



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102858950 A

(43) 申请公布日 2013. 01. 02

(21) 申请号 201180017811. 7

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2011. 04. 05

C12N 1/16 (2006. 01)

(30) 优先权数据

2010-088726 2010. 04. 07 JP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 10. 08

(86) PCT申请的申请数据

PCT/JP2011/058652 2011. 04. 05

(87) PCT申请的公布数据

W02011/126030 JA 2011. 10. 13

(71) 申请人 三菱瓦斯化学株式会社

地址 日本东京都

(72) 发明人 高野健太郎 莪山真與

(74) 专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限公司

公司 11322

代理人 龙淳

权利要求书 1 页 说明书 8 页

### (54) 发明名称

保存稳定性优异的含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物及其制造方法

### (57) 摘要

本发明提供一种含有 S-腺苷-L-蛋氨酸和增粘剂的保存稳定性优异的干酵母组合物。通过在培养收集具有 SAME 生产能力的酵母得到的酵母菌体浓缩物中添加增粘剂后进行干燥,能够简便且经济性地制造保存稳定性和机体吸收性优异的高浓度地含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母,因此,能够在市场上提供高浓度地含有水溶性的作为生理活性物质有用的 S-腺苷-L-蛋氨酸、保存稳定性和机体吸收性优异的干酵母组合物。

1. 一种含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物,其特征在于:  
含有 S-腺苷-L-蛋氨酸和增粘剂。
2. 如权利要求 1 所述的含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物,其特征在于:  
所述增粘剂是选自下述(1)~(7)的任一项中的至少 1 种,
  - (1) 选自黄原胶、结冷胶、凝胶多糖、海藻黄原胶、普鲁兰多糖和纳豆菌胶中的来自微生物的增粘剂;
  - (2) 选自瓜尔胶、塔拉胶、刺槐豆胶、罗望子胶和车前子胶中的来自种子的增粘剂;
  - (3) 选自纤维素、甲基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素、淀粉和羧甲酸钠中的来自植物的增粘剂;
  - (4) 选自角叉菜胶、藻酸钠、藻酸和藻酸丙二醇酯中的来自海藻的增粘剂;
  - (5) 选自阿拉伯树胶、黄蓍胶、虫胶和阿拉伯半乳聚糖中的来自树脂的增粘剂;
  - (6) 选自壳聚糖和几丁质中的来自甲壳的增粘剂;和
  - (7) 选自果胶、甘露聚糖、透明质酸、软骨素、琼脂、胶原、白蛋白、玉米醇溶蛋白、酪蛋白和酪蛋白酸钠中的增粘剂。
3. 如权利要求 2 所述的含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物,其特征在于:  
所述增粘剂是选自下述的(1)、(2)和(5)~(7)的任一项中的至少 1 种,
  - (1) 选自黄原胶、结冷胶、凝胶多糖、海藻黄原胶、普鲁兰多糖和纳豆菌胶中的来自微生物的增粘剂;
  - (2) 选自瓜尔胶、塔拉胶、刺槐豆胶、罗望子胶和车前子胶中的来自种子的增粘剂;
  - (5) 选自阿拉伯树胶、黄蓍胶、虫胶和阿拉伯半乳聚糖中的来自树脂的增粘剂;
  - (6) 选自壳聚糖和几丁质中的来自甲壳的增粘剂;和
  - (7) 选自果胶、甘露聚糖、透明质酸、软骨素、琼脂、胶原、白蛋白、玉米醇溶蛋白、酪蛋白和酪蛋白酸钠中的增粘剂。
4. 如权利要求 1~3 中任一项所述的含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物,其特征在于:  
相对于含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物,含有所述增粘剂 0.1~70 重量%。
5. 如权利要求 1~4 中任一项所述的含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物,其特征在于:  
干酵母为属于酵母菌属的酵母。
6. 如权利要求 5 所述的含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物,其特征在于:  
所述属于酵母菌属的酵母为酿酒酵母。
7. 一种含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物的制造方法,其特征在于:  
使用具有 S-腺苷-L-蛋氨酸生产能力的酵母,在由酵母的菌体培养液得到的酵母菌体浓缩物中添加增粘剂后,进行干燥。

## 保存稳定性优异的含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物 及其制造方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及高浓度地含有水溶性的作为生理活性物质有用的 S-腺苷-L-蛋氨酸(以下,记为 SAME)、保存稳定性优异的干酵母组合物及其制造方法。

