——部分水添卵黄レシチンにより乳化したエマルジョンの
耐水性と皮膚保湿性——

大沢重光 出牛幸平 浜沢孝一 栢野正則

The Use of Phospholipids in Skin Moisturizing Products (1)

——Physical Properties and Skin Moisturizing Effect of Skin Cream Emulsified with partially hydrogenated Yolk Phospholipids——

Shigemitsu Ohsawa, Kouhei Deushi, Kouichi Shibusawa,
Masanori Kayano

The relation between skin moisturizing effect and the physical properties of emulsions containing partially hydrogenated yolk phospholipids (HYPL) as the sole emulsifier was examined. The studies revealed the following;

- 1) The specific characteristic of O/W emulsion containing HYPL as the sole hydrophilic emulsifier was that it formed a thin water undispersible film on the skin after a part of the water had evaporated. This emulsion film has a good affinity with the skin and effectively moisturizes it.
- 2) The phase transition temperature measured by the micro-viscometry method and the skin surface conductance value of emulsions in HYPL-Squalane-Water system showed a negative linear relation ($r = -0.749$, $p < 0.05$). This suggests that the phase transition temperature could be one of the physical parameters which influenced the moisturizing ability of skin emulsified with HYPL.
- 3) In the emulsions containing up to 20% glycerin, a high correlation was found between the skin surface conductance and the water activity ($r = -0.982$ and -0.958 at 60 and 120 minutes after application, respectively).

This suggests that the water activity is a useful physical parameter for predicting the moisturizing effectiveness of skin treatments in vivo.

1. 緒 言

生理的な皮膚保湿は、皮表脂質及び角質層中の NMF によりコントロールされ、その作用には、夫々の構成成分であるリン脂質が関与していることが知られている¹⁻²⁾。

我々は、より生理的な保湿作用を有する基礎化粧品の

開発研究の一環として、リン脂質の化粧品への応用を試み、その物理化学的特性を化粧品の観点から検討した。

本報では、化粧クリームのような重要な特性の一つである皮膚親和性と皮膚保湿性に及ぼす、乳化剤として用いた部分水添卵黄レシチンの影響について報告する。尚、皮膚親和性は、エマルジョンの温水浸漬時の耐水性、皮膚上への残存性により、また、皮膚保湿性は、皮膚表面の電気伝導度測定により、夫々、評価した。エマルジョンの皮膚表面の電気伝導度の上昇作用、即ち、皮膚表面の保湿作用と、エマルジョン中の水の存在状態との関係を探る目的で、エマルジョンの水分活性値、結合水量を測定

エーザイ(株)技術研究センター；埼玉県本庄市南2-3-14
Research Center of Technological Development,
Eisai Co. Ltd.; Minami 2-3-14, Honjo-shi, Saitama 367, Japan

し、皮膚コンダクタンスとの関係を検討した。

2. 実験

2.1 使用原料及び試薬

リン脂質は、部分水添卵黄レシチン（旭化成工業製；リン脂質100.0%，ホスファティディールコリン78.2%，ホスファティディールエタノールアミン18.9%，リゾホスファティディールコリン1.8%，ヨウ素価27（以下HYPLと略す）を用いた。スクワラン（クラレ工業製）、ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノステアレート、ソルビタンモノパルミテート（日本サーファクタント工業製；以下、夫々、TS-10、SP-10と略す）L-アルギニン（味の素製）、グリセリン（日本油脂製）、プロピレングリコールモノステアレート（日本サーファクタント工業製）、ショ糖脂肪酸エステル（菱糖製：S-1570）、コレステロール（理研ビタミン製）、L- α -ジパルミトイルホスファティディールコリン（Sigma Chemical Company；以下 DPPC と略す）、ステアリン酸（川研ファインケミカル製）を用いた。

2.2 実験方法

2.2.1 エマルションの調製

油相（リン脂質を添加）に水相を加え、乳化温度 $70 \pm 2^\circ\text{C}$ で、ポリトロンミキサー（Kinematika 製、PT 10/35 型）で約 4000rpm、5 分間処理後、軟膏ペラで攪拌下に 30°C まで冷却し試料とした。スクワランのみを油

