

## まつげ美容液に含まれるビマトプロスト等の医薬品成分の分析

分担研究者 前川京子 (同志社女子大学薬学部)  
研究協力者 松尾綾香 (同志社女子大学薬学部)  
花房美穂 (同志社女子大学薬学部)  
高橋知里 (同志社女子大学薬学部)  
Mohammad Sofiqur Rahman (金沢大学大学院医薬保健学総合研究科)

### 研究要旨

#### 【目的】

現在、メルカリなどのフリマアプリで、「まつげ美容液」などと銘打って出品されている製品が多数ある。広告のなかでは明確に「まつげ伸長促進」とは謳っていないものの、睫毛貧毛症を適応症としたグラッシュビスタ外用液剤の主薬成分であるビマトプロスト等を含有する医薬品相当の製品が、インターネット等を介して流通している可能性が指摘されている。しかし、その根拠となるデータは乏しく、取り締まりが難しい状況にある。今回、高速液体クロマトグラフィー-三連四重極型質量分析計 (HPLC-MS/MS) によりビマトプロスト及びその類縁体の測定系を構築し、試買したまつげ美容液への含有の有無を確認することを目的とした。

#### 【方法】

ビマトプロストを含む12種のプロスタグランジン F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) 類縁体の標準物質を購入し、MS/MSのイオン検出強度が最大になるよう Selected reaction monitoring のトランジションの最適化を行った。HPLCの分析カラムと分離条件を検討し、HPLC-MS/MSによる測定系を構築した。試買したまつげ美容液64種について、前処理を行った後、本測定系で分析し、PGF2 $\alpha$ 類縁体の含有の有無を確認した。PGF2 $\alpha$ 類縁体の含有が示された製品について、その含量を定量した。

#### 【結果】

12種のPGF2 $\alpha$ 類縁体の標準物質を用いて検量線を作成したところ、0.1~5.0  $\mu$ Mの範囲で良好な直線性を示した。まつげ美容液64製品のうち、ビマトプロストを含有する製品は4製品であり、これらはグラッシュビスタとほぼ同量のビマトプロストを含有していた。その他、医薬品としては使用実績がない Bimatoprost isopropyl ester、Tafluprost ethyl amide Cloprostenol isopropyl ester を含む製品が、それぞれ1製品、2製品、5製品見出された。

#### 【結論】

本邦で購入可能なまつげ美容液には、PGF2 $\alpha$ 誘導体を含有する製品があり、医薬品相当の

製品がインターネット等を介して流通していることが示された。本測定系は、まつげ美容液中に含有される PGF2 $\alpha$ 類縁体を同定・定量する有用な手段である。

## A. 研究目的

現在、メルカリなどのフリマアプリで、「まつげ美容液」などと銘打って出品されている製品が多数ある。広告のなかでは明確に「まつげ伸長促進」とは謳っていないものの、睫毛貧毛症を適応症としたグラッシュビスタ外用液剤の主薬成分であるビマトプロスト (Bimatoprost) 等を含有する医薬品相当の製品が、インターネット等を介して流通している可能性が指摘されている。しかし、その根拠となるデータは乏しく、取り締まりが難しい状況にある。

眼圧下降作用を有するプロスタグランジン F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) の合成誘導体であるビマトプロストは、開放隅角緑内障及び高眼圧症の治療薬である。まつげの成長は、ビマトプロストの有害事象として報告され、これが、まつげ貧毛症を適応症としたグラッシュビスタ外用液剤として、2008年に米国、2014年に日本で承認された。2011年に、米国で購入可能な6種のOTC化粧品 (MD Lash Factor, Revitalas, LiLash, neuLash, Lashes to Die For, RapidLash) にPGF2 $\alpha$ 類縁体が含有されている可能性が指摘された[1]。その後、アメリカ食品医薬品局 (FDA) において、高速液体クロマトグラフィー - 三連四重極型質量分析計 (HPLC-MS/MS) により、31種の化粧品について、ビマトプロスト及びその類縁体15化合物を対象にその含有の有無が分析された[2]。この結果、31種のうち16種類の化粧品にビマトプロスト類縁体が4化合物、Tafluprost ethyl amide (Taf EA), Bimatoprost isopropylester (Bima IE),

