

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-511024
(P2010-511024A)

(43) 公表日 平成22年4月8日(2010.4.8)

(51) Int.Cl.		F 1	テーマコード (参考)	
A61K	36/18	(2006.01)	A 61 K	35/78
A61P	31/04	(2006.01)	A 61 P	31/04
A61P	1/02	(2006.01)	A 61 P	31/04
A61P	43/00	(2006.01)	A 61 P	1/02
			A 61 P	43/00
				1 1 1

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2009-538773 (P2009-538773)	(71) 出願人	390037914 マース インコーポレーテッド MARS INCORPORATED アメリカ合衆国 ヴージニア州 221 01-3883 マックリーン エルム ストリート 6885
(86) (22) 出願日	平成19年11月27日 (2007.11.27)	(74) 代理人	100073184 弁理士 柳田 征史
(85) 翻訳文提出日	平成21年7月27日 (2009.7.27)	(74) 代理人	100090468 弁理士 佐久間 剛
(86) 国際出願番号	PCT/GB2007/004526		
(87) 国際公開番号	W02008/065377		
(87) 国際公開日	平成20年6月5日 (2008.6.5)		
(31) 優先権主張番号	0623618.6		
(32) 優先日	平成18年11月27日 (2006.11.27)		
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 口腔衛生組成物

(57) 【要約】

本発明は、口腔衛生用途に使用するためのオルソシフォン・スピカタス、オルソシフォン・スピカタスを含む経口組成物、および、好ましくは、動物の口腔における、歯垢の低減または抑制、および/または歯垢の細菌量の変更を通じた、動物の口腔衛生の改善または維持における、オルソシフォン・スピカタスまたは前記組成物の使用に関する。本発明はまた、動物の歯肉炎の予防または治療用のオルソシフォン・スピカタスを含む。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

動物の口腔衛生の維持または改善用のオルソシフォン・スピカタス。

【請求項 2】

動物の歯肉炎の予防および治療用であることを特徴とする請求項 1 記載のオルソシフォン・スピカタス。

【請求項 3】

前記オルソシフォン・スピカタスが、前記動物の口腔の歯垢および／またはブラークによって產生される疾患を引き起こす因子を低減、抑制または調節することを特徴とする請求項 1 または 2 記載のオルソシフォン・スピカタス。

【請求項 4】

前記オルソシフォン・スピカタスが、前記動物の口腔内の歯垢の細菌量を変化させることを特徴とする請求項 1 ~ 3 いずれか 1 項記載のオルソシフォン・スピカタス。

【請求項 5】

前記オルソシフォン・スピカタスが、前記細菌量を低減させることによって前記細菌量を変化させることを特徴とする請求項 4 記載のオルソシフォン・スピカタス。

【請求項 6】

前記オルソシフォン・スピカタスが、前記動物の口腔に存在する歯垢の衛生を改善することを特徴とする請求項 1 ~ 5 いずれか 1 項記載のオルソシフォン・スピカタス。

【請求項 7】

前記オルソシフォン・スピカタスが歯垢における、炎症性プロテアーゼおよび／または病原菌のレベルを抑制または低減させることを特徴とする請求項 1 ~ 6 いずれか 1 項記載のオルソシフォン・スピカタス。

【請求項 8】

前記病原菌が黒色色素產生性嫌気性菌を含むことを特徴とする請求項 7 項記載のオルソシフォン・スピカタス。

【請求項 9】

前記病原菌がペプトストレプトコッカスを含むことを特徴とする請求項 7 項記載のオルソシフォン・スピカタス。

【請求項 10】

前記動物がネコ、イヌ、またはヒトであることを特徴とする請求項 1 ~ 9 いずれか 1 項記載のオルソシフォン・スピカタス。

【請求項 11】

オルソシフォン・スピカタスを含む経口組成物。

【請求項 12】

請求項 1 ~ 10 いずれか 1 項記載の用途のための請求項 11 記載の組成物。

【請求項 13】

前記オルソシフォン・スピカタスが、前記組成物中に 0.1 % ~ 20 % の濃度で存在することを特徴とする請求項 11 または 12 記載の組成物。

【請求項 14】

前記組成物が食材であることを特徴とする請求項 11 ~ 13 いずれか 1 項記載の組成物。

【請求項 15】

動物の口腔衛生の改善または維持のための組成物の製造におけるオルソシフォン・スピカタスの使用方法。

【請求項 16】

動物の歯肉炎の予防または治療のための組成物の製造におけるオルソシフォン・スピカタスの使用方法。

【請求項 17】

前記組成物が、前記動物の歯垢を低減または調節することを特徴とする請求項 15 また

10

20

30

40

50

は 16 記載の使用方法。

【請求項 18】

オルソシフォン・スピカタスまたは請求項 11～14 いずれか 1 項記載の組成物を有効量で動物に投与する工程を含む、前記動物の口腔衛生を維持または改善する方法。

【請求項 19】

実質的に実施例に記載されている用途のオルソシフォン・スピカタス。

【請求項 20】

実質的に実施例に記載されている、経口組成物。

【請求項 21】

実質的に実施例に記載されている、動物の口腔衛生を維持または改善する方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、口腔衛生用途に使用するためのオルソシフォン・スピカタス (*Orthosiphon spicatus*)、オルソシフォン・スピカタスを含む経口組成物、および、好ましくは、動物の口腔における、歯垢の低減または調節、および／または歯垢の細菌量の変更を通じた、動物の口腔衛生の改善または維持における、オルソシフォン・スピカタスまたは前記組成物の使用に関する。本発明はまた、動物の歯肉炎の予防または治療用のオルソシフォン・スピカタスを含む。本発明は、動物の口腔衛生を改善または維持する方法についても提供する。

