

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03142428.7

[51] Int. Cl.

C08B 37/00 (2006.01)

C08L 5/00 (2006.01)

A61K 31/715 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 6 月 20 日

[11] 授权公告号 CN 1322013C

[22] 申请日 2003.6.6 [21] 申请号 03142428.7

[30] 优先权

[32] 2002. 6. 6 [33] FR [31] 0206952

[73] 专利权人 罗凯脱兄弟公司

地址 法国莱斯脱朗

[72] 发明人 D·巴克尔 M·-H·萨尼茨

[56] 参考文献

WO8203329 A 1982.10.14

JP2001-294601 A 2001.10.23

CN1349544 A 2002.5.15

US5612202 A 1997.3.18

US5929052 A 1999.7.27

审查员 刘立勇

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司

代理人 周承泽

权利要求书 2 页 说明书 22 页

[54] 发明名称

可溶性高分支葡萄糖聚合物及其制造方法

[57] 摘要

本发明涉及可溶性高分支葡萄糖聚合物，它具有含量低于 1% 的还原糖，其特征在于它们具有含量高于 10%，宜为 12—30% 之间的 α -1, 6 葡萄糖键； $0.35 \times 10^5 - 2 \times 10^5$ 道尔顿之间的 M_w 值，以及 1—15mOsm/Kg 之间的重量克分子渗透浓度。本发明也涉及它们的制备方法和在纸箱、纺织物、化妆品，尤其是在制药和食品工业，更具体的是在肠内和胃肠外营养物、腹膜透析领域中作为糖血抑制剂和/或调节剂、在体力活动过程中的能源以及消化调节剂的用途。

1. 还原糖含量低于 1%的可溶性高分支葡萄糖聚合物,其特征在于,它含有:
 - α -1,6 糖苷键含量大于 10%到小于或等于 30%,
 - 光散射测定的 M_w 值在 0.3×10^5 - 2×10^5 道尔顿之间,
 - 实验 A 测定的重量克分子渗透浓度在 1-15 mOsm/kg 之间。
2. 如权利要求 1 所述的聚合物,其特征在于,它含有:
 - 光散射测定的 M_w 值在 0.5×10^5 - 1.5×10^5 道尔顿之间,
 - 实验 A 测定的重量克分子渗透浓度至少等于 1 并低于 2 mOsm/kg。
3. 如权利要求 1 所述的聚合物,其特征在于,它含有:
 - 光散射测定的 M_w 值在 0.5×10^5 - 0.8×10^5 道尔顿之间,
 - 实验 A 测定的重量克分子渗透浓度至少等于 2 并低于 5 mOsm/kg。
4. 如权利要求 2 或 3 中所述的可溶性高分支葡萄糖聚合物,其特征在于,它含有 15-30%的 α -1,6 糖苷键。
5. 如权利要求 4 所述的可溶性高分支葡萄糖聚合物,其特征在于,它含有 12-30%的 α -1,6 糖苷键。
6. 如权利要求 1 所述的聚合物,其特征在于,它含有:
 - 光散射测定的 M_w 值在 0.3×10^5 - 0.7×10^5 道尔顿之间,
 - 实验 A 测定的重量克分子渗透浓度至少等于 5 并低于 15 mOsm/kg。
7. 制造如权利要求 1-6 中任一项所述聚合物的方法,其特征在于:
 - 制备干物质含量至少等于 1%重量到小于或等于 50%重量的水性淀粉悬浮液或淀粉衍生物水溶液,
 - 在温度 25-80°C 之间用至少一种分支酶处理所述悬浮液或所述溶液 1-24 小时,
 - 使选自 α -淀粉酶、 β -淀粉酶、淀粉葡萄糖苷酶和 α -转葡萄糖苷酶的至少一种酶作用于如此获得的悬浮液或溶液,
 - 用选自膜分离或层析法的至少一种技术进行分级,以回收高分子量级分和低分子量级分,
 - 收集如此获得的相应于高分子量级分的高分支葡萄糖聚合物。
8. 如权利要求 7 所述的方法,其特征在于,所述的水性淀粉悬浮液或淀粉衍生物水溶液中干物质含量为 10-50%重量。

9. 如权利要求 7 和 8 中任一项所述的方法，其特征在于，分支酶选自糖原分支酶、淀粉分支酶和这些酶的任何混合物。

10. 如权利要求 7 和 8 中任一项所述的方法，其特征在于，分级技术选自超滤膜分离技术和在凝胶型支持物上进行的层析分离技术。

11. 用于纸板箱、纺织品、化妆品工业、制药和食品工业的组合物，其特征在于，这些组合物含有如权利要求 1-6 中任一项所述的高分支葡萄糖聚合物。

12. 如权利要求 11 所述的组合物，其特征在于，它将用于肠内和肠胃道外营养物领域、作为糖血抑制剂和调节剂、作为体力活动的能源和作为消化调节剂。

13. 富含麦芽糖和/或异麦芽糖的组合物，其特征在于，它们含有如权利要求 7-10 中任一项所述方法分级步骤获得的低分子量级分。

14. 供腹膜透析用的溶液，其特征在于，作为渗透剂，它包括至少一种如权利要求 1 所述的可溶性高分支葡萄糖聚合物。

15. 如权利要求 14 所述的供腹膜透析用的溶液，其特征在于，所述可溶性高分支聚合物含有：

- 光散射测定的 M_w 值在 0.3×10^5 - 0.7×10^5 道尔顿之间，
- 实验 A 测定的重量克分子渗透浓度至少等于 5 并且低于 15mOsm/kg。

16. 如权利要求 14 和 15 中任一项所述供腹膜透析用的溶液，其特征在于，它还含有选自山梨糖醇、甘露醇、麦芽糖醇、木糖醇和赤藻糖醇的多元醇。

17. 如权利要求 16 所述的供腹膜透析用的溶液，其特征在于，它还含有选自乳酸盐、醋酸盐和葡糖酸盐的缓冲液。

可溶性高分支葡萄糖聚合物及其制造方法

本发明涉及可溶性高分支葡萄糖聚合物，其还原糖含量少于 1% 并有非常高的 α -1,6-糖苷键含量(大于 10%)，非常窄的分子量分布(在 0.3×10^5 – 2×10^5 道尔顿之间)并有非常低的重量克分子渗透浓度(在 1–15mOsm/kg)。

这些可溶性分支葡萄糖聚合物还具有低粘度且不发生退减即便在长时间冷藏后不发生退减。

本发明还涉及制造所述可溶性高分支葡萄糖聚合物的方法。

本发明还涉及含有这种可溶性分支葡萄糖聚合物的组合物，可用于许多工业应用，特别是食品工业，尤其是制药工业。

市售的葡萄糖聚合物具体是通过水解天然或混合淀粉及其衍生物制备的。

标准的淀粉水解产物是通过酸或酶水解谷物或块茎的淀粉制得的。它们实际上是葡萄糖和各种分子量的葡萄糖聚合物的混合物。

工业上制造的这些淀粉水解产物(糊精、麦芽糊精等)(具有一定的聚合度或平均 DP)包括广泛分布的含有线性结构(α -1,4 糖苷键)和分支结构(α -1,6 糖苷键)的糖类。

这些淀粉水解产物，尤其是麦芽糊精，被用作运输剂或填充剂、作为结构改进剂、作为喷雾干燥载体、作为脂肪替代品、作为成膜剂、作为冷冻调节剂、作为抗结晶剂或使用它们的营养价值。

本领域的技术人员还知道，麦芽糊精的糖组分决定了它们的物理和生物特性。

因此，它们的吸湿性、它们在食物制品中的可发酵性、它们的粘度、它们的甜味特性、它们的稳定性、它们的胶凝特性以及它们的重量克分子渗透浓度常规上决定它们不同应用领域的标准。

因此这些糖类的物理化学行为的基础知识导致它们被加入，例如，运动员饮料、具有有限溶解度的液体饮料、肠胃道外和肠道内的液体或糖尿病食品中。

因此，对于这些不同的应用，需要不同的物理和生物特性。

例如，已知这些糖类的吸收速度是由胃排空速度和肠吸收速度决定的，对它们的调节是由所述糖类重量克分子渗透浓度提供的。

在肠内水平时，麦芽糊精被胰 α -淀粉酶水解，这导致它们的分子大小被还原为极限糊精，许多肠粘膜有关的酶(麦芽糖酶、蔗糖酶和 α -糊精酶)继续将线性和分支糖类水解成葡萄糖。

由于葡萄糖容易通过肠壁(被动扩散)，但对于低 DP 的糖类则不然。因此，线性寡糖较之分支寡糖将更快地被吸收，尽管麦芽糖和麦芽三糖较之葡萄糖吸收得更快。

大肠杆菌可以发酵所有不被小肠吸收的碳水化合物。这些细菌的过发酵将导致肠紊乱，如痉挛和肠胃胀气。

还知道重量克分子渗透浓度影响水在小肠的吸收/分泌速度。化合物的重量克分子渗透浓度越高，就越能诱导液体进入小肠并导致严重的肠胃不适(渗透性腹泻)，伴有液体和电介质的流失。

溶液的重量克分子渗透浓度等于溶解于每千克水的摩尔量，这意味着在同样的干重浓度时，常规麦芽糊精的重量克分子渗透浓度会随其 DP 的降低而升高。

通常人体对麦芽糊精的吸收良好，但在极端生理状态，如运动或患病时应提供更好的碳水化合物支持，例如，在运动员中，运动过程消耗的饮料应能立即补偿排汗过程中丧失的液体所必需的能量和水分。这由为得到这种结果的碳水化合物含量平衡的上述组合物产生。

一种通常被认为是最适宜饮料的溶液选择 DP 在 3-6 之间的短的线性寡糖，因为当将重量克分子渗透浓度保持在中等水平时它们可以最高速度被吸收，由此可防止液体的丧失以及腹泻和痉挛等副作用。

然而，这些组合物有构成能源的缺点，它们被机体同化得太快以致很难在长时间内保持稳定的能量供应。

因此专利申请 WO 95/22,562 建议了新的淀粉衍生物以在体力活动时或之后后提供能量补充。

它们是分子量在 15×10^3 - 10^7 道尔顿之间，1,6 糖苷分支度在 2-8%之间，较好的是在 3-7%之间的糊精，这保证了以糖原形式储备能量的更新。

这些特殊的糊精以液态形式在快速胃排空后进入小肠。这一途径受到所述糊精重量克分子渗透浓度的调节。

高的重量克分子渗透浓度在这里意味着低分子量物质与水结合，使得水和营养素难于运输进细胞。血液的重量克分子渗透浓度约为 300mOsm/l，以易于

营养素运输为目的，应使物质的重量克分子渗透浓度远低于这个值。

已描述了如 W0 95/22, 562 所述的平均分子量约为 720 000、分支度约为 4%、重量克分子渗透浓度为 20 mOsm/kg 溶液的糊精。

然而，这些糊精是在高温条件(即 110-140℃)下用酸处理天然淀粉，更具体说是土豆淀粉而制得的，反应时间为 1-15 小时，这导致了与 α -1,6 和 β -1,6 糖苷键相应的 1,6 程度的分支。

这些非典型的糖苷键没有被肠道的酶系统所消化，可能导致不能消化的残余物积累，这些残余物将受到某些不良细菌的同化。

在本申请的另一方面，通常在饮料中加入麦芽糊精以增加它们的粘度。然而，在那些含有酒精的饮料中，加入高 DP 的 MD 可能造成混合物的稳定性问题。

另一种含有添加的麦芽糖或葡萄糖的溶液仍然会给混合物带来甜味，但这不总是需要的。此外，这些小的寡糖可能作为不良微生物的发酵底物。

因此，最适合此应用领域的麦芽糊精必需综合考虑“不甜”、粘度和稳定性这些参数并使其平衡。

在肠胃外溶液给药领域中，为使患者保持良好的健康状况以及在他们无法通过其正常消化系统进食时为他们提供营养，我们设计了营养溶液。

由于这种溶液是通过静脉途径直接供给的，他们必需是等渗的且葡萄糖供给是有限的。

为提供 MARCHAL 等在 1999 年的 FOOD Science Technology(345-355 页)中描述的每天 10 000KJ 的能量，必需灌输 14 升等渗葡萄糖溶液(5%葡萄糖，重量/体积)，这大大超过了人的接受能力。

摄入更加浓的葡萄糖或果糖溶液(10-20% 重量/体积)是可能的，但不能长时间这样。

可以给予 DP 在 2 和 5 之间的线型糖类，因为这些糖类在肾脏中被麦芽糖酶水解，释放的葡萄糖然后被吸收。因此，短的线性寡糖的应用使其能够以等渗溶液提供足够的能量而无需使患者摄入过量水份。

此外，由于 DP 小于 7 的线性寡糖在溶液中可以长时间稳定，通常选择 DP 在 2-7 之间，以使其能够在较长时间内不断供给患者所有必需的能量。

然而，这种溶液不是完全令人满意的，它仅仅考虑到了线性葡糖苷结构的应用。

就肠道营养而言，包括可口服注入或通过软管给药到胃或小肠的饮料。

就这些肠道液体而言，主要的问题是由于非常高的重量克分子渗透浓度造成的腹泻。原则上，运动员也可能使用相同的溶液。

通常，可以使用含 DE 为 10-20 的线性和分支糖类的复杂混合物的麦芽糊精，但这无法完全令人满意。

此应用领域的专家寻求从淀粉产生分支结构物解决这些技术问题的方法。

淀粉的主要成分支链淀粉是由相互交联的线性 α -1,4 键和 α -1,6 键构成的。有关微结构的知识已表明，这两种类型的键不是均匀分布的， α -1,6 键非常密集的区域和仅仅含有 α -1,4 键的区域共存。

在美国专利 4,840,807 或 JP 专利申请 11/187,708 中已经提出，提取仅仅含有密集 α -1,6 键的区域作为慢吸收碳水化合物的来源，因为 α -1,6 键较之 α -1,4 键更难被降解。

因此开发了两个产品家族。第一种包括通过单用 α -淀粉酶降解 α -1,4 键区域制得的极限糊精，以及通过用 α -淀粉酶和 β -淀粉酶同时降解 α -1,4 键区域制得的糊精。

这些极限糊精对人类消化酶的抗性使人们能够利用它们来调节消化，以及用来控制血糖(用于糖尿病饮食)。这种效果归功于消化吸收速度的降低。

然而，这些化合物的缺点是分子量非常低(在 10 000 和 55 000 道尔顿之间)，这限制了它们在其它应用领域的使用。

EP 专利 207,676 指出，为用于连续性和流动性腹膜透析，优选将淀粉水解形成清澈无色的 10%的水溶液， M_w 为 5×10^3 至 10^6 道尔顿和低多分散指数或 I_p 。

这导致产生了主要含有高分子量(在 5×10^3 和 10^6 道尔顿之间)葡萄糖聚合物的组合物，它不含有或含有非常少的 DP 小于或等于 3 的葡萄糖或寡糖，且不含或含有非常少的 M_w 大于 10^6 道尔顿的葡萄糖聚合物。

对于这种应用很容易理解的是，低分子量的单体或聚合物迅速穿过腹膜壁不会持续产生渗透压梯度，应避免甚至禁止产生没有渗透能力的分子量非常高的聚合物，因为如果它们在退减作用后发生沉淀它们可能是危险的。

腹膜透析包括通过导管将透析溶液引入腹膜腔。一段时间后，在透析液和血液之间发生了溶质交换。使用合适的渗透剂使得多余的水分可以从血液排到透析液中。

当肾机能不全时，腹膜透析中用于排除多余水分(超滤)和从身体中除去溶质的标准方法，包括使用作为渗透剂加入的葡萄糖使其相对于血浆为高渗性的

透析液。穿过理想半透膜的流动主要是由溶液中存在的溶质颗粒的总数(重量克分子渗透浓度)决定的,而不取决于它们的大小。相反,如果是腹膜等生物膜,则流动只取决于不穿过或很少穿过膜的溶质,因此不必和溶液的总重量克分子渗透浓度关联。此外,溶质穿过膜的能力以其分子形状、它们的离子电荷以及它们的大小为特征。

对理想渗透剂的选择是精细的:渗透剂应能产生等渗梯度以将血液中的水和有毒物质通过腹膜替换进透析液。它也应是无毒和生物学惰性的,当被机体代谢时,其一部分被吸收入血液。它应不能过于迅速穿过腹膜,以长期保持超滤梯度但不会造成血液中不需要物质的积累。

在 EP 专利 667,356 中,申请公司提出了一种从蜡状淀粉制造淀粉水解产物的方法,这种水解产物完全可溶于水多分散性值低于 2.8, Mw 在 5×10^3 和 10^6 道尔顿之间。

这一方法包括通过酸途径水解仅含有支链淀粉的淀粉乳液,然后以细菌 α -淀粉酶酶解补充此酸水解,并在碱金属或碱土金属形式的大孔强阳离子树脂上进行层析。

此时应注意的是,该申请公司推荐仅采用几乎完全由支链淀粉构成的通常称为蜡状淀粉的淀粉作为所述方法的原料,而含有不可忽略比例的直链淀粉的淀粉是不合适的。

这种淀粉水解产物,也称为类糊精(icodextrin),明显降低了透析液中原本用作渗透剂的葡萄糖的日吸收,因此对于治疗卡路里供给为关键因素的糖尿病和肥胖病人可能有一定的好处。然而通过使用降低糖血的渗透剂可进一步改善这一点,且其渗透力将持续得更久,这可以明显减轻透析治疗过程的痛苦。实际上,在改进的透析领域,更换透析袋的几率可以减少,这明显改善了患者的生活质量。

因此,用于腹膜透析的理想的碳水化合物应该是:

- 溶于水
- 施加渗透压
- 低粘度
- 不会退减
- 诱导全身循环中葡萄糖出现的低动力学
- 受淀粉酶缓慢水解以施加持久的渗透压

实际上, 根据最近的观点, 在肾机能不全的患者中, 以溶液给药进入腹膜腔的渗透剂的命运, 是其它在腹膜液中的稳定性、全身循环中的吸收程度和酶解速度决定的。然而, 现有技术的渗透剂缺点是迅速被水解。

同样, 还提议将所谓的抗性淀粉(resistant starch)作为糖血调节剂。然而, 它们在组合物中通常不稳定, 不能灭菌, 灭菌最终会导致产物丧失, 同时, 它们可以被发酵并因此无法提供所期望的卡路里量。

由上文可见, 很显然对显示有显著特性, 具体是稳定性、溶解性和可能的粘性的葡萄糖聚合物, 存在着不够满意的需要, 这些特征赋予了含有它们的产品较高的保存期、可控制的消化性, 这使得它在一些领域中有很多用途, 可作为腹膜透析、肠或肠胃外营养素、作为糖血抑制剂和/或调节剂、作为体力活动中的能量补给以及作为消化调节剂。

经过大量的调查研究, 通过设计并制造新的可溶性高分支葡萄糖聚合物, 该申请公司已经满足了所有这些迄今为止据认为是难以解决的目的。

因此, 本发明所述的还原糖含量不到 1%的可溶性高分支葡萄糖聚合物的特征为, 它们的 α -1,6 糖苷键水平大于 10%, 优选 12 和 30%之间, 由光散射测得的 M_w 在 0.3×10^5 和 2×10^5 道尔顿之间, 且按照实验 A 测得的重量克分子渗透浓度在 1 和 15 mOsm/kg 之间。

如本发明所述的这种可溶性高分支葡萄糖聚合物具有低的还原糖含量。

用本领域技术人员已知的任何方法测定的本发明所述的分支葡萄糖聚合物的还原能力的值低于 1%。

本发明所述的可溶性高分支葡萄糖聚合物中 α -1,6 糖苷键的水平, 用质子 NMR 分析测定, 然后以百分数表示分支的水平, 相应于通过 α -1,6 键和另一个葡糖酐单元连接的葡糖酐单元的 C1 携带的质子信号的量, 以所述可溶性葡萄糖聚合物的葡萄糖残基的所有 C1 原子携带的质子的总信号为 100。

在这些条件下, 可以确定本发明所述的可溶性高分支葡萄糖聚合物 α -1,6 键的含量大于 10%, 优选 12 和 30%之间。

就与淀粉或与产生淀粉的淀粉衍生物有关的分支链和/或分支链的长度而言, α -1,6 键赋予了本发明所述的可溶性高分支葡萄糖聚合物一种特殊结构。

这种特别高的 α -1,6 糖苷键含量使得本发明所述的可溶性高分支葡萄糖聚合物难以被消化, 如上所述, 这使得它们可用作消化调节剂以及用作糖血抑制剂。

它们因此可用于供给糖尿病人或易患病者作为可抑制糖血症增高作用的食物、饮料或营养补充品。

本发明所述的可溶性高分支葡萄糖聚合物在水溶液中还显示不发生退减和显著的稳定性。

这些特性使得本发明所述的可溶性高分支葡萄糖聚合物最适合作为可用于食品工业的组合物，因此它们在储存期间显示出高稳定性。

本发明的另一个优点是使最终产品在例如冷藏或深冷冻产品中可用作瞬间粘合剂。

可以通过测量重量平均分子量(Mw)来确定本发明所述的可溶性高分支葡萄糖聚合物的分子质量。

这个值是通过在串联安装并连接到光散射检测器的 PSS SUPREMA 100 和 PSS SUPREMA 1000 柱上作排阻色谱获得的。

因此本发明所述的分子的葡萄糖聚合物的 Mw 值在 0.3×10^5 和 2×10^5 道尔顿之间。

本发明所述的可溶性葡萄糖聚合物有明显低的重量克分子渗透浓度。

实验 A 包括测定以下溶液的重量克分子渗透浓度，该溶液在 1kg 水中含有 100g 本发明所述的干的高分支葡萄糖聚合物。

对此溶液的重量克分子渗透浓度的测定按照制造商的说明书，在 FISKE® ASSOCIATES MARK 3 渗透计上进行的。

本发明所述的分支的葡萄糖聚合物有明显低的 1 和 15 mOsm/kg 之间的重量克分子渗透浓度值。

据本申请公司所知，不存在具有这种重量克分子渗透浓度值的葡萄糖聚合物，对于产品还具有如所定义的分支水平和分子量。

实际上，对含葡萄糖当量(DE)在 5-20 之间的常规麦芽糊精进行了比较测量，显示重量克分子渗透浓度值在 25 和 85 mOsm/kg 之间。

对如上所述通过处理经 α -淀粉酶液化的淀粉获得的由 SANMATSU 以商品名 BLD 8 销售的极限糊精，进行了其它测定给出的分子量在 0.4 和 0.5×10^5 道尔顿之间， α -1,6 分支的含量在 8 和 9%之间，重量克分子渗透浓度值大于 35 mOsm/kg。

这种非常低的重量克分子渗透浓度值使得本发明所述的高度分支可溶性聚合物可用于制备供运动员使用以代替能源的制品，这种能源是他们长时间体

力活动所需的。

然而，这些组合物也可以特别有利的用于不能再正常进食的患者，在上下文中这称为肠内和肠胃道外营养物。

此外，在具有低重量克分子渗透浓度的同时，它们不会退减，它们的分子量分布图和它们的低多分散性值使得本发明的这些高分支葡萄糖聚合物，如以下举例说明的那样，成为腹膜透析所用渗透剂的优选候选物。本申请人证明、本发明的这些聚合物对 α -淀粉酶具有抗性，与分子量相似的先前技术聚合物相比，这个特征提供了显著的优点，因为它们影响糖血少，渗透质维持时间长，可用于长时间透析治疗。

有利地，根据它们的渗透性，如本发明大多数高分支的葡萄糖聚合物可分成三个亚类。

第一亚类包括用光散射测定的 M_w 在 0.5×10^5 和 1.5×10^5 道尔顿之间，按实验 A 测定的渗透性至少等于 1 并小于 2 mOsm/kg 的高分支的聚合物。

第二亚类包用光散射测定的 M_w 在 0.5×10^5 和 0.8×10^5 道尔顿之间，按实验 A 测定的渗透性至少等于 2 并小于 5 mOsm/kg 的高分支的聚合物。

该申请公司还发现，属于第二亚类的分支葡萄糖聚合物还具有 15 和 30% 之间的明显高的 α -1,6 分支水平。

第三类包用光散射测定 M_w 值为 0.3×10^5 至 0.7×10^5 道尔顿之间，实验 A 测定重量克分子渗透浓度至少等于 5 和小于 15 mOsm/kg 的高分支聚合物。

为制备本发明所述的可溶性高分支葡萄糖聚合物，进行了以下连续步骤：

a. 制备干物质含量至少等于 1%重量，较好的是 10-50%重量的含水性淀粉悬浮液或淀粉衍生物水溶液，

b. 在 25-80°C 之间用至少一种分支酶处理所述悬浮液或所述溶液 1-24 小时，

c. 使选自 α -淀粉酶、 β -淀粉酶、淀粉葡萄糖苷酶和 α -转葡萄糖苷酶的至少一种酶作用于如此获得的悬浮液或溶液，

d. 用选自膜分离或层析法的至少一种技术进行分级，以回收高分子量的级分，

e. 收集由此获得的分支葡萄糖聚合物。

以干物质含量至少等于 1%重量，较好的是 10-50%重量，将淀粉引入悬浮液，或将淀粉衍生物引入水溶液。

原料的选择，或淀粉或其特定衍生物的量的选择只有相对重要性。

实际上，本申请公司已经开发了一种新的方法，这种方法可以得到本发明所述的高分支葡萄糖聚合物，例如可用于腹膜透析的聚合物，无需限制在特定的淀粉类型，即富含支链淀粉的淀粉。

因此可以选择从土豆、支链淀粉高含量的土豆(蜡状淀粉)、豌豆、大米、木薯、小麦、玉米、富含支链淀粉的玉米或小麦(蜡状玉米或小麦)、直链淀粉高含量的玉米获得的天然或混合的淀粉，本领域技术人员已知可由淀粉制造或获得的切片或组分，如直链淀粉、支链淀粉、称为小麦淀粉“A”和小麦淀粉“B”的颗粒大小组分，以及至少两种上述产品的混合物。

淀粉衍生物可理解为指这种淀粉通过一个或多个步骤的酶、化学和/或物理修饰获得的经修饰的淀粉。

淀粉衍生物具体上可能是用至少一种已知技术修饰的淀粉，这些技术包括酯化、醚化、交联、氧化、碱处理、酸和/或酶促水解(相应于麦芽糊精和糊精)。

本申请公司发现，从分支水平已经至少为 1%的淀粉或淀粉衍生物不难合成本发明所述的高分支葡萄糖聚合物。

然后可以任选地对这种淀粉悬浮液或淀粉衍生物溶液进行特殊的烧煮处理，包括在 130℃ 以上，较好是 140 和 150℃ 之间的温度下，在大于 3.5bar，较好的是在 4 和 5bar 之间的压力下处理 30 秒至 15 分钟，较好是处理 1-5 分钟。

在由热流加热的夹套管式加热器中进行这种处理是有利的，本领域技术人员不难获得这种装置。

本发明所述方法的第二个步骤包括用分支酶处理所述淀粉悬液或所述淀粉衍生物溶液。

有利地，在 25-95℃，较好是 70-95℃ 的温度下，对每 100g 干的淀粉或淀粉衍生物使用 50 000-500 000 U 纯化的分支酶，时间为 1-24 小时。

出于本发明的目的，分支酶应理解为指选自糖原分支酶、淀粉分支酶以及这些酶的任何混合物的分支酶。

更具体地，这些分支酶选自糖原分支酶、淀粉分支酶以及这些酶的任何混合物的分支酶是从生物和/或微生物中提取的。

为用分支酶进行这种处理，本申请公司建议按照其专利申请 WO 00/18, 893 的指导进行。

此步骤可以产生可溶性分支葡萄糖聚合物， α -1,6 糖苷键含量最好为 10%。

为提高这一值并使 α -1,6 键的水平升至 30%，申请公司发现有必要采取其它的酶处理，这构成了产生本发明所述的可溶性高分支葡萄糖聚合物方法的第三个步骤。

第三个步骤包括使选自 α -淀粉酶、 β -淀粉酶、淀粉葡萄糖苷酶和 α -转葡萄糖苷酶的至少一种酶作用于用所获得分支酶处理的悬液或溶液。

用于本发明所述方法的不同的酶的作用条件(温度和 pH)如下(这个量是根据所考虑的底物确定的，下面将举例说明)：

- α -淀粉酶：为 GENENCOR 的 LYSASE 2000 型，使用温度为 55-65℃，pH 为 6.5-6.7，时间为 30 分钟至 1 小时；

- β -淀粉酶：为 GENENCOR 的 SPEZYME BBA 型，使用温度为 40℃，pH 为 4.9-5，时间为 1 小时 30 分钟至 2 小时；

-淀粉葡萄糖苷酶：为 GENENCOR 的 OPTIDEX L300 A 型，使用温度为 55℃，pH 为 4.7，或 SIGMA 的 A-7420 型，使用温度为 50-60℃，pH 为 4.7-4.9，时间为 1 小时 30 分钟至 2 小时；

- α -转葡萄糖苷酶：为 L-AMANO 的 α -TGase 型，使用温度为 55℃，pH 为 5-5.2，时间为 1 小时。

所用的酶可以来源自细菌或真菌。

在这一额外处理结束时，获得了与其酶降解产物混合形式的可溶性高分支葡萄糖聚合物，主要含有葡萄糖、麦芽糖和/或异麦芽糖，这将在下面举例说明。

此方法的第四个步骤包括采用选自膜分离和层析法的技术进行分级，以回收高分子量级分和低分子量级分。

高分子量级分相应于本发明所述的高分支葡萄糖聚合物，而低分子量级分使得有可能以极好的产量获得富含麦芽糖和/或异麦芽糖的组合物。

有利地，分级技术选自超滤膜分离技术和在凝胶型支持物上进行的层析分离技术。

在此方法第四个步骤的第一个实施方案中，分级是用超滤膜分离技术进行的，它使用了截留值至少等于 3000 道尔顿，较好的是至少等于 5000 道尔顿的膜。

与高分支葡萄糖聚合物相应的高分子量级分即为超滤渗余物，它代表了约

60%的所用干物质含量。

在此方法第四个步骤的第二个实施方案中，分级是采用凝胶型树脂上进行的层析技术进行的。

所得曲线使含有高分支葡萄糖聚合物的级分的分离，最佳产量为 40-45%。

无论用什么方法，所得曲线使相应于本发明所述可溶性分支葡萄糖聚合物的高分子量多糖级分，可以与主要含葡萄糖和麦芽糖和/或异麦芽糖的低分子量寡糖级分相分离。

因此，本发明所述方法的最后一个步骤包括一方面收集与高分支葡萄糖聚合物相应的高分子量级分，另一方面收集富含葡萄糖和麦芽糖和/或异麦芽糖的低分子量级分。

高分子量的产物可按原样合并，或用 3 体积的乙醇沉淀，纯化并真空干燥 24 小时，或用本领域技术人员已知的技术喷雾干燥。

至于富含葡萄糖和麦芽糖和/或异麦芽糖的组合物(其特征为它们含有本发明所述方法步骤 d 的低分子量级分)，它们可按原样使用，或用本领域技术人员已知的氢化技术进行氢化。

本发明所述聚合物的特殊物理化学特性使它们可用于工业，特别是纸板箱、纺织品、化妆品工业，尤其是制药和食品工业，更具体的是肠内和肠胃道外营养领域、以及腹膜透析作为渗透剂、作为糖血抑制剂、作为体力活动的能源和作为消化调节剂。

至于腹膜透析这一特殊领域，本申请人发现，采用抗 α -淀粉酶抗性的实验，如本发明所述的一类聚合物特别适合制备用于腹膜透析的溶液，这将在下面举例说明。这些聚合物在其中用作渗透剂。

因此，本发明涉及用于腹膜透析的组合物，其特征为，它包括作为渗透剂的至少一种可溶性高分支葡萄糖聚合物，其还原糖含量小于 1%并含有：

- α -1,6 糖苷键含量大于 8%，较好在 10-30%之间，
- 光散射测定的 M_w 在 0.3×10^5 - 2×10^5 道尔顿之间，
- 实验 A 测定的重量克分子渗透浓度在 1-15 mOsm/kg 之间。

根据本发明一个优选的变化，所述聚合物含有：

- 光散射测定的 M_w 在 0.3×10^5 - 0.7×10^5 道尔顿之间，
- 实验 A 测定的重量克分子渗透浓度在 5-15 mOsm/kg 之间。

本发明所述用于腹膜透析的组合物还可以含有生理上可接受的电介质，如

钠、钾、钙、镁、氯，以避免由于电介质从血清转移到腹膜的损失。

这种组合物可以是供使用前立即制备的固体形式或是液体形式，例如作为水溶液。后一种情况下，将本发明所述的高分支聚合物溶解于水而得到的溶液应是清澈无色的。这种溶液最好应没有内毒素、肽聚糖(peptidoglycan)和 β -葡聚糖，且没有由粗原料或由用于其制备的酶制剂产生的含氮杂质。

因此，最好对用于所述溶液的高分支聚合物进行纯化以除去任何颜色或任何不需要的杂质，如蛋白质、细菌、细菌毒素、纤维、痕量金属等。

可按照本领域技术人员已知的技术进行这种纯化步骤。

本发明所述的透析液还可以含有缓冲液(尤其是乳酸盐、醋酸盐、葡糖酸盐)和其它添加剂，如氨基酸、胰岛素、多元醇(如山梨糖醇、赤藻糖醇、甘露醇、麦芽糖醇和木糖醇)。

在此组合物中加入多元醇，较好的是无致热原性且没有上述杂质(内毒素和其它细菌源的残余物)的多元醇，这使得可能提高此溶液的重量克分子渗透浓度以使其较之葡萄糖或麦芽糖更优，这时由于它们较低的卡路里值、较高的渗透力以及它们是非还原的。

与现有技术的产品相比，本发明所述的透析组合物有优点，因为其所含的渗透剂使其可能具有持续的渗透压并可诱导葡萄糖出现的低动力学，同时稳定不退减，因此可满足上述主要标准。

通过阅读下述非限制性实施例将了解本发明的其它特性和优点。

实施例 1

通过在缓慢、连续搅拌下加热到 80℃来制备干物质含量为 25 重量%的淀粉衍生物溶液。

在这种情况下使用两种本申请公司以商品名 GLUCIDEX®2(酶底物 A)和 GLUCIDEX®6(酶底物 B)销售的 250g/l 麦芽糖糊精。

将这种溶液冷却至 30℃，并用 1N NaOH 将 pH 调至 6.8。

然后用从 B. 脂嗜热微生物提取的纯化糖原分支酶处理这些溶液。

以每克底物 1600U 的酶量加入所述分支酶，并将温度逐渐调至 65℃。

在中速搅拌下进行孵化 4 小时。然后降低 pH 值至 5 并沸腾 6 分钟停止所述反应。

对于所测试的两种酶底物，下表 I 小结了所得产物(从酶底物 A 获得的产物 C

和从酶底物 B 获得的产物 D) 的 α -1, 6 糖苷键含量、Mw 值、还原糖含量和重量克分子渗透浓度表示的结果。

表 I

	α -1, 6 键 的百分数	平均分子量 10^5 道尔顿	还原糖 百分数	重量克分子渗 透浓度
A	5.9	4.88	2	16
B	8.7	1.19	1.5	12
C	5.4	0.9	3.8	25
D	8	0.61	4.3	25

α -1, 6 糖苷键含量大增高, 但是仍旧没有达到所需的值。

本申请公司发现应通过特异性水解 α -1, 4 糖苷键(如, α -淀粉酶, β -淀粉酶或者淀粉葡萄糖苷酶)的酶作用, 或者采用能分支形成 α -1, 6 键的酶(如 α -转葡萄糖苷酶)来进行额外的处理, 按以下方式进行。

对于额外的酶处理, 先将分支麦芽糖糊精 C 和 D 溶液调至所选择酶的温度和 pH 条件。

1) 对于用 α -淀粉酶(每克酶提取物的 LYSASE 2000-2444 BRU)的额外处理, 将所述 C 或 D 溶液温度调至 60°C, pH 调至 6.5-6.7, 并且每克底物加入 6U 的 α -淀粉酶。

孵化 30 分钟, 然后沸腾 6 分钟停止反应。

2) 对于用 β -淀粉酶(GENENCOR 的 BBA SPEZYME)的额外处理, 将所述 C 或 D 溶液温度调至 40°C, pH 调至 4.9-5, 并且每克底物加入 30U 的 β -淀粉酶。

孵化 2 小时, 然后沸腾 6 分钟停止反应。

3) 对于用淀粉葡萄糖苷酶(SIGMA AA-7420 的 A. niger AMG, 40u/mg 蛋白质)的额外处理, 将所述 C 或 D 溶液温度调至 55°C, pH 调至 4.7-4.9, 并且每克酶底物加入 20U 的 AMG。

中速搅拌孵化 2 小时, 然后沸腾 6 分钟停止反应。

4) 对于用 α -转葡萄糖苷酶(L-AMANO α -Tgase, 27.7 微摩尔葡萄糖活性)的额外处理, 将所述 C 或 D 溶液温度调至 55°C, pH 调至 5-5.2, 并且每克底物加入 2U 的 α -Tgase。

中速搅拌孵化 1 小时, 然后沸腾 6 分钟停止反应。

然后确定

- 产物 E 和 F(用 α -淀粉酶分别对产物 C 和 D 进行额外处理所获得的),
- 产物 G 和 H(用 β -淀粉酶分别对产物 C 和 D 进行额外处理所获得的),
- 产物 I 和 J(用 AMG 分别对产物 C 和 D 进行额外处理所获得的),
- 产物 K 和 L(用 α -Tgase 分别对产物 C 和 D 进行额外处理所获得的)的理化特性。

表 II

	α -1, 6 键 的百分数	平均分子量 10 ⁵ 道尔顿	还原糖 百分数	重量克分子渗透 浓度
E	8.3	0.72	3.8	29
G	8.4	0.76	22.5	132
I	9	0.49	55	320
K	9.6	1.2	22	153
F	7.4	0.44	8.7	52
H	7.2	0.51	23.8	141
J	7.8	0.47	50.5	301
L	12	0.69	28	192

重量克分子渗透浓度和还原糖含量增高, 表明伴随产物主要为葡萄糖即 DP2(麦芽糖和异麦芽糖), 为了获得本发明的高分支葡萄糖聚合物, 必须除去此伴随产物。

选择采用在 5000 道尔顿截留值下的膜(AMICON 5K 膜)上进行超滤来分级。

在下表 III 中列出了一方面分别从化合物 E、G、I 和 K 的超滤产物 M、O、Q、S(来自 GLUCIDEX®2), 以及分别从化合物 F、H、J 和 L 的超滤产物 N、P、R、T(来自 GLUCIDEX®6)获得的结果。

表 III

	α -1, 6 键 的百分数	平均分子量 10^5 道尔顿	还原糖 百分数	重量克分子渗 透浓度
M	10.2	0.89	0.42	1
O	15	0.75	0.3	1
Q	18.8	0.57	0.37	2
S	12.1	1.22	0.33	1
N	10.9	0.69	0.54	2
P	14.4	0.51	0.8	3
R	18.1	0.55	0.5	5
T	12.2	0.72	0.6	3

对于具有这种 Mw 值和这种低的重量克分子渗透浓度值的产物来说, 这些结果表明了这样的事实: 如此获得的高分支葡萄糖聚合物显示在相当高(高达 18%)含量的 α -1, 6 糖苷键之间完善的平衡。

这些高分支葡萄糖聚合物可以容易地与其它电解质混合, 来提供渗透剂, 所述渗透剂在腹膜透析中极有效, 或者它们可用于调节消化的组合物中, 用于肠胃外和肠内营养物, 用于糖尿病用组合物, 或者用在液体饮料中, 重新构成运动员长时间体力活动中所需的能量储备。

应注意除了这些高分支葡萄糖聚合物外, 所述方法也可以聚集富含麦芽糖和/或异麦芽糖级分。

例如, 在制备产物 S 和 T(使用分支酶和 α -Tgase 联合处理获得的)时, 异麦芽糖和葡萄糖是分别以 25-30g/l 和 75-80g/l 浓度制得的唯一副产物。

类似地, 在制备产物 O 和 P(使用分支酶和 β -淀粉酶联合处理获得的)时, 麦芽糖是以 130g/l 浓度制得的唯一副产物。

因此, 这些低分子量级分可能构成富含麦芽糖和/或异麦芽糖组合物的有利来源。

实施例 2

本发明的高分支葡萄糖聚合物也可以由标准玉米淀粉制备。为此, 在缓慢和连续搅拌下, 室温在 1 升水中悬浮 110 克干燥淀粉。

将 pH 调至 6.8-7, 将所述淀粉在置于这些条件下 15 分钟, 若需要可调节 pH。

将 B. 脂嗜热微生物的纯化糖原分支每克以酶底物 4000u 的酶量加入, 将温度逐渐调至 72-75°C。

然后在中速搅拌下孵化 30 分钟, 之后冷却至 65-68°C。进行酶催化反应 4 小时。然后将 pH 降低至 4.5-5, 在沸腾温度下加热所述混合物 6 分钟停止反应。

实施例 1 中, 用 β -淀粉酶或者淀粉葡萄糖苷酶进行处理, 然后在实施例 1 所给定的条件下, 用 5000 道尔顿截留值的膜一步超滤来完成所述反应。

表 IV 列出了所得的结果。

通过参考例 U、用分支酶处理的产物 V、用 β -淀粉酶额外处理的那些产物 W、用 AMG 额外处理的产物 X、超滤最终产物 Y 和 Z 表明了所述的标准玉米淀粉。

表 IV

	α -1, 6 键 的百分数	平均分子量 10 ⁵ 道尔顿	还原糖 百分数	重量克分子渗 透浓度
U	3.6	110	<0.01	Nd
V	8.8	1.75	0.2	2
W	8.9	1.31	20.5	117
Y	16.3	1.38	0.1	2
X	7.9	0.55	55	357
Z	24.2	0.45	0.4	2

所得产物 Y 和 Z 显示和实施例 1 所述相同的平衡测验图, 因此可以在相同应用领域中使用。

实施例 3

在工业条件下, 从富含支链淀粉的两种淀粉制备了其它两种高分支葡萄糖聚合物。它们是两种流化度 WF 约为 90 的酸性流化蜡状玉米淀粉的样品, 也由本申请公司以 CLEARGUM®CB 90 的商品名销售。

表 V 表示了获得本发明高分支葡萄糖聚合物所用的操作条件。

表 V

底物	CLEARGUM CB90	CLEARGUM CB90
增溶	含有 25%DM 的连续 实验室蒸煮器	含有 25%DM 的连续 实验室蒸煮器
第一酶	分支酶 50000U/ml-1ml/100g 干 燥物质	分支酶 50000U/ml-1ml/100g 干 燥物质
第一酶处 理	70℃ pH6.8 22 小时 然后在 90-95℃下 灭活 1 小时	70℃ pH6.8 22 小时 然后在 90-95℃下 灭活 1 小时
第二酶	淀粉葡萄糖苷 OPTIDEX L300A 0.08ml/100g 干 物 质 + 0.08ml/100g 干物质 1 小时 30 分钟之后	β-淀粉酶 SPEZYME BBA 0.2ml/100g 干物质
第二酶处 理	55℃ pH4.7-2 小时和 3 小时 然后在 90-95℃下 灭活 1 小时	40℃ pH5 2 小时 然后在 90-95℃下 灭活 1 小时
纯化	在 8 微米，然后在 0.22 微米膜 上过滤。膜超滤，PCI 膜系统 ES209(9000Da)。木炭处理 NORIT SX+5%干燥物质 pH5 70 ℃ 1 小时；调节 pH 到 5.8，并 在 8 微米，然后在 0.22 微米膜 上过滤	16 小时内调 pH 至 3.5。 5000 rpm 离心 10 分钟。在过滤泥上， 然后在 8 微米膜上过滤：膜超 滤， PCI 膜 系 统 ES209 (9000Da)。木炭处理 NORIT SX +5%干燥物质 pH5, 70℃1 小时。 调节 pH 到 5.8，并在 8 微米， 然后在 0.22 微米膜上过滤
回收	真空旋转蒸发器中浓缩至干燥	真空旋转蒸发器中浓缩至干燥

表 VI 显示了以所得产物的 α -1, 6 糖苷键含量、Mw 值、还原糖含量和重量克分子渗透浓度来表示的结果，所述产物为：

- “a” 涉及用所述分支酶和淀粉葡萄糖苷酶处理之后从 CLEARGUM®CB 90 获得的产物，和

- “b” 涉及用所述分支酶和 β -淀粉酶处理之后从 CLEARGUM®CB 90 获得的产物。

表 VI

	α -1, 6 键 的百分数	平均分子量 10^5 道尔顿	还原糖的 百分数	重量克分子渗透 浓度
“a”	19.4	0.33	1	12
“b”	14.3	0.68	0.7	6

这些结果的确显示了不论所选择的淀粉或淀粉衍生物，所用的方法可以获得本发明的高分支葡萄糖聚合物。

实施例 4

制备本发明高分支聚合物的水溶液，并使它们和胰源淀粉酶接触。通过测定形成的还原糖，并测定反应混合液中出现的葡萄糖随时监控淀粉酶的水解。这一测试可以评价聚合物对淀粉酶水解的耐受性，这是选择透析溶液用渗透剂的基本标准。

与类糊精(现有技术中的渗透剂)比较，测试了本发明中的若干聚合物。选择聚合物使之具有和后者接近的分子量：在实施例 3 中制备的产物 A 和 B，以及在实施例 2 中制备的产物 Z。

按照说明书中引用的专利 EP 667,356 制备了该类糊精。

制备了麦芽糖对照物，以验证体外模式的酶催化消化。

用于淀粉酶消化的操作条件如下：

- 待测产物精确称重约为 0.6 克。
- 加入 0.1mol/l 的 150ml Na 马来酸钠盐缓冲液 pH 7，
- 搅拌，直到产物溶解，
- 取出 1.5ml 所得的溶液(起始溶液=Si)，
- 将瓶子置于水浴中约 15 分钟，使溶液的温度为 37℃，
- 加入 0.15 克猪胰酶(动物源的 α -淀粉酶)
- 在搅拌下，在 37℃ 的恒温浴上孵化 300 分钟，
- 在如下时间下收集 1.5ml 样品：15、30、45、60、90、120、180、240、300 分钟，
- 将样品置于 100℃ 10 分钟至干燥停止酶催化反应，
- 测定样品的葡萄糖，以模拟所研究产物对糖血的影响，
- 测定样品的还原糖，以研究水解速度。

对于葡萄糖测定，使用在 HITACHI 704 自动仪 (ROCHE) 上进行的比色 (colormetric) 方法。所用试剂是含有酶 GOD/PAP (葡萄糖氧化酶/过氧化酶) 的试剂。所用试剂的体积为 500 微升，所述样品体积为 5 微升，反应温度为 30 °C。

用于测定还原糖的方法是 SOMOGYI NELSON 方法。将 200 微升样品引入有塞试管中，加入 200 微升工作液 (酒石酸钠和硫酸铜试剂)。将所述混合液加热至沸腾温度，冷却后加入砷钼酸试剂 (arsenomolybdic reagent)，之后加入水。所得溶液沉积在微型板上，然后使用微型板读数仪在 520 纳米波长下读出吸光度 (absorbance)。

结果列于下表中：

1. 葡萄糖出现的动力学 (释放的为干燥物质的百分数)

时间 (分钟)	麦芽糖	A	B	Z	ICODEXTRIN
Si	0.26	3.35	0.00	0.53	0.28
0	0.26	4.75	0.93	1.19	1.96
15	0.79	5.31	1.59	-	3.07
30	1.06	5.68	1.96	2.11	3.63
45	1.59	5.86	2.24	-	3.91
60	2.12	6.14	2.52	2.37	4.19
90	2.65	6.52	2.89	-	4.75
120	3.44	6.61	3.17	2.90	5.31
180	5.03	7.26	4.76	3.43	6.16
240	6.35	8.10	-	3.96	6.99
300	7.68	8.38	5.41	4.22	7.82

2. 还原糖出现的动力学(为干燥物质的百分数)

时间 (分钟)	麦芽糖	A	B	Z	ICODEXTRIN
Si	51.01	5.76	0.88	1.45	2.74
0	49.82	18.34	18.04	8.92	31.07
15	47.94	19.33	18.96	-	30.39
30	48.29	20.00	19.04	11.00	32.53
45	48.55	20.25	19.78	-	32.46
60	48.84	19.92	20.80	11.00	32.95
90	49.42	20.37	19.42	-	34.16
120	47.15	21.68	21.04	12.16	34.40
180	48.87	22.46	21.79	12.22	36.64
240	50.90	23.05	23.11	12.29	37.03
300	52.20	22.67	22.88	13.64	37.06

3. 结果的简要分析

测试样品	300 分钟时 释放的葡萄糖 百分数	300 分钟时 形成的还原 糖百分数	α -1, 6 键含 量的百分数	摩尔质量 (道尔顿)
麦芽糖	7.41	52.20	0	342
A	5.03	16.91	19.4	33000
B	5.41	22.88	14.3	68000
Z	3.69	12.19	24.2	45000
ICODEXTRIN	7.54	34.32	6.5-8	12000-20000

从所得结果可知分支水平(α -1, 6 键含量)越高, 淀粉酶水解越低。

后者通常取决于分子量。因此, 分支水平越高, 分子量越低, 受淀粉酶作用的分子越少。

对于腹膜内透析应用, 产品 A 和 Z 尤其合适, 并具有明显高于类糊精的耐受性, 这意味着对于相同的分子量, 这些产品就渗透能和糖血能(glycemic power)的持续时间而言具有一定优点。

实施例 5

制备本发明高分支聚合物的水溶液，并使它们和胰源淀粉酶和肠内淀粉葡萄糖苷酶(丙酮性肠内性粉末)接触。通过测定反应混合物中出现的葡萄糖来随时监控所述水解。这一测试可以评价聚合物对参与食物碳水化合物消化的酶水解的耐受性，这是选择运动员所用的，或者用于肠内和胃肠外营养物配制组合中加入的食物成分中的基本标准。

与类糊精、糖原和标准麦芽糖糊精相比较，测试了本发明的几种聚合物。所选择的聚合物如下：

实施例 3 中制备的产物 A，实施例 2 中制备的产物 Y，和实施例 2 用分支酶处理并经超滤的富含支链淀粉(amylopectin)的淀粉制备的产物 Y'。

按照说明书中引用的专利 EP 667,356 制备了该类糊精。糖原是 SIGMA-ALDRICH 公司提供的牛肝脏糖原。

制备了标准的麦芽糊精对照物，以验证体外模式的酶催化消化。

用于酶消化的操作条件如下：

待测产物精确称重约为 0.6 克。

加入 0.1mol/l 的 150ml 马来酸钠缓冲液 pH 7。

搅拌，直到产物溶解。

取出 1.5ml 所得的溶液。

将瓶子置于水浴中约 15 分钟，使溶液的温度为 37℃。

加入 0.15 克猪胰酶(动物源的 α -淀粉酶)。

在搅拌下，在 37℃ 的恒温浴上孵化 300 分钟。

收集 0 分钟和 30 分钟时 1.5ml 样品。

将样品置于 100℃ 10 分钟至干燥停止酶催化反应。

加入 0.15 克大鼠肠粘膜。

在搅拌下，在 37℃ 的恒温浴上孵化 5 小时 30 分钟。

每隔 60 分钟在以下时间收集 1.5ml 样品：60、120、180、240、300、330 和 360 分钟。

将样品置于 100℃ 10 分钟至干燥停止酶催化反应。

测定样品的葡萄糖，以计算所研究产物的水解百分率。

对于葡萄糖的鉴定，使用和实施例 4 相同的方法。

结果列于下表中：

1. 葡萄糖出现的动力学(释放的为干燥物质的百分数)

	时间 (分钟)	标准 MALTO D	糖原	A	Y	Y'	ICO- DEXTRIN
胰淀粉酶	0	0	0	0	0	0	0
	15	0.79	2.87	2.61	2.17	3.90	3.35
	30	1.06	3.30	2.70	2.71	4.74	3.63
肠内淀粉酶	60	20.88	12.62	9.77	13.71	16.31	15.09
	90	38.59	22.81	16.66	23.34	28.29	26.96
	120	52.07	31.41	23.17	32.17	40.28	37.86
	150	62.90	39.45	28.66	39.22	48.64	47.22
	180	70.83	46.04	32.75	44.52	57.84	55.88
	210	78.76	51.50	37.03	49.00	64.53	63.01
	240	83.78	56.09	39.64	52.39	68.71	69.01
	270	88.81	59.96	42.62	54.56	72.33	72.09
	300	91.18	62.40	45.50	57.27	75.96	76.28
	330	93.03	64.26	47.27	58.63	79.44	78.37
	360	94.36	65.84	51.64	60.80	81.11	80.89

2. 结果的简要分析

测试样品	360 分钟时释放 的葡萄糖百分数	α -1, 6 键含量的 百分数	摩尔质量 (道尔顿)
标准麦芽糖糊精	94.36	0	3000-5000
GLYCOGEN	65.84	10	10^6 - 10^7
A	51.64	19.4	33000
Y	60.80	16.3	138000
Y'	81.11	7.9	133000
ICODEXTRIN	80.89	6.5-8	12000-20000

本发明的麦芽糖糊精尤其适于用在运动员用的营养或者更常用于调节糖血。本发明的产物 A 和 Y 可以获得在 50-70%之间的葡萄糖释放百分数，其耐水解性明显高于常规麦芽糖糊精，并且比得上肝糖，这意味着就聚糖能而言具有一定好处，并且由此利于成为肝糖代用品，这是由于它们呈现类似的消化特性。