

超高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱质谱法测定防脱发化妆品中 13 种酪氨酸激酶抑制剂

樊磊磊*, 陈茂钦, 王海波, 杨秋红

(河南省药品医疗器械检验院(河南省疫苗批签中心), 河南 郑州 450018)

摘要:建立一种可准确、快速测定防脱发化妆品中 13 种酪氨酸激酶(janus kinase, JAK)抑制剂的超高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱质谱检测方法。取适量样品,采用 0.1%(v/v)甲酸水溶液-乙腈提取,乙腈提取液于 -20 °C 冷冻 1 h,高速离心、过滤,采用 C₁₈ 色谱柱,在 40 °C 的柱温下进行分离,以 0.1%(v/v)甲酸水溶液-乙腈为流动相,梯度洗脱,流速 0.3 mL/min;采用电喷雾正离子(ESI⁺)模式,多反应监测-信息关联采集-增强子离子(MRM-IDA-EPI)扫描方式,在高灵敏度分析的同时进行二级谱库检索,增加定性结果的准确性。在所设定的条件下,13 种 JAK 抑制剂分离良好,并在所考察的范围内线性关系良好, *r* 值均大于 0.996。13 种 JAK 抑制剂的检出限为 1.5~1.7 ng/g,定量限为 9.2~10.9 ng/g,在 1 倍、2 倍和 10 倍定量限水平下进行加标回收试验,各待测物在水溶性基质化妆品中的平均回收率范围为 94.7%~102.2%,RSD 为 2.2%~7.5%;膏霜乳类基质化妆品中的平均回收率范围为 92.4%~99.2%,RSD 为 4.0%~8.8%。本检测方法准确、高效、操作简单,已应用到国家化妆品风险抽检工作中,为化妆品的监管提供技术支持。

关键词:防脱发化妆品;超高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱质谱;酪氨酸激酶抑制剂;非法添加

中图分类号:O658

文献标识码:A

Determination of 13 janus kinase inhibitors in anti-alopecia cosmetics by ultra-high performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole composite linear ion trap mass spectrometry

FAN Leilei*, CHEN Maoqin, WANG Haibo, YANG Qiuhong

(Henan Institute for Drug and Medical Device Inspection (Henan Vaccine Issuance Center), Zhengzhou 450018, China)

Abstract: According to the Safety and Technical Specification for Cosmetics (2015), the addition of chemical drugs to cosmetics is strictly prohibited. Anti-alopecia cosmetics are often found to contain illegal additions of prohibited drugs such as minoxidil, finasteride and other substances. Ultra-high performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometry (UHPLC-Q-TRAP/MS) has become a powerful technology for the simultaneous detection of illegal ingredients in cosmetics due to its advantages of rapid analysis, high sensitivity, high throughput and high selectivity. An ultra-high performance liquid chromatography-multiple reaction monitoring-information dependent acquisition-enhanced production scanning (UHPLC-MRM-IDA-EPI) method was developed to determine 13 JAK inhibitors in anti-alopecia cosmetics, including baricitinib, tofacitinib, ritlecitinib, peficitinib, abrocitinib, upadacitinib, ivarmacitinib, fedratinib, filgotinib,

收稿日期:2025-02-25

* 通讯联系人 .E-mail:4626467@qq.com.

基金项目:2024 年国家化妆品监督抽检(中央补助地方经费项目)(No.41);河南省市场监督管理局科技计划项目(HNSCJGK202434).

Foundation item: 2024 National Cosmetic Sampling Inspection (Central Subsidized Local Fund Project) (No.41); Science and Technology Plan Project of Administration for Market Regulation Henan Province (No. HNSCJGK202434).

ruxolitinib, momelotinib, pacritinib and bozitinib. The influence of extraction solvents was investigated. Approximately 0.2 g of the sample was weighed and placed in a 50 mL graduated centrifuge tube with a cap. Then, 2 mL of 0.1% (v/v) aqueous formic acid and 10 mL of acetonitrile were added, followed by vortexing for 1 min. Subsequently, the mixture was sonicated in an ultrasonic bath for 15 min. Added 0.5 g of sodium chloride, and the mixture was centrifuged at 8 000 r/min for 8 min at 5 °C. The supernatant was transferred to another 50 mL graduated centrifuge tube with a cap. The residue was added with 10 mL of acetonitrile and the extraction procedure was repeated. After high-speed centrifugation, the supernatant was combined. The combined supernatant was added with 0.2 g of sodium chloride, and the mixture was frozen at -20 °C for 1 h. It was centrifuged at 8 000 r/min for 5 min at 5 °C. The acetonitrile layer was collected and filtered through a 0.22 μ m organic filter membrane. The initial filtrate was discarded, and the subsequent filtrate was collected as the sample solution. A C₁₈ column was used for chromatographic separation, enabling the successful separation of the analytes within 10 min. The mobile phase consisted of 0.1% (v/v) aqueous formic acid and acetonitrile, with gradient elution applied to optimize separation efficiency. The flow rate was set at 0.3 mL/min, and the column temperature was maintained at 40 °C to ensure consistent performance. A fixed injection volume of 2 μ L was used to guarantee reproducibility and accuracy in the analysis. This configuration enabled the rapid and reliable separation of the target compounds. For the analysis of the 13 kinds of JAK inhibitors, an ESI source operating in positive ion mode was used with MRM-IDA-EPI detection. Quantification was performed by the external standard method using matrix-matched standard solutions. Good separation of the 13 JAK inhibitors was achieved under the optimized chromatographic conditions. Calibration curves were constructed by plotting the peak area of quantitative ions against the compound mass concentration. These curves exhibited excellent linearity within the investigated concentration range, with r all exceeding 0.996. The limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of the 13 JAK inhibitors were 1.5–1.7 ng/g and 9.2–10.9 ng/g. To validate accuracy and precision, two cosmetic matrices (water-soluble and cream) were tested at three levels: LOQ, 2 $\times$ LOQ and 10 $\times$ LOQ. Recoveries of the 13 JAK inhibitors ranged from 94.7% to 102.2% for the water-soluble matrix and from 92.4% to 99.2% for the cream matrix, with relative standard deviations (RSDs) $\leq$ 8.8%. This method is characterized by high efficiency, rapidity, accuracy, sensitivity and simplicity, making it a powerful tool for rapid risk screening and simultaneous quantitative analysis of JAK inhibitors in anti-alopecia cosmetics.

