

医薬部外品および化粧品中紫外線吸収剤の分析に関する研究
フェルラ酸, ドロメトリゾールトリシロキサンを含む14成分同時分析法

宮 本 道 子, 森 謙一郎, 中 村 義 昭, 寺 島 潔, 大 貫 奈穂美,
横 山 敏 郎, 荻 野 周 三, 斉 藤 和 夫

Analysis of UV Absorbents in Quasi-drugs and Cosmetics
Simultaneous Determination of 14 UV Absorbents Including Ferulic Acid and Drometrizole Trisiloxane

Michiko MIYAMOTO, Ken'ichiro MORI, Yoshiaki NAKAMURA, Kiyoshi TERAJIMA,
Nahomi OHNUKI, Toshiro YOKOYAMA, Shuzo OGINO and Kazuo SAITO

医薬部外品および化粧品中紫外線吸収剤の分析に関する研究 フェルラ酸, ドロメトリゾールトリシロキサンを含む14成分同時分析法

宮本道子*, 森謙一郎*, 中村義昭*, 寺島潔*, 大貫奈穂美*,
横山敏郎*, 荻野周三*, 斉藤和夫**

Analysis of UV Absorbents in Quasi-drugs and Cosmetics Simultaneous Determination of 14 UV Absorbents Including Ferulic Acid and Drometrizole Trisiloxane

Michiko MIYAMOTO *, Ken'ichiro MORI *, Yoshiaki NAKAMURA *, Kiyoshi TERAJIMA *,
Nahomi OHNUKI *, Toshiro YOKOYAMA *, Shuzo OGINO * and Kazuo SAITO **

A method for simultaneous determination of 14 UV absorbents including ferulic acid and drometrizole trisiloxane in quasi drugs and cosmetics was developed. The chemical names and abbreviations of the 14 UV absorbents are as follows: ferulic acid (HMC), tetrahydroxybenzophenone (THB), ethyl p-aminobenzoate (EAB), dihydroxybenzophenone (DHB), dihydroxydimethoxybenzophenone (DHDMB), 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone (HMB), 2-ethylhexyl(Z)-4-(3,4-dimethoxybenzylidene)-2,5-dioxo-1-imidazolizine propionate (EBP), 4-tert-butyl-4'-methoxydibenzoylmethane (BMB), 2-ethylhexyl p-methoxy-cinnamate (EMC), 2-ethylhexyl salicylate (ESA), 2-ethylhexyl 2-cyano-3,3-diphenylacrylate (ECA, octocrylene), drometrizole trisiloxane (BPS), 2,4,6-tris[4-(2-ethylhexyloxycarbonyl)-anilino]-1,3,5-triazine (TEAT, octyltriazone), 2,2'-methylene-bis-[6-(2H-benzotriazole-2-yl)-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-phenol] (MBP). A 0.4 g sample of quasi drugs and cosmetics was mixed with 4 mL of tetrahydrofuran, and 6 mL of acetonitrile was added to this mixture with supersonic treatment for sufficient dissolution. The total volume was set at 20 mL by adding acetonitrile further. The solution was then filtered through a 0.45 μ m membrane filter and injected into the HPLC system. Analytical condition of HPLC were as follows, column: ZORBAX SB-C8 (4.6 mm i.d. $\times$ 150 mm), 40 $^{\circ}$ C, mobile phase: gradient, acetonitrile, water (0.2% formic acid) (40:60) to (100:0), 0.5 mL/min, injection volume 2 μ L, detector UV 310 nm. This method, which was not influenced by foreign substances, enabled precise analysis of the 14 absorbents.

