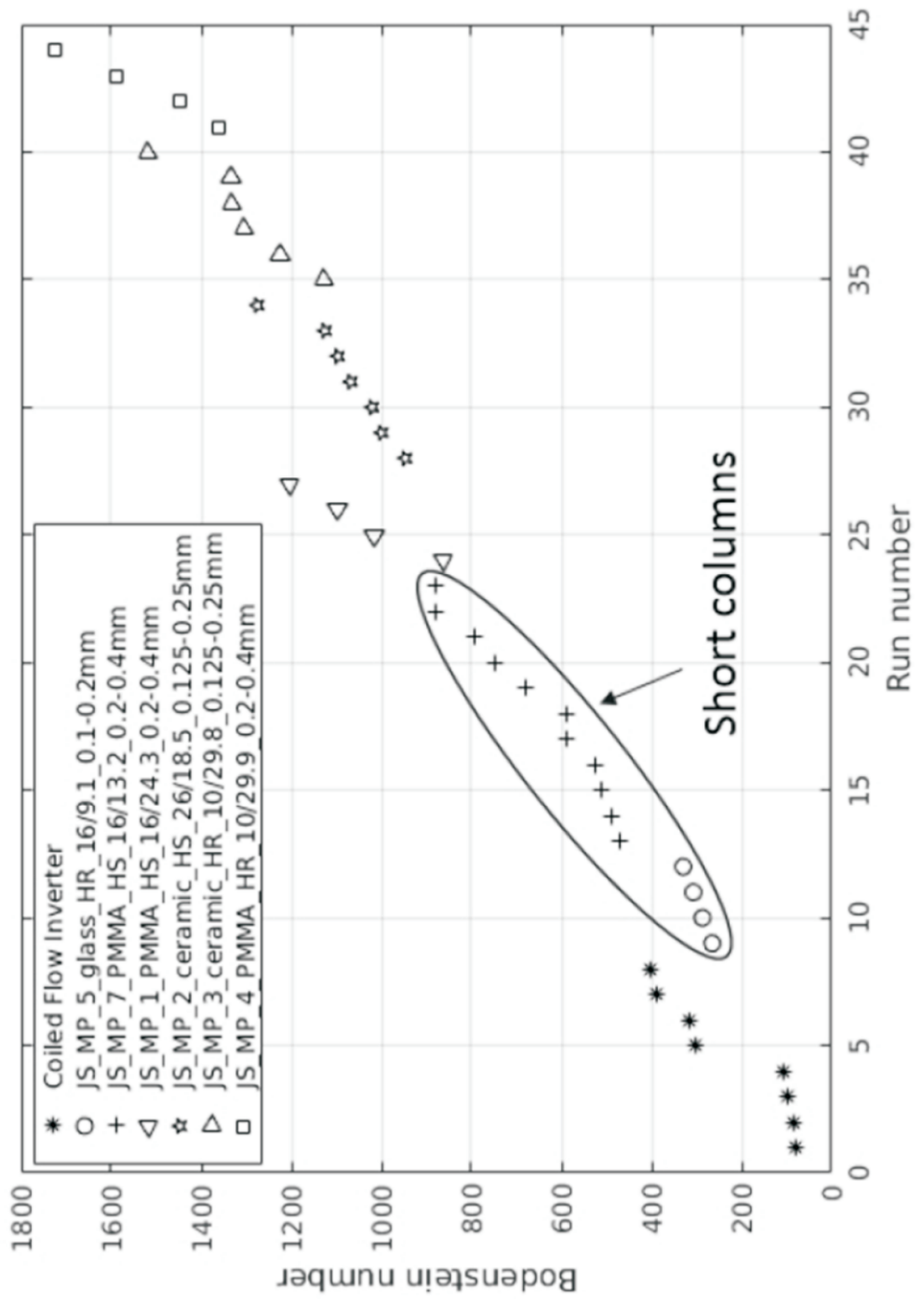


FIG. 13



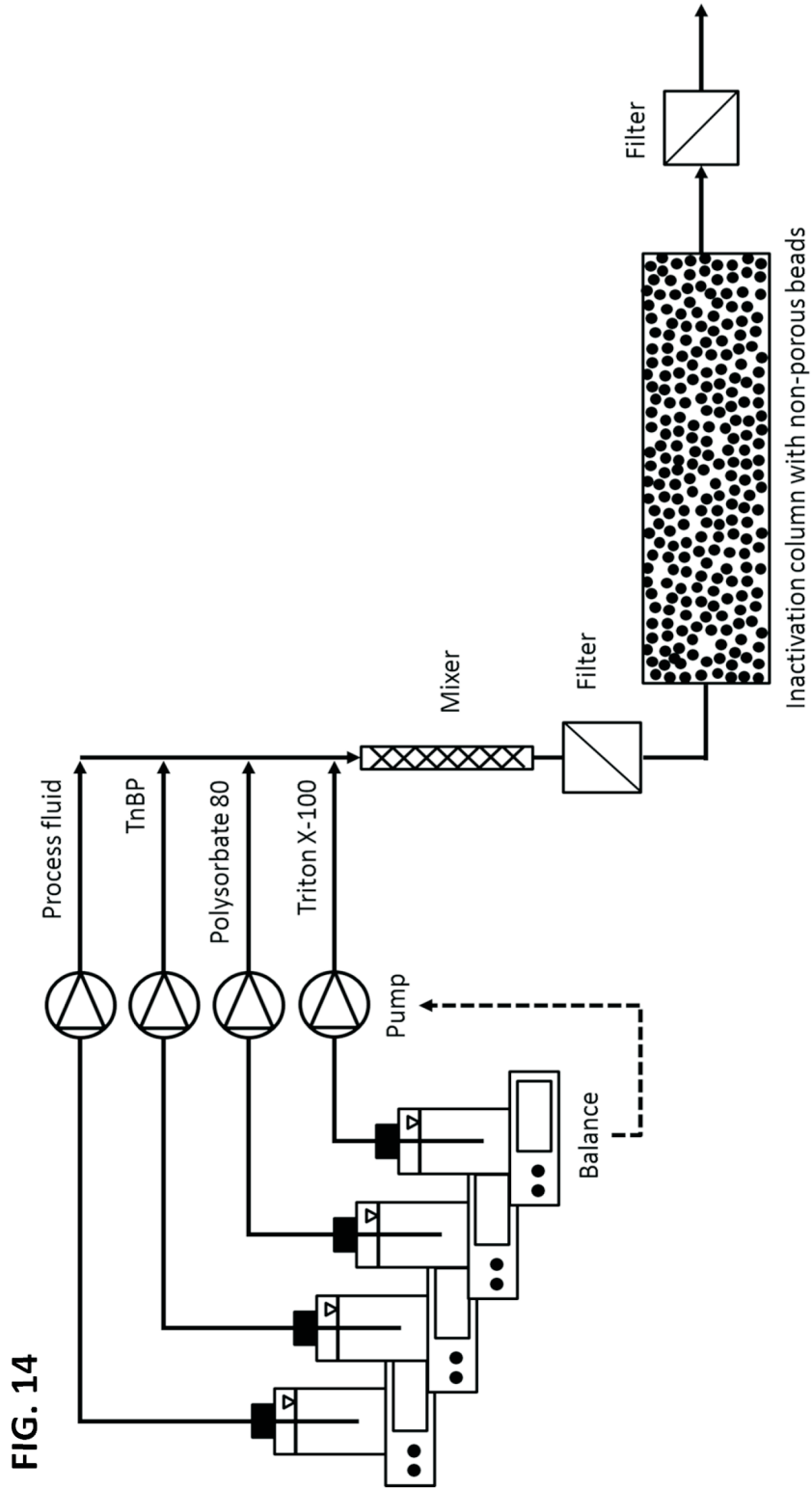
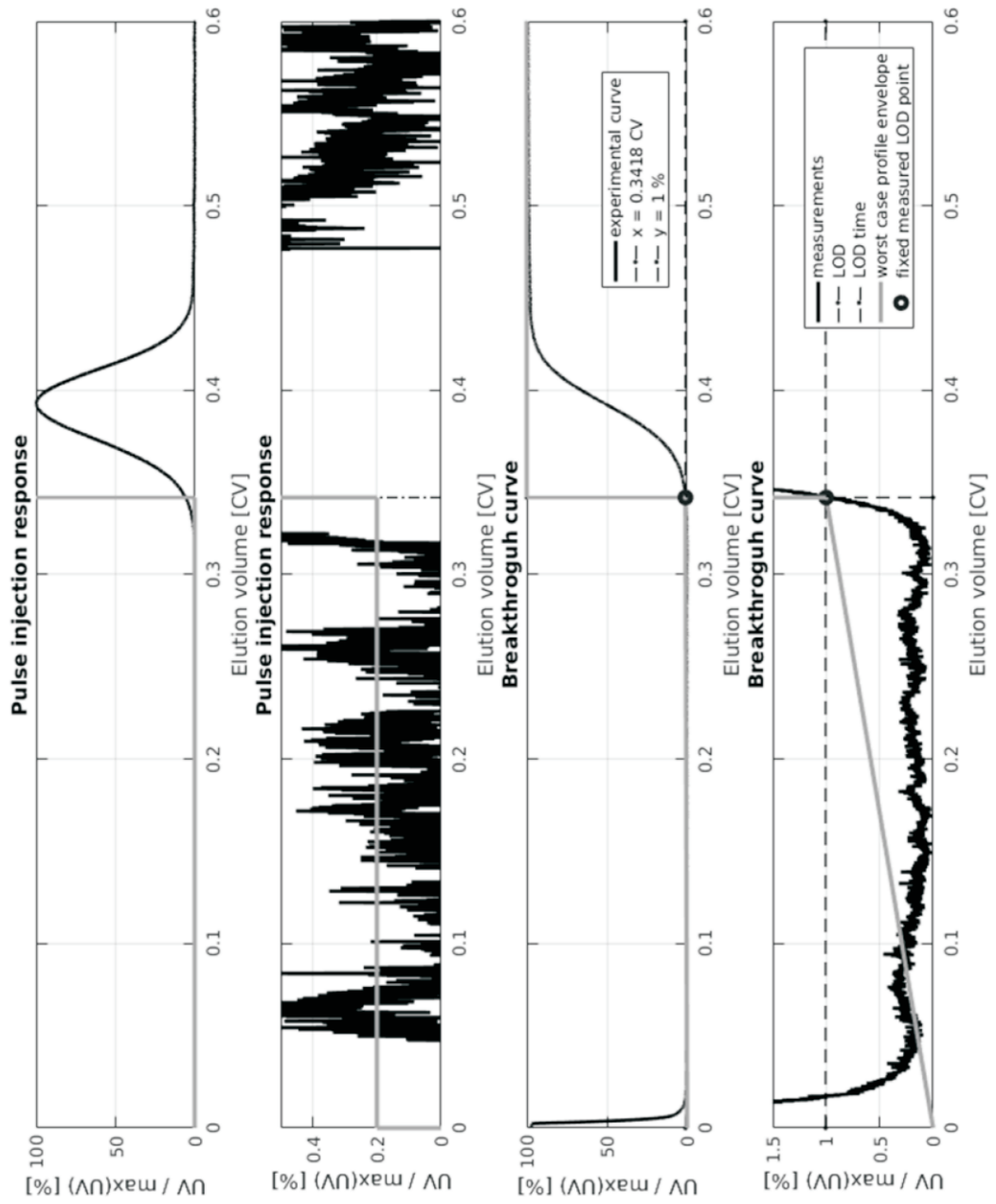


