

## Agilent Vaya ラマンシステムを用いた 合成ペプチド製造のための原料検証



### 著者

Chris Welsby, Soleil Grise, and  
Frédéric Prullière  
Agilent Technologies, Inc.

### 概要

ペプチド医薬品の製造技術の進歩により、合成ペプチドの大規模生産が可能となり、高純度の合成ペプチドを大量に生産できるようになりました。グルカゴン様ペプチド受容体作動薬 (GLP-1 RA) の幅広い需要により、合成ペプチドの生産能力が逼迫し、効率的でスケーラブルなツールの必要性が明らかになりました。Agilent Vaya ラマン原料同定検証システムは、容器越しの同定能力があるため、独自の効率的な原料検証が可能です。このアプリケーションノートでは、合成ペプチド製造における主要な構成要素であるフルオレニルメトキシカルボニル (Fmoc) 保護アミノ酸を、Vaya を用いて容器越しに同定・識別した例について紹介します。

## はじめに

ペプチドはアミノ酸の短い鎖 (< 40) であり、その特異性・選択性・効力ゆえに強力な治療薬となり得ます。さらに、ペプチドは経口投与の設計が可能であるため、非経口投与の薬剤に比べて患者経験価値が向上します。GLP-1 RA などの代謝を調節するペプチドは、糖尿病の治療や体重管理に効果があることから、急速に利用が進んでいます。この成長を続ける医薬品群には、セマグルチド、リラグルチド、チルゼパチド、エキセナチドなどのジペプチジルペプチダーゼ-4 阻害薬 (DPP4) 分解耐性ペプチドがあります。

ペプチドは、組み換え DNA 技術を利用するか、合成により製造可能です。組み換え DNA を使用した製造の場合、原料は以前のアプリケーションノート<sup>1</sup>で概説したのと類似したことになります。合成手段による生産には、特殊なアミノ酸・溶媒・試薬など、大幅に異なる一連の原料が必要です。

### 合成ペプチド製造

合成ペプチドの製造は通常、固相ペプチド合成 (SPPS) または液相ペプチド合成 (LPPS) の 2 つのメソッドで行われます。SPPS は、GLP-1 RA などのより長いアミノ酸配列または、より複雑なアミノ酸配列によく使用され、固体担体樹脂上でのアミノ酸の配列アセンブリを伴います。

### 合成ペプチド合成の原料

原料の観点からは、ペプチド合成における重要な出発物質は Fmoc 保護アミノ酸です。Fmoc 保護は、特定のペプチドを生成するための合成プロセスとアミノ酸カップリングをサポートするために必要です。SPPS 製造では、高品質の最終製品を確実に生産するために、使用前に構成ブロックと試薬の ID を検証することが重要です。規制当局は、製品の安全性を確保するために、医薬品製造用原料の検証を世界的に課しています。

これまで、従来の後方散乱を使用するラマンハンドヘルドデバイスでは、容器を開けてサンプルを採取する必要があったため、汚染が生じたり、原料の消費期限が短くなる恐れがありました。Fmoc 保護アミノ酸は光と空気に敏感であるため、製造に使用する前に原料の完全性を保証するには、容器を開けずに同定することが理想的です。

Vaya ラマンは、空間オフセット型ラマン分光 (SORS) を使用するハンドヘルドデバイスです。SORS を使用すると、茶色ボトル、厚いプラスチックや紙袋などの透明または不透明の容器越しに原料を検証できるため、容器を開ける必要がなくなります。このアプリケーションノートでは、容器越しで Vaya の ID 検証機能を試験して、Fmoc 保護アミノ酸を同定しました。

## 実験方法

Fmoc 保護アミノ酸のサンプルは、Sigma-Aldrich から、白色の高密度ポリエチレン (HDPE) または茶色ボトルで提供されました。表 1 に、このアプリケーションノートで使用された各原料の構造と命名法の概要と、元の容器に入った原料の写真を示します。

それぞれの容器を開けずに 4 つの Fmoc 保護アミノ酸を Vaya を用いて分析するメソッドを開発しました。デバイス上のガイド付きソフトウェアは、メソッドを作成し、モデルが確実に判別可能となるステップを提供します。メソッド開発中に、このソフトウェアは、最適な容器減算ができるように容器タイプを選択するように求めます。今回は、茶色ボトルにはガラス、白色の HDPE ボトルには厚いプラスチックを選択しました。

メソッドが作成および検証されると、Fmoc 保護アミノ酸は、40 秒未満のスキャン時間で茶色ボトルまたは白色 HDPE 越しに同定・識別できるようになり、明確で簡単な合格/不合格の結果が得られます。Vaya を使用した分析の様子を図 1 に示します。

表 1. 原料の概要

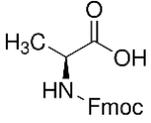
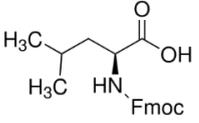
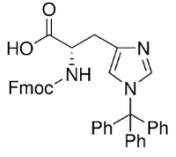
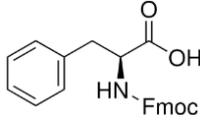
原料の構造				
原料の名称	Fmoc アラニン水酸化物 (Fmoc-Ala-OH)	Fmoc ロイシン水酸化物 (Fmoc-Leu-OH)	Fmoc ヒスチジン TRT 水酸化物 (Fmoc-HIS(Trt)-OH)	Fmoc フェニルアラニン水酸化物 (Fmoc-Phe-OH)
元の容器に入った原料の写真				
メソッド開発のためにデバイスで 選択された容器タイプ	ガラス	厚いプラスチック	厚いプラスチック	厚いプラスチック



