

熱応答性インテリジェント高分子の皮膚ゲル化機能を付与した新規化粧品素材の開発

北海道医療大学薬学部

宮崎 正三

Pluronic F127(PLF-127) is a high molecular weight poly(oxyethylene) /poly(oxypropylene)/poly(oxyethylene) triblock copolymer, aqueous solutions of which form thermally reversible gels on warming to body temperature. When xyloglucan derived from tamarind seed is partially degraded by β galactosidase, the resultant product (GXG-TG) exhibits thermally reversible gelation in dilute aqueous solution. The gelation behaviour is similar to that observed with Pluronic F127, with a sol-gel transition on warming from refrigerator temperature. We previously reported the potential use of these thermo- responsible intelligent polymers for drug delivery systems. We now compared the potential of Pluronic F127 and xyloglucan gels as cosmetic materials. Chilled aqueous solutions of PLF-127 and GXG-TG formed gels at concentrations of 20-30%w/w and 1-2%w/w when warmed to 37°C, respectively. The xyloglucan sol had higher viscosity than the Pluronic sol. Stress-strain plots of the xyloglucan gels were typical of those for elastic gels, but the Pluronic showed different rheological behaviour to that of the xyloglucan gel. All of the Pluronic and xyloglucan sols formed gels at gelation temperatures decreasing over the range 21.5 to 10.2°C and 27.0 to 22.0°C with increasing concentration, respectively. The difference in gelling properties of sols was attributed to differences in the structure of the gels. The xyloglucan has recognized non-toxicity and higher moisture content in rat skin compared to that of the Pluronic. These results suggest that novel liquid cosmetic materials with on skin gelling properties can be developed by thermo-responsive intelligent polymers.

1. 緒言

ポリオキシエチレンとポリオキシプロピレンのブロック共重合体であるポロキサマー (Poloxamer) は、プルロニック (Pluronic[®]) として市販されている非イオン性界面活性剤である。このうちプルロニック F-127 (PLF-127) はエチレンオキシドとプロピレンオキシドが7対3から成る分子量 11,500 の高分子化合物であり (Fig. 1)、プルロニック類の中で最も毒性の少ないもののひとつとして知られている¹⁾。さらに PLF-127 の濃厚溶液 (20-30% w/w) は低温では液体でゾル状態であるが、室温や体温ではゲルを形成する性質 (熱応答性ゲル化) がある。

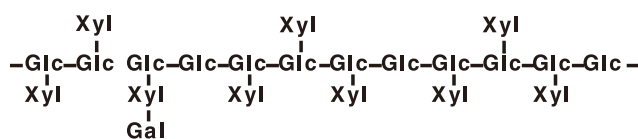
PLF-127 は、当初は人工皮膚として使用された¹⁾。このゲルに殺菌剤として硝酸銀や乳酸銀を混合したものを熱傷面に塗ると、感染や敗血症を防止し、しかも創傷治癒を妨げないという。Nalbandian ら²⁾ は、火傷皮膚の治療に人工皮膚として PLF-127 を用いると、治癒速度が促進されることを報告している。これらのことから、PLF-127 は経皮吸収剤のゲル基剤としての有用性も期待された³⁾。低温で保存したプルロニック溶液を皮膚や傷の深いところに適

用すると、皮膚や創傷面の深部にまで達する。しかし、体温では急速にゲル化するため、局所滞留性や薬物徐放性を示す。また、プルロニックは水溶性であるため、使用後は水洗で簡単に除去することができるなどの特徴がある⁴⁾。

豆科植物タマリンド (Tamarindus indica) の種子中に存在するガラクトキシログルカン (GXG) は、増粘安定剤として主に食品分野で広く用いられている。GXG はセルロースと同じ β -1, 4 グルカン主鎖とし、側鎖に α -1, 6 でキシロース、このキシロースに β -1, 2 でガラクトースが結合している (Fig. 1)。この側鎖ガラクトースの個数が0個の7糖、1個の8糖、2個の9糖がGXGの基本ユニットとなっている。最近、このGXGの側鎖ガラクトースを β -ガラクトシダーゼによって除去率30-55%で部分除去した物質 (GXG-TG, Fig. 1) が、低濃度 (1-3% w/w) で可逆的に冷却によってゾル化、加熱によって



Pluronic F-127 (PLF-127)



Galactoxyloglucan Trimming Galactose

Fig.1 Structures of PLF-127 and GXG-TG



Development of novel cosmetic materials with on skin gelling properties of thermo- responsible intelligent polymers

