

医薬部外品及び化粧品中感光素類の同時分析法

森 謙一郎*, 中 村 義 昭*, 大 貫 奈穂美*, 寺 島 潔*,
横 山 敏 郎*, 荻 野 周 三*

Simultaneous Determination of Photosensitizers in Quasi-Drugs and Cosmetics

Ken'ichiro MORI*, Yoshiaki NAKAMURA*, Nahomi OHNUKI*, Kiyoshi TERASHIMA*,
Toshiro YOKOYAMA* and Shuzo OGINO*

A method for the simultaneous determination of five photosensitizers, 2,2'-[3'-[2-(3-Heptyl-4-methyl-2-thiazolin-2-ylidene)ethylidene]propenylene]bis[3-heptyl-4-methyl]thiazolium iodide (PS101), 2-[2-(3-Heptyl-4-methyl-2-thiazolin-2-ylidene)methine]-3-heptyl-4-methylthiazolinium iodide (PS201), 6-[2[(5-Bromo-2-pyridyl)amino]vinyl]-1-ethyl-2-picolinium iodide (PS301), 2-(2-Anilino)vinyl-3,4-dimethyloxazolinium iodide (PS401), and 2-(*p*-Dimethylaminostyryl)-3-heptyl-4-methylthiazorium iodide (Plalumin) in quasi-drugs and cosmetics was developed. A 1.0 g of sample was added to methanol, and dispersed for fifteen minutes by immersion in a supersonic water bath, and made up to 5 mL with methanol. When a precipitate was seen in the solution, it was cleared by using a highspeed centrifuge. The supernatant was filtered using a 0.45 μ m membrane filter. This sample solution and the standard solution of photosensitizers were prepared just before analysis and stored in the dark to avoid photodegradation of the photosensitizers. These solutions 20 μ L were injected in to an HPLC. The analytical conditions were as follows, ODS column, stepwise gradient mobil phase; acetonitrile : 0.05 mol/L triethylamine, 0.1 mol/L phosphoric acid (25:75) to (80: 20), photodiode array detector. There was no influence from typical co-existent ingredients, such as antiseptics or UV absorbents, in the quasi-drugs and cosmetics tested. Recovery of the five photosensitizers spiked into commercial cosmetics was 95.0-102.0 %, C.V.(%)0.7-3.8.

Keywords : 化粧品 cosmetics, 医薬部外品 quasi-drugs, 感光素 photosensitizers, 感光素 101 photosensitizing dye 101, 感光素 201 quaternium-73, 感光素 301 quaternium-51, 感光素 401 quaternium-45, プラルミン plalumin, 液体クロマトグラフィー HPLC

緒 言

感光素類¹⁾は殺菌, 防黴, 抗炎症作用を有することから, 医薬部外品及び化粧品成分として使用されている. 感光素の名称は, 写真乾板に増感作用のあることに由来し¹⁾, 医薬部外品や化粧品には次の5成分の配合が許可されている. すなわち 2,2'-[3'-[2-(3-Heptyl-4-methyl-2-thiazolin-2-ylidene)ethylidene]propenylene]bis[3-heptyl-4-methyl]thiazolium Iodide (感光素 101, PS101), 2-[2-(3-Heptyl-4-methyl-2-thiazolin-2-ylidene)methine]-3-heptyl-4-methylthiazolinium Iodide (感光素201, Quaternium-73, PS201), 6-[2-[(5-Bromo-2-pyridyl)amino]vinyl]-1-ethyl-2-picolinium Iodide (感光素 301, Quaternium-51, PS301), 2-(2-Anilino)vinyl-3,4-dimethyloxazolinium Iodide (感光素 401, Quaternium-45, PS401) 及び 2-(*p*-Dimethylamino-styryl)-3-heptyl-4-methylthiazorium Iodide (プラルミン, Plalumin) である. 各構造

