

## 생체시료로부터 미량 크로바잠의 고상추출을 위한 최적화

김경례<sup>#</sup> · 김정호 · 김 협 · 윤혜란

성균관대학교 약학대학

(Received May 12, 1995)

### Optimization for the Solid-Phase Extraction of Trace Clobazam from Biological Samples

Kyoung Rae Kim<sup>#</sup>, Jeong Ho Kim, Hyub Kim and Hye Ran Yoon

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746, Korea

**Abstract**—The sorption and desorption properties of four adsorbents were evaluated for the trace enrichment of clobazam from biological samples. Graphitized carbon black(GCB) gaved the highest dynamic adsorption coefficient. Among the six organic solvents examined, acetone gave the highest desorption coefficient for the clobazam adsorbed on GCB. Using the GCB column, the optimum elution volume of the eluting solvent was evaluated from the on-line monitored breakthrough curve for clobazam. When GCB as the solid adsorbent and acetone as the eluting solvent were used for the solid-phase extraction of clobazam from serum, the recoveries were higher than 83% with good reproducibility in the concentration range of 20-50 µg/ml.

**Keywords** □ Solid-phase extraction, clobazam, graphitized carbon black, adsorption coefficient, desorption coefficient

Clobazam(CLB: 7-chloro-1-methyl-5-phenyl-1H-1,5-benzodiazepine-2,4-(3H,5H)-dione)은 항발작, 항우울 그리고 경미한 신경안정작용을 가진 1,5-benzodiazepine계 약물<sup>1, 2)</sup>로서 치료량이 20-30 mg/day<sup>1, 6)</sup>이며, LD<sub>50</sub>은 mice에 주입시 840 mg/kg 이다. CLB는 1,4-benzodiazepine계 약물치료시 나타나는 수면작용이 없으면서 비교적 안전하므로 위장관 환자의 우울증 및 간질환자의 발작치료에 널리 쓰이고 있다<sup>5, 6)</sup>. 그러나 연용시에는 진정, 우울, 근육이완 등의 부작용이 유발되는 경우가 있으므로 장기간에 걸친 효과적인 치료를 위해서는 신속하고 정확한 혈중 CLB의 농도측정이 매우 중요하다.

생체액중의 미량의 benzodiazepine계 약물과 그 대상물은 주로 high performance liquid chromatography(HPLC)<sup>7, 9)</sup>, gas chromatography(GC) 및 gas chromatography-mass spectrometry<sup>10, 11)</sup>등에

의해 분석되고있다. 정확한 분석을 위해서는 먼저 약물들을 생체액으로부터 선택적으로 분리 농축해야 한다. 이 목적으로 쓰여온 종래의 유기용매 추출법<sup>7, 8)</sup>보다 조작이 간편하며 자동화가 가능한 고상추출법(solid-phase extraction)<sup>9, 11-14)</sup>이 최근에 시료 전처리 방법으로 널리 이용되기 시작하였다. 본 연구실에서는 이미 다양한 약물들의 고상추출 조건을 최적화하여 보고한 바 있다<sup>15, 19)</sup>.

미량 약물들의 고상추출 흡착제로서 극성이 적은 유기성 흡착제인 RP-C<sub>8</sub><sup>11)</sup>, RP-C<sub>18</sub><sup>9)</sup>, XAD-2<sup>20)</sup>(혹은 Chromosorb 102), 중간극성의 XAD-7(혹은 Chromosorb 107)<sup>17, 18)</sup>과 무기성의 비극성 흡착제인 graphitized carbon black(GCB)<sup>15, 16)</sup>, Thermosorb(TS), 극성이 큰 Chromosorb P<sup>19)</sup>등이 사용되고 있다. 이 중에서 GCB는 편극성이 큰 -NO<sub>2</sub>, -Cl, phenyl기 등을 가진 방향족 유기화합물에 대해 선택적으로 큰 친화성을 가지므로 편극성이 큰 약물들에 대한 흡착제로서 많은 장점을 가지고 있다<sup>15, 16)</sup>. 그러나 문헌에는 주로

<sup>#</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 지사에게로

pH 8 이상의 수용액에서 안정성이 떨어지는 RP-C<sub>8</sub>과 C<sub>18</sub>을 사용한 CLB의 고상추출법만이 보고되었다<sup>9,11</sup>). 최적의 흡착제와 용출 유기 용매를 선정하기 위해서는 다양한 흡착제들의 흡착 및 탈착성질의 기초적인 물리적 성질조사가 선행되어야 한다.

