

## Agilent Vaya ハンドヘルドラマン分光装置による褐色瓶越しの溶媒の高速検査

空間オフセット型ラマン分光（SORS）技術を搭載した Vaya を用いた原材料の同定



### 著者

Aveline Neo and  
Christopher Welsby  
Agilent Technologies, Inc.

### 概要

Agilent ハンドヘルド Vaya ラマン分光装置は、褐色瓶越しに広範な化学溶媒の材料検証を実行するために使用できる、製薬分野向けの分析システムです。空間オフセット型ラマン分光（SORS）技術を採用した Vaya は、容器越しの同定試験を実施でき、ハンドヘルド機器の画面上で、解釈可能な「合格/不合格」の結果を簡単に生成できます。この研究で検査した溶媒は、製造プロセスを通じて、一部のバイオ医薬品の合成や、品質特性の分析試験中によく使用されるものです。Vaya ラマンを使用して倉庫で瓶を開封することなく原材料の高速検証試験を実行する方法を実証したデータを示します。

## はじめに

バイオ医薬品は、非組み換え生物源から直接抽出するのではなく、通常はバイオテクノロジーを使用して作成された生物製剤を指します。遺伝子組み換えタンパク質や核酸（DNA、RNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド）から、モノクローナル抗体（mAb）まで、幅広い多様な製品が含まれます。このような種類のバイオ医薬品を作成するために、細胞を製造工場として使用することで、細胞の精製中に宿主細胞のタンパク質が同時に精製されます。

バイオ医薬品の製造プロセスにおいて、生成物の不純物や宿主細胞のタンパク質、タンパク質凝集体は、モニタリング対象となる重要品質特性に含まれます。メタノール、エタノール、イソプロパノール、アセトニトリル、トルエンなどの有機溶媒は、製造プロセスを通じて、バイオ医薬品の合成や、品質特性の分析試験中によく使用されています。品質は原材料と処理試薬から始まるため、原材料のばらつきや試薬の汚染は、最終的な医薬品の特性と品質に影響を及ぼす可能性があります。

原材料同定（RMID）は、医薬品の製造プロセスで使用される化学物質の同定とその同一性を検証するための分析定性試験です。現在、倉庫や品質管理（QC）ラボでこのような検査を実施することが可能で、定性的な合格/不合格の結果は多くの場合に許容されます。

バイオ医薬品メーカーは、原材料のための ICH 要件に従い<sup>1</sup>、原材料を使用する前にそれらの同定を実施する必要があります。ラマン分光分析は、サンプルボトルや容器を開封する必要なく直接的に原材料の同定検証を実行できるため、業界で広く使用されています。

この研究では、SORS 技術を搭載した Agilent Vaya ラマン分光装置（図 1）を使用して、褐色瓶に入った溶媒の検証と識別を行いました。溶媒は、mAb などのバイオ医薬品の分析中や、オリゴヌクレオチドの合成のためによく使用されています。Vaya は、褐色瓶越しに直接、溶媒の定性試験を数秒で実行できます。このような非破壊的試験法により、大量の原材料の受け入れ、試験、およびリリースに、1 名のオペレータが迅速かつ容易に対応することが可能です。



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

## 実験方法

褐色ガラス瓶に入ったメタノール、エタノール、イソプロパノール、アセトニトリル、トルエンは Sigma-Aldrich から購入しました。Vaya ラマンを使用した溶媒の同定（ID）を実証するために、それぞれの溶媒に対し同定検証メソッドを開発しました。メソッドは、ハンドヘルド分光装置で使用可能なメソッド開発ウィザードと標準設定（褐色ガラス容器専用）を使用して開発しました。オペレータが指定する容器タイプに関する情報を除き、その他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。それぞれの同定検証メソッドを使用して、本アプリケーションノートで示されたスペクトルデータを生成しました。Vaya 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。すべての測定は、標準的な環境光条件下で行いました。

## 結果と考察

図 2 に、褐色瓶に入った 5 つの溶媒のラマンスペクトルを示します。各溶媒に対し、個々のスペクトルを観察しました。

- メタノールには、 $1,033\text{ cm}^{-1}$  において C-O 伸縮に相当する非常に強いバンドと、 $1,464\text{ cm}^{-1}$  において  $\text{CH}_3$  d 変角に相当する別の独特なピークがあります。<sup>2</sup>
- エタノールのスペクトルは、 $886\text{ cm}^{-1}$  で C-C 伸縮に由来する 1 つの強いバンドと、 $1,050$  および  $1,098\text{ cm}^{-1}$  においてそれぞれ C-O 伸縮と  $\text{CH}_3$  横揺れ振動に由来する 2 つの小さなバンドを示しています。<sup>2,3</sup>

