

資料

まつげ美容液中の医薬品成分等迅速分析法の確立

菅田 和子, 伊達 英代

Rapid Determination of Medical Components Found in the Cosmetics such as Eyelash Serum

SUGETA Wako and DATE Hideyo

(Received: September 22, 2023)

近年、市場の拡大に伴い、まつげ美容液は広島県内でも相談件数が増加していることから、それらに含まれるProstaglandinF2α (PGF2α) 誘導体5成分及び発毛剤1成分の計6成分をHPLCにより定量する方法を検討した。さらにこれらの成分の他、育毛剤1成分、防腐剤及び化粧品に配合可能な医薬品成分11成分を加えた計18成分をHPLC及びLC-QTOF/MSにより確認する方法を検討し、分析法を確立した。HPLCによる成分の確認については、Carpronium Chloride及びPanthenolを除く16成分を分離し、確認可能な分析条件を見出した。LC-QTOF/MSによる成分の確認については、SWATH法を用いることで、迅速に18成分すべてを確認することができた。また、PGF2α誘導体5成分及び発毛剤1成分の添加回収試験を行ったところ、回収率は良好であった。

今回確立した分析法を用いて、令和4年度に広島県健康福祉局薬務課が実施した「無承認無許可医薬品実態調査」において買い上げたまつげ美容液3検体の検査を実施したところ、PGF2α誘導体、発毛剤及び育毛剤成分は検出されなかった。

Key words : まつげ美容液, ProstaglandinF2α誘導体, 発毛剤, HPLC, LC-QTOF/MS

結 言

まつげにハリ、コシ、ツヤを与える等の効能をうたう美容液（以下「まつげ美容液」）は、メイクトレンドがアイメイク重視にシフトしたことで、その市場は大きく拡大してきている[1]。これに伴い、国内においては、まつげ美容液の使用により健康被害を受けたという相談が、独立行政法人国民生活センターへ平成30年に281件寄せられている。これを受けて実施された市場調査では、頭髮への使用目的で承認された医薬部外品の育毛剤がまつげ美容液として販売されている事例等が報告されている[2]。これを受け、令和元年8月8日付けで厚生労働省は関係都道府県に対し、「まつげ美容液を標榜する化粧品等の安全性確保について」[3]を発出し、化粧品の製造販売業者に対する監視指導の徹底を行うよう通知している。

広島県においては、広島県環境県民局消費生活課に問い合わせたところ、令和4年5月6日時点の消費生活相談データベース（PIO-NET）の検索結果では、県内

のまつげ美容液に関する健康被害相談件数は年々増加傾向にあった（表1）。

表1 広島県内のまつげ美容液に関する相談件数

	令和元年	令和2年	令和3年
全相談件数	6 件	18 件	49 件
健康被害相談件数	0 件	4 件	12 件

海外ではまつげ美容液へ緑内障治療薬のProstaglandinF2α (PGF2α) 誘導体が添加されている事例がいくつか報告されている[4,5]。PGF2α誘導体は、毛包を成長期へ転化させることでまつげの増毛作用や伸長作用を起こす[6]。なお、PGF2α誘導体のひとつであるBimatoprostは、まつ毛貧毛症治療薬として国内でも承認されている。しかし、PGF2α誘導体には、目に対する副作用があり、まつげ美容液の使用者の体質によっては、目の充血及び角膜障害の発生等の重篤な健康被害が発生する恐れがある。

そこで、本研究では、まつげ美容液中に違法に添加

された事例のあるPGF2α誘導体, 発毛剤及び育毛剤成分を分析対象成分とした。さらに, 市販のまつげ美容液の表示を調査したところ, 多くの製品で「化粧品基準 別表第3の1」の「防腐剤及び化粧品に配合可能な医薬品成分」が配合されていることから, これらの成分も含めた計18成分について分析法を検討し, 高速液体クロマトグラフ (HPLC) を用いた分析法では16成分の, 液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計 (LC-QTOF/MS) を用いた分析法では18成分の確認が可能な方法を確立した。また, 確立した分析法を用いて, 令和4年度無承認無許可医薬品実態調査を実施したので, その結果についても報告する。

