

HPLC를 이용한 뇨 및 혈액중 Metocurine Iodide의 미량분석

김경님 · 이종필 · 김효진* · 김박광#
서울대학교 약학대학, *동덕여자대학교 약학대학
(Received June 1, 1994)

Microanalysis of Metocurine Iodide in Urine and Blood by HPLC

Kyung Nim Kim, Jong Pil Lee, Hyo Jin Kim* and Bak-Kwang Kim#
College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 152-742, Korea
*Department of Pharmacy, Dong Duck Women's University, Seoul 136-714

Abstract—A new method for the analysis of metocurine iodide in biological fluids was developed. Metocurine iodide was quantitatively extracted with rose bengal from aqueous layer into dichloromethane layer and the amount of metocurine iodide was calculated from the amount of rose bengal which was determined by HPLC with fluorescence detector. It was possible to analyze metocurine iodide without the effect of co-prescribed drugs in the concentration range of 0.09~9.10 µg/ml. The detection limits of metocurine iodide in urine and blood were 0.8 and 1.2 ng at S/N=3, each respectively.

Keywords □ Metocurine iodide, rose bengal, ion pair extraction, HPLC analysis.

Metocurine iodide는 biquaternary ammonium구조로서 수술시 근육 이완제로 사용되고 있는 약물이다. Neomycin, streptomycin, kanamycin, polymyxin B, colistin 및 viomycin 등의 항생물질 투여환자, 살충 약에 노출되었던 환자, 중증 근 무력증, 산혈증, 전해질 평형실조, 탈수 혹은 중증 신 질환이 있는 환자 등에서 작용이 증강되어 상용량에서도 약화사고의 우려가 있으며, 치사량이 낮기 때문에 이 약물에 대한 철저한 규제가 필요한 실정이다. 그런데 이 약물은 사용량이 미량이기 때문에 이 약물을 규제하기 위해서는 의료사고나 약화사고의 원인규명 및 약물 동력학적 측면에서 응용할 수 있는 미량 분석법의 확립이 요구되고 있다.

일반적으로 암모늄 화합물의 정량에 있어서 *p*-phenylazobenzamide 및 *p*-phenyl-azobenzenesulfonamide,¹⁾ chloroplatinate salt,²⁾ thiourea,³⁾ chloranil,⁴⁾ chloranilic acid, nitroso-R salt,⁵⁾ I₂, picric acid,⁶⁾ rose bengal 등의 여러 가지 이온 회합시약을 이용한 분

석법이 보고되어 있다.⁷⁻¹³⁾

이온 회합시약으로 rose bengal^{14,15)}을 이용하여, Cohen¹⁶⁾은 암모늄 화합물인 (+)tubocurarine을 정량한 예가 있으며, Ursula 등은 plasma, liver, kidney, bile 그리고 urine에 함유된 pancuronium bromide를 혈장의 경우 0.1~1.0 µg/ml 농도에서 분석하였다. 이어 Lemuel 등은 모체와 태아의 혈청 중에 함유된 pancuronium bromide를 0.05~0.82 µg/ml 농도에서 분석하였다.

Metocurine iodide는 생체 시료 중에 함유되어 있을 경우 자체로는 유기용매로 추출되지 않아서 검출의 어려움이 있었다. 그러나 이 약물은 형광색소인 rose bengal과 착체를 형성하여 유기층으로 이행된다. 본 실험에서는 metocurine iodide를 정량하기 위해 rose bengal을 이온 회합 시약으로 사용하여 추출시 완충액의 pH, 진탕시간, 추출용매, 착체의 결합비율을 실험하여 추출시 최적 조건을 설정하였다. 그리고 이 조건을 이용하여 뇨 및 혈액 중에 함유된 metocurine iodide의 이온쌍 추출조작 후 HPLC를 이용하여 UV

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

및 형광 검출기를 사용하여 rose bengal을 분석함으로써 metocurine iodide를 간접 정량하는 미량 분석법을 확립하였다. 또한 수술시 metocurine iodide와 함께 투여될 수 있는 동시 처방약물¹⁷⁾의 영향도 검토하였고, UV, IR, NMR을 이용하여 결합시 스펙트럼의 변화를 관찰하였다.

실험방법

시약 및 기기

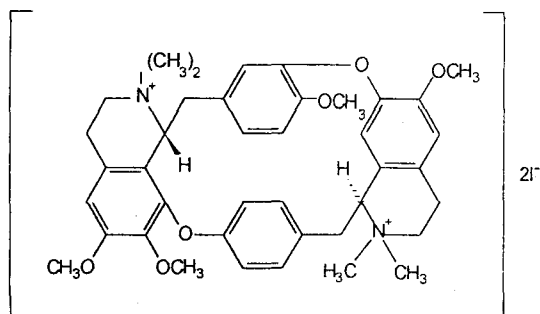
Rose bengal(Sigma R4507)은 특급시약을 구입하여 0.45M K₂HPO₄에 녹여 2×10⁻⁴M 용액으로 조제한 후 동량의 CH₂Cl₂으로 3회 세척하여 사용하였다. Metocurine iodide는 아주약품으로부터 기증 받았고 물에 녹여 1×10⁻⁴M 용액을 조제하였다. 위의 용액들은 필요에 따라 희석하여 사용하였다. 추출 용매는 1급 CH₂Cl₂를 증류한 후 물로 포화시켜 사용하였다. 특별한 언급이 없는 한 모든 시약은 특급을 사용하였다.

