New Water Soluble Lauroyl Lysine Derivative and Its Unique Physicochemical Properties for Cosmetics Applications*

Shun Kobayashi **, Kazuhiko Tobita ***, Eiko Oshimura **

** Research Institute for Bioscience Products & Fine Chemicals, Ajinomoto Co., Inc,

*** Specialty Chemicals Department Amino Science Division, Ajinomoto Co., Inc

N^ε-lauroyl lysine is an organic powder that is sparingly soluble in many kinds of cosmetic media. It is well known as a beneficial ingredient in various cosmetic applications: its excellent lubricity, water-repellency and non-greasy emolliency make it an ideal ingredient especially for makeups. However, its use in liquid formulations has been restricted because its inherent hydrophobicity makes it difficult to disperse in aqueous media. We developed derivatives of *N*^ε-lauroyl lysine to find a compound soluble in water, and studied its characteristics as a cosmetic ingredient. New bis(*N*^ε-lauroyl lysine) derivatives, which have gemini-type surfactant structures, composed of two *N*^ε-lauroyl lysines linked by alkylene chains of various lengths, were synthesized, and their properties in aqueous media were examined. We observed that a compound with an alkylene chain length of C10 (labeled GE-10-LL) formed hydrogel structured by a three-dimensional nanofiber network over a pH range of 5.0–7.0. Fourier transform infrared spectroscopy measurements revealed that GE-10-LL worked as a low molecular gelator, resulting in the formation of self-assembled nanofibers through hydrogen bonding. Additionally, GE-10-LL was observed to be an effective foam booster for various foaming surfactants, and to be a sensory modifier with beneficial characteristics of the original *N*^ε-lauroyl lysine. In addition, GE-10-LL can easily form multilamellar vesicles (MLVs) with sterol ester. These MLVs can be prepared by stirring spontaneously, and they could encapsulate water-soluble active ingredients. We measured the penetration of MLVs into the stratum corneum using *in vivo* confocal Raman spectroscopy.

Key words : *N*^ε-lauroyl lysine, gemini-type surfactant, multilamellar vesicle, self-assembled nanofibers, hydrogel, foam booster, lubricity, penetration, sterol ester, *in vivo* confocal Raman spectroscopy.

* Received, September 29, 2017; Accepted, December 7, 2017

** 1-1, Suzuki-cho, Kawasaki-ku, Kawasaki 210-8681, Japan

*** 1-15-1, Kyobashi, Chuo-ku, Tokyo 104-8315, Japan

新規水溶性ラウロイルリジン誘導体の 物理化学的評価と化粧品用途への応用*

小 林 瞬**, 飛 田 和 彦***, 押 村 英 子**,

味の素株式会社 バイオ・ファイン研究所, *味の素株式会社 化成品部

アミノ酸系機能性粉体である N^{ϵ} -ラウロイルリジンは、優れた滑沢性・撥水性を有し、メイクアップ化粧料をはじめ、幅広い化粧品に配合されている。しかし、 N^{ϵ} -ラウロイルリジンは、水にも油にも難溶性であるため、スキンケア商品や液体洗浄料などの液体剤型に対し、安定に配合することが難しかった。本研究では、 N^{ϵ} -ラウロイルリジンの特長を維持しつつ、液体化粧料への配合を容易とすることを目的とし、水溶性 N^{ϵ} -ラウロイルリジン誘導体の合成検討を行った。結果、2分子の N^{ϵ} -ラウロイルリジンとセバシン酸から形成されるジェミニ型誘導体は、pH 7 以上のアルカリ性領域では水に可溶であるものの、弱酸性～中性領域で水をゲル化させるというユニークな特長を有していた。なお、TEM 観察の結果から、ジェミニ型誘導体は自己集合体化により繊維構造を形成し、ゲル化能が発現していることが示唆された。また一方で、ジェミニ型誘導体と特定の添加剤を組み合わせることにより、マルチラメラベシクルを形成することを見出した。本稿では、これらの詳細な検討と化粧品用途への応用について報告する。

1. 緒 言

N^{ϵ} -ラウロイルリジン (Fig-1) は、発酵由来のアミノ酸である L -リジンと脂肪酸からなる六角板状結晶のアミノ酸系機能性粉体 (Fig-2) であり、その特長として、滑沢性に優れ、シルキーな感触を持つほか、無機粉体の表面に吸着して、撥水性を付与し、流動性を向上させるなどの表面改質効果を有する。そのため、感触改良剤、顔料分散剤として、メイクアップ製品で使用されているほかに、スキンケア、ヘアケア製品にも幅広く使用されている化合物である¹⁾。

