

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580045205.0

[51] Int. Cl.

C12P 19/22 (2006.01)

C07H 17/07 (2006.01)

A23L 1/29 (2006.01)

A23L 2/38 (2006.01)

A23G 3/34 (2006.01)

A61K 31/7048 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 1 月 9 日

[11] 公开号 CN 101103121A

[51] Int. Cl. (续)

A61P 39/06 (2006.01)

[22] 申请日 2005.12.28

[21] 申请号 200580045205.0

[30] 优先权

[32] 2004.12.28 [33] JP [31] 381780/2004

[86] 国际申请 PCT/JP2005/024113 2005.12.28

[87] 国际公布 WO2006/070883 日 2006.7.6

[85] 进入国家阶段日期 2007.6.28

[71] 申请人 三得利株式会社

地址 日本大阪府

共同申请人 三荣源有限公司

[72] 发明人 小野佳子 富森菜美乃 立石法史

森胁将光 荣村和浩 奥山秀二

[74] 专利代理机构 北京信慧永光知识产权代理有限公司
责任公司

代理人 薛俊英 王维玉

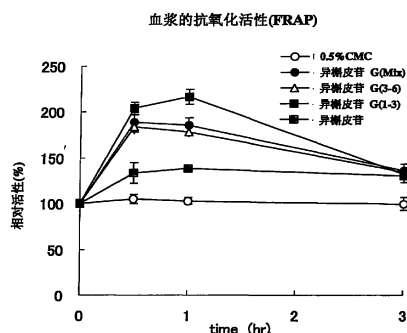
权利要求书 3 页 说明书 46 页 附图 6 页

[54] 发明名称

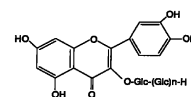
槲皮素糖苷组合物及其制备方法

[57] 摘要

本发明提供体内吸收性优异且其结果是在体内发挥优异的抗氧化活性的 α -糖基异槲皮苷的新型组合物, 还进一步提供该组合物的制备方法。由一般式(1): (式中, Glc 表示葡萄糖残基, n 表示 0 或 1 以上的整数。)表示的槲皮素糖苷的混合物组成的组合物, 其中至少含有 $n=3$ 的槲皮素糖苷, 且是满足下述(a)的必要条件的槲皮素糖苷组合物: (a) 该组合物中含有的 $n=1 \sim 3$ 的槲皮素糖苷的总量为 50mol% 以上, 且 n 是 4 以上的槲皮素糖苷的总量为 15mol% 以下。该组合物可通过将酶处理异槲皮苷用 β -淀粉酶处理进行制备。



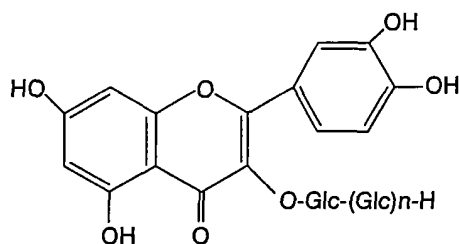
化学式 1



1. 槲皮素糖苷组合物，其是由一般式（1）表示的槲皮素糖苷的混合物组成的组合物，其中至少含有 $n=3$ 的槲皮素糖苷，且满足下述（a）的必要条件：

（a）该组合物中含有的 $n=1\sim 3$ 的槲皮素糖苷的总量为 50mol% 以上，且 n 是 4 以上的槲皮素糖苷的总量为 15mol% 以下。

化学式 1



式中，Glc 表示葡萄糖残基， n 表示 0 或 1 以上的整数。

2. 权利要求 1 中所述的槲皮素糖苷组合物，其中， n 是 4 以上的槲皮素糖苷的总量为 10mol% 以下。

3. 权利要求 1 中所述的槲皮素糖苷组合物，其中， $n=1\sim 3$ 的槲皮素糖苷的总量为 60mol% 以上。

4. 权利要求 1 中所述的槲皮素糖苷组合物，其中， $n=1\sim 3$ 的槲皮素糖苷的总量为 70mol% 以上。

5. 权利要求 1 中所述的槲皮素糖苷组合物，其还满足下述（b）或（c）中的至少 1 个必要条件：

（b）该组合物中含有的 n 是 0 的槲皮素糖苷为 20mol% 以下，

（c）含有 $n=2$ 及 3 的槲皮素糖苷，其总量为 50mol% 以上。

6. 权利要求 1 中所述的槲皮素糖苷组合物，其将酶处理异槲皮苷用淀粉酶处理进行制备。

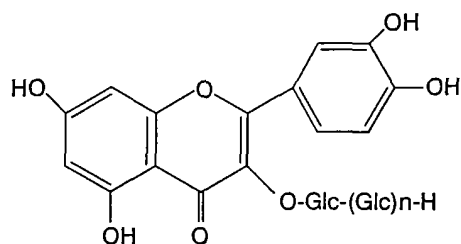
7. 权利要求 6 中所述的槲皮素糖苷组合物，其中，淀粉酶是 β -淀粉酶。

8. 食品，其含有权利要求 1 中所述的槲皮素糖苷组合物。

9. 制备权利要求 1 中所述的槲皮素糖苷组合物的方法，其以酶处理异槲皮苷为原料，具有减少一般式（2）表示的槲皮素糖苷的量后其总量为 15mol% 以

下的工序，且口服吸收性比酶处理异槲皮苷强。

化学式 2



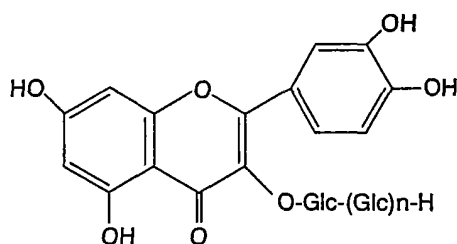
式中，Glc 表示葡萄糖残基，n 表示 4 以上的整数。

10. 权利要求 9 中所述的方法，其中，减少一般式 (2) 中所示的槲皮素糖苷的量的工序包括将酶处理异槲皮苷进行淀粉酶处理的操作。

11. 权利要求 10 中所述的方法，其中，淀粉酶是 β - 淀粉酶。

12. 提高槲皮素糖苷组合物的口服吸收性的方法，其以酶处理异槲皮苷为原料，具有减少用一般式 (2) 表示的槲皮素糖苷的量的工序。

化学式 3



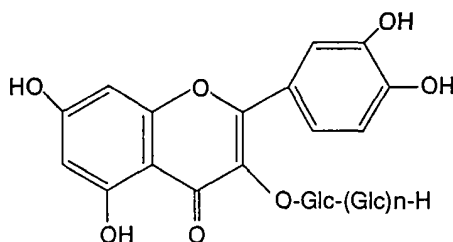
式中，Glc 表示葡萄糖残基，n 表示 4 以上的整数。

13. 权利要求 12 中所述的方法，其中，减少用一般式 (2) 表示的槲皮素糖苷的量的工序包括将酶处理异槲皮苷进行淀粉酶处理的操作。

14. 权利要求 13 中所述的方法，其中，淀粉酶是 β - 淀粉酶。

15. 权利要求 12 中所述的方法，其还具有减少一般式 (3) 表示的异槲皮苷的量的工序。

化学式 4



式中，Glc 表示葡萄糖残基，n 表示 0。

槲皮素糖苷组合物及其制备方法

技术领域

本发明涉及由作为抗氧化剂、防褪色剂及防香味变化剂等食品领域、化妆品领域等广泛使用的异槲皮苷、 α -糖基异槲皮苷（以下将上述物质总称为“槲皮素糖苷”）的混合物组成的新型组合物。且本发明涉及所涉及的组合物的制备方法。本发明的组合物因口服吸收性及抗氧化作用优异，所以可优选作为生物体用抗氧化剂适用于食品。

背景技术

近年来，已知由于活性氧、自由基引起的氧化应激已成为以生活习惯病为主的各种疾病的原因。氧是用于产生生存所必需的能量必须分子，但另一方面，过剩的氧也会转变成反应性非常强的活性氧而对生物体造成伤害，这也是事实。活性氧有超氧阴离子自由基（ $\cdot O_2^-$ ）、过氧化氢（ H_2O_2 ）、OH自由基（ $\cdot OH$ ）及激发态分子类型的单态氧（ 1O_2 ）等。生物原本具备防止由这些活性氧引起的氧化损伤的能力，维生素E、抗氧化酶即具有此作用。但是，由于年龄增长等原因使防止氧化损伤的能力降低、由于过于剧烈的运动、应激负荷等的原因而产生超出防御能力的活性氧时，消除不了的活性氧会氧化靶分子，其结果，使生物体成分受到损害而引起老化。

因此，高效摄取可消除活性氧、自由基的抗氧化物质，抵御氧化应激，从种种疾病的预防及治疗的观点来看是非常重要的。特别是积极从食物中摄取对氧化损伤具有防御功能的成分，可更高效地抑制、消除此损伤，所以，具有抗氧化作用的各种食品成分为人注目。

已知类黄酮在日常摄取的食品中以多种形态存在且具有强抗氧化活性。但其抗氧化活性虽在生物体外有效，但因口服吸收性低，所以对消除生物体内的活性氧、自由基还不充分。因此，有文献提出通过使糖与类黄

酮（橙皮苷、香叶木苷、柚皮苷、新橙皮苷）结合来提高吸收性的方法（参照专利文献1）。且有报道指出，向荞麦等中含有的芦丁进行糖转移后得到的 α -糖基芦丁与芦丁相比，其吸收性提高（参照专利文献2、非专利文献1）。

已知作为芦丁的苷元的槲皮素（Quercetin：3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone）除具有强力的抗氧化活性（参照非专利文献2）外，还具有抑制血小板凝集及粘附的作用、扩张血管作用、抗癌作用等多种多样的生理功能。有报道指出，对于此槲皮素，洋葱中大量含有的槲皮素糖苷（Quercetin-4'- β -D-glucoside、Quercetin-3,4'- β -D-glucoside）的吸收性更佳（非专利文献3参照）。且同样，葡萄糖以 β 糖苷键与槲皮素的3位结合的异槲皮苷（Quercetin-3- β -D-glucoside）比槲皮素、芦丁吸收性强（参照非专利文献4）。

虽然此种异槲皮苷是比槲皮素、芦丁的吸收性更佳成分，但因其难溶于水，所以对于食品、饮料等的水系组合物存在利用上受限制的问题。因此，作为解决此问题的方法，有使用糖转移酶，使底物的葡萄糖残基转移到异槲皮苷的葡萄糖残基位置的制备 α -糖基异槲皮苷方法的提案（参照专利文献3）。如此制备的 α -糖基异槲皮苷，不仅保持异槲皮苷的原有作用，且是改善了水中溶解性的易溶于水的物质，由三荣源F.F.I株式会社作为食品用抗氧化剂（食品添加剂），用“Sanmelin A0-1007”或“Sanmelin powder C-10”的名称上市。

专利文献1 日本特开2000-78956号公报

专利文献2 日本特开2004-59522号公报

专利文献3 日本特开平1-213293号公报

非专利文献1 Shimoi K. et al., J Agric Food Chem., 51, 2785-2789, 2003

非专利文献2 Middleton EJ. et al., Pharmacol Rev., 52, 673-751, 2000

非专利文献3 Hollman PC et al., Arch Toxicol Suppl., 20,

237-248, 1998

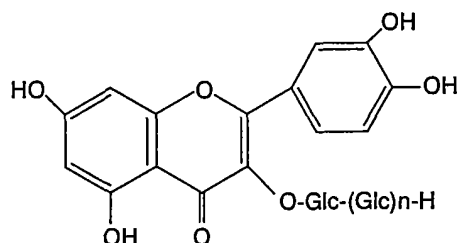
非专利文献4 Morand C et al., Free Rad Res., 33, 667-676, 2000

发明内容

如上所述, 通过糖苷化提高口服吸收性在许多类黄酮中已得到证实, 但至今为止其效果还不充分。

因此本发明的目的是, 进一步提高作为类黄酮的一种的异槲皮苷、 α -糖基异槲皮苷的槲皮素糖苷的口服吸收性。具体地说, 本发明的目的是, 提供口服吸收性得到改善的槲皮素糖苷的混合物组成的新型组合物。而且本发明的目的是, 提供所涉及的新型组合物的制备方法。本发明的目的是, 提供与以往的酶处理异槲皮苷相比, 提高槲皮素糖苷组合物的口服吸收性的方法。

本发明者为解决上述课题锐意研究的结果, 发现因与用下式
化学式 1



(式中, Glc 表示葡萄糖残基, n 表示 0 或 1 以上的整数。)

表示的槲皮素糖苷 (Gn) 葡萄糖残基的 α 位结合的糖 (葡萄糖) 的数量 (n) 不同, 槲皮素糖苷 (Gn) 的口服吸收性产生差异。具体地说, 发现从上述葡萄糖数 (n) 为 0 的异槲皮苷 (G0) 及上述葡萄糖数 (n) 为 1~7 的 α -糖基异槲皮苷 (G1, G2, ..., G7) 的混合物中分取富含 G0、G1、G2、G3 或 G4 的组分, 测定口服吸收性的结果, 令人惊讶的是, 富含 G3 的组分的口服吸收性最强, 详细地说, 随着葡萄糖数 (n) 增加到 1, 2 及 3, 其口服吸收性也增强, 当葡萄糖数 (n) 达到 4 时, 其口服吸收性反而降低。

本发明者更进一步地进行研究, 发现以酶处理异槲皮素为原料, 通过

进行减少葡萄糖数 (n) 为4以上的 α -糖基异槲皮苷 ($G(4\leq)$) 的量的处理, 可提高口服吸收性, 进一步进行减少葡萄糖数 (n) 为0的异槲皮苷 ($G0$) 的量的处理, 可进一步提高口服吸收性。而且本发明者确认, 大量含有上述葡萄糖数 (n) 为1~3的范围的 α -糖基异槲皮苷 ($G1-3$), 且上述葡萄糖数 (n) 为4以上的 α -糖基异槲皮苷 ($G(4\leq)$)、n为0的异槲皮苷 ($G0$) 的含量少的组合物 (槲皮素糖苷的混合物), 具有比以往公知的酶处理异槲皮素强的口服吸收性, 其结果, 在生物体内可发挥优异的抗氧化作用。

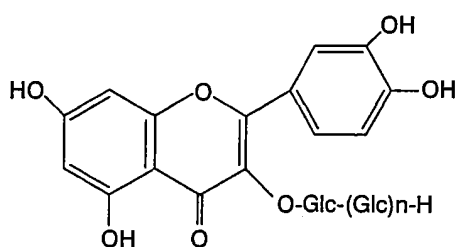
并且本发明者发现, 通过将酶处理异槲皮苷 (异槲皮苷糖苷) 用淀粉酶、特别是 β -淀粉酶处理, 可比较简便且稳定地制备上述组合物, 且可工业化大量地制造口服吸收性优异的上述槲皮素糖苷组合物。基于以上想法完成了本发明。

即本发明具有以下形态:

(1) 槲皮素糖苷组合物

(1-1). 其是由一般式 (1):

化学式 2



(式中, Glc 表示葡萄糖残基, n 表示 0 或 1 以上的整数。)

表示的槲皮素糖苷的混合物组成的组合物, 其中至少含有 $n=3$ 的槲皮素糖苷, 且是满足下述 (a) 的必要条件的槲皮素糖苷组合物:

(a) 该组合物中含有的 $n=1\sim3$ 的槲皮素糖苷的总量为 50mol% 以上, 且 n 是 4 以上的槲皮素糖苷的总量为 15mol% 以下。

(1-2). (1-1) 中所述的槲皮素糖苷组合物, 其中, n 是 4 以上的槲皮素糖苷的总量为 10mol% 以下。

(1-3). (1-1) 或 (1-2) 所述的槲皮素糖苷组合物, 其中, $n=1\sim3$ 的槲皮素糖苷的总量为 60mol% 以上。

(1-4). (1-1) 或 (1-2) 所述的槲皮素糖苷组合物, 其中, $n=1\sim3$ 的槲皮素糖苷的总量为 70mol% 以上。

(1-5). (1-1) $\sim$ (1-4) 中任一项所述的槲皮素糖苷组合物, 其还满足下述 (b) 及 (c) 中的至少 1 个必要条件:

(b) 该组合物中含有的 n 是 0 的槲皮素糖苷为 20mol% 以下,

(c) 含有 $n=2$ 及 3 的槲皮素糖苷, 其总量为 50mol% 以上。

(1-6). (1-1) $\sim$ (1-5) 中任一项所述的槲皮素糖苷组合物, 其还满足下述 (d) 的必要条件:

