

# 溶液セルを用いたX線回折法による評価

## グリセリン水溶液が角層構造に及ぼす影響 保湿機構の解明

阪本薬品工業(株)<sup>1</sup>, 名古屋産業科学研究所<sup>2</sup>

○山田武<sup>1</sup>・羽深朱里<sup>1</sup>・八田一郎<sup>2</sup>

2020年4月





# 角層の構造1

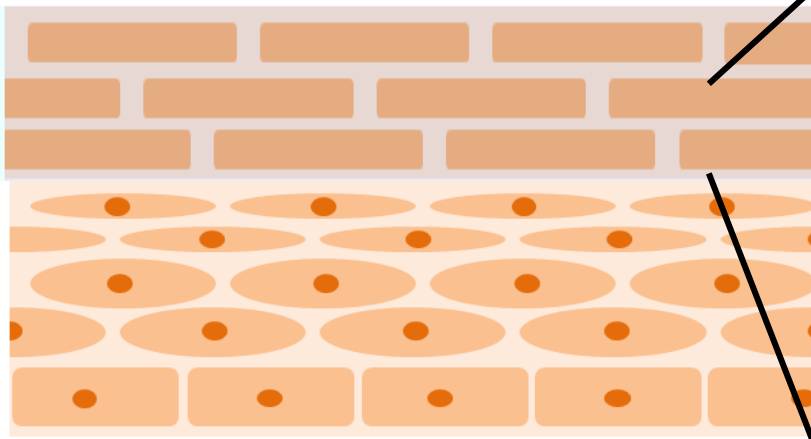
角層 : 角層細胞と細胞間脂質から形成

角層

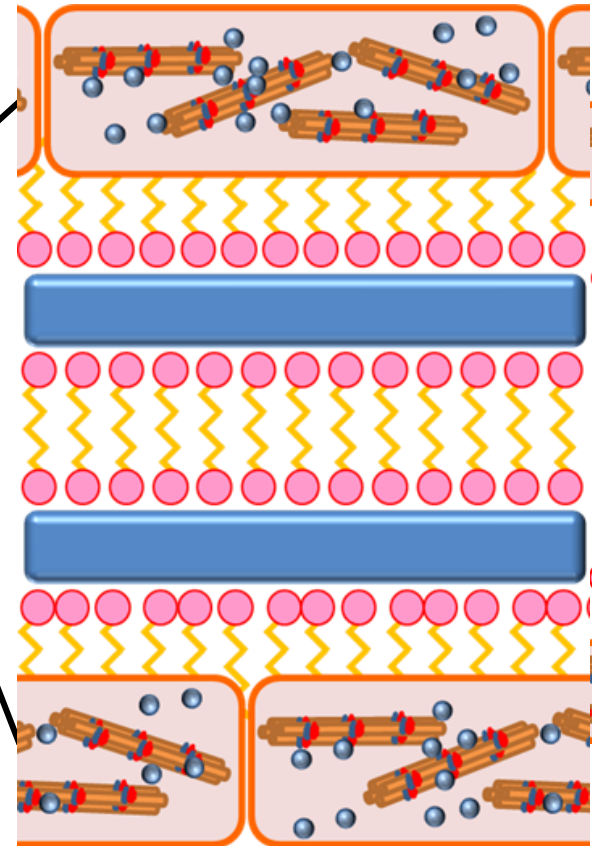
顆粒層

有棘層

基底層

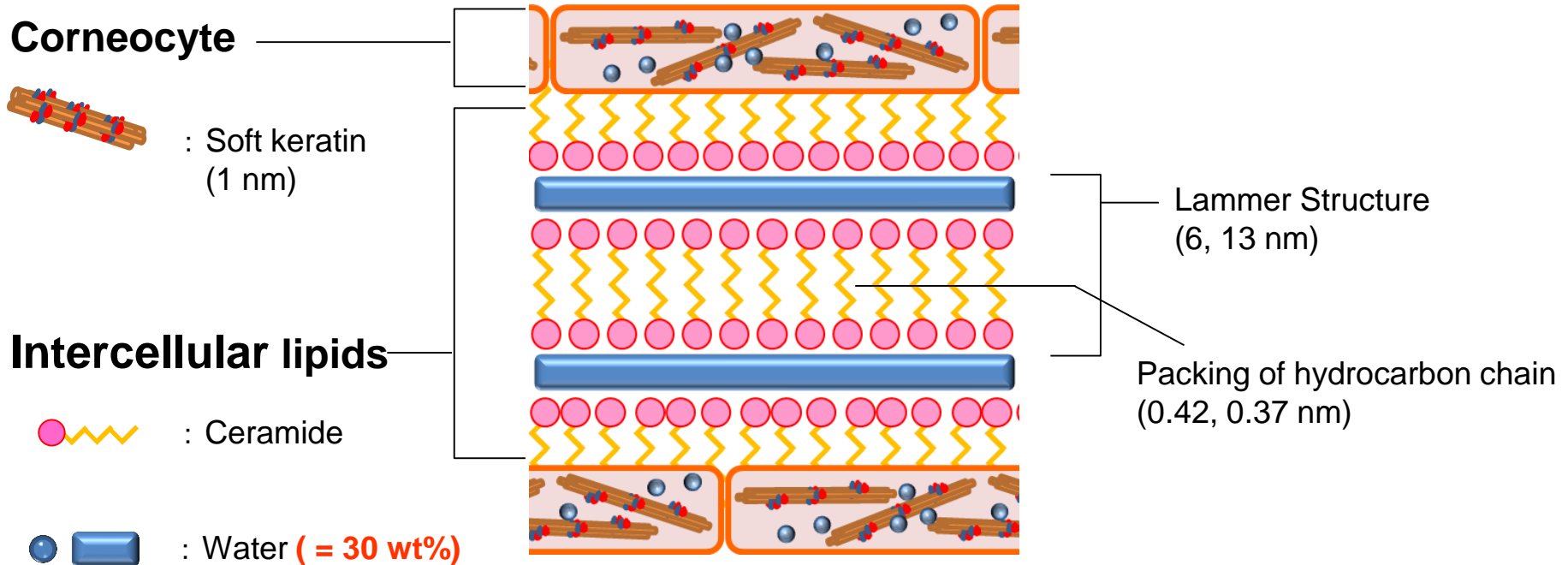


内側





角層 : 角層細胞と細胞間脂質から形成

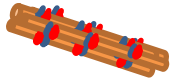


角層内部の微小な構造については

小角・広角X線回折測定による構造解析が有用



## Corneocyte



: Soft keratin (1 nm)

