

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2019年9月26日(26.09.2019)



(10) 国際公開番号

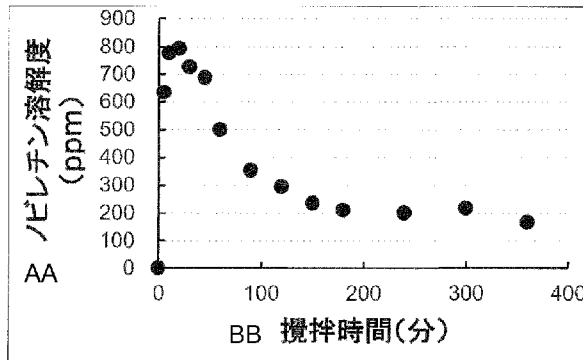
WO 2019/182032 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 31/352 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
A61K 9/10 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2019/011789
- (22) 国際出願日: 2019年3月20日(20.03.2019)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2018-054058 2018年3月22日(22.03.2018) JP
- (71) 出願人: 花王株式会社 (KAO CORPORATION)
[JP/JP]; 〒1038210 東京都中央区日本橋茅場
町一丁目14番10号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 岩下 真純 (IWASHITA, Masazumi);
〒3213497 栃木県芳賀郡市貝町赤羽26
06 花王株式会社研究所内 Tochigi (JP).
鈴木 高 (SUZUKI, Takashi); 〒1318501 東京
都墨田区文花2丁目1番3号 花王株式
会社研究所内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人アルガ特許事務
所 (THE PATENT CORPORATE BODY ARUGA
PATENT OFFICE); 〒1030013 東京都中央区
日本橋人形町1丁目3番8号 沢の鶴
人形町ビル Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING SOLID DISPERSION CONTAINING NOBILETIN

(54) 発明の名称: ノビレチン含有固体分散体の製造方法

【図1】



AA Solubility of nobiletin (ppm)
BB Stirring time (min)

(57) Abstract: Provided are a nobiletin composition that is highly soluble in water and a method for easily producing the same. A method for producing a solid dispersion containing nobiletin, said method comprising: a step for dissolving nobiletin or a nobiletin-containing material and a water-soluble hesperidin derivative selected from glucosyl hesperidin and methyl hesperidin in an aqueous ethanol solution having an ethanol concentration of 20-90 vol%; and a step for drying the thus obtained solution.

(57) 要約: 水への溶解性に優れるノビレチン組成物およびそれを簡便に製造する方法の提供。ノビレチンを含む固体分散体の製造方法であって、ノビレチン又はノビレチン含有物と、糖転移ヘスペリジン及びメチルヘスペリジンから選ばれる水溶性ヘスペリジン誘導体を、エタノール濃度が20~90体積%のエタノール水溶液に溶解させる工程、及び前記溶解液を乾燥する工程を含む、製造方法。



WO 2019/182032 A1

HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, KE, KG, KH,
KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY,
MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,
NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT,
QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS,
MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,
TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ,
DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS,
SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類 :

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))

明 細 書

発明の名称：ノビレチン含有固体分散体の製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、ノビレチンを含有する固体分散体の製造方法に関する。

背景技術

[0002] ノビレチンは、温州みかんやシークワーサー等の柑橘類に含まれるポリメトキシフラボノイドの一種である。ノビレチンは、PPAR活性化作用及びアディポネクチン分泌促進作用（特許文献1）、神経突起伸長促進作用（特許文献2）、記憶障害抑制作用（非特許文献1）等の種々の生理活性を有することが知られていることから、健康食品の重要な成分として認識されている。

[0003] しかしながら、ノビレチンは難水溶性であり、その原体そのものの生理機能を飲食品・医薬品等で有効活用することは難しい。

そこで、ノビレチンを水に可溶化させる技術が検討され、例えばシクロデキストリン包接物とする方法が報告されている（特許文献3）。しかしながら、この製造方法では、大幅な可溶化量の向上を得ることが難しいことが知られている。

[0004] 一方、難水溶性ポリフェノール類と難水溶性ポリフェノール類のメチル化物とを、特定濃度のエタノール水溶液に溶解した後、乾燥して得られたポリフェノール組成物において、難水溶性ポリフェノール類の水への溶解性が高まることが報告されている（特許文献4）。特に、本製造法を用いることで、非晶質固体分散体を得ることが出来れば、難水溶性ポリフェノールの過飽和溶解により、シクロデキストリン包摂などの方法を超える、顕著な溶解度増加が期待できる。しかしながら、当該文献にはノビレチンの可溶化については全く記載されておらず、その効果は明らかではない。

[0005] （特許文献1）国際公開第2006/049234号

（特許文献2）特開2002-60340号公報

(特許文献3) 特開平11-169148号公報

(特許文献4) 特開2014-1364号公報

(非特許文献1) 日本薬理学雑誌, 2015, 145, 234-236

発明の概要

[0006] 本発明は、以下の(1)～(3)に係るものである。

(1) ノビレチンを含有する固体分散体の製造方法であって、ノビレチン又はノビレチン含有物と、糖転移ヘスペリジン及びメチルヘスペリジンから選ばれる水溶性ヘスペリジン誘導体を、エタノール濃度が20～90体積%のエタノール水溶液に溶解させる工程、及び前記溶解液を乾燥する工程を含む、製造方法。

(2) (1)の製造方法により得られ、X線回折スペクトルから算出されるノビレチンの結晶化度が10%以下であるノビレチン含有固体分散体。

(3) (2)のノビレチン含有固体分散体を含有する医薬品、医薬部外品又は化粧品。

(4) (2)のノビレチン含有固体分散体を含有する飲食品。

図面の簡単な説明

[0007] [図1]実施例1のノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体におけるノビレチンの溶解濃度を示す図。

[図2]実施例1のノビレチン(上図)及びノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体(下図)の粉末X線回折の結果を示す図。

[図3]実施例2のノビレチン(上図)及びノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体(下図)の粉末X線回折の結果を示す図。

[図4]実施例3のノビレチン(上図)及びノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体(下図)の粉末X線回折の結果を示す図。

[図5]実施例4のノビレチン(上図)及びノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体(下図)の粉末X線回折の結果を示す図。

[図6]実施例5のノビレチン(上図)及びノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体(下図)の粉末X線回折の結果を示す図。

[図7]実施例6のノビレチン（上図）及びノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図8]実施例7のノビレチン（上図）及びノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図9]実施例8のノビレチン（上図）及びノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図10]実施例9のノビレチン（上図）及びノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図11]実施例10のノビレチン（上図）及びノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図12]実施例11のノビレチン（上図）及びノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図13]実施例12のノビレチン（上図）及びノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図14]実施例13のノビレチン（上図）及びノビレチン-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図15]実施例14のPMF90（上図）及びPMF90-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図16]実施例15のPMF90（上図）及びPMF90-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図17]実施例16のPMF90（上図）及びPMF90-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図18]実施例17のノビレチン（上図）及びノビレチン- α GヘスペリジンPA-T固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図19]実施例18のノビレチン（上図）及びノビレチン- α GヘスペリジンPA-T固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図20]実施例19のノビレチン（上図）及びノビレチン- α GヘスペリジンPA-T固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図21]実施例20のノビレチン（上図）及びノビレチン- α GヘスペリジンPA-T固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図22]実施例21のPMF90（上図）及びPMF90- α GヘスペリジンPA-T固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図23]実施例22のPMF90（上図）及びPMF90- α GヘスペリジンPA-T固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図24]比較例1のエラグ酸（上図）及びエラグ酸-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図25]比較例2のエラグ酸（上図）及びエラグ酸-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図26]比較例3のエラグ酸（上図）及びエラグ酸-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

[図27]比較例4のエラグ酸（上図）及びエラグ酸-メチルヘスペリジン固体分散体（下図）の粉末X線回折の結果を示す図。

発明の詳細な説明

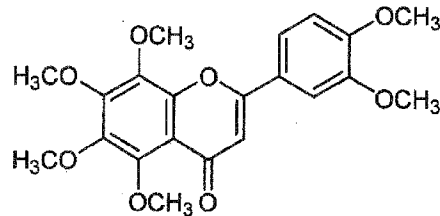
[0008] 本発明は、水への溶解性に優れるノビレチン組成物を簡便に製造する方法を提供することに関する。

[0009] 本発明者は、上記課題に鑑み鋭意検討したところ、ノビレチン又はノビレチン含有物をエタノール水溶液に溶解し、得られた溶解液を乾燥することにより、ノビレチンが非晶質の状態で分散した固体分散体を得られること、斯かる固体分散体は、ノビレチンの水への溶解性が極めて高く、且つ水中での高い溶解性が安定的に維持され、また高い生体膜透過性を有することを見出した。

[0010] 本発明によれば、ノビレチンの水への溶解性が飛躍的に向上したノビレチン含有固体分散体を提供することができる。本発明の固体分散体を用いることにより、ノビレチンの生体膜透過性を向上でき、ノビレチンの生理機能を増強することなどが期待される。また、本発明の固体分散体は、製造工程中に有機溶媒を用いないため飲食品への使用に好適である。

[0011] 本発明において、「ノビレチン」とは、3', 4', 5, 6, 7, 8-ヘキサメトキシフラボンであり、以下の構造を有する。

[0012] [化1]



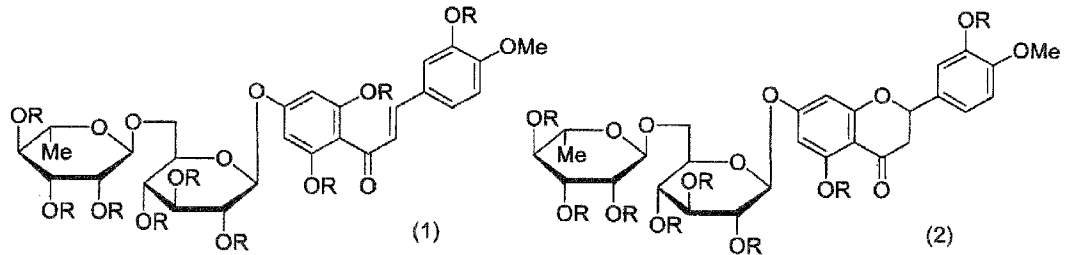
[0013] ノビレチンとしては、例えば、化学合成したもの、天然物から分離したものの、化学合成や天然物から分離した後に精製したもの、市販品等、何れのものでも良い。ノビレチンの純度は特に限定されず、例えば、固体分散体とした際に所望の薬理効果が発揮できる程度の純度であればよい。例えば、柑橘類の果実や搾汁残渣を、メタノールやエタノール等のノビレチン可溶性の有機溶媒で抽出処理し、適宜分離・精製して得られる、ノビレチンを高含有率又は高含有量で含む「ノビレチン含有物」を用いることもできる。ノビレチン含有物としては、例えばノビレチンを高含有量で含むシークワーサーエキス（例えば「PMF90」＜株式会社沖縄リサーチセンター製、ノビレチン含有率約60質量%＞等）が挙げられる。

[0014] 本発明において用いられる「水溶性ヘスペリジン誘導体」としては、ヘスペリジンを酵素又は化学処理することにより水溶性を高めたヘスペリジン類が挙げられ、例えばグルコシルヘスペリジン等のヘスペリジンの糖部分（ルチノース部分）に別の糖を結合させた糖転移ヘスペリジンやメチルヘスペリジンが挙げられる。このうち水溶性の点から、メチルヘスペリジン、グルコシルヘスペリジンが好ましい。

「メチルヘスペリジン」は、ヘスペリジン（下記式（2）においてRが水素原子である化合物）をジメチル硫酸等のメチル化剤でメチル化することによって製造される数種類のメチル化生成物の混合物であり、主に、カルコン型化合物（1）及びフラバノン型化合物（2）が含まれることが知られており、その構成成分として、例えば以下に示す構造のものが挙げられる（例え

ば、日本食品化学学会誌, 12(2), 2005, 71-75参照)。

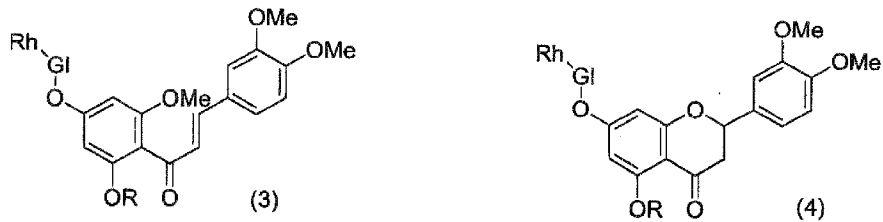
[0015] [化2]



[0016] (式中、Rは、水素原子もしくはメチル基を表す)

[0017] 「メチルヘスペリジン」は、わが国において、医薬品添加物名、食品添加物名、化粧品原料名として採用されており、医薬品添加物および食品添加物としてのメチルヘスペリジンは、主に、化合物(3)及び(4)の混合物として取り扱われている。

[0018] [化3]



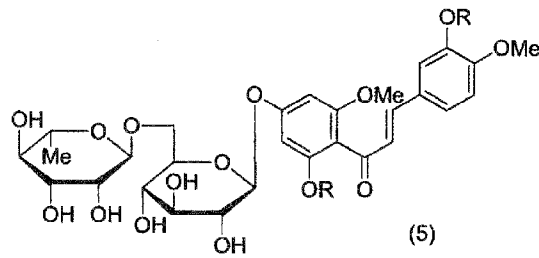
| | R | Gl-2 | Rh-2 | | R | Gl-2 | Rh-2 |
|-------|----|-----------------|------|-------|---|------|------|
| (3-1) | Me | Me ₂ | H | (4-1) | H | Me | Me |
| (3-2) | H | Me | H | (4-2) | H | Me | H |
| (3-3) | H | H | H | (4-3) | H | H | H |

[0019] (式中、Glは、グルコース残基、Rhは、ラムノース残基を表す。また、Gl-2は、グルコース残基の2位((3-1)の場合、3位も含む)、Rh-2は、ラムノース残基の2位を表す。)

また、化粧品原料としてのヘスペリジンメチルカルコンは、(5)で示される化合物として取り扱われている。なお、カルコン型化合物を多く含む組成の場合、ヘスペリジンメチルカルコンとも呼ばれる。

[0020]

[化4]



[0021] (式中、Rは水素原子又はメチル基を表す。)

[0022] 本発明において用いられるメチルヘスペリジンは、上記で示したカルコン型化合物(1)とフラバノン型化合物(2)の両方を含むものでもよい、また、それぞれの片方のみを含むものでもよい。

本発明において、より好適なメチルヘスペリジンとしては、化合物(3)と化合物(4)の混合物が挙げられる。

メチルヘスペリジンは、公知の方法、例えば、ヘスペリジン水を水酸化ナトリウム水溶液に溶かし、そのアルカリ溶液に対応量のジメチル硫酸を作用させ、反応液を硫酸で中和し、*n*-ブチルアルコールで抽出し、溶媒を留去したのち、イソプロピルアルコールで再結晶することにより製造できるが(崎浴、日本化学雑誌、79、733-6(1958))、その製造法はこれに限るものではない。

メチルヘスペリジンとして市販のメチルヘスペリジン含有製剤を使用してもよく、例えば、「メチルヘスペリジン」(東京化成工業(株))、「ヘスペリジンメチルカルコン」(Sigma社)、「メチルヘスペリジン」(浜理薬品工業(株))、「メチルヘスペリジン」(昭和電工(株))、「メチルヘスペリジン」(アルプス薬品工業(株))が挙げられる。

[0023] また、グルコシルヘスペリジンとしては、例えばモノグルコシルヘスペリジン(「 α Gヘスペリジン PAT」(東洋製糖(株))、「林原ヘスペリジン(登録商標)S」(林原株式会社)等が挙げられる。

[0024] 本発明のノビレチン含有する固体分散体は、ノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導体をエタノール濃度が、25℃において2

0～90体積%のエタノール水溶液に溶解させる工程、及び前記溶解液を乾燥する工程を含む。

ノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導体の溶解に用いるエタノール水溶液のエタノール濃度は、ノビレチン又はノビレチン含有物の溶解性の点から25体積%以上であることが好ましく、また、水溶性ヘスペリジン誘導体の溶解性の点から88体積%以下であることが好ましい。具体的には、エタノール濃度は、30体積%以上がより好ましく、更に35体積%以上、更に40体積%以上、更に50体積%以上、更に60体積%以上、更に70体積%以上が好ましく、且つ85体積%以下がより好ましく、82体積%以下が更に好ましい。また、エタノール濃度は30～85体積%がより好ましく、更に35～85体積%、更に40～82体積%以下、更に45～82体積%が好ましい。

[0025] ノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導体のエタノール水溶液への溶解方法は、特に限定されないが、例えばノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導体を任意の割合で混合し、当該混合物をエタノール水溶液と混合することにより行うことができる。