### 背景技术

[0002] SAME 在机体内广泛存在,是在核酸、神经传导物质、磷脂、激素、蛋白质等合成、代谢中作为各种利用转甲基酶的甲基反应的甲基供给体而扮演重要角色的水溶性生理活性物质。SAME 在人体几乎所有细胞中可见,作为各种生物化学中的共同因子发挥作用,通过甲基转移、硫基转移和氨基丙基转移的 3 个代谢路线被代谢。例如,是软骨维持和脑内物质的生物合成不可缺少的物质。根据近年的 SAME 的功能研究,也报告了对脂肪肝、高脂血症、动脉硬化症、失眠症、酒精性肝炎、老年痴呆症等的治疗效果。这样, SAME 是重要的生理活性物质,在欧美各国作为抑郁症、肝脏疾病和关节炎等的治疗药或健康食品被广泛利用。

[0003] 因此,强烈希望廉价、简便地制造、提供 SAME。目前,作为 SAME 的制造方法,已知有使用含有作为前体物质的 L-蛋氨酸的培养基进行发酵生产的方法;使用从酵母等微生物分离精制得到的 SAME 合成酶(蛋氨酸腺苷基转移酶)、以 5' - 三磷酸腺苷(ATP)和 L-蛋氨酸作为基质、酶合成 SAME 的方法,和利用合成法的方法等。

[0004] 关于酶合成法,是使用从酵母等微生物分离精制得到的 SAME 合成酶(蛋氨酸腺苷基转移酶),以 5' - 三磷酸腺苷(ATP)和 L-蛋氨酸作为基质,酶合成 SAME 的方法,与发酵法相比,虽然该方法有 SAME 的积蓄量多、不需要从菌体提取的 SAME 操作等的优点,但是有酶的制备繁琐、得到的酶活性微弱、必须除去 ATP 分解酶等妨碍物质的问题,还有基质 ATP 极其高价的各种问题,未必能够成为实用的方法。另外,由于近年的基因工程的发展,通过使用克隆得到的 SAME 合成酶基因,该酶的制备变得更加简便,虽然酶制备的问题得到解决,但依然必须将高价的 ATP 作为基质使用等其它实用上的问题还未被解决。

[0005] 另外,由于 SAME 热不稳定,有即使在常温下也容易被分解的性质,因此,在作为医药品、健康食品使用时成为大的障碍。作为其对策,进行了以保存稳定性提高为目的的多种尝试。例如,一般有将以上述制造方法得到的 SAME 组合物通过色谱法等精制后,制成和硫酸、对甲苯磺酸的盐或和丁烷二磺酸的盐,实现使 SAME 稳定化的方法(例如,参照专利文献 1);或者,在精制得到的 SAME 中进行添加物处理,使 SAME 形成组合物而实现稳定化的方法(例如,参照专利文献 1);由于需要许多工夫和费用,因此,作为治疗药和健康食品廉价地制造提供重要的 SAME 是极其困难的。近年来,进行着关于使用将 SAME 以更廉价、精制工序少、具有能够简便地制造 SAME 的生产能力且能够口服摄取的微生物的、含有 SAME 的干燥微生物的研究(例如,参照专利文献 2、非专利文献 1)。但是,现状是,与精制得到的 SAME、SAME 组合物相比,含有 SAME 的干燥微生物的保存稳定性低形成问题。

[0006] 现有技术文献

[0007] 专利文献

- [0008] 专利文献 1:日本特开昭 59-51213 号公报  
[0009] 专利文献 2:国际公开第 2008/090905 号  
[0010] 非专利文献  
[0011] 非专利文献 1:Biochemica et Biophysica Acta, 1573, 105-108, (2002)  
[0012] 非专利文献 2:J of Chromatography B, 863, 94-100 (2008)

## 发明内容

[0013] 发明所要解决的课题

[0014] 本发明的目的在于确立能够以低成本、简便地制造高浓度地含有 SAMe 的保存稳定性优异的干酵母组合物的工艺。

[0015] 用于解决课题的方法

[0016] 为了解决上述课题,本发明的发明人深入地研究了经济地生产高浓度地含有 SAMe、且能够以稳定的状态长时间保存的、性能优异的组合物的方法,结果发现,使用具有 SAMe 生产能力且能够口服摄取的酵母,在菌体内使 SAMe 高浓度地产生积蓄后,以离心分离等分离方法从培养液分离酵母菌体,在所得到的酵母菌体浓缩物中添加增粘剂后,使之干燥,由此,能够简便地收率良好地制造作为高浓度地含有作为目的的 SAMe、且保存稳定性优异的组合物的干酵母,从而完成了本发明。另外,发现本发明的含有 SAMe 的干酵母的组合物,除了保存稳定性优异,机体吸收性也优异,从而完成了本发明。

