多孔性高分子粒子を用いた自発的乳化技術の開発

山口大学大学院創成科学研究科

通阪　栄一

A spontaneous emulsification method using porous polymer particles was used for the preparation of fine emulsions. Porous water-soluble polymer particles were prepared from EUDRAGIT® L100 by the spray freeze-drying technique and could absorb soybean oil via capillary action. When the particles were added to phosphate buffer, emulsification proceeded rapidly with the dissolution of the polymer. The addition of hydrophilic surfactants to soybean oil promoted the reduction of emulsion particle size. Furthermore, the addition of NaCl or mannitol to the polymer particles contributed to the enhancement of the emulsion micronization and emulsification rate. It is expected that this emulsificattion method would be used in the development of cosmetics in the future.

1．緒　言

化粧品において，水分と油分を配合し，良好な使用感を与えることのできるエマルションが広く利用されている[1)]。エマルションは物理化学的に準安定な状態であるため，常に保存時の安定性が課題となり，これを克服するために，組成，成分比，また均一で微細な液滴の調製技術などが検討されてきた。一方で，保存安定性への別のアプローチとして用時調製も検討されている。これは，保存時には水相と油相を分離しておき，使用直前に乳化することでエマルションの長期安定性の問題をクリアできる。

エマルション用時調製に最も利用されているのは自己乳化法である。この技術は，化粧品以上に難吸収性薬物の経口投与製剤の開発へ応用されており，Self-emulsifying drug delivery system（SEDDS）として知られている[2)]。特徴は，油と界面活性剤（ときには補助界面活性剤）の混合物に薬剤が溶解あるいは分散した油状製剤であり，水を加えると瞬時にエマルションを形成する点にある。近年では，より小さな粒子径からなる熱力学的に安定なマイクロエマルションを形成可能なSelf-microemulsifying drug delivery system（SMEDDS）に関する研究も国内外で盛んに行われている[3)]。SEDDSとSMEDDSの基本的な組成は同じであるが，後者は特に熱力学的に安定で等方的な（光学的に均一な）系として定義されている。これらの技術は多量の親水性界面活性剤の混合が必須である。

筆者はこれまでに，主に経口投与のためのエマルション製剤の開発を指向し，物理化学的に不安定な分散系溶液であるエマルションの保存安定性を高める研究を行ってきた。その取り組みの１つに，ドライエマルションの開発がある。これは油滴を封入した固体粒子であり，一度O/W型エマルションを形成後に，水溶性あるいは疎水性固体キャリアとともに噴霧乾燥，あるいは凍結乾燥することで，油滴を封入した固体粒子を調製する[4)]。このドライエマルションを水に添加すると固体キャリアの溶解や膨潤作用により内部の油滴が放出され元のエマルションが再生される。筆者はこれまでに，油滴にバイオ医薬品の１つであるインスリンを封入したドライエマルションを開発している[5)]。

また，ドライエマルションとは異なる概念での乳化法として多孔質シリカ粒子の細孔に油相を封入した自発的乳化法を開発した。この手法はシリカ粒子内に封入された油が水と触れただけで自発的に乳化するため，外力を必要としない乳化方法である[6, 7)]。これを発展させた乳化法として，最近，親水性高分子からなる多孔質粒子に油相を含浸させた粒子を用いた乳化技術を開発した[8)]。これまでの検討において，親水性エチレンオキシドと疎水性のプロピレンオキシドの共重合体であるプルロニックなどの，水中で速やかに溶解し生体適合性の高い高分子を用いることで，低分子界面活性剤が無添加でも安定なエマルションを形成可能であることを確認している。調製した粒子を水相に添加するだけで，高分子の溶解とともに油滴が形成され乳化することから，使用時に特別な機器を必要とせず，非常に簡便にエマルションを調製可能である。そのため，界面活性剤をほとんど使用しない用時調製エマルション調製技術として，非常に有望であると考えている。また，この自発的乳化に必要な多孔質粒子の調製に，確実に細孔が形成できる噴霧凍結乾燥技術を利用した。得られた粒子を油相と混合するだけで油相の含浸ができることから，工業化もしやすい技術であると考える。加えて，液体ではなく，固体粒子として油相成分を保存できることもハンドリングの面で大きなメリットになると考えられる。このように，本技術はこれまでにない新規乳化技術であり，化粧品への応用に有

Development of a spontaneous emulsification technique using porous polymer particles

