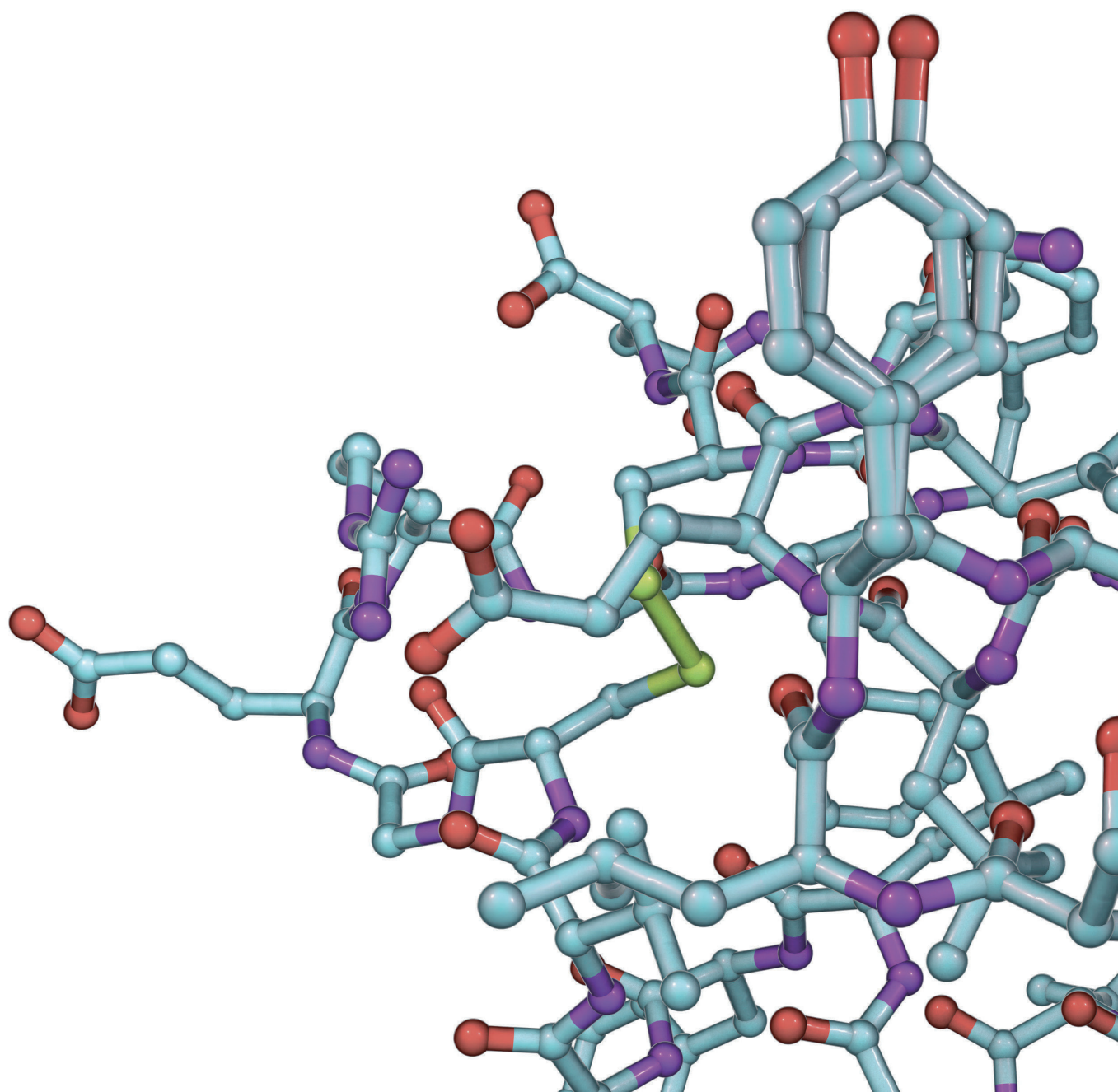


DAISOGEL PK系列色谱填料





关于DAISOGEL

DAISOGEL是OSAKA SODA Co.,Ltd旗下世界领先的散装硅胶色谱填料品牌,主要应用于液相色谱分析,活性药物及高附加值化合物的分离纯化。

DAISOGEL产品产地为日本大阪Amagasaki工厂,由专业的技术团队指导生产。

我们的工厂具有严格质量管理体系,产品生产符合ISO 9001,化学键合产品可以提供美国FDA-DMF相关认证文件。

我们卓越的制造标准保证了DAISOGEL产品具有最高质量和最高纯度的特性,可以满足或超越全球任何制药生产厂家的审计要求。

DAISOGEL产品注册了FDA-DMF相关文件号,如下:

