

<http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2024.10.5.775>

JCCT 2024-9-92

고성능 역상 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)를 이용한 Dimenhydrinate 함유 복합제제의 동시분석법 개발

Development of Simultaneous Analysis Method for Dimenhydrinate Containing Complex Pharmaceuticals Using RP-HPLC

신근식*, 박진영*, 심재호**

Keun-Sik Shin*, Jin-Young Park*, Jae-Ho Sim**

요약 본 연구는 멀미약의 주요 성분인 Dimenhydrinate, Caffeine, Methyl Paraben 및 Propyl Paraben을 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)를 사용하여 동시분석방법을 개발하였다. 분석은 4가지 성분을 전처리 후에, C18 컬럼을 사용하였고, 이동상으로는 Acetonitrile과 H₂O를 사용하였다. UV 검출은 파장 254nm에서 행하였다. 실험결과 각 성분의 분리능은 $R_s > 1.5$ 의 안정적인 결과를 나타내었다. Symmetry Factors는 각각 0.989, 1.120, 1.256 및 1.280으로 대칭 안정성을 나타내었다. 안전성 평가 결과 4성분의 검량선 값은 $R^2 > 0.9991 \sim 0.9998$ 의 범위로 우수한 직선성을 나타내었다. 또한 검출한계(Limit Of Detection)는 $0.017 \sim 3.060 \mu\text{g/ml}$, 정량한계(Limit Of Quantification)는 $0.050 \sim 9.180 \mu\text{g/ml}$, 회수율은 $98.28 \sim 101.71\%$ 로 높은 정확성을 나타내었다. 반복성은 $0.447 \sim 0.550$ 범위의 정밀성을 나타내었고, 완전성 역시 $\%RSD < 2$ 이내의 값이 확인되었다. 본 연구의 정량분석 결과는 멀미약 성분의 동시분석법이 효율적임을 나타내었다.

주요어 : 고성능액체크로마토그래피, 디멘히드리네이트, 카페인, 파라벤, 동시분석

Abstract In this study, a simultaneous analysis method was developed using reversed-phase high-performance liquid chromatography(RP-HPLC) for the main components of motion sickness medication: Dimenhydrinate, Caffeine, Methyl Paraben, and Propyl Paraben. The analysis was conducted after pretreating the four components, utilizing a C18 column with Acetonitrile and H₂O as the mobile phase. UV detection was carried out at a wavelength of 254nm. As a result of the experiment, the values of Resolution(R_s) was well over $R_s > 1.5$, which indicates that the separation of the four components was efficient. Additionally, the symmetry factor of the components was 0.989, 1.120, 1.256, and 1.280, respectively, showing their symmetrical stability. In the stability assessment, the calibration curves for the four components showed excellent linearity with $R^2 > 0.9991$ to 0.9998. Furthermore, the limit of detection(LOD) ranged between 0.017 to $3.060 \mu\text{g/ml}$, while the limit of quantification(LOQ) ranged between 0.050 to $9.180 \mu\text{g/ml}$. The recovery rates range from 98.28% to 101.71%, and repeatability showed precision within the range of 0.447 to 0.550, and robustness confirmed values with $\%RSD < 2$. The quantitative analysis results of this study demonstrated the effectiveness of a simultaneous analysis method for motion sickness medication components.

Key words : HPLC, Dimenhydrinate, Caffeine, Paraben, Simultaneous Analysis

*준회원, 한라대학교 화학공학과 학사과정 학생 (제1공동저자) Received: May 27, 2024 / Revised: June 22, 2024

**정회원, 한라대학교 화학공학과 교수 (교신저자)

Accepted: September 5, 2024

접수일: 2024년 5월 27일, 수정완료일: 2024년 6월 22일

**Corresponding Author: jhsim@halla.ac.kr

게재확정일: 2024년 9월 5일

Dept. of Chemical Engineering, Halla University, Korea

I. 서 론

3년 4개월간 지속되었던 감염증 COVID-19(Corona Virus Disease 19)의 종식을 선언함에 따라서 감염증 종식 이후 국내 및 해외로 여행객들이 증가하면서 다양한 교통수단을 이용하기 때문에 자연스럽게 여행객들의 상비약품에서 흔히 멀미약을 발견할 수 있다. 멀미는 운송 수단을 이용하거나 몸이 흔들릴 때, 또는 시각적인 자극에 의해 어지럼, 메스꺼움, 구토, 두통 등의 증상이 나타나게 된다[1].

