

## GC에 의한 파프제 綜合成分의 分析에 관한 연구

療 品 科

李 貞 美 · 鄭 愛 嬪 · 金 珍 坤

### Studies on the Analytical Method of l-menthol, dl-camphor, vanillyl nonoylamide in cataplasma by GC

Cosmetic Division

Jeong Mi Lee, Ae Hee Jeong and Jin Gon Kim

#### = Abstract =

This study was carried out to develop the analytical method of dl-camphor, l-menthol, vanillyl nonoylamide in analgesic cataplasma by GC.

The results were as follows:

1. dl-camphor, and l-menthol were determined by Carbowax 20M column at 150°C, retention time was 5.2 min. (dl-camphor), 7.4 min. (l-menthol) and vanillyl nonoylamide was determined by GC column OV- 101 at 250°C and retention time was 7.4 min.
2. Ethanol was a most efficient extract solution for samples.
3. Recovery rate of each samples were more than 95%.

#### 緒 論

시중 파프제의 일종에 포함된 methyl salicylate, dl-camphor, l-menthol, vanillyl nonoylamide 등의 성분은 진통, 진양, 수렴, 소염효과를 갖는 것으로 주로 근육통에 사용하고 카타플라즈마의 제형으로 생산되고 있으며 이들 성분의 분석방법은 약전, 보건원고시, 미국약전 등 각공정서에 흡광도 및 GC에 의한 분석법이 각각 수록되어 있어<sup>1),2),3)</sup> 본실험에서는 의약품 분석시 널리 사용되는 GC를 이용한 분석의 방법을 연구해 보고자 하여 우선 원료에서의 분석법을 확립한후 이 분석법을 시판 의약품의 분석에 적용하여 그 결과를 보고자 하였다.

#### 材 料 및 方 法

##### 1. 機 器

Hewlett Packard gas chromatography 5890  
HP 3392A Integrater  
환류냉각 추출기

##### 2. 試 藥

dl-camphor(SIGMA)  
l-menthol(SIGMA)  
vanillyl nonoylamide(SIGMA)  
Methanol(HPLC용)  
Ethanol(HPLC용)  
Chloroform(E. R)

### 3. 試料

시판되는 카타플라스마제로 1매(1.4g)중 methyl salicylate 42mg, dl-camphor 70mg, l-menthol 56mg, vanillyl nonoylamide 0.16mg을 포함하는 것을 사용하였다.

### 4. 實驗方法

#### 1) 標準液調製

dl-camphor, l-menthol, vanillyl nonoylamide를 각각 약 25mg을 정밀히 달아 25ml 메스플라스크에 넣고 ethanol로 표선을 맞추어 stock solution으로 한다.

위의 stock solution을 가지고 각각 1ml, 3ml, 5ml씩을 취하여 10ml 메스 플라스크에 넣고 정확히 표선을 맞추어 0.1mg/ml, 0.3mg/ml, 0.5mg/ml, 1mg/ml의 농도로 만든다.

#### 2) 檢液 調製

본제품 1매(약 1.4g)을 정확히 달아 250ml의 round bottle에 넣은후 흘 피펫으로 정확히 각각의 용매(methanol, ethanol, chloroform, distilled water)를 50 ml씩 취하여 환류냉각기에 연결한후 약 4시간씩 환류냉각 추출하여 여과한후 각 용매에 따른 4종류의 검체를 만들었다(Table 1).

Table 1. The Component of Extract Solution of Samples.

Sample	Solution
A	methanol
B	ethanol
C	chloroform
D	distilled water

#### 3) 實驗 條件

위의 검액을 가지고 Table 2와 같은 조건으로 실험 하였다.

Table 2. Analytical Condition of GC.

Column	Carbowax 20M	OV-101
Oven temperature	150°C	250°C
Injector temperature	200°C	270°C
Detector temperature	230°C	300°C
Flow rate	15.5ml/min.	18.3ml/min.
Attenuation	2 <sup>5</sup>	2 <sup>1</sup>
Chart speed	0.3cm/min.	0.3cm/min.

