J. Fd Hyg. Safety
Vol. 25, No. 1, pp. 30~35 (2010)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

식품 중 데스메틸시부트라민의 규명 및 분석

권찬혁 · 윤태형 · 오재호 · 이광호 · 최동미*
식품의약품안전평가원

Elucidation and Analysis of Desmethylsibutramine in Food

Chanhyeok Kwon, Taehyung Yoon, Jaeho Oh, Kwangho Lee, and Dongmi Choi*
National Institute of Food and Drug Safety Evaluation #194 Tongil-Ro, Eunpyung-Gu, Seoul 122-704, Korea
(Received December 30, 2009/Revised February 6, 2010/Accepted February 17, 2010)

ABSTRACT - It has been elucidated desmethylsibutramine in food, that is an analogue of sibutramine used for anti-obesity drug. After separating and purifying in food samples, it was analyzed and identified by the instrument such as HPLC/PDA, HPLC/MS, HPLC/MS/MS and NMR. To analyze sibutamine and desmathylsibutramine in foods, they were analyzed and identified by HPLC/PDA after extracting in dichloromethane, filtering, concentration and diluting in methanol. The overall recoveries were ranged from 87% to 91% and the limit of quantitation was 2.5 μg/kg. As results, sibutramine and desmethylsibutramine was not detected in all the selected 54 food samples.

Key words : desmethylsibutramine, anti-obesity drug, food, HPLC, NMR

비만이란 살이 쪄서 몸이 뚱뚱한 것으로 체내에 지방조직이 과다한 상태를 말하며, 세계보건기구는 1996년 5월부터 비만은 치료가 필요한 병이라 규정하고 있다. 우리나라에서는 체중을 신장의 제곱으로 나눈 신체비만지수가 25 이상인 경우 비만으로 정의하고 있다[1-3]. 비만은 여러 가지 원인에 의한 다인자성 질병상태로 에너지 섭취와 소비의 불균형, 환경적 · 문화적 · 유전적 · 심리적 요인, 갑상선기능저하증, 쿠싱증후군, 다낭성 난소, 인슐린종 등 질병 및 스테로이드, 인슐린, 에스트로겐 등 의약품 복용과 같은 원인에 의해 발생된다[4-6]. 이러한 비만은 단순성 비만과 증상성 비만의 두 가지로 분류된다. 기초질환이 없는 단순성 비만은 과식과 운동부족이 주요 원인으로 살찐 사람들의 대부분이 해당하며 에너지의 공급과 소비의 균형이 깨어져서 발생한다. 반면에 증상성 비만은 자신도 느끼지 못하는 사이 어떤 부분에 질환이 생겨 일어나는 비만으로 발생 비율은 1% 미만으로 매우 적다. 증상성 비만을 유발하는 내분비 질환으로는 쿠싱증후군, 갑상선기능저하증 등이 있다. 쿠싱증후군은 몸통에 지방이 모이는 중심성 비만으로 팔이나 다리가 가늘어지는 증상을 나타내며, 갑상선기능저하증에서는 에너지 대사율이 떨어져 열량 소모가 줄어들기 때문에 체중이 증가하는 것이다.

비만은 고혈압, 동맥경화증, 당뇨병, 피부와 관절 질환, 불임증 등의 합병증을 유발하며 치료방법으로는 식이요법, 운동요법, 의약품 복용, 수술 등이 있다[7-10]. 식이요법이란 음식을 조절하여 체중을 줄이는 것으로 살이 찌지 않도록 먹는 것을 제한하는 것이다. 운동요법이란 신체활동량이나 행동을 변화시켜 열량섭취를 줄이거나 열량소비를 높임으로 건강을 증진하는 것이다. 비만을 치료하기 위한 의약품으로는 음식물로 섭취한 지방의 30% 정도가 체내에 저장되는 과정을 억제해 배변으로 내보내는 오르리스타트와 같은 흡수억제제가 있으며 뇌중추에 영향을 미쳐 평소 식사량의 80%만 먹어도 포만감을 주는 시부트라민 등 식욕억제제가 있다. 그러나 의약품 복용 시 불안, 사지떨림, 호흡이 빨라짐 등과 같은 부작용으로 국민건강을 위협할 수 있으므로 시부트라민은 3개월 정도 경과를 보아 가면서 의사의 판단에 따라 치료를 해야 한다. 특히, 비만치료제는 성인에게만 투여하도록 허가되어 있으므로 16세 미만의 청소년 및 어린이는 복용하지 말아야 한다[11-15]. 또한, 비만이 5년 이상 지속되거나 고혈압, 당뇨, 심부전 환자 등의 경우 수술을 하기도 한다.