図 1. Fmoc 保護アミノ酸の検証に使用されている Agilent Vaya ラマン原料同定検証システム

## 結果と考察

Fmoc 保護アミノ酸は、茶色ボトル越しおよび白色 HDPE 越しの両方で識別可能なラマンスペクトルを示しています。化学的類似性があるにもかかわらず、Vaya SORS は原料の完全性を維持しながら、容器越しに Fmoc 保護アミノ酸の同一性を素早く区別して検証します。

図 2 において、 $1,481\text{ cm}^{-1}$  の特徴は Fmoc 保護基に起因したもので、原料グループ全体で一貫しています。保護基の特徴は、天然アミノ酸と比較して、Fmoc 保護アミノ酸に特有のもので、さらに、 $1,003$ 、 $1,026$ 、 $1,582\text{ cm}^{-1}$  に芳香族基に対応する特徴があり、 $1,675$  および  $1,687\text{ cm}^{-1}$  の特徴によってカルボニル基を識別できます。

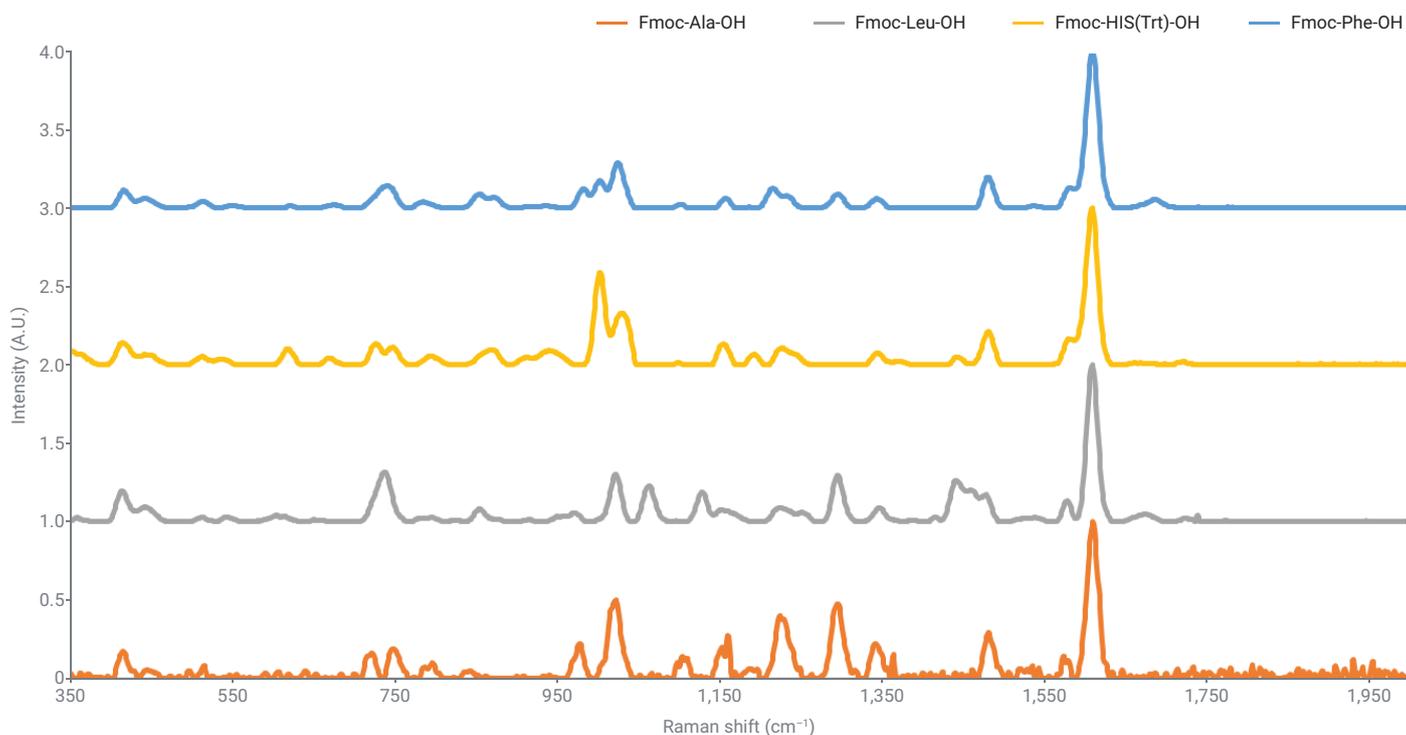


図 2. Fmoc 保護アミノ酸のスペクトル

## 結論

GLP-1 受容体作動薬などのペプチド生物製剤の需要は今後も増加し続け、現在の製造能力を上回ると予想されます。需要に効果的に対応するには、Agilent Vaya ラマン原料同定検証システムなどのスケーラブルなソリューションを導入して効率性を高めることで、原料の同定や規制で求められる検証で生じる可能性のあるボトルネックを回避できる場合があります。さらに、Vaya は非破壊的かつ非侵襲的な同定を実施できるため、原料の完全性を維持しながら、迅速に原料を生産に送り出すことができます。

### 【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いません。  
 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。

RA45490.3869560185

アジレント・テクノロジー株式会社  
 © Agilent Technologies, Inc. 2024  
 Printed in Japan, July 29, 2024  
 5994-7610JAJP

## 参考文献

1. Prullière, F.; Welsby, C. Differentiating Biopharmaceutical Raw Materials Using Spatially Offset Raman Spectroscopy, *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-3534EN, 2021.

## その他のリソース

Vaya ハンドヘルドラマン分光装置

バイオ医薬品溶媒の高速検査

バイオ医薬品原料の識別