Eiichi Toorisaka

Graduate School of Science & Technology for Innovation, Yamaguchi University

望な技術であると考えている。

本研究では，多孔質粒子を用いた自発的乳化のメカニズムの検討とともに，成分や，多孔質粒子の特性の乳化への影響についての知見を得ることを目指した。

2．方　法

2．1．噴霧凍結乾燥法による多孔質粒子の調製

0.4mol/Lの水酸化ナトリウム水溶液にオイドラギットL100（Eud-L100）を加え，10wt%濃度の高分子水溶液を調製した。この水溶液を，噴霧装置（ノズル径：0.71mm、送液流量：5mL/min、噴霧圧力：120kPa）を用いて液体窒素に噴霧し，凍結させた液滴を凍結乾燥することで粒子を得た。また，粒子の溶解性の制御のために水溶性添加物としてNaCl，あるいはD-マンニトールをEud溶液に混合し噴霧凍結乾燥した粒子も調製した。調製した粒子は，白金コーティングした後に集束イオンビーム加工装置（JEOL：JEM-9320FIB）により加工し観察した。

2．2　自発的乳化製剤の調製

大豆油とアセトンを1：1wt%で均一に混合した混合液20μLを攪拌しているEu-L100粒子10mgに滴下し，十分に含浸した後に一晩静置することでアセトンを除去した。この粒子をリン酸緩衝液（pH7.4）1mLに添加後，静置条件下での乳化挙動を観察した。また同様の方法で，大豆油と親水性界面活性剤Tween80の混合液も多孔性粒子へ封入して乳化特性を評価した。乳化後のエマルションの粒子径は，レーザー回折式粒子径分布測定装置（島津製作所：SALD-7100）で測定した。また，微細エマルションは動的光散乱粒子径測定装置（Malvern：ゼータサイザー Ultra）を用いた測定も行った。

2．3．乳化速度評価

2．1．で調製した自発的乳化製剤をリン酸緩衝液3mLの入った分光セルに添加して静置し，溶液の濁度変化を分光光度計（波長：600nm）で測定した。

2．4．油分解酵素で調製した多孔質粒子による自発的乳化評価

水溶性高分子として油脂分解酵素であるリパーゼを用いて，2．1．と同様の方法で噴霧凍結乾燥法による粒子調製を行った。大豆油を含浸した粒子をリン酸緩衝液に添加後，得られたエマルションの粒子径をレーザー回折式粒子径分布測定装置で測定した。

3．結果及び考察

3．1．多孔質高分子粒子による乳化特性

水溶性高分子であるEudragit® L100（Eud-L100）を用いて，自発的乳化に用いる多孔質粒子調製した。メタクリル酸コポリマーであるEud-L100は，中性以上のpHで溶解する特性から腸溶性コーティング剤として多く利用されている。図1に噴霧凍結乾燥を利用して調製したEud-L100粒子の走査型イオン顕微鏡像を示す。表面観察，断面観察の写真から確認できるように，多孔質粒子が形成されていた。噴霧凍結乾燥法を利用することで，噴霧した水滴の形状がそのまま乾燥されるため，良好に球状粒子が形成でき，また，氷が昇華で除去されることによる空隙形成で容易に多孔質粒子が調製できた。

続いて調製したEud-L100多孔質粒子に大豆油を含浸させ，リン酸緩衝液に添加することにより乳化挙動を確認した。図2に示すように，粒子を緩衝液に添加後に速やかに乳化が進行し，形成されたエマルションは1日以上安定に維持されることが判明した。攪拌や振盪などの外力のない環境下で，このような安定な微細エマルション形成が実現できた要因として，水溶性高分子Eud-L100の溶解とともに水が引き込まれ，それにより油滴が水へ分散し，その後，溶解した高分子が界面活性剤として作用したためと考えられる。また，この方法はエマルションの微細化法としても有効であり，同量のEud-L100を溶解した緩衝液を用いて大豆油をホモジナイザー（10,000rpm）で乳化した場合よりも大幅に微細なエマルションを形成できることが判明した（図3）。このような効果は，高分子乳化剤としても知られているプルロニックF127で調製した多孔質粒子でも確認しているが，プルロニックでは油相含浸後の粒子強度が低かったことから，粉体製剤としてのハンドリング性においてEud-L100の方が優れていると考えられる。

3．2．添加物の乳化特性への影響

エマルションを化粧品へ応用する場合において，粒子径は物性や皮膚浸透性に影響するため任意に制御することが重要となる。そこで，自己乳化技術で使用されている油相への親水性界面活性剤の添加の影響を評価した。表1に示すように，親水性界面活性剤として使用したTween 80の含有量が多いほどエマルションが微細化された。興味深いことに，Tween80を含む油相をそのまま緩衝液に添加した場合の乳化より大幅に微細なエマルションが形成された。このことから，多孔質粒子の利用が油相の分散に効果的であることが確認された。

