

LC-MS/MS 法测定化妆品中本维莫德

LCMSMS-697

摘要：本文建立了使用岛津超高效液相色谱串联质谱联用仪测定化妆品中本维莫德的方法。方法在 7 min 内完成测试。结果表明，本维莫德在 0.5~50 ng/mL 浓度范围内线性关系良好，仪器检出限为 0.05 ng/mL。1 ng/mL 和 20 ng/mL 标准样品分别重复进样 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 分别在 0.08-0.09% 和 0.20%~2.92% 之间。向样品中添加浓度为 0.025、0.05、0.25 mg/kg 3 个水平进行加标回收和精密度实验测试，本维莫德的平均回收率为 98.4%~102.8%，相对标准偏差为 1.53%~2.74%，结果表明，方法准确度高，重复性好。该方法快速、有效，可应对化妆品中本维莫德的风险监测需求。

关键词：超高效液相色谱 三重四极杆质谱 化妆品 本维莫德

本维莫德，又名苯烯莫德，是治疗成人斑块状银屑病药品。该药品于 2019 年上市，并规定 18 岁以下患者不得使用。不正确使用该药品，可能出现皮炎、皮肤过敏等症状。2021 年 8 月，某知名宝宝护肤霜被曝含有本维莫德；本维莫德在儿童化妆品中非法添加的事件一时间引起了社会的广泛关注。

2021 年 9 月，国家药品监督管理局发布了化妆

品补充检验方法《化妆品中本维莫德的测定》(BJH 202101)。该方法采用液质联用的方法对化妆品中的本维莫德进行检测。

本文参照国家药监局发布的方法，建立了 LC-MS/MS 法测定化妆品中本维莫德的方法。该方法快速、准确，可以很好地应对化妆品中本维莫德非法添加的快速筛查和准确定量。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 与 LCMS-8050 联用系统，具体配置为：

系统控制器：CBM-40

脱气机：DGU-405

输液泵：LC-40B X3

自动进样器：SIL-40C X3

柱温箱：CTO-40 C

质谱检测器：LCMS-8050

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.114

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (50 mm x 2.1 mm I.D., 2 μm,

岛津(上海)实验器材有限公司, P/N:227-30001-02)

流动相：A 相 -10 mM 乙酸铵水溶液；B 相 - 乙腈

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 60%，洗脱程序见表 1

流速：0.3 mL/min

进样量：1 μL

柱温：40°C

R0 清洗液：50% 甲醇 (含 0.3% 甲酸)

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	泵	B.Conc	60
4.00	泵	B.Conc	95
5.00	泵	B.Conc	95
5.10	泵	B.Conc	60
7.00	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器：LCMS-8050

接口电压：-3.0 kV

干燥气：氮气 10.0 L/min

接口温度：300°C

扫描模式：多反应监测（MRM）

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

离子化模式：ESI-

雾化气：氮气 3.0 L/min

碰撞气：氩气

DL 温度：250°C

加热模块温度：400°C

驻留时间：100 ms

表 2 化合物信息及 MRM 优化参数

化合物	英文名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
本维莫德	Benvitimod	344396-17-4	253.10	210.80*	12	20	26
				169.20	13	23	15

注：* 表示定量离子对

1.3 标准品的配制

称取固体标样 10 mg 于 10 mL 容量瓶中，用 80% 甲醇溶液溶解，得到 1 mg/mL 标准储备溶液。准确移取 100 μ L 储备液于 10 mL 容量瓶中，用 80% 甲醇定容，得到浓度为 10 μ g/mL 的标准中间溶液。

基质空白溶液：称取试样 0.2 g，按照 1.4 方法处理，得到基质空白溶液。

基质标准中间液：量取 1 mL 标准中间溶液于 10 mL 容量瓶中，用基质空白溶液定容至刻度。得到 1 μ g/mL 基质标准中间液。

校准曲线配制：以基质空白溶液为溶剂，将基质标准中间液逐级稀释至浓度为 0.5、1、5、10、20、50 ng/mL 的标准点，上机分析。

1.4 样品前处理方法

称取样品 0.2 g，置于 15 mL 具塞离心管中，加入 80% 甲醇溶液约 8 mL，涡旋振荡 30 s，使试样与提取溶剂充分混匀，超声提取 20 min，静置至室温，10000 r/min 转速离心 10 min，上清液转移至 10 mL 棕色容量瓶中，用 80% 甲醇溶液定容至刻度，摇匀，经 0.22 μ m 有机滤膜过滤，滤液作为样品溶液备用（样品溶液可根据实际浓度进行适当稀释）。

■ 结果与讨论

2.1 本维莫德色谱图

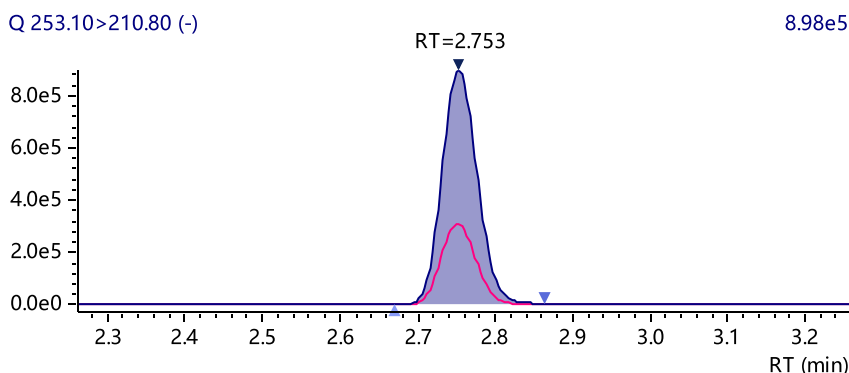


图1 本维莫德 MRM 色谱图 (50 ng/mL)

