



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0103213  
(43) 공개일자 2007년10월23일

(51) Int. Cl.

*C07D 407/14*(2006.01) *A61K 31/353*(2006.01)

(21) 출원번호 10-2006-0035040

(22) 출원일자 2006년04월18일

심사청구일자 2006년04월18일

(71) 출원인

**전북대학교산학협력단**

전라북도 전주시 덕진구 덕진동 1가 664-14 본부  
별관 3층

(72) 발명자

**문성필**

전북 전주시 완산구 효자동1가 415-2번지 효자성  
원맨션 2동 504호

**구창섭**

전북 완주군 삼례읍 어전리 579번지

**장정필**

전북 전주시 완산구 효자동1가 451번지 삼성효자  
아파트 102동1807호

(74) 대리인

**황이남**

전체 청구항 수 : 총 4 항

**(54) 소나무 수피로부터 프로안토시아니딘의 분리방법**

**(57) 요약**

본 발명은 소나무 수피로부터 프로안토시아니딘의 분리방법에 관한 것으로 보다 상세하게는 소나무 수피를 열수 추출하여 추출물을 얻은 후 이를 여과, 농축한 후 저급 알코올을 이용하여 추출하는 단계를 포함하는 소나무 수피로부터 프로안토시아니딘의 분리방법에 관한 것이다.

본 발명의 소나무 수피로부터 프로안토시아니딘의 분리방법은 소나무 수피를 열수로 추출하는 단계, 소나무 수피 열수 추출물을 여과하여 침전을 제거하는 단계, 소나무 수피 추출물의 여과물을 농축하는 단계, 소나무 수피 열수 농축물을 저급 알코올로 추출하는 단계를 포함한다.

본 발명은 현재 폐기되거나 단순히 연료로 사용되고 있는 소나무 수피로부터 다양한 생리활성을 가지는 프로안토시아니딘을 순도 높게 분리할 수 있어 앞으로 관련산업에 크게 기여할 수 있다.

본 발명에 의하여 얻어진 프로안토시아니딘은 순도가 90% 이상 이므로 의약품원료, 건강보조식품은 물론 화장품, 각종 식품첨가물 및 고급 염료에 사용될 수 있다.

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

소나무 수피를 열수로 추출하는 단계,

소나무 수피 열수 추출물을 여과하여 침전을 제거하는 단계,

소나무 수피 추출물의 여과물을 농축하는 단계,

소나무 수피 열수 농축물을 저급 알코올로 추출하는 단계를 포함함을 특징으로 하는 소나무 수피로부터 프로안토시아닌의 분리방법.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 열수에 대한 소나무 수피 비(소나무 수피/열수)는 1~50 임을 특징으로 하는 소나무 수피로부터 프로안토시아닌의 분리방법.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 소나무 수피의 열수 추출은 80~120℃에서 30분~24시간 동안 실시함을 특징으로 하는 소나무 수피로부터 프로안토시아닌의 분리방법.

### 청구항 4

제1항에 있어서, 저급 알코올은 메탄올, 에탄올, *n*-프로판올, 이소프로판올, *n*-부탄올, 이소부탄올, *sec*-부탄올, *n*-펜탄올 중에서 선택된 어느 하나 이상의 알코올 임을 특징으로 하는 소나무 수피로부터 프로안토시아닌의 분리방법.

