

## 흰쥐 뇨에서의 Carbinoxamine의 대사체 확인

정병화 · 이선화 · 김태욱 · 정봉철# · 박종세

한국과학기술연구원 도핑컨트롤센터

(Received June 8, 1993)

### Identification of Some Metabolites of Carbinoxamine in Rat Urine

Byung Hwa Jung, Seon Wha Lee, Tae Wook Kim, Bong Chul Chung# and Jongsei Park  
Doping Control Center, Korea Institute of Science and Technology, P.O. Box 131, Cheongryang, Seoul, Korea

**Abstract**—The metabolic profile of carbinoxamine, 2-[(4-chlorophenyl)-2-pyridinyl-methoxy] N, N-dimethylethanamine, was determined in rat urine. Urinary extracts obtained with or without enzyme hydrolysis were derivatized with MSTFA/TMSCI (N-methyl-N-trimethylsilyl trifluoroacetamide/Trimethylchlorosilane) and analyzed by GC/MSD. In rat urine, which obtained after oral treatment with carbinoxamine maleate, chlorobenzoyl pyridine, (4-chlorophenyl)-2-pyridinyl methanol : carbinol, 2-[(4-chlorophenyl)-2-pyridinylmethoxy]-N-methylethanamine : norcarbinoxamine, 2-[(4-chlorophenyl)-2-pyridinylmethoxy]ethanamine : bis-norcarbinoxamine and parent carbinoxamine were detected in free form. Norcarbinoxamine and bisnorcarbinoxamine were also detected in conjugated form(acetylation). These data suggest that in the rat, hydroxylation of either the benzyl or pyridinyl ring can occur during carbinoxamine elimination. O-demethylation and subsequent conjugation represents the primary pathway of carbinoxamine elimination in the rat.

**Keywords** □ Carbinoxamine, metabolism, urine, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

Carbinoxamine, 2-[(4-chlorophenyl)-2-pyridinyl-methoxy]-N,N-dimethylethanamine은 구조적으로 ethanolamine(alkanolamine)유도체인 H<sub>1</sub>-receptor antagonist이다.<sup>1)</sup> Carbinoxamine의 antihistamine 효과는 Barouch 등<sup>4)</sup>에 의해 S(-)antipode가 S(+)-antipode보다 우수하다고 보고되었으며 Connell 등<sup>3)</sup>에 의해 carbinoxamine과 pseudoephedrine hydrochloride 복합의 서방성 제제가 nasal allergy에 의해 유발된 비울혈, 비팽창, 재채기, 비소양증, 비루 및 snifle, 그리고 눈의 소양증 등의 증상에 효과가 있다고 보고되었다.

그러나 항히스타민제가 그 단독으로나 다른 복합 제제로 쓰이거나, ethanol과 병용시 독성이 나타나며<sup>5-6)</sup> 차량을 운전할때 집중력이 감소되는 원인이 되고<sup>7)</sup> ethanolamine류의 antihistamine이 피부에 염증을 일

으키는 것으로<sup>8)</sup> 보고 되어 독성학적 연구가 많이 진행되었다. 이러한 관계로 분석학적 연구도 많이 진행되어 gas chromatography<sup>9-11)</sup>, high performance liquid chromatography,<sup>12-13)</sup> 그리고 gas chromatography mass spectrometry<sup>2,11,14-16)</sup> 등에 의한 alkanolamine류의 antihistamine의 분석등이 보고되어 있으며, 특히 Hoffman<sup>17)</sup> 등은 human serum에 carbinoxamine을 spike하고 gas chromatography와 NP-FID detector를 이용하여 serum내의 carbinoxamine을 정량하는 방법도 보고한 바 있다.

Carbinoxamine의 대사체에 관한 연구로는 1988년 Maurer 등<sup>18)</sup>이 human urine내의 carbinoxamine의 대사체를 gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)에 의해 찾아내어 보고한 논문이 있다. 이 논문에서는 carbinoxamine을 사람에게 경구로 투여하고 뇨를 채취한 후 유기용매로 추출하고 추출한 잔사를

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

acetylation하여 사람의 뇨에서 검출되는 대사체를 GC-MSD로 분석하였다. 그 결과 사람의 뇨에서 chlorobenzoyl pyridine, carbinol, desaminohydroxycarbinoxamine, norcarbinoxamine, bisnorcarbinoxamine의 5개의 metabolite들을 발견하였다.