- File# 23227 for DAISOGEL ODS系列
- File# 22317 for DAISOGEL C8系列
- File# 29201 for DAISOGEL C4系列

我们承诺

我们始终如一地为您提供最高质量的产品。我们在中国、日本、美国及欧洲均设有办事处或代理机构。我们拥有40多年的色谱分析、分离纯化及生产制造经验,雄厚的技术储备可以为您提供更优质的服务。

我们期待与您携手长期合作,以可靠的产品和技术支持解决您当下及未来的分离纯化问题;我们秉持着三项核心原则:



一致性



高质量



可持续性

我们卓越的制造标准保证了DAISOGEL产品具有最高质量和最高纯度的特性,可以满足或超越全球任何制药生产厂家的审计要求。



应用范围 PK 系列



小分子化合物



大麻素



鱼油/EPA



合成多肽



重组多肽
/胰岛素



重组蛋白/EPO

高性能、可持续性

合成肽和重组肽的纯化一直是个难题。多肽合成和发酵过程很容易导致更复杂的杂质混合物。例如，产生二聚体、自聚体和多聚体。

DAISO GEL PK系列是一款可持续地、经济高效地解决这些复杂杂质的高性能硅胶填料。其具有优秀的理化性能，能够承受苛刻的碱性在线清洗(CIP)，具有较高的机械强度，可耐受更高压力以防止细颗粒的产生。因此，在动态轴向压缩柱(DAC)中进行规模化生产时可保持一致的使用条件及更高的使用寿命。其负载能力较市面上其它介质更好，为规模化多肽生产提供了更好的经济性和选择性。

PK系列是基于我们的化学稳定性、机械强度和高性能的整体设计理念开发的，为您提供可持续的纯化服务。



优秀的耐碱性能

CIP是一种广泛应用的色谱柱清洗再生程序,主要用于清洗吸附在硅胶填料上难洗脱的杂质多肽或蛋白。且为保证高分辨率、高分离度和较低的背压,必须定期重复此步骤。

通过NaOH碱洗裂解多肽污染物和高强度有机溶剂(乙腈)清洗双重作用,可有效改善色谱填料污染的问题。虽然NaOH的高pH值(pH13)能很好地清洁色谱柱,但它也会损害硅胶颗粒。我们PK系列通过改进了二氧化硅键合相的耐碱性,解决了这个问题。

PK系列耐碱性能通过0.1 M NaOH溶液洗涤柱(CIP)并监测柱背压的随后变化来测试。

与其他硅胶相比,DAISO GEL SP-100-10-C8-PK显示出最低的柱背压增加,见 [Figure 1.0](#)。

[Figure 2.0](#)显示,在数百个柱体积的0.1 M NaOH溶液洗涤过程中监测各种硅胶填料的实际柱压力。DAISO GEL SP-100-10-C8-PK硅胶柱组显示柱背压最低。

通过NaOH碱洗裂解多肽污染物和高强度有机溶剂(乙腈)清洗双重作用,可有效改善色谱填料污染的问题。虽然NaOH的高pH值(pH13)能很好地清洗色谱柱,但它也会损害硅胶颗粒。我们PK系列通过改进了二氧化硅键合相的耐碱性,解决了这个问题。