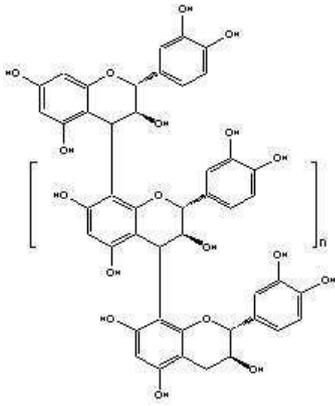
## 명세서

### 발명의 상세한 설명

#### 발명의 목적

#### 발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <1> 본 발명은 소나무 수피로부터 프로안토시아닌의 분리방법에 관한 것으로 보다 상세하게는 소나무 수피를 열수 추출하여 추출물을 얻은 후 이를 여과, 농축한 후 알코올을 이용하여 추출하는 단계를 포함하는 소나무 수피로부터 프로안토시아닌의 분리방법에 관한 것이다.
- <2> 프로안토시아닌(Proanthocyanidin, PA)은 각종 고등식물에 존재하는 탄닌류로 다양한 생리활성 기능을 가지고 있다. 프로안토시아닌의 전형적인 구조를 하기의 구조식 1에 나타낸 것처럼 일반적으로 flavan-3-ol류 및 flavan-3,4-diol류를 구성단위로 축합 또는 중합에 의하여 2량체 이상으로 구성된 화합물 군이다.
- <3> 프로안토시아닌은 식물 폴리페놀류의 일종으로 강력한 항산화력을 가지고 있으며, 식물의 잎, 과일 껍질, 씨앗 등에 많이 존재한다.
- <4> 프로안토시아닌은 수렴효과(Carlo, G. D.외 3인, Life Sciences 65(4): 337-353(1999)), 노화방지효과(Packer, L외 2인, Free Radical Biology & Medicine 27(5/6): 704(1999)), 항암효과(Bomser, J. A.외 3인, Cancer Letters 135: 151(1999), Reddy, L.외 2인, Pharmacology & Therapeutics 99: 1(2003), Chung, K. T. 외 2인, Trends in Food Science & Technology 9: 168(1998)), 항산화효과(Lu, Y. and Foo, L. Y., Food Chemistry 75: 197(2001), 68: 81-85(2000))등이 널리 보고되어 있다.



..... 전형적인 프로안토시아니딘의 구조식(1)

- <5>
- <6> 식물체중에 함유되어 있는 프로안토시아니딘은 추출에 의하여 얻을 수 있다. 이때 추출에 사용되는 용매로서 물이나 메탄올, 에탄올, 아세톤, 초산에칠 등과 같은 유기용매 또는 이들의 혼합물이 사용된다. 그러나 유기용매에 의한 추출은 프로안토시아니딘을 식품이나 의약품 또는 그 원료로 사용하고자 할 경우 사용상에 제약이 따를 뿐만 아니라 이들 용매의 회수 및 정제 등에 많은 비용이 발생한다. 물을 이용하여 식물체로부터 프로안토시아니딘을 추출하는 것이 가장 경제적이지만, 탄수화물류의 추출도 같이 이루어져 프로안토시아니딘의 순도가 떨어진다. 따라서 이들 탄수화물류의 제거를 위하여 흡착제를 사용하거나 탄수화물 발효 등의 공정에 의하여 프로안토시아니딘의 순도를 높이고 있다. 그러나 이러한 공정의 추가는 또 다른 비용의 증가를 초래하여 프로안토시아니딘의 생산에 대한 비용을 증가시키는 원인이 된다.

**발명이 이루고자 하는 기술적 과제**

- <7> 본 발명은 상기에서 언급한 바와 같이 프로안토시아니딘의 추출시 물을 이용한 열수 추출이 가장 경제적이기는 하지만, 부수적으로 탄수화물류도 추출됨에 의하여 프로안토시아니딘의 순도가 떨어지는 문제를 해결하기 위해 노력하던 중 소나무 수피를 열수 추출한 추출물을 여과, 농축하고 알코올류로 재차 추출하면 프로안토시아니딘의 순도를 높일 수 있음을 알게되어 본 발명을 완성하게 되었다.
- <8> 본 발명은 소나무 수피를 열수 추출한 추출물 중의 슈베린, 수지산, 지방산류, 고급 알코올류 등의 소수성 물질 등을 침전시킨 후 여과하여 제거한 후 농축한 다음 저급 알코올류를 이용하여 소나무 수피로부터 프로안토시아니딘의 분리방법 제공을 목적으로 한다.
- <9> 본 발명에 의해 소나무 수피로부터 분리한 프로안토시아니딘은 식품, 화장품, 의약품, 염료 등의 제품의 원료로 사용할 수 있다.