20

【背景技術】

【0002】

動物における口腔衛生の維持または改善の必要性は、非常に重大である。口腔衛生の不良は、歯周疾患（歯肉炎）、および最終的には、動物の健康にとって深刻な影響を有しうる、歯の喪失につながる可能性がある。

【0003】

多くの疾患および病状が、口腔衛生の不良の原因となりうる。ネコおよびイヌに最もよく見られるものの 1 つは、歯周疾患である。歯周疾患は、すべてのネコおよびイヌの一生のある時期において、影響を及ぼす。歯周疾患のすべての事例における病原体は、歯垢である。

30

【0004】

愛玩動物における歯垢の形成（および歯肉炎などの関連する症状）を低減または調節するための現在の食餌方法は、通常、動物が咀嚼または摂食する際に、歯から歯垢をこすり落とす作用をする、硬い噛み物（chews）またはトリーツ（treats）などの機械的手段である。機械的手段は、その効果をテクスチャに依存しており、その手段が破損に耐え、したがって咀嚼の際の歯磨き時間を増加させるためには、もろいよりは噛み応えのあるテクスチャが好ましい。ネコは、長時間咀嚼することへの熱中度がイヌよりも低い。したがって、種々の動物用の製品は、これらのさまざまな選好を考慮して、テクスチャが異なっている。

【0005】

テクスチャ加工された玩具を用いて、テクスチャ加工された表面を提供する任意の製品を摂取することなく、歯の表面から機械的に歯垢を除去してもよい。

【0006】

しかしながら、テクスチャ加工された食材または玩具などの機械的手段による歯垢の除去は、歯の表面から歯垢をこすり落とすために、動物がその機械的手段の咀嚼に十分な時間をかけることを当てにしている。その所要時間を見積もり、監視することは難しい。加えて、口腔内のすべての歯の表面の歯垢の調節は、機械摩耗だけでは達成することが困難であり、特定の歯は、他の歯よりも効率よく歯垢の除去を受けることとなる。

【0007】

歯垢は、ブラッシングによる歯磨きによっても除去または低減されうる。しかしながら

40

50

、飼い主による歯磨きの順守は低く、その結果、毎日歯磨きによる口腔ケアを受けているイヌおよびネコはほとんどいない。

【0008】

歯垢の除去のための機械的手段の代替として、クロルヘキシジンおよびトリクロサンなどの特定の合成化合物を抗菌剤として使用して、歯垢を低減させることができる。しかしながら、これらの化合物は、広範囲に及ぶ抗菌剤であり、したがって、定期的に摂取すると、健全な腸内細菌叢群のバランスを崩す可能性がある。さらには、特定の歯垢細菌は歯周の健康と関係しており、幅広い抗菌効果を伴う処理は、これらの個体群を破壊し、実質的に、健全な口腔の細菌叢を低減させる結果となり、口腔衛生の低下につながるであろう。

10

【0009】

歯の表面の細菌性バイオフィルムの蓄積は、十分に対処しない場合には、歯肉炎を生じる。歯肉炎は、歯肉線上に蓄積した歯垢によって生じる歯肉の炎症である。それは、歯肉の痛み、発赤、および出血を生じさせうる。

【0010】

口腔衛生の不良のさらなる有力な要因は、歯石である。歯石は、正常の場合、歯磨きによっては除去することができず、歯の表面に蓄積し、歯肉組織を刺激し、歯肉炎を生じさせる。これは、口腔衛生が不良である、または低下していることのさらなる徴候である。

20

【0011】

トリポリリン酸ナトリウムなどの歯石形成抑制剤をペットの食材または人間の口腔衛生製品に加えることは、歯石の蓄積予防の助けとなる。しかしながら、これは、動物の口腔衛生上、歯周疾患の有害な影響の一因となっている歯垢内の細菌群組成に対処するものではない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

したがって、動物における歯垢の影響を、特に、自然な方法で、単に機械的手段、あるいは合成化学物質または化合物に頼らずに、動物にストレスを与えることなく、低減させることが必要とされている。さらには、動物における歯肉炎の予防および治療も依然として必要とされている。

30

【課題を解決するための手段】

【0013】

したがって、本発明は、動物における口腔衛生の改善または維持に使用するオルソシフォン・スピカタスを提供する。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図1】未処理対照の割合で表した、処置されたバイオフィルムから培養した通性嫌気性菌におけるオルソシフォン・スピカタスの効果。未処理 C F U (コロニー形成単位) (100%) = $4.05 \times 10^7 / \text{mL}$

40

【図2】未処理対照の割合で表した、処置されたバイオフィルムから培養した気難しい (Fastidious) 嫌気性菌におけるオルソシフォン・スピカタスの効果。未処理 C F U (100%) = $2.96 \times 10^7 / \text{mL}$

【発明を実施するための形態】

【0015】

オルソシフォン・スピカタス (マータス・コミュニス (*Myrtus communis*)) は、南欧および北アフリカ原産のフトモモ科 (*Myrtaceae*) の顕花植物である。

【0016】

本発明者らは、オルソシフォン・スピカタスが、動物の口腔衛生を改善および/または維持可能であることを、偶然にも見出した。

【0017】

50

オルソシフォン・スピカタスは、動物の歯垢を調節または低下させることによって、動物の口腔衛生を改善または維持することが好ましく、それによって、歯垢および／またはプラークによって生じる疾患を引き起こす因子が、動物の口腔において低減されることを意味する。