しかし、その反面、 N^{ϵ} -ラウロイルリジンは水にも油に溶けない性質を示すために、化粧水や乳液、ヘアシャンプーといった液体化粧料へ安定的に配合するには相応の処方技術が必要である、という課題もあった。

そこで、本研究では、2分子の N^{ϵ} -ラウロイルリジンから形成されるジェミニ型構造に着目した。一般に、1鎖1親水基型の界面活性剤が架橋した構造を有するジェミニ型界面活性剤は、通常の1鎖1親水基型界面活性剤と比較してきわめて低い臨界ミセル濃度 (cmc) を示すことや、低

濃度領域でひも状ミセルやベシクルなどの高次な分子集合体を自発的に形成することが報告されている^{2)~4)}。

本稿では、前半にジェミニ型構造を有する N^{ϵ} -ラウロイルリジン誘導体が自発的に形成する pH 応答型分子集合体に関して報告し、後半に特定の化合物と混合した際に形成するマルチラメラベシクル製剤に関して報告する。

2. 実 験

2.1. 試 料

N^{ϵ} -ラウロイルリジンと炭素鎖 4~10 の末端ジカルボン酸を脱水縮合させ (Fig-3)、評価試料を得た。

ついで、得られた各評価試料 0.5 重量%水溶液を pH 9.0 に調整し、目視にて溶状観察を行った。結果、末端ジカルボン酸の炭素鎖長が 8 以下だと水へ溶解しなかった (Table-1)。そのため、本研究では炭素鎖長 10 のセバシン酸で N^{ϵ} -ラウロイルリジンを架橋したジェミニ型誘導体 (以下、GE-10-LL) を使用することとした。

2.2. 中和滴定

GE-10-LL (823.20 mg), 1 mol/L NaOH (3.21 g) を室温にて均一に混合したのちに、精製水で 100 mL へメスアップした。得られた 10 mmol/L GE-10-LL 水溶液に対して、0.1 mol/L HCl を 0.2 g ずつ滴下して中和滴定曲線を得た。

* 2017.9.29 受付, 2017.12.7 採用

** 〒212-8681 川崎市川崎区鈴木町 1-1

*** 〒104-8315 東京都中央区京橋 1-15-1

Fig.-1 Chemical Structure of N^{ϵ} -lauroyl lysine. Fig.-2 Crystal shape of N^{ϵ} -lauroyl lysine. Fig.-3 Synthesis of Bis (N^{ϵ} -lauroyl lysine) derivatives.

Table-1 Solubility of 0.5 wt% solution.

Spacer length	Water solubility (pH 9)
C4	I
C5	I
C6	I
C7	I
C8	I
C9	S
C10	S

*I: Insoluble, S: Soluble.

2.3. ハイドロゲル：電子顕微鏡観察

サンプルにコロジオンおよびTEM用グリッドメッシュを加え、液体窒素で凍結させた後、減圧条件下、サンプルを乾燥させた。ついで、オスミウムでネガティブ染色し、透過型電子顕微鏡 JEM-2010（日本電子社製）を用いて、加速電圧 200 kV で観察した。

2.4. 赤外吸収スペクトル測定

フーリエ変換赤外分光光度計 IR Prestige-21（島津製作所製）を用いて、ATR 法（DuraSamplIR II, Smiths Detection 製）により、サンプルの IR スペクトルを得た。

2.5. ハンドミキサー法による泡量測定

500 mL ビーカーに 10 重量%界面活性剤水溶液を 2 g 量り入れ、35℃の水道水で希釈して 100 g とする。その後、調理用ハンドミキサーにより、3400 rpm で 10 秒攪拌後の泡量 (mL) を読み取った。

2.6. 動的光散乱による粒径測定

各測定試料を 1 wt%, pH 12~13 となるように調整したのち、動的光散乱測定 (HPPS, Malvern 製) により、分子集合体の粒径分布を確認した。

2.7. ベシクル：調製方法

80℃の条件下、GE-10-LL とベシクル形成助剤を混合し、ホモディスパーで 3000 rpm, 10 分間攪拌した。その後、ゆっくり攪拌しながら、室温まで徐冷して、マルチラメラベシクルを得た。

