(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3547835号
(P3547835)
(45)発行日　平成16年7月28日(2004.7.28)　(24)登録日　平成16年4月23日(2004.4.23)

(51)Int.Cl.[7]	F I		
A61K 35/78	A61K	35/78	C
A61K 7/16	A61K	7/16	
A61K 7/26	A61K	7/26	
A61K 31/11	A61K	31/11	
A61K 31/12	A61K	31/12	

請求項の数 2　(全 20 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願平7-67943
(22)出願日　平成7年3月27日(1995.3.27)
(65)公開番号　特開平8-259452
(43)公開日　平成8年10月8日(1996.10.8)
審査請求日　平成12年12月13日(2000.12.13)

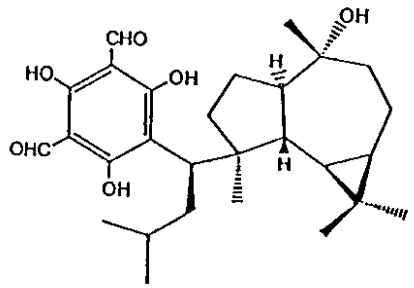
(73)特許権者　390002990
株式会社ロッテ
東京都新宿区西新宿３丁目２０番１号
(74)代理人　100064012
弁理士　浜田　治雄
(72)発明者　大澤　謙二
埼玉県与野市上峰１－１２－１２－４０３
(72)発明者　安田　英之
埼玉県川口市芝１－２８－４

審査官　鶴見　秀紀

最終頁に続く

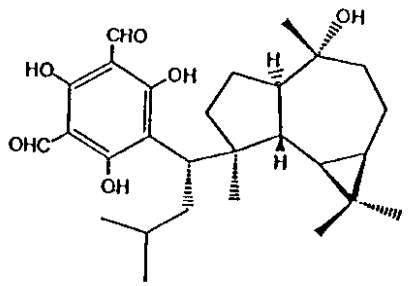
(54)【発明の名称】喉炎症・溶血毒の予防・治療剤およびこれを含有する口腔用組成物