(d) 该组合物中含有的 $n=1\sim3$ 的槲皮素糖苷的总量为 60mol% 以上, 且 n 是 0 的槲皮素糖苷为 20mol% 以下。

(1-7). (1-1) $\sim$ (1-6) 中任一项所述的槲皮素糖苷组合物, 其还满足下述 (e) 的必要条件:

(e) 该组合物中含有的 $n=1\sim3$ 的槲皮素糖苷的总量为 70mol% 以上, 且 n 是 4 以上的槲皮素糖苷的总量为 10mol% 以下以及 n 是 0 的槲皮素糖苷为 20mol% 以下。

(1-8). (1-1) $\sim$ (1-7) 中任一项所述的槲皮素糖苷组合物, 其还满足下述 (f) 的必要条件:

(f) 含有 $n=1, 2$ 及 3 的槲皮素糖苷。

(1-9). (1-1) $\sim$ (1-8) 中任一项所述的槲皮素糖苷组合物, 其将酶处理异槲皮苷用淀粉酶处理进行制备。

(1-10). (1-1) $\sim$ (1-8) 中任一项所述的槲皮素糖苷组合物, 其通过将酶处理异槲皮苷进行淀粉酶处理后除去异槲皮苷或从酶处理异槲皮苷中除去异槲皮苷后进行淀粉酶处理进行制备。

(1-11). (1-9) 或 (1-10) 中所述的槲皮素糖苷组合物, 其中, 淀粉酶是 β -淀粉酶。

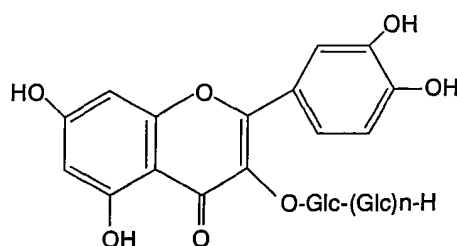
(2) 食品

(2-1). 食品, 其含有 (1-1) ~ (1-11) 中任一项所述的槲皮素糖苷组合物。

(3) 制备口服吸收性强的槲皮素糖苷组合物的方法

(3-1). 制备上述 (1-1) 中所述的槲皮素糖苷组合物的方法, 其以酶处理异槲皮苷为原料, 具有减少一般式 (2):

化学式 3



(式中, Glc 表示葡萄糖残基, n 表示 4 以上的整数。)

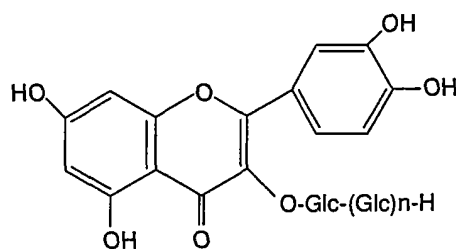
表示的槲皮素糖苷的量后其总量为 15mol% 以下的工序, 且口服吸收性比酶处理异槲皮苷强。

(3-2). (3-1) 中所述的方法, 其中, 减少一般式 (2) 表示的槲皮素糖苷的量的工序包括将酶处理异槲皮苷用淀粉酶处理的操作。

(3-3). (3-2) 中所述的方法, 其中, 淀粉酶是 β -淀粉酶。

(3-4). (3-1) ~ (3-3) 中任一项所述的方法, 其还具有减少用一般式 (3):

化学式 4



(式中, Glc 表示葡萄糖残基, n 表示 0。)

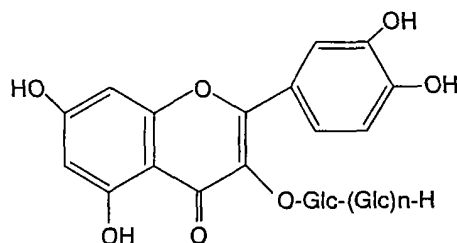
表示的异槲皮苷的量的工序。

(3-5). (3-4) 中所述的槲皮素糖苷组合物的制备方法, 其中, 在将酶处理异槲皮苷用淀粉酶处理的工序的前后, 还具有除去异槲皮苷的工序。

(4) 提高口服吸收性的方法

(4-1). 提高槲皮素糖苷组合物的口服吸收性的方法, 其以酶处理异槲皮苷为原料, 具有减少用一般式 (2):

化学式 5



(式中, Glc 表示葡萄糖残基, n 表示 4 以上的整数。)

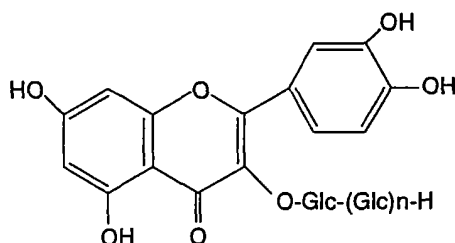
表示的槲皮素糖苷的量的工序。

(4-2). (4-1) 中所述的方法, 其中, 减少用一般式 (2) 表示的槲皮素糖苷的量的工序, 包括将酶处理异槲皮苷用淀粉酶处理的操作。

(4-3). (4-2) 中所述的方法, 其中, 淀粉酶是 β -淀粉酶。

(4-4). (4-1) ~ (4-3) 中任一项所述的方法, 其还具有减少用一般式 (3):

化学式 6



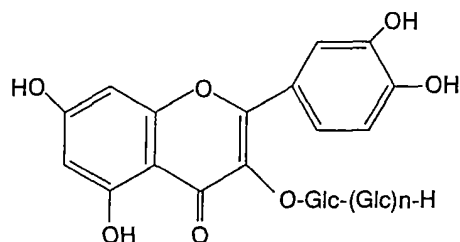
(式中, Glc 表示葡萄糖残基, n 表示 0。)

表示的异槲皮苷的量的工序。

(4-5). (4-4) 中所述的方法, 其中, 在将酶处理异槲皮苷用淀粉酶处理的工序的前后, 还具有除去异槲皮苷的工序。

(4-6). 提高槲皮素糖苷组合物的口服吸收性的方法, 其特征在于, 将酶处理异槲皮苷用淀粉酶处理, 制备由一般式 (1)

化学式 1



(式中, Glc 表示葡萄糖残基, n 表示 0 或 1 以上的整数。)

表示的槲皮素糖苷的混合物组成的且满足下述(i)及(ii)的必要条件的组合物:

(i) 至少含有 $n=3$ 的槲皮素糖苷,

(ii) 该组合物中含有的 $n=1\sim3$ 的槲皮素糖苷的总量为 50mol% 以上, 且 n 是 4 以上的槲皮素糖苷的总量为 15mol% 以下。

(4-7). (4-6) 中所述的方法, 其特征在于, 进一步制备满足下述 (iii) 的必要条件的槲皮素糖苷组合物:

(iii) 该组合物中含有的 $n=1\sim3$ 的槲皮素糖苷的总量为 60mol% 以上, 且 n 是 0 的槲皮素糖苷为 20mol% 以下。

(4-8). (4-6) 或 (4-7) 中所述的方法, 其还具有制备满足下述 (iv) 的必要条件的槲皮素糖苷组合物的工序。

(iv) 该组合物中含有的 $n=1\sim3$ 的槲皮素糖苷的总量为 70mol% 以上, 且 n 是 4 以上的槲皮素糖苷的总量为 10mol% 以下, n 是 0 的槲皮素糖苷为 20mol% 以下。

(4-9). (4-6) ~ (4-8) 中任一项所述的方法, 其还具有制备满足下述 (v) 的必要条件的槲皮素糖苷组合物的工序。

(v) 该组合物中含有 $n=2$ 及 3 的槲皮素糖苷, 其总量为 50mol% 以上。

附图说明

图 1 表示将酶处理异槲皮苷进行 β -淀粉酶处理后得到的各种槲皮苷糖苷组合物的组成[IQC、各 IGC 糖苷(IQC-G1、IQC-G2、IQC-G3、IQC-G4、IQC-G5、IQC-G6) 的 mol 比(%)] (制备例 6)。

图 2 表示由制备例 1 得到的 G0 组分、G1 组分、G2 组分、G3 组分及 G4 组分

的口服吸收性的结果（实验例 1）。具体地说，表示由经口投与上述各组分后的大鼠血浆中的槲皮素·葡萄糖醛酸结合物浓度和槲皮素浓度的各曲线下面积算出的 AUC (Area under the curve) (0-3hrs) ($\mu\text{g/ml}\cdot\text{hr}$)。

图 3 表示酶处理异槲皮苷[IQC-G(mix)]、异槲皮苷 G(1-3)组分[IQC-G(1-3)组分]、异槲皮苷 G(3-6)组分[IQC-G(3-6)组分]及异槲皮苷(IQC)的口服吸收性的结果（实验例 2）。图 a 及 b 分别表示经口投与上述各成分后大鼠血浆中的槲皮素·葡萄糖醛酸结合物浓度及槲皮素浓度的经时变化。

图 4 表示由图 1a 及 b 中所示的血浆槲皮素·葡萄糖醛酸结合物浓度及血浆槲皮素浓度的各曲线下面积算出的各 IQC-G(mix)、IQC-G(1-3)组分、IQC-G(3-6)组分及 IQC 的 AUC (Area under the curve) (0-3hrs) ($\mu\text{g/ml}\cdot\text{hr}$)。

图 5 表示由制备例 3 得到的酶处理异槲皮苷[IQC-G(mix)]及异槲皮苷 G(4-6)组分[IQC-G(4-6)组分]的口服吸收性的结果（实验例 3）。具体地说，表示由经口投与上述各组分后的大鼠血浆中的槲皮素·葡萄糖醛酸结合物浓度和槲皮素浓度的各曲线下面积算出的 AUC (Area under the curve) (0-3hrs) ($\mu\text{g/ml}\cdot\text{hr}$)。

图 6 表示将经口投与如图 3 及 4 所示的各 IQC-G(mix)、IQC-G(1-3)组分、IQC-G(3-6)组分及 IQC 以及作为对照的羧甲基纤维素(CMC)后的大鼠血浆的抗氧化能力用血浆的 FRAP (Ferrous Reducing Activity of Plasma) 活性评价的结果（实验例 4）。

图 7 表示由制备例 4 得到的样品 1[IQC-G(mix)]、样品 3~5 的口服吸收性的结果（实验例 5）。具体地说，表示由经口投与上述各组分后的大鼠血浆中的槲皮素·葡萄糖醛酸结合物浓度和槲皮素浓度的各曲线下面积算出的 AUC (Area under the curve) (0-3hrs) ($\mu\text{g/ml}\cdot\text{hr}$)。

图 8 表示由制备例 5 得到的样品 6~9 的口服吸收性的结果（实验例 6）。具体地说，表示由经口投与上述各组分后的大鼠血浆中的槲皮素·葡萄糖醛酸结合物浓度和槲皮素浓度的各曲线下面积算出的 AUC (Area under the curve) (0-3hrs) ($\mu\text{g/ml}\cdot\text{hr}$)。

图 9 表示由制备例 4 得到的样品 1[IQC-G(mix)]和样品 2 的口服吸收性的结

果（实验例 7）。具体地说，表示由经口投与上述各组分后的大鼠血浆中的槲皮素·葡萄糖醛酸结合物浓度和槲皮素浓度的各曲线下面积算出的 AUC (Area under the curve) (0-3hrs) ($\mu\text{g/ml}\cdot\text{hr}$)。

图 10 表示由制备例 6 得到的样品 A[IQC-G(mix)] 及样品 B~D 的口服吸收性的结果（实验例 8）。具体地说，表示由经口投与上述各组分后的大鼠血浆中的槲皮素·葡萄糖醛酸结合物浓度和槲皮素浓度的各曲线下面积算出的 AUC (Area under the curve) (0-3hrs) ($\mu\text{g/ml}\cdot\text{hr}$)。

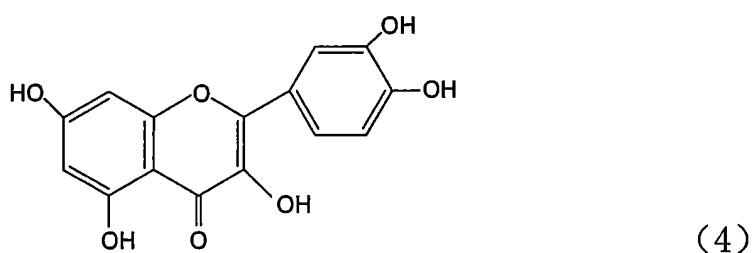
具体实施方式

I. 用语的说明

(I-1) 槲皮素糖苷、及槲皮素糖苷组合物

本发明的槲皮素糖苷是指，在下式 (4) 表示的槲皮素的 3 位上葡萄糖以 β -糖苷键结合的异槲皮苷 (quercetin 3-O- β -D-glucopyranoside) (以下、单纯称为“IQC”)、及在该 IQC 的葡萄糖残基上，葡萄糖进一步以 α -1, 4 糖苷键附加 1~15 左右的各个 α -糖基异槲皮苷。

化学式 8

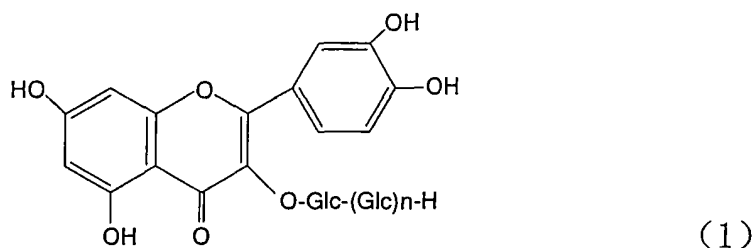


上述 IQC 及 α -糖基异槲皮苷均是槲皮素的糖苷，所以本说明书将上述两者无区别地总称为“槲皮素糖苷”。 α -糖基异槲皮苷相当于 IQC 的糖苷，所以，本说明书中，为与 IQC 区别，有时称为“IQC 糖苷”。

本发明中作为对象的槲皮素糖苷组合物，是含有以任意比例组合的上述 IQC 和各种 IQC 糖苷的混合物。

本发明的槲皮素糖苷组合物，是具体用下式 (1) 表示的槲皮素糖苷的混合物，其中至少含有 $n=3$ 的 α -糖基异槲皮苷。

化学式 9



(式中, Glc 表示葡萄糖残基, n 表示 0 或 1 以上的整数)

本说明书中, 为了说明上的方便, 有时将上述式 (1) 中 $n=0$ 表示的 IQC 写成“G0”或“IQC-G0”, 将 $n=1$ 表示的 IQC 糖苷 (IQC 上, 1 个葡萄糖以 $\alpha-1, 4$ 糖苷键结合的糖苷) 写成“G1”或“IQC-G1”, 将 $n=2$ 表示的 IQC 糖苷 (IQC 上, 2 个葡萄糖以 $\alpha-1, 4$ 糖苷键结合的糖苷) 写成“G2”或“IQC-G2”, 将 $n=3$ 表示的 IQC 糖苷 (IQC 上, 3 个葡萄糖以 $\alpha-1, 4$ 糖苷键结合的糖苷) 写成“G3”或“IQC-G3”, 将 $n=4$ 表示的 IQC 糖苷 (IQC 上, 4 个葡萄糖以 $\alpha-1, 4$ 糖苷键结合的糖苷) 写成“G4”或“IQC-G4”, 将 $n=5$ 表示的 IQC 糖苷 (IQC 上, 5 个葡萄糖以 $\alpha-1, 4$ 糖苷键结合的糖苷) 写成“G5”或“IQC-G5”, 将 $n=6$ 表示的 IQC 糖苷 (IQC 上, 6 个葡萄糖以 $\alpha-1, 4$ 糖苷键结合的糖苷) 写成“G6”或“IQC-G6”……及 n 用 m 表示的 IQC 糖苷 (IQC 上, m 个葡萄糖以 $\alpha-1, 4$ 糖苷键结合的糖苷) 写成“G m ”或“IQC-G m ” (m 指 7 以上的整数)。

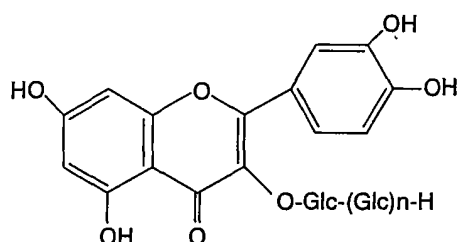
本说明书中, 称为 IQC、IQC 糖苷、槲皮素糖苷、G0、G1 (或“IQC-G1”)、G2 (或“IQC-G2”)、G3 (或“IQC-G3”)、G4 (或“IQC-G4”)……G m (或“IQC-G m ”) 的用语, 是指单一的化合物或上述化合物的总称。另外, 指由各个槲皮素糖苷 (G0、G1、G2……G m) 的任意组合组成的混合物时, 称为“槲皮素糖苷组合物”或“槲皮素糖苷混合物”。

