(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
2021年11月25日(25.11.2021)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2021/235425 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 9/50 (2006.01)　*A61K 47/26* (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)　*A61K 47/36* (2006.01)
A61K 9/72 (2006.01)　*A61K 38/13* (2006.01)
A61K 47/12 (2006.01)

(21) 国際出願番号：　PCT/JP2021/018751

(22) 国際出願日：　2021年5月18日(18.05.2021)

(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 2020-088154　2020年5月20日(20.05.2020)　JP

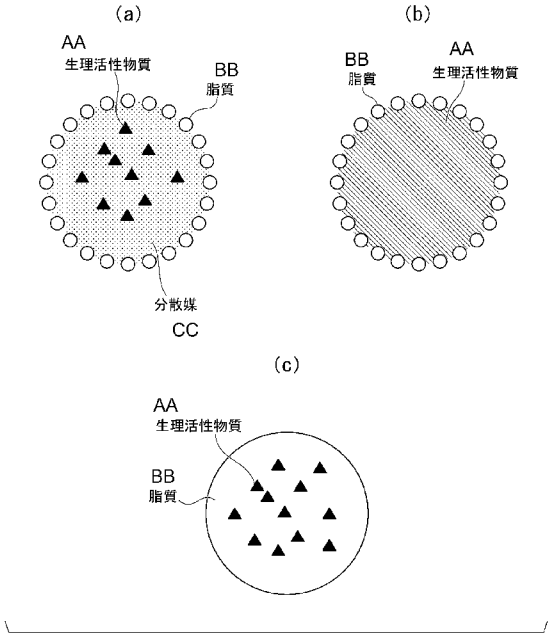
(71) 出願人(*IT, US* を除く全ての指定国について):
株式会社リコー (**RICOH COMPANY, LTD.**) [JP/JP]; 〒1438555 東京都大田区中馬込１丁目３番６号 Tokyo (JP). 静岡県公立大学法人 (**SHIZUOKA PREFECTURAL UNIVERSITY CORPORATION**) [JP/JP]; 〒4228526 静岡県静岡市駿河区谷田５２－１ Shizuoka (JP).

(72) 発明者；および
(71) 出願人 (*US* についてのみ):森谷 樹(**MORITANI Tatsuru**) [JP/JP]; 〒1438555 東京都大田区中馬込１丁目３番６号 株式会社リコー内 Tokyo (JP). 尾上 誠良(**ONOUE Satomi**) [JP/JP]; 〒4228526 静岡県静岡市駿河区谷田５２－１ 静岡県公立大学法人 静岡県立大学 薬学研究院内 Shizuoka (JP). 佐藤 秀行(**SATO Hideyuki**) [JP/JP]; 〒4228526 静岡県静岡市駿河区谷田５２－１ 静岡県公立大学法人 静岡県立大学 薬学研究院内 Shizuoka (JP).

(54) **Title:** PARTICLE CONTAINING LIPID NANOPARTICLES, AND METHOD FOR PRODUCING SAME

(54) 発明の名称： 脂質ナノ粒子を含有する粒子及びその製造方法

[図5]



AA　Physiologically active substance
BB　Lipid
CC　Dispersion medium

(57) **Abstract:** Provided is a method for producing a particle, the method comprising a granulation and drying step for granulating and drying: a particle containing at least one type of substrate and lipid nanoparticles; a powder inhaler; and a suspension containing the substrate and the lipid nanoparticles, in a gas medium, wherein the lipid nanoparticles are dispersed in the substrate, and are at least one selected from the group consisting of liposomes, lipid emulsions, and solid lipid nanoparticles, and contain a physiologically active substance.

WO 2021/235425 A1

[続葉有]

(74) 代理人: 棚井 澄雄 (TANAI Sumio); 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目９番２号 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, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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)）

(57) 要約: 少なくとも１種類以上の基材及び脂質ナノ粒子を含む粒子であって、前記脂質ナノ粒子は前記基材中に分散しており、前記脂質ナノ粒子は、リポソーム、脂質エマルション及び固体脂質ナノ粒子からなる群より選択される１種類以上であり、かつ、生理活性物質を含有している、粒子；粉末吸入剤；並びに、前記基材及び前記脂質ナノ粒子を含む懸濁液を、気体媒体中で造粒・乾燥する造粒・乾燥工程を含む、粒子の製造方法。

明　細　書

発明の名称 ： 脂質ナノ粒子を含有する粒子及びその製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、脂質ナノ粒子を含有する粒子及びその製造方法に関する。本願は、２０２０年５月２０日に、日本に出願された特願２０２０－０８８１５４号に基づき優先権を主張し、その内容をここに援用する。

背景技術

[0002] 近年、薬物送達システム（Ｄｒｕｇ　Ｄｅｌｉｖｅｒｙ　Ｓｙｓｔｅｍ、ＤＤＳ）のキャリアとして、リポソーム、脂質エマルション、固体脂質ナノ粒子等（以下、これらをまとめて脂質ナノ粒子という。）が注目を集め、盛んに研究が行われている。

[0003] 脂質ナノ粒子は、リン脂質、脂肪酸、ステロイド等の脂質を主成分としたナノキャリアであり、薬物を粒子内部に包含させることによって、内包薬物の放出制御、加水分解・酵素分解等による分解抑制、病変部位への効率的な薬物送達を可能とする。

[0004] 脂質ナノ粒子は、１００ｎｍ程度という非常に小さな粒子径を有しているが、脂質の静電反発力や粒子表面の官能基間の相互作用等を利用することによって溶液中で安定して存在することができる。これらの理由から、現在、脂質ナノ粒子の注射用製剤への適用、特に細胞送達用のキャリアとしての適用が盛んに検討されている（例えば、特許文献１を参照）。

[0005] また、脂質ナノ粒子は、その小さな粒子径に依存した高い表面積により、難溶性薬剤の溶解性改善手段としての有効性も確認されている。さらに、脂質の種類や粒子構造を適宜選択することによって薬剤の放出性コントロールも可能となる。

[0006] これらの特長は、注射用製剤に加えて、経口製剤や吸入製剤等における効率的な経口吸収や局所的な薬物デリバリーの面で有効である。例えば、特許文献２には、生理活性物質とリン脂質からなるナノ粒子を含有する水溶液を

、エアロゾル化することで吸入する手段が記載されている。また、特許文献３には、環状イヌロオリゴ糖、多価アルコールを添加したリポソームを凍結乾燥によって固化する手段が記載されている。

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] しかしながら、保存安定性を考慮すると、脂質ナノ粒子を溶液中で保存することは好ましくない。また、処理時間や乾燥後におけるナノ粒子の分散安定性の観点から、脂質ナノ粒子を凍結乾燥によって固化することは、生産工程として好ましい手段とはいい難い。

[0008] 脂質ナノ粒子のみを噴霧乾燥法で乾燥し粉末化する手段も考えられるが、脂質ナノ粒子特有の高付着性、高凝集性に起因する低ハンドリング性が課題となることは明白である。よって、脂質ナノ粒子の特性を維持しつつ、上記課題を解決することができる脂質ナノ粒子及びその製造方法が求められている。そこで、本発明は、医薬等に好適な、脂質材料を含む医薬粒子・製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

[0009] 本発明に係る粒子は、少なくとも１種類以上の基材及び脂質ナノ粒子を含む粒子であって、前記脂質ナノ粒子は前記基材中に分散しており、前記脂質ナノ粒子は、リポソーム、脂質エマルション及び固体脂質ナノ粒子からなる群より選択される１種類以上であり、かつ、生理活性物質を含有している。

[0010] 本発明に係る、粒子の製造方法は、前記基材及び前記脂質ナノ粒子を含む懸濁液を、気体媒体中で造粒・乾燥する造粒・乾燥工程を含む。

発明の効果

[0011] 本発明によれば、脂質ナノ粒子の特性を損なうことなく、粉体特性に優れた粒子を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]図１は、液柱共鳴液滴吐出手段の一例を示す概略断面図である。

[図2]図２は、粒子の製造装置の一例を示す概略図である。

[図3]図３は、粒子の製造装置に用いられる液滴吐出手段の一例を示す概略断面図である。

[図4]図４は、粒子の製造装置に用いられる液滴吐出手段の他の一例を示す概略断面図である。

[図5]図５（ａ）、（ｂ）及び（ｃ）は、脂質ナノ粒子の１例である。

[図6]図６は、実施例１の脂質ナノ粒子含有マイクロ粒子を水に再懸濁した際の、脂質ナノ粒子の粒度分布を示すグラフである。

[図7]図７は、試験例２における脂質ナノ粒子含有マイクロ粒子の薬物溶出挙動を示すグラフである。

[図8]図８（ａ）は、実施例１の脂質ナノ粒子含有マイクロ粒子の電子顕微鏡画像である。図８（ｂ）は、実施例２の脂質ナノ粒子含有マイクロ粒子の電子顕微鏡画像である。

[図9]図９は、試験例３における実施例１の粒子の吸入特性の評価結果を示すグラフである。

[図10]図１０は、試験例３における実施例２の粒子の吸入特性の評価結果を示すグラフである。

[図11]図１１は、試験例４におけるシクロスポリンの血中濃度推移を示すグラフである。

[図12]図１２は、試験例４におけるシクロスポリンの肺組織中濃度を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0013] （粒子）

本発明の粒子は、少なくとも１種類以上の基材及び脂質ナノ粒子を含む粒子であって、前記脂質ナノ粒子は前記基材中に分散しており、前記脂質ナノ粒子は、リポソーム、脂質エマルション及び固体脂質ナノ粒子からなる群より選択される１種類以上であり、かつ、生理活性物質を含有している。生理活性物質は脂質ナノ粒子中に封入されている。また、粒子は、必要に応じて

、その他材料を含む。生理活性物質は、生体内において何らかの生理活性を有するものであればいかなるものであってもよい。

[0014] 本願において「粒子」といった場合、特段の記載のない限り基材及び生理活性物質を含む粒状組成物の集団を意味する。本発明の粒子は、典型的には所望の機能を発揮する機能性粒子である。本発明の粒子は、含まれる基材を適宜選択することにより、所望の機能を有する機能性粒子となるように設計することができる。機能性粒子としては、例えば、所望の生理的効果を発揮するために、生理活性物質を目的部位に送達する粒子、すなわちドラッグデリバリーシステムに用いられる粒子（ＤＤＳ粒子）や、長期的に薬剤を放出し続ける徐放性粒子、難溶性の生理活性物質を可溶化するための可溶化粒子等が挙げられる。

[0015] 本願において「基材」は、粒子に含まれる成分であり、１つ１つの粒子を構成する基となる材質である。

[0016] 本願において「生理活性物質」は、生体に生理的効果を発揮させるために用いられる有効成分であり、例えば、医薬化合物、食品化合物、化粧料化合物等を含む低分子化合物の他、抗体、酵素等のタンパク質及びＤＮＡ、ＲＮＡ等の核酸等の生体高分子を含む高分子化合物等が挙げられる。また、「生理的効果」とは、生理活性物質が目的部位で生理活性を発揮することにより生じる効果であり、例えば、生体、組織、細胞、タンパク質、ＤＮＡ、ＲＮＡ等に量的及び／又は質的な変化、影響をもたらすことである。また、「生理活性」とは、生理活性物質が目的部位（例えば、標的組織等）に作用して変化、影響を与えることである。目的部位としては、例えば、細胞表面又は細胞内に存在する受容体等であることが好ましい。この場合は、生理活性物質が特定の受容体に結合する生理活性によって細胞にシグナルが伝わり、結果として生理的効果が発揮される。生理活性物質は、生体内の酵素により成熟型に変換された上で特定の受容体に結合し、生理的効果が発揮される物質であってもよい。この場合、本願では、成熟型に変換される前の物質も生理活性物質に含まれるものとする。なお、生理活性物質は、生物（ヒト又はヒ

ト以外の生物）が作り出す物質であってもよいし、人工的に合成された物質であってもよい。

[0017] 本願において「生理活性が変化する性質」としては、例えば、生理活性量が増大又は低減する性質、生理活性効率が上昇又は低下する性質、及び生理活性の種類が変わる性質等が挙げられるが、生理活性量が低減する性質又は生理活性効率が低下する性質であることが好ましく、生理活性量が低減する性質であることがより好ましい。また、生理活性の変化としては、可逆的な変化及び不可逆的な変化が挙げられるが、生理活性が不可逆的に変化する性質であることが好ましい。

[0018] 本願において「加熱」及び「冷却」は、典型的には生理活性物質を含む液体に熱エネルギーを加えること、及び該液体から熱エネルギーを奪うことである。「加熱」又は「冷却」されると、生理活性物質の分子構造や立体構造の変化等により、生理活性が変化する場合がある。具体的には、例えば生理活性物質がタンパク質である場合、タンパク質が熱変性すること、及びタンパク質が低温変性すること等が挙げられる。また、生理活性物質が核酸である場合は、核酸が分解すること等が挙げられる。以上のように、「生理活性物質の生理活性が変化する温度」は、選択される生理活性物質の種類によって異なるが、本明細書に接した当業者であれば、容易に当該温度を認識できる。

[0019] 本願において「外部応力」は、典型的には生理活性物質を含む液体に外部から付与される力である。かかる外部応力としては、例えば振とう、撹拌、剪断応力等が挙げられる。これらの外部応力が加わると、生理活性物質の分子構造や立体構造の変化等により、生理活性が変化する場合がある。具体的には、例えば生理活性物質がタンパク質である場合、高次構造が変化すること等によりタンパク質が失活することが挙げられる。外部応力により失活しやすいタンパク質としては、例えば、多量体を形成しているタンパク質等が挙げられ、具体的には酵素、抗体等が挙げられる。なお、外部応力を生じさせる処理としては、例えば、振とう処理、撹拌処理、粉砕処理、超音波処理

、ホモジナイザー処理及び噴霧処理等が挙げられる。これら処理により生じる外部応力が「生理活性物質の生理活性が変化する外部応力」に相当するかは選択される生理活性物質の種類等によって異なり、本明細書に接した当業者であれば、容易に当該外部応力を認識できる。

[0020] 次に、粒子の形態について説明する。一般に、基材及び生理活性物質を含むＤＤＳ粒子の形態としては、生理活性物質が基材中に封入されている形態であるカプセル粒子、生理活性物質が基材表面に担持されている担持体粒子、及びその他形態の粒子が挙げられる。本発明の粒子はカプセル粒子、特に分散封入粒子に該当し、生理活性物質は脂質ナノ粒子中に封入された状態で粒子中に封入される。

[0021] 本発明における分散封入体粒子は、脂質ナノ粒子中に封入された生理活性物質が基材中に分散して封入されている形態であれば特に限定されず、基材中における生理活性物質の分散度合いが均一でなくてもよい。また、粒子が複数種類の基材を含み、そのうちの一の基材が粒子中の所定の場所に偏って含有されている場合、生理活性物質が封入されている場所における基材の種類に応じて分散度合いが異なってもよい。分散封入体粒子に相当する粒子としては、例えば、リポソーム、エマルション溶媒拡散法（ＥＳＤ法）を用いて製造された粒子、噴霧乾燥法を用いて製造された粒子等が挙げられる。

[0022] 図５（ａ）～（ｃ）は、それぞれ、脂質ナノ粒子の例を示す模式断面図である。図５（ａ）及び（ｂ）の例では、脂質ナノ粒子は、最表面に単層又は多層で偏在する脂質を有する。例えば、リポソームは脂質の二重膜を有しており、脂質エマルションは脂質の単分子膜を有している。図５（ｃ）は、固体脂質ナノ粒子の例であり、固体脂質を分散媒とし、中に生理活性物質を含有する。脂質ナノ粒子の内部には生理活性物質が内包されている。生理活性物質は、固体又は液体の分散媒中に分散していてもよいし、脂質ナノ粒子の内部が生理活性物質のみから構成されていてもよい。

[0023] 本発明の粒子においては、生理活性物質を封入した脂質ナノ粒子が少なくとも１種類の基材中に分散して含有され、ナノサイズの脂質粒子（脂質ナノ

粒子）が基材中に分散された粒子状態をとることで、背景で述べたハンドリング性の課題を解決することができる。さらに、本発明の粒子中に含まれる脂質ナノ粒子の再分散性は極めて良好であり、凍結乾燥法において様々に検討されている分散補助剤等の添加が不要となる面で有利である。