Cloprostenolisopropyl ester (Clo IE), 17-Phenyltrimer Prostaglandin F2 $\alpha$  methyl amide (17-PTPF2 $\alpha$  MA) 含有されていたことが報告されている。また、2016年のイタリア衛生研究所の報告によると、米国よりインターネットを介して購入した7種のまつげ美容液をLC-MS/MSで分析した結果、一部にビマトプロストが含有されていた[3]。

一方で、本邦において、インターネット上で流通するまつげ美容液に、医薬品成分が含有されている製品が流通しているか否かは明らかでない。これまでに、独立行政法人国民生活センターは、まつ毛美容液による危害が急増していることを報道発表しており、インターネットショッピングモールで販売されている20銘柄の成分表示を調べた結果、20銘柄全てに、オタネニンジン根エキス、ナツメ果実エキス、センブリエキスなど様々な植物由来の成分が表示されていたと報告している[4]。また、一部の銘柄にはエタノールなどのアルコール類が成分として表示されていたことが明らかにされている。そこで、本研究ではインターネット上で広告・販売されているまつ毛美容液を試買し、ビマトプロストやその類縁体等の医薬品成分の含有の有無をHPLC-MS/MS分析で確認し、その流通の実態を明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

### B-1. LC-MS/MSによる測定系の構築

ビマトプロストの重水素標識体を含む12種のPGF2 $\alpha$ 合成誘導体は、Cayman Chemical

社 (Michigan, USA) より購入した。標準物質のリストを表 1 に、その構造を図 1 に示す。それぞれを 1  $\mu$ M となるようにメタノールで希釈し、標準溶液とした。これらを直接 LC-MS8040 (島津製作所、京都) に注入し、イオン検出強度が最大になるよう Selected reaction monitoring (SRM) のトランジションの最適化を行った。その他の測定条件は下記の通りとした。

<MS 条件>

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法

測定モード：ポジティブイオンモード

ネブライザーガス：窒素

ネブライザーガス流量：2 L/min

ドライニングガス：窒素

ドライニングガス流量：15 L/min

インタフェース電圧：+4.5 kV (チューニングファイル値)

DL 温度：250  $^{\circ}$ C

ブロックヒーター温度：400  $^{\circ}$ C

最適化した SRM のパラメーターを用いて、各標準物質が分離し、感度よく検出される HPLC 条件を検討し、下記の通りとした。

<HPLC 条件>

移動相：(溶媒 A) 0.1%酢酸 (溶媒 B)

AcCN : MeOH=4 : 1

カラム : Inertsil, ODS-EP 5  $\mu$ m, 2.1  $\times$  150 mm

注入量 : 3  $\mu$ L

流量 : 0.3 mL/min

タイムプログラム : 0-15 min : 5-85% B,  
15-20 min : 85% B, 20-20.10min : 85-5%  
B, 20.10 -25min : 5% B

カラムオープン : 40 $^{\circ}$ C

## B-2 試料の前処理とスクリーニング測定

LC-MS/MS 定性分析のための試料の前処理は下記の通り行った。まず、購入したまつげ美容液 64 製品、グラッシュビスタ外用液剤 (ポジティブコントロール) 及び蒸留水 (ネガティブコントロール) をそれぞれ 10  $\mu$ L 分取し、0.1%ギ酸を 740  $\mu$ L、及び重水素標準物質混合液 250  $\mu$ L を加え、全量を 1 mL とした。重水素標準物質混合液は、Bimatoprost-d4, Travoprost-d4, Latanoprost-d4 をそれぞれ 0.1  $\mu$ M、PGE2 IPE を 0.8  $\mu$ M 含むようにメタノールで調整した。上記の混合溶液を、10 min 超音波処理した後、13000 rpm で 10 min 遠心し、上清を分取後、LC-MS/MS 測定に供した。

## B-3 定量分析

LC-MS/MS 定量分析のための試料の前処理は下記の通り行った。スクリーニング測定により各種 PGF2 $\alpha$ 合成誘導体を含むことが示されたまつげ美容液をそれぞれ 5-10  $\mu$ L 分取し、0.1%ギ酸を 740-745  $\mu$ L、及び 1.0  $\mu$ M PGE2IPE を 250  $\mu$ L を加え、全量を 1 mL とした。定量用検量線は、各 PGF2 $\alpha$ 合成誘導体を 0.05~10  $\mu$ M の範囲内で段階希釈し、PGE2 IPE を 0.25  $\mu$ M 含むように、0.1%ギ酸 : メタノール=3 : 1 の溶液で調整した。上記の混合溶液を、10 min 超音波処理した後、13000 rpm で 10 min 遠心し、上清を分取後、LC-MS/MS 測定に供した。定量分析は、LC-MS8040 及び LC-MS8050 (島津製作所、京都) を用いた。

