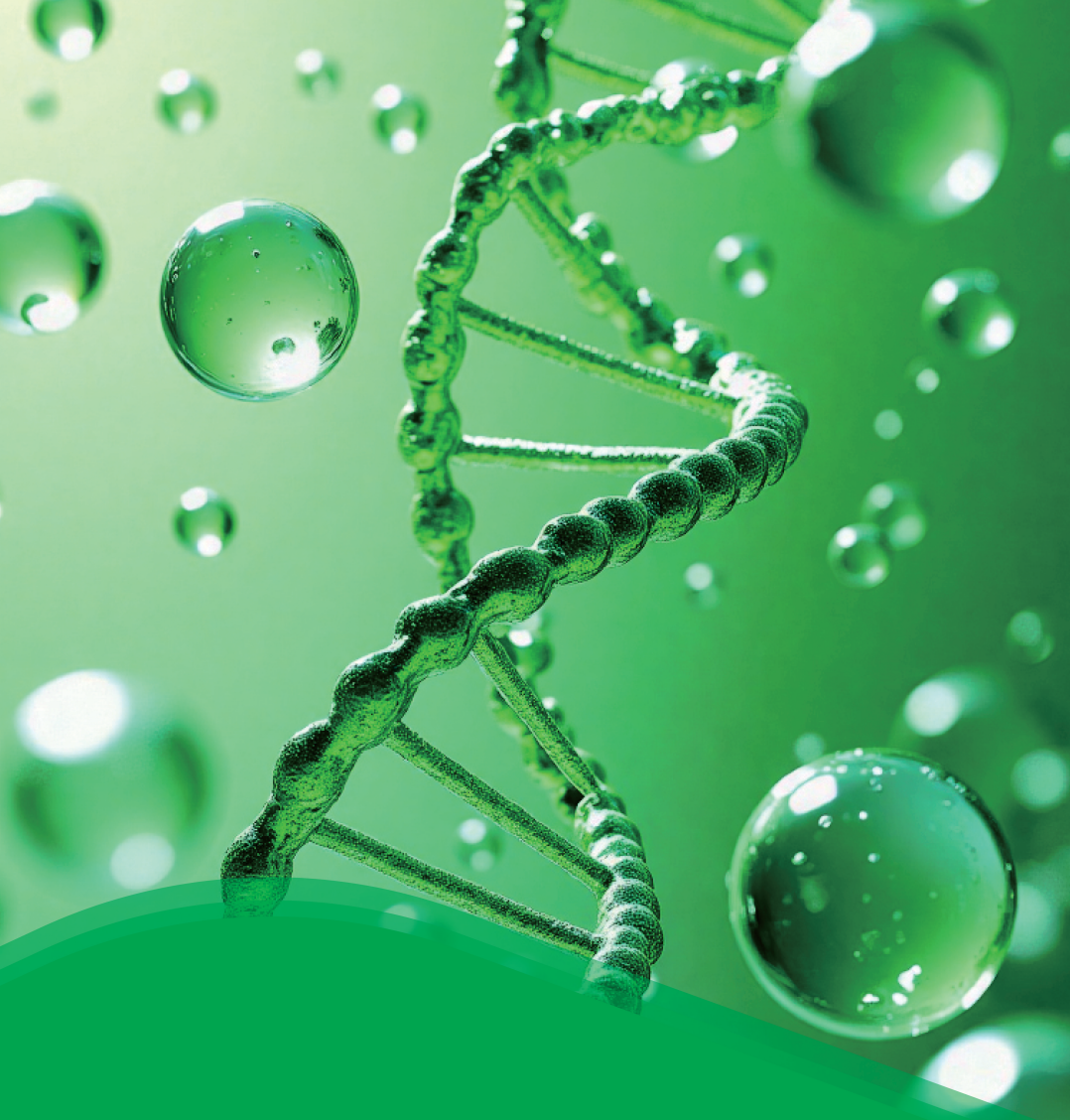




Аналитические решения для олигонуклеотидов (ферментативных нуклеотидов)



Высокопроизводительные хроматографические сорбенты

Технологическое лидерство полный ассортимент

Предоставляем мировым фармацевтическим компаниям бесшовный
переход от аналитической хроматографии к промышленной препаративной



О компании WePure

Компания WePure обладает более чем 20-летним опытом в области хроматографии и владеет передовыми технологиями производства высокоэффективных хроматографических сорбентов. Наши продукты охватывают полный рабочий цикл — от аналитического контроля до промышленной очистки, обеспечивая глобальных фармацевтических партнеров комплексными решениями для анализа и выделения на всех этапах разработки и производства.

