



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년01월27일
(11) 등록번호 10-1484175
(24) 등록일자 2015년01월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/352 (2006.01) C07D 311/30 (2006.01)
A61K 36/8962 (2006.01) A61K 8/97 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0131406
(22) 출원일자 2012년11월20일
심사청구일자 2012년11월20일
(65) 공개번호 10-2014-0065674
(43) 공개일자 2014년05월30일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020040099936 A*
인터넷자료, 다이어트부터 피부관리까지~ 양과껍질 미용법, URL:
<http://talk.imbc.com/tvinfo/view.aspx?idx=61488>(2012.04.24.)*
마이데일리 2009년12월23일자 기사, 「양과추출물 함유된 화장품, 매끈한 피부 만든다?」(2009.12.23.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
재단법인 전남생물산업진흥원
전남 나주시 동수농공단지길 30-5, (동수동)
(72) 발명자
김재갑
경기도 부천시 소사구 경인로 134번길 27, 2동 507호 (송내동, 삼익아파트)
정용기
전남 장흥군 장흥읍 북부로 62-1, 104동 303호 (주공아파트)
(74) 대리인
김정현
(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 4 항

심사관 : 김용원

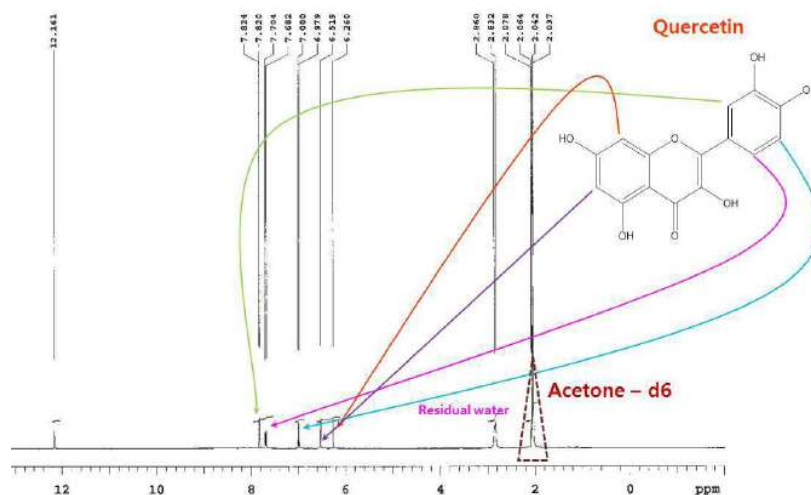
(54) 발명의 명칭 양과 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법

(57) 요약

본 발명은 양과 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 양과 부산물을 수세 및 정선하고 열수추출한 후, 상기 양과 추출물을 Prep-LC를 통과시켜 분리 및 분획하는 단계를 포함하는 양과 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 다양한 생리활성을 가지는 퀘르세틴을 고효율 및 고순도로 대량 추출할 수 있으며, 버려지는 양과 부산물(양과껍질이나 저품질 양과)로부터 퀘르세틴을 분리하여 고부가가치의 원료를 개발할 수 있다.

대표도 - 도5



(72) 발명자

김재진

전남 장흥군 장흥읍 생양길 5,

강후원

전남 나주시 영산포로 205-7, (영산동)

이순택

경기도 고양시 일산서구 대산로 226번길 24-3 (대화동)

박성윤

전남 화순군 화순읍 광덕로 215, 606동 705호 (부영6차아파트)

김광수

전라남도 장흥군 장흥읍 기양리 65번지

박세준

전라남도 순천시 외서면 장산리 315

이동욱

전남 장흥군 장흥읍 북부로 39, 203호 (수창아트빌아파트)

김선오

광주 북구 양일로 55, 101동 605호 (연제동, 현대아파트)

최철웅

광주 서구 풍암순환로 14, 105동 203호 (풍암동, 호반아파트)

특허청구의 범위

청구항 1

양과 부산물을 수세 및 정선한 후, 열수추출하여 양과 추출물을 얻는 단계;

상기 양과 추출물을 분석용 액체크로마토그래피를 통과시켜 플라보노이드 계열 화합물의 종류 및 대량 분리, 정제 가능성을 파악하는 단계; 및

상기 양과 추출물을 이동상이 60% 메탄올, 용매의 흐름속도는 10~180ml/min, 검출기는 284nm 또는 375nm의 자외선 검출기를 사용하는 직경이 2cm 또는 10cm인 컬럼이 장착된 Prep-LC를 통과시켜 분리 및 분획하는 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 양과 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 양과 부산물은 양과 껍질 또는 저품질의 양과인 것을 특징으로 하는 양과 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 열수추출은 80 내지 120℃ 온도의 열수에서 1 내지 5시간 동안 추출되는 것을 특징으로 하는 양과 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 분석용 액체크로마토그래피 시 이동상 용매 구배는 처음 5분간 35% 메탄올로, 5~35분까지는 50% 메탄올로, 35~42분까지는 100%의 메탄올로, 42~50분까지는 100% 메탄올이 되도록 수행되는 것을 특징으로 하는 양과 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

명세서

기술분야

[0001]

본 발명은 양과 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 양과 부산물을 수세 및 정선하고 열수추출한 후, 상기 양과 추출물을 액체크로마토그래피를 통과시키고 Prep-LC를 통과시켜 분리 및 분획하는 단계를 포함하는 양과 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

최근 천연물에 대한 관심이 높아지고 천연물을 이용해 인간의 삶을 건강하고 아름답게 만들고자 하는 노력은 아

주 먼 옛날부터 시도되어 왔다. 특히, 천연물을 이용하여 질병을 치료하거나 건강을 유지하기 위한 수단으로 가장 많이 응용되어 왔고, 그것의 임상적 효과는 동·서양의 의학교서에 많이 기록되어 있다.

