

MCSGP И N-RICH: РЕВОЛЮЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ МНОГОКОЛОНОЧНОЙ НЕПРЕРЫВНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

УДК 543.544
ВАК 05.17.08

Староверов С.М., д.х.н., АО "БиоХимМак СТ"

Хроматография в современном биотехнологическом процессе занимает особое место. Более 50% временных и материальных ресурсов расходуется на выделение целевого вещества, которое в большинстве случаев осуществляется хроматографическими методами. Поэтому оптимизация хроматографического процесса, увеличение его производительности – исключительно актуальные задачи.

В 2005 году была запатентована новая технология хроматографического разделения – многоколоночная противоточная очистка в градиенте растворителя (MCSGP), которая позволила скачкообразно увеличить эффективность технологий очистки по сравнению с традиционной периодической жидкостной хроматографией. При использовании MCSGP две идентичные колонки работают в противоточном режиме с внутренней рециркуляцией побочных фракций, содержащих примеси. В результате наиболее сложные для очистки вещества – пептиды и моноклональные антитела могут быть выделены в производственных масштабах со значительно более высоким выходом без ухудшения целевой чистоты. Процесс позволяет повысить производительность до 10 раз при снижении расхода растворителя на 80%.

За последние годы требования к активным фармацевтическим субстанциям сильно возросли: степень очистки целевого вещества во многих случаях должна составлять не менее 99,5%, а примеси с содержанием до 0,1% необходимо выделить и охарактеризовать. Для многокомпонентных и сложных смесей достижение необходимых показателей может стать чрезвычайно сложной задачей. В большинстве случаев очистка веществ осуществляется хроматографическими методами, поэтому усовершенствование хроматографического процесса остается актуальной задачей. Хроматографические методы MCSGP, N-Rich – принципиально новая революционная технология в области хроматографии. Оборудование, обеспечивающее реализацию этих методов, – не просто оборудование с какими-то особыми характеристиками по скорости или давлению, а прежде всего реализация новых функциональных возможностей известного оборудования на базе современного программного обеспечения с использованием эффективных алгоритмов решения сложных задач препаративной очистки.

Новая технология разработана в Швейцарской высшей технической школе Цюриха (ETH) в лаборатории профессора Morbidelli M., 10–12 лет назад появился пер-

вый прототип оборудования, и за это время из лабораторной практики технология вышла в промышленность.

Рассмотрим в общем виде существующие в хроматографии и в очистке субстанций задачи (рис.1). Их можно условно разделить на три группы: выделение целевого вещества с помощью аффинного связывания, разделение бинарных смесей либо извлечение интересующего соединения из многокомпонентных смесей. Практическими примерами разделения двухкомпонентных смесей может служить разрешение оптических изомеров или разделение фруктозы и глюкозы, которые решаются либо традиционными периодическими, или batch-методами, либо непрерывным процессом в псевдоподвижном слое (SMB -Simulated Moving Bed) [1].

Наиболее сложная задача – выделение целевого компонента или примесей из многокомпонентной системы. Селективность хроматографической системы часто бывает недостаточной, в результате наблюдаются наплывающие на основной компонент пики как во фронтальной, так и в хвостовой зоне. Как следствие, перед исследователем стоит проблема выбора между чистотой целевого вещества и его выходом. Увеличивая окно пула продуктов и включая области перекрывающихся пиков, можно добиться достаточно высокого выхода, однако чистота при этом снижа-

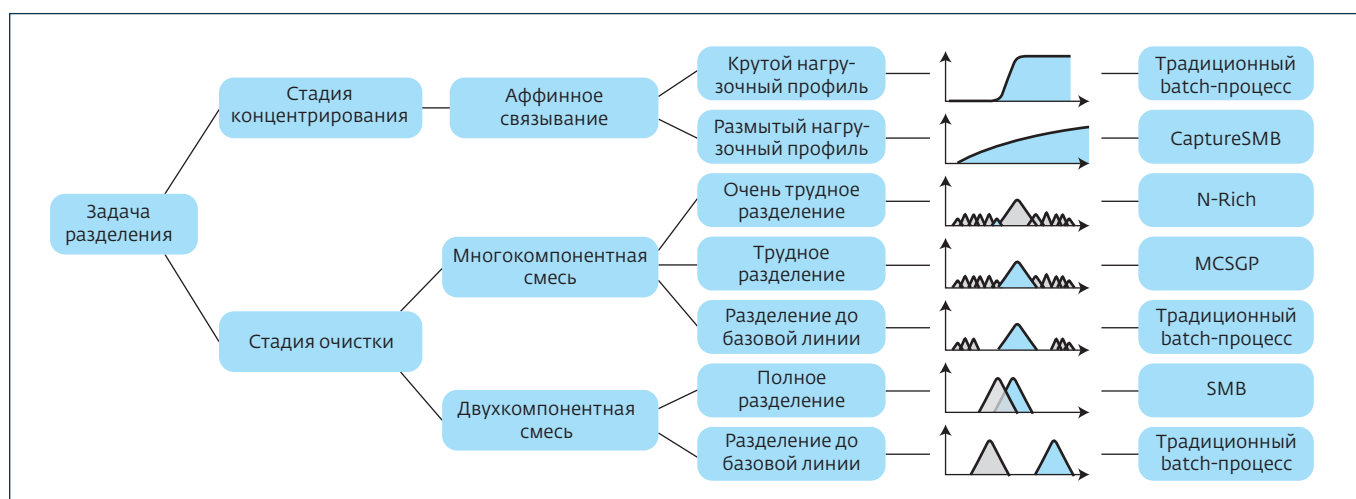


Рис.1. Основные задачи, стоящие перед хроматографией, и методы их решения

ется. С другой стороны, чистота может быть улучшена, если взять очень узкое окно продукта, но это происходит за счет уменьшения выхода. Эта дилемма присуща любому препаративному разделению на одной колонке [2]. Для улучшения выхода часто прибегают к повторному хроматографированию фронтальной и хвостовой фракций, что в одноколоночной batch-хроматографии приводит к значительному удорожанию продукта.