본 연구에서는 항 히스타민제인 carbinoxamine에 대하여 흰쥐 뇨에서 검출할 수 있는 대사체를 GC/MS (Gas chromatography-Mass Spectrometry)를 사용하여 밝혀 보고자 하였다. 또한 GC/MS를 이용한 분석에 의해 밝혀진 대사체들을 토대로 흰쥐 뇨로의 carbinoxamine의 대사경로를 제시해 보고자 하였으며 나아가 앞으로의 carbinoxamine의 pharmacokinetic 실험의 지표로 삼고자 시도하였다.

### 실험방법

#### 시약

Carbinoxamine maleate는 Sigma chemical Co.(U.S.A.)에서 구입하였으며 phosphate buffer 제조에 필요한  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 와  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 는 Junsei chemical Co.(Japan)에서 구입한 E.P. grade 시약을 사용하였고, enzyme hydrolysis를 위하여는 Boehringer Mannheim (Germany)에서 구입한  $\beta$ -glucuronidase를 사용하였다. 유도체화시약으로는 Sigma chemical Co., (U.S.A)에서 구입한 MSTFA(N-methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamide)와 TMSCl(trimethylsilyl chloride)을 100 : 1로 혼합하여 사용하였다. 뇨로부터 carbinoxamine과 그 대사체를 분리하기 위하여 Amberlite XAD-2 resin(100~200 microns)을 Serva Company (Germany)에서 구입하여 사용하였다. 그외의 추출용매인 ether와 ethanol등은 J.T. Baker(U.S.A.)의 A.R. grade 시약으로 사용하였다.

#### 실험기기

본 실험에 사용한 분석기기로는 Hewlett-Packard (HP) 5890 A Gas chromatograph(GC)에 direct interface로 연결된 5988 A Mass spectrometer를 사용하였다. Data analyzing system으로 HP 7946 disc drive가 연결된 HP 5970 MS chemstation을 사용하였고, chromatogram과 mass spectrum은 HP 2934 A printer로부터 얻었다.

시료의 추출과정에서 사용한 장치로는 rotary va-

cuum evaporator(Buchi, switzerland), Buhler 7400 Tübingen Shaker(Edmond, Germany) Varifuge-F Centrifuge(Heraeus, Germany), Heating block(Gebr, Liebsch, Germany)등이 있다.

#### GC-MSD 작동조건

Mass spectrometer는 300  $\mu\text{A}$ 의 filament current에서 사용하였으며 이때 electron energy는 EI mode에서 70 eV, CI mode에서 230 eV였다.

CI mode 사용시 reagent gas로는 methane을 사용하였으며, ion source 온도는 200°C, source pressure는 1 torr였다. Column은 SE 30(Length : 12 m, I.D. : 0.2 mm, film thickness : 0.33  $\mu\text{m}$ ) methyl silicon capillary column을 사용하였고 carrier gas로는 He(0.9 ml/min)을 사용하였다. Injection mode는 split mode (ratio 10 : 1)를 사용하였고, 주입기 온도는 250°C, transfer line 온도는 280°C 였으며 분리관의 온도는 100°C에서 10°C/min으로 300°C 까지 상승시켰다.

#### 시료채취

Wistar계 웅성 흰쥐 1마리 (270 g)에 carbinoxamine maleate 13.99 mg (carbinoxamine : 10 mg)을 증류수에 녹여 경구투여하고 metabolic cage 안에서 24시간 동안 배설된 뇨를 수집하여 분석전까지 -20°C 냉동고에 보관하였다.

약물투여된 24시간 동안 흰쥐를 metabolic cage에 넣어 blank 뇨를 채취하였으며 실험전까지 흰쥐는 정상적으로 먹이와 음료를 섭취하게 하였다.

#### 시료분석방법

흰쥐 뇨 시료에서의 carbinoxamine 및 그 대사체의 분석과정은 다음과 같다.

**1) XAD-2 column의 준비**—내경이 0.5 cm인 disposable glass pasteur pipette에 glass bead를 넣어서 아래부분을 막은 다음, 충분히 세척된 XAD-2 resin을 높이 2 cm 정도로 채워서 만든다.