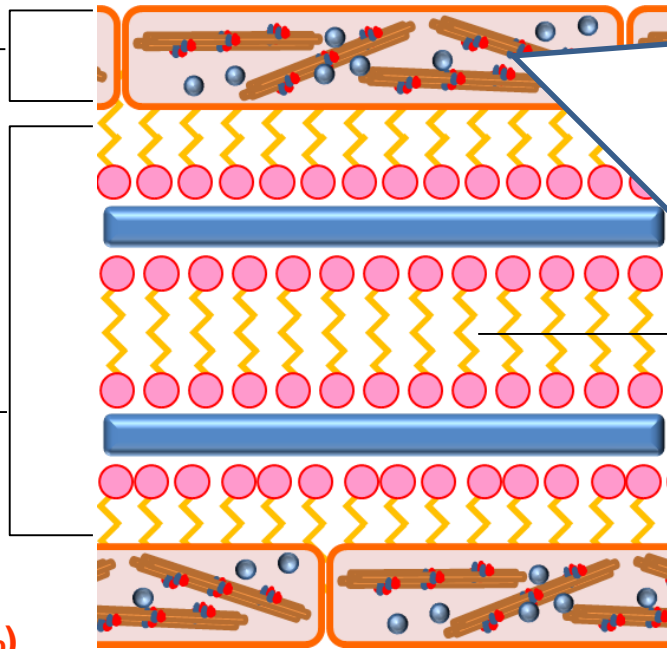
## Intercellular lipids



: Ceramide

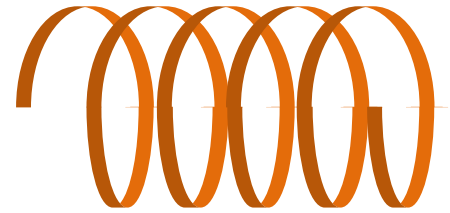


: Water (= 30 wt%)



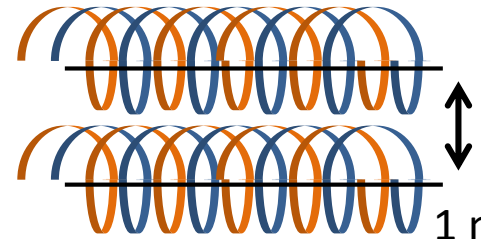
## Softkeratin

### Monomer



$\alpha$ -helix (0.46 nm)

### Oligomer

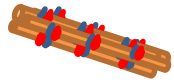




# 角層の構造4 Intercellular lipids

## 角層：角層細胞と細胞間脂質から形成

Corneocyte



: Soft keratin (1 nm)

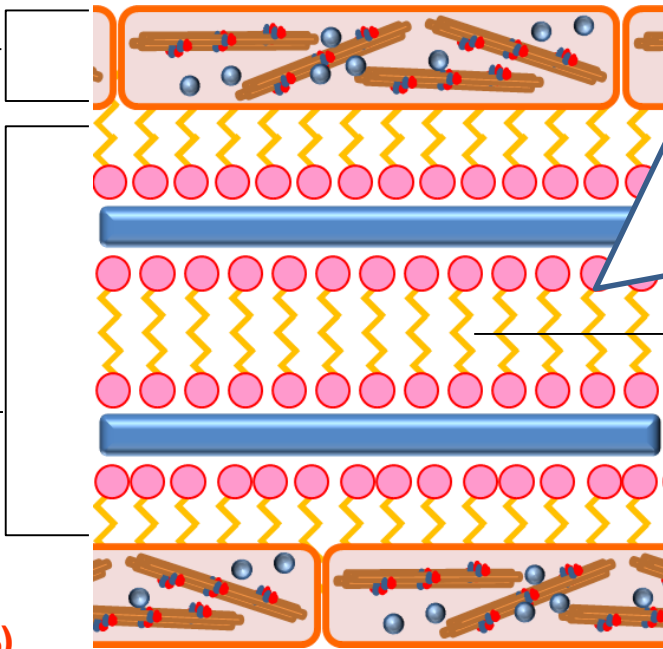
Intercellular lipids



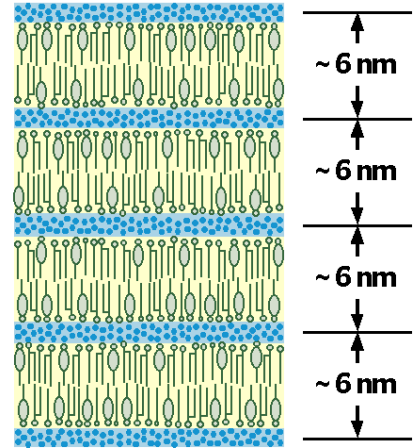
: Ceramide



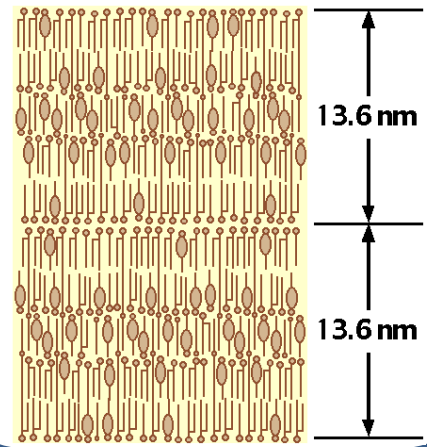
: Water (= 30 wt%)



短周期ラメラ構造



長周期ラメラ構造

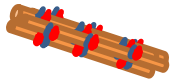




# 角層の構造5 Intercellular lipids

角層：角層細胞と細胞間脂質から形成

Corneocyte



: Soft keratin (1 nm)

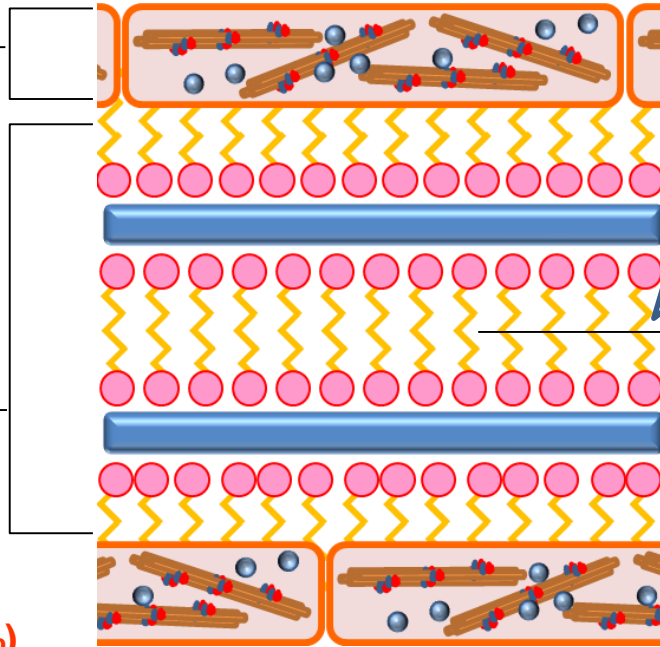
Intercellular lipids



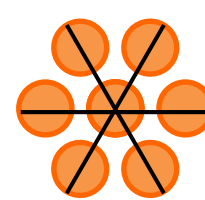
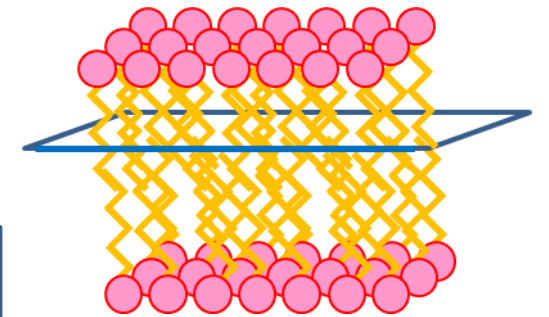
: Ceramide



