

タンパク質の多くはキラル認識能を示し、キラルHPLCカラ ムの基盤として使用されます。オボムコイドタンパク質(分子 量28,000)は、鏡像異性体の分離に関して、特に優れた性質を 備えています。このオボムコイドタンパク質は、N, N¹-ジスク シンイミジルカーボネートとの反応により、アミノプロピル シランで誘導体化した120Åの5-μmシリカ粒子上で固定化さ れ、Ultron ES-OVMカラムの充てん剤を形成しています。こ の共有結合オボムコイドカラムは、酸性、塩基性、中性化合 物を用いた各種のキラル分離において、特に優れた性能を発 揮します[1-10]。

この技術概要では、Ultron ES-OVMカラムのクロマトグラ フィ特性の一部を解説するとともに、キラル分離メソッド開 発の最適化に関する実用的なヒントを提供しています。さま ざまな構造を持つ鏡像異性体の分離におけるこのHPLCカラ ムの性能を示すアプリケーションの実例も紹介しています。

CHCH2

H₃C

保持力および鏡像異性体選択性における 移動相pHの影響

オボムコイドの等電点 (pI) は、3.8から4.3です。そのため、 Ultron ES-OVM充てん剤は、移動相のpHがオボムコイドの pIを上回ったときには負電荷、下回ったときには正電荷にな ると考えられます。実際の研究においては、分離に使用する 移動相のpHは、鏡像異性体化合物の保持力と選択性に大きく 影響します。酸性化合物のイブプロフェン (pKa = 4.4)、中性 化合物のヘキソバルビタール (pH 3.0~6.0で中性)、塩基性化 合物のクロルフェニラミン (pKa = 4.0、9.2) について、最初 の鏡像異性体ピークの容量ファクタ (k'1) と鏡像異性体選択性 (α) における移動相pHの影響を測定しました。各化合物の構 造を図1に示します。

イブプロフェン



CHCH₂

CH-COO

図1. イブプロフェン、クロルフェニラミン、ヘキソバルビタールの酸塩基平衡

ĊH-

-C00H



20 mMリン酸バッファ/エタノール (100/5) の移動相につい て、各ラセミ化合物のpH 3.0~6.0における最初の鏡像異性体 ピークのk¹と分離係数(α = k¹₂/k¹₁)を図2と図3に示しています。 オボムコイドはpH 3.0で正、pH 4.0~4.6で中性、pH 5.5で負 の電荷を帯びます。図2は、非荷電のヘキソバルビタールの保 持力が、pH 3.0~6.0の全範囲で一定を保っていることを示し ています。この化合物で最初に溶出する鏡像異性体のk¹値は、 ゼロをわずかに上回っています。これはおそらく、固定化さ れたオボムコイドと微弱な疎水性相互作用を起こすためと考 えられます。



図2. pHの変化に伴うk'の変化

イブプロフェンについては、図2に示すように、pH 4.0~4.6 でk'ı値が最大となっています。イブプロフェンのpKaは4.4な ので、このpH範囲でオボムコイドが非荷電であるのに対し、 イブプロフェンは部分的に荷電します。そのため、この保持 力には、溶質とタンパク質固定相の強い疎水性相互作用が影 響しているものと考えられます。高pH (5.0~6.0など)におけ るk'ıの低下は、負荷電のタンパク質固定相と負荷電の化合物 とのイオン反発の結果と考えられます。pH 5.0~6.0の範囲に おいて、ヘキソバルビタールと比べてイブプロフェンの味水性相互 作用が強くなるためと考えられます。pH 3.0でイブプロフェ ンのk'ı値が低下するのは、このpHでオボムコイドの親水性が 高くなるためと考えられます。しかし、保持力は依然として 疎水性相互作用の影響を受けています。 図2からは、高pH域でクロルフェニラミンのk¹値が上昇する ことが見てとれます。クロルフェニラミンとオボムコイドは、 いずれもpH 3.0で正電荷を帯びます。そのため、静電反発力 により保持力が低くなります。pHがオボムコイドのpIよりも 高くなると、クロルフェニラミンの保持力は高くなります。 これは、通常の疎水性相互作用に加えて、強い静電力が働く ためです。

図3は、塩基性化合物の鏡像異性体選択性係数(α)がpHにより大きく変動することを示しています。クロルフェニラミンの α 値は、pHの上昇に伴い急激に上昇しています。一方で、他の2つの化合物の α 値は、わずかな変化にとどまっています。

