

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7177267号
(P7177267)

(45)発行日 令和4年11月22日(2022.11.22)

(24)登録日 令和4年11月14日(2022.11.14)

(51)国際特許分類

F I

A 2 3 L	3/3508(2006.01)	A 2 3 L	3/3508
A 6 1 K	36/48 (2006.01)	A 6 1 K	36/48
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P	31/04
A 6 1 K	31/341(2006.01)	A 6 1 K	31/341
A 6 1 K	31/015(2006.01)	A 6 1 K	31/015

請求項の数 19 (全38頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2021-524128(P2021-524128)
 (86)(22)出願日 令和1年7月10日(2019.7.10)
 (65)公表番号 特表2021-532825(P2021-532825 A)
 (43)公表日 令和3年12月2日(2021.12.2)
 (86)国際出願番号 PCT/IB2019/000659
 (87)国際公開番号 WO2020/012242
 (87)国際公開日 令和2年1月16日(2020.1.16)
 審査請求日 令和3年3月5日(2021.3.5)
 (31)優先権主張番号 62/695,867
 (32)優先日 平成30年7月10日(2018.7.10)
 (33)優先権主張国・地域又は機関 米国(US)

(73)特許権者 521013600
 リソルシックス リミテッド
 RESORCIX LTD.
 イスラエル エルサレム ヘブライ大学
 バイオテクノロジー パーク (ジェイビー
 ーピー) ハダサ メディカル センター
 The Hadassah Medical Center Hebrew University Biotechnology Park (JBP) Jerusalem (IL)
 (74)代理人 110001139 S K弁理士法人
 (74)代理人 100130328
 弁理士 奥野 彰彦
 (74)代理人 100130672

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 グラム陽性菌及び細菌芽胞を不活化するための組成物及びその製造方法並びに使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

(a)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、及び(b)ベータ-カリオフィレン(BCP)を含む物質組成物であって、

前記クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び存在する場合は7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を合わせたものの、前記ベータ-カリオフィレンに対する比率が質量比で1.1以上:1であり、

前記物質組成物は、ヘキサン及びジクロロメタンを実質的に含まない、
物質組成物。

【請求項2】

前記クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び存在する場合は7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を合わせたものの、前記ベータ-カリオフィレンに対する比率は、

(i) 質量比で1.3以上:1である、
及び/又は

(ii) 質量比で100以下:1である、
請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び存在する場合は7-

アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を合わせたものの、前記ベータ-カリオフィレンに
対する比率は、

(i) 質量比で1.4以上:1である、

及び/又は

(ii) 質量比で90以下:1である、

請求項2に記載の組成物。

【請求項4】

前記組成物は、アリシクロバチルスの芽胞に対して有効である、

請求項1から3のいずれかに記載の組成物。

【請求項5】

コパイフェラから得られた樹脂を水とエタノールの混合液で抽出する工程と、

上記抽出物から得られた上部画分を回収して組成物を得る工程と、

を有する、組成物の調製方法。

【請求項6】

前コパイバ樹脂は、コパイフェラ・オフィシナリスから得られる、請求項5に記載の方法。

【請求項7】

混合物中の水に対するエタノールの比率は、

(a) 質量比で1以上:1、1.1以上:1、1.2以上:1、1.3以上:1、1.4以上:1、1.5以上:1、1.6以上:1、1.7以上:1、1.8以上:1、1.9以上:1、2以上:1、2.1以上:1、2.2以上:1、2.3以上:1、2.4以上:1、2.5以上:1、2.6以上:1、2.7以上:1、2.8以上:1、2.9以上:1、又は3以上:1である

及び/又は

(b) 質量比で4以下:1、3.9以下:1、3.8以下:1、3.7以下:1、3.6以下:1、3.5以下:1、3.4以下:1、3.3以下:1、3.2以下:1、又は3.1以下:1である、

請求項5又は6に記載の方法。

【請求項8】

エタノールと水の前記混合物は、

(a) 0.01から0.125モルの濃度でNaOHを含む、

又は

(b) 0.01から0.25モルの濃度でHCLを含む、

請求項5から7のいずれかに記載の方法。

【請求項9】

エタノールと水の前記混合物の、コパイバ樹脂に対する前記比率は、質量比で3以上:1、3.5以上:1、4以上:1、4.5以上:1、5以上:1、5.5以上:1、又は6以上:1である、

請求項5から8のいずれかに記載の方法。

【請求項10】

前記方法は、更に、回収された上部画分から水及びエタノールの少なくとも一部を除去する工程を有する、請求項5から9のいずれかに記載の方法。

【請求項11】

前記上部画分は、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を含み、

前記7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、及びコパル酸を合わせたものの、前記上部画分中の前記BCPに対する比率は、質量比で1以下:1、1.2以下:1、1.3以下:1、1.4以下:1、1.5以下:1、1.6以下:1、1.7以下:1、1.8以下:1、1.9以下:1、2以下:1、2.1以下:1、2.2以下:1、2.3以下:1、2.4以下:1又は2.5以下:1である、

請求項5から10のいずれかに記載の方法。

【請求項12】

以下の少なくとも1つが当てはまる、請求項5から11のいずれかに記載の方法。

10

20

30

40

50

(i) 前記組成物は、請求項1から4のいずれかに記載の組成物であり、

前記組成物は、コパイフェラから得られたコパイバ樹脂中における、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、クロルチン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの濃度と比較して、ベータ-カリオフィレン(BCP)の濃度が減少している。

(ii) 前記組成物は、アリシクロバチルス(Shewanella)の芽胞に対して有効であり、コパイフェラから得られるコパイバ樹脂中のBCPの濃度と比較してベータ-カリオフィレン(BCP)の濃度が減少している。

【請求項13】

組成物であって、

(i) 請求項1から4のいずれかに記載の組成物、

及び/又は

(ii) コパイフェラ樹脂を水とエタノールの混合物で抽出して、抽出物から得られた上部画分を回収して前記組成物を得ることによって調製した前記組成物、を飲料に添加する工程を有する方法。

【請求項14】

前記組成物は、請求項5から12のいずれかに記載の方法によって調製されたものである、請求項13の方法。

【請求項15】

以下の少なくとも1つが当てはまる、請求項13又は14に記載の方法。

(a) 前記飲料は、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法180.1号に従って測定された、5ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下、4NTU以下、3NTU以下、2NTU又は1NTU以下の濁度を有する；

(b) 前記方法は、前記飲料の低温殺菌の効力を高めるためのものである、及び/又は、飲料中のグラム陽性菌の芽胞を含むグラム陽性菌の増殖を制御するためのものである；

(c) 前記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも1.25マイクログラム、飲料1mlあたり少なくとも2.5マイクログラム、飲料1mlあたり少なくとも3.75マイクログラム、飲料1mlあたり少なくとも5.0マイクログラムの組成物、及び/又は、飲料1mlあたり5.0マイクログラム以下の組成物の濃度で飲料に添加される；

(d) 前記組成物は、少なくとも2日間、少なくとも3日間、少なくとも4日間、又は少なくとも5日間、飲料に接触させる；

(e) 前記飲料は、3から6の範囲のpHを有する；

(f) 前記飲料は、フルーツジュースであり、任意にリンゴジュース、ブドウジュース、桃ジュース、スイカジュース及びクリアオレンジジュースからなる群から選択される；

(g) 前記組成物は、アリシクロバチルス・アシドテレストリス(Shewanella acidithiobacillus)の芽胞に対して有効であり、及び/又はコパイフェラから得られるコパイバ樹脂中のベータ-カリオフィレン(BCP)の濃度と比較して、BCPの濃度が減少している；

(h) 前記組成物は、(i)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、及び(ii)任意にベータ-カリオフィレンを含み、ベータ-カリオフィレンが存在する場合、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたもの、ベータ-カリオフィレンに対する比率が、質量比で1以上:1である。

【請求項16】

容器入り飲料であって、

前記飲料は、請求項1から4のいずれかに記載の組成物を含む飲料。

【請求項17】

以下の少なくとも1つが当てはまる、請求項16の飲料。

(a) 前記飲料は、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法180.1号に従って測定された、5ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下、4NTU以下、3NTU以下、2NTU又は1NTU以下の濁度を有する；

TU以下の濁度を有する；

(b) 前記組成物は、(1)飲料1mlあたり少なくとも1.25マイクログラム、飲料1mlあたり少なくとも2.5マイクログラム、飲料1mlあたり少なくとも3.75マイクログラム、飲料1mlあたり少なくとも5.0マイクログラムの組成物の濃度、及び/又は、(2)飲料1mlあたり5.0マイクログラム以下の組成物の濃度で飲料中に存在する；

(c) 前記飲料は、酸性である、及び/又はフルーツジュースであり、任意にリンゴジュース、ブドウジュース、桃ジュース、スイカジュース及びクリアオレンジジュースからなる群から選択される。

【請求項18】

飲料中のグラム陽性菌の芽胞を含むグラム陽性菌の増殖を制御する方法であって、
前記飲料に、請求項1から4のいずれかに記載の組成物を添加する工程を有する方法。

10

【請求項19】

以下の少なくとも1つが当てはまる、請求項18の方法。

(1) 前記組成物は、(a)飲料1mlあたり少なくとも1.25マイクログラム、飲料1mlあたり少なくとも2.5マイクログラム、飲料1mlあたり少なくとも3.75マイクログラム、飲料1mlあたり少なくとも5.0マイクログラムの組成物の濃度、及び/又は、(b)飲料1mlあたり5.0マイクログラム以下の組成物の濃度で飲料に添加される；

(2) 前記組成物は、少なくとも2日間、少なくとも3日間、少なくとも4日間、又は少なくとも5日間、飲料に接触させる；

(3) 前記飲料は、酸性である、及び/又はフルーツジュースであり、任意にリンゴジュース、ブドウジュース、桃ジュース、スイカジュース及びクリアオレンジジュースからなる群から選択される；

20

(4) 前記飲料は、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法180.1号に従って測定された、5ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下、4NTU以下、3NTU以下、2NTU又は1NTU以下の濁度を有する。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連アプリケーションとの相互参照

本出願は、2019年7月10日出願の米国仮出願番号62/695867からの優先権及び利益を主張する。上記出願の内容は、参照により本明細書に組み込まれている。

30

【背景技術】

【0002】

グラム陽性菌は、ヒトの病気や食品の腐敗に関連しているため潜在的な脅威となっている。バチルス菌やクロストリジウム菌などの特定のグラム陽性菌の属は、芽胞と呼ばれる高抵抗性の休眠構造を形成することができる。芽胞のユニークな特性によって、それらが、低温殺菌食品などの特定の工業的に加工された食品における潜在的に唯一生存可能な増殖汚染物質となっている。例えば、アリシクロバチルス種の芽胞は、フルーツジュースでの低温殺菌を生き延びる唯一の生物であり、そのようなジュースにおける酸性pH環境でも生育可能である。グラム陽性菌は、食品の腐敗を引き起こすだけでなく、ヒトに対しても病原性を有する。リステリア・モノサイトゲネス(*Listeria monocytogenes*)、黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)、及び芽胞形成菌であるバチルス・セレウス及びクロストリジウム・ボツリヌス(*Clostridium botulinum*)は、食品産業にとって大きな脅威である。

40

【発明の概要】

【0003】

説明

本発明者らは、コパイフェラ(*Copaifera*)植物の種から得られる樹脂より調製した特定の組成物が、一般的なグラム陽性菌のみならず、驚くべきことに、そのような菌の芽胞の増殖を抑制することができることを見出した。また、コパイフェラ種から得られる樹脂は

50

、食品に苦味を与えるため、食品製造業での使用には不向きであるが、本発明の組成物は、例えば、そのような味を付与することなく、例えば、芽胞を産生するグラム陽性菌を含むグラム陽性菌を制御するために使用することができる。以下、本組成物及びその製造方法並びに使用について詳細に説明する。

【0004】

本明細書で請求される組成物は、リステリア・モノサイトゲネス、バチルス・セレウス及びメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)などのグラム陽性病原体を含む、食品の腐敗に関連するグラム陽性菌を殺すことが明らかになった。また、この組成物は、芽胞の形でグラム陽性菌を殺すことが明らかになった。芽胞形成菌は、食品業界にとって特に問題となっている。土壌を媒介する芽胞形成菌と食品汚染との間には明確な関連性がある。芽胞形成菌は、厳密には嫌気性(クロストリジア)と好気性(バチルスとその関連属)の微生物の系統グループに属する。芽胞形成菌が食品産業で問題となっている理由を説明するいくつかの理由が提案されてきたが、ほとんどの説明は芽胞の一般的な特徴：土壌中での遍在、低温殺菌などの一般的な工業プロセスにおける耐熱性、加工装置への付着を容易にする特定の芽胞の粘着性の特性、及び/又は有利な条件で発芽し、成長する能力、に関連している。

10

【0005】

特定の土壌を媒介する種の芽胞や栄養細胞の複合的な特性により、特定の工業的に加工された食品中では、それらの種が唯一生存し、増殖する可能性のある汚染物質となっている。これらの中には最近になってようやく懸念されるようになったものもあるが、これは、成長を停止させる(低温及び低pH)か、又は全ての生体物質を不活性化させる(超高熱処理(UHT)及び商業的殺菌)と以前は推定されていた条件又は処理に対する、特定の芽胞形成種の芽胞又は栄養細胞の耐性、適応、又は抵抗性の増加によるものであろう。