Keywords : 紫外線吸収剤 UV absorbents, 医薬部外品 quasi-drugs, 化粧品 cosmetics, 同時分析 simultaneous determination

はじめに

近年、オゾン層破壊による紫外線の増加及び消費者の美白志向に伴い、紫外線防御製品へのニーズが高まっている。医薬部外品や化粧品においても紫外線を防御する目的で紫外線吸収剤や物理的遮へい効果のある紫外線散乱剤が多用されている。紫外線吸収剤については皮膚障害を引き起こす可能性があることから¹⁾、化粧品では薬事法に基づく「化粧品基準」により成分と配合上限が定められている²⁾。当研究科では医薬部外品及び化粧品の安全を確保するため、日頃からこれらの試験検査を行っており、紫外線吸収剤の同時分析法については、池田らの報告³⁾をはじめ著者らも報告している⁴⁻⁶⁾。しかし平成13年3月の「化粧品基準」改正時には26成分であった配合制限成分リスト(ポジティブリスト)収載の紫外線吸収剤は、新製品の開

発や外国での使用⁷⁾等から年々追加され平成19年6月現在32成分に増加した。それに伴い市販の化粧品に配合される成分に変化が見られ、これらに対応した試験法が求められる。著者らは前報⁶⁾においてアセトニトリルを移動相に用いた13成分同時分析法を報告したが、今回使用頻度の減少したパラジメチルアミノ安息香酸2-エチルヘキシルを除外し、新たにフェルラ酸(HMC)、ドロメトリゾールトリシロキサン(BPS)を加え14成分同時分析法を検討したので報告する。

実験方法

1. 標準試薬

分析対象とした紫外線吸収剤は、以下のとおりである。HMC, テトラヒドロキシベンゾフェノン(THB), パラ

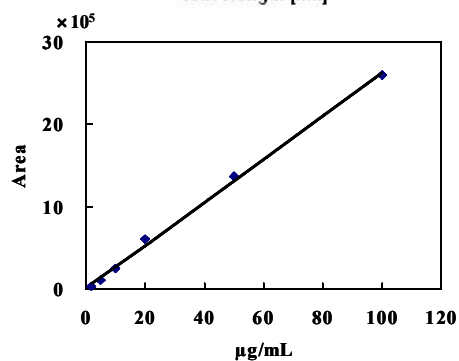
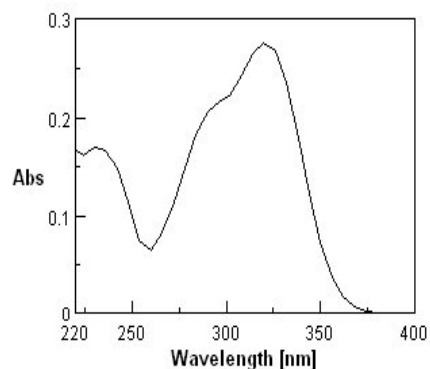
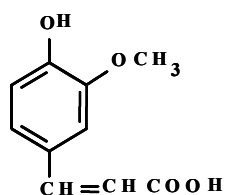
* 東京都健康安全研究センター医薬品部微量分析研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

** 東京都健康安全研究センター医薬品部

Ferulic Acid
(4-Hydroxy-3-methoxycinnamic Acid, HMC)



Drometridole Trisiloxane
(Phenol,2-(2H-Benzotriazol-2-yl)-4-Methyl-6-[2-Methyl-3-[1,3,3,3-Tetramethyl-1-[(Trimethylsilyl)Oxy]Disiloxanyl]Propyl], BPS)