2.8. ベシクル：形成確認

偏光顕微鏡 (ECLIPSE LV100POL, ニコン製), および

FF-TEM (JFD-V, JEM-1400plus, 日本電子製) により、ベシクルの形成を確認した。

2.9. ベシクル：平均粒径測定

レーザー回析/散乱式粒子径分布測定装置 (LA-950, 堀場製作所製) を用いて、ベシクルの平均粒径を算出した。

2.10. 角層浸透性評価

前腕内側部を十分に流水で洗浄した後、試料を塗布し、恒温恒湿室 (23℃, 40 RH%) で 1 時間馴化した。ついで、*in vivo* 共焦点ラマン分光装置 (gen2-SCA, RiverD 製) により、塗布部位の角層深さ方向のラマンスペクトルを測定、ベシクルの浸透性を評価した。

3. 結果・考察

3.1. GE-10-LL の水溶液挙動

10 mmol/L GE-10-LL 水溶液の中和滴定曲線と 25℃における溶液状態を Fig.-4 に示す。GE-10-LL は、分子内に 2 つのカルボキシル基を有するため、2 回の pH ジャンプが確認された。また非常に興味深いことに、第 1 当量点と第 2 当量点の間の領域である中性~弱酸性領域において、ハイドロゲルを形成した。この領域では、GE-10-LL 中の 1 つのカルボキシル基のみ解離している状態であり、疑似的に 2 鎖 1 親水基型界面活性剤の構造を形成することで、分子会合の挙動に変化が生じたものと考えられる。

一般に低分子アミノ酸系オイルゲル化剤の研究では、水素結合などの分子間相互作用による繊維状会合の形成と van der Waals 力による繊維状会合の結合・3 次元化によ

り、オイルゲルを形成することが報告⁵⁾されており、溶媒は異なるものの、GE-10-LLも同様のメカニズムでハイドロゲルを形成しているものと推測する。

3.2. ハイドロゲルのメカニズム解明

GE-10-LL が形成するハイドロゲルのメカニズムを解明するため、電子顕微鏡観察を行った (Fig.-5)。結果、GE-10-LL は、仮説どおり、繊維状会合体を形成し、それらが3次元的に絡み合うことで水を抱え込み、ハイドロゲルを形成していることがわかった。

GE-10-LL が形成するハイドロゲルは、60℃以上で溶液状態を示すことから、25℃および60℃における赤外吸収スペクトルを測定した。1600~1700 cm⁻¹ 付近を拡大した結果を Fig.-6 に示す。

一般に、水素結合したアミド結合部位のカルボニル伸縮運動は 1640 cm⁻¹ と報告⁶⁾されており、GE-10-LL が形成する水ゲルのピークと一致する。また、60℃で測定したサン

プルは、カルボニル伸縮運動のピークが 1660 cm⁻¹ 付近にシフトしており、水素結合が消滅していることが示唆された。すなわち、GE-10-LL が形成する水ゲルは、分子間水素結合をドライビングフォースとして、繊維状会合体を形成し、高次ネットワーク構造を形成していることが示唆された。

3.3. GE-10-LL の洗浄剤用途への応用

本節では、GE-10-LL を液体洗浄剤に添加した際の効果を紹介する。当初、GE-10-LL を液体洗浄剤の増粘剤として利用するために検討を開始したものの、残念ながら、界面活性剤水溶液中でハイドロゲルは分散されてしまい、増粘剤としての効果は発揮されなかった。一方で、消費者による官能評価試験を実施したところ、泡立ち改善効果や洗いあがりの感触が向上する結果が得られた。

泡立ち改善効果を確認するために、ハンドミキサー法による界面活性剤の泡量を評価した。本試験では 10 重量%

Fig.-4 pH Titration curve and aqueous solution behavior of GE-10-LL.

Fig.-5 Transmission electron microscope observation of 1.0 wt% GE-10-LL hydrogel.

Fig.-6 FT-IR spectrum of GE-10-LL.

Fig.-7 Foam volume of various surfactants by the hand mixer method.

の各界面活性剤水溶液 (Control) とそれらの水溶液にさらに GE-10-LL 0.05 wt% を添加した水溶液 (with GE-10-LL) を評価した。両者で界面活性剤の有効成分濃度は異なっているものの GE-10-LL 自身、単独では泡立ちがない点、添加量が少量である点、泡立ち評価時には 50 倍に希釈して測定している点から、これら水溶液の有効成分濃度の差異は無視できるものと仮定し、評価を開始した。泡量の結果を Fig.-7 に示す。GE-10-LL を添加することにより、界面活性剤種を選ばず、総じて泡量が改善した。これは、微量の GE-10-LL でさえも、そのジェミニ型界面活性剤構造が有効に働き、増泡剤として働いている、もしくは界面活性剤水溶液の粘度に影響は与えないものの界面活性剤水溶液中に繊維状会合体が存在しており、泡沫の安定化につながったものと推測する。

