

## 모세관 전기영동 분석법의 복합약물제제의 품질관리 분석에 응용을 위한 연구

허유정 · 이공주\*

이화여자대학교 약학대학

(Received July 16, 1997)

## Application of Capillary Electrophoresis for Quality Control Analysis of Complex Medicine

Yoo Jeong Heo and Kong-Joo Lee\*

College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

**Abstract**—Capillary electrophoresis (CE) is perceived as an attractive tool for the analysis of pharmaceuticals and biological materials because of their high separation efficiency, easy separation and low running cost. New concept of micellar electrokinetic capillary chromatography (MECC) expanded the application of CE to the separation of neutral molecules. Validation of CE as an analytical technique for quality control of pharmaceuticals should be confirmed by quantitative analysis and the peak confirmation. In this study, the quantitative analyses of various types of neutral, acidic and basic components (acetaminophen, caffeine, ascorbic acid, riboflavin, thiamine, chlorpheniramine, phenylpropranolamine, *dl*-methylephedrine and dextromethorphan) in complex cold medicines have been accomplished using CE. Combined methods of MECC using SDS and capillary zone electrophoresis lowering the pH of running buffer were adopted to determine the ingredients in capsule type or liquid formula complex medicines without particular sample pretreatment. The results indicate that CE is a promising technique for quality control analysis of pharmaceuticals as a validation method.

**Keywords** □ Capillary electrophoresis, validation method, quality control of complex medicine.

CE는 분리능이 매우 좋고 조작이 간단하며 분석시간이 적게 걸리고 용매 사용량이 적어 분석시 소모되는 비용이 적게 들고, 재현성과 감도, 분리능이 좋아서 의약품 분석에 매우 적합한 분석법으로 여겨진다.<sup>1,2)</sup> CE에 의한 의약품 분석은 제액 속의 약물과 그 대사 산물의 분석을 비롯하여 수많은 연구가 이루어지고 있다.<sup>3-9)</sup> 그러나 아직은 정성적인 측면에서 중요한 정보를 제공하고 있는 semiquantitative method 수준에 있다. 그러나 의약품 품질관리(quality control, QC)를 위한 분석법으로서 CE가 사용되기 위하여는 정량분석이 가능해야 하며 각 peak의 확인이 이루어져야 한다. 따라

서 CE를 유효한 정량분석법으로 개발하기 위한 시도가 계속되고 있는데<sup>10)</sup>, CE의 경우 migration time이 길어질수록 peak area가 증가하기 때문에 가장 해결되어야 할 부분은 migration time의 재현성이다.<sup>11)</sup> 모세관에서의 용질의 이동 속도는 자신의 electrophoretic mobility와 electroosmotic flow(EOF)에 의해 결정되며 이들은 모세관의 직경, 길이, running buffer의 조성, 농도, pH, applied voltage, current, viscosity와 유전항수, zeta potential에 영향을 주는 온도에 의해 영향을 받는다. 그러나 적절한 buffering capacity를 갖는 running buffer를 사용하고 모세관의 온도를 일정하게 유지시켜 주는 자동화된 CE를 사용할 경우는 용질의 electrophoretic mobility보다 EOF의 미묘한 변화가 migration time의 재현성을 결정하는

\* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 02-360-3038 (팩스) 02-360-2851

주된 요인이 된다. EOF는 모세관의 fused silica surface의 상태에 의존하므로 항상 일정하게 유지하기란 매우 어렵다. Silica 표면에서 생성되는 zeta potential은 모세관의 세척법, preconditioning, 저장 방법 및 사용 시간 등에 의해 변화하며 surface 상태를 재현성 있게 유지시키기 위한 시도들이 많이 이루어지고 있다.<sup>12, 13)</sup> 일반적으로는 NaOH로 씻어 줌으로 silica의 음전하를 회복시키기도 하고, fused silica surface를 재현성 있고 안정되게 화학적으로 변형시켜 주기도 하며, voltage preconditioning으로 running buffer에 의해 충분히 equilibration시키고자 하기도 한다.<sup>11, 13)</sup> 한편 실험조건에 관계없이 reference standard를 migration index로 사용하여 용질의 상대적 mobility를 구함으로 재현성을 얻고자 하는 시도가 이루어졌다.<sup>14)</sup> <sup>15)</sup> 본 실험에서는 복합감기약에 들어 있는 다양한 중성, 염기성, 산성 약품들을 CE를 이용하여 정량분석을 하기 위한 최적의 분리 조건을 찾아 정확도와 최적의 재현성을 얻을 수 있는 정량 분석법을 확립하였다. 이를 이용하여 시중의 실제약품을 정량분석한 결과를 보임으로써 CE가 인증된 분석 방법으로 사용될 수 있는 근거를 마련하였다.