[0026] ノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導体を混合する際、ノビレチンの含有量は、固体分散体中のノビレチンの含有量を高める点から、混合物中に1質量%以上、更に3質量%以上、更に4質量%以上、更に5質量%以上、更に7.5質量%以上、更に10質量%以上、更に15質量%以上が好ましく、また、加工しやすい点から、90質量%以下、更に70質量%以下、更に60質量%以下、更に50質量%以下、更に45質量%以下、更に40質量%以下、更に35質量%以下が好ましい。また、混合物中のノビレチンの含有量は、1～90質量%、更に3～70質量%、更に4～60質量%、更に5～50質量%、更に7.5～45質量%、更に10～40質量%、更に15～35質量%が好ましく、25質量%が殊更好ましい。

[0027] 水溶性ヘスペリジン誘導体の含有量は、その種類によって異なるが、ノビ

レチンの水への溶解性の点から、混合物中に10質量%以上、更に20質量%以上、更に25質量%以上、更に30質量%以上、更に45質量%以上、更に60質量%以上、更に65質量%以上が好ましく、また、固体分散体の調製がしやすい点から、99質量%以下、更に97質量%以下、更に96質量%以下、更に92.5質量%以下、更に90質量%以下、更に85質量%以下が好ましい。また、前記混合物中のメチルヘスペリジンの含有量は、10~99質量%、更に20~97質量%、更に25~96質量%、更に30~92.5質量%、更に45~90質量%、更に60~85質量%、更に65~85質量%が好ましく、75質量%が殊更好ましい。

[0028] 本発明において、ノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導体を混合する際、水溶性ヘスペリジン誘導体に対するノビレチンの質量比〔ノビレチン/水溶性ヘスペリジン誘導体〕は、得られる固体分散体中のノビレチンの含有量を高める点、また、固体分散体を調製しやすい点から、0.01以上が好ましく、0.03以上がより好ましく、0.04以上が更に好ましく、0.07以上が更に好ましく、0.1以上が更に好ましい。また、得られるノビレチンの水への溶解性を高める点から、9以下が好ましく、更に4以下がより好ましく、3以下が更に好ましく、1以下が更に好ましく、0.67以下が更に好ましい。また、0.01~9が好ましく、0.03~4がより好ましく、0.04~3がより好ましく、更には0.07~1が、更には0.1~0.67が好ましく、0.33が殊更好ましい。

[0029] ノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導体とを、上記のエタノール水溶液に溶解する際の温度は0℃~90℃で十分であり、かかる温度条件で溶解すれば常圧で処理が可能であり特殊な装置を必要としない点で好ましい。溶解温度の下限は、ノビレチン又はノビレチン含有物の溶解性を高める観点より5℃以上が好ましく、10℃以上が更に好ましい。また、溶解温度の上限は、エネルギー効率、及びエタノール水溶液の沸点の点から、85℃以下が好ましく、80℃以下がより好ましく、75℃以下が更に好ましく、70℃以下が更に好ましく、60℃以下が更に好ましい。具体的

には、溶解温度は、5～85℃が好ましく、10～80℃がより好ましく、10～75℃が更に好ましく、10～70℃が更に好ましく、10～60℃が更に好ましい。

[0030] 溶解処理後、溶解液を必要により、好ましくは50℃以下、更に好ましくは30℃以下に冷却する工程を行ってもよい。更に、必要により溶解液から固体部を除去する工程を行ってもよい。固体部を除去する方法としては、特に制限されず、例えば遠心分離やデカンテーション、ろ過により行うことができる。

[0031] 次に、得られた溶解液は乾燥工程に付される。

ここで、乾燥とは、溶解液から溶媒を除去することをいう。乾燥手段としては、噴霧乾燥、蒸発乾固、凍結乾燥等が挙げられる。なかでも、噴霧乾燥が、ノビレチン又はノビレチン含有物を、結晶性を持たない固体物の状態とし、ノビレチン又はノビレチン含有物の水への溶解性を一層高め、ノビレチン又はノビレチン含有物の初期溶解度を向上させる点から好ましい。

[0032] 凍結乾燥又は噴霧乾燥の方法は、特に制限されず、公知の方法を適用できる。

例えば、噴霧乾燥の場合、好ましくはスプレードライヤーが用いられる。

噴霧乾燥の条件は適宜設定することができるが、例えば、入口ガス温度は95～145℃、好ましくは100～140℃、より好ましくは105～135℃、出口ガス温度は50～90℃、好ましくは55～85℃、より好ましくは60～80℃である。

また、噴霧溶液供給速度は、150～600 mL/h、噴霧窒素流量は、200～650 L/h、アスピレーター流量は、25～35 m³/hの範囲に設定するのが好ましい。

[0033] また、凍結乾燥の場合、処理液を液体窒素やクールバス、冷凍庫等で凍結し、粉碎し、篩別したのち真空で水分を昇華させて、乾燥することができる。処理液の凍結温度は-70～0℃が好ましい。乾燥中の絶対圧力は0.1～1000 Paが好ましく、0.5～100 Paがより好ましく、1～10

P a が更に好ましい。

噴霧乾燥又は凍結乾燥後、必要に応じて、分級、造粒、粉碎等を行ってもよい。

[0034] 斯かる処理によって、ノビレチンが非晶質化し、ノビレチンを非晶質の状態を含む固体分散体となる。

非晶質とは、分子配列に一定の規則性を欠いている状態である。非晶質（アモルファス）であることは、粉末X線回折によって確認できる。

本発明において固体分散体中のノビレチンは、結晶化度が50%以下であるものが好ましく、更に結晶化度が40%以下であるものが好ましく、更に結晶化度が20%以下であるものが好ましく、更に結晶化度が10%以下であるものが好ましく、更に結晶化度が5%以下であるものが好ましく、更に結晶化度が0%の完全な非晶質であることが殊更好ましい。

本発明の固体分散体は、粉末X線回折測定において、ノビレチンの結晶性回折ピークが検出されないのが好ましい。

[0035] ノビレチンの結晶化度は、以下の方法で算出できる。まず、X線回折法による回折強度値から、非干渉性散乱や格子の乱れ等の影響を考慮しないで、プロファイル・フィッティングの手法を用いて結晶性回折線と非晶ハローにピーク分離する。次に、そこで得られた各ピークの積分強度よりノビレチンの結晶化度を下記計算式〔1〕により算出する。

$$\text{ノビレチンの結晶化度 (\%)} = \left[\frac{\sum I_{\alpha}}{\sum I_{\alpha} + \sum I_{am}} \right] \times 100 \quad [1]$$

〔 $\sum I_{\alpha}$ は、結晶性回折線の各ピークの積分強度の和、 $\sum I_{am}$ は、非晶部の回折線の各ピークの積分強度の和〕

[0036] 斯くして得られる本発明のノビレチンを含有する固体分散体（「ノビレチン含有固体分散体」）は水への溶解性（初期溶解性、経時的溶解性）に極めて優れる。

例えば後記実施例に示すように、ノビレチンの経時的溶解性（例えば、ノビレチン含有固体分散体を水に添加して6時間攪拌した場合のノビレチン溶

解濃度（攪拌開始6時間後までの曲線下面積（横軸：攪拌時間（単位＝分）
、縦軸：ノビレチン溶解度（単位＝ppm））は、約 1.13×10^5 ppm
・minと極めて高く、高い溶解度が長時間維持される（図1及び表1-1
）。斯かる高い溶解性は、ノビレチンと同様に難溶性のポリフェノールとして知られている化合物（例えばエラグ酸）をメチルヘスペリジンや α GヘスペリジンP-A-Tと混合して製造される固体分散体では得られない予想外の効果である。

また、本発明のノビレチン含有固体分散体は、ノビレチンのヒト小腸上皮細胞由来の細胞膜に対する透過性が極めて優れており、当該効果もまた上記他の難溶性のポリフェノールの固体分散体からは予測できないものである。本製造法により、非晶質の固体分散体を得られたことにより、ノビレチンの過飽和溶解が実現したことにより、本効果が実現したものと推定される。

[0037] また、固体分散体中の水分含量は、微細化し易く、ハンドリング性が良好な点から、20質量%以下、更に10質量%以下、更に7質量%以下、更に5質量%以下が好ましい。

[0038] 本発明の製造方法で得られるノビレチンを含有する固体分散体は、様々な飲食品や医薬品、医薬部外品、化粧品等に使用することができる。とりわけ、使用時に水系溶媒に溶解される製品に利用するのが有用である。

例えば、飲食品としては、インスタント飲料、パン類、麺類、クッキー等の菓子類、スナック類、ゼリー類、乳製品、冷凍食品、粉末コーヒー等のインスタント食品、でんぷん加工製品、加工肉製品、その他加工食品、調味料、栄養補助食品等の、固形状又は半固形状の飲食品が挙げられ、好ましくは使用時に水又は加熱水に溶解させ喫食する固形状のインスタント飲食品が挙げられる。また、医薬品又は医薬部外品としては、錠剤（チュアブル錠等）、カプセル剤、粉末剤等の剤型が挙げられる。また、化粧品としては、石鹸などの洗浄料、美白用化粧料等が好適に挙げられる。

上記飲食品、医薬品、医薬部外品又は化粧品に配合されるノビレチンを含有する固体分散体の量は、機能発現及び製品サイズの観点から、0.01質

量%以上、好ましくは0.05質量%以上、さらに好ましくは0.1質量%以上、さらに好ましくは0.5質量%以上、さらに好ましくは1.0質量%以上が好ましい。一方、呈味の観点から、90質量%以下、好ましくは80質量%以下、さらに好ましくは70質量%以下、さらに好ましくは60質量%以下、さらに好ましくは50質量%以下が好ましい。また、0.01~90質量%、好ましくは0.05~80質量%、さらに好ましくは0.1~70質量%、さらに好ましくは0.5~60質量%、さらに好ましくは1.0~50質量%である。

なお、当該製剤中のノビレチンを含有する固体分散体の存在状態は、溶解状態であっても、分散状態であってもよく、その存在状態は問わない。

本発明の態様及び好ましい実施態様を以下に示す。

[0039] <1>ノビレチンを含有する固体分散体の製造方法であって、ノビレチン又はノビレチン含有物と、糖転移ヘスペリジン及びメチルヘスペリジンから選ばれる水溶性ヘスペリジン誘導体を、エタノール濃度が20~90体積%のエタノール水溶液に溶解させる工程、及び前記溶解液を乾燥する工程を含む、製造方法。

<2>ノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導体を、0~90℃でエタノール水溶液に溶解させる<1>の固体分散体の製造方法。

<3>エタノール水溶液のエタノール濃度が30~88体積%である<1>又は<2>の固体分散体の製造方法。

<4>乾燥方法が噴霧乾燥である<1>~<3>のいずれかの固体分散体の製造方法。

<5>ノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導体を混合する際の水溶性ヘスペリジン誘導体に対するノビレチンの質量比〔ノビレチン/水溶性ヘスペリジン誘導体〕が0.01~0.67である<1>~<4>のいずれかの固体分散体の製造方法。

<6><1>~<5>のいずれかの製造方法により得られ、X線回折スペ

クトルから算出されるノビレチンの結晶化度が10%以下であるノビレチン含有固体分散体。

<7><6>のノビレチン含有固体分散体を含有する医薬品、医薬部外品又は化粧品。

<8><6>のノビレチン含有固体分散体を含有する飲食品。

<9>使用時に水又は加熱水に溶解させ喫食する固形状のインスタント飲食品である<8>の飲食品。

[0040] <10><2>において、溶解温度は、好ましくは5℃以上、より好ましくは10℃以上であり、且つ好ましくは85℃以下、より好ましくは80℃以下、より好ましくは75℃以下、より好ましくは70℃以下、より好ましくは60℃以下である。また、より好ましくは5～85℃、より好ましくは10～80℃、より好ましくは10～75℃、より好ましくは10～70℃、より好ましくは10～60℃である。

<11><3>において、エタノール水溶液のエタノール濃度は、より好ましくは30体積%以上、より好ましくは35体積%以上、より好ましくは40体積%以上、より好ましくは50体積%以上、より好ましくは60体積%以上、より好ましくは70体積%以上であり、且つより好ましくは85体積%以下、より好ましくは82体積%以下である。また、より好ましくは30～85体積%、より好ましくは35～85体積%、より好ましくは40～82体積%、より好ましくは45～82体積%である。

<12><1>において、ノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導體混合物中の、ノビレチンの含有量は、混合物中に好ましくは1質量%以上、より好ましくは3質量%以上、より好ましくは4質量%以上、より好ましくは5質量%以上、より好ましくは7.5質量%以上、より好ましくは10質量%以上、より好ましくは15質量%以上であり、且つ好ましくは90質量%以下、より好ましくは70質量%以下、より好ましくは60質量%以下、より好ましくは50質量%以下、より好ましくは45質量%以下、より好ましくは40質量%以下、より好ましくは35質量%以下であ

る。また、好ましくは1～90質量%、より好ましくは3～70質量%、より好ましくは4～60質量%、より好ましくは5～50質量%、より好ましくは7.5～45質量%、より好ましくは10～40質量%、より好ましくは15～35質量%、より好ましくは25質量%である。

<13><1>において、ノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導体混合物中の、水溶性ヘスペリジン誘導体の含有量は、混合物中に好ましくは10質量%以上、より好ましくは20質量%以上、より好ましくは25質量%以上、より好ましくは30質量%以上、より好ましくは45質量%以上、より好ましくは60質量%以上、より好ましくは65質量%以上であり、且つ好ましくは99質量%以下、より好ましくは97質量%以下、より好ましくは96質量%以下、より好ましくは92.5質量%以下、より好ましくは90質量%以下、より好ましくは85質量%以下である。また、好ましくは10～99質量%、より好ましくは20～97質量%、より好ましくは25～96質量%、より好ましくは30～92.5質量%、より好ましくは45～90質量%、より好ましくは60～85質量%、より好ましくは65～85質量%、より好ましくは75質量%である。

<14><1>において、ノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導体を混合する際のノビレチンと水溶性ヘスペリジン誘導体質量比〔ノビレチン/水溶性ヘスペリジン誘導体〕は、好ましくは0.03以上、より好ましくは0.04以上、より好ましくは0.07以上、より好ましくは0.1以上であり、且つ好ましくは9以下、より好ましくは4以下、より好ましくは3以下、より好ましくは1以下、より好ましくは0.67以下である。また、好ましくは0.01～9、より好ましくは0.03～4、より好ましくは0.04～3、より好ましくは0.07～1、より好ましくは0.1～0.67、より好ましくは0.33である。

<15><1>において、ノビレチンの結晶化度は、好ましくは50%以下、より好ましくは40%以下、より好ましくは20%以下、より好ましくは10%以下、より好ましくは5%以下、より好ましくは0%である。

実施例

[0041] [難水溶性物質の定量]

難水溶性ポリフェノール類の定量には、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いた。検出には、紫外可視分光（UV-vis）検出器、もしくは質量分析（MS/MS）装置を使用した。

[0042] [HPLC-UV-visによる難水溶性物質の定量]

アジレント・テクノロジー株式会社製高速液体クロマトグラフを用い、化学物質評価研究機構製カラムL-Column ODS-2（4.6mmφ×50mm、2μm）を装着し、カラム温度40℃でグラジエント法により行った。

試料注入量は10μL、移動相A液は0.1重量%トリフルオロ酢酸水溶液、B液はアセトニトリルとし、1.0mL/分で送液した。グラジエント条件は以下のとおりである。

| 時間（分） | A液（%） | B液（%） |
|-------|-------|-------|
| 0 | 99 | 1 |
| 1 | 99 | 1 |
| 4 | 5 | 95 |
| 5 | 5 | 95 |
| 5.01 | 99 | 1 |
| 6 | 99 | 1 |

検出は、ノビレチンは波長320nm、エラグ酸は波長254nmの吸光度により定量した。

[0043] [HPLC-UV-visによる難水溶性物質の定量]

アジレント・テクノロジー株式会社製高速液体クロマトグラフを用い、化学物質評価研究機構製カラムL-Column ODS-2（4.6mmφ×50mm、2μm）を装着し、カラム温度40℃でグラジエント法により行った。

ノビレチンの測定では、試料注入量は10μL、移動相A液は0.1重量

%ギ酸水溶液、B液はアセトニトリルとし、0.6 mL/分で送液した。グラジエント条件は以下の通りである。

| 時間 (分) | A液 (%) | B液 (%) |
|--------|--------|--------|
| 0 | 90 | 10 |
| 0.5 | 90 | 10 |
| 4 | 10 | 90 |
| 5 | 10 | 90 |
| 5.01 | 90 | 10 |
| 6 | 90 | 10 |

エラグ酸の測定では、試料注入量は10 μ L、移動相A液は5.0重量%ギ酸水溶液、B液はアセトニトリルとし、0.6 mL/分で送液した。グラジエント条件は以下の通りである。

| 時間 (分) | A液 (%) | B液 (%) |
|--------|--------|--------|
| 0 | 99 | 1 |
| 0.5 | 99 | 1 |
| 4 | 5 | 95 |
| 5 | 5 | 95 |
| 5.01 | 99 | 1 |
| 6 | 99 | 1 |