【0018】

歯垢は、好気性および嫌気性の細菌からなる、混合細菌群である。歯垢は個体間で変化しうるが、その形成過程は、(i) 第1のコロニー形成(付着)、(ii) 第2のコロニー形成(共凝集)、および(iii) 成熟(病原性)の3つの重要事象に分けることができる。

【0019】

歯垢の発達は、歯の表面が、歯の唾液ペリクルといわれる、タンパク質および糖タンパク質のフィルムで覆われることから始まる。細菌の先駆種が唾液ペリクル内の分子に付着し、最初に単層を、次いで歯の表面と垂直に細菌の垣を形成する(pallisades)。

【0020】

細菌は、弱い引力によって短時間保持され、その間に、多くの特異的付着メカニズムが、かなりの時間、表面の近くに細胞を保持する。これらの特異的相互作用は、場合によっては細胞表面から突き出る微細線維または線毛と呼ばれる纖細な構造を含みうる、レクチン様の、静電気的相互作用および疎水的相互作用の組合せでありうる。その後、初期の付着は細胞外ポリマーの産生によって、実質上不可逆になる。

【0021】

ヒトでは、連鎖球菌は、唾液ペリクルに付着するすべての細菌の47～52%を構成する、最も一般的な主要な定着菌群である。

【0022】

この初期段階の間およびその後、種々の細菌による第2のコロニー形成が生じ、細菌多様性の大幅な増加に至る。第2のコロニー形成の事象の中で最も重要なのは、共凝集の過程であり、それによって主要な定着菌群がコロニー形成の基質として作用する。

【0023】

共凝集は、「混合性の細胞凝集が形成されるような、2種類の異なる細菌性細胞型の表面分子間の認識」であるとされている。共凝集はまた、「懸濁液におけるパートナー細胞間の付着」ともいわれている。

【0024】

共凝集は、特定の細菌「パートナー」間に生じる、きわめて特異的な過程である。各株は、独自のパートナー、および、細胞-細胞間の認識メカニズムを有している。他のいくつかの株と共凝集することのできる株群もまた存在する。人体研究に基づいて、これらのその後に定着菌群の中心となる、このような生命体の1つは、成熟した歯垢における主要な生命体である、フソバクテリウム・ヌクレアタムである。

【0025】

共凝集は、人の歯垢形成において重要な役割を果たすことが知られている。イヌの口腔細菌の異なる株間の共凝集は、他の動物における歯垢の形成および発達におけるこの作用と同様の役割を示すことが、インビトロで測定されている。

【0026】

歯垢のバイオフィルムの発達のある時点において、すべての組成における変化率が遅くなる。バイオフィルムがこの段階に達するには数日かかると考えられているが、それが起こる時点については現在のところ判明していない。

【0027】

ヒトの歯垢では、一連の細菌種は、グラム陽性の球菌および桿菌として生じ、次第に、グラム陰性の、フィラメント状および鞭毛を有する生命体に置き換わる。成熟したバイオフィルムもまた、深さが増加するにつれて、次第に嫌気性になる傾向にある。

【0028】

この時点では、バイオフィルムは極相群落に達しているといわれ、そこでは、多くの細

10

20

30

40

50

菌はその生存をバイオフィルム内の他の細菌に依存している。この段階では、歯周疾患に関連する多くの生命体が存在する。これらの細菌は、プロテアーゼおよび溶血素など、歯周疾患の病原因子である、多くの化合物を产生する。プロテアーゼ、特にトリプシンは、免疫グロブリンを分解し、サイトカインおよびそれらの受容体を不活性化し、宿主組織を分解し、口腔内の出血を促進する能力を含む、多くの能力を有することが報告されている。歯垢の細菌は、歯垢のバイオマスとして知られている。

【0029】

ポルフィロモナス属、バクテロイデス属、およびプレボテラ属などの黒色色素産生性嫌気性菌に加えて、ペプトストレプトコッカスなどの病原菌も、しばしば歯垢中に存在し、そのすべてが病状の一因となると考えられている。

10

【0030】

本発明のオルソシフォン・スピカタスは、これらのバイオフィルムの形成の抑制、および/またはバイオフィルムの有害な活性の抑制に有用であり、したがって、動物における歯垢を調節または低減することによって口腔衛生を改善または維持するのに役立つ。本発明のオルソシフォン・スピカタスはまた、動物の歯肉炎の予防または治療を提供する。

【0031】

バイオフィルムにおける病原菌のレベルの低下によって、歯垢の衛生が改善される。したがって、本発明のオルソシフォン・スピカタスは、歯垢の細菌量を変化させるのに有用であり、動物の口腔における歯垢の病原菌量を低減させることが好ましい。オルソシフォン・スピカタスはまた、歯垢の健全な細菌の増殖を促進しうる。本発明のオルソシフォン・スピカタスは、動物の口腔に存在する歯垢の衛生の改善に有用である。

20

【0032】

本発明のオルソシフォン・スピカタスは、動物の歯垢における炎症性プロテアーゼおよび/または黒色色素産生性嫌気性菌のレベルを低減または抑制することが好ましい。これらは、歯垢に認められる重要な病原体である。

【0033】

オルソシフォン・スピカタスは、ペプトストレプトコッカスを含むであろう、歯垢中の病原菌を抑制または低減させることが最も好ましい。

【0034】

本発明のオルソシフォン・スピカタスは、ヒトを含む任意の動物に適している。しかしながら、好ましい実施の形態では、動物は愛玩動物またはヒトである。愛玩動物については、ペットとして飼育されている任意の動物を意味し、ネコ、イヌ、ウマ、ウサギ、またはモルモットが挙げられる。組成物は、ネコ、またはイヌ、もしくはヒト用であることが好ましい。