本说明书中, “异槲皮苷 G (1-3) 的总量”或“IQC-G (1-3) 的总量”, 是指作为对象的槲皮素糖苷组合物中所含有的 n 是 1 的槲皮素糖苷 (G1)、 n 是 2 的槲皮素糖苷 (G2) 及 n 是 3 的槲皮素糖苷 (G3) 的总量。且本说明书中, “异槲皮苷 G ($4 \leq$) 的总量”或“IQC-G ($4 \leq$) 的总量”, 是指作为对象的槲皮素糖苷组合物中所含有的 n 是 4 以上的槲皮素糖苷的总量。

(I-2) 酶处理异槲皮苷

本发明中的“酶处理异槲皮苷”，是指根据常用的方法，有糖供体（葡萄糖源）的存在下，使葡萄糖残基转移酶作用于 IQC 后得到的产物，用下式表示，是 IQC 和在种种程度上被糖基化的 α -糖基异槲皮苷的混合物（例如，参照 FFI Journal Vol. 209, No. 7, 2004, p. 622-628；食品卫生学杂志, Vol. 41, No. 1, pp. 54-60 等）。

化学式 10



（式中，Glc 表示葡萄糖残基，n 表示 0 或 1 以上的整数）

具体地说，“酶处理异槲皮苷”是指上式中以 α -1, 4 糖苷键结合的葡萄糖数 (n) 是 0 的 IQC 与以 α -1, 4 糖苷键结合的葡萄糖数 (n) 为 1 以上，通常为 1~15，优选为 1~10 的范围的 α -糖基异槲皮苷的混合物。

在此，用于 IQC 的糖苷化处理的葡萄糖残基转移酶，例如可列举 α -淀粉酶 (E. C. 3. 2. 1. 1)、 α -葡萄糖苷酶 (E. C. 3. 2. 1. 20) 等的葡萄糖苷酶；或环糊精葡萄糖基转移酶 (E. C. 2. 4. 1. 19)（以下简称为 CGTase）等的转葡萄糖苷酶。

上述糖转移酶均是用商业手段可获得的酶。所涉及的市售的酶剂，例如可为 Contizyme（商品名）[日本天野酶制品株式会社 (Amano Enzyme Inc.) 制]。且糖转移酶的使用量，以 CGTase[酶比活性约 100 单位（由可溶性淀粉每分钟生成 1mg β -环糊精的酶量为 1 单位）]为例时，相对于异槲皮苷 1 重量份，糖转移酶为 0.001~20 重量份的范围。优选 0.005~10 重量份左右，更优选 0.01~5 重量份左右。

用于糖苷化时的糖供体（葡萄糖源），只要是其 1 分子以上的葡萄糖残基可转移到 1 分子 IQC 上即可。例如可列举葡萄糖、麦芽糖、直链淀粉、支链淀粉、淀粉、淀粉液化液、淀粉糖化液及环糊精等。所涉及的葡萄糖源的使用量，相对于反应体系中存在的异槲皮苷 1 重量份，通常为 0.1~20 重量份的比例，优

选为 0.5~15 重量份，更优选为 1~10 重量份的比例。

“酶处理异槲皮苷”，根据使用的酶的种类不同而不同，例如，在 80℃ 以下，优选约 20~80℃，更优选约 40~75℃，且通常为 pH 3~11 左右，优选 pH 4~8 的条件下，可在上述糖供体（葡萄糖源）的存在下，通过使葡萄糖残基转移酶作用于 IQC 进行制备，通常具有如下组成。

表 1

mol 比 (%)								
G0	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8 以上
23±8	22±3	24±4	12±2	8±2	5±2	3±2	2±1	1±1

但是，G1~G3 的 IQC 总量为 65mol% 以下，G4 以上的 IQC 总量为 15mol% 以上。

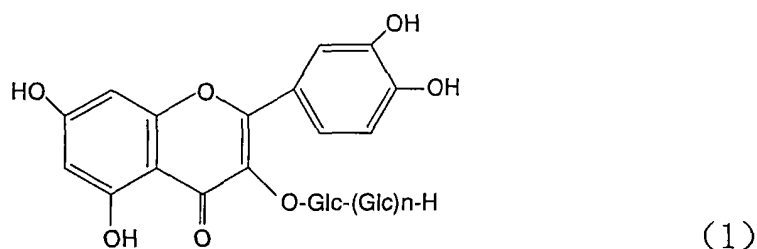
上述反应可在静置或搅拌或振荡的同时进行。为防止反应中的氧化，可将反应体系的上部空间用氮等的惰性气体置换，也可将抗坏血酸等的抗氧化剂添加到反应体系。

酶处理异槲皮苷，如上所述，除以异槲皮苷为原料以外，也可由芦丁制备。此时，也可使 α -1, 6-鼠李糖苷酶 (E.C. 3.2.1.40) 作用于芦丁转变为异槲皮苷后，根据上述方法制备酶处理异槲皮苷。只要是具有 α -1, 6-鼠李糖苷酶活性的物质均可，市售品可例举为桔皮苷酶、柚苷酶[均为田边制药株式会社制]及纤维素酶 A “AMANO” 3[日本天野酶制品株式会社 (Amano Enzyme Inc.) 制]。

II. 槲皮素糖苷组合物

本发明的作为对象的槲皮素糖苷组合物，是用下式 (1) 表示的槲皮素糖苷的混合物，其中至少含有 $n=3$ 的 α -糖基异槲皮苷。

化学式 11



(式中, Glc 表示葡萄糖残基, n 表示 0 或 1 以上的整数)

更详细地说, 本发明的槲皮素糖苷组合物, 含有式 (1) 中 $n=3$ 的 α -糖基异槲皮苷 (G3), 满足下述 (a) 的必要条件:

(a) 该组合物中含有的 $n=1\sim3$ 的槲皮素糖苷[IQC-G (1-3)]的总量为 50mol% 以上, 且 n 是 4 以上的槲皮素糖苷[IQC-G ($4\leq$)]的总量为 15mol% 以下。

如后述实验例 1~3、5、7 及 8 所示, 大量含有 IQC 上以 α -1, 4 糖苷键结合的葡萄糖数 (n) 是 1~3 的 α -糖基异槲皮苷 (G1、G2、G3) 的组合物, 与大量含有公知的酶处理异槲皮苷、葡萄糖数 (n) 是 4~6 的 α -糖基异槲皮苷 (G4、G5、G6) 的组合物、大量含有葡萄糖数 (n) 是 3~6 的 α -糖基异槲皮苷 (G3、G4、G5、G6) 的组合物相比, 其通过经口给药的体内吸收性 (血中移行性) 高, 其结果, 经口给药时可在体内发挥优异的抗氧化能力。葡萄糖数 (n) 是 1~3 的 α -糖基异槲皮苷中, 特别是葡萄糖数 (n) 是 3 的 α -糖基异槲皮苷 (G3), 其次是葡萄糖数 (n) 是 2 的 α -糖基异槲皮苷 (G2), 均具有高的体内吸收性 (血中移行性)。而另一方面, 葡萄糖数 (n) 是 4 的 α -糖基异槲皮苷 (G4) 与葡萄糖数 (n) 是 3 的 α -糖基异槲皮苷 (G3) 相比, 体内吸收性 (血中移行性) 呈降低趋势 (参照实验例 1、图 2)。

因此, 本发明的槲皮素糖苷组合物, 如上所述, 是含有 G3 且 IQC-G ($4\leq$) 的总量为 15mol% 以下的组合物, 并且含有的 IQC-G (1-3) 的总量, 占总体的 50mol% 以上, 优选 55mol% 以上, 更优选 60mol% 以上, 进一步优选 65mol% 以上, 再进一步优选 70mol% 以上, 更进一步优选 75mol% 以上, 特别优选 80mol% 以上、进一步特别优选 85mol% 以上的比例。

如上所述, 槲皮素糖苷组合物, 以高比例含有 n 是 4 以上的 α -糖基异槲皮苷[IQC-G ($4\leq$)]时, 其体内吸收性 (血中移行性) 呈下降趋势。因此, 本

发明的槲皮素糖苷组合物中的 IQC-G (4 $\leq$) 的含有比例(总量), 优选比 15mol% 更低。例如 IQC-G (4 $\leq$) 的含有比例, 可列举为 10mol% 以下, 优选 6mol% 以下。

本发明的槲皮素糖苷组合物, 也可以含有 n 是 0 的异槲皮苷 (IQC) (G0)。但优选 IQC (G0) 的含有比例低的组合物, 因为可更加提高槲皮素糖苷组合物总体中 n=1~3 的 α -糖基异槲皮苷[IQC-G(1-3)]的总量。本发明的槲皮素糖苷组合物中含有的 IQC (G0) 的比例, 例如可列举为 45mol% 以下, 优选 30mol% 以下, 更优选 20mol% 以下, 进一步优选 10mol% 以下。

本发明的槲皮素糖苷组合物, 优选不仅满足上述 (a) 的必要条件, 还满足下述 (b) 的必要条件:

(b) 该组合物中含有的 n 是 0 的槲皮素糖苷的量为 20mol% 以下。

本发明的槲皮素糖苷组合物的其他优选形态, 可为不仅满足上述 (a) 的必要条件或上述 (a) 和 (b) 的必要条件, 还要满足下述 (c) 的必要条件:

(c) 含有 n=2 和 3 的 α -糖基异槲皮苷 (G2 和 G3), 上述[IQC-G (2-3)]的总量为总体的 50mol% 以上。

IQC-G (2-3) 的总量, 可更优选 55mol% 以上、60mol% 以上、65mol% 以上、70mol% 以上、75mol% 以上。

并且本发明的槲皮素糖苷组合物的其他优选形态, 可以是含有 G3、IQC-G (4 $\leq$) 的总量为 15mol% 以下且满足下述 (d) 的必要条件的组合物:

(d) 该组合物中含有的 n=1~3 的槲皮素糖苷[IQC-G (1-3)]的总量为 60mol% 以上, 且 n 是 0 的槲皮素糖苷 (IQC 或 G0) 为 20mol% 以下。

满足上述必要条件 (d) 的槲皮素糖苷组合物, 更优选 n=1~3 的槲皮素糖苷[IQC-G (1-3)]的总量为 70mol% 以上, 优选 80mol% 以上, 更优选 85mol%。并且优选 n 是 4 以上的槲皮素糖苷的总量为 10mol% 以下, 优选 6mol% 以下。进一步优选 n 是 0 的槲皮素糖苷 (IQC 或 G0) 为 10mol% 以下。

本发明的槲皮素糖苷组合物的另外的形态, 可为含有式 (1) 中 n=3 的 α -糖基异槲皮苷 (G3) 且满足下述 (e) 的必要条件的组合物:

(e) 该组合物中含有的 n=1~3 的槲皮素糖苷[IQC-G (1-3)]的总量为 70mol

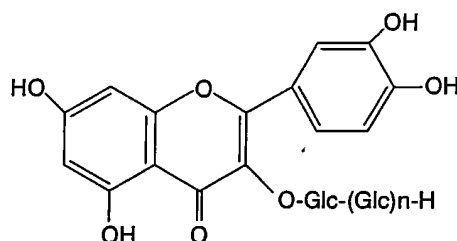
%以上, 且 n 是 4 以上的槲皮素糖苷[IQC-G ($4 \leq$)]的总量为 10mol% 以下, 及 n 是 0 的槲皮素糖苷 (IQC 或 G0) 为 20mol% 以下。

满足上述必要条件 (e) 的槲皮素糖苷组合物, 可更优选 IQC-G (1-3) 的总量为 75mol% 以上, 优选 80mol% 以上, 更优选 85mol%。且优选 IQC-G ($4 \leq$) 的总量为 6mol% 以下。进一步优选 n 是 0 的槲皮素糖苷 (G0) 为 10mol% 以下。

III. 槲皮素糖苷组合物的制备方法

口服吸收性强的本发明的槲皮素糖苷组合物, 可以酶处理异槲皮苷为原料, 经过减少一般式 (2):

化学式 12



(式中, Glc 表示葡萄糖残基, n 表示 4 以上的整数。)

表示的槲皮素糖苷[IQC-G ($4 \leq$)]的量后其总量为 20mol% 以下的工序进行制备。

在此, 不论减少 IQC-G ($4 \leq$) 的量的方法是什么, 例如, 从酶处理异槲皮苷中分离除去 IQC-G ($4 \leq$) 的方法、分解酶处理异槲皮苷中含有的 IQC-G ($4 \leq$) 方法等的方法均可使用。可优选将酶处理异槲皮苷用淀粉酶处理的方法。

在此使用的淀粉酶, 只要是具有淀粉酶活性的酶即可, 对其起源不特别限制。例如可为 α -淀粉酶 (E.C. 3.2.1.1)、 β -淀粉酶 (E.C. 3.2.1.2)、 α -葡萄糖糖苷酶 (E.C. 3.2.1.20)、葡萄糖淀粉酶 (E.C. 3.2.1.3)、maltotriohydrolase 等的低聚麦芽糖 (malto-oligo) 生成酶。

可优选 β -淀粉酶。淀粉酶使用 β -淀粉酶时, 可选择性地使以 α -1, 4 糖苷键结合的葡萄糖残基数 (n) 是 4 以上的 α -糖基异槲皮苷[IQC-G ($4 \leq$)]的含有比例降低, 使组合物中含有的 $n=1 \sim 3$ 的 α -糖基异槲皮苷[IQC-G (1-3)]的含量增加。因此, 可简便地制备含有 G3 且满足下述 (a) 的必要条件的本发

明的槲皮素糖苷组合物。

(a) 该组合物中含有的 IQC-G (1-3) 的总量为 50mol% 以上, 且 IQC-G (4 $\leq$) 的总量为 15mol% 以下。

已知上述本发明中优选使用的 β -淀粉酶含有于大豆、大麦、小麦、萝卜、甘薯、*Aspergillus oryzae*, *Bacillus cereus*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus megaterium* 等中, 其均可在此发明中自由使用。 β -淀粉酶是可用商业手段获得的酶, 例如来自大豆的 β -淀粉酶, 可为“ β -淀粉酶 #1500”(Nagase chemteX 株式会社制)、“Biozyme M5”[日本天野酶制品株式会社 (Amano Enzyme Inc.) 制]; 来自大麦的 β -淀粉酶, 可为“ β -淀粉酶 L”(Nagase chemteX 株式会社制)、“Biozyme / ML”[日本天野酶制品株式会社 (Amano Enzyme Inc.) 制] 及“Malto team206”(Nagase chemteX 株式会社制); 来自胚芽的 β -淀粉酶可为“Biozyme M”[日本天野酶制品株式会社 (Amano Enzyme Inc.) 制]; 来自 *Aspergillus oryzae* 的 β -淀粉酶, 可为“Uniase L”(YAKULT 药品工业株式会社制)。

β -淀粉酶不一定需精制, 只要能达成本发明的目的, 可为粗制品。例如, 也可使酶处理异槲皮苷和含有 β -淀粉酶的组分 (例如, 大豆、大麦等的提取物) 混合反应。且可使 β -淀粉酶固定化, 使其间歇式或连续式地与酶处理异槲皮苷反应。

β -淀粉酶的反应条件, 只要是 β -淀粉酶可作用于酶处理异槲皮苷的条件, 无特别限制。可优选为生成如下槲皮素糖苷组合物的条件, 其为含有 G3、IQC-G (4 $\leq$) 的总量为 15mol% 以下、且含有的 IQC-G (1-3) 的总量占总体的 50mol% 以上, 优选 55mol% 以上, 更优选 60mol% 以上, 进一步优选 65mol% 以上, 且进一步优选 70mol% 以上, 更进一步优选 75mol% 以上, 特别优选 80mol% 以上, 进一步特别优选 85mol% 以上的比例。且可为生成如下槲皮素糖苷组合物的条件, 其为 IQC-G (4 $\leq$) 的含有比例 (总量) 低于 15mol%, 例如 10mol% 以下, 优选 6mol% 以下。

β -淀粉酶的反应条件, 例如对于酶处理异槲皮苷 1 重量份, 使用 4000U / g 酶时 β -淀粉酶的使用量, 可从 0.0001~0.5 重量份的范围中适当选择使用。