- [0003] 다양한 생리활성을 지닌 신소재 개발은 전 세계적으로 천연소재에 대한 기술적 접근 방법이 추구하고 있으며, 의약품을 대신할 수 있는 건강기능성 소재 개발에 초점이 맞춰 지고 있는 실정이다.
- [0004] 이러한 천연물을 이용하는 연구는 천연에 존재하는 자원으로부터 생리활성이 우수한 물질을 분리, 정제하고 이들의 화학구조를 결정함으로써 궁극적으로는 이렇게 획득된 우수 물질들을 이용하여 인간의 질병 및 삶의 질을 향상시키는 분야로 진화되어 가고 있다.
- [0005] 한편, 양파는 우리나라뿐만 아니라 전 세계적으로 많은 양이 재배되어 식용으로 사용되어지고 있는 대표적인 약용작물이다. 양파는 백합과에 속하는 2년초로 인경은 직경이 10cm에 달하며 편구형 또는 구형이다. 9월에 화경 끝에서 큰화서가 자라고 자루가 있는 많은 꽃이 산형으로 달리며 인경은 식용으로 사용한다. 또한, 양파는 2008년 농림수산식품부의 통계자료(2008 시설채소 온실현황 및 채소류 생산실적)에 따르면 조미 채소류 중 국내 생산량이 1위(약 100만 톤)로 파(50만 톤)의 두 배에 달하는 매우 중요한 농산물이다.
- [0006] 양파의 성분으로는 주로 퀘르세틴(quercetin) 배당체인 quercetin 3-O-glucoside, quercetin 3,4'-diglucoside, quercetin 4'-glucoside 등이 알려져 있으며, 매운 맛을 내는 프로필 아릴디설파이드(propyl allyl disulfide) 등 황화 아릴 계통의 화합물이 다수 함유되어 있는 것으로 나타났다. 퀘르세틴(quercetin)은 식용 부위에는 거의 함유되어 있지 않으나, 갈색의 껍질에 다량 함유되어 있어(건조 g당 약 8.3 mg) 그 함량은 식용부위의 수십~수백 배에 달하는 것으로 알려져 있으며, 상기 퀘르세틴(quercetin)은 항염증작용, 뇌세포 보호활성, 항암작용, 항당뇨, 항비만, 항고혈압 등 각종 생리활성을 나타내는 것으로 보고되어 있는 화합물이다.
- [0007] 특히, 양파의 효능은 이미 잘 알려진 바와 같이 혈액 속에 좋은 콜레스테롤(HDL)은 높여주고 나쁜 콜레스테롤(LDL)은 낮춰줌으로써 혈중 지질상태를 좋게 하고, 혈액 속의 불필요한 지방과 콜레스테롤을 없애 동맥경화와 고지혈증을 예방해주며, 특히 혈관에서 혈전이 생기는 것을 막고 혈액이 잘 흐르도록 도와주는 것으로 보고되어 있다.
- [0008] 그러나, 양파 부산물은 섬유소와 플라보노이드가 풍부하며 이용가치가 높으나 유럽에서 해마다 50만톤의 양파폐기물이 버려지고 있으며, 스페인, 네덜란드, 영국 등에서는 양파폐기물이 환경문제로 대두되고 있는 실정이다.
- [0009] 최근 영국, 크렌필드 대학교 연구진은 양파 부산물에서 더 많은 유효성분을 함유하고 있다고 발표하였으며, 부산물을 이용한 프룩탄과 황화합물, 플라보노이드의 공급원으로 활용 가능성을 제안한 바 있다.
- [0010] 양파 내의 퀘르세틴 성분을 활용하기 위하여 양파의 최적 추출 조건을 설정하여 추출하는 방법이 보고되고 있으나, 이는 추출물을 활용한 방법으로 순도가 높은 퀘르세틴을 얻기에 어려움이 있었으며, 대량생산 또한 불가능하였다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0011] (특허문헌 0001) 국내공개특허 제10-2009-0131179호
- (특허문헌 0002) 국내등록특허 제10-1069836호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0012] 상기와 같은 종래기술의 문제점을 해결하고자, 본 발명은 양파 부산물로부터 다양한 생리활성을 가지는 퀘르세틴을 고효율 및 고순도로 대량 분리할 수 있는 양파 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.
- [0013] 또한 본 발명은 버려지는 양파 부산물(양파껍질이나 저품질 양파)로부터 퀘르세틴을 분리하여 고부가가치의 원료를 개발할 수 있는 양파 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법을 제공하는 것을 목적으로

한다.

[0014] 또한 본 발명은 퀘르세틴이 사용되는 약학, 기능성 식품원료, 화장품이나 세정제와 관련된 다양한 산업에 폭 넓게 이용될 수 있는 양과 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0015] 또한 본 발명은 고순도의 퀘르세틴, 퀘르세틴 배당체를 포함하는 약학, 화장품 또는 세정 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0016] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 양과 부산물을 수세 및 정선한 후, 열수추출하여 양과 추출물을 얻는 단계; 상기 양과 추출물을 분석용 액체크로마토그래피를 통과시켜 플라보노이드 계열 화합물의 종류 및 대량 분리, 정제 가능성을 파악하는 단계; 및 상기 양과 추출물을 이동상이 60% 메탄올, 용매의 흐름속도는 10~180ml/min, 검출기는 284nm 또는 375nm의 자외선 검출기를 사용하는 직경이 2cm 또는 10cm인 컬럼이 장착된 Prep-LC를 통과시켜 분리 및 분획하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 양과 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법을 제공한다.

[0017] 상기 양과 부산물은 양과껍질 또는 저품질의 양과일 수 있다.

[0018] 상기 열수추출은 80 내지 120℃ 온도의 열수에서 1 내지 5시간 동안 추출될 수 있다.

[0019] 또한, 상기 분석용 액체크로마토그래피 시 이동상 용매 구배는 처음 5분간 35% 메탄올로, 5~35분까지는 50% 메탄올로, 35~42분까지는 100%의 메탄올로, 42~50분까지는 100% 메탄올이 되도록 수행하는 것이 좋다.

[0020] 또한 본 발명은 상기 방법으로 추출된 퀘르세틴 또는 퀘르세틴 배당체를 포함하는 약학 조성물, 화장품 또는 세정 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0021] 본 발명에 따르면, 다양한 생리활성을 가지는 퀘르세틴을 고효율 및 고순도로 대량으로 분리, 정제할 수 있으며, 버려지는 양과 부산물(양과껍질이나 저품질 양과)로부터 퀘르세틴을 분리하여 고부가가치의 원료를 개발할 수 있다. 또한, 본 발명의 분리, 정제방법은 퀘르세틴이 사용되는 의약, 기능성 식품원료, 화장품이나 세정제와 관련된 다양한 산업에 폭 넓게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0022] 도 1은 본 발명의 일실시예에서 사용되는 Prep-LC 장비의 사진이다.