Key words: anti-alopecia cosmetics; ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole composite linear ion trap mass spectrometry (UHPLC-Q-TRAP/MS); janus kinase (JAK) inhibitors; illegally added

斑秃脱发,影响个人外在形象,引发病人自卑心理,影响其日常工作和生活。结构性精神病学评估认为,全球 1/3~3/4 的斑秃病人均存在不同程度

的精神合并征^[1]。以前治疗斑秃脱发的主要药物有激素^[2]、米诺地尔^[3]、中药^[4]等。章星琪^[5]报道了酪氨酸激酶(janus kinase, JAK)抑制剂通过抑制

引用本文:樊磊磊,陈茂钦,王海波,杨秋红.超高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱质谱法测定防脱发化妆品中 13 种酪氨酸激酶抑制剂.色谱,2025,43(10):1100-1108.

FAN Leilei, CHEN Maoqin, WANG Haibo, YANG Qiuhong. Determination of 13 janus kinase inhibitors in anti-alopecia cosmetics by ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole composite linear ion trap mass spectrometry. Chinese Journal of Chromatography, 2025, 43(10): 1100-1108.

Janus 激酶-信号转导与转录激活因子通路,能有效抑制多种炎症因子,口服 JAK 抑制剂对斑秃脱发的有效治愈率可达 80%,虽然 JAK 抑制剂外用疗效不如口服疗效好,但 JAK 抑制剂外用容易渗透,可作为斑秃脱发的辅助治疗。Xing 等^[6]、Bayart 等^[7]、李毓芬等^[8]也报道了系统或局部外用 JAK 抑制剂能促进毛发再生。董亚蕾等^[9]曾在防脱发化妆品中同时检出激素非那雄胺和米诺地尔两种药物,JAK 抑制剂也可能被非法添加在防脱发化妆品中。国内外有采用 HPLC、HPLC-MS/MS 方法测定血液、尿液或保健食品中托法替尼、帕克替尼、非戈替尼、巴瑞替尼、乌帕替尼、培非替尼等 JAK 抑制剂的分析报道^[10-15],但暂未发现在化妆品中检测 JAK 抑制剂的报道。

液相色谱-三重四极杆质谱检测因其灵敏度高、选择性好、抗基质干扰能力强,已被广泛应用于痕量成分和非法添加药物的检测^[16-18],但在实践中仍有假阳性误判情况的出现。采用超高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱质谱(UHPLC-Q-TRAP/MS)进行多反应监测-信息关联采集-增强子离子扫描(MRM-IDA-EPI)检测^[19-21],可有效避免质谱检测过程中假阳性结果的出现。

针对在防脱发化妆品中可能非法添加 13 种 JAK 抑制剂(托法替尼、巴瑞替尼、利特昔替尼、鲁索替尼、培非替尼、阿布昔替尼、乌帕替尼、艾玛昔替尼、菲达替尼、非戈替尼、莫洛替尼、帕克替尼、帕瑞替尼,其化学结构式见图 1)的行为^[22-29],创建一个能准确、简便、快捷用于防脱发化妆品中非法添

加 JAK 抑制剂检测的 UHPLC-Q-TRAP/MS 方法,为化妆品监管提供技术支持,具有现实意义。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

AB ExionLC™-Sciex Qtrap 6500+型超高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱质谱仪(美国 AB 公司,配备 Analyst®1.6.3 数据采集软件、Multi Quant™ 3.0.2 software 数据处理软件);KQ-600DE 型双频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);3-30KS 型高速离心机(德国 Sigma 公司);MS3 型旋涡混合仪(德国 IKA 公司);Milli-Q 超纯水器(美国 Millipore 公司);XPE 205 型电子分析天平(瑞士 Mettler 公司,十万分之一精度);2~20 μL、10~100 μL、20~200 μL、100~1 000 μL、0.5~5 mL Research plus 型移液器(德国 Eppendorf 公司,配备无机溶剂、有机溶剂专用吸头,定期检定校准)。

13 种 JAK 抑制剂均购自 Stanford Chemicals 公司,详细信息见表 1;乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Merck 公司);甲酸、乙酸铵(质谱纯,比利时 Acros 公司);Milli-Q 超纯水器制超纯水。56 批宣称具有防脱发功效的化妆品均为常见的水溶性基质和膏霜乳类基质化妆品。

1.2 标准溶液配制

精密称取 13 种标准品适量,用 70% 乙腈水溶液分别制成储备溶液,储备溶液于 4 ℃冰箱保存。

分别精密吸取 13 种单一标准品储备溶液各 0.1 mL,混合放置于同一 100 mL 容量瓶中,用 70%

表 1 13 种 JAK 抑制剂的 CAS 号、 M_r 、分子式、批号、纯度及 $\log K_{ow}$ 值

Table 1 CAS numbers, M_r , molecular formulas, lot numbers, purities and $\log K_{ow}$ of the 13 janus kinase (JAK) inhibitors

