



# Revista MINERVA

Plataforma digital de la revista: <https://minerva.sic.ues.edu.sv>



## Evidencia de citrato de sildenafilo en formulaciones herbolarias afrodisiacas comercializadas en San Salvador, El Salvador, por metodología HPLC-DAD y RMN 1H

### Evidence of sildenafil citrate in aphrodisiac herbal formulations marketed in San Salvador El Salvador, by HPLC-DAD and NMR 1H methodology

Josué R. Villacorta<sup>1</sup>, David A. Servellón<sup>2</sup>, Isabel L. Bazzocchi<sup>3</sup>, David Torres-Romero<sup>1</sup>

Correspondencia:  
davidftorre@gmail.com

Presentado: 15 de octubre de 2020  
Aceptado: 5 de noviembre de 2020

- 1 Químico Farmacéutico Profesor Universitario.
- 2 Ministerio de Educación Ciencia y Tecnología, El Salvador.
- 3 Instituto Universitario de Bio-Orgánica Antonio González, Departamento de Química Orgánica, Universidad de La Laguna, España.

#### RESUMEN

**Introducción:** Los productos herbolarios han sido utilizados para el tratamiento de muchas enfermedades y a diferencia de los fármacos convencionales, se perciben seguros e inofensivos debido a su origen natural. La adulteración de productos naturales usados para la mejora del deseo sexual, se está volviendo recurrente en la actualidad. **Objetivo:** En este estudio se detecta la presencia y determina la dosis farmacológica de citrato de sildenafilo, un inhibidor de la fosfodiesterasa-5, en productos naturales, presuntamente adulterados, que se comercializan en mercados y tiendas tipo "sex-shop" como estimulantes del deseo sexual en hombres. **Metodología:** Se identifica y determina el contenido de sildenafilo en 21 productos herbolarios, a través de técnicas cromatográficas y espectroscópicas (CCF, HPLC-DAD y RMN 1H). **Resultados:** No existen evidencias de la presencia de sildenafilo en los productos evaluados procedentes de mercados, sin embargo, en las ventas tipo sex-shop, con altas probabilidades de adquisición de productos adulterados con este principio activo, se encontraron concentraciones que oscilan entre 12.7-132.2 mg/cápsula, dosis inferiores, próximas y superiores a las recomendadas por la FDA. **Conclusión:** Para los consumidores de productos herbolarios fraudulentos puede existir una interacción del sildenafilo con medicamentos vasodilatadores tipo nitratos, utilizados para la angina de pecho y la insuficiencia cardíaca congestiva. Estas interacciones aunado a los efectos adversos de tipo cardíaco (hipotensor) del sildenafilo en sí mismo, podría ser muy grave para la salud de los consumidores. Se insta a una estricta regulación de la industria de productos naturales en zonas muestreadas.

**Palabras claves:** sildenafilo, identificación, herbolaria, HPLC-DAD, RMN.

## ABSTRACT

**Introduction:** Herbal products have been used for the treatment of many diseases and unlike conventional drugs, they are perceived as safe and harmless due to their natural origin. The adulteration of natural products used for the improvement of sexual desire is becoming recurrent nowadays. **Objective:** This study detects the presence and determines the pharmacological dose of sildenafil citrate, a phosphodiesterase-5 inhibitor, in presumed adulterated natural products, that are commercialized in markets and “sex-shops” type store as stimulants of sexual desire in men. **Methodology:** The sildenafil content in 21 herbal products was identified and determined, using chromatographic and spectroscopic techniques (CCF, HPLC-DAD, and NMR 1H). **Results:** There was not evidence of the presence of sildenafil in the evaluated products from the markets. However, in the sex-shop type sales, with high probabilities of acquisition of adulterated products with this active principle, concentrations found were in a range from 12.7-132.2 mg/capsule. Representing lower, intermedium and higher doses than those recommended by the FDA. **Conclusion:** For consumers of fraudulent herbal products, there may be an interaction of sildenafil with vasodilator medicines such as nitrates, used for angina pectoris, and congestive heart failure. These interactions, together with the adverse cardiac-type (hypotensive) effects of sildenafil, could have serious effect on the health of consumers. Strict regulation of the natural products industry in sampled sites is urged.

**Keywords:** sildenafil, identification, herbal, HPLC-DAD, NMR.

## INTRODUCCIÓN

El interés de las personas de mejorar su salud, mediante el uso de productos herbolarios o suplementos dietéticos de origen natural, aumenta exponencialmente.<sup>1</sup> Existe una gran variedad de estos productos en el mercado que prometen un tratamiento eficaz y seguro para distintos padecimientos de salud, sin tener evidencia científica al respecto.<sup>2,3</sup>

Se está reconociendo cada vez más, que la disfunción eréctil en hombres es un problema de salud común.<sup>4</sup> Se estima que a la edad de 40 años, aproximadamente el 40% de hombres posee algún grado de trastorno eréctil.<sup>5</sup> Para el tratamiento farmacológico de la disfunción eréctil se usan, como fármacos de primera elección, los inhibidores de la fosfodiesterasa-5 (FDE-5).<sup>5,6</sup> Los primeros inhibidores sintéticos de FDE-5 con licencia de comercialización por parte de la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE.UU (FDA) fueron sildenafil, vardenafilo y tadalafilo.<sup>7</sup>

