대한위생학회지, 제22권 3호(2007)
Korean J. Sanitation, Vol. 22, No. 3, pp.89~96 (2007)

식품중 발기부전 치료제 및 유사물질 함량에 관한 조사연구

홍해근·방선재·박광회·이인숙·박민정·박정화·김종찬
경기도보건환경연구원북부지원

A Study on Contents of Anti-impotence drug/drug-like compounds in Food

Hae-Geun Hong·Seon-Jae Bang·Kwang-Hee Park·In-Sook Lee·in-Jung Park·
Jeung-Hwa Park·Jong-Chan Kim
North branch Gyeonggido Institute of Health &Environment

Abstract

To determine 8 anti-impotence drug/drug-like compounds such as sildenafil, vardenafil, tadalafil, homosildenafil, hydroxyhomosildenafil, aminotadalafil, pseudovardenafil and hongdenafil in foods, simultaneously, high performance liquid chromatography(HPLC) and liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS) were used.

The HPLC/UV analysis was performed on a column of capcellpak C_{18} with 0.1% sodium-1-hexansulfonate in 0.2M ammonium formate/acetonitrile as a mobile phase. Mass spectra of the compounds by LC/MS were investigated with SCAN mode(Mass range and Fragment voltage) and SIM(Selected Ion Monitoring) mode (Ion target and Fragment voltage).

The results follow as;

1. The HPLC/UV analysis was detected from 5 out of 63 samples.
The content of sildenafil was in the range of 32.80 ppm ~ 60.13 ppm from 4 out of 5 samples. The contents of sildenafil, vardenafil, homosildenafil were in the range 47.14 ppm from 1 out of 5 samples.
2. The conformed result of LC/MS was equal of detected from 5 out of 63 samples in HPLC/UV analysis.

An easily available, simultaneous determination of 8 standards in adulter-ated health related foods was established by using a combination of LC/MS methods.

Key words : anti-impotence drug/drug-like compounds, HPLC/UV, LC/MS, foods

*Corresponding author E-mail : bangsj68@yahoo.co.kr

Ⅰ. 서 론

최근 경제수준 향상에 따른 well- being 문화의 확산으로 건강하게 장수하려는 욕구가 증가하고 있다.

이에 따라 의약품보다는 건강에 대한 유익성을 제공하는 건강기능식품에 대한 선호도가 증가하고 있는 상황이며, 이러한 사회적 분위기에 발맞추어 건강기능식품이 많이 유통, 판매되고 있다.

그러나 일부에서는 미미한 기능성 성분의 함량을 강장제로 과장,호도하고 고가의 가격을 위해 식품에 사용해서는 안되는 발기부전치료제인 실데나필, 타다나필 및 바데나필과 발기부전치료제와 유사한 화학적합성품인 호모실데나필, 하이드록시호모실데나필, 홍데나필, 아미노타다라필, 슈도바데나필 등을 무분별하게 식품에 첨가시켜 판매하는 사례가 있어 사회문제가 되고 있는 실정이다.

발기부전치료제는 의사가 발기부전 환자들에게 처방하는 의약품이며[1,2,3], 발기부전치료제 유사물질인 호모실데나필, 하이드록시호모실데나필, 홍데나필, 아미노타다라필, 슈도바데나필은 안전성이 검증되지 않은 성분으로 오용 및 남용시에는 심각한 질환을 유발할수 있기 때문에 식품에서는 금지되어 있다[4].

현재 식품규격에는 호모실데나필, 하이드록시호모실데나필, 홍데나필, 아미노타다라필, 슈도바데나필 5종을 관리하고 있으나, 본 조사연구에서는 식품의 안전성 및 건강성을 확보하기 위하여 발기부전치료제 3종과 발기부전치료제 유사물질 5종 등 총 8종에 대해 기존검사법인 HPLC/UV외에 LC/MS를 사용하여 분석을 실시하였다[5,6,7,8].

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 실험재료

1.1. 기 간: 2005년 1월 ~ 12월

1.2. 대 상: 시중에서 유통되는 다류 8건, 음료류 8건, 인삼제품류 16건, 기타식품 4건, 규격외 일반가공식품 5건, 건강기능식품 15건, Unk-nown 7건 등 총 63건(Fig. 1).

1.3. 시험항목: 실데나필, 바데나필, 타다라필, 호모실데나필, 홍데나필, 하이드록시호모실데나필, 아미노타다라필, 슈도바데나필 등 8종

2. 측정기기

HPLC/UV 및 LC/MS (Agilent 1100 series, USA)를 사용하였으며, C_{18} 칼럼 (Shiseido Capcellpak Cat. No. 90104, Japan)은 길이 4.6mm I.D. × 250 mm, 5 ㎛로 사용하였다.

