

## GC를 이용한 제제중의 Ethenzamide, Chlorzoxazone 및 Caffeine의 분석

독성약품과

김 유 경·윤 원 용

### Determination of Ethenzamide, Chlorzoxazone and Caffeine in drug by Gas Chromatography

*Division of Toxicopharmaceutics*

Yoo Kyung Kim and Won Yong Yoon

#### = Abstract =

Determination of Ethenzamide, Chlorzoxazone and Caffeine in drug was carried out by Gas chromatography.

1. Ethenzamide, Chlorzoxazone and Caffeine were separated with 10% ov-101 column by temperature programming.
2. Retention times of Ethenzamide, Chlorzoxazone and Caffeine were 7.26, 9.58 and 13.21 minutes.
3. Correlation coefficient of Ethenzamide, Chlorzoxazone and Caffeine were 0.9996, 0.9994 and 0.9998.
4. Recovery rates of three components were above 98%.

#### 서 론

근육이완제로 사용되는 Chlorzoxazone은 UV 280 nm에서 최대흡광을 가지며 Ethanol, Acetone에 잘 용해된다. 그리고 경구투여로 흡수되어 신속히 6-hydroxychlorzoxazone로 대사되며 약 90%가 48시간 내에 뇨로 배설된다. High Performance Liquid Chromatography(HPLC)를 사용하여 혈장내의 Chlorzoxazone과 6-Hydroxychlorzoxazone이 검출 가능하며<sup>1)</sup> 상용량은 1일 0.75~3g이다. 진통 해열제로 사용되는 Ethenzamide는 UV 234 nm에서 최대흡광을 가지며 Ethanol, Acetone, Chloroform 등에 잘 녹는

다. Caffeine은 지구상 분포하는 식물에 많이 존재하는 Alkaloid류로서 대뇌피질에 작용하여 각성효과를 나타내며 평활근 이완작용을 갖는다. H<sub>2</sub>O, Ethanol, Chloroform 등에 잘 용해되고 UV 273 nm에서 최대흡광치를 가지며 상용량은 1일 100~300 mg이다. Gas Chromatography(GC)와 HPLC를 이용하여 혈장중의 Caffeine을 검출할 수 있다<sup>2,3)</sup>. 이 세 성분 각각을 적정법에 의해정량하는 방법<sup>4)</sup>과 Chlorzoxazone의 경우 Methanol에 용해하여 UV 282 nm에서 흡광도를 측정하는 방법이 있고<sup>5)</sup> 이 세가지 성분이 동시에 존재하는 경우 HPLC를 이용하여 50% MeOH를 이동상으로 하여 UV 280 nm에서 동시 분석하는 방법이 있다<sup>6)</sup>.

본 실험에서는 감기약중에 이 세가지 성분이 함께 함

유되어 있는 경우 GC를 이용하여 동시에 세 성분을 정량하여 양호한 결과를 얻었으므로 이에 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

1990년 시판되는 제제 1종(1정중 Chlorzoxazone 150 mg, Ethenzamide 150 mg, Caffeine 25 mg).

### 2. 시 약

Chlorzoxazone, Ethenzamide, Caffeine, Isopropylantipyrene: NIH working standard

Ethanol: WAKO Pure Chemical Industries 제품

### 3. 기 기

Gas Chromatograph(Hewlett Packard HP5890A)를 사용하였다.

### 4. 실험방법

#### 가) 표준액의 조제

Chlorzoxazone 150 mg 과 Ethenzamide 150 mg, Caffeine 25 mg을 25 ml 메스플라스크에 넣어 소량의 Ethanol을 가하고 Isopropylantipyrene 100 mg을 Ethanol에 녹여 25 ml로 한 액(내부표준액) 5 ml를 가하여 10분간 초음파한 후 Ethanol으로 표선까지 채워 표준액으로 사용하였다.

#### 나) 검액의 조제

검체 20정을 취하여 가루로 한 후 1정 해당량을 정밀히 달아 25 ml 메스플라스크에 넣어 소량의 Ethanol을 가하고 내부표준액 5 ml를 가하여 10분간 초음파한 후 다시 Ethanol로 표선까지 채워 검액으로 사용하였다.

