

생체시료로부터 미량 이부프로펜의 고상추출에 사용될 흡착제들의 특성

김경례* · 심원희

성균관대학교 약학대학 제약학과

(Received September 25, 1992)

Characterization of Adsorbents for the Solid-Phase Extraction of Trace Ibuprofen from Biological Samples

Kyoung Rae Kim* and Weon Hee Shim

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

Abstract—The sorption and desorption properties of four different solid adsorbents were evaluated for the trace enrichment of ibuprofen from biological samples. Chromosorb 107 gave the highest dynamic adsorption coefficient. Among the organic solvents examined, acetone gave the highest desorption coefficient. Using the Chromosorb 107 column, the optimum elution volume of the eluting solvent was evaluated from the breakthrough curve of ibuprofen. The usefulness of Chromosorb 107 as the solid adsorbent and acetone as the eluting solvent was examined for the solid-phase extraction of ibuprofen from serum in the concentration range of 20~40 µg/ml.

Keywords □ Solid-phase extraction, ibuprofen, Chromosorb 107, adsorption coefficient.

Ibuprofen(IBU : 2-[4-isobutylphenyl]propionic acid)은 aspirin보다 16~30배 강한 진통해열작용을 가지며 류마티스성 관절염과 골절염치료 및 기타 고열과 통증을 수반하는 병증에 널리 쓰이는 비스테로이드성 소염제이다.¹⁻³⁾ Arylpropionic acid 유도체계에 속한 IBU는 혈중치료 농도가 20 µg/ml에 달하고, LD₅₀이 생쥐 수컷과 흰쥐에서 각각 495, 626 mg/kg이며, 특히 aspirin의 내성으로 되어 있는 증상에 효과가 있다고 보고된바 있다.

IBU를 연용시에 일반적인 진통소염제가 갖는 위장관 장애, 구토 등의 부작용이 발현하고 때로는 혈액, 소화기, 피부, 간장, 감각기, 순환기계 등에 중증 이상의 부작용이 수반되는 경우가 있다. 장기간에 걸친 효과적인 치료 혹은 유아들의 고열 치료에서 급성중독 진단을 신속히 하기 위해서는 신속 정확한 혈중 내

IBU농도 측정이 매우 중요하다.

분리능, 감도, 재현성, 분석시간 등에 우수성을 갖는 기체 크로마토그래피(GC)법을 적용하여 IBU를 좀더 정확하게 분석하기 위해서는 IBU의 carboxyl을 적당한 휘발성 기능기로 전환해야 한다.^{4,5)} 일반적으로 유기산은 alkyl, trimethylsilyl(TMS)⁴⁻⁶⁾ 최근에는 tert-butyltrimethylsilyl(TBDMS) ester 유도체로서^{7,8)} 분석되고 있다. TBDMS 유도체들은 TMS 유도체들보다 수분에 매우 안정하며, GC 및 gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS) 분석성질이 우수하다고 보고되었다. 본 실험실에서는 비스테로이드성 소염제들의 TBDMS 유도체화 반응조건을 최적화하여 보고한 바 있다.⁹⁾

생체액 중 미량의 약물을 정확히 분석할 때는 여러 종류의 유기성, 무기성 방해물질을 제거하고 사용분석기기의 검출한계 이상으로 분해, 오염없이 목적 성분을 선택적으로 분리 농축하는 시료 전처리 과정이

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

필요하다. IBU 분리 농축방법으로는 유기용매 추출법이 주로 이용되고 있다.^{4,5,10-12)} 일반적으로 용매추출법은 여러 단계의 조작이 요구되고 시료의 손실, 사용되는 다량의 용매자체의 불순물에 의한 오염 등의 문제점들을 가지고 있다. 이들 문제점을 해결하기 위하여 최근 개발된 조작이 간편하며, 자동화가 가능한 고상추출법(solid-phase extraction)^{13,14)}이 유기용매 추출법을 대체하고 있다.