Компромисс между выходом и чистотой может быть достигнут путем использования непрерывных методов противоточной очистки, когда две (или более) идентичные колонки, соединенные через несколько переключающих клапанов, работают во взаимосвязанном режиме. Среди непрерывных методов многоколоночная противоточная хроматография в градиенте подвижной фазы (MCSGP – Multi column countercurrent Solvent Gradient Purification) особенно хорошо подходит для очистки сложных смесей, содержащих примеси, которые элюируются вместе с целевым продуктом. Большое преимущество MCSGP перед другими методами непрерывной очистки состоит в том, что в нем может использоваться градиентное элюирование, необходимое для очистки больших биомолекул. В первом "научном" варианте MCSGP был реализован с 6 колонками, затем система была упрощена до двух колонок.

С момента изобретения в 2005 г. [3] процесс MCSGP продемонстрировал свою применимость для разделения пептидов, олигонуклеотидов, моноклональных антител и многих других сложных смесей.

По сравнению с классической одноколоночной хроматографией многоколоночная противоточная гра-

диентная хроматография позволяет повысить производительность в 3–10 раз, снизить капитальные вложения до 30%, уменьшить операционные расходы до 50%. Снижение расходов связано в первую очередь с уменьшением требуемого для очистки объема элюента, поскольку во многих случаях суммарная стоимость ВЭЖХ-процесса в значительной степени зависит именно от стоимости растворителей.

ПРИНЦИП МНОГОКОЛОНОЧНОЙ ПРОТИВОТОЧНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В ГРАДИЕНТЕ ПОДВИЖНОЙ ФАЗЫ

Представим, что мы имеем многокомпонентную смесь, в которой два пика примесей расположены рядом с пиком целевого вещества P: пик слабоудерживаемого компонента W (от слова weak) и пик активно удерживаемого компонента S (от слова strong) (рис.2). Из-за частичного перекрытия пиков слева от целевого пика образуются смесевые зоны, которые в традиционной batch-хроматографии отбрасывают или направляют на повторную очистку. Обычно процесс рехроматографии повторяют однократно, дальнейшие циклы нецелесообразны из-за расхода растворителей.

Теперь рассмотрим, как работает многоколоночная хроматография (рис.2). Загруженная в первую колонку смесь элюируется градиентом растворителей, при этом сначала вымываются и отбрасываются слабоудерживаемые примеси W (зона 4). В это время вторая колонка проходит стадию уравнивания (зона 8). Как только из первой колонки начинает элюироваться смесевая зона W/P, клапаны меняют конфигурацию, и элюат поступает на повторную очистку во

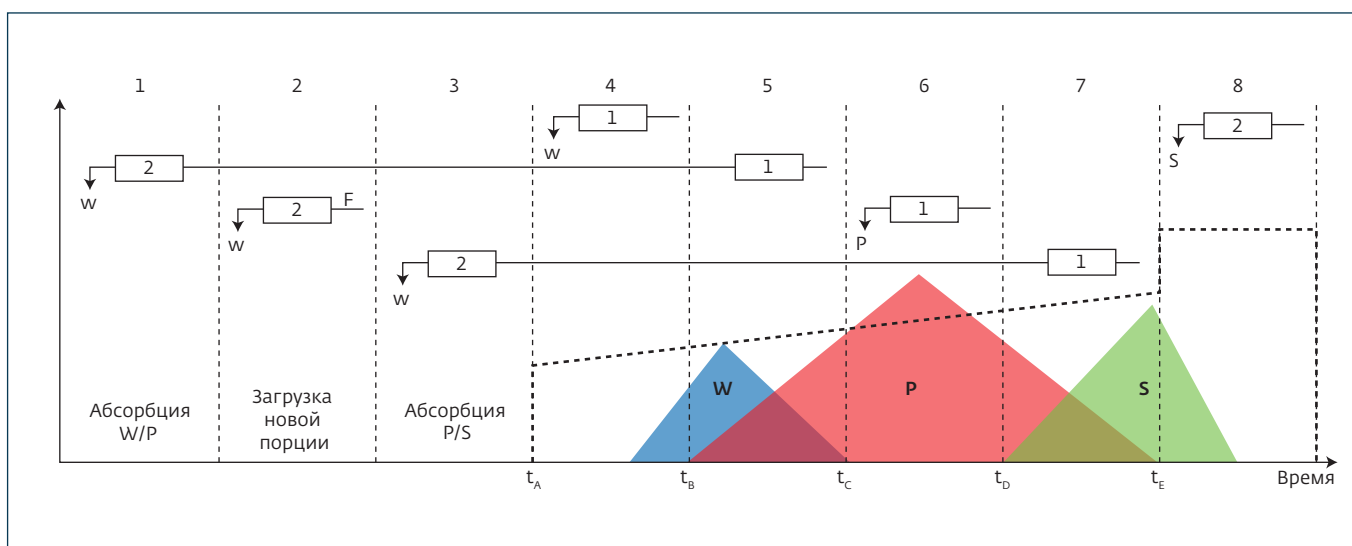


Рис.2. Схема процесса многоколоночной непрерывной градиентной очистки в случае хроматограммы с наплывающими пиками: Р – продукт, W – слабоудерживаемая примесь, S – сильноудерживаемая примесь, F – свежая порция смеси

вторую колонку (зоны 5 и 1). Чистый продукт Р, выходящий из первой колонки, собирается (зона 6), в это же время в колонку 2 загружается новая порция исходной смеси F для компенсации потери продукта, собираемого из колонки 1 (зона 2). Вторая смесевая зона P/S (зона 7), выходящая из первой колонки после элюирования чистого продукта, направляется на повторную очистку во вторую колонку (зона 3). На этом этапе вторая колонка оказывается полностью загруженной, и начинается использование градиента, тогда как первая колонка промывается для выделения сильноудерживаемых примесей S. Теперь колонки меняются местами, и процесс начинается снова. Следует отметить, что перед загрузкой на вторую колонку смесевые фракции необходимо разбавить компенсационным буфером для того, чтобы они могли адсорбироваться на неподвижной фазе.