FIG. 14

FIG. 15



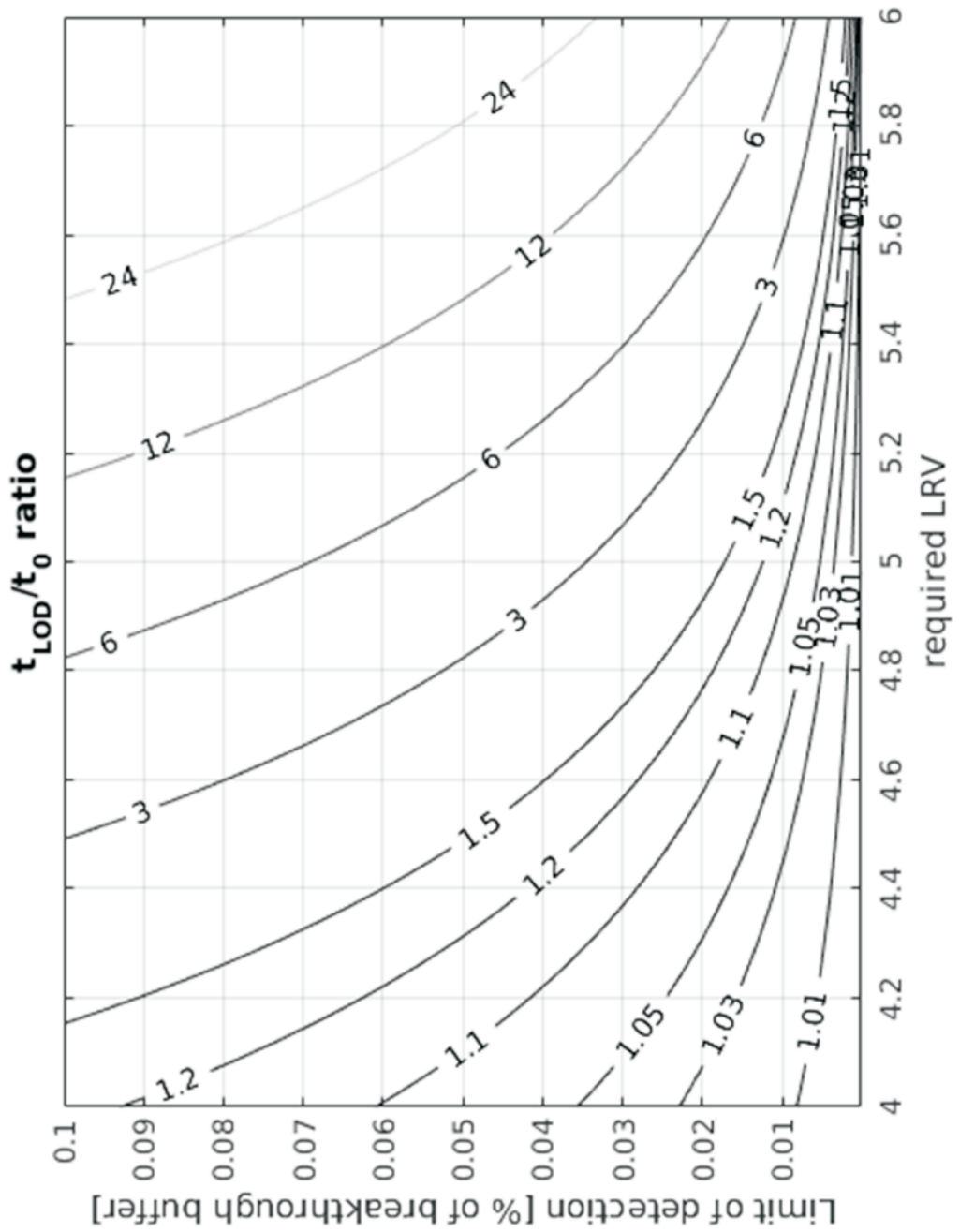


FIG. 16
A

FIG. 16, continued

B

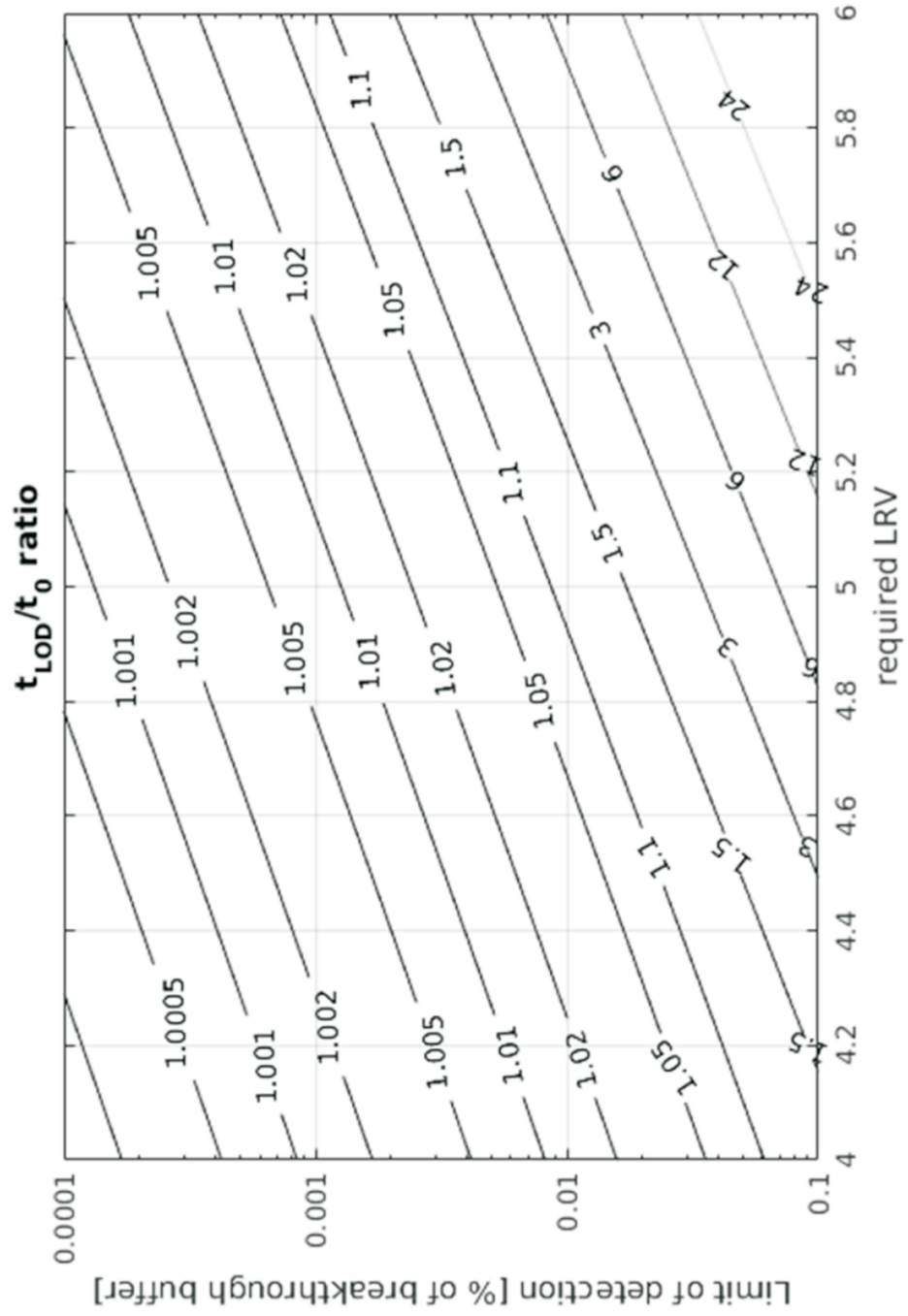


FIG. 17

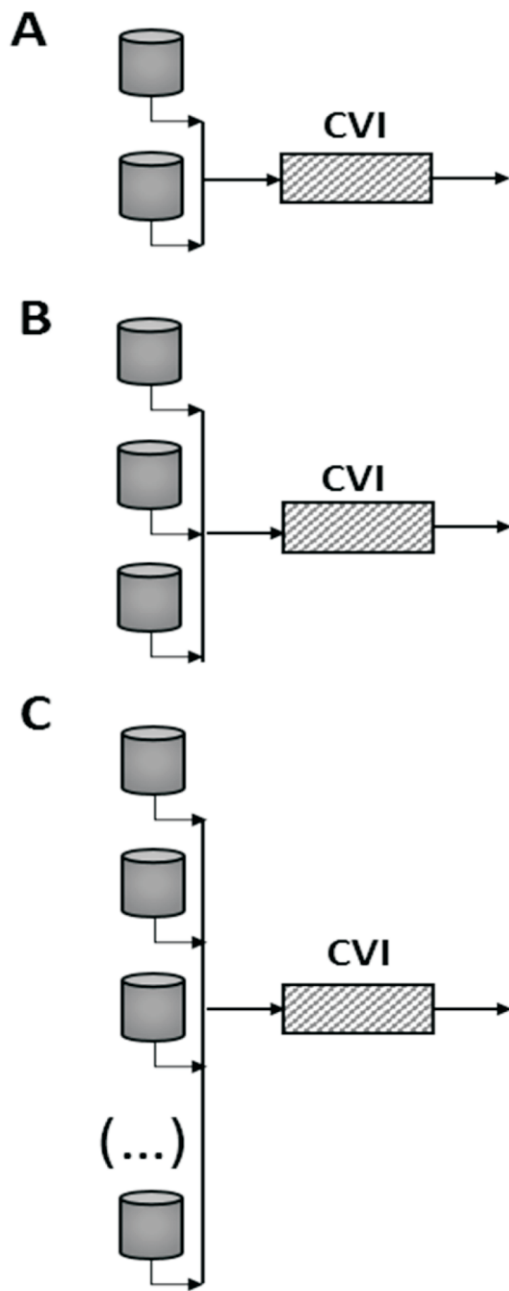


FIG. 18