미량약물들의 고상추출용 고흡착제로서는 극성이 적은 유기성 흡착제인 RP-C₁₈, XAD-2 혹은 중간극성의 XAD-7과 무기성이며 비극성 흡착제인 graphitized carbon black(GCB)과 ThermoSorb(TS)이 주로 사용되고 있다.¹³⁻²⁰⁾ XAD-2¹⁶⁾와 Bond-Elut C₈¹⁸⁾을 사용한 IBU의 고상추출법이 보고되었으나 최적의 흡착제와 용출 유기용매를 결정하기 위해서는 이용 가능한 흡착제들의 흡착 및 탈착성질과 같은 기초적인 물리적 성질 조사가 선행되어야 한다.

본 연구에서는 편극성이 큰 벤젠고리와 극성이 큰 카르복실기를 가진 IBU에 대한 최적의 흡착제를 선정하기 위하여 IBU에 대한 GCB, Chromosorb 102, Chromosorb 107 및 TS의 동적 흡착계수를 조사하였다. 조사된 흡착제 중에서 흡착계수가 가장 높은 흡착제에 흡착된 IBU에 대한 최적의 용출 용매를 선정하기 위해서 IBU를 용해하는 유기용매들의 탈착성질을 조사하였다.

실험방법

재료 및 시약—60~80 mesh 크기의 Chromosorb 107, Chromosorb 102 및 GCB로 사용된 Carboapak B(Supelco, U.S.A.)와 80~100 mesh의 TS(Union Carbide, U.S.A.) 4종류의 고흡착제를 본 실험에서 조사하였다. 각 흡착제들은 메탄올, 아세톤, 염화메틸렌 순으로 세척한 후(Soxhlet 장치 사용) 진공하에서 가열하여 활성화시켰다. Ibuprofen(IBU)은 Sigma(St. Louis, U.S.A.)의 것을 사용하였으며, medazepam(MZ)은 중근당으로부터 제공되었다. 사용된 acetonitrile, petroleum ether(Tedia Co. Inc., U.S.A.), ethyl acetate, triethylamine, isooctane(American Burdick & Jackson, U.S.A.)은 특급시약이고, acetone, methanol, methylene chloride, toluene(Junsei Chemical Co., Japan)은 HPLC급 시약이었다. 유도체화 시약인 N-

methyl-N-(tert-butylidimethyl)silyltrifluoroacetamide (MTBSTFA)는 Pierce(Rockford, IL, U.S.A.)것을 사용하였다. 사용된 물은 2차 정제한(Coring Glass Works Mega-pure System, U.S.A.) 탈이온수였다.

약물용액과 혈청시료—IBU를 메탄올에 30 mg/ml의 농도가 되도록 용해하여 IBU 표준원액을 조제하였다. MZ를 30 mg/ml의 농도가 되도록 메탄올에 용해하여 내부 표준원액으로 사용하였다. 탈이온수를 pH 2.0으로 조정된 후 IBU 표준원액을 첨가하여 50 ppm IBU 표준수용액을 조제하였다. 또한 1 ppm의 MZ 농도를 가진 0.1에서 1.5 ppm 농도범위의 IBU 검량수용액을 조제하였다. 혈청시료에 20~40 ppm 농도가 되도록 IBU 표준원액을 첨가한 후 pH 2.0 물을 가해서 10배 희석한 IBU 혈청시료를 조제하였다.

tert-Butyldimethylsilyl(TBDMS) 유도체화 반응—TBDMS 유도체화 최적반응 조건에서 따라서⁹⁾ triethylamine 5 μ l, MTBSTFA 10 μ l, isooctane 35 μ l를 첨가 후 상온에서 혼합하여 유도체화 하였다. 동적 탈착계수를 측정할 때에는 각 시약 용량을 두배 증가시켰다.