Таким образом, выделение целевого компонента можно проводить в непрерывном режиме, включающем следующие стадии:

- 1 – вымывание примесей;
- 2 – рециклизация первой смесевой зоны;
- 3 – заполнение второй колонки новой порцией смеси;
- 4 – рециклизация второй смесевой зоны.

Все смесевые зоны возвращаются в систему для разделения и находятся в ней, пока не будет выделено практически все целевое вещество. Кроме того, непрерывный режим помогает сэкономить время, тем самым увеличивается производительность.

Процесс MCSGP применим практически для любых градиентных разделений соединений различной моле-

кулярной массы и различного происхождения, включая синтетические пептиды и олигонуклеотиды, моноклональные антитела и модифицированные белки (табл.1).

ПРИМЕНЕНИЕ MCSGP В ОЧИСТКЕ ПЕПТИДОВ

За последние десятилетия резко возрос интерес к фармацевтическому применению белков и пептидов, который вызван появлением новых синтетических стратегий, основанных на модификациях аминокислот и других компонентов, которые позволяют модулировать не только фармакокинетические свойства, но и специфичность по отношению к конкретной мишени. Сегодня пептиды находят множество применений в качестве противомикробных средств, антиоксидантов, антигипертензивных средств, антибиотиков, антикоагулянтов, регуляторов аппетита и др.

Промышленное производство терапевтических пептидов в основном осуществляется с помощью твердофазного или традиционного жидкого синтеза. При этом в большинстве случаев невозможно выполнить промежуточную очистку, и целевой пептид оказывается загрязнен примесями, образующимися в результате побочных реакций. Часто получаемая смесь достаточно сложна, а содержание целевого пептида может варьироваться от 40 до 60%. В таком случае очистка является узким местом с точки зрения времени и затрат при производстве. Дополнительной проблемой ВЭЖХ-разделений пептидов являются высокие затраты на элюент, которые превышают 50% стоимости очистки. Процесс непрерывной многоколоночной хроматографии MCSGP позволяет значительно

Табл.1. Применение метода MCSGP: основные области и классы соединений

Низкомолекулярные соединения	Высокомолекулярные соединения
Фармацевтическое производство: синтетические пептиды, олигонуклеотиды, макролиды, антибиотики Нутрицевтики/пищевые продукты: жирные кислоты, флавоноиды, полифенолы, подсластители Промышленная биотехнология: жирные кислоты, мономеры, органические кислоты, химические интермедиаты Природные экстракты	Рекомбинантные белки, моноклональные антитела: аффинное связывание (CaptureSMB), очистка методом MCSGP, удаление агрегатов Продукты II генерации: биоэквиваленты, изоформы антител, пегилированные белки и конъюгаты Протеомика Метаболомика

оптимизировать процесс и улучшить экономические показатели.

В традиционной одноколоночной хроматографии за один цикл зачастую не удается получить продукт даже с чистотой 95% при выходе 90%, поэтому необходимо проводить дополнительную очистку. Увеличение чистоты до 99,0–99,5% может привести к падению выхода вплоть до 20%. Существенным ограничением ВЭЖХ-разделений также является высокая стоимость элюента.

В работе [4] сравниваются возможности традиционной одноколоночной ВЭЖХ-хроматографии и MCSGP при очистке терапевтического пептида, предоставленного исследователям компанией Bristol-Myers Squibb. Авторы продемонстрировали, что MCSGP способен одновременно обеспечить высокий выход и чистоту, в то время как при периодической хроматографии необходимо искать компромисс между этими параметрами. Даже при оптимизации всех условий при использовании одноколоночной препаративной хроматографии продукт с чистотой >97,0%, может быть получен только с выходом менее 75%. Для получения продукта желаемой чистоты 98,7% метод MCSGP демонстрирует четырехкратное улучшение выхода (от

19 до 94%), 10-кратное увеличение производительности (с 3 до 30 г/л/ч) и снижение расхода растворителя на 70% (с 3,5 до 1,0 л/г).

В компании Bristol-Myers для очистки этого пептида использовался метод batch-хроматографии на колонке диаметром 18 см с длиной слоя сорбента 25 см, что соответствует 6 л сорбента. Это серьезный дорогостоящий промышленный хроматограф. Авторы сумели перевести эту технологию в MCSGP-процесс с двумя колоннами диаметром 5 см и длиной 15 см, что соответствует оборудованию лабораторного масштаба, где количество сорбента всего 0,6 л. В данном случае удалось увеличить производительность в 10 раз и получать 110 г пептида в день, или 20–30 кг в год. Для большинства пептидов это промышленный масштаб.

В работе [5] приводятся средние оптимизированные соотношения выхода и чистоты при очистке пептидов методами batch-хроматографии и MCSGP (рис.3). Видно, как с ростом требований по чистоте в традиционном процессе очистки снижается выход пептида, особенно при требованиях выше 98%. В то же время MCSGP-технология может обеспечить чистоту более 99% при выходе, близком к количественному.