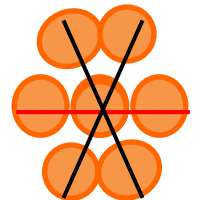
: Water (= 30 wt%)



Packing of hydrocarbon chain



0.42 nm



0.42 nm

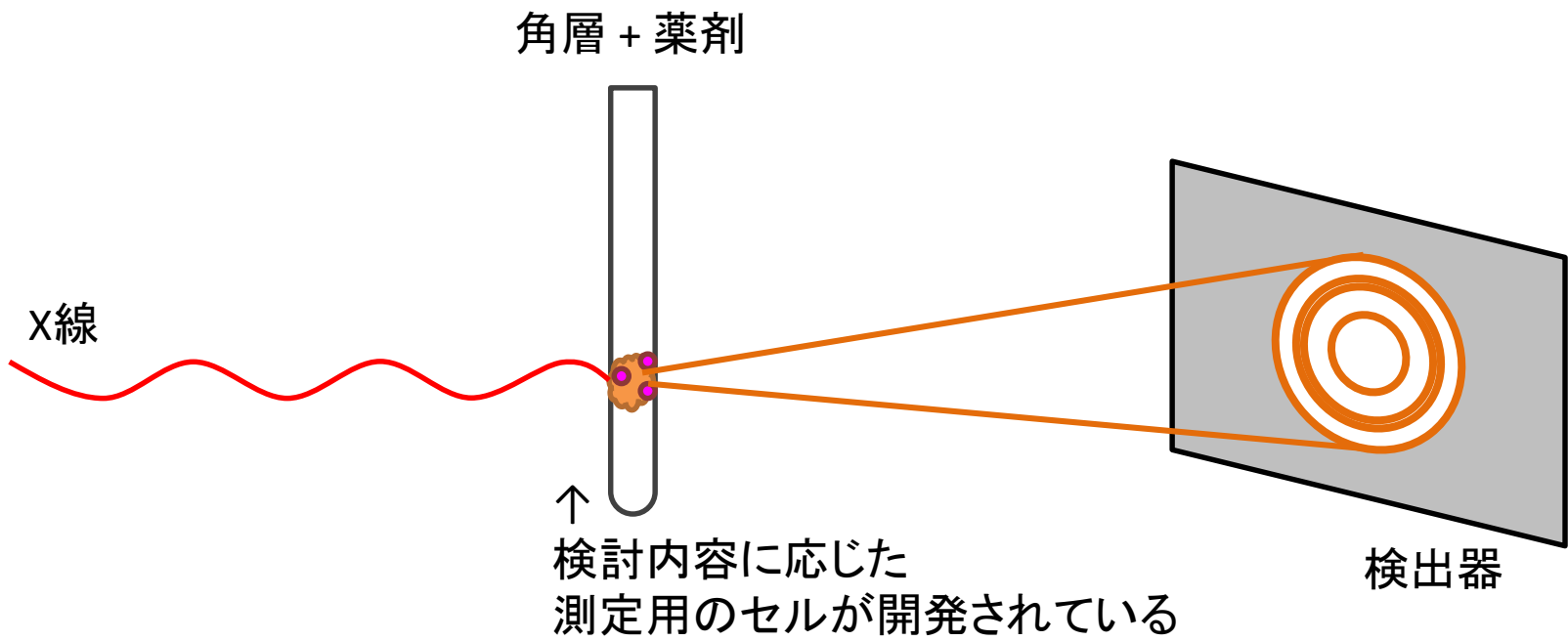
0.37 nm

グリセリンは角層のいずれかの構造に作用し、保湿効果に関与する。



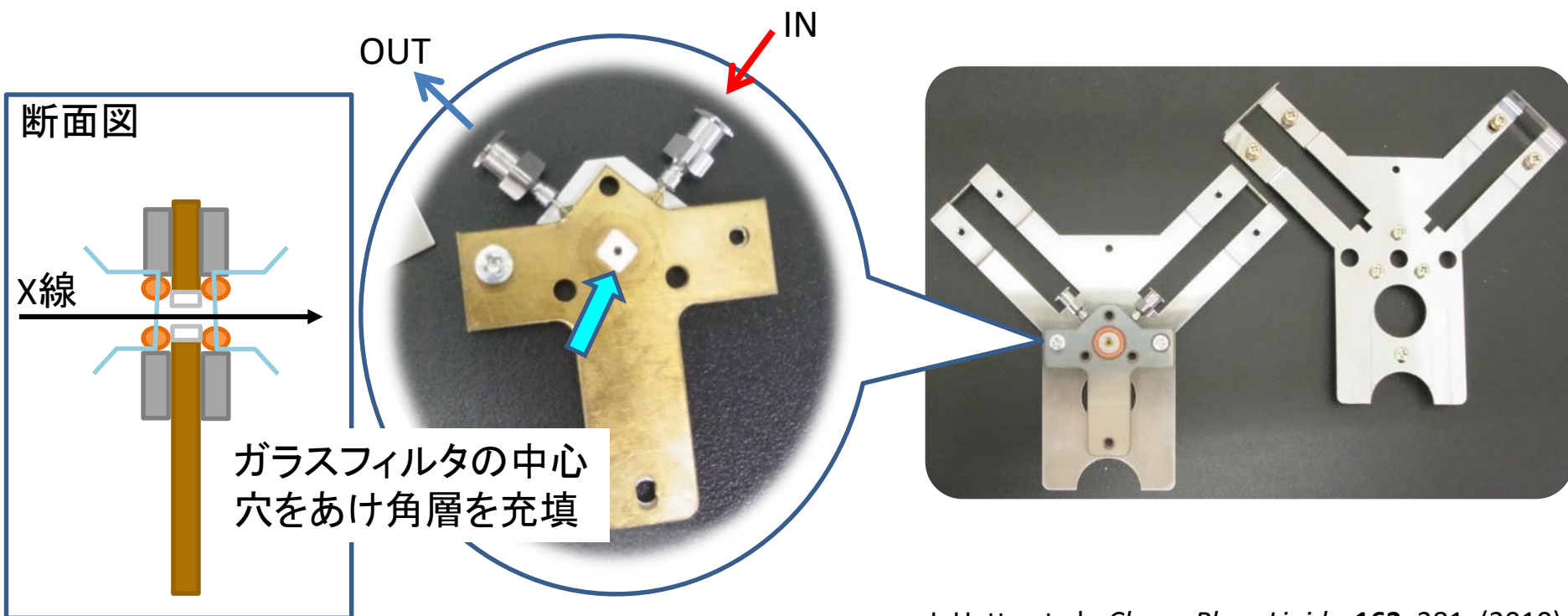
# 角層のX線回折法での評価

医薬分野では、  
薬剤の透過経路の解明や角層への作用の評価を目的に  
角層のX線回折測定が利用されている。





角層を充填したセルに溶液を注入することで  
溶液作用時の角層構造の経時変化が連続的に評価可能



I. Hatta et al., *Chem. Phys. Lipids*, **163**, 381, (2010).







# 溶液セルの新たな測定法

これまで溶液セルを用いたX線回折実験は  
経皮吸収製剤など → 溶液を角層に浸透する過程の検討が中心

I. Hatta et al., *Chem. Phys. Lipids*, **163**, 381, (2010).

T. Uchino et al., *Int. J. Pharm.*, **521**, 222, (2017).

