

化粧品中Salvinorin A檢驗方法之建立

許芸華 鄭淑晶 張淑涵 黃守潔 曾素香 王德原

食品藥物管理署研究檢驗組

摘 要

Salvinorin A為墨西哥鼠尾草(*Salvia divinorum*)中致幻覺效果的主要成分，其迷幻效果類似大麻，逐漸受到關注與採取管制措施，依據化粧品衛生安全管理法及相關規定，化粧品成分之使用，應符合相關規範並確保化粧品之品質與保障消費者使用安全。為瞭解含鼠尾草成分之化粧品是否符合相關規範並保障消費者權益，本研究目的為建立化粧品中salvinorin A檢驗方法，並進行9件市售產品測試，以評估方法可行性。檢體前處理採用液液萃取，搭配液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)進行分析，層析部分採用Accucore RP-MS管柱，使用梯度流洗，分析時間共16分鐘。添加回收試驗為於空白樣品(乳液、肥皂及精油)中添加20 $\mu\text{g/kg}$ 及100 $\mu\text{g/kg}$ 之標準品，其平均回收率分別介於83.1-103.1%及87.4-108.8%，添加20 $\mu\text{g/kg}$ 標準品之同日與異日變異係數分別為3.6及7.1% (乳液)、5.4及6.7% (基底油)、3.0及6.5% (肥皂)，顯示方法準確度與重複性皆良好，本方法之定量極限為20 $\mu\text{g/kg}$ 。

關鍵詞：化粧品、鼠尾草、salvinorin A

前 言

天然植物萃取成分因其對哺乳類動物具低毒性，常做為化粧品原料使用，且其含有之天然抗氧化成分，如多酚類、黃酮類、烯類等化合物，可改善因氧化作用產生自由基導致之皮膚乾燥、發炎、粉刺、皺紋產生、皮膚老化、皮膚組織彈性變性及色素沉澱等現象⁽¹⁻³⁾。除此之外，亦有用於頭髮護理或加強頭髮光澤度與色澤持久性等其他用途⁽³⁾。部分藥用植物因其具特殊之化學活性成分，被視為具廣大的市場開發潛力，如大麻含有超過423種已知化合物⁽⁴⁾，其中包含至少65種大麻素成分⁽⁵⁾，如大麻酚(cannabinol, CBN)、大麻二酚

(cannabidiol, CBD)及精神活性物質四氫大麻酚(tetrahydrocannabinol, THC)等。植物中某些特殊活性成分，可能與品種或萃取部位有關，如快樂鼠尾草(*Salvia sclarea*)取自葉片和芽之萃取精油，具有清新香氣，有助於舒緩身心、幫助提神及減輕疼痛；但產自墨西哥瓦哈卡州之墨西哥鼠尾草(*S. divinorum*)則含有salvinorin A，具精神活性成分，吸入後可產生短暫但強烈之迷幻作用，濫用可能導致成癮性。

Salvinorin A為無氮二萜類(neoclerodane diterpenoid)、選擇性kappa受體致效劑，是墨西哥鼠尾草中致幻覺效果的主要成分⁽⁶⁻⁸⁾，神聖鼠尾草早先被用於墨西哥瓦哈卡州(Oaxaca)之民俗療法，但近年遍佈於美國專門販售吸食

大麻、煙草或其他另類產品設備的商店或於網路上供娛樂用途。美國各州已逐漸採取管制措施並受到關注重視。目前我國尚無該成分之使用限制與管理規定，惟化粧品成分之使用，除須遵循化粧品衛生安全管理法及相關規定外，應有科學性佐證確定該產品之安全性，並得參酌國際間准許使用於化粧品中之相關規範基準及安全性評估等資料，以確保化粧品之品質與保障消費者使用安全。