No.	Compound	Chinese name	CAS No.	M_r	Molecular formula	Lot number	Purity/%	$\log K_{ow}^*$
1	tofacitinib	托法替尼	477600-75-2	312.37	C ₁₆ H ₂₀ N ₆ O	LR230627-04	99.90	1.83
2	ritlectinib	利特昔替尼	1792180-81-4	285.34	C ₁₅ H ₁₉ N ₅ O	TD230118-04	99.92	1.38
3	peficitinib	培非替尼	944118-01-8	326.39	C ₁₈ H ₂₂ N ₄ O ₂	BF230425-13	99.57	1.55
4	abrocitinib	阿布昔替尼	1622902-68-4	323.41	C ₁₄ H ₂₁ N ₅ O ₂ S	DB231227-13	99.92	1.94
5	baricitinib	巴瑞替尼	1187594-09-7	371.42	C ₁₆ H ₁₇ N ₇ O ₂ S	PL230609-17	99.55	-0.58
6	upadacitinib	乌帕替尼	1310726-60-3	380.37	C ₁₇ H ₁₉ F ₃ N ₆ O	BD230918-17	99.51	2.71
7	ivarmacitinib	艾玛昔替尼	1445987-21-2	414.48	C ₁₈ H ₂₂ N ₈ O ₂ S	RT230430-12	98.20	4.01
8	fedratinib	菲达替尼	936091-26-8	524.68	C ₂₇ H ₃₆ N ₆ O ₃ S	TE230524-07	98.41	4.54
9	filgotinib	非戈替尼	1206161-97-8	425.50	C ₂₁ H ₂₃ N ₅ O ₃ S	BE231207-19	98.90	2.01
10	ruxolitinib	鲁索替尼	941678-49-5	306.37	C ₁₇ H ₁₈ N ₆	ML220916-02	99.93	2.09
11	momelotinib	莫洛替尼	1056634-68-4	414.46	C ₂₃ H ₂₂ N ₆ O ₂	BR230807-11	98.22	2.38
12	pacritinib	帕克替尼	937272-79-2	472.58	C ₂₈ H ₃₂ N ₄ O ₃	CR231104-02	99.70	3.68
13	bozitinib	帕瑞替尼	1440964-89-5	424.38	C ₂₀ H ₁₅ F ₃ N ₈	SD231018-28	98.20	3.81

* EPI Suite™ Version 4.11 estimation.

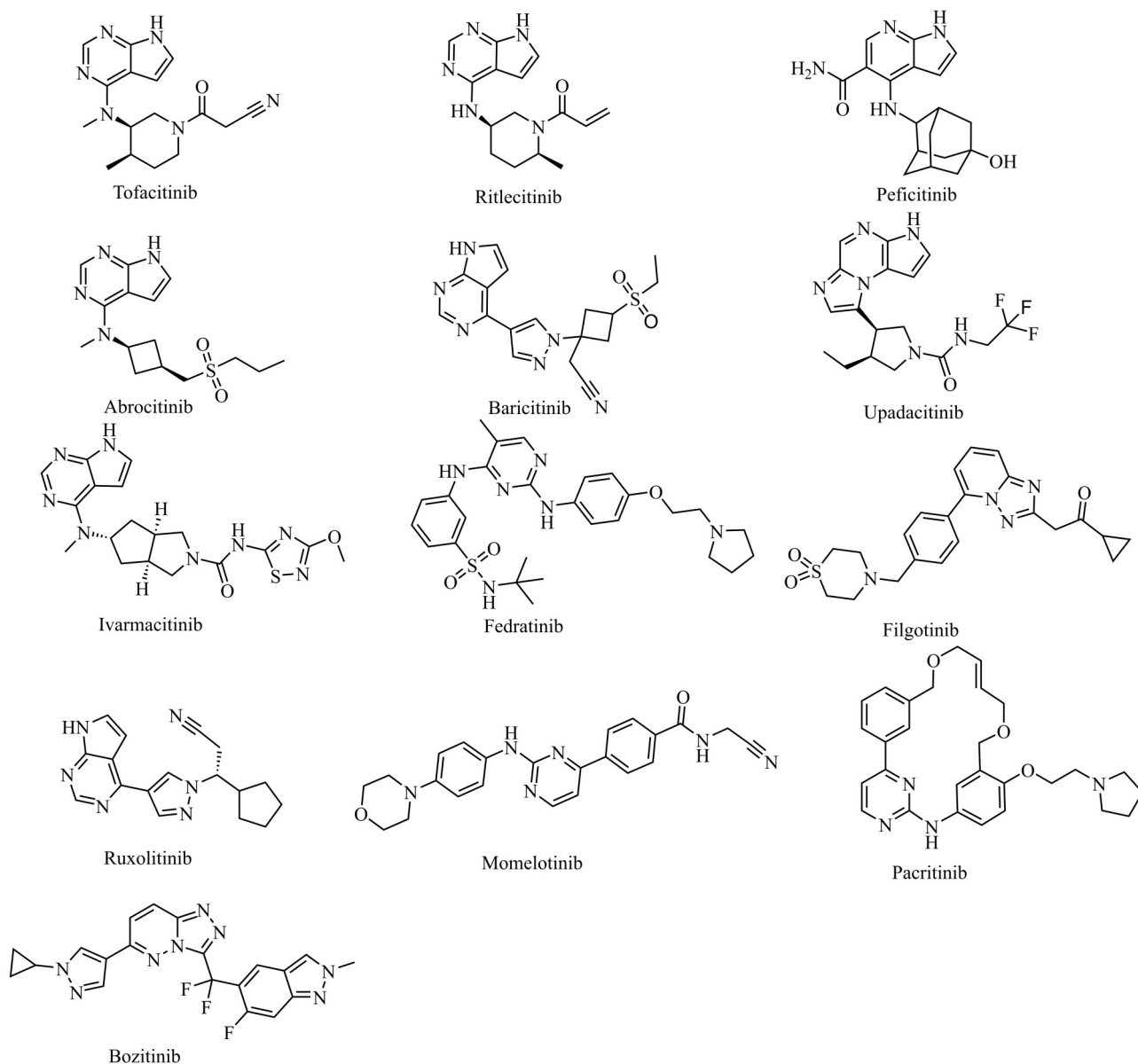


图1 13种JAK抑制剂的化学结构式

Fig. 1 Chemical structural formulas of the 13 JAK inhibitors

乙腈水溶液稀释定容至刻度,制得质量浓度约为2 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准品储备溶液。临用前,用新制备的空白基质(随机选取检测结果呈阴性的水溶性和膏霜乳类样品,作为空白基质)提取液稀释上述混合标准品储备溶液,制得所需浓度的基质匹配标准品工作溶液。

1.3 样品前处理

称取样品约0.2 g,放置于50 mL带盖刻度圆底塑料管中,先加入0.1%(v/v)甲酸水溶液2 mL、乙腈10 mL,涡旋混匀1 min,再置于超声振荡器中超声处理15 min,加入0.5 g氯化钠,5 $^{\circ}\text{C}$ 下高速(8 000

r/min)离心8 min,吸取上清液转移于另一50 mL带盖刻度圆底塑料管中,残渣再加入乙腈10 mL,重复萃取1次,高速(8 000 r/min)离心8 min,取上清液与第一次所得上清液合并,合并上清液中再加入0.2 g氯化钠,置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻1 h,取出后于5 $^{\circ}\text{C}$ 下高速(8 000 r/min)离心5 min,取乙腈层,用0.22 μm 有机型滤膜过滤,弃去初滤液,取续滤液作为样品溶液(样品溶液可根据实际浓度用乙腈进行适当稀释)。

