

结语

天地人和推荐发酵生产GLP-1药物采用纯化方案为Butyl Phmac Beads加Smart C18 10, 固相合成合成多肽药物直接采用Smart C18 10反相纯化。两款填料解决整体纯化工艺, 保证样品高载量、高回收率、高纯度, 且工艺稳健性好;同时降低整体纯化流程的物料成本及时间成本, 提高GLP-1药物开发竞争优势。

天地人和还可提供聚合物离子和聚合物反相填料用于替换代替硅胶填料在GLP-1药物纯化中的应用。

产品订购信息

产品名称	货号	规格
Smart PS 15Q	SI066005	5ml
	SI066025	25ml
	SI066100	100ml
	SI066500	500ml
	SI06601L	1L
	SI06610L	10L
Butyl Phmac Beads	SH019025	25ml
	SH019100	100ml
	SH019500	500ml
	SH01901L	1L
	SH01910L	10L
Smart C8 10-100	SH020025	25g
	SH020100	100g
	SH020500	500g
	SH02001KG	1kg
Smart C18 10-100	SH021025	25g
	SH021100	100g
	SH021500	500g
	SH02101KG	1kg



GLP-1药物纯化指南

GLP-1工艺开发

随着GLP-1的代表性药物司美格鲁肽的口服片剂的上市所带来的巨大收益以及市场预期, 国产GLP-1药物的研发注册申报也进入白热化阶段。在此背景下, 工艺开发时间和生产成本效益成为该赛道取得成功的关键。

天地人和对该类药物的生产工艺进行探索, 开发出纯化效率高、通用性强的GLP-1多肽药物纯化工艺。推出基于聚合物微球的疏水以及离子填料, 配合天地人和的硅胶反相填料, 满足研发及生产客户对于GLP-1多肽粗品到成品的纯化。

GLP-1高效纯化方案介绍

现有生产GLP-1药物的主流方式有两种, 分别为生物发酵代表药物司美格鲁肽、利拉鲁肽) 以及固相合成代表药物(替尔泊肽、艾塞那肽)。天地人和基于GLP-1多肽药物生产特点, 开发出适用于GLP-1药物纯化工艺。

对于发酵生产GLP-1药物整体纯化推荐多款填料方案, 分别为Butyl Phmac Beads或Smart PS 15Q(可提供更高纯度中间产品) 加Smart C18 10。固相合成多肽则直接采用反相纯化方案(Smart C18 10或Smart C8 10), 满足高载量、高纯度以及高回收率的需求。

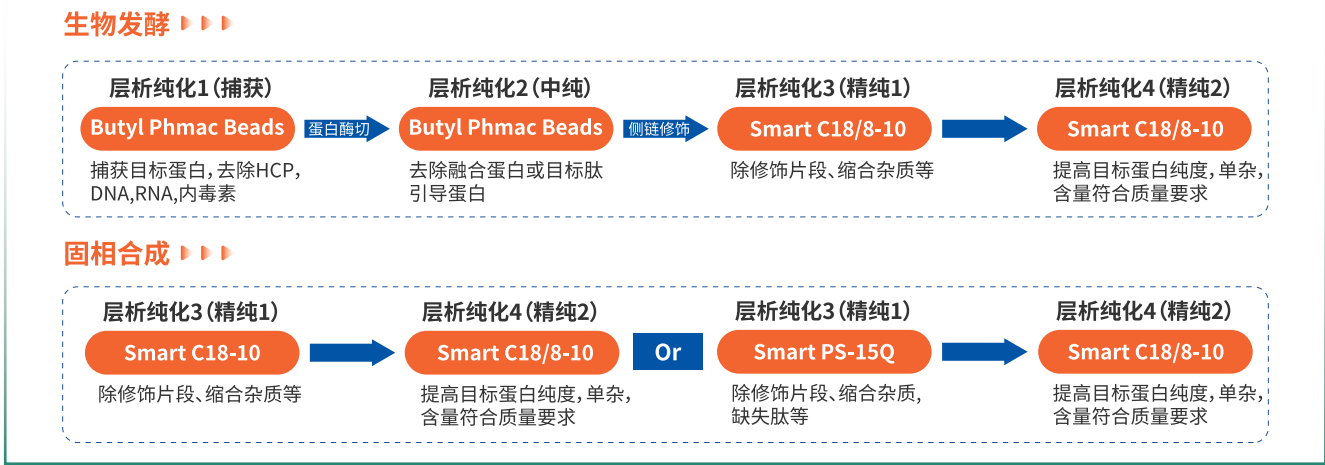


图1 天地人和两种典型的发酵法GLP-1纯化工艺路线

以发酵生产司美格鲁肽样品为例, 捕获及酶切后中纯步骤推荐使用Butyl Phmac Beads疏水层析填料。该填料具有较强的疏水性能, 适用于样品捕获及酶切后纯化。