有文獻研究指出市面上販售之*S. divinorum*發現含有salvinorin A，而在台灣原生種鼠尾草則並未發現含有該迷幻成分⁽⁹⁾。雖然台灣原生種鼠尾草可能未具有迷幻作用，但市面上販售之*S. divinorum*及其相關濃縮產品可能成為新興濫用物質⁽⁹⁾。目前國際間尚未見化粧品中salvinorin A之相關檢驗方法，本研究建立以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)利用電灑游離法(electrospray ionization, ESI)，並搭配多重反應偵測模式(multiple reaction monitoring, MRM)建立化粧品中salvinorin A之檢驗方法，並以市售產品測試評估方法可行性與適用性。

材料與方法

一、檢體來源

化粧品檢體共9件包含洗髮露、潔淨慕絲、護髮精油、身體乳、護手霜、頭皮調理精油等，包裝成分標示均含「鼠尾草」或含「sage」等字樣，於110年購自大賣場、超市、藥粧店等，儲放於室溫備用。

二、試藥

甲酸及乙腈採用液相層析質譜級(J.T. Baker, USA)，去離子水(比電阻於25℃可達18 MΩ·cm以上)；salvinorin A對照用標準品(ChromaDex, USA)。

三、儀器與裝置

- (一)液相層析串聯質譜儀：液相層析儀(Acquity UPLC[®] H-class, Waters, USA)，串聯質譜儀(Xevo[®] TQ-XS, Waters, USA)。
- (二)離子源：電灑游離法正離子模式(positive ion electrospray ionization, ESI⁺)。
- (三)層析管柱：Accucore[™] RP-MS (2.6 μm，內徑2.1 mm × 100 mm) (Thermo Fisher Scientific, USA)。
- (四)超音波振盪器(GT Sonic，國成科學儀器有限公司，臺灣)。
- (五)離心機(Tabletop Centrifuge 4000, KUBOTA, Japan)。

四、移動相溶液之調製

- (一)移動相溶液A：取1 mL甲酸，以去離子水稀釋至1000 mL，供作移動相溶液A。
- (二)移動相溶液B：取1 mL甲酸，以乙腈稀釋至1000 mL，供作移動相溶液B。

五、標準溶液之配製及標準曲線製作

- (一)標準溶液之配製：取salvinorin A對照用標準品約10 mg，精確稱定，以乙腈溶解並定容至10 mL，作為標準原液，冷凍避光貯存。臨用時，取適量標準原液，以乙腈稀釋至1-20 ng/mL，供作標準溶液。
- (二)標準曲線之製作：精確量取標準溶液各3 μL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依下列條件進行分析。就salvinorin A之波峰面積與對應之salvinorin A濃度，製作標準曲線。

液相層析串聯質譜分析測定條件：

層析管：Accucore[™] RP-MS，2.6 μm，內徑2.1 mm × 100 mm。

層析管溫度：40℃。

樣品槽溫度：15℃。

移動相溶液：A液與B液以下列條件(表

一)，進行梯度分析

表一、液相層析梯度條件

時間(min)	A(%)	B(%)
0.0→ 1.0	85→ 85	15→ 15
1.0→ 3.0	85→ 10	15→ 90
3.0→ 5.0	10→ 10	90→ 90
5.0→ 5.5	10→ 0	90→ 100
5.5→ 7.5	0→ 0	100→ 100
7.5→ 8.0	0→ 85	100→ 15
8.0→ 16.0	85→ 85	15→ 15

移動相流速：0.3 mL/min。

注入量：3 μ L。

離子化模式：ESI正離子。

毛細管電壓(capillary voltage)：2.0 kV。

離子源溫度(ion source temperature)：
150°C。

溶媒揮散溫度(desolvation temperature)：
350°C。

進樣錐氣體流速(cone gas flow rate)：150
L/hr。

溶媒揮散流速(desolvation flow rate)：750
L/hr。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction
monitoring, MRM)。偵測離子對、進
樣錐電壓(cone voltage, CV)及碰撞能量
(collision energy, CE)如表二。

六、檢液之調製

將檢體混勻，取約0.5 g，精確稱定，加入
乙腈8 mL，混合均勻，經超音波振盪30分鐘，
以乙腈定容至10 mL，置於離心管中，以4000
 $\times$ g離心5分鐘，取上清液經濾膜過濾，供作檢
液。

