(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第5438672号
(P5438672)

(45)発行日　平成26年3月12日(2014.3.12)　(24)登録日　平成25年12月20日(2013.12.20)

(51)Int.Cl.		F I		
A61K 8/97	(2006.01)	A61K	8/97	
A61Q 11/00	(2006.01)	A61Q	11/00	
A61K 36/48	(2006.01)	A61K	35/78	J
A61K 36/00	(2006.01)	A61K	35/78	X
A61P 1/02	(2006.01)	A61K	35/78	Y

請求項の数 14　(全 21 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2010-506311 (P2010-506311)
(86)(22)出願日　平成20年5月1日(2008.5.1)
(65)公表番号　特表2010-526067 (P2010-526067A)
(43)公表日　平成22年7月29日(2010.7.29)
(86)国際出願番号　PCT/US2008/005578
(87)国際公開番号　WO2008/137009
(87)国際公開日　平成20年11月13日(2008.11.13)
審査請求日　平成22年1月4日(2010.1.4)
(31)優先権主張番号　11/799,524
(32)優先日　平成19年5月2日(2007.5.2)
(33)優先権主張国　米国(US)

前置審査

(73)特許権者　508147647
トムズ・オブ・メイン・インコーポレーテッド
アメリカ合衆国メイン州０４０４３ケネバンク・ラフアイエツトセンター３０２
(74)代理人　100140109
弁理士　小野　新次郎
(74)代理人　100075270
弁理士　小林　泰
(74)代理人　100101373
弁理士　竹内　茂雄
(74)代理人　100118902
弁理士　山本　修
(74)代理人　100141265
弁理士　小笠原　有紀

最終頁に続く

(54)【発明の名称】カンゾウ抽出物由来の抗菌性および抗炎症性の単離物

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
口腔ケア組成物であって、該組成物は、グリキルリザ・ウラレンシス（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ　ｕｒａｌｅｎｓｉｓ）の根を超臨界CO_2抽出することにより得た抽出物を含み、該抽出物は、グリシルリジン酸の含有率が０．１０％未満であり、リコリシジンおよびリコリソフラバンＡを含むプレニル化フラボノイドを含有する、上記組成物。
【請求項２】
前記口腔ケア組成物が、歯みがき剤、練り歯磨き、義歯洗浄剤、デンタルフロス、爪楊枝、マウスウォッシュ、マウスリンス、パスティル（pastille）、チューインガム、溶解性錠剤、チュアブル錠、または、ロゼンジ（lozenge）からなる群より選択される、請求項１に記載の口腔ケア組成物。
【請求項３】
前記口腔ケア組成物が、歯みがき剤であり、前記抽出物が、０．００２ｗｔ％～２．０ｗｔ％の濃度である、請求項２に記載の口腔ケア組成物。
【請求項４】
前記口腔ケア組成物が、義歯洗浄剤であり、前記抽出物が、０．００２ｗｔ％～２．０ｗｔ％の濃度である、請求項２に記載の口腔ケア組成物。
【請求項５】
前記口腔ケア組成物が、マウスウォッシュまたはマウスリンスであり、前記抽出物が、０．００２ｗｔ％～１．０ｗｔ％の濃度である、請求項２に記載の口腔ケア組成物。

【請求項６】
前記口腔ケア組成物が、パスティル、チューインガムまたはロゼンジであり、前記抽出物が、０．００５ｗｔ％～１０．０ｗｔ％の濃度である、請求項２に記載の口腔ケア組成物。
【請求項７】
前記口腔ケア組成物が、溶解性錠剤であり、前記抽出物が、０．０１ｗｔ％～５．０ｗｔ％の濃度である、請求項２に記載の口腔ケア組成物。
【請求項８】
前記口腔ケア組成物が、デンタルフロスであり、前記抽出物が、前記デンタルフロスをコーティングまたは含浸するために用いられるワックス混合物の０．１ｗｔ％～５．０ｗｔ％の濃度である、請求項２に記載の口腔ケア組成物。
【請求項９】
前記超臨界CO_2抽出時にさらに、エタノールを添加する、請求項１に記載の口腔ケア組成物。
【請求項１０】
前記エタノールが、２．０ｗｔ％～１０ｗｔ％の濃度である、請求項９に記載の口腔ケア組成物。
【請求項１１】
前記プレニル化フラボノイドが、前記抽出物の１．０ｗｔ％～２０ｗｔ％を構成する、請求項１に記載の口腔ケア組成物。
【請求項１２】
前記プレニル化フラボノイドが、前記抽出物の２．０ｗｔ％～１０ｗｔ％を構成する、請求項１に記載の口腔ケア組成物。
【請求項１３】
前記リコリシジンおよびリコリソフラバンＡが、前記抽出物の１．０ｗｔ％～２０ｗｔ％を構成する、請求項１に記載の口腔ケア組成物。
【請求項１４】
前記リコリシジンおよびリコリソフラバンＡが、前記抽出物の２．０ｗｔ％～１０ｗｔ％を構成する、請求項１に記載の口腔ケア組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
[0001] カンゾウ属（グリキルリザ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ）種）の植物の根由来の抽出物は、香料に用いられており、このような抽出物は特に、いくつかある目的のなかでも特に、カンゾウ（ｌｉｃｏｒｉｃｅ，ｌｉｑｕｏｒｉｃｅ）のフレーバーを付与するのに用いられる。現在の抽出方法では、熱水抽出法が用いられている。この方法は、植物の根の親水性成分を選択的に単離する。従来技術の抽出方法を用いて単離された主要な単一種の成分は、グリシルリジン酸である。グリシルリジン酸は、主に、甘味料および香料として用いられている。従来技術の抽出方法では、植物の根の疎水性または親油性成分をわずかしか除去しないか、または、まったく除去しない。
【背景技術】
【０００２】
[0002] その他の従来技術の方法では、抽出工程中に有機溶媒が用いられる。これらの工程によって、より多くの植物の根の親油性成分が除去されるが、有機溶媒の使用に関連する主要な環境問題が生じる。さらにいずれの従来技術の抽出工程（熱水および有機溶媒）も、例えば廃棄物の発生および除去に関する有意な問題を有する。有機溶媒抽出物は、まさにそれらの本質のために、使用済みの有機物質を処理または再利用する問題を有する。親水性化合物の抽出には熱水抽出工程が好ましいが、親油性化合物の抽出において有効ではない。加えて、使用済みの水は、その環境の水源に戻す前に処理しなければならない。

【０００３】
[0003] グリキルリザ種抽出物の様々な成分は、抗炎症性、抗菌性および付着防止作用を有することが示されている。しかしながら、従来技術の抽出物で観察されているこれらの作用は、ばらつきがあった。例えばある研究では、０．２５～０．５％のグリシルリジン酸（従来技術の抽出方法によって製造されたカンゾウ抽出物の主成分）を取り込ませても、歯垢の蓄積の除去または予防に効果がなかったことが報告されている（Ｇｏｕｌｔｓｃｈｉｎ等，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｐｅｒｉｏｄｏｎｔｏｌ．１８：２１０－２１２，１９９１）。
【先行技術文献】
【特許文献】
【０００４】
【非特許文献１】Ｇｏｕｌｔｓｃｈｉｎ等，Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｐｅｒｉｏｄｏｎｔｏｌ．１８：２１０－２１２，１９９１
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００５】
[0004] 従って、植物の根に含まれる全ての利用可能な親油性成分のうちより多くを単離することによって、具体的には、植物の根の利用可能なプレニル化フラボノイドを全体でより高い割合で単離することによって、従来技術の抽出物よりも廃棄物の発生が少なく、環境への影響も少なく、同時に抗炎症性、抗菌性および付着防止特性の提供においてより高い効果を有する抽出物が得られるようなグリキルリザ種の根の抽出方法が必要である。
【課題を解決するための手段】
【０００６】
[0005] 本発明は、一形態において、新規で非自明的なグリキルリザ種の根由来の抽出物の製造方法を提供する。一実施態様において、本発明の抽出方法は、超臨界CO_2抽出工程を利用することを含む。以下の好ましい実施態様の説明において、本発明に係る工程の詳細を示す。本発明の方法は、抽出工程中の有機溶媒への必要性を大きく減少させるか、または、そのような必要性をなくすこと、および、プレニル化フラボノイド（例えば、イソフラバン、イソフラボノール、フラバノン、イソフラボン）が豊富な抽出物を提供すること、それと同時に、グリシルリジン酸が実質的に含まれない、または、グリシルリジン酸が含まれない（例えば、検出可能なグリシルリジン酸が含まれない）ようにすることによって、従来技術の抽出方法の問題を解決するものである。また本発明の方法は、親油性成分は抽出されるが、親水性成分はほとんど抽出されない。また本発明の方法は、抽出工程の結果として廃水ストリームの発生も大いに減少させるか、または、それらが生じないようにする。
【０００７】
[0006] 本発明はさらに、本発明の抽出工程によって作製された抽出物に関する。一実施態様において、本発明の抽出物は、Ｇ．ウラレンシス（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｕｒａｌｅｎｓｉｓ）由来の抽出物を含み、このような抽出物は、親油性成分として、主としてリコリシジン（ｌｉｃｏｒｉｃｉｄｉｎ）、および、リコリソフラバンＡ（５－Ｏ－メチルリコリシジン）を含む。検出可能なグリシルリジン酸、植物の根の親水性成分は、本発明の抽出工程では回収されない。リコリシジンおよびリコリソフラバンＡはいずれも、フラボノイドの特定のタイプの一つであるプレニル化イソフラバンである。リコリシジンに関して、分子量は、ｍ／ｚ＝４２４である。リコリソフラバンＡに関して：分子量は、ｍ／ｚ＝４３８であり；ＵＶ（ＭｅＯＨ）：λｍａｘ＝２８３ｎｍである。一実施態様において、本発明の抽出物は、抽出工程中の調節剤としてエタノールを用いないで単離される。この実施態様において、リコリシジンおよびリコリソフラバンＡの濃度範囲は、いずれも約０．５～６．０％である。その他の実施態様において、本発明の抽出物は、抽出工程中の調節剤としてエタノールを用いて生産される。この実施態様において、リコリシジ