大肠杆菌破壁上清液蛋白捕获

采用Butyl Phmac Beads疏水层析捕获大肠杆菌破菌上清液, 纯化图谱如下, 采用Tris体系0.5 M NaCl作上样缓冲液, 上样载量35 mg/mL纯水洗脱, 样品洗脱集中; 杂质直接在CIP后续步骤去除, 工艺简单重现性高。纯化后电泳显示样品纯度显著提升, 收率>90%。

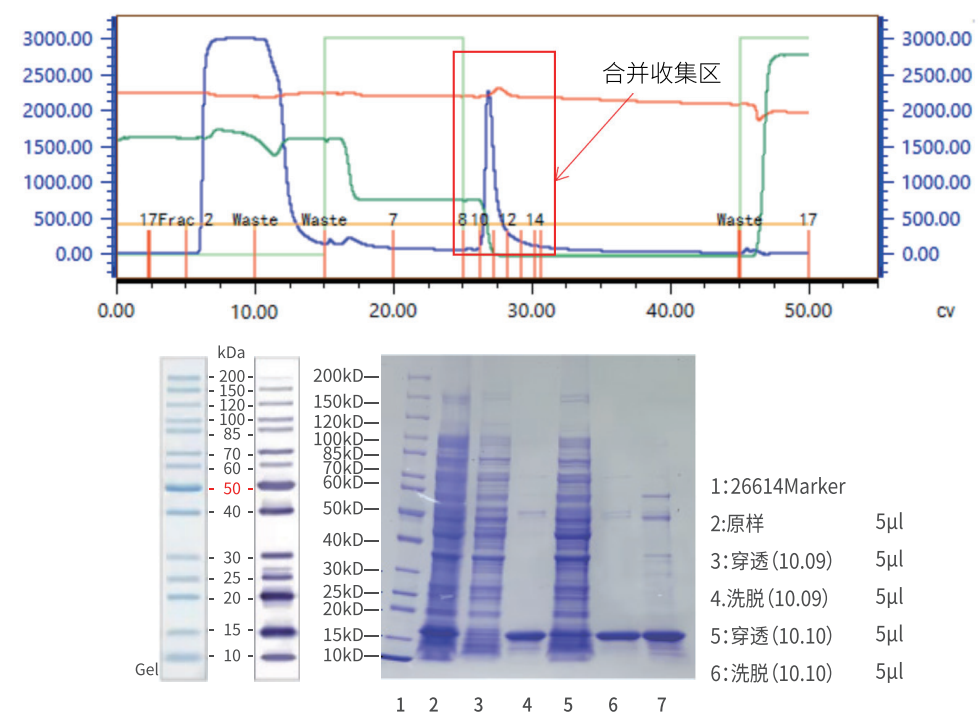


图2 大肠杆菌上清液捕获、电泳检测图谱

酶切后样品纯化

酶切后样品采用与捕获同款填料Butyl Phmac Beads, 纯化图谱如下, 采用PB+NaCl体系, 纯化步骤仅增加低盐洗杂操作, 纯化工艺简单, 方案稳定。