#### 4) 檢量線 作成

Table 2의 GC조건에 따라 표준액을 주입하여 얻은 peak area로 부터 0.1~1mg/ml의 농도 범위에서 검량선을 작성하였다.

#### 5) 再現性 檢討

표준액 각각을 GC에 10회씩 주입하여 얻은 peak area로 부터 각각의 표준액의 재현성을 검토하였다.

### 結 語 및 考 察

#### 1) 檢量線 作成

위의 실험조건에 따라 각각의 표준액을 0.1mg/ml, 0.3mg/ml, 0.5mg/ml, 1mg/ml의 농도로 injection하였을때 각각의 표준액은 양호한 직선성을 나타내었으며 (Fig. 1) 각각의 회기 방정식은 Table 3과 같으며 각 표준액의 상관계수(r)은 l-menthol이 0.9999, dl-camphor가 0.9999, vanillyl nonoylamide가 0.9986으로 양호한 직선성을 나타내었다.

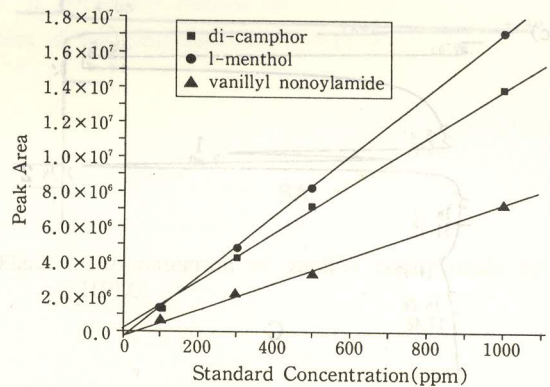


Fig. 1. Calibration Curve of Standards.

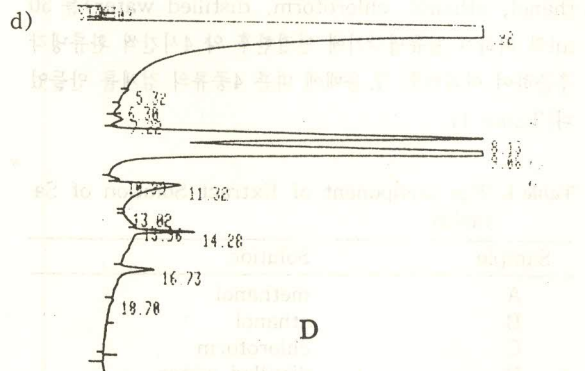
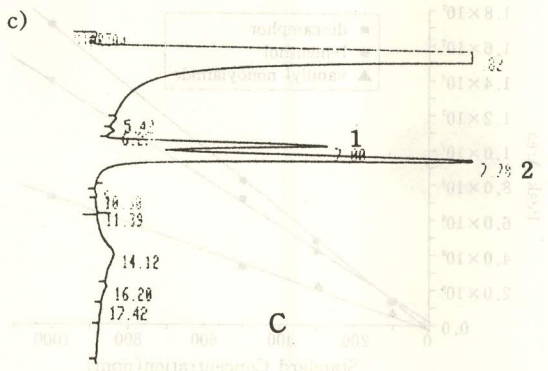
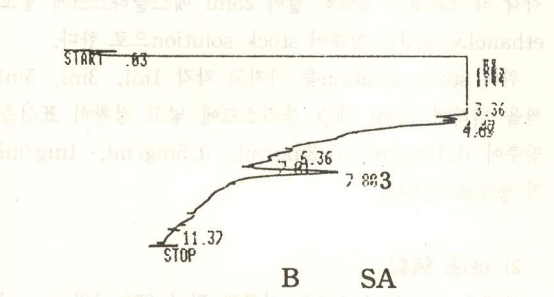
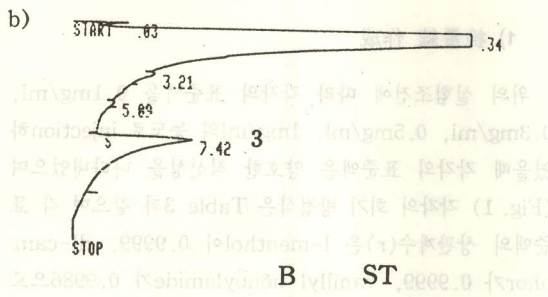
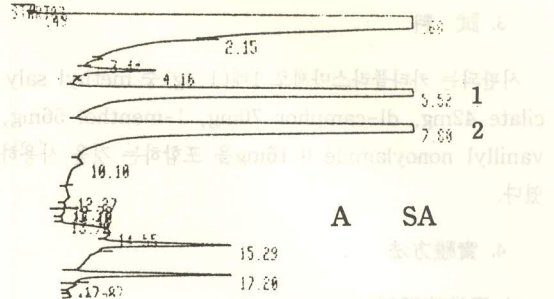
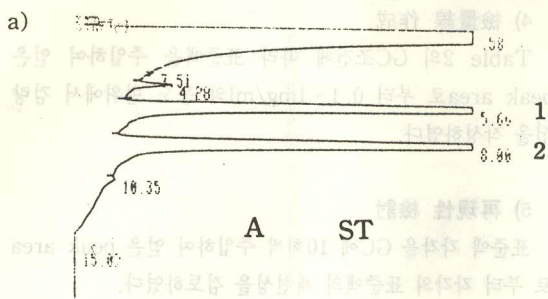
Table 3. Correlation Coefficient and Linear Regression of l-menthol, dl-camphor, vanillyl nonoylamide.

