대두와 인체생리(2)

대두 이소플라본의 체내흡수

김 성 란
일반작물이용팀

이소플라본은 대두와 대두가공제품에 들어있으며 화학적으로 두가지 형태 즉 아글리콘(aglycone)과 배당체(glucoside)로 존재한다. 본 논문은 사람에게 대두의 이소플라본이 흡수되는데 아글리콘과 배당체가 차이가 있는지를 연구하였다. 이소플라본을 저농도(0.11mmol)로 1회 투여했을 때 아글리콘형은 섭취 2시간 후에 혈장의 이소플라본 농도가 최고치에 도달하였으며 배당체형은 섭취 4시간 후에 최고치에 도달하였다: 이때 피험자는 4명의 남성(41세)과 4명의 여성(45세) 이었다. 또한 8명의 피험자〔남성 4명(40세), 여성 4명(47세)〕를 대상으로 고농도(1.7mmol) 이소플라본을 1회 섭취시킨 후 혈장의 이소플라본 농도 변화를 비교하였으며, 아글리콘 섭취 후 혈장 이소플라본의 최고 농도는 배당체로 섭취한 경우보다 5배가 높았다. 저농도와 고농도의 두 실험에서 모두, 제니스테인과 다이드제인의 섭취수준은 유사함에도 불구하고 혈장의 제니스테인의 농도가 다이드제인보다 유의적으로 높았다. 또한 8명의 남성(45세)을 대상으로 4주간의 장기간 이소플라본(0.30mmol/일)을 섭취시킨 후 혈장의 이소플라본 농도를 측정하였다. 2주와 4주째에 혈장내 농도는 배당체형보다 아글리콘 섭취 후에 100% 이상 높은 것으로 나타났다. 이소플라본 아글리콘은 배당체보다 사람에게 더 빠르고 더 많은 량이 흡수되었다. 이소플라본 아글리콘이 풍부한 제품은 이소플라본 배당체가 풍부한 제품보다 관상 심장질환 등 만성질환 예방에 더 효과적일 수 있을 것이다.

1. 서 론

대두는 아시아 지역에서 오랜 기간 동안 섭취되어 온 식이로서 다양한 생리활성 성분들을 함유하고 있다[1]. 최근 대두의 성분들에 관한 관심이 전 세계적으로 크게 증가되었다. 많은 역학조사들이 대두의 섭취가 유방암[2,3], 전립선암[4], 대장암[5], 골다공증[6], 폐경기 증후군[7] 및 관상심장질환[8] 을 포함한 여러 질병의 위험률을 감소시킨다고 밝히고 있다. 대두에 있는 이소플라본은 주로 당이 결합된 배당체 형태인 6"-malonylglucoside와 6"-acetylglucoside로 존재하며[9-14] 아글리콘 형태는 미량이다. 이소플라본 아

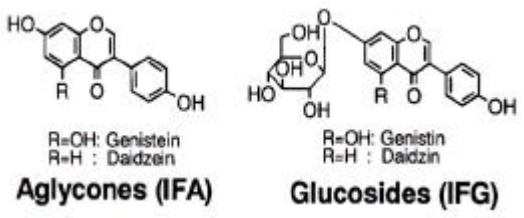

그림 1. 대두 이소플라본
IFA : 이소플라본 아글리콘
IFG : 이소플라본 배당체

글리콘은 주로 미소, 나토, 간장 등 전통 발효식품에 포함되어 있다[15]. 대표적인 이소플라본 배당체는 제니스틴(genistin)과 다이드진(daidzin)이며 이들의 아글리콘이 바로 제니스테인(genistein)과 다이드제인(daidzein)이다(그림. 1). 대두 이소플라본은 여러 가지 다양한 생리활성을 가지고 있다는 것이 보고되었는데 에스트로겐 활성(estrogenic)[16], 항산화 활성(antioxidative)[17,18], 항골다공(antiosteoporetic)[19,20], 항암활성(anticarcinogenic)[21] 등이다. 특히 제니스테인은 종양 세포 배양시 여러 종양 세포주의 증식을 억제하며[22] 암의 치료와 예방에 가장 효과적인 이소플라본으로 여겨지고 있다.

