

· 综述 ·

## 中药保健品中非法添加磷酸二酯酶-5 抑制剂检测方法的研究进展

丁德英, 刘伟, 吕狄亚 (海军军医大学药学院, 上海, 200433)

**[摘要]** 本文综述了中药保健品中非法添加磷酸二酯酶-5(PDE-5)抑制剂的检测方法。目前,快速检测一般采用红外光谱法、近红外光谱法、薄层色谱与拉曼光谱联用法等;确证检测采用高效液相色谱法,液相色谱-质谱联用法等;在结构鉴别和确证上采用核磁共振法、气相色谱-质谱联用法等补充检测;还有一些 X 射线衍射、酶联免疫吸附等高效检测方法,为药品监督管理部门进行该类中药保健品掺杂的检测提供相关的技术方法,保障人民食品药品合理、安全的使用。

**[关键词]** 中药保健品;PDE-5 抑制剂;掺杂;检测方法

**[中图分类号]** R927 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2019)02-0103-06

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2019.02.002

## Research progress on the detection methods for illegal addition of PDE-5 inhibitors in botanical dietary supplements

DING Deying, LIU Wei, LÜ Diya (School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** The detection methods for the illegal addition of PDE-5 inhibitors in botanical dietary supplements were reviewed in this article. So far, FTIR, NIR, and TLC-SERS methods were commonly adopted to rapid detection, and confirmed detection by HPLC, LC-MS methods; NMR and GC-MS methods were used as supplementary tests for structural identification and confirmation. In addition, other high-efficiency detection methods such as XRD and ELISA also provided relevant technical methods for the drug supervision and administration department to carry out the detection of the doping of botanical dietary supplements and ensure that the reasonable and safe use of food and drug.

**[Key words]** botanical dietary supplements; PDE-5 inhibitors; doping; detection methods

### 1 磷酸二酯酶 5 型抑制剂

磷酸二酯酶 5 型(PDE-5)抑制剂临床用于不同病因引起的男性勃起功能障碍(erection dysfunction, ED), 而经美国食品和药品管理局(FDA)批准<sup>[1-2]</sup>的只有枸橼酸西地那非(Viagra<sup>®</sup>, Pfizer)、伐地那非(Levitra<sup>®</sup>, Bayer)、他达那非(Cialis<sup>®</sup>, Lilly)。服用 PDE-5 抑制剂易引起的副作用如头痛、面部潮红,鼻充血,视力障碍和背部疼痛,还会引起潜在的药物之间的相互作用。若患者在不知情的情况下,与硝酸酯或  $\alpha$ -受体阻滞剂一同服用会导致低血压甚至晕厥。因此,此类药物必须在医生指导下使用。

在许多国家,由于对 PDE-5 抑制剂的需求广

泛,一些非法添加的性功能保健产品在市场上所占比例也与日俱增<sup>[2-5]</sup>。在欧洲,每年有 160 万的非法性功能保健品在销售。其中大多都是中药膳食补充剂和保健品<sup>[1]</sup>。而这类保健品被人们认为是“安全、纯天然”,而且比起处方药更易获得,在因特网上就可以直接以低廉的价格直接购得。迄今为止,我国卫生部核准的保健食品的 27 项功效中,没有改善或提高性功能这一项,也尚未批准过一种合法的壮阳保健品,中医专家也并不认同“中药伟哥”的说法。这些所谓的“纯天然”中药保健品真正起到药效的并非中药材本身,而是不法商人在其中非法添加了 PDE-5 抑制剂。

最早的文献报道是在食品饮料中检出并鉴别为非法添加的西地那非衍生物豪莫西地那非<sup>[6]</sup>。接着, Blok-Tip 等<sup>[7]</sup>在中药产品中检测出 3 种西地那非衍生物,分别为豪莫西地那非、羟基豪莫西地那非和红地那非。在近期文献报道中,中药保健品中非法添加的 PDE-5 抑制剂或其衍生物至少有 46 种<sup>[5]</sup>。2008 年国家食品药品监督管理局(China Food and Drug Administration, CFDA)颁布“补肾

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年科学基金项目(81603067)

