

アルギニンの *in vitro* 経皮吸収と HLB 数依存性への検証

経皮導入と HLB 数依存性に関する研究グループ

益子直也¹⁾

指導教員 渡邊幸夫¹⁾ 東 直行²⁾

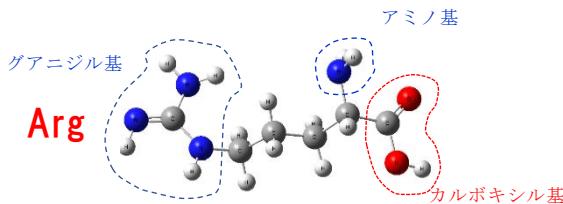
1)明星大学 理工学部 生命科学系 生体物質送達学研究室

2)日本医科大学 多摩永山病院 皮膚科

キーワード:ラボスキン(*in vitro*)・経皮吸収・アルギニン・HLB 数・比旋光度

[1] はじめに

我々はアミノ酸や化粧品、医薬品などの経皮浸透効果について、その導入物質の親油性-親水性バランス数(HLB 数と略す)の依存性について検討してきた。皮膚の保湿性を保ち、バリア機能に欠かせない天然保湿因子(NMF)の働きを増長する L-アルギニン(Arg)のカチオン(+)とアニオン(−)の経皮導入効率と HLB 数依存性についてそれぞれ比較検討した^{1,2)}。Arg はグアニジル基(-NHC(=NH)NH2; 電子リレーあり)とアミノ基(-NH2)、カルボキシル基(-COOH)を有する塩基性アミノ酸であり、Arg イオンの pH($pH_1 \leq pK_1 = 1.8$, $pK_1 \leq pH_2 \leq pK_2 = 8.9$, $pK_3 = 12.4 \leq pH_3$, 等電点 $pI = 10.7$)領域でグアニジル基、アミノ基はカチオンに、またカルボキシル基はアニオンにそれぞれイオン化する。ラボスキン *in vitro* 拡散セルプレートを用いて、*in vitro* 経皮導入試験を行い、Arg イオンの *in vitro* 経皮導入効率(比率)と HLB 数依存性についてそれぞれ検討した。



[2] アルギニンの構造と HLB 数

Arg イオンの HLB 数は以下の式(1)により、算出した。

$$HLB \text{ 数} = (W_p/W_s) \times 20 \quad \dots \dots (1)$$

(W_p :親水性部分の式量の総和, W_s :導入物質の分子量)



L-Arg(和光純薬 017-04612) 0.6g を水に溶かした溶液に 1M HCl 標準液を pH=1.0 になるまで加え(カチオン)、また別の溶液に 1M NaOH 標準液を pH=13.0 になるまで加え(アニオン)、それぞれ全量 20ml とした 3%Arg 溶液を調製した。これを *in vitro* 経皮導入試験に用いた。Arg のカチオンとアニオンの pH 曲線を Fig. 1 に示す。