1.4 分析条件

采用色谱柱 Waters CORTECS T3 C_{18} (100

mm×2.1 mm, 2.7 μm); 进样量: 2 μL; 柱温: 40 ℃; 流动相 A: 0.1%(v/v) 甲酸水溶液, 流动相 B: 乙腈; 梯度程序洗脱: 0~2.0 min, 15%B; 2.0~7.0 min, 15%B~80%B; 7.0~8.0 min, 80%B~15%B; 8.0~10.0 min, 15%B; 流速: 0.3 mL/min。

电喷雾正离子(ESI⁺)模式下, MRM-IDA-EPI 监测方式; 离子源电压: +5 500 V; 离子源温度: 550 ℃; 雾化脱溶剂气压: 379 kPa; 辅助加热气压: 379 kPa; 气帘气压: 207 kPa; 碰撞气能量等级: Me-dium; 驻留时间 15 ms。13 种 JAK 抑制剂的保留时间、监测离子对、碰撞能量等 MRM 质谱参数详见表 2。EPI 模式下线性离子阱质谱参数: 碰撞能量(CE): 50 eV, 碰撞能散(CES): 20 eV。

表 2 13 种 JAK 抑制剂的保留时间及相关 MRM 质谱参数
Table 2 Retention times and MRM MS parameters of the 13 JAK inhibitors

No.	Compound	t_R / min	Parent ion (m/z)	Daughter ions (m/z)	CEs/eV
1	tofacitinib	1.66	313.2	149.1 [*] , 173.2	39, 50
2	ritilecitinib	1.84	286.2	215.1 [*] , 98.1	35, 34
3	peficitinib	1.95	327.2	160.1 [*] , 310.2	52, 44
4	abrocitinib	2.24	324.1	149.1 [*] , 134.1	34, 48
5	baricitinib	3.72	372.1	251.1 [*] , 186.1	37, 45
6	upadacitinib	4.04	381.2	256.1 [*] , 213.1	38, 55
7	ivarmacitinib	4.15	327.2	160.1 [*] , 310.2	23, 50
8	fedratinib	4.45	525.3	469.3 [*] , 97.9	39, 39
9	filgotinib	4.87	426.2	291.2 [*] , 223.1	38, 55
10	roxolitinib	5.34	307.1	131.0 [*] , 159.2	46, 51
11	mometinib	5.99	415.2	369.1 [*] , 286.2	37, 60
12	pacritinib	6.19	473.3	316.2 [*] , 95.9	43, 75
13	bozitinib	6.30	425.1	405.2 [*] , 206.1	29, 62

CE: collision energy; * quantitative ion.

2 结果与讨论

2.1 提取条件优化

根据已有文献, Kumar 等^[13]、熊歆等^[14]采用乙腈提取帕克替尼、巴瑞替尼; 李慧玲等^[15]采用甲醇提取托法替尼、非戈替尼、巴瑞替尼、培非替尼、乌帕替尼; 赵珊等^[30]、丁晓静等^[31]采用水-乙腈萃取盐析法^[32]提取极性相差较大的化合物。取防脱发化妆品, 分别加入 13 种 JAK 抑制剂标准物质, 以回收率为参考指标, 分别考察样品直接采用 20 mL 乙腈或甲醇超声提取, 以及样品采用 12 mL 0.1%(v/v) 甲酸水溶液-乙腈(2:10, v/v) 为溶剂的萃取盐析法提

取等 3 种提取方式(见图 2)。结果表明: 甲醇在提取基质相对复杂的膏霜乳类化妆品中的 13 种 JAK 抑制剂时, 回收率整体高于乙腈, 但这与各化合物 log K_{ow} 值显示的亲脂性较强, 采用乙腈提取效果应该更佳的理论不符。分析出现此种现象的原因是乙腈提取基质相对复杂的膏霜乳类样品时, 因乙腈具有很强的氢键接受能力, 会强烈地与膏霜乳类样品中的水分子结合, 争夺水分子, 从而破坏膏霜乳类样品中固有的稳定胶体结构(主要是乳液和/或凝胶结构), 使样品中原本被乳化剂分散的亲脂性成分(油脂、蜡质、某些疏水活性物、聚合物)失去水合环境, 相互之间的疏水作用力增强, 导致内相(油相或水相)组分、增稠剂、乳化剂等发生相分离、聚集、脱水收缩或凝胶收缩, 导致局部黏度增加, 阻碍乙腈的渗透和扩散, 使其无法深入样品内部, 导致目标物不能被充分提取出来。采用 0.1%(v/v) 甲酸水溶液-乙腈(2:10, v/v) 提取 13 种 JAK 抑制剂时, 回收率最高, 因此选为所用。

2.2 色谱条件优化

13 种 JAK 抑制剂的极性范围差别较大, 有些物质化学结构相似, 且均含氨基, 大部分具有疏水性, Kim 等^[10]、Dixit 等^[11,12]、Kumar 等^[13]、熊歆等^[14]、李慧玲等^[15]均采用 C₁₈ 色谱柱分离 JAK 抑制剂。Waters CORTECS T3 C₁₈ 色谱柱既能增加强极性分子如含羟基、氨基等极性官能团的色谱柱保留, 又能减少疏水性成分的保留, 故选择 Waters CORTECS T3 C₁₈ 色谱柱进行试验。