ОЧИСТКА МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

В последние годы на фармацевтическом рынке появились новые виды биофармацевтических препаратов: конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC), такие как адцетрис (брентуксимаб ведотин) и кадсила (адо-трастузумаб эмтанзин), и биспецифические антитела (bsAb), такие как ремоваб (катумаксомаб). Прово-

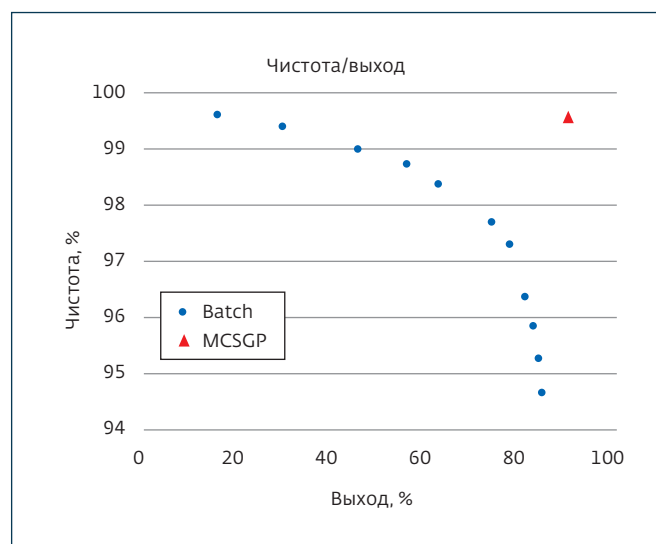


Рис.3. Соотношение выхода и чистоты продукта при использовании batch-хроматографии и MCSGP

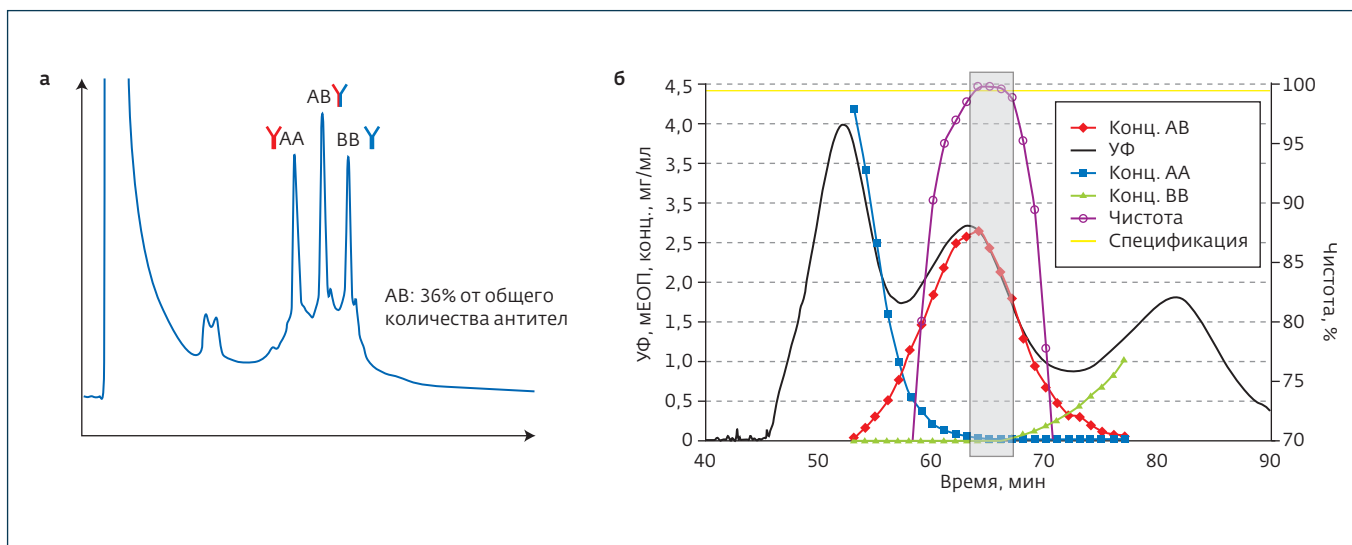


Рис.4. Хроматограмма смеси антител (а) и схема перекрытия пиков изоформ (б)

дятся клинические исследования других препаратов этих классов, поскольку они имеют большой потенциал в различных терапевтических областях, включая онкологию и противовоспалительную терапию. Среди компаний, развивающих этот процесс, такие известные фирмы, как Roche, Chugai, Novartis, Sanofi, Merri-mack, F-star, Micromet, Genmab и другие.

В зависимости от технологии, используемой для производства подобных биопрепаратов, реакционные смеси могут включать ряд примесей. В случае ADC это могут быть продукты с нежелательным соотношением лекарственное средство-антитело, а в случае биспецифических антител – исходные моноклональные антитела (гомодимеры).

Рассмотрим задачу выделения биспецифического антитела АВ. Биспецифические антитела гетеродимерны по своей природе. Каждая молекула имеет две разные переменные области и способна связываться с двумя разными мишенями, обеспечивая новые способы воздействия на поверхности клеточных мишеней. В последние годы был получен широкий спектр bsAb путем перестройки и рекомбинации существующих доменов антител. Но поскольку bsAb обычно продуцируются совместной экспрессией двух различных тяжелых и/или легких цепей, невозможно избежать некоторого неправильного спаривания цепей. Обычно содержание и выход bsAb не превышают 36%.

Сложность хроматографической очистки АВ заключается в том, что изоформы AA и BB элюируются близко к целевому пику, что приводит к их перекрытию. Поэтому при периодической хроматографии только

небольшая фракция продукта может быть выделена с требуемой чистотой 98%.

На рис.4 представлена хроматограмма смеси антител и выделены пики, соответствующие каждому из компонентов. С помощью метода MCSGP на препаративной катионообменной смоле и автоматизированную систему Contichrom биспецифическое иммуноглобулиновое антитело было выделено с выходом 87% и чистотой 98%. При периодической хроматографии в режиме линейного градиента полученный выход составил лишь 37% [6, 7].

