附件9

化妆品用原料 乙酰基六肽-8（征求意见稿）

Cosmetic ingredients AcetyL Hexapeptide-8

1 范围

本标准规定了化妆品用乙酰基六肽-8的基本信息、要求、试验方法、标志、包装、运输、贮存和保质期。

本标准适用于以谷氨酸、甲硫氨酸、谷氨酰胺和精氨酸为起始原料，经化学法合成，再由纯化、冻干等工序制得的醋酸盐或无盐乙酰基六肽-8粉末。

2　基本信息

化学名称：N-乙酰基-L-谷氨酸-L-谷氨酸-L-甲硫氨酸-L-谷氨酰胺-L-精氨酸-L-精氨酸

INCI 名称：AcetyL Hexapeptide-8

中文名称：乙酰基六肽-8

序列：Ac-Glu-Glu-Met-Gln-Arg-Arg-NH2

CAS号：616204-22-9

分子式：C34H60N14O12S

相对分子质量：888.42

结构式见图1



图1　结构式

3　要求

3.1　工艺要求

3.1.1 固相合成工艺过程

通过氨基酸→偶联→树脂肽→裂解→粗品→纯化→冻干→产品工艺得到的醋酸盐或无盐乙酰基六肽-8粉末。

3.1.2 液相合成工艺过程

通过氨基酸→偶联→脱保护→粗品→纯化→冻干→产品工艺得到的醋酸盐或无盐乙酰基六肽-8粉末。

3.2 技术要求

3.2.1 感官指标

应符合表1的规定。

表1　感官指标

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 | 要求 |
| 性状 | 白色至类白色粉末或疏松块状物，特征性气味 |
| 溶解度（25℃） | 本品易溶于水(＞100mg/mL) |

3.2.2　理化指标

应符合表2的规定。

表2　理化指标

| 项目 | 要求 |
| --- | --- |
| 鉴别 | 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致 |
| pH值(10 mg/mL，水溶液，25℃） | 4.0~6.0（醋酸盐）；5.0~7.0（无盐） |
| 水分/% | ≤8.0 |
| 纯度/% | ≥95.0 |
| 醋酸含量/% | ≤15.0 |
| 三氟乙酸含量/% | ≤5.0 |
| 肽含量/% | ≥80.0 |

注：产品中的成分包括活性成分（乙酰基六肽-8）、有机杂质（与工艺和产品结构有关的）、无机杂质、残留溶剂。纯度表示活性成分（乙酰基六肽-8）在活性成分和有机杂质中的占比。含量表示活性成分（乙酰基六肽-8）在整个产品中的占比。

3.2.3　有害物质及微生物指标

应符合表3的规定。

表3　有害物质及微生物指标

| 项目 | 要求 |
| --- | --- |
| 甲醇/mg/kg | ≤2000 |
| 乙醇/mg/kg | ≤5000 |
| 乙腈/mg/kg | ≤410 |
| 二氯甲烷/mg/kg | ≤600 |
| 甲基叔丁基醚/mg/kg | ≤5000 |
| 乙酸乙酯/mg/kg | ≤5000 |
| 四氢呋喃/mg/kg | ≤720 |
| N,N-二甲基甲酰胺/mg/kg | ≤880 |
| 汞/mg/kg | ≤1 |
| 铅/mg/kg | ≤10 |
| 砷/mg/kg | ≤2 |
| 镉/mg/kg | ≤5 |
| 菌落总数/CFU/g | ≤1000 |
| 霉菌和酵母菌总数/CFU/g | ≤100 |
| 耐热大肠菌群/g | 不得检出 |
| 金黄色葡萄球菌/g | 不得检出 |
| 铜绿假单胞菌/g | 不得检出 |

4　试验方法

本标准所用试剂和水，除非另有规定，应使用分析纯（AR）试剂和符合GB/T 6682中规定的三级水和《中华人民共和国药典》2020 年版规定的纯化水。

4.1　性状

取供试品适量，于合适的容器中，在自然光或相当于自然光条件下，用目测法观察试样的颜色和状态，嗅其气味。

4.2　溶解度

按照《中华人民共和国药典》2020年版四部凡例中规定的方法进行检测。

4.3　鉴别

在“4.8 肽含量”项下记录的色谱图中，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致。

4.4　pH值

取供试品0.1 g（精确至0.001 g），置烧杯中，加水10 mL搅拌至完全溶解，按照《中华人民共和国药典》2020年版第四部通则0631pH值测定法进行检测。

