

Werner-Heisenberg-Gymnasium Garching
Oberstufe 2010/2012
Seminararbeit im Fach Biologie

„PDE-5-Hemmer und deren illegale Abwandlungen“

Verfasser: Markus Christian Roller

Kursleiter: StR Dr. Laupitz

Abgabe: 08.11.2011

Danksagung

Hiermit möchte ich folgenden Personen für ihre Bemühungen danken:

Herrn Dr. Wollein, der mich bei meinem einwöchigen Praktikum am LGL betreut und mir sehr gute Ratschläge für die Anfertigung dieser Arbeit gegeben hat.

Herrn Dr. Schramek, der mir die Anregung und das Thema für diese Arbeit sowie die Möglichkeit für mein Praktikum in seiner Abteilung gegeben hat.

Desweiteren gilt dieser Dank allen, die mich während meiner Arbeit durch Tipps, Ratschläge und ihre Zeit unterstützt haben.

Gliederung der Seminararbeit

1 Einleitung	4
1.1 Medizinische Bedeutung und Geschichte der PDE-5-Hemmer.....	4
1.2 Illegale Abwandlungen und deren Gefahren.....	5
2 Material und Methoden	6
2.1 Material	6
2.1.1 Geräte	6
2.1.2 Chemikalien.....	6
2.1.3 Proben.....	7
2.2 Methoden	8
2.2.1 Extraktion	8
2.2.2 GC/MS.....	8
2.2.3 DC.....	9
2.2.4 HPLC.....	11
2.2.5 LC/MS	12
3 Ergebnisse und Diskussion	14
3.1 GC/MS	14
3.2 DC	15
3.3 HPLC	16
3.4 LC/MS.....	17
4 Zusammenfassung	19
5 Literaturverzeichnis	20
Anhang	21

1 Einleitung

1.1 Medizinische Bedeutung und Geschichte der PDE-5-Hemmer

Phosphodiesterase-5-Hemmer (PDE-5-Hemmer) hemmen das Enzym PDE 5 (siehe *Abbildung 1*), welches das cyclische Guanosinmonophosphat (cGMP) zu 5'-GMP spaltet (siehe *Abbildung 2*). Dies ist ein zellulärer Botenstoff, ein sogenannter second messenger, der unter anderem für die Entspannungssignale an den Blutgefäßen der glatten Muskulatur zuständig ist. Wird cGMP nicht mehr durch das Enzym PDE 5 gespalten, führt es zu einer Vermehrung der entspannenden Signale. Dies erweitert die Blutgefäße und es kommt zu einer erhöhten Durchblutung, zum Beispiel in der Arterie [6], [7], [8].

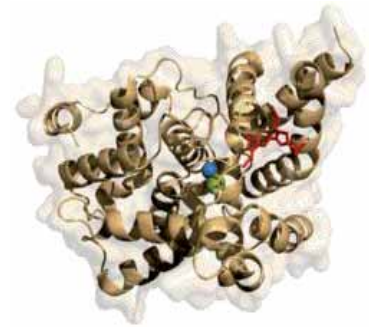


Abbildung 1. Phosphodiesterase 5 (PDE-5) [8]

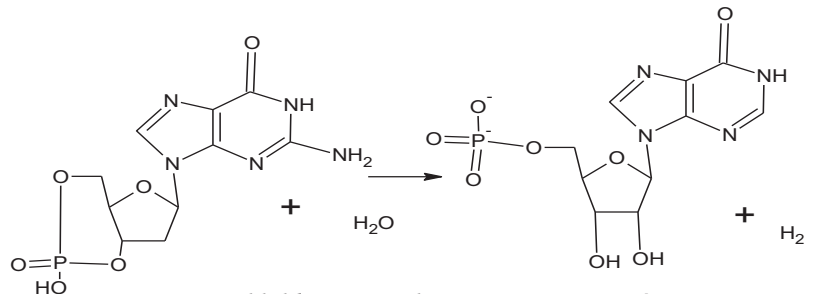


Abbildung 2. Spaltung von cGMP zu 5'-GMP

PDE-5-Hemmer wurden erstmals zur Behandlung von Angina pectoris angewendet. Angina pectoris ist eine akute Durchblutungsstörung des Herzens, wobei sich in einer Arterie Plaque d.h. Fette, Kalk und Zellbestandteile einlagern, wie in *Abbildung 3* dargestellt ist. Mit zunehmender Plaque kommt es dann zu einem Blutgerinnsel an der Plaque, das die Arterie verschließt. Die entspannende Wirkung von PDE-5-Hemmern auf die Blutgefäße erleichtert die Durchblutung und wirkt der Angina pectoris entgegen.

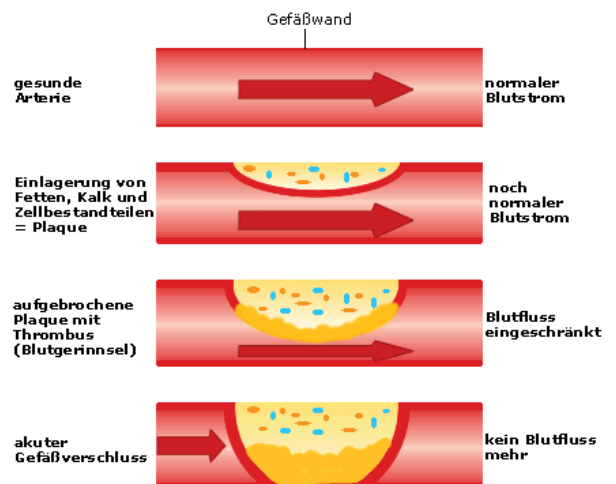


Abbildung 3. Verkalkung der Arterie [5]

Heutzutage werden diese Hemmer nicht mehr bei der Behandlung von Angina pectoris eingesetzt, sondern bei männlichen Erektionsstörungen (erektiler Dysfunktion). Hier bewirkt die leichtere Durchblutung eine einfachere Erektion. Beispiele für zugelassene PDE-5-Hemmer in Deutschland, die legal zu erwerben sind: Sildenafil, Tadalafil, Verdenafil [9].

1.2 Illegale Abwandlungen und deren Gefahren

Das Thema Erektionsstörungen ist für viele Männer ein unangenehmes Thema, weshalb sie den Gang zur Apotheke scheuen. Das Internet eröffnet eine neue und vielfältige Möglichkeit sich PDE-5-Hemmer legal oder illegal anonym zu beschaffen. Jedoch verbergen sich hinter den illegalen, meist als pflanzlich angegebenen Produkten keinesfalls pflanzliche Medikamente, sondern synthetische Produkte geschickter Chemiker. Diese Medikamente verursachen, vor allem bei Männern in höherem Alter, Nebenwirkungen von Kopfschmerzen und Sehstörungen bis hin zu Herz-Kreislaufversagen. Desweiteren besteht die Gefahr von bisher unbekanntem Nebenwirkungen, da die Wirkung der synthetisierten PDE-5-Hemmer auf den Körper noch nicht untersucht ist. Es ist zugleich auch auf Grund der weltweiten Vermittlung und Fülle dieser Produkte so gut wie unmöglich über jedes dieser Derivate medizinische Untersuchungen anzusetzen, da es im Laufe der Zeit immer mehr PDE-5-Hemmer mit illegalen Abwandlungen gibt und auch noch geben wird.

Ein weiteres Problem besteht darin, dass die Verkäufer dieser Produkte ihren Standort nicht in Deutschland haben, sondern auf der ganzen Welt verteilt sind. Das macht es den Fahndern unmöglich, diese Leute zur Rechenschaft zu ziehen. Dennoch forschen und untersuchen die Spezialisten des Bayerischen Landesamtes für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) und andere weltweite Einrichtungen an diesen Produkten, um vor solchen leicht zu vermeidenden Gefahren durch Publikationen zu warnen. So eine Warnung des LGL wurde am 12.8.2011 auf der Webseite des Amtes veröffentlicht. Diese Meldung erschien unter dem Titel „Warnung vor den Nahrungsergänzungsmitteln „POWER tabs“ und „iErect““ und erklärte, dass bei gleichzeitiger Einnahme von Medikamenten gegen Herzprobleme, es zu schweren Nebenwirkungen führen kann [1]. Diese Arbeit befasst sich mit der Untersuchung zweier vorher unbekannter Stoffe, welche aus dem Internet bestellt wurden, auf deren Inhaltstoffe.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Geräte

Für die genaue Untersuchung der beiden Proben wurden die in *Tabelle 1* aufgeführten hochwertigen Analysegeräte eingesetzt.

<u>Bezeichnung</u>	<u>Herkunft</u>
GC/MS – Gaschromatograph / Massenspektrometrie	Schimadzu (Kyoto, Japan)
HPLC – High Performance Liquid Chromatograph	VWR-Hitachi (Deutschland)
LC/MS – Liquid Chromatograph / Massenspektrometrie	Fluka (Buchs, Schweiz)

Tabelle 1. Geräte

2.1.2 Chemikalien

Für die Aufarbeitung der Proben wurden verschiedene Chemikalien verwendet. Desweiteren wurden schon bekannte PDE-5-Hemmer als Referenzsubstanzen zum Vergleich herangezogen. Sowohl die wichtigsten Chemikalien als auch die Referenzsubstanzen werden in *Tabelle 2* aufgelistet:

<u>Bezeichnung</u>	<u>Herkunft</u>
Vardenafil	Bayer (Leverkusen, Deutschland)
Tadalafil	Eli Lilly (Bad Homburg, Deutschland)
Acetonitril	LGC Standards GmbH (Wesel, Deutschland)
Natriumsulfat	LGL
Methanol	LGL
Schwefelsäure	LGL
Kaliumjodiplatinat	LGL
Diethyamin	LGL
Dichlormethan	Merck (Darmstadt, Deutschland)
Amoniumformitat	Merck (Darmstadt, Deutschland)

Natriumhydroxid	Merck (Darmstadt, Deutschland)
Acetildenafil	National Institute for Public Health and the Environment (Bilthoven, Niederlande)
Sildenafilcitrat	Pfizer (Berlin, Deutschland)
Hydroxyacetildenafil	Pfizer (Berlin, Deutschland)
Vidamax	Unbekannt
DC-Platten	LGL

Tabelle 2 Chemikalien

2.1.3 Proben

Der praktische Teil dieser Seminararbeit bestand darin, zwei aus dem Internet bestellte Produkte auf deren Inhaltsstoffe genauer zu untersuchen. Die erste Probe kam von der Firma Red Dragon® und wurde als natürliches Potenzmittel deklariert. In *Abbildung 4* ist die Verpackung und dessen Inhalt zu sehen. Im Laufe der Untersuchungen wurde diese Probe auf Grund des fehlenden Produktnamens nur „Red Dragon“ genannt. Die 15 dunkelblauen Kapseln befanden



Abbildung 4. Produkt "Red Dragon"

sich in einem Blister, der in einen silberfarbenen Umschlag eingelegt war. Diese Probe wurde in die Datenbank des LGL mit der Nummer 11-0108047-001-01 und mit mehreren Fotos gespeichert. Beim Öffnen einer dieser Kapseln wurde hellbraunes, verklumptes Pulver, in *Abbildung 4* rechts unten zu sehen, sichergestellt.

Die zweite Probe hieß „eroXdoc“ und wurde von dem Arzneimittelvertrieb docpharm® GmbH & Co. KGaA hergestellt (*Abbildung 5*). Die silbernen Kapseln befanden sich in einem blauen Hartplastikgefäß mit der Füllmenge von 90



Abbildung 5. Produkt "eroXdoc"

Kapseln. Dieses Produkt wurde auch in der Datenbank des LGL mit Fotos gespeichert und erhielt die Kennnummer 11-01-0829-001-01. Auch hier war der Inhalt der geöffneten Kapsel hellbraun und verklumpt.

2.2 Methoden

2.2.1 Extraktion

Die Extraktion der Kapseln „Red Dragon“ und „eroXdoc“ verlief gleichzeitig. Durch das Öffnen der Kapseln gelangte man an das Pulver. So wurde der Inhalt der jeweiligen Kapsel zuerst mit 10,0ml Dichlormethan und 2,0 ml 2M Natriumhydroxid vermischt und in einem Scheidetrichter mit 25 ml Volumen ausgeschüttelt. Die dadurch entstehende wässrige Phase nochmals mit 5,0 ml Dichlormethan gemischt und wieder gut geschüttelt. Um das Gemisch vom Wasser zu trennen wurde Natriumsulfat-Pulver beigegeben. Das neue Gemisch wurde solange leicht in einem Erlenmeyerkolben geschwenkt bis sich das Natriumsulfat in der Mitte des Gefäßes in einer schneeballartigen Form gesammelt hatte. Dann wurde das immer noch weiße Natriumsulfat-Pulver abfiltriert. Das Filtrat, das sich nun in einem Spitzkolben befand, konnte für die GC/MS (siehe Kapitel 2.2.2) verwendet werden. Nach der Entnahme für die GC/MS wurde das Dichlormethan mit Hilfe einer Vakuumpumpe und durch Erhitzen von dem nun vorhandenen Filtrat getrennt. Das Filtrat blieb als trockene Kruste an der Glaswand des Spitzkolbens zurück. Anschließend wurde der Kruste im Spitzkolben Acetonitril zugegeben, welches die Untersuchung der in der Kruste vorhandenen Substanzen mit den Geräten DC, HPLC und LC/MS ermöglichte. In den folgenden Kapiteln werden diese Geräte genauer beschrieben und erklärt.