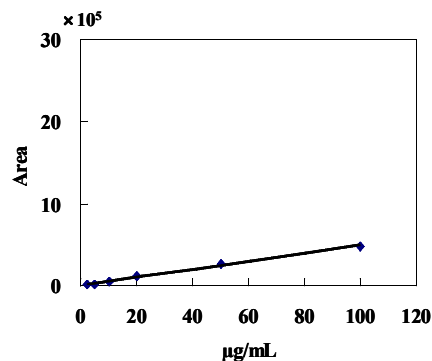
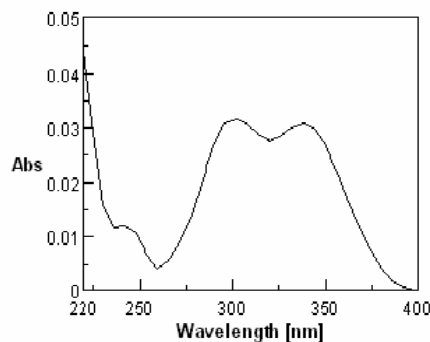
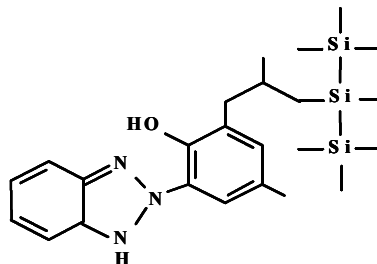


Fig. 1. Chemical Structures, UV Spectra and Caribration Curves of HMC and BPS

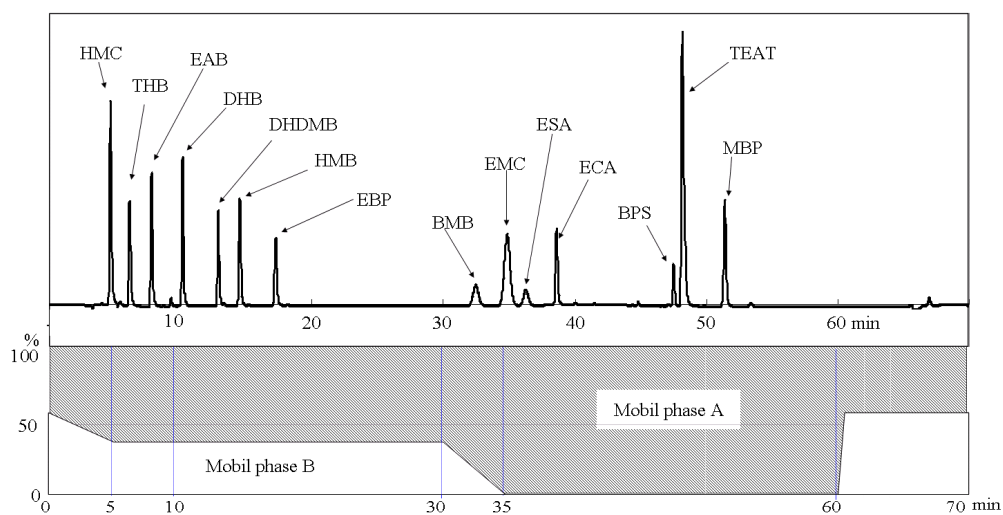


Fig. 2. HPLC Chromatogram of Fourteen UV Absorbents and Gradient Condition

アミノ安息香酸エチル (EAB), ジヒドロキシベンゾフェノン (DHB), ジヒドロキシジメトキシベンゾフェノン (DHDMB), 2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン (HMB), ジメトキシベンジリデンジオキソイミダゾリジンプロピオン酸 2-エチルヘキシル (EBP), 4-tert-ブチル-4'-メトキシベンゾイルメタン (BMB), パラメトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル (EMC), サリチル酸 2-エチルヘキシル (ESA), 2-シアノ-3,3-ジフェニルプロパ-2-エン酸 2-エチルヘキシルエステル (別名オクトクリレン, ECA), BPS, 2,4,6-トリス[4-(2-エチルヘキシルオキシカルボニル)アニリノ]-1,3,5-トリアジン (別名オクチルトリアゾン, TEAT), 2,2'-メチレンビス[6-(2H-ベンゾトリアゾール-2-イル)-4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノール] (MBP). これらのうち, 新規に分析対象に加えた HMC と BPS の構造式および化学名と略名を Fig. 1 に示す.

標準試薬として, HMC は東京化成工業 (株) 製を用いた.

