MRRによるmAb製剤マトリックス中のエチレングリコールの直接定量

はじめに

エチレングリコール（EG）やジエチレングリコール（DEG）の混入は、医薬品の安全性に関する認識されている問題です。このリスクに対処するための取り組みは、グリセリンやポリエチレングリコールなどの高リスク医薬品成分の検査に焦点を当てており、これはFDAのガイドラインでも説明されています。最近では、USPが製剤の最終形態に対してもEGやDEGの検査を拡大する必要性を強調しています。

EGは、ポリエチレングリコールやポリソルベートのような原材料を通じて生物製剤に入ることがあります。また、クロマトグラフィー精製などの下流工程で、溶出修飾剤として導入されることもあります。その後のバッファー交換やダイアフィルトレーションでEGは除去されるため、残留レベルの確認が重要になります。

以前のBrightSpecのアプリケーションノートでは、原料（グリセリン、PEG-400、ポリソルベート80を含む）中のEGとDEGのMRRによる識別と定量が示されていました。このアプリケーションノートでは、代表的なモノクローナル抗体（mAb）製剤マトリックスを用いて、MRRベースのEG分析を生物学的医薬品の製剤に拡張しています。

分析の挑戦

EGやDEGを対象とした既存の完成品向け方法は、咳止めや風邪用のシロップなどの経口液体や生体マトリックスには適用範囲外です。医薬品の製剤には緩衝剤、塩類、賦形剤が含まれており、EGの分析を複雑にすることがあります。従来のクロマトグラフィー法では、これらの成分に対応し潜在的な干渉を評価するために、マトリックスごとのサンプル調製や手法開発が必要になる場合があります。追加の準備は時間や手間、バリデーションの要件も増やします。

最小限の試料準備で直接分析することで、製剤用バッファー中のEGのモニタリングがより簡単になります。

MRRアプローチ

分子回転共鳴（MRR）は、分子の構造特有の回転スペクトルを通じて分子を特定します。特徴的なEG遷移が、分子特異性のためにクロマトグラフィー分離に頼ることなく、単一の測定で識別と定量をサポートします。

自動化されたヘッドスペース-SpectrAline-MRRのワークフロー (**Figure 1**) は、手作業の準備を最小限にします。

- **サンプルの準備**: 緩衝液を10µL、そのまま抽出や希釈、誘導化せずに20mLのヘッドスペースバイアルに入れてください。
- **サンプリング**: バイアルを140° Cに加熱し、ヘッドスペースをSpectrAlineカートリッジに移します。加熱をコントロールすることで、MRR測定用のEGが放出されます。
- **自動化**：オートサンプラーは最大**66**本のバイアルをセットでき、無人での分析が可能です。

©2026 BrightSpec, Inc.

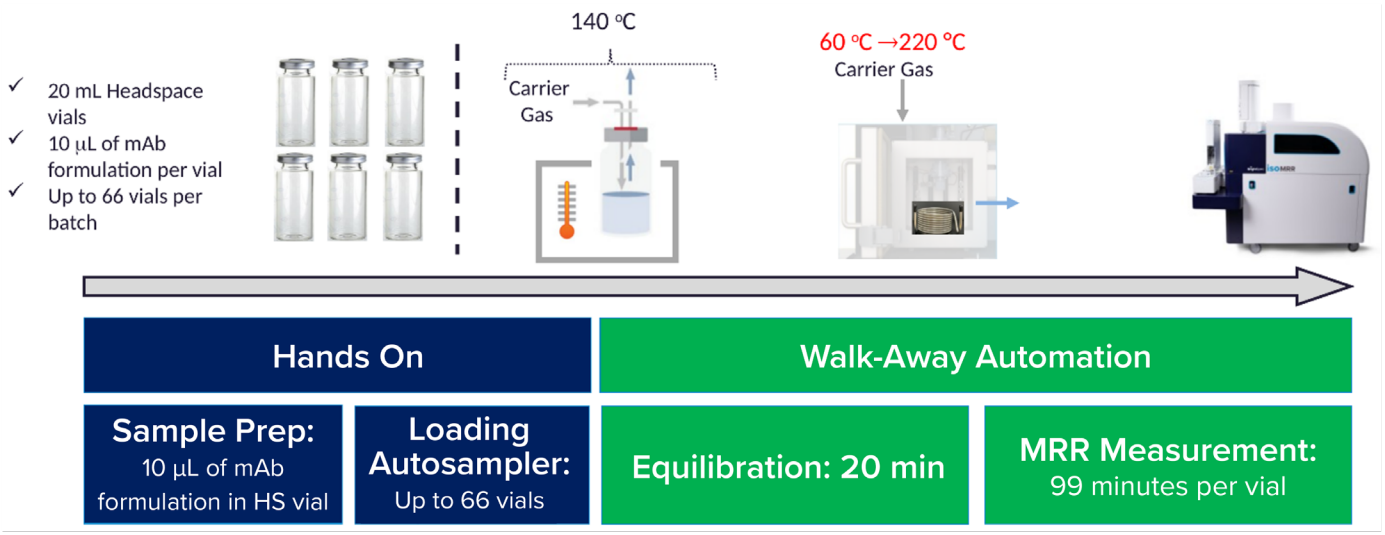


Figure 1. **Headspace-SpectrAline-MRR workflow for direct EG analysis in mAb buffers**