[0024] 本発明の粒子は、生理活性物質を含有した脂質ナノ粒子が少なくとも１種類の基材中に分散して含有される。ナノサイズの脂質粒子が、基材中に分散された粒子状態をとることで、脂質ナノ粒子特有の高付着性、高凝集性に起因する低ハンドリング性の課題を解決することができる。

[0025] （基材）

基材は、粒子を構成する基となる材質である。したがって常温で固体であることが好ましい。基材としては、ともに含有される生理活性物質に悪影響を与える物質でない限り特に限定されず、低分子量の物質であってもよいし、高分子量の物質であってもよいが、本発明の粒子は好ましくは生体に適用される粒子であるため、基材は好ましくは生体に対して毒性を有しない物質である。低分子量の物質は、重量平均分子量が１５，０００未満の化合物であることが好ましい。高分子量の物質は、重量平均分子量が１５，０００以上の化合物であることが好ましい。上述のとおり基材は１種のみであっても２種以上であってもよく、後述する任意の基材を組み合わせて用いてもよい。

[0026] 基材は、水溶性材料を含むことが好ましい。水溶性基材であることによって、基材が完全に溶解した水溶液中に脂質ナノ粒子を安定して懸濁することが可能となる。その懸濁液を、後述する粒子製造工程にて粒子化することによって、基材中に脂質ナノ粒子を包含した粒子を調製することが容易となる。

[0027] －低分子量の物質－

低分子量の物質としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、脂質類、糖類、シクロデキストリン類、アミノ酸類、及び有機酸類等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種

以上を併用してもよい。

[0028] －－脂質類－－

脂質類としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、中鎖又は長鎖のモノグリセリド、中鎖又は長鎖のジグリセリド、中鎖又は長鎖のトリグリセリド、リン脂質、植物油（例えば、大豆油、アボカド油、スクアレン油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油、ナタネ油、サフラワー油、ヒマワリ油等）、魚油、調味油、水不溶性ビタミン、脂肪酸、これらの混合物、及びこれらの誘導体等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0029] －－糖類－－

糖類としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、グルコース、マンノース、イドース、ガラクトース、フコース、リボース、キシロース、ラクトース、スクロース、マルトース、トレハロース、ツラノース、ラフィノース、マルトトリオース、アカルボース、シクロデキストリン類、アミロース（デンプン）、セルロース等の単糖類、二糖類や多糖類の他、グリセリン、ソルビトール、ラクチトール、マルチトール、マンニトール、キシリトール、エリスリトール等の糖アルコール（ポリオール）、並びにこれらの誘導体等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0030] －－シクロデキストリン類－－

シクロデキストリン類としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン、β－シクロデキストリン、γ－シクロデキストリン、α－シクロデキストリン、及びシクロデキストリン誘導体等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0031] －－アミノ酸類－－

アミノ酸類としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、バリン、リジン、ロイシン、スレオニン、イソロイシン、ア

スパラギン、グルタミン、フェニルアラニン、アスパラギン酸、セリン、グルタミン酸、メチオニン、アルギニン、グリシン、アラニン、チロシン、プロリン、ヒスチジン、システイン、トリプトファン、及びこれらの誘導体等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0032] －－有機酸類－－

有機酸類としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、アジピン酸、アスコルビン酸、クエン酸、フマル酸、没食子酸、グルタル酸、乳酸、リンゴ酸、マイレン酸、コハク酸、酒石酸、及びこれらの誘導体等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0033] －高分子量の物質－

高分子量の物質としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、水溶性セルロース、ポリアルキレングリコール、ポリ（メタ）アクリルアミド、ポリ（メタ）アクリル酸、ポリ（メタ）アクリル酸エステル、ポリアリルアミン、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリ酢酸ビニル、生分解性ポリエステル、ポリグリコール酸、ポリアミノ酸、ゼラチン、フィブリン等のタンパク質、多糖類及びこれらの誘導体等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。なお、（メタ）アクリルアミドとは、アクリルアミド又はメタクリルアミドを意味し、（メタ）アクリル酸とは、アクリル酸又はメタクリル酸を意味する。

[0034] －－水溶性セルロース－－

水溶性セルロースとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、メチルセルロース、エチルセルロース等のアルキルセルロース；ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース等のヒドロキシアルキルセルロース；及びヒドロキシエチルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース等のヒドロキシアルキルアルキルセ

ルロース等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。これらの中でも、生体適合性が高く、かつ粒子を製造する際に用いる溶媒に対する溶解度が高い点から、ヒドロキシプロピルセルロース、及びヒドロキシプロピルメチルセルロースが好ましく、ヒドロキシプロピルセルロースがより好ましい。

[0035] －－－ヒドロキシプロピルセルロース－－－

ヒドロキシプロピルセルロースは、粘度が異なる種々の製品が各社から市販されており、いずれも本発明の基材に使用することができる。ヒドロキシプロピルセルロースの２質量％水溶液（２０℃）粘度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、２．０ｍＰａ・ｓ（センチポイズ、ｃｐｓ）以上４，０００ｍＰａ・ｓ（センチポイズ、ｃｐｓ）以下が好ましい。

[0036] また、ヒドロキシプロピルセルロースの粘度は、ヒドロキシプロピルセルロースの重量平均分子量、置換度、及び分子量に依存すると考えられる。ヒドロキシプロピルセルロースの重量平均分子量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、１５，０００以上４００，０００以下が好ましい。なお、重量平均分子量は、例えば、ゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）を用いて測定することができる。

[0037] ヒドロキシプロピルセルロースの市販品としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、分子量１５，０００以上３０，０００以下、かつ粘度２．０ｍＰａ・ｓ以上２．９ｍＰａ・ｓ以下のＨＰＣ－ＳＳＬ等、分子量３０，０００以上５０，０００以下、かつ粘度３．０ｍＰａ・ｓ以上５．９ｍＰａ・ｓ以下のＨＰＣ－ＳＬ等、分子量５５，０００以上７０，０００以下、かつ粘度６．０ｍＰａ・ｓ以上１０．０ｍＰａ・ｓ以下のＨＰＣ－Ｌ等、分子量１１０，０００以上１５０，０００以下、かつ粘度１５０ｍＰａ・ｓ以上４００ｍＰａ・ｓ以下のＨＰＣ－Ｍ等、及び分子量２５０，０００以上４００，０００以下、かつ粘度１，０００ｍＰａ・ｓ以上４，０００ｍＰａ・ｓ以下のＨＰＣ－Ｈ等（以上、日本曹達株式会社製

）等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。これらの中でも、分子量１５，０００以上３０，０００以下、かつ粘度２．０ｍＰａ・ｓ以上２．９ｍＰａ・ｓ以下のＨＰＣ－ＳＳＬが好ましい。なお、上記市販品において、分子量はゲル浸透クロマトグラフィー（ＧＰＣ）を用いて測定され、粘度は２質量％水溶液（２０℃）を用いて測定される。

[0038] ヒドロキシプロピルセルロースの含有量は特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、基材の質量に対して５０質量％以上が好ましく、５０質量％以上９９質量％以下がより好ましく、７５質量％以上９９質量％以下が更に好ましく、８０質量％以上９９質量％以下が特に好ましい。

[0039] －－ポリアルキレングリコール－－

ポリアルキレングリコールとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ポリプロピレングリコール、ポリブチレングリコール、及びこれらの共重合体等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0040] －－ポリ（メタ）アクリルアミド－－

ポリ（メタ）アクリルアミドとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、Ｎ－メチル（メタ）アクリルアミド、Ｎ－エチル（メタ）アクリルアミド、Ｎ－プロピル（メタ）アクリルアミド、Ｎ－ブチル（メタ）アクリルアミド、Ｎ－ベンジル（メタ）アクリルアミド、Ｎ－ヒドロキシエチル（メタ）アクリルアミド、Ｎ－フェニル（メタ）アクリルアミド、Ｎ－トリル（メタ）アクリルアミド、Ｎ－（ヒドロキシフェニル）（メタ）アクリルアミド、Ｎ－（スルファモイルフェニル）（メタ）アクリルアミド、Ｎ－（フェニルスルホニル）（メタ）アクリルアミド、Ｎ－（トリルスルホニル）（メタ）アクリルアミド、Ｎ，Ｎ－ジメチル（メタ）アクリルアミド、Ｎ－メチル－Ｎ－フェニル（メタ）アクリルアミド、及びＮ－ヒドロキシエチル－Ｎ－メチル（メタ）アクリルアミド等のモノマーの

重合体が挙げられる。これらモノマーは、１種単独で重合されてもよいし、２種以上を併用し重合されてもよい。また、これら重合体は、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0041] －－ポリ（メタ）アクリル酸－－

ポリ（メタ）アクリル酸としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸等のホモポリマー、アクリル酸－メタクリル酸共重合体等のコポリマー等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0042] －－ポリ（メタ）アクリル酸エステル－－

ポリ（メタ）アクリル酸エステルとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、エチレングリコールジ（メタ）アクリレート、ジエチレングリコールジ（メタ）アクリレート、プロピレングリコールジ（メタ）アクリレート、グリセロールポリ（メタ）アクリレート、ポリエチレングリコール（メタ）アクリレート、トリメチロールプロパントリ（メタ）アクリレート、ペンタエリスリトールテトラ（メタ）アクリレート、１，３－ブチレングリコールジ（メタ）アクリレート等のモノマーの重合体が挙げられる。これらモノマーは、１種単独で重合されてもよいし、２種以上を併用し重合されてもよい。また、これら重合体は、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0043] －－ポリアリルアミン－－

ポリアリルアミンとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ジアリルアミン、トリアリルアミン等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0044] －－ポリビニルピロリドン－－

ポリビニルピロリドンとしては、市販品を用いることができる。ポリビニルピロリドンの市販品としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、プラスドンＣ－１５（ＩＳＰ　ＴＥＣＨＮＯＬＯＧＩＥＳ社製）、コリドンＶＡ６４、コリドンＫ－３０、コリドンＣＬ－Ｍ（

以上、ＫＡＷＡＲＬＡＬ社製）、コリコートＩＲ（ＢＡＳＦ社製）等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0045] －－ポリビニルアルコール－－

ポリビニルアルコールとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、シラノール変性ポリビニルアルコール、カルボキシル変性ポリビニルアルコール、アセトアセチル変性ポリビニルアルコール等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0046] －－ポリ酢酸ビニル－－

ポリ酢酸ビニルとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、酢酸ビニル－クロトン酸コポリマー、酢酸ビニル－イタコン酸コポリマー等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0047] －－生分解性ポリエステル－－

生分解性ポリエステルとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ポリ乳酸；ポリ－ε－カプロラクトン；ポリエチレンサクシネート、ポリブチレンサクシネート、ポリブチレンサクシネートアジペート等のサクシネート系重合体；ポリヒドロキシプロピオネート、ポリヒドロキシブチレート、ポリヒドロキシバリレート等のポリヒドロキシアルカノエート、ポリグリコール酸等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。これらの中でも、生体適合性が高く、含有する生理活性物質を徐放的に溶出させることができる点からポリ乳酸が好ましい。

[0048] －－－ポリ乳酸－－－

ポリ乳酸の重量平均分子量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、５，０００以上１００，０００以下が好ましく、１０，０００以上７０，０００以下がより好ましく、１０，０００以上５０

，０００以下が更に好ましく、１０，０００以上３０，０００以下が特に好ましい。

ポリ乳酸の含有量は特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、基材の質量に対して５０質量％以上が好ましく、５０質量％以上９９質量％以下がより好ましく、７５質量％以上９９質量％以下が更に好ましく、８０質量％以上９９質量％以下が特に好ましい。

[0049] －－－ポリグリコール酸－－－

ポリグリコール酸としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、乳酸に由来する構成単位とグリコール酸に由来する構成単位とを有する共重合体である乳酸・グリコール酸共重合体、グリコール酸に由来する構成単位とカプロラクトンに由来する構成単位とを有する共重合体であるグリコール酸・カプロラクトン共重合体、グリコール酸に由来する構成単位と炭酸トリメチレンに由来する構成単位とを有する共重合体であるグリコール酸・炭酸トリメチレン共重合体等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。これらの中でも、生体適合性が高く、含有する生理活性物質を徐放的に溶出させることができ、かつ含有する生理活性物質を長期的に保存することができる点から乳酸・グリコール酸共重合体が好ましい。

[0050] 乳酸・グリコール酸共重合体の重量平均分子量としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、２，０００～２５０，０００が好ましく、２，０００～１００，０００がより好ましく、３，０００～５０，０００が更に好ましく、５，０００～１０，０００が特に好ましい。

[0051] 乳酸・グリコール酸共重合体における、乳酸に由来する構成単位（Ｌ）とグリコール酸に由来する構成単位（Ｇ）とのモル比率（Ｌ：Ｇ）としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、１：９９～９９：１が好ましく、２５：７５～９９：１がより好ましく、３０：７０～９０：１０が更に好ましく、５０：５０～８５：１５が特に好ましい。

[0052] 乳酸・グリコール酸共重合体の含有量は特に制限はなく、目的に応じて適

宜選択することができるが、基材の質量に対して５０質量％以上が好ましく、５０質量％以上９９質量％以下がより好ましく、７５質量％以上９９質量％以下が更に好ましく、８０質量％以上９９質量％以下が特に好ましい。

[0053] －－ポリアミノ酸－－

ポリアミノ酸としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。ポリアミノ酸は、上記アミノ酸の項目において例示したアミノ酸を任意に組み合わせてポリマー化したものであってよいが、好ましくは単一のアミノ酸がポリマー化したものである。好ましいポリアミノ酸としては、例えば、ポリ－α－グルタミン酸、ポリ－γ－グルタミン酸、ポリアスパラギン酸、ポリリジン、ポリアルギニン、ポリオルニチン、ポリセリン等のアミノ酸単独重合体、又はこれらの共重合体等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0054] －－ゼラチン－－

ゼラチンとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、石灰処理ゼラチン、酸処理ゼラチン、ゼラチン加水分解物、ゼラチン酵素分散物、又はこれらの誘導体等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0055] ゼラチン誘導体に利用される天然分散剤ポリマーとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、タンパク質、多糖類、核酸等が挙げられる。これらの中には、天然分散剤ポリマー、又は合成分散剤ポリマーからなる共重合体も含まれる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0056] ゼラチン誘導体とは、ゼラチン分子に疎水性基を共有結合させて誘導体化したゼラチンを意味する。疎水性基としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリ－ε－カプロラクトン等のポリエステル類；コレステロール、ホスファチジルエタノールアミン等の脂質；アルキル基、ベンゼン環を含む芳香族基；複素芳香族基、又はこれらの混合物等が挙げられる。

[0057] タンパク質としては、生理活性物質の生理活性に悪影響を及ぼさない限り特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、コラーゲン、フィブリン、アルブミン等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0058] 多糖類としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、キチン、キトサン、ヒアルロン酸、アルギン酸、デンプン、ペクチン等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0059] （生理活性物質）

生理活性物質は、生体に生理的効果を発揮させるために用いられる有効成分である。生理活性物質としては、例えば、医薬組成物に含有される生理活性物質、機能性食品に含有される生理活性物質、及び機能性化粧品に含有される生理活性物質等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0060] －医薬組成物に含有される生理活性物質－

医薬組成物に含有される生理活性物質としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、核酸、タンパク質を含むポリペプチド、糖質、脂質、及び低分子化合物等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0061] －－核酸－－

核酸としては、典型的にはＤＮＡ、ＲＮＡ及びその組み合わせ等が挙げられ、これらの配列の一部又は全部が化学的に修飾された化学修飾核酸に置換されていてもよい。また、ＰＮＡ（ｐｅｐｔｉｄｅ ｎｕｃｌｅｉｃ ａｃｉｄ）、モルフォリノアンチセンスオリゴ（Ｍｏｒｐｈｏｌｉｎｏ ａｎｔｉｓｅｎｓｅ ｏｌｉｇｏ）等の化学合成核酸アナログも核酸に含まれる。例えば、標的遺伝子の発現を亢進することを目的とする場合、核酸としては例えば、標的遺伝子の転写産物であるｍＲＮＡ等を挙げることができ、標的遺伝子の発現を抑制することを目的とする場合、核酸としては、例えば、標

的遺伝子の転写産物又はその一部に対するアンチセンス核酸、標的遺伝子の転写産物を特異的に開裂するリボザイム活性を有する核酸、標的遺伝子の発現をＲＮＡｉ効果により阻害する作用を有する短鎖核酸、ｍｉｃｒｏＲＮＡ（ｍｉＲＮＡ）、アプタマー、オリゴヌクレオチドを改質したロックド核酸（Ｌｏｃｋｅｄ　Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄ）等を挙げることができる。