方 法

1 試料

分析法の検討用試料として, 市販まつげ美容液1製品を用いた。令和4年度無承認無許可医薬品実態調査では, 買い上げた検体3製品を用いた。

2 試薬

(1) 標準品

(a) 分析対象成分

分析対象成分は, 海外においてまつげ美容液に違法に添加された事例のあるPGF2α誘導体5成分, 国内外でまつげ美容液として販売されていた事例のある発毛剤1成分及び育毛剤1成分の計7成分とした。分析対象成分及び使用した標準品のメーカーを表2に示した。

表2 分析対象としたPGF2α誘導体, 発毛剤及び育毛剤成分と使用した標準品のメーカー名

	No.	成分名	化学式	メーカー名
PGF2α 誘導体	1	Latanoprost	C ₂₆ H ₄₀ O ₅	東京化成工業株式会社
	2	Bimatoprost	C ₂₅ H ₃₇ NO ₄	東京化成工業株式会社
	3	Tafluprost	C ₂₅ H ₃₄ F ₂ O ₅	シグマアルドリッチジャパン合同会社
	4	Isopropyl Unoprostone	C ₂₅ H ₄₄ O ₅	Cayman Chemical
	5	Cloprostenol isopropyl ester	C ₂₅ H ₃₅ ClO ₆	Tronto Research Chemicals Inc.
発毛剤	6	Minoxidil	C ₉ H ₁₅ N ₅ O	Tronto Research Chemicals Inc.
育毛剤	7	Carpronium Chloride	C ₈ H ₁₈ ClNO ₂	Tronto Research Chemicals Inc.

(b) その他成分

その他の分析対象成分として, 防腐剤及び化粧品に配合可能な医薬品成分11成分は, 表3で示した製品を用いた。

(2) 試薬

抽出溶媒には, 関東化学株式会社製HPLC用蒸留水を使用した。HPLC用移動相には, 関東化学株式会社製HPLC用蒸留水及びアセトニトリル並びに富士フィルム和光純薬工業株式会社製リン酸を, LC-QTOF/MS用移動相には, 富士フィルム和光純薬工業株式会社製LC-MS用アセトニトリル, 蒸留水及びギ酸を使用した。

(3) 器材

ADVANTEC社製0.20 μm孔径ディスパーザブルメンブレンフィルターユニット及び島津ジーエルシー社製0.45 μm孔径シリンジフィルターを使用した。

3 装置及び分析条件

(1) HPLCによる確認

装置は1260 Infinity II (Agilent Technologies, Inc. 製) を用いた。分析条件は表4に示した。

(2) LC-QTOF/MSによる確認

装置は1260 Infinity II prime (Agilent Technologies, Inc. 製) 及びX500R (AB SCIEX Pte. Ltd. 製) を用いた。分析条件は表5及び表6に示した。

表3 防腐剤及び化粧品に配合可能な医薬品成分と使用した試薬のメーカー名

No.	成分名	化学式	メーカー名
8	Phenoxyethanol	C ₈ H ₁₀ O ₂	富士フィルム和光純薬工業株式会社
9	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	ナカライテスク
10	Methylparaben	C ₈ H ₈ O ₃	富士フィルム和光純薬工業株式会社
11	Ethylparaben	C ₉ H ₁₀ O ₃	東京化成工業株式会社
12	Propylparaben	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	東京化成工業株式会社
13	Isopropylparaben	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	東京化成工業株式会社
14	Butylparaben	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	関東化学株式会社
15	Isobutylparaben	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	東京化成工業株式会社
16	Panthenol	C ₉ H ₁₉ NO ₄	東京化成工業株式会社
17	Tocopheryl acetate	C ₃₁ H ₅₂ O ₃	富士フィルム和光純薬工業株式会社
18	Dipotassium glycyrrhiza	C ₄₂ H ₆₀ K ₂ O ₁₆	東京化成工業株式会社