Component	Correlation Coefficient	Linear Regression
l-menthol	0.9999	Y=13886X+59505
dl-camphor	0.9999	Y=16868X-270523
vanillyl nonoylamide	0.9986	Y=7625X-233610

#### 2) 抽出 溶媒에 따른 分析結語

먼저 methanol에 추출하여 이를 OV-101에서 분석하여 본 결과 l-menthol과 dl-camphor의 분리가 이루어





**Fig. 2.** Chromatogram of GC.  
 A: Carbowax 20M, Ethanol  
 B: OV-101, Ethanol  
 C: Carbowax 20M, Water  
 D: OV-101, Ethanol

- 1: dl-camphor
- 2: l-menthol
- 3: vanillyl nonoylamide

지지 않았고 또한 Carbowax 20M에서도 마찬가지로 이었으나 ethanol로 추출한 경우 OV-101에서는 역시 분리가 안되었고 Carbowax 20M에서 분리가 잘되었다.

이는 Carbowax 20M이 휘발성 물질에 대하여 OV-101 보다 분리능이 더 뛰어나도록 입증한 결과이다. 특히 vanillyl nonoylamide나 그 외 성분들은 에탄올, 클로로포름, 디메틸 포름아마이드, 에틸에 잘 녹고 물에는 거의 녹지 않으므로<sup>2)</sup> 증류수로 추출한것은 분석결과 양쪽 컬럼

에서 모두 분리, 검출이 되지 않았다. 그리고 l-menthol과 dl-camphor의 경우 OV-101보다는 Carbowax 20M에서 분리가 더 잘 되었으며 온도는 150°C에서 20분간 등은 분석 하였으며 flow rate는 15.5ml/min.에서 분리가 잘되었다. 그리고 vanillyl nonoylamide의 경우에는 OV-101이 분리가 더 양호 하였으며 250°C에서 flow rate 18.3ml/min의 조건으로 분석시 7분대에서 검출 되었다. 용매와 컬럼에 따른 분석결과와 Table 4와

**Table 4.** Results of 4 kinds of extract method and 2 kinds of column.

Column	Standard	Extract Solution			
		MeOH	EtOH	CHCl <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> O
Carbowax 20M	dl-camphor	0	0	X	X
	l-menthol	0	0	X	X
	vanillyl nonoylamide	0	0	X	X
OV-101	dl-camphor	X	0	X	X
	l-menthol	X	0	X	X
	vanillyl nonoylamide	X	0	X	X

같다.

