

医薬部外品および化粧品中の紫外線吸収剤の分析に関する研究（第2報）
ビスエチルヘキシルオキシフェノールメトキシフェニルtriaジン，
ホモサレートおよびメチルベンジリデンカンファを含む17成分同時分析法

宮本 道子，中村 義昭，横山 敏郎，伊藤 弘一，寺島 潔，
鈴木 淳子，浜野 朋子，荻野 周三

Analysis of UV Absorbents in Quasi-drugs and Cosmetics (II)
Simultaneous Determination of 17 UV Absorbents, Including
Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine, Homosalate, and 4-Methylbenzylidene Camphor

Michiko MIYAMOTO, Yoshiaki NAKAMURA, Toshiro YOKOYAMA, Koichi ITOH, Kiyoshi TERAJIMA,
Atsuko SUZUKI, Tomoko HAMANO and Shuzo OGINO

医薬部外品および化粧品中の紫外線吸収剤の分析に関する研究 (第2報*)

ビスエチルヘキシルオキシフェノールメトキシフェニルトリアジン, ホモサレートおよびメチルベンジリデンカンファを含む17成分同時分析法

宮本道子**, 中村義昭**, 横山敏郎**, 伊藤弘一**, 寺島潔**,
鈴木淳子**, 浜野朋子**, 荻野周三**

ビスエチルヘキシルオキシフェノールメトキシフェニルトリアジン (BEMT) は化粧品に配合可能な紫外線吸収剤として, 新規にポジティブリストに追加された成分である. 著者らはこれまでに医薬部外品および化粧品中の紫外線吸収剤のHPLCによる同時分析法について報告してきたが, 今回, BEMTのほかホモサレート, メチルベンジリデンカンファを加えた17成分について, 分析法の改良を行った. その結果, 移動相のグラジエント条件を改良することにより, 従来と同一の時間内に17成分をほぼ良好に分離することができた. また, この分析法を市販製品に適用したところ, 夾雑物の影響もなく分析することができた.

キーワード: 紫外線吸収剤, ビスエチルヘキシルオキシフェノールメトキシフェニルトリアジン, ホモサレート, メチルベンジリデンカンファ, HPLC, 医薬部外品, 化粧品, 同時分析

はじめに

薬事法に基づく化粧品基準¹⁾にはポジティブリストとして配合可能な紫外線吸収剤と上限値が定められている. 我々はその基準が遵守されているかについて医薬部外品および化粧品の試験検査を行っており, その迅速化を図るため, 既に14成分同時分析法 (以下, 従来法) を報告している^{2,3)}. しかし, ポジティブリストには新たな成分が随時追加掲載されるため, より多くの成分を網羅的に迅速分析する同時分析法の改良が常に求められている.

ビスエチルヘキシルオキシフェノールメトキシフェニルトリアジン (2,4-ビス-[4-(2-エチルヘキシルオキシ)-2-ヒドロキシ]-フェニル]-6-(4-メトキシフェニル)-1,3,5-トリアジン, BEMT) は平成19年に化粧品基準の別表4に追加され⁴⁾, 粘膜に使用されることがある化粧品に配合は認められていないが, 粘膜に使用されることがない化粧品のうち洗い流すもの, および洗い流さないもの, いずれにおいても100 g中最大3.0 gまで配合できるようになった. BEMTは紫外線をA波からB波まで広範な領域で吸収し, 高い防御効果が得られる新規の紫外線吸収剤として, 最近の日焼け止めに配合されている. そこで今回, HPLCを用いた従来法³⁾をもとにしてBEMTを加えた同時分析法の改良を検討することにした. 検討にあたり, ポジティブリスト成分であり, 最近の日焼け止めに配合されている実態が前報³⁾の調査結果から明らかとなったホモサレート (サリチル酸ホモメンチル, HS) 及び我が国では許可されていないが欧州等では配合可

能であり, 輸入化粧品に配合される可能性があるメチルベンジリデンカンファ (MBC) の2成分を追加し, 併せて17成分について同時分析法を試みた.

実験方法

1. 分析対象成分及び標準試薬

分析対象とした紫外線吸収剤の名称と略称は以下のとおりである.