## C. 研究結果

### C-1. LC-MS/MS による測定系の構築

標準物質を用いた最適化により決定した MS 分析のプリカーサイオンの  $m/z$ 、プロダ

クトイオンの  $m/z$ 、Dwell 時間、Q1 プリロッドバイアス電圧、コリジョンエネルギー、Q3 プリロッドバイアス電圧、及び保持時間を表 2 に示す。Bimatoprost、Latanoprost、Travoprost は、それぞれの重水素体を最適化して得られたパラメーターを準用した。また Bimatoprost、Bima IE、17-PTPF2 $\alpha$  MA、及び 17-Phenyl trinor Prostaglandin F2 $\alpha$  serinol amide (Bima SA)、及び内標である Prostaglandin E2 isopropyl ester (PGE2 IPE)は、脱水体をプレカーサーイオンとした。既報 [2]に記載があった PGF2 $\alpha$ 類縁体である 16-phenoxy Prostaglandin F2 $\alpha$  ethyl amide (16-PPF2 $\alpha$  EA)及び Tafluprost ethyl ester (Taf EE) は、標準品が入手できなかったため、プロダクトイオンの  $m/z$  は既報と同様に設定し、パラメーターはそれぞれ構造が類似している Clo IE 及び Taf EE のパラメーターを準用して仮想で構築した。

各標準物質につき、最適化したパラメーターを用いて LC-MS/MS 分析した際の SRM クロマトグラムを図 2 に示す。また SRM クロマトグラムより求めた各標準物質と内標である PGE2 IPE のピーク面積比を用いて、各標準物質の検量線 (0.1~5  $\mu$ M) を内部標準法により作成した (図 3)。標準物質の回帰直線の相関係数 ( $R^2$ ) は全て 0.99 以上であり良好な直線性を示した。

## C-2. 試料の前処理とスクリーニング測定

試買したまつげ美容液 64 製品を対象としたが、2 製品で、A 液、B 液の 2 液に分かれていたため、66 サンプル中に PGF2 $\alpha$ 合成誘導体が含まれるか否かをスクリーニング測定により確認した。ビマトプロストは、64 製品中 4 製品に含有が確認された。緑内障治療薬である Latanoprost、Travoprost 及び

Tafluprost (Taf)を含む製品は検出されなかった。医薬品としては使用実績がない Bima IE を含む製品が 1 製品、Taf EA を含む製品が 2 製品、Clo IE を含む製品が 5 製品見出された。その他、15-Keto Bimatoprost (15-keto Bima)、及び 17-PTPF2 $\alpha$  MA を定量限界以下で含む製品がそれぞれ 4 製品、及び 2 製品、Bimatoprost free acid (Bima FA)をわずかに含む製品が 1 製品見出された。それらは、PGF2 $\alpha$ 類縁体である Bimatoprost、もしくは Bima IE を含む製品であったため、それぞれ自動酸化、及び合成段階の不純物または分解物と考えられた。

## C-2. 定量分析

スクリーニング法により PGF2 $\alpha$ 類縁体を含むことが示されたまつげ美容液 12 製品を対象に含有される各 PGF2 $\alpha$ 類縁体を定量した。ビマトプロスト 0.03%を含有するグラッシュビスタ外用液剤中に含まれるビマトプロスト濃度は、0.285 mg/mL であり、表示含有濃度である 0.3 mg/mL とほぼ同量に算出された。まつげ美容液 4 製品に含まれるビマトプロストの濃度範囲は、0.240 - 0.361 mg/mL の範囲にあった。Bima IE 陽性サンプル 1 製品中の Bima IE の濃度は 0.183 mg/mL であり、Taf EA 陽性サンプル 2 製品中の Taf EA の濃度範囲は 0.008 - 0.193 mg/mL の範囲にあった。Clo IE 陽性サンプル 5 製品に含まれる Clo IE の濃度範囲は、0.007 - 0.119 mg/mL であった (図 4)。

## D. 考察

ビマトプロストやその類縁体 12 化合物につき、LC-MS/MS を用いた測定系を構築した。検量線は、0.1~5.0  $\mu$ M の範囲では、良好な直線性を示した。定量においては、ま