**[作者简介]** 丁德英,本科,药师,主要从事药品检验, Email: 526633151@qq.com

**[通讯作者]** 吕狄亚,博士,高级实验师,研究方向:药物分析, Email: diyaly2008@yahoo.com.cn

壮阳类中成药中西地那非及其类似物的检测方法”，可以对违法添加的西地那非、他达那非、红地那非、伐地那非进行筛查检测。有效的分析方法和策略对于非法添加其衍生物<sup>[1,8-9]</sup>的检测就显得至关重要。因此，笔者综述了西地那非、伐地那非、他达那非衍生物的种类以及中药保健品中添加这3类衍生物的检测方法，以期为更多衍生物的结构的确证和鉴定提供依据。

目前，用于分离和鉴定西地那非衍生物或混合物的分析方法有红外光谱法(IR)、近红外光谱法(NIR)、核磁共振法(NMR)、薄层色谱法(TLC)、高效液相色谱法(HPLC)、质谱法(MS)等。

## 2 鉴定方法

### 2.1 红外光谱(infrared spectrum, IR)

红外光谱技术具有高效、快速、无损伤检测的特点，是通过测定被测物质在红外光谱区的特征光谱，利用适宜的化学计量学方法提取相关信息后，对被测物质进行定性、定量分析的一种分析技术。如Champagne采用傅里叶变换红外光谱分析技术(FTIR)，ATR采样系统，对纯样品与掺假原料的红外光谱比较分析，发现含有PDE-5抑制剂的样品在 $1\ 720\sim 1\ 150\ \text{cm}^{-1}$ 处有明显变化<sup>[10]</sup>。也有利用近红外光谱(NIR)方法，根据枸橼酸西地那非 $6\ 200\sim 5\ 700\ \text{cm}^{-1}$ 特征谱，在103种不同外观、化学成分和来源的西地那非样品中，可以准确的预测出98%的样品中是否存在枸橼酸西地那非<sup>[11]</sup>。近红外光谱图复杂，通常需要建立一个可靠的药物筛选程序，包括了一个专用的常用药物的近红外光谱数据库后，来检测一些掺杂西地那非衍生物的保健品和药品<sup>[12]</sup>。

红外光谱的劣势在于需要提前对大量药品进行扫描确证，并构建红外光谱数据库，工作繁琐。加上中药体系成分复杂，掺杂组分含量较低，难以得到用于建模的阴性对照品，存在一定的局限性。目前只能作常量分析，尚难进行痕量分析。因此，该方法适用于对少量可疑中成药及保健品中是否添加西地那非类的快速筛查。

### 2.2 核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)

核磁共振波谱是准确解释已知化合物和新化合物结构的重要方法。其基本原理是强磁场中，某些元素的原子核和电子能量本身所具有的磁性，被分裂成两个或两个以上量子化的能级，吸收适当频率的电磁辐射，可在所产生的磁诱导能级之间发生跃迁。在磁场中，这种带核磁性的分子或原子核吸收

从低能态向高能态跃迁的两个能级差的能量，会产生共振谱，可用于测定分子中某些原子的数目、类型和相对位置。其中 $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR、1D、2D NMR是最常见的核磁共振实验方法，它们不仅可以用于结构阐明，也可以用于鉴别量化。NMR具有样品制备简单、重现性高的特点，但不能否认其灵敏度较之前两种为低。Gilard等收集了150个中草药制剂样本，利用NMR检测掺杂物的存在，样品经氘代乙二醇与氘代水(80:20)混合液提取，对2D DOSY  $^1\text{H}$  NMR谱的特征信号(H15, H17, H18)，定量检测到61%的样品中添加了PDE-5抑制剂<sup>[13]</sup>。NMR作为一种鉴别的手段，更广泛地运用于检测过程中最后的结构确证环节，以此来与其他方法互为补充，如文献报道，周建良等采用超高分辨的线性离子阱-静电场轨道阱质谱检出未知的西地那非衍生物，并与二级质谱作比较，进一步推断衍生物的结构，最后利用 $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR、DEPT和HMBC谱对新的衍生物结构确证，鉴定衍生物为丙氧酚艾地那非<sup>[14]</sup>。同样，文献中对于检测到的新的掺杂西地那非衍生物Piperazinofil，也是利用NMR(包括DEPT、HSQC、HMBC、H, H-COSY、H, H-TOCSY、H, H-NOESY等)与其他方法互为补充进行结构鉴别和确定的<sup>[15]</sup>。