Контролируя полный производственный цикл, мы гарантируем стабильное качество и надежность поставок. Продукция серий MicroPulite® и PrePulite® соответствует стандартам ведущих мировых брендов и поставляется в более чем 20 стран. Производственная мощность в 25 тонн силикагелевых сорбентов в год обеспечивает стабильность поставок и оперативное выполнение заказов.

WePure способствует развитию глобальной фармацевтической отрасли, предлагая высококачественные и экономически эффективные продукты, надежную логистику и оперативную поддержку, внося вклад в улучшение здоровья миллионов людей по всему миру.

Аналитические колонки: 7 серий

MicroPulite® Gold Series	Первый выбор экономичных колонок	Высокоочиcтый силикагель	Аналог Symmetry	Recommended Applications UPLC ↓ HPLC ↓ Semi-Preparative
MicroPulite® Platinum Series	Новый стандарт колонок на основе силикагеля	Высокоочиcтый силикагель	Аналог SunFire	
MicroPulite® XP Series	Гибкость в разработке методов благодаря гибридной технологии	Высокоочиcтый гибридный силикагель	Аналог XBridge BEH	
MicroPulite® PHS XP Series	Решение для сложных разделений	Гибридный силикагель с поверхностным зарядом	Аналог XSelect CSH	
MicroPulite® Perfect Series	Сбалансированное удерживание полярных соединений	Высокоочиcтый силикагель	Аналог Atlantis	
MicroPulite® HSS Series	Сверхпрочный силикагель с тройной связью	Высокопрочный силикагель	Аналог XSelect HSS	
BioPulite® Series	Биоколонок для олигонуклеотидов, пептидов, ADC линкеров, LNP и полупрепаративной хроматографии			

Препаративные сорбенты: 5 серий

PrePulite® Gold	Препаративные сорбенты на основе высокоочиcтого силикагеля
PrePulite® XP	Отличная устойчивость к кислотам и щелочам
PrePulite® Indxp	Экономичный щелочестойкий сорбент
PrePulite® PHS XP	Первый выбор для особой селективности разделения
PolyPulite®	Препаративные сорбенты на основе полимерных смол. Высокая прочность, низкое набухание, высокая емкость
Индивидуальный заказ микросфер	Настраиваемые матрица, размер пор, размер частиц, привитая фаза

Высоконапорные хроматографические сорбенты собственной отечественной разработки и производства, стабильные поставки

Национальный инкубационный парк
«Медицинская долина Гуандуна»,
район Наньша, г. Гуанчжоу

База научно-исследовательских работ,
производства и прикладных разработок площадью 1950 м²

Сертификация по стандарту ISO 9001 гарантирует высокое качество
продукции и воспроизводимость характеристик между партиями

Инновационный промышленный парк
активных фармацевтических ингредиентов
уезда Вэньюань провинции Гуандун

25 тонн силикагелевых хроматографических сорбентов,
10 тонн полимерисиликагелевых сорбентов, 50 тонн
функциональных микросферных материалов

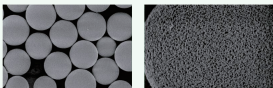


Три ключевые технологии, защищенные патентами КНР

Технология получения пористых микросфер

Патенты: ZL201010207767.3
ZL201310719498.2

Стабильное крупномасштабное производство высокочистого силикагеля, гибридного, с поверхностным зарядом, высокопрочного силикагеля с размером частиц 1.7–100 мкм для ВЭЖХ.



