

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6211406号
(P6211406)

(45) 発行日 平成29年10月11日 (2017.10.11)

(24) 登録日 平成29年9月22日 (2017.9.22)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 36/48	(2006.01)	A 6 1 K 36/48	
A 6 1 K 31/352	(2006.01)	A 6 1 K 31/352	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 1/00	(2006.01)	A 6 1 P 1/00	
A 2 3 L 11/00	(2016.01)	A 2 3 L 11/00	

請求項の数 6 (全 13 頁)

(21) 出願番号 特願2013-250978 (P2013-250978)
 (22) 出願日 平成25年12月4日 (2013.12.4)
 (65) 公開番号 特開2015-107925 (P2015-107925A)
 (43) 公開日 平成27年6月11日 (2015.6.11)
 審査請求日 平成28年9月1日 (2016.9.1)

(73) 特許権者 000006769
 ライオン株式会社
 東京都墨田区本所 1 丁目 3 番 7 号
 (73) 特許権者 311002447
 キリン株式会社
 東京都中野区中野四丁目 1 〇 番 2 号
 (74) 代理人 100089118
 弁理士 酒井 宏明
 (72) 発明者 鈴木 苗穂
 東京都墨田区本所一丁目 3 番 7 号 ライ
 オン株式会社内
 (72) 発明者 物井 則幸
 東京都墨田区本所一丁目 3 番 7 号 ライ
 オン株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ムスカリン受容体活性化剤及び唾液分泌促進剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物及びル
 テオリンからなる群から選ばれる少なくとも 1 種を含有することを特徴とする、ムスカリ
 ン受容体 M 3 活性化剤。

【請求項 2】

アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物及びル
 テオリンからなる群から選ばれる少なくとも 1 種を含有することを特徴とする、唾液分泌
 促進剤。

【請求項 3】

アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物及びル
 テオリンからなる群から選ばれる少なくとも 1 種を有効成分として含有することを特徴と
 する、ムスカリン受容体 M 3 活性化用又は唾液分泌促進用組成物。

【請求項 4】

アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物及びル
 テオリンからなる群から選ばれる少なくとも 1 種を 1 ~ 5 0 質量 % 含有することを特徴と
 する、請求項 3 記載の組成物。

【請求項 5】

アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物及びル
 テオリンからなる群から選ばれる少なくとも 1 種を含有するムスカリン受容体 M 3 活性化

10

20

用又は唾液分泌促進用飲食品組成物。

【請求項 6】

アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物及びルテオリンからなる群から選ばれる少なくとも 1 種を含有するムスカリン受容体 M3 活性化用又は唾液分泌促進用飲食品。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ムスカリン受容体活性化剤及び唾液分泌促進剤に関する。

【背景技術】

10

【0002】

アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) は、ルイボスとも呼ばれ、マメ科 (*Fabaceae*) アスパラトウス属 (*Aspalathus*) に属し、針葉樹様の葉を持つ植物である。その葉を乾燥させて作るお茶は「ルイボス茶 (ルイボスティー)」と呼ばれる健康茶の一種として知られている。

【0003】

特許文献 1 には、ルイボス茶が、不眠症、神経の緊張、胃痙攣及びアレルギー症状の緩和に有効であることが知られていること、ルイボス茶中のフラボノイドは、強力な抗酸化活性及びフリーラジカルスカベンジ活性を有し、抗癌剤及び抗動脈硬化剤として作用する可能性を有することが知られていることが記載されている。また、特許文献 1 には、ルイボス茶が、抗糖尿病剤として有用であることが記載されている。

20

【0004】

特許文献 2 には、ルイボス葉の抽出エキスを含有するアディポネクチン産生阻害剤が記載されており、当該アディポネクチン産生阻害剤を痩身用途に使用することが記載されている。

【0005】

特許文献 3 には、アスパラサス・リネアリス抽出物を口臭消臭剤として含有する口腔用組成物が記載されており、該組成物を口腔湿潤剤に用いることが記載されている。

【0006】

特許文献 4 には、ルテオリンを有効成分とする口腔用抗菌剤が記載されている。

30

【0007】

ドライマウスは日常生活でも経験され、べとべとした不快感、会話の困難さ、口臭の発生等を伴う。更に病的になると、口腔内菌叢の変化から、う蝕、歯周疾患、種々の感染症等、口腔機能のみならず全身健康の不全を生ずる。したがって、唾液の分泌を促進して口腔内を潤すことは、口腔を爽快に保ち、口腔疾患や全身疾患を予防する上で重要である。

【0008】

特許文献 5 には、ポリグルタミン酸及びその塩が優れた唾液分泌促進活性と保湿作用を示すことが記載されている。しかしながら、ポリグルタミン酸及びその塩は、粘度が高く、製剤化する際、問題となる場合があった。

【先行技術文献】

40

【特許文献】

【0009】

【特許文献 1】特表 2010 - 520913 号公報

【特許文献 2】特開 2008 - 24620 号公報

【特許文献 3】特開 2006 - 117563 号公報

【特許文献 4】特開 2000 - 239136 号公報

【特許文献 5】国際公開第 2005 / 049050 号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

