



高分離能サンプリング 2D-LC による 医薬品不純物分析

API ピークに隠れた低濃度不純物の検出

アプリケーションノート

低分子医薬品およびジェネリック医薬品

著者

Susanne Stephan and Sonja Krieger
Agilent Technologies, Inc.
Waldbronn, Germany

概要

医薬品有効成分 (API) に対する低濃度の不純物の分析は原薬の品質管理において重要です。不純物が API と構造的に類似し、濃度差が大きい場合、クロマトグラフィーによる分離や検出が困難な場合があります。

Agilent 1290 Infinity II 2D-LC ソリューションでは、コンプリヘンシブ (LCxLC) とマルチハートカット (MHC) と高分離能サンプリング 2D-LC (HiRes 2D-LC) との間の切り替えが容易に行えます。このアプリケーションでは、近接して溶出する 2 つの化合物を HiRes 2D-LC によって分離します。このうちの 1 つは、きわめて低い濃度で存在し、もう一方の高濃度の化合物に隠れています。クロロジフルオロ安息香酸および脱アミドインスリンをそれぞれ標準物質および実際のサンプルで分析しました。



Agilent Technologies

はじめに

原薬の純度分析では、品質および患者の安全がきわめて重要です¹。ICH ガイドラインの Q3A(R2) によると、新しい原薬内の不純物は API に対して、0.05 %² のスレッショールドを超えると報告が必要になります。この濃度の不純物を分離して検出するのは困難な場合があります。特に、不純物が医薬品有効成分 (API) と構造的に類似している場合です。

このアプリケーションノートでは、不純物の分離と検出に高分離能 (HiRes) サンプルング 2D-LC を用いて、相対濃度 100 % と 0.05 % で存在するクロロジフルオロ安息香酸の各種異性体の分析について説明します。²D 検出器として、Agilent 1290 Infinity II ハイダイナミックレンジダイオードアレイ検出器 (HDR-DAD) 不純物分析ソリューションを用いたこのアプリケーションで、精度と真度をさらに向上することができました。脱アミドインスリンは実際のサンプルとして、HiRes サンプルング 2D-LC/MS を用いて分析し、構造的に類似した不純物の検出を示します。2D-LC のさらなる利点として、²D 分離が脱塩ステップとなり、MS イオン源において ¹D 緩衝液からの高濃度の塩によって生じるイオン抑制を回避することができます³。Agilent MassHunter の ²D Chromatogram Creator を用いて MassHunter の 2D-LC/MS データの表示と解析が可能です。

図 1 に示したように、HiRes サンプルング 2D-LC では、選択した時間範囲にわたっていくつかの小さいフラクションを収集することでターゲット化合物を測定でき、¹D クロマトグラムの 1 つのピーク領域全体が対象となるように設定できます。各カットがサンプルングループ内で貯められ、すべてのカットが連続して二次元目で分析されます。このモードで、選択した化合物の総量が二次元目に確実に送られ分析されます。このように、選択した共溶出化合物を二次元目での分析用として、HiRes サンプルングプロセスに導入できます。こうすることにより、技術概要⁴に従って、信頼性の高い定量が可能になりました。

実験方法

装置

Agilent 1290 Infinity II 2D-LC ソリューションは、次のモジュールで構成しました。

- 2 台の Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II マルチサンプルラ (G7167B)、Infinity II サンプル冷却システム (オプション #100) を搭載
- 2 台の Agilent 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116B)
- 3 台の Agilent 1290 Infinity II ダイオードアレイ検出器 (G7117B)、光路長 3.7 mm、10 mm、60 mm の Max-Light カートリッジセル (G4212-60008) を搭載
- Agilent 1290 Infinity バルブドライブ (G1170A)、2 ポジション/4 ポートデュオバルブ (2D-LC バルブヘッド、G4236A) を搭載
- 2 台の Agilent 1290 Infinity バルブドライブ (G1170A)、40 μ L ループ付きマルチハートカットバルブ (G4242-64000) を搭載

脱アミドインスリンは、Agilent 1290 Infinity II 2D-LC ソリューションとデュアル Agilent Jet Stream ESI ソースを備えた Agilent 6545 Q-TOF を組み合わせて分析しました。以前のアプリケーションノート⁵で推奨したように、¹D 緩衝液中の大量の塩がイオン源に入るのを避けるために、タイムテーブルを用いて MS ダイバータバルブを切り替え、²D 分析の最初の 1 分間は廃液へ流れるようにします。

ソフトウェア

- Agilent OpenLab CDS ChemStation Edition Rev. C.01.07 SR2 [255]、Agilent 2D-LC ソフトウェア (バージョン A.01.03 [025])、および Agilent HDR-DAD ChemStation アドオン (製品バージョン A.01.01 [015]) 付属
- Agilent MassHunter ワークステーション ソフトウェア LC/MS データ取り込み、バージョン B.08.00、ビルド 8.00.8026.0
- Agilent MassHunter ワークステーション ソフトウェア Qualitative Analysis、バージョン B.07.00、ビルド 7.0.7024.0
- MassHunter Rev. 1.0.15 の Agilent ²D Chromatogram Creator

