202304477

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本　(11)公開編號：TW 202304477 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：111110502　(22)申請日： 中華民國 111 (2022) 年 03 月 22 日

(51)Int. Cl.：　*A61K33/00* *(2006.01)*　*A61K31/047* *(2006.01)*
A61P1/02 *(2006.01)*　*A61K8/19* *(2006.01)*
A61K8/34 *(2006.01)*　*A61Q11/00* *(2006.01)*
A23L33/125 *(2016.01)*

(30)優先權：2021/03/23　日本　2021-049259
2021/12/13　日本　2021-201868

(71)申請人：日商花王股份有限公司 (日本) KAO CORPORATION　(JP)
日本

(72)發明人：藤井明彦 FUJII, AKIHIKO (JP) ；赤津友基 AKATSU, TOMOKI (JP) ；河野早和子 KAWANO, SAWAKO (JP) ；惣野初美 SONO, HATSUMI (JP) ；峯岸慶彥 MINEGISHI, YOSHIHIKO (JP)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無　申請專利範圍項數：22 項　圖式數：4　共 34 頁

(54)名稱

口腔內黏膜奈瑟氏菌（Neisseria　mucosa）增加劑

(57)摘要

本發明提供一種可用於增加口腔內黏膜奈瑟氏菌之含有率之素材。

本發明係一種口腔內黏膜奈瑟氏菌增加劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

【發明摘要】

【中文發明名稱】

口腔內黏膜奈瑟氏菌（Neisseria mucosa）增加劑

【中文】

本發明提供一種可用於增加口腔內黏膜奈瑟氏菌之含有率之素材。

本發明係一種口腔內黏膜奈瑟氏菌增加劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

口腔內黏膜奈瑟氏菌（Neisseria mucosa）增加劑

【技術領域】

【0001】

本發明係關於一種口腔內之黏膜奈瑟氏菌增加劑。

【先前技術】

【0002】

於人類之體內，微生物在各種部位構建基於複雜之相互作用之固有菌群(flora)並棲息在其中。固有菌群之構成於個體間存在差異，該個體差異與宿主之健康狀態之關聯近年來被大量指出並受到關注。

口腔亦與腸內同樣地為多種細菌大量共存之一個微生物生態系統。針對以齲齒及牙周病為代表之口腔感染，已鑑定出數種病原性細菌，該等細菌亦通常作為生態系統之一員於口腔中共存。因此，推測其等與周圍之其他固有細菌之相互作用在疾病之發病中起較大作用。先前，於預防、治療口腔疾病時，雖然以除去直接引起疾病之病原細菌為目標，但認為對病原細菌不易繁衍之固有菌群之誘導亦可成為預防口腔疾病之方法。

【0003】

已知黏膜奈瑟氏菌(Neisseria mucosa)與乾燥奈瑟氏菌、黃奈瑟氏菌、微黃奈瑟氏菌、淺黃奈瑟氏菌、長奈瑟氏菌等奈瑟氏菌屬菌一同作為口腔內之非病原性固有菌而存在。本申請人最近發現，黏膜奈瑟氏菌之菌體或其培養物抑制牙周病原菌感染牙齦細胞，可用於預防或治療牙周病(專利文獻1)。

又，有報告稱，奈瑟氏菌屬菌具有硝酸還原酶及亞硝酸還原酶，從而具有將硝酸根離子(NO_3^-)還原成亞硝酸根離子(NO_2^-)或一氧化氮(NO)之能力(非專利文獻1)。認為當經口攝取硝酸根離子時，吸收至體內之一部分硝酸根離子以高濃度自血液中轉移至唾液中，被口腔內固有之硝酸還原細菌還原成亞硝酸鹽，然後於胃內或各種組織中酵素性或非酵素性地產生一氧化氮(NO)。一氧化氮係於體內各處發揮細胞間之資訊傳遞、抗菌作用、對病原體之生物防禦、血管擴張作用、對肌肉收縮性之效果等之重要化合物，尤其期待對牙周病原菌之抗菌作用、及基於其血管功能改善之血壓下降、或者基於其肌肉收縮性之改善或提昇的運動功能之改善或提昇作用(非專利文獻2～5)。

因此，增加奈瑟氏菌屬菌之口腔內含有率較為有用。

【0004】

另一方面，已知鉀離子具有減輕齒髓神經之過敏性之作用，硝酸鉀等對感覺過敏有效(非專利文獻6)。又，亦有報告稱，許多糖醇具有促進唾液分泌及牙齒再鈣化之作用，赤藻糖醇、木糖醇及山梨醇具有預防齲齒之效果(非專利文獻7)。又，有報告稱，赤藻糖醇等糖醇具有阻礙生物膜形成之作用(專利文獻2)。

