

褐色瓶越しのポリソルベート 20 および 80 の 迅速な直接同定

SORS 搭載の Agilent Vaya ハンドヘルドラマン分光装置により
ポリソルベートの消費期限を保持

著者

Frédéric Prullière
Christopher Welsby
Agilent Technologies, Inc.

はじめに

ポリソルベート 20 (PS 20) (Tween 20) およびポリソルベート 80 (PS 80) は、バイオ医薬品製剤において有効成分を保護するために広く使用されている非有効成分であり、市販のモノクローナル抗体製剤の約 80 % に含まれています。

ポリソルベートは、加水分解または自己酸化により劣化しやすいため、特定の包装材と包装条件を必要とします。消費期限にわたって製品の組成を維持するために、PS 20 および PS 80 は不活性雰囲気下で包装され、通常は小～中型の褐色瓶内で保管されます。

原料に関する ICH 要件 (1) では、バイオ医薬品および医薬品メーカーに対し、ポリソルベートを使用前に同定することが義務付けられています。ただし、同定試験を FTIR や湿式化学分析によって行う場合は、各ボトルからのサンプリングが必要になり、これがサンプルの無菌性に影響を与え、劣化原因になる可能性があります。

ラマン分光法は、これらの分析法に代わる手法であり、サンプルボトルを開封することなく、原料の検証と同定を直接行うことができます。ところが、市販されているラマン分光装置の多くは、褐色瓶越しにポリソルベートのスペクトルを妥当な品質で収集することができません。

今回の研究では、空間オフセット型ラマン分光 (SORS) 技術を搭載した Agilent Vaya ラマン分光装置を使用して、褐色ガラス越しに PS 20 および PS 80 の同定と識別を行いました。

原料の非破壊的同定試験



図 1. SORS 搭載の Agilent Vaya ラマンハンドヘルド分光装置を使用して、倉庫で褐色瓶越しに材料を同定している様子

図 1 に示すように、Vaya ラマンハンドヘルド分光装置を使用して、バイオ医薬品および医薬品製剤に使用する前に原料を検証できます。この装置では、必要ときに必要とされる場所で、透明および不透明容器越しにわずか数秒で定性試験を直接実施することが可能です。このような非破壊的試験法なら、大量の原料の受け入れ、試験、およびリリースにも、1 名のオペレータが数時間で容易に対応することができます。また、Vaya 装置には、独立したサンプリング室、容器の开封、サンプルハンドリング、および防護服が必要ないため、他の手法よりも迅速かつ効率的に、コスト効率よく試験を行えます。

空間オフセット型ラマン分光

空間オフセット型ラマン分光法 (SORS) は、拡散散乱材料を通過する光伝搬の理論をラマン分光法と組み合わせることにより、不透明容器越しの分析を実現します。

SORS では、レーザー光源によって励起されるサンプル領域と、検出器が情報を収集するサンプル領域との間に物理 (空間的) オフセットが導入されます。オフセット構成で容器越しに材料を分析する場合には、ラマン光子が主にサンプル表面下から発生し、表面下、すなわち原料に関する「情報」を豊富に含むスペクトルが得られます。一方、物理オフセットなし、つまりオフセット「ゼロ」のスペクトルには、上層、すなわち容器に関する情報が豊富に含まれます。これらのスペクトルをスケールリングし、原料に関する情報が豊富な「オフセット」スペクトルから、容器に関する情報が豊富な「ゼロオフセット」スペクトルを差し引くことで、容器の寄与を除外した原料のみのスペクトルが得られ、それをもとに同定検証を行います。

従来のラマン後方散乱分光法とは異なり、SORS では、同定試験を多様な透明および不透明容器越しに確実に実施できます。褐色瓶、多層紙袋、色付きおよび透明プラスチックライナの他、ポリエチレン (PE)、ポリエチレンテレフタレート (PET)、ポリプロピレン (PP)、およびポリカーボネート (PC) 製の不透明容器など、さまざまな容器に適応できます。

SORS 技術を搭載したアジレントの分光装置は、主に次の 2 つの特長を備え、褐色瓶など遮光容器越しの測定で威力を発揮します。

- 高感度 CCD 検出器により、微弱な (減衰した) オフセット信号、すなわち褐色ガラスを通過した光が捕捉されます。
- 容器の蛍光など、ゼロオフセット (容器) の信号がアルゴリズムによって完全に差し引かれるため、蛍光による干渉を目的成分の信号からすべて排除できます。