50

したがって、ドライマウスを軽減するのに効果的な物質の探索が求められていたことから、本発明は、ドライマウスを軽減するのに効果的な物質を提供することを課題とした。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明者らは、上記課題に鑑み鋭意検討を重ねたところ、アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物、及びルテオリンが、唾液腺細胞に存在するムスカリン受容体を活性化すること、持続的に唾液分泌を促進することを見出し、本発明を完成するに至った。

【0012】

本発明は、以下の発明を提供する。

10

〔1〕 アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物及びルテオリンからなる群から選ばれる少なくとも1種を含有することを特徴とする、ムスカリン受容体活性化剤。

〔2〕 アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物及びルテオリンからなる群から選ばれる少なくとも1種を含有することを特徴とする、唾液分泌促進剤。

〔3〕 〔1〕又は〔2〕に記載の剤を有効成分として含有することを特徴とする、ムスカリン受容体活性化剤又は唾液分泌促進剤組成物。

〔4〕 アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物及びルテオリンからなる群から選ばれる少なくとも1種を1~50質量%含有することを特徴とする、〔3〕記載の組成物。

20

〔5〕 アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物及びルテオリンからなる群から選ばれる少なくとも1種を食品に添加することを含む、食品にムスカリン受容体活性化作用及び唾液分泌促進作用からなる群から選ばれる少なくとも1つの作用を付与する方法。

【発明の効果】

【0013】

本発明に係るアスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物及びルテオリンは、ムスカリン受容体活性化作用及び唾液分泌促進作用を有し、ドライマウスの症状を効果的に寛解することができる。

30

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】図1は、ムスカリン受容体に対するルテオリンの活性化作用を示すグラフである(実施例1)。

【図2A】図2Aは、ムスカリン受容体に対するアピインの作用を示すグラフである(実施例1)。

【図2B】図2Bは、ムスカリン受容体に対するアスパラチンの作用を示すグラフである(実施例1)。

【図2C】図2Cは、ムスカリン受容体に対するアピゲニンの作用を示すグラフである(実施例1)。

40

【図2D】図2Dは、ムスカリン受容体に対するケルセチンの作用を示すグラフである(実施例1)。

【図2E】図2Eは、ムスカリン受容体に対するルテオリン-7-O-グルコシドの作用を示すグラフである(実施例1)。

【図2F】図2Fは、ムスカリン受容体に対するルテオリン-8-C-グルコシドの作用を示すグラフである(実施例1)。

【図2G】図2Gは、ムスカリン受容体に対する4',6,7-トリメトキシイソフラボンの作用を示すグラフである(実施例1)。

【図2H】図2Hは、ムスカリン受容体に対する3',4',7-トリメトキシフラボンの作用を示すグラフである(実施例1)。

50

【図 2 I】図 2 I は、ムスカリン受容体に対するダイジンの作用を示すグラフである（実施例 1）。

【図 2 J】図 2 J は、ムスカリン受容体に対するダイゼインの作用を示すグラフである（実施例 1）。

【図 2 K】図 2 K は、ムスカリン受容体に対するゲニステインの作用を示すグラフである（実施例 1）。

【図 2 L】図 2 L は、ムスカリン受容体に対するゲニスチンの作用を示すグラフである（実施例 1）。

【図 2 M】図 2 M は、ムスカリン受容体に対するグリシチンの作用を示すグラフである（実施例 1）。

10

【図 2 N】図 2 N は、ムスカリン受容体に対するグリシテインの作用を示すグラフである（実施例 1）。

【図 2 O】図 2 O は、ムスカリン受容体に対するイプリフラボンの作用を示すグラフである（実施例 1）。

【図 2 P】図 2 P は、ムスカリン受容体に対する 5 , 7 , 4 ' - トリメトキシフラボンの作用を示すグラフである（実施例 1）。

【図 3】図 3 は、ルイボス茶抽出物の唾液分泌促進効果（洗口）を示すグラフである（実施例 2）。

【図 4】図 4 は、ルイボス茶抽出物の唾液分泌促進効果（内服）を示すグラフである（実施例 3）。

20

【図 5】図 5 は、ルイボス茶抽出物による唾液分泌の実感（内服）を示すグラフである（実施例 3）。

【発明を実施するための形態】

【0015】

本発明の一実施態様では、アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物及びルテオリンからなる群から選ばれる少なくとも 1 種を含有することを特徴とする、ムスカリン受容体活性化剤を提供する。

本発明の別の実施態様では、アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物及びルテオリンからなる群から選ばれる少なくとも 1 種を含有することを特徴とする、唾液分泌促進剤を提供する。

30

【0016】

<アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) 抽出物>

アスパラサス・リネアリス (*Aspalathus linearis*) は、ルイボスとも呼ばれ（以下、単に「ルイボス」と称する。）、マメ科 (*Fabaceae*) アスパラトゥス属 (*Aspalathus*) に属する。