[0062] －－ポリペプチド－－

ポリペプチドは、複数のアミノ酸からなる重合体を意味し、そのうち高次構造を有し、かかる高次構造に由来する機能を発揮するポリペプチドを特にタンパク質という。ポリペプチドとしては、天然に存在する状態から修飾されていないもの、及び修飾されているものの双方が含まれる。修飾としては、アセチル化、アシル化、ＡＤＰ－リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチド又はヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質又は脂質誘導体の共有結合、ホスファチジルイノシトールの共有結合、架橋、環化、ジスルフィド結合の形成、脱メチル化、共有架橋の形成、シスチンの形成、ピログルタメートの形成、ホルミル化、γ－カルボキシル化、グリコシル化、ＧＰＩアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨウ素化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク質分解処理、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、硫酸化、アルギニル化のようなタンパク質へのアミノ酸の転移ＲＮＡ媒介付加、ユビキチン化等が含まれる。標的タンパク質の機能を阻害又は抑制することを目的とする場合、タンパク質としては、例えば、標的タンパク質に対してドミナントネガティブの性質を有する標的タンパク質変異体、標的タンパク質に結合する抗体を挙げることができる。抗体は、標的タンパク質に結合する限りポリクローナル抗体であってもモノクローナル抗体であってもよく、また二重特異性抗体や三重特異性抗体等の多重特異性を有する抗体であってもよい。生理的効果を発揮する限りいかなる動物種に由来する抗体であってもよいが、好ましくはヒト抗体、ヒト型キメラ抗体又はヒト化抗体である。本発明の「抗体」は、典型的にはＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＤ等のイムノグロブリン分子であるが、特定

の抗原に結合し得る限り、抗原結合領域を有するそれらの抗体断片（例えばＦ（ａｂ’）２断片、Ｆａｂ’断片、Ｆａｂ断片、Ｆｖ断片、ｒＩｇＧ断片、一本鎖抗体等）や抗体修飾物（標識抗体等）も含まれる。なお、タンパク質のその他の態様としては、例えば、酵素等を挙げることもできる。酵素としては、加水分解酵素、リン酸化酵素、脱リン酸化酵素、転移酵素、酸化還元酵素、脱離酵素、異性化酵素、合成酵素等が挙げられる。

[0063] －－糖質－－

糖質としては、例えば、単糖、二糖、オリゴ糖、及び多糖等が挙げられる。また、これら糖質がタンパク質や脂質等と共有結合した複合糖質、糖の還元基にアルコール、フェノール、サポニン、色素等のアグリコンが結合した配糖体も糖質に含まれる。

[0064] －－脂質－－

脂質としては、例えば、単純脂質、複合脂質、及び誘導脂質等が挙げられる。

[0065] －－低分子化合物－－

低分子化合物としては、一般的に、分子量が数百から数千であって天然又は人工の物質が含まれる。また、低分子化合物としては、上記の水難溶解性物質に相当する物質、上記の水溶性物質に相当する物質等がある。なお、低分子化合物は、生理活性物質として機能する限り、塩、水和物等のいずれの形態であってもよい。

[0066] 水難溶性物質としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、グリセオフルビン、イトラコナゾール、ノルフロキサシン、タモキシフェン、シクロスポリン、グリベンクラミド、トログリタゾン、ニフェジピン、フェナセチン、フェニトイン、ジギトキシン、ニルバジピン、ジアゼパム、クロラムフェニコール、インドメタシン、ニモジピン、ジヒドロエルゴトキシン、コルチゾン、デキサメタゾン、ナプロキセン、ツルブテロール、プロピオン酸ベクロメタゾン、プロピオン酸フルチカゾン、プランルカスト、トラニラスト、ロラチジン、タクロリムス、アンプレナビル、

ベクサロテン、カルシトロール、クロファジミン、ジゴキシン、ドキセルカルシフェロール、ドロナビノール、エトポジド、イソトレチノイン、ロピナビル、リトナビル、プロゲステロン、サキナビル、シロリムス、トレチノイン、アムホテリシン、フェノルドパム、メルファラン、パリカルシトール、プロポフォル、ボリコナゾール、ジプラシドン、ドセタキセル、ハロペリドール、ロラゼパム、テニポジド、テストステロン、バルルビシン、ゲフィチニブ、エルロチニブ、オシメルチニブ、ボスニチブ、バンデタニブ、アレクチニブ、ロルラチニブ、アベマシクリブ、チロホスチンＡＧ４９４、ソラフェニブ、ダサチニブ、ラパチニブ、イマチニブ、モテサニブ、レスタウルチニブ、タンズチニブドルソモルヒン、アキシチニブ、４－ベンジル－２－メチル－１，２，４－チアジアゾリジン－３，５－ジオン等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0067] 水溶性物質としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、アバカビル、アセトアミノフェン、アシクロビル、アミロライド、アミトリプチリン、アンチピリン、アトロピン、ブスピロン、カフェイン、カプトプリル、クロロキン、クロルフェニラミン、シクロホスファミド、ジクロフェナク、デシプラミン、ジアゼパム、ジルチアゼム、ジフェンヒドラミン、ジソピラミド、ドキシン、ドキシサイクリン、エナラプリル、エフェドリン、エタンブトール、エチニルエストラジオール、フルオキセチン、イミプラミン、グルコース、ケトロール、ケトプロフェン、ラベタロール、レボドパ、レボフロキサシン、メトプロロール、メトロニダゾール、ミダゾラム、ミノサイクリン、ミソプロストール、メトホルミン、ニフェジピン、フェノバルビタール、プレドニゾロン、プロマジン、プロプラノロール、キニジン、ロシグリタゾン、サリチル酸、テオフィリン、バルプロ酸、ベラパミル、ジドブジン等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0068] －機能性食品に含有される生理活性物質－

機能性食品に含有される生理活性物質としては、特に制限はなく、目的に

応じて適宜選択することができ、例えば、ビタミンＡ、ビタミンＤ、ビタミンＥ、ルテイン、ゼアキサンチン、リポ酸、フラボノイド、脂肪酸等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0069] 脂肪酸としては、例えば、オメガ３脂肪酸、オメガ６脂肪酸等が挙げられる。

[0070] －機能性化粧品に含有される生理活性物質－

機能性化粧品に含有される生理活性物質としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、アルコール類、脂肪アルコール類、及びポリオール類、アルデヒド類、アルカノールアミン類、アルコキシル化アルコール類（例えば、アルコール類、脂肪アルコール類等のポリエチレングリコール誘導体類）、アルコキシル化アミド類、アルコキシル化アミン類、アルコキシル化カルボン酸類、塩を含むアミド類（例えば、セラミド類等）、アミン類、塩及びアルキル置換誘導体類を含むアミノ酸、エステル類、アルキル置換及びアシル誘導体類、ポリアクリル酸類、アクリルアミドコポリマー類、アジピン酸コポリマー類、アミノシリコーン類、生物学的ポリマー類及びその誘導体、ブチレンコポリマー類、炭水化物（例えば、ポリサッカライド類、キトサン、その誘導体類等）、カルボン酸類、カーボマー類、エステル類、エーテル類、及びポリマーエーテル類（例えば、ＰＥＧ誘導体類、ＰＰＧ誘導体類等）、グリセリルエステル類及びその誘導体、ハロゲン化合物類、塩を含むヘテロ環化合物類、親水性コロイド類並びに塩及びゴムを含む誘導体類（例えば、セルロース誘導体類、ゼラチン、キサンタンガム、天然ゴム類等）、イミダゾリン類、無機物質（粘土、ＴｉＯ２、ＺｎＯ等）、ケトン類（例えば、樟脳等）、イセチオネート類、ラノリン及びその誘導体類、有機塩類、塩を含むフェノール類（例えば、パラベン類等）、燐化合物類（例えば、リン酸誘導体類等）、ポリアクリレート類及びアクリレートコポリマー類、タンパク質及び酵素誘導体類（例えば、コラーゲン等）、塩を含む合成ポリマー類、シロキサン類及びシラン類、ソルビタン誘導

体類、ステロール類、スルホン酸類及びその誘導体類、ワックス類等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0071] 生理活性物質は、上記の通り、加熱、冷却、又は外部応力により生理活性が変化する性質を有するものであることが好ましい。かかる生理活性物質を本発明の粒子に含有させた場合、製造された粒子において、生理活性の量の低下が抑制される。したがって、生理活性の量の低下をより抑制することができるという観点に基づけば、本発明の粒子に含有される生理活性物質として加熱、冷却、又は外部応力により生理活性が変化しやすい生理活性物質とすることにより、本発明の効果が顕著に発揮されることとなる。具体的には、生理活性物質としては、医薬組成物に含有される生理活性物質であることが好ましく、タンパク質及び核酸から選ばれる少なくとも１つであることがより好ましく、抗体及び酵素から選ばれる少なくとも１つであることが更に好ましい。

[0072] （脂質）

脂質はナノ粒子の最表面に単層又は多層で偏在する。脂質の種類は、所望の特性に応じて適宜変更することが出来る。具体的には、リン脂質、飽和脂肪酸、不飽和脂肪酸等が挙げられるが、ナノ粒子を構成する限りは、これに限定されるものではない。

[0073] 更に具体的には、例えば、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ジミリスチルホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジステアリルホスファチジルコリン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ラウリン酸、トリデシル酸、ミリスチン酸、ペンタデシル酸、パルミチン酸、マルガリン酸、ステアリン酸、ノナデシル酸、アラキジン酸、リノール酸、ドコサヘキサエン酸、オレイン酸及びこれらの誘導体等が挙げられる。

[0074] （粒子の物性）

本発明の粒子の特徴的な物性としては、例えば、生理活性率、粒度分布、

粒径等が挙げられる。

[0075] －生理活性率－

本願において「生理活性率」は、粒子の製造に用いられた材料における生理活性の量に対する、当該材料により製造された粒子における生理活性の量の割合（｛粒子製造後の生理活性の量／粒子製造前の生理活性の量｝×１００）を表す。また、「生理活性の量」とは、生理活性物質の生理活性を定量的に測定したときに得られる測定値を表す。ここで、「定量的に測定」とは、生理活性の量そのものを定量的に測定する直接的な方法に限られず、例えば、生理活性の量を所定の基準と比較して測定する相対的な定量的測定方法であってもよい。

[0076] －粒度分布－

本発明の粒子は、粒度分布が狭い性質を有することが好ましい。かかる粒度分布の狭さを表す指標としては、具体的には、例えば、Ｒｅｌａｔｉｖｅ Ｓｐａｎ Ｆａｃｔｏｒ（Ｒ．Ｓ．Ｆ）や体積平均粒径（Ｄｖ）／個数平均粒径（Ｄｎ）等が挙げられ、例えばＲ．Ｓ．Ｆ．が０＜（Ｒ．Ｓ．Ｆ）≦１．２であること、体積平均粒径（Ｄｖ）／個数平均粒径（Ｄｎ）が１．００以上１．５０以下であることが好ましい。粒度分布が上記範囲内であることで、目的とする粒径から見て粗大粒子に相当する粒子の割合が低下する。これにより、粒子を医薬組成物に含有させる場合等、ろ過滅菌してから用いなければならないときであっても、ろ過滅菌フィルターを詰まらせることなく、簡便かつ効率的にろ過滅菌を行うことができる。また、粒子の大きさが均一になることで、各粒子における生理活性物質及び基材の含有量や、各粒子の表面積が均一になる。これにより、各粒子から溶出する生理活性物質の量が均等になり、生理活性物質の高度な徐放性制御が可能な粒子を提供することができる。また、粒子の大きさが均一になることで、基材に含有されていない生理活性物質単体からなる小粒径粒子の発生を抑制することができ、初期バーストが抑制された徐放性を有する粒子を提供することができる。

[0077] －－Ｒｅｌａｔｉｖｅ Ｓｐａｎ Ｆａｃｔｏｒ（Ｒ．Ｓ．Ｆ）－－

本願において「Ｒｅｌａｔｉｖｅ　Ｓｐａｎ　Ｆａｃｔｏｒ（Ｒ．Ｓ．Ｆ）」は、（Ｄ９０－Ｄ１０）／Ｄ５０で定義される。Ｄ９０は累積粒度分布の小粒子側からの累積９０体積％を表し、Ｄ５０は累積粒度分布の小粒子側からの累積５０体積％を表し、Ｄ１０は累積粒度分布の小粒子側からの累積１０体積％を表す。（Ｒ．Ｓ．Ｆ）は、０＜（Ｒ．Ｓ．Ｆ）≦１．２であることが好ましく、０＜（Ｒ．Ｓ．Ｆ）≦１．０であることがより好ましく、０＜（Ｒ．Ｓ．Ｆ）≦０．６であることが更に好ましい。

[0078] （Ｒ．Ｓ．Ｆ）の測定方法としては、例えば、動的光散乱法による濃厚系アナライザー（「ＦＰＡＲ－１０００」、大塚電子株式会社製）を用いて測定する方法等が挙げられる。

[0079] －－体積平均粒径（Ｄｖ）／個数平均粒径（Ｄｎ）－－

体積平均粒径（Ｄｖ）／個数平均粒径（Ｄｎ）は、体積平均粒径（Ｄｖ）を個数平均粒径（Ｄｎ）で除した値である。体積平均粒径（Ｄｖ）／個数平均粒径（Ｄｎ）は、１．００以上１．５０以下であることが好ましく、１．００以上１．２０以下であることがより好ましい。

[0080] 体積平均粒径（Ｄｖ）、及び個数平均粒径（Ｄｎ）の測定方法としては、例えば、レーザー回折・散乱式粒度分布測定装置（装置名：マイクロトラックＭＴ３０００ＩＩ、マイクロトラック・ベル株式会社製）を用いて測定する方法等が挙げられる。

[0081] －粒径－

粒子の体積平均粒径（Ｄｖ）としては、内部に脂質ナノ粒子を包含可能なサイズである限り、用途等に応じて最適な値を適宜選択することが可能である。脂質ナノ粒子は一般に１０～３００ｎｍ程度の体積平均粒径を有している。したがって、本発明の粒子の体積平均粒径の下限値としては、これより大きければよく、例えば０．５μｍ、１μｍ、２μｍ、３μｍ、４μｍ、５μｍ等が挙げられる。また粒子として作成可能である限り体積平均粒径の上限値は特に限定されず、製造効率や用途等に応じて適宜選択できるが、粒子としてのハンドリング性等の観点から、例えば３００μｍ、２５０μｍ、２

００μｍ、１５０μｍ、１００μｍ等が挙げられる。したがって、本願粒子の体積平均粒径の範囲としては、例えば０．５μｍ以上１００μｍ以下等が挙げられる。上述した下限値及び上限値は任意に組み合わせることができる。

[0082] 体積平均粒径（Ｄｖ）が０．５μｍ以上１００μｍ以下である場合、十分な量の生理活性物質を保持することができ、例えば、生理活性物質を長期に渡って徐放可能な粒子を製造することができる。なお、体積平均粒径（Ｄｖ）は、１μｍ以上５０μｍ以下であることがより好ましく、１μｍ以上２５μｍ以下であることが更に好ましく、１μｍ以上１０μｍ以下であることが特に好ましい。

[0083] 粒子の体積平均粒径（Ｄｖ）の測定方法としては、例えば、動的光散乱法による濃厚系アナライザー（「ＦＰＡＲ－１０００」、大塚電子株式会社製）を用いて測定する方法、及びレーザー回折・散乱式粒度分布測定装置（装置名：マイクロトラックＭＴ３０００ＩＩ、マイクロトラック・ベル株式会社製）を用いて測定する方法等が挙げられる。

[0084] 本発明の粒子は、必要に応じて、分散剤、添加剤等のその他成分を組み合わせることで、例えば、医薬組成物、機能性食品、及び機能性化粧品等に用いることができる。また、粒子は、各種用途に応じて機能性粒子としてもよい。機能性微粒子としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、即時放出性粒子、徐放性粒子、ｐＨ依存放出性粒子、ｐＨ非依存放出性粒子、腸溶性コーティング粒子、放出制御コーティング粒子、ナノ結晶含有粒子等が挙げられる。

[0085] －医薬組成物－

医薬組成物は、本発明の粒子を含み、必要に応じて、製剤用等の添加物質を含む。添加物質としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。添加物質としては、例えば、賦形剤、矯味剤、崩壊剤、流動化剤、吸着剤、滑沢剤、矯臭剤、界面活性剤、香料、着色剤、抗酸化剤、隠蔽剤、静電気防止剤、湿潤剤等が挙げられる。これらは、１種単独で使用して