相とする試料は、リン脂質を水相に添加して調製した。

2.2.2 クリームの溶出試験

一辺 4 cm のテフロン板に試料 400 mg を均一に塗布し、 37°C 恒温器内に 3 時間放置後、Fig.-1 の溶出試験装置にセットし、 35°C の温水中への経時的溶出量を求めた。

溶出量は、溶出液の吸光値（波長 640nm）を分光光度計（島津製作所 UV-210型）を用いて測定し、別に作成した試料毎の検量線から溶出クリーム量を算出した。

2.2.3 エマルションの皮膚表面残存量の測定

アセトンで清拭した前腕屈側部に試料 $20\text{mg}/12\text{cm}^2$ 塗布し、 $20 \sim 21^\circ\text{C}$ で30分間風乾後、 35°C 温水中に 5 分間浸漬する。 $20 \sim 21^\circ\text{C}$ で30分間分乾後、皮膚油分計（Schwarz Haupt 社製、Sebumeter SM-410型）を用いて局部の残存油分量を測定し、予め求めた試料毎の検量線から皮膚表面に残存するマルション量を 4 名の平均値で算出した。

2.2.4 皮膚保湿効果の測定

高周波伝導度計（IBS 製 IB-355 型）を用い、田上ら³⁾の方法により、皮膚表面のコンダクタンスを測定した。アセトンで清拭した前腕屈側部に試料 $20\text{mg}/12\text{cm}^2$ を塗布し、5～120分後までのコンダクタンス変化を、室温 $20 \sim 21^\circ\text{C}$ 、相対湿度 35～41% の環境下で測定し、4 名の平均値を求めた。

2.2.5 相転移温度の測定

エマルション系の相転移温度は、昇温及び冷却時の微少な粘度変化を生ずる温度で、偏光性変化と一致した温度を相転移温度とした。粘度計は、低粘度試料には、Microviscometer LVT（Brookfield Engineering Laboratory 製）を、その他の試料は Rotovisco RV 12（Haake Bucher 製）を夫々使い、試料を毎分約 1.3°C で昇温及び冷却した時の急激な粘度変化を生ずる温度を測定した。

Fig.-2 の DPPC（L- α -ジパルミトイルホスファティディールコリン）30%水分散液の粘度変化グラフから、大きな粘度変化を示す温度 T_m （主転移温度）と T_p （前転移温度）は、夫々、関ら⁴⁾の DSC による測定値とほぼ対応し、本実験では、 T_p を相転移温度として用いた。HYPL 10%水分散液の例では、グラフから 21.5°C を相転移温度とした。

偏光性変化は、偏光顕微鏡（オリンパス光学製 BHA 型）を用い、検鏡下に連続的に昇温及び冷却（毎分約 1.5°C ）した時に生ずるエマルションの偏光性変化を生ずる温度を測定した。また、水を配合しない試料は、示差走

Fig.-1 Apparatus of Dissolution Test

A : sample cream, B : Teflon plate, C : dist. water, D : magnetic stirring bar, E : water jacketing, F : sampling cap, G : thermometer

査型熱量計（理学電器製 DSC-1 型）を用い、試料30mg
を毎分0.8°Cで昇温した時の吸熱曲線から転移温度を求

Fig.-2 An example of Measuring Phase Transition Temperature by Micro-viscometry Method.

DPPC (L- α -Dipalmitoylphosphatidylcholine)

Table-1 Composition of Model Creams for Dissolution Test

materials	A	B	C	D
H.Y.P.L.	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%
Propylene glycol mono-stearate	4.0	1.0	1.0	1.0
POE(20) sorbitan mono-stearate	-	3.0	-	-
L-Arginine stearate	-	-	3.0	-
Sucrose mono-stearate	-	-	-	3.0
Other Oil Phase Paraffin oil Ester oil Glycerides	27.1	27.1	27.1	27.1
Glycerin	10.0	10.0	10.0	10.0
Dist. Water	57.5	57.5	57.5	57.5

めた。

2.2.6 水分活性値の測定

水分活性恒温測定装置（Novasina 製 TH-2 型）を用い、試料 1.0g を 20°C で測定した。

2.2.7 エマルジョン中の結合水量の測定

示差走査型熱量計（理学電機製 DSC-1 型）を用い、試料約 5.0mg を密閉型パンに精秤し、液体 N₂ により -170°C で凍結後、5°C/min. で昇温した時の融解エネルギー（ ΔH_s ; mcal/g）をピーク面積から算出し、純水の融解エネルギー（ ΔH_w ; 79.8mcal/g）と次式を用いて、試料中の結合水量を算出した。

$$\text{結合水量(\%)} = \text{配合水分量} \left(1 - \frac{\Delta H_s}{\Delta H_w} \right)$$