【0017】

ルイボスの抽出部位としては、特に制限はなく、本発明所望の効果を達成することができる限り、適宜選択することができ、例えば、葉部、若葉部、枝部、幹部、樹皮部、花部、果実部、根部などが挙げられる。これらの中でも、若葉部、枝部が好ましい。

【0018】

ルイボスの抽出部位の調製方法としては、発酵処理、粗砕機を用いた粉碎処理、又は乾燥処理、或いはこれらを組み合わせた後、後述の溶媒抽出に供することにより得ることができる。前記発酵処理としては、特に制限されず、一般に用いられている方法を用いることができる。例えば、水を含水させた後、1 ~ 24 時間、20 ~ 40 でインキュベートすることが好ましい。前記乾燥処理としては、特に制限されず、一般に用いられている方法を用いることができる。例えば、60 以下で行うことが好ましい。

40

【0019】

ルイボス抽出物は、植物の抽出に一般に用いられている方法により容易に得ることができる。ルイボス抽出物の具体的態様は、特に制限はなく、本発明所望の効果を達成することができる限り、適宜選択することができ、例えば、抽出物自体、抽出物の乾燥物、抽出

50

物の希釈液、抽出物の希釈液の乾燥物、抽出物の濃縮液（濃縮エキス）、抽出物の濃縮液の乾燥物などを用いることができる。

【0020】

ルイボスの抽出方法としては、特に制限はなく、本発明所望の効果を達成することができる限り、適宜選択することができる。例えば、抽出溶媒を満たした処理槽に抽出原料であるルイボスの抽出部位を投入し、必要に応じて適宜攪拌しながら可溶性成分を溶出した後、濾過して抽出残渣を取り除くことにより、ルイボス抽出物を得ることができる。

【0021】

ルイボスの抽出条件（抽出時間及び抽出温度）、並びにルイボスの抽出溶媒の使用量は、特に制限はなく、抽出方法等に応じて、本発明所望の効果を達成することができる限り、適宜選択することができる。

10

【0022】

ルイボスの抽出溶媒としては、特に制限はなく、本発明所望の効果を達成することができる限り、適宜選択することができる。例えば、水、親水性溶媒、疎水性溶媒、又はこれらの混合溶媒が挙げられる。水としては、特に制限はなく、投与経路や投与方法等に応じて、適宜選択することができる。例えば、純水、水道水、井戸水、鉱泉水、鉱水、温泉水、湧水、淡水、精製水、熱水、イオン交換水、生理食塩水、リン酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水などが挙げられる。親水性溶媒としては、特に制限はなく、投与経路や投与方法等に応じて、適宜選択することができる。例えば、メタノール、エタノール、プロピルアルコール、イソプロピルアルコール等の炭素数1～6の低級アルコール；アセトン、メチルエチルケトン等の低級脂肪族ケトン；1,3-ブチレングリコール、プロピレングリコール、グリセリン等の炭素数2～6の多価アルコールなどが挙げられる。疎水性溶媒としては、ベンゼン、トルエン等の芳香族炭素；酢酸エチル、アセトニトリル、エーテル等の有機溶媒；ジクロロメタン、クロロホルム等のハロゲン化炭素などが挙げられる。混合溶媒としては、特に制限はなく、上記水や上記親水性溶媒等を、適宜混合して使用することができる。低級アルコールを使用する場合は、水10質量部に対して1質量部～90質量部、低級脂肪族ケトンを使用する場合は、水10質量部に対して1質量部～90質量部、多価アルコールを使用する場合は、水10質量部に対して1質量部～90質量部、添加することが好ましい。また、前記ルイボスの抽出溶媒は、室温乃至溶媒の沸点以下の温度で用いることが好ましい。これらの中でも、熱水を用いて抽出することが、好ましい。

20

30

【0023】

ルイボス抽出物は、必要に応じて、精製して用いることができ、その精製方法に特に制限はなく、適宜選択することができる。例えば、液-液分配抽出、各種クロマトグラフィー、膜分離、超臨界流体抽出などの精製方法が挙げられる。

【0024】

例えば、ルイボス抽出物としては、市販のルイボス茶エキス粉末を用いることができ、かかる市販のルイボス茶エキス粉末の製造方法としては、ルイボスの発酵した若葉の熱水抽出物をろ過し、ろ液を濃縮乾燥して粉末にする方法が知られている。

【0025】

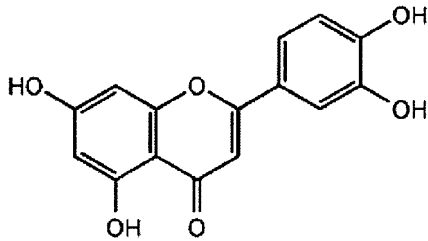
<ルテオリン>

40

ルテオリンは、ルイボスに含まれることが周知の成分であり、以下の構造を有する化合物である。

【0026】

【化 1】



【 0 0 2 7 】

本発明において使用するルテオリンは、ルイボス抽出物から得てもよいし、化学的に合成することによって得てもよいし、市販品を使用してもよい。ルテオリンの化学的合成方法としては、例えば、Liebigs Annalen, Volume 1995, Issue 9, pages 1711 - 1715, 1995に記載されている。