몇 년전에 대두 이소플라본 배당체가 사람에게서 흡수, 이동, 대사 및 배설되는 것과 관련하여 몇가지 연구가 보고되었다[23-26]. King과 Bursill은[27] 대두 이소플라본 배당체가 포함된 식이를 섭취한 후 나타나는 혈장의 이소플라본 농도와 소변으로의 이소플라본 배설을 연구하였다. Watanabe 등은[28] 7명의 건강한 일본 남성에게 이소플라본 배당체가 포함된 구운 콩가루을 1회 섭취시킨 후 그 대사과정을 자세히 조사하였는데, 제니스테인이 다이드제인보다 순환 혈액 중에 더 많이 존재한다고 보고하였다. King 등은[29] 쥐를 대상으로 하여 대두추출물로 정제된 형태의 제니스테인과 제니스틴의 대사과정을 연구하였으며, 제니스테인을 공급한 쥐의 혈장 제니스테인 농도가 제니스틴을 공급한 쥐의 경우보다 동일한 양을 섭취시킨 2시간 후에 2배 이상 높았다고 밝혔다. 일반적으로 이소플라본 배당체는 장내 미생물이나 장의 당 분해효소(glucosidase)에 의하여 이소플라본 아글리콘으로 전환되고 그 다음 이소플라본 아글리콘이 소장으로 흡수된다고 보고 있다[30-31].

그러나 지금까지 사람을 대상으로 하여 진행된 이소플라본 아글리콘과 이소플라본 배당체들 간의 흡수 차이에 대한 연구는 없었다. 본 논문에서는 8명의 건강한 일본인 지원자를 대상으로 같은 량의 이소플라본 아글리콘과 이소플라본 배당체를 섭취하였을때 체내 흡수에 차이가 있는지를 살펴 보고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시 약

다이드제인(>99%), 제니스테인(>99%) 및 H-5 sulfatase는 Sigma(미국) 제품을 사용하였다. 다이드진(>99%)과 제니스틴(>99%)은 Nacali Tesque (일본) 제품을 사용하였다. 다른 시약들은 분석용 특급 및 HPLC용을 사용하였다.

2.2. 피험자

저농도 섭취실험의 경우, 지원자는 31세에서 58세 사이의 건강한 4명의 남성과 4명의 여성이었다. 체중은 51 85kg 사이였으며 키는 152 187cm 범위였다. 고농도 섭취실험의 경우, 지원자는 38세에서 57세 사이의 건강한 4명의 남성과 4명의 여성이었다. 체중은 54 80kg 사이였으며 키는 156 183cm 범위였다. 장기간 섭취실험의 경우, 피험자는 38세에서 55세 사이의 8명 남성으로 체중은 58 82kg 사이였으며 키는 165 176cm 범위였다. 실험계획은 위원회의 승인을 받았으며 피험자의 동의서를 서면으로 받았다.

표 1. 각 실험에서의 이소플라본 섭취량

섭취형태	총 이소플라본	이소플라본 아글리콘(IFA)		이소플라본 배당체(IFG)	
		제니스테인	다이드제인	제니스틴	다이드진
	mg	mmol			
저농도 1회 IFA	30	0.048	0.062	-	-
저농도 1회 IFG	50	-	-	0.060	0.050
고농도 1회 IFA	450	0.78	0.92	-	-
고농도 1회 IFG	760	-	-	0.90	0.80
장기섭취 IFA	80	0.13	0.17	-	-
장기섭취 IFG	130		-	0.16	0.14

2.3. 식이 및 혈액샘플의 수집

본 실험은 총 4회로 나누어 진행되었다. 1회 섭취 실험에서, 각 회당 실험시기는 2달의 휴식기(washout period)를 두어 구분하였다. 저농도와 고농도의 섭취실험에서는 실험참가 3일전부터 실험 끝까지 참가자들이 미소, 나토, 두부, 대두단백질 제품 등 대두제품을 섭취하지 않도록 하였다. 휴식기 동안에는 식이제한이 없었다.

이소플라본 아글리콘과 이소플라본 배당체는 정제(tablet)형태로 제공하였다(표 1). 이소플라본 아글리콘용은 Kikkoman 사(일본)의 SoyAct 제품을 사용하였으며 이소플라본 배당체도 같은 회사에서 제조한 대두 추출물을 사용하였다. SoyAct는 발효시킨 대두추출물로서 30%의 이소플라본 아글리콘(구성비는 제니스테인 43.63%, 다이드제인 56.37%)과, 사포닌, 당, 단백질, 지방을 포함하고 있었다. 또한 실험에 사용된 대두추출물은 약 40%의 이소플라본 배당체(구성비는 제니스틴 54.55%, 다이드진 45. 45%)와 사포닌, 당, 단백질, 지방을 포함하고 있다. 이들 추출물 제품의 이소플라본 농도는 Kudou 등의 방법[32]에 따라 측정하였다. 피험자들은 아침식사 후(9시 30분) 이소플라본 정제를 섭취하였다. 혈액은 정제 섭취전(9시), 섭취 2시간 후(11시 30분), 4시간 후(13시 30분), 6시간 후(15시 30분), 24시간 후(다음날 9시 30분)에 각각 헤파린 처리한 주사기로 의료진이 채혈하였다. 의사가 실험동안 피험자들의 건강상의 이상징후를 상담하였다.