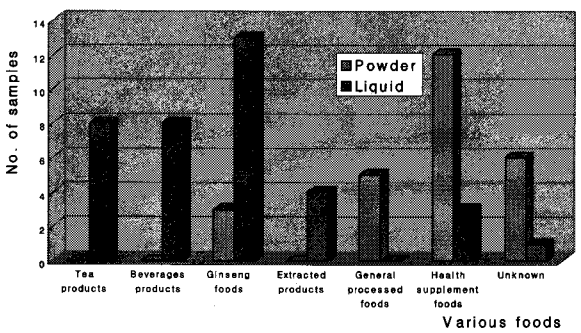


Fig. 1. Classification of 63 samples

3. 표준품 및 시약

표준품은 식품의약품안전청에서 실데나필, 바데나필, 타다라필, 호모 실데나필, 홍데나필, 하이드록시호모 실데나필, 아미노타다라필, 슈도바데 나필 8종을 분양받아 사용하였으며, 시약은 HPLC용 및 특급 시약 (Wako, Japan)을 사용하였다.

4. 실험방법

4.1. 시료의 전처리

시료의 전처리는 직접법과 추출법으로 동시에 수행하였다[1]. 직접법은 시료를 일정량(1회 복용량)을 메탄올에 녹여 초음파로 추출하여 원심분리 후 멤브레인 필터(0.2 ㎛)로 여과하였다. 추출법은 시료를 일정량 (1회 복용량) 메탄올에 용해 후 1% 중탄산나트륨용액 1㎖를 첨가하여 Dichloromethan-n으로 2회 추출한 다음 진공농축(40℃)하여 메탄올로 용해후 HPLC /UV 및 LC/MS로 분석하였다.

4.2. 표준용액의 제조

표준물질 8종은 메탄올을 사용하여 100 ㎎/ℓ이 되도록 희석 제조하였고, 0.2 ㎛ syringe filter를 이용해 여과후 사용하였다.

4.3. HPLC/UV 및 LC/MS 조건

칼럼은 C_{18} (4.6mm I.D. × 250 mm , 5㎛)을 사용하였으며, 이동상으로는 0.1% sodium - 1 - hexane sulfonate를 함유하는 0.2M Ammo -nium formate 과 Acetonitrile의 혼합용액을 사용하였다. 시료는 5㎕를 주입하였고, 유속은 1.0 ㎖/min이었다(Table 1).

Table 1. The operating condition of HPLC/UV and LC/MS

HPLC/UV conditions		
Column	Shiseido Capcellpack C18 (4.6mm×250mm, 5㎛)	
Mobile Phase	A: 0.1% Sodium-1-Hexanesulfonate in 0.2M Ammonium formate B: Acetonitrile	
Gradient program		
Time(min)	A(%)	B(%)
0	70	30
8	60	40
15	50	50
18	40	60
25	30	70
30	70	30
Flow rate	1㎖/min	
Colum Temperature	40℃	
Injection Volumn	5㎕	
Detector	UV 291nm	
LC/MS conditions		
Drying gas flow	13㎖/min	
Drying gas temperature	350℃	
Nebulizer pressure	50psi	
Capillary voltage	4000V	
Fragment voltage	300V	

Table 2. Recovery of anti-impotence drug/drug-like compounds in the spiked samples

Compoundss	No.of samples	Spiked Standards (ppm)	Found (%)	
			Liquid sample	Powder sample
Vardenafil	5	20	95	96
Hongdenafil	5	20	95	95
Hydroxyhomosildenafil	5	20	95	95
Sildenafil	5	20	96	96
Homosildenafil	5	20	95	95
Tadalafil	5	20	96	95
Pseudovadenafil	5	20	96	95
Aminotadalafil	5	20	97	95

HPLC/UV분석은 머무름시간(Reten -tion time) 및 피이크 면적법에 의해 정량을 하였고, 확인검사로 LC/ MS의 경우는 SCAN에서 Mass Range를 100~510, Fragment volt -age를 300V으로 정한후, 여기서 깨지는 Ion target을 확인한 후, SIM(Selected Ion Monitoring) 과정에서 SIM Ion 및 Fragment voltage를 지정한 후 분석을 통해 표준물질 8종 및 검출된 5건의 시료에 대한 확인 검사가 이루어졌다.

