

基于小鼠的他达拉非体内分布与代谢规律研究

王燕燕*, 王子晨, 张 然, 肖 伟

北京警察学院刑事科学技术系, 北京

收稿日期: 2026年4月13日; 录用日期: 2026年4月28日; 发布日期: 2026年5月19日

摘 要

通过优化样本处理条件和仪器检测条件建立生物样本中他达拉非的LC-MS/MS检测方法, 研究其在小鼠体内的分布特征与代谢规律。分布实验设置低、中、高3组给药浓度, 给药2 h后取心、脑、肝、肾、肌肉5种组织检测; 代谢实验设置11个时间点, 监测给药后0.17~24 h血药浓度变化。结果显示: 他达拉非在小鼠体内分布规律为肝脏 > 肾脏 > 心脏 > 肌肉 > 大脑, 肝脏检出量最高(检出比率0.18%), 大脑最低(检出比率0.04%); 血药浓度于给药后0.33 h达峰, 0.5 h后缓慢下降, 24 h仍有药物残留。所建LC-MS/MS方法线性关系良好、灵敏度高、专属性强, 可用于生物样本中他达拉非的定性定量检测。本研究可为他达拉非相关中毒案件的法医学鉴定、检材选取与摄入量推断提供实验数据支撑。

关键词

他达拉非, LC-MS/MS, 体内分布, 代谢规律

Forensic Toxicological Study on the Distribution and Metabolism of Tadalafil in Mice

Yanyan Wang*, Zichen Wang, Ran Zhang, Wei Xiao

Department of Criminal Science and Technology, Beijing Police College, Beijing

Received: April 13, 2026; accepted: April 28, 2026; published: May 19, 2026

Abstract

An LC-MS/MS method for the determination of tadalafil in biological samples was established by optimizing sample preparation and instrumental detection conditions, and applied to investigate

*通讯作者。

文章引用: 王燕燕, 王子晨, 张然, 肖伟. 基于小鼠的他达拉非体内分布与代谢规律研究[J]. 药物化学, 2026, 14(2): 159-166. DOI: 10.12677/hjmce.2026.142016

its distribution characteristics and metabolic profiles in mice. For the tissue distribution study, three dose groups (low, medium, and high) were set, and five tissues including heart, brain, liver, kidney, and muscle were collected at 2 h after administration for analysis. For the pharmacokinetic study, 11 time points were designed to monitor plasma concentrations from 0.17 to 24 h post-dosing. The results showed that the tissue distribution pattern of tadalafil in mice was as follows: liver > kidney > heart > muscle > brain. The highest detection ratio was found in the liver (0.18%), while the lowest was in the brain (0.04%). The plasma concentration peaked at 0.33 h after administration, decreased slowly after 0.5 h, and drug residues were still detectable at 24 h. The established LC-MS/MS method exhibited good linearity, high sensitivity and strong specificity, which can be used for the qualitative and quantitative determination of tadalafil in biological samples. This study can provide experimental data support for forensic identification, sample selection and intake estimation in cases related to tadalafil poisoning.

Keywords

Tadalafil, LC-MS/MS, Distribution, Metabolic Profile

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

他达拉非(Tadalafil, 西力士)为灰白色晶体, 是环磷酸鸟苷特异性磷酸二酯酶 5 (PDE5)的选择性可逆抑制剂, 口服吸收快、半衰期长、生物利用度高, 临床应用超十年, 是治疗男性勃起功能障碍的常用药物, 与同类 PDE5 抑制剂相比选择性更高、副作用更少、药效更持久[1]-[3]。其常规剂量小、起效快、作用时间长, 在临床中应用广泛; 同时公安领域存在过量服用那非类药物致死案例, 而他达拉非在人体内的分布数据尚不完整, 开展其在小鼠体内器官分布及血液中代谢规律研究, 可为相关案件提供数据与科学支撑[4]。

