

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A23L 1/30 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03808902.5

[45] 授权公告日 2009 年 7 月 22 日

[11] 授权公告号 CN 100515229C

[22] 申请日 2003.3.11 [21] 申请号 03808902.5

[30] 优先权

[32] 2002.3.11 [33] JP [31] 112687/2002

[32] 2002.10.24 [33] JP [31] 309152/2002

[86] 国际申请 PCT/JP2003/002850 2003.3.11

[87] 国际公布 WO2003/075686 日 2003.9.18

[85] 进入国家阶段日期 2004.10.20

[73] 专利权人 三得利株式会社

地址 日本大阪

[72] 发明人 阿部圭一 饭野妙子 藤居亘

諏访芳秀

[56] 参考文献

JP-9208461A 1997.8.12

“亚麻木脂素的开发研究”. 刘大川等.
中国油脂, 第 26 卷第 6 期. 2001

审查员 张 颖

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 王 健

权利要求书 1 页 说明书 16 页 附图 4 页

[54] 发明名称

SDG 的制法及其配合饮食物

[57] 摘要

本发明提供用于制造已知作为具有女性激素类活性的肠内酯、以及肠二醇等前体 SDG (secoisolariciresinol diglycoside) 的方法、以及通过配合 SDG 可以制造对女性激素紊乱带来的各种症状, 例如更年期障碍、骨质疏松症、高血脂症、高血压症、肥胖、抑郁症和发热等有效的食品 and 饮料。

1. SDG 高含有物的制造方法，其特征是用碱性醇提取含有开环异落叶松树脂酚二糖甙 SDG 的植物原料。
2. 权利要求 1 所述 SDG 高含有物的制造方法，其中含有 SDG 的植物原料是亚麻种子。
3. 权利要求 2 所述 SDG 高含有物的制造方法，其中亚麻种子是脱脂亚麻糟。
4. 权利要求 1 至 3 任一项所述的含有 SDG 的组合物的制造方法，其中醇浓度为 30 至 100 % (v/v)。
5. 权利要求 1 至 3 任一项所述的含有 SDG 的组合物的制造方法，其中碱性醇是含有 0.05N ~ 2N 碱的醇。
6. 权利要求 4 所述的含有 SDG 的组合物的制造方法，其中碱性醇是含有 0.05N ~ 2N 碱的醇。

SDG 的制法及其配合饮食食物

技术领域

本发明涉及到用于制造已知作为具有女性激素样活性的肠内酯（enterolactone）、以及肠二醇（enterodiols）等前体的木脂素化合物之一的 SDG（开环异落叶松树脂酚二糖甙，secoisolariciresinol diglycoside，参照图 1）的方法、以及通过配合 SDG 可以制造对女性激素紊乱引起的各种症状，例如更年期障碍、骨质疏松症、高血脂症、肥胖、抑郁症等治疗有效的食品和饮料。

背景技术

更年期障碍认为是由于闭经期到来雌激素下降造成激素平衡紊乱为原因的诸症状，而且是直至闭经期的数年间持续的症状。作为更年期特有的症状已知有抑郁症、发热等。另外，过了更年期，到了闭经，作为伴随闭经的症状，可举出骨质疏松症、高血脂症、高血压症、肥胖、抑郁症等。

无论哪一种症状对健康维持都带来很大影响，所以期盼合适的应对方法。作为治疗法，有时选择分别针对骨质疏松症、高血脂症、高血压症、肥胖、抑郁症等的各别治疗方法，这些方法中认为有效的是 HRT，即激素疗法。症状即使有很多，通过摄入女性激素，大多会显著得到改善。

然而，在 HRT 中也存在着乳腺癌、子宫癌等致癌性危险以及由于疑似生理引起的出血等问题。有关致癌性，认为通过并用孕酮就几乎可以消除，但致癌性的反映根深蒂固、而且合并出血问题等，仍坚持使用 HRT 的例子可以说期待的那么大的效果不多。

如果通过食品获得具有与 HRT 匹敌的效能，容易想象到会产生很大的好处。近年来，不用说在日本日本，就是在美国都引起注目的是植物雌激素。

作为植物雌激素的代表是大豆异黄酮，是最近引人注目的食品原料。大豆异黄酮作为表现出女性激素样作用的成分已为人们所知，所以获得了很多对女性激素紊乱引起的各种症状，例如更年期障碍、骨质疏松症、高血脂症、肥胖、抑郁症等有效的见解。大豆胚芽提取物中含有的大豆异黄酮是染料木碱（Genistein）、7,4'-二羟基异黄酮（Daidzein）和大豆黄素（Glycitin）等的总称，几乎都是以配糖体存在，被肠内微生物或元化被吸收的物质。

由于大豆异黄酮在结构上与雌激素具有共通的性质，所以预料可以与雌激素受体结合，但据报道实际上对雌激素受体 ER β 具有选择性地结合（Endocrinology 139, 4252（1998））。