## 실험방법

### 기기 및 장치

본 실험에서는 모세관 전기영동 장치로 HP<sup>3D</sup>CE (Hewlett-Packard, Waldbronn, Germany)를 사용하였다. 이 기기는 자동화된 것으로 자동 시료 주입기와 모세관 항온조절기, photodiode-array UV detector, 고전압 power supply가 내장되어 있다. 자동 시료주입기는 -50~50 mbar 범위의 압력을 이용한 hydrodynamic 방법과 -30~30 kV 범위의 전압을 사용하는 electrokinetic 방법으로는 0~1000초 사이의 다양한 시간 동안 시료를 모세관 안으로 주입시킬 수 있다. 모세관 항온 조절기는 peltier temperature controller로서 capillary cartridge내의 공기를 10 m/s의 빠른 속도로 순환시켜줌으로 4~60°C범위중 지정된 온도에서  $\pm 0.1^\circ\text{C}$  이내로 일정하게 유지시켜 준다. Photodiode-array UV detector는 모세관의 outlet쪽으로부터 8.5 cm 전반부를 focusing하도록 장치되어 190~600 nm 범위의 파장에서 spectrum을 on-line detection을 할 수 있도록 되어있다. 고압 전원 장치는

전압 30 kV, 전류 300  $\mu\text{A}$ , 6 W의 직류 전기를 사용하며, 이중 극성(dual polarity) 전원을 사용함으로 전원의 극성을 필요에 따라 쉽게 바꿀 수 있다. 기기의 조작과 CE system으로부터 나오는 신호의 수집, 분석은 컴퓨터 상의 프로그램인 HP<sup>3D</sup>CE Chemstation을 사용하였다.

모세관 전기 영동에 사용한 모세관은 모두 내경이 50  $\mu\text{m}$ 인 fused silica capillary(Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, USA)로서 실험 조건에 따라 다양한 길이를 선택하였고, detection window까지의 유효 길이는 HP<sup>3D</sup>CE 시스템 특성상 총길이보다 8.5 cm 짧게 고정되었다. Microcentrifuge는 Hanil Industrial Co.(Seoul, Korea)의 Micro 17R을 사용하였고, speed vacuum concentrator는 HETO (Allerod, Denmark)의 제품을 사용하였다. pH meter는 동우 메디칼 시스템(주)(Seoul, Korea)제품이었으며, water bath(Precision scientific), heat block(Barnstead, Iowa, USA)과 같은 기기를 실험에 이용하였다.

### 시약 및 재료

복합 감기약과 액상제제 약물들은 국내 제약회사로부터 생산되어 시중에 판매되고 있는 것을 구입하였다. 복합 감기약 성분 분석에 사용한 약물 표준품은 중의 제약(Kyongkido, Korea)의 품질관리실로부터 얻었다. Sodium citrate, citric acid, sodium dodecyl sulfate (SDS), dodecyltrimethylammonium bromide(DTAB), cetyltrimethylammonium bromide(CTAB), sodium phosphate monobasic, sodium phosphate dibasic, urea를 비롯한 시약들은 모두는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 순도가 높은 제품을 구입하여 사용하였고, ultrafiltration filter (m.w. cutoff(5,000)는 Millipore(Bedford, USA) 제품을 사용하였다.

### 시료 제조

복합 감기약 성분으로 acetaminophen(AAP)와 anhydrous caffeine(CA), riboflavine(VB<sub>2</sub>), ascorbic acid(VC), thiamine nitrate(VB<sub>1</sub>), dextromethorphan-HBr(DM), chorpheniramine(CPA), phebnylpropanolamine-HCl(PPA), methylephedrine-HCl(ME)을 분석하였다. 표준용액은 칼셀제 복

합 감기약에 준하여 표준용액 1과 2로 나누어 조제하였다. 표준용액 1은 AAP와 CA, VB<sub>2</sub>, VC를 각각 1캡셀의 표시용량에 해당하는 200, 20, 16.67, 2 mg을, 표준용액 2는 VB<sub>1</sub>, CPA, PPA, ME, DM을 각각 4캡셀의 표시용량에 해당하는 16, 5, 25, 25, 30 mg을 칭량하여 35 ml의 3차 증류수에 넣어 45분간 sonication하여 완전히 용해 후 최종 부피를 50 ml로 맞추고 0.22 μm membrane filter로 여과하여 조제하였다. 검량선은 각 시료의 1, 2/3, 1/2, 1/4, 1/8의 농도가 되도록, 재현성 실험은 1/2의 농도가 되도록 표준용액을 희석하여 CE로 분석하였다. 캡셀제 복합 감기약 시료의 경우 함량분석을 위하여 검액 1과 2로 나누어 조제하였다. 20캡셀을 잘 혼화한 후 검액 1은 표시된 1캡셀 총량에 해당하는 308.9 mg을, 검액 2는 4캡셀에 해당하는 1235.68 mg을 칭량하여 75 ml의 3차 증류수에 넣어 45분간 sonication함으로써 완전히 용해시키고 최종 부피가 100 ml이 되도록 맞추어 표준용액 조제시와 동일한 방법으로 제조하였다. 그외 액상제제 복합 감기약 9종은 15,000×g로 10분간 원심 분리하여 상등액을 3차 증류수로 적절히 희석하여 CE로 분석하였다.