### 2.3 色谱法

#### 2.3.1 薄层色谱法及其联用技术

薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)是以涂布于支持板上的支持物作为固定相，以合适的溶剂为流动相，对混合样品进行分离、鉴定和定量的一种层析分离技术，可以用于进行药品的鉴别、杂质检查或含量测定。由于它的简单和廉价，所以它可以用来进行一些已知的西地那非衍生物的初步鉴别及中药保健品中那非类衍生物的快速筛选<sup>[16]</sup>。Cai等<sup>[16-17]</sup>利用简单的TLC，以合适的流动相可以鉴别8种PDE-5抑制剂。张振华等<sup>[18]</sup>使用GF<sub>254</sub>薄层板，乙醇-正己烷-氨水(70:30:1)为展开剂，在紫外光灯(254 nm)下检视样品中含有枸橼酸西地那非。此外，Reddy等<sup>[19]</sup>采用硅胶60 F高效薄层层析(HPTLC)预制板，以甲苯-丙酮-甲醇(6:2:2)为流动相，建立了高效薄层层析色谱方法，在标准品的参照下，定量测定出中草药保健品制剂中含枸橼酸西地那非76.4~85.0 mg。与TLC法相比，其灵敏度有所提高，并且可以通过斑点密度分析进行定量，前提是均需有参考类似物的标准品。薄层色谱法虽然操作简单、便捷、廉价等优点，被广泛应用于药物分析当中，但是由于分离时间较长，需要

有特殊的显色设备或显色试剂,灵敏度差,分离效率不高,无法重复使用等缺点,极大的限制了 TLC 法的使用,因此 TLC 法较适合于条件有限的基层药品监督管理部门日常的监督检验工作。

表面增强拉曼光谱法(SERS)是一种高灵敏、高专有的新型谱学技术,将 TLC 法与 SERS 法相结合,利用 TLC 法富集待检成分,用 SERS 法进行定性鉴别。该技术已应用于中成药、保健品非法添加化学药品<sup>[20-22]</sup>。李启红<sup>[23]</sup>用甲醇-水-氨水(75:25:1)混合液提取样品,通过薄层色谱初步分离添加成分与基质,对制备的薄层斑点滴加银胶,采集 SERS 图谱,与已知对照品的薄层表面增强拉曼光谱进行对照,在中药保健品中快速检测出 3 种非法掺入的 PDE-5 抑制剂,该方法中西地那非的最低检测限达 0.05%,点样沉积量为 0.05  $\mu\text{g}$ 。在中药保健品基质有干扰,肉眼几乎不能辨别样品与对照品 Rf 值处的斑点时,建立 TLC-SERS 方法,操作简便,具有良好的可行性,降低漏检风险,也是现场快速检测筛查非法添加物的一个重要手段。

### 2.3.2 高效液相色谱及其联用技术

在药物检测分析中,高效液相色谱法(HPLC)是最常用的分析方法之一,具有快速、高效、灵敏和重现好的优点,广泛用于中药保健品中非法添加的那非类物质的初步筛选<sup>[6-7,24]</sup>。Fejös 等<sup>[25]</sup>利用高效液相色谱-紫外检测(HPLC-UV)成功筛选了补肾壮阳药类中保健食品中添加西地那非、伐地那非、他达拉非等 11 种 PDE-5 抑制剂,采用 Kinetex C<sub>18</sub> 色谱柱,200 mmol/L 乙酸铵及等体积比的甲醇乙腈为流动相,检测波长 290 nm。结果 11 种对照品浓度在相应的范围内与峰面积呈良好的线性关系( $r^2 \geq 0.9982$ ),定量限为 0.025~0.065  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ,检测限在 0.008~0.022  $\mu\text{g}/\text{ml}$  范围内。该方法简单易行,成本低,可以基本确定样品中是否含有某一化学成分。