30

【0035】

当業者には、他の名称もまた、オルソシフォン・スタミネウス (*Orthosiphon stamineus*) およびネコノヒゲ (オルトシフォン・アリストス (*Orthosiphon aristatus*)) を含むオルソシフォン・スピカタスを称するのに用いられることが理解されよう。他の同義語および異義語として、*Clerodendranthus stamineus*、*Orthosiphon aristatus* var. *aristatus*、*Trichostema spirale*、*Clerodendrum spicatum* Thunb.、*Ocimum grandiflorum* Blume、*Orthosiphon stamineus* Benth.、*Orthosiphon grandiflorus* Bold.、*Orthosiphon spiralis*、*Clerodendranthus stamineus* (Benth.)、*Orthosiphon velteri* *Orthosiphon spicatus* (Thunb.)、*Orthosiphon tagawae* Murata、*Clerodendranthus spicatus* (Thunb.) が挙げられ、キャツウィスカー (Cat's whiskers)、ジャワティー、またはjarva tea という呼び名で一般に知られている。

40

【0036】

本発明のオルソシフォン・スピカタスは、植物全体またはその一部でありうる。それは、根、樹皮、茎、葉またはそれらの任意の組合せであって構わない。オルソシフォン・スピカタスは、乾燥、粉碎、粉末化、または細断されてもよい。オルソシフォン・スピカタスは、オルソシフォン・スピカタスの葉であることが好ましい。

50

【0037】

追加で、または代替として、オルソシフォン・スピカタス抽出物を使用してもよい。適切な抽出物として、メタノール抽出物、エタノール抽出物、クロロフォルム抽出物または水抽出物が挙げられる。

【0038】

本発明の第2の態様は、オルソシフォン・スピカタスを含む経口組成物を提供する。

【0039】

オルソシフォン・スピカタスは、組成物の0.1～20重量%の量で含まれて差し支えなく、1～15重量%がさらに好ましく、3～10重量%がさらにお好ましく、あるいは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10重量%の量で含まれる。オルソシフォン・スピカタスは、組成物の約3重量%の量で含まれることが最も好ましい。

10

【0040】

組成物は、オルソシフォン・スピカタスを、口腔衛生の改善または維持に関する唯一の活性成分として含みうる。あるいは、組成物は、1種類以上のさらに口腔衛生を改善または維持する、または歯垢を低減または調節する成分を含む、混合物の一部として、オルソシフォン・スピカタスを含みうる。

【0041】

本明細書では以後、「経口組成物」という用語は、食材、食餌およびサプリメントを含む、動物の口腔、好ましくは動物の歯の表面と接触した状態になるすべての組成物に及ぶ。任意のこれらの形態は、固体、半固体、または液体でありうる。組成物は、ペーストまたはゲルであってもよい。

20

【0042】

組成物は、歯垢における疾患を引き起こす因子および/またはバイオマスの低減または抑制によって、動物における歯肉炎の予防または治療を含む口腔衛生の改善または維持、もしくは、動物において歯垢を抑制または低減させることを目的として、オルソシフォン・スピカタスを十分な量で含まない任意の食材に加えるべきサプリメントの形態であって差し支えない。

【0043】

サプリメント中のオルソシフォン・スピカタスの濃度は、動物の主要な食餌または食材に加えて使用して差し支えない。これは、動物の食餌にサプリメントを含めることによって、または動物にサプリメントを追加的に与えることによって成しうる。サプリメントは、動物に与える前に希釈を要する、本発明のオルソシフォン・スピカタス組成物を極めて高濃度で含む食材として形成されうる。サプリメントは、固体(例えば、粉末)、半固体(例えば、食品に似た硬さ/ゲル)、液体、ペーストを含む任意の形態であって差し支えなく、あるいは、錠剤またはカプセルの形態であってもよい。液体は、便利には、食品に混練することができ、あるいは、例えばスプーンまたはピペットのような器具で、動物に直接与えてもよい。サプリメントは、本発明の1種類以上の成分の割合が高くて差し支えなく、あるいは、各部分が1種類以上の成分を所要の濃度で含む、少なくとも2つの部分を合わせたパックの形態であってもよい。

30

【0044】

オルソシフォン・スピカタスまたはオルソシフォン・スピカタスを含む組成物は、市販用ペットフード製品組成物、あるいは、市販用の栄養補助食品組成物中に取り込まれることが好ましい。ペットフード製品は、乾燥、半乾燥、湿り気のある、または液体(飲料)製品であって差し支えない。湿り気のある製品として、スズまたはホイル容器中の固体であって、70～90%の水分含量を有する食品が挙げられる。乾燥製品には、同様の組成を有するが、5～15%の水分含量を有し、ビスケット様のキブル(kibbles)として存在する食品が挙げられる。組成物が、食餌、食材、またはサプリメントを含む場合には、パッケージ化されることが好ましい。このようにして、消費者はパッケージから、食品中の成分を認識し、対象とする動物に適していることを認識することが可能になる。パッケージは、金属(通常、スズまたはフレキシホイル(flexifoil))、プラスチック、紙、