液质联用法(HPLC-MS、LC-MS/MS)兼具色谱与质谱优势, 在那非类药物检测中应用广泛[5]-[7], 谢柏艳等[8]、杨坤等[9]分别建立该方法测定保健食品中多种 PDE5 抑制剂, 灵敏度与回收率良好, 徐风华等[10]则采用 LC-MS/MS 实现人血浆中他达拉非的高灵敏定量检测; 高效液相色谱法(HPLC)同样应用普遍, 沈志武等[11]、刘舜慧[12]、董跃伟[13]等分别建立 HPLC 方法, 可对保健食品、中成药中非法添加的他达拉非等成分实现有效分离与定量, 方法简便准确。此外, 拉曼光谱法[14]-[19]、GC-MS [20]-[23]、红外光谱法[24]-[26]、毛细管电泳法[27]、分光光度法[28]等也被用于那非类药物检测, 其中拉曼光谱、红外光谱等适用于体外检材及假药非破坏性检测, GC-MS 则凭借高灵敏度与快速解析优势得到广泛应用。

目前, 他达拉非检测以液相色谱 - 串联质谱(LC-MS/MS) [22] [29] [30]为主, 该方法灵敏度高、特异性强, 广泛应用于生物样本与保健品筛查。本研究整合体内分布与动态代谢两项实验, 建立稳定可靠的 LC-MS/MS 检测方法, 系统研究他达拉非在小鼠主要脏器的分布特征及血液中时序代谢规律, 为法医毒物分析提供基础数据。

2. 实验部分

2.1. 仪器与试剂

超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱仪(TSQ-Endura, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); VORTEX 2

涡旋振荡器(德国 IKA 公司); GL-21M 高速冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司), AL104 分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); 双频数控超声波清洗器 KQ-200VDE (昆山市超声仪器有限公司); 移液器 (Brand, 德国)。

他达拉非标准品与片剂; 甲醇、乙腈、甲酸、甲酸铵(色谱纯, Fisher); 实验用水为屈臣氏蒸馏水。实验动物为 SPF 级雄性 ICR 小鼠, 体重 30 ± 5 g。

2.2. 实验设计

体内分布实验: 设空白对照组与低(0.05 mg/mL)、中(0.5 mg/mL)、高(5 mg/mL) 3 个给药组, 每组 6 只小鼠, 经口灌胃 0.2 mL 药液。给药 2 h 后处死, 取心、脑、肝、肾、肌肉组织, -20°C 保存待测。

血液代谢实验: 设低(0.025 mg/mL)、中(0.05 mg/mL)、高(0.1 mg/mL) 3 组, 灌胃 0.2 mL 药液。于给药后 0.17、0.33、0.5、1、2、3、4、6、8、12、24 h 眼眶静脉丛采血, 血浆分离后冷冻保存。

2.3. 样本前处理

血液样本: 取 0.5 mL 血液于具盖离心管中, 加入 1.5 mL 的乙腈, 超声提取 20 min 后, 以不低于 12,000 r/min 转速离心 15 min, 离心后取上清液用有机系微孔滤膜过滤后供仪器分析。

组织样本: 准确称取检材(心脏、肝脏、大脑、肾脏、肌肉) 50 mg 于研磨管中, 加入 8 粒研磨珠, 68 w 功率研磨 40 s(间隔 10 s)循环 3 次; 研磨后按照检材溶剂 1:3 的比例加入乙腈 150 μL , 进行超声 20 min; 后 12,000 r/min 离心 10 min, 上清液用有机系微孔滤膜过滤后供仪器分析。

2.4. 仪器条件

2.4.1. 液相色谱条件

色谱柱: ZORBAX XDB-C18 (50 mm \times 2.1 mm \times 5 μm)流速: 0.3 mL/min; 柱温: 30°C ; 进样体积: 5 μL ; 流动相 A: 5 mmol/L 甲酸铵-0.1%甲酸水溶液; 流动相 B: 含 0.1%甲酸的乙腈溶液; 流速: 0.3 mL/min; 进样量: 1 μL ; 洗脱: 梯度洗脱, 梯度洗脱条件见表 1。