另外一种超高效液相色谱(ultra high-pressure liquid chromatography, UHPLC)<sup>[26]</sup>。Sacré 等<sup>[27]</sup>采用 UHPLC 的方法,在 4.5 min 内实现了 3 种已知的 PDE-5 抑制剂和 5 种结构类似物的分离,大大减少了分析时间。无论是 HPLC 还是 UHPLC,均需要先获得标准物质的紫外光谱与保留时间,才能对样品中添加的化合物进行定性,对未知化合物来说,最终是需要质谱来辅助完成结构鉴定。

质谱法(mass spectrometry, MS)是应用多种离子化技术,将物质分子转化气态离子并按质荷比( $m/z$ )大小进行分离记录信息,是目前结构解析的

首选方法。质谱类型多种多样,包括离子阱质谱(IT MS)、四极杆质谱(Q MS)、分行时间质谱(TOF MS)、静电场轨道阱质谱(Orbitrap MS)等。随着质谱分析技术的进步,将两个或多个质谱(MS/MS, MSn)联用,能准确获取未知结构的碎片离子的特征信息。比如,西地那非可以通过特征碎片离子  $m/z$  377, 311 和 283, 硫代西地那非( $m/z$  299), 他达拉非( $m/z$  268, 262, 250)和伐地那非( $m/z$  461, 377, 299)进行类似物的鉴别<sup>[5]</sup>。Singh 等<sup>[28]</sup>全面分析了具有共同母核结构的西地那非 C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>S (488.2206), 阐述了  $m/z$  377,  $m/z$  311 为判断掺杂西地那非及衍生物的特征碎片离子。

Zou 等<sup>[29]</sup>建立了 LC-DAD 和 LC-ESI-MS/MS 同时定量测定中药保健品中添加的 6 种 PDE-5 抑制剂,选用 0.01 mol/L 甲酸胺水溶液和乙腈为流动相,于 225、230 和 290 nm 处的强紫外吸收波长,结合其不同的保留时间作快速初步鉴定。在多反应监测(MRM)模式扫描下获取特征产物离子,最终选择  $m/z$  475/283(西地那非)、489/312(伐地那非)、390/288(他达拉非)、489/283(豪莫西地那非)、505/487(羟基豪莫西地那非)和 467/297(红地那非)作鉴定。该方法其灵敏度高,检出限范围在 0.9~2.0 ng,已成功应用于一种膳食补充剂和 6 种预混散装粉末样品。

高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法(HPLC/Q-TOF-MS),飞行时间(TOF)技术在高分辨质谱仪上能够提供精准的质量,精度可达 4~6 位小数。于泓等<sup>[30]</sup>运用 UHPLC/Q-TOF-MS 建立了一种快速检测 31 种 PDE-5 抑制剂的方法。采用 0.1%甲酸-乙腈溶液按梯度洗脱,ESI 源正离子的模式采集,建立对照品保留时间、精确相对分子量和二级碎片谱库。归纳了西地那非、他达拉非、伐地那非 3 种结构类型的 ESI 质谱裂解规律,其中西地那非类特征碎片离子为 377.1278(C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S), 311.1508(C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>), 283.1195(C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>); 伐地那非类丰度较高的主要特征离子为:312.1582(C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>), 284.1266(C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>), 151.0866(C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>O); 他达拉非类在质谱中容易碎裂,碰撞能量较低为 10~20 eV,特征碎片离子为:135.0441(C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>), 262.0863(C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>2</sub>), 268.1081(C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)。结果对市售的 164 批中成药保健品,取一次服用量的样品经甲醇超声溶解处理后,检出了 26 批阳性样品,其中 25 批次内含有 9 种西地那非类似物,最低检出量仅含 3.62  $\mu\text{g}$ 。

