

製品安定性の確保：バイオ医薬品における ポリソルベート分解分析の必要性

概要

ポリソルベートは生物製剤の形成に不可欠な界面活性剤で、タンパク質の安定性と薬効を維持するために重要です。ただし、加水分解と酸化によるポリソルベートの分解は、粒子形成やタンパク質の不安定さなど、大きなリスクをもたらします。ポリソルベートに関する現在の規制の状況は地域によって異なり、ポリソルベートの分解に関しては今後規制されると予想されます。このホワイトペーパーでは、開発プロセスの早期にポリソルベートの分解を検出し軽減するための、革新的な分析メソッドの必要性に焦点を当てます。ポリソルベートの分解生成物の高速かつ包括的な分析を促進するための有望なソリューションとして、Agilent AdvanceBio 界面活性剤プロファイリング HPLC カラムを紹介します。

はじめに

ポリソルベートは、生物製剤分野で不可欠な界面活性剤であり、医薬品の安全性と有効性を維持するための、生物製剤タンパク質の安定化に重要な役割を果たします。ただし、製剤成分の加水分解や酸化により、タンパク性または遊離脂肪酸の粒子が生成されるなど、ポリソルベートの分解により悪影響が生じる可能性があります。

ポリソルベート分解のリスクと影響に対して認識が広まっているものの、生物製剤におけるポリソルベートの規制の状況は化合物や国によって大きく異なります。さらに、ポリソルベートの分解に対処するための将来的な規制が予測されます。

既知のリスクと予想される規制変更を考慮すると、ポリソルベート分解の分析における技術革新が必要です。堅牢性の高い分析メソッドと将来を見据えた戦略を導入することにより、メーカーは生物製剤に関するコンプライアンスと品質を確保することができます。このホワイトペーパーでは、ポリソルベート、およびポリソルベート分析メソッドに課せられている現在の規制について取り上げます。まだ広く導入されていないものの、新しい分析メソッドは、混合モード液体クロマトグラフィー (LC) を使用した現在の標準的な手法よりも、包括的な情報を提供することが可能です。特に、Agilent AdvanceBio 界面活性剤プロファイリング HPLC カラムには多様な結合相の選択性があり、短い分析時間で高分解能を実現します。

生物製剤のポリソルベートに対する現在の規制状況

ポリソルベート、特にポリソルベート 20 および 80 は、生物製剤の形成において界面活性剤として広く使用されています。これらの界面活性剤は、凝集と変性を防ぐことにより、生物製剤タンパク質を安定化させます。これは医薬品の効能と安全性を保つために不可欠です。ポリソルベートは生体適合性が高く、毒性が低い上に、その汎用性と有効性が示されています。

生物製剤の界面活性剤に関する現在の規制は化合物や国ごとに異なります。中国薬局方¹は、ポリソルベート 80 の脂肪酸組成に対して厳格な規制を課しています。

- オレイン酸組成は 98 % 以上である必要があります。
- リノール酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、ミリスチン酸、リノレン酸など、残りの脂肪酸はそれぞれ 0.5 % 未満でなければなりません。

欧州薬局方²、日本薬局方³、米国薬局方⁴では規制が整合されています。

- オレイン酸は組成中に 58 % 以上占める必要があります。
- リノール酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、ミリスチン酸、リノレン酸など、残りの脂肪酸はそれぞれ 18 %、16 %、8 %、6 %、5 %、4 % 以下でなければなりません。

ポリソルベート 20 脂肪酸組成に関する規制は、国ごとにさらに大きく異なります。日本薬局方では、ポリソルベート 20 に対して特定のモノグラフはありません。³

欧州/中国薬局方には同一の規制があります。

- ラウリン酸は 40 ~ 60 %、ミリスチン酸は 14 ~ 25 %、パルミチン酸 7 ~ 15 % の組成である必要があります。
- 残りの脂肪酸は次の限度内とする必要があります。オレイン酸 ≤ 11 %、カプリン酸およびカプリル酸 ≤ 10 %、ステアリン酸 ≤ 7 %、リノレン酸 ≤ 3 %、カロン酸 ≤ 1 %。^{1,2}

米国薬局方 (USP) には欧州/中国薬局方と類似の規制があるものの、ステアリン酸に対してはより高い含有率 (≤ 11 %) を許容しています。^{4,5}

研究用新医薬品関連業界に対する米国食品医薬品局 (FDA) のガイダンスでは、医薬品に使用されるすべての成分を列挙することを推奨しています。⁶ 特に、公定の賦形剤を含めたり、USP または米国国民医薬品集の品質基準を参照することも含まれています。医薬品の分解プロファイルに対する更新が要求されているものの、これには賦形剤や界面活性剤は含まれません。ただし、粒子サイズ分布 (ポリソルベートの加水分解によって直接影響を受ける可能性がある属性) に関するデータが要請されます。⁶