4.5　水分

按照《中华人民共和国药典》2020年版四部通则 0832水分测定法 第一法 费休氏法进行检测。

4.6　纯度

见“4.8 肽含量”项下。

4.7 醋酸和三氟乙酸

按照附录A规定的方法进行检测。

4.8 肽含量

按照附录B规定的方法进行检测。

4.9 残留溶剂

按照《中华人民共和国药典》2020年版四部通则 0861残留溶剂测定法 进行检测。

4.10 汞

按照《化妆品安全技术规范》2015 年版规定的方法检测。

4.11 铅

按照《化妆品安全技术规范》2015 年版规定的方法检测。

4.12 砷

按照《化妆品安全技术规范》2015 年版规定的方法检测。

4.13 隔

按照《化妆品安全技术规范》2015 年版规定的方法检测。

4.14　菌落总数

按照《化妆品安全技术规范》2015年版规定的方法检测。

4.15　霉菌和酵母菌总数

按照《化妆品安全技术规范》2015年版规定的方法检测。

4.16 耐热大肠菌群

按照《化妆品安全技术规范》2015年版规定的方法检测。

4.17 金黄色葡萄球菌

按照《化妆品安全技术规范》2015年版规定的方法检测。

4.18 铜绿假单胞菌

按照《化妆品安全技术规范》2015年版规定的方法检测。

5　包装、运输、贮存、保质期

5.1　包装

本产品内用塑料瓶包装，应按明示的净重包装，外用瓦楞纸箱包装。包装材料和容器应符合QB/T 1685的规定。

5.2　运输

可常温运输，运输工具应清洁、卫生。产品在运输过程中应避免日晒、雨淋。搬运时应轻拿轻放，严禁摔撞。

5.3　贮存

避光、干燥处，2 ℃～8 ℃冷藏、密封保存。

5.4　保质期

在符合本标准规定的运输和贮存条件下，产品在包装完整和未经启封情况下，保质期按销售包装标注执行。

附 录 A

（规范性附录）

乙酰基六肽-8醋酸和三氟乙酸测定方法

1 试剂

a) 甲醇：色谱纯；

b) 氢氧化钠：分析纯或以上；

c) 磷酸：分析纯或以上；

d) 水；

e) 无水醋酸钠对照品：纯度≥99%；

f) 三氟乙酸钠对照品：纯度≥99%。

2　仪器和材料

a） 高效液相色谱仪：配紫外检测器或二极管阵列检测器；

b） 电子天平：精度0.1 mg；

c） 酸度计：精度0.01；

d） 超声波发生器：工作频率37 kHZ；

e） 50 mL容量瓶；

f） 1 mL刻度吸管；

e） 抽滤装置；

f） 0.45 μm滤膜（亲水性）。

3　色谱条件

a) 色谱柱：C18柱，4.6 mm×250 mm，5 μm或性能相近的色谱柱；

b) 流动相A：磷酸溶液；

c) 流动相B：甲醇；

d) 流速：1.0 mL/min；

e) 进样量：10 μL；

f) 柱温：30 ℃；

g) 波长：210 nm；

h) 流动相梯度见表1。

表1　流动相梯度

| 时间（分种） | A（%） | B（%） |
| --- | --- | --- |
| 0 | 95 | 5 |
| 5 | 95 | 5 |
| 10 | 50 | 50 |
| 20 | 50 | 50 |
| 22 | 95 | 5 |
| 30 | 95 | 5 |