また、GE-10-LL を配合した界面活性剤で洗浄した毛束は毛髪表面の摩擦係数が低下することや毛髪表面の疎水性が向上する知見が得られた⁷⁾。この効果は、 N^{ϵ} -ラウロイルリジンの滑沢性と高撥水性により発現していると推察し、当初の目的であった N^{ϵ} -ラウロイルリジンの特長そのままに液体処方への配合を容易にする新規化合物の開発が達成できた。

3.4. ベシクル形成に関して

1. で述べたとおり、ジェミニ型界面活性剤は、単独で高次分子集合体を形成しやすく、濃度や pH を調整することによって、ひも状ミセルやベシクルを形成することが知られている。また、アミノ酸を骨格としたジェミニ型界面活性剤に関する報告も非常に多く、アルギニン⁸⁾やシスチン⁹⁾、 β -アラニン¹⁰⁾を使用した例があげられる。さらに、多数の論文でジェミニ型界面活性剤のスペーサー長と分子占有面積や分子集合体形成能との関係が報告されている^{11)~13)}が、その相関関係は化学構造式に由来するところが非常に大きい。

Fig.-8 Dynamic light scattering measurement of 1.0 wt% GE-10-LL and GE-5 LL.

ここで、GE-10-LL と炭素鎖長 C5 であるグルタル酸で N^{ϵ} -ラウロイルリジンを架橋したジェミニ型誘導体 GE-5-LL の分子集合体形成能を比較するために、動的分散法を用いて各分子集合体の粒径分布を測定した (Fig.-8)。結果、GE-10-LL の分子集合体の粒径は、GE-5-LL 比較して小さいことがわかった。GE-10-LL はスペーサーが長いこと、分子間凝集力が低下し、結果として高次構造体を形成しづらくなっていることが示唆された。

そこで、われわれは GE-10-LL でベシクルのような高次分子集合体を形成させることを目的とし、ベシクル形成助剤との併用系の検討を開始した。この検討を開始した理由は、ベシクル形成助剤が GE-10-LL の分子内のアルキル鎖長とスペーサー間の空間や GE-10-LL の分子間に配向することで、高次集合体を形成しやすくなるのではないかと考えたためである。

3.5. ベシクル形成助剤の探索と基礎評価

まず初めに、ベシクル形成助剤の探索を行った。有機性値、無機性値、HLB などの因子を考慮して、油剤、ノニ

オン界面活性剤を中心に約 20 種類の化粧品素材を選択し、Table-2 に示す化粧品処方へ配合した際のベシクル形成の有無を判定した。なお、ベシクル形成の判定基準は、偏光顕微鏡によるマルターゼクロス像の観察とした。

結果、有機性値、無機性値、HLB などの因子に相関関係はなく、イソステアリン酸ステロールエステルをベシクル形成助剤と選択したときにのみ GE-10-LL のベシクルが観察された。イソステアリン酸ステロールエステルのみがベシクル形成能を示した理由については、イソステアリン酸コレステロールエステルの分子構造と GE-10-LL の分子構造が立体的な相互作用が強かったためと考えられる。すなわち、イソステアリン酸ステロールエステルと GE-10-LL が疎水的相互作用や静電作用だけでなく、立体化学的に相互作用し、ベシクルを形成しやすい配列となったと考察した。そのため、分子サイズの異なるイソステアリンアルコールやコレステロールでは立体化学的に適さず、ベシクル形成能を示さなかったと考察した。得られたベシクルの偏光顕微鏡画像を Fig.-9 に示す。無数のマルターゼクロス像が観察され、ベシクルの形成が示唆された。さらに、FF-TEM 画像を観察したところ、玉ねぎ様の多重膜構造が観察された (Fig.-10)。

なお、当該マルチラメラベシクル (MLV) 製剤のメディアン径は、 $1.4\ \mu\text{m}$ であった。

Table-2 Formulation of vesicles.

	(wt%)
GE-10-LL	1
Auxiliary material	2
pH adjuster	to pH 6.0
Water	Balance
Total	100

Fig.-9 Observation by polarization microscope.