본 연구에서는—Cl, phenyl기를 가진 편극성이 큰 CLB에 대한 GCB, XAD-2, XAD-7 및 TS의 4가지 흡착제들의 동적 흡착계수를 조사하였다. 흡착계수가 가장 높은 흡착제에 흡착된 CLB에 대한 최적 용출용매를 선정하기 위하여 CLB를 용해하는 6종류 유기용매의 탈착성질을 조사하였다. 선정된 최적 흡착제와 용출용매를 적용하여 혈청시료중 미량의 CLB를 신속히 전처리하는 고상추출에 적용하고 추출의 정량성을 검토하였다.

## 실험방법

**재료 및 시약**—고형 흡착제로는 GCB로 사용한 60/80 mesh의 Carbo-pack B, 16/50 mesh의 XAD-2, XAD-7(Supelco, U.S.A)과 80/100 mesh의 TS(Union Carbide, U.S.A) 4종류를 조사하였다. 각 흡착제들은 메탄올, 아세톤, 염화메틸렌 순으로 세척한 후(Soxhlet 장치사용) 진공하에서 가열하여 활성화 시켰다. CLB와 내부 표준물질인 medazepam(MZ)은 각각 한독약품과 종근당으로부터 제공되었다. 아세토니트릴(Tedia Co. Inc., U.S.A.), 아세톤, 메탄올(Duksan, Korea), 에칠아세테이트(Burdick & Jackson, U.S.A), 톨루엔, 염화메틸렌(Junsei Ch. Co, Japan)은 HPLC 시약급이고, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>(CO<sub>3</sub>) 등은 특급 시약이었다. 탈이온수는 Milli Q water system(millipore, U.S.A)으로 2차 정제한 것을 사용하였다.

**약물용액과 혈청시료**—CLB 표준원액과 MZ 내부 표준원액은 각각 1 mg/ml의 농도가 되도록 메탄올에 용해하여 조제하였다. 20 ppm의 MZ를 함유한 10에서 60 ppm 농도범위의 CLB 표준 수용액을 조제할 때, pH 9.9 물을 사용하였다. 혈청 100 µl에 CLB가 10에서 50 ppm 농도가 되도록 CLB 표준원액을 첨가한 후 pH 9.9 물을 가해서 10배 희석한 혈청시료를 조제하였다.

**GC 분석조건**—GC는 불꽃 이온화 검출기가 부착된 Pye Unicam GCV(Cambridge, England)를 사용하였다. HP-1(Cross-linked methylsilicon, 10 m ×

0.2 mm I.D., Hewlett-packard, Avondale, USA) 캐필러리 컬럼에 0.6 µl의 시료를 split mode(30:1)로 주입하였으며, 컬럼의 온도는 240°C, 검출기와 주입구 온도는 각각 320°C, 280°C로 유지하였다. MZ에 대한 CLB의 peak height ratio를 검량선의 값과 비교하여 모든 정량계산을 하였다.