최근 국민들 사이에 미용이나 건강을 위해 체중을 줄이고자 하나 의사의 진단 및 그에 따른 처방을 기피하는 성향과 식품을 섭취함으로서 질병치료나 건강한 신체를 유지하고자하는 국민 정서로 인하여 식품에 의약품을 불법 첨가하여 건강기능식품이라 허위과대광고를 하는 사례가

*Correspondence to: Dongmi Choi, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation #194 Tongil-Ro, Eunpyung-Gu, Seoul 122-704, Korea
Tel: 82-2-380-1673, Fax: 82-2-355-6037
E-mail: mechoi@kfda.go.kr

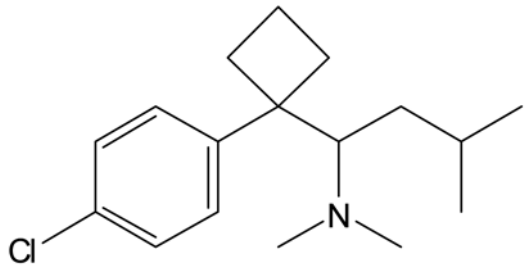
날로 증가하고 있는 추세이다[16]. 더욱이 식품 감시망을 피하고자 의약품과 유사한 화학합성물질을 불법으로 제조하여 식품에 첨가하는 경우 오·남용의 우려가 있으며 안전성 및 건전성이 확보되지 않았기 때문에 부작용이나 위해성이 전혀 보고된 바 없어 그러한 식품의 섭취 시 위해를 예측할 수 없다[17-18].

식품의약품안전청에서는 식품안전을 확보하기 위하여 정당하지 않은 방법으로 제조하여 식품에 불법으로 첨가한 미지의 부정물질을 규명하여 식품 중 기준·규격 및 시험법을 식품공전에 설정하고 있다[19]. 이에 본 연구에서는 식품 중에서 검출된 비만치료제 시부트라민 유사물질인 미지 물질을 데스메틸시부트라민으로 규명하고 유통식품 중에서 분석한 결과를 보고하고자 한다.

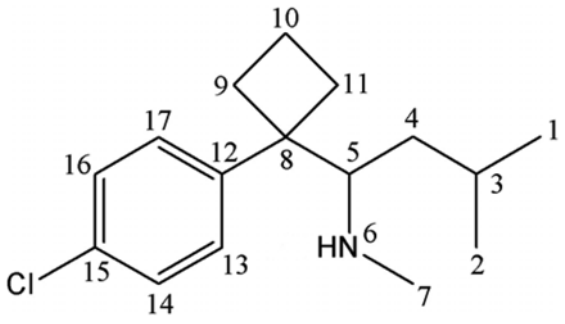
재료 및 방법

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 시부트라민 메실산(99.7%)은 한미약품에서 제공받았으며 데스메틸시부트라민(95.0%이상)은 서울대학교 약학대학에서 합성한 것을 제공받았다(Fig. 1).



(a) Sibutramine: $C_{17}H_{26}ClN$ (mw 279)



(b) Desmethylsibutramine: $C_{16}H_{24}ClN$ (mw 265)

Fig. 1. Chemical structures of sibutramine and desmethylsibutramine.

기기

HPLC 및 photodiode array (PDA) 검출기는 Nanospace SI-2 (Shiseido Fine Chemicals, Yokohama, Japan)을 사용하였으며, C_{18} 컬럼은 Type UG120 (Shiseido Fine Chemicals, Tokyo, Japan)을 사용하였다. Mass Spectrometer는 Finnigan TSQ Quantum Ultra (Thermo, Germany)를 사용하였다. NMR은 Advanced 400 spectrometer (9.4 T, Bruker Daltonics Inc., Billerica, MA, USA)를 사용하였다.

