

(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  
2012年12月13日(13.12.2012)



(10) 国際公開番号  
WO 2012/169518 A1

- (51) 国際特許分類:  
A61K 8/85 (2006.01) A61P 17/14 (2006.01)  
A61K 8/04 (2006.01) A61Q 7/00 (2006.01)  
A61K 8/24 (2006.01) B82Y 5/00 (2011.01)  
A61K 8/365 (2006.01) B82Y 30/00 (2011.01)  
A61K 9/10 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/064540
- (22) 国際出願日: 2012年6月6日(06.06.2012)
- (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 2011-127054 2011年6月7日(07.06.2011) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): ホソカワミクロン株式会社(Hosokawa Micron Corporation) [JP/JP]; 〒5731132 大阪府枚方市招提田近1丁目9番地 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 安武 愛子(YASUTAKE Aiko) [JP/JP]; 〒5731132 大阪府枚方市招提田近1丁目9番地 ホソカワミクロン株式会社内 Osaka (JP). 原 香織(HARA Kaori) [JP/JP]; 〒5731132 大阪府枚方市招提田近1丁目9番地 ホソカワミクロン株式会社内 Osaka (JP). 辻本 広行(TSUJIMOTO Hiroyuki) [JP/JP]; 〒5731132 大阪府枚方市招提田近1丁目9番地 ホソカワミクロン株式会社内 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 佐野 静夫(SANO Shizuo); 〒5400032 大阪府大阪市中央区天満橋京町2-6 天満橋八千代ビル別館 Osaka (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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, 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, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告(条約第21条(3))



WO 2012/169518 A1

(54) Title: LIQUID COMPOSITION, AND COSMETIC AND HAIR GROWTH AGENT EACH COMPRISING SAME

(54) 発明の名称: 液状組成物及びそれを用いた化粧品並びに育毛剤

(57) Abstract: Biocompatible nanoparticles are dispersed in a buffer solution having a pH value of 7-10, wherein each of the biocompatible nanoparticles comprises any one selected from polylactic acid, polyglycolic acid and a (lactic acid)-(glycolic acid) copolymer and includes a physiologically active substance therein or has the physiologically active substance supported on the surface thereof.

(57) 要約: 生理活性物質を粒子内部に内包或いは粒子表面に担持したポリ乳酸、ポリグリコール酸、または乳酸・グリコール酸共重合体のいずれかで形成された生体適合性ナノ粒子をpH7~10の緩衝液中に分散させる。

## 明 細 書

### 発明の名称：液状組成物及びそれを用いた化粧品並びに育毛剤 技術分野

[0001] 本発明は、粒子内部または表面の少なくとも一方に生理活性物質を担持させた生体適合性ナノ粒子を分散液中に分散させた液状組成物及びそれを用いた化粧品並びに育毛剤に関し、特に、分散液中でのナノ粒子の安定化法に関するものである。

### 背景技術

[0002] 近年、脱毛の防止及び育毛を目的とする育毛成分が配合された育毛剤が多数上市されている。また、皮膚の乾燥を防止するためにヒアルロン酸等の保湿成分を配合した化粧品も多数上市されている。このような育毛剤や化粧品において、育毛成分による発毛効果や保湿成分による保湿効果を十分に発現させるためには、作用部位までの有効成分の確実な到達に加えて、有効成分を到達直後から所定期間に亘って放出させる、いわゆる即効性と徐放性とを有することが望ましい。

[0003] そこで、薬物が作用部位に到達するまで吸収・分解されないようにして、効果的に薬物を投与する技術、いわゆるDrug Delivery System（以下、DDSという）を用いて育毛成分や保湿成分を目的の部位に供給する方法が考えられる。DDSにおいて中心となる技術の一つは、微量の薬物を生体適合性の高分子の内部または表面に担持させ、細胞への薬物導入効率の高い数十から数百ナノメートル程度のナノ粒子とする技術である。この薬物担持ナノ粒子は、目標とする患部まで薬物を安定して確実に運搬するとともに、高分子の種類や投与後の経過時間で薬物の放出速度（徐放性）をコントロールすることにより、作用部位に到達した時点で薬物を放出することができ、注射剤や経口剤としての用途の他、従来、皮膚深部まで十分浸透させることが困難であった外用剤にも高い効果を発揮する。

[0004] 例えば特許文献1には、育毛成分として、ステビア抽出物と、セラミド前

駆体と、セラミドと、血流促進成分とを封入した生体適合性ナノ粒子を含む頭皮用育毛剤が開示されている。また、特許文献2には、生体適合性ナノ粒子の内部または表面の少なくとも一方にヒアルロン酸を担持したヒアルロン酸担持ナノ粒子を配合して成る化粧料が開示されている。また、特許文献3には、活性物質を封入したマイクロスフェアの製造方法が開示されている。さらに、上記特許文献1～3には、生体適合性ナノ粒子を形成する生体適合性高分子として、薬物を内包可能であり、当該薬物の効力を保持したまま長期間保存できるPLGA（乳酸・グリコール酸共重合体）が好ましいことが記載されている。

## 先行技術文献

### 特許文献

- [0005] 特許文献1：特開2009-107941号公報  
特許文献2：特開2010-150151号公報  
特許文献3：特表平9-504026号公報

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

- [0006] ところで、PLGAは分子内にエステル結合が含まれるため、PLGANANO粒子は水溶液中で加水分解され易いという性質を有している。そのため、特許文献1の育毛剤、或いは特許文献2の化粧料では、使用前まではPLGANANO粒子粉末とそれを分散させる液体（以下、分散液という）とを別々の容器に充填して保存しておき、使用直前にPLGANANO粒子粉末と分散液とを所定量混合して分散液として使用していた。
- [0007] しかしながら、この方法では使用者がPLGANANO粒子粉末と分散液とを混合するため、混合量を間違えたり混合時にPLGANANO粒子粉末や分散液をこぼしたりするおそれがあり、使用性の面で十分とは言えなかった。そこで、予めナノ粒子粉末を分散液中に分散させた一剤型の製品の開発が望まれていた。

[0008] なお、特許文献3には、PLGAマイクロスフェアを含む製剤のpHは、通例約5～8、好ましくは6.5～7.5であることが記載されているが、PLGANANO粒子の加水分解とpHの関係について具体的に検討されたものではなかった。また、PLGAと同じ性質を有するエステル結合を含むポリ乳酸、ポリグリコール酸で形成されたナノ粒子を分散液中に分散させる場合についても同様の問題点があった。

[0009] 本発明は、上記問題点に鑑み、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、または乳酸・グリコール酸共重合体のいずれかで形成されたナノ粒子の分散液中での加水分解を所望の期間抑制することができる液状組成物、及びそれを用いた化粧料並びに育毛剤を提供することを目的とする。

### 課題を解決するための手段

[0010] 上記目的を達成するために本発明は、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、または乳酸・グリコール酸共重合体のいずれかで形成されたナノ粒子の内部または表面の少なくとも一方に生理活性物質を担持した生体適合性ナノ粒子と、pH7以上10以下の緩衝液と、を含む液状組成物である。

[0011] また本発明は、上記構成の液状組成物において、前記緩衝液が、pH7以上8以下のリン酸－クエン酸緩衝液であることを特徴としている。

[0012] また本発明は、上記構成の液状組成物において、前記緩衝液が、pH7以上10以下のリン酸緩衝液であることを特徴としている。

[0013] また本発明は、上記構成の液状組成物において、前記緩衝液中に、さらに増粘剤を添加したことを特徴としている。

[0014] また本発明は、上記構成の液状組成物において、前記増粘剤が、水溶性高分子であることを特徴としている。

[0015] また本発明は、上記構成の液状組成物において、前記水溶性高分子が、キサンタンガム、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸ナトリウム、アセチル化ヒアルロン酸ナトリウム、カルボキシビニルポリマー、カルボマー、アルギン酸、ヒドロキシプロピルセルロース、カラギーナン、ローカストビーンガム、グァーガム、疎水性ポリエーテルウレタンからなる群より選ばれた少なくとも

一種であることを特徴としている。

[0016] また本発明は、上記構成の液状組成物において、前記生体適合性ナノ粒子の平均粒子径が10nm以上300nm以下であることを特徴としている。

[0017] また本発明は、上記構成の液状組成物において、前記ポリ乳酸、ポリグリコール酸、または乳酸・グリコール酸共重合体の重量平均分子量が5,000以上100,000以下であることを特徴としている。

[0018] また本発明は、上記構成の液状組成物から成る、または前記液状組成物を配合して成る化粧品である。

[0019] また本発明は、上記構成の液状組成物から成る、または前記液状組成物を配合して成る頭髮用化粧品である。

[0020] また本発明は、上記構成の液状組成物から成る、または前記液状組成物を配合して成る育毛剤である。

### 発明の効果

[0021] 本発明の第1の構成によれば、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、または乳酸・グリコール酸共重合体のいずれかで形成された生体適合性ナノ粒子の加水分解に伴う乳酸、グリコール酸の生成に起因する液状組成物のpHの低下が、緩衝液の緩衝作用によって抑制される。従って、ナノ粒子の加水分解を所定期間効果的に抑制できる液状組成物となる。

[0022] また、本発明の第2の構成によれば、上記第1の構成の液状組成物において、緩衝液として、pH7以上8以下のリン酸-クエン酸緩衝液を用いることにより、緩衝液の緩衝作用によってpHの低下、及びそれに伴うナノ粒子の加水分解を抑制することができる。また、緩衝剤であるリン酸水素二ナトリウムとクエン酸の組み合わせは水に対する溶解度が高いため、緩衝剤の濃度を高くして緩衝作用を容易に高めることができる。さらに、液状組成物のpHが8以下に抑えられるため、人体に対する安全性もより高くなる。