Y. Obata et al., 表面化学, **35**, 1, 34, (2014).

保湿剤の評価 → 肌へ塗布した後の乾燥過程が重要

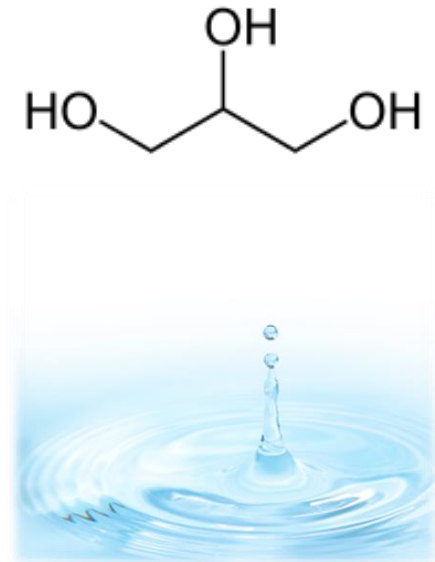
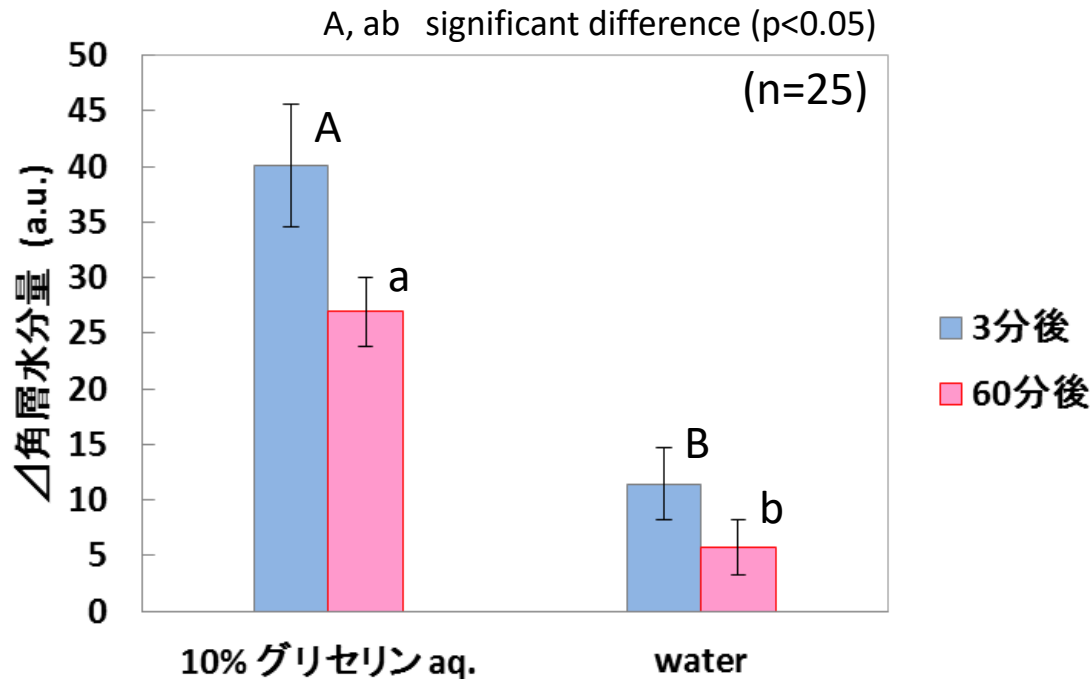
本研究では

溶液セルを用いて、角層試料を気体ガスに晒した時の  
X線回折実験も行え得ることを初めて示した。





グリセリン水溶液は保湿性が高く、角層水分量を保持する



グリセリンの角層への**作用機構**は十分に解明されていない。  
保湿剤の作用機構の解明のため、角層構造への影響を評価



## グリセリンの保湿機構の解明

グリセリン水溶液に浸漬した角層の乾燥時における構造の経時変化について小角・広角X線回折測定する。

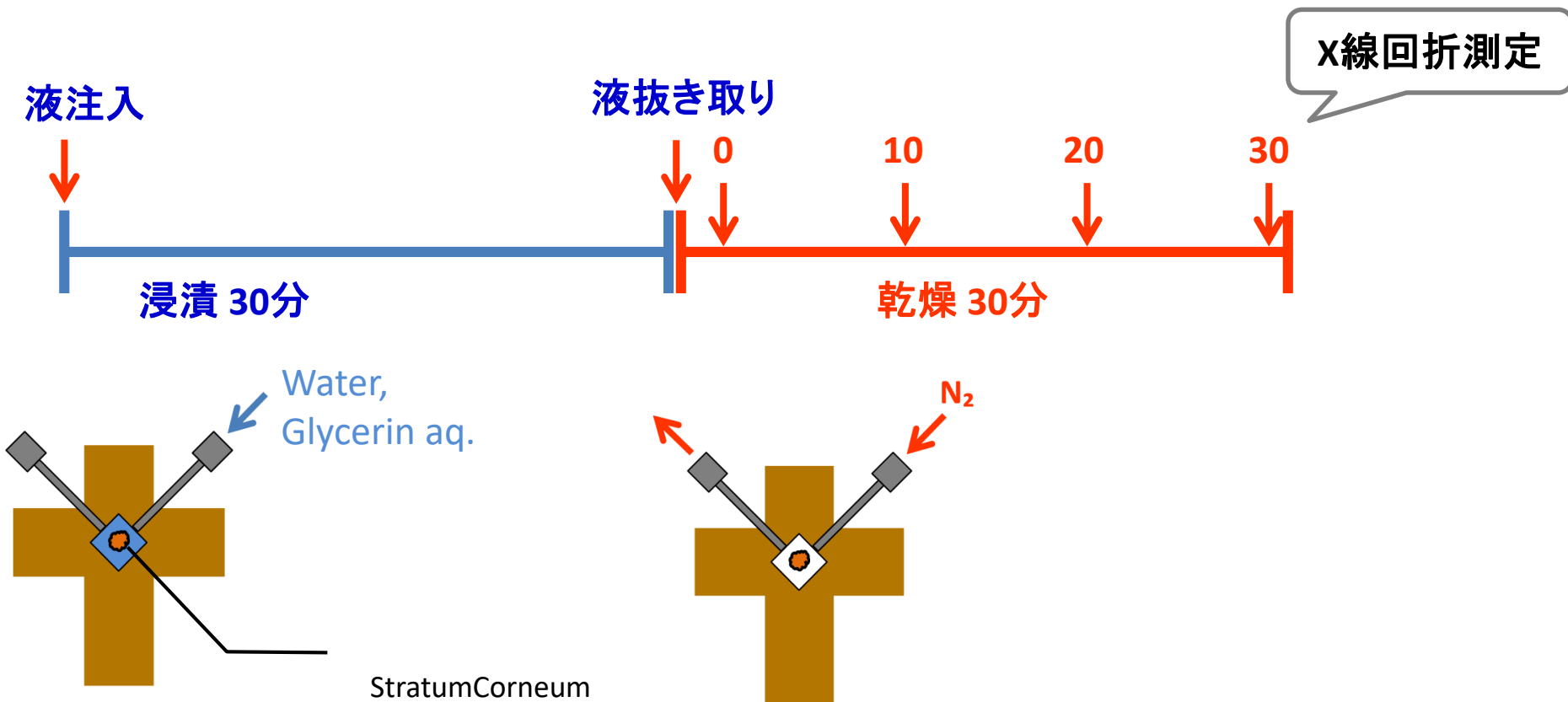


グリセリンが影響を及ぼす構造部位やその度合いを明らかにすることが可能



## 測定手順

角層試料を作用溶液に30分間浸漬し、溶液抜き取り後乾燥した際の30分間の構造の変化を10分毎に測定し、得られた回折像を解析した。





## 試料

ヒト角質層 約1 cm<sup>2</sup>

(胸部由来, BIOPREDIC International社)