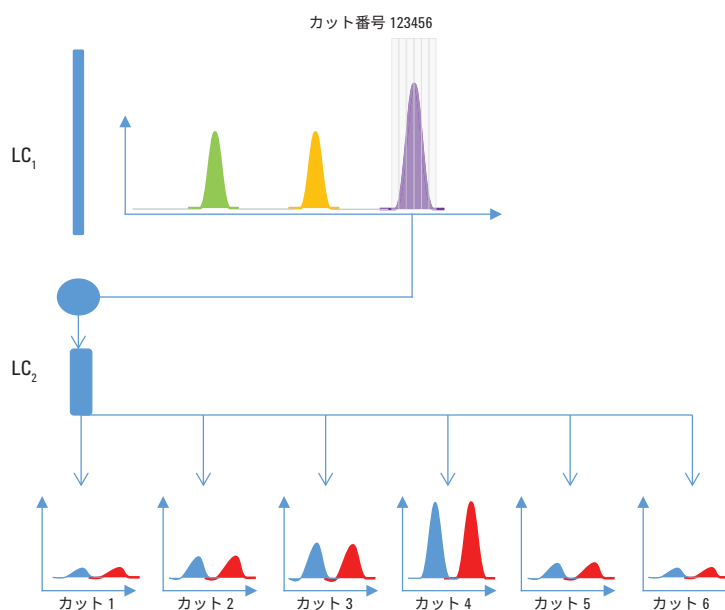


図 1. 高分離能サンプルング 2D-LC の説明図

試薬

すべての溶媒は LC グレードを使用しました。アセトニトリルおよび硫酸ナトリウムは、Merck (ダルムシュタット、ドイツ) から購入しました。ギ酸、リン酸、二塩基性リン酸ナトリウムと一塩基性リン酸アンモニウムは Sigma-Aldrich (シュタインハイム、ドイツ) から入手しました。超純水は、0.22 µm メンブレンユースポイントカートリッジ (Millipak, EMD Millipore、ビレリカ、マサチューセッツ州、米国) を装備した Milli-Q Integral システムで精製しました。標準物質の 5-クロロ-2,4-ジフルオロ安息香酸、3-クロロ-2,4-ジフルオロ安息香酸、2-クロロ-4,5-ジフルオロ安息香酸、ウシ膵臓由来のインスリンは Sigma-Aldrich (シュタインハイム、ドイツ) から購入しました。

サンプル

クロロジフルオロ安息香酸の原液は、水/アセトニトリル (50/50) を用いて 1 mg/mL の濃度に調製しました。異なる濃度比の 3 つの化合物の混合物を原液から調製しました。

1 mg/mL のインスリンは、25 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.55) に溶解しました。脱アミド化のために、インスリン溶液を pH 9 に調整し、室温で 12 時間静置しました。

クロロジフルオロ安息香酸の分析に使用した高分離能サンプリング 2D-LC メソッド

² D 検出器: DAD、光路長 10 mm の Max-Light カートリッジセル付き		² D 検出器: HDR-DAD ソリューション
カラム		
一次元目	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD、 2.1 × 100 mm、1.8 µm (p/n 959758-902)	
二次元目	Agilent ZORBAX Eclipse Plus PAH、 2.1 × 100 mm、1.8 µm (p/n 959764-918)	
¹D ポンプ		
溶媒 A	水 + 0.1 % リン酸	
溶媒 B	アセトニトリル	
流量	0.2 mL/min	
グラジエント	0 分 – 30 %B 10 分 – 30 %B 12 分 – 80 %B 14 分 – 80 %B 15 分 – 30 %B	
²D ポンプ		
溶媒 A	水 + 0.1 % リン酸	
溶媒 B	アセトニトリル	
流量	0.5 mL/min	
グラジエント	0 分 – 20 %B 4 分 – 25 %B 5 分 – 25 %B	
² D グラジエントストップタイム	5.00 分	
² D サイクル時間	6.00 分	
ストップタイム	15 分	
高分離能サンプリング		
タイムベース	6.54 分	7.83 分
サンプリング時間	7 秒	9 秒
カット数	9	10
マルチカラムサーモスタット		
一次元目	30 °C	
二次元目	30 °C	
マルチサンブラ		
注入量	1 µL	5 µL
ニードル洗浄	メタノール/水 (50/50) で 10 秒	
¹D ダイオードアレイ検出器		
波長	210 nm/4 nm、リファレンス 395 nm/10 nm	
データレート	40 Hz	
²D 検出器		
	DAD (10 mm セル)	HDR-DAD
波長	210 nm/4 nm、リファレンス 395 nm/10 nm	
データレート	40 Hz	

脱アミドインスリンの分析に使用した高分離能サンプリング 2D-LC メソッド (変更)³

パラメータ	設定値
カラム	
一次元目	Agilent Poroshell 120 EC-C18、 2.1 × 150 mm、2.7 μm (p/n 693775-902)
二次元目	Agilent ZORBAX Bonus RP、 2.1 × 50 mm、1.8 μm (p/n 857768-901)
¹D ポンプ	
溶媒 A	60 mM Na ₂ SO ₄ + 40 mM NH ₄ H ₂ PO ₄ 、pH 2.21
溶媒 B	アセトニトリル/水 (80/20)
流量	0.3 mL/min
グラジエント	0 分 - 29 %B 28 分 - 43 %B 29 分 - 90 %B 30 分 - 90 %B 31 分 - 29 %B
²D ポンプ	
溶媒 A	水 + 0.1 % ギ酸
溶媒 B	アセトニトリル/水 (80/20) + 0.1 % ギ酸
流量	0.4 mL/min
グラジエント	0 分 - 6.25% B 0.1 分 - 23% B 2.6 分 - 35% B 2.7 分 - 90% B 2.8 分 - 90% B 2.9 分 - 6.25% B
² D グラジエントストップタイム	3.00 分
² D サイクル時間	5.00 分
ストップタイム	38 分
高分離能サンプリング	
タイムベース	15.64 分
サンプリング時間	4 秒

パラメータ	設定値
カット数	10
マルチカラムサーモスタット	
一次元目	40 °C
二次元目	40 °C
マルチサンプル	
注入量	1 μL
ニードル洗浄	メタノール/水 (50/50) で 10 秒
¹D ダイオードアレイ検出器	
波長	195 nm/4 nm、リファレンス 395 nm/100 nm
データレート	40 Hz
²D ダイオードアレイ検出器	
波長	195 nm/4 nm、リファレンス 395 nm/100 nm
データレート	40 Hz
MS パラメータ	
モード	ポジティブ
ガス温度	200 °C
ガス流量	13 L/min
ネプライザ	35 psig
シースガス温度	375 °C
シースガス流量	12 L/min
VCap	2,500 V
ノズル電圧	300 V
フラグメンタ	175 V
スキマ電圧	65 V
Oct 1 RF Vpp	750 V
質量範囲	100 ~ 3,200 m/z
採取レート	2 スペクトル/秒

MS ダイバータバルブのタイムテーブル

時間セグメント 番号	開始時間 (分)	ダイバータバルブ 位置
1	0	MS
2	16.02	廃液
3	17.02	MS
4	21.02	廃液
5	22.02	MS
6	26.02	廃液
7	27.02	MS
8	31.02	廃液
9	32.02	MS
10	36.02	廃液
11	37.02	MS
12	41.02	廃液

時間セグメント 番号	開始時間 (分)	ダイバータバルブ 位置
13	42.02	MS
14	46.02	廃液
15	47.02	MS
16	51.02	廃液
17	52.02	MS
18	56.02	廃液
19	57.02	MS
20	61.02	廃液
21	62.02	MS
22	66.02	廃液
23	67.02	MS