植物雌激素其存在很早就知道，除了知道具有很好促进牛下奶等效能，而且也知道如果大量摄取会导致不孕。由此在使用上需要充分注意。要重视人的安全性时，认为最重要的是源于饮食经验的安全性。

日本人与美国人相比，已知子宫癌、乳腺癌以及男性的前列腺癌的发病率极低，同时更年期症状也轻（J.Nutrition 125,757S1995））。血中的异黄酮浓度成了说明这样现象的根据，日本人与美国人相比，确认异黄酮浓度高约 10 倍以上。另外通过有关大豆异黄酮从通过使用培养细胞和动物的试验，获得了对于以抑制乳腺癌、子宫癌的增殖为首，以及通过利用作为闭经模型的卵巢摘出大鼠抑制骨吸收过程而改善骨质疏松，改善伴随闭经的高血脂症，抑制肥胖等很多有效见解。

利用这些见解，期待获得大豆异黄酮改善以更年期为首的很多症状的效果，而且可以判断结论是安全性也高的植物雌激素。

日本人的异黄酮的平均摄取量每天约 20mg。有关积极地推荐摄取异黄酮，以摄取异黄酮为目的食品，（财）日本健康·营养食品协会将称为“含有异黄酮食品”的含有异黄酮的食品中的摄取基准量定为 10~90mg。另外作为特定保健用食品也根据骨吸收抑制作用，直至作为安全而有效能的原料获得厚生劳动省的许可。

已知除了该异黄酮以外，还存在很多称之为植物雌激素的成分。例如蛇麻中含有的异戊二烯基黄烷酮、苜蓿中含有的クメステロール，而

最近引入注目的是亚麻中含有的木脂素化合物。

就地域区别对植物雌激素的摄取进行分析,判明在东洋主要是摄取异黄酮,而在北欧主要摄取木脂素。由于在两个地域乳腺癌的发病率和更年期症状的重症度都下降,来自其他地域的统计也表明都得到了由于摄取植物雌激素而带来的恩惠。

特别是在摄取具有激素作用那样的活性成分时要充分注意,对于异黄酮和木脂素,从已有表现出免疫学上的有用性的见解,异黄酮和木脂素被研究者列为世界的2大植物雌激素。

已经阐明亚麻中含有的木脂素化合物(亚麻木脂素)经肠内细菌变换被变换为肠内酯、以及肠二醇等表现出女性激素样作用的活性成分(Nature 298, 659 (1982))。这里引人注目的方面是含有木脂素的植物原料之中,特别是亚麻种子中含有的SDG等木脂素转换为活性成分的效率已经被トンプソン等人的研究阐明(Flaxseed in Human Nutrition, Chapter 5(p82-98), academic press, AOCS press(1995))。

因此,亚麻木脂素一直引入注目,亚麻本身除了从很早以前的新石器时代开始就被食用之外,从古希腊、罗马、或埃及时代开始一直到现代都被作为食用。然而,亚麻种子直接摄取存在着由于壳硬,即使摄取,其有效成分也难于利用,由于含油率高,所以是高热量食品,含有氰配糖体,以及存在维生素B的拮抗剂等问题。另外,亚麻种子的油由于不饱和脂肪酸的含量多,容易劣化,所以在日本几乎都用作工业用油,到目前为止作为食用还没有引起人们注目。

在我国,在通常的饮食生活中,从豆制品的摄取判断,异黄酮的摄取保持在一定程度的高水平,但要指出的是木脂素型的植物雌激素的摄取量低。然而,亚麻木脂素高含量的食品几乎没有,希望开发解决这些问题的食品原料。

另外,已有将亚麻中含有的木脂素化合物作为食品添加剂利用的报告。在特开平 11-221048 中记载了使用异黄酮、木脂素、皂甙、儿茶素、以及酚酸,减轻或预防头晕、骨质疏松、睡眠障碍、阴道干燥、经前期综合征的方法,作为木脂素类的例子报道了亚麻木脂素。另外在专

利第 306525 号中作为防退色剂公开了木脂素化合物，作为木脂素化合物的例子也报道了 SDG。然而，有关亚麻木脂素的生理作用没有阐明。

另外，有关木脂素的制造方法有关于从亚麻种子提取木脂素的提取法的美国专利第 5,705,618 号。在该专利中记载了醇提取后，进行浓缩，然后再进行酶处理的方法。另外，在日本专利第 3065925 号中，公开了对于从亚麻种子的醇提取物或粗木质素配糖体浓缩物进行酶处理或酸处理的方法。然而，这些制造方法工程复杂，而且在成本方面也存在着改善余地。另外，已知亚麻种子蛋白质含量多，但用这些方法只能得到氨基酸含量低的产物。

发明内容

本发明的目的在于开发已知作为具有女性激素类活性的肠内酯、以及肠二醇等前体的 SDG (secoisolariciresinol diglycoside) 的有效制造方法，将含有 SDG 的新食品原料用于实用。

