



BioPro Q/S  
CIP  
Basenstabilität

## Verkaufsinformation CIP-Stabilität YMC-BioPro

Autor: DK  
Datum: 18.05.10

### Stabilität von YMC-BioPro S75 in mindestens 20 CIP Zyklen mit 1M NaOH

Das „CIP'en“ also das Cleaning in Place ist ein wichtiger Bestandteil jedes pharmazeutischen Produktionsprozesses. Die Beständigkeit der YMC IEX Medien BioPro S75 und BioPro Q75 gegenüber üblichen CIP-Bedingungen wurde getestet. Für das Kationenaustauscher Material (BioPro S75) ist ein simulierter Produktions-CIP-Zyklus dargestellt, für das Anionenaustauscher Material werden Stabilitätsmessungen bei Kontakt mit basischen Flußmitteln gezeigt.

Die schematische Darstellung des Versuchszyklus ist in Abbildung 1 wiedergegeben. Im Versuchszyklus folgte die CIP-Prozedur auf jeweils eine Protein-Trennung und die Bestimmung der

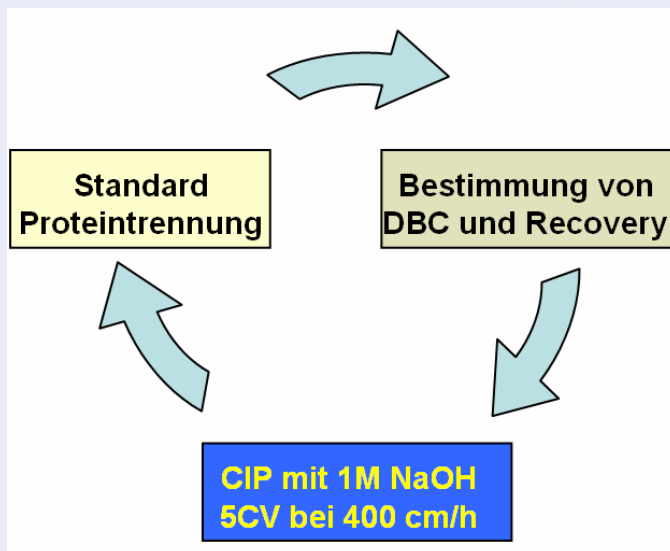


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Versuchszyklus

dynamischen Bindungskapazität nebst Wiederfindungsrate. Der CIP-Schritt selbst wurde mit 5 Säulenvolumina 1M NaOH bei einer Flußrate von 400 cm/h durchgeführt. Das Proteingemisch bestand aus Ribonuklease A, Cytochrom C und Lysozym, die bei einem Fluß von 180 cm/h getrennt wurden. Die mobilen Phasen waren A: 20 mM Kaliumphosphat Puffer pH 6.8 und B: 20 mM Kaliumphosphat Puffer pH 6.8 mit 0.5M NaCl. Die Dynamische Bindungskapazität wurde bei 10% Durchbruch mit Lysozym in einem 20 mM Glyzin-NaOH Puffer pH 9.0 bei einem Fluß von 800 cm/h gemessen. Zur Messung der Wiederfindungsrate wurde derselbe Puffer mit 0.5M NaCl, ohne Lysozym zur Elution benutzt.

Abbildung 2 zeigt die nach jedem CIP-Schritt erreichten DBC's und die Wiederfindungsraten (Recovery). In jedem Zyklus bleibt die DBC mit über 220 mg Lysozym pro ml Resin sehr hoch. Die Wiederfindungsrate verändert sich nicht und bleibt stetig bei 100%.

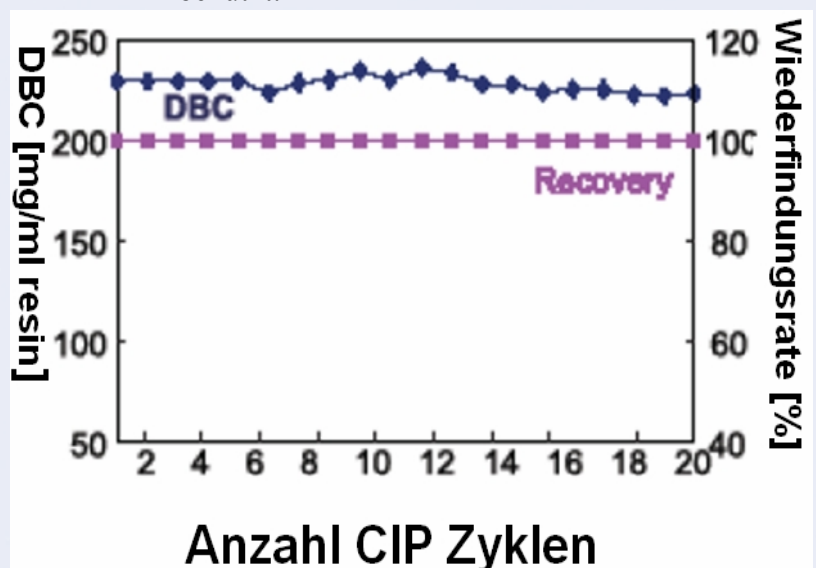


Abbildung 2: DBC und Wiederfindungsrate/Recovery nach bis zu 20 CIP-Zyklen.



