



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년05월16일
 (11) 등록번호 10-1619198
 (24) 등록일자 2016년05월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C08B 37/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0056908

(22) 출원일자 2014년05월13일

심사청구일자 2014년05월13일

(65) 공개번호 10-2015-0129986

(43) 공개일자 2015년11월23일

(56) 선행기술조사문헌

J. Agric. Food Chem. 2009, Vol.57,
pp.10913-10915*

Korean J. Biotechnol. Bioengl, 2003, Vol.15,
No.5, pp.352-355*

KR1020060095199 A

KR1019990036698 A

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

주식회사 피코테라

충청남도 홍성군 홍성읍 대학길 25, 창업보육센터
325호

조석형

충청북도 청주시 청원구 주성로96번길 29, 106동
1401호(울랑동, 삼성아파트)

(72) 발명자

조석형

충청남도 홍성군 구항면 충서로 1068-24, C동 41
3호 (마운아파트)

김영준

충남 홍성군 홍성읍 월계천길 41-11 향촌현대아파
트 103동 1205호

(74) 대리인

특허법인 충무, 정상섭

전체 청구항 수 : 총 1 항

심사관 : 한지혜

(54) 발명의 명칭 **저분자 CM 베타글루칸 제조 방법**

(57) 요약

본 발명은 저분자 CM 베타글루칸의 제조방법에 관한 것으로 좀 더 상세하게는 불용성 물질인 베타글루칸을 알콜 또는 알콜/아세톤 혼합용액에 분산시키고 이용액에 산을 베타글루칸의 총중량에 대하여 0.1~25중량%의 산을 첨가하여 일정 시간 동안 침적시켜 반응시켜 제조함으로써 고순도의 저분자 CM 베타글루칸을 제조하는 방법에 관한 것이다.