항구토제로 사용되고 있는 디멘히드리네이트(Dimenhydrinate)는 진정작용제인 Diphenhydramine과 8-Chloroteophyline의 혼합 성분으로 1949년에 뱃멀미와 항공에서의 멀미에 도움이 되는 것으로 처음 보고 되었으며 [2], 또한 8-Chloroteophyline의 첨가로 인해 Diphenhydramine의 졸음 부작용을 감소시키는 효과를 나타내고 있다.

현재 Dimenhydrinate를 함유한 복합제제는 많은 회사에서 다양한 성분을 추가로 함유해 제품을 생산하여 판매하고 있다. 또한, 이러한 제품을 생산하는 많은 제약회사가 대한약전 의 의약품의 기준 등 시험법을 참고하여 품질관리를 위한 성분 분석을 하고 있으며 주로 고속액체크로마토그래피(HPLC)가 이용되고 있다[3].

Dimenhydrinate는 어지럼증 완화, 구토 완화, 항히스타민, 항콜린성 등의 효능을 나타낸다. 특히 우리나라에서 판매되는 멀미약은 주로 구토 및 어지럼증 완화 작용을 하며, 환각, 항불안제 효과로 오남용의 남용가능성도 있다. 성분인 Dimenhydrinate를 많이 함유하고 있다 [4].

성인의 경우 Dimenhydrinate는 1회 50mg 1일 3~4회 경구투여하고, 예방목적으로는 30분 ~ 1시간 전에 50 ~ 100mg을 투여하며, 원칙적으로는 1일 200mg을 초과하지 않아야 한다[5].

멀미약은 다양한 성분들이 종합된 약이다. 각성효과가 있는 카페인(Caffeine)도 이러한 성분 중 하나이며, Dimenhydrinate를 섭취 시 졸음 등의 진정 작용이 나타나는데 이를 완화하기 위해 각성효과가 존재하는 카페인을 사용한다. 카페인은 냄새가 없는 칩상의 결정으로 120~178℃에서 승화되며, 세계적으로 연령에 상관없이 즐겨 마시는 커피, 홍차 등에 함유되어 있는 성분이다[6].

카페인은 하루 0.1 ~ 0.2g 섭취 시 각성효과, 피로의 감소 등의 긍정적인 측면이 나타나지만, 1.0kg 이상 섭취할 경우 불안, 불면, 감정의 변화, 위장 장애 등의 부정적인 측면이 초래될 수 있다[7].

멀미약의 다양한 성분 중 하나인 파라벤류(Parabens)는 일반적으로 항균 및 미생물 성장 억제에 뛰어난 효과를 나타낸다. 또한, 파라벤은 물질 간 형성이 잘 되어 있고, 활동 스펙트럼이 넓어, 멀미약에 보존료로 사용되고 있다. 파라벤은 불활성적인 특징을 가지며, 경제적이며, pH와 관련하여 우수한 화학적 안정성을 갖고 있어 멀미약 보존료로 사용한다[8].

이러한 파라벤은 p-하이드록시벤조산(p-hydroxybenzoic acid)의 알킬에스터를 통칭하며, 메틸파라벤(Methyl paraben), 에틸파라벤(Ethyl paraben), 프로필파라벤(Propyl paraben), 부틸파라벤(Butyl paraben) 등을 포함하며 여러 생물학적 반응을 발생시킨다. 인체에 대해서는 물질안전보건자료(MSDS) H315, H317, H319, H335 등으로 분류되어 눈 손상을 일으키거나 접촉성피부염 또는 알레르기를 일으킬 가능성도 있다. 또한, 파라벤은 비 호르몬계 장애 물질로 분류되어, 호르몬 활성이나 생식에 영향을 미칠 수 있다고 알려져 있다[9].