**2) 흰쥐 뇨로부터 carbinoxamine 및 그 대사체의 분리**— 뇨시료는 5 ml를 plastic syringe로 뽑아서 XAD-2 column에 흘려준다.

흘려준 urine은 동량의 증류수로 XAD-2 column을 씻어주고, free와 conjugated compound들을 흡착하고 있는 XAD-2 column에 methanol을 1 ml씩 3번 흘려서 stopper가 있는 원심분리 tube에 받는다. 그리고 methanol용액은 vacuum rotary evaporator로 건조

시킨다.

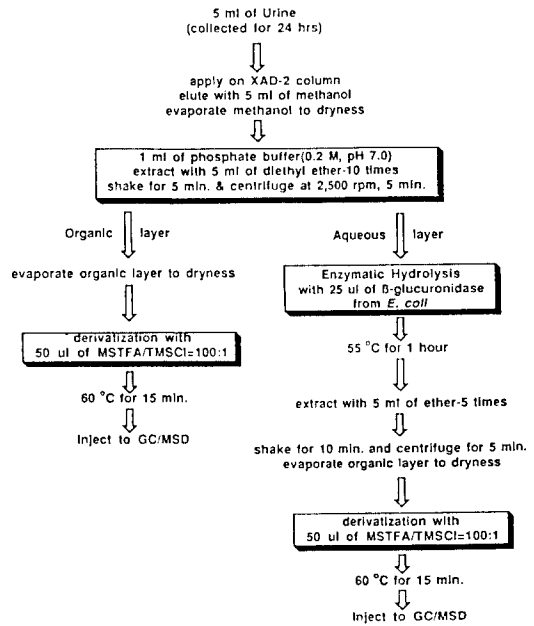
**3) free form의 분리**—건조시키고 남은 잔사에 1 ml의 phosphate buffer(pH 7.0)을 넣고 diethyl ether 5 ml를 사용하여 5분간 shaker에서 흔들어 추출한다. 혼합된 용액을 2500 rpm에서 5분간 원심분리하고 -30°C의 freezer에 넣어 buffer 층을 얼린 다음 ether층을 다른 원심분리 tube에 옮긴다. 이 ether층은 evaporator에서 건조시킨다. Buffer층은 다시 녹여 ether로 추출하여 위와 같은 조작을 총 10번 반복한다. 이렇게 하여 모은 잔사는 유도체화 반응을 시키기 전에 수분을 제거하기 위해 vacuum desiccator(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/KOH)에 30분간 넣어둔다.

**4) Conjugated form의 분리**—Free form을 추출하고 남은 buffer층을 60°C heating block에 잠시 방치하여 수층위에 남아있는 ether층을 날려보낸다. 수층을 잠시 상온에 방치하여 식히고, diethylether 5 ml를 사용하여, 5분간 shaker에서 흔들어 추출한다. 혼합된 용액을 2,500 rpm에서 5분간 원심분리하고 -30°C의 freezer에 넣어 buffer층을 얼린 다음 ether층은 다른 원심분리 tube에 옮긴다. 이 ether층은 vacuum evaporator에서 건조시키고 free form의 추출 과정과 마찬가지로 총 5번 추출조작을 반복한다. 이렇게 하여 모은 잔사는 유도체화 반응을 시키기전에 수분을 제거하기 위하여 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/KOH vacuum desiccator에서 30분간 넣어둔다.

**5) 유도체화 반응**—MSTFA : TMSCl(100 : 1) 혼합 용액 100 ul를 추출조작후 건조시킨 tube에 넣고 60°C에서 15분간 반응시켰다. 반응후 약간 식힌 다음 반응액을 auto sampler용 vial에 옮기고 GC/MSD에 주입하였다. 뇨시료의 전체적인 분석과정을 Scheme 1에 나타내었다.

**결과 및 고찰**

Carbinoxamine을 흰쥐에 경구투여 한 후 24시간 동안 채취한 뇨시료를 Scheme 1의 방법으로 분석한 결과 free fraction의 EI spectrum의 blank urine chromatogram에서는 나타나지 않는 11개의 peak를 발견할 수 있었으며(Fig. 1) EI mass spectrum에서는 대부분의 경우 M<sup>+</sup> ion의 peak가 관찰되지 않았으므로 CI mass spectrum으로서 M<sup>+</sup> ion을 확인하였다.