本发明的另一个目的在于提供包括配合本发明新食品原料的、对女性激素（主要是雌激素）紊乱带来的各种症状，例如更年期障碍、骨质疏松症、高血脂症、高血压症、肥胖、抑郁症和发热等的预防和症状减轻有效的健康食品在内的形态、不管其形式、种类如何的食品和饮料。

本发明人着眼于植物雌激素，进一步就亚麻木脂素的生理作用进行不断研究，结果令人惊奇地发现亚麻木脂素中含有的 SDG 对女性激素（主要是雌激素）紊乱带来的各种症状，例如更年期障碍、骨质疏松症、高血压症、高血脂症、肥胖、抑郁症和发热等治疗有效。

另外，本发明人开发了可有效、而且高收率地制造亚麻种子等中含有的木脂素化合物 SDG 的方法。在本发明中，对含有 SDG 的植物材料、例如亚麻种子或其脱脂残渣用碱性醇进行提取。利用本发明，令人惊奇的是，得知了在用碱性醇进行提取，同时进行水解时，可以以高收率回收木脂素化合物 SDG，而且还可以一并回收来自原料的氨基酸。

如果用以往的提取和水解分别进行的方法，在两个工序之间还需要浓缩工序，事实上需要 3 个工序。与此相反，本发明的方法只通过 1 个工序就可以提取木脂素化合物，SDG 的制造效率非常高。

附图的简单说明

图 1 表示 SDG 的结构式。

图 2 表示抗肥胖效果试验中的体重变化。

图 3 表示抑郁症的改善和与异黄酮的并用效果。

图 4 表示更年期障碍女性的不定的愁诉改善效果。

具体实施方式

作为本发明有效成分 SDG 的制造原料, 可以使用含有木脂素、特别是含有 SDG 的天然物。例如木脂素在大麦、玉米、黑麦、荞麦、小麦等全粒谷物中含量为 2~8mg/kg。据报道在亚麻种子中含有的木脂素相当于全粒谷物的 100 多倍的 800mg/kg, 作为 SDG 的制造原料特别优选。

而作为 SDG 的制造原料, 可以利用将亚麻种子破碎后经己烷等可在食品制造中利用的溶剂脱脂后的产物, 更优选使用工业上从亚麻种子经己烷提取油后的残渣、即使用脱脂亚麻糟合适。这样的脱脂亚麻糟通常被废弃掉或用作家畜饲料, 在食品中还没有被有效利用。

有关从脱脂亚麻糟制造 SDG 的制造方法, 有两点注意的地方。一是亚麻种子中含有的粘性粘多糖的存在, 另一点是木脂素化合物的糖链引起的高分子化。考虑到这些问题之后开发的 SDG 的有效制造方法是与分解同时进行提取的方法。

首先, 关于溶剂可以使用通常提取植物原料时使用的溶剂, 特别希望使用作为食品原料可利用的溶剂。最合适的溶剂是食品用的醇, 例如甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、丁醇。提取中使用的醇需要将浓度调整到不提取粘性粘多糖的浓度, 希望浓度为 30 至 100% (v/v) 的浓度, 例如可以用 50% (v/v) 醇提取。

另外, 用上述浓度不能提取的 SDG 可以通过在碱性条件下进行提取, 通过对糖链进行水解, 提取未提取 SDG, 可以提高提取效率。

由此, 作为在碱性条件下并用水解和提取的方法, 本发明的碱性醇提取法在提高目的成分的回收量的同时也可以简化工序, 所以是工业上有很大优点的方法。另外通过利用碱性醇的提取法与以往方法相比, 从

亚麻种子中含有的蛋白质以氨基酸形式可以更有效提取方面也表明本发明的制造方法是有效的。

针对亚麻糟使用的提取液相对于亚麻糟 1 至 20 倍量合适，对于批量处理，如果是循环型的提取装置，可以用更少量的提取液量即可。

在碱性醇提取工序中使用的碱只要是可以在食品制造中利用的，不用特别选择其种类，例如可以使用 NaOH。

添加的 NaOH 的浓度依赖于处理的亚麻糟的量，从 0.05 至 2N 的 NaOH，最好是从 0.1 至 0.2N。

关于利用碱性醇进行提取可以在比通常醇提取更短的时间内进行，在室温下进行，在 30 分钟至 3 小时、典型的约在 1 小时就完成提取。提取温度如果是通常的装置，希望在醇的沸点以下，例如希望从室温到 70℃ 的温度。如果利用可加压的提取装置，也可以在更高的高温下进行处理。