[0017] 本发明提供:

[0018] (1)一种含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物,含有 S-腺苷-L-蛋氨酸和增粘剂,和

[0019] (2)一种含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物的制造方法,使用具有 S-腺苷-L-蛋氨酸生产能力的酵母,在由酵母的菌体培养液得到的酵母菌体浓缩物中添加增粘剂后,进行干燥。

[0020] 发明的效果

[0021] 本发明的含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物,保存稳定性优异,并且机体吸收性也优异,因此,通过破碎制成粉末状,或根据需要加入其它生理活性成分、赋形剂等添加剂、压缩压片制成片剂状的组合物,或将粉体造粒为颗粒状、将造粒得到的颗粒灌装而进行胶囊化等,能够提供医药、健康食品用的、水溶性的、作为生理活性物质有用的组合物。

[0022] 另外,能够提供以低成本、简便地制造高浓度地含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的保存稳定性优异的组合物、机体吸收性也优异的含有 SAMe 的干酵母组合物的方法。

## 具体实施方式

[0023] 本发明中所使用的酵母种类,只要是具有 SAMe 生产能力且能够口服摄取的酵母即可,例如,可以列举属于酵母菌属的酵母。其中,酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)更适合。此外,在干酵母中,含有大量 5'-核苷酸、游离氨基酸、具有抗氧化作用且有利于肝功能改善的谷胱甘肽、具有免疫力增强作用、整理肠道作用的  $\beta$ -葡聚糖、食物纤维等有用成分,作为健康食品等被广泛利用。

[0024] 在培养上述酵母时所使用的碳源,只要是酵母能够同化的物质即可,没有特别限

制,例如,可以列举葡萄糖、蔗糖、淀粉、废糖蜜等碳水化合物、乙醇等醇或乙酸等有机酸。只要是酵母能够同化的物质,氮源也没有特别限制,例如,可以列举氨、硝酸、尿素等无机氮化合物、或酵母提取物、麦芽提取物等含有有机氮的化合物。另外,作为无机盐类,可以使用磷酸、钾、钠、镁、钙、铁、锌、锰、钴、铜、钼等的盐。还能够添加参与 SAME 的骨架结构的蛋氨酸、腺嘌呤、腺苷核糖核苷,进行培养。

[0025] 作为培养基,使用含有 L-蛋氨酸的培养基(Shiozaki S., et al., J. Biotechnology, 4, 345-354, (1986))。

[0026] 在作为培养基成分含有蔗糖、酵母提取物、L-蛋氨酸、尿素、甘氨酸、磷酸二氢钾、硫酸镁七水合物、生物素、氯化钙二水合物和微量金属盐的培养基中接种细菌,流动加入蔗糖和 / 或乙醇等碳源,并且进行好氧培养,能够得到含有 SAM 的菌体。

[0027] 培养温度和培养液的 pH 根据所使用的酵母种类而不同,作为培养温度,能够列举 20 ~ 35℃ 的温度,作为培养液的 pH,能够列举 pH4 ~ 7 的范围。

[0028] 另外,在提高菌体内的 SAME 含量中,优选好氧培养。培养槽只要能够进行通气且能够根据需要进行搅拌即可,例如,能够利用机械式搅拌培养槽、空气升降式培养槽和气泡塔型培养槽等。

[0029] 培养基的提供方法,一次性或者分别连续地或间歇地提供碳源、氮源、各种无机盐类、各种添加剂等。例如,蔗糖、乙醇等基质既可以作为与其它培养基成分的混合物向培养槽提供,另外,也可以与其它培养基成分分别独立地向培养槽提供。培养液的 pH 控制可以通过酸、碱溶液进行。作为碱,希望使用作为氮源所使用的氨、尿素、或非氮类碱,例如,使用氢氧化钠、氢氧化钾等,进行 pH 控制。作为酸,使用无机酸,例如,使用磷酸、硫酸、硝酸,或有机酸。此外,也能够使用无机盐类的磷酸盐、钾盐、钠盐、硝酸盐等进行 pH 控制。