**동적흡착계수 측정(Dynamic Adsorption Coefficient, KA)**—GCB, XAD-2, XAD-7, TS의 g당 CLB에 대한 흡착력을 50 ppm의 CLB 표준 수용액을 사용하여 조사하였다. 내경 4 mm의 polypropylene col-umn(Supelco, U. S. A)에 각 흡착제(200 mg)를 기밀하게 충전시킨 흡착컬럼에 50 ppm의 표준수용액(5 ml)을 통과시켰다. 여액중 3 ml씩 취하여 내부표준물질인 MZ의 농도가 GCB, XAD-2, XAD-7, TS 통과 후 최종 농도가 각각 0.3, 20, 3, 20 ppm이 되도록 가한 후(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>로 포화시켰다. 이 액을 에칠아세테이트(1 ml)로 2회 추출한 후, 추출액을 탈수시키고(무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 휘발 건조시켰다(질소가스, 60°C), 톨루엔 50 µl를 가해 용해시킨 후 GC로 분석하여 검량선을 작성하였다. 흡착계수 KA는 다음식에 의해 산출하였다.

$$K_A = \frac{C_s}{C_l} = \frac{\mu\text{g of CLB per g of solid phase}}{\mu\text{g of CLB per ml of water phase}}$$

**유기용매의 동적 탈착계수 측정(Dynamic Desorption Coefficient, KD)**—50 ppm의 CLB 표준수용액(5 ml)을 GCB 200 mg이 충전된 polypropylene column에 통과시켜 CLB를 GCB에 동적으로 흡착시킨 후 아세토니트릴, 메탄올, 에칠아세테이트, 아세톤, 톨루엔 혹은 염화메틸렌(5 ml)을 통과시켜 CLB를 탈착시켰다. 탈착액에 내부표준물질인 MZ의 최종농도가 20 ppm이 되도록 가한 후, 500 µl를 취하여 앞에서 기술한대로 휘발시킨 후 GC로 분석하였다. 탈착계수 K<sub>D</sub>는 다음식에 의해 산출하였다.

$$K_D = \frac{C_l}{C_s} = \frac{\mu\text{g of CLB per mg of organic}}{\mu\text{g of CLB per g of solid phase}}$$

**Breakthrough curve 및 elution curve 측정**—U6K injector 6000A solvent delivery system과 440 absorbance detector가 부착된 Waters Assoc. Model 441 High Performance Liquid Chromatograph를 사용하였다. HPLC용 stainless steel column(5 cm × 2 mm I. D.)에 75 mg의 GCB를 기밀하게 충전한

후 HPLC의 주입구와 UV 검출기 사이에 직접 연결하고 HPLC용 메탄올 혹은 물을 이동상으로 사용하였고, 254 nm 에서 CLB를 on-line monitoring 하였다. 메탄올을 낮은 유속(0.5 ml/min)으로 GCB 컬럼 내로 통과 시키면서 10, 20, 50, 100 ppm의 CLB 표준수용액을 각각 주입하여(100 µl 씩) UV response(2.0 AUFS)를 측정하여 검량선을 작성하였다. GCB 컬럼을 물로 평형시킨 후, 50 ppm 표준수용액(100 µl)를 주입하고 물을 약 20분간 통과시키면서(3 ml/min) UV response(0.01 AUFS)를 on-line monitoring하여 CLB breakthrough curve를 측정하였다. 이동상을 낮은 유속의(0.5 ml/min) 메탄올로 바꾼 후 흡착된 CLB가 GCB 컬럼으로부터 용출되는 것을 on-line monitoring(2.0 AUFS)하여 elution curve를 측정하였다.

**혈청중의 CLB 정량** - 유리컬럼(2 mm I. D.)에 GCB 50 mg을 기밀하게 충전하여 고상 추출 컬럼을 만들었다. 컬럼은 메탄올, 아세톤, 디클로로메탄, 노르말 헥산, 디클로로메탄, 메탄올 순으로 세척하고 감압하에서 가열하여 활성화한 후, pH 9.9 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> buffer solution으로 평형시켰다. 희석된 혈청시료 1 ml(10-50 ppm)를 loading 시킨 후, pH 9.9 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> buffer solution(3 ml)을 통과시켜 탈수 시켰다. 다시 petroleum ether(3 ml)를 통과시키고 감압하에서 건조시킨 후, 흡착된 CLB를 아세톤(1.5 ml)으로 용출하여 얻은 용출액을 탈착계수 측정에서 기술한 절차에 따라 CLB를 정량하였다.