碱液对柱压的影响

Fig.1.0

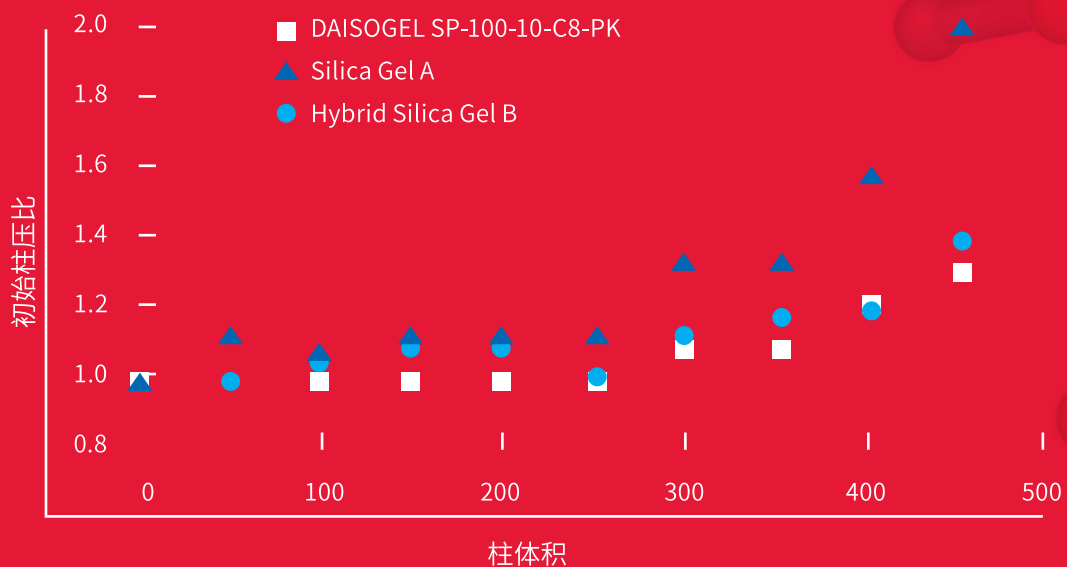


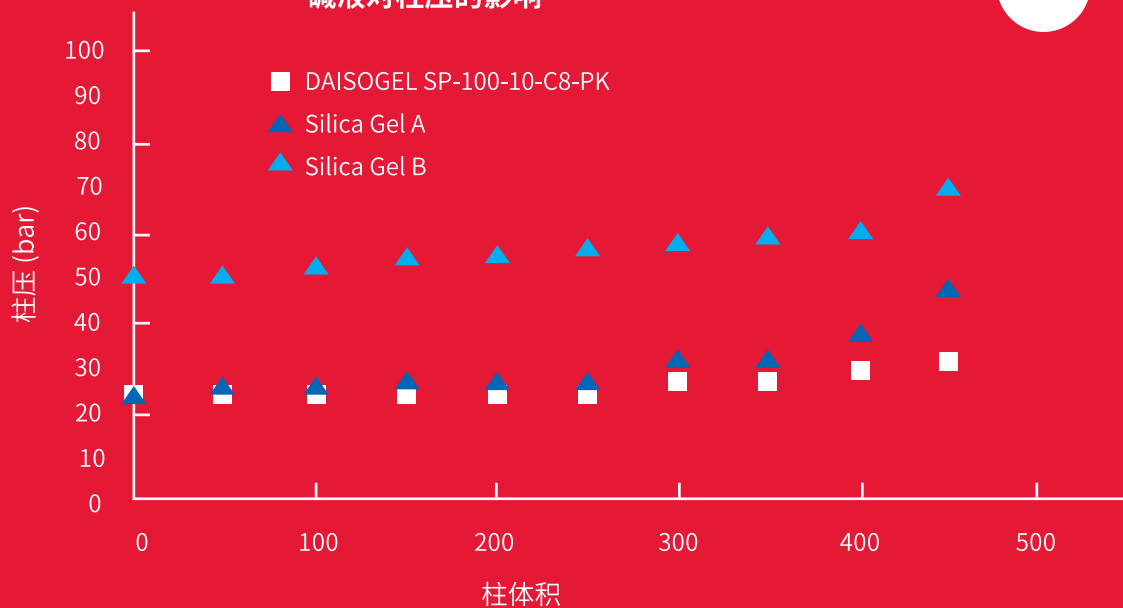
Fig.1.0 and 2.0中, DAISOGEL SP-100-10-C8-PK 显示出最低的柱背压

测试条件

色谱柱规格: 4.6mm ID X 250mm L
流动相: 100 mM NaOHaq/EtOH = 30/70, pH 13
流速: 2.0 mL/min
温度: 25°C

碱液对柱压的影响

Fig.2.0



PK系列硅胶:耐碱性

虽然硅胶的pH值耐受范围很窄,但并非所有的裸硅胶都是相同的。在PK系列产品的开发过程中,我们注意到不同裸硅胶产品的耐碱性存在显著差异,并进行了工艺优化确保PK裸硅胶尽可能耐碱。