명세서

청구범위

청구항 1

불용성인 베타글루칸을 유기용매 또는 유기용매의 혼합용액에 용해시키지 않고 분산시킨 상태에서, 산(acid)을 상기 베타글루칸에 첨가하여 반응시키고, 상기 반응 후에 남아 있는 산(acid)를 유기용매로 모두 제거, 여과하고, 상기 여과과정을 마친 베타글루칸에 유기용매와 물을 5:5~9:1의 부피비로 혼합한 혼합용매를 첨가한 후, 여기에 다시 NaOH를 베타글루칸의 1.5~6배 물을 첨가하여 상온에서 20~30시간 동안 반응시켜 베타글루칸을 알칼리화하고, 상기 알칼리화한 베타글루칸에 모노클로로초산 또는 모노클로로초산염을 베타글루칸의 동물 내지 3배 물을 첨가하여 3~30시간 동안 반응시키고, 50~70°C에서 8~15시간 건조하여 저분자 CM 베타글루칸 분말을 제조하는 것에 있어서, 상기 베타글루칸에 염산, 황산, 질산 또는 인산 중 선택되는 어느 1종 이상의 무기산; 초산, 주석산, 살리실산, 시트르산, 하이드록시초산, 링고산, 프로피온산, 젓산, 글리세린산, 아스코브산, 아디픽산, 사과산, 술폴아민산, 솔비트산 또는 벤조산 중 선택되는 어느 1종 이상의 유기산; 또는 상기 무기산과 유기산을 혼합한 산을 첨가하되, 첨가하는 산의 양을 베타글루칸의 중량에 대해 0.1~25중량%로 하고, 여과과정을 마친 베타글루칸에 메틸알코올, 에틸알코올, (이소)프로필알콜, (t-, 이소)부틸알코올 중에서 선택되는 알코올류의 유기용매를 물과 혼합한 혼합용매를 첨가하되, 첨가하는 혼합용매의 양은 베타글루칸의 중량에 대해 50~95중량%로 하는 것임을 특징으로 하는 저분자 CM 베타글루칸의 제조방법.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 저분자 CM(Carboxyl Methyl) 베타글루칸의 제조방법에 관한 것으로 좀 더 상세하게는 불용성 물질인 베타글루칸을 유기용매 또는 유기용매/물 혼합용액에 분산시킨 후, 여기에 산을 첨가하되, 베타글루칸의 총 중량에 대하여 0.1~25중량%의 양으로 첨가하여 일정시간 동안 침적, 반응과정을 통해 저분자 베타글루칸을 제조한 후 이를 중화하고 세척한 후 모노클로로아세트산을 첨가하여 저분자 베타글루칸을 카르복실화하여 수용성의 저분자 CM 베타글루칸을 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [0002] 베타글루칸은 포도당 분자가 연결된 탄수화물 고분자 다당으로서 버섯류, 효모세포벽, 곡류 등에 존재하는 면역증강과 항암효과가 있는 물질로 알려져 있으며 1940년대 효모의 세포벽에서 비특이적 면역반응에 관여하는 물질로 처음 발견되었다.
- [0003] 실제로 일본에서는 의약품으로서 담자균류에 속하는 구름버섯의 krestin, 표고버섯의 lentinan, 치마버섯에서 shizophyllan, 영지버섯, 상황버섯, 뽕나무버섯 등의 각종 식용버섯에 함유된 다당들은 임상에 쓰이고 있다.
- [0004] 포도당이 -1,3 결합의 backbone으로 이루어진 구조가 가장 널리 알려져 있고 여러 가지 cytokine의 분비를 촉진시켜 전반적인 인체의 면역기능을 갖는 것으로 알려져 있다.
- [0005] 현재 국내에서 생산하는 베타글루칸은 미생물이 생산하는 세포 외 다당으로서 대형발효조를 이용하여 대량생산되고 있으며 생산된 베타글루칸은 포도당이 베타 1,3-결합으로 이루어진 고분자이며 물에 불용성이다. 생리활성을 가지면서 다양한 소재로 활용하기 위해서는 고분자 베타글루칸을 수용성 베타글루칸으로 전환이 요구되고 있다.
- [0006] 지구환경의 변화로 인하여 지속적인 기온상승에 따른 복사열증가와 오존층파괴에 따른 자외선에 노출되는 빈도의 증가에 따라 광노화가 가속화되면서 피부노화가 촉진되고 있음으로 이를 방어하고 예방할 수 있는 고기능화장품 소재의 개발이 요구되고 있다. 이에 따라 천연물을 활용한 고기능화장품소재의 확보를 통해 우수한 소재의 국산화 및 수출경쟁력확보가 필요하다.
- [0007] 또한 베타글루칸은 과잉 활성산소 제거작용(항산화작용)이 있는 것으로 알려져 있으며 콜라겐생성촉진, 섬유아세포 성장촉진 효과가 있는 것으로 알려져 있다(1. BY F. ZULLI, L.A. APPLGATE, E. FRENK and F. SUTER, EURO COSMATICS, 11, p46-50(1995); 2. Leilbovch S.J and Danon D., J. Reticuloendothel Soc. 27:p.1-11(1985))
- [0008] 이러한 생리활성을 가지면서 다양한 소재로 활용하기 위해서 고분자 베타글루칸을 수용성 베타글루칸으로 전환하는 기술이 개발되고 있으며, 이와 같이 수용화하는 방법으로 카르복시 메틸화하는 방법, 술폰화하는 방법, 울리고당화하는 방법이 제시되고 있다.
- [0009] 본 발명과 관련하여, 대한민국 공개특허 10-2007-0021587(공개일자 2007.02.23) '약용버섯 유래의 수용성 나노 크기 베타글루칸의 제조방법 및 그 추출물', 대한민국 등록특허 10-0666055(등록일자 2007.01.02) '수용성 베타글루칸의 제조방법', 대한민국 공개특허 10-2009-0121824(공개일자 2009.11.26) '수용성 베타글루칸의 제조방법', 대한민국 공개특허 특2003-0062178(공개일자 2003.07.23) '팽이버섯 자실체로부터 수용성 베타글루칸의 제조방법', 대한민국 등록특허 10-0603069(등록일자 2006.07.12) '수용성의 산성 베타 글루칸을 주성분으로 하는 염증 치료용조성물'에 대한 기술이 개시된 바 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0010] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허 10-2007-0021587(공개일자 2007.02.23)
- (특허문헌 0002) 대한민국 등록특허 10-0666055(등록일자 2007.01.02)
- (특허문헌 0003) 대한민국 공개특허 10-2009-0121824(공개일자 2009.11.26)
- (특허문헌 0004) 대한민국 공개특허 특2003-0062178(공개일자 2003.07.23)
- (특허문헌 0005) 대한민국 등록특허 10-0603069(등록일자 2006.07.12)

비특허문헌

- [0011] (비특허문헌 0001) BY F. ZULLI, L.A. APPLGATE, E. FRENK and F. SUTER, EURO COSMATICS, 11, p46-

50(1995)