然而，硝酸鉀或糖醇對口腔內奈瑟氏菌屬菌之作用完全未知。

【0005】

[專利文獻1]日本專利特願2020-200517

[專利文獻2]日本專利特開2005-29484號公報

[非專利文獻1]Barth KR et al., Microbiology (2009), 155:4093-4103

[非專利文獻2]Carlstrom M et al., Acta Physiol (Oxf). (2018),

224:e13080

[非專利文獻3]柴田勝，農業與科學，2019年4月，1-8

[非專利文獻4]Omar SA et al., J Intern Med. (2016), 279:315-336

[非專利文獻5]C.J. Backlund et al., J Dent Res 93(11):1089-1094, 2014

[非專利文獻6]Poulsen S et al., Cochrane Database Syst Rev.; (2006):CD001476

[非專利文獻7]Peter de Cock P et al., Int J Dent. (2016), 2016:9868421.

【發明內容】

【0006】

本發明係關於以下1)～16)。

1)一種口腔內黏膜奈瑟氏菌增加劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

2)一種口腔內奈瑟氏菌屬菌增加劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

3)一種口腔菌群改善劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

4)一種牙周病原菌感染抑制劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

5)一種牙周病之預防或改善劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

6)一種一氧化氮增加劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤

藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

7)一種高血壓預防或改善劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

8)一種運動功能改善或提昇劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

【0007】

9)一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造口腔內黏膜奈瑟氏菌增加劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

10)一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造口腔內奈瑟氏菌屬菌增加劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

11)一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造口腔菌群改善劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

12)一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造牙周病原菌感染抑制劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

13)一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造牙周病之預防或改善劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

14)一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造一氧化氮增加劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露

醇。

15)一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造高血壓預防或改善劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

16)一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造運動功能改善或提昇劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

【圖式簡單說明】

【0008】

圖1係硝酸鉀與各糖醇之併用對牙垢生物膜菌群中之黏膜奈瑟氏菌產生之效果。

圖2係硝酸鉀與各糖醇之併用對牙垢生物膜菌群中之奈瑟氏菌屬菌產生之效果。

圖3係硝酸鉀與赤藻糖醇之併用對牙垢生物膜菌群中之黏膜奈瑟氏菌產生之效果(劑量依賴性)。

圖4係硝酸鉀與赤藻糖醇之併用對牙垢生物膜菌群中之奈瑟氏菌屬菌產生之效果(劑量依賴性)。

【實施方式】

【0009】

本發明提供一種可用於增加口腔內黏膜奈瑟氏菌之含有率之素材。

【0010】

本發明人等發現，藉由將硝酸根離子供給化合物與特定糖醇組合，可增加口腔內黏膜奈瑟氏菌之含有率及奈瑟氏菌屬菌之含有率，可用於增

加一氧化氮或者預防或治療牙周病。

【0011】

根據本發明，可增加口腔內黏膜奈瑟氏菌之含有率及奈瑟氏菌屬菌之含有率，因此可預防或治療牙周病。又，可經由供給一氧化氮來改善血管功能或提昇骨骼肌收縮性，預防或改善高血壓或者改善或提昇運動功能。

【0012】

於本發明中，作為硝酸根離子供給化合物，可例舉與水接觸時可生成硝酸根離子之化合物，較佳為硝酸鹽。作為硝酸鹽，例如可例舉：硝酸鹼金屬鹽、硝酸鹼土類金屬鹽，作為具體例，可例舉：硝酸鈉、硝酸鉀、硝酸鈣等，較佳為硝酸鉀。硝酸鹽較佳為合成來源者，亦可為自然來源者。

【0013】

於本發明中，作為糖醇，可使用選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上。就增加口腔內黏膜奈瑟氏菌之含有率之觀點而言，作為糖醇，較佳為至少使用赤藻糖醇。

【0014】

該硝酸根離子供給化合物與糖醇可組合使用，其態樣可為將各者之有效量以適當之調配比製劑化成一個劑型而成的調配劑，又，亦可為能夠將含有各者之有效量之藥劑單獨製劑化而成者同時使用或間隔分開使用的套組。較佳為調配劑之形態。

【0015】

於本發明中，硝酸根離子供給化合物與糖醇之組合之比率可適當選

擇，例如相對於硝酸根離子供給化合物1質量份，糖醇較佳為2.5質量份以上，更佳為5質量份以上，更佳為10質量份以上，且較佳為40質量份以下，更佳為30質量份以下，更佳為20質量份以下。又，較佳為2.5～40質量份，更佳為5～20質量份，更佳為10～20質量份。

