

GLP-1 作動薬の治療用ペプチド特性解析

Agilent Altura ペプチドプラスカラムと
Agilent InfinityLab Pro iQ Plus を用いた分析

著者

Suresh Babu C.V.
Agilent Technologies, Inc.

概要

バイオ医薬品業界では、合成ペプチド治療薬の分析管理、特に同定と純度の管理が要求されます。液体クロマトグラフィーと質量分析を組み合わせたメソッド（LC/MS）は、この分析に最適な選択肢です。高分離能分離と正確な質量同定が可能であり、特に、合成手順が異なる複数の製造業者からペプチドを調達する際に有効です。本研究では、治療用ペプチドの特性解析において、Agilent Altura ペプチドプラスカラムと InfinityLab Pro iQ Plus の組み合わせが適していることを実証します。

はじめに

合成ペプチド治療薬の完全性は、バイオ医薬品業界においてきわめて重要であり、最終製品の安全性と有効性を保証するために厳格な分析管理が要求されます。分子量分析によるペプチドの同定確認、および不純物を検出するための純度評価は、このプロセスの基本です。製造の一貫性、規制当局の承認、予測可能な生物学的性能を実現するため、これらの分析によって分子構造を確認し、合成または分解に起因する不純物が存在しないことを確認できます。液体クロマトグラフィーと質量分析の組み合わせ (LC/MS) は、この分析に不可欠な技術であり、カラムによる高分離能と正確な質量同定を両立します。

複数の受託製造業者からペプチドを調達する場合、各社が異なる合成および精製手順を採用しているため、徹底的な検査がさらに重要になります。グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) アナログなどの治療用ペプチドは、多くの場合、さまざまな CMO やサプライヤにより製造されており、各社は固相合成メソッド、保護基戦略、精製プロセスにおいて、独自の手法を採用しています。これらの差異は、切断種や合成後修飾を含む、多様な製品関連不純物を発生させる可能性があります。そのため、異なるサプライヤのペプチドを比較分析することは、基本的な要件です。これにより、均一な品質が確保され、すべてのバッチが同定、純度、安定性に関する標準仕様に適合していることが確認されると同時に、サプライヤの適格性評価が容易になるからです。

本研究では、Agilent Altura ペプチドプラスカラムは、同定確認と不純物分析に最適化されたカラムであり、さまざまなサプライヤの GLP-1 のような治療用ペプチドの特性解析に適していることを実証します。このカラムは、主要なペプチド API とその不純物を高分離能分離し、正確な分子量確認に使用する質量分析計との優れた互換性を実現しました。

実験方法

試薬および調製

セマグルチド、リラグルチド、レタトルチド、およびチルゼパチドペプチドは、3社の異なるサプライヤから購入し、製造業者の指示に従って保管しました。LC/MS グレードのアセトニトリル (ACN) は、アジレント・テクノロジーから入手しました。超純水は、社内の Millipore Sigma Milli-Q システムで採取しました。

分析機器

- Agilent 1290 Infinity II Bio LC システム。次の機器で構成されています。
 - Agilent 1290 Infinity II Bio ハイスピードポンプ (G7120A)
 - Agilent 1290 Infinity II Bio マルチサンプリング (G7167B)
 - Agilent 1290 Infinity II サーモスタット付きカラムコンパートメント (G7116B)
- Agilent InfinityLab Pro iQ Plus (G6170A)

ソフトウェア

Agilent OpenLab CDS (バージョン 2.8)

サンプル調製

分子量確認実験のため、サプライヤ 1 のリラグルチド、セマグルチド、レタトルチド、およびチルゼパチドペプチドを、DMSO に 1.0 mg/mL で溶解しました。比較分析のため、リラグルチドとチルゼパチドを、30 % ACN に 1.0 mg/mL で溶解しました。

LC/MS 分析

LC 分離は、Altura ペプチドプラスカラム (部品番号 227215-903) で、15 分のグラジエントを用いて実施しました (表 1)。生データは、InfinityLab Pro iQ Plus で取り込み (表 2)、データ解析は、OpenLab CDS (バージョン 2.8) で実施しました。