#### 다) 실험조건

Table 1과 같은 조건으로 실험하였다.

#### 라) 검량선 작성

표준품 Chlorzoxazone, Ethenzamide 및 Caffeine을 각각 225 mg, 225 mg, 37.5 mg 정밀하게 달아 Ethanol 25 ml에 용해시킨 후 원액, 2배 희석액, 3배 희석액으로 하여 각각의 액을 2  $\mu$ l씩 GC injection port에 주입하여 얻은 peak area로 검량선을 작성하였다.

#### 마) 회수율

검액조제시의 검체에 일정량의 표준품을 가하여 함께

**Table 1.** GC Conditions for Chlorzoxazone, Ethenzamide and Caffeine Analysis.

Detector: F.I.D.	
Column: 1.8 m $\times$ 3 mm ID, Stainless Steel OV-101 10%	
Column temperature ( $^{\circ}$ C)	
initial temp.	220
initial time (min.)	10
rate ( $^{\circ}$ C/min.)	5
final temp.	240
remaining time (min.)	5
Injection port temperature ( $^{\circ}$ C):	250
Detector temperature ( $^{\circ}$ C):	250
Carrier gas:	N <sub>2</sub>
Flow rate (ml/min.):	13.5
Chart speed (mm/min.):	0.25
Injection volume ( $\mu$ l):	2
Attenuation:	128

Ethanol에 녹여 전량을 50 ml로 한 후 이론치와 실험치를 비교하여 회수율을 구하였다.

## 결과 및 고찰

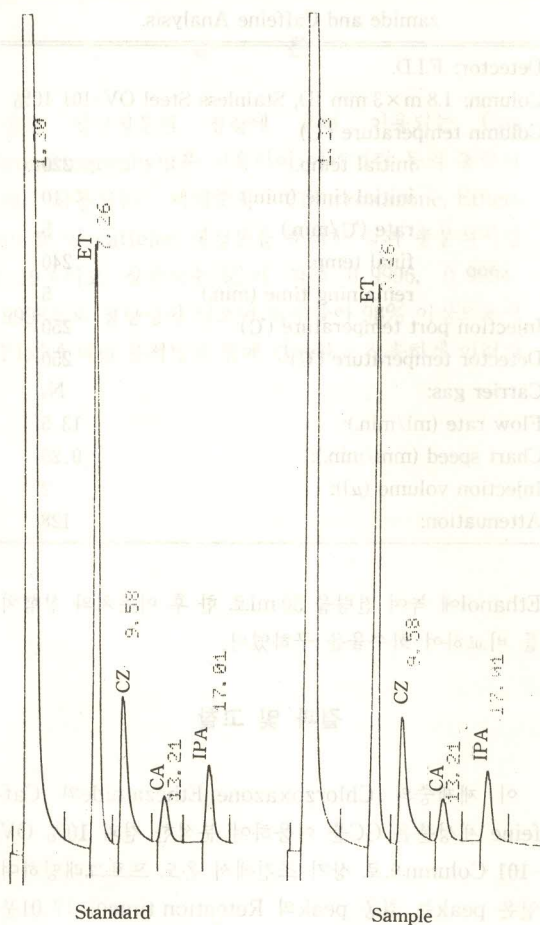
이 제제중의 Chlorzoxazone, Ethezamide와 Caffeine 세 성분은 GC를 이용하여 분석한 결과 10% OV-101 Column으로 상기 조건에서 온도 프로그래밍하여 얻은 peak는 최종 peak의 Retention time이 17.01분으로서 19분내에 peak의 분리가 가능했다(Fig. 1).

표준액의 농도에 따른 검량선 작성 결과는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 직선을 나타내며 Table 2와 같은 직선식과 상관계수(R)을 가지므로 정량성이 있고 표준액을 5회 반복 injection하여 얻은 RSD값은 2.0% 이하로서 재현성이 있다고 할 수 있다(Table 3).

