

VALIDACION DE METODOS ANALITICOS: COMPRENDIENDO LAS DIFERENCIAS ENTRE MOLECULAS PEQUEÑAS Y MEDICAMENTOS BIOTECNOLOGICOS.

Laura A. Palomares, Ricardo M. Castro, Maricela Olvera, Ana Nieto, Alier Guedes, Jonathan Lozano, Isabel Hernández, Luis Hernández, Octavio Tonatiuh Ramírez

Laboratorio de Análisis de Moléculas y Medicamentos Biotecnológicos. Laboratorio Nacional para la Producción y Análisis de Moléculas y Medicamentos Biotecnológicos. Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuernavaca, Morelos. laura@ibt.unam.mx

Palabras clave: Validación, calificación, medicamentos biotecnológicos.

Introducción. Los medicamentos biotecnológicos (MB) son producidos a través de tecnología del ADN recombinante, y se usan para tratar enfermedades autoinflamatorias, cáncer, entre otros¹. A diferencia de las moléculas pequeñas, la caracterización del MB no es una tarea fácil, implica identificar aquellos atributos críticos de calidad (ACC) de la molécula en cuestión, los que serán dependientes de su complejidad (estructura y modificaciones postraduccionales). Un paso crítico durante la caracterización del MB es la calificación y validación de los métodos analíticos, ya que este procedimiento permite determinar si el método utilizado es adecuado para los fines deseados. Existe una normatividad asociada al desarrollo de la validación (USP, FEUM, EMEA, ICH, entre otros), sin embargo, estos principalmente han sido diseñados para moléculas pequeñas, y en general, no contemplan la complejidad del medicamento biotecnológico.

En este trabajo se presenta un acercamiento integral sobre la calificación y validación de métodos analíticos que involucran moléculas complejas, como son los MB, que permite el desarrollo de nuevos productos y su tránsito hacia la investigación clínica más adecuada.

Metodología. Se utilizó un equipo UHPLC Vanquish Thermo para el método de cromatografía de exclusión molecular, así como un equipo Zetasizer Nano SP para el método de dispersión dinámica de luz.

Resultados. Se diseñaron ambos protocolos de validación considerando los atributos a medir por cada método analítico y con base en la normatividad aplicable. La normatividad revisada para el diseño de los protocolos fueron FEUM, CCAyAC, Guía del colegio de QFB, NOM-EM-001-SSA1-2012 e ICH Q2 (R1). Los parámetros evaluados para el método de exclusión molecular y dispersión dinámica de luz (DLS) se listan en la tabla 1. Los parámetros de desempeño, así como los criterios de aceptación, fueron determinados a partir de los resultados obtenidos por el laboratorio previos a la validación. Previa a la validación se realizó un estudio de estrés forzado para evidenciar los cambios en el producto y evaluar impurezas e isoformas.

Tabla 1. Parámetros de desempeño evaluado en las validaciones

Parámetros de desempeño	
SEC	DLS
1 Especificidad	Especificidad
2 Precisión del método (repetitividad)	Precisión del método (repetitividad)
3 Precisión del método (precisión intermedia).	Precisión del método (precisión intermedia).
4 Límite de cuantificación	Límite de detección
5 Linealidad	Robustez.
6 N/A	Incertidumbre.
7 N/A	Veracidad.

A continuación se muestra el resultado de repetitividad del método de dispersión dinámica de luz, evaluando un anticuerpo monoclonal (figura 1). El valor obtenido de diámetro hidrodinámico por sextuplicado tuvo un CV menor al 4%.

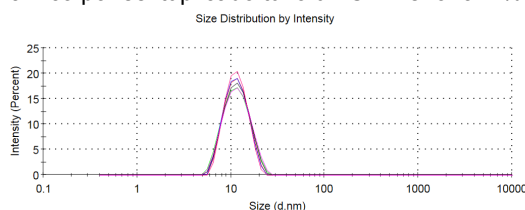


Fig. 1. Parámetro de repetitividad para el método de dispersión dinámica de luz.

Para el método de SEC, se muestra la gráfica obtenida para el parámetro de linealidad, en donde se utilizaron diferentes concentraciones de anticuerpo monoclonal (Figura 2).

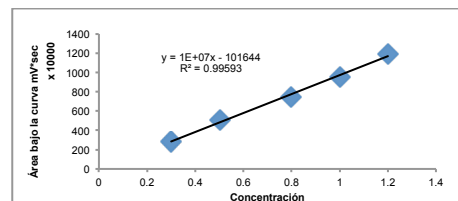


Fig. 2. Parámetro de linealidad para el método de exclusión molecular por UHPLC.

Se cumplieron los parámetros de desempeño durante la validación de ambos métodos analíticos, por lo que los métodos validados se consideran aptos para la evaluación de producto en desarrollo y producto final.

Conclusiones. El establecimiento de los criterios de aceptación de los parámetros de desempeño deberán tener como base los análisis que ya se hayan realizado previamente para evitar incumplimientos de los criterios de aceptación. Además, estudios de estabilidad forzada previos del medicamento de prueba o en desarrollo servirán para determinar prerequisites indispensables para la determinación del recobro del método.

Agradecimientos. CONACYT Laboratorios Nacionales 294780.

Bibliografía.

- Walsh G. 2010. Drug Discovery Today. 15(17/18): 773-780.
- Zhang et al., 2016. Drug Discovery Today. 21(5): 740-765.