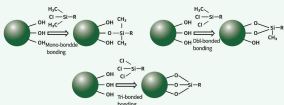
Высокочистый силикагель Гибридный силикагель Гибридный силикагель с поверхностным зарядом Высокопрочный силикагель

Превосходная однородность структуры пор
силикагелевых хроматографических микросфер

Технология прививки поверхностных слоев

Патент: ZL201010208014.4

Технологии модификации моно-, ди- и триденатной прививкой, включая фазы C8, C18, NH₂, Amide; этилфенил, пентафторфенил (PFP), диол, RP18, T3 и смешанно-модифицированные фазы.

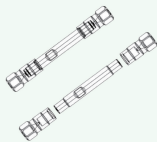


Широкий выбор типов привитых фаз.
Технология тройной связи обеспечивает
лучшу долговечность и особую селективность
разделения

Технология упаковки ВЭЖХ колонок

Патенты на рассмотрении: 202411146259.7
202411239886.5

Отработанные и стабильные процессы
упаковки и контроля для колонок UPLC,
UHPLC, ВЭЖХ и полупрепаративных
колонок.



Гарантирует стабильность и воспроизводимость
жидкостных хроматографических колонок

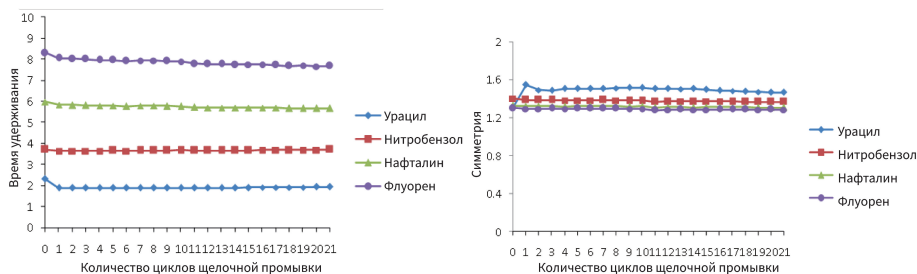
В отличие от традиционных лекарственных препаратов (например, низкомолекулярных соединений или моноклональных антител), олигонуклеотидные препараты принципиально меняют логику разработки лекарств. Они открывают возможность таргетирования «неподдающихся» (undruggable) мишеней, а также обеспечивают более высокую специфичность и улучшенный профиль безопасности. В связи с этим развитие олигонуклеотидов (прежде всего, малых интерферирующих РНК и антисмысловых нуклеотидов) в настоящее время переходит от стадии технологических изысканий к фазе коммерческого взрывного роста.

Благодаря своей высокой активности, способности воздействовать на множественные мишени и склонности к формированию вторичных структур, олигонуклеотиды предъявляют исключительно высокие требования к хроматографическому и масс-спектрометрическому анализу. В настоящее время для их разделения используются такие методы, как ионно-парная обращенно-фазовая хроматография (IP-RP), ионообменная хроматография (IEX) и хроматография на основе гидрофильных взаимодействий (HILIC). Золотым стандартом анализа на сегодняшний день является ионно-парная обращенно-фазовая хроматография, которая обеспечивает высокую эффективность разделения и превосходную совместимость с масс-спектрометрией. Однако строгие условия проведения такого анализа предъявляют особые требования к хроматографическим колонкам, и правильный выбор колонки становится критически важным этапом.

1. Серия колонок на основе гибридных силикагелей XP

Гибридные сорбентные частицы представляют собой органо-неорганическую структуру, полученную путем сополимеризации двух мономеров. По сравнению с классическим силикагелем, они обладают более широким диапазоном pH-стабильности, улучшенной химической устойчивостью и повышенной механической прочностью. В серии XP используется передовая технология гибридного силикагеля в сочетании с запатентованной трифункциональной прививкой и уникальной технологией эндкеппинга, что обеспечивает выдающиеся хроматографические характеристики. Колонки данной серии выпускаются в различных модификациях и масштабах, что делает их пригодными для использования на аналитическом и препаративном оборудовании различных производителей.