GC 분석조건—사용한 기기는 on-column injector와 flame ionization detector 및 Chromatopac C-R 2AX integrator가 부착된 Shimadzu GC 9A chromatograph 이었으며, 컬럼은 미국 J & W의 DB-5 fused silica capillary column(15 m×0.25 mm i.d., d_f=0.25 μ m) 앞에 보호컬럼으로서 deactivated fused silica tubing(1 m×0.25 mm i.d.)을 연결시켜 사용하였다. 0.2 μ l 시료를 on-column 주입한 후 컬럼온도를 110 °C에서 2분간 유지한 후 분당 30°C/min로 상승시켜 280°C에서 10분간 유지하였다. MZ에 대한 IBU의 피이크면적비를 검량선의 값과 비교하여 모든 정량 계산을 하였다.

동적 흡착계수 측정(Dynamic Adsorption Coefficient, K_d)—Chromosorb 102, Chromosorb 107, GCB, TS각 그램당 IBU에 대한 흡착력을 50 ppm IBU 표준수용액(pH 2.0)을 사용하여 조사하였다. 각 흡착제(200 mg)가 기밀하게 충전되어 있는 내경 4 mm의 polypropylene column(Supelco., U.S.A.)에 50 ppm 표준수용액(5 ml)를 통과시켜 TS, 혹은 GCB 통과여액 중 1 ml, Chromosorb 102, 혹은 107 통과여액 중 4 ml를 취하여, 내부 표준물질 MZ의 최종 농도가 각각

10, 4, 1, 1 ppm이 되게 가한 후 $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 로 포화시키고 ethyl acetate로 1 ml씩 2회 추출한 추출액을 휘발건조시킨(질소 gas, 60°C) 후 앞에서 기술한 방법에 따라서 TBDMS 유도체로 전환시킨 다음 GC 분석하였다. IBU 정량목적으로 검량수용액(4 ml)을 같은 절차에 의해 처리한 후 검량선을 측정하였다. 흡착계수 K_A 는 다음식에 의해서 산출하였다.

$$K_A = \frac{C_S}{C_L} = \frac{\mu\text{g of IBU per g of solid phase}}{\mu\text{g of IBU per ml of water phase}}$$

유기용매의 동적탈착계수 측정(Dynamic desorption coefficient, K_D)—50 ppm 표준수용액(pH 2.0) 5 ml를 200 mg의 Chromosorb 107 column에 통과시켜 IBU를 동적 흡착시킨 후 acetone, acetonitrile, methanol, ethyl acetate, methylene chloride 혹은 toluene 5 ml를 통과시켜 IBU를 탈착시켰다. 탈착액에 MZ의 농도가 20 ppm이 되도록 가한후, 0.5 ml를 취하여 휘발건조시키고(질소 gas, 60°C) 앞에서 기술한 데로 TBDMS 유도체화 시킨 후 GC분석하였다. IBU 정량목적으로 IBU 표준원액을 10에서 80 μg 되게 취하고 MZ를 10 μg 씩 첨가한 후 TBDMS 유도체화시키고 GC 분석하여 검량선을 측정하였다. 탈착계수 K_D 는 다음식에 의해 산출하였다.

$$K_A = \frac{C_L}{C_S} = \frac{\mu\text{g of IBU per ml of organic phase}}{\mu\text{g of IBU per g Chromosorb 107}}$$

Breakthrough Curve 및 Elution Curve 측정—사용한 기기는 U6K injector 6000A solvent delivery system과 440 흡광도검출기가 부착된 Waters Assoc. Model 441 high performance liquid chromatograph (HPLC)이었다. HPLC용 stainless steel column(5 cm×2 mm i.d.)에 70 mg의 Chromosorb 107를 기밀하게 충전한 후 injector와 UV detector 사이에 직접 연결하고, HPLC용 acetonitrile 혹은 HPLC용 증류수를 이동상로 사용하여 UV 230 nm에서 IBU를 on-line monitoring하였다. Acetonitrile을 낮은 유속(0.5 ml/min)으로 Chromosorb 107 column내로 통과시키면서 50 ppm IBU 표준수용액을 50, 100, 150 μl 씩 주입하여 IBU의 UV response(1.0 AUFS)를 측정하여 검량선을 작성하였다. HPLC용 증류수로 평형시킨 Chromosorb 107 column에 동일한 50 ppm IBU 표준수용액(100 μl)를 주입하고 물을 20분간 통과시키

면서(3 ml/min) UV response(0.01 AUFS)를 on-line monitoring하여 breakthrough curve를 얻었다. 이동상을 acetonitrile로 바꾼 후(0.5 ml/min) 흡착된 IBU가 Chromosorb 107 column으로부터 용출되는 IBU의 elution curve(1.0 AUFS)를 얻었다.