Shozo Miyazaki

Faculty of Pharmaceutical Sciences
Health Science University of Hokkaido

ゲル化するという、通常のゲル化多糖と異なる現象を示すことが見いだされた⁵⁾。この物質は天然物由来の多糖であり、1-3 % w/w の低濃度で熱応答性ゲル化を示すことから、生体に対して安全なことが予想された。

著者らは先に、PLF-127 及び GXG-TG の熱応答性ゲル化の特性にもとづいて、投与時は液体（ゾル）であるが体内ではゲルとなる新しい投与技術を開発した。すなわち、薬を PLF-127⁶⁾ あるいは GXG-TG⁷⁾ に溶解して直腸に投与したところ、薬の効果が持続する結果が得られた。したがって、薬を投与する時には液体であるため容易に適用でき、また体温ではゲルとなるために薬の徐放性や投与部位に薬を長時間留めておくことが可能である。また、直腸ばかりでなく液剤のように飲み易い経口投与あるいは眼、鼻、皮膚、腹腔内など様々な薬の投与に応用できることが示唆された⁸⁻¹¹⁾。

本研究では、この熱応答性ゲル化の新技術を化粧品素材に応用し、「皮膚で固まる（ゲルとなる）新タイプの液体化粧品」の開発を試みた。そのためにまず、化粧品素材としての最適処方、基礎的物性及びゾル-ゲル転移について検討した。

2. 実験方法

2-1 試料

Pluronic F-127 (PLF-127) は Sigma 社から購入したものを、GXG-TG (Lot. 9530L、ガラクトース除去率 44%) は大日本製薬(株)より供与されたものを使用した。その他の試薬等は、すべて一級以上のものを使用した。

2-2 ゾルの調製

20%、25% 及び 30% w/w PLF-127 水溶液（ゾル）は、秤量した試料を低温で穏やかに攪拌しながら徐々に精製水あるいは pH 7.4 リン酸緩衝液に加え、分散・溶解させ冷蔵庫で一晩放置し、調製した。1、1.5 及び 2 % w/w GXG-TG 水溶液（ゾル）は、秤量した試料を精製水あるいは pH 7.4 リン酸緩衝液に加え、混合物をホモジナイザー（CM-200、(株)井内盛栄堂）で攪拌（室温及び氷冷下）することにより調製した。

2-3 ゾル粘度の測定

試料の水溶液（ゾル）の粘度は、E 型粘度計（TV-20 H model E、(株)トキメック）を用いて測定した。粘度計にコーンロータ（1° 34'×R24）を取り付け、ずり速度に対する粘度の関係を 5℃で測定した。

2-4 ゲル強度の測定

ゲルの破断強度解析は、レオメーター（RHEOMETER

CR-200D、(株)サン科学）を用いて行った。試料溶液 30g を 50 ml ビーカーに注入し、3 時間一定温度（37℃）に保存した後にいった。アダプターは直径 2.5cm の円形平板型を用い、試料台の上昇速度は 60mm/min で測定した。試験開始後、ゲルが破断され応力が大きく低下する点における荷重をゲル強度とした。また、ゲル強度が得られるまでにアダプターが移動した距離を変形とし、試料の厚みで除して歪みとした。

2-5 ゾル-ゲル転移の測定

PLF-127：一定温度（5℃）に保った 20 ml のゾル試料を入れたバイアル瓶を 37℃の水浴に入れ、一定速度で攪拌する時、攪拌子（20 mm）がプルロニックのゲル化により停止する時の温度（TAKARA・複合モード温度プリンタ D613、宝工業(株)）及び時間をゲル化温度及びゲル化時間とした。

GXG-TG：GXG-TG ゾルのゲル化挙動（ゲル化温度及びゲル化時間）は、試験管倒立法により測定した。すなわち、試験管に試料溶液（10g、2-3℃）を注入し、一定温度（10℃）の恒温槽に垂直に入れ、恒温槽内の温度を約 1℃ / 2 min の速度で昇温させ、ゲルを形成した時の温度を測定し、ゲル化温度とした。また、試験管を一定温度（20、30 及び 40℃）の恒温槽に垂直に入れ、ゲルを形成した時の時間を測定し、ゲル化時間とした。