4.4. 회수율

회수율을 측정하기 위해 식품 63건 중 발기부전유사물질이 들어 있지 않은 5건(음료류 2건, 건강기능식품 2건 및 다류 1건)에 표준물질 8종을 일정량 첨가하여 시료로 조제한 후 실험을 수행하였다(Table 2).

Ⅲ. 결과 및 고찰

본 연구는 2005년 1월~12월까지 유통중인 식품 63건을 대상으로 발기부전치료제 및 유사물질 8종에 대해 HPLC/UV 및 LC/MS로 분석하였다.

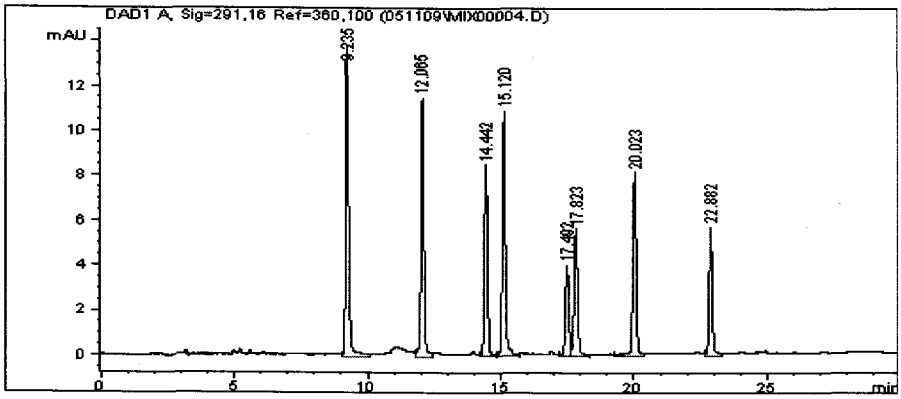
1. HPLC/UV에 의한 정량분석

표준물질 8종에 대한 HPLC/UV 동시다성분 분석결과 홍데나필(9.235 min)이 가장 빨리 검출되었으며, 아미노타다라필(12.065min), 하이드록시호모실데나필(14.442min), 타다라필(15.120min), 바데나필(17.492min), 실데나필(17.823 min), 호모실데나필(20.023min), 슈도바데나필(22.882 min) 순으로 분리되었고, 총 분석시간은 약 30분이 소요되었다[9](Fig. 2).

이것은 기존에 보고된 연구[6)10)]와 달리 이동상 혼합용액에 Ammonium formate를 첨가하여 피크의 감도와 분리능을 높였으며, 분석시간을 단축하는 결과를 가져왔다.

유통중인 식품 63건에 대한 HPLC/UV 동시다성분 분석결과 5건이 검출되었는데, 4건은 실데나필, 1건은 실데나필, 홍데나필, 호모실데나필이 동시에 검출된 경우이다.

검출된 5건은 모두 원산지는 중국산이며, 식품유형은 다류 1건과 건강기능식품으로 추정되는 4건에서 검출되었다. 검출된 농도는 최저 32.80 ppm에서 최고 60.13 ppm로 분석되었고, 발기부전치료제 및 유사물질이 검출된 시료는 LC/ MS를 통해서 확인검사를 실시하였다(Table 3).



Hongdenafil: 9.235min | Aminotadanafil: 12.065min | Hydroxy homosildenafil: 14.442min
Tadanafil: 15.120min | Vardenafil: 17.492min | Sildenafil: 17.823min
Homosildenafil: 20.023min | Pseudo-vardenafil: 22.882min

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

Table 3. Contents of anti-impotence drug/drug-like compounds in sample

No.	Samples	Type	Status	Compound	Concentration (ppm)	Standard concentration (ppm)
1	A	Unknown	Powder	Sildenafil	50.08	ND
2	B	Unknown	Liquid	Sildenafil	44.27	ND
3	C	Tea products	Powder	Sildenafil	60.13	ND
4	D	Unknown	Powder	Sildenafil	32.80	ND
5	E	Unknown	Powder	Sildenafil, Vardenafil, Homosildenafil	47.14	ND

검출된 발기부전치료제 및 유사물질은 중국에서 보따리상 등 불법유통경로를 통해 국내에 들어 온 경우로 판단된다.

검출된 실데나필류는 장기간 섭취시 두통, 홍조, 소화불량, 설사와 같은 경미한 증상에서 심장병환자의 경우는 사망에 이르는 심각한 부작용을 일으키는 것으로 보고하고 있다[10-12]. 안과질환자의 경우는 어지럼증, 청색증, 야외눈부심 등 안과적인 문제가 나타난다고 보고되었다[11].