ОЧИСТКА ПЕГИЛИРОВАННЫХ БЕЛКОВ

Один из путей повышения эффективности лекарственных препаратов белковой структуры – химическая модификация молекулы путем ковалентного присоединения фрагментов полиэтиленгликоля (ПЭГ). Пегилирование позволяет увеличить молекулярную массу лекарства и тем самым замедлить его выведение через почки, затруднить подход антител и протеолитических ферментов, а также оптимизировать биораспределение и улучшить растворимость. ПЭГ в качестве модификатора веществ пептидной структуры привлек внимание исследователей еще в начале 1970-х годов, а сегодня он одобрен Управлением по контролю за продуктами и лекарственными препаратами США (FDA) в качестве субстанции, разрешенной к использованию в медицине, продуктах питания и косметологии.

Выделение пегилированного белка с желаемой степенью полимеризации ПЭГ-фрагмента, например, монопегилированного продукта, представляет собой сложную задачу, поскольку в процессе

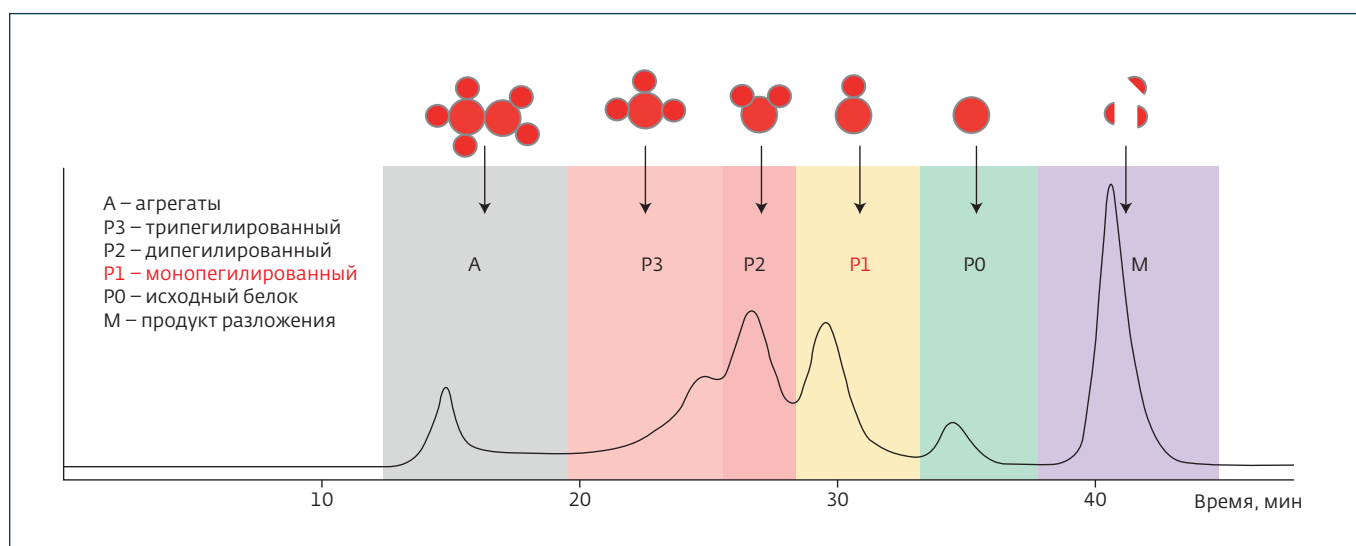


Рис.5. Хроматограмма пегилированного α-лактальбумина

синтеза образуется целый ряд химически близких веществ. На рис.5 представлена хроматограмма разделения на анионообменной смоле, полученная после пегилирования α-лактальбумина, где целевой монопегилированный белок обозначен буквой P1. Традиционная одноколоночная хроматография позволила получить продукт с чистотой 93% и выходом 56%. Переход к MCSGP-процессу увеличил выход и степень очистки, а также уменьшил расход элюента на 50%, что привело к повышению производительности процесса в 5 раз [8].

ТЕХНОЛОГИЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ПРИМЕСЕЙ N-RICH

Другая область применения многоколоночной противоточной градиентной хроматографии – выделение примесей. Задача выделения примесей чрезвычайно

важна, поскольку в соответствии с требованиями нормативных документов, таких как ICH Q6A и Q6B, каждая примесь в активной фармацевтической субстанции должна быть выделена и охарактеризована. N-Rich решает проблему выделения, сочетая возможности препаративной хроматографии и преимущества непрерывного процесса.

Процесс N-Rich включает три основные стадии (рис.6). Первая стадия заключается в накоплении целевой примеси P. Процесс начинается с загрузки части исходного материала в первую колонку и элюирования с линейным градиентом. Фракции, которые содержат целевое вещество, включая смесевые фракции, загружаются во вторую колонку, остальные фракции отбрасываются. Во вторую колонку дополнительно наносится исходная смесь. Процесс повторяется мно-

