



## РЕЗУЛЬТАТЫ СКРИНИНГА НЕДЕКЛАРИРОВАННОГО ДОБАВЛЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ-5 В БАД К ПИЩЕ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

И.Б. Перова, К.И. Эллер, Е.В. Тумольская

Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Россия, 109240,  
г. Москва, ул. Устьинский проезд, 2/14

*Добавление недеklarированных синтетических ингибиторов фосфодиэстеразы 5-го типа (иФДЭ-5) в биологически активные добавки (БАД) к пище растительного происхождения для увеличения потенции является серьезной проблемой. Такой вид фальсификации повышает терапевтический эффект продукта, который, как правило, не достигается только компонентами БАД к пище растительного происхождения. Синтетические иФДЭ-5 представлены как субстанциями официальных лекарственных препаратов (ЛП), так и их структурными аналогами. Потребление синтетических иФДЭ-5 в составе БАД к пище для увеличения потенции представляет опасность для здоровья потребителей из-за риска возникновения непредсказуемых или даже летальных побочных эффектов.*

*Выявлено содержание недеklarированных синтетических иФДЭ-5 в БАД к пище для мужчин. Объектами исследования являлись 175 БАД к пище, отобранных Роспотребнадзором в различных регионах РФ. Определение синтетических иФДЭ-5 в образцах проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием по разработанной нами и утвержденной Роспотребнадзором методике (МУК 4.1.3331-16).*

*Исследования показали, что 36 % БАД к пище для увеличения потенции содержат незаявленные синтетические иФДЭ-5, среди которых преобладают тадалафил и силденафил (42,9 и 28,6 % всех случаев фальсификации). Существенно реже встречались комбинации тадалафила с силденафилом, варденафилом или аналогами иФДЭ-5, а также сложные смеси из трех компонентов и более. Содержание тадалафила, варденафила и силденафила в БАД к пище составило от следовых количеств до концентраций, соответствующих рекомендуемым суточным дозам для этих ЛП и даже превышающих эти дозы. Среди аналогов иФДЭ-5 идентифицированы производные силденафила и тадалафила, количество которых варьировалось от 1,2 до 24,3 мг/капс.*

*Разработанная методика позволила обнаружить случаи фальсификации БАД к пище не только тадалафилом, варденафилом и силденафилом, но и аналогами синтетических иФДЭ-5.*

**Ключевые слова:** БАД к пище, безопасность, риск для здоровья, синтетические ингибиторы фосфодиэстеразы 5-го типа, тадалафил, варденафил, силденафил, ВЭЖХ-ДМД-МС.

БАД к пище растительного происхождения для увеличения потенции, широко используемые во всем мире и считающиеся безопасными, являются наиболее частыми объектами фальсификации недеklarированными лекарственными субстанциями с целью повышения заявленной эффективности продукта. Они применяются для улучшения потенции при общем ослаблении организма, но неэффективны при эректильной дисфункции (ЭД), вызванной заболеваниями мочеполовой системы. Обычно в состав БАД к пище для увеличения потенции входят афродизиаки (экстракты горянки, женьшеня, лимонника, элеутерококка, йохимбе, дамианы и др.), простатопротекторы (экстракты сабельника, семян тыквы, пальмы сабаль, диоскореи, солодки, якорцев

и др.), антиоксиданты (коэнзим Q<sub>10</sub>, экстракты гинкго двулопастного, томата, асаи и др.), витамины (особенно А, Е и РР) и микроэлементы (селен, цинк и др.). В то же время проведенные исследования показали, что наряду с декларированными растительными компонентами в БАД к пище для увеличения потенции обнаруживаются синтетические ингибиторы фосфодиэстеразы-5 (иФДЭ-5).

Данная группа препаратов представляет собой селективные ингибиторы ц-ГМФ-специфической фосфодиэстеразы 5-го типа (ФДЭ-5), которая метаболизирует ц-ГМФ в 5'-ГМФ в гладкомышечных клетках кровеносных сосудов, снабжающих пещеристые тела пениса (и стенки артерий в легких). Блокирование ФДЭ-5 сопровождается накоплением

© Перова И.Б., Эллер К.И., Тумольская Е.В., 2019

**Перова Ирина Борисовна** – кандидат фармацевтических наук, старший научный сотрудник лаборатории метаболомного и протеомного анализа (e-mail: Erin.Feather@yandex.ru; тел.: 8 (495) 698-53-92; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5975-1376>).

**Эллер Константин Исаакович** – доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией метаболомного и протеомного анализа (e-mail: [eller@ion.ru](mailto:eller@ion.ru); тел.: 8 (495) 698-54-07; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1046-4442>).

**Тумольская Елена Викторовна** – младший научный сотрудник лаборатории метаболомного и протеомного анализа (e-mail: [tum.elena@mail.ru](mailto:tum.elena@mail.ru); тел.: 8 (495) 698-53-92; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3913-0799>).

ц-ГМФ, усилением эрекции в присутствии полового возбуждения и увеличением ее продолжительности. Таким образом, иФДЭ-5 используются для лечения ЭД, а также легочной гипертензии. На сегодняшний день в РФ зарегистрировано четыре лекарственных препарата (ЛП) группы иФДЭ-5: силденафил (Виагра<sup>®</sup>, Pfizer), тадалафил (Сиалис<sup>®</sup>, Elli Lilly), варденафил (Левитра<sup>®</sup>, Bayer) и уденафил (Зидена<sup>®</sup>, Dong-A Pharmaceutical Co. Ltd)<sup>1</sup>. Последний также зарегистрирован в Южной Корее и Малайзии [1]. В США и на территории Европейского союза кроме тадалафила, варденафила и силденафила разрешен для применения в медицинской практике аванафил (Stendra<sup>®</sup>, Vivus; Spedra<sup>®</sup>, Mitsubishi Tanabe Pharma) [2]. Другим представителем ЛП группы иФДЭ-5 в Южной Корее является мироденафил (Mvix<sup>®</sup>, SK Chemicals Life Science) [1]. В Бразилии для лечения ЭД применяют лоденафил карбонат (Helleva<sup>®</sup>, Cristália Produtos Químico-cose Farmacêuticos) [3]. Химические структуры вышеперечисленных ЛП группы иФДЭ-5 изображены на рис. 1.