BEMT, HS, MBC (Fig.1).

フェルラ酸 (HMC), テトラヒドロキシベンゾフェノン (オキシベンゾン3, THB), パラアミノ安息香酸エチル (エチルPABA, EAB), ジヒドロキシベンゾフェノン (オキシベンゾン1, DHB), ジヒドロキシジメトキシベンゾフェノン (オキシベンゾン6, DHDMB), 2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン (オキシベンゾン3, 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'-メトキシジベンゾイルメタン (BMB), パラメトキシケイ皮酸2-エチルヘキシル (EMC), サリチル酸オクチル (サリチル酸エチルヘキシル, 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 (オクトクリレン, ECA), ドロメトリゾールトリシロキサン (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 (オクチルトリアジン, 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

* 東京健安研七年报, 58, 97-101, 2007

** 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

*** 東京都健康安全研究センター医薬品部

メチルブチル)フェノール] (MBP) 以上, 既報³⁾の14成分. 標準試薬として, BEMTはチバ・ジャパン (株) より供与のTINOSORB S (純度98.2%), HSはAccu Standard Inc.製 (純度98.3%), MBCはAlfa Aesar A Johnson Matthey Company製 (純度99.8%) を用いた. その他の標準試薬は既報^{2,3)}に従った.

2. 試料

平成16~20年度に都内で市販されていた医薬部外品および化粧品20製品.

3. 試料溶液の調製

既報²⁾に従った.

4. 標準溶液の調製

標準試薬約250 mgを精秤し, アセトニトリルに溶解して正確に50 mLとし, 5,000 µg/mLの標準原液を調製した, アセトニトリルに難溶なBEMT, BPS, TEAT, MBPはTHFに溶解した. 各標準原液2 mLを正確にとり, アセトニトリルで正確に50 mLとし, 17成分混合標準溶液とした (200 µg/mL). これをアセトニトリルで適宜希釈し, 0.1~200 µg/mLの標準系列を作製した.

5. HPLC分析条件

既報²⁾に従った. 装置: 日本分光 (株) 製 LC-2000 Plus シリーズ, 検出器: フォトダイオードアレイ, MD-2015 Plus,

検出波長: 310 nm, カラム: Agilent Technologies社製 ZORBAX SB-C8 (4.6 mm i. d. ×150 mm), カラム温度: 40°C, 移動相: A液はアセトニトリル, B液は0.2%ギ酸, グラジエント条件はTable 1に記載, 1サイクル70分, 流量: 0.5 mL/min, 注入量: 2 µL.

Table.1 HPLC Gradient Condition

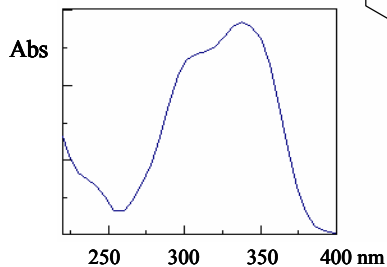
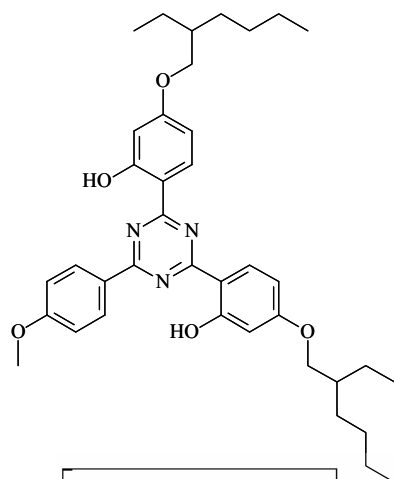
Time (min)	A (%) Acetonitrile	B (%) 0.2% Formic Acid
0	40	60
5	65	35
30	65	35
35	95	5
45	95	5
46	100	0
60	100	0