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
ユーカリ属植物より得られる、
【化１】



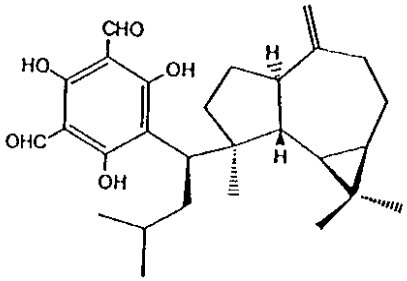
化合物1　マクロカルパール　A

【化２】



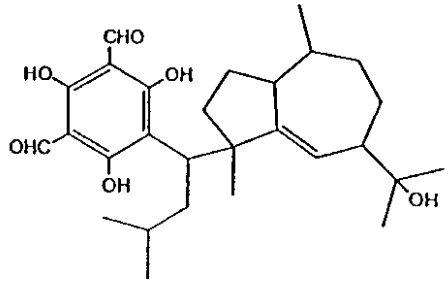
化合物2　マクロカルパール　Ｂ

【化３】



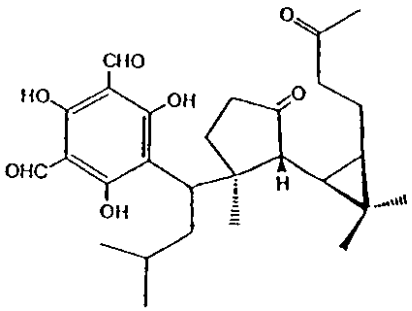
化合物3　マクロカルパール　Ｃ

【化４】



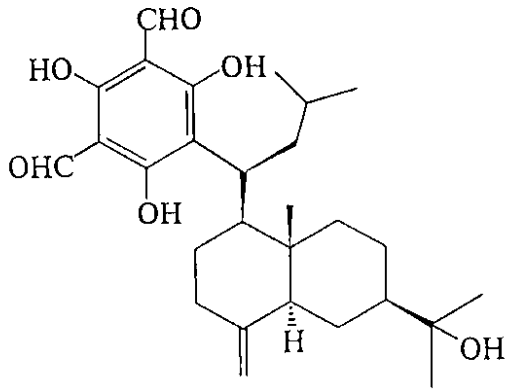
化合物4　マクロカルパール　Ｄ

【化５】



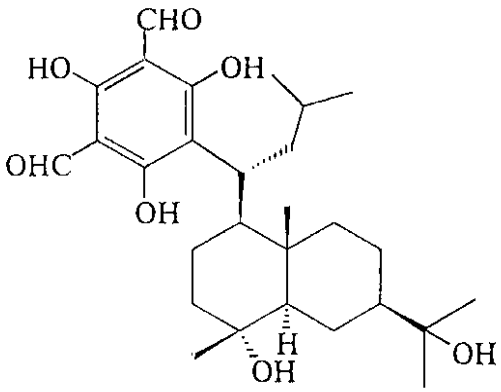
化合物5　一般名なし

【化６】



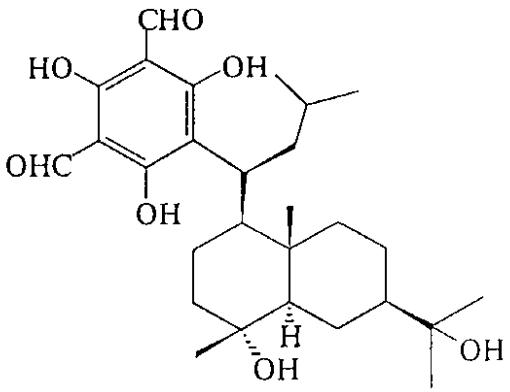
化合物6　一般名なし

【化７】



化合物7　一般名なし

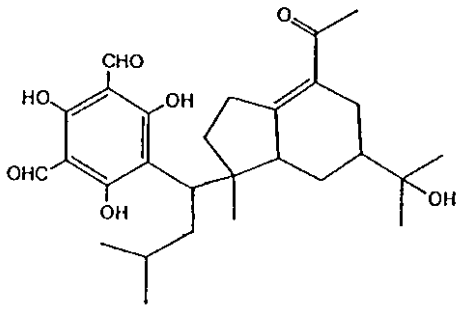
【化８】



化合物8　一般名なし

及び

【化９】



化合物9　一般名なし

から構成される群から選択されるフロログルシノール誘導体の一つ以上を有効成分とすることを特徴とする喉炎症・溶血毒の予防・治療剤。

【請求項２】

請求項１に記載の喉炎症・溶血毒の予防・治療剤を含有することを特徴とする口腔用組成物。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【産業上の利用分野】

本発明は、ユーカリ属植物由来の喉炎症・溶血毒の予防・治療剤およびこれを含有する口腔用組成物に関する。

【０００２】

【従来の技術】

溶血性連鎖球菌（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｐｙｏｇｅｎｅｓ：ストレプトコッカス・ピオゲネス）は、ヒトの口腔内や咽頭などに分布する通性嫌気性グラム陽性球菌である。本菌は連鎖球菌の中で最も病原性が強く、粘膜では咽頭炎、扁桃炎、中耳炎等を起こし、皮膚では種々の化膿性炎症ををを引き起こすことが知られており、いずれも咽頭もしくは扁桃腺において増殖する。

【０００３】

本菌の病原性因子として、溶血毒（ストレプトリジンＯ）、ディック毒素、ストレプトキナーゼ、ＤＮＡ分解酵素、ヒアルロニダーゼ等が知られており、咽頭炎、扁桃炎、気管支炎等の呼吸器系疾患の病因的役割を果たしている。

【０００４】

これらの呼吸器系疾患を予防および治療するためには、病巣において本菌類の生育を阻害することおよび本菌類の病原性因子を抑制することが重要である。そして、菌の抑制という観点では、本菌類に対して有効な抗菌性物質の応用が効果的である。

【０００５】

従来、本菌類に対する抗菌性物質としてペニシリン系、セフェム系、セファロスポリン系の抗生物質が用いられていたが、これらは作用が強力である反面、耐性菌の出現や副作用の発現等から日常的な利用に適しているとはいえない。

【０００６】

本発明者等は、非抗生物質系で、本菌に対する抗菌活性および本菌の産生する溶血毒阻害活性を有する物質を得んとして、各種天然物の抽出物につきスクリーニングを行った結果、ユーカリの精油（ユーカリ油）以外の抽出物に着目した。ユーカリは、ハーブティーや香料成分として用いられているものであり、その安全性についての問題はなく、抗生物質を応用する場合のような副作用の問題は生じない。

【０００７】

現在までに、ユーカリ抽出物の効果としては、ユーカリ油およびその主要成分であるシネオール（ユーカリプトール）に防腐剤としての効果や、抗菌活性物質の作用を増強することが知られている（特開昭６２－２８９５１１号公報、抗細菌性口腔用組成物）。しかし

ながら、このユーカリ油やシネオール自体の溶血性連鎖球菌に対する抗菌活性は弱いのみならず、その強い独特の臭気により、例えば口腔内で使用するに当たり用途や添加量においてかなりの制約を受ける欠点がある。

【０００８】

また、特開昭５８－３９６１５号公報（歯磨き組成物）は、ユーカリ抽出物とアルキル硫酸ナトリウムとの併用が歯周病原因菌の一つであるフゾバクテリウム・ヌクレイタムに対する抗菌活性を示すことを開示している。このユーカリ抽出物は、アルキル硫酸ナトリウムとの併用をもって初めて抗菌活性を発現するもので、それ自体には抗菌活性がないか、例えあったとしても非常に微弱なことが示唆される。しかも、この組成物には溶血性連鎖球菌に対する効果は示されていない。

【０００９】

さらに、特開平５－３０６２５２号公報（新規マクロカルパール類及びその製造法）は、ユーカリ属植物の溶媒抽出物より採取したマクロカルパール類がアルドースリダクターゼ阻害活性および抗菌活性を示すことを開示しているが、その抗菌活性はいくつかのグラム陽性菌に対して作用することが明らかにされているに過ぎず、溶血性連鎖球菌に対する抗菌活性は示されていない。

【００１０】

一方、特開昭６２－５９２１５号公報（外用鎮咳、去痰、鎮痛、鎮静剤）では、ｄｌ－カンフル、１－メントール、ニクズク油およびウイキョウ油配合クリームに、さらにユーカリ油を配合することにより、外用時における鎮咳、去痰効果を増強することを開示している。この公報では、溶血性連鎖球菌に対する抗菌活性が微弱なユーカリ油を有効成分としているのみならず、外用という投与形態により揮発性成分の作用を期待するものであり、口腔内において非揮発性で使用することが求められる溶血性連鎖球菌に対する抗菌活性剤とは基本的に異なるものである。