もよいし、２種以上を併用してもよい。

[0086] －－賦形剤－－

賦形剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、乳糖、ショ糖、マンニトール、ブドウ糖、果糖、麦芽糖、エリスリトール、マルチトール、キシリトール、パラチノース、トレハロース、ソルビトール、結晶セルロース、タルク、無水ケイ酸、無水リン酸カルシウム、沈降炭酸カルシウム、ケイ酸カルシウム等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0087] －－矯味剤－－

矯味剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、Ｌ－メントール、白糖、Ｄ－ソルビトール、キシリトール、クエン酸、アスコルビン酸、酒石酸、リンゴ酸、アスパルテーム、アセスルファムカリウム、ソーマチン、サッカリンナトリウム、グリチルリチン二カリウム、グルタミン酸ナトリウム、５’－イノシン酸ナトリウム、５’－グアニル酸ナトリウム等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0088] －－崩壊剤－－

崩壊剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、カルメロース、カルメロースカルシウム、カルボキシメチルスターチナトリウム、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、ヒドロキシプロピルスターチ、トウモロコシデンプン等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0089] －－流動化剤－－

流動化剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、軽質無水ケイ酸、含水二酸化ケイ素、タルク等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

軽質無水ケイ酸としては、市販品を用いることができる。軽質無水ケイ酸

の市販品としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、アドソリダー１０１（フロイント産業株式会社製：平均細孔径：２１ｎｍ）等が挙げられる。

[0090] －－吸着剤－－

吸着剤としては、市販品を用いることができる。吸着剤の市販品としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、商品名：カープレックス（成分名：合成シリカ、ＤＳＬ．ジャパン株式会社の登録商標）、商品名：アエロジル（日本アエロジル株式会社の登録商標）２００（成分名：親水性フュームドシリカ）、商品名：サイリシア（成分名：非晶質二酸化ケイ素、富士シリシア化学株式会社の登録商標）、商品名：アルカマック（成分名：合成ヒドロタルサイト、協和化学株式会社の登録商標）等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0091] －－滑沢剤－－

滑沢剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ショ糖脂肪酸エステル、フマル酸ステアリルナトリウム、ステアリン酸、ポリエチレングリコール、タルク等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0092] －－矯臭剤－－

矯臭剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、トレハロース、リンゴ酸、マルトース、グルコン酸カリウム、アニス精油、バニラ精油、カルダモン精油等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0093] －－界面活性剤－－

界面活性剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、レシチン、ポリソルベート８０等のポリソルベート；ポリオキシエチレン・ポリオキシプロピレン共重合体；ラウリル硫酸ナトリウム等

が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0094] －－香料－－

香料としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、レモン油、オレンジ油、はっか油等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0095] －－着色剤－－

着色剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、酸化チタン、食用黄色５号、食用青色２号、三二酸化鉄、黄色三二酸化鉄等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0096] －－抗酸化剤－－

抗酸化剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、アスコルビン酸ナトリウム、Ｌ－システイン、亜硫酸ナトリウム、ビタミンＥ等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0097] －－隠蔽剤－－

隠蔽剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、酸化チタン等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0098] －－静電気防止剤－－

静電気防止剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、タルク、酸化チタン等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0099] －－湿潤剤－－

湿潤剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ポリソルベート８０、ラウリル硫酸ナトリウム、ショ糖脂肪酸エステル、マクロゴール、ヒドロキシプロピルセルロース（ＨＰＣ）等が挙げ

られる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0100] 医薬組成物の製剤としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、大腸デリバリー製剤、リピッドマイクロスフェア製剤、ドライエマルション製剤、自己乳化型製剤、ドライシロップ、経鼻投与用粉末製剤、経肺投与用粉末製剤（粉末吸入剤）、ワックスマトリックス製剤、ハイドロゲル製剤、高分子ミセル製剤、粘膜付着型製剤、胃内浮遊製剤、リポソーム製剤、固体分散体製剤等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。

[0101] 医薬組成物の剤形としては、例えば、錠剤、カプセル剤、坐剤、他の固形の剤形等；鼻内用乃至肺投与用のエアロゾル等；注射用剤、眼内用剤、耳内用剤、経口用剤等の液剤等が挙げられる。液剤として調製される場合、粉末として提供され、使用時に水などの溶媒に溶解して用時調製されてもよい。

[0102] 医薬組成物の投与経路としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、経口投与、鼻腔投与、直腸投与、膣投与、皮下投与、静脈内投与、経肺投与等が挙げられる。これらの中でも、静脈内投与、経肺投与が好ましい。

[0103] －機能性食品－

機能性食品は、本発明の粒子及び食品を含み、必要に応じて、その他添加物質を含む。

[0104] 食品としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、冷菓、麺類、菓子類、水産物、水産・畜産加工食品、乳製品、油脂、油脂加工食品、調味料、レトルトパウチ食品、健康食品、栄養補助食品等が挙げられる。

[0105] －機能性化粧品－

機能性化粧品は、本発明の粒子及び化粧品を含み、必要に応じて、その他添加物質を含む。

[0106] 化粧品としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ

、例えば、スキンケア化粧品、メークアップ化粧品、ヘアケア化粧品、ボディケア化粧品、フレグランス化粧品等が挙げられる。

[0107] （粒子の製造方法及び製造装置）

本発明の粒子の製造方法は、基材、生理活性物質を含む脂質ナノ粒子、及び溶媒を含有する懸濁液（以下、「粒子組成液」という場合がある。）から溶媒を除去することで粒子を造粒する造粒・乾燥工程を有し、必要に応じて、その他工程を有する。

[0108] 脂質ナノ粒子を製造する方法は、製造する脂質ナノ粒子の種類によって異なる。例えば、脂質エマルションの場合は、混合乳化やエクストルージョン法により製造することができ、固体脂質ナノ粒子の場合には溶媒拡散法等によって製造することができるが、これらに制限されるものではない。

[0109] 本発明の粒子の製造装置は、基材、生理活性物質を含む脂質ナノ粒子、及び溶媒を含有する懸濁液を液滴として吐出する液滴吐出手段と、液滴から溶媒を除去することで粒子を造粒する造粒手段と、を有し、必要に応じて、その他手段を有する。

[0110] 本願において「除去」は、液相から、当該液相に含まれていた溶媒が取り除かれることを表すが、液相に含まれていた溶媒が全て取り除かれる場合に限定されず、粒子を造粒することができれば、液相に含まれていた溶媒が残留していてもよい。また、本願において「除去」は、液相から、当該液相に含まれていた溶媒が取り除かれる態様であれば特に限定されず、例えば、液相を他の液相に接触させて、当該液相に含まれていた溶媒を当該他の液相中に拡散させること（以降、「液中乾燥」とも称する）、気体中又は真空中において、液相から当該液相に含まれていた溶媒を気化させること（以降、「気中乾燥」とも称する）等が挙げられる。

[0111] 以下、粒子の製造方法及び製造装置を更に具体的に説明するが、粒子の製造方法及び製造装置は以下の実施形態に限定されない。

[0112] 実施形態（気中乾燥）としての粒子の製造方法は、基材、生理活性を有する生理活性物質を含む脂質ナノ粒子、及び溶媒を含有する液滴を気体媒体中

に吐出する液滴吐出工程と、液滴から溶媒を気化させて液滴に含まれていた溶媒を除去することで粒子を造粒する造粒・乾燥工程と、を有し、必要に応じて、その他工程を有する。

[0113] 実施形態のように、気体媒体中で粒子を造粒する乾式の造粒方法としては、複数の方法が従来から知られている。

[0114] 例えば、粒子材料を溶融混練して均一に分散させた溶融混練物を冷却した後、粉砕機を用いて粉砕し、小粒径化された粉砕粒子を得る方法や、粒子材料を含有する液体を凍結乾燥させた後、粉砕機を用いて粉砕し、小粒径化された粉砕粒子を得る方法等の気中粉砕法が挙げられる。

[0115] また、粒子材料を含有する液体を気体媒体中に噴霧して乾燥させ、小粒径化された噴霧粒子を得る方法等の噴霧乾燥法（スプレードライ法）が挙げられる。なお、噴霧する方法としては、液体を加圧してノズルから噴射する加圧ノズル式、高速回転するディスクに液体を送り、遠心力で飛び散らせるディスク式等がある。

[0116] これらの中で、脂質ナノ粒子を含む粒子を効率よく製造するためには、噴霧乾燥法が好ましい。噴霧乾燥法を適用することによって、乾燥と粒子化プロセスとを同時に実施することが可能となる。噴霧乾燥法であれば、噴霧する方法については特に限定されないが、粒子の均一性と脂質ナノ粒子及び生理活性物質に対する外部応力と熱エネルギーを考慮した場合、後述するピエゾを駆動力とした振動による吐出方法が特に好ましい。

[0117] －液滴吐出工程－

実施形態における液滴吐出工程は、基材、生理活性を有する生理活性物質を含む脂質ナノ粒子、及び溶媒を含有する液滴を気体媒体中に吐出する工程である。

[0118] 実施形態における液滴吐出工程の一例として、振動により、基材、生理活性物質を含む脂質ナノ粒子、及び溶媒を含有する液体（懸濁液）を液滴として吐出する方法について改めて説明する。液滴を吐出する方法としては特に制限なく使用することができ、例えばアトマイザー、スプレーノズル、ピエ

ゾ等を駆動力とした振動による吐出方法等が挙げられる。この中でも、特にピエゾを駆動力とした振動による吐出方法を使用することで、粒子径が均一な粒子が得られるため好ましい。付与した振動により吐出する方法としては、特に制限されないが、例えば以下の方法が挙げられる。以下それぞれの手段について説明する。

[0119] （ａ）振動を用いて液体収容部の容積を変化させる容積変化手段を用いた方法

（ｂ）液体収容部に振動を加えながら液体収容部に設けた複数の吐出孔より液体を放出し、液体を柱状から括れ状態を経て液滴化させる括れ発生手段を用いた方法

（ｃ）ノズルが形成された薄膜を振動させるノズル振動手段を用いた方法

[0120] 容積変化手段としては、液体収容部の容積を変化させることができれば特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、電圧を加えると伸縮する圧電素子（「ピエゾ素子」と称することもある）等が挙げられる。

[0121] 括れ発生手段としては、例えば、特開２００７－１９９４６３号公報に記載の技術を用いた手段等が挙げられる。特開２００７－１９９４６３号公報では、液体収容部の一部に接する圧電素子を用いた振動手段により液体収容部に振動を加えながら、液体収容部に設けた複数のノズル孔より液体を放出し、液体を柱状から括れ状態を経て液滴化する手段が記載されている。

[0122] ノズル振動手段としては、例えば、特開２００８－２９２９７６号公報に記載の技術を用いた手段等が挙げられる。特開２００８－２９２９７６号公報では、液体収容部に設けた複数のノズルが形成された薄膜と、この薄膜の変形可能な領域内の周囲に配されて薄膜を振動させる圧電素子と、を用いて複数のノズル孔より液体を放出し、液滴化する手段が記載されている。

[0123] 振動を発生させる手段としては、圧電素子を用いることが一般的である。圧電素子としては、特に制限はなく、形状、大きさ、及び材質を適宜選択することができ、例えば、従来のインクジェット吐出方式に用いられている圧

電素子を好適に使用することができる。

[0124] 圧電素子の形状、及び大きさとしては、特に制限はなく、吐出孔の形状等にあわせて適宜選択することができる。

[0125] 圧電素子の材質としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、チタン酸ジルコン酸鉛（ＰＺＴ）等の圧電セラミックス、ポリフッ化ビニリデン（ＰＶＤＦ）等の圧電ポリマー、水晶、ＬｉＮｂＯ３、ＬｉＴａＯ３、ＫＮｂＯ３等の単結晶等が挙げられる。

[0126] 吐出孔としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、ノズルプレート等に設けられた開口部等が挙げられる。

[0127] 吐出孔の断面形状、及び大きさについては適宜選択することができる。吐出孔の断面形状としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、（１）：内部（液体収容部側）から外部（液体が吐出される側）に向かって開口径が小さくなるようなテーパー形状、（２）：内部（液体収容部側）から外部（液体が吐出される側）に向かってラウンド形状を持ちながら開口径が狭くなるような形状、（３）：内部（液体収容部側）から外部（液体が吐出される側）に向かって一定のノズル角度を持って開口径が狭くなるような形状、（４）：（１）の形状及び（２）の形状の組合せ等が挙げられる。これらの中でも、吐出孔において液にかかる圧力が最大となる点から、（３）の形状が好ましい。

[0128] （３）の形状におけるノズル角度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、６０°以上９０°以下が好ましい。ノズル角度が、６０°以上９０°以下であると液滴吐出を安定化することができる。

[0129] 吐出孔の大きさとしては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、直径が１，０００μｍ未満であることが好ましく、１．０μｍ以上１，０００μｍ未満であることがより好ましく、１．０μｍ以上５００μｍ以下であることが更に好ましく、１．０μｍ以上５０μｍ以下であることが特に好ましい。なお、吐出孔の形状が真円でない場合は、吐出孔

の面積と同等の面積を有する真円における直径を採用する。

[0130] 粒子組成液は、基材、生理活性を有する生理活性物質を含む脂質ナノ粒子、溶媒を含有するが、当該液体（懸濁液）に含有される基材及び生理活性物質を含む脂質ナノ粒子は、粒子に含有される基材、脂質及び生理活性物質と同様の各種材料を使用できるため説明を省略し、溶媒についてのみ説明する。

[0131] －－溶媒－－

溶媒は、基材を溶解させる液体である。溶媒としては、例えば、水、脂肪族ハロゲン化炭化水素類（例えば、ジクロロメタン、ジクロロエタン、クロロホルム等）、アルコール類（例えば、メタノール、エタノール、プロパノール等）、ケトン類（例えば、アセトン、メチルエチルケトン等）、エーテル類（例えば、ジエチルエーテル、ジブチルエーテル、１，４－ジオキサン等）、脂肪族炭化水素類（例えば、ｎ－ヘキサン、シクロヘキサン、ｎ－ヘプタン等）、芳香族炭化水素類（例えば、ベンゼン、トルエン、キシレン等）、有機酸類（例えば、酢酸、プロピオン酸等）、エステル類（例えば、酢酸エチル等）、アミド類（例えば、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド等）、又はこれらの混合溶媒等が挙げられる。これらは、１種単独で使用してもよいし、２種以上を併用してもよい。これらの中でも、安定した脂質ナノ粒子懸濁液を得るためには、水を使用することが好ましい。

[0132] 溶媒の含有量としては、粒子組成液の質量に対して、７０質量％以上９９．５質量％以下が好ましく、９０質量％以上９９質量％以下がより好ましい。含有量が、７０質量％以上９９．５質量％以下であると、粒子材料の溶解性及び液体粘度の点から生産安定性が向上する。

[0133] 粒子組成液の粘度としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、０．５ｍＰａ・ｓ以上１５．０ｍＰａ・ｓ以下が好ましく、０．５ｍＰａ・ｓ以上１０．０ｍＰａ・ｓ以下がより好ましい。なお、粘度は、例えば、粘弾性測定装置（装置名：ＭＣＲレオメーター、Ａｎｔｏｎ Ｐａａｒ社製）を用いて、２５℃、シアレート１０ｓ－１の条件により測定

することができる。液体の粘度が、０．５ｍＰａ・ｓ以上１５．０ｍＰａ・ｓ以下であることで、液滴を吐出する上記手段において、好適な吐出を行うことができるため好ましい。

[0134] 粒子組成液の表面張力としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、１０ｍＮ／ｍ以上６０ｍＮ／ｍ以下が好ましく、２０ｍＮ／ｍ以上５０ｍＮ／ｍ以下がより好ましい。なお、表面張力は、例えば、ハンディ表面張力計（装置名：ＰｏｃｋｅｔＤｙｎｅ、ＫＲＵＳＳ社製）を用いて、最大泡圧法により２５℃、ライフタイム１，０００ｍｓの条件により測定できる。液体の表面張力が、０．５ｍＰａ・ｓ以上１５．０ｍＰａ・ｓ以下であることで、液滴を吐出する上記手段において、好適な吐出を行うことができるため好ましい。

