



## EFFECTO DE LA CONCENTRACION Y EL pH DE LA SOLUCION DE ELUCION DE LA CROMATOGRAFÍA DE AFINIDAD EN LA MANUFACTURABILIDAD Y ROBUSTEZ DE UN PROCESO DE PURIFICACION DE UN ANTICUERPO MONOCLONAL

Lourdes Muciño, Rodolfo Salazar, Néstor Pérez, Probiomed, S.A. de C.V. (Departamento de Investigación y Desarrollo), Tenancingo, Estado de México, CP 52400, lourdes.mucino@probiomed.com.mx.

*Palabras clave: Diseño de experimentos, Cromatografía, Anticuerpo monoclonal.*

**Introducción.** En la producción de un anticuerpo monoclonal no solo son importantes los atributos de calidad del producto obtenido, también son importantes aquellas características del proceso que permiten que éste sea manufacturable, como son: rendimiento y robustez del proceso, y el efecto de las características del producto de una etapa del proceso en la siguiente.

Un problema que se ha observado son los altos volúmenes de operación en aquella etapa siguiente a la cromatografía de afinidad. Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar la robustez de esta etapa del proceso a la variabilidad observable en la medición de pH al preparar soluciones en las áreas de manufactura, y determinar al mismo tiempo el efecto del cambio de concentración de la solución de elución de tal manera que el producto obtenido cumpla con los atributos de calidad y rendimiento requeridos, y al mismo tiempo permita reducir el volumen de carga de la siguiente etapa del proceso.

**Metodología.** Se evaluó el efecto de la concentración y el pH de la solución de elución de la cromatografía de afinidad de un anticuerpo monoclonal, mediante un Diseño de Experimentos (DoE)  $3^2$  (Ver Fig. 1). Los niveles de pH se seleccionaron como: valor objetivo  $\pm 0.2$  unidades de pH. Los niveles de concentración, que al mismo tiempo afectan la conductividad de la solución, se seleccionaron de tal manera que fueran fácilmente diferenciables, como: 20, 50 y 100 mM. Se analizaron aquellas variables de respuesta que forman parte de los atributos de calidad: pureza, contenido de HCP's y proteína A, y aquellas variables de respuesta que permiten la manufacturabilidad: rendimiento, volumen de elución, concentración, y volumen de carga a la siguiente etapa. Los datos obtenidos se analizaron por medio de los softwares Excel y Minitab.

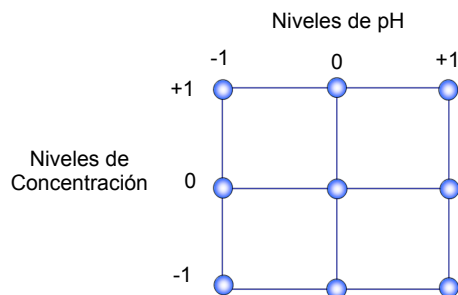
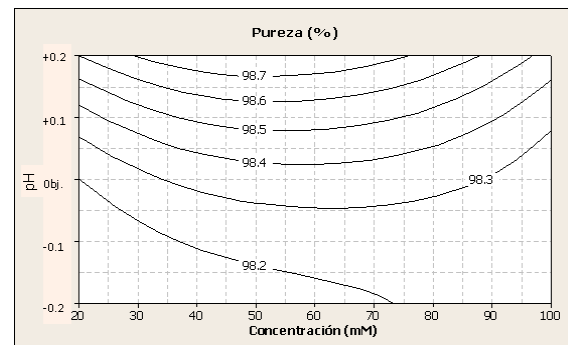
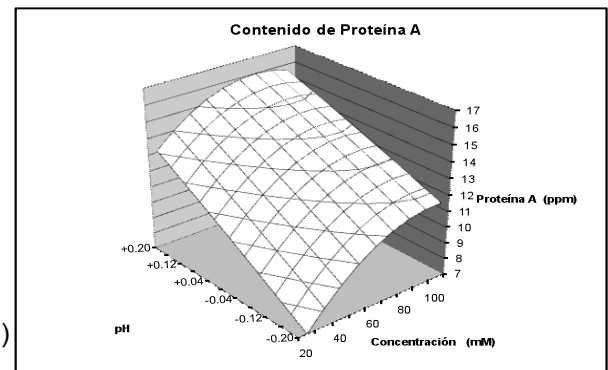


Fig. 1. Representación esquemática de un DoE  $3^2$ .

**Resultados.** Se determinó la existencia de un efecto significativo en las variables de respuesta, debido a un cambio en la concentración y pH de la solución de elución, así como de la interacción de pH y concentración. Adicionalmente se obtuvo para cada una de las variables de respuesta en estudio, el gráfico de superficie que mejor refleja los resultados obtenidos, en la Fig. 2 se pueden observar algunos de ellos.



(a)



(b)

Fig. 2. (a) Gráfico de contornos para la Pureza, (b) Gráfico de superficie para le contenido de Proteína A.

**Conclusiones.** El DoE  $3^2$  permitió determinar que el cambio de pH en  $\pm 0.2$  unidades en la solución de elución de la cromatografía de afinidad permite un proceso robusto en esta etapa del proceso, así como la concentración de la solución que permite mejorar la manufacturabilidad del proceso de purificación.

**Agradecimientos.** Probiomed, S.A. de C.V., Proyecto CONAcYT: 134016.

### Bibliografía.

1. Montgomery, D., (2006), *Diseño y Análisis de Experimentos*, Ed. Limusa-Wiley, México, págs. 363-500.