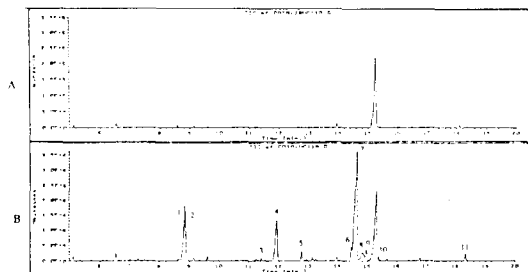


**Scheme 1**—Analytical procedure for carbinoxamine and its metabolites in rat urine.

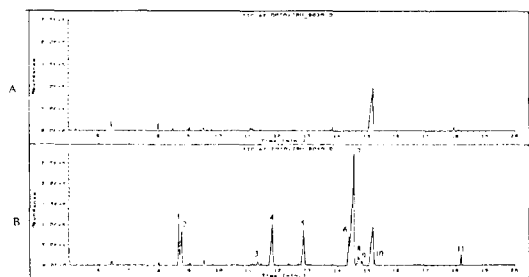
CI mass spectrum의 total ion chromatogram을 Fig. 2에 나타내었다.

Peak 1은 CI mass spectrum (Fig. 3-1)에서 [M+H]<sup>+</sup>에 해당하는 m/z 218의 peak가 가장 크게 나타나고 [M+C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>에 해당하는 m/z 246의 peak가 나타났으므로 분자량이 217인 table의 1번 그림과 같은 구조를 갖는 물질일 것으로 추정하였는데 Maurer의 논문(18)에서의 Cl-Benzoyl-pyridine의 mass spectrum과 일치하였다. 본 실험과 Maurer의 실험에서는 유도체화 시약을 다른 것을 사용하였다는 점이 다르다. 이 구조에서는 유도체화가 되지 않을 것으로 생각되므로 이물질은 Cl-Benzoyl-pyridine일 것으로 생각된다. Peak 1의 EI mass spectrum은 Fig. 4-1에 나타내었다.

Peak 2는 CI mass spectrum(Fig. 3-2)으로 보아 [M+H]<sup>+</sup>에 해당하는 m/z 292의 peak와 [M+C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>에 해당하는 m/z 320의 peak가 관찰되었으므로 분자량이 291인 것으로 추정되어 table의 2번 그림과 같은 carbinoxamine에서 O-demethylation이 일어난 분자량 219을 갖는 구조에 TMS유도체화가 된 형태일



**Fig. 1**—Total ion chromatogram of rat urine in EI mass spectrometry.  
A: Blank urine B: Urine collected for 24 hrs.



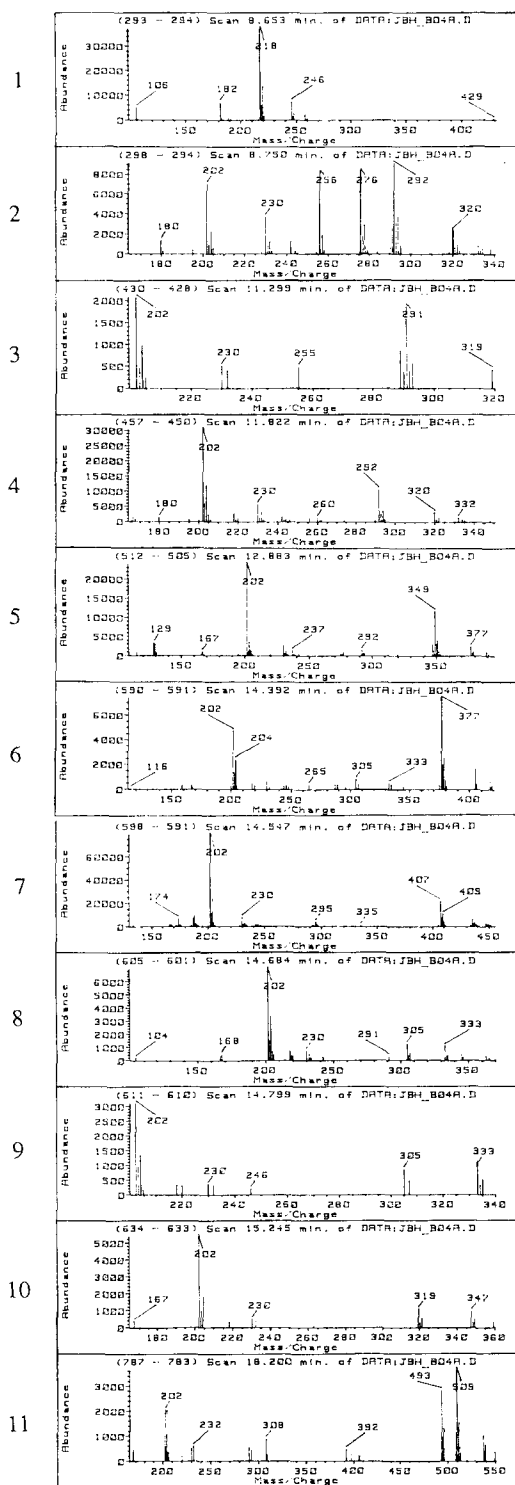
**Fig. 2**—Total ion chromatogram of rat urine in CI mass spectrometry.  
A: Blank urine B: Urine collected for 24 hrs.

