

シエア応答性ナノエマルジョンの化粧品への応用研究

Applied Investigation of Shear-response Nano-Emulsion for Cosmetics

山下 裕司・坂本 一民

Yuji YAMASHITA and Kazutami SAKAMOTO

コロイド科学の世界において、ナノエマルジョンは熱力学的に非平衡で、数十～数百ナノメートルのソフト粒子が溶液媒体中に分散した系として分類される。ナノエマルジョンの一般的な調製法には、転相などの界面活性剤の溶液特性を巧みに利用した手法に加え、機械力を印加して物理的に粒子サイズを細分化する手法が取られている。本報で紹介するナノエマルジョンは、ディスコンティニューアスキュービック液晶を単純に希釈することで形成される。さらに従来のナノエマルジョンと対照的に、溶液に強い剪弾力を負荷するとナノエマルジョン中の会合体構造は崩壊し、会合体中に包接された油分が放出される。この特性を利用し、新しい経皮吸収製剤としての可能性を実験データをベースに考察し、化粧品製剤に向けた展望を述べる。

1. はじめに

エマルジョンは広範囲な工業分野で利用される液/液分散系であり、安定なエマルジョンを得るために組成や調製方法の設計は重要な課題である。これまでに数多くの安定なエマルジョン形成技術が知られており、転相乳化法や液晶乳化法、D相乳化法はその主な代表例である。いずれも界面状態や自己組織体の曲率を巧みに操作し、エマルジョン状態を長期的に維持することが可能となる。一般にエマルジョンは非平衡系であり、時間とともに分散粒子が凝集・合一する。そのため、しばしば乳化剤の添加や機械的エネルギーを付与することによって微粒子化するが¹、数十nmのエマルジョン(ナノエマルジョン)においても主にOstwald Ripening等を介してナノ粒子は崩壊していく。

温度または濃度変化に伴う転相を利用した乳化法は実用的に用いられており、近年ではナノエマルジョンの調製法として紹介されている²。ナノエマルジョンの調製

にはしばしば機械的エネルギーを付与して分散滴を細分化する方法が取られるが、一方で転相による方法では、界面自由エネルギーを低減させることで比較的弱い剪弾力(エネルギー)で小さなエマルジョン滴を生成することが可能である。Solansらは、この低エネルギー法を用いてナノエマルジョンの形成について詳細に研究しており、界面活性剤や油の種類、組成、混合速度など、様々な影響因子を制御し、油中水型(W/O)と水中油型(O/W)両方のタイプのナノエマルジョンの調製に成功している³⁻⁸。彼らは温度感受性の低い界面活性剤(イオン性界面活性剤など)を使用するため、組成変化による転相乳化(PIC)法を多用しており、論文中で“微細なナノエマルジョンを調製するためには、組成変化に伴う一時的な液晶形成が重要である”と述べている。この指摘は液晶乳化の理論と同様な考え方であるが、彼らがどのような液晶を想定していたのかは不明である。

その一方で、筆者らは新規なナノエマルジョン調製法としてキュービック液晶を介した簡便な方法を示し、非平衡系であるが故にもたらされる興味深いエマルジョンの構造と特性を見い出した⁹。本稿では、従来のエマルジョンやナノエマルジョンと比較しながら、筆者らが発見した新規ナノエマルジョンの特性および応用への展望を述べる。

連絡先：山下裕司 yyamashita@cis.ac.jp

千葉科学大学薬学部生命薬科学科

Department of Pharmaceutical and Life Science, Faculty
of Pharmacy, Chiba Institute of Science

(2013年10月7日受付, 2013年12月19日受理)

2. 新規ナノエマルションの調製法と特性

2. 1 簡単なナノエマルション作製

筆者らが発見したナノエマルションは、①特定の組成範囲でまずキュービック液晶を形成し、②その後水性溶媒で希釈することによる簡便な調製法である。キュービック液晶はディスコンティニユアス型であり、連続相には水性成分が存在する(図1)。