七、鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液各3 μ L，分別注
入液相層析串聯質譜儀中，依五、(二)測定條件

表二、Salvinorin A之偵測離子對與碰撞能量

分析物	離子對	進樣錐 電壓(V)	碰撞能 量(eV)
	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)		
Salvinorin A	433 > 373*	15	8
	433 > 355		14
	433 > 341		14
	433 > 313		16

* 定量離子對，定性離子對可視基質情況選擇適合之至少
一對離子對

進行分析。就檢液與標準溶液所得波峰之滯留
時間及多重反應偵測相對離子強度鑑別之，
並依下列計算式求出檢體中salvinorin A之含量
(μ g/kg)：

檢體中salvinorin A之含量(μ g/kg) =

$$\frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中salvinorin A之
濃度(μ g/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

相對離子強度由定性離子對與定量離子對
之波峰面積相除而得($\leq 100\%$)，容許範圍如表
三。

八、專一性評估

取空白樣品(乳液、基底油、肥皂)，依
六、檢液之調製及七、鑑別試驗及含量測定進
行分析，確認無待測物干擾。

九、準確度及精密度評估

表三、以LC-MS/MS分析之相對離子強度容許範圍

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 20
> 20 - 50	± 25
> 10 - 20	± 30
≤ 10	± 50

取空白樣品(乳液、基底油、肥皂)，加入salvinorin A標準溶液，使其濃度為20 µg/kg及100 µg/kg，依六、檢液之調製及七、鑑別試驗及含量測定進行5重複試驗，計算回收率及重複性。

十、定量極限評估

取空白樣品(乳液、基底油、肥皂)，加入salvinorin A標準溶液，依六、檢液之調製及七、鑑別試驗及含量測定進行5重複試驗，就所得波峰之訊號強度計算其訊噪比(S/N ratio)，取訊噪比>10之最低濃度為定量極限。

十一、基質效應評估

配製純溶劑檢量線(standard calibration curve, SCC)，配製濃度為1-20 ng/mL。基質匹配檢量線(matrix-matched calibration curve, MCC)配製則稱取空白樣品(乳液、基底油、肥皂) 0.5 g分別添加標準品，依檢液製備步驟萃取，使其最終濃度為1-20 ng/mL。基質效應計算公式如下：

$$\text{基質效應(\%)} = (\text{MCC之斜率} - \text{SCC之斜率}) / \text{SCC之斜率} \times 100$$

結果與討論

一、Salvinorin A質譜游離參數與層析條件探討

直接注入salvinorin A標準品1 µg/mL於質譜儀中，salvinorin A $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z 433)以電灑游離法正離子模式下可獲得較佳穩定訊號，再調整碰撞能量至最適化，可獲得主要產物離子碎片包含 m/z 373、 m/z 355、 m/z 341及 m/z 313，此碎片離子結果與文獻一致^(10,11)。層析條件則參考文獻⁽¹²⁾，層析管柱選擇Accucore™ RP-MS，移動相組成分別為均含0.1%甲酸之去離子水(A)及乙腈(B)。以起始移動相B組成15%維持1分鐘後，續以2分鐘內拉高梯度至

90%移動相B，再以100%移動相B維持2分鐘後回到初始條件平衡，整體分析時間為16分鐘。

二、專一性

取空白樣品(乳液、基底油、肥皂)，依材料與方法六、檢液之調製及七、鑑別試驗及含量測定進行分析，層析圖如圖一，顯示無干擾待測物現象。

三、標準曲線線性

依材料與方法五、標準溶液之配製及標準曲線製作，標準溶液濃度範圍在1-20 ng/mL間，經檢測所得濃度對應之訊號響應值繪製標準曲線如圖二，迴歸方程式為 $y=15395.4x+1538.6$ ，其 R^2 值在0.995以上，顯示在1-20 ng/mL之濃度範圍內其線性關係良好。