欧州医薬品庁 (EMA) ガイダンスでは、定量情報、賦形剤の性質、成分の機能と選択に関する説明など、使用される賦形剤の組成を要求しています。⁷ EMA はまた、同定試験も求めており、より新しいガイダンスでは、パッケージのパフレット上の警告とリスクについても対象となっています。⁸

USP、FDA、EMA ではポリソルベート分解の悪影響を認識しているものの、現在まで、ポリソルベート分解の試験を要求する公式の声明や規制はありません。リパーゼはポリソルベートを加水分解することが知られているため、宿主細胞タンパク質分析を促進するために、USP ではリポタンパク質リパーゼの安定同位体標識ペプチドの提供を開始しています。⁹ FDA は 2023 FDA Science Forum で、ポリソルベート 20 の加水分解に関するポスターを掲載し、その後、そのトピックに関するジャーナルを公開しています。^{10,11} これらの資料では、ポリソルベートの加水分解によ

り肉眼では見えないタンパク性粒子や遊離脂肪酸粒子が形成され、生物製剤に悪影響を及ぼす可能性があり、重要な品質特性と見なされていることが指摘されています。EMA は、タンパク質の不安定化の原因となる、ポリソルベート自己酸化の傾向について言及しています。⁸ 規制機関はポリソルベート分解のリスクと影響について認識しており、バイオ医薬品コミュニティでは今後の規制が予測されています。

革新的な技術を促進：極めて重要性の高い ポリソルベート分解の分析

現行の規制要件を満たす標準的なメソッドとは、広く導入されている界面活性剤の定量メソッドで、混合モード LC カラム、および蒸発光散乱検出器 (ELSD) または荷電化粒子検出器 (CAD) を使用します。¹² 通常、このメソッドは高速で、10 分未満で完了し、界面活性剤は単一ピークとして溶出するため簡単に定量できます。分解生成物はボイドボリュームで溶出し、定量の妨げとなりません。

ますます多くの科学者たちが加水分解や酸化によるポリソルベートの分解を認識するようになっており、2 次界面活性剤アッセイを採用しています。この 2 次アッセイは逆相メソッドであり、時間を要するものの、ポリソルベートの分解生成物を保持し分離することにより、混合モードメソッドよりも包括的な情報を提供します。加水分解は、ELSD、CAD、または質量分析 (MS) を使用して、ポリソルベート単量のピークから遊離脂肪酸を分離することにより検出します。酸化は、ホルムアルデヒド、酢酸、ペルオキシラジカルなど、エステル、エポキシエステル、ギ酸、アルデヒドの同定を始めとする、さまざまな手法で検出します。ただし、酸化は界面活性剤の脂肪酸のポリオキシエチレン (POE) 基や不飽和の部分で発生する可能性があるため、より明確に同定するために、多くの場合に MS 検出が好ましいとされています。

ポリソルベートの分解の経路を判断することが、有効な軽減策の開発に不可欠です。加水分解が発生している場合、粒子形成のリスクは重大です。軽減策ではおそらく、宿主細胞タンパク質、特にリパーゼまたはエステラーゼを除去する、より優れた精製が使用されます。酸化は、残留過酸化物質、遷移金属、または光曝露を原因とする場合があります、生物製剤が酸化する可能性もあります。どちらの形態の分解でも、ポリソルベート自体の有効性も低下します。

16 社の大手バイオ医薬品企業に関して、ポリソルベート分解の広範な調査が実施されています。この研究では、およそ 2/3 企業が、加水分解 (69%) と酸化 (63%) の両方を 1 つ以上の各社医薬品で確認しています。^{13,14} 約 90% の企業が加水分解を報告しており、これが珍しい問題であることを示しています。ただし、酸化はそれほど多く発生していないものの、この分解プロセスは、依然として重大な問題の原因となります。

ポリソルベート分解による可能性のある悪影響を考慮すると、問題の速やかな検出と対処のために、開発パイプラインの早い段階において、ポリソルベート分解特性解析アッセイを導入することが重要です。通常 C8 または C18 カラムを使用する逆相メソッドは、有効であるものの時間がかかり、全長生成物のピークから不純物を分離するために、多くの場合に 40 ~ 60 分を要します。

Agilent AdvanceBio 界面活性剤プロファイリングカラムは、特に界面活性剤分解に対応できます。堅牢性のために設計されたこの LC カラムは、多様な結合相の選択性を備えており、より短時間で、短いカラムにより不純物を高分離能で分離することが可能です。