2.2.2 GC/MS

Die GC/MS ist eine Gaschromatographie mit einem Massenspektrometer gekoppelte Messmethode (*Abbildung 6*). Dieses Gerät ist in der analytischen Chemie zu finden und ermöglicht es, eine Substanz in deren einzelne Bestandteile zu zerlegen und diese dann mit Hilfe einer Datenbank auszuwerten. Der Gaschromatograph besteht aus einem Injektor, einen Ofen mit Trennsäule und einem Detektor, der häufig an einen Computer mit Auswertungssoftware angeschlossen ist. In diesem Fall wird von der Verteilungschromatographie Gebrauch gemacht. Dabei kommt eine Flüssigkeit als stationäre Phase und ein Trägergas als mobile Phase zum Einsatz, welche beide in einer Trennsäule aufeinander treffen. Hier verteilen sich die Substanzen mit jeweils unterschiedlicher Geschwindigkeit über die stationäre Phase. Dieser Vorgang findet in einem Ofen statt, der sich bis zu 350°C erhitzen lässt. Schließlich werden die einzelnen Substanzen von einem



Abbildung 6. GC/MS am LGL

Massenspektrometer am Ende der Trennsäule eingefangen und ausgewertet. Das daraus resultierende Diagramm zeigt die einzelnen Bestandteile der zu untersuchenden Probe. Die x-Achse des Diagramms gibt das Verhältnis der Masse (m) mit der Ladung des Ions (z) in der Einheit (m/z) an, während die y-Achse die Intensität des Fragments angibt. Dadurch werden im Diagramm schließlich einzelne Peaks sichtbar, wobei die Höhe eines Peaks von der Menge eines Fragments abhängig ist [4].

Bei den Untersuchungen der Produkte „Red Dragon“ und „eroXdoc“ waren beide Proben bereits vor der Analyse mit der GC/MS in Dichlormethan gelöst. Deshalb mussten die Edukte zuerst in den gasförmigen Zustand überführt werden, wobei beide weder schwer flüchtig waren noch von der Hitze zersetzt wurden. Die Ergebnisse der GC/MS wurden mit einer Datenbank des LGL verglichen und ausgewertet, was dazu führte, dass den einzelnen Peaks Stoffe zugeordnet werden konnten.

2.2.3 DC

Die Dünnschichtchromatographie (DC) lässt sich im Bereich der Adsorptionschromatographie einordnen. Als Adsorption wird die Bindung eines Stoffes an der Oberfläche eines anderen Stoffes bezeichnet. Diese Bindung oder auch Anreicherung ist auf die polare Wechselwirkung der beiden Stoffe zueinander zurückzuführen. Bei der DC handelt es sich um eine Adsorptionschromatographie, da hier die polaren Wechselwirkungen der zu analysierenden Substanz mit den polaren Wechselwirkungen der Oberfläche der festen, stationären Phase zur Geltung kommen. Dabei wird die Analysesubstanz mit Hilfe der mobilen Phase, dem Elutionsmittel, über die DC-Platte befördert. Je nach Polarität und des dadurch folgenden Adsorptionsverhaltens der Analysesubstanz bleibt die zu untersuchende Probe an einer bestimmten Stelle auf der DC-Platte zurück und bildet einen „Fleck“, während die mobile Phase noch weiter läuft. Die oberste Linie, welche das Elutionsmittel erreicht, wird als Lösungsmittelfront bezeichnet. Der Fleck der Analysesubstanz muss für ein brauchbares Ergebnis zwischen dem Start und der Lösungsmittelfront liegen.

Bei der Untersuchung von „Red Dragon“ und „eroXdoc“ wurden mit gleichem Abstand sieben Proben aufgetragen. Dabei handelte es sich um die drei Referenzsubstanzen Sildenafil, Vardenafil und Tadalafil. Dann wurden jeweils eine Lösung der Analysesubstanzen mit der Konzentration zu dem Lösungsmittel Acetonitril von 1:10 und jeweils eine Lösung mit der Konzentration 1:100 aufgetragen. Auf diese Art wurden zwei DC-Platten angefertigt.

Desweiteren wurde eine Chromatographie-Kammer (*Abbildung 7*) eingerichtet, in der sich später die DC-Platten entwickelten. In diese Kammer wurde ein polares Gemisch aus Dichlormethan, Methanol und Diethyamin im ungefähren Volumen-Verhältnis von 90:10:1 geschüttet, welches die mobile Phase bzw. das Elutionsmittel darstellte. Anschließend wurde noch ein von einer Pipette gestütztes Filterpapier in die Kammer gesetzt. Somit ist zu erwarten, dass je weiter die Anreicherung der Substanz auf der DC-Platte vom Startpunkt entfernt ist, desto unpolarer die Probe ist. Zum Auswerten der DC-Platten nach ihrer Entwicklungszeit wurde auf eine der Platten Schwefelsäure, auf die andere Iodplatinat aufgesprüht.

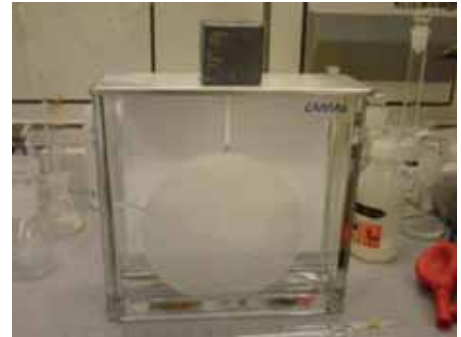


Abbildung 7. Entwicklungskammer der DC

Das Kaliumjodidplatinat wurde nach folgender Vorschrift hergestellt:

Sprühlösung: 3ml (IV)-Säurelösung (10%) werden mit 97 ml Wasser versetzt und 100 ml Kaliumjodidlösung (6% in Wasser) zugegeben. Frisch zubereiten.

Reagenzien: Hexalplatin(IV)-säurelösung (10%), Kaliumjodid neutral [2]

Nach dem Besprühen wurden die beiden Platten mit Licht von unterschiedlicher Wellenlänge beleuchtet und abfotografiert [4].

2.2.4 HPLC

Die HPLC oder auch high performance liquid chromatography (siehe *Abbildung 8*) dient zur Trennung und Analyse von Substanzgemischen. Sie braucht für ihre Analyse ein bis zwei Pumpen, ein Elutionsmittel, die mobile Phase bzw. die Trägerflüssigkeit, das Probeneinlasssystem, eine Trennsäule, welche die stationäre Phase beinhaltet und einen Detektor, der entweder mit einem Schreiber oder einem Computersystem verbunden ist. Meistens ist hinter den Pumpen ein



Abbildung 8. HPLC am LGL

Gradientenmischer geschaltet, damit man während der Analyse die Zusammensetzung des Lösungsmittels verändern kann. Der Ablauf der HPLC ist wie folgt: Zuerst wird von den zwei Pumpen mit den jeweils unterschiedlichen Lösungsmitteln das vorher festgelegte Lösungsmittelgemisch über den Gradientenmischer zum Probeneinlasssystem gepumpt. Nach der Entnahme der zu analysierenden Substanzen, welche schon in einem anderen flüssigen Stoff gelöst sind, wird nun diese mit der mobilen Phase in die Trennsäule gepumpt. Diese Trennsäule steht senkrecht in der HPLC, was das Fließen erleichtert, da die mobile Phase von oben nach unten läuft. Nach der chromatographischen Trennung der einzelnen Substanzen aufgrund deren unterschiedlichen Wechselwirkungen werden sie von einem Detektor erfasst, der mit einem Auswertungsapparat verbunden ist. Die Ergebnisse werden dann in einem Diagramm festgehalten, wobei das Signal - hier in der Einheit mAU (milli-absorbance-units) - gegenüber der Zeit eingetragen wird. Diese Zeit, die verstreicht bis der Höhepunkt des Peaks erreicht wird, heißt Retentionszeit [4].

Zu Beginn der Untersuchung der Produkte „Red Dragon“ und „eroXdoc“ am HPLC lagen beide Proben bereits in gelöster Form in Acetonitril vor. Die verwendete Säule der Marke Zorbax® hatte die Maße 250 mm x 4,6 mm. Desweiteren wurden für das Lösungsmittelgemisch der mobilen Phase Acetonitril und Amoniumformiat eingesetzt. Daran angeschlossen war an der verwendeten HPLC ein UV/Vis-Detektor geschaltet, der die Substanzen mit Licht von der Wellenlänge 210 nm bis 400 nm bestrahlte und auswertete. Dabei wurde die daraus resultierende Absorption der Substanzen gemessen, was eine Aussage über die Identität und Reinheit der einzelnen bestrahlten Substanz möglich machte. Das Diagramm des UV-Vis Spektrums zeigt das Signal in der Einheit mAU gegenüber der

Wellenlänge an. Auch hier wurden sowohl das UV-Spektrum als auch die Ergebnisse der HPLC mit der Datenbank des LGL verglichen und ausgewertet.

2.2.5 LC/MS

Die LC/MS ist die Kombination einer HPLC (high performance liquid chromatography) mit einer Massenspektrometrie. Das Massenspektrometer arbeitet mit Hilfe der sog. Elektrospray-Ionisation. So durchläuft die zu untersuchende Substanz zuerst die HPLC (*Abbildung 9*) und wird danach sofort in ein sehr präzise arbeitendes Massenspektrometer (*Abbildung 10*) über eine Kapillare geleitet. Dort wird die Substanzlösung zuerst durch eine angelegte Spannung zwischen dieser Kapillare



Abbildung 9. LC/MS am LGL

und dem Austrittsröhrchen, welches zum Analysator führt, positiv oder negativ ionisiert. Anschließend wird eine sehr kleine Menge dieser Lösung in die Ionisationskammer gesprüht. In dieser Kammer werden nach dem Verdampfen des Lösungsmittels Quasi-Ionen, also Ionen, die in der Natur nicht vorkommen, durch Abspaltung eines H^+ Atoms gebildet und als Ionenstrahl in den Analysator gesprüht. Der Analysator lässt sich auf



Abbildung 10. Massenspektrometer des LC/MS

verschiedene Parameter einstellen, je nachdem was man untersuchen will. Bei den Untersuchungen zu „Red Dragon“ und „eroXdoc“ kamen drei hintereinander geschaltete Quadrupol-Analysatoren zum Einsatz. Bei einem Quadrupol-Analysator bilden vier parallel angeordnete Metallstäbe, welche jeweils parallel zu denen gegenüber stehen, einen Hohlraum zwischen sich. Desweiteren liegt zu einem sich gegenüber befindenden Stäbepaar eine Gleichspannung an. In dem Hohlraum wird nun der Ionenstrahl zum Austrittspalt geleitet. Durch die Spannung wird nun hervorgerufen, dass nur bestimmte Moleküle mit einer bestimmten Masse am Spalt ankommen. Durch eine Veränderung der Spannung können wiederum andere Moleküle mit einer anderen bestimmten Masse durchgelassen werden (siehe *Abbildung 11*). Dennoch können alle drei Quadrupol-Analysatoren unterschiedlich eingestellt werden. Zudem kommt dazu, dass der dritte Quadrupol als eine Ionenfalle (Ion-Trap-Massenspektrometrie) programmiert war. Diese Ionenfalle hält die gasförmigen Ionen in einer Ringelektrode, welche mit einer variablen Hochfrequenzspannung gekoppelt ist. Durch eine Erhöhung der Frequenz werden die Ionen, abhängig von ihrer Masse, durch die Ringelektrode

befördert. Anschließend werden die Ionen, die den Detektorempfänger getroffen haben, detektiert. Bei diesen Untersuchungen werden die Parameter EPI und EMS für die Quadrupole verwendet. Bei der EPI-Methode werden im ersten Quadrupol Moleküle einer bestimmten Masse von den restlichen Molekülen aussortiert und in den zweiten Quadrupol geleitet. Dort werden diese Moleküle in ihre Fragmente zerlegt und dann von der Ionenfalle im dritten Quadrupol detektiert. Die einzelnen Fragmente können dann anhand einer Fragment-Datenbank genauer bestimmt werden. Dies ermöglicht es, Hinweise auf unbekannte Verbindungen zu erhalten, da meist deren Fragmente bekannt sind. Bei der EMS-Methode werden alle Moleküle ab einer bestimmten Massenzahl detektiert. Die Diagramme von der EPI- als auch von der EMS-Methode haben dieselbe Achsenbeschriftung. Die x-Achse gibt die Zeit in Minuten, wobei bei diesen Diagrammen eine Minute 100 s hat, und die y-Achse die Intensität des Peaks in der Einheit counts per second (cps), wieder [4].

Die Datenbank des LGL fand auch hier ihren Gebrauch zum Vergleichen und Auswerten.