Dado que la difusión sexual tiene un impacto en la autoestima y en la relación con su pareja,

muchos pacientes buscan alternativas, en remedios a base de hierbas. Incluso, si los pacientes discuten el problema con el médico, es posible que no obtengan una receta médica debido a otras enfermedades subyacentes o la preocupación de posibles interacciones con otros medicamentos que el paciente toma.<sup>8</sup> Por ejemplo, un efecto secundario conocido y grave del uso concomitante del sildenafil, un conocido vasodilatador, junto con medicamentos de tipo nitratos o nitritos, es una disminución significativa de la presión sanguínea<sup>9</sup>, y muchos pacientes con diabetes, hipertensión y enfermedades cardiovasculares son frecuentemente indicados con este tipo de fármacos.<sup>10</sup> Por ello, personas que padezcan estas enfermedades pueden buscar productos a base de hierbas, como una alternativa a problemas de la disfunción eréctil.

Cada vez es más frecuente la práctica de adulteración mediante la adición de drogas sintéticas tipo inhibidores (FDE-5) o sus análogos, a los productos naturales; cuyo objetivo es asegurar o reforzar el efecto farmacológico esperado, lo que puede derivar en complicaciones cardiovasculares graves,<sup>11,12</sup> e

incluso la muerte.<sup>13</sup>

La incorporación premeditada de inhibidores de la (FDE-5), sildenafilo, tadalafilo, vardenafilo y sus análogos, en suplementos dietéticos con base natural, han sido ampliamente reportados en la bibliografía.<sup>14,15,16,17</sup> Incluso agencias reguladoras de medicamentos en varias partes del mundo,<sup>19</sup> emitieron alertas a la población por este tipo de práctica deshonesta en la producción de fitofármacos.<sup>18</sup>

En la presente investigación, un grupo de muestras de productos herbolarios adquiridos en mercados y tiendas tipo “sex-shop”, se sometieron a un cribado inicial para detectar la presencia de sildenafilo con el correspondiente estándar de trabajo, con la metodología de Cromatografía en Capa Fina (CCF). Seguidamente, para descartar cualquier análogo de sildenafilo, se hace uso de la técnica de Resonancia Magnética Nuclear de Protón (RMN <sup>1</sup>H). Por otra parte, es importante conocer las cantidades de principio activo en las muestras y determinar el riesgo a la salud que presentan las dosis presentadas en productos fraudulentos y para ello se emplea la técnica de Cromatografía Líquida de Alto Desempeño (HPLC-DAD). con Arreglo de Diodos.

## MATERIAL Y MÉTODO

### Estándares y reactivos

Alcohol metílico, acetato de etilo, *n*-hexano, diclorometano, trietilamina, todos calidad para análisis marca JTBaker, metanol y acetonitrilo grado HPLC marca JTBaker. El ácido ortofosfórico fue adquirido de Fluka. Se generó agua destilada y desionizada con el sistema Milli-Q (Milli-Pore; resistencia 18.2 MΩ). El estándar de referencia de citrato de sildenafilo, con su certificado de calidad fue proporcionado por Bayer S.A. de C.V.

### Adquisición de productos herbolarios

Los productos herbolarios en forma de capsulas se obtuvieron de un muestreo dirigido a mercados y tiendas “sex-shop”, que rotulan poseer una actividad estimulante del deseo sexual en hombres. El muestreo incluyó 28 establecimientos de mercados y 5 de tiendas tipo “sex-shop”, de donde se adquirieron 16 y 5 productos, respectivamente. Las Farmacias, no se tomaron en cuenta en este estudio, ya que en estos establecimientos se venden productos farmacéuticos y fitofármacos, registrados por la entidad regulatoria de medicamentos de El Salvador.

### Identificación de sildenafilo utilizando CCF

Se codificó cada producto y se reunió el contenido de 10 cápsulas, cada muestra por separado, se colocó en 1 tubo de ensayo con rosca y se agregó 7 mL de metanol 50 % (v/v). A continuación, los tubos se llevaron a un sonicador por 15 minutos, se dejaron sedimentar durante 1 hora y se extrajo el metanol sobrenadante. Paralelamente, se preparó una solución de 10 mg/mL de citrato de sildenafilo estándar de trabajo, como control positivo.

Las muestras y el estándar se inyectaron en un sistema cromatográfico de capa fina (CCF) de 200 μm de espesor y 25 μm de tamaño de partícula, con indicador de fluorescencia a 254 nm y se eluyeron con una fase móvil de cloroformo:acetato de etlio:metanol:agua (40:40:15:11). Finalmente, se llevaron a una cámara UV a 254 nm y tomaron las lecturas, se comparó el  $R_f$  de cada muestra con el estándar de sildenafilo.<sup>20</sup> Para la visualización de manchas de los productos analizados y el estándar de referencia de sildenafilo, se usó una lámpara de luz ultravioleta, marca UVP

modelo UV-GL25.

### **Identificación de sildenafil utilizando RMN <sup>1</sup>H**

Para cada una de las muestras, se vació el contenido de una cápsula, trituró en un mortero y transfirió el polvo a un tubo de ensayo. A continuación, se agregó 10 mL de metanol e introdujo la muestra en sonicador por 15 minutos para disolver los compuestos polares solubles en el medio.<sup>21</sup> Se tomó una alícuota de 2 mL y llevó a sequedad, con un rotaevaporador, disolviendo la muestra posteriormente en D<sub>2</sub>O para la realización de experimentos de RMN <sup>1</sup>H. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear fueron obtenidos en un BRUKER AVANCE 500 MHz, los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se expresan en ppm y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) en Hz.

