

化妆品中的36种抗感染类药物的LC-MS/MS快速分析检测

Rapid Determination of 36 Anti-infective Drugs in Cosmetics by LC-MS/MS

郭琳琳, 刘冰洁, 李立军, 郭立海
Guo Linlin, Liu Bingjie, Li Lijun, Guo Lihai

SCIEX China

Key Words: Anti-infective drugs; Cosmetics; LC-MS/MS; Rapid determination

引言

随着人们生活水平的提高, 化妆品已成为日用必需品, 化妆品的安全性问题也引起人们的广泛关注。抗感染药物属于处方药, 因具有杀菌、抑菌的功能, 常被不法商家在经济利益的趋势下非法添加在功效性化妆品中。当抗感染药物违规添加到化妆品中, 散布于人体皮肤表面, 尤其是面部、口唇等皮肤比较柔软、膜血管丰富的部位表面时, 可通过微血管和粘膜被快速吸收, 可能逐渐破坏皮肤表面的正常菌群, 导致皮疹、速发性过敏等不良反应, 长期使用会导致耐药性, 后续治疗更加困难^[1]。2019年, 我国已将化妆品中抗感染类药物的检测方法纳入《化妆品安全技术规范(2015年版)》^[2]。因此, 建立快速准确的对化妆品中的抗感染类药物的检测方法具有重大意义。

本实验的优势和特点

- 1、快速高通量, 采用ESI正负切换模式扫描, 一针8 min内完成36种抗感染类药物的准确定性和定量, 远低于技术规范方法中的20 min。
- 2、灵敏度高, 36种抗感染类药物的的定量限为0.25 $\mu\text{g/g}$, 线性范围为0.25-10 $\mu\text{g/g}$, r 值均为0.995以上, 技术规范中方法定量限为0.75 $\mu\text{g/g}$ (氯霉素要求定量限为3 $\mu\text{g/g}$), 高于方法定量限。
- 3、准确度高, 考察了化妆品中0.25 $\mu\text{g/g}$ 、3 $\mu\text{g/g}$ 和10 $\mu\text{g/g}$ 的三个样品添加浓度, 添加回收率均在 80.5%-96.7% 之间。
- 4、重现性好, 三个不同浓度下的多份质控样本的RSD在1.4%-3.9% 范围内。

实验方法

1、样品前处理

准确称取化妆品样品0.2 g, 置于15 mL离心管中, 准确加入3 mL饱和氯化钠溶液, 涡旋30 s, 分散均匀, 加入含0.5%甲酸的乙腈溶液5 mL, 涡旋30 s, 超声提取30 min, 涡旋混合摇匀, 以8000 r/min转速0°C冷冻离心5 min, 加水定容止10 mL, 混匀, 经0.22 μm 滤膜过滤后, 供LC-MS/MS测试。

2、液相方法

色谱柱: Kinetex® F5, 2.6 μm , 3.0 mm \times 50 mm

流动相: A: 水 (0.1%甲酸)

B: 乙腈 (0.1%甲酸)

流速: 0.5 ml/min

进样量: 5 μL

梯度洗脱程序: 如表1所示

表1. 液相梯度设置。

| Time/min | A/% | B/% |
|----------|-----|-----|
| 0 | 97 | 3 |
| 0.5 | 97 | 3 |
| 1 | 70 | 30 |
| 2 | 60 | 40 |
| 4 | 5 | 95 |
| 5.5 | 5 | 95 |
| 5.6 | 97 | 3 |
| 8 | 97 | 3 |