表 1. 液体クロマトグラフィーのパラメータ

パラメータ	Agilent 1290 Infinity II Bio LC システム																											
カラム	Agilent Altura ペプチドプラス、2.1 × 150 mm、2.7 μm (部品番号 227215-903)																											
サンプルのサーモスタット	10 °C																											
移動相 A	0.1 % ギ酸水溶液																											
移動相 B	0.1 % ギ酸 ACN 溶液																											
グラジエント	<table border="1"><thead><tr><th>時間 (分)</th><th>%A</th><th>%B</th></tr></thead><tbody><tr><td>0.00</td><td>80</td><td>20</td></tr><tr><td>5.00</td><td>52</td><td>48</td></tr><tr><td>10.00</td><td>42</td><td>58</td></tr><tr><td>11.00</td><td>40</td><td>60</td></tr><tr><td>12.00</td><td>20</td><td>80</td></tr><tr><td>14.00</td><td>20</td><td>80</td></tr><tr><td>14.10</td><td>80</td><td>20</td></tr><tr><td>15.00</td><td>80</td><td>20</td></tr></tbody></table>	時間 (分)	%A	%B	0.00	80	20	5.00	52	48	10.00	42	58	11.00	40	60	12.00	20	80	14.00	20	80	14.10	80	20	15.00	80	20
時間 (分)	%A	%B																										
0.00	80	20																										
5.00	52	48																										
10.00	42	58																										
11.00	40	60																										
12.00	20	80																										
14.00	20	80																										
14.10	80	20																										
15.00	80	20																										
カラム温度	60 °C																											
注入量	5 μL																											
流量	0.4 mL/min																											

表 2. MS データ取り込みパラメータ

パラメータ	Agilent InfinityLab Pro iQ Plus
イオン源	Agilent Jet Stream ESI イオン源
極性	正
ガス温度	300 °C
乾燥ガス流量	11 L/min
ネブライザ圧力	30 psi
シースガス温度	250 °C
シースガス流量	12 L/min
キャピラリー電圧	3000 V
ノズル電圧	0
フラグメンタ	95 V
スキャンタイプ	スキャン
スキャン時間	500 ms
データ保存	プロファイル
MS スペクトル範囲	m/z 200 ~ 3000

結果と考察

分子量と純度

本分析では、Altura ペプチドプラスカラムと Pro iQ Plus を用いて、4 種類の GLP-1 作動薬（セマグルチド、リラグルチド、チルゼパチド、レタトルチド）の分子量を確認し、純度プロファイルの評価しました。主な目的は、ターゲットとなるペプチドの同一性を確認するとともに、不純物に関連するピークを同定することです。図 1 は、各 GLP-1 作動薬のトータルイオンクロマトグラム（TIC）およびデコンボリューションスペクトルを示しています。分析結果は、各 GLP-1 作動薬で明確に異なる純度プロファイルを示しました。セマグルチドは、TIC およびデコンボリューションスペクトルにおいて単一の明確なピークを示し、同定が確認されました。また、有意なレベルの不純物は検出されず、高純度であることを示しました。リラグルチドの TIC はより複雑であり、メインのリラグルチドピークに加え、5 つの小さい不純物ピークが確認されました。主要化合物が確認された一方で、サンプルには、クロマトグラフィーで分離される複数の低濃度不純物が含まれていました。チルゼパチドは、TIC では単一の明確なピークを示しましたが、デコンボリューションスペクトルでは、3 つの共溶出不純物が確認されました。レタトルチドは、セマグルチドやチルゼパチドと同様に、TIC では単一の明確なピークを示しましたが、デコンボリューションスペクトルでは、2 つの共溶出不純物が確認されました。この結果は、Altura ペプチドプラスカラムが不純物分析に非常に適していることを実証しています。