В ходе тестирования щелочной стабильности сорбентов серии XP было подтверждено, что после более чем 20 циклов промывки щелочным раствором время удерживания и форма хроматографических пиков не претерпевают значимых изменений, что свидетельствует о высокой устойчивости колонок к жестким условиям эксплуатации.



2. Анализ сырья — фосфорамидитных мономеров

Химический синтез олигонуклеотидов осуществляется с использованием фосфорамидитных мономеров, которые последовательно присоединяются к растущей цепи в циклическом процессе, включающем четыре повторяющиеся стадии: деблокирование, конденсацию (соуплинг), кэппинг и окисление. Поскольку любые примеси, присутствующие в фосфорамидитах, могут распространяться на всех этапах синтеза, контроль качества исходных фосфорамидитных мономеров имеет критическое значение.

Для анализа фосфорамидитных мономеров используется колонка MicroPulite® XP tC18. Данная система обеспечивает отличное разделение изомерных форм, присутствующих в мономерной фракции: достигается хорошая симметрия пиков, а разрешение (селективность) между двумя целевыми соединениями составляет более 1.5, что соответствует требованиям валидационных критериев.

Колонка: MicroPulite® XP tC18, 4.6×250 мм, 5 мкм (артикул: XP tC18-254650)

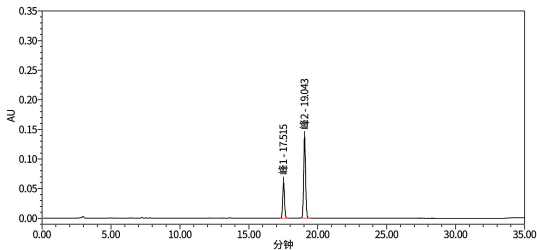
Детектор: УФ-детекция при 260 нм

Скорость потока: 1.0 мл/мин

Температура колонки: 30 °C

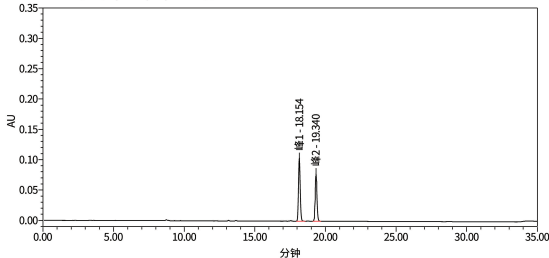
Подвижная фаза: Фаза А: 20 мМ бикарбонат аммония (pH 9.0); Фаза Б: ацетонитрил

DMI-dG(ib) фосфорамидит



	Наименование	Время удерживания (мин)	Площадь (мкВ·с)	Высота (мкВ)	Число теоретических тарелок по USP	Фактор хвостоватости по USP	Разрешение по USP
1	Пик 1	17.515	567985	60639	80457	1.0756	-
2	Пик 2	19.043	1392461	137528	81358	1.0780	5.8406

DMT-dA(bz) фосфорамидит



	Наименование	Время удерживания (мин)	Площадь (мкВ·с)	Высота (мкВ)	Число теоретических тарелок по USP	Фактор хвостоватости по USP	Разрешение по USP
1	Пик 1	18.154	876841	103987	107075	1.1009	-
2	Пик 2	19.340	699021	78249	107860	1.0929	5.0914

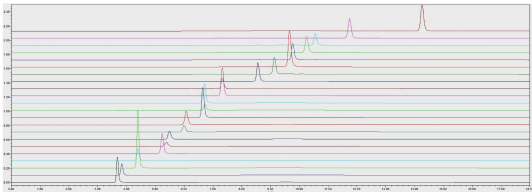
3. Анализ нуклеозидов и азотистых оснований

3.1 Разделение 22 нуклеиновых оснований, нуклеозидов и нуклеотидов

В состав РНК входят азотистые основания, нуклеозиды и нуклеотиды. Соединения данного класса обладают высокой полярностью, и для усиления удерживания обычно требуют использования ионно-парных реагентов в подвижной фазе. В настоящем применении ионно-парный реагент используется в качестве компонента элюента, что позволяет добиться эффективного разделения всех 22 соединений указанных групп в одном хроматографическом цикле.