## 作用溶液

10 wt% グリセリン 水溶液

水

## 測定条件

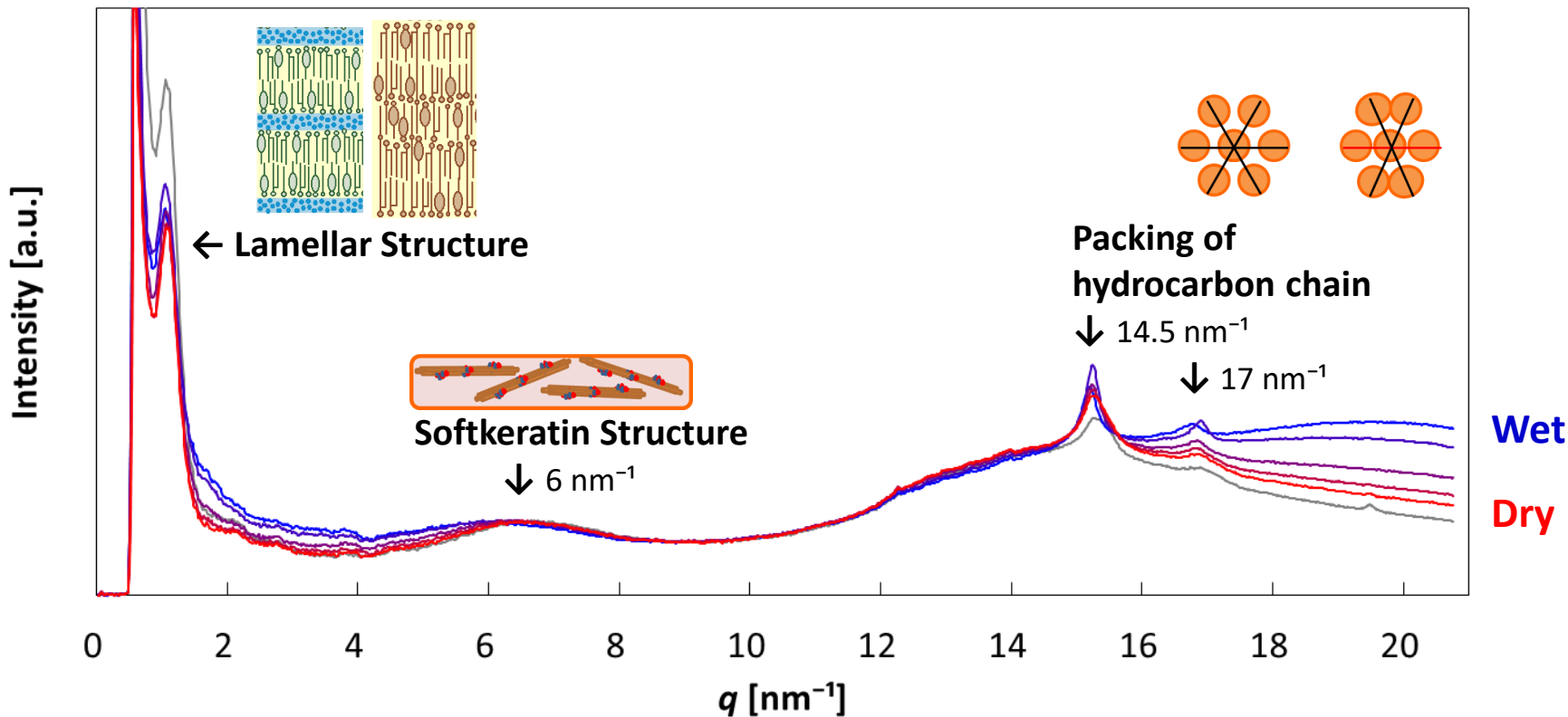
| AichiSR |  |
|---------|--|
| ビームライン  | BL8S3  |
| 波長      | 0.092 nm (13.5KeV)                           |
| カメラ長    | 450 mm                                       |
| q領域     | 0.6 – 20.2 nm <sup>-1</sup> (10.4 – 0.31 nm) |
| 検出器     | イメージングプレート (R-AXIS-IV++, Rigaku)             |
| 露光時間    | 360 s  |





# 角層のX線プロファイルの変化1

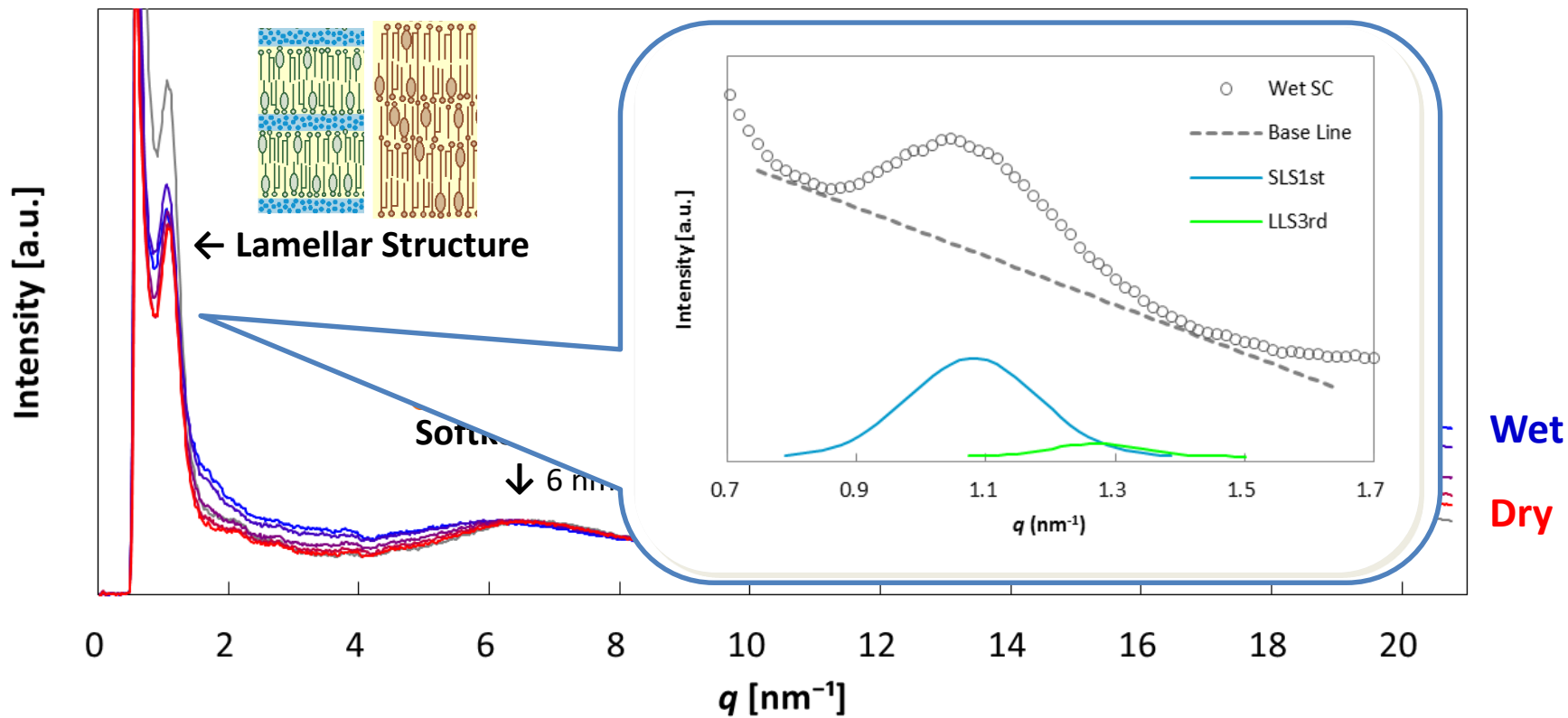
水に浸漬した角層の乾燥時におけるプロファイルの変化 (0-30 min)



