

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6896877号

(P6896877)

(45) 発行日 令和3年6月30日 (2021.6.30)

(24) 登録日 令和3年6月11日 (2021.6.11)

(51) Int.Cl.		F I	
C O 7 H	15/256	(2006.01)	C O 7 H 15/256 A
A 2 3 L	27/00	(2016.01)	A 2 3 L 27/00 1 O 1 A
A 6 1 K	47/26	(2006.01)	A 6 1 K 47/26

請求項の数 7 (全 16 頁)

(21) 出願番号	特願2019-551388 (P2019-551388)	(73) 特許権者	518026051
(86) (22) 出願日	平成30年3月14日 (2018.3.14)		ジュチェン ハウテン ファーム カンパ ニー リミテッド
(65) 公表番号	特表2020-512317 (P2020-512317A)		ZHUCHENG HAOTIAN PH ARM CO., LTD
(43) 公表日	令和2年4月23日 (2020.4.23)		中華人民共和国 シャンドン 26221 8、ウェイファン、ジュチェン、シンシン 、ハウテン ロード 1
(86) 国際出願番号	PCT/CN2018/079010		1 Haotian Road, Xin xing, Zhucheng Weif ang, Shandong 26221 8, China
(87) 国際公開番号	W02018/166475		
(87) 国際公開日	平成30年9月20日 (2018.9.20)	(74) 代理人	100102842
審査請求日	令和1年11月18日 (2019.11.18)		弁理士 葛和 清司
(31) 優先権主張番号	201710157466.6		
(32) 優先日	平成29年3月16日 (2017.3.16)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	中国 (CN)		

最終頁に続く

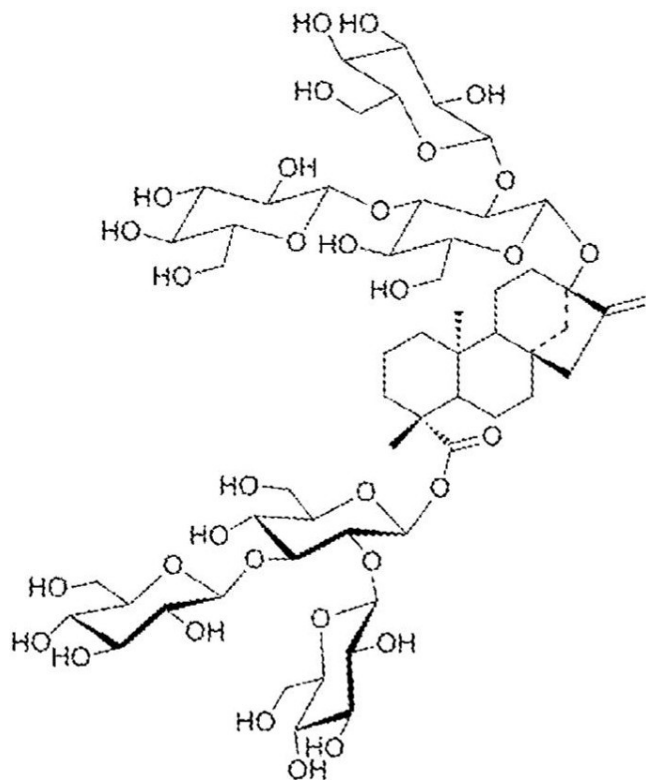
(54) 【発明の名称】 ステビオシドMの結晶形およびその製造方法と使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ステビオシドMの結晶形Aの結晶であって、その構造が下記式(1)で表され、

【化 1】



(I)

かつ、前記結晶形Aの結晶は、Cu-K α による粉末X線回折方法によって、度で表される2 θ 角が4.30、6.57、8.04、16.31、17.57および20.91の位置に6つの特征的回折ピークを有する、前記結晶形Aの結晶。

【請求項 2】

前記結晶形Aの結晶は粉末X線回折（XRPD）スペクトルを有し、誤差範囲が $\pm 0.2^\circ$ で、度で表される2 θ 値、で表される面間距離dおよび百分率で表される回折ピークの相対強度が以下のような特徴を有する、請求項1に記載のステビオシドMの結晶形Aの結晶。

【表 1 - 1】

2θ 角 (±0.2°)	d(Å)	相対強度 %
3.51	25.12	14.4
4.30	20.54	63.7
5.27	16.75	17.7
6.57	13.44	54.4
8.04	10.99	100.0
13.43	6.59	28.8
14.61	6.06	39.9
16.31	5.43	59.5
17.57	5.04	87.7
18.34	4.83	40.8
19.25	4.61	22.5
19.75	4.49	32.1

10

20

【表 1 - 2】

20.91	4.24	42.6
22.56	3.94	31.5
23.67	3.76	19.5

30

【請求項 3】

請求項1に記載のステビオシドMの結晶形Aの結晶であって、

(1) 前記結晶形Aの結晶が示差走査熱量分析チャートを有し、30-160 および210-250の区間に特徴吸収ピークがある、

(2) 前記結晶形Aの結晶が熱重量分析パターンを有し、前記結晶形Aの結晶の熱重量分析では、250±20 から分解する、

(3) 前記結晶形Aの結晶が動的水分吸着のプロファイルを有し、相対湿度が0-40%の範囲内では、その吸収水分の質量百分率が0-9.4%で、相対湿度が40-80%の範囲内では、その吸収水分の質量百分率が9.4-14.0%である、および