表4 HPLC分析条件

装置 Agilent Technologies 1260 Infinity II				
カラム	CAPCELLPAK C18 4.6×250 mm, 5 μm SHISEIDO製			
カラム温度	40 °C			
注入量	20 μL			
移動相	A : 0.1 %リン酸水溶液 B : アセトニトリル			
グラジエント条件				
時間 (min)	A (%)	B (%)	流量 (mL/min)	
0	85	15	1	
4	85	15	1	
7	65	35	1	
20	65	35	1	
30	45	55	1	
38	45	55	1	
43	1	99	1	
60	1	99	1.5	
65	1	99	1.5	

表5 LC-QTOF/MS分析条件

LC装置 Agilent Technologies 1260 Infinity II Prime						
カラム	YMC - Triart C18 150×2.1 mm, 3 μm YMC.CO.,LTD製					
カラム温度	40 °C					
注入量	10 μL					
流量	0.3 mL/min					
移動相	A : 0.1 %硝酸水溶液 B : 0.1 %硝酸アセトニトリル溶液					
グラジエント条件	(B) 5 % (3 min hold) → 17 min → 95 % → 5 min → 99 % (15 min hold)					
QTOF/MS装置 AB SCIEX X500R QTOF						
Polarity	+ (-)					
Ion source gas1	60 psi	Ion source gas2	60 psi	Curtaingas	30 psi	
CAD gas	7 psi	Temperature	350 °C	Sprey voltage	5500(-4500) V	
TOF MS						
DP	80(-80) V	CE	5(-5) V			
TOF mass	100-1000 Da	Accumulation time	0.1 s			
TOF MS/MS						
DP	80(-80) V	CE	35(-35) V	CES	15 V	
ToF mass	50-1000 Da	Precursor mass	100-900 Da	Window width	25 Da	
Accumulation time	0.05 s					

表6 標準品のプレカーサーイオン

No.	成分名	Polarity	Precursor ion (m/z)
1	Latanoprost	+	433.29485
2	Bimatoprost	+	416.27954
3	Tafuprost	+	453.24471
4	Isopropyl Unoprostone	+	425.32615
5	Cloprostenol isopropyl ester	+	467.21949
6	Minoxidil	+	210.13494
7	Carpronium Chloride	+	160.13321
8	Phenoxyethanol	+	139.07536
9	Benzoic acid	-	121.0295
10	Methylparaben	-	151.04007
11	Ethylparaben	-	165.05572
12	Propylparaben	-	179.07137
13	Isopropylparaben	-	179.07137
14	Butylparaben	-	193.08702
15	Isobutylparaben	-	193.08702
16	Panthenol	+	206.13868
17	Tocopheryl acetate	+	473.39892
18	Dipotassium glycyrrhiza	-	820.38759

4 試料溶液の調製

試料100 mgを量り取り, 水を加えて溶解し, 正確に100 mLとし, メンブレンフィルターでろ過し, 試料溶液とした。

5 標準溶液の調製

Latanoprost (No.1) は2 mg, Bimatoprost (No.2), Minoxidil (No.6) 及びCarpronium Chloride (No.7) は1 mg, Cloprostenol isopropyl ester (No.5) は5 mgを量り, それぞれメタノールを加えて1 mLとし, 各標準原液とした。Tafluprost (No.3) は5 mgを量り, メタノールを加えて5 mLとし標準原液とした。Isopropyl Unoprostone (10 mg/mL) (No.4) は, 0.1 mLをとり, メタノールを加えて1 mLとし標準原液とした。防腐剤8成分 (No.8-15) 及びTocopheryl acetate (No.17) 及びDipotassium glycyrrhiza (No.18) 100 mgを量り, メタノールを加えて10 mLとし標準原液とした。Panthenol (No.16) は, 100 mgを量り, 水を加えて10 mLとし標準原液とした。No.1-18の各標準原液を最終的に10 µg/mLとなるようにメタノールを加えて調製したものをHPLC用混合標準溶液とした。