実験方法

PS 20 と PS 80 を識別して同定する Vaya 分光装置の性能を評価するために、PS 20 および PS 80 をそれぞれ同定検証する 2 つのメソッドを開発しました。各メソッドの作成には、米国民医薬品集 (NF) および複数の公定書に適合したグレードの、Avantor Sciences 社 (米国ペンシルベニア州ラドノール) JT Baker ブランドの PS を使用しました。

メソッド自体の開発には、Vaya の組み込みメソッド開発ウィザードを使用しました。また、このアプリケーションノートに掲載のスペクトルデータの生成時には、標準設定 (特定のガラス容器) を使用しました。Vaya システムの標準分析プロトコルに組み込まれている自動ベースライン補正以外には、追加のデータ処理は行いませんでした。オペレータが指定する容器タイプに関する情報を除き、すべての取り込みパラメータは Vaya システムによって自動的に設定されました。SORS スペクトルの取り込み前に、性能適格性評価試験を実施しました。

特異性を評価するために、両方の PS サンプルを使用して各メソッドの負荷試験を 10 回行いました。JT Baker のボトルを選択したのは、分析がより困難な暗色であること、また不透明度、色、および厚さに大ききなばらつきがあることがわかっていたためです。

同じ PS 20 および PS 80 サンプルを、波長 785 nm のレーザーが装着された従来の後方散乱ラマン分光装置でも分析しました。スペクトルを採取するために使用した取り込みパラメータは装置によって自動的に設定され、スペクトルに対して追加のデータ処理は行いませんでした。

すべての測定は、標準的な環境光条件（自然光 LED ライト）下で室温で行いました。

結果と考察

従来のラマン分光装置および SORS 搭載の Vaya ラマン分光装置を使用して JT Baker の褐色瓶越しに取り込んだ PS 20 および PS 80 のラマンスペクトルを図 2 に示します。2 種類の装置で取り込んだスペクトルには、明らかな違いがあります。SORS 装置で得られたスペクトルには、PS 20 および PS 80 サンプルのラマンバンドが明白に現れています。これは、これらの 2 つの材料を分光的に識別できることを示します。約 1650 cm^{-1} に現れているバンドは、PS 80 に含まれるモノオレート類の特性バンドであり、2 つの材料を識別するうえで主要な役割を果たします。

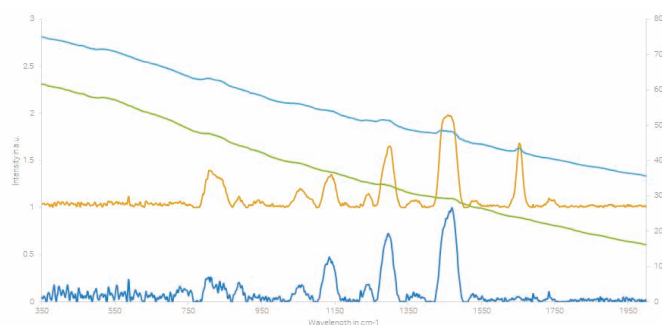


図 2. 従来のハンドヘルドラマン分光装置と Vaya SORS 分光装置で褐色ガラス越しに取り込んだ PS 20 および PS 80 のラマンスペクトル。濃青色の線は Vaya ラマン分光装置で取り込んだ PS 20、緑色の線は従来のラマン分光装置（785 nm のレーザー）で取り込んだ PS 20、オレンジ色の線は Vaya ラマン分光装置で取り込んだ PS 80、淡青色の線は従来のラマン分光装置（785 nm のレーザー）で取り込んだ PS 80 のスペクトルです。

従来の後方散乱ラマン分光装置で波長 785 nm のレーザーを使用して取り込んだ PS のスペクトルでは、高強度の蛍光と褐色瓶による遮光により、ラマンバンドが非常に弱くなっています。もはや、1650 cm^{-1} の特性ピークを明確に識別することはできません。一方、Vaya では、NIR 波長レーザー（830 nm）を使用し、SORS によって容器の寄与分（ゼロオフセットスペクトル）を差し引くことで、容器の蛍光が抑えられています。