40

(4) 前記結晶形Aの結晶が赤外スペクトルを有し、前記結晶形Aの結晶の赤外スペクトルは、±2 cm⁻¹の誤差範囲で、少なくとも3391 cm⁻¹、2922 cm⁻¹、1727 cm⁻¹、1639 cm⁻¹、1446 cm⁻¹、1365 cm⁻¹、1228 cm⁻¹、1202 cm⁻¹、1074 cm⁻¹、1032 cm⁻¹、991 cm⁻¹、891 cm⁻¹、637 cm⁻¹および560 cm⁻¹に特徴的ピークを有する、

からなる群から選ばれる1つまたは複数の特徴もまた有する、前記結晶形Aの結晶。

【請求項 4】

請求項1～3のいずれか一項に記載のステビオシドMの結晶形Aの結晶の製造方法であって、懸濁法、溶液揮発法または冷却法の1つまたは2つ以上の混合結晶化方法で、

(1) 0-100 の温度範囲内で、ステビオシドMを溶媒と0.1～48 h混合させ、懸濁溶液を

50

得る、懸濁工程、ここで、工程(1)において、前記の溶媒が、メタノール、エタノール、1-プロパノール、アセトニトリル、アセトン、メチルエチルケトン、酢酸メチル、ギ酸エチル、酢酸エチル、メチル-t-ブチルエーテル、テトラヒドロフラン、ニトロメタン、トルエンのうちの1種または2種以上、あるいは上記溶媒と水の混合溶媒である、または

(2) 工程(1)における懸濁溶液を熱いうちにろ過し、大量の白色固体が析出するまで、ろ液を0-30 の温度範囲内に冷却し、懸濁溶液を得る、冷却工程、または

(3) ろ過後、大量の白色固体が析出するまで、工程(1)における懸濁溶液を、0-100 の温度範囲内で0.1 MPa以下の真空圧力で揮発させ、懸濁溶液を得る、揮発工程、および

(4) 0-100 の温度範囲内で、工程(1)、(2)または(3)における懸濁溶液をろ過または遠心し、白色固体を得、乾燥してステビオシドMの結晶形Aの結晶を得る、ろ過工程

10

を含む、前記方法。

【請求項5】

工程(1)において、前記のステビオシドMの乾燥物質純度が20-100%の範囲内にある、請求項4に記載のステビオシドMの結晶形Aの結晶の製造方法。

【請求項6】

請求項1~3のいずれか一項に記載のステビオシドMの結晶形Aの結晶を含む、組成物。

【請求項7】

食品およびヘルスケア製品における、請求項1~3のいずれか一項に記載のステビオシドMの結晶形Aの結晶の使用。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

技術分野

本発明は、甘味料の分野に属し、特にステビオシドMの新たな結晶形およびその製造方法と使用に関する。

【背景技術】

【0002】

背景技術

ステビアは、原産地が南米のパラグアイのブラジルと接するアマンバイ山脈で、高甘味度を有する植物である。ステビアから抽出される白色の粉末状のステビオシドは、純天然で、高甘度で、ゼロカロリーの甘味料で、天然の代替糖である。ステビアは高甘味度甘味料の国際市場で三番に売れている製品である。第一世代のステビアは主に混合糖であるが、よく苦い食感が伴う。第二世代は主に高純度のステビオシドAで、既に幅広く食品、健康食品や薬品に使用されている。ステビオシドAの普及とともに、ステビアにおけるほかのグリコシド系化合物も注目されてきた。現在、市場で使用されてきたステビオシド系化合物は、ステビオシドA以外、ステビオシドB、ステビオシドC、ステビオシドDやステビオシドMがある。中でも、ステビオシドDおよびステビオシドMは食感が最も良く、ステビオシドAの苦い後味がなく、既にFDAによって新規な甘味料として使用を許可された。

30

40

【0003】

ステビオシドM(レバウジオシドMまたはレバウジオシドX、Reb Mとも呼ばれる)、すなわち、13-[(2-O-β-D-グルコピラノシル-3-O-β-D-グルコピラノシル-β-D-グルコピラノシル)オキシ]カウラ-16-エン-19-酸 2-O-β-D-グルコピラノシル-3-O-β-D-グルコピラノシル-β-D-グルコピラノシルはステビアから単離されたものである。

ステビオシドMは微量(重量で計算すると0.05%-0.5%)でステビアに存在する。特許CN 104151378 Aでは、ステビオシドMを精製する方法が公開された。しかし、天然のステビオシドMの含有量が低すぎるため、ステビオシドMに対する研究の多くは酵素転化または合成プロセスに転じた。特許CN 104726523 Aでは、トマトUDP-糖転移酵素およびジャガイモ

50

ショ糖合成酵素を利用し、ステビオシドAおよびショ糖を原料としてステビオシドMを生産する方法が公開された。特許CN 104163839 Aでは、ステビオシドCを基質として、炭酸銀の作用下で化合物R1と置換反応させ、中間体Ac-Reb Mを得た後、さらに加水分解させて製品ステビオシドMを得る方法が公開された。特許CN 103397064 Aでは、ステビオシドAまたはステビオシドDを基質として、前記基質をグルコシル基供与体の存在下で、UDP-グルコシル転移酵素および/またはUDP-グルコシル転移酵素を含有する組み換え細胞の触媒によって反応してステビオシドMを生成させる方法が公開された。上記方法は、生産コストが高い、反応条件が厳しい、高純度のステビオシドMの製造が困難といった欠点が存在する。