(비특허문헌 0002) Leilbovch S.J and Danon D., J. Reticuloendothel Soc. 27;p.1-11(1985)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명은 불용성 물질인 베타글루칸을 유기용매 또는 유기용매/물 혼합용액에 분산시킨 후, 여기에 산을 첨가 하되, 베타글루칸의 총 중량에 대하여 0.1~25중량%의 양으로 첨가하여 일정시간 동안 침적, 반응과정을 통해 저 분자 베타글루칸을 제조한 후 이를 중화하고 세척한 후 모노클로로아세트산을 합성하여 저분자 베타글루칸을 카 르복실화하여 수용성의 저분자 CM 베타글루칸을 제조하는 방법을 제공하고자 하는 것을 발명의 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0013] 상기의 목적을 달성하기 위하여,
- [0014] 본 발명은 불용성인 베타글루칸을 유기용매 또는 유기용매의 혼합용액에 용해시키지 않고 분산시킨 상태에서,
- [0015] 산(acid)을 상기 베타글루칸의 총중량에 대하여 0.1~25중량%로 첨가하여 반응시키고,
- [0016] 상기 반응 후에 남아 있는 산(acid)를 유기용매로 모두 제거, 여과하고,
- [0017] 상기 여과과정을 마친 베타글루칸에 유기용매와 물을 5:5~9:1의 부피비로 혼합한 혼합용매를 첨가한 후, 여기에 다시 NaOH를 베타글루칸의 1.5~6배 물을 첨가하여 상온에서 20~30시간 동안 반응시켜 베타글루칸을 알칼리화하 고,
- [0018] 상기 알칼리화한 베타글루칸에 모노클로로초산 또는 모노클로로초산염을 베타글루칸의 동물 내지 3배 물을 첨가 하여 3~30시간 동안 반응시키고,
- [0019] 50~70℃에서 8~15시간 건조하여 저분자 CM(Carboxyl Methyl) 베타글루칸 분말을 제조하는 것임을 특징으로 하는 저분자 CM 베타글루칸의 제조방법을 제공한다.

발명의 효과

- [0020] 본 발명에 따른 저분자 CM 베타글루칸의 제조방법은 유기용매 또는 유기용매/물의 혼합용매를 사용하고 일정 양의 산을 첨가함으로써 저분자 베타글루칸을 제조한 후 이를 중화하고 세척한 후 모노클로로아세트산을 합성하여 저분자 베타글루칸을 카르복실화하여 수용성의 저분자 CM 베타글루칸을 제조함으로써 원하는 분자량의 저분자 CM 베타글루칸을 용이하게 제조할 수 있다.
- [0021] 또한 염산뿐만 아니라 산의 종류와 관계없이 적은 양의 산으로 저분자 CM 베타글루칸을 제조할 수 있다.
- [0022] 특히 베타글루칸을 용해시키지 않고 저분자 CM 베타글루칸을 제조함으로써 제조 후에 남아있는 산을 용이하게 제거할 수 있어 고순도의 CM 베타글루칸을 제조할 수 있다.
- [0023] 이외에 원하는 기능에 따라 분자량을 유지시켜 동물이나 사람의 생체 내에서 용이하게 용해되어 베타글루칸의 약리효과를 향상시킬 수 있으며, 고가의 건조장비 없이 간단한 건조과정으로 제품의 건조가 일어나므로 전체적인 제조단가를 절감할 수 있다는 장점을 갖는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 이하, 상기의 기술 구성에 대해 더욱 구체적으로 살펴보하고자 한다.