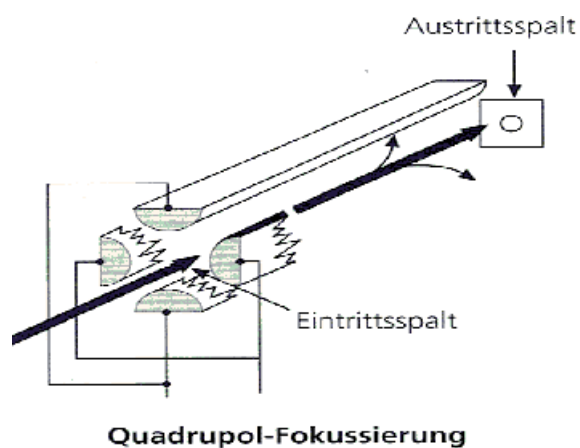


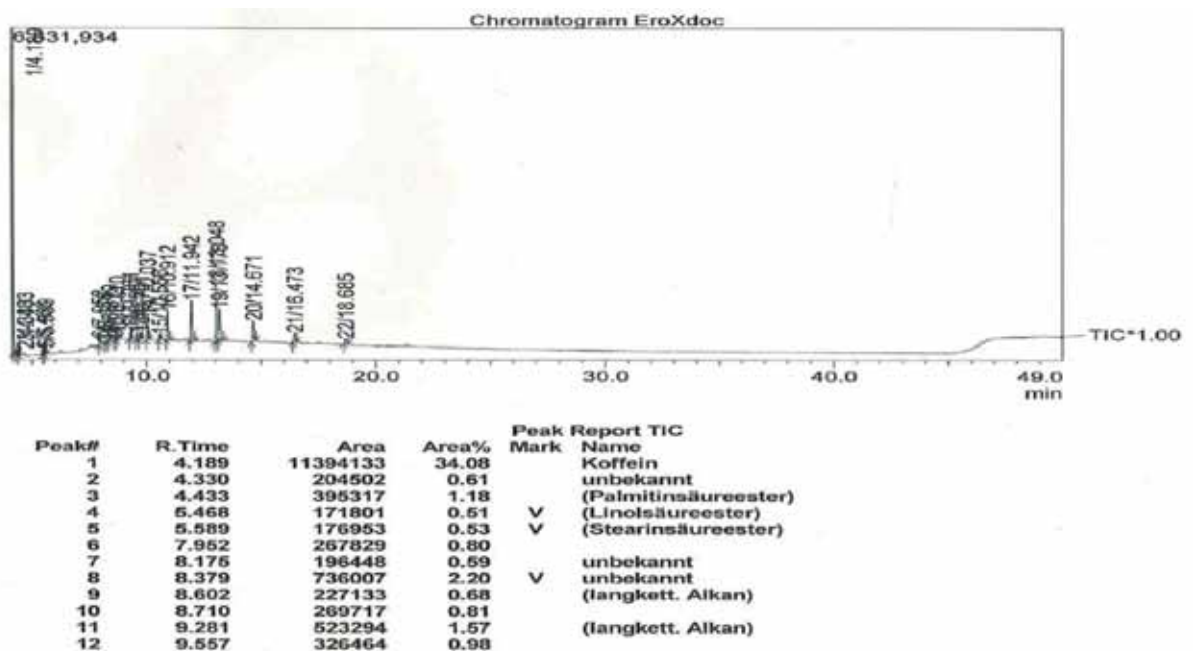
Abbildung 11. Quadrupol Aufbau [4]

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 GC/MS

Die GC/MS-Ergebnisse erlaubten einen genaueren Überblick über die Inhaltsstoffe von „eroXdoc“ und „Red Dragon“. Abbildung 11 zeigt das Chromatogramm des Präparates „eroXdoc“ in graphischer und tabellarischer Darbietung. Die Untersuchung des in Deutschland zugelassenen Produktes „eroXdoc“ ergab, dass sich in den Kapseln hauptsächlich Koffein befand. Dies ist aus dem Chromatogramm und dessen Ergebnistabelle (Abbildung 12), genauer aus Peak 1, zu schließen. Desweiteren wurden auch sehr viele pflanzliche Bestandteile gefunden. Diese waren hauptsächlich langkettige Alkane, welche jedoch nicht in der Datenbank des LGL aufgeführt wurden, aber Ähnlichkeiten mit bekannten Alkanen aufwiesen. Es wurden auch unbekannte Stoffe entdeckt, die jedoch in so geringen Mengen auftraten, dass es nicht mehr von Bedeutung für die Untersuchung war. Es befanden sich in „eroXdoc“ auch durchaus bekannte Stoffe wie Palmitinsäure-, Linolsäure- und Stearinsäureester, genauso wie Vitamin E.

Die genauen Gesamtanteilverhältnisse und der Rest des Chromatogramms lassen sich in *Abbildung 1* im Anhang nach lesen.



zeigte, dass hier, im Gegensatz zu „eroXdoc“, die unbekannt Substanzen in großen Mengen vorhanden sind. Das Molekül, das Peak 5 zeigte, hatte einen Gesamtanteil von 64,46 %, welches durch den großen Peak in *Abbildung 13* gut zu erkennen ist. Dies bekräftigte die ersten Vermutungen, dass in „Red Dragon“ eine oder mehrere nicht zugelassene PDE-5-Hemmer vorhanden sind. Das komplette Diagramm mit der Ergebnistabelle wird im Anhang unter *Abbildung 2* aufgelistet.

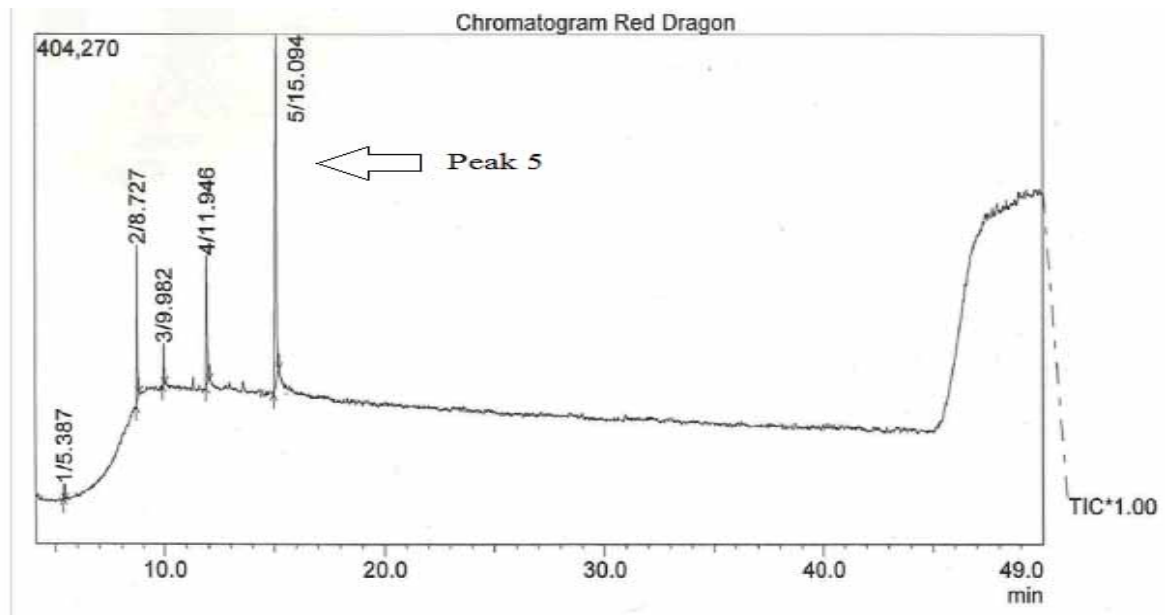


Abbildung 13. GC/MS Chromatogram von "Red Dragon"

3.2 DC

Nachdem die DC-Platten eine längere Zeit in der Chromatographie-Kammer verbracht hatten, wurden sie aus diesem Entwicklungsgefäß entnommen. Schon beim Herausnehmen waren leichte Schwärzungen bei unterschiedlichen Höhen sichtbar. Es mussten die Platten mit Iodplatinat und Schwefelsäure besprüht werden, um ein besseres Ergebnis zu erhalten. Nach dem Besprühen war es nicht möglich, die einzelnen Punkte ausfindig zu machen. Jedoch wurden die Ergebnisse sichtbar, als die Platten mit Licht unterschiedlicher Wellenlänge beleuchtet und sie in einer Dunkelkammer abfotografiert wurden. Zu Beobachten war, dass eine große Anzahl der Anhäufungen sich im oberen Bereich der DC-Platte befanden, darunter auch die der Referenzsubstanzen. Jedoch wurde ein Punkt

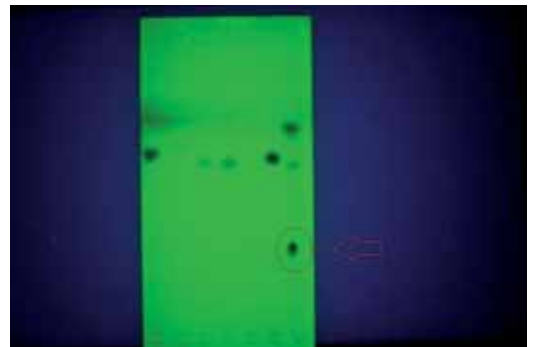


Abbildung 14. (Iod-) DC-Platte mit Bestrahlung

unterhalb dieses Bereichs deutlich, er gehörte zu der Probe „Red Dragon“, welches sowohl in *Abbildung 14* als auch in *Abbildung 15* zu erkennen ist. Dies ließ schon erste Spekulationen zu, dass im Produkt der Firma Red Dragon® ein in Deutschland nicht zugelassener PDE-5-Hemmer beinhaltet sein könnte.

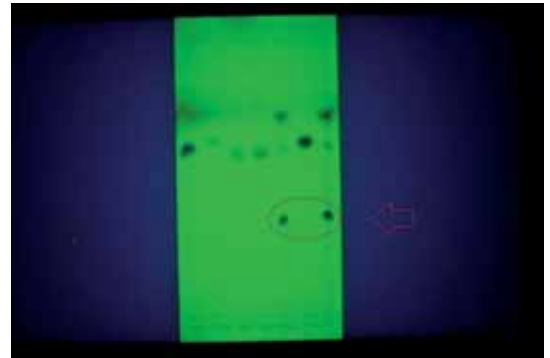


Abbildung 15. (Schwefelsäure-) DC-Platte mit Bestrahlung

3.3 HPLC

Um einer Verfälschung der Laborergebnisse vorzubeugen wurden drei Probeläufe durchgeführt. Sowohl der Test mit dem Lösungsmittel Acetonitril, der Referenzsubstanz Acetildenafil als auch mit der Referenzsubstanz Sildenafilcitrat zeigten, dass keine gravierenden Verschmutzungen vorlagen.

Die HPLC-Spektren des Nahrungsergänzungsmittels „eroXdoc“ zeigten nur einen bedeutenden Peak bei einer Retentionszeit von 4,29 min und einer geringen Intensität. Er lässt sich dem Inhaltstoff Coffein zuordnen. Das Ergebnis stimmt damit in diesem Punkt mit den verzeichneten Inhalten in der Packungsbeilage überein. Auch das UV-Vis Spektrum der Probe (*Abbildung 3* im Anhang) bestätigt dies mit einer 99,9% Übereinstimmung mit der Datenbank. Andere Inhaltstoffe konnten auf Grund des Spektrums ausgeschlossen werden, deshalb wurden die Untersuchungen zu der Probe „eroXdoc“ damit beendet.

Ein anderes Bild bekam man bei der Betrachtung des Diagramms (*Abbildung 4* im Anhang) von „Red Dragon“. Das Spektrum zeigt sieben Peaks, von denen keiner Rückschlüsse auf Coffein, Acetildenafil oder Sildenafil zuließ. Fünf Peaks mit den Retentionszeiten von 2,75 min, 11,39 min, 13,11 min, 16,95 min, 19,17 min und 20,81 min waren gut sichtbar, zeigten aber nur moderate Intensitäten. Dagegen stachen die zwei übrigen Peaks sofort ins Auge. Der größte Peak, auch Basis Peak genannt, bei einer Retentionszeit von 11,95 min und der zweite bei 26,61 min. Keiner der Peaks konnte über den Vergleich mit der Datenbank des LGL identifiziert werden, was auch für den Abgleich der UV-Vis Spektren galt. Dennoch ließen sich Vermutungen anstellen. So wurde der Peak bei 11,95 min mit hoher Wahrscheinlichkeit von Oxoacetildenafil, der bei 13,11 min von Hydroxyacetildenafil und der bei 26,61 min von derselben Substanz, welche eine Woche zuvor bei einer Probe namens „Vidamax“ sichergestellt wurde, hervorgerufen. Jedoch musste man noch die LC/MS Analyse abwarten um die Ergebnisse zu bestätigen.

3.4 LC/MS

„Red Dragon“ bereitete Schwierigkeiten, da man bis zu diesem Zeitpunkt trotz der vorherigen Untersuchung noch nicht wusste, welche Substanzen sich in den dunkelblauen Kapseln befanden. Auf Grund der hohen Genauigkeit der LC/MS erhoffte man sich nun detaillierte Ergebnisse über „Red Dragon“ zu erlangen.