장기간 섭취 실험에서는 식이에 제한을 두지 않았다. 이소플라본 아글리콘 섭취와 이소플라본 배당체 섭취실험 사이에 4달의 휴식기를 두었다. 피험자들은 매 식사후에 이소플라본 아글리콘이나 배당체 정제를 섭취하였다. 예로 이소플라본 아글리콘의 경우 아침식사 후 30mg, 점심식사 후 20mg, 저녁식사 후 30mg을 섭취하였다. 혈액 샘플은 섭취시작 후 0주, 2주, 4주째에 매일 11시에 채혈하여 얻었다.

일회섭취 및 장기간 섭취 실험 모두 혈액샘플은 4℃, 2000×g에서 10분간 원심분리시켜 혈장을 분리하였으며 분석 전까지 -20℃에 보관하였다.

2.4. 혈장의 이소플라본 추출 및 동정

혈장 50㎕에 0.2mol/L 아세트산 완충액(pH 5.5) 50㎕를 넣고 500U의 H-5 sulfatase를 첨가한 후 37℃의 진탕 항온 수조에서 1시간 반응시켰다. 유리된 아글리콘을 0.9ml 메탄올/아세트산(100:5, v/v)로 추출하고 4℃, 5000×g에서 5분간 원심분리시켰다. 상등액을 동량의 100mmol/L의 리튬아세

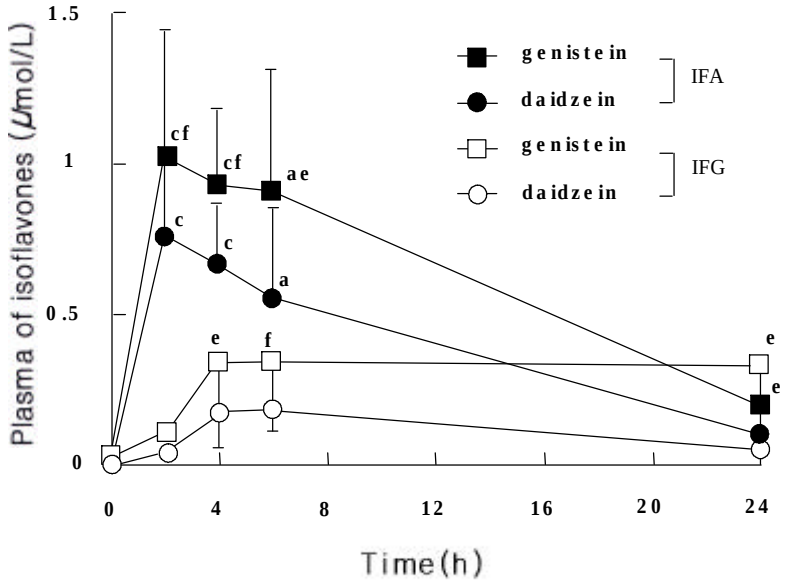

그림 2. 일본인 남성(4명)과 여성(4명)을 대상으로 이소플라본 아글리콘(IFA)과 이소플라본 배당체(IFG)를 1회 저농도로 섭취시킨 후(0.11mmol) 측정한 시간별 혈장의 제니스테인과 다이드제인 농도변화

각 점의 수치는 평균±SD, n=8, [a](P<0.05), [b](P<0.01), [c](P<0.005)는 혈장 제니스테인 농도와 다이드제인 농도 면에서 이소플라본 아글리콘과 배당체 섭취시를 비교, [d](P<0.05), [e](P<0.01), [f](P<0.005)는 이소플라본 아글리콘 섭취군 내에서 또는 배당체 섭취군 내에서 제니스테인 농도와 다이드제인 농도를 비교

테이트 용액으로 2배 희석하고 이를 HPLC로 분석하였다. 혈장의 이소플라본 농도는 Piskula 등의 방법[33]에 따라 측정하였다. HPLC는 컬럼은 TSKgel ODS-80TS(5㎛, 150×4.6mm, TOSOH 사, 일본)를 사용하였고 이동상은 50mmol의 리튬아세테이트를 포함하는 water/methanol/acetic acid (58:40:2, v/v/v)였으며 전위차 검출기(ICA-3060, TOA, 일본)로 +950mV에서 분석하였다.

2.5. 생리학적 지표의 분석

피험자들의 각종 생리학적 지표 즉, 혈장 중성지방, GOT(glutamic-oxaloacetic transaminase), GPT(glutamic-pyruvic transaminase), γ-GTP(γ-glutamyltranspeptidase), 크레아티닌(creatinine), 혈액의 요소질소, 총콜레스테롤, 호산구, 적혈구 및 백혈구치를 SRL 도쿄 병원에서 분석하였다.

2.6. 통계처리

각 수치는 평균 ± SD(n=8)로 표시하였다. 평균에서 유의차가 나타나는지 확인하기 위하여 paired t-test로 통계처리 하였으며, Sigam Plot을 사용하였다.

