

应用LC-MS/MS快速测定11种美容肽类化合物

Rapid Detection of 11 cosmetic peptide compounds with SCIEX LC-MS/MS

艾梦杰¹, 彭彦², 陈玉琨¹, 赵刘清¹, 杨总¹, 刘冰洁¹, 郭立海¹

Ai Mengjie¹, Peng Yan², Chen Yukun¹, Zhao Liuqing¹, Yang Zong¹, Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹

¹ SCIEX, China

² 杭州市食品药品研究院

Keywords: SCIEX Triple Quad; cosmetic peptide; cosmetic;

引言

美容肽(cosmetic peptide)是一类生物活性多肽,通过抑制皮肤中的儿茶酚胺和乙酰胆碱过度释放,局部阻止神经传递肌肉收缩讯息;通过抗羰基化,保护胶原蛋白不会被活性羰基基团损坏,清除自由基,促进胶原蛋白生长;阻断促黑色素的传导,抑制酪氨酸酶的活性,降低黑色素生成,参与人体多种生化反应如调节胶原蛋白、弹性蛋白和黑色素合成等,因此其对改善皱纹、抗衰老和美白祛斑等方面具有明显功效。如肌肽是由β-丙氨酸与L-组氨酸构成的二肽,具有抗氧化剂和抗糖基化活性,阻止乙醛诱导的非酶糖基化和蛋白质偶联,也是肌肽酶检测的底物,可维持机体pH平衡,延长细胞寿命;蓝铜肽是由甘氨酸-L-组氨酸-L-赖氨酸三种氨基酸形成,能有效阻止一种乙酰胆碱物质的神经传导,有放松肌肉的效果,改善动态性皱纹;因此作为功效原料广泛应用于化妆品中。一方面在化妆品研发制造过程中,需要通过考察美容肽的添加量,使护肤效果最佳、生产成本低,提高性价比获得更好的市场竞争力。另一方面,从保障消费者权益及安全健康考虑,对化妆品中美容肽含量检测同样必不可少。

SCIEX 针对常见的美容肽建立了一针进样检测化妆品中11种美容肽的检测方法,该方法的优势和特点如下:

1. 该方法简单快速,分析时间仅为7分钟
2. 方法灵敏度高,11种美容肽灵敏度达到皮克级,足以满足行业检测的需求
3. 该方法一针进样同时定量11种美容肽,通量高、覆盖广
4. 该方法经过多方验证,线性关系良好,稳定性好,符合方法学要求

仪器设备

SCIEX Exion LC™系统 + SCIEX Triple Quad™系统



化合物信息

表1. 化合物信息

化合物名称	CAS号	分子式
肌肽	305-84-0	C ₉ H ₁₄ N ₄ O ₃
谷胱甘肽	70-18-8	C ₁₀ H ₁₇ N ₃ O ₆ S
蓝铜肽	89030-95-5	C ₁₄ H ₂₃ CuN ₆ O ₄ ⁺
类蛇毒肽	823202-99-9	C ₁₉ H ₂₉ N ₅ O ₃ * ₂ (C ₂ H ₄ O ₂)
乙酰基六肽-8	616204-22-9	C ₃₄ H ₆₀ N ₁₄ O ₁₂ S
乙酰基八肽-3	868844-74-0	C ₄₁ H ₇₀ N ₁₆ O ₁₆ S
棕榈酰三肽-1	147732-56-7	C ₃₀ H ₅₄ N ₆ O ₅
棕榈酰三肽-5	623172-56-5	C ₃₅ H ₆₆ F ₃ N ₅ O ₇
棕榈酰四肽-3/7	221227-05-0	C ₃₄ H ₆₂ N ₆ O ₇
棕榈酰五肽-4	214047-00-4	C ₃₉ H ₇₅ N ₇ O ₁₀
芋螺肽	936616-33-0	C ₉₂ H ₁₃₉ N ₃₅ O ₂₈ S ₆