Dixit 等^[11,12]、Kumar 等^[13]、熊歆等^[14]、李慧玲等^[15]采用液相色谱-质谱分析 JAK 抑制剂时, 有机相采用乙腈或甲醇, 水相采用低浓度的乙酸铵水溶液或甲酸水溶液。本研究选用乙腈和甲醇为有机相, 选用纯水、0.2 mmol/L 乙酸铵水溶液、0.1%(v/v) 甲酸水溶液为水相, 分别进行组合试验。结果表明, 有机相选用乙腈时各色谱峰出峰时间较快; 水相中加乙酸铵对各色谱峰的影响不大, 采用 0.1%(v/v) 甲酸水溶液时, 个别成分的色谱峰响应值比采用纯水时略高。故流动相最终选择乙腈和 0.1%(v/v) 甲酸水溶液。13 种 JAK 抑制剂的 MRM 色谱图见图 3。

2.3 质谱条件优化

取各成分的单标溶液, 进行质谱监测参数的优化, 结果各成分在正离子模式下的响应值较高, 一级质谱获得分子离子作为母离子, 二级质谱全扫描

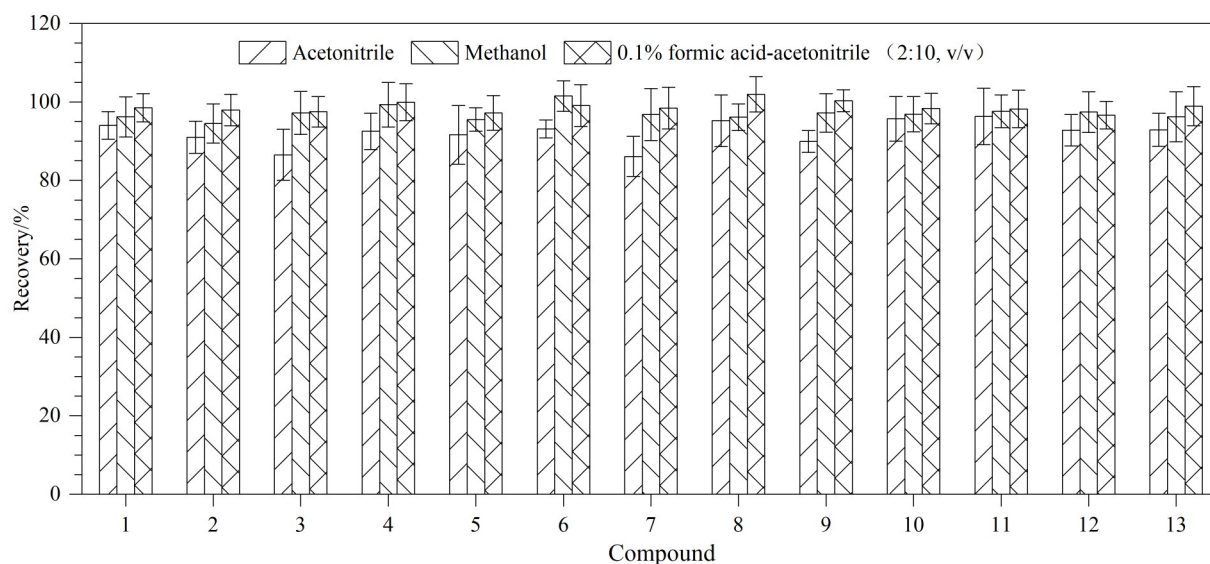


图 2 不同提取溶剂对膏霜乳类化妆品中 13 种 JAK 抑制剂回收率的影响

Fig. 2 Effect of different extraction solvents on the recoveries of the 13 JAK inhibitors in cream cosmetics

Compounds 1-13 were the same as those in Table 1.

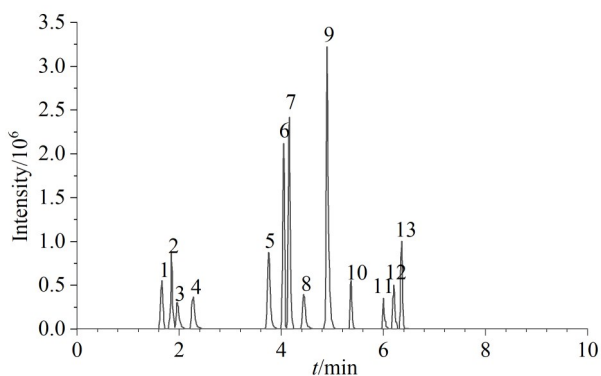


图 3 13 种 JAK 抑制剂的 MRM 色谱图

Fig. 3 MRM chromatograms of the 13 JAK inhibitors

Peaks 1-13 were the same as those in Table 1.

时,选择丰度响应值较高、周边干扰少且连续稳定出现的两个特征碎片离子作为子离子,选择其中响应较高的子离子作为定量离子。优化两个子离子的去簇电压、碰撞能量等,确定 MRM 质谱参数。结合流动相,进行质谱参数的微调,结果发现流动相中增加甲酸,部分成分的 MRM 色谱峰信号响应值会略有升高。MRM 质谱条件确定后,结合二级质谱图信息的代表性,综合优化 EPI 模式下增强子离子扫描时的质谱参数,最终确定 EPI 质谱参数中的碰撞能量和碰撞能散。

按上述条件,取 13 种 JAK 抑制剂的标准品工作溶液,创建 EPI 二级谱库(见图 4)。检出疑似阳性样品时,将样品分析时获得的 EPI 二级谱图与谱库进行匹配比对,相似程度越高,定性结果的准确

度越高,避免假阳性误判情况的出现,保证检测结果的准确、公正、可信。

2.4 基质效应考察

参考杨飘飘等^[33]采用 $ME = \text{基质配制标准品溶液曲线的斜率} / \text{溶剂配制标准品溶液曲线的斜率} \times 100\%$ 的计算方法考察基质效应,若 $ME > 100\%$,则基质对待测物存在增强效应;若 $ME = 100\%$,则说明基质效应影响不存在,对待测物提取影响可以忽略;若 $ME < 100\%$,则为基质对待测物存在抑制效应。 ME 与 100% 之间的差值越大,表明基质对待测物存在的基质效应越明显。

实验考察了两种常见防脱发化妆品水溶性基质和膏霜乳类基质对 13 种 JAK 抑制剂检测的基质效应。结果表明:水溶性基质中各成分的 ME 值为 87%~103%,膏霜乳类基质中各成分的 ME 值为 83%~94%,两种基质对 13 种 JAK 抑制剂检测均存在少量不同程度的基质抑制效应,整体上水溶性基质对 13 种待测化合物质谱检测的基质抑制效应较膏霜乳类基质的影响弱,这与基质所含化学成分的种类不同有关。为了减少基质影响,保证分析定量计算结果的准确性,采用空白基质溶液稀释标准品溶液配制成系列相应基质匹配标准品工作溶液,进行外标法定量计算。