[0044] [MS/MS条件]

質量分析装置はQTRAP^(R)4500 (株式会社エービーサイエックス製)を用いた。スキャン条件はMRM, パラメータテーブルはアナライトで測定した。ノビレチンはポジティブイオンモードによりMRM (m/Z) 404.0 \rightarrow 374.0のイオンを、エラグ酸はネガティブモードによりMRM (m/Z) 300.9 \rightarrow 284.0のイオンをそれぞれ検出することで定量した。

[0045] [X線回折分析]

X線回折強度は、株式会社リガク製の「MiniFlex II」を用いて

、X線源：Cu/K α -radiation、管電圧：30kV、管電流：15mA、測定範囲：回折角：5~40°、X線スキンスピード：10°/minの条件で測定した。測定用試料は、面積400mm²×厚さ0.5mmのペレットを圧縮して作製した。

[0046] 〔経時的な溶解性の評価〕

50mLのスクリー管（株式会社マルエム製、No. 2、褐色）に、イオン交換水を30mL加えた後、固体分散体100mg添加、2cmスターラーチップを用いて500rpmで攪拌した。攪拌開始を0分とし、攪拌6時間までの間、適宜その一部を0.45 μ mセルロースアセテートフィルターでろ過し、前記〔難水溶性物質の定量〕に記載した方法によりノビレチン、エラグ酸溶解量を定量した。

[0047] 〔Caco-2細胞膜透過性評価〕

試験例1 ヒト大腸癌由来上皮細胞を用いた、難水溶性物質原体およびその固体分散体の小腸上皮の透過促進試験

Caco-2細胞（ヒト大腸癌由来上皮細胞、DSファーマバイオケミカル社より入手）を37℃、5%CO₂存在下で培養した。培養にはCaco-2細胞分化培地セット（Corning社製）、及びバイオコートフィブリラーコラーゲンHTSマルチウェルインサート（24ウェル、膜孔1 μ m、Corning社製）を用いた。MITO+TMシーラム・エクステンダーを添加したシーディング基本培地にCaco-2細胞を懸濁してインサート上部（頂端膜側）に播種し、インサート下部（基底膜側）にも同培地を添加した。24時間のCaco-2細胞培養後に、前記シーディング基本培地をMITO+TMシーラム・エクステンダーを添加したEnterostim腸上皮分化培地に交換した。その後、さらに48時間前記細胞を培養し、小腸上皮細胞シート様に分化させた。

[0048] 腸管のタイトジャンクションの形成を確認するため、難水溶性物質原体および固体分散体の小腸上皮の透過促進試験直前にMillicell ERS（Millipore社製）を用いて経上皮電気抵抗（TEER）値を測

定し、規定値 ($350 \Omega \cdot \text{cm}^2$) 以上のCaco-2細胞を用いた。

[0049] 評価サンプルの調製は以下の通り行った。20 mLのスクリー管（株式会社マルエム製、No. 2、褐色）に、HBSS（Invitrogen社製、10 mM MES、5 mM グルコース、10 mM グルタミン、1 mM アスコルビン酸を添加しpH 6.0に調製）を6 mL加えた後、難水溶性物質原体10 mgもしくは固体分散体40 mg添加し、2 cmスターラーチップを用いて300 rpmで10分間攪拌した。攪拌後、0.45 μm セルロースアセテートフィルターでろ過した溶液、およびその希釈液を評価サンプルとして用いた。なお、表1-1～表1-4には、本ろ液をHBSSで30倍に希釈した溶液をインサート上部仕込み液に使用した評価の結果を示した。

[0050] TEE R測定による細胞選別後、インサート上部及び下部をHBSSで置換して2回洗浄した。その後、インサート上部には、前記方法で調製した難水溶性物質およびその固体分散体水溶液の希釈液を添加した。本希釈物の評価濃度を表1-1～1-4に示す。インサート下部には、HBSS（10 mM HEPES、5 mM グルコース、10 mM グルタミン、pH 7.4）を添加した。そしてCaco-2細胞を37°C、5%CO₂存在下で4時間培養した。

その後、インサート下部のHBSSを回収し、下記の方法で小腸上皮を透過した難水溶性物質を、液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析法（HPLC-MS/MS）により定量した。

[0051] [LDH活性測定試験による細胞生存率評価]

試験例2 LDH活性測定試験

試験例1のインサート上部のHBSSを回収し、下記の方法で、細胞膜を構成するCaco-2細胞から放出された溶液中のLDH(Lactate dehydrogenase)活性測定から求まる、各評価サンプルの細胞傷害性から細胞生存率を評価した。

細胞傷害性の評価は、LDH Cytotoxicity Assay

Kit (Cayman Chemical Company 製) を用い、所定の方法により行った。評価終了後のインサート上部の試験溶液をサンプルとし、含有LDHにより産生されるホルマザン量 (490 nmの吸光強度から定量) からLDH活性を算出した。なお、細胞生存率算出に当たり、Caco-2細胞膜透過性評価 (試験例1) のサンプルとして1.0% Triton X-100のHBSS溶液を用いた際の、評価終了後のインサート上部の試験溶液でのLDH活性を生存率0%に相当する値とした。そして、下記式により、LDH活性の変化倍率を算出した。

(算出式)

$$\text{細胞生存率 (\%)} = \left(\frac{\text{1.0\% Triton X HBSS溶液 評価終了後のインサート上部の試験溶液でのLDH活性} - \text{各サンプル 評価終了後のインサート上部の試験溶液のLDH活性}}{\text{1.0\% Triton X HBSS溶液 評価終了後のインサート上部の試験溶液でのLDH活性}} \right)$$

算出式により求まる細胞生存率の結果の平均値及び標準誤差 (N = 3または4) を表1に示す。

[0052] 実施例1

ノビレチン (和光純薬工業株式会社製) 及び、メチルヘスペリジン (東京化成工業株式会社製) をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体5gを、50体積%エタノール含有水50mLと混合した。本懸濁液を60°C下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290 (日本ビュッヒ社製) を、入口ガス温度: 130°C、出口ガス温度: 76°C、溶液供給速度: 360 mL/h、噴霧室素流量: 414 L/h、アスピレーター流量: 35 m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は1.73g (収率35%) であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図2に示す。ノビレチン由来の回折ピークが消失していることから、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認され、本固体分散体の結晶化度は0%であると見積もられた。

前記〔経時的な溶解性の評価〕により固体分散体のノビレチンの溶解濃度を測定した結果、攪拌開始6時間後までの曲線下面積（横軸：時間（単位＝分）、縦軸：溶解濃度（単位＝ppm））は $1.13 \times 10^5 \text{ ppm} \cdot \text{min}$ であり、極めて高い溶解濃度を長時間維持することが示された（図1及び表1-1）。

また、前記〔Caco-2細胞膜透過性評価〕による、本固体分散体試験時のインサート上部評価開始時ノビレチン濃度は $41.8 \mu\text{M}$ 、インサート下部評価終了時ノビレチン濃度 $1.08 \mu\text{M}$ であり、高い溶解性によるノビレチン膜透過量の向上が確認された（表1-1）。

[0053] 実施例2

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体2.5gを、50体積%エタノール含有水50mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：76℃、溶液供給速度：360mL/h、噴霧室素流量：414L/h、アスピレーター流量：35m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は0.75g（収率30%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図3に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-1に示す。

[0054] 実施例3

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体5gを、80体積%エタノール含有水50mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：78℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧室素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は2.17 g（収率43%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図4に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-1に示す。

[0055] 実施例4

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体5 gを、50体積%エタノール含有水50 mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：110℃、出口ガス温度：60℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧室素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は2.32 g（収率46%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図5に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-1に示す。

[0056] 実施例5

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体5 gを、95体積%エタノール含有水50 mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：76℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧窒素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は3.27 g（収率65%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図6に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-1に示す。

[0057] 実施例6

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体5 gを、20体積%エタノール含有水50 mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：74℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧窒素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は2.79 g（収率56%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図7に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-1に示す。

[0058] 実施例7

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体5 gを、50体積%エタノール含有水50 mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：77℃、溶液供給速度：180 mL/h、噴霧室素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は1.25 g（収率25%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図8に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-1に示す。

[0059] 実施例8

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体5 gを、50体積%エタノール含有水50 mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：77℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧室素流量：207 L/h、アスピレーター流量：35 m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は0.23 g（収率5%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図9に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-1に示す。

[0060] 実施例9

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体5 gを、50体積%エタノール含有水50 mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：73℃、溶液供給速度：540 mL/h、噴霧室素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は1.26 g（収率25%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図10に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-2に示す。

[0061] 実施例10

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体5 gを、50体積%エタノール含有水50 mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：70℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧室素流量：621 L/h、アスピレーター流量：35 m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は0.62 g（収率12%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図11に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-2に示す。

[0062] 実施例11

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ10質量%、90質量%の割合で混合した粉体5 gを、50体積%エタノール含有水50 mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：71℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧窒素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は2.46 g（収率49%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図12に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-2に示す。

[0063] 実施例12

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ50質量%、50質量%の割合で混合した粉体5 gを、50体積%エタノール含有水50 mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：72℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧窒素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は0.59 g（収率12%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図13に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-2に示す。

[0064] 実施例13

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ40質量%、60質量%の割合で混合した粉体5 gを、50体積%エタノール含有水50 mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：76℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧窒素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は1.95 g（収率39%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図14に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-2に示す。

[0065] 実施例14

PMF90（株式会社沖縄リサーチセンター製、ノビレチン含有率56%（HPLC-UV-visによる定量値、花王実施））及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体（ノビレチン14質量%含有）5gを、50体積%エタノール含有水50 mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：78℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧窒素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は1.18 g（収率24%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図15に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-2に示す。

[0066] 実施例15

PMF90（株式会社沖縄リサーチセンター製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ50質量%、50質量%の割合で

混合した粉体（ノビレチン28質量%含有）5gを、50体積%エタノール含有水50mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：78℃、溶液供給速度：360mL/h、噴霧窒素流量：414L/h、アスピレーター流量：35m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は0.13g（収率3%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図16に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔CaCo-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-2に示す。

[0067] 実施例16

PMF90（株式会社沖縄リサーチセンター製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ40質量%、60質量%の割合で混合した粉体（ノビレチン22質量%含有）5gを、50体積%エタノール含有水50mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：77℃、溶液供給速度：360mL/h、噴霧窒素流量：414L/h、アスピレーター流量：35m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は1.7g（収率34%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図17に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔CaCo-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-2に示す。

[0068] 実施例17

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、 α Gヘスペリジン P A - T（東洋製糖株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体5gを、80体積%エタノール含有水50mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：74℃、溶液供給速度：360mL/h、噴霧室素流量：414L/h、アスピレーター流量：35m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は1.33g（収率27%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図18に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-3に示す。

[0069] 実施例18

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、 α Gヘスペリジン P A - T（東洋製糖株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体5gを、80体積%エタノール含有水50mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：110℃、出口ガス温度：66℃、溶液供給速度：360mL/h、噴霧室素流量：414L/h、アスピレーター流量：35m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は1.81g（収率36%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図19に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-3に示す。

[0070] 実施例19

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、 α Gヘスペリジン P A - T（東洋製糖株式会社製）をそれぞれ40質量%、60質量%の割合で混合した粉体5gを、80体積%エタノール含有水50mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：78℃、溶液供給速度：360mL/h、噴霧室素流量：414L/h、アスピレーター流量：35m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は1.33g（収率27%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図20に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-3に示す。

[0071] 実施例20

ノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、 α Gヘスペリジン P A - T（東洋製糖株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体5gを、50体積%エタノール含有水50mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：78℃、溶液供給速度：360mL/h、噴霧室素流量：414L/h、アスピレーター流量：35m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は1.46g（収率29%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図21に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-3に示す。

[0072] 実施例21

PMF90（株式会社沖縄リサーチセンター製）及び、 α GヘスペリジンPA-T（東洋製糖株式会社製）をそれぞれ25質量%、75質量%の割合で混合した粉体（ノビレチン14質量%含有）5gを、80体積%エタノール含有水50mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：78℃、溶液供給速度：360mL/h、噴霧窒素流量：414L/h、アスピレーター流量：35m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は1.58g（収率32%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図22に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-3に示す。

[0073] 実施例22

PMF90（株式会社沖縄リサーチセンター製）及び、 α GヘスペリジンPA-T（東洋製糖株式会社製）をそれぞれ40質量%、60質量%の割合で混合した粉体5gを、80体積%エタノール含有水50mLと混合した。本懸濁液を60℃下で5分間振とうすることで、澄明な溶液が得られた。

本溶液をスプレードライヤーB-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：110℃、出口ガス温度：70℃、溶液供給速度：360mL/h、噴霧窒素流量：414L/h、アスピレーター流量：35m³/hの条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は1.03g（収率21%）であった。

本固体分散体の粉末X線回折を図23に示す。実施例1と同様に、本固体分散体中でノビレチンが非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔Caco-2細胞膜透過性評価〕の結果を表1-3に示す。

[0074] 比較例 1

エラグ酸二水和物（東京化成工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ 18.4 質量%、80.6 質量%の割合で混合した粉体 2.94 g を、80 体積%エタノール含有水 150 mL と混合した。本懸濁液を 60℃下で 5 分間振とうしたが、澄明な溶液は得られず、粉体が均一に分散した懸濁液が得られた。

本溶液をスプレードライヤー B-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：75℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧窒素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/h の条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は 1.95 g（収率 66%）であった。

本固体分散体の粉末 X 線回折を図 24 に示す。実施例 1 と同様に、本固体分散体中でエラグ酸が非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔CaCo-2 細胞膜透過性評価〕の結果を表 1-4 に示す。

[0075] 比較例 2

エラグ酸二水和物（東京化成工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ 18.4 質量%、80.6 質量%の割合で混合した粉体 2.94 g を、80 体積%エタノール含有水 300 mL と混合した。本懸濁液を 60℃下で 5 分間振とうしたが、澄明な溶液は得られず、粉体が均一に分散した懸濁液が得られた。

本溶液をスプレードライヤー B-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：83℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧窒素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/h の条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は 1.21 g（収率 41%）であった。

本固体分散体の粉末 X 線回折を図 25 に示す。実施例 1 と同様に、本固体分散体中でエラグ酸が非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な

溶解性の評価] および [C a c o - 2 細胞膜透過性評価] の結果を表 1 - 4 に示す。

[0076] 比較例 3

エラグ酸二水和物（東京化成工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ 18.4 質量%、80.6 質量%の割合で混合した粉体 2.94 g を、95 体積%エタノール含有水 150 mL と混合した。本懸濁液を 60℃下で 5 分間振とうしたが、澄明な溶液は得られず、粉体が均一に分散した懸濁液が得られた。

本溶液をスプレードライヤー B-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：75℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧室素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/h の条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は 1.58 g（収率 54%）であった。本固体分散体の粉末 X 線回折を図 26 に示す。実施例 1 と同様に、本固体分散体中でエラグ酸が非晶質化していることが確認された。前記 [経時的な溶解性の評価] および [C a c o - 2 細胞膜透過性評価] の結果を表 1 - 4 に示す。

[0077] 比較例 4

エラグ酸二水和物（東京化成工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ 18.4 質量%、80.6 質量%の割合で混合した粉体 2.94 g を、50 体積%エタノール含有水 150 mL と混合した。本懸濁液を 60℃下で 5 分間振とうしたが、澄明な溶液は得られず、粉体が均一に分散した懸濁液が得られた。

本溶液をスプレードライヤー B-290（日本ビュッヒ社製）を、入口ガス温度：130℃、出口ガス温度：83℃、溶液供給速度：360 mL/h、噴霧室素流量：414 L/h、アスピレーター流量：35 m³/h の条件で噴霧乾燥し、固体分散体を調製した。得られた固体分散体は 1.92 g（収率 65%）であった。

本固体分散体の粉末 X 線回折を図 27 に示す。実施例 1 と同様に、本固体

分散体中でエラグ酸が非晶質化していることが確認された。前記〔経時的な溶解性の評価〕および〔C a c o - 2 細胞膜透過性評価〕の結果を表 1 - 4 に示す。

[0078] 比較例 5

難水溶性物質としてノビレチン（和光純薬工業株式会社製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ 25 質量%、75 質量%の割合で混合したものを評価した。前記〔経時的な溶解性の評価〕及び〔C a c o - 2 細胞膜透過性評価〕の結果を表 1 - 4 に示す。

[0079] 比較例 6

難水溶性物質として P M F 9 0（株式会社沖縄リサーチセンター製）及び、メチルヘスペリジン（東京化成工業株式会社製）をそれぞれ 25 質量%、75 質量%の割合で混合したもの（ノビレチン 14 質量%含有）を評価した。前記〔経時的な溶解性の評価〕及び〔C a c o - 2 細胞膜透過性評価〕の結果を表 1 - 4 に示す。

