LC-MS 快速测定面膜中的地塞米松

王新财[1]，胡磊[2*](1.湖州市食品药品检验研究院，浙江 湖州 313000；2.浙江省食品药品检验研究院，杭州 310052)

摘要：目的 建立一种快速测定面膜中地塞米松含量的 LC-MS 法。**方法** 面膜样品加泼尼松为内标后，用饱和氯化钠和乙腈提取，用 C_{18} 粉末净化后直接上机分析。测定采用 SB-C_{18}(50 mm×2.1 mm，1.8 μm)为分离色谱柱，以甲醇-0.1%甲酸(90∶10)为流动相，柱温 35 ℃，流速 0.2 mL·min^{-1}，扫描方式是多反应监测模式。**结果** 地塞米松在 0.2~10 μg·mL^{-1}内线性良好(r=0.999 8)，高中低水平的回收率分别为 104.4%，95.8%和 93.3%，相应 RSD 分别为 1.0%，0.3%和 1.1%。检测 40 批实际样品，检出 1 批地塞米松含量为 3.51 mg·kg^{-1}。**结论** 本方法可以快速准确地测定面膜中的地塞米松。

关键词：地塞米松；内标；面膜；糖皮质激素；液质联用

中图分类号：R917.101 **文献标志码**：B **文章编号**：1007-7693(2018)06-0836-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.06.011

引用本文：王新财, 胡磊. LC-MS 快速测定面膜中的地塞米松[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(6): 836-839.

Fast Determination of Dexamethasone in Facial Mask by LC-MS

WANG Xincai[1], HU Lei[2*](*1.Huzhou Institute for Food and Drug Control, Huzhou 313000, China; 2.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a fast liquid chromatography-mass spectrometry method for determination of dexamethasone in facial mask. **METHODS** The facial mask samples were added prednisone as internal standard, then extracted by saturated sodium chloride and acetonitrile, injected and analyzed after purified by C_{18} powder. An SB-C_{18} column(50 mm×2.1 mm, 1.8 μm) was used as stationary phase and methanol-0.1% formic acid(90∶10) was used as the mobile phase. The flow rate was 0.2 mL·min^{-1} and the column temperature was 35 ℃. The scan mode was multi reaction monitoring. **RESULTS** The linear of dexamethasone acted well in range of 0.2–10 μg·mL^{-1}(r=0.999 8). The recoveries of high, middle and low concentration were 104.4%, 95.8% and 93.3%, the RSDs were 1.0%, 0.3% and 1.1% respectively. There was one sample detected for 3.51 mg·kg^{-1} dexamethasone in 40 actual samples. **CONCLUSION** This method has been validated for determination of dexamethasone in facial mask accurately and rapidly.

KEY WORDS: dexamethasone; internal standard; mask; glucocorticoids; LC-MS

地塞米松为常见的糖皮质激素，这种激素对轻度面部皮炎等病症会产生明显的效果，使用后皮肤很快变得光滑。但长期使用会产生激素依赖，引起全身的不良反应[1]，我国和欧盟早就将其列为禁用物质[2-3]。2015 年 8 月 22 日国家食品药品监督管理总局关于 11 批次面膜类化妆品不合格的通告(2015 年第 56 号)中，通报 11 批次面膜类产品存在非法添加糖皮质激素[4]。由于微商等网络渠道化妆品的兴起与发展，化妆品市场的安全性无法有效保障。经临床和市场抽样发现，化妆品中激素的添加成为一个日趋严重的问题，地塞米松就是常见的添加物质之一。检测糖皮质激素一般用 GB/T24800.2-2009 所载方法[5]，但是需要 2 次提取以及过柱净化，前处理过程繁琐，非常不适合大批量处理，对操作要求也高，难以得到准确的结果。目前的相关文献中，部分涉及液质条件的优化[6]，不能解决主要矛盾；部分提出了一些用于检测的新仪器和新方法[7-8]，普遍有通用性不强和方法不够稳定的缺点。实际检测需要更实用、高效、快速、稳定、简便的方法。

本实验通过查阅文献和反复试验，使用内标追踪和 C_{18} 净化的办法，建立了一套便捷、高效、准确地测定化妆品中地塞米松的方法，并检测了大量实际样品，验证了方法的可靠性。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Agilent 6490-G1290QQQ 型液质联用仪(美国 Agilent)；涡旋振荡仪(广州依科 MS3)；MULTIFUGE X1 热电高速离心机(美国热电)；57044 型固相萃取仪(美国 Suplelco)；Genpure