实验方法

1. 色谱条件

色谱柱: Phenomenex Omega polar C18, 1.6 μm , 2.1 mm \times 100 mm;

流动相: A: 水 (含0.1%甲酸); B: 乙腈 (含0.1%甲酸);

流速: 0.3 mL/min;

柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$;

洗脱程序: 梯度洗脱 (表2)

表2. 梯度条件

Time (min)	B(%)
0.00	1
1	1
2.5	98
5	98
5.1	1
7	1

2. 质谱条件

喷雾电压IS: 5500 V

源温度 TEM: 500 $^{\circ}\text{C}$

气帘气 CUR: 30 psi

碰撞气 CAD: 9

雾化气 GS1: 55 psi

辅助气 GS2: 55 psi

实验结果

1. 实验条件的优化

实验详细优化了色谱条件, 比较了不同品牌、不同型号的色谱柱以及流动相, 进一步提高了方法灵敏度, 使极性差异比较大的美容肽均获得良好的峰形, 定量结果更准确。其中乙酰基八肽-3极性相对弱, 峰形容易形成拖尾, 通过优化色谱柱, 改善色谱峰形 (图1); 通过优化流动相甲酸含量, 提高蓝胜肽灵敏度 (图2)。

2. 方法线性和重复性

利用空白基质加标配制系列标准曲线, 结果显示美容肽类化合物线性关系良好, 基本上相关系数 r 均大于0.999, 以蓝胜肽为例 (图3) 线性相关系数 $r > 0.999$; 连续进样6针, 峰面积的RSD小于

表3. 离子对参数

Name	Q1 mass	Q3 mass	DP	CE
肌肤	227	110.1	55	30
	227	210.1	55	16
谷胱甘肽	308.1	179.1	82	18
	308.1	233.1	82	19
蓝铜肽	341	195.1	85	23
	341	110.2	85	50
类蛇毒肽	376.2	359.2	90	26
	376.2	269.2	90	21
乙酰基六肽-8	445.2	84.1	90	80
	445.2	102.1	90	59
乙酰基八肽-3	538.3	84	120	82
	538.3	102	120	39
棕榈酰三肽-1	290	195.1	70	24
	290	341.2	70	19
棕榈酰三肽-5	307	84.1	80	57
	307	129.1	80	22
棕榈酰四肽-3/7	695.4	255.2	120	50
	695.4	365.2	120	54
棕榈酰五肽-4	402	129.3	100	27
	402	436.3	100	22
芋螺肽	594.8	84.1	80	100
	594.8	70	80	97

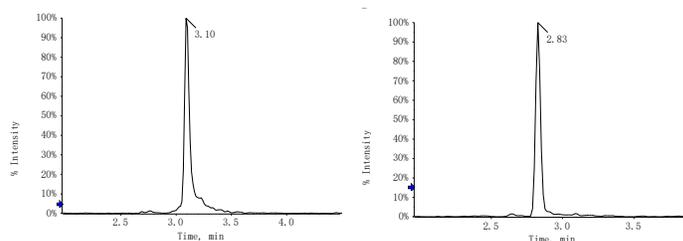


图1. 乙酰基八肽-3的典型色谱图 (左: Kinetex C18; 右: Omega polar C18)