20

【0006】

芽胞形成菌は、食品業界で2種類の問題を引き起こす。第一に、それらは、バチルス・セレウスやクロストリジウム・ボツリヌスのような食品を媒介する病原体である可能性がある。第二に、このような芽胞形成菌自体が病原体ではなくても、賞味期限の短縮や食品の腐敗を引き起こす可能性がある。食品の微生物による腐敗は、通常、食感の変化又は異臭の発生によって示される。関連する例としては、酸含量が多いために他の微生物による汚染が容易ではないジュースなどの飲料製品の汚染を引き起こす腐敗菌の属であるアリシクロバチルスの芽胞が挙げられる。1967年にアリシクロバチルスの最初の種が単離されて以来、50年の間に、アリシクロバチルスは、世界のジュース及び飲料業界にとって重大な懸念事項となっている。これらの芽胞形成菌は、商業的に使用されている低温殺菌手順を生き延びることができ、酸性環境下でも発芽することができる。今日までに、この種の細菌は、多くの種類のジュース及び飲料製品並びにジュース及び飲料生産ラインのほぼ全てのセグメントから分離されている。今日、安全で高品質なジュース及び飲料製品に対する要求は、世界的に速いペースで増加し続けている。しかしながら、特にジュース及び飲料製造業者の発展に伴い、アリシクロバチルス汚染は重大な懸念及び課題となっている。アリシクロバチルスによるフルーツジュースの腐敗は、アリシクロバチルスの代謝副産物であるグアイアコールに起因する独特の薬品性又は異臭性の悪臭によって特徴づけられる。

30

40

【0007】

病原性細菌と腐敗細菌の両方が生の食品材料中に発生する可能性があるが、加熱処理は細菌量を劇的に減少させる傾向がある。加工に続いて、ほとんどの食品は、食品取扱環境で病原体にさらされる可能性がある包装、流通、及び最終消費の前に再汚染のリスクにさらされている。耐寒性病原体、主に様々なリステリア及びバチルス・セレウス種の場合、その後の最終消費までの流通及び保管中に食品上で増殖する可能性がある。このような病原体が食品中で増殖すればするほど、その食品の消費者の間で感染するリスクが高くなる。これは、すぐに食べられる食肉や乳製品の場合に特に懸念されることである。このような場合、最もリスクが高いのは、冷蔵下でよく増殖するリステリアである。

【0008】

50

本発明の一実施形態によれば、(a)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、及び(b)任意にベータ-カリオフィレン(BCP)を含む物質組成物であって、ベータ-カリオフィレンが存在する場合、前記クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び存在する場合は7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を合わせたものの、前記ベータ-カリオフィレンに対する比率が、質量比で1以上:1である物質組成物が提供される。いくつかの実施形態では、組成物は、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を含む。いくつかの実施形態では、組成物はBCPを実質的に含まない。

【0009】

いくつかの実施形態では、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び存在する場合は7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を合わせたものの、ベータ-カリオフィレンに対する比率は、質量比で1.1以上:1、1.2以上:1、1.3以上:1、1.4以上:1、1.5以上:1、1.6以上:1、1.7以上:1、1.8以上:1、1.9以上:1、2以上:1、2.1以上:1、2.2以上:1、2.3以上:1、2.4以上:1、2.5以上:1、2.6以上:1、2.7以上:1、2.8以上:1、2.9以上:1、又は3.0以上:1である。

【0010】

いくつかの実施形態では、上記クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び存在する場合は7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を合わせたものの、前記ベータ-カリオフィレンに対する比率は、質量比で100以下:1である。いくつかの実施形態では、上記クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び存在する場合は7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を合わせたものの、前記ベータ-カリオフィレンに対する比率は、質量比で90以下:1、80以下:1、70以下:1、60以下:1、50以下:1、40以下:1、30以下:1、20以下:1、10以下:1、9以下:1、8以下:1、7以下:1、6以下:1、5以下:1、4以下:1、又は3以下:1である。

【0011】

いくつかの実施形態では、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸は、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの量の少なくとも7wt%を構成する。いくつかの実施形態では、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸は、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの量の少なくとも10wt%を構成する。

【0012】

いくつかの実施形態では、上記組成物は、アリシクロバチルスの芽胞に対して有効である。

【0013】

いくつかの実施形態では、上記組成物は、ヘキササン及びジクロロメタンを実質的に含まない。

【0014】

本発明の一実施形態によれば、上記組成物を調製する方法も提供され、上記組成物は、コパイフェラから得られたコパイバ樹脂中における、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、クロルチン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの濃度と比較して、ベータ-カリオフィレン(BCP)の濃度が減少しており、上記方法は、コパイフェラから得られた樹脂を水とエタノールの混合液で抽出する工程と、上記抽出物から得られた上部画分を回収して上記組成物を得る工程を有する。いくつかの実施形態では、上記組成物は、アリシクロバチルスの芽胞に対して有効である。

【0015】

いくつかの実施形態では、コパイバ樹脂は、コパイフェラ・オフィシナリス(*Copaifera officinalis*)から得られる。

【0016】

いくつかの実施形態では、上記組成物は、アリシクロバチルス・アシドテレストリス(*Al*

10

20

30

40

50

icyclobacillus acidoterrestris)の芽胞に対して有効である。

【0017】

いくつかの実施形態では、混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で1以上:1である。いくつかの実施形態では、混合物中の水に対するエタノールの比率は、1.1以上:1、1.2以上:1、1.3以上:1、1.4以上:1、1.5以上:1、1.6以上:1、1.7以上:1、1.8以上:1、1.9以上:1、2以上:1、2.1以上:1、2.2以上:1、2.3以上:1、2.4以上:1、2.5以上:1、2.6以上:1、2.7以上:1、2.8以上:1、2.9以上:1、又は3以上:1である。

【0018】

いくつかの実施形態では、混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で4以下:1、3.9以下:1、3.8以下:1、3.7以下:1、3.6以下:1、3.5以下:1、3.4以下:1、3.3以下:1、3.2以下:1、又は3.1以下:1である。

【0019】

いくつかの実施形態では、エタノールと水の混合物は、0.01から0.125モルの濃度でNaOHを含む。いくつかの実施形態では、NaOHの濃度は、少なくとも0.02 M、少なくとも0.03 M、少なくとも0.04 M、少なくとも0.05 M、少なくとも0.06 M、少なくとも0.07 M、少なくとも0.08 M、少なくとも0.09 M、少なくとも1.0 M、少なくとも1.1 M又は少なくとも1.2 Mである。

【0020】

いくつかの実施形態では、エタノールと水の混合物は、0.01から0.25モルの濃度のHClを含む。いくつかの実施形態では、HClの濃度は、少なくとも0.1モル、少なくとも0.2モル、少なくとも0.3モル、少なくとも0.4モル、少なくとも0.5モル、少なくとも0.6モル、少なくとも0.7モル、少なくとも0.8モル、少なくとも0.9モル、少なくとも1.0モル、少なくとも1.1モル、少なくとも1.2モル、又は少なくとも0.125モルである。

【0021】

いくつかの実施形態では、エタノールと水との混合物の、コパイバ樹脂に対する比率は、質量比で3以上:1である。

【0022】

いくつかの実施形態では、エタノールと水の混合物の、コパイバ樹脂に対する比率は、質量比で3.5以上:1、4以上:1、4.5以上:1、5以上:1、5.5以上:1、又は6以上:1である。

【0023】

いくつかの実施形態では、上記方法は、更に、回収された上部画分から水及びエタノールの少なくとも一部を除去する工程を有する。

【0024】

いくつかの実施形態では、上記上部画分は、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を含み、前記7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、及びコパル酸を合わせたものの、前記上部画分中の前記BCPに対する比率は、質量比で1以下:1である。いくつかの実施形態では、前記7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの、前記上部画分中の前記BCPに対する比率は、質量比で1.2以下:1、1.3以下:1、1.4以下:1、1.5以下:1、1.6以下:1、1.7以下:1、1.8以下:1、1.9以下:1、2以下:1、2.1以下:1、2.2以下:1、2.3以下:1、2.4以下:1又は2.5以下:1である。

【0025】

いくつかの実施形態では、上記方法は、更に、残留BCPを上部画分に存在するジテルペンからクロマトグラフィーで分離する工程と、ジテルペンを回収する工程と、を有する。

【0026】

本発明の一実施形態によれば、アリシクロバチルスの芽胞に対して有効であり、コパイフェラから得られるコパイバ樹脂中のBCPの濃度と比較してベータ-カリオフィレン(BCP)の濃度が減少した組成物を調製する方法も提供され、上記方法は、コパイフェラから得られる樹脂を水とエタノールの混合物で抽出する工程と、抽出物から得られる上部画分を回

10

20

30

40

50

収する工程を有する。本文脈において、「アリシクロバチルスの芽胞に対して有効」という用語は、EPA基準180.1(1993年8月発行)に従って測定された1ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下の濁度を有し且つアリシクロバチルスの芽胞 10^4 個/mlを含むリンゴジュースのサンプルに $5\mu\text{g/ml}$ の濃度で添加し、その後 37°C で維持したときに、上記組成物が、 600nm での光学密度測定によって決定される、少なくとも4日間アリシクロバチルスの再増殖を防止することを意味する。

【0027】

いくつかの実施形態では、コパイバ樹脂は、コパイフェラ・オフィシナリスから得られる。

【0028】

いくつかの実施形態では、上記組成物は、アリシクロバチルス・アシドテレストリスの芽胞に対して有効である。

【0029】

いくつかの実施形態では、混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で1以上:1である。いくつかの実施形態では、混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で1.1以上:1、1.2以上:1、1.3以上:1、1.4以上:1、1.5以上:1、1.6以上:1、1.7以上:1、1.8以上:1、1.9以上:1、2以上:1、2.1以上:1、2.2以上:1、2.3以上:1、2.4以上:1、2.5以上:1、2.6以上:1、2.7以上:1、2.8以上:1、2.9以上:1、又は3以上:1である。

【0030】

いくつかの実施形態では、混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で、4以下:1、3.9以下:1、3.8以下:1、3.7以下:1、3.6以下:1、3.5以下:1、3.4以下:1、3.3以下:1、3.2以下:1、又は3.1以下:1である。

【0031】

いくつかの実施形態では、エタノールと水の混合物は、0.01から0.125モルの濃度でNaOHを含む。いくつかの実施形態では、NaOHの濃度は、少なくとも0.02 M、少なくとも0.03 M、少なくとも0.04 M、少なくとも0.05 M、少なくとも0.06 M、少なくとも0.07 M、少なくとも0.08 M、少なくとも0.09 M、少なくとも1.0 M、少なくとも1.1 M又は少なくとも1.2 Mである。

【0032】

いくつかの実施形態では、エタノールと水の混合物は、0.01から0.25モルの濃度のHClを含む。いくつかの実施形態では、HClの濃度は、少なくとも0.1モル、少なくとも0.2モル、少なくとも0.3モル、少なくとも0.4モル、少なくとも0.5モル、少なくとも0.6モル、少なくとも0.7モル、少なくとも0.8モル、少なくとも0.9モル、少なくとも1.0モル、少なくとも1.1モル、少なくとも1.2モル、又は少なくとも0.125モルである。

【0033】

いくつかの実施形態では、エタノールと水との混合物の、コパイバ樹脂に対する比率は、質量比で3以上:1である。

【0034】

いくつかの実施形態では、エタノールと水の混合物の、コパイバ樹脂に対する比率は、質量比で3.5以上:1、4以上:1、4.5以上:1、5以上:1、5.5以上:1、又は6以上:1である。

【0035】

いくつかの実施形態では、上記方法は、更に、回収された上部画分から水及びエタノールの少なくとも一部を除去する工程を有する。

【0036】

いくつかの実施形態では、前記上部画分は、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を含み、前記7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、及びコパル酸を合わせたものの、前記上部画分中の前記BCPに対する比率は、質量比で1以下:1である。いくつかの実施形態では、前記7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を

10

20

30

40

50

合わせたものの、前記上部画分中の前記BCPに対する比率は、質量比で1.2以下:1、1.3以下:1、1.4以下:1、1.5以下:1、1.6以下:1、1.7以下:1、1.8以下:1、1.9以下:1、2以下:1、2.1以下:1、2.2以下:1、2.3以下:1、2.4以下:1又は2.5以下:1である。

【0037】

いくつかの実施形態では、上記方法は、更に、残留BCPを上部画分に存在するジテルペンからクロマトグラフィーで分離する工程と、ジテルペンを回収する工程と、を有する。

【0038】

本発明の一実施形態によれば、本明細書に記載されている抽出によって、すなわち、コパイフェラから得られた樹脂を水とエタノールの混合物で抽出する工程と、抽出物から得られた上部画分を回収する工程を有する方法によって調製された物質組成物も提供される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、アリシクロバチルスの芽胞に対して有効である。いくつかの実施形態では、上記組成物は、コパイフェラから得られるコパイバ樹脂中のBCPの濃度と比較して、ベータ-カリオフィレン(BCP)の濃度が減少している。いくつかの実施形態では、コパイバ樹脂は、コパイフェラ・オフィシナリスから得られる。

【0039】

いくつかの実施形態では、上記組成物は、アリシクロバチルス・アシドテレストリスの芽胞に対して有効である。

【0040】

いくつかの実施形態では、混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で1以上:1である。いくつかの実施形態では、混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で1.1以上:1、1.2以上:1、1.3以上:1、1.4以上:1、1.5以上:1、1.6以上:1、1.7以上:1、1.8以上:1、1.9以上:1、2以上:1、2.1以上:1、2.2以上:1、2.3以上:1、2.4以上:1、2.5以上:1、2.6以上:1、2.7以上:1、2.8以上:1、2.9以上:1、又は3以上:1である。

【0041】

いくつかの実施形態では、混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で4以下:1、3.9以下:1、3.8以下:1、3.7以下:1、3.6以下:1、3.5以下:1、3.4以下:1、3.3以下:1、3.2以下:1、又は3.1以下:1である。

