

ARTIKEL TINJAUAN: APLIKASI KOLOM MONOLITIK DALAM ANALISIS FARMASI

Firdha Senja Maelaningsih^{*1}, Akhmad Sabarudin², Aliya Nur Hasanah¹

¹Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi,
Universitas Padjadjaran

²Kelompok Penelitian *Advanced System and Material Technology Group*, Departemen Kimia,
Universitas Brawijaya

^{*}Jalan Raya Bandung Sumedang KM 21 Jatinangor, Sumedang 45363
Email : senjafirdha@gmail.com

ABSTRAK

Kolom monolitik dapat menggantikan kolom partikel yang saat ini ada di pasaran. Kolom ini dibuat dengan cara polimerisasi *in situ*, memiliki beberapa keunggulan antara lain, permeabilitas yang lebih tinggi, tekanan balik rendah, ketahanan aliran yang lebih rendah, resolusi dan pemisahan yang lebih baik dengan waktu pemisahan yang relatif lebih singkat dibandingkan dengan kolom partikel biasa. Kelemahan kolom yang ada di pasaran yaitu membutuhkan fase gerak yang cukup banyak, oleh karena itu kolom monolit dengan diameter dalam yang lebih kecil dapat mengatasi masalah tersebut. Kolom monolit berpotensi digunakan sebagai fase diam untuk pemisahan dan analisis obat dalam campuran yang kompleks. Dalam review ini dibahas perkembangan terbaru aplikasi kolom monolitik untuk pemisahan dan analisis farmasi.

Kata kunci : Kolom monolit, KCKT, analisis farmasi

ABSTRACT

Monolithic column could substitute particular column which are currently on the market. It can be prepared by in situ polymerization. It has some advantages namely higher permeability, low back pressure, lower flow resistance, great resolution and separation in short run times than regular particular column. The disadvantage of conventional column is needed large mobile phase consumption. Monolithic column with smaller inner diameter could overcome the problems. It potentials to be stationary phase for separation and analysis drugs in complex matrices. In this review discusses recent development of monolithic columns for separation and pharmaceutical analysis.

Keywords: Monolithic column, HPLC, pharmaceutical analysis

Diserahkan: 25 Juni 2018, Diterima 2 Agustus 2018

Pendahuluan

Perkembangan metode analisis farmasi saat ini dilakukan paling banyak menggunakan instrumen kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). KCKT dinilai sebagai teknik yang dapat digunakan untuk analisis obat dengan berbagai modifikasi seperti menggabungkan dengan instrumen lain atau melakukan pengembangan metode analisis (Thota *et al.*, 2015). KCKT memegang peranan penting dan kritis di kalangan industri farmasi dan analisis farmasi karena dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif mulai dari pengujian bahan baku obat hingga produk obat. Selain itu, *Food and Drug Administration* (FDA) telah menetapkan KCKT sebagai standar pengujian yang dilakukan pada industri farmasi sebelum memasarkan produknya. Tujuan utama dari penggunaan KCKT yaitu untuk identifikasi, kuantifikasi, dan pemurnian komponen tunggal dari campuran (Hassan, 2012). KCKT yang ada saat ini menggunakan fase diam kolom partikel, namun kolom partikel ini masih memiliki banyak kekurangan dalam hal kualitas sehingga perlu dilakukan modifikasi kimia. Kekurangan dari kolom partikel antara lain pemakaian fase gerak dalam jumlah banyak dan sering terjadi masalah mengenai tekanan. Tekanan pada kolom partikel biasa harus kurang dari 450 – 500 bar (Atia *et al.*, 2009).

Selain penggunaan kolom partikel yang masih memiliki banyak kekurangan,

masalah yang terjadi pada analisis farmasi yaitu saat proses preparasi sampel karena umumnya merupakan sampel biologis dan sediaan farmasi yang memiliki matriks kompleks. Untuk mengatasi masalah tersebut harus dilakukan tahapan pembersihan analit dari sampel yang biasa disebut dengan proses ekstraksi, seperti ekstraksi cair-cair, ekstraksi fase padat, atau pengendapan protein (Bunch dan Wang 2011).