提取物最终需要进行中和。在中和中使用酸，但希望最好是在食品制造中可以使用的酸，例如醋酸、盐酸等。添加的酸的量为用于中和提取物所必需的量。

碱性醇提取阶段的本发明的 SDG 高含量物，可以从原料回收 1 至 2% SDG。另外作为氨基酸，含有的认为可以消除疲劳、增强体力等的谷氨酸，进入肌肉直接成为能源的缬氨酸、异亮氨酸亮氨酸、等比用以往方法提取的 SDG 高含有物多约 8~10 倍。因此，将含有 SDG 的组合物直接或加工成饮食物的形式或添加到饮食物后摄取时，除了 SDG 的效果外，还有消除疲劳、增强体力等效果。在这样的 SDG 高含有物中，由于几乎不含有氰配糖体，所以脱盐后可以直接用作食品原料。而要提高纯度，可以通过纯化工程也做成高含量的食品原料。作为纯化方法，只要是适用于食品制造的方法可以使用任一种，例如使用活性炭和硅胶、反相树脂（ODS）、以及苯乙烯二苯乙烯类吸附树脂（ダイアイオン HP20、三菱化学生产）、或作为不使用树脂的方法，可以利用 CPC 法（离心液液分离法）、结晶法、或利用对溶剂的溶解性差异的分级法等。

根据目的，通过使用的条件可以将 SDG 的含量从每份固体 10% 提

高到 90% 以上。在特别高纯度样品的制备中可以通过反复进行使用 ODS 的分级用 HPLC 柱色谱法层析获得 SDG。

由于亚麻种子中含有粘性物质，与食品和饮料的配合困难，但利用本发明的制造方法通过分解这样的粘性物质，可以将对维持健康有效的木脂素化合物 SDG 配合到食品和饮料中。

得到的 SDG 高含有物通过通常的减压浓缩法、或喷雾干燥法、冷冻干燥法等进行干燥，优选做成粉末物。

因此，本发明也提供通过本发明的方法提取的新型 SDG 高含有食品原料。通过本发明得到的 SDG 高含有食品原料，SDG 可达到 40 重量%，无色、无臭、无味，对水的溶解性大，因此即使单独作为粉末食品，或混入到炒熟的黄豆面等粉末食品后食用，或作为食品原料添加的形式用于各种食品和饮料的制造。

本发明还提供通过配合 SDG，可以容易摄取应当摄取的量的 SDG 的口服摄取用组合物。

另外还发现配合 SDG 的本发明的食品和饮料特别适合用于预防和减轻女性激素，特别是雌激素紊乱引起的各种症状。本发明的含有 SDG 食品作为 SDG 配合食品可以设定每日可摄取 1mg 至 1000mg，更优选摄取 5mg 至 500mg，特别更优选摄取 10mg 至 250mg。SDG 配合量可以根据食品的利用目的进行选择，在可每日连续摄取形式的食品中利用时，例如也可以为 10mg 至 90mg。另一方面，对于更希望保健用途的场合，也可以配合到例如 500mg。

对于粉末食品或片剂等水分含量低的食品形式、或其他的摄取量少时，可以将 SDG 配合比例提高地进行设定。考虑到根据用途的摄取量的差别，可以开发将 SDG 调整到每单位重量含有例如 0.1% 至 90% 的食品。

而对于以饮料、软罐头食品等为首的水分含量多，本身的摄取量多时，可以根据这些食品减少 SDG 含量，希望每单位重量为 0.001% 至 10% 的配合。

本发明的 SDG 高含有物除了用于一般食品外，也可以在功能性食

品、营养辅助食品等原料中使用。例如，面包、饼干、シリアルバー等固体状食品以及果汁、汤等液体状食品。功能性食品如粉末、颗粒、片剂、软胶囊、硬胶囊、口服液、糖浆等加工形式。这些食品都可以通过通常使用的方法制造。

当制造片剂时，作为赋形剂可以使用任一种纤维素、乳糖、葡聚糖、糊精、玉米淀粉、还原麦芽糖、蔗糖脂肪酸酯等一般使用的赋形剂，但并不限于这些。有时为了防湿可以使用虫胶、カルバナロウ、砂糖等，只要是适当包被的，没有特别限制。此外作为其他的功能性成分也可以配合具有抗氧化作用的原料、例如维生素 E、多酚、钙等矿物质。

另外，从水溶性高，对与味和香配合不会产生很大影响的观点出发也可以在保持保健目的的饮料中利用。作为调味可以采用茶和清凉饮料、饮料剂（也包括粉末饮料）等各种形式。通常饮料形式，可以设定 0.01mg/ml 至 10mg/ml 的推荐配合量。而对于浓缩型饮料，上限配合量可以根据浓缩程度相应地提高。

到目前为止，关于 SDG 和异黄酮的有效性的比较还没有充分的资料。实施这些活性比较试验，可以阐明 SDG 与异黄酮具有同等或其上的效能以及通过将两者组合可以带来更大的效果。组合 SDG 和异黄酮的食品是由本发明首次提供的食品，可以提供对女性激素紊乱引起的各种症状，例如更年期障碍、骨质疏松症、高血脂症、高血压症、肥胖、抑郁症和发热等治疗非常有效的食品和饮料。