10

【 0 0 2 8 】

ルイボス抽出物及び／又はルテオリンを、有効量、被験者に摂取させる（投与する）。「有効量」とは、被験者のムスカリン受容体を活性化する又は唾液分泌を促進するのに有意な量を意味する。当該有意な量は、本願明細書の実施例の記載等を参酌して、当業者が適宜設定することができる。当該有意な量は、通常、被験者の状態や年齢に依存する。

【 0 0 2 9 】

本発明の剤又は組成物は、ムスカリン受容体を活性化することができるので、発汗促進作用、胃酸分泌促進作用、排尿促進作用、蠕動運動促進、唾液分泌促進作用などが期待できる。

20

【 0 0 3 0 】

ルイボス抽出物の乾燥末の場合、上記有意な量は、例えば、1 mg / day ~ 1000 mg / day が好ましく、10 mg / day ~ 1000 mg / day がより好ましく、20 mg / day ~ 500 mg / day が更により好ましい。かかる量を1日1回摂取（投与）してもよいし、1日に複数回に分けて摂取（投与）してもよい。複数回に分けて摂取（投与）する場合には、抽出前の乾燥ルイボスに換算して、5 mg / 回 ~ 5000 mg / 回が好ましく、50 mg / 回 ~ 10000 mg / 回がより好ましく、100 mg / 回 ~ 5000 mg / 回が更により好ましい。

30

【 0 0 3 1 】

ルテオリンの場合、上記有意な量は、例えば、1 µg / day ~ 10000 µg / day が好ましく、10 µg / day ~ 1000 µg / day がより好ましく、20 µg / day ~ 500 µg / day が更により好ましい。かかる量を1日1回摂取（投与）してもよいし、1日に複数回に分けて摂取（投与）してもよい。複数回に分けて摂取（投与）する場合には、0.5 µg / 回 ~ 5000 µg / 回が好ましく、5 µg / 回 ~ 500 µg / 回がより好ましく、10 µg / 回 ~ 250 µg / 回が更により好ましい。

【 0 0 3 2 】

本発明の剤又は組成物は、本発明所望の効果を得られる限り、摂取（投与）経路は特に限定されない。例えば、経口（例えば、口腔内、舌下など）、非経口（静脈内、筋肉内、皮下、経皮、経鼻、経肺など）などの経路が挙げられる。これらの中でも侵襲性の少ない経路が好ましく、経口がより好ましい。

40

【 0 0 3 3 】

ルイボス抽出物及び／又はルテオリンの摂取（投与）は、好ましくは経口摂取（経口投与）による。

【 0 0 3 4 】

経口摂取（経口投与）の場合の本発明のルイボス抽出物及び／又はルテオリンの一態様としては、例えば、粉末、細粒、顆粒、カプセル、サシェ、タブレット、ボラス、ロゼンジ、フィルム等の固体態様；水溶液、エキス、懸濁液、シロップ、エリキシル、エマルジョン、分散体等の液体態様；半液体状、クリーム状、ペースト状、ゲル状等の態様が挙

50

げられる。ルイボス抽出物及び／又はルテオリンは、ピルの形態（カプセル中の粉末又は液体）、又は（粉末茶を飲むのと同様に）水やお湯等の液体に入れたり又は溶かしたりした後で摂取され得る粉末形態や顆粒形態（フリーズドライ顆粒を含む）で摂取（投与）してもよい。

【0035】

非経口投与の場合の本発明のルイボス抽出物及び／又はルテオリンの一態様としては、例えば、水溶液、エキス、懸濁液、エマルジョン、分散体等の液体などの静脈内注射剤、筋肉内注射剤又は皮下注射剤；水溶液、エキス、懸濁液、エマルジョン、分散体等の液体などの経皮投与剤；水溶液、エキス、懸濁液、エマルジョン、分散体等の液体、粉末、細粒などの経鼻投与剤又は経肺投与剤などの態様が挙げられる。

10

【0036】

本発明の剤は、そのまま摂取（投与）してもよい。また、飲食品や機能性食品、組成物に、ムスカリン受容体活性化作用及び唾液分泌促進作用からなる群から選ばれる少なくとも1つの作用を付与するための添加剤として使用してもよい。さらに、本発明の剤は、ムスカリン受容体活性化作用又は唾液分泌促進作用組成物に、有効成分として含めることもできる。かかる組成物としては、例えば、口腔用組成物、内服組成物、医薬組成物が好ましい。当該組成物の有効成分として含有せしめる場合、ルイボス抽出物及びルテオリンからなる群から選ばれる少なくとも1種を0.00001～90質量%（ルイボス抽出物の場合、ルイボスの乾燥末に換算して）含有させることが好ましく、0.0001～50質量%含有させることがより好ましく、0.01～10質量%含有させることが更により好ましい。