혈청 중의 IBU정량—유리 column(2 mm i.d.)에 Chromosorb 107(30 mg)를 기밀하게 충전한 후 methanol, acetone, methylene chloride, n-hexane, methylene chloride, methanol, HPLC용 증류수 순으로 세척하고 pH 2.0 물로 평형시켰다. 여기에 희석된 혈청시료(20~40 ppm) 1 ml를 loading시킨 후 pH 2.0 물(3 ml)을 통과시키고 탈수시켰다. 다시 petroleum ether(3 ml)를 통과시키고 건조시킨 후 acetone(1 ml)으로 흡착된 IBU를 용출하여 얻은 용출액을 탈착계수 측정에서 기술한 절차에 따라 IBU를 정량하였다.

결과 및 고찰

IBU의 카르복실기를 이미 보고한 TBDMS 유도체화 최적반응 조건에서⁹⁾ 안정한 휘발성 유도체로 전환시킨 후 GC 분석하였을 때, 0.1에서 1.5 ppm 농도 범위와 10에서 80 μg 범위에서 각각 0.9995 이상의 상관계수를 갖는 일직선의 IBU 검량선들을 얻을 수 있었다.

널리 사용되는 고상추출용 고정 흡착제 중에서 pH의 영향을 받지 않는 유기성 흡착제로서 XAD-2와 XAD-7보다 60~80 mesh이면서 좀더 균일한 입자크기의 Chromosorb 102와 Chromosorb 107를 선정하고 무기성 흡착제로서 GCB와 TS을 선정하여 IBU에 대한 흡착 및 탈착성질을 조사하였다. 약산성 IBU ($\text{p}K_a=5.2$)의 이온화를 억제하기 위해서 표준수용액의 pH를 2.0으로 조정하였다. 독성혈청 농도보다 높은 50 ppm 농도에서 각 흡착제들의 동적 흡착계수 K_A 값을 측정하고 흡착률을 계산하여 서로 비교하였다 (Table I). 편극성이 큰 대부분의 약물에 대해서 높은 흡착계수를 보인 혹은 유사구조의 비극성 GCB가^{15,16)} IBU에 대해서는 99% 이상의 흡착률을 보인 Chromosorb 107 보다 흡착력이 떨어짐을 보여주고 있다. Acrylic ester 중합체인 Chromosorb 107의 ester group과 IBU의 카르복실기 사이에 수소결합 때문에 강한 흡착이 일어난 것으로 설명할 수 있다. 극성이 큰 성분들에 대해 acrylic ester 중합체들은 흡착탈착

Table I—Dynamic adsorption coefficients and adsorption efficiencies of ibuprofen on four solid adsorbents

Solid adsorbent	Adsorption coefficient (K_A)	Adsorption efficiency (%)
Chromosorb 107	11,023.3 ± 546.8	99.8
Chromosorb 102	707.7 ± 59.9	96.6
GCB	286.7 ± 23.8	92.0
Thermosorb	174.3 ± 10.2	87.5

Conditions : Solid adsorbents, 200 mg packed into columns (4 mm i.d.); IBU 250 µg in pH 2.0 water (5 ml); gravity flow; n=3.