대상 식품

미지의 물질이 검출된 식품은 가루형태의 화분추출물(서울지방식품의약품안전청, 2007)이었다. 또한, 비만치료제 유사물질 등의 분석은 다이어트용으로 시중에 유통·판매되는 식품 54건을 대상으로 하였다.

식품 중 미지 물질 확인 및 분석

고체 시료이므로 균질화 후 0.25 g을 취해 50% 메탄올 용액(25 mL)에 용해하고 30분간 진탕추출한 후 여과하여 시험용액으로 하였다. HPLC/PDA 분석을 위하여 컬럼 규격은 4.6 mm i.d. × 250 mm, 5 μm이었으며, 이동상으로는 95% 아세토니트릴(A)과 0.1% 헥산설폰산나트륨이 함유된 0.1% 인산용액(B)을 사용하였다. 이동상은 초기에 A용액 30% (B용액 70%)에서 시작하여 15분 후에 A용액 55%(B용액 45%)로, 28분 후에 A용액 100%로, 31분 후에 A용액 30% (B용액 70%)가 되도록 gradient 조건을 조정하였다. UV 200~400 nm에서의 PDA 스펙트럼을 확인하였으며 동일 조건에서의 표준물질 스펙트럼과 비교함으로서 정성 및 정량 분석하였다. 유속은 1.2 mL/min이었으며 주입량은 10 μL 이었다.

시료 중 대상물질 분리 및 정제

시료 10 g을 메탄올(50 mL)로 30분간 추출하고 40°C에서 감압·농축하여 결정을 얻었다. 그 결정을 헥산으로 수회 세척하여 비극성 물질을 씻어준 후 실온 건조하고 물로 결정이 흰색이 될 때까지 세척하고 실온에서 건조하였다.

HPLC/MS 및 HPLC/MS/MS 분석

식품 중에서 분리 및 정제한 시료를 균질화 후 0.25 g을 취해 50% 메탄올 용액(25 mL)에 용해하고 30분간 진탕추출한 후 여과하여 시험용액으로 하였다. 컬럼 규격은 2.0 mm i.d. × 250 mm, 5 μm이었으며, 이동상으로는 0.1% 개미산이 함유된 아세토니트릴 용액(A)과 0.1% 개미산이 함유된 수용액(B)을 사용하였다. 이동상은 초기에 A용액 15%(B용액 85%)를 3분간 유지시킨 후, 15분 후에 A용액 30%(B용액 70%)로, 20분 후에 A용액 40%(B용액 60%)로, 30분 후에 A용액 65%(B용액 35%)로, 35분 후에 A용액 100%가 되

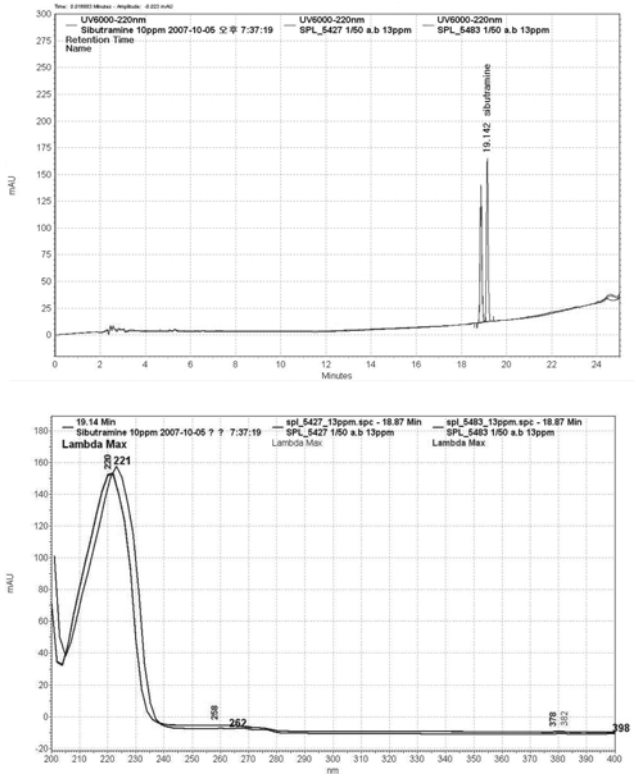


Fig. 2. HPLC chromatogram and PDA spectrum of sibutramine and unknown compound.