2-6 皮膚水分量の測定

実験には、体重約 290g の Wistar 系雄性ラットを用いた。実験前日にペントバルビタール麻酔下、電気バリカン及び電気カミソリを用いて腹部を徐毛した。実験当日、ウレタン麻酔後背位固定し、1.5% w/w GXG-TG あるいは 25% w/w PLF-127 のゾル 0.5g を直径 2.12cm の面積に塗布した。2 時間後ゲルを取り除き、肌水分計（DM-R1-A、松下電器）により皮膚水分量を測定した。

3. 結果及び考察

3-1 液状化粧品としてのゾルの調製

ゾルの流動性は、化粧品適用時の使用性や展延性あるいは皮膚浸透性と関連して重要となる。塗りやすく細かいしわにも入り込むことの可能なゾル粘性を示し、皮膚で化粧品素材として十分な強度を有するゲルを形成するための最適処方を検討した。その結果、プルロニック（PLF-127）は 25% w/w 以上で、キシログルカン（GXG-TG）は 1.5% w/w 以上で、低温（> 5-7℃）ではゾルであるが体温では良好なゲルを形成することが判明した。

Fig. 2 は、pH 7.4 リン酸緩衝液を用いて調製した 25% w/w PLF-127 と 1.5% w/w GXG-TG の 5℃におけるゾル

粘性をE型粘度計により測定した結果である。キシログルカンのゾルは、プルロニックより大きな粘性を示した。またプルロニックはニュートン流動を示したのに対し、キシログルカンの粘性はずり速度の増加に伴い粘度は減少する非ニュートン性の流動を示した。

3-2 ゲル強度

Fig. 3は、レオメーターにより測定した37℃でのゲル破壊曲線を示したものである。この曲線においては、ゲル強度が大きいほどゲルは固く、また応力の傾きが小さいほど変形しやすいことを示す。ゲル強度が小で応力の傾きが大きければ、もろいゲルであることになる。キシログルカンではstrain（ひずみ、変形）が約0.6に破断点をもち、これ以降でstress（応力、ずり）は急激に減少した。このことから、キシログルカンはゼラチンのような弾力と寒天のようなもろさを併せ持っていることが判った。一方、プ

ルロニックはキシログルカンと異なる曲線流動を示した。これは、両者のゲル構造の違いによるものと考えられる。すなわち、ポリオキシエチレンとポリオキシプロピレンのブロック重合体であるPLF-127では、温度が上昇による球状ミセルの疎水的会合が生じるためにゲル化が起こる。一方GXG-TGのゲル化は、直鎖状糖類の架橋形成によりゲル化するものと推察される。

3-3 化粧品素材としてのゾル-ゲル転移の評価

PLF-127及びGXG-TGを液体（ゾル）として皮膚に適用した時のゲル化の転移温度及び転移時間を測定し、本ゲル化反応の定量的解析を行った。また、ゾル-ゲル転移機構についても考察を加えた。

20%、25%及び30% w/wのPLF-127ゾル（5℃、20 ml）を37℃に放置し、ゲルを形成する温度及び時間を測定した時の結果を、Fig. 4（A）に示す。プルロニック濃度が

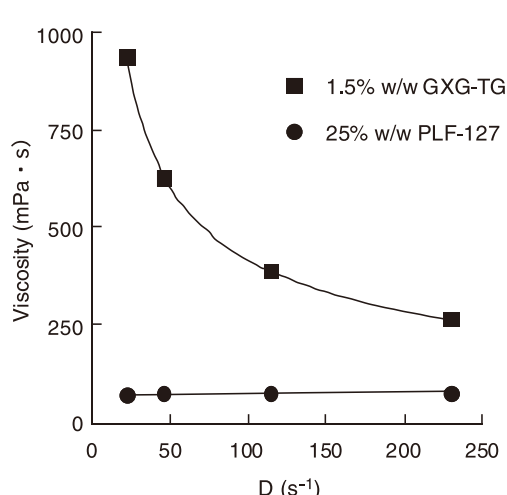


Fig.2 Viscosity of Sols of 1.5% w/w Xyloglucan and 25% w/w Pluronic F-127 in pH7.4 Phosphate Buffer at 5°C