【００１１】

このようにユーカリ属抽出物は各種開示されているが、いずれも喉炎症・溶血毒の予防・治療には不十分で汎用性に乏しいものである。

【００１２】

【発明が解決しようとする課題】

そこで本発明者等はユーカリ属植物から喉炎症・溶血毒両者の予防、治療に有効な成分を抽出せんとして鋭意研究を行った結果、ユーカリ属植物から精油成分（ユーカリ油）を除去した残渣を極性溶媒で抽出した抽出物およびこれに含まれるフロログルシノール誘導体が喉炎症起因菌（溶血性連鎖球菌）に対して非常に強い抗菌活性を有し、さらに本菌種の産生する溶血毒の阻害活性をも併せ持つことを見出し、本発明を完成させるに至った。

【００１３】

なお、ユーカリ属植物植物に含まれるフロログルシノール誘導体については抗ウイルス作用［Ｃｈｅｍ．Ｐｈａｒｍ．Ｂｕｌｌ．，３８（５）１４４４～１４４６（１９９０）］、ＨＩＶ逆転写酵素阻害作用［Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ　Ｌｅｔｔ．，３３（２１）２９８３～２９８６（１９９２）］などが報告されているが、本発明における喉炎症・溶血毒の予防・治療効果については知られておらず、本発明によって初めて明らかにされたものである。

【００１４】

【課題を解決するための手段】

本発明はユーカリ属植物から精油成分（ユーカリ油）を除去した残渣を極性溶媒で処理した抽出物およびこの抽出物から活性本体として得られるフロログルシノール誘導体を有効成分とする喉炎症・溶血毒の予防・治療剤並びにこれらを用いた口腔用組成物である。

【００１５】

以下に、本発明製剤の抽出製造例を挙げて説明する。

【００１６】

先ず、ユーカリ属植物、例えばユーカリ葉を粉砕機等の適当な粉砕手段で粉砕し、好まし

くは通常精油抽出で使用する水蒸気蒸留装置を用いて精油成分を除去する。この精油成分の除去はｎ－ヘキサン、石油エーテル等の低極性溶媒を用いて常温で抽出することもできる。

【００１７】

このようにして得られた精油抽出残渣に酢酸エチル、アセトン、エタノール、メタノール、水等の極性溶媒の少なくとも１つの溶媒を適用して抽出を行い、得られた抽出液を減圧濃縮することにより抽出物の形態で本発明製剤を得る。

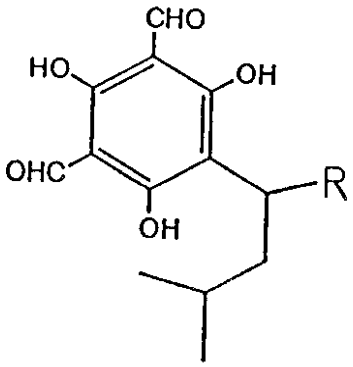
【００１８】

このようにして得られた製剤を、さらにカラムクロマトグラフィ等の適当な分離精製手段を用いて分離精製することにより化合物の形態の本発明製剤であるフロログルシノール誘導体を得る。

【００１９】

このフロログルシノール誘導体は、一般式

【化１０】



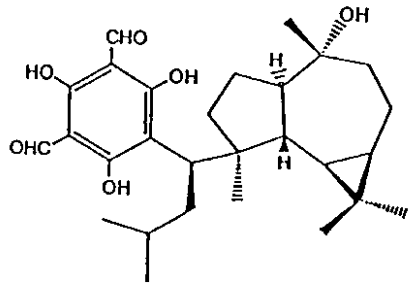
（式中、Ｒは$C_{15}H_{23}$、$C_{15}H_{25}O$、$C_{15}H_{23}O_2$、$C_{15}H_{27}O_2$で表され、二重結合、カルボニル基、水酸基を含んでいてもよく、環を形成していてもよい）で表される白色～微黄色の非結晶性粉末である。