ンおよびリコリソフラバンＡの濃度範囲は、リコリシジンの場合は、約２．０～２０．０％であり、リコリソフラバンＡの場合は、１．０～８．０％である。さらにその他の実施態様において、本抽出物中のグリシルリジン酸の濃度は、０．１０％未満である。さらにその他の実施態様において、本抽出物中のグリシルリジン酸の濃度は、０．０１％または０．００１％未満である。さらに、本発明の超臨界CO_2抽出物はまた、有意な量の脂肪酸（具体的には、例えばパルミチン酸およびリノール酸）を含む。

【０００８】

[0007] さらなる研究において、本発明のカンゾウの超臨界CO_2抽出物の所定の成分は、抗炎症性および抗菌作用を提供することにおいて意外にも非常によく適していることが発見された。これに関して、リコリシジンおよびリコリソフラバンＡは、最大レベルの抗菌作用を提供する。加えて、これに関して、本発明は、抗菌性および抗炎症性作用の提供において有効な量のリコリシジンおよびリコリソフラバンＡを含む口腔およびボディケア組成物を考慮する。

【０００９】

[0008] その他のグリキルリザ種は、親油性の主成分がプレニル化フラボノイドである抽出物を提供するが、具体的にどのようなプレニル化フラボノイドが含まれるかは様々であってよい。例えば、本発明の抽出工程によって製造されたＧ．グラブラ（Ｇ．ｇｌａｂｒａ）の抽出物は、主要なプレニル化フラボノイドとして、グラブリジン、メチルグラブリジンおよびグラブロールを有すると予想される。

【００１０】

[0009] 本発明の抽出工程中にエタノールが調節剤としてとして用いられる場合、エタノールは、約２．０～１０％の濃度である。その他の好ましい実施態様において、調節剤としてのエタノールは、約４．０～６．０％である。エタノールの使用は、本発明の本抽出物を生産するのに必須ではない。エタノールは、低い親油性特性を有する化合物を、CO_2を単独で用いるよりも最大の量で抽出できるようにする。

【００１１】

[0010] 本発明はまた、前記抽出物から製造された製品に関する。本発明は、本発明の本抽出物に関するいかなる具体的な用途に限定されることはないが、その他の好ましい実施態様において、本抽出物は、口腔ケア製品に用いられる。本発明の抽出物を用いることができる適切な口腔ケア製品の例としては、これらに限定されないが、歯みがき剤（例えば、練り歯磨き、練り歯磨きのジェル、歯磨き粉、義歯洗浄剤および化合物、マウスウォッシュおよびマウスリンス、爪楊枝、デンタルフロス、チューインガム、パスティル（pastille）、ロゼンジ（lozenge）、溶解性錠剤、チュアブル錠など）が挙げられる。加えて、本発明の抽出物はボディケア製品で用いることもでき、このようなボディケア製品としては、これらに限定されないが、皮膚用クリーム、スキンローション、日焼け止め組成物、石鹸、乳児ケア製品、髭剃り用製品、消臭剤、シャンプーなどが挙げられる。

【図面の簡単な説明】

【００１２】

【図１】[0011] 図１は、Ａ）熱水抽出、Ｂ）エタノール抽出、Ｃ）酢酸エチル抽出、Ｄ）超臨界CO_2抽出、および、Ｅ）調節剤としてエタノールを用いた超臨界CO_2抽出を用いて生成したグリキルリザ・ウラレンシスの抽出物のＨＰＬＣクロマトグラムを示す。

【図２】[0012] 図２は、リコリシジンおよびリコリソフラバンＡの化学構造を示す（式中、リコリシジンの場合はＲ＝Ｈであり、リコリソフラバンＡの場合はＲ＝Ｍｅである）。

【発明を実施するための形態】

【００１３】

[0013] 本発明は、グリキルリザ種由来の抽出物に関し、本抽出物は、従来技術の抽出方法よりも環境への影響が少なく、さらに、親油性成分を従来技術の方法よりも高い割合で抽出し、同時に親水性成分をより少なく抽出したものである。本発明はまた、本発明の抽出物に関する使用に関する。その他の形態において、本発明は、超臨界CO_2抽出工程

を利用するグリキルリザ種の抽出工程に関する。

【００１４】

[0014] 抽出物は、グリキルリザ属の様々な種類ののマメ科植物のような植物の根から作製することができ、より具体的にはグリキルリザ・ウラレンシス種から作製することができる。これらの植物は、南ヨーロッパとアジアの一部地域に自生している。Ｇ．ウラレンシスは、伝統的な漢方医学において広く用いられている。それでもなお、本発明は、いかなる特定の植物源に限定されない。本発明に係る工程によって抽出物を作成できる可能性があるその他の既知のグリキルリザ種としては、これらに限定されないが、グリキルリザ・アカントカルパ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ａｃａｎｔｈｏｃａｒｐａ）、グリキルリザ・アスペラ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ａｓｐｅｒａ）、グリキルリザ・アストラガリナ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ａｓｔｒａｇａｌｉｎａ）、グリキルリザ・ブカリカ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｂｕｃｈａｒｉｃａ）、グリキルリザ・エキナータ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｅｃｈｉｎａｔａ）、グリキルリザ・エグランデュローサ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｅｇｌａｎｄｕｌｏｓａ）、グリキルリザ・フェティダ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｆｏｅｔｉｄａ）、グリキルリザ・フェティディッシマ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｆｏｅｔｉｄｉｓｓｉｍａ）、グリキルリザ・グラブラ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｇｌａｂｒａ）、グリキルリザ・ゴンチャロヴィ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｇｏｎｔｓｃｈａｒｏｖｉｉ）、グリキルリザ・イコニカ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｉｃｏｎｉｃａ）、グリキルリザ・コルシンスキー（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｋｏｒｓｈｉｎｓｋｙｉ）、グリキルリザ・レピドータ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｌｅｐｉｄｏｔａ）、グリキルリザ・パリディフローラ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｐａｌｌｉｄｉｆｌｏｒａ）、グリキルリザ・スクアムローサ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｓｑｕａｍｕｌｏｓａ）、グリキルリザ・トリフィラ（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｔｒｉｐｈｙｌｌａ）、グリキルリザ・ウラレンシス（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｕｒａｌｅｎｓｉｓ）、および、グリキルリザ・ユナネンシス（Ｇｌｙｃｙｒｒｈｉｚａ ｙｕｎｎａｎｅｎｓｉｓ）が挙げられる。

【００１５】

[0015] 超臨界二酸化炭素は、ある種の特別な特性を有する二酸化炭素を意味する。二酸化炭素は通常、空気中では気体としての挙動をとるか、または、ドライアイスのような固体として存在する。温度および圧力が両方とも増加すると、二酸化炭素は、気体と液体の中間の特性を得ることができる。二酸化炭素は、その臨界温度（３１．１℃）および圧力（７３ａｔｍ＝７３．９６ｂａｒ）を超えると超臨界流体ような挙動をとり、気体のように膨張してその容器中に充満するが、密度は液体の密度と同様である。超臨界CO_2を作製するのに必要な実際の温度は圧力に依存し、逆もまた同様である。例えば、圧力が高くなれば、超臨界状態に到達するのに必要な温度はより低くなる。同様に、温度が高くなれば、超臨界状態に到達するのに必要な圧力はより低くなる。

【００１６】

[0016] ある種の例において、超臨界CO_2はその他の物質のための抽出剤として用いられてきたが、これまで我々が知る限りにおいて、超臨界CO_2は、特にグリキルリザ種の根を抽出するための抽出剤として用いられてはおらず、本発明おいて得られた抽出物は、主として、プレニル化フラボノイド（プレニル化イソフラバン）、および、特にＧ．ウラレンシス由来のリコリシジンおよびリコリソフラバンＡ（さらに加えて、プレニル化フラボノイドのグラブリジン、メチルグラブリジン、および、Ｇ．グラブラ由来のグラブロール）を含み、さらにグリシルリジン酸を実質的に含まないか、または、それらを含まない。本発明の方法および組成物は、経験的な実験によってのみ考え出され、実施できるようにまとめられたものである。本発明を考案して実施するために、および、本発明を考案して製造するために、本発明の構成要素を確認または開発し必要に応じてそれらを改変するように当業者を導いたであろう市場の圧力またはその他の市場の考察はなかった。本発明が概念的にまとめられて初めて、何らかの市場価値が認められたのである。

【００１７】

[0017] 超臨界CO_2を用いる環境面での利点のいくつかは、以下の通りである。第一に、本工程で用いられるCO_2は実質的に不変であり、繰り返し再利用することができる。第二に、実質的に廃棄物のストリームが生じることがなく、すなわち、処理を要する使用済みの溶媒、揮発性の有機化合物、汚染された廃水などが生じることがない。従って、本発明の抽出物は、従来技術の方法の抽出物よりも環境に優しい。