3、质谱方法

扫描方式：MRM采集模式，正负离子切换扫描

离子源：ESI源

离子源参数：

IS电压: 5500 V /-4500V

气帘气 CUR: 30 psi

雾化气 GS1: 65 psi

离子对参数如表2所示。

源温度 TEM: 600 °C

碰撞气 CAD: Medium

辅助气 GS2: 55 psi

表2. 化合物离子对参数。

| No. | Compound Name | | Q1 | Q3 | ID | Expected RT(min) | DP (V) | CE(V) |
|-----|---------------|-------------------------|-------|-------|---------------------------|------------------|--------|-------|
| 1 | 甲硝唑 | Metronidazole | 172.1 | 82.2 | Metronidazole 1 | 1.61 | 70 | 34 |
| | | | 172.1 | 128.1 | Metronidazole 2 | 1.61 | 70 | 19 |
| 2 | 磺胺吡啶 | Sulfapyridine | 250 | 156 | Sulfapyridine 1 | 2.05 | 90 | 23 |
| | | | 250 | 92 | Sulfapyridine 2 | 2.06 | 90 | 35 |
| 3 | 磺胺甲噁唑 | Sulfamerazine | 265 | 156 | Sulfamerazine 1 | 2.28 | 95 | 23 |
| | | | 265 | 92 | Sulfamerazine 2 | 2.28 | 95 | 38 |
| 4 | 磺胺甲二唑 | Sulfamethizole | 271.1 | 156 | Sulfamethizole 1 | 2.55 | 70 | 20 |
| | | | 271.1 | 92 | Sulfamethizole 2 | 2.55 | 70 | 36 |
| 5 | 磺胺甲氧嗪 | Sulfamethoxy pyridazine | 281.1 | 156 | Sulfamethoxy pyridazine 1 | 2.56 | 95 | 23 |
| | | | 281.1 | 92 | Sulfamethoxy pyridazine 2 | 2.56 | 95 | 39 |
| 6 | 磺胺氯吡嗪 | Sulfachloropyridazine | 285 | 155.9 | Sulfachloropyridazine 1 | 2.71 | 70 | 21 |
| | | | 285 | 92 | Sulfachloropyridazine 2 | 2.71 | 70 | 39 |
| 7 | 磺胺甲噁唑 | Sulfamethoxazole | 254.1 | 156 | Sulfamethoxazole 1 | 2.77 | 75 | 21 |
| | | | 254.1 | 107.9 | Sulfamethoxazole 2 | 2.77 | 75 | 32 |
| 8 | 依诺沙星 | Enoxacin | 321.1 | 232 | Enoxacin 1 | 1.97序号 | 110 | 46 |
| | | | 321.1 | 303.1 | Enoxacin 2 | 1.98 | 110 | 27 |
| 9 | 沙拉沙星 | Sarafloxacin | 386.2 | 299 | Sarafloxacin 1 | 2.65 | 120 | 38 |
| | | | 386.2 | 342.1 | Sarafloxacin 2 | 2.65 | 120 | 26 |
| 10 | 培氟沙星 | Pefloxacin | 334.2 | 233.1 | Pefloxacin 1 | 2.37 | 100 | 35 |
| | | | 334.2 | 290.1 | Pefloxacin 2 | 2.37 | 100 | 25 |
| 11 | 氧氟沙星 | Ofloxacin | 362.2 | 261.1 | Ofloxacin 1 | 2.22 | 100 | 38 |
| | | | 362.2 | 318.2 | Ofloxacin 2 | 2.22 | 100 | 27 |
| 12 | 氟罗沙星 | Fleroxacin | 370.2 | 269.1 | Fleroxacin 1 | 2.32 | 100 | 38 |
| | | | 370.2 | 326 | Fleroxacin 2 | 2.3 | 100 | 27 |
| 13 | 双氟沙星 | Difloxacin | 400.2 | 299.1 | Difloxacin 1 | 2.68 | 110 | 39 |
| | | | 400.2 | 356 | Difloxacin 2 | 2.68 | 110 | 28 |
| 14 | 莫西沙星 | Moxifloxacin | 402.2 | 261.1 | Moxifloxacin 1 | 1.67 | 110 | 33 |
| | | | 402.2 | 364.5 | Moxifloxacin 2 | 1.48 | 110 | 37 |
| 15 | 诺氟沙星 | Norfloxacin | 320.1 | 233.1 | Norfloxacin 1 | 2.2 | 110 | 35 |
| | | | 320.1 | 276.1 | Norfloxacin 2 | 2.2 | 110 | 25 |
| 16 | 环丙沙星 | Ciprofloxacin | 332.2 | 231 | Ciprofloxacin 1 | 2.45 | 115 | 50 |
| | | | 332.2 | 288.1 | Ciprofloxacin 2 | 2.41 | 115 | 26 |
| 17 | 恩诺沙星 | Enrofloxacin | 360.2 | 245.1 | Enrofloxacin 1 | 2.57 | 105 | 38 |
| | | | 360.2 | 342.2 | Enrofloxacin 2 | 2.56 | 105 | 30 |