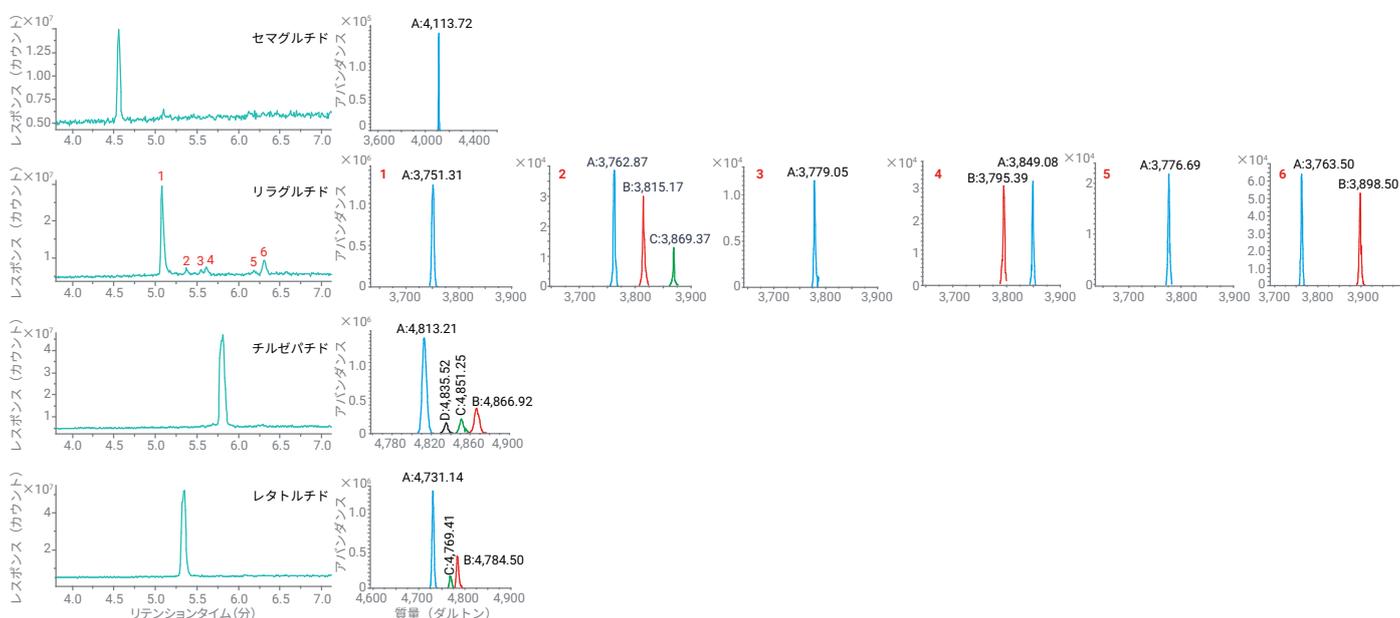
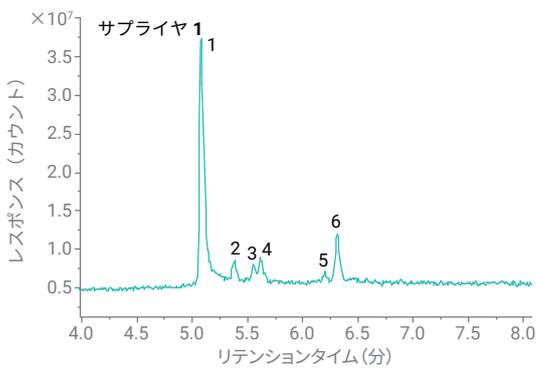


図 1. GLP-1 作動薬のトータルイオンクロマトグラムおよびデコンボリューション質量スペクトル

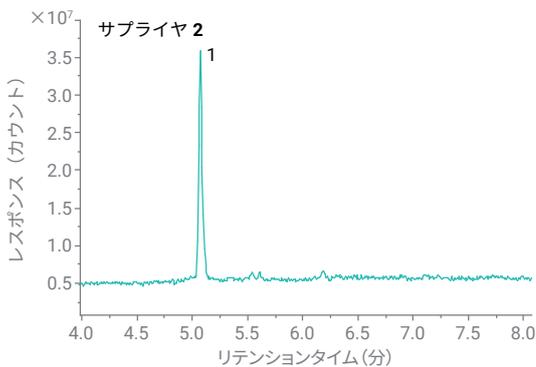
異なるサプライヤの GLP-1 の分析

GLP-1 のようなペプチド治療薬は、複数の委託製造業者やサプライヤから調達されることがよくあります。サプライヤごとに異なる固相合成ケミストリ、保護基、精製プロトコルを採用している場合があり、これらはすべて純度と安定性に影響します。これらの差異は、切断種や合成後修飾を含む、多様な製品関連不純物を発生させる可能性があります。そのため、サプライヤの適格性評価の証拠を示すためには、異なるサプライヤのペプチドを比較分析することが不可欠です。

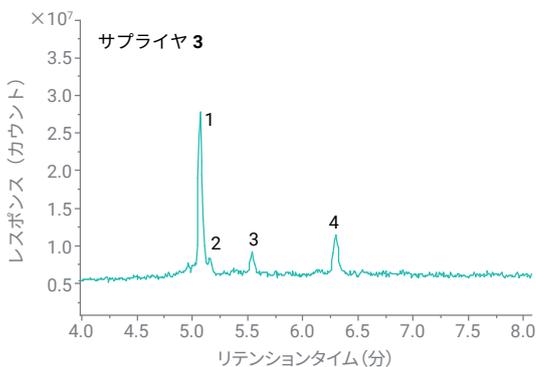
図 2 は、異なるサプライヤのリラグルチドおよびチルゼパチドの TIC を示しています。リラグルチドサンプルの分析により、3 社のサプライヤ間で不純物プロファイルに明らかな差異が存在することが明らかになりました。サプライヤ 2 は最も高い純度を示しており、検出可能な範囲において不純物は認められず、メインのリラグルチドピークのみが確認されました。サプライヤ 3 は中程度の純度を示しており、わずかな質量シフトを伴う低濃度不純物のピークが数個含まれていました。一方、サプライヤ 1 の純度は最も低く、特徴として顕著な質量シフトを示す複数の不純物ピークがありました。これは、合成または分解に関連する高濃度の不純物が存在することを示唆しています。