また, Phenoxyethanol (No.8) 及びBenzoic acid (No.9) は1 µg/mLに, その他の16成分は0.1 µg/mLに調整したものを混合し, LC-QTOF/MS用混合標準溶液とした。

6 HPLCによる添加回収試験

添加回収試験用試料として, 市販のまつげ美容液1製品を使用した。市販まつげ美容液にPGF2α誘導体及び発毛剤成分をそれぞれ5 mg/gとなるように添加し, 「4 試料溶液の調製」のとおり, 添加回収用試料溶液を調製した。各成分の検量線は1-10 µg/mLの範囲で作成した。なお, 育毛剤成分であるCarpronium Chloride (No.7) については, 分離が困難であったため, 実施しなかった。

結果および考察

1 HPLCによる分析法の検討結果

PGF2α誘導体, 発毛剤及び育毛剤成分を分析対象成分とし, さらに防腐剤及び化粧品に配合可能な医薬品成分も含めた計18成分について分析法を検討した。ピークが近接していたLatanoprost (No.1) 及びCloprostenol isopropyl ester (No.5), Phenoxyethanol (No.8), Benzoic acid (No.9) 及びMetylpara-

ben (No.10), Butylparaben (No.14) 及びIsobutylparaben (No.15) について, 各成分の確認が可能となる程度の分離を確保するため, グラジエント勾配を微調整したところ, 育毛剤であるCarpronium Chloride (No.7) 及び化粧品に配合可能な医薬品成分であるPanthenol (No.16) を除く16成分が確認可能となった (図1)。

なお, Carpronium Chloride (No.7) 及びPanthenol (No.16) は, 高極性成分であり, 保持時間 (RT) の早い時間に溶出したため, 溶媒ピークやまつげ美容液に含まれる夾雑物との分離が困難であった。これらの成分をHPLCで分析する際は, 分析条件を変更し, 個別に確認する必要がある。

2 HPLCによる分析対象成分の添加回収試験結果

まつげ美容液の成分表示の上位は水や水に可溶性グリセリンであるため, 水で希釈することで試料溶液の調製が可能であった。

分析対象成分の添加回収率は, 95-102 %と良好であり (表7), 実製品の分析にも適用可能であると判断した。

3 LC-QTOF/MSによる分析法の検討結果

LC-QTOF/MSでは, 一度にMSスペクトル及びMS/MSスペクトルが取得できるSWATH法を用い, Positive及びNegativeモードで各成分を確認できる条件 (表5及び表6) を検討した。防腐剤 (No.9-15) 及びDipotassium glycyrrhiza (No.18) はNegativeで分析することが可能であり (図2), PGF2α誘導体 (No.1-5), 発毛剤 (No.6), 育毛剤 (No.7), 防腐剤 (No.8) 及び化粧品に配合可能な医薬品成分 (No.16及び17) についてはPositiveで分析可能であった (図3)。

なお, HPLCと同様に, LC-QTOF/MSによる本分析法においても, No.7のCarpronium ChlorideはRTの早い時間に溶出し, ピークが2本に分離してしまうことから, 確認には注意が必要である。

4 令和4年度無承認無許可医薬品実態調査の結果

今回確立した分析法により, 令和4年度の無承認無許可医薬品実態調査において買い上げた3製品について検査を実施した結果, 買い上げ検体から, PGF2α誘導体, 発毛剤及び育毛剤成分は検出されなかった。