В ряде случаев фальсификации в БАД к пище были найдены структурные аналоги ЛП иФДЭ-5, которые не зарегистрированы в качестве фармацевтических субстанций, но оказывают то же фармакологическое действие. Начиная с 2003 г. появляются работы, в которых методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с диодно-матричным детектором (ДМД) и масс-спектрометрическими детекторами высокого и низкого разрешения, а также ИК-спектроскопии и спектроскопии ЯМР были открыты и идентифицированы различные аналоги силденафила, тадалафила и варденафила [4–32]. Таким образом, к 2018 г. в БАД для увеличения потенции было обнаружено порядка 80 синтети-

ческих иФДЭ-5, среди которых преобладают аналоги силденафила [33].

Нелегальное включение в состав БАД к пище синтетических субстанций представляет собой значительную угрозу для здоровья потребителей. В то время как для разрешенных для применения в медицинской практике иФДЭ-5 доступна информация о токсичности, противопоказаниях, побочных эффектах, максимальной разовой/суточной дозе, для большинства аналогов эта информация отсутствует. Противопоказаниями к приему иФДЭ-5 являются гиперчувствительность к этим препаратам и одновременный прием нитратов и других донаторов оксида азота. Меры предосторожности и ограничения в применении этой группы лекарств касаются мужчин с сердечно-сосудистыми заболеваниями, диабетом, мужчин старше 71 года, с наследственными дегенеративными заболеваниями сетчатки глаза, предрасположенностью к приапизму. Кроме того, качество, эффективность и безопасность разрешенных для применения в медицинской практике иФДЭ-5 контролируются органами здравоохранения, в то время как у нелегально произведенных субстанций – никогда. Таким образом, потребление недеklarированных субстанций в составе БАД к пище может привести к возникновению серьезных побочных эффектов, особенно в случае с незарегистрированными в качестве фармацевтических субстанций аналогами, безопасность которых никогда не изучалась, и чье взаимодействие с лекарствами может быть непредсказуемым или даже смертельным.

**Целью исследования** является выявление содержания недеklarированных синтетических иФДЭ-5 БАД к пище для мужчин.

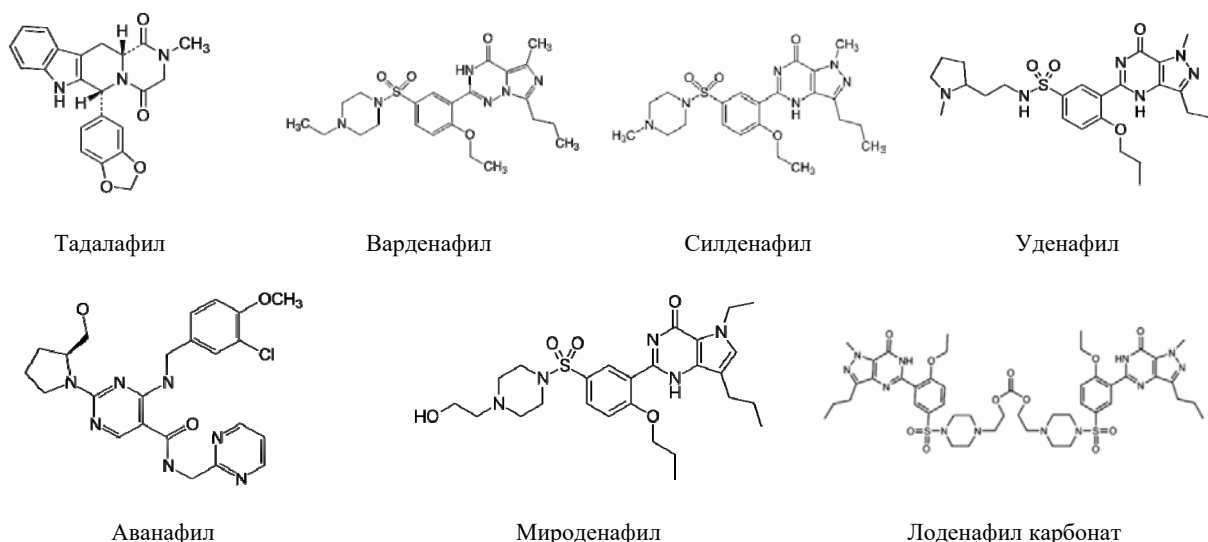


Рис. 1. Химические структуры иФДЭ-5

<sup>1</sup> Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. – URL: <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx> (дата обращения: 23.03.2019).

В целях защиты здоровья населения и обеспечения качества и безопасности БАД к пище для мужчин в 2015 г. Роспотребнадзор начал проведение исследования возможных случаев фальсификации синтетическими иФДЭ-5. Сложность аналитических задач, стоящих перед испытательными лабораториями при контроле БАД к пище для мужчин, обусловлена большим числом синтетических иФДЭ-5 (известно около 100 соединений, обнаружено в БАД к пище порядка 80), доступностью стандартных субстанций, изобретательностью недобросовестных производителей (добавление экзотических аналогов, смеси аналогов, включение иФДЭ-5 в оболочку капсулы), разнообразием матриц БАД к пище. В связи с этим возникла необходимость разработки новой методологии, позволяющей обнаружить синтетические иФДЭ-5 в многокомпонентном матрице БАД к пище, что является основной задачей исследования.

**Материалы и методы.** Исследования были проведены с помощью системы жидкостной хроматографии Agilent 1100, оснащенной дегазатором, бинарным насосом, термостатом колонок, термостатируемым автосамплером, диодно-матричным спектрофотометрическим детектором (ДМД) и времяпролетным масс-спектрометрическим детектором Agilent 6210 LC/MS-TOF (Agilent Technologies, США), а также системы жидкостной хроматографии Ultimate 3000, оснащенной дегазатором, двумя трехканальными насосами, термостатом колонок, термостатируемым автосамплером, ДМД и тройным квадрупольным масс-спектрометрическим детектором TSQ Endura (Thermo Fisher Scientific, США).

**Объекты исследования:** БАД к пище для мужчин, в том числе для увеличения потенции, отобранные Роспотребнадзором в различных регионах России. Всего было проанализировано 175 образцов.

По заданию Роспотребнадзора нами была предложена и метрологически аттестована методика измерений массовой доли синтетических ингибиторов фосфодиэстеразы-5 (тадалафила, варденафила и силденафила) в биологически активных добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым и масс-спектрометрическим детектированием, которая с 2016 г. имеет статус методических указаний МУК 4.1.3331-16<sup>2</sup>.