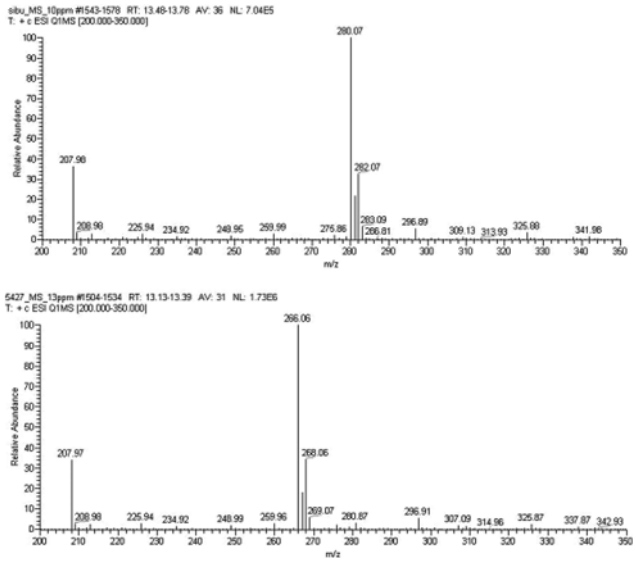


Fig. 3. HPLC/MS spectrum of sibutramine (top) and unknown compound (bottom).

도록 gradient 조건을 조정하였다. ESI (Electron spray ionization) 모드로 이온화하였으며, spray voltage는 4,000 V이었고 capillary 온도는 340°C이었다. 주입량은 10 μL이었으며 질량 범위 200~350 m/z에서 분석하고 머무름 시간과 분자량을 확인하였다. HPLC/MS/MS의 경우, 미지 물질의 분자구조 규명을 위하여 HPLC/MS에서 1차로 확인된 분

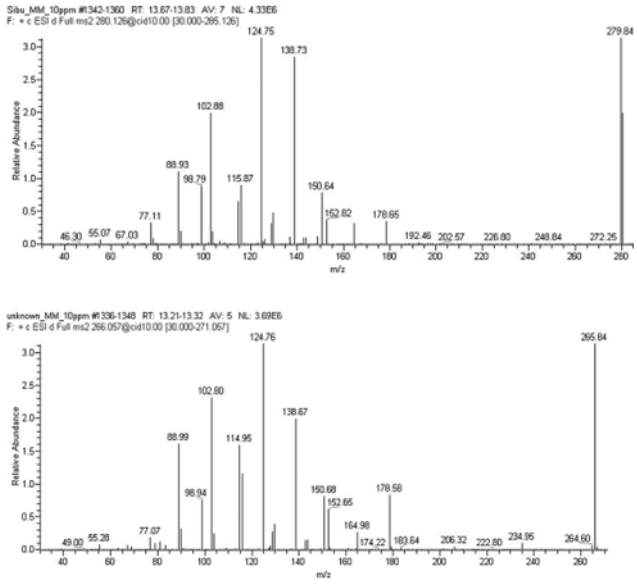


Fig. 4. HPLC/MS/MS spectrum of sibutramine (top) and unknown compound (bottom).

자량에 대하여 collision energy는 20~60 eV로 scan time은 0.5 초로 하고 dependent scan하였다.

NMR 분석

NMR 분석을 위한 용매로는 dimethylsulfoxide-d_6를 사용하였으며 기기분석은 서울대학교 약학대학에서 수행하였다. 미지 물질의 분자구조 규명을 위하여 국외정보에 따라 사전 예측적으로 합성하여 보유하고 있는 표준물질의 ^{1}H-NMR 스펙트럼과 비교·확인하였다. 또한, 미지물질의 COSY, DEPT, HMQC도 구조규명에 이용하였다.