プロファイルの各ピークをガウス関数でフィットし、ピーク位置( $q$ )を求め、構造間隔 $d$  (nm)を算出した。(式)  $d=2\pi/q$  (nm)

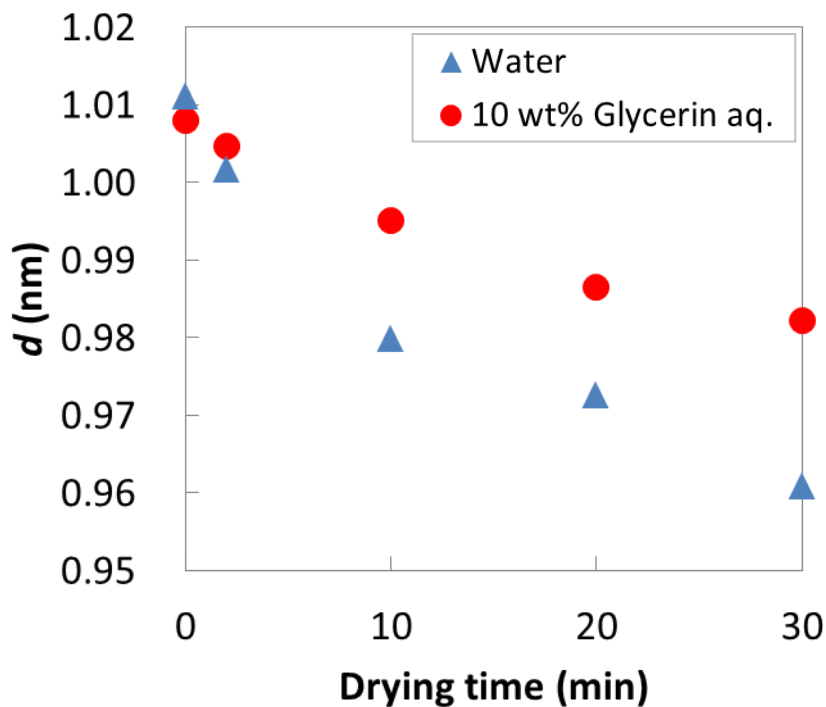


## 小角部分 短周期ラメラ構造と長周期ラメラ構造の分離



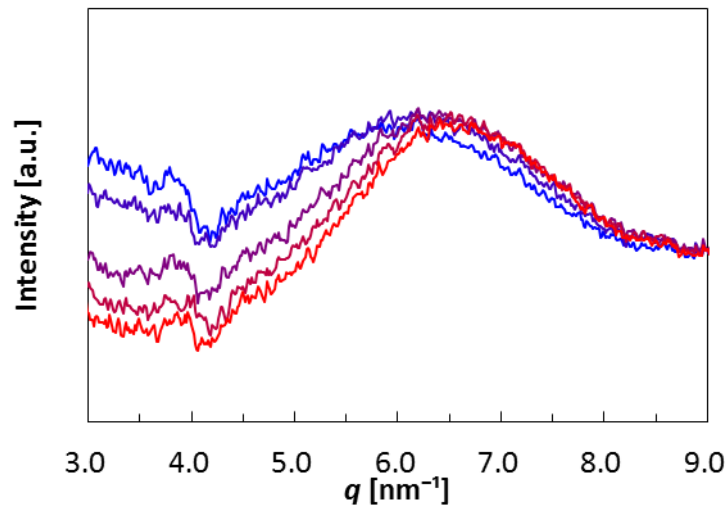


## ソフトケラチン由来の構造 (1 nm)

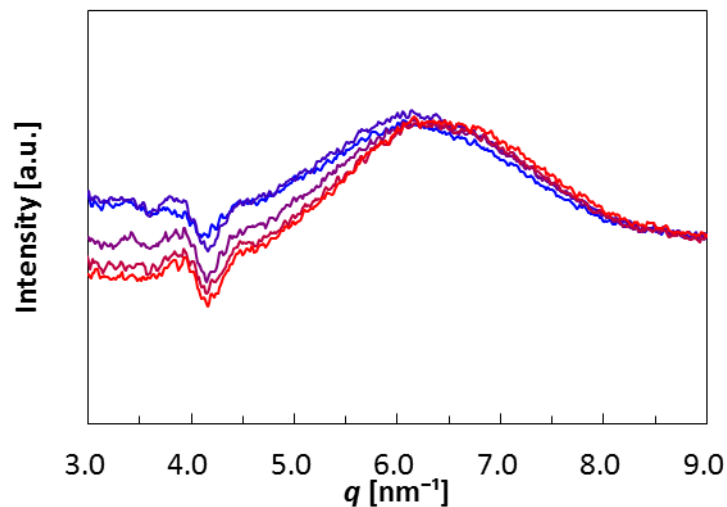


角層細胞内のソフトケラチン由来の構造は乾燥により経時的に縮小した。

Water



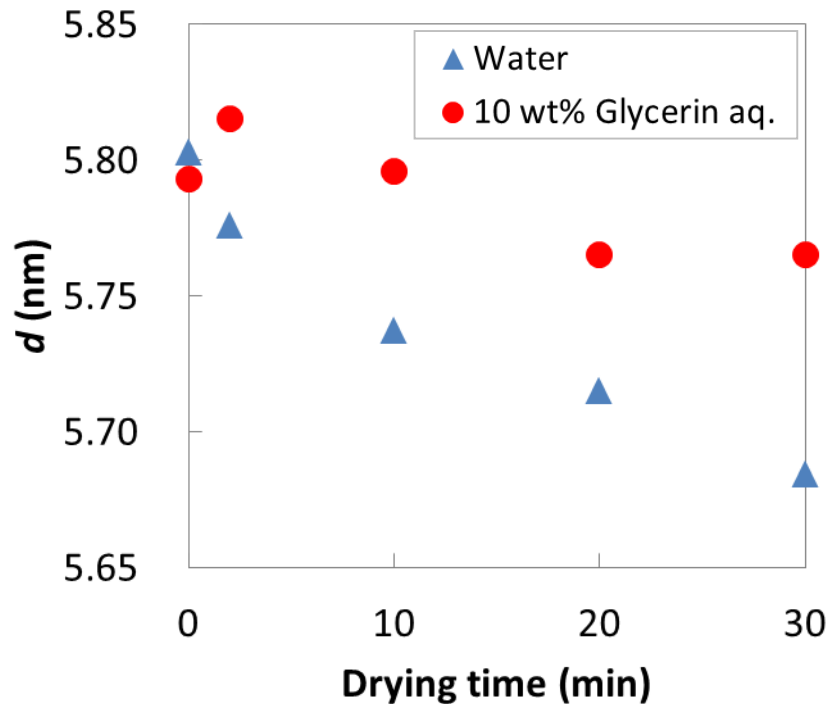