表2. 化合物离子对参数。(续)

| No. | Compound Name | | Q1 | Q3 | ID | Expected RT(min) | DP (V) | CE(V) |
|-----|---------------|-----------------------|-------|-------|-------------------------|------------------|--------|-------|
| 18 | 呋喃它酮 | Furaltadone | 325 | 100 | Furaltadone 1 | 1.76 | 85 | 34 |
| | | | 325 | 281 | Furaltadone 2 | 1.76 | 85 | 17 |
| 19 | 林可霉素 | Lincomycin | 407.2 | 359.4 | Lincomycin 1 | 1.39 | 110 | 27 |
| | | | 407.2 | 126.1 | Lincomycin 2 | 1.39 | 110 | 33 |
| 20 | 克林霉素 | Clindamycin | 425.2 | 377.2 | Clindamycin 1 | 2.61 | 110 | 27 |
| | | | 425.2 | 126.2 | Clindamycin 2 | 2.61 | 110 | 33 |
| 21 | 克林霉素磷酸酯 | Clindamycin phosphate | 505.2 | 126.1 | Clindamycin phosphate 1 | 2.57 | 130 | 35 |
| | | | 505.2 | 457.2 | Clindamycin phosphate 2 | 2.56 | 130 | 30 |
| 22 | 四环素 | Tetracycline | 445.1 | 410.2 | Tetracycline 1 | 2.56 | 65 | 30 |
| | | | 445.1 | 427.3 | Tetracycline 2 | 2.56 | 65 | 20 |
| 23 | 多西环素 | Doxycycline | 445.2 | 428.2 | Doxycycline 1 | 2.74 | 65 | 28 |
| | | | 445.2 | 154 | Doxycycline 2 | 2.55 | 65 | 35 |
| 24 | 米诺环素 | Minocycline | 458.2 | 441.3 | Minocycline 1 | 1.61 | 100 | 22 |
| | | | 458.2 | 283.1 | Minocycline 2 | 0.83 | 100 | 61 |
| 25 | 土霉素 | Oxytetracyclin | 461.2 | 426.1 | Oxytetracyclin 1 | 2.1 | 65 | 29 |
| | | | 461.2 | 444.2 | Oxytetracyclin 2 | 2.36 | 65 | 25 |
| 26 | 金霉素 | Aureomycin | 479.1 | 444.1 | Aureomycin 1 | 2.65 | 65 | 38 |
| | | | 479.1 | 462.2 | Aureomycin 2 | 2.62 | 65 | 25 |
| 27 | 阿奇霉素 | Azithromycin | 749.6 | 591.5 | Azithromycin 1 | 2.59 | 110 | 31 |
| | | | 749.6 | 116.1 | Azithromycin 2 | 2.59 | 110 | 70 |
| 28 | 克拉霉素 | Clarithromycin | 748.6 | 158.1 | Clarithromycin 1 | 3.07 | 110 | 35 |
| | | | 748.6 | 590.6 | Clarithromycin 2 | 3.07 | 110 | 28 |
| 29 | 罗红霉素 | Roxithromycin | 837.6 | 158.1 | Roxithromycin 1 | 3.05 | 120 | 40 |
| | | | 837.6 | 679.6 | Roxithromycin 2 | 3.05 | 120 | 30 |
| 30 | 螺内酯 | Spironolactone | 341.1 | 107 | Spironolactone 1 | 3.44 | 120 | 45 |
| | | | 341.1 | 187.2 | Spironolactone 3 | 3.43 | 120 | 30 |
| 31 | 灰黄霉素 | Griseofulvin | 353.2 | 165 | Griseofulvin 1 | 3.44 | 95 | 27 |
| | | | 353.2 | 215 | Griseofulvin 2 | 3.15 | 95 | 27 |
| 32 | 克霉唑 | Clotrimazole | 277.1 | 165.1 | Clotrimazole 1 | 3.15 | 120 | 30 |
| | | | 277.1 | 241 | Clotrimazole 2 | 3.23 | 120 | 39 |
| 33 | 酮康唑 | Ketoconazole | 531.2 | 244 | Ketoconazole 1 | 3.23 | 120 | 46 |
| | | | 531.2 | 489.3 | Ketoconazole 2 | 2.96 | 120 | 42 |
| 34 | 氟康唑 | Fluconazole | 307.1 | 238.1 | Fluconazole 1 | 2.96 | 80 | 22 |
| | | | 307.1 | 220 | Fluconazole 2 | 2.58 | 80 | 24 |
| 35 | 联苯苄唑 | Bifonazole | 311.2 | 243.1 | Bifonazole 1 | 2.58 | 60 | 19 |
| | | | 311.2 | 165 | Bifonazole 2 | 3.29 | 60 | 49 |
| 36 | 氯霉素 | Chloramphenicol | 321.1 | 152 | Chloramphenicol 1 | 2.50 | -85 | -22 |
| | | | 321.1 | 257.2 | Chloramphenicol 2 | 2.50 | -85 | -16 |