20

【0037】

本発明の剤を、ムスカリン受容体活性化作用及び唾液分泌促進作用からなる群から選ばれる少なくとも1つの作用を付与するための添加剤として配合し得る飲食品や機能性食品、組成物には、特に制限はなく、例えば、飲料（清涼飲料、炭酸飲料、栄養飲料、粉末飲料、果実飲料、乳飲料、ゼリー飲料など）、菓子類（クッキー、ケーキ、ガム、キャンディー、タブレット、グミ、饅頭、羊羹、プリン、ゼリー、アイスクリーム、シャーベットなど）、水産加工品（かまぼこ、ちくわ、はんぺんなど）、畜産加工品（ハンバーグ、ハム、ソーセージ、ウィンナー、チーズ、バター、ヨーグルト、生クリーム、マーガリン、発酵乳など）、スープ（粉末状スープ、液状スープなど）、主食類（ご飯類、麺（乾麺、生麺）、パン、シリアルなど）、調味料（マヨネーズ、ショートニング、ドレッシング、ソース、たれ、しょうゆなど）、練り歯磨剤、液体歯磨剤、液状歯磨剤、粉歯磨剤などの歯磨剤組成物、洗口剤組成物、塗布剤組成物、口腔用パスタ、口中清涼剤組成物が挙げられる。

30

【0038】

本発明の剤又は組成物は、ルイボス抽出物及び／又はルテオリンに加えて、固形剤形や液体剤形を製造するのに用いられている慣用の任意の補助成分、例えば、賦形剤、希釈剤、緩衝剤、着香剤、着色剤、矯味剤、結合剤、界面活性剤、増粘剤、滑沢剤、懸濁剤、防腐剤、酸化防止剤、研磨剤、湿潤剤、粘結剤、pH調整剤、光沢剤、薬用成分、溶剤、賦形剤などの1種以上を含有せしめてもよい。任意の補助成分は、剤型に応じて適宜選択し得る。本発明に配合可能な成分はこれらに制限されるものではない。

40

【0039】

本発明の剤又は組成物を摂取（投与）するタイミングは、特に限定されるものではないが、本発明の剤又は組成物は即効性があることから、ドライマウスを感じた時に摂取（投与）するのが好ましい。

【0040】

以下に、本発明を実施例に基づいて詳細に説明するが、本発明の実施態様は、本実施例に限定されるものではない。

【実施例】

【0041】

50

【実施例 1】ムスカリン受容体活性化作用

ポジティブコントロールとして塩化アセチルコリン（和光純薬工業株式会社）を、リガンドサンプルとしてルイボス抽出物（茶葉 0.25% 熱水抽出物、丸紅株式会社）、ルテオリン（EXTRASYNTHESSE）、アピニン（Applichem）、アスパラチン（Phytolab）、アピゲニン（EXTRASYNTHESSE）、ケルセチン（EXTRASYNTHESSE）、ルテオリン-7-O-グルコシド（別名：シナロシド、EXTRASYNTHESSE）、ルテオリン-8-C-グルコシド（別名：オリエンチン、EXTRASYNTHESSE）、4', 6, 7-トリメトキシイソフラボン（EXTRASYNTHESSE）、3', 4', 7-トリメトキシフラボン（EXTRASYNTHESSE）、ダイジン（和光純薬工業株式会社）、ダイゼイン（和光純薬工業株式会社）、ゲニステイン（和光純薬工業株式会社）、ゲニスチン（和光純薬工業株式会社）、グリシチン（和光純薬工業株式会社）、グリシテイン（和光純薬工業株式会社）、イプリフラボン（和光純薬工業株式会社）、5, 7, 4'-トリメトキシフラボン（INDOFINE Chemical Company, Inc.）を用いた。

サンプルは熱水抽出を行ったルイボス抽出物以外は 100% エタノール（和光純薬工業）に懸濁し、アッセイキットに付属しているバッファーで希釈した。細胞はマウスムスカリン M3 受容体を発現している M3WT5 (ATCC) をそれぞれ Ham's F-12 Nutrient Mix (Life Technologies) に終濃度 1% の FBS を添加した培地で 2×10^4 cells / 50 μ l / well になるように Biocoat Poly-D-Lysine 384-Well Black / Clear Plate (BD Biosciences) に播種した。これを一晩 CO₂ インキュベーターで培養し、アッセイに供した。

アッセイは Fluor-4 Direct (登録商標) Calcium Assay Kit (Life Technologies) を 1 ウェルあたり 42 μ l 添加し、遮光して室温で 30 分静置した。その後、FDSS (浜松ホトニクス株式会社) を用いて、ムスカリン M3 受容体の阻害剤であるアトロピン（株式会社日本点眼薬研究所）、又は HBSS - 20 mM HEPES を 1 ウェルあたり 6 μ l 添加した。アトロピンは終濃度が 10 μ M になるように 10 倍濃度に調製した。阻害剤又は HEPES を添加した後、CO₂ インキュベーターで 10 分培養した。培養後、ルイボス抽出物については前記熱水抽出物をそれぞれ 5%、0.5%、0.1% に HBSS - 20 mM HEPES で希釈したものを、FDSS を用いてそれぞれ 12 μ l 添加した。また、それ以外のサンプルについては終濃度より 5 倍濃いリガンド又は HBSS - 20 mM HEPES を 1 ウェルあたり 12 μ l 添加し、3 分間測定を行った。ポジティブコントロールであるアセチルコリンは 10 nM から細胞内のカルシウムを上昇させ、アトロピンが共存することによってその上昇の抑制が認められた。ルイボス抽出物はいずれのサンプルについても細胞内のカルシウムイオンが上昇し、その上昇がアトロピンを添加することで大きく抑制されることを確認した。そこでルイボス抽出物に含まれるルテオリンについて上記アッセイ系に供したところ、図 1 に示すように、ルテオリンはマウスムスカリン M3 受容体を刺激することが確認された。また、この応答はアトロピン添加で阻害された。一方で、ルテオリン以外のフラボノイド関連サンプルでは上記応答は見られなかった（図 2 A ~ 図 2 P）。