异黄酮的配合量可以按照每日能够摄取例如 10 ~ 90mg 那样配合。

实施例

以下，给出实施例对本发明进一步说明。

实施例 1

提取法

以市售的亚麻糟作为原料，将亚麻糟 1kg 悬浮于 10L 的 50% 乙醇后，添加 400ml 的 4N 的 NaOH。边搅拌，边将温度升高到 50℃，提取 1 小时。用醋酸中和后，通过过滤，减压下浓缩得到碱性醇提取物 242g（组合物 1）。

为了比较,制备不添加 NaOH 提取的产物,即将亚麻糟 100g 于 1L 的 50% 乙醇中在 50℃ 下提取 4 小时后,对提取物进行过滤,添加 40ml 的 4N 的 NaOH 后,于 50℃ 下分解处理 4 小时。将其中和后,进行减压浓缩,得到 11.1g 的提取物(组合物 2)。

实施例 2

SDG 分析法、结果

就上述组合物 1、2 通过 HPLC 分析对 SDG 的提取量进行比较。

分析方法使用 ODS 柱(Deverosil 5HG-3, 4.6×50mm, 野村化学公司生产),在 0.1% TFA(三氟乙酸)存在下,流速为 1ml/min、通过在 8 分钟内使乙腈浓度由 10% 增加到 80% 的梯度条件下进行分析。通过检测器于 280nm 波长进行检测,以峰高为基础进行定量分析。

样品溶解于水后进行测定。

结果如表 1 所示。

在本分析条件下,SDG 可以作为 3.8 分钟的保持时间出现的峰检测。

与醇提取物的组合物 2 相比,可以确认在进行碱性醇提取的提取物 2 中其收率高出约 20%。

表 1 利用碱性醇提取法使得回收率上升

	原料	回收固形物	SDG 含量
碱性醇提取法	1kg	242g	15g
醇提取法	100g	11.1g	1.3g

实施例 3

氨基酸分析法、结果

虽然知道亚麻种子中含有很多蛋白质,但预料如果提高醇浓度,难于进行提取。因此,为了研究通过碱性醇处理氨基酸含量是否增高,进行氨基酸分析。分析通过日立氨基酸分析系统 L8800 型高速氨基酸分析仪,使用氨基酸(OPA 法)分析系统进行。

结果如表 2 所示。通过进行碱性醇提取的新的制造方法,用以往方

法只提取的少量氨基酸、特别是认为预期可以消除疲劳、增强体力等的谷氨酸的提取率上升 8.1 倍，而且认为可以进入肌肉直接成为能源的缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸等氨基酸含量上升约 8~11 倍，因此可以确认通过本发明的制造方法可以有效回收这样的有效成分，本发明的制造方法的有效性被确认。

表 2 利用碱性醇提取法使得氨基酸回收率上升

	每 1g 亚麻糟的氨基酸提取量 (mg)			
	谷氨酸	缬氨酸	异亮氨酸	亮氨酸
碱性醇提取法	22	38	33	47
醇提取法	2.7	3.6	4.2	4.3
比较 (倍数)	8.1	10.6	7.9	10.9

实施例 4

HP20 纯化

将实施例 1 得到的组合物 1 的 242g (含有 15gSDG) 溶解于 2L 水中，将他上载到ダイアイオン HP20 (8cmφ×60cm 柱)。用 8L 水洗净后，用 5L 40%乙醇 (v/v) 洗脱。洗脱在流速为 1vvm 下进行。得到的级分 (组合物 3) 有 39g，SDG 含量为 14.3g。

将与组合物 3 同样通过重复进行与实施例 1 上述的操作分别收集得到的 95g (含有 SDG 36.6g) 溶解于 500ml 水中，将其上载到ダイアイオン HP20 (8cmφ×40cm 柱)。用水洗净后，用 10%、15%、20%、40% 乙醇 (v/v) 各 5L 进行阶段方式洗脱。洗脱在流速为 1vvm 下进行。

表 3 给出了分级结果。SDG 用 10% 乙醇几乎没有洗脱下来。接着用 15%、20% 乙醇进行洗脱，结果分别回收到 SDG 14.1g、16.6g。纯度分别为 74.2%、91.0%。再用 40% 乙醇洗脱，结果回收到 SDG 2.9g，纯度为 11.8%。而即使再提高乙醇浓度，也没有 SDG 洗脱出来。

由此结果得出，使用 HP20 可以制备纯度高的 SDG。例如优选醇浓度在 15% 以上乙醇进行洗脱。

将此次的 20% 乙醇洗脱级分 (组合物 4) 供效能试验用。

表 3 利用 HP20 进行分级的归纳

洗脱醇浓度	固形物 (g)	SDG (g)	SDG 含有率 (%)
10% 乙醇	18	1.1	6.1
15% 乙醇	19	14.1	74.2
20% 乙醇	18.25	16.6	91.0
40% 乙醇	24.5	2.9	11.8
合计	79.75	34.7	43.5