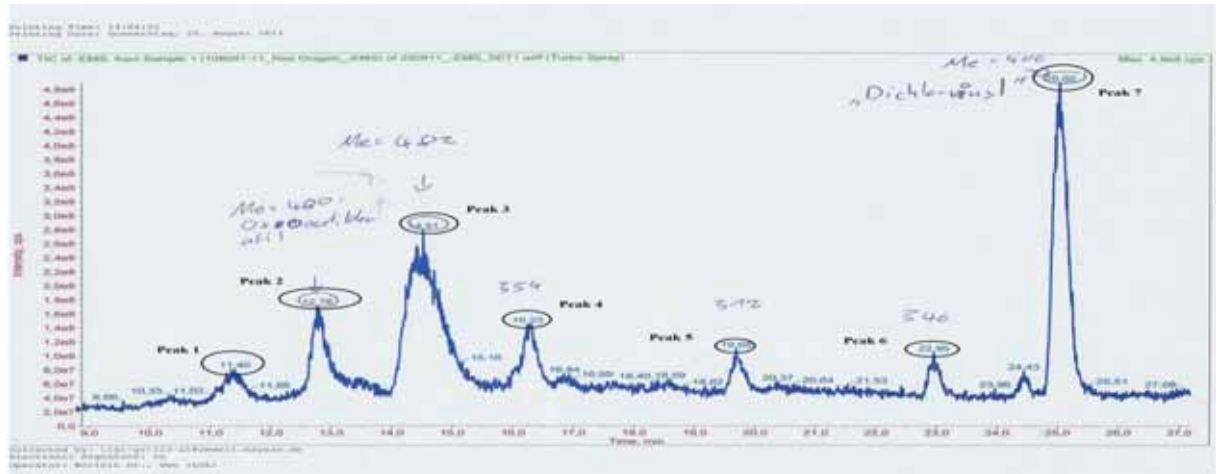


Abbildung 15. LC/MS Diagramm von "Red Dragon"

In *Abbildung 15* sieht man das mit der EMS-Methode aufgenommene Diagramm welches sieben Peaks zeigt. Die nachfolgende *Tabelle 3* zeigt in einem kleinen Zeitfenster die Größe der Masse der einzelnen Peaks. Diese Werte wurden einem Diagramm entnommen, welches im Anhang unter *Abbildung 5* zu finden ist.

Peak	Zeitraum (min)	Masse in Da (m/z)
1	11,240-11,435	495,24
2	12,722-12,933	479,28
3	13,557-13,903	481,32
4	16,182-16,370	353,28
5	19,673-19,861	311,28
6	22,862-23,058	345,24
7	24,953-25,141	405,12

Tabelle 3. Liste der in *Abbildung 14* vorkommenden Peaks und deren Masse

Mit Hilfe der Massenzahlen konnten bessere Vergleiche mit Stoffen ähnlicher Massen getroffen werden. Intensitätsbedingt wurden die weiteren Untersuchungen auf Peak zwei, drei und sieben beschränkt, da diese die größten Peaks bei „Red Dragon“ zeigten. Um die Suche

zu vereinfachen wurde zum Vergleich das Diagramm der Probe „Vidamax“ hinzugezogen, da diese Probe ebenfalls auf einer verwandten Internetseite wie „Red Dragon“ bestellt wurde. Die nachfolgende *Abbildung 16* zeigt das LC/MS Diagramm von der Probe „Vidamax“ ebenfalls mit der EMS-Methode aufgenommen.

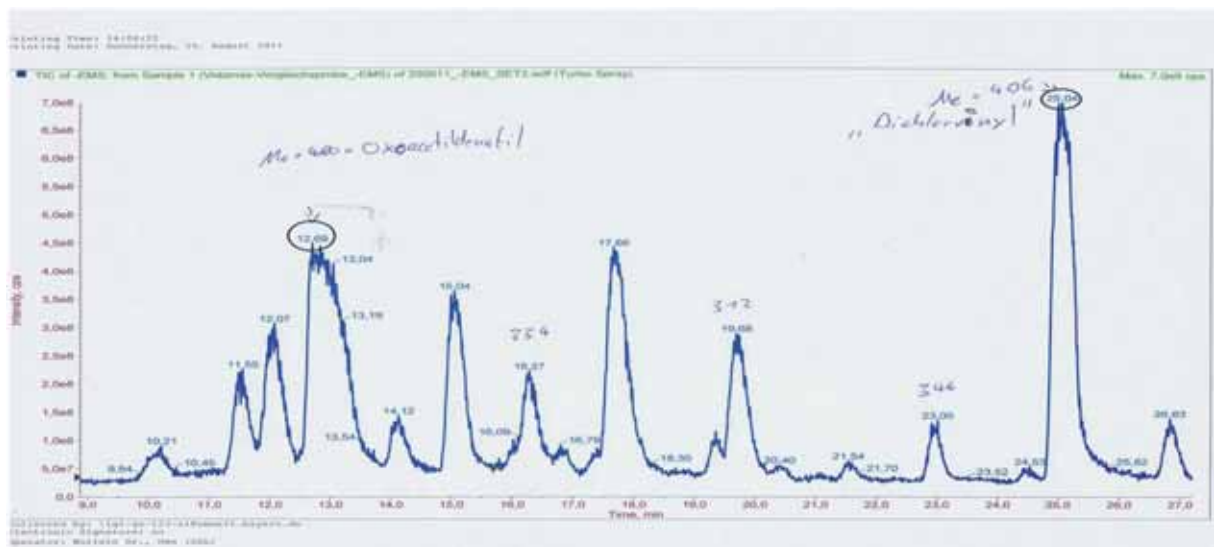


Abbildung 26. LC/MS Diagramm von "Vidamax"

Die zwei eingekreisten Peaks lassen auf dieselben Substanzen wie bei „Red Dragon“ schließen, da beide Peaks zur gleichen Zeit auftreten wie bei der „Red Dragon“ Probe. Auf Grund der früheren Untersuchung wusste man nun, dass der Peak zwei in *Abbildung 15* Oxoacetildenafil und der Peak sieben, ebenfalls aus der *Abbildung 15*, Dichlorvinyl mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit seien müssten. Dennoch konnte man immer noch keine genaue Angabe über Peak drei machen. Da man aber schon die Masse kannte, kam man zu dem Entschluss, dass es möglicherweise Hydroxyacetildenafil sein könnte. Dies konnte aber nur durch eine Vergleichsmessung am LC/MS mit fast reinem Hydroxyacetildenafil bestätigt werden. *Abbildung 17* zeigt das Diagramm von Hydroxyacetildenafil mit einem Peak (hervorgehoben), der zeitlich gesehen mit Peak drei des Spektrums in *Abbildung 15* übereinstimmt. Die zeitliche Verschiebung der beiden Peaks lässt vermuten, dass sich eine Hydroxygruppe am Molekül verschoben hat.

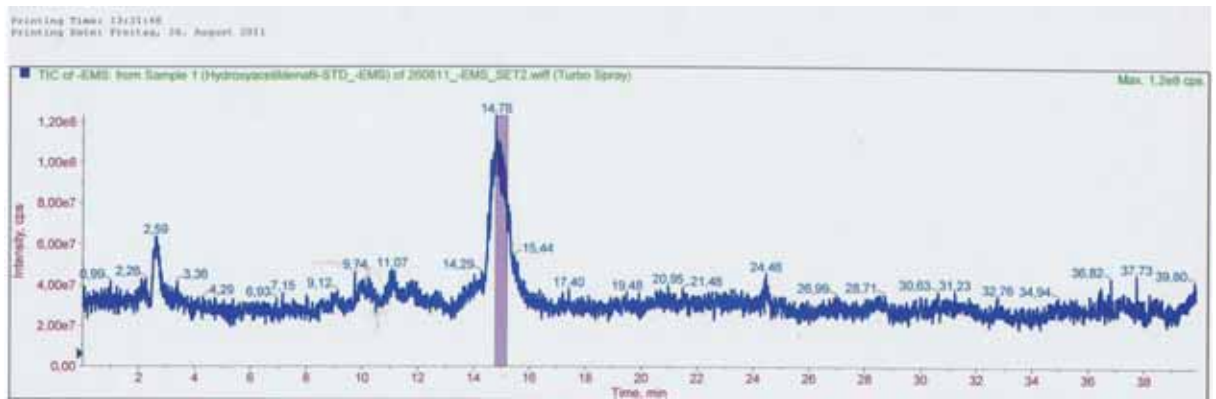


Abbildung 17. LC/MS Diagramm von Hydroxyacetildenafil

Das vollständige Diagramm mit der Massenzahl ist im Anhang unter *Abbildung 6* zu finden. Die Untersuchung mit der EPI-Methode bei „Red Dragon“ verlief nahezu gleichzeitig und brachte dieselben Ergebnisse hervor. Das Übersichtsdiagramm und die Massenzahlen sind von *Abbildung 7* bis *14* im Anhang beigefügt.

4 Zusammenfassung

Die Untersuchungen und daraus resultierende Ergebnisse bestätigten die ersten Vermutungen: „Red Dragon“ ist ein Produkt, in dem illegale Abwandlungen der PDE-5-Hemmer, nämlich Oxoacetildenafil und Hydroxyacetildenafil, sichergestellt wurden (siehe *Abbildung 18* und *19* im Anhang). Diese Hemmer sind jedoch nicht in Deutschland zugelassen, was wegen der fehlenden medizinischen Untersuchungen eine potentielle Gefahr für den Verbraucher darstellt. Dennoch kann das LGL nur die Leute warnen, da es aufgrund der globalen Vernetzung dieser Organisation so gut wie unmöglich ist, sowohl Verkäufer als auch Hersteller zur Rechenschaft zu ziehen.

Eine Überraschung bot dagegen „eroXdoc“. Hier wurde Koffein als Hauptbestandteil entdeckt, jedoch keine PDE-5-Hemmer, obwohl sie als Bestandteil der Inhaltsstoffe vermutet wurden, da dieses Produkt für sexuelle Leistungssteigerung warb.

Als Bilanz der Untersuchung lässt sich sagen, dass „Red Dragon“ eine unbekannte Gefahr darstellt und „eroXdoc“ im Vergleich harmlos wirkt.

Abschließend zu diesen Untersuchungen und auch der Seminararbeit sollte noch erwähnt werden, dass die Leute sich nicht schämen sollten, diesbezüglich eine Apotheke aufzusuchen. Die Apotheke gewährt eine Sicherheit, welche eine Internetseite nicht bieten kann. Desweiteren ist das Wissen eines Apothekers von größerem Nutzen als irgendein Kommentar

in einem Blog. Das Risiko der Einnahme von unbekanntem Stoffen und deren Folgen ist nicht einzuschätzen und leicht zu vermeiden.

5 Literaturverzeichnis

- Bayrisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, 2011; URL: <<http://www.lgl.bayern.de/aktuell/presse/detailansicht.htm?tid=22058>> [Stand: 04.09.2011] [1]
- E. Merk; „Anfärbungsreagenzien für Dünnschicht- und Papierchromatographie“; 1983 [2]
- L. Blok-Tip, B. Zomer, F. Bakker, K.D. Hartog, M. Hamzink, J. ten Hove, M. Vredenbregt, D. de Kaste; „Structure elucidation of sildenafil analogues in herbal products“; 08.08.2004 [3]
- Prof. Dr. Rücker Gerhard, Priv.-Doz. Dr. Neugebauer Michael, Dr. Willems Günter Georg; „Instrumentelle pharmazeutische Analytik“; Stuttgart (Deutschland) 2001 [4]
- <<http://www.vitanet.de/f/12850/krankheiten-symptome/khk-angina-pectoris/arteriosklerose/arteriosklerose.jpg>> [Stand: 8.9.2011] [5]
- <http://de.wikipedia.org/wiki/Cyclisches_Guanosinmonophosphat> [Stand: 8.9.2011] [6]
- <<http://de.wikipedia.org/wiki/PDE-5-Hemmer>> [Stand: 8.9.2011] [7]
- <<http://de.wikipedia.org/wiki/Phosphodiesterase-5>> [Stand: 8.9.2011] [8]
- Zimmerman Melanie; URL:< <http://www.netdokter.de/Krankheiten/Erektile-Dysfunktion/Therapie/Erektile-Dysfunktion-PDE-5-Hem-3996.html>> [Stand: 8.9.2011] [9]

Anhang

RxSIL 5-MS
 Analyzed : 23.08.2011 10:22:27
 Sample Type : Unknown
 Sample Name : EroXdoc
 Sample ID : 110829-11
 Injection Volume : 1.00
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Verdachtsproben 2011\EroXdoc-Red Dragon\EroXdoc_110829-11_23.08.2011_1.qgd
 Method File : C:\GCMSsolution\Data\Verdachtsproben 2011\EroXdoc-Red Dragon\PDE5-Hemmer-SCAN_230811.qgm
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\110726_Tuning.qgt
 MS: Split 20
 110829\11; EroXdoc; PDE5-SCAN
 LM: CH2Cl2
 Sampler File Name: 100112 Flüssig1.PME