[0080] 比較例 7

難水溶性物質として P M F 9 0（株式会社沖縄リサーチセンター製）及び、 α Gヘスペリジン P A - T（東洋製糖株式会社製）をそれぞれ 25 質量%、75 質量%の割合で混合したもの（ノビレチン 14 質量%含有）を評価した。前記〔経時的な溶解性の評価〕及び〔C a c o - 2 細胞膜透過性評価〕の結果を表 1 - 4 に示す。

[0081]

[表1-1]

| | | | 実施例1 | 実施例2 | 実施例3 | 実施例4 | 実施例5 | 実施例6 | 実施例7 | 実施例8 |
|--------|-------------------------------------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 原料混合物 | 難水溶性物質 | | ノビレチン | ノビレチン | ノビレチン | ノビレチン | ノビレチン | ノビレチン | ノビレチン | ノビレチン |
| | 25℃水への溶解度 | [ppm] | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 助剤 | | MeHes | MeHes | MeHes | MeHes | MeHes | MeHes | MeHes | MeHes |
| | 難水溶性物質/助剤 重量比 | | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.33 |
| | ノビレチン比率 | [質量%] | 25% | 25% | 25% | 25% | 25% | 25% | 25% | 25% |
| 溶液調製条件 | 噴霧液 難水溶性物質濃度 | [w/v %] | 2.5 | 1.25 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| | 噴霧液 助剤濃度 | [w/v %] | 7.5 | 3.75 | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 7.5 |
| | 溶解含水EtOH中 EtOH比率 | [%] | 50 | 50 | 80 | 50 | 95 | 20 | 50 | 50 |
| | 加熱温度 | [℃] | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| | 加熱・室温放冷10分後溶解状態 | | 溶解 | 溶解 | 溶解 | 溶解 | 溶解 | 溶解 | 溶解 | 溶解 |
| 処理条件 | 噴霧液 噴霧体積 | [mL] | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 30 | 50 |
| | 入口ガス温度 | [℃] | 130 | 130 | 130 | 110 | 130 | 130 | 130 | 130 |
| | 出口ガス温度 | [℃] | 76 | 76 | 78 | 60 | 76 | 74 | 77 | 77 |
| | 噴霧溶液 供給速度 (mL/h) | [mL/h] | 360 | 360 | 360 | 360 | 360 | 360 | 180 | 360 |
| | 噴霧窒素 流量(m ³ /h) | [L/h] | 414 | 414 | 414 | 414 | 414 | 414 | 414 | 207 |
| | アスピレーター 流量(m ³ /h) | [N·m] | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 |
| 収量 | 収量 | [g] | 1.73 | 0.75 | 2.17 | 2.32 | 3.27 | 2.79 | 1.25 | 0.23 |
| 評価結果 | 難水溶性物質 経時溶解度 (曲線下部面積) | [ppm·min] | 1.13E+05 | 1.12E+05 | 1.23E+05 | 1.06E+05 | 1.32E+05 | 1.56E+05 | 1.45E+05 | 1.41E+05 |
| | 細胞膜透過性評価 インサート上部評価開始時 難水溶性物質濃度 | [μM] | 41.8 | 41.6 | 96.9 | 103.1 | 96.9 | 103.1 | 182.2 | 184.5 |
| | 細胞膜透過性評価 インサート下部評価終了時 難水溶性物質濃度 | [μM] | 1.08 | 1.23 | 1.98 | 2.04 | 1.97 | 1.96 | 4.73 | 4.79 |
| | 細胞膜透過性評価 インサート下部評価終了時 難水溶性物質濃度 標準偏差 | [μM] | 0.08 | 0.04 | 0.15 | 0.14 | 0.13 | 0.16 | 0.31 | 0.63 |
| | LDH Assayによる 細胞生存率評価 | [%] | 94.0 | 94.1 | 94.2 | 94 | 94.1 | 94.2 | 94.3 | 92.9 |
| | LDH Assayによる 細胞生存率評価 標準偏差 | [%] | 0.2 | 0.1 | 0.6 | 0.1 | 0.1 | 0.4 | 0.0 | 1.5 |

[0082]

[表1-2]

| | | 実施例9 | 実施例10 | 実施例11 | 実施例12 | 実施例13 | 実施例14 | 実施例15 | 実施例16 | |
|--------|---|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 原料混合物 | 難水溶性物質 | ノビレチン | ノビレチン | ノビレチン | ノビレチン | ノビレチン | PMF90 | PMF90 | PMF90 | |
| | 25°C水への溶解度 | [ppm] | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | |
| | 助剤 | MeHes | MeHes | MeHes | MeHes | MeHes | MeHes | MeHes | MeHes | |
| | 難水溶性物質/助剤 重量比 | | 0.33 | 0.33 | 0.05 | 1.00 | 0.67 | 0.05 | 1.00 | 0.67 |
| | ノビレチン比率 | [質量% | 25% | 25% | 5% | 50% | 40% | 5% | 50% | 40% |
| 溶液調製条件 | 噴霧液 難水溶性物質濃度 | [w/v %] | 2.5 | 2.5 | 1.0 | 5.0 | 4.0 | 2.5 | 5.0 | 4.0 |
| | 噴霧液 助剤濃度 | [w/v %] | 7.5 | 7.5 | 9.0 | 5.0 | 6.0 | 7.5 | 5.0 | 6.0 |
| | 溶液含水EtOH中 EtOH比率 | [%] | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| | 加熱温度 | [°C] | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| | 加熱・室温放冷10分後 溶解状態 | | 溶解 | 溶解 | 溶解 | 溶解 | 溶解 | 溶解 | 溶解 | 溶解 |
| 処理条件 | 噴霧液 噴霧体積 | [mL] | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| | 入口ガス温度 | [°C] | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 | 130 |
| | 出口ガス温度 | [°C] | 73 | 70 | 71 | 72 | 76 | 78 | 78 | 77 |
| | 噴霧溶液 供給速度 (mL/h) | [mL/h] | 540 | 360 | 360 | 360 | 360 | 360 | 360 | 360 |
| | 噴霧室素 流量(m ³ /h) | [L/h] | 414 | 621 | 414 | 414 | 414 | 414 | 414 | 414 |
| | アスピレーター 流量(m ³ /h) | [N·m] | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 |
| 収量 | 収量 | [g] | 1.26 | 0.62 | 2.46 | 0.59 | 1.95 | 1.18 | 0.13 | 1.7 |
| 評価結果 | 難水溶性物質 経時溶解度 (曲線下部面積) | [ppm·min] | 1.67E+05 | 1.52E+05 | 1.13E+05 | 4.42E+04 | 6.50E+04 | 1.92E+05 | 4.24E+04 | 1.15E+05 |
| | 細胞膜透過性評価 インサート上部評価開始時 難水溶性物質濃度 | [μM] | 149.2 | 146.8 | 79.7 | 119.2 | 88.0 | 88.3 | 92.8 | 109.6 |
| | 細胞膜透過性評価 インサート下部評価終了時 難水溶性物質濃度 | [μM] | 2.31 | 2.18 | 0.84 | 1.38 | 1.28 | 1.27 | 1.50 | 1.93 |
| | 細胞膜透過性評価 インサート下部評価終了時 難水溶性物質濃度 標準偏差 | [μM] | 0.27 | 0.29 | 0.11 | 0.24 | 0.34 | 0.22 | 0.09 | 0.59 |
| | LDH Assayによる 細胞生存率評価 | [%] | 92.9 | 93.6 | 93.8 | 94.0 | 94.1 | 94.6 | 94.2 | 94.0 |
| | LDH Assayによる 細胞生存率評価 標準偏差 | [%] | 1.7 | 2.4 | 1.0 | 0.8 | 0.5 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |

[0083]

[表1-3]

| | | | 実施例17 | 実施例18 | 実施例19 | 実施例20 | 実施例21 | 実施例22 |
|--------|-------------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 原料混合物 | 難水溶性物質 | | ノビレチン | ノビレチン | ノビレチン | ノビレチン | PMF90 | PMF90 |
| | 25°C水への溶解度 | [ppm] | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 助剤 | | aGHes PA-T | aGHes PA-T | aGHes PA-T | aGHes PA-T | aGHes PA-T | aGHes PA-T |
| | 難水溶性物質/助剤 重量比 | | 0.33 | 0.33 | 0.67 | 0.33 | 0.33 | 0.67 |
| | ノビレチン比率 | [質量%] | 25% | 25% | 40% | 25% | 25% | 40% |
| 溶液調製条件 | 噴霧液 難水溶性物質濃度 | [w/v %] | 2.5 | 2.5 | 4.0 | 2.5 | 2.5 | 4.0 |
| | 噴霧液 助剤濃度 | [w/v %] | 7.5 | 7.5 | 6.0 | 7.5 | 7.5 | 6.0 |
| | 溶媒含水EtOH中 EtOH比率 | [%] | 80 | 80 | 80 | 50 | 80 | 80 |
| | 加熱温度 | [°C] | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| | 加熱・室温放冷10分後溶解状態 | | 溶解 | 溶解 | 溶解 | 溶解 | 溶解 | 溶解 |
| 処理条件 | 噴霧液 噴霧体積 | [mL] | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |
| | 入口ガス温度 | [°C] | 130 | 110 | 130 | 130 | 130 | 110 |
| | 出口ガス温度 | [°C] | 74 | 66 | 78 | 83 | 80 | 70 |
| | 噴霧溶液 供給速度 (mL/h) | [mL/h] | 360 | 360 | 360 | 360 | 360 | 360 |
| | 噴霧室素 流量(m ³ /h) | [L/h] | 414 | 414 | 414 | 414 | 414 | 414 |
| | アスピレーター 流量(m ³ /h) | [N·m] | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 | 35 |
| 収量 | 収量 | [g] | 1.33 | 1.81 | 1.33 | 1.46 | 1.58 | 1.46 |
| 評価結果 | 難水溶性物質 経時溶解度 (曲線下部面積) | [ppm·min] | 3.15E+04 | 3.10E+04 | 1.66E+04 | 2.61E+04 | 7.53E+04 | 6.36E+04 |
| | 細胞膜透過性評価 インサート上部評価開始時 難水溶性物質濃度 | [μ M] | 94.5 | 112.6 | 51.0 | 52.2 | 86.3 | 61.7 |
| | 細胞膜透過性評価 インサート下部評価終了時 難水溶性物質濃度 | [μ M] | 1.55 | 2.05 | 0.33 | 1.29 | 1.54 | 2.24 |
| | 細胞膜透過性評価 インサート下部評価終了時 難水溶性物質濃度 標準偏差 | [μ M] | 0.11 | 0.25 | 0.06 | 0.58 | 0.06 | 0.08 |
| | LDH Assayによる 細胞生存率評価 | [%] | 94.5 | 94.7 | 94.5 | 94.0 | 94.3 | 83.3 |
| | LDH Assayによる 細胞生存率評価 標準偏差 | [%] | 0.9 | 0.2 | 0.8 | 1.1 | 1.0 | 21.8 |

[0084]

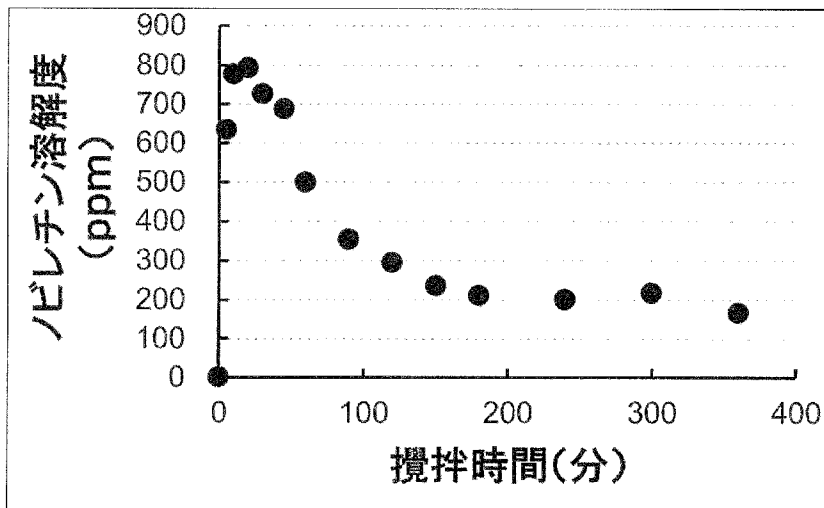
[表1-4]

| | | | 比較例1 | 比較例2 | 比較例3 | 比較例4 | 比較例5 | 比較例6 | 比較例7 |
|--------|-------------------------------------|------------|----------|----------|----------|----------|----------------|----------------|----------------|
| 原料混合物 | 難水溶性物質 | | エラグ酸 | エラグ酸 | エラグ酸 | エラグ酸 | ノビレチン | PMF90 | PMF90 |
| | 25°C水への溶解度 | [ppm] | 4 | 4 | 4 | 4 | 1 | 1 | 1 |
| | 助剤 | | MeHes | MeHes | MeHes | MeHes | MeHes | MeHes | aGHes PA-T |
| | 難水溶性物質/助剤 重量比 | | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.23 | 0.33 | 0.33 | 0.33 |
| | ノビレチン比率 | [質量%] | ———— | ———— | ———— | ———— | 25% | 15% | 15% |
| 溶液調製条件 | 噴霧液 難水溶性物質濃度 | [w/v %] | 0.36 | 0.18 | 0.36 | 0.36 | 溶解・スプレードライ処理無し | 溶解・スプレードライ処理無し | 溶解・スプレードライ処理無し |
| | 噴霧液 助剤濃度 | [w/v %] | 1.6 | 0.8 | 1.6 | 1.6 | | | |
| | 溶媒含水EtOH中 EtOH比率 | [%] | 80 | 80 | 95 | 50 | | | |
| | 加熱温度 | [°C] | 60 | 60 | 60 | 60 | | | |
| | 加熱・室温放冷10分後溶解状態 | | 懸濁 | 懸濁 | 懸濁 | 懸濁 | | | |
| 処理条件 | 噴霧液 噴霧体積 | [mL] | 150 | 300 | 150 | 150 | | | |
| | 入口ガス温度 | [°C] | 130 | 130 | 130 | 130 | | | |
| | 出口ガス温度 | [°C] | 75 | 83 | 84 | 83 | | | |
| | 噴霧溶液 供給速度 (mL/h) | [mL/h] | 360 | 360 | 360 | 360 | | | |
| | 噴霧室素 流量(m ³ /h) | [L/h] | 414 | 414 | 414 | 414 | | | |
| | アスピレーター 流量(m ³ /h) | [N·m] | 35 | 35 | 35 | 35 | | | |
| 収量 | 収量 | [g] | 1.95 | 1.21 | 1.58 | 1.92 | | | |
| 評価結果 | 難水溶性物質 経時溶解度 (曲線下部面積) | [ppm·min] | 4.73E+03 | 5.16E+03 | 4.73E+03 | 4.01E+03 | 1.76E+04 | 1.44E+04 | 3.76E+04 |
| | 細胞膜透過性評価 インサート上部評価開始時 難水溶性物質濃度 | [μ M] | 2.42 | 1.69 | 1.00 | 1.81 | 17.53 | 51 | 29.5 |
| | 細胞膜透過性評価 インサート下部評価終了時 難水溶性物質濃度 | [μ M] | 0.0080 | 0.0089 | 0.0045 | 0.0085 | 0.242 | 1.91 | 0.76 |
| | 細胞膜透過性評価 インサート下部評価終了時 難水溶性物質濃度 標準偏差 | [μ M] | 0.0012 | 0.0028 | 0.0079 | 0.0010 | 0.027 | 0.05 | 0.085 |
| | LDH Assayによる細胞生存率評価 | [%] | 94.3 | 94 | 94.6 | 94.3 | 94.4 | 94.5 | 95.2 |
| | LDH Assayによる細胞生存率評価 標準偏差 | [%] | 0.4 | 0.2 | 0.6 | 0.2 | 0.013 | 1.54 | 1.25 |

