報 文

生体適合性界面活性剤系における W/O 型
マイクロエマルジョンの形成田岡 英実^{*1}・小川 悦子^{*1}・高橋 正雄^{*2}・國枝 博信^{*1}^{*1} 横浜国立大学大学院工学研究科人工環境システム学専攻 (〒240 横浜市保土ヶ谷区常盤台 79-5)^{*2} 中外製薬株式会社中央研究所内 ASR 研 (〒171 東京都豊島区高田 3-41-8)Formation of W/O Type Microemulsions in
Biocompatible Surfactant SystemsHidemi TAOKA^{*1}, Etsuko OGAWA^{*1}, Masao TAKAHASHI^{*2}, and Hironobu KUNIEDA^{*1}^{*1} Division of Artificial Environments Systems, Graduate School of Engineering,

Yokohama National University (79-5 Tokiwadai, Hodogaya-ku, Yokohama-shi, 〒240)

^{*2} Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. Institute for Advanced Skin Research Inc.

(3-41-8 Takada, Toshima-ku, Tokyo, 〒171)

Abstract : W/O-type microemulsions are formed in Ringer's solution/sodium taurocholate (NaTC)/sorbitan laurate (SL-10)/isopropyl myristate (IPM) system. The solubilization of water becomes maximum when the hydrophile-lipophile features of the mixed surfactant are optimal in a given oil/water system. Polyoxyethylene hydrogenated castor oil (HCO-10) is slightly hydrophilic and its solubilization is reduced when mixed with NaTC, with glycerol tris (2-ethyl) hexanoate (TEH) or IPM as an oil. When HCO-10 is combined with more lipophilic cosurfactant, SL-10, glycerol 1-oleate (MGO), solubilization increases. HLB of HCO-10 alone is optimal in a water/IPM system and the solubilization of water is reduced whenever a lipophilic or hydrophilic surfactant is present. Examination was also made of the effects of temperature and the types of oils (IPM, TEH) on the formation of microemulsions.

Key words : W/O-type microemulsion, bile salt, hydrogenated castor oil, long-chain cosurfactant, triacylglycerol (triglyceride), IPM

1 緒 言

比較的少量の界面活性剤を用いて、多量の水、油を可溶化したマイクロエマルジョンは現在では、種々の分野に応用されるようになってきた¹⁾。その中で、油中に水を可溶化した W/O 型マイクロエマルジョンも薬物送達システムに応用されるようになってきた^{2)~4)}。それによると、Aerosol OT などを用いて、生理活性ペプチドを W/O 型マイクロエマルジョン化すると、粘膜、経鼻吸収が促進され、実用化の域にまで達することが明らかになった。これは、W/O 型マイクロエマルジョン化により、微細な粒子を得られることと、タンパク分解酵素からの保護が可能になったためと考えられる。

マイクロエマルジョンは通常、親水性の界面活性剤と

親油性の補助界面活性剤 (cosurfactant) を組み合わせ、生成する場合が多い。医薬、食品、化粧品などに応用するためには、生体適合性の界面活性剤、cosurfactant、油類を用いなければならない。しかし、従来用いられる界面活性剤は必ずしも、生体適合性は考慮されておらず、cosurfactant も、主に炭素数 5~8 の中鎖アルコールを組み合わせる場合が多い⁵⁾。生体系に適用する場合、安全性の観点からアルコール以外のソルビタン脂肪酸エステル・モノアシルグリセリン、ポリオキシエチレン硬化ひまし油などが望ましい⁶⁾。代表的な生体適合性界面活性剤として、生体内で脂質の消化吸収に用いられている胆汁酸塩などがある^{7),8)}。これらの界面活性剤系においては主に O/W 型マイクロエマルジョン形成について報告されている^{9)~11)}。

本研究は、マイクロエマルジョンの性質 (熱力学的に

連絡者：國枝博信

安定な可溶性系であり、調製法によらず生成し、粒径が小さい)に着目し、薬物送達システム(DDS)構築のためにW/O型マイクロエマルジョンの形成を目的とした。また、界面活性剤や分散相となる油には、安全性の観点から、トリアシルグリセリン(トリグリセリド)、イソプロピルミリステート(IPM)を用いた。

