

식품 중 발기부전치료제 및 유사물질의 분석

최동미* · 임무혁 · 이경진 · 권광일 · 정지윤 · 박건상 · 홍무기 · 이철원

식품의약품안전청

(2004. 10. 22 접수, 2004. 11. 10 승인)

Determining Anti-impotence drug-like compounds in Food

Dongmi Choi* · Mooheg Im · Kyungjin Lee · Kwangil Kwon · Jiyoon Jeong · Gunsang Park · Mooki Hong and Chulwon Lee

Korea Food & Drug Administration

#5 Nokbun-Dong, Eunpyung-Ku, Seoul 122-704, Korea

(Received Oct. 22, 2004, Accepted Nov. 10, 2004)

요 약 : 식품 중 발기부전치료제 및 유사물질 (anti-impotence drug-like compounds)인 실데나필, 바데나필, 타다라필, 호모실데나필, 홍데나필 및 하이드록시호모실데나필에 대해 고속액체크로마토그래피를 이용하여 동시분석을 시도하였다. 환제나 캡슐제 등 고체 시료의 경우 균질화한 후 일정량을 취하고, 드링크제 등 액체시료의 경우 일정량을 취하여 물에 희석한 후 유기용매로 추출하여 대상물질에 대해 photodiode array 스펙트럼의 최대흡수파장을 확인하였다. 인산을 함유한 아세토니트릴을 이동상으로 하고 C₁₈ 컬럼으로 분석한 결과 바데나필, 홍데나필, 하이드록시호모실데나필, 실데나필, 호모실데나필, 타다라필의 순으로 용리되었으며, PDA 스펙트럼의 최대흡수 파장은 바데나필의 경우 216 nm, 홍데나필의 경우 233 및 282 nm, 하이드록시호모실데나필, 실데나필 및 호모실데나필의 경우 222 및 293 nm, 그리고 타다라필의 경우 284 nm이었다. 검출한계는 물질마다 차이는 있으나 신호대 잡음비 3이상에서 0.04 mg/kg이었으며 평균 회수율은 95 ~ 109% 이었고 식품시료 중 검출된 대상물질은 1.7 (홍데나필) ~ 63 (타다라필) mg/1회복용량 수준이었다.

Abstract : To determine 6 anti-impotence drug-like compounds such as sildenafil, vardenafil, tadalafil, homosildenafil, hydroxyhomosildenafil and hongdenafil in food, simultaneously, high performance liquid chromatography was applied. In the case of solid sample, it was extracted in organic solvents after homogenizing with mortar and pestle. Whereas liquid sample was just diluted in water and then extracted in organic solvents. Maximum lengths of UV for targets have been identified on photodiode array spectra. As results, vardenafil, hongdenafil, hydroxyhomosildenafil, sildenafil, homosildenafil, and tadalafil were eluted in order using C₁₈ column in acetonitrile containing phosphoric acid as the mobile phase.

★ Corresponding author

Phone : +82+(0)2-380-1674 Fax : +82+(0)2-382-4892

E-mail : mechoid@kfda.go.kr

The maximum wavelength (λ_{\max}) was 216 nm for vardenafil, 233 and 282 nm for hongdenafil, 222 and 293 nm for hydroxyhomosildenafil, sildenafil and homosildenafil, and 284 nm for tadalafil. The overall recoveries were ranged from 95% to 109% and the limit of detection was about 0.04 mg/kg at signal/noise>3. Levels of targets in the selected food samples were 1.7 (hongdenafil) ~ 63 (tadalafil) mg/one dose.