【0016】

如下述實施例所示，若於單獨或組合包含硝酸鉀及各種糖醇(赤藻糖醇、木糖醇、甘露醇)之培養基中培養包含自健康人採集之牙垢之牙垢懸浮液，製作牙垢生物膜，算出黏膜奈瑟氏菌之含有率及奈瑟氏菌屬菌之含有率，則於單獨使用硝酸鉀或各種糖醇，及併用硝酸鉀與山梨醇或麥芽糖醇時，與對照群相比，黏膜奈瑟氏菌之含有率及奈瑟氏菌屬菌之含有率未表現出顯著變化，但當併用硝酸鉀與赤藻糖醇、木糖醇或甘露醇時，黏膜奈瑟氏菌含有率及奈瑟氏菌屬菌之含有率顯著增加。

因此，硝酸根離子供給化合物與選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇之組合可成為口腔內黏膜奈瑟氏菌增加劑、口腔內奈瑟氏菌屬菌增加劑或口腔菌群改善劑，可用於製造口腔內黏膜奈瑟氏菌增加劑、口腔內奈瑟氏菌屬菌增加劑或口腔菌群改善劑。

又，硝酸根離子供給化合物與選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇之組合可用於增加口腔內黏膜奈瑟氏菌，增加口腔內奈瑟氏菌屬菌或改善口腔菌群。此處，該用途可為對人類或非人類動物之投予、或者在源自該等之檢體中之用途，又，可為治療性用途，亦可為非治療性用途。此處，作為非人類動物，可例舉非人類哺乳動物，例如：人猿、其他靈長類、小鼠、大鼠、馬、牛、豬、羊、狗、貓、倉鼠、及伴生動物等。

【0017】

於本發明中，黏膜奈瑟氏菌(Neisseria mucosa)係屬於奈瑟氏菌(Neisseria)科奈瑟氏菌屬之革蘭氏陰性球菌，係非病原性口腔固有菌。

又，奈瑟氏菌屬菌係指屬於奈瑟氏菌(Neisseria)科奈瑟氏菌屬之非病原性口腔固有菌，除了黏膜奈瑟氏菌以外，還包含乾燥奈瑟氏菌(Neisseria sicca)、黃奈瑟氏菌(Neisseria flava)、微黃奈瑟氏菌(Neisseria subflava)、淺黃奈瑟氏菌(Neisseria flavescens)、長奈瑟氏菌(Neisseria elongata)等。

【0018】

於本發明中，「增加口腔內黏膜奈瑟氏菌」意指藉由使口腔內奈瑟氏菌屬菌中之至少黏膜奈瑟氏菌之代謝活化等，來增加黏膜奈瑟氏菌於口腔內之含有率。又，「增加口腔內奈瑟氏菌屬菌」意指口腔內奈瑟氏菌屬菌增加。

又，「改善口腔菌群」係指增加口腔內黏膜奈瑟氏菌或口腔內奈瑟氏菌屬菌之含有率，更有效地發揮黏膜奈瑟氏菌或口腔內奈瑟氏菌屬菌所具有之生理功能，使口腔菌群向對宿主有利之方向變動。

【0019】

再者，如下述實施例所示，黏膜奈瑟氏菌之含有率例如可藉由如下方式算出：將黏膜奈瑟氏菌之硝酸還原酶基因(narG)作為靶基因，藉由即時PCR(Polymerase Chain Reaction，聚合酶鏈反應)法測定該基因之複製數，求出與所有細菌之rRNA16S基因之複製數之比。

又，奈瑟氏菌屬菌之含有率可藉由如下方式算出：藉由使用特異性地檢測所有奈瑟氏菌屬菌種之rRNA16S基因之探針之即時PCR法來測定該基因之複製數，求出與所有細菌之rRNA16S基因之複製數之比。

【0020】

如上所述，黏膜奈瑟氏菌由於其菌體或其培養物抑制牙周病原菌感染牙齦細胞，抑制牙齦炎症，故而可用於預防或治療牙周病(上述專利文獻1)。再者，牙周病原菌意指感染牙周組織，引起牙齦炎，進而引起牙周組織破壞之牙齦卟啉單胞菌、具核梭桿菌等細菌。