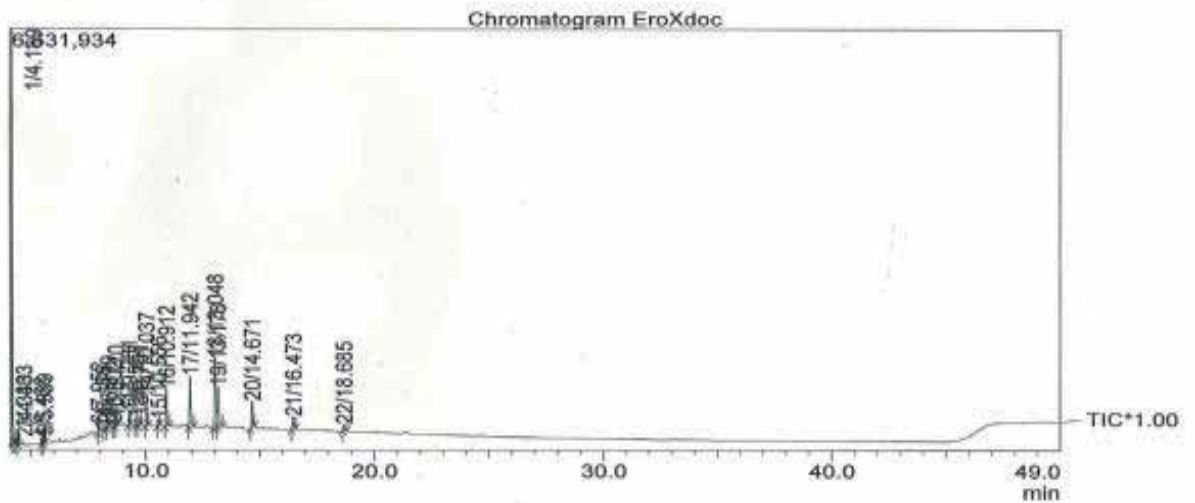
Method

===== Analytical Line 1 =====

Injektor-Temp.: 300.00
 Säulenofentemp.: 180.0
 Split: 20.0
 Säulenfluss: 1.37
 Oven Temp. Program

Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	180.0	0.00
15.00	300.0	37.00
25.00	320.0	5.00

Ion Source Temp.: 230.00
 Interface Temp.: 300.00



Peak#	R.Time	Area	Area%	Mark	Peak Report Name
1	4.189	11394133	34.08		Koffein
2	4.330	204502	0.61		unbekannt
3	4.433	395317	1.18		(Palmitinsäureester)
4	5.468	171801	0.51	V	(Linolsäureester)
5	5.589	176953	0.53	V	(Stearinsäureester)
6	7.952	267829	0.80		
7	8.175	196448	0.59		unbekannt
8	8.379	736007	2.20	V	unbekannt
9	8.602	227133	0.68		(langkett. Alkan)
10	8.710	269717	0.81		
11	9.281	523294	1.57		(langkett. Alkan)
12	9.557	326464	0.98		
13	9.751	363993	1.09		unbekannt
14	10.037	1300042	3.89		(langkett. Alkan)
15	10.556	333176	1.00		
16	10.912	1832324	5.48		(langkett. Alkan)
17	11.942	2881604	8.62		(langkett. Alkan)
18	13.048	5115958	15.30		Vitamin E
19	13.178	3214921	9.62	V	(langkett. Alkan)
20	14.671	1946890	5.82		(langkett. Alkan)
21	16.473	1055175	3.16		(langkett. Alkan)
22	18.685	498126	1.49		(langkett. Alkan)
		33431807	100.00		

Abbildung 1. GC/MS Ergebnisse von "eroXdoc"

RxiSIL 5-MS
 Analyzed : 23.08.2011 11:18:31
 Sample Type : Unknown
 Sample Name : Red Dragon
 Sample ID : 108047-11
 Injection Volume : 1.00
 Data File :
 C:\GCMSsolution\Data\Verdachtsproben 2011\EroXdoc-Red Dragon\Red Dragon_108047-11_23.08.2011_1.qgd
 Method File :
 C:\GCMSsolution\Data\Verdachtsproben 2011\EroXdoc-Red Dragon\PDE5-Hemmer-SCAN_230811.qgm
 Tuning File :
 C:\GCMSsolution\System\Tune1\110725_Tuning.qgt
 MS; Split 20
 108047/11; Red Dragon; PDE5-SCAN
 LM: CH2Cl2
 Sampler File Name : 100112 Flüssig1.PME

Method

==== Analytical Line 1 =====

Injektor-Temp.: 300.00

Säulenofentemp.: 180.0

Split: 20.0

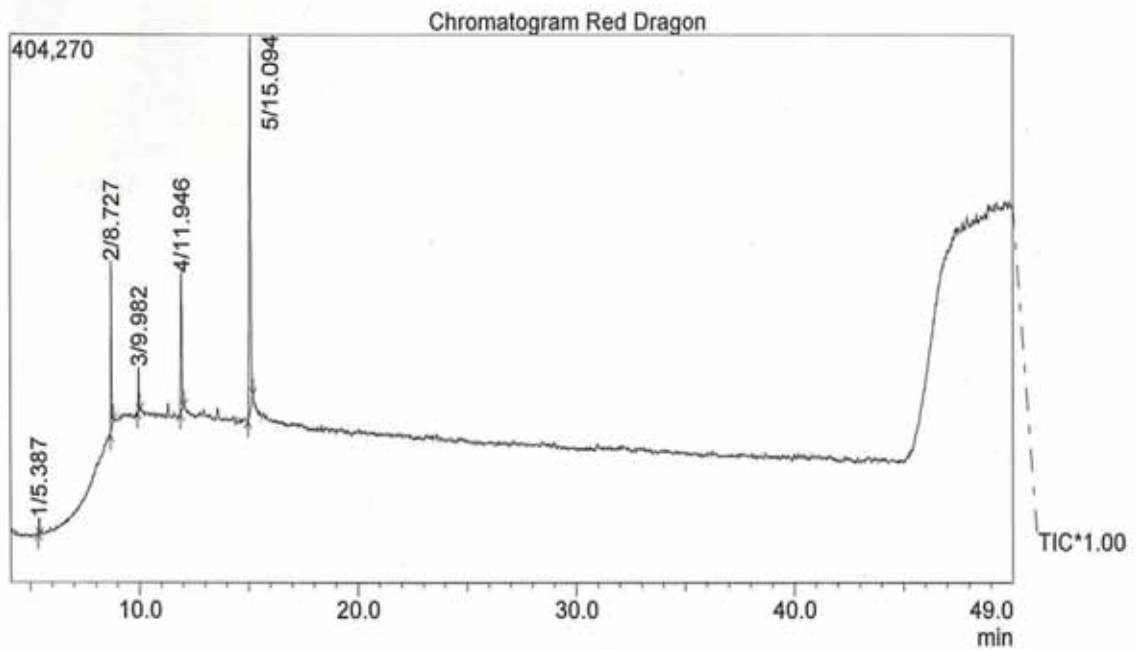
Säulenfluss: 1.37

Oven Temp. Program

Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	180.0	0.00
15.00	300.0	37.00
25.00	320.0	5.00

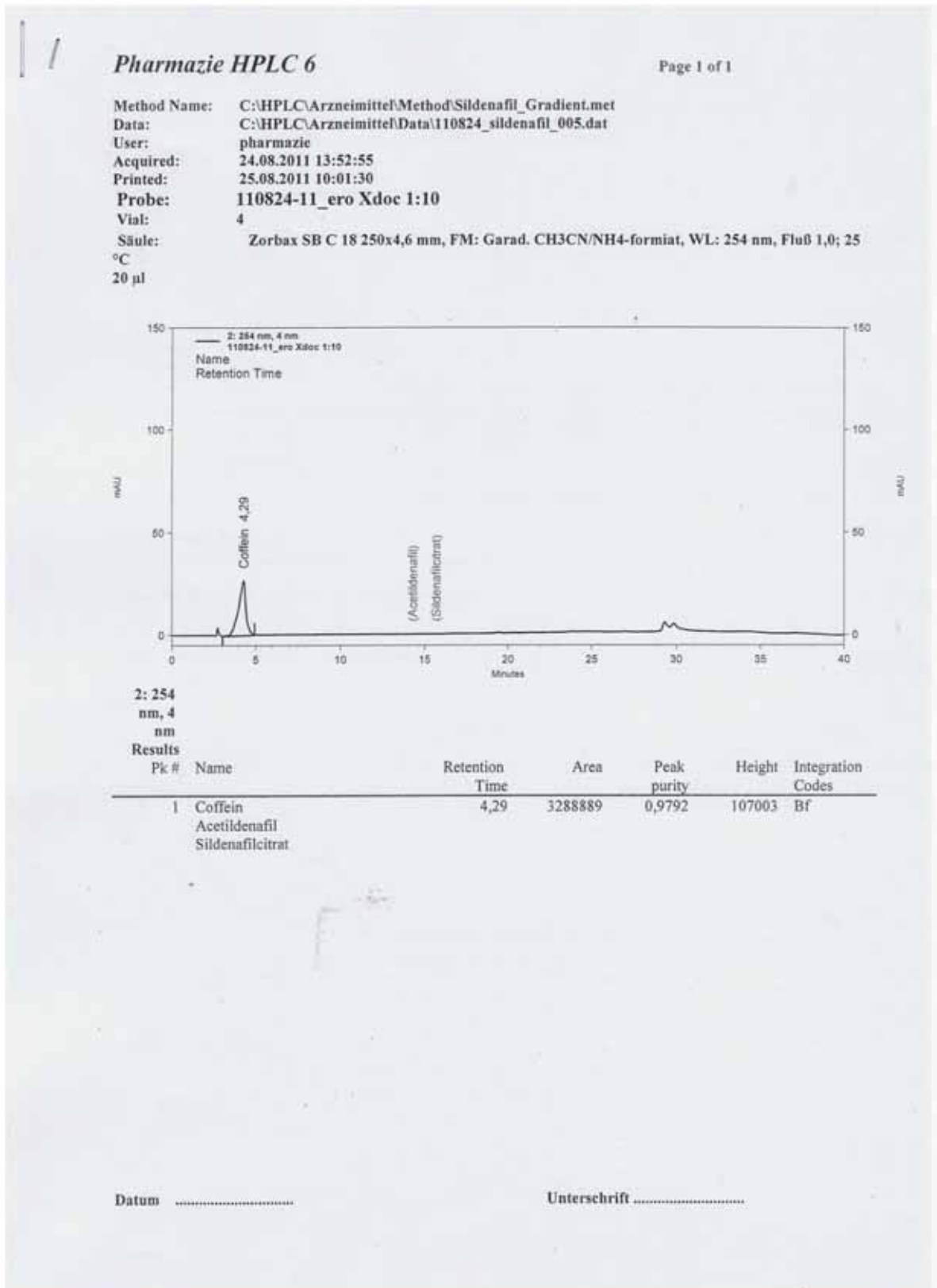
Ion Source Temp.: 230.00

Interface Temp.: 300.00



Peak#	R.Time	Area	Area%	Mark	Name
1	5.387	18590	0.93		unbekannt
2	8.727	257966	12.87		unbekannt
3	9.982	72688	3.63		unbekannt
4	11.946	363098	18.12		unbekannt
5	15.094	1291788	64.46		unbekannt
		2004130	100.00		

Abbildung 2. GC/MS Ergebnisse von "Red Dragon"



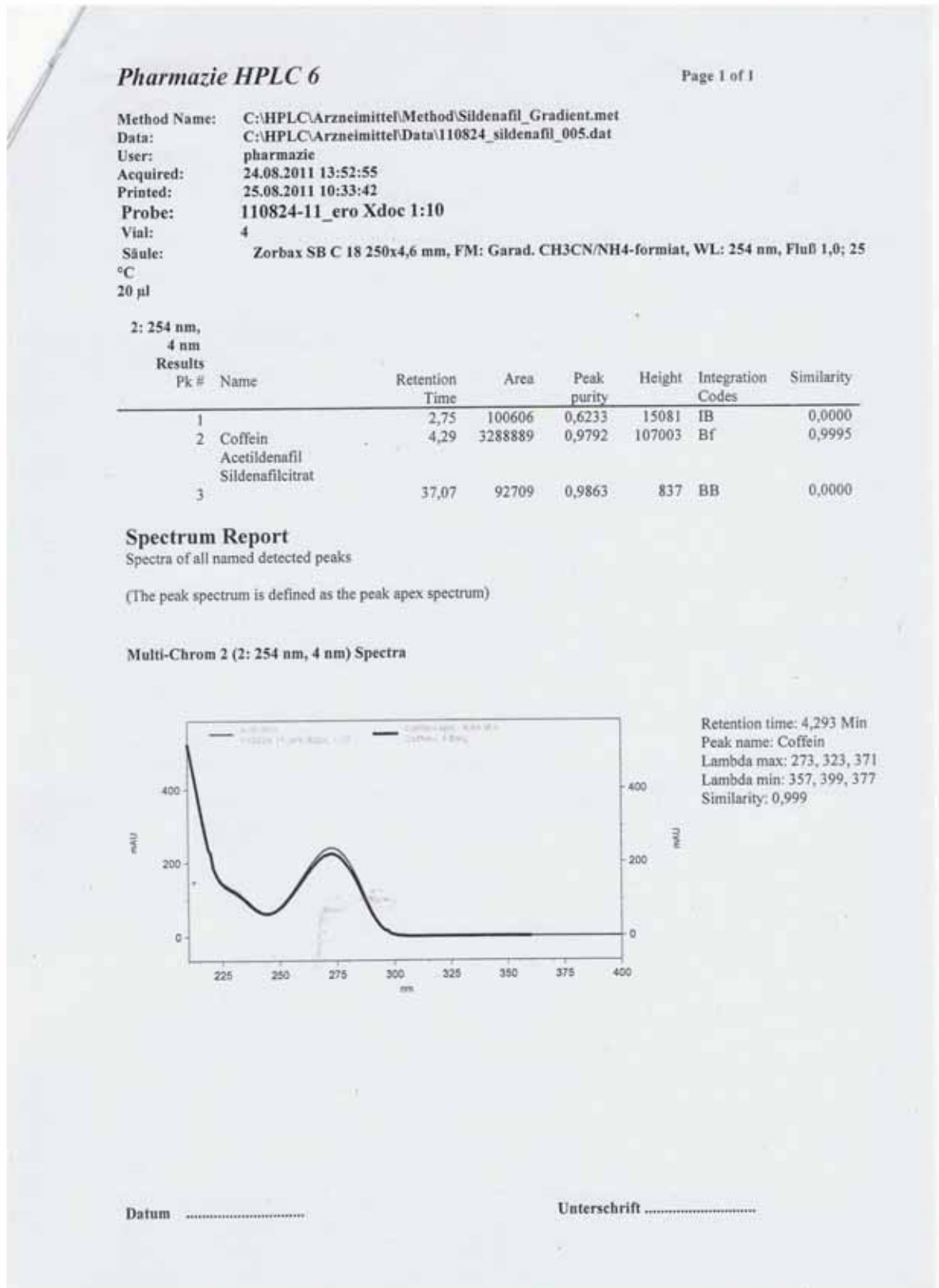


Abbildung 3. HPLC Ergebnisse von "eroXdoc" mit Diagramm und UV-Vis Spektrum des Peaks mit der Retentionszeit 4,29 min