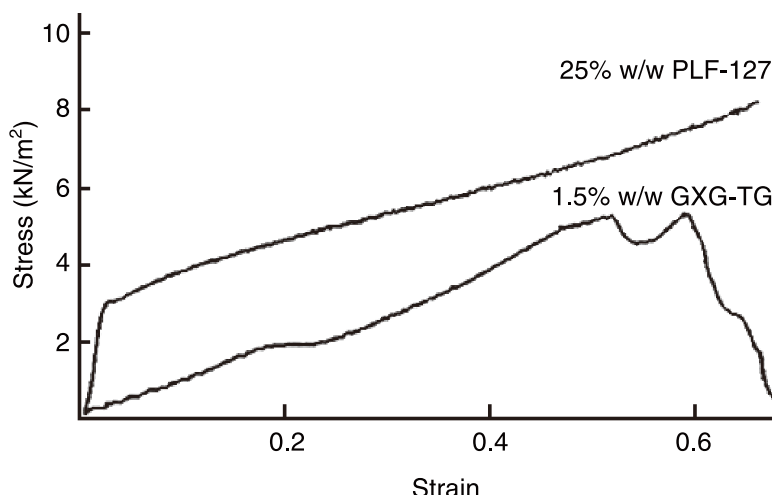


Fig.3 Rheological Properties of 1.5% w/w Xyloglucan and 25% w/w Pluronic F-127 in pH7.4 Phosphate Buffer at 37°C

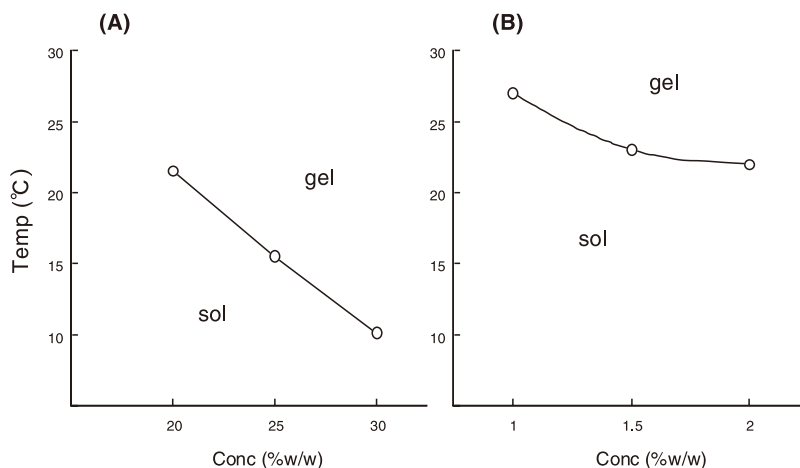


Fig.4 Sol-gel Transition Temperatures as a Function of PLF-127 (A) and GXG-TG (B) Concentration

高くなると、PLF-127 の熱容量が一定であることを反映してほぼ直線的に減少することが認められた。この結果から、25% w/w PLF-127 ゼルのゲル化温度は約 15.5℃であることが判った。また、この時のゲル化時間は約 1.7 分だった。

プルロニックは 2 個の親水性ポリオキシエチレン鎖 (POE) の間に疎水性ポリオキシプロピレン鎖 (POP) が位置する構造から成り、POE/POP/POE トリブロック重合体のミセルの充填により形成される立方体ゲルである¹²⁾。低温では水素結合により溶解しているが、温度が上昇すると疎水基近傍の水分子 (構造水) がはじきだされ、POP 同志の疎水的会合が生じるためにゲル化が起こるものと考えられる¹³⁾。従って、プルロニックの濃度が高い程、また疎水性の大きい程この会合が生じやすく、ゲル化が起こりやすいものと推察される。

1、1.5 及び 2% w/w GXG-TG ゼルのゾル-ゲル転移挙動を検討し、得られたゲル化温度を Fig. 4 (B) に示した。プルロニックと同様に、GXG-TG 濃度が高くなるに従いゲル化温度がほぼ直線的に減少することが認められた。この結果から、1.5% w/w の GXG-TG は約 23℃でゲル化することを示している。また、1.5% GXG-TG のゲル化時間は 30℃で約 3.4 分、40℃で約 1.8 分だった。

GXG-TG のゾル-ゲル転移機構についてはまだ明らかにされていないが、メチルセルロースのゲル化機構とほぼ同じであると考えられる。メチルセルロースにおいては、温度の上昇によってメチル基置換度の高いグルコース間の疎水的相互作用が強くなり、疎水性グルコースの多い領域が会合したフリンジドミセルを形成し、これがさらに架橋を形成してゲル化が起こることが示唆されている^{14, 15)}。これらの結果から、GXG-TG の濃度が高い程また疎水性の大きい程、この架橋形成が生じ易く、ゲル化が起こりやすいものと推察される。