2.5 方法学考察

2.5.1 线性范围、检出限、定量限

取混合标准品储备液,分别用水溶性基质和膏

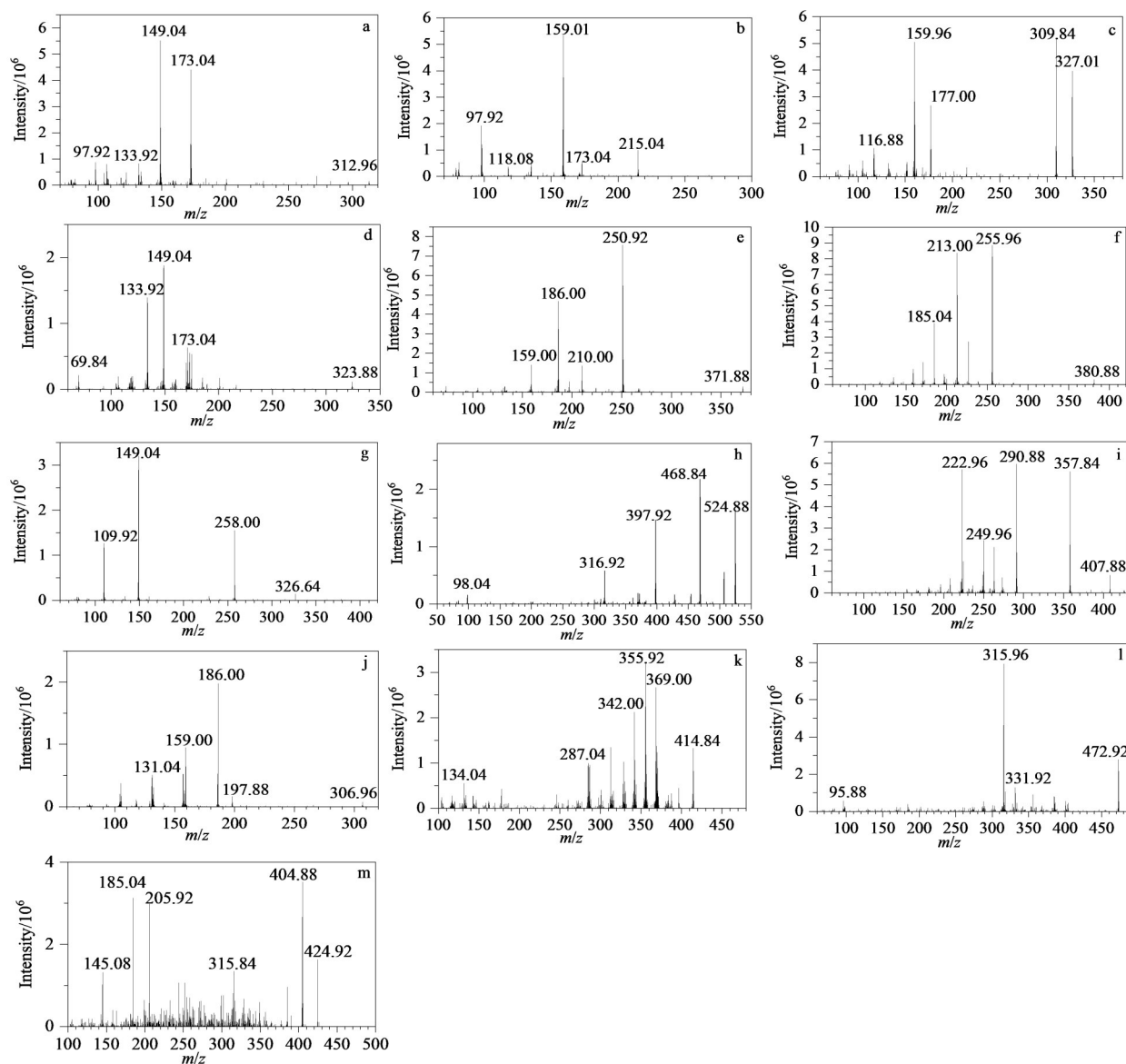


图 4 13 种 JAK 抑制剂的增强离子扫描二级质谱图

Fig. 4 Enhanced ion scanning secondary mass spectra of the 13 JAK inhibitors

a. tofacitinib; b. ritilectinib; c. peficitinib; d. abrocitinib; e. baricitinib; f. upadacitinib; g. ivarmacitinib; h. fedratinib; i. filgotinib; j. ruxolitinib; k. momelotinib; l. pacritinib; m. bozitinib.

霜乳类基质防脱发化妆品的空白基质提取液制备不同质量浓度的系列基质匹配标准品工作溶液,进行分析测定。以系列基质匹配标准品工作溶液的质量浓度为横坐标(x , ng/mL),以定量离子对相应的峰面积为纵坐标(y),绘制标准曲线。13 种 JAK 抑制剂在两种不同基质中均具有良好的线性关系, r 均在 0.996 以上(见表 3)。以混合标准品溶液采用空白基质提取液稀释至信噪比(S/N)为 3 时对应的含量为该方法的检出限(LOD),13 种 JAK 抑制剂的 LOD 为 1.5~1.7 ng/g;按国家药监局颁布的“化妆

品补充检验方法研究起草技术指南”中定量限的定义要求,选择线性最低浓度水平点对应的含量为方法定量限(LOQ),13 种 JAK 抑制剂的 LOQ 为 9.2~10.9 ng/g。

2.5.2 回收率与精密度

选取水溶性基质和膏霜乳类基质两类防脱发化妆品作为空白加标基质,在 13 种 JAK 抑制剂的定量限、2 倍定量限和 10 倍定量限 3 个水平下进行加标回收试验,每个水平平行试验 6 份,分析结果见表 4。

表 3 13 种 JAK 抑制剂在两种基质中的线性范围、检出限、定量限、线性方程和相关系数
Table 3 Linear ranges, limits of detection (LODs), limits of quantification (LOQs), linear equations and correlation coefficients (*r*) of the 13 JAK inhibitors in two matrices