又，奈瑟氏菌屬菌由於具有將硝酸根離子(NO_3^-)還原成亞硝酸根離子(NO_2^-)或一氧化氮(NO)之能力(上述非專利文獻1)，故而認為硝酸根離子供給化合物被奈瑟氏菌屬菌還原成亞硝酸鹽，進而轉化成包含一氧化氮之氮氧化物，發揮基於血管功能改善之血壓下降作用或基於骨骼肌收縮性提昇之運動功能提昇作用(上述非專利文獻2、3、4)。

因此，本發明之口腔內黏膜奈瑟氏菌增加劑、奈瑟氏菌屬菌增加劑或口腔菌群改善劑，即硝酸根離子供給化合物與選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇之組合可成為一氧化氮增加劑、高血壓預防或改善劑、運動功能提昇劑、牙周病之預防或改善劑，可用於增加一氧化氮，改善或提昇運動功能，預防或改善高血壓，預防或改善牙周病。

此處，牙周病之預防或改善劑藉由黏膜奈瑟氏菌抑制牙周病原菌感染牙齦細胞之作用而發揮其效果，故而可抑制殺菌劑之使用量，可成為安全性更高之製劑。

【0021】

此處，「增加一氧化氮」意指增加生物體內生來之一氧化氮濃度。藉由增加一氧化氮，可預防或改善由缺乏一氧化氮引起之血管功能降低(例如血管內皮功能降低、動脈硬化等)及隨之發生之病情(高血壓、心肌梗塞、腦梗塞等)。又，藉由增加一氧化氮，可提昇骨骼肌之收縮性，改

善或提昇運動功能。

「牙周病」意指牙齦因牙垢中之細菌而發生炎症之炎症性疾病，包括牙齦炎及牙周炎。

又，「預防」係指防止或延緩個體發生疾病或症狀，或者降低個體發生疾病或症狀之危險性。

又，「改善」意指疾病、症狀或狀態好轉，防止或延緩疾病、症狀或狀態惡化，或者逆轉、防止或延緩疾病或症狀之發展，包括所謂「治療」之概念。

又，「提昇」係指身體功能等自現在起朝更好之方向或優異之狀態發展。

【0022】

關於本發明之口腔內黏膜奈瑟氏菌增加劑、奈瑟氏菌屬菌增加劑、口腔菌群改善劑、牙周病之預防或改善劑、一氧化氮增加劑、高血壓預防或改善劑、運動功能改善或提昇劑，其本身可成為用以增加口腔內黏膜奈瑟氏菌，增加口腔內奈瑟氏菌屬菌，改善口腔菌群，預防或改善牙周病，增加一氧化氮，預防或改善高血壓，或者改善或提昇運動功能之醫藥品、準藥品、食品、口腔用組合物，又，可成為調配於該醫藥品、準藥品、食品、口腔用組合物中而使用之素材或製劑。

再者，食品包括食品、功能性表示食品、特定保健用食品、病人用食品、補充品，其等係以增加口腔內黏膜奈瑟氏菌，增加口腔內奈瑟氏菌屬菌，改善口腔菌群，抑制牙周病原菌感染，預防或改善牙周病，增加一氧化氮，預防或改善高血壓，改善或提昇運動功能等為概念，視需要表現出其要旨。

【0023】

作為用作醫藥品或準藥品之情形時之形態，較佳為經口投予之形態，其劑型例如可例舉如下各種形態：液劑；錠劑、顆粒劑、細粒劑、粉劑、片劑等固體劑；或封入有該液劑或固體劑之膠囊劑、口腔用噴霧、口含錠等。

【0024】

作為用作食品之情形時之形態，可例舉：果汁或蔬菜汁飲料、碳酸飲料、茶系飲料、乳飲料、醱酵乳、醱酵果汁、醱酵蔬菜汁、酒精飲料、清涼飲料等飲料；果凍狀食品、各種休閒點心類、烘烤糕點、蛋糕類、巧克力、果醬、麵包、口香糖、糖果、湯類、醃菜、甜烹海味等各種食品，除此以外，還可例舉與上述經口投予製劑相同之形態(錠劑、膠囊劑、糖漿等)之補充品等。

【0025】

作為用作口腔用組合物之情形時之具體形態，可例舉：漱口劑、漱口水、牙膏、潔牙粉、液體牙膏、口腔用軟膏劑、凝膠劑、錠劑、顆粒劑、細粒劑、果凍軟糖、口含錠、片劑、膠囊、糖果、口香糖等，較佳者可例舉牙膏、漱口劑、果凍軟糖、口含錠。

【0026】

該醫藥品、準藥品、食品、口腔用組合物可將硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇與其他有效成分、或醫藥品、食品等中容許之添加物、任意食品材料等適當組合，按照常規方法製備。