作者简介：王新财，男，硕士，副主任药师 Tel: (0572)2750808 E-mail: 357283692@qq.com ***通信作者**：胡磊，男，硕士，主管药师 Tel: (0571)87180330 E-mail: hl3632086@163.com

UV/UF 型热电纯水仪(美国热电)；MV5 型自动浓缩仪(北京莱伯泰科仪器股份有限公司)。

地塞米松对照品(批号：100129-201105，含量：99.7%)和泼尼松对照品(批号：100199-201503，含量：99.6%)均购自中国食品药品检定研究院；乙腈、甲醇(色谱纯，默克公司)；乙酸锌、氯化钠、亚铁氰化钾(分析纯，国药集团)；Qasis HLB 固相萃取小柱(3 mL/60 mg，Waters 公司)；面膜来源：市场购买。

1.2 方法

1.2.1 对照品溶液的配制 精密称取地塞米松和泼尼松对照品约 10 mg，分别用甲醇稀释至 10.0 mL，分别作为对照品和内标储备液。

1.2.2 标准曲线 取地塞米松和泼尼松储备液各适量，用 40%乙腈稀释，使地塞米松浓度为 0.05，0.1，0.2，0.4，0.8，1.0 μg·mL^{-1}，其中内标的浓度恒定为 0.5 μg·mL^{-1}，对照品与供试品进样量均为 1 μL。

1.2.3 样品前处理 方法一：称取上述供试品(初筛为阳性的面膜)约 0.2 g，分别加入内标适量(保证内标终浓度为 0.5 μg·mL^{-1})，于 10 mL 具塞离心管中，加入 3 mL 饱和氯化钠，涡旋混匀，加入 2 mL 乙腈，混匀，涡旋提取 2 min，5 000 r·min^{-1}离心 10 min，取上层清液加 C_{18} 粉末 100 mg 振摇 1 min，5 000 r·min^{-1}离心 5 min，取上清进样分析。

方法二：按 GB/T 24800.2-2009，称取供试品(与方法一中样品相同)约 0.2 g 于 10 mL 具塞离心管中，加入 3 mL 饱和氯化钠溶液，涡旋混匀，加入 2 mL 乙腈，混匀，涡旋提取 2 min，5 000 r·min^{-1}离心 10 min。吸取上清于另一 50 mL 具塞离心管中，下层溶液用 2 mL 乙腈重复提取一次，合并 2 次乙腈提取液，准确加入 40 mL 水，混匀，加入 10%亚铁氰化钾溶液 0.2 mL，混匀，加入 20%乙酸锌溶液 0.2 mL，混匀，5 000 r·min^{-1}离心 10 min，取上清液进行固相萃取。

Waters Oasis HLB 固相萃取小柱预先依次用甲醇 5 mL，水 10 mL 活化后，将提取液样品用滤纸过滤后流经小柱，待样品溶液流尽后，使用 10%乙腈水溶液 10 mL 清洗。待清洗液流尽后，准确吸取甲醇 4 mL 淋洗小柱，收集洗脱液，收集完成后氮气吹干，准确加入 5 mL 50%甲醇溶解，得供试品溶液。

1.2.4 液质条件 色谱条件：色谱柱 SB-C_{18} (100 mm×2.1 mm，1.8 μm)，柱温 35 ℃，流动相为甲醇-0.1%甲酸(90∶10)，流速：0.2 mL·min^{-1}。

质谱条件：电离源 ESI，毛细管温度为 300 ℃，鞘气流速为 7 L·min^{-1}，源压力 3.5 kV，正离子模式，扫描方式为多反应监测模式；母离子为 359(泼尼松)和 393(地塞米松)，子离子为 147(359)、341(359)、355(393)和 147(393)，其中 359>341 和 393>355 分别为泼尼松和地塞米松的定量离子对。

2 结果

2.1 2 种方法结果的比较

方法一供试品的平均检测结果为 20.15 mg·kg^{-1}，方法二供试品的平均检测结果为 19.75 mg·kg^{-1}，结果偏差为 1.7%，表明用方法一后也能得到准确结果。方法二步骤非常繁琐，耗材较贵，不适合大规模的样品处理，选择优化方法一的方法。

2.2 线性关系

以相对峰面积(y)对相对浓度(x，μg·mL^{-1})绘制内标标准曲线，方程 y=0.404 7x+0.004 6，线性范围为 0.2~10 μg·mL^{-1}，相关系数为 0.999 8，线性关系良好。

2.3 精密度试验

以浓度为 0.5 μg·mL^{-1}的对照品(加入内标使浓度为 0.5 μg·mL^{-1})平行进样 6 次，测定比值(对照品峰面积/内标峰面积)，计算 RSD 为 0.5%。