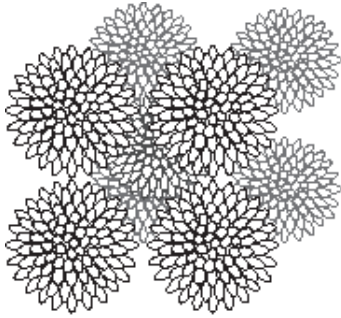


図1 ディスコンティニユアス型キュービック液晶(I₁液晶)の模式図

すなわち、このナノエマルションは、上記のような転相法を用いて調製したものではなく、ディスコンティニユアス型キュービック液晶(I₁相)を形成することが鍵となる。当初は親水基にポリオキシエチレン鎖を有する非イオン界面活性剤(ポリオキシエチレンオクチルドデシルエーテル [C₁₂C₈EO_n、平均n~20])を用いてナノエマルションを作製しており、EO鎖の特徴および鎖長分布の効果、もしくは構成成分によるものと考えられていたが、最近の研究から様々な界面活性剤、油性成分、および水性成分の組合せで同じナノエマルションを調製できることが分かった¹⁰。前述のとおり、本手法で調製したナノエマルションはいずれも非平衡状態であり、相平衡図上では2相領域に位置する。図2に本手法のナノエマルション(I₁溶液)と、同一組成で単純混合した溶液の光学顕微鏡写真を示しており、単純混合溶液では数~数十μmの粒子が観察される。

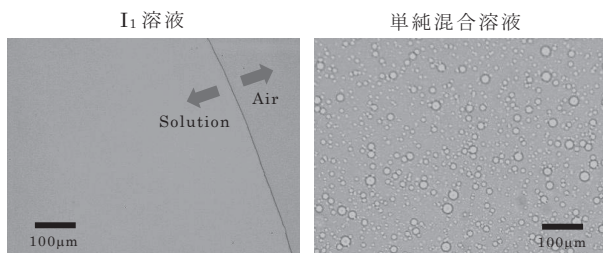


図2 ディスコンティニユアス型キュービック液晶の希釈溶液(I₁溶液、非平衡状態)と単純混合溶液(平衡状態)の光学顕微鏡写真

C₁₂C₈EO_n/水/グリセリン/スクワラン系のI₁相に関して小角X線散乱(SAXS)測定(リガク社製Nano-Viewer)の散乱スペクトルからI₁相を構築する膨潤ミセルのサイズ(r_l:ミセル半径)を以下の式より算出した。固有のピーク比(q₁:q₂:q₃=√2:√5:√8)から空間群を立方晶系のPm3n、第1ピークのミラー指数(h,k,l)=(1,1,0)、単位格子中のミセル数n=1とした。

$$r_l = d_{hkl} \left(\frac{3}{4\pi} \frac{(\phi_{S,L} + \phi_O)}{n} \right)^{1/3} \sqrt{h^2 + k^2 + l^2} \quad (式1)$$

ここで、d_{hkl}は第1ピークから得られる面間隔、φ_{S,L}およびφ_Oは界面活性剤疎水基と油の系に対する体積分率である。幾何学モデルから算出したI₁液晶中のミセルサイズは19nmであり、これはSAXS(ギニエプロット法、球状モデル)および動的光散乱測定(大塚電子社製ELS-710TY、He-Neレーザー [λ=633nm])で得られたナノエマルションの分散滴サイズとほぼ一致した(表1)。また、透過型電子顕微鏡(FF-TEM)観察においても同様な粒子径サイズが確認されている⁹。すなわち、平衡状態のI₁液晶から非平衡なナノエマルションへの相転移を利用した本調製法では、溶媒希釈による形態変化を伴わず準安定に内相の油滴が分散していると推察される。さらに、平衡状態では均質かつ均一な膨潤ミセルが自発的に形成されるため、最終的に得られるナノエマルション分散滴のサイズ分布は比較的小さくなる。

表1. 各測定から得られたナノエマルションの粒子サイズとI₁液晶中のミセルサイズの比較。

SAXS:小角X線散乱、DLS:動的光散乱、FF-TEM:透過型電子顕微鏡(凍結断面法)。

界面活性剤濃度	DLS	SAXS	FF-TEM
1.4 wt.% (ナノエマルション)	30 nm (18 ~ 50 nm)	20 nm	15 ~ 40 nm
28 wt.% (I ₁ 液晶)	---	19 nm	13 ~ 23 nm

2. 2 剪断力の負荷によるナノエマルションの崩壊

一般的に、より微細なエマルション分散滴を得るために機械的な攪拌力やずり応力を加えて物理的に液滴を細分化する。化粧品を作製する際に図3のようなホモミキサー(Primix製)がしばしば使用され、高速回転時に回転体(タービン)とそれを囲む固定環(ステーター)の約0.5mmの間隙を通過することでタービン表面の近傍で大きな剪断力が発生し、分散滴サイズは縮小する。

このホモミキサーを用いて本ナノエマルションも同様にサイズ制御を試みたが、従来の効果とは対照的に分散滴サイズは増加し、それに伴い溶液の外観は白濁した。さらに、同理由で超音波処理(キャビテーション効果)を