BPS は入手困難なため市販製品よりヘキサンで抽出後, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し, さらにロータリーエバポレーターで乾固, 溶離液にヘキサン・酢酸エチル (98.5 : 1.5) を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した. 得られた化合物の NMR を測定した結果は次のとおり. ¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ: 0.08(3H, s), 0.09(18H, s), 0.48(1H, dd, J=14.9, 9.2Hz), 0.71(1H, dd, J=14.9, 4.6Hz), 0.98(3H, d, J=6.3Hz), 2.13(1H, m), 2.37(3H, s), 2.59(1H, dd, J=13.1, 8.1Hz), 2.74(1H, dd, J=13.1, 6.3Hz), 6.99(1H, d, J=1.5Hz), 7.46(2H, dd, J=6.3, 2.9Hz), 7.92(2H, dd, J=6.3, 2.9Hz), 8.06(1H, d, J=1.5Hz), 11.27(1H, s) ¹³C-NMR (126MHz, CDCl₃) δ: 0.9, 1.9, 20.6, 22.5, 26.1, 29.4, 41.0, 117.6, 119.0, 124.8, 127.5, 128.5, 131.5, 132.9, 142.8, 146.0 以上の ¹H, ¹³C-NMR ケミカルシフトおよびカップリング定数より, 1, 3-置換-2-メチルプロピル基 1 個, フェニルメチル基 1 個, 1, 2-置換フェニル基 1 個, 孤立フェニル水素 2 個の部分構造が明らかとなり CAS No.155633-54-8 のドロメトリゾールトリシロキサン構造と良い一致を得た. この結果より本品をの BPS の標準品とした.

その他の標準試薬は前報⁶⁾に従った.

2. 試験溶液の調製

前報⁶⁾に従った.

3. 標準溶液の調製

HMC および BPS の標準試薬をそれぞれ約 250 mg 精秤し, HMC はアセトニトリルに, アセトニトリルに難溶の BPS は THF に溶解して正確に 50 mL とし, 5,000 µg/mL の標準溶液原液を作製した. 50 mL メスフラスコに HMC および BPS の標準溶液原液 1mL ずつをとり, 前報⁶⁾に従って調製した他の 12 成分の標準溶液原液 (2,500 µg/mL) 2 mL ずつを加え, アセトニトリルで正確に 50 mL とし

各成分 100 µg/mL の 14 種混合標準液を作製した. さらにアセトニトリルで適宜希釈し 1 ~ 100 µg/mL の標準溶液系列を作製した.

4. HPLC 分析条件

前報⁶⁾に従った. 装置: 日本分光 (株) 製 LC-2000 Plus シリーズ, 検出器: フォトダイオアレイ検出器 MD-2015Plus, カラム: Agilent Technologies 社製 ZORBAX SB-C8 (4.6 mm i.d. ×150 mm), 移動相: A 液はアセトニトリル, B 液は 0.2% 酢酸, グラジエント条件は Table 1 に記載, 1 サイクル 70 分, カラム温度: 40 °C, 流量: 0.5 mL/min, 検出波長: 310 nm, 注入量 2 µL.

Table 1. HPLC Gradient Condition of Mobile Phase

Time(min)	Acetonitrile	0.2% Formic acid
	A (%)	B (%)
0	40	60
5	65	35
30	65	35
35	100	0
60	100	0
61	40	60
70	40	60

結果および考察

1. 紫外線吸収剤の最近の使用状況

当研究室で平成 16 年度から 18 年度に検査した医薬部外品および化粧品中の紫外線吸収剤検出状況を Table 2 にまとめた. 3 年間で計 112 検体から, 延べ 161 件の紫外線吸収剤を検出した. HMB と BMB は単独で配合される場

Table 2. Detection Results of UV Absorbents
(The 2004-2006 Fiscal Years)