ピーク 1	ピーク 2	ピーク 3	ピーク 4	ピーク 5	ピーク 6
3751.31 (リラグルチド)	3762.87 (11.56) 3815.77 (64.46) 3869.37 (118.06)	3779.06 (27.75)	3795.39 (44.05) 3849.18 (97.87)	3776.69 (25.38)	3763.50 (12.19) 3898.50 (147.19)

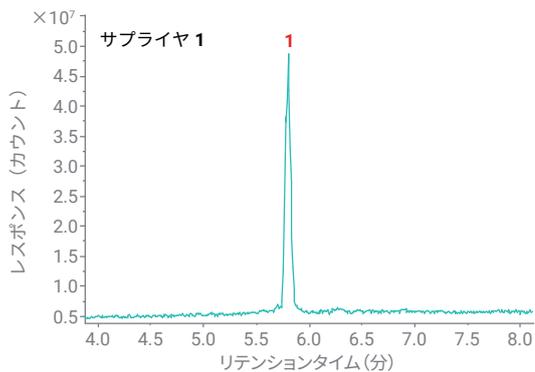


ピーク 1	ピーク 2	ピーク 3	ピーク 4	ピーク 5
3751.03 (リラグルチド) 3805.14 (54.11)	-	-	-	-

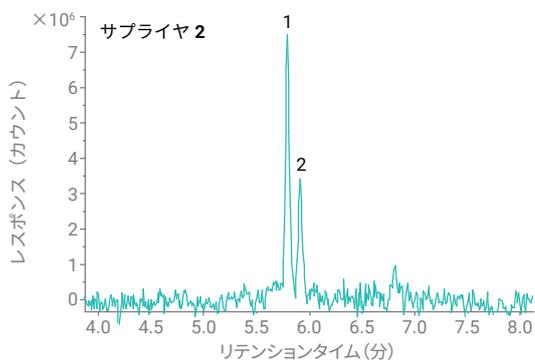


ピーク 1	ピーク 2	ピーク 3	ピーク 4	ピーク 5
3751.27 (リラグルチド)	3751.61 (0.34)	3779.53 (28.26) 3831.56 (80.29)	3763.55 (12.28)	-

図 2A. 異なるサプライヤのリラグルチドのトータルイオンクロマトグラム。メインピーク（ピーク 1）との質量差（Da 単位）を括弧内に記載しています。すべてのクロマトグラムにおける不純物ピークの番号は、リテンションタイムとは無関係です。



ピーク1	ピーク2
4813.21 (チルゼパチド)	
4835.52 (22.31)	
4851.25 (38.04)	
4866.92 (53.71)	



ピーク1	ピーク2
4812.72 (チルゼパチド)	4825.55 (12.83)
4866.30 (53.58)	4878.91 (66.19)

図 2B. 異なるサプライヤのチルゼパチドのトータルイオンクロマトグラム。メインピーク（ピーク 1）との質量差（Da 単位）を括弧内に記載しています。すべてのクロマトグラムにおける不純物ピークの番号は、リテンションタイムとは無関係です。

また、異なる 2 社のサプライヤのチルゼパチドの特性解析では、純度プロファイルに明確な差異が存在することが明らかになりました。サプライヤ 1 は、メインのチルゼパチドピークが支配的であり、高い純度を示していました。これに対してサプライヤ 2 は、メインピークに加えて異なる質量種が含まれる、低純度のプロファイルを呈しました。この比較は、迅速なサプライヤの品質評価を可能にする、GLP-1 作動薬の不純物の分離と高感度の検出における Altura ペプチドプラスカラムと Pro iQ Plus の有効性を実証しています。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

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-012075

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2026
Printed in Japan, March 9, 2026
5994-8951JAJP

結論

本研究では、Agilent Altura ペプチドプラスカラムと Agilent InfinityLab Pro iQ Plus の組み合わせが、GLP-1 作動薬分析のための堅牢なプラットフォームとなることを実証しました。使用したワークフローによって分子量を効果的に確認でき、異なるペプチドの独自の不純物プロファイルを同定できたことで、純度レベルに差異が存在することが明確になりました。さらに、このメソッドでは、リラグルチドおよびチルゼパチドの複数のサプライヤ間の不純物パターンを正確に識別できました。このことは、サプライヤの適格性評価および品質一貫性評価におけるメソッドの有用性を示しています。このアプローチは、ペプチド治療薬の迅速な評価に役立ち、安全でより効果的なバイオ医薬品の開発および製造に貢献できます。

参考文献

- Colalto, C. Aspects of Complexity in Quality and Safety Assessment of Peptide Therapeutics and Peptide-Related Impurities: A Regulatory Perspective. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2024**, 153, 105699.