완충액은 Elving¹⁸⁾의 방법에 따라 acetic acid, sodium acetate, sodium phosphate monobasic(2 hydrate), sodium phosphate dibasic(12 hydrate), sodium phosphate, sodium hydroxide를 이용하여 조제(이온 강도 0.5)하였으며 인산염 완충액(pH 10)은 0.2M Na₂HPO₄, 48.2 ml와 0.2M Na₃PO₄, 1.8 ml를 가해 물을 이용하여 1L로 조제하였다.

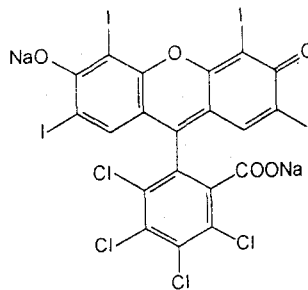
HPLC용 용매는 HPLC용 메탄올과 물을 사용하였고 이온 안정화제로 인산염 완충액(pH 10)을 사용하였다. 동시 처방약물의 영향을 알아보기 위하여 사용한 약물들은 working standard를 이용하였다. 뇨와 혈액은 건강한 성인으로부터 얻었으며 냉동 보관하였다. 흡광도 측정에는 Spectrophotometer UV-2101 PC(Simadzu corporation), 형광 측정에는 Jasco FP-777 spectrofluorometer(Jasco International Co., Ltd.), IR 측정에는 Perkin-Elmer 1710 spectrometer, NMR 측정에는 Bruker JNM-GSX 400 spectrometer, HPLC는 Hitachi사의 pump와 UV/VIS 및 형광검출기와 Hewlett Packard integrator를 사용하였다.

정량조작

Scheme I에서 본 바와 같이 metocurine iodide의



Metocurine iodide



Rose bengal

Fig. 1—Structure of metocurine iodide and rose bengal.

이온쌍 추출과정은 다음과 같다. 시험관에 metocurine iodide(1×10⁻⁴M) 1 ml, rose bengal(2×10⁻⁴M) 1 ml와 완충액 3 ml를 가하여 혼합한 수용액에 디클로로메탄 10 ml를 넣어 3분간 진탕하고 10분간 원심 분리(2000 rpm)하였다. 이온쌍이 이행된 디클로로메탄 층은 건조 여지로 여과한 후, UV spectrophotometer를 이용하여 λ_{max} 562 nm(Fig. 2)에서 흡광도를

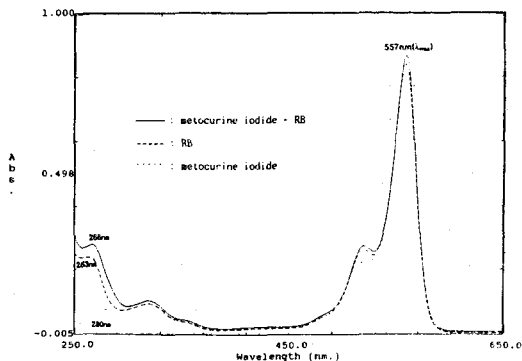
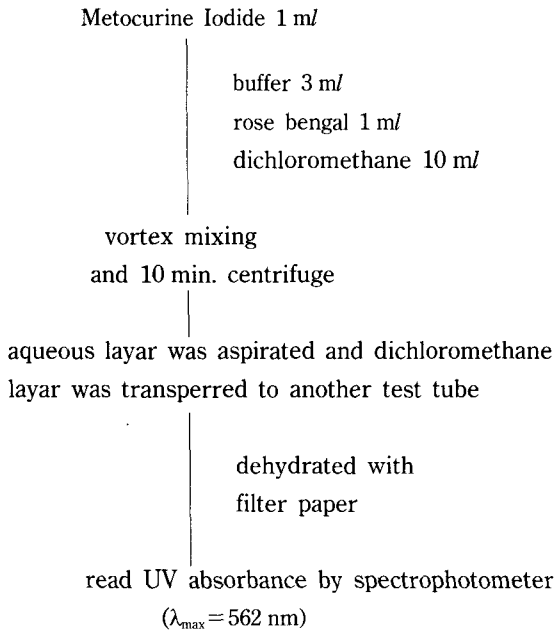


Fig. 2—Absorbance spectra of metocurine-RB, RB and metocurine in methanol.



Scheme I—Extraction of metocurine-rose bengal complex.

측정하였다. 대조액으로는 공 시험관 CH_2Cl_2 를 사용하였다.

측정하였다. 대조액으로는 공 시험관 CH_2Cl_2 를 사용하였다.

추출조건의 검토

pH의 영향—8개의 시험관에 metocurine iodide($4 \times 10^{-5}\text{M}$) 1 ml, rose bengal($1 \times 10^{-4}\text{M}$) 1 ml 및 완충액(pH 3~13)을 각각 가한 후 디클로로메탄을 추출용매로 하여 Scheme I의 방법에 따라 실험하였다.

추출용매—암모늄 화합물에 가장 선택적인 추출용매인 알킬 클로라이드 계열의 디클로로메탄, 디클로로에탄, 클로로포름, 사염화탄소 등에 대하여 검토하였다.

추출시간—추출시 진탕시간을 각각 30초, 1분, 3분, 5분, 30분 및 1시간 간격으로 하여 검토하였다.

착체의 결합비율—연속 변화법 즉 수용액 2 ml중에 metocurine iodide와 rose bengal을 합한 총 농도를 $1.2 \times 10^{-4}\text{M}$ 로 하고 metocurine iodide와 rose bengal을 각각 1 : 9, 2 : 8, ..., 8 : 2, 9 : 1의 몰비로 함유되도록 9개의 시험관에 각각 가하고 인산염 완충

액(pH 10) 3 ml씩을 넣어 이하 Scheme I에 따라 실험하였다.