【0042】

いくつかの実施形態では、エタノールと水の混合物は、0.01から0.125モルの濃度でNaOHを含む。いくつかの実施形態では、NaOHの濃度は、少なくとも0.02 M、少なくとも0.03 M、少なくとも0.04 M、少なくとも0.05 M、少なくとも0.06 M、少なくとも0.07 M、少なくとも0.08 M、少なくとも0.09 M、少なくとも1.0 M、少なくとも1.1 M又は少なくとも1.2 Mである。

【0043】

いくつかの実施形態では、エタノールと水の混合物は、0.01から0.25モルの濃度のHClを含む。いくつかの実施形態では、HClの濃度は、少なくとも0.1モル、少なくとも0.2モル、少なくとも0.3モル、少なくとも0.4モル、少なくとも0.5モル、少なくとも0.6モル、少なくとも0.7モル、少なくとも0.8モル、少なくとも0.9モル、少なくとも1.0モル、少なくとも1.1モル、少なくとも1.2モル、又は少なくとも0.125モルである。

【0044】

いくつかの実施形態では、エタノールと水との混合物の、コパイバ樹脂に対する質量比は、3以上:1である。

【0045】

いくつかの実施形態では、エタノールと水の混合物の、コパイバ樹脂に対する比率は、質量比で3.5以上:1、4以上:1、4.5以上:1、5以上:1、5.5以上:1、又は6以上:1である。

【0046】

いくつかの実施形態では、上記方法は、更に、回収された上部画分から水及びエタノールの少なくとも一部を除去する工程を有する。

【0047】

いくつかの実施形態では、前記上部画分は、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベ

10

20

30

40

50

ン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を含み、前記7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、及びコパル酸を合わせたものの、前記上部画分中の前記BCPに対する比率は、質量比で1以下:1である。いくつかの実施形態では、前記7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの、前記上部画分中の前記BCPに対する比率は、質量比で1.2以下:1、1.3以下:1、1.4以下:1、1.5以下:1、1.6以下:1、1.7以下:1、1.8以下:1、1.9以下:1、2以下:1、2.1以下:1、2.2以下:1、2.3以下:1、2.4以下:1又は2.5以下:1である。

【0048】

いくつかの実施形態では、上記方法は、更に、残留BCPを上部画分に存在するジテルペンからクロマトグラフィーで分離する工程と、ジテルペンを回収する工程と、を有する。

【0049】

本発明の一実施形態によれば、本明細書に記載の通り、(a)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸、ならびに任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、及び(b)任意にベータ-カリオフィレンを含む組成物を飲料に添加する工程を有する方法も提供される。いくつかの実施形態では、上記飲料は、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法180.1号に従って測定された、5ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、飲料は、4NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、飲料は、3NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、飲料は、2NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、飲料は、1NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記方法は、飲料の低温殺菌の効力を高めるためのものである。いくつかの実施形態では、上記組成物は、アリシクロバチルス(BCP)の芽胞に対して有効である。いくつかの実施形態では、上記組成物は、アリシクロバチルス・アシドテレストリスの芽胞に対して有効である。いくつかの実施形態では、上記組成物は、コパイフェラから得られるコパイバ樹脂中のBCPの濃度と比較して、ベータ-カリオフィレン(BCP)の濃度が減少している。いくつかの実施形態では、コパイバ樹脂は、コパイフェラ・オフィシナリスから得られる。いくつかの実施形態では、ベータ-カリオフィレンが存在する場合、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの、ベータ-カリオフィレンに対する比率は、質量比で1以上:1である。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも1.25マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも2.5マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも3.75マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも5.0マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり5.0マイクログラム以下の組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、少なくとも2日間、少なくとも3日間、少なくとも4日間、又は少なくとも5日間、飲料に接触させる。いくつかの実施形態では、上記組成物は、低温殺菌の前に飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、低温殺菌後に飲料に添加される。いくつかの実施形態では、飲料は酸性である。いくつかの実施形態では、飲料は、3から6の範囲のpHを有する。いくつかの実施形態では、飲料はフルーツジュースである。いくつかの実施形態では、フルーツジュースはリンゴジュースである。いくつかの実施形態では、フルーツジュースはブドウジュースである。いくつかの実施形態では、フルーツジュースは桃ジュースである。いくつかの実施形態では、フルーツジュースはスイカジュースである。いくつかの実施形態では、フルーツジュースは透明なオレンジジュースである。いくつかの実施形態では、上記組成物は、上述の組成物である。いくつかの実施形態では、上記組成物は、本明細書に記載の方法によって調製される。

【0050】

本発明の一実施形態によれば、コパイフェラ樹脂を水とエタノールの混合物で抽出し、

10

20

30

40

50

抽出物から得られた上部画分を回収して組成物を得ることによって調製された組成物を飲料に添加する工程を有する方法も提供される。いくつかの実施形態では、上記飲料は、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法番号180.1に従って測定された、5ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、4NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、3NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、2NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、1NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記方法は、飲料の低温殺菌の効力を高めるためのものである。いくつかの実施形態では、上記方法は、飲料中のグラム陽性菌の芽胞を含むグラム陽性菌の増殖を制御するためのものである。いくつかの実施形態では、上記組成物は、アリシクロバチルス・アシドテレストリスの芽胞に対して有効である。いくつかの実施形態では、上記組成物は、コパイフェラから得られるコパイバ樹脂中のBCPの濃度と比較して、ベータ-カリオフィレン(BCP)の濃度が減少している。いくつかの実施形態では、コパイバ樹脂は、コパイフェラ・オフィシナリスから得られる。いくつかの実施形態では、上記組成物は、(a)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7a-アセトキシハードウィッキ酸、ならびに(b)任意にベータ-カリオフィレンを有する。いくつかの実施形態では、ベータ-カリオフィレンが存在する場合、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの、ベータ-カリオフィレンに対する比率は、質量比で1以上:1である。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも1.25マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも2.5マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも3.75マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも5.0マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり5.0マイクログラム以下の組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、少なくとも2日間、少なくとも3日間、少なくとも4日間、又は少なくとも5日間、飲料に接触させる。いくつかの実施形態では、上記組成物は、低温殺菌の前に飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、低温殺菌後に飲料に添加される。いくつかの実施形態では、飲料は酸性である。いくつかの実施形態では、飲料はフルーツジュースである。いくつかの実施形態では、フルーツジュースはリンゴジュースである。いくつかの実施形態では、フルーツジュースはブドウジュースである。いくつかの実施形態では、フルーツジュースは桃ジュースである。いくつかの実施形態では、フルーツジュースはスイカジュースである。いくつかの実施形態では、フルーツジュースは透明なオレンジジュースである。いくつかの実施形態では、上記組成物は、上述の組成物である。いくつかの実施形態では、上記組成物は、本明細書に記載の方法によって調製される。

【0051】

本発明の一実施形態によれば、容器入り飲料も提供され、上記飲料は、本明細書に記載される、(a)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、ならびに(b)任意にベータ-カリオフィレンを有する組成物を含む。いくつかの実施形態では、上記飲料は、透明飲料である。いくつかの実施形態では、上記飲料は、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法180.1号に従って測定された、5ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、4NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、3NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、2NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、1NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも1.25マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも2.5マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも3.75マイクログラムの組成物の濃度で飲料

10

20

30

40

50

中に存在する。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも5.0マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する。いくつかの実施形態では、上記組成物は、1ml飲料あたり5.0マイクログラム以下の組成物の濃度で飲料中に存在する。いくつかの実施形態では、上記飲料は酸性である。いくつかの実施形態では、上記飲料はフルーツジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースはリンゴジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースはブドウジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースは桃ジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースはスイカジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースは透明なオレンジジュースである。いくつかの実施形態では、上記組成物は、上述の組成物である。いくつかの実施形態では、上記組成物は、本明細書に記載の方法によって調製される。

10

【0052】

本発明の一実施形態によれば、容器入り飲料も提供され、この飲料は、コパイフェラ樹脂を水とエタノールの混合物で抽出し、抽出物から得られた上部画分を回収して組成物を得ることによって調製された組成物を含む。いくつかの実施形態では、上記飲料は、透明飲料である。いくつかの実施形態では、上記飲料は、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法180.1号に従って測定された、5ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、4NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、3NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、2NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、1NTU以下の濁度を有する。上記組成物は、本明細書に記載の通り、(a)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7a-アセトキシハードウィッキ酸、ならびに(b)任意にベータ-カリオフィレンを有する。いくつかの実施形態では、上記組成物は、1ml飲料あたり少なくとも1.25マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する。いくつかの実施形態では、上記組成物は、1ml飲料あたり少なくとも2.5マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する。いくつかの実施形態では、上記組成物は、1ml飲料あたり少なくとも3.75マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する。いくつかの実施形態では、上記組成物は、1ml飲料あたり少なくとも5.0マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する。いくつかの実施形態では、上記組成物は、1ml飲料あたり5.0マイクログラム以下の組成物の濃度で飲料中に存在する。いくつかの実施形態では、上記飲料は酸性である。いくつかの実施形態では、上記飲料はフルーツジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースはリンゴジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースはブドウジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースは桃ジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースはスイカジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースは透明なオレンジジュースである。いくつかの実施形態では、上記組成物は、上述の組成物である。いくつかの実施形態では、上記組成物は、本明細書に記載の方法によって調製される。

20

30

【0053】

本発明の一実施形態によれば、本明細書に記載の通り、飲料中のグラム陽性菌の芽胞を含むグラム陽性菌の増殖を制御する方法も提供され、飲料に、(a)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、ならびに(b)任意にベータ-カリオフィレンを含む組成物を添加する工程を有する方法である。いくつかの実施形態では、上記飲料は、透明飲料である。いくつかの実施形態では、上記飲料は、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法180.1号に従って測定された、5ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、4NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、3NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、2NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記飲料は、1NTU以下の濁度を有する。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも1.25マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも2

40

50

.5マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも3.75マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも5.0マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、飲料1mlあたり5.0マイクログラム以下の組成物の濃度で飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、少なくとも2日間、少なくとも3日間、少なくとも4日間、又は少なくとも5日間、上記飲料に接触させる。いくつかの実施形態では、上記組成物は、低温殺菌の前に上記飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記組成物は、低温殺菌後に上記飲料に添加される。いくつかの実施形態では、上記飲料は酸性である。いくつかの実施形態では、上記飲料はフルーツジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースはリンゴジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースはブドウジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースは桃ジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースはスイカジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースは透明なオレンジジュースである。いくつかの実施形態では、上記フルーツジュースはスイカジュースである。いくつかの実施形態では、上記組成物は、上述の組成物である。いくつかの実施形態では、上記組成物は、本明細書に記載の方法によって調製されている。

本発明の実施形態は、図と関連することでより良く理解されるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0054】

【図1】図1Aは、粗製コパイバ樹脂とそれにより得られた上部抽出物のHPLC溶出プロファイルを示し、図1Bは、それにより得られた上部抽出物と下部抽出物のHPLC溶出プロファイルを示す。

【図2】図2は、コパイバ樹脂から得られた抽出物のHPLC溶出プロファイルを示す。

【図3】図3は、コパイバ樹脂から得られた抽出物のpH値を上昇させた場合のHPLC溶出プロファイルを示す。

【図4】図4は、コパイバ樹脂から得られた抽出物のpH値を低下させた場合のHPLC溶出プロファイルを示す。

【図5】図5は、コパイバ樹脂から得られた抽出物のHPLC溶出プロファイルを示すものであり、7つの主ピークに1から7のラベルが付けられている。

【図6】図6は、図5のピーク3に対応する物質の質量分析図である。

【図7】図7は、メチル化後の、図5のピーク3に対応する物質の質量分析図である。

【図8】図8は、メチル化後の、図5のピーク4に対応するいくつかの物質の質量分析図である。

【図9】図9は、メチル化後の、図5のピーク4に対応するいくつかの物質の質量分析図である。

【図10】図10は、メチル化後の、図5のピーク6に対応する物質の質量分析図である。

【図11】図11は、メチル化後の、図5のピーク7に対応する物質の質量分析図である。

【図12】図12は、メチル化後の、図5のピーク7に対応する物質の質量分析図である。

【図13】図13は、600nmでの光学密度によって測定された、4つの芽胞形成菌株の成長に対する画分1の効果を示す。

【図14】図14は、600nmにおける光学密度によって測定された、市販のリンゴジュース中のアリシクロバチルス・アシドテレストリスの芽胞に対する画分1の効果を示す。

【図15】図15は、600nmでの光学密度によって測定された、ブレインハートインフュージョン培地中のリステリア・モノサイトゲネス株DP-L861に対する画分1の効果を示す。

【図16】図16は、種々の供給源からの粗製コパイバ樹脂から得られた上部抽出物のHPLC溶出プロファイルを示す。

【発明を実施するための形態】

【0055】

詳細な議論

記載の通り、本発明の一実施形態によれば、アリシクロバチルスの芽胞に対して有効であり、コパイフェラから得られるコパイバ樹脂と比較して濃度が減少したベータ-カリオフィレンを有する組成物を調製する方法が提供される。この方法は、コパイフェラから得られた樹脂を水とエタノールの混合物で抽出する工程を有する。典型的には、エタノールと水の混合物は、50質量%から80質量%のエタノールを含み、コパイフェラ樹脂1体積当たり1体積から10体積の混合物が使用される。そのような抽出物の例を以下に示す。相が分離するのに十分な時間(通常は約20分)が与えられると、2つの画分、上部画分と下部画分が得られる。上部画分は、本明細書では「画分1」と称されることもあるが、リステリア・モノサイトゲネス、バチルス・セレウス、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌などの食品に

10

【0056】

以下に詳述する画分1の分析によれば、5種類の抗菌性ジテルペン化合物：7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸が含まれていること示されている。このことから、画分1に対して耐性を発現する細菌が存在する可能性は極めて低いことが示唆されている。さらに、画分1は耐熱性があり、121°Cで15分間熱処理しても有効性を維持していることが明らかになった。

【0057】

この耐熱性のため、本明細書に記載された組成物は、低温殺菌後の添加も可能であるが、低温殺菌を生き延びる芽胞の増殖を避けるために、低温殺菌前にフルーツジュース及び他の透明飲料に添加されてもよい。飲料中への組成物の混合は、組成物の有効性を補助することが明らかとなっており、工業的規模で使用される場合には、組成物が連続的方法、例えば飲料が導管を通過する方法で飲料に添加されるか、組成物がバッチ単位で添加されるかにかかわらず、適切な混合手段が採用されることが予想される。多くの場合、飲料が工業的規模で調製される際には、飲料濃縮物は、水と混合され、場合によっては追加の成分と混合され、その後低温殺菌される。本発明の実施形態による組成物は、この混合段階で飲料に添加し、組成物と飲料を混合してもよい。本目的のために、この段階での組成物の添加は、飲料への組成物の添加を構成し、その結果生じる混合物は、組成物が添加された飲料を構成する。また、本組成物は、大量の飲料、例えば数百又は数千リットルの飲料を含むタンクに添加されてもよく、又は飲料を保持する個々の容器、例えば2000、1000、500、330、又は250mlの飲料を含むボトル、カートン又は他のパッケージに添加されてもよいことが理解されるであろう。

20

30

【0058】

本目的のために、透明飲料とは、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法 180.1号(その内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれている)に従って測定された濁度が3ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下である飲料(a)を意味する。透明なリンゴジュース、透明なブドウジュース、透明な桃ジュース、透明なスイカジュースなどの透明なフルーツジュースに加えて、透明な飲料には、例えば、濁度基準を満たすアイスティーや、「フルーツウォーター」として現在イスラエルで販売されている甘味飲料が含まれる。これらの飲料は一般的に酸性であり、糖分、例えばフルクトースを含んでおり、これは細菌の栄養源となり得る。したがって、このような飲料の例は、94%の水、フルクトース、香料、クエン酸ナトリウム、及びリン酸及びクエン酸のような食用酸を有する。

40

【0059】

以下の実施例は、本発明の実施形態を例示するものである。

【実施例】

【0060】

実施例1:コパイフェラ・オフィシナリスからの油での液-液抽出

コパイバ樹脂(コパイバオイルとも称する)は、コパイフェラ属に属する樹木の幹由来の抽出物によって製造される。コパイバ樹脂は、バルサムの特徴的な臭気と、芳香性のある

50

苦味と辛味を有する。薬理学的研究により、コパイバ樹脂が抗菌活性を有することが確認されている。コパイバ樹脂は、その特徴的な臭気や味に寄与するセスキテルペンと、抗菌活性を有するジテルペンを主成分としている。セスキテルペンであるベータ-カリオフィレンは、コパイバ樹脂に最も多く含まれる分子であり、樹脂の約40質量%を占めている。本実施例では、ブラジル北部のアクレ(AC)、アマゾナス(AM)、パラ(PA)、 Rondônia(RO)の各州で栽培されたコパイフェラ・オフィシナリスから得られた樹脂を使用した。

【0061】

水における75%エタノールの混合物に、コパイフェラ・オフィシナリスから得られた粗製コパイバ樹脂を、コパイバ樹脂に対するエタノール/水の割合を5:1(w/w)として20分間混合した。得られた混合物を2つの異なる相が形成されるまで放置した。下部相は、粗製コパイバ油に類似した黄色を呈し、上部相(以下、「画分1」という)は無色透明であった。以下に説明するように、粗樹脂と比較して、画分1はジテルペン類が濃縮されており、セスキテルペン類の含有量は比較的少ない。画分1からエタノールと水を除去したところ、使用した粗樹脂1gあたり約250mgの物質が回収された。

【0062】

同様の結果は、スケールアップした手順で得られた。1000 gのコパイフェラ・オフィシナリス樹脂は、水における75%エタノールを5リットル使用して、30分間液体を混合し、相分離を達成するために数時間それらを沈降させることによって抽出した。上相からの溶媒の除去により、25gの物質が得られた。

【0063】

他のコパイフェラ源から得られたコパイバ樹脂でも同様の結果が得られた。

【0064】

実施例2

粗製コパイバ樹脂、画分1及び下相画分(10 mg/ml)のサンプルを、Dionex UltiMate 3000 システム(Thermo Scientific 社)及び Phenomenex C-18 (4.6 x 250mm) Luna カラムを用いて、それぞれ逆相高速液体クロマトグラフィー(RP-HPLC)を行った。サンプルは、1%リン酸及び90%アセトニトリルを含む水に溶解し、1ml/minの流速でインジェクトした。カラムの温度は22℃で、検出は210nmで行った。分析用HPLCに使用した最終条件は以下の通りとした。

【表1】

時間	1%リン酸及び90%アセトニトリルを含む水(%)	水(%)
0	100	0
20分	90	10
70分	90	10

【0065】

その結果、図1に示すように、粗樹脂と下部画分とを比較すると、画分1は最初の20分で溶出物が濃く、それ以降は溶出物が少ないことが示された。溶出プロファイルを示す図中、軸上の数字は時間(分)を示している。

【0066】

上述のスケールアップ抽出で得られた物質の溶出プロファイルは、図2に示すように、実質的に同じであった。

【0067】

図16は、他のコパイフェラ種の樹脂から抽出した後、コパイフェラ・オフィシナリスに使用したのと同じ抽出条件及びHPLC条件で得られた上相のHPLC溶出プロファイルを示す。

【0068】

実施例3：pHの効果

図3に示すように、0.125モルのNaOHの濃度までのNaOHの添加により抽出混合物のpHを増加させることにより、画分1の収量を増加させる一方で、実施例2に記載の条件で同様のRP-HPLC溶出プロファイルを維持することが明らかになった。

【0069】

図4に示すように、0.25モルのHClの濃度までのHClの添加による抽出混合物のpHの低下もまた、画分1の収量を増加させ、実施例2に記載の条件で得られたRP-HPLC溶出プロファイルに示されるように、そこに含まれるベータ-カリオフィレンの存在を有意に減少させた。

【0070】

実施例4：画分1の主成分の同定

画分1の7つの主要成分(図5参照)は、以下のように同定された。

【0071】

まず、Dionex UltiMate3000システム及びPhenomenex C-18 (10 x 250mm) Lunaカラムを用いて、セミ分取RP-HPLCにより、画分1から各成分の量を採取した。各サンプルを、0.05%ギ酸及び90%アセトニトリルを含む水に溶解し、5ml/minの流速でインジェクトした。カラムの温度は22℃で、検出は210nmで行った。セミ分取HPLCに使用した最終条件は以下の通りであった。

【表2】

時間	0.05%ギ酸及び90%アセトニトリルを含む水(%)	水(%)
0	100	0
20分	90	10
70分	90	10

【0072】

回収された各画分は、次に、実施例2に記載されているように、RP-HPLCにより精製した。これら7つの画分を、以下に記載するように、アリシクロバチルス・アシドテレストリスの芽胞に対する有効性について試験した。次いで、これらの画分のうち最も有効性の高い4つの化合物を、質量分析及び核磁気共鳴(NMR)を用いて、以下のように同定した。

【0073】

ピーク3：単離された化合物に対して質量分析(MS)を実施した、質量電荷比(m/z)が397.15 [M+Na]⁺の主成分を示した(図6を参照)。正確な質量374.22 g/molによると、分子式はC₂₂H₃₀O₆と予測された。

【0074】

化合物をトリメチルシリルジアゾメタン(TMS-ジアゾメタン、Hashimoto et al., Chem. Pharm. Bull. 1981, 29, 1475-1478に記載の手順)でメチル化した後、メチル化化合物に対してガスクロマトグラフィー-MS(GC-MS)を行った。MS/MS断片化パターンの分析は、m/z 388.22のマイナーピーク(メチル化分子に対応)とm/z 346.21のドーターピークを示した(図7を参照)。

【0075】

この遊離酸の¹H-¹³C及び2次元核磁気共鳴分光法(2D-NMR)の分析(¹³C-NMRの結果を示す下記表参照)により、分子の構造を決定した。単離された化合物は、7-α-アセトキシハードウィッキ酸であることが明らかになった。

10

20

30

40

50

【表 3】

ポジション	¹³ C NMR δ _c (ppm)	<i>J</i>	ポジション	¹³ C NMR δ _c (ppm)	<i>J</i>
1	17.3		13	125.29	
2	27.45		14	111.06	6.28 <i>s</i>
3	140.15	6.88 <i>d</i>	15	143.00	7.23 <i>s</i>
4	141.46		16	138.59	7.38 <i>s</i>
5	36.97		17	12.17	0.96 <i>s</i>
6	38.26		18	21.63	
7	74.75	5.23	19	170.72	1.47 <i>s</i>
8	38.49		20	19.73	1.05 <i>s</i>
9	39.27		CO ₂ Me	169.83	
10	46.53		MeCO ₂	22.27	2.1 <i>s</i>
11	39.63		溶媒 (CDCl ₃)	77.16	
12	18.52				

10

【0076】

ピーク4：

この画分中の物質をTMS -ジアゾメタンでメチル化した。メチル化された物質のGC-MS分析(以下に引用する条件、本明細書及び他の実施例に適用可能)から、この単離されたHPLCピークが実際には2つの化合物を含むことが示された。GC-MSクロマトグラム(保持時間26.9分)における第1のピークは、以下の断片化パターン： m/z 332、273、237、205、177、96を有していた(図8参照)；この断片化パターンは、クロレキン酸のメチルエステルと一致している。第二のピークは27.1分に検出され、以下の断片化パターン： m/z 330、283、235、203、139、96を示した(図9参照)。国立標準技術研究所(National Institute of Standards and Technology)データベースのスペクトルと比較することにより、この化合物は、ハードウィッキ酸のメチルエステルであるハードウィッキ酸メチルとして同定された。さらに、対応する2つのメチルエステルの正確な質量332.2346 g/mol及び330.2189 g/molによると、メチル化された化合物の予測分子式は、それぞれC₂₁H₃₂O₃及びC₂₁H₃₀O₃であった。予測された遊離酸の構造は、¹H、¹³C及び2D-NMRにより確認された。

20

30

【表 4】

ポジション	¹³ C NMR δ _c (ppm)	¹ H NMR δ _H (ppm)	ポジション	¹³ C NMR δ _c (ppm)	¹ H NMR δ _H (ppm)
1	17.6	1.30-1.82	12	18.33	2.12-2.27 2.27-2.37
2	27.64	2.12-2.27 2.27-2.37	13	125.73	
3	140.31	6.85	14	111.14	6.26
4	141.36		15	142.88	7.35
5	37.75		16	138.54	7.20
6	35.96	2.43, 1.17	17	16.18	0.84
7	27.42	1.30-1.82	18	170.80	
8	36.40	1.30-1.82	19	20.6	1.26
9	38.96		20	18.44	0.76
10	46.82	1.30-1.82	溶媒(CDCl ₃)	77.16	7.26
11	38.76	1.30-1.82			

40

【0077】

このように、ピーク4に係る単離された画分には、クロレキン酸とハードウィッキ酸がそれぞれ約1:2の割合の混合物が含まれている。

【0078】

50

ガスクロマトグラフ：Agilent GC 7890B、サンプルインレットGC (インジェクションソースPALサンプラー、インジェクションサイズ1マイクロリットル)、オープン温度初期50℃、ホールド時間3分、10℃/分で280℃に昇温、ホールド時間10分、20℃/分で300℃に昇温、ホールド時間7分、SSインレットモードスプリット、キャリアガスヘリウム、ヒーター250℃、スプリット比10:1、スプリットフロー10ml/分、トランスファーライン温度280℃、Agilent DB-5ms DuraGuard 30 m x 250 マイクロメートル x 0.25 マイクロメートル (+ 10 m ガード)、流量 1 ml/分。

【0079】

質量分析：Agilent 7200 Q-TOF分光計、イオン化モードEI、ソース温度230℃、EI エネルギー70eV、四重極温度150℃、溶媒遅延5分、質量範囲40から700 amu、収集速度5スペクトル/秒、しきい値100カウント。

10

【0080】

ピーク6：

ピーク6に対応する画分をTMS-ジアゾメタンを用いてメチル化した。メチル化された化合物のGC-MS分析の結果は、式 $C_{21}H_{34}O_2$ に対応する m/z 318の分子イオンを示すMS断片化パターンが生じた(図10を参照)。未メチル化化合物の 1H - ^{13}C 及び2D-NMRスペクトルの分析(以下の表を参照)、及び文献(Pacheco, Molecules 2009, 14(3), pp.1245-1262; Salah, J. Agr. & Food Chem. 2003, 51(26), pp.7607-7610)で報告されている値との比較から、単離された化合物はコラベン酸であることが示された。

