

LC-MS/MS 法测定化妆品中的 16 α - 羟基泼尼松龙

LCMSMS-787

摘要：本文参照国家药监局化妆品补充检验规定《化妆品中 16 α - 羟基泼尼松龙的测定》（BJH202203），建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定化妆品中 16 α - 羟基泼尼松龙的方法。结果表明，在线性范围内，线性相关系数 $r=0.9997$ ，线性良好。基质标准溶液的保留时间 RSD% 为 0.06~0.12%，峰面积 RSD% 为 0.59%~1.34%，方法重复性良好。加标回收率为 89.55~103.28%。该方法快速，稳定，准确，可应对化妆品中 16 α - 羟基泼尼松龙快速定量分析。

关键词：三重四极杆液质联用仪 化妆品 16 α - 羟基泼尼松龙

技术特点：

- ❖ 应对国家药监局化妆品补充检验规定《化妆品中 16 α - 羟基泼尼松龙的测定》。
- ❖ 本方法实际测得检出限和定量限均优于标准要求。

16 α - 羟基泼尼松龙是一种化工中间体，与泼尼松龙具有相似的结构，目前尚无相关的药理和毒理性研究。但是长期使用激素会造成激素蓄积中毒，甚至产生皮肤角质层变薄、红血丝、怕光、长毛等严重影响健康和美观的后果，最终形成激素依赖性皮炎，进而导致代谢紊乱甚至癌症，对人体造成严重伤害。

2022 年 11 月，国家药监局发布 2022 年第 107 号公告《化妆品中 16 α - 羟基泼尼松龙的测定》化妆品

补充检验方法。该标准的推出，为今后相关化妆品监督执法提供了强有力的技术支撑，可有效、精准地打击该领域违法犯罪行为，为捍卫公众身体健康将发挥重要的作用。

本文参照国家药监局发布的方法，建立了 LC-MS/MS 法测定化妆品中的 16 α - 羟基泼尼松龙。该方法、准确，能够应对化妆品中 16 α - 羟基泼尼松龙的快速筛查和准确定量。

■ 实验部分

1.1 仪器

本文使用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪，具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A _{5R}
输液泵：	LC-30AD × 2	自动进样器：	SIL-30AC
柱温箱：	CTO-20AC	质谱检测器：	LCMS-8045
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.118		

1.2 分析条件

液相条件：

色谱柱：Shim-pack Velox C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 2.7 μ m, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-32009-03)

流动相：A 相 - 水；B 相 - 乙腈

流速：0.3 mL/min

进样量：5 μ L

柱温：30°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，洗脱程序见表 1

表 1 梯度洗脱程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
1.00	泵	B.Conc	5
10.00	泵	B.Conc	95
13.00	泵	B.Conc	95
13.10	泵	B.Conc	5
16.00	控制器	Stop	

质谱条件:

离子源: ESI (-)	加热块温度: 400°C
雾化气流速: 3.0 L/min	DL 温度: 200°C
加热气流速: 10.0 L/min	接口温度: 300°C
干燥气流速: 10.0 L/min	扫描模式: 多反应监测 (MRM)
MRM 参数: 见表 2	

表 2 化合物信息及 MRM 优化参数

化合物名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
16 α -羟基泼尼松龙	13951-70-7	375.40	327.00*	20	15	20
			283.20	19	27	14

注: * 表示定量离子

1.3 供试品溶液的制备

称取样品 0.2 g (精确到 0.0001 g), 置于 10 mL 具塞比色管中, 加入 50% 乙腈约 9 mL, 涡旋振荡, 使试样与提取溶剂充分混匀。超声提取 10 min, 静置至室温, 用 50% 乙腈定容至刻度, 摇匀, 以 10000 r/min 转速离心 10 min, 取上清液经 0.22 μ m 有机滤膜过滤, 滤液作为供试品溶液备用。

1.4 基质标准溶液的制备

精密量取 16 α -羟基泼尼松龙标准溶液 0.1 mL, 置于 10 mL 容量瓶中, 用 1.3 方式制备得到的空白基质提取液稀释至刻度, 摇匀, 制成 16 α -羟基泼尼松龙浓度为 100 ng/mL 的基质标准溶液, 现用现配。