도 2는 본 발명의 일실시예에 따라 양과 부산물의 분석용 HPLC 크로마토그램을 나타낸 그래프이다.

도 3은 본 발명의 일실시예에 따라 양과 부산물의 컬럼직경 2cm인 Prep-LC를 이용하여 측정된 퀘르세틴 및 퀘르세틴 배당체의 크로마토그램을 나타낸 그래프이다. 도 3의 (a)는 5mg/ml의 양과 추출물을 직경이 2cm인 Prep-LC를 이용하여 측정한 크로마토그램이며, (b) 및 (c)는 각각 2mg/ml의 퀘르세틴, 0.5mg/ml의 퀘르세틴-4-O-글루코시드(Quercetin-4-O-glucoside) 표준시료(standard 시료)의 크로마토그램이다.

도 4는 본 발명의 일실시예에 따라 양과 부산물의 컬럼직경 10cm인 Prep-LC를 이용하여 측정된 퀘르세틴 및 퀘르세틴 배당체의 크로마토그램을 나타낸 그래프이다.

도 5는 본 발명의 일실시예에 따라 분리, 분획한 퀘르세틴의 NMR 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 6은 본 발명의 일실시예에 따라 분리, 분획한 퀘르세틴 배당체의 NMR 스펙트럼을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 이하 본 발명을 상세히 설명한다.

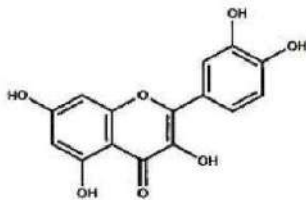
[0024] 본 발명은 국내산 양과를 이용하여 사용 후 버려지고 있는 양과 부산물, 주로 껍질 부위 등을 활용하여 기능성 원료로 사용하기 위하여 퀘르세틴 성분의 최적 추출 조건을 확립하고, 대량 분리, 정제 기술의 개발을 통하여 고품질의 퀘르세틴 또는 퀘르세틴 배당체를 생산하고자 하였다.

[0025] 본 발명은 양파 껍질, 식용으로 섭취하기 어려워 버려지는 저품질의 양파 등의 양파 부산물을 액체크로마토그래피와 Prep-LC를 이용하여 최적의 추출 조건으로 분리, 정제함으로써 고순도의 퀘르세틴 또는 퀘르세틴 배당체를 대량으로 분리 및 정제하는데 발명의 특징이 있다.

[0026] 이러한 본 발명의 양파 부산물로부터 퀘르세틴을 대량으로 분리, 정제하는 방법은 양파 부산물을 수세 및 정선한 후, 열수추출하여 양파 추출물을 얻는 단계, 상기 양파 추출물을 액체크로마토그래피를 통과시켜 플라보노이드 계열 화합물의 종류 및 대량 분리, 정제 가능성을 파악하는 단계와 이동상이 60% 메탄올, 용매의 흐름속도는 10~180ml/min, 검출기는 284nm 또는 375nm의 자외선 검출기를 사용하는 직경이 2cm 또는 10cm인 컬럼이 장착된 Prep-LC를 통과시켜 분리 및 분획하는 단계를 포함한다.

[0027] 퀘르세틴은 하기 화학식 1로 표시되는 화합물로, 일반적인 용매인 물 등에는 잘 녹지 않고, 에탄올이나 알칼리 용액에 용해되는 것으로 알려져 있다. 상기 퀘르세틴은 배당체인 루틴 등과 같은 형태로 채소와 과일에 널리 분포되어 있고, 특히 양파에 풍부한 것으로 알려져 있다. 상기 퀘르세틴은 기존에 식품이 변질되는 것을 방지하기 위해 식품첨가물인 산화방지제로서 사용되었으나, 최근에는 세포의 산화적 손상과 지방의 산패를 막아주는 항산화 활성, 항균활성 또는 항암작용 등의 기능성이 밝혀지면서 다양한 건강기능식품이나 치료제 등의 소재와 관련된 용도에 대한 관심이 증대되고 있다.

[0028] [화학식 1]



[0029] 이하 청구범위를 포함하는 본 명세서에서 설명하는 '퀘르세틴(Quercetin)'은 양파로부터 분리된 퀘르세틴 뿐 아니라 퀘르세틴 배당체, 퀘르세틴 유도체 등을 모두 가리키는 것으로 이해되어야 한다.

[0031] 이하에서는 본 발명의 대량 분리, 정제 방법을 자세히 설명한다.

[0032] 먼저, 양파 껍질, 버려지는 저품질의 양파와 같은 양파 부산물을 선별하여 수세 및 정선한다.

[0033] 상기 양파는 통상의 양파로부터 껍질(외피), 손상되어 버려지는 저품질의 양파 등을 분리하고, 양파 껍질이나 저품질의 양파에 묻은 이물질을 제거하기 위해 세척 통에 넣고 물과 함께 교반시켜 흙 등의 오염물질을 제거한다. 특히 본 발명에서는 하기 실시예 및 실험예에서 전라남도 무안군에서 재배하여 수확한 양파를 사용하였다.

[0034] 수선 및 정선된 양파 부산물은 이후 열수추출하여 양파 추출물을 얻을 수 있다.

[0035] 상기 양파 추출물은 추출용매를 이용하여 양파 부산물을 침지시키는 단계를 통하여 추출되는 냉침, 환류, 가온, 초음파 등의 임의의 방식이 모두 적용될 수 있음은 물론이나, 순환 냉각하는 환류순환방식을 이용한 열수추출을 적용하는 것이 본 발명이 목적하는 퀘르세틴의 대량 분리를 위해 보다 바람직하다. 즉, 본 발명은 기존 추출법인 에탄올 추출이 아닌 열수 추출에 의해 추출함으로써 70kg 정도의 시료까지의 대량 추출이 가능하게 된다.