为了评估耐碱性能,我们测试了各种裸硅胶,方法是将弱碱溶液流过预填充柱,直到柱背压比达到峰值——这是填料颗粒破碎和柱内精细变化的指标。

图3.0显示,与我们的SP-100-10-PK无键合硅胶微球相比,各种裸硅胶的耐碱性结果。SP-100-10-PK表现出最高的耐碱性,在显示出有影响的背压增加之前,它能承受超过170个柱体积的弱碱洗。

PK系列填料:机械强度

众所周知,在DAC柱装填时,重复装填散装二氧化硅微球会产生机械应力,容易使微球破碎,降低介质寿命。因此,选择机械强度高的硅胶微球至关重要。

为此,我们优化了PK系列硅胶生产过程中的一个重要步骤:煅烧。这种热处理的控制会使生产的微球更加加固;事实上,PK系列的机械强度完全优于所有其他球形硅胶基质填料。增强了其承受DAC柱重复装填的抗压能力,从而延长介质寿命并降低成本。

测量硅胶机械强度的常见方法叫应力试验,是将干燥的二氧化硅施加一定的时间和压力,然后用显微镜观测破碎颗粒的百分比。我们用这种方法将优秀的竞争对手球形硅胶与我们的SP-100-10-PK系列裸硅胶进行了比较。竞争对手的硅胶出现了13%的破碎颗粒,但我们的SP-100-10-PK裸硅胶仅出现了11%的破碎颗粒,破碎颗粒比竞争对手少了15%。