	Year added to List	2004	2005	2006	Total
HMC	Mar. 2001	0	3	0	3
THB	*	3	1	1	5
EAB	*	1	1	0	2
DHB	*	1	1	0	2
DHDMB	*	0	0	0	0
HMB	*	6	10	8	24
EBP	*	1	2	2	5
BMB	*	8	9	6	23
EDB	*	1	0	2	3
EMC	*	19	27	26	72
ESA	*	4	1	2	7
ECA	Jun. 2001	0	2	0	2
BPS	Dec. 2002	0	0	0	0
TEAT	*	1	3	0	4
MBP	Oct. 2004	0	1	0	1
Others		1	4	3	8

* Before Mar. 2001

合もあるが EMC と併用される事も多く, EMC と HMB が併用されていた例が 11 検体, EMC と BMB が併用さ

れていた例が 15 検体あった。過去に汎用されていたシノキサートは今回は全く検出されず、パラジメチルアミノ安息香酸 2-エチルヘキシル (EDB) も激減している。一方新しくリストに収載された成分を配合した製品が都内に流通していたことから、今回は EDB を除外し、新規成分として HMC と BPS を加え同時分析を試みた。

2. HMCとBPSを含めた同時分析の検討

新たに分析対象に加えた HMC 及び BPS を前報⁶⁾に記載した分析条件でそれぞれ分析したところ、HMC は保持時間 4.6 分、BPS は 47.5 分にピークを認めた。次に、この 2 成分を他の 12 成分に加え同様に分析したところ、各成分は Fig. 2 に示すように充分に分離し、14 成分の同時分析が可能であることがわかった。

3. クロマトグラムの再現性と検量線の作成

Table 3. Reproducibility of HPLC Chromatograms and Detection Limits (n=6)

	Retention time		Area RSD %	Detection limits ppm
	min	RSD %		
HMC	4.68	1.79	3.19	0.5
THB	6.18	2.50	1.47	0.5
EAB	7.85	1.86	1.44	0.5
DHB	10.20	1.27	1.56	0.5
DHDMB	12.92	0.78	1.45	0.5
HMB	14.55	0.65	1.39	0.5
EBP	17.31	0.49	1.93	0.5
BMB	32.61	0.33	2.44	0.5
EMC	35.02	0.29	1.45	0.5
ESA	36.40	0.20	1.53	2.0
ECA	38.66	0.07	1.29	0.5
BPS	47.53	0.04	1.30	0.5
TEAT	48.27	0.04	1.47	0.2
MBP	51.43	0.04	1.67	0.2

本法によるクロマトグラムの再現性を確認するため、混合標準液を 6 回連続測定した。Table 3 に示したように HMC, BPS のいずれもクロマトグラムの保持時間、ピーク面積ともに良好な再現性を示した。

また標準液の希釈系列から作製した検量線は Fig. 1 に示すようにいずれの成分とも 2 ~ 100 µg/mL まで良好な直線性を示した。

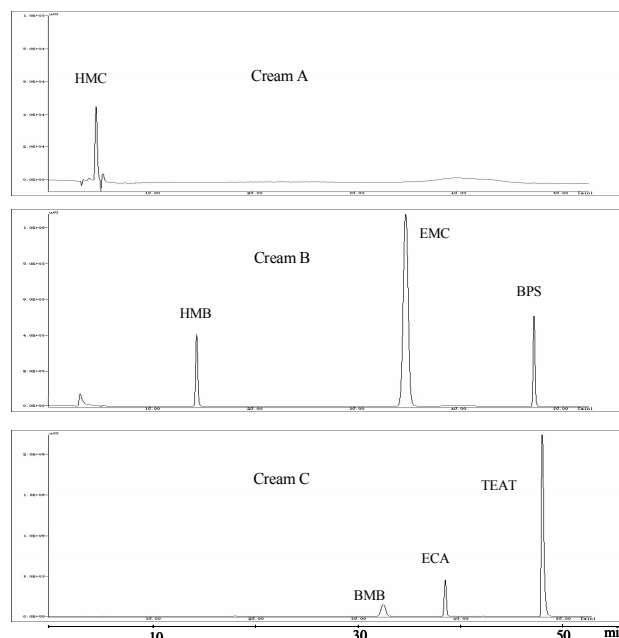


Fig. 3. HPLC Chromatograms of UV Absorbents in Commercial Products
Analysis condition of HPLC described in the text.