[0036] 이러한 열수추출은 양파 부산물은 100℃ 온도의 열수에서 4시간 동안 추출하여 수행될 수 있다. 상기 추출시 온도 및 시간이 상기 범위내일 경우에 천연 소재의 극성 및 비극성 성분이 최대 정성 및 정량 추출되어 더욱 좋다.

[0037] 상기와 같이 열수추출하여 얻어진 양파 추출물은 이후 양파 추출 분말로 제조하는 과정이 추가로 포함될 수 있다. 상기 양파 추출 분말의 제조는 양파의 퀘르세틴, 퀘르세틴 배당체 등과 같은 플라보노이드계 화합물을 최대한 유지하기 위하여, 상기 양파 추출물을 -30℃에서 영상 50℃까지 72시간에 걸쳐 약 7시간 간격으로 10℃씩 증가시키는 동결건조 방법으로 수행될 수 있다. 또한, 이렇게 제조된 양파 추출 분말은 퀘르세틴, 퀘르세틴 배당체 등과 같은 플라보노이드계 화합물을 최대한 유지시키기 위하여 이후 단계를 수행하기 전까지 4℃ ~ -20℃에서 보관할 수 있다.

[0038] 그 다음 상기 양파 추출물은 고성능 액체 크로마토그래피를 통과시켜 플라보노이드 계열 화합물의 종류 및 대량 분리, 정제 가능성을 파악하는 단계를 수행한다.

- [0039] 이때, 고성능 액체 크로마토그래피 이전에 양과 추출 분말로부터 흙 등의 불필요한 이물질들을 완전히 제거하기 위하여 시료의 전처리 과정을 거칠 있다.
- [0040] 시료의 전처리는 동결건조되어 얻어진 시료를 60% 메탄올에 용해시킨 후, 원심분리하여 상등액을 취하고 0,2 μ m의 필터로 필터링하여 이루어질 수 있다. 이와 같은 시료의 전처리 과정을 수행할 경우 시료에 대한 정확한 분리, 분획 결과를 얻을 수 있을 뿐 아니라, 이후 실시되는 고성능 액체 크로마토그래피의 컬럼이나 기기 내부의 고장을 일으킬 수 있는 문제를 차단할 수 있다.
- [0041] 상기 고성능 액체 크로마토그래피를 통하여 양과 내 플라보노이드계 화합물을 분리하기 위하여는 최적의 기기조건을 설정하는 것이 무엇보다 중요하다. 이에 본 발명과 같이 이동상(mobile phase)으로는 메탄올을 사용하여, 컬럼 내부의 압력을 1.8Mpa, 시료 주입량을 30 μ l으로 하고, 375nm의 자외선 검출기를 사용하는 조건으로 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 수행하는 것이 좋다.
- [0042] 특히, 상기 고성능 액체 크로마토그래피 시 이동상 용매 구배는 처음 5분간 35% 메탄올로, 5~35분까지는 50% 메탄올로, 35~42분까지는 100%의 메탄올로, 42~50분까지는 100% 메탄올이 되도록하며, 흐름속도는 1ml/min으로 조절하는 것이 고순도의 퀘르세틴 및/또는 퀘르세틴 배당체를 분리, 정제하는데 있어 보다 바람직하다.
- [0043] 또한, 상기 고성능 액체 크로마토그래피는 C18 컬럼을 사용하여 소수성 성분의 머무름 시간을 길게 하였으며, 375nm의 자외선 검출기를 사용하여 양과 부산물에 존재하는 플라보노이드계 화합물의 측정 감도를 높이는 것이 더욱 좋다.
- [0044] 상기 고성능 액체 크로마토그래피를 통과시켜 플라보노이드 계열 화합물의 종류 및 대량 분리, 정제 가능성을 파악한 후에는 대량생산을 위한 Scale-up과정으로, Prep-LC를 통과하여 최종적으로 양과 부산물로부터 고순도의 퀘르세틴, 퀘르세틴 배당체 등을 분리, 분획할 있다.
- [0045] Prep-LC는 고성능 액체 크로마토그래피와는 달리 다양한 직경을 가지는 컬럼의 장착이 가능하며, 최대 유량을 분당 300ml까지 흘려보낼 수 있어 전술한 단계에서 분석 및 분리한 양과의 퀘르세틴, 퀘르세틴 배당체를 분리 후 분획 과정을 거쳐 최종적으로 고순도, 고효율로 퀘르세틴, 퀘르세틴 배당체 각각의 단일 물질까지 얻어낼 수 있다.
- [0046] 이에, 본 발명에서는 고순도, 고효율로 양과 퀘르세틴, 퀘르세틴 배당체를 대량으로 분리하며, 더불어 최단시간과 최저비용으로 최적의 효과를 얻기 위하여 이동상이 60% 메탄올, 용매의 흐름속도는 10~180ml/min, 검출기는 284nm 또는 375nm의 자외선 검출기를 사용하는 직경이 2cm 또는 10cm인 컬럼이 장착된 Prep-LC를 이용하는 것이 바람직하며, 특히 대량생산의 측면에 있어서 이동상이 60% 메탄올, 용매의 흐름속도는 180ml/min, 검출기는 375nm의 자외선 검출기를 사용하는 직경이 10cm인 컬럼이 장착된 Prep-LC를 이용하는 것이 더욱 바람직하다. 상기 Prep-LC 장비의 조건이 전술한 바와 같은 경우 양과 부산물로부터 고순도의 퀘르세틴, 퀘르세틴 배당체만을 분리, 정제 할 수 있어 더욱 바람직하다.
- [0047] 이상과 같이 양과 부산물을 본 발명에 따른 최적의 조건에 의해 고성능 액체 크로마토그래피와 Prep-LC를 통과시키는 방법으로 양과 퀘르세틴, 퀘르세틴 배당체 등을 분리할 경우, 기존 추출법에 비하여 약 400 내지 1,000%의 추출효율 상승효과가 있으며, 추출 후 분리, 정제된 퀘르세틴, 퀘르세틴 배당체의 순도 또한 현저하게 향상시킬 수 있다.
- [0048] 본 발명은 상기와 같은 최적의 추출효율을 구현할 수 있는 추출방법에 따라 양과 부산물로부터 분리, 정제한 퀘르세틴, 퀘르세틴 배당체 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 포함하는 약학 조성물을 제공하는 바, 상기 약학 조성물은 항균활성, 항암작용 및 항산화 활성이 우수한 퀘르세틴 및/또는 퀘르세틴 배당체를 포함하여 항균, 항암 및 항산화의 효과를 요하는 부분에 적용될 수 있다.
- [0049] 상기 퀘르세틴 및/또는 퀘르세틴 배당체는 조성물에 0.01 내지 20중량%로 포함되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 0.1 내지 10중량%로 포함되는 것이다. 그 함량이 0.01중량% 미만일 경우에는 조성물의 항균, 항암 및 항산화 효과가 미미할 수 있으며, 20중량%를 초과할 경우에는 사용량에 대비 효과가 상대적으로 낮을 수 있다.
- [0050] 본 발명의 방법에 따라 양과로부터 분리, 정제한 퀘르세틴 및/또는 퀘르세틴 배당체를 유효성분으로 포함하는 약학적 조성물은 경구 또는 비경구 투여가 가능하다. 본 발명의 약학적 조성물의 투여 경로는 이들로 한정되는 것은 아니지만 예를 들면, 구강, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골순, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 설하 또는 국소 투여가 가능하다.
- [0051] 이와 같은 임상 투여를 위해 본 발명의 약학 조성물은 공지의 기술을 이용하여 경구투여, 비경구 투여용, 주사