つけ美容液中の添加物によるイオンサプレッションの補正のために、内部標準物質を添加した内標準法を用いることが望ましいと考えた。

まず、まつげ美容液 64 種に PG 類縁体が含まれるか否かを簡易的にスクリーニングした後、含有が認められたもののみ、適当な希釈倍率で、定量を行った。医薬品であるビマトプロストが含まれる製品は、4 製品であった。このうち、1 種は、容器に「RX only」とあり、ビマトプロストが 0.03%含有しているとの記載があった。この製品の定量値は、0.278 mg/mL であり、成分含量表記とほぼ一致した。残りの 3 製品には、ビマトプロスト含有の表示はなかった。

医薬品としては使用実績のない PGF2 $\alpha$  合成誘導体に着目すると、64 製品のうち、計 8 製品に、定量可能な含量で Bima IE, Taf EA, Clo IE が含まれていた。このうち、容器または被包に含有表示があった製品は 3 種であり、5 種には含有表記がなかった。定量値は様々であったが、いずれも医薬品であるグラッシュビスタ (0.03%ビマトプロスト含有) より低値を示した。既報によると、アメリカ食品医薬品局 (FDA) は、31 種の化粧品のうち 16 種類の化粧品に Taf EA, Bima IE, Clo IE, 17-PTPF2 $\alpha$  MA が、それぞれ 91.6-141  $\mu$ g/g (Taf EA)、172-206 $\mu$ g/g (Bima IE)、27.4-90.0 $\mu$ g/g (Clo IE)、132-297 $\mu$ g/g (17-PTPF2 $\alpha$  MA) 含有されていたことを報告している [2]。我々が分析した製品には、17-PTPF2 $\alpha$  MA を除く Taf EA, Bima IE, Clo IE が LC/MS/MS により定量可能な含量で含まれており、これらの医薬品相当の製品がインターネット等を介して本邦に流通していると考えられる。

## E. 結 論

まつげ美容液に含まれる可能性がある PGF2 $\alpha$  類縁体 12 種の LC/MS/MS による測定系を構築した。試買したまつげ美容液 64 製品にこれらの PGF2 $\alpha$  類縁体 12 種が含まれているかを明らかにし、含有物質の定量を行った。その結果、本邦で購入可能なまつげ美容液には、PGF2 $\alpha$  誘導体を含む製品があり、医薬品相当の製品がインターネット等を介して流通していることが示された。

## F. 引用文献

1. Jones D., Enhanced Eyelashes: Prescription and Over-the-Counter Options. *Aesth Plast Surg* (2011) 35:116–121.
2. Wittenberg JB et al., Determination of prostaglandin analogs in cosmetic products by high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1359 (2014) 140–146.
3. Marchei E et al., High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Measurement of Bimatoprost, Latanoprost and Travoprost in Eyelash Enhancing Cosmetic Serums. *Cosmetics* 2016, 3(1), 4; <https://doi.org/10.3390/cosmetics3010004>
4. 2019 年 8 月 8 日:公表 独立行政法人国民生活センター「まつ毛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—」  
[http://www.kokusen.go.jp/pdf/n-20190808\\_2.pdf](http://www.kokusen.go.jp/pdf/n-20190808_2.pdf)

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

花房 美穂、松尾 綾香、Rahman Sofiqur  
Mohammad、Shu Zhu、スタッフ 由紀  
子、山下 陽夏、高橋 知里、吉田 直  
子、秋本 義雄、松下 良、木村 和子、  
前川 京子、まつげ美容液に含まれるビ  
マトプロスト等の医薬品成分の分析 日  
本薬学会第 141 年会（2021.3.28、オンラ  
イン）