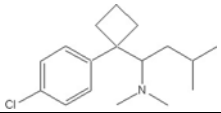
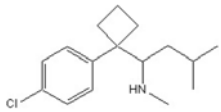
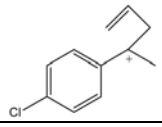
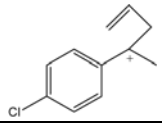
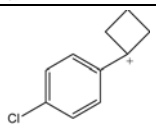
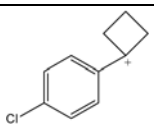
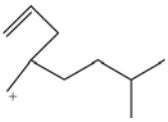
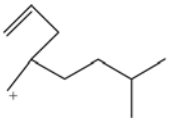
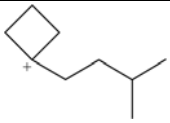
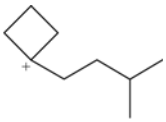
결과 및 고찰

식품 시료 (화분추출물)의 HPLC 크로마토그램 및 PDA 스펙트럼은 Fig. 2에 나타나 있는데, 비만치료제로 처방되는 시부트라민의 머무름 시간은 20분이며 미지 물질의 머무름 시간은 19분이나, 미지 물질의 PDA 스펙트럼이 시부트라민의 PDA 스펙트럼과 유사함을 확인 할 수 있다.

분자량은 Fig. 3에서 볼 수 있듯이 HPLC/MS 스펙트럼으로 확인하였는데 미지물질의 경우 $[M+H]^+$가 266 (m/z)로 시부트라민의 $[M+H]^+$ 280 (m/z)과 비교하였을 때 14 (m/z)가 작은 것을 알 수 있다.

이에 시부트라민 유사물질의 분자구조 규명을 위하여 시부트라민과 HPLC/MS/MS 스펙트럼을 비교한 결과, Fig. 4에 나타나 있듯이 미지물질이 시부트라민의 분자구조의 특징을 나타내는 분자이온의 패턴과 일치함을 알 수 있다. 따라서 시부트라민의 분자량과 비교할 때 차이가 14이므로 $-N(CH_3)_2$ (m/z 44)가 $-NH-CH_3$ (m/z 30)로 변형되었음을 추정할 수 있다. 또한, 각각의 분자이온에 대한 구조 해석

Table 1. Proposed structure of product ion of sibutramine and unknown compound

Sibutramine		Unknown compound	
m/z	Structure	m/z	Structure
279		265	
179		179	
165		165	
139		139	
125		125	

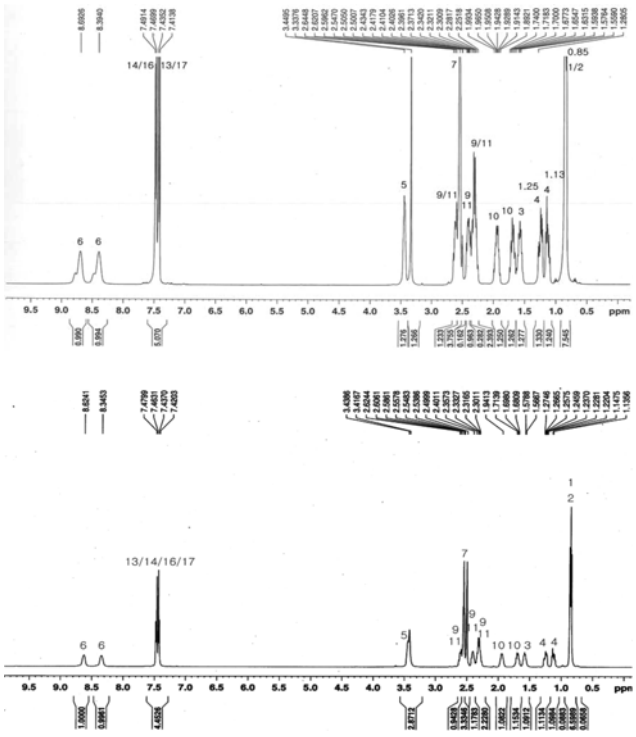


Fig. 5. ^{1}H-NMR spectrum of unknown (top) and synthetic compound (bottom).

은 Table 1과 같다.