【表5】

20

ポジション	1H NMR δ_H (ppm)	^{13}C NMR δ_C (ppm)	^{13}C NMR δ_C (ppm), <i>Ref</i> ⁽²⁾	^{13}C NMR δ_C (ppm), <i>Ref</i> ⁽³⁾
溶媒	$CDCl_3$	$CDCl_3$	$CDCl_3$	$CDCl_3$
1		18.45	17.3	18.7
2		27.59	27.5	27.3
3	5.19 (t)	120.55	120.5	120.8
4		144.61	144.5	144.8
5		38.91	38.3	38.6
6		36.4	36.4	37.2
7		27.02	26.9	27.8
8		36.4	36.4	36.7
9		38.33	38.4	39.2
10		46.62	46.6	46.9
11		35.03	35.0	35.3
12		36.91	36.9	36.7
13		/	164.4	164.9
14	5.7 (s)	/	114.9	115.1
15		/	172.0	171.9
16	2.17 (s)	19.57	19.5	19.8
17	0.81 (d)	16.1	15.9	16.3
18	1.59 (s)	18.14	18.3	18.3
19	1.00 (s)	20.08	20.0	20.3
20	0.73 (s)	18.43	17.9	18.6

30

40

【0081】

ピーク7：

ピーク7に対応する画分をTMS-ジアゾメタンでメチル化した。メチル化された化合物のGC-MS分析の結果、 m/z 318.25の分子イオンを示すMS断片化パターンが得られた(図11を参照)。この断片化パターンをNISTのデータと比較すると、コパル酸のメチルエステルであるコパル酸メチルに対応していると判断された。この結果を液体クロマトグラフィー質量分析法(LC-MS)で確認した。断片化パターンは、コパル酸の脱プロトン化二量体に対応する m/z 607の主要なピークを示した(図12参照)。

【0082】

50

実施例5 :生コパイバ樹脂と画分1の成分の相対量の比較

上記のように分析用RP-HPLCを使用し、Chromeleon 7.0ソフトウェア(Thermo Fisher Scientific)を使用してピークの曲線下面積を計算すると、上記の5つの酸及びベータ・カリオフィレンについて以下の相対量がそれぞれ検出されたが、これらの数字は、これらの6つの成分の相対量の近似値を提供するだけであることが理解されるであろう。

【表 6】

化合物	粗製コパイバ含油樹脂 (%)	画分1(%)
7- α -アセトキシハードウィッキ酸	1.02	3.65
ハードウィッキ酸+クロレギン酸	2.79	6.03
コラベン酸	4.14	6.89
コパル酸	9.07	15.51
ベータカリオフィレン	33.94	12.58

10

【0083】

本開示の観点から、RP-HPLCを用いて、本明細書に記載の組成物を得るために、抽出のためのコパイフェラ樹脂の所定のサンプルの適合性を決定することができることが理解されるであろう。

【0084】

実施例6 :実施例4で回収した画分の試験

20

実施例4で回収した画分、及び画分1、及び本産業で現在一般的に使用されている防腐剤であるナイシンについて、リンゴジュースにおいてアリシクロバチルス・アシドテレストリス(JCMカタログ番号21547、IAMカルチャーコレクション番号15086)を用いて下表に示す時間インキュベートすることにより有効性を試験した。最小阻害濃度(MIC)は、600nmでの光学密度測定及びコロニー形成単位(CFU)の計数により、以下のように決定した：37℃で4日間培養した後、ジュースサンプルを10倍刻み(10倍、100倍、1000倍など)で連続的に希釈し、ポテトデキストロース寒天(PDA)上にプレーティングした。プレートを45℃で少なくとも48時間培養し、コロニーを計数してCFU/mlを測定した。明らかにしたMICを表に示す。

【表 7】

30

サンプル	100%リンゴジュース におけるMIC (μg/ml) 2日間培養	100%リンゴジュース におけるMIC (μg/ml) 3日間培養	100%リンゴジュース におけるMIC (μg/ml) 5日間培養	100%リンゴジュース におけるMIC (μg/ml) 7日間培養
画分1	1.25	1.25	1.25	1.25
1	5	5	5	5
2	有効性無し	有効性無し	有効性無し	有効性無し
3	2.5	5	5	5
4	1.25	1.25	1.25	1.25
5	5	5	5	5
6	1.25	1.25	1.25	1.25
7	1.25	1.25	1.25	1.25
ナイシン	10	10	有効性無し	有効性無し

40

【0085】

実施例7

画分1は、4つの芽胞形成菌株：バチルス・セレウス、バチルス・リケニフォルミス(Bacillus licheniformis)、バチルス・メガテリウム(Bacillus megaterium)及びバチルス・スブチリス(bacillus subtilis)(VY79)に対して試験した。これらの菌株の芽胞(10^4 個/ml)を、37℃のルリア-ベルターニ(LB)培地中に接種することにより復活を誘発した。1時間後、培地1mlあたり5 μgの濃度で画分1を添加した。光学密度600nm(OD600)での吸光度は成長を表す。図13で見られるように、未処理の芽胞(対照)と比較して、処理された芽胞は、OD600の減少が示す通り、画分1によって死滅した。

50

【0086】

実施例8

画分1は、市販のリンゴジュース中のアリシクロバチルス・アシドテレストリスの芽胞(JCM21547)に対して試験を行った。リンゴジュースに画分1を5 μ g/mlの濃度で添加し、 10^4 個の芽胞/mlを添加することによって汚染させ、37°Cで培養した。画分1は、7日間のOD600の測定によって示されるように、アリシクロバチルス・アシドテレストリスの芽胞の発育を阻害した(図14を参照)。

【0087】

一方、画分1の由来である粗製コパイバ樹脂は、20マイクログラム/mlの濃度でのみ同程度の有効性を示した。

【0088】

図16に示す画分を同様に試験したところ、すべてがアリシクロバチルス・アシドテレストリスに対して有効性を有することが明らかになった。

【0089】

画分1はまた、他の透明飲料中のアリシクロバチルス・アシドテレストリスに対する有効性を試験したところ、有効であることが明らかになった。

【0090】

実施例9

画分1は、4°Cのブレインハートインフュージョン培地でリステリア・モノサイトゲネス株DP-L861に対する試験を行った。培養物をOD600で0.05に希釈し、15 μ g/mlの濃度の画分1で処理し、4°Cで7日間培養した。画分1は、OD600測定によって決定された通り、冷蔵温度でのリステリア・モノサイトゲネスの増殖を阻害した(図15を参照)。

【0091】

このように、発明の概念1によれば、(a)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、及び(b)任意にベータ-カリオフィレン(BCP)を含む物質組成物であって、ベータ-カリオフィレンが存在する場合、前記クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び存在する場合は7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を合わせたものの、前記ベータ-カリオフィレンに対する比率が、質量比で1以上:1である物質組成物が提供される。

【0092】

発明の概念2. 7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を含む発明の概念1の組成物。

【0093】

発明の概念3. BCPを実質的に含まない発明の概念1又は2の組成物。

【0094】

発明の概念4. クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び存在する場合は7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を合わせたものの、ベータ-カリオフィレンに対する比率は、質量比で1.1以上:1、1.2以上:1、1.3以上:1、1.4以上:1、1.5以上:1、1.6以上:1、1.7以上:1、1.8以上:1、1.9以上:1、2以上:1、2.1以上:1、2.2以上:1、2.3以上:1、2.4以上:1、2.5以上:1、2.6以上:1、2.7以上:1、2.8以上:1、2.9以上:1、又は3.0以上:1である、発明の概念1から3のいずれかに記載の組成物。

【0095】

発明の概念5. 上記クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び存在する場合は7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を合わせたものの、前記ベータ-カリオフィレンに対する比率は、質量比で100以下:1である、発明の概念1から4のいずれかに記載の組成物。

【0096】

発明の概念6. 上記クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び存在する場合は7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を合わせたものの、前記ベータ-カリオフィレンに対する比率は、質量比で90以下:1、80以下:1、70以下:1、60以下:1、50以下:1、40以下:1、30以下:1、20以下:1、10以下:1、9以下:1、8以下:1、7以下:1、6

10

20

30

40

50

以下:1、5以下:1、4以下:1、又は3以下:1である、発明の概念5の組成物。

【0097】

発明の概念7. 7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸は、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの量の少なくとも7wt%を構成する、発明の概念1から6のいずれかに記載の組成物。

【0098】

発明の概念8. 7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸は、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸の量の少なくとも10wt%を構成する、発明の概念7の組成物。

【0099】

発明の概念9. 上記組成物は、アリシクロバチルスの芽胞に対して有効である、発明の概念1から8のいずれかに記載の組成物。

【0100】

発明の概念10. 上記組成物は、ヘキサン及びジクロロメタンを実質的に含まない、発明の概念1から9のいずれかに記載の組成物。

【0101】

また、発明の概念11によれば、発明の概念1から10のいずれか1つの組成物を調製する方法も提供され、上記組成物は、コパイフェラから得られたコパイバ樹脂中における、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、クロルチン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの濃度と比較して、ベータ-カリオフィレン(BCP)の濃度が減少しており、上記組成物を得る方法は、コパイフェラから得られた樹脂を水とエタノールの混合液で抽出する工程と、上記抽出物から得られた上部画分を回収して上記組成物を得る工程を有する。

【0102】

発明の概念12 上記組成物は、アリシクロバチルスの芽胞に対して有効である、発明の概念11の方法。

【0103】

発明の概念13 コパイバ樹脂は、コパイフェラ・オフィシナリス(*Copaifera officinalis*)から得られる、発明の概念11又は12の方法。

【0104】

発明 概念14 上記組成物は、アリシクロバチルス・アシドテレストリス(*Alicyclobacillus acidoterrestris*)の芽胞に対して有効である、発明の概念11から13のいずれかに記載の方法。

【0105】

発明の概念15 混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で1以上:1である、発明の概念11から14のいずれかに記載の方法。

【0106】

発明の概念16 混合物中の水に対するエタノールの比率は、1.1以上:1、1.2以上:1、1.3以上:1、1.4以上:1、1.5以上:1、1.6以上:1、1.7以上:1、1.8以上:1、1.9以上:1、2以上:1、2.1以上:1、2.2以上:1、2.3以上:1、2.4以上:1、2.5以上:1、2.6以上:1、2.7以上:1、2.8以上:1、2.9以上:1、又は3以上:1である、発明の概念15の方法。

【0107】

発明の概念17 混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で4以下:1、3.9以下:1、3.8以下:1、3.7以下:1、3.6以下:1、3.5以下:1、3.4以下:1、3.3以下:1、3.2以下:1、又は3.1以下:1である、発明の概念11から16のいずれかに記載の方法。

【0108】

発明の概念18 エタノールと水の混合物は、0.01から0.125モルの濃度でNaOHを含む、発明の概念11から17のいずれかに記載の方法。

【0109】

発明の概念19 NaOHの濃度は、少なくとも0.02 M、少なくとも0.03 M、少なくとも0.

10

20

30

40

50

0.4 M、少なくとも0.05 M、少なくとも0.06 M、少なくとも0.07 M、少なくとも0.08 M、少なくとも0.09 M、少なくとも1.0 M、少なくとも1.1 M又は少なくとも1.2 Mである、発明の概念18の方法。

【0110】

発明の概念20 エタノールと水の混合物は、0.01から0.25モルの濃度のHClを含む、発明の概念11から17のいずれかに記載の方法。

【0111】

発明の概念21 HClの濃度は、少なくとも0.1モル、少なくとも0.2モル、少なくとも0.3モル、少なくとも0.4モル、少なくとも0.5モル、少なくとも0.6モル、少なくとも0.7モル、少なくとも0.8モル、少なくとも0.9モル、少なくとも1.0モル、少なくとも1.1モル、少なくとも1.2モル、又は少なくとも0.125モルである、発明の概念20の方法。

10

【0112】

発明の概念22 エタノールと水との混合物の、コパイバ樹脂に対する比率は、質量比で3以上:1である、発明の概念11から21のいずれかに記載の方法。

【0113】

発明の概念23 エタノールと水の混合物の、コパイバ樹脂に対する比率は、質量比で3.5以上:1、4以上:1、4.5以上:1、5以上:1、5.5以上:1、又は6以上:1である、発明の概念23の方法。

【0114】

発明の概念24 上記方法は、更に、回収された上部画分から水及びエタノールの少なくとも一部を除去する工程を有する、発明の概念11から23のいずれかに記載の方法。

20

【0115】

発明の概念25 上記上部画分は、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を含み、前記7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、及びコパル酸を合わせたものの、前記上部画分中の前記BCPに対する比率は、質量比で1以下:1である発明の概念11から24のいずれかに記載の方法。

【0116】

発明の概念26 前記7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの、上記上部画分中の上記BCPに対する比率は、質量比で1.2以下:1、1.3以下:1、1.4以下:1、1.5以下:1、1.6以下:1、1.7以下:1、1.8以下:1、1.9以下:1、2以下:1、2.1以下:1、2.2以下:1、2.3以下:1、2.4以下:1又は2.5以下:1である、発明の概念25の方法。

30

【0117】

発明の概念27 更に、残留BCPを上部画分に存在するジテルペンからクロマトグラフィーで分離する工程と、ジテルペンを回収する工程と、を有する、発明の概念11から26のいずれかに記載の方法。

【0118】

また、発明の概念28によれば、アリシクロバチルスの芽胞に対して有効であり、コパイフェラから得られるコパイバ樹脂中のBCPの濃度と比較してベータ-カリオフィレン(BCP)の濃度が減少した組成物を調製する方法も提供され、上記方法は、コパイフェラから得られる樹脂を水とエタノールの混合物で抽出する工程と、抽出物から得られる上部画分を回収する工程を有する。本文脈において、「アリシクロバチルスの芽胞に対して有効」という用語は、EPA基準180.1(1993年8月発行)に従って測定された1ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下の濁度を有し且つアリシクロバチルスの芽胞 10^4 個/mlを含むリンゴジュースのサンプルに5 µg/mlの濃度で添加し、その後37°Cで維持したときに、上記組成物が、600nmでの光学密度測定によって決定される、少なくとも4日間アリシクロバチルスの再増殖を防止することを意味する。