另外,线性离子阱-静电场轨道阱-高分辨质谱

(LTQ Orbitrap MS)作为一种新的液质联用方法其分辨率较高,并且能进行多级质谱分析。周建良等<sup>[14]</sup>利用 LTQ Orbitrap MS 的超高分辨率准确判断了未知衍生物中含 S 元素,且只含 1 个 S,结合精确质量数和同位素丰度比对,证实“强力 V 1 型羊肚菌补肾精华粉”中掺杂了一种新型西地那非衍生物为丙氧酚艾地那非  $C_{24}H_{34}N_6O_4S(m/z 503.24367)$ ,且同位素与理论值一致。

高效液相色谱及其联用是最常用的检测方法,具有液相高效的分离能力和质谱高专属性的特性,能确证鉴别中药保健品中非法添加多种 PDE-5 抑制剂类化学物质,可以通过已知化合物离子的裂解规律、精确的质量数,可以区分同分异构体,还可发现并确证未知化合物,为打击非法添加行为提供有力的技术支持。

### 2.3.3 气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometer,GC-MS)

GC-MS 法的基本原理是通过以惰性气体为流动相,将样品气化分离,再经质谱离子化和质量分析从而检测分子离子和碎片离子。相比较 LC-MS 法,GC-MS 法因为有强大的化合物搜索谱库,对标准品的需求相对较低。但其缺陷是仅可以检测出具有挥发性和热稳定性的样品。Mokhtar 等人采用气相色谱-三重四极杆质谱法,在未经衍生化的中药保健品中,成功检测出掺杂的西地那非及其衍生物。该实验在 Bruker Scion 456 TQGC-MS/MS 系统中使用 bpx5 毛细管柱进行分离,利用不同的电离技术获取每个碎裂模式进行类似物的鉴定,如西地那非, $m/z 99$  由哌嗪环和磺酰基之间裂解产生的特征离子;二甲基西地那非,特征离子  $m/z 113$  由根据母体西地那非与哌嗪相连的甲基;特征离子  $m/z 328$  和 299 为硫代那非类似物等<sup>[31]</sup>。但由于 GC-MS 对样品的特殊要求,通常是通过样品衍生化处理,或者水解作用,来提高检测灵敏度,如红地那非(noracetildenafil)<sup>[32]</sup>,艾地那非(ildenafil)<sup>[33]</sup>,硫代艾地那非(thioailildenafil)<sup>[34]</sup>均以酸水解产物来获得有用的结构信息,与其他方法一起作补充检测用。

## 2.4 其他方法

### 2.4.1 X 射线衍射(X-ray diffraction,XRD)

XRD 的工作原理是以单色 X 射线通过晶体结构时发出的 X 衍射来确定化合物的结构,它具有快速可靠的特点,并且已经被探索出用来检测保健品中掺杂的 PDE-5 抑制剂的方法,有文献报道利用 XRD 可以对一种新的西地那非衍生物的结构进行描述并合成<sup>[35]</sup>,这也是 XRD 的新的运用。由此发

展出来的 X 射线荧光(XRF)也可以用来检测那非类衍生物,有文献报道利用 XRF 检测掺杂的枸橼酸西地那非是一个极佳的检测方法<sup>[36]</sup>。

### 2.4.2 离子迁移谱(ion mobility spectroscopy,IMS)

IMS 是根据其载体缓冲气体的迁移率来分离和鉴定化学物质的一种高通量分析技术<sup>[34]</sup>,而离子迁移率取决于分子离子的大小,形状和电荷。由于其高速、灵敏,选择性和低成本,它可以用来作为筛选工具检测掺假,有文献报道 IMS 方法在掺 PDE-5 抑制剂产品检测中的运用<sup>[37]</sup>。另外,有文献报道利用 IMS 对掺杂的保健品中红地那非,西地那非和伐地那非进行快速的筛选<sup>[38]</sup>。

### 2.4.3 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA)

免疫分析方法在掺 PDE-5 抑制剂检测中也得到极大的探索和研究,其中 ELISA 是基于使用特定类型的单克隆抗体,并利用抗原抗体结合专一性进行免疫反应的定性和定量检测,因而这种方法具有快速,灵敏和特异性强的特点。但它也存在局限性,主要在于以下几个方面:①该法重复性不好;②受抗体干扰,容易出现假阳性;③受温度和时间干扰。