优选 0.0005~0.4 重量份左右，更优选 0.001~0.3 重量份左右。且反应体系中的酶处理异槲皮苷的量无特别限制，但为使反应高效进行，在反应体系 100 重量%中，通常优选含有 0.1~20 重量%，优选 0.5~10 重量%，更优选 1~10 重量%的比例。

反应温度可为约 80℃以下的范围，可在此范围内适当选择使用。此范围内有利于工业化生产的温度为约 20~80℃，优选约 40~75℃。pH 条件通常为 pH3~11 以下，优选 pH4~8。

反应可在静置或搅拌或振荡的同时进行。为防止反应中的氧化，可将反应体系的上部空间用氮等的惰性气体置换，也可将抗坏血酸等的抗氧化剂添加到反应体系中。

且根据需要，对于通过上述方法获得的反应生成物，可进一步进行减少异槲皮苷的工序。所涉及的方法，只要是能从用上述方法获得的反应生成物中除去、裂解异槲皮苷（IQC）（G0）的方法，无特别限制，可任意组合常用的精制方法进行。

例如，通过将上述反应物调整到酸性后冷却，从而使 IQC（G0）析出沉淀并除去的方法，可列举各种树脂处理法（吸附法、离子交换法、凝胶过滤法等）、膜处理法（超滤膜处理法、反渗透膜处理法、离子交换膜处理法、Zeta 电位膜处理法等）、电渗析法、盐析、酸析、再结晶、溶剂分离法及活性碳处理法等。

且 IQC 的除去工序，如上所述，可针对淀粉酶处理后的反应生成物进行，也可在淀粉酶处理前，例如对于酶处理异槲皮苷进行。特别是淀粉酶使用 β -淀粉酶时，在淀粉酶处理的前后，IQC 的含量基本无改变。因此，预先从酶处理异槲皮苷中除去 IQC 使其减少后再进行 β -淀粉酶处理，与将酶处理异槲皮苷用 β -淀粉酶处理后再除去 IQC 使其减少的情况相比，所得到的反应生成物几乎无差异。

如此得到的槲皮素糖苷组合物，降低 IQC-G（4 $\leq$ ）及 IQC（G0）的含有比例，结果可更加提高占总体的 IQC-G（1-3）的比例。所涉及的槲皮素糖苷组合物，可为优选 IQC-G（1-3）的比例占总体（100mol%）的 60mol%以上，优选 65mol%以上，更优选 70mol%以上，进一步优选 75mol%以上，且进一步优选

80mol%以上, 特别优选 85mol%以上的组合物。其中, IQC-G (2-3) 的比例占总体 (100mol%) 的 50mol%以上, 优选 55mol%以上, 更优选 60mol%以上, 进一步优选 65mol%以上的组合物, 且进一步优选 70mol%以上, 特别优选 75mol%以上的槲皮素糖苷组合物, 是体内吸收性更佳的组合物。所涉及的槲皮素糖苷组合物中的 IQC-G (4 $\leq$) 及 IQC (G0) 的比例, 可根据上述 IQC-G (1-3) 的含量确定, 通常 IQC-G (4 $\leq$) 的比例可为 10mol%以下, 优选 2mol%以下, IQC (G0) 的比例为 20mol%以下, 优选 10mol%以下。

IV. 槲皮素糖苷组合物的用途

本发明的槲皮素糖苷组合物, 如后述实验例所示, 与异槲皮苷及酶处理异槲皮苷相比, 其通过经口给药的体内吸收性 (血中移行性) (口服吸收性) 优异, 其结果, 经口给药时具备在体内发挥优异的抗氧化能力的特长。

因此, 本发明提供以上述本发明的槲皮素糖苷组合物为有效成分的抗氧化剂, 特别是针对生物体的抗氧化剂 (以下也称为“生物体内抗氧化剂”); 以及通过含有本发明的槲皮素糖苷组合物而具备抗氧化功能 (活性氧消除功能) 的食品。

对上述的生物体内抗氧化剂的形态无特别限制, 可制成例如粉末状、颗粒状、片状、胶囊状等的固体状; 液状、悬浮液等的溶液状; 或糊状等的半固体状等适于经口给药的任意的形态。

该抗氧化剂中配合的槲皮素糖苷组合物的比例无特别限制, 可从 0.01~100 重量%的范围适当选择。且该抗氧化剂的使用量, 只要在生物体内具有抗氧化效果, 无特别限制, 体重 60kg 的成人, 平均每次给药量, 可从抗氧化剂中以 1mg~30g 的比例含有槲皮素糖苷组合物的范围中适当选择。

抗氧化剂, 可在槲皮素糖苷组合物中进一步配合稀释剂、载体或添加剂等成分, 进行任意的制剂化处理以配制成制剂。只要不影响本发明的效果, 对此处的稀释剂或载体无特别限制, 可列举蔗糖、葡萄糖、果糖、麦芽糖、海藻糖、乳糖、低聚糖、糊精、葡聚糖、环状糊精、淀粉、糖稀、异构化液糖等的糖类; 乙醇、丙二醇、丙三醇等的醇类; 山梨糖醇、甘露糖醇、赤藓醇、乳糖醇、木

糖醇、麦芽糖醇、还原性帕拉金糖、还原淀粉分解物等的糖醇类；甘油三乙酸酯等的溶剂、阿拉伯胶、卡拉胶、黄原胶、瓜尔豆胶、结冷胶、果胶等的多糖类或水。另外添加剂可例举为螯合剂等的辅助剂、香料、香辛料提取物、防腐剂等。

从使用的方便等上，使用上述稀释剂、载体或添加剂制备上述制剂时，优选制备成在 100 重量%制剂中含有 0.01~100 重量%、优选 0.1~50 重量%比例的槲皮素糖苷组合物。

具备抗氧化功能（活性氧消除功能）的食品，可以是本发明的槲皮素糖苷组合物本身、或在槲皮素糖苷组合物中添加配合上述稀释剂、载体或添加剂等后制备的制剂（例如粉末、颗粒、片剂、胶囊、液剂、保健饮料剂等）等，例如营养补充食品，以及在一般食品中将上述本发明的槲皮素糖苷组合物作为成分之一配合，使其食品中附加针对生物体的抗氧化功能（活性氧消除功能）的功能性食品（包括特定保健用食品、有附加条件的特定保健用食品）。且上述食品中以含有上述本发明的槲皮素糖苷组合物，具有生物体抗氧化作用（活性氧消除作用）为特征，包括附带以预防或抑制生物体内氧化反应或由此产生的损伤为目的的标示的食品。

具有抗氧化功能（活性氧消除功能）的食品，只要具有槲皮素糖苷组合物的功能，对在该食品中配合的槲皮素糖苷组合物的比例无特别限制，通常可从 0.001~100 重量%的范围适当选择。

作为对象的食品无限制，可列举冰淇淋、冰牛奶、无砂糖奶冰、果子露冰淇淋、冰点心等的冷冻点心类；乳饮料、乳酸菌饮料、清凉饮料（含有果汁）、碳酸饮料、果汁饮料、蔬菜饮料、蔬菜·果实饮料、运动饮料、粉末饮料等的饮料类；利口酒等的酒精饮料；咖啡饮料、红茶饮料等的茶饮料类；清汤、浓汤等的汤类；牛奶鸡蛋布丁、牛奶布丁、果味布丁等的布丁类；果冻、巴伐利亚布丁及酸奶等的餐后甜点类；口香糖、泡泡糖等的口香糖类（板式口香糖、糖衣粒状口香糖）；除巧克力豆等的涂层巧克力以外，还有草莓巧克力、蓝莓巧克力及哈密瓜巧克力等附加了风味的巧克力等的巧克力类；硬糖（包括夹心糖、黄油球、糖球（marble）等）、软糖（包括牛奶糖、牛轧糖、橡皮糖、棉花糖等）、

水果糖、太妃糖等的焦糖类；硬饼干、曲奇、年糕片、脆饼干等的烤点心类；暴腌、酱油腌、盐腌、酱腌、酒糟腌、酒曲腌、糠腌、醋腌、芥末腌、醪液腌、腌梅子、什锦八宝酱菜、紫苏腌、生姜腌、朝鲜泡菜、梅汁腌等的腌菜类；分离液状调味汁、Non-oil 型调味汁、番茄酱、佐料汁、沙司等的调味汁类；草莓酱、蓝莓酱、橘皮果酱、苹果酱、杏酱、蜜饯（preserve）等的果酱类；红葡萄酒等的果实酒；蜜糖樱桃、杏、苹果、草莓、桃等的加工用果实；火腿、香肠、叉烧肉等的畜肉加工品；鱼肉火腿、鱼肉香肠、鱼的碎肉、鱼糕、圆筒状鱼糕、鱼肉山芋饼、炸鱼肉饼、鱼肉鸡蛋卷、鲸肉培根等的水产加工制品；奶酪等的酪制品类；面条、凉面条、挂面、荞麦、中国面条、意大利面、通心粉、米粉、粉丝及馄饨等的面类；其他，各种家常菜及面筋、肉松等的各种加工食品。

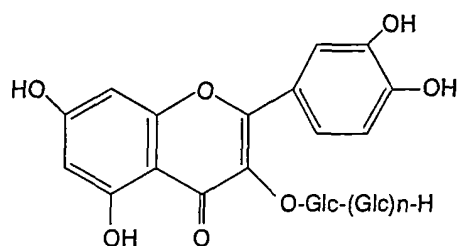
且本发明的食品摄取量，只要摄取后在体内能具有抗氧化效果，无特别限制，例如体重60kg的成人，一次摄取的食品中，可从以1mg~30g的比例含有槲皮素糖苷组合物的范围内适当选择。

V. 提高槲皮素糖苷组合物的口服吸收性的方法

本发明提供提高槲皮素糖苷组合物的口服吸收性的方法。根据本发明的方法，对于已知抗氧化作用的槲皮素糖苷组合物，与以往公知的酶处理异槲皮素相比，可提高其口服吸收性，其结果，可提高槲皮素糖苷组合物在生物体内的抗氧化作用。

本发明的方法，可以酶处理异槲皮素为原料，经过减少一般式（2）：

化学式 13



（式中，Glc 表示葡萄糖残基，n 表示 4 以上的整数。）

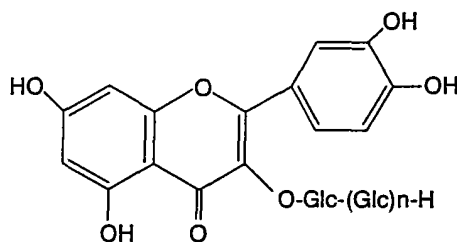
表示的槲皮素糖苷[IQC-G (4 $\leq$)]的量的工序来进行。

此处不管减少 IQC-G (4 $\leq$) 的量的方法, 例如可使用从酶处理异槲皮苷中分离除去 IQC-G (4 $\leq$) 的方法、分解酶处理异槲皮苷中含有的 IQC-G (4 $\leq$) 的方法等的任何方法。可优选将酶处理异槲皮苷用淀粉酶、优选 β -淀粉酶处理的方法。对于酶处理异槲皮苷的淀粉酶的反应条件, 可同样使用上述 III 中所述的条件。

且 IQC-G (4 $\leq$) 的减少程度, 可为最终槲皮素糖苷组合物中的 IQC-G (4 $\leq$) 的含有比例(总量)为 15mol% 以下的比例。优选 10mol% 以下、进一步优选 6mol% 以下。

当口服吸收性提高时, 还可进一步进行减少一般式 (3):

化学式 14



(式中, Glc 表示葡萄糖残基, n 表示 0。)

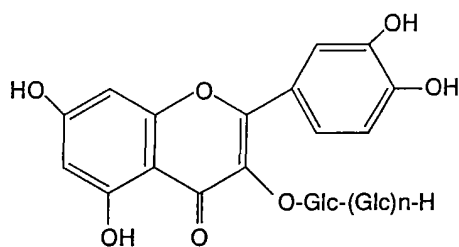
表示的异槲皮苷 (IQC 或 G0) 的量的工序。所涉及的方法, 只要是可从用上述减少 IQC-G (4 $\leq$) 的处理得到的反应生成物中减少、除去或裂解异槲皮苷 (IQC 或 G0) 的方法, 无特别限制, 可任意组合常用的精制方法进行。具体地说, 可为上述 III 中所述的方法。

且 IQC 的减少、除去工序, 如上所述, 可针对淀粉酶处理后的反应生成物进行, 也可针对淀粉酶处理前、例如酶处理异槲皮苷进行。

本发明的方法, 可优选通过针对酶处理异槲皮苷施行上述操作 (淀粉酶处理、或淀粉酶处理 + IQC 的除去减少), 将该酶处理异槲皮苷转换为下述的槲皮素糖苷组合物来进行。

用一般式 (1)

化学式 15



(式中, Glc 表示葡萄糖残基, n 表示 0 或 1 以上的整数。)

表示的槲皮素糖苷的混合物组成的组合物, 其是满足下述 (1) 及 (2) 的必要条件的组合物:

(1) 至少含有 $n=3$ 的槲皮素糖苷,

(2) 该组合物中含有的 $n=1\sim3$ 的槲皮素糖苷的总量为 50mol% 以上, 且 n 是 4 以上的槲皮素糖苷的总量为 15mol% 以下。

所涉及的组合物, 优选进一步满足下述 (3) 的必要条件:

(3) 该组合物中含有的 $n=1\sim3$ 的槲皮素糖苷的总量为 60mol% 以上, 且 n 是 0 的槲皮素糖苷 20mol% 以下。

且上述组合物, 优选进一步满足下述 (4) 的必要条件:

(4) 该组合物中含有的 $n=1\sim3$ 的槲皮素糖苷的总量为 70mol% 以上, 且 n 是 4 以上的槲皮素糖苷的总量为 10mol% 以下、 n 是 0 的槲皮素糖苷为 20mol% 以下。

并且上述组合物, 优选进一步满足下述 (5) 的必要条件:

(5) 该组合物中含有 $n=2$ 及 3 的槲皮素糖苷, 其总量为 50mol% 以上。

根据所涉及的方法, 经口给药时, 可将酶处理异槲皮苷改成显示酶处理异槲皮苷的 1.3 倍以上的体内吸收性的槲皮素糖苷组合物。优选为 1.01~5 倍, 更优选 1.01~2 倍。

本发明的槲皮素糖苷组合物, 与异槲皮苷及以往的酶处理异槲皮苷相比, 经口给药的体内吸收性优异, 其结果, 可在生物体内发挥强的抗氧化作用。因此, 通过本发明的槲皮素糖苷组合物以及含有该组合物的食品, 可消除身体各部位的活性氧, 预防细胞损伤和老化, 可预防、治疗及改善

由活性氧引起的各种疾病。

实施例

以下，可举制备例、实验例及实施例说明本发明，但本发明不限于此。

参考制备例 1 酶处理异槲皮苷的制备

(1) 异槲皮苷的制备

将 250g 豆科植物槐树的花蕾于 2500mL 热水 (95℃ 以上) 中浸渍 2 小时后，将滤出的滤液作为“第一提取液”。另外，将滤出的残渣再用热水浸渍提取，获得“第二提取液”。合并上述第一及第二提取液，冷却到 30℃ 以下后滤出沉淀的成分，通过水洗、再结晶、及干燥沉淀部，获得 22.8g 纯度 95% 以上的芦丁。

将 20g 该芦丁分散于 400mL 水中，使用 pH 调节剂，调节到 pH4.9。在其中添加 0.12g 柚苷酶 [日本天野酶制品株式会社 (Amano Enzyme Inc.)、商品名“柚苷酶 ‘AMANO’”、3,000U / g]，开始反应，将其在 72℃ 下保持 24 小时。其后，将反应液冷却到 20℃，滤出由冷却生成的沉淀物。将得到的沉淀物 (固形成分) 水洗后干燥，回收异槲皮苷 13.4g。

(2) 酶处理异槲皮苷的制备

上述得到的 10g 异槲皮苷中，加入 500mL 的水，添加 40g 玉米淀粉使其分散。在其中添加 15g 环糊精葡萄糖基转移酶 [CGTase: 日本天野酶制品株式会社 (Amano Enzyme Inc.)、商品名“Contizyme”、600U / mL] 开始反应，将其在 pH7.25、60℃ 的条件下保持 24 小时。所得到的反应液冷却后，加入到 Diaion HP-20 (三菱化学工业株式会社制) 的色谱柱 (Φ3.0×40cm)，用 1000mL 的水洗净。其后，供给色谱柱 600mL 50 容量% 的乙醇水溶液，减压浓缩得到的洗脱液后冷冻干燥，获得 12.8g 酶处理异槲皮苷 [以下，将其称为“异槲皮苷 G(mix)”或“IQC-G(mix)”]。将其用下述条件的 HPLC 分取各成分，将各成分使用质谱分析装置 (LC/MS/MS，日本 Waters，型号 Quattro Micro) 分析。