국내에서 사용되는 멀미약의 성분중에 파라벤류, 당알코올에 대한 동시 분석 방법은 보고 되었으나[10-12], 멀미약의 주요 4가지 성분 복합제제의 정밀한 분석법으로부터 품질관리를 위한 안정성 평가 및 성분의 정량 분석의 필요성이 제기된다.

본 연구는 액체크로마토그래피 분석 방법을 사용하여 멀미약 제제의 4가지 주요성분을 특정하여 동시 분석으로 평가함으로써 분리 분석 조건을 확립하였다.

II. 실험

본 연구에서는 시판되고 있는 멀미약의 주요 성분을 HPLC-UV 시스템으로 분석하여, 각 시료의 파장과 머무름시간(Retention Time, RT)을 구하였다. 본 연구에 사용된 주요 성분은 Fig. 1에 나타내었다.

2.1 시약 및 재료

Dimenhydrinate(DM, Sigma-Aldrich), Caffeine(CF, Sigma-Aldrich), Methyl 4-hydroxybenzoate(MP, Sigma-

Aldrich), Propyl-4-hydroxybenzoate(PP, Sigma-Aldrich) 시약은 특별한 처리 없이 구입한 그대로 사용하였다. 이동상으로 사용된 아세토니트릴(Acetonitrile, ACN), 증류수(DW, Distilled water), 메탄올(MeOH, Methanol)은 Daejung(Korea)사의 HPLC Grade 제품을 사용하였다. 멀미약은 시판 중인 멀미약 시럽(이하 멀미약)을 구매하여 사용하였다.

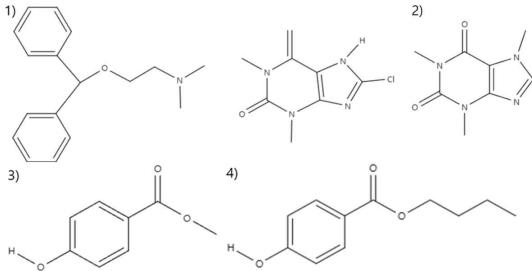


그림 1. 4가지 성분의 화학적 구조. 1) 디멘히드리네이트 2) 카페인 3) 메틸 파라벤 4) 프로필 파라벤
 Figure 1. Chemical structure of four components. 1) Dimenhydrinate 2) Caffeine 3) Methyl paraben 4) Propyl paraben

2.2 HPLC 분석 조건

본 연구에 사용한 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC)는 LC-4000(JASCO, Japan), 고정상으로 컬럼은 Finepak SIL, C18T-5(250mm×4.6mm, 5 μ m, JASCO)를 사용하였고, 이동상 용매로는 Acetonitrile(ACN), DW를 사용하여(ACN : DW = 60 : 40(v/v)) 아이소크라틱 기법(Isocratic Elution)으로 분리하였으며, 유속은 1.0ml/min, 컬럼오븐의 온도는 30 $^{\circ}$ C, UV Detector는 UV-4075(JASCO, Japan)을 이용하여 254 μ m 파장에서 해당 성분들을 검출하였다.

2.3 표준 용액 제조

실험에 사용한 표준 용액은 시중에 판매되고 있는 복합제제와 동일한 농도로 조제하기 위해 정확하게 계량된 DM 1,000mg, CF 500mg, MP 20mg, PP 4mg에 메탄올과 증류수 혼합용액(MeOH : DW = 3 : 7) 98.5g을 추가하여 교반 된 고농도 표준 용액을 제조하였다.

제조된 표준용액을 동일한 조성의 희석 용매를 사용하여 100배 추가 희석하여 사용하였다.

2.4 Sample 제조

시판 중인 멀미약 0.3g을 용량 플라스크에 정밀하게 취하고, 메탄올과 증류수 혼합용액(MeOH : DW = 3 : 7) 9.7g을 추가하여 HPLC 분석용 멀미약 Sample로 사용하였다.

2.5 유효성 평가(Validation)

동시 분석의 유효성 평가를 위해 직선성, 정확성, 정밀성, 검출한계(LOD, Limit Of Detection) 및 정량한계(LOQ, Limit Of Quantitation)를 산출하여 ICH Guideline에 따라 분석 방법을 검증하였다.