Table 1. Elution conditions
表 1. 洗脱条件

时间/min	流动相 A	流动相 B
0.5	90.0%	10.0%
2.00	60.0%	40.0%
4.00	20.0%	80.0%
6.00	0.0%	100.0%
8.00	0.0%	100.0%

2.4.2. 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源(ESI); 扫描方式: 正离子扫描; 检测方式: 多反应监测(MRM); 电喷雾电压: 3500 V; 雾化器压力: 45 psi; 干燥气温度: 300°C ; 干燥气流速: 5 L/min; 鞘气加热温度与鞘气流量: 250°C , 11 L/min; 他达拉非定量离子对 390.2 > 268.1, 定性离子对 390.2 > 204.1。

3. 结果与讨论

3.1. 实验条件优化

3.1.1. 样本预处理

沉淀蛋白法的考查：通过参考文献中所列方法[31]，并考察了甲醇、乙腈及两种溶剂混合溶液沉淀蛋白的效果，结果表明乙腈对于血液中的蛋白质沉淀更完全，对于他达拉非的检测效果最好。

3.1.2. 色谱条件优化

仪器分析条件的考查：对比水-乙腈、水-甲醇、甲酸铵/甲酸水-乙腈、以及甲酸铵/甲酸水-甲酸/乙腈等流动相体系，并优化梯度洗脱程序，结果表明采用 2.4.1 液相色谱条件分离效果最佳；通过考查不同质谱参数，采用 2.4.2 检测条件目标物信号强度最佳。

3.2. 方法学验证

取 50 mg 小鼠肝脏空白检材，按 2.3 方法操作后，进样分析得到肝脏空白色谱图，见图 1；取 50 mg 小鼠灌胃高浓度(5 mg/mL)他达拉非水溶液的肝脏检材，按 2.3 方法操作后，进样分析得到肝脏样本色谱图，见图 2。