시료의 조제 및 추출—혈액 1 ml에 각각 0.09, 2.34, 4.60, 6.85, 9.10 $\mu\text{g/ml}$ 의 metocurine iodide가 함유되도록 단계적으로 희석한 용액, 각각 1 ml씩을 취하여 아세토니트릴 1 ml를 가하고 진탕, 원심분리하여 얻은 상징액에 인산염 완충액 (pH 10) 3 ml와 rose bengal (25 $\mu\text{g/ml}$ in 0.45M K_2HPO_4) 1 ml를 가하여 3분간 진탕한 후 10분간 원심분리하였다. 수층은 제거하고 이온쌍이 이행된 디클로로메탄 층에 대하여 건조여지로 여과한 후 4 ml를 정확히 취하여 감압 증류하였다. 여기서 얻은 잔사를 200 μl 의 메탄올에 녹인 다음 여과하여 HPLC 분석용 혈액의 검액으로 하였다.

뇨 및 증류수 1 ml에 각각 0.09, 2.34, 4.60, 6.85, 9.10 $\mu\text{g/ml}$ 의 metocurine iodide가 함유되도록 단계적으로 희석한 용액, 각각 1 ml씩을 취하여 인산염 완충액 (pH 10) 3 ml와 rose bengal (25 $\mu\text{g/ml}$ in 0.45M K_2HPO_4) 1 ml를 가하여 3분간 진탕한 후 10분간 원심분리하였다. 수층은 제거하고 이온쌍이 이행된 디클로로메탄 층에 대하여 건조여지로 여과한 후 4 ml를 정확히 취하여 감압증류 하였다.

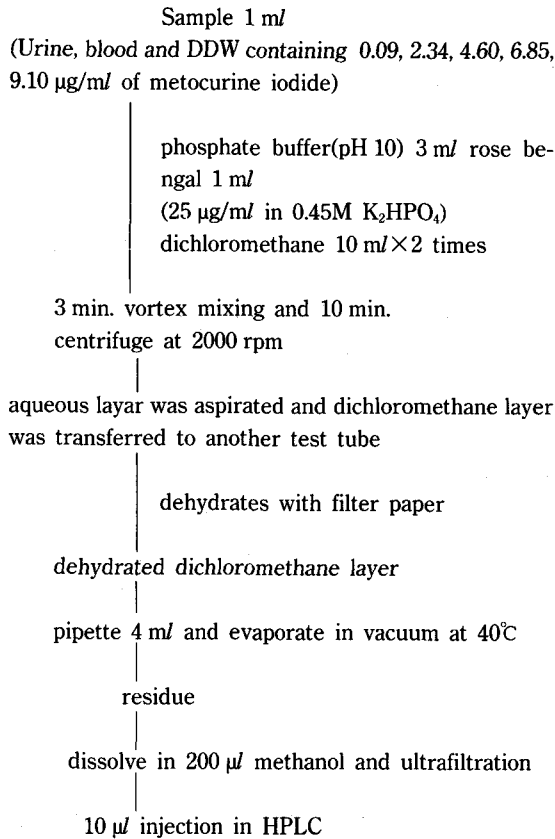
여기서 얻은 잔사를 200 μl 의 메탄올에 녹인 다음 여과하여 HPLC 분석용 뇨 및 표준액의 검액으로 하였다.

HPLC에 의한 시료분석—위에서 조제한 뇨, 혈액 및 표준액의 검액을 각각 10 μl 씩 취하여 Table I 조건에 따라 분석하였다.

동시 처방약물의 영향—Metocurine iodide와 수술시 동시에 투여될 수 있는 여러 약물로 인한 추출시 영향을 알아보기 위하여 metocurine iodide 90.7 $\mu\text{g/ml}$ 와 이 양에 대한 각 약물의 투여 비율대로 조제한

Table I—Analytical condition of HPLC

column:	μ -Bondapak C_{18}
mobile phase:	45% methanol + 0.005M-phosphate salt (pH 10)
detector:	UV 0.01 Auf $\lambda_{\max} = 553 \text{ nm}$ Fluorescence sensitivity:1 excitation = 546 nm, emission = 570 nm
flow rate:	0.8 ml/min
recoder:	attenuation = 32, chart speed = 0.5 cm/min



Scheme II—Preparation for HPLC analysis.

1 ml에 인산염 완충액(pH 10) 3 ml, rose bengal(25 $\mu\text{g/ml}$ in 0.45M K_2HPO_4) 1 ml를 가하여 혼합하였다. 이하 Scheme I의 방법과 같이 실험하였다.

결과 및 고찰

최적 추출조건—Scheme I의 방법에 따라 rose bengal을 이온 회합시약으로 이용한 metocurine iodide의 유기용매로의 추출은 수용액의 pH에 영향을 받는다. pH 3~13의 여러 완충액에 대한 metocurine iodide의 추출은 Fig. 3에서 나타난 바와 같이 pH 9~13사이에서 양호한 추출을 보여주었다. 그러므로 본 실험에서는 인산염 완충액(pH 10)을 선택하여 사용하였다.