【0027】

上述醫藥品、準藥品、食品、口腔用組合物中硝酸根離子供給化合物及糖醇之含量並無特別限定，只要根據一天投予量等適當調節即可。

【0028】

關於上述醫藥品、準藥品、食品、口腔用組合物，攝取或投予量可根據患者之體重、年齡、性別、症狀等各種條件適當地確定，一個成年人每天以硝酸根離子供給化合物計攝取或投予量可例舉60 mg以上，較佳為200 mg以上，更佳為600 mg以上，且為6000 mg以下，較佳為2000 mg以下，更佳為1000 mg以下。又，以糖醇計，攝取或投予量可例舉300 mg以上，較佳為1000 mg以上，更佳為3000 mg以上，且為30000 mg以下，較佳為10000 mg以下，更佳為5000 mg以下。

【0029】

作為本發明之口腔內黏膜奈瑟氏菌增加劑、口腔內奈瑟氏菌屬菌增加劑、口腔菌群改善劑、牙周病原菌感染抑制劑、牙周病之預防或改善劑、一氧化氮增加劑、高血壓預防或改善劑、運動功能改善或提昇劑之應用對象，較佳者可例舉：感染牙周病原菌之人、患有牙齦炎或牙周炎之類的牙齦炎症之人、期望預防牙齦炎症發生之人、有高血壓之人、期望血壓下降之人、欲改善或提昇運動功能之人等。

【0030】

關於上述實施方式，本發明中進而揭示以下態樣。

＜1＞一種口腔內黏膜奈瑟氏菌增加劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜2＞一種口腔內奈瑟氏菌屬菌增加劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜3＞一種口腔菌群改善劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜4＞一種牙周病原菌感染抑制劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜5＞一種牙周病之預防或改善劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜6＞一種一氧化氮增加劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜7＞一種高血壓預防或改善劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜8＞一種運動功能改善或提昇劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

【0031】

＜9＞一種口腔內黏膜奈瑟氏菌增加用食品，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜10＞一種口腔內奈瑟氏菌屬菌增加用食品，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜11＞一種口腔菌群改善用食品，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜12＞一種牙周病原菌感染抑制用食品，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜13＞一種牙周病之預防或改善用食品，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜14＞一種一氧化氮增加用食品，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜15＞一種高血壓預防或改善用食品，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

＜16＞一種運動功能改善或提昇用食品，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

【0032】

＜17＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造口腔內黏膜奈瑟氏菌增加劑或者口腔內黏膜奈瑟氏菌增加用食品，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜18＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造口腔內奈瑟氏菌屬菌增加劑或者口腔內奈瑟氏菌屬菌增加用食品，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜19＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造口腔菌群改善劑或者口腔菌群改善用食品，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜20＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造牙周病原菌感染抑制劑或者牙周病原菌感染抑制用食品，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜21＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造牙周病之預防或改善劑或者牙周病之預防或改善用食品，上述

一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜22＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造一氧化氮增加劑或者一氧化氮增加用食品，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜23＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造高血壓預防或改善劑或者高血壓預防或改善用食品，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜24＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造運動功能改善或提昇劑或者運動功能改善或提昇用食品，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

【0033】

＜25＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合，其用於增加口腔內黏膜奈瑟氏菌，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜26＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合，其用於增加口腔內奈瑟氏菌屬菌，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜27＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合，其用於改善口腔菌群，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜28＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合，其用於抑制牙周病原菌感染，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜29＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合，其用於

預防或改善牙周病，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜30＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合，其用於增加一氧化氮，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜31＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合，其用於預防或改善高血壓，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜32＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合，其用於改善或提昇運動功能，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

【0034】

＜33＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之非治療性用途，其用於增加口腔內黏膜奈瑟氏菌，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜34＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之非治療性用途，其用於增加口腔內奈瑟氏菌屬菌，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜35＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之非治療性用途，其用於改善口腔菌群，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜36＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之非治療性用途，其用於抑制牙周病原菌感染，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜37＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之非治療性用途，其用於預防或改善牙周病，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木

糖醇及甘露醇。

＜38＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之非治療性用途，其用於增加一氧化氮，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜39＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之非治療性用途，其用於預防或改善高血壓，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜40＞一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之非治療性用途，其用於改善或提昇運動功能，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

【0035】

＜41＞一種口腔內黏膜奈瑟氏菌增加方法，其將硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇以有效量投予至需要其之對象或使需要其之對象以有效量攝取。

＜42＞一種口腔內奈瑟氏菌屬菌增加方法，其將硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇以有效量投予至需要其之對象或使需要其之對象以有效量攝取。