3-4 皮膚保湿効果

PLF-127 及び GXG-TG は低温 (5℃) では液体でゾル状態であるが、室温 (25℃) や体温 (37℃) ではゲルを形成する性質 (熱応答性ゲル化) がある (Fig. 5)。プルロニック及びキシログルカンの皮膚保湿効果を、ゾルをラット腹部に塗布し、肌水分計により皮膚水分量を測定することにより評価した。肌水分計で測定した 2 時間後の水分量は、1.5% w/w GXG-TG で約 36% (35.8 ± 3.7 , mean $\pm$ S.E., $n=3$) だったのに対し、25% w/w PLF-127 では約 30% (29.6 ± 1.7 , mean $\pm$ S.E., $n=3$) だった。25% w/w PLF-127 ゼルを皮膚に塗布すると、皮膚表面で薄い、フィルム状ゲルを迅速に形成した。1.5% w/w GXG-TG ゼルの水分含量は 98.5%と高く、そのゲル形成はプルロニックより遅い。キシログルカンでは水分の蒸発によるゲルの水分含量の変化が皮膚の水和に与える影響はプルロニックより少なく、皮膚保湿効果が大きいことが予想された。

4. 総括

化粧品には固形 (パウダー、スティック) から半固形 (クリーム、ジェル) の他に液状 (化粧水、ローション) まで様々なタイプがあり、多くの物質が基剤として使用されている。ポリオキシエチレン (POE) とポリオキシプロピレン (POP) のブロック共重合体であるポロキサマーは、プルロニック (PLF-127) として市販されている非イオン性界面活性剤である。GXG-TG は、豆科植物タマリンドの種子中に存在するキシログルカン多糖の側鎖ガラクトースを β -ガラクトシダーゼによって約 44%除去した物質である。これらは何れも低温ではゾルであるが、体温ではゲルを形成する熱応答性ゲル化の特性がある。著者らは先に、PLF-127 及び GXG-TG の熱応答性ゲル化の特性にもとづ

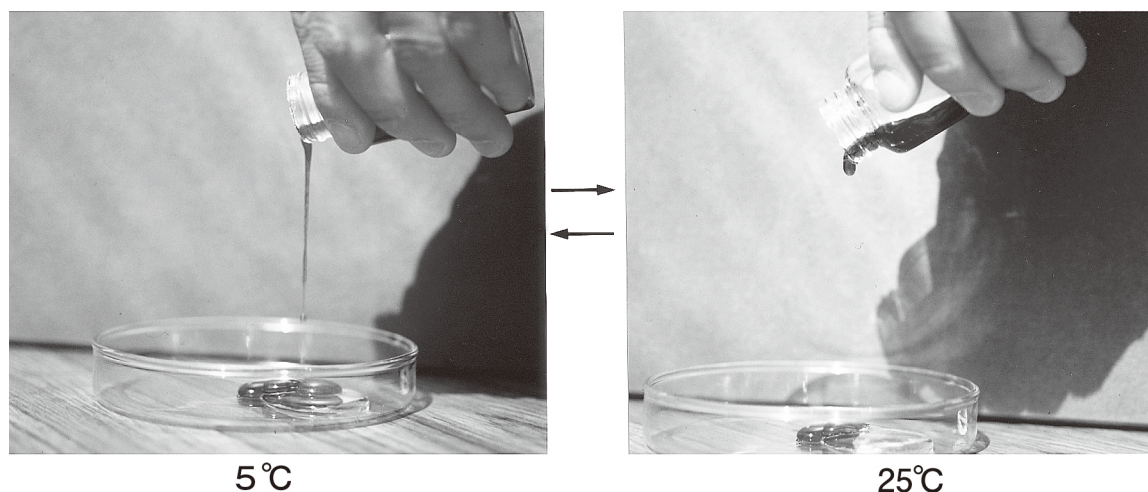


Fig.5 The Sol (5℃) or Gel (25℃) State of 25% w/w Pluronic F-127

いて、投与時は液体（ゾル）であるが体内ではゲルとなる新しい投与技術を開発した。本研究では、この熱応答性ゲル化の新技术を化粧品素材に応用し、「皮膚で固まる（ゲルとなる）新タイプの液体化粧品」を開発する。そのためにまず、化粧品素材としての最適処方を検討し、基礎的物性及びゾル-ゲル転移について検討した。その結果、低温で保存したゾルを液状化粧品として皮膚に適用すると体温ではゲル化するために、化粧品成分の浸透性や皮膚の保湿力を制御できることが期待された。さらに、皮膚やしわの細かな凹凸や深部にまでゾルが侵入できる。また PLF-127 及び GXG-TG は水溶性であるため、使用後は水洗で簡単に除去することができる。特にキシログルカンは天然多糖であり、低濃度（1-3 % w/w）で熱応答性ゲル化を生じるため毒性がなく、ヒトにやさしい化粧品素材（ヒューマンフレンドリーコスメ）として、また付加価値の高い新タイプの化粧品素材として今後の発展が大いに期待される。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご支援をいただきました(財)コスメトロジー研究振興財団及び共同研究者に深謝いたします。