Table II—Dynamic desorption coefficients and desorption efficiencies of ibuprofen on Chromosorb 107-liquid systems

Liquid system	Desorption coefficient (K_D)	Desorption efficiency (%)
Acetone	0.2406*	85.5
Acetonitrile	0.0928 ± 0.0051	69.8
Methanol	0.0670 ± 0.0068	62.5
Ethylacetate	0.0616 ± 0.0031	60.6
Dichloromethane	0.0592*	59.4
Toluene	0.0078*	16.2

Conditions : Chromosorb 107, 200 mg packed into columns (4 mm i.d.); IBU 250 µg in pH 2.0 water (5 ml); liquid solvent, 5 ml; gravity flow; n=3, *n=2.

평형에 신속히 도달하므로 흡착력이 크고 또한 유기용매에 의해서 성분들이 효율적으로 용출되는 장점을 지니고 있다.²¹⁾ IBU의 최적 고상흡착제로서 Chromosorb 107을 선정하였다.

최적의 흡착제로 선정된 Chromosorb 107으로부터 흡착된 IBU를 가장 많이 회수할 수 있는 탈착용매를 선정하기 위해서 IBU를 용해하는 유기용매들의 동적탈착계수 K_D 값을 조사하였다. K_D 값이 클수록 용출용매의 IBU 회수율이 증가한다. Acetone, acetonitrile, ethyl acetate, methanol, methylene chloride, toluene 순서로 K_D 값이 감소하는 경향을 보여주고 있다(Table II). 83.2% 탈착효율에 해당하는 가장 높은 K_D 값을 갖는 acetone을 최적 용출용매로 선정하였다. 용매의 용출용량을 5 ml 이상 증가시키고 좀 더 낮은 용출유속으로 조절하면 탈착효율이 더 증가했을 것으로 예상된다.

선정된 Chromosorb 107/acetone의 고상 추출조건

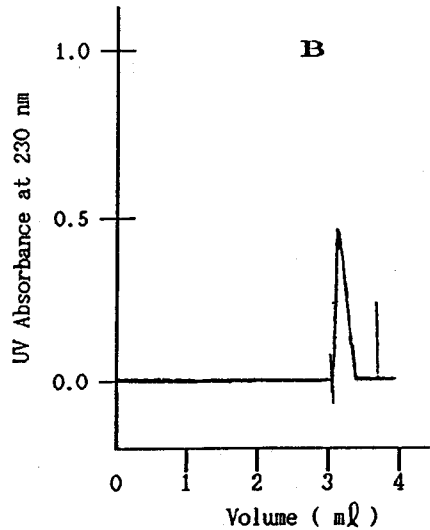
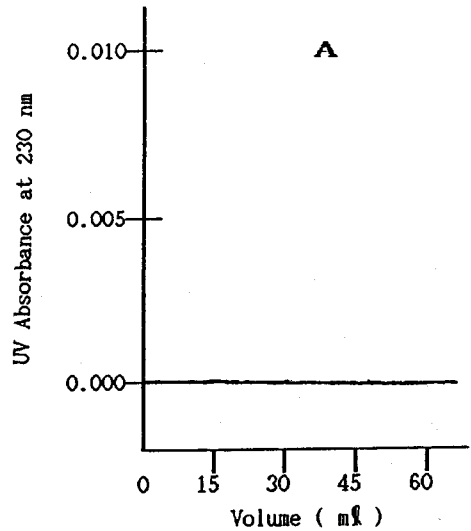


Fig. 1.—Breakthrough curve (A) and acetonitrile elution curve (B) for IBU.

을 혈액과 같은 복합 생체시료에 적용할 때에는 IBU를 용출하기 전에 Chromosorb 107 표면으로부터 시료의 대부분을 차지하는 수용성, 지용성 방해물질들을 제거하여야 한다. 따라서, 흡착된 IBU가 Chromosorb 107 column에서 breakthrough되기 전까지 수용성 방해물질을 제거시키는 목적으로 통과 가능한 물의 최대 용량을 측정하기 위해서 IBU 50 ppm 표준수용액(100 µl)을 주입한 후 통과되는 물을 20분간 on-line monitoring하여 breakthrough curve(Fig. 1-A)를 구하였다. 60 ml의 물이 통과하여도 Chromosorb

Table III—Results of breakthrough studies on Chromosorb 107 column

	Passage of water	
	Without	After
Column efficiency (n)	29	429
Recovery (%)	NA	87.6
Elution volume (ml)	0.8	3.3

NA=not applicable.