＜43＞一種口腔菌群改善方法，其將硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇以有效量投予至需要其之對象或使需要其之對象以有效量攝取。

＜44＞一種牙周病原菌感染抑制方法，其將硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇以有效量投予至需要其之對象或使需要其之對象以有效量攝取。

＜45＞一種牙周病之預防或改善方法，其將硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇以有效量投予至需要其之對象或使需要其之對象以有效量攝取。

＜46＞一種一氧化氮增加方法，其將硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇以有效量投予至需要其之對象或使需要其之對象以有效量攝取。

＜47＞一種高血壓預防或改善方法，其將硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇以有效量投予至需要其之對象或使需要其之對象以有效量攝取。

＜48＞一種運動功能改善或提昇方法，其將硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇以有效量投予至需要其之對象或使需要其之對象以有效量攝取。

＜49＞於＜1＞～＜48＞中，糖醇較佳為赤藻糖醇、或赤藻糖醇及木糖醇、或赤藻糖醇及甘露醇、或赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

＜50＞於＜1＞～＜49＞中，硝酸根離子供給化合物較佳為硝酸鹽，更佳為硝酸鈉或硝酸鉀。

＜51＞於＜1＞～＜50＞中，關於硝酸根離子供給化合物與糖醇之組合之比率，相對於硝酸根離子供給化合物1質量份，糖醇較佳為2.5質量份以上，更佳為5質量份以上，更佳為10質量份以上，且較佳為40質量份以下，更佳為30質量份以下，更佳為20質量份以下。又，較佳為2.5～40質量份，更佳為5～20質量份，更佳為10～20質量份。

＜52＞於＜1＞～＜50＞中，關於硝酸根離子供給化合物及糖醇之攝取或投予量，一個成年人每天以硝酸根離子供給化合物計為60 mg以上，

較佳為200 mg以上，更佳為600 mg以上，且為6000 mg以下，較佳為2000 mg以下，更佳為2000 mg以下，以糖醇計為300 mg以上，較佳為1000 mg以上，更佳為3000 mg以上，且為30000 mg以下，較佳為10000 mg以下，更佳為5000 mg以下。

＜53＞於＜3＞、＜11＞、＜19＞、＜27＞或＜35＞中，改善口腔菌群係增加口腔內黏膜奈瑟氏菌或口腔內奈瑟氏菌屬菌之含有率。

[實施例]

【0036】

併用硝酸鹽與糖醇對牙垢生物膜菌群中之黏膜奈瑟氏菌產生之影響

(1)牙垢採集及預處理

用牙科用刮牙器自20多歲之健康男性採集附著於牙面之牙垢，放入1.5 mL管中，藉由利用PBS(Phosphate Buffered Saline，磷酸鹽緩衝鹽水)(-)，以7,000 g於室溫下離心2分鐘而洗淨2次。使包含牙垢菌體之顆粒懸浮於CELLBANKER 1Plus(JUJI Field)300 μL中，所製備之牙垢懸浮液於使用之前以-80℃保存。

【0037】

(2)藉由培養牙垢懸浮液而製作牙垢生物膜模型

用溶解有硝酸鉀(Wako)、赤藻糖醇(Wako)、木糖醇(Wako)、甘露醇(Wako)、山梨醇(Wako)、麥芽糖醇(Wako)各受驗化合物之腦心浸出(BHI)培養基(日本BD)將牙垢懸浮液稀釋1000倍，製備包含牙垢菌體之培養液。將製備之培養液逐次以1 mL之量添加於聚L-離胺酸包被24孔板(AGC TECHNO GLASS)中，於溫度37℃、使用Anaero Pack-MicroAero(三菱瓦斯化學)之微好氧條件下培養48小時，製作牙垢生物

膜。培養48小時後，以不破壞底面之牙垢生物膜之方式謹慎地抽吸上清液，製備牙垢生物膜樣本。

【0038】

(3)自牙垢生物膜提取基因組DNA

將20 mg/mL溶菌酶(WAKO)溶液(含有20 mM之Tris-HCl(ph 8.0)、2 mM之EDTA(Ethylenediamine Tetraacetic Acid，四乙酸乙二胺)、1.2% TritonX-100)以200 μL/孔添加到附著於培養盤底面之牙垢生物膜樣本中，一面振盪(160 rpm)一面於37℃之溫度下培養。使用Dneasy血液及組織套組(QIAGEN)，按照套組之標準操作說明進行基因組DNA之提取。最終，藉由300 μL之溶出液進行溶出，製備基因組DNA樣本。