2.6 유효성 평가 시약 제조

유효성 평가(Validation) 시약의 제조는 DM을 함유한 복합제제로, 정확하게 계량된 DM 1,000mg, CF 500mg, MP 20mg, PP 4mg에 D.W 28.5g을 추가하여 제조한 후, 제조한 시료를 각각 80 μ g/ml, 90 μ g/ml, 100 μ g/ml, 110 μ g/ml, 120 μ g/ml로 총 5개의 유효성 평가 시약을 제조하여 평가 실험에 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

3.1 정성분석

본 실험에 의한 분석법을 통해 시중에 판매되고 있는 시럽 제제의 멀미약을 분석하고, 이후 직접 제조한 적정 농도의 표준 용액을 분석하여 검출된 두 Peak를 대조하는 과정을 거쳐 시판 중인 시럽 제제의 멀미약과 직접 제조한 표준 용액의 성분이 동일함을 확인하였다. Fig. 2 및 Table 1에 결과를 나타내었다.

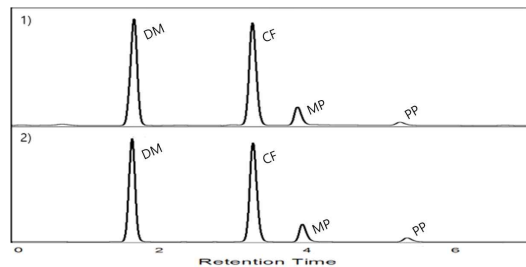


그림 2. 동시분석에 의한 크로마토그램. 1) 샘플 2) 표준시료
 Figure 2. Chromatogram by Simultaneous Analysis. 1) Sample solution 2) Standard solution

표 1. 정성분석 결과

Table 1. Qualitative Analysis of Each Components.

| Comp. | RT(min) | Rs | Symmetry Factor |
|-------|---------|-------|-----------------|
| DM | 1.63 | 9.759 | 0.989 |
| CF | 3.25 | 3.797 | 1.120 |
| MP | 3.92 | 7.318 | 1.256 |
| PP | 5.33 | | 1.280 |

각 성분의 분리능(Rs, Resolution)은 $R_s \geq 1.5$ 이상으로 효율적으로 분리가 되었음을 확인하였고, 대칭성(Symmetric Factor)은 0.989 ~ 1.280으로 1에 근접하게 나타나 대칭 안정성이 유효함을 확인하였다.

3.2 분석법 검증

실험의 유효성 평가를 위해 직선성, 검출한계, 정량한계, 정확성, 정밀성, 완전성에 대한 실험의 결과를 다음과 같이 분석하였다.

3.2.1 직선성

분석 대상물질의 농도에 비례하여 일정 범위 내에 직선적인 측정값을 얻어낼 수 있는 능력을 판단하기 위한 직선성을 검토하였다. 직선성은 상기 2.3에서 제조된 표준용액을 사용하여 각기 다른 80% ~ 120% 범위의 5가지 농도에 대하여 반복 측정 후, 면적비를 통하여 검량선을 구하고, 직선성의 상관계수(R^2)를 계산하여 확인한 결과 R^2 값이 모두 0.999 이상으로 각 성분의 직선성이 유효함을 확인하였다(Fig. 3).

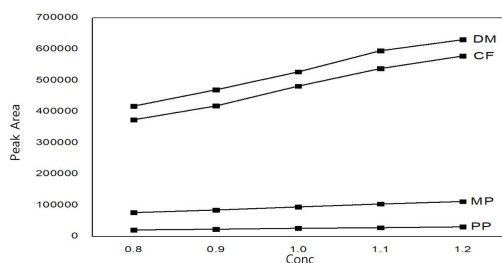


그림 3. 동시 분석법에 의한 직선성 결과

Figure 3. Linearity Properties of the Simultaneous Analysis

3.2.2 검출한계(LOD), 정량한계(LOQ)

각 성분의 검출 및 정량이 가능한 최저농도를 확인하기 위하여 검출한계와 정량한계를 측정하였다.