메토큐린-로즈벵갈 착체는 여러 유기용매에 대한 이행정도가 각각 다르다. 디클로로메탄, 디클로로에탄, 클로로포름, 사염화탄소에 대하여 실험한 결과

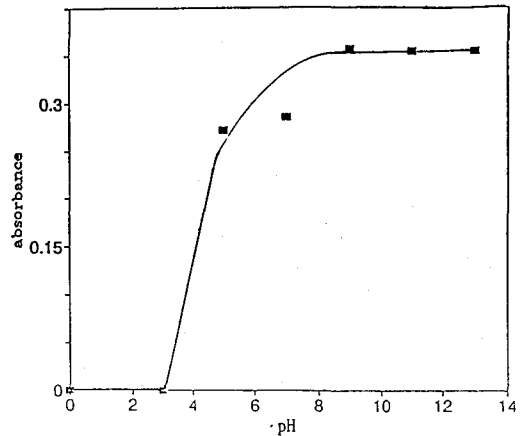


Fig. 3—Effect of pH.

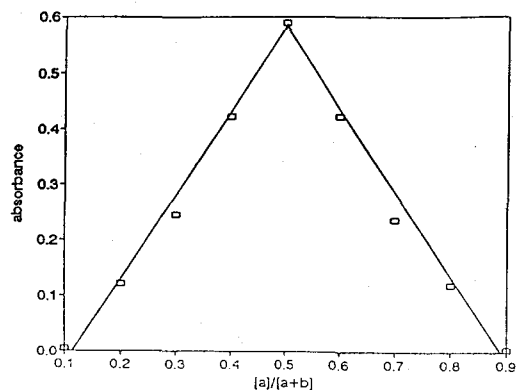


Fig. 4—Continuous variation method.

a: metocurine iodide
b: rose bengal

디클로로메탄과 디클로로에탄이 가장 양호한 추출을 나타내어 본 실험에서는 디클로로메탄을 추출용매로 선택하여 사용하였다.

추출시간은 30초, 1분, 3분, 5분, 30분 및 1시간 간격으로 하여 실험한 결과 1분 이후에는 모두 일정한 흡광도를 보여 메토큐린-로즈벵갈 이온 착체의 유기용매로의 추출은 신속하게 이루어짐을 알 수 있었다. 본 실험에서는 진탕시간을 3분으로 고정하여 실험하였다.

Metocurine iodide를 추출하기 위하여 필요한 rose bengal의 양은 연속 변화법에 의한 착체의 결합비율로서 알 수 있다. 연속변화법에서는 metocurine iodide와 rose bengal을 각각 1 : 9, 2 : 8, ..., 8 : 2, 9 : 1의 몰비로 가하고 추출후 유기 용매 층으로 이행된

이온쌍에 대한 흡광도를 측정하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 전체 몰수에 대한 metocurine iodide의 몰비가 0.5일 때 최대값을 보였다. 이로부터 metocurine iodide와 rose bengal의 착체 형성의 결합비율은 1:1 몰비로 결합됨을 알 수 있었다.

생체시료중의 metocurine iodide의 정량-혈액시료는 단백 성분을 제거하기 위해 아세토니트릴 1 ml를 가해 침전시켜 진탕한 후 원심분리하는 전처리 과정이 필요하였다. 뇨 및 혈액 중에 함유된 metocurine iodide를 추출하기 위하여 앞에서 살펴본 최적 추출 조건을 이용하였다. 즉 인산염 완충액(pH 10) 3 ml와 착체 형성을 위한 충분양인 rose bengal(25 µg/ml in 0.45M K₂HPO₄) 1 ml를 가하였으며 추출 용매로는 디클로로메탄을 사용하였다. 3분간 진탕 추출, 원심 분리한 후 착체가 이행된 디클로로메탄 층을 일정량 취하여 감압증류하여 얻은 잔사를 200 µl 메탄올에 녹여 여과한 후 이 액 10 µl를 HPLC를 이용하여 분석하였다.

HPLC에 의한 분석은 Table I에 표시한 바와 같이 µ-Bondapak C₁₈ 칼럼과 인산염(pH 10)이 함유된 45% 메탄올을 이동상으로 하여 λ_{max}=553 nm에서 UV검

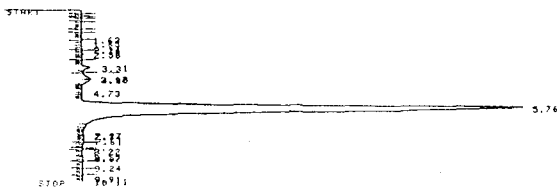


Fig. 5—Chromatogram of RB.

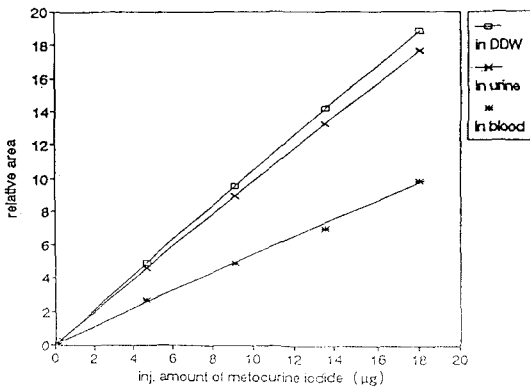


Fig. 6—Calibration curve of metocurine iodide in DDW, urine and blood(UV detector).

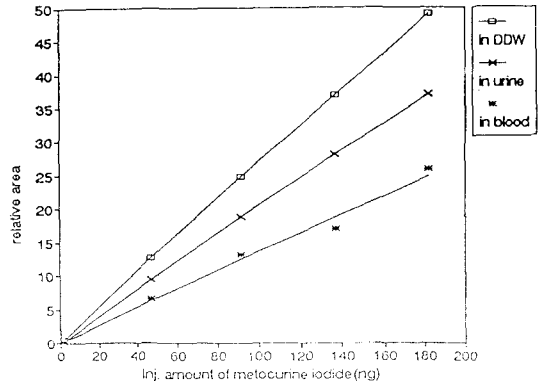


Fig. 7—Calibration curve of metocurine iodide in DDW, urine and blood(fluorescence detector).