【0039】

(4)基因組DNA樣本中黏膜奈瑟氏菌及奈瑟氏菌屬菌之定量

藉由使用Taqman探針之即時PCR法進行黏膜奈瑟氏菌及奈瑟氏菌屬菌之定量。為了特異性地檢測黏膜奈瑟氏菌，由於奈瑟氏菌屬菌種中僅黏膜奈瑟氏菌具有硝酸還原酶基因(narG)(參照上述非專利文獻1)，故而將narG作為靶基因，製作Taqman探針及引子(表1)。又，製作特異性地檢測所有奈瑟氏菌屬菌之rRNA16S基因之Taqman探針及引子(表1)。又，以既有報告(Nadkarni, MA, et al. Microbiology(2002)148, 257-266)中記載之序列製作檢測所有細菌之rRNA16S基因之Taqman探針及引子(表1)。即時PCR之反應溶液組成及反應條件示於表2。

【0040】

[表1]

靶菌種(靶基因)	引子/探針	序列(5'→3')	序列編號
黏膜奈瑟氏菌(NarG，硝酸還原酶基因)	正向引子	CTACGATTGGTATTGCGACC	1
	反向引子	GTTATACCAATCGGCGGATTC	2
	探針	FAM-TTCACCGCAGACTTGGGGTGAG-TAMRA	3
奈瑟氏菌屬菌(rRNA、16S)	正向引子	ATTCACCGCAGTATGCTGAC	4
	反向引子	AAACCGATCGTAGTCCGG	5
	探針	FAM-CATGCACTCGAGTTGCAGAGTGC-TAMRA	6
所有細菌種(rRNA、16S)	正向引子	TCCTACGGGAGGCAGCAGT	7
	反向引子	GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT	8
	探針	VIC-CGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC-TAMRA	9

【0041】

[表2]

即時PCR反應溶液組成

TaqMan(TM)快速通用PCR主混合液(Thermo Fisher Scientific)	5 μL
正向引子(100 μM)	0.09 μL(0.9 μM)
反向引子(100 μM)	0.09 μL(0.9 μM)
Taqman探針(10 μM)	0.25 μL(0.25 μM)
DNA樣本	4.57 μL

即時PCR條件

95℃	20 sec	
98℃	3 sec	40個循環
60℃	1 min	

【0042】

以複製數明確之PCR產物作為樣品，製作校準曲線，算出黏膜奈瑟氏菌之硝酸還原酶基因(narG)與奈瑟氏菌屬菌之rRNA16S基因之複製數及所有細菌之rRNA16S基因之複製數，藉由下式算出黏膜奈瑟氏菌含有率及奈瑟氏菌屬菌含有率。

【0043】

[數1]

$$\text{黏膜奈瑟氏菌含有率(\%)} = \frac{\text{黏膜奈瑟氏菌之硝酸還原酶基因(narG)之複製數}}{\text{所有細菌之rRNA16S基因之複製數}} \times 100$$

$$\text{奈瑟氏菌屬菌含有率(\%)} = \frac{\text{所有奈瑟氏菌屬菌之rRNA16S基因之複製數}}{\text{所有細菌之rRNA16S基因之複製數}} \times 100$$

[0044]

(5)結果

將1%(W/V)硝酸鉀及5%(W/V)各糖醇(赤藻糖醇、木糖醇、甘露醇、山梨醇、麥芽糖醇)對牙垢生物膜菌群中之黏膜奈瑟氏菌及奈瑟氏菌屬菌產生之效果示於圖1及圖2中。

根據圖1、2，於單獨使用硝酸鉀、赤藻糖醇、木糖醇、甘露醇、山梨醇、麥芽糖醇之情形時，與對照群相比，對黏膜奈瑟氏菌含有率及奈瑟氏菌屬菌之含有率未表現出顯著效果，又，即便將硝酸鉀與山梨醇及麥芽糖醇併用，亦未表現出顯著效果，但於將硝酸鉀與赤藻糖醇、木糖醇或甘露醇之情形時，可見明顯之黏膜奈瑟氏菌含有率及奈瑟氏菌屬菌含有率增加作用。

進而，將併用硝酸鉀與赤藻糖醇所產生之黏膜奈瑟氏菌及奈瑟氏菌屬菌含有率增加效果之劑量依賴性示於圖3及圖4中。

根據圖3及圖4，於單獨使用硝酸鉀之情形時，僅0.2%硝酸鉀可見較弱之黏膜奈瑟氏菌及奈瑟氏菌屬菌含有率增加效果，但於將硝酸鉀與赤藻糖醇併用之情形時，可見基赤藻糖醇劑量依賴性地發揮明顯之黏膜奈瑟氏菌及奈瑟氏菌屬菌含有率增加作用。