- [0025] 상기한 바와 같이,
- [0026] 본 발명에 따른 저분자 CM 베타글루칸 제조 방법은
- [0027] 불용성인 베타글루칸을 유기용매 또는 유기용매의 혼합용액에 용해시키지 않고 분산시킨 상태에서,
- [0028] 산(acid)을 상기 베타글루칸의 총중량에 대하여 0.1~25중량%로 첨가하여 반응시키고,
- [0029] 상기 반응 후에 남아 있는 산(acid)를 유기용매로 모두 제거, 여과하고,
- [0030] 상기 여과과정을 마친 베타글루칸에 유기용매와 물을 5:5~9:1의 부피비로 혼합한 혼합용매를 첨가한 후, 여기에 다시 NaOH를 베타글루칸의 1.5~6배 물을 첨가하여 상온에서 20~30시간 동안 반응시켜 베타글루칸을 알칼리화하고,
- [0031] 상기 알칼리화한 베타글루칸에 모노클로로초산 또는 모노클로로초산염을 베타글루칸의 동물 내지 3배 물을 첨가하여 3~30시간 동안 반응시키고,
- [0032] 50~70℃에서 8~15시간 건조하여 저분자 CM 베타글루칸 분말을 제조함으로써 달성된다.
- [0033] 본 발명에서 사용된 베타글루칸은 Agrobacterium속 Acaligenes faecalis와 같은 미생물 발효에 의해 생산되는 베타-1,3-글루칸으로서, 분자량이 100,000 내지 3,000,000인 것을 사용하나,
- [0034] 이외에 귀리, 보리, 호밀 등 곡물의 식이섬유에서 생산되는 베타-1,3-1,4-글루칸, 버섯균사체나 효모의 세포벽에서 추출한 베타-1,3-1,6-글루칸 또는 시중에 시판되고 있는 베타글루칸을 사용할 수도 있다.
- [0035] 상기 유기용매는 메틸알코올, 에틸알코올, (이소)프로필알콜, (t-,이소)부틸알코올 중 선택되는 어느 1종 이상의 알코올류를 사용하며,
- [0036] 식품 또는 가축용으로 사용하고자 하는 경우에는 주정(에탄올)을 사용하는 것이 가장 바람직하다.
- [0037] 그리고 상기 유기용매를 사용함에 있어, 알코올류를 단독 사용하거나, 알코올류와 물을 혼합하여 혼합용매로 사용할 수 있다.
- [0038] 상기 산은 무기산 또는 유기산으로부터 선택된 것을 사용하거나 또는 무기산과 유기산을 혼합한 산을 사용한다.
- [0039] 상기 무기산은 염산, 황산, 질산 또는 인산 중에서 선택되나, 염산 또는 인산 중에서 선택된 무기산을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0040] 상기 유기산은 초산, 주석산, 살리실산, 시트르산, 초산, 링고산, 프로피온산, 젖산, 글리세린산, 아스코브산, 아디픽산, 사과산, 술포아민산, 솔비트산 또는 벤조산 중에서 선택되나, 초산, 젖산, 아스코브산, 시트르산 또는 사과산 중에서 선택된 유기산을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0041] 상기 산의 사용량은 베타글루칸에 대하여 0.1~25중량%의 범위 내로 한정하며, 이는 상기 산의 사용량이 0.1중량% 미만인 경우에는 분해되지 않는 문제가 있고,
- [0042] 25중량%를 초과하게 되는 경우에는 분자량이 너무 작고 분해 후 중화하는데 알칼리가 너무 많이 들어가게 되며, 또한 세척에 문제가 있을 수 있기 때문이다.
- [0043] 따라서 상기 산의 사용량은 베타글루칸에 대하여 0.1~25중량%의 범위 내로 사용하는 것이 바람직하다.
- [0044] 상기 산과 베타글루칸의 반응 후에 남아 있는 산은 유기용매를 이용하여 세척함으로써 완전히 제거한다.
- [0045] 이와 같은 세척과정을 마친 후에는 여과과정을 거치게 된다.
- [0046] 상기 여과과정을 마친 후에는 알코올류와 물을 5:5~9:1 부피비로 혼합조성된 혼합 용매를 첨가하게 되며, 이때

혼합용매의 첨가량은 베타글루칸에 대하여 50~90중량%로 한다.

- [0047] 상기 혼합용매의 알코올류의 부피비가 5 미만인 경우에는 합성된 CM 베타글루칸이 용해되어 합성할 수가 없는 문제가 있고, 부피비가 9를 초과하게 되는 경우에는 CM 베타글루칸이 팽윤되지 않아 모노클로로초산 또는 모노클로로초산염이 잘 합성되지 않는 단점이 있어, 상기 알코올류와 물의 부피비는 5:5~9:1의 범위 내로 유지하는 것이 바람직하다.
- [0048] 더욱 바람직하게는 알코올류와 물을 7:3의 부피비로 혼합조성하여 사용한다.
- [0049] 상기 혼합용매의 첨가량이 50중량% 미만인 경우에는 겔화되어 혼합이 잘되지 않아 균일한 반응을 하는데 한계가 있고, 95중량%를 초과하게 되는 경우에는 수율이 적어 경제성이 떨어지는 단점이 있으므로, 상기 혼합용매의 첨가량은 상기 베타글루칸에 대하여 50~95중량%의 범위 내로 한정하는 것이 바람직하다.
- [0050] 상기 혼합용매를 첨가한 후에는 다시 NaOH를 베타글루칸에 첨가하되, 베타글루칸의 1.5~6배 물을 첨가하여 상온에서 20~30시간 동안 반응시켜 베타글루칸을 알칼리화한다.
- [0051] 다음으로 상기 알칼리화한 베타글루칸에 모노클로로초산 또는 모노클로로초산염을 베타글루칸의 동물 내지 3배 몰로 첨가하여 3~30시간 동안 반응시키고,
- [0052] 상기의 과정을 모두 마친 저분자 베타글루칸을 여과 후 50~70℃에서 8~15시간 동안 건조과정을 거침으로써, 본 발명에서 수득하고자 하는 최종 목적물인 저분자 CM 베타글루칸 분말을 얻을 수 있다.
- [0053] 이하, 상기의 기술 구성에 대한 내용을 실시예를 통해 더욱 구체적으로 살펴보고자 한다.