3. 결 과

3.1. 저동도 1회 투여실험

이소플라본 아글리콘을 섭취하였을 때, 혈장의 제니스테인과 다이드제인 농도는 섭취 2시간 후에 가

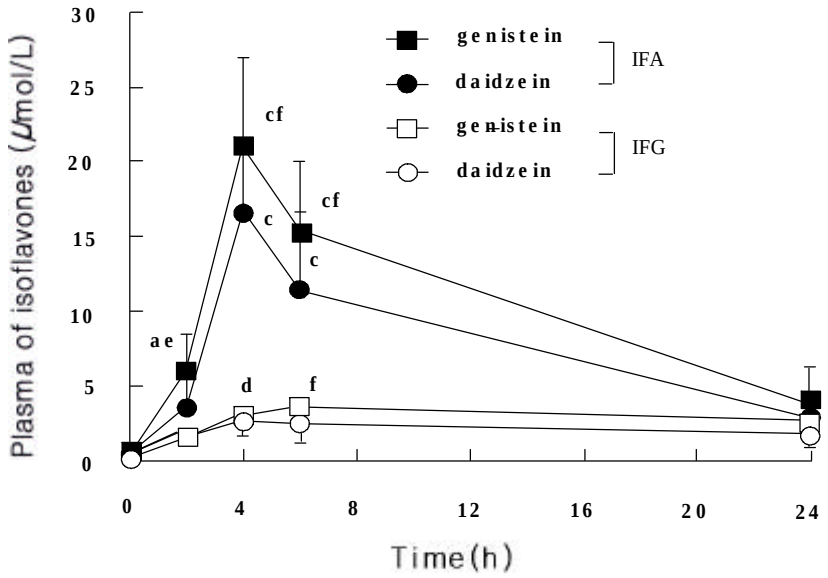

그림 3. 일본인 남성(4명)과 여성(4명)을 대상으로 이소플라본 아글리콘(IFA)과 이소플라본 배당체(IFG)를 1회 고농도로 섭취시킨 후(1.7mmol) 측정한 시간별 혈장의 제니스테인과 다이드제인 농도변화

각 수치는 평균±SD, n = 8, ^{a}(P<0.05), ^{b}(P<0.01), ^{c}(P< 0.005)는 혈장 제니스테인 농도와 다이드제인 농도면에서 이소플라본 아글리콘과 배당체 섭취시를 비교, ^{d}(P<0.05), ^{e}(P< 0.01), ^{f}(P<0.005)는 이소플라본 아글리콘 섭취군 내에서 또는 배당체 섭취군 내에서 제니스테인 농도와 다이드제인 농도를 비교

장 최고치에 도달하였다(그림 2). 제니스테인과 다이드 제인을 비슷한 양을 섭취하였음에도 불구하고 각 측정시점에서 제니스테인의 농도가 유의적으로 높았다(P<0.01).

이소플라본 배당체를 섭취하였을 때는 혈장의 제니스테인과 다이드제인 농도가 섭취 4시간 후에 가장 높았으며(그림2), 역시 각 측정시점에서 제니스테인의 농도가 유의적으로 높았다(P<0.01). 이들 1회 투여실험에서는 이소플라본 아글리콘을 섭취한 경우가 이소플라본 배당체를 섭취한 경우보다 섭취 후 2, 4, 6시간 째에 제니스테인과 다이드제인의 혈장 농도가 높았다(P<0.05). 혈장의 모든 생화학적 지표 수치들은 이소플라본 아글리콘 섭취 후 정상범위 내에 들었다(결과 미표기). 건강상의 이상징후를 보인 피험자도 없었다.

3.2. 고농도 1회 투여실험

1.7mmol의 이소플라본 아글리콘을 섭취하였을 때, 혈장의 제니스테인과 다이드제인 농도는 섭취 4시간 후에 가장 최고치에 도달하였다(그림 3). 저농도의 이소플라본 아글리콘을 투여한 경우와 마찬가지로 제니스테인과 다이드제인을 비슷한 양을 섭취하였음에도 불구하고 각 측정시점에서 제니스테인의 농도가 유의적으로 높았다(P<0.01).