용 등의 적합한 제형으로 제제화 할 수 있다. 예를 들어, 경구 투여시에는 불활성 희석제 또는 식용 담체와 혼합하거나, 경질 또는 연질 젤라틴 캡슐에 밀봉되거나 또는 정제로 압형하여 투여할 수 있다. 경구 투여용의 경우, 활성 화합물은 제제화에 필요한 통상의 성분들과 혼합되어 섭취형 정제, 협측 정제, 트로키제(troches), 로진지(lozenge), 수용성 또는 유성현탁액, 조제분말 또는 과립, 에멀전, 하드 또는 소프트 캡슐, 엘릭시르(elixirs), 서스펜션, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 사용될 수 있다. 이때, 정제, 캡슐 등의 제형으로 제제화하기 위해 락토오스, 사카로오스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아밀로펙틴, 셀룰로오스 또는 젤라틴과 같은 결합제; 디칼슘 포스페이트와 같은 부형제; 옥수수 전분 또는 고구마 전분과 같은 붕괴제; 스테아린산 마그네슘, 스테아린산 칼슘, 스테아릴푸마르산 나트륨 또는 폴리에틸렌글리콜 왁스와 같은 윤활유 등을 혼합할 수도 있다. 캡슐 제형의 경우는 상기에서 언급한 물질 이외에도 지방유와 같은 액체 담체를 혼합할 수도 있다.

[0052] 또한, 비경구 투여는 피하주사, 정맥주사, 근육내 주사, 흉부내 주사 주입방식과 점막, 또는 국소에 적용되는데, 분산제, 좌제, 분제, 에어로졸(비강 스프레이 또는 흡입제), 겔, 현탁액제(수성, 또는 비수성 액상 현탁액, 수중유 에멀전 또는 유중수 에멀전), 용액제 등 비경구 투여에 적합한 액상 투여 형태 등에 의한다. 비경구 투여용 제형으로 제제화하기 위해서는 상기 조성물을 안정제 또는 완충제와 함께 물에서 혼합하여 용액으로 제조하고, 이를 애플 또는 바이알의 단위 투여형으로 제제화할 수 있다.

[0053] 상기와 같은 본 발명의 약학 조성물의 유효투입량은 환자의 연령, 신체적 조건, 몸무게 등의 상태를 고려하여 임상의 판단에 따라 필요한 범위로 조절될 수 있다. 일반적으로, 상기 약학적 조성물의 유효투입량은 성인 환자 체중 1kg 당 1 내지 200mg/일이고, 바람직하기로는 5 내지 100mg/일이며, 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간 간격으로 1일 수회, 바람직하기로는 하루 2회 내지 5회 분할 투여될 수 있다.

[0054] 또한, 본 발명은 상기의 추출방법에 따라 양과로부터 분리, 정제한 퀘르세틴 및/또는 퀘르세틴 배당체를 유효성분으로 포함하는 화장료 조성물을 제공한다. 상기 퀘르세틴 및/또는 퀘르세틴 배당체는 우수한 항균 및 항암활성을 가져 피부노화 방지, 피부탄력 개선, 피부주름 개선, 피부미백, 피부 보습력 증진 등의 효과를 갖게 된다.

[0055] 상기 퀘르세틴 및/또는 퀘르세틴 배당체는 조성물에 0.01 내지 10중량%로 포함되는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 0.1 내지 5중량%로 포함되는 것이다. 그 함량이 0.01중량% 미만일 경우에는 조성물의 항균 및 항산화 효과가 미미할 수 있으며, 10중량%를 초과할 경우에는 사용량에 대비 효과가 상대적으로 낮을 수 있다.

[0056] 상기 퀘르세틴 및/또는 퀘르세틴 배당체를 유효성분으로 포함하는 본 발명의 화장료 조성물은 상기의 유효성분 외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예컨대 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함할 수 있다.

[0057] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제 함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 팩, 마사지크림 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수, 영양 화장수, 영양 크림, 마사지 크림, 에센스, 아이크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[0058] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 겔인 경우에는 담체 성분으로서 동물성유, 식물성유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0059] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌글리콜, 소르비탄의 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0060] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소 결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타하이드록시드, 벤토나이트, 아가, 트라칸트 등이 이용될 수 있다.