また，多孔質粒子を形成するEud-L100に，NaClあるいはマンニトールを混合して乳化特性を評価した。これらの添加物は，形成されるエマルションの微細化に影響したが，添加量で大きな差が生じることはなかった（図4）。一方，乳化速度においては，添加物量が多いほど大きくなる傾向が確認された（図5）。NaClにしても，マンニトールにしても，水への溶解性が高いため，その添加量が高分子

の溶解性へも影響し，その結果，エマルション形成を促進することが推察された。

3. 3. 油脂分解酵素を用いて形成した粒子による乳化特性

多孔質粒子により形成したエマルションのさらなる微細化の方法として，油脂分解酵素によるエマルションの分解を取り入れた乳化法を検討した。これを実行するために，油脂分解酵素であるリパーゼを多孔性粒子を形成する水溶性高分子として用いて粒子調製を行った。噴霧凍結乾燥を用いて調製した粒子はEud-L100と同様に多孔質粒子であることが顕微鏡で確認された（図6）。この粒子に大豆油とTween80混合液を封入し乳化特性を評価したところ，Eud-L100で形成した粒子よりも微細なエマルション形成が可能となり，Tween80を20wt%以上含む油相を用いれば200nm以下のエマルションに制御できることが確認された（図7）。このことから，多孔質粒子による自発的乳化と酵素による油脂分解反応を組みあわせることで，わずかな界面活性剤の添加で微細エマルションを自発的形成（外力なしで乳化）可能であることが判明した。