<HPLC 条件>

色谱柱: Inertsil ODS-2 Φ4.6×250mm (GL Science 制)

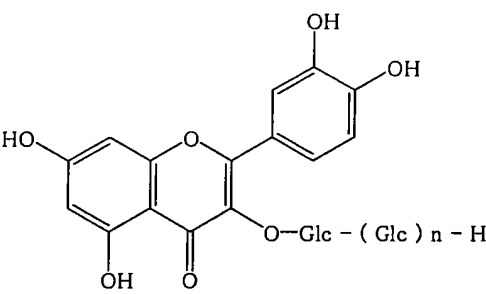
洗脱液: 水 / 乙腈 / TFA=850 / 15 / 2

检测：测定波长 351nm 处的吸光度

流速：0.8mL / min。

由其结果可知，上述酶处理异槲皮苷[IQC-G(mix)]含有下式表示的 IQC 和各种 IQC 糖苷的混合物。

化学式 16



（式中，Glc 表示葡萄糖残基，n 表示 0 或 1 以上的整数。）

根据 HPLC 分析结果，由下式算出上述混合物中含有的 IQC 及各 IQC 糖苷的 mol 比（%）时，为表 2 所示的组成。

数式 1

IQC 或 IQC 糖苷的 mol 比(%) =
$$\frac{\text{IQC 或 IQC 糖苷的各峰面积}}{\text{IQC 及 IQC 糖苷的总峰面积}} \times 100$$

表 2

	mol 比（%）							
	G0 异槲皮苷	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
IQC-G(mix) (1)	33	23	19	9	7	5	3	1

制备例 1 IQC 糖苷（Gn）的精制

将参考制备例 1 得到的酶处理异槲皮苷 G(mix) [IQC-G(mix)] 供给下述条件

的 HPLC，分别分取富含异槲皮苷（G0）的组分（G0 组分）、富含 G1 的组分（G1 组分）、富含 G2 的组分（G2 组分）、富含 G3 的组分（G3 组分）及富含 G4 的组分（G4 组分）。

<HPLC分取条件>

色谱柱；Develosil ODS-UG-15/30、5cm×50cm

溶剂；A溶剂；1容量%醋酸水溶液

B溶剂；1容量%醋酸及90容量%CH₃CN水溶液

洗脱；混合B溶剂18容量%和A溶剂82容量%，在等度洗脱的条件下，用流速32mL/min洗脱

检测；检测360nm处的吸光度。

具体地说，将洗脱时间 40 分钟到 113 分钟、按 1 分钟 1 馏分的比例分成 73 馏分进行分取，将馏分 17—24 作为 G4 组分、将馏分 26—33 作为 G3 组分、将馏分 35—43 作为 G2 组分、将馏分 45—53 作为 G1 组分、将馏分 55—73 作为 G0 组分回收。冷冻干燥各组分，获得作为固形成分的各自约 300mg。

其后，将得到的 G0 组分、G1 组分、G2 组分、G3 组分及 G4 组分供给各个下述条件的 HPLC 分析，算出各组分中含有的 IQC 及各 IQC 糖苷的 mol 比（%）和平均分子量。mol 比（%）的结果如表 3 所示。如表 3 所示，G0 组分、G1 组分、G2 组分、G3 组分及 G4 组分，分别含有 73% 以上的 IQC（G0）、IQC 糖苷 G1、G2、G3 及 G4。

<HPLC 分析条件>

色谱柱；Develosil C30-UG-5（4.6×150mm）

溶剂；A溶剂：0.05容量% TFA水溶液

B溶剂：0.05容量% TFA/CH₃CN

洗脱；B溶剂10容量%→80容量%（0-20min）、B溶剂80容量%→80容量%（20-25min）、B溶剂80容量%→10容量%（25-25.1min）、B溶剂10容量%（25.1-32min）的梯度洗脱

检测；检测波长370nm处的吸光度

色谱柱温度；40℃。

表 3

分离样品	mol 比 (%)						
	G0 异槲皮苷	G1	G2	G3	G4	G5	G6
G0 组分	73.5	15.8	6.7	1.9	1.1	0.7	0
G1 组分	0	83.1	13.2	2.4	0.9	0.4	0
G2 组分	0	0	88.9	9.2	1.9	0	0
G3 组分	0	0	0	92.9	5.8	1.3	0
G4 组分	0	0	0	0	90.2	9.0	0.9

制备例 2 异槲皮苷 G(1-3) 组分及异槲皮苷 G(3-6) 组分的制备

将 0.65g 用参考制备例 1 得到的酶处理异槲皮苷[IQC-G(mix)]溶解于含水甲醇中, 使用凝胶过滤树脂(Sephadex LH-20 : Amersham Bioscience K.K.) 进行凝胶过滤色谱分析。将流出液按一定量分取后, 用上述参考制备例 1 所述的条件进行 HPLC 分析, 分成富含 IQC 上 3 个葡萄糖以 α 1, 4 糖苷键结合的 G3、4 个结合的 G4、5 个结合的 G5 及 6 个结合的 G6 的组分(以下称为“异槲皮苷 G(3-6) 组分”或“IQC-G(3-6)”组分)、和富含 IQC 上 1 个葡萄糖以 α 1, 4 糖苷键结合的 G1、2 个结合的 G2 及 3 个结合的 G3 的组分(以下称为“异槲皮苷 G(1-3) 组分”或“IQC-G(1-3) 组分”)的 3 组分。其后, 将上述 3 组分分别通过减压浓缩除去溶剂后, 冷冻干燥, 得到 0.15g “异槲皮苷 G(3-6) 组分”[“IQC-G(3-6) 组分”]及 0.1g “异槲皮苷 G(1-3) 组分”[“IQC-G(1-3) 组分”]。对于上述组分, 进行前述参考制备例 1 所述条件的 HPLC 分析, 算出各组分中含有的 IQC 以及各 IQC 糖苷的 mol 比(%)。

结果如表 4 所示。从表 4 可知, IQC-G(1-3) 组分中含有的 G1、G2 及 G3 的比例占总量的 94%, IQC-G(3-6) 组分中含有的 G3、G4、G5 及 G6 的比例占总量的 86%。

表 4

	mol 比 (%)							
	G0 异槲皮苷	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
IQC-G(1-3) 组分	5	43	39	12	1	0	0	0
IQC-G(3-6) 组分	0	1	6	22	30	21	13	7

制备例 3 酶处理异槲皮苷 G(mix) 及异槲皮苷 G(4-6) 组分的制备

用与参考制备例 1 完全相同的方法制备酶处理异槲皮苷[IQC-G(mix) (2)]。将其与制备例 2 同样溶解于含水甲醇中, 进行凝胶过滤色谱分析及 HPLC 分析, 得到富含 IQC 上 4 个葡萄糖以 α 1, 4 糖苷键结合的 G4、5 个结合的 G5 及 6 个结合的 G6 的组分 (以下称为“异槲皮苷 G(4-6) 组分”或“IQC-G(4-6)”组分), 将此组分分别通过减压浓缩除去溶剂后, 冷冻干燥, 得到 0.1g “异槲皮苷 G(4-6) 组分” [“IQC-G(4-6)”组分]。对于上述 IQC-G(mix) (2) 及“IQC-G(4-6)”组分, 进行前述参考制备例 1 所述条件的 HPLC 分析, 算出 IQC 以及各 IQC 糖苷的 mol 比 (%)。

结果如表 5 所示。IQC-G(4-6) 组分中含有的 G4、G5 及 G6 的比例占总量的 97%。

表 5

	mol 比 (%)							
	G0 异槲皮苷	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
IQC-G(mix) (2)	29	23	21	10	8	5	3	1
IQC-G(4-6) 组分	0	0	0	3	23	33	27	14

制备例 4 样品 1~5 的制备

(1) 样品 1 的制备

根据参考制备例 1 (1) 及 (2), 制备酶处理异槲皮苷[IQC-G(mix)][样品 1: IQC-G(mix) (3)]。

(2) 样品 2 的制备

将样品 1 (0.5g) 溶解于 50mL 离子交换水中, 在搅拌条件下冷却过滤后, 使其通过吸附树脂柱 (三菱化学株式会社制、Diaion SP-207)。将吸附树脂充分水洗除去糖质等的杂质后, 通入 60 容量%乙醇水溶液, 回收洗脱液。减压浓缩回收的洗脱液后, 冷冻干燥 (样品 2)。

(3) 样品 3 的制备

将样品 1 及异槲皮苷 (IQC) 分别溶解于甲醇, 混合, 使 IQC 的 mol 比达到约 45%。其后, 通过减压浓缩该组分除去溶剂后, 冷冻干燥 (样品 3)。

(4) 样品 4 的制备

将样品 3 (0.5g) 溶解于 50mL 离子交换水中, 添加 2.5mg β -淀粉酶[日本天野酶制品株式会社 (Amano Enzyme Inc.) 制、商品名 “Biozyme M”、4000U / g], 在 50℃、pH5.0 条件下保持 1.5 小时。通过加热处理使酶失活后, 使其通过吸附树脂柱 (三菱化学株式会社制、Diaion SP-207)。将吸附树脂充分水洗、除去糖质等的杂质后, 通入 60 容量%乙醇水溶液, 回收洗脱液。减压浓缩回收的洗脱液后, 冷冻干燥, 得到 0.3g 样品 (样品 4)。

(5) 样品 5 的制备

将样品 1 (5g) 溶解于含水甲醇中, 使用凝胶过滤树脂 (Sephadex LH-20 : Amersham Bioscience K.K.) 进行凝胶过滤色谱分析。将流出液按一定量分取后, 用上述参考制备例 1 所述条件进行 HPLC 分析, 回收富含 G4、G5、G6 及 G7 的组分。其后, 将此组分通过减压浓缩除去溶剂后, 冷冻干燥。将该组分 1.0g 溶解于 50mL 离子交换水中, 添加 7mg β -淀粉酶(日本天野酶制品株式会社(Amano Enzyme Inc.)制、商品名 “Biozyme M”、4000U / g), 在 50℃、pH5.0 条件下保持 2 小时。通过加热处理使酶失活后, 使其通过吸附树脂柱 (三菱化学株式会社制、Diaion SP-207)。将吸附树脂充分水洗除去糖质等的杂质后, 通入 60 容

量%乙醇水溶液，回收洗脱液。减压浓缩回收的洗脱液后，冷冻干燥（样品 5、0.2g）。

对于上述样品 1~5，用上述参考制备例 1 所述条件进行 HPLC，算出样品中含有的 IQC 及各 IQC 糖苷的 mol 比（%）时，为如下所示的组成。

表 5

	mol 比（%）							
	G0	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
样品 1 IQC-G(mix) (3)	28.8	22.7	21.4	10.6	7.5	4.9	2.8	1.3
样品 2	15.4	23.9	26.0	13.4	9.7	6.4	3.6	1.7
样品 3	45.1	20.9	16.3	7.8	4.6	2.9	1.7	0.7
样品 4	42.9	25.8	20.6	9.3	0.5	0.3	0.5	0
样品 5	7.5	14.2	41.9	31.5	2.6	2.4	0	0

制备例 5 样品 6~9 的制备

（1）样品 6 的制备

根据参考制备例 1（1）及（2）制备酶处理异槲皮苷[IQC-G(mix)]。将此 IQC-G(mix)及异槲皮苷（IQC）分别溶解于甲醇中，混合，使 IQC 的 mol 比为约 45%。其后，将此组分通过减压浓缩除去溶剂后，冷冻干燥（样品 6）。

（2）样品 7，8 及 9 的制备

与制备例 1 同样制备，将样品 1 供给 HPLC，回收富含 G1 的组分（G1 组分）、富含 G2 的组分（G2 组分）及富含 G3 的组分（G3 组分）。其后，将上述组分及样品 6 分别溶解于甲醇中，混合，使 IQC—G(1-3)的总量用 mol 比表示为约 54%、64%、80%。其后，将此组分通过减压浓缩除去溶剂后，冷冻干燥（样品 7，8，9）。

对于上述样品 6~9，用上述参考制备例 1 所述条件进行 HPLC，算出样品中含有的 IQC 及各 IQC 糖苷的 mol 比（%）时，为如下所示的组成。

表 7

	mol 比（%）							
	G0	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
样品 6	45.1	20.9	16.3	7.8	4.6	2.9	1.7	0.7
样品 7	37.0	24.5	20.1	9.8	3.9	2.5	1.6	0.6
样品 8	24.9	23.7	27.2	13.3	4.6	3.2	1.9	1.2
样品 9	16.5	24.5	37.7	17.3	0.9	1.2	0.8	1.1

参考制备例 2 酶处理异槲皮苷的制备

（1）异槲皮苷的制备

在 100L 水中分散 5kg 芦丁，使用 pH 调节剂调节到 Ph 值为 4.9。在其中添加 30g 柚苷酶[日本天野酶制品株式会社（Amano Enzyme Inc.）]，商品名“柚苷酶“AMANO”，3000U / g）开始反应，将其 72℃下保持 24 小时。其后，将反应液冷却到 30℃，通过冷却滤出沉淀成分。将所得到的固形成分水洗后，干燥，回收异槲皮苷。

（2）酶处理异槲皮苷的制备

在所得到的异槲皮苷 2kg 中加入 100L 水，添加 8kg 玉米淀粉使其分散。在其中添加 CGTase[日本天野酶制品株式会社（Amano Enzyme Inc.）]，商品名“Contizyme”，600U / mL）3L, 在 60℃、pH7.25 条件下保持 24 小时。冷却此溶液后，过滤，得到酶处理异槲皮苷[“异槲皮苷 G(mix)”或“IQC-G(mix)”]（液状）。对于此 IQC—G(mix)，进行前述参考制备例 1 所述条件的 HPLC 分析，算出 mol 比（%）。由结果可知，其含有由表 8 所示的组成的 IQC 及各种 IQC 糖苷的混合物。进行 HPLC 分析，算出 IQC—G(mix)中含有的 IQC 及各 IQC 糖苷的

mol 比 (%)。

表 8

	mol 比 (%)								
	G0	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8
IQC-G(mix) (5)	22	21	20	13	9	6	4	2	3

制备例 6 β -淀粉酶处理的控制

根据参考制备例 2 的 (1) 及 (2) 的方法制备酶处理异槲皮苷 (反应液)。在此反应液 50L 中, 添加 4g β -淀粉酶 (日本天野酶制品株式会社 (Amano Enzyme Inc.) 制、商品名 “Biozyme M”、4000U/g), 在 50℃、pH5.0 条件下保持一定时间后, 取一部分反应液。将所取的反应液通过加热处理使酶失活后, 使其通过吸附树脂柱 (三菱化学株式会社制、Diaion SP-207)。将吸附树脂充分水洗、除去糖质等的杂质后, 通入 60 容量%乙醇水溶液, 回收洗脱液。通过将回收的洗脱液减压浓缩后冷冻干燥, 得到使 β -淀粉酶在不同时间内作用后制备的种种槲皮素糖苷组合物。将其用参考制备例 1 所述条件进行 HPLC, 算出 IQC 及各 IQC 糖苷的 mol 比 (%)。

结果如表 9 及图 1 所示。不管反应时间长短, 异槲皮苷 (IQC) 的 mol 比基本一定, 随着反应的进行, IQC 上 1 个葡萄糖以 α -1,4 糖苷键结合的 G1 及 IQC 上 2 个葡萄糖以 α -1,4 糖苷键结合的 G2 的比例 (IQC-G(1-2)) 增加了。且最终成为由 G0、G1 及 G2 组成的槲皮素糖苷组合物 (未进行图示及标记)。IQC 上 3 个葡萄糖以 α -1,4 糖苷键结合的 G3, 在反应初期, IQC 上 4 个以上的葡萄糖以 α -1,4 糖苷键结合的 G(4 $\equiv$) 分解后, 其一部分变成 G3, 所以 IQC-G3 的 mol 比到反应过程中增加, 但 G(4 $\equiv$) 消失 (反应时间: 约 60 分钟) 后, 开始产生 G3 的分解, 所以 IQC-G3 的 mol 比又逐渐减少。