2.4 稳定性试验

取中水平加标样品分别于 0，2，4，8，12，16，24，32，48 h 测定其比值(对照品峰面积/内标峰面积)，RSD 为 2.7%，稳定性良好。

2.5 重复性试验

平行制备 6 份同水平加标样品(加标水平为 1 mg·kg^{-1})进行测定，结果分别为 1.06，1.08，1.06，1.05，1.03，1.09 mg·kg^{-1}，RSD 为 2.0%，重复性良好。

2.6 空白试验

选空白样品按方法一处理，上机分析，目标物出峰处无干扰，空白专属性良好，见图 1。

2.7 回收率试验

称样品 9 份，做高中低 3 水平加标试验，每个水平平行 3 份，加标水平分别为 0.2，0.5，1.0 mg·kg^{-1}，按方法一处理得结果，回收率为 90%~110%，RSD<1.5%，结果见表 1。加标回收率典型图谱见图 2。

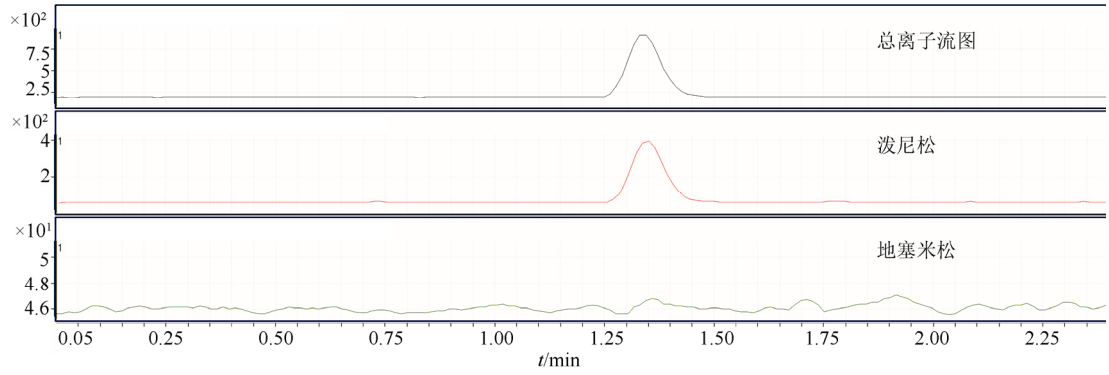

图 1 空白样品典型图谱(总离子流图和提取离子流图)

Fig. 1 The typical chromatograms of blank sample (TIC and EIC)

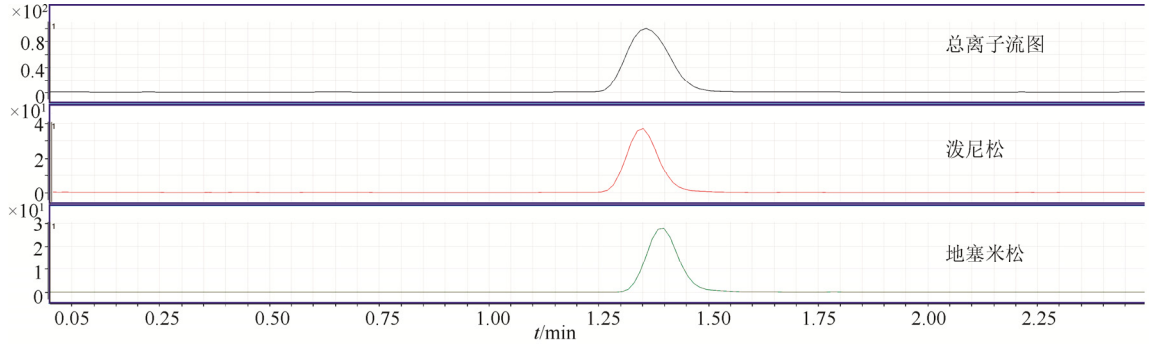

图 2 加标样品典型图谱(总离子流图和提取离子流图)

Fig. 2 The typical chromatograms of spiked sample (TIC and EIC)

表 1 回收率测定结果

Tab. 1 The results of recovery test

回收率	平行 1/%	平行 2/%	平行 3/%	平均值/%	RSD/%
低水平	92.1	93.5	94.2	93.3	1.1
中水平	95.5	95.7	96.1	95.8	0.3
高水平	105.6	103.8	103.9	104.4	1.0