【0004】

10

結晶ステビオシドMは飲料配合物において水溶性と溶解品質が劣る。含有量が75%-90%のステビオシドMは室温の条件において水溶解度が0.1%-0.15%の間である。特許CN 105722533 Aでは、ステビオシドDおよび少なくとも1つの界面活性剤と組み合わせる方法によってステビオシドMの溶解度を向上させることが報告された。中では、ステビオシドMおよびステビオシドDの無定形組成物は、ステビオシドMの溶解度を0.3% (w/w) まで向上させることができる。ステビオシドMの水溶性が少し向上するが、組成物は無定形であるため、その安定性が懸念されている。

【0005】

周知のように、結晶形によって、色、形態、安定性、吸湿性や溶解性が違うことで、食品の保存条件、外観や食感に影響する。ステビア系化合物の結晶形の違いはその食感、安定性、吸湿性や溶解度に大きく影響する。特許CN 103739639 AおよびCN 103739640 Aでは、ステビオシドAの2つの結晶形が報告され、中では、結晶形7は食感が良く吸湿性が低いという利点があり、結晶形9は安定性が高く水溶性が高いという利点がある。特許CN 105037458 Aで公開されたステビオシドDの結晶形Aは結晶化度が高く、水溶性が良くかつ好化学的安定性が高いという利点がある。現在、ステビオシドA、ステビオシドB、ステビオシドC、ステビオシドDの結晶形に関する研究はいずれも報告されたが、食感が最も優れたステビオシドMの結晶形はまだ報告されていない。

20

本分野では、性能がより良いステビオシドMの結晶形、たとえば結晶化度が良く、水溶性が良く、化学的安定性が高く、食感が良い、新規な結晶形の提供が切望されている。同時に、上記結晶形の製造方法および使用の提供が切望されている。

30

【発明の概要】

【0006】

発明の概要

本発明の目的は、新規なステビオシドMの結晶形を提供することにある。

本発明のもう一つの目的は、前記新規なステビオシドMの結晶形の製造方法を提供することである。

本発明のさらにもう一つの目的は、前記新規なステビオシドMの結晶形の使用を提供することである。

本発明の第一の側面では、ステビオシドMの結晶形Aであって、Cu-K α による粉末X線回折方法によって、度で表される2 θ 角が約4.30、6.57、8.04、16.31、17.57および20.91の位置に顕著な特徴的回折ピークを有する結晶形を提供する。

40

もう一つの好適な例において、前記結晶形Aは図1で示されるような粉末X線回折 (XRPD) スペクトルを有し、誤差範囲が $\pm 1^\circ$ で、度で表される2 θ 値、で表される面間距離dおよび百分率で表される回折ピークの相対強度が以下のような特徴を有する。

【0007】

【表 1 - 1】

2θ角	d	相対強度%
3.51	25.12	14.4

【表 1 - 2】

4.30	20.54	63.7	10
5.27	16.75	17.7	
6.57	13.44	54.4	
8.04	10.99	100.0	
13.43	6.59	28.8	20
14.61	6.06	39.9	
16.31	5.43	59.5	
17.57	5.04	87.7	
18.34	4.83	40.8	30
19.25	4.61	22.5	
19.75	4.49	32.1	
20.91	4.24	42.6	
22.56	3.94	31.5	40
23.67	3.76	19.5	
3.51	25.12	14.4	
4.30	20.54	63.7	
5.27	16.75	17.7	50
6.57	13.44	54.4	
8.04	10.99	100.0	
13.43	6.59	28.8	

【 0 0 0 8】

もう一つの好適な例において、前記結晶形Aは図2で示されるような示差走査熱量分析チャートを有し、約30-60 および210-250 の区間に特徴吸収ピークがある。

もう一つの好適な例において、前記結晶形Aの熱重量分析では、 250 ± 20 から分解する。

もう一つの好適な例において、前記結晶形Aは図4で示されるような動的水分吸着グラフを有する。相対湿度が0-40%の範囲内では、その吸収水分の質量百分率が0-9.4%で、相対湿度が40-80%の範囲内では、その吸収水分の質量百分率が9.4-14.0%である。

もう一つの好適な例において、前記結晶形Aの赤外スペクトルは、 $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$ の誤差範囲で、少なくとも 3391 cm^{-1} 、 2922 cm^{-1} 、 1727 cm^{-1} 、 1639 cm^{-1} 、 1446 cm^{-1} 、 1365 cm^{-1} 、 1228 cm^{-1} 、 1202 cm^{-1} 、 1074 cm^{-1} 、 1032 cm^{-1} 、 991 cm^{-1} 、 891 cm^{-1} 、 637 cm^{-1} および 560 cm^{-1} に特徴的ピークを有する。

【0009】

本発明の第二の側面では、上記に記載のステビオシドMの結晶形Aの製造方法であって、懸濁法、溶液揮発法または冷却法の1つまたは2つ以上の混合結晶化方法で、

(1) 0-100 の温度範囲内で、ステビオシドMを溶媒と0.1~48 h混合させ、懸濁溶液を得る、懸濁工程と、

(2) 工程(1)における懸濁溶液を熱いうちにろ過し、大量の白色固体が析出するまで、ろ液を0-30 の温度範囲内に冷却し、懸濁溶液を得る、冷却工程と、 10

(3) 工程(1)における懸濁溶液をろ過した後、大量の白色固体が析出するまで、0-100 の温度範囲内で0.1 MPa以下の真空圧力で揮発させ、懸濁溶液を得る、揮発工程と、