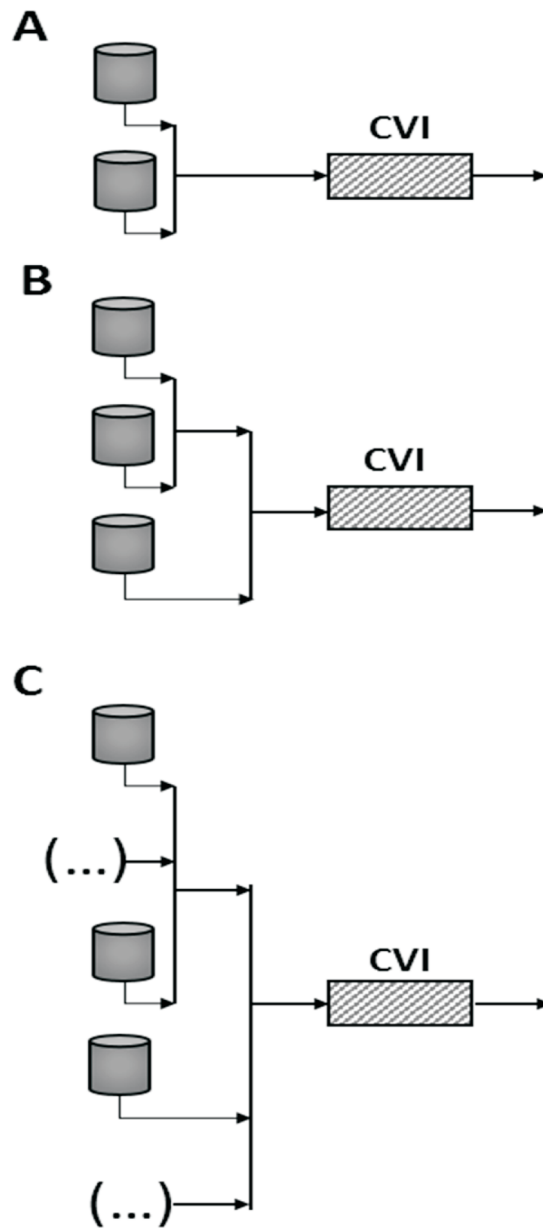
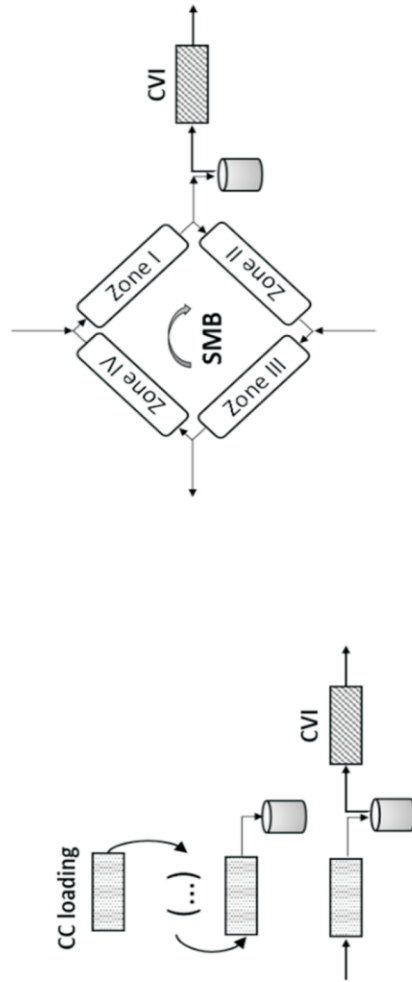


FIG. 19

A Surge-tank



B Straight-through processing

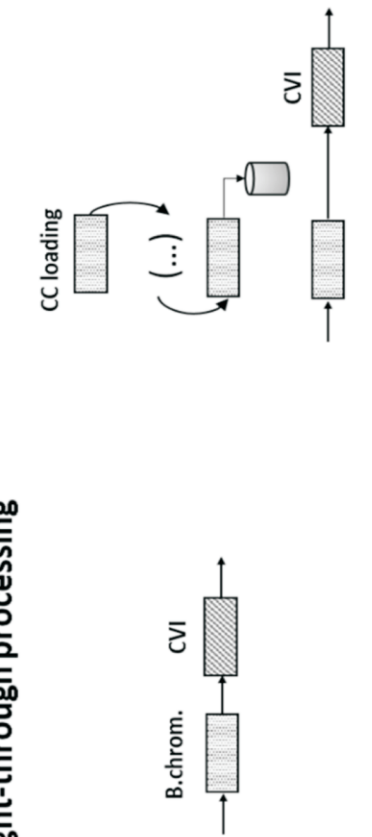
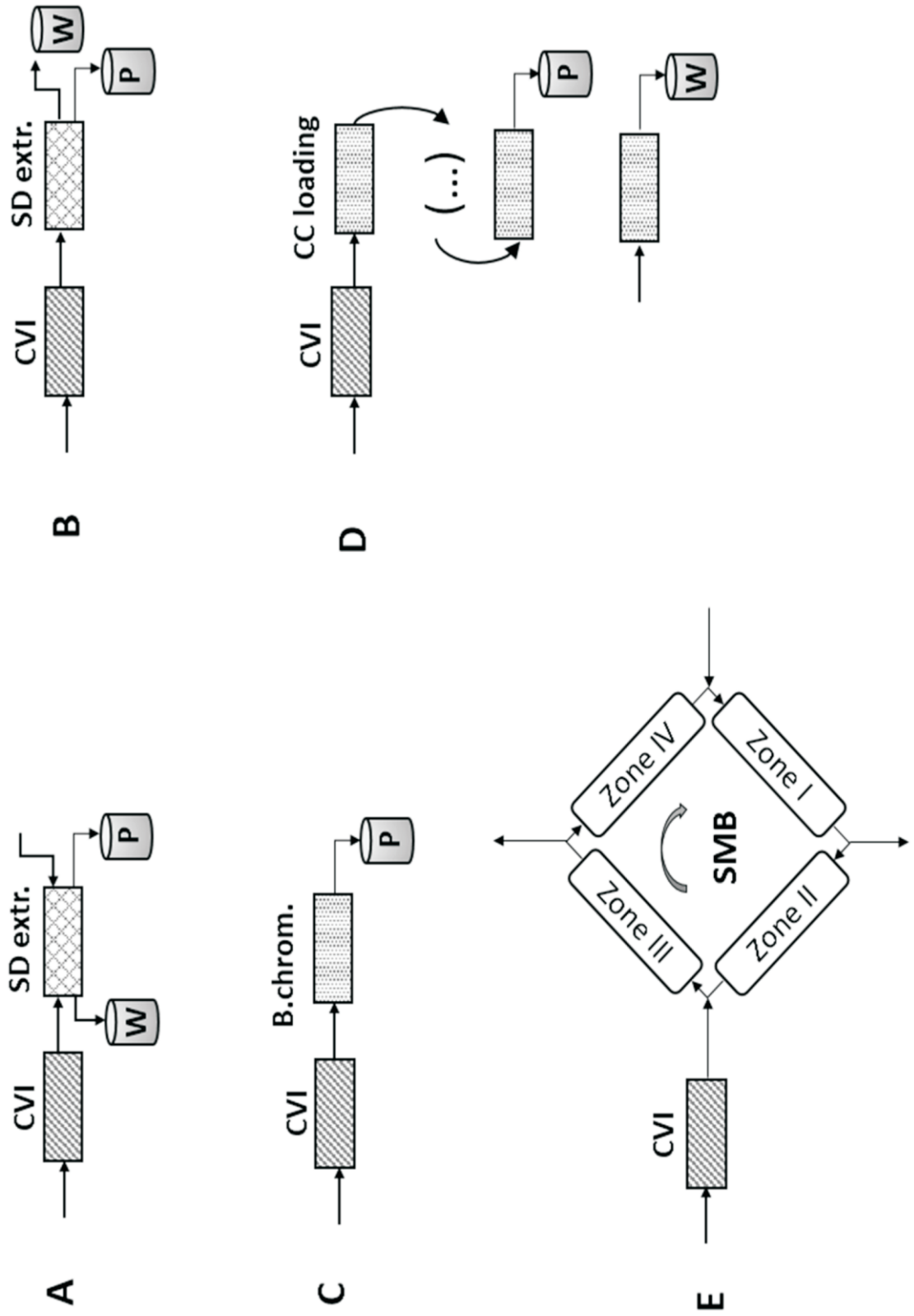