출기 및 ex.=546 nm, em.=570 nm 파장에서 형광 검출기로 rose bengal을 분석함으로써 metocurine iodide를 간접 정량할 수 있었다(Fig. 5-7).

특히 형광검출기를 사용한 경우 Fig. 7과 같이 뇨, 혈액 및 증류수중에 함유된 metocurine iodide의 검량선은 시료 농도 0.09~9.10 µg/ml(1.82~182 ng*) 범위내에서 상관계수가 각각 0.999, 0.994, 0.999인 양호한 직선을 나타내었으며, 검출한계는 S/N=3에서 뇨의 경우 0.04 µg/ml(0.8 ng*), 혈액의 경우 0.06 µg/ml(1.2 ng*)이었다(*HPLC 분석시 시료 주입량)

동시처방 약물의 영향-수술시 metocurine iodide와 함께 처방 되어 투여될 수 있는 약물들로 인한 방해 작용을 검색하기 위해 다음의 여러 약물들을 metocurine iodide 90.7 µg/ml에 해당하는 각각의 투여 비율대로 조제하여 Scheme I의 방법으로 실험하였다. metocurine iodide 90.7 µg/ml에 대한 회수율은 Table II에서 보는 바와 같이 93.0~102%로서 양호하였으며 따라서 수술시 투여될 수 있는 공존 약물로 인한 방해작용은 거의 없었다.

착체의 결합구조 추정-메탄올 용액에서 같은 몰 농도의 RB, metocurine iodide, RB-metocurine iodide의 UV spectrum을 측정된 결과를 Fig. 2에 표시하여 두었다. metocurine iodide의 λ_{max}=280 nm, RB-Metocurine iodide의 λ_{max}=266 nm 이었다.

KBr disk법으로 IR spectrum을 측정된 결과는 Fig. 8~10에 표시하였다.

RB(Fig. 8)은 3400 cm⁻¹에서 aromatic C-H bond, 1620 cm⁻¹에서 C=O bond, 1455~1545 cm⁻¹에서 aromatic C=C bond, 1235 cm⁻¹에서 C-O bond, 950

Table II—Effect of co-prescribed drugs¹⁷⁾

Drugs	Added amount to metocurine iodide 90.7 µg/ml	Rec.(%) (n=3)
Atropine sulfate	30.2 µg/ml	95±0.36(SD)
Droperidol	90.7 µg/ml	95±0.15(SD)
Glycopyrrolate	4.17 µg/ml	93±0.90(SD)
Hydroxyzine HCl	150.6 µg/ml	95±1.25(SD)
Ketamin HCl	156.9 µg/ml	99±1.10(SD)
Neostigmine bromide	23.6 µg/ml	99±0.85(SD)
Pyridostigmine bromide	235.8 µg/ml	102±2.15(SD)
Succinylcholine chloride	45.0 µg/ml	99±1.70(SD)
Thiopental sodium	31.8 µg/ml	98±0.06(SD)
Fentanyl citrate	90.7 µg/ml	102±1.60(SD)

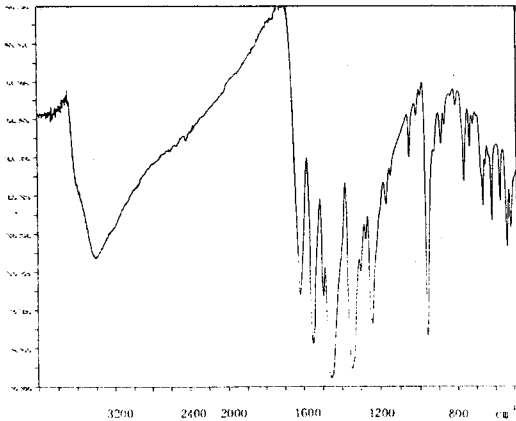


Fig. 8—IR spectrum of RB(KBr).

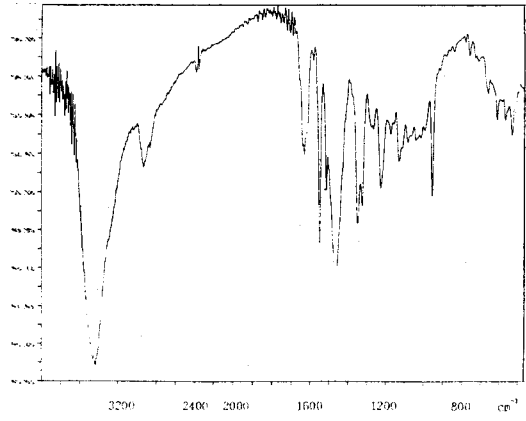


Fig. 10—IR spectrum of metocurine iodide-RB(KBr).