[0023] また、本発明の第3の構成によれば、上記第1の構成の液状組成物において、緩衝液として、pH7以上10以下のリン酸緩衝液を用いることにより、緩衝液の緩衝作用によってpHの低下、及びそれに伴うナノ粒子の加水分

解を抑制することができる。また、pHが10以下に抑えられるため、人体に対する悪影響も少ない液状組成物となる。

[0024] また、本発明の第4の構成によれば、上記第1の構成の液状組成物において、緩衝液中にさらに増粘剤を添加することにより、緩衝液中でのナノ粒子の凝集や沈降の発生を抑制することができ、ナノ粒子の安定した分散状態を所定期間維持することができる液状組成物となる。

[0025] また、本発明の第5の構成によれば、上記第4の構成の液状組成物において、増粘剤として水溶性高分子を添加することにより、緩衝液中に容易に溶解する水溶性高分子を用いてナノ粒子の凝集や沈降の発生を簡単に且つ効果的に抑制することができる。

[0026] また、本発明の第6の構成によれば、上記第5の構成の液状組成物において、水溶性高分子としてキサンタンガム、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸ナトリウム、アセチル化ヒアルロン酸ナトリウム、カルボキシビニルポリマー、カルボマー、アルギン酸、ヒドロキシプロピルセルロース、カラギーナン、ローカストビーンガム、グァーガム、疎水性ポリエーテルウレタンからなる群より選ばれた少なくとも一種を用いることにより、生体への悪影響がなく、安全性の高い液状組成物となる。

[0027] また、本発明の第7の構成によれば、上記第1の構成の液状組成物において、生体適合性ナノ粒子の平均粒子径を10nm以上300nm以下とすることにより、化粧品や育毛剤として使用する際に、毛穴や毛穴以外の皮膚細胞の隙間部分からも皮膚の深部にまでナノ粒子が浸透する液状組成物となる。

[0028] また、本発明の第8の構成によれば、上記第1の構成の液状組成物において、ナノ粒子を形成するポリ乳酸、ポリグリコール酸、または乳酸・グリコール酸共重合体の重量平均分子量を5,000以上100,000以下とすることにより、生理活性物質をナノ粒子に担持した状態で所定期間の保存が可能であり、使用時には数時間～数十時間単位での生理活性物質の徐放が可能な液状組成物となる。

[0029] また、本発明の第9の構成によれば、上記第1乃至第8のいずれかの構成の液状組成物を化粧品として用いるか、または前記液状組成物が配合された化粧品とすることにより、予めナノ粒子粉末を液中に分散させることで使用性に優れ、且つ一定期間安定して保存可能な一剤型の化粧品が提供される。

[0030] また、本発明の第10の構成によれば、上記第1乃至第8のいずれかの構成の液状組成物を頭髪用化粧品として用いるか、または前記液状組成物が配合された頭髪用化粧品とすることにより、予めナノ粒子粉末を液中に分散させることで使用性に優れ、且つ一定期間安定して保存可能な一剤型の頭髪用化粧品が提供される。

[0031] また、本発明の第11の構成によれば、上記第1乃至第8のいずれかの構成の液状組成物を育毛剤として用いるか、または前記液状組成物が配合された育毛剤とすることにより、予めナノ粒子粉末を液中に分散させることで使用性に優れ、且つ一定期間安定して保存可能な一剤型の育毛剤が提供される。

### 図面の簡単な説明

[0032] [図1]試験例1における、20℃で12ヶ月間保管した実施例1～5及び比較例1、2の各試験液のpHの推移を示すグラフ

[図2]試験例1における、20℃で2ヶ月間保管した実施例1～5及び比較例1、2の各試験液のPLGAの分子量保持率の推移を示すグラフ

[図3]試験例1における、20℃で18ヶ月間保管した実施例2及び比較例2の各試験液のPLGAの分子量保持率の推移を示すグラフ

### 発明を実施するための形態

[0033] 本発明の液状組成物は、生理活性物質を粒子内部に内包或いは粒子表面に担持した生体適合性ナノ粒子を分散液中に分散させたものである。このナノ粒子が毛穴や皮膚表面から皮膚の深部にまで浸透することにより、生理活性物質を皮膚深部にまで到達させるとともに、皮膚深部においてナノ粒子から徐々に生理活性物質を放出させることができるため、特に皮膚の保湿を目的とする化粧品や、頭皮に作用してフケやかゆみを抑える頭髪用化粧品、発毛

、育毛効果を発現する育毛剤等の原料として好適に用いることができる。

[0034] (生体適合性高分子)

本発明の液状組成物に用いられる生体適合性ナノ粒子を形成する生体適合性高分子は、生体への刺激・毒性が低く、投与後分解して代謝される生体内分解性のものが望ましい。また、内包する生理活性物質を持続して徐々に放出する粒子であることが好ましい。このような素材としては、特に乳酸・グリコール酸共重合体 (PLGA) を好適に用いることができる。PLGAは種々の薬物を内包可能であり、薬効を保持したまま長期間保存できることが知られている。さらに、内包される薬物の種類やPLGAの分子量等にもよるが、PLGAの加水分解・長期半減期の特徴から、数時間から数ヶ月単位の徐放ができると考えられる。

[0035] PLGAの重量平均分子量は、5,000~100,000の範囲内であることが好ましく、ナノ粒子の調製の容易さや調製されたナノ粒子の皮膚浸透性、及び皮膚内部での分解性を考慮すれば15,000~25,000の範囲内であることがより好ましい。乳酸とグリコール酸との組成比(モル比)は1:99~99:1であればよいが、乳酸1に対しグリコール酸1/3であることが好ましい。

[0036] また、水溶性の生理活性物質を内包する場合、PLGAの表面をポリエチレングリコール(PEG)で修飾しておくこと、内包量を増やせるため好ましい。生体適合性高分子としては他に、ポリ乳酸(PLA)、ポリグリコール酸(PGA)が挙げられる。また、アミノ酸のような荷電基あるいは官能基化し得る基を有していてもよい。

[0037] (生理活性物質)

ナノ粒子内部に内包或いはナノ粒子表面に担持される生理活性物質は、本発明の液状組成物の用途に応じて選択することができる。本発明の液状組成物を育毛剤として使用する場合は、毛母細胞活性剤、毛髪成分であるセラミド及びセラミド前駆体、消炎剤、男性ホルモン拮抗剤、血行促進剤、殺菌剤、保湿剤、局所刺激剤、抗脂漏剤等の、育毛効果を有する生理活性物質が挙

げられる。

- [0038] 毛母細胞活性剤は、毛母細胞や毛根細胞に直接作用して、或いは細胞分裂のエネルギー源となるATPを増加させて細胞分裂を活性化するものである。このような毛母細胞活性剤の具体例としては、ステビア抽出物、パンテノール、パントテン酸カルシウム、パントテン酸エチル、パントテニルエチルエーテル等のパンテノール誘導体、ヒノキチオール、アスパラギン酸カリウム、ペンタデカン酸グリセリド、感光素301、N-アセチル-L-メチオニン、5-モノニトログアヤコール、モノニトログアヤコールナトリウム、グルコン酸クロルヘキシジン、ビオチン、ネタカナール、チクセツニンジン、タイソウエキス、プラセンタエキス、ニンジンエキス、ローヤルゼリーエキス、ニンニク成分等が挙げられる。
- [0039] 毛髪成分であるセラミド2及びセラミド5は、毛髪ダメージや毛髪強度を短期間で効果的に改善し、ハリやコシのある健やかな毛髪を産生することができる。セラミド前駆体としては、セラミド2及びセラミド5の産生能が高いグルコシルセラミドが好ましく、中でも工業的に入手容易なコメヌカスフィンゴ糖脂質が好ましい。
- [0040] 消炎剤は、頭皮の炎症を抑えてフケやかゆみを抑制するものである。このような消炎剤の具体例としては、 $\beta$ -グリチルレチン酸及びその誘導体、脂溶性グリチルレチン酸類、グリチルリチン酸及びグリチルリチン酸ジカリウム、グリチルリチン酸モノアンモニウム等のグリチルリチン酸誘導体、塩酸ジフェンヒドラミン、酢酸ヒドロコルチゾン、ブレドニゾロン、サリチル酸、アズレン、グアイアズレン、甘草エキス、エイジツエキス、オウゴンエキス、シコンエキス、カワラヨモギエキス、キキョウエキス、キョウニンエキス、クチナシエキス、熊笹抽出液、ゲンチアナエキス、コンフリーエキス、サンザシエキス、シラカバエキス、セイヨウノコギリソウエキス、ゼニアオイエキス、トウニンエキス、桃葉エキス、ビワ葉エキス等が挙げられる。
- [0041] 男性ホルモン拮抗剤は、 $5\alpha$ リダクターゼ阻害剤のように毛母細胞の分裂を鈍くする男性ホルモンの活動を抑制するものである。このような男性ホル

モン拮抗剤の具体例としては、エストラジオール、エチニルエストラジオール、スピロノラクトン、オキシンドロン、ジエチルスチルベストロール、エピテストステロン、エストロン、サイプロテロンアセテート、 $11\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロン、フルタマイド、 $3'$ -デオキシアデノシン、酢酸クロルマジノン、ホップエキス、ペパーミントエキス、チョウジエキス、キナエキス、アロエエキス、サンショウエキス、オタネニンジンエキス等が挙げられる。

[0042] 血行促進剤は、毛細血管を拡張することにより血流量を増大させ、毛乳頭への栄養補給を促進するものである。このような血行促進剤の具体例としては、ニコチン酸及びニコチン酸アミド、ニコチン酸ベンジル等のニコチン酸誘導体、セファランチン、塩化カルプロニウム、アセチルコリン、 $\gamma$ -オリザノール、サークレチン、クロマカリム、ニコランジル、ピナシジル、フタリド類、ジアルキルモノアミン誘導体、イチョウエキス、カミツレエキス、トウキエキス、センキュウエキス、ローズマリーエキス、センブリエキス、ベニバナエキス、トウガラシチンキ、チンピエキス、ショウキョウチンキ、ニンジンエキス、ショウブ根エキス、当薬エキス、ユズ抽出液等が挙げられる。