- イソプロパノールは  $820\text{ cm}^{-1}$  に C-C-O バンドによる強いバンドがあります。954 および  $1,454\text{ cm}^{-1}$  における他の 2 つの小さなバンドは、それぞれ C-O 伸縮と  $\text{CH}_3$  変角を表しています。<sup>4,5</sup>
- アセトニトリルは  $921\text{ cm}^{-1}$  に強いバンドがあり、これは C-C 骨格振動モードを示しています。<sup>6</sup>
- トルエンは、 $1,001$  および  $1,032\text{ cm}^{-1}$  において環伸縮に相当する 2 つの別のバンドがあります。<sup>7</sup>

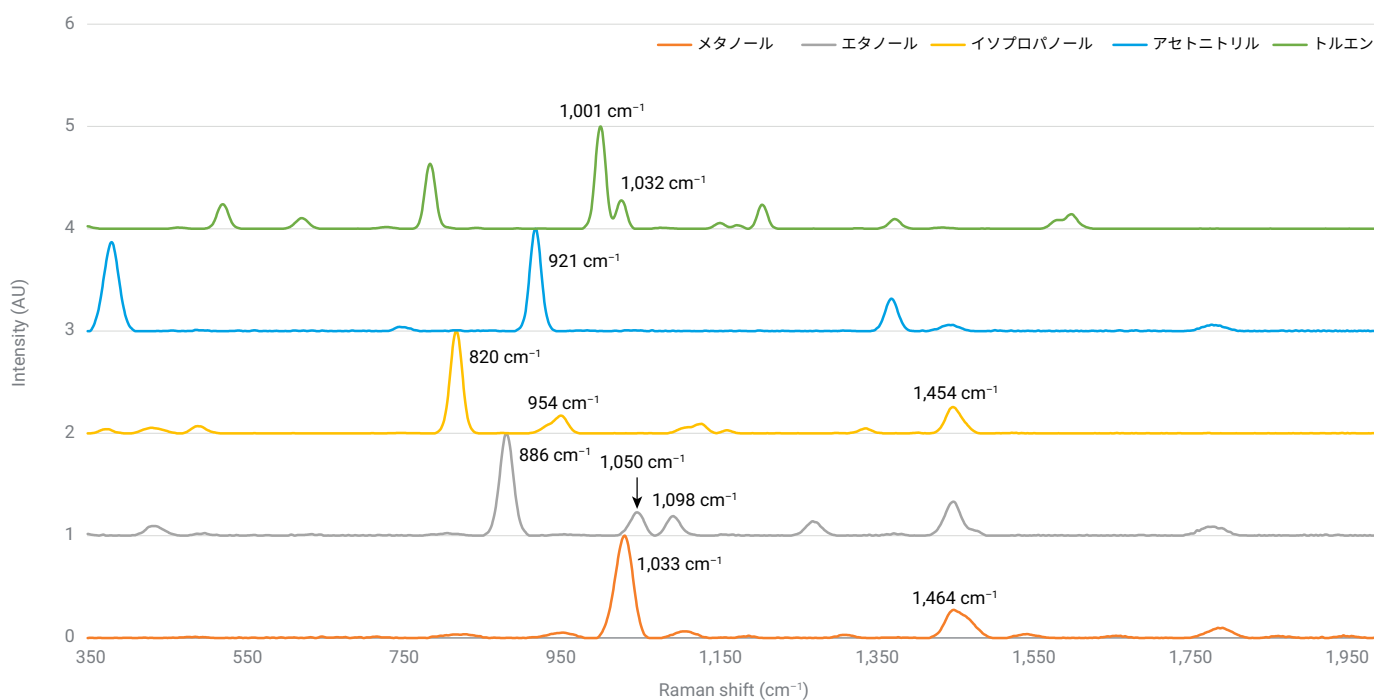


図 2. メタノール、エタノール、イソプロパノール、アセトニトリル、トルエンの Agilent Vaya ラマン SORS スペクトル。これらの溶媒は、mAb の分析中や、オリゴヌクレオチドの合成によく使用されています。