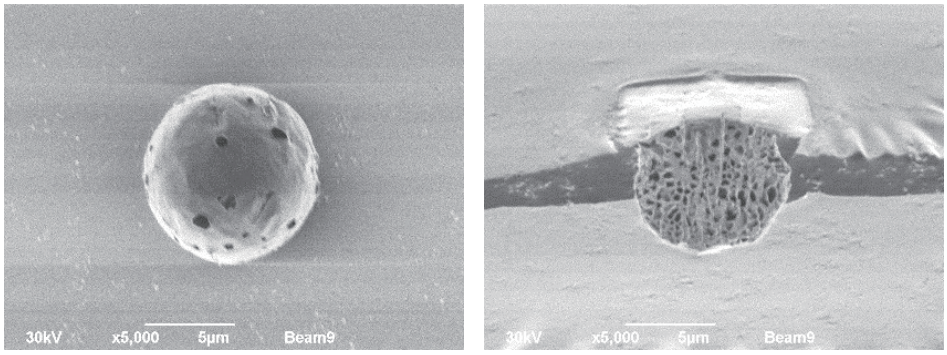

図1　噴霧凍結乾燥で調製した多孔質粒子
（左）粒子表面，（右）粒子断面

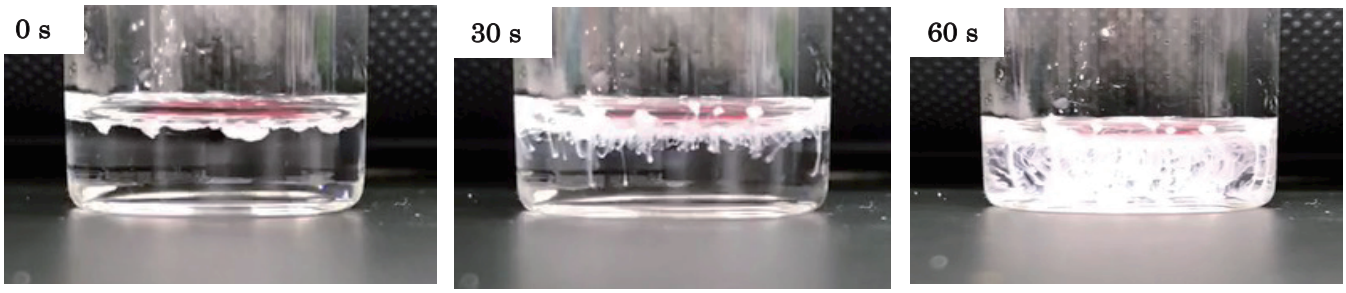

図2　多孔質粒子による乳化挙動

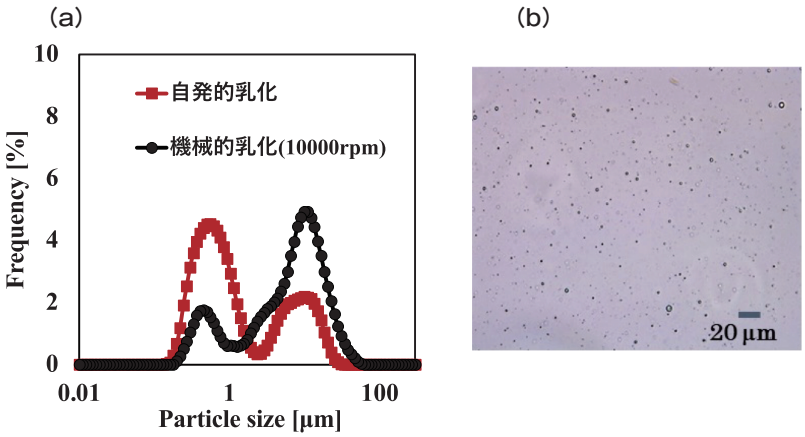

図3　自発的乳化と機械的乳化により形成したエマルション
(a) 粒子径分布，(b) 自発的乳化で形成したエマルションの顕微鏡写真

表１　油相組成とエマルション粒子径の関係

油相組成 [wt%]		平均粒子径 [μm]	
大豆油	Tween80	粒子を用いた乳化	油相のみで乳化
100	0	3.92	-
90	10	1.38	41.42
80	20	1.14	66.26
60	40	1.89	21.25
40	60	0.94	22.68
20	80	0.44	6.51