高分離能サンプリング 2D-LC のための メソッド設定

Agilent 1290 Infinity II 2D-LC ソリューションによる高分離能サンプリング 2D-LC を実施しました。バルブ構成 (図 2) は 12 のサンプリンググループを保持する 2 個のマルチハートカットバルブに接続された 2 ポジション/4 ポートデュオバルブから成ります。このセットアップにより、最大 10 の連続するカットをサンプリングして分析するまで貯めておくことができます。HiRes サンプリング 2D-LC では、サンプル損失を防ぐために 80 % 以下のループ充填を推奨しています。図 3 に、クロロジフルオロ安息香酸の分析において ^2D ポンプで使用するメソッド設定を示します。最初に、サンプルの 1D-LC 分離を実行し、クロマトグラムをプレビューウィンドウ内にリファレンス信号としてロードしました。ターゲットピークについて、クロロジフルオロ安息香酸のピーク幅全体をカバーする 9 つのカットによって時間ベースで HiRes サンプリングを設定しました。提供された ^1D 条件では、7 秒のサンプリング時間は 58 % のループ充填に相当します。 ^2D 検出器として Agilent 1290 Infinity II HDR-DAD 不純物分析ソリューションを用いて注入量を増やすと ^1D ピーク幅全体をカバーするには 10 カット必要となり、サンプリング時間が 9 秒と長くなります。これは 75 % のループ充填に相当します。脱アミドインスリンの HiRes サンプリングでも同じ手順でメソッドを設定します。10 カットはサンプリング時間 4 秒で、50 % のループ充填に相当します。