(参考文献)

- 1) Schmolka, I.R. : Artificial skin I. Preparation and properties of Pluronic F-127 gels for treatment of burns, J. Biomed. Mater. Res., 6, 571-582, 1972.
- 2) Nalbandian, R.M. , Henry, R.L., Wilks, H.S. : Artificial skin II. Pluronic F-127 silver nitrate or silver lactate gel in the treatment of thermal burns, J. Biomed. Mater. Res., 6, 583-590, 1972.
- 3) Chen-Chow, P.-C. , Frank, S.G. : In vitro release of lidocaine from Pluronic F-127 gels, Int. J. Pharm., 8, 89-99, 1981.
- 4) Henry, R.L., Schmolka I.R. Burn wound coverings and the use of poloxamer preparations, Cri. Rev. Biocompat., 5, 207-220, 1989.
- 5) Shirakawa, M., Yamatoya, K., Nishinari, K.: Tailoring of xyloglucan properties using an enzyme, Food Hydrocolloids, 12, 25-28, 1998.
- 6) Miyazaki, S., Yokouchi, C., Nakamura, T., Hashiguchi, N., Hou, W.M., Takada, M.: Pluronic F127 gels as a novel vehicle for rectal administration of indomethacin, Chem. Pharm. Bull. , 34, 1801-1808, 1986 .
- 7) Miyazaki, S., Suisha, F., Kawasaki, N., Shirakawa, M., Yamatoya, K., Attwood, D., Thermally reversible xyloglucan gels as vehicles for rectal drug delivery, J. Control. Release, 56, 75-83, 1998.
- 8) Miyazaki, S., Tobiyama, T., Takada, M., Attwood, D.: Percutaneous absorption of indomethacin from Pluronic F127 gels in rats. J. Pharm. Pharmacol., 47, 455-457, 1995.
- 9) Suisha, F., Miyazaki, S., Kawasaki, N., Shirakawa, M., Yamatoya, K., Sasaki, M., Attwood, D. : Thermally gelling tamarind-derived Xyloglucan gels as sustained release vehicle for intraperitoneal administration of mitomycin C . Int. J. Pharm., 172, 27-32 , 1998.
- 10) Miyazaki, S., Kawasaki, N., Endo, K., Attwood, D.: Oral sustained delivery of theophylline from thermally reversible xyloglucan gels, J. Pharm. Pharmacol., 53, 1185-1191, 2001.
- 11) Miyazaki, S., Suzuki, S., Kawasaki, N., Attwood, D.: In situ gelling xyloglucan formulations for sustained release ocular delivery of pilocarpine hydrochloride, Int. J. Pharm., 229, 29-36, 2001.
- 12) Attwood, D., Collett, J.H., Tait, C.J. : The micellar properties of the poly (oxyethylene) -poly (oxypropylene) copolymer Pluronic F-127 in water and electrolyte solution, Int. J. Pharm., 26, 25-33 , 1985.
- 13) Booth, C., Attwood, D., Effects of block architecture and composition on the association properties of poly (oxyalkylene) copolymers in aqueous solution. Macromol. Rapid Commun. , 21, 501 (2000)
- 14) Haque A., Jones K., Richardson R.K., Morris E.R., Thermal gelation of methylcellulose: mechanism and structure, Gums and Stabilizers for the Food Industry, 7, 291-300, 1988.
- 15) Yuguchi, Y., Mimura, M., Urakawa, H., Kajiwar, K., Shirakawa, M., Yamatoya, K., Kitamura, S., Cross-linking structure formation of some polysaccharides in aqueous solution. In Proceedings of the international workshop on green polymers -Re-evaluation of natural polymers. Adishesha, H. T., Sudirjo, S. T., Panggabean, P. R., Arda, J. and Soetrono, C. W., (Eds.) Indonesian Polymer Association, Indonesia, 306-329 , 1997.