[0061] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 하이드록시드, 칼슘 실리케이트, 폴리아미드 파우더 등이 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로하이드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

- [0062] 본 발명의 제형이 계면활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아마이드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체, 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.
- [0063] 본 발명의 화장료 조성물이 비누, 계면활성제 함유 클렌징 제형 또는 계면활성제 비함유 클렌징 제형일 경우, 피부에 도포한 후 닦아내거나 떼거나 물로 씻어낼 수도 있다. 구체적인 예로서, 상기 비누는 액상비누, 가루비누, 고형비누, 오일비누일 수 있고, 상기 계면활성제 함유 클렌징 제형은 클렌징 폼, 클렌징 워터, 클렌징 수건, 클렌징 팩일 수 있으며, 상기 계면활성제 비 함유 클렌징 제형은 클렌징크림, 클렌징 로션, 클렌징 워터 또는 클렌징 젤일 수 있으나, 제형의 범위가 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0064] 한편, 본 발명의 화장 방법은 본 발명의 화장료 조성물을 이용하는 모든 화장 방법을 일컫는다. 즉, 화장료 조성물을 이용하는 당업계에 공지된 모든 방법이 본 발명의 화장 방법에 속한다.
- [0065] 본 발명의 화장료 조성물은 단독 또는 중복하여 사용하거나, 본 발명 이외의 다른 화장료 조성물과 중복하여 사용할 수 있다. 또한 본 발명에 따른 화장료 조성물은 통상적인 사용방법에 따라 사용될 수 있으며, 사용자의 피부 상태 또는 취향에 따라 그 사용횟수를 달리할 수 있다.
- [0066] 또한, 상기 퀘르세틴 및/또는 퀘르세틴 배당체를 유효성분으로 포함하는 본 발명의 화장료 조성물은 아토피, 무좀, 건선, 가려움증, 피부염, 알레르기, 습진, 비듬 등의 피부질환 치료에도 사용될 수 있음은 물론이다.
- [0067] 뿐만 아니라, 본 발명에 따른 퀘르세틴 및/또는 퀘르세틴 배당체는 통상의 세정 조성물에도 사용될 수 있는데, 퀘르세틴 및/또는 퀘르세틴 배당체는 항균활성, 항암작용 뿐 아니라 항산화 활성 또한 우수하여 산화에 의해서 일어나는 공산품의 냄새나 풍미의 변화, 유지의 산패, 그리고 공산품의 변색을 효과적으로 방지할 수도 있다.
- [0068] 따라서, 본 발명에 따라 양과 부산물로부터 분리, 정제한 퀘르세틴 및/또는 퀘르세틴 배당체는 통상의 각종 세정 조성물에 배합함으로써 이들을 보존하거나 장기간에 걸쳐 유지하기 위해 사용할 수도 있다.
- [0069] 상기 세정 조성물은 당업계에서 사용되는 통상의 세정제를 모두 의미하는 것으로, 예를 들어 샴푸, 린스, 바디워시, 비누, 치약, 세정제, 탈취제 등 세정이나 탈취의 용도로 사용되는 모든 형태를 의미하는 것은 물론이다.
- [0070] 이하에서는 실시예를 들어 본 발명에 관하여 더욱 상세하게 설명할 것이다. 이들 실시예는 단지 설명의 목적을 위한 것으로 본 발명의 보호 범위를 제한하고자 하는 것은 아니다.

[0071] 실시예 1

- [0072] 본 실시예에 사용한 양과는 2011년 7월 전라남도 무안군에서 수득한 양과 중 양과껍질을 사용하였다.
- [0073] 상기 양과껍질을 세척 통에 넣고 물과 함께 교반시켜 흙 등의 오염물질을 제거한 후, 양과껍질 20kg을 15배수의 물에 침지시켜 환류순환방식으로 100℃에서 4시간 동안 열수추출하였다. 이렇게 얻어진 양과 부산물 추출 용액을 대형 동결 건조기를 이용하여 동결건조시켜 3kg의 양과 추출 분말을 얻었다.
- [0074] 상기 양과 추출 분말을 60% 메탄올에 용해시킨 후, 원심분리하여 상등액을 취하고 0.2 μ m의 필터로 필터링하여 전처리하였다. 이어서, 상기 전처리된 양과 추출 분말을 하기 표 1 및 2와 같은 조건으로 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 통과시켜 플라보노이드 계열 화합물의 종류 및 대량 분리, 정제 가능성을 파악한 후, 하기 표 3과 같은 기기조건으로 컬럼 직경이 2cm인 Prep-LC(도 1)를 통과시켜 퀘르세틴 및 퀘르세틴 배당체를 분리하였다.

표 1

[0075]

HPLC 기기 조건	
컬럼 종류	C18 컬럼
이동상 용매(처음~5분)	35% 메탄올
이동상 용매(5~35분)	50% 메탄올
이동상 용매(35~42분)	100% 메탄올
이동상 용매(42~50분)	100% 메탄올
컬럼 내부의 압력	1.8MPa
시료 희석 용매	60% 메탄올
시료 주입량	30 μ l
측정 파장	375nm

표 2

[0076]

이동상 용매 구배			
시간(min)	MeOH(%)	water(%)	flow rate(ml/min)
초기	35	65	1
5	35	65	1
35	50	50	1
42	100	0	1
50	100	0	1

표 3

[0077]

Prep-LC(컬럼직경: 2cm) 기기 조건	
컬럼 종류	C18 컬럼
이동상 용매	60% 메탄올
컬럼 내부의 압력	1.8MPa
시료 희석 용매	60% 메탄올
유속	10ml/min
시료 주입량	5ml
측정 파장	284nm
	375nm

[0078]

고성능 액체 크로마토그래피 결과 도 2에 나타낸 바와 같이, 머무름 시간 23분에서 퀘르세틴이, 33분에서 캄페롤(kaempferol) 그리고 18분에 퀘르세틴에 비해 상대적으로 머무름 시간이 빠르게 나타난 극성성분이 퀘르세틴 배당체임을 확인할 수 있었다.

[0079]

또한 도 3에 나타낸 바와 같이, (a) 5mg/ml의 양과 추출물을 직경이 2cm의 Prep.HPLC를 이용해 측정된 양과 추출물의 크로마토그램으로, 표준 시료인 2mg/ml의 퀘르세틴(b)과 0.5mg/ml의 퀘르세틴 배당체인 퀘르세틴-4-*o*-글루코시드(Quercetin-4-*o*-glucoside, c)에 대한 크로마토그램과 머무름 시간을 비교하였을 때, 각각 23분과 37분에 퀘르세틴 및 퀘르세틴-4-*o*-글루코시드에 정확히 일치함을 확인할 수 있었다.