これらの結果は、イオン性の鏡像異性体化合物のキラル分離 を最適化する際には、移動相pHの設定が重要であることを示 しています。ここで述べた影響を見ると、オボムコイド固定 相による保持力は、静電相互作用と疎水性相互作用という2つ のメカニズムにより左右されることがわかります。静電相互 作用は移動相のイオン強度に大きく影響されるため、移動相 のpHと塩濃度を慎重にコントロールしなければ、信頼性と再 現性の高い分離を行なうことはできません。



図3. pHの変化に伴うαの変化

保持力における移動相イオン強度の影響

すでに述べたように、イオン強度はオボムコイド固定相にお ける保持力に部分的な影響を及ぼします。ケトプロフェン (pKa = 3.9) とクロルフェニラミン (pKa = 4.0、9.2) におけ るこの影響を、図4に示しています。ここでは、3種類の濃度 のpH 5.5リン酸バッファ(5、20、70 mM)/エタノール (100/10)を用いた場合の保持力を示しています。20および 70 mMのバッファでは、いずれの化合物もk'値がほぼ同じで したが、5 mMバッファでは、負電荷を帯びたケトプロフェン のk'値が大きくなっています。こうした影響は、イオン交換ク ロマトグラフィでよく見られるように、イオン強度が低いと きに生じる強い静電相互作用が原因と考えられます。これら の結果と、有機移動相修飾剤の濃度が高いとバッファが沈殿 する傾向があることを考え合わせると、多くの分離に適切な のは20 mMリン酸バッファであるといえます(溶解性を考慮 しなければならない場合には、カリウム塩が通常、ナトリウ ム塩よりも溶解性が高くなることに注意してください)。



図4. 保持力におけるリン酸バッファイオン強度の影響

保持力および鏡像異性体選択性における 有機修飾剤の影響

移動相の有機修飾剤の種類は、Ultron ES-OVMカラムを用い た場合のキラル化合物の保持力(k')と鏡像異性体のバンド間 隔(α)に大きな影響を及ぼすことがあります。リン酸バッ ファ(pH 4.6)と4種類の修飾剤(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)の混合液を用いて、トルペ リゾン(pKa = 8.9)のキラル分離を行ないました。図5は、修 飾剤が変わると、分離結果も変化することを示しています。 同じ有機濃度(v/v)における溶出強度の高さは、アセトニトリ ル>イソプロパノール>エタノール>メタノールの順番にな ります。



図5. 鏡像異性体トルペリゾンの溶出プロフィールにおける 有機修飾剤の種類の影響

表1のデータは、有機修飾剤の濃度の変化(たとえば5 v/vなど) により、保持力特性が大きく変化することを示しています。 ここに示す結果は、比率100/5および100/10 (v/v) の20 mM リン酸バッファ (pH 4.6) とエタノールおよびアセトニトリル の混合液を移動相に用いて、酸性のイブプロフェン、中性の ヘキソバルビタール、塩基性のクロルフェニラミンをキラル 分離して得られたものです。

k'値がほぼ同じになる有機濃度を用いた場合、エタノールを修 飾剤に用いると、アセトニトリルを用いた場合に比べて分析 化合物の値が高くなりました(表2では、適切な比率のリン酸 バッファと有機修飾剤を混合し、ほぼ同じk'値を得ました)。 値の差異は、オボムコイドの立体配座が変化し、各種の化合物の認識部位における構造変化が生じるためと考えられます。 この点については、有機修飾剤の変更により、プロプラノ ロール鏡像異性体の溶出順序が逆転することが報告されてい ます[5]。

こうした研究では、移動相に使用する有機修飾剤の種類や濃 度が、キラル化合物の保持特性に大きく影響することが示さ れています。化合物構造が異なれば、適切な有機修飾剤も異 なります。それぞれのシステムに最適な有機修飾剤を判断す る必要があります。

表1. 移動相に用いる有機修飾剤の種類および濃度が、Ultron ES-0VMカラムの容量ファクタと 鏡像異性体選択性に及ぼす影響

物質の種類	化合物	エタノール濃度				アセトニトリル濃度			
		5		10		5		10	
		k′ 1	α						
酸性	イブプロフェン	24.76	1.45	12.38	1.40	24.29	1.25	3.10	1.06
塩基性 [®]	クロルフェニラミン	4.10	2.60	1.60	1.93	3.25	2.00	2.00	1.00
中性。	ヘキソバルビタール	1.70	1.52	*		1.15	1.23	*	

[•]移動相には、20 mMリン酸バッファ (pH 4.6)とエタノールまたはアセトニトリル (v/v)の混合液を使用しました。

・ヘキソバルビタールは保持されませんでした。

表2. エタノールまたはアセトニトリルを同じ溶媒強度で含む移動相における鏡像異性体化合物の選択性の変化

物質の種類		I	タノール濃度	アセトニトリル濃度		
	化合物	k ′ ₁	α	k′ 1	α	
酸性	イブプロフェン	12.40	1.40	13.20	1.16	
塩基性ª	クロルフェニラミン	8.00	2.14	7.80	1.46	
中性。	ヘキソバルビタール	2.19	1.59	1.85	1.42	