Oleh karena itu, kolom monolitik dapat berpotensi sebagai pengganti yang baik untuk kolom partikel. Kolom monolitik memiliki beberapa keuntungan, antara lain ukuran diameter internal yang lebih kecil mengakibatkan fase gerak yang digunakan tidak banyak. Keuntungan yang lain yaitu mudah dibuat, waktu retensi lebih pendek (ketahanan aliran lebih rendah), resolusi lebih baik, serta memiliki permeabilitas yang baik agar perpindahan massa cepat dengan tekanan balik rendah walaupun laju alirnya tinggi (Alla dan Stine, 2015; Fakult *et al.*, 2013).

Monolitik berasal dari bahasa Yunani yaitu “mono” dan “lithos”, kata “monos” memiliki arti tunggal, sedangkan kata “lithos” berarti batu. Jadi, secara umum monolit merupakan suatu kolom yang memiliki suatu batu tunggal yang berukuran besar. Bahan pembuat kolom monolit memiliki beberapa ukuran pori, yaitu <2 nm disebut *micropore*, 2-5 nm disebut *mesopore*, sedangkan yang

berukuran lebih dari 50 nm disebut *macropore* (Fakult *et al.*, 2013).

Kolom monolitik pada saat ini telah banyak digunakan untuk analisis farmasi, analisis residu dan kontaminan makanan, analisis asam amino dan protein dari sampel biologis, analisis susu, analisis makromolekul (Díaz-Bao *et al.*, 2015; Devall *et al.*, 2007; Samanidou & Karageorgou, 2011; Arrua *et al.*, 2012).

Tujuan dari review ini yaitu untuk mengetahui perkembangan terbaru selama lima tahun terakhir dari aplikasi kolom monolitik untuk analisis obat baik dari sampel sediaan farmasi maupun sampel biologis. Aplikasi dari kolom monolitik yang dibahas pada review ini adalah obat-obat yang memerlukan pemantauan khusus karena indeks terapi yang sempit, sering disalahgunakan, serta obat-obat yang pemakaiannya jangka panjang. Metode yang dibahas dalam review ini dapat ditelusuri di PubMed hingga Mei 2018.

Jenis Kolom Monolitik

Kolom monolitik berdasarkan komponen penyusunnya dibagi menjadi tiga jenis yaitu monolit alami atau anorganik (penyusunnya adalah silika), monolit organik (penyusunnya adalah polimer), serta monolit hibrida (campuran antara organik dengan anorganik) (Liang *et al.*, 2013).

Keuntungan utama dari kolom monolitik silika dibandingkan dengan kolom partikel yaitu waktu analisis yang

dihasilkan lebih cepat dan tekanan balik yang lebih rendah (Mallik dan Hage, 2008). Pada umumnya, bahan penyusun kolom monolitik silika memiliki ketahanan pelarut organik dan stabilitas mekanik yang lebih baik, namun terdapat keterbatasan seperti sulit untuk mengontrol saat persiapan dan rentang kerja pH yang sempit (pH: 2 – 8) (Zhu dan Row, 2012). Metode pembuatan dari kolom monolitik silika yaitu dengan sol-gel, *one pot*, dan metode polimerisasi lain (Yu *et al.*, 2017).

Metode pembuatan kolom monolitik organik (polimer) lebih cepat dan sederhana karena dapat dibuat di *glass tube*, kapiler, atau di *microfluidic chip*. Kolom monolitik organik dibuat dengan proses polimerisasi campuran yang mengandung monomer fungsional, monomer pengikat silang, inisiator radikal, dan pelarut porogen (Arrua *et al.*, 2012).

Kolom monolitik berbahan dasar polimer jika dibandingkan dengan kolom monolitik berbahan dasar silika memiliki keunggulan antara lain, permeabilitas tinggi serta tahan terhadap pH ekstrim dari 1 sampai 14 (Zheng *et al.*, 2010).

Jenis kolom monolitik hibrida berdasarkan komposisi kimiawi terdiri dari dua, yaitu monolit berbasis silika hibrida dan monolit berbasis polimer hibrida. Bahan yang digunakan dalam pembuatan kolom monolitik hibrida memiliki keuntungan dibandingkan jenis bahan pembuatan kolom monolitik yang lain, yaitu lentur, kerapatan yang rendah,

biokompatibilitas serta sifat mekanis yang baik, dan juga waktu simpan lama. Oleh karena itu, pembuatan kolom monolitik berbahan dasar hibrida organik dan anorganik dapat berpotensi untuk dikembangkan (Zhu dan Row 2012).