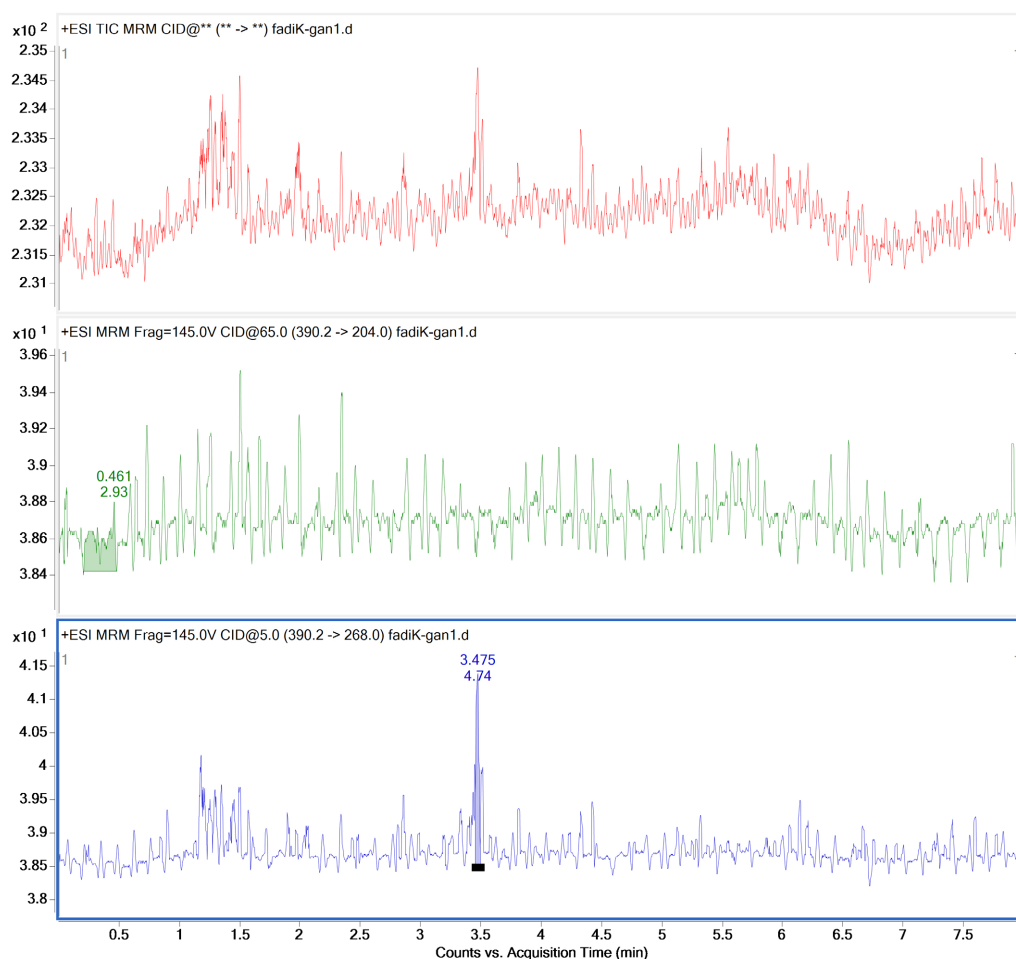


Figure 1. LC-MS chromatogram of liver from mice in the blank control group

图 1. 空白对照组小鼠肝脏 LC-MS 色谱图

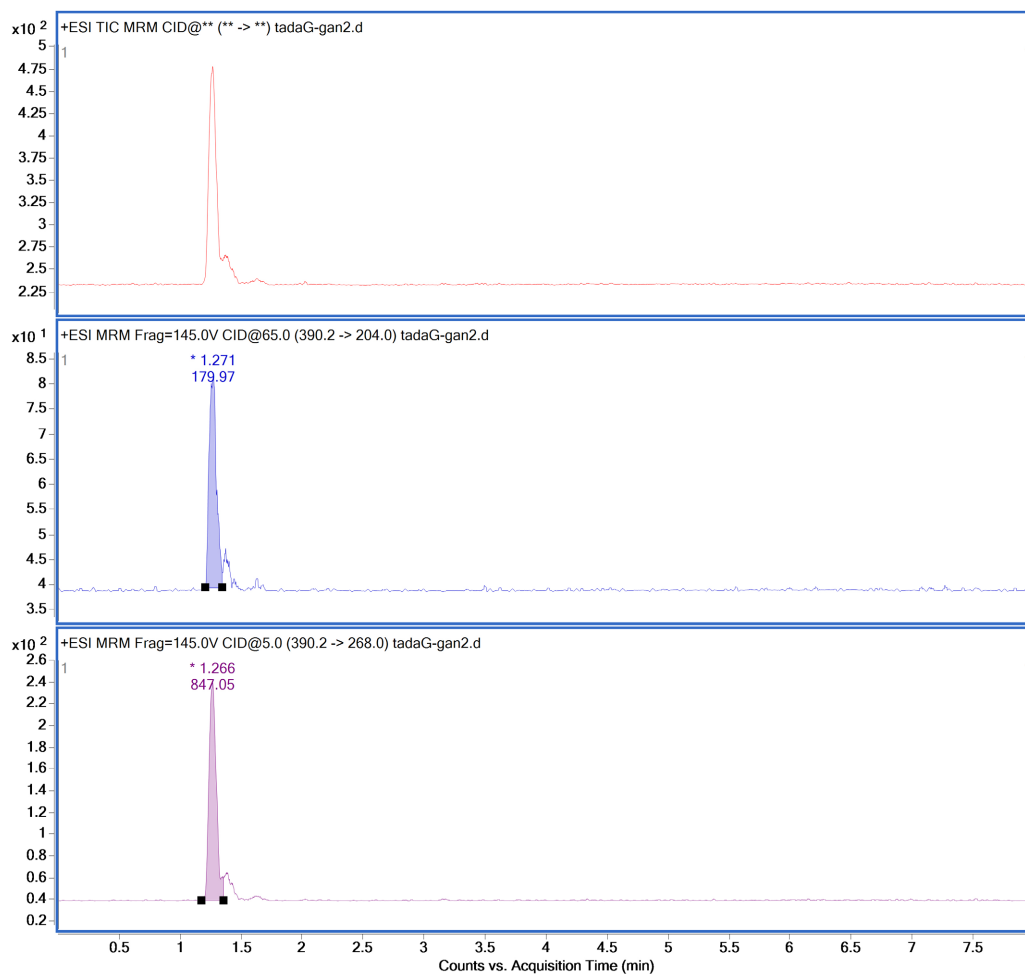


Figure 2. LC-MS chromatogram of liver from mice administered with medium dose via Gavag
图 2. 灌胃中浓度小鼠肝脏 LC-MS 色谱图

由上图可知，灌胃中浓度小鼠肝脏样本他达拉非提取离子色谱峰出峰位置 1.266 min，在空白小鼠肝脏色谱图中不存在干扰，表明该方法具有良好的专属性。

血液样本经沉淀蛋白后 LC-MS 检测的工作曲线、线性范围、检出限及精密度详见表 2。

Table 2. Working curve equation, linear range, limit of detection and precision after protein precipitation in blood samples
表 2. 血液样本沉淀蛋白后的工作曲线方程、线性范围、检出限及精密度

目标物	回归方程	线性范围		r^2	RSD (n = 5)/%		