검출한계 및 정량한계는 표준편차와 검량선의 기울기에 근거하여 다음의 식 (1)과 (2)에 의하여 구하였으며, DM, CF, MP, PP의 검출한계(LOD)는 0.017 ~ 3.06 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 범위이고, 정량한계는 각각 0.05 ~ 9.18 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 를 나타내었다. 위의 결과는 유효성 가이드라인에서 제시하는 범위를 만족하며, 동시분석법의 정량화에 적합한 분석법이라 판단하였다.

$$\text{검출한계(LOD)} = 3.3 \times \frac{\text{표준편차}}{\text{기울기}} \quad (1)$$

$$\text{정량한계(LOQ)} = 10 \times \frac{\text{표준편차}}{\text{기울기}} \quad (2)$$

표 2. 검출한계, 정량한계 결과 및 상관계수 (R^2)Table 2. Results of LOD, LOQ and R^2

| Comp. | LOD ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | LOQ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | R^2 |
|-------|---------------------------------|---------------------------------|--------|
| DM | 3.06 | 9.18 | 0.9991 |
| CF | 1.44 | 4.32 | 0.9995 |
| MP | 0.03 | 0.09 | 0.9998 |
| PP | 0.017 | 0.05 | 0.9997 |

3.2.3 정확성(회수율)

정확성은 측정값이 참값이나 표준에 근접한 정도를 나타내며, 함량시험법의 유효성 평가에 맞추어 표준 용액을 기준으로 80%, 100%, 120% 3가지 농도의 시약을 제조하여 농도별 3회 반복 측정 후 정확성을 평가하여 평균 회수율(Recovery, %)을 구하였다. DM의 경우, 98.28 ~ 100.99, CF 99.40 ~ 100.69, MP 100.63 ~ 101.71,

표 3. 각 성분에 대한 정확성 결과 (회수율)

Table 3. Accuracy Evaluation Properties of Each Component (Recovery rate).

| Comp. | content (%) | 1st | 2nd | 3rd | Average (%) | RSD (%) |
|-------|-------------|--------|--------|--------|-------------|---------|
| DM | 80 | 78.11 | 78.85 | 78.91 | 98.28 | 0.56 |
| | 100 | 99.51 | 99.25 | 99.91 | 99.38 | 0.137 |
| | 120 | 120.95 | 121.21 | 121.49 | 100.99 | 0.278 |
| CF | 80 | 39.72 | 39.95 | 39.99 | 99.72 | 0.36 |
| | 100 | 49.78 | 49.65 | 49.68 | 99.40 | 0.14 |
| | 120 | 60.23 | 60.42 | 60.56 | 100.69 | 0.21 |
| MP | 80 | 1.60 | 1.61 | 1.62 | 100.63 | 0.39 |
| | 100 | 2.02 | 2.01 | 2.02 | 100.75 | 0.13 |
| | 120 | 2.433 | 2.44 | 2.45 | 101.71 | 0.29 |
| PP | 80 | 0.81 | 0.81 | 0.81 | 101.38 | 0.30 |
| | 100 | 1.01 | 1.01 | 1.01 | 101.10 | 0.29 |
| | 120 | 1.22 | 1.22 | 1.23 | 101.67 | 0.406 |

PP 101.10 ~ 101.67 으로 정확성이 유효함을 확인하였으며, 그 결과를 Table 3에 나타내었다.

표 4. 각 성분별 6회 반복 완전성 평가
 Table 4. Robustness Evaluation Properties of Each Component by the 6 times Standard Repetition.

| Comp. | Mobile phase (ACN : DW) | | Flow rate (mL/min) | | Temperature (°C) | |
|-----------|-------------------------|-------|--------------------|------|------------------|-------|
| | 5 : 5 | 7 : 3 | 0.8 | 1.2 | 27 | 33 |
| DM RSD(%) | 0.34 | 0.5 | 0.35 | 0.54 | 0.14 | 0.47 |
| CF RSD(%) | 0.37 | 0.41 | 0.04 | 0.05 | 0.36 | 0.09 |
| MP RSD(%) | 0.33 | 0.55 | 0.04 | 0.22 | 0.5 | 0.19 |
| PP RSD(%) | 0.21 | 0.45 | 1.2 | 0.45 | 0.55 | 0.005 |