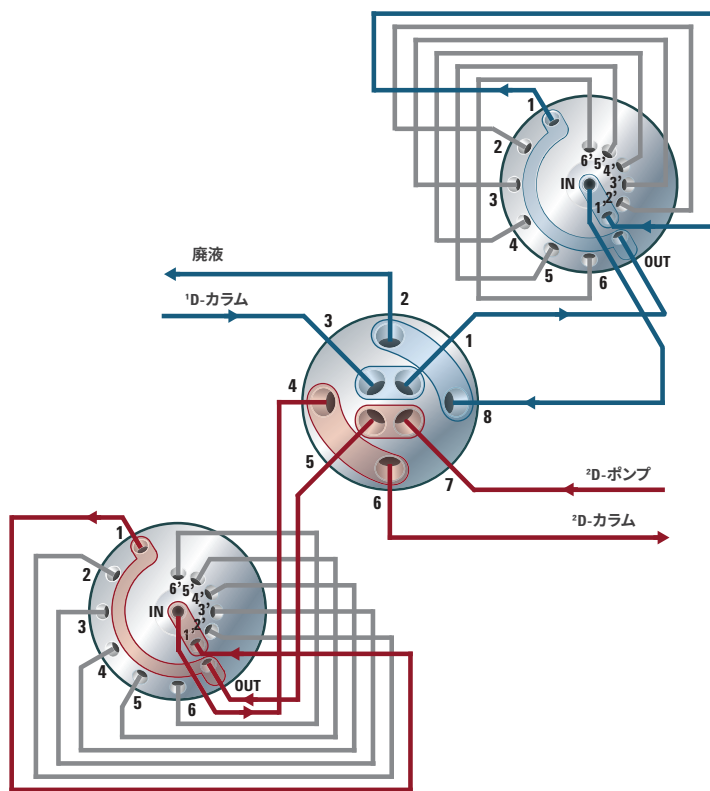


図 2. 12 のサンプリンググループを保持する Agilent 1290 Infinity II 2D-LC のバルブ構成

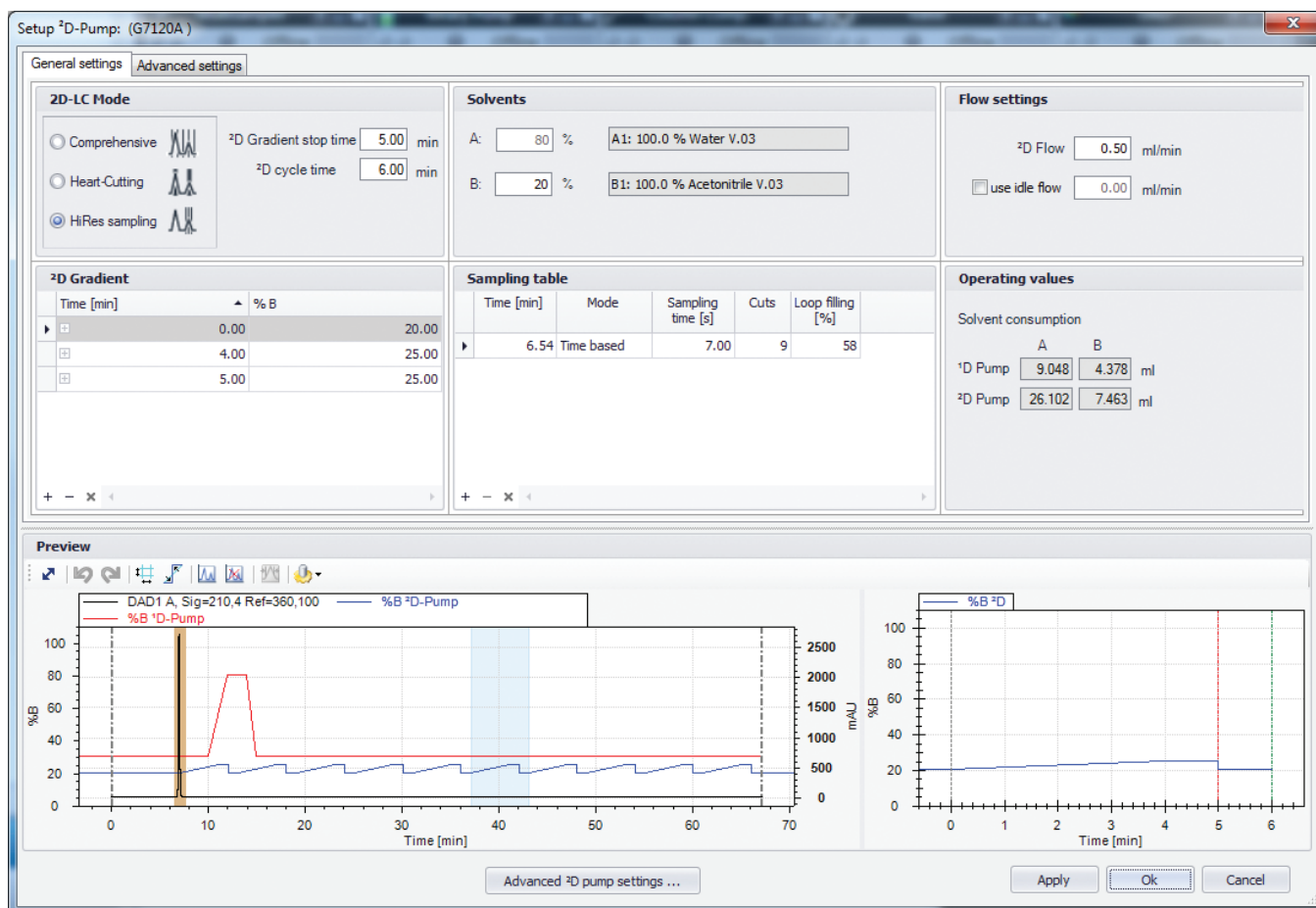


図 3. 2D ポンプのメソッド設定

結果と考察

クロロジフルオロ安息香酸の分析

異なる濃度比の3つの異性体、2-クロロ-4,5-ジフルオロ安息香酸 (化合物 1)、5-クロロ-2,4-ジフルオロ安息香酸 (化合物 2)、3-クロロ-2,4-ジフルオロ安息香酸 (化合物 3、構造は図 4) を HiRes サンプルング 2D-LC 分析において、²D 検出器として光路長 10 mm の Max-Light カートリッジセル付き Agilent 1290 Infinity II DAD を用いて分析しました。

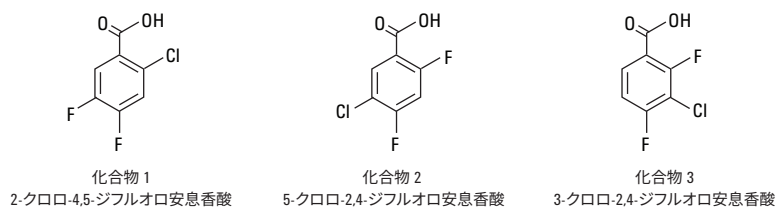


図 4. 分析した3つのクロロジフルオロ安息香酸の化学構造

図 5 に、2つの混合物の¹D クロマトグラムを示します。3つすべての化合物を同じ低濃度で含む混合物(青)と、化合物3を相対濃度100%、化合物1と2をそれぞれ相対濃度0.05%で含む混合物(赤)です。青のクロマトグラムでは3つのピークが分離しており、赤いクロマトグラムでは化合物2(相対濃度0.05%)は化合物3(相対濃度100%)の下に隠れ、分離ピークとして検出されませんでした。これらの化合物の2D-LC分析で、HiRes サンプルングを用いてピーク3の幅全体をサンプリングし、続いて²D カラムで9つのカットを連続して分析しました。図6に、¹D ピークのサンプリングスキームと続いて得られたカット2~5の²D クロマトグラムを示します。カット2では、ピークは検出されませんでした。カット3は、¹Dではオーバーラップした化合物2と3が2つの分離ピークとなることを示しています。カット4は、大部分が化合物3ですが、ごく少量の化合物2も含んでいます。カット5では、化合物3のみが検出されました。

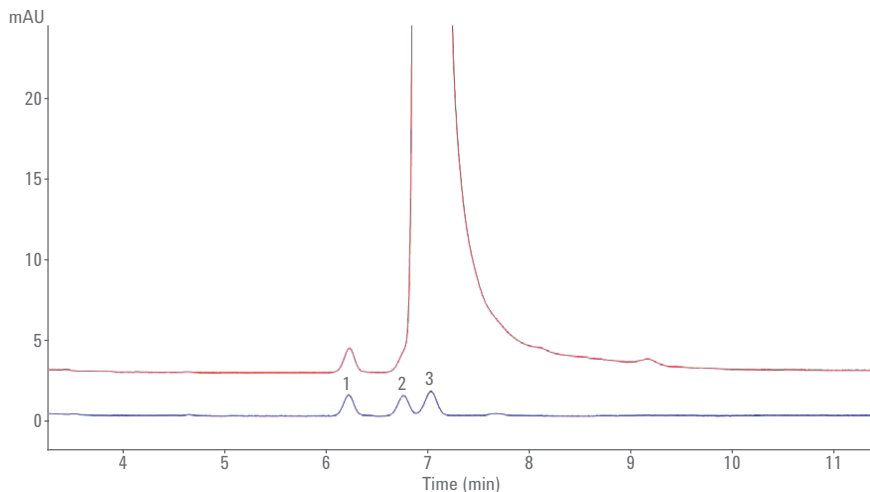


図 5. 2つの混合物、相対濃度100%の化合物3と相対濃度0.05%の化合物1と2(赤線)、およびすべて相対濃度0.05%の3つの化合物(青線)の¹D クロマトグラム