四、準確度及精密度

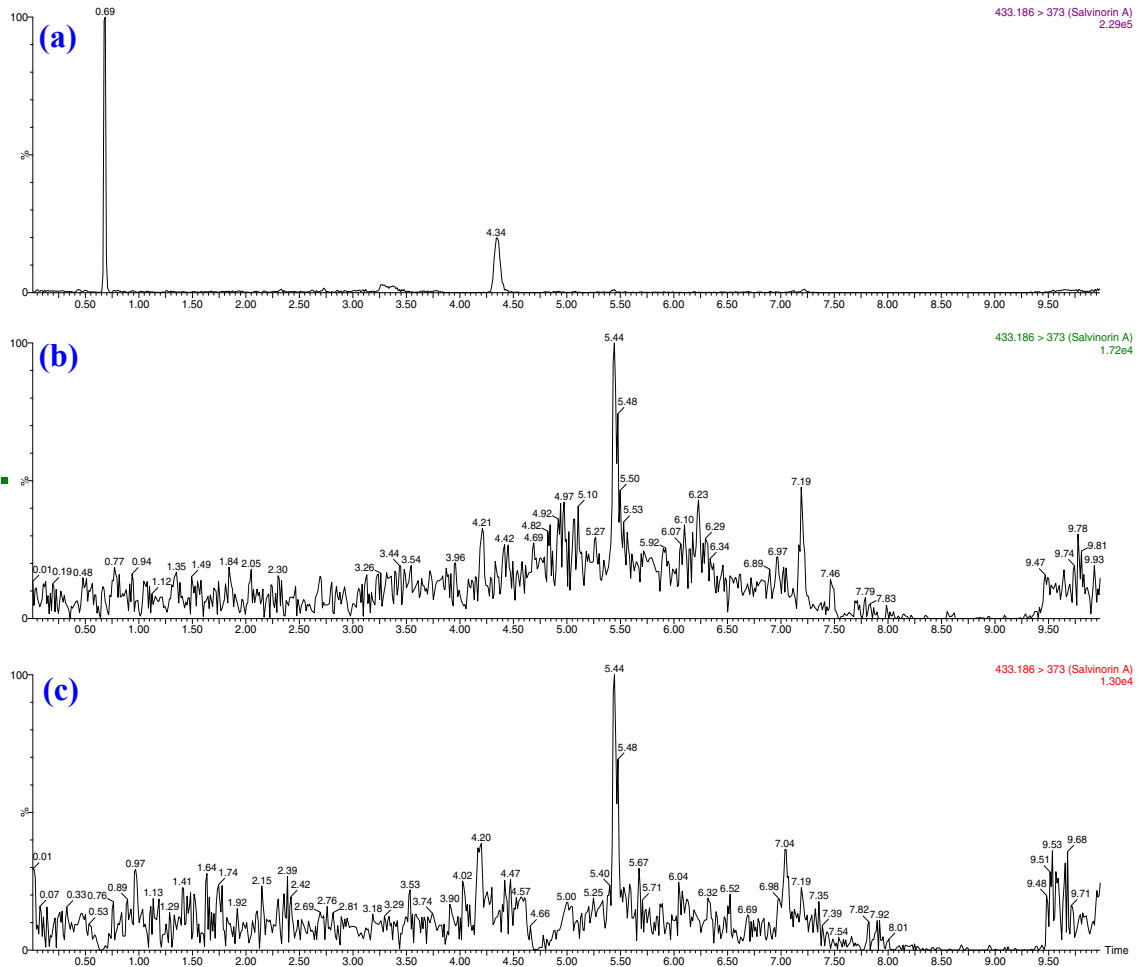
於空白樣品(乳液、基底油、肥皂)中添加salvinorin A標準溶液，使其濃度為20 µg/kg及100 µg/kg，依材料與方法五、檢液之調製及六、鑑別試驗及含量測定進行5重複試驗，其回收率介於83.1-108.8% (表四)，變異係數(coefficient of variation, CV)介於1.8-7.1%，顯示此方法具有良好之準確度及精密度。