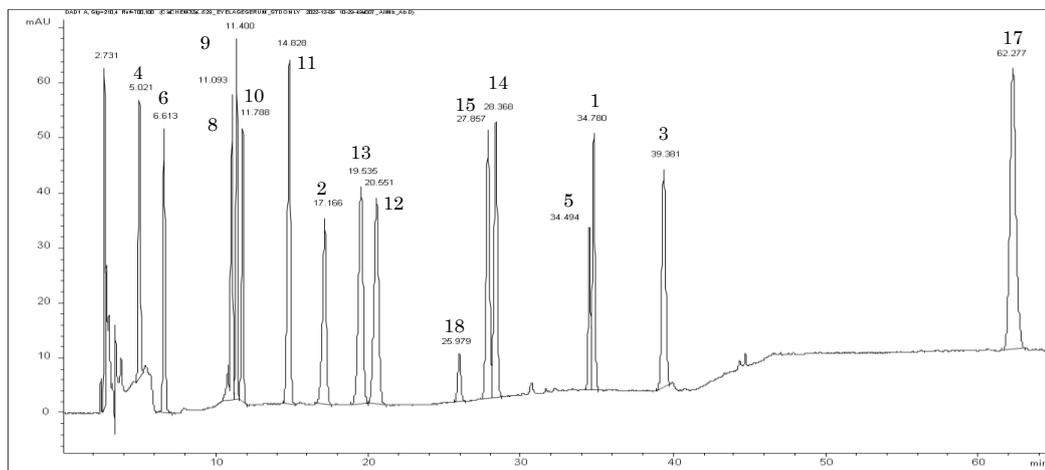


図1 HPLCによるまつげ美容液中の分析対象成分及びその他の成分のクロマトグラム

表7 HPLCによる分析対象成分の添加回収試験結果

No.	成分名	回収率	RSD
1	Latanoprost	95 %	0.13
2	Bimatoprost	95 %	0.09
3	Tafluprost	97 %	0.06
4	Isopropyl Unoprostone	102 %	0.10
5	Cloprostenol isopropyl ester	96 %	0.09
6	Minoxidil	102 %	5.30