FIG. 20



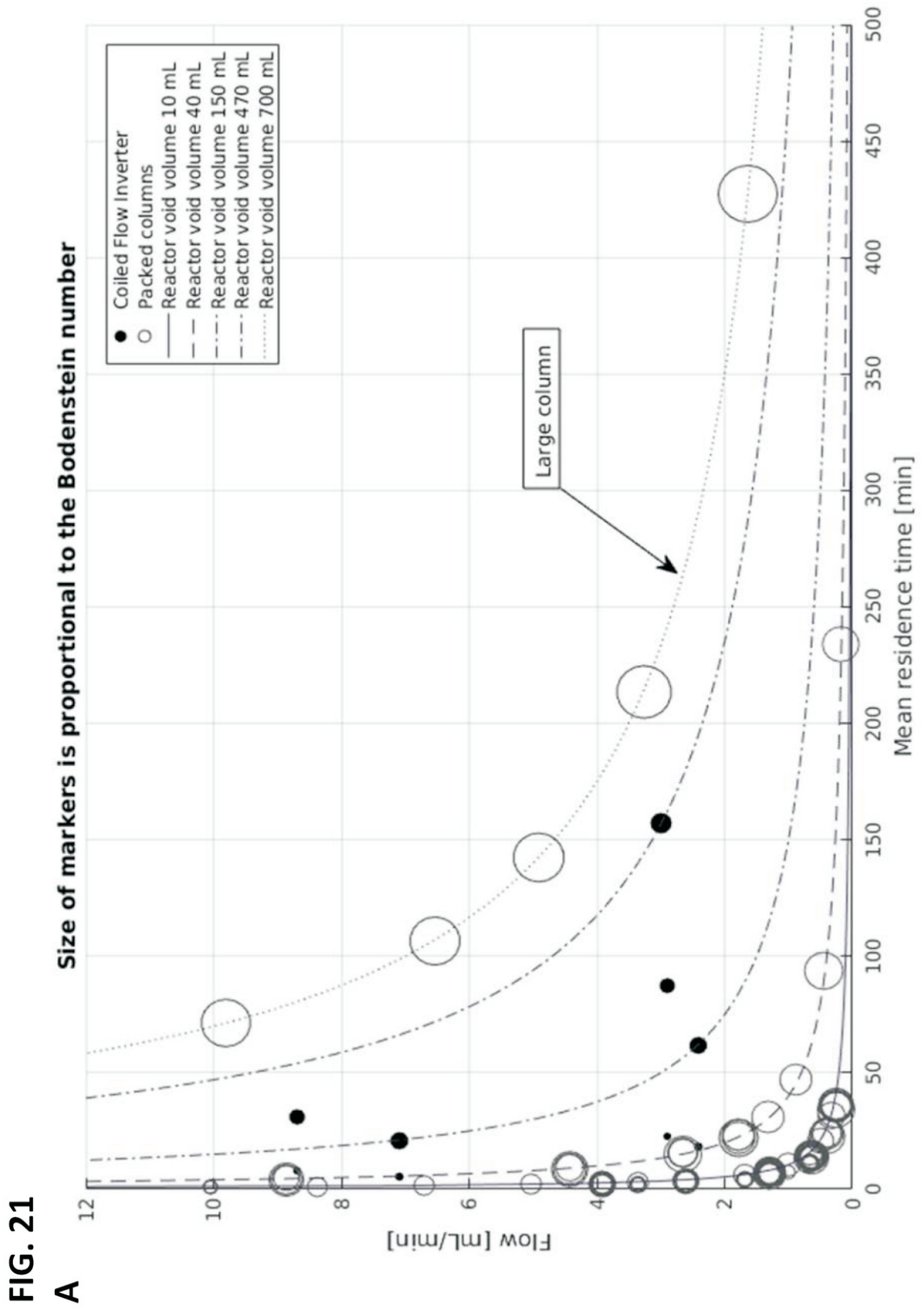


FIG. 21, continued
B

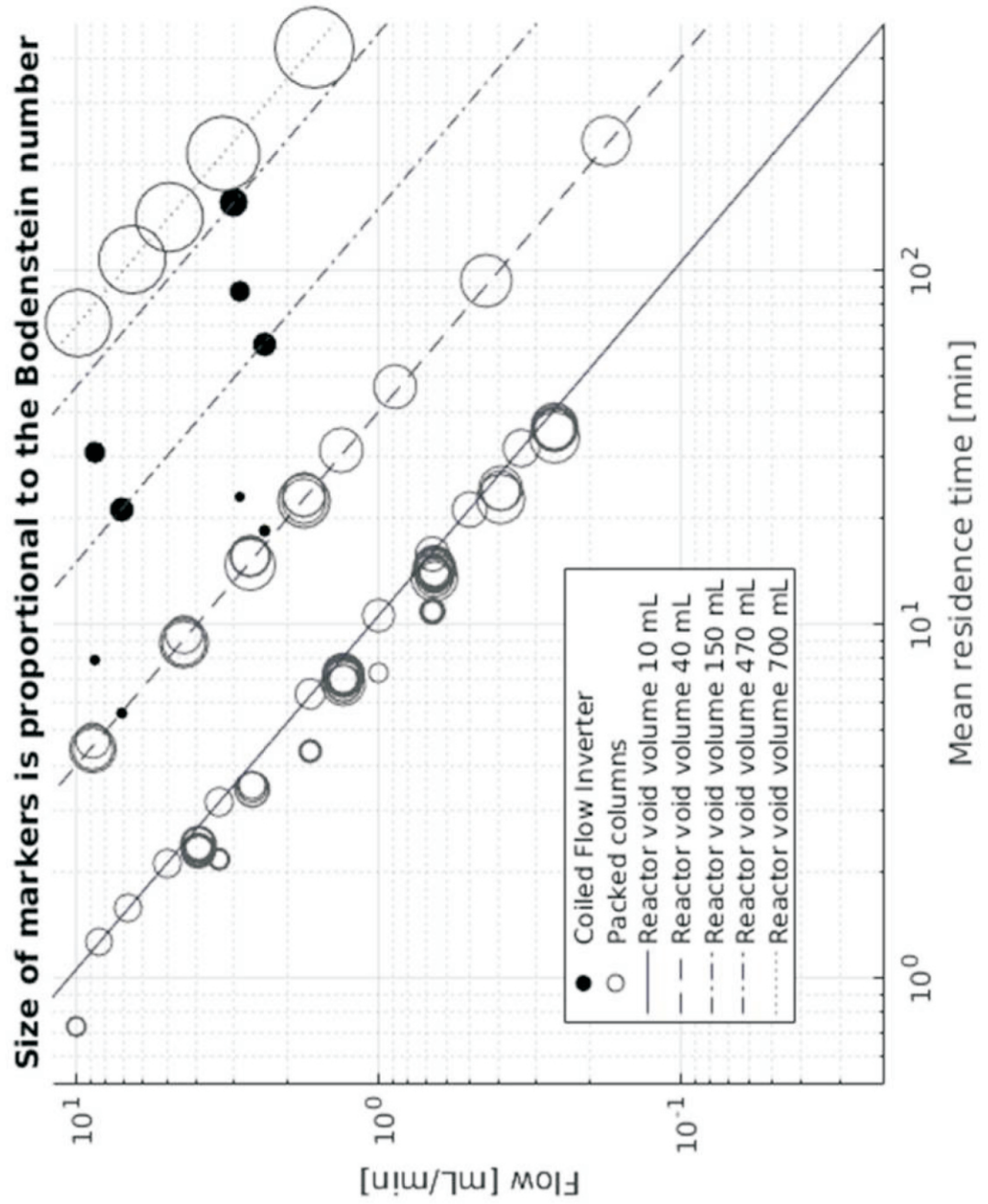