[0043] 殺菌剤は、発毛に悪影響のある雑菌の繁殖を防止するものである。このような殺菌剤の具体例としては、ヒノキチオール、イソプロピルメチルフェノール、メントール、サリチル酸、塩化ベンザルコニウム、オクトピロックス、クロロヘキシジン、ジंकピリチオン、ソルビン酸カリウム、ビオゾール、クジンエキス、ムクロジエキス、オウバクエキス等が挙げられる。

[0044] 保湿剤は、頭皮の乾燥を防止して柔軟にすることで、発毛環境を整えるものである。このような保湿剤の具体例としては、トレハロース、メイグイファ、ソルビトール、可溶性コラーゲン、グリセリン、コンドロイチン硫酸、チューベローズポリサッカライド、冬虫夏草、トリサッカライド、尿素、バイオヒアルロン酸、ヒアルロン酸、ビタミンCリン酸エステルカルシウム塩、ピロリドンカルボン酸ナトリウム、プロピレングリコール、ボタンピエキ

ス、アロエエキス、プラセンタエキス、エンメイソウエキス、オトギリソウエキス、オーツ麦エキス、オオムギ抽出液、オレンジ抽出液、海草エキス、キューカンバーエキス、ゴボウエキス、シイタケエキス、ジオウエキス、デュークエキス、ビワ抽出液、ブドウ葉エキス、プルーンエキス、ヘチマエキス、マイカイエキス、ミニササニシキ、ユリエキス、リンゴエキスなどが挙げられる。

[0045] 局所刺激剤は、頭皮の新陳代謝の活性化、頭皮の強化、かゆみ防止等の効果を有するものである。このような局所刺激剤の具体例としては、カンファー、トウガラシチンキ、ノニル酸ワニルルアミド、メントール、ショウキョウチンキ、オランダカラシエキス、カンタリスチンキ、サンショウエキス、ハッカ油、ワサビ大根エキス等が挙げられる。

[0046] 抗脂漏剤は、脱毛を促進する過剰に分泌された皮脂を除外したり、皮脂腺の活動を抑制したりするものである。このような抗脂漏剤の具体例としては、カシュウエキス、オドリコソウエキス、イオウ、チオキソロン、バンサイド、ポリソルベート類、レシチン等が挙げられる。

[0047] 本発明の液状組成物を頭髮用化粧品や皮膚用化粧品として使用する場合は、上記の殺菌剤、局所刺激剤、保湿剤の他、ビタミンやビタミン誘導体等が必要に応じて加えられる。

[0048] (ナノ粒子の製造方法)

次に、生理活性物質が内包または表面担持されたナノ粒子の製造方法について説明する。ナノ粒子の製造方法としては、生理活性物質および生体適合性高分子を1,000nm未満の平均粒径を有する粒子に加工できる方法であれば特に限定されるものではない。例えば、本実施態様においては球形晶析法を好適に用いることができる。球形晶析法は、化合物合成の最終プロセスにおける結晶の生成・成長プロセスを制御することで、球状の結晶粒子を設計し、その物性を直接制御して加工することができる方法である。この球形晶析法の一つに、エマルション溶媒拡散法(ESD法)がある。

[0049] ESD法は、次に示すような原理によって、ナノ粒子(ナノスフェア)を

製造する技術である。本法には、基材ポリマーとなる生体適合性高分子を溶解できる良溶媒と、これとは逆に生体適合性高分子を溶解しない貧溶媒の二種類の溶媒が用いられる。この良溶媒には、生体適合性高分子を溶解し、且つ貧溶媒へ混和するアセトン等の有機溶媒を用いる。そして、貧溶媒には、通常、ポリビニルアルコール水溶液等を用いる。以下、生体適合性高分子として乳酸・グリコール酸共重合体（PLGA）を用いた場合の操作手順を詳述する。

[0050] まず、PLGAを良溶媒中に溶解後、PLGAが析出しないように、生理活性物質の溶解液を良溶媒中へ添加混合する。このPLGAと生理活性物質を含む混合液を、貧溶媒中に攪拌下、滴下すると、混合液中の良溶媒（有機溶媒）が貧溶媒中へ急速に拡散移行する。その結果、貧溶媒中で良溶媒の自己乳化が起き（マランゴニ効果）、サブミクロンサイズの良溶媒のエマルション滴が形成される。さらに、良溶媒と貧溶媒の相互拡散により、エマルション内から有機溶媒が貧溶媒へと継続的に拡散していくので、エマルション滴内のPLGA並びに生理活性物質の溶解度が低下し、最終的に、生理活性物質を内包した結晶粒子のPLGAナノ粒子が生成する（ナノ粒子形成工程）。

[0051] 上記球形晶析法では、物理化学的な手法でナノ粒子を形成でき、しかも得られるナノ粒子が略球形であるため、均質なナノ粒子を、触媒や原料化合物の残留といった問題を考慮することなく、容易に形成することができる。その後、良溶媒である有機溶媒を減圧留去し（溶媒留去工程）、乾燥することで、ナノ粒子粉末を得る。

[0052] 溶媒留去の方法としては、真空法と外気導入法とに大別される。真空法は、密閉晶析容器内の真空度が規定値になるよう、真空ポンプをON/OFF制御するか、若しくは真空ポンプの一次側にリーク弁を設けてリーク量を調整することで、晶析容器内の真空度を制御する。但し、溶媒留去工程においてもPLGAの加水分解を最小限にすることが品質上重要であり、溶媒が突沸しない程度まで真空度を高めつつ、極力短時間で溶媒を留去することが望

ましい。このときの温度は、PLGAのガラス転移点である約45℃以下で行う必要がある。具体的には、30～40℃の温度条件下で使用し、溶媒の沸点が当該温度付近になるよう真空度を制御する。

[0053] 他方、外気導入法は、リーク弁を晶析容器の上部に設けることで、晶析容器内に外気を取り込ませながら溶媒を留去させるため、真空法よりも比較的低い真空度で同程度の時間で留去することが可能である。この方法は、真空ポンプや冷却機器等の付帯機器が増大するという欠点はあるものの、真空法では真空度が高くなり過ぎることで、粒子の凝集や封入薬物の漏出等の品質上の問題が起こる場合、容器内の真空度を適切な範囲内に調節できる点で有利となる。従って、薬物が封入されたナノ粒子懸濁液からの溶媒留去法として採用できる。

[0054] 上記ナノ粒子形成工程において使用する良溶媒および貧溶媒の種類は特に限定されるものではないが、人体に対して安全性が高く、且つ環境負荷の少ないものを用いる必要がある。このような貧溶媒としては、例えばポリビニルアルコール水溶液が好適に用いられ、ポリビニルアルコール以外の界面活性剤としては、ポリエチレングリコール、シクロデキストリン、レシチン、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース等が挙げられる。

[0055] 良溶媒としては、低沸点の有機溶媒であるハロゲン化アルカン類、アセトン、メタノール、エタノール、エチルアセテート、ジエチルエーテル、シクロヘキサン、ベンゼン、トルエン等が挙げられるが、例えば、厚生労働省通知「医薬品の残留溶媒ガイドラインについて（平成10年3月30日 医薬審第307号）」でクラス3に分類されるアセトンのみ、若しくはアセトンとエタノールの混合液が好適に用いられる。

[0056] ポリビニルアルコール水溶液の濃度についても、生体適合性高分子の濃度等に応じて適宜決定すればよいが、ポリビニルアルコール水溶液の濃度が高いほどナノ粒子表面へのポリビニルアルコールの付着が良好となるものの、乾燥後の水への再分散性が低下する。一方、ポリビニルアルコール水溶液の

濃度が所定以下になると、貧溶媒中での分散性に悪影響を与える。そのため、ポリビニルアルコールの重合度やけん化度によっても異なるが、0.1重量%以上10重量%以下が好ましく、2重量%程度がより好ましい。

[0057] 本発明で製造されるナノ粒子は、1,000nm未満の平均粒子径を有するものであれば特に制限はないが、一般に、毛穴の直径は200 $\mu$ m程度であるため、皮膚深部への浸透効果を高めるためには平均粒子径を300nm以下とすることが好ましい。また、皮膚細胞の大きさは15,000nm、皮膚細胞間隔は皮膚の浅い所と深い所でバラツキがあるが、70nm程度であると考えられ、細胞の脈動により皮膚細胞間隔が広がるため、平均粒子径が300nm程度であれば、細胞間隙ルート（皮膚角質細胞間隙）を通してナノ粒子の表皮や真皮への浸透がなされ、生理活性物質を皮膚深部へと効果的に送達させることができる。一方、ナノ粒子の粒子径が小さくなるほど生理活性物質の内包率も低くなるため、平均粒子径は10nm以上とすることが好ましい。

[0058] ナノ粒子への生理活性物質の内包量は、ナノ粒子形成時に添加する生理活性物質の量の調整、ナノ粒子を形成する生体適合性高分子の種類及び分子量等により調整可能である。ナノ粒子形成時に良溶媒に混合する生理活性物質の量としては、生体適合性高分子に対する重量比を0.001以上1.0以下とすることが好ましい。生体適合性高分子に対する重量比が0.001未満の場合、良溶媒中での生理活性物質の濃度が低すぎてナノ粒子への内包率が低くなる。一方、1.0を超えると、ナノ粒子の形成が阻害される。