### **Identificación y cuantificación de sildenafil utilizando HPLC-DAD.**

El citrato de sildenafil fue identificado y cuantificado en los productos herbolarios, con la adaptación de la metodología dada por la Farmacopea de los Estados Unidos de América N° 37 para sildenafil materia prima.<sup>22,23</sup> El sistema de HPLC que se utilizó fue un aparato de la marca Shimadzu, modelo LC-2010AHT, controlado por el software LabSolution versión 5.82, columna Pinnacle II C18 (5  $\mu$ m 150 x 4.6 mm), detector de arreglo de diodos, SPD-M20A serie Prominence, longitud de onda UV: 280 nm. Tiempo de recorrido, 15 min y temperatura de la columna, 30 °C. La fase móvil consistió en una mezcla (58:25:17) de buffer, metanol y acetonitrilo (Buffer: 7 mL de trietilamina en 1 L de agua desionizada ajustado a pH de 3.0 con ácido fosfórico). La velocidad de flujo de 1 mL/min y el volumen de inyección de 20  $\mu$ L para muestras y estándar.

*Preparación de muestras:* Con base a la dosis terapéutica de sildenafil (50 mg/cápsula) que con mayor frecuencia se indica <sup>6</sup>, se llevaron a cabo los cálculos de la cantidad de producto herbolario adulterado a utilizar para la determinación de su contenido. Cada muestra se trató con una cantidad equivalente a 10.0 mg de principio activo por cápsula y llevando a 10.0 mL con fase móvil. Se tomó 0.7 mL y llevó a un balón volumétrico de 25 mL. Para filtrar se utilizó una jeringa y filtros de membrana de nylon de 0.45  $\mu$ m de diámetro de poro y 25 mm diámetro de disco. Cada muestra se evaluó por triplicado y se realizaron tres inyecciones por repetición.<sup>22</sup>

*Preparación de soluciones estándar:* Con el estándar de sildenafil se procedió a realizar una solución stock de 280  $\mu$ g/ml de citrato de sildenafil estándar de trabajo, y a partir de ésta se prepararon concentraciones de 3.4, 11.2, 22.4, 28, 34 y 45  $\mu$ g/ml, con las cuales se construyó una curva de calibración para evaluar las muestras. Se utilizó una micropipeteadora automática PIPETMAN Gilson con un rango de volumen de 0.2  $\mu$ L a 10 mL. El experimento se realizó por triplicado.

## **RESULTADOS**

Mediante un exhaustivo estudio de campo, se identificaron los sitios de procedencia, lugares de venta y nombres comerciales de los productos herbolarios que se usan para el mejoramiento de la potencia sexual masculina. En los mercados de San Salvador, se obtuvieron los siguientes productos: Potén sex, Sexo Active, Triple poder sexual, Power sexual, Sabro palmito, MSM3, Poder sexual, Poder sexual 2, Garañón Forte H4, Maca, Ultra Garañón, Sexo Forte, Maca con Ginseng1, Maca con Ginseng 2, Potenciador sexual y Nutrison H3 Plus, que se les asignaron los códigos del M1-M16. (ver figura 1). En una segunda etapa se adquirieron en

tiendas tipo “sex-shop” los productos: Black and King, Zarparrilla, Rhino9 Fast Acting, Rhino99

Natural y Ride Natural, que le corresponden los códigos del M17-M2 ( ver tabla 1).



**Figura 1.** Muestras obtenidas en mercados de San Salvador, El Salvador.

**Tabla 1.** Productos herbolarios analizados por cromatografía de capa fina.

Producto Herbolarios	Lugar de Compra	Código de muestra	CCF R <sub>r</sub> = 0.22
Poten sex	Mercado Central	M-1	-
Sexo Active	Mercado Ciudad Delgado	M-2	-
Triple poder sexual	Mercado Tinetti	M-3	-
Power sexual	Mercado Central	M-4	-
Sabro palmetto	Mercado San Miguelito	M-5	-
MSM3	Mercado San Miguelito	M-6	-
Poder sexual	Mercado Central	M-7	-
Poder sexual 2	Mercado Central	M-8	-
Garañón Forte H4	Mercado Sagrado Corazón	M-9	-
Maca	Mercado Sagrado Corazón	M-10	-
Ultra Garañón	Mercado Central	M-11	-
Sexo Forte	Mercado Central	M-12	-
Maca con Ginseng 1	Mercado Central	M-13	-
Maca con Ginseng 2	Mercado Central	M-14	-
Potenciador sexual	Mercado Zacamil	M-15	-
Nutrison H3 Plus	Mercado Central	M-16	-
Black ant King	Adult Sex Shop	M-18	+
Zarparrilla	Sex shop Héroes	M-17	-
R9 Fast Acting	Amore Sex shop	M-19	+
Rhino99 Natural	Fantasy Sex Shop	M-20	+
Ride Natural	Adult Sex Shop	M-21	+
Sildenafil Estándar		ST	+



El screening inicial por CCF de todos los productos (M1-M21), frente al estándar de trabajo de citrato de sildenafil, produjo un resultado positivo para los productos M17, M19, M20 y M21, con perfil cromatográfico y  $R_f$  idéntico al del estándar de sildenafil ( $R_f = 0.22$ ). Las muestras evaluadas con sospecha de incorporación intencional de sildenafil corresponden a los productos comprados en las tiendas tipo "sex-shop" (ver tabla 1).