結果及び考察

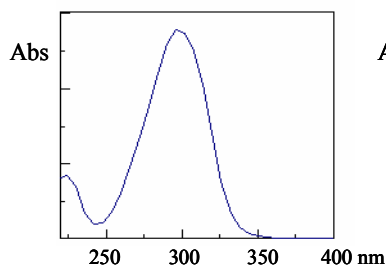
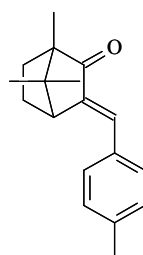
1. 従来法³⁾による分析

17成分について, 従来法³⁾の適用可否を検証した. 新規に分析対象とした3成分を従来法³⁾で分析した結果, Fig. 2に示すように, MBCは約23分, HSは約36分, BEMT約48分に検出された. MBCは前後のピークとの分離は良好で, HSは近接するESAとほぼ分離した. しかし, BEMTはBPS及びTEATとの分離が不十分で, 同時分析条件を変更する

Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine (BEMT)



Homosalate (Homomenthyl Salicylate, HS)



4-Methylbenzylidene Camphor (MBC)

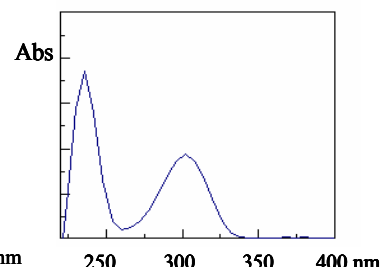
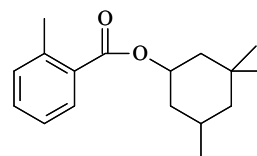


Fig.1. Chemical Structures and UV Spectra of BEMT, HS and MBC

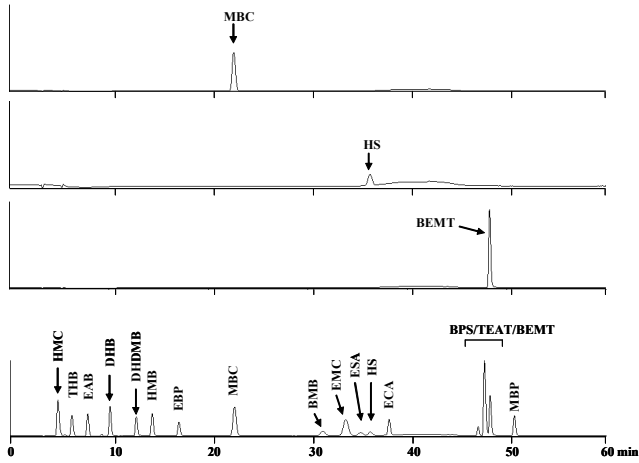


Fig. 2. HPLC Chromatograms of 17 UV Absorbents by Previous Method³⁾

HPLC Conditions: Mobile Phase, A/B(40:60)(0min)→(65:35)(5-30min)→A 100%(35-60min). Other conditions were described in the experimental.

必要があることがわかった。

2. アイソクラティックによる分析

BEMTの分離を改善する分析条件について検討を行うため、移動相をアイソクラティックモードとし、A、B両液の混合比率を変化させて分析した。Fig.3に示すようにBEMTのピークはA液100%では保持時間約4分（I）、95%では約7分（II）、90%では約15分（III）、85%では約37分に認められ、80%では60分以内に出現しなかった。さらにBEMTをBPS,TEAT及びMBPと同時に分析したところ、A液90%で

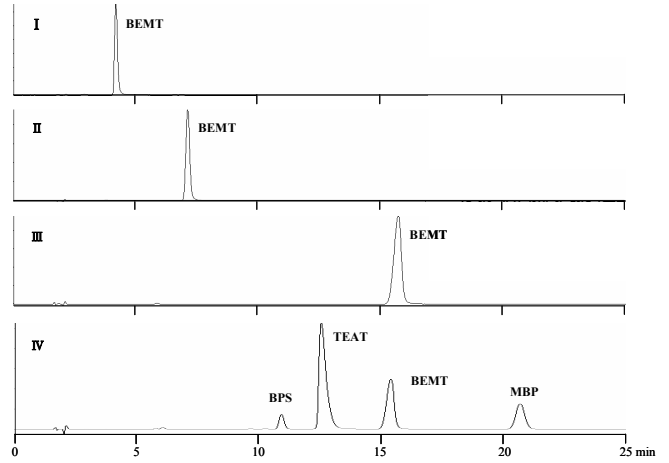


Fig. 3. HPLC Chromatograms of BEMT by Isocratic Mode

HPLC Conditions : Mobile phase I, A 100%; II, A/B (95:5); III and IV, A/B (90:10).