클로로포름의 경우 파프제 성분의 어느 성분과 반응하는지는 확실히 알수없으나 4시간 추출후 강한 점성의 현탁액을 형성하여 분석이 불가능 하였다.

**3) 再現性檢討**

표준액을 위의 실험조건에 따라 재현성 실험을 하였을때 각 표준액의 상대표준편차는 각각 0.4076, 0.7889, 0.6541이었다(Table 5).

또한 회수율은 앞의 시험방법에 따라 회수율 실험을 하였을때 각 제품에서의 표준액의 회수율은 약 95% 이상이었다.

**Table 5.** Reproducibility of dl-camphor, l-menthol, vanillyl nonoylamide by GC.

Sample	Assay(%)					Mean (%)	RSD (%)
	1	2	3	4	5		
	6	7	8	9	10		
dl-camphor	102.0	100.5	99.9	100.8	100.1	100.6	0.4076
	100.8	100.1	100.6	100.8	100.3		
l-menthol	98.1	99.2	99.6	100.8	98.4	99.6	0.7889
	99.2	100.4	100.4	100.3	99.6		
vanillyl nonoylamide	100.2	100.4	99.9	98.9	98.7	99.8	0.6541
	100.1	100.3	99.6	99.5	100.0		

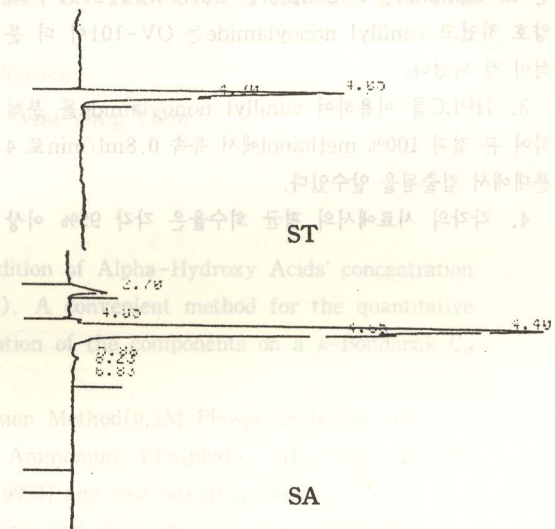
**4) GC chromatogram의 分析**

Carbowax 20M을 이용하여 분석한 각 성분의 시료와 표준액의 chromatogram은 Fig. 2a와 같은 결과를 나타내었다.

dl-camphor의 경우 5분 내에서 l-menthol의 경우 7분 내에서 분석 되었고 또 Fig. 2b와 같이 vanillyl nonoylamide의 경우 OV-101에서 7분대에서 분리가 양호하게 나타남을 알수있다.

Fig. 2c는 증류수에 환류 냉각 추출 시킨것 으로서 두 성분 dl-camphor와 l-menthol의 완전히 검출 되지도 않았고 분리도 되지않았음을 알수있다. 또한 Fig. 2d는 OV-101에서 분석한 chromatogram으로 dl-camphor와 l-menthol의 분리가 이루어 지지 않았음을 알 수 있다.

또한 Fig. 3과 같이 vanillyl nonoylamide을 HPLC로 분석하여 본 결과 100% methanol에서 유속 0.8ml/min로 4분대에서 검출됨을 알 수 있다. 그리고 각 표준액의 시료에서의 평균회수율은 95% 이상으로 양호 하였다.