2. LC/MS에 의한 정량분석

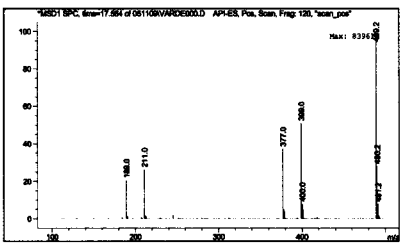
HPLC/UV에서 검출된 5건의 확인 검사를 위해 LC/MS에서 2개의 이동상물질로 분리 및 분석을 하였다. LC/MS는 시료처리시간과 분석시간이 짧고, 분자량을 근거로 분석물질을 확인하는 것이 매우 선택성이 높기 때문에 신속하고 정확하게 분석물질의 분자량을 측정할수 있다.

LC/MS의 정량분석법은 SCAN에서 Mass Range를 100~510, Fragment Voltage를 300V로 실험을 진행한후 Ion target을 결정하였다.

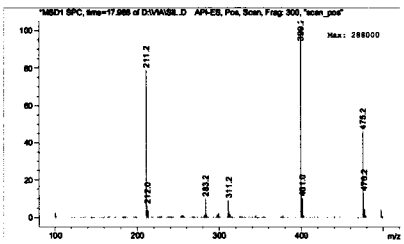
SIM Ion은 홍데나필 467.2 m/z, 297.2m/z, 127.2m/z, 아미노타다라필 391.2m/z,189.0m/z, 하이드록시호모실데나필 505.2m/z, 311.0m/z, 129.2m/z, 타다라필 390.2m/z, 189.0m/z, 바데나필 489.2m/z, 189.0 m/z, 377.0 m/z, 실데나필 475.2m/z, 283.2m/z, 311.2 m/z, 호모실데나필 489.2 m/z, 312.2 m/z, 113.2m/z, 슈도바데나필 460.2 m/z, 312.2m/z, 151.2m/z를 사용해서 분석을 했다(Fig. 3).

LC/MS로 확인검사한 결과 5건은 HPLC/UV의 검사 결과와 동일하게 검출되었다.

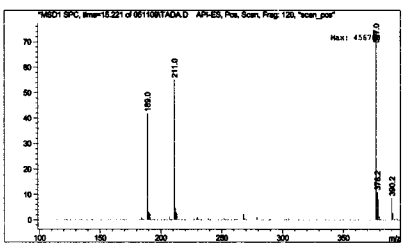
앞으로 신속하고 정확한 분석을 위해 LC/MS를 이용한 동시다성분 분석이 이루어질 수 있도록 이동상물질의 변 화와 분석조건의 확립을 위한 심도있는 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.



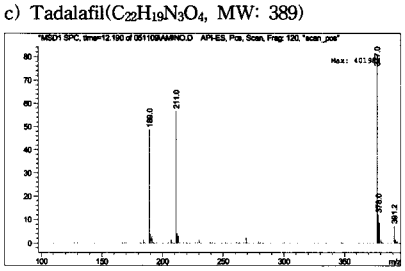
a) Vardenafil($C_{23}H_{32}N_6O_4S$, MW: 488)



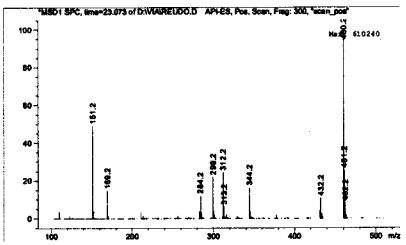
b) Sildenafil($C_{22}H_{30}N_6O_4S$, MW: 474)



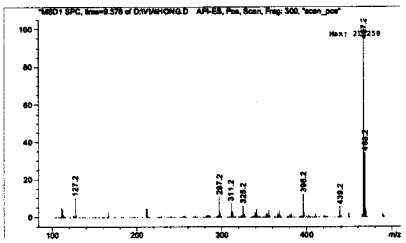
c) Tadalafil($C_{22}H_{19}N_3O_4$, MW: 389)



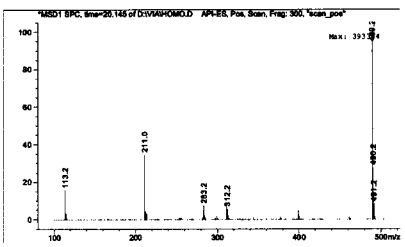
d) Aminotadalafil($C_{21}H_{18}N_4O_4$, MW:390)