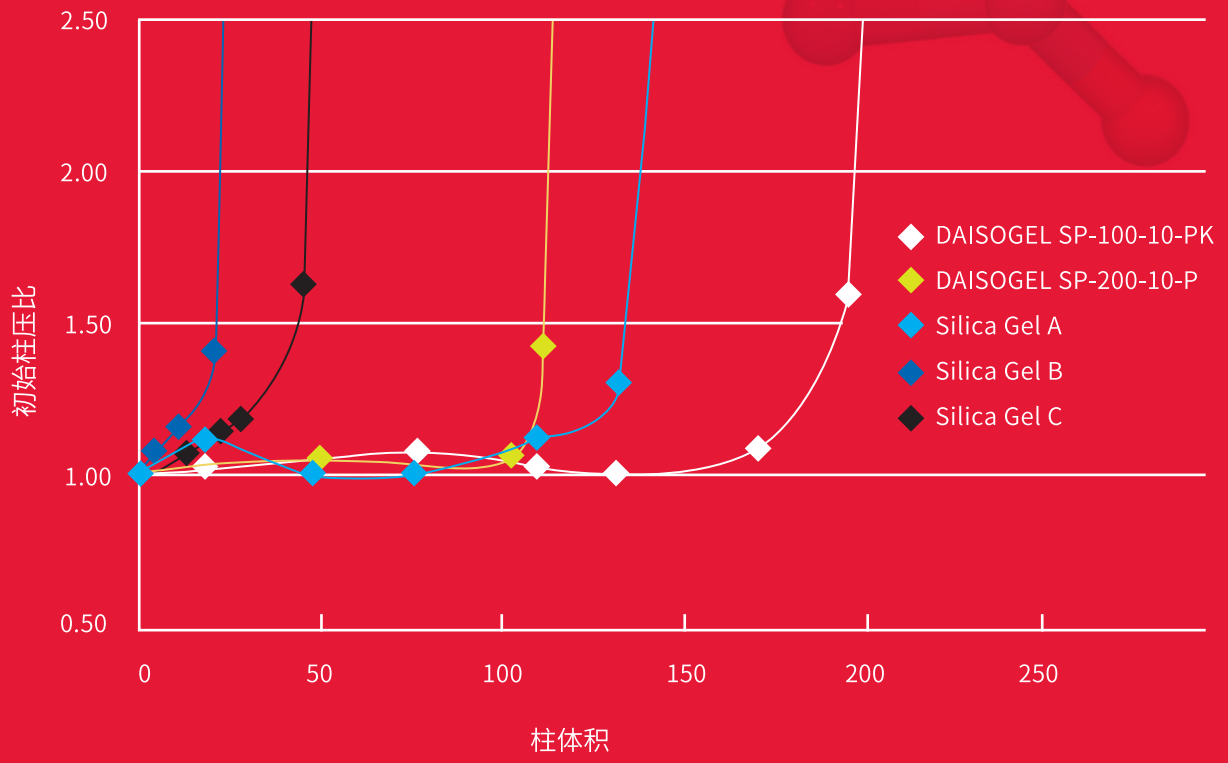
干燥硅胶耐压性能测试

15%

PK系列硅胶微球较其它竞争品牌破碎微球少了

裸硅胶耐碱性能测试1

Fig.3.0





PK系列填料:载样能力

在一个规模化的活性药物成分(原料药)纯化过程中,填料负载能力是至关重要的考查参数。纯化流程经济性在很大程度上取决于一次运行可以加载和净化多大量API。

为了证明我们的PK系列硅胶具有优越的负载能力,我们使用胰岛素进行了结合能力和突破性研究。我们用各种通常用于纯化胰岛素的硅胶填充成小的色谱柱,然后用含有有机改性剂的流动相平衡每个柱体。然后,我们将同样的有机改性流动相注入柱中,但现在含有10mg/mL重组人胰岛素。胰岛素保留在固定相上,直到柱饱和,此时通过紫外检测法确定胰岛素饱和和所需时间。饱和和所需时间越长,胰岛素的结合能力就越高,因此负荷能力也就越高。

如Figure 4.0所示,与其他三种常见的胰岛素纯化硅胶相比,SP-100-10-C8-PK显示出最高的结合能力和负载能力。

PK系列填料为重组人胰岛素纯化提供了最高的结合能力和负载能力。

测试条件

柱尺寸: 4,6 mm ID X 250 mm L

平衡条件: ACN / 0.5% TFA aq.=10/90

样品: 重组人胰岛素 (Wako, Japan)

浓度: 10 mg/mL

测试流动相: 样品溶解于 ACN / 0.5% TFA aq.=10/90

流速: 0.5 mL/min

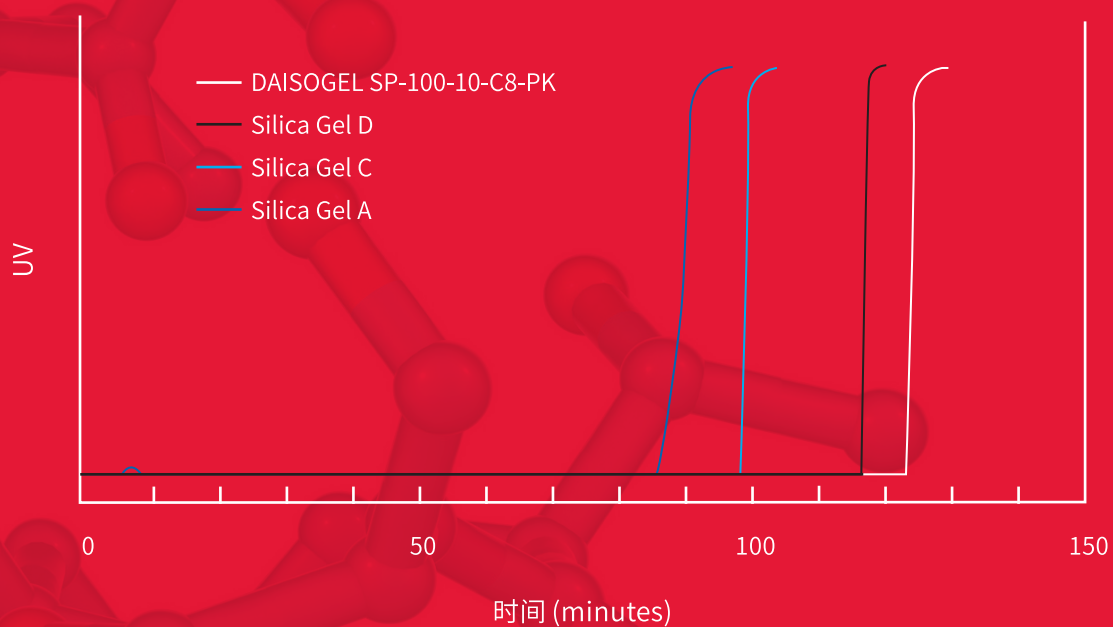
柱温: 30°C

波长: UV 290 nm

死时间: 9 min

重组人胰岛素在不同品牌硅胶填料上的饱和曲线图

Fig.4.0



产品名称	饱和时间 (min)
SP-100-10-C8-PK	124
Silica Gel D	117
Silica Gel C	99
Silica Gel A	86