结果与讨论

1、提取离子流图如图2所示，36种抗感染类药物在色谱条件下实现良好的分离。

2、化合物线性范围

36种抗感染类药物在化妆品基质中，线性范围为0.25-10 µg/g，线性关系良好， $r > 0.995$ ，保证了不同浓度样品的定量准确性。结果如表3所示。

3、化妆品中的前处理回收率及方法重现性：

分别往化妆品中按照0.25 µg/g、3 µg/g和10 µg/g的三个样品添加浓度进行添加回收实验，按照样本前处理操作，每浓度批次三份，计算回收率，并计算相对标准偏差RSD值。实际测得回收率范围为81.6%-108.1%，RSD范围为1.9%-4.5%。

4、方法定量下限:

36种抗感染类药物在化妆品中的定量限为0.25 µg/g。

实际样本的检测

测试实际化妆品样品，未测得36种抗感染类药物。

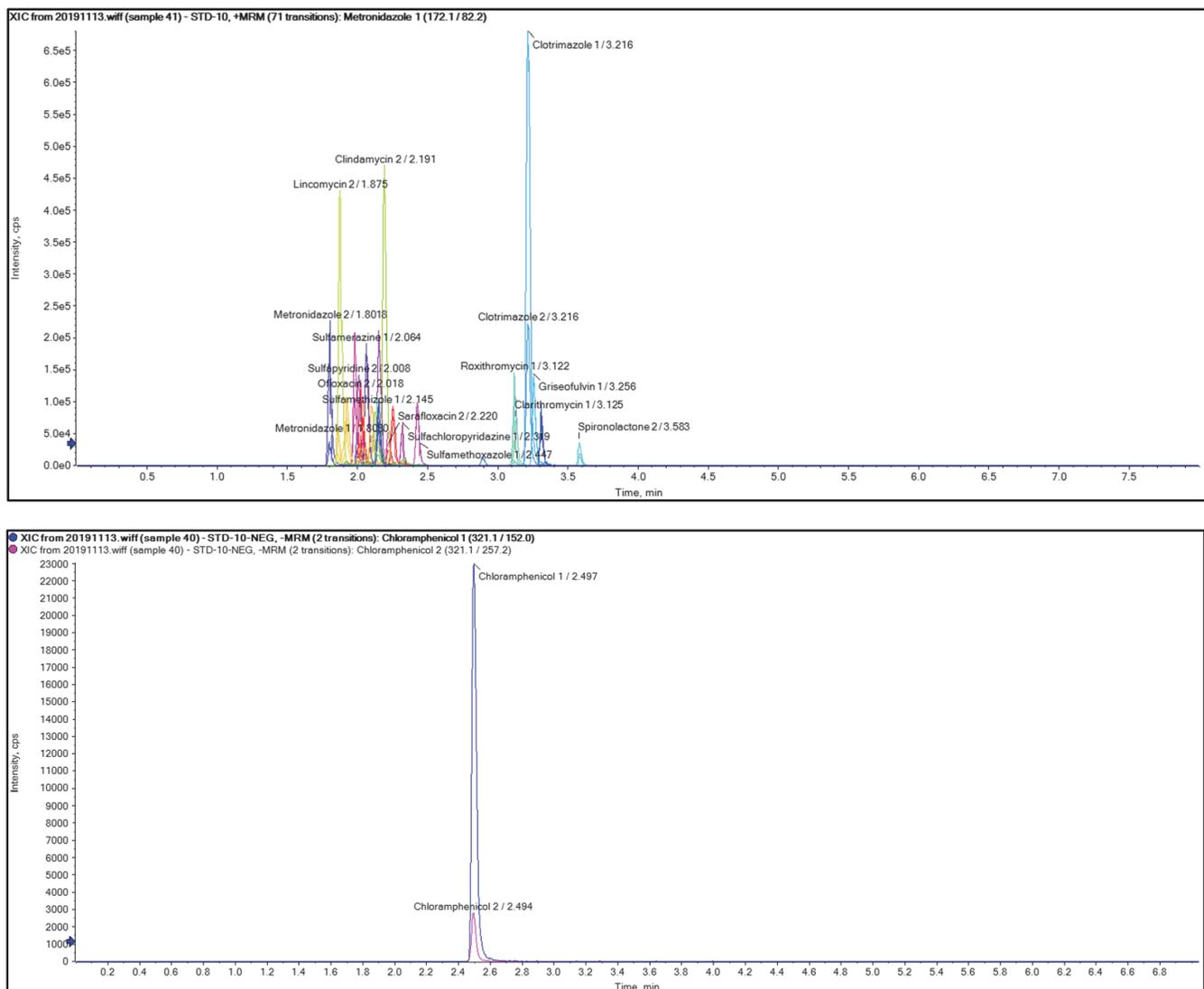


图1. 36种抗感染类药物的提取离子流图。

表3. 化合物线性范围。

| 序号 | 中文名称 | 英文名称 | 线性范围 | 相关系数r |
|----|---------|------------------------|--------------|--------|
| 1 | 甲硝唑 | Metronidazole | 0.25-10 µg/g | 0.9986 |
| 2 | 磺胺吡啶 | Sulfapyridine | 0.25-10 µg/g | 0.9994 |
| 3 | 磺胺甲噁唑 | Sulfamerazine | 0.25-10 µg/g | 0.9995 |
| 4 | 磺胺甲二唑 | Sulfamethizole | 0.25-10 µg/g | 0.9994 |
| 5 | 磺胺甲氧嘧啶 | Sulfamethoxypyridazine | 0.25-10 µg/g | 0.9988 |
| 6 | 磺胺氯吡啶 | Sulfachloropyridazine | 0.25-10 µg/g | 0.9989 |
| 7 | 磺胺甲噁唑 | Sulfamethoxazole | 0.25-10 µg/g | 0.9962 |
| 8 | 依诺沙星 | Enoxacin | 0.25-10 µg/g | 0.9983 |
| 9 | 沙拉沙星 | Sarafloxacin | 0.25-10 µg/g | 0.9972 |
| 10 | 培氟沙星 | Pefloxacin | 0.25-10 µg/g | 0.9991 |