것으로 생각되었다. Maurer의 논문에서도 이 구조가 carbinol이라 명명하여 보고되었다.<sup>18)</sup>

Peak 4의 CI mass spectrum에서도  $[M+H]^+$ 의  $m/z$  292의 peak와  $[M+C_2H_5]^+$ 에 해당하는  $m/z$  320의 peak가 관찰되어 (Fig. 3-4)분자량이 peak II와 동일한 291인 것으로 추정되었다. 만일 peak 4가 peak 2와 같은 구조를 갖는다면 TMS유도체화된 형태로 나타날 것이므로 peak 2(Fig. 4-2)와 peak 4의 EI mass spectrum(Fig. 4-4)을 보았을때 table 2번 그림과 같은 구조는 peak 2에 맞는 구조일 것으로 생각되었으며 peak IV의 구조는 추정하지 못하였다.

Peak 3는 parent drug인 carbinoxamine으로 standard와 같은 retention time과 mass spectrum을 갖음을 확인하였다. Peak 3의 CI mass spectrum은 Fig. 3-3에, EI mass spectrum은 Fig. 4-3에 나타내었다.

Peak 5는 CI mass spectrum은 (Fig. 3-5)에서  $[M$



**Fig. 3**—Mass spectrum of carbinoxamine and its metabolites in CI mass spectrometry.

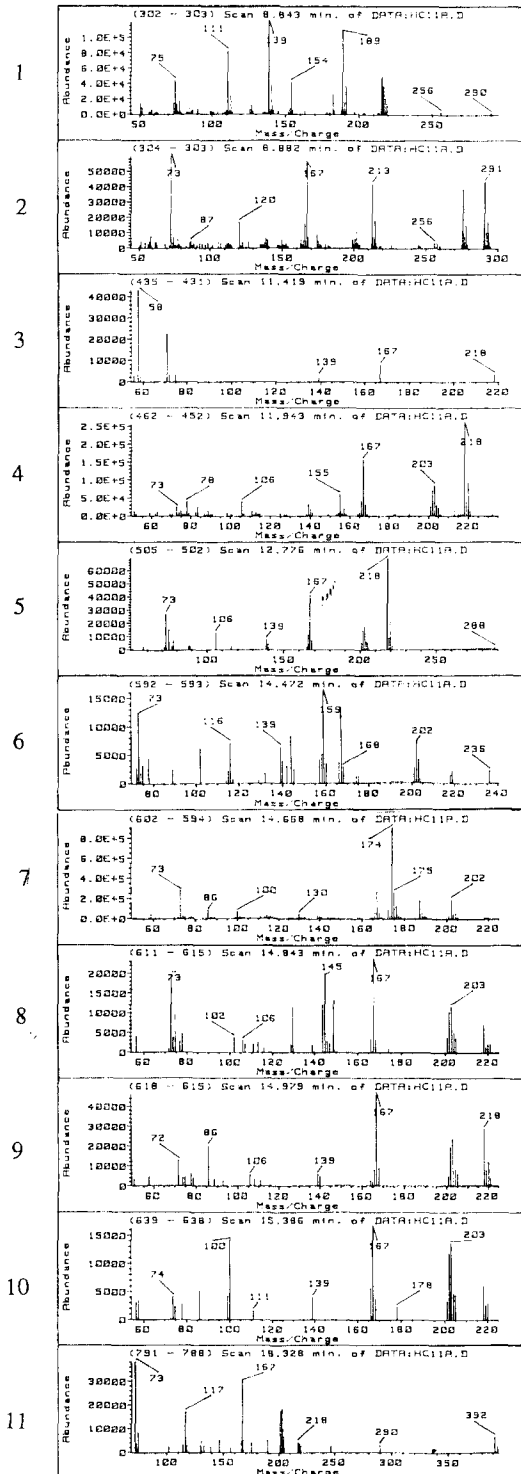


Fig. 4—Mass spectrum of carbinoxamine and its metabolites in EI mass spectrometry.

+H]<sup>+</sup>에 해당하는 m/z 349의 peak가 크게 나타나고 [M+C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>에 해당하는 m/z 377의 peak가 나타나는 것으로 미루어 보아 분자량은 348인 것으로 추정하였으며 이 화합물은 carbinoxamine의 amine에 붙어 있는 2개의 methyl기중 하나가 떨어져 나간 table의 5번과 같은 구조의 demethyl carbinoxamine에 TMS가 하나 붙은 형태의 화합물인 것으로 추정하였다. Maurer등도 이 구조를 확인하였다.<sup>18)</sup> 그 EI mass spectrum은 Fig. 4-5에 나타내었다.

Peak 6는 CI mass spectrum(Fig. 3-6)에서 [M+H]<sup>+</sup>의 m/z 377 peak와 [M+C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>의 m/z 405의 peak가 관찰되었으므로 분자량은 376일 것으로 생각 되었으며 그 분자량에 맞는 구조는 carbinoxamine의 amine에 붙어 있는 methyl기 2개가 모두 demethylation된 table의 6번구조의 화합물의 amine기에 acetyl포함과 TMS유도체화가 동시에 일어난 화합물일 것으로 추정하였다. Peak 6의 EI mass spectrum은 Fig. 4-6에 나타내었다.