**Fig. 3.** Chromatogram of vanillyl nonoylamide by HPLC.

한편 Douglas<sup>4)</sup>는 클로로포름으로 추출한 경우 dl-camphor, l-menthol이 역시 분리되었다고 보고한바 있으나 이실험에서는 클로로포름으로 추출로는 분석이 불가능 하였으며 Bhatia<sup>5)</sup>는 이 phenol류(즉 phenol, dl-camphor, l-menthol, methyl salicylate 등)의 분석을 HPLC로 시도하여 4가지의 chromatographic system으로 detection 254nm에서의 연구가 보고된바 있다.

또 Wolkoff와 Larose<sup>6)</sup>는 물에서의 phenol류를 fluorescence spectroscopy를 이용하여 ppb level까지 정량하였다고 보고된바 있어 위의 여러 결과를 종합 응용하여서 HPLC에 의한 앞으로의 연구의 필요성이 있다고 본다.



結 論

이상과 같이 시중에 시판하는 파프제의 한 종류중 동시 분석법이 확립되어 있지않은 각 성분을 각 추출 용매 조건과 컬럼은 다르게하여 분석하여본 결과는 다음과 같다.

1. dl-camphor, l-menthol은 Carbowax 20M을 이용하여 150°C, flow rate 15.5ml/min.에서 dl-camphor는 5분 l-menthol은 7분에서 분석하였으며 vanillyl nonoylamide는 OV-101를 사용 250°C에서 flow rate 15.5ml/min로 7분대에서 분리가 가능하였다.

2. 추출 용매는 ethanol이 가장 적합하였으며 column은 dl-camphor, l-menthol은 Carbowax 20M이 더 양호 하였고 vanillyl nonoylamide는 OV-101이 더 분석이 잘 되었다.

3. HPLC를 이용하여 vanillyl nonoylamide를 분석하여 본 결과 100% methanol에서 유속 0.8ml/min로 4분대에서 검출됨을 알수있다.

4. 각각의 시료에서의 평균 회수율은 각각 95% 이상

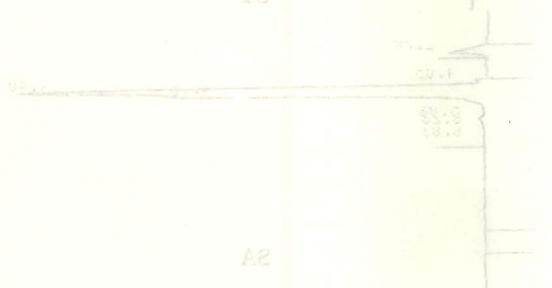


Fig. 3. Chromatogram of vanillyl nonoylamide by HPLC.

한형 Douglas, "dl-camphor, l-menthol의 동시 분석법"에 보고하였다. 이 연구에서 이 성분들의 동시 분석을 위하여 dl-camphor, l-menthol, vanillyl nonoylamide를 각각의 용매 조건에서 분석하였으며 Bhatia의 연구에서 dl-camphor, l-menthol, vanillyl nonoylamide를 각각의 용매 조건에서 분석하였으며 Wolkoff와 Larose의 연구에서 이 성분들의 동시 분석을 위하여 HPLC로 시료의 동시 분석을 위하여 보고하였다. 이 연구에서 이 성분들의 동시 분석을 위하여 HPLC로 시료의 동시 분석을 위하여 보고하였다.

이었다.

參 考 文 獻

1. 대한약전 제 5개정: 대한 보건 공정서 협회: (1987)
2. 보건원 고시 85-9호: 국립보건원: 876(1985)
3. The United States Pharmacopeia 22th,ed.: United States Pharmacopeial Convention, INC.: (1990)
4. C.C. Douglas: Gas chromatographic determination of phenolic compounds in drug preparation: Collaborative study. J. Ass. Offic. Anal. Chem., 55:610(1972)
5. K. Bhatia: Determination of trace phenol in aqueous solution by aqueous liquid chromatography. Anal. Chem., 45:1344(1973)
6. A.W. Wolkoff and R.H. Larose: Chromatography of aromatic acid and aldehyde and phenols on cross-linked polyvinylpyrrolidone. J. chromatogr., 93:189(1976)