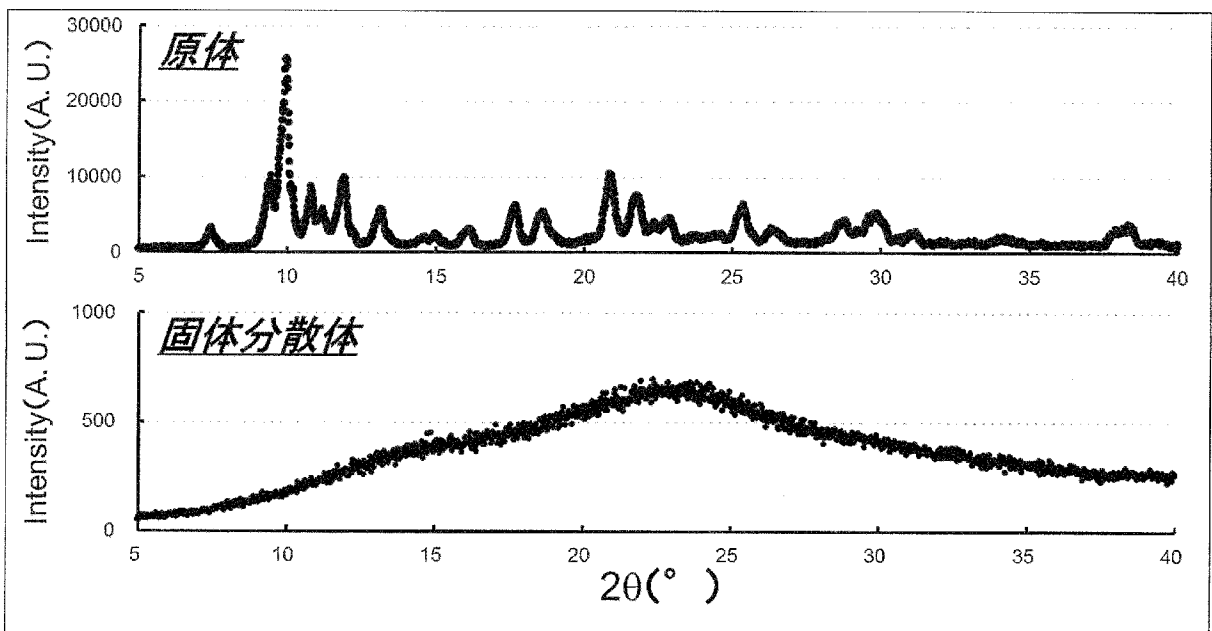
請求の範囲

- [請求項1] ノビレチンを含有する固体分散体の製造方法であって、ノビレチン又はノビレチン含有物と、糖転移ヘスペリジン及びメチルヘスペリジンから選ばれる水溶性ヘスペリジン誘導体を、エタノール濃度が20～90体積%のエタノール水溶液に溶解させる工程、及び前記溶解液を乾燥する工程を含む、製造方法。
- [請求項2] ノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導体を、0～90℃でエタノール水溶液に溶解させる請求項1記載の固体分散体の製造方法。
- [請求項3] エタノール水溶液のエタノール濃度が30～88体積%である請求項1又は2記載の固体分散体の製造方法。
- [請求項4] 乾燥方法が噴霧乾燥である請求項1～3のいずれか1項記載の固体分散体の製造方法。
- [請求項5] ノビレチン又はノビレチン含有物と水溶性ヘスペリジン誘導体を混合する際の水溶性ヘスペリジン誘導体に対するノビレチンの質量比〔ノビレチン／水溶性ヘスペリジン誘導体〕が0.01～0.67である請求項1～4のいずれか1項記載の固体分散体の製造方法。
- [請求項6] 請求項1～5のいずれか1項記載の製造方法により得られ、X線回折スペクトルから算出されるノビレチンの結晶化度が10%以下であるノビレチン含有固体分散体。
- [請求項7] 請求項6記載のノビレチン含有固体分散体を含有する医薬品、医薬部外品又は化粧品。
- [請求項8] 請求項6記載のノビレチン含有固体分散体を含有する飲食品。
- [請求項9] 使用時に水又は加熱水に溶解させ喫食する固形状のインスタント飲食品である請求項8記載の飲食品。

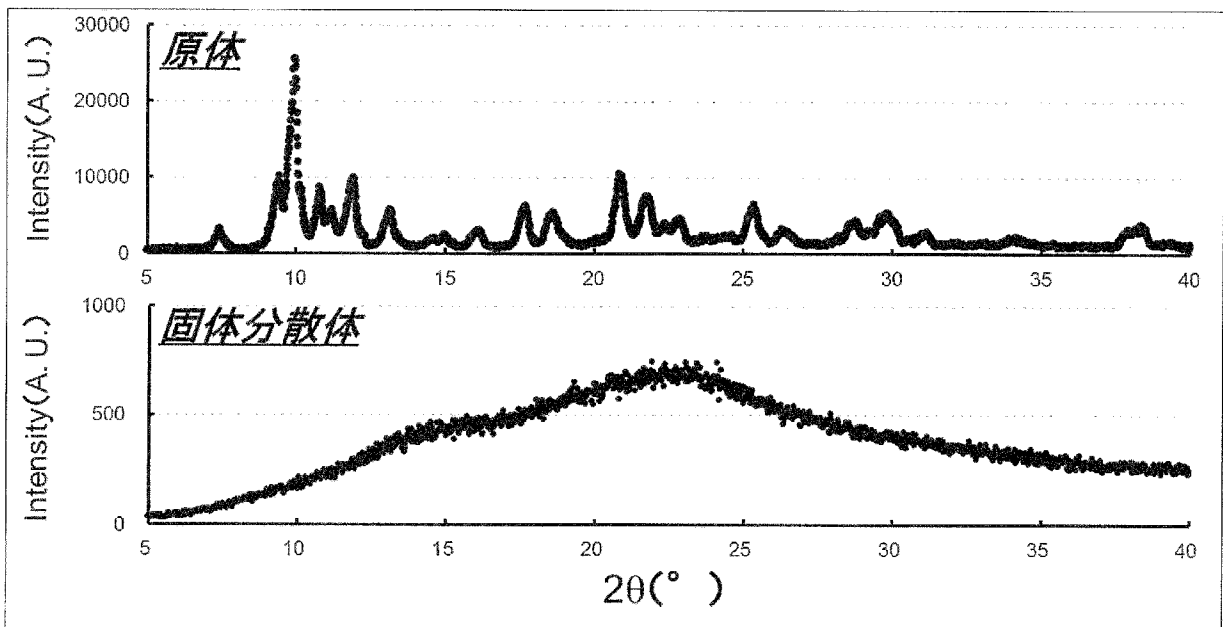
[図1]



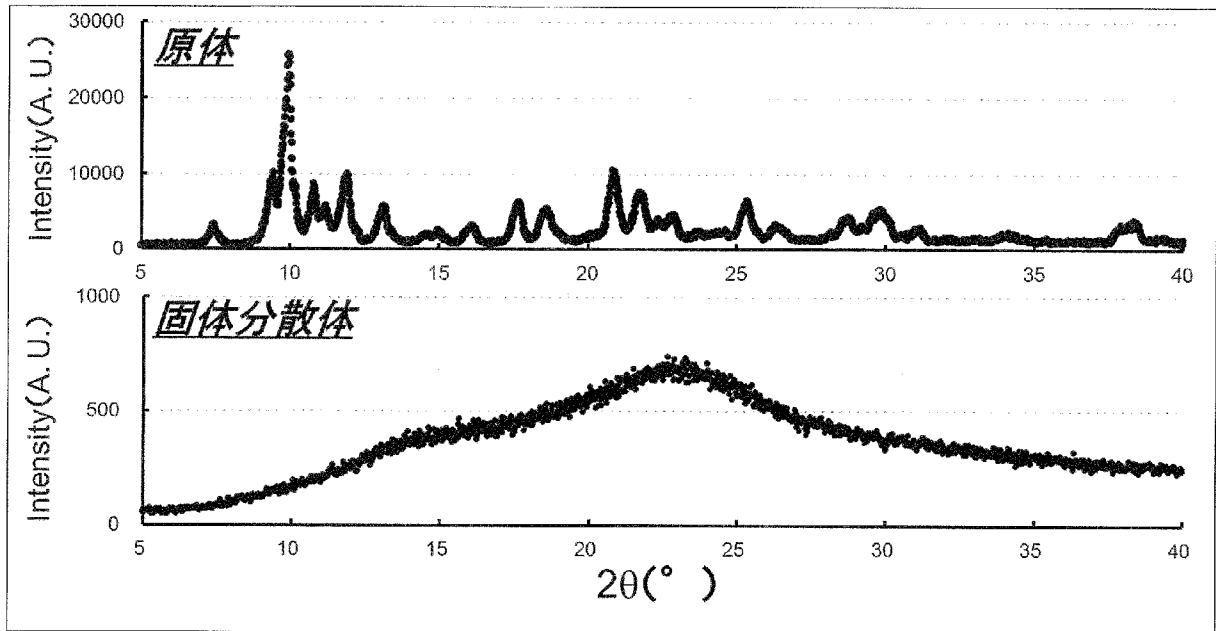
[図2]



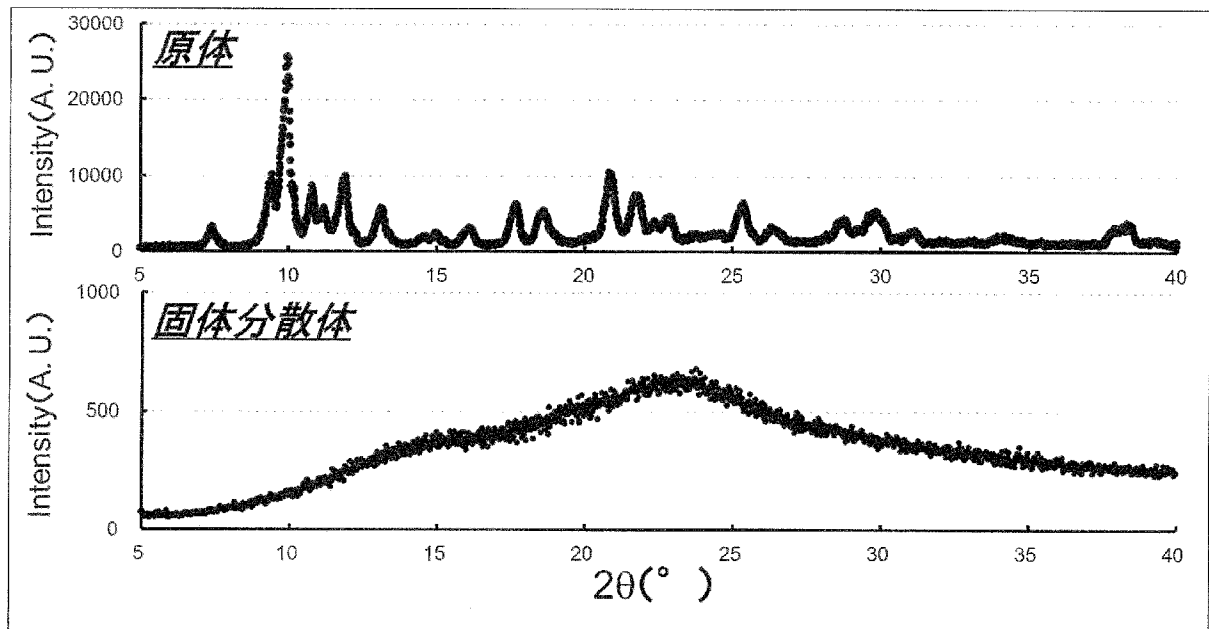
[図3]



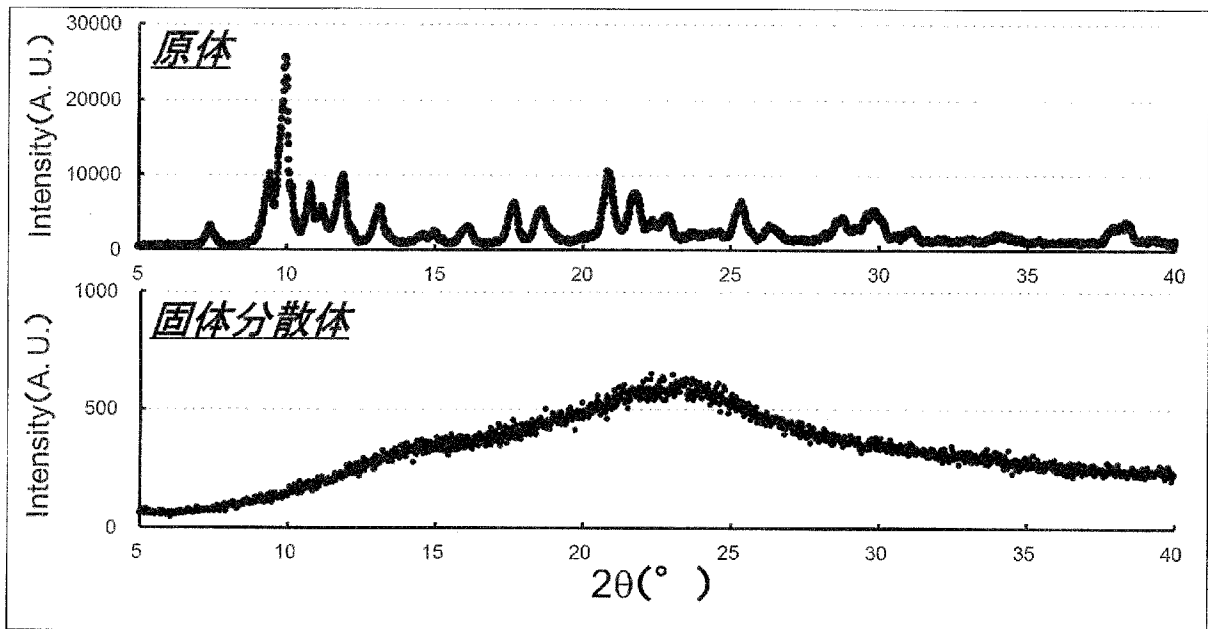
[図4]



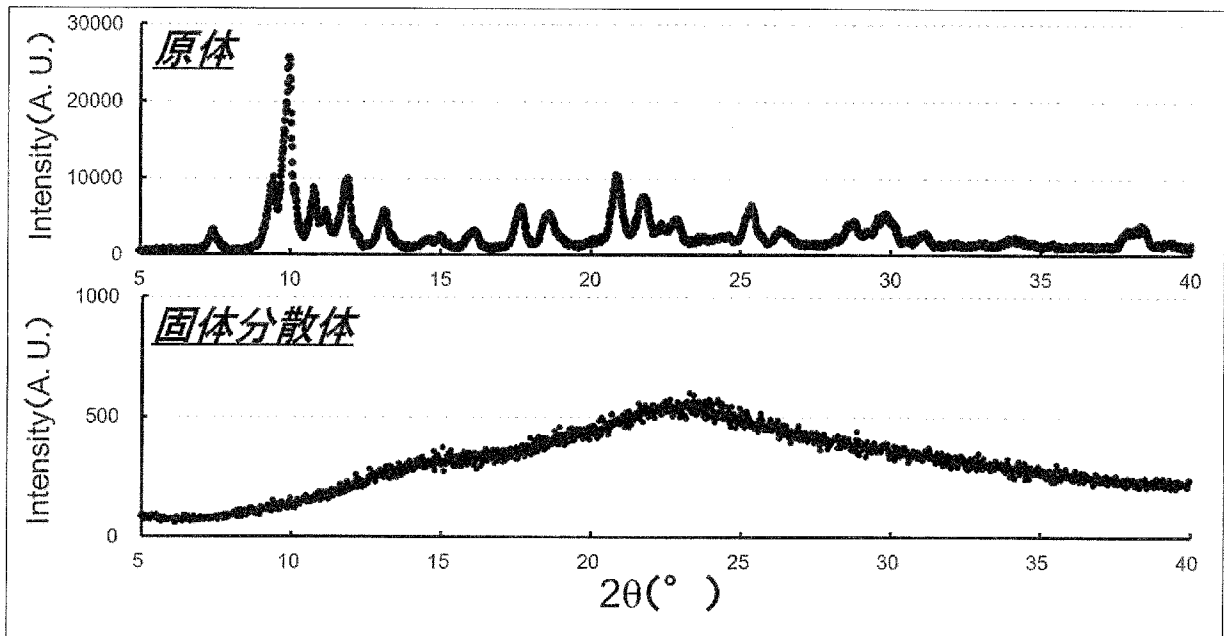
[図5]



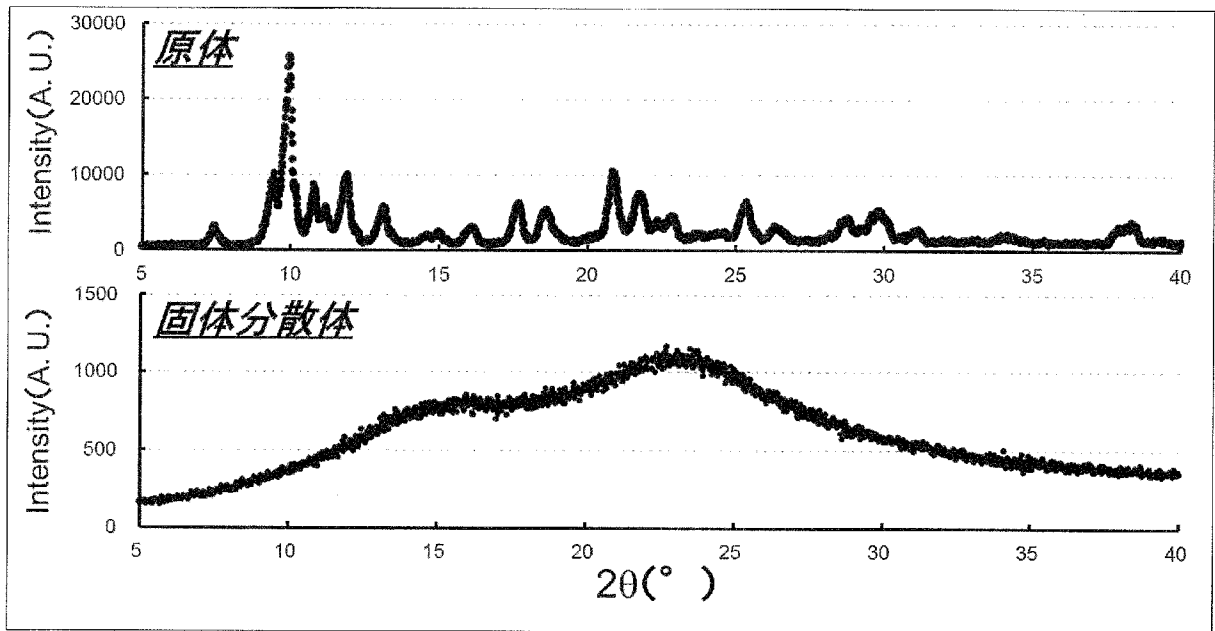
[図6]