*移動相には、20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)とエタノール(100/10、v/v)またはアセトニトリル(100/7、v/v)の混合液を使用しました。

[▶]移動相には、20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)とエタノール(100/10、v/v)またはアセトニトリル(100/8、v/v)の混合液を使用しました。

[。]移動相には、20 mMリン酸バッファ(pH 6.0)とエタノール(100/5、v/v)またはアセトニトリル(100/4、v/v)の混合液を使用しました

保持力および鏡像異性体選択性における カラム温度の影響

Ultron ES-OVMカラムの保持力および選択性特性を最適化する際には、温度を利用することもできます。20 mMリン酸 バッファ (pH 4.6) /エタノール (100/10、v/v)の移動相を用 いて、5~40℃までの異なる温度で分離したプロプラノロール 鏡像異性体のクロマトグラフィ特性における温度の影響を、 表3に示しています。表3には、本研究により得られたプロプ ラノロール鏡像異性体のk'およびα値、段数 (N)、分離値 (Rs) をまとめています。温度が上昇すると、k'およびα値は低下す る一方、N値は上昇しました。分離値は19℃で最高となりまし た。他の研究では、温度が高ければ分離能が高くなる化合物 もあれば、低い温度で分離能が高くなる化合物もあることが 示されています。したがって、ES-OVMにおけるキラル分離を 最適化するためには、温度の影響を調べる必要があります。

表3. プロプラノロールのクロマトグラフィ特性における カラム温度の影響a

	5 °C	11 °C	19 °C	28 °C	40 °C
k ′ ₁	18.67	11.49	7.79	4.97	2.59
k′2	23.94	14.59	9.68	6.05	3.06
α	1.28	1.27	1.25	1.22	1.18
N_1	446	722	1059	1224	1899
N ₂	380	563	798	890	1282
R _s	1.12	1.35	1.44	1.21	1.08

*移動相には、20 mMリン酸バッファ (pH 4.6)とエタノール(100/10、v/v)の 混合液を使用しました。

良好な分離再現性を得るためには、Ultron ES-OVMカラムの 温度を正確にコントロールすることを推奨します。こうした特 性は、図6のマレイン酸トリミプラミンのキラル分離データに も示されています。移動相にpH 4.6のリン酸バッファ(20 mM) /アセトニトリル(100/20、v/v)を用いた場合、18~25℃と いう狭い範囲でのカラム温度の変化により、リテンションタ イムが大きく変化しました。ただし、このケースではα値はほ ぼ一定に保たれました。

一部のケースでは、高温になると鏡像異性体のラセミ化が生 じるため、正しい鏡像異性体組成を調べるためには、低い温 度での分析が求められることもあります。たとえば、移動相 にpH 4.6のリン酸バッファ(20 mM)/イソプロパノール (100/10、v/v)を用いたロラゼパムの分離では、こうした状 況が生じます。15℃以上になると、オボムコイドにおけるロ ラゼパムのラセミ化に起因するピーク合併が生じます。実際 の鏡像異性体組成は、カラム温度7℃で分析すると得られます [8]。



図6. 鏡像異性体マレイン酸トリミプラミンの分離における カラム温度の影響

サンプルロード量の影響

ほとんどのHPLCカラムと同じく、Ultron ES-OVMカラムで も、測定段数はカラムに注入したサンプル量の関数として表 されます。 4.6×150 mm Ultron ES-OVMカラムにおけるサ ンプル質量の影響を図7に示しています。ここに示すクロマト グラムは、一定の量 (0.5 µL)でサンプル濃度を上げ、サンプ ルロード量を増やすことによって得られたものです。いくつ かの研究では、 4.6×150 mm Ultron ES-OVMカラムの場合、 サンプル充てん量が1.5から3 nmol/gになると、鏡像異性体の 分離能が15%以下に低下する (カラム段数で30%の低下)こと が示されています[5]。このカラムを用いたほとんどの分離で は、約2 nmol(1 µg)のサンプル量を採用するのが一般的です。 この結果は、シャープなピークと最高の分離能を得るために は、サンプルロード量を小さくする必要があることを示して います。