40

【0119】

発明の概念29 コパイバ樹脂は、コパイフェラ・オフィシナリスから得られる、発明の概

50

念28の方法。

【0120】

発明の概念30 上記組成物は、アリシクロバチルス・アシドテレストリスの芽胞に対して有効である、発明の概念28又は29の方法。

【0121】

発明の概念31 混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で1以上:1である、発明の概念28から30のいずれかに記載の方法。

【0122】

発明の概念32 混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で1.1以上:1、1.2以上:1、1.3以上:1、1.4以上:1、1.5以上:1、1.6以上:1、1.7以上:1、1.8以上:1、1.9以上:1、2以上:1、2.1以上:1、2.2以上:1、2.3以上:1、2.4以上:1、2.5以上:1、2.6以上:1、2.7以上:1、2.8以上:1、2.9以上:1、又は3以上:1である、発明の概念31の方法。

【0123】

発明の概念33 混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で、4以下:1、3.9以下:1、3.8以下:1、3.7以下:1、3.6以下:1、3.5以下:1、3.4以下:1、3.3以下:1、3.2以下:1、又は3.1以下:1である、発明の概念28から32のいずれかに記載の方法。

【0124】

発明の概念34 エタノールと水の混合物は、0.01から0.125モルの濃度でNaOHを含む、発明の概念28から33のいずれかに記載の方法。

【0125】

発明の概念35 NaOHの濃度は、少なくとも0.02 M、少なくとも0.03 M、少なくとも0.04 M、少なくとも0.05 M、少なくとも0.06 M、少なくとも0.07 M、少なくとも0.08 M、少なくとも0.09 M、少なくとも1.0 M、少なくとも1.1 M又は少なくとも1.2 Mである発明の概念34の方法。

【0126】

発明の概念36 エタノールと水の混合物は、0.01から0.25モルの濃度のHClを含む、発明の概念28から33のいずれかに記載の方法。

【0127】

発明の概念37 HClの濃度は、少なくとも0.1モル、少なくとも0.2モル、少なくとも0.3モル、少なくとも0.4モル、少なくとも0.5モル、少なくとも0.6モル、少なくとも0.7モル、少なくとも0.8モル、少なくとも0.9モル、少なくとも1.0モル、少なくとも1.1モル、少なくとも1.2モル、又は少なくとも0.125モルである、発明の概念36の方法。

【0128】

発明の概念38 エタノールと水との混合物の、コパイバ樹脂に対する比率は、質量比で3以上:1である、発明の概念28から37のいずれかに記載の方法。

【0129】

発明の概念39 エタノールと水との混合物の、コパイバ樹脂に対する比率は、質量比で3.5以上:1、4以上:1、4.5以上:1、5以上:1、5.5以上:1、又は6以上:1である、発明の概念38の方法。

【0130】

発明の概念40 上記方法は、更に、回収された上部画分から水及びエタノールの少なくとも一部を除去する工程を有する、発明の概念28から39のいずれかに記載の方法。

【0131】

発明の概念41 前記上部画分は、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を含み、前記7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、及びコパル酸を合わせたものの、前記上部画分中の前記BCPに対する比率は、質量比で1以下:1である、発明の概念28から40のいずれかに記載の方法。

【0132】

発明の概念42 前記7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン

10

20

30

40

50

酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの、前記上部画分中の前記BCPに対する比率は、質量比で1.2以下:1、1.3以下:1、1.4以下:1、1.5以下:1、1.6以下:1、1.7以下:1、1.8以下:1、1.9以下:1、2以下:1、2.1以下:1、2.2以下:1、2.3以下:1、2.4以下:1又は2.5以下:1である、発明の概念41の方法。

【0133】

発明の概念43 上記方法は、更に、残留BCPを上部画分に存在するジテルペンからクロマトグラフィーで分離する工程と、ジテルペンを回収する工程と、を有する、発明の概念28から42のいずれかに記載の方法。

【0134】

また、発明の概念44によれば、本明細書に記載されている抽出によって、すなわち、コパイフェラから得られた樹脂を水とエタノールの混合物で抽出する工程と、抽出物から得られた上部画分を回収する工程を有する方法によって調製された、物質組成物も提供される。

【0135】

発明の概念45 上記組成物は、アリシクロバチルスの芽胞に対して有効である、発明の概念44の組成物。

【0136】

発明の概念46 上記組成物は、コパイフェラから得られるコパイバ樹脂中のBCPの濃度と比較して、ベータ-カリオフィレン(BCP)の濃度が減少している、発明の概念44又は45の組成物。

【0137】

発明の概念47 コパイバ樹脂は、コパイフェラ・オフィシナリスから得られる、発明の概念44から46のいずれかに記載の組成物。

【0138】

発明の概念48 上記組成物は、アリシクロバチルス・アシドテレストリスの芽胞に対して有効である、発明の概念44から47のいずれかに記載の組成物。

【0139】

発明の概念49 混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で1以上:1である、発明の概念44から48のいずれかに記載の組成物。

【0140】

発明の概念50 混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で1.1以上:1、1.2以上:1、1.3以上:1、1.4以上:1、1.5以上:1、1.6以上:1、1.7以上:1、1.8以上:1、1.9以上:1、2以上:1、2.1以上:1、2.2以上:1、2.3以上:1、2.4以上:1、2.5以上:1、2.6以上:1、2.7以上:1、2.8以上:1、2.9以上:1、又は3以上:1である、発明の概念49の組成物。

【0141】

発明の概念51 混合物中の水に対するエタノールの比率は、質量比で、4以下:1、3.9以下:1、3.8以下:1、3.7以下:1、3.6以下:1、3.5以下:1、3.4以下:1、3.3以下:1、3.2以下:1、又は3.1以下:1である、発明の概念44から50のいずれかに記載の組成物。

【0142】

発明の概念52 エタノールと水の混合物は、0.01から0.125モルの濃度でNaOHを含む、発明の概念44から51のいずれかに記載の組成物。

【0143】

発明の概念53 NaOHの濃度は、少なくとも0.02 M、少なくとも0.03 M、少なくとも0.04 M、少なくとも0.05 M、少なくとも0.06 M、少なくとも0.07 M、少なくとも0.08 M、少なくとも0.09 M、少なくとも1.0 M、少なくとも1.1 M又は少なくとも1.2 Mである、発明の概念52の組成物。

【0144】

発明の概念54 エタノールと水の混合物は、0.01から0.25モルの濃度のHClを含む、発明の概念44から51のいずれかに記載の組成物。

【0145】

10

20

30

40

50

発明の概念55 HClの濃度は、少なくとも0.1モル、少なくとも0.2モル、少なくとも0.3モル、少なくとも0.4モル、少なくとも0.5モル、少なくとも0.6モル、少なくとも0.7モル、少なくとも0.8モル、少なくとも0.9モル、少なくとも1.0モル、少なくとも1.1モル、少なくとも1.2モル、又は少なくとも0.125モルである、発明の概念54の組成物。

【0146】

発明の概念56 エタノールと水との混合物の、コパイバ樹脂に対する質量比は、3以上:1である、発明の概念44から55のいずれかに記載の組成物。

【0147】

発明の概念57 エタノールと水の混合物の、コパイバ樹脂に対する比率は、質量比で3.5以上:1、4以上:1、4.5以上:1、5以上:1、5.5以上:1、又は6以上:1である、発明の概念56の組成物。

10

【0148】

発明の概念58 上記方法は、更に、回収された上部画分から水及びエタノールの少なくとも一部を除去する工程を有する、発明の概念44から57のいずれかに記載の組成物。

【0149】

発明の概念59 前記上部画分は、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を含み、前記7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、及びコパル酸を合わせたものの、前記上部画分中の前記BCPに対する比率は、質量比で1以下:1である、発明の概念44から58のいずれかに記載の組成物。

20

【0150】

発明の概念60 前記7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの、前記上部画分中の前記BCPに対する比率は、質量比で1.2以下:1、1.3以下:1、1.4以下:1、1.5以下:1、1.6以下:1、1.7以下:1、1.8以下:1、1.9以下:1、2以下:1、2.1以下:1、2.2以下:1、2.3以下:1、2.4以下:1又は2.5以下:1である、発明の概念59の組成物。

【0151】

発明の概念61 上記方法は、更に、残留BCPを上部画分に存在するジテルペンからクロマトグラフィーで分離する工程と、ジテルペンを回収する工程と、を有する、発明の概念44から60のいずれかに記載の組成物。

30

【0152】

発明の概念61.1 上記組成物がヘキサン及びジクロロメタンを実質的に含まない、発明の概念44から60のいずれかに記載の組成物。

【0153】

また、発明の概念62によれば、(a)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸、ならびに任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、及び(b)任意にベータ-カリオフィレンを含む組成物を飲料に添加する工程を有する方法も提供される。

【0154】

発明の概念63 上記組成物は、発明の概念1から10又は44から61.1のいずれかに記載の組成物である、発明の概念62の方法。

40

【0155】

発明の概念64 上記飲料は、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法180.1号に従って測定された、5ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下の濁度を有する、発明の概念62又は63の方法。

【0156】

発明の概念65 前記飲料が4NTU以下の濁度を有する、発明の概念62から64のいずれかに記載の方法。

【0157】

発明の概念66 飲料は、3NTU以下の濁度を有する、発明の概念62から65のいずれかに記載の方法。

50

【0158】

発明の概念67 飲料は、2NTU以下の濁度を有する、発明の概念62から66のいずれかに記載の方法。

【0159】

発明の概念68 飲料は、1NTU以下の濁度を有する、発明の概念62から67のいずれかに記載の方法。

【0160】

発明の概念69 上記方法は、飲料の低温殺菌の効力を高めるためのものである、発明の概念62から68のいずれかに記載の方法。

【0161】

発明の概念70 上記組成物は、アリシクロバチルスの芽胞に対して有効である、発明の概念62から69のいずれかに記載の方法。

【0162】

発明の概念71 上記組成物は、アリシクロバチルス・アシドテレストリスの芽胞に対して有効である、発明の概念70の方法。

【0163】

発明の概念72 上記組成物は、コパイフェラから得られるコパイバ樹脂中のBCPの濃度と比較して、ベータ-カリオフィレン(BCP)の濃度が減少している、発明の概念62から71のいずれかに記載の方法。

【0164】

発明の概念73 コパイバ樹脂は、コパイフェラ・オフィシナリスから得られる発明の概念62から72のいずれかに記載の方法。

【0165】

発明の概念74 ベータ-カリオフィレンが存在する場合、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパル酸を合わせたものの、ベータ-カリオフィレンに対する比率は、質量比で1以上:1である、発明の概念62から73のいずれかに記載の方法。

【0166】

発明の概念75 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも1.25マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念62から74のいずれかに記載の方法。

【0167】

発明の概念76 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも2.5マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念75の方法。

【0168】

発明の概念77 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも3.75マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念76の方法。

【0169】

発明の概念78 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも5.0マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念77の方法。

【0170】

発明の概念79 上記組成物は、飲料1mlあたり5.0マイクログラム以下の組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念62から78のいずれかに記載の方法。

【0171】

発明の概念80 上記組成物は、少なくとも2日間、少なくとも3日間、少なくとも4日間、又は少なくとも5日間、飲料に接触させる、発明の概念62から79のいずれかに記載の方法。

【0172】

発明の概念81 上記組成物は、低温殺菌の前に飲料に添加される、発明の概念62から80のいずれかに記載の方法。

【0173】

発明の概念82 低温殺菌後に飲料に添加される、発明の概念62から80のいずれかに記載の方法。

【0174】

発明の概念83 飲料は酸性である、発明の概念62から82のいずれかに記載の方法。

【0175】

発明の概念84 飲料は、3から6の範囲のpHを有する、発明の概念83の方法。

【0176】

発明の概念85 飲料はフルーツジュースである、発明の概念62から84のいずれかに記載の方法。

【0177】

発明の概念86 フルーツジュースはリンゴジュースである、発明の概念85の方法。

【0178】

発明の概念87 フルーツジュースはブドウジュースである、発明の概念85の方法。

【0179】

発明の概念88 フルーツジュースは桃ジュースである、発明の概念85の方法。

【0180】

発明の概念89 フルーツジュースはスイカジュースである、発明の概念85の方法。

【0181】

発明の概念90 フルーツジュースは透明なオレンジジュースである、発明の概念85の方法。

【0182】

発明の概念91 前記組成物は、発明の概念11から43のいずれかに記載の方法によって調製されている、発明の概念62から90のいずれかに記載の方法。

【0183】

また、発明の概念92によれば、コパイフェラ樹脂を水とエタノールの混合物で抽出し、抽出物から得られた上部画分を回収して組成物を得ることによって調製された組成物を飲料に添加する工程を有する方法も提供される。

【0184】

発明の概念93 上記飲料は、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法番号180.1に従って測定された、5ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下の濁度を有する、発明の概念92の方法。

【0185】

発明の概念94 上記飲料は、4NTU以下の濁度を有する、発明の概念93の方法。

【0186】

発明の概念95 上記飲料は、3NTU以下の濁度を有する、発明の概念94の方法。

【0187】

発明の概念96 上記飲料は、2NTU以下の濁度を有する、発明の概念95の方法。

【0188】

発明の概念97 上記飲料は、1NTU以下の濁度を有する、発明の概念96の方法。

【0189】

発明の概念98 上記方法は、飲料の低温殺菌の効力を高めるためのものである、発明の概念92から97のいずれかに記載の方法。

【0190】

発明の概念99 上記方法は、飲料中のグラム陽性菌の芽胞を含むグラム陽性菌の増殖を制御するためのものである、発明の概念92から97のいずれかに記載の方法。

【0191】

発明の概念100 上記組成物は、アリシクロバチルス・アシドテレストリスの芽胞に対して有効である、発明の概念92から99のいずれかに記載の方法。

【0192】

発明の概念101 組成物は、コパイフェラから得られるコパイバ樹脂中のBCPの濃度と比

10

20

30

40

50

較して、ベータ-カリオフィレン(BCP)の濃度が減少している、発明の概念92から100のいずれかに記載の方法。

【0193】

発明の概念102 コパイバ樹脂は、コパイフェラ・オフィシナリスから得られる、発明の概念92から101のいずれかに記載の方法。

【0194】

発明の概念103 上記組成物は、(a)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパール酸、及び任意に7a-アセトキシハードウィッキ酸、ならびに(b)任意にベータ-カリオフィレンを有する、発明の概念92から102のいずれかに記載の方法。