Tanto para las 4 muestras de formulaciones herbolarias positivas en CCF, como para el estándar de trabajo de citrato de sildenafil, se obtuvieron los datos respectivos de RMN  $^1\text{H}$ : desplazamientos químicos ( $\delta$ ), multiplicidad

(m) y constante de acoplamiento ( $J$  en Hz) (ver tabla 2). En ambos casos las muestras y el estándar de sildenafil, mostraron en sus espectros de RMN  $^1\text{H}$ , señales comunes. A continuación, desarrollamos una breve descripción de los resultados del producto M17. Los protones identificados como  $\text{H}_1$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_3$  y  $\text{H}_5$  presentan señales típicas de protones alifáticos entre  $\delta$  0.93-2.82 ppm (ver numeración en la estructura química del sildenafil, tabla 2). Además, los protones  $\text{H}_4$ ,  $\text{H}_6$ ,  $\text{H}_{10}$ ,  $\text{H}_{11}$ ,  $\text{H}_{12}$ ,  $\text{H}_{13}$  y  $\text{H}_{14}$ , presentan desplazamientos químicos entre 2.92-4.29 ppm, característicos de protones unidos a heteroátomo de tipo nitrógeno y oxígeno. La presencia de señales entre  $\delta$  7.33-

**Tabla 2** Resultados del análisis de Resonancia Magnética Nuclear de proton (RMN  $^1\text{H}$ ) de productos adulterados con sildenafil. Datos obtenidos en RMN 500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$  (pH=3.3)



Sildenafil			M21		M19	
H	$\delta$ (ppm)	Multiplicidad	$\delta$ (ppm)	Multiplicidad	$\delta$ (ppm)	Multiplicidad
1	0.93	3H, t ( $J=7.4$ Hz)	0.9	3H, t ( $J=7.4$ Hz)	0.90	3H, t ( $J=7.4$ Hz)
5	1.46	3H t ( $J=7.0$ Hz)	1.43	3H t ( $J=7.0$ Hz)	1.43	3H t ( $J=7.0$ Hz)
2	1.73	2H, m	1.70	2H, m	1.70	2H, m
3	2.82	2H, t ( $J=7.4$ Hz)	2.79	2H, t ( $J=7.4$ Hz)	2.84	2H, t ( $J=7.4$ Hz)
14	2.92	3H, s	2.90	3H, s	2.90	3H, s
11/12	3.62	4H s	3.20	4H, s	3.29	4H, s
10/13	3.94, 3.28	4H, s	3.92	4H, s	3.67	4H, s
4	4.18	3H, s	4.15	3H, s	4.19	3H, s
6	4.29	2H, q ( $J=6.8$ Hz)	4.30	2H, q ( $J=6.8$ Hz)	4.29	2H, q ( $J=6.8$ Hz)
15	7.33	1H, d ( $J=8.9$ Hz)	7.33	1H, d ( $J=8.9$ Hz)	7.33	1H, d ( $J=8.9$ Hz)
16	7.93	1H, d ( $J=8.9, 3.0$ Hz)	7.93	1H, d ( $J=8.9, 3.0$ Hz)	7.93	1H, d ( $J=8.9, 3.0$ Hz)
17	8.07	1H, d ( $J= 3.0$ Hz)	8.09	1H, d ( $J= 3.0$ Hz)	8.08	1H, d ( $J= 3.0$ Hz)

8.09 ppm corresponden a un anillo aromático tipo benceno.

El detector de arreglo de diodos del HPLC permitió obtener gráficos 3D de los 4 productos adulterados y del estándar de sildenafilo a una concentración de 23 µg/ml con su respectiva longitud de onda, tiempo de retención y absorbancia. En el minuto 9, se observan señales de absorción UV <sup>24</sup> a diferentes longitudes de onda, idénticos en forma e intensidad del estándar y las muestras. A manera de ejemplo presentamos los gráficos 3D de la muestra M17 y el correspondiente estándar de sildenafilo. Ver figura 2.

Para cada una de las inyecciones de las muestras M17, M19, M20 y M21, se obtuvo los correspondientes cromatogramas de HPLC. Los tiempos de retención de las muestras se comparan con los del estándar de sildenafilo. Se registró un t<sub>r</sub> de 9.822 min, para el estándar de sildenafilo y para los productos M17, M19, M20 y M21 t<sub>r</sub> a 9.742, 9.736, 9.796 y 9.763 min, respectivamente. Ver Figura. 3.