【００１８】

[0018] 本発明の抽出物は、従来技術のグリキルリザ種抽出物とは異なる。本発明の抽出物は、プレニル化フラボノイドとして知られている化合物（例えば、リコリシジンおよびリコリソフラバンＡ）を豊富に含む。これらの化合物はいずれも、抗炎症性、抗菌性、付着防止性および抗真菌性作用を有する。例えば、本発明の抽出物は、スタフィロコッカス・アウレウス（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）、および、ストレプトコッカス・ミュータンス（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｍｕｔａｎｓ）のようなグラム陽性菌、ポルフィロモナス・ジンジバリス、および、プレボテラ・インターメディア（Ｐｒｅｖｏｔｅｌｌａ　ｉｎｔｅｒｍｅｄｉａ）のようなグラム陰性嫌気性細菌に対して有意な抗菌活性を有することが示されており、それに加えて、アスペルギルス・ニガー（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ　ｎｉｇｅｒ）に対して抗真菌活性を有することも示されている。加えて、本発明の抽出物は、高圧液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）で試験したところ、グリシルリジン酸を含まないか、または、実質的に含まない（以下の実験の章を参照）。グリシルリジン酸は、従来技術において甘味料およびフレーバーとして用いられているものであり、本発明の組成物では必須ではない。

【００１９】

[0019] リコリシジンおよびリコリソフラバンＡは、本発明の超臨界CO_2抽出物に含まれる成分のうちの２種である。これらはいずれも、虫歯の主要な起因物であるストレプトコッカス・ミュータンスに対して３．１２５μｇ／ｍｌで抗菌活性（ＭＩＣ）を示し、プレボテラ・インターメディアに対しては、リコリシジンおよびリコリソフラバンＡはそれぞれ約０．７８μｇ／ｍｌおよび約１．５６μｇ／ｍｌで抗菌活性を示し、ポルフィロモナス・ジンジバリス（Ｐｏｒｐｈｙｒｏｍｏｎａｓ　ｇｉｎｇｉｖａｌｉｓ）に対しては、リコリシジンおよびリコリソフラバンＡはそれぞれ０．３９μｇ／ｍｌ、および、０．７８μｇ／ｍｌで抗菌活性を示した。プレボテラ種およびポルフィロモナス・ジンジバリスは、歯周炎に関連する。いずれの構成要素も、抗炎症薬として優れた活性を示した。従って、一般的には上記抽出物、具体的にはこれらの化合物は、抗炎症剤、抗菌剤および抗真菌剤として作用する優れた能力を有することが観察できる（以下の実験の章を参照）。

【００２０】

[0020] 上述したように、本発明に係る工程によって生産された抽出物は、それらの抗炎症性、抗菌性、付着防止性および抗真菌特性のために、例えば口腔ケア製品およびボディケア製品などの多くの製品で用いることができる。以下、我々は、本発明の抽出物を用いた用途として適したいくつかの製品を説明する。

【００２１】

[0021] 口腔用組成物

[0022] フロス

[0023] 本発明のグリキルリザ種の根（すなわち、カンゾウ抽出物）は、デンタルフロスに配合することができる。例えば、デンタルフロス使用中に使用者の歯と接触した状態になるように、本発明の抽出物をデンタルフロス中に含浸させてもよい。本発明の抽出物がデンタルフロス組成物で用いられる場合、本発明の抽出物の濃度は、フロス材料をコーティングするのに用いられるワックス混合物の約０．１～５．０重量％である。好ましい濃度は、フロス材料をコーティングするのに用いられるワックス混合物の約０．５～３．０重量％である。デンタルフロスは、本発明の本抽出物が、述べられているその他の手段うちいずれかを用いても到達が困難な互いに向き合った歯の表面と十分に接触できるようにするために用いることができる。リコリシジンおよびリコリソフラバンＡが本発明のフ

ロスにおいて抗菌剤として用いられる場合、これらは、単独で、または、混合物として、約０．０１ｗｔ％～１．０ｗｔ％の合計濃度で、約０．０５ｗｔ％～０．５ｗｔ％の合計濃度で、または、約０．１ｗｔ％～０．２ｗｔ％の合計濃度で用いてもよい。

【００２２】

[0024] 本発明の所定の実施態様において、前記デンタルフロスは、以下で考察されるようにして製造される。当業者であれば、本発明のカンゾウベースの組成物に適合するデンタルフロス製造のためのその他の方法および組成物があるということを理解しているものとする。

【００２３】

[0025] 本明細書において「デンタルフロス」という用語の意味は、デンタルフロスと歯科用テープとの両方を含み、加えてその他のあらゆる類似の物品も含むものと理解されることとする。さらに、本発明において用いられるデンタルフロスおよびテープは、あらゆる適切な、または、市販のデンタルフロスまたはテープを含み得る。これらのフロスおよびテープは、天然源または合成の源のいずれからでも製造することができ、このような源の例としては、これらに限定されないが、高テナシティおよび通常のテナシティのポリマーのフィラメントまたはヤーン、ゴアテックス（ＧｏｒｅＴｅｘ™）、ナイロン、ポリオレフィン、ポリエチレン、ポリプロピレン、フルオロカーボン化合物、ポリテトラフルオロエチレン、レーヨン、ダクロン、アクリル系樹脂、酢酸ポリマー、およびその他のプラスチックが挙げられ、これらは単独でもよいし、または、組み合わせてもよい。天然物質としては、これらに限定されないが、綿、羊毛、絹、亜麻繊維、麻、ダイズ、およびその他のステープルファイバーが挙げられ、これらは単独でもよいし、または、組み合わせてもよい。また、合成繊維と天然繊維とのブレンド用いでもよい。しかしながら、合成フィラメントは、天然繊維よりも擦り切れが少ない傾向がある。

【００２４】

[0026] フロスの引張強度は、それらの全長にわたり均一に分布していなければならない。これは、繊維にとって重要なことであり、すなわち、繊維はそれらの最も弱いポイントで断裂すると予想されるため、バランスの取れた引張強度が重要である。従って、本発明のデンタルフロスは、高い引張強度を有するが、それでもなお歯間のクリーニングに使用できるような繊維に関連する。フロスまたはフロス繊維のデニールは、その重量、加えて引張強度の尺度である。デニールは、コーティングされていないフロス９，０００メートルあたりの重量（グラム）と定義される。デニールの数値とフロスのストランドの厚みとの間に直接的な相関があり、すなわちこの値が増加すると、ストランドの厚さも増加する。従って、一般的に、デニールが大きくなればなるほど、他の全ての条件が同じならばより高い引張強度を示す。本発明の一実施態様において、円形のフロスのデニールは、約７５０～９５０デニールであり、平坦なフロスでは、約９５０～１１５０デニールである。

【００２５】

[0027] また、フロスそれ自身の長さ、直径、構造またはデザインは、いかなる具体的なサイズ、形状、配置または外形に限定されることはなく、従って、あらゆる具体的な意図に見合うように製造することができる。フロスは、例えば複数の別個のフィラメントで構成することができ、これら別個のフィラメントが一緒になってより太い糸を形成するが、このような糸は歯間への挿入が可能なように十分に小さい直径を有している。またこのようなフロスは、押出し成形されたモノフィラメント、または、その他のマルチフィラメントのヤーンに接着された複合型のマルチフィラメントのヤーンを含んでいてもよい。また、一本の円形、四角形または長方形のモノフィラメント糸も有用である。さらにその他の適切なバリエーションも当業界公知であり、本明細書において開示された発明においてもそのようなものとして使用することができる。

【００２６】

[0028] 本明細書において開示された発明において、本明細書においてこの開示によって特定された成分をデンタルフロスに結合させたり、または、別の方法で付着させたりす

るために、例えば結合剤が用いられる。またこれら結合剤は、デンタルフロスの摩擦係数を変更する能力や、加えて、フロスそれ自身を構成するそれぞれのフィラメントを一緒に結合させるのを補助する能力も提供する。その上、本明細書において用いられる多様な選択肢はいかなる特定のタイプまたは組成物に制限されることはないため、それらの配合、構造または構成は自由に選択することが可能である。従って、いくつかの適切な結合剤の例としては、これらに限定されないが、植物由来の天然ワックス（例えば、カルナウバワックス、ダイズワックス、および、ホホバワックス）、加えて、その他の水溶性もしくは非水溶性ワックス、または、ワックス様の化合物もしくは水溶性、または、非水溶性ポリマー、石鹸、ゴム類、樹脂（例えば、ミルラ樹脂および蜂蝋）、および当業界でよく知られているその他の物質が挙げられる。

【００２７】

[0029] またフロスは、例えば１種またはそれより多くの可溶化剤を利用する可能性もある。可溶化剤の機能は、そのようなものとして、解離に役立つと予想される。従って適切な可溶化剤としては、これらに限定されないが、濾水、逆浸透水、蒸留水、および、脱イオン水が挙げられ、これらは単独でもよいし、または、組み合わせてもよい。しかしながら、なかでも特に、脱イオン水がが好ましいことがわかった。

【００２８】

[0030] またフロスは、例えば１種またはそれより多くの矯味矯臭剤を利用することもできる。好ましくは、これらは、植物および果物から誘導された油または抽出物を含み、このような油または抽出物としては、例えば、柑橘類の油、果実の精油、ミント、ペパーミント油、スペアミント油、チョウジ油、ウインターグリーン油、アニス、サッサフラス、セージ、ユーカリ、マージョラム、桂皮、レモン、オレンジ、バナナ、サクランボ、フェンネル、リンゴ、パイナップル、ブドウ、イチゴ、および、ブルーベリーが挙げられる。当業者であれば理解していると思われるが、このような天然の矯味矯臭剤は、独立して用いてもよいし、または、あらゆる感覚的に許容できるブレンドで組み合わせて用いてもよい。本発明では、このような全てのフレーバーおよびフレーバーブレンドが考慮される。