表 9

	mol 比 (%)						
	G0	G1	G2	G3	G4	G5	G6
反应时间							
0 分	20.0	24.9	23.3	12.7	9.1	6.1	3.9
15	19.8	25.9	29.3	15.4	4.5	2.9	2.2
30	19.8	27.3	32.4	15.7	2.1	1.3	1.4
60	20.0	30.5	35.2	14.3	0.0	0.0	0.0
90	19.9	32.4	35.4	12.3	0.0	0.0	0.0
120	19.8	33.7	35.5	10.9	0.0	0.0	0.0
180	19.8	35.4	35.5	9.3	0.0	0.0	0.0
240	19.7	36.2	35.6	8.5	0.0	0.0	0.0
300	19.6	36.7	35.6	8.0	0.0	0.0	0.0
360	19.6	37.1	35.6	7.7	0.0	0.0	0.0
420	19.6	37.3	35.6	7.5	0.0	0.0	0.0

制备例 7 样品 A~D 的制备

(1) 样品 A 的制备

使根据参考制备例 2 的 (1) 及 (2) 的方法制备的酶处理异槲皮苷通过吸附树脂柱 (三菱化学株式会社制、Diaion SP-207)。将吸附树脂充分水洗、除去未反应的糖质等的杂质后, 通入 60 容量%乙醇水溶液, 回收洗脱液。减压浓缩回收的洗脱液后, 干燥及粉碎成粉末状 [样品 A: IQC-G(mix)]。

(2) 样品 B 的制备

将样品 A (反应液) 在搅拌条件下冷却过滤后, 使其通过吸附树脂柱 (三菱化学株式会社制、Diaion SP-207)。将吸附树脂充分水洗、除去糖质等的杂质后, 通入 60 容量%乙醇水溶液, 回收洗脱液。减压浓缩回收的洗脱液后, 冷冻干燥, 得到样品 B。

(2) 样品 C 及 D

将 50L 样品 A（反应液）在搅拌条件下冷却过滤后，添加 4g β -淀粉酶[日本天野酶制品株式会社（Amano Enzyme Inc.）制、商品名“Biozyme M”、4000U / g]，在 50℃、pH5.0 条件下保持 30 分钟或 420 分钟。其后，分别通过加热处理使酶失活后，使其通过吸附树脂柱（三菱化学株式会社制、Diaion SP-207）。将吸附树脂充分水洗、除去糖质等的杂质后，通入 60 容量%乙醇水溶液，回收洗脱液。减压浓缩回收的洗脱液后，冷冻干燥，得到样品 C（ β -淀粉酶处理 30 分钟）及样品 D（ β -淀粉酶处理 420 分钟）。

对于样品 A~D，用参考制备例 1 所述条件进行 HPLC，算出样品中含有的 IQC 及各 IQC 糖苷的 mol 比（%）时，为表 10 所示的组成。

表 10

	mol 比（%）							
	G0	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
样品 A	30.1	22.9	20.5	10.2	7.3	4.8	2.9	1.3
样品 B	17.1	21.3	22.8	13.2	10.7	7.7	4.9	2.3
样品 C	16.5	24.4	34.3	17.0	2.4	3.7	1.8	0.0
样品 D	16.9	44.4	38.2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0

制备例 8

在参考制备例 2 制备的 IQC-G(mix) (5) 50L 中，添加 15g β -淀粉酶（日本天野酶制品株式会社（Amano Enzyme Inc.）制，商品名“Biozyme M”，4000U / g），在 50℃、pH5.0 条件下保持 3 小时后，通过加热处理使酶失活。将此反应液[β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (1)]用前述参考制备例 1 所述条件进行 HPLC 分析，算出 mol 比（%）。由结果可知，其含有下述组成的 IQC 及各种 IQC 糖苷的混合物。

表 11

	mol 比 (%)				
	G0	G1	G2	G3	G4 以上
β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (1)	23	40	32	3	2

制备例 9

在用参考制备例 2 得到的 IQC-G(mix) (5) 50L 中, 添加 4g β -淀粉酶 (日本天野酶制品株式会社 (Amano Enzyme Inc.) 制, “Biozyme M”, 4000U / g), 在 50℃、pH5.0 条件下保持 1 小时后, 通过加热处理使酶失活。将此反应液[β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (2)]用前述条件进行 HPLC 分析, 算出 mol 比 (%)。由结果可知, 其含有下述组成的 IQC 及各种 IQC 糖苷的混合物。

表 12

	mol 比 (%)				
	G0	G1	G2	G3	G4 以上
β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (2)	22	24	29	19	6

制备例 10

在用参考制备例 2 得到的 IQC-G(mix) (5) 50L 中, 添加 15g β -淀粉酶 (日本天野酶制品株式会社 (Amano Enzyme Inc.) 制, “Biozyme M”, 4000U / g), 在 50℃、pH5.0 条件下保持 3 小时后, 通过加热处理使酶失活。将此反应液在搅拌条件下冷却过滤后, 供给吸附树脂柱 (三菱化学株式会社制、Diaion SP-207)。充分水洗吸附树脂柱后, 通入 60 容量%乙醇水溶液, 回收洗脱液。将洗脱液 (β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (3)) 用前述条件进行 HPLC 分析, 算出 mol 比 (%)。由结果可知, 其含有下述组成的 IQC 及 IQC 糖苷的混合物。

表 13

	mol 比 (%)				
	G0	G1	G2	G3	G4 以上
β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (3)	14	20	64	1	1

制备例 11

在用参考制备例 2 得到的 IQC-G(mix) (5) 50L 中, 添加 4g β -淀粉酶 (日本天野酶制品株式会社 (Amano Enzyme Inc.) 制, “Biozyme M”, 4000U / g), 在 50℃、pH5.0 条件下保持 1 小时后, 通过加热处理使酶失活。将此反应液在搅拌条件下冷却过滤后, 供给吸附树脂柱 (三菱化学株式会社制 Diaion HP-20)。充分水洗此吸附树脂柱后, 通入 60 容量%乙醇水溶液, 回收洗脱液。将洗脱液[β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (4)]用前述条件进行 HPLC 分析, 算出 mol 比 (%)。由结果可知, 其含有下述组成的 IQC 及 IQC 糖苷的混合物。

表 14

	mol 比 (%)				
	G0	G1	G2	G3	G4 以上
β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (4)	12	24	43	20	1

制备例 12

在用参考制备例 2 得到的 IQC-G(mix) (5) 50L 中, 添加 15g β -淀粉酶 [日本天野酶制品株式会社 (Amano Enzyme Inc.) 制, “Biozyme M”, 4000U / g], 在 50℃、pH5.0 条件下保持 3 小时后, 通过加热处理使酶失活。将此反应液在搅拌条件下冷却过滤。将所得到的滤液提供给截留分子量 10000 的 UF 膜 (旭化成 Chemicals 公司制、SEP-3053), 回收膜透过液, 将此液再供给截留分子量

1000 的 UF 膜（日本 Pall 株式会社制，Pall Filtron 超滤膜、Nova 系列），制备浓缩液。将此液用水稀释调整成 50L 后，供给吸附树脂柱（三菱化学株式会社制 Diaion SP-207）。充分水洗此吸附树脂柱后，通入 60 容量%乙醇水溶液，回收洗脱液。将此洗脱液[β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (5)]用前述条件进行 HPLC 分析，算出 mol 比(%)。由结果可知，其含有下述组成的 IQC 及 IQC 糖苷的混合物。

表 15

	mol 比 (%)				
	G0	G1	G2	G3	G4 以上
β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (5)	14	19	65	1	1

制备例 13

在用参考制备例 2 得到的 IQC-G(mix) (5) 50 L 中，添加 4g β -淀粉酶（日本天野酶制品株式会社（Amano Enzyme Inc.）制，“Biozyme M”，4000U / g），在 50℃、pH5.0 条件下保持 1 小时后，通过加热处理使酶失活。将此反应液在搅拌条件下冷却后，过滤。将所得到的滤液供给截留分子量 10000 的 UF 膜（旭化成 Chemicals 公司制、SEP-3053）进行膜处理，回收膜透过液，将此液进一步供给截留分子量 1000 的 UF 膜（日本 Pall 株式会社制、Pall Filtron 超滤膜、Nova 系列），制备浓缩液。将此液用水稀释到 50 L 后，供给吸附树脂柱（三菱化学株式会社制、Diaion HP-20）。充分水洗此吸附树脂柱后，通入 60 容量%乙醇水溶液，回收洗脱液。将此洗脱液[β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (6)]用前述条件进行 HPLC 分析，算出 mol 比(%)。由结果可知，其含有下述组成的 IQC 及 IQC 糖苷的混合物。

表 16

	mol 比 (%)				
	G0	G1	G2	G3	G4 以上
β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (6)	16	25	42	16	1

制备例 17

在用参考制备例 2 得到的 IQC-G(mix) (5) 50 L 中, 添加 1g β -淀粉酶 (Nagase chemteX 株式会社制, β -淀粉酶 #1500, 15000U / g), 在 50℃、pH5.0 条件下保持 3 小时后, 通过加热处理使酶失活。将此反应液在搅拌条件下冷却后, 过滤。将所得到的滤液用减压浓缩器浓缩到 Brix70。在此浓缩液中, 边搅拌边投入 8 倍量的 95 容量%乙醇, 冷却, 使糖等的杂质沉淀后, 回收上清。将此上清[β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (7)]用前述条件进行 HPLC 分析, 算出 mol 比 (%)。由结果可知, 其含有下述组成的 IQC 及 IQC 糖苷的混合物。

表 17

	mol 比 (%)				
	G0	G1	G2	G3	G4 以上
β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (7)	15	21	63	1	0

制备例 15

在用参考制备例 2 得到的 IQC-G(mix) (5) 50 L 中, 添加 5g β -淀粉酶 (Nagase chemteX 株式会社制, β -淀粉酶 #1500, 15000U / g), 在 50℃、pH5.0 条件下保持 1 小时后, 通过加热处理使酶失活。将此反应液在搅拌条件下冷却后过滤。将所得到的滤液用减压浓缩器浓缩到 Brix70。在此浓缩液中, 边搅拌边投入 8 倍量的 95 容量%乙醇, 冷却, 使糖等的杂质沉淀后, 回收上清。将此上清[β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (8)]用前述条件进行 HPLC 分析, 算出 mol

比。由结果可知，其含有下述的组成的 IQC 及 IQC 糖苷的混合物。

表 18

	mol 比 (%)				
	G0	G1	G2	G3	G4 以上
β -淀粉酶处理 IQC-G(mix) (8)	16	24	43	17	0

实验例

实验例 1 血中移行性（口服吸收性）的测定（其 1）

针对用制备例 1 得到的 G0 组分、G1 组分、G2 组分、G3 组分及 G4 组分，测定其口服吸收性。具体地说，将从前一夜断食的 SD 系雄性大鼠（7~9 周龄）30 只分为 5 组（每组 6 只），分别将 G0 组分、G1 组分、G2 组分、G3 组分及 G4 组分按各 $150 \mu\text{mol} / \text{kg}$ 的剂量经口给药。在 0 分钟（给药前）以及给药后 30 分钟、1 小时及 3 小时后，从尾静脉采血，在其中添加肝素，离心分离，从上清中制备肝素血浆样品。分别将所制备的肝素血浆样品中含有的槲皮素·葡萄糖醛酸结合物及槲皮素的浓度分别通过下述条件的 HPLC 计量。且由血浆中槲皮素·葡萄糖醛酸结合物浓度（ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）的曲线下面积及血浆中槲皮素浓度（ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）的曲线下面积算出 AUC（Area under the curve）（0-3hr）（ $\mu\text{g}/\text{ml} \cdot \text{hr}$ ）。且槲皮素·葡萄糖醛酸结合物及槲皮素均是异槲皮苷的生物体内代谢产物。因此，以下实验中根据上述两者的 AUC 的总量评价口服吸收性。

<HPLC 条件>

色谱柱；Develosil C30-UG-5（ $4.6 \times 150 \text{ mm}$ ）

溶剂；A 溶剂：0.05 容量% TFA 水溶液、

B 溶剂：0.05 容量% TFA/ CH_3CN

洗脱；B 溶剂 10 容量% $\rightarrow$ 80 容量% (0-20 min)、B 溶剂 80 容量% $\rightarrow$ 80 容量% (20-25 min)、B 溶剂 80 容量% $\rightarrow$ 10 容量% (25-25.1 min)、B 溶剂 10 容量% (25.1-32 min) 的梯度洗脱

检测；检测波长370 nm处的吸光度
色谱柱温度；40℃。

结果如图2所示。图2表明，根据 IQC 上以 α -1,4 糖苷键结合的葡萄糖残基的数量的不同，其口服吸收性（血中移行性）具有差异。具体地说，与 G0 组分相比，随着 G1 组分、G2 组分、及 G3 组分和 IQC 上以 α -1,4 糖苷键结合的葡萄糖数（n）为 1, 2 及 3 地增加，虽血中移行性（口服吸收性）提高，但葡萄糖数（n）为 4 时，血中移行性（口服吸收性）降低了。也就是说，IQC 上结合的葡萄糖为 3 个、2 个及 1 个的 IQC-G3、IQC-G2 及 IQC-G1，依此顺序吸收性优异，葡萄糖的数量过少（G0）或过多（G4 以上）时，其吸收性均不良。

实验例2 血中移行性（口服吸收性）的测定（其2）

针对用参考制备例1制备的异槲皮苷（IQC）及 IQC-G(mix)以及用制备例2制备的 IQC-G(3-6)组分及 IQC-G(1-3)组分，测定其口服吸收性。

具体地说，将从前一夜断食的 SD 系雄性大鼠（7~9 周龄）24 只分为 4 组（每组 6 只），将分别用参考制备例1制备的 IQC、IQC-G(mix)、用制备例2制备的 IQC-G(3-6)组分或 IQC-G(1-3)组分按各 198 $\mu\text{mol/kg}$ 的剂量经口给药。其后，与实验例1同样制备血浆，将血浆中的槲皮素 葡萄糖醛酸结合物及槲皮素的浓度通过 HPLC 计量。作为对照，对未给药的组也同样计量。

结果如图3所示。图3的a表示投与各样品后血浆中的槲皮素 葡萄糖醛酸结合物浓度（ $\mu\text{g/ml}$ ）的经时变化，图3的b表示投与各样品后血浆中的槲皮素浓度（ $\mu\text{g/ml}$ ）的经时变化。

从图3可知，经口投与 IQC-G(1-3)组分时，不只是 IQC，与经口投与酶处理异槲皮苷[IQC-G(mix)]及 IQC-G(3-6)组分相比，血液中的槲皮素 葡萄糖醛酸结合物浓度及槲皮素浓度均显著升高。

由图3a所示的血浆中的槲皮素 葡萄糖醛酸结合物浓度（ $\mu\text{g/ml}$ ）的曲线下面积及图3b所示的血浆中的槲皮素浓度（ $\mu\text{g/ml}$ ）的曲线下面积，算出的AUC（Area under the curve）（0-3hr）如图4所示。从图4可知，IQC-G(1-3)组分

与 IQC-G(mix) 及 IQC-G(3-6) 组分相比, AUC 上升 1.4~1.5 倍。

实验例 3 血中移行性(口服吸收性)的测定(其 3)

针对用制备例 3 制备的 IQC-G(mix) (2) 及 IQC-G(4-6) 组分, 测定其口服吸收性。具体地说, 将从前一夜断食的 SD 系雄性大鼠(7~9 周龄) 12 只分为 2 组(每组 6 只), 将用参考制备例 1 制备的异槲皮苷及用制备例 1 制备的 IQC-G(4-6) 组分按各 $198 \mu\text{mol} / \text{kg}$ 的剂量分别经口给药。其后, 与实验例 1 同样制备血浆, 将血浆中的槲皮素 葡萄糖醛酸结合物及槲皮素的浓度用 HPLC 计量。且从血浆中的槲皮素 葡萄糖醛酸结合物浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) 的曲线下面积及血浆中的槲皮素浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) 的曲线下面积算出 AUC (Area under the curve) (0-3hr) ($\mu\text{g}/\text{ml} \cdot \text{hr}$)。

结果如图 5 所示。从图 5 可知, 经口给药 IQC-G(4-6) 组分时与经口给药酶处理异槲皮苷[IQC-G(mix)]时相比, 血中的槲皮素 葡萄糖醛酸结合物浓度及槲皮素浓度降低了。