Key words : hongdenafil, hydroxyhomosildenafil, homosildenafil, food, HPLC

1. 서 론

식품이란 의약으로 섭취하는 것을 제외한 모든 음식을 말하며 식품으로 인한 위생상의 위해를 방지하기 위하여 식품위생법은 기준·규격이 고시되지 아니한 화학적 합성품 등의 제조·수입 및 판매 등을 금지하고 있다.^{1,2} 그러나 최근 소비자들 사이에서는 식품을 통한 질병치료나 건강한 신체유지에 대한 관심이 고조됨에 따라 발기부전 치료성분인 실테나필(비아그라[®]), 타다라필(시알리스[®]) 및 바테나필(레비트라[®]) 뿐 만 아니라 실테나필과 유사한 화학구조를 가진 호모실테나필, 홍테나필 및 하이드록시호모실테나필 등 여러 화학물질이 함유된 부정유해식품의 유통이 날로 증가되고 있다.^{3,8} 이미 알고 있는 바와 같이 실테나필 [(1-((3-(6,7-dihydro-1-methyl-7-oxo-3-propyl-1H-pyrazolo-(4,3-d)pyrimidine-5-yl)4-ethoxyphenyl)sulfonyl)-4-methylpiperazine)]은 협심증이나 심장병 환자에게 심장근육에 필요한 혈액공급을 원활히 하기 위한 의약품을 연구하던 중 UK-92-480이라는 코드명을 가진 물질이 심장기능을 회복시키는 기능은 미미한 반면에 부작용으로 음경발기를 일으키는 것을 우연히 발견하여 개발된 발기부전치료 성분이다. 작용기전을 살펴보면 성적흥분 시 생성되는 cyclic guanosine mono phosphate (cGMP)를 분해하는 효소인 phosphodiesterase 5 (PDE 5)의 작용을 실테나필이 차단하여 cGMP의 분해를 억제함으로써 발기상태를 유지하는 것이다. 그러나 실테나필은 두통, 안면홍조, 메스꺼움 등 부작용을 발현할 수 있고, 질산염제제 복용환자는 절대로 복용해서는 안되며, 또한 발기부전이 심장질환, 당뇨병, 암질환 등에 의해 나타날 수 있으므로 복용에 앞서 원인을 검사, 파악한 후 반드시 의사의 지시를 따라야 한다.⁹ 따라서 실테나필 함유제제는 오·남용우려의약품으로 지정되어 약사법으로 관리되고 있다.¹⁰ 이와 같이 발기부전 치료제 성분인 실테나필, 타

다라필 및 바테나필은 발기부전 환자들에게 처방되는 의약품으로 정력제가 아니며 오·남용 시 사망할 수도 있는 심각한 부작용이 우려되는 의약품으로 반드시 의사의 처방이 있어야만 사용할 수 있다.^{9, 11-12} 더욱이 단속을 피하고 의사의 처방이 없어도 사용할 수 있는 화학적 합성물질로서 식품 중에서 검출되어 식품의약품안전청에서 규명한 실테나필 유사물질인 호모실테나필 [(1-((3-(4,7-dihydro-1-methyl-7-oxo-3-propyl-1H-pyrazolo-(4,3-d)pyrimidine-5-yl)4-ethoxyphenyl)sulfonyl)-4-ethylpiperazine)] 및 하이드록시호모실테나필 [(1-((3-(6,7-dihydro-1-methyl-7-oxo-3-propyl-1H-pyrazolo-(4,3-d)pyrimidine-5-yl)4-ethoxyphenyl)sulfonyl)-4-hydroxyethylpiperazine)]은 실테나필의 methylpiperazine을 각각 ethylpiperazine 및 hydroxy-ethylpiperazine으로 치환한 유사물질이며, 홍테나필 [5-(2-ethoxy-5-(2-(4-ethylpiperazine-1-yl)acetyl)-phenyl)-1-methyl-3-propyl-1,6-dihydro-pyrazolo-(4,3-d)-pyrimidine-7-one)]은 실테나필의 sulfonyl기를 acetyl로, methylpiperazine을 ethylpiperazine으로 치환한 발기부전치료성분 유사물질로 이들 성분이 무분별하게 첨가된 식품의 안전성 확보는 매우 시급한 과제이다.¹³⁻¹⁴ 따라서 식품의약품안전청에서는 국민들이 성분란 풍조에 무방비 상태로 노출되는 것을 방지하고 식품의 안전성 및 건전성을 확보하기 위하여 식품공전에 식품 중 발기부전치료유사물질인 호모실테나필, 하이드록시호모실테나필, 홍테나필 3종에 대한 기준·규격을 불검출로 설정하여 관리하고 있다.¹⁵ 그러나 현재까지는 HPLC/UV 나 HPLC/MS를 이용하여 실테나필, 실테나필 및 대사물질, 또는 실테나필·바테나필·타다라필 및 호모실테나필 등 일부 물질에 대한 분석방법이 보고되고 있다.^{4, 16-18} 이에 본 연구에서는 식품 중에서 검출되고 있는 발기부전치료성분 및 그 유사물질인 실테나필, 바테나필, 타다라필, 호모실테나필, 하이드록시호모실테나필, 홍테나필 6종에 대해 각 식품시료의 특성에 따른 시료 전처리