【0042】

【実施例 2】洗口での唾液分泌促進作用

1 質量% ルイボスエキス粉末（ルイボス茶エキスパウダー MF、丸善製薬株式会社）の水溶液 20 mL を口に含み、30 秒後に吐き出した。その後、各タイムポイントで唾液を飲み込まないようにし、口腔内に溜まった唾液を遠沈管に吐き出した。遠沈管の重量を測定することにより、唾液分泌量を測定した。本試験のコントロールは水であり、n 数は、12 人である。

コントロール（水）の際の唾液分泌量を 100% とした。

結果（平均値）を図 3 に記載した。

結果から、コントロールでの洗口時に比べ、ルイボスエキス水溶液での洗口時の方が、

10

20

30

40

50

唾液分泌量が増大したことが分かる。

【 0 0 4 3 】

〔実施例 3〕内服での唾液分泌促進作用

ルイボスエキス粉末 1 0 0 m g（ルイボス茶乾燥エキス F、丸善製薬株式会社）を水で内服し、内服 2 時間後までの唾液分泌量を、実施例 2 の測定方法と同様にして測定した。

また、下記の評価基準で実感評価による官能的評価も行った。本試験のコントロールは水であり、n 数は、5 人である。

結果（平均値）を図 4、図 5 に記載した。

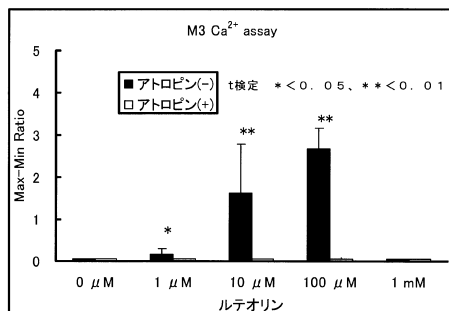
結果から、コントロール内服時に比べ、ルイボスエキス内服時の方が、唾液分泌量が増大したこと、口中に潤いを感じられた割合が高いことが分かる。

10

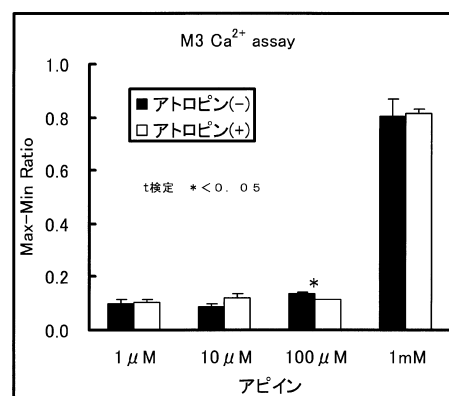
< 評価基準 >

- 1 点；口中にうるおいが与えられた感じを、非常に感じた。
- 2 点；口中にうるおいが与えられた感じを、感じた。
- 3 点；口中にうるおいが与えられた感じを、やや感じた。
- 4 点；口中にうるおいが与えられた感じは、どちらともいえない。
- 5 点；口中にうるおいが与えられた感じを、あまり感じなかった。
- 6 点；口中にうるおいが与えられた感じを、感じなかった。
- 7 点；口中にうるおいが与えられた感じを、全く感じなかった。