【００２０】

本発明製剤として使用するフロログルシノール誘導体の具体例としては、次の構造式のものが挙げられる。

【００２１】

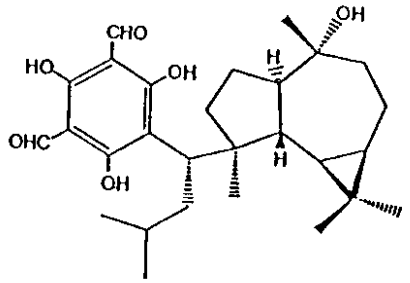
【化１１】



化合物1　マクロカルパール　A

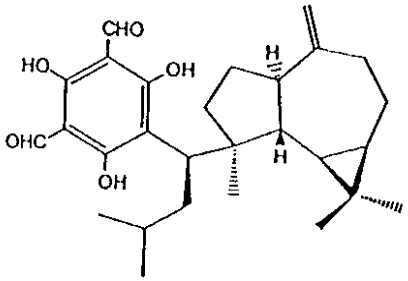
【００２２】

【化１２】



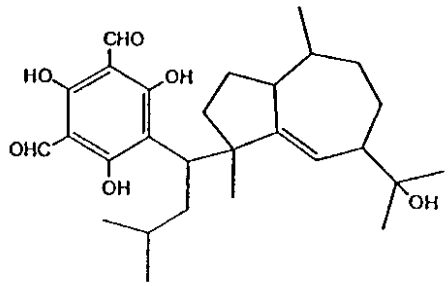
化合物2 マクロカルパール B

【００２３】
【化１３】



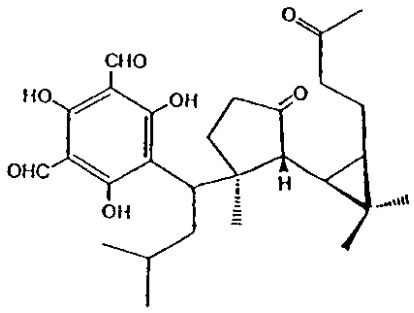
化合物3 マクロカルパール C

【００２４】
【化１４】



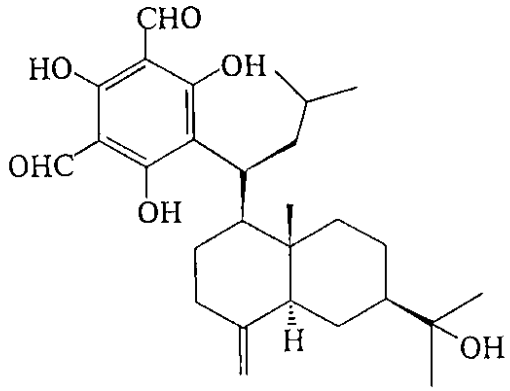
化合物4 マクロカルパール D

【００２５】
【化１５】



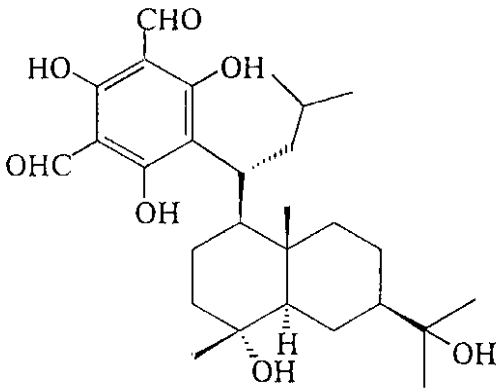
化合物5 一般名なし

【００２６】
【化１６】



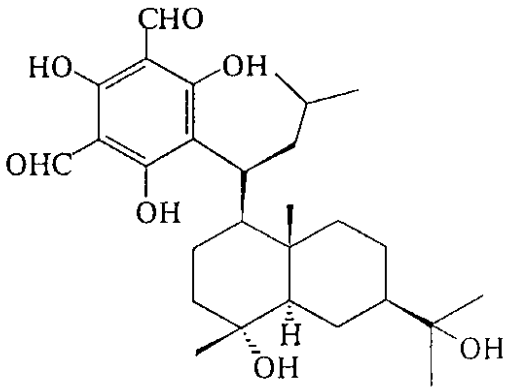
化合物6 一般名なし

【００２７】
【化１７】



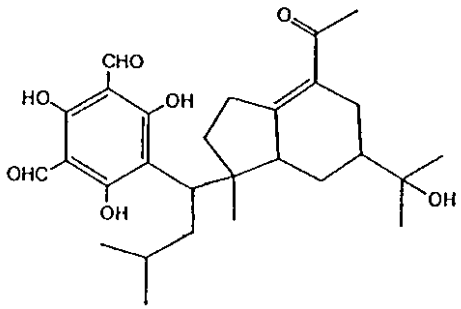
化合物7 一般名なし

【００２８】
【化１８】



化合物8 一般名なし

【００２９】
【化１９】



化合物9 一般名なし

【００３０】
なお、フロログルシノール誘導体の分離精製に使用するカラムクロマトグラフィとしては、吸着クロマトグラフィ、分配クロマトグラフィ、高速液体クロマトグラフィ、薄層クロマトグラフィ等が挙げられる。
【００３１】
本発明製剤の用途については種々考えられるが、香り、呈味性に優れ、安全性が高いことからチューインガム、キャンディ、錠菓、含そう剤等に配合する等の日常的な利用が可能である。本発明製剤を食品等に配合する場合、０．００１～１０重量％の割合になるように添加するのが好適である。
【００３２】
以下に実施例、試験例、応用例を挙げて説明するが、これらの例は本発明の範囲を制限するものではない。
【００３３】
【実施例】
実施例１
ユーカリ葉粉末１ｋｇから水蒸気蒸留装置を用いて精油成分を除去した後、エタノール５リットルを加え、３時間加熱還流抽出を行った。得られた濾液を減圧下濃縮することにより本発明製剤である抽出物２１４ｇを得た。
【００３４】
実施例２
ユーカリ葉粉末１ｋｇから水蒸気蒸留装置を用いて精油成分を除去した後、エタノール－水（１：１）混液５リットルを加え、３時間加熱還流抽出を行った。得られた濾液を減圧下濃縮することにより本発明製剤である抽出物２３４ｇを得た。
【００３５】
実施例３
実施例２で得られた抽出物１００ｇに水を加えて分散させた後、酢酸エチルで分配し、酢酸エチル可溶画分（２９．５ｇ）を得た。この酢酸エチル可溶画分をシリカゲル（ワコーゲルＣ－２００、和光純薬）１ｋｇを充填したカラムに吸着させた。
【００３６】
このカラムをジクロロメタン－メタノール（５０：１～２：１）混液にて溶出させ、分画を行った。ＴＬＣプレート（６０Ｆ２５４、メルク）を用いてジクロロメタン－メタノール（３：１）混合溶液で展開した時、Ｒｆ値０．２～０．４付近にＵＶ吸収があり、１０％硫酸により紫色、灰色もしくは茶色のスポットを呈する画分を集めた。この画分を高速液体クロマトグラフィ（ＨＰＬＣ）用のオクタデシルシラノール型（ＯＤＳ）分取カラム（センシュー科学）を用いて、メタノール－水（９０：１０～１００：０）で溶出させ、２８５ナノメータのＵＶ吸収をモニターしながら各ピークを分取した。
【００３７】
それぞれのピークは、さらにＨＰＬＣ用シリカゲル分取カラム（センシュー科学）を用いてジクロロメタン－メタノール（９８：２～８５：１５）で、またＨＰＬＣ用ＯＤＳ分取カラムを用いて、さらにアセトニトリル－水（９０：１０～１００：０）およびメタノー

