

ESTUDIO DEL ESCALAMIENTO DE LA PRODUCCIÓN DE UN FRAGMENTO DE ANTICUERPO CON APLICACIÓN EN LA DEGENERACION MACULAR

Ibet Fernanda Díaz Novales, Carlos Alfredo Gómez Valencia, Beatriz Valencia Hernández, María Inés Infanzón Rodríguez, Yolanda Francisca Díaz Viveros. Tecnológico Nacional de México, Campus Veracruz. Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Veracruz, 91870. yolanda.db@veracruz.tecnm.mx

Palabras clave: Ranibizumab, Escalamiento, Proceso

Introducción. La degeneración macular relacionada con la edad (DMRE) es una enfermedad que se produce debido al crecimiento de neovasos bajo la retina los cuales generan hemorragias, estas son las originadoras de cicatrices en la mácula, la cual es parte de la retina y su función es la visión nítida frontal que se encarga de los detalles, movimientos y colores de la visión⁽¹⁾. Uno de los tratamientos para la DMRE y la retinopatía diabética proliferativa (RDP) autorizados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos de América (FDA) y la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) es el uso de Lucentis (Ranibizumab)⁽²⁾. El precio máximo de venta de Lucentis es de \$20,563.00 pesos mexicanos en presentación de 0.5mg en 0.5mL⁽³⁾. Este fragmento de anticuerpo monoclonal no es producido en nuestro país. Para determinar la cantidad requerida a producir del fármaco, se realizó una revisión documental sobre la incidencia de la enfermedad DMRE y la RDP en nuestro país. Con el propósito de escalar la producción de Ranibizumab en México, se seleccionó un proceso a nivel laboratorio recientemente⁽⁴⁾ que aporte los datos técnicos necesarios para el escalamiento.

Metodología. La cepa *E. coli* BL21 (DE3) fue usada como sistema huésped para la expresión de Ranibizumab. La composición del medio del fermentador semilla fue la reportada por Korz et al., 1995⁽⁵⁾. La producción de Ranibizumab se lleva a cabo en un biorreactor lote alimentado usando dos estrategias de alimentación exponencial (5.5 -10 h) y pseudo-estacionaria (10-16 h) en esta etapa se adicionan pulsos de lactosa como inductor. La composición del medio en el fermentador de producción fue la reportada por Kumar et al. 2022⁽⁴⁾ Para el escalamiento del biorreactor de producción se usó el fermentador sartorius Biostat Bplus con un volumen de trabajo de 5 L⁽⁴⁾. El volumen inicial del medio de fermentación en lote alimentado fue de 1.5 L, alcanzando un volumen final de 2 L a las 16 h. Los parámetros cinéticos fueron los siguientes, concentración de biomasa final 38 gL⁻¹, velocidad específica de crecimiento ($\mu = 0.02 \text{ h}^{-1}$), coeficiente de rendimiento de producto sobre biomasa $y_{p/x} = 0.3 \text{ gg}^{-1}$,

coeficiente de rendimiento de biomasa sobre sustrato $y_{x/s} = 0.45 \text{ gg}^{-1}$ y concentración final del producto (Ranibizumab) 12.76 gL⁻¹.⁽⁴⁾

Resultados. Se calculo la demanda total (145 g) por año considerando los pacientes que requerirán tratamiento, la dosis empleada y frecuencia de uso. Se realizó el escalamiento del proceso. En la Figura 1, se muestra el diagrama del escalamiento del proceso para un volumen final de medio fermentado de 142 L.

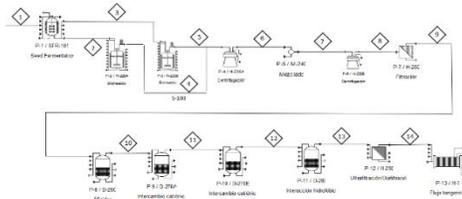


Fig. 1 Diagrama del escalamiento del proceso para la producción de Ranibizumab.

La Tabla 1 muestra el escalamiento del proceso de purificación y los rendimientos obtenidos a partir de un estudio reportado recientemente⁽⁶⁾.

Tabla. 1 Escalamiento de las etapas de purificación de Ranibizumab.

Tipo de cromatografía	Concentración (g/L)	Volumen (L)	Proteína (g)	Rendimiento (%)
Caldo fermentado	12.76	142	1811.92	100
Afinidad	238.70	4.02	959.23	52.94
Intercambio catiónico pH 6.5	38.85	4.76	184.82	10.2
Intercambio catiónico pH 5.0	36.49	5.02	183	10.1
Intercacción hidrofóbica	42	3.50	147	8.14

Conclusiones.

El escalamiento de Ranibizumab resulta ser factible técnicamente. Las estrategias de purificación es una alternativa para mejorar significativamente los costos finales del proceso.

Bibliografía.

- Hageman, G. S., Gehrs, K., Johnson, L. V., Anderson, D. (2008). *The Organization of the Retina and Visual System [Internet]*. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5582718&fecha=24/12/2019#gsc.tab=0
- https://www.economia.gob.mx/files/transparencia/gobmx/docs/precios_medicament_os_patente.pdf
- Kumar, J., Bhat, S. U., Rathore, A. S. (2022). *Process Biochemistry*, 114, 21-27.
- D.J. Korz, U. Rinas, K. Hellmuth, E.A. Sanders, W.-D. Deckwer. *J. Biotechnol.* 39 (1995) 59-65
- Ogez, J. R., Williamson, B. L., Hawkins, N. M. N., Coherus BioSciences, Inc. 2021. Pat. WO2021072210A1