[0135] －造粒・乾燥工程－

実施形態における造粒・乾燥工程は、液滴から溶媒を気化させて液滴に含まれていた溶媒を除去することで粒子を造粒する工程である。なお、造粒・乾燥工程は、気体媒体中において行われ、具体的には、液滴吐出工程で気体媒体中に吐出された液滴が、気体媒体中を飛行している際に行われることが好ましい。本工程により造粒されることで、粒子の形態を、固体分散体にすることができ、具体的には、基材中に生理活性物質を含む脂質ナノ粒子が分散した形態の粒子を製造できる。

[0136] 本方法により製造される粒子は、従来の噴霧乾燥法と異なり、加熱や冷却を伴う乾燥を必要としないため、特に加熱又は冷却により生理活性が変化しやすい生理活性物質を含有する粒子の形成に有利である。また、略均一の大きさである液滴を、液滴が合着しないように制御しながら吐出し、かかる液滴から溶媒を気化させることで造粒することが可能であるため、図６に示すように、均一な大きさの粒子を大量に製造することが可能であり、したがって粒度分布を狭くすることができる。

[0137] 図６は、実施形態における造粒・乾燥工程により製造された粒子の粒度分布の一例を示す図である。図６によれば、粒度分布の狭いピークが１つのみ

表れており、粗大粒子を示すピークも表れない。また、液滴を形成する吐出手段の吐出孔の大きさ等を適宜調整することにより、粒子の粒径を調整することもできる。また、粒子を小粒径化する手段として、大きな外部応力が生じる粉砕装置や高剪断力のかかる噴霧装置を用いず、代わりに、振動等により液滴を形成する吐出手段等を用いることで、粒子の材料として、外部応力により生理活性が変化する性質を有する生理活性物質が含まれる場合であっても、当該生理活性物質の生理活性が変化することが抑制され、結果として生理活性の量の低下を抑制することができる。

[0138] また、本工程では、造粒する際に、水等の溶媒との接触が必要ないため、粒子の製造工程を経て粒子中に保持される生理活性物質の割合（生理活性物質保持率）が高い粒子を製造できる。本工程により、他の方法に比べて、粒子の生理活性率を高めることができ、例えば、生理活性率を５０％以上とすることができる。

[0139] なお、造粒・乾燥工程では、液滴を搬送気流中に吐出することで液滴から溶媒を気化させて粒子を造粒してもよい。搬送気流を用いて液滴から溶媒を気化させる方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、搬送気流の搬送方向を、液滴を吐出する方向に対して略垂直方向とする方法等が好ましい。また、搬送気流は、温度、蒸気圧、気体の種類等を適宜調整することが好ましい。なお、搬送気流の温度を調整するために加熱手段を設けてもよいが、上記の通り、造粒工程では液滴同士の合着が抑制された吐出がなされる。そのため、加熱手段による加熱の程度を抑制することができ、具体的には、生理活性物質の生理活性が変化しない程度の加熱にすることができる。

[0140] また、捕集された粒子が固体状態を維持していれば、溶媒が完全に気化していなくてもよく、回収後に別工程で乾燥工程を追加で設けてもよい。また、温度変化や化学変化等の適用により、液滴から溶媒を気化させる方法を用いてもよい。

[0141] －その他工程－

その他の工程としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、粒子捕集工程等が挙げられる。

[0142] 粒子捕集工程は、製造した粒子を捕集する工程であり、粒子捕集手段により好適に実施することができる。粒子捕集手段としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、サイクロン捕集、バックフィルター等が挙げられる。

[0143] 実施形態（気中乾燥）としての粒子の製造装置は、基材、生理活性を有する生理活性物質を含む脂質ナノ粒子、及び溶媒を含有する液滴を気体中に吐出する液滴吐出手段と、液滴から溶媒を気化させて液滴に含まれていた溶媒を除去することで粒子を造粒する造粒手段と、を有し、必要に応じて、その他手段を有する。

[0144] －液体収容容器－

液体収容容器は、基材、生理活性物質を含む脂質ナノ粒子、及び溶媒を含有する液体を収容した容器である。

[0145] 液体収容容器は、可とう性があってもよいし、可とう性がなくてもよい。液体収容容器の材質は、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、樹脂製であってもよいし、金属製であってもよい。液体収容容器の構造としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、密閉構造であってもよいし、非密閉構造であってもよい。

[0146] －液滴吐出手段－

液滴吐出手段は、基材、生理活性物質を含む脂質ナノ粒子、及び溶媒を含有する液体（懸濁液）を気体媒体中に吐出して液滴を形成する手段である。かかる液滴形成手段は、上記実施形態としての粒子の製造装置に用いられる液滴吐出手段の箇所において詳述したとおりである。好ましい態様において、液滴吐出手段は、振動により粒子組成液を吐出して液滴を形成するものである。

[0147] 液滴吐出手段は、液体収容容器と接続されている。液滴吐出手段と液体収容容器とを接続する手段としては、液体収容容器から液滴吐出手段に液体を

供給しうる限り、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、管（パイプ、チューブ等）等が挙げられる。

[0148] 液滴吐出手段は、好ましくは液体に振動を付与することで液滴を吐出させる振動付与部材を有する。振動としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、周波数としては１ｋＨｚ以上が好ましく、１５０ｋＨｚ以上がより好ましく、３００ｋＨｚ以上５００ｋＨｚ以下がさらに好ましい。振動が１ｋＨｚ以上であると、吐出孔から噴射された液柱を再現よく液滴化することができ、１５０ｋＨｚ以上であると生産効率を向上させることができる。

[0149] 振動付与部材を有する液滴吐出手段としては、例えば、インクジェットノズル等が挙げられる。インクジェットノズルの吐出機構としては、例えば、液柱共鳴法、膜振動法、液振動法、レイリー分裂法等を用いることができる。

[0150] －造粒手段－

造粒手段は、液滴から溶媒を気化させて液滴に含まれていた溶媒を除去することで粒子を造粒する手段である。造粒手段としては、例えば、液滴から溶媒を気化させるための空間を形成する部材等が挙げられる。造粒手段は、搬送気流を形成する搬送気流形成手段を有していることが好ましい。

[0151] 次に、実施形態の具体的態様について、液滴吐出手段として液柱共鳴液滴吐出手段を用いた態様に基づいて説明する。なお、液滴吐出手段としては、液柱共鳴液滴吐出手段に限らず、他の液滴吐出手段（例えば膜振動法を利用した吐出手段、レイリー分裂法を利用した吐出手段、液振動法を利用した吐出手段等）を用いてもよいことは、当業者であれば当然に理解するものである。

[0152] まず、粒子の製造装置を構成する一手段である液柱共鳴液滴吐出手段について具体的に説明する。

[0153] 図１は、液柱共鳴液滴吐出手段の一例を示す概略断面図である。液柱共鳴液滴吐出手段１１は、液共通供給路１７及び液柱共鳴液室１８を有する。液

柱共鳴液室１８は、長手方向の両端の壁面のうち一方の壁面に設けられた液共通供給路１７と連通されている。また、液柱共鳴液室１８は、両端の壁面と連結する壁面のうち一つの壁面に液滴２１を吐出する吐出孔１９と、吐出孔１９と対向する壁面に設けられ、かつ液柱共鳴定在波を形成するために高周波振動を発生する振動発生手段２０とを有する。なお、振動発生手段２０には、高周波電源が接続されている。また、液柱共鳴吐出手段１１から吐出された液滴２１を搬送する気流を供給する気流通路が設けられていてもよい。

[0154] 基材、生理活性物質を含む脂質ナノ粒子、及び溶媒を含有する液体（懸濁液）１４は、液循環ポンプにより液供給管を通って、液柱共鳴液滴吐出手段１１の液共通供給路１７内に流入し、液柱共鳴液室１８に供給される。そして、液体１４が充填されている液柱共鳴液室１８内には、振動発生手段２０によって発生する液柱共鳴定在波により圧力分布が形成される。そして、液柱共鳴定在波において振幅の大きな部分であって圧力変動が大きい、定在波の腹となる領域に配置されている吐出孔１９から液滴２１が吐出される。この液柱共鳴による定在波の腹となる領域は、定在波の節以外の領域であり、定在波の圧力変動が液を吐出するのに十分な大きさの振幅を有する領域が好ましく、圧力定在波の振幅が極大になる位置（速度定在波としての節）から極小になる位置に向かって±１／４波長の領域がより好ましい。

[0155] 定在波の腹になる領域であれば、吐出孔が複数で開口されていても、それぞれからほぼ均一な液滴を形成することができ、更には効率的に液滴の吐出を行うことができ、吐出孔の詰まりも生じ難くなる。なお、液共通供給路１７を通過した液体１４は液戻り管により循環される。液滴２１の吐出によって液柱共鳴液室１８内の液体１４の量が減少すると液柱共鳴液室１８内の液柱共鳴定在波の作用による吸引力が作用し、液共通供給路１７から供給される液体１４の流量が増加する。そして、液柱共鳴液室１８内に液体１４が補充される。そして、液柱共鳴液室１８内に液体１４が補充されると、液共通供給路１７を通過する液体１４の流量が元に戻る。

[0156] 液柱共鳴液滴吐出手段１１における液柱共鳴液室１８は、金属、セラミックス、シリコーン等の駆動周波数において液体の共鳴周波数に影響を与えない程度の高い剛性を持つ材質により形成されるフレームがそれぞれ接合されて形成されている。また、図１に示すように、液柱共鳴液室１８の長手方向の両端の壁面間の長さＬは、液柱共鳴原理に基づいて決定される。更に、液柱共鳴液室１８は、生産性を飛躍的に向上させるために１つの液滴形成ユニットに対して複数配置されていることが好ましい。液柱共鳴液室１８の数としては、特に制限はなく、１個以上２，０００個以下が好ましい。また、液柱共鳴液室毎に、液供給のための流路が液共通供給路１７から連通接続されており、液共通供給路１７は複数の液柱共鳴液室１８と連通している。

[0157] また、液柱共鳴液滴吐出手段１１における振動発生手段２０は所定の周波数で駆動できるものであれば特に制限はないが、圧電体を弾性板９に貼りあわせた形態が好ましい。

[0158] さらに、吐出孔１９の開口を多数設けることができ、生産効率が高くなる点から、吐出孔１９を液柱共鳴液室１８内の幅方向に設ける構成を採用することが好ましい。また、吐出孔１９の開口配置によって液柱共鳴周波数が変動するため、液柱共鳴周波数は液滴の吐出を確認して適宜決定することが望ましい。

[0159] 次に、実施形態の具体例について、図２～４を用いて説明する。図２は、粒子の製造装置の一例を示す概略図である。図３は、粒子の製造装置に用いられる液滴吐出手段の一例を示す概略断面図である。図４は、粒子の製造装置に用いられる液滴吐出手段の他の一例を示す概略断面図である。

[0160] 図２に示す粒子の製造装置３００は、液滴吐出手段３０２、乾燥捕集ユニット３６０、搬送気流排出口３６５、及び粒子貯留部３６３を有する。液滴吐出手段３０２には、液体３１４を収容する液体収容器３１３と、液体収容器３１３に収容されている液体３１４を、液供給管３１６を通して液滴吐出手段３０２に供給し、更に液戻り管３２２を通って液体収容器３１３に戻すために液供給管３１６内の液体３１４を圧送する液循環ポンプ３１５とが連

結されており、随時、液体３１４を液滴吐出手段３０２に供給できる。

[0161] 液供給管３１６にはＰ１、乾燥捕集ユニットにはＰ２の圧力測定器が設けられており、液滴吐出手段３０２への送液圧力及び乾燥捕集ユニット内の圧力は、圧力計Ｐ１、Ｐ２によって管理される。このときに、Ｐ１の圧力測定値がＰ２の圧力測定値よりも大きい場合には、液体３１４が吐出孔から染み出すおそれがあり、Ｐ１の圧力測定値がＰ２の圧力測定値よりも小さい場合には、液滴吐出手段３０２に気体が入り、吐出が停止する恐れがあるため、Ｐ１の圧力測定値とＰ２の圧力測定値とがほぼ同じあることが好ましい。

[0162] チャンバー３６１内では、搬送気流導入口３６４から作られる下降気流（搬送気流）３０１が形成されている。液滴吐出手段３０２から吐出された液滴３２１は、重力よってのみではなく、搬送気流３０１によっても下方に向けて搬送され、搬送気流排出口３６５を通り、粒子捕集手段３６２によって捕集され、粒子貯留部３６３に貯留される。

[0163] なお、液滴吐出工程において、吐出した液滴同士が乾燥前に接触すると、液滴同士が合着することがある。粒度分布が狭い粒子を得るためには、吐出した液滴同士の距離が保たれていることが好ましい。しかしながら、吐出された液滴は一定の初速度を持っているが空気抵抗により、やがて失速する。失速した液滴に対し、後から吐出された液滴が追いついた場合であって、液滴の乾燥が不十分であるとき、液滴同士が合着し得る。合着を防ぐためには液滴の速度低下を抑制し、液滴同士を接触させないように搬送気流３０１によって合着を抑制しながら、液滴を乾燥させつつ搬送することが好ましい。そのため、搬送気流３０１は、液滴吐出手段３０２の近傍において液滴吐出方向と同一方向に配置することが好ましい。なお、液滴同士が接触する場合であっても、接触時までに十分に乾燥していれば合着しないため、そのような場合は搬送気流３０１を用いなくてもよい。

[0164] 図３は、図２における粒子の製造装置の液滴吐出手段の一例の拡大図である。図３に示すように、液滴吐出手段３０２は、容積変化手段３２０、弾性板３０９、及び液体収容部３１９を有する。液滴吐出手段３０２は、容積変

化手段３２０に電圧が印加されると変形し、液体収容部３１９の容積を減少させるため、液体収容部３１９に貯留している液体を吐出孔から液滴３２１として吐出する。

[0165] 図４は、粒子の製造装置の液滴吐出手段の他の態様を示す図である。図４に示すように、気流通路３１２において、搬送気流３０１は、吐出方向に対して略垂直方向であってもよい。なお、搬送気流３０１は、角度を持っていてもよく、液滴吐出手段３０２より液滴が離れるような角度を持っていることが好ましい。図４のように、容積変化手段３２０により弾性板３０９を介して液体収容部３１９の容積を変化させて、液滴３２１を吐出し、吐出した液滴３２１に対して略垂直方向から合着防止の搬送気流３０１を与える場合は、吐出孔から合着防止の搬送気流３０１によって液滴３２１が搬送された際に液滴が通る軌跡が重ならないように吐出孔を配置することが好ましい。また、搬送気流３０１によって合着を防いだ後に、別の気流によって粒子捕集手段まで粒子を運んでもよい。

[0166] 搬送気流の速度は、液滴吐出速度と同じかそれ以上であることが好ましい。液滴吐出速度より搬送気流の速度が速いと、液滴同士の合着を抑制することができる。また、搬送気流には、液滴の乾燥を促進させるような化学物質を混入してもよい。搬送気流の状態は、限定されることはなく、層流や旋回流や乱流であってもよい。搬送気流を構成する気体の種類は、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、空気を用いても、窒素等の不燃性気体を用いてもよい。また、搬送気流の温度は、適宜調整可能であるが、気流の温度により、液滴に含まれる生理活性物質の生理活性が変化しない温度である。

[0167] 図２で示された粒子捕集手段３６２によって得られた粒子に含まれる残留溶媒量が多い場合は、これを低減するために、必要に応じて、二次乾燥を行うことが好ましい。二次乾燥としては、流動床乾燥や真空乾燥のような一般的な公知の乾燥手段を用いることができる。

実施例

[0168] 以下、粒子の製造例を説明するが、本発明はこれらの製造法に何ら限定されるものではない。

[0169] ［製造例１］

（生理活性物質を含む脂質ナノ粒子の懸濁液の調製）

《エタノール溶液の調製》

溶媒１としてエタノール１００質量部に対して、生理活性物質としてシクロスポリンＡ（東京化成工業製）０．８質量部、脂質としてステアリン酸（東京化成工業製）０．３質量部を加えて、３０分間ボルテックスにて攪拌し、エタノール溶液を得た。

[0170] 《水溶液の調製》

溶媒２として水２４００質量部に対して、添加剤として大豆レシチン０．０３質量部（東京化成工業製）、基材としてマンニトール７８質量部（東京化成工業製）を加えて、スターラーを用いて６００ｒｐｍで１時間攪拌し、水溶液を得た。