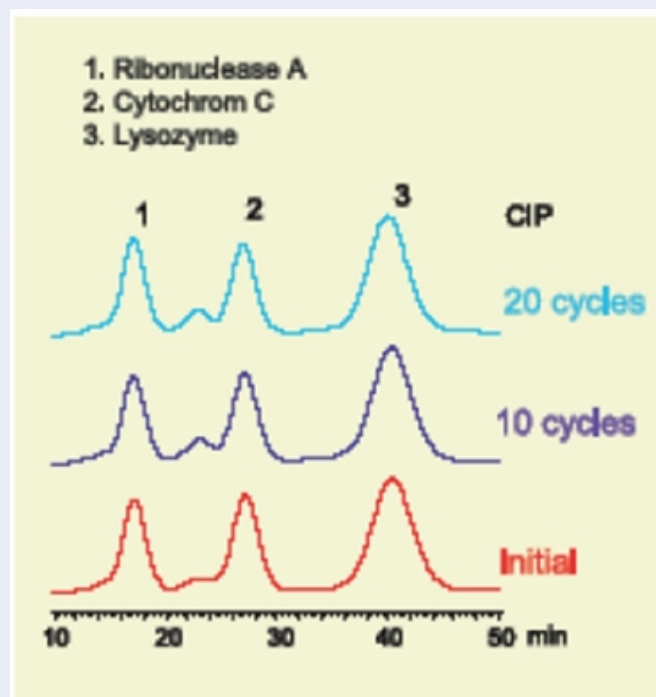
BioPro Q/S  
CIP  
Basenstabilität

## Verkaufsinformation CIP-Stabilität YMC-BioPro

Autor: DK  
Datum: 18.05.10

Abbildung 3 zeigt die Chromatogramme der ersten, der zehnten und der zwanzigsten Protein-Trennung. Auch hier lässt sich für die drei Zielkomponenten kein Unterschied in der Trennung zwischen den einzelnen Zyklen feststellen.

Folglich stellt die Behandlung mit 5 Säulenvolumen 1M NaOH bei 400 cm/h eine potentielle CIP-Prozedur dar. Weiterhin ist die CIP-Fähigkeit des Materials YMC-BioPro S75  $\mu\text{m}$  unter diesen Umständen für mindestens 20 Zyklen gegeben.



**Abbildung 3:** Chromatogramme einer Trennung von 3 Standardproteinen zu Beginn und nach 10 sowie 20 CIP-Zyklen



BioPro Q/S  
CIP  
Basenstabilität

## Verkaufsinformation CIP-Stabilität YMC-BioPro

Autor: DK  
Datum: 18.05.10

### Stabilität von YMC-BioPro Q75 im Kontakt mit 1 M NaOH für mindestens 6 Stunden

Für das BioPro Q75 Anionenaustauscher Material wurde die Stabilität im alkalischen in zwei Versuchsreihen getestet. Im ersten Fall wurde die Phase für 6 Stunden in 1M NaOH aufbewahrt. Im zweiten Fall wurde eine Säule gepackt und anschließend 6 Stunden lang mit 1 M NaOH bei 200 cm/h gespült. Bei T= 0h, 2h, 4h und 6h wurde in beiden Fällen die Retentionszeit für Trypsin Inhibitor gemessen. Weiterhin wurden an diesen Zeitpunkten für den ersten Fall die Ionenaustausch Kapazität und für den zweiten Fall die dynamische Bindungskapazität bestimmt. Alle Versuche sind bei Raumtemperatur durchgeführt worden. Es wurde angekommen, dass 6 Stunden ausreichend für jeden CIP-Prozeß sein sollten. Das Material ist jedoch auch noch länger beständig.

Alle Werte sind in den folgenden Abbildungen 4 und 5 sowie den Tabellen 1 und 2 wiedergegeben.