3.2.4 완전성

분석 방법 중 일부 매개변수를 의도적으로 변동시켰을 때의 변형 값에 대한 신뢰성을 나타내기 위해 상기 2.3에서 제조한 표준용액을 사용하여 매개변수를 변경한 조건하에서 각각 6회씩 측정하여 분리도를 확인하였고, 상대표준편차(RSD, Relative Standard Deviation)를 계산하여 검증하였다. RSD% 값은 2% 이내가 적합하다. 측정된 각 성분의 상대표준편차(RSD)는 이동상 조성 비율을 변경했을 시 각각 DM의 경우 0.34 ~ 0.5, CF 0.37 ~ 0.41, MP 0.33 ~ 0.55, PP 0.21 ~ 0.45로 나타났으며, 유속을 변경했을 시에는 DM의 경우 0.35 ~ 0.54, CF 0.04 ~ 0.05, MP 0.04 ~ 0.22, PP 0.45 ~ 1.2 이었으며, 온도를 변경했을 시에는 DM의 경우 0.14 ~ 0.47, CF 0.36 ~ 0.09, MP 0.50 ~ 0.19, PP 0.55 ~ 0.005로 완전성이 유효함을 확인하였으며, 분석 결과는 Table 4에 나타내었다.

3.2.5 정밀성

제조된 표준 용액을 통해 정해진 조건에 따라 측정하였을 때 각각의 측정값들 사이의 분산 정도를 검증하기 위해 80% 농도에 해당하는 표준용액을 6회 반복 측정하여 피크 면적의 평균값을 산출하고 산출된 값을 통하여 상대표준편차(RSD)를 계산하여 나타내는 반복성(Repeatability) 평가를 하였다. RSD% 값은 DM의 경우 0.550, CF 0.454, MP 0.447, PP 0.539로 평가되어 본 연구의 모든 성분이 RSD% ≤ 2 이내의 범위에 포함되어

정밀성의 유효함을 확인하였으며, 분석 결과를 Table 5에 나타내었다.

표 5. 정밀성(반복성) 평가 결과
 Table 5. Results of Precision(repeatability) Evaluation

| Comp. | DM (Peak area) | CF (Peak area) | MP (Peak area) | PP (Peak area) |
|-----------|-------------------|----------------|-----------------|-----------------|
| 1st | 455365 | 507987 | 92558 | 26065 |
| 2nd | 461049 | 511526 | 93150 | 26229 |
| 3rd | 461672 | 511875 | 93134 | 26424 |
| 4th | 461538 | 510908 | 93071 | 26185 |
| 5th | 460386 | 509667 | 92904 | 26186 |
| 6th | 460418 | 509814 | 92944 | 26032 |
| Mean Area | 460,071.3 ±4706.3 | 510,296.2±2309 | 92,960.2 ±402.2 | 26,186.8 ±154.8 |
| RSD(%) | 0.550 | 0.454 | 0.447 | 0.539 |

IV. 결 론

본 연구에서는 Dimenhydrinate를 함유한 복합제제의 주요 성분들을 역상 고성능 액체 크로마토그래피 (RP-HPLC)에 의해 동시 분석하여, ICH Guideline에 따른 직선성, 검출한계 및 정량한계, 정확성, 정밀성, 완전성의 평가를 통해 분석법에 대한 유효성을 검증하였다.

직선성의 평가결과 상관계수 0.9991 ~ 0.9998의 범위로 $R^2 > 0.999$ 이상의 안정적인 값을 나타내었다. Dimenhydrinate를 포함하고 있는 4성분 복합제제의 검출한계(LOD)는 0.017 ~ 3.06µg/ml의 범위이며, 정량한계(LOQ)는 0.05 ~ 9.18µg/ml를 나타내었다. 복합제제의 각 성분별 농도에 따른 회수율에 의한 정확성 평가는 피크의 면적 값으로부터 98.28 ~ 101.71%로 안정한 범위 내에서 평가되었다. 정밀도 분석결과 상대표준편차(RSD)는 모든 성분이 허용기준(RSD% ≤ 2) 이내의 범위에 포함되어 안정성을 확인하였으며, 또한 이동상의 조성 비율, 이동상의 유속, 온도 조건의 매개변수를 가변하였을 경우의 완전성의 평가 결과 역시 모든 성분에서 모두 RSD% ≤ 2 이내의 범위에 포함되어 매개변수에 따른 변형 값의 안정성을 얻었다.