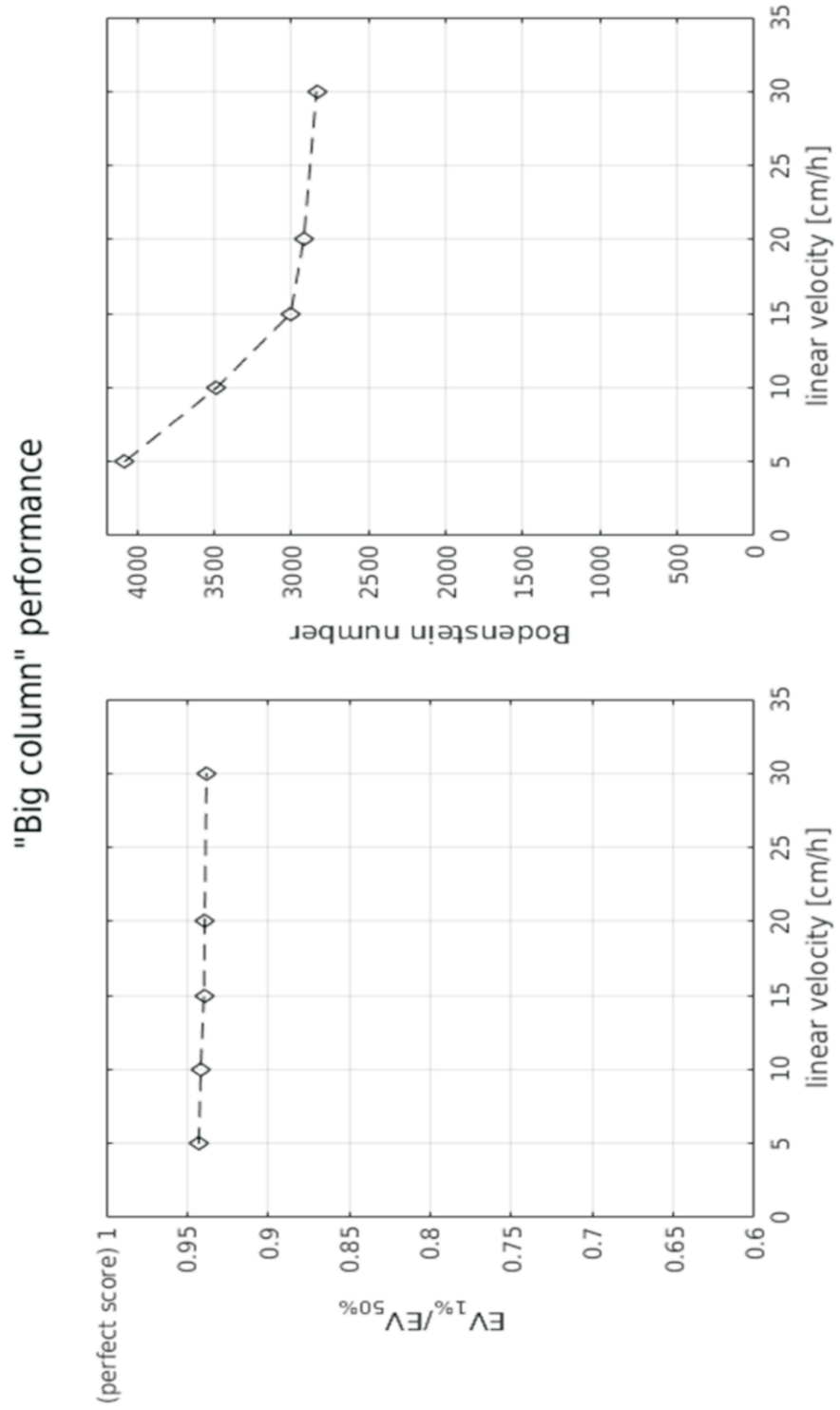


FIG. 21, continued
C



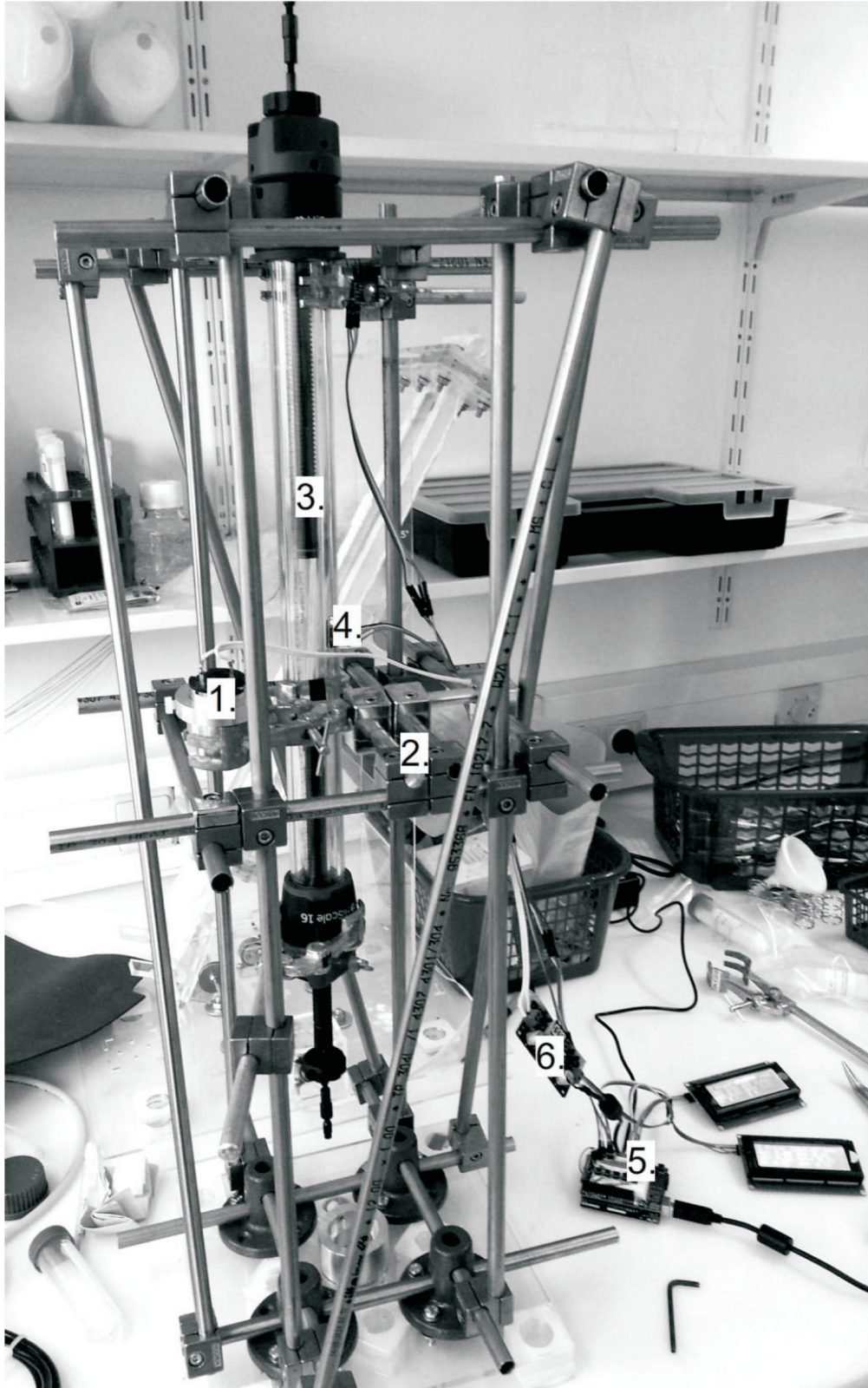
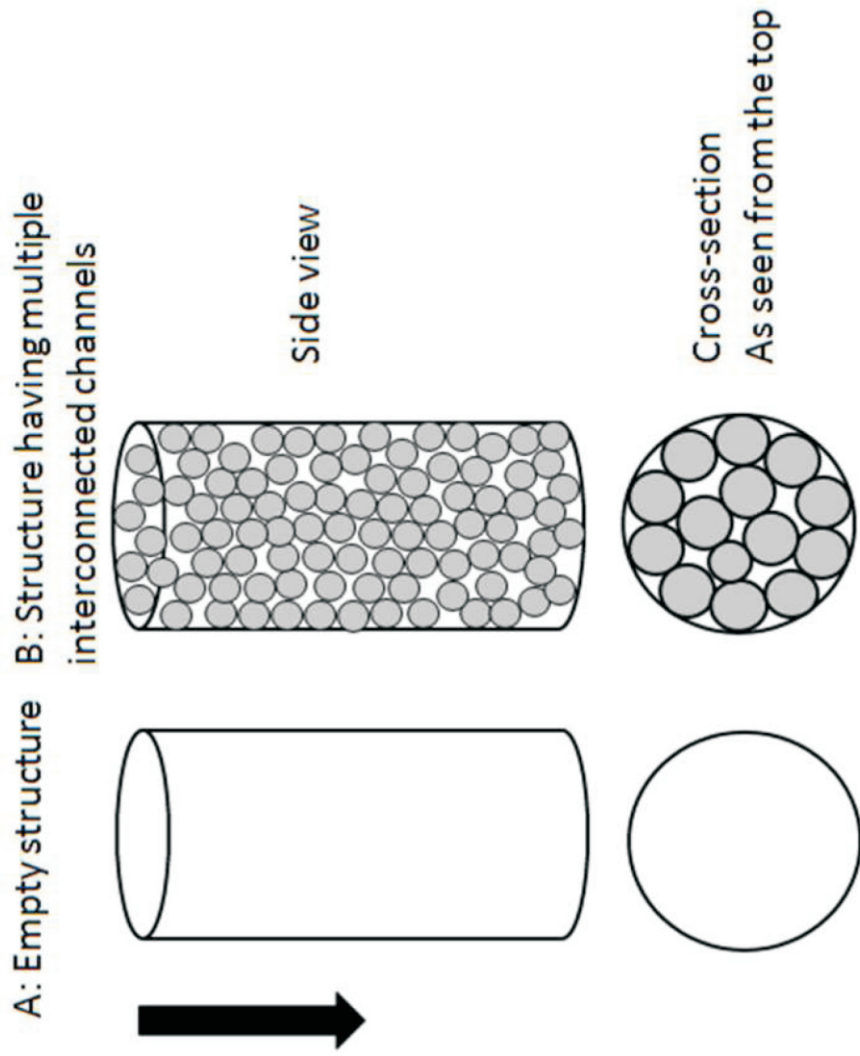