2%，以棕榈酰三肽-5为例，峰面积RSD为1.97（图4），表明该方法具有良好的重复性。该实验方法完全满足定量检测的要求。

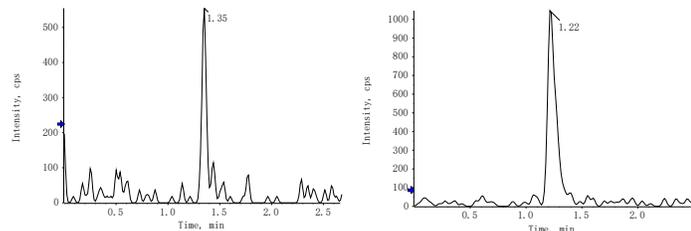


图2. 蓝铜肽的典型色谱图（左：0.2% 甲酸；右：0.1%甲酸）

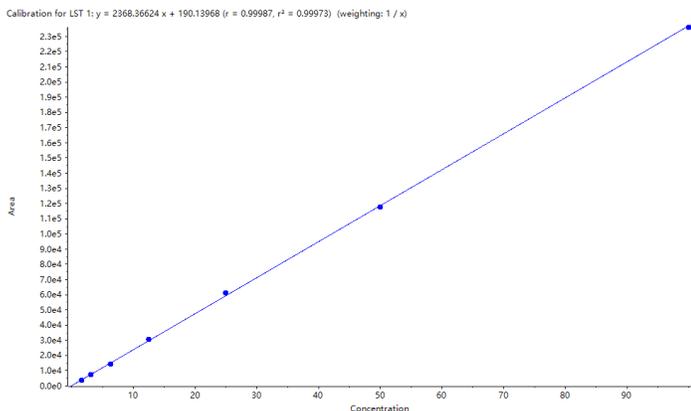


图3. 蓝铜肽标准曲线及相关系数

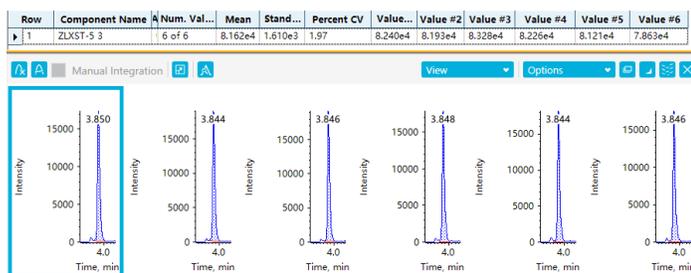


图4. 棕榈酰三肽-5的重复性结果（n=6）

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，也包括相关的标识、标志的所有权，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。

© 2024 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-32984-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
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
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419-7201
传真：021-2419-7333
官网：sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话：020-8842-4017

官方微信：SCIEX-China

3. 实际样本测定

通过对某市售化妆品中美容肽含量测定，结果检出蓝铜肽（图5）。该实验方法完全满足定量检测的要求。

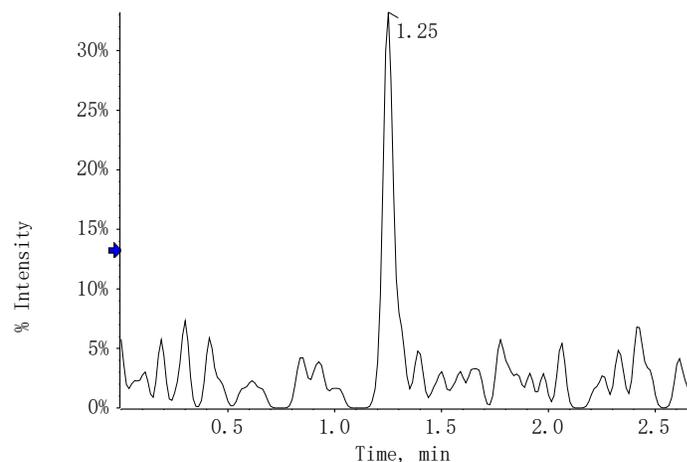


图5. 某市售化妆品中蓝铜肽色谱峰

小结

本文采用高效液相色谱串联三重四极杆质谱快速定量分析检测11种美容肽的方法。该方法灵敏度高，线性关系良好，重复性好。该方法足以满足定量检测要求，在化妆品领域检测美容肽具有重要的参考意义。

参考文献

- [1] 许勇,韩晶,潘晨,等.高效液相色谱法测定化妆品中L-肌肽,乙酰基四肽-5,谷胱甘肽和乙酰基六肽-8的含量[J].上海预防医学, 2021.
- [2] Chirita RI, Chaimbault P, Archambault J C, et al. Development of a LC-MS/MS method to monitor palmitoyl peptides content in anti-wrinkle cosmetics. [J].Analytica Chimica Acta, 2009, 641(1-2):95-100.