## 同定試験メソッドの評価

成分ごとに開発した同定検証メソッドを使用して、褐色瓶内の各溶媒の同定試験を実施しました。図 3 は負荷試験マトリックスを示しており、同定試験で異なる溶媒の同定を区別して検証する方法を図で表しています。

現実的な負荷試験マトリックスでは、(図 3 に示されているように) マトリックスの対角に沿って高い合格率を示しており、メソッドにより対応する材料が正確に認識されることを表しています。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判定されることを示します。

検査したすべての溶媒で、Vaya ラマン SORS 分光装置は優れた選択性を示し、各成分を正確に同定しました。

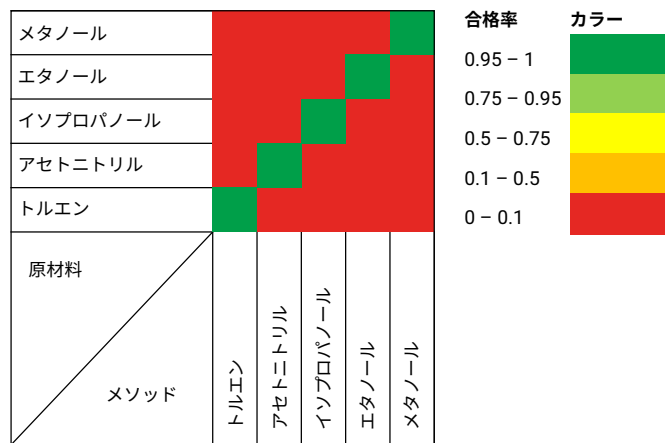


図 3. SORS 負荷試験マトリックスを使用した、メタノール、エタノール、イソプロパノール、アセトニトリル、トルエンの同定

### 【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へ委託しております。  
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。

DE39080511

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc. 2023  
Printed in Japan, April 25, 2023  
5994-5929JAJP

## 結論

SORS 搭載の Agilent Vaya ハンドヘルド ラマン分光装置を使用して、バイオ医薬品の製造プロセスによく使用される溶媒の選択的同定を実行しました。この手法により、褐色ガラス瓶に入った溶媒を直接測定することができました。サンプリングのために瓶を開封する必要はなく、サンプル汚染の可能性が防止され、分析時間が短縮されました。

それぞれの溶媒に対し、35 秒未満で褐色瓶越しに十分に良質なスペクトルを取得できました。次にスペクトルを使用して、同じ原材料の種類で、他の溶媒から各溶媒を識別することに成功しました。

褐色瓶越しに直接、高速分析を行えるハンドヘルド Vaya ラマン は、大量のバイオ医薬品原材料の同定試験に最適です。

## 参考文献

1. ICH Harmonised Tripartite Guideline, Good Manufacturing Practice Guide for Active Pharmaceutical Ingredients Q7, Step 4, Nov **2000**, page 16, accessed April 2023. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q7%20Guideline.pdf>
2. Boyaci, I. H. *et al.* A Novel Method for Quantification of Ethanol and Methanol in Distilled Alcoholic Beverages Using Raman Spectroscopy. *J. Raman Spectrosc.* **2012**, 43(8), 1171–11766.
3. Picard, A. *et al.* In Situ Monitoring by Quantitative Raman Spectroscopy of Alcoholic Fermentation by *Saccharomyces Cerevisiae* Under High Pressure. *Extremophiles* **2007**, 11, 445–452.
4. Jin, Z. *et al.* All-Fiber Raman Biosensor by Combining Reflection and Transmission Mode. *IEEE Photonics Technol Lett.* **2018**, 30(4), 387–390.
5. Raman Spectra of Alcoholic Molecules, PhysicsOpenLab, [physicsopenlab.org](https://physicsopenlab.org). **2022**, accessed April 2023. Raman Spectra of Alcoholic Molecules | PhysicsOpenLab
6. Venardou, E. *et al.* On-Line Monitoring of the Hydrolysis of Acetonitrile in Near-Critical Water Using Raman Spectroscopy. *Vib. Spectrosc.* **2004**, 35(1–2), 103–109.
7. Howlett, L. E. Raman Spectra of Benzene and Toluene. *Nature* **1931**, 128(3236), 796–796.