**Результаты и их обсуждение.** Проведенные исследования показали, что 36 % БАД к пище для мужчин содержат недеklarированные синтетические иФДЭ-5. Следует отметить, что использованная нами утвержденная методика измерений массовой доли

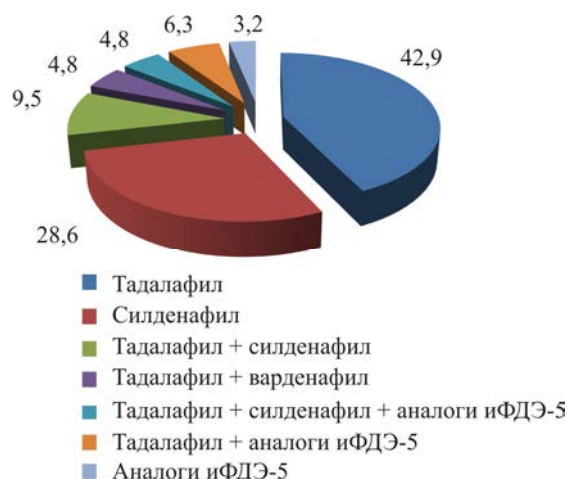


Рис. 2. Распределение случаев (%) фальсификации БАД к пище синтетическими иФДЭ-5

синтетических иФДЭ-5 позволила определить присутствие в БАД к пище не только тадалафила, варденафила и силденафила, но и ряда аналогов ЛП группы иФДЭ-5 с различными химическими структурами.

Варианты фальсификации БАД синтетическими иФДЭ-5 представлены на рис. 2.

Как видно из рис. 2, основными недеklarированными иФДЭ-5 в БАД к пище были тадалафил и силденафил (42,9 и 28,6 % всех случаев фальсификации соответственно). Типичные хроматограммы извлечений из БАД к пище, содержащих тадалафил, представлены на рис. 3.

Реже встречались комбинации тадалафила и силденафила (9,5 %), тадалафила и других синтетических иФДЭ-5 (6,3 %), а также тадалафила и варденафила (4,8 %) и тадалафила, силденафила и других синтетических иФДЭ-5 (4,8 %). Наименее распространены случаи фальсификации структурными аналогами ЛП группы иФДЭ-5, которые составляют всего 3,2 % всех случаев фальсификации.

Количество недеklarированных синтетических иФДЭ-5 в БАД к пище варьировалось в широких пределах: от следовых концентраций (0,004–1,0 мг/капс. (таблетки, пилюли и т.д.)), которые не оказывают фармакологического действия, до концентраций, сопоставимых с рекомендуемыми суточными дозами для соответствующих ЛП или даже превышающих их (табл. 1).

Среди структурных аналогов ЛП группы иФДЭ-5, обнаруженных в БАД к пище, идентифицированы производные силденафила (гомосилденафил, тиосилденафил, гидроксигомосилденафил), тадалафила (аминотадалафил) и ацетилденафила – метоксиацетилденафил.

<sup>2</sup> МУК 4.1.3331-16. Методика измерений массовой доли синтетических ингибиторов фосфодиэстеразы-5 (тадалафила, варденафила и силденафила) в биологически активных добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым и масс-спектрометрическим детектированием: методические указания [Электронный ресурс]. – М., 2016. – URL: [http://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT\\_ID=6314](http://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=6314) (дата обращения: 23.03.2019).

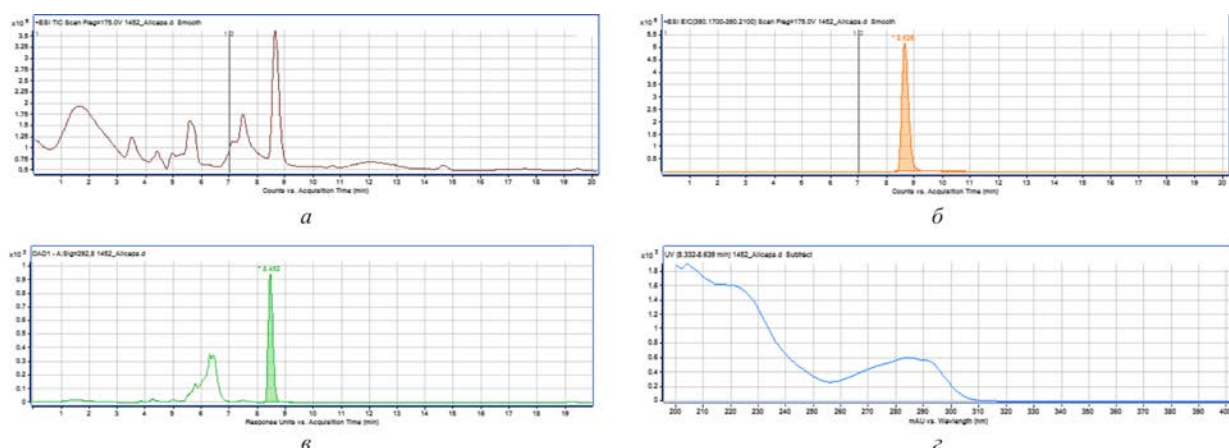


Рис. 3. Хроматограммы извлечения из БАД к пище, содержащего тадалафил:  
 а – полный ионный ток (TIC); б – хроматограмма выделенного иона (EIC) тадалафила с  $m/z$  390;  
 в – хроматограмма извлечения из БАД к пище при  $\lambda = 292$  нм; г – УФ-спектр тадалафила в БАД к пище

Таблица 1

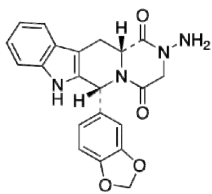
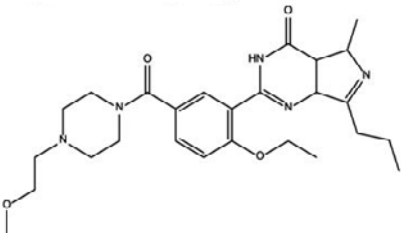
Рекомендуемые суточные дозы тадалафила, силденафила, варденафила и их количества, обнаруженные в исследованных БАД к пище

МНН ЛП группы иФДЭ-5	Рекомендуемая суточная доза, мг	Найдено в БАД к пище, мг/капс. (табл., пил.)
Тадалафил	5–20	0,004–26,7
Силденафил	25–100	0,001–115,8
Варденафил	5–20	0,1–14,0

Таблица 2

Структурные формулы, УФ-максимумы поглощения, молекулярные массы и массы протонированных ионов  $[M + H]^+$  аналогов ЛП группы иФДЭ-5, обнаруженных в БАД к пище

Наименование аналога иФДЭ-5	Структурная формула	$\lambda_{\text{max}}$ , нм	М, г/моль	$[M+H]^+$
Гомосилденафил		294	488,6	489
Тиосилденафил		295, 355	490,6	491
Гидроксигомотиосилденафил		295, 355	520,6	521