3.6. 角層浸透

リポソームを代表とするベシクルは、有効成分を内包する経皮吸収キャリアとして化粧品・医薬品の分野で応用されている¹⁴⁾。本節では、GE-10-LL が形成する MLV の経皮吸収性に関して、*in vivo* 共焦点ラマン分光装置を用いて評価した。*in vivo* 共焦点ラマン分光装置とは、角層から得られるラマンスペクトルを検出することにより、非侵襲で成分の浸透を評価することができる装置である。今回、MLV 製剤との比較試料として、通常のノニオン界面活性剤 (ポリソルベート 80) でイソステアリン酸ステロールエステルを乳化した製剤 (O/W emulsion) を選択した。得られた比較試料の偏光顕微鏡画像を観察したが、ベシクルの形成は確認できなかった。各製剤を被験者の前腕内側部へ塗布し、1 時間後に測定した結果を Fig.-11 に示す。縦軸は、イソステアリン酸コレステロールエステルのラマンピーク強度、横軸は角層深さを示しており、ピーク強度が大きくなるにつれて、浸透量が増加していることを意味する。結果、MLV 製剤は比較試料である通常の乳化物と比べて、角層深さ $5\ \mu\text{m}$ 付近まで、浸透量が優位に増加し

Fig.-10 Observation by FF-TEM.

Fig.-11 Penetration of sterol ester into stratum corneum.

ていることがわかった。なお、GE-10-LL は構造上アニオン性界面活性剤であるため、アニオン性界面活性剤により角層を乱し、浸透が促進された懸念もある。そこで、被験部位に GE-10-LL 水溶液を塗布した後、イソステアリン酸コレステロールエステルを塗布するという 2 段階の工程で処理した角層について浸透量を評価した。結果は、各角層深さで通常の乳化物と同等のラマンピーク強度となり、MLV ほどの浸透は確認できなかった。以上の結果より、GE-10-LL が形成する MLV 製剤は、経皮吸収キャリアとして有効である可能性が示唆された。

4. 結 論

N^{ϵ} -ラウロイルリジンとセバシン酸から形成されるジェミニ型界面活性剤である GE-10-LL は、pH 応答的にその溶状を変化させ、とくに弱酸性～中性領域でハイドロゲルを形成することがわかった。そのハイドロゲルは、分子内に 4 つ存在するアミド結合が、分子間において水素結合を形成することで発現している。加えて、分子の両端に伸びた疎水鎖、およびスパーサーによる高い疎水性相互作用から、GE-10-LL の自己集合体化、3 次元網目構造を形成することで水を抱え込み、ハイドロゲルを形成していることが示唆された。また、GE-10-LL は N^{ϵ} -ラウロイルリジン由来の高い滑沢性と撥水性を有し、洗浄料へ配合すると増泡効果を付与することがわかった。

さらに、GE-10-LL はイソステアリン酸コレステロールエステルと組み合わせることにより、マルチラメラベシクルを形成した。これは、イソステアリン酸コレステロールエステルが GE-10-LL の曲率を最適化し、高次集合体を形成しやすくなったためと推測する。*in vivo* 共焦点ラマン分

光装置により、得られたマルチラメラベシクルの角層への浸透性を評価したところ、通常の乳化物と比較して、優位に浸透することが示唆された。

引用文献

- 1) 上土井智数, フレグランスジャーナル, 38(2), 50-54 (2010)
- 2) F. M. Menger, C. A. Littau, J. Am. Chem. Soc., 115, 10083-10090 (1993)
- 3) M. Johnsson, A. Wagenaar, J.B.F.N. Engberts, J. Am. Chem. Soc., 125, 757-760 (2003)
- 4) L. Pérez, A. Pinazo, R. Pons, M. R. Infante, Adv. Colloid Interface Sci., 205, 134-155 (2014)
- 5) 英 謙二, 白江芳房, ゲルハンドブック, エヌ・ティー・エス, 1997, p. 312-319
- 6) R. M. Silverstein, F. X. Webster, D. J. Kiemle, 有機化合物のスペクトルによる同定法—MS, IR, NMR の併用—, 東京化学同人, 1999, p. 110
- 7) 小林 瞬, フレグランスジャーナル, 44(8), 62-68 (2016)
- 8) M. C. Moran, M. R. Infante, Green Chem., 6, 233-240 (2004)
- 9) D. M. Lewis, J. Soc. Dye. Colour., 106, 270-274 (1990)
- 10) H. Kunieda, K. Tsubone, Langmuir, 16, 6438-6444 (2000)
- 11) L. Pérez, M. A. Pinazo, M. J. Rosen, R. Infante, Langmuir, 14, 2307-2315 (1998)
- 12) A. Pinazo, X. Wen, L. Pérez, M. R. Infante, E. I. Franses, Langmuir, 15, 3134-3142 (1999)
- 13) E. Alami, G. Beinert, R. Zana, Langmuir, 9, 1465-1467 (1993)
- 14) V. B. Patravale, S. D. Mandawgade, Int. J. Cosmet. Sci., 30, 19-33 (2008)