【００２９】

[0031] 消費者への魅力をより高めるために、フロスはさらに、例えば１種またはそれより多くの天然甘味剤を含んでいてもよい。このような天然甘味剤としては、これらに限定されないが、キシリトール、グリセロール、ソルビトール、マルチトール、エリトリトール、スクロース、ラクトース、デキストロース、マルトース、デキストリン、フルクトース、ガラクトースなどが挙げられる。

【００３０】

[0032] フッ化物は、これまでに、齲食病変または虫歯の発生を予防するのに役立つことが見出されている。虫歯は、歯が再石灰化する速度よりも速い速度で脱灰すると引き起こされ、ほとんどの脱灰は、酸を生産する歯垢によって引き起こされる。しかしながら、再石灰化は、カルシウムおよびリン酸塩によって促進され、主要な再石灰化を起こす物質は、唾液中にも見出されている。それゆえに、フッ化物をベースとした化合物は、歯の上で、または、歯の中で、リン酸カルシウムの沈殿をヒドロキシアパタイトの形態で促進するための触媒として作用することによって齲食病変または虫歯からの保護を提供する。しかしながら、これだけがフッ化物の役割ではない。フッ化物はまた、ある種の細菌の酵素の活性、および、それらの酸を生産する工程を阻害することもでき、さらに、極めて高い濃度では、フッ化物は所定の歯垢細菌を殺すこともできる。さらにより重要なことに、フッ化物は、酸による溶解をかなり起こしにくい無機物を形成するフッ素化ヒドロキシアパタイトまたは「フルオロアパタイト」としてアパタイトに包含されるようになりつつある。

【００３１】

[0033] 従って、フロスは、例えば１種またはそれより多くのフッ化物をベースとした化合物を含んでいてもよい。これらの化合物はまた、わずかに水に可溶性であってもよく

、または、完全に水溶性であってもよい。しかしながらこのような化合物は、まず第一に、それらの水中でフッ化物イオン放出する能力を有し、さらに、フロスのその他の化合物と望ましくない反応を起こすことがないという特徴を有する。このような物質としては、なかでも特に、多数のフッ化物ベースの化合物が挙げられ、これらは例えば、可溶性のアルカリ金属、アルカリ土類金属塩などの無機フッ化物塩を含んでいてもよい。フッ化物のような化合物が用いられる場合、用いられる量は、大体において、フッ素含有化合物のタイプ、その溶解性、および、最終的に選択された配合および構造に依存する。そのようなものとして、一般的な配合であり、製薬上安全が守られていると観察される限りは、用いられる量または総計には実質的なゆとりが与えられる。その結果として、以下に列挙される配合にフッ化物をベースとした化合物が用いられる場合はいつも、このような化合物は、０．３０パーセント（ｗ／ｗ）以下の量であることが予想される。しかしながら、最大の範囲を０．２４パーセント（ｗ／ｗ）に設定することが好ましいことがわかり、０．２２～０．２４パーセント（ｗ／ｗ）が、使用するのに最もよい総体的な範囲である。

【００３２】

[0034] 歯みがき剤

[0035] また本発明のカンゾウの超臨界CO_2抽出物（グリキルリザ種の根の抽出物）は、練り歯磨き、歯磨き用ジェル、および、歯磨き粉と共に用いることもできる。本発明の一実施態様において、歯みがき剤で用いられる本発明の抽出物の濃度は、約０．００２～２．０重量％の範囲である。好ましい濃度において、その範囲は、０．０２～１．０重量％である。リコリシジンおよびリコリソフラバンＡが本発明の歯みがき剤において抗菌剤として用いられる場合、これらは、単独で、または、混合物として、約０．０１ｗｔ％～１．０ｗｔ％の合計濃度で、約０．０５ｗｔ％～０．５ｗｔ％の合計濃度で、または、約０．１ｗｔ％～０．２ｗｔ％の合計濃度で用いてもよい。

【００３３】

[0036] 練り歯磨き、ジェル、液状ジェル、義歯洗浄のための液体およびペーストなどの形態の組成物は、一般的に、結合剤または増粘剤を含むと予想される。本明細書において使用するのに適した結合剤としては、カラギーナン（好ましい）、および／または、天然ゴム類、例えばカラヤガム、キサンタンガム（好ましい）、アラビアゴム（好ましい）が挙げられ、さらに、トラガカントゴムも使用することができ、加えて当業界でよく知られているその他の物質も使用することができる。質感をさらに改善するための増粘剤の一部として、コロイド状のケイ酸マグネシウムアルミニウム、または、微粉ケイ酸が使用できる。結合剤／増粘剤は、組成物総量の約０．１％～約１５．０％、好ましくは約１．０～約１２重量％の量で用いることができる。それらの活性物質はフッ化物および硝酸カリウムであり、それらのレベルは、それぞれそれらの虫歯予防および過敏に関するＦＤＡの研究論文で説明されている。歯肉炎に関する活性物質については、現在でもなお研究論文で結論が出されていない。研磨剤は、炭酸カルシウム、重曹またはケイ酸である。

【００３４】

[0037] このような組成物は、典型的には、１種またはそれより多くの甘味料および香料を含むと予想される。歯みがき剤に使用するのに適した甘味料および香料の例は、上記で考察した通りである。さらに、ｐＨのバランスをとる物質（例えば、クエン酸、ＮａＯＨ）、加えて界面活性剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム）、保存剤（例えば、安息香酸、ソルビン酸）安定剤なども、歯みがき剤組成物で用いられることが多く、それらの例も上記で示した通りである。本発明の組成物は、植物性薬品も同様に含んでいてもよい。

【００３５】

[0038] 歯みがき剤は、本発明のカンゾウ抽出物の取り込みに加えて、少量の、例えば０．０１～２重量％のその他の天然成分を含んでいてもよく、そのような成分としては、例えば抗酸化剤、保存剤、ｐＨ調節剤、知覚鈍麻剤、安定剤、ゲル化剤、フレーバーなどが挙げられる。好ましいゲル化または結合剤は、１種またはそれより多くのカラギーナン、または、キサンタンガムである。好ましい香料は、例えばペパーミント、スペアミント、アンズおよび桂皮などの天然の香料である。過敏な歯のためには、このような調合物は

、過敏な歯を有する人々の痛みを軽減する物質を含んでいてもよい。この目的に好ましい成分は、硝酸カリウムである。本発明において分散剤を用いてもよい。好ましい分散剤は、ラウリル硫酸ナトリウム、または、サポニンを含む植物抽出物である。

【００３６】

[0039] また、空気に晒されても組成物が硬くならないようにするために、練り歯磨き中に１種またはそれより多くの潤滑剤（保湿剤）のような材料を含ませることも望ましい。好ましい潤滑剤は、グリセリン、および、ソルビトールである。また所定の潤滑剤は、練り歯磨き組成物に望ましい甘味を付与する可能性もある。また液状歯みがき剤およびマウスウォッシュも、所定量の潤滑剤を含んでいてもよい。適切な潤滑剤は当業界公知である。潤滑剤が存在する場合、潤滑剤は、一般的に、本発明の組成物の約１０％～約７０重量％で存在する。

【００３７】

[0040] 歯磨き粉は、練り歯磨きの成分のうち多くの同じ成分を利用することができるが、それらは、乾燥させた状態で（すなわち、乾式粉砕して）混合されるか、または、液体組成物として混合され、続いて例えば様々な既知の噴霧乾燥技術によって乾燥させなければならない。噴霧乾燥は、液状の組成物を熱く乾燥したチャンバーにミストとして噴霧すると、そこでミストの水性の部分がチャンバーの乾式加熱によって蒸発し、組成物の乾燥した成分だけが粉末化した形態で残ることと説明されている。本組成物の粉末化した形態は、約０．１％～５％の含水量を有する。続いて歯磨き粉は、使用の際に水を加えて元に戻されるが、これは、使用時の水の添加（例えば、使用者が適用した水によって）、または、使用者の唾液のいずれかによってなされる。

【００３８】

[0041] 溶解性錠剤

[0042] 本発明のその他の形態は、本発明のグリキルリザ種の超臨界CO_2抽出物を含む、溶解性の義歯洗浄のための錠剤である。本発明のさらにその他の形態は、例えば本発明の超臨界CO_2抽出物から単離したリコリシジンおよびリコリソフラバンＡの一方または両方を含む溶解性の義歯洗浄のための錠剤である。

【００３９】

[0043] このような錠剤は、固体でもよいし、多層構造でもよいし、中心に液体が充填された形態などでもよい。このような錠剤は、約１時間未満で、好ましくは約１５分間未満で、完全に、または、ほぼ完全に水溶液中に溶解すると予想される。このような錠剤は発泡性であってもよいが、必ずしもそうでなくてもよい。

【００４０】

[0044] 水溶性の義歯洗浄のための錠剤は、まず、適切な結合剤を用いて、例えば無水アルコール溶液中で、成分の顆粒化を行い、得られた顆粒を乾燥させることによって製造される。続いて、得られた顆粒状の混合物を０．４％またはそれ未満の含水量まで乾燥させ、篩にかけ、続いて、適切なブレンド装置中で、結合剤、充填剤、増量剤、色素、フレーバー、潤滑剤などと共に、望ましい活性成分と徹底的にブレンドする。最終的なブレンドを、パンチと型打ち式の錠剤成形プレスに供給し、そこで錠剤に圧縮する。その後このようにして形成された錠剤を放出して、包装する。