(4) 0-100 の温度範囲内で、工程(1)、(2)または(3)における懸濁溶液をろ過または遠心し、白色固体を得、乾燥してステビオシドMの結晶形Aを得る、ろ過工程と、を含む方法を提供する。

もう一つの好適な例において、工程(1)では、前記のステビオシドMの乾燥物質純度は20-100%の範囲内にある。

【0010】

もう一つの好適な例において、工程(1)では、前記の溶媒は、メタノール、エタノール、1-プロパノール、アセトニトリル、アセトン、メチルエチルケトン、酢酸メチル、ギ酸エチル、酢酸エチル、メチル-t-ブチルエーテル、テトラヒドロフラン、ニトロメタン、トルエンのうちの1種または2種以上、あるいは上記溶媒と水の混合溶媒である。 20

本発明の第三の側面では、上記に記載の本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形Aの使用であって、食品、健康食品および薬品の製造における使用を提供する。

もう一つの好適な例において、上記に記載の本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形Aの使用であって、組成物における使用を提供する。

もう一つの好適な例において、前記の組成物は、食品組成物、飲料組成物、健康食品組成物および薬品組成物からなる群から選ばれる。

【0011】

本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形Aの製造方法は、プロセスが簡単で、操作しやすく、かつ製造される製品は結晶化度が高く、吸湿性が低く、安定性が高い。 30

もちろん、本発明の範囲内において、本発明の上記の各技術特徴および下記(たとえば実施例)の具体的に記述された各技術特徴は互いに組み合わせ、新しい、または好適な技術方案を構成できることが理解される。紙数に限りがあるため、ここで逐一説明しない。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】図1は、本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形Aの粉末X線回折(XRPD)スペクトルである。 40

【図2】図2は、本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形Aの示差走査熱量測定(DSC)チャートである。

【図3】図3は、本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形Aの熱重量分析(TG)グラフである。

【図4】図4は、本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形Aの吸湿性分析(DVS)グラフである。

【図5】図5は、本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形Aの赤外(IR)スペクトルである。

【図6】図6は、本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形A、結晶形Bと無定形の 50

吸湿性（DVS）比較グラフである。

【図7】図7は、本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形Aの乾燥前後の粉末X線回折（XRPD）比較スペクトルである。

【図8】図8は、本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形Bの乾燥前後の粉末X線回折（XRPD）比較スペクトルである。

【図9】図9は、本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形Aの25℃、相対湿度60%の条件で半年保存された後の粉末X線回折（XRPD）比較スペクトルである。

【図10】図10は、本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形Aの40℃、相対湿度75%の条件で半年保存された後の高速液体クロマトグラフィ（HPLC）比較グラフである。

10

【図11】図11は、本発明によって提供されるステビオシドMの結晶形Aの粉末溶出曲線である。

【発明を実施するための形態】

【0013】

具体的な実施形態

本発明者は幅広く深く研究したところ、初めてステビオシドMの結晶形Aを研究・開発したが、前記の結晶形Aは、結晶化度が高く、化学的安定性が良く、吸湿性が低く、かつ製造プロセスが簡単で効率的で、再現性が良く、大規模工業生産が実現することができる。これに基づき、本発明を完成させた。

20

【0014】

用語の説明

別途に定義しない限り、本明細書で用いられるすべての技術と科学の用語はいずれも本発明が属する分野の当業者が通常理解する意味と同様である。

本明細書で用いられるように、具体的に例示される数値で使用される場合、用語「約」とは当該値が例示される数値から1%以内で変わってもよい。たとえば、本明細書で用いられるように、「約100」という記述は99と101およびその間の全部の値（たとえば、99.1、99.2、99.3、99.4など）を含む。

【0015】

2θ角で表示される特徴的回折ピークについて、用語「約」は挙げられる値の変動が2°以下であることを表し、たとえば約X°の場合、 $X \pm 2^\circ$ 、好ましくは $X \pm 1^\circ$ を表す。

30

本明細書で用いられるように、用語「含有」または「含む」は開放式、半閉鎖式および閉鎖式のものでよい。言い換えれば、前記用語は「基本的に・・・で構成される」、または「・・・で構成される」も含む。

【0016】

本発明化合物

本明細書で使用されるように、用語「本発明の化合物」または「本発明の結晶」または「本発明の結晶形Aの化合物」とは、本発明の第一の側面に記載の式I化合物を有する、前記X線回折の特徴ピークを有する結晶化合物をいうが、入れ替えて使用することができる。本発明の化合物は甘味料として有用である。

40

【0017】

組成物

また、本発明は、本発明の結晶形Aの化合物を含有する組成物、すなわち、甘味料組成物を提供する。

本発明の一つの好適な実施形態において、前記の組成物は食品組成物、飲料組成物や薬品組成物など、様々な製品を含む。

一つの好適な実施形態において、前記の甘味料組成物または製品の総重量で計算すると、前記本発明の化合物の含有量（wt%）は0.1-99%、好ましくは1-90%、より好ましくは