[0171] 《脂質ナノ粒子の調製》

上記水溶液を６００ｒｐｍにて攪拌しながら上記エタノール溶液をスポイトによって水溶液中に滴下することで、シクロスポリンＡを含む脂質ナノ粒子の懸濁液（以下、「製造例１の懸濁液」という。）を得た。

[0172] 《脂質ナノ粒子の粒子径測定》

製造例１の懸濁液中の脂質ナノ粒子の粒子径を、ＦＰＡＲ－１０００（大塚電子株式会社製）を用いて測定した。得られた脂質ナノ粒子の平均粒子径は１９０ｎｍであった。

[0173] ［製造例２］

（生理活性物質を含む脂質ナノ粒子の懸濁液の調製）

製造例１における水溶液の調製工程において、大豆レシチンを添加しなかったこと以外は製造例１と同様にして、製造例２の懸濁液を調製した。

[0174] ［製造例３］

製造例１における水溶液の調製工程において、マンニトールを添加しなか

ったこと以外は製造例１と同様にして、製造例３の懸濁液を調製した。

[0175] ［実施例１］

（脂質ナノ粒子含有マイクロ粒子の調製）

《実施例１の粒子の製造（液柱共鳴法）》

製造例１の懸濁液を、図１に示す液柱共鳴液滴吐出手段において、吐出口の開口数を液柱共鳴室１つ当たり１個とした液滴吐出手段を用いて、吐出口から吐出して液滴化し、図２に示す粒子の製造装置を使用して液滴から溶媒を除去することにより、実施例１の粒子を得た。粒子の製造条件は以下の通りであった。

[0176] －粒子製造条件－

吐出口の形状：真円

吐出口の直径：８μｍ

乾燥気流量：乾燥窒素　５０Ｌ／分

乾燥気流温度：５０℃

[0177] （粒子の評価）

《マイクロ粒子の粒子径測定》

実施例１の粒子の粒径分布をマイクロトラックＭＴ３０００ＩＩ（マイクロトラック・ベル株式会社製）を用いて測定した。結果を下記表２に示す。

[0178] 《流動性の確認》

実施例１の粒子の流動性を簡易的に評価するために、実施例１の粒子１ｇを３０ｍｍガラス製ロート（アズワン製）に導入し、ロートから流出しきるまでの時間を評価した。判定基準を以下の通りとした。なお、判定基準Ａ及びＢの粒子は、実用上のハンドリングにおいて不具合の生じない流動性を有する。結果を表１に示す。

[0179] －判定基準－

Ａ：１５秒未満

Ｂ：１５秒以上～３０秒未満

Ｃ：３０秒以上

[0180] ［実施例２］

（脂質ナノ粒子含有マイクロ粒子の調製）

《実施例２の粒子の製造（４流体スプレーノズル）》

製造例２の懸濁液を噴霧乾燥手段（４流体ノズル、藤崎電機製）を用いて吐出し、実施例２の粒子を得た。粒子の製造条件は以下の通りであった。続いて、実施例２の粒子を実施例１の粒子と同様にして評価した。実施例２の粒子の組成及び評価結果を下記表２に示す。

[0181] －粒子製造条件－

ノズルに対する製造例２の懸濁液の送り量：１０ｍＬ／分

オリフィス圧：１．３ｋＰａ

乾燥気流量：乾燥窒素：３０Ｌ／分

乾燥気流温度：６５℃

[0182] ［実施例３］

（脂質ナノ粒子含有マイクロ粒子の調製）

《実施例３の粒子の製造（レイリー分裂）》

製造例１の懸濁液を、レイリー分裂液滴吐出手段を用いて吐出し、実施例３の粒子を得た。粒子の製造条件は以下の通りであった。続いて、実施例３の粒子を実施例１の粒子と同様にして評価した。実施例３の粒子の組成及び評価結果を下記表２に示す。

[0183] －粒子製造条件－

吐出口の形状：真円

吐出口の直径：２０μｍ

処方液押し出し圧力：０．２０ＭＰａ

加振周波数：７０ｋＨｚ

加振電圧：５Ｖ

[0184] ［比較例１］

（脂質ナノ粒子乾燥体の調製）

製造例３の懸濁液を、下記表１の条件で凍結乾燥し、比較例１の脂質ナノ

粒子乾燥体（粒子）を得た。続いて、比較例１の粒子を実施例１の粒子と同様にして評価した。比較例１の粒子の組成及び評価結果を下記表２に示す。

[0185] [表1]

-乾燥体製造条件-

	予備凍結	減圧工程	1次乾燥	2次乾燥
棚温度[℃]	-40	-40	-10	20
保持時間[分]	180	60	120	1080
ターゲットレンジ[℃]	5	5	3	3

[0186] [表2]

		実施例1	実施例2	実施例3	比較例1
脂質	名称	ステアリン酸	ステアリン酸	ステアリン酸	ステアリン酸
	質量部	0.3	0.3	0.3	0.3
生理活性物質	名称	シクロスポリン	シクロスポリン	シクロスポリン	シクロスポリン
	質量部	0.8	0.8	0.8	0.8
溶媒1	名称	エタノール	エタノール	エタノール	エタノール
	質量部	100	100	100	100
溶媒2	名称	水	水	水	水
	質量部	2400	2400	2400	2400
基材	名称	マンニトール	マンニトール	マンニトール	マンニトール
	質量部	78	78	78	0
添加剤	名称	大豆レシチン	大豆レシチン	大豆レシチン	大豆レシチン
	質量部	0．03	0	0.03	0.03
粒子化方法		液中共鳴	4流体ノズル	レイリー分裂	凍結乾燥
粒径分布	体積平均径[μm]	3.9	3.2	11.9	0.27
	SPAN FACTOR	0.7	1.2	0.8	1.2
流動性		B	B	A	C

[0187] 表２中、「体積平均径」は「体積平均粒径」と同義であり、「ＳＰＡＮ ＦＡＣＴＯＲ」は「Ｒｅｌａｔｉｖｅ Ｓｐａｎ Ｆａｃｔｏｒ（Ｒ．Ｓ．Ｆ）」と同義である。

[0188] ［試験例１］

（脂質ナノ粒子の再分散性の確認）

マイクロ粒子中の脂質ナノ粒子の再分散性を評価した。具体的には、調製した実施例１の粒子を再度水に分散し、脂質ナノ粒子の粒子径を測定した。測定にはＦＰＡＲ－１０００（大塚電子株式会社製）を用いた。その結果、ナノ粒子径は１６０ｎｍであり、製造例１の懸濁液の測定結果と同等の結果

であった。

[0189] ［試験例２］

（溶出試験）

実施例１の脂質ナノ粒子含有マイクロ粒子の溶出試験を実施し、薬物溶出挙動を評価した。溶出試験の試験液として、肺内環境模倣液（Ｓｉｍｕｌａｔｅｄ　ｌｕｎｇ　ｆｌｕｉｄ：ＳＬＦ）を用いた。ＳＬＦは、塩化マグネシウム０．１６９ｇ、塩化ナトリウム５．０１６ｇ、塩化カリウム０．２４９ｇ、無水硫酸ナトリウム０．０５９ｇ、塩化カルシウム二水和物０．３０６ｇ、酢酸ナトリウム三水和物０．７９４ｇ、炭酸水素ナトリウム２．１７０ｇ、クエン酸ナトリウム二水和物０．０８０ｇ、リン酸水素二ナトリウム０．１１８ｇ及びジパルミトイルホスファチジルコリン０．１６７ｇを水１００ｍＬに溶解後、水で１Ｌにフィルアップして調製した。

[0190] ３７℃のＳＬＦ　５０ｍＬに、シクロスポリン原末又は脂質ナノ粒子製剤を、それぞれシクロスポリン量として１ｍｇずつ分散させ、溶出試験器（ＮＴＲ－６１００Ａ、富山産業株式会社）を用いてパドル法（撹拌速度５０ｒｐｍ）により溶出試験を実施した。

[0191] 試験開始から０．２５、０．５、１、２、４時間後に、溶出液を１００μＬずつ採取した。続いて、採取したサンプルを１０，０００×ｇで遠心した後、上清を回収してメタノールで希釈し、シングル四重極の質量分析器（装置名「ＡＱＵＩＴＹ　ＳＱＤ」、Ｗａｔｅｒｓ社製）を検出器とする超高速液体クロマトグラフィー（Ｗａｔｅｒｓ社製）に供してシクロスポリンの量を定量した。

[0192] 図７は、薬物溶出挙動を示すグラフである。図７に示すように、シクロスポリン原末は難水溶性化合物であるため、試験開始４時間後においてもその溶出量は極めて低かった。一方、脂質ナノ粒子製剤はシクロスポリン原末と比較して高い溶出率を示しながらもその溶出速度は緩徐であった。この溶出は、薬物を脂質ナノ粒子中に内包することでナノ粒子化による溶解性の改善及び脂質によるマトリックス構造に由来する徐放化の性質が付与されたため

である。

[0193] ［試験例３］

（吸入特性）

実施例１及び実施例２の脂質ナノ粒子含有マイクロ粒子の、経肺粉末吸入剤としての応用性を検討するため、アンダー型カスケードインパクターを用いて吸入特性を評価した。測定は、ＵＳＰ ２０００「Ｐｈｙｓｉｃａｌ Ｔｅｓｔｓ ａｎｄ Ｄｅｔｅｒｍｉｎａｔｉｏｎｓ／Ａｅｒｏｓｏｌｓ」、「Ｍｕｌｔｉｓｔａｇｅ Ｃａｓｃａｄｅ Ｉｍｐａｃｔｏｒ Ａｐｐａｒａｔｕｓ」に記載の方法により、以下の測定条件で行った。

[0194] －測定条件－

装置：アンダーセンサンプラー（ＡＮ－２００、柴田科学株式会社製）

ポンプ流量：２８．３Ｌ／分

使用デバイス：ジェットヘラー（登録商標）（日立オートモティブシステムズ株式会社製）

[0195] 調製した粉末製剤約３０ｍｇを日局２号ＨＰＭＣカプセルに充填し、２８．３Ｌ／分の気流量下にて評価した。

[0196] 図８（ａ）は、実施例１の粒子の電子顕微鏡画像である。図８（ｂ）は、実施例２の粒子の電子顕微鏡画像である。また、図９は、実施例１の粒子の吸入特性の評価結果を示すグラフである。図１０は、実施例２の粒子の吸入特性の評価結果を示すグラフである。図９及び１０中、Ｓｔａｇｅ２～Ｓｔａｇｅ７に分布する粒子は、ヒトが吸入した際、気道から肺に到達する理論量であり、Ｆｉｎｅ Ｐａｒｔｉｃｌｅ Ｆｒａｃｔｉｏｎ（ＦＰＦ）値として定義される。図９の結果から、実施例１の粒子のＦＰＦ値は４８．４％と算出された。また、図１０の結果から、実施例２の粒子のＦＰＦ値は１９．９％と算出された。

[0197] 実施例１の粒子は実施例２の粒子と比較して粒度分布が均一であり、付着特性の強い微細粒子を含んでいないことから高い分散特性を示したものと考えられた。また、これらの結果から空気力学的粒子径を算出したところ、実

施例１の粒子の空気力学的粒子径は３．５μｍであり、実施例２の粒子の空気力学的粒子径は４．７μｍであった。

[0198] ［試験例４］

（動物試験）

実施例１の脂質ナノ粒子含有マイクロ粒子の気道内投与後における薬物動態学的評価を行った。具体的には、まず、実施例１の粒子、及び、析出法により作製したシクロスポリンＡ原末ナノ粒子を、ＳＤ系雄性ラット（６～８週齢、日本エスエルシー株式会社）に経気道内投与し、経時的に薬物血中濃度測定を行った。各粉末は、ドライパウダー注入器（ＤＰ－４、ペンセンチュリー社）を用い、シクロスポリンＡ量として１００μｇずつ投与した。対照群として、シクロスポリンＡの現行の経口製剤であるネオーラル（ノバルティスファーマ株式会社）を１０ｍｇ／ｋｇで強制経口投与した群を用いた。

[0199] 薬物の投与後、尾静脈から経時的に採血し、ヘパリン処理をしたマイクロテストチューブに移して、直ちに氷冷した。氷冷後、速やかに血液を遠心分離し血漿を得た。また、各製剤投与後３時間において、ラットから肺を摘出し、ミンスした後、酢酸エチルによって肺組織中に含まれる薬物を抽出した。

[0200] 得られた血漿及び肺組織の抽出試料を、シングル四重極の質量分析器（装置名：ＡＱＵＩＴＹ　ＳＱＤ、Ｗａｔｅｒｓ社製）を検出器とする超高速液体クロマトグラフィー（Ｗａｔｅｒｓ社製）に供して含有薬物量を定量した。

[0201] 図１１は、各群の薬物血中濃度推移を示すグラフである。また、図１２は、各群の肺組織中濃度の測定結果を示すグラフである。また、下記表３に、各群のＣｍａｘ、Ｔ１／２及びＡＵＣ０－∞を示す。表３中、Ｃｍａｘは、最高血中濃度（血中濃度曲線のピークにおける濃度）を示す。また、Ｔ１／２は、薬物の血中濃度の半減期を示す。また、ＡＵＣ０－∞は、投与開始時～薬物消失時迄の血中濃度曲線下面積（Ａｒｅａ　ｕｎｄｅｒ　ｃｕｒｖｅ

）を表す。

[0202] その結果、実施例１の粒子及びシクロスポリンナノ粒子の気道内投与後において、現行製剤のネオーラルを経口投与（１０ｍｇ／ｋｇ）した場合と比較して、全身曝露は顕著に低いことが明らかとなった。一方、肺組織における単位投与量当たりの薬物濃度は実施例１の粒子が最も高く、ネオーラルの経口投与後における肺組織濃度は顕著に低かった。このことから、肺に対して局所的かつ低用量での投与を可能とする粉末吸入剤は、全身曝露を抑えつつ、投与部位に対する効率的な薬物送達を可能とし、呼吸器系の炎症疾患等を対象とした投与形態として安全かつ効果的な治療に有用であることが示された。

[0203] また、実施例１の粒子は単純なシクロスポリンナノ粒子と比較して肺組織濃度が高い傾向を示した。この結果から、脂質ナノ粒子の有する薬物徐放特性が、肺内における薬物暴露の延長に寄与していると考えられた。

[0204] [表3]

	C_{max} (ng/mL)	$T_{1/2}$ (h)	$AUC_{0-\infty}$ (ng. h/mL)
ネオーラル, 10mg/kg, 経口投与	3, 200±170	2. 3±0. 59	35, 500±3, 200
実施例1の粒子, 100μg/rat, 気道内投与	44±15	2. 6±0. 82	324±79. 2
シクロスポリンナノ粒子, 100μg/rat, 気道内投与	24±5. 1	4. 8±2. 4	177±38. 0

[0205] 本発明は、以下の態様を含む。

［１］少なくとも１種類以上の基材及び脂質ナノ粒子を含む粒子であって、前記脂質ナノ粒子は前記基材中に分散しており、前記脂質ナノ粒子は、リポソーム、脂質エマルション及び固体脂質ナノ粒子からなる群より選択される１種類以上であり、かつ、生理活性物質を含有している、粒子。

［２］前記基材の１種類以上が水溶性材料を含む、［１］に記載の粒子。

［３］前記基材が、単糖、二糖、多糖、糖アルコール及びこれらの誘導体か

らなる群より選択される１種類以上の糖類を含む、［１］又は［２］に記載の粒子。

［４］前記基材が、ラクトース及びマンニトールからなる群より選択される１種類以上の糖類を含む、［１］～［３］のいずれかに記載の粒子。

［５］体積平均粒径が０．５μｍ以上１００μｍ以下である、［１］～［４］のいずれかに記載の粒子。

［６］体積平均粒径が１μｍ以上２５μｍ以下である、［５］に記載の粒子。

［７］［１］～［６］のいずれかに記載の粒子を有効成分として含有する、粉末吸入剤。［８］［１］～［６］のいずれかに記載の粒子の製造方法であって、前記基材及び前記脂質ナノ粒子を含む懸濁液を、気体媒体中で造粒・乾燥する造粒・乾燥工程を含む、製造方法。

［９］前記造粒・乾燥工程が、液柱共鳴液室内に収容された、前記基材及び前記脂質ナノ粒子を含む懸濁液に振動を付与して液柱共鳴による定在波を形成し、前記定在波の腹となる領域に、前記定在波の振幅方向に形成された吐出口から、前記懸濁液を液滴として吐出する液滴吐出工程と、吐出した前記懸濁液を乾燥して粒子を形成する粒子形成工程と、を含む、［８］に記載の製造方法。