1.7mmol의 이소플라본을 배당체로 섭취하였을 때는, 혈장 농도 최고치는 제니스테인이 섭취 후 6시간, 다이드제인이 섭취 후 4시간 후에 각각 나타났다(그림 3). 섭취한 제니스테인과 다이드제인 양이 거의 비슷하였으나 각 측정시점에서 제니스테인의 농도가 유의적으로 높았다(P<0.05). 이소플라본 아글리콘을 섭취한 후의 혈장 이소플라본 농도가 이소플라본 배당체를 섭취한 후보다 섭취 후 2, 4, 6

시간 째에 더 높았다($P<0.05$, 그림 3). 혈장의 제니스테인과 이소플라본 농도 모두 이소플라본 아글리콘으로 섭취한 경우 배당체로 섭취한 경우보다 5배 이상 높았다(그림 3). 이소플라본을 아글리콘으로 섭취한 경우와 배당체로 섭취한 경우의 혈장 총 이소플라본 농도비율을 비교해 보면 아글리콘으로 섭취한 경우가 섭취 2, 4, 6시간 후에 각각 3.2, 6.6, 4.3 배 더 높았다. 혈장의 모든 생화학적 지표 수치들은 이소플라본 아글리콘 섭취 후 정상범위 내에 들었으며, 건강상의 이상징후를 보인 피험자는 없었다(결과 미표기).

3.3. 장기 투여실험

이소플라본 아글리콘을 섭취한 경우가 배당체로 섭취한 경우보다 섭취2주($P<0.05$)와 4주째($P<0.005$)에 혈장의 제니스테인과 다이드제인 농도가 2배 이상 높았다(그림 4). 이소플라본을 아글리콘과 배당체로 섭취하는 동안 각 측정시점에서 제니스테인의 농도가 다이드제인보다 더 높았다($P<0.05$). 혈장의 모든 생화학적 지표 수치들은 이소플라본 아글리콘 섭취 후 정상범위 내에 들었으며, 건강상의 이상징후를 보인 피험자는 없었다(결과 미표기).

4. 고 찰

이소플라본 여러 종류 중에서, 제니스테인이 MCF-7 유방암 세포와 MDA-468 세포에 대해 가장 우수한 증식억제제라고 보고되었다[34]. Naik등은[35] 제니스테인이 MLL 전립선 암세포와 PC-3 세포의 증식을 억제한다고 보고하였다. Matsukawa 등도[36] 제니스테인이 사람의 위암 세포주인 HGC-27 세포의 증식을 억제한다고 보고하였다.

쥐를 이용한 동물실험에서 King 등은[29] 대두추출물로 정제된 형태로 공급한 제니스테인과 제니스틴의 약리대사과정을 연구하였으며, 제니스테인을 공급한 쥐의 혈장 제니스테인 농도가 제니스틴을 공급한 쥐의 경우보다 동일한 양을 섭취시킨 2시간 후에

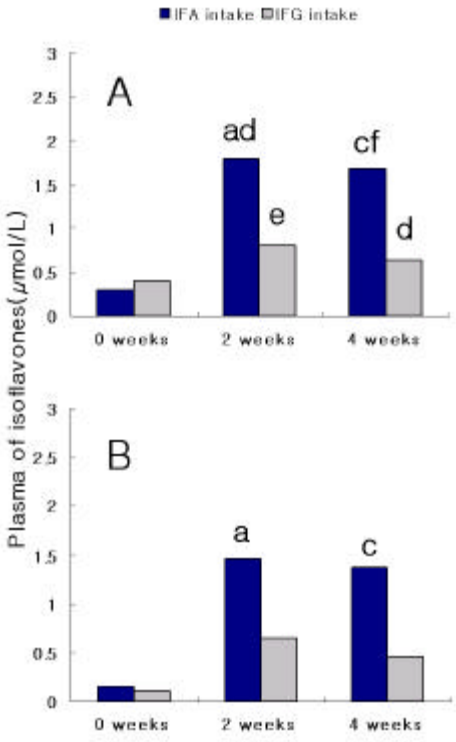

그림 4. 일본인 남성(8명)을 대상으로 4주간 0.30mmol/day의 이소플라본 아글리콘(IFA)과 이소플라본 배당체(IFG)를 장기투여한 실험에서 혈장의 제니스테인(A)과 다이드제인(B) 농도.

각 점의 수치는 평균±SD, n=8, 혈액샘플은 섭취 시작 후 0, 2, 4주째에 점심전에 채혈하였다. 이소플라본 아글리콘 섭취 동안의 농도가 이소플라본 배당체 섭취동안의 농도보다 2주와[^{a}($P<0.05$)]와 4주째에 [^{c}($P<0.005$)]더 높았다. 제니스테인의 농도가 다이드제인의 농도보다 2주와 4주째에 더 높았다[^{d}($P<0.05$), ^{f}($P<0.005$), ^{e}($P<0.01$), ^{d}($P<0.05$)]

2배 이상 높았다고 밝혔다. 본 연구에서는 사람을 대상으로 한 것으로 이와 비슷한 결과를 얻었다. 이소플라본 배당체는 아글리콘에 비하여 장에서 흡수되기 어려운데, 친수성이 크고 분자량이 크기 때문이다[30]. 사람에게서 이소플라본 배당체가 흡수되기 위해서는 아글리콘으로 전환되어야만 할것이라고 추정되어 왔다. Friend와 Chang은[37] 장의 미생물이