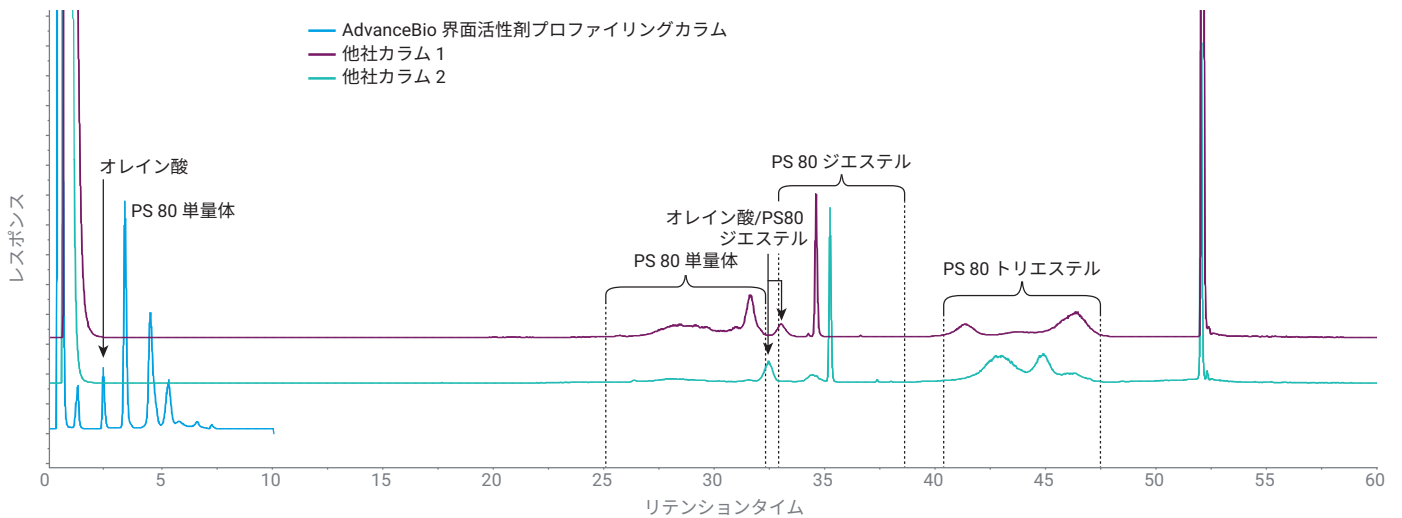


図 1. この例が示しているように、従来の逆相メソッドはより長い時間を要します（最大 60 分）。Agilent AdvanceBio 界面活性剤プロファイリングカラムではわずか 10 分で済み、より優れた分離能を提供します。

ポリソルベート分解の分析を軽視することのリスクと起こりうる結果

規制機関から要求されるまでは、このように包括的なアッセイの導入を遅らせたいと考えがちですが、導入により短い期間で確実に時間と資金が削減されます。戦略的に、界面活性剤を含む治療薬のために、できるだけ早く開発/製剤ラボでこのアッセイを確立することは、賢明な判断です。

ポリソルベート分解を軽視することで、製品品質の低下、安全性のリスク、規制コンプライアンス違反、コストの上昇、治療効果の低下につながる可能性があります。したがって、生物製剤製品の完全性と安全性を確保するために、堅牢性の高いモニタリング/管理戦略を実装することがメーカーにとって不可欠です。このホワイトペーパーではポリソルベートに焦点を当てましたが、ポロキサマーなどの他の界面活性剤も、酸化により分解される可能性があることに留意することが重要です。

単純な品質の問題に対処するためのコストは約 10,000 米ドルである一方、より複雑な問題では 100,000 米ドルにまで上昇し、製品のリコールが生じた場合には数百万米ドル規模になる可能性があります。¹⁵ これらのアッセイを事前に導入することで、ラボは将来の規制要件に対応するだけでなく、開発プロセスの早い段階で品質の問題に対処することもできます。

結論

ポリソルベートの分解は、生物製剤製品の安定性、安全性、効能を危うくします。化合物や国ごとの現在の規制は変わりやすく、ポリソルベートの分解に対処するために、将来的な規制が予測されます。適切で有効な軽減策の開発と、製品コンプライアンスの確保を促進するために、堅牢で画期的なポリソルベート分析メソッドが必要です。

混合モード LC を使用した、広く導入されている界面活性剤定量メソッドは現行の規制要件に対応できますが、加水分解や酸化によって形成されるポリソルベートの分解生成物に関する包括的な情報を提供しません。ポリソルベートのより詳細なデータを得るために、一部のラボでは逆相 LC メソッドを導入しています。このメソッドはポリソルベートの分解生成物の保持と分離において有効ですが、長い時間を要し、40～60 分かかります。