**결과 및 고찰**

본 실험의 GC 분석조건을 사용하여 CLB와 내부 표준물질인 MZ를 높은 분리능으로 분리할 수 있었으며, CLB 농도가 0.1~1 ppm, 1~5 ppm, 5~50 ppm 범위에서 각각 0.997 이상의 상관계수를 갖는 일직선의 검량선을 얻을 수 있었다.

**최적 고상흡착제의 검토** - 널리 사용되는 고상추출용 고형 흡착제 중에서 pH의 영향을 받지않는 유기성 흡착제인 XAD-2, XAD-7과 무기성 흡착제로서 GCB, TS를 선정하여 CLB에 대한 흡착 및 탈착성질을 조사하였다. 약 염기성인 CLB의 이온화를 억제하기위해 표준수용액의 pH를 9.9로 조정하고, 독성 혈중농도보다 높은 50 ppm의 농도에서 각 흡착제들의 동적흡착계수

**Table 1**—Dynamic adsorption coefficients in solid adsorbents-water system

Solid adsorbent	Adsorption coefficients(K <sub>A</sub> ) mean±S. D.	Adsorption efficiency(%)
GCB	2557.0±18.5	99.0
XAD-7	381.6±19.7	93.4
TS	323.8±17.9	92.3
XAD-2	244.5±18.5	90.7

Conditions: Solid adsorbents, 200 mg packed into column(4 mm i. d.); 250 µg of CLB in pH 9.9 water(5 ml), gravity flow; n=4

K<sub>A</sub> 값을 측정하였다(Table I). GCB의 흡착력이 XAD-2와 XAD-7보다 월등히 강하나 GCB처럼 흑연 유사구조를 가진 비극성의 TS 흡착력은 XAD-7보다 예상외로 낮았다. GCB는 흑연 유사구조의 다환성 비극성 흡착제로서 편극성이 큰 기능단을 가진 분자들에 대해서 친화성이 매우 크며<sup>15,16)</sup>, 완전한 무기물질이므로 용매에 용해되지 않고 극성용매나 열, pH에 안정한 장점을 지니고 있다. 본 실험에서는 -Cl, phenyl기로 인해 편극성이 큰 CLB에 대해 99.0%의 흡착효율에 해당하는 흡착계수 2557의 가장 높은 값을 가진 GCB를 최적 고상 흡착제로 선정하였다.

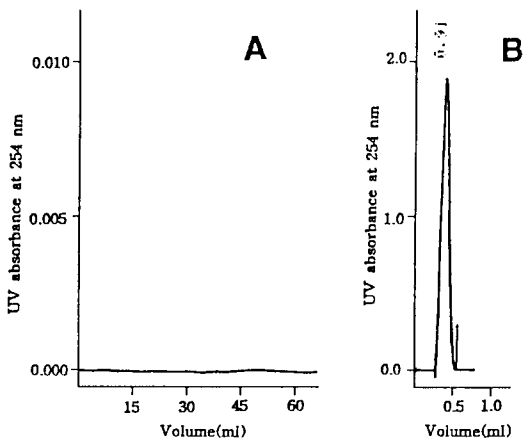
**최적 용출용매의 검토** - 최적의 흡착제로 선정된 GCB로부터 흡착된 CLB를 높은 회수율로 탈착시킬수 있는 용출용매를 선정하기위하여 CLB를 용해하는 6종류 유기용매의 탈착계수를 동적 탈착조건에서 조사하였다. 아세톤, 톨루엔, 메탄올, 염화메틸렌, 아세토니트릴, 에칠아세테이트의 순으로 탈착계수(K<sub>D</sub>) 값이 감소하는 경향을 보여주고 있다(Table II). 탈착계수가 클수록 용출용매의 GCB로부터 CLB의 회수율이 증가한다. 본 실험에서는 97.3%의 탈착효율에 해당하는 가장 높은 탈착계수를 갖는 아세톤을 최적의 용출용매로 선정하였다.