Glycerin aq.



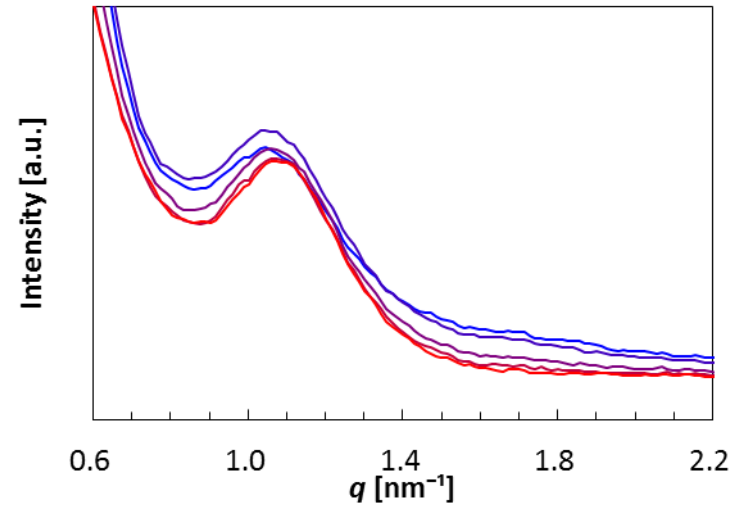




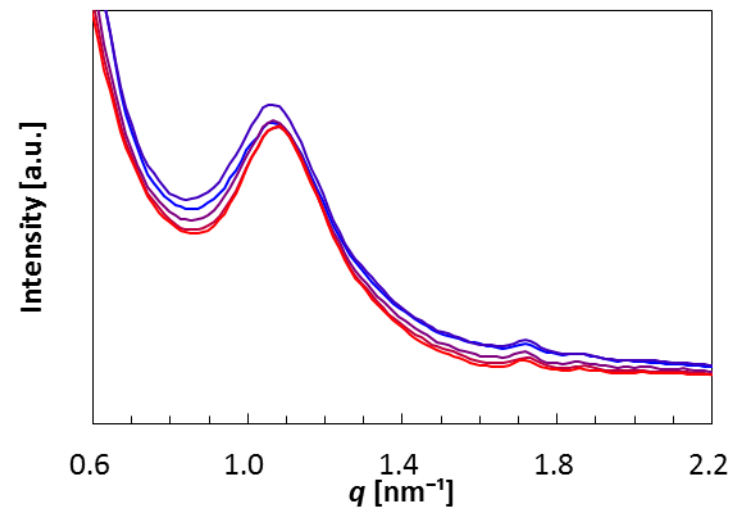
## 細胞間脂質のラメラ構造 (6 nm)



Water



Glycerin aq.

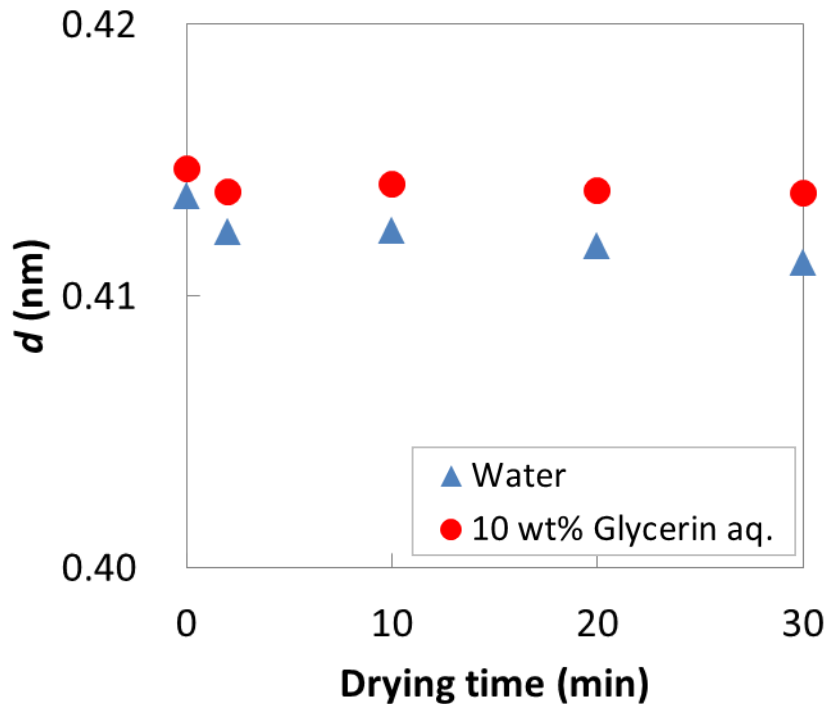


水ではラメラ構造の面間隔は経時的に縮小した。  
グリセリンでは構造をほぼ維持した。



# 細胞間脂質の充填構造の変化

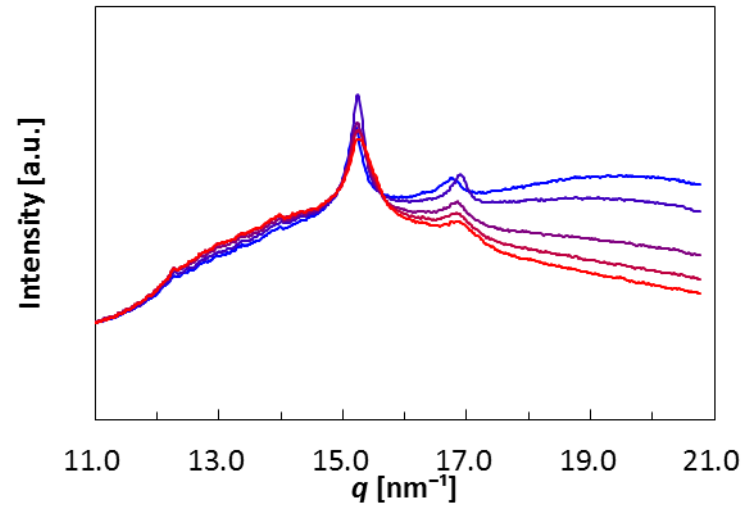
## 細胞間脂質の充填構造 (0.42 nm)