Guo 等人利用 ELISA 来制备伐地那非及其衍生物 piperidenafil 和 desulfovardenafil 的特异性单克隆抗体,来快速筛选该种衍生物<sup>[39]</sup>;也有文献报道开发了一种快速竞争的 ELISA,并采用多克隆抗体西地那非 KLH,该抗体具有较高的敏感性和特异性,可快速检测保健品中西地那非<sup>[40]</sup>。另一篇最新的文献中报道,IC 法基础上发展起来的西地那非及其类似物的多克隆抗体可以在 ELISA 中显示出较好的特异性,研究人员对 60 种保健品添加剂进行西地那非及类似物的筛选,其结果证明该法是一种合适的检测筛选工具<sup>[41]</sup>。

### 2.4.4 免疫胶体金法(immune colloidal gold technique,GICT)

免疫层析法在检测那非类衍生物中的运用主要是以胶体金为显色媒介,故又称为胶体金免疫层析法,它是以抗原与抗体特异性结合并在胶体金上层析显色为原理的一种检测方法,具有特异性强,灵敏度高和成本低的特点,但它存在的局限性是由于它的特异性较强,对于非同种的那非类化合物的同系物则无法识别检测,而且对于阳性的检测结果无法判断其衍生物的具体结构。有文献报道周天祥等利用一种含有抗西地那非单克隆抗体的试剂盒,对在实验室中用 HPLC-MS/MS 法判定为合格(未检出

西地那非) 和不合格(检出西地那非) 的样品进行筛查具有较高的准确率<sup>[42]</sup>; 另外也有文献报道利用 IC 法对 60 种中药保健品添加剂进行筛选, 结果证明该法对于检测那非类药物及其类似物确实是一种有效的工具和手段<sup>[41]</sup>。

### 3 总结

目前, 天然产品中违法添加化学药物已经成为全球性的问题, 在中药保健品种不断出现 PDE-5 抑制剂的结构类似物, 对消费者健康带来极大的危害性, 而且对食品药品监督管理部门的检测工作提出更高的技术要求。综上所述, 一般在现场检查中可以采用 IR 法、NIR 法、TLC-SERS 法等相对简单、易操作, 成本低的检测方法进行快速筛选检验, 扩大监管范围, 提高检查效率; 对疑似样品采用国家标准规定的检验方法 HPLC 法、LC-MS/MS 法、HPLC-TOF/MS 等对其进行最终的定性及定量检测, 对不法厂商的违法犯罪行为提供检验依据; 对检测到新的掺杂那非类衍生物, 利用 NMR、GC-MS 等检测方法进行结构鉴别和确证, 做补充研究; 同时不断探索和研究 IMS, ELISA 等检测技术的应用, 我们相信那非类衍生物掺杂的研究方法必将为保健品和食品的安全不断贡献力量。

