

Optimisation du développement du processus de lyophilisation dans le secteur biopharmaceutique

Une application de l'analyseur de solution d'état congelé Lyotherm3

Introduction

L'optimisation du processus de lyophilisation commence par une profonde connaissance de l'ingrédient pharmaceutique actif (API) utilisé et son interaction avec les excipients. Une connaissance des transitions de phases se produisant dans l'état congelé mène directement à une meilleure efficacité et encourage la stabilité pendant et après le processus de lyophilisation. Une des méthodes les plus puissantes utilisées pour trouver ces transitions de phases est l'analyse Zsinφ, effectuée à l'aide de Lyotherm3.

Le Lyotherm3 identifie la température à laquelle se produit la transition grâce à des variations de Zsinφ, une fonction d'impédance électrique, et il complète ces données par une analyse thermodifférentielle (DTA). Comme Zsinφ est un compteur de mobilité moléculaire, il est suffisamment sensible pour identifier le repliement des protéines et autres petits événements de réorientation.

Dans le cadre d'une étude de cet effet, une analyse d'un API, la sérum-albumine humaine (SAH), a été effectuée, en ajoutant le saccharose en tant que cryo-/lyo protecteur. La SAH est une protéine d'échantillon qui possède une demi-vie sérique de 20 jours sans préservation et une masse moléculaire de 66,5 kDa, dans la fourchette d'autres API biopharmaceutiques potentiels. Une très faible concentration a été utilisée pour démontrer la sensibilité de la technique Zsinφ.

Méthodologie

La solution échantillon a été préparée avec 199,7 mg de saccharose et 100μl de SAH, et diluée dans 20 ml d'eau Analar, un équivalent de 1% w/v saccharose et 0,5% v/v SAH. Deux échantillons de 3 ml de cette solution ont été pipetés dans deux cuvettes en acier inoxydable et utilisés pour immerger les sondes thermiques de l'échantillon et de Zsinφ. Un échantillon de 3 ml d'eau Analar a également été pipeté dans une cuvette en acier inoxydable et utilisé pour immerger la sonde thermique de référence.

Les cuvettes ont alors été placées dans les emplacements des cuvettes dans le bloc thermique, et ce dernier a été plongé dans 750 ml d'azote liquide. Les ensembles de données ont été consignés toutes les 3 secondes pendant l'expérience. Lorsque les deux sondes ont atteint -100°C la chaleur intégrée a été mise en marche. Pendant les 40 minutes suivantes, l'échantillon chauffé et le Zsinφ la DTA ont été comparés à la température de l'échantillon.