**GCB에 대한 breakthrough curve 및 elution curve 조사** - 선정된 GCB/아세톤의 고상추출 흡착제/용매쌍을 혈액과 같은 복합 생체시료에 적용할 때에는 CLB를 용출하기 전에 GCB표면으로부터 시료의 대부분을 차지하는 수용성, 지용성 방해물질을 제거해야 한다. 흡착된 CLB가 GCB 컬럼에서 breakthrough되기 전까지 수용성 방해물질을 제거시키는 목적으로 통과 가능한 물의 최대용량을 측정하기위해 CLB 표준수용액(100 µl)을 주입한 후 통과되는 물을 20분간 on-line monitoring하여 CLB의 breakthrough curve(Fig. 1-A)를 구하였

**Table II**—Dynamic desorption coefficients in GCB-liquid systems

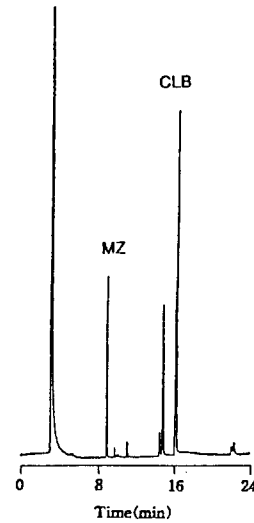
Liquid system	Desorption coefficient ( $K_D$ ) mean $\pm$ S. D.	Desorption efficiency (%)
Acetone	1.480 $\pm$ 0.180	97.3
Toluene	0.760 $\pm$ 0.040	95.0
Methanol	0.383 $\pm$ 0.020	90.3
Methylene chloride	0.131 $\pm$ 0.002	76.6
Acetonitrile	0.123 $\pm$ 0.006	75.4
Ethylacetate	0.045 $\pm$ 0.002	53.4

Conditions: GCB, 200 mg packed into columns (4 mm i. d.); 250  $\mu$ g of CLB in pH 9.9 water (5 ml), liquid solvent 5 ml; gravity flow; n=4

**Fig. 1**—Breakthrough curve (A) and methanol elution curve (B) clobazam.

다. 60 ml의 물을 통과시켜도 GCB표면에 흡착된 CLB가 breakthrough되지않음을 보여주고 있다. 이것은 수용성 방해물질을 제거하기위해 물로 세정하는동안 CLB가 GCB표면에 정량적으로 흡착되고 있음을 증명해 준다. 75 mg의 GCB 컬럼에서 5  $\mu$ g의 CLB의 물에 대한 breakthrough 용량은 적어도 60 ml 이상일 것으로 추산할 수 있다.

물이 통과되는 동안 GCB표면에 흡착되어 있던 CLB를 정량적으로 용출하는데 필요한 용출용매의 최소용량을 측정하여 GCB 컬럼의 흡착 및 탈착효율을 조사하기위해서 최적 용출용매로 선정된 아세톤대신 메탄올을 낮은 유속(0.5 ml/min)으로 통과시켰다. 아세톤은 on-line monitoring(254 nm)할 때 UV cut-off(330 nm)시키므로 사용할 수 없었다. 얻어진 elution curve(Fig. 1-B)는 메탄올 1 ml 이내에서 흡착된 CLB가 tailing이 거의 없는 Gaussian형으로 용출되

**Fig. 2**—Typical chromatogram of serum spiked with clobazam.

HP-1 (10 m  $\times$  0.2 mm i.d) cross-linked methylsilicon, fused silica capillary column; temperature, isothermally at 240°C; 0.6 ml injected in split mode (30:1).

고 있음을 보여주고 있다.