カラム効率および分離能におけるサンプル量の影響は、同等 の効率を持つHPLCカラムの場合と同様です。サンプル量の 許容範囲は一般に1~50 μLで、通常のアプリケーションでは 10~25 μLのサンプル量が用いられます[4]。HPLC分離と同 様、サンプルロード量は、ピークが低いk/値で溶出するときに もっとも重要となります。ピークが高いk/値で溶出するように 調整されている場合には、サンプル質量と体積はそれほど重 要ではなく、通常はサンプル量を増やすことが可能です。



図7. サンプルロード量の影響――トルペリゾン

カラム効率における移動相流速の影響

他の一般的なHPLCカラムと同様、カラム効率は分離に使用 する移動相流速に左右されます。内径の異なる2つのUltron ES-OVMカラムについて、段高に対して流速をプロットした グラフを図8に示しています。この結果と他の研究結果は、こ れらの2つのカラムを用いた多くの分析では、約1.0 mL/min の流速で最高のカラム効率とピーク分離能が得られることを 示唆しています。最高のカラム効率を得られる流速は、実際 には有機修飾剤の種類や濃度、および分析温度に左右されま す。最良の結果を得るためには、それぞれの分離システムに 最適な流速を判断する必要があります。



図8. 段高における流速の影響、Ultron ES-0VMカラム、 150 mm

Ultron ES-0VMカラムのクロマトグラフィ条件 の最適化

鏡像異性体分離の最適化に推奨される手順を図9に示していま す。初期温度には25℃を推奨しています。これは、高温だと キラル化合物がラセミ化し、分離能が低下するほか、オボム コイド固定相の変性が生じる可能性があるためです。初期移 動相には、アセトニトリル有機修飾剤を用いた20 mMリン酸 が推奨されています[5]。酸性の鏡像異性体化合物の場合、開 始pHを3.0とすることを推奨します。α値は通常、pH 3.0~ 4.6の範囲で一定となります。また、低pHでは一般に分離ス ピードが速くなります。望ましい分離結果が得られない場合 は、pHを4.0に上げ、必要に応じて別の有機修飾剤を追加し てください。それでも望ましい分離結果が得られない場合は、 別の修飾剤または別のバッファ(リン酸以外)を用いて、同じ 手順を踏んでください。

塩基性または中性の鏡像異性体については、初期移動相にア セトニトリルを用いたリン酸バッファ (pH 4.6)を推奨します。 望ましい分離結果が得られない場合は、pHを7.0に上げ、有機 修飾剤の濃度を上げて分離を改善してください。それでの望 ましい分離結果が得られない場合は、酸性サンプルと同様に、 別の有機修飾剤または別のバッファ (リン酸以外)を用いて、 同じ手順を踏んでください。



バッファ溶液(20 mM):KH₂PO₄/K₂HPO₄、HCOOH/HCOONH₄、CH₃COOH/CH₃COONa、C₃H₄OH(COOH)₃KH₂PO₄

表4には、図9のアプローチを用いて得られた、43種類の鏡像 異性体対における分離能と最適な移動相をまとめています。 Ultron ES-OVMカラムに有効な他の最適化アプローチは、参 考文献4と5で紹介されています。

図4. Ultron ES-0VMを用いた鏡像異性体対の分離

物質	移動相	Rs
アセチルフェネトライド	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/7.5 v/v)	2.74
アリメマジン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/25 v/v)	6.06
Вау К 8644	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/25 v/v)	5.92
ベンプロペリン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/20 v/v)	3.27
ベンゾイン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	8.41
ビペリデン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	3.17
ブニトロロール	20 mMリン酸バッファ(pH 6.0)-エタノール(100/3 v/v)	3.08
ブピバカイン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-アセトニトリル(100/10 v/v)	1.26
クロルメザノン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	6.48
クロルフェネシン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)	2.23
クロルフェニラミン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.0)-アセトニトリル(100/5 v/v)	2.36
クロルプレナリン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/3 v/v)	2.34
クロペラスチン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/15 v/v)	2.85
ジメチンデン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/15 v/v)	4.33
1,2-ジフェニルエチルアミン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)	1.74
ジソピラミド	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/10 v/v)	2.04
エペリゾン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/5 v/v)	1.15
エチアジド	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)	1.42
フルルビプロフェン	20 mMリン酸バッファ(pH 3.0)-エタノール(100/30 v/v)	1.26
グルテチミド	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	1.36
グリコピロニウム	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)	1.73
ヘキソバルビタール	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/5 v/v)	1.70
ホモクロルシクリジン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	3.04
ヒドロキシジン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/15 v/v)	2.15
イブプロフェン	20 mMリン酸バッファ(pH 3.0)-エタノール(100/10 v/v)	1.73
ケトプロフェン	20 mMリン酸バッファ(pH 3.0)-アセトニトリル(100/10 v/v)	1.37
メクリジン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/35 v/v)	3.71
メペンゾラート	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)	1.40
メフォバルビタール	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	1.70
メチルフェニデート	20 mMリン酸バッファ(pH 5.7)	1.13
オクスプレノロール	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/10 v/v)	1.38
ピンドロール	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/3 v/v)	2.04
プラノプロフェン	20 mMリン酸バッファ(pH 3.0)-アセトニトリル(100/8 v/v)	1.01
プレニラミン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.0)-アセトニトリル(100/15 v/v)	1.02
プロフェナミン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/25 v/v)	3.31
プログルミド	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/20 v/v)	1.32
プロメタジン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/20 v/v)	0.98
プロプラノロール	20 mMリン酸バッファ(pH 6.8)-アセトニトリル(100/30 v/v)	1.24
チオリダジン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-アセトニトリル(100/30 v/v)	0.98
トルペリゾン	20 mMリン酸バッファ(pH 5.5)-エタノール(100/10 v/v)	1.50
トリヘキシフェニジル	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/10 v/v)	5.16
トリミプラミン	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/30 v/v)	3.69
ベラパミル	20 mMリン酸バッファ(pH 4.6)-エタノール(100/5 v/v)	1.49