分辨率

分辨率无疑对样品的分离纯化至关重要。硅胶的分辨率是决定分子最高回收率的关键因素之一。

为了证明我们的PK系列硅胶较高的分辨率，我们通过分离原料药和相关杂质，将SP-100-10-C8-PK与竞争对手的顶级C8硅胶进行了比较。

样品溶液制备：将纯胰岛素溶液放置在工作台上过夜，从而使溶液中含有大量杂质去氨基胰岛素。

然后我们将富含杂质的胰岛素样品注入两个测试色谱柱中，并测试每个柱的R因子。R因子是分辨力的定量指标，表示胰岛素和杂质峰的分​​离距离有多远。

结果如Figure 5.0和Figure 6.0所示。SP-100-10-C8-PK在两个峰之间的分离效果较好，Rs值较高，从而证实了其较好的分辨率。

针对胰岛素的分离

22.5%

Rs值较竞争对手更高

测试条件

柱尺寸: 4.6 mm ID X 250 mm L
流动相: ACN/H₂O/TFA=30/70/0.1

流速: 1.7 mL/min
柱温: 30°C
波长: UV 220 nm

样品: Hydrolyzed Human Insulin (Recombinant, Wako, JP)
来源: Human Insulin cDNA Expressed in Yeast
浓度: 5 mg/mL
进样量: 5 mL

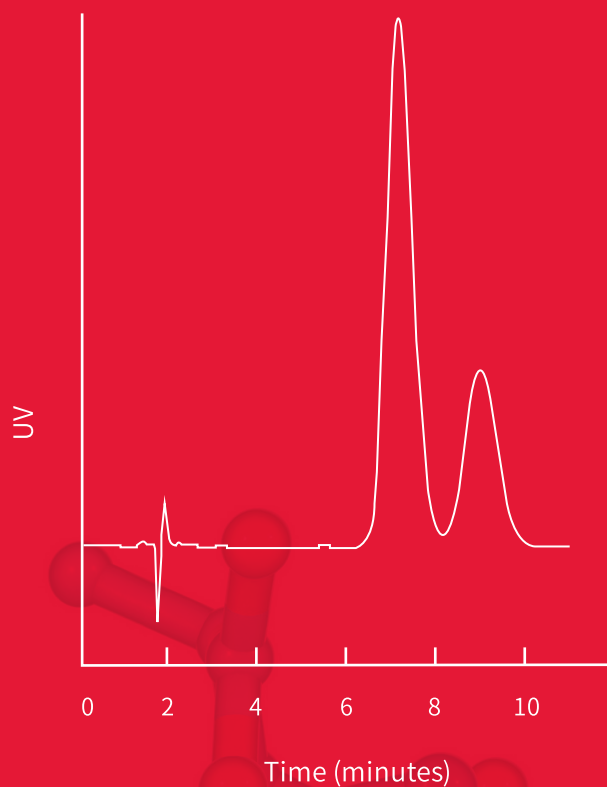
Fig.5.0

DAISO GEL SP-100-10-C8-PK
 $R_s = 1.85$



Fig.6.0

Silica Gel A
 $R_s = 1.51$



$$R_s = 2(t_2 - t_1) / (w_1 + w_2)$$

t_1 : Retention Time of Former Peak

t_2 : Retention Time of Latter Peak

w_1 : Width of Former Peak

w_2 : Width of Latter Peak



过载

对于制备或大规模的原料药分离,多数情况下您希望采用“过载”条件,以最大限度地提高批次回收率和产量。这也是为什么过载是我们测试PK系列散装硅胶性能的主要参数。

我们通过测试Rs因子来评估过载能力,在过载条件越来越严重的情况下,将胰岛素峰与去氨基胰岛素杂质峰分离,并将SP-100-10-C8-PK与竞争对手的顶级C8填料的载样效果进行了比较。