Conditions : Chromosorb 107, 70 mg packed into column (5 cm×2 mm i.d.); 50 ppm IBU, 100 µl; acetonitrile elution (0.5 ml/min); pH 2.0 water passage (3 ml/min); n=2.

107로부터 IBU가 breakthrough되지 않음을 보여주고 있다. 이는 수용성 방해물질들을 제거하기 위해 물로 세정하는 동안 Chromosorb 107에 IBU가 정량적으로 흡착되고 있음을 증명해 준다. 70 mg의 Chromosorb 107 column에서 5 µg의 IBU의 breakthrough 용량이 60 ml 이상일 것으로 추산할 수 있다.

물이 통과되는 동안 Chromosorb 107에 흡착되어 있는 IBU를 정량적으로 용출하는데 필요한 용출용매의 최소량을 측정하고 Chromosorb 107 column의 흡착 및 탈착효율을 조사하기 위해서 acetonitrile를 낮은 유속으로(0.5 ml/min) 통과시켰다. 이 때 최적 탈착용매로 선정된 acetone은 on-line monitoring(230 nm)할 때 UV cut-off(330 nm) 시키므로 사용할 수 없었다. 얻어진 elution curve(Fig. 1-B)는 acetonitrile 3.5 ml 이내에 흡착된 IBU가 tailing없이 Gaussian형으로 용출되고 있음을 보여주고 있다.

Chromosorb 107에 흡착된 IBU를 직접 acetonitrile로 용출시킨 경우와 물을 통과시킨 후 용출시켰을 경우를 정량적으로 비교해 보았다(Table III). 후자의 경우 오히려 Chromosorb 107 column efficiency가 약 14배 증가하고 87% 이상의 회수율을 보여주고 있다. 상당한 양의 물이 통과되는 동안에도 IBU가 Chromosorb 107 column의 상단부분에 좁은 band형으로 강하게 흡착되어 확산이 적게 일어나 band broadening이 적었기 때문에 컬럼효율이 높은 것으로 설명할 수 있다. Acetone을 사용할 경우에는 이보다 더 높은 회수율과 3.3 ml보다 더 적은 용량으로 IBU를 용출할 것으로 예상할 수 있다.