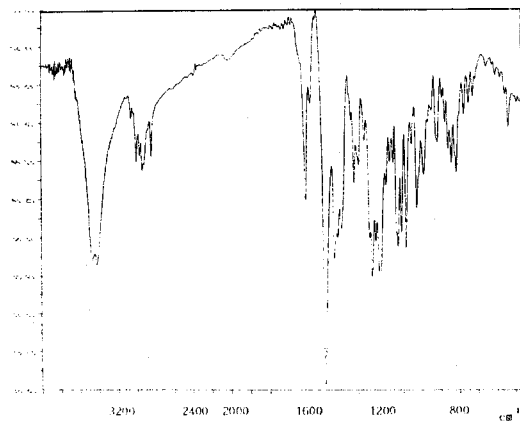


Fig. 9—IR spectrum of metocurine iodide(KBr).

cm^{-1} 에서 =CH aromatic OOP의 피크를 관찰할 수 있었다.

Metocurine iodide(Fig. 9)는 $3460, 3420 \text{ cm}^{-1}$ 에서 aromatic C-H, aliphatic C-H bond, $2850\text{--}2920 \text{ cm}^{-1}$ 에서 quaternary ammonium(N^+) bond, $1515\text{--}1610 \text{ cm}^{-1}$ 에서 aromatic C=C bond, 1220 cm^{-1} 에서 C-O bond, 1080 cm^{-1} 에서 C-N bond에 기인한 피크를 관찰할 수 있었다.

RB-metocurine iodide(Fig. 10)는 $3440, 3420 \text{ cm}^{-1}$ 에서 aromatic C-H, aliphatic C-H bond, $2850\text{--}2920 \text{ cm}^{-1}$ 에서 quaternary ammonium bond, 1620 cm^{-1} 에서 C=O bond에 의한 피크를 관찰할 수 있었고, $1515\text{--}1610 \text{ cm}^{-1}$ 에서 $1460\text{--}1540 \text{ cm}^{-1}$ 으로 aromatic C=C bond의 장파장 전이, 1220 cm^{-1} 에서 1235 cm^{-1} 로 C-O bond의 단파장 전이, 1080 cm^{-1} 에서 1128 cm^{-1} 로 C-N bond의 단파장 전이를 관찰할 수 있었다.

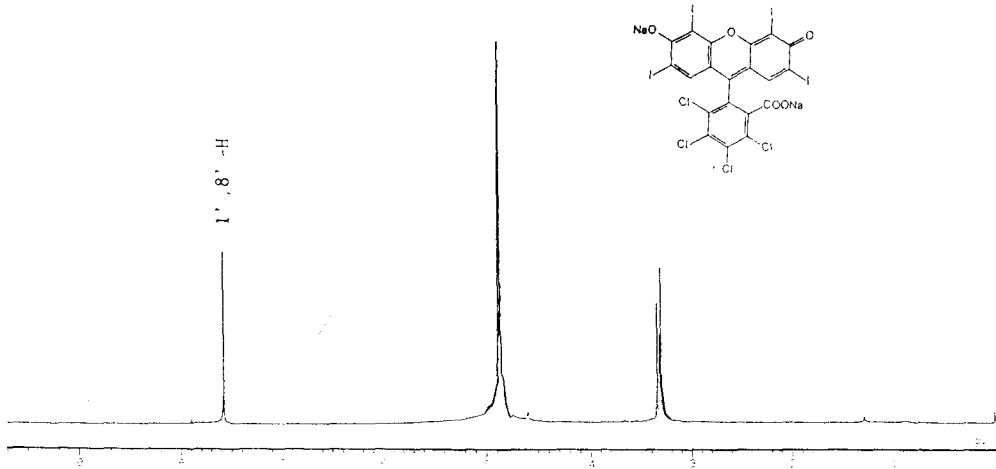


Fig. 11—¹H-NMR spectrum of RB(400 MHz, CD₃OD).

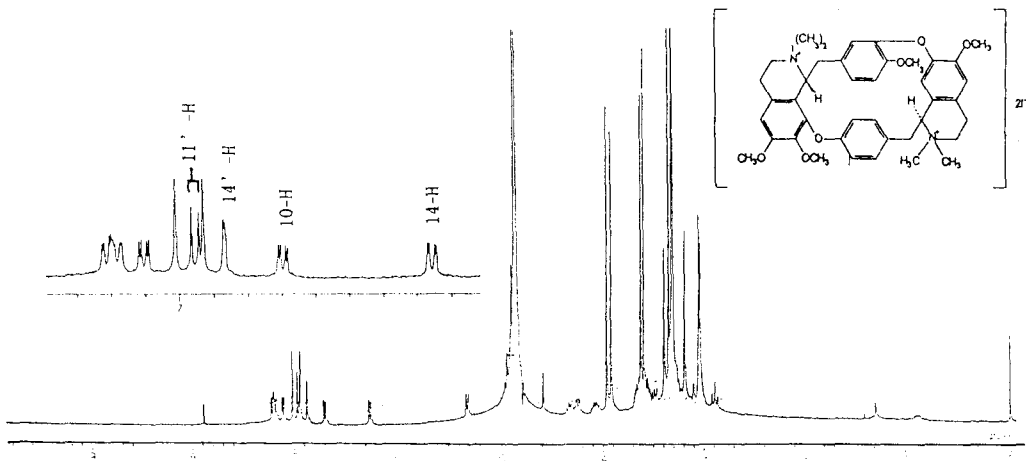


Fig. 12—¹H-NMR spectrum of metocurine iodide(400 MHz, CD₃OD).

(전이는 metocurine iodide와 RB-metocurine iodide를 비교한 것임)

¹H-NMR spectrum 측정결과는 RB과 metocurine iodide-RB 착체의 경우 RB의 2개의 H는 7.576 ppm에서 단일피크로 관찰되며 결합시 7.581, 7.590에서 두개의 피크로 나타난다(Fig. 11과 13).