3. 結果と考察

3.1 クリームの水への溶出性に及ぼす乳化剤の影響

同濃度の HYPL を配合した 4 種の O/W 型クリーム（Table-1）を調整し、35°C の温水を溶出液とする溶出試験を行った。その結果を Fig.-3 に示す。

親水性乳化剤を含まず HYPL により乳化された試料は、35°C の温水への溶出を示さず安定した水和膜を形成したが、他の試料は試験開始直後から温水中への溶出を示し、3 時間後には 30~50% そのが乳化状態で溶出した（Fig.-4）。

同濃度の HYPL を配合した系であっても、併用する乳化剤の性質により水への溶出挙動が異なり、HYPL を最も親水性の強い乳化剤として用いた試料は、O/W 型

Fig.-3 Effect of Surfactants on Dissolution Profiles of Emulsions

Fig.-4 Appearance of the Dissolution Medium after the Dissolution Test.

Sample A shows the residual emulsion film in the clear dissolution medium.

A : HYPL, B : l-Arginine, C : POE (20) sorbitan monostearate, D : Sucrose monostearate

乳化型であるにも拘らず、耐水性の強い乳化膜を形成する性質を有することが明らかとなった。

3.2 エマルションの皮膚残存性に及ぼす HYPL の効果

HYPL と親水性乳化剤であるポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノステアレート (TS-10) 及びその混合物を乳化剤として用いたエマルションを皮膚に塗布後、温水中に浸漬処理した後の皮膚表面に残存する試料量と、皮膚コンダクタンスを測定した (Fig.-5)。

皮膚のコンダクタンス (測定開始後 60 分, 120 分後の値) と試料残存量とは良好な対応を示し、また、親水性乳化剤 TS-10 の配合比の小さい程、エマルションの皮膚残存量が多いことを示した。この現象は、溶出試験と同様な機序によるものと推定されるが、HYPL により乳化されたエマルションは o/w 型であっても、皮膚に塗布後、皮膚親和性にすぐれた耐水性を皮膜を形成する性質を有することを示している。この HYPL により乳化されたエマルションの性質は、リン脂質の化粧品有用性の証左となる重要な特性の一つであると思われる。

3.3 スクワラン—HYPL—水系での皮膚コンダクタンスに及ぼす成分濃度、相転移温度の影響

Table-2 及び Fig.-6 に示した組成及び相状態を有する試料を用い、各成分量と皮膚コンダクタンスの関係を求めた。その結果、試料中のスクワラン濃度、水濃度と皮膚コンダクタンスとの間に特定な関係は認められな

Fig.-5 Relation between Skin Surface Conductance, Residual Cream(%) on the Skin Surface after Immersion in Water (35°C) for 5 minutes and Weight Ratio of H.Y.P.L./TS-10 (POE Sorbitan monostearate). Results are expressed as the mean $\pm$ SE of 4 subjects. N.T.; Non treatment site as control.

Composition of model emulsions;

Squalane	25%
H. Y. P. L.	13%
TS-10	
Glycerin	10%
Water	52%

ったが (Fig.-7, Fig.-8), HYPL と水の配合量を加えた水相中の HYPL 濃度との間には負の相関が認められた (Fig.-9)。

Fig.-9は塗布後 60 分後の皮膚コンダクタンス値を示す。一般にリン脂質は、水分散液中の濃度により相転移温度が変化するリオトロピックな相転移を示す性質を有することが知られている。これらモデルエマルションに認められた皮膚コンダクタンスと HYPL 濃度との相関現象には、その因子として相転移温度の存在が示唆されたため、これらモデルエマルションの相転移温度を測定し、水相中の HYPL 濃度との関係を求めると、スクワラン濃度に関係なく両者により相関性が認められた (Fig.-10)。