■ 结果与讨论

2.1 化合物 MRM 色谱图

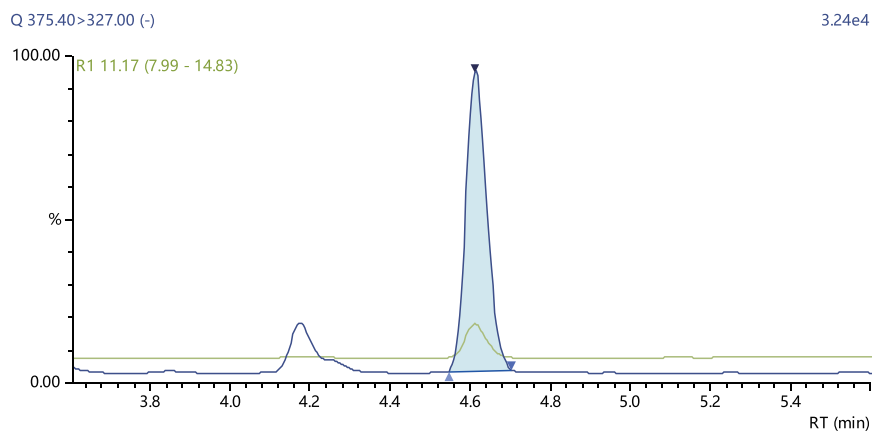


图 1 2.0 ng/mL 16 α -羟基泼尼松龙标准溶液 MRM 色谱图

2.2 线性范围

取 1.4 中的基质标准溶液，用 1.3 前处理方式制备得到的空白基质提取液稀释配制成浓度为 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 ng/mL 的基质标准系列溶液，上机测试。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。结果表明，16 α -羟基泼尼松龙在线性范围内相关系数为 0.9997，准确度为 93.8-104.3%，线性良好。

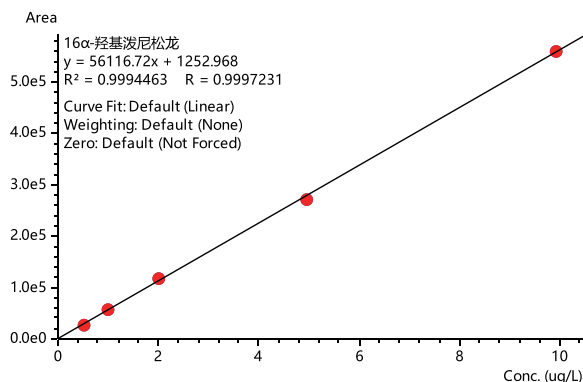


图 2 16 α -羟基泼尼松龙校准曲线

2.3 检出限及定量限

取 1.4 中的基质标准溶液，用 1.3 前处理制备得到的空白基质，稀释至浓度为 0.2 ng/mL 的基质检出限溶液，以线性最低点为基质定量限溶液，分别进行上机分析。结果表明，16 α -羟基泼尼松龙的检出限为 0.065 μ g/kg，定量限为 0.32 μ g/kg，满足标准规定检出限 10 μ g/kg 和定量限 25 μ g/kg 的要求。

2.4 重复性考察

取 0.5、2.0、10.0 ng/mL 基质标准溶液，按照 1.2 分析条件进行上机分析，分别连续进样 6 针，计算重复性。结果表明，16 α -羟基泼尼松龙的保留时间 RSD% 为 0.06~0.12%，峰面积 RSD% 为 0.59%~1.34%，方法重复性良好，仪器精密度良好。结果见表 3。

表 3 16 α -羟基泼尼松龙重复性结果 (n=6)

化合物名称	低浓度 (0.5 ng/mL)		中浓度 (2.0 ng/mL)		高浓度 (10.0 ng/mL)	
	保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)	保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)	保留时间 (RSD%)	峰面积 (RSD%)
16 α -羟基泼尼松龙	0.12	1.34	0.08	1.30	0.06	0.59

2.5 加标回收率试验

按照 1.3 前处理方式制备样品和加标样品，三个水平加标浓度如下表 4 所示。结果表明，样品中未检出 16 α -羟基泼尼松龙，各水平的加标平均回收率在 89.55~103.28% 之间，相对标准偏差 RSD% 在 1.11~2.13% 之间。

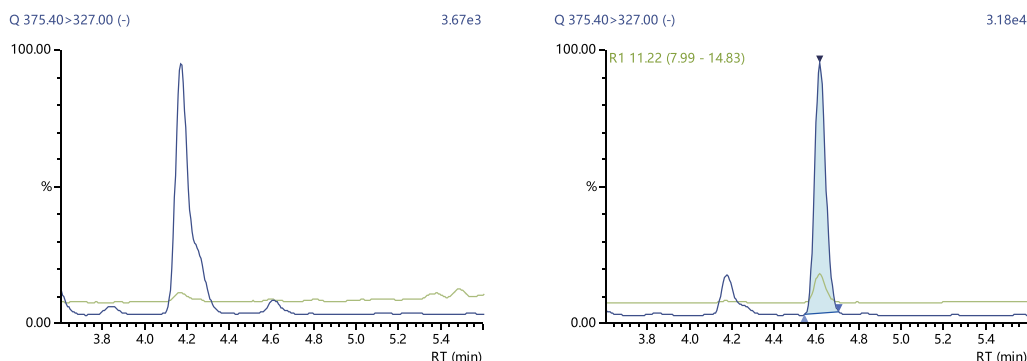


图 3 实际样品 (左图)、2.0 ng/mL 加标样品 (右图) MRM 色谱图

表 4 加标回收和精密度结果 (n=6)

化合物名称	样品浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	35.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$		350.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
		回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%
16 α -羟基泼尼松龙	N.D.	89.55	2.13	103.28	1.87	101.41	1.11

注：N.D. 表示未检出。

■ 结论

本文使用岛津超高效液相色谱串联质谱联用仪，参照国家药监局化妆品补充检验规定《化妆品中 16 α -羟基泼尼松龙的测定》(BJH202203)，建立了化妆品中 16 α -羟基泼尼松龙的检测方法。本方法灵敏度高、重复性好，能够应对化妆品中 16 α -羟基泼尼松龙的日常监测工作。

岛津应用云