从图 4 及图 5 的结果来看, 与经口给药 IQC-G(mix) 时相比, 经口投与 IQC-G(4-6) 组分时血中的槲皮素 葡萄糖醛酸结合物浓度及槲皮素浓度降低, 经口投与 IQC-G(3-6) 组分时 AUC 无变化, 证实 IQC 上带有 3 个葡萄糖的 IQC-G3 与体内吸收有关。且可证实 IQC 上有 4~6 个葡萄糖的 IQC-G(4-6) 少的槲皮素糖苷组合物及 / 或 IQC 上有 1~3 个葡萄糖的 IQC-G(1-3) 多的槲皮素糖苷组合物, 在经口给药时比以往的酶处理异槲皮苷[IQC-G(mix)]的血中移行性(口服吸收性)高。

实验例 4 抗氧化能的测定

上述实验例 2 中, 测定各样品给药前(0 分钟)、经口给药后 30 分钟、1 小时、及 3 小时采集的血浆的抗氧化能力(FRAP; Ferrous Reducing Activity of Plasma), 评价将 IQC、酶处理异槲皮苷[IQC-G(mix)]、IQC-G(3-6) 组分及 IQC-G(1-3) 组分分别经口给药时在生物体内的有效性。且 FRAP, 根据 Iris 等的

方法 (Iris F F Benzie et al., Analytical Biochemistry 239, 70-76 (1996)), 通过测定铁从 3 价向 2 价的还原能力求出。

具体地说, 在 990 μ l 的 FRAP 试剂 (10mM TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine)、20mM FeCl₃ 6H₂O in 300mM acetate buffer (pH3.6)) 中添加各被检血浆 40 μ l 后, 立刻观测 593nm 的吸光度 4 分钟。作为对照试验, 代替 IQC、IQC 糖苷混合物, 测定经口投与 0.5% 的羧甲基纤维素 (CMC) 的大鼠血浆的抗氧化能力。关于各被检血浆的 FRAP 活性 (μ mol / l), 使用标准物质 FeSO₄ (100~1000 μ M) 制作的校正曲线算出。

结果如图 6 所示。且结果, 以样品经口给药前 (0 分钟) 的 FRAP 活性 (μ mol/l) 值为 100%, 将样品经口给药后 (30 分钟、1 小时、3 小时) 的 FRAP 活性表示为与其相对的相对活性 (%)。如图 6 所示, 血浆的抗氧化能力, 实验例 1 及 2 中体内吸收性最佳的 IQC-G(1-3) 组分与其他的 IQC-G(3-6) 组分、IQC-G(mix) 及 IQC 相比, 显示了显著的高值。

实验例 5 血中移行性 (口服吸收性) 的测定 (其 4)

针对用制备例 4 得到的酶处理异槲皮苷 [样品 1: IQC-G(mix) (3)] 以及样品 3、样品 4 及样品 5, 根据实验例 1 的方法测定口服吸收性。具体地说, 将从前一夜断食的 SD 系雄性大鼠 (7~9 周龄) 24 只分为 4 组 (每组 6 只), 分别将样品 1~3 以各 198 μ mol / kg 的剂量经口给药。其后, 与实验例 1 同样制备血浆, 将血浆中的槲皮素 葡萄糖醛酸结合物及槲皮素的浓度用 HPLC 计量。

由血浆中的槲皮素 葡萄糖醛酸结合物浓度 (μ g/ml) 的曲线下面积及血浆中的槲皮素浓度 (μ g/ml) 的曲线下面积算出 AUC (Area under the curve) (0-3hr) (μ g/ml hr), 结果如图 7 所示。

由此结果可知, 含有占总量的 55mol% 以上且含有 G3 的 IQC-G(1-3)、IQC-G(4 $\leq$) 的总量为 5mol% 以下的样品 4 及样品 5, 与以往的酶处理异槲皮苷 (样品 1) 相比, 显示出显著高的体内吸收性。特别是体内吸收性高的样品 5, 含有占总量的 50mol% 以上的 IQC-G(2-3)。另外, 样品 3 虽含有 G3, IQC-G(4

≡)的总量很少为 10mol%以下,但因 IQC-G(1-3)为总量的 50mol%以下,所以与以往的酶处理异槲皮苷(样品 1)相比,体内吸收性低。

从各种样品的比较可证明以下结论。

(i) 样品 1 及样品 3: 异槲皮苷(IQC)的总量增加时,体内吸收降低。

(ii) 样品 3 及样品 4: 使 β -淀粉酶作用于酶处理异槲皮苷(IQC-G(mix))时,体内吸收增加。

(iii) 样品 3、样品 4 及样品 5: 使 β -淀粉酶作用于 IQC-G(mix)时,体内吸收增加,且进一步使异槲皮苷(IQC)减少时,体内吸收更高。

实验例 6 血中移行性(口服吸收性)的测定(其 5)

对用制备例 5 得到的样品 6、样品 7、样品 8 及样品 9 进行与前述实验例 5 同样的实验,由血浆中的槲皮素-葡萄糖醛酸结合物浓度($\mu\text{g/ml}$)的曲线下面积及血浆中的槲皮素浓度($\mu\text{g/ml}$)的曲线下面积算出 AUC (Area under the curve) (0-3hr) ($\mu\text{g/ml} \cdot \text{hr}$)。

结果如图 8 所示。体内吸收性按样品 6<样品 7<样品 8<样品 9 的顺序增高。由此结果可证明,体内吸收性与 IQC-G3 的总量及 IQC-G(1-3)的总量有关。各样品中 IQC-G3 的总量及 IQC-G(1-3)如下所示。样品 6[G3: 7.8mol%, G(1-3): 45.1mol%]、样品 7[G3: 9.8mol%, G(1-3): 54.4mol%]、样品 8[G3: 13.3mol%, G(1-3): 64.2mol%]、样品 9[G3: 17.3mol%, G(1-3): 79.6mol%]。

实验例 7 血中移行性(口服吸收性)的测定(其 6)

对用制备例 4 得到的酶处理异槲皮苷[样品 1: IQC-G(mix) (3)]及样品 2 进行与前述实验 5 同样的实验,由血浆中的槲皮素-葡萄糖醛酸结合物浓度($\mu\text{g/ml}$)的曲线下面积及血浆中的槲皮素浓度($\mu\text{g/ml}$)的曲线下面积算出 AUC (Area under the curve) (0-3hr) ($\mu\text{g/ml} \cdot \text{hr}$)。结果如图 9 所示。与经口投与样品 1[IQC-G(mix)]相比,经口投与减少了样品 1 中的 IQC 的槲皮素糖苷组

合物的样品 2，其体内吸收性微弱提高。

实验例 8 血中移行性（口服吸收性）的测定（其 7）

对用制备例 6 得到的酶处理异槲皮苷（样品 A）以及样品 B、样品 C 及样品 D，根据实验例 1 的方法测定口服吸收性。具体地说，将从前一夜断食的 SD 系雄性大鼠（7~9 周龄）17 只分为 4 组（每 1 组 3~5 只），分别将样品 A 及 B 用各 $198 \mu\text{mol/kg}$ 的剂量经口给药。其后，与实验例 1 同样制备血浆，将血浆中的槲皮素 葡萄糖醛酸结合物及槲皮素的浓度用 HPLC 计量。

由血浆中的槲皮素 葡萄糖醛酸结合物浓度（ $\mu\text{g/ml}$ ）的曲线下面积及血浆中的槲皮素浓度（ $\mu\text{g/ml}$ ）的曲线下面积算出 AUC（Area under the curve）（0-3hr）（ $\mu\text{g/ml} \cdot \text{hr}$ ），结果如图 10 所示。

由此结果可知，含有占总量 75mol% 以上且含有 G3 的 IQC-G(1-3)、IQC-G(4 $\leq$)的总量为 10mol% 以下的样品 C 及样品 D，与以往的酶处理异槲皮苷[样品 A: IQC-G(mix)]相比，显示出显著高的体内吸收性。特别是体内吸收性高的样品 C，含有占总量 50mol% 以上的 IQC-G(2-3)。另外，虽含有 G3 且含有占总量 50mol% 以上的 IQC-G(1-3)，但也较多含有 IQC-G(4 $\leq$)且总量为 26mol% 的样品 B，与以往的酶处理异槲皮苷（样品 A）相比，体内吸收性低。

图 9 的样品 1 和样品 2、图 10 的样品 A 和样品 B，均是从酶处理异槲皮苷[IQC-G(mix)中]中减少异槲皮苷(IQC)的样品。经口投与样品 2 与经口投与样品 1 相比，其体内吸收性高，但经口投与样品 B 与经口投与样品 A 相比，其体内吸收性低。由此结果可证明，含有 G3 的 IQC-G(4 $\leq$)的总量为 15mol% 以下且 IQC-G(1-3)的总量为 60mol% 以上时，与以往的酶处理异槲皮苷（样品 1 或样品 A）相比，体内吸收增加。

综合图 1 和图 10 的结果，可知对酶处理异槲皮苷[IQC-G(mix)]施行淀粉酶处理等时，IQC-G(4 $\leq$)的总量减少，相应地 IQC-G(1-3)的总量（比例）增加，所以可提高体内吸收性。随着淀粉酶处理的进行，G(4 $\leq$)消失时，G3 的分

解开始，IQC—G3 的总量（比例）减少。于是，在 IQC—G1 的总量及 IQC—G(4 $\leq$)的总量一定的情况下，IQC—G3 的总量越多体内吸收性越高，所以，随着淀粉酶反应的进行体内吸收性降低。

实施例 1

片剂

(重量%)

IQC—G (1-3) 组分 (制备例 1)

18

乳糖

78

蔗糖脂肪酸酯

4

将上述各成分混合均匀，制成 1 粒为 250mg 的片剂。

实施例 2

散剂及颗粒剂

(重量%)

IQC—G (1-3) 组分 (制备例 1)

18

乳糖

60

淀粉

22

将上述各成分混合均匀，制成散剂或颗粒剂。

实施例 3

胶囊剂

(重量%)

明胶

70.0

甘油

22.9

对羟基苯甲酸甲酯

0.15

对羟基苯甲酸丙酯

0.35

水

适 量

合计

100.00%

在上述成分组成的软胶囊剂的囊壳中，通过通常方法充填用实施例 2 制备

的颗粒剂，得到 1 粒为 250mg 的软胶囊。

实施例 4

保健饮料

呈味：DL-酒石酸钠	0.10 g
琥珀酸	0.009 g
甜味：液糖	800.00 g
酸味：柠檬酸	12.00 g
维生素：维生素 C	10.00 g
IQC—G（1-3）组分（制备例 1）	1.80 g
维生素 E	30.00 g
环糊精	5.00 g
香料	15.00 ml
氯化钾	1.00 g
硫酸镁	0.50 g