[0059] また、ナノ粒子に内包される生理活性物質が、水溶液中でアニオン分子として存在するアニオン性の生理活性物質である場合、上記ナノ粒子形成工程において貧溶媒にカチオン性高分子を添加することで、ナノ粒子への生理活性物質の内包率を高めることができる。

[0060] 従来の球形晶析法を用いてアニオン性の生理活性物質を内包したナノ粒子を製造しようとする、良溶媒中に分散混合した水溶性の生理活性物質が貧溶媒中に漏出、溶解してしまい、ナノ粒子を形成する生体適合性高分子だけ

が沈積するため、生理活性物質がほとんど内包されなかった。これに対し、上記ナノ粒子形成工程においてカチオン性高分子を貧溶媒中に添加した場合は、ナノ粒子表面を被覆したカチオン性高分子がエマルション滴表面に存在するアニオン性の生理活性物質と相互作用し、貧溶媒中への生理活性物質の漏出を抑制できるものと考えられる。

[0061] また、生体内の細胞壁は負に帯電しているが、従来の球形晶析法で製造されたナノ粒子の表面は、一般的に負のゼータ電位を有しているため、電氣的反発力によりナノ粒子の細胞接着性が悪くなるという問題点があった。従って、本発明のようにカチオン性高分子を用いてナノ粒子表面が正のゼータ電位を有するように帯電させることは、負帯電の細胞壁に対するナノ粒子の接着性を増大させ、アニオン性の生理活性物質の細胞内移行性を向上させる観点からも好ましい。

[0062] なお、ゼータ電位とは、粒子から十分に離れた電氣的に中性な領域の電位を基準とした場合の、上記移動が生じる面（滑り面）の電位である。ゼータ電位の絶対値が増加すれば、粒子間の反発力が強くなって粒子の安定性は高くなり、逆にゼータ電位が0に近づくにつれて粒子は凝集を起こしやすくなる。そのため、ゼータ電位は粒子の分散状態の指標として用いられている。

[0063] 本発明に用いられるカチオン性高分子としては、キトサン及びキトサン誘導体、セルロースに複数のカチオン基を結合させたカチオン化セルロース、ポリエチレンイミン、ポリビニルアミン、ポリアリルアミン等のポリアミノ化合物、ポリオルニチン、ポリリジン等のポリアミノ酸、ポリビニルイミダゾール、ポリビニルピリジニウムクロリド、アルキルアミノメタクリレート4級塩重合体（DAM）、アルキルアミノメタクリレート4級塩・アクリルアミド共重合体（DAA）、細胞膜（生体膜）の構成成分であるリン脂質極性基（ホスホリルコリン基）と重合性に優れたメタクリロイル基とを併せ持つ2-メタクリロイルオキシエチルホスホコリン（MPC）を構成単位とする高分子に第4級アンモニウム塩等のカチオン基を結合させたカチオン性高分子（例えばMPCと2-ヒドロキシ-3-メタクリロイルオキシプロピ

ルトリメチルアンモニウムクロリドとのコポリマー)等が挙げられるが、特にキトサン或いはその誘導体が好適に用いられる。

[0064] キトサンは、エビやカニ、昆虫の外殻に含まれる、アミノ基を有する糖の1種であるグルコサミンが多数結合したカチオン性の天然高分子であり、乳化安定性、保形性、生分解性、生体適合性、抗菌性等の特徴を有するため、化粧品や食品、衣料品、医薬品等の原料として広く用いられている。このキトサンを貧溶媒中に添加することにより、生体への悪影響がなく、安全性の高いナノ粒子を製造することができる。

[0065] このようにして得られたナノ粒子をそのまま用いるか、或いは必要に応じて複合化する(複合化工程)。この複合化により、使用前まではナノ粒子が集まった取り扱いの容易な複合粒子となっており、使用時に水分に触れることでナノ粒子に戻って高反応性等の特性が復元可能となる。

[0066] ナノ粒子の複合化方法としては、凍結乾燥法(例えば、乾燥棚式の凍結乾燥機(宝製作所社製)やナウタミキサN×V(ホソカワミクロン社製)を用いて真空凍結乾燥を行うこと)が好適に用いられる。また、流動層乾燥造粒法(例えば、アグロマスタAGM(ホソカワミクロン社製)を使用して流動造粒を行うこと)または乾式機械的粒子複合化法(例えば、メカノフュージョンシステムAMS(ホソカワミクロン社製)を使用して圧縮力および剪断力を加えること)により複合化しても良い。特に、粒子化する材料を含む混合物を流動ガス中に噴霧する流動層乾燥造粒法を用いた場合、時間と手間にかかる凍結乾燥工程を省略可能となり、複合粒子を容易に且つ短時間で製造できるため工業化にも有利となる。

[0067] 次に、ナノ粒子の表面にさらにアニオン性の生理活性物質を担持させる方法について説明する。ここでは、正のゼータ電位を有するナノ粒子表面へアニオン性の生理活性物質を静電的に担持させる方法を例に挙げて説明する。

[0068] アニオン性の生理活性物質をナノ粒子表面へ静電的に担持させるためには、ナノ粒子表面が正のゼータ電位を有するように帯電させておく必要があ

る。上記ナノ粒子形成工程においてカチオン性高分子を貧溶媒中に添加すると、形成されたナノ粒子の表面がカチオン性高分子により修飾（被覆）され、ナノ粒子表面のゼータ電位が正となる。そこで、凍結乾燥によりナノ粒子を複合化する際に、凍結乾燥前のナノ粒子懸濁液にアニオン性の生理活性物質を添加することにより、負の電荷を持つアニオン分子となった生理活性物質が静電氣的相互効果によりナノ粒子表面に所定量担持（外付け）される。

[0069] なお、カチオン性高分子の中でもカチオン性のより強いものを用いることにより、ゼータ電位がより大きな正の値となるため、ナノ粒子表面により多くの生理活性物質を担持可能になるとともに、ナノ粒子間の反発力が強くなってナノ粒子の安定性も高くなる。例えば、元来カチオン性であるキトサンの一部を第四級化することで、さらにカチオン性を高めた塩化N-[2-ヒドロキシー-3-(トリメチルアンモニオ)プロピル]キトサン等のキトサン誘導體（カチオニックキトサン）を用いることが好ましい。

[0070] ナノ粒子表面への生理活性物質の担持量は、カチオン性高分子の種類及び添加量や、凍結乾燥前のナノ粒子懸濁液中に添加する生理活性物質の量の調整により変更可能である。ナノ粒子懸濁液中に添加する生理活性物質の量としては、生体適合性高分子に対する重量比を0.001以上1.0以下とすることが好ましい。生体適合性高分子に対する重量比が0.001未満の場合、生理活性物質の濃度が低すぎてナノ粒子表面への担持率が低くなる。一方、1.0を超えると、静電氣的に担持可能な量を超えてしまい、ナノ粒子表面へ担持されない余剰の生理活性物質が生じる。

[0071] このように、生理活性物質のナノ粒子への内包とナノ粒子表面への静電氣的担持とを組み合わせることにより、先ずナノ粒子表面に担持された生理活性物質、次いでナノ粒子に内包された生理活性物質の順に放出される。従って、生理活性物質の放出速度を2段階に制御可能となる。

[0072] なお、凍結乾燥前のナノ粒子懸濁液に余剰のポリビニルアルコールやキトサンが残存していると、ポリビニルアルコールやキトサンと、生理活性物質とが吸着してしまい、生理活性物質を効率良くナノ粒子表面に担持できなく

なる。そのため、溶媒留去工程の後で生理活性物質の溶液を添加する前に、遠心分離操作によりポリビニルアルコールやキトサンを除去する工程（除去工程）を設けることが好ましい。

[0073] 特に、ポリビニルアルコールは親水性で吸湿性があるため、凍結乾燥後の複合粒子にポリビニルアルコールが過剰に含まれていると、複合粒子がベタついて品質が損なわれる。また、ポリビニルアルコールの添加量の増大と共に充填性（容器への充填のしやすさ）が悪くなる。さらに、ポリビニルアルコール特有の「糊」の機能のため、皮膚に塗布したときに肌の引張り感（つっぱり感）が強くなる。これらの不具合を解消するためにも除去工程を設けることが好ましい。

[0074] 具体的には、遠心分離操作で粒子を単離し、余剰のポリビニルアルコールを含む上澄み液を廃棄して精製水に置換し、再度遠心分離することでポリビニルアルコールを除去する方法が考えられる。

[0075] なお、ここでは生理活性物質が内包されたナノ粒子の表面にさらに生理活性物質を担持させる場合について説明したが、ナノ粒子形成工程において生理活性物質を良溶媒へ添加せず、生体適合性高分子のみを凝集させて形成したナノ粒子の表面に上記方法を用いて生理活性物質を担持させても良い。

[0076] 次に、生理活性物質が担持されたナノ粒子を結合剤と共に複合化させた複合粒子について説明する。ナノ粒子を結合剤と共に複合化することで、再分散性に加えて分散性、耐熱性にも優れた複合粒子とすることができる。また、結合剤中に生理活性物質を添加することにより、ナノ粒子を含む複合粒子に他の生理活性物質を担持させることもできる。

[0077] 結合剤は、複合化の際にナノ粒子同士を隔てる層を形成して複合粒子の分散性、耐熱性を向上させる。また、ナノ粒子に内包される生理活性物質は水溶性であるため、一旦内包された生理活性物質がナノ粒子表面へ漏出すると、周囲に存在する水に再溶解する。この水を凍結乾燥等により除去すると、その分だけ生理活性物質が減少して含有率にばらつきが発生してしまう。そこで、有機または無機の物質を再分散可能に複合化させ、生理活性物質の溶