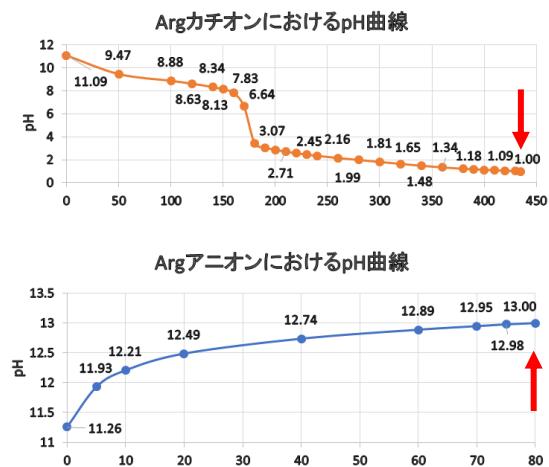


Fig. 1 Arg の pH 曲線

カチオンの pH 曲線では pH 9.0~8.0 付近で第一段階の当量点があることがわかる。

アルギニン(Arginine) C6H14N4O2 $pI(pH) = 10.76$

カチオン($pH=1.0$) HLB 数 = 15.2

アニオン($pH=13.0$) HLB 数 = 15.1

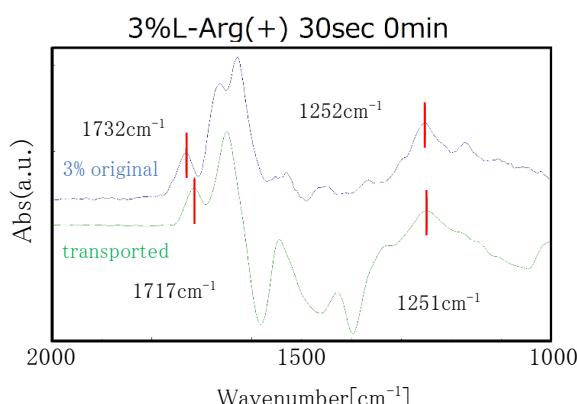
[3] *in vitro* 拡散セルプレートによる経皮導入試験

in vitro 拡散セルプレートによる導入手順と FTIR-

ATR スペクトル測定の手順をそれぞれ以下に示す. *in vitro* 拡散セルプレートに 9%ゼライス(コラーゲン入り)/リン酸ゲル溶液を加え, 冷却固化させた. そこにラボスキンを密着させ, 素肌の FTIR-ATR スペクトル測定を行った. 次に Pt 線を拡散セルプレート内部に挿入し, ソノイオン III(イオン導入器: パルス数 600:1, 1 波形 12.5μ sec, 40kHz 断続直流, 超音波照射機能)と結線させて等価回路をつくった. 更に Arg カチオン並びにアニオン水溶液をそれぞれ紙にしみ込ませ, 同プレート上のラボスキンに密着させ, ソノイオン III でそれぞれ 30 秒間イオン導入を行った. その後, 5 分間隔で 30 分間 FTIR-ATR スペクトル測定を行い, その差スペクトル解析結果より, *in vitro* 経皮導入効率(比率)を求めた.

[4] 実験結果と考察

3.0%Arg カチオンの FTIR-ATR スペクトル結果は, カチオン特有の 1720cm^{-1} (非イオン COOH, 逆対称伸縮振動)と 1250cm^{-1} (NH_3^+ , 変角振動)のバンドがそれぞれ得られたので, 1250cm^{-1} を定量バンドとした. またアニオン特有の定量バンドは 1400cm^{-1} (COO^- , 対称伸縮振動)に観測された. 以上の定量バンドから, Arg 水溶液と経皮導入された定量バンドの割合より経皮導入効率(比率)を算出した. 経皮導入されたスペクトルバンドではカチオン, アニオンとともに Arg 溶液のバンドと比べて低波数側にそれぞれシフトすることがわかった.



3.0%Arg カチオン及びアニオンの *in vitro* 経皮導入効率(比率)の結果を Fig. 2 に示す.

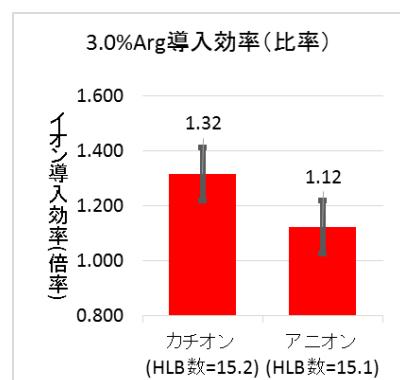
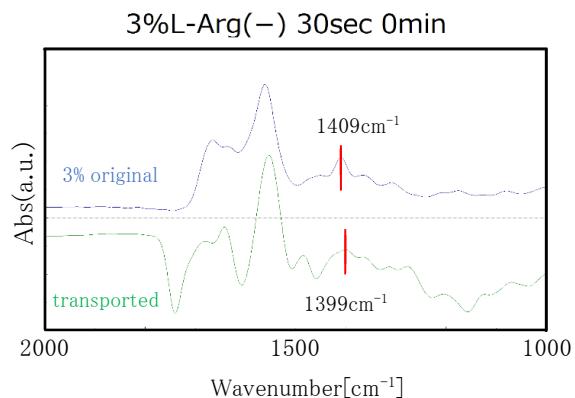


Fig. 2 Arg の *in vitro* 経皮導入効率(比率)

Arg の *in vitro* 経皮導入効率の結果(カチオン, アニオンの HLB 数には差異がない), アニオン(1.12)よりもカチオン(1.32)の方が *in vitro* 経皮導入効率が高いことがわかった. 標準誤差(SE)はカチオン(0.22), アニオン(0.38)であった. また, Arg イオンの比旋光度測定結果は, それぞれカチオン($[\alpha]^{20} = +24.33 \pm 0.5^\circ$), アニオン($[\alpha]^{20} = +13.61 \pm 0.5^\circ$)であった. なお比旋光度測定は堀場製旋光度計(SEPA-500 型)を用い, 26%スクロース水溶液の比旋光度測定値, $[\alpha]^{20} = +66.53 \pm 0.2^\circ$ から参照した.

[5] 参考文献

- 1) 渡邊幸夫, 大澤幾末, 豊里慧, 東直行, 小澤朋未, 塩谷和音, 松本惠, 鈴木晴恵, 上田豊甫, “塩基性アミノ酸の経皮吸収と Hydrophilic Lipophile Balance 数依存性に関する研究”日本化学会第 94 春季年会ポスター講演, 2PA-083 (2014)
- 2) Watanabe, T. Ueda, T. Ozawa, N. Higashi, K. Shioya, M. Matsumoto, Y. Suzuki, H. Suzuki, “Correlation between Percutaneous Permeation Efficiency of Amino Acid Ions and Hydrophilic Lipophile Balance Number of L-Arginine and L-Lysine in Hairless Mouse and Human Skins “The 15th Asian Chemical Congress, Poster # 0642, Aug 19-23, 2013 (Singapore)