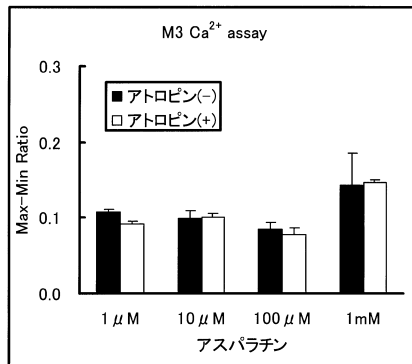
【 図 1 】



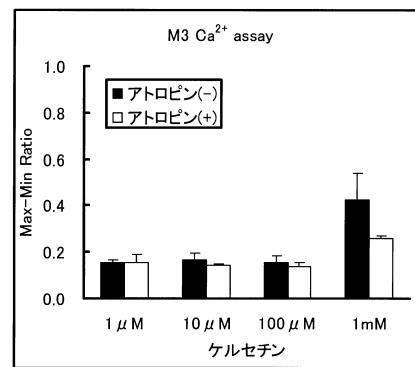
【 図 2 A 】



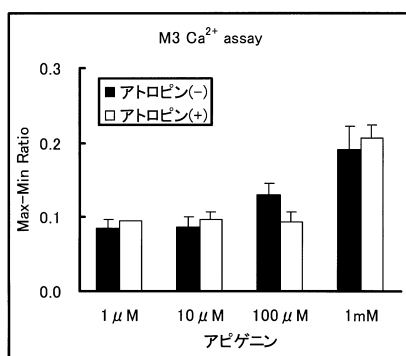
【図 2 B】



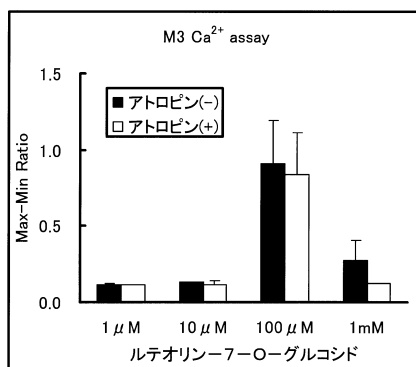
【図 2 D】



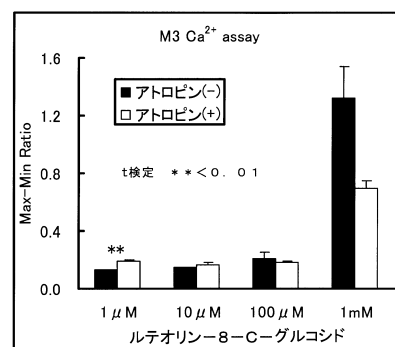
【図 2 C】



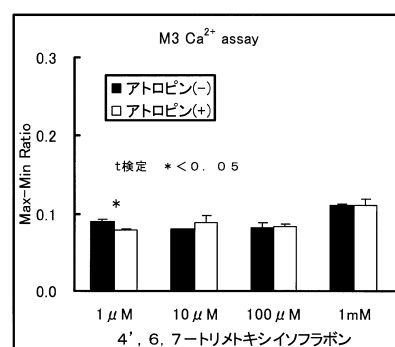
【図 2 E】



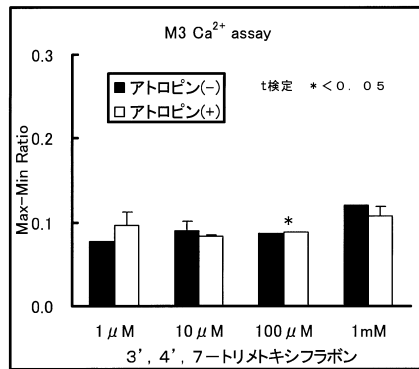
【図 2 F】



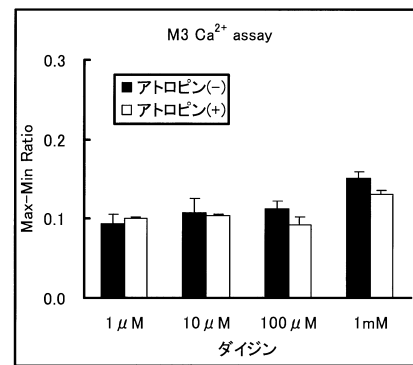
【図 2 G】



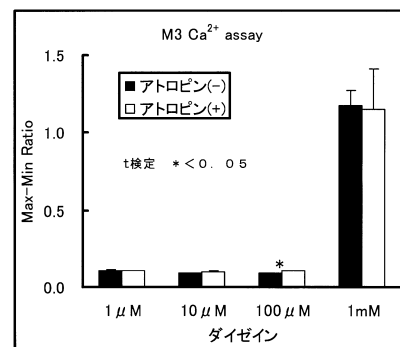
【図 2 H】



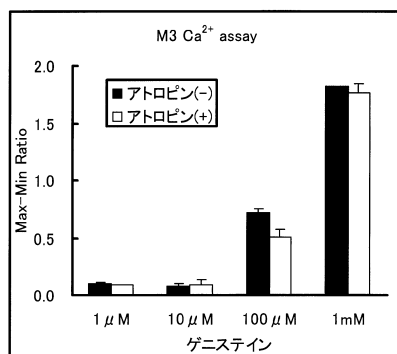
【図 2 I】



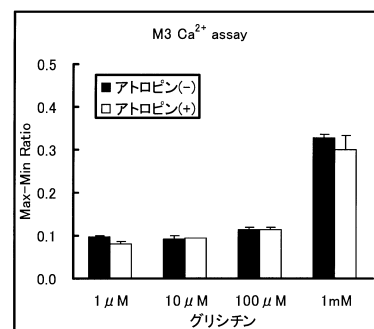
【図 2 J】



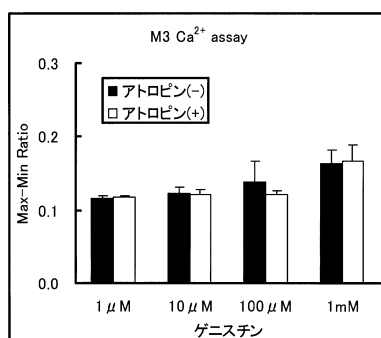
【図 2 K】



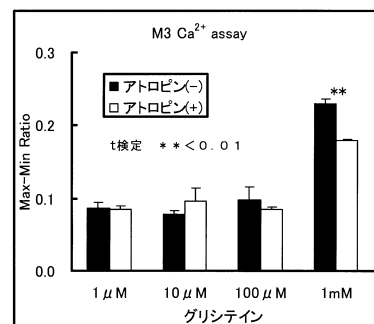
【図 2 M】



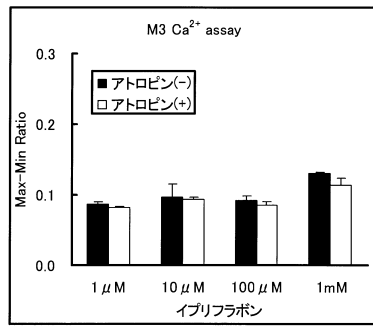
【図 2 L】



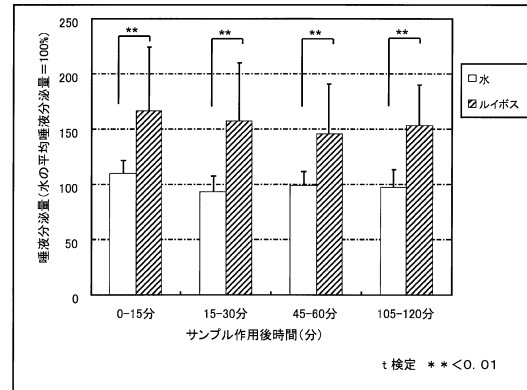
【図 2 N】



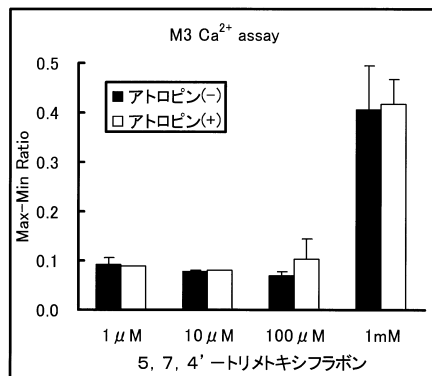
【図 2 O】



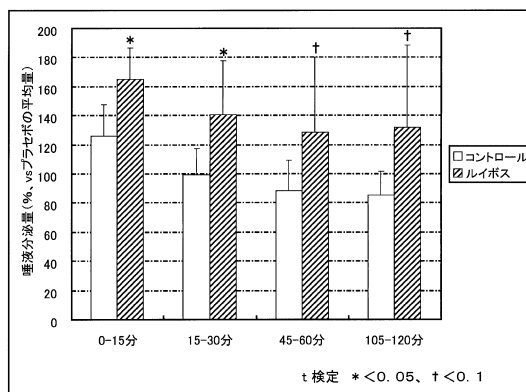
【図 3】