		ng/mL			1 ng/mL	10 ng/mL	100 ng/mL
他达拉非	$y = 23.673x - 245.47$	10~2000		0.999	12	7.8	5.8

3.3. 他达拉非在小鼠血液中的代谢规律

按照 2.2 实验方案，将获取的不同灌药浓度的 11 个时间点的血液样本进行处理后，LC-MS/MS 检测，以他达拉非浓度对时间作图，得到药物浓度随时间变化情况，见图 3。

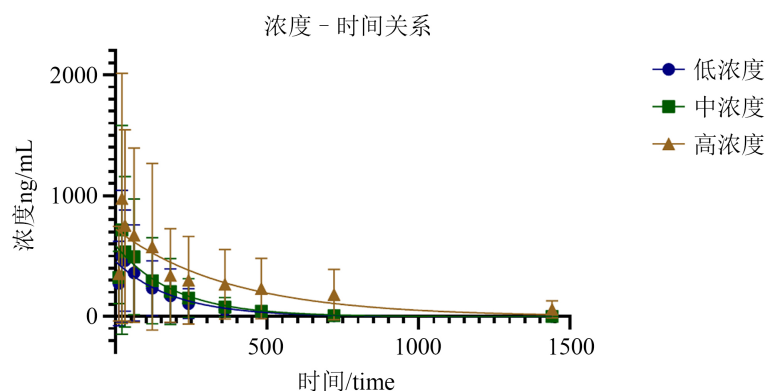


Figure 3. Blood metabolism of tadalafil in mice after intragastric administration at different concentration

图 3. 不同浓度他达拉非灌胃小鼠血液代谢情况

由图 3 可以看出, 3 种浓度均在给药后 0.33 h 达血药峰浓度, 0.5 h 后缓慢下降, 2~24 h 下降平缓, 24 h 仍可检出药物残留。整体代谢趋势符合二室模型, 吸收快、消除慢, 与人体药代动力学特征一致, 可用于推断服药时间与剂量。

3.4. 他达拉非在小鼠体内的分布

按照 2.2 实验方案提取各脏器组织, 按照 2.3 进行样本处理后采用本文建立的 LC-MS/MS 分析方法进行检测, 他达拉非在各检材中分布情况如图 4 所示, 高浓度药物摄入 - 检出量关系如表 3 所示。