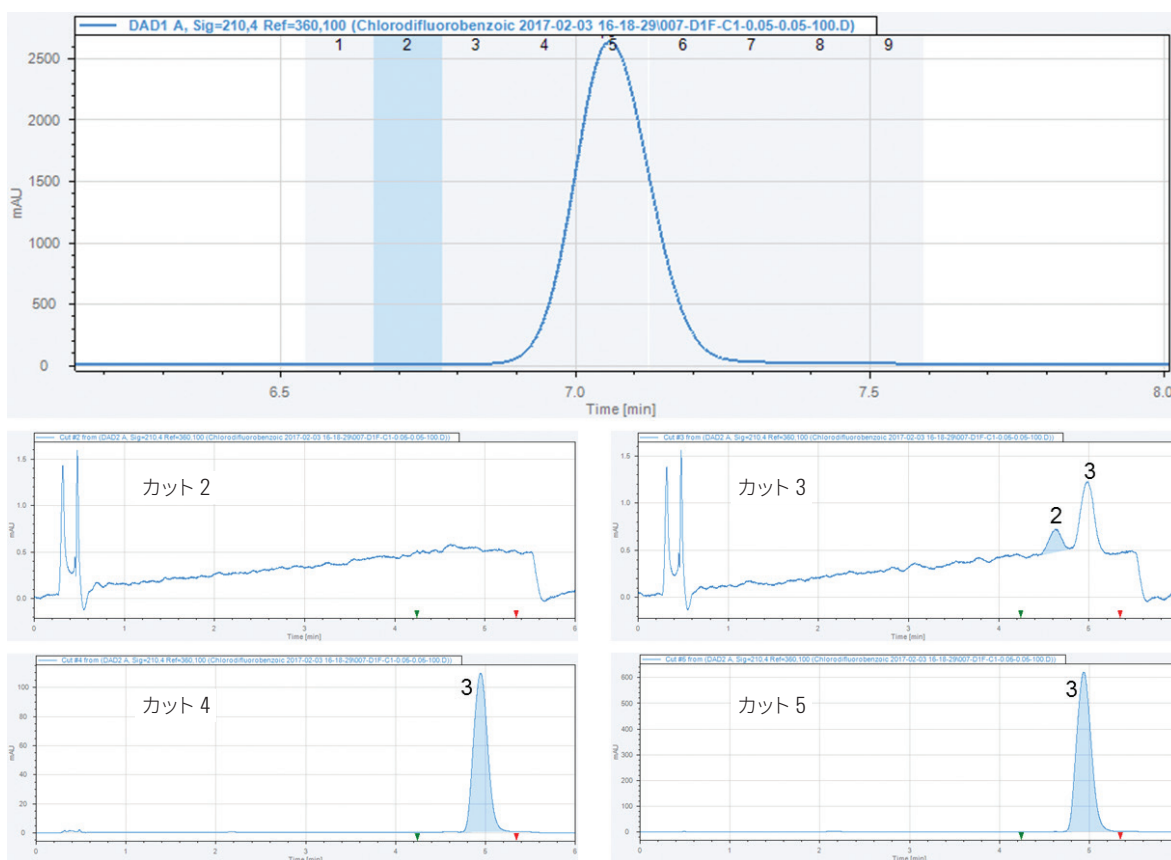


図 6. 化合物3のピーク幅全体をサンプリングしたカット1~9の¹D クロマトグラム(上)。²D クロマトグラム(下)はカット2、3、4、5の分析を示します。

ICH ガイドラインで定められた報告の必要なスレッショールドにおけるこのメソッドの有用性を調べるために、3つのクロロジフルオロ安息香酸異性体の各種混合物、相対濃度100%の化合物3、相対濃度0.05%、0.10%、または0.15%の化合物1および2を調製しました。図7に示すように、化合物3(3-クロロ-2,4-ジフルオロ安息香酸)および化合物2(5-クロロ-2,4-ジフルオロ安息香酸)のピーク面積をChemstationの2D-LC Viewerを用いて、すべてのカットの²Dピークの合計として計算しました。各混合物は6回繰り返して分析しました。表2に、3つの異なる混合物について

計算したピーク面積の平均値と相対標準偏差(RSD)を示します。低濃度の化合物2のピークは、S/N比の平均値が混合物1、2、3でそれぞれ、3.2、5.9、12.2であり、これは定量下限(LOQ)以下でした。このことは、化合物2の積分ピークが最大7.95%という比較的高いRSD値からもわかります。化合物2は化合物3と比較して相対面積比が0.03%、0.07%、0.14%で検出されました。両方の化合物の¹D分析から求めたレスポンス係数が1.17であることを考慮すると、精度は71.6~108.5%と計算できます。これは主要化合物と不純物の濃度差が大きいのことを考えると良好な結果といえ

ます。このことは、一次元目でメインピークと共溶出する不純物について、ICH ガイドライン Q3A(R2) で報告が必要なスレッショールド(0.05%)の相対濃度において高分離能サンプリング2D-LCを用いてAPIの不純物を分離および検出できることを示しています。

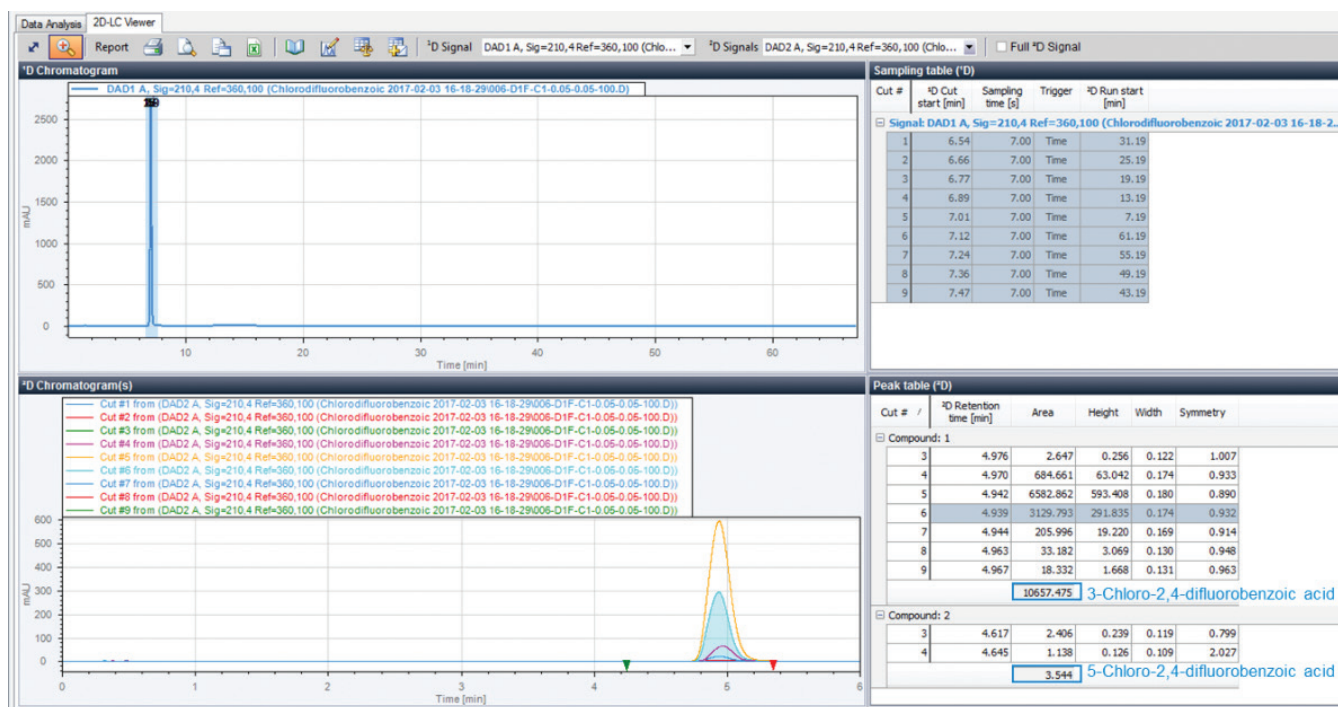


図7. Chemstationの2D-LC Viewer画面。化合物2(5-クロロ-2,4-ジフルオロ安息香酸)、化合物3(3-クロロ-2,4-ジフルオロ安息香酸)のピーク面積を用いたクロロジフルオロ安息香酸の高分離能サンプリング2D-LC分析結果