혈청 중의 수용성 단백질성분들, 염기성 유기물 기타 수용성 방해물질들을 제거하기 위하여 pH 2.0물로

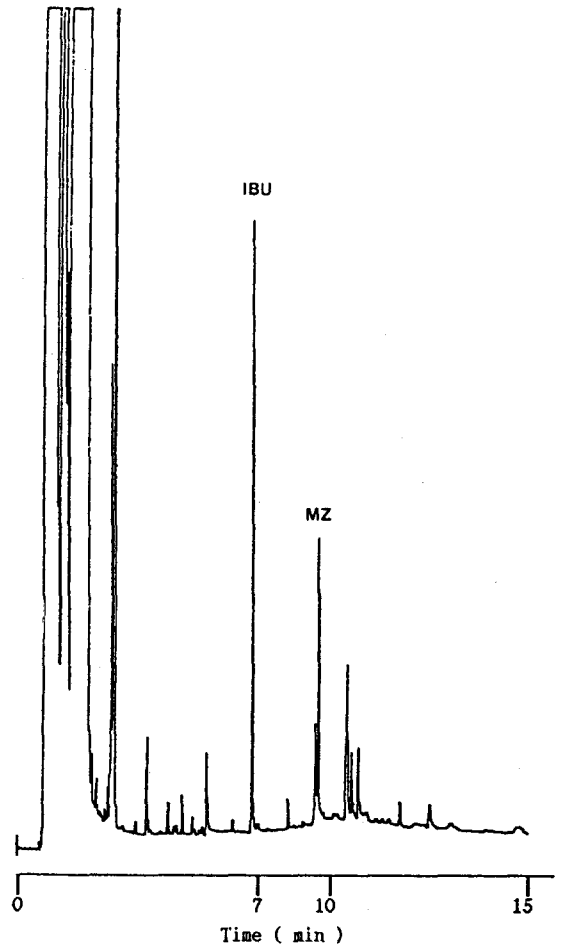


Fig. 2.—Typical chromatogram of serum spiked with IBU. Cross-linked methylsilicone DB-5 fused silica capillary column (15 m×0.25 mm i.d.) connected to a deactivated fused silica tubind (1 m×0.25 mm i.d.) as the guard column; temperature programmed from 110°C (2 min) to 280°C at 30°C/min; 0.2 µl injected in on-column mode.

세정한 후에는 석유에테르로 세정하여 지용성 유기 방해물질들을 제거해야 한다. IBU를 첨가시킨 후 10배 희석한 혈청시료(1 ml)를 Chromosorb 107(30 mg) 고상추출 glass column에 loading시키고 pH 2.0 물(3 ml)과 petroleum ether(3 ml) 순서로 Chromosorb 107으로부터 방해물질들을 세정한 후에 IBU를 acetone으로 용출하였다. 용출시료를 분석하여 얻은 전형적인 chromatogram(Fig. 2)에서 Chromosorb 107을

Table IV—Recoveries of known amounts of ibuprofen added to human serum

Amount added ($\mu\text{g/ml}$)	Amount found ($\mu\text{g/ml}$)	Recovery (%)
20.0	18.3*	91.9
30.0	25.3 \pm 1.6	85.3
40.0	36.4 \pm 1.9	91.4

Conditions: Serum, 100 μl diluted with pH 2.0 water (0.9 ml); Chromosorb 107, 30 mg packed into glass column (2 mm i.d.); acetone eluate, 1 ml; n=3, *n=2.

사용한 고상추출 전처리 방법이 혈청중의 IBU GC 분석을 방해하는 물질들을 대부분 제거하며 선택적으로 IBU를 흡착, 탈착하는데 효과적임을 보여주고 있다. IBU를 20에서 40 ppm 농도로 첨가한 혈청시료에 Chromosorb 107/acetone 고상추출법을 적용하여 분석한 결과 85%이상 회수할 수 있었다(Table IV).

본 고상추출법은 20분 이내에 3단계에 걸쳐 적은 양의 생체시료를 전처리 하여 IBU분리 농축을 가능케 하므로 기존의 용매추출법 보다 훨씬 신속하며 간편하다. 결론적으로 본 연구에서 선정된 최적의 Chromosorb 107/acetone 고상추출법이 생체시료로부터 신속히 미량의 IBU를 분리, 농축하는데 효과적으로 사용될 수 있으며 또한 HPLC의 on-line 시료 전처리 precolumn으로서 확장되어 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 말씀

한국과학재단의 1988년도 기초연구비(과제번호 881-0304-005-2) 지원에 의해서 본 연구가 이루어졌으므로 감사드립니다.

문헌

- 1) Lombardino, J.G. (ed.): *Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs*. Wiley, New York, pp. 303-308 (1985).
- 2) Clark, W.G., Brater, D.C. and Johnson, A.R.: *Goth's Medical Pharmacology*, 12th ed., C.V.Mosby Company, pp. 366-781 (1988).
- 3) Walson, P.D., Galletta, G., Braden, N.J. and Alexander, L.: Ibuprofen, acetaminophen, and placebo treatment of febrile children. *Clin. Pharmacol.*

Ther., **46**, 9-17 (1989).