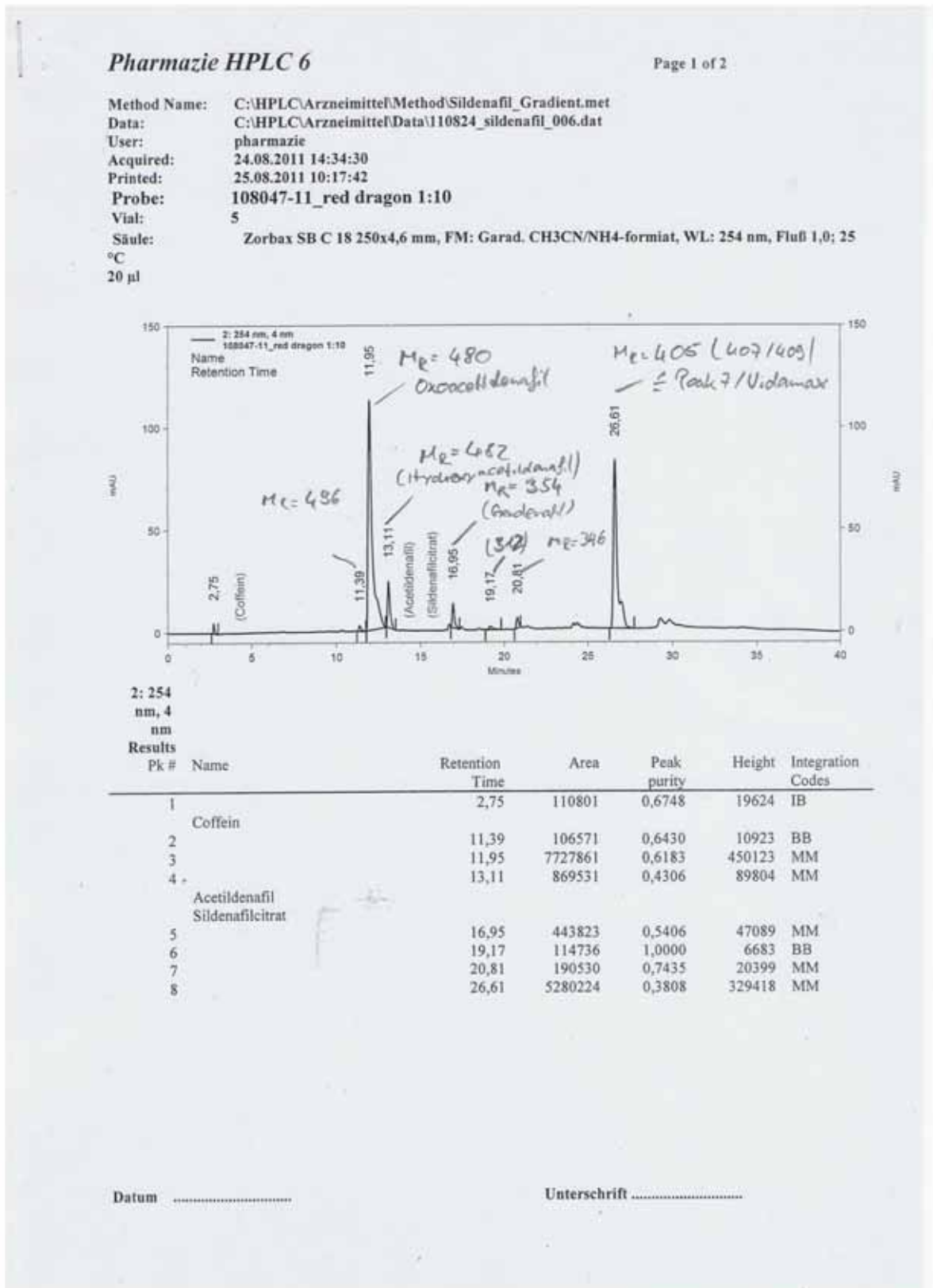


Abbildung 4. HPLC Ergebnisse von "Red Dragon" mit Diagramm

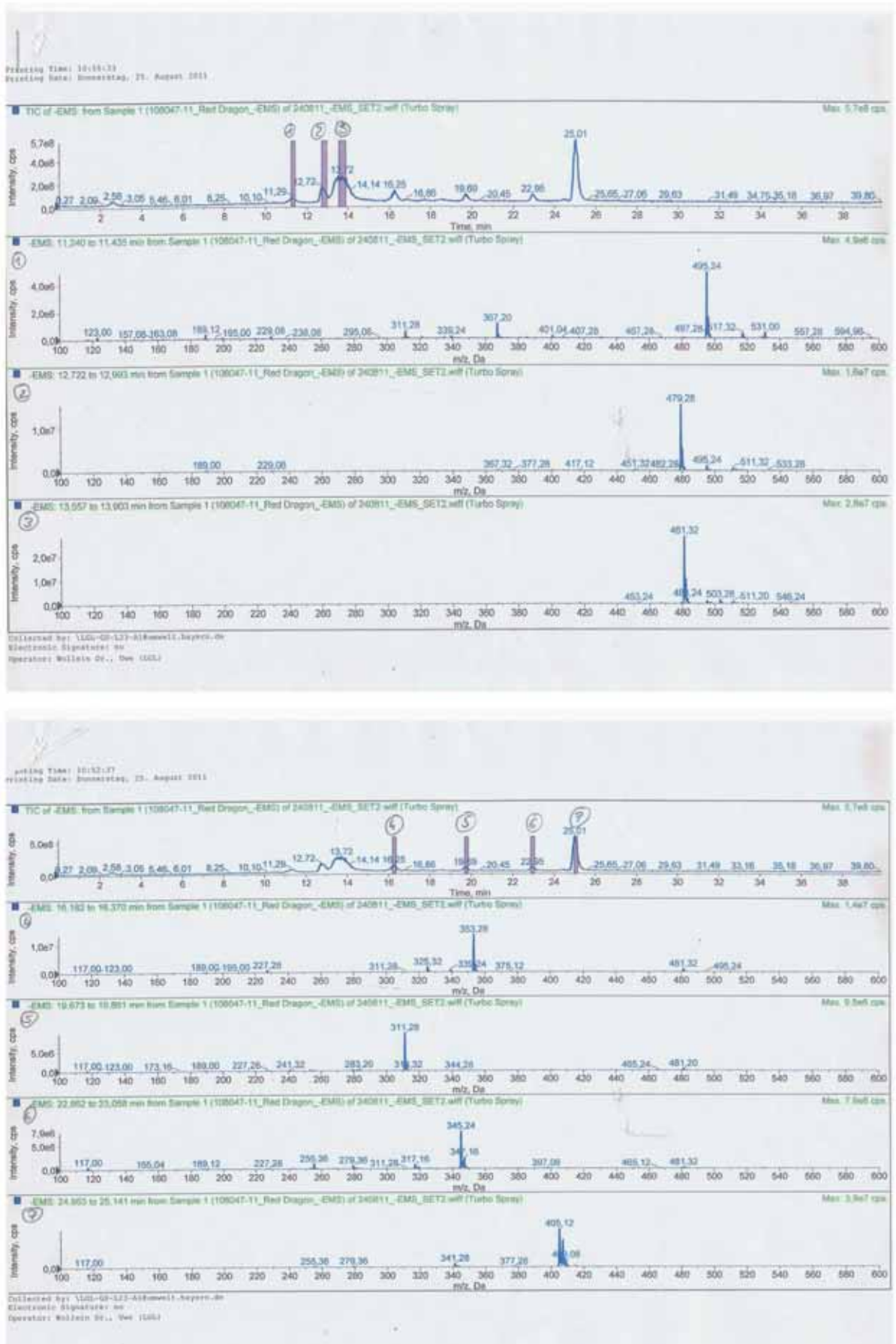


Abbildung 5. LC/MS Diagramm mit Massenzahlen der hervorgehobenen Peaks von „Red Dragon“