40

50

またはカードであって差し支えない。製品中の水分量は、使用可能な、または所望されるパッケージの種類に影響を及ぼしうる。

【0045】

本発明に従った組成物は、動物が、その食餌で消費しうる任意の製品を含む。したがって、本発明は、ペットフードスナック（例えば、スナックバー、ビスケット、および甘味製品）と同様に、人または他の動物用の基本的食品にも及ぶ。組成物は加熱調理製品でもよい。それに、肉または動物由来の材料（ウシ、鶏、七面鳥、子羊、血漿、髄骨など、またはそれらの2つ以上の組合せ）を取り込んでよい。あるいは、組成物は、タンパク質源を提供するために肉を含まなくてもよい（大豆、トウモロコシグルテン、または大豆製品などの肉代替物を含むことが好ましい）。組成物は、大豆タンパク質濃縮物、ミルクタンパク質、グルテンなどの追加のタンパク質源を含みうる。組成物は、1種類以上の穀物（小麦、トウモロコシ、米、カラスムギ、オオムギなど）などのデンプン源を含んでもよく、あるいは、デンプンを含まなくてもよい。典型的な市販のイヌおよびネコ用の乾燥ペットフードは、約30%の粗タンパク質、約10～20%の脂肪を含み、残りは食物纖維およびアッシュを含む炭水化物である。典型的なウェット、または湿り気のある製品は、（乾燥重量当たり）約40%の脂肪、50%のタンパク質を含み、残りは纖維およびアッシュである。本発明の組成物は、ネコ、イヌまたは任意の他の愛玩動物、またはヒト用の食餌、食材またはサプリメントとしての販売される、本明細書に記載するような食材に特に好適である。

10

【0046】

本明細書では、「飼い」イヌおよび「飼い」ネコという用語は、イヌおよびネコ、特に、フェリス・ドメスティクス (*Felis domesticus*) およびカニス・ドメスティクス (*Canis domesticus*) を意味する。

20

【0047】

組成物は、主要な食事の食材に加えて動物に消費させうる、噛み物（チュー）またはトリーツに施用、または取り込んで差し支えない。組成物は、主要な食事の食材にコーティングとして、または取り込んで提供されてもよい。

30

【0048】

あるいは、組成物は、動物用玩具などの非摂食性の製品にコーティングとして施用されうる、液体、ゲル、ペーストなどであってもよい。組成物は、製品内に取り込まれてもよい。動物が玩具を咀嚼する際に組成物が動物の口腔の一部またはすべてと接触した状態になり、動物の口腔衛生を改善または維持する。

【0049】

組成物が噛み応えのある、または硬い製品内に取り込まれるか、または表面にコーティングされる場合、組成物中のオルソシフォン・スピカタスの作用はもちろんのこと、動物の歯に対する製品の機械的作用を通じて歯垢を除去することによって動物の口腔衛生が改善または維持されるという追加的利益が達成される。

【0050】

オルソシフォン・スピカタスによる、ある歯垢バイオフィルム形成細菌の抑制は、歯垢の細菌量の低下による動物の歯垢の調節または低減をもたらす結果につながる。

40

【0051】

組成物を任意のレベルの口腔衛生を有する動物に使用して、動物の口腔衛生を改善または維持して構わない。

【0052】

組成物を、良好な、または許容できる口腔衛生を有する動物に使用して、口腔衛生を維持してもよい。この場合における組成物は、歯垢形成を調節し、動物の歯周の健康における、ある歯垢細菌の破壊的影響を最小限に抑えうる。

【0053】

あるいは、組成物を口腔衛生の不良な動物に使用して、動物の口腔衛生を改善してもよい。口腔衛生の改善は、さらなる歯垢の蓄積を調節することによってなされ、最も高い重

50

症度に進行するのを遅らせうる。それは、動物の歯の表面にすでに存在する歯垢をも低減させうる。重症な歯周疾患を穏やかにする事例では、動物は、口腔衛生の利益を達成し、将来の獣医および/または歯科治療の頻度を低減させるために、組成物の使用前に、獣医または歯科治療を必要とする場合がある。

【0054】

組成物は、経口組成物である。経口組成物については、使用の間に、動物の口腔が組成物に晒されることを意味し、組成物が動物の歯の表面と直接接触することが好ましい。歯の表面が組成物のオルソシフォン・スピカタスと直接接触することが最も好ましい。

【0055】

これらの経口組成物としては、練り歯磨き、うがい薬、または任意の他のゲル、液体またはペーストなどが挙げられる。経口組成物は、先に定義された食品であって差し支えない。

【0056】

本発明の第3の態様では、本発明は、動物の口腔衛生を改善または維持するための組成物の製造におけるオルソシフォン・スピカタスの使用を提供する。口腔衛生は、疾患を引き起こす因子、バイオマス、または病原菌の低減および/または抑制を含む、動物における歯垢を調節または低減させることにより、改善または維持されることが好ましい。本発明の組成物の製造および歯肉炎の治療におけるオルソシフォン・スピカタスの使用についても提供する。

【0057】

本発明は、第4の態様として、動物にオルソシフォン・スピカタスまたは第2の態様の組成物を投与する工程を含む、動物の口腔衛生を改善または維持する方法を提供する。本方法は、先に定義したように、動物における歯垢を低減または調節することによって動物の口腔衛生を改善または維持することが好ましい。

【0058】

第4の態様の方法では、食材に含めることによる組成物の消費によって、または、動物が咀嚼する玩具上の組成物を含むコーティングによって、動物の口腔が組成物に晒される。

【0059】

本方法は、不良な口腔衛生、または歯垢、歯肉炎、または歯周疾患の影響を受けやすい動物に使用されることが好ましい。

【0060】

組成物を不良な口腔衛生を有する動物に投与して、そこに含まれる歯垢および因子の量を低減させ、次いで、摂食を継続させることにより、さらなる歯垢の形成、およびそこに含まれる1つ以上の因子を調節、低減または抑制してもよい。動物は、オルソシフォン・スピカタスまたは組成物の有益な効果が見られるように、組成物の使用前または使用の間に、歯石の沈着を除去するため、獣医および/または歯の治療を必要とする場合がある。