**CE의 분석 조건**

CE 분석에 길이 40 cm, 내경 50 μm(유효길이 31.5 cm)의 모세관을 사용하였으며 25°C로 모세관의 온도를 유지하였다. 시료는 40 mbar의 압력으로 3초간 주입하였다. CE조작 전에 항상 모세관을 50 mM NaOH와 3차 증류수로 3분씩 940 mbar의 압력으로 flush하였다. Running buffer의 pH와 농도, 첨가제의 종류와 농도를 변화시킴으로 분석 조건을 최적화 하였다. 실제 분석시 표준용액 1과 검액 1, 액상제제 검액의 경우 매회 분석 전 모세관을 940 mbar 압력으로 20 mM NaOH로 1.5분, 3차 증류수로 2분, running buffer로 2분간 flush하였고 시료 주입 후 20 kV의 전압을 모세관 양 끝에 걸어 주어 시료를 분리한 후 265 nm에서 검출하였다. Running buffer로는 40 mM SDS를 함유하는 20 mM phosphate buffer(pH 8.0)를 사용하였다. 표준용액 2와 검액 2, 액상제제 검액의 경우, 매회 분석 전 running buffer로 2분간 flush하였으며 시료 주입 후 15 kV의 전압을 걸어주었고 205 nm에서 검출하였다. Running buffer로는 phosphoric acid로 적정한 75 mM sodium phosphate monobasic 용액(pH 2.03)을 사용하였다.

**Table 1**—Solubilities in water and pKa values of components in complex cold medicines

Compound	Solubility (mg/ml)	pKa
acetaminophen(AAP)	0.1~1	
caffeine(CA)	1~10	
L-ascorbic acid(VC)	333.3	4.04, 11.3
riboflavin(VB <sub>2</sub> )	0.05~0.33	9.69
thiamine(VB <sub>1</sub> )	1000	4.80, 9.20
chlorpheniramine(CPA)	160	
phenylpropanolamine(PPA)	33.3~10	9.44
dl-methylephedrine(ME)	100~1000	
dextromethorphan(DM)	33.3~10	

**결과 및 고찰**

시판되고 있는 복합 감기약 제제에 함유되어 있는 성분 중 정량분석을 한 성분은 acetaminophen(AAP)과 anhydrous caffeine(CA), thiamine nitrate(VB<sub>1</sub>), riboflavin(VB<sub>2</sub>), L-ascorbic acid(VC), chlorpheniramine malate(CPA), dl-methylephedrine(ME), phenylpropanolamine hydrochloride(PPA), dextromethorphan hydrobromide(DM)의 solubility와 pKa는 Table 1과 같다. 각 성분의 UV absorbance spectrum은 Fig. 1에 나타내었다.

**분석 조건의 최적화**

약품제제 중의 성분들은 현재 국내 제약회사에서 liquid chromatography(LC)와 gas chromatography(GC)를 이용하여 quality control 되고 있다. AAP와 CA, VB<sub>1</sub>, VB<sub>2</sub>는 LC로 동시에 정량하고 고농도로 함유된 AAP는 더욱 희석하여 다시 정량하며, PPA는 다른 LC조건으로, CPA와 ME, DM의 경우는 함께 GC로 정량한다. 따라서 새로운 분석법인 CE를 이용하여 분석시간을 단축시키고 분석과정을 간단히 하면서도 정확한 분석을 위한 조건을 마련하여 QC의 경제성을 도모하고자 본 연구가 수행되었다.

분석조건의 최적화 실험에서는 수용액 상에서 분해되기 쉬운 수용성 비타민을 제외한 6가지 성분들의 혼합액을 사용하여 1차 분석조건을 잡은 후 수용성 비타민 존재 하에서 완전히 분리되는지를 검사하였다. 분석하려는 성분이 acidic, neutral, basic한 다양한 성질을 가짐으로 먼저 micellar electrokinetic capillary chromatography(MECC)의 원리를 도입하여 실험하였다. 양이온(DTAB, CTAB), 음이온, 비이온성(tri-