ル－水（９０：１０～１００：０）で繰り返し精製して本発明製剤である前記化合物１～９を得た。

【００３８】

因みに化合物５～９の物理化学的性質を以下に記載する。

（化合物５）

１）性状：微黄色粉末

２）融点：非結晶のため測定せず。

３）分子式：$C_{28}H_{38}O_7$

４）ＦＡＢ－マススペクトル：４８７［Ｍ＋１］

【数１】

５）ＵＶ吸収スペクトル：λ_{max}^{EtOH}（ｌｏｇε）：２７３．８ｎｍ（４．１５）

【数２】

６）ＩＲ吸収スペクトル：ν_{max}^{KBr} ｃｍ$^{-1}$：３４１１，２９５５，１７１１，１６２５，１４６６，１３７７，１３１０，１１８６．

７）比旋光度：［α］$_D$ ＋４４．６°（ＥｔＯＨ；Ｃ　０．１９３）

【化２０】

8) ^{1}H-NMR(pyridine-d_5) δ : 10.50(1H, s), 10.48(1H, s), 3.51(1H, dd, *J*=11.3, 3.8), 2.71(1H, m), 2.68(1H, m), 2.65(1H, m), 2.54(1H, dd, *J*=9.3, 6.0), 2.50(1H, dd, *J*=8.4, 7.8), 2.37(1H, ddd, *J*=10.4, 10.4, 2.3), 2.30(1H, m), 2.17(1H, dd, *J*=10.4, 10.4), 2.07(3H, s), 1.78(1H, m), 1.75(1H, m), 1.55(1H, m), 1.40(1H, dd, *J*=13.4, 4.1), 1.37(3H, s), 1.13(3H, s), 1.11(3H, s), 0.92(3H, d, *J*=6.2), 0.89 (3H, d, *J*=6.2), 0.62(1H, m), 0.60(1H, m).

9) ^{13}C-NMR(pyridine-d_5) δ : 221.3(s), 208.3(s), 191.9(d), 191.8(d), 173.2 (s), 172.4(s), 172.4(s), 107.1(s), 107.0(s), 105.6(s), 54.8(d), 47.6(s), 44.4(t), 39.7(d), 36.3(t), 35.8(t), 32.4(t), 29.6(q), 28.9(q), 27.3(d), 27.3(d), 26.5(d), 24.4(q), 21.6(q), 21.6(q), 20.7(t), 18.2(s), 16.0(q).

【００３９】

（化合物６）

１）性状：微黄色粉末

２）融点：非結晶のため測定せず。

３）分子式：$C_{28}H_{40}O_6$

４）ＥＩ－マススペクトル：４７２［Ｍ］,454,251,195

【数３】

5）ＵＶ吸収スペクトル：λ_{max}^{EtOH}（ｌｏｇε）：２７５．２ｎｍ（４．２０）

【数４】

6）ＩＲ吸収スペクトル：ν_{max}^{KBr} ｃｍ$^{-1}$：３４４１，２９５３，１６２４，１４４４，１３８２，１３１２，１１８１．

7）比旋光度：［α］$_D$ －３９．２°（ＥｔＯＨ；Ｃ　０．０２０）

【化２１】

8) 'H-NMR(pyridine-d_5) δ : 10.54(1H,s), 10.51(1H,s), 4.86(1H,s), 4.65(1H,s), 3.70(1H,d,*J*=13.0), 2.56(1H,d,*J*=13.0), 2.50(1H,m), 2.50(1H,m), 2.28(1H,ddd,*J*=13.0,13.0,2.4), 2.21(1H,dd,*J*=12.5,5.1), 2.03(1H,m), 2.00(1H,m), 1.90(1H,d,*J*=9.8), 1.80(1H,m), 1.72(1H,ddd,*J*=13.0,13.0,4.5), 1.53(1H,m), 1.52(1H,m), 1.50(1H,m), 1.48(1H,m), 1.36(3H,s), 1.36(3H,s), 1.29(1H,m), 1.23(1H,m), 1.12(3H,d,*J*=6.4), 0.97(3H,s), 0.92(3H,d,*J*=6.4).