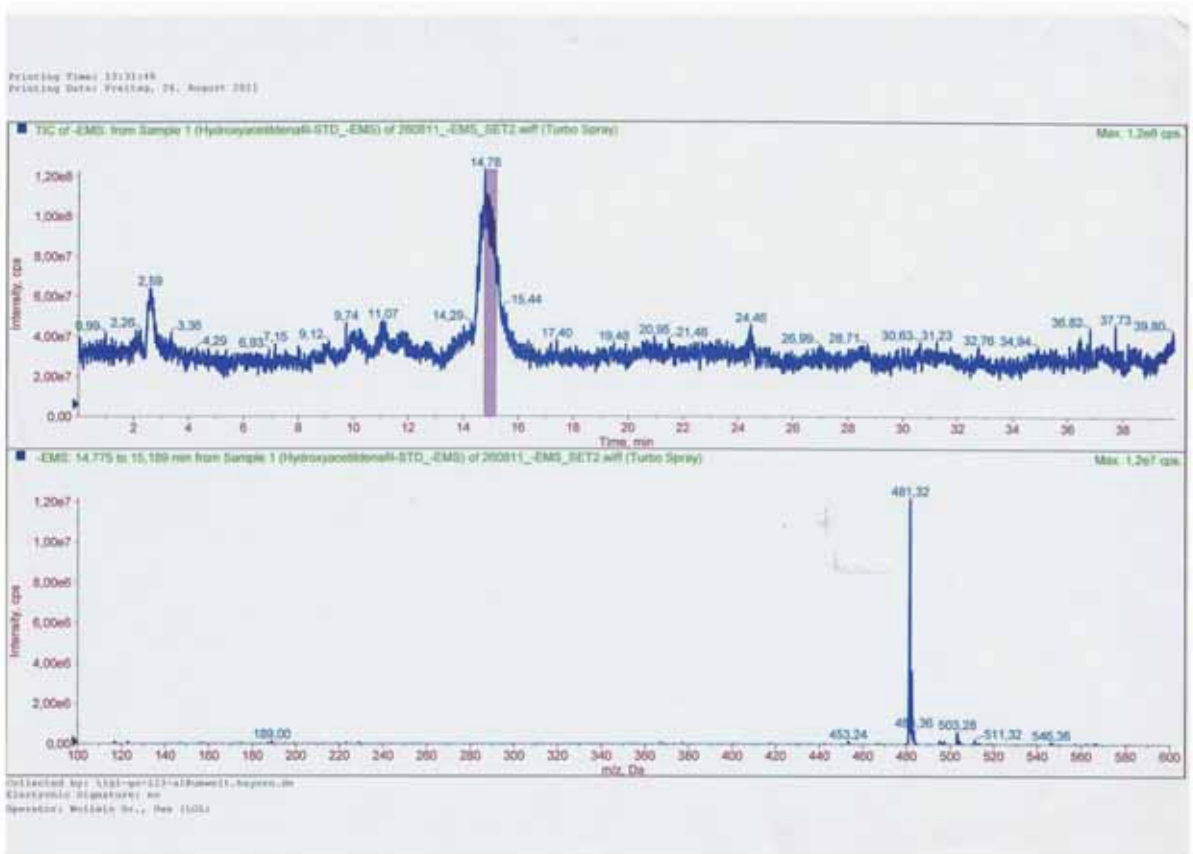


Abbildung 6. LC/MS Diagramm von Hydroxyacetildenafil mit dem EMS Parameter

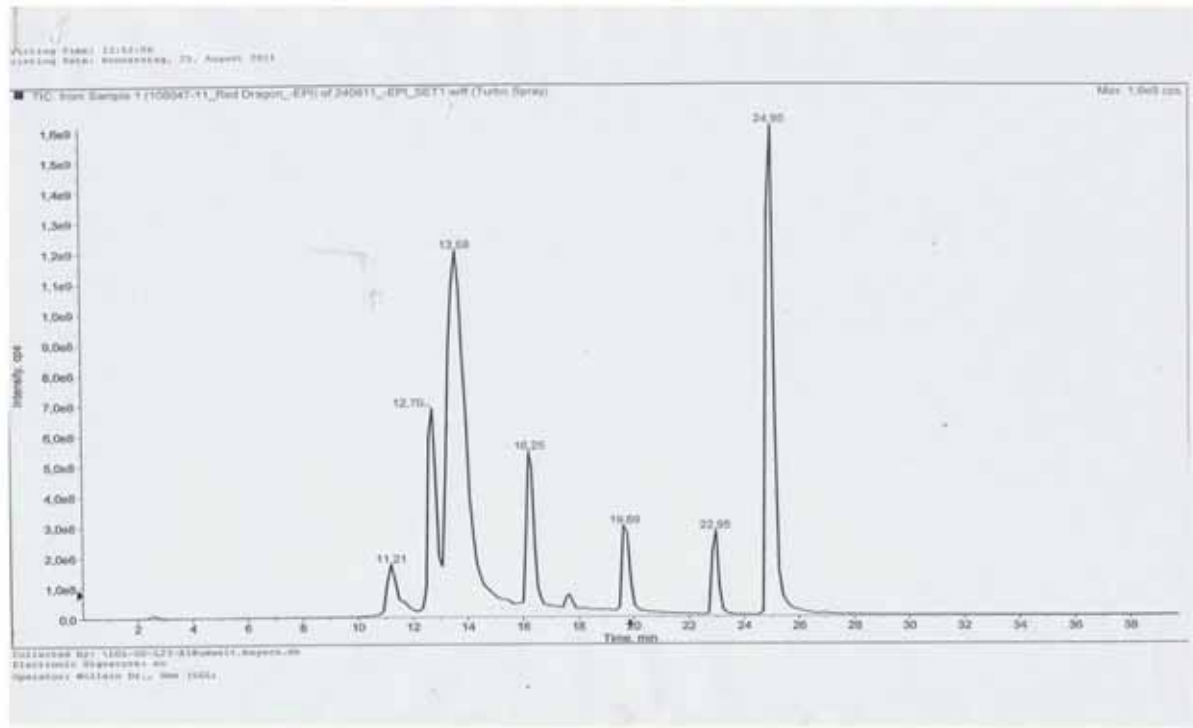


Abbildung 7. LC/MS Diagramm von "Red Dragon" mit EPI Parameter

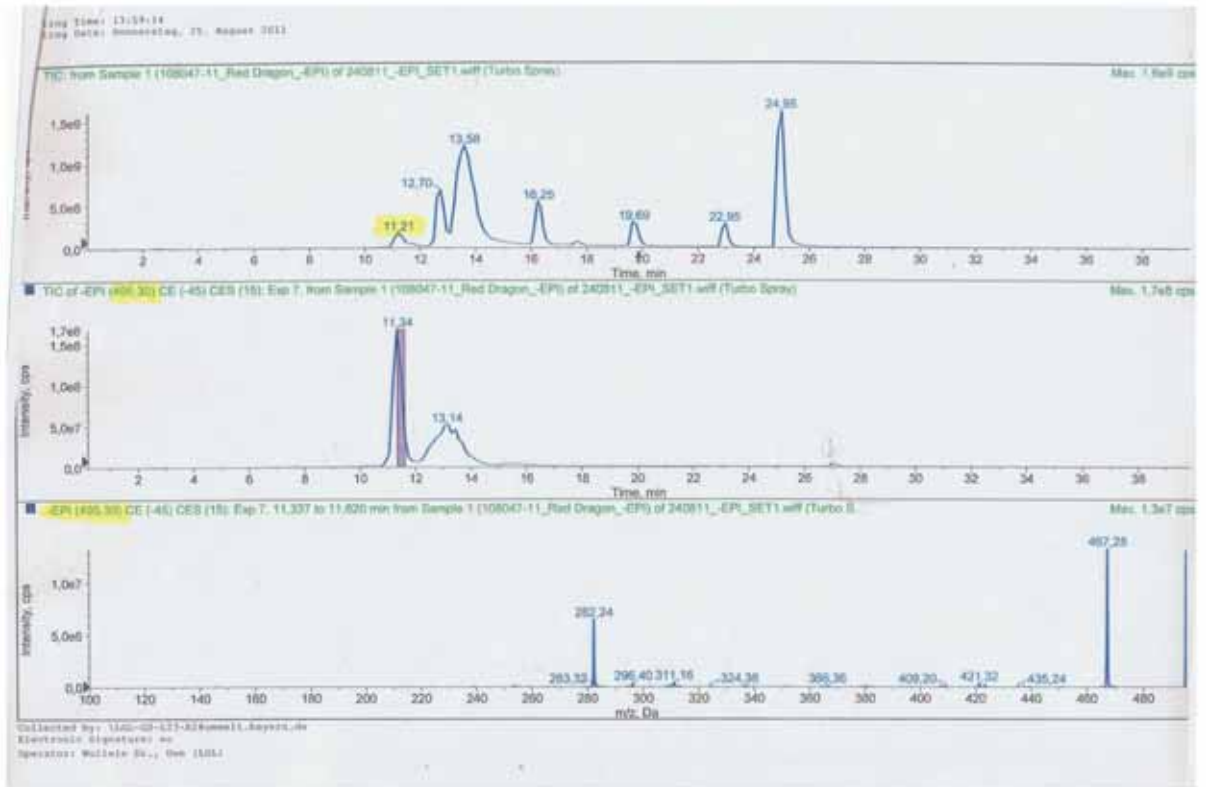


Abbildung 8. Vergrößerung des Peaks und Massenzahlen zur Retentionszeit 11,21min

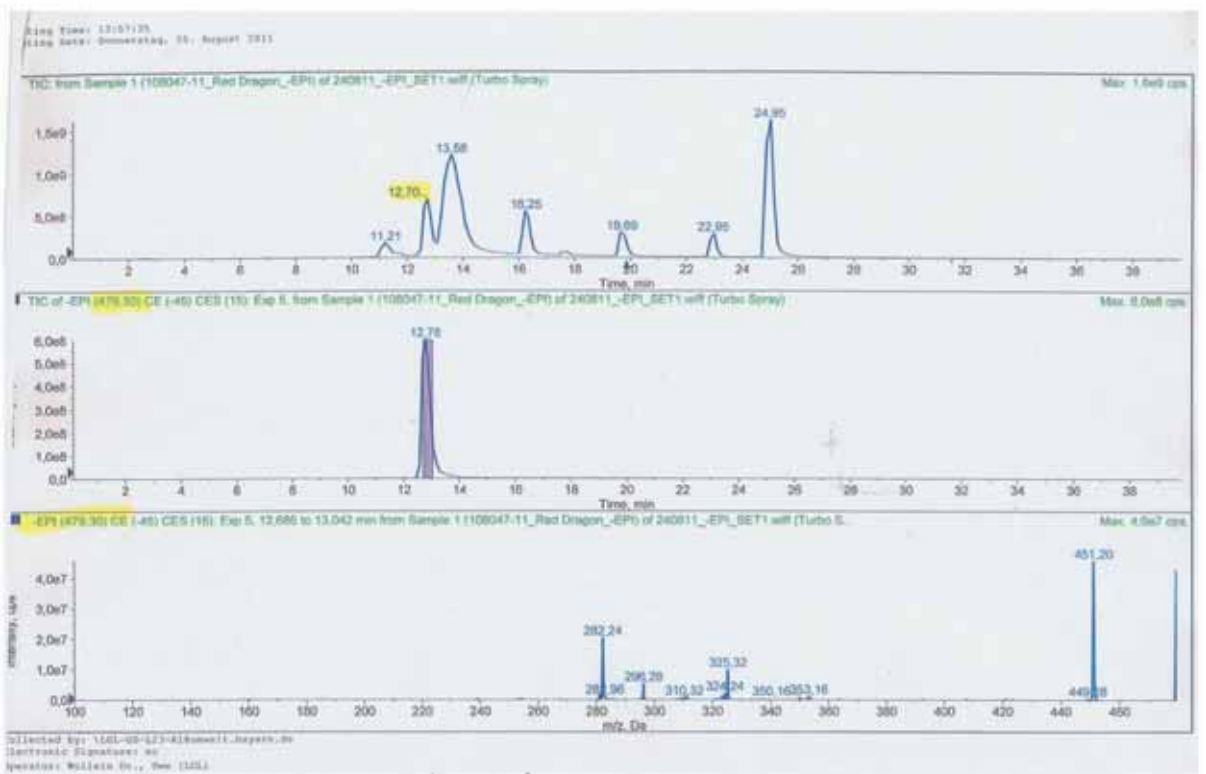


Abbildung 9. Vergrößerung des Peaks und Massenzahlen zur Retentionszeit 12,70 min

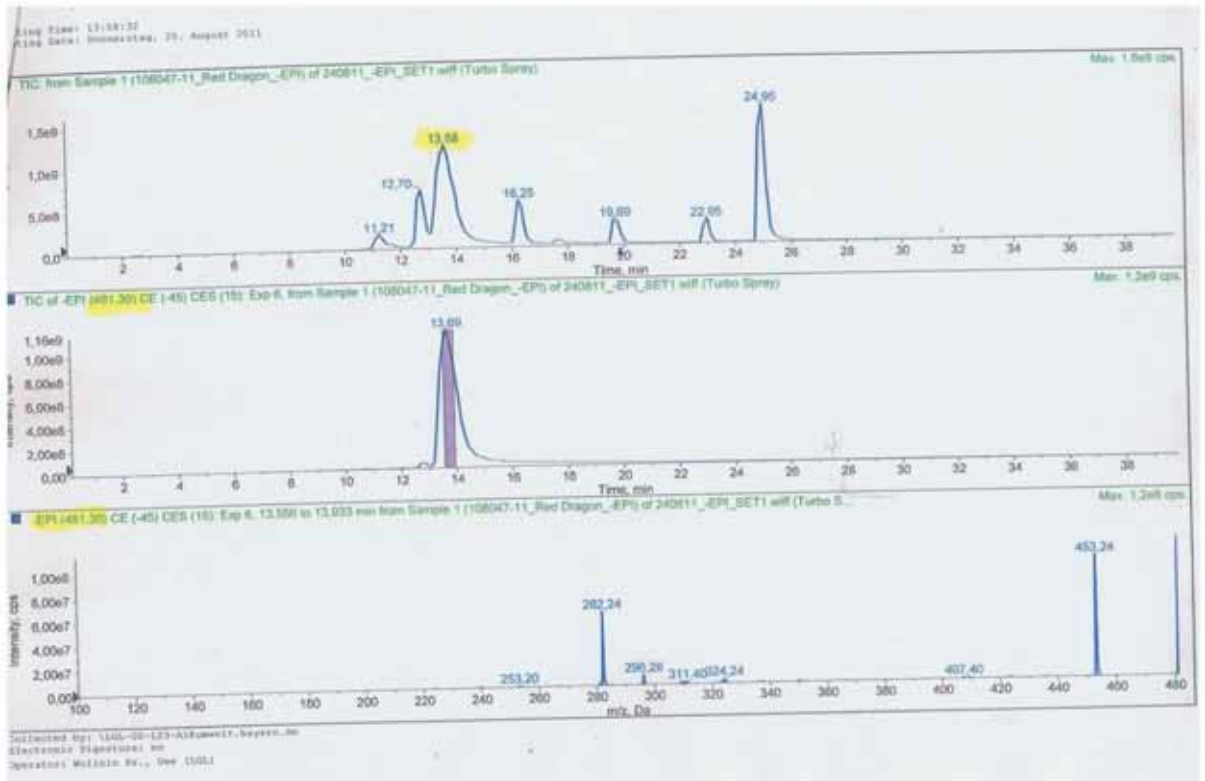


Abbildung 10. Vergrößerung des Peaks und Massenzahlen zur Retentionszeit 13,69 min

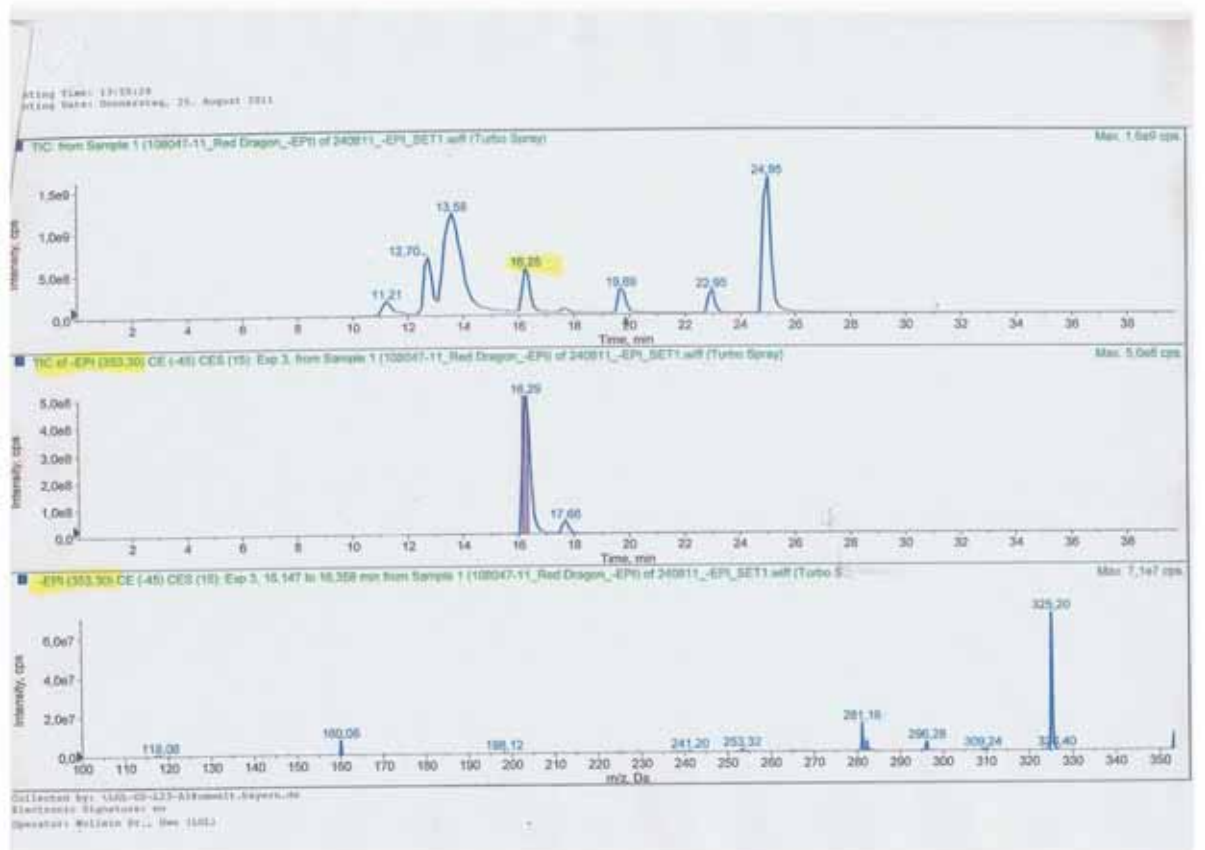


Abbildung 11. Vergrößerung des Peaks und Massenzahlen zur Retentionszeit 16,25 min