Para la cuantificación en las 4 muestras positivas, al sildenafilo se aseguró la linealidad del sistema con las diluciones del correspondiente estándar hechas a 3.4, 11.2, 22.4, 28, 34 y 45 µg/ml y se construyó la curva de calibración, fijando el detector a una longitud

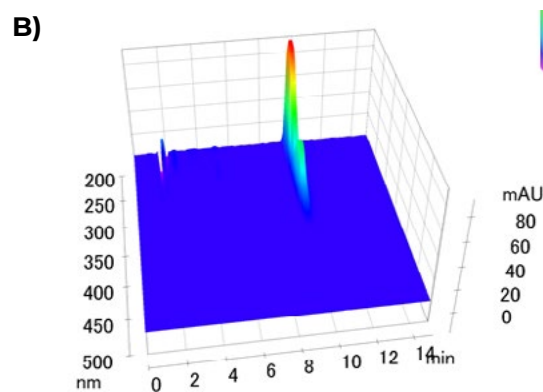
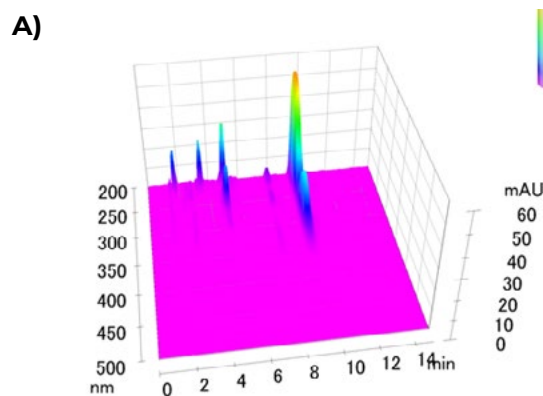


**M17**

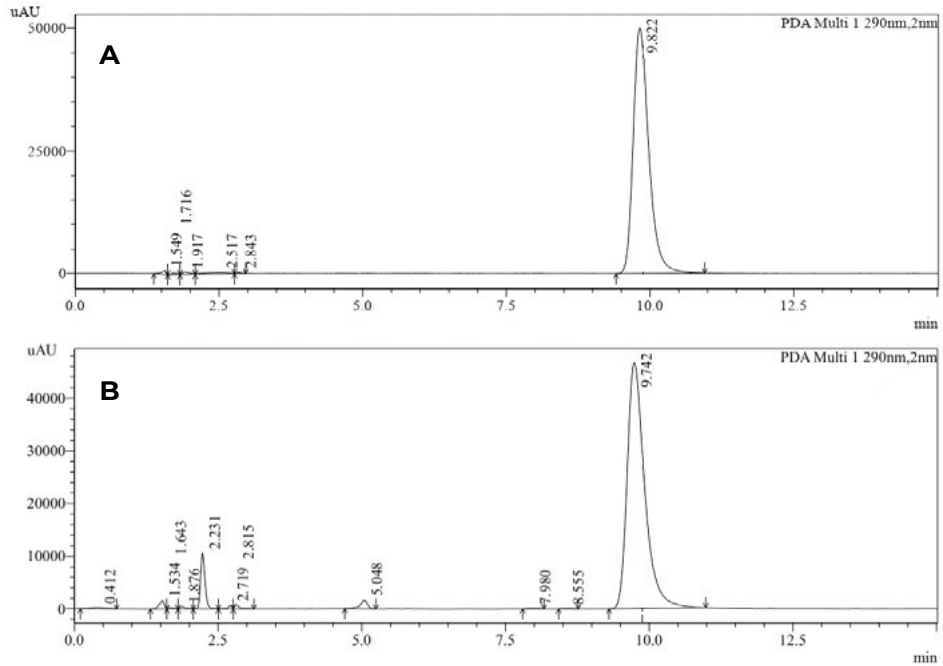


**M20**

δ (ppm)	Multiplicidad	δ (ppm)	Multiplicidad
0.93	3H, t (J=7.4)	0.93	3H, t (J=7,4 Hz)
1.43	3H t (J=7.0 Hz)	1.43	3H t (J=7.0 Hz)
1.71	2H, m	1.71	2H, m
2.82	2H, t (J=7.4 Hz)	2.82	2H, t (J=7.4 Hz)
2.92	3H, s	2.92	3H, s
3.20	4H, s	3.20	4H, s
3.92	4H, s	3.92	4H, s
4.17	3H, s	4.17	3H, s
4.29	2H, q (J=6.8 Hz)	4.29	2H, q (J=6.8 Hz)
7.33	1H, d (J=8.9 Hz)	7.33	1H, d (J=8.9 Hz)
7.95	1H, d (J=8.9, 3.0 Hz)	7.93	1H, d (J=8.9, 3.0 Hz)
8.10	1H, d (J= 3.0 Hz)	8.11	1H, d (J= 3.0 Hz)



**Figura 2.** Gráficos UV 3D A) Muestra M17 B) Estándar de sildenafilo



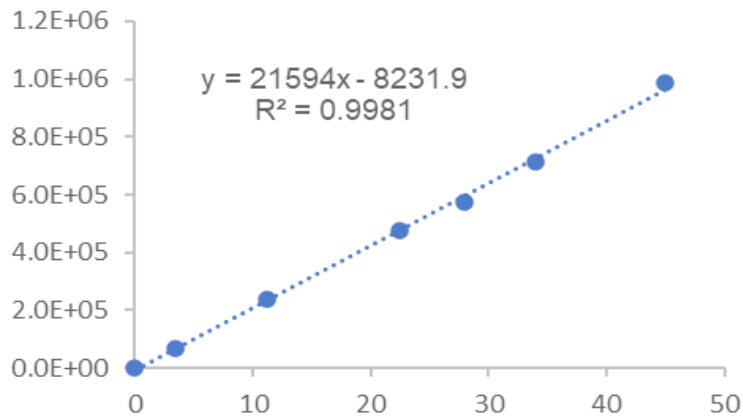
**Figura 3.** Cromatograma HPLC A) Estándar de sildenafil B) Muestra M17.

de onda fija de 290 nm. Se realizaron tres replicas con tres lecturas para cada dilución. El coeficiente de determinación ( $r^2$ ) fue de 0.9981 y el coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ )<sup>25</sup> fue de 0.999 (ver Figura 4).

