Analysis of Micellar Structure in Aqueous Solutions Consisting of β -Glycyrrhetic Acid and Lauryldimethylamine Oxide*

Machiko Oda, Sadanori Ban, Hiroyuki Asano, Michiro Kitahara, Satoru Nakata

Research Laboratories, Nippon Menard Cosmetic Co.,Ltd. **

In the solubilization of β -Glycyrrhetic Acid (GA) in an aqueous solution of Lauryldimethylamine Oxide (AO), it was found that the viscosity of the solubilized solutions consisting of GA and AO (GA/AO) increased with the increase of the concentration of GA. Furthermore, the viscosity of GA/AO decreased with the increase of pH value caused by the addition of KOH. In this study, the micellar structure of GA/AO was investigated by using small-angle X-ray scattering (SAXS). From this analysis, it was recognized that the micellar shape and size changed with GA concentration and pH value.

Key words : β -Glycyrrhetic Acid, Lauryldimethylamine Oxide, small-angle X-ray scattering (SAXS), micellar structure, micellar shape, micellar size, solubilization, solubilized solution, viscosity, pH value

* Received, June 29, 2016; Accepted, July 7, 2016

** 2-7, Torimi-cho, Nishi-ku, Nagoya 451-0071, Japan

β -グリチルレチン酸／ラウリルジメチルアミン オキシド水溶液のミセル構造解析*

小田満智子, 坂 貞 徳, 浅 野 浩 志,
北 原 路 郎, 中 田 悟

日本メナード化粧品株式会社 総合研究所**

アルキルジメチルアミンオキシドを用いた β -グリチルレチン酸 (GA) の可溶化において、溶液中の GA 濃度が増加すると溶液粘度は上昇することがわかった。さらに、この系に水酸化カリウムを添加して溶液粘度の pH 依存性を検討したところ、pH が上昇すると溶液粘度は逆に低下することが見出された。そこで、これらの粘度変化の原因を検討するため、小角 X 線散乱 (SAXS) 測定を用いて溶液中のミセル状態を解析した。その結果、GA 濃度や pH の変化により、ミセルが形態変化することが明らかになったので報告する。

1. 緒 言

β -グリチルレチン酸 (GA) は急性や慢性の皮膚炎に対し著しい効果があるといわれており、細菌発育阻止、 5α -リダクターゼ活性阻害などの作用により、育毛効果をもつことが知られている。しかし、その効果の高さは知られているものの、高級アルコールやエタノールには溶解するが、水に難溶性を示すため化粧品へ配合するには製剤に制限があった¹⁾。そこでわれわれは、アルキルジメチルアミンオキシドを用いることで、GA を特異的に可溶化できることを見出し、これまでに報告している²⁾。しかし、その研究を詳細に検討していくと、GA 濃度の増加により溶液粘度が上昇し、さらにこのとき、溶液の pH は低下する傾向がみられた^{3), 4)}。そのため、アルカリを添加して pH 調整を行ったところ、pH 上昇に伴い溶液粘度は低下することが明らかになった⁵⁾。

そこで本研究では、GA 濃度や pH による粘度変化のメカニズムを調べるため、水溶液中におけるミセル状態の変化を粘弾性測定および小角 X 線散乱 (SAXS) 測定を用いた構造解析⁶⁾により検討したところ、興味のある知見が得られたので報告する。

2. 実 験

2.1. 試 料

GA は市販の化粧品グレード (商品名: β -グリチルレチン酸; 丸善製薬社製) をそのまま使用した。アルキルジメチルアミンオキシドにはラウリルジメチルアミンオキシド (AO) を選択し、試薬グレードである *n*-Dodecyl-*N*, *N*-Dimethylamine-*N*-Oxide, Anagrade (Anatrace 社製) および市販の化粧品グレードであるラウリルジメチルアミンオキシド 30% 溶液 (商品名: ソフタミン L; 東邦化学社製) をそのまま使用した。水酸化カリウムは試薬グレードの水酸化カリウム (関東化学社製) をそのまま使用した。

GA 可溶化溶液は、任意の濃度に調製した AO 水溶液に GA および水酸化カリウムを添加し、ホモジナイザー (Silverson 社製) により 8000 rpm で 5 分間攪拌して調製した。

2.2.1. 粘弾性測定

レオメーターは Physica MCR301 (Anton Paar 社製) を用いて、セルには共軸二重円筒 (ボブ $\phi 23.66$ mm, カップ $\phi 28.66$ mm) を用い、25°C で行った。