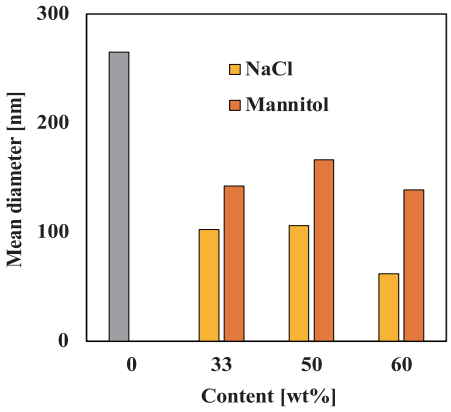

図４　多孔質粒子添加物のエマルション粒子径への影響

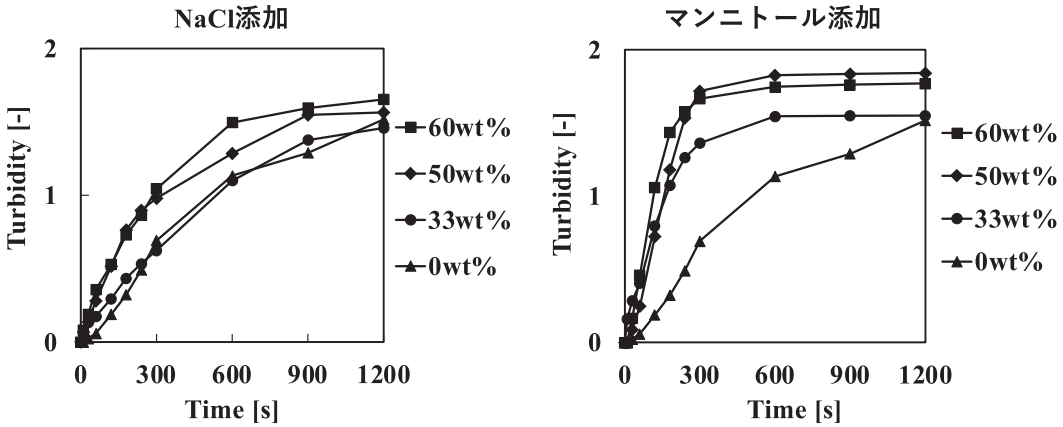

図５　多孔質粒子添加物のエマルション形成速度への影響

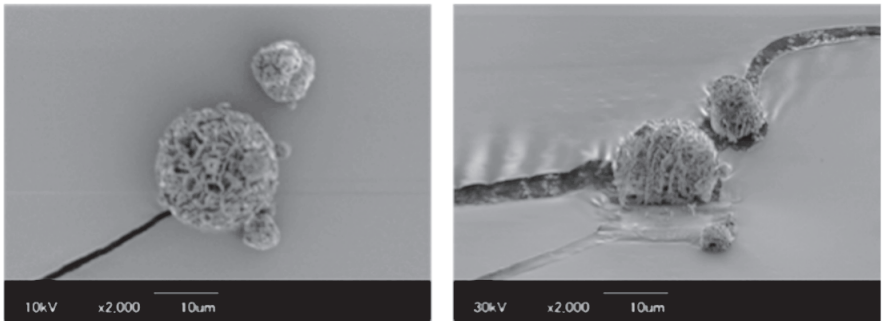

図６　リパーゼで形成した粒子のイオン顕微鏡観察写真
（左）表面，（右）断面

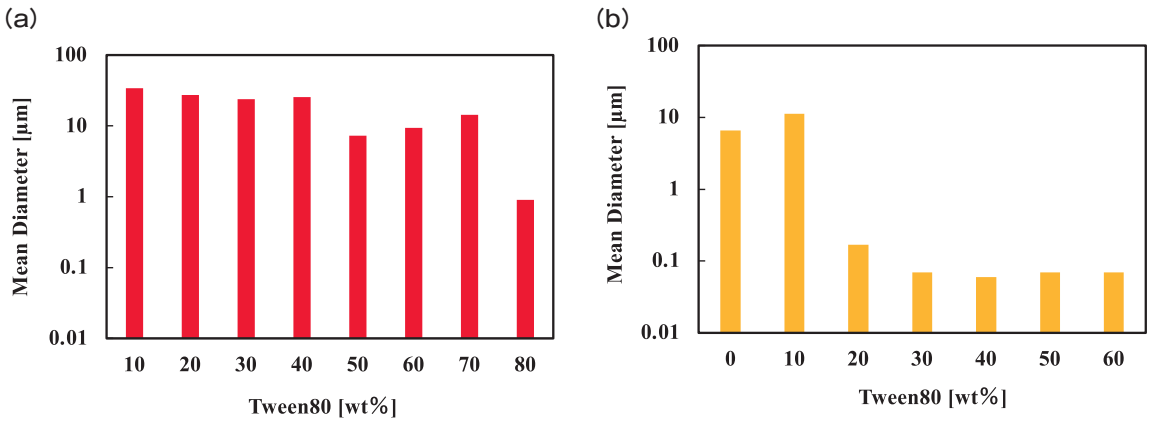

図７　多孔質酵素粒子による乳化特性
(a) 油相を添加した乳化，(b) 多孔質酵素粒子を用いた乳化

4．総　括

本研究では水溶性高分子から形成した多孔質粒子による自発的乳化法を汎用性の高い技術とするために，経口投与製剤添加物として利用されているオイドラギットL-100から粒子調製を行い，乳化特性を評価した。界面活性剤フリー，もしくは界面活性剤含有量の大幅低減した乳化技術として，そしてせん断応力を全く利用しない乳化技術として，一般的に知られている多量の水溶性界面活性を用いた自己乳化技術より利用価値が高いことが示唆された。この技術は，乳化成分として，水溶性高分子，油のみでエマルション調製が可能であり，また，粒子調製段階において有機溶媒などを使用しないことから，安全性の高いエマルションを提供可能である。また，水溶性高分子によって形成された粒子が乳化を促進するため，これまでにない処方でエマルションを提供できる。本技術は用時調製用のエマルション調製技術であり，使用時まで油相を固体微粒子として保存できる。高い保存性と粉末化によるハンドリング性の良さは，これまでの乳化技術と異なる。

このような新しい乳化技術を提供することは，消費者ニーズにあうこれまでにない化粧品開発につながるものと考える。

謝　辞

本研究を遂行するにあたり，多大なご支援をいただきました公益財団法人コーセーコスメトロジー研究財団に心より感謝申し上げます。

（引用文献）

1） M. N. Yukuyama, D. D. M. Ghisleni, T. J. A. Pinto and N. A. Bou-Chacra, *Int. J. Cosme. Sci.*, **38**, 13-24 (2016)
2） Chatterjee, S.M. Almurisi, A.A.M. Dukhan, U.K. Mandal, P. Sengupta, *Drug Deliv.*, **23** (**9**), 3639-3652 (2016)
3） S. Dokania and A.-K. Hoshia, *Drug Deliv.*, **22** (**6**), 675-690 (2015)
4） H. Takeuchi, H. Sasaki, T. Niwa, T. Hino, Y. Kawashima, K. Uesugi, M. Kayano, Y. Miyake., *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 1528-1531 (1991)
5） E. Toorisaka, M. Hashida, N. Kamiya, H. Ono, Y. Kokazu, M. Goto, *J Control Release*. **107**, 91-96 (2005)
6） E. Toorisaka, Y. Nakayama, *J. Oleo Sci.*, **69** (**5**), 455-460 (2020)
7） 通阪栄一,*ケミカルエンジニヤリング*,**64**(**8**),50-55(2019)
8） E. Toorisaka, D. Yamamoto, *J. Oleo* Sci., **70** (**8**), 1103-1107 (2021)