【００４１】

[0045] マウスウォッシュおよびマウスリンス

[0046] 本発明のマウスウォッシュおよびリンスは、典型的には、例えば水／グリセリン溶液中に本発明のグリキルリザ種の超臨界CO_2抽出物を含み、さらに加えて、１種またはそれより多くのフレーバー、湿潤剤、甘味料、乳化剤（例えば、ポロキサマー）、および、着色剤を含んでいてもよい。本発明のさらにその他の形態は、例えば本発明の超臨界CO_2抽出物から単離したリコリシジンおよびリコリソフラバンＡの一方または両方を含むマウスウォッシュである。

【００４２】

[0047] マウスウォッシュは、グリセリンを、０～６０重量％、好ましくは０～３０重

量％のレベルで含んでいてもよい。このようなマウスウォッシュ調製物のｐＨ値は、一般的に約３．５～約８．０であり、好ましくは約４．０～約７．５である。ｐＨが８．７より大きい場合、不快な口内での感触が生じると予想される。このような口腔用の液状製剤はまた、表面活性剤、すなわち界面活性剤を、約５．０％以下、より好ましくは約０．５～２．０％の量で含んでいてもよく；および、フッ化物を供給する化合物を、製剤の約２．０重量％以下の量で含んでいてもよく、より好ましくは、フッ化ナトリウムの場合は約０．０４４２％で含んでいてもよく、または、０．０２５％のフッ化物イオンを含んでいてもよい。

【００４３】

[0048] 本発明のマウスウォッシュおよびマウスリンスはまた、１種またはそれより多くのアルコールを含んでいてもよい。例えば、エタノールである。

[0049] パスティル、ロゼンジおよびチューインガム

[0050] 本発明のグリキルリザ種の超臨界CO_2抽出物を含むチューインガム組成物は、従来のチューインガムの形態であってもよいし、または、咀嚼に適しているその他のあらゆる製品の形態であってもよい。本発明のさらにその他の形態は、本発明の超臨界CO_2抽出物から単離されたリコリシジンおよびリコリソフラバンＡの一方または両方を含むチューインガムである。適切な物理的形状としては、スティック、四角形および糖衣錠（すなわち、糖でコーティングされたガム；例えば、チクレット（Ｃｈｉｃｌｅｔｓ^{TM}））が挙げられる。このようなチューインガムはまた、中心に液体が充填された形態であってもよく、ここで中心の液体は、カンゾウベースの組成物を含む（例えば、米国特許第６，２８０，７８０号を参照）。このようなチューインガムはまた、消化されやすい、または、咀嚼に適した溶解性のガムであり得る。チューインガムは、典型的には、成分が放出されるのに十分な時間口腔内に保持され、それにより、このような成分が口腔での目的のために実質的に全ての歯の表面および／または口腔組織と接触することができる。

【００４４】

[0051] 用語「キャリアー材料」は、本明細書で用いられる場合、本発明のチューインガム組成物で用いられる、あらゆる安全で有効な補足的なチューインガム成分を意味する。このような材料としては、エラストマー、樹脂、可塑剤、脂肪、溶媒、ワックス、乳化剤、柔軟剤、充填剤、甘味料、吸収剤、口腔内で活性な金属イオン、カチオン性材料、フッ化物イオン源、追加の歯石防止剤、抗菌剤、緩衝液、ホワイトニング剤、アルカリ金属の炭酸水素塩、増粘させる材料、潤滑剤、水、界面活性剤、二酸化チタン、矯味矯臭剤、キシリトール、着色剤、および、それらの混合物が挙げられる。

【００４５】

[0052] 本発明のチューインガムは、当業界公知の方法で製造される。例えば、ガムのベースを４５℃に加熱して柔らかくする。全混合工程中、ミキサー容器を４５℃に維持し、本明細書で説明されているような添加剤、加えて本発明の抽出物を添加し、均一になるまで混合する。続いてこのガム混合物をスティック状、四角形などに成形し、包装し、冷却する。必要に応じて、このようなガムを糖中でコーティングするか、または、無糖のキャンデーでコーティングする。

【００４６】

[0053] 本カンゾウ組成物はまた、ロゼンジおよびパスティル組成物で用いることもできる。ロゼンジおよびパスティルのためのキャリアーは、都合のよい形態としては、糖、例えばグルコース、ラクトース、もしくはスクロース、または、実質的に虫歯を発生させない材料、例えばマンニトール、キシリトール、マルチトール、エリトリトール、もしくはソルビトールである。

【００４７】

[0054] このような活性成分およびキャリアーに加えて、ロゼンジは、好ましくは、１種またはそれより多くの結合剤、例えばゼラチン（植物性のゴム、例えばアラビアゴムが好ましい）、または、液状のグルコースＢＰＣ１９６３を含み、これらは、合計で、ロゼンジの約０．５～１０重量％の量で存在することが都合がよい可能性がある。好ましい範

囲は、約１～５重量％である。

【００４８】

[0055] ロゼンジは、加えて、ロゼンジの製造を容易にするために、潤滑剤、例えばステアリン酸、または、ステアリン酸塩、例えばステアリン酸マグネシウムを含んでいてもよい。１種またはそれより多くの潤滑剤が存在する場合、それらのロゼンジ中の合計含量は、好ましくは、０．１～５重量％である。

【００４９】

[0056] ロゼンジは、従来のロゼンジの製造法によって製造してもよく、例えば、１，３－ビス（２－カルボキシクロモン－５－イルオキシ）－２－ヒドロキシプロパン、または、それらの塩を、アジュバント、希釈剤またはキャリアーと共に混合し、この混合物を圧縮することによって製造することができる。好ましい手法において、望ましくは、ロゼンジに圧縮する前に、まずビス－クロモン、および、アジュバント、希釈剤またはキャリアーを一緒に造粒する。顆粒工程は、好ましくは湿式造粒法による工程であり、潤滑剤は、望ましくは圧縮工程の直前に添加される。

【００５０】

[0057] パスティル（場合によっては、ナツメのようなドロップ（ｊｕｊｕｂｅ）、または、ソフトロゼンジとしても知られている）は、グリセリン、ゼラチン（またはその他の天然のゲル化剤）および水の混合物から作製された硬質のゼリー様の製剤であり、その中に本発明の抽出物が包含されている。フレーバーが添加されてもよい。グリコゼラチンのベースを穏やかに加熱することによって融解させてもよく、そこに全ての成分を添加する。続いて、温められたベースを鋳型に注入し、硬化させる。例えば、www.rpsgb.org.uk/pdfs/mussheet04.pdfを参照すること。

【００５１】

[0058] ボディケア製品

[0059] 典型的なボディケア製品としては、例えば、ボディローション、皮膚用クリーム、石鹸、ヘアケア製品（例えば、シャンプーおよびコンディショナー）、日焼け止め、抗炎症性外用剤、脱毛用組成物、髭剃り用製品（例えば、シェービングクリーム、および、アフターシェーブローション）、消臭剤、乳児ケアなどが挙げられる。ボディケア製品は、一般的には外用トリートメント剤として、体の外部（例えば、皮膚、毛髪など）に用いられる製品である。

【００５２】

[0060] 当業者は、このようなボディケア製品の配合方法について理解している。例えば、Ｓｉｌｖａ等の米国特許第６，８６１，０６２号（この参照により開示に含まれる）は、皮膚用クリームの典型的な調合物および製造方法を開示している。スキンケア製品のための薬草系の組成物も、当業界でよく知られており（例えば、Ｆａｓａｎｏの米国特許６，５８６，０１８号を参照、この参照により開示に含まれる）、典型的な調合物および製造方法が開示されている。

【００５３】

[0061] 髭剃り用製品の組成物および製造方法もまた、当業界でよく知られている。例えば、Ｌｕｃａｓの米国特許第７，１７９，４５４号（この参照により本発明に含まれる）、は、数種の典型的な調合物および製造方法を開示している。Ｔｉｅｔｊｅｎ等の米国特許第６，４７９，０４３号（この参照により開示に含まれる）は、脱毛剤の典型的な調合物および製造方法を開示している。

【００５４】

[0062] 同様に、石鹸、日焼け止めローションおよび抗炎症性外用トリートメント剤の調合物および製造方法も、当業界でよく知られている。

[0063] 一実施態様において、本発明のボディケア製品は、実質的にグリシルリジン酸非含有の抽出物を含むグリキルリザ種植物の根の抽出物を含み、ここで抽出物の主成分は、プレニル化フラボノイドであり、上記根は、超臨界CO_2抽出工程によって抽出される。