Peak 7은 CI mass spectrum(Fig. 3-7)에서 [M+H]<sup>+</sup>의 m/z 407 peak와 [M+C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>의 m/z 435의 peak가 관찰되었으므로 분자량은 406인 것으로 추정 되었다. 이 peak가 나타내는 구조는 carbinoxamine의 amine에 붙어 있는 2개의 methyl기 모두가 떨어져 나간 didemethyl carbinoxamine 즉 table의 7번과 같은 구조의 화합물에 TMS 2개가 모두 붙은 화합물일 것으로 추정되었다. EI mass spectrum은 Fig. 4-7에 나타내었다.

Peak 8(Fig. 3-8)과 Peak 9(Fig. 3-9)는 CI mass spectrum에서 보듯이 두 peak모두 [M+H]<sup>+</sup>의 m/z 305의 peak와 [M+C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>의 m/z 333 peak가 관찰되었다. 이로 미루어 보아 분자량은 두 peak 모두 304인 것으로 확인되었다. 이 구조중 peak 9의 EI mass spectrum(Fig. 4-9)은 Maurer논문의 carbinoxamine metabolite중(Bis-NOR carbinoxamine)AC의 mass spectrum과 일치하였다. Maurer의 실험은 유도체화로 acetylation을 하였고 본 실험은 TMS 유도체화를 하였는데 mass spectrum이 일치하였으므로 이 구조는 carbinoxamine의 amine에 붙어 있던 methyl기 2개가 모두 demethylation되었으나 acetyl conjugation은 하나만 된 table의 9번 그림의 구조와 같은 화합물일 것으로 생각되었다. Peak 8의 구조는 확인

하지 못하였으며 그 EI mass spectrum(Fig. 4-8)에 나타내었다.

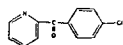
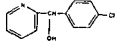
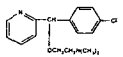
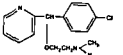
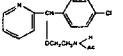
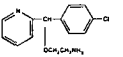
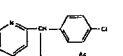
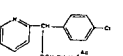
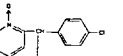
Peak 10은 Fig. 3-10의 CI mass spectrum에서 보듯이  $[M+H]^+$ 에 해당하는 m/z 319와  $[M+C_2H_5]^+$ 에 해당하는 m/z 347의 peak가 나타났으므로 분자량 318을 갖는 table의 10번 구조의 화합물일 것으로 추정하였다.