Other conditions were described in the experimental.

4成分は十分に分離した（IV）。このことから、従来法³⁾において、BEMTの保持時間付近でA液の混合比率を下げるにより、分離改善が期待できることが示唆された。

3. グラジエントによる同時分析の改良

前項の結果をもとに、Table 1に示すグラジエント条件を設定し、分析を行った。その結果、Fig.4に示すように、従来法³⁾と同一の分析時間内で17成分をほぼ良好に分離することができ、紫外線吸収剤のスクリーニング法として有用であることがわかった。

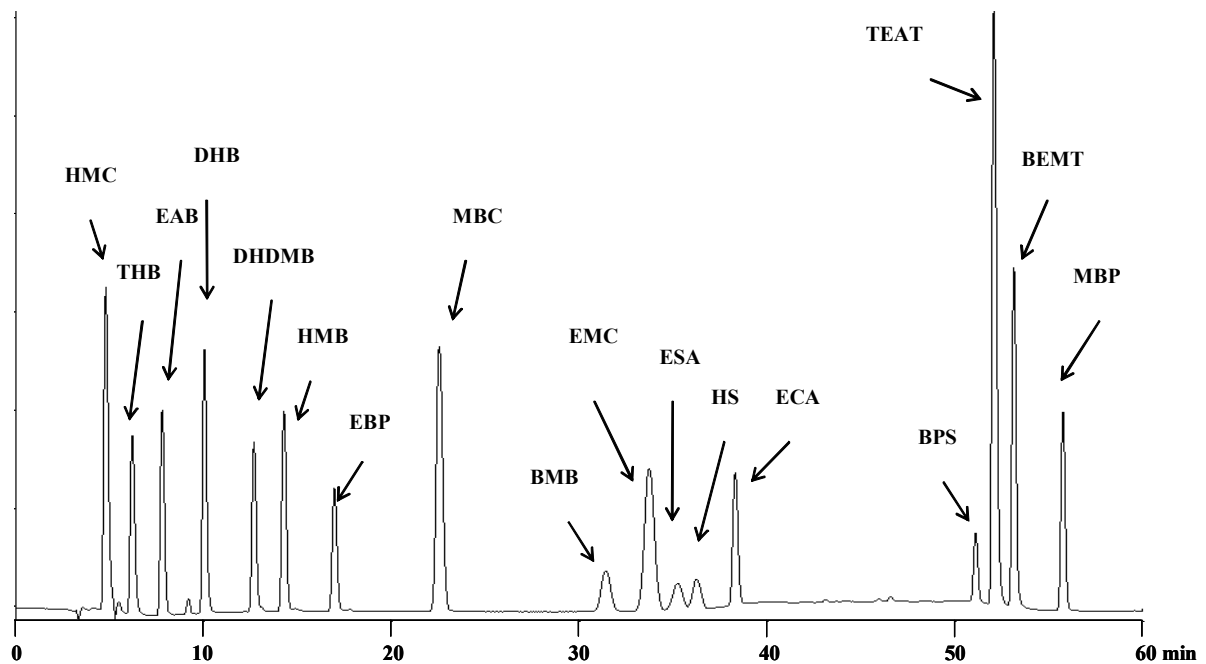


Fig. 4. HPLC Chromatogram of 17 UV Absorbents

HPLC Conditions were described in the experimental.