式をFig. 1に示した. 感光素301は細胞刺激賦活増殖作用¹⁾があることから, 創傷治療や, 発毛促進を目的とした育毛剤としても使用されている. 感光素が化粧品に配合される場合, 薬事法により感光素101, 201, 301及び401は合計量ですべての化粧品に0.002%以下であること, またプラルミンは粘膜に使用されることがない化粧品に0.0015%以下であることと規定²⁾されている. これらの規定値は感光素類の生理活性の強さが考慮され, 一般化粧品用防腐剤配合規定値の約1/100²⁾である. したがって, これら感光素類の分析にあたっては, 高感度で高精度の分析法が必要となる. 感光素の分析は滴定法¹⁾の他, HPLC法による感光素201³⁾と301^{4, 5)}の報告があるが, 101, 401, プラルミンの分析報告はない. 今回フォトダイオードアレイ検出器を用いたHPLC法を検討したところ, 5成分を良好に同時分析することができたので報告する.

* 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

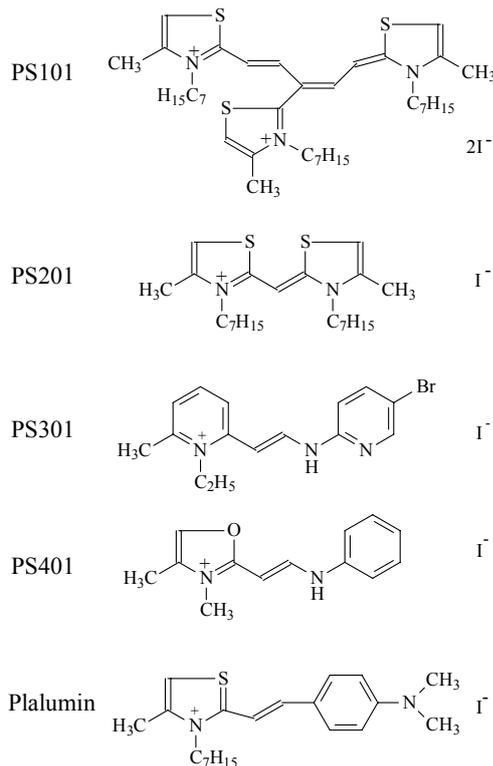


Fig. 1. Chemical Structures of Five Photosensitizers

実験の部

1. 試薬, 器具及び装置

感光素 101, 201, 301, 401 およびプラルミン: 感光社 (株) 製. アセトニトリル, トリエチルアミン: 和光純薬工業 (株) 製 試薬特級品. 液体クロマトグラフ: 日本分光 (株) 製 ガリバー, フォトダイオードアレイ検出器: 日本分光 (株) 製 MD-915 型, 高速遠心分離器: コクサン (株) 製 H-1500FR 型, 超音波浴: 本多電子 (株) 製 W-113 型.

2. 試料

平成 14 年 9 月より平成 16 年 6 月に都内で購入した感光素の配合表示のある医薬部外品 2 品目及び化粧品 8 品目をを用いた.

3. 分析操作

1) 試料溶液の調製 試料約 1 g を精密に量り, メタノールを加え約 4 mL とし, 超音波浴で 15 分間分散後メタノールで全量を 5 mL とした. 沈殿物がある場合は高速遠心分離器を用いて 15,000 rpm, 10 分間遠心分離し, 上澄液を 0.45 μm メンブランフィルターでろ過して試料溶液とした. 試料溶液は用時調製とし, 遮光保存した.

2) 定量分析操作 感光素 101, 201, 301, 401 及びプラルミンをメタノールで希釈し, 1, 2, 4, 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の定量分析用標準系列を作成した. 標準系列は用時調製, 遮光保存した. 試料溶液および標準系列溶液を HPLC に注入し, 得られたピーク面積より定量分析を行った. HPLC 条件は Fig. 2 に示した.