50

2-50%である。

本発明の甘味料組成物において、さらにほかの甘味料、たとえば乳糖、フルクトース、ショ糖、グルコース、トレハロースまたはこれらの組み合わせを含有してもよい。

一つの好適な実施形態において、前記甘味料組成物がショ糖を含有しないか、または少量のショ糖を含有し、かつ前記甘味料組成物では、前記ショ糖の含有量 (wt%) は 5、好ましくは 2、より好ましくは 1である。

【0018】

以下、具体的な実施例によって、さらに本発明を説明する。これらの実施例は本発明を説明するために用いられるものだけで、本発明の範囲の制限にはならないと理解されるものである。以下の実施例において、具体的な条件が記載されていない実験方法は、通常、通常の条件、あるいはメーカーの薦めの条件で行われた。特に断らない限り、%と部は、重量で計算される。

10

【0019】

実施例1

室温の条件において、20 gの物質純度が99.5%のステビオシドMを100 mLのアセトンに入れ、12 h撹拌した後、ろ過して白色固体を得、白色固体を25 で真空乾燥し、ステビオシドMの結晶形Aを得た。

20

【0020】

実施例2

室温の条件において、20 gの物質純度が99.5%のステビオシドMを100 mLのアセトニトリルに入れ、24 h撹拌した後、ろ過して白色固体を得、白色固体を25 で真空乾燥し、ステビオシドMの結晶形Aを得た。

【0021】

実施例3

50 の条件において、20 gの物質純度が99.5%のステビオシドMを100 mLのエタノールに入れ、1 h撹拌した後、ろ過して白色固体を得、白色固体を25 で真空乾燥し、ステビオシドMの結晶形Aを得た。

【0022】

実施例4

50 の条件において、10 gの物質純度が50.2%のステビオシドMを1.5 Lのメタノールに入れ、1 h撹拌し、ろ過後のろ液を25 、真空圧力が0.5 MPa未満の条件に置き、溶媒の体積が50 mL未満になるまで発揮させ、ろ過し、白色固体を真空乾燥し、ステビオシドMの結晶形Aを得た。

30

【0023】

実施例5

50 の条件において、10 gの物質純度が50.2%のステビオシドMを1 Lのエタノールに入れ、1 h撹拌し、ろ過後のろ液を50 の条件に置き、溶媒の体積が50 mL未満になるまで発揮させ、ろ過し、白色固体を50 でブロー乾燥し、ステビオシドMの結晶形Aを得た。

40

【0024】

実施例6

50 の条件において、10 gの物質純度が40%のステビオシドMを900 mLのエタノール-水 (2:1、v/v) 溶液に入れ、0.5 h撹拌し、ろ過後のろ液を50 、真空圧力が0.5 MPa未満の条件に置き、溶媒の体積が50 mL未満になるまで発揮させ、ろ過し、白色固体を真空乾燥し、ステビオシドMの結晶形Aを得た。

【0025】

実施例7

80 の条件において、10 gの物質純度が60%のステビオシドMを500 mLのエタノール-

50

水（1：1、v/v）溶液に入れ、0.5 h 攪拌し、熱いうちにろ過後のろ液を室温まで自然降温させ、12 h 静置して大量の固体が析出した後、ろ過し、白色固体を25℃で真空乾燥し、ステビオシドMの結晶形Aを得た。

【0026】

実施例8

50℃の条件において、10 gの物質純度が80%のステビオシドMを1 Lのエタノール-水（1：1、v/v）溶液に入れ、0.5 h 攪拌し、熱いうちにろ過後のろ液を1℃/hの降温速度で30℃まで降温させ、固体が析出した後、ろ過し、白色固体を25℃で真空乾燥し、ステビオシドMの結晶形Aを得た。

【0027】

実施例9

80℃の条件において、10 gの物質純度が60%のステビオシドMを500 mLのエタノール-水（1：1、v/v）溶液に入れ、0.5 h 攪拌し、熱いうちにろ過後のろ液に0.1 gの物質純度が95%のステビオシドMを入れた後、室温まで自然降温させ、12 h 静置して固体が析出した後、ろ過し、白色固体を25℃で真空乾燥し、ステビオシドMの結晶形Aを得た。

【0028】

実施例10

室温の条件において、20 gの物質純度が99.5%のステビオシドMの結晶形Aを100 mLの水に入れ、12 h 攪拌した後、ろ過して白色固体、すなわち、ステビオシドMの結晶形Bを得た。

【0029】

上記実施例で製造されたステビオシドMの結晶形Aに対して粉末X線回折分析（XRPD）、示差走査熱量測定（DSC）、熱重量分析（TG）、動的水分吸着分析（DVS）などを行った。

XRPD分析：ドイツのブルカー社のBruker D8 advance型の回折装置によって室温で検出し、Cu-K α 線（ $\lambda = 1.5418$ Å）を使用し、2 θ 角で3度から40度まで走査し、走査は0.2度/秒であった。その分析結果は図1に示す。XRPDスペクトルでは、上記実施例で製造されたステビオシドMの結晶形Aは優れた結晶化度を有することが示された。