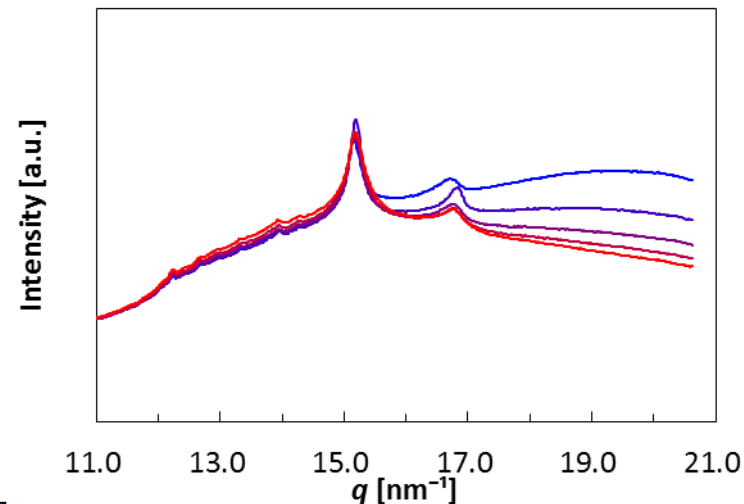
水に由来 ( $20 \text{ nm}^{-1}$ )するプロファイルの変化は見られたが、充填構造の変化は少なかった。

その後の実験により乾燥開始から短時間での振舞いの測定が重要であることが分かった。

Water



Glycerin aq.



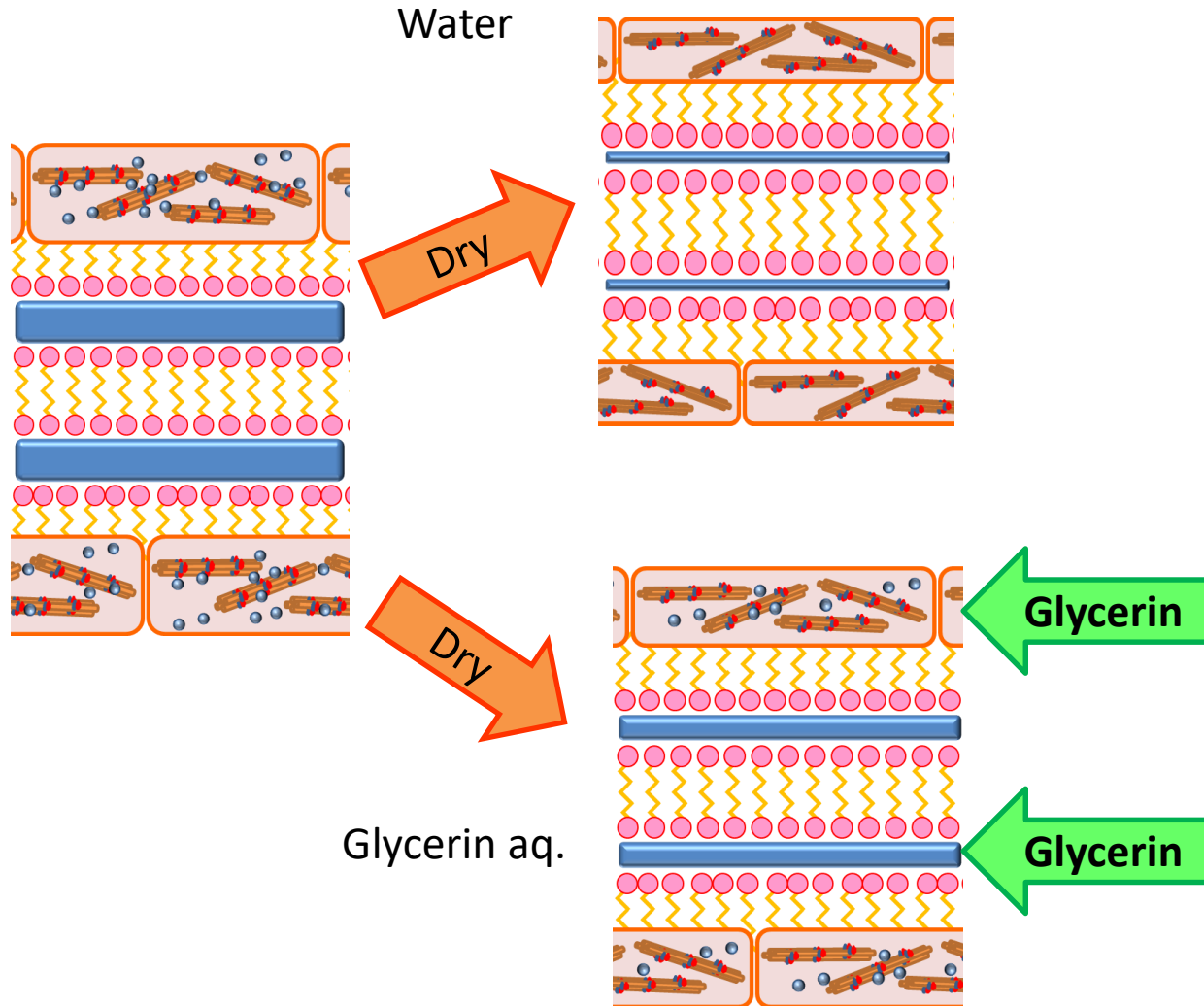


## <Changing speed>

|                              | Glycerin  | Water     |
|------------------------------|-----------|-----------|
| Softkeratin Structure        | Slow      | Fast      |
| Lamellar Structure           | Slow      | Fast      |
| Packing of hydrocarbon chain | Unchanged | Unchanged |



# 角層構造変化とグリセリンの影響部位



## 溶液セルを用いたX線回折実験の活用

- ・構造的根拠に基づいた保湿化粧品の調製
- ・高性能な保湿剤の開発



現在、グリセリンと相乗効果を示す保湿剤の  
ジグリセリンにつき相乗効果の機構解明を進めている

本研究におけるX線回折実験は、あいちシンクロトン光センターの2016年度共用プラットフォーム形成支援事業（課題番号2016PY001）を利用して実施させて頂きました。お力添え頂きました関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。





# 参考情報 シンクロトロン施設ごとの測定条件

溶液セルは、あいちSR(BL8S3)・Spring-8(BL40B2・19B2)においても使用可能

|        | AichiSR   | SPring-8  |
|--------|---|---|
| ビームライン | BL8S3   | BL19B2  |
| 波長     | 0.092 nm (13.5KeV)                              | 0.069 nm (18KeV)                                |
| カメラ長   | 450 mm  | 770 mm  |
| q領域    | 0.6 – 20.2 nm <sup>-1</sup><br>(10.4 – 0.31 nm) | 0.4 - 19.7 nm <sup>-1</sup><br>(15.7 – 0.32 nm) |
| 検出器    | イメージングプレート<br>(R-AXIS-IV++, Rigaku)             | PILATUS-2M                                      |
| 露光時間   | 360 s   | 20 s  |