[0030] 以这样的条件进行培养,在目标量的 SAME 在酵母菌体中积蓄的阶段,取出培养液,分离酵母菌体。作为分离方法,只要是能够高效地进行菌体的分离和洗净的方法即可,没有特别限制,作为适合的例子,可以列举使用对流型酵母离心分离机和分离膜的超滤装置。

[0031] 接着,在分离得到的酵母菌体的分离浓缩物中添加增粘剂。由此,干酵母中的 SAME 保存稳定性和机体吸收性提高,另外,酵母的干燥工序中的成品率也提高,另外,干酵母独特的臭气也得到掩蔽。作为所添加的增粘剂的量,以相对于含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的干酵母组合物的质量比计,优选为 0.1 ~ 70 质量% 的范围,更优选为 0.4 ~ 70 质量% 的范围,更加优选为 0.7 ~ 70 质量% 的范围。而且,特别优选为 4.5 ~ 70 质量% 的范围。如果低于 0.1 质量%,则干酵母中的 SAME 保存稳定性变得不充分,如果超过 70 质量%,不仅浪费,而且干酵母中的 SAME 保存稳定性显示用量依赖性地下降的倾向。

[0032] 在本发明中,增粘剂是指具有增粘作用、如凝胶化剂那样的能够在食品中添加的各种增粘剂等。

[0033] 具体而言,作为能够使用的增粘剂,可以列举下述(1)~(7),能够从中选择一种以上使用。

[0034] (1) 选自黄原胶、结冷胶、凝胶多糖、海藻黄原胶、普鲁兰多糖和纳豆菌胶中的来自微生物的增粘剂;

[0035] (2) 选自瓜尔胶、塔拉胶、刺槐豆胶、罗望子胶和车前子胶中的来自种子的增粘

剂；

[0036] (3) 选自纤维素、甲基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素、淀粉和羧酸钠中的来自植物的增粘剂；

[0037] (4) 选自角叉菜胶、藻酸钠、藻酸和藻酸丙二醇酯中的来自海藻的增粘剂；

[0038] (5) 选自阿拉伯树胶、黄蓍胶、虫胶和阿拉伯半乳聚糖中的来自树脂的增粘剂；

[0039] (6) 选自壳聚糖和几丁质中的来自甲壳的增粘剂；和

[0040] (7) 选自果胶、甘露聚糖、透明质酸、软骨素、琼脂、胶原、白蛋白、玉米醇溶蛋白、酪蛋白和酪蛋白酸钠中的增粘剂。

[0041] 其中，更优选(1)选自黄原胶、结冷胶、凝胶多糖、海藻黄原胶、普鲁兰多糖和纳豆菌胶中的来自微生物的增粘剂；

[0042] (2) 选自瓜尔胶、塔拉胶、刺槐豆胶、罗望子胶和车前子胶中的来自种子的增粘剂；

[0043] (5) 选自阿拉伯树胶、黄蓍胶、虫胶和阿拉伯半乳聚糖中的来自树脂的增粘剂；

[0044] (6) 选自壳聚糖和几丁质中的来自甲壳的增粘剂；和

[0045] (7) 选自果胶、甘露聚糖、透明质酸、软骨素、琼脂、胶原、白蛋白、玉米醇溶蛋白、酪蛋白和酪蛋白酸钠中的增粘剂。

[0046] 还特别优选(1)选自黄原胶、结冷胶、凝胶多糖、海藻黄原胶、普鲁兰多糖和纳豆菌胶中的来自微生物的增粘剂，和(2)选自瓜尔胶、塔拉胶、刺槐豆胶、罗望子胶和车前子胶中的来自种子的增粘剂。

[0047] 在本发明中所使用的增粘剂，在食品、化妆品、医药品用途中被广泛使用，能够安全地使用。

[0048] 在这样操作进行增粘剂的添加处理后，对酵母菌体的浓缩物，通过利用喷雾干燥器的喷雾干燥法、冷冻干燥法等干燥方法使水分蒸发，制成含有 SAME 的干酵母组合物。

[0049] 作为干燥条件，在喷雾干燥法中，希望在入口温度 210℃ 以下、出口温度 110℃ 以下使之干燥。在冷冻干燥法中，希望在最终塔板温度 30℃ 以下使之干燥。从保存稳定性的观点出发，希望本发明的含有 SAME 组合物的水分含量为 5.0 质量 % 以下。

[0050] 接着，对该干酵母组合物进行破碎，制成粉状，或根据需要，在粉状的干酵母中加入其它生理活性成分、赋形剂等添加剂后，压缩压片，制成片剂状的组合物，还能够进一步包覆其表面。