**GCB 컬럼에서의 breakthrough 영향**—GCB표면에 흡착된 CLB를 직접 메탄올로 용출시킨 경우와 물을 통과시킨 후 용출시킨 경우를 정량적으로 비교 검토하였다(Table III). 후자의 경우 오히려 GCB 컬럼 효율이 약 1.4 배 증가하고 1 ml 이내에서 105%의 회수율을 내면서 peak broadening factor가 1.67에서 1.46으로 감소함을 보여주고 있다. 이러한 결과는 CLB가 GCB 컬럼의 상단부분에 좁은 band형으로 강하게 흡착되어 상당한 양의 물이 통과되는 동안에 거의 확산이 일어나지 않았기 때문이라고 설명할 수 있다. 아세톤을 사용할 경우에는 1 ml보다 좀 더 적은 용량으로 CLB가 신속히 용출될 것으로 예상할 수 있다.

**혈청중 CLB의 고상추출**—혈청시료에 적용할 경우에는 수용성 단백질성분과 여러가지 염기성 유기물 혹은 수용성 방해물질을 제거시키기 위하여 물로 세정한 후, petroleum ether로 세정하는 과정을 거쳤다. CLB가 첨가된 혈청시료(100  $\mu$ l)를 pH 9.9 완충액으로 10배 희석한 후 GCB(50 mg) 고상추출 컬럼에 loading 시키고 pH 9.9 완충액(3 ml)과 petroleum ether(3 ml) 순서로 GCB를 세정하였다. CLB를 아세톤으로 용출한 후, 분석하여 얻은 전형적인 chromatogram(Fig. 2)에서 GCB를 사용한 고상추출 전처리 방법이 혈청중의 방해

**Table III**—Results of breakthrough studies on GCB column

	Passage of water	
	without	after
Column efficiency(n)	83	115
Recovery(%)	NA	105±4.0*
Elution volumn(ml)	0.73	0.75
Broadening factor	1.67	1.46

NA=not applicable

Conditions: GCB, 75 mg; 50 ppm CLB. 100 µl: methanol elution(0.5 ml/min): water passage(3 ml/min): \*n=3

**Table IV**—Recoveries of known amounts of clobazam added to human serum

Amount added (µg/ml)	Amount found (µg/ml) mena±S. D.	Recovery(%)
20.0	17.0±0.6	84.8
30.0	26.8±0.2	89.5
40.0	34.0±2.8	85.1
50.0	41.9*	83.8

Conditions: serum, 100 µl diluted with pH 9.9 water (0.9 ml): GCB, 50 mg packed into glass column(2 mm i. d.): acetone eluate, 1.5 ml: n=4, \*n=2

물질을 대부분 제거하며 선택적으로 CLB를 흡착 및 탈착하는데 효과적임을 보여주고 있다. CLB를 20에서 50 ppm의 농도로 첨가한 혈청시료에 GCB/아세톤 고상추출법을 적용하여 분석한 결과 83% 이상 회수할 수 있었다(Table IV). On-line monitoring 하였을 때 CLB 표준 수용액에 적용했을 때의 105%보다(Table III) 혈청시료에서 회수율이 떨어지는 것은 혈청 자체의 matrix effect와 아세톤으로 용출할 때 0.5 ml/min의 낮은 유속으로 정확히 조절할 수 없었기 때문인 것으로 사료된다.

**결 론**

본 고상추출법은 20분이내에 3단계에 걸쳐 적은 양의 생체시료를 전처리하여 CLB분리 농축을 가능케하므로 기존의 용매추출법보다 훨씬 신속하며 간편하다. 최적의 고상추출조건으로 선정된 GCB/acetone 고상추출법은 생체시료로부터 신속히 미량의 CLB를 분리, 농축하는데 효과적으로 사용될 수 있으며 또한 HPLC의 on-line 시료 선처리 precolumn으로서 확장되어 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

**감사의 말씀**

한국과학재단의 지원(과제번호 881-0304-005-2)에 의해 본 연구가 이루어졌으므로 감사드립니다.