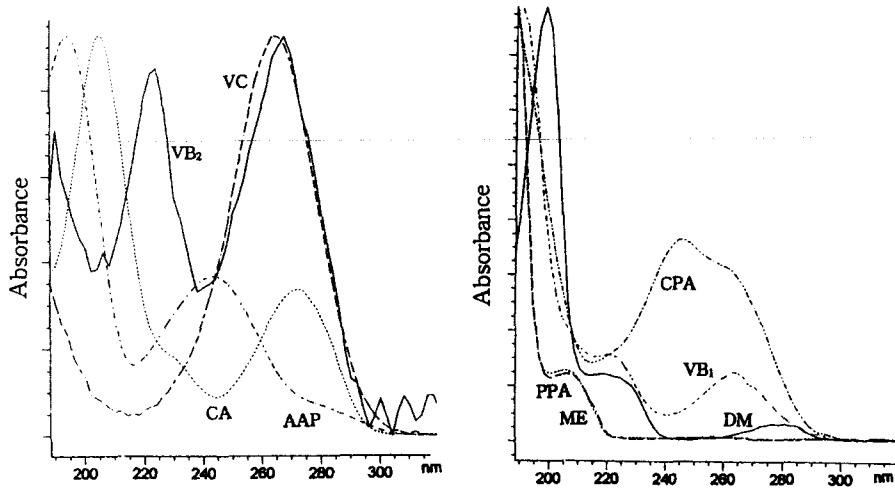


Fig. 1 — UV absorbance spectra of components in complex cold medicine obtained from photodiode array detection in HP<sup>3D</sup>CE.

ton X-100, CHAPS, cholic acid, deoxycholic acid) 계면활성제들을 이용하여 최적의 분석조건을 찾으려고 노력하였으나 음이온성 계면활성제의 이용이 가장 좋은 분석결과를 나타내었다.

**음이온성 계면활성제 SDS가 분리에 미치는 영향**

MECC에서 가장 흔히 사용되는 음이온성 계면활성제인 SDS를 사용하였다. 20 mM phosphate buffer (pH 7.0)에서 SDS를 함유하지 않을 때는 VC를 제외한 모든 성분이 EOF 전후로 함께 나오므로 거의 분리되지 않았고 100 mM까지 SDS 농도를 변화시켜 가며 실험한 경우 SDS 농도가 증가함에 따라 점차 분리능이 향상되었다. 그러나 염기성인 amine류의 경우 모세관 표면뿐 아니라 SDS micelle과도 ionic interaction을 하므로 SDS의 농도가 증가할수록 migration time이 너무 늦어지며 peak가 broad하였고 DM과 CPA는 전혀 분리되지 않았다. 25 mM SDS를 함유하는 경우 20 mM phosphate buffer의 pH를 6~11로 변화시키며 분리 pattern을 관찰하였다(Fig. 2). pH가 낮아질 경우 EOF가 느려짐으로 peak가 전반적으로 더욱 broad해졌고 pH 6~8 사이에서는 AAP, CA, VB<sub>1</sub>, ME, PPA, DM/CPA의 elution 순서에 변화가 없었다. Running buffer의 pH를 9로 높일 경우 AAP와 CA가 분리되지 않고 함께 나왔으며, pH 10에서는 CA가 AAP보다 먼저 나왔고 ME와 PPA가 좀더 떨어져 나왔으며 CPA가 DM으로부터 분리되기 시작하면

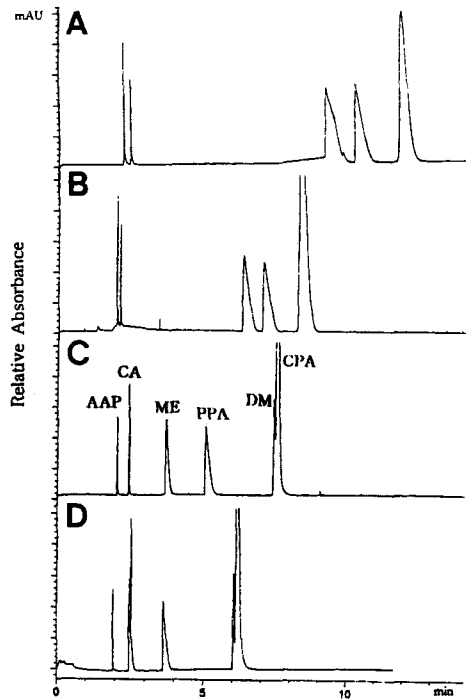


Fig. 2 — Effects of running buffer pH on the CE separation of seven components. Capillary electropherograms were obtained by using 20 mM phosphate buffer containing 25 mM SDS at various pH: (A) 6.0, (B) 8.0, (C) 9.0, and (D) 10.0. CE conditions were following: the fused silica capillary(50 μm i.d.×40 cm length, 31.5 cm to UV detector) was used and kept at 25°C. Sample was injected by pressure at 40 mbar for 3 s and run under 30 kV applied voltage, and peaks were detected at 205 nm.

서 migration time이 짧아지기 시작하였다. pH 11에서는 ME가 더욱 빨리 나오면서 늦어진 AAP의 앞쪽으로 겹쳐서 나왔고 CPA도 DM으로부터 좀더 분리되었으나 완전하지는 못했다. 따라서 SDS를 이용한 MECC로는 이 다양한 성분들의 직접적인 동시 분석이 불가능하며 추출에 의한 시료의 grouping 또는 다른 분석 조건을 찾아야 했다.