【0030】

サンプルの粉末X線回折スペクトルにおいて、特定の結晶形から得られる回折スペクトルは常に特徴的なものである。結晶条件、粒子径、混合物の相対含有量およびほかの測定条件によって、回折スペクトルは選択配向の効果が生じることで、スペクトルにおける一部のバンド（特に低角度）の相対強度が変わることがある。そのため、回折ピークの相対強度は相応の結晶に対して特徴的ではなく、既知の結晶形と同様か判断する場合、ピークの相対強度よりもその位置に注意するべきである。そして、結晶形が同様か判断する場合、全体の観念にするべきで、それは一本の回折曲線で一つの物質相を表すのではなく、1セットの特定の「d-I/I1」データでなければ一つの物質相を表せないからである。また、混合物の同定では、含有量の低下などの要素で一部の回折曲線が欠失することがあるため、この場合、高純度の試料で全部のバンドを観察することなく、一本のバンドでも所定の結晶に対して特徴的であることもある。

【0031】

DSC分析：アメリカのパーキンエルマー社のDSC 8500型の示差走査熱量測定装置によって検出し、雰囲気は窒素ガスで、加熱速度は10度/分であった。その分析結果は図2に示す。

TG分析：ドイツのネッチ社のNetzsch TG 209F3型の熱重量分析装置によって検出し、温度範囲：30～400℃で、走査速度：10 K/minで、ブローガス：25 mL/minであった。その分析結果は図3に示す。

DVS分析：イギリスのSMS社のDVS Intrinsic型の動的水分吸着測定装置によって測定し、測定温度：25℃で、相対湿度：0～95%であった。その分析結果は図4に示す。上記実施例で製造されたステビオシドMの結晶形Aは25℃、40%RHの条件における吸湿性が明らかにステビオシドMの無定形および結晶形Bよりも低かったが、比較結果は図6および表1に

10

20

30

40

50

示す。同時に、ステビオシドMの結晶形Aは正常の保存（40％-80％RH）条件における吸湿性が無定形よりも低かった。

【 0 0 3 2 】

【表 2 - 1】

表1

サンプル名称	吸湿性	吸湿の質量変化 (0%-40%RH)	吸湿の質量変化 (40%-80%RH)
--------	-----	-----------------------	------------------------

10

【表 2 - 2】

ステビオシドMの 結晶形A	40%RH, 吸水 9.4% 80%RH, 吸水 14.0%	9.4%	4.6%
ステビオシドMの 結晶形B	40%RH, 吸水 15.3% 80%RH, 吸水 17.4%	15.3%	2.1%
ステビオシドMの 無定形	40%RH, 吸水 11.0% 80%RH, 吸水 19.2%	11.0%	8.2%

20

【 0 0 3 3 】

上記実施例で製造されたステビオシドMの結晶形Aに対し、105 の条件で1日乾燥した後、XRPD分析を行い、その分析結果は図7に示す。図7から、その結晶形が変わらなかったことがわかり、結晶形の高湿条件における安定性が優れた。一方、ステビオシドMの結晶形Bは高温条件において非常に不安定で、105 の条件で1日乾燥した後、無定形になったが、その分析結果は図8に示す。

30

上記実施例で製造されたステビオシドMの結晶形Aに対し、25 、RH 60％の条件で半年保存したが、その分析結果を図9に示す。図9から、その結晶形が変わらなかったことがわかり、当該結晶形は正常の保存条件における物理的安定性が優れたことがしめされた。

【 0 0 3 4 】

HPLC分析：アメリカのアジレント社の1260 infinity液体クロマトグラフによって測定した。サンプル溶液の調製方法：精確に25～50 mgのステビオシドMのサンプルを量り、25 mLのメスフラスコに入れた後、水-アセトニトリル(7：3、v/v)溶液を入れ、溶解させて所定を目盛りまで容量を決めた。リン酸ナトリウム緩衝液(規格：10 mmol/L、pH値：2.6)の調製方法：2.76 gaのリン酸二水素ナトリウムを2 Lの水に溶解させ、リン酸を入れ、pH値を2.6にした。クロマトグラフィーカラム：Phenomenex社のLuna 5 μ C18(2)100A型のクロマトグラフィーカラム。仕込み量：5 μ l。流速：1.0 mL/min。カラム温度：40 。検出器：210 nmの紫外線による検出。溶離勾配は以下の通りである。

40

【 0 0 3 5 】

【表 3】

時間(分)	リン酸ナトリウム緩衝液 (規格:10 mmol/L、pH値:2.6)%	アセトニトリル%
0.00	80	20
2.00	80	20
10.00	60	40
15.00	60	40
21.00	80	20
24.00	80	20

10

【0036】

その分析結果は図10に示す。上記実施例で製造されたステビオシドMの結晶形Aは、優れた化学的安定性を有し、HPLC分析では、40℃、RH 75%の条件で半年保存した後、その含有量が0.2%未満に低下した。当該結晶の高湿条件における化学的安定性が優れたことが示された。

20

【0037】

上記実施例で製造されたステビオシドMの結晶形Aは、優れた再現性を有しかつ水溶性が安定し、最大溶解度が約3 mg/mLで、24 h時点における平衡溶解度が約2 mg/mLであった。実施例で製造された2ロットのステビオシドMの結晶形Aの粉末溶出曲線は図11に示す。結晶形Aの水溶性は特許CN 105722533 Aで報告されたステビオシドD-ステビオシドM無定形組成物(約3 mg/mL)と同等で、いずれも安定して水溶性を2-3倍向上させることができる。