Аминотадалафил		270 плечо, 284, 292	390,39	391
Метоксиацетил-денафил		230, 280	496,6	497

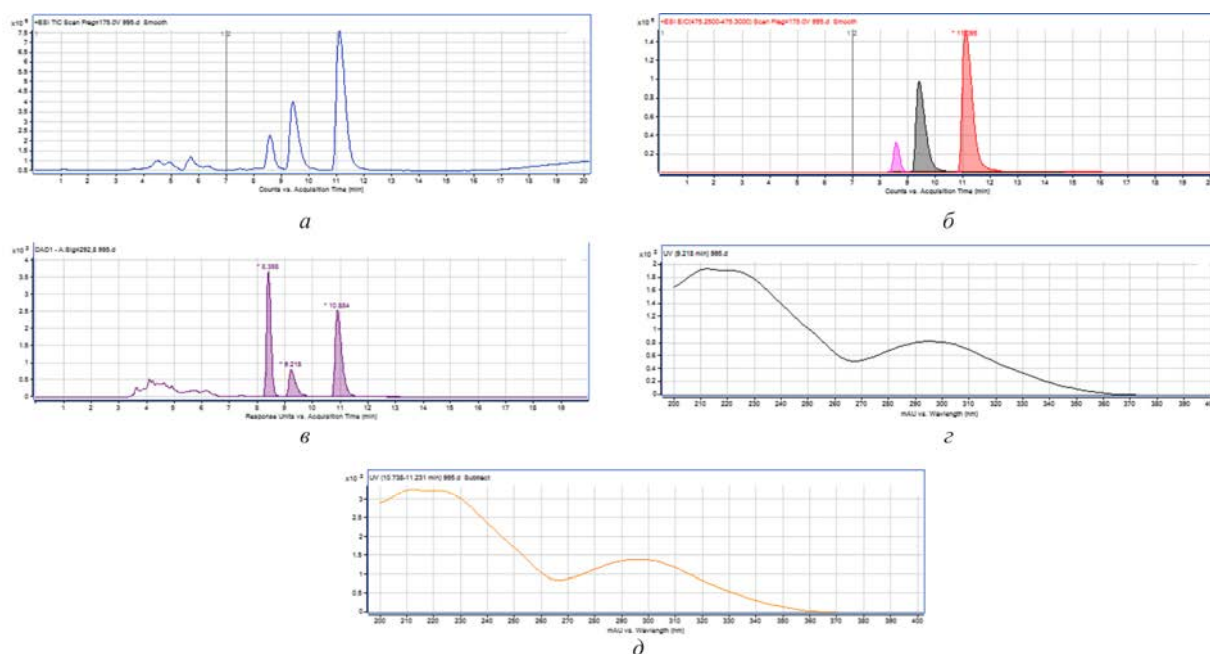


Рис. 4. Хроматограммы извлечения из БАД к пище, содержащего тадалафил, силденафил и гомосилденафил: а – полный ионный ток (TIC); б – хроматограмма выделенных ионов (EIC) тадалафила с  $m/z$  390 (8,6 мин), гомосилденафила с  $m/z$  489 (9,4 мин) и силденафила с  $m/z$  475 (11,1 мин); в – хроматограмма извлечения из БАД к пище при  $\lambda=292$  нм. Время удерживания тадалафила 8,4 мин, гомосилденафила 9,2 мин и силденафила 10,9 мин; г – УФ-спектр гомосилденафила в БАД к пище; д – УФ-спектр силденафила в БАД к пище

Химические структуры, длины волн максимумов поглощения в УФ-области спектра, молекулярные массы и массы протонированных ионов этих соединений представлены в табл. 2.

Гомосилденафил был обнаружен в БАД к пище в количестве 1,2–1,8 мг/капс. (табл.) в комбинациях с тадалафилом и с тадалафилом и силденафилом. Типичная хроматограмма такой комбинации иФДЭ-5 изображена на рис. 4.

Другим вариантом фальсификации была комбинация гидроксигомосилденафила, концентрация которого составила 15,3 мг/капс., и производного ацетилденафила с тадалафилом. К самым

редким вариантам фальсификации (3,2 % всех случаев фальсификации) относится добавление в БАД к пище только одного аналога иФДЭ-5 – тиосилденафила или аминотадалафила, которые были обнаружены на уровне 24,3 и 12,2 мг/капс. соответственно. Поскольку аналоги иФДЭ-5 не проходили надлежащих исследований, то для них отсутствуют данные о действующих разовых и суточных фармакологических дозах, что затрудняет оценку риска потребления этих соединений в составе БАД к пище.

**Выводы.** В ходе исследований было показано, что утвержденная методика позволяет обнаружить

присутствие не только тадалафила, варденафила и силденафила, но и ряда структурных аналогов ЛП группы иФДЭ-5. Полученные данные используются при проведении государственной регистрации БАД к пище. В частности, в процессе санитарно-эпидемиологической экспертизы БАД к пище для мужчин обязательно проводится проверка наличия недеklarированных синтетических иФДЭ-5. Резуль-

таты исследований могут рассматриваться как информационная база для оценки потенциальных рисков здоровью.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список литературы