실시예 1

- [0054] 평균분자량이 80만이고, 입도가 80메쉬인 베타글루칸 80g을 주정 320g에 물 100g을 혼합한 용액에 분산시킨 후, 여기에 염산을 베타글루칸의 중량에 대해 3중량%로 첨가하여 60℃의 온도조건에서 3시간 동안 교반하면서 반응시킨다.
- [0055] 반응 후 여과하고, 200g의 주정으로 2회 세척한 다음 다시 여과한다.
- [0056] 여과과정을 마친 베타글루칸에 주정과 증류수를 7:3 부피비로 혼합한 혼합용매 300g을 첨가하고, 여기에 다시 NaOH를 베타글루칸의 2배 몰인 40g을 첨가하여 상온에서 24시간 반응시킨다.
- [0057] 반응이 완료된 반응물에 모노클로로아세트산 47.25g을 서서히 첨가하여 24시간 반응시킨다.
- [0058] 반응이 완료된 반응물을 상기 혼합용매로 수회 세척한 후, 여과한 다음 60℃에서 12시간 건조하여 저분자 CM 베타글루칸 분말을 얻는다.
- [0059] 이와 같이 제조된 수용성 저분자 CM 베타글루칸 분말의 분자량을 측정하기 위하여 평균분자량을 GPC로 분석하였다.
- [0060] 칼럼은 Shodex OHpakSB-801+SB-802+ SB-803(7.5mm ID×300mm L)을 사용하고, 용출액은 0.1M 인산 완충용액을 사용하였으며, 유속은 0.8ml/min으로 조정하여 분석한 결과 상기 수용성 저분자 CM 베타글루칸 분말의 평균 분자량은 15,000으로 확인되었다.

실시예 2

- [0061] 상기 실시예 1에서 염산을 초산으로 대체하고, 그 첨가량을 5중량%로 하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하

게 실시하였다. 이때 측정된 저분자 CM 베타글루칸 분말의 평균분자량은 52,000이었다.

실시예 3

[0062] 평균분자량이 60만인 베타글루칸을 사용하고, 혼합용매를 주정과 증류수가 6:4 부피비로 혼합된 것을 사용하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하였다. 이때 측정된 저분자 CM 베타글루칸 분말의 평균분자량은 9,300이었다.

실시예 4

[0063] 상기 실시예 1에서 염산을 시트르산으로 대체하고, 그 첨가량을 5중량%로 하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하였다. 이때 측정된 저분자 CM 베타글루칸 분말의 평균분자량은 16,500이었다.

실시예 5

[0064] 실시예 1에서 혼합용매를 주정과 증류수가 5:5 부피비로 혼합된 것을 사용하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하였다. 이때 측정된 저분자 CM 베타글루칸 분말의 평균분자량은 10,500이었다.

실시예 6

[0065] 실시예 1에서 혼합용매를 주정과 증류수가 8:2 부피비로 혼합된 것을 사용하는 것을 제외하고는 실시예 1과 동일하게 실시하였다. 이때 측정된 저분자 CM 베타글루칸 분말의 평균분자량은 7,800이었다.

[0066] 이와 같은 실시예를 통해 확인된 바와 같이, 용매에 분산된 상태에서 제조하기 때문에 사용한 용매 및 산의 농도에 따라 원하는 분자의 저분자 CM 베타글루칸 제조가 가능하며, 또한 염산뿐만 아니라 산의 종류와 관계없이 적은 양의 산으로도 저분자 CM 베타글루칸을 제조할 수 있다.

[0067] 그리고 분산된 저분자 CM 베타글루칸을 여과-세척하는 것에 의해 순수한 저분자 CM 베타글루칸을 제조할 수 있으며 원하는 기능에 따라 분자량을 유지시켜 동물이나 사람의 생체 내에서 용이하게 용해되어 베타글루칸의 약리효과를 향상시킬 수 있다.

산업상 이용가능성

[0068] 상기한 바와 같이, 용매에 분산된 상태에서 제조하기 때문에 사용한 용매 및 산의 농도에 따라 원하는 분자의 저분자 CM 베타글루칸 제조가 가능하며, 또한 염산뿐만 아니라 산의 종류와 관계없이 적은 양의 산으로도 저분자 CM 베타글루칸을 제조할 수 있기 때문에 산업상 이용가능성이 크다.