미지물질의 분자구조를 더욱 확고히 규명하기 위하여 미지물질과 분자구조가 일치하는 합성물질과 ^{1}H-NMR 스펙

Table 2. Chemical shift, integration and peak pattern of ^{1}H-NMR spectra

	Synthetic compound	Unknown compound
1, 2	0.86 (6H, overlap dd)	0.86 (6H, overlap dd)
3	1.58 (1H, m)	1.57 (1H, m)
4	1.12 (1H, m) 1.28 (1H, m)	1.12 (1H, m) 1.25 (1H, m)
5	3.45 (1H, m)	3.44 (1H, m)
6	8.39 (1H, br) 8.69 (1H, br)	8.35 (1H, br) 8.62 (1H, br)
7	2.50 (3H, s)	2.55 (3H, s)
9 11	2.30 (2H, m) 2.41 (1H, m) 2.61 (1H, m)	2.32 (2H, m) 2.40 (1H, m) 2.61 (1H, m)
10	1.71 (1H, m) 1.94 (1H, m)	1.70 (1H, m) 1.94 (1H, m)
13, 14 16, 17	7.45 (4H, m)	7.45 (4H, m)

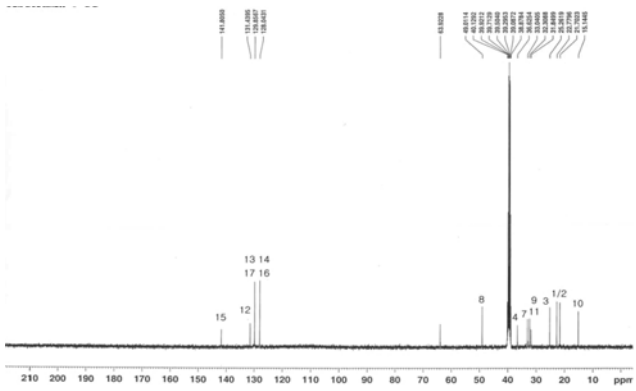


Fig. 6. ^{13}C-NMR spectrum of unknown compound.

트럼을 비교한 결과는 Fig. 5 및 Table 2에 나타나 있는데, 미지물질과 합성물질의 chemical shift, split pattern 및 integration이 일치함을 알 수 있었다. 미지물질의 ^{13}C-NMR 스펙트럼(Fig. 6)에서도 변형된 구조를 확인할 수 있었으며, Table 3의 COSY, DEPT, HMQC의 스펙트럼 동정도 구조규명에 이용하였다.

시부트라민의 화학명은 {1-[1-(4-chlorophenyl)cyclobutyl]-3-methylbutyl}-dimethylamine이나 미지물질의 경우 -N(CH_3)$_2$에서 -NH-CH_3로 변형되었으므로 {1-[1-(4-chlorophenyl) cyclobutyl]-3-methylbutyl}-methylamine로 일반명은 데스메틸시부트라민으로 하였다. 또한, 식품으로 인한 위생상의 위해를 방지하기 위하여 식품공전에 식품 중 데스메틸시부트라민의 기준·규격을 불검출로 설정하여 고시하고 관리하고 있다.

시중에 유통되고 있는 다이어트용 식품 중 본 연구에서 규명한 데스메틸시부트라민을 분석한 결과 분석된 모든

Table 3. DEPT, ^{1}H-^{1}H COSY and HMQC correlation of unknown compound

	DEPT	^{1}H-^{1}H COSY	HMQC
1	CH_3	C3-H	C1,2-H
2	CH_3		
3	CH	C1,2-H	C3-H
4	CH_2	C5-H	C4-H
5	CH	C4-H	C5-H
6		C7-H	
7	CH_3	N6-H	C7-H
8	C		
9	CH_2	C10-H	C9,11-H
11	CH_2		
10	CH_2	C9,11-H	C10-H
12	C		
13	CH		
14	CH		C13,14,16,17-H
16	CH		
17	CH		
15	C		