- 4) Whitlam, J.B. and Vine, J.H.: Quantitation of ibuprofen in biological fluids by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, **181**, 463-468 (1980).
- 5) Giachetti, C., Canali, S. and Zanolo, G.: Separation of non-steroidal anti-inflammatory agents by high-resolution gas chromatography preliminary trials to perform pharmacokinetic studies. *J. Chromatogr.*, **279**, 587-592 (1983).
- 6) Dorzd, J.: *Chemical Derivatization in Gas Chromatography*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, pp. (1981).
- 7) Mawhinney, T.P., Robinet, R.S.R., Atalay, A. and Madson, M.A.: Gas-liquid chromatography and mass spectral analysis of mono-, di, tricarboxylates as their tert-butylidimethylsilyl derivatives. *J. Chromatogr.*, **361**, 117-130 (1986).
- 8) Kim, K.R., Hahn, M.K., Zlatkis, A., Horning, E.C. and Middleditch, B.S.: Simultaneous gas chromatography of volatile and nonvolatile carboxylic acid as tert-butylidimethylsilyl derivatives. *J. Chromatogr.*, **468**, 289-310 (1989).
- 9) Kim, K.R., Shim, W.H., Shin, E., Park, J., Myung, S. and Hong, J.: Capillary gas chromatography of acidic non-steroidal antiinflammatory drugs as tert-butylidimethylsilyl derivatives. Submitted to the *J. Chromatogr.*, (1992).
- 10) Singh, N.N., Pasutto, F.M., Coutts, R.T. and Jamali, F.: Gas chromatographic separation of optically active anti-inflammatory 2-arylpropionic acids using (+)-or (-)-amphetamine as derivatizing reagent. *J. Chromatogr.*, **378**, 125-135 (1986).
- 11) Lopicque, F., Netter, P., Bannwarth, B., Trechot, P., Gillet, P., Lambert, H. and Royer, R.J.: Identification and simultaneous determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs using high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **496**, 301-320 (1989).
- 12) Geisslinger, G. and Dietzel, K.: High-performance liquid chromatographic determination of ibuprofen, its metabolites and enantiomers in biological fluids. *J. Chromatogr.*, **491**, 139-149 (1989).
- 13) Dimson, P., Brocato, S. and Majors, R.E.: *Automa-*

- ting solid phase extraction for HPLC sample preparation. *American Lab.*, Oct, 82-94 (1986).
- 14) Rood, H.D.: Comparison of liquid-liquid and solid-phase extraction techniques for drugs in urine and effects on the life time and performance of fused-silica capillary columns. *Anal. Chim. Acta* **236**, 115-120 (1990).
 - 15) Kim, K.R., Zlatkis, A., Weisner, S., Kim, J.H. and Choi, K.S.: Trace enrichment of indole-3-acetic acid from leaf matrix. *J. Chromatogr.*, **127**, 325 (1985).
 - 16) Thesis, D.L., Halstead, G.W. and Halm, K.A.: Development of capillary gas chromatographic-mass spectrometric methodology for the simultaneous determination of ibuprofen and [$ar\text{-}^2\text{H}_4$]ibuprofen in serum : Demonstration of kinetic equivalence in the beagle. *J. Chromatogr.*, **380**, 77-87 (1986).
 - 17) Kim, K.R., Lee, Y.J., Lee, H.S. and Zlatkis, A.: A solid phase extraction of chloramphenicol with gra-
phitized carbon black. *J. Chromatogr.*, **285**, 400 (1987).
 - 18) Moore, C.M. and Tebbett, I.R.: Rapid extraction of antiinflammatory drugs in whole blood for HPLC analysis. *Forensic Sci. Int.*, **34**, 155 (1987).
 - 19) Sioufi, A., Richard, J., Mangoni, P. and Godbillon, J.: Determination of diclofenac in plasma using a fully automated analytical system combining liquid-solid extraction with liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **565**, 401-407 (1991).
 - 20) Kim, K.R., Lee, K.W. and Shim, W.H.: Characterization of adsorbents for the solid-phase extraction of trace diphenylhydantoin from biological samples. *약학회지*, **36**, 120-125 (1992).
 - 21) Aiken, G.R., Thurman, E.M. and Malcolm, R.L.: Comparison of XAD macroporous resins for the concentration of fulvic acid from aqueous solution. *Anal. Chem.*, **51**, 1799-1803 (1979).