实施例 5

效能 1; 对脂质、骨的效果和与异黄酮的并用效果

关于使用更年期模型动物的雌激素样作用的试验

人们都知道闭经后由于伴随着雌激素的降低而破骨细胞的活化使得骨量下降, 引起骨质疏松样症状。另外, 伴随着雌激素的下降, 脂质代谢的平衡破坏, 容易发生高血脂症或高胆固醇血症等症状。如果摘出雌性大鼠的卵巢, 由于雌激素水平下降, 表现出上述那样的症状, 所以作为更年期障碍的模型动物被广泛使用。由于通过 SDG 弥补雌激素的下降, 确认对这些更年期障碍进行抑制的效果, 所以使用卵巢摘出大鼠进行实验。

通过摘出卵巢制作骨质疏松模型大鼠:

对 Wistar 系大鼠 (日本チャールズリバー)、♀、34 只在 6 周龄实施卵巢摘出手术 (OVX), 对同周龄的 9 只实施疑似手术 (Sham), 用大鼠用一般饲料 CE-2 (日本クレア) 进行饲养。2 周后, 将卵巢摘出大鼠分为 4 组 (n=8~9), 分别作为 I~IV 组。作为阳性对象, 设置实施了疑似手术的卵巢非摘出组 (V 组, n=9)。

卵巢摘出大鼠的饲养:

饲料以配合 AIN-93M 的没有添加 Ca 的精制饲料 (オリエンタル酵母工业生产) 作为基本饲料, 使 I 组和 V 组在 4 周内自由摄取。使 II 组摄取大豆异黄酮、III 组摄取组合物 4 (含有 SDG 91%)、使 IV 组摄取在基本饲料中分别添加了 0.1% 的大豆异黄酮 (含有 80%) 和组合

物4的饲料。在饲养结束后测定大鼠的体重后，解剖后进行採血和摘出右脚大腿骨。

骨量下降抑制效果的判定：

由大鼠右脚摘出的大腿骨在除去粘附的组织片后，于100℃下干燥24小时后测定重量。结果发现I组大鼠的每100g重量的大腿骨重量与V组比较显著降低，而II组、III组、IV组与I组比较看到抑制骨重量下降的倾向（表4）。

表4 卵巢摘出大鼠的骨重量

	大腿骨干燥重量 (mg)	
	(每100g体重)	
I组	87.9±1.3	
II组	89.5±1.8	
III组	90.9±2.7	
IV组	93.1±2.6	
V组	112.8±1.4	

脂质代谢改善效果的判定：

从大鼠血液中分离血浆，通过自动分析仪器（日立）测定甘油三酯。在I组看到了甘油三酯值显著上升，但在II组看到了抑制倾向，而在III组和IV组看到了显著的抑制效果（表5）。

表5 卵巢摘出大鼠血中甘油三酯值

	血中甘油三酯	
	(mg/dl)	
I组	50.3±7.5	
II组	38.6±3.5	
III组	32.0±3.2*	
IV组	28.9±3.1**	
V组	24.7±1.9**	

(*: P<0.05,

****： $P < 0.01$ vs I 组)**

由上述试验例表明，SDG 对脂质和骨是有效果的，而且通过与异黄酮组合可以增加其作用，将两者并用是有效的。

实施例 6

效能 2；抗肥胖效果

摘出 7 周龄雌性 Wister 系大鼠卵巢，一日一次用金属制胃探测器将样品强制口服。投给期间为术后第 14 天。各组的 n 数为 8 只。

测定体重，研究闭经后由于食欲提高导致肥胖的效果。对于样品，作为阳性对照使用 17β 雌二醇，而作为比较样品使用大豆异黄酮的主要化合物，即染料木黄酮。另外，SDG 使用组合物 4。

结果如图 2 所示。体重的变化在摄取 SDG 50mg/kg、 17β 雌二醇 (0.02mg/kg) 和染料木黄酮 100mg/kg 时体重增加被抑制。

实施例 7

效能 3；发热的改善和异黄酮的协同效果

使用更年期模型动物的试验

由于闭经后的雌激素急剧降低使得激素的平衡破坏，因自律神经紊乱出现发热等血管运动障碍样的症状。在实验动物中，由于雌大鼠的卵巢摘出，尾巴皮肤温度上升，观察到相当于更年期障碍的发热的症状。使摘出卵巢大鼠摄取 SDG 和大豆异黄酮，测定尾巴皮肤温度。

通过卵巢摘出制作骨质疏松模型大鼠：

对 Wistar 系大鼠（日本チャールズリバー）、♀、41 只在 6 周龄实施卵巢摘出手术，对同周龄的 9 只实施疑似手术，用大鼠用一般饲料 CE-2（日本クレア）进行饲养。1 周后，将卵巢摘出大鼠分为 5 组（n = 7~9），分别作为 I~V 组。作为阳性对象，设置实施了疑似手术的卵巢非摘出组（n = 9）。