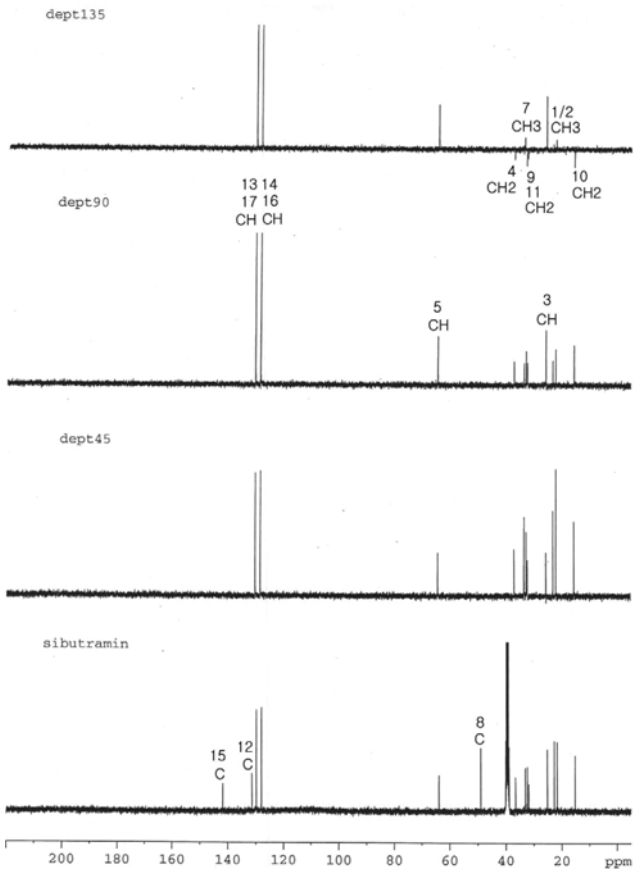


Fig. 7. DEPT spectrum of unknown compound.

식품 시료에서 불검출되었다. 이러한 결과는 향후에도 식품 중 부정물질 분석에 매우 유용하게 적용되어 유통식품의 안전을 확보할 수 있으리라 사료된다.

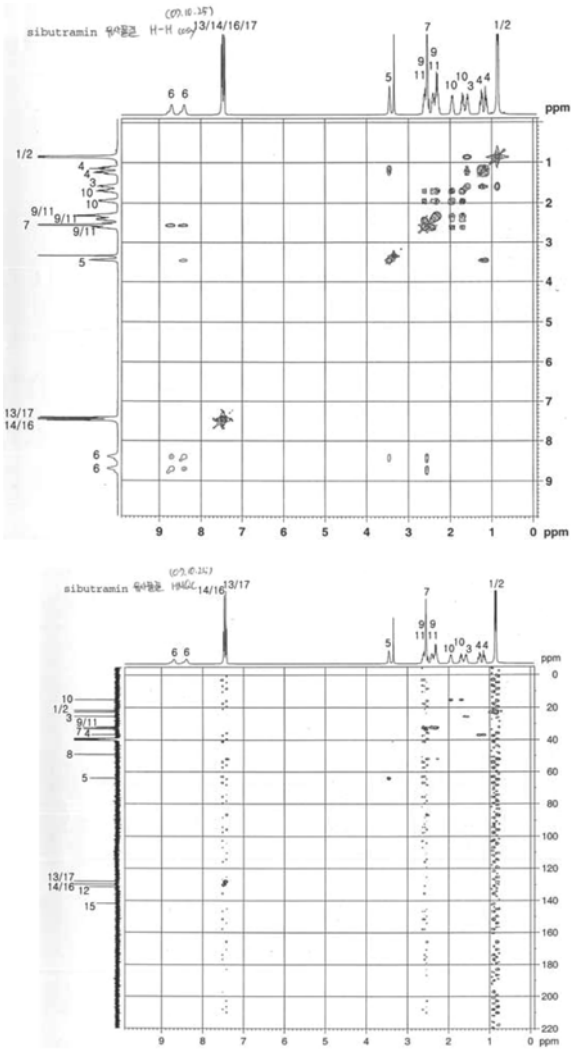


Fig. 8. ^{1}H-^{1}H CO) of unknown compound.