2.8 检出限与定量限

称 0.2 g 空白样品，加入适当对照品，进行检出限和定量限试验，按照 *S/N*=3 和 *S/N*=10 分别计算得到检出限为 0.005 mg·kg^{-1}(*S/N*=3)，定量限为 0.2 mg·kg^{-1}(*S/N*=10)。

2.9 实际样品检测

从市场上买来 40 批面膜样品，使用本方法检测，其中有 1 批检出地塞米松，检出量为 3.51 mg·kg^{-1}，国标 GB/T 24800.2-2009 测试结果为 3.48 mg·kg^{-1}，偏差为 0.4%，其余未检出结果一致。

3 总结与讨论

3.1 提取溶剂的选择

在提取试验阶段，采用甲醇、水、60%乙腈、40%乙腈、乙酸乙酯分别提取，发现甲醇、乙腈和乙酸乙酯提取效率不足 50%，60%和 40%乙腈水溶液乳化严重，离心和过滤都难以澄清，水提取发现杂质太多，难以净化，故仍然选择饱和氯化钠提取结合乙腈再次萃取的方式(饱和氯化钠可以和乙腈充分分层)，效果良好。

3.2 净化条件的优化

采用 C_{18}、弗罗里硅土、PSA，各加入 100 mg，其他实验过程相同，考察净化结果并比较，其中 C_{18} 处理的回收率结果更接近 100%，弗罗里硅土和 PSA 的回收率结果在 130%~140%之间，明显净化效果不好，故选择 C_{18} 颗粒作为净化剂。

3.3 内标的选择

内标要选择一种结构类似、性质接近的物质，优化实验中曾经选取过倍他米松、氟米松、泼尼松、甲基泼尼松龙等糖皮质激素为内标，倍他米松离子对与地塞米松相同，不能区分，氟米松和甲基泼尼松龙作为内标，回收率<80%，综合考虑，选择泼尼松，与地塞米松结构类似，分子量接近且有区别，色谱行为类似，能明显地降低基质效应，且性质稳定，容易获得，实际试验效果良好。

3.4 LC-MS 条件的选择

通过比较甲醇-甲酸，甲醇-甲酸铵，乙腈-甲

酸，乙腈-甲酸铵体系，发现在甲醇-甲酸体系下这2种激素相应最佳，在90%的有机相条件下洗脱可大大缩短分析时间(2 min内出峰完成)，提高效率且不影响结果的准确性，并通过Agilent Masshunter Optimizer软件自动筛选定量及定性离子对，并对碰撞能量进行优化，得到多反应监测模式的实验条件，通过上述一系列的条件优化，实现快速准确地完成分析的目标。

泼尼松作为另一种糖皮质激素，与地塞米松结构类似，能够用泼尼松做内标，可以追踪实验全流程，简化提取净化过程，很好地规避提取过程的基质效应和损失，不需过柱和复溶，使过程大大简化，且不使用固相萃取柱和相关试剂，明显降低成本，实现对整体实验过程的全面优化，从而达到方便高效准确地分析面膜中地塞米松的目的。目前仅限于面膜基质，其他基质需要进一步优化和试验，但本研究为糖皮质激素的测定提供了一种新的思路，并为监管提高效率提供支持，前景广阔。

REFERENCES

[1] LU H G. Facial corticosteroid addictive dermatitis [J]. J Clin Dermatol, 2006, 35(10): 682-684.

[2] 化妆品安全技术规范[S]. 2015: 57.

[3] The Cosmetics Directive of the Council European Communities. 76/768/EEC [S]. 2008: 81.

[4] 国家食品药品监督管理总局. 国家食品药品监督管理总局关于11批次面膜类化妆品不合格的通告(2015年第56号)[EB/OL][2015-08-22]. http: //www.sda.gov.cn/WS01/CL0087/127700. html.

[5] GB/T 24800. 2-2009. Determination of 41 glucocorticoids in cosmetics by LC-MS-MS and TLC method [S]. 2009: 1-19.

[6] ZHAO X Y, LIN Y F, HU X Z et al. Determination of 9 glucocorficoids in cosmetics by reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. Chin J Anal Lab(分析试验室), 2009, 28(2): 111-115.

[7] OU B L, ZHAO J L, ZOU Y, et al. Simultaneous determination of 16 glucocorticoids added in Chinese patent medicine and health products by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(9): 1178-1182.

[8] LIU F K, CHANG Y C. Using thiol-capped gold nanoparticlesin the background solution of MEKC to concentrateand separate neutral steroids [J]. Chromatographia, 2010, 72(11/12): 1129-1135.

收稿日期：2017-09-07

(本文责编：曹粤锋)

http://www.chinjmap.com