Aplikasi Kolom Monolitik pada Analisis Farmasi

Kolom monolitik generasi pertama dan mulai dijual ke pasaran pada tahun 2000 oleh Merck dengan nama dagang

yaitu “*Chromolith Performance*” memiliki ukuran 2,0 x 100 mm dan 3,0 x 100 mm. Generasi kedua memiliki ukuran 3,2 x 50 ; 3,2 x 100 mm; 2,0 x 50 mm; dan 2,0 x 100 mm. Semua kolom monolit tersebut memiliki tekanan maksimum 200 bar (Cabooter *et al.*, 2014).

Jenis kolom monolitik yang digunakan, senyawa obat (berdasarkan golongan atau obat) yang dideteksi, matriks sampel, metode analitik untuk setiap aplikasi dirangkum dalam Tabel 1.

Tabel 1. Aplikasi Kolom Monolitik untuk Pemisahan dan Analisis Obat

Golongan Obat	Senyawa Obat	Metode	Matriks	Kolom Monolitik	Referensi
NSAID	Ketoprofen, Dopamin HCl, Na-diklofenak	KCKT dengan SPME	Plasma manusia, Air	Wondasil-C18 (250 x 4,6 mm) : Monolitik Polimer	(Wang <i>et al.</i> , 2018)
Antihipertensi	Quinapril HCl, Hidroklortiazid	KCKT	Tablet	Chromolith High Resolution RP-18 (100 x 4,6 mm) : Monolitik Silika	(Diego <i>et al.</i> , 2016)
	Irbesartan dan Hidroklortiazid	KCKT	Tablet	Chromolith Performance RP-18e (100 x 4,6 mm) : Monolitik Silika	(Alanazi <i>et al.</i> , 2014)
Antidiabetes	Metformin, Pioglitazon, Glimepirid, Gliklazid	KCKT	Tablet	Onyx monolithic C-18 column (100 x 4,6 mm) : Monolitik Silika	(Hemdan dan Abdel-Aziz 2018)
Anestesi	Propofol	KCKT	Plasma manusia	Chromolith RP (100 x 4,6 mm) : Monolitik Silika	(Ayad <i>et al.</i> , 2018)
Antihistamin	Cetirizin, fenil propanolamin, nimesulid	KCKT	Tablet	Chromolith RP (100 x 4,6 mm) : Monolitik Silika	(Aly <i>et al.</i> , 2017)
Bronkodilator	Indakaterol maleat, glikopironium bromida	KCKT	Kapsul inhaler	Onyx monolithic C-18 column (100 x 4,6 mm) : Monolitik Silika	(Zayed dan Belal, 2017)
Simpatomimetik	Ebastine, pseudoefedrin HCl, fenilefrin HCl	KCKT	Tablet	Chromolith SpeedRod RP-18e (50 x 4,6 mm) : Monolitik Silika	(Ibrahim dan Wahba, 2017)
Antibiotik	Sulfonamid	KCKT	Air	Chromolith High Resolution RP-18 (100 x 4,6 mm) : Monolitik Silika	(Batista <i>et al.</i> , 2015)

*Singkatan : SPME (*solid phase microextraction*); CX (*weak cation-exchange*); RP (*reversed phase*)

Pada penelitian Ayad *et al.*, (2018) menggunakan dua kolom yaitu kolom monolitik “Chromolith RP” (100 x 4,6

mm, ukuran partikel 2µm) dengan kolom partikel “Promosil ODS” (250 x 4,6 mm, ukuran partikel 5 µm). Kolom monolitik

memberikan hasil yang lebih baik yaitu, puncak kromatogram yang dihasilkan simetris, waktu analisis yang singkat (5 menit), serta memiliki resolusi yang baik. Sedangkan waktu retensi yang dihasilkan dari kolom “Promosil ODS” lebih lama yaitu 14 menit. Oleh karena itu, kolom monolitik dipilih sebagai fase diam untuk analisis obat anastesi Propofol di dalam plasma manusia.

Kolom monolitik “Chromolith RP” juga dipakai pada penelitian Aly *et al.* (2017) untuk analisis cetirizin, fenil propanolamin, dan nimesulid.

Kinerja kolom monolitik silika “Performance” pada penelitian Alanazi *et al.*, (2014) tetap lebih baik daripada kolom partikel biasa. Hal tersebut dapat dilihat dari parameter analisis seperti waktu retensi lebih cepat hanya 3 menit sedangkan waktu retensi dengan kolom partikel biasa 6 – 45 menit. Berdasarkan hasil validasi metode analisis Irbesartan dan Hidroklortiazid dapat menggunakan kolom monolitik “Performance”.