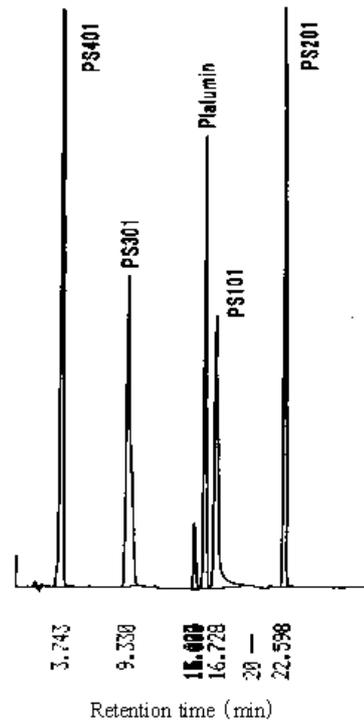


Fig. 2. HPLC Chromatogram of Five Photosensitizers

Column: TSK-GEL ODS-80TS (4.6 mm i.d. \times 150 mm), 40 $^{\circ}\text{C}$, Eluate: 1.0 mL / min, (MeCN : 0.05 mol / L triethylamine, 0.1 mol / L phosphoric acid), A: (25 : 75), B: (80 : 20), gradient eluate: 0 min-A 100%, 9 min-A 40%, 21 min-A 0%, 30 min-A 100%, injection interval: 40 min, injection volume: 20 μL , detector: photodiode array, PS101: 600 nm, PS201: 410 nm, PS301: 405 nm, PS401: 360 nm, Plalumin: 480 nm.

結果及び考察

1. 感光素類標準溶液の安定性

感光素類はその名の由来から光に不安定であることが考えられる. これらの分析を行うにあたり, その標準溶液の安定性を検討した. すなわち透明ガラス製 50 ml メスフラスコ各 2 本に各感光素の 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ メタノール溶液を調製し, 1 本は蛍光灯下に, 他の 1 本は遮光してそれぞれ室温で保存した. これらの吸収スペクトルを 4 日間測定した. 調製直後の可視紫外部吸収スペクトルを Fig. 3 に, 照明試料群の吸光度の変化を Fig. 4 に示した. 遮光試料群では吸光度が調製 4 日後ほとんど減少しなかったが, 照明試料群では感光素 101 が 15.4%, プラルミンが 62.4%, 感光素 201 が 93.1%, 感光素 301 が 98.6% に減少した. 感光素 401 は変化しなかった. 長波長測に極大吸収をもつ感光素ほどより光に分解し易い傾向を示した. これらの結果から, 試料溶液および標準溶液は用時調製とし, 調製後ただちに遮光することにした.

2. HPLC

HPLC 測定にはカラムに汎用性のある ODS を用いた. 移動相条件はアセトニトリル—0.1 mol リン酸を用いたステッ

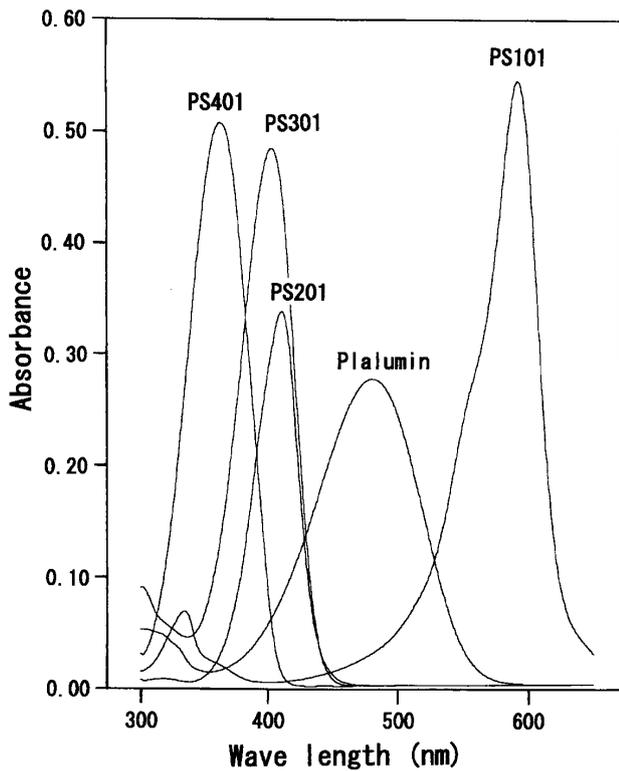


Fig. 3. UV-VIS Spectra of Five Photosensitizers
each 4 $\mu\text{g/mL}$ MeOH solution