| 11 | 氧氟沙星 | Ofloxacin | 0.25-10 µg/g | 0.9990 |
| 12 | 氟罗沙星 | Fleroxacin | 0.25-10 µg/g | 0.9992 |
| 13 | 双氟沙星 | Difloxacin | 0.25-10 µg/g | 0.9965 |
| 14 | 莫西沙星 | Moxifloxacin | 0.25-10 µg/g | 0.9978 |
| 15 | 诺氟沙星 | Norfloxacin | 0.25-10 µg/g | 0.9991 |
| 16 | 环丙沙星 | Ciprofloxacin | 0.25-10 µg/g | 0.9980 |
| 17 | 恩诺沙星 | Enrofloxacin | 0.25-10 µg/g | 0.9989 |
| 18 | 呋喃它酮 | Furaltone | 0.25-10 µg/g | 0.9993 |
| 19 | 林可霉素 | Lincomycin | 0.25-10 µg/g | 0.9991 |
| 20 | 克林霉素 | Clindamycin | 0.25-10 µg/g | 0.9972 |
| 21 | 克林霉素磷酸酯 | Clindamycin phosphate | 0.25-10 µg/g | 0.9958 |
| 22 | 四环素 | Tetracycline | 0.25-10 µg/g | 0.9995 |
| 23 | 多西环素 | Doxycycline | 0.25-10 µg/g | 0.9965 |
| 24 | 米诺环素 | Minocycline | 0.25-10 µg/g | 0.9984 |
| 25 | 土霉素 | Oxytetracyclin | 0.25-10 µg/g | 0.9976 |
| 26 | 金霉素 | Aureomycin | 0.25-10 µg/g | 0.9987 |
| 27 | 阿奇霉素 | Azithromycin | 0.25-10 µg/g | 0.9993 |
| 28 | 克拉霉素 | Clarithromycin | 0.25-10 µg/g | 0.9981 |
| 29 | 罗红霉素 | Roxithromycin | 0.25-10 µg/g | 0.9986 |
| 30 | 螺内酯 | Spironolactone | 0.25-10 µg/g | 0.9993 |