방법 및 HPLC/UV의 최적 분석조건을 확립하여 공정화 하고 국내 유통식품에 대해 분석한 결과를 보고하고자 한다.

2. 실험

2.1. 시약 및 기구

분석용 시약은 HPLC급 또는 잔류농약급을 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA) 및 Wako Pure Chemical Industries Inc. (Osaka, Japan)에서 구매하였다. 표준물질 실데나필 (Sildenafil: Viagra[®]의 유효성분), 바데나필 (Vardenafil: Levitra[®]의 유효성분) 및 타다라필 (Tadalafil: Cialis[®]의 유효성분)은 한국화이자, 바이엘 및 한국릴리에서 제공받았으며 호모실데나필 (Homosildenafil), 홍데나필 (Hongdenafil) 및 하이드록시호모실데나필 (Hydroxy

-homosildenafil)은 합성하여 사용하였다. 내부표준물질은 forchlorfenuron (Dr. Ehrenstorfer, Germany)를 사용하였다.

2.2. 기기

HPLC 및 photodiode array (PDA) 검출기는 Nanospace SI-2 (Shiseido Fine Chemicals, Yokohama, Japan)을 사용하였으며, C₁₈ 컬럼은 Type UG120 (Shiseido Fine Chemicals, Tokyo, Japan)을 사용하였다.

2.3. 실험방법

2.3.1. 대상물질

실데나필, 바데나필, 타다라필, 호모실데나필, 하이드록시호모실데나필, 홍데나필 6종을 대상으로 하였으며 구조식, 화학식 및 분자량은 Fig. 1과 같다.