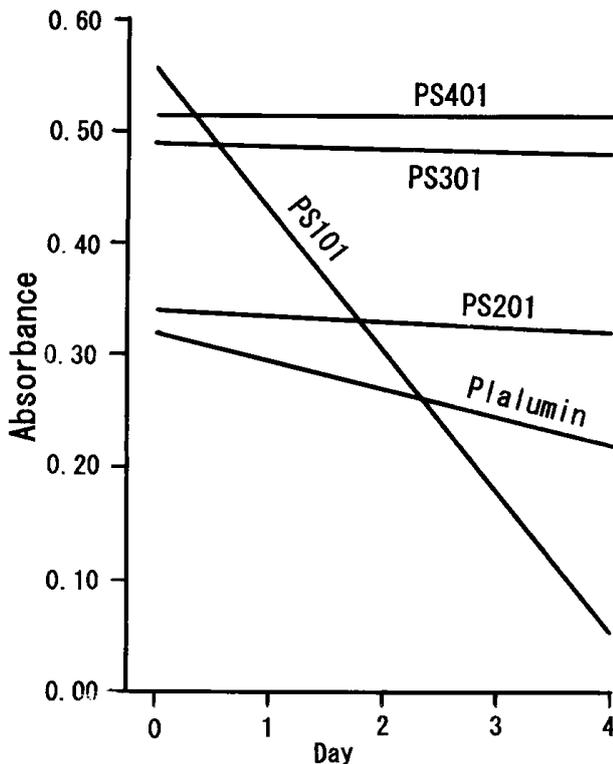


Fig. 4. Photodegradation of Five Photosensitizers by
Four Day's Room Light Radiation

プライズグラジェントとした。トリエチルアミンを添加することによりテーリングの改善を図った。クロマトグラフィーの詳細は Fig. 2 に示した。本法の検量線は 0.2~40 $\mu\text{g/mL}$ で良好な直線性を示した。

3. 添加回収実験

市販のスキンローションおよびスキนครリームに法定上限値の濃度で各感光素を添加して回収率を測定した。その結果を Table 1 に示したが、回収率 95.0~102.0 %, C.V.(%) 0.7~3.8 の良好な値を得た。

Table 1. Recoveries of Five Photosensitizers Spiked to
Commercial Cosmetics

Sample	Spiked ($\mu\text{g/g}$)	Detected ($\mu\text{g/g}$)*	Recovery (%)*	C.V. (%)	
Skin Lotion	PS101	20.0	19.3	96.5	3.2
	PS201	20.0	20.0	100.0	1.8
	PS301	20.0	19.6	98.0	2.0
	PS401	20.0	20.4	102.0	1.5
	Plalumin	15.0	14.3	95.3	2.8
Skin Cream	PS101	20.0	19.0	95.0	3.8
	PS201	20.0	19.7	98.5	2.1
	PS301	20.0	19.6	98.0	2.8
	PS401	20.0	19.9	99.5	0.7
	Plalumin	15.0	14.4	96.0	2.8

* : n = 4

4. 妨害物質の影響

通常化粧品に使用される原料について本分析条件での挙動を調べた。すなわち防腐剤のメチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベン、イソプロピルパラベン、ブチルパラベン、イソブチルパラベン、フェノキシエタノール、紫外線吸収剤のテトラヒドロキシベンゾフェノン、ジヒドロキシベンゾフェノン、シノキサート、ジヒドロキシジメトキシベンゾフェノン、2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン、パラアミノ安息香酸エチル、4-(3,4-ジメトキシベンジリデン)-2,5-ジオキソ-1-イミダゾリジンプロピオン酸 2-エチルヘキシル、パラメトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル、パラジメチルアミノ安息香酸 2-エチルヘキシル、4-tert-ブチル-4'-メトキシジベンゾイルメタン、サリチル酸 2-エチルヘキシルの合計 18 種を検討した。その結果を Fig. 5 に示したが、5 種の感光素類はいずれもこれら 18 種の化合物と保持時間および吸収波長が良く分離しており、高濃度に配合される紫外線吸収剤であっても感光素類のピークの妨害にならないことが判明した。

5. LC/MS/MS

感光素類の LC/MS/MS による確認法を検討した。移動相成分のりん酸は気化し難く、LC/MS/MS に使用できないため、代替えとしてギ酸を用いた。その結果、りん酸を使用した場合に比べて感度が低下したが良好に測定することができた。5 種の感光素は Table 2 に示すように、プレカリーサーイオンから得られたドーターイオンによりいずれも良好に確認することができた。