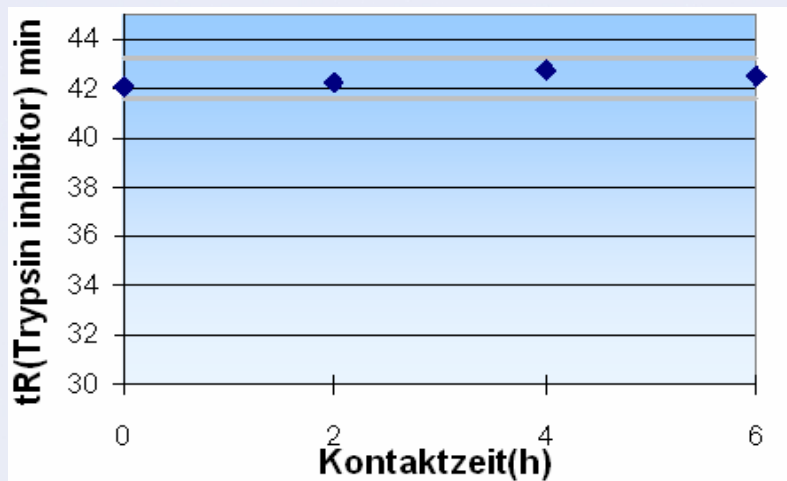


Abbildung 4 Retentionszeit für Trypsin Inhibitor nach Kontaktzeiten von 0h,2h,4h,6h mit 1M NaOH

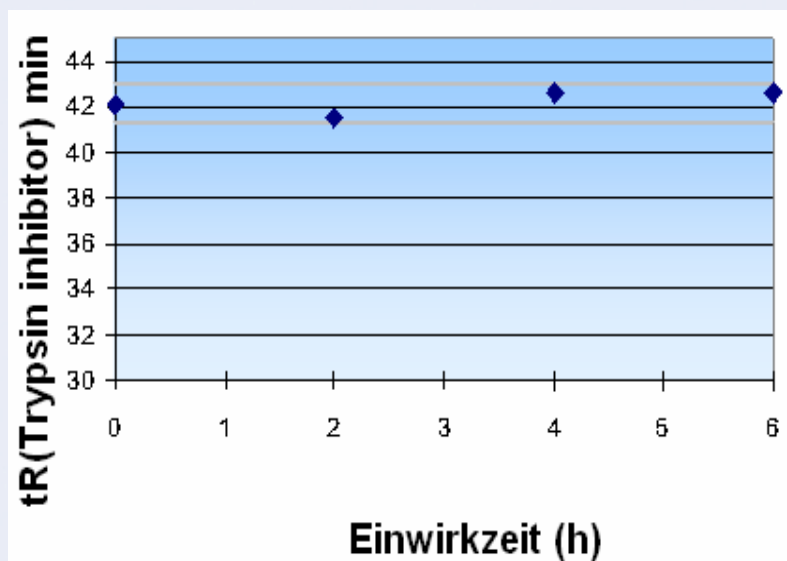


Abbildung 5 Retentionszeit für Trypsin Inhibitor nach 0h,2h,4h,6h Durchströmung mit 1M NaOH bei 200 cm/h



BioPro Q/S  
CIP  
Basenstabilität

## Verkaufsinformation CIP-Stabilität YMC-BioPro

Autor: DK  
Datum: 18.05.10

Zeit (h)	Ionenaustausch Kapazität (eq/L)
0	0.16
2	0.16
4	0.16
6	0.16

**Tabelle 1** Werte für Ionenaustausch Kapazität nach 0h, 2h, 4h, 6h Kontaktzeit mit 1M NaOH

Zeit (h)	DBC (mg BSA/ml resin)
0	198.7
2	201.0
4	201.6
6	209.2

**Tabelle 1** Werte für DBC von BSA nach 0h, 2h, 4h, 6h Durchströmung mit 1M NaOH bei 200 cm/h \*

Wie die Abbildungen zeigen bleiben die Retentionszeiten nach Behandlung mit 1 M NaOH unverändert. In Abbildung 4 und 5 geben die grauen Linien eine Abweichung von 2% um den Mittelwert der Retentionszeiten an. Die 2% können als Meßfehler der Methode angenommen werden. Es ist deutlich zu sehen, dass in Abbildung 4 und 5 kein Wert außerhalb dieser Grenzen liegt. Tabelle 1 zeigt, dass die Ionenaustausch Kapazität unverändert bleibt. Auch die dynamische Bindungskapazität, gezeigt in Tabelle 2, bleibt auf gewohnt hohem Niveau.

Somit bleiben alle relevanten Werte im Verlaufe der Versuche unverändert. Es konnte demnach gezeigt werden, dass YMC-BioPro Q75 bei Raumtemperatur mindestens 6 Stunden gegen 1 M NaOH stabil ist.

Fazit:

Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl das YMC-BioPro S75 Material als auch das YMC-BioPro Q75 Material im Rahmen einer CIP-Prozedur gegen 1 M NaOH stabil sind. YMC-BioPro IEX Materialien erfüllen somit vollumfänglich die Anforderungen, die eine großtechnische Produktion von BioPharmazeutika an sie stellt. Die Resins sind als starke Kationenaustauscher (YMC-BioPro S) und als starke Anionenaustauscher (YMC-BioPro Q) jeweils mit Partikelgrößen von 30 und 75 µm erhältlich.

\* Die scheinbare Steigung in Tabelle 2 ist zufällig und vollständig mit dem statistischen Fehler der Methode zu erklären.