五、定量極限評估

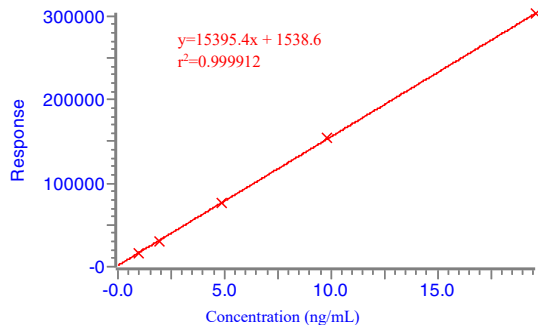
於空白樣品(乳液、基底油、肥皂)中添加低濃度salvinorin A標準溶液，依五、檢液之調製及六、鑑別試驗及含量測定進行分析，就訊噪比大於10之最低濃度評估定量極限，結果顯示檢體濃度為20 µg/kg可作為本方法之定量極限，層析圖如圖三所示。

六、基質效應評估

稱取空白樣品(乳液、基底油、肥皂)約0.5 g，依六、檢液之調製進行萃取，得空白檢



圖一、以LC-MS/MS分析空白樣品(乳液(a)、基底油(b)及肥皂(c))中salvinorin A之MRM圖譜



圖二、Salvinorin A之標準曲線

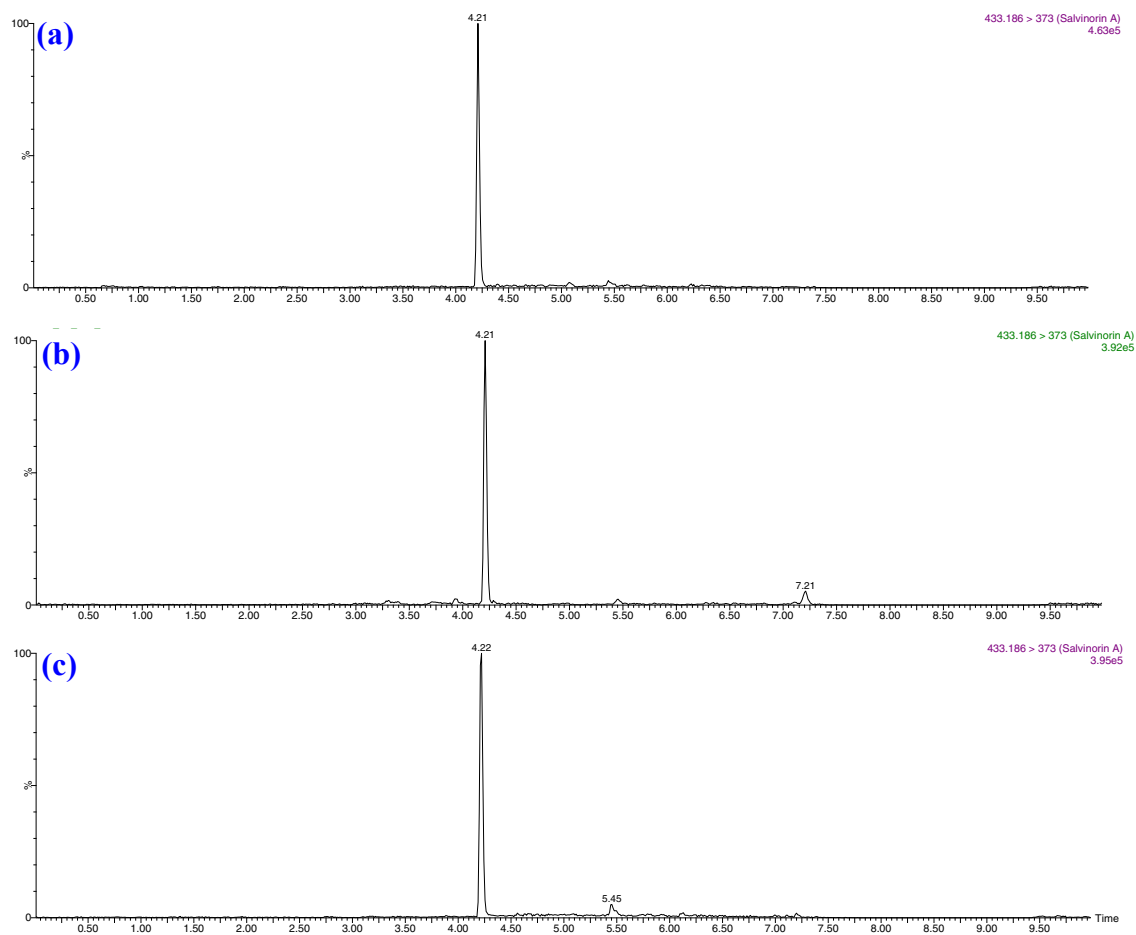
液。於空白檢液添加標準品製成1-20 ng/mL之基質匹配檢量線溶液，再以液相層析串聯質譜儀(LC/MS/MS)檢測，製作基質匹配檢量線。表五基質效應均為抑制情形，範圍落在-13.0-5.8%，雖肥皂基質之基質效應影響程度相對較大，但檢體添加回收率尚屬可行。