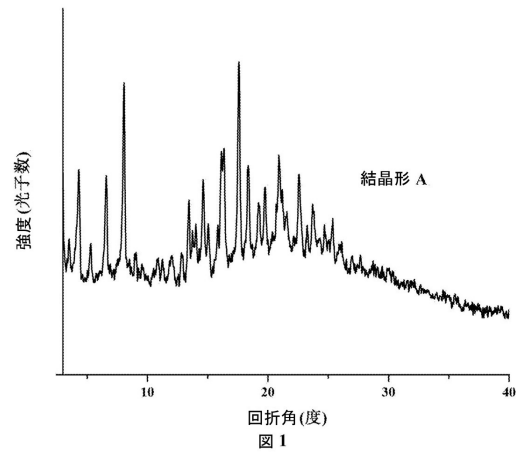
上記実施例で使用されたステビオシドMの原料は山東諸城浩天薬業有限公司によって提供された。

30

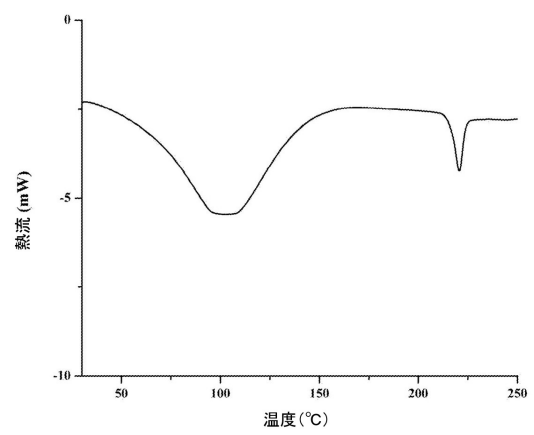
【0038】

各文献がそれぞれ単独に引用されるように、本発明に係るすべての文献は本出願で参考として引用する。また、本発明の上記の内容を読み終わった後、当業者が本発明を各種の変動や修正をすることができるが、それらの等価の形態のものは本発明の請求の範囲に含まれることが理解されるはずである。

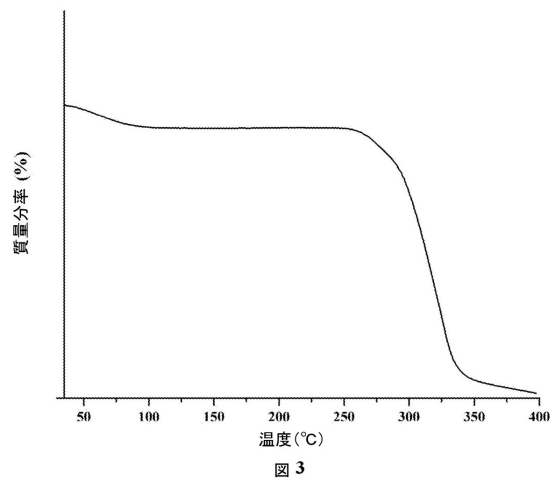
【 図 1 】



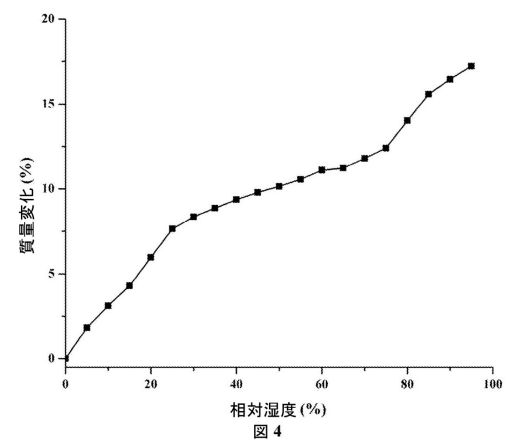
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