Carbinoxamine의 amine에 붙어 있는 2개의 methyl기중 하나만이 떨어져 나가 demethylation된 후 여기에 acetyl conjugation이 된 형태의 화합물이 분

자량 318 이므로 table의 10번구조의 분자량과 일치 하였으며 Maurer논문의 carbinoxamine metabolite중 (Nor-carbinoxamine) AC의 mass spectrum과 일치 함을 확인하였다. EI mass spectrum은 Fig. 4-10에 나타내었다.

Peak 11은 Fig. 3-11의 CI mass spectrum에서  $[M+H]^+$ 의 m/z 509 peak와  $[M+C_2H_5]^+$ 의 m/z 537 peak가 나타나 분자량은 508로 확인하였으나, 그 구조는 추정하지 못하였다. Peak 11의 EI mass spectrum은 Fig. 4-11에 나타내었다.

**Table I**—The structure and molecular weight of carbinoxamine and its metabolites

Peak No.	Metabolic Pathway	Molecular Weight	Structure	Remarks
1		217		
2	*O-demethylation	**291		
3	Parent drug	290		Carbinoxamine
4		291		NI
5	*Demethylation	**348		
6	*Didemathylation + acetyl conjugation	**376		
7	*Didemathylation	**406		
8		304		NI
9	Didemethylation + acetyl conjugation	304		
10	Demethylation + acetyl conjugation	318		
11		508		NI
ND	N-oxide formation	306		NI

ND : Not detected      \* TMS derivatized

NI : Not identified      \*\*TMS derivatized molecular weight

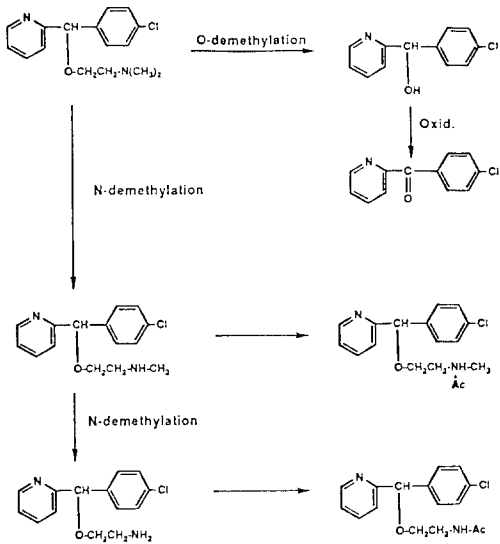


Fig. 5—Expected metabolic pathway of carbinoxamine in rat urine.

위의 11개의 peak외에 carbinoxamine의 pyridine ring의 N위치에 N-oxide form을 형성하는 table의 11번 그림의 구조를 갖는 대사체가 생성될 수 있다는 가능성도 생각해 보았으나 그 자체로는 CI나 EI mass spectrum에서 확인되지 않았는데 이는 carbinoxamine의 N-oxide는 GC의 주입구에서 쉽게 분해되어 다시 원래의 carbinoxamine으로 되돌아가기 때문일 것으로 생각된다. 위의 결과와 고찰을 정리하여 Table에 나타내었다.

Carbinoxamine의 free fraction을 분석한 후 남은 수층을 β-glucuronidase로 hydrolysis시켜 conjugated fraction을 얻은 후 유도체화하여 분석하여 보았으나, conjugated fraction에서 blank urine에서 발견되지 않는 peak를 관찰할 수 없었다. 위의 고찰을 토대로 하여 carbinoxamine의 흰쥐뇨로 배설되는 대사체의 대사경로를 제시하여 Fig. 5에 나타내었다.

결 론

1. Carbinoxamine을 흰쥐에 경구로 투여한 후 24 시간 동안 뇨를 채취하고 GC-MSD의 EI mass spectrum과 CI mass spectrum을 분석한 결과 free fraction에서는 blank urine에서 발견되지 않은 11개의

peak를 발견할 수 있었다.

2. 각 peak의 CI mass spectrum과 EI mass spectrum을 근거로 하여 그 분자량을 확인하고 구조를 추정된 결과 carbinoxamine은 흰쥐에서 O-demethylation, N-demethylation, N-N-didemethylation된 형태로 뇨로 배설되며 demethylation이 된 후에는 acetyl conjugation 되어 acetyl conjugate도 형성되는 것으로 생각되었다.

