

## ESTUDIO TÉCNICO PARA LA PRODUCCIÓN DE LA CADENA PESADA (Hc) DEL SEROTIPO A DE LA NEUROTOXINA BOTULÍNICA RECOMBINANTE PARA SU USO TERAPÉUTICO-COSMÉTICO.

Roque Martínez, Melisa Casillas, Alejandra García, Yolanda Díaz-Viveros, Sandra del Moral-Ventura, Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Instituto Tecnológico de Veracruz, Veracruz, México, 91897, Email: L19020757@veracruz.tecnm.mx  
Palabras clave: Neurotoxina botulínica, recombinante, farmacéutica

**Introducción.** La neurotoxina botulínica es una proteasa producida por *Clostridium botulinum*, compuesta por una cadena pesada (Hc) y una cadena ligera (Lc) unidas por un puente disulfuro. Popularmente es empleada con fines terapéuticos o cosméticos (Botox®) en nanodosis. Sin embargo, su alta demanda (valor de mercado de 5.9 mil millones en 2021) ha llevado al desarrollo de tecnologías que permitan aumentar los rendimientos, así como la mejora de las condiciones de seguridad con las que se maneja. Una alternativa ha sido introducir los genes codificantes para la BoNT/A, especialmente el fragmento Hc, en microorganismos hospederos. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue definir la viabilidad técnica de la producción de BoNT/A(Hc) para su uso cosmético y terapéutico.

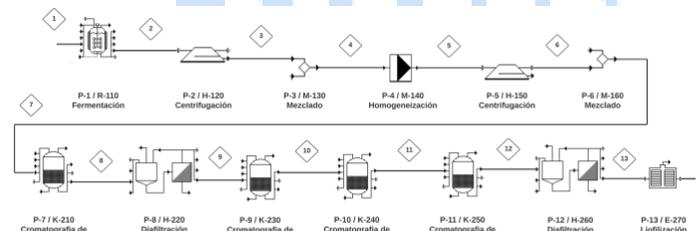
**Metodología.** Se realizó la búsqueda documental de métodos para la producción de la BoNT/A(Hc) en microorganismos recombinantes (*E. coli* y *P. pastoris*). Se seleccionaron trabajos a nivel laboratorio que proporcionaron los datos necesarios para el escalamiento del proceso. Para la fermentación fue seleccionado el trabajo de Ben David, et al., (2022) donde emplean la cepa *E. coli* BL21(D3) recombinante para expresar la proteína de interés en un cultivo de alta densidad utilizando el medio descrito por Korz, et al., (1995) y una estrategia de alimentación continua, con parámetros cinéticos  $\mu=0.07h^{-1}$  y  $Y_{XS}=0.45$  g/g. Para la purificación se seleccionó el trabajo de Potter, et al., (2000). Para el establecimiento de la demanda se realizó el seguimiento del consumo de la BoNT/A como procedimiento no quirúrgico (ISAPS) entre los años 2014-2020, y su proyección a 2025. Para el establecimiento de la base de producción se tomaron en cuenta las capacidades de plantas existentes. Con los datos obtenidos se realizó el diseño del proceso, los balances de materia y energía y el dimensionamiento-selección de equipos.

**Resultados.** Se estimó que para el 2025 el número de procedimientos con BoNT/A será de 211,117 en México, lo cual corresponde a 1,302,491 de viales (100 U) o a 0.26 mg de fragmento Hc. Por otra parte, siguiendo las capacidades de producción reportadas, se consideró una base de producción anual de 8

millones de viales, por lo que se estableció que el volumen final de la fermentación debe ser de 21.52 L, con una concentración final a las 47 h de 101.4 g/L de biomasa seca y 2.065 g/L de proteína sin purificar. En la tabla 1 se muestra el cuadro de purificación y en la Fig. 1 se muestra el diagrama del proceso escalado.

**Tabla 1.** Cuadro de purificación del proceso. Elaboración propia a partir de los datos reportados por Potter, et al., (2000).

	V, ml	rBoNT/A(Hc), mg
Lisado	8,728.9	418.99
Dilución	174,580	418.99
CIC	406.72	27.50
Diafiltración	285.29	16.55
CIA	519.11	9.99
CIC	44.22	4.10
CIH	26.82	2.29
Producto final	9.36	1.95



**Fig. 1.** Diagrama de instrumentación para la producción de la cadena pesada (Hc) de la neurotoxina botulínica A.

**Conclusiones.** Se considera al proceso como susceptible de ser implementado como línea de producción o investigación de la BoNT/A(Hc). El trabajo contribuye en la obtención de compuestos biológicos altamente activos, los cuales requieren pocos volúmenes de producción.

**Agradecimiento.** A nuestras asesoras que han sabido guiarnos en la elaboración de este proyecto, la M.C. Yolanda F. Díaz Viveros y la Dra. Sandra Trinidad del Moral Ventura.

### Bibliografía.

- Ben David, A., Papir, Y., Hazan, O., Redelman, M., Diamant, E., Barnea, A., Torgeman, A., Zichel, R. (2022) *Toxins*. 14(4):281-293.
- Korz, D.J., Rinas, U., Hellmuth, K., Sanders, E.A., Deckwer, W.D. (1995) *J. Biotechnol.* 39(1):59-65.
- Potter, K.J., Zhang, W., Smith, L.A., Meagher, M.M. (2000) *Protein Expr. Purif.* 19(3): 393-402.
- Sociedad Internacional de Cirugía Plástica Estética ISAPS. (2020) *Aesthetic/cosmetic procedures performed in 2020.* [internet].