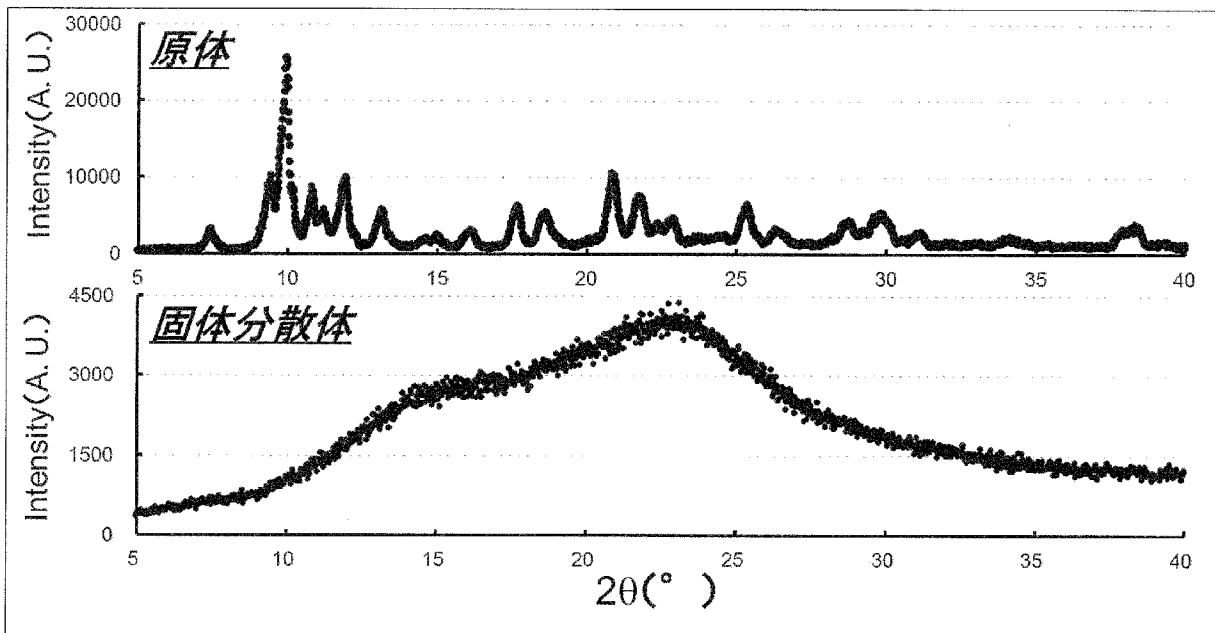
[図7]



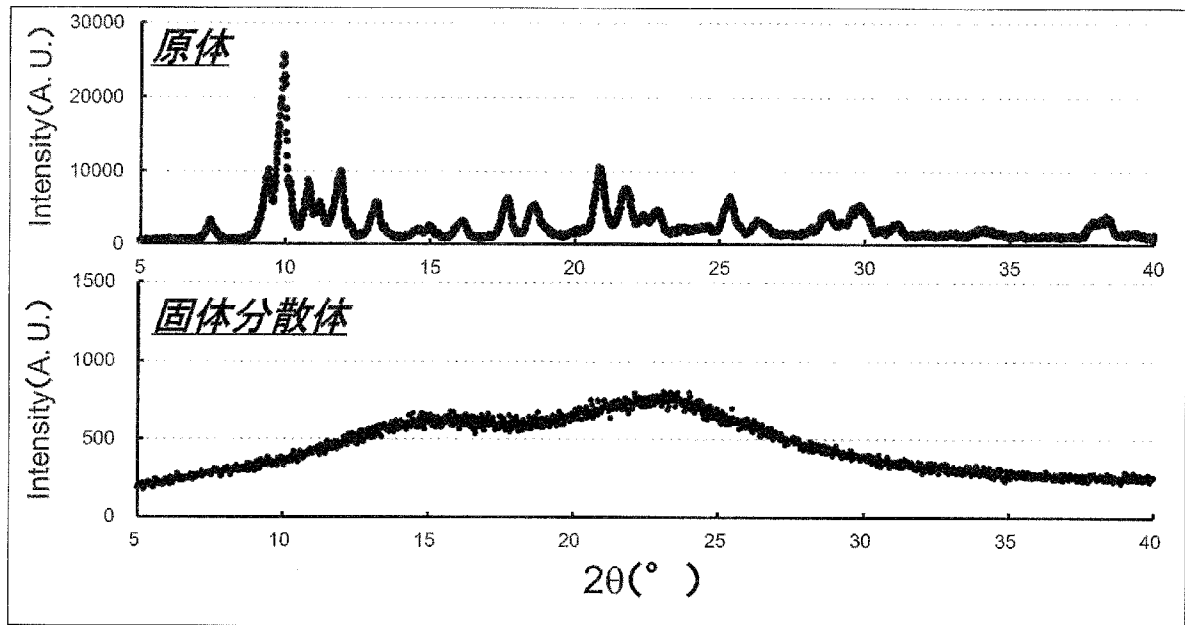
[図8]



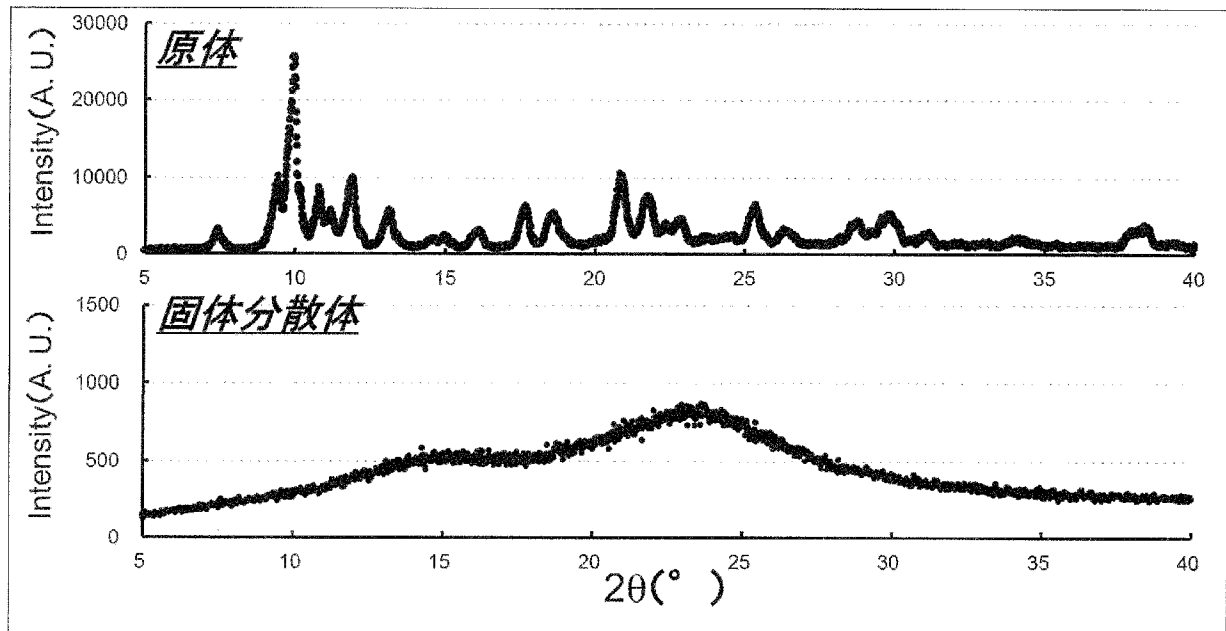
[図9]



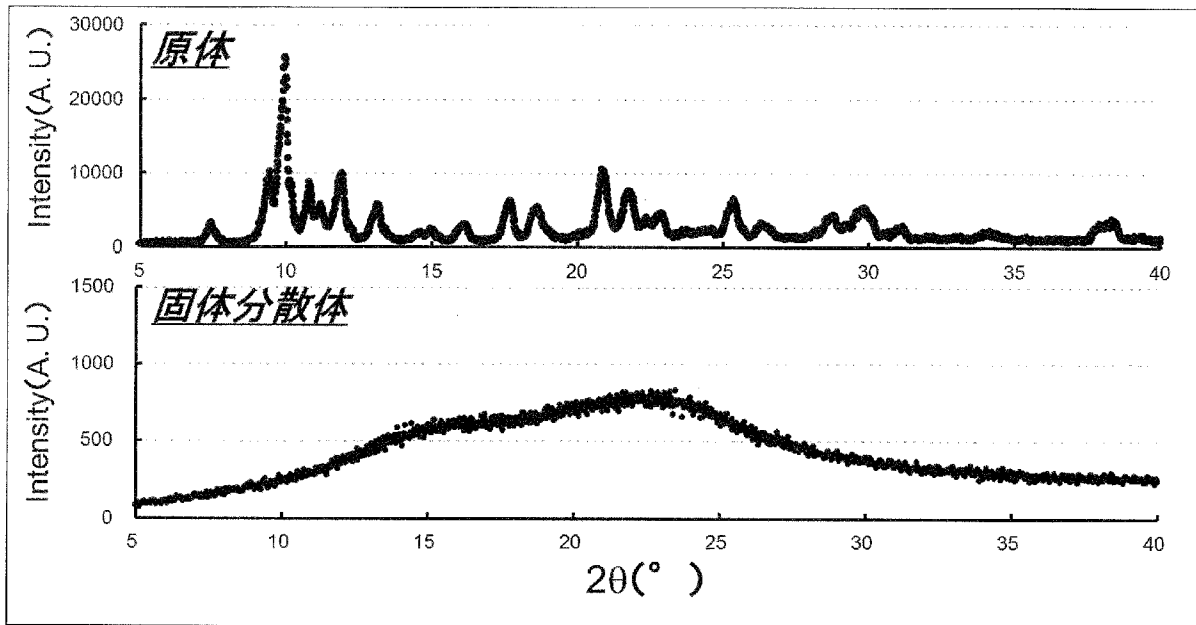
[図10]



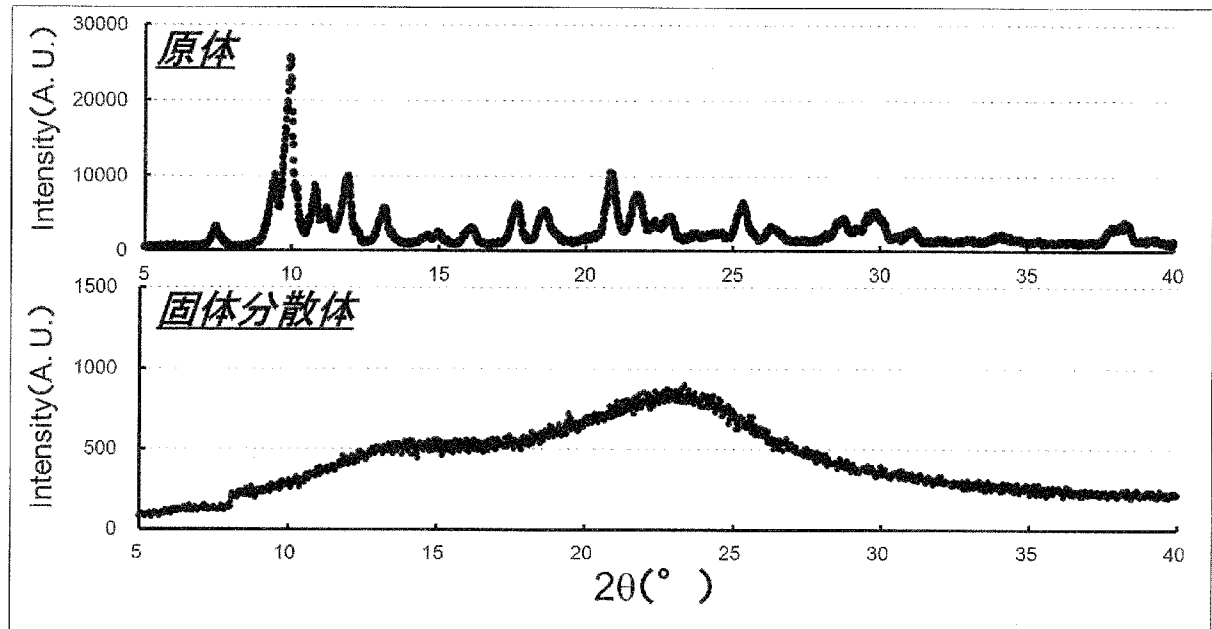
[図11]



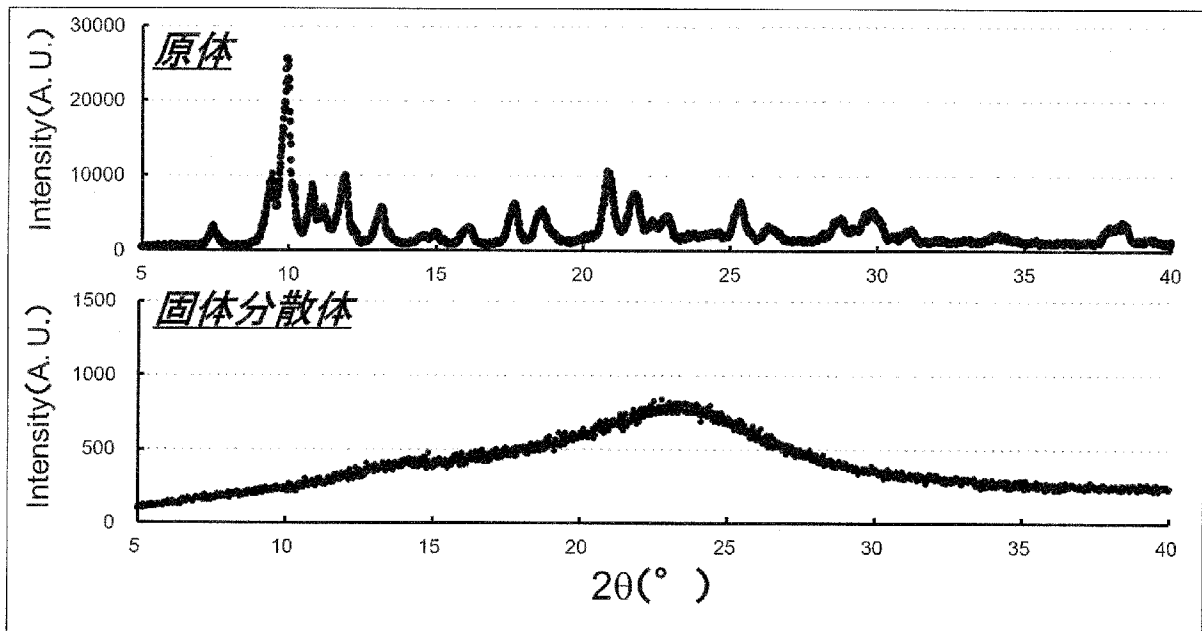
[図12]