그리고 metocurine iodide와 metocurine iodide-RB의 경우에는 6.24~6.27 ppm($J=8.4$ Hz, 2.0 Hz)의 14-aromatic H, 6.68~6.71 ppm($J=8.4$ Hz, 2.4 Hz)의 10-aromatic H, 6.866~6.871 ppm($J=2.0$ Hz)의 14'-aromatic H, 6.94~6.96 ppm($J=8.0$ Hz)의 11'-aromatic H는 결합시 각각 고자장으로 0.05, 0.03, 0.08,

0.07 ppm 이동하고, 2.96~3.37 ppm의 N-CH₃ proton들은 고자장으로 0.04~0.10 ppm 이동하였다(Fig. 12-15).

위에서 살펴본 바와 같이 결합시 전자 밀도의 변화로 metocurine iodide의 proton들이 고자장으로 0.03~0.15 ppm 이동하고 RB의 proton들의 피크 양상이 변화하는 것으로 볼 때 RB과 metocurine iodide의 결합을 추정할 수 있었다.

결 론

생체시료중에 함유된 metocurine iodide를 rose

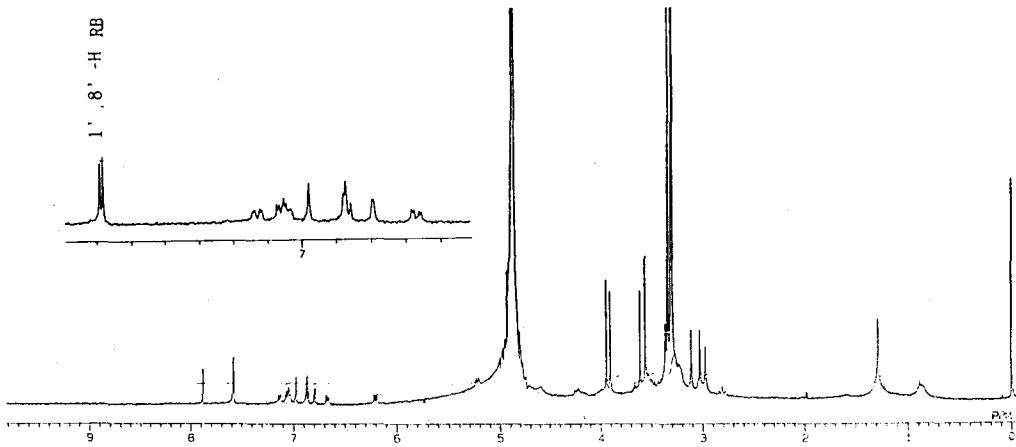


Fig. 13— $^1\text{H-NMR}$ spectrum of metocurine iodine-RB(400 MHZ, CD_3OD).

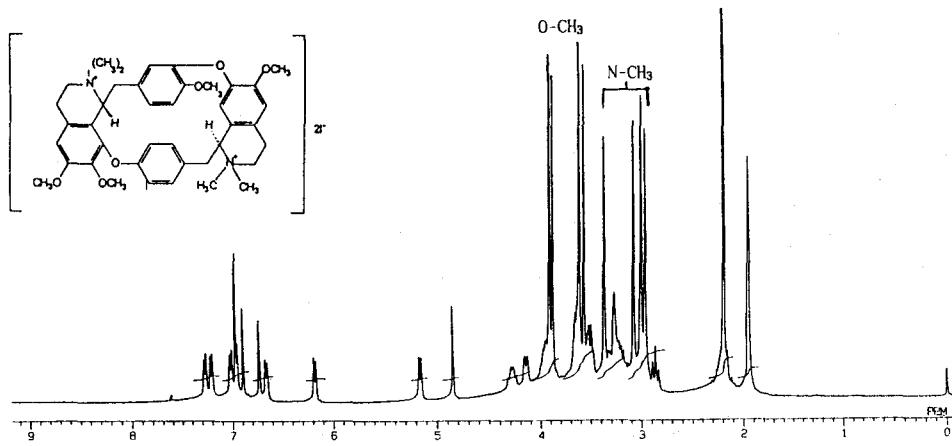


Fig. 14— $^1\text{H-NMR}$ spectrum of metocurine iodine(400 MHZ, CD_3OD).

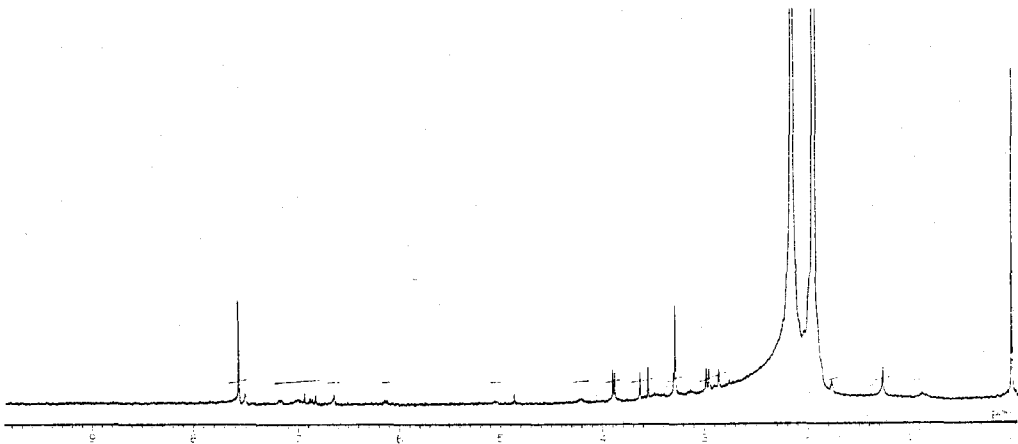


Fig. 15— $^1\text{H-NMR}$ spectrum of metocurine iodine-RB(400 MHZ, CD_3OD).

bengal과 착체를 형성, 유기층으로 이행시켜 UV 및 형광검출기를 장치한 HPLC로서 rose bengal을 분석함으로써 metocurine iodide를 미량 정량할 수 있었다.