[0051] 另外，也能够将粉体造粒为颗粒状、将粉体、造粒得到的颗粒灌装而进行胶囊化等。

[0052] 实施例

[0053] 以下，利用实施例和比较例更具体地说明本发明，但本发明不受这些例子限定。

[0054] 实施例 1 ~ 4

[0055] (a) 酵母菌体的培养

[0056] 根据如上所述的公知的培养法，在含有 L- 蛋氨酸的培养基(Shiozaki S., et al., J. Biotechnology, 4, 345-354 (1986))中接种属于酵母菌属的酿酒酵母 IF02346，边以培养温度 27 ~ 29℃ 好氧通气搅拌，边培养 6 日。其结果，得到 18L 菌体浓度 3.5wt%、SAME 含量 205mg/g 一干酵母的酵母菌体培养液。

[0057] (b) 酵母菌体的收集

[0058] 用连续旋转型离心分离器(日立 HIMAC CENTRIFUGE CR10B2)处理 18L 上述酵母菌体培养液,得到 3.4kg 液状酵母菌体浓缩物,其中,菌浓度以干燥物换算,相当于 18 质量%。

[0059] (c) 向酵母菌体浓缩物添加增粘剂

[0060] 在上述 3.4kg 酵母菌体浓缩物中,以相对于该酵母浓缩物中的 SAME 的质量比为 0.02、0.2、2.2、11.1 倍量地加入黄原胶,在室温搅拌混合 30 分钟,得到添加了黄原胶的酵母菌体浓缩物。

[0061] (d) 干酵母的制造

[0062] 在冷冻干燥器(日本真空技术株式会社生产)的冷冻干燥用不锈钢盘中流入添加了上述黄原胶的酵母菌体浓缩物,在 -50℃ 冷冻干燥后,以最终塔板温度 25℃ 的条件冷冻干燥 36 小时。通过进一步对所得到的冷冻干酵母进行粉碎而得到粉末干酵母。在密闭玻璃容器中装入这样操作得到的粉末干酵母,在 40℃、RH75% 的加速试验条件下进行保存稳定性试验。在表 1 中表示在 40℃、RH75% 的加速保存稳定性试验的结果。此外,对于 SAME 残留率,通过使用高氯酸的公知方法从含有 SAME 的干酵母提取 SAME,通过使用液相色谱的比较定量法实施。对于保存后有无臭气,由 5 名参加者的感官检查求出。感官检查的评价方法为,5 名参加者全部认为无异臭时记为“○”,5 名中 1~2 名认为有异臭时记为“△”、5 名中 3 名以上认为有异臭时记为“×”。

[0063] 本发明中的 SAME 测定方法,使用以下条件的液相色谱。

[0064] 所使用的分析条件:

[0065] 柱:Nacalai (nacalai tesque) COSMOSIL  $\Phi$  4.6 $\times$ 100mm

[0066] 洗脱液:0.2M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  水溶液 / 甲醇 =95/5

[0067] 流速:0.7mL/min,检测器:UV (260nm)

[0068] SAME 保持时间:约 150 秒

[0069] 实施例 5~8

[0070] 在酵母菌体浓缩物中使用凝胶多糖,与实施例 1 同样处理,得到粉末干酵母。在表 1 中表示所得到的粉末干酵母中的 SAME 含量、质量、以及所得到的含有 SAME 的干酵母在密闭玻璃容器中在 40℃、RH75% 的加速条件下的保存稳定性试验的结果、感官检查的结果。

[0071] 实施例 9

[0072] 在酵母菌体浓缩物中,相对于该酵母浓缩物中的 SAME 的质量比为 0.2 倍量地加入瓜尔胶,除此以外,与实施例 1 同样地处理,得到粉末干酵母。在表 1 中表示所得到的粉末干酵母中的 SAME 含量、质量、以及所得到的含有 SAME 的干酵母在密闭玻璃容器中在 40℃、RH75% 的加速条件下的保存稳定性试验的结果、感官检查的结果。

[0073] 实施例 10

[0074] 在酵母菌体浓缩物中,相对于该酵母浓缩物中的 SAME 的质量比为 0.2 倍量地加入罗望子胶,除此以外,与实施例 1 同样地处理,得到粉末干酵母。在表 1 中表示所得到的粉末干酵母中的 SAME 含量、质量、以及所得到的含有 SAME 的干酵母在密闭玻璃容器中在 40℃、RH75% 的加速条件下的保存稳定性试验的结果、感官检查的结果。