先行技術文献

特許文献

[0206] 特許文献1：特許第４２２８２３０号公報

特許文献2：特許第５９３２９９３号公報

特許文献3：特開平０８－１３３９８６号公報

請求の範囲

[請求項1] 少なくとも１種類以上の基材及び脂質ナノ粒子を含む粒子であって、

前記脂質ナノ粒子は前記基材中に分散しており、

前記脂質ナノ粒子は、リポソーム、脂質エマルション及び固体脂質ナノ粒子からなる群より選択される１種類以上であり、かつ、生理活性物質を含有している、粒子。

[請求項2] 前記基材の１種類以上が水溶性材料を含む、請求項１に記載の粒子。

[請求項3] 前記基材が、単糖、二糖、多糖、糖アルコール及びこれらの誘導体からなる群より選択される１種類以上の糖類を含む、請求項１又は２に記載の粒子。

[請求項4] 前記基材が、ラクトース及びマンニトールからなる群より選択される１種類以上の糖類を含む、請求項１～３のいずれか一項に記載の粒子。

[請求項5] 体積平均粒径が０．５μｍ以上１００μｍ以下である、請求項１～４のいずれか一項に記載の粒子。

[請求項6] 体積平均粒径が１μｍ以上２５μｍ以下である、請求項５に記載の粒子。

[請求項7] 請求項１～６のいずれか一項に記載の粒子を有効成分として含有する、粉末吸入剤。

[請求項8] 請求項１～６のいずれか一項に記載の粒子の製造方法であって、前記基材及び前記脂質ナノ粒子を含む懸濁液を、気体媒体中で造粒・乾燥する造粒・乾燥工程を含む、製造方法。

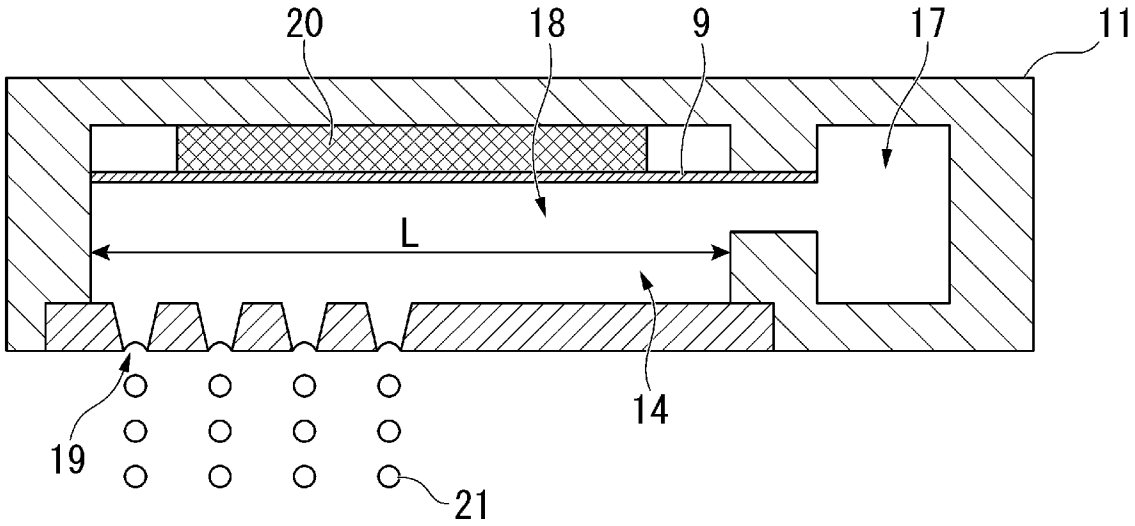
[請求項9] 前記造粒・乾燥工程が、

液柱共鳴液室内に収容された、前記基材及び前記脂質ナノ粒子を含む懸濁液に振動を付与して液柱共鳴による定在波を形成し、前記定在波の腹となる領域に、前記定在波の振幅方向に形成された吐出口から

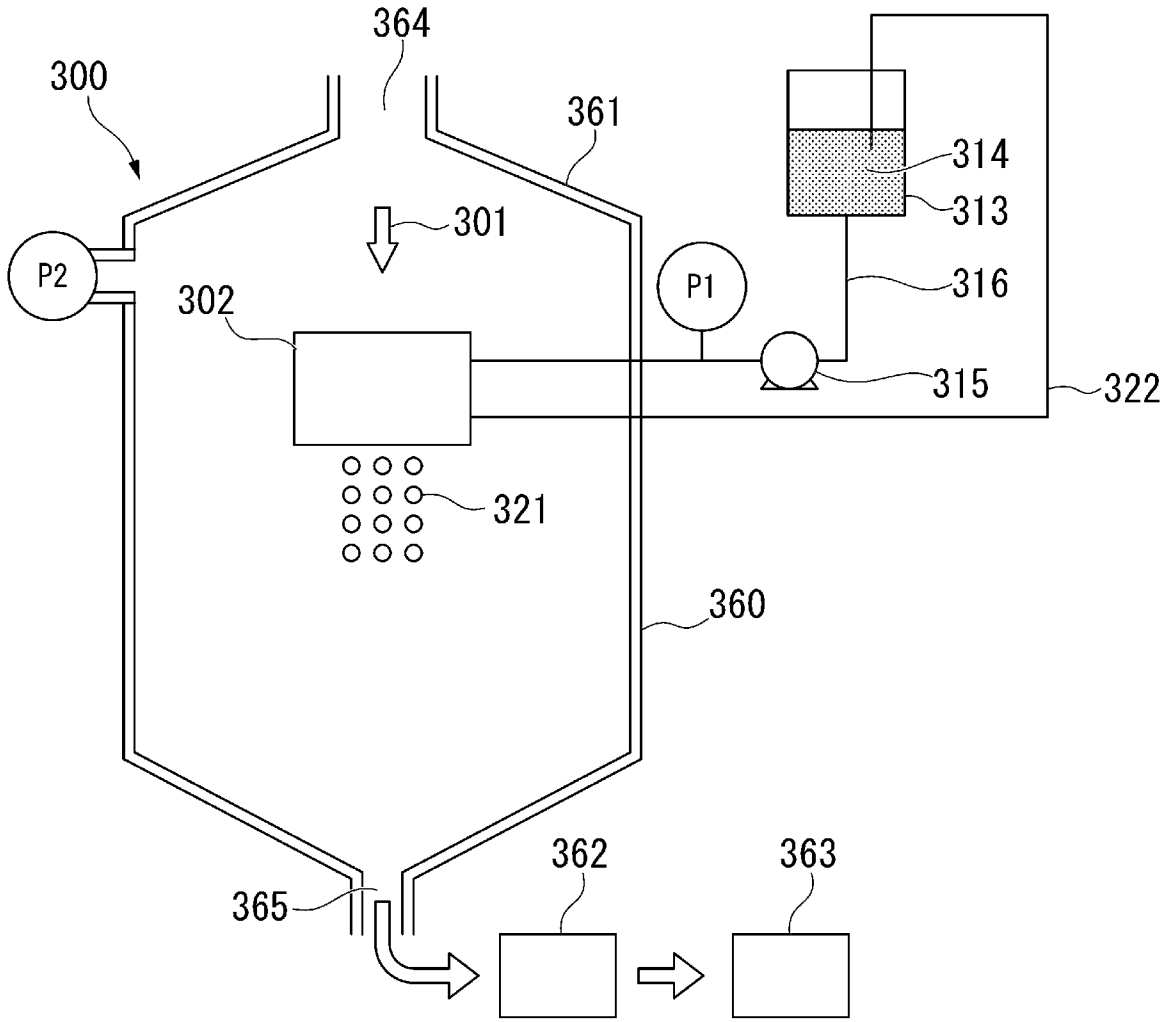
、前記懸濁液を液滴として吐出する液滴吐出工程と、

吐出した前記懸濁液を乾燥して粒子を形成する粒子形成工程と、を含む、請求項８に記載の製造方法。

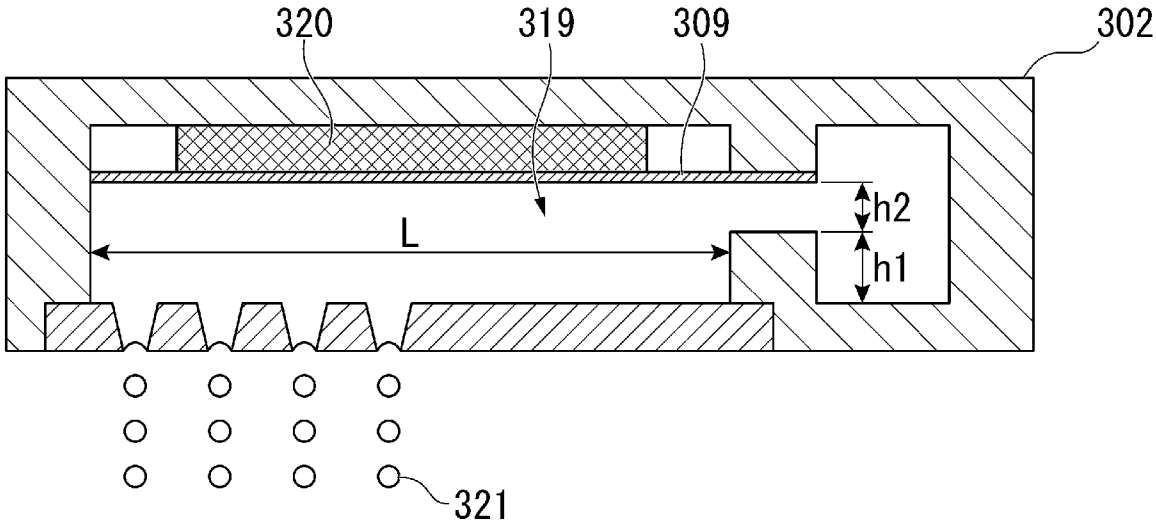
[図1]


20
18
9
17
11
L
19
14
21

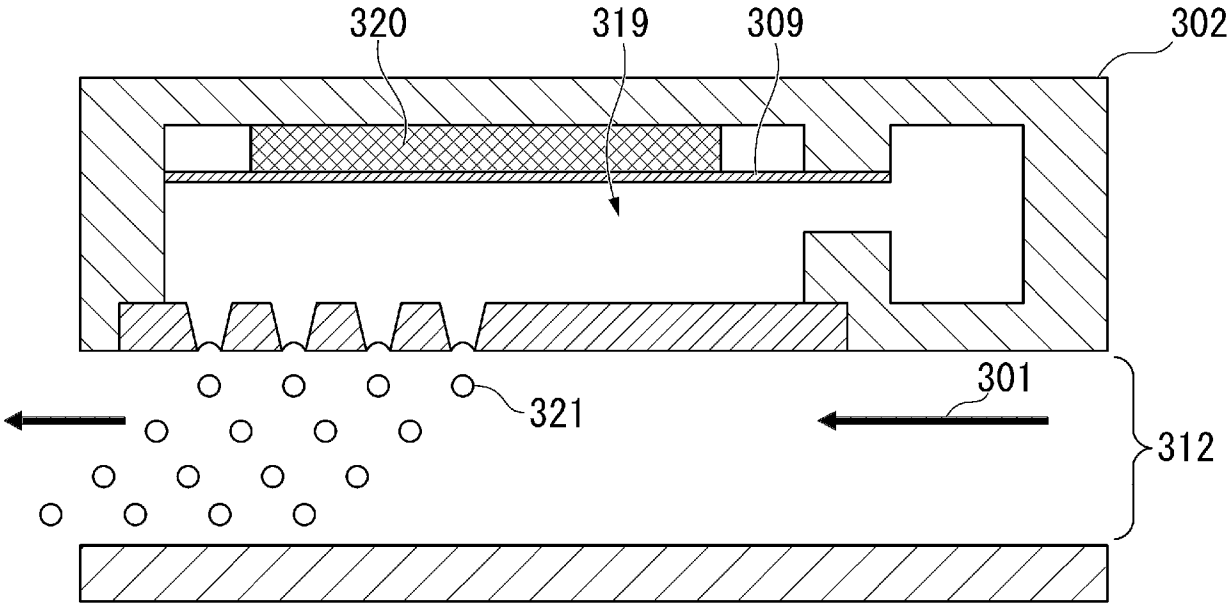
[図2]


364
300
361
314
313
301
P2
P1
316
302
315
322
321
360
362
363
365

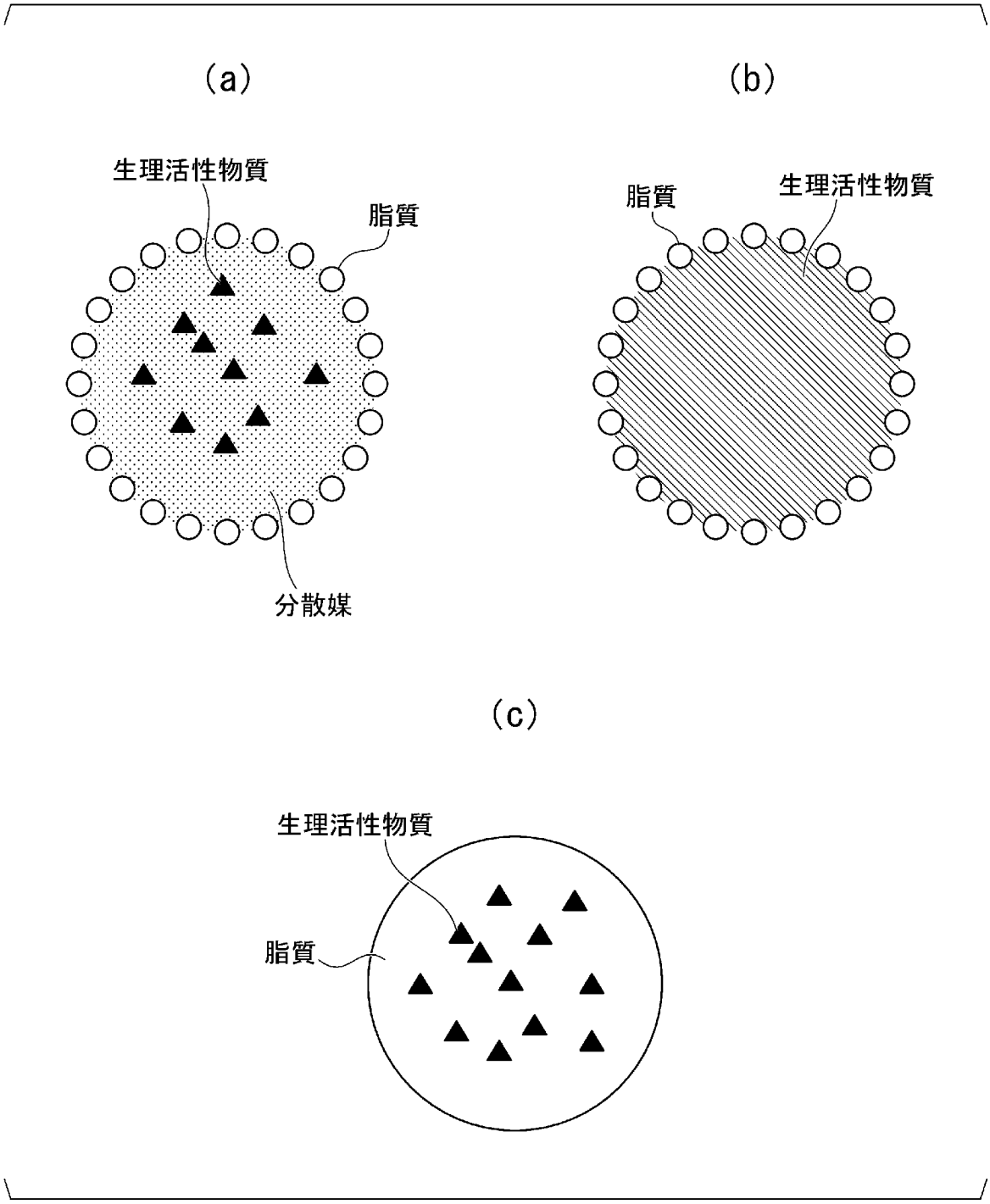
[図3]