解した水を除去せずにそのままナノ粒子と共に乾燥させることが好ましい。

[0078] このような結合剤としては、例えばマンニトール、トレハロース、ソルビトール、エリスリトール、マルトース、キシリトール等の糖アルコールやシヨ糖、アクリル系ポリマーやエチルセルロース等の高分子化合物粉末等が挙げられる。なお、結合剤として結晶性の弱い糖アルコールを用いると、複合化の際にアモルファス化してしまい良好に粒子化できなくなる場合がある。そのため、結晶性の強いマンニトールを用いることが好ましい。

[0079] (液状組成物)

このようにして製造したナノ粒子若しくは複合粒子を、分散液中に分散させて液状組成物とする。この液状組成物を育毛剤または化粧品として使用するか、或いは育毛剤または化粧品の原料として配合することで、ナノ粒子は毛穴や皮膚表面から皮膚深部まで効率よく浸透する。即ち、皮膚表面に塗布されたナノ粒子を含有する液滴は、ナノ粒子により表面張力が低下しているため界面エネルギーが下がる方向（皮膚内部へ浸透する方向）に移動し易くなる。さらに、液滴内のナノ粒子又は水に対し皮膚内部からの吸着も起こるため、ナノ粒子は皮膚深部へと効率よく送達されることとなる。結果、ナノ粒子に担持された生理活性物質が皮膚内部において投与直後から所定期間に亘って徐放される。

[0080] 従って、取り扱いが簡単で、且つ有効な育毛効果や保湿効果を得ることができる育毛剤または化粧品となる。本発明の育毛剤の剤型としては、液体製剤が挙げられる。本発明の化粧品の剤型としては、ヘアトニック、ヘアリキッド、シャンプー、リンス、ヘアコンディショナー等の頭髮用化粧品や、乳液、化粧水、スキンクリーム等のスキンケア化粧品が挙げられる。液状組成物中へのナノ粒子若しくは複合粒子の配合割合は、要求される効果や剤型等に応じて任意に設定することができる。

[0081] (分散液)

分散液としては、ナノ粒子が瞬時に均一分散するとともに、人体に対し安全性の高いものを用いる必要があり、水や水及びエタノールの混合液が好適

に用いられる。なお、水に対するエタノールの容量比が1/2以上になるとナノ粒子の凝集が起こるため、1/10から3/10の範囲とすることが好ましい。また、分散液として乳液を使用することにより、ナノ粒子の皮膚浸透効果をさらに高めることができる。

[0082] ところで、PLGAナノ粒子は水分と長時間触れると加水分解されてしまい、ナノ粒子による生理活性物質の運搬性能が失われることが知られている。PLGAナノ粒子が加水分解されると、PLGAを構成する乳酸、グリコール酸が生成するため、分散液が徐々に酸性となってpH（水素イオン濃度）が低下する。このpHの低下によってPLGAの加水分解はさらに促進される。

[0083] そこで、本発明の液状組成物では、分散液としてpH7~10の緩衝液を用いることとした。この場合、緩衝作用によって分散液のpHが7~10に維持されるため、PLGAナノ粒子の加水分解によるpHの低下が発生しない。従って、分散液を緩衝液とすることにより、分散液中のPLGAナノ粒子の加水分解を効果的に抑制することができる。

[0084] なお、本明細書中における「緩衝液」とは、リン酸緩衝液やリン酸-クエン酸緩衝液等の、強酸と弱塩基からなる塩に過剰の弱塩基を加えた溶液、もしくは弱酸と強塩基からなる塩に過剰の弱酸を加えた通常の緩衝液（バッファー液）の他、緩衝剤を含む溶液または水溶液、及び数種類の特定の物質がある一定の比率で溶解したことでpH緩衝能を有する溶液となったもの（例えば、水酸化マグネシウム水溶液）も含むものとする。

[0085] 緩衝液のpHが7よりも小さい場合は、緩衝作用によってpHの更なる低下は抑制されるものの、緩衝液が元々酸性であるためPLGAの酸加水分解が進行する。また、pHが10を超える場合は、PLGAのアルカリ加水分解が進行するとともに、人体への悪影響も懸念される。従って、緩衝液のpHは7~10とする必要があり、安全性を考慮するとpH7~8がより好ましい。

[0086] 本発明の液状組成物に用いられる緩衝液としては、緩衝剤としてリン酸水

素二ナトリウムとクエン酸の組み合わせを用いたリン酸－クエン酸緩衝液、リン酸水素二ナトリウムとリン酸二水素ナトリウムの組み合わせを用いたリン酸緩衝液が挙げられる。リン酸－クエン酸緩衝液はpH7～8に調整する際に好適に用いられ、リン酸緩衝液はpH7～10に調整する際に好適に用いられる。

[0087] また、緩衝液中の緩衝剤の濃度が高くなるほど緩衝液の緩衝作用が増大するが、リン酸水素二ナトリウムとクエン酸の組み合わせは、リン酸水素二ナトリウムとリン酸二水素ナトリウムの組み合わせに比べて水に対する溶解度が高いため、高濃度の緩衝液を調製することができる。従って、リン酸－クエン酸緩衝液を用いることにより、緩衝作用を大きくして加水分解抑制効果をより高めることができる。

[0088] なお、PLGA以外のPLA、PGAについても、加水分解により乳酸、またはグリコール酸が生成してpHが徐々に低下する点はPLGAと同様であるため、分散液としてpH7～10の緩衝液を用いることで、分散液中のPLA、PGAナノ粒子の加水分解を効果的に抑制することができる。

[0089] (増粘剤)

緩衝液の緩衝作用は緩衝剤の濃度に比例して高くなるため、ナノ粒子の加水分解を長期間に亘って抑制するためには分散液中の緩衝剤の濃度を高くすることが好ましい。しかし、緩衝剤の濃度が高くなると、ナノ粒子表面の水和水が脱水され、ナノ粒子が凝集し易くなる。その結果、ナノ粒子の沈降・凝集が発生し、安定した分散状態を長期間維持することが困難となる。

[0090] そこで、分散液中に増粘剤を添加することにより、ナノ粒子の分散状態を所定期間維持することができる液状組成物となる。本発明の液状組成物に添加する増粘剤としては、キサンタンガム、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸ナトリウム、アセチル化ヒアルロン酸ナトリウム、カルボキシビニルポリマー、カルボマー、アルギン酸、ヒドロキシプロピルセルロース、カラギーナン、ローカストビーンガム、グァーガム、疎水性ポリエーテルウレタンから選ばれた一種または二種以上の水溶性高分子が挙げられる。疎水性ポリエーテル

ウレタンの代表例としては、(PEG-240/デシルテトラデセス-20/HDI) コポリマーが挙げられる。また、水溶性高分子以外の増粘剤としては、水膨潤性粘土鉱物の一種であるヘクトライトが挙げられる。ヘクトライトは膨潤性に富むスメクタイト構造を有しており、水に溶解することで増粘作用を有する。

[0091] 上記の増粘剤の添加量の下限値（最小有効添加量）は、ナノ粒子の分散状態を維持する期間、緩衝剤の濃度及び組み合わせ、ナノ粒子の配合量、増粘剤の種類によって異なる。従って、液状組成物の処方に応じて適宜調整すれば良い。また、増粘剤の添加量の上限値（最大有効添加量）については特に制限はないが、増粘剤の添加量が多くなると液状組成物の粘度が高くなり、化粧品や育毛剤として使用する際の使用感が悪くなる。従って、化粧品や育毛剤としての使用感を損なわない範囲の添加量とすることが好ましい。

[0092] また、分散液中に他の生理活性物質を配合しておくことで、ナノ粒子の皮膚深部への浸透に伴い、ナノ粒子表面に吸着された分散液中の生理活性物質も同時に皮膚深部まで送達されるため、より多くの生理活性物質を皮膚深部へ供給することができる。分散液中に配合される生理活性物質としては、褐藻エキス、ゴボウエキス、アルテア根エキス、セリン、ベタイン、ソルビトール、トレハロース、グリシン、アラニン、プロリン、トレオニン、アルギニン、リシン、グルタミン酸、マルトデキストリン、スクワラン、イノシトール、ビオチン、酵母エキス等の保湿成分、ビタミンA、ビタミンB、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンF、ビタミンK、ビタミンP、ビタミンU、カルニチン、フェルラ酸、 $\gamma$ -オリザノール、 $\alpha$ -リポ酸、オロット酸及びこれらの成分又は誘導体である酢酸レチノール、酢酸リボフラビン、ピリドキシンジオクタノエート、L-アスコルビン酸ジパルミチン酸エステル、L-アスコルビン酸-2-硫酸ナトリウム、L-アスコルビン酸リン酸エステル、DL-トコフェロール-L-アスコルビン酸リン酸ジエステルジカリウム、パントテニルエチルエーテル、D-パントテニルアルコール、アセチルパントテニルエチルエーテル、エルゴカルシフェロール、コレ

カルシフェロール、酢酸トコフェロール、ニコチン酸トコフェロール、コハク酸トコフェロール等のビタミンまたはビタミン誘導体、或いはVC-PMG（水溶性リン酸アスコルビルMg）、AA2G（アスコルビン酸グルコシド）、パンテノール（水溶性ビタミンB<sub>5</sub>）、L-システイン等の水溶性のプロビタミン類が挙げられる。