**완충용액의 pH 낮춤이 분리에 미치는 영향과 정량분석 조건의 최적화**

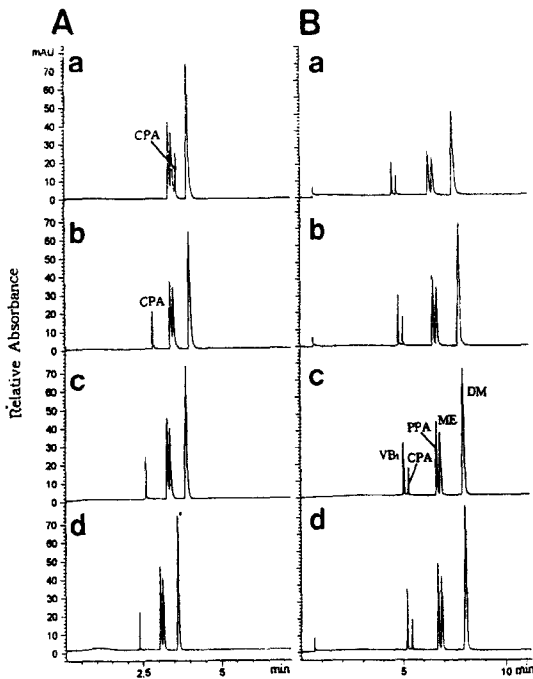
염기성 성분의 완전한 분리를 위하여 완충용액의 pH를 낮춤으로 EOF를 억제시키고 염기성 성분의 고유의 charge density 차이에 의한 분리가 시도 하였다. EOF는 pH 6.0 이하부터 급격히 떨어져 4.5 이하에서는 거의 억제되므로 20 mM phosphate buffer의 pH를 4.0 이하로 낮추어 실험한 결과(Fig. 3A), pH 3.0

이하에서 CPA가 앞으로 나오며 sharp한 peak로 분리되었고 PPA와 ME가 부분적으로 겹쳐 나왔으나 pH가 낮아질수록 좀더 잘 분리되었고 peak의 symmetry가 더욱 향상되어 pH 2.03에서 buffer의 농도의 영향을 살펴보았다. 일정 전압에서 buffer의 농도가 높아질수록 분리능이 증가되어 75 mM부터 ME와 PPA가 baseline separation을 얻을 수 있었다(Fig. 3B). 75 mM sodium phosphate buffer(pH 2.03)에서 applied voltage를 250~375 V/cm로 변화시켰을때는 voltage가 높을수록 분리능이 향상되어 375 V/cm로 최적화 하였다.

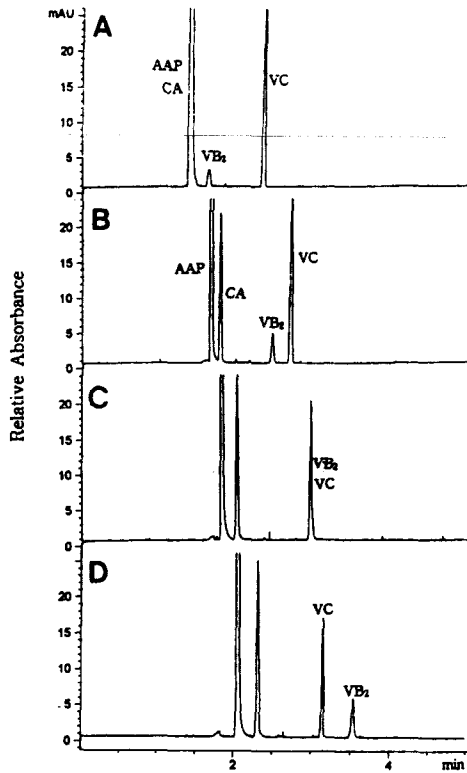
**복합약물제제의 분석**

지금까지의 시도에 의하면 9가지 성분을 동시에 완전히 분리하기는 어려우며, 실제 복합 감기약 중 AAP와 CA의 함량이 다른 나머지 성분에 비하여 상대적으로 훨씬 높으므로 두 group으로 나누어 실험하기로 하였다. 시료 처리의 용이성을 고려하여 염기성 약물과 그렇지 않은 성분으로 나누었다.