【0061】

口腔衛生の不良については、当業者に認識されるように、歯石および歯垢の蓄積、歯肉炎、口臭、歯肉退縮、および/または歯周ポケットを含む、この状態の多くの徴候の存在を意味している。

【0062】

本発明の各態様のすべての特性は、当業者に認識されるように、必要な変更を加えた、すべての他の態様に関係している。

【実施例】

【0063】

オルソシフォン・スピカタスを、次のインビトロ実験によって、動物における歯垢の調節または低減させる能力について試験した。歯肉縁上の歯垢をイヌから採取し、下記のようなさまざまなアッセイを行い、オルソシフォン・スピカタスが動物の口腔衛生を改善または維持する能力を有するか否かについて判断した。

10

20

30

40

50

【0064】

実施例1

最初のアッセイは、オルソシフォン・スピカタスが、口腔衛生を改善または維持するため、動物における使用に適しているか否かの判断を補助するために、設定された。

【0065】

これらのアッセイには、歯垢形成細菌株の付着を抑制する能力、および、これらの細菌株におけるプロテアーゼの産生を抑制する能力が含まれていた。

【0066】

オルソシフォン・スピカタスは、バイオフィルム形成細菌の菌株の付着を最大100%抑制し、プロテアーゼの産生を最大21%抑制した。

10

【0067】

これらの結果は、オルソシフォン・スピカタスが、望ましくない口腔細菌を抑制可能であることを示唆しており、したがって、口腔衛生を改善または維持する能力について、さらなるアッセイを行った。

【0068】

実施例2アッセイ接種材料：イヌからの歯垢および唾液の採取

アッセイには、接種用に、イヌの新鮮な歯肉縁上の歯垢および唾液を必要とする。接種材料は、さまざまな年齢、犬種、および口腔衛生状態にある、14匹のイヌの群からサンプリングした、プールされた歯垢およびフィルタ処理されていない唾液からなる。

20

【0069】

歯垢および唾液を人工唾液に再懸濁して約15%の歯垢および30%の唾液の接種材料を形成した。

【0070】

アッセイの設定

プレートバイオフィルムアッセイ(PBA)は、24ウェルプレートフォーマットを使用し、代表的なイヌの歯垢であるバイオフィルムをヒドロキシアパタイト(HA)ディスク上で増殖させる。24ウェルアッセイプレートに取り込む前に、各HAディスクを、2時間、イヌの人工唾液中50%のフィルタ殺菌したイヌの唾液の溶液で前処理する。前処理工程は、HAディスク表面の唾液ペリクルの形成に刺激を与える。前処理の後、各HAディスクをそれぞれ、24ウェルプレート上のウェルに置く。接種材料を2等分し、その一方に好適な濃度で活性を加える。他方は対照(非活性)を意味する。1m1の接種材料を各ウェルに加え、アッセイプレートを38度48時間、好気的に振とう培養する。24時間および30時間後、ディスクを、上述のように好適な濃度で活性を含む、新鮮な人工唾液中に移動させる。48時間後、アッセイのため、バイオフィルムで覆われたHAディスクをアッセイプレートから取り出す。各HAディスクを、バイオマスの定量化に使用されるものを除いて、500μlのPBSに入れ、ボルテックスで30秒間混合し、ディスクから増殖したバイオフィルムを溶液中に移す。次に、バイオフィルム懸濁液を分析に使用する。バイオマスの定量化に用いられる、バイオフィルムで覆われたHAディスクを24ウェルアッセイプレートから取り出し、直接、クリスタル・バイオレットアッセイに使用する。

30

【0071】

実施例3PBAにおいて試験されたオルソシフォン・スピカタス抽出物

イヌのPBAにおける試験に用いられたオルソシフォン・スピカタスの抽出物は、初期のスクリーニング回で良好な活性を示したことから、メタノール抽出物(M)であった。抽出は前述の通りに行なった。

【0072】

加えて、クロルヘキシジン(Lloyds Pharmacy社製)を、標準的判断基準(gold standard reference)、または陽性対照として含めた。しかしながら、クロルヘキシンは、合成

40

50

化学物質であり、純粹な形態で使用する場合には毒性効果を有する可能性があろうことから、動物用組成物の用途には望ましくない。

【0073】

実施例4

バイオフィルムの測定

イヌのPBAで產生されたバイオフィルム、ならびに、バイオフィルムの発達におけるオルソシフロン・スピカタスおよび非植物性化合物の効果の評価には、以下の分析を用いた：

バイオマスの定量化（クリスタル・バイオレットアッセイ）

プロテアーゼ活性

細菌の生菌数

各アッセイの簡単な説明を以下に示す。

【0074】

バイオマス

HAディスク上で増殖させたバイオフィルムの総量を、クリスタル・バイオレット染色法を用いて定量化した。バイオマスは、対照と比較したサンプルの595 nmにおけるOD (OD₅₉₅) に直接比例することが示された。結果は、ディスク上で増殖させたバイオフィルムの量における活性処理の効果を反映して、非活性対照と比べて、活性処理されたサンプルでは、OD₅₉₅における低下が見られることを示した。

【0075】

オルソシフロン・スピカタスはバイオマスを最大14.6%低減させた。

【0076】

プロテアーゼ活性

トリプシン様プロテアーゼ活性を、液体BAPNAアッセイ、比色分析を用いて測定し、その結果、サンプル中に存在するトリプシンの量は、発色強度に直接的に比例した。サンプルをトリプシン標準曲線に対して定量化し、その結果、対照に比べて活性処理サンプルにおけるプロテアーゼ活性の抑制の割合として表した。