4　溶液配制

a) 空白溶液：流动相A（磷酸溶液）-流动相B（甲醇）（95∶5）。

b) 磷酸溶液：在1000 mL水中加磷酸0.7 mL，用0.42 %氢氧化钠试液调节pH值至3.0混匀，并超声脱气。

c) 供试品溶液制备：称取供试品约50 mg（精确至0.1 mg），置于50 mL容量瓶中，加空白溶液溶解，并稀释至刻度，摇匀。经0.45 μm微孔滤膜过滤，续滤液作为供试品溶液；

d) 对照品溶液制备：称取无水醋酸钠对照品约68.5 mg（精确至0.1 mg），三氟乙酸钠对照品约60 mg（精确至0.1 mg），置于同一50 mL容量瓶中（预先在容量瓶中加入约10 mL空白溶液），加空白溶液稀释至刻度，摇匀。移取上述溶液1.0 mL，置于50 mL量瓶中，稀释制成每1 mL中约含0.1 mg醋酸和三氟乙酸的溶液，用空白溶液稀释至刻度，摇匀。经0.45 μm微孔滤膜过滤，续滤液作为对照品溶液。

5　系统适用性

空白溶液应对醋酸和三氟乙酸峰无干扰；对照品溶液中醋酸和三氟乙酸峰的理论塔板数应不低于5000，且醋酸与三氟乙酸峰的分离度不低于1.5；对照品溶液连续进样6次，醋酸峰面积的相对标准偏差不大于2.0 %，三氟乙酸峰面积的相对标准偏差不大于2.0 %。

6　操作过程

高效液相色谱仪稳定后，精密量取空白溶液、对照品溶液、供试品溶液各10 μL，分别进样，记录色谱图，并根据公式（1）计算醋酸含量，公式（2）计算三氟乙酸含量。醋酸和三氟乙酸对照品溶液色谱图参见图1。

醋酸含量以质量分数ωHAc计，数值以%表示，按公式（1）计算：

$ω\_{HAc}= \frac{m\_{HAc}×A\_{HAc}×ρ ×D×0.732}{A\_{s1}×m×V\_{HAc}}×100\%$ ...............................................(1)

式中：

mHAc—醋酸对照品的质量，mg；

AHAc—供试品溶液中醋酸峰的峰面积；

ρ—对照品含量，%；

D—供试品溶液的稀释倍数；

0.732——醋酸钠与醋酸折算系数；

As1—对照品溶液6次进样醋酸峰面积的平均值；

m—供试品的质量，mg；

VHAc—醋酸对照品溶液的稀释倍数；

三氟乙酸含量以质量分数ωTFA计，数值以%表示，按公式（2）计算：

$ω\_{TFA}= \frac{m\_{TFA}×A\_{TFA}×ρ ×D×0.838}{A\_{s2}×m×V\_{TFA}}×100$%..............................................(2)