七、市售產品之方法適用性評估

價購市售9件品名或成分標示含「鼠尾草」、「*Salvia Sclarea* (Clary) Extract」、「*Salvia Officinalis* Leaf Extract」、「Clary

表四、Salvinorin A於空白樣品之添加回收試驗及精密度測試結果

基質	Intra-day (n=5)				Inter-day (n=15)			
	20 µg/kg		100 µg/kg		20 µg/kg		100 µg/kg	
	Rec (%)	CV (%)	Rec (%)	CV (%)	Rec (%)	CV (%)	Rec (%)	CV (%)
乳液	83.1	3.6	87.4	2.5	83.3	7.1	88.8	5.0
基底油	103.1	5.4	108.8	1.8	96.4	6.7	104.9	4.7
肥皂	96.3	3.0	103.4	4.9	95.0	6.5	102.3	7.0



圖三、空白樣品(乳液(a)、基底油(b)及肥皂(c))中添加Salvinorin A標準品20 µg/kg之MRM圖

sage oil」等字樣之化粧品，包括4件國產及5件進口，樣品種類包含有乳液、髮油、洗沐等類型，依所建立之方法進行評估，結果均未檢出 salvinorin A。

結 論

本檢驗方法之回收率及再現性均良好，標準曲線於濃度範圍1-20 ng/mL之R²值為0.995以

表五、Salvinorin A之基質效應評估

分析物	基質	標準曲線	基質匹配標準曲線	基質效應(%)
Salvinorin A	乳液	$y = 15163.67x + 269.07$	$y = 14288.46x - 87.18$	-5.8%*
	基底油	$y = 16978.95x - 0.23$	$y = 15836.63x - 1881.99$	-6.7%*
	肥皂	$y = 16978.95x - 0.23$	$y = 14777.45x - 1620.18$	-13.0%*

*“-”表示抑制作用

上。於空白樣品中添加Salvinorin A標準溶液進行20 µg/kg及100 µg/kg濃度添加回收試驗，回收率介於83.1-108.8%，方法定量極限為20 µg/kg，顯示本方法之回收率、重複性及靈敏度皆相當良好，可提供做為化粧品中Salvinorin A含量檢驗之用。