【0195】

発明の概念104 ベータ-カリオフィレンが存在する場合、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸(存在する場合)、クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸及びコパール酸を合わせたものの、ベータ-カリオフィレンに対する比率は、質量比で1以上:1である、発明の概念103の方法。

【0196】

発明の概念105 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも1.25マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念92から104のいずれかに記載の方法。

【0197】

発明の概念106 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも2.5マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念105の方法。

【0198】

発明の概念107 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも3.75マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念106の方法。

【0199】

発明の概念108 飲料1mlあたり少なくとも5.0マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念107の方法。

【0200】

発明の概念109 上記組成物は、飲料1mlあたり5.0マイクログラム以下の組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念92から108のいずれかに記載の方法。

【0201】

発明の概念110 上記組成物は、少なくとも2日間、少なくとも3日間、少なくとも4日間、又は少なくとも5日間、飲料に接触させる、発明の概念92から109のいずれかに記載の方法。

【0202】

発明の概念111 上記組成物は、低温殺菌の前に飲料に添加される、発明の概念92から110のいずれかに記載の方法。

【0203】

発明の概念112 上記組成物は、低温殺菌後に飲料に添加される、発明の概念92から110のいずれかに記載の方法。

【0204】

発明の概念113 上記飲料は酸性である、発明の概念92から112のいずれかに記載の方法。

【0205】

発明の概念114 上記飲料はフルーツジュースである、発明の概念92から113のいずれかに記載の方法。

【0206】

発明の概念115 上記フルーツジュースはリンゴジュースである、発明の概念114の方法。

【0207】

発明の概念116 上記フルーツジュースはブドウジュースである、発明の概念114の方法。

【0208】

発明の概念117 上記フルーツジュースは桃ジュースである、発明の概念114の方法。

10

20

30

40

50

【0209】

発明の概念118 上記フルーツジュースはスイカジュースである、発明の概念114の方法。

【0210】

発明の概念119 上記フルーツジュースは透明なオレンジジュースである、発明の概念114の方法。

【0211】

発明の概念120 上記組成物は、発明の概念1から10又は発明の概念44から61.1のいずれかに記載の組成物である、発明の概念92から119のいずれかに記載の方法。

【0212】

発明の概念121 上記組成物は、発明の概念11から43のいずれかに記載の方法によって調製されている、発明の概念92から120のいずれかに記載の方法。

10

【0213】

また、発明の概念122によれば、容器入り飲料も提供され、上記飲料は、発明の概念1から10又は44から61.1のいずれか1つに記載の、(a)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、ならびに(b)任意にベータ-カリオフィレンを有する組成物を含む。

【0214】

発明の概念122.1 上記組成物は、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を含む、発明の概念122の飲料。

【0215】

20

発明の概念123 上記飲料は、透明飲料である、発明の概念122又は122.1の飲料。

【0216】

発明の概念124 上記飲料は、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法180.1号に従って測定された、5ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下の濁度を有する、発明の概念122から123のいずれかに記載の飲料。

【0217】

発明の概念125 上記飲料は、4NTU以下の濁度を有する、発明の概念124の飲料。

【0218】

発明の概念126 上記飲料は、3NTU以下の濁度を有する、発明の概念125の飲料。

【0219】

30

発明の概念127 上記飲料は、2NTU以下の濁度を有する、発明の概念126の飲料。

【0220】

発明の概念128 上記飲料は、1NTU以下の濁度を有する、発明の概念127の飲料。

【0221】

発明の概念129 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも1.25マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する、発明の概念122から128のいずれかに記載の飲料。

【0222】

発明の概念130 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも2.5マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する、発明の概念129の飲料。

【0223】

40

発明の概念131 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも3.75マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する、発明の概念130の飲料。

【0224】

発明の概念132 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも5.0マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する、発明の概念131の飲料。

【0225】

発明の概念133 上記組成物は、1ml飲料あたり5.0マイクログラム以下の組成物の濃度で飲料中に存在する、発明の概念122から132のいずれかに記載の飲料。

【0226】

発明の概念134 上記飲料は酸性である、発明の概念122から133のいずれかに記載の飲料。

50

料。

【0227】

発明の概念134.1 上記飲料はフルーツジュースである、発明の概念122から134のいずれかに記載の飲料。

【0228】

発明の概念135 上記フルーツジュースはリンゴジュースである、発明の概念134.1に記載の飲料。

【0229】

発明の概念136 上記フルーツジュースはブドウジュースである、発明の概念134.1に記載の飲料。

【0230】

発明の概念136.1 上記フルーツジュースは桃ジュースである、発明の概念134.1に記載の飲料。

【0231】

発明の概念137 上記フルーツジュースはスイカジュースである、発明の概念134.1に記載の飲料。

【0232】

発明の概念138 上記フルーツジュースは透明なオレンジジュースである、発明の概念134.1に記載の飲料。

【0233】

発明の概念139 上記組成物が、発明の概念1から10又は発明の概念44から61.1のいずれかに記載の組成物である、発明の概念122から138のいずれかに記載の飲料。

【0234】

発明の概念140 上記組成物は、発明の概念11から43のいずれかに記載の方法によって調製されている、発明の概念122から139のいずれかに記載の飲料。

【0235】

また、発明の概念141によれば、容器入り飲料も提供され、上記飲料は、コパイフェラ樹脂を水とエタノールの混合物で抽出し、抽出物から得られた上部画分を回収して組成物を得ることによって調製された組成物を含む。

【0236】

発明の概念142 上記組成物は、(a)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7a-アセトキシハードウィッキ酸、ならびに(b)任意にベータ-カリオフィレンを有する、発明の概念141の飲料。

【0237】

発明の概念143 上記組成物は、7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸を含む、発明の概念141又は142の飲料。

【0238】

発明の概念143.1 上記飲料は、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法180.1号に従って測定された、5ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下の濁度を有する、発明の概念141から143のいずれかに記載の飲料。

【0239】

発明の概念143.2 上記飲料は、4NTU以下の濁度を有する、発明の概念143.1の飲料。

【0240】

発明の概念143.3 上記飲料は、3NTU以下の濁度を有する、発明の概念143.2の飲料。

【0241】

発明の概念143.4 上記飲料は、2NTU以下の濁度を有する、発明の概念143.3の飲料。

【0242】

発明の概念143.5 上記飲料は、1NTU以下の濁度を有する、発明の概念143.4の飲料。

【0243】

発明の概念144 上記組成物は、1ml飲料あたり少なくとも1.25マイクログラムの組成物

10

20

30

40

50

の濃度で飲料中に存在する、発明の概念141から143.5のいずれかに記載の飲料。

【0244】

発明の概念145 上記組成物は、1ml飲料あたり少なくとも2.5マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する、発明の概念144の飲料。

【0245】

発明の概念146 上記組成物は、1ml飲料あたり少なくとも3.75マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する、発明の概念145の飲料。

【0246】

発明の概念147 上記組成物は、1ml飲料あたり少なくとも5.0マイクログラムの組成物の濃度で飲料中に存在する、発明の概念146の飲料。

【0247】

発明の概念148 上記組成物は、1ml飲料あたり5.0マイクログラム以下の組成物の濃度で飲料中に存在する、発明の概念141から147のいずれかに記載の飲料。

【0248】

発明の概念149 上記飲料は酸性である、発明の概念141から148のいずれかに記載の飲料。

【0249】

発明の概念150 上記飲料はフルーツジュースである、発明の概念141から149のいずれかに記載の飲料。

【0250】

発明の概念151 上記フルーツジュースはリンゴジュースである、発明の概念150に記載の飲料。

【0251】

発明の概念152 上記フルーツジュースはブドウジュースである、発明の概念150に記載の飲料。

【0252】

発明の概念153 上記フルーツジュースは桃ジュースである、発明の概念150に記載の飲料。

【0253】

発明の概念154 上記フルーツジュースはスイカジュースである、発明の概念150に記載の飲料。

【0254】

発明の概念155 上記フルーツジュースは透明なオレンジジュースである、発明の概念150に記載の飲料。

【0255】

発明の概念156 上記組成物は、発明の概念1から10又は発明の概念44から61.1のいずれかに記載の組成物である、発明の概念141から155のいずれかに記載の飲料。

【0256】

発明の概念157 上記組成物は、発明の概念11から43のいずれかに記載に記載の方法によって調製されている、発明の概念141から156のいずれかに記載の飲料。

【0257】

また、発明の概念158によれば、飲料中のグラム陽性菌の芽胞を含むグラム陽性菌の増殖を制御する方法も提供され、飲料に、(a)クロレキン酸、ハードウィッキ酸、コラベン酸、コパル酸、及び任意に7-アルファ-アセトキシハードウィッキ酸、ならびに(b)任意にベータ-カリオフィレンを含む組成物を添加する工程を有する方法である。

【0258】

発明の概念159 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも1.25マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念158の方法。

【0259】

発明の概念160 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも2.5マイクログラムの組成物の

10

20

30

40

50

濃度で飲料に添加される、発明の概念159の方法。

【0260】

発明の概念161 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも3.75マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念160の方法。

【0261】

発明の概念162 上記組成物は、飲料1mlあたり少なくとも5.0マイクログラムの組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念161の方法。

【0262】

発明の概念163 上記組成物は、飲料1mlあたり5.0マイクログラム以下の組成物の濃度で飲料に添加される、発明の概念158から162のいずれかに記載の方法。

10

【0263】

発明の概念164 上記組成物は、少なくとも2日間、少なくとも3日間、少なくとも4日間、又は少なくとも5日間、上記飲料に接触させる、発明の概念158から163のいずれかに記載の方法。

【0264】

発明の概念165 上記組成物は、低温殺菌の前に上記飲料に添加される、発明の概念158から164のいずれかに記載の方法。

【0265】

発明の概念166 上記組成物は、低温殺菌後に上記飲料に添加される、発明の概念158から164のいずれかに記載の方法。

20

【0266】

発明の概念167 上記飲料は酸性である、発明の概念158から166のいずれかに記載の方法。

【0267】

発明の概念168 上記飲料はフルーツジュースである、発明の概念158から167のいずれかに記載の方法。

【0268】

発明の概念169 上記フルーツジュースはリンゴジュースである、発明の概念168の方法。

【0269】

発明の概念170 上記フルーツジュースはブドウジュースである、発明の概念168の方法。

30

【0270】

発明の概念171 上記フルーツジュースは桃ジュースである、発明の概念168の方法。

【0271】

発明の概念172 上記フルーツジュースはスイカジュースである、発明の概念168の方法。

【0272】

発明の概念173 上記フルーツジュースは透明なオレンジジュースである、発明の概念168の方法。

【0273】

発明の概念173 上記飲料は、1993年8月に発行された米国環境保護庁の方法180.1号に従って測定された、5ネフェロメトリック濁度単位(NTU)以下の濁度を有する、発明の概念158から173のいずれかに記載の飲料。

40

【0274】

発明の概念173.2 上記飲料は、4NTU以下の濁度を有する、発明の概念173.1の飲料。

【0275】

発明の概念173.3 上記飲料は、3NTU以下の濁度を有する、発明の概念173.2の飲料。

【0276】

発明の概念173.4 上記飲料は、2NTU以下の濁度を有する、発明の概念173.3の飲料。

【0277】

発明の概念173.5 上記飲料は、1NTU以下の濁度を有する、発明の概念173.4の飲料。

【0278】

50

発明の概念174 上記組成物は、発明の概念1から10又は発明の概念44から61.1のいずれかに記載の組成物である、発明の概念158から173.5のいずれかに記載の方法。