方法と結果

代表的なモノクローナル抗体(mAb)の調製マトリックスは、5%のスクロースと0.01%のポリソルベート80を添加したダルベッコリン酸緩衝生理食塩水(DPBS)を使って作られました。このマトリックスはタンパク質なしで分析されました。タンパク質は揮発性がなく、ヘッドスペースサンプリング中にバイアル内に残るので、タンパク質を除いた製剤が分光計で分析されるマトリックスを表します。マトリックス中のEGに対して100から1,000ppmの校正標準を準備し、ヘッドスペース-SpectrAline-MRRで分析しました。上限レベルは、FDAが高リスク医薬品成分に適用する0.10%の制限に対応しており、示された定量下限(LOQ)はその制限を十分下回っています。 **Table 1** に方法条件の要約を示します。.

Parameter	Value
Sample volume	10 µL in 20 mL headspace vial
Headspace temperature	140 °C
SpectrAline Cartridge	SpectrAline Stabilwax, -2M
SpectrAline temperatures	60 °C (trap), 220 °C (elution)
Transfer line and nozzle	210 °C

Table 1. **Headspace-SpectrAline-MRR Method parameters**

ICH Q2(R2) Parameter	Result
Limit of detection	59 ppm
Limit of quantitation	179 ppm
Calibration range	100 to 1,000 ppm
Linearity (R^2)	0.99
Repeatability (RSD)	17%

Table 2. **Analytical performance for EG in DPBS**

測定したキャリブレーション範囲全体で、EGの反応は濃度とともに増加し、R^2は0.99でした (**Figure 2**). **Table 2** に分析性能のまとめがあります。

©2026 BrightSpec, Inc.

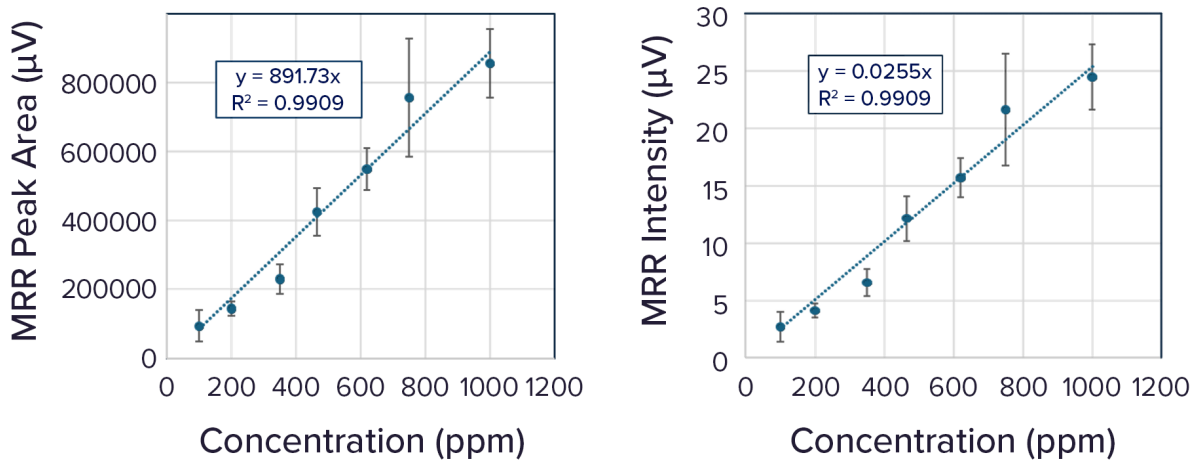


Figure 2. Calibration curve for EG in DPBS

結論

MRRを使うと、抽出、希釈、誘導体化なしで、代表的なモノクローナル抗体（mAb）製剤マトリックス中のEGを直接特定・定量できます。自動ヘッドスペースサンプリングにより手作業の準備が最小限に抑えられ、構造特異的な検出により定量と同時に分子の同定も可能です。

この方法は、完成した製剤やバッファー交換や透析などの下流処理後の残留EGのモニタリングをサポートできるかもしれません。また、製品の品質を追加で確認する方法として、原材料のテストも補完します。

References

1. U.S. Food and Drug Administration. “Testing of Glycerin, Propylene Glycol, Maltitol Solution, Hydrogenated Starch Hydrolysate, Sorbitol Solution, and Other High-Risk Drug Components for Diethylene Glycol and Ethylene Glycol.” **https://www.fda.gov/media/167974/download** Guidance for Industry, Revision 1, May 2023.

2. United States Pharmacopeia. “Diethylene Glycol and Ethylene Glycol Testing Method for Finished Dosage Forms.” **https://www.uspnf.com/notices/deg-eg-method-for-finished-dosage-forms-gen-annc-20250228** General Announcement, February 28, 2025.

3. BrightSpec. “Identification and quantitation of EG and DEG in high-risk raw materials by MRR.” Application Note.

BrightSpec, Inc.
770 Harris Street Suite 104b
Charlottesville, Virginia 22903

©2026 BrightSpec, Inc.