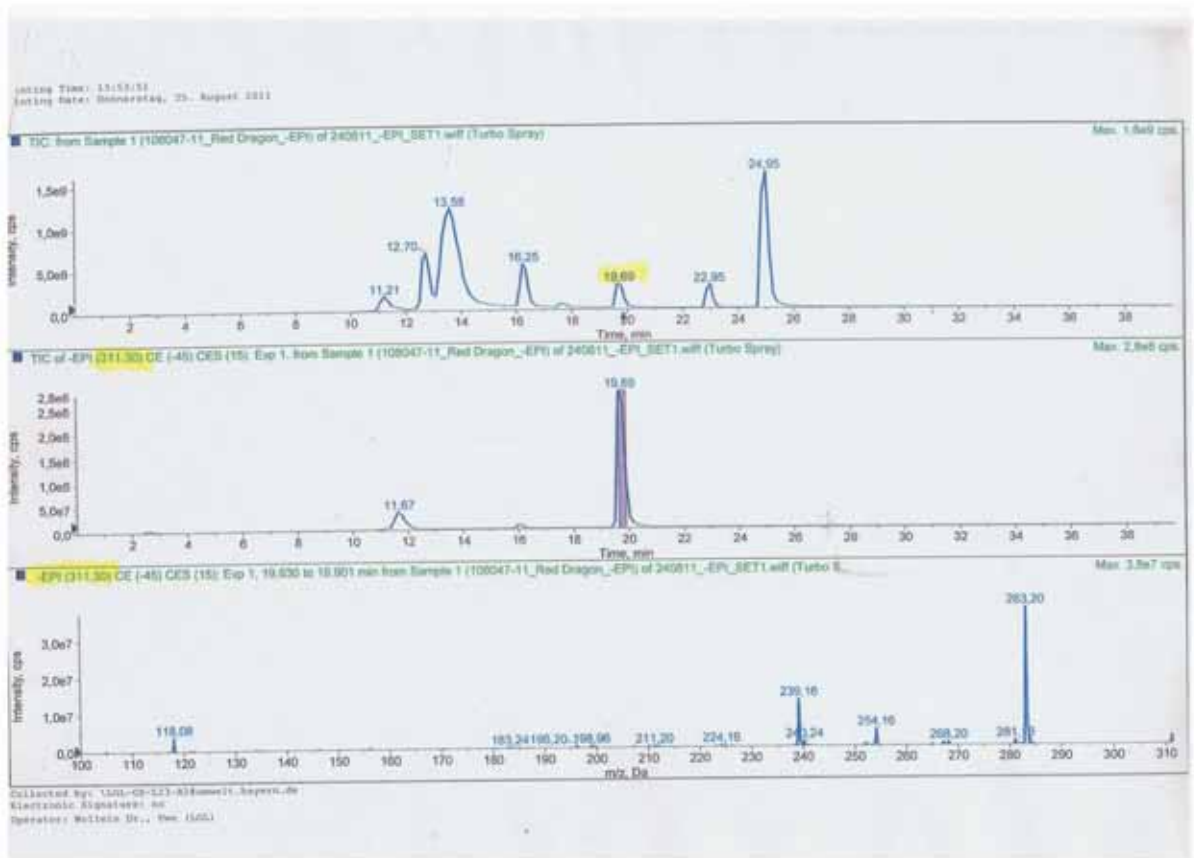


Abbildung 12. Vergrößerung des Peaks und Massenzahlen zur Retentionszeit 19,69 min

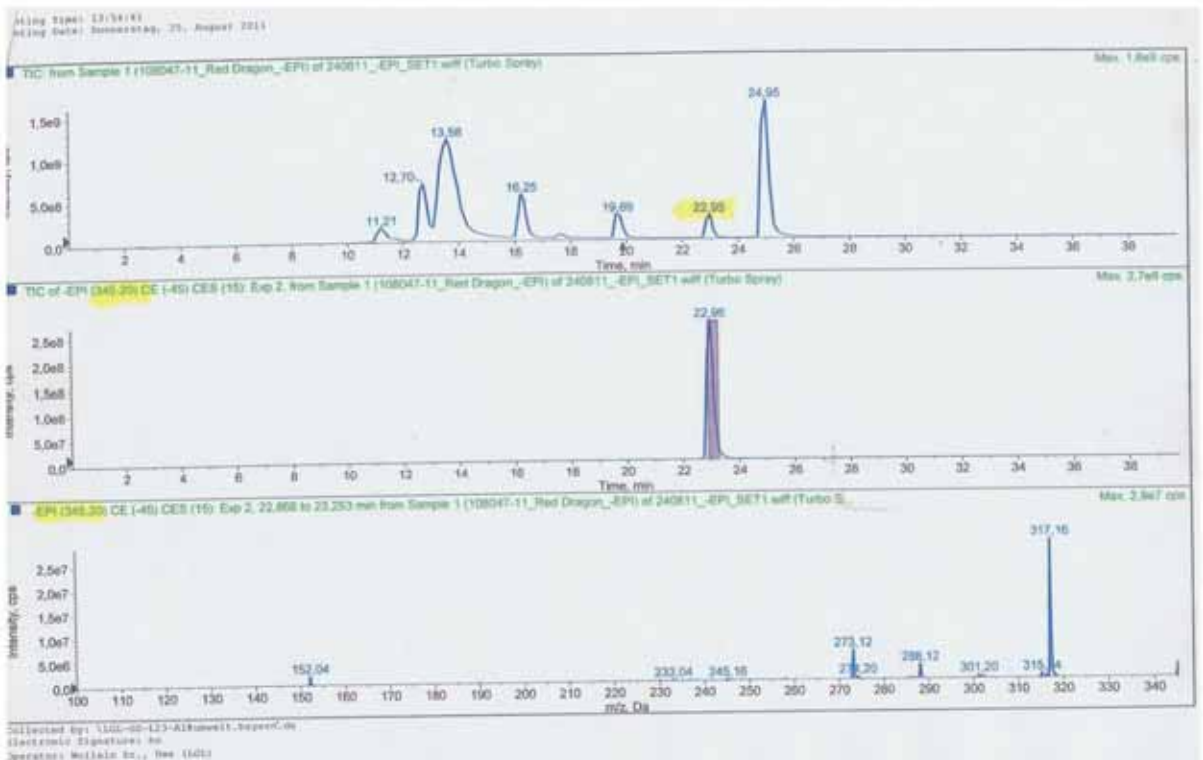


Abbildung 13. Vergrößerung des Peaks und Massenzahlen zur Retentionszeit 22,95 min

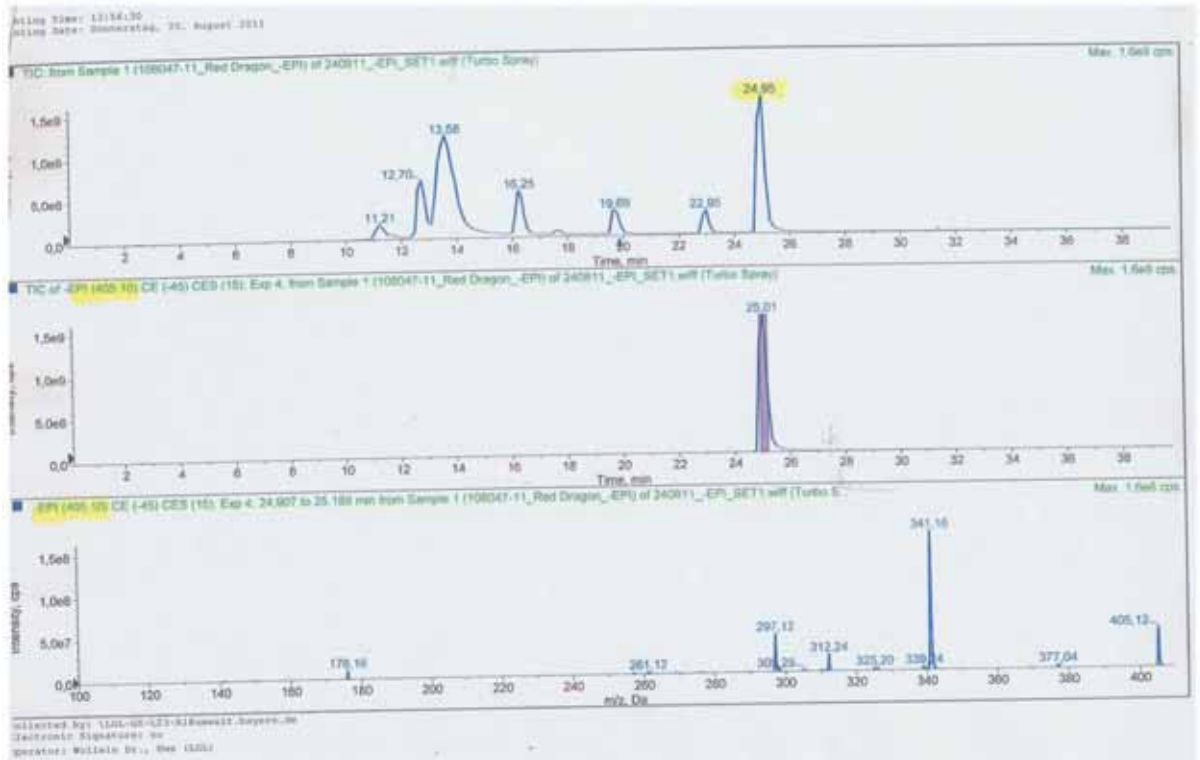


Abbildung 14. Vergrößerung des Peaks und Massenzahlen zur Retentionszeit 24,95 min

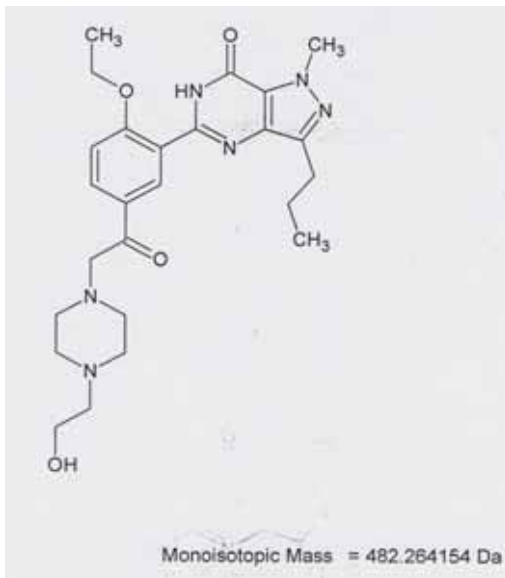


Abbildung 15. Struktur von Hydroxyacetildenafil

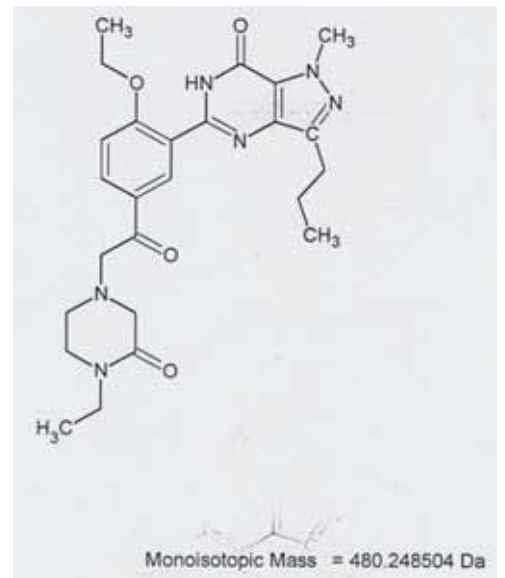


Abbildung 16. Struktur von Oxoacetildenafil

Erklärung

„Ich erkläre, dass ich die vorliegende Seminararbeit ohne fremde Hilfe angefertigt und nur die im Literaturverzeichnis angeführten Quellen und Hilfsmittel benützt habe.“

....., den

.....

(Unterschrift der Schülerin/des Schülers)