卵巢摘出大鼠的饲养：

饲料以配合 AIN-93M 的没有添加 Ca 的精制饲料（オリエンタル酵母工业生产）作为基本饲料，使 I 组、V 组以及卵巢非摘出组在 4 周

内自由摄取。使 II 组摄取大豆异黄酮、III 组摄取 SDG（组合物 4）、使 IV 组摄取在基本饲料中分别添加了 0.1% 的大豆异黄酮和 SDG 的饲料。对于 V 组在试验饲料摄取期间，皮下投给 17β 雌二醇 $1\mu\text{g}/\text{天}$ 。在饲养期间用微小精密温度计 BAT-12R（Physitemp 制造）测定大鼠尾部皮肤温度。虽然由于卵巢摘出大鼠的尾部温度上升，但由于摄取异黄酮和 SDG 温度上升被抑制。该作用由于两者并用变得更显著，表明将两者并用是有效的（图 3）。

效能 4；SDG 和异黄酮对子宫重量的影响

在实施例 7 中，在试验结束后，对大鼠进行剖检，测定子宫重量。由于卵巢摘出，子宫萎缩，重量下降，而投给 17β 雌二醇的 V 组子宫没有看到萎缩，重量与卵巢非摘出组同程度。与此相反，II 组~IV 组与 I 组同程度，没有看到抑制子宫萎缩的作用。

表 6 卵巢摘出大鼠的子宫重量

	子宫重量 (mg)
I 组	93.7 ± 3.9
II 组	95.1 ± 6.4
III 组	105.5 ± 6.8
IV 组	100.7 ± 4.3
V 组	$443.9\pm 28.8^{***}$
卵巢非摘出组	$524.3\pm 71.4^{***}$

***: $P < 0.001$ vs I 组

实施例 8

效能 5；更年期女性的不定的愁诉改善效果

按照常规方法制造含有 3.3% 重量的组合物 4、6.7% 重量的大豆异黄酮、0.5% 重量的维生素 E 的片剂，作为试验用片剂。使诉说伴随闭经带来的更年期特有的不定愁诉的女性 33 名摄取试验用片剂，每日 3 粒（约 600mg），摄取 4 周，依据 Kupperman 更年期指数对各个症状的变化进行征询调查。将征询结果汇总的结果发现眩晕、头痛、郁闷感、关节痛、肌肉痛有显著改善，冷等血管运动神经障碍样症状有改善倾向。

另外各个监测的简易更年期指数 (SMI) 与摄取前期间比较, 有显著降低 (图 4)。

实施例 9

含有 SDG 的片剂的制备

用搅拌机按照表 7 给出的配比将各个粉末均一混合, 用压片机压片, 打成 1 粒 200mg 的片剂。然后, 于涂布盘上喷雾虫胶, 使其干燥, 制造片剂。

表 7

	配方 1	配方 2	配方 3
成分	配合量 (%)	配合量 (%)	配合量 (%)
提取物 3	30	8	15
大豆异黄酮 (含有 30%)		22	15
维生素 E	9		5
乳糖	18	25	25
纤维素	5	34	29
还原麦芽糖	15		
钙	14	8	8
玉米淀粉	5		
蔗糖脂肪酸酯	4	3	3
合计	100	100	100

实施例 10

含有 SDG 的面包的制备

将含有本发明的 SDG40% 的提取物 1g 与干酵母 3g、小麦粉 500g、砂糖 50g、鸡蛋 1 个、盐 2g、水 300ml 一起放入到盆中, 混合后充分揉。发酵 15 分钟后, 进行脱气, 再发酵 15 分钟。进行脱气后, 分成 20 等分, 做成圆形。排在涂上薄薄一层色拉油的烤盘上, 使其在 1 小时内发酵 2 次后, 在加热到 180 度的烤箱中烤 20 分钟, 制造面包。

实施例 11

饮料

向 20L 的饮料水中添加柠檬酸钠 1g、葡萄糖 200g、含有 SDG 80 % 提取物 1g，使其溶解后，用柠檬酸调到 pH4.0 后，添加柑橘类香料，灌到 120ml 的褐色瓶中，制造饮料。

产业上利用的可能性

通过本发明，可以制造高含量的已知作为具有女性激素类活性的肠内酯、以及 enterodiols 等前体 SDG (secoisolariciresinol diglycoside) 的含量高的新食品原料以及配合该原料的各种各样形式的饮食物。

这样制作的含有 SDG 饮食物，特别是含有 SDG 和异黄酮的饮食物在改善由于女性激素紊乱引起的各种症状，例如更年期障碍、骨质疏松症、高血脂症、高血压症、肥胖、抑郁症和发热等诸症状方面，或可以期待的美容效果方面，通过开发预料会对健康带来很大的恩惠。