1. Moon D.G. Evolution of PDE5 inhibitors in Korea // *Transl. Androl. Urol.* – 2015. – Vol. 4, № 1. – P. AB041. DOI: 10.3978/j.issn.2223-4683.2015.s041
2. Huang S.A., Lie J.D. Phosphodiesterase-5 (PDE-5) inhibitors in the management of erectile dysfunction // *Pharmacy and Therapeutics.* – 2013. – Vol. 38, № 7. – P. 414–419.
3. Emerging drugs for the treatment of erectile dysfunction / T.C. Peak, F.A. Yafi, P. Sangkum, W.J.G. Hellstrom // *Expert Opinion on Emerging Drugs.* – 2015. – Vol. 20. – P. 263–275.
4. Identification of a new analogue of sildenafil added illegally to a functional food marketed for penile erectile dysfunction / M.H. Shin, M.K. Hong, W.S. Kim, Y.J. Lee, Y.C. Jeong // *Food Addit. Contam.* – 2003. – Vol. 20, № 9. – P. 793–796.
5. Structure elucidation of sildenafil analogues in herbal products / L. Blok-Tip, B. Zomer, F. Bakker, K.D. Hartog, M. Hamzink, J. Ten Hove, M. Vredenburg, D. De Kaste // *Food Addit. Contam.* – 2004. – Vol. 21, № 8. P. – 737–748. DOI: 10.1080/02652030412331272467
6. Simultaneous determination of synthetic phosphodiesterase-5 inhibitors found in a dietary supplement and pre-mixed bulk powders for dietary supplements using high-performance liquid chromatography with diode array detection and liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry / P. Zou, S.S. Oh, P. Hou, M.Y. Low, H.L. Koh // *J. Chromatogr. A.* – 2006. – Vol. 1104, № 1–2. – P. 113–122. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.11.103
7. Structure determination of new analogues of vardenafil and sildenafil in dietary supplements / H.J. Park, H.K. Jeong, M.I. Chang, M.H. Im, J.Y. Jeong, D.M. Choi, K. Park, M.K. Hong [et al.] // *Food Addit. Contam.* – 2007. – Vol. 24, № 2. – P. 122–129. DOI: 10.1080/02652030600983625
8. Identification of a novel vardenafil analogue in herbal product / Y.H. Lam, W.T. Poon, C.K. Lai, A.Y. Chan, T.W. Mak // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2008. – Vol. 46, № 4. – P. 804–807. DOI: 10.1016/j.jpba.2007.12.004
9. Identification of benzamidenafil, a new class of phosphodiesterase-5 inhibitor, as an adulterant in a dietary supplement / P. Zou, P. Hou, S.S.Y. Oh, X. Ge, B.C. Bloodworth, M.Y. Low, H.L. Koh // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2008. – Vol. 47, № 2. – P. 255–259. DOI: 10.1016/j.jpba.2008.01.004
10. Reepmeyer J.C., d'Avignon D.A. Structure elucidation of thioketone analogues of sildenafil detected as adulterants in herbal aphrodisiacs // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2009. – Vol. 49, № 1. – P. 145–150. DOI: 10.1016/j.jpba.2008.10.007
11. 2D and 3D DOSY 1H-NMR, a useful tool for analysis of complex mixtures: application to herbal drugs or dietary supplements for erectile dysfunction / S. Balayssac, S. Trefi, V. Gilard, M. Malet-Martino, R. Martino, M.A. Delsuk // *J. Biomed. Anal.* – 2009. – Vol. 50, № 4. – P. 602–612. DOI: 10.1016/j.jpba.2008.10.034
12. Separation and structural elucidation of a novel analogue of vardenafil included as an adulterant in a dietary supplement by liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry, infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance spectroscopy / H.M. Lee, C.S. Kim, Y.M. Yang, S.W. Kwon, B.J. Lee // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2011. – Vol. 54, № 3. – P. 491–496. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.09.022
13. The identification of a nitrosated prodrug of the PDE-5 inhibitor aildenafil in a dietary supplement: A Viagra with a pop / B.J. Venhuis, G. Zomer, M. Hamzink, H.D. Meiring, Y. Aubin, D. De Kaste // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2011. – Vol. 54, № 4. – P. 735–741. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.11.020
14. Lee H.M., Lee B.J. A novel approach to simultaneous screening and confirmation of regulated pharmaceutical compounds in dietary supplements by LC/MS/MS with an information-dependent acquisition method // *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk assess.* – 2011. – Vol. 28, № 4. – P. 396–407. DOI: 10.1080/19440049.2011.551947
15. Development and validation of a ultra-high-performance liquid chromatography-UV method for detection and quantification of erectile dysfunction drugs and some of their analogues found in counterfeit medicines / P.Y. Sacré, E. Deconinck, P. Chiap, J. Crommen, F. Mansion, E. Rozet, P. Courselle, J.O. De Beer // *J. Chromatogr. A.* – 2011. – Vol. 1218, № 37. – P. 6439–6447. DOI: 10.1016/j.chroma.2011.07.029
16. Analysis of herbal dietary supplements for sexual performance enhancement: first characterization of propoxyphenyl-thiohydroxyhomosildenafil and identification of sildenafil, thiosildenafil, phentolamine and tetrahydropalmatine as adulterants / S. Balayssac, V. Gilard, C. Zedde, R. Martino, M. Malet-Martino // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2012. – Vol. 63. – P. 135–150. DOI: 10.1016/j.jpba.2012.01.035
17. Identification of a novel sildenafil analogue in an adulterated herbal supplement / J. Vaysse, V. Gilard, S. Balayssac, C. Zedde, R. Martino, M. Malet-Martino // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2012. – Vol. 59. – P. 58–66. DOI: 10.1016/j.jpba.2011.10.001
18. Structure elucidation of a novel analog of sildenafil detected as an adulterant in a dietary supplement using LC-UV and LC/MS / M. Sakamoto, T. Moriyasu, K. Minowa, K. Kishimoto, H. Kadoi, T. Hamano, H. Fukaya // *Journal of AOAC International.* – 2012. – Vol. 95, № 4. – P. 1048–1052.