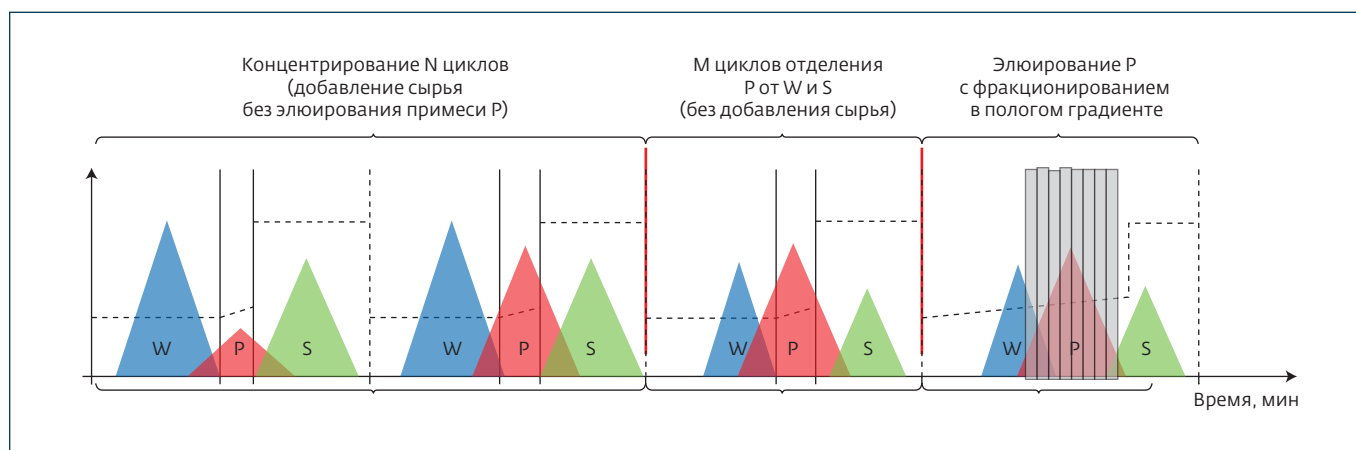


Рис.6. Схема процесса выделения примесей N-Rich

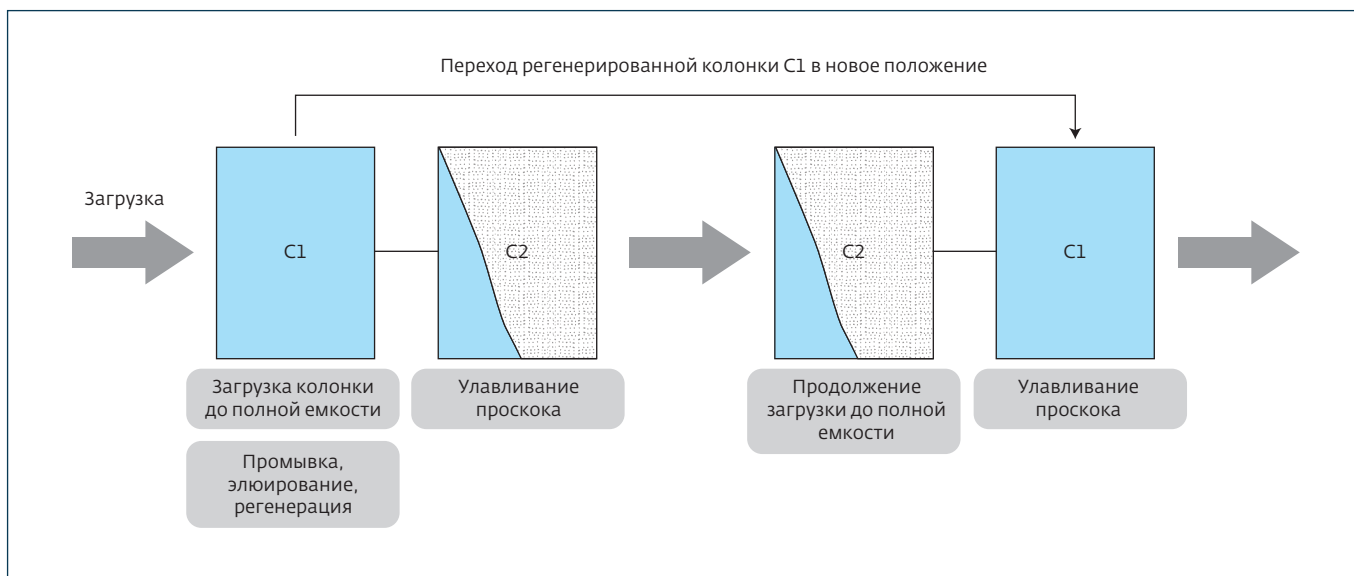


Рис.7. Принцип технологии CaptureSMB

гократно, при этом происходит обогащение целевого соединения как по абсолютному значению, так и относительно соседних примесей W и S.

На второй стадии происходит очистка целевой примеси Р от мешающих соединений. Это достигается циклическим процессом, аналогичным первому этапу. Разница в том, что боковые смесевые фракции теперь отбрасываются, а новый исходный материал больше не добавляется.

В третьей фазе обогащенная целевая примесь элюируется в пологом градиенте, и соединение собирается с помощью тонкого фракционирования.

Примером применения метода N-Rich может служить идентификация примесей после твердофазного синтеза фибринопептида А – 16-аминокислотного пептида, участвующего в событиях коагуляции. Поскольку пептид относительно короткий, его синтез достаточно эффективен, однако проведение 16 реакций образования пептидной связи и такого же количества реакций снятия защиты сопряжено с образованием ряда побочных продуктов, которые лишь незначительно отличаются от целевого вещества, например, отсутствием одной промежуточной аминокислоты. В то же время идентификация этих примесей важна как с точки зрения оптимизации процесса, так и в точки зрения токсикологической оценки необходимости их полного удаления.

После восьми циклов обогащения по технологии N-Rich концентрация примесей была достаточно высокой. Затем последовали однократный цикл выделения и, наконец, элюирование в пологом градиенте.

В результате концентрация целевых примесей увеличилась более чем в 10 раз, а концентрация по отношению к фибринопептиду А – более чем в 600 раз. Это сделало возможным выделить и охарактеризовать примесь, исходное содержание которой составляло менее 1,2%. Чистота примесей при этом оказывается на уровне 80%, что достаточно, например, для масс-спектрометрического определения состава [9].

Технологию N-Rich можно применять в протеомике или метаболомике для выделения микрокомпонента из биологической жидкости или природного экстракта. Процесс позволяет автоматически селективно сконцентрировать (1000х) целевые фракции. Обогащенные фракции могут быть проанализированы масс-спектрометрическими методами либо напрямую (сверху вниз), либо после гидролиза (снизу вверх).