**문 헌**

- Meldrun, B. S., Chapman, A. G. and Horton, R. W.: CLOBAZAM: Anticonvulsant action in animal models of epilepsy. *Br. J. Clin. Pharmac.* **7**, 59 (1979).
- Chapman, A. G., Horton, R. W. and Meldrun, B. S.: Anticonvulsant action of a 1,5-benzodiazepine, clobazam, in reflex epilepsy. *Epilepsia* **19**, 293 (1978).
- Hanks, G. W.: Clobazam: Pharmacological and therapeutic profile. *Br. J. Clin. Pharmac.* **7**, 151 (1979).
- Gerhards, H. J.: Neuropharmacological profile of clobazam, a new 1,5-benzodiazepine. *Br. J. Clin. Pharmac.* **7**, 23 (1979).
- Koeppen, D.: Review of clinical studies on clobazam. *Br. J. Clin. Pharmac.* **7**, 139 (1979).
- Remy, C.: Clobazam in the treatment of epilepsy: A review of the literature. *Epilepsia* **35**, Suppl **5**, S88 (1994).
- Scholten, A. H., Welling, P. L., Brinkman, U. A. and Frei, R. W.: Use of PTFE coils in post-column photo chemical reactors for liquid chromatography-application. *J. Chromatogr.* **199**, 239 (1980).
- Uihlen, M. and Schwab, E.: A noble reactor for photochemical post-column derivatization in HPLC. *Chromatographia* **15**, 140 (1982).
- Kristjansson, F.: Sensitive determination of buspirone in serum by solid-phase extraction and two-dimensional high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **566**, 250 (1991).
- Cailleux, A., Turcant, A., Premelcabic, A. and Allain, P.: Identification and quantitation of neutral and basic drugs in blood by gas chromatography and mass spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.* **19**, 163 (1981).
- Gaillard, Y., Gay-Moutchamp, J. P. and Ol-

- lagnier, M.: Simultaneous screening and quantitation of alpidem, zolpidem, buspirone and benzodiazepines by dual-channel gas chromatography using electron-capture and nitrogen-phosphorous detection after solid-phase extraction. *J. Chromatogr.* **622**, 197 (1993).
- 12) De Paat, W. K. and Van Ardenne, R. A. M.: Sorption of organic compounds from urine in mutagenicity testing: choice of sorbent. *J. Chromatogr.* **310**, 41 (1984).
- 13) Dimson, P., Brocato, S. and Major, R. E.: Automating solid phase extraction for HPLC sample preparation. *American Lab. Oct.* **82** (1986).
- 14) Rood, H. D.: Comparison of liquid-liquid and solid-phase extraction techniques for drugs in urine and effects on life time and performance of fused-silica capillary columns. *Anal. Chem. Acta.* **230**, 115 (1990).
- 15) Kim, K. R., Lee, Y. J. and Zlatkis, A.: Solid-phase extraction of chloramphenicol with graphitized carbon black. *J. Chromatogr.* **400**, 285 (1987).
- 16) Kim, K. R., Lee, K. W., and Shim, W. H.: Characterization of adsorbents for the solid-phase extraction of trace diphenylhydantoin from biological samples. *Yakhak Hoeji* **36**, 120 (1992).
- 17) Kim, K. R. and Shim, W. H.: Characterization of adsorbents for the solid-phase extraction of trace ibuprofen from biological samples. *Yakhak Hoeji* **36**, 563 (1992).
- 18) Kim, K. R. and Kim, D. J.: Characterization of adsorbents for the simultaneous solid-phase extraction of trace  $\beta$ -blockers from biological samples. *Anal. Sci. Tech.* **6**, 375 (1993).
- 19) Kim, K. R., Shin, Y. J., Shim, W. H. and Myung, S. W.: Rapid gas chromatographic profiling and screening of acidic non-steroidal anti-inflammatory drugs in biological samples. *Archiv. Pharm. Reseach.* **17**, 175 (1995).
- 20) Robert, A., Hussain, H., Mohammed, Y., Frederick, F. and Cantwell, A.: Precolumns of amberlite XAD-2 for direct injection liquid chromatographic determination of methaqualone in blood plasma. *Anal. Chem.* **54**, 113(1982).