Колонка: MicroPulite® XP RP18 Plus, 4.6×250 мм, 5 мкм (артикул: XPR18P-254650)
Детектор: УФ-детекция при 260 нм
Скорость потока: 1.0 мл/мин
Температура колонки: 30 °C
Подвижная фаза: Фаза А: 50 мМ триэтиламонийацетат (TEAA), pH 7.0; Фаза Б: ацетонитрил

T/ min	A/ %	B/ %
0	100	0
20	90	10

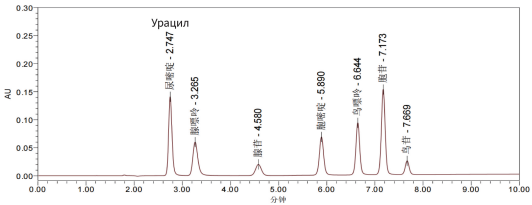


3.2 Оценка удерживания нуклеозидов и оснований в двух хроматографических режимах

Режим гидрофильных взаимодействий (HILIC)

Параметр: Значение
Колонка: MicroPulite® XP HILIC-Z, 3 мкм, 150×4.6 мм (артикул: XPHZ-154630)
Детектор: УФ-детекция при 260 нм
Скорость потока: 1.0 мл/мин
Температура колонки: 30 °C
Подвижная фаза: Фаза А: 50 мМ формиат аммония (pH доведён до 3.0 муравьиной кислотой);
Фаза Б: ацетонитрил

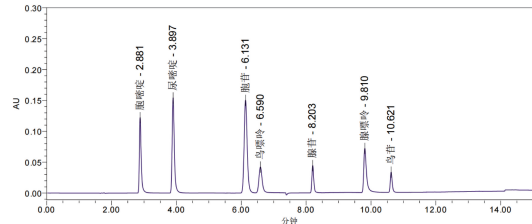
T/min	подвижная фазаА (%)	подвижная фазаВ (%)
0	15	85
2	15	85
10	40	60



Обращённо-фазовый режим (RP)

Параметр: Значение
Колонка: MicroPulite® Perfect T3, 3 мкм, 150×4.6 мм (артикул: PFTT3-154630)
Детектор: УФ-детекция при 260 нм
Скорость потока: 1.0 мл/мин
Температура колонки: 30 °C
Подвижная фаза: Фаза А: 50 мМ ацетат аммония; Фаза Б: ацетонитрил

T/min	подвижная фазаА (%)	подвижная фазаВ (%)
0	100	0
2	100	0
15	90	10



4. Анализ стандартных олигонуклеотидов длиной 15–35 меров

Анализ олигонуклеотидов методом ионно-парной обращенно-фазовой хроматографии, как правило, требует использования повышенных температур и подвижных фаз с высоким значением pH.

Фосфатные группы на осто́ве олигонуклеоти́да несут отрицательный заряд, что затрудняет их удерживание на обращенно-фазовых сорбентах, например на колонках с привитой C18. Применение положительно заряженных ионно-парных реагентов (таких как широко используемые триэтиламин, бутиламин, гексиламин и др.) обеспечивает электростатическое взаимодействие с фосфатными группами олигонуклеотидов. Образующийся ионный комплекс обладает значительно повышенной гидрофобностью, что позволяет удерживать его на обращенно-фазовой колонке C18.

С увеличением длины олигонуклеоти́да сложность разделения возрастает. На эффективность разделения фракций n и $n-1$ (отличающихся всего на один нуклеотид) влияют такие параметры, как длина углеродной цепи и концентрация ионно-парного реагента, значение pH, а также доля органической фазы. Достижение высокого разрешения в таких системах затруднительно при использовании только ионообменной хроматографии.

Кроме того, исследования показывают, что повышение температуры до 60 °C и выше способствует снижению влияния вторичной структуры олигонуклеотидов на удерживание. Для некоторых олигонуклеотидов, обогащенных парами CG или гуанином и обладающих выраженной вторичной структурой, может потребоваться повышение температуры колонки до 80 °C и более.