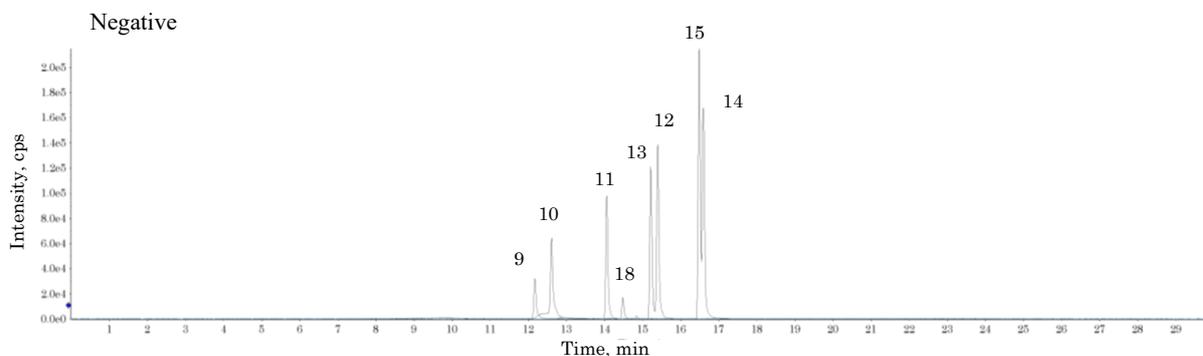


図2 LC-QTOF/MS SWATH法 (Negative) によるその他成分のEIC

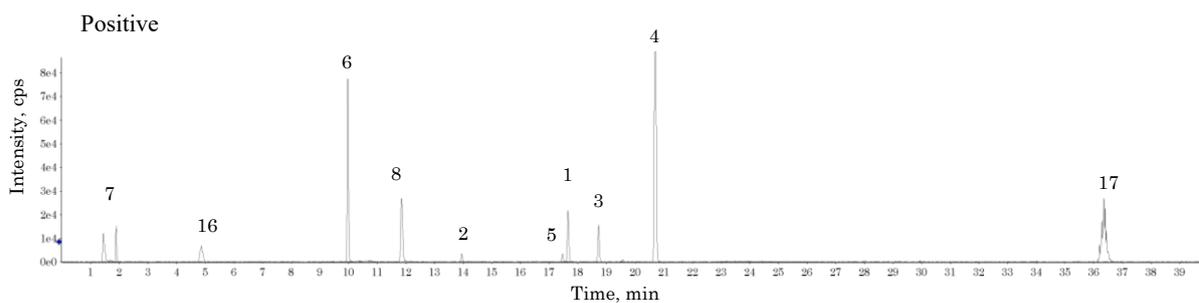


図3 LC-QTOF/MS SWATH法 (Positive) による分析対象成分及びその他成分のEIC

結 語

本研究では、県内でも健康被害相談事例のあるまつげ美容液の医薬品成分分析法について検討した。その結果、HPLCによりPGF2 α 誘導体及び発毛剤の計6成分の定量が可能となった。さらにHPLCでは、6成分に防腐剤及び化粧品に配合可能な医薬品成分10成分を加えた計16成分について、LC-QTOF/MSでは発毛剤1成分及び化粧品に配合可能な医薬品成分1成分も加えた計18成分について確認可能な分析条件を確立した。

また、今回確立した分析法により、令和4年度の無承認無許可医薬品実態調査で買い上げた製品について検査を実施した結果、違反は確認されなかった。

独立行政法人国民生活センターによると、PIO-NETに登録された化粧品関連の健康被害相談件数は、2022年に4296件と、2021年と比べて約1000件以上増加している[7]。その中には個人輸入による事例もあった。国外から個人輸入した化粧品等については、国内では未承認の医薬品成分や医師の処方箋が必要とされる医薬品成分、あるいは、国内で化粧品への配合が認められていない成分が含まれていたり、配合が認められている成分であっても、最大配合量を超えて含まれていることがあるため、注意が必要である[8]。したがって、今回の対象試料であるまつげ美容液に限らず、今後も県内の健康被害発生状況を注視し、様々な化粧品分析に対応できる体制を整えていく。

文 献

- [1] 株式会社 富士経済. “メイクアップ, ボディケアの国内市場を調査” プレスリリース第21087号, 2021-09-09.
- [2] 独立行政法人国民生活センター. “まつげ美容液による危害が急増！－効能等表示の調査もあわせて実施－”. 2019-08-08. https://www.kokusen.go.jp/news/data/n-20190808_2.html 参照 2023-9-20.
- [3] 厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長, 厚生労働省医薬品・生活衛生局医薬安全対策課長, 厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長通知. まつげ美容液を標榜する化粧品等の安全性確保について. 令和元年8月8日薬生薬審発0808第1号, 薬生安発0808第1号, 薬生監麻発0808第2号.
- [4] Medical Products Agency. “Pharmaceutical ingredients in one out of three eyelash serums”. 2013-04-15. <https://www.dr-jetskeultee.nl/jetskeultee/download/common/artikel-wimpers-ingredients.pdf> 参照2023-9-20.
- [5] Derek J. Enhanced Eyelashes: Prescription and Over-the-Counter Options. *Aesth Plast surg.* 2011, 35, 116-121, DOI 10.1007/s00266-010-9561-3.
- [6] 小林茂樹. 緑内障治療薬としてのプロスタグランジンF2 α 誘導体制剤(プロストン系およびプロスト系)の特性について. *日本医科大学医学会雑誌.* 2012, 8, 134-142.
- [7] 独立行政法人国民生活センター “化粧品の危害” 2023-09-01. https://www.kokusen.go.jp/soudan_topics/data/cosmetic_harm.html, 参照 2023-09-15.
- [8] 独立行政法人国民生活センター “個人輸入した医薬品, 化粧品等にご注意！-インターネット通信販売で購入した美白クリームで皮膚障害が発生-” 2023-09-06. https://www.kokusen.go.jp/news/data/n-20230906_1.html. 参照2023-09-20.