

Élimination de l'endotoxine par le Purificateur hybride AEX Emphaze^{MC} 3M^{MC}

Rituparna Sengupta, Ph. D. et Rebecca Hochstein, Ph. D.

Division des sciences de la séparation et de la purification 3M, 3M Centre, St. Paul, Minnesota



Capsules de laboratoire du Purificateur hybride AEX Emphaze pour l'élimination de l'endotoxine dans les protéines recombinantes précliniques et cliniques de stade précoce

Le Purificateur hybride AEX Emphaze est un produit synthétique d'échange d'anions à usage unique qui utilise des milieux hydrogels non tissés fonctionnalisés à l'amine quaternaire (Q) pour la clarification et la purification des fluides de procédé dans la purification biopharmaceutique. Le Purificateur hybride AEX Emphaze redéfinit et simplifie les processus de fabrication de produits biologiques en utilisant la chromatographie pour le contrôle des particules et la réduction de l'ADN, des protéines des cellules hôtes, de l'endotoxine et de la charge microbienne. La chromatographie par échange d'anions du Purificateur hybride AEX Emphaze non tissé fonctionnel permet une réduction substantielle des impuretés solubles et des particules insolubles mesurant moins que 0,1 micromètre pour une réduction supérieure de la turbidité.

L'introduction de deux petites tailles de capsules de laboratoire (BV1R et BV0.3R) pour le Purificateur hybride AEX Emphaze permet d'utiliser ce dispositif pour l'élimination des endotoxines dans les utilisations de laboratoire utilisant des pompes péristaltiques, ainsi que la filtration par seringue. Les capsules de laboratoire permettent un traitement rapide et facile de petits volumes de médicaments



candidats en stade précoce au cours d'études précliniques et cliniques en stade précoce dans des systèmes à base animale, où l'élimination des endotoxines est une exigence pour éviter de provoquer une réponse immunitaire non désirée, tout en étant capable d'observer l'efficacité du médicament.

Données d'application sur l'élimination des endotoxines dans les solutions protéiques à l'aide du Purificateur hybride AEX Emphaze

Des solutions protéiques dans un soluté physiologique tamponné par les phosphates ont été utilisées pour représenter les médicaments candidats en stade précoce dans les essais précliniques. Le sérum-albumine bovin (SAB, point isoélectrique = 4,5) et un IgG1 biosimilaire (point isoélectrique = 8,5) ont été choisis comme protéines modèles pour démontrer l'élimination de l'endotoxine par le Purificateur hybride AEX Emphaze sur une gamme pratique de points isoélectriques qui modélise la diversité des médicaments candidats biopharmaceutiques. Les protéines ont été fortifiées avec 10^2 et 10^3 EU/ml de stock d'endotoxines d'une culture *E. coli* lysée et clarifiée.

Le Purificateur hybride AEX Emphaze a réussi à réduire l'endotoxine à des niveaux inférieurs à ceux de l'eau pour injection ($< 0,25$ EU/ml)¹ dans les solutions protéiques à des charges d'épreuve de procédé de > 1 kg/l. Des débits de 1, 5 et 10 volume mort/min ont tous réduit les niveaux d'endotoxines à des niveaux inférieurs à ceux de l'eau pour injection, démontrant que le débit faible n'a eu aucune incidence sur le rendement (figure 1). La filtration par seringue (~ 23 volume mort/min) à l'aide du Purificateur hybride AEX Emphaze a également réduit les niveaux d'endotoxine à des niveaux inférieurs à ceux de l'eau pour injection (figure 2).

Une réduction rigoureuse de l'endotoxine à des niveaux inférieurs à ceux de l'eau pour injection, avec 90 % à 100 % de récupération protéique sur les points isoélectriques et les débits, grâce au Purificateur hybride AEX Emphaze^{MC} 3M^{MC}.