Agilent AdvanceBio 界面活性剤プロファイリングカラムは画期的で有効なソリューションで、より短い時間で高分離能のポリソルベート分解分析を実現するための有望な手法となります。これらのソリューションをより早く導入することにより、ラボとメーカーは開発プロセスの早い段階で可能性のある品質問題に対処でき、ひいては製品の完全性を保護するのに役立ちます。

AdvanceBio 界面活性剤プロファイリング HPLC カラムの詳細情報と、ラボにどのように役立つのかについて、製品ページを参照してください。

参考文献

1. Ministry of Health of the People's Republic of China. The Pharmacopeia of the People's Republic of China; 2020 Edition - English Version. <https://store.usp.org/product/3124465>.
2. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. European Pharmacopeia. <https://pheur.edqm.eu/home>.
3. Pharmaceuticals and Medical Devices Agency. Japanese Pharmacopeia. <https://www.pmda.go.jp/english/rs-sb-std/standards-development/jp/0029.html>.
4. United States Pharmacopeial Convention. United States Pharmacopeia. <https://www.uspnf.com>.
5. Weber, J.; Buske, J.; Mäder, K.; Garidel, P.; Diederichs, T. Oxidation of Polysorbates: An Underestimated Degradation Pathway? *Int. J. Pharm.X* **2023**, *6*, 100202–100232. DOI: 10.1016/j.ijpx.2023.100202.
6. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for Industry INDs for Phase 2 and Phase 3 Studies, Chemistry, Manufacturing, and Controls Information; rev. 05.2003, last revised February 2018. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/inds-phase-2-and-phase-3-studies-chemistry-manufacturing-and-controls-information>.
7. Official Journal of the European Communities. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community Code Relating to Medicinal Products for Human Use; rev. 11.2001. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2001:311:0067:0128:en:PDF>.
8. Committee for Medicinal Products for Human Use, European Medicines Agency. Information for the Package Leaflet Regarding Polysorbates Used as Excipients in Medicinal Products for Human Use; EMA/CHMP/190743/2016, last revised December 2023. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/information-package-leaflet-regarding-polysorbates-used-excipients-medicinal-products-human-use_en.pdf.
9. Host Cell Protein Contaminants in mAb and Protein Therapy Manufacturing. <https://www.usp.org/biologics/host-cell-proteins>.
10. Aryal, B.; Lehtimäki, M.; Rao, V. A. Stress-Mediated Polysorbate 20 Degradation and Its Potential Impact on Therapeutic Proteins. *Pharm. Res.* **2024**, *41*, 1217–1232. DOI: 10.1007/s11095-024-03700-7.
11. 2023 FDA Science Forum: Polysorbate 20 Degradation in Biotherapeutic Formulations and Its Impact on Protein Quality. <https://www.fda.gov/science-research/fda-science-forum/polysorbate-20-degradation-biotherapeutic-formulations-and-its-impact-protein-quality>.
12. Koppolu, V.; Vemulapalli, B.; Thomas, J.; Wang, S.C.; Borman, J. A Universal Method for the Determination of Polysorbate 80 in Monoclonal Antibodies and Novel Protein Therapeutic Formulations. *Anal. Methods* **2018**, *10*, 1296–1304. DOI: 10.1039/c7ay02537h.
13. Wuchner, K.; Yi, L.; Chery, C.; Nikels, F.; Junge, F.; Crotts, G.; Rinaldi, G.; Starkey, J.; Bechtold-Peters, K.; Shuman, M.; *et al.* Industry Perspective on the Use and Characterization of Polysorbates for Biopharmaceutical Products Part 1: Survey Report on Current State and Common Practices for Handling and Control of Polysorbates. *J. Pharma.Sci.* **2022**, *111*, 1280–1291. DOI: 10.1016/j.xphs.2022.02.009.
14. Wuchner, K.; Yi, L.; Chery, C.; Nikels, F.; Junge, F.; Crotts, G.; Rinaldi, G.; Starkey, J.; Bechtold-Peters, K.; Shuman, M.; *et al.* Industry Perspective on the Use and Characterization of Polysorbates for Biopharmaceutical Products Part 2: Survey Report on Control Strategy Preparing for the Future. *J. Pharma.Sci.* **2022**, *111*, 2955–2967. DOI: 10.1016/j.xphs.2022.08.021.
15. Barnett, A. The Cost of Quality: Can We Really Afford to Ignore It?; *NSF International*: York, UK, **2017**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

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。

DE-003898

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2025

Printed in Japan, January 31, 2025

5994-8110JAJP