검액에 일정량의 표준품을 첨가하여 얻어진 회수율은

**Table 2.** Linear Regression and Correlation Coefficient of Ethenzamide, Chlorzoxazone and Caffeine in Standard.

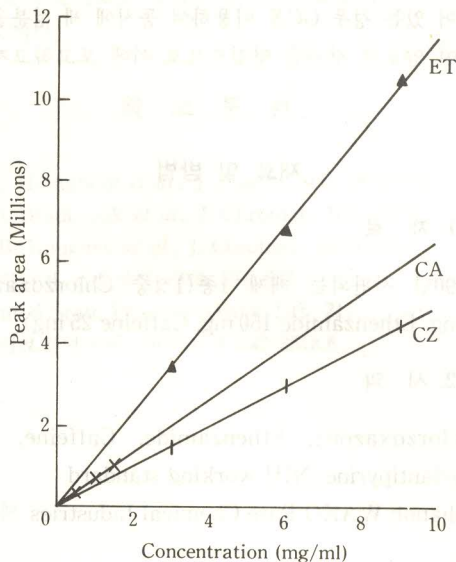
	Linear regression	Correlation coefficient (R)
Ethenzamide	$y = 1179351x - 181780$	0.9996
Chlorzoxazone	$y = 514506x - 80912$	0.9994
Caffeine	$y = 696059x - 17198$	0.9998



**Fig. 1.** Gas Chromatogram of Ethenzamide (ET), Chlorzoxazone (CZ), Caffeine (CA) and Iso-propylantipyryne (IPA) in Standard and Sample.

**Table 3.** Relative Standard Deviation (RSD) of Ethenzamide, Chlorzoxazone and Caffeine in Standard.

	Ethenzamide ( $\times 10$ )	Chlorzoxazone ( $\times 10$ )	Caffeine
	68402.1	30875.6	68094.4
	66300.0	29790.6	67984.6
peak area	68703.1	30595.0	71021.5
	66938.2	31486.2	68123.6
	38830.9	30743.2	67925.1
RSD	1.51%	1.78%	1.75%



**Fig. 2.** Standard Calibration Curve of Ethenzamide (ET), Chlorzoxazone (CZ) and Caffeine (CA) by GC.

**Table 4.** Recovery rates of Ethenzamide (ET), Chlorzoxazone (CZ) and Caffeine (CA) in Sample.

	Added (mg)	Found (mg)	Recovery rate (%)	Mean $\pm$ S.D.
ET	150.8	150.2	99.6	
	150.8	150.6	99.9	99.6 $\pm$ 0.22
	150.8	149.8	99.3	
	75.4	74.6	98.9	
	75.4	75.2	99.7	99.4 $\pm$ 0.35
	75.4	75.1	99.6	
CZ	150.6	150.3	99.8	
	150.6	150.8	100.1	99.7 $\pm$ 0.44
	150.6	149.2	99.1	
	75.3	75.2	99.9	
	75.3	74.6	99.1	99.6 $\pm$ 0.35
	75.3	75.1	99.7	
CA	25.4	24.9	98.0	
	25.4	25.1	98.8	98.2 $\pm$ 0.49
	25.4	24.8	97.6	
	12.7	12.5	98.4	
	12.7	12.6	99.2	98.2 $\pm$ 0.98
	12.7	12.3	96.9	

98% 이상으로서 높은 회수율을 나타내었다(Table 4).

구성성분이 들어있는 검체의 분석에 이용할 수 있으리라고 생각된다.

### 결 론

현재 일반성분의 정량에 흔히 이용되는 Gas Chromatography법을 이용하여 어깨결림 등의 통증치료에 사용되는 제제중의 Chlorzoxazone, Ethenzamide 및 caffeine 세성분을 분석한 결과 총분석시간이 19분이고 상관계수(R)가 각각 0.9996, 0.9994, 0.9998으로 정량성이 있으며 회수율이 98% 이상으로서 HPLC에 의한 분석법과 함께 간편하고 신속하게 이러한

### 참 고 문 헌

1. I.L. Honigberg *et al.*, J. Pharm. Sci., 68 (1979).
2. I.D. Bradbrook *et al.*, J. Chromat., 163 (1979).
3. D.B. Haugney *et al.*, J. Chromat., 229 (1982).
4. 대한약전 제 5 개정, 344, 594, 622.
5. United State Pharmacopoeia 21th, 211.
6. 국립보건연구원, 마약제기 242-3518호.