[0093] その他、本発明の液状組成物には、タルク、マイカ、セリサイト、酸化チタン、無水珪酸、カオリン、酸化亜鉛、雲母チタン、酸化鉄等の無機粉末、ポリエステル、ポリエチレン、ポリスチレン、ポリウレタン、アクリル酸樹脂、フェノール樹脂、フッ素樹脂、ジビニルベンゼン、スチレン共重合体等の各種樹脂粉末或いはそれらの2種以上から成る共重合樹脂粉末、アセチルセルロース、多糖類、タンパク質等の有機粉末、赤色202号、赤色226号、黄色205号、黄色401号、青色1号、青色204号、青色404号等の顔料粉末、ステアリン酸亜鉛、ステアリン酸マグネシウム、パルミチン酸亜鉛等の金属石鹸、ジメチコン、メチコン、シクロメチコン、ポリエーテル変性シリコン、フッ素変性シリコン等のシリコン化合物、トリオクタノイン、ジカプリル酸ネオペンチルグリコール、トリ（カプリル／カプリン酸）グリセリル、（ヒドロキシステアリン酸／ステアリン酸／ロジン酸）ジペンタエリスリチル、イソステアリン酸水添ヒマシ油等のエステル油、ミネラルオイル、ワセリン、ポリブテン等の鉱物油、カルナウバロウ、キャンデリラロウ、ミツロウ等のロウ、ホホバ油、オリーブ油、アロエ、ベニバナ等の天然系原料等の、任意の無機又は有機原料、或いは通常化粧品に配合される任意の成分、例えばエタノールや多価アルコール等のアルコール類、界面活性剤、油脂、紫外線吸収剤、着色料、香料、防腐剤等を、本発明の効果を妨げない範囲で配合することができる。

[0094] なお、本発明は上述した各実施形態に限定されるものではなく、請求項に示した範囲で種々の変更が可能であり、異なる実施形態にそれぞれ開示された技術的手段を適宜組み合わせて得られる実施形態についても本発明の技術的範囲に含まれる。以下、本発明の液状組成物に用いるナノ粒子の製造方法

及び液状組成物中におけるナノ粒子の加水分解抑制効果について、実施例、比較例、及び試験例により更に具体的に説明する。なお、以下の試験例では、PLGAナノ粒子の分子量保持効果（加水分解抑制効果）、及び分散安定化効果を調査するため、試験液中に分散させるナノ粒子の調製方法を示した参考例ではナノ粒子への生理活性物質の担持は行っていない。

[PLGAナノ粒子の調製]

### 参考例

[0095] 生体適合性高分子である乳酸・グリコール酸共重合体（PLGA：和光純薬工業社製PLGA7520、平均分子量20,000、乳酸・グリコール酸重合モル比＝75：25）10gを良溶媒であるアセトン200mLに溶解し、エタノール100mLを加えて混合し、溶液を調製した。また、PLGAに対して貧溶媒である0.25重量%のポリビニルアルコール（PVAEG05、日本合成化学工業社製）水溶液400mLを調製した。このポリビニルアルコール水溶液を40℃、400rpmで攪拌下、先のPLGA溶液を一定速度で滴下してPLGANANO粒子の懸濁液を得た。

[0096] 滴下終了後、減圧下でアセトン、エタノールを留去した。次に、得られたナノ粒子懸濁液にトレハロース（林原社製）11.7g、リン酸アスコルビルマグネシウム（和光純薬工業社製）2.1gを添加し、凍結乾燥にてPLGANANO粒子の複合粒子粉末を得た。

[0097] 得られた複合粒子を水中へ再分散させた際のPLGANANO粒子の粒度分布を動的光散乱法（測定装置：MICROTRAC UPA-150、日機装社製）により測定したところ、平均粒子径は160nmであった。

[液状組成物の調製]

### 実施例 1

[0098] 緩衝剤としてクエン酸、リン酸水素二ナトリウムを200mmol/Lの濃度で溶解してpH7.0に調整した水79.6重量%、エタノール20重量%の混合液に、参考例で調製したPLGANANO粒子0.4重量%を分散して液状組成物を調製した。

## 実施例 2

[0099] 緩衝剤としてクエン酸、リン酸水素二ナトリウムを200mmol/Lの濃度で溶解してpH7.6に調整した水79.6重量%を用いて、実施例1と同様の手順により液状組成物を調製した。

## 実施例 3

[0100] 緩衝剤としてリン酸二水素ナトリウム、リン酸水素二ナトリウムを200mmol/Lの濃度で溶解してpH7.7に調整した水79.6重量%を用いて、実施例1と同様の手順により液状組成物を調製した。

## 実施例 4

[0101] 緩衝剤としてリン酸二水素ナトリウム、水酸化ナトリウムを200mmol/Lの濃度で溶解してpH9.0に調整した水79.6重量%を用いて、実施例1と同様の手順により液状組成物を調製した。

## 実施例 5

[0102] 緩衝剤としてリン酸二水素ナトリウム、水酸化ナトリウムを200mmol/Lの濃度で溶解してpH10.0に調整した水79.6重量%を用いて、実施例1と同様の手順により液状組成物を調製した。

## 実施例 6

[0103] 緩衝剤としてクエン酸、リン酸水素二ナトリウムを750mmol/Lの濃度で溶解してpH7.5に調整した水79.2重量%、エタノール20重量%の混合液に、参考例で調製したPLGAナノ粒子0.4重量%、増粘剤としてヒアルロン酸0.4重量%を分散して液状組成物を調製した。

## 実施例 7

[0104] 緩衝剤としてクエン酸、リン酸水素二ナトリウムを750mmol/Lの濃度で溶解してpH7.5に調整した水79.3重量%、エタノール20重量%の混合液に、参考例で調製したPLGAナノ粒子0.4重量%、増粘剤としてヒアルロン酸0.3重量%を分散して液状組成物を調製した。

## 実施例 8

[0105] 緩衝剤としてクエン酸、リン酸水素二ナトリウムを750mmol/Lの濃度で溶解してpH7.5に調整した水79.5重量%、エタノール20重量%の混合液に、参考例で調製したPLGAナノ粒子0.4重量%、増粘剤としてヒアルロン酸0.1重量%を分散して液状組成物を調製した。

### 実施例 9

[0106] 緩衝剤としてクエン酸、リン酸水素二ナトリウムを750mmol/Lの濃度で溶解してpH7.5に調整した水79.2重量%、エタノール20重量%の混合液に、参考例で調製したPLGAナノ粒子0.4重量%、増粘剤としてキサンタンガム0.4重量%を分散して液状組成物を調製した。

### 実施例 10

[0107] 緩衝剤としてクエン酸、リン酸水素二ナトリウムを750mmol/Lの濃度で溶解してpH7.5に調整した水79.5重量%、エタノール20重量%の混合液に、参考例で調製したPLGAナノ粒子0.4重量%、増粘剤としてキサンタンガム0.1重量%を分散して液状組成物を調製した。

### 実施例 11

[0108] 緩衝剤としてクエン酸、リン酸水素二ナトリウムを750mmol/Lの濃度で溶解してpH7.5に調整した水79.55重量%、エタノール20重量%の混合液に、参考例で調製したPLGAナノ粒子0.4重量%、増粘剤としてキサンタンガム0.05重量%を分散して液状組成物を調製した。

### 実施例 12

[0109] 緩衝剤としてクエン酸、リン酸水素二ナトリウムを750mmol/Lの濃度で溶解してpH7.5に調整した水79.49重量%、エタノール20重量%の混合液に、参考例で調製したPLGAナノ粒子0.4重量%、増粘剤としてヒアルロン酸0.01重量%、キサンタンガム0.1重量%を分散して液状組成物を調製した。

### 実施例 13

[0110] 緩衝剤としてクエン酸、リン酸水素二ナトリウムを750mmol/Lの

濃度で溶解してpH7.5に調整した水79.5重量%、エタノール20重量%の混合液に、参考例で調製したPLGAナノ粒子0.4重量%、増粘剤としてヒアルロン酸0.05重量%、キサンタンガム0.05重量%を分散して液状組成物を調製した。

### 比較例 1

[0111] 緩衝剤としてクエン酸、クエン酸ナトリウムを200mmol/Lの濃度で溶解してpH6.3に調整した水79.6重量%を用いて、実施例1と同様の手順により液状組成物を調製した。

### 比較例 2

[0112] 緩衝剤を溶解しないpH6.8の水79.6重量%を用いて、実施例1と同様の手順により液状組成物を調製した。

### 比較例 3

[0113] 緩衝剤としてクエン酸、リン酸水素二ナトリウムを750mmol/Lの濃度で溶解してpH7.5に調整した水79.6重量%にPLGAナノ粒子0.4重量%を分散して液状組成物を調製した。

[PLGAナノ粒子の加水分解抑制効果]

### 試験例 1

[0114] 実施例1～5、及び比較例1、2において調製した液状組成物を試験液として20℃で所定期間静置保存した後、各試験液のpH及び各試験液中のPLGAの分子量を測定した。各試験液の組成、保管温度、及びpHの初期設定値をまとめて表1に示す。

[0115]

[表1]

		実施例					比較例	
No.		1	2	3	4	5	1	2
PLGAナノ粒子		0.4重量%						
分散媒	エタノール	20.0重量%						
	水	79.6重量%						
緩衝剤の種類	クエン酸	クエン酸	リン酸二水素ナトリウム	リン酸二水素ナトリウム	リン酸二水素ナトリウム	クエン酸	無配合	
	リン酸水素二ナトリウム	リン酸水素二ナトリウム	リン酸水素二ナトリウム	水酸化ナトリウム	水酸化ナトリウム	クエン酸ナトリウム		
保管温度		20°C						
pH(初期設定)		7.0	7.6	7.7	9.0	10.0	6.3	6.8

[0116] 試験液のpHは、pHメーター（堀場製作所社製、D-51）を用いて測定した。PLGAの分子量は、試験液中のエタノールを減圧留去した後、凍結乾燥することにより得られた粉末にクロロホルム2.0mLを加えてPLGAのみを溶解した。この溶液を0.2μmのフィルターでろ過し、ろ液をGPC（ゲル浸透クロマトグラフィー、検出器：島津製作所社製、示差屈折率計）を用いて測定した。PLGAの分子量保持率を下記式により算出した。

$$PLGA \text{ 分子量保持率 (\%)} = \frac{\text{(一定期間保存後のPLGA分子量)}}{\text{(試験開始前のPLGA分子量)}} \times 100$$