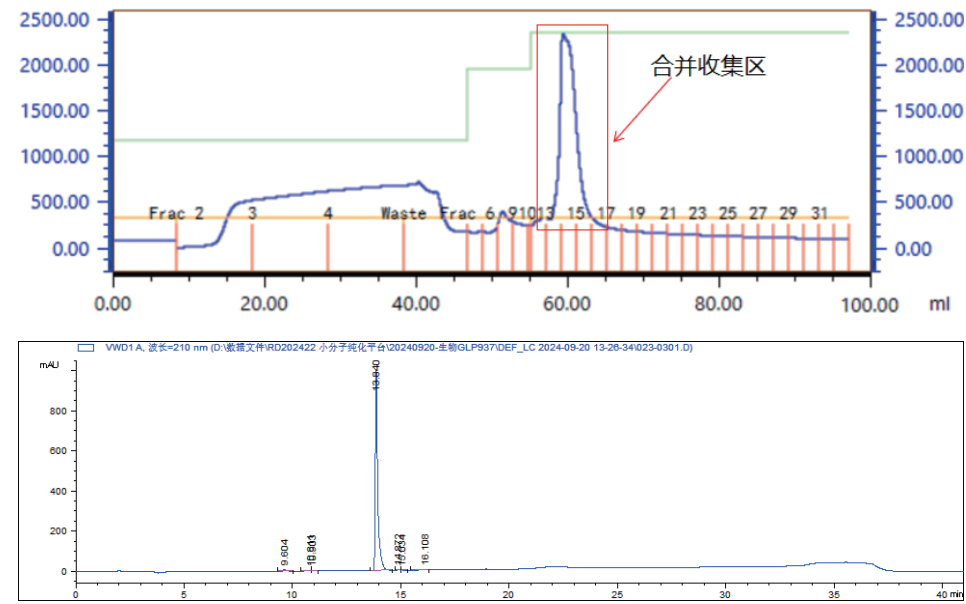


图3 酶切后纯化及HPLC图谱

表1 捕获及酶切后纯化效果分析

层析步骤	填料种类	纯化模式	载量(精肽) mg/ml	回收率(%)	纯度(%)
捕获	Butyl Phmac Beads	Binding	35	90	92
中纯	Butyl Phmac Beads	Binding	12	90	95

脂肪侧链修饰后纯化

司美格鲁肽采用脂肪酸侧链修饰以延长药物半衰期。经过脂肪酸侧链修饰后样品疏水性显著提高, 脂肪酸修饰后司美格鲁肽多采用反相色谱纯化, 一般采用C8或者C18填料。实验采用Smart C18 10-100纯化司美格鲁肽, 两次纯化流动相分别使用以醋酸+乙腈体系及醋酸铵+乙腈体系; 纯化效果良好, 且成功应用于多个项目。反相纯化载量可达11 mg/mL (以精肽计), 满足高效纯化需求。

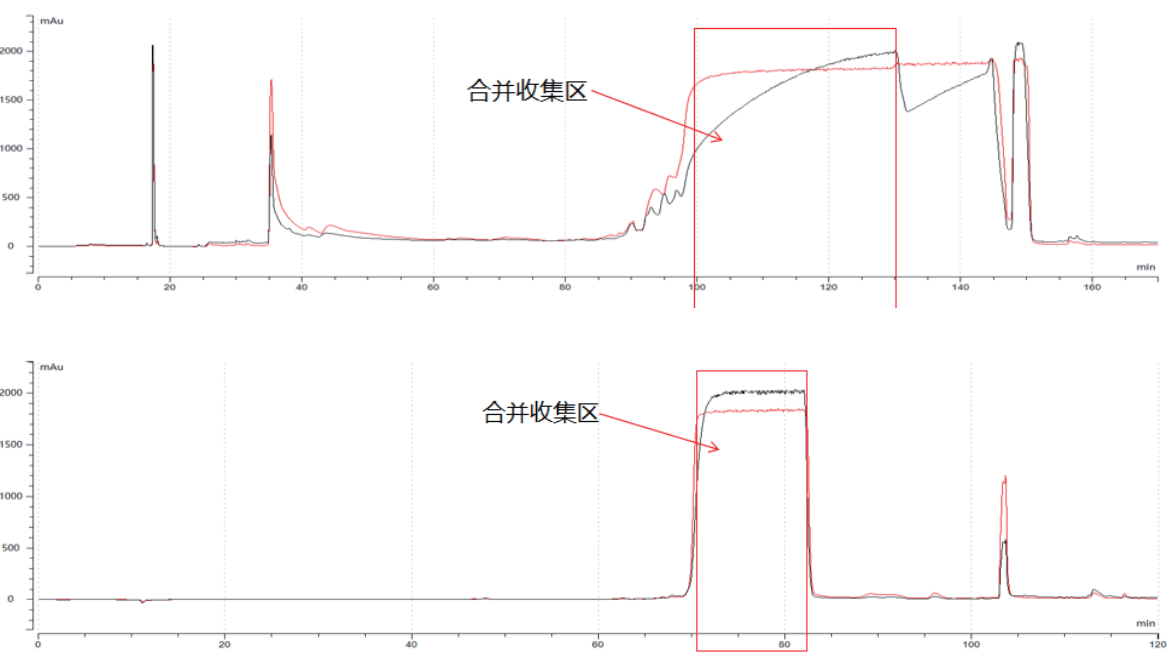


图4 司美格鲁肽样品两次反相纯化图谱

表2 司美格鲁肽样品两次反相纯化效果分析

层析步骤	填料种类	纯化模式	载量(精肽) mg/ml	回收率(%)	纯度(%)
纯化前					59.4
精纯1	Smart C18 10	Binding	11	90	98.5
精纯2	Smart C18 10	Binding	10	94	99.6

根据不同质量要求, 采用Smart C18 10反相填料, 采取一步反相纯化(乙酸+乙腈体系), 检测方法采用HPLC结合高分辨反相色谱柱对纯化前、后样品进行分析, 样品纯度从59.4%提升至98.5%, 满足口服制剂质量标准。

对于注射剂质量要求, 采用第一次层析相同填料Smart C18 10, 采取乙酸铵+乙腈纯化体系, 纯度进一步提高至99.64%, 回收率高于94%。