式中：

mTFA—三氟乙酸对照品的质量，mg；

ATFA—供试品溶液中三氟乙酸峰的峰面积；

ρ—对照品含量，%；

D—供试品溶液的稀释倍数；

0.838——三氟乙酸钠与三氟乙酸折算系数；

As2—对照品溶液6次进样三氟乙酸峰面积的平均值；

m—供试品的质量，mg；

VTFA—三氟乙酸对照品溶液的稀释倍数；

实验结果以两次平行测定结果的算术平均值为测定结果（保留一位小数）。在重复性条件下获得的两次独立测定结果的相对偏差不大于2.0％。

7　图谱



图1 醋酸和三氟乙酸对照品溶液色谱图

1：三氟乙酸（3.210min）；2：醋酸（4.269min）；

附 录 B

（规范性附录）

乙酰基六肽-8鉴别、纯度和肽含量测定方法

1 鉴别试验

1.1 试剂

a） 乙腈：色谱级；

b） 盐酸：分析纯或以上；

c） 氢氧化钠：分析纯或以上；

d） 磷酸二氢钠：分析纯或以上；

e） 水；

f） 乙酰基六肽-8对照品：通过结构确证的乙酰基六肽-8，纯度≥95%。

1.2 仪器和材料

a） 高效液相色谱仪：配紫外检测器或二极管阵列检测器；

b） 电子天平：精度0.1 mg；

c） 酸度计：精度0.01；

d） 超声波发生器：工作频率37 kHZ；

e） 50 mL容量瓶；

f） 1 mL刻度吸管；

e） 抽滤装置；

f） 0.45 μm滤膜（亲水性）。

1.3 色谱条件

a) 色谱柱：C18柱，4.6 mm×250 mm，5 μm或性能相近的色谱柱；

b) 流动相A：25 mmol/L磷酸二氢钠 (pH=6.0)；

c) 流动相B：乙腈；

d) 流速：1.0 mL/min；

e) 进样量：20 μL；

f) 柱温：25 ℃；

g) 波长：210 nm；

h) 流动相梯度见表1。

表1　流动相梯度

| 时间（分钟） | A（%） | B（%） |
| --- | --- | --- |
| 0 | 95 | 5 |
| 5.0 | 95 | 5 |
| 30.0 | 90 | 10 |
| 40.0 | 40 | 60 |
| 40.1 | 95 | 5 |
| 50.0 | 95 | 5 |

1.4 溶液配制

a) 1 mol/L氢氧化钠溶液：称取氢氧化钠4.0 g，加水适量使成100 mL，摇匀。

b) 25 mmol/L磷酸二氢钠 (pH=6.0)：称取无水磷酸二氢钠3.0 g，加水1000 mL使溶解后，用1 mol/L氢氧化钠溶液调pH至6.0，混匀，并超声脱气；

c) 供试品溶液制备：称取供试品约50 mg（精确至0.1 mg），置于50 mL容量瓶中，加水溶解，并稀释至刻度，摇匀。经0.45 μm微孔滤膜过滤，续滤液作为供试品溶液；

d) 对照品溶液制备：称取乙酰基六肽-8对照品50 mg（精确至0.1 mg），置于50 mL容量瓶中，用水溶解，并稀释至刻度，摇匀。经0.45 μm微孔滤膜过滤，续滤液作为对照品溶液。

1.5 操作过程

高效液相色谱仪稳定后，精密量取对照品溶液、供试品溶液各20 μL，依次进样，记录色谱图，供试品溶液色谱图的主峰保留时间应与对照品溶液色谱图的主峰保留时间一致。

2 纯度试验

2.1 试剂

见 1.1。

2.2 仪器和材料

见 1.2。

2.3 色谱条件

见 1.3。

2.4 溶液配制

见1.4。

2.5 系统适用性

空白溶液无干扰；理论塔板数以乙酰基六肽-8计不低于10000，主峰保留时间约在13～18 min出峰，主峰与相邻后峰分离度不小于1.5。

2.6 操作过程

高效液相色谱仪稳定后，精密量取空白溶液、供试品溶液各20 μL，依次进样，记录色谱图，按照面积归一法进行计算。供试品溶液色谱扣除空白溶液的色谱峰，积分读取乙酰基六肽-8峰面积百分比数值，作为乙酰基六肽-8的纯度。

实验结果以平行测定结果的算术平均值为准（保留一位小数）。在重复性条件下获得的两次独立测定结果的相对偏差不大于2.0 %。

3 肽含量测定试验

3.1 试剂

见 1.1。

3.2 仪器和材料

见 1.2。

3.3 色谱条件

见 1.3。

3.4 溶液配制

见1.4。

3.5 系统适用性

空白溶液无干扰；理论塔板数以乙酰基六肽-8计不低于10000，主峰保留时间约在15～18 min出峰，主峰与相邻后峰分离度不小于1.5。

3.6 操作过程

高效液相色谱仪稳定后，精密量取空白溶液、对照品溶液、供试品溶液各20 μL，分别进样，记录色谱图，并根据公式（1）计算乙酰基六肽-8含量。乙酰基六肽-8对照品溶液色谱图参见图1。

乙酰基六肽-8含量以质量分数ω计，数值以%表示，按公式（1）计算：

$ω=\frac{m\_{s}×A×ρ×D}{A\_{S}×m×V}×100$%•••••••••••••••••••••••••••(1)