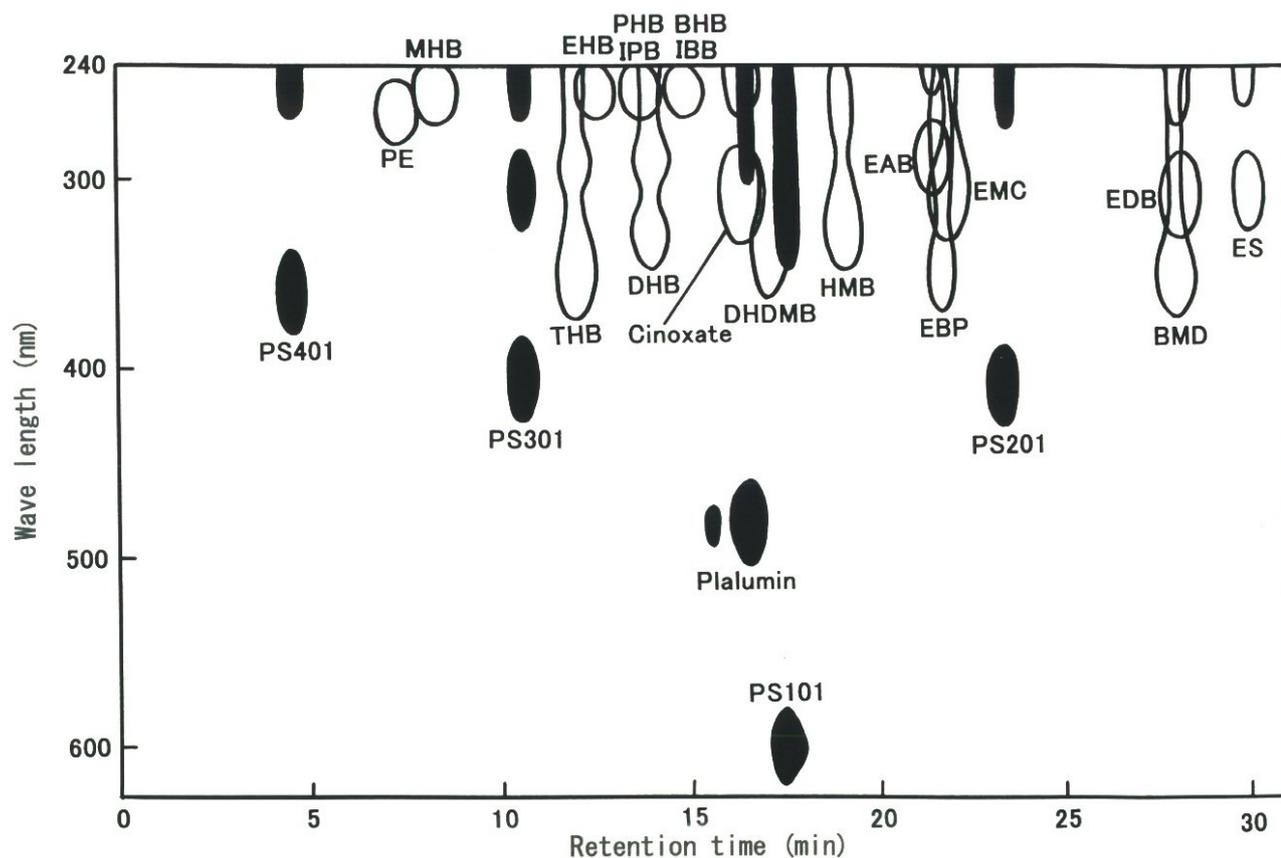


Fig. 5. HPLC Chromatograms of Five Photosensitizers and Other Usual Cosmetic Ingredients