2 実験

2.1 試料

界面活性剤として胆汁酸塩、タウロコール酸ナトリウム(NaTC)はシグマ化学社製のものをを用いた。また、オキシエチレンユニットが10であるポリオキシエチレン硬化ひまし油(HCO-10)は日光ケミカルズ(株)社製を用いた。親油性のcosurfactantとしてソルビタンラウレート(SL-10)、グリセリン=1-オレエート(MGO)は日光ケミカルズ(株)社製を用いた。また、両親媒製油として、日清製油(株)社製のグリセリン=トリス(2-エチル)ヘキサノエート(TEH)、東京化成工業(株)社製のイソプロピルミリステート(IPM)を用いた。水相として、人間の体液と浸透圧の等しい溶液、等張リン酸緩衝溶液(Ringer's solution)を蒸留水100 mL中にNaCl 0.8 g, NaH_2PO_4 0.02 g, Na_2HPO_4 0.118 gを加えて調製し、使用した。

2.2 実験方法

界面活性剤濃度を系に対して10 wt%と固定し、油水比及び界面活性剤の混合比を変え、25°Cのもとで、相平衡を検討した。相平衡図は所定の組成のサンプルをアンフル中に封入し、恒温水槽中で振とう、かきまぜ後、静置し、その状態を目視により確認して求めた。液晶は、偏光板及び偏光顕微鏡を用いて検出した。

3 結果と考察

3.1 胆汁酸塩(NaTC)系マイクロエマルジョンの形成

界面活性剤としてNaTC, cosurfactantとしてSL-10を用いた相平衡図をFig. 1に示す。SL-10は単独ではIPMと液晶を形成する傾向にあるが、等張食塩水の添加によって液晶は破壊され、II液相となる。この系においては、界面活性剤とcosurfactantの混合割合がおおよそ97:3において等張食塩水を5 wt%以上可溶化したW/O型マイクロエマルジョンI相が得られた。

次に、この可溶化の大きい油水比95:5(line A)において相体積変化を測定した。その結果をFig. 2に示す。NaTCの混合割合が高い、混合界面活性剤が親水性の条件では、界面活性剤が油、水を多量に可溶化した等方性の界面活性剤相(マイクロエマルジョン, D相)と分離した過剰の油相とのII液相を形成する。すなわち、この条件ではNaTC+SL-10の会合体は、油に完

Fig. 1 The Phase Diagram of the Ringer's solution/NaTC/SL-10/IPM System at 25°C. The total surfactant concentration is kept at 10 wt%. I, II are one-and two-phase regions.

Fig. 2 Volume Fractions of Respective Phases in a Ringer's solution/NaTC/SL-10/IPM System at 25°C.

The total surfactant concentration is kept at 10 wt%. The weight ratio of Ringer's solution/(Ringer's solution+IPM) is kept at 5/95. D and Om are surfactant and reverse micellar solution phases.

全には溶解しない。この場合、O/W型マイクロエマルジョンとも考えられるが、可溶化している油の量は、水よりはるかに多いので、D相とした。逆に、SL-10の混合割合の高いところでは、逆ミセル油溶液(W/Oマイ

クロエマルション, Om) と分離した過剰な水相とのⅡ液相となる。また, ちょうどこの間で油水を多量に可溶化したマイクロエマルションⅠ相が形成される。従って, Fig. 1のように, 油の非常に多い領域においても, 混合界面活性剤の形成する会合体は親水性から親油性へと移行し, HLB が最適となる条件で, 可溶化量の大きいマイクロエマルションⅠ相が形成されることが分かる。NaTC は非常に親水性の高い界面活性剤であり⁹⁾, そのため, SL-10 の割合が極端に大きいところで, HLB (Hydrophile-Lipophile Balance) が適度になる。この可溶化量の大きいマイクロエマルションの構造は明らかではないが, 油の量が極端に多いところで生成しているため, ここでは W/O 型マイクロエマルション (Om) とした。しかし, Fig. 2 を見て明らかのように, D 相から Om 相へは, 相分離を伴うことなく, 連続的に移行している。これは, 良く知られている非イオン界面活性剤/水/油系で, 温度を上昇させた場合の相変化と全く同じである¹²⁾。