9)'^{3}C-NMR(pyridine-d_5) δ : 192.2(d), 192.2(d), 171.1(s), 171.1(s), 169.0(s), 152.1(s), 113.8(s), 107.2(s), 106.6(s), 105.1(t), 71.4(s), 53.8(d), 51.8(d), 49.7(d), 41.5(s), 39.4(t), 38.0(t), 37.9(t), 30.3(d), 28.2(q), 27.6(t), 27.3(q), 26.9(d), 25.8(t), 24.9(q), 23.4(t), 22.3(q), 12.2(q).

【００４０】

（化合物７）

１）性状：微黄色粉末

２）融点：非結晶のため測定せず。

３）分子式：$C_{28}H_{42}O_7$

４）ＥＩ－マススペクトル：４７２［Ｍ－H_2O］,454,251,195

【数５】

5）ＵＶ吸収スペクトル：λ_{max}^{EtOH}（ｌｏｇε）：２７４．４ｎｍ（４．３２）

【数６】

6）ＩＲ吸収スペクトル：ν_{max}^{KBr} ｃｍ$^{-1}$：３４２９，２９３１，１６２３，１４５９，１３８３，１３１１，１１８２．

7）比旋光度：［α］$_D$ －４９．１°（ＥｔＯＨ；Ｃ　０．０５７）

【化２２】

8) ^{1}H-NMR(pyridine-d_5) δ : 10.54(1H, s), 10.53(1H, s), 3.89(1H, m), 2.73(1H, d, J=11.5), 2.71(1H, dd, J=10.1, 10.1), 2.37(1H, ddd, J=11.0, 2.5, 2.5), 2.09(1H, m), 2.05(1H, dd, J=10.8, 3.6), 1.95(1H, m), 1.90(1H, dd, J=10.8, 3.8), 1.73(1H, m), 1.69(1H, m), 1.63(1H, m), 1.60(1H, m), 1.57(1H, m), 1.55(1H, m), 1.52(1H, m), 1.46(1H, m), 1.43(3H, s), 1.41(3H, s), 1.36(1H, dd, J=11.0, 4.3), 1.28(3H, s), 1.22(3H, s), 1.05(3H, d, J=5.8), 0.95(3H, d, J=5.8).

9) ^{13}C-NMR(pyridine-d_5) δ : 192.2(d), 192.0(d), 171.9(s), 171.7(s), 170.4(s), 108.9(s), 106.9(s), 106.8(s), 71.6(s), 71.0(s), 57.1(d), 54.8(d), 50.4(d), 45.3(t), 44.5(t), 43.4(t), 39.9(s), 31.6(d), 28.0(q), 27.7(q), 27.4(d), 25.2(t), 24.5(q), 23.6(t), 23.4(q), 22.6(t), 21.9(q), 15.9(q).

【００４１】

（化合物８）

１）性状：微黄色粉末

２）融点：非結晶のため測定せず。

３）分子式：$C_{28}H_{42}O_7$

４）ＥＩ－マススペクトル：４７２［M－H_2O］,454,251,195

【数７】

５）ＵＶ吸収スペクトル：λ_{max}^{EtOH}（ｌｏｇε）：２７５．４ｎｍ（４．１９）

【数８】

６）ＩＲ吸収スペクトル：ν_{max}^{KBr} cm^{-1}：３４２９，２９５３，１６２３，１４５９，１３８３，１３１３，１１７９，１０２０．

７）比旋光度：［α］$_D$ －６２．５°（ＥｔＯＨ；Ｃ　０．０４８）

【化２３】

8) ^{1}H-NMR(pyridine-d_5) δ : 10.53(1H, s), 10.48(1H, s), 3.77(1H, ddd, J=12.4, 3.3, 3.3), 2.71(1H, d, J=9.9), 2.51(1H, d, J=12.3), 2.50(1H, d, J=12.4), 2.35 (1H, ddd, J=13.2, 13.2, 2.4), 2.19(1H, ddd, J=12.5, 3.2, 3.2), 1.96(1H, ddd, J= 12.5, 12.5, 3.5), 1.90(1H, d, J=3.0), 1.79(1H, m), 1.70(1H, m), 1.63(1H, m), 1.57(1H, m), 1.55(1H, m), 1.52(1H, m), 1.50(1H, m), 1.43(1H, m), 1.41(3H, s), 1.38(3H, s), 1.37(3H, s), 1.19(3H, s), 1.16(3H, d, J=6.6), 1.15(1H, m), 0.96 (3H, d, J=6.6).

9) ^{13}C-NMR(pyridine-d_5) δ : 192.1(d), 192.1(d), 171.4(s), 171.4(s), 169.2 (s), 113.7(s), 107.4(s), 106.7(s), 71.6(s), 71.1(s), 61.7(d), 57.3(d), 54.3(d), 45.0(t), 41.6(t), 39.9(s), 39.6(t), 29.8(d), 28.2(q), 27.5(q), 27.0(d), 25.0(q), 24.0(t), 23.5(t), 23.4(q), 22.4(t), 21.3(q), 14.9(q).