【００５５】
[0064] その他の実施態様において、本抽出物は、グリキルリザ・ウラレンシス由来であり、抽出物の主成分は、リコリシジンおよびリコリソフラバンＡである。
[0065] その他の実施態様において、本抽出物は、グリキルリザ・グラブラ由来であり、抽出物の主成分は、グラブリジンである。
【００５６】
[0066] 例えば、一実施態様において、本発明の消臭剤は本発明の抽出物を含み、それに加えて、抗酸化剤化合物と組み合わせて、好ましくはトコフェロールおよびその誘導体、ブチルヒドロキシアニソール（ＢＨＡ）、ブチルヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、エリソルビン酸、没食子酸プロピル、エリソルビン酸ナトリウム、ｔｅｒｔ－ブチルヒドロキノン（ＴＢＨＱ）、および、ローズマリー抽出物からなる群より選択される成分を共に、より好ましくはアスコルビン酸およびそれらの塩を共に含む。さらに、本消臭剤は、不飽和ヒドロキシカルボン酸の所定の金属塩、好ましくはリシノール酸亜鉛を含んでもよい。その他の好ましい実施態様において、本発明の抽出物は、約０．０１～５．０重量％の濃度であり、より好ましい実施態様において、約０．０５～２．０重量％の濃度である。リコリシジンおよびリコリソフラバンＡが本発明の消臭剤において抗菌剤として用いられる場合、これらは、単独で、または、混合物として、約１０．０１ｗｔ％～１．０ｗｔ％の合計濃度で、約０．０５ｗｔ％～０．５ｗｔ％の合計濃度で、または、約０．１ｗｔ％～０．２ｗｔ％の合計濃度で用いてもよい。
【００５７】
[0067] ボディローション、皮膚用クリーム、石鹸、ヘアケア製品、日焼け止め、抗炎症性外用剤、脱毛用組成物、髭剃り用製品、乳児ケア製品の場合、本発明の抽出物の濃度は、約０．０１～２％の濃度であり、より好ましくは０．１～１％の濃度である。リコリシジンおよびリコリソフラバンＡが本発明のボディケア製品において抗菌剤として用いられる場合、これらは、単独で、または、混合物として、約０．０１ｗｔ％～１．０ｗｔ％の合計濃度で、約０．０５ｗｔ％～０．５ｗｔ％の合計濃度で、または、約０．１ｗｔ％～０．２ｗｔ％の合計濃度で用いてもよい。
【実施例】
【００５８】
[0068] 抽出工程：以下の実施例で用いられる、および、本発明の歯みがき剤の製造におけるカンゾウ抽出物を、新規の非自明的な超臨界CO_2抽出工程を用いて作製した。一実施態様において、本発明の抽出工程は以下の通りである。グリキルリザ・ウラレンシスの根を切断し、すりつぶし、粉末化して原材料を作った。この原材料を抽出チャンバー（抽出装置）に入れた。抽出チャンバーに液体CO_2を供給した。液体CO_2は、加工／貯蔵タンクから送られ、これらを冷却し、３００ｂａｒ、５０℃で、９６％エタノールを５％で添加しながら抽出チャンバーにポンプ注入した。続いてCO_2抽出物をエバポレーターを介して計量し、分離タンクに流した。
【００５９】
[0069] 抽出装置中で確立された超臨界条件下で、CO_2は、親油性成分に関しては溶媒特性を有するが、一方で気相中のCO_2は、溶媒の力がなくてもセパレーター中の条件（６０ｂａｒ、３０℃）下にある。そのために、上記抽出物が沈殿し、分離タンク中で気体が再生した。続いてCO_2をコンデンサーに通過させて液化し、加工タンクに戻して再利用した。
【００６０】
[0070] 本発明のカンゾウの超臨界CO_2抽出物と、従来技術の方法によって製造された抽出物との比較。
[0071] 微量液体希釈法による最低阻害濃度：嫌気性菌の場合、０．０７５％システインを含む滅菌した予備還元したウィルキンス・チャルグレン（Ｗｉｌｋｉｎｓ　Ｃｈａｌｇｒｅｎ；ＷＣ）嫌気性菌用液体培地（１９０μＬ）を、９６ウェルのプレート中の一連の試験用ウェルのうち第一のウェルに添加し、続いて４つの追加の試験用ウェルそれぞれ

に１００μＬ添加した。エタノール中で４０ｍｇ／ｍＬになるように製造されたフィルター滅菌済みのカンゾウCO_2抽出物のストック溶液（１０μＬ）を、一連のウェルのうち第一のウェルに添加した。第一のウェルの内容物を徹底的に混合し、一連のウェルの残りの４つのウェルを用いて連続的に希釈した（１：１）；一連のウェル中の最終的なウェルから１００μＬを捨てた。約1×10^6ｃｆｕ（コロニー形成単位）／ｍＬに希釈したポルフィロモナス・ジンジバリスＡＴＣＣ３３２７７、または、プレボテラ・インターメディアＡＴＣＣ２５６１１の懸濁液を、試験用ウェルに１００μＬの量で添加した。適切な増殖促進剤および滅菌コントロールを加えた。増殖コントロールウェルに濁りが観察されるまで、プレートを３７℃で嫌気的にインキュベートした。肉眼で観察した場合の試験微生物の増殖を阻害する最低濃度として、ＭＩＣ（最小阻止濃度）を記録した。ストレプトコッカス・ミュータンスＡＴＣＣ２５１７５を、試験培地としてトリプトンダイズ培地（ＴＳＢ）を用い、プレートを３７℃で５％CO_2と共にインキュベートすることを含む類似の様式で試験した。試験培地としてトリプトンダイズ培地（ＴＳＢ）を用い、プレートを３７℃でインキュベートすることによって、スタフィロコッカス・アウレウスＡＴＣＣ６５３８を試験した。試験培地としてトリプトンダイズ培地（ＴＳＢ）を用いて、室温（２５℃）でインキュベートすることによって、アスペルギルス・ニガーＡＴＣＣ１６４０４を試験した。

【００６１】

[0072] 結果を各細菌ごとに３連の実験で得られた最頻値として記録した。Ｐ．インターメディアおよびＰ．ジンジバリスは、歯周炎に関連するグラム陰性細菌である。ストレプトコッカス・ミュータンスは、虫歯の形成に関与する。両方の超臨界抽出物は、試験された抽出物の最低濃度で３種の病原菌の増殖を阻害することができた。本発明の超臨界カンゾウ抽出物は、調節剤としてエタノールを用いても、または用いなくても、１２．５μｇ／ｍｌの濃度でＰ．インターメディアを阻害することができた。調節剤としてエタノールを用いた抽出物は、クロルヘキシジンと同じレベルでＰ．ジンジバリスの増殖を阻害することができた。本発明の超臨界カンゾウ抽出物（エタノールを含む）は、齲蝕原性細菌であるＳ．ミュータンスの増殖を、１２．５μｇ／ｍｌの濃度で阻害することができた。本発明の超臨界カンゾウ抽出物（エタノールを含まない）は、３１．２５μｇ／ｍｌのみ試験された。表１Ａを参照すること。

【００６２】

【表１】

表１Ａ．口腔細菌に対する抗菌活性

	カンゾウCO_2抽出物（μg/ml）	カンゾウCO_2-EtOH抽出物（μg/ml）	クロルヘキシジン
プレボテラ・インターメディア	12.5	12.5	3.125
ポルフィロモナス・ジンジバリス	12.5	6.25	6.25
ストレプトコッカス・ミュータンス	<31.25*	12.5	1.56

*試験された最低濃度が31.25(μg/ml)であった。

【００６３】

[0073] リコリシジンおよびリコリソフラバンＡの抗菌活性

[0074] リコリシジンおよびリコリソフラバンＡは、本発明の超臨界CO_2抽出物に含まれる成分のうちの２種である。これらはいずれも、表１Ｂで示されるように、虫歯の主要な起因物であるストレプトコッカス・ミュータンスに対して３．１２５μｇ／ｍｌで抗菌活性を示し、プレボテラ・インターメディアに対しては、リコリシジンおよびリコリソフラバンＡはそれぞれ約０．７８μｇ／ｍｌおよび約１．５６μｇ／ｍｌで抗菌活性を示し、ポルフィロモナス・ジンジバリスに対しては、それぞれ０．３９μｇ／ｍｌおよび１

．５６μｇ／ｍｌで抗菌活性を示した。ポルフィロモナス・ジンジバリスおよびプレボテラ種は、歯周炎に関連する。これらの濃度を、最小阻止濃度（ＭＩＣ）とした。どちらの成分も抗炎症薬として優れた活性を示した。当業者によれば、ＭＩＣは、一晩インキュベートした後に目で見てわかるような微生物の増殖を阻害すると予想される抗菌剤の最小濃度として定義される。当業者によれば、最小阻止濃度は、新しい抗菌剤の活性をモニターするために用いられる。本明細書においてポジティブコントロールとして用いられているクロルヘキシジンは、例えばマウスウォッシュにおいて抗菌剤としてよく使われているものである。

【００６４】

[0075] 微量液体希釈法による最低阻害濃度を以下のようにして行った。エタノール中で１ｍｇ／ｍＬになるように製造されたフィルター滅菌済みの純粋な化合物としてのリコリシジンまたはリコリソフラバンＡのストック溶液（１０μＬ）を、一連のウェルのうち第一のウェルに添加した。第一のウェルの内容物を徹底的に混合し、一連のウェルの残りの７つのウェルを用いて連続的に希釈した（１：１）；一連のウェル中の最終的なウェルから１００μＬを捨てた。約１×１０^{6}ｃｆｕ（コロニー形成単位）／ｍＬに希釈したポルフィロモナス・ジンジバリスＡＴＣＣ３３２７７、または、プレボテラ・インターメディアＡＴＣＣ２５６１１の懸濁液を、試験用ウェルに１００μＬの量で添加した。適切な増殖促進剤および滅菌コントロールを加えた。増殖コントロールウェルに濁りが観察されるまで、プレートを３７℃で嫌気的にインキュベートした。肉眼で観察した場合の試験微生物の増殖を阻害する最低濃度として、ＭＩＣ（最小阻止濃度）を記録した。ストレプトコッカス・ミュータンスＡＴＣＣ２５１７５を、試験培地としてトリプトンダイズ培地（ＴＳＢ）を用い、プレートを３７℃で５％CO_2と共にインキュベートすることを含む類似の様式で試験した。