Lyotherm 3 1% sucrose + 0.5% HSA solution

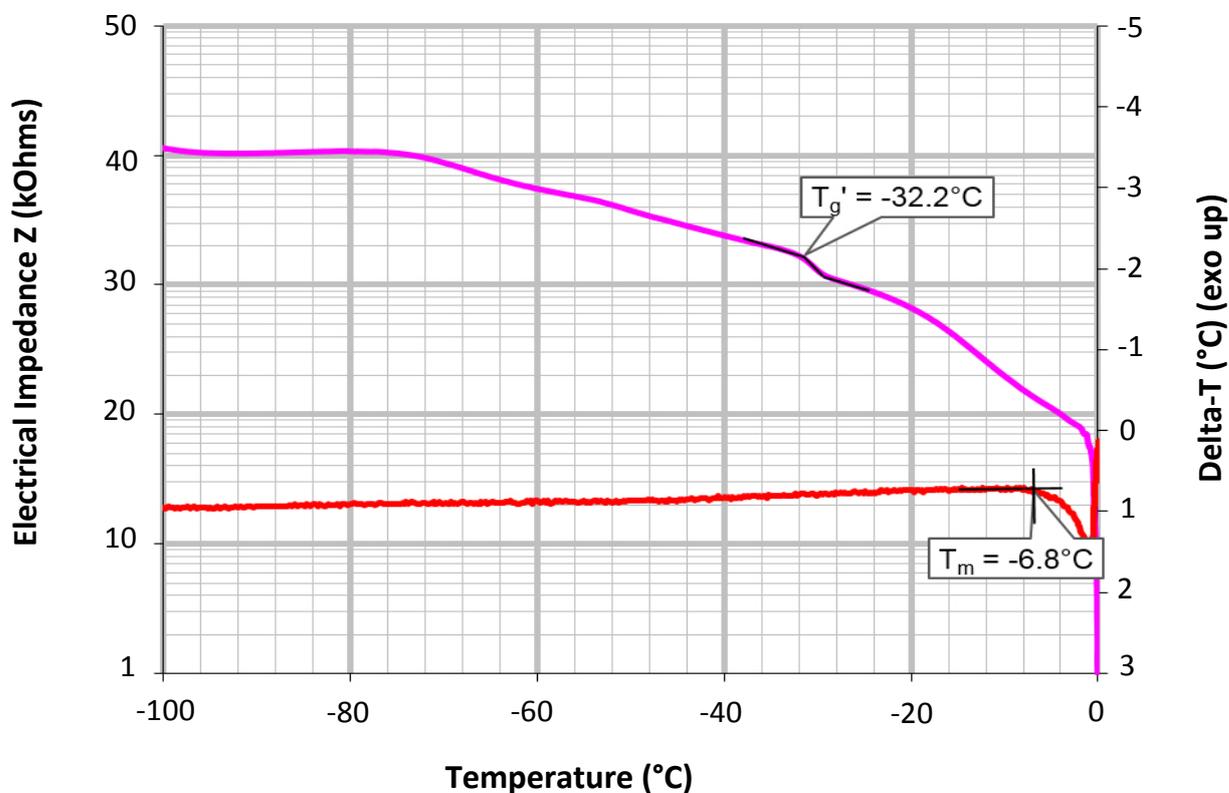


Figure 1: 1% sucrose and 0.5% HSA substitute biopharmaceutical solution

Dans la Figure 1 il existe deux événements critiques pouvant être constatés dans les deux méthodes analytiques utilisées. Avec $Z_{sin\varphi}$, on constate une trace claire de transition du verre à l'état congelé (T_g') avec un début à $-32,2^\circ\text{C}$. Dans la DTA, on constate aussi le début de la fusion de la glace à $-6,8^\circ\text{C}$. Sur les deux, la transition du verre pourrait être une transition préjudiciable et la température de séchage primaire préférable serait de -34°C à -39°C (avec une marge de sécurité standard de $2 - 7^\circ\text{C}$).

Conclusion

Avec des concentrations aussi faibles de solution, la transition évidente du verre est un exemple de la sensibilité de la technique $Z_{sin\varphi}$, la réorientation isothermique subtile que la transition du verre représente n'étant pas visible sur la courbe de la DTA. La fusion des cristaux de glace est aussi constatée à la fois avec $Z_{sin\varphi}$ et DTA.

L'utilisation du Lyotherm pour rechercher des événements qui pourraient compromettre l'intégrité et l'activité du gâteau post-lyophilisé avant que le processus commence peut aider à optimiser la durée du cycle et son efficacité. Cela peut surtout réduire les frais généraux et améliorer la fiabilité des efforts d'ingénierie du processus.

References

- 1) Louis Rey (1999) Glimpses into the Realm of Freeze-Drying : classic issues and new ventures, In: L. Rey & J. May (eds.) Freeze-Drying / Lyophilization of Pharmaceuticals and Biological Products (1st Edition), Marcel Dekker (New York), pp.1-30
- 2) Kevin Ward and Paul Matejtschuk (2010) The use of microscopy, thermal analysis and impedance measurements to establish critical formulation parameters for freeze-drying cycle development, In: L. Rey & J. May (eds.) Freeze-Drying / Lyophilization of Pharmaceuticals and Biological Products (3rd Edition), Informa Healthcare (New York / London), pp.112-135 (ISBN-13: 9781439825754)