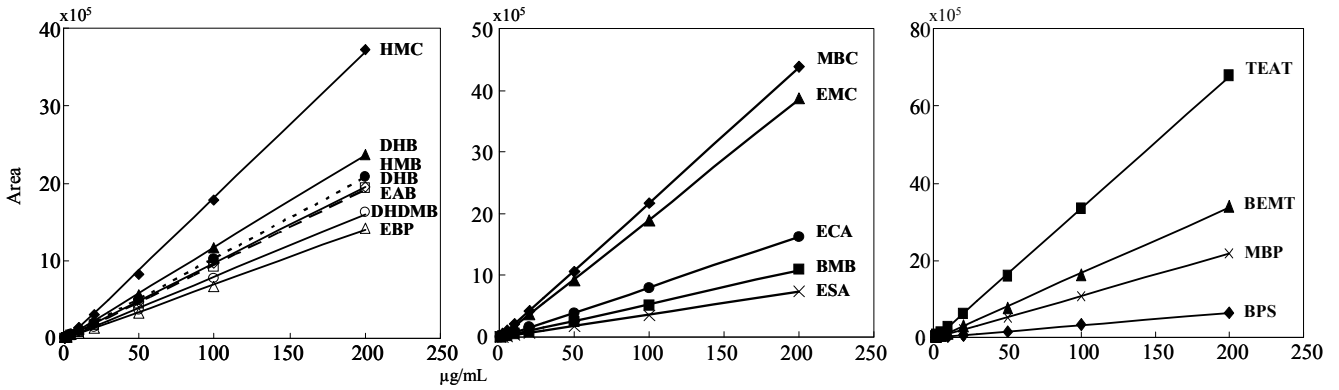


Fig. 5. Calibration Curves of 16 UV Absorbents

4. 検量線の作成と分析法の再現性

次に、改良した同時分析法において、定量が可能であるかを検討した。HSのピークの分離状況を見ると、ESAとの分離度 (Rs) が1.0と1.5より小さく、完全分離が得られなかった。そこで、本法ではHSの確認は可能であるが定量は困難と判断し、HSを除く16成分について、検量線の作成および分析法の再現性の検証を行った。

各成分の検出限界はTable 2に示すとおりで、標準系列から作成した検量線はFig.5 に示すように、1~200 μg/mL (ESAは2~200 μg/mL) の範囲でほぼ原点を通る直線性を示し、相関係数は0.9992~0.9999と良好であった。

次に50 μg/mLの混合標準溶液を6回連続測定した。Table 2に示したように保持時間は極めて再現性が高く、ピーク面積は、相対標準偏差が概ね1.5%以下と、良好な再現性を示した。

Table 2. Reproducibility of Analytical Method and Detection Limits (n=6)

	Retention time		Area RSD %	Detection limits μg/mL
	min	RSD %		
HMC	4.8	0.14	1.94	1.0
THB	6.1	0.18	1.31	0.5
EAB	7.7	0.18	0.90	0.2
DHB	10.0	0.18	0.72	0.2
DHDMB	12.6	0.12	0.67	0.2
HMB	14.2	0.14	0.70	0.2
EBP	16.9	0.14	1.24	0.5
MBC	22.4	0.15	0.78	0.2
BMB	31.3	0.16	0.79	0.5
EMC	33.6	0.16	0.84	0.5
ESA	35.1	0.17	0.86	2.0
ECA	38.2	0.07	0.98	0.5
BPS	51.0	0.04	0.69	1.0
TEAT	51.9	0.04	1.13	0.5
BEMT	53.0	0.03	0.85	0.5
MBP	55.7	0.04	0.57	0.2

5. 添加回収試験

今回新規に分析対象としたBEMTおよびMBCをそれぞれ2%濃度になるように紫外線吸収剤無配合の日焼け止めクリームに添加し、回収試験を行った。その結果、Table 3に示すようにいずれの成分もほぼ100%と高い回収率が得られた。

Table 3. Recovery of UV Absorbents Added to Cream at 2% (n=6)

	Recovery (%)	RSD (%)
BEMT	99.4	2.2
MBC	100.0	1.4

6. 市販製品の分析

本法を用いて市販されていた20製品の分析を試みた結果、いずれも夾雑物の影響もなく、分析することができた。

Fig. 6にBEMTとMBCが検出された分析事例を示した。

Aは日焼け止めクリームで、BMB (3.2%)、ESA (4.9%)、ECA (2.4%)、BPS (1.0%)、TEAT (1.0%)、BEMT (2.9%)と6種類の紫外線吸収剤を検出した。これらはいずれも製品に表示された成分であり、含有量も配合上限を超えていなかった。