또한 pyridine의 N에 N-oxide form을 형성하는 형태의 대사체가 생성될 수도 있다고 생각되었으나 이는 GC로는 확인하기가 어려웠다.

3. Carbinoxamine을 경구투여한 흰쥐뇨의 conjugated fraction에서는 blank urine에서 발견되지 않는 peak를 발견할 수 없었다. 그러므로 glucuronide 형태로 포함된 대사체는 흰쥐의 뇨로 배설되지 않는 것으로 생각된다.

문 헌

- 1) Drug information : Published by Authority of the board of directors of the American Society of Hospital Pharmacist (1989).
- 2) Jung, B.H., Eom, K.D., Yoo, Y.S., Chung, B.C. and Park, J.S. : Metabolism of triprolidine in rat. *Yak-hak Hoeji*. **36**(1), 26-36 (1992).
- 3) Connell, J.T., Gold, A.J., Zola, E.M. and Paule, C.L. : Efficacy of a timed release antihistamine/decongestant tablet for symptoms of nasal allergy. *Drug Intell. Clin. Pharm.* **18**(3) 244-247 (1984).
- 4) Barouch, V., Dall, A., patel, D. and Hite, G. : Stereochemical aspects of antihistamine action 4 absolute configuration of carbinoxamine antipodes, *J. Medicinal Chemistry*. 834 (1971).
- 5) Wurml, K. : Poisoning with antihistaminics, *Pharm. Acta Helv.*, 200-222 (1973).
- 6) Mack, R.B. : Toxic encounters of the dangerous kind. Antihistamine toxicity, *N.C. Med. J.*, 648 (1981).
- 7) Skegg, D.C., Richards, S.M. and Doll. R. : Minor tranquillizer and road accidents, *Br. Med. J.*, 917-919 (1979).
- 8) Coskey, R.J. : Contact dermatitis caused by dephenhydramine hydrochloride, *J. Am. Acad. Der-*

- matol.* 204-206 (1983).
- 9) Pellerin, F. and el Makkawi, H. : Identification and determination of various antihistaminic and MAO inhibitor drugs by gas chromatography and ultraviolet spectrophotometry, *Ann. Pharm. Fr.*, 421-8 (1971).
  - 10) Meyer, L.V. : Dissertation. Friedrich-Alexander-Universitat, Erlangen-Nurnberg, (1975).
  - 11) Caileux, A., Turcant, A., Premel-Cabic, A. and Alain, P. : Identification and quantitation of neutral and basic drugs in blood by gas chromatography and mass spectrometry, *J. Chromatogr. Sci.*, 163 (1981).
  - 12) Curry, S.H., Brown, E.A., Hu, O.Y.-P. and Perrin, J.H. : Liquid chromatographic assay of phenothiazine, thioxanthine and butyrophenone neuroleptics and antihistamines in blood and plasma with conventional and radial compression columns and UV and electrochemical detection, *J. Chromatogr.*, 361 (1982).
  - 13) Jane, L., McKinnon, A. and Flanagan, R.J. : High chromatographic liquid chromatographic analysis of basic drugs on silica columns using non-aqueous ionic eluents. II. Application of UV, fluorescence and electrochemical oxidation detection. *J. Chromatogr.*, 191-225 (1985).
  - 14) Chang, T., Okerholm, R.A. and Glazko, A.J. : Identification of diphenhydramine(Benadryl) metabolites in human subjects, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 391-404 (1974).
  - 15) Gielsdorf, W. and Schubert, K. : Metabolism of doxylamine : Isolation, identification and synthesis of some metabolites, *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 485-490 (1981).
  - 16) Erkens, M., Arnold, W. and Puschel, K.(Editors), *Entwicklung und Fortschritte der Forensischen Chemie.* Verlag Helm, Heppenheim. 340 (1982).
  - 17) Hoffman, D.J., Leveque, M.J. and Thomson, T. : Capillary GLC Assay for carbinoxamine and hydrocodone in human serum using nitrogen-sensitive detection. *J. Pharm Sci.*, 1342-1344 (1983).
  - 18) Maurer, H. and Pflieger, K. : Screening Procedure for the detection of alkanolamine antihistamines and their metabolites in urine using computerized gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 43-60 (1988).