Колонки MicroPulite® XP Oligo tc18 были протестированы в условиях повышенной температуры и высокого pH как на системе UPLC, так и на HPLC для анализа стандартных олигонуклеотидов длиной 15–35 меров. Результаты подтвердили эффективное разделение примеси $n-1$.

Условия хроматографирования:

Параметр:Значение

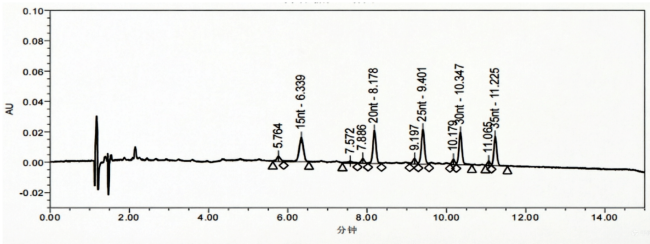
Колонка:MicroPulite® XP Oligo tc18, 2.1×100 мм, 1.7 мкм (артикул: XPOTC18-102117)

Прибор:Waters H-class, УФ-детекция при 260 нм

Скорость потока:0.2 мл/мин

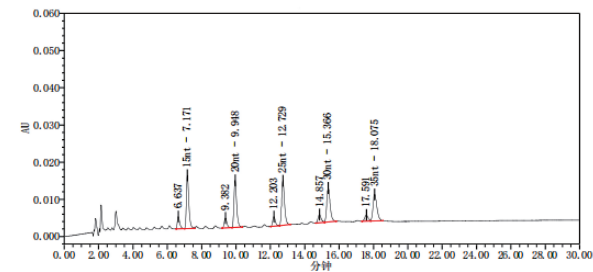
Температура колонки:60 °C

Подвижная фаза: Фаза А: 100 мМ ТЕАА; Фаза Б: 80 % 100 мМ ТЕАА + 20 % ацетонитрила



	Наименование	Время удерживания (мин)	Площадь (мкВ·с)	Высота (мкВ)	Площадь, %	Содержание	Единицы измерения	Число теоретических тарелок по USP	Фактор хвостоватости по USP	Разрешение по USP
1		5.764	25329	3587	3.57			19243	0.9219	-
2	15nt	6.339	124739	16098	17.56			17330	0.8710	2.9103
3		7.572	14143	1377	1.99			37953		4.2271
4		7.886	21217	3575	2.99			54462	0.9203	1.1158
5	20nt	8.178	120227	21859	16.92			56801	1.0308	1.8195
6		9.197	25659	4027	3.61			39643		6.7876
7	25nt	9.401	127714	23203	17.98			70840	1.0173	1.3720
8		10.179	19783	3789	2.78			90458		4.8759
9	30nt	10.347	114509	21446	16.12			90334	0.9955	1.0762
10		11.065	14503	3090	2.04			114668		5.0690
11	35nt	11.225	102644	19587	14.45			113559	1.0839	1.1182

Колонка: MicroPulite® XP Oligo tC18, 3×100 мм, 2,5 мкм (артикул: XPOtC18-103025)
Прибор: Waters Arc HPLC, УФ-детекция при 260 нм
Скорость потока: 0.3 мл/мин
Температура колонки: 60 °C
Подвижная фаза: Фаза А: 100 мМ ТЕАА; Фаза Б: 80 % 100 мМ ТЕАА + 20 % ацетонитрила
Хроматограммы: см. на отдельном рисунке.



	Наименование	Время удерживания (мин)	Площадь (мкВ·с)	Высота (мкВ)	Число теоретических тарелок по USP	Фактор хвостоватости по USP	Разрешение по USP
1		6.637	31309	3282	11561	1.4139	-
2	15nt	7.171	138370	14288	13244	1.4231	2.0804
3		9.382	27984	2678	19572	1.2632	8.2728
4	20nt	9.948	133553	12841	20993	1.3100	2.0248
5		12.203	27511	2564	30304	1.1610	7.9540
6	25nt	12.729	136356	11966	29568	1.2937	1.7865
7		14.857	27559	2180	32687		6.5938
8	30nt	15.386	126653	9198	29430	1.2399	1.434
9		17.591	22554	1617	35124		5.9320
10	35nt	18.075	114233	7127	29177	1.2399	1.1902

5. Анализ липидов в составе липидных наночастиц (ЛНЧ)

Липидные наночастицы (ЛНЧ) являются предпочтительными носителями для доставки мРНК-терапевтических препаратов и вакцин. Их состав обычно включает ионизируемый липид, вспомогательный фосфолипид, холестерин и ПЭГ-липид.