カラムのケア

pH範囲2~7.5(3~7が望ましい)のバッファ移動相と一般的な 有機・水混和溶液(アセトニトリル、メタノール、エタノール、 プロパノールなど)は、Ultron ES-OVMカラムで安全に使用 できます。有機溶媒が50%を超える移動相の使用は避けてく ださい。ほとんどのアプリケーションについては、分析カラ ムを有害な汚染物質、例えば、保持力が強い異物から保護す るために、ガードカラムの装着を、強く推奨します。カラム が汚染され、ピーク形状が悪化した場合、カラム容量の20~ 40倍の50%アセトニトリル/希釈水で洗浄すれば、通常は回 復します。長期間使用しない場合は、(それまでに使用した バッファを洗浄した後で)カラムを10~20%アセトニトリ ル/希釈水の移動相で保存することを推奨します。

アプリケーション例

付録では、Ultron ES-OVMカラムで良好に分離された、幅広 い鏡像異性体化合物のクロマトグラムを紹介しています。い ずれの例でも、結果を最適化する試みは行なっていません。 ラセミ混合物の特性付けにおいて、明確な実用性を持つ分離 をおもに選択しました。セミ分取サンプルに対応できる内径 の大きいカラム (6.0×150 mm)を用いた分離も含まれていま す (図10)。



図10. プロメタジン

参考文献

- 1. T. Miwa, T. Miyakawa, and M. Kayano, *Chem. Pharm. Bull.*, 35 (1987) 682.
- T. Miwa, T. Miyakawa, and M. Kayano, J. Chromatogr., 408 (1987) 316.
- M. Okamoto and H. Nakzawa, J. Chromatogr., 504 (1990) 445.
- Y. Hu and D. Kupfer, Drug Metabolism and Disposition, 30 (2002) 1329.
- K. M. Kirkland, K. L. Neilson, D. A. McCombs, and J. J. DeStefano, *LC-GC*, 10 (1992) 322.
- K. Ishii, S. Wakamoto, H. Nakai, and T. Sata, *Chro-matographia*, 43 (1996) 413.
- K. M. Kirkland, K. L. Neilson, and D. A. McCombs., J. Chromatogr., 545 (1991) 43.
- Y. Hu and D. Kupfer, Drug Metabolism and Disposition, 30 (2002) 1329.
- J. Haginaka, J. Wakai, K. Takahashi, H. Yasuda, and T. Takagi, *Chromatographia*, 29 (1990) 587.
- P. Bonato, R. Bortocan, C. Gaitani, F. Paias, M. Ina, and R. Lima, J. Braz. Chem. Soc., 13 (2), 2002.

詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントの ウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

付録















34.546 39.913 0H COONa JUL 0 10 20 30 40 50 時間(分) 条件 カラム: Ultron ES-OVM (5 µm) カラムサイズ: 4.6×150 mm

60

(HMG-CoA還元酵素阻害薬)

	CH ₃ CN (88/12 v/v)
流速:	1.0 mL/min
温度:	25 °C
検出:	UV-235 nm
サンプル:	フルバスタチンナトリウム
	0.5 mg/mL (溶媒:メタノール)
注入量:	1μL

20 mM KH₂PO₄ (pH 3.0)/

移動相:



www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により 付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

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。 著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、 翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社 © Agilent Technologies, Inc. 2008

Printed in Japan July 11, 2008 5989-8748JAJP