【００６５】

[0076] 結果を各細菌ごとに３連の実験で得られた最頻値として記録した。Ｐ．インターメディアおよびＰ．ジンジバリスは、歯周炎に関連するグラム陰性細菌である。ストレプトコッカス・ミュータンスは、虫歯の形成に関与する。いずれの化合物も、３種の病原菌の増殖を阻害することができた。

【００６６】

【表２】

表１Ｂ

	抽出物 (μg/ml)	リコリシジン (μg/ml)	リコリソフラバンA (μg/ml)	クロルヘキシジン (μg/ml)
S.ミュータンス	12.50	3.125	3.125	1.56
P.ジンジバリス	6.25	0.39	0.78	6.25
P.インターメディア	6.25	0.78	1.56	3.125

【００６７】

[0077] バイオフィルム形成および生存能力：ヘミンおよびビタミンＫが補充されたトッド・ヒューイット（Ｔｏｄｄ－Ｈｅｗｉｔｔ）培地（ＴＨＢ－ＨＫ）中でＰ．ジンジバリス（ＡＴＣＣ３３２７７）を２４時間培養したものを新しい液体培地で希釈したところ、６５５ｎｍ（OD_{655}）での光学密度が０．０７であった。サンプル（１００μＬ）を、ＴＨＢ－ＨＫ中の滅菌植物抽出物の連続希釈液（０～５００μｇ／ｍＬ）１００μＬを含む９６ウェルの組織培養プレートのウェルに添加した。抽出物を含まないコントロールウェルにも植え付けた。嫌気性条件下で３７℃で４８時間インキュベートした後に、使用済みの培地と浮遊している細菌を２６Ｇの針を用いた吸引によって除去し、ウェルを蒸留水で３回洗浄した。Ｐ．ジンジバリスのバイオフィルムを０．４％クリスタルバイオレット（１００μＬ）で１５分間染色した。ウェルを蒸留水で４回洗浄し、未結合のクリスタルバイオレット色素を除去し、３７℃で２時間乾燥させた。各ウェルに１００μＬの９５％（ｖ／ｖ）エタノールを添加した後、プレートを１０分間振盪して、バイオフィルム

から染料を除去し、５５０ｎｍ（A_{550}）における吸光度を記録した。分析を３連で行い、２回の独立した実験の平均±標準偏差を計算した。表２を参照すること。

【００６８】

[0078] テトラゾリウムナトリウム３’－｛１－［（フェニルアミノ）－カルボニル］－３，４－テトラゾリウム｝－ビス（４－メトキシ－６－ニトロ）ベンゼンスルホン酸水和物（ＸＴＴ）還元分析を用いて、Ｐ．ジンジバリスの細胞生存能力に対する植物分画の作用を調査した。簡単に言えば、ＸＴＴを１ｍｇ／ｍＬでＰＢＳに溶解させ、アセトン中で１ｍＭのメナジオンを製造した。ＸＴＴ／メナジオン試薬は、１部のメナジオンに１２．５部のＸＴＴ／を含んでいた。４８時間のＰ．ジンジバリスのバイオフィルムを上述したようにして製造し、２５μＬのＸＴＴ／メナジオンを添加する前に、植物分画（０～２５０μｇ／ｍＬ）で２時間処理した（嫌気生活、３７℃）。３７℃で１時間後、４９０ｎｍ（Ａ４９０）における吸光度をマイクロプレートリーダーを用いて読んだ。本発明のカンゾウ抽出物は、Ｐ．ジンジバリスの増殖を阻害することができ、さらにＰ．ジンジバリスの形成も阻害した。それに続いてＰ．ジンジバリスは、付着することができなくなった（付着防止性）。バイオフィルム形成後にカンゾウ抽出物を適用した場合、バイオフィルムの脱離は起こらなかったが、バイオフィルムの生存能力は減少し、これは、バイオフィルムは除去されなかったが、バイオフィルムを形成する細菌が死んだことを意味する。表２を参照すること。

【００６９】

【表３】

表２：Ｐ．ジンジバリスのバイオフィルム形成、付着特性および生存能力に対するカンゾウCO_2抽出物の作用

	P.ジンジバリスのバイオフィルムの阻害（付着防止性）（μg/ml）	P.ジンジバリスのバイオフィルムの脱離（μg/ml）	P. ジンジバリスの増殖（μg/ml）	バイオフィルム中のP. ジンジバリスに対する殺菌作用（細胞生存能力）（μg/ml）
カンゾウCO_2抽出物	4.2	－	4.2	8

【００７０】

[0079] ＬＰＳ調製物：アグリゲイティバクター・アクチノミセテムコミタンス（Ａｇｇｒｅｇａｔｉｂａｃｔｅｒ　ａｃｔｉｎｏｍｙｃｅｔｅｍｃｏｍｉｔａｎｓ）ＡＴＣＣ２９５２２（別名：アクチノバシラス・アクチノミセテムコミタンス（Ａｃｔｉｎｏｂａｃｉｌｌｕｓ　ａｃｔｉｎｏｍｙｃｅｔｅｍｃｏｍｉｔａｎｓ））、および、Ｐ．ジンジバリスＡＴＣＣ３３２７７をそれらの適切な培養培地中で増殖させた。我々の実験室で慣例的に用いられる方法によってＬＰＳをこれらの菌株から単離した。

【００７１】

[0080] マクロファージの処理：１０％ＦＢＳおよび１００μｇ／ｍＬのペニシリン－ストレプトマイシンが補充されたＲＰＭＩ－１６４０（ＲＰＭＩ－ＦＢＳ）中で、３７℃で、５％CO_2の雰囲気中で、ヒト単芽球性白血病細胞系Ｕ９３７細胞（ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－１５９３．２）を培養した。単球（2×10^5細胞／ｍｌ）を、１０ｎｇ／ｍｌのミリスチン酸ホルボール（ＰＭＡ）を含むＲＰＭＩ－１０％ＦＢＳ中で４８時間インキュベートし、付着性のマクロファージ様細胞への分化を誘導した。ＰＭＡ処理後、培地を新しい培地と交換し、分化細胞を使用前に追加の２４時間インキュベートした。付着性のマクロファージをＲＰＭＩ－１０％ＦＢＳに懸濁し、２００×ｇで８分間遠心分離した。それらを洗浄し、ＲＰＭＩ－１０％ＦＢＳに1×10^6細胞／ｍｌの密度で懸濁し、３７℃、５％CO_2雰囲気で、６ウェルのプレート中に植え付けた（２ｍｌ中に2×10^6細胞／ウェル）。

【００７２】

[0081] ２５０μｇ／ｍｌ以下の濃度でマクロファージをカンゾウ抽出物で処理し、３７℃、５％CO_2中で２時間インキュベートし、その後、最終濃度１μｇ／ｍｌのＬＰＳで刺激した。２４時間インキュベートした後に（３７℃、５％CO_2中）、培地の上清を回収し、使用するまで－２０℃で保存した。カンゾウ抽出物を含む、または含まない培地中で細胞をインキュベートしたが、ＬＰＳで刺激しないものを、コントロールとして用いた。

【００７３】

[0082] サイトカインレベルの測定：市販の酵素結合免疫吸着検査法（ＥＬＩＳＡ）キット（Ｒ＆Ｄシステムズ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ），ミネアポリス，ミネソタ州，米国）を用いて、製造元のプロトコールに従って、無細胞培養上清中のＩＬ－１β、ＩＬ－６、ＩＬ－８およびＴＮＦ－α濃度を定量した。４５０ｎｍにおける吸光度を、５５０ｎｍの波長補正設定を用いたマイクロプレートリーダーで読んだ。

【００７４】

[0083] 統計的分析：分散の両側検定を行い、異なる条件の平均を比較した。０．０５レベル（Ｐ値）で差が有意とみなした。

[0084] 抗炎症性作用

本発明の抽出物は、インビトロにおいて、濃度１０μｇ／ｍｌのアグリゲイティバクター・アクチノミセテムコミタンスのＬＰＳと濃度５μｇ／ｍｌのインターロイキン６で刺激したヒト単芽球性白血病細胞系Ｕ９３７細胞から生産されたマクロファージによる、インターロイキン１β、インターロイキン８および腫瘍壊死因子αの生産の、有意な阻害を引き起こした。これらの結果は２回の独立した実験で確認された。

【００７５】

[0085] カンゾウ抽出物は、インビトロにおいて、５～１０μｇ／ｍｌの様々な濃度のＰ．ジンジバリスのＬＰＳで刺激されたマクロファージによる、インターロイキン６、インターロイキン８および腫瘍壊死因子α（ＴＮＦ－α）の生産の、有意な阻害を引き起こした。これらの結果は２回の独立した実験で確認された。

【００７６】

[0086] 超臨界CO_2抽出物のＨＰＬＣ解析

[0087] 本発明の抽出物、および、従来技術の方法によって生産された抽出物のサンプルを、高圧液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）によって解析した。用いられた手法の詳細は以下の通りである：