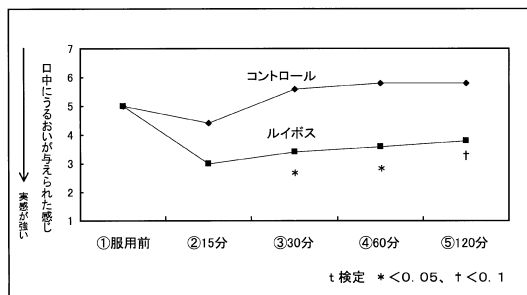
【図 2 P】



【図 4】



【図 5】



フロントページの続き

- (72)発明者 曾我 晶子
東京都墨田区本所一丁目3番7号 ライオン株式会社内
- (72)発明者 翠川 辰行
東京都墨田区本所一丁目3番7号 ライオン株式会社内
- (72)発明者 菅藤 寿裕
東京都墨田区本所一丁目3番7号 ライオン株式会社内
- (72)発明者 安達 宏
東京都墨田区本所一丁目3番7号 ライオン株式会社内
- (72)発明者 三浦 裕
東京都中野区中野四丁目10番2号 中野セントラルパークサウス キリン株式会社内
- (72)発明者 森田 悠治
東京都中野区中野四丁目10番2号 中野セントラルパークサウス キリン株式会社内
- (72)発明者 田墨 恭子
東京都中野区中野四丁目10番2号 中野セントラルパークサウス キリン株式会社内

審査官 横田 倫子

- (56)参考文献 特表2013-514995(JP, A)
国際公開第2005/085223(WO, A1)
Life Science, 2007, Vol.80, p.1692-98
日口粘膜誌, 2001, Vol.7 No.2, p.71-78
日本臨床免疫学会会誌, 2010, Vol.33 No.4, p.222-228
AANA J., 2009, Vol.77 No.1, p.33-6
J Ethnopharmacol., 2000, Vol.69, p.105-114

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 36/00
A23L 11/00
A61K 31/352
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
CAplus/REGISTRY(STN)
CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)