Para determinar la dosis del adulterante, citrato de sildenafil, en los productos herbolarios, se procedió a comparar los valores de las áreas de

las muestras frente a las áreas del estándar de trabajo.

El contenido de sildenafil en la muestra M19 fue de 41.2 mg/cápsula ( $\pm 1.01$ ) y el del producto M17 de 58.1 mg/tableta ( $\pm 0.7$ ). En la muestra M21 corresponde un contenido de 132.2 mg/cápsula ( $\pm 0.6$ ) y en el caso de M20 se determinó una concentración de 12.7 mg/cápsula ( $\pm 0.1$ ).



Conc. Ppm	Area Prom.	Area	Desv St	%desv
0	1058	1043	19.08	1.80
		1081		
		1065		
3.4	65525	65186	312.45	0.48
		65802		
		65585		
11.2	237243	237693	407.32	0.17
		237135		
		236900		
22.4	475315	474982	755.69	0.16
		474783		
		476180		
28	572895	573135	373.81	0.07
		572464		
		573085		
34	712176	710703	2998.40	0.42
		715626		
		710199		
45	987675	988585	1531.91	0.16
		985907		
		988535		

**Figura 4** Curva de calibración del estándar de sildenafil 3.4-45  $\mu$ g/ml



## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En las condiciones descritas en el ensayo por CCF, resultaron positivos los productos M17, M19, M20 y M21, dada la alta polaridad del sildenafilo, este mostró un  $R_f$  de 0.22, idéntico al estándar de sildenafilo, resultados acordes con estudios realizados con anterioridad.<sup>20</sup> Los  $R_f$  de muestra y estándar siempre coincidieron entre sí, a pesar de hacer cambios en la composición de la fase móvil (aumentando o disminuyendo la polaridad). Este resultado sugiere un posible indicio de adulteración con citrato de sildenafilo.

Para la confirmación de los resultados por CCF, se obtuvieron los espectros de RMN  $^1\text{H}$  de los productos M17, M19, M20 y M21, resultando ser coincidentes sus señales, al ser comparadas con el estándar de sildenafilo. Así se observó la señal de  $\text{H}_4$  asignada a un metilo singulete unido a una arilamida a  $\delta_{\text{H}}$  4.18 ppm. Las señales a  $\delta_{\text{H}}$  3.62 (4H, s,  $\text{H}_{11}/\text{H}_{12}$ ) y  $\delta$  3.94, 3.28 (4H,  $\text{H}_{10}/\text{H}_{13}$ ), concuerdan con un sistema piperazínico de la molécula de sildenafilo. La presencia de señales 7.33 1H, d ( $J = 8.9$  Hz,  $\text{H}_{15}$ ), 7.93 ( $J = 8.9, 3.0$  Hz, 1H, d,  $\text{H}_{16}$ ) y a 8.09 ( $J = 3.0$  Hz, 1H, d,  $\text{H}_{17}$ ) indican la presencia de un sistema ABC propio de un anillo aromático tipo benceno trisustituido, esto reveló señales propias del sildenafilo en cada una de las cuatro muestras analizadas.<sup>21,26</sup>

Los espectros de RMN  $^1\text{H}$  de los cuatro productos fraudulentos, muestran desplazamiento químico, multiplicidad, integración y constantes de acoplamiento coincidentes al sildenafilo estándar, lo que demuestra un alto grado de especificidad de esta molécula, se descarta la presencia de análogos de sildenafilo. Por ejemplo, el análogo tipo homosildenafilo posee una típica señal característica próxima a 1.32 ppm, correspondiente al metilo  $\text{H}_{15}$ , lo que hace pensar que no corresponde a este derivado.<sup>26</sup> Por otra parte, la 1,2,4-trisustitución del anillo bencénico hace descartar a los derivados del

tadalafil.<sup>21</sup> Los desplazamientos, multiplicidades e integraciones del sistema piperazínico encontrados en las muestras adulteradas no corresponden al análogo tiometisosildenafilo.<sup>21</sup>

Los gráficos 3D obtenidos por el detector de arreglo de diodos en HPLC, permiten visualizar con claridad las diferentes absorciones UV, tanto del componente pirimidínico  $\alpha,\beta$  insaturado, como del sistema bencénico trisustituido; en las muestras adulteradas y el estándar. Además, se presentan dos umbrales de absorción a 212 y 292 nm, que corresponden a las transiciones electrónicas  $n \rightarrow \pi^*$  y  $\pi \rightarrow \pi^*$  de los sistemas cromóforos que presenta la molécula de sildenafilo.<sup>24</sup>

Los cromatogramas obtenidos en HPLC del estándar y las muestras revelan un pico característico con un tiempo de retención casi idéntico<sup>9</sup>, por lo que se deduce, una incorporación intencional de sildenafilo en la formulación.

