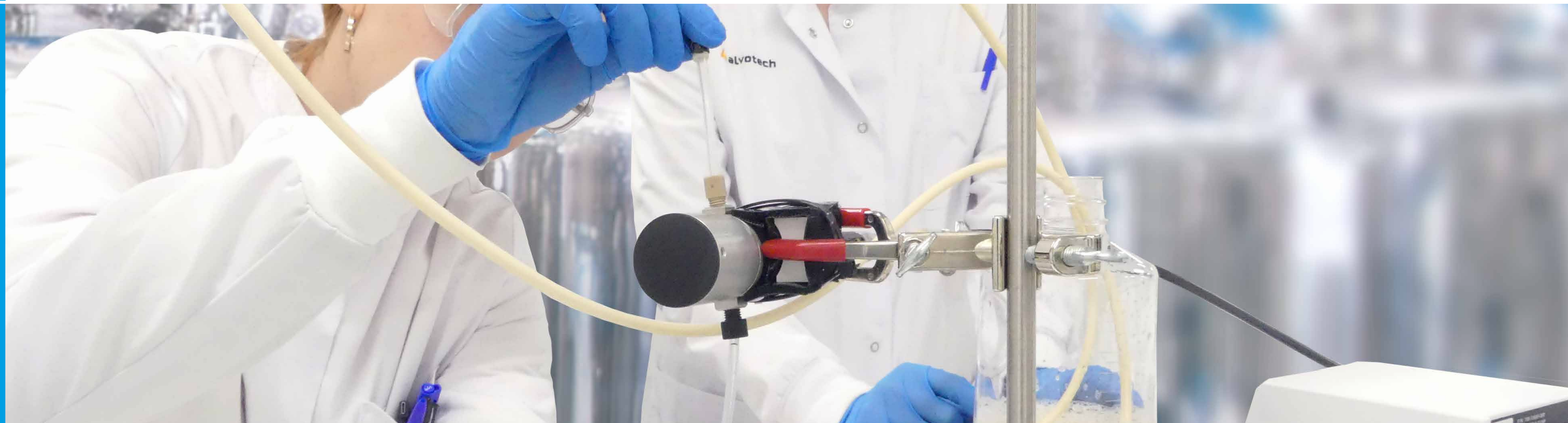


Ramanovo měření biosimilárních léčivých přípravků v následných procesech

Příběh úspěchu Testování procesu čištění proteinů
při ultrafiltraci/diafiltraci (UF/DF) společností Alvotech



Výzvy a výsledky

Výzvy zákazníků

V následných procesech dochází k rychlým změnám složení. V důsledku toho vyžaduje vývoj procesů v následné fázi použití procesní analytické technologie (PAT), která se přizpůsobí sníženým objemům a kratším dobám cyklu. Zlepšení účinnosti pro následné aplikace se však realizuje pomalu kvůli několika technologickým problémům, jako je závislost na extrakčních analytických metodách pro měření složení, pomalá doba odezvy, nedostatečné jmenovité rozsahy, interference pozadí a další. Rostoucí složitost purifikačních kroků způsobená intenzifikací předcházejících procesů dále zdůrazňuje potřebu inovativních navazujících řešení.



„Krása Ramanovy spektroskopie spočívá v její univerzálnosti. Při použití in-line v procesech UF/DF mění operace tým, že umožňuje detekci agregace proteinů a sledování změn koncentrace v reálném čase. To nejen zlepšuje řízení procesů, ale také mění pravidla hry pro optimalizaci efektivity biozpracování, zajišťuje špičkovou kvalitu produktů a shodu s předpisy.“

Adrianna Milewska, PhD,
vedoucí PAT
Alvotech

Shrnutí výsledků

Systémy Ramanovy spektroskopie společnosti Endress+Hauser zlepšují následné zpracování (DSP) při výrobě biosimilárních produktů tím, že umožňují přesné monitorování procesu čištění proteinů v reálném čase během ultrafiltrace/diafiltrace (UF/DF). Výhody mohou zahrnovat:

- **Úspora nákladů:** Snížené náklady na práci, roztok pufru a offline analýzu vedou k významným úsporám
- **Rychlejší doba zpracování:** Monitorování a nastavení procesu UF/DF v reálném čase eliminuje procesní pauzy, což vede k efektivnějšímu provozu.
- **Optimalizace procesů:** Okamžité analytické výsledky umožňují proaktivní rozhodování a zvyšují celkovou efektivitu.