[0080]

실시예 2

[0081]

상기 실시예 1에서 컬럼 직경이 10cm인 Prep-LC를 이용하여 하기 표 4의 기기조건으로 분리, 분획한 것을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시하였다.

표 4

[0082]

Prep-LC(컬럼직경: 10cm) 기기 조건	
컬럼 종류	C18 컬럼
이동상 용매	60% 메탄올
컬럼 내부의 압력	4.8MPa
시료 희석 용매	60% 메탄올
유속	180ml/min
시료 주입량	80ml
측정 파장	375nm

[0083]

컬럼 직경이 10cm인 Prep-LC를 이용하여 양과 부산물 성분을 분리, 분획한 결과 도 4에 나타낸 바와 같이, 퀘르세틴 표준용액의 머무름 시간과 비교하여 45분에 퀘르세틴 피크를 확인할 수 있었고, 28분에는 2cm Prep-LC와 같은 극성을 갖는 퀘르세틴 배당체인 퀘르세틴-4-*o*-글루코시드(Quercetin-4-*o*-glucoside)의 피크임을 알 수 있다.

[0084]

실시예 3. 퀘르세틴 및 퀘르세틴 배당체의 NMR 측정

[0085]

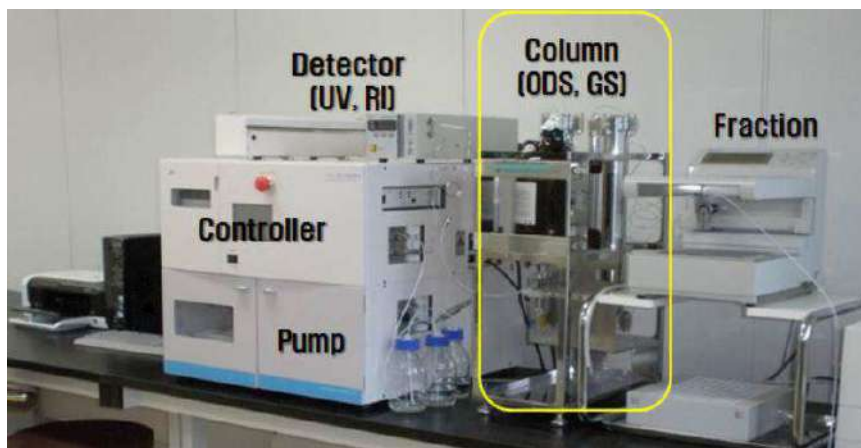
상기 실시예 2에 따라 분리, 분획한 퀘르세틴 및 퀘르세틴 배당체의 정확한 정성분석을 위하여 NMR을 측정하였

다.

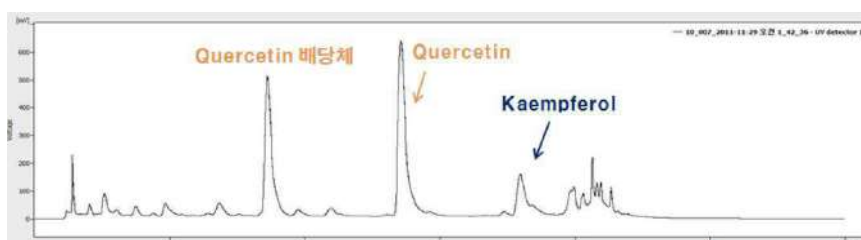
- [0086] 먼저, 상기 실시예 2에 따라 분리, 분획한 퀘르세틴 및 퀘르세틴 배당체 각 600ml의 분획 용액을 농축기를 이용하여 1시간 동안 농축하여 각각 5mg, 3mg의 분말을 얻었다. 그 다음 NMR 측정을 위한 전처리 방법으로 Acetone-D6 500 μ l를 이용하여 NMR 전용 튜브에 측정용 시료를 준비하고, NMR(Varian, 400-MR) 기기를 이용하여 퀘르세틴 및 퀘르세틴 배당체 시료의 NMR 스펙트럼을 측정하였다.
- [0087] 도 5에 나타난 바와 같이, 퀘르세틴의 경우 측정된 스펙트럼과 퀘르세틴 구조식을 비교한 결과, 실시예 2에서 분리, 분획한 퀘르세틴의 수소 개수, 각각에 해당하는 피크의 위치 정보가 일치하여 양과 부산물로부터 퀘르세틴을 효과적으로 분리하였음을 확인할 수 있었다.
- [0088] 또한, 도 6은 퀘르세틴 배당체의 스펙트럼을 나타낸 것으로 측정된 스펙트럼과 퀘르세틴 구조식을 비교한 결과, 수소의 개수 및 각각에 해당하는 피크의 위치 정보를 통해 실시예 2에서 분리, 분획한 퀘르세틴 배당체가 퀘르세틴-4-*o*-글루코시드(Quercetin 4-*o*-glucoside)임을 확인할 수 있었다.
- [0089] 이상과 같은 결과를 통하여, 본 발명의 방법에 따르면 양과 껍질, 식용이 불가능하여 버려지는 저품질의 양과와 같은 양과 부산물로부터 퀘르세틴 및 퀘르세틴 배당체를 효율적으로 분리, 추출할 수 있으며, 나아가 다양한 생리활성을 가지는 퀘르세틴 및 퀘르세틴 배당체 대량으로의 추출이 가능하여 퀘르세틴이 사용되는 다양한 산업에 크게 기여할 수 있을 것임을 예측할 수 있었다.
- [0090] 비록 본 발명이 상기에 언급된 바람직한 실시예로서 설명되었으나, 발명의 요지와 범위로부터 벗어남이 없이 다양한 수정이나 변형을 하는 것이 가능하다. 또한 첨부된 청구 범위는 본 발명의 요지에 속하는 이러한 수정이나 변형을 포함한다.