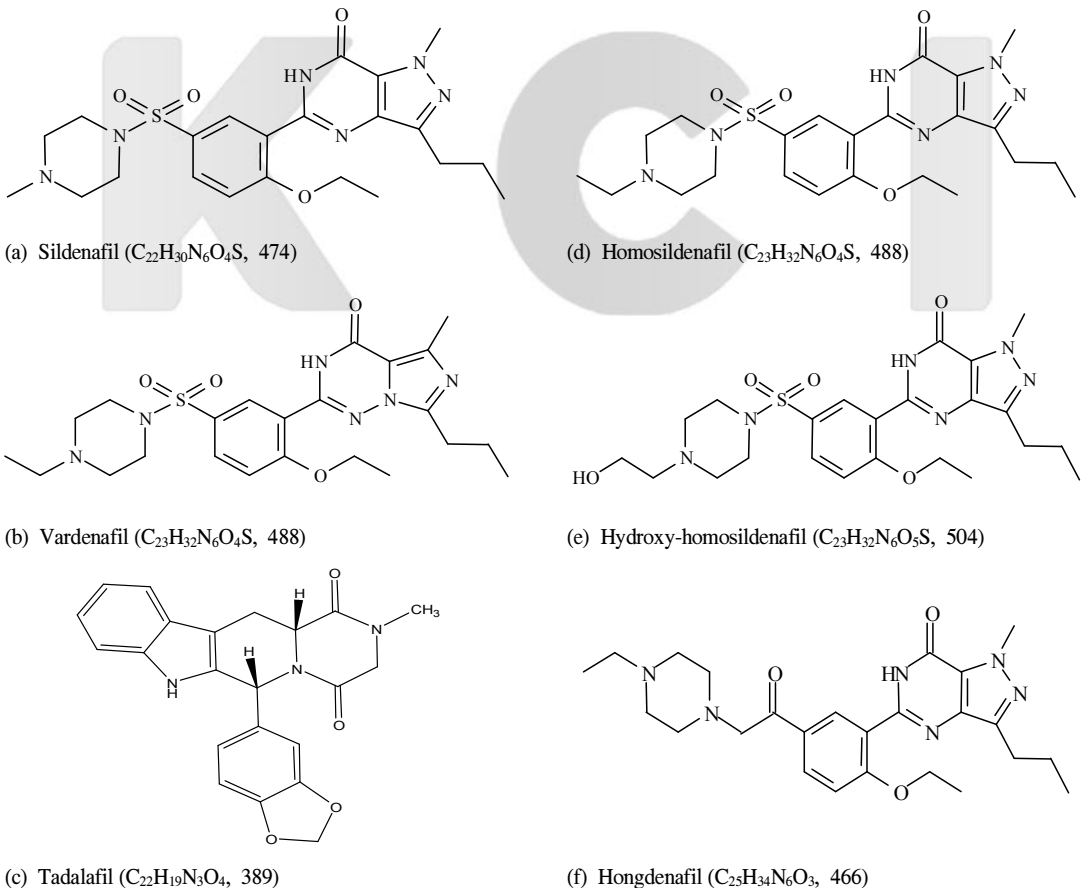


Fig. 1. Chemical structures, chemical formula and molecular weight of anti-impotence drug-like compounds.

2.3.2. 대상시료

정보에 따라 의심이 되는 식품 총 10제품 (드링크제 3 제품, 환제 1제품 및 캡슐제 6제품)의 시료를 대상으로 하였다. 회수를 측정을 위하여 국내 유통 중인 인삼 및 홍삼 6제품 (드링크제 3제품, 환제 1제품, 캡슐제 1제품 및 정제 1제품)을 구매하여 anti-impotence drug-like compounds의 함유 여부를 확인 한 후 드링크제 1제품 및 캡슐제 1제품을 선택하여 표준물질 일정량을 첨가하여 시료로 조제하였다.

2.3.3. 실험방법

2.3.3.1. 시료 중 대상물질 추출

환제, 캡슐제와 같은 고체시료의 경우 일정량 (1회 복용량)을 취해 막자사발을 이용하여 균질화하였으며 드링크제와 같은 액체시료의 경우 일정량 (~5 mL)을 취하여 물 (10 mL)과 메탄올 (70 mL)에 용해하고 진탕추출한 후 여과하였다. 여액을 디클로로메탄 (50 mL)으로 3회 반복추출하여 원심분리 (3,000 rpm, 3분간) 후 여과, 농축하고 메탄올로 희석하여 시험용액으로 하였다.

2.3.3.2. 기기 분석

HPLC 컬럼은 C₁₈ (4.6 mm id, 250 mm, 5 μm)를 사용하였으며, 오븐 온도는 40 °C이었다. 이동상으로는 0.1% sodium-1-hexane-sulfonate를 함유하는 0.1% H₃PO₄ : ace- tonitrile 27:73 (v/v) 혼합용액을 사용하였다. 시료는 10 μL를 주입하였으며 유속은 1.0 mL/min이었다. 분석결과 머무름 시간에 의해 정성 확인을 하였으며 피크 면적법에 의해 정량을 하였다. 정성 및 정량의 모든 결과는 HPLC 운영 프로그램인 EZChrom을 이용하여 산출하였다.

3. 결과 및 고찰

Anti-impotence drug-like compounds의 표준물질 6중 혼합액에 대한 크로마토그램은 Fig. 2와 같으며 바데나필, 홍데나필, 하이드록시호모실데나필, 실데나필, 호모실데나필, 타다라필의 순으로 용리되었다. 정성분석을 위하여 PDA 스펙트럼에서 최대흡수파장을 확인한 결과 바데나필의 경우 216 nm, 홍데나필의 경우 233 및 282 nm, 하이드록시호모실데나필, 실데나필 및 호모실데나필의 경우 222 및 293 nm, 그리고 타다라필의 경우 284 nm이었다. (Fig. 3)

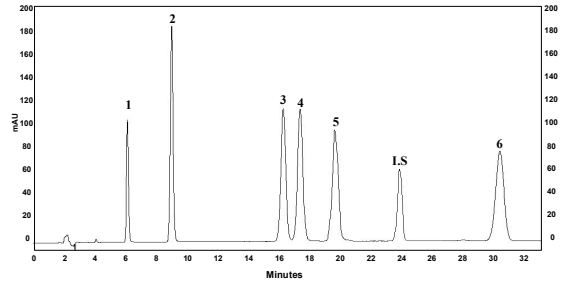


Fig. 2. Typical chromatogram of anti-impotence drug-like compound standard mixture.