2.2.2. 小角 X 線散乱 (SAXS) 測定

あいちシンクロトロン光センターのビームラインの BL8S3 において SAXS 測定を行った。X 線のエネルギー 13.9 keV, X 線の波長 0.092 nm, カメラ長 1125 mm, 照射時間 1000 秒で測定した。測定サンプルは BL8S3 備え付けの溶液セル (厚さ 3 mm) を使用し、室温 (およそ 27°C) で行った。カメラには R-AXIS (リガク社製) を用い、イメージングプレートは 300×300 mm のものを使用した。

* 2016.6.29 受付, 2016.7.7 採用

** 〒451-0071 名古屋市西区鳥見町 2-7

また、得られた回折像は FIT2D プログラムにより一次元化した。

散乱ベクトル q の絶対値は、散乱角度 2θ 、X 線の波長 λ として、以下のように求めた。

$$|q| = (4\pi \sin\theta)/\lambda$$

SAXS データを規格化するために、一次元化したサンプルデータ I_n 、サンプル照射時の強度データ I_s 、サンプルの透過率 T_s 、一次元化した溶媒のデータ I_w 、溶媒照射時の強度データ I_0 、溶媒の透過率 T_0 とし、あいしンクロトン光センターのビーム強度に合わせて規格化するため、その規格化データ I'_n を以下のように算出した。

$$I'_n = I_n \times (I_0/I_s) \times (T_0/T_s) - I_w$$

解析方法は、規格化した一次元化プロファイルを用い、 q のべき乗数の絶対値 (A) よりミセル形状を解析した。さらに一次元化プロファイルを Guinier プロットや Cross Section プロットに変換し、回転半径 (R_g) および球状ミセルでは球の直径 ($2R$)、楕円状ミセルでは短軸長 ($2a$) および長軸長 ($2b$)、円柱状ミセルでは円の断面直径 ($2c$) および長さ (H) を求めてミセルサイズを解析した³⁾。

2.2.3. 粘度測定

B 形粘度計は TVB-10M 形粘度計 (東機産業社製) を用い、ロータ M2、回転数 12 rpm、測定時間 30 秒、温度 20℃ で行った。

3. 結果

3.1. 粘弾性測定

試薬グレード AO 濃度 25 wt% 水溶液に GA 濃度 0, 2.5, 5.0 および 7.5 wt% となるように調製し、測定を行った結果を Fig.-1 に示す。これら GA 濃度の範囲ではすべてニュートン性を示しており、紐状ミセルのような絡み合い構造はみられないと考えられる。

3.2. SAXS 測定 [AO/水 2 成分系]

Fig.-2 に試薬グレード AO 0.5, 0.6, 0.7 および 0.8 wt% 溶液の一次元化した散乱プロファイルを示す。規格化した一次元化プロファイルは 0.5~0.8 wt% ではいずれも同じプロファイルであり、上に凸の多重散乱を示すデータはみられなかった。さらに、各濃度について SAXS プロファイルの散乱強度が低下し始める Guinier 領域 I (領域 I) および領域 I に引き続き散乱強度が低下する Guinier 領域 II (領域 II) において解析を行い、粒子サイズと形状を調べた。Table-1 に解析した結果を示す。AO 濃度 0.5~0.8 wt% では、回転半径 (R_g) の値、そして q のべき乗数の絶対値がほぼ 4 であることから、直径約 2.8 nm の球状ミセルを形成していると考えられる。

さらに本解析の妥当性を調べるため、直径 2.84 nm の球状ミセルと仮定して linear プロットから AO 濃度 0.5 wt% のデータを解析した結果を Fig.-3 に示す。理論値と実測値の結果を比較すると、散乱強度の一次極大 ($qR:0$ 付近) と二次極大 ($qR:6$ 付近) の値がほぼ一致しており、理論計算による一次極大と二次極大の強度比率が 1/133 となっていることから、0.5 wt% の AO 水溶液では約 2.84 nm の球状ミセルであることが確認できた。また、AO 濃度 0.6, 0.7 および 0.8 wt% のときも同様に確認できた。

次に AO のグレードによる比較を行った。0.5 wt% 試薬

Fig.-1 Variation of viscosity around shear rate for GA 25 wt% AO solution with various concentrations of GA.