도면

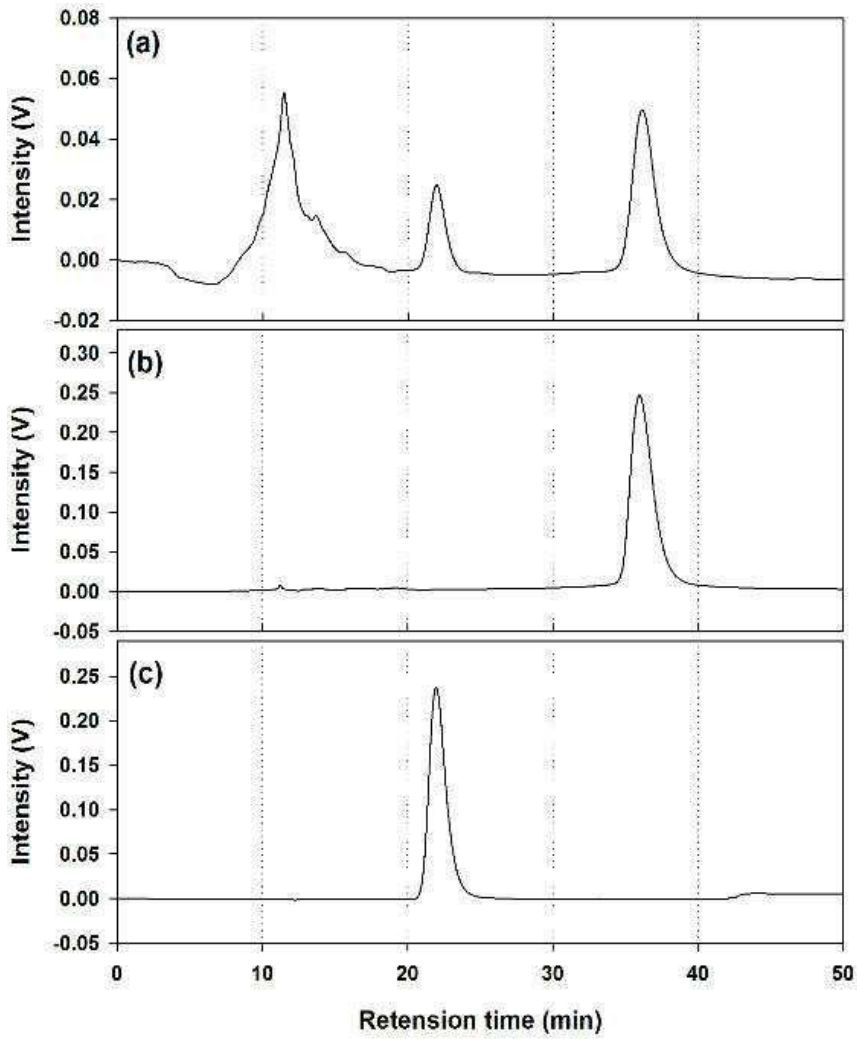
도면1



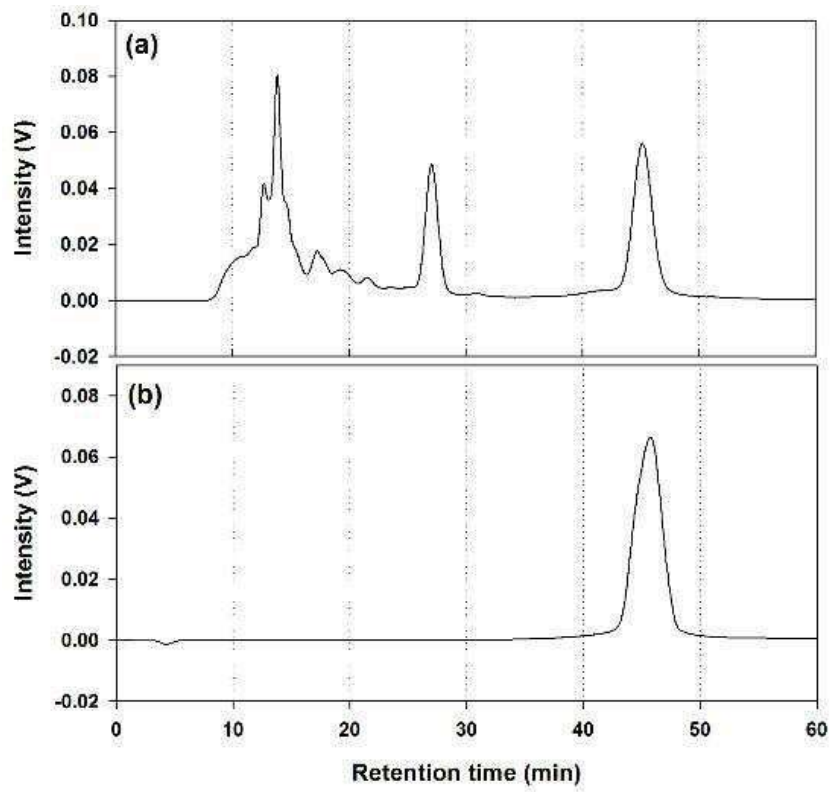
도면2



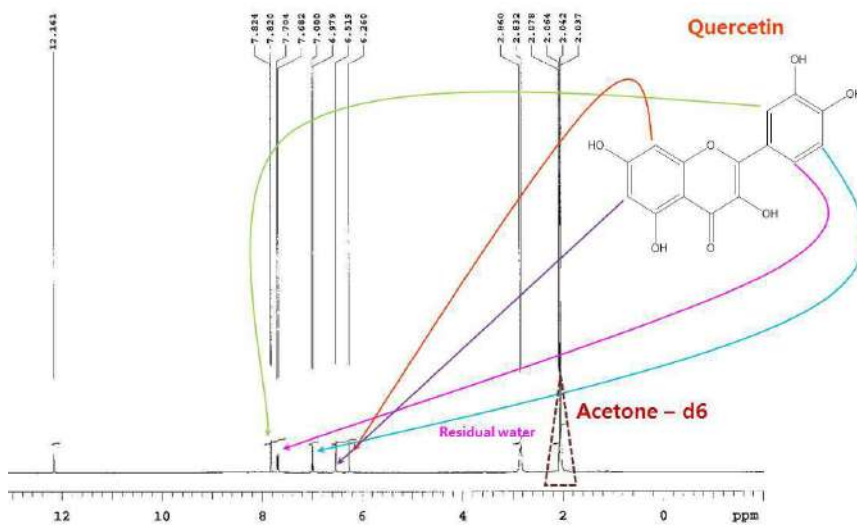
도면3



도면4



도면5



도면6