[0075] 实施例 11

[0076] 在酵母菌体浓缩物中,相对于该酵母浓缩物中的 SAME 的质量比为 0.2 倍量地加

入结冷胶,除此以外,与实施例 1 同样地处理,得到粉末干酵母。在表 1 中表示所得到的粉末干酵母中的 SAMe 含量、质量、以及所得到的含有 SAMe 干酵母在密闭玻璃容器中以 40℃、RH75% 的加速条件下的保存稳定性试验的结果、感官检查的结果。

[0077] 比较例 1

[0078] 除了在酵母菌体浓缩物中不添加黄原胶以外,与实施例 1 同样处理,得到粉末干酵母。在表 1 中表示所得到的粉末干酵母中的 SAMe 含量、质量、以及所得到的含有 SAMe 的干酵母在密闭玻璃容器中以 40℃、RH75% 的加速条件下的保存稳定性试验的结果、感官检查的结果。

[0079] 比较例 2

[0080] 在酵母菌体浓缩物中,相对于该酵母浓缩物中的 SAMe 的质量比为 2.2 倍量地加入海藻糖,除此以外,与实施例 1 同样地处理,得到粉末干酵母。在表 1 中表示所得到的粉末干酵母中的 SAMe 含量、质量、以及所得到的含有 SAMe 的干酵母在密闭玻璃容器中以 40℃、RH75% 的加速条件下的保存稳定性试验的结果、感官检查的结果。

[0081] [表 1]

[0082]

|        | 添加物  | 相对干酵母组合物的添加物质量 (质量%) | 相对干燥前溶液的添加量 (质量%) | 试验开始时的干酵母中的 SAMe 含量 (质量%) | 保存稳定性试验<br>SAMe 残留率 (%) |       |       | 60 日后有无异臭* |
|--------|------|----------------------|-------------------|---------------------------|-------------------------|-------|-------|------------|
|        |      |                      |                   |                           | 30 日后                   | 45 日后 | 60 日后 |            |
| 比较例 1  | 无    | 0.0                  | 0.0               | 14.5%                     | 5.8%                    | 0.0%  | 0.0%  | ×          |
| 实施例 1  | 黄原胶  | 0.48                 | 0.1               | 16.1%                     | 60.1%                   | 46.4% | 28.1% | △          |
| 实施例 2  | 黄原胶  | 4.6                  | 1.0               | 12.3%                     | 99.6%                   | 99.6% | 99.5% | ○          |
| 实施例 3  | 黄原胶  | 32.0                 | 10.0              | 11.9%                     | 99.7%                   | 99.7% | 99.7% | ○          |
| 实施例 4  | 黄原胶  | 68.6                 | 50.0              | 5.2%                      | 99.8%                   | 99.8% | 99.7% | ○          |
| 实施例 5  | 凝胶多糖 | 0.48                 | 0.1               | 15.9%                     | 58.8%                   | 44.5% | 25.1% | △          |
| 实施例 6  | 凝胶多糖 | 4.6                  | 1.0               | 13.3%                     | 94.9%                   | 94.7% | 94.4% | ○          |
| 实施例 7  | 凝胶多糖 | 32.0                 | 10.0              | 11.6%                     | 99.8%                   | 99.8% | 99.7% | ○          |
| 实施例 8  | 凝胶多糖 | 68.6                 | 50.0              | 5.1%                      | 99.8%                   | 99.8% | 99.8% | ○          |
| 实施例 9  | 瓜尔胶  | 4.6                  | 1.0               | 9.1%                      | 99.7%                   | 99.7% | 99.6% | ○          |
| 实施例 10 | 罗望子胶 | 4.6                  | 1.0               | 14.6%                     | 92.8%                   | 92.5% | 92.3% | ○          |
| 实施例 11 | 结冷胶  | 4.6                  | 1.0               | 12.2%                     | 99.7%                   | 99.6% | 99.5% | ○          |
| 比较例 2  | 海藻糖  | 32.0                 | 10.0              | 12.5%                     | 10.4%                   | 0.0%  | 0.0%  | ×          |