【0077】

オルソシフロン・スピカタスは、プロテアーゼの産生を24.53%低減させた。

【0078】

細菌数

細菌の生菌数を、ヘミンおよびメナジオンを補充したコロンビア血液寒天プレートを用いて定量化した。好気性菌は2日間培養後にカウントし、黒色色素産生性細菌コロニー (BPC) を含む嫌気性菌に関しては、適切な条件下で9日間培養後にカウントした。プレートカウント数をコロニー形成単位 (cfu) / ml として表し、対照と活性プレートの差異を対数で表した。

【0079】

オルソシフロン・スピカタスは、対照と比較して、対数で2.59、黒色色素産生性細菌コロニーのプレートカウント数を低減させた。

【0080】

実施例5

データの統計分析

各サンプルをアッセイ内で5回反復した。別記されない限り、すべての抽出物は、アッセイにおいて、500 µg / ml の濃度で試験された。各サンプルについて、得られたすべての値を対数化し、対数値から平均値を算出した。

【0081】

次に、不等分散を伴う両側t-検定 (2-tailed t-test) を行った。不等分散分析は、個々の分析が独立しているものとして選択されており、言い換えれば、その測定値は、互いに比較することができない。各データセットについてp値を得、これらにデータの再現性の指示を与えた。

10

20

30

40

50

【0082】

結果

オルソシフォン・スピカタスについてどのように試験したかをまとめた表を以下に示す。

【表1】

名称	好気性 (log10低減)	嫌気性 (log10低減)	BPC (log10低減)	プロテアーゼ (%低減)	バイオマス (%低減)
クロルヘキシジン	2.87	2.48	2.74	95.76	94.40
ギンバイカ	0.05	-0.10	3.75	75.34	59.50
オルトシフォン	0.09	0.02	2.59	24.53	14.60
Tepezcohuite	0.25	-0.42	-0.51	80.25	-27.40

10

20

30

40

50

【0083】

オルソシフォン・スピカタスは、黒色色素産生性細菌コロニーのカウント数を大幅に低減させ、プロテアーゼ産生およびバイオマスにおける抑制効果を有していた。

【0084】

実施例6原料の試験

オルソシフォン・スピカタスの生の植物材料についても、上述の抽出物と同様にプレートバイオフィルムアッセイで試験した。250 μmの細孔サイズの篩を通して生の植物材料を調製し、アッセイにおいて5000 μg / mlで試験した。生の材料は、少なくとも、先に試験した抽出物と同程度、バイオフィルム形成の抑制に有効であった。実際、生の材料は、黒色色素産生性細菌コロニーを対数で3.86低減し、プロテアーゼ産生を32.65%低減した。

【0085】

実施例7ヒトの歯垢の抑制

オルソシフォン・スピカタスの粉末を、ヒトにおけるバイオフィルムの形成の抑制について、プレートバイオフィルムアッセイで試験した。各試験薬の最終的な濃度は250 μl / mlであった。試験は、アッセイごとに5回反復した。

【0086】

ヒドロキシアパタイトディスクを室温で2時間、20%のプールされたヒト唾液中でインキュベートした。10 ml量のプールされたヒト唾液を回収し、ヒトのボランティアの歯の表面からこすり取った歯垢接種材料と合わせた。接種材料を、20%のプールされた唾液に1:3(v/v)の比で加え、1.33 mlの得られた懸濁液を、2.0 mlの人工唾液(Prattenら、1998年)および、滅菌水中5 mg / mlの濃度の0.175 mlの適切な試験薬(ギンバイカ(マータス・コミュニス; *Myrtus communis*)、キャツクロ(ウンカリア・トメントサ; *Uncaria tormentosa*)、オルソシフォン・スピカタス、パセリ、またはユーカリ)、または水(陰性対照として、各試験薬と比較した)に加えた。パセリおよびユーカリは、それらの口腔衛生上の陽性効果により、口腔衛生製品の天然材料としてよく知られていることから、陽性対照として用いた。

【0087】

3等分した各溶液(1 ml)を、単一の唾液でコーティングしたヒドロキシアパタイトディスクと共に、滅菌した24ウェルプレートの各ウェルに置いた。ディスクを、37度1時間、嫌気性条件(10% H₂、10% CO₂、80% N₂)でインキュベートし、歯

周炎に関連する歯肉縁下の窪みに見られる、偏性嫌気性菌を増殖させた。その後、37の好気性条件で24時間インキュベートした。

【0088】

バイオフィルムを分散させ、逐次希釈した後、CBA(+ヘミン、メナジオン)上に置いて嫌気的にインキュベート、またはBHY上において好気的にインキュベートした。コロニーを24~48時間後にカウントした。図1に示す結果では、オルソシフロン・スピカタスは、未処理(水)対照と比較して、インビトロにおけるヒト歯垢バイオフィルムにおける通性嫌気性細菌の数を抑制したことが示された。驚くべきことに、オルソシフロン・スピカタスは口腔衛生を促進することが知られているパセリおよびユーカリよりも、これらの生命体のレベルの低減に有効であった。

10

【0089】

気難しい(Fastidious)嫌気性細菌の数についてもカウントし、図2に示すように、未処理対照に比べて、オルソシフロン・スピカタスによって低減されていることが示された。意外にも、オルソシフロン・スピカタスは、気難しい嫌気性細菌の抑制においても、パセリおよびユーカリよりも良好に作用することを示した。