요 약

식품 중 비만치료제 시부트라민의 유사물질인 데스메틸시부트라민을 규명하였다. 데스메틸시부트라민 함유 시료로부터 메탄올을 이용하여 대상성분을 추출하고 헥산으로 세척 등을 통하여 정제한 후 HPLC/PDA, HPLC/MS, HPLC/MS/MS 및 NMR로 확인 및 분석하였다. 또한, 식품 중 시부트라민 및 데스메틸시부트라민을 분석하기 위하여 균질화한 시료를 디클로로메탄으로 추출하여 여과, 농축하고 메탄올로 희석하여 HPLC/UV로 분석하였다. 평균 회수율은 87~91%이었으며, 정량한계는 2.5 μg/kg이었다. 분석결과 식품시료 54건에서 시부트라민 및 데스메틸시부트라민이 검출되지는 않았다.

감사의 글

본 연구는 2009년도 식품의약품안전청 자체연구개발과

제(09071식품안004)에 의해 수행 되었습니다.

참고문헌

1. Haslam, D., Phillip, W. and James, T.: Obesity. *The Lancet,* **366,** 1197-1209 (2005).
2. 세계보건기구 홈페이지 (http://www.who.int).
3. 강재헌: 한국인 비만유전체 관련연구, 대한임상유전체의학회 창립기념 학술대회집, pp. 71-80 (2004).
4. Michand, K., Forget, H. and Cohen, H.: Chronic glucocorticoid hypersecretion in Cushing's syndrome exacerbates cognitive aging. *Brain and Cogn.,* **71**, 1-8 (2009).
5. Reedy, S.: An Evidence-Based Review of Obesity and Bariatric Surgery. *J. Nurs. Pract.,* **5**, 22-29 (2009).
6. Eckel, R.: Obesity. Mechanisms and clinical management. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA (2003).
7. Ando, K. and Fujita, T.: Metabolic syndrome and oxidative stress. *Free. Radic. Biol. Med.,* **47**, 213-218 (2009).
8. Corbalan, M., Morales, E., Canteras, M., Espallardo, A., Hernandez, T. and Garaulet, M.: Effectiveness of cognitive–behavioral therapy based on the Mediterranean diet for the treatment of obesity. *Nutrition,* **25**, 861-869 (2009).
9. Giel, K., Binkele, M., Becker, S., Stubler, P., Zipfel, S. and Enck, P.: Weight reduction and maintenance in a specialized outpatient health care center. *Obes Res.,* **2**, 143-150 (2008).
10. DeWald, T., Khaodhiar, L., Dohahue, M. and Blackbum, G.: Pharmacological and surgical treatments for obesity. *Am. Heart J.* **151**, 604-624 (2006).
11. James, W., Astrup, A., Finer, N.: Effect of sibutramine on weight maintenance after weight loss: a randomised trial. *The Lancet.* **356**, 2119-2125 (2000).
12. 살 빼는 약 바로 알고 복용하세요, 식품의약품안전청 (2007).
13. Slovacek, L., Pavlik, K. and Slovackova, B.: The effect of sibutramine therapy on occurrence of depression symptoms among obese patients. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.,* **18**, e43-e44 (2008).
14. Esposito, P., Rampino, T., Gregorini, M., Soccio, G. and Canton, D.: Severe Symptomatic Hyponatremia During Sibutramine Therapy: A Case Report, 21. *Am. J. Kidney Dis.*, **52**, 137-139 (2008).
15. Simone, G. and D'Addeo, G.: Sibutramine: Balancing weight loss benefit and possible cardiovascular risk. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.,* **18**, 337-341 (2008).
16. 식품의약품안전청 홈페이지 (http://www.kfda.go.kr).
17. Jeffery, J., Kerrigan, F., Miller, T., Smith, G. and Tometzi, G.: Synthesis of sibutramine, a novel cyclobutylalkylamine useful in the treatment of obesity, and its major human metabolites. *J. Chem. Soc. Perkin Trans*. **1**, 2583-2590 (1996).
18. Ding, L., Hao, X., Hung, X., Zhang, S.: Simultaneous determination of sibutramine and its N-desmethyl metabolites in human plasma by liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry: Method and clinical applications. *Anal. Chim. Acta.* **492**, 241-248 (2003).
19. 식품공전, 식품의약품안전청 (2008).