配合上述成分，加水制成 10 升。制备此保健饮料，使每 1 次的给药剂量为约 250ml。

实施例 5

糖

砂糖	98g
糖稀（Brix75）	91g
IQC—G（1-3）组分（制备例 1）的浓缩液 （Brix40）	75g

充分混合上述的各成分，煮到水分为 2%，制作每 1 粒为 2g 的糖。

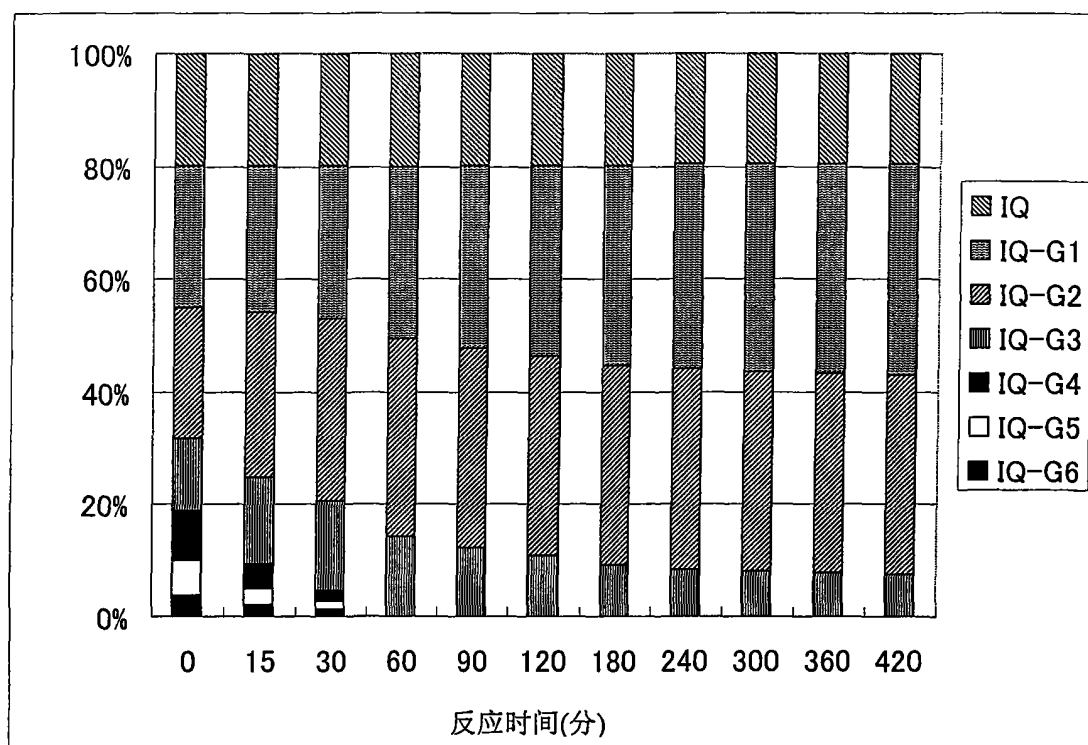


图 1

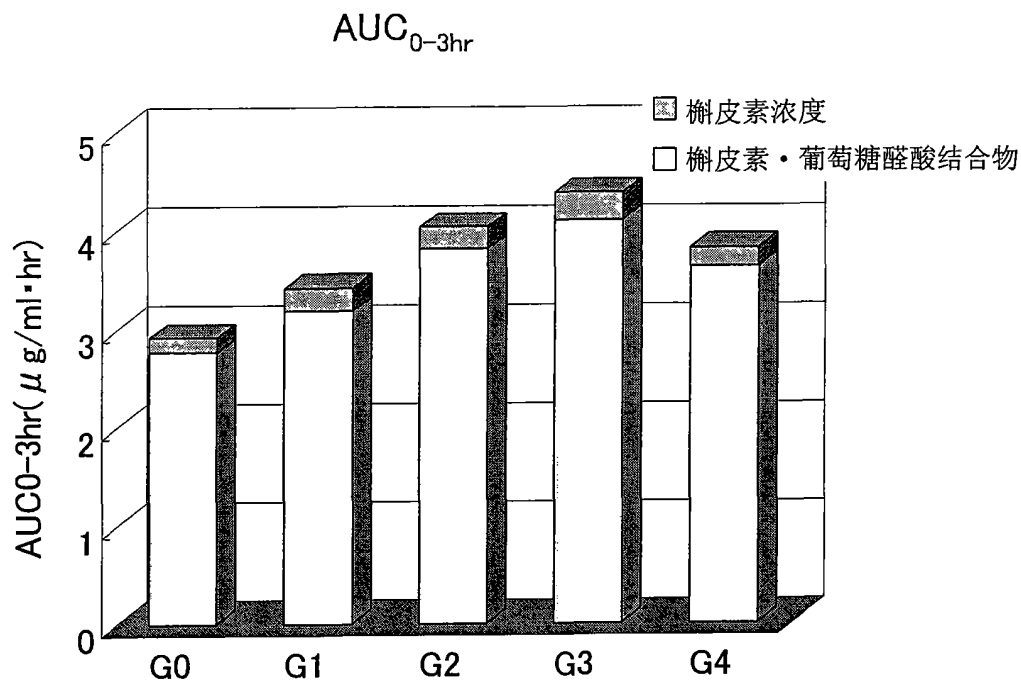


图 2

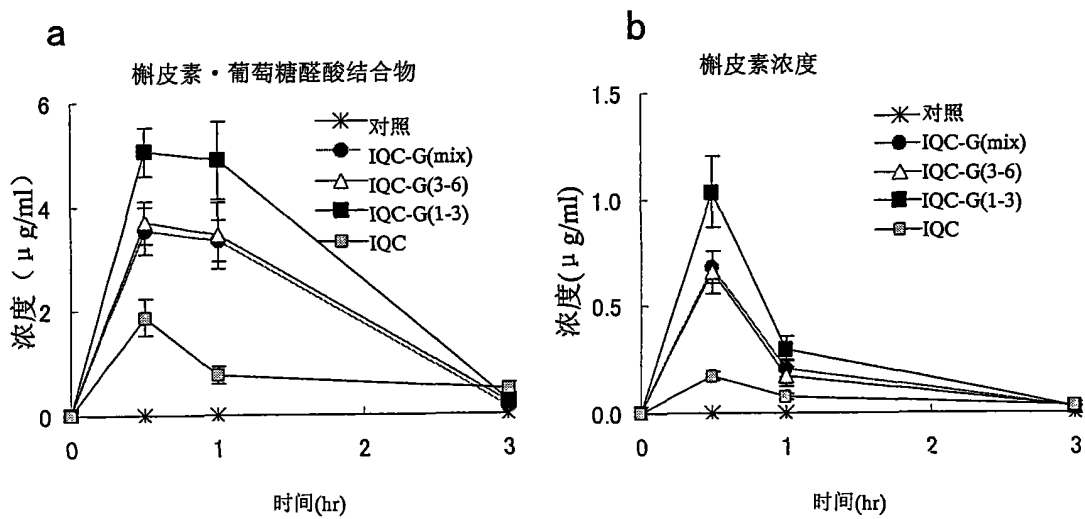


图 3

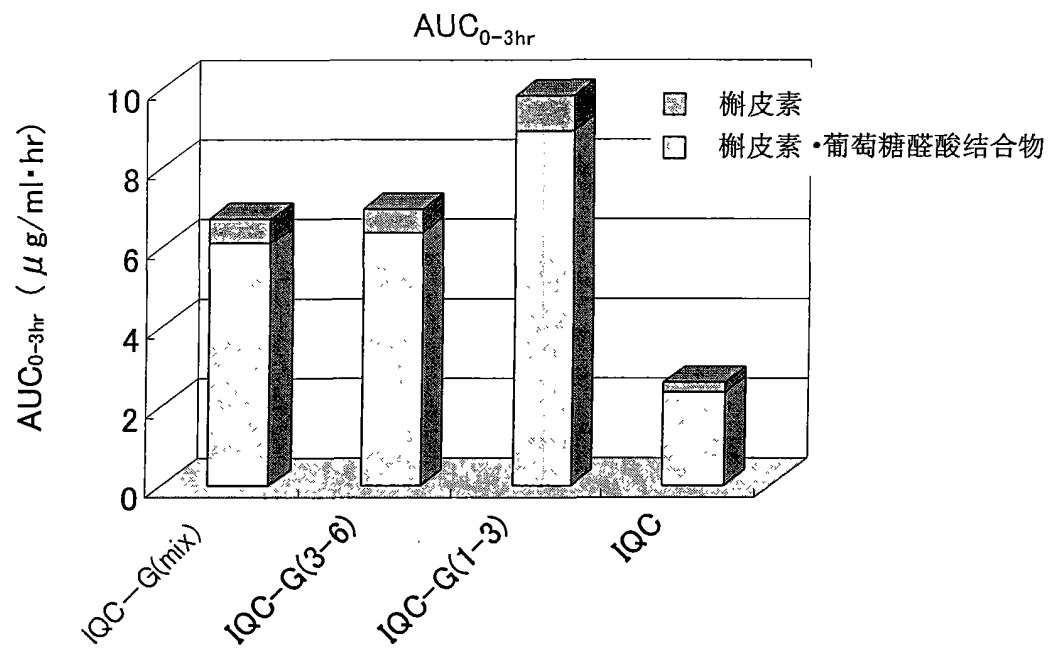


图 4

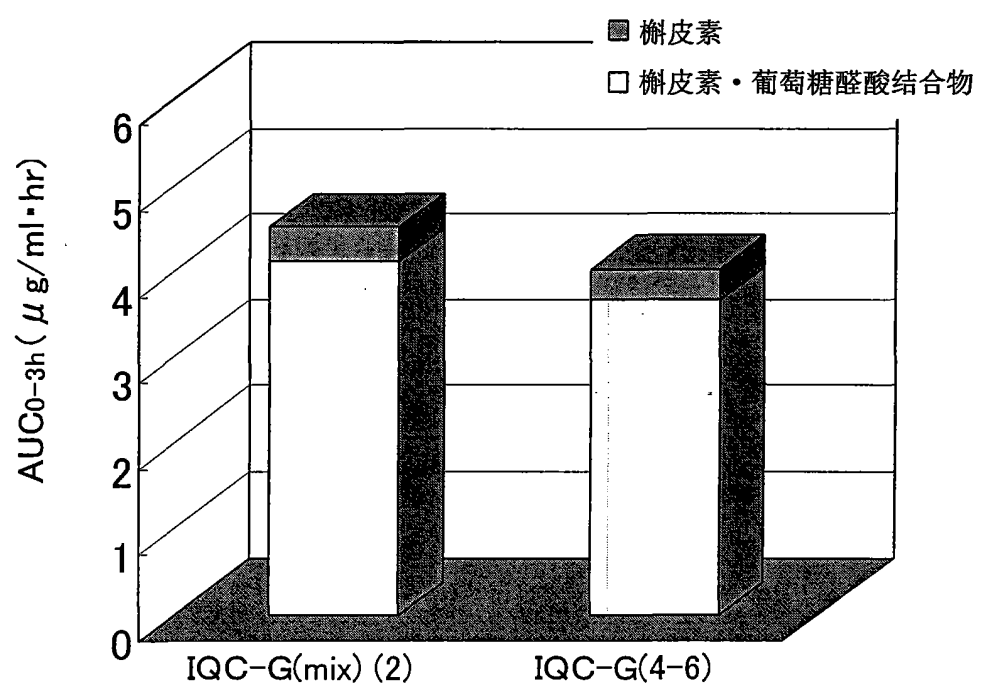


图 5

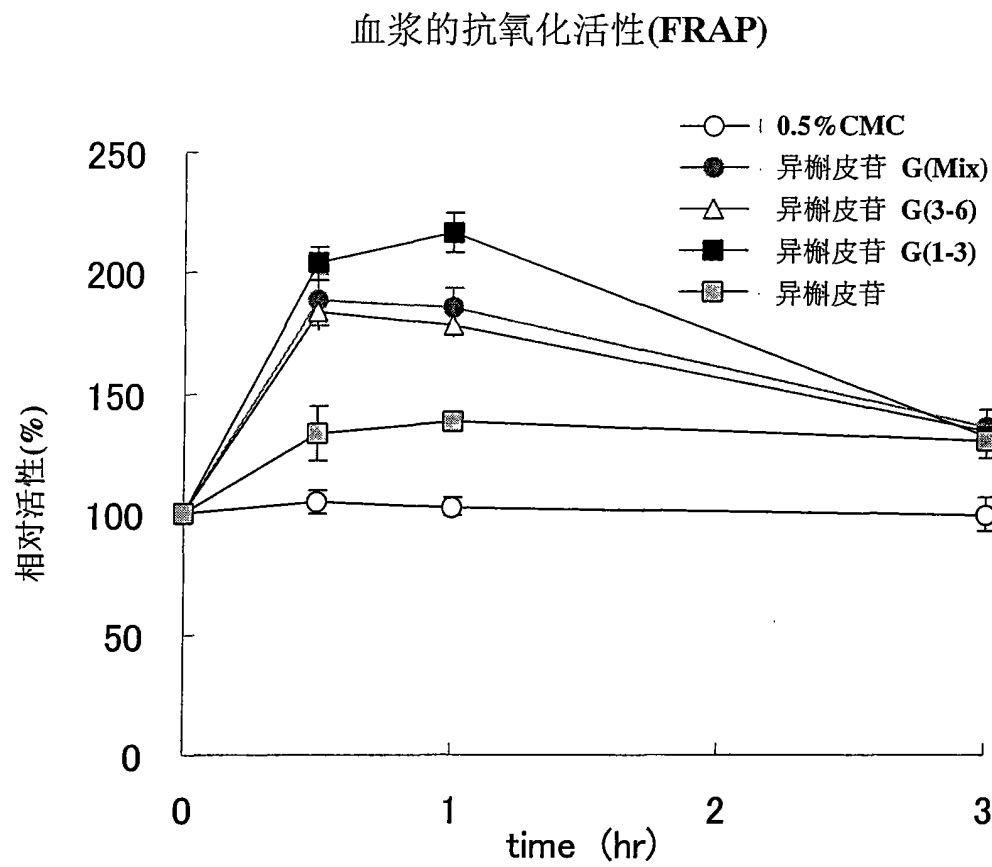


图 6

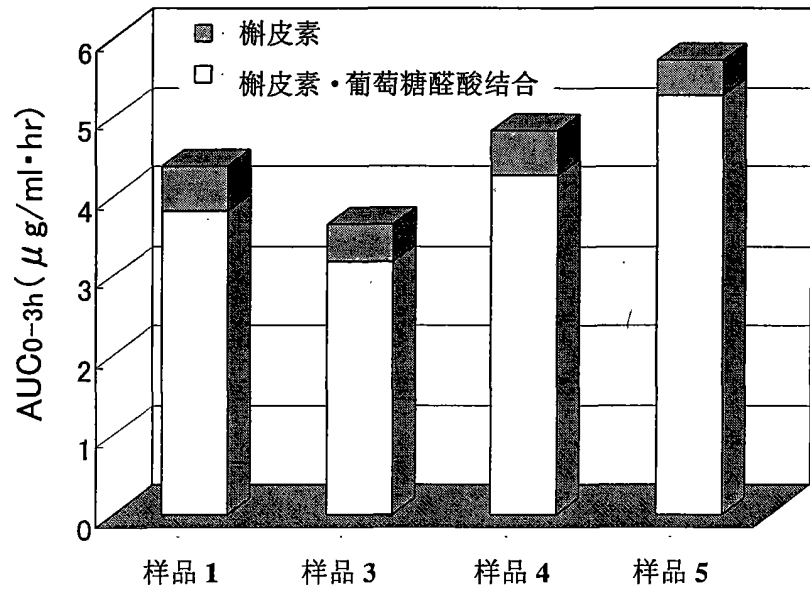


图 7

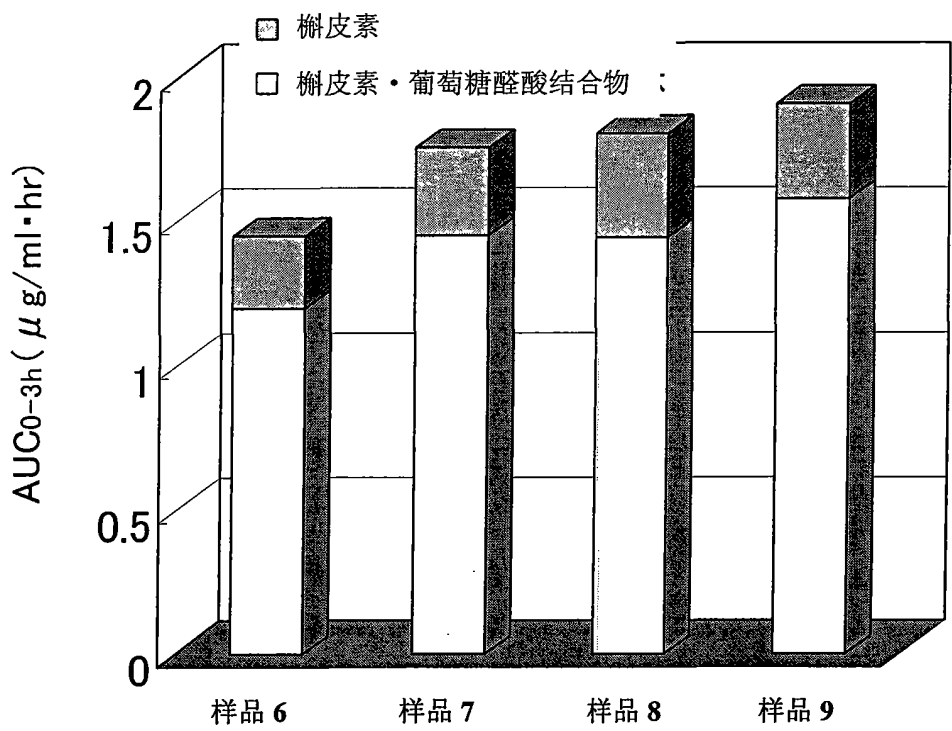


图 8

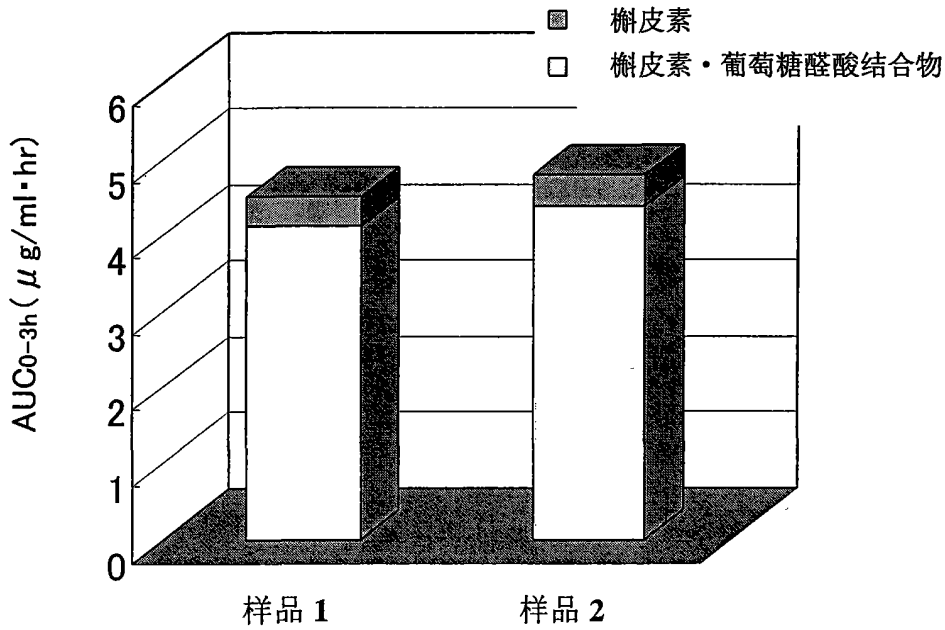


图 9

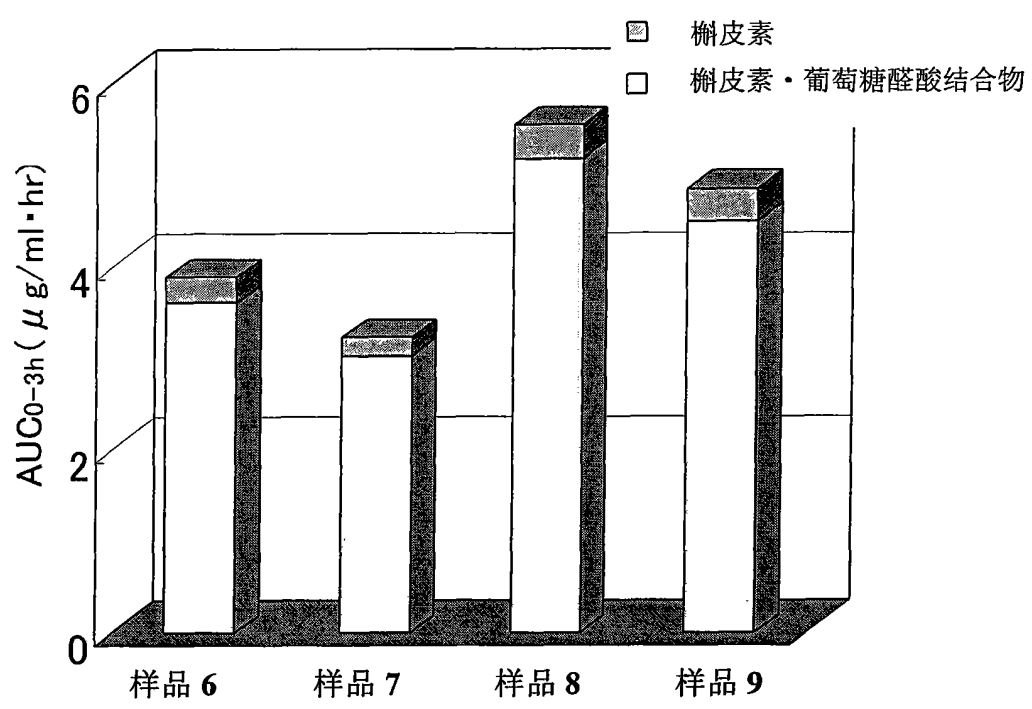


图 10