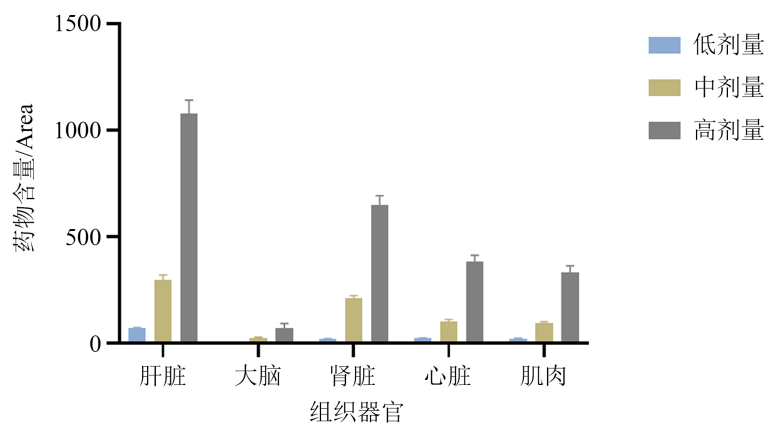


Figure 4. Drug distribution in various organs of mice at different doses

图 4. 不同剂量小鼠各脏器药物分布情况

图 4 表明, 给药 2 h 后, 各组织他达拉非含量规律为: 肝脏 > 肾脏 > 心脏 > 肌肉 > 大脑。在小鼠体内呈现肝脏富集、肾脏排泄、血脑屏障透过性低的典型分布特征, 组织药物含量随给药剂量升高而显著增加, 具有明确剂量 - 效应关系。药物在体内代谢后, 产生的代谢产物会通过肾脏、胆汁等途径进行排泄。其中, 肾脏是主要的排泄器官, 通过尿液将代谢产物排出体外[32]。因此药物在肝、肾中分布较多。其中低浓度大脑当中未检出, 可能由于检出比率过低, 但他达拉非具有穿透血脑屏障的能力, 所以当浓度增大时可以检出; 肾脏中他达拉非含量略低于心脏和肌肉, 这可能跟个体差异有关, 此外, 药物摄入浓度越大, 对该组织器官的作用就越强, 差异性就越大。

Table 3. Analysis of intake and detected amounts**表 3.** 摄入 - 检出量分析情况

摄入量 ($\mu\text{g/g}$)	检材	肝脏		大脑		肾脏		心脏		肌肉	
		检出量 (ng/g)	检出比率 (%)	检出量 (ng/g)	检出比率 (%)	检出量 (ng/g)	检出比率 (%)	检出量 (ng/g)	检出比率 (%)	检出量 (ng/g)	检出比率 (%)
30		56.04	0.18	13.45	0.04	37.93	0.13	26.56	0.08	24.53	0.08

表 3 表明, 各器官组织检出量与检出比率关系为肝脏 > 肾脏 > 肾脏 > 心脏 > 肌肉 > 大脑。这也可以解释低浓度脑中未检出的现象。低浓度组大脑未检出, 提示他达拉非可透过血脑屏障, 但分布量低。肝脏为主要代谢器官, 药物富集度最高; 肾脏为主要排泄器官, 药物残留次之。该结果可为案件检材优先选取提供依据: 优先送检肝脏、肾脏, 其次为心脏、肌肉、大脑。

4. 结论

本研究建立的 LC-MS/MS 方法简便、灵敏、专属, 可用于生物样本中他达拉非的定性定量分析。他达拉非在小鼠体内主要分布于肝脏、肾脏, 含量依次为肝脏 > 肾脏 > 心脏 > 肌肉 > 大脑; 血药浓度 0.33 h 达峰, 消除缓慢, 24 h 仍有残留。研究结果可为他达拉非非法添加案件、中毒死亡案件的法医学鉴定、检材选择、服药时间与摄入量推断提供科学数据支撑。