FIG. 22

FIG. 23



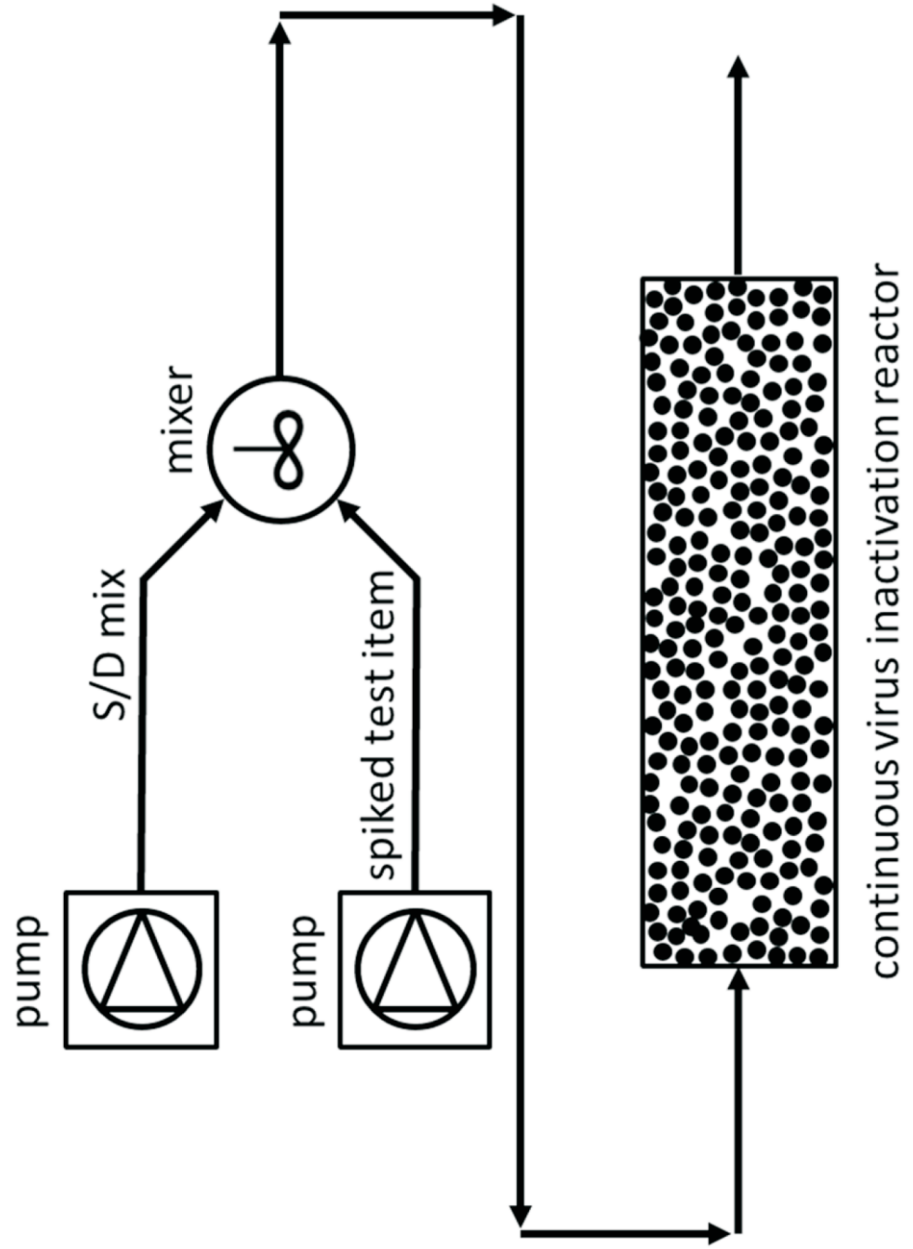
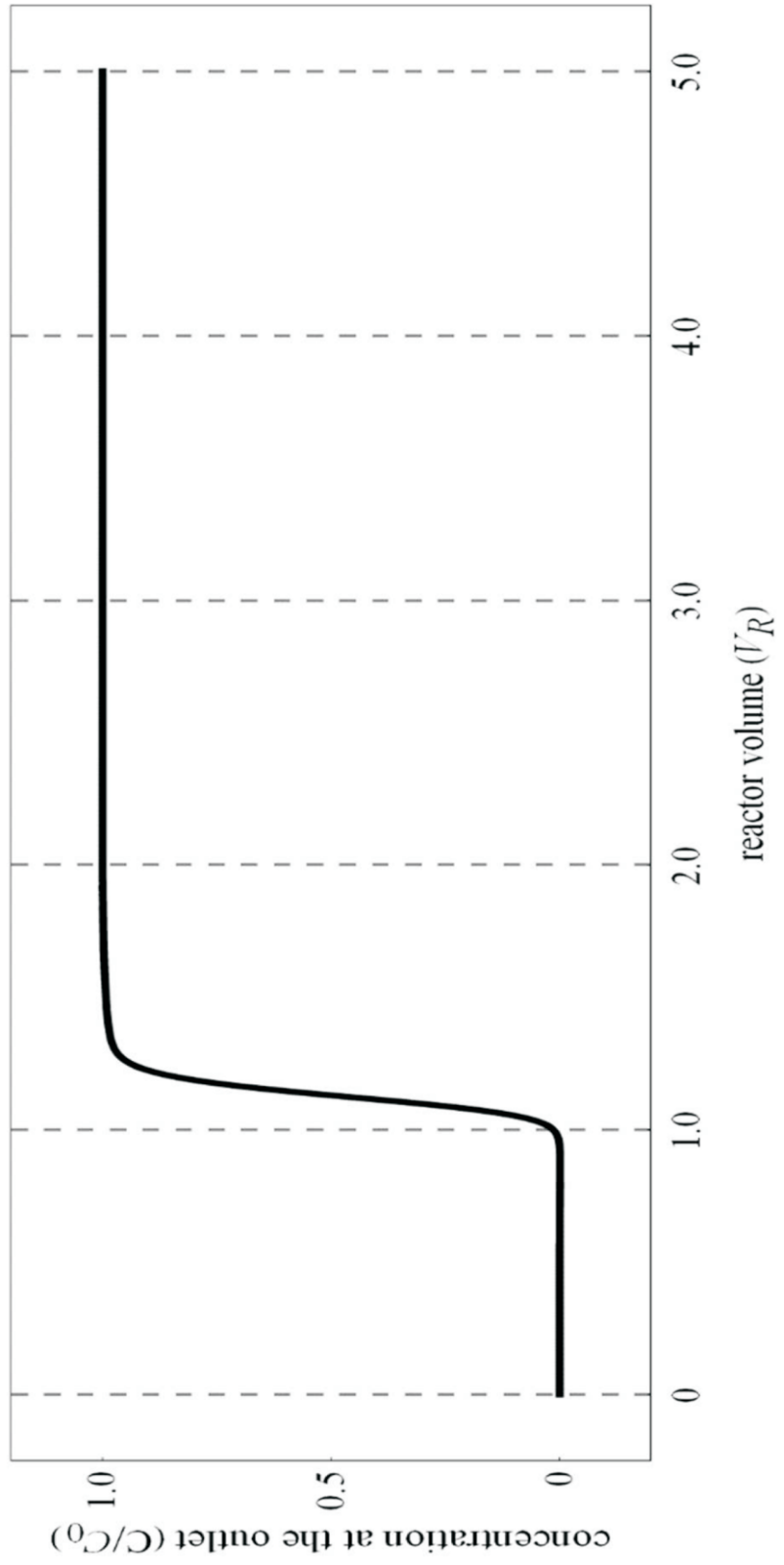