1. Vardenafil, 2. Hongdenafil,
3. Hydroxyhomosildenafil, 4. Sildenafil,
5. Homosildenafil, 6. Tadalafil

검량선을 표준물질 3개 농도범위에서 측정·분석한 결과 상관계수 r^2 는 바데나필 0.9972, 홍데나필 0.9962, 하이드록시호모실데나필 0.9947, 실데나필 0.9955, 호모실데나필 0.9974 및 타다라필 0.9964로 매우 만족할 만한 수준이었으며 검출한계는 각각의 물질마다 약간의 차이는 있으나 신호대 잡음비 3이상에서 대략 0.04 mg/kg이었다. (Table 1)

식품으로부터 대상물질을 효율적으로 추출하기 위하여 각 시료의 특성에 따라 적합한 방법을 적용하였는데 액체시료의 경우는 단순히 일정량을 취하고 고체시료의 경우는 균질화한 후 디클로로메탄으로 추출하여 여과·농축한 후 유기용매에 희석하여 시험용액으로 하였다.

우선적으로 분석방법의 효율을 재고하기 위하여 시중에 유통되는 인삼드링크, 홍삼정에 표준물질을 첨가하여 회수율을 측정하였다. Table 2에 나타난 바와 같이 회수율은 95 ~ 109 %로 매우 만족한 결과를 얻었다.

이와 같이 최적화된 분석방법을 식품시료에 적용한 결과 발기부전치료성분은 최소 11 mg (타다라필)에서 최대 63 mg (타다라필)/1회 복용량이 검출되었으며 발기부전치료유사성분은 최소 1.7 mg (홍데나필)에서 최대 38 mg (하이드록시호모실데나필)/1회 복용량이 검출되었다. (Table 3) 이러한 검출량은 의사의 처방에 따른 정상적인 복용량을 초과할 뿐 만 아니라 호모실데나필, 하이드록시호모실데나필 및 홍데나필과 같은 발기부전 치료유사성분의 경우는 안전성이 입증되지 않았으므로 인체에 매우 치명적일 수 있다. 참고로 발기부전치료성분인 실데나필의 1회 최소 복용량은 25 mg, 바데나필은 5 mg 및 타다라필은 10 mg이다.