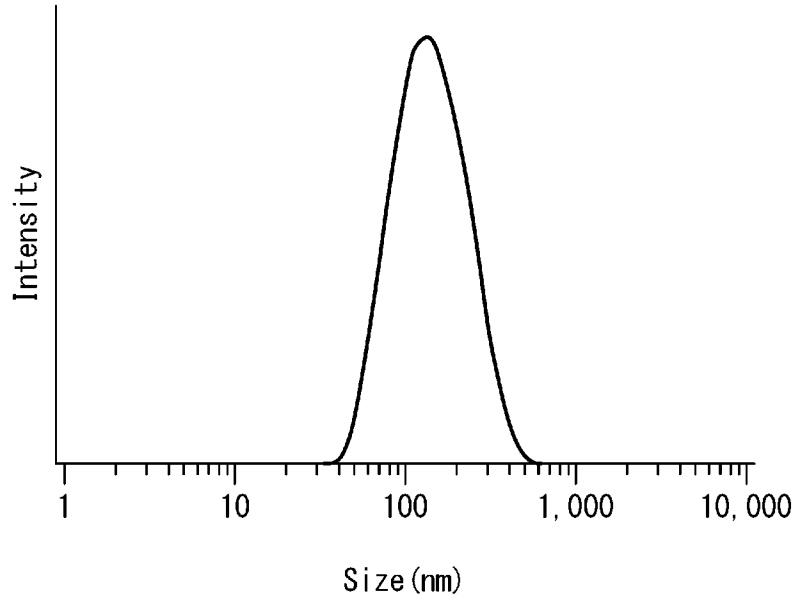
[図4]



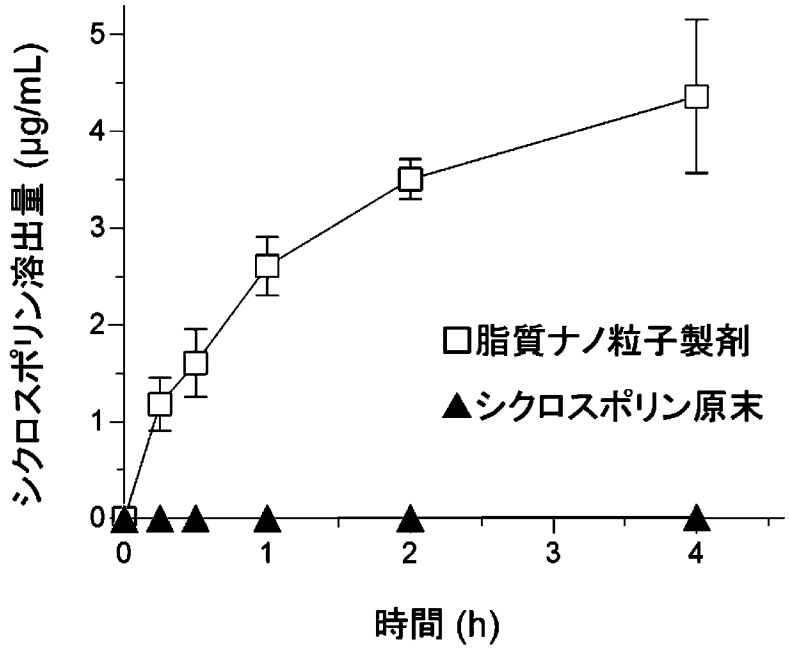
[図5]



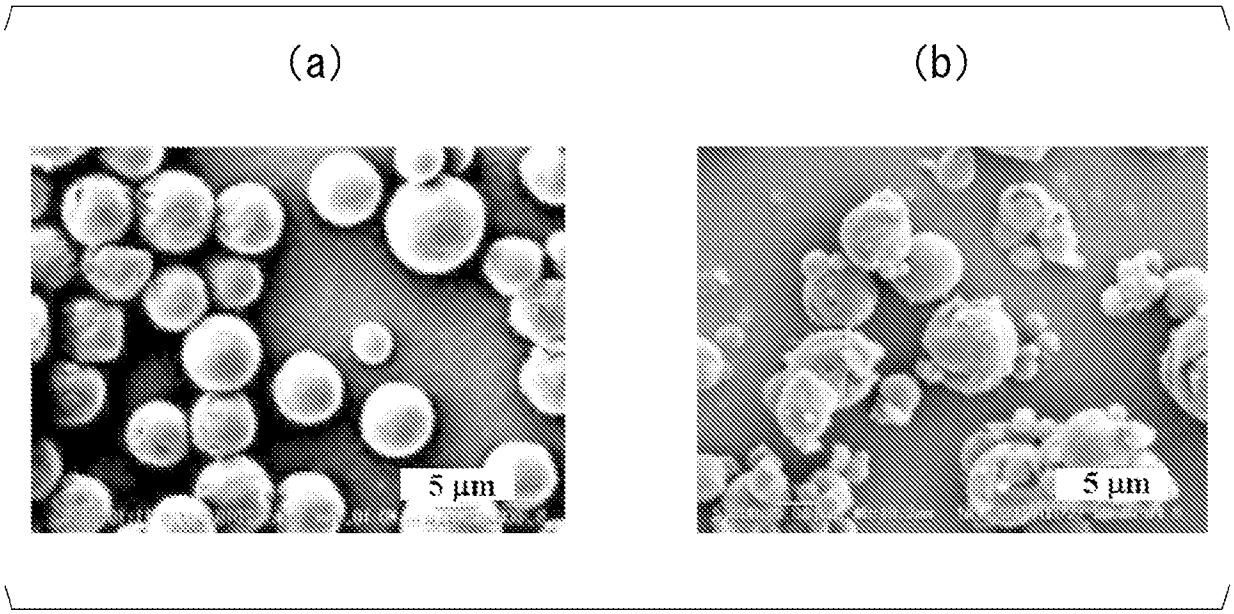
[図6]


Intensity
1
10
100
1,000
10,000
Size(nm)

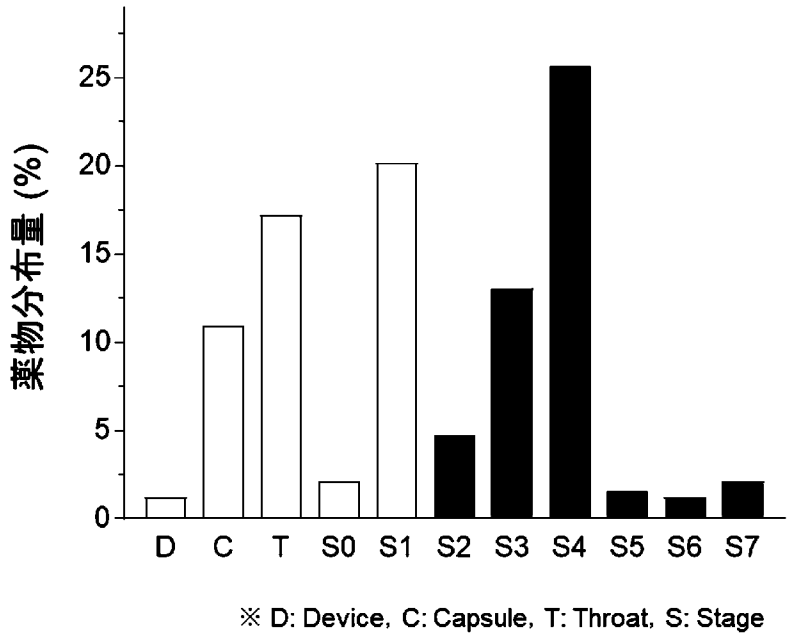
[図7]


シクロスポリン溶出量 (μg/mL)
0
1
2
3
4
5
□脂質ナノ粒子製剤
▲シクロスポリン原末
時間 (h)

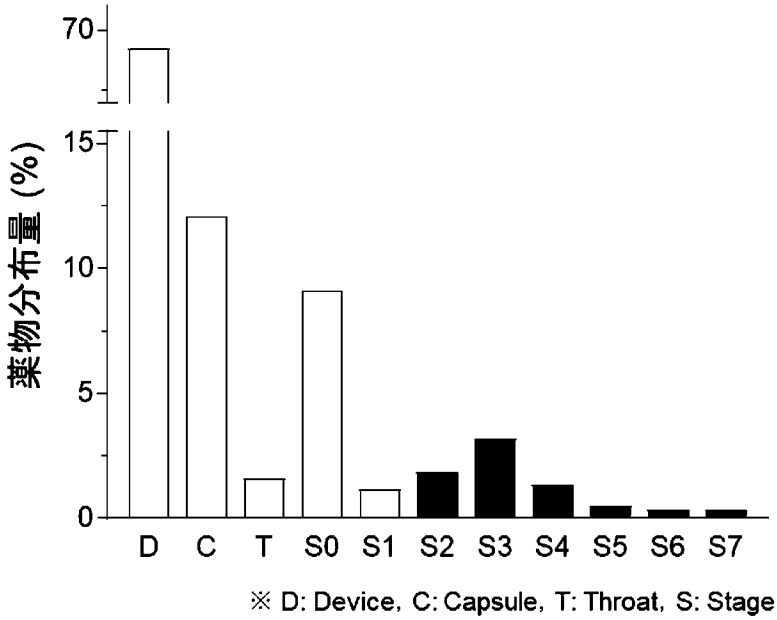
[図8]


(a)
(b)
5 μm
5 μm

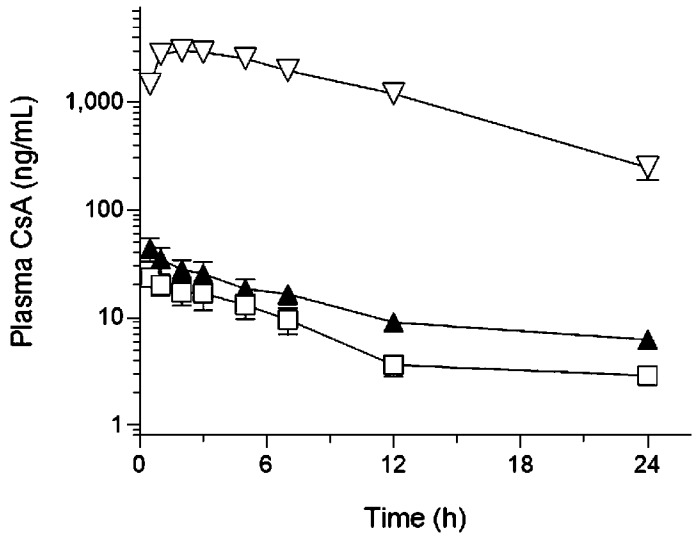
[図9]


薬物分布量 (%)
25
20
15
10
5
0
D
C
T
S0
S1
S2
S3
S4
S5
S6
S7
※ D: Device, C: Capsule, T: Throat, S: Stage

[図10]

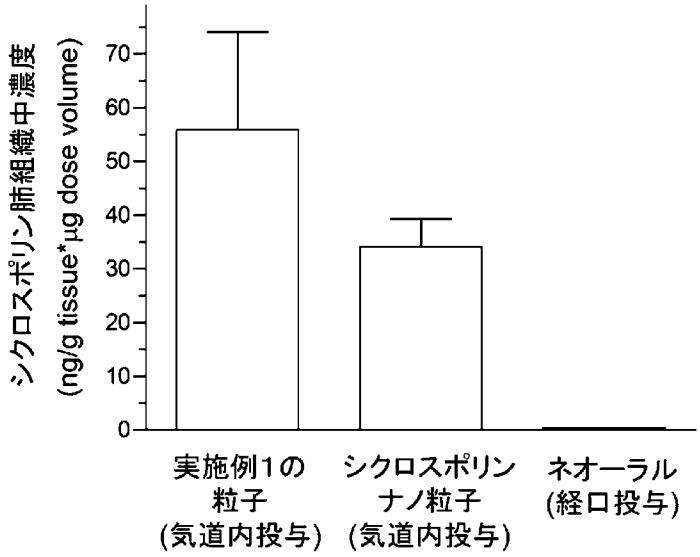


[図11]



▽: ネオーラル (10mg/kg, 経口投与)
▲: 実施例1の粒子 (100 μg-CsA/rat, 気道内投与)
□: シクロスポリンナノ粒子 (100 μg-CsA/rat, 気道内投与)

[図12]


シクロスポリン肺組織中濃度
(ng/g tissue*μg dose volume)
0
10
20
30
40
50
60
70
実施例1の粒子(気道内投与)
シクロスポリンナノ粒子(気道内投与)
ネオーラル(経口投与)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2021/018751

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
A61K 9/50(2006.01)i; A61K 9/51(2006.01)i; A61K 9/72(2006.01)i; A61K 47/12(2006.01)i; A61K 47/26(2006.01)i; A61K 47/36(2006.01)i; A61K 38/13(2006.01)i
FI: A61K9/50; A61K9/72; A61K47/12; A61K47/26; A61K47/36; A61K38/13; A61K9/51
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)
A61K9/50; A61K9/51; A61K9/72; A61K47/12; A61K47/26; A61K47/36; A61K38/13

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	1971-2021
Registered utility model specifications of Japan	1996-2021
Published registered utility model applications of Japan	1994-2021

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2005-511629 A (ADVANCED INHALATION RESEARCH, INC.) 28 April 2005 (2005-04-28) claims, paragraphs [0004], [0016], [0052]-[0055], [0106]-[0151], fig. 1-25, etc.	1-8 9
X Y	JP 2011-137031 A (OBAN ENERGY LTD.) 14 July 2011 (2011-07-14) claims, paragraphs [0013]-[0015], [0019], table 1	1-6 7-9
Y A	JP 2017-160188 A (RICOH CO., LTD.) 14 September 2017 (2017-09-14) claims, paragraphs [0010], [0015], [0076]-[0110], examples 1-9, test example 9, table 2, etc.	7-9 1-6

☐ 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	Date of mailing of the international search report
07 July 2021 (07.07.2021)	20 July 2021 (20.07.2021)

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2021/018751

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
JP 2005-511629 A	28 Apr. 2005	US 2003/0166509 A1 claims, paragraphs [0005], [0071], [0106]-[0109], [0163]-[0234], fig. 1-25 EP 1458361 A	
JP 2011-137031 A	14 Jul. 2011	US 2002/0106403 A1 claims, paragraphs [0013]-[0015], [0019], table 1 EP 1133281 A CN 1333679 A KR 10-2001-0073232 A	
JP 2017-160188 A	14 Sep. 2017	US 2019/0076361 A1 claims, paragraphs [0040]-[0042], [0051]-[0055], [0148]-[0211], examples 1-9, test example 1, table 2-1 EP 3423039 A CN 108697644 A KR 10-2018-0114170 A	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2021/018751

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A61K 9/50(2006.01)i; A61K 9/51(2006.01)i; A61K 9/72(2006.01)i; A61K 47/12(2006.01)i; A61K 47/26(2006.01)i; A61K 47/36(2006.01)i; A61K 38/13(2006.01)i
FI: A61K9/50; A61K9/72; A61K47/12; A61K47/26; A61K47/36; A61K38/13; A61K9/51

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））

A61K9/50; A61K9/51; A61K9/72; A61K47/12; A61K47/26; A61K47/36; A61K38/13

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	１９７１－２０２１年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２１年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２１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)

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	JP 2005-511629 A (アドバンスト インハレーション リサーチ, インコーポレイテッド) 28.04.2005 (2005-04-28) 特許請求の範囲、段落0004、0016、0052-0055、0106-0151、図１～２５等	1-8
Y		9
X	JP 2011-137031 A (オバン・エナジー・リミテッド) 14.07.2011 (2011-07-14) 特許請求の範囲、段落0013-0015、0019、表１	1-6
Y		7-9
Y	JP 2017-160188 A (株式会社リコー) 14.09.2017 (2017-09-14) 特許請求の範囲、段落0010、0015、0076-0110、実施例１～９、試験例９、表２等	7-9
A		1-6

☐ 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抵触するものではなく、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	国際調査報告の発送日
07.07.2021	20.07.2021

名称及びあて先

日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）

古閑　一実 4C 1193

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2021/018751

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 2005-511629 A	28.04.2005	US 2003/0166509 A1 Claims, Paragraphs 0005, 0071, 0106-0109, 0163-0234, Figs 1-25 EP 1458361 A	
JP 2011-137031 A	14.07.2011	US 2002/0106403 A1 Claims, Paragraphs 0013-0015, 0019, Table 1 EP 1133281 A CN 1333679 A KR 10-2001-0073232 A	
JP 2017-160188 A	14.09.2017	US 2019/0076361 A1 Claims, Paragraphs 0040-0042, 0051-0055, 0148-0211, Examples 1-9, Test Example 1, Table 2-1 EP 3423039 A CN 108697644 A KR 10-2018-0114170 A	