| 序号 | 中文名称 | 英文名称 | 线性范围 | 相关系数r |
|----|------|-----------------|--------------|--------|
| 31 | 灰黄霉素 | Griseofulvin | 0.25-10 µg/g | 0.9994 |
| 32 | 克霉唑 | Clotrimazole | 0.25-10 µg/g | 0.9992 |
| 33 | 酮康唑 | Ketoconazole | 0.25-10 µg/g | 0.9989 |
| 34 | 氟康唑 | Fluconazole | 0.25-10 µg/g | 0.9996 |
| 35 | 联苯苄唑 | Bifonazole | 0.25-10 µg/g | 0.9973 |
| 36 | 氯霉素 | Chloramphenicol | 0.25-10 µg/g | 0.9995 |

总结

- 1、本文采用了SCIEX Triple Quad™ 3500系统，建立了快速检测化妆品中的36种抗感染类药物的方法；
- 2、仪器分析时间为8 min，远低于检测规范中方法20 min；
- 3、36种抗感染类药物在化妆品中的定量限为0.25 µg/g，低于检测规范方法中的0.75 µg/g（氯霉素定量限3 µg/g）。线性范围为0.25-10 µg/g，线性关系良好， $r > 0.995$ ，保证了不同浓度样品的定量准确性；
- 4、在样品的添加回收实验中，分别0.25 µg/g、3 µg/g和10 µg/g的三个样品添加浓度进行添加回收实验，回收率在81%-96.7%，相对标准偏差为1.4%-3.9%，说明方法准确度高，重复性好；
- 5、SCIEX专利的TurboV™离子源和脉冲技术检测器技术，保证了样品和标准曲线在低浓度点的定量准确度和稳定性，且在大批量样本检测中，仍具有良好的稳定性和耐用性。

参考文献

- [1] 汪鑫、陈蓉.液相色谱-串联质谱法膏霜类化妆品中的41种禁用抗感染药物[J].中国药师: 2018,21(8): 1388-1392
- [2] 国家食品药品监督管理局.化妆品安全技术规范(2015年版)[EB/OL].[2015-12-23]

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。

获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅 <https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。

本文提及的商标和/或注册商标的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。AB SCIEX™ 商标经许可使用。

© 2019 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-10668-ZH-A



SCIEX中国公司

北京分公司
地址：北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808 1388
传真：010-5808 1390

上海公司及中国区应用支持中心
地址：上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419 7200
传真：021-2419 7333

广州分公司
地址：广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510 0200
传真：020-3876 0835

全国免费垂询电话：800 820 3488, 400 821 3897 网址：sciex.com.cn 官方微信：ABSciex-China