Bの日焼け止めクリームからは製品に表示のあるEMC (5.4%)、ECA (3.2%)、BEMT (0.1%)を検出し、これらについても含有量は配合上限値以下であった。また、この製品には他に水溶性紫外線吸収剤であるフェニルベンズイミダゾールスルホン酸 (PBS) が表示されており、3分付近のピークのUV吸収スペクトルがPBSと一致したが、今回は同定に至らなかった。

Cはタイ製のマッサージクリームで、本法によるスクリーニングの結果、保持時間およびUVスペクトルがMBCと一致するピークを検出した。これは製品に表示のない成分で、表示違反が疑われたため、さらにGC/MSで精査し、マススペクトルが一致したことから、MBCと確定した。本品

のMBC含量は0.015%であった。

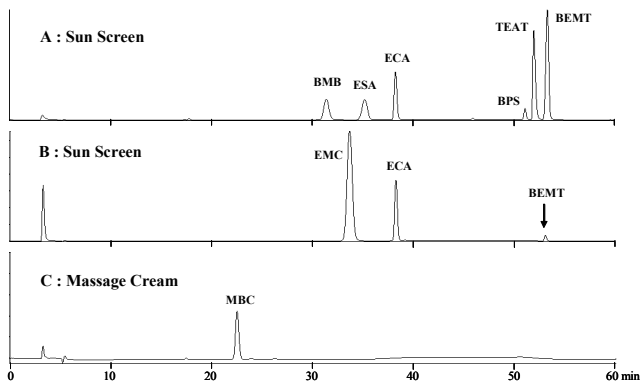


Fig. 6. HPLC Chromatograms of UV Absorbents in Commercial Products

ま と め

1. 紫外線吸収剤の迅速分析法として、新規にポジティブリストに追加されたBEMTのほか、HSおよびMBCを加えた

17成分同時分析法について、従来法をもとに検討を行った。

2. グラジエントを一部穏やかに設定することで、従来法と同一の分析時間内に17成分をほぼ良好に分離することができた。本法の再現性は高く、検出限界は0.2~2.0 µg/mLであり、検量線は1~200 µg/mL (ESAは2~200 µg/mL) の範囲で良好な相関を示した。

3. 本法を市販製品に適用したところ、夾雑物の影響を受けることなく分析することができた。

文 献

- 1) 厚生省告示第331号, 平成12年9月29日.
- 2) 横山敏郎, 森謙一郎, 中村義昭, 他: 東京健安研七
年報, **57**, 145 -150, 2006.
- 3) 宮本道子, 森謙一郎, 中村義昭, 他: 東京健安研七
年報, **58**, 97 -101, 2007.
- 4) 厚生労働省告示第197号, 平成19年5月24日.
- 5) 宮本道子, 寺島 潔, 中村義昭, 他: 東京健安研七
年報, **59**, 109 -113, 2008.

Analysis of UV Absorbents in Quasi-drugs and Cosmetics (II*)
Simultaneous Determination of 17 UV Absorbents, Including
Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine, Homosalate, and 4-Methylbenzylidene Camphor

Michiko MIYAMOTO**, Yoshiaki NAKAMURA**, Toshiro YOKOYAMA**, Koichi ITOH**, Kiyoshi TERAJIMA**,
Atsuko SUZUKI**, Tomoko HAMANO** and Shuzo OGINO**

Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine (BEMT) is a UV absorbent used in cosmetics, and has recently been added to the positive list of cosmetic ingredients. Previously, we have reported on a simultaneous HPLC analysis of 14 UV absorbents in quasi-drugs and cosmetics. In this study, we improved the HPLC conditions and assessed the simultaneous analysis of 17 UV absorbents, including BEMT, homosalate, and 4-methylbenzylidene camphor. Using this method, we achieved good separation of the 17 UV absorbents, and obtained good analytical results for the commercial products.

Keywords: UV absorbent, bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine, homosalate, 4-methylbenzylidene camphor, HPLC, quasi-drug, cosmetics, simultaneous determination

* *Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. Pub. Health*, **57**, 97-101, 2007

** Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan