



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0099533
(43) 공개일자 2020년08월24일

- | | |
|--|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C08B 37/00 (2006.01) A61P 13/10 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) C07H 11/00 (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
C08B 37/0057 (2013.01)
A61K 31/7024 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2020-7017451</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2018년12월18일
심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2020년06월17일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/JP2018/046537</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2019/124363
국제공개일자 2019년06월27일</p> <p>(30) 우선권주장
JP-P-2017-244051 2017년12월20일 일본(JP)</p> | <p>(71) 출원인
오지 홀딩스 가부시키키가이샤
일본 도쿄도 주오쿠 긴자 4초메 7반 5고</p> <p>(72) 발명자
이시카와 스구루
(104-0061) 일본국 도쿄도 주오쿠 긴자 4초메 7반 5고 오지 홀딩스 가부시키키가이샤 내</p> <p>(74) 대리인
정영선</p> |
|--|--|

전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 **폴리황산펜토산 및 폴리황산펜토산을 포함하는 의약**

(57) 요약

본 발명은 우론산 함량이 7.0질량%~15.0질량%이고, 또한 아세틸기 함량이 0질량%~2.0질량%인 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물을 제공한다. 상기 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물은, FGF-2 기능의 이상 항진에 기인하는 질환의 예방 및/또는 치료를 위한 의약의 유효 성분, 그리고 pH 완충체로서 유용하다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/737 (2013.01)

A61P 13/10 (2018.01)

A61P 19/02 (2018.01)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

C07H 11/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

우론산 함량이 7.0질량%~15.0질량%이며, 또한 아세틸기 함량이 0질량%~2.0질량%인 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

우론산 함량이 7.5질량%~13.0질량%인 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

중량 평균 분자량이 5000 이하인 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물.

청구항 4

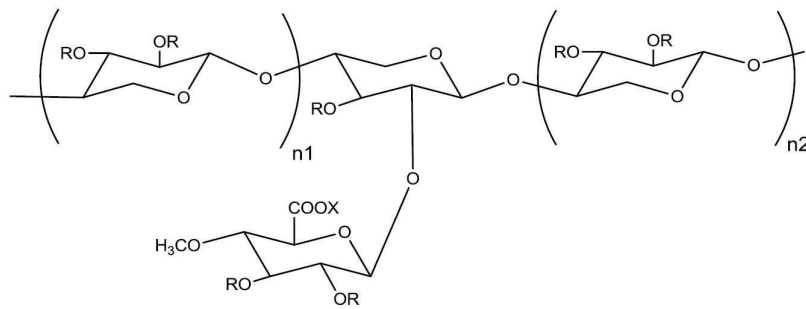
제 3 항에 있어서,

아세틸기 함량이 0~0.3질량%인 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

식 II로 나타내는 구조를 갖는 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물:



식 II

식 II 중, R은 각각 독립적으로, 수소 원자, $-COCH_3$, $-SO_3X^1$ 이고, 1분자 중 적어도 1개의 R은 $-SO_3X^1$ 이며, X^1 은 수소 원자 또는 1가 혹은 2가의 금속이고, X는 수소 원자 또는 1가 혹은 2가의 금속이며, n1 및 n2는 각각 독립적으로 0 이상 30 이하의 정수를 나타내고, n1 및 n2의 적어도 한쪽은 1 이상의 정수이다.

청구항 6

제 5 항에 있어서,

R이 각각 독립적으로 수소 원자 또는 $-SO_3X$ 인 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물.

청구항 7

제 5 항 또는 제 6 항에 있어서,

X가 나트륨인 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물을 유효 성분으로서 포함하는 의약.

청구항 9

제 8 항에 있어서,

FGF-2 기능의 이상 향진에 기인하는 질환의 예방 및/또는 치료를 위한 의약.

청구항 10

제 9 항에 있어서,

FGF-2 기능의 이상 향진에 기인하는 질환이, 암, 자기 면역 질환, 알레르기성 질환, 염증성 질환, 혹은 심장의 형성 이상, 혈관의 형성 이상, 또는 골격의 형성 이상인 의약.

청구항 11

제 9 항에 있어서,

방광염 또는 관절염의 예방 및/또는 치료를 위한 의약.

청구항 12

제 8 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서,

주사제인 의약.

청구항 13

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항의 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물을 포함하는 pH 완충제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 폴리황산펜토산 및 폴리황산펜토산을 포함하는 의약에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 염기성 섬유아세포 증식 인자(FGF-2 또는 b-FGF)는 이상 혈관 신생이 관여하는, 종양, 관절염 등의 질환에 관여하는 것이 알려져 있다(특허문헌 1). FGF-2는 heparin 결합성 증식 인자이고, heparan sulfate와 결합함으로써 세포의 FGF-2 수용체와 결합한다.

[0003] FGF-2를 불활성화하는 물질의 하나로서 폴리황산펜토산이 알려져 있고, 폴리황산펜토산에 의한 혈관 신생의 저해 등이 보고되어 있다(비특허문헌 1~3). 폴리황산펜토산은 FGF-2에 결합하여, FGF-2의 heparan sulfate와의 결합을 저해한다고 생각되고 있다.

[0004] 폴리황산펜토산이 실제로 종양의 증식을 저해하는 것도 보고되어 있다(특허문헌 2, 비특허문헌 4).

[0005] 폴리황산펜토산은 활엽수(예를 들면, 너도밤나무)로부터 얻어지는 자일란의 화학적 황산화에 의해 생성된다. 또한, 폴리황산펜토산은 β-D-자일로피라노오스가 직쇄에 결합한 황산화 직쇄 다당으로 이루어지고, 자일로피라노오스 약 10유닛마다 4-O-메틸글루쿠론산, 즉 우론산을 갖는다(특허문헌 3, 4). 특허문헌 5에는, 시판의 폴리황산펜토산(SP-54)을 분획하여, 저분자량의 폴리황산펜토산을 얻는 제법에 의해, 우론산 함량이 4.3~6%인 폴리황산펜토산을 얻은 기제가 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0006] (특허문헌 0001) 국제공개 제2013/186857호
- (특허문헌 0002) 일본 공개특허공보 평3-20225호
- (특허문헌 0003) 국제공개 제2010/000013호
- (특허문헌 0004) 일본 공표특허공보 2009-532467호
- (특허문헌 0005) 일본 공개특허공보 소61-197601호

비특허문헌

- [0007] (비특허문헌 0001) Gonzalez et al. Biol.Pharm.Bull. 2001; 24; 2; 151-154
- (비특허문헌 0002) S.SWAIN et al. ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES. 1993; 698; 63-67
- (비특허문헌 0003) G.Zugmaier et al. ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES. 1999; 886; 243-248
- (비특허문헌 0004) G.Zugmaier et al. Journal of the National Cancer Institute. 1992; 84; 22; 1716-1724

발명의 내용

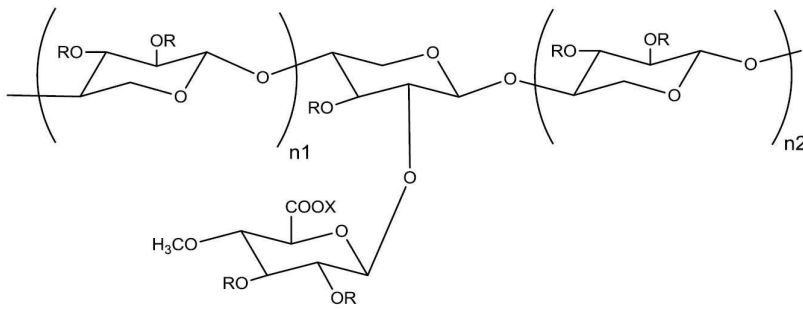
해결하려는 과제

- [0008] 본 발명은 의약 용도 혹은 pH 완충제 용도로 바람직한 활성을 갖는 신규 폴리황산펜토산을 제공하는 것을 과제로 한다.

과제의 해결 수단

- [0009] 상기 과제를 해결하기 위해 예의 검토를 행한 결과, 본 발명자들은 종래의 폴리황산펜토산과 비교하여, FGF-2와 헤파란황산의 결합 저해 활성이 높은 폴리황산펜토산을 알아내고, 게다가, 이 폴리황산펜토산이 pH 완충제로서도 기능할 수 있는 것을 알아냈다. 본 발명은 이들 지견에 기초하여 완성된 것이다.
- [0010] 구체적으로는, 본 발명은 이하 <1> ~ <13>을 제공하는 것이다.
- [0011] <1> 우론산 함량이 7.0질량% ~ 15.0질량%이며, 또한 아세틸기 함량이 0질량% ~ 2.0질량%인 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물.
- [0012] <2> 우론산 함량이 7.5질량% ~ 13.0질량%인 <1>에 기재된 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물.
- [0013] <3> 중량 평균 분자량이 5000 이하인 <1> 또는 <2>에 기재된 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물.
- [0014] <4> 아세틸기 함량이 0 ~ 0.3질량%인 <3>에 기재된 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물.
- [0015] <5> 식 II로 나타내는 구조를 갖는 <1> ~ <4> 중 어느 하나에 기재된 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물.

화학식 1



식 II

[0016]

[0017]

[0018]

[0019]

[0020]

[0021]

[0022]

[0023]

[0024]

[0025]

[0026]

[0027]

[0028]

[0029]

[0030]

[0031]

식 II 중, R은 각각 독립적으로, 수소 원자, $-COCH_3$, $-SO_3X^1$ 이고, 1분자 중 적어도 1개의 R은 $-SO_3X^1$ 이며, X^1 은 수소 원자 또는 1가 혹은 2가의 금속이고, X는 수소 원자 또는 1가 혹은 2가의 금속이며, n1 및 n2는 각각 독립적으로 0 이상 30 이하의 정수를 나타내고, n1 및 n2의 적어도 한쪽은 1 이상의 정수이다.

<6> R이 각각 독립적으로 수소 원자 또는 $-SO_3X$ 인 <5>에 기재된 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물.

<7> X가 나트륨인 <5> 또는 <6>에 기재된 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물.

<8> <1>~<7> 중 어느 하나에 기재된 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물을 유효 성분으로서 포함하는 의약.

<9> FGF-2 기능의 이상 향진에 기인하는 질환의 예방 및/또는 치료를 위한 <8>에 기재된 의약.

<10> FGF-2 기능의 이상 향진에 기인하는 질환이, 암, 자기 면역 질환, 알레르기성 질환, 염증성 질환, 혹은 심장의 형성 이상, 혈관의 형성 이상, 또는 골격의 형성 이상인 <9>에 기재된 의약.

<11> 방광염 또는 관절염의 예방 및/또는 치료를 위한 <9>에 기재된 의약.

<12> 주사제인 <8>~<11> 중 어느 하나에 기재된 의약.

<13> <1>~<7> 중 어느 하나에 기재된 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물을 포함하는 pH 완충제.

다른 관점에서는, 본 발명에 의해,

<1>~<7> 중 어느 하나에 기재된 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물의 유효량을, 사람 또는 동물에 투여하는 공정을 포함하는 FGF-2 기능의 이상 향진에 기인하는 질환의 예방 및/또는 치료 방법;

FGF-2 기능의 이상 향진에 기인하는 질환의 예방 및/또는 치료를 위한 의약의 제조를 위한, <1>~<7> 중 어느 하나에 기재된 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물의 사용;

FGF-2 기능의 이상 향진에 기인하는 질환의 예방 및/또는 치료를 위한, <1>~<7> 중 어느 하나에 기재된 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 용매화물의 사용; 및

FGF-2 기능의 이상 향진에 기인하는 질환의 예방 및/또는 치료를 위한 의약으로서의 사용을 위한, <1>~<7> 중 어느 하나에 기재된 폴리황산펜토산 혹은 그 약학적으로 허용되는 염 또는 이들의 약학적으로 허용되는 용매화물

이 제공된다.

발명의 효과

[0032] 본 발명에 의해, FGF-2와 hepatocellular carcinoma의 결합 저해 활성이 높은 폴리황산펜토산이 제공된다. 본 발명의 폴리황산펜토산은, 암이나 관절염 등의 FGF-2 기능의 이상 항진에 기인하는 질환의 예방 및/또는 치료를 위한 의약으로서 유용하다. 또한, 본 발명의 폴리황산펜토산은, pH 완충제로서 사용할 수도 있다.

도면의 간단한 설명

[0033] 도 1은 폴리황산펜토산의 우론산 함량이 FGF-2와 hepatocellular carcinoma의 결합 저해 활성에 부여하는 영향을 나타내는 도면이다.

도 2는 폴리황산펜토산의 아세틸기 함량이 FGF-2와 hepatocellular carcinoma의 결합 저해 활성에 부여하는 영향을 나타내는 도면이다.

도 3은 폴리황산펜토산의 우론산 함량과, 100mg/100ml의 용액의 적정에 있어서 pH 6에서 4로 조정하기 위해 필요한 0.01N 염산 수용액의 양(ml)과의 관계를 나타내는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0034] 이하에 있어서, 본 발명에 대해 상세하게 설명한다. 이하에 기재하는 구성 요건의 설명은 대표적인 실시형태나 구체예에 기초하여 이루어질 수 있으나, 본 발명은 이러한 실시형태에 한정되는 것은 아니다.

[0035] 본 명세서에 있어서, 「유효 성분으로서 포함한다」란, 주요한 활성 성분으로서 포함한다는 의미이며, 효과를 나타낼 정도로 함유한다는 의미이다.

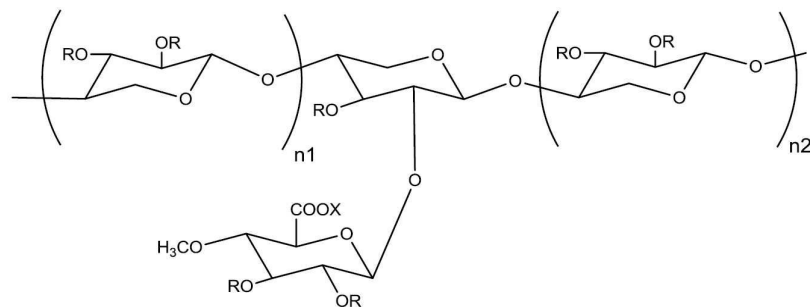
[0036] 본 명세서에 있어서, 「예방 및/또는 치료」란, 「예방」, 「치료」, 또는 「예방 및 치료」를 의미한다. 예를 들면, 「예방 및/또는 치료를 위한 의약」은 예방제로서만 기능하고 있어도 되고, 치료제로서만 기능하고 있어도 되고, 예방제 및 치료제로서의 기능을 동시에 갖고 있어도 된다.

[0037] <폴리황산펜토산>

[0038] 폴리황산펜토산은 자일로올리고당의 수산기 중 적어도 1개를 황산화합으로써 얻어지는 화합물이다. 본 명세서에 있어서는, 폴리황산펜토산에는, 폴리황산펜토산의 염과 폴리황산펜토산의 용매화물 및 폴리황산펜토산의 염의 용매화물도 포함된다. 폴리황산펜토산염은 약학적으로 허용되는 염인 것이 바람직하고, 예를 들면, 폴리황산펜토산나트륨, 폴리황산펜토산칼륨, 폴리황산펜토산칼슘 등을 들 수 있다. 용매화물은 약학적으로 허용되는 용매 화물인 것이 바람직하고, 용매로는, 예를 들면, 물을 들 수 있다.

[0039] 폴리황산펜토산은 식 II로 나타내는 구조를 갖는 것이다. 한편, 폴리황산펜토산은 식 II로 나타내는 구조를 1개 포함하는 것이어도 되고, 식 II로 나타내는 구조를 2개 이상 포함하는 것이어도 된다. 식 II로 나타내는 구조를 2개 이상 포함하는 경우, 식 II로 나타내는 구조는 폴리황산펜토산의 반복 단위를 나타내는 구조가 된다.

화학식 2



식 II

[0040] 식 II에 있어서, R은 각각 독립적으로, 수소 원자, -COCH₃, -SO₃X¹이고, 1분자 중 적어도 1개의 R은 -SO₃X¹이다.

[0041] X¹은 수소 원자 또는 1가 혹은 2가의 금속이며, 수소 원자, 나트륨, 칼륨, 또는 칼슘인 것이 바람직하고, 나트륨, 칼륨, 또는 칼슘인 것이 보다 바람직하며, 나트륨인 것이 특히 바람직하다. X는 수소 원자 또는 1가 혹은 2가의 금속이고, 나트륨, 칼륨, 또는 칼슘인 것이 바람직하며, 나트륨인 것이 특히 바람직하다. 또한, n1 및 n2

는 각각 독립적으로 0 이상 12 이하의 정수를 나타내고, n1 및 n2의 적어도 한쪽은 1 이상의 정수이다.

- [0042] 식 II에 있어서, n1+n2는 1~10이 바람직하고, 2~8이 보다 바람직하며, 3~6이 더욱 바람직하다.
- [0043] 식 II로 나타내는 구조의 말단으로서, 식 II로 나타내는 구조에 결합하고 있지 않는 부분은 -OR로 되어 있으면 된다. 즉, 식 II의 왼쪽 말단(n1측)에는 -OR이 결합하고, 식 II의 오른쪽 말단(n2측)에는 -R이 결합하고 있으면 된다. 특히 식 II의 왼쪽 말단(n1측)에는 -OR^X가 결합하고, 식 II의 오른쪽 말단(n2측)에는 -R^X가 결합하고 있는 것이 바람직하다. 여기서, R^X는 수소 원자 또는 -SO₃X¹이며, X¹은 수소 원자 또는 1가 혹은 2가의 금속이며, 수소 원자, 나트륨, 칼륨, 또는 칼슘인 것이 바람직하고, 나트륨, 칼륨, 또는 칼슘인 것이 보다 바람직하며, 나트륨인 것이 특히 바람직하다.
- [0044] 상기 식에 있어서, X는 1가 또는 2가의 금속인 것이 바람직하고, 의약적으로 허용되는 폴리황산펜토산의 염인 것이 바람직하다. 예를 들면, X는 나트륨, 칼륨, 또는 칼슘인 것이 바람직하고, 이 경우, 폴리황산펜토산의 염은 폴리황산펜토산나트륨, 폴리황산펜토산칼륨, 폴리황산펜토산칼슘이 된다. 그 중에서도, 폴리황산펜토산의 염은 폴리황산펜토산나트륨인 것이 특히 바람직하다.
- [0045] 본 발명의 폴리황산펜토산은 우론산 함량이 7.0질량%~15.0질량%이다. 본 발명의 폴리황산펜토산의 우론산 함량은 7.5질량%~14.0질량%인 것이 바람직하고, 7.7질량%~13.0질량%인 것이 보다 바람직하다. 한편, 상기 비율은 1분자 중에서 충족시키고 있을 필요는 없고, 개개의 분자의 혼합물 전체로서의 폴리황산펜토산으로서 충족되어 있으면 된다.
- [0046] 본 발명의 폴리황산펜토산은 n1, n2의 값, 치환기 R의 종류나 치환도가 서로 상이한, 식 II로 나타내는 개개의 분자로 이루어지는 혼합물이어도 된다.
- [0047] 폴리황산펜토산은 자일로올리고당을 황산화한 구조를 갖는다. 본 발명의 폴리황산펜토산은 산성 자일로올리고당을 황산화함으로써 얻어진 것이 바람직하다. 여기서, 자일로올리고당을 황산화한 구조를 갖는 자일로올리고당 중, 중성 자일로올리고당은 자일로올리고당 중에 우론산을 포함하지 않는 것이다. 산성 자일로올리고당은 자일로올리고당 1분자 중의 적어도 어느 하나의 자일로오스 단위에, 적어도 1개의 우론산이 결합한 것이다. 즉, 산성 자일로올리고당은 자일로올리고당 1분자 중에 적어도 1개 이상의 우론산 잔기를 측쇄로서 갖는 것이다. 자일로올리고당 1분자 중에 포함되는 우론산 잔기의 수는, 카르바졸 황산법이나 사붕산나트륨을 사용한 비색법으로 측정할 수 있다. 폴리황산펜토산에 있어서의 우론산 함량(질량%)은 실시예에 기재된 바와 같이, 상기 카르바졸 황산법에 의해 구한, 소정량의 폴리황산펜토산 중의 우론산 잔기의 수로부터 산출한 값으로 한다.
- [0048] 본 발명의 폴리황산펜토산의 황 함량은 10.0질량% 이상인 것이 바람직하고, 12.0질량% 이상인 것이 보다 바람직하며, 15.5질량% 이상인 것이 더욱 바람직하고, 16.5질량% 이상인 것이 특히 바람직하다. 또한, 폴리황산펜토산 중에 포함되는 황 함량은 20.0질량% 이하인 것이 바람직하다. 여기서, 폴리황산펜토산 중에 포함되는 황 함량은 일본 약국법에 등재되어 있는 산소 플라스크 연소법으로 측정되는 값이다.
- [0049] 공지의 폴리황산펜토산은 우론산 잔기와 함께 아세틸기(-COCH₃)가 결합한 자일로오스 단위를 일정량 포함하고 있다고 생각된다(예를 들면, 국제공개 제2014/114723호 참조). 한편, 본 발명의 폴리황산펜토산의 아세틸기 함량은 0~2.0질량%이며, 0~1.0질량%인 것이 바람직하고, 0~0.4질량%인 것이 보다 바람직하며, 0~0.3질량%인 것이 더욱 바람직하고, 실질적으로 0질량%인 것이 특히 바람직하다. 아세틸기 함량이 0~2.0질량%인 폴리황산펜토산을 얻기 위해, 본 발명의 폴리황산펜토산은 후술하는 탈아세틸화 공정을 거쳐 제조되는 것이 바람직하다.
- [0050] 폴리황산펜토산 중의 아세틸기 함량은, ¹H-NMR 측정에 있어서의 피크의 적분비로부터 산출할 수 있다. 구체적으로는, 우선, 특정량의 폴리황산펜토산과 특정량의 내표준 물질을 포함하는 ¹H-NMR 측정 용액을 사용하여 ¹H-NMR 측정을 행한다. 얻어지는 스펙트럼에 있어서 내표준 물질의 특정 기의 피크와, 아세틸기의 피크의 적분비를 비교하여, 용액 중의 아세틸기 몰량을 구한다. 그 후, 아세틸기 몰량에 43을 곱한 것을, 별도로 얻어지는 평균 분자량으로 나눈 값으로부터 질량%를 구할 수 있다.
- [0051] 본 발명의 폴리황산펜토산의 중량 평균 분자량(Mw)은 특별히 한정되는 것은 아니나, 예를 들면, 5000 이하여도 되고, 4000 이하여도 되며, 3900 이하여도 되고, 3800 이하여도 되며, 3750 이하여도 된다. 이 경우, 폴리황산펜토산의 중량 평균 분자량(Mw)의 하한값은 1000인 것이 바람직하다.
- [0052] 폴리황산펜토산의 수 평균 분자량(Mn)은 특별히 한정되는 것은 아니나, 예를 들면, 5000 이하여도 되고, 4000

이하여도 되며, 3900 이하여도 되고, 3800 이하여도 되며, 3750 이하여도 된다. 이 경우, 폴리황산펜토산의 수 평균 분자량(Mn)의 하한값은 300인 것이 바람직하다.

- [0053] 본 발명의 폴리황산펜토산의 중량 평균 분자량(Mw)과 수 평균 분자량(Mn)은 GPC(겔 퍼미에이션 크로마토그래피)에 의해 측정할 수 있다. GPC 칼럼으로는, 와이엠씨사 제조의 YMC-Pack Diol-300과 YMC-Pack Diol-60을 연결하여 사용할 수 있다. 또한, GPC의 조건으로는, 예를 들면, 하기의 조건을 채용한다.
- [0054] 용리액: 25mM 인산이수소칼륨/25mM 인산수소이칼륨/50mM 염화칼륨 수용액
- [0055] 유속: 0.7ml/분
- [0056] 측정 온도: 40℃
- [0057] 검출기: 시차 굴절률 검출기
- [0058] 본 발명의 폴리황산펜토산의 분산도는 1.00 이상 1.6 이하인 것이 바람직하고, 1.00 이상 1.5 이하인 것이 보다 바람직하다. 또한, 폴리황산펜토산의 분산도는 1.00 이상 1.4 이하인 것도 바람직하다. 여기서, 폴리황산펜토산의 분산도(D)는 이하의 식으로 산출된다.
- [0059] 분산도(D) = 중량 평균 분자량(Mw) / 수 평균 분자량(Mn)
- [0060] 후술하는 제조 방법으로 얻어지는 폴리황산펜토산은 순도가 높고, 분자량 분포가 좁은 경향이 관찰된다. 또한, 후술하는 제조 방법으로 얻어지는 폴리황산펜토산은 품질 안정성이 우수하다.
- [0061] <폴리황산펜토산의 용도: 의약>
- [0062] 본 발명의 폴리황산펜토산은 의약, 식품, 화장품, 그 밖의 조성물의 성분으로서 사용할 수 있다.
- [0063] 특히, 본 발명의 폴리황산펜토산은 의약의 유효 성분으로서 유용하다.
- [0064] 의약의 예로는, FGF-2 기능의 이상 향진에 기인하는 질환의 예방 및/또는 치료를 위한 의약을 들 수 있다.
- [0065] FGF-2(염기성 섬유아세포 증식 인자)는 증식 인자의 하나이며, 다양한 세포로부터 분비된다. 발생 단계에서는 세포 증식이나 분화에 깊게 관여한다. 생체에 있어서는, 조직 수복시에 높은 발현이 확인된다. 또한, FGF-2는 이상 혈관 신생에 관여하여 혈관 내피 세포에 대한 강한 증식, 유주 촉진 작용을 갖는다. 이들 기능에 의해, FGF-2는 종양 등의 질환에 관여하는 것이 알려져 있다. FGF-2는 혈관 신생을 촉진하여 골과피를 촉진하기 때문에, 만성 관절 류머티즘에 있어서의 병태에 관여하는 중심적 분자인 것도 밝혀져 있다. FGF-2는 예를 들면, 신장암 등, 혈관이 많은 종양에 있어서, 특히 FGF-2의 혈청 농도가 높은 것이 보고되어 있고, 그 밖에 전립선암, 유방암, 폐암 등, 다양한 종양에도 존재한다.
- [0066] FGF-2가 FGF의 수용체(FGFR)에 결합함으로써, 각종 사이토카인이나 수용체 유전자가 발현 유도된다. FGF-2는 헤파린 결합 영역을 갖고, 헤파린이나 헤파란황산과 결합한다. 세포로부터 분비된 FGF-2는 FGFR와의 결합시, 우선 세포 외 매트릭스의 헤파란황산에 결합하고 농축되어, 프로테아제로부터 보호를 받는다고 생각되고 있다. 이 때문에, FGF-2와 헤파란황산의 결합을 저해하는 활성은, FGF-2 기능의 이상 향진에 기인하는 질환의 예방 및/또는 치료의 효과를 판단하기 위한 지표가 된다.
- [0067] 실시예에서 나타내는 바와 같이, 폴리황산펜토산은 FGF-2와 헤파란황산의 결합을 저해하는 활성을 갖고, 이 활성은 폴리황산펜토산에 있어서의 우론산 함량이 7.0질량%~15.0질량%이면서 아세틸기 함량이 0~2.0질량%일 때에 높다. 따라서, 본 발명의 폴리황산펜토산은 FGF-2 기능의 이상 향진에 기인하는 질환의 예방 및/또는 치료에 특히 유용하다.
- [0068] FGF-2 기능의 이상 향진으로는, 구체적으로는 FGF-2에 의한 이상 혈관 신생을 들 수 있다. FGF-2 기능의 이상 향진은 하나의 지표로서, 혈청 중의 FGF-2 농도의 증가 등에 의해 판단할 수 있다.
- [0069] FGF-2 기능의 이상 향진에 기인하는 질환의 구체적으로는, 종양, 관절염 등의 만성 염증, 자기 면역 질환, 알레르기성 질환, 방광염 등의 염증성 질환, 혹은 심장의 형성 이상, 혈관의 형성 이상, 또는 골격의 형성 이상, 건선, 가령성 황반 변성증, 치주병, 강피증, 신생 혈관성 녹내장 등을 들 수 있다.
- [0070] 본 발명의 폴리황산펜토산은 방광염, 특히, 간질성 방광염의 예방 및/또는 치료를 위한 의약의 유효 성분으로서도 유용하다.
- [0071] 본 발명의 의약의 투여 형태는 특별히 제한되지 않고, 경구적, 비경구적으로 투여할 수 있다. 바람직하게는, 비

경구적으로, 주사 혹은 링거 등에 의해 정맥 내에 투여하면 된다.

- [0072] 본 발명의 의약은 유효 성분인 폴리황산펜토산만으로 이루어져 있어도 되나, 바람직하게는, 폴리황산펜토산에 대해, 적절히 약리학적 및 제제학적으로 허용할 수 있는 첨가물을 첨가하여, 당업자에게 주지인 형태의 제제로서 제공해도 된다.
- [0073] 약리학적 및 제제학적으로 허용할 수 있는 첨가물로는, 예를 들면, 부형제, 붕괴제 내지 붕괴 보조제, 결합제, 활택제, 코팅제, 색소, 희석제, 기제, 용해제 내지 용해 보조제, 등장화제, 완충제, pH 조절제, 안정화제, 분사제, 및 점착제 등을 사용할 수 있다.
- [0074] 경구 투여에 적절한 제제의 예로는, 예를 들면, 정제, 캡슐제, 산제, 세립제, 과립제, 액제, 또는 시럽제 등을 들 수 있다. 비경구적으로 투여하는 제제로는, 예를 들면, 주사제, 링거제, 좌제, 흡입제, 또는 첩포제 등을 들 수 있다. 경구 투여, 혹은 경피 또는 경점막 투여에 적절한 제제에는, 약리학적, 제제학적으로 허용할 수 있는 첨가물로서, 예를 들면, 포도당, 유당, D-만니톨, 전분, 또는 결정 셀룰로오스 등의 부형제; 카르복시메틸셀룰로오스, 전분, 또는 카르복시메틸셀룰로오스칼슘 등의 붕괴제 또는 붕괴 보조제; 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 또는 젤라틴 등의 결합제; 스테아르산마그네슘 또는 탠크 등의 활택제; 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 백당, 폴리에틸렌글리콜 또는 산화티탄 등의 코팅제; 바셀린, 유동 파라핀, 폴리에틸렌글리콜, 젤라틴, 카올린, 글리세린, 정제수, 또는 경질 지방 등의 기제를 사용할 수 있다. 또한, 프레온, 디에틸에테르, 또는 압축 가스 등의 분사제; 폴리아크릴산나트륨, 폴리비닐알코올, 메틸셀룰로오스, 폴리이소부틸렌, 폴리부텐 등의 점착제; 목면포 또는 플라스틱 시트 등의 기포 등의 제제용 첨가물을 사용하여 제제를 제조해도 된다.
- [0075] 주사 혹은 링거용으로 적합한 제제에는, 주사용 증류수, 생리 식염수, 프로필렌글리콜 등의 수성 혹은 용해형 주사제를 구성할 수 있는 용해제 또는 용해 보조제; 포도당, 염화나트륨, D-만니톨, 글리세린 등의 등장화제; 인산염(인산수소이나트륨, 인산이수소나트륨 등), 시트르산염, 초산염 등의 완충제; 무기산, 유기산, 무기 염기, 또는 유기 염기 등의 pH 조절제 등의 제제용 첨가물을 첨가해도 된다.
- [0076] 후술하는 바와 같이, 본 발명의 폴리황산펜토산은 우론산 함량이 보다 적은 폴리황산펜토산과 비교하여 pH 완충 능력이 높기 때문에, 본 발명의 폴리황산펜토산을 액제, 주사제, 링거제 등으로서 제공하는 경우 등 pH의 조정이 필요한 경우에 있어서, pH 조절제의 사용이 불필요하거나, 또는 사용량을 저감하는 것이 가능하다.
- [0077] 본 발명의 의약의 투여량은 특별히 제한되지 않고, 투여 형태나, 환자의 연령, 질환의 정도나 증상, 체중 등의 조건에 따라 적절히 선택할 수 있다. 예를 들면, 정맥 내, 피하 또는 근육 내 투여의 경우에는, 성인 1일당, 유효 성분량으로서 0.1~20mg/kg, 바람직하게는 0.2~10mg/kg을 투여하면 된다.
- [0078] <폴리황산펜토산의 용도: 항응고제>
- [0079] 본 발명의 폴리황산펜토산은 항응고제의 유효 성분으로서 사용할 수 있다.
- [0080] 본 발명의 폴리황산펜토산을 포함하는 항응고제는 의약으로서 제공하는 것 외에, 예를 들면, 의료 기재 또는 의료 재료의 표면 처리제로서 사용할 수 있다. 예를 들면, 매입형 인공 장기, 인공 혈관, 카테터, 스텐트, 혈액백, 콘택트 렌즈, 안내 렌즈, 수술용 보조 기구의 표면 처리제로서 사용할 수 있다. 의약 조성물을 의료 기재 또는 의료 재료의 표면에 고정하는 방법으로는, 예를 들면, 의료 기재 또는 의료 재료에 의약 조성물을 접촉시켜 두고, 거기에 방사선을 조사하는 방법 등을 들 수 있다.
- [0081] <폴리황산펜토산의 용도: pH 완충제>
- [0082] 실시예에서 나타내는 바와 같이, 본 발명의 폴리황산펜토산은 우론산 함량이 보다 적은 폴리황산펜토산과 비교하여 pH 완충능이 높다. 이 때문에, 본 발명의 폴리황산펜토산은 pH 완충제로서 사용할 수 있다. 본 발명의 폴리황산펜토산은 pH 4~6의 범위에서 완충 작용을 갖는다. 예를 들면, 주사제는 pH 4 미만에서, 환자에게 통증을 느끼게 한다. 본 발명의 폴리황산펜토산은 주사제 중에서, 의약의 유효 성분임과 동시에 pH 조정제로서 기능할 수 있다. 본 발명의 폴리황산펜토산은 안정하나 부패 예방의 관점에서 pH 4~6로 유지할 필요가 있는 식품, 의약, 그 밖의 임의의 조성물에 있어서도 사용할 수 있다.
- [0083] 본 발명의 폴리황산펜토산이 pH 완충제로서 포함되어 있는 수용액 등의 조성물 중의 폴리황산펜토산의 농도는 10~500mg/ml인 것이 바람직하고, 50~300mg/ml인 것이 보다 바람직하다.
- [0084] <폴리황산펜토산의 제조 방법>

- [0085] 본 발명의 폴리황산펜토산은 일 예로서, 식물 유래 원료로부터 산성 자일로올리고당을 얻는 제1 공정과, 산성 자일로올리고당으로부터 폴리황산펜토산을 얻는 제2 공정과 함께, 탈아세틸화 공정을 포함하는 폴리황산펜토산의 제조 방법에 의해 얻을 수 있다. 여기서, 제1 공정은 식물 유래 원료를 해중합하는 공정을 포함한다. 식물 유래 원료의 해중합 공정과, 황산화 공정이 이 순서임으로써, 폴리황산펜토산을 효율적으로 제조할 수 있다.
- [0086] 폴리황산펜토산의 제조 방법은 추가로 탈아세틸화 공정을 포함하고 있어도 된다. 탈아세틸화 공정을 포함함으로써, 저아세틸기 함량의 폴리황산펜토산을 제조할 수 있다.
- [0087] [식물 유래 원료]
- [0088] 산성 자일로올리고당은 식물 유래 원료를 해중합함으로써 얻을 수 있다. 식물 유래 원료로는, 예를 들면, 목재 유래 원료, 종자 유래 원료, 곡물 유래 원료, 과일 유래 원료 등을 들 수 있다. 또한, 식물 유래 원료로는, 코튼 린터나 코튼 린트 등의 코튼, 케나프나 마, 라미, 벚짚 등의 초본계 식물 등을 사용할 수도 있다. 식물 유래 원료로는, 상술한 각 유래 원료를 조합하여 사용해도 된다.
- [0089] 그 중에서도, 식물 유래 원료로는, 목재 유래 원료를 사용하는 것이 바람직하다. 목재 유래 원료로는, 예를 들면, 침엽수나 활엽수와 같은 목재 원료를 들 수 있다. 목재 유래 원료로는, 침엽수 및 활엽수로부터 선택되는 적어도 1종을 사용하는 것이 바람직하고, 활엽수를 사용하는 것이 보다 바람직하다. 한편, 목재 유래 원료로서 침엽수와 활엽수를 혼합한 것을 사용해도 된다. 또한, 목재 유래 원료로는, 나무 껍질을 사용해도 된다.
- [0090] 활엽수로는, 너도밤나무, 유칼립투스·글로블러스, 유칼립투스·그란디스, 유칼립투스·유로그란디스, 유칼립투스·펠리타, 유칼립투스·브라시아나, 아카시아·메아르시이 등을 들 수 있다. 침엽수로는, 삼나무, 편백나무, 소나무, 노송나무, 솔송나무 등을 들 수 있다.
- [0091] 목재 유래 원료의 용적중은, 450kg/m³ 이상 700kg/m³ 이하인 것이 바람직하고, 500kg/m³ 이상 650kg/m³ 이하인 것이 보다 바람직하다. 목재 유래 원료의 용적중을 상기 범위 내로 함으로써, 산성 자일로올리고당의 생산 효율을 보다 높일 수 있다.
- [0092] 목재 유래 원료는, 상술한 목재를 파쇄한 목재 칩인 것이 바람직하다. 식물 유래 원료로서 목재 칩을 사용함으로써, 식물 유래 원료의 해중합을 효율적으로 진행할 수 있고, 산성 자일로올리고당의 생산 효율을 높일 수 있다.
- [0093] [제1 공정]
- [0094] (해중합 공정)
- [0095] 제1 공정은 식물 유래 원료를 해중합하는 공정을 포함한다. 식물 유래 원료를 해중합하는 공정에서는, 식물 유래 원료를 화학적 및/또는 물리적으로 분해하여, 산성 자일로올리고당을 생성시킬 수 있다. 화학적 및/또는 물리적으로 분해하는 공정으로는, 예를 들면, 가열 처리 공정, 알칼리 처리 공정, 산 처리 공정, 효소 처리 공정, 이온 액체 처리 공정, 촉매 처리 공정 등을 들 수 있다. 그 중에서도, 해중합하는 공정은 가열 처리 공정 또는 효소 처리 공정인 것이 바람직하고, 가열 처리 공정인 것이 보다 바람직하다. 또한, 가열 처리 공정은 가열 가압 공정이어도 된다.
- [0096] 해중합 공정은 비알칼리성 조건하(pH 9 이하, 바람직하게는 pH 8 이하)에서 행해지는 것이 바람직하다.
- [0097] 가열 처리 공정은 식물 유래 원료를 용액의 존재하에서 가열하는 공정이다. 이러한 가열 처리 공정에서는 식물 유래 원료가 가수 분해되기 때문에, 가열 처리 공정은 가수 분해 처리 공정이나 전 가수 분해 처리 공정으로 칭해질 수 있다. 가열 처리 공정에서 사용하는 용액은 물인 것이 바람직하고, 식물 유래 원료에 대한 물의 비율(질량비)은 1:1~1:10인 것이 바람직하다. 식물 유래 원료에 대한 물의 비율을 상기 범위 내로 함으로써, 가수 분해 반응을 효율적으로 진행시킬 수 있다. 한편, 가열 처리 공정에서 사용되는 물은 식물 유래 원료와는 별도로 첨가한 수분이어도 되나, 그 일부는 식물 유래 원료에 원래 포함되는 수분이어도 된다.
- [0098] 가열 처리 공정에서는, 식물 유래 원료와 물 외에 다른 약품을 첨가해도 된다. 다른 약품으로는, 예를 들면, 알칼리, 산, 킬레이트제를 들 수 있다. 또한, 스케일 방지제나, 피치 컨트롤제, 이온 액체와 같은 다당의 해중합을 직접적·간접적으로 보조하는 약품을 첨가해도 된다.
- [0099] 가열 처리 공정은 식물 유래 원료를 물의 존재하에서 가열하는 공정이나, 이 때의 가열 온도(액온)는 30℃ 이상인 것이 바람직하고, 50℃ 이상인 것이 보다 바람직하며, 75℃ 이상인 것이 더욱 바람직하고, 90℃ 이상인 것이 보다 더욱 바람직하며, 100℃ 이상인 것이 특히 바람직하고, 120℃ 이상인 것이 가장 바람직하다. 또한, 가열

온도(액온)는 300℃ 이하인 것이 바람직하고, 250℃ 이하인 것이 보다 바람직하며, 200℃ 이하인 것이 더욱 바람직하다.

[0100] 가열 처리 공정에 있어서의 처리 시간은 처리 온도에 따라 적절히 결정할 수 있다. 처리 시간은 예를 들면, 5분 이상인 것이 바람직하고, 10분 이상인 것이 보다 바람직하며, 20분 이상인 것이 더욱 바람직하다. 한편, 하기 식으로 나타내는 P 팩터는 가열 처리시의 온도와 시간의 곱이며, P 팩터를 바람직한 범위 내로 조정하는 것이 바람직하다.

수학식 1

$$P = \int_{t_0}^t \frac{k_{H1(T)}}{k_{100^\circ\text{C}}} \cdot dt = \int_{t_0}^t \text{Exp} \cdot \left(40.48 - \frac{15106}{T} \right) \cdot dt$$

[0101]

[0102] 상기 식에 있어서, P는 P 팩터를 나타내고, T는 절대 온도(℃+273.5)를 나타내며, t는 가열 처리 시간을 나타내고, $k_{H1(T)}/k_{100^\circ\text{C}}$ 는 글리코시드 결합의 가수 분해의 상대 속도를 나타낸다.

[0103] 가열 처리 공정에서는 P 팩터를 200 이상으로 하는 것이 바람직하고, 250 이상으로 하는 것이 보다 바람직하며, 300 이상으로 하는 것이 더욱 바람직하다. 한편, P 팩터는 1000 이하인 것이 바람직하다. 가열 처리 공정에서는 P 팩터를 적절히 조정함으로써, 산성 자일로올리고당의 평균 중합도, 나아가서는 분자량을 원하는 범위 내로 할 수 있고, 이로써, 얻어지는 폴리황산펜토산의 분자량을 조정할 수 있다.

[0104] 가열 처리 공정에서는 식물 유래 원료를 포함하는 용액의 pH는 9 이하인 것이 바람직하고, 8 이하인 것이 보다 바람직하며, 7 이하인 것이 더욱 바람직하다. 즉, 가열 처리 공정은 비알칼리성 조건하에서 행하는 것이 바람직하다. 한편, 상기 pH의 값은 가열 처리를 행하기 전의 용액의 pH이다.

[0105] 가열 처리 공정에서는 원료 유래의 산이 해리되며, 적어도 일부에서 산 가수 분해가 행해져도 된다. 식물 유래 유래의 산으로는, 예를 들면, 초산이나 포름산 등의 유기산을 들 수 있다. 이 경우, 산 가수 분해 후의 식물 유래 원료를 포함하는 용액의 pH는 더욱 저하하게 된다.

[0106] 폴리황산펜토산의 제조 방법에 있어서는, 최초의 공정으로서 가열 처리 공정을 형성하는 것이 바람직하다. 이로써, 산성 자일로올리고당의 생산 효율을 높일 수 있고, 또한 폴리황산펜토산의 제조 효율을 높일 수 있다. 최초의 공정으로서 가열 처리 공정을 형성함으로써, 종래의 방법과 비교하여 산성 자일로올리고당을 얻기까지의 공정 수를 큰 폭으로 삭감할 수 있다. 또한, 최초의 공정으로서 비알칼리성 조건하에서 가열 처리 공정을 형성함으로써, 산성 자일로올리고당에 핵센우론산이 치환되지 않고, 착색이 억제된 산성 자일로올리고당을 효율적으로 생산할 수 있다.

[0107] 해중합 공정은 가열 처리 공정인 것이 바람직하나, 가열 처리 공정 이외의 공정을 채용할 수도 있다. 예를 들면, 해중합 공정이 효소 처리 공정인 경우에는, 해중합 공정은 식물 유래 원료와 효소를 혼합하는 공정을 포함한다. 효소로는 예를 들면, 헤미셀룰라아제 등을 사용할 수 있다. 구체적으로는, 상품명 셀로신 HC100(에이치비아이사 제조), 상품명 셀로신 TP25(에이치비아이사 제조), 상품명 셀로신 HC(에이치비아이사 제조), 상품명 카르타자임(클라리언트사 제조), 상품명 에코 펄프(롬·엔자임사 제조), 상품명 수미자임(신니혼 화학 공업사 제조), 펄프자임(노보노디스크사 제조), 멀티팩트 720(제넨코아사) 등의 시판의 효소 제제나, 트리코데르마(Trichoderma)속, 씨모미세스(Thermomyces)속, 아우레오바시디움(Aureobasidium)속, 스트렙토미세스(Streptomyces)속, 아스페르길루스(Aspergillus)속, 클로스트리디움(Clostridium)속, 바실루스(Bacillus)속, 씨모토가(Thermotoga)속, 씨모아스쿠스(Thermoascus)속, 칼도셀룸(Caldocellum)속, 씨모모노스포라(Thermomonospora)속 등의 미생물에 의해 생산되는 자일라나아제를 사용할 수 있다.

[0108] 효소 처리 공정에서는 식물 유래 원료와 물을 혼합한 용액에 효소를 첨가한다. 이 때, 용액의 온도는 10℃ 이상 90℃ 이하인 것이 바람직하고, 30℃ 이상 60℃ 이하인 것이 보다 바람직하다. 한편, 용액의 온도는 사용하는 효소의 최적 온도에 가까운 온도인 것이 바람직하다. 또한, 용액의 pH도 효소의 활성이 높아지는 범위로 조정하는 것이 바람직하고, 예를 들면, pH를 3 이상 10 이하로 조정하는 것이 바람직하다.

[0109] 또한, 해중합 공정이 알칼리 처리 공정이나 산 처리 공정인 경우는, 식물 유래 원료와, 알칼리 용액 또는 산 용

액을 혼합하는 공정을 포함한다. 알칼리 처리 공정에서는 수산화나트륨이나 수산화칼륨을 첨가하는 것이 바람직하다. 또한, 산 처리 공정에서는 염산, 황산, 초산 등을 첨가하는 것이 바람직하다. 한편, 이 경우도 적절히 가열이나 가압을 행해도 된다.

[0110] 해중합 공정이 효소 처리 공정, 알칼리 처리 공정, 및 산 처리 공정으로부터 선택되는 적어도 어느 하나인 경우에는, 당해 처리 공정 후, 추가로 압착 공정, 추출 공정, 가열 공정, 여과 공정, 분리 공정, 정제 공정, 농축 공정, 탈염 공정 등이 형성되는 경우가 있다. 또한, 당해 처리 공정 후, 저분자화 공정을 형성할 필요가 있는 경우도 있다. 한편, 그 밖의 공정으로는, 일본 공개특허공보 2003-183303호에 기재된 공정을 들 수 있고, 이들 내용은 본 명세서에 포함된다.

[0111] (여과 공정)

[0112] 제1 공정은 상술한 해중합 공정 후, 추가로 여과 공정을 포함해도 된다. 여과 공정에서는, 식물 유래 원료의 고형분과, 고형분을 제외한 용액으로 분리된다. 구체적으로는, 해중합 공정 후, 여과 공정을 형성함으로써, 펄프 원료가 되는 고형분과, 여과액으로 분리된다. 한편, 펄프 원료가 되는 고형분은 후공정으로서 증해 공정 등을 거침으로써 셀룰로오스 원료(용해 펄프)가 된다.

[0113] 회수한 여과액은 가스층과 액층으로 나눌 수 있다. 가스층에는 푸르푸랄류가 많이 포함되므로, 이들을 회수함으로써 푸르푸랄류를 단리할 수 있다. 한편, 액층에는 산성 자일로올리고당이나 중성 자일로올리고당을 포함하는 헤미셀룰로오스가 많이 포함되어 있다. 후술하는 공정에 있어서, 이 액층에 포함되는 산성 자일로올리고당을 분리 정제할 수 있다.

[0114] (분리 정제 공정)

[0115] 제1 공정은 상술한 해중합 공정 후, 추가로 분리 정제 공정을 포함해도 된다. 제1 공정이 상술한 여과 공정을 포함하는 경우, 분리 정제 공정은 여과 공정 후에 형성되는 것이 바람직하다.

[0116] 제1 공정에서는 해중합하는 공정 직후에 분리 정제 공정을 형성해도 되나, 해중합하는 공정 후, 여과 공정을 형성하고, 얻어진 여과액으로부터 산성 자일로올리고당을 분리 정제하는 공정을 형성하는 것이 바람직하다. 한편, 여과 공정은 분리 정제 공정의 일부로서 형성되어 있어도 되고, 분리 정제 공정과는 독립된 1 공정으로서 형성되어 있어도 된다. 분리 정제 공정은 산성 자일로올리고당을 분리 정제하는 공정이다. 여과 공정에서 얻어진 여과액에는, 산성 자일로올리고당 외에 중성 자일로올리고당 등이 포함되어 있으므로, 분리 정제 공정은 이들 다른 당류를 제거하는 공정이기도 하다.

[0117] 분리 정제 공정에서는, 예를 들면, 이온 교환 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 겔 여과, 이온 교환 처리, NF막 처리, UF막 처리, RO막 처리, 활성탄 처리 등의 방법을 채용하는 것이 바람직하다. 분리 정제 공정에서는, 상기 방법을 복수 조합하여 행하는 것도 바람직하다. 그 중에서도, 분리 정제 공정에 있어서 이온 교환 크로마토그래피를 행함으로써, 산성 자일로올리고당을 선택적으로 분리 정제할 수 있다. 이온 교환 크로마토그래피로는, 산성 자일로올리고당을 흡착함으로써, 당액(여과액)으로부터 산성 자일로올리고당을 주로 취출할 수 있다. 구체적으로는, 당액을 우선 강 양이온 교환 수지로 처리하여, 당액 중의 금속 이온을 제거한다. 이어서, 강 음이온 교환 수지를 사용하여 당액 중의 황산 이온 등을 제거한다. 그리고, 약 음이온 교환 수지로 처리하여, 산성 자일로올리고당을 수지에 흡착시킨다. 수지에 흡착된 산성올리고당을 저농도의 염(NaCl, CaCl₂, KCl, MgCl₂ 등)에 의해 용출시킴으로써, 협잡물이 적은 산성 자일로올리고당액을 얻을 수 있다.

[0118] (농축 공정)

[0119] 제1 공정은 추가로 농축 공정을 포함하고 있어도 된다. 농축 공정은 예를 들면, 여과 공정 후이면서, 분리 정제 공정 전에 형성되는 것이 바람직하다. 이러한 농축 공정을 형성함으로써, 분리 정제 공정을 보다 효율적으로 행할 수 있어, 폴리황산펜토산의 생산 효율을 높일 수 있다.

[0120] 농축 공정으로는 예를 들면, NF막, 한외 여과막, 역침투막 등을 사용한 막 처리 공정이나, 에바포레이션 등을 사용한 농축 공정 등을 들 수 있다.

[0121] 농축 공정에서는 산성 자일로올리고당의 함유량이 농축액의 전체 질량에 대해 10% 이상 80% 이하가 되도록 농축하는 것이 바람직하고, 20% 이상 60% 이하가 되도록 농축하는 것이 바람직하다.

[0122] <탈수 공정>

- [0123] 제1 공정에서 얻어지는 산성 자일로올리고당은 산성 자일로올리고당액으로서 얻어도 되나, 탈수 공정을 거침으로써, 산성 자일로올리고당 농축물이나 산성 자일로올리고당 분말로서 얻어도 된다. 산성 자일로올리고당 분말을 제조하는 경우에는, 분리 정제 공정 후, 추가로 분말화 공정을 형성하는 것이 바람직하다. 본 발명에 있어서, 탈수 공정을 형성함으로써, 후술하는 황산화 공정에 있어서의 황산화를 효율적으로 진행할 수 있다.
- [0124] 분말화 공정에서는, 분리 정제 공정에서 얻어진 산성 자일로올리고당액을 예를 들면, 스프레이 드라이어, 동결 건조기, 열풍 건조기, 수용성 유기 용매 등을 이용하여 처리함으로써, 산성 자일로올리고당 분말을 얻을 수 있다.
- [0125] [제2 공정]
- [0126] (황산화 공정)
- [0127] 제1 공정에서 얻어진 산성 자일로올리고당을, 제2 공정에 있어서 황산화함으로써 폴리황산펜토산을 얻을 수 있다. 즉, 제2 공정은 황산화 공정을 포함한다.
- [0128] 황산화에 제공되는 산성 자일로올리고당의 평균 중합도는, 최종 생성물로서 얻어지는 폴리황산펜토산의 분자량에 의해 적절히 조정하는 것이 바람직하다.
- [0129] 산성 자일로올리고당의 평균 중합도는, 산성 자일로올리고당의 전체 당량을 환원 당량으로 나눔으로써 산출할 수 있다. 전체 당량을 산출할 때에는, 우선, 자일로올리고당액을 50℃로 유지하고, 15000rpm에서 15분간 원심분리를 행한다. 그 후, 상층액의 전체 당량을 페놀 황산법(「환원당의 정량법」 학회 출판 센터 발행)으로 정량한다. 이 때, 사용하는 검량선은 D-자일로오스(와코 순약 공업)를 사용하여 작성한다. 또한, 환원 당량은 소모기-닐슨법(「환원당의 정량법」 학회 출판 센터 발행)으로 정량한다. 이 때에도, 사용하는 검량선은 D-자일로오스(와코 순약 공업)를 사용하여 작성한다.
- [0130] 황산화 공정에서는, 산성 자일로올리고당액에 황산 또는 황산 유도체를 첨가하여, 황산화를 행한다. 황산 유도체로는 예를 들면, 삼산화황·피리딘 착체나 클로로실폰산 등을 들 수 있다. 이 때, 산성 자일로올리고당액의 농도는 0.1질량% 이상 20질량% 이하인 것이 바람직하고, 이러한 농도의 산성 자일로올리고당액에 황산을 0.1질량% 이상 50질량% 이하가 되도록 첨가하는 것이 바람직하다. 황산을 첨가한 후의 산성 자일로올리고당액의 pH는 1 이상 9 이하인 것이 바람직하다.
- [0131] (황산화 후 정제 공정)
- [0132] 제2 공정은 황산화 후, 황산화 후 정제 공정을 추가로 포함해도 된다. 이러한 황산화 후 정제 공정을 형성함으로써, 순도가 높은 폴리황산펜토산을 얻을 수 있다.
- [0133] 황산화 후 정제 공정에서는, 예를 들면, 원심 분리, 막 여과, 투석, 수용성 유기 용매 처리, 활성탄 처리 등의 방법을 채용하는 것이 바람직하다. 그 중에서도, 수용성 유기 용매 처리 및 활성탄 처리는 황산화된 폴리황산펜토산을 선택적으로 분리 정제할 수 있으므로, 바람직하게 이용된다.
- [0134] (분말화 공정)
- [0135] 제2 공정에서는 황산화된 폴리황산펜토산은 폴리황산펜토산 용액으로서 얻어도 되나, 분말화 공정을 거침으로써, 폴리황산펜토산 분말로서 얻어도 된다. 폴리황산펜토산 분말을 제조하는 경우에는, 황산화 후 정제 공정 후, 추가로 분말화하는 공정을 형성하는 것이 바람직하다.
- [0136] 분말화 공정으로는, 황산화 후 정제 공정에서 얻어진 폴리황산펜토산 용액을 예를 들면, 스프레이 드라이어, 동결 건조기, 열풍 건조기, 수용성 유기 용매 등을 이용하여 처리함으로써, 폴리황산펜토산 분말을 얻을 수 있다.
- [0137] 상술한 바와 같은 제2 공정을 거침으로써, 폴리황산펜토산이 얻어진다. 여기서 얻어지는 폴리황산펜토산의 황함량은, 폴리황산펜토산의 전체 질량에 대해 10질량% 이상 20질량% 이하가 바람직하다. 폴리황산펜토산의 황함량은 일본 약국방 일반 시험법의 산소 플라스크 연소법 등에 의해 측정할 수 있다.
- [0138] [탈아세틸화 공정]
- [0139] 폴리황산펜토산의 제조시에는 탈아세틸화를 행하는 것이 바람직하다. 탈아세틸화 공정은 해중합 공정 후의 어느 단계인 것이 바람직하다. 탈아세틸화 공정에 의해, 폴리황산펜토산이 갖는 아세틸기 함량을 저감시킬 수 있다. 구체적으로는, 탈아세틸화 공정은 산성 자일로올리고당 등의, 식물 유래 원료를 기초로 얻어진 물질을 포함하는 용액(본 명세서에 있어서는, 「산성 자일로올리고당 등을 포함하는 용액」으로도 칭한다)을 pH 11 이상으로 하

기 위해 염기를 첨가하는 공정이다. 탈아세틸화 공정에 있어서는, 해중합 후 얻어지는 용액, 여과 공정에서 얻어진 여과액, 분리 정제 공정 후이면서 황산화 공정 전의 산성 자일로올리고당을 포함하는 용액, 또는 황산화 공정 후의 산성 자일로올리고당(폴리황산펜토산)을 포함하는 용액 등이 pH 11 이상으로 되어 있으면 된다. 이들 중, 분리 정제 공정 후이면서 황산화 공정 전의 산성 자일로올리고당을 포함하는 용액을 pH 11 이상으로 했을 경우에는, 안정적인 품질로 아세틸기 함량이 저감된 폴리황산펜토산을 얻을 수 있고, 또한, 아세틸기가 결합되어 있던 부위도 황산화할 수 있으므로, 황산화의 효율, 나아가서는 폴리황산펜토산의 제조 효율을 향상시키는 것이 가능하다. 또한, 황산화 공정 후의 산성 자일로올리고당(폴리황산펜토산)을 포함하는 용액을 pH 11 이상으로 했을 경우에는, 정제 공정을 효율화할 수 있다. 산성 자일로올리고당 등을 포함하는 용액은 수용액인 것이 바람직하다. 본 명세서에 있어서, 산성 자일로올리고당을 포함하는 용액을 산성 자일로올리고당액이라고 할 수도 있다.

- [0140] 탈아세틸화 공정에서 적용되는 pH는 11~14인 것이 바람직하고, 12~13이 보다 바람직하다. 탈아세틸화 공정을 거치는 용액은 0.5시간 이상 pH 11 이상으로 유지하는 것이 바람직하고, 1.0시간 이상 pH 11 이상으로 유지하는 것이 보다 바람직하며, 2.0시간 이상 pH 11 이상으로 유지하는 것이 더욱 바람직하고, 3.0시간 이상 pH 11 이상으로 유지하는 것이 특히 바람직하다. 특히 pH가 12 미만일 때에는 1.0시간 이상 유지하는 것이 바람직하다. 특히 바람직한 조건으로는 pH 12~13으로 3시간 이상 유지하는 조건을 들 수 있다.
- [0141] 상기 pH로 유지하는 동안, 상기 용액은 교반되고 있는 것이 바람직하다. 상기 pH로 유지하는 동안의 온도 조건은 특별히 한정되지 않으나, 실온인 것이 바람직하다.
- [0142] 탈아세틸화 공정에 있어서는, 탈아세틸화 공정을 거치는 용액(산성 자일로올리고당을 포함하는 용액 등)에 염기가 첨가되면 된다. 첨가되는 염기는 목적으로 하는 pH를 달성할 수 있는 한 특별히 한정되지 않으나, 수산화나트륨이 바람직하다.
- [0143] 탈아세틸화 공정은 상기 pH로 유지 후, 염기의 첨가에 의해 pH 11 이상이 된 용액을 pH 11 미만으로 조정하는 pH 조정 공정을 포함하고 있어도 된다. pH 조정 공정에서는, 예를 들면, pH 9 이하, pH 8 이하, pH 7 이하, pH 6 이하, pH 5 이하, pH 4 이하 등으로 조정되면 된다. 조정은 산의 첨가에 의해 행해지면 된다. 산으로는 염산을 들 수 있다.
- [0144] 탈아세틸화 공정은 상기 pH 조정 공정 후, 탈염 공정을 포함하는 것도 바람직하다. 탈염은 예를 들면, 투석막이나 NF막을 이용하여 행할 수 있다.
- [0145] 탈아세틸화 공정은 추가로 그 후의 처리를 위해 생성물을 분말화하는 공정을 포함하고 있어도 된다.
- [0146] [그 밖의 공정]
- [0147] (분자량 조정 공정)
- [0148] 상술한 제1 공정과 제2 공정 사이에 분자량 조정 공정을 추가로 포함해도 된다. 폴리황산펜토산의 제조 방법이 탈아세틸화 공정을 포함할 때, 분자량 조정 공정은 탈아세틸화 공정 전이어도 되고, 후여도 된다. 분자량 조정 공정에서는, 제1 공정에서 얻어지는 산성 자일로올리고당의 분자량을 조정한다. 예를 들면, 분자량 조정 공정에서는, 산성 자일로올리고당을 저분자화할 수 있다.
- [0149] 분자량 조정 공정에서는, 예를 들면, 산 처리나 알칼리 처리, 효소 처리, NF막 처리, UF막 처리, RO막 처리, 겔 여과 처리, 활성탄 처리, 이온 교환 처리, 전기 투석 처리 등을 행함으로써, 중량 평균 분자량이 1000 이상 5000 이하인 폴리황산펜토산을 얻을 수 있다. 또한, 분자량 조정 공정에서는 막 처리 등을 행함으로써, 원하는 중량 평균 분자량인 폴리황산펜토산을 선택적으로 회수하는 방법을 채용해도 된다.
- [0150] (분자량 조정 후 분리 정제 공정)
- [0151] 폴리황산펜토산의 제조 방법은 분자량 조정 공정 후, 분자량 조정 후 분리 정제 공정을 추가로 포함해도 된다. 분자량 조정 후 분리 정제 공정으로는, 예를 들면, 겔 여과, 이온 교환 처리, NF막 처리, UF막 처리, RO막 처리, 전기 투석 처리, 활성탄 처리, 수용성 유기 용매 처리, 크로마토그래피 처리 등을 들 수 있다. 이러한 분자량 조정 후 분리 정제 공정을 형성함으로써, 분자량 조정 공정에서 얻어진 원하는 분자량을 갖는 산성 자일로올리고당을 선택적으로 회수할 수 있어, 분자량 분포가 좁은 폴리황산펜토산을 효율적으로 얻을 수 있다.
- [0152] 실시예
- [0153] 이하에 제조예를 들어 본 발명의 특징을 더욱 구체적으로 설명한다. 이하의 제조예에 나타내는 재료, 사용량,

비율, 처리 내용, 처리 순서 등은 본 발명의 취지를 이탈하지 않는 한 적절히 변경할 수 있다. 따라서, 본 발명의 범위는 이하에 나타내는 구체예에 의해 한정적으로 해석되어야 할 것은 아니다.

[0154] <산성 자일로올리고당(1)의 제조>

[0155] 목재 칩(활엽수) 10질량부에 대해, 물을 50질량부 첨가하고, 165℃에서 3시간 가열 처리를 행했다. 그 후, 스크루 프레스(신료 제작소 제조: 250×1000SPH-EN)에서 고액 분리를 행하고, 여과액을 회수했다. 여과액을 마이크론 레이트 1 μ m의 백 필터(ISP 필터즈사 제조)로 여과하고, 활성탄(미쿠라 화학사 제조: PM-SX)을 5질량부 첨가하고 50℃에서 2시간 처리한 후, 추가로 마이크론 레이트 0.2 μ m의 세라믹 필터(니혼 폴사 제조)로 활성탄제 여과하여, 청정한 여과액을 회수했다. 청정 여과액을 역침투막(닛토 전공사 제조: NTR-7450)으로 20배로 농축하여 농축 당액을 얻은 후, 그 농축 당액을 SV 1.5로 강 양이온 수지(미즈비시 화학사 제조: PK-218), 약 음이온 수지(미즈비시 화학사 제조: WA30), 강 양이온 수지(미즈비시 화학사 제조: PK-218), 약 음이온 수지(미즈비시 화학사 제조: WA30)로 이루어지는 4상 4탑식 이온 교환 수지에 통액하여, 2탑째 및 4탑째의 약 음이온 수지에 산성 자일로올리고당을 흡착시키고, 그 후 50mM 염화나트륨 수용액을 SV 1.5로 2탑째 및 4탑째에 통액함으로써, 산성 자일로올리고당 용액을 회수했다. 얻어진 산성 자일로올리고당 용액에 pH 13이 되도록 수산화나트륨을 첨가하고, 실온에서 3시간 교반하여 탈아세틸화를 행했다. 얻어진 액에 pH 5 미만이 되도록 염산을 첨가하고 투석막(SPECTRUM사 제조: 스펙트라/포어7 CE막 MWC0100~500)으로 탈염을 행한 후, 동결 건조기(EYELA사 제조)를 이용하여 분말화했다.

[0156] <중성 자일로올리고당의 제조>

[0157] 목재 칩(활엽수) 10질량부에 대해, 물을 50질량부 첨가하고, 165℃에서 3시간 가열 처리를 행했다. 그 후, 스크루 프레스(신료 제작소 제조: 250×1000SPH-EN)에서 고액 분리를 행하고, 여과액을 회수했다. 여과액을 마이크론 레이트 1 μ m의 백 필터(ISP 필터즈사 제조)로 여과하고, 활성탄(미쿠라 화학사 제조: PM-SX)을 5질량부 첨가하고 50℃에서 2시간 처리한 후, 추가로 마이크론 레이트 0.2 μ m의 세라믹 필터(니혼 폴사 제조)로 활성탄제 여과하여, 청정한 여과액을 회수했다. 청정 여과액을 역침투막(닛토 전공사 제조: NTR-7450)으로 20배로 농축하여 농축 당액을 얻은 후, 그 농축 당액을 SV 1.5로 강 양이온 수지(미즈비시 화학사 제조: PK-218), 약 음이온 수지(미즈비시 화학사 제조: WA30), 강 양이온 수지(미즈비시 화학사 제조: PK-218), 약 음이온 수지(미즈비시 화학사 제조: WA30)로 이루어지는 4상 4탑식 이온 교환 수지에 통액함으로써, 중성 자일로올리고당액을 회수했다. 얻어진 중성 자일로올리고당액에 pH 13이 되도록 수산화나트륨을 첨가하고, 실온에서 3시간 교반하여 탈아세틸화를 행했다. 얻어진 액에 pH 5 미만이 되도록 염산을 첨가하고 투석막(SPECTRUM사 제조: 스펙트라/포어7 CE막 MWC0100~500)으로 탈염을 행한 후, 동결 건조기(EYELA사 제조)를 이용하여 분말화했다.

[0158] <폴리황산펜토산나트륨의 제조 1>

[0159] (비교예 1)

[0160] 100ml 분리형 플라스크에 N,N-디메틸포름아미드 25ml, 삼산화황·피리딘 복합체 12.4g, 및 상술한 방법으로 제조한 중성 자일로올리고당 분말 1.5g을 첨가하여 40℃에서 3시간 반응을 행했다. 냉각 후, 얻어진 반응 혼합물을 500ml의 에탄올 중에 적하하여, 생성된 침전물을 여과 분별하고, 물 30ml를 첨가하여 용해했다. 이 액에 수산화나트륨 용액을 첨가하여 pH가 10이 되도록 조정했다. 이 액을 500ml의 에탄올 중에 적하하여 얻어진 석출물을 여과 분별했다. 그 후, 석출물을 30ml의 물을 첨가하여 용해하고, 활성탄을 첨가하고 교반한 후 여과했다. 여과액을 에바포레이터로 농축하고, 동결 건조기(EYELA사 제조)를 이용하여 분말화했다.

[0161] (비교예 2)

[0162] 비교예 1의 중성 자일로올리고당 분말 1.5g 대신에 중성 자일로올리고당 분말 1.125g과 산성 자일로올리고당(1) 0.375g의 혼합물을 사용하는 것 이외에는, 비교예 1과 동일하게 하여 폴리황산펜토산나트륨을 얻었다.

[0163] (실시예 1)

[0164] 비교예 1의 중성 자일로올리고당 분말 1.5g 대신에 중성 자일로올리고당 분말 0.375g과 산성 자일로올리고당(1) 1.125g의 혼합물을 사용하는 것 이외에는, 비교예 1과 동일하게 하여 폴리황산펜토산나트륨을 얻었다.

[0165] (실시예 2)

[0166] 비교예 1의 중성 자일로올리고당 분말 1.5g 대신에 산성 자일로올리고당(1) 1.5g을 사용하는 것 이외에는, 비교예 1과 동일하게 하여 폴리황산펜토산나트륨을 얻었다.

- [0167] <물성값>
- [0168] 실시예 1, 2 및 비교예 1, 2의 폴리황산펜토산의 우론산 함량, 평균 분자량, 황 함량을 이하와 같이 측정했다.
- [0169] (우론산 함량)
- [0170] 실시예 및 비교예의 폴리황산펜토산나트륨 약 10mg을 칭량하여, 증류수에 용해시켜 정확하게 25ml로 했다. 이 액 1ml를 시험관에 취하고, 빙수 중에서 냉각하면서 0.025M 사붕산나트륨·황산 용액 5ml를 첨가하여 혼화하고, 수욕에서 10분간 가열했다. 즉시 빙수 중에서 냉각하고, 카르바졸 시액 0.2ml를 첨가하여 혼화하고, 수욕에서 15분간 가열한 후, 방랭하여 시료 용액으로 했다. 별도로, 농도가 10~100 μ g/ml의 글루쿠론산 표준 원액을 조제하고, 동일한 조작을 행하여 표준 용액으로 했다. 증류수 1ml를 사용하여 동일하게 조작한 것을 대조액으로 하고, 파장 530nm에 있어서의 흡광도를 측정했다. 표준 용액의 흡광도로부터 검량선을 작성하고, 실시예 및 비교예의 글루쿠론산량(g)을 구했다. 이하의 식으로부터 우론산 함량(질량%)을 구했다. 정량값이 마이너스가 되는 경우는 0%로 간주했다.
- [0171] 우론산 함량(질량%)
- [0172] = 글루쿠론산량(μ g) / (폴리황산펜토산나트륨의 칭취량 \times 1 / 25) / 10
- [0173] (황 함량)
- [0174] 일본 약국방에 기재된 산소 플라스크 연소법으로 황 함량을 측정했다.
- [0175] (평균 분자량)
- [0176] 본 발명의 폴리황산펜토산의 중량 평균 분자량(Mw)은 GPC(겔 퍼미에이션 크로마토그래피)에 의해 측정할 수 있다. GPC 칼럼으로는, 와이엠씨사 제조의 YMC-Pack Diol-300과 YMC-Pack Diol-60을 연결하여 사용할 수 있다. 또한, GPC의 조건으로는, 예를 들면, 하기의 조건을 채용한다.
- [0177] 용리액: 25mM 인산이수소칼륨 / 25mM 인산수소이칼륨 / 50mM 염화칼륨 수용액
- [0178] 유속: 0.7ml/분
- [0179] 측정 온도: 40 $^{\circ}$ C
- [0180] 검출기: 시차 굴절률 검출기
- [0181] <FGF-2와 헤파란황산의 결합 저해 활성>
- [0182] 실시예 및 비교예의 폴리황산펜토산 10mg을 생리 식염수 10ml에 용해하고, 비오틴화 헤파란황산과 혼합하고 37 $^{\circ}$ C에서 15분 교반했다. 블랭크로서, 생리 식염수만을 비오틴화 헤파란황산과 혼합한 샘플도 준비했다. 이들 용액을 FGF-2 고정화 플레이트에 첨가하고, 37 $^{\circ}$ C에서 15분 플레이트를 교반했다. 용액을 버리고, 0.1% Tween 20/PBS로 3회 웰을 세정한 후, 아비딘-HRP 용액을 첨가하고 37 $^{\circ}$ C에서 30분 플레이트를 교반했다. 용액을 버리고, 0.1% Tween 20/PBS로 3회 웰을 세정한 후, HRP용 기질을 첨가하고, 실온에서 5분 정도 발색시켰다. 반응 정지액을 첨가하고, 교반한 후, 파장 450nm의 흡광도(A450nm)를 측정했다. 이하의 식으로 저해율을 산출했다.
- [0183] 저해율(%) = (A450nm(블랭크) - A450nm(폴리황산펜토산)) / A450nm(블랭크)
- [0184] 비오틴화 헤파란황산, FGF-2 고정화 플레이트, 아비딘-HRP 용액, HRP용 기질은 Heparan Degrading Enzyme Assay Kit(다카라 바이오사)에 부속되어 있는 것을 사용했다. 또한, Tween20, PBS, 반응 정지액은 Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfic Acid(다카라 바이오사)에 부속되어 있는 것을 사용했다.
- [0185] 결과를 표 1 및 도 1에 나타냈다.

표 1

	비교예 1	비교예 2	실시에 1	실시에 2
우론산 함량(질량%)	0.00	1.64	7.94	12.61
평균 분자량	2053	2168	2487	2781
황 함량(질량%)	15.34	15.09	14.33	13.28
FGF 저해율(%)	81.8	90.8	94.5	95.4

[0186]

[0187]

[0188]

[0189]

[0190]

[0191]

[0192]

[0193]

[0194]

[0195]

[0196]

[0197]

[0198]

[0199]

[0200]

[0201]

[0202]

[0203]

표 1 및 도 1에 나타내는 결과로부터, 우론산 함량 7.0질량%~15.0질량%의 폴리황산펜토산나트륨은 높은 FGF 저해율을 나타내고 있음을 알 수 있다.

<산성 자일로올리고당(2)의 제조>

목재 칩(활엽수) 10질량부에 대해, 물을 50질량부 첨가하고, 165℃에서 3시간 가열 처리를 행했다. 그 후, 스크루 프레스(신료 제작소 제조: 250×1000SPH-EN)에서 고액 분리를 행하고, 여과액을 회수했다. 여과액을 미크론 레이트 1μm의 백 필터(ISP 필터즈사 제조)로 여과하고, 활성탄(미쿠라 화학사 제조: PM-SX)을 5질량부 첨가하고 50℃에서 2시간 처리한 후, 추가로 미크론레이트 0.2μm의 세라믹 필터(니혼 폴사 제조)로 활성탄제 여과하여, 청징한 여과액을 회수했다. 청징 여과액을 역침투막(닛토 전공사 제조: NTR-7450)으로 20배로 농축하여 농축 당액을 얻은 후, 그 농축 당액을 SV 1.5로 강 양이온 수지(미즈비시 화학사 제조: PK-218), 약 음이온 수지(미즈비시 화학사 제조: WA30), 강 양이온 수지(미즈비시 화학사 제조: PK-218), 약 음이온 수지(미즈비시 화학사 제조: WA30)로 이루어지는 4상 4탑식 이온 교환 수지에 통액하여, 2탑째 및 4탑째의 약 음이온 수지에 산성 자일로올리고당을 흡착시켜, 그 후 50mM 염화나트륨 수용액을 SV 1.5로 2탑째 및 4탑째에 통액함으로써, 산성 자일로올리고당 용액을 회수했다. 얻어진 산성 자일로올리고당 용액을 동결 건조기(EYELA사 제조)를 이용하여 분말 화했다.

<산성 자일로올리고당(3)의 제조>

산성 자일로올리고당(1)의 제조의 탈아세틸화를 pH 11로 1시간으로 한 것 이외에는, 동일하게 처리하여 산성 자일로올리고당(3)을 얻었다.

<산성 자일로올리고당(4)의 제조>

산성 자일로올리고당(1)의 제조의 탈아세틸화를 pH 11로 2시간으로 한 것 이외에는, 동일하게 처리하여 산성 자일로올리고당(4)을 얻었다.

<산성 자일로올리고당(5)의 제조>

산성 자일로올리고당(1)의 제조의 탈아세틸화를 pH 12로 1시간으로 한 것 이외에는, 동일하게 처리하여 산성 자일로올리고당(4)을 얻었다.

<폴리황산펜토산나트륨의 제조 2>

(비교예 3)

비교예 1의 중성 자일로올리고당 분말 1.5g 대신에 산성 자일로올리고당(2) 1.5g을 사용하는 것 이외에는, 비교예 1과 동일하게 하여 폴리황산펜토산나트륨을 얻었다.

(실시에 3~5)

비교예 1의 중성 자일로올리고당 분말 1.5g 대신에 각각 산성 자일로올리고당(3)~(5) 1.5g을 사용하는 것 이외에는, 비교예 1과 동일하게 하여, 실시예 3~5의 폴리황산펜토산나트륨을 얻었다.

<물성값, 및 FGF-2와 헤파란황산의 결합 저해 활성>

실시에 3~5 및 비교예 3의 폴리황산펜토산의 우론산 함량 및 평균 분자량을 실시예 1과 동일하게 측정했다. 또한, 실시예 2~5 및 비교예 3의 폴리황산펜토산의 아세틸기 함량을 이하의 순서로 구했다.

3-트리메틸실릴프로피온산나트륨-2,2,3,3-d4 (ISOTEC사) 35mg을 증수(칸토 화학사)에 용해하고, 25ml 메스플라스크를 이용하여 메스업하여, 내표준 용액을 제작 했다. 실시예 및 비교예의 폴리황산펜토산나트륨을 30mg 칭량하

고, 내표준 용액 1ml에 용해하여 NMR용 용액을 조제했다. 얻어진 용액을 NMR 샘플 튜브(칸토 화학사)로 옮기고, FT-NMR(JNM-LA400: 니혼 덴시사)에 의해 ¹H-NMR 측정을 행했다. 내표준 물질의 트리메틸실릴기 피크 및 폴리황산펜토산나트륨의 아세틸기 피크의 적분비로부터, 아세틸기 함량을 산출했다.

[0204] 실시예 2~5 및 비교예 3의 폴리황산펜토산의 우론산 함량, 평균 분자량, 및 FGF-2와 헤파란황산의 결합 저해 활성을 실시예 1과 동일하게 측정했다. 결과를 표 2 및 도 2에 나타낸다.

표 2

	비교예 3	실시예 3	실시예 4	실시예 5	실시예 2
평균 분자량	2211	2356	2325	2129	2781
우론산 함량(질량%)	11.03	11.40	11.42	10.83	12.61
아세틸기 함량(질량%)	2.74	1.62	0.87	0.22	0.00
F G F 저해율(%)	87.8	94.4	92.2	91.0	95.4

[0205]

[0206] <보존 안정성>

[0207] 실시예 2, 4, 및 비교예 3의 폴리황산펜토산나트륨을 100mg/ml의 농도가 되도록 정제수에 용해하고, 스크루 바이알로 밀봉하고, 40℃에서 1주간 및 2주간 보존했을 때의 용액 성상을 육안으로 확인했다.

표 3

		실시예 2	실시예 4	비교예 3
	아세틸기 함량(질량%)	0.00%	0.87%	2.74%
용액의 성상	초기	무색 투명	무색 투명	무색 투명
	40℃ 1주간	무색 투명	무색 투명	미황색 투명
	40℃ 2주간	미황색 투명	미황색 투명	황색 투명

[0208]

[0209] 표 2 및 도 2에 나타내는 결과로부터, 아세틸기 함량 2.0% 미만의 폴리황산펜토산나트륨의 FGF 저해율은 90%를 초과하고 있어, 높은 저해율을 나타내고 있는 것을 알 수 있다. 또한, 표 3으로부터 아세틸기 함량이 낮은 폴리황산펜토산나트륨 수용액은 실온보다 높은 온도로 보존했을 때의 착색이 적어, 안정성이 높은 것을 알 수 있다.

[0210] (폴리황산펜토산의 pH 완충 작용)

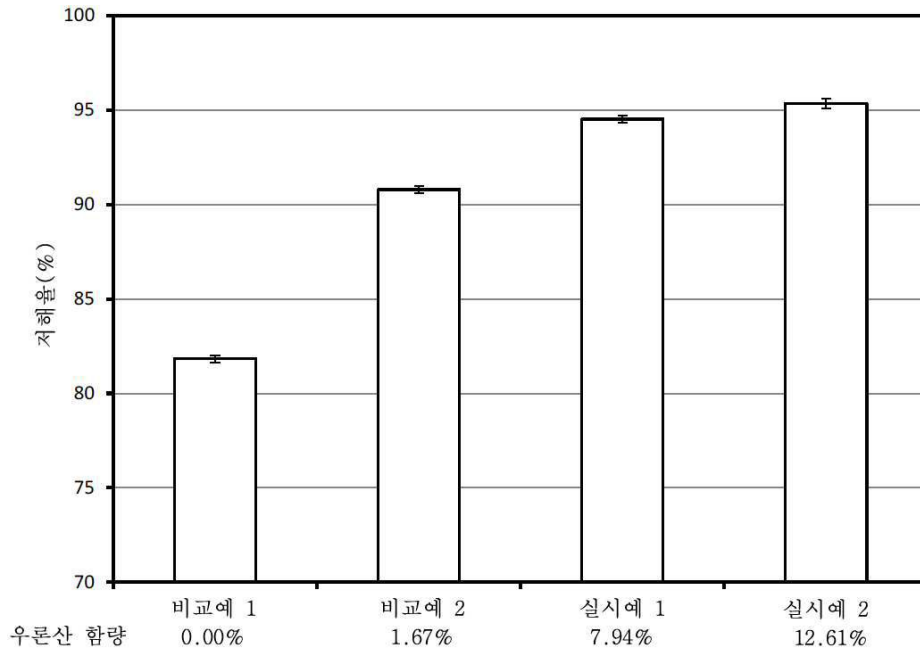
[0211] 실시예 1, 2, 및 비교예 1, 2의 폴리황산펜토산 100mg을 물에 용해하여, 정확하게 100ml로 했다. 이 용액을 자동 적정 장치(도아 디케이케이)에 의해, 0.01N 수산화나트륨 수용액(칸토 화학)을 사용하여 pH 10으로 조정했다. 그 후, 동일하게 자동 적정 장치에 의해, 0.01N 염산 수용액(칸토 화학)을 사용하여 적정을 행하고, pH 6에서 4로 조정하기 위해 필요한 0.01N 염산 수용액의 양을 산출했다.

[0212] 결과를 도 3에 나타낸다.

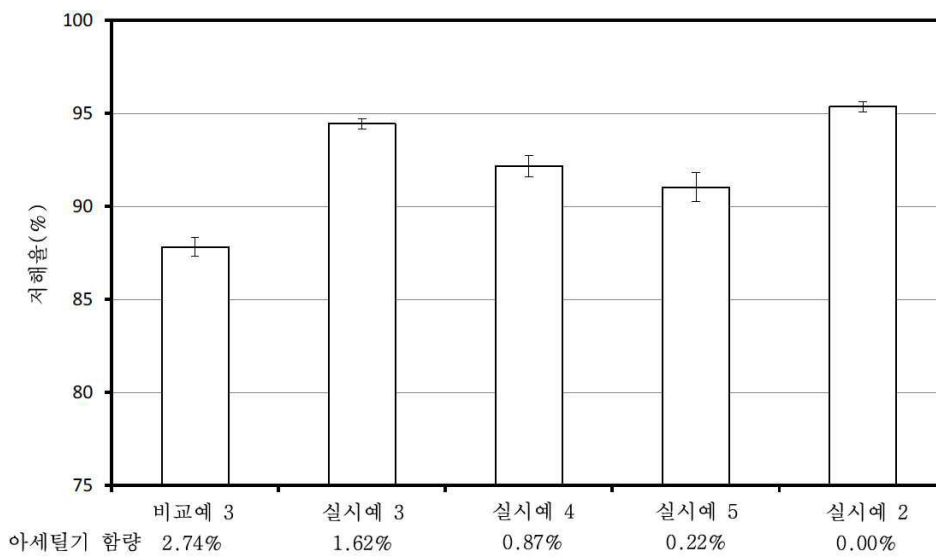
[0213] 도 3에 나타내는 결과로부터, 실시예의 폴리황산펜토산은 pH 4~6에서의 완충 작용이 높은 것을 알 수 있다.

도면

도면1



도면2



도면3