【００４２】
（化合物９）
１）性状：微黄色粉末
２）融点：非結晶のため測定せず。
３）分子式：$C_{28}H_{38}O_7$
４）ＥＩ－マススペクトル：４６８［M－H_2O］,427,251,217,195
【数９】

５）ＵＶ吸収スペクトル：λ_{max}^{EtOH}（ｌｏｇε）：未測定

【数１０】

６）ＩＲ吸収スペクトル：ν_{max}^{KBr} cm^{-1}：未測定

７）比旋光度：未測定
【化２４】

8) ^{1}H-NMR(pyridine-d_5) δ : 10.52(1H,s), 10.51(1H,s), 3.98(1H,d,J=14.0), 3.95(1H,ddd,J=12.5,12.5,3.2), 2.94(1H,ddd,J=11.0,11.0,8.0), 2.71(1H,dd, J=15.9,8.8), 2.63(1H,ddd,J=11.2,11.2,4.0), 2.50(1H,dd,J=11.0,11.0), 2.38 (1H,m), 2.14(3H,s), 2.01(1H,m), 1.50～1.80(5H), 1.45(3H,s), 1.45(3H,s), 1.29(3H,s), 1.12(3H,d,J=6.0), 0.97(3H,d,J=6.0).

9)^{13}C-NMR(pyridine-d_5) δ : 198.5(s), 192.1(d), 191.9(d), 171.8(s), 171.8 (s), 170.6(s), 163.0(s), 132.5(s), 108.27(s), 107.0(s), 106.9(s), 71.1(s), 52.1(d), 49.8(d), 49.7(s), 42.9(t), 41.4(t), 38.3(t), 33.0(d), 30.7(q), 27.8(t), 27.6(t), 27.1(d), 27.0(t), 24.8(q), 23.8(t), 22.0(q), 16.8(q).

【００４３】

試験例１

実施例１～３で調製した本発明製剤の溶血性連鎖球菌および腸内細菌に対する抗菌活性を、以下の方法により試験した。

【００４４】

試料として本発明製剤、ユーカリ油および殺菌剤として知られるチモールを用いて本発明製剤との抗菌活性の比較を行った。

【００４５】

（試験方法）

１）供試菌株、使用培地および培養条件

供試菌株	使用培地	培養条件
・溶血性連鎖球菌		
1.ストレプトコッカス・ピオゲネスATCC12348 株	A	37℃好気培養
2.ストレプトコッカス・ピオゲネスATCC19615 株	A	37℃好気培養
・腸内細菌		
3.ビフィドバクテリウム・ロンガム1217株	B	37℃嫌気培養
4.ビフィドバクテリウム・アドレセンティスM101-4株	B	37℃嫌気培養
5.ラクトバチルス・カセイ1134株	B	37℃嫌気培養
6.ラクトバチルス・アシドフィルス29株	B	37℃嫌気培養

Ａ：ブレイン・ハート・インフュージョン液体倍地

Ｂ：ＰＹＦＧ液体培地

２）抗菌活性試験法

溶血性連鎖球菌２株および腸内細菌４株をそれぞれの培地および培養条件で２４～４８時間培養し、菌を充分に生育させる。９６穴平底マイクロプレートを用い、各ウエル中で試料溶液（１００μｌ）の２倍希釈系列を調製する。２倍濃度で調製した培地に各々の菌を接種し、その１００μｌを各ウエルに添加する。

【００４６】

２４～４８時間培養した後、マイクロプレートリーダーを用いて各ウエルの濁度（５５０ｎｍ）を測定し、菌の生育を判定し、その最小発育阻止濃度（ＭＩＣ）を求める。

【００４７】

（試験結果）
試験結果を表１に示す。本発明製剤は溶血性連鎖球菌に対して強い抗菌活性を示した。また、チモール、ユーカリ油は本発明製剤の抗菌活性と比較すると、その作用は著しく劣るものであった。さらに、本発明製剤の腸内細菌に対する抗菌活性は溶血性連鎖球菌に対する活性と比較してかなり弱いものであり、本発明製剤による腸内細菌に対する影響は少ないものと思われた。
【００４８】
【表１】

表１

試料	最小発育阻止濃度（ＭＩＣ：μg/ml）					
	溶血性連鎖球菌		腸内細菌			
	1	2	3	4	5	6
ユーカリ抽出物（実施例１）	6.25	6.25	100	100	200	100
ユーカリ抽出物（実施例２）	12.5	12.5	100	200	100	100
化合物１	0.78	0.78	6.3	6.3	3.1	3.1
化合物２	1.56	1.56	25	25	12.5	50
化合物３	0.39	0.39	12.5	12.5	12.5	12.5
化合物４	0.39	0.39	12.5	12.5	12.5	12.5
化合物５	12.5	12.5	ND	ND	ND	ND
化合物６	1.56	1.56	ND	ND	ND	ND
化合物７	25	25	ND	ND	ND	ND
化合物８	25	25	ND	ND	ND	ND
化合物９	6.25	6.25	ND	ND	ND	ND
ユーカリ油	800	800	800	800	800	800
チモール	200	200	200	200	200	200

１．Ｓ．ピオゲネス ATCC12348　　４．Ｂ．アドレセンティス M101-4　　ＮＤ：試験を行わなかった
２．Ｓ．ピオゲネス ATCC19615　　５．Ｒ．カセイ 1134
３．Ｂ．ロンガム 1217　　６．Ｒ．アシドフィルス 29

【００４９】

試験例２

実施例１～３で調製した本発明製剤の溶血毒（ストレプトリジンＯ）阻害活性を以下の方法により試験した。

【００５０】

（試験方法）
ウサギ脱繊維血液２５ｍｌを緩衝食塩水（ｐＨ６．５）で３回洗浄（３０００ｒｐｍ×１０分間）し、赤血球を集める。緩衝食塩水で２００ｍｌに希釈し、ウサギ赤血球浮遊液とする。試料規定量をジメチルスルフォキシド（ＤＭＳＯ）に溶解してから、さらに緩衝食塩水に溶解し（ＤＭＳＯ４％）試料溶液とする。