Fig.-2 SAXS profiles of AO solution with the concentration range from 0.5 wt% to 0.8 wt%.

Table-1 Results of the micellar shape and size of AO solution with various AO concentrations.

AO (wt%)	R_g	A	Shape	$2R$ (nm)
0.5	1.10	4.04	Spherical	2.84
0.6	1.11	4.10	Spherical	2.86
0.7	1.10	4.04	Spherical	2.84
0.8	1.10	4.07	Spherical	2.84

Fig.-3 Comparison of actual SAXS profile of 0.5 wt% AO and theoretical value by analysis of linear plot.

グレード AO と 0.5 wt% 化粧品グレード AO の SAXS 測定を行い、解析した結果を Table-2 に示す。解析結果はほぼ一致しており、AO のグレードによる有意な差はみられなかった。この結果から化粧品グレードでも物性研究が可能であることが確認できたため、以下の実験は化粧品グレードの AO を使用して行った。

3.3. SAXS 測定 [GA/AO/水 3 成分系]

化粧品グレードである 0.5 wt% の AO 溶液に GA を 0.05, 0.10 および 0.15 wt% となるように添加し、可溶化させた溶液の散乱プロファイルを Fig-4 に示す。散乱強度が低下し始める領域（領域Ⅰ）で強度減衰が始まる q 値は GA 濃度とともに低い q 側にシフトしており、ミセルが大きくなり異方性になることが示唆される。また、領域Ⅰに引き続き散乱強度が低下する領域（領域Ⅱ）の q のべき乗数の絶対値を比較すると値が小さくなっていることがわかった。そこで、GA 添加によるミセル形状の変化を解析した結果を Table-3 に示す。GA 可溶化量が増加すると、領域Ⅰより求めた回転半径 (R_g) は増大し、領域Ⅱにおけ

Table-2 Results of the micellar shape and size of 0.5 wt% AO solution in reagent grade and cosmetic grade.

AO grade	R_g	A	Shape	$2R$ (nm)
Reagent	1.10	4.04	Spherical	2.84
Cosmetic	1.09	4.10	Spherical	2.86

Fig.-4 SAXS profiles of 0.5 wt% AO solution with various concentrations of the solubilized GA.

る q のべき乗数の絶対値が 4.04 から 3.57, 3.31, 1.09 と変化したことから、ミセル形状は球状から楕円状、円柱状へと膨張してミセル成長することが明らかになった。これは GA 可溶化量が増加するとともに、ミセル溶液の粘度が上昇する結果と一致している。

3.4. 粘度測定

GA 濃度 1.5 wt%, AO 濃度 5 wt% となるように調製したサンプルに水酸化カリウムを添加し pH と溶液粘度の関係を調べた結果を Fig-5 に示す。pH が上昇すると溶液粘度が低下し、やがてほぼ一定になることがわかった。また、可溶化限界を超えて 2 相分離した溶液に水酸化カリウムを添加したところ、2 相から 1 相へと変換し可溶化能が増大することも明らかになった。そこで、ミセル構造の pH 依存性についても調べた。

3.5. SAXS 測定 [GA/AO/KOH/水 4 成分系]

Fig-6 は、楕円状ミセルを形成していた系 (AO 0.5 wt%, GA 0.1 wt%) に水酸化カリウムを添加して pH 調整を行ったときの SAXS 測定の解析結果である。pH が 6.87, 7.46, 7.76 および 8.16 のときの散乱プロファイルを Guinier プロットおよび Cross section プロットで解析した。その結果、領域Ⅰから求めた回転半径 (R_g) は小さく

Table-3 Results of the micellar shape and size of 0.5 wt% AO solution with various concentrations of the solubilized GA.

GA (wt%)	R_g	Shape	(Sphere) 2R (Ellipse) 2a (Cylinder) 2c (nm)	(Sphere)- (Ellipse) 2b (Cylinder) H (nm)
0	1.10	Sphere	2.86	—
0.05	1.60	Ellipse	2.50	8.47
0.1	2.17	Ellipse	2.35	12.65
0.15	5.72	Cylinder	2.20	19.64

Fig.-5 Plots of viscosity for the solution consisting of GA (1.5 wt%) and AO (5 wt%) vs. pH value.

Fig.-6 SAXS profiles of the solution consisting of GA (0.1 wt%) and AO (0.5 wt%) with various pH values.