4. 添加回収実験

今回分析対象に加えた 2 種類を含む、計14種類の紫外線吸収剤をクリーム、化粧水、リップクリームに各 2 % 濃度となるように添加し、回収実験を行った。その結果、

Table 4. Recovery of UV Absorbents Added to Samples at 2% (n=5)

	Cream		Lotion		Lip cream	
	Recovery of mean %	RSD %	Recovery of mean %	RSD %	Recovery of mean %	RSD %
HMC	96.90	1.38	96.59	2.05	96.05	0.80
THB	98.69	1.72	98.29	1.27	98.26	1.03
EAB	97.33	1.13	97.26	1.17	96.86	1.32
DHB	97.14	1.23	96.92	0.84	96.84	1.59
DHDMB	97.69	0.88	96.97	1.37	97.22	1.26
HMB	97.01	1.10	97.06	1.05	97.14	1.89
EBP	97.37	1.44	97.44	1.48	97.53	1.48
BMB	98.86	1.72	98.48	1.93	99.25	1.70
EMC	97.04	1.18	96.88	1.27	97.00	1.18
ESA	97.79	1.25	96.95	1.23	97.52	1.73
ECA	97.36	1.31	96.99	1.33	97.25	1.31
BPS	97.54	1.51	97.01	1.60	97.48	1.11
TEAT	97.07	1.13	96.72	1.17	96.63	1.36
MBP	97.10	1.09	97.04	1.33	97.01	1.43

Table 4 に示すようにいずれにおいても良好な結果を得た。

5. 製品の分析

本法を用いて市販化粧品の分析を試みたところ、いずれも夾雑物の影響なく分析できることがわかった。そのうち市販のクリーム3例のクロマトグラムをFig. 3に示した。試料AとBは今回新たに同時分析に加えたHMCまたはBPSを配合している製品である。試料AではHMCのみが、試料BではHMB, EMC, BPSの3種が検出された。また試料CではBMB, ECA, TEATの3種の紫外線吸収剤が検出された。

ま と め

前報⁶⁾で報告した高圧2液グラジエントHPLC法を用い、新規成分であるHMC, BPSを含めた14種類の紫外線吸収剤の同時分析法を試みた。各成分はすべて完全に分離、再現性も良好であった。検出限界は0.2～2 µg/mLであった。検量線は2～100 µg/mLまで良好な相関を示し、添加回収試験の結果も良好であった。市販製品を本法により分析したところ、夾雑物の影響を受けることなく分

析でき、紫外線吸収剤の同時分析法として有用であることが確められた。

(本研究の概要は平成19年3月日本薬学会第127年会にて発表した。)

文 献

- 1) T.M.Hughes, J.A.Martin, V.J.Lewis and N.M.Stone: Contact Dermatitis, **25**, 226-227, 2005.
- 2) 厚生省告示第331号, 平成12年9月29日
- 3) Kazuo Ikeda, Sukeji Suzuki, Yohya Watanabe: J.Chromatography, 482, 240-245, 1989
- 4) 横山敏郎, 森謙一郎, 中村義昭, 他: 東京衛研年報, **50**, 65-69, 1999.
- 5) 横山敏郎, 森謙一郎, 中村義昭, 他: 東京衛研年報, **56**, 105-110, 2005. .
- 6) 横山敏郎, 森謙一郎, 中村義昭, 他: 東京衛研年報, **57**, 145-150, 2006
- 7) S. C. Rastogi: Contact Dermatitis, **46**, 348-351, 2002