본 연구를 통하여 Dimenhydrinate 함유한 복합제제를 동시분석 실험을 통하여 분석법의 유효성을 검증하여 신뢰할 수 있는 결과를 나타내었다. 본 연구를 통하여 입증된 동시 분석법은 품질관리에 유효성 있는 효율적 시험방법으로 활용이 가능할 것으로 기대된다.

References

- [1] S, H Jeong, "Motion Sickness", Korea Research in Vestibular Science, Vol. 8, No. 1 June 2009.
- [2] Alison G Halpert, Mary C. Olmstead, Richard J. Beninger "mechanisms and abuse liability of the anti-histamine dimenhydrinate", Neuroscience and Biobehavioral Reviews, Vol. 26, NO. 1, pp.61-67, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(01\)00038-0](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(01)00038-0)
- [3] M. S Choi, J. S. Yang, T. M. Yoo, I. K Kim, et al., "Revision of The Korea Pharmaceutical Codex, The Third. Edition" J. of Kor. Pharm. Sci., Vol. 35, No. 3, pp. 201-205, 2005.
- [4] G. H. Jeong, "Motion Sickness", The Korea Pharmaceutical Information Service of Chung-Ang University", https://www.health.kr/Menu.PharmReview/View.asp?PharmReview_IDX=620
- [5] Korea Pharmaceutical Information Center, From <http://www.health.kr/>.
- [6] H. Y. Kim, Y. J. Lee, K. H. Hong, C. W. Lee, K. S. Kim, S. C. Ha, "Development of analysis method of caffeine and content survey in commercial foods by HPLC", Korean J. of Food Sci. Tech., Vol. 31, No. 6, pp. 1471-1476, 1999.
- [7] S. S. Yun, H. Kim, S. J. Jang, H. S. Lim, S. H. Kim, and M. H. Kim, "Simultaneous Determination of Caffeine, Theobromine and Theophylline in Tea Leaves by HPLC", Korean J. of Food Sci. Tech., Vol.47, No. 5, pp. 556-560, 2015. DOI: <https://doi.org/10.9721/KJFST.2015.47.5.556>
- [8] N. Y. Park, E. H. Lee, Y. I. Kho, "Analysis Method of Parabens in Human Breast Milk by LC-MS/MS System", J. of the Korean Chemical Society, Vol.60, No. 2, pp. 118-124, 2016. DOI : <http://dx.doi.org/10.5012/jkcs.2016.60.2.118>
- [9] J. H. Lee J. H. Byeon, M. S. Kim, et al., "Allelopathic Effect of Aqueous Extract of Ganghwa Mugwort (*Artemisia* spp.) Vegetables and HPLC Analysis of Allelochemicals," Korean Journal of Organic Agriculture, vol. 21, No. 4, pp. 737 - 752, 2013. DOI : <https://doi.org/10.11625/KJ OA.2013.21.4.737>
- [10]D. Y. Lee, M. H. Kim, and J. H. Ahn, "Simultaneous determination of 9 preservatives in processed foods using high-performance liquid chromatography with photo diode array detector" Analytical science and technology, Vol. 33, No. 6, pp. 233-239, 2020. DOI : <https://doi.org/10.5806/AST.2020.33.6.233>
- [11]H. S. Lim, S. K. Park, I. S. Kwak, H. I. Kim, J. H. Sung, J. Y. Choi, and S. H. Kim, "Simultaneous Determination of Eight Sugar Alcohols in Foodstuffs by High Performance Liquid Chromatography", Journal of Food Hygiene and Safety, Vol. 26, No. 1, pp. 16-24, 2011.
- [12]W. J. Lee, S. T. Choi, K. S. Shin, J. Y. Park, J. H. Sim, "Simultaneous Analysis of Cold Medicine Component by High-Performance Liquid Chromatography(HPLC)", The Journal of the Convergence on Culture Technology (JCCT) Vol. 9 No. 6, pp. 867-873, 2023. DOI: <https://doi.org/10.17703/JCCT.2023.9.6.867>