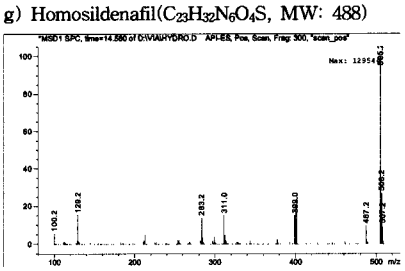
e) Psedovardenafil($C_{22}H_{29}N_5O_4S$, MW: 459)



f) Hongdenafil($C_{25}H_{34}N_6O_3$, MW: 466)



g) Homosildenafil($C_{23}H_{32}N_6O_4S$, MW: 488)



h) Hydroxyhomosildenafil($C_{23}H_{32}N_6O_5S$ MW: 504)

Fig. 3. LC/MS spectra of Vardenafil (a), Sildenafil (b), Tadalafil (c), Aminotadalafil(d), Pseudovardenafil(e), Hongdenafil(f), Homosildenafil(g), Hydroxyhomosildenafil(h)

Ⅳ. 결 론

본 조사연구는 시중에 유통되는 식품 63건을 대상으로 발기부전유사물질이 식품에 첨가되어 유통되는 것을 차단하고 식품의 안전성 확보를 하기 위해 HPLC/UV 및 LC/MS를 이용하여 발기부전치료제 및 유사물질 8종(타다라필, 바데나필, 실데나필, 홍데나필, 아미노타다라필, 하이드록시호모실데나필, 호모실데나필, 슈도바데나필)에 대해 검사를 수행하였으며 그 분석 결과는 다음과 같다.

1. HPLC/UV로 표준품 8종의 동시다성분 분석법을 실시하여 조건을 설정 후 검사한 결과, 총 63건중 5건이 검출되었다. 검출된 5건은 모두 원산지는 중국산이며, 식품유형은 다류 1건과 건강기능식품으로 추정되는 4건에서 검출되었다. 5건중 4건은 모두 실데나필로 최저 32.80 ppm에서 최고 60.13 ppm이 검출되었다. 나머지 1건은 실데나필, 바데나필, 호모실데나필 성분이 동시에 검출된 경우 47.14 ppm이 있다.

2. LC/MS를 이용하여 발기부전치료제 및 유사물질이 검출된 5건의 시료에 대한 LC/MS 확인검사는 기기조건을 수립후 개별 표준품 8종에 대해 SCAN과정 및 SIM Ion을 적용시켜 실험한 결과 모두 동일하게 검출되었다.

앞으로 신속하고 정확한 분석을 위해 LC/MS를 이용한 동시다성분 분석이 이루어질 수 있도록 이동상물질의 변 화와 분석조건의 확립을 위한 심도있는 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 식품의약품안전청 식품안전평가부: 식품중 발기부전 치료제 및 유사물질(행정간행물등록;11-1470000-000528-01),2004.
2. Alan M. Laties, Eberhart zre -nner: Viagra and ophthlm -ology, Progrss in Retinal and Research, 21, 485-506, 2002
3. Takako Moriyasu : Identifica -tion system for silde -nafil in health foods, Japan Yakugaku zasshi, 121(10), 765-769, 2001.
4. 장재희, 박건상, 박혜경, 구용의, 최윤주, 황인경, 김대병: 식품중 불법함유된 발기부전치료제성분 검출을 위한 동시분석법 연구, *J. Fd. Hyg. Safety,* 18(4), 195 - 201, 2003.
5. 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
6. 명승운, 박서희, 조현우: LC/MS/ MS를 이용한 sildenafil 및 그 유사체 분석, 분석과학,16, 488-498, 2003.
7. 최동미, 임무혁, 이경진, 권관일, 정지윤, 박건상, 홍무기, 이철원 :식품중 발기부전치료제 및 유사 물질의 분석, *Analytical Scie -nce & Technology,* 17(6),2004.
8. 식품의약품안전청: 식품중 부정유해 물질 분석 매뉴얼, 2005.
9. 식품의약품안전청: KFDA Libr -ary of IR, MS & NMR Spectra- Anti-impotence Drugs and Analogues(행정간행물등록번호;11-1470000-000881-14), 2005.
10. 영진바이오크롬: sildenafil 및 유사물질들의 분석, 2005.
11. 김택제, 명승운, 조현우, 김명수:" 실용적인 기체·액체 크로마토그래피와질량분

석법",자유아카데미, 353-367, 2002.
12. M.H.Shin,M.K.Hong, W.S.Kim, Y.J. Lee and Y.C.Jeoung: Identification of a new ana -logue of sildenafil added illegally to a functional food marketed for penile erectile dysfunction, Food Addit. Contam., 20(9), 793-796, 2003.