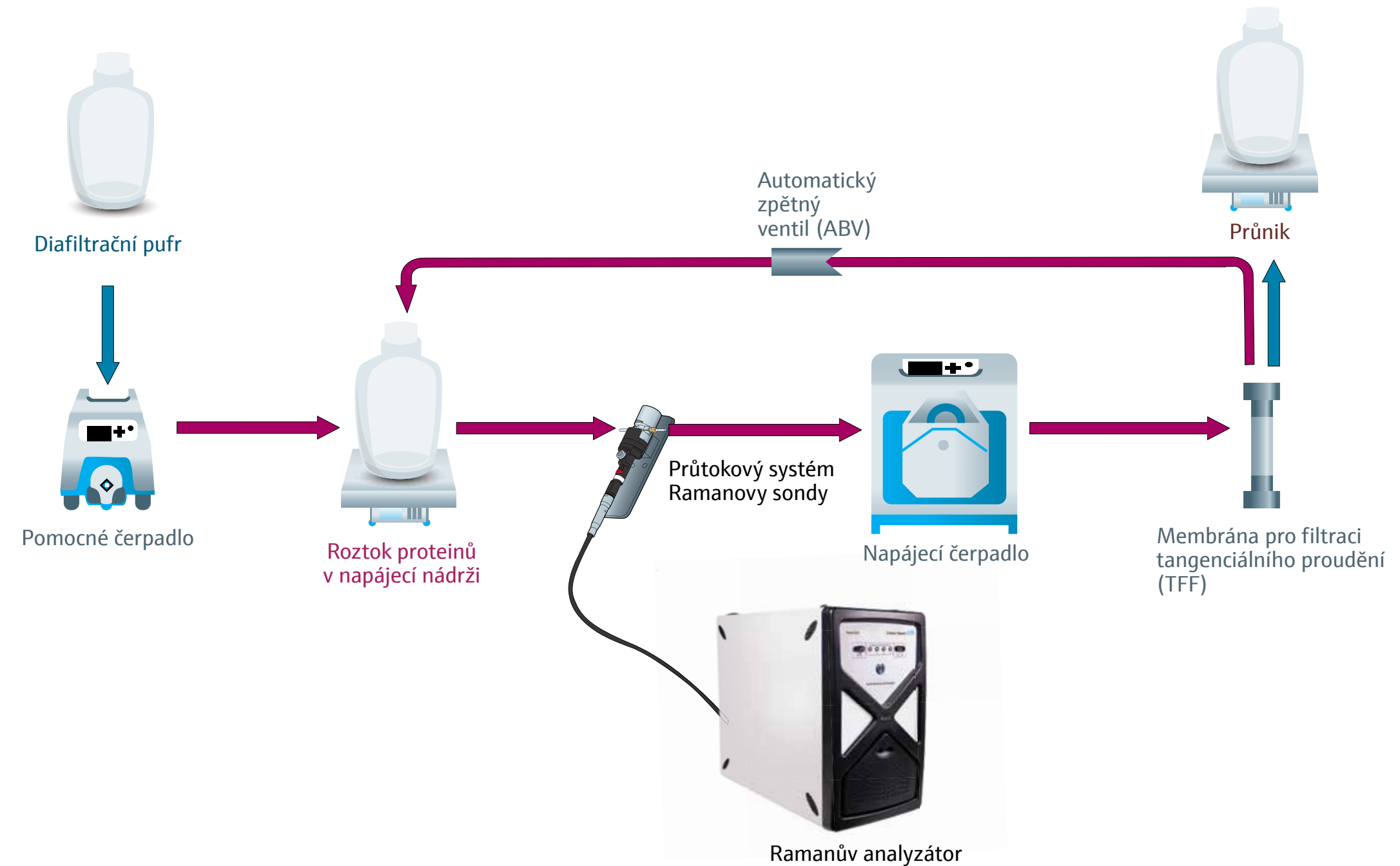


Vysvětlení následného zpracování UF/DF

Následná fáze biozpracování UF/DF obvykle zahrnuje následující kroky:

1. Počáteční krok koncentrace zahrnuje použití ultrafiltračních membrán ke zkoncentrování roztoku proteinů. Během této fáze se odstraní přebytečné soli, malé molekuly a voda, aby se dosáhlo koncentrovanějšího proteinového roztoku.
2. Průběžně se přidává diafiltrační pufr, zatímco malé molekuly, jako jsou rozpouštědla, ionty a voda, se odstraňují ultrafiltrací. Cílem tohoto kroku je výměna procesního pufru za konečný formulační pufr a snížení malých nečistot, jako jsou ionty, na přijatelnou úroveň.
3. Poté se provede druhý krok koncentrace, aby se dosáhlo konečné požadované koncentrace proteinu. Tyto kroky jsou integrovány do jediného procesu (UF/DF), který účinně koncentruje léčivou látku a vyměňuje pufr před tím, než se přistoupí do fáze plnění a dokončení.

Začlenění Ramanových systémů do procesu UF/DF



Tradiční systémy UF/DF mají obecně schopnost monitorovat systémové tlaky, průtoky a objemy přiváděného i pronikajícího materiálu. Systém UF/DF integrovaný s Ramanovou sondou by však mohl potenciálně monitorovat hladiny monomerů a agregátů, jakož i koncentrace pomocných látek v pufru.

- **Počáteční fáze koncentrace:** objem napájecí nádrže se zmenšuje, protože voda, malé molekuly a ionty jsou filtrovány membránou tangenciální průtokové filtrace (TFF). Protein nemůže projít membránou, a proto je zadržován v systému.
- **Fáze diafiltrace:** Objem napájecí nádrže je udržován na konstantní úrovni kontinuálním přidáváním diafiltračního pufru a současným odfiltráváním procesního pufru.
- **Závěrečná fáze koncentrace:** v tomto okamžiku je pufr v napájecí nádrži zcela vyměněn za diafiltrační pufr. Proteinový roztok lze nyní koncentrovat na požadovanou úroveň.

Omezení následného biozpracování při UF/DF

Společnost Alvotech chtěla otestovat řešení možných procesních omezení souvisejících s použitím metod tangenciální průtokové filtrace (TFF), která se mohou vyskytnout při UF/DF, včetně:

- **Kvalita a účinnost produktu:** Agregace může ohrozit kvalitu monoklonálních protilátek, ovlivnit farmakokinetiku a terapeutickou účinnost.
 - **Bezpečnost pacientů:** Agregáty mohou vyvolat imunitní reakce, což podtrhuje význam minimálních hladin v konečném produktu pro bezpečnost pacientů.
 - **Řízení a optimalizace procesů:** Monitorování agregace v reálném čase v TFF umožňuje rychlou detekci problémů, rychlejší optimalizaci procesních podmínek ve vývojových fázích a minimalizaci následných úprav.
 - **Ztráta a výtěžnost produktu:** Monitorování TFF zabraňuje tvorbě agregátů, snižuje ztráty a maximalizuje výtěžnost produktu během následného zpracování.
- **Konzistence ve výrobě:** Zajištění konzistence mezi jednotlivými šaržemi je zásadní pro biofarmaceutickou bezpečnost a účinnost a zaručuje spolehlivý výrobní proces.
 - **Ekonomické aspekty:** Včasná detekce agregace minimalizuje náklady tím, že snižuje potřebu dalšího testování a čekacích dob.
 - **Soulad s předpisy:** Přísné směrnice nařizují komplexní monitorování biofarmaceutik pro schválení a komercializaci.

Tato omezení mohou způsobovat nejistoty měření procesu a vyžadovat časté manuální úpravy po zpracování. Tyto úpravy spotřebovávají cenný čas a zdroje a mohou ohrozit kvalitu a účinnost produktu.



Naše řešení

Společnost Alvotech si vybrala společnost Endress+Hauser pro testování in-line Ramanovy spektroskopie při vývoji předcházejících a následných procesů. Vybraný Ramanův systém je přizpůsoben pro následné průtokové linie a využívá zesílení signálu a technologii s nízkým šumem k dosažení rychlejších výsledků. Skládá se z následujících komponent:

- Analyzátor Raman Rxn2
- Sonda Rxn-10
- Ramanova průtoková sestava

Ramanova průtoková sestava je specializovaný nástroj určený pro biofarmaceutické laboratoře a vývoj procesů v purifikačních a perfuzních prostorech s potenciálem rozšíření na výrobu cGMP.