Penelitian Diego *et al.* (2016) dilakukan dengan menggunakan kolom monolitik “Chromolith HighResolution RP-18” (100 x 4,6 mm) kromatogram yang dihasilkan memiliki bentuk puncak yang baik, resolusi yang sesuai dan waktu pemisahan yang singkat. Pada penelitian ini membandingkan dua kolom monolitik yaitu “Chromolith HighResolution RP-18” (100 x 4,6 mm) dan “Chromolith Performance RP-18” (100 x 3 mm),

perbedaan yang terlihat dari kedua kolom monolitik dalam hal efisiensi. “HighResolution” lebih efisien daripada “Performance” dilihat dari nilai pelat teoritis yang lebih besar daripada kolom “Performance”. Selain itu, waktu retensi kolom monolitik lebih cepat (< 1 menit) daripada kolom “Performance”. Oleh karena itu, pada penelitian tersebut fase diam yang dipilih untuk analisis Quinapril dan Hidroklortiazid adalah kolom monolitik “High Resolution”.

Kolom monolitik “High Resolution” juga dipakai untuk analisis dan pemisahan 8 senyawa golongan sulfonamid. Kolom monolitik “High Resolution” dikombinasikan dengan *sequential injection chromatography* (SIC). Sistem SIC-kolom monolitik untuk analisis sulfonamida dibandingkan dengan SIC-*fused core*. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, kombinasi antara SIC-*fused core* dapat digunakan untuk pemisahan 8 senyawa golongan sulfonamida dengan struktur yang sama (Batista *et al.*, 2015).

Berdasarkan Tabel 1, kolom monolitik yang digunakan sebagian besar berbahan dasar silika, kolom monolitik polimer digunakan pada penelitian Wang *et al.* (2018) untuk analisis obat golongan NSAID seperti Ketoprofen, Dopamin HCl, dan Natrium diklofenak. Kinerja kolom monolitik polimer lebih baik untuk pemisahan molekul besar dibandingkan dengan kolom monolitik silika. Tetapi

kolom monolitik polimer relatif tidak baik untuk pemisahan isokratik senyawa dengan berat molekul kecil dan senyawa organik (Sharma *et al.*, 2017). Kolom monolitik polimer memerlukan modifikasi tertentu untuk menghasilkan kinerja yang lebih baik daripada kolom monolitik silika. Modifikasi yang biasa dilakukan yaitu kombinasi dengan teknik pemisahan seperti SPE atau SPME, penambahan cairan ionik pada saat proses polimerisasi, serta teknik pencetakan (Wang *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2011).

Penggunaan Monolit untuk Preparasi Sampel

Kolom monolitik telah banyak ditemukan untuk aplikasi dalam berbagai matriks analisis, digunakan untuk pemisahan sampel dan analisis cepat. Monolit berpotensi untuk pemisahan matriks kompleks. Secara umum, analisis sampel biologis yang kompleks membutuhkan tahapan *pretreatment* untuk mengurangi matriks dan prakonsentrasi analit. Salah satu contoh tahapan *pretreatment* yang sering dilakukan yaitu dengan *solid phase extraction* (SPE) (Samanidou dan Karageorgou, 2011).

Sampai saat ini, monolit berbahan dasar polimer organik dan silika dapat digunakan sebagai media untuk SPE. Monolit polimer organik menunjukkan stabilitas dalam seluruh rentang pH dan biokompatibilitas yang sangat baik dalam

menangani sampel biologis namun monolit ini mengalami penyusutan dan pembengkakan dengan adanya pengaruh suhu dan atau pelarut organik.

Berdasarkan penelitian Wang *et al* (2018), aplikasi dari kolom monolitik yaitu untuk *solid phase microextraction* (SPME). SPME jika dibandingkan dengan ekstraksi fase padat dan ekstraksi cair-cair lebih sederhana dalam pengerjaan serta membutuhkan waktu dan pelarut yang lebih sedikit (Boyaci *et al.*, 2014; Souza-Silva *et al.*, 2015). Faktor-faktor pada SPME yang mempengaruhi kinerja ekstraksi yaitu rasio pengambilan sampel, waktu desorpsi, pH dari larutan sampel, serta volume sampel (R. Wang *et al.*, 2018).