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3.その他

なし

表1 購入標準物質のリスト

名称	略称	Cayman社 Item No.
17-phenyl trinor Prostaglandin F2 $\alpha$ ethyl amide-d4	Bimatoprost-d4	316820
17-phenyl trinor Prostaglandin F2 $\alpha$ ethyl amide	Bimatoprost	16820
17-phenyl-13,14-dihydro trinor Prostaglandin F2 $\alpha$ -d4 isopropyl ester	Latanoprost-d4	10006556
16-m-trifluoromethylphenoxy tetranor PGF2 $\alpha$ isopropyl ester-d4	Travoprost-d4	9000936
15-keto-17-phenyl trinor Prostaglandin F2 $\alpha$ ethyl amide	15-keto-Bima	10010405
17-phenyl trinor Prostaglandin F2 $\alpha$	BimaFA	16810
15(R)-17-phenyl trinor Prostaglandin F2 $\alpha$ isopropyl ester	BimalE	16825
(+)-cloprostenol isopropyl ester	Clo IE	10010016
17-phenyl trinor Prostaglandin F2 $\alpha$ methyl amide	17-PTPF2 $\alpha$ MA	10010351
17-phenyl trinor Prostaglandin F2 $\alpha$ serinol amide	Bima SA	10004237
17-trifluoromethylphenyl trinor Prostaglandin F2 $\alpha$ ethyl amide	17-CF <sub>3</sub> PTPF2 $\alpha$	10010061
tafluprost ethyl amide	TafEA	9000843
tafluprost	Taf	10005440
Prostaglandin E2 isopropyl ester	PGE2IPE	10384

