

Autor invitado: Dr. Chad Eichman, Gerente de la industria biofarmacéutica

Con la nueva tendencia de la industria farmacéutica hacia los tratamientos biológicos, los científicos se enfrentan a la difícil tarea de caracterizar estas moléculas grandes. Para un repaso de los principios básicos, . La separación cromatográfica de proteínas y péptidos por HPLC y UHPLC es necesaria para la caracterización de medicamentos Biológicos.

Las moléculas grandes son especies delicadas y es fundamental asegurarse de que «están a gusto» en el entorno para que el análisis tenga éxito. Estas moléculas tienen todo tipo de formas y tamaños, pueden ser hidrofóbicas o hidrofílicas, y sus propiedades físicas hacen que su análisis sea todo un reto, desde la preparación de las muestras hasta su purificación. La estructura de las diferentes clases de compuestos, incluidos los y los **conjugados fármaco-anticuerpo (ADC)**, varía cada vez que se producen y deben someterse a un estricto escrutinio.

Afortunadamente, a través de la observación de los estados nativo, desnaturalizado y digerido de las proteínas, los investigadores analíticos han descubierto multitud de métodos que toman en cuenta la mayoría de estas características. No obstante, algunos de estos métodos, como el análisis de agregados, siguen siendo cromatográficamente difíciles debido a las propiedades de las proteínas.

Un problema cromatográfico importante del **análisis de medicamentos biológicos** es la necesidad de cebar la columna.

Por lo general, los investigadores deben inyectar un sustituto de la proteína (por ejemplo, albúmina sérica bovina [BSA]) varias veces para preparar la columna con el fin de que tenga un rendimiento consistente. El procedimiento de cebado es necesario para crear un estado

de equilibrio en el área de los picos y para maximizar la recuperación del analito. En la **cromatografía de exclusión por tamaño (SEC)**, es especialmente importante cebar la columna, ya que la adsorción de proteínas es mayor con este análisis.

Una causa importante de la necesidad de cebar es la adsorción de analitos de proteína en las superficies humectadas del instrumento y del material de la columna. Las compañías han desarrollado los llamados sistemas de LC «bioinertes» o «biocompatibles», que integran materiales que tienen una interacción mínima con las proteínas. Para los sistemas de HPLC, se usa con frecuencia la poliéteretercetona (PEEK), mientras que en los sistemas de UHPLC se usa titanio o MP35N (una aleación de níquel).

Aunque estos avances en los instrumentos están ayudando para los problemas de adsorción, se sigue usando acero inoxidable en la estructura de la columna y da lugar a interacciones de la proteína con la superficie metálica. Por lo general se usan tubos de PEEK para minimizar la adsorción de proteínas, pero esta tecnología tiene limitaciones.

En primer lugar, debido a que el PEEK es un polímero orgánico, el tubo tiende a hincharse y tiene limitaciones de presión. Incluso las presiones estándar de la HPLC pueden causar problemas. Esto significa que no se pueden empacar con **partículas de UHPLC core-shell o de menos de 2 μm** . Además, este problema puede ocasionar variaciones en el rendimiento cromatográfico, así como acortar la vida útil de la columna. En segundo lugar, debido a la variabilidad en la síntesis de los polímeros, es difícil lograr la consistencia de columna a columna debido a las variaciones en el diámetro interno de la columna.

Entonces, ¿cómo se puede crear una columna bioinerte que no tenga las limitaciones de los tubos de polímeros orgánicos?

La respuesta está en la utilidad de una superficie metálica bioinerte como el titanio. Esta característica inerte ya está incluida en los **sistemas de UHPLC bioinertes**, pero solo Phenomenex ha integrado la tecnología en la propia estructura de la columna.

Con las limitaciones de presión y vida útil de la columna que pueden esperarse de los tubos metálicos estándar, la integración de titanio reduce la adsorción de proteínas y la necesidad de cebado. Lo que normalmente llevaría 15-20 inyecciones (y quizá más) de BSA para equilibrar la columna, ahora se reduce a menos de 5 inyecciones para alcanzar la estabilidad. Además, como la columna es totalmente metálica, el diámetro interno del tubo es constante en cada tanda de producción, originando una reproducibilidad que no puede lograrse con los tubos de PEEK. Por último, se utilizan fritas de titanio para asegurarse de maximizar la vida útil de la columna y se minimiza la adsorción de proteínas.

Aunque los beneficios de la estructura de titanio de la columna pueden observarse en las separaciones de fase reversa, el efecto más pronunciado se obtiene en el análisis de agregados de proteínas por SEC. Se minimiza el cebado de la columna y aumenta la recuperación de analitos. En muchos casos, solo se necesitan 1 o 2 inyecciones de BSA para cebar por completo la columna para la SEC. Este hecho mejora claramente las limitaciones de la estructura de columna de acero inoxidable y proporciona a los investigadores menos tiempo de inactividad.

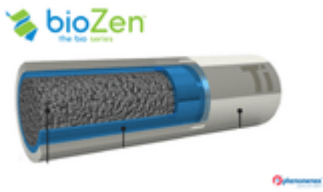
Para ver los datos y obtener más información sobre el material **BioTi™ de Phenomenex**, consulte: **Unparalleled UHPLC-HPLC Inertness for Biológicos**

¿Alguna pregunta? Contacte con nuestros expertos técnicos a través del Chat en vivo ¡casi 24/7!

Share with friends and coworkers:

- [Click to email this to a friend \(Opens in new window\)](#)
- [Click to share on Twitter \(Opens in new window\)](#)
- [Click to share on Facebook \(Opens in new window\)](#)
- [Click to share on Pinterest \(Opens in new window\)](#)
- [Click to share on LinkedIn \(Opens in new window\)](#)
- [Click to share on Tumblr \(Opens in new window\)](#)
- [Click to share on Reddit \(Opens in new window\)](#)

Summary



Article Name

¿Es Realmente Bioinerte su Columna Para Análisis Biológicos?

Description

Las compañías han desarrollado los llamados sistemas de LC bioinertes o biocompatibles, que integran materiales que tienen una interacción mínima con las proteínas.