表2. 3つの異なる混合物を²D検出器として光路長10mmのMax-Lightカートリッジセルを備えたAgilent 1290 Infinity II DADを用いて6回の連続分析の結果から算出したピーク面積の平均値と相対標準偏差。化合物3に対する化合物2の面積比(%)。¹Dピークから算出したレスポンス係数を1.17として精度を計算しました。

	3-クロロ-2,4-ジフルオロ安息香酸 (化合物3)		5-クロロ-2,4-ジフルオロ安息香酸 (化合物2)			面積比 (%)	精度 (%)
	面積	RSD (%)	面積	RSD (%)	S/N		
混合物 1 (0.05:0.05:100%)	10,685.64	0.26	3.39	7.95	3.2	0.03	71.6
混合物 2 (0.10:0.10:100%)	10,616.72	0.39	7.47	3.22	5.9	0.07	82.3
混合物 3 (0.15:0.15:100%)	10,548.79	0.13	14.67	2.71	12.2	0.14	108.5

精度と真度をさらに向上させるために、Agilent 1290 Infinity II HDR-DAD 不純物分析ソリューションを²D 検出器として用いました。このソリューションでは、ダイナミック UV レンジの直線範囲を広げるために、異なる光路長の Max-Light カートリッジセルを備えた 2 台のダイオードアレイ検出器からのシグナルを組み合わせます。高濃度の化合物 3 でも UV レンジの直線範囲を超えることなく注入量を増やすことができました。S/N 比の平均値はすべての混合物で LOQ を超えており、混合物 1、2、3 でそれぞれ 20.7、24.1、34.0 でした。化合物 2 の面積精度は大幅に向上し、RSD 値は 1.58 % 以下でした (表 3)。精度は 96.4 ~ 108.5 % で、定量に最適です。

脱アミドインスリンの分析

塩基性条件下でウシインスリンを脱アミド化し、不純物を含む医薬品関連物質の実際のサンプルとしました。サンプルを HiRes サンプルング 2D-LC/MS で分析しました。Agilent OpenLab CDS ChemStation Edition と MassHunter からの

測定データを MassHunter の²D Chromatogram Creator で合わせます。このソフトウェアは、得られたフル²D MS データからの²D クロマトグラムを、一次元目の 1 カットにつき 1 つのクロマトグラムで作成します。作成したクロマトグラムは、OpenLab CDS ChemStation Edition の 2D-LC Viewer と同じものを MassHunter でも表示す

ることができます。図 8A に示すように、カットするシグナルを強調した¹D UV クロマトグラムを MassHunter で表示することができます。図 8B には MassHunter におけるフル 2D-MS を、図 8C にはフル 2D-UV シグナルを示します。10 のカットのそれぞれについて、MassHunter の²D Chromatogram Creator を用いて 1 つずつクロ

表 3. 3 つの異なる混合物を²D 検出器として Agilent 1290 Infinity II HDR-DAD 不純物分析ソリューションを用いて 6 回の連続分析の結果から算出したピーク面積の平均値と相対標準偏差。化合物 3 に対する化合物 2 の面積比 (%)。¹D ピークから算出したレスポンス係数を 1.17 として精度を計算しました。

	3-クロロ-2,4-ジフルオロ安息香酸 (化合物 3)		5-クロロ-2,4-ジフルオロ安息香酸 (化合物 2)		S/N	面積比 (%)	精度 (%)
	面積	RSD (%)	面積	RSD (%)			
混合物 1 (0.05:0.05:100 %)	50072.70	1.19	23.30	1.58	20.7	0.05	108.5
混合物 2 (0.10:0.10:100 %)	49020.63	0.85	42.02	1.44	24.1	0.09	99.9
混合物 3 (0.15:0.15:100 %)	48698.74	1.34	60.37	1.47	34.0	0.12	96.4