BHB: Butyl *p*-Hydroxybenzoate, BMD: 4-*tert*-Butyl-4'-methoxydibenzoylmethane, Cinoxate: Ethoxyethyl *p*-Methoxycinnamate, DHB: Dihydroxybenzophenone, DHDMB: Dihydroxydimethoxybenzophenone, EAB: Ethyl *p*-Aminobenzoate, EBP: 2-Ethylhexyl (*Z*)-4-(3,4-Dimethoxybenzylidene)-2,5-dioxo-1-imidazolizine propionate, EDB: 2-Ethylhexyl *p*-Dimethylaminobenzoate, EHB: Ethyl *p*-Hydroxybenzoate, EMC: 2-Ethylhexyl *p*-Methoxycinnamate, ES: 2-Ethylhexyl Salicylate, HMB: 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone, IBB: Isobutyl *p*-Hydroxybenzoate, IPB: Isopropyl *p*-Hydroxybenzoate, MHB: Methyl *p*-Hydroxybenzoate, PE: Phenoxyethanol, PHB: Propyl *p*-Hydroxybenzoate, THB: Tetrahydroxybenzophenone

Table 2. Discrimination of Photosensitizers by LC/MS/MS

Photosensitizer	Molecular formula	Molecular weight	Precursor ion	Daughter ion
PS101	C ₃₈ H ₆₁ N ₃ S ₃	909.91	655 (M-21)	621, 459, 453
PS201	C ₂₃ H ₃₉ N ₂ S ₂	534.60	407 (M-1)	301, 275, 273, 247
PS301	C ₁₅ H ₁₇ BrI ₂ N ₃	446.13	320 (M+1)	292, 290, 199, 187
PS401	C ₁₃ H ₁₅ N ₂ O	342.18	215 (M-1)	199, 171, 130, 112
Plalumin	C ₂₁ H ₃₁ N ₂ S	470.45	344 (M+1)	290, 274, 248, 194

Column: TSK-GEL ODS-80TS (2.0 mm i.d.×150 mm), 40°C

Eluate A: MeCN, Eluate B: 0.05 mol/L triethylamine, 0.1 mol/L formic acid

PS101(A:B=6:4), PS201(A:B=8:2), PS301(A:B=2:8), PS401(A:B=2:8), Plalumin(A:B=6:4), 0.2mL/min

Injection volume: 1μL

LC/MS/MS: Jasco International Quattro Ultima Pt, Ionization: ESI

Polarity: positive

Table 3. Determination Results of Photosensitizers in Commercial Cosmetics and Quasi-Drugs

Sample		Indication	Detected (µg/g)	
1	Skin Lotion	Cosmetic	PS-201	14.2
2	Skin Lotion	Cosmetic	PS-201	8.0
3	Skin Lotion	Cosmetic	PS-301	10.1
4	Skin Lotion	Cosmetic	PS-401	20.0
5	Skin Cream	Cosmetic	PS-201	8.3
6	Skin milk	Cosmetic	PS-201	7.4
			PS-401	7.3
7	Powder	Cosmetic	PS-201	5.3
			PS-401	5.2
8	Pack	Cosmetic	PS-201	ND
9	Pack	Cosmetic	PS-301	ND
10	Skin Lotion	Quasi-Drug	PS-201	10.3
11	Skin Lotion	Quasi-Drug	PS-201	7.1

6. 市販製品の分析

本法により感光素配合表示のある市販製品 11 品目を分析し、その結果を Table 3 に示した。感光素 201 を 7 件、感光素 301 を 1 件、感光素 401 を 3 件から 5~20 µg/g 検出した。他の化粧品成分の影響もなく良好に分析することができた。

ま と め

感光素 102, 201, 301, 401 およびプルアルミンの 5 成分の同時分析法を作成した。

試料溶液、標準溶液の調製は用時調製とし、遮光することで良好な結果を得た。

汎用化粧品成分である防腐剤、紫外線吸収剤の影響を受けず分析することができた。

文 献

- 1) 化粧品原料基準第二版注解, 日本公定書協会編, 290-299, 1984, 薬事日報社, 東京.
- 2) 化粧品成分ガイド第 3 版, 8-9, 2004, フラグランスジャーナル社.
- 3) 日本分光 (株) LC application data No.920011H, 1992.
- 4) 資生堂 HPLC アプリケーションライブラリー, <http://www.shiseido.co.jp/hplc2003/html/index.htm>
- 5) 島津アプリケーションニュース, No. L230, (株)島津製作所.