19. Isolation and identification of new sildenafil analogues from dietary supplements / Y.-C. Liao, K.-C. Lai, C. Lee, Y.-C. Liu, Y.-L. Lin, D.Y.-C. Shin // *Journal of Food and Drug Analysis*. – 2013. – Vol. 21, № 1. – P. 40–49. DOI: 10.6227/jfda.2013210105
20. Adulteration of purported herbal and natural sexual performance enhancement dietary supplements with synthetic phosphodiesterase type 5 inhibitors / N. Campbell, J.P. Clark, V.J. Stecher, J.W. Thomas, A.C. Callanan, B.F. Donnelly, I. Goldstein, J.C. Kaminetsky // *J. Sex Med.* – 2013. – Vol. 10, № 7. – P. 1842–1849. DOI: 10.1111/jsm.12172
21. Use of diffusion-ordered NMR spectroscopy and HPLC-UV-SPE-NMR to identify undeclared synthetic drugs in medicines illegally sold as phytotherapies / L.M. Silva, E.G. Filho, S.S. Thomasi, B.F. Silva, A.G. Ferreira, T. Venancio // *Magn Reson Chem.* – 2013. – Vol. 51, № 9. – P. 541–548. DOI: 10.1002/mrc.3984
22. Simultaneous determination of 38 phosphodiesterase-5 inhibitors in illicit erectile dysfunction products by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry / E.S. Lee, J.H. Lee, J.W. Kim, I.S. Hwang, S. Cho, S.Y. Han, J. Kim // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2013. – Vol. 83. – P. 171–178. DOI: 10.1016/j.jpba.2013.05.009
23. Sildenafil and analogous phosphodiesterase type 5 (PDE 5) inhibitors in herbal food supplements sampled on the Dutch market / N.M. Reeuwijk, B.J. Venhuis, D. De Kaste, L.A.P. Hoogenboom, I.M.C.M. Rietjens, M.J. Martena // *Food Additives and Contaminants: Part A*. – 2013. – Vol. 30, № 12. – P. 2027–2034. DOI: 10.1080/19440049.2013.848294
24. Characterization of sildenafil analogs by MS/MS and NMR: a guidance for detection and structure elucidation of phosphodiesterase-5 inhibitors / C. Mustazza, A. Borioni, A.L. Rodomonte, M. Bartolomei, E. Antoniella, P. Di Martino, L. Valvo, I. Sestili [et al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2014. – Vol. 96. – P. 170–186. DOI: 10.1016/j.jpba.2014.03.038
25. Screening of synthetic PDE-5 inhibitors and their analogues as adulterants: analytical techniques and challenges / D.N. Patel, L. Li, X.W. Ge, M.-Y. Low, H.-L. Koh // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2014. – Vol. 87. – P. 176–190. DOI: 10.1016/j.jpba.2013.04.037
26. Application of a high resolution benchtop quadrupole-Orbitrap mass spectrometry for the rapid screening, confirmation and quantification of illegal adulterated phosphodiesterase-5 inhibitors in herbal medicines and dietary supplements / F. Shi, C. Guo, L. Gong, J. Li, P. Dong, J. Zhang // *Journal of Chromatography A*. – 2014. – Vol. 1344. – P. 91–98. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.12.030
27. Detection of a tadalafil analogue as an adulterant in a dietary supplement for erectile dysfunction / J. Ulloa, L. Sambrotta, F. Redko, O.N. Mazza, G. Garrido, E.F. Becher, L. Muschietti // *The Journal of Sexual Medicine*. – 2015. – Vol. 12, № 1. – P. 152–157. DOI: 10.1111/jsm.12759
28. Rocha T., Amaral J.S., Oliveira P.B.P.P. Adulteration of dietary supplements by the illegal addition of synthetic drugs: A review // *Compr. Rev. Food. Sci. F.* – 2016. – Vol. 15. – P. 43–62.
29. Identification and quantification of an adulterant in a dietary supplement marketed for sexual enhancement / F. Redko, S. Flor, S. Lucangioli, J. Ulloa, R. Ricco, C. Fernandez, L. Sambrotta, L. Muschietti // *Journal of Advanced Pharmaceutical Science and Technology*. – 2018. – Vol. 1, № 4. – P. 25–33. DOI: 10.14302/issn.2328-0182.japst-18-2344
30. Unapproved pharmaceutical ingredients included in dietary supplements associated with US Food and Drug Administration warnings / J. Tucker, T. Fisher, L. Upjohn, D. Mazzera, M. Kumar // *JAMA Network Open*. – 2018. – Vol. 1, № 6. – P. e183337. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2018.3337
31. Simultaneous analysis of 23 illegal adulterated aphrodisiac chemical ingredients in health foods and Chinese traditional patent medicines by ultrahigh performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry / X.-B. Wang, J. Zheng, J.-J. Li, H.-Y. Yu, Q.-Y. Li, L.-H. Xu, M.-J. Liu, R.-Q. Xian [et al.] // *Journal of Food and Drug Analysis*. – 2018. – Vol. 26, № 3. – P. 1138–1153. DOI: 10.1016/j.jfda.2018.02.003
32. Identification and quantification methodology for the analysis of suspected illegal dietary supplements: reference standard or no reference standard, that's the question / C. Vanhee, E. Tuenter, A. Kamugisha, M. Canfyn, G. Moens, P. Courselle, L. Pieters, E. Deconinck, V. Exarchou // *J. Forensic. Toxicol. Pharmacol.* – 2018. – Vol. 7, № 1. – P. 7. DOI: 10.4172/2325-9841.1000156
33. A review of synthetic phosphodiesterase type 5 inhibitors (PDE-5i) found as adulterants in dietary supplements / C.L. Kee, X. Ge, V. Gilard, M. Malet-Martino, M.Y. Low // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2018. – Vol. 147. – P. 250–277. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.07.031

*Перова И.Б., Эллер К.И., Тумольская Е.В. Результаты скрининга недеklarированного добавления синтетических ингибиторов фосфодиэстеразы-5 в БАД к пище растительного происхождения // Анализ риска здоровью. – 2019. – № 3. – С. 50–59. DOI: 10.21668/health.risk/2019.3.06*

UDC 614.31.613.292.614.35.615.31.543.51.543.54.544.1.547.7.547.8

DOI: 10.21668/health.risk/2019.3.06.eng

Read  
online

## SCREENING RESULTS FOR NON-DECLARED SYNTHETIC PHOSPHODIESTERASE-5 INHIBITORS BEING ADDED TO DIETARY SUPPLEMENTS OF PLANT ORIGIN

**I.B. Perova, K.I. Eller, E.V. Tumol'skaya**

Federal research centre of nutrition and biotechnology, 2/14 Ustinskiy Proezd, Moscow, 109240, Russian Federation

*Non-declared addition of synthetic phosphodiesterase-5 inhibitors (PDE-5 inhibitors) to dietary supplements (DS) of plant origin in order to stimulate potency is a serious problem. Such counterfeiting strengthens therapeutic effects produced by a product; similar effects can't occur only due to components of DS of plant origin. Synthetic PDE-5 inhibitors are both substances of official medications and their structural analogues. When synthetic PDE-5 inhibitors are consumed as components in DS in order to increase potency, it can be hazardous for consumers' health due to unpredictable or even lethal side effects.*

*Our research goal was to reveal concentrations of non-declared synthetic PDE-5 inhibitors in DS consumed by males. Our research objects were 175 DS selected by Rospotrebnadzor in different Russian regions. Synthetic PDE-5 inhibitors were detected in samples by HPLC with diode array spectrophotometric detection and MS-detection as per guidelines developed by us and approved on by Rospotrebnadzor (MG 4.1.3331-16).*

*Our research revealed that 36% of DS that were consumed to increase potency contained non-declared synthetic PDE-5 inhibitors with Tadalafil and Sildenafil being the most widely spread ones 42.9% and 28.6% of all counterfeit cases). Their combination or analogues of PDE-5 inhibitors were detected significantly less frequently; complicated mixtures containing three or more components were also rather rare. Contents of Tadalafil, Sildenafil, or Vardenafil in DS varied from trace quantities to concentrations that corresponded to recommended daily doses for these medications or even higher than such doses. We identified derivatives of Sildenafil and Tadalafil among PDE-5 inhibitors; their quantities varied from 1.2 mg/capsule to 24.3 mg/capsule.*

*The developed procedure allowed detecting counterfeited DS with not only Tadalafil, Sildenafil, or Vardenafil being added to them, but also analogues of synthetic PDE-5 inhibitors.*

**Key words:** DS, safety, health risk, Synthetic phosphodiesterase-5 inhibitors, Tadalafil, Vardenafil, Sildenafil, HPLC-DAD-MS.