**발명의 구성 및 작용**

- <10> 상기에서 언급한 목적을 달성하기 위한 본 발명의 소나무 수피로부터 프로안토시아니딘의 분리방법은 소나무 수피를 열수로 추출하는 단계, 소나무 수피 열수 추출물을 여과하여 침전을 제거하는 단계, 소나무 수피 추출물의 여과물을 농축하는 단계, 소나무 수피 열수 농축물을 저급 알코올로 추출하는 단계를 포함한다.
- <11> 본 발명에서 프로안토시아니딘을 추출하기 위한 재료로서 소나무 수피를 사용할 수 있다.
- <12> 본 발명에서 이러한 소나무 수피의 일례로 적송(*Pinus densiflora*), 흑송(*Pinus thunbergii*), 콘토르타 소나무(*Pinus contorta*), 리기다 소나무(*Pinus rigida*), 테다 소나무(*Pinus taeda*), 라디아타 소나무(*Pinus radiata*), 리기테다 소나무(*Pinus rigida* × *taeda*), 방크스 소나무(*Pinus banksiana*), 세로티나 소나무(*Pinus serotina*) 중에서 선택된 어느 하나 이상의 소나무 수피를 사용할 수 있다.
- <13> 본 발명에서 소나무 수피는 수령이 20년 이상인 것, 바람직하게는 20~100년인 소나무의 수피를 사용하는 것이 프로안토시아니딘의 수득면에서 좋다.
- <14> 본 발명에서 소나무 수피를 열수 추출시 소나무 수피는 분말화한 것을 열수 추출하여 소나무 수피 열수 추출물을 얻을 수 있다. 이때 소나무 수피는 10~300메쉬(mesh)의 분말, 바람직하게는 80~200mesh의 분말을 열수 추출에 사용할 수 있다.
- <15> 본 발명에서 소나무 수피를 열수로 추출시 프로안토시아니딘을 다량 추출할 수 있는 열수에 대한 소나무 수피 비(소나무 수피/열수)는 1~50, 바람직하게는 5~40, 보다 바람직하게는 8~20, 최적의 비는 10이 되도록 하여

소나무 수피를 열수 추출하는 것이 좋다.