この結果を用い、皮膚コンダクタンス値 (塗布後 60 分後) と相転移温度の関係を求めると、両者には負の相関があることが明らかとなった (Fig.-11)。

Table-2 Composition of Model Emulsions for Skin Conductance Test

No.	HYPL	Squalane	Water	Phase
1.	45.0%	5.0%	50.0%	N ₁ +Lw
2.	45.0	35.0	20.0	N ₁
3.	30.0	10.0	60.0	N ₁ +Lw
4.	30.0	25.0	45.0	N ₁ +Lw+Lo
5.	10.0	25.0	65.0	Lw+Lo
6.	10.0	70.0	20.0	N ₁ +Lo
7.	45.0	0.0	55.0	N ₁ +Lw
8.	10.0	0.0	90.0	N ₁ +Lw

Fig.-6 Ternary Phase Diagram of HYPL-Squalane-Water System

Fig.-9 Relation between Skin Surface Conductance and Concentration (%) of H.Y.P.L. in Water Phase.

Results are expressed as the mean of 4 subjects.

Fig.-7 Relation between Skin Surface Conductance and Squalane Content

Fig.-8 Relation between Skin Surface Conductance and Water Content

Fig.-10 Relation between Phase Transition Temperature of Emulsions and Concentration (%) of H.Y.P.L. in Water Phase

$$\text{HYPL}(\%) = \frac{\text{HYPL}}{(\text{HYPL} + \text{Water})} \times 100$$

Fig.-11 Relation between Skin Surface Conductance at 60 minutes after Application and Phase Transition Temperature of Emulsions

相転移温度が低いエマルジョンが、高い皮膚コンダクタンス値を与えるという関係を確認するため、相転移温度の異なる4種の精製卵黄リン脂質(YPL)を同濃度配合したモデルエマルジョンを用い、皮膚コンダクタンスとの関係を求めた。相転移温度の変化は、精製卵黄リン脂質の水添度を変えて作成し、水添度はヨウ素価を指標として用いた。用いたモデルエマルジョンの組成及び結果を Fig.-12 に示す。

この結果、同濃度の精製卵黄リン脂質を配合したエマルジョン系においても、相転移温度と皮膚コンダクタンス値の負の相関関係の存在が確認された。

この現象の機序は、レシチン乳化剤の皮膚閉塞性による経皮水分蒸散性への影響による機序⁵⁾も考えられるため、今後の研究によるところが多いが、レシチンによる乳化物が使用条件下で、マイクロエマルジョン、リポソーム、或いはラメラ構造の液晶などの、より多くの水と安定な水和状態を形成できる転移温度を有するものが、より大きい皮膚コンダクタンスを与える可能性も考えられる。

3.4 皮膚コンダクタンスと基剤の水分活性値、結合水量の関係

相転移温度と皮膚コンダクタンスの関係から、クリーム基剤の直接的皮膚保湿効果が、基剤中の水分の存在状態により影響される可能性が示唆されたため、水の束縛状態を知る指標である水分活性、結合水量と皮膚コンダ

Fig.-12 Influence of Iodine Value of Yolk Phospholipids (YPL) on Skin Surface Conductance and Phase Transition Temperature* under the System of same Ratio of Components.

*Phase transition temperature of 50% aqueous dispersion of YPL.

Composition of model creams;

Squalane	30.0%
Yolk Phospholipids	30.0
Water	40.0

Table-3. Composition of Vehicles for Water Activity Test.

	H.Y.P.L.	TS-10/SP-10	Glycerin Soln.
H.Y.P.L.	13.0	—	—
TS-10/SP-10	—	13.0	—
Squalane	25.0	25.0	—
Glycerin	0.0—20.0	0.0—20.0	0.0—20.0
Water	to 100.0%	to 100.0%	to 100.0%

TS-10;POE(20) Sorbitan monostearate
SP-10;Sorbitan monopalmitate

クタンスの関係を検討した。

試料は、Table-3 に示したHYPL乳化系、TS-10/SP-10 (ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート/ソルビタンモノパルミテート) 乳化系及びグリセリン水溶液の3種の系を用いた。

これらの試料のグリセリン濃度と水分活性値(20°C)、

及び皮膚コンダクタンス(60分, 120分後)の関係を Fig. -13 に示した。

水分活性値は, 1.0 に近い程試料中の水は, 自由水が多く, 小さい程, 結合水が多いことを示しているが, いずれの系においても, グリセリン濃度が高い程, 水分活性値が小さくなり, これとほぼ対応して皮膚コンダクタンスが高くなることを示している。即ち, 結合された状