參考文獻

1. Kusumawati, I. and Indrayanto, G. 2013. Chapter 15 Natural antioxidants in cosmetics. Stud. Nat. Prod. Chem. 40: 485-505.
2. Deniz, F.S.S., Orhan, I.E. and Duman, H. 2021. Profiling cosmeceutical effects of various herbal extracts through elastase, collagenase, tyrosinase inhibitory and antioxidant assays. Phytochem. Lett. 45: 171-183.
3. Aburjai, T. and Natsheh, F.M. 2003. Plants used in cosmetics. Phytother. Res. 17: 987-100.
4. Russo, E.B. 2013. Cannabis and cannabinoids: pharmacology, toxicology, and therapeutic potential. Routledge. NY, USA.
5. Newton, D.E. 2013. Marijuana: a reference handbook. ABC-CLIO. Santa Barbara, CA, USA.
6. Roth, B.L., Baner, K., Westkaemper, R., Siebert, D. and *et al.* 2002. Salvinorin A: a potent naturally occurring nonnitrogenous κ opioid selective agonist. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99: 11934-11939.
7. Chavkin, C., Sud, S., Jin, W., Stewart, J. and *et al.* 2004. Salvinorin A, an active component of the hallucinogenic sage *Salvia divinorum* is a highly efficacious κ -opioid receptor agonist: structural and functional considerations. J. Pharmacol. Exp. Ther. 308: 1197-1203.
8. Wang, Y., Tang, K., Inan, S., Siebert, D. and *et al.* 2005. Comparison of pharmacological activities of three distinct κ ligands (Salvinorin A, TRK-820 and 3FLB) on κ opioid receptors in vitro and their antipruritic and antinociceptive activities in vivo. J. Pharmacol. Exp. Ther. 312: 220-230.
9. 林柏翔。2012。台灣市面上販售之*Salvia divinorum*及台灣原生種鼠尾草中迷幻成分salvinorin A之含量檢測及管理探討。高雄醫學大學藥學研究所碩士論文。
10. Medana, C., Massolino, C., Pazzi, M. and Baiocchi, C. 2006. Determination of salvinorins and divinorins in *Salvia divinorum* leaves by liquid chromatography/multistage mass spectrometry. Rapid Commun. Mass Spectrom. 20: 131-136.
11. Cspers, M.J., Williams, T.D., Lovell, K.M. and *et al.* 2013. LC-MS/MS quantification of salvinorin A from biological fluids. Anal. Methods 5: 7042.
12. Aubin, A.J. and Waite, M. 2008. UPLC-MS/MS analysis of salvinorin

A from *Salvia divinorum*. (Application note 720002571-zh_tw). [https://www.waters.com/content/dam/waters/en/appnotes/2008/720002571/720002571-zh_tw.pdf.]

13. 衛生福利部食品藥物管理署。2021。檢驗機構實驗室品質系統基本規範 [<http://www.fda.gov.tw/TC/siteContent.aspx?sid=10908>]。

Development of the Test Method for Salvinorin A in Cosmetics

YUN-HUA HSU, SHU-CHING CHENG, SHU-HAN CHANG,
SHOU-CHIEH HUANG, SU-HSIANG TSENG AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

Salvinorin A is the main component of the powerful hallucinogenic plant *Salvia divinorum*. The hallucinatory effect of salvinorin A in *Salvia divinorum* is similar to marijuana, and its drug abuse has become a new trend and needs more concern. According to the Cosmetic Hygiene and Safety Act and relevant regulations, the ingredients must be safe for consumers under customary conditions of use, companies and individuals who market cosmetics have responsibility to ensure the safety of their products. The aim of this study was to develop a method for the determination of salvinorin A in cosmetics. Nine products were used for evaluating robustness of the method. The liquid-liquid extraction was used for sample preparation. Gradient elution of the mobile phase was carried out through an Accucore RP-MS column with total run time of 16 minutes. The recovery tests were carried out by spiking 20 µg/kg and 100 µg/kg standards into blank samples (lotion, soap and base oil). The recoveries of salvinorin A were between 83.1-103.1% and 87.4-108.8%, respectively, and their intraday and interday coefficients of variation were 3.6 and 7.1% for lotion, 5.4 and 6.7% for base oil, and 3.0 and 6.5% for soap at the spiked level of 20 µg/kg. Both accuracy and precision met the guideline for validation of chemical methods. The limit of quantitation was 20 µg/kg for salvinorin A.

Key words: cosmetics, *Salvia divinorum*, salvinorin A