【0279】

発明の概念175 上記組成物は、発明の概念11から43のいずれかに記載の方法によって調製されている、発明の概念158から174のいずれかに記載の方法。

10

20

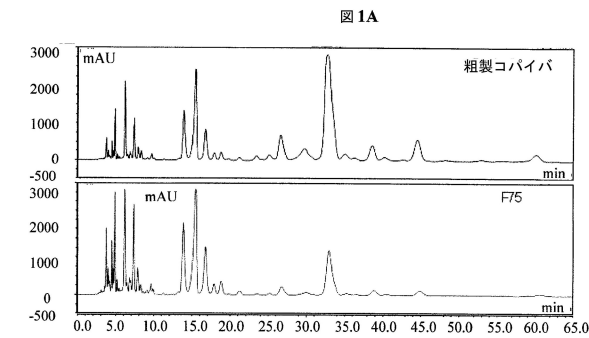
30

40

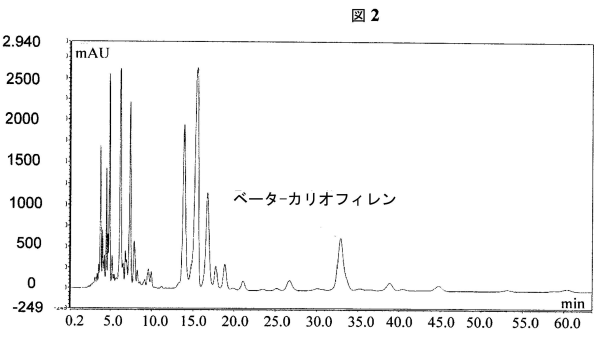
50

【図面】

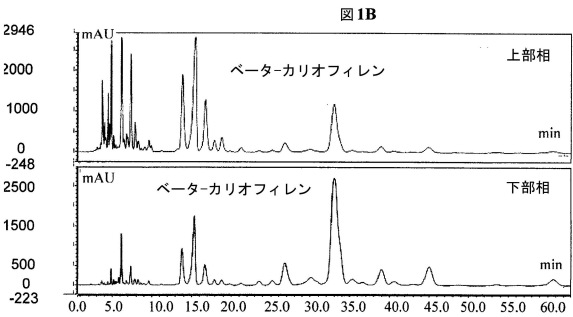
【図 1】



【図 2】

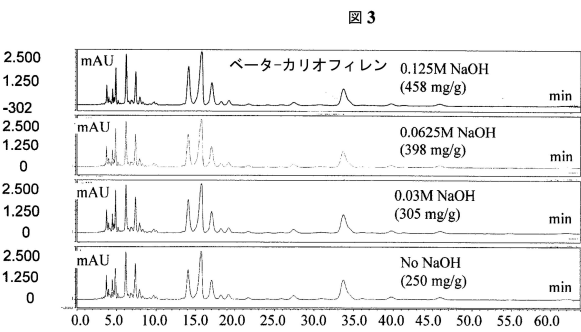


10

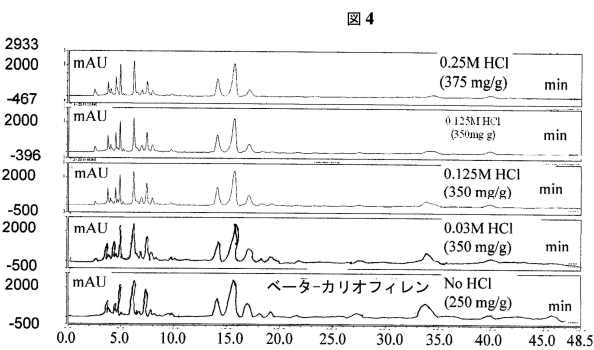


20

【図 3】



【図 4】

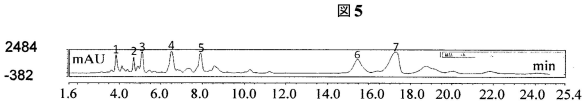


30

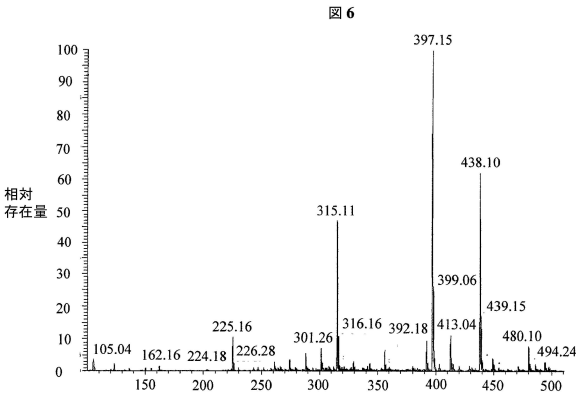
40

50

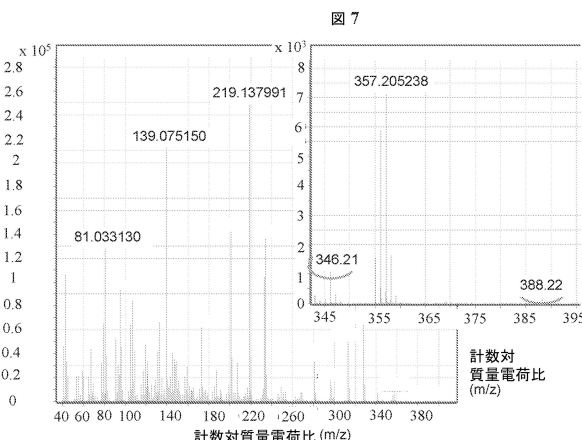
【図 5】



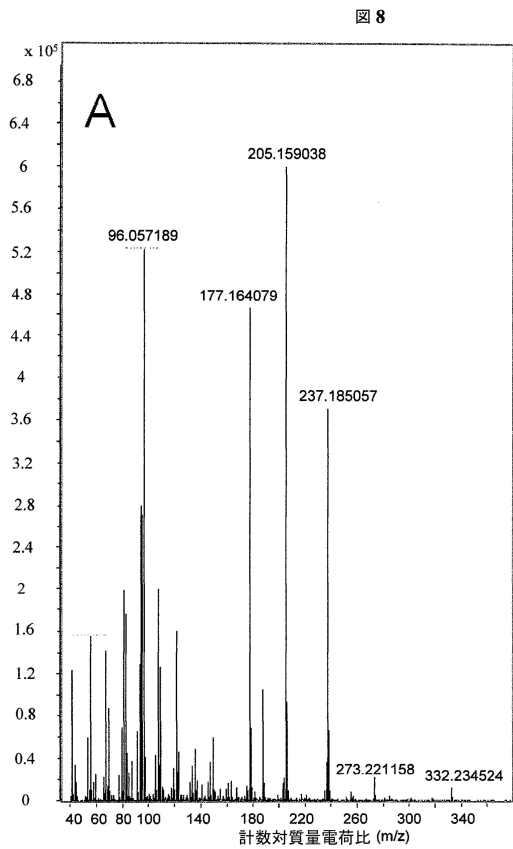
【図 6】



【図 7】



【図 8】



10

20

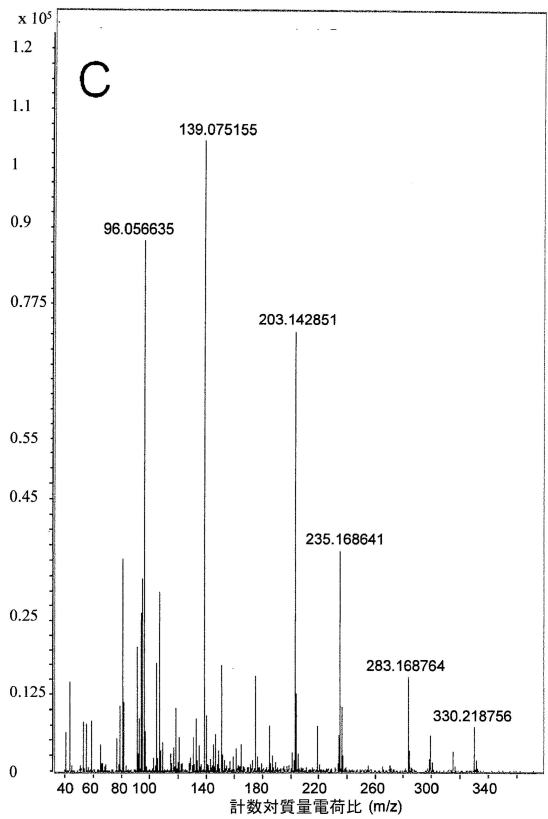
30

40

50

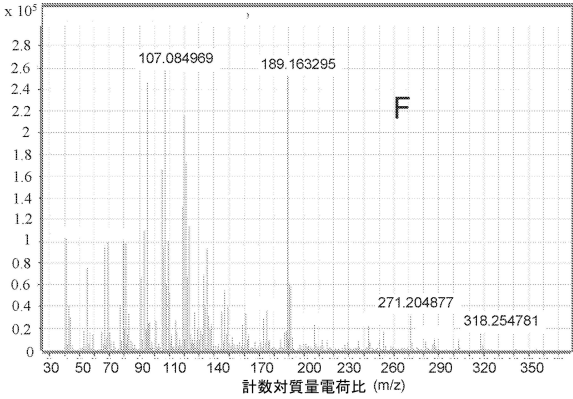
【図 9】

図 9



【図 10】

図 10

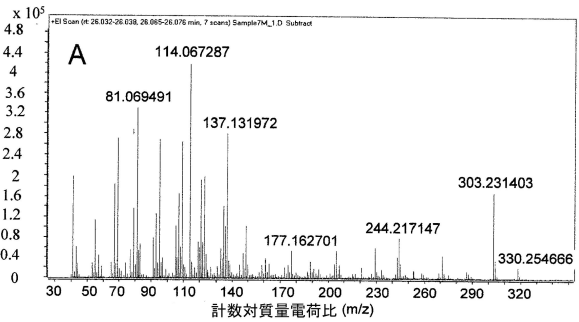


10

20

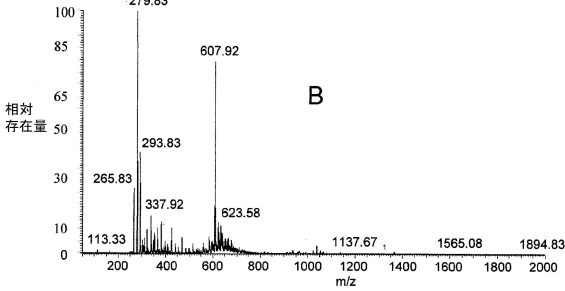
【図 11】

図 11



【図 12】

図 12

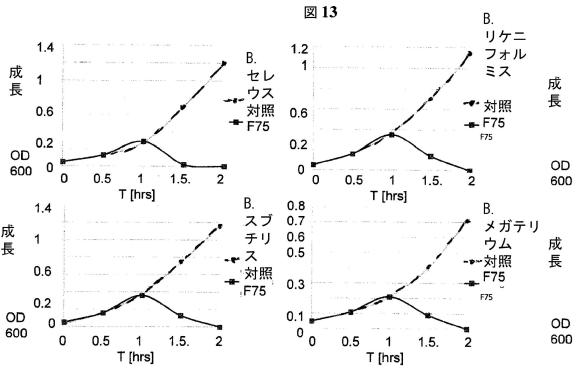


30

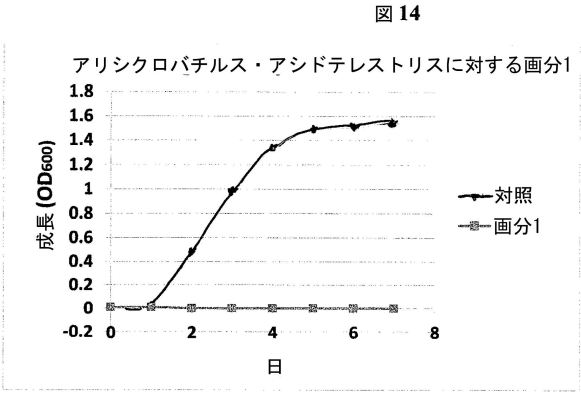
40

50

【図 1 3】

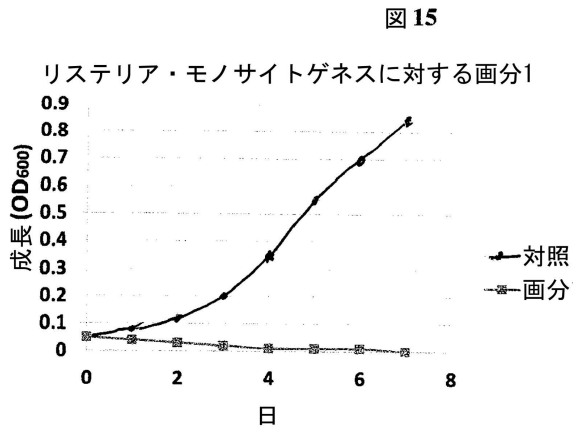


【図 1 4】

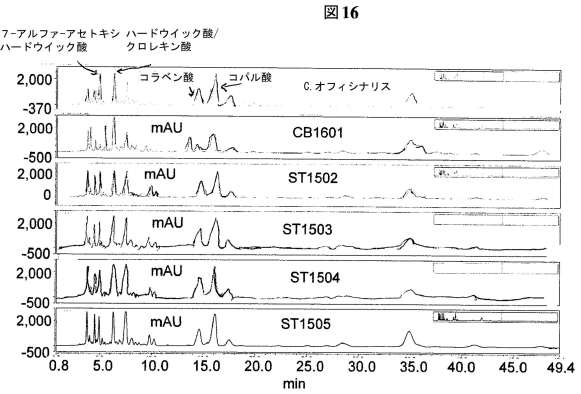


10

【図 1 5】



【図 1 6】



20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	31/19 (2006.01)	A 6 1 K	31/19	
A 2 3 L	2/44 (2006.01)	A 2 3 L	2/00	P
A 2 3 L	3/3544(2006.01)	A 2 3 L	2/44	1 0 1
A 2 3 L	3/3463(2006.01)	A 2 3 L	2/44	
		A 2 3 L	3/3544	
		A 2 3 L	3/3463	

弁理士 伊藤 寛之

(72)発明者 コルキアーマオール, イェホシュア

イスラエル エルサレム ヘブライ大学 バイオテクノロジー パーク (ジェイビーピー) ハダサ
メディカル センター リソルシックス社内

(72)発明者 シナイ, リオール

イスラエル エルサレム ヘブライ大学 バイオテクノロジー パーク (ジェイビーピー) ハダサ
メディカル センター リソルシックス社内

審査官 澤田 浩平

(56)参考文献 国際公開第 2 0 0 5 / 1 1 0 4 4 6 (WO, A 1)

Int J Mol Sci., 19(5), 2018年, pp.1-33, <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/5/1511/pdf>

J. Braz. Chem. Soc., 2000年, 11(4), pp.355-360

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

A 0 1 N, A 2 3 L, A 6 1 K, A 6 1 P

C A P l u s (S T N) ,

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)