式中：

ms—乙酰基六肽-8对照品的质量，mg；

A—供试品溶液中乙酰基六肽-8峰的峰面积；

ρ—对照品含量，%；

D—供试品溶液的稀释倍数；

As—对照品溶液6次进样乙酰基六肽-8峰面积的平均值；

m—供试品的质量，mg；

V—对照品溶液的稀释倍数；

实验结果以两次平行测定结果的算术平均值为测定结果（保留一位小数）。在重复性条件下获得的两次独立测定结果的相对偏差不大于2.0 %。

4　图谱



图1乙酰基六肽-8对照品溶液色谱图

1：乙酰基六肽-8（16.854min）

化妆品用用原料 乙酰基六肽-8（征求意见稿）起草说明

为加强化妆品原料的监督管理，进一步提高化妆品原料使用安全性，化妆品标准化技术委员会组织开展了化妆品用原料 乙酰基六肽-8（征求意见稿）的研究制定工作。现就工作有关情况说明如下：

一、起草原则

乙酰基六肽-8收录于《已使用化妆品原料目录（2021年版）》，其中文名称：乙酰基六肽-8，INCI名称/英文名称：ACETYL HEXAPEPTIDE-8。化妆品用乙酰基六肽-8标准的起草遵循科学性、合理性和可操作性的原则，根据乙酰基六肽-8的实际生产工艺情况，结合该产品的技术要求和用户使用情况，参考乙酰基六肽-8各生产商的质量标准与供试品实际测试结果，确定了化妆品用乙酰基六肽-8的技术指标和检验方法。采用目前一般检测实验室普遍具备的分析技术，选择适宜、可行、便于实际操作的分析条件，保证检测方法的精确性和重现性。

二、起草过程

化妆品标准专家委员会于2023年9月委托开展化妆品用乙酰基六肽-8标准起草工作。具体起草过程包括：查阅相关标准和文献资料；市场调研和征集样品；拟定标准研究内容；建立化妆品用乙酰基六肽-8的质量标准；对标准检测项目进行实验室内和实验室间验证；征求专家意见，修改完善标准案稿；完成标准草案征求意见稿等相关文件。

三、与我国已有相关标准的关系

目前未见化妆品用乙酰基六肽-8的国家标准或行业标准。

四、与《规范》中原方法的对比情况

现有《规范》中并未收录关于化妆品用乙酰基六肽-8的测定方法或相关标准。

五、国际相关标准情况

目前国外未见公开发布的化妆品用乙酰基六肽-8相关标准。

六、实验室验证情况

本实验室内部验证，按照《化妆品用乙酰基六肽-8》标准草案中感官指标、理化指标、有害物质等要求对乙酰基六肽-8原料进行检测，检测项目具体包括：性状、溶解度、鉴别、pH值、水分、纯度、醋酸和三氟乙酸、肽含量、残留溶剂和重金属。其中对pH值、水分、醋酸和三氟乙酸、肽含量和残留溶剂等检测项目进行进行方法学验证，验证的项目包括特异性、线性、检出浓度、最低定量浓度、精密度、回收率、稳定性、实际样品的测定等指标。实验结果均能满足《<中华人民共和国药典>2020年版四部通则 9101分析方法验证指导原则》和《化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范》（国食药监许〔2010〕455号）的要求。

外部实验室验证，通过了3家实验室验证。实验室间验证的检测项目包括：性状、溶解度、鉴别、pH值、水分、纯度、醋酸和三氟乙酸、肽含量、残留溶剂和重金属。各项目检测结果与起草单位一致，特异性、线性、检出浓度、最低定量浓度、精密度、回收率、稳定性等方法学验证项目均能满足拟定方法的要求。

七、其他需说明的问题

本标准规定了化妆品用乙酰基六肽-8鉴别、纯度、肽含量、醋酸和三氟乙酸的测定方法。方法使用标准物质优化仪器色谱条件，用高效液相色谱仪进行分析，紫外检测器或二极管阵列检测器，以主峰保留时间配合紫外光谱定性鉴别，以面积归一法进行计算乙酰基六肽-8的纯度，以外标法计算原料中乙酰基六肽-8含量，以外标法计算计算原料中醋酸和三氟乙酸含量含量。

其余项目检测方法参照《中华人民共和国药典（2020年版）》四部和《化妆品安全技术规范（2015年版）》中规定的方法检验。