염기성 성분인 VB<sub>1</sub>, CPA, PPA, ME, DM은 Fig. 3에서 최적화한 조건인 75 mM phosphate buffer (pH 2.03)에서 375 V/cm의 전압을 이용한 capillary zone electrophoresis(CZE)에 의하여 분리하였다. 나머지 성분들인 AAP와 CA, VC, VB<sub>2</sub>는 SDS에 의한 MECC에 의하여 분석하였다. 4가지 성분의 분리 조건을 pH 8에서 running buffer와 SDS 농도를 변화시켜 가며 다시 최적화 하였다. Buffer 농도가 20 mM 이상에서는 농도가 높아질수록 migration time이 느려질 뿐 resolution이 더 좋아지지는 못하여 current가 적게 걸리는 20 mM을 사용하였다. SDS는 10 mM 이상에서 AAP와 CA가 분리되기 시작하였고 30 mM 이상에서 완전히 baseline separation이 이루어졌으며 VB<sub>2</sub>는 SDS 농도가 높아질수록 나오는 시간이 느려져 30 mM 이하에서는 VC보다 앞에 나오다 30 mM에서는 함께, 그 이상에서는 더 늦게 나왔다(Fig. 4). 따라서 AAP와 CA, VB<sub>2</sub>와 VC가 완전히 분리되는 조건인 40 mM SDS 함유 20 mM phosphate buffer(pH 8.0)를 사용하였다. 각 분석 조건에서 서로 나머지 성분들에 의한 간섭효과는 없었다. pH 2.03에서의 CZE의 경우는 EOF가 거의 무시할 정도이므로 중성이거나 산성인 성분은 매우 늦게 나오며, SDS를 이용한 MECC의 경우에는 반대로 염기성 성분이 늦게 나오기 때문이다. 따라



**Fig. 3**— Effects of running buffer pH and concentration on the separation of basic components: VB<sub>1</sub>, CPA, ME, PPA and DM. Running buffer was (A) 20 mM phosphate buffer at various pH: (a) 4.0, (b) 3.0, (c) 2.5, (d) 2.0; (B) various concentrations of phosphate buffer at pH 2.03: (a) 20 mM, (b) 50 mM, (c) 75 mM, and (d) 100 mM. Other CE conditions same as in Fig. 2 except 15 kV applied voltage.



**Fig. 4**—Effects of SDS concentration in running buffer on the separation of AAP, CA, VC and VB<sub>2</sub>: (A) 10 mM, (B) 25 mM, (C) 30 mM, and (D) 40 mM SDS in 20 mM phosphate buffer (pH 8.0). UV detection was performed at 265 nm and other CE conditions as in Fig. 2.

서 시료는 별다른 처리과정을 필요로 하지 않고 단순히 3차 증류수로 희석하여 불용성 물질만 제거하는 것으로 충분하였다.

### 검출 한계 및 검량선과 재현성

정량분석을 위하여 각각의 분석법에서 각 성분들의 검출 한계 및 검량선과 재현성을 조사하였다. 50  $\mu$ m 내경의 40 cm 길이 모세관에서 시료를 40 mbar로 3초 주입시 Hagen-Poiseuille equation에 의하면 약 4.5 nL의 시료가 도입되는데 Table II에서는 이 경우의 검출 한계와 각 성분의 표시 용량의 1/4~2배 범위에서 농도와 peak area의 상관계수(regression coefficient)를 나타내었다.  $r=0.991$  이상의 좋은 직선성을 나타내었다. Table III에서는 각 성분의 재현성을 나타내고 있다. Migration time은 *within-run*, *between-run*의 경우 모두 1.2% 이하의 coefficients of vari-

**Table II**—Linear correlations between concentrations and peak areas and detection limits of components in complex cold medicine. The optimum CE conditions same as in Fig. 3B-c or Fig. 4D

Compound	Linearity		Detection limit ( $\mu$ g/ml)
	Conc. range ( $\mu$ g/ml)	Regression coefficient	
AAP	0.500~4.00	0.999	0.623
CA	0.050~0.40	1.000	0.251
VC	0.042~0.33	0.991	5.200
VB <sub>2</sub>	0.005~0.02	0.999	0.625
VB <sub>1</sub>	0.010~0.20	0.998	0.390
CPA	0.013~0.25	0.997	0.255
PPA	0.625~1.25	0.998	0.313
ME	0.625~1.25	0.999	0.309
DM	0.075~1.50	0.998	0.250

ation (CV's)값을 가지며 peak area의 경우 VC를 제외하면 CV값이 *within-run*은 0.832~3.869%, *between-run*은 0.959~6.079%로서 방법의 재현성은 받아들여질 수 있다. VC의 경우 peak area의 재현성이 좋지 못하며 검출 한계가 높은 이유는 수용액 상에서 쉽게 분해되거나 완전히 차광 밀폐시킬 수 있는 시료 용기를 사용하지 않았기 때문인 것으로 생각된다.