行ったところ、溶液の濁度は上昇した(図4)。これらの現象は、いずれも物理的外力の印加によって準安定なナノエマルジョンが崩壊することを示唆しており、それゆえ、ナノエマルジョン溶液中には個々に膨潤ミセルが分散しているのではなく、キュービック様構造体のようなドメインで存在しているものと推察される。

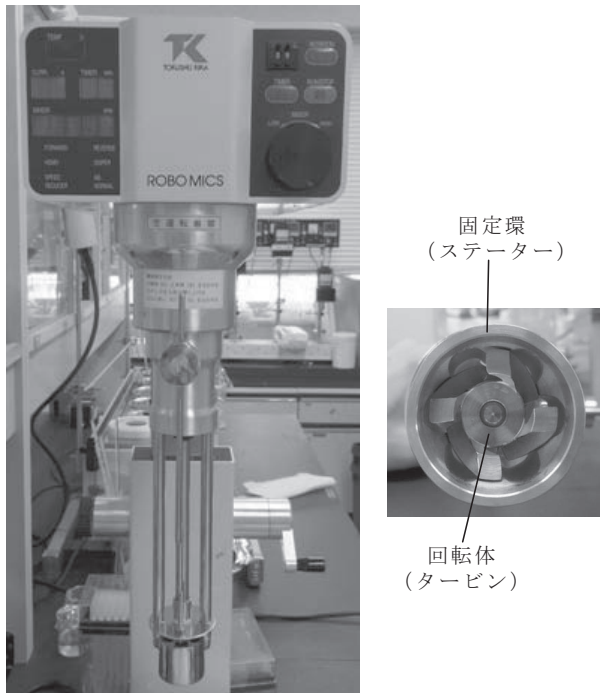


図3 ナノエマルジョンのシエア応答性を評価するために使用されたホモキサー

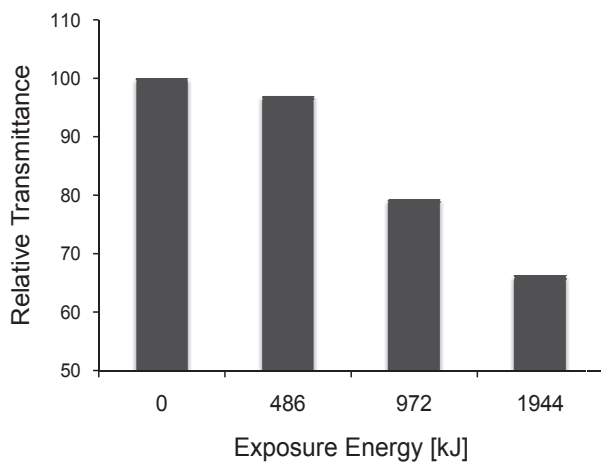


図4 $C_{12}C_8EO_n$ /水/グリセリン/スクワラン系で調製されたナノエマルジョンの超音波処理(35kHz)による透過率の変化。透過率は紫外可視分光光度計(島津社製UVmini-1240、 $\lambda=550\text{nm}$ 、室温)を用いて測定。

このナノエマルジョン崩壊過程をより定量的に評価するため、レオロジー測定(AR-G2 Rheometer, Cone-Plate セル)を実施した。図5に静的粘弾性測定結果を示す。定常状態の粘性係数 η (Pa \cdot s)を剪断速度 $\dot{\gamma}$ (s^{-1})に対してプロットしており、 η の履歴状態を観察するため $\dot{\gamma}=0.01\sim 100\text{s}^{-1}$ の範囲で2回繰り返し測定を行った結果である。ナノエマルジョン溶液を調製後、いずれの強い剪断力も負荷していない溶液(1st cycle)ではshear-thinningが生じ、 $\dot{\gamma}=\text{数}\text{s}^{-1}$ で η は一定値に達する。一方で、 $\dot{\gamma}=100\text{s}^{-1}$ の強い剪断力を受けた溶液(2nd cycle)に関しては、低 $\dot{\gamma}$ 領域でshear-thinningが見られるものの1st cycleとは異なる複雑な η - $\dot{\gamma}$ 曲線となるが、 $\dot{\gamma} > \text{数}\text{s}^{-1}$ で η は1st cycleと一致した。この結果から明らかなように、高剪断力を負荷することによってナノエマルジョン溶液の構造は不可逆的に変化しており、さらに高 $\dot{\gamma}$ 領域での η の一致から、shear-thinning線形領域から逸脱する $\dot{\gamma}=1\text{s}^{-1}$ 付近でナノエマルジョン構造は崩壊するものと推察される。この時の剪断応力は7mPa程度である。

