



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung**

On the influence of the physicochemical properties of novel multimodal ligands on protein chromatography

Autor: Jan Hedrich
Institut / Klinik: Institut für Molekular- und Zellbiologie der Hochschule Mannheim
Doktorvater: Prof. Dr. M. Hafner

Diese Dissertation untersucht den Einfluss physikochemischer Eigenschaften neuartiger multimodaler Liganden auf die chromatographische Trennung von Proteinladungsvarianten, insbesondere von monoklonalen Antikörpern (mAbs). Aufgrund steigender Anforderungen an moderne Aufreinigungsverfahren in der biopharmazeutischen Produktion wird gezeigt, wie sich multimodale Materialien zur Verbesserung der Abtrennung von produktionsbezogener Heterogenität einsetzen lässt. Untersucht wurden zwei multimodale Systeme: Das auf Partikeln basierende Eshmuno® CMX und der membranbasierte Natrix® CH Adsorber. Beide Materialien kombinieren kationenaustauschende mit hydrophoben Eigenschaften und ermöglichen dadurch komplexe Retentionsmechanismen jenseits klassischer Ionenaustauschchromatographie. Als Modellsystem diente ein monoklonaler Antikörper mit sauren, neutralen und basischen Ladungsvarianten, die unter variierenden Salz- und pH-Gradienten separiert wurden.

Zur Beschreibung des Trennverhaltens wurde ein mechanistisches Modell auf Basis der Steric Mass Action (SMA) Theorie weiterentwickelt, um auch starke hydrophobe Beiträge abzubilden. Die Implementierung erfolgte in MATLAB® und Berkeley Madonna. Für Eshmuno® CMX zeigte sich eine hohe Auflösung bis hin zur Teillösung von Subvarianten. Charakteristisch war ein U-förmiges Retentionsverhalten in Abhängigkeit von der Salzkonzentration, was durch das erweiterte Modell erfolgreich beschrieben werden konnte.

Der Natrix® CH Adsorber wurde hinsichtlich seiner Eignung für schnelle und skalierbare Trennungen bewertet. Bei niedriger Beladung ließ sich das System mit dem klassischen SMA-Modell ausreichend beschreiben, obwohl es sich um ein multimodales Material handelt. Auch unter höheren Beladungen und nach achtfachem hochskalieren der Membran, konnten mit angepassten Parametern zuverlässige Vorhersagen getroffen werden. Das Modell erwies sich damit als robust und skalierbar, auch wenn hydrophobe Effekte bei höheren Beladungen stärker ins Gewicht fielen.

Insgesamt zeigt die Arbeit, dass die Kombination aus experimenteller Chromatographie und mechanistischer Modellierung ein tiefes Verständnis für das Verhalten multimodaler Liganden ermöglicht und zur Entwicklung vorausschauender, skalierbarer Reinigungsstrategien beiträgt.