2.2 线性范围

按照 1.3 项下配制方法，配制校准曲线。以化合物浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，进行线性回归分析，权重设置为 1/C，本维莫德在指定浓度内线性良好，相关系数大于 0.995。以校准曲线浓度最低点使用 3 倍信噪比的方式计算检出限，得出本维莫德的检出限为 0.05 ng/mL。

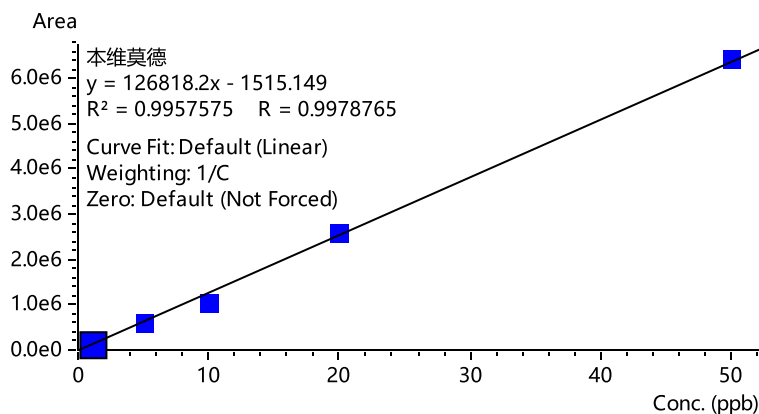


图2 本维莫德校准曲线

表3 本维莫德校准曲线参数

化合物	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	加权系数	准确度 (%)	检出限 (ng/mL)
本维莫德	0.5~50	0.9979	1/C	89~106	0.05

2.3 重复性

分别对 1 ng/mL 和 20 ng/mL 标准溶液连续分析 6 次，计算重复性。结果见表 4。本维莫德的保留时间 RSD 为 0.08~0.09%，峰面积 RSD 为 0.20%~2.92%，重复性良好。

表4 本维莫德重复性结果 (n=6)

化合物	测试浓度 (ng/mL)	保留时间 RSD, %	峰面积 RSD, %
本维莫德	1.0	0.09	2.92
	20	0.08	0.20

2.4 方法准确性和精密度

取某儿童护肤霜，按照 1.4 前处理方式进行处理，样品中未检出本维莫德。向样品中添加浓度为 0.025、0.05、0.25 mg/kg 3 个水平的加标量，每个水平重复 3 次，进行加标回收率和精密度试验。表 5 为实验结果，本维莫德的平均回收率为 98.4%~102.8%，相对标准偏差为 1.53%~2.74%。

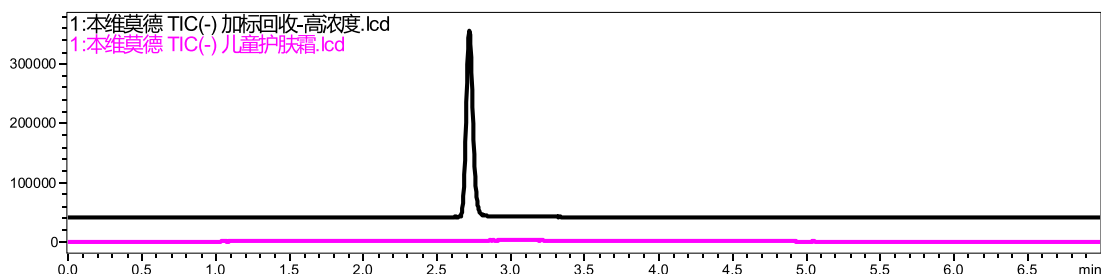


图 3 实际样品和加标回收样品总离子流图

表 5 本维莫德加标回收和精密度结果 (n=3)

化合物	样品浓度 (ng/mL)	添加浓度 (ng/mL)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 RSD%
本维莫德	N.D.	0.025	98.4	1.89
		0.05	102.8	1.53
		0.25	102.1	2.74

注：N.D. 表示未检出。

■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱串联质谱联用仪测定化妆品中本维莫德含量的方法。方法参照国家药品监督管理局发布的化妆品补充检验方法《化妆品中本维莫德的测定》(BJH 202101)。该方法在 7 min 内完成测试。方法采用外标法定量，本维莫德在 0.5~50 ng/mL 浓度范围内呈良好线性，检出限为 0.05 ng/mL。样品经过 80% 甲醇提取后上机分析。加标结果显示本维莫德在 0.025、0.05、0.25 mg/kg 3 个浓度水平下，平均回收率为 98.4%~102.8%，相对标准偏差为 1.53%~2.74%。本文所建立的方法快速、有效，可应对化妆品中本维莫德的日常监测工作。

岛津应用云