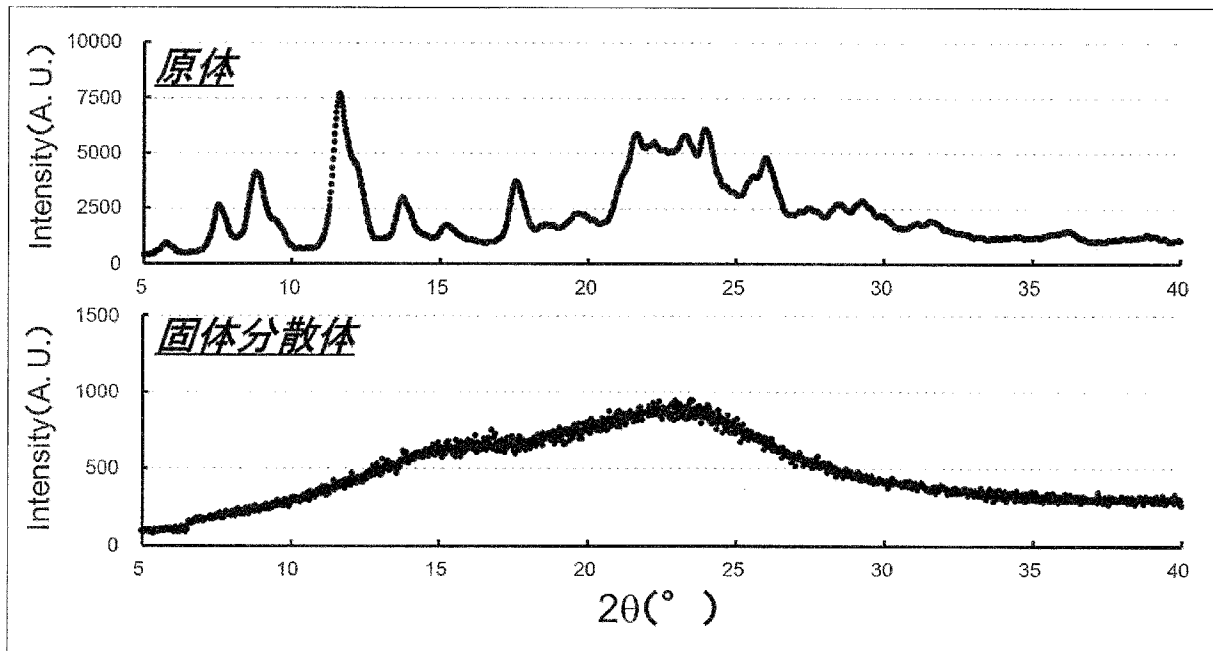
[図13]



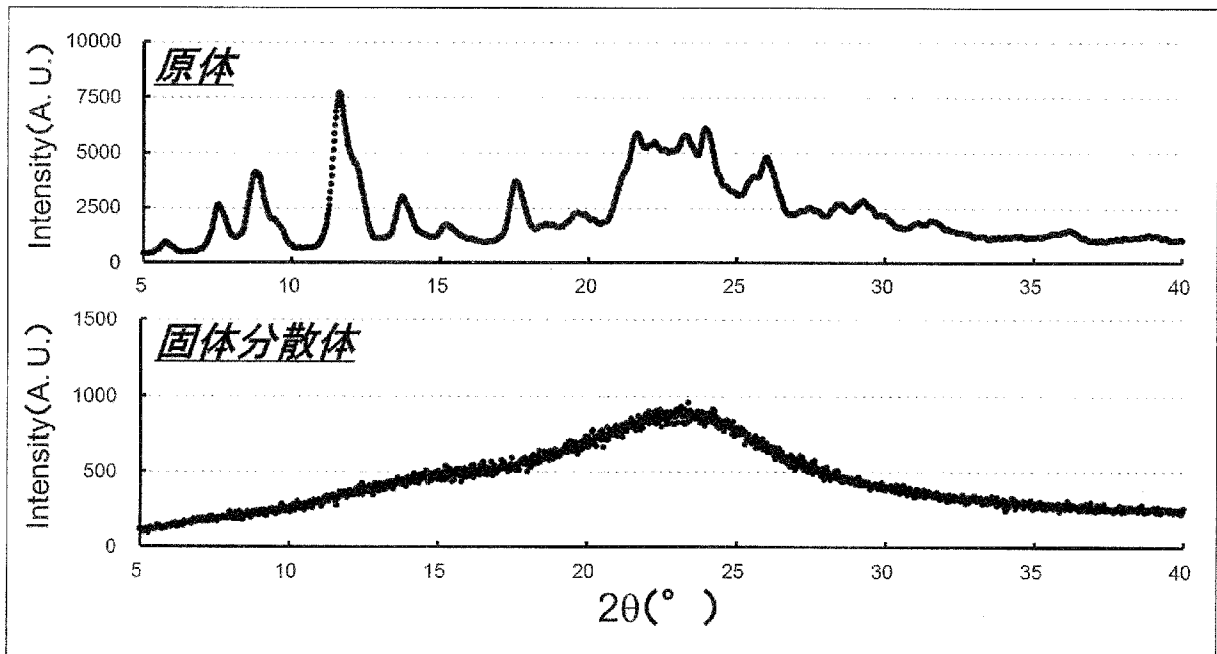
[図14]



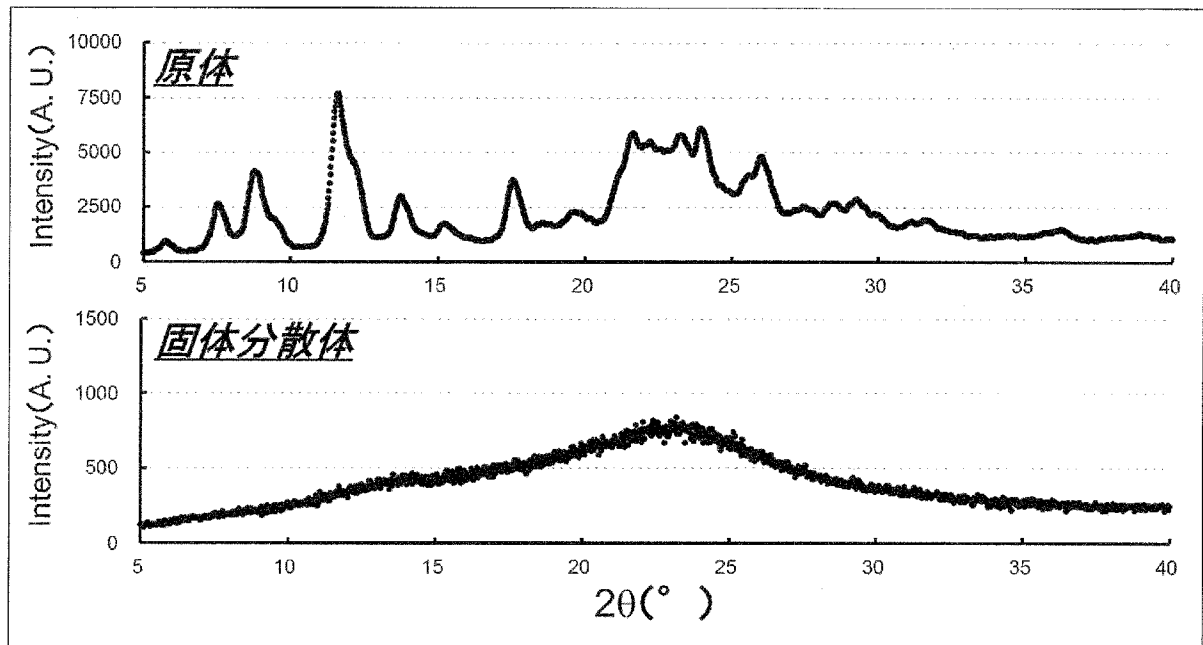
[図15]



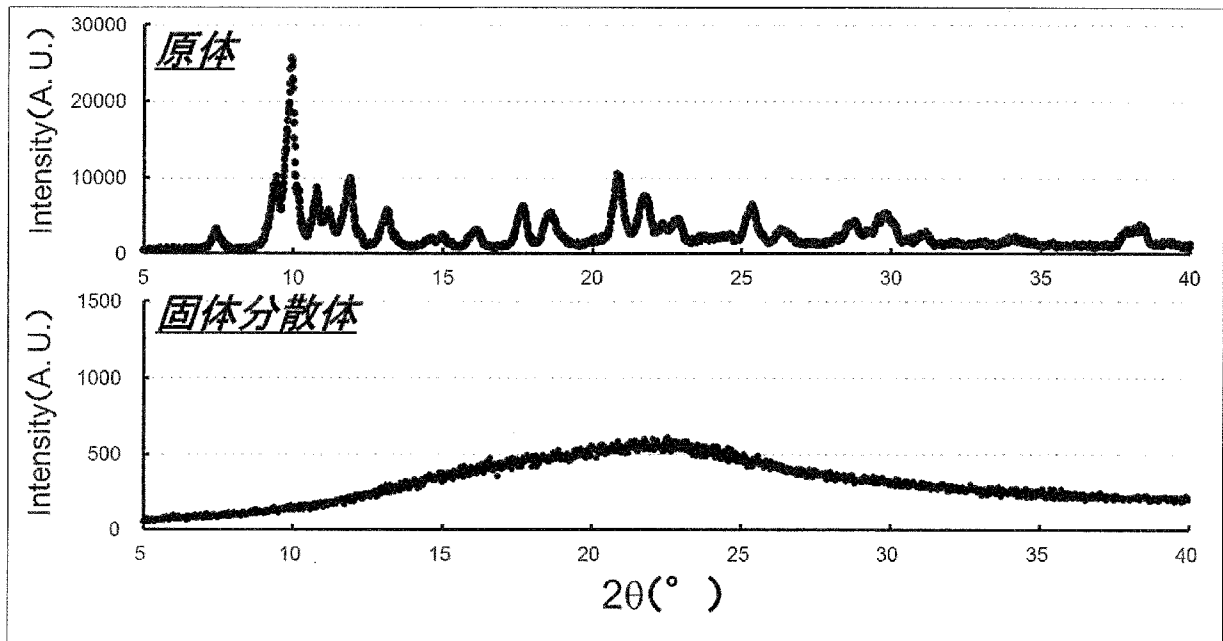
[図16]



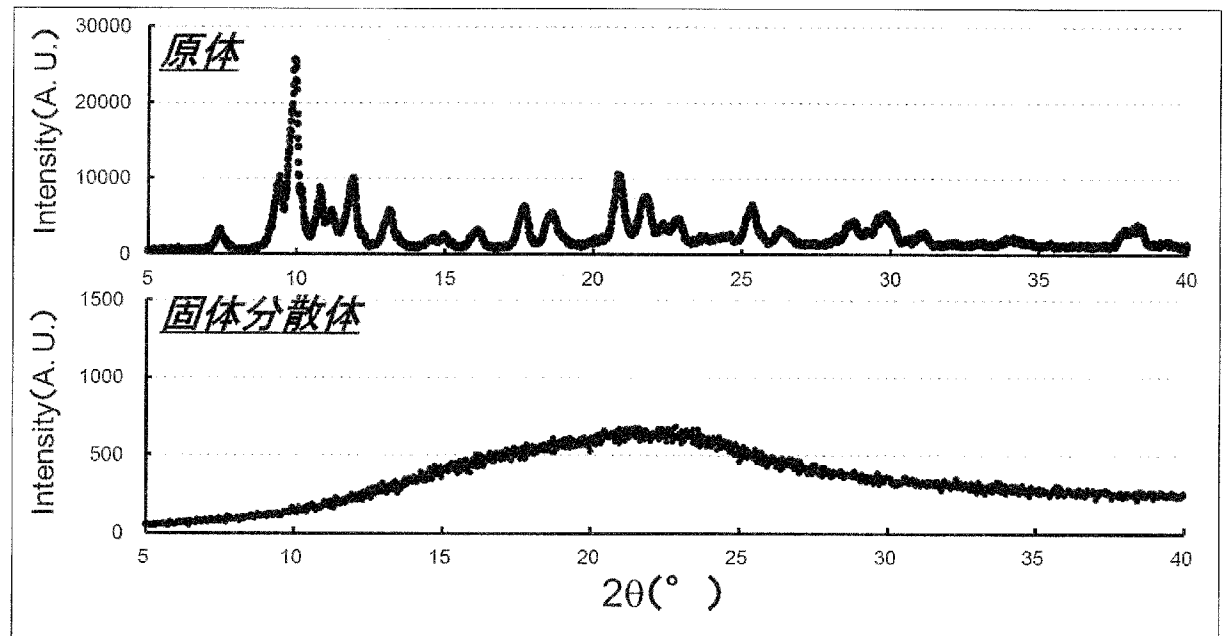
[図17]



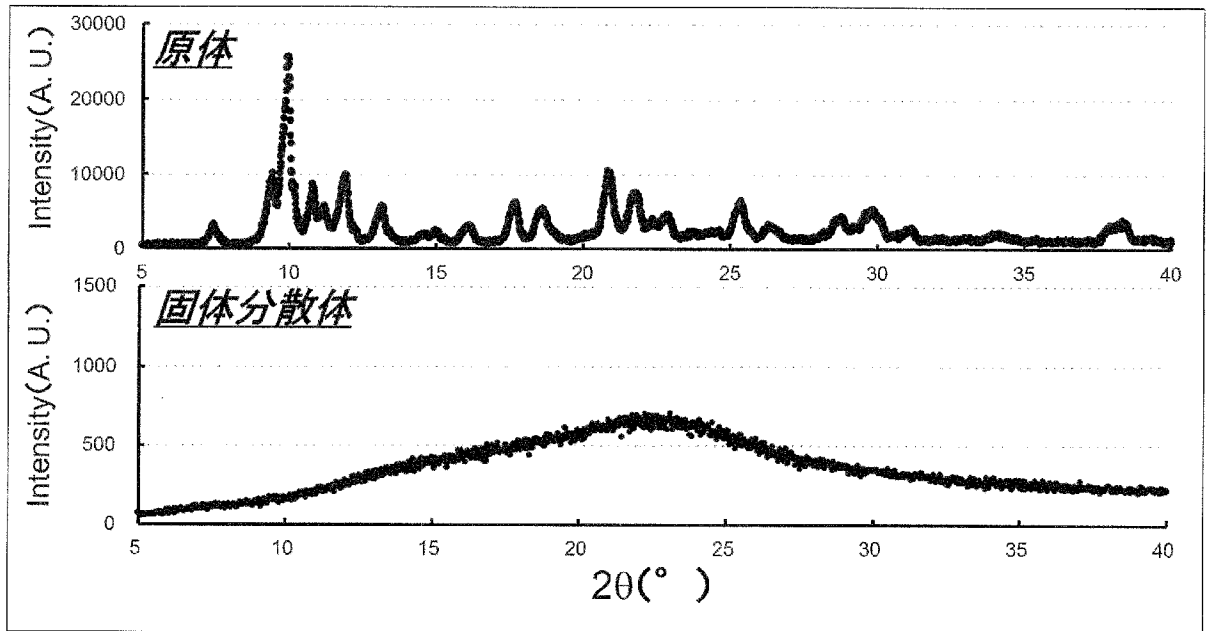
[図18]



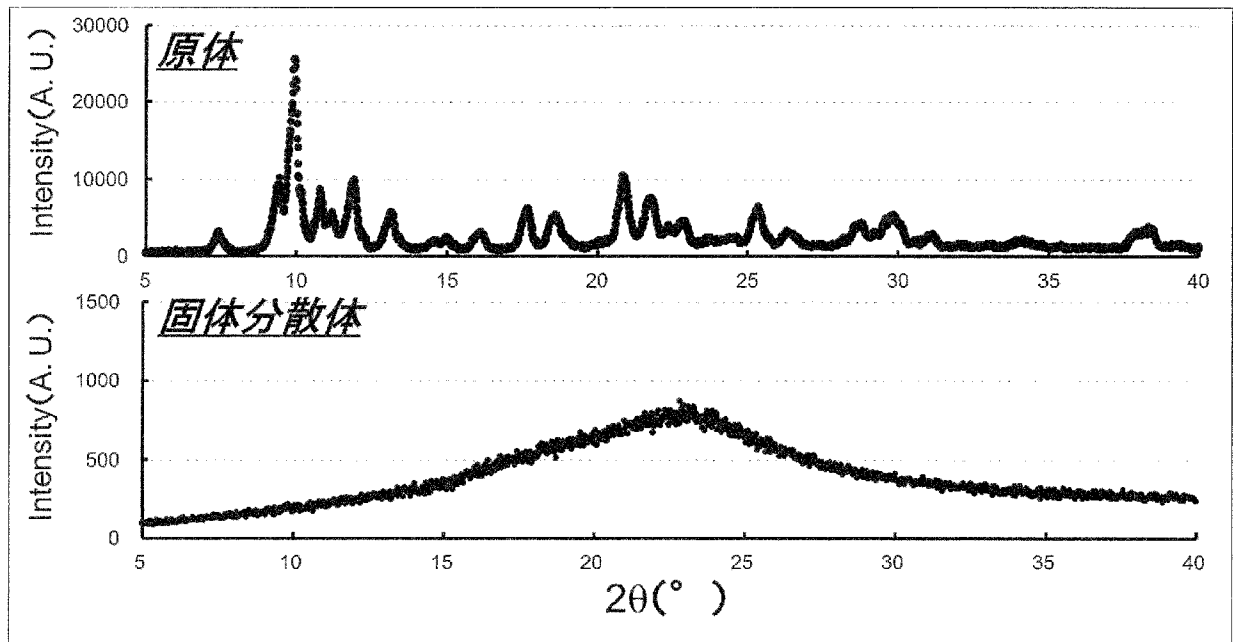
[図19]