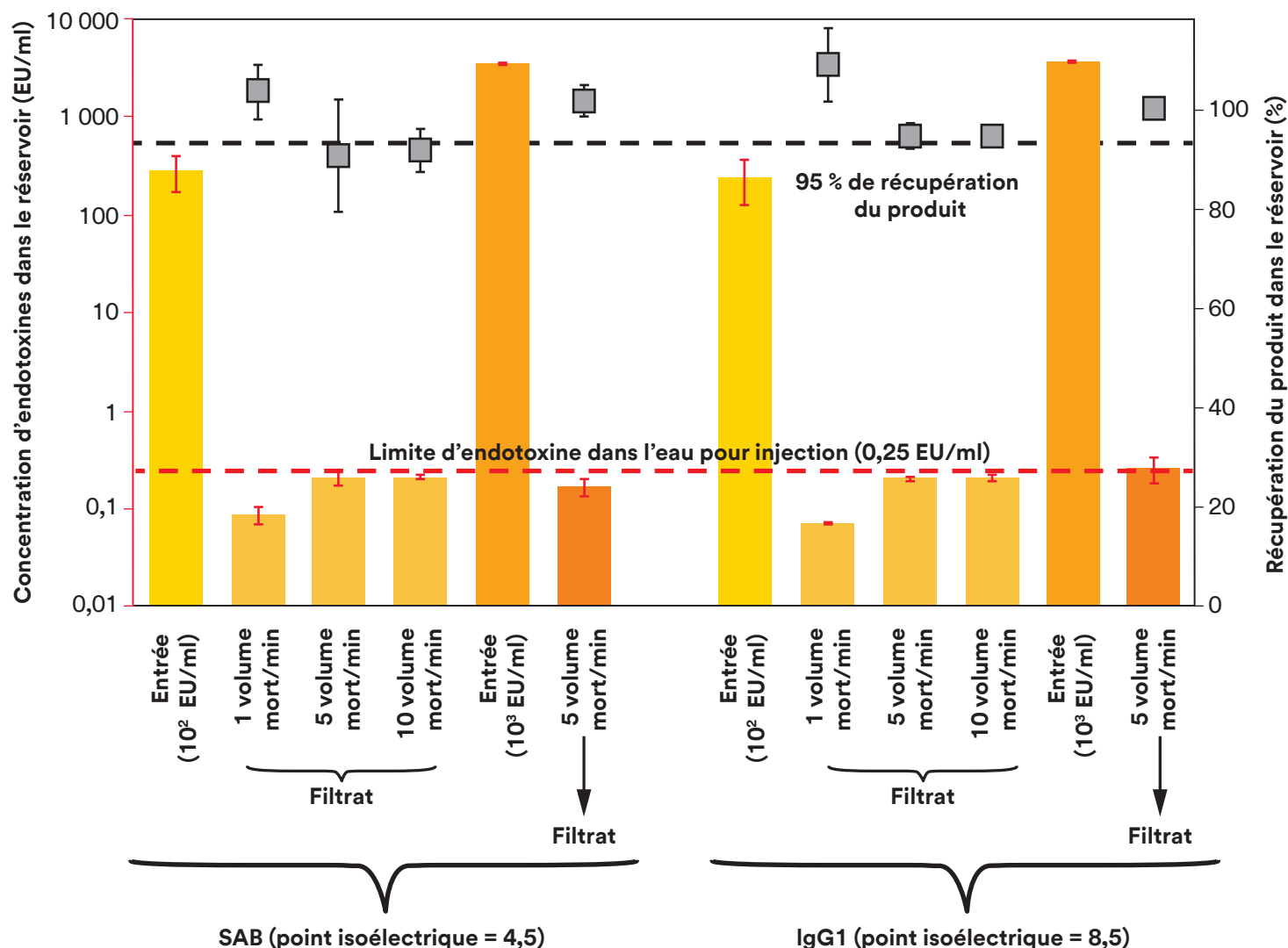


Figure 1. Élimination des endotoxines par le Purificateur hybride AEX Emphaze pour deux protéines différentes (SBA et IgG1), à différents débits (1 volume mort/min, 5 volume mort/min et 10 volume mort/min), en utilisant deux concentrations d'entrée différentes pour l'endotoxine (10² et 10³ EU/ml). Les points isoélectriques protéiques ont été déterminés expérimentalement par électrofocalisation. Dans tous les cas, l'endotoxine a été réduite à des niveaux inférieurs à ceux de l'eau pour injection (< 0,25 EU/ml) et la récupération protéique a été supérieure à 95 %.

Élimination des endotoxines par le Purificateur hybride AEX Emphaze^{MC} 3M^{MC} à l'aide d'une filtration par seringue