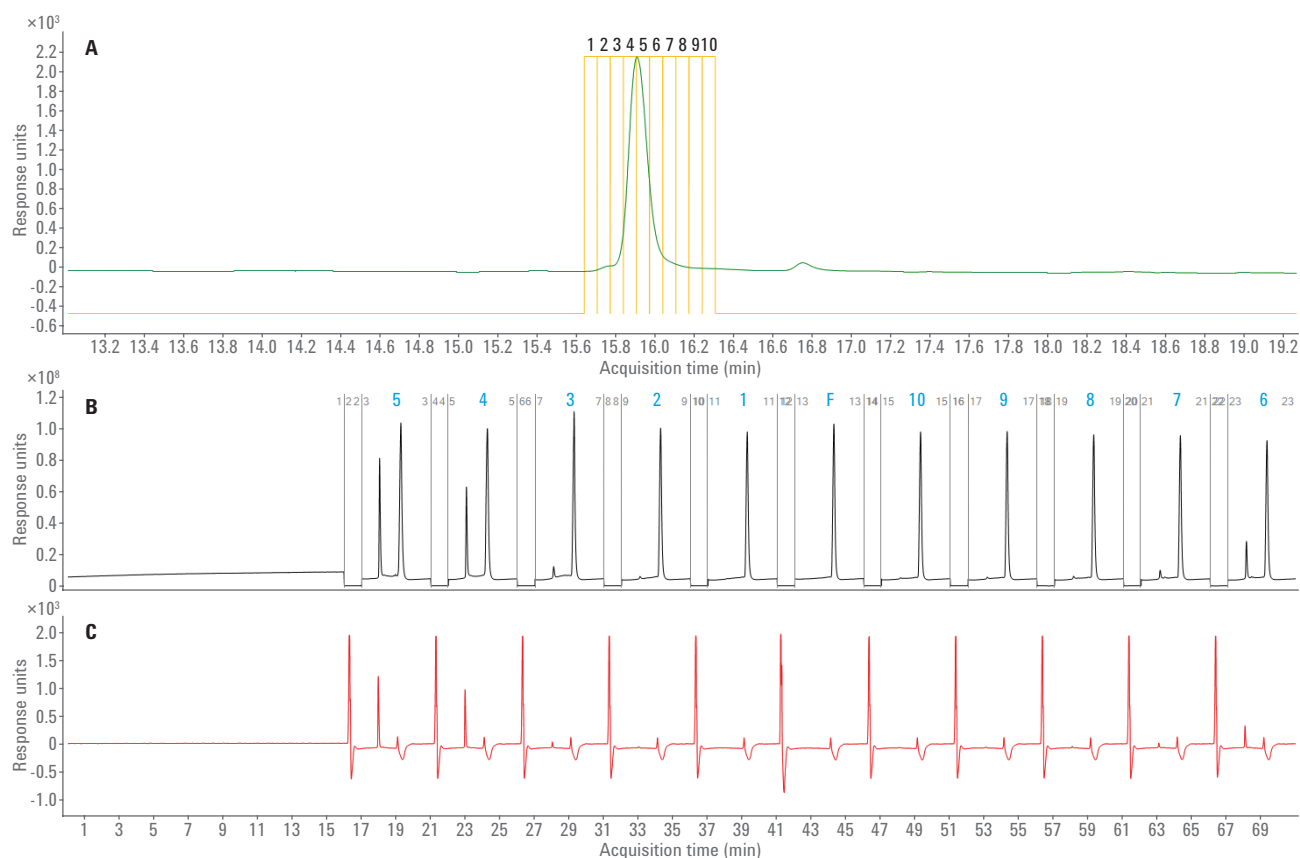


図 8. 脱アミドインスリン分析を Agilent MassHunter で表示したシグナル。A) HiRes サンプルングでの¹D-UV シグナルのカット。B) フル²D-MS シグナル。C) フル²D-UV シグナル

マトグラムを作成しました。図9は、10のカットすべてについてのトータルイオンクロマトグラム (TIC) を重ねたものです。²D分離の最初の1分間は、MSダイバータバルブの切り替えにより廃液に流れるようにしました。この方法でフラクションに含まれる緩衝液塩が、MSイオン源に入らないようにしました。図9のそれぞれのTICにおいて、分析時間1分でダイバータバルブを切り替え、フローがMSに直接流れるようになったことが視覚的にもわかります。インスリンのメインピークが、カット2～10に

おいてリテンションタイム2.06分に異なる強度で確認できます。²Dグラジエントには90%Bでカラムを洗浄する短い時間があり、これにより約3.2分にベースラインの急な増減が認められます。図10にカット7のTICと²D-UVシグナルの拡大図を示します。インスリンのメインピークは、一次元目からテーリングしていたことがわかります。²Dクロマトグラムでは、2つのピークがMSとUVシグナルの両方で確認できます。図11に2つのピークの質量スペクトルを抽出して示します。ピーク1の同位体比

は、インスリンの[M+5H]⁵⁺イオンとすることができます。ピーク2の質量スペクトルは、インスリンの単一の脱アミド生成物に相当する同位体比(中性分子質量のシフト0.98 Da)を示しています。同じ化合物がカット6でも検出されました(データは非表示)。