### 시판되는 캡셀제와 액상제제 복합 감기약에의 응용

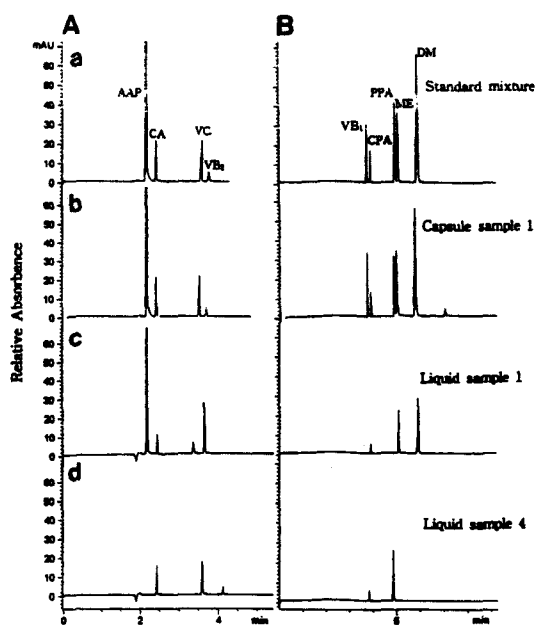
Table IV에서는 1종의 캡셀제와 9종의 액상제제의 성분을 정량분석한 결과를 나타내고 있으며, Fig. 5는 그 capillary electropherogram이다. 표시량에 대하여 AAP는 84~107%, CA는 84~104%, CPA는 43~104%, PPA는 91~106%, ME는 69~87%, DM은 30~89%의 해당량이 정량되었고 본 실험의 경우 캡셀

**Table III**—Reproducibilities of migration time and peak area of components in complex cold medicines at CE condition same as Table 2

Compound	C.V. of migration		C.V. of peak area	
	<i>within-run</i> (n=7)	<i>between-run</i> (n=6)	<i>within-run</i> (n=7)	<i>between-run</i> (n=6)
AAP	0.781	0.105	0.832	0.983
CA	0.849	0.110	1.428	0.959
VC	1.195	0.230	8.634	11.102
VB <sub>2</sub>	1.168	1.124	3.859	3.496
VB <sub>1</sub>	0.318	0.452	1.344	3.849
CPA	0.342	0.502	1.913	6.079
PPA	0.426	0.645	1.025	3.512
ME	0.430	0.682	1.284	4.400
DM	0.519	0.845	1.883	4.453

**Table IV**—The determination of components in complex cold medicines. The analytical CE conditions same as in Table 2

Compound/ Sample	Amount indicated on the label, mg/ml	Amount found mean, mg/ml % (C.V., %)	Found/ Indicated, %
<b>Acetaminophen</b>			
C1	2.000	2.136(0.663)	106.81
L1	10.000	10.198(1.855)	101.98
L2	5.000	5.107(1.081)	102.14
L3	10.000	9.930(1.031)	99.30
L5	10.000	9.184(0.794)	91.84
L6	15.000	12.630(5.431)	84.20
L7	2.670	2.276(3.437)	85.23
<b>Caffeine</b>			
C1	0.200	0.208(0.794)	103.92
L1	0.833	0.799(0.841)	95.88
L2	0.417	0.392(1.250)	94.05
L3	1.330	1.264(1.861)	95.00
L4	1.389	1.275(1.797)	91.77
L5	1.330	1.144(0.922)	86.03
L6	1.500	1.320(4.948)	88.00
L7	0.400	0.336(3.144)	83.92
<b>L-Ascorbic acid</b>			
C1	0.167	0.114(5.943)	68.20
<b>Riboflavin</b>			
C1	0.020	0.020(3.824)	99.39
<b>Thiamine</b>			
C1	0.040	0.052(1.124)	129.51
<b>Chlorpheniramine</b>			
C1	0.050	0.044(0.811)	87.32
L1	0.083	0.058(6.146)	69.98
L3	0.080	0.059(5.888)	74.30
L4	0.222	0.179(3.561)	80.52
L5	0.080	0.057(2.981)	71.24
L6	0.125	0.100(0.527)	80.00
L7	0.033	0.014(10.94)	42.86
L8	0.040(Br)	0.041(1.365)	103.70
<b>Phenylpropanolamine</b>			
C1	0.250	0.266(0.947)	106.40
L4	1.667	1.523(1.152)	91.34
L8	2.500	2.477(0.625)	99.07
<b>dl-Methylephedrine</b>			
C1	0.250	0.173(1.073)	69.10
L1	0.666	0.577(2.515)	86.65
L2	0.333	0.283(2.536)	85.10
L3	0.583	0.489(1.608)	83.90
L5	0.583	0.494(1.056)	84.81
L6	0.050	0.041(1.011)	81.00
L9	1.313	0.904(1.048)	68.85
<b>Dextromethorphan</b>			
C1	0.300	0.263(0.414)	87.80
L1	0.533	0.433(0.939)	81.31
L2	0.267	0.176(5.497)	66.04
L7	0.200	0.100(4.328)	50.00



**Fig. 5**—CE analysis of real medicines from various companies: (a) standard mixture, (b) capsule type complex cold medicine and (c, d) liquid formula cold medicines. Running buffer: (A) 20 mM phosphate (pH 8) containing 40 mM SDS, (B) 75 mM phosphate buffer (pH 2.03). Other running conditions same as in Fig. 3B-c and Fig. 4D, respectively.