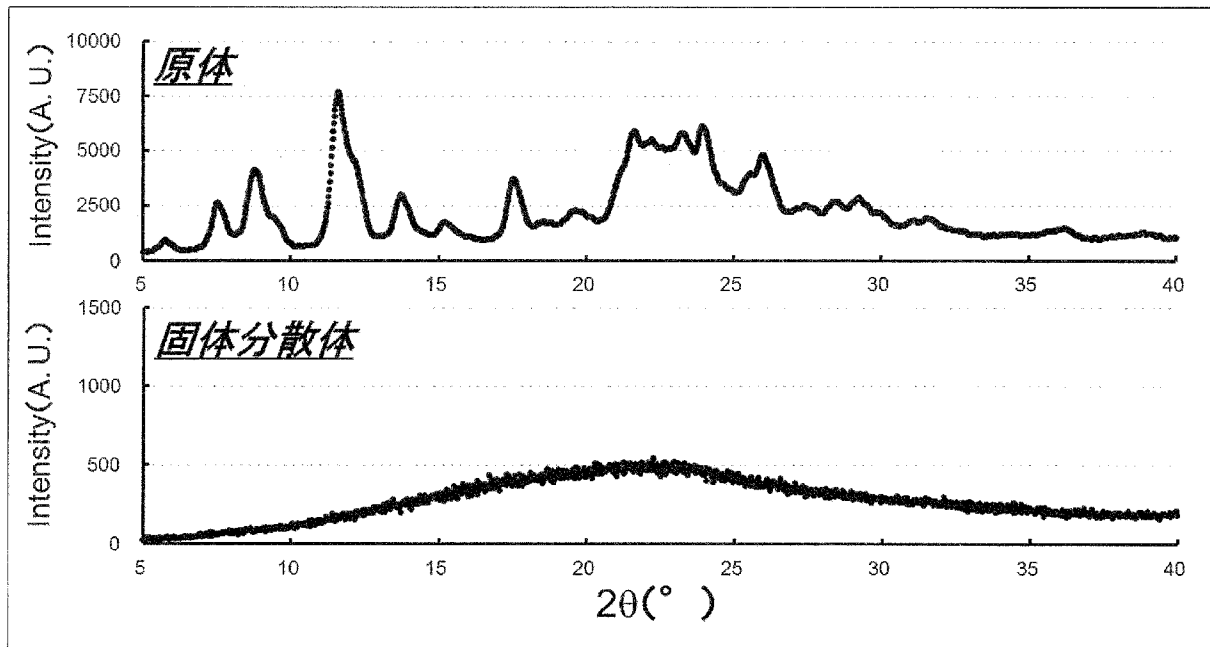
[図20]



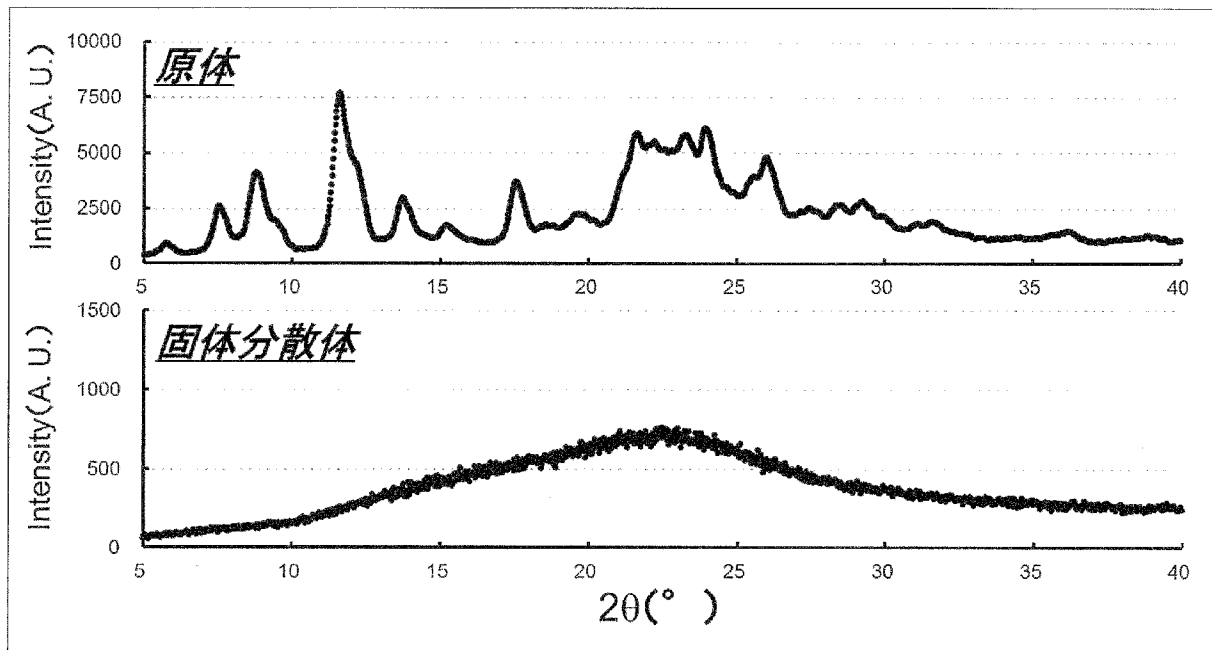
[図21]



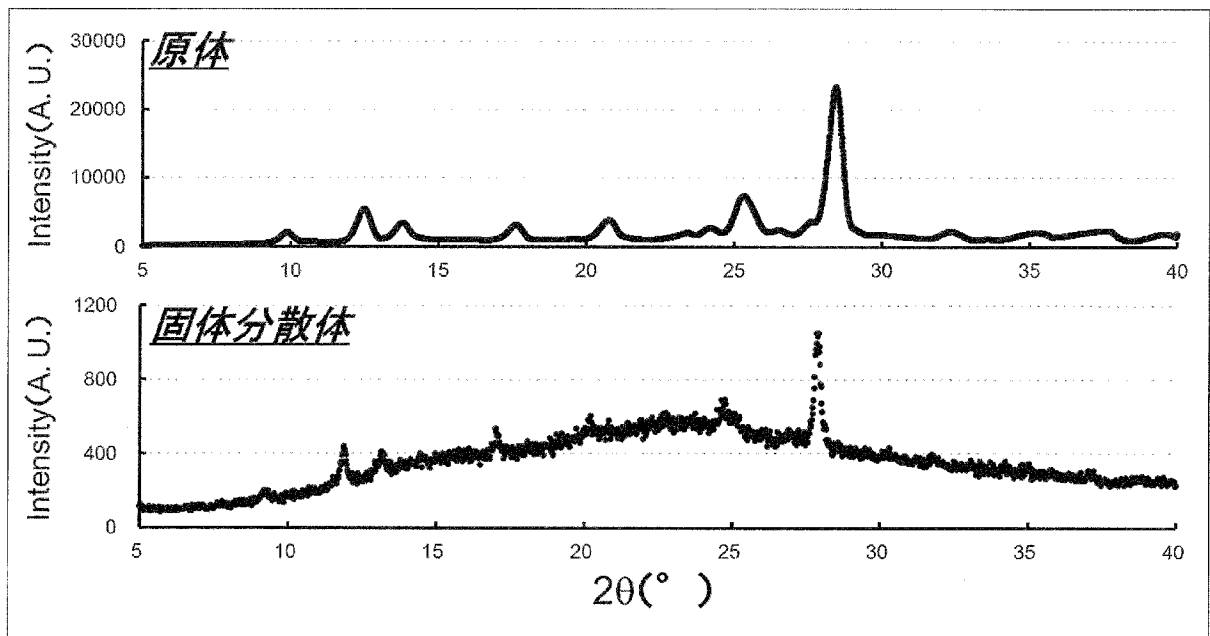
[図22]



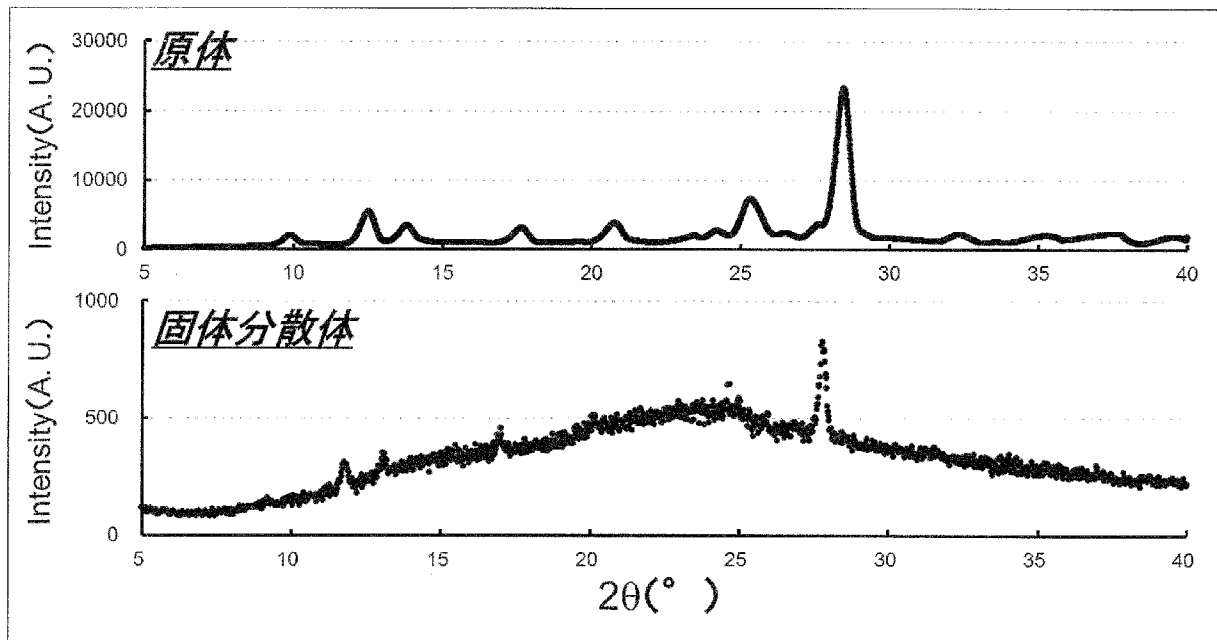
[図23]



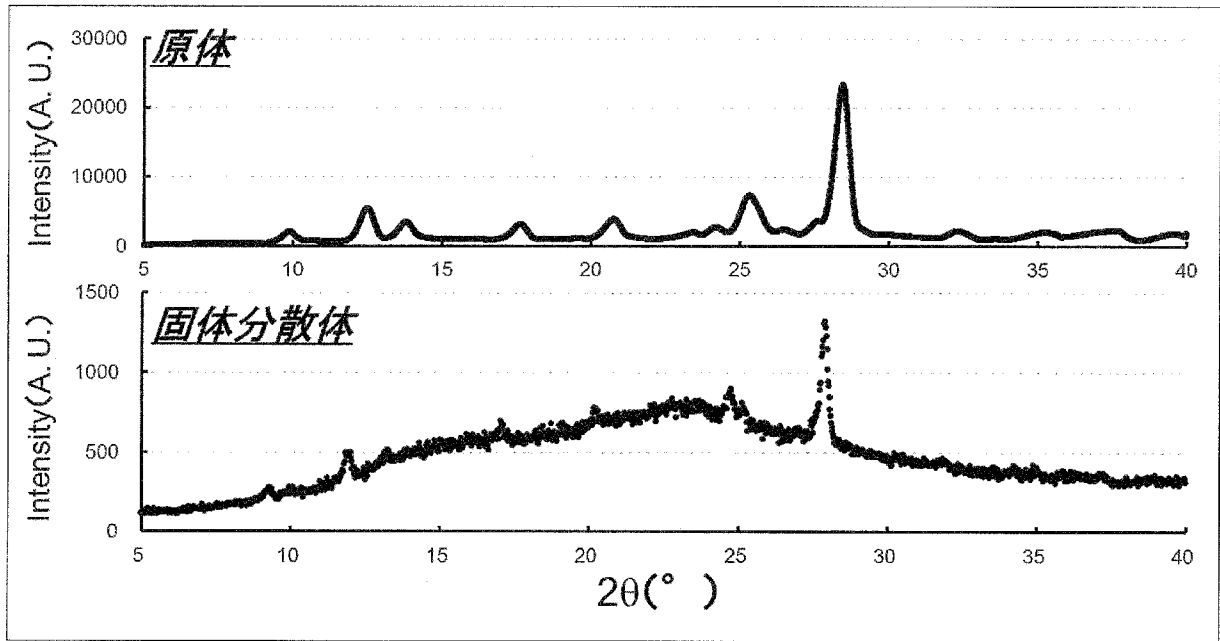
[図24]



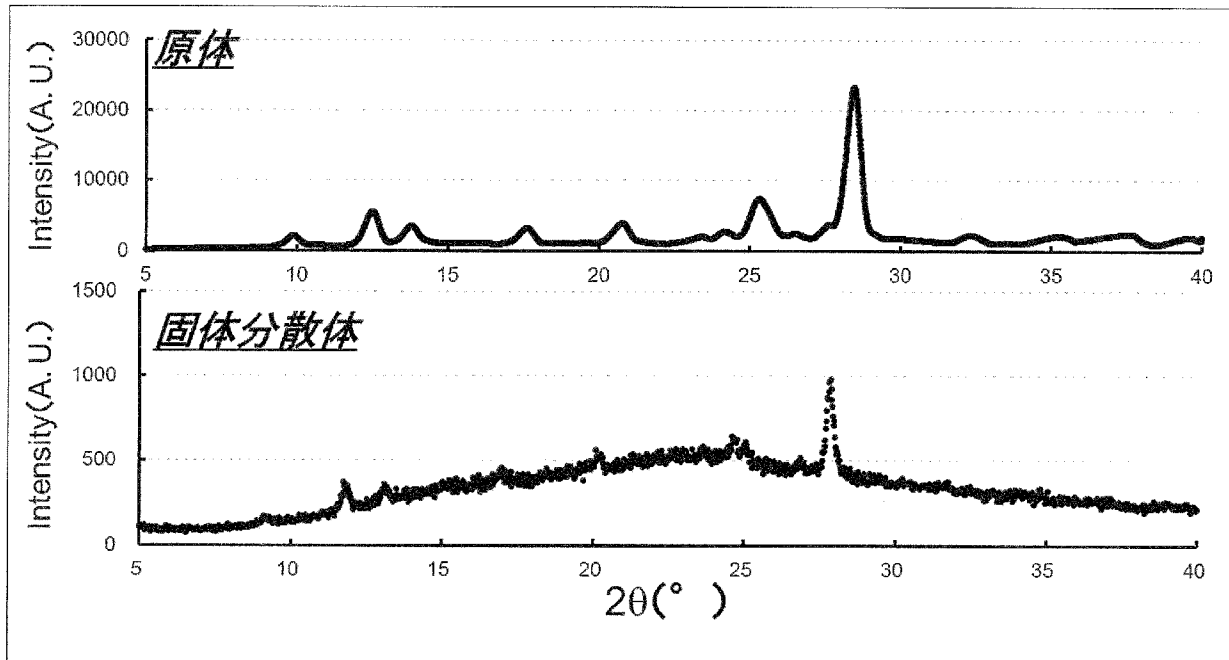
[図25]



[図26]



[図27]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/011789

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. A61K31/352 (2006.01) i, A61K9/10 (2006.01) i, A61K47/26 (2006.01) i,
A61P25/28 (2006.01) i, A61P43/00 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl. A61K31/352, A61K9/10, A61K47/26, A61P25/28, A61P43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

| | |
|--|-----------|
| Published examined utility model applications of Japan | 1922-1996 |
| Published unexamined utility model applications of Japan | 1971-2019 |
| Registered utility model specifications of Japan | 1996-2019 |
| Published registered utility model applications of Japan | 1994-2019 |

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| X A | WO 2018/25871 A1 (KAO CORP.) 08 February 2018, claims, paragraphs [0009]-[0023], [0044], examples & JP 2018-131432 A & JP 6322755 B1 & CN 109562095 A | 6-9 1-5 |
| A | JP 2014-1364 A (KAO CORP.) 09 January 2014, entire text & WO 2013/176206 A1 | 1-9 |

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
 “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 “&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
03 June 2019 (03.09.2019)

Date of mailing of the international search report
11 June 2019 (11.06.2019)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

| | | |
|--|---|-----------------------|
| A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A61K31/352(2006.01)i, A61K9/10(2006.01)i, A61K47/26(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i | | |
| B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A61K31/352, A61K9/10, A61K47/26, A61P25/28, A61P43/00 | | |
| 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2019年 日本国実用新案登録公報 1996-2019年 日本国登録実用新案公報 1994-2019年 | | |
| 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN) | | |
| C. 関連すると認められる文献 | | |
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求項の番号 |
| X A A | WO 2018/25871 A1 (花王株式会社) 2018.02.08, 請求の範囲, [0009]-[0023], [0044], 実施例 & JP 2018-131432 A & JP 6322755 B1 & CN 109562095 A JP 2014-1364 A (花王株式会社) 2014.01.09, 全文 & WO 2013/176206 A1 | 6-9 1-5 1-9 |
| ☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。 | | |
| * 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献 | | |
| 国際調査を完了した日 03.06.2019 | 国際調査報告の発送日 11.06.2019 | |
| 国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号 | 特許庁審査官 (権限のある職員) 石井 裕美子 電話番号 03-3581-1101 内線 3452 | 4C 3402 |