[0083] \* 感官检查: × : 有异臭, △ : 稍有异臭, ○ : 无异臭

[0084] 实施例 12 ~ 19

[0085] 使用 200L 培养槽,相对于固体份浓度 18.2 质量%的含有 SAMe 的酵母浓缩液 (SAMe 含量 3.7 质量%),使添加物的量为 1 质量%,作为添加物,添加 κ-角叉菜胶(实施例 12)、黄原胶(实施例 13)、瓜尔胶(实施例 14)、罗望子胶(实施例 15)、凝胶多糖(实施例 16)、结冷胶(实施例 17)、藻酸(实施例 18)、CEOLUS ST-02 (结晶纤维素)(实施例 19),测定冷冻干燥后的回收率、SAMe 含量(质量%) 在 40℃、30 日、60 日后的 SAMe 残留率。

[0086] 实施例 12 ~ 19 的详细实施例条件如下所述。

[0087] (a) 酵母菌体的培养

[0088] 以与实施例 1 同样的条件培养,得到 120L 菌体浓度 3.5 质量%、SAMe 含量 201.5mg/g-干酵母的酵母菌体培养液。

[0089] (b) 酵母菌体的收集

[0090] 以连续旋转型离心分离器(日立HIMAC CENTRIFUGE CR10B2)处理120L上述酵母菌体培养液,得到23.4kg液状酵母菌体浓缩物,其中,菌浓度以干燥物换算,相当于18质量%。

[0091] (c) 向酵母菌体浓缩物添加增粘剂

[0092] 在上述23.4kg酵母菌体浓缩物中,以相对该酵母浓缩物中的SAmE的质量比为1.0倍量地加入上述实施例12~19的增粘剂,在室温搅拌混合30分钟,得到添加了实施例12~19的增粘剂的酵母菌体浓缩物。

[0093] (d) 干酵母的制造

[0094] 在冷冻干燥器(日本真空技术株式会社生产)的冷冻干燥用不锈钢盘中流入添加了实施例12~19的增粘剂的酵母菌体浓缩物,以-50℃冷冻干燥后,以最终塔板温度25℃的条件冷冻干燥36小时。通过进一步对所得到的冷冻干酵母进行粉碎而得到粉末干酵母。在密闭玻璃容器中装入这样操作得到的粉末干酵母,在40℃、RH75%的加速试验条件下进行保存稳定性试验。在表2中表示在40℃、RH75%的加速保存稳定性试验的结果。此外,SAmE残留率以上述方法测定。另外,关于对含有SAmE的酵母浓缩液的添加物的混合情况,通过目测观察分散状况来评价。在表2中汇总表示添加物的混合状况、冷冻干燥后的回收率、形状、干燥后SAmE含量(质量%)、在40℃30日、60日后的SAmE残留率的结果。

[0095] [表2]

|        | 添加物   | 相对干燥前<br>浓缩液的<br>添加量<br>(质量%) | 添加物<br>的混合<br>情况* | 干燥<br>后的<br>回收率 | 干燥<br>后的<br>形状 | 干燥后的<br>SAmE<br>含量<br>(质量%) | 保存稳定性试验    |       |
|--------|-------|-------------------------------|-------------------|-----------------|----------------|-----------------------------|------------|-------|
|        |       |                               |                   |                 |                |                             | SAmE残留率(%) |       |
|        |       |                               |                   |                 |                |                             | 30日后       | 60日后  |
| [0096] | 比较例1  | 无                             | —                 | 97%             | 粉状             | 14.4%                       | 6.0%       | 0.0%  |
|        | 实施例12 | κ-角叉菜胶                        | ○                 | 97%             | 粉状             | 14.0%                       | 70.1%      | 58.5% |
|        | 实施例13 | 黄原胶                           | △                 | 98%             | 粉状             | 12.3%                       | 99.5%      | 99.3% |
|        | 实施例14 | 瓜尔胶                           | ○                 | 98%             | 粉状             | 9.1%                        | 99.6%      | 99.5% |
|        | 实施例15 | 罗望子胶                          | ○                 | 97%             | 粉状             | 14.6%                       | 93.1%      | 92.2% |
|        | 实施例16 | 凝胶多糖                          | △                 | 96%             | 胶状             | 13.3%                       | 95.0%      | 94.1% |
|        | 实施例17 | 结冷胶                           | △                 | 96%             | 胶状             | 12.2%                       | 99.6%      | 99.4% |
|        | 实施例18 | 藻酸                            | △                 | 98%             | 粉状             | 16.1%                       | 69.5%      | 54.0% |
|        | 实施例19 | CEOLUS ST-02<br>(结晶纤维素)       | ○                 | 98%             | 粉状             | 16.8%                       | 76.8%      | 64.0% |