声明

动物的使用和动物实验步骤均已通过伦理委员会审批(伦理号: IACUC-AMSS-20230201-01)。

基金项目

北京市公安局技术研究项目: 药物辅助犯罪案件中常见镇静催眠药物的分析方法研究(2025CX27006)。

参考文献

- [1] 王敏, 邵艳玲, 张丽, 等. 他达拉非片在中国健康受试者中的人体生物等效性研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(16): 2383-2387.
- [2] 李筱旻, 易志恒, 张彦新, 等. 他达拉非片在健康男性受试者的生物等效性研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2021, 26(11): 1279-1284.
- [3] 吴俊杰, 战明威, 商学军. 他达拉非治疗勃起功能障碍临床应用研究进展[J]. 中华男科学杂志, 2025, 31(10): 942-950.
- [4] 李兴锋, 刘宁国, 谢恒志, 等. 服用西地那非诱发冠心病猝死 1 例[J]. 法医学杂志, 2010, 26(4): 310-311.
- [5] 蔡丽娟, 李利飞, 朱莉. 液质联用法在补肾壮阳类中药制剂化学成分检测中的价值[J]. 智慧健康, 2023, 9(14): 31-34.
- [6] 宋妮, 王灵芝, 于柳, 等. 液质联用法在药理学实验教学中的应用[J]. 实验室科学, 2022, 25(5): 55-58+62.
- [7] 吕锦绣, 徐文俊, 赵静, 等. 液质联用法同时测定人血浆中 5 种抗菌药物及其在重症患者中的应用[J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44(11): 1270-1276.
- [8] 谢柏艳, 覃娟, 杨玉平. 液质联用法检测保健食品中非法添加的 13 种 5 型磷酸二酯酶抑制剂[J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(13): 1542-1545.
- [9] 杨坤, 张建场, 石庆楠. 超高效液相色谱-串联质谱法测定壮阳类保健品中非法添加的 5 种 5 型磷酸二酯酶抑制剂[J]. 理化检验化学分册, 2018, 54(6): 703-707.
- [10] 徐风华, 黄明. 液相色谱-质谱联用法快速测定人血浆中他达拉非浓度[J]. 中国医药科学, 2023, 13(11): 78-81.
- [11] 沈志武, 唐宏兵, 李群, 等. 高效液相色谱法测定保健食品中他达拉非、西地那非、伐地那非违禁药物含量[J].

理化检验(化学分册), 2008(6): 540-542.