分光分析の負荷試験マトリックス

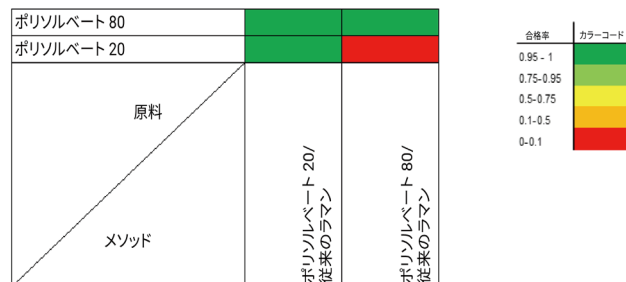


図 3. 従来のラマン分光法による PS 同定の負荷試験マトリックス

負荷試験マトリックスは、構造類似性の高い材料を同定試験によってどの程度識別して正しく同定検証できるかを図表化したものです。負荷試験マトリックスには、各成分用に開発した同定検証メソッドによりそれぞれの成分の同定試験を実施した結果が示されています。理想的な負荷試験マトリックスでは、「合格率」が 0.95 を超えているセルがマトリックスの対角線上に並びます。これは、メソッドにより対応する材料が完全に認識されることを示します。また、対角線から外れたセルは、すべて合格率が 0.1 未満になっていなければなりません。これは、メソッドにより、該当外の成分を含む材料が不合格として正しく判定されることを示します。つまり、理想的なマトリックスであれば、一連のメソッドの偽陽性が低く、倉庫環境において信頼性の高い結果が得られます。従来のラマン分光装置で分析した PS 20 と PS 80 の負荷試験マトリックスから、この装置の選択性が低いことがわかります（図 3）。PS 20 用のメソッドでは、PS 20 と PS 80 が識別できていません。また、PS 80 は、PS 80 と PS 20 の両方のメソッドで合格判定が下されています。

これに対し、Vaya SORS 分光装置で開発した PS メソッドは、図 4 に示すように、優れた選択性を示しています。その負荷試験マトリックスから、PS 20 と PS 80 を容易に識別できることがわかります。

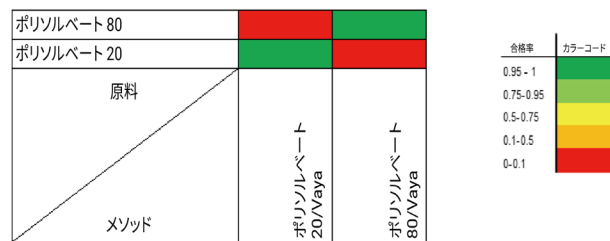


図 4. Vaya SORS による PS 同定の負荷試験マトリックス

結論

SORS 搭載の Agilent Vaya ラマン分光装置を使用することにより、サンプリングのためボトルを開封することなく、褐色瓶越しに PS 20 および PS 80 を選択的に同定することができました。

バイオ医薬品および医薬品環境において低コストで効率的かつ合理的な原料受け入れプロセスを実現するには、ボトルや不透明な容器越しの原料の迅速な同定が不可欠です。このような同定試験を用いれば、受け入れプロセスでの危険な材料への曝露が低減し、スタッフにとってより安全な環境づくりにもつながります。

直接試験メソッドでは、FTIR や従来のラマン分光装置による試験に必要な多くのステップが不要になります。また、サンプリング室をクリーニングしたり、サンプリングまたは分析のために隔離エリアに容器を出し入れする必要がなく、原料の劣化リスクや試薬の廃棄コストも削減できます。さらに、空気に敏感な材料の消費期限を保つこともできます。

SORS ベースの分光装置によってもたらされるこれらの利点は、医薬品原料に限らず、成分/原料のラマン散乱断面積が小さく、その包装に遮光容器が使用されているその他多くのアプリケーションにも活かすことができます。

参考文献

1. ICH 7.30 Page 16 Of ICH Q7: ICH Harmonised Tripartite Guideline Good Manufacturing Practice Guide For Active Pharmaceutical Ingredients Q7. Accessed April 2021.
<https://database.ich.org/sites/default/files/Q7%20Guideline.pdf>

【お問い合わせ先】

Agilent ラマン製品に関する販売およびサポートは、
ジャパンマシナリー株式会社に委託しております。
お問い合わせはジャパンマシナリー株式会社までお願いいたします。

ジャパンマシナリー株式会社

電話番号：

03-3730-4891

お問い合わせフォーム：

<https://www.japanmachinery.com/contact/>

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、
医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。
本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに
変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2021
Printed in Japan, April 20, 2021
5994-3459JAJP
DE44301.6045833333