ТЕХНОЛОГИЯ CAPTURESMB ДЛЯ ОЧИСТКИ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

Число лекарственных препаратов на основе моноклональных антител с каждым годом растет, и сегодня эти препараты входят в первую десятку по объему продаж. Поэтому оптимизация каждой стадии и технологической платформы в целом является актуальной задачей, и на это направлены усилия целого ряда компаний. Для выделения моноклональных антител и химерных белков Fc часто используют аффинную хроматографию клеточных супернатантов на сорбенте с иммобилизованным протеином А. Несмотря на высокую стоимость такой смолы, ни одна из альтер-

натернативных технологий не способна сравниться с ней по своим характеристикам: динамической емкости, отделению белков-хозяев, устойчивости при регенерации в щелочи и т.д.

Затраты на этой стадии определяются стоимостью аффинного сорбента, поэтому снижение расхода сорбента исключительно актуально. Этого можно достичь, используя технологию CaptureSMB, разработанную компанией ChromaCon.

При периодической хроматографии колонка не может быть полностью загружена из-за проскока продукта, что приводит к использованию только 50–60% сорбента. Технология непрерывной хроматографии CaptureSMB, основанная на использовании двух идентичных колонок, позволяет выполнять очистку в два раза быстрее и экономить до 60% дорогостоящей смолы. В таком режиме первая колонка полностью насыщается, а проскок загружается во вторую колонку, после чего роли колонок меняются, и процесс начинается с начала (рис.7). Таким образом, эффективно используется весь аффинный сорбент, а выход продукта становится близок к количественному [10, 11].

ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ НЕПРЕРЫВНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Реализация методов многоколоночной непрерывной хроматографии MCSGP и N-Rich возможна как в лабораторных, так и в промышленных масштабах. Лабораторное оборудование выпускает швейцарская компания ChromaCon, промышленное – фирма LEWA. С 2019 года обе компании входят в корпорацию YMC.

Табл.2. Результаты очистки нанопептида методом MCSGP

№ цикла	Выход, %	Степень очистки, %
1	52,3	98,5
2	75,1	98,85
3	82,2	99,0
4	88,6	99,2
5	96,5	99,5
6	96,7	99,6
7	97,1	99,7
8	96,9	99,5
9	97,0	99,6
10	96,9	99,7

Лабораторная система для непрерывной хроматографии Contichrom, которую производит ChromaCon, универсальна и позволяет разрабатывать процессы очистки во всех известных режимах жидкостной хроматографии (традиционный batch-процесс, SMB и многоколоночный градиентный режим) с помощью всего одного прибора и простого устройства для управления процессом.

Для этого необходимо разработать традиционный метод с оптимальными характеристиками для выделения целевого пика и фракционировать полученную хроматограмму для определения зоны, содержащей

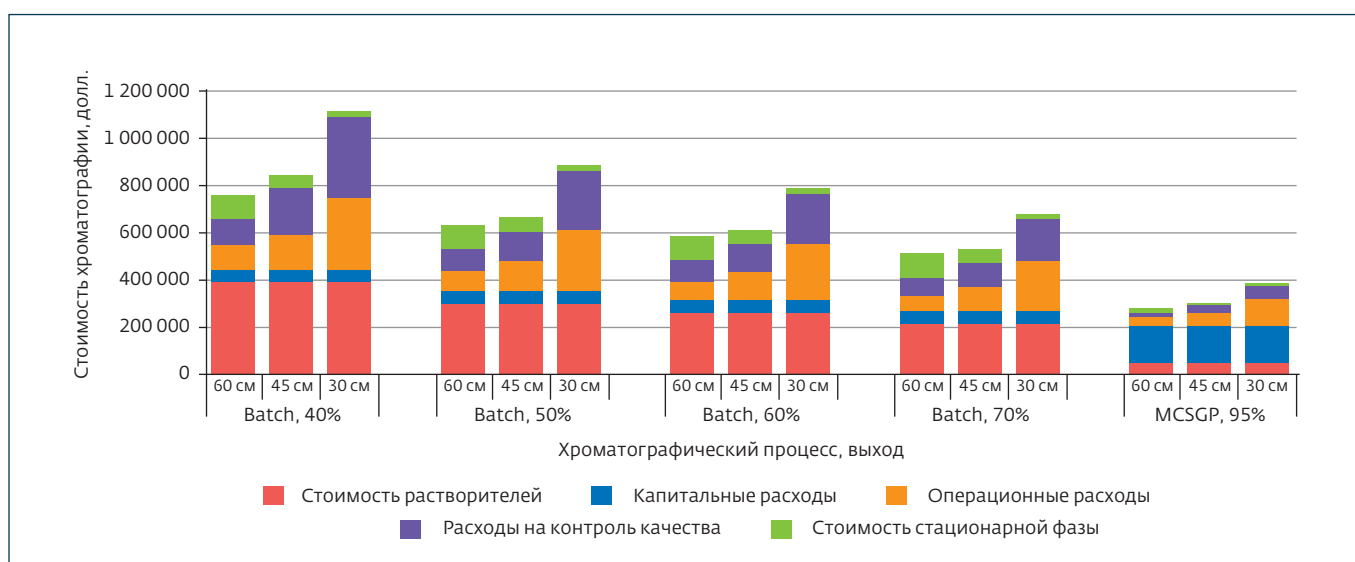


Рис.8. Затраты на очистку 10 кг в год терапевтического пептида с использованием традиционной batch-хроматографии и MCSGP при различных объемах колонок.

целевой и смесевые пики. Выделение делается на компьютере с помощью мышки, а программное обеспечение позволяет организовать весь дальнейший процесс.