Compound	Linear range/ (ng/mL)	LOD/ (ng/g)	LOQ/ (ng/g)	Water-soluble matrix		Cream matrix	
				Linear equation	<i>r</i>	Linear equation	<i>r</i>
Tofacitinib	1.07–107.4	1.7	10.7	$y=125766.1x+26790.7$	0.9972	$y=184568.6x+2225.7$	0.9976
Ritlecitinib	1.09–108.9	1.7	10.9	$y=162599.2x+29019.2$	0.9981	$y=143265.2x+16012.2$	0.9984
Peficitinib	0.92–91.6	1.5	9.2	$y=67432.9x+7472.9$	0.9972	$y=69871.5x+6631.7$	0.9961
Abrocitinib	0.99–99.4	1.6	9.9	$y=93843.2x+20857.8$	0.9983	$y=82458.5x-1252.3$	0.9988
Baricitinib	1.05–105.1	1.7	10.5	$y=176971.2x+33005.9$	0.9985	$y=185443.3x+43527.7$	0.9976
Upadacitinib	1.00–100.0	1.6	10.0	$y=344171.1x+51436.1$	0.9971	$y=315487.2x+3825.7$	0.9976
Ivarmacitinib	0.99–98.9	1.6	9.9	$y=346899.2x+63263.4$	0.9982	$y=317518.9x+35378.2$	0.9965
Fedratinib	0.95–95.0	1.5	9.5	$y=70861.9x+151.5$	0.9975	$y=71454.2x-247.8$	0.9975
Filgotinib	0.97–97.5	1.6	9.7	$y=519839.1x+70499.4$	0.9974	$y=620576.5x+9863.3$	0.9979
Ruxolitinib	1.00–100.4	1.6	10.0	$y=151030.2x+35649.3$	0.9966	$y=135657.5x-12236.7$	0.9961
Momelotinib	1.01–100.8	1.6	10.1	$y=30662.4x+4279.5$	0.9972	$y=35458.2x-2212.8$	0.9965
Pacritinib	0.99–99.2	1.6	9.9	$y=79112.0x-1226.8$	0.9963	$y=75568.3x-1053.7$	0.9974
Bozitinib	0.94–93.7	1.5	9.4	$y=159928.2x+19241.3$	0.9975	$y=158218.5x-3322.4$	0.9969

y: peak area; *x*: mass concentration, ng/mL.

表 4 两种基质中 13 种 JAK 抑制剂的回收率和 RSD (*n*=6)
Table 4 Recoveries and RSDs of the 13 JAK inhibitors in two matrices (*n*=6)

Compound	Spiked level/ (ng/g)	Water-soluble matrix		Cream matrix		Compound	Spiked level/ (ng/g)	Water-soluble matrix		Cream matrix	
		Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%			Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
Tofacitinib	10.7	95	5.1	95	5.1	Fedratinib	9.5	94.7	6.4	94.7	8.8
	21.5	96.6	4	96.2	5.5		19	101.6	5.1	92.9	7.2
	107.4	99.4	5.2	97.9	7.9		95	102.2	4	96.1	8.5
Ritlecitinib	10.9	95.8	5.5	92.6	5.3	Filgotinib	9.7	98.2	5.4	93.2	7.5
	21.8	98.2	2.2	95.8	7.1		19.5	97.4	4.2	95.3	6.8
	108.9	98.8	3.4	93.7	7.6		97.5	99.7	3.8	98.7	6.2
Peficitinib	9.2	97.5	3.9	95.8	7.8	Ruxolitinib	10	96	6.3	94.4	8.3
	18.3	100	5	98.7	4.7		20.1	98	4.5	99.2	8.3
	91.6	99.6	4.2	97.4	6.2		100.4	98.1	5.1	96.1	7.3
Abrocitinib	9.9	96.4	5.3	94.7	7.4	Momelotinib	10.1	99.5	2.5	94.6	7.8
	19.9	98.9	5	96.8	7.4		20.2	96.7	5.5	95.4	7.1
	99.4	98.3	4.7	95.5	8.1		100.8	98.5	4.7	97.9	7.2
Baricitinib	10.5	97.3	5	92.4	6.2	Pacritinib	9.9	94.9	5.1	94.9	7.7
	21	97.7	2.9	93.6	5.1		19.8	100.3	4.6	97.4	8.5
	105.1	98.7	3.9	93.5	8.3		99.2	95.8	5.2	95.7	6.8
Upadacitinib	10	96.1	5.4	96.1	7.1	Bozitinib	9.4	98.5	3.3	97.7	7.1
	20	98.5	5	98.5	6.5		18.7	100.7	3.4	96.8	6
	100	97.5	3.7	97.7	7.4		93.7	99	7.5	98.4	4
Ivarmacitinib	9.9	95	3.9	94.2	6.7						
	19.8	98.7	4.3	97.5	5						
	98.9	98.2	5.1	97	7.1						

从表 4 可见,13 种 JAK 抑制剂在不同水平下,水溶性基质化妆品平均回收率为 94.7%~102.2%,RSD 为 2.2%~7.5%;膏霜乳类基质化妆品平均回收率为 92.4%~99.2%,RSD 为 4.0%~8.8%。结果表明,

所建立的防脱发化妆品中 13 种 JAK 抑制剂的检测方法准确、可靠,可用于此类化妆品的检验检测。

2.6 实际样品测定

采用所建立的方法对 56 批防脱发或生发护发

类化妆品进行检测分析,暂未检出上述 13 种 JAK 抑制剂,但采用此方法进行的化妆品安全风险监测筛查工作仍在持续之中。作为国家化妆品抽检安全风险监测的探索性研究方法,本方法的建立为化妆品的风险监测和高通量筛查提供了技术支撑,有利于加强化妆品安全监管。