態の水が増大すると, 皮膚コンダクタンスが増大する関係にあり, 水分活性値が約0.97以下になると, いずれの系も無塗布部位より大きい皮膚コンダクタンスを与えている (Fig.-14)。

また, 三種の系について, 皮膚コンダクタンス変化量/水分活性値変化量比を比較すると, HYPL 乳化系> TS-10/SP-10 乳化系>グリセリン水溶液の順に大きく, HYPL 乳化系では, 塗布後120分後においても両者により負の相関が認められる。グリセリン水溶液は乳化系に比べ, 同一水分活性値を与える試料であっても, 皮膚コンダクタンスの大きさ, 持続性に劣ることを示している。これらの原因については, 皮膚への吸着力, 経皮水分蒸散抑制作用, 系の誘電率などの比較による今後の

Fig.-13 Influence of Glycerin Concentration of Vehicles on Skin Surface Conductance and Water Activity.

N.T.; Non treatment site as control.

Fig.-14 Relation between Skin Surface Conductance and Water Activity.

Sq.; Squalane, Aq.; Water, Gly.; Glycerin, TS/SP; POE (20) sorbitan monostearate/Sorbitan monopalmitate

N.T.; Non treatment site

Fig.-15 Relation between Skin Surface Conductance and Bound Water Content (%) and Water Activity

N.T.; Non treatment site as control

検討が必要である。

次に、乳化系試料の水分活性値が結合水量に対応する物性を示しているかを確認する目的で、HYPL乳化基剤 (Table-1, A処方) に、グリセリンを 0, 5, 10% 配合し、水分活性値、結合水量と皮膚コンダクタンスの関係を求めた (Fig.-15)。

水分活性値の低下による皮膚コンダクタンスの上昇は、結合水量の増加による皮膚コンダクタンスの上昇とはほぼ対応している。この関係から、乳化系基剤の水分活性値は、基剤中の結合水量とある程度相関する物性値であることが本実験条件下で認められ、皮膚保湿性の観点から、有用な基剤物性の1つとなり得ることが示唆された。この実験系では、無塗布部位のコンダクタンスを上まわる基剤の水分活性値は、約0.97以下、結合水量は、約30%以上であることを示している。

4. 総括

以上、HYPLを用いた乳化基剤について、その皮膚保湿性に及ぼす基剤の諸物性との関係を報告したが、その要約を以下に示す。

1) 親水性乳化剤を含まず、HYPLにより乳化された

o/w型クリームは、水分の一部が蒸散後、耐水性の皮膜を形成する。

2) この皮膜は、皮膚への親和性にすぐれた性質を有する。

3) HYPLを配合した多成分系エマルジョンの相転移温度は、よく管理された条件下での粘度測定により求められる可能性を認めた。

4) 相転移温度は、皮膚コンダクタンスと負の相関を示し、HYPLで乳化したクリーム剤の皮膚保湿性は、相転移温度によっても影響されることを示した。

5) グリセリンの配合による基剤の水分活性値の低下と皮膚コンダクタンスの上昇はよい対応を示し、水分活性値が基剤の皮膚保湿性評価の指標となり得ることを示した。

6) 示差走査型熱量計で求めた乳化基剤中の結合水量と皮膚コンダクタンスとは対応を示し、結合水量もクリーム基剤の皮膚保湿効果に影響する要因の1つであると考察した。

参考文献

- 1) G. Imokawa, M. Hattori; J. Invest. Dermatol. 84, 282 (1985)
P.M. Elais; Arch. Dermatol. Res., 270, 95 (1981)
萩山正治; 日皮会誌, 89, 16063 (1979)
- 2) 安部 隆; 日皮会誌, 86, 815 (1976)
吉国好道; 日皮会誌, 94, 1253 (1984)
- 3) H. Tagami, et al; J. Invest. Dermatol. 75, 500 (1980)
H. Tagami, et al; Cosmetics & Toiletries, 97, 39 (1982)
田上八朗, 吉国好道, 山田瑞穂ら; 日皮会誌, 92, 1363 (1982)
- 4) M. Kodama, M. Kuwabara, S. Seki; Biochimica Biophysica Acta, 689, 567 (1982)
- 5) 鈴木敏幸, 塘 久夫, 石田篤郎; 粧技誌, 17, 60 (1983)

(昭和60年9月11日受理)