당분해효소(glucosidase)를 소장 하부로 분비하여 배당체로부터 아글리콘을 유리시키고 그 흡수를 촉진시킨다고 보고하였다. Day 등은[31] 사람의 장 조직세포가 자연계 이소플라본 배당체들을 효과적으로 흡수할 수 있도록 β-glucosidase를 가지고 있다고 보고하였다. 본 연구진은 본 본문의 결과가 부분적으로는 Day등의 보고[31]를 뒷받침한다고 본다. 이소플라본 아글리콘은 이소플라본 배당체 보다 더 빠르게 더 많은 량이 흡수되었다. 이는 이소플라본 아글리콘이 장내 미생물이나 장의 glucosidase에 의해 영향받지 않고 소장으로부터 직접 흡수되기 때문인 것으로 추정된다. 저농도와 고농도를 섭취한 실험에서 섭취한 이소플라본 배당체가 혈장에서 최고치 농도에 도달하는데는 이소플라본 아글리콘보다 시간이 더 길게 필요한 것으로 나타났다(그림 2, 3).

이소플라본 아글리콘과 배당체간에 최고 농도에 도달하는 시간에서의 차이는 Piskula 등이[33] 보고한 바와 같이 위(stomach)에서 이소플라본 아글리콘이 흡수되는 것에 기인할 수도 있을 것이다. 고농도를 투여한 경우 저농도를 투여한 경우보다 혈장에서 최고치에 도달하는데 더 긴 시간이 걸렸다. 이는 위에서 흡수되는 상대적인 비율이 고농도에서 보다 저농도시에 더 크기 때문일 수 있다.

이소플라본 아글리콘은 이소플라본 배당체보다 더 효과적으로 흡수되었다. 고농도 투여실험에서는 이소플라본을 저농도 투여실험보다 15배 이상 높게 섭취시켰다. 이소플라본 아글리콘으로 공급한 고농도 투여실험에서, 혈장의 총 이소플라본 최고 농도는 저농도 투여실험보다 21배가 더 높았다. 반면 이소플라본 배당체로 공급한 고농도 투여실험에서 혈장의 총 이소플라본 최고 농도는 저농도 투여실험보다 12배가 더 높았다(그림 2, 3). 이 결과는 이소플라본 배당체가 인체에 흡수되기 위해서는 장내 glucosidase에 의해 아글리콘으로 전환되어야 한다는 것과 이소플라본 배당체의 아글리콘으로의 전환 과정이 사람에게서 흡수속도를 좌우하는 주요 단계라는 것을 나타내준다. 이소플라본 아글리콘을 섭취한 후 혈장의 최고 농도에 도달하는데는 이소플라본 배당체로 섭취한 경우보다 저농도 투여시 2배 이상, 고농도 투여시 5배 이상이 소요되었다(그림 2, 3).

본 연구에서도, Watanabe 등[28]과 King과 Bursill의 연구[27]에서와 같이, 혈장의 제니스테인 농도가 다이드제인 농도보다 매시점에서 높았다. Watanabe 등은[28] 이소플라본 배당체 형태인 구운 콩가루를 섭취시킨 피험자를 대상으로 한 연구로부터 다이드제인의 소변 배설량이 제니스테인보다 많고, 또한 혈장에서 제니스테인의 반감기(half-life)가 8.4시간으로 다이드제인의 5.8 시간보다 더 길었다고 보고하였다. 본 논문의 결과도 이소플라본 아글리콘으로 섭취했을 때 혈장의 제니스테인 농도가 다이드제인보다 더 높고, 높은 농도가 더 오래 지속되는 것으로 나타났는데, 어떤 약리학적인 요인이 관여할 것으로 보인다. 대두 전체는 대두 배아보다 더 우수할 것으로 판단되는데, 이는 대두 배아가 다이드진, 다이드제인이 풍부한데 비하여 대두 전체는 제니스틴, 제니스테인이 풍부하기 때문이다.

대두 이소플라본은 보고된바와 같이 에스트로겐 활성[16], 항산화 활성[17,18], 항골다공[19,20], 항암활성[21]을 가지고 있으며, 폐경기 증후군, 관상 심장 질환, 골다공증, 암 등 여러 질환에 효과적일 것으로 기대되고 있다. 바람직한 효과를 보기 위해서는 장기간 일정한 수준의 혈장농도를 유지하는 것이 필요하다. 본 논문의 장기투여 실험에서 이소플라본 아글리콘으로 섭취했을 때 제니스테인과 다이드제인의 혈장 농도는 배당체로 섭취한 경우보다 섭취후 2주 및 4주째에 100% 이상 높았다($P<0.05$, 그림4). 이에 따라 원하는 수준의 혈장농도를 유지하는데 이소플라본 배당체보다는 아글리콘이 더 효과적이라고 할 수 있겠다. 더욱이, 이소플라본 아글리콘이나 배당체의 장기 섭취가 완전히 안전하다고 할 수 있다. 왜냐하면 피험자의 혈장 생리학적 지표 수치가 정상범위이고 어떠한 건강상의 이상징후도 보이지 않았기 때문이다.