Примером может служить разработанная нами технология очистки одного из нанопептидов. Требование заказчика к чистоте продукта было 99,5%. При такой чистоте на первом цикле мы получили выход лишь 52% (табл.2), на пятом цикле – выход на уровне 96,5%, дальнейшая очистка реализуется в стабильном режиме с практически идентичными показателями чистоты и выхода. В таком режиме ведется наработка необходимого количества продукта. По сути, цикл №1 отражает характеристики традиционного процесса, а цикл №5 – выход с учетом переработки боковых фракций.

Системы для непрерывной хроматографии промышленного масштаба, выпускаемые компанией LEWA, разработаны в стандарте GMP, сертифицированы как оборудование для биопроцессов BPE (Bio Processing Equipment) и соответствуют требованиям положения 21 Свода федеральных правил (CFR) части 11, а также всем руководящим указаниями Федерального агентства по охране труда и здоровья (OSHA).

ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ MCSGP

Авторы [5] провели моделирование процессов получения и очистки 10 кг в год среднего модельного терапевтического пептида с использованием традиционной batch-

хроматографии и многоколоночной непрерывной очистки MCSGP (рис.8).

По оценке авторов, ежегодные затраты на очистку терапевтического пептида колеблются от 760 000 до 520 000 долларов США в случае одноколоночной периодической хроматографии, и составляют всего 208 000 долларов США при использовании MCSGP, что дает экономию средств не менее 40%. При этом основные затраты в первом случае приходятся на растворители и обеспечение контроля качества, а во втором – на капитальные расходы. Сроки окупаемости при переходе на MCSGP-технологии оцениваются авторами от 6 до 19 месяцев.

В 2011 году в программном докладе AAPS 2011 директор Центра исследований и оценки лекарственных средств при FDA Джанет Вудкок (Janett Woodcock) заявила, что в ближайшие 25 лет фармацевтическая отрасль перейдет от периодических процессов к непрерывным, что сделает производство более гибким, локальным и экологичным.

Сегодня процессы непрерывной очистки пептидов и моноклональных антител активно внедряют в таких компаниях, как KAI Pharmaceuticals, Lonza, Novartis, ScinoPharm, Bristol-Mayer-Squibb, Pfizer, Merus, Merck Serono, DSM, Novo nordisk, Roche, JSR и др.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Rajendran A., Paredes G., Mazzotti M.** Simulated moving bed chromatography for the separation of enantiomers // Journal of Chromatography A. 2009. V. 1216. No. 4. P. 709–738. doi: org/10.1016/j.chroma.2008.10.075.
2. **Luca C.D., Felletti S. and Lievore G.** From batch to continuous chromatographic purification of a therapeutic peptide through multicolumn countercurrent solvent gradient purification // Journal of Chromatography A. 2020. V. 1625. P. 461304.
3. **Aumann L., Morbidelli M.** Method and device for chromatographic purification // WO/2006/116886.
4. **Müller-Späth T., Ströhlein G., Lyngberg O., Maclean D.** Enabling high purities and yields in therapeutic peptide purification using multicolumn countercurrent solvent gradient purification // Chimica Oggi-Chemistry Today. 2013. V. 31. N. 5. P. 56–61.
5. **Müller-Späth T., Bavand M.** Purification of Synthetic Peptides // Pharmaceutical Engineering. 2019. <https://ispe.org/pharmaceutical-engineering/march-april-2019/purification-synthetic-peptides>.
6. **Müller-Späth T., Morbidelli M.** Countercurrent chromatography for the purification of monoclonal antibodies, bispecific antibodies, and antibody-drug conjugates // Process Scale Purification of Antibodies, 2017. 391–407. doi:10.1002/9781119126942.ch18.
7. **Sander F., Müller-Späth T.** Purifying common light-chain bispecific antibodies using MCSGP // Bruckner Analysentechnik GmbH Application Note https://www.bm-at.com/out/media/Application_Purifying_bispecific_antibodies_with_mcsgp.pdf.
8. Purification of PEGylated proteins with Contichrom // ChromaCon AG Application Note https://www.bm-at.com/out/media/purification_pegylated_proteins.pdf.
9. N-Rich® – Automated enrichment and purification of minor compounds from complex matrices // ChromaCon Application Note https://www.chromacon.com/resources/public/lava3/media/kcfinder/files/N-Rich_application_examples.
10. **Angarita M., Müller-Späth T., Baur D., Lievrouw R., Lissens G., Morbidelli M.** Twin-column CaptureSMB: a novel cyclic process for protein A affinity chromatography // Journal of Chromatography A. 2015. V. 1389. P. 85–981. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2015.02.046>
11. CaptureSMB® for the continuous purification of mAbs // ChromaCon AG Application Note https://www.chromacon.com/resources/public/lava3/media/kcfinder/files/CaptureSMB_application_note.pdf.

Новая платформа Contichrom CUBE меняет традиционные представления о технологиях выделения и очистки субстанций в обращенно-фазовой, ионообменной и аффинной хроматографии. В лабораторном масштабе все технологии реализуются на одном оборудовании (варианты до 30 мл/мин и 100 мл/мин).

Обеспечивает неизменность характеристик процесса при масштабировании. Доступна в лабораторном, пилотном и промышленном масштабах. Соответствует всем требованиям GMP.

Технология MCSGP

До 10 раз быстрее.
До 50% дешевле.
Выход – до 95%.

Технология N-Rich

Выделение и очистка примесей в автоматическом режиме. Протеомика, метаболомика.

Технология CaptureSMB

Вдвое более быстрая аффинная очистка моноклональных антител.



Официальный дистрибьютор
компании ChromaCon AG
на территории РФ

АО «БиоХимМак СТ» (Москва)
+7(495) 939-59-67
+7(495) 939-58-06
www.bcmst.ru