### References

1. Moon D.G. Evolution of PDE5 inhibitors in Korea. *Transl. Androl. Urol.*, 2015, vol. 4, no. 1, pp. AB041. DOI: 10.3978/j.issn.2223-4683.2015.s041
2. Huang S.A., Lie J.D. Phosphodiesterase-5 (PDE-5) inhibitors in the management of erectile dysfunction. *Pharmacy and Therapeutics*, 2013, vol. 38, no. 7, pp. 414–419.
3. Peak T.C., Yafi F.A., Sangkum P., Hellstrom W.J.G. Emerging drugs for the treatment of erectile dysfunction. *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 2015, vol. 20, pp. 263–275.
4. Shin M.H., Hong M.K., Kim W.S., Lee Y.J., Jeong Y.C. Identification of a new analogue of sildenafil added illegally to a functional food marketed for penile erectile dysfunction. *Food Addit. Contam.*, 2003, vol. 20, no. 9, pp. 793–796.
5. Blok-Tip L., Zomer B., Bakker F., Hartog K.D., Hamzink M., Ten Hove J., Vredenburg M., De Kaste D. Structure elucidation of sildenafil analogues in herbal products. *Food Addit. Contam.*, 2004, vol. 21, no. 8, pp. 737–748. DOI: 10.1080/02652030412331272467
6. Zou P., Oh S.S., Hou P., Low M.Y., Koh H.L. Simultaneous determination of synthetic phosphodiesterase-5 inhibitors found in a dietary supplement and pre-mixed bulk powders for dietary supplements using high-performance liquid chromatography with diode array detection and liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 2006, vol. 1104, no. 1–2, pp. 113–122. DOI: 10.1016/j.chroma.2005.11.103

© Perova I.B., Eller K.I., Tumol'skaya E.V., 2019

**Irina B. Perova** – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Researcher at the Laboratory for Metabolomic and Proteome Analysis (e-mail: Erin.Feather@yandex.ru; tel.: +7 (495) 698-53-92; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5975-1376>).

**Konstantin I. Eller** – Doctor of Chemical Sciences, Head of the Laboratory for Metabolomic and Proteome Analysis (e-mail: [eller@ion.ru](mailto:eller@ion.ru); tel.: +7 (495) 698-54-07; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1046-4442>).

**Elena V. Tumol'skaya** – Junior researcher at the Laboratory for Metabolomic and Proteome Analysis (e-mail: [tum.elena@mail.ru](mailto:tum.elena@mail.ru); tel.: +7 (495) 698-53-92; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3913-0799>).