FIG. 24

FIG. 25



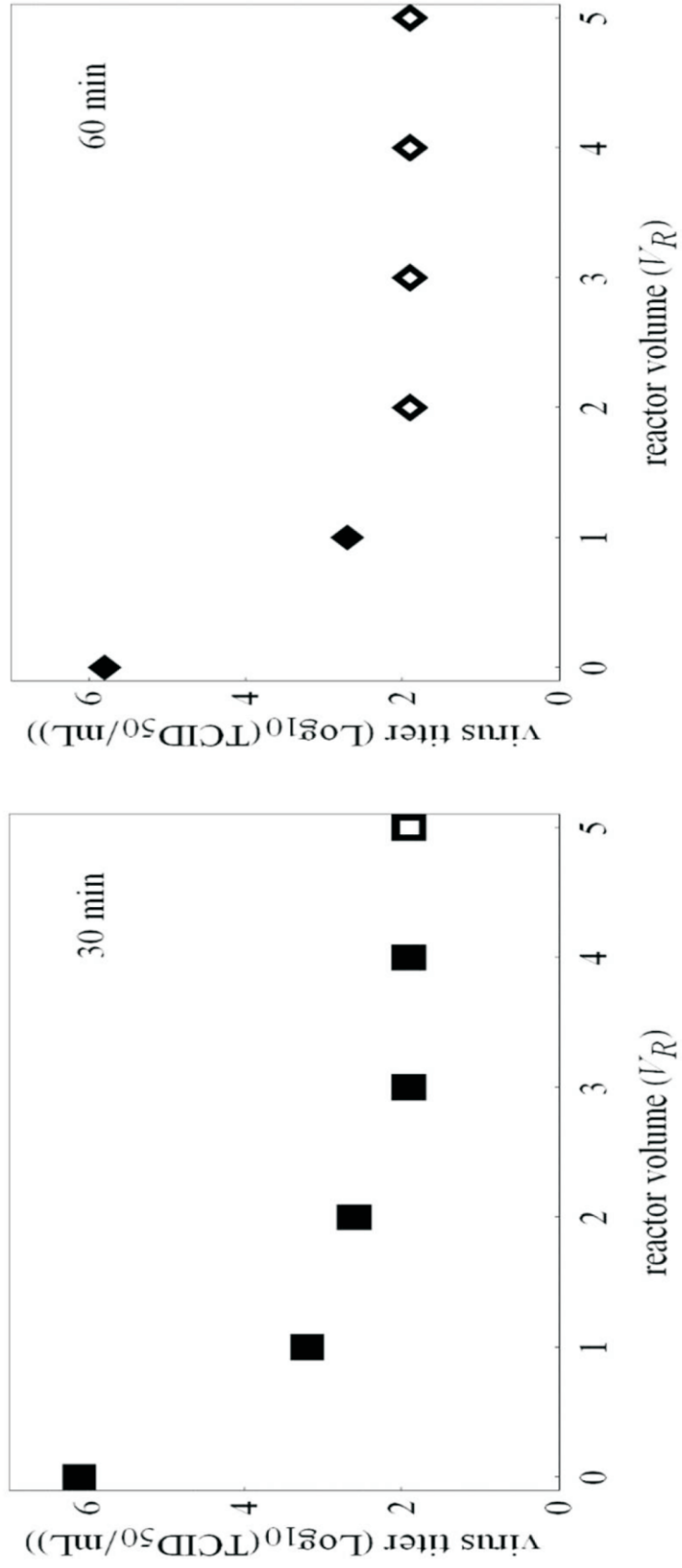


FIG. 26

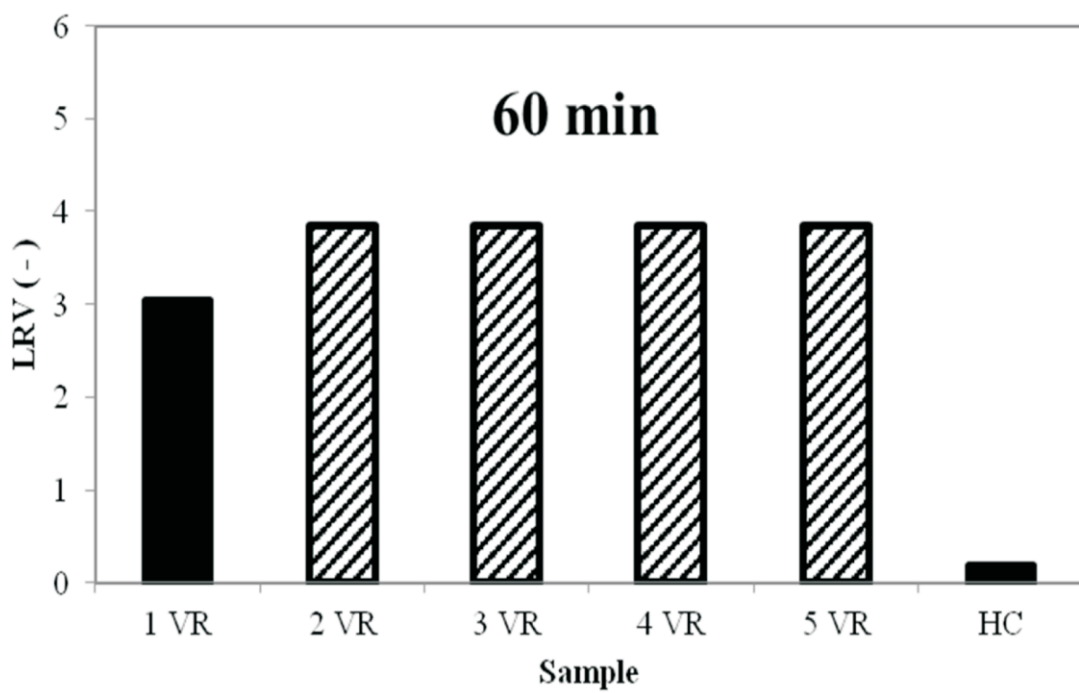
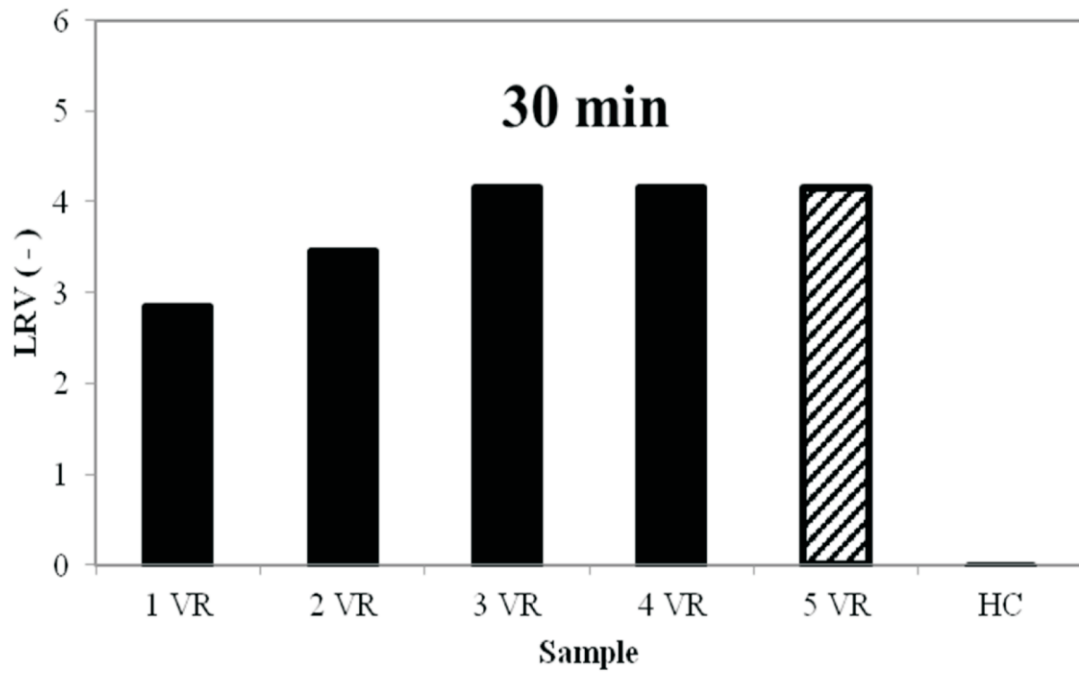
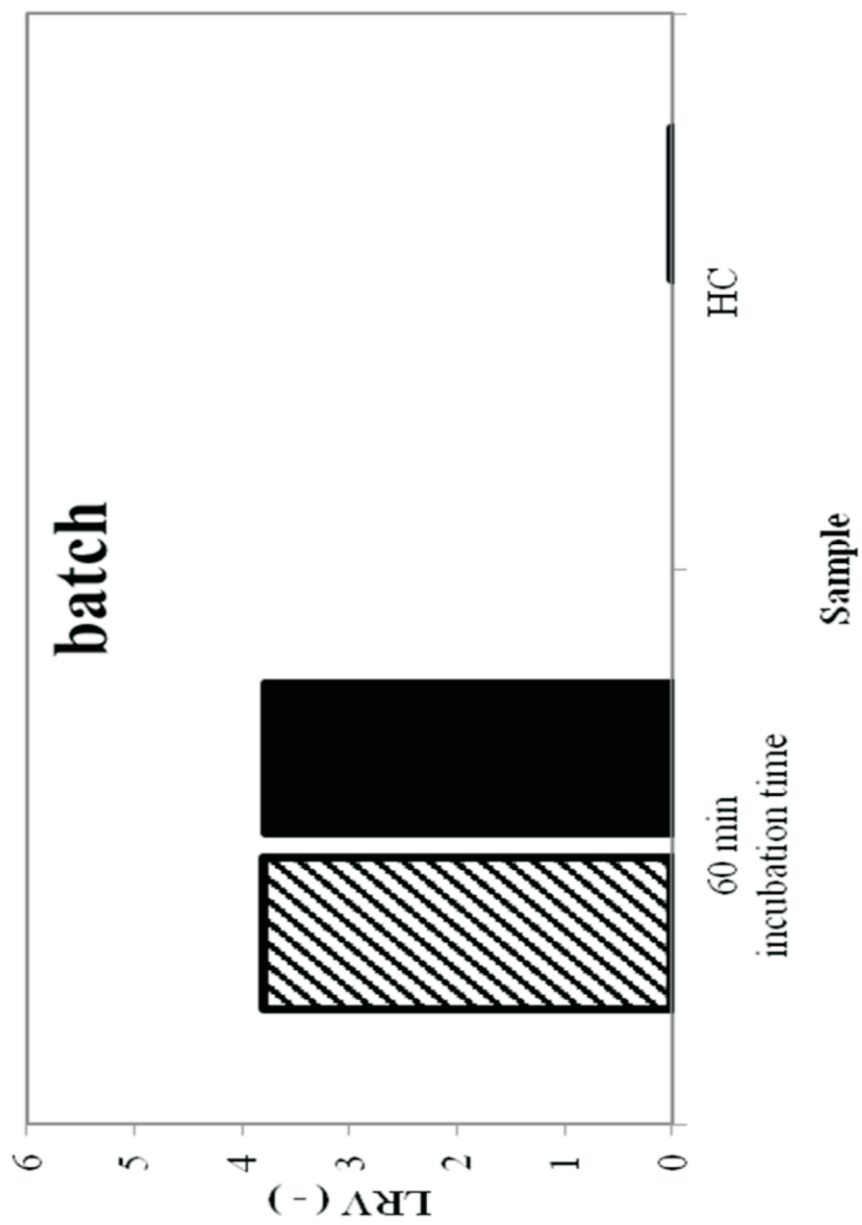
FIG. 27