結果を図1～図3に示す。

[0117] 図1及び図2に示すように、緩衝剤を用いてpHの初期設定値が7.0～10.0になるように調整した実施例1～5の試験液（それぞれ●、○、△、▲、□のデータ系列）では、いずれも20°Cで12ヶ月保管した後も初期設定値とほぼ同等のpHが保持されており、20°Cで2ヶ月保管した後のPLGAの分子量保持率も90%以上であった。さらに、図3に示すように、実施例2の試験液（○のデータ系列）では8ヶ月保管した後も分子量保持率はほぼ100%であり、試験液中のPLGANANO粒子がほとんど加水分解されなかった。また、12ヶ月保管した後の分子量保持率は96%、18ヶ月保管した後の分子量保持率は88%であり、18ヶ月後においても高い分子

量保持率を維持していた。なお、pHの初期設定値が10.0である実施例5の試験液（□のデータ系列）では、20℃で2ヶ月保管後のpHは10に保持されており、分子量保持率は90%程度であることから、PLGAの実用的な加水分解抑制効果を発現する緩衝液のpHの上限値は10と推認される。

[0118] これに対し、緩衝剤を用いてpHの初期設定値が6.3になるように調整した比較例1の試験液（×のデータ系列）では、緩衝効果によって20℃で8ヶ月保管した後のpHは初期設定値とほぼ同等の6.1に保持されていたが、試験液が酸性であるため時間の経過とともにPLGAの加水分解が進行し、20℃で2ヶ月保管した後のPLGAの分子量保持率は70%以下であった。また、12ヶ月保管した後のpHは5.5まで低下した。これは、加水分解によって生成する乳酸、グリコール酸が増加したことで緩衝効果が弱まったためであると考えられる。

[0119] また、緩衝剤を添加しなかった比較例2の試験液（\*のデータ系列）では、PLGAの加水分解によって生成する乳酸、グリコール酸により20℃で8ヶ月保管した後のpHが3.3に低下しており、20℃で2ヶ月保管した後のPLGAの分子量保持率も70%以下であった。さらに、図3に示すように、20℃で8ヶ月保管した後の分子量保持率は0%となり、試験液中のPLGAナノ粒子が完全に加水分解された。

[0120] 以上の結果より、pH7.0～10.0の緩衝液中ではPLGAナノ粒子の加水分解が長期間に亘って顕著に抑制されることが確認された。

[PLGAナノ粒子の分散安定化効果]

## 試験例2

[0121] 実施例6～13、及び比較例3において調製した液状組成物を試験液として20℃で3ヶ月間保存した後、試験例1と同様の装置及び操作手順により、各試験液のpH及び各試験液中のPLGAの分子量を測定した。また、各試験液中のPLGAナノ粒子の分散状態を目視により観察した。各試験液の組成、保管温度、及びpHの初期設定値をまとめて表2に示す。

[0122] [表2]

		実施例								比較例
No.		6	7	8	9	10	11	12	13	3
PLGAナノ粒子		0.4重量%								
分散媒	エタノール	20.0重量%								
	水	残量								
増粘剤	ヒアルロン酸ナトリウム (%)	0.4	0.3	0.1	—	—	—	0.01	0.05	—
	キサンタンガム (%)	—	—	—	0.4	0.1	0.05	0.1	0.05	—
緩衝剤の種類		クエン酸、リン酸水素二ナトリウム(塩濃度750mmol/L)								
保管温度		20°C								
pH(初期設定)		7.5								

[0123] PLGAナノ粒子の分散状態は、粒子の凝集、沈降が認められない場合を◎、粒子の凝集は認められないが、微量の粒子が沈降している場合を○、粒子の凝集は認められないが、少量の粒子が沈降している場合を△、粒子の凝集及び沈降の両方が認められる場合を×とした。観察結果をpH及び分子量保持率と併せて表3に示す。

[0124] [表3]

		実施例								比較例
No.		6	7	8	9	10	11	12	13	3
pH(3ヶ月後)		7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
分子量保持率 (%)		100	100	100	100	100	100	100	100	100
PLGAナノ粒子分散性		◎	○	△	◎	○	△	◎	△	×

[0125] 表3に示すように、実施例6～13、及び比較例3の試験液では、いずれも20°Cで3ヶ月保管した後のpHが初期設定値と同じ7.5に保持されており、PLGAの分子量保持率も100%であった。

[0126] また、増粘剤としてヒアルロン酸ナトリウムを単独で使用した実施例6～8では、添加量が0.4重量%である実施例6で粒子の凝集、沈降が認められず、最も分散性が良好であった。また、ヒアルロン酸ナトリウムの添加量が0.3重量%以下である実施例7、8では粒子の凝集は認められないが、徐々にPLGAナノ粒子の沈降が観察された。一方、増粘剤としてキサンタ

ンガムを単独で使用した実施例 9～11 では、添加量が 0.4 重量%である実施例 9 で最も分散性が良好であり、キサンタンガムの添加量が 0.1 重量%以下である実施例 10、11 では徐々に PLGA ナノ粒子の沈降が観察された。

[0127] さらに、増粘剤としてヒアルロン酸ナトリウムとキサンタンガムを併用した実施例 12、13 では、ヒアルロン酸ナトリウムまたはキサンタンガムを単独で使用した場合に比べて低い添加量で良好な分散性を示し、特にヒアルロン酸ナトリウムを 0.01 重量%、キサンタンガムを 0.1 重量%添加した実施例 12 では PLGA ナノ粒子の凝集及び沈降は全く認められなかった。

[0128] これに対し、増粘剤を添加しなかった比較例 3 では、PLGA ナノ粒子の凝集及び沈降の両方が認められた。以上のことから、増粘剤として 0.4 重量%以上のヒアルロン酸ナトリウム、0.4 重量%以上のキサンタンガムを添加することにより、緩衝液中での PLGA ナノ粒子の分散状態を効果的に維持することができ、ヒアルロン酸ナトリウムとキサンタンガムを併用することで添加量を低減できることが確認された。

### 産業上の利用可能性

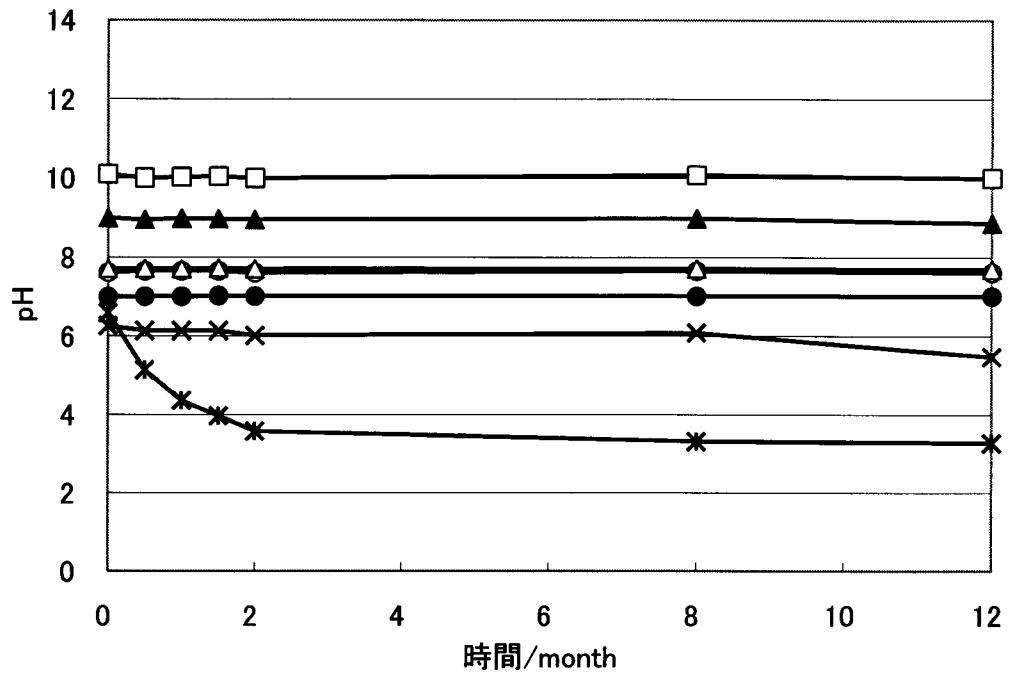
[0129] 本発明によれば、ナノ粒子を形成する材料として PGA、PLA、または PLGA のいずれかを用い、生理活性物質が粒子内部または表面の少なくとも一方に担持された生体適合性ナノ粒子の分散液中での加水分解を長期間に亘って抑制することができる液状組成物となる。また、液状組成物に増粘剤を添加することにより、ナノ粒子の沈降を抑制して分散安定性を向上させることができる。従って、予めナノ粒子粉末を分散液中に分散させた一剤型の化粧品や育毛剤として好適に利用可能な液状組成物が提供される。