결론적으로, 이소플라본 배당체와 아글리콘을 섭취시킨 실험을 통하여 사람에게 이소플라본 아글리콘의 흡수가 더 우수하다는 것을 밝혔다. 따라서,

혈장에서 고농도로 이소플라본 농도를 유지하는데 이소플라본 아글리콘이 이소플라본 배당체보다 더 유용하다고 하겠다. 제니스테인은 다이드제인보다 더욱 효과적으로 흡수되고 혈장의 농도를 고농도로 유지하는데도 효과적이었다. 본 연구진은 효능을 발휘할 수 있는 혈장의 이소플라본 농도가 밝혀진다면 이 결과가 질병의 치료에도 응용될 수 있으리라고 기대한다. 발효된 대두제품이나 그 추출물 등과 같이 제니스테인이 풍부한 제품이 골다공증, 폐경기 증후, 관상 심장질환 및 암 등을 예방하는데 유용할 것이다.

5. 참고문헌

1. Messina, M. & Messina, V. (1991) Increasing use of soyfoods and their potential role in cancer prevention. J. Am. Diet Assoc. 91: 836-840.
2. Adlercreutz, H., Honjo, H., Higashi, A., Fotsis, T., Hämäläinen, E., Hasegawa, T. & Okada, H. (1991) Urinary excretion of lignans and isoflavone phytoestrogens in Japanese men and women consuming a traditional diet. Am. J. Clin. Nutr. 54: 1093-1100.
3. Lee, H. P., Gourley, L., Duffy, S. W., Esteve, J., Lee, J. & Day, N. E. (1991) Dietary effects on breast-cancer risk in Singapore. Lancet 337: 1197-1200.
4. Severson, R. K., Nomura, A.Y.M., Grove, J. S. & Stemmerman, G. N. (1989) A prospective study of demographics and prostate cancer among men of Japanese ancestry in Hawaii. Cancer Res. 49: 1857-1860.
5. Watanabe, S. & Koessel, S. (1993) Colon cancer: an approach from molecular epidemiology. J. Epidemiol. 3: 47-61.
6. Knight, D. C. & Eden, J. A. (1996) A review of the clinical effects of phytoestrogens. Obstet. Gynecol. 87: 897-904.
7. Adlercreutz, H., Hämäläinen, E., Gorbach, S. & Goldin, B. (1992) Dietary phyto-oestrogen and the menopause in Japan (letter). Lancet. 339: 1233.
8. Clarkson, T. B., Anthony, M. S. & Hughes, C. L. (1995) Estrogenic soybean isoflavones and chronic disease. Trends Endocrinol. Metab. 6: 11-16.
9. Izumi, T., Nasu, A., Kataoka, S., Tokutake S., Obata, A. & Tobe, K. (1997) An efficient preparation of acetyl isoflavone glucoside. Chem. Pharm. Bull. 45: 1593-1595.
10. Kudou, S., Shimoyanagi, M., Imura, T., Uchida, T. & Okubo, K. (1991b) A new isoflavone glycoside in soybean seed (*Glycine max* Merrill), glycitein 7-O-β-D-(6″-O-acetyl)-glucopyranoside. Agric. Biol. Chem. 55: 859-860.
11. Naim, M., Gestetner, B. Kirson, I. Birk, Y. & Bondi, A. (1973) A new isoflavone from soya beans. Phytochemistry 12: 169-170.
12. Ohta, N., Kuwata, G., Akahori, H. & Watanabe, T. (1979) Isoflavonoid constituents of soybeans and isolation of a new acetyldaidzin. Agric. Biol. Chem. 43: 1415-1419.
13. Ohta, N., Kuwata, G., Akahori, H. & Watanabe, T. (1980) Isolation of a new isoflavone acetylglucoside, 6″-O-acetylgenistin, from soybeans. Agric. Biol. Chem. 44: 469-470.
14. Walter, E. D. (1941) Genistin (an isoflavone glucoside) and its aglucone, genistein, from soybeans. J. Am. Chem. Soc. 63: 3272-3276.
15. Wang, H. & Murphy, P. (1994) Isoflavone