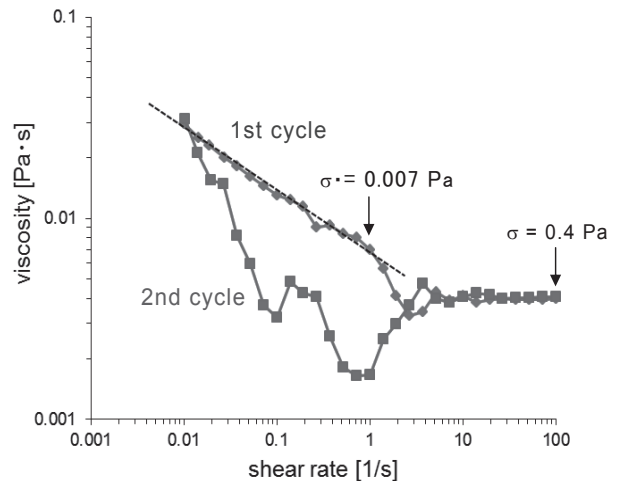


図5 ナノエマルジョンの静的粘弾性挙動。シエア速度($\dot{\gamma}$ 、横軸)に対して粘性係数(η 、縦軸)をプロットし、 $\dot{\gamma}=0.01\sim 100\text{s}^{-1}$ の範囲で2度繰り返し測定(\blacklozenge :1st cycle、 \blacksquare :2nd cycle)を実施。ナノエマルジョン溶液組成は、 $C_{12}C_8EO_n$ /水/グリセリン/スクワラン=8.4/5.4/82/4.2(重量%)。

さらに、本ナノエマルジョンのシエア応答性は、調製時の液晶および溶液の組成に顕著に依存する。液晶を構成する成分(特に界面活性剤)の種類に加え、高分子や塩などの水溶性成分の添加および添加量によってナノエマルジョンの構造安定性は変化し、さらに希釈溶媒の種類によっても影響を受ける。これらについては未だ包括的に研究されていないが、ナノエマルジョンの溶液組成から容易にシエア応答性をコントロールできることを示唆している。

3. シェア応答性ナノエマルジョンの応用

理想的な基材は様々な機能、例えば化粧品としての受容性、生体適合性、化学的・物理的、および微生物に対する安定性を有し、さらには薬物(有効成分)を容易に角層に放出する特性を持たねばならない。外用剤においては、薬物の有効性に対する基材の影響が他のいかなる薬物投与経路よりも大きい。一般的に認識されていることであるが、用いた基材によって活性の高い薬物が臨床的に無効であったり、活性の低い薬物の効果が増強されることがある^{11,12}。外用基材の設計に当たっては、一定の動的平衡系であること、処方中の成分が他の成分と相互作用し得ること、外用剤として用いられると処方成分と皮膚との相互作用が起こり得ることを念頭に入れる必要がある(図6)。また、いずれの基材成分も薬物浸透過程に以下の影響を与える。

- ① 活性成分の基材への溶解性増加(基材-薬物相互作用)
- ② バリヤー機能の低下(基材-皮膚相互作用)
- ③ 基材から角層への薬物分配への影響(基材-皮膚相互作用)
- ④ 角層で形成されるリザーバーの大きさへの影響(基材-皮膚相互作用)

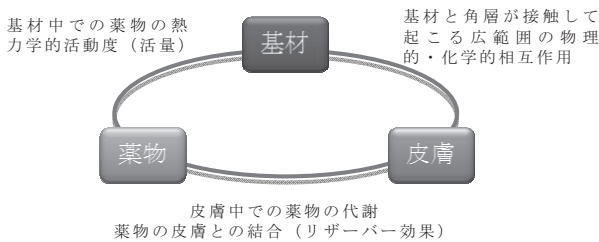


図6 外用剤の薬物浸透過程で考慮すべき基剤 - 薬物 - 皮膚間の関係と影響因子

エマルジョン基剤に関して、これまでに経皮吸収性に対する油水分散性や薬物Flux、基剤中の活量係数の影響など多数の研究がなされている¹³。さらに、エマルジョンとは区別されて“コロイドキャリア”と呼ばれる基剤が知られており、代表的なものとしてリポソーム、固/液分散系である乳酸・グリコール酸共重合体(PLGA)のナノスフィア¹⁴、リオトロピック液晶をベースとした基剤¹⁵、Isasomeとして総称されているCubosomeやHexosomeがある¹⁶。これらの経皮吸収性に関して、一般に基剤の親水性成分と親油性成分のいずれも角層と相互作用すると推測されており、親水性成分は角層に浸透し水和作用を及ぼし、基剤に取り込まれた親水性薬剤が通るための極性の透過経路を形成する。一方、油や乳化剤といった成分は皮膚に浸透し角層の拡散バリエーに影響を与える。これらの成分変化は製剤中の薬物の熱力学的活動度(薬