Figure 7.0显示SP-100-10-C8-PK上的分离结果,在50 μ L超负荷进样时Rs值仍达到了1.82。

Figure 8.0显示Silica Gel A在相同体积进样量下Rs值为1.68,较PK系列低8.3%。

Rs越高,一次运行能净化的API或有效成分就越多。这是考查生产经济性和确定纯化生产能力的重要参考参数。

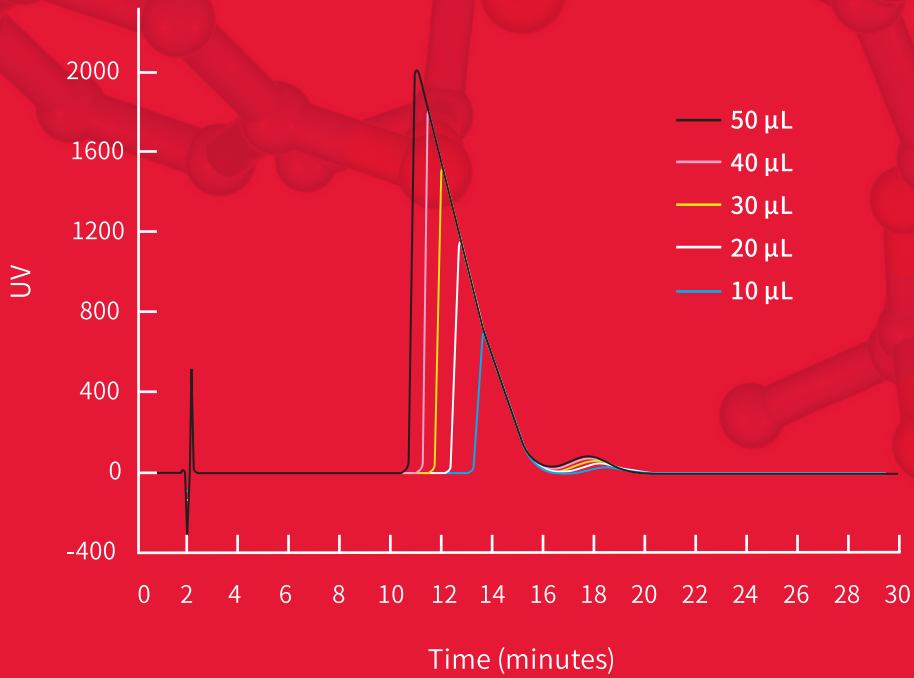
胰岛素过载分离

8.3%

Rs较竞争对手更高

Fig.7.0

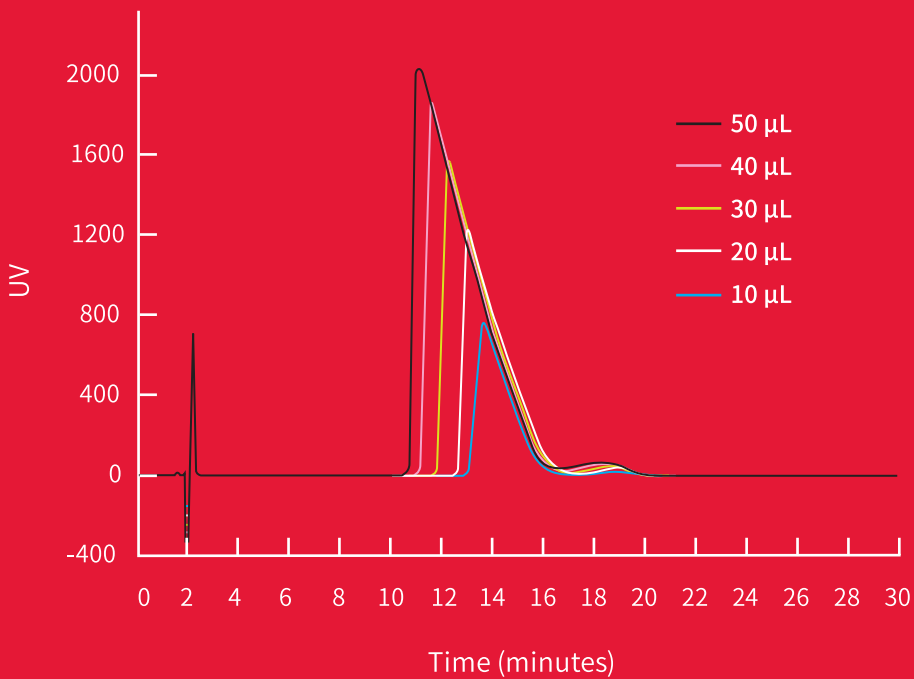
DAISOGEL SP-100-10-C8-PK



进样量 (µL)	R_s
10	2.21
20	2.11
30	2.01
40	1.94
50	1.82

Fig.8.0

Silica Gel A



进样量 (µL)	R_s
10	2.04
20	1.98
30	1.89
40	1.77
50	1.68

萃取物和溶出物

由于反相固定相通常用作多肽原料药下游纯化中的最终精制步骤，因此在该步骤中原料药不被填料污染至关重要。硅胶制造商有责任确保其键合相的可萃取物和可浸出物在不同溶剂条件下具有良好的特性和稳定性。