content in commercial soybean foods. J. Agric. Food Chem. 42: 1666-1673.
16. Shutt, D. A. & Cox, R. I. (1972) Steroid and phyto-oestrogen binding to sheep uterine receptors in vitro. J. Endocrinol. 52: 299-310.
17. Kapiotis, S., Hermann, M., Held, I., Seelos, C. Ehringer, H. & Gmeiner, B.M.K. (1997) Genistein, the dietary-derived angiogenesis inhibitor, prevents LDL oxidation and protects endothelial cells from damage by atherogenic LDL. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 17: 2868-2874.
18. Naim, M., Gestetner, B. Kirson, I. Birk, Y. & Bondi, A. (1976) Antioxidative and antihemolytic activities of soybean isoflavones. J. Agric. Food Chem. 24: 1174-1177.
19. Anderson, J.J.B. & Garner, S. C. (1997) The effects of phytoestrogens on bone. Nutr. Res. 17: 1617-1632.
20. Ishida, H., Uesugi, T., Hirai, Toda, T., Nukaya, H., Yokotsuka, K. & Tsuji, K. (1998) Preventive effects on the plant isoflavones, daidzin and genistin, on bone loss in ovariectomized rats fed a calcium-deficient diet. Biol. Pharm. Bull. 21: 62-66.
21. Herman, C., Adlercreutz, H., Goldin, B., Gorbach, S., Höckerstedt, K., Watanabe, S., Hämäläinen, E., Markkanen, H., Mäkelä, T., Wähälä, K., Hase, T. & Fotsis, T. (1995) Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. J. Nutr. 125: 757S-770S.
22. Barnes, S. (1995) Effect of genistein on in vitro and in vivo models of cancer. J. Nutr. 125: 777S-783S.
23. Franke, A. A. & Custer, L. J. (1996) Daidzein and genistein concentrations in human milk after soy consumption. Clin. Chem. 42: 955-964.
24. Hutchins, A. M., Slavin, J. L. & Lampe, J. W. (1995) Urinary isoflavonoid phytoestrogen and lignan excretion after consumption of fermented and unfermented soy products. J. Am. Diet Assoc. 95: 545-551.
25. Wang, H., Murphy, P., Cook, L. & Hendrich, S. (1994) Daidzein is a more bioavailable soymilk isoflavone than is genistein in adult women. J. Nutr. 124: 825-832.
26. Xu, X. Harris, K.S., Wang, H., Murphy, P. A. & Hendrich, S. (1995) Bioavailability of soybean isoflavones depends upon gut microflora in women. J. Nutr. 125: 2307-2315.
27. King, R. A. & Bursill, D. B. (1998) Plasma and urinary kinetics of the isoflavones daidzein and genistein after a single soy meal in humans. Am. J. Clin. Nutr. 67: 867-872.
28. Watanabe, S., Yamaguchi, M., Sobue, T., Takahashi, T., Miura, T., Arai, Y., Mazur, W., Wähälä, K. & Adlercreutz, H. (1998) Pharmacokinetics of soybean isoflavone in plasma, urine and feces of men after ingestion of 60 g baked soybean powder (kinako). J. Nutr. 128: 1710-1715.
29. King, R. A., Broadbent, J. L. & Head, R. J. (1996) Absorption and excretion of the soy isoflavone genistein in rats. J. Nutr. 126: 176-182.
30. Brown, J. P. (1998) Hydrolysis of glycosides and esters. In: Role of the Gut Flora in Toxicity and Cancer (Rowland, I. R., ed.), pp. 109-144. Academic Press,

San Diego, CA.

31. Day, A. J., Dupont, M. S., Ridley, S., Rhodes, M., Rhodes, M.J.C., Morgan, M.R.A. & Williamson, G. (1998) Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver β-glucosidase activity. FEBS Lett. 436: 71-75.
32. Kudou, S., Fleuly, Y., Welti, D., Magnolato, D., Uchida, T., Kitamura, K. & Okubo, K. (1991a) Malonyl isoflavone glycosides in soybean seeds (*Glycine max* Merrill). Agric. Biol. Chem. 55: 2227-2233.
33. Piskula, M. K., Yamakoshi, J. & lwai, Y. (1999) Daidzein and genistein but not their glucosides are absorbed from rat stomach. FEBS Lett. 447: 287-291.
34. Peterson, G & Barnes, S. (1991) Genistein inhibition of the growth of human breast cancer cells: independence from estrogen receptors and multi-drug resistance gene. Biochem. Biophys. Res. Commun. 179: 661-667.
35. Naik, H. R., Lehr, J. E. & Pienta, K. J. (1994) An in vitro and in vivo study of anticancer effects of genistein on hormone refractory prostate cancer. Anticancer Res. 14: 2617-2620.
36. Matsukawa, Y., Marui, N., Sakai, T., Satomi, Y., Yoshida, K., Matsumoto, K., Nishino, H. & Aoike, A. (1993) Genistein arrests cell cycle progression at G(2)-M. Cancer Res. 53: 1328-1331.
37. Friend, D. R. & Chang, G. W. (1984) A colon-specific drug-delivery system based on drug glycosides and glycosidases of colonic bacteria. J. Med. Chem. 27: 261-266.