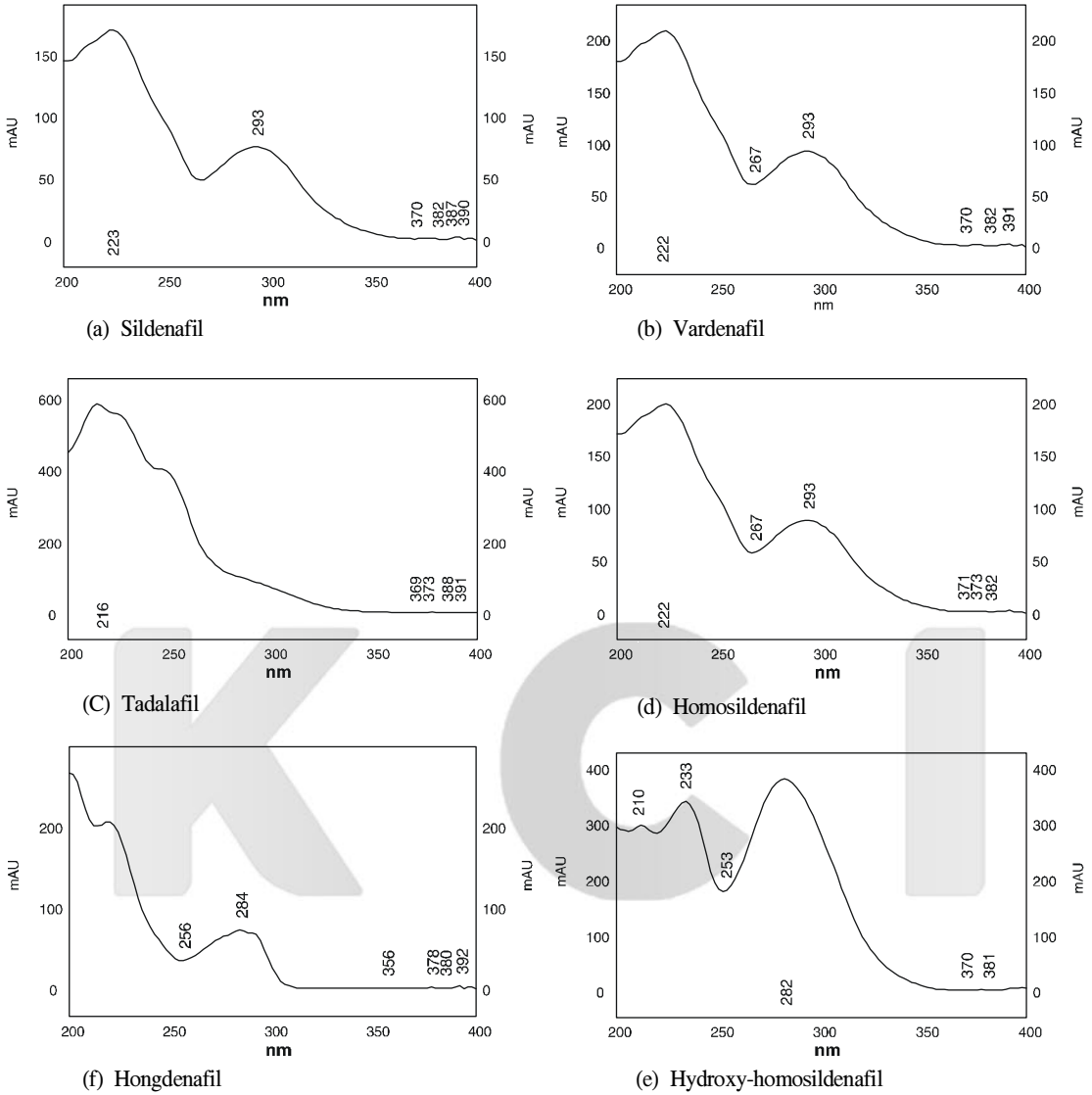


Fig. 3. PDA spectra of anti-impotence drug-like standard compounds.

또한 식품의 경우 특별한 허가나 등록절차 없이 수입신고만 하면 통관이 가능하고 성분이나 원료를 모두 표시하지 않아도 되며 무작위로 검사하므로 특히 한방에 의한 정력 식품임을 강조하는 식품은 발기부전 치료 성분이나 발기부전치료유사성분을 함유하고 있을 가능성이 높다. 따라서 과대광고에 현혹되지 말아야 하며 유해물질을 함유하고 있는 부정식품의 경우 의약품과 마찬가지로 부작용이나 습관성이 유발될 수 있다는 사실에 주의하여야 한다.

본 연구는 식품 중 발기부전 치료성분 및 그 유사물

질 6종을 동시에 분석하는 방법에 관한 내용으로 부정 식품의 유통을 사전에 방지하고 식품안전을 제고하여 국민보건을 향상하기 위하여 계속해서 이용할 수 있을 뿐 만 아니라, 향후 실데나필, 바데나필, 타다라필, 호모실데나필, 하이드로시호모실데나필, 홍데나필 6종 이외의 보고되지 않은 발기부전치료유사물질의 검출에도 적용할 수 있으리라 사료된다. 또한 분석방법이 식품공전에 등재되므로 모든 식품분석기관에서 식품 중 발기부전치료성분 및 그 유사물질 분석 시 동일한 방법을 사용할 수 있으리라 기대된다.