- [12] 刘舜慧. 高效液相色谱法同时检测壮阳中成药中西地那非和他达拉非[J]. 海峡药学, 2018, 30(3): 26-28.
- [13] 董跃伟. 高效液相色谱法测定中药制剂中西地那非和他达拉非含量[J]. 昆明医学院学报, 2009, 30(12): 41-44.
- [14] Zhao, H., Hasi, W., Bao, L., Han, S., Sha, X., Sun, J., *et al.* (2017) Rapid Detection of Sildenafil Drugs in Liquid Nutraceuticals Based on Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Technology. *Chinese Journal of Chemistry*, **35**, 1522-1528. <https://doi.org/10.1002/cjoc.201700168>
- [15] Xiao, S. and He, Y. (2019) Analysis of Sildenafil in Liquor and Health Wine Using Surface Enhanced Raman Spectroscopy. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article 2722. <https://doi.org/10.3390/ijms20112722>
- [16] Lin, L., Qu, F., Nie, P., Zhang, H., Chu, B. and He, Y. (2019) Rapid and Quantitative Determination of Sildenafil in Cocktail Based on Surface Enhanced Raman Spectroscopy. *Molecules*, **24**, Article 1790. <https://doi.org/10.3390/molecules24091790>
- [17] Zhao, H., Hasi, W., Bao, L., Han, S., Sha, X., Sun, J., *et al.* (2017) Cover Picture: Rapid Detection of Sildenafil Drugs in Liquid Nutraceuticals Based on Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Technology. *Chinese Journal of Chemistry*, **35**, 1479-1479. <https://doi.org/10.1002/cjoc.201770101>
- [18] Trefi, S., Routaboul, C., Hamieh, S., Gilard, V., Malet-Martino, M. and Martino, R. (2008) Analysis of Illegally Manufactured Formulations of Tadalafil (Cialis) by ¹H NMR, 2D DOSY ¹H NMR and Raman Spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **47**, 103-113. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.12.033>
- [19] 王玉, 曹玲, 罗疆南. 显微共聚焦拉曼光谱法检测非法添加的化学壮阳药[J]. 中国药理学杂志, 2011, 46(10): 5.
- [20] Saisho, K., Scott, K.S., Morimoto, S. and Nakahara, Y. (2001) Hair Analysis for Pharmaceutical Drugs. II. Effective Extraction and Determination of Sildenafil (Viagra) and Its N-Desmethyl Metabolite in Rat and Human Hair by GC-MS. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **24**, 1384-1388. <https://doi.org/10.1248/bpb.24.1384>
- [21] Inoue, H., Kanamori, T., Kuwayama, K., Iwata, Y.T., Satoh, T., Yanagihori, A., *et al.* (2008) Chemical Profile of Sildenafil and Related Compounds. *Japanese Journal of Forensic Science and Technology*, **13**, 73-82. <https://doi.org/10.3408/jafst.13.73>
- [22] Damiano, F., Silva, C., Gregori, A., Vacondio, F., Mor, M., Menozzi, M., *et al.* (2014) Analysis of Illicit Dietary Supplements Sold in the Italian Market: Identification of a Sildenafil Thioderivative as Adulterant Using UPLC-TOF/MS and GC/MS. *Science & Justice*, **54**, 228-237. <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2014.02.009>
- [23] Man, C.N., Nor, N.M., Lajis, R. and Harn, G.L. (2011) Erratum to "Identification of Sildenafil, Tadalafil and Vardenafil by Gas Chromatography-Mass Spectrometry on Short Capillary Column". *Journal of Chromatography A*, **1218**, Article 4788. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.05.087>
- [24] Luypaert, J., Massart, D.L. and Vander Heyden, Y. (2007) Near-Infrared Spectroscopy Applications in Pharmaceutical Analysis. *Talanta*, **72**, 865-883. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.12.023>
- [25] Chu, X.L., Xu, Y.P. and Lu, W.Z. (2008) Research and Application Progress of Chemometrics Methods in Near Infrared Spectroscopic Analysis. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, **36**, 702-709.
- [26] Wang, Y., Chen, G., Zhu, Z., Zhu, J. and Lu, W. (2003) Study on Infrared Transmission Spectrum of Sildenafil Citrate Mixed in Traditional Chinese Medicine. *International Journal of Infrared and Millimeter Waves*, **24**, 1177-1185. <https://doi.org/10.1023/a:1024725220089>
- [27] Qin, W. and Li, S.F.Y. (2010) An Ionic Liquid Coating for Determination of Sildenafil and UK-103,320 in Human Serum by Capillary Zone Electrophoresis-Ion Trap Mass Spectrometry. *Electrophoresis*, **23**, 4110-4116. <https://doi.org/10.1002/elps.200290028>
- [28] Vidya Sagar, G., Sastry, B.S. and Gangadhara Rao, N.V.S. (2003) Spectrophotometry Methods of the Determination of Sildenafil in Tablets. *Chemical Science*, **1**, 221-224.
- [29] Manousi, N., Kabir, A., Furton, K.G. and Zacharis, C.K. (2024) Ionic-Liquid/Carbowax 20 M Functionalized Capsule Phase Microextraction Platform for the Extraction of Phosphodiesterase-5 Inhibitors from Human Serum and Urine Prior to Their Determination by LC-MS. *Journal of Chromatography A*, **1730**, Article 465157. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2024.465157>
- [30] Sakai, T., Tanaka, M., Azuma, Y., Sakamoto, Y., Tagami, T., Asada, A., *et al.* (2026) Simultaneous Identification of 50 Illegal Adulterants in Dietary Supplements Using High-Performance Liquid Chromatography-Single Quadrupole Mass Spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **270**, Article 117300.
- [31] 何伟文, 李少元, 王芳琳, 等. 磷酸二酯酶 5 抑制剂类药物及其代谢物的检验方法研究进展[J]. 分析试验室, 2022, 41(9): 1099-1107.
- [32] 蒲小勇, 王行环, 王怀鹏, 等. 三种 PDE₅ 抑制剂的药代动力学、起效时间和维持时间[J]. 中国男科学杂志, 2007(8): 60-63.