## 請求の範囲

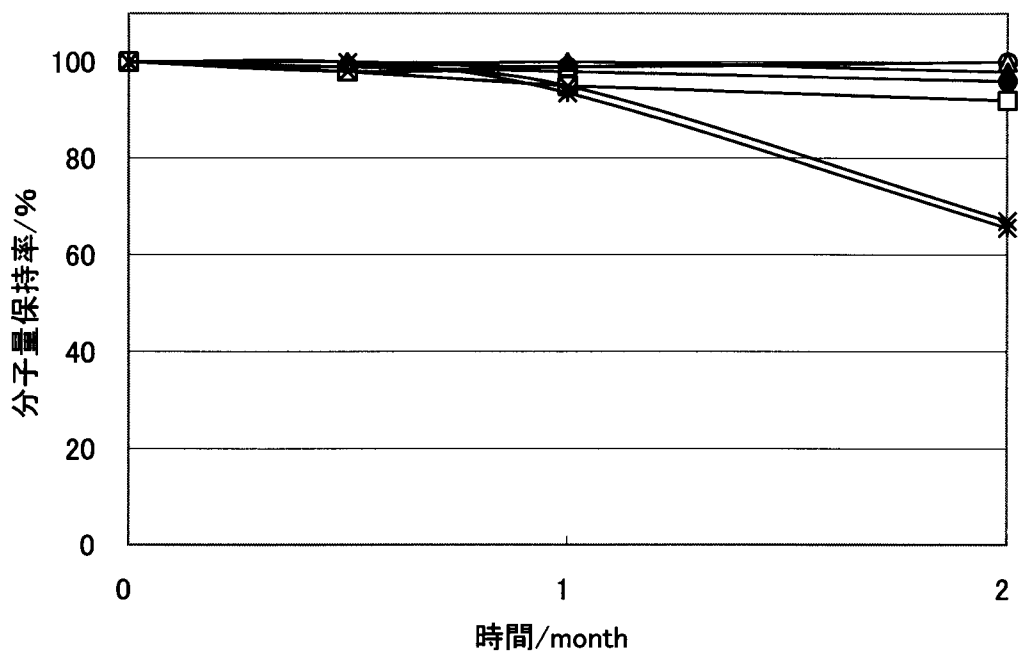
- [請求項1]       ポリ乳酸、ポリグリコール酸、または乳酸・グリコール酸共重合体のいずれかで形成されたナノ粒子の内部または表面の少なくとも一方に生理活性物質を担持した生体適合性ナノ粒子と、pH 7以上10以下の緩衝液と、を含む液状組成物。
- [請求項2]       前記緩衝液が、pH 7以上8以下のリン酸－クエン酸緩衝液であることを特徴とする請求項1に記載の液状組成物。
- [請求項3]       前記緩衝液が、pH 7以上10以下のリン酸緩衝液であることを特徴とする請求項1に記載の液状組成物。
- [請求項4]       前記緩衝液中に、さらに増粘剤を添加したことを特徴とする請求項1に記載の液状組成物。
- [請求項5]       前記増粘剤が、水溶性高分子であることを特徴とする請求項4に記載の液状組成物。
- [請求項6]       前記水溶性高分子が、キサンタンガム、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸ナトリウム、アセチル化ヒアルロン酸ナトリウム、カルボキシビニルポリマー、カルボマー、アルギン酸、ヒドロキシプロピルセルロース、カラギーナン、ローカストビーンガム、グァーガム、疎水性ポリエーテルウレタンからなる群より選ばれた少なくとも一種であることを特徴とする請求項5に記載の液状組成物。
- [請求項7]       前記生体適合性ナノ粒子の平均粒子径が10nm以上300nm以下であることを特徴とする請求項1に記載の液状組成物。
- [請求項8]       前記ポリ乳酸、ポリグリコール酸、または乳酸・グリコール酸共重合体の重量平均分子量が5,000以上100,000以下であることを特徴とする請求項1に記載の液状組成物。
- [請求項9]       請求項1乃至請求項8のいずれか1項に記載の液状組成物から成る、または前記液状組成物を配合して成る化粧品。
- [請求項10]      請求項1乃至請求項8のいずれか1項に記載の液状組成物から成る、または前記液状組成物を配合して成る頭髮用化粧品。

[請求項11]           請求項1乃至請求項8のいずれか1項に記載の液状組成物から成る  
、または前記液状組成物を配合して成る育毛剤。

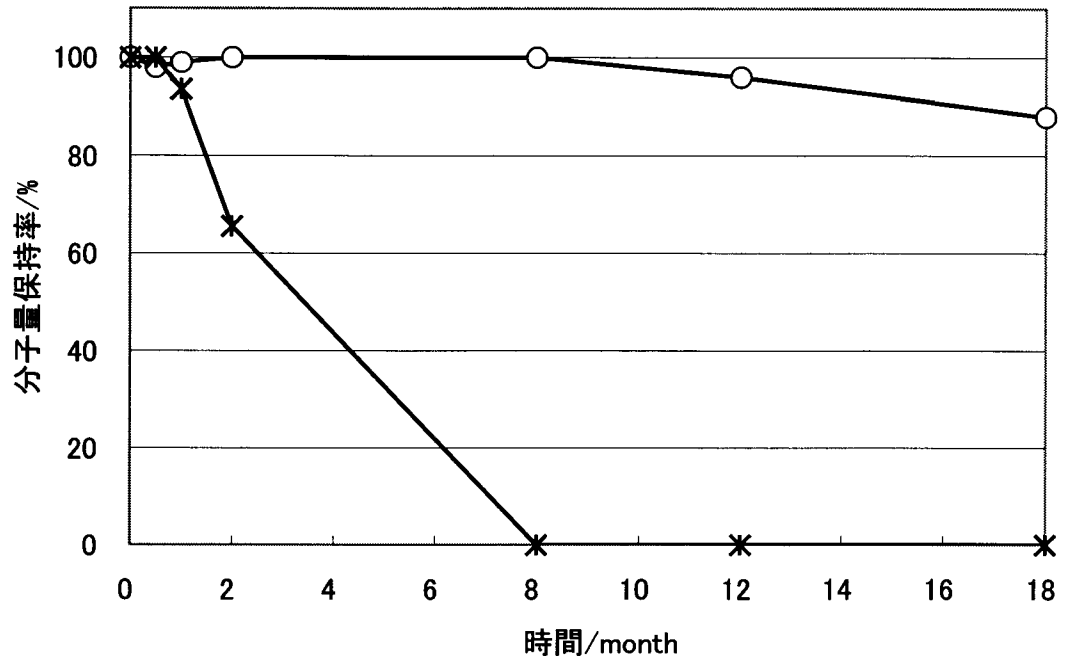
[図1]



[図2]



[図3]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/064540

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K8/85(2006.01)i, A61K8/04(2006.01)i, A61K8/24(2006.01)i, A61K8/365  
(2006.01)i, A61K9/10(2006.01)i, A61P17/14(2006.01)i, A61Q7/00(2006.01)i,  
B82Y5/00(2011.01)i, B82Y30/00(2011.01)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)

A61K8/85, A61K8/04, A61K8/24, A61K8/365, A61K9/10, A61P17/14, A61Q7/00,  
B82Y5/00, B82Y30/00

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2012
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2012	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2012

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

CA/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	Tania BETANCOURT, et al., Doxorubicin-loaded PLGA nanoparticles by nanoprecipitation: preparation, characterization and in vitro evaluation, Nanomedicine, 2007, Vol.2, No.2, Pages 219-232	1, 3, 7, 8
X	WO 99/12571 A1 (Maruho Co., Ltd.), 18 March 1999 (18.03.1999), example 1; test example 1; example 6; fig. 1 & EP 1010435 A1	1, 3, 7, 8
X Y	WO 2009/134769 A1 (NOVARTIS AG.), 05 November 2009 (05.11.2009), claims 1, 3, 6; page 20, lines 14 to 20; page 54, lines 8 to 22; page 55, line 1 & JP 2011-518885 A	1-5, 7, 8 6, 9-11

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 September, 2012 (03.09.12)

Date of mailing of the international search report  
11 September, 2012 (11.09.12)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/064540

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2006-131616 A (Kose Corp.), 25 May 2006 (25.05.2006), claim 2; paragraph [0023] (Family: none)	6
Y	JP 62-175413 A (Shiseido Co., Ltd.), 01 August 1987 (01.08.1987), Industrial Field of Invention (Family: none)	6
Y	JP 2010-150151 A (Hosokawa Micron Corp.), 08 July 2010 (08.07.2010), claims (Family: none)	9-11
Y	JP 2009-107941 A (Hosokawa Powder Technology Research Institute), 21 May 2009 (21.05.2009), claims (Family: none)	9-11

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K8/85(2006.01)i, A61K8/04(2006.01)i, A61K8/24(2006.01)i, A61K8/365(2006.01)i, A61K9/10(2006.01)i, A61P17/14(2006.01)i, A61Q7/00(2006.01)i, B82Y5/00(2011.01)i, B82Y30/00(2011.01)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. A61K8/85, A61K8/04, A61K8/24, A61K8/365, A61K9/10, A61P17/14, A61Q7/00, B82Y5/00, B82Y30/00

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	1971-2012年
日本国実用新案登録公報	1996-2012年
日本国登録実用新案公報	1994-2012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)

CA/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	Tania BETANCOURT, et al., Doxorubicin-loaded PLGA nanoparticles by nanoprecipitation: preparation, characterization and in vitro evaluation, Nanomedicine, 2007, Vol.2, No.2, Pages 219-232	1, 3, 7, 8
X	WO 99/12571 A1 (マルホ株式会社) 1999.03.18, 実施例 1、試験例 1、実施例 6、図 1 & EP 1010435 A1	1, 3, 7, 8

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

の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

03.09.2012

国際調査報告の発送日

11.09.2012

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)

松本 直子

4D

4869

電話番号 03-3581-1101 内線 3421

C (続き) . 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 Y	WO 2009/134769 A1 (NOVARTIS AG) 2009. 11. 05, claim1, 3, 6、20 頁 14~20 行、54 頁 8~22 行、55 頁 1 行 & JP 2011-518885 A	1-5, 7, 8 6, 9-11
Y	JP 2006-131616 A (株式会社コーセイ) 2006. 05. 25, 請求項 2、【0023】 (ファミリーなし)	6
Y	JP 62-175413 A (株式会社資生堂) 1987. 08. 01, [産業上の利用分野] (ファミリーなし)	6
Y	JP 2010-150151 A (ホソカワミクロン株式会社) 2010. 07. 08, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	9-11
Y	JP 2009-107941 A (株式会社ホソカワ粉体技術研究所) 2009. 05. 21, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	9-11