Kesimpulan

Kolom monolitik saat ini dapat dijadikan alternatif pengganti yang baik dari kolom partikel yang sudah ada. Kolom monolitik dapat digunakan untuk tahapan *pretreatment* sampel sediaan farmasi sehingga diperoleh hasil analisis yang lebih sensitif dan akurat.

Pustaka

Alanazi, A. M., Abdelhameed, A. S., Khalil, N. Y., Khan, A. A., & Darwish, I. A. (2014). HPLC method with monolithic column for simultaneous determination of irbesartan and hydrochlorothiazide in tablets. *Acta Pharmaceutica*, 64(2), 187–198.
<https://doi.org/10.2478/acph-2014->

0014

Alla, A., & Stine, K. (2015). Development of Monolithic Column Materials for the Separation and Analysis of Glycans. *Chromatography*, 2(1), 20–65.

<https://doi.org/10.3390/chromatography2010020>

Aly, F. A., El-Enany, N., Elmansi, H., & Nabil, A. (2017). Simultaneous determination of cetirizine, phenyl propanolamine and nimesulide using third derivative spectrophotometry and high performance liquid chromatography in pharmaceutical preparations. *Chemistry Central Journal*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0326-9>

Arrua, R. D., Talebi, M., Causon, T. J., & Hilder, E. F. (2012). Review of recent advances in the preparation of organic polymer monoliths for liquid chromatography of large molecules. *Analytica Chimica Acta*, 738, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.05.052>

Atia, N. N., York, P., & Clark, B. J. (2009). Comparison between monolithic and particle-packed platinum C18 columns in HPLC determination of acidic and basic test mixtures. *Journal of Separation Science*, 32(15–16), 2732–2736. <https://doi.org/10.1002/jssc.200900254>

Ayad, M. M., Belal, F., Hosney, M. M., Elmansi, H., & Elsayed, N. (2018). Simultaneous HPLC Determination of Cisatracurium and Propofol in Human Plasma via Fluorometric Detection, (April), 1–7. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmy027>

Batista, A. D., Chocholouš, P., Šatínský, D., Solich, P., & Rocha, F. R. P. (2015). On-line hyphenation of solid-phase extraction to chromatographic separation of sulfonamides with fused-core columns in sequential injection chromatography. *Talanta*, 133, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.07.056>

07.056

Boyaci, E., Gorynski, K., Rodriguez-Lafuente, A., Bojko, B., & Pawliszyn, J. (2014). Introduction of solid-phase microextraction as a high-throughput sample preparation tool in laboratory analysis of prohibited substances. *Analytica Chimica Acta*, 809, 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.11.056>

Bunch, D. R., & Wang, S. (2011). Applications of monolithic columns in liquid chromatography-based clinical chemistry assays. *Journal of Separation Science*, 34(16–17), 2003–2012. <https://doi.org/10.1002/jssc.201100189>

Cabooter, D., Broeckhoven, K., Sterken, R., Vanmessen, A., Vandendael, I., Nakanishi, K., ... Desmet, G. (2014). Detailed characterization of the kinetic performance of first and second generation silica monolithic columns for reversed-phase chromatography separations. *Journal of Chromatography A*, 1325, 72–82. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.11.047>

Devall, A. J., Blake, R., Langman, N., Smith, C. G. S., Richards, D. A., & Whitehead, K. J. (2007). Monolithic column-based reversed-phase liquid chromatography separation for amino acid assay in microdialysates and cerebral spinal fluid. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 848(2), 323–328. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.10.049>

Díaz-Bao, M., Barreiro, R., Miranda, J., Cepeda, A., & Regal, P. (2015). Recent Advances and Uses of Monolithic Columns for the Analysis of Residues and Contaminants in Food. *Chromatography*, 2(1), 79–95. <https://doi.org/10.3390/chromatography2010079>

Diego, M. De, Godoy, R., Mennickent, S., Vergara, C., Charnock, H., & Hernández, C. (2016). Comparison of Stability-Indicating LC Methods