Ramanovu průtokovou sestavu tvoří:

- Opakovaně použitelná optika (mikroprůtočná stolice) připojená k sondě Rxn-10, která není v kontaktu s produktem a je přesně vyladěná pro konkrétní podmínky průtočné cely a vzorku.
- Mikroprůtočná cela, která je propojena s mikroprůtočnou stolicí a umožňuje proudění vzorku v ní. Mikroprůtočná cela může být sterilizována schválenými metodami a je vhodná buď k opětovnému použití, nebo k likvidaci po použití.

(Horní) komponenty mikroprůtočné cely a průtokové stolice; (dole) Ramanova průtoková sestava připojená k sondě Rxn-10

Analyzátor Raman Rxn2



Zobrazení dat Ramanových měření

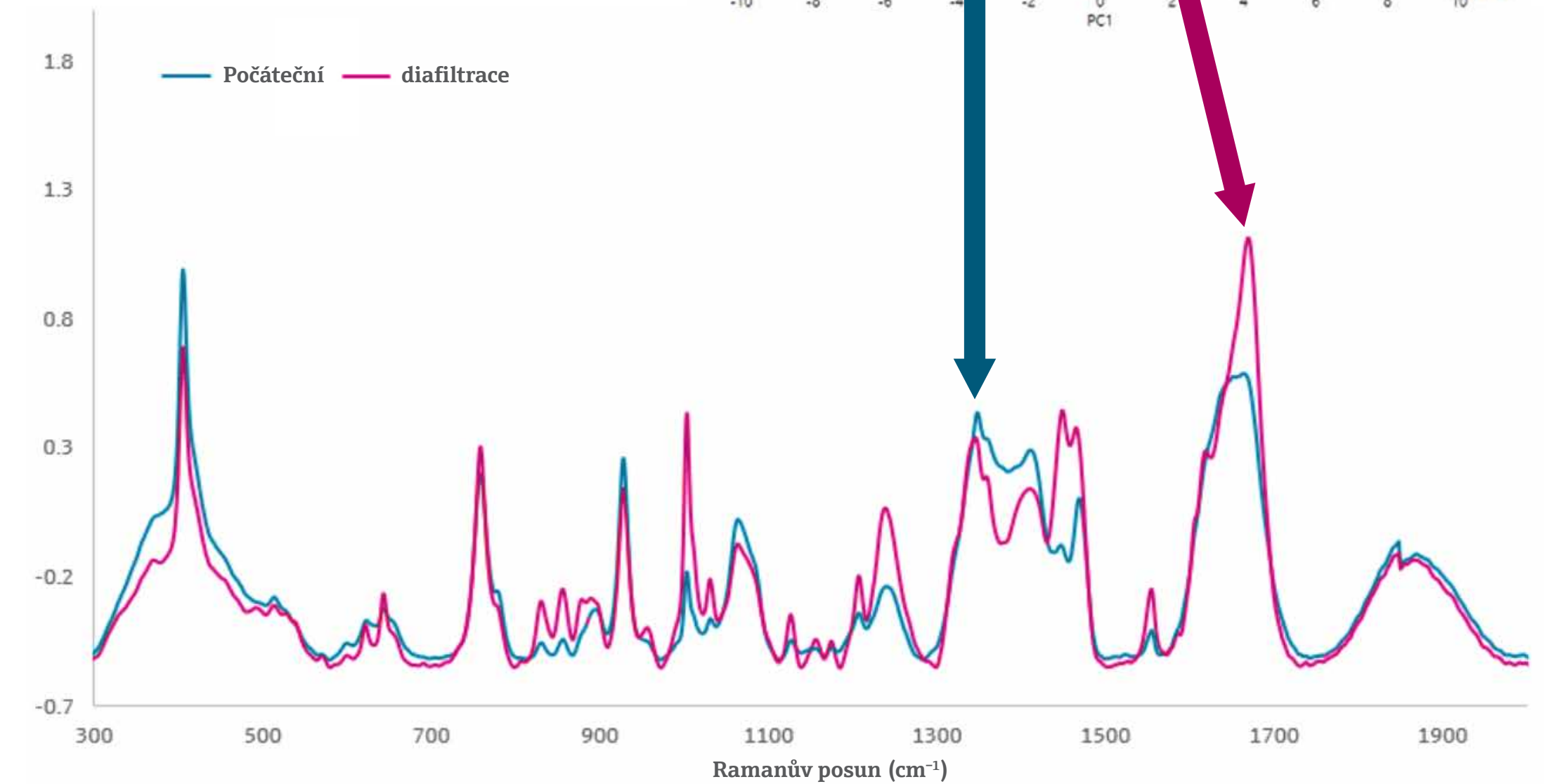
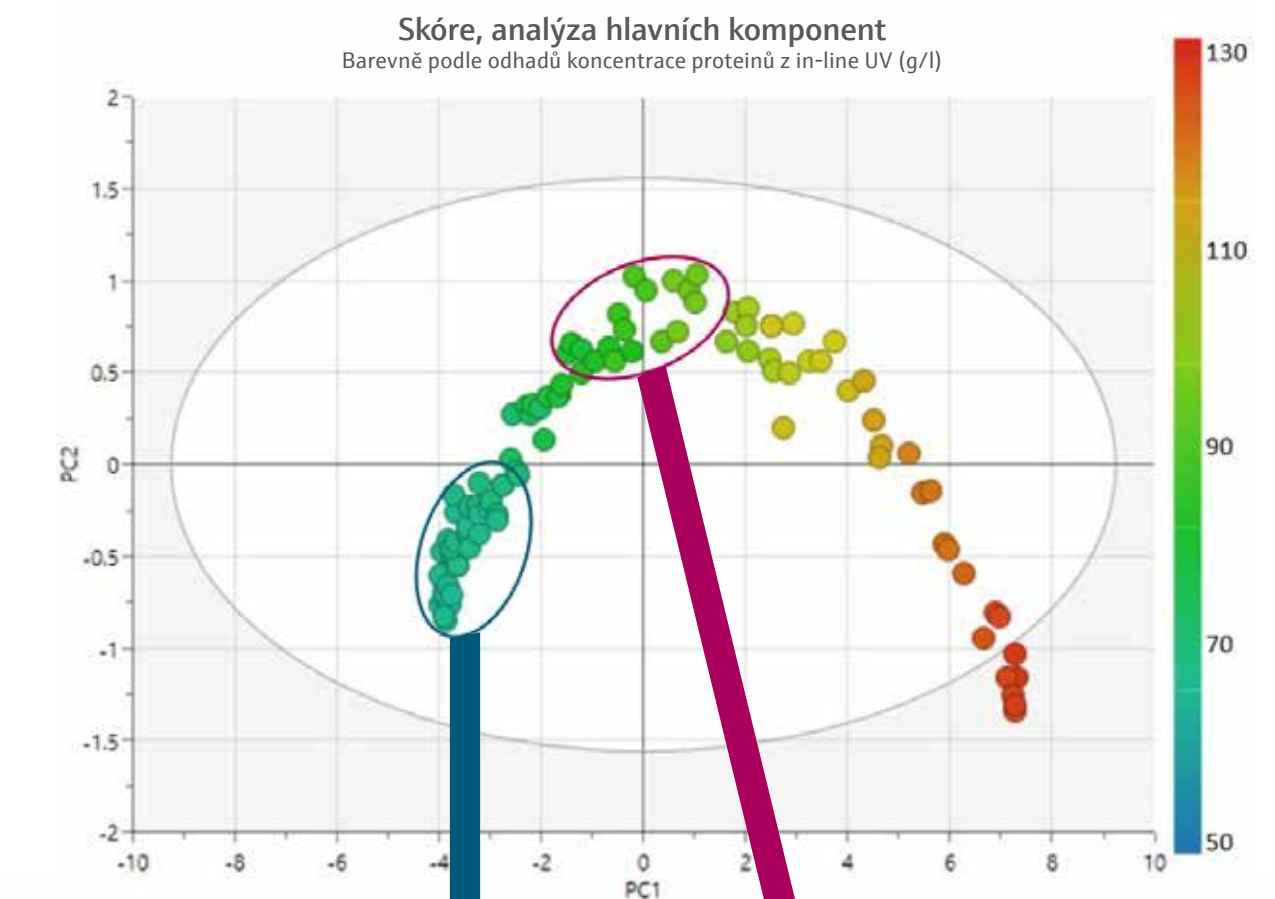
Ramanova inline měření během UF/DF podporují optimalizaci a zvyšování účinnosti biofarmaceutické výroby.

Při standardním předzpracování Ramanovy systémy prokázaly schopnost sledovat celkový průběh procesu s více markery v celém otisku a s výraznou odchylkou během diafiltrace.