[0088] ＨＰＬＣは、ゾルバックス（Ｚｏｒｂａｘ）Ｃ－１８ガードカラム（Ｇｕａｒｄ　Ｃｏｌｕｍｎ）を備えた、ゾルバックス・エクリプス（Ｅｃｌｉｐｓｅ）ＸＤＢ　Ｃ－１８（２５０×４．６ｍｍ、直径５μｍ，アジレント・テクノロジーズ（Ａｇｉｌｅｎｔ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，カリフォルニア州サンタクララ）製）で行われた：（カタログ番号：ＨＰ９９０９６７－９０２およびＨＰ８２０９５０－９２５）。

【００７７】

【表４】

移動相：	MeCN(0.05%TFA)	H_2O(0.05%TFA)
0分	45	55
3分	45	55
25分	100	0
25.1分	45	55

調整：	少なくとも20分
流速：	1.0 ml/分
冷却温度：	30 ℃
検出器：	280nm (bw 16, 参照450nmm, bw 100)
ランタイム：	25分
ポストタイム：	5分

【００７８】

[0089] 図１に結果を示す。第一のクロマトグラム（Ａ）は、熱水を用いた抽出物を示し、この抽出物は、親水性化合物のみを含む。４．５分後のピーク溶出は、グリシルリジン酸である。ＵＶスペクトルおよび保持時間によれば、グリシルリジン酸は、熱水抽出物にのみ存在する。第二のクロマトグラム（Ｂ）は、１００％エタノールの抽出物であり、クロマトグラム（Ｃ）は、酢酸エチル抽出物であり、いずれも組成が極めて類似しているが、例外的に、Ｂは、より多くの親水性化合物を含む（０～４分で溶出）。CO_2抽出物の主成分は、リコリシジン（ピーク１、１６．５分後に溶出）、および、リコリソフラバンＡ（ピーク２、２１分後に溶出）であり、約１８分の同定されていないフラボノイドのピーク３も共存する。調節剤としてエタノール（ＥｔＯＨ）を用いた超臨界抽出物は、より多くの親水性化合物を含み、調節剤を含まない超臨界抽出物は、最大量のリコリシジンおよびリコリソフラバンＡを含む。その上、環境面の視点から、CO_2抽出物は、親水性化合物と親油性化合物との優れたバランスを達成するのにわずかな割合のエタノール（５～１０％）しか要しない。両方の超臨界抽出物において、リコリシジンおよびリコリソフラバンＡは、高度に優勢な成分である。

【００７９】

[0090] 以下のようにして、本発明の超臨界CO_2抽出物からリコリシジンおよびリコリソフラバンＡを単離した。約４３３ｍｇの量のカンゾウCO_2／ＥｔＯＨ抽出物を、ビュッヒ（Ｂｕｃｈｉ）Ｃ－６００ＭＰＬＣシステム（ビュッヒ・アナリティカル（Ｂｕｃｈｉ Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ），フラウィル（Ｆｌａｗｉｌ），スイス）を備えた中圧液体クロマトグラフィー（ＭＰＬＣ）に送り、ここで、ＯＤＳベースの（フェノメネックス（Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ）ルナ（Ｌｕｎａ）Ｃ－１８（２）、１００Å）固定相を用い、溶媒としてアセトニトリル－水（４５：５５）を用い、流速５ｍｌ／分を用いた。リコリシジン（３２．８ｍｇ）およびリコリソフラバンＡ（２１．５ｍｇ）を含む分画３を、分画７から得た。リコリシジンの純度は約８９％であり、リコリソフラバンＡの純度は約９１％であった。本発明との関連において、本発明のリコリシジンおよびリコリソフラバンＡに関して用語「単離した」が用いられる場合、約５０％またはそれより大きい純度、約６０％またはそれより大きい純度、約７０ｗｔ％またはそれより大きい純度、約８０ｗｔ％またはそれより大きい純度、約９０ｗｔ％またはそれより大きい純度、約９５ｗｔ％またはそれより大きい純度、または、約９９ｗｔ％またはそれより大きい純度を含む。

【図２】

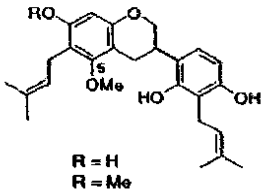
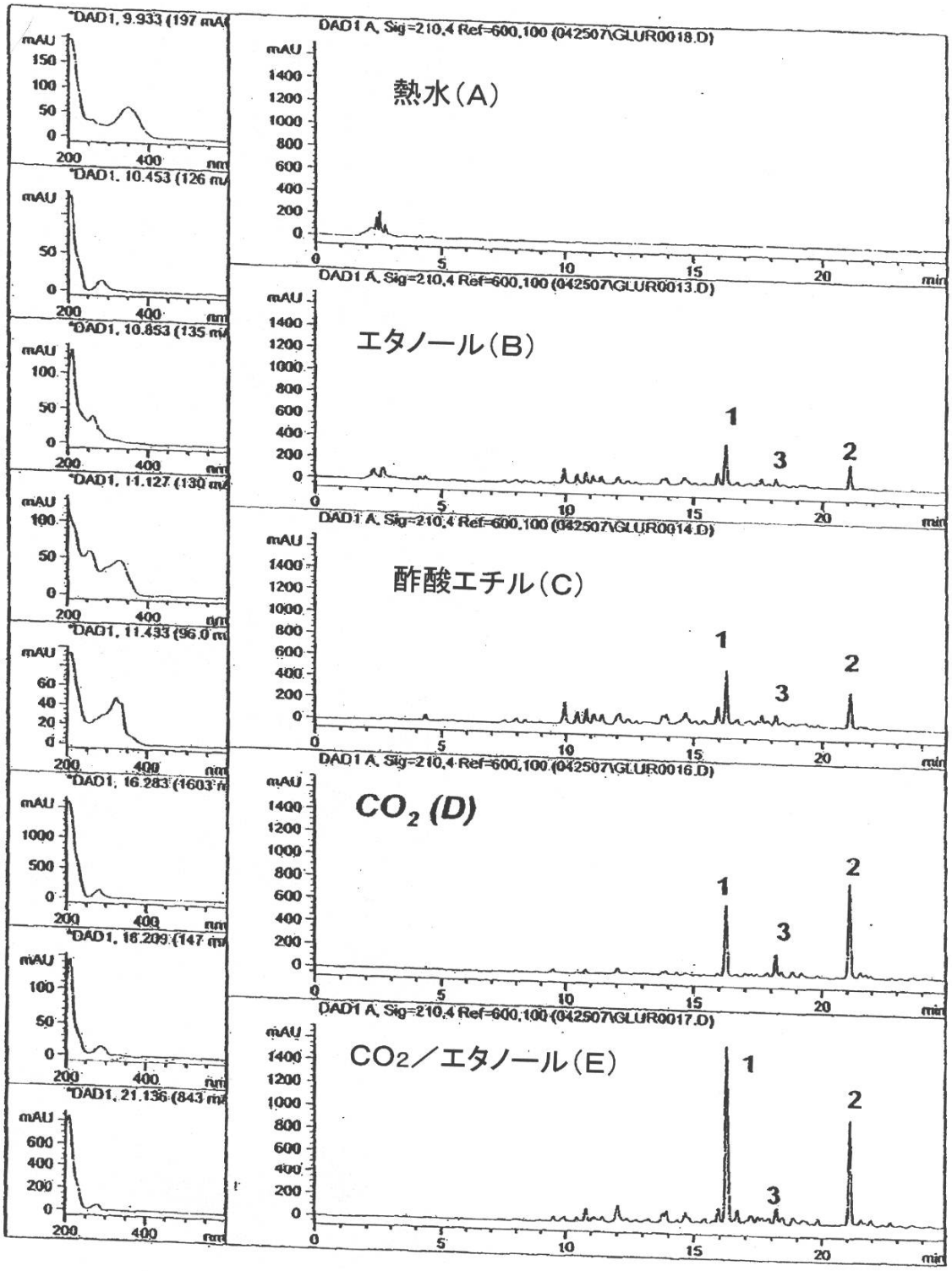


Fig. 2

【図１】


DAD1 A, Sig=210,4 Ref=600,100 (042507\GLUR0018.D)
熱水（A）
DAD1 A, Sig=210,4 Ref=600,100 (042507\GLUR0013.D)
エタノール（B）
DAD1 A, Sig=210,4 Ref=600,100 (042507\GLUR0014.D)
酢酸エチル（C）
DAD1 A, Sig=210,4 Ref=600,100 (042507\GLUR0016.D)
CO2 (D)
DAD1 A, Sig=210,4 Ref=600,100 (042507\GLUR0017.D)
CO2／エタノール（E）
1
2
3
mAU
min

フロントページの続き

(51)Int.Cl. FI
A61P 1/02

(72)発明者 バージェロン, チャンタル
アメリカ合衆国メイン州０４０４６, ケネバンクポート, ワイルデス・ディストリクト・ロード９３アール
(72)発明者 ガフナー, ステファン
アメリカ合衆国メイン州０４０４６, ケネバンクポート, ワイルデス・ディストリクト・ロード９３アール

審査官 八次 大二朗

(56)参考文献 特開平０６－０４８９５２（ＪＰ, Ａ）
特開平０４－１６４０２１（ＪＰ, Ａ）
特開２００３－１７６２３３（ＪＰ, Ａ）
特開平０１－１３５７２３（ＪＰ, Ａ）
新しい化粧品素材の効能・効果・作用（下）, 日本, 株式会社シーエムシー, １９９８年 ８月３１日, 第1刷, 第４１４－４１７、４５３－４５５頁

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ ８／９７
Ａ６１Ｋ ３６／００
Ａ６１Ｋ ３６／４８
Ａ６１Ｐ １／０２
Ａ６１Ｑ １１／００
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）
ＪＳＴＰｌｕｓ（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）