- Using Light Scattering and Photodiode Array Detection with Monolithic Column for Determination of Quinapril and Hydrochlorothiazide, 54(8), 1346–1351. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmw068>
- Fakult, N., Martin-luther-universit, B., Spro, J., Gutachterinnen, V., Sinz, A., & Matysik, F. (2013). Development and Evaluation of Monolithic Columns for Protein Analysis.
- Guo, C., Zhou, L., & Lv, J. (2013). Molecularly Imprinted Monolithic Material for the Extraction of Three Organic Acids from Salicornia herbacea L. *Polymers and Polymer Composites*, 21(7), 449–456. <https://doi.org/10.1002/app>
- Hassan, B. A. R. (2012). HPLC Uses and Importance in the Pharmaceutical Analysis and Industrial Field. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 03(09), 4172. <https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000e133>
- Hemdan, A., & Abdel-Aziz, O. (2018). Application of a Fast Separation Method for Anti-diabetics in Pharmaceuticals Using Monolithic Column: Comparative Study With Silica Based C-18 Particle Packed Column. *Journal of Chromatographic Science*, (February), 1–7. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmy009>
- Ibrahim, F., & Wahba, M. E. K. (2017). Simultaneous Liquid Chromatographic Determination of Ebastine with Two Sympathomimetic Drugs Using a Monolithic Column. *Journal of Chromatographic Science*, 55(3), 258–266. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmw180>
- Li, X. X., Liu, X., Bai, L. H., Duan, H. Q., Huang, Y. P., & Liu, Z. S. (2011). Preparation of imprinted monolithic column under molecular crowding conditions. *Chinese Chemical Letters*, 22(8), 989–992. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2011.04.010>
- Liang, Y., Zhang, L., & Zhang, Y. (2013). Recent advances in monolithic columns for protein and peptide separation by capillary liquid chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(7), 2095–2106. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6570-x>
- Mallik, R., & Hage, D. S. (2008). Development of an affinity silica monolith containing human serum albumin for chiral separations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 46(5), 820–830. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.03.017>
- Samanidou, V. F., & Karageorgou, E. G. (2011). An overview of the use of monoliths in sample preparation and analysis of milk. *Journal of Separation Science*, 34(16–17), 2013–2025. <https://doi.org/10.1002/jssc.201100101>
- Sharma, G., Tara, A., & Sharma, V. D. (2017). Advances in monolithic silica columns for high-performance liquid chromatography. *Journal of Analytical Science and Technology*, 8(1), 16. <https://doi.org/10.1186/s40543-017-0125-x>
- Souza-Silva, É. A., Reyes-Garcés, N., Gómez-Ríos, G. A., Boyaci, E., Bojko, B., & Pawliszyn, J. (2015). A critical review of the state of the art of solid-phase microextraction of complex matrices III. Bioanalytical and clinical applications. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 71, 249–264. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.017>
- Thota, A., Megaji, S., & Badigeru, R. (2015). Research and Reviews : Journal of Botanical Sciences Use of HPLC in Drug Analysis, 4(1), 61–68.
- Wang, J., Jiang, X., Zhang, H., Liu, S., Bai, L., & Liu, H. (2015). Preparation of a porous polymer monolithic column with an ionic liquid as a porogen and its applications for the

- separation of small molecules in high performance liquid chromatography. *Anal. Methods*, 7(18), 7879–7888. <https://doi.org/10.1039/C5AY01487E>
- Wang, R., Li, W., & Chen, Z. (2018). Solid phase microextraction with poly(deep eutectic solvent) monolithic column online coupled to HPLC for determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Analytica Chimica Acta*, 1018, 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.02.024>
- Yu, B., Zhang, H., Cong, H., Chen, G., Xu, T., & Liu, Y. (2017). Recent development and application of monolithic columns. *Reviews on Advanced Materials Science*, 49(1), 58–67.
- Zayed, S., & Belal, F. (2017). Rapid simultaneous determination of indacaterol maleate and glycopyrronium bromide in inhaler capsules using a validated stability-indicating monolithic LC method. *Chemistry Central Journal*, 11(1), 6–13. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0264-6>
- Zheng, M. M., Gong, R., Zhao, X., & Feng, Y. Q. (2010). Selective sample pretreatment by molecularly imprinted polymer monolith for the analysis of fluoroquinolones from milk samples. *Journal of Chromatography A*, 1217(14), 2075–2081. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.02.011>
- Zhu, T., & Row, K. H. (2012). Preparation and applications of hybrid organic-inorganic monoliths: A review. *Journal of Separation Science*, 35(10–11), 1294–1302. <https://doi.org/10.1002/jssc.201200084>