【００５１】
試料溶液６００μｌとストレプトリジンＯ（栄研）水溶液（１結合力価）３００μｌを１３ｍｍ径の試験管中で混合し、３７℃で３０分間反応させる。ウサギ赤血球浮遊液３００μｌを添加し、３７℃で４５分間反応させる。反応終了後、１５００ｒｐｍで１分間遠心分離し、上清の溶血度合を肉眼で判定する。

【００５２】
判定基準　－：溶血のみられないもの、＋：不完全溶血、＋＋：完全溶血とする。

【００５３】
（試験結果）
試験結果を表２に示す。本発明製剤の殆どは１０００μｇ／ｍｌで完全にストレプトリジンＯによる溶血を阻害し、５００μｇ／ｍｌにおいても阻害活性を示した。

【００５４】
【表２】

表２

	濃度（μg/ml）		
	1000	500	250
ユーカリ抽出物（実施例１）	－	＋＋	＋＋
ユーカリ抽出物（実施例２）	－	＋	＋
化合物１	－	＋	＋＋
化合物２	－	＋	＋＋
化合物３	＋	＋＋	＋＋
化合物４	－	＋	＋＋
化合物５	－	＋	＋＋
化合物６	－	＋	＋＋
化合物７	－	＋	＋＋
化合物８	－	＋	＋＋
化合物９	－	＋	＋＋

－：溶血はみられない　＋：不完全溶血　＋＋：完全溶血

【００５５】
応用例１
実施例１～２の方法により調製した本発明製剤を用いて、次の処方によりチューインガム、キャンディ、錠菓、含そう剤を製造した。

【００５６】
１．チューインガムの処方

ガムベース	２０．０％
砂糖	５５．０
グルコース	１５．０
水飴	９．３
香料	０．５

本発明製剤（実施例１）	０．２
	１００．０％

【００５７】

２．キャンディの処方

砂糖	５０．０％
水飴	３４．０
クエン酸	１．０
本発明製剤（実施例１）	０．２
水	１４．８
	１００．０％

【００５８】

３．錠菓の処方

砂糖	７６．４％
グルコース	１９．０
ショ糖脂肪酸エステル	０．２
本発明製剤（実施例２）	０．２
水	４．２
	１００．０％

【００５９】

４．含そう剤の処方

エタノール	３０．０％
香料	１．０
銅クロロフィリンナトリウム	０．１
サッカリン	０．０５
塩酸クロルヘキシジン	０．０１
本発明製剤（実施例２）	０．２
水	６８．６４
	１００．０％

【００６０】

応用例２

応用例１の１の処方で、実施例１の本発明製剤の代わりに実施例３で得られた化合物１を０．００５％、砂糖を５５．１９５％含有する他は同様にしてチューインガムを製造した。

【００６１】

応用例３

応用例１の２の処方で、実施例１の本発明製剤の代わりに実施例３で得られた化合物２を８．２％、砂糖を４２％含有する他は同様にしてキャンディを製造した。

【００６２】

応用例４

応用例２の処方で、化合物１の代わりに実施例３で得られた化合物３を使用する他は同様にしてチューインガムを製造した。

【００６３】

応用例５

応用例３の処方で、化合物２の代わりに実施例３で得られた化合物４を使用する他は同様にしてキャンディを製造した。

【００６４】

応用例６

応用例２の処方で、化合物１の代わりに実施例３で得られた化合物５を使用する他は同様にしてチューインガムを製造した。

【００６５】

応用例７
応用例２の処方で、化合物１の代わりに実施例３で得られた化合物６を使用する他は同様にしてチューインガムを製造した。
【００６６】
応用例８
応用例３の処方で、化合物２の代わりに実施例３で得られた化合物７を使用する他は同様にしてキャンディを製造した。
【００６７】
応用例９
応用例２の処方で、化合物１の代わりに実施例３で得られた化合物８を使用する他は同様にしてチューインガムを製造した。
【００６８】
応用例１０
応用例２の処方で、化合物１の代わりに実施例３で得られた化合物９を使用する他は同様にしてチューインガムを製造した。
【００６９】
【発明の効果】
本発明製剤は、喉炎症起因菌である溶血性連鎖球菌に対する強い成育阻害効果を有するばかりでなく、本菌種の産生する溶血毒に対する阻害効果を併せ持つものであり、喉の炎症および化膿性疾患をはじめ種々の感染症に対して有効に作用する口腔用組成物として有用である。
【００７０】
本発明製剤の原料となるユーカリはハーブティや香料成分として用いられているものであり、その安全性については問題なく、抗生物質を使用した場合にみられる副作用等の恐れがない。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]	FI
Ａ６１Ｐ 11/04	Ａ６１Ｐ 11/04
Ａ６１Ｐ 29/00	Ａ６１Ｐ 29/00
Ａ６１Ｐ 31/04	Ａ６１Ｐ 31/04

(56)参考文献 Antimicrobial activity of eucalyptus, Fitontsidy, １９５７年, vol.1956, pp.32-39, Chemical Abstracts,abs.no.53:45484,oref.53:8227h-i,8228a

(58)調査した分野(Int.Cl.[7], ＤＢ名)

A61K 35/78
A61K 31/11
A61K 31/12
CA(STN)