【0090】

実施例8

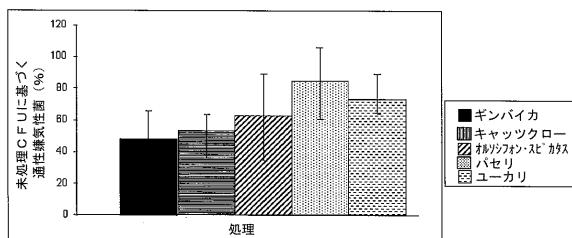
さまざまな製品用途において、最高120までの温度に曝露した後にも、原料の活性が残存することが必要とされるであろう。これを試験するため、オルソシフロン・スピカタスをオートクレーブで加熱し(120で10分間)、その活性について、非加熱処理対照と比較する、プレートバイオフィルムアッセイを行った。

20

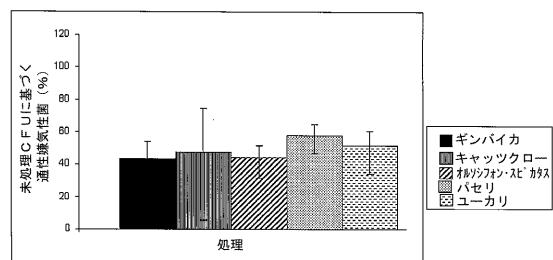
【0091】

上述のように、オルソシフロン・スピカタスの加熱処理は、その能力に影響を与えない。加熱処理したオルソシフロン・スピカタスは、非加熱対照の89.4%と比べて、バイオマスを73.9%低減させた。プロテアーゼ産生は、加熱処理した材料および非加熱材料で、それぞれ87.43%および86.59%抑制した。

【図1】



【図2】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/GB2007/004526															
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61Q11/00 A61K8/97																	
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) A61K																	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched																	
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, PAJ																	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category*</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 2px;">E</td> <td style="padding: 2px;">WO 2008/010188 A (AD MED BIOTECHNOLOGY) 24 January 2008 (2008-01-24) paragraph [0020] - paragraph [0021] paragraph [0034] paragraph [0037] - paragraph [0038] table 1</td> <td style="padding: 2px;">1-21</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">US 2006/251590 A1 (REDMOND) 9 November 2006 (2006-11-09) paragraph [0110] - paragraph [0113] paragraph [0204] - paragraph [0207]</td> <td style="padding: 2px;">1-7, 10, 15-18</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">A</td> <td style="padding: 2px;">EP 0 321 180 A (LION CORPORATION) 21 June 1989 (1989-06-21) page 4, line 13 - line 18 page 5, line 33 - line 39 claim 7</td> <td style="padding: 2px;">1-21</td> </tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center; padding: 2px;">-/-</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	E	WO 2008/010188 A (AD MED BIOTECHNOLOGY) 24 January 2008 (2008-01-24) paragraph [0020] - paragraph [0021] paragraph [0034] paragraph [0037] - paragraph [0038] table 1	1-21	X	US 2006/251590 A1 (REDMOND) 9 November 2006 (2006-11-09) paragraph [0110] - paragraph [0113] paragraph [0204] - paragraph [0207]	1-7, 10, 15-18	A	EP 0 321 180 A (LION CORPORATION) 21 June 1989 (1989-06-21) page 4, line 13 - line 18 page 5, line 33 - line 39 claim 7	1-21	-/-		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.															
E	WO 2008/010188 A (AD MED BIOTECHNOLOGY) 24 January 2008 (2008-01-24) paragraph [0020] - paragraph [0021] paragraph [0034] paragraph [0037] - paragraph [0038] table 1	1-21															
X	US 2006/251590 A1 (REDMOND) 9 November 2006 (2006-11-09) paragraph [0110] - paragraph [0113] paragraph [0204] - paragraph [0207]	1-7, 10, 15-18															
A	EP 0 321 180 A (LION CORPORATION) 21 June 1989 (1989-06-21) page 4, line 13 - line 18 page 5, line 33 - line 39 claim 7	1-21															
-/-																	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> 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 document 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 21 February 2008		Date of mailing of the International search report 03/03/2008															
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl; Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Irwin, Lucy															

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2007/004526

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 060 602 A (GENERAL FOODS CORPORATION) 29 November 1977 (1977-11-29) column 3, line 3 - line 14 column 4, line 13 - line 18 _____	1-21
A	US 1 466 578 A (ISABEL CLIFTON) 28 August 1923 (1923-08-28) the whole document _____	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2007/004526

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 18, 21
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Rule 39.1(iv) PCT – Method for treatment of the human or animal body by therapy
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/GB2007/004526

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 2008010188	A	24-01-2008	US	2008026083 A1		31-01-2008
US 2006251590	A1	09-11-2006		NONE		
EP 0321180	A	21-06-1989	DE	3873288 D1		03-09-1992
			DE	3873288 T2		10-12-1992
			ES	2043856 T3		01-01-1994
			JP	1160911 A		23-06-1989
			JP	2540895 B2		09-10-1996
US 4060602	A	29-11-1977		NONE		
US 1466578	A	28-08-1923		NONE		

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MT,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,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,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 マーシャル - ジョーンズ , ザー

イギリス国 エルイー 14 4アールティー レスター・シャー州 ウォルサム - オン - ザ - ウォールズ フリービー レイン ウォルサム センター フォー ペット ニュートリション マース ューケー リミテッド

(72)発明者 バイロン , マリー - ルイーズ

イギリス国 エルイー 14 4アールティー レスター・シャー州 ウォルサム - オン - ザ - ウォールズ フリービー レイン ウォルサム センター フォー ペット ニュートリション マース ューケー リミテッド

(72)発明者 バックリー , キャサリン

イギリス国 エルイー 14 4アールティー レスター・シャー州 ウォルサム - オン - ザ - ウォールズ フリービー レイン ウォルサム センター フォー ペット ニュートリション マース ューケー リミテッド

F ターム(参考) 4C088 AB57 AC01 AC05 NA14 ZA67 ZB35 ZC61