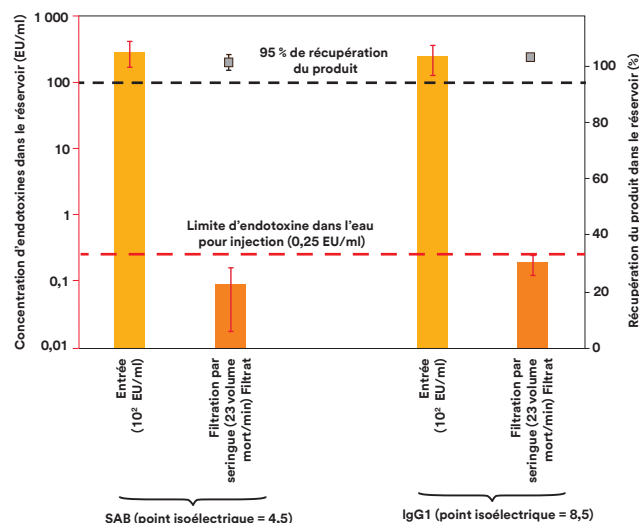


Figure 2. La filtration par seringue à l'aide du Purificateur hybride AEX Emphaze démontre une réduction de l'endotoxine à des niveaux inférieurs à ceux de l'eau pour injection pour une entrée d'endotoxine de 10² EU/ml à des charges d'épreuve de procédé protéiques supérieures à 1 kg/l.

Comparaison du Purificateur hybride AEX Emphaze avec une colonne préremplie de résine AEX standard avec chimie quaternaire

L'élimination des endotoxines a été effectuée à l'aide d'une colonne préremplie de résine AEX standard à l'amine quaternaire, à des fins de comparaison avec le Purificateur hybride AEX Emphaze. La colonne a démontré une diminution de la réduction d'endotoxine à des débits supérieurs à 1 volume mort/min (figure 3) et à des niveaux supérieurs à ceux de l'eau pour injection.

Le Purificateur hybride AEX Emphaze est idéal pour les procédés d'élimination des endotoxines dans un milieu de laboratoire, surtout pour le criblage à haut débit d'échantillons de protéines à des fins de dépistage lors d'essais précliniques et cliniques en stade précoce.

L'insensibilité au débit, contrairement à une colonne en résine à diffusion limitée, permet l'utilisation de systèmes de pompage moins complexes, tels qu'une pompe péristaltique ou une filtration par seringue, ce qui permet de traiter plusieurs échantillons simultanément ou en succession rapide. La grande capacité du Purificateur hybride AEX Emphaze permet des charges protéiques élevées et les dispositifs adaptables permettent une transition facile vers des processus pilotes ou de production. Le Purificateur hybride AEX Emphaze constitue une solution simple et robuste aux défis que pose l'élimination des endotoxines, qui permet d'accélérer le développement préclinique des médicaments candidats biopharmaceutiques.

Le rendement de l'élimination des endotoxines est réduit à des débits élevés lors de l'utilisation d'une colonne remplie AEX standard en résine avec chimie quaternaire

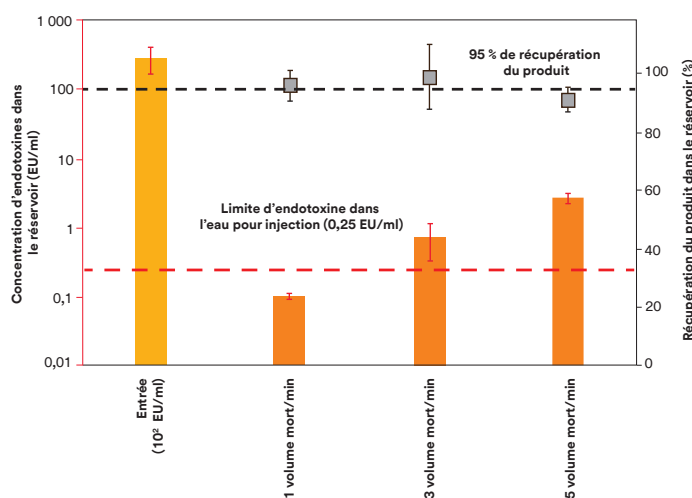


Figure 3. L'élimination des endotoxines par une colonne remplie AEX standard en résine avec chimie quaternaire, utilisant le SAB et une concentration d'entrée d'endotoxine de 10² EU/ml, démontre une réduction des niveaux d'endotoxines inférieures à ceux de l'eau pour injection seulement lorsque la colonne est utilisée à un débit de 1 volume mort/min. À des débits plus élevés, les niveaux d'endotoxines étaient supérieurs à ceux de l'eau pour injection.

Bibliographie

- 1 United States Pharmacopeia and National Formulary.
USP 29-NF 24, chapitre 1231, « Water for Pharmaceutical Purposes ».



Utilisation prévue : Le Purificateur hybride AEX Emphaze^{MC} 3M^{MC} est conçu pour être utilisé dans les utilisations de procédés biopharmaceutiques pour la fabrication de produits pharmaceutiques aqueux (les médicaments) et des vaccins, conformément aux directives et aux spécifications du produit, de même qu'aux exigences des pratiques exemplaires de fabrications actuelles, le cas échéant.