なり、領域Ⅱにおける q のべき乗数の絶対値が 3.31 から 3.40, 3.31, 3.72 と変化して 4 に近づいていく傾向を示したことから、pH 上昇に伴い、楕円状ミセルから小さくなりながら球に近い状態になることがわかった (Table-4)。この結果は、pH が上昇するとともに溶液粘度が低下する現象と一致した。なお、pH が 9.00, 10.24 および 10.72 の場合は、散乱プロファイルが上に凸になっており、ミセル粒子の多重散乱が観察されたため、今回の解析手法は同様な解析を行うことができなかった。

また、円柱状ミセルを形成していた系 (AO 0.5 wt%, GA 0.15 wt%) でも水酸化カリウムを添加してミセル状態の pH 依存性を解析した結果、楕円状のとときと同様に、ミセルが円柱状から小さな楕円状へと形態変化しながら縮小していることがわかった (Table-5)。

4. 考 察

可溶性溶液中の GA 濃度が増加すると、ミセル形状が球状から楕円状、円柱状へと成長していることが SAXS 測

定の解析結果から明らかになった。溶液粘度の上昇は、ミセル成長により起こったと考えられる。ミセル成長のメカニズムは、AO 単独では 1 分子の分子占有形態が円錐状であったものが、GA が添加されることにより AO と GA がイオンペアを作り、1 分子として振る舞うようになる。それにより、占有形態が円錐状から切頭円錐状へと変化し、溶液中の切頭円錐の割合が増加することでミセル成長したと考えられる。

水酸化カリウムを添加した系では、pH を上昇させると溶液粘度が減少した。これは、ミセルが形態変化しながら縮小したためであると考えられる。水酸化カリウムを添加することにより、GA のカルボキシル基が中和されてイオン解離し、GA 単独で両親媒性分子として溶液中で存在できるようになる。これにより親水基部の面積が増加するため、少ない会合数でミセルを形成し、ミセルが縮小したと考えられる。また、GA 単独でミセル中に存在できるようになったため、GA の可溶化能が増大したと考えられる。

Table-4 Results of the micellar shape and size of the solution consisting of GA (0.1 wt%) and AO (0.5 wt%) with various pH values.

KOH/GA molar ratio	pH	R_g	Shape	$2a$ (nm)	$2b$ (nm)
0/3	6.87	2.17	Ellipse	2.35	12.65
1/3	7.46	1.86	Ellipse	2.14	7.74
2/3	7.76	1.46	Ellipse	2.14	5.75
3/3	8.16	1.00	Ellipse	2.14	3.17

Table-5 Results of the micellar shape and size of the solution consisting of GA (0.15 wt%) and AO (0.5 wt%) with various pH values.

KOH/GA molar ratio	pH	R_g	Shape	$2c$ (nm)	H (nm)
0/3	6.66	5.72	Cylinder	2.20	19.64
1/3	7.38	3.04	Ellipse	2.00	13.28
2/3	7.79	1.78	Ellipse	2.00	7.44
3/3	9.23	1.27	Ellipse	2.02	4.91

5. 結 論

GA/AO 可溶化溶液中の GA 濃度が増加すると、GA 溶存状態は球状から楕円状、円柱状へとミセル成長していった。これは GA 濃度が増大するとともに可溶化溶液の粘度上昇がみられた結果と一致している。

次に GA 可溶化溶液に水酸化カリウムを添加して pH を調整すると、ミセル形状が楕円状や円柱状から小さな楕円状ミセルへと縮小することがわかった。この結果は水酸化カリウムの添加量が増加して pH が上昇するとともに、溶液粘度が低下する結果と一致した。

本研究は GA を可溶化して化粧品へ配合することで製剤の幅が広がり、さらには GA 添加による粘度上昇を抑えた

製剤の開発に応用することができる。

引用文献

- 1) 化粧品原料辞典, 日光ケミカルズ, 1991, p.145
- 2) 特許第 5689242 号
- 3) 小田満智子, 坂 貞徳, 大矢真由, 中田 悟, 第 2 回 あいちシンクロtron光センター成果発表会予稿集, 67, 2014
- 4) 小田満智子, 坂 貞徳, 中田 悟, 第 66 回コロイドおよび界面化学討論会講演要旨集, 163, 2015
- 5) 小田満智子, 坂 貞徳, 中田 悟, あいちシンクロtron光センター成果発表会予稿集, 58, 2016
- 6) 松岡秀樹, 日本結晶学会誌, 41, 213-226 (1999)