【序列表】

<110> 日商花王股份有限公司(KAO CORPORATION)

<120> 口腔內黏膜奈瑟氏菌（Neisseria mucosa）增加劑

<130> KS1800 TW

<150> JP 2021-049259
<151> 2021-03-23

<150> JP 2021-201868
<151> 2021-12-13

<160> 9

<170> PatentIn第3.5版

<210> 1
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 1
ctacgattgg tattgcgacc 20

<210> 2
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 2
gttataccaa tcggcggatt c 21

<210> 3
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 3
ttcaccgcag acttggggtg ag 22

<210> 4
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 4
attcaccgca gtatgctgac 20

<210> 5
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 5
aaaccgatcg tagtccgg 18

<210> 6
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 6
catgcactcg agttgcagag tgc 23

<210> 7
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 7

tcctacggga ggcagcagt 19

<210> 8
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 8
ggactaccag ggtatctaat cctgtt 26

<210> 9
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 9
cgtattaccg cggctgctgg cac 23

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種口腔內黏膜奈瑟氏菌增加劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

【請求項2】

一種口腔內奈瑟氏菌屬菌增加劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

【請求項3】

一種口腔菌群改善劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

【請求項4】

如請求項3之口腔菌群改善劑，其中口腔菌群改善係口腔內黏膜奈瑟氏菌或口腔內奈瑟氏菌屬菌之含有率增加。

【請求項5】

一種牙周病原菌感染抑制劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

【請求項6】

一種牙周病之預防或改善劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

【請求項7】

一種一氧化氮增加劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

【請求項8】

一種高血壓預防或改善劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

【請求項9】

一種運動功能改善或提昇劑，其係以硝酸根離子供給化合物以及選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇之一種以上糖醇作為有效成分。

【請求項10】

如請求項1至9中任一項之劑，其中硝酸根離子供給化合物為硝酸鹽。

【請求項11】

如請求項10之劑，其中硝酸鹽為硝酸鈉或硝酸鉀。

【請求項12】

一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造口腔內黏膜奈瑟氏菌增加劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

【請求項13】

一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造口腔內奈瑟氏菌屬菌增加劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

【請求項14】

一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造口腔菌群改善劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

【請求項15】

如請求項14之用途，其中口腔菌群改善係口腔內黏膜奈瑟氏菌或口腔內奈瑟氏菌屬菌之含有率增加。

【請求項16】

一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造牙周病原菌感染抑制劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

【請求項17】

一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造牙周病之預防或改善劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

【請求項18】

一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造一氧化氮增加劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

【請求項19】

一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造高血壓預防或改善劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

【請求項20】

一種硝酸根離子供給化合物與一種以上糖醇之組合之用途，其用以製造運動功能改善或提昇劑，上述一種以上糖醇選自赤藻糖醇、木糖醇及甘露醇。

【請求項21】

如請求項12至20中任一項之用途，其中硝酸根離子供給化合物為硝酸鹽。

【請求項22】

如請求項21之用途，其中硝酸鹽為硝酸鈉或硝酸鉀。

【發明圖式】

新聞來源信賴分數(%)
65
60
55
50
**
**
*
無意見
5%水準顯著
5%水準顯著
5%水準顯著
5%水準顯著
5%水準顯著
5%水準顯著
5%水準顯著
5%水準顯著
5%水準顯著
5%水準顯著
*P<0.05，**P<0.01(vs.對照組，Dunnett法)

圖 7

80
60
40
20
0
**
**
**

25
20
15
10
5
0
(-) 0.02 0.05
啟發劑(%)
(-) 0.02 0.05
啟發劑(%)
(-) 0.02 0.05
啟發劑(%)
2.5%示漾濕質
5%示漾濕質
10%示漾濕質
**
**
**

冷凍圧縮強度(%)
15
10
5
0
(-) 0.1 0.2 0.5 ↑
改良剤(%)
2.5%示渡浦産
(-) 0.1 0.2 0.5 ↑
改良剤(%)
2.5%示渡浦産
(-) 0.1 0.2 0.5 ↑
改良剤(%)
2.5%示渡浦産
(-) 0.1 0.2 0.5 ↑
改良剤(%)
2.5%示渡浦産
第一工法(当一SD(-=3)
*: P < 0.05 , **: P < 0.01 (vs(-) , Dunnett検定)

(図7)