3 结论

本实验建立了采用超高效液相色谱-三重四极杆复合线性离子阱质谱同时测定巴瑞替尼等 13 种 JAK 抑制剂的方法。该方法具有准确、简便、快速、专属性强等优势,通过一次进样同时满足高灵敏度的定量分析和基于 EPI 谱库的定性筛查需求,可以有效避免检测结果“假阳性”情况的出现,为防脱发类化妆品的非法添加检测提供新的检验方法,对企图在化妆品中非法添加此类药物的不法分子起到震慑作用,同时也为化妆品的安全监管提供技术支持,该方法已应用于 2024 年国家化妆品抽检工作。

参考文献:

- [1] Mulinari-brenner F. Clin Dermatol, 2018, 36(6): 709
- [2] Zhou C, Li X, Wang C, et al. Clin Rev Allergy Immunol, 2021, 61(3): 403
- [3] Song D D. [MS Dissertation]. Changchun: Jilin University, 2024
宋丹丹. [硕士学位论文]. 长春: 吉林大学, 2024
- [4] Mao L D. Chinese Journal of Modern Drug Application, 2023, 17(20): 150
毛立东. 中国现代药物应用, 2023, 17(20): 150
- [5] Zhang X Q. Journal of Diagnosis and Therapy on Dermatovenereology, 2022, 29(2): 93
章星琪. 皮肤性病诊疗学杂志, 2022, 29(2): 93
- [6] Xing L Z, Dai Z P, Jabbari A, et al. Nat Med, 2014, 20(9): 1043
- [7] Bayart C B, Deniro K L, Brichta L, et al. J Am Acad Dermatol, 2017, 77(1): 167
- [8] Li Y F, Jiang W Q. Dermatology Bulletin, 2023, 40(1): 143
李毓芬, 姜伟群. 皮肤科学通报, 2023, 40(1): 143
- [9] Dong Y L, Niu S J, Qiao Y S, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(4): 343
董亚蕾, 牛水蛟, 乔亚森, 等. 色谱, 2022, 40(4): 343
- [10] Kim J E, Park M Y, Kim S H. J Pharm Investig, 2020, 50(6): 603
- [11] Dixit A, Mallurwar S R, Sulochana S P, et al. Drug Res, 2018, 68(8): 439
- [12] Dixit A, Kiran V, Gabani B B, et al. Admet Dmpk, 2020, 8(2): 139
- [13] Kumar M A, Bangaraiah P. Sep Sci Plus, 2024, 7(12): e202400166
- [14] Xiong X, Ying Y Q, Zhang X H, et al. Chinese Pharmaceutical Journal, 2023, 58(11): 1015
熊歆, 应颖秋, 张现化, 等. 中国药理学杂志, 2023, 58(11): 1015
- [15] Li H L, Wang J L. China Pharmacist, 2022, 25(4): 746
- [16] Cai C L, Li J, Xi J, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(11): 1052
蔡翠玲, 李菊, 席静, 等. 色谱, 2024, 42(11): 1052
- [17] Shen D D, Gong S S, Jiang B H, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(12): 1153
沈丹丹, 宫珊珊, 姜博海, 等. 色谱, 2024, 42(12): 1153
- [18] Hu B, Li L X, Ding X P, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(1): 38
胡贝, 李丽霞, 丁晓萍, 等. 色谱, 2024, 42(1): 38
- [19] Chen M Q, Yang Q H, Li T T, et al. Food and Drug, 2020, 22(5): 368
陈茂钦, 杨秋红, 李婷婷, 等. 食品与药品, 2020, 22(5): 368
- [20] Du Q Y, Zhang Y F, Wang J F, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(2): 182
杜秋瑶, 张云峰, 王继芬, 等. 色谱, 2022, 40(2): 182
- [21] Zhou R D, Wen Y P, Huo W D, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(12): 1136
周锐东, 文宇鹏, 霍文迪, 等. 色谱, 2024, 42(12): 1136
- [22] Li L, Yang J, Tao J. Medical Journal of Wuhan University, 2023, 44(1): 36
李璐, 杨井, 陶娟. 武汉大学学报(医学版), 2023, 44(1): 36
- [23] Li D, Zhao X J, Zhao Y H, et al. Clinical Medication Journal, 2022, 20(12): 56
李丹, 赵晓娟, 赵永红, 等. 临床药物治疗杂志, 2022, 20(12): 56
- [24] Meng H F. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2023, 39(12): 1712
孟海峰. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(12): 1712
- [25] Mao F F, Jia X. Chinese Journal of Medicinal Chemistry, 2022, 32(10): 819
毛凤凤, 贾嫻. 中国药物化学杂志, 2022, 32(10): 819
- [26] Bian J L, He S Y, Hang J, et al. Clinical Medication Journal, 2022, 20(9): 57
边嘉璐, 贺诗雨, 黄婧, 等. 临床药物治疗杂志, 2022, 20(9): 57
- [27] Zhang M M, Zhu B Q, Yang S Y, et al. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2024, 40(1): 126
张明名, 朱宝强, 杨诗语, 等. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(1): 126
- [28] Wang R. [MS Dissertation]. Changsha: Central South University, 2024
王芮. [硕士学位论文]. 长沙: 中南大学, 2024
- [29] Ji Y Y. The Rise of the \$10 Billion Market for Alopecia Areata Drugs: How Are Global Pharmaceutical Companies Racing to Capture It? . 21st Century Business Herald, 2023-12-13, 12th
季媛媛. 斑秃药物百亿美元市场崛起 全球药企如何竞速抢食? . 21世纪经济报道, 2023-12-13, 12th
- [30] Zhao S, Zhang J, Ding X J, et al. Journal of Instrumental Analysis, 2016, 35(4): 432
赵珊, 张晶, 丁晓静, 等. 分析测试学报, 2016, 35(4): 432
- [31] Ding X J, Lin M S, Zhang J, et al. Analysis and Testing Technology and Instruments, 2021, 27(1): 8
丁晓静, 林明淑, 张晶, 等. 分析测试技术与仪器, 2021, 27(1): 8
- [32] Zhang H Y, Han L M, Shi Z H, et al. Chinese Journal of Chemical Education, 2017, 38(20): 76
张红医, 韩利梅, 石志红, 等. 化学教育(中英文), 2017, 38(20): 76
- [33] Yang P P, Huang W, Li L X, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2023, 41(3): 250
杨飘飘, 黄伟, 李丽霞, 等. 色谱, 2023, 41(3): 250