FIG. 28



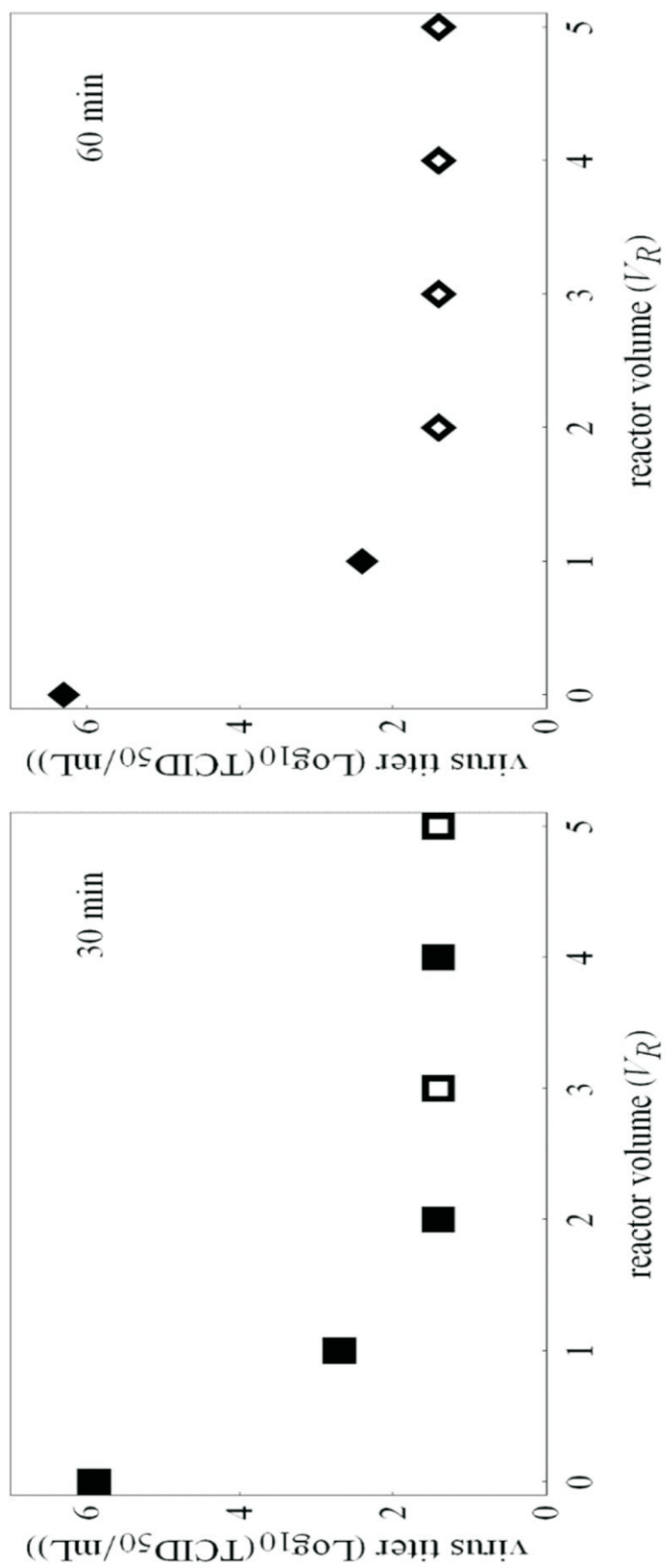


FIG. 29

FIG. 30

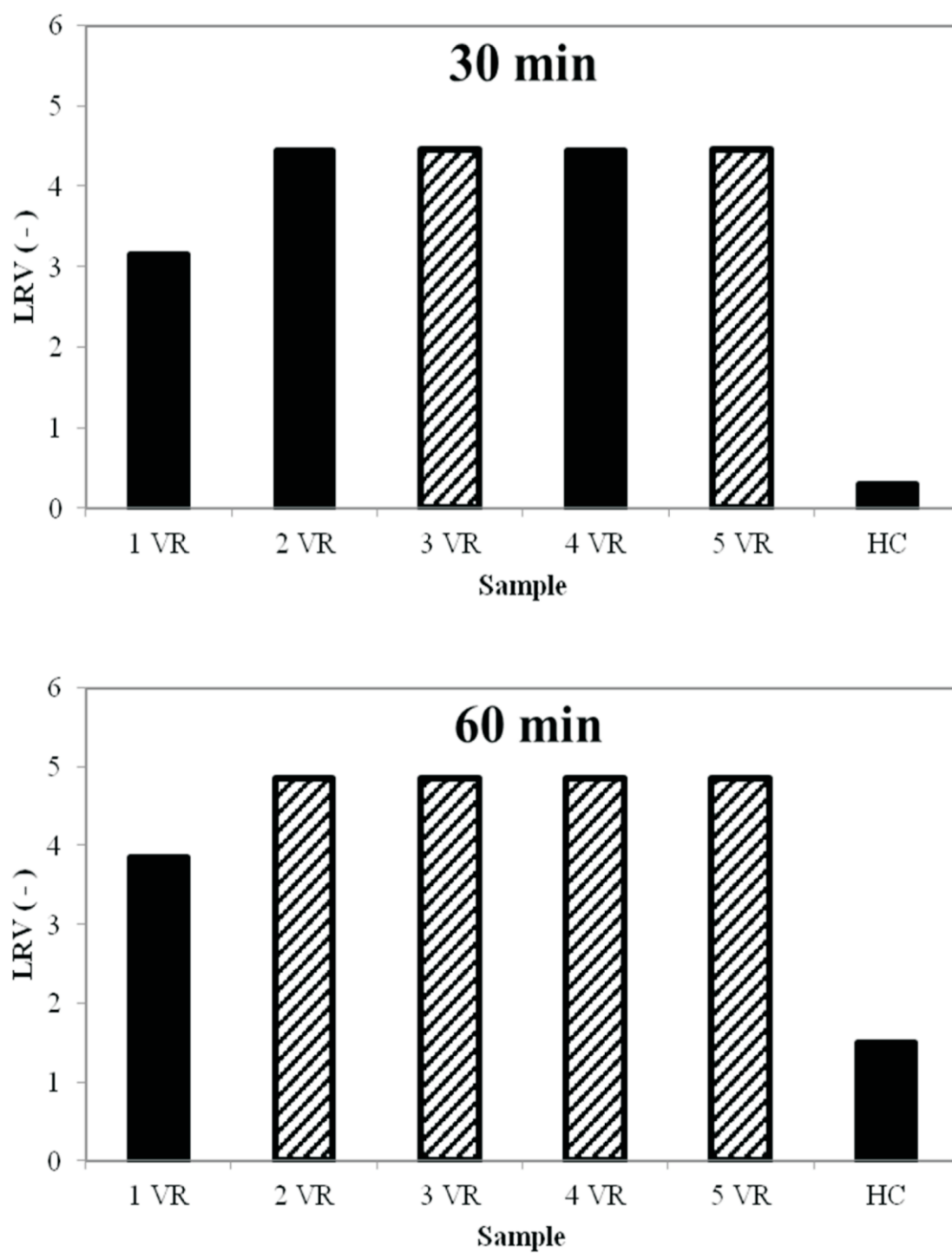


FIG. 31