제에만 함유되었던 VC와 VB<sub>2</sub>, VB<sub>1</sub>은 각각 68.2, 99.39, 129.5%가 정량되었다. 5회 실험한 실험치의 재현성은 6%이하의 C.V.값을 나타내었다. 본 실험에서 CE에 의한 정량분석은 적절한 내부 표준 물질을 사용하면 훨씬 신뢰성 있는 결과를 얻을 수 있을 것으로 기대되며 현재 QC에 사용되는 방법에 비하여 시료 처리 과정이 매우 용이하며 분석 방법이 간단하고 경제적인 분석법으로 생각된다. 이는 CE가 약물분석의 정량성이 입증된 방법으로 사용될 수 있음을 보여주고 있다.

**결론**

본 연구에서 수행한 CE를 이용한 약물 분석 실험으로부터 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다. 복합감기약에 함유되어 있는 9가지 약물(acetaminophen, caffeine, thiamine, riboflavin, L-ascorbic acid, chlorpheniramine, dl-methylephedrine, phenylpropanolamine, dextromethorphan) 중 5가지 염기성 성분

(thiamine, chlorpheniramine, *dl*-methylephedrine, phenylpropanolamine, dextromethorphan)을 pH를 2.03의 75 mM phosphate buffer를 사용하여 CZE 방법에 의해 분리하였고, 나머지 성분은 40 mM SDS를 함유하는 20 mM phosphate buffer(pH 8)에서 MECC에 의해 분리 분석하므로써 실제 캡셀제 및 액상제제 복합 감기약 중의 함량을 정량분석 하였다. 이러한 정량분석 결과는 정밀도와 정확도가 좋아 인증 받을 수 있는 방법이 될 수 있는 가능성을 보여주었다. 이와 같이 측정이 간편하고 경제적이며 분리능이 높은 CE는 국내외 제약회사 등에서 실시하고 있는 기존 quality control 방법인 HPLC나 GC를 대신할 수 있을 것으로 기대된다.

### 감사의 말씀

이 연구는 1996년도 한국 과학 재단 연구비(KOSEF 951-0304-028-2)에 의하여 수행되었으며, 복합감기약의 표준품과 약품을 제공하여 주신 중외제약의 품질관리부 직원들께 감사드립니다.

### 문 헌

- Jorgenson, J. W. and Lukacs, K. D. : Capillary zone electrophoresis. *Science* **222**, 266 (1983).
- Kuhr, W. G. : Capillary electrophoresis. *Anal. Chem.* **62**, 403R (1990).
- Caslavska, J., Gassmann, E. and Thormann, W. : Modification of a tunable UV-visible capillary electrophoresis detector for simultaneous absorbance and fluorescence detection: profiling of body fluids for drugs and endogenous compounds. *J. Chromatogr.* **709**, 147 (1995).
- Lee, K. -J., Heo, G. S., Kim, N. J. and Moon, D. C. : Analysis of antiepileptic drugs in human plasma using micellar electrokinetic capillary chromatography. *J. Chromatogr.* **608**, 243 (1992).
- Lee, K. -J., Lee, J. J. and Moon, D. C. : Determination of tricyclic antidepressants in human plasma by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J. Chromatogr.* **616**, 135 (1993).
- Nishi, H. and Terabe, S. : Micellar electrokinetic chromatography perspectives in drug analysis. *J. Chromatogr.* **735**, 3 (1996).
- Lloyd, D. K. : Capillary electrophoretic analyses of drugs in body fluids: sample pretreatment and methods for direct injection of biofluids. *J. Chromatogr.* **735**, 29 (1996).
- Luksa, J. and Josic, D. : Determination of cimetidine in human plasma by free capillary zone electrophoresis. *J. Chromatogr.* **667**, 321 (1995).
- Lukkari, P., Nyman, T. and Riekkola, M-L. : Determination of nine  $\beta$ -blockers in serum by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J. Chromatogr.* **674**, 241 (1994).
- Chadwick, R. R., Hsieh, J. C. Resham, K. S. and Nelson, R. B. : Applications of capillary electrophoresis in the eye-care pharmaceutical industry. *J. Chromatogr.* **671**, 403 (1994).
- Watzig, H. : Appropriate calibration functions for capillary electrophoresis I. Precision and sensitivity using peak areas and heights. *J. Chromatogr.* **700**, 1 (1995).
- Palmer, C. P. and Vandeginste, B. G. M. : Statistical evaluation of various qualitative parameters in capillary electrophoresis. *J. Chromatogr.* **718**, 153 (1995).
- Ross, G. A. : Voltage pre-conditioning technique for optimisation of migration-time reproducibility in capillary electrophoresis. *J. Chromatogr.* **718**, 444 (1995).
- Lee, T. T. and Yeung, E. S. : Facilitating data transfer and improving precision in capillary zone electrophoresis with migration indices. *Anal. Chem.*, **63**, 2842 (1991).
- Otsuka, K., Terabe, S. and Ando, T. : Quantitation and reproducibility in electrokinetic chromatography with micellar solutions. *J. Chromatogr.* **396**, 350 (1987).