次に, 界面活性剤として NaTC, cosurfactant として HCO-10 を用いた相平衡図を Fig. 3 に示す。HCO-10 単独ではこれらの油とは液晶を形成するが, 水の添加により W/O 型マイクロエマルションⅠ相を形成する。しかし, NaTC との混合により, 逆に可溶化量は減少する。つまり, HCO-10 は, 単独でも与えられた水/油系に対して HLB が適度, あるいは, やや親水性になっているため, NaTC を添加すると, 混合界面活性剤がよ

り親水性になり, その結果, 会合数が減り, 可溶化量は減少したと考えられる。このため, HCO-10 とより親油性の高い cosurfactant を混合することで界面活性剤の HLB は適度となり, 可溶化量は増大すると考えられる。

3・2 マイクロエマルション形成に及ぼす温度の影響

マイクロエマルションを実用化するためには温度によって, その相挙動が影響を受けにくいことが重要である¹³⁾。そこで, NaTC/SL-10 系における温度の影響を Fig. 1 の line A (油水比 95 : 5) 上において検討した。その結果を Fig. 4 に示す。低温側では, 界面活性剤の固化もしくは液晶形成のためにⅡ相となる。およそ 20℃以下から 50℃付近まで, 非常に広い温度範囲でマイクロエマルションⅠ相領域が存在する。より高温になるにつれⅠ相領域は SL-10 の割合が高い方へと移行する。

このようなマイクロエマルション領域の温度による変化を考える場合の重要な因子は, 親油性の SL-10 の油への単分散濃度とマイクロエマルション中の微細な油水界面における混合界面活性剤分子層 (NaTC+SL-10) の混合割合の温度による変化であると考えられる。イオン

Fig. 3 The Phase Diagram of the Ringer's solution/NaTC/HCO-10/TEH or IPM System at 25°C. The total surfactant concentration is kept at 10 wt%. I, II are one- and two-phase regions.

Fig. 4 The Phase Diagram of the Ringer's solution/NaTC/SL-10/IPM System as a Function of Temperature. The total surfactant concentration is kept at 10 wt%. The weight ratio of IPM/(IPM+Ringer's solution) is kept at 95 wt%. I, II are one- and two-phase regions.

性界面活性剤と親油性非イオンの cosurfactant の組み合わせの場合、界面での混合割合は、温度依存性が小さいことが分かっている¹⁴⁾。従って、高温側で SL-10 の割合の高い方へ移行するのは、主に温度上昇に伴い SL-10 の油への単分散溶解度が大きくなるためと考えられる。

3・3 非イオン界面活性剤混合系のマイクロエマルジョン形成

前に述べたように、HCO-10 はやや親水性の高い界面活性剤として働いていると考えられる。そこで、界面活性剤として HCO-10、親油性 cosurfactant として SL-10、MGO を用いた相平衡図をそれぞれ Fig. 5 及び Fig. 6 に示す。これらの相平衡図から、油として TEH を用いた場合、Fig. 1、Fig. 2 に示した、NaTC/SL-10 系と同様の相挙動が観測され、HCO-10 の混合割合の高いところでは D+O の II 液相、より親油的な SL-10、MGO の割合の高いところでは Om+W の II 液相となる。そして、界面活性剤の HLB が適度なところで、可溶化量の大きい W/O 型マイクロエマルジョン I 相が得られた。cosurfactant として SL-10 を用いた場合には、界面活性剤の重量混合比およそ 36 : 64 において、等張食塩水を 10 wt% 程度可溶化したマイクロエマルジョン I 相が得られ、cosurfactant として MGO を用いた場合には、界面活性剤の重要混合比およそ 38 : 62 において、5 wt% 程度可溶化したマイクロエマルシ

ョン I 相が得られた。

一方、油として IPM を用いた系においては、SL-10 もしくは MGO を HCO-10 に混合すると、可溶化量は増えないか、あるいは逆に減少してしまう。水を添加すると、可溶化されない過剰の水相が分離し、Fig. 5 と Fig. 6 では、混合界面活性剤は水/IPM 系に対して、親油性になっていることが分かる。