物送達能)にも影響を及ぼす可能性があり、皮膚への薬物の浸透メカニズムが未だ完全に明確になっていない。

筆者らが見出した新規ナノエマルジョンは剪弾力にตอบสนองし、溶液状態を意図的に制御することが可能である。この溶液状態変化は、非平衡から平衡状態への単純な移行であり、熱力学的には自発的経路である。シェアはこの平衡状態への移行を加速するものであり、外部応力の印加は即ち油相の分離を誘引することになる。すなわち、薬物の経皮吸収性を表す一般式(式2)において、薬物の分配係数を制御することになり、基剤による角層バリエー機能を低下することなく、薬物固有の性質によって皮膚への浸透を促すことができると推測される。

$$J = \frac{KC_vD}{L} \quad (\text{式2})$$

J :物質の流束、 K :分配係数、 C_v :基剤中の薬物濃度、 D :拡散係数、 L :膜厚

一方で、化粧品(特にエマルジョン製品)の設計において、品質保証の観点から製品が分離することは基本的に認められず、保証期間内で所望の品質および形態を維持しなければならない。マルチプルエマルジョンのように、内相に有効成分や薬剤を包接することで、酸素などの不安定化因子から隔離して内包物を安定化し、また中間相を介して徐々に外相へ放出する“徐放化”技術として応用されている例もあり¹⁷、実際に製剤の安定性・安全性の確保は必要不可欠である。この新規ナノエマルジョンは分散体の粒径が比較的小さく、単分散性を有することから、1ヶ月以上粒径は変化せず(図7)、外観上は数ヶ月にわたり変化しないことが分かっている。このように、強い剪断力を負荷しなければ溶液は安定な状態を維持し、シェア応答性の機能だけでなく高い品質を付与することが可能である。

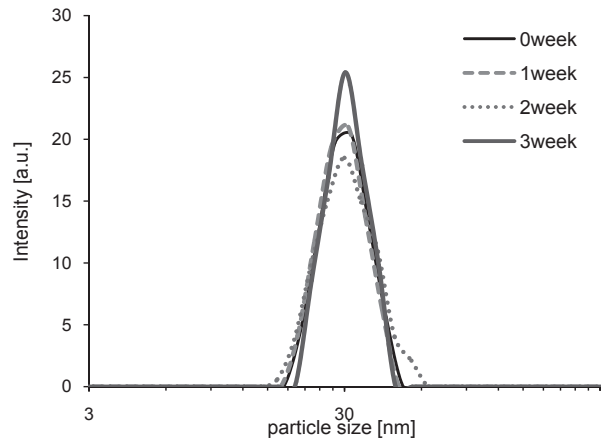


図7 新規ナノエマルジョンの長期安定性。横軸は粒子径(nm)、縦軸は存在割合(強度)を表す。

4. おわりに

本稿では、筆者らが発見した新規ナノエマルジョンの特性および想定される応用事例を述べた。慣例的にエマルジョンへの剪断力負荷は分散粒子のサイズを小さくし溶液の安定性を向上するための処理であり、本研究でも同じ期待を持って実験したことが研究の発端である。また、“エマルジョン溶液中には均質かつ均一に分散体が存在する”という先入観に縛られたため、本ナノエマルジョン機能の鍵となる“溶液中に膨潤ミセル（自己組織体）の凝集体が存在する”ことに帰結するまで長い時間を要した。このように、改めて研究の醍醐味を実感した一方で、本研究成果から新しい経皮薬物透過性基剤という応用技術への提案に発展できたと思われる。