La curva de calibración de citrato de sildenafilo, con un coeficiente de determinación ( $r^2$ ) = 0.9981 y un coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ) = 0.9990, en un rango de concentración de 3.4 hasta 45 ppm, junto con un límite de detección (LD) = 0.0019 mg/L y el límite de cuantificación (LC) = 0.0056 mg/L, permitió determinar con certeza las concentraciones de sildenafilo de los productos fraudulentos<sup>25</sup>. Los productos M17 y M19 presentaron concentraciones de sildenafilo de 58.1 y 41.2 mg/cápsula, respectivamente. Este resultado puede deberse a una aproximación por parte del fabricante de incorporar la cantidad de sildenafilo próxima a la dosis terapéutica establecida (50 mg/cap), y asegura así el efecto farmacológico vasodilatador en sus formulaciones herbolarias. Se encontró, 12.72 mg/cápsula en la muestra identificada como M20, lo que representa una dosis muy inferior de sildenafilo a la recomendada por el FDA,<sup>6</sup> lo que sugiere la adición de este inhibidor (FDE-5) como un agregado al producto

herbolario para ejercer un efecto sinérgico con los componentes de la formulación y tener mayor probabilidad de eficacia.<sup>18</sup> Además, se encontraron 132.24 mg/cápsula de sildenafil en el producto M21, casi 3 veces la cantidad de sildenafil que ha demostrado seguridad y eficacia, lo que representa un valor muy por encima de la dosis terapéutica de la disfunción eréctil, poniéndose en discusión la seguridad de estas formulaciones ya que generar un aumento significativo de los efectos adversos del sildenafil como son dolor de cabeza, fotofobia, hipotensión, ardor en el estómago y pupilas anormalmente dilatadas.<sup>27</sup>

Hay que mencionar que en ninguno de los casos se encontró incorporación de sildenafil en los productos de venta en los mercados municipales de San Salvador, pero si es importante destacar, que en las tiendas tipo "sex-shop", existe un grave riesgo para los consumidores de este tipo de productos, ya que de las cinco muestras analizadas, cuatro estaban adulteradas. .

Los consumidores suponen que se administran algún tipo de producto natural seguro y desconocen que dentro de esas formulaciones se encuentra el ingrediente activo farmacéutico no declarado sildenafil, una situación delicada dado que el sildenafil es un fármaco que es usado bajo prescripción médica y con estricta supervisión de tratamiento.

## CONCLUSIONES

La técnica de CCF es una metodología efectiva para el tamizaje inicial de muestras adulteradas con sildenafil. Los resultados de los estudios por RMN <sup>1</sup>H confirman que, en los productos herbolarios adulterados, se encuentra únicamente la molécula de sildenafil y no sus análogos. El equipo HPLC de arreglo de diodos, permitió diferenciar el sildenafil de otros componentes de la muestra, a través

de sus respectivos espectros de absorción UV a diferentes longitudes de onda y tiempos de retención característico.

La cuantificación de sildenafil por HPLC en los productos a base de hierbas usados para la mejora del lívido masculino, evidencia la incorporación ilegal de este principio activo farmacéutico tipo (FDE-5), para proporcionar efectos rápidos y aumentar las ventas de este tipo de productos fraudulentos

Las dosis de sildenafil encontradas en los productos adulterados representan valores alarmantes, especialmente la que presenta la muestra M21. Los consumidores que adquieren estas formulaciones podrían presentar efectos adversos de tipo cardíaco (hipotensor) muy marcados. El sildenafil está contraindicado para pacientes con insuficiencia cardíaca, y puede llegar a causar daños severos a la salud, por lo que se debe incluir una supervisión estricta para este tipo de productos que, actualmente, no cuentan con un registro de las autoridades sanitarias correspondientes.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el financiamiento por parte del Consejo de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador (CIC-UES) proyecto 13.06 y al Laboratorio de Análisis de Aguas de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

## CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de interés con la temática investigada.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. ISBN 978 92 4 350609 8. <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/>