すなわち、TEH 系では、HCO-10 単独では界面活性剤はやや親水性であり、親油性の cosurfactant を加えることによって、HLB は適度となる。一方、IPM 系では、HCO-10 単独で、与えられた系に対して、HLB は適度となっており、Fig. 3、Fig. 5、Fig. 6 から明らかなように、親水性、親油性の界面活性剤、どちらを加えても可溶化量は低下する傾向にある。

3・4 マイクロエマルジョン形成に及ぼす油の影響

Fig. 3、Fig. 5、Fig. 6 に示したように、IPM、TEH によって、界面活性剤の HLB が最適となる条件が異なる。油の種類とマイクロエマルジョン形成との関係は、ポリオキシエチレン系非イオン界面活性剤で詳しく検討されている¹⁵⁾。それによると、飽和炭化水素では、分子量が小さくなるほど、HLB 温度 (PIT) は低下する。つまり、一定温度で HLB が最適になるには、より親水性の界面活性剤を用いる必要がある。これは、小さな油分子ほど、界面活性剤分子層に溶け込みやすく、分子層の曲率を負にする傾向があるためである。この場合、負

Fig. 5 The Phase Diagram of the Ringer's solution/SL-10/HCO-10/IPM or TEH System at 25°C.

The total surfactant concentration is kept at 10 wt%. Om and D are reverse micellar solution and surfactant phases.

W and O are excess water and oil phases.

Fig. 6 The Phase Diagram of the Ringer's solution/HCO-10/MGO/IPM or TEH System at 25°C.

The total surfactant concentration is kept at 10 wt%. Om and D are reverse micellar solution and surfactant phases. O and W are excess oil and water phases.

とは、水に対して凹の曲率を意味する。極性基を持つ両親媒性の油は界面活性剤分子膜に溶け込み、混合膜を形成する傾向が大きく、より分子層を負にする傾向がある。

本研究で用いた IPM はエステルであるが、相挙動に及ぼす影響は通常の炭化水素と同様であることが分かっており、両親媒性は低い¹⁵⁾。一方、TEH は、末端にグリセリル基が存在し、両親媒性は IPM より高いと考えられる。事実、水/ポリオキシエチレンアルキルエーテル/TEH 系の相挙動は、通常の炭化水素と異なるという報告もある¹⁶⁾。従って、もし TEH の方が、界面活性剤分子膜へ溶け込む傾向が大であるなら、IPM と比較し、HLB を最適にするために、より親水性の界面活性剤を用いなければならない。ところが、Fig. 3, Fig. 5, Fig. 6 に示すように、結果は逆である。これは、TEH が疎水鎖 3 つからなり、IPM と比較して、体積が大きいことため界面活性剤混合分子層に入りにくいと考えられる。つまり、今回の場合、TEH と IPM 系における界面活性剤の HLB が適度となる条件の違いは、炭化水素油での分子量の違いと同様と考えられる。

4 総 括

胆汁酸塩 (NaTC) のような親水性の非常に高いイオン性界面活性剤に、親油性の cosurfactant (SL-10, MGO) を組み合わせることで、混合界面活性剤の HLB が適度になると、油の非常に多い領域においても W/O 型マイクロエマルション I 相は形成される。

同様に、HCO-10-MGO 系、HCO-10-SL-10 系のようになイオン界面活性剤を組み合わせる場合においても、与えられた水/油系に対して、混合界面活性剤の HLB が適度となれば油の多い領域で、W/O 型マイクロエマルション I 相は形成される。

本研究において形成された W/O 型マイクロエマル

ションは生体適合性をもち、ペプチドなどの水溶性物質を可溶化させることで、薬物としての機能を持つことができると考えられる。

(受付: 1997 年 6 月 3 日, 受理: 1997 年 9 月 10 日)