Table 1. Calibration equations and LOD for anti-impotence drug-like compounds

Compounds	Calibration	r ²	LOD (mg/kg)
Vardenafil	y=0.4051x-0.0447	0.9972	0.02
Hongdenafil	y=2.0777x-0.1936	0.9962	0.01
Hydroxyhomosildenafil	y=1.1112x-0.0471	0.9947	0.04
Sildenafil	y=1.1029x-0.0344	0.9955	0.04
Homosildenafil	y=1.1443x-0.0549	0.9974	0.04
Tadalafil	y=1.2877x+0.0022	0.9964	0.02

(LOD: limit of detection)

Table 2. Recoveries of anti-impotence drug-like compounds in the spiked food samples

Compounds	Spiked (μg)	Found(%±SD)	
		Liquid product	Solid product
Vardenafil	5	109±2	106±3
Hongdenafil	25	101±2	97.0±4
Hydroxyhomosildenafil	25	101±2	102±6
Sildenafil	25	99.6±2	100±5
Homosildenafil	25	99.7±2	102±4
Tadalafil	10	94.9±4	98.2±2

(n=5)

Table 3. Levels of anti-impotence drug-like compounds in food samples

Compounds	Foods	Status	Levels detected (mg)	Normal dose (mg)
Vardenafil	조은아침	Liquid	60	5, 10, 20
Hongdenafil	GS-3.7	Capsule	1.7	-
	M-Power	Liquid	3.8	-
Hydroxyhomosildenafil	Vex	Capsule	36	-
	Maxon-up	Capsule	25	-
	Mira-vita	Capsule	38	-
Sildenafil	참사랑베타	Liquid	27	25, 50, 100
	V-max	Capsule	27	-
Tadalafil	황보	Pill	63	10, 20
	Maxen	Capsule	11	-

참고 문헌

- 식품위생법, 보건복지부 (2003.8).
- 식품공전, 식품의약품안전청 (2002).
- 신명희, 홍무기, 김우성, 이영자, *식품의약품안전청 연보*, **39**, 121-124(2002).
- 장재희, 박건상, 박혜경, 구용의, 최윤주, 황인경, 김대병, *J. Fd. Hyg. Safety*, **18**, 177-182 (2003).
- 식품의약품안전청 보도/해명자료 (<http://www.kfda.go.kr>).
- 日本 厚生労働省 報道発表資料 (<http://mhlw.go.jp/houdou/2004/02/h0213-3.html>).
- Health Canada Warnings (http://www.hc-sc.gc.ca/english/protection/warnings/2003/2003_35.html).
- US FDA Talk Paper (<http://fda.gov/bbs/topics/ANSWERS/2003/ANS01235.html>).
- E. Boyce, E. Umland, *Clinical Therapeutics*, **23**, 2-23(2001).
- 오·남용우려의약품지정등에관한규정, 식품의약품안전청 고시 제2002-7호, 2002.2.18. (<http://www.kfda.go.kr/cgi-bin/t4.cgi/drug/drug1.taf?f=9>).
- G. Brock, *Eur. Urol. Suppl.*, **1**, 12-18(2002).
- R. Rosen, J. Kostis, *Am. J. Cardiol.*, **92**, 9M-18M(2003).
- M. Shin, M. Hong, W. Kim, Y. Lee, Y. Jeoung, *Food Addit. Contam.*, **20**, 793-796(2003).
- C. Shin, M. Hong, D. Kim, Y. Lim, *Magn. Res. Chem.*, **42** (2004) in press.
- 식품중 발기부전치료제및유사물질(행정간행물 등록번호; 11-1470000-000528-01), 식품의약품

안전청 식품안전평가부, 2004.

16. J. Kim, H. Ji, S. Kim, H. Lee, S. Lee, D. Kim, M. Yoo, W. Kim, H. Lee, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **32**, 317-322(2003).
17. M. Sheu, A. Wu, G. Yeh, A. Hsia, H. Ho, Y. Jeoung, *J. Chromatogr. B*, **791**, 255-262(2003).
18. 명승운, 박서희, 조현우, *분석과학*, **16**, 488-498 (2003).

K C I