### 【参考文献】

- [1] SCHNETZLER G, BANKS I, KIRBY M, et al. Characteristics, behaviors, and attitudes of men bypassing the healthcare system when obtaining phosphodiesterase type 5 inhibitors[J]. *J Sex Med*, 2010, 7(3): 1237-1246.
- [2] SUGITA M, MIYAKAWA M. Economic analysis of use of counterfeit drugs; health impairment risk of counterfeit phosphodiesterase type 5 inhibitor taken as an example[J]. *Environ Health Prev Med*, 2010, 15(4): 244-251.
- [3] VENHUIS B J, ZWAAGSTRA M E, VDB J D J, et al. Illicit erectile dysfunction products in the Netherlands: A decade of trends and a 2007-2010 product update[M]. Netherlands: National Institute for Public Health and the Environment, 2011.
- [4] LOW M Y, ZENG Y, LI L, et al. Safety and quality assessment of 175 illegal sexual enhancement products seized in red-light districts in Singapore [J]. *Drug Saf*, 2009, 32 (12): 1141-1146.
- [5] VENHUIS B J, DE KASTE D. Towards a decade of detecting new analogues of sildenafil, tadalafil and vardenafil in food supplements; a history, analytical aspects and health risks[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 69: 196-208.
- [6] SHIN M H, HONG M K, KIM W S, et al. Identification of a new analogue of sildenafil added illegally to a functional food marketed for penile erectile dysfunction[J]. *Food Addit Contam*, 2003, 20(9): 793-796.
- [7] BLOK-TIP L, ZOMER B, BAKKER F, et al. Structure elucidation of sildenafil analogues in herbal products[J]. *Food Addit Contam*, 2004, 21(8): 737-748.
- [8] PARK H J, JEONG H K, CHANG M I, et al. Structure determination of new analogues of vardenafil and sildenafil in dietary supplements[J]. *Food Addit Contam*, 2007, 24(2): 122-129.
- [9] PARAMASHIVAPPA R, PHANI KUMAR P, SUBBA RAO PV, et al. Synthesis of sildenafil analogues from anacardic acid and their phosphodiesterase-5 inhibition [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(26): 7709-7713.
- [10] CHAMPAGNE A B, EMMEL K V. Rapid screening test for adulteration in raw materials of dietary supplements[J]. *Vibrational Spectroscopy*, 2011, 55(2): 216-223.
- [11] VREDENBREGT M J, BLOK-TIP L, HOOGERBRUGGE R, et al. Screening suspected counterfeit Viagra and imitations of Viagra with near-infrared spectroscopy[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 40(4): 840-849.
- [12] SAID M M, GIBBONS S, MOFFAT A C, et al. Rapid detection of sildenafil analogue in *Eurycoma longifolia* products using a new two-tier procedure of the near infrared (NIR) spectra database[J]. *Food Chem*, 2014, 158: 296-301.
- [13] GILARD V, BALAYSSAC S, TINAUGUS A, et al. Detection, identification and quantification by <sup>1</sup>H NMR of adulterants in 150 herbal dietary supplements marketed for improving sexual performance [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 102: 476-493.
- [14] 周建良, 周哲, 陈碧莲, 等. UHPLC/LTQ Orbitrap MS 法解析一种未知西地那非衍生物 [J]. *质谱学报*, 2016, 37 (5): 422-430.
- [15] WOLLEIN U, EISENREICH W, SCHRAMEK N. Identification of novel sildenafil-analogues in an adulterated herbal food supplement [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 56(4): 705-712.
- [16] CAI Y, CAI T G, SHI Y, et al. Simultaneous determination of eight PDE5-IS potentially adulterated in herbal dietary supplements with TLC and HPLC - PDA - MS methods [J]. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 2010, 33(13): 1287-1306.
- [17] ABOURASHED E, ABDEL-KADER M, HABIB A A. HPTLC determination of sildenafil in pharmaceutical products and aphrodisiac herbal preparations [J]. *J Plan Chromatogr Modern TLC*, 2005, 18(105): 372-376.
- [18] 张振华, 陶妙娟. 四种中成药及保健品非法添加化学药物的快速筛选方法初探 [J]. *安徽医药*, 2008, 12(1): 28-29.
- [19] REDDY T, REDDY A, DEVI P. Quantitative determination of sildenafil citrate in herbal medicinal formulations by high-performance thin-layer chromatography [J]. *J Plan Chromatogr Modern TLC*, 2006, 19(112): 427-431.
- [20] LV D, CAO Y, LOU Z, et al. Rapid on-site detection of ephedrine and its analogues used as adulterants in slimming dietary supplements by TLC-SERS [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407(5): 1313-1325.
- [21] 李皓, 朱青霞, 柴逸峰, 等. TLC-SERS 法快速检测止咳平喘类中成药中 4 种添加化学成分 [J]. *药物分析杂志*, 2014, 34