K určení podílu agregace proteinů je pak nutná další analýza dat zahrnující chemometrické modelování. Jakmile bude tato analýza dokončena, umožní rychlou zpětnou vazbu, která zlepší pochopení procesu, zkrátí dobu procesu, usnadní rychlé úpravy, sníží náklady a zajistí, aby konečný produkt splňoval přísné normy kvality.

Ramanovo spektrální překrytí ve fázi diafiltrace odhaluje silné dobře rozlišené vrcholy odpovídající interakcím specifickým pro proteiny. Spektrální překrytí vpravo je převzato z průměrných spekter v zakroužkovaných oblastech na horním grafu v prostoru skóre, kde modrá spektra představují Ramanovy posuny během počáteční koncentrace a purpurová spektra představují posuny během diafiltrace.

Důkazy o konformačních změnách specifických pro proteiny v lokalizovaném shluku v prostoru skóre analýzy hlavních komponent jsou pozorovány tam, kde bylo získáno více vzorků.



Výhody měření v reálném čase

Ramanův systém Endress+Hauser poskytuje společnosti Alvotech monitorování v reálném čase, což může vést k rychlé optimalizaci procesu a přesné kontrole procesu čištění proteinů.

Integrací Ramanovy průtočné cely přímo do procesů UF/DF je možné detekovat agregaci a kontinuálně sledovat koncentraci proteinů.

Okamžitý přístup k in-line Ramanovým datům se zvýšeným poměrem signálu k šumu usnadňuje vývoj prediktivního modelu založeného na údajích o koncentraci z in-line i at-line UV absorpčních spektrometrů spolu s off-line velikostně vylučovací chromatografií (SEC). Toto zjednodušené nastavení optimalizuje purifikaci proteinů, což vede k významným úsporám času a nákladů.

In-line sonda Rxn-10 připojená k Ramanově průtokové sestavě monitorující purifikaci proteinů během UF/DF

Výhody

Díky přístupu k přesným in-line Ramanovým měřením v reálném čase lze získat následující možnosti a související výhody:

- **Prediktivní modelování:** Vyvíjejte a integrujte prediktivní modely založené na in-line Ramanových datech pro proaktivní rozhodování a úpravy procesů a optimalizaci výsledků.
- **Detekce agregace:** Detekce agregace proteinů in-line pomocí technologie Ramanových průtočných cel a prediktivních modelů, což umožňuje včasnou identifikaci a zmírnění rizika.
- **Rychlejší doba zpracování:** Eliminuje čekací doby spojené s off-line analýzou vysokého výkonu (HP)-SEC, čímž podporuje nepřetržitý provoz a zvyšuje produktivitu.
- **Snížený počet manuálních zásahů:** Minimalizujte potřebu manuálních úprav po zpracování, zefektivněte operace a zvýšte přesnost konečné koncentrace.
- **Monitorování v reálném čase:** Průběžně sledujte koncentraci proteinu a pomocné látky pufru.



Závěr

V biofarmaceutickém průmyslu řeší nedávné pokroky v technologii Ramanových průtočných cel požadavky na rychlost navazujících procesů optimalizací Ramanova odběru pro vzorky s nízkým zákalem a malým objemem. Společnost Alvotech s pomocí Ramanova systému společnosti Endress+Hauser získala cenné poznatky o zpracování proteinů během UF/DF. Toto vylepšené monitorování má schopnost zvýšit efektivitu biozpracování, zkrátit doby cyklu a zlepšit kvalitu produktů pro výrobní provoz společnosti.



„Následné procesy jsou často fragmentované kvůli dlouhému čekání na off-line výsledky, což zpomaluje časové osy vývoje. Zavedení in-line Ramanovy průtočné cely do provozu slibuje efektivnější přístup, který účinně změní dynamiku následného vývoje.“

Julia Karitas Helgadottir
Vědkyně DSP
Alvotech



O společnosti Alvotech

Společnost Alvotech se sídlem v Reykjavíku na Islandu je integrovaná biofarmaceutická společnost, která se zabývá vývojem a výrobou vysoce kvalitních biosimilárních léčiv v celosvětovém měřítku. Jejich posláním je zlepšovat zdraví a kvalitu života pacientů po celém světě a snažit se rozšířit přístup k osvědčené léčbě různých onemocnění.



www.addresses.endress.com

CS019020/32/CS/01.24-00