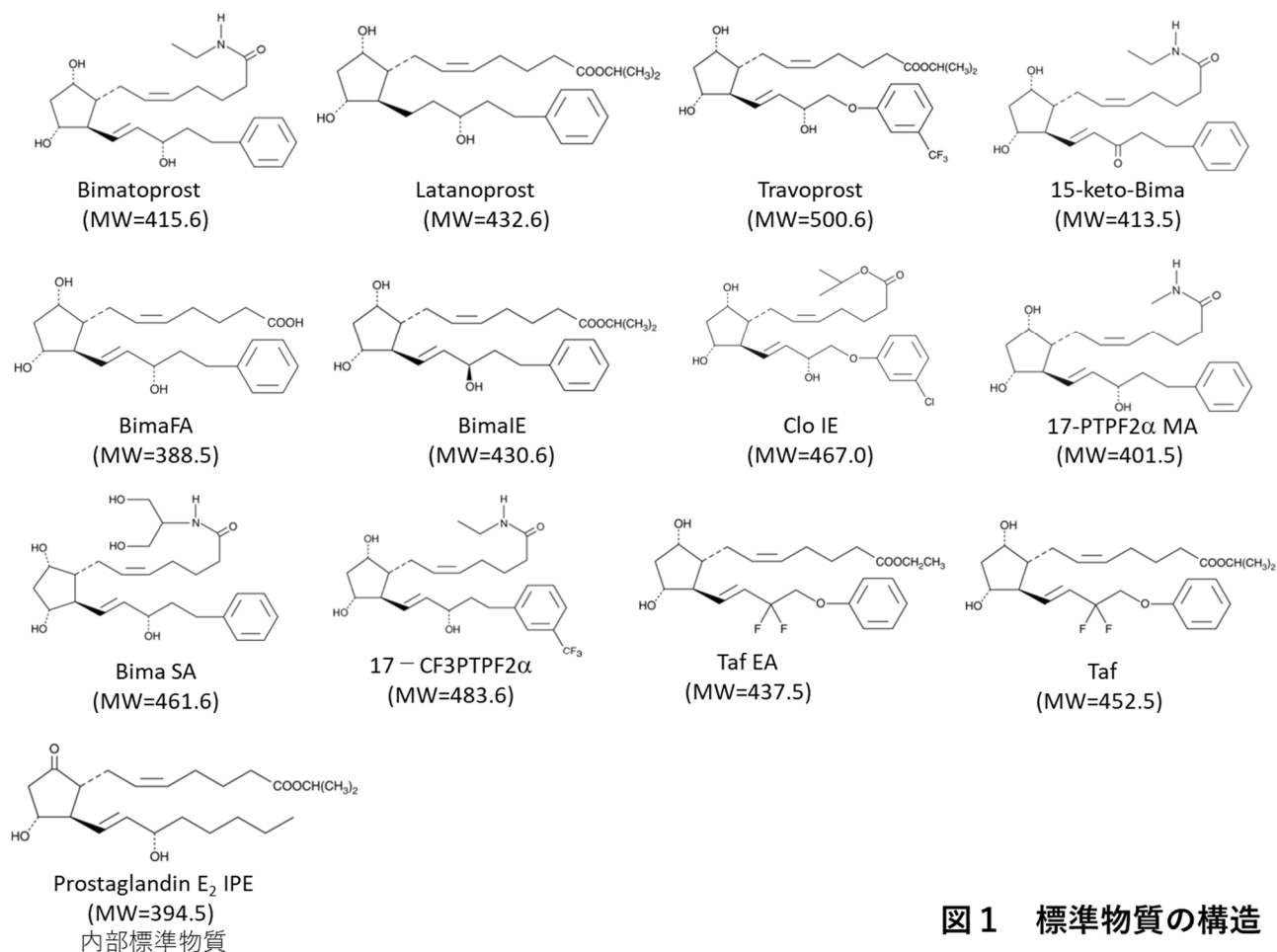


図1 標準物質の構造

表2 標準物質のHPLC-MS/MS測定パラメーター

化合物	プレカーサイオン ( <i>m/z</i> )	プロダクトイオン ( <i>m/z</i> )	トランジション の種類	極性	Dwell時間 (msec)	Q1プリロッド バイアス電圧 (V)	コリジョンエ ネルギー (V)	Q3プリロッド バイアス電圧 (V)	保持時間 (分)
Bimatoprost d <sub>4</sub> -H <sub>2</sub> O+H	402.3	366.2	定量イオン	positive	20	-10	-12	-24	10.4
	402.3	91.1	確認イオン	positive	20	-10	-53	-14	
Latanoprost-d <sub>4</sub> +H	437.3	341.2	定量イオン	positive	20	-14	-17	-21	13.6
	437.3	401.3	確認イオン	positive	20	-14	-11	-17	
Travoprost-d <sub>4</sub> +H (Fluprostenol isopropyl ester)	505.3	325.2	定量イオン	positive	20	-24	-10	-21	13.8
	505.3	253.2	確認イオン	positive	20	-22	-13	-24	
Bimatoprost-H <sub>2</sub> O+H	398.3	362.2	定量イオン	positive	20	-10	-12	-24	10.4
	398.3	91.1	確認イオン	positive	20	-10	-53	-14	
Latanoprost +H	433.3	337.2	定量イオン	positive	20	-14	-17	-21	13.6
	433.3	397.3	確認イオン	positive	20	-14	-11	-17	
Travoprost +H (Fluprostenol isopropyl ester)	501.2	321.2	定量イオン	positive	20	-24	-10	-21	13.8
	501.2	249.2	確認イオン	positive	20	-22	-13	-24	
15-keto Bima +H	414.3	105.1	定量イオン	positive	20	-13	-39	-17	10.8
	414.3	396.3	確認イオン	positive	20	-13	-12	-26	
Bima FA -H	387.2	343.2	定量イオン	negative	20	26	19	26	10.7
	387.2	193.3	確認イオン	negative	20	26	27	21	
Bima IE -H <sub>2</sub> O+H	413.3	131.1	定量イオン	positive	20	-13	-24	-22	13.1
	413.3	91.1	確認イオン	positive	20	-13	-56	-14	
Clo IE +H	467.2	321.2	定量イオン	positive	20	-14	-9	-20	13.7
	467.2	249.2	確認イオン	positive	20	-26	-13	-25	
17-PTPF2a MA -H <sub>2</sub> O+H	384.3	348.2	定量イオン	positive	20	-22	-12	-22	9.9
	384.3	91.1	確認イオン	positive	20	-22	-55	-14	
Bima SA -H <sub>2</sub> O+H	444.3	408.3	定量イオン	positive	20	-14	-14	-27	9.1
	444.3	92.2	確認イオン	positive	20	-25	-23	-14	
17-CF <sub>3</sub> PTPF2a EA +H	484.3	466.2	定量イオン	positive	20	-10	-11	-21	11.8
	484.3	430.2	確認イオン	positive	20	-10	-15	-29	
Taf EA +H	438.2	418.2	定量イオン	positive	20	-17	-10	-28	11.70
	438.2	288.1	確認イオン	positive	20	-17	-15	-30	
Taf +H	453.2	339.2	定量イオン	positive	20	-22	-9	-22	14.40
	453.2	433.2	確認イオン	positive	20	-22	-8	-19	
Prostaglandin E2 isopropyl ester -H <sub>2</sub> O +H(内標)	377.2	299.2	定量イオン	positive	20	-20	-14	-19	13.80
	377.2	317.2	確認イオン	positive	20	-20	-12	-21	
16-PPF2a EA +H *	418.3	234.2	定量イオン	positive	20	-26	-13	-25	9.52
	418.3	270.2	確認イオン	positive	20	-26	-13	-25	
Taf EE +H *	439.2	335.2	定量イオン	positive	20	-17	-15	-30	13.19
	439.2	289.2	確認イオン	positive	20	-17	-15	-30	

\*標準品が入手できなかったため、仮想で構築