[0097] \*:感官检查:○:均匀分散,△:几乎均匀分散

[0098] 比较例3

[0099] 除了在不含L-蛋氨酸的培养基中进行培养以外,与实施例1同样处理,得到粉末干酵母。所得到的粉末干酵母中不含SAmE。使用该粉末干酵母进行以下的实验。

[0100] 性能评价的试验例1~5、比较性能试验的评价例1、2

[0101] 对实施例2、6、9、10、11、比较例1和比较例3中得到的干酵母,与文献记载的方法(非专利文献2)同样地使用SD系大鼠(雄性,8周龄,动物数:各组n=3),将机体吸收性试验作为性能评价的试验例1~5、比较性能试验的评价例1、2进行。

[0102] 吸收性试验使用非专利文献2(J ofChromatography B, 863, 94-100 (2008))的方法进行。对大鼠的干酵母投与量,以按SAmE计为300mg/kg一大鼠的投与量,以干酵母分散于蒸馏水的状态对鼠进行口服投与,收集口服投与后0.5、2、3、5小时后的大鼠血液,血液迅速通过离心分离进行血浆成分的分离,使用高速液相色谱(HPLC),通过LC-MS-MS法(液相色谱和质谱联用技术,Liquid chromatography coupled with mass spectrometry),

以下述条件分析使用了高氯酸的 SAME 成分的提取物。其结果,各干酵母在口服投与 2 小时后血浆中 SAME 浓度都是最高。在表 3 中表示各干酵母在口服投与 2 小时后机体吸收性试验结果。根据表 3,所有试验例中,都确认了添加了增粘剂的干酵母的机体吸收性比作为评价例 1 所示的不进行添加处理的比较例 1 的干酵母时提高。

[0103] 此外,机体吸收性试验中所使用的分析仪器、条件如下所述。

[0104] LC-MS-MS 法

[0105] LC-MS-MS 装置:Thermo 公司生产 Accela,LTQ orbitrap Discovery

[0106] HPLC 条件

[0107] 柱:GL Sciences 公司生产,Intersil ODS-3 (4.6mm×150mm)

[0108] 流速:0.5mL/min,柱温箱:40℃,检测器:UV (260nm),SAME 保持时间:约 145 秒,注入量:10 μL

[0109] 洗脱液:2mmol/L 七氟丁酸水溶液:乙腈=30:70

[0110] MS 条件

[0111] 离子源:ESI

[0112] 离子极性模式:正离子

[0113] 扫描模式类型:FT 全扫描

[0114] 分辨率:30000

[0115] 质量范围:m/z 360-410

[0116] [表 3]

|        | 来自于<br>酵母的<br>实施例等 | 添加物      | 相对干燥前<br>酵母组合物的<br>添加物<br>(质量%) | 相对干燥前<br>溶液的<br>添加物<br>(质量%) | 试验开始时的<br>干酵母中的<br>SAME 含量<br>(质量%) | 口服 2 小时后的<br>血浆中<br>SAME 浓度<br>(μg/ml) |
|--------|--------------------|----------|---------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------|
| [0117] | 评价例 1              | (比较例 1)  | 无                               | 0.0                          | 0.0                                 | 14.5%                                  |
|        | 评价例 2              | (比较例 3)  | 无                               | 0.0                          | 0.0                                 | 0.0%                                   |
|        | 试验例 1              | (实施例 2)  | 黄原胶                             | 4.6                          | 1.0                                 | 12.3%                                  |
|        | 试验例 2              | (实施例 6)  | 凝胶多糖                            | 4.6                          | 1.0                                 | 13.3%                                  |
|        | 试验例 3              | (实施例 9)  | 瓜尔胶                             | 4.6                          | 1.0                                 | 9.1%                                   |
|        | 试验例 4              | (实施例 10) | 罗望子胶                            | 4.6                          | 1.0                                 | 14.6%                                  |
|        | 试验例 5              | (实施例 11) | 结冷胶                             | 4.6                          | 1.0                                 | 12.2%                                  |

[0118] 工业上的可利用性

[0119] 通过使用本发明的组合物,作为含有 S-腺苷-L-蛋氨酸的保存稳定性优异的组合物以及机体吸收性优异的组合物,能够作为医药和健康食品用的生理活性物质有效地利用。

[0120] 本发明的制造方法能够以低成本简便地制造高浓度地含有 S-腺苷-L-蛋氨酸、保存稳定性优异的组合物。的方法利用。