Колонка BioPulite® XP Protein tC18 300Å с широкими порами (300 Å) оптимизирована для анализа крупных биомолекул. В свою очередь, колонки на основе фенильной фазы, благодаря синергетическому эффекту π-π взаимодействий и гидрофобных сил, обеспечивают высокоэффективное разделение липидов на основе степени ненасыщенности, положения двойных связей и геометрической конфигурации. Такие колонки являются важным дополнением к колонкам C18 и особенно полезны при анализе биологических образцов с высоким содержанием изомеров и значительными различиями в полярности, что типично для липидомики.

Условия хроматографирования:

Колонка: 1 - широкопористая фаза Protein tC18

Параметр: Значение

Колонка: BioPulite® XP Protein tC18 300Å,
3,5 мкм, 4,6×250 мм

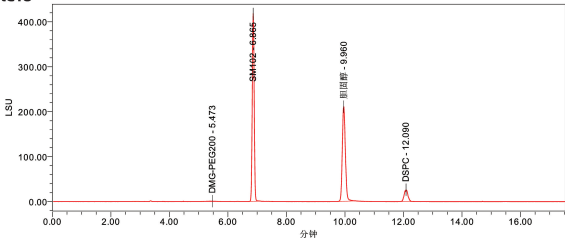
Детектор: ELSD, температура 50 °C

Скорость потока: 1.2 мл/мин

Температура колонки: 65 °C

Подвижная фаза: Метанол :

200 мМ формиат аммония = 96 : 4 (об./об.)



Колонка 2 - фенил-гексильная фаза

Параметр: Значение

Колонка: MicroPulite® PHS XP Phenyl-Hexyl, 3.5 мкм, 50 × 4.6 мм (артикул: PHSPH-054635)

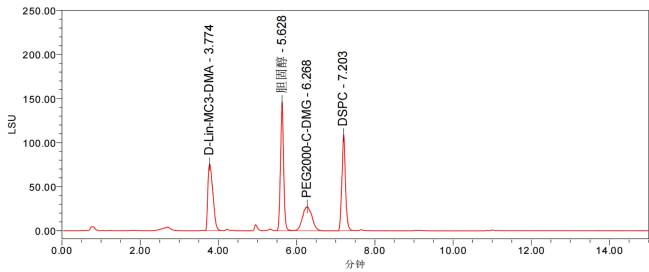
Детектор: ELSD (Waters 2424)

Скорость потока: 1.0 мл/мин

Температура колонки: 50 °C

Подвижная фаза: Фаза А: вода

(с 0.1 % муравьиной кислоты); Фаза Б: ацетонитрил (с 0.1 % муравьиной кислоты)



	Наименование	Время удерживания (мин)	Площадь (мкВ·с)	Высота (мкВ)	Число теоретических тарелок по USP	Фактор хвостоватости по USP	Разрешение по USP
1	D-Lin-MC3-DMA	3.774	678493	75599	3983.14	1.67	-
2	Холестерин	5.628	806340	146320	22559.13	1.05	9.57
3	PEG2000-C-DMG	6.268	460981	27538	2705.33	1.05	2.16
4	DSPC	7.203	692972	108894	26648.42	1.08	3.07



“WePure” WeChat Official



WePure Biotech (Guangzhou) Co., Ltd.

Add: 9/F, Building 7,6 Nanjiang Second Rd., Zhujiang Street, Nansha District, Guangzhou, China

Tel: 020-39394992

Fax: 020-39394993

Url: www.wepuretech.com

E-mail: support@wepuretech.com