文 献

- 1) C. Solans, H. Kunieda ed, "Industrial Applications of microemulsions", Marcel Dekker, Inc. (1997) p. 97.
- 2) 高橋正雄, 松下浩司, 堤 秀樹, 立部貴典, 松岡章夫, 日本薬学会第 115 年会・薬理学, 製剤学部会講演要旨集 (仙台市) 30-P1-15-93 (1995).
- 3) 高橋正雄, 松下浩司, 堤 秀樹, 立部貴典, 松岡章夫, 日本薬学会第 116 年会・薬理学, 製剤学部会講演要旨集 4 (金沢市) 29-01-11-3 (1996).
- 4) 高橋正雄, 中村 薫, 松下浩司, 日本薬学会第 117 年会・薬理学, 製剤学部会講演要旨集 (町田市) 28-P1-9-71 (1997).
- 5) 國枝博信, 篠田耕三, 油化学, 29, 676 (1980).
- 6) 小西宏明, フレグランスジャーナル, 31, 47 (1978).
- 7) B. Isaksson, *Acta Soc. Med. upsaliensis*, 56, 177 (1951).
- 8) M.C. Carey, D.M. Small, *Arch. Intern. Med.*, 130, 506 (1972).
- 9) H. Kunieda, K. Ohyama, *J. Colloid Interface Sci.*, 136, 432 (1990).
- 10) H. kunieda, N. Ushio, A. Nakano, M. Miura, *J. Colloid Interface Sci.*, 159, 37 (1993).
- 11) H. Kunieda, *J. Colloid Interface Sci.*, 116, 224 (1987).
- 12) U. Olsson, K. Shinoda, B. Lindman, *J. Phys. Chem.*, 90, 4083 (1986).
- 13) 文献 1) Chapter 2.
- 14) H. Kunieda, K. Nakano, S. Yamaguchi, K. Shinoda, *J. Colloid Interface Sci.*, 107, 129 (1985).
- 15) H. Kunieda, K. Shinoda, *J. Colloid Interface Sci.*, 107, 107 (1985).
- 16) 國枝博信, 靱島一善, 油化学, 38, 996 (1989).

[報文] 生体適合性界面活性剤系における W/O 型 マイクロエマルジョンの形成

田岡 英実*¹・小川 悦子*¹・高橋 正雄*²・國枝 博信*¹

*¹ 横浜国立大学大学院工学研究科人工環境システム学専攻 (〒240 横浜市保土ヶ谷区常盤台 79-5)

*² 中外製薬株式会社中央研究所内 ASR 研 (〒171 東京都豊島区高田 3-41-8)

W/O 型マイクロエマルジョンは、等張生理食塩水/タウロコール酸ナトリウム (NaTC)/ソルビタンラウレート (SL-10)/イソプロピルミリスレート (IPM) 系において形成される。また、水の可溶化量は、与えられた油/水の系において混合界面活性剤の HLB が最適な条件において最大となる。ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 (HCO-10) は、わずかに親水性の強い界面活性剤であるが、NaTC との混合において、油として IPM、グリセリン=トリス (2-エチル) ヘキサノエート (TEH) を用いた場合可溶化量は減少する。しかし、HCO-10 をより親油的な co-surfactant, SL-10, グリセリン=1-オレエート (MGO) と混合させると、油として TEH を用いた場合可溶化量は増大する。

一方、HCO-10 単独の HLB は、水/IPM 系において適度であり、親水性もしくは親油性の界面活性剤と混合した場合、等張食塩水の可溶化量は減少する。

本研究においては、温度及び油の型による影響についても議論した。

(連絡者：国枝博信) Vol. 46, No. 12, 1475 (1997)

[報文] イチョウ葉エキスの抗酸化作用

野口 範子・西野 公大・鷲尾 英一

石 紅联・陳 京生・二木 鋭雄

東京大学先端科学技術研究センター (〒153 東京都目黒区駒場 4-6-1)

イチョウ葉エキス (GBE) の抗酸化活性について種々の反応系において調べた。GBE はガルビノキシルラジカルと速やかに反応し、また、ペルオキシラジカルのスカベンジャーとして働くことが明らかとなった。リノール酸メチル均一溶液や、大豆ホスファチジルコリンのリポソーム膜、そして低比重リポタンパク (LDL) の脂質酸化を濃度依存的に抑制した。さらに、GBE は α -トコフェロキシルラジカルを還元し、脂質や LDL の酸化において、 α -トコフェロールの減少を抑制することがわかった。これらの結果は GBE が *in vivo* においても *in vitro* と同様に有効な抗酸化物として働くことを示唆している。

(連絡者：野口範子) Vol. 46, No. 12, 1481 (1997)