謝辞

本研究のレオロジー測定にご協力頂きました横浜国立大学・荒牧賢治准教授に心から御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Sudol ED and El-Aasser MS : Emulsion Polymerization and Emulsion Polymers. Lovell PA, El-Aasser MS, ed. John Wiley & Sons Ltd., 700-722, 1997.
- 2) Solans C, Esquena J, Forgiarini A, et al. : "Nanoemulsions : formation and properties", Surfactants in solution : fundamentals and applications, Surfactant Science Series, Shah D, Moudgil B, Mittal KL, ed. Marcel Dekker, New York, 525-554, 2002.
- 3) Esquena J, Solans C : Study of low energy emulsification methods for the preparation of narrow size distribution W/O emulsions. Prog. Colloid Polym. Sci., 110, 235-239, 1998.
- 4) Izquierdo P, Esquena J, Tadros Th-F, et al. : Formation and Stability of Nano-Emulsions Prepared Using the Phase Inversion Temperature Method. Langmuir, 18, 26-30, 2002.
- 5) Usón N, Garcia MJ, Solans C : Formation of water-in-oil (W/O) nano-emulsions in a water/mixed non-ionic surfactant/oil systems prepared by a low-energy emulsification method. Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects, 250, 415-421, 2004.
- 6) Solè I, Maestro A, González C, et al. : Optimization of Nano-emulsion Preparation by Low-Energy Methods in an Ionic Surfactant System. Langmuir, 22, 8326-8332, 2006.
- 7) Maestro A, Solè I, González C, et al. : Influence of the phase behavior on the properties of ionic nanoemulsions prepared by the phase inversion composition method. J. Colloid Interface Sci., 327, 433-439, 2008.
- 8) Solè I, Pey CM, Maestro A, et al. : Nano-emulsions prepared by the phase inversion composition method: Preparation variables and scale up. J. Colloid Interface Sci., 344, 417-423, 2010.
- 9) Yamashita Y, Sato T, Nagasawa T, et al. : Shear-response Emulsion Prepared through Discontinuous Cubic Liquid Crystal. Chem. Lett., 42, 433-435, 2013.
- 10) 山下裕司, 山口葉子, 坂本一民 : "シェア応答性ナノエマルジョンの調製と構造特性". 第64回コロイドおよび界面化学討論会要旨集. 名古屋, 284 (P018), 2013-09-18/20, 日本化学会.
- 11) Hadgraft J : "Formulation of anti-inflammatory agents", Non-steroidal anti-inflammatory drugs. Hensby C, Lowe NJ, ed. New York, 21-43, 1989.
- 12) Polano MK, Bonsel J, Van Der Meer BJ : The Relation between the Effect of Topical Irritants and the Ointment Bases in which they are Applied to the Skin. Dermatologica, 101, 69-79, 1950.
- 13) 山下裕司, 坂本一民 : "乳化基剤による経皮吸収", 機能性化粧品と薬剤デリバリー, シーエムシー出版, 164-165, 2013.
- 14) 辻本広行 : PLGA ナノ粒子によるスカルプケア, スキンケア技術と商品開発. Drug Delivery System, 21, 405-415, 2006.
- 15) 山口葉子, 鈴木行直, 長澤輝明, 他 : 多機能性ソフトマターによる色素沈着・シワ改善および経皮吸収のための新概念. Fragrance J., 37 (5), 97-100, 2009.
- 16) Yaghmur A, Rappolt M : "Liquid crystalline nanoparticles as drug nanocarriers", Colloids and Drug Delivery, Fanun M, ed. CRC Press, London, 337-353, 2010.
- 17) 関根知子 : "第3章マルチプルエマルジョンの調製法と特徴", 機能性エマルジョンの技術と評価, シーエムシー出版, 34-43, 2007.

Applied Investigation of Shear-response Nano-Emulsion for Cosmetics

Yuji YAMASHITA and Kazutami SAKAMOTO

Department of Pharmaceutical and Life Science, Faculty of Pharmacy, Chiba Institute of Science

In Colloid Science, nano-emulsion is defined as a thermodynamically non-equilibrated unstable colloid dispersion with a tens to hundreds nm of size. To prepare the nano-emulsion, there are several methods known, utilizing the solution properties of surfactant such as phase inversion, or physically breaking up emulsion droplets by strong energy input using appropriate equipments. This paper will introduce a novel nano-emulsion which is simply formed upon dilution of a discontinuous cubic liquid crystal without any high energy input. Furthermore, our nano-emulsion has a unique kinetic property responsible to shear force. Contrary to the conventional nano-emulsion, the assembled structure in this nano-emulsion disrupted by higher shear force, and eventually the oil component solubilized in the cubic assembly is released to the outside. This phenomenon led us to utilize this nano-emulsion as a new carrier of actives for the transdermal drug delivery system and especially a new cosmetic formulation.