- s21201es/s21201es.pdf
2. Lenssen KGM, Bast A, de Boer A. International Perspectives on Substantiating the Efficacy of Herbal Dietary Supplements and Herbal Medicines Through Evidence on Traditional Use. *Compr Rev Food Sci*. 2019; 18(4):910-22. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12446>
  3. Teschke R, Andrade RJ. Drug, Herb, and Dietary Supplement Hepatotoxicity. *Int J Mol Sci*. 2016; 17:1488. <https://doi.org/10.3390/ijms17091488>
  4. Mitidieri E, Cirino G, d'Emmanuele di Villa Bianca, Sorrentino R. Pharmacology and perspectives in erectile dysfunction in man. *Pharmacol Therapeut*. 2020, 107493. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2020.107493>
  5. Yafi FA, Sharlip ID, Becher EF. Update on the Safety of Phosphodiesterase Type 5 Inhibitors for the Treatment of Erectile Dysfunction. *Sex Med Rev*. 2018, 6(2), 242–52. <http://doi.org/10.1016/j.sxmr.2017.08.001>
  6. Ventimiglia E, Capogrosso P, Montorsi F, Salonia A. The safety of phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction. *Expert Opin Drug Saf*. 2016. 15(2), 141–52. <http://doi.org/10.1517/14740338.2016.1131818>
  7. El-Wakeel L M, Fouad FA, Saleem MD, Saber-Khalaf M. Efficacy and tolerability of sildenafil/L-arginine combination relative to sildenafil alone in patients with organic erectile dysfunction. *Andrology*. 2019; 8:1–5. <https://doi.org/10.1111/andr.12671>
  8. Skalicka-Woźniak K, Georgiev MI, Orhan IE. Adulteration of herbal sexual enhancers and slimmers: The wish for better sexual well-being and perfect body can be risky. *Food Chem Toxicol*. 2016; 108(Pt B): 355–64. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.06.018>
  9. Kloner RA. Cardiovascular risk and sildenafil. *Am J Cardiol*. 2000; 20;86(2A):57F-61F. [http://doi.org/10.1016/s0002-9149\(00\)00895-x](http://doi.org/10.1016/s0002-9149(00)00895-x)
  10. Alloggiamento T, Zipp C, Raxwal VK, Ashley E, Dey S, Levine VF. Sex, the heart, and sildenafil. *Curr Prob Cardiology*. 2001; 26(6):388-415. <https://doi.org/10.1067/mcd.2001.115367>
  11. Shakir SA, Wilton LV, Boshier A, Layton D, Heeley E. Cardiovascular events in users of sildenafil: results from first phase of prescription event monitoring in England. *England BMJ*. 2001; 322(7287): 651–2. <http://doi.org/10.1136/bmj.322.7287.651>
  12. Cheitlin MD, Hutter AM, Brindis RG, Ganz P, Kaul S, Russel RO, Zusman RM. Use of sildenafil (Viagra) in patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 1999; 99(1):168-77. <http://doi.org/10.1161/01.cir.99.1.168>
  13. Shinlapawittayatorn K, Chattipakorn S, Chattipakorn N. Effect of sildenafil citrate on the cardiovascular system. *Braz J Med Biol Res*. 2005; 38: 1303-11. <http://doi.org/10.1590/s0100-879x2005000900003>
  14. Jiru M, Stranska-Zachariasova M, Dzuman Z, Hurkova K, Tomaniova M, Stepan R, Hajslova J. Analysis of phosphodiesterase type 5 inhibitors as possible adulterants of botanical-based dietary supplements: extensive survey of preparations available at the Czech market. *J Pharmaceut Biomed* 2019; 164: 713–724. <http://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.11.007>
  15. Bujang BN, Chee CF, Heh CH, Abd N, Buckle RM. Phosphodiesterase-5 inhibitors and their analogues as adulterants of herbal and food products: analysis of the Malaysian market, 2014-16. *Food Addit Contam A*. 2017;

- 34(7): 1101-9. <http://dx.doi.org/10.1080/19440049.2017.1336674>
16. Kee CL, Ge X, Gilard V, Malet-Martino M, Low MY. A review of synthetic phosphodiesterase type 5 inhibitors (PDE-5i) found as adulterants in dietary supplements. *J Pharmaceut Biomed.* 2018; 147, 250-277. <http://doi:10.1016/j.jpba.2017.07.031>
17. Rocha T, Amaral JS, Oliveira MBP. Adulteration of Dietary Supplements by the Illegal Addition of Synthetic Drugs: A Review. *Compr Rev in Food Sci F.* 2015; 15(1), 43-62. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12173>
18. The Food and Drug Administration (FDA) Public Notification: Alpha Male Contains Hidden Drug Ingredient URL: <http://www.fda.gov/Drugs/ResourcesForYou/Consumers/BuyingUsingMedicineSafely/MedicationHealthFraud/ucm376130.htm>
19. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios AEMPS. Retirada del producto MAXMAN CAPSULES publicación: 19 de noviembre de 2013. URL: [http://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosUsoHumano/medillegales/2013/ICM\\_MI\\_12-2013-maxman.htm](http://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosUsoHumano/medillegales/2013/ICM_MI_12-2013-maxman.htm)
20. Cai Y, Cai T-G, Shi Y, Xian-Long C, Ling-Yun M, Shuang-Cheng M, Rui-Chao L, Feng W. Simultaneous determination of eight PDE5-IS potentially adulteration in herbal dietary. *J Liq Chromatogr R T.* 2010; 33:1287-306. <https://doi.org/10.1080/10826076.2010.488979>
21. Balayssac S, Trefia S, Gilarda V, Malet-Martino M, Martino R, Delsuc MA, 2D and 3D DOSY <sup>1</sup>H NMR, a useful tool for analysis of complex mixtures: Application to herbal drugs or dietary supplements for erectile dysfunction. *J Pharmaceut Biomed.* 2009; 50 602-12. <https://doi:10.1016/j.jpba.2008.10.034>
22. The United States Pharmacopeial Convention, USP 37-NF 32 Official Monographs Section, United States of America. 2014. 4688-4689.
23. Zhu X, Xiao S, Chen B, Zhang F, Yao S, Wan, Z, Yang D, Han H. Simultaneous determination of sildenafil, vardenafil and tadalafil as forbidden components in natural dietary supplements for male sexual potency by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2005; 25,1066(1-2):89-95. <http://doi:10.1016/j.chroma.2005.01.038>
24. Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Principios de Análisis Instrumental. 5ta. Ed. Madrid; McGraw-Hill Interamericana; 1992, 355-58.
25. I.C.H. Q2 (R1), International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, harmonised tripartite guideline: validation of analytical procedures: text and methodology, (2005).
26. Shiny MH, Hongz MK, Kimy WS, Leey YJ, Jeoung YC. Identification of a new analogue of sildenafil added illegally to a functional food marketed for penile erectile dysfunction. *Food Addit Contam.* 2003; 20(9):793-6. <http://doi:10.1080/0265203031000121455>
27. Karaarslan C. Ocular Side Effects of Sildenafil That Persist Beyond 24 h A Case Series. *Front Neurol.* 2020. 11:67. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00067>