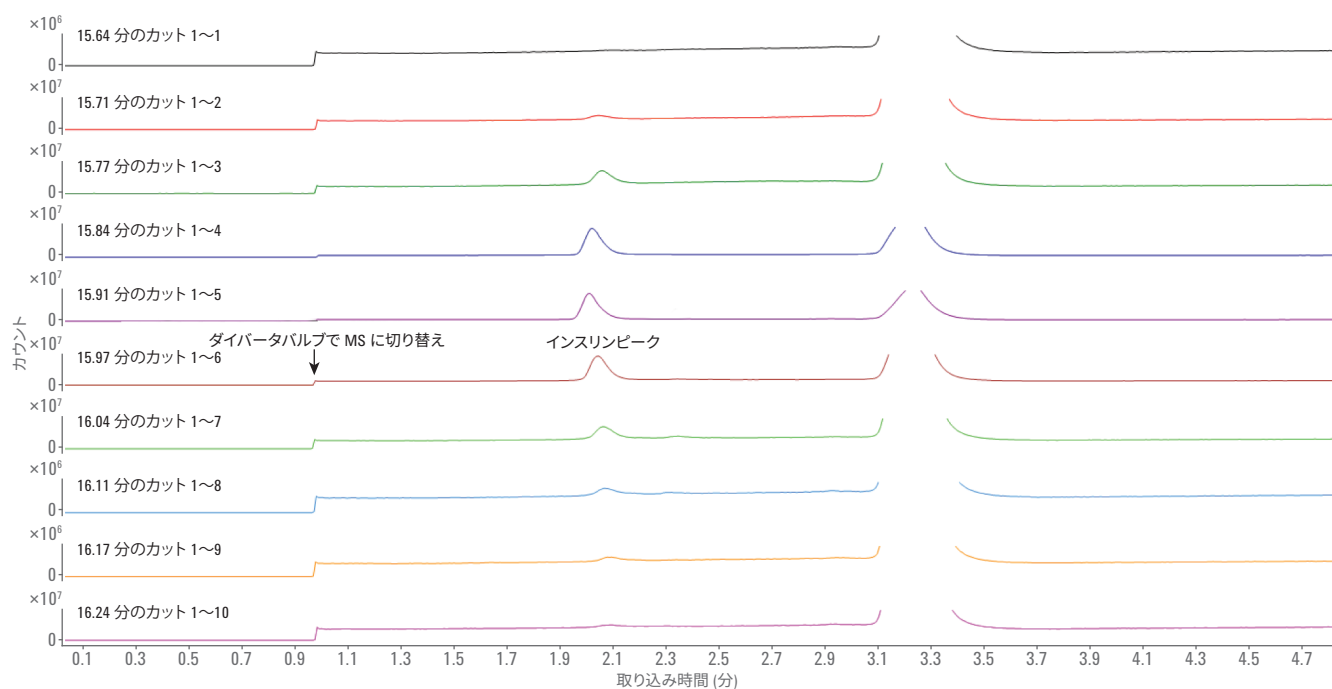


図9. Agilent MassHunter の²D Chromatogram Creator で作成したすべてのカットの²Dクロマトグラム

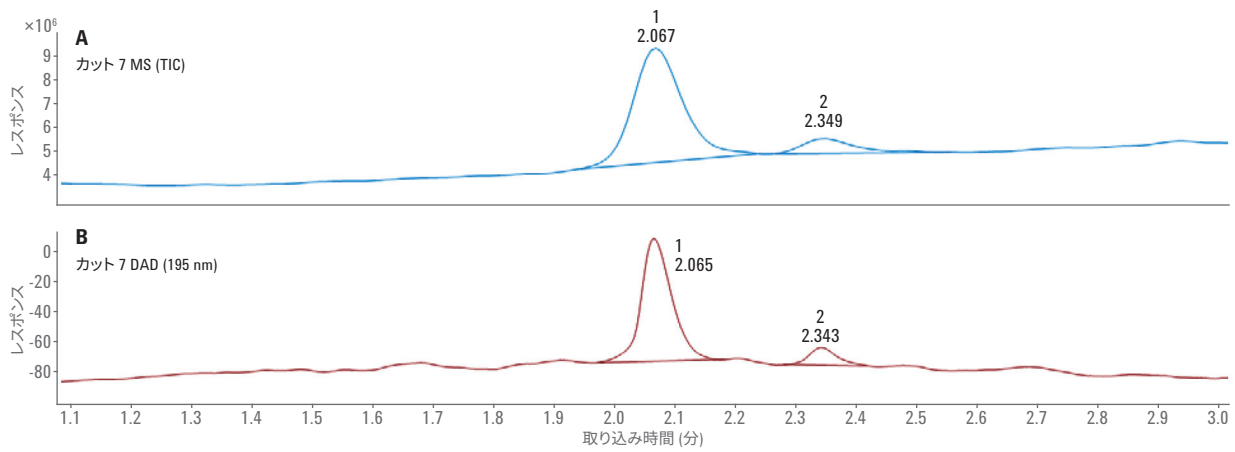


図 10. カット7の²Dクロマトグラム (MS (TIC) とUV シグナル (DAD2))

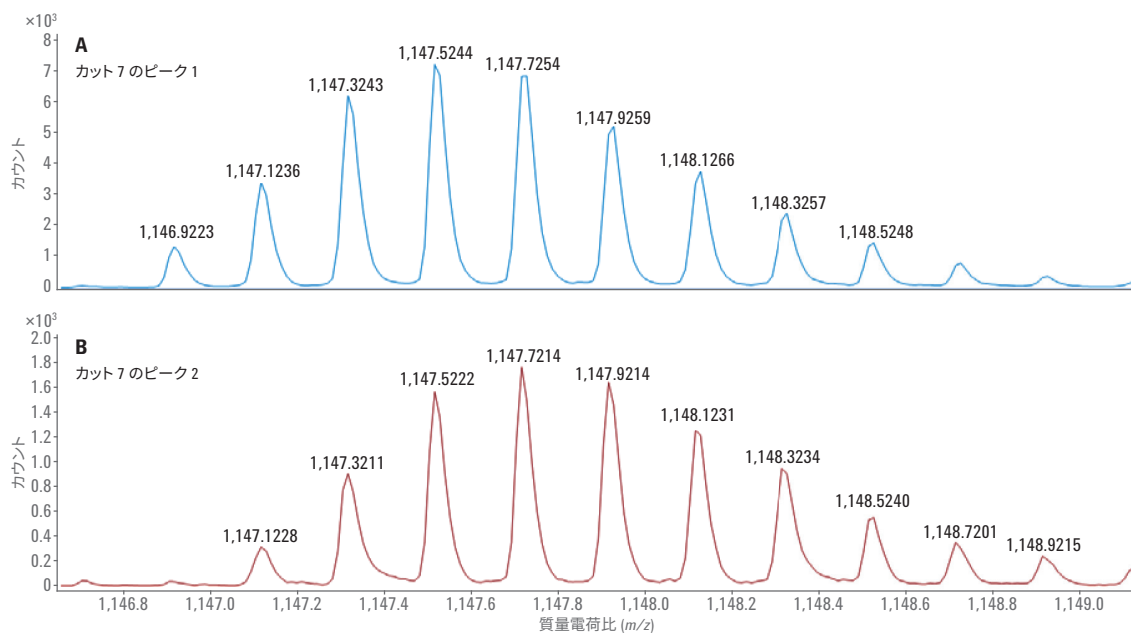


図 11. カット7の²Dクロマトグラムにおけるピーク1と2の質量スペクトル

結論

このアプリケーションノートでは、高分離能サンプリング 2D-LC を用いて、構造的に類似している主要化合物のサンプルに含まれる低濃度の不純物を検出できることを実証しました。クロロジフルオロ安息香酸の混合物を用いて、新しい原薬の不純物についての ICH ガイドラインに従い、相対濃度が 0.05 %、0.10 %、0.15 %、100 % の ¹D 分析で分離できない化合物を HiRes サンプリング 2D-LC により ²D カラムに送り、分離できることが示されています。5-クロロ-2,4-ジフルオロ安息香酸は 71.6 ~ 108.5 % の精度で検出されました。面積精度は 2.71 ~ 7.95 % でした。²D 検出器として Agilent 1290 Infinity II HDR-DAD 不純物分析ソリューションで注入量を増やした結果、精度が 96.4 ~ 108.5 %、面積精度が 1.44 ~ 1.58 % に向上しました。脱アミドインスリンを実際のサンプルとして、HiRes サンプリング 2D-LC/MS 分析をしました。Agilent MassHunter の ²D Chromatogram Creator を用いてデータを評価しました。インスリンのメインピークは一次元目ではテーリングしていましたが、インスリンの単一の脱アミド生成物が検出され、2つのカットにおける同位体比で同定できました。

参考文献

1. Venkatramani, C. J.; *et al.* Assessing Stability-Indicating Methods for Coelution by Two-Dimensional Liquid Chromatography with Mass Spectrometric Detection. *J. Sep. Sci.* **2014**, *37*, 3214-3225.
2. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use – Impurities in New Drug Substances Q3A(R2), **2006**.
3. Petersson, P.; Haselmann, K.; Buckenmaier, S. Multiple Heart-Cutting Two Dimensional Liquid Chromatography Mass Spectrometry: Towards Real Time Determination of Related Impurities of Bio-Pharmaceuticals in Salt Based Separation Methods. *J. Chromatogr. A* **2016**, *1468*, 95-101.
4. Stephan, S. High-Resolution Sampling 2D-LC with the Agilent 1290 Infinity II 2D-LC Solution. *Agilent Technologies Technical Overview*, publication number 5991-7637EN, **2016**.
5. Schneider, S. 2D-LC/MS Characterization of Charge Variants Using Ion Exchange and Reversed-Phase Chromatography Multiple Heart-Cutting 2D-LC Analysis of Innovator versus Biosimilar Monoclonal Antibodies. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-6673EN, **2016**.

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いません。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。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2017

Printed in Japan, June 1, 2017

5991-8082JAJP



Agilent Technologies