图1

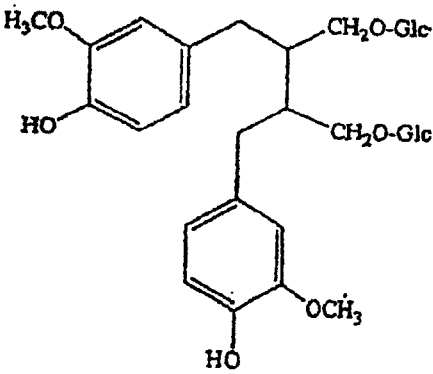


图2

体重变化

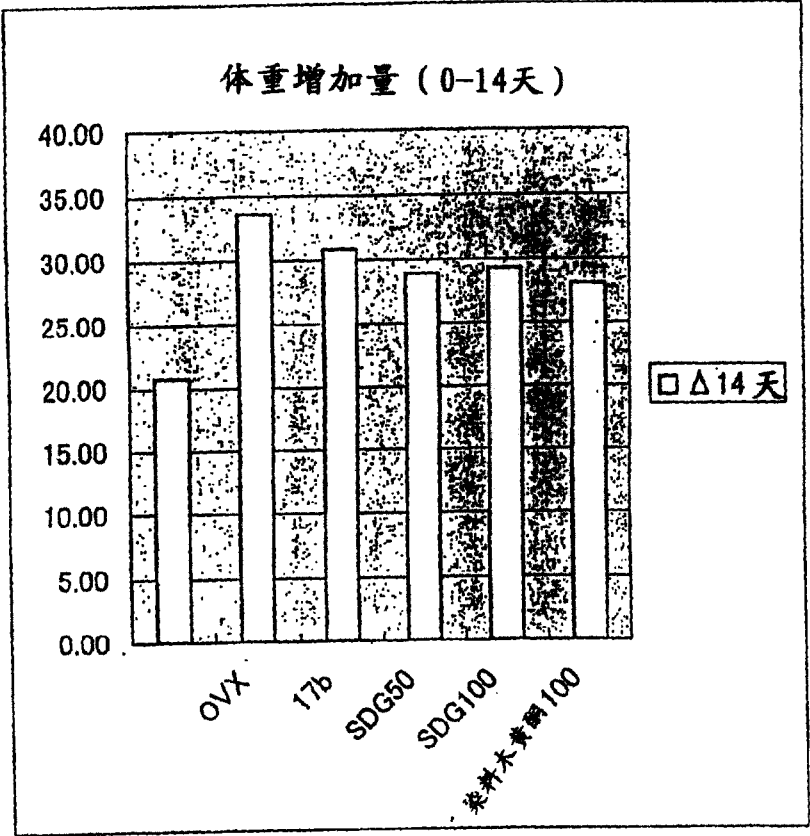
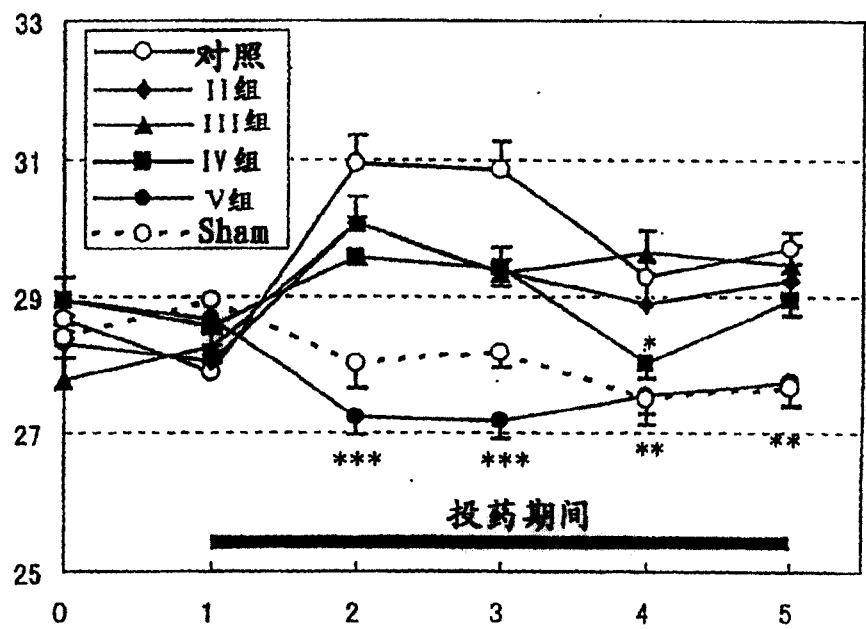


图 3

更年期模型大鼠的尾部皮肤温度的推移



*:P<0.05 vs 对照 **:P<0.01vs 对照 ***:P<0.001vs对照

图4