착체의 이행은 완충액의 pH가 9-13, 추출용매로는 디클로로메탄을 사용하였을 때 양호하였으며 연속변화법으로 실험한 결과 1 : 1의 물비로 착체가 형성됨을 알 수 있었다.

HPLC에 의한 분석은 μ -Bondapak C₁₈ 칼럼과 인산염(pH 10)이 함유된 45% 메탄올을 이동상으로 하여 형광검출기의 ex.=546 nm, em.=570 nm 파장을 선택하여 분석하였다.

뇨와 혈액중에 함유된 metocurine iodide를 분석한 결과 검출한계(S/N=3)는 뇨의 경우 0.04 μ g/ml, 혈액의 경우 0.06 μ g/ml 이었고 0.09~9.10 μ g/ml(1.82~182 ng*) 농도에서 뇨, 혈액 및 증류수는 각각 상관계수 0.999, 0.994, 0.999인 양호한 직선성을 나타내었다(*HPLC 분석시 시료 주입량).

Metocurine iodide와 동시에 투여되는 약물의 공존시 회수율은 93~102%로 양호하였고 따라서 동시 처방약물로 인한 방해작용은 거의 없었다.

IR, NMR, UV등을 이용하여 RB과 metocurine iodide의 결합시 스펙트럼의 변화를 관찰하였다.

감사의 말씀

이 연구는 1993년도 한국 학술진흥재단 연구비로 수행되었으며 특히 본 연구를 수행함에 있어서 혈액을 제공하여 준 김종국 교수에게 심심한 감사를 드린다.

문 헌

- Silverstein, R. M., 'Spectrophotometric determination of primary, secondary and tertiary fatty amines in aqueous solution, *'Anal. Chem., 35, 154 (1963).*
- Gould, C. W. and Gross, S. T., 'Identification of amines by X-ray Powder patterns of their chloroplatinates, *'Anal. Chem., 25, 749 (1953).*
- Persaud, G., Xiu-min, T. and Cantwell, F. F., 'Behavior of solute adsorbed at the liquid-liquid interface during solvent extraction with porous-membrane phase separators, *'Anal. Chem., 59, 2 (1987).*
- Saucin, M. and Van De Vorst, A., 'On the electron donating properties of the major tranquilizers, *'Biochem. Pharmacol., 20, 909 (1971).*
- Jayarama, M., D'Souza, V., Yathirajan, H. S. and Rangaswamy, 'Interaction of Phenothiazines with nitroso-R salt and extractive spectrophotometric determination of Phenothiazines drugs, *'Talanta, 33, 352 (1986).*
- Ock, C. W. and Shin, T. Y., 'Spectrophotometric determination of Phenothiazines derivatives, *'Yakhak Hoeji, 31, 322 (1987).*
- Cantwell, F. F., Freiser, H., 'Kinetics of ion pair extraction, *'Anal. Chem., 60, 226 (1988).*
- Gibson, N. A., Weatherburn, D. C., 'The distribution of salts of large cations between water and organic solvents, *'Anal. Chim. Acta., 58, 149 (1972).*
- Higuchi, T., Michaelis, A.F., 'Mechanism and kinetics of ion pair extraction: Rate of extraction of dextromethorphanium ion, *'Anal. Chem., 40, 1925 (1968).*
- Johansson, I. M., Wahlund, K. G., Schill, G., 'Reversed-phase ion-pair chromatography of drugs and related organic compounds, *'J. of Chromatogr., 149, 281 (1978).*
- Kim, B -K., Rhee, J. S., Jang, S. K., Lah, W. Y. and Ock, C. W., 'Ion pair extraction of aliphatic amines and quaternary ammonium salts by picric acid, *'Yakhak Hoeji 35, 182 (1991).*
- Persson, B. A., Eksborg, S., 'Extraction of amines as complexes with inorganic anions, *'Acta. Pharm. Suecica, 7, 353 (1970).*
- Taha, A. M., Ahmad, A. K. S., Gamma, C. S., El-Fatary, H. H., 'Charge-Transfer complexes in alkaloid assay, *'J. of Pharm. Sci., 63,1853 (1974).*
- Bilski, P., Dabestani, R. and Chignell, C. F., 'Influence of cationic surfactant on the photoprocesses of eosine and rose bengal in aqueous solution, *'J. Phys. Chem., 95, 5784 (1991).*
- Bilski, P., Li, A. S. W., Chignell, C. F., 'The photo-oxidation of N,N-diethyl-hydroxylamine by rose bengal in acetonitrile and water, *'Photochemistry and photobiology, 54, 345 (1991).*

- 16) Cohen, E. N., 'Fluorescent analysis of d-tubocurarine hydrochloride, *J. Lab. Clin. Med.*, **61**, 338 (1963).
- 17) 카톨릭 의대 중앙 의료원, 원내 상용 의약품 편람 (1990).
- 18) Elving, P. J., Markowitz, J. M. and Rosenthal, I., 'Preparation of buffer systems of constant ionic strength, *Anal. Chem.*, **28**, 1179 (1956).