- (4):693-697.
- [22] ZHU Q, CAO Y, CAO Y, et al. Rapid on-site TLC-SERS detection of four antidiabetes drugs used as adulterants in botanical dietary supplements[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(7):1877-1884.
- [23] 李启红. 中药及保健品中非法添加3种PDE5抑制剂的TLC-SERS检测方法研究[J]. *中国当代医药*, 2017, 24(21):85-88.
- [24] LIU S Y, WOO S O, KOH H L. HPLC and GC-MS screening of Chinese proprietary medicine for undeclared therapeutic substances[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2001, 24(5-6):983-992.
- [25] FEJÖS I, NEUMAJER G, BÉNI S, et al. Qualitative and quantitative analysis of PDE-5 inhibitors in counterfeit medicines and dietary supplements by HPLC-UV using sildenafil as a sole reference[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 98:327-333.
- [26] DONG Y M, AN Q, LU N W, et al. Development micellar HPLC method for simultaneous determination of ephedrine, pseudoephedrine, and methylephedrine in Ephedra Herb and traditional Chinese medicinal preparations[J]. *Acta Chromatographica*, 2015, 27(2):355-372.
- [27] SACRÉ P Y, DECONINCK E, CHIAP P, et al. Development and validation of a ultra-high-performance liquid chromatography-UV method for the detection and quantification of erectile dysfunction drugs and some of their analogues found in counterfeit medicines[J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(37):6439-6447.
- [28] SINGH S, PRASAD B, SAVALIYA A, et al. Strategies for characterizing sildenafil, vardenafil, tadalafil and their analogues in herbal dietary supplements, and detecting counterfeit products containing these drugs[J]. *Trends Analyt Chem*, 2009, 28(1):13-28.
- [29] ZOU P, OH S S, HOU P, et al. 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]. *J Chromatogr A*, 2006, 1104(1):113-122.
- [30] 于泓, 胡青, 张甦, 等. 补肾壮阳类中药及保健食品中31种5型磷酸二酯酶抑制剂的高分辨四级杆飞行时间质谱定性定量检测方法[J]. *中国药学杂志* 2013, 48(15):1312-1318.
- [31] MOKHTAR S U, CHIN S T, KEE C L, et al. Rapid determination of sildenafil and its analogues in dietary supplements using gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 121:188-196.
- [32] REEPMEYER J C, WOODRUFF J T. Use of liquid chromatography-mass spectrometry and a chemical cleavage reaction for the structure elucidation of a new sildenafil analogue detected as an adulterant in an herbal dietary supplement[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 44(4):887-893.
- [33] REEPMEYER J C, WOODRUFF J T, D'AVIGNON D A. Structure elucidation of a novel analogue of sildenafil detected as an adulterant in an herbal dietary supplement[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 43(5):1615-1621.
- [34] REEPMEYER J C, D'AVIGNON D A. Structure elucidation of thioketone analogues of sildenafil detected as adulterants in herbal aphrodisiacs[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(1):145-150.
- [35] MOJZYCH M, KARCZMARZYK Z, WYSOCKI W, et al. New approaches to the synthesis of sildenafil analogues and their enzyme inhibitory activity[J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23(7):1421-1429.
- [36] MOJZYCH M, KARCZMARZYK Z, WYSOCKI W, et al. New approaches to the synthesis of sildenafil analogues and their enzyme inhibitory activity[J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23(7):1421-1429.
- [37] ORTIZ R S, MARIOTTI K C, SCHWAB N V, et al. Fingerprinting of sildenafil citrate and tadalafil tablets in pharmaceutical formulations via X-ray fluorescence (XRF) spectrometry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 58:7-11.
- [38] PERR J M, FURTON K G, ALMIRALL J R. Solid phase microextraction ion mobility spectrometer interface for explosive and taggant detection[J]. *J Sep Sci*, 2005, 28(2):177-183.
- [39] MANS D J, CALLAHAN R J, DUNN J D, et al. Rapid-screening detection of acetildenafil, sildenafil and avanafil by ion mobility spectrometry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 75:153-157.
- [40] GUO J B, XU Y, HUANG Z B, et al. Development of an immunoassay for rapid screening of vardenafil and its potential analogues in herbal products based on a group specific monoclonal antibody[J]. *Anal Chim Acta*, 2010, 658(2):197-203.
- [41] SONG Y, WANG Y Y, ZHANG Y, et al. Development of enzyme-linked immunosorbent assay for rapid determination of sildenafil in adulterated functional foods[J]. *Food Agric Immunol*, 2012, 23(4):338-351.

[收稿日期] 2018-03-07 [修回日期] 2018-12-29

[本文编辑] 陈盛新