二氧化硅骨架是天然惰性的，不能从中提取或溶出任何东西。唯一存在的潜在问题是来自于二氧化硅表面结合的官能团。这里我们来看看C8键合相：辛基硅烷（C8配体）及其二聚体。

制造商的键合试剂质量的高低、键合工艺和清洗工艺质量好坏，可通过提取试验确定。在测试过程中提取的配体数量越少，对应的键合过程质量就越高。

Figure 9.0中，我们展示了纯甲苯萃取SP-100-10-C8-PK和竞争对手的顶级C8填料的结果。测定了甲氧基化C8单体和二聚体的PPM级浓度。PK系列产品的单体和二聚体的PPM级浓度都显著降低。

萃取物和浸出物的数量也取决于纯化过程中使用的流动相组成。因此，我们测试了SP-100-10-C8-PK在模拟经典流动相种类的各种萃取条件下的可萃取物的量。

如Figure 10.0所示，当在酸性条件下用正丙醇萃取时，SP-100-10-C8-PK的单体和二聚体的可萃取物PPM低于竞争对手。



纯甲苯溶剂中的萃取物

Fig.9.0

产品名称	浓度 (PPM) 甲氧基化C8单体	浓度 (PPM) 甲氧基化C8二聚体
SP-100-10-C8-PK (Toluene 100%)	97.34	10.51
Silica Gel A (Toluene 100%)	249.04	49.29

不同萃取条件下的萃取物

Fig.10.0

产品名称	浓度 (PPM) 甲氧基化C8单体	浓度 (PPM) 甲氧基化C8二聚体
SP-100-10-C8-PK		
1. 0.1% TFA (pH=2.0) + n-Propanol	0	0
2. 0.1% TFA (pH=2.0) + Acetonitrile	0	0
3. 100 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ /H ₂ SO ₄ (pH=3.2) + 正丙醇	94.98	5.79
4. 100 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ /H ₂ SO ₄ (pH=3.2) + 乙腈	0	0
5. 0.1 M NaOH (pH=13.0) + 正丙醇	510.24	0
6. 0.1 M NaOH (pH=13.0) + 乙腈	438.56	0
7. NH ₄ Cl, AcONH ₄ (pH=4.5) + 正丙醇	91.62	5.77
8. NH ₄ Cl, AcONH ₄ (pH=4.5) + 乙腈	66.38	0
C8配体混合物标品 (40 mg/L)	40.00	40.00
Silica Gel A		
1. 100 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ /H ₂ SO ₄ (pH=3.2) + 正丙醇	106.81	5.98

订购信息

产品名称	键合相	孔径(Å)	粒径(μm)	孔容 (mL/g)	比表面积 (m ² /g)	碳含量 (%)
SP-100-8-ODS-PK	C18	100	8	0.9	320	18.0
SP-100-10-ODS-PK	C18	100	10	0.9	320	18.0
SP-100-15-ODS-PK	C18	100	15	0.9	320	18.0
SP-100-8-C8-PK	C8	100	8	0.9	320	11.0
SP-100-10-C8-PK	C8	100	10	0.9	320	11.0
SP-100-15-C8-PK	C8	100	15	0.9	320	11.0
SP-100-8-C4-PK	C4	100	8	0.9	320	8.0
SP-100-10-C4-PK	C4	100	10	0.9	320	8.0
SP-100-15-C4-PK	C4	100	15	0.9	320	8.0

中国代理商

MW

麦可旺志企业

麦可旺志(海南)科技有限公司

海南省海口市南海大道266号

免费电话: 400-0810-128

网 页: www.microwants.com

电子邮箱: info@microwants.com

苏州·北京·上海·沈阳·天津·济南·泰安

成都·武汉·西安·贵阳·昆明·楚雄·海口

OSAKA SODA CO., LTD.

1-12-18 Awaza, Nishi-ku
Osaka 550-0011, Japan
tel. +81-(0)6-6110-1598
fax +81-(0)6-6110-1612
silica@osaka-soda.co.jp