Restrictions d'utilisation : 3M déconseille d'utiliser ces produits 3M pour d'autres utilisations que celles pour lesquelles ils sont conçus, puisque les autres applications n'ont pas été évaluées par 3M et les résultats peuvent entraîner des conditions dangereuses ou involontaires. Ne pas utiliser le produit 3M, ou tout produit lixiviable issu du produit 3M, d'une manière qui pourrait permettre au produit 3M de se transformer en un composant d'un dispositif médical, ou d'y demeurer, qui est réglementé par une agence quelconque ou par des agences exemplaires à l'échelle mondiale, y compris, mais sans s'y limiter : a) la FDA, b) l'European Medical Device Directive (MDD), c) la Japan Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), ou dans les utilisations qui exigent l'insertion permanente dans le corps, les applications médicales servant au maintien de la vie et les utilisations nécessitant une conformité aux normes régissant le contact avec les aliments.

Renseignements techniques : Les renseignements techniques, conseils et autres énoncés contenus dans le présent document ou fournis par 3M sont fondés sur des dossiers, des essais ou des expériences que 3M juge fiables, mais dont l'exactitude, l'exhaustivité et la nature représentative ne sont pas garanties. Ces renseignements sont destinés à des personnes qui possèdent les connaissances et les compétences techniques requises pour les évaluer et exercer un jugement éclairé à leur égard. Aucune licence d'utilisation de droits de propriété intellectuelle de 3M ou de tiers n'est accordée ou implicite en vertu de ces renseignements.

Sélection et utilisation des produits : De nombreux facteurs indépendants de la volonté de 3M et connus uniquement par l'utilisateur peuvent nuire à l'utilisation et au rendement d'un produit 3M lors d'un usage particulier. Par conséquent, il incombe à l'utilisateur final seul d'évaluer le produit et de déterminer s'il est approprié pour l'application prévue, notamment en effectuant une évaluation des risques qui tient compte des caractéristiques lixiviables du produit et de ses répercussions sur la sécurité des médicaments, et ce, en procédant à une évaluation des dangers en milieu de travail et en examinant toutes les réglementations et normes applicables (p. ex., OSHA, ANSI, etc.). Le fait de ne pas évaluer, sélectionner et utiliser correctement un produit 3M et les produits de sécurité appropriés, ou de ne pas respecter toutes les réglementations de sécurité applicables, peut entraîner des blessures, des problèmes de santé, la mort et/ou des dommages à des biens.

Garantie, limite de recours et exonération de responsabilité : À moins qu'une garantie différente ne soit spécifiquement énoncée sur l'emballage ou la documentation applicables du produit 3M (une telle garantie ayant préséance, le cas échéant), 3M garantit que chaque produit 3M est conforme aux spécifications des produits 3M applicables au moment de son expédition. 3M N'OFFRE AUCUNE AUTRE GARANTIE NI AUCUNE AUTRE CONDITION EXPLICITE OU IMPLICITE, Y COMPRIS, MAIS SANS S'Y LIMITER, TOUTE GARANTIE OU CONDITION IMPLICITE DE QUALITÉ MARCHANDE, D'ADÉQUATION À UN USAGE PARTICULIER OU DÉCOULANT DE LA CONDUITE DES AFFAIRES, DES PRATIQUES COURANTES ET DES USAGES DU COMMERCE. Si un produit 3M n'est pas conforme à cette garantie, le seul et unique recours est, au gré de 3M, d'obtenir le remplacement du produit 3M ou le remboursement de son prix d'achat.

Limite de responsabilité : À l'exception de la limite de recours énoncée plus haut, et à moins d'interdiction par la loi, 3M ne saurait être tenue responsable des pertes ou des dommages directs, indirects, spéciaux, fortuits ou conséquents (y compris, mais sans s'y limiter, la perte de profits et d'occasions d'affaires) découlant de l'utilisation du produit 3M ou en lien avec celui-ci, quelle que soit la théorie juridique ou équitable dont on se prévaut, y compris, mais sans s'y limiter, celles de responsabilité contractuelle, de violation de garantie, de négligence ou de responsabilité stricte.



Division des sciences de la séparation et de la purification 3M

3M Canada
300, rue Tartan
London (Ontario) N5V 4M9
Canada
1 800 443-1661
3M.ca/biotraitement

3M, 3M Science. Au service de la Vie. et Emphaze sont des marques de commerce de 3M, utilisées sous licence au Canada. © 2023, 3M. Tous droits réservés. 2302-25737 F