7. Park H.J., Jeong H.K., Chang M.I., Im M.H., Jeong J.Y., Choi D.M., Park K., Hong M.K. [et al.]. Structure determination of new analogues of vardenafil and sildenafil in dietary supplements. *Food Addit. Contam.*, 2007, vol. 24, no. 2, pp. 122–129. DOI: 10.1080/02652030600983625
8. Lam Y.H., Poon W.T., Lai C.K., Chan A.Y., Mak T.W. Identification of a novel vardenafil analogue in herbal product. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2008, vol. 46, no. 4, pp. 804–807. DOI: 10.1016/j.jpba.2007.12.004
9. Zou P., Hou P., Oh S.S.Y., Ge X., Bloodworth B.C., Low M.Y., Koh H.L. Identification of benzamidenafil, a new class of phosphodiesterase-5 inhibitor, as an adulterant in a dietary supplement. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2008, vol. 47, no. 2, pp. 255–259. DOI: 10.1016/j.jpba.2008.01.004
10. Reepmeyer J.C., d'Avignon D.A. Structure elucidation of thioketone analogues of sildenafil detected as adulterants in herbal aphrodisiacs. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2009, vol. 49, no. 1, pp. 145–150. DOI: 10.1016/j.jpba.2008.10.007
11. Balayssac S., Trefi S., Gilard V., Malet-Martino M., Martino R., Delsuk M.A. 2D and 3D DOSY 1H-NMR, a useful tool for analysis of complex mixtures: application to herbal drugs or dietary supplements for erectile dysfunction. *J. Biomed. Anal.*, 2009, vol. 50, no. 4, pp. 602–612. DOI: 10.1016/j.jpba.2008.10.034
12. Lee H.M., Kim C.S., Yang Y.M., Kwon S.W., Lee B.J. Separation and structural elucidation of a novel analogue of vardenafil included as an adulterant in a dietary supplement by liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry, infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2011, vol. 54, no. 3, pp. 491–496. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.09.022
13. Venhuis B.J., Zomer G., Hamzink M., Meiring H.D., Aubin Y., De Kaste D. The identification of a nitrosated-prodrug of the PDE-5 inhibitor aildenafil in a dietary supplement: A Viagra with a pop. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2011, vol. 54, no. 4, pp. 735–741. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.11.020
14. Lee H.M., Lee B.J. A novel approach to simultaneous screening and confirmation of regulated pharmaceutical compounds in dietary supplements by LC/MS/MS with an information-dependent acquisition method. *Food Addit. Contam. Part A. Chem. Anal. Control Expo. Risk assess.*, 2011, vol. 28, no. 4, pp. 396–407. DOI:10.1080/19440049.2011.551947
15. Sacré P.Y., Deconinck E., Chiap P., Crommen J., Mansion F., Rozet E., Courselle P., De Beer J.O. Development and validation of an ultra-high-performance liquid chromatography–UV method for detection and quantification of erectile dysfunction drugs and some of their analogues found in counterfeit medicines. *J. Chromatogr. A*, 2011, vol. 1218, no. 37, pp. 6439–6447. DOI: 10.1016/j.chroma.2011.07.029
16. Balayssac S., Gilard V., Zedde C., Martino R., Malet-Martino M. Analysis of herbal dietary supplements for sexual performance enhancement: first characterization of propoxyphenyl-thiohydroxyhomosildenafil and identification of sildenafil, thiosildenafil, phentolamine and tetrahydropalmatine as adulterants. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2012, vol. 63, pp. 135–150. DOI: 10.1016/j.jpba.2012.01.035
17. Vaysse J., Gilard V., Balayssac S., Zedde C., Martino R., Malet-Martino M. Identification of a novel sildenafil analogue in an adulterated herbal supplement. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2012, vol. 59, pp. 58–66. DOI:10.1016/j.jpba.2011.10.001
18. Sakamoto M., Moriyasu T., Minowa K., Kishimoto K., Kadoi H., Hamano T., Fukaya H. Structure elucidation of a novel analog of sildenafil detected as an adulterant in a dietary supplement using LC–UV and LC/MS. *Journal of AOAC International*, 2012, vol. 95, no. 4, pp. 1048–1052.
19. Liao Y.-C., Lai K.-C., Lee C., Liu Y.-C., Lin Y.-L., Shin D.Y.-C. Isolation and identification of new sildenafil analogues from dietary supplements. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2013, vol. 21, no. 1, pp. 40–49. DOI:10.6227/jfda.2013210105
20. Campbell N., Clark J.P., Stecher V.J., Thomas J.W., Callanan A.C., Donnelly B.F., Goldstein I., Kaminetsky J.C. Adulteration of purported herbal and natural sexual performance enhancement dietary supplements with synthetic phosphodiesterase type 5 inhibitors. *J. Sex. Med.*, 2013, vol. 10, no. 7, pp. 1842–1849. DOI:10.1111/jsm.12172
21. Silva L.M., Filho E.G., Thomasi S.S., Silva B.F., Ferreira A.G., Venancio T. Use of diffusion-ordered NMR spectroscopy and HPLC–UV–SPE–NMR to identify undeclared synthetic drugs in medicines illegally sold as phytotherapies. *Magn. Reson. Chem.*, 2013, vol. 51, no. 9, pp. 541–548. DOI:10.1002/mrc.3984
22. Lee E.S., Lee J.H., Kim J.W., Hwang I.S., Cho S., Han S.Y., Kim J. Simultaneous determination of 38 phosphodiesterase-5 inhibitors in illicit erectile dysfunction products by liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2013, vol. 83, pp. 171–178. DOI: 10.1016/j.jpba.2013.05.009
23. Reeuwijk N.M., Venhuis B.J., De Kaste D., Hoogenboom L.A.P., Rietjens I.M.C.M., Martena M.J. Sildenafil and analogous phosphodiesterase type 5 (PDE 5) inhibitors in herbal food supplements sampled on the Dutch market. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 2013, vol. 30, no. 12, pp. 2027–2034. DOI:10.1080/19440049.2013.848294
24. Mustazza C., Borioni A., Rodomonte A.L., Bartolomei M., Antoniella E., Di Martino P., Valvo L., Sestili I. [et al.]. Characterization of sildenafil analogs by MS/MS and NMR: a guidance for detection and structure elucidation of phosphodiesterase-5 inhibitors. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2014, vol. 96, pp. 170–186. DOI: 10.1016/j.jpba.2014.03.038
25. Patel D.N., Li L., Ge X.W., Low M.-Y., Koh H.-L. Screening of synthetic PDE-5 inhibitors and their analogues as adulterants: analytical techniques and challenges. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2014, vol. 87, pp. 176–190. DOI:10.1016/j.jpba.2013.04.037
26. Shi F., Guo C., Gong L., Li J., Dong P., Zhang J. Application of a high resolution benchtopquadrupole–Orbitrap mass spectrometry for the rapid screening, confirmation and quantification of illegal adulterated phosphodiesterase-5 inhibitors in herbal medicines and dietary supplements. *Journal of Chromatography A*, 2014, vol. 1344, pp. 91–98. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.12.030
27. Ulloa J., Sambrotta L., Redko F., Mazza O.N., Garrido G., Becher E.F., Muschietti L. Detection of a tadalafil analogue as an adulterant in a dietary supplement for erectile dysfunction. *The Journal of Sexual Medicine*, 2015, vol. 12, no. 1, pp. 152–157. DOI:10.1111/jsm.12759

28. Rocha T., Amaral J.S., Oliveira P.B.P.P. Adulteration of dietary supplements by the illegal addition of synthetic drugs: A review. *Compr. Rev. Food Sci. F*, 2016, vol. 15, pp. 43–62.
29. Redko F., Flor S., Lucangioli S., Ulloa J., Ricco R., Fernandez C., Sambrotta L., Muschietti L. Identification and quantification of an adulterant in a dietary supplement marketed for sexual enhancement. *Journal of Advanced Pharmaceutical Science and Technology*, 2018, vol. 1, no. 4, pp. 25–33. DOI: 10.14302/issn.2328-0182.japst-18-2344
30. Tucker J., Fisher T., Upjohn L., Mazzer D., Kumar M. Unapproved pharmaceutical ingredients included in dietary supplements associated with US Food and Drug Administration warnings. *JAMA Network Open*, 2018, vol. 1, no. 6, pp. e183337. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2018.3337
31. Wang X.-B., Zheng J., Li J.-J., Yu H.-Y., Li Q.-Y., Xu L.-H., Liu M.-J., Xian R.-Q. [et al.]. Simultaneous analysis of 23 illegal adulterated aphrodisiac chemical ingredients in health foods and Chinese traditional patent medicines by ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2018, vol. 26, no. 3, pp. 1138–1153. DOI: 10.1016/j.jfda.2018.02.003
32. Vanhee C., Tuentner E., Kamugisha A., Canfyn M., Moens G., Courselle P., Pieters L., Deconinck E., V.Exarchou. Identification and quantification methodology for the analysis of suspected illegal dietary supplements: reference standard or no reference standard, that's the question. *J. Forensic. Toxicol. Pharmacol.*, 2018, vol. 7, no. 1, pp. 7. DOI:10.4172/2325-9841.1000156
33. Kee C.L., Ge X., Gilard V., Malet-Martino M., Low M.Y. A review of synthetic phosphodiesterase type 5 inhibitors (PDE-5i) found as adulterants in dietary supplements. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2018, vol. 147, pp. 250–277. DOI:10.1016/j.jpba.2017.07.031

*Perova I.B., Eller K.I., Tumol'skaya E.V. Screening results for non-declared synthetic phosphodiesterase-5 inhibitors being added to dietary supplements of plant origin. Health Risk Analysis, 2019, no. 3, pp. 50–59. DOI: 10.21668/health.risk/2019.3.06.eng*

Получена: 29.08.2019

Принята: 02.09.2019

Опубликована: 30.09.2019