【図 5】

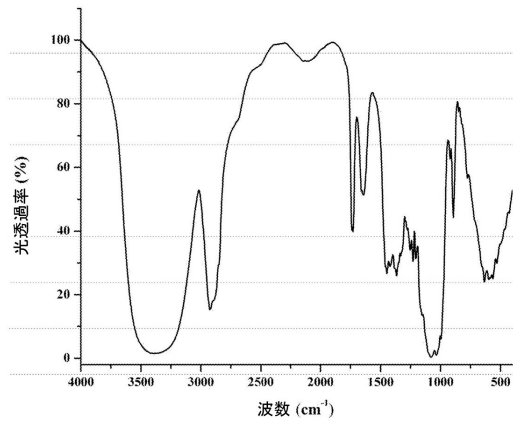


図 5

【図 6】

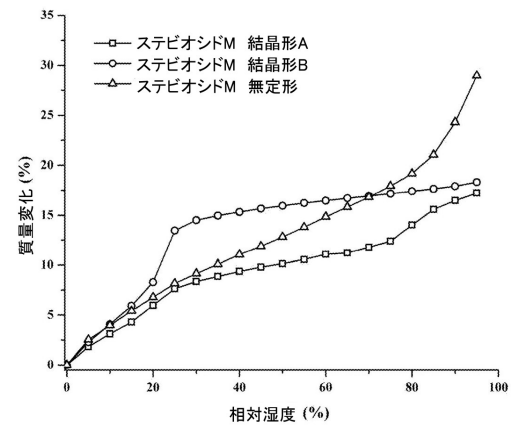


図 6

【図 7】

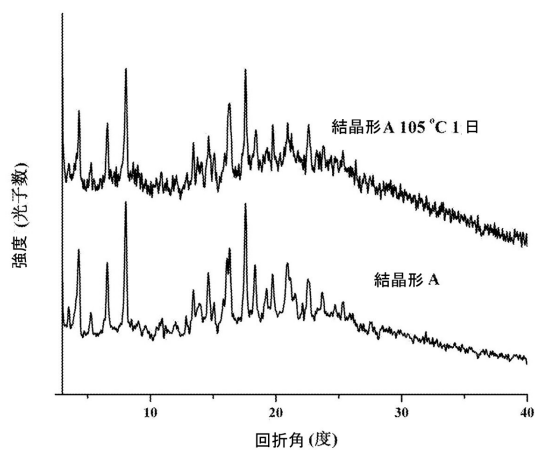


図 7

【図 8】

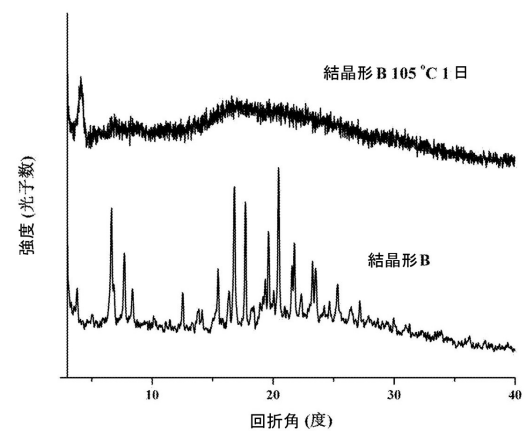


図 8

【図 9】

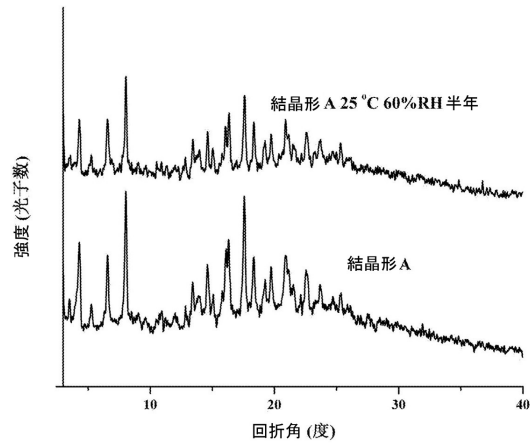


図 9

【図 10】

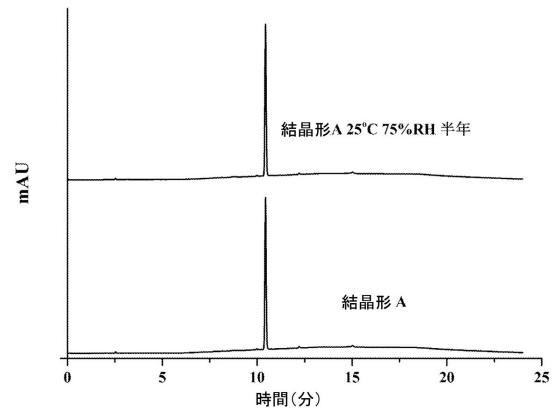


図 10

【図 11】

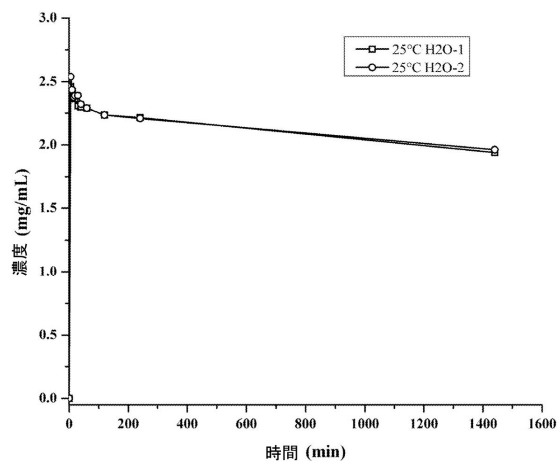


図 11

フロントページの続き

- (72)発明者 ジュ, リピン
中華人民共和国 シャンドン 2 6 2 2 1 8、ウェイファン、ジュチェン、シンシン、ハウテン
ロード 1
- (72)発明者 メイ, シュウフェン
中華人民共和国 シャンドン 2 6 2 2 1 8、ウェイファン、ジュチェン、シンシン、ハウテン
ロード 1
- (72)発明者 ファン, イン
中華人民共和国 シャンドン 2 6 2 2 1 8、ウェイファン、ジュチェン、シンシン、ハウテン
ロード 1
- (72)発明者 ワン, ジェンロン
中華人民共和国 シャンドン 2 6 2 2 1 8、ウェイファン、ジュチェン、シンシン、ハウテン
ロード 1

審査官 谷尾 忍

- (56)参考文献 中国特許出願公開第1 0 3 7 5 7 0 7 4 (C N , A)
中国特許出願公開第1 0 4 1 5 1 3 7 8 (C N , A)
中国特許出願公開第1 0 4 3 4 1 4 7 0 (C N , A)
中国特許出願公開第1 0 4 1 6 3 8 3 9 (C N , A)
特表2 0 1 7 - 5 0 4 3 4 1 (J P , A)
特表2 0 1 5 - 5 0 2 4 0 4 (J P , A)
特表2 0 1 2 - 5 0 4 5 5 2 (J P , A)

- (58)調査した分野(Int.Cl. , D B名)
C 0 7 H 1 5 / 2 5 6
A 2 3 L 2 7 / 0 0
A 6 1 K 4 7 / 2 6
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)