- <16> 본 발명에서 소나무 수피를 열수로 추출시 열수 추출의 조건은 80~120℃에서 30분~24시간 동안, 바람직하게는 80~100℃에서 1시간~3시간 동안 실시하는 것이 좋다.
- <17> 본 발명은 상기에서 언급한 추출 조건에 의해 얻은 소나무 수피 열수 추출물은 슈베린, 수지산, 지방산류, 고급 알코올류 등의 소수성 물질 등이 침전 형태로 존재하게 되는데 이러한 성분들은 소나무 수피로부터 프로안토시아니딘의 분리에 저해제로 작용하기 때문에 침전을 제거하는 것이 좋다. 이때 소나무 수피 열수 추출물에 생기는 침전의 제거는 여러 가지 방법을 이용하여 제거할 수 있으며, 이러한 침전 제거의 일례로 소나무 열수 추출물을 여과하여 침전을 제거할 수 있다.
- <18> 상기에서 소나무 수피 추출물에 생긴 침전을 여과하여 제거시 여과는 여과지, 여과포, 필터 중에서 선택된 어느 하나 이상을 이용하여 1회 이상 실시할 수 있다.
- <19> 본 발명에서 소나무 수피 추출물에 생긴 침전을 제거하기 위한 여과의 일례로 먼저 필터(공극 크기 10~100 $\mu$ m)로 1차 여과하고 5~50℃에서 1~24시간 방치한 후 생성되는 침전을 재차 필터(공극 크기 0.1~10 $\mu$ m)로 2차 여과하여 불순물을 제거할 수 있다. 이때 바람직하게는 1차 여과를 50~100 $\mu$ m의 공극 크기를 지닌 필터로 여과하고 20~30℃에서 2~4시간 방치한 후 0.5~5 $\mu$ m의 공극 크기를 지닌 필터로 2차 여과하여 소나무 수피 열수 추출물의 여과물을 얻을 수 있다.
- <20> 상기의 여과에 의해 얻은 소나무 수피 열수 추출물의 여과물은 감압 농축하여 소나무 수피 농축물을 얻을 수 있다. 이때 소나무 수피 열수 추출물의 여과물에 대한 감압 농축은 30~100℃에서 잔사의 수분함량이 100~500%가 되도록, 바람직하게는 40~60℃에서 잔사의 수분함량이 200~300%가 되도록 실시할 수 있다.
- <21> 상기에서 얻은 소나무 수피 열수 농축물에는 상기의 침전 제거시 미처 제거되지 못한 탄수화물류가 존재한다. 이러한 탄수화물류는 소나무 수피로부터 프로안토시아니딘의 분리시 수율을 낮추므로 소나무 수피 열수 농축물은 저급 알코올을 사용하여 프로안토시아니딘을 추출하여 결과적으로 소나무 수피로부터 고수율의 프로안토시아니딘을 추출할 수 있다. 이때 소나무 수피 열수 농축물로부터 프로안토시아니딘을 추출하기 위한 저급 알코올의 일례로서 메탄올, 에탄올, *n*-프로판올, 이소프로판올, *n*-부탄올, 이소부탄올, *sec*-부탄올, *n*-펜탄올 중에서 선택된 어느 하나 이상을 사용할 수 있다.
- <22> 본 발명의 소나무 수피로부터 프로안토시아니딘의 분리시 다양한 조건에 의해 실시한바, 상기에서 언급한 열수에 대한 소나무 수피 비(소나무 수피/열수), 열수 추출의 조건, 여과 조건, 감압 조건, 저급 알코올을 이용시 본 발명의 목적에 부합하는 소나무 수피로부터 프로안토시아니딘을 분리할 수 있다.
- <23> 한편 본 발명은 상기에서 언급한 방법에 의해 소나무 수피로부터 분리한 프로안토시아니딘을 함유하는 식품을 포함한다.
- <24> 본 발명은 상기에서 언급한 방법에 의해 소나무 수피로부터 분리한 프로안토시아니딘을 함유하는 화장료를 포함한다.
- <25> 본 발명은 상기에서 언급한 방법에 의해 소나무 수피로부터 분리한 프로안토시아니딘을 함유하는 의약품을 포함한다.
- <26> 본 발명은 상기에서 언급한 방법에 의해 소나무 수피로부터 분리한 프로안토시아니딘을 함유하는 염료를 포함한다.
- <27> 이하 본 발명의 내용을 실시예 및 시험예를 통하여 구체적으로 설명한다. 그러나, 이들은 본 발명을 보다 상세하게 설명하기 위한 것으로 본 발명의 권리범위가 이들에 의해 한정되는 것은 아니다.
- <28> <실시예 1>
- <29> 라디아타 소나무 수피를 분쇄기로 10~300mesh의 분말을 제조하였다.
- <30> 이들 분말중 80~200mesh 분말 5g(전건중량 기준)을 액비(라디아타 소나무 수피 분말/물) 10, 추출온도 25~120℃, 추출시간 1시간의 조건에서 추출하고 잔사와 추출물을 1G3 글라스 필터로 여과하였다. 잔사는 증류이온교환수 100ml로 1회 세정하였다. 잔사는 105℃의 송풍건조기에서 12시간 건조 후 중량을 측정하여 추출물 함량을 계산하였다.
- <31> 열수 추출물은 1리터(L) 용량의 감압 플라스크에 넣어 -45℃에서 얼린 후 동결건조하고 이 후 다시 진공건조시

켜 수분을 제거하였다.

<32> 건조된 라디아타 소나무 수피의 추출 분말 중의 프로안토시아니딘의 함량은 바닐린-황산법(Sun, B. 외 2인, J. Agri. Food Chem., 46; 4267(1998)을 이용하여 측정하였다.

<33> 라디아타 소나무 수피를 열수 추출하면, 표 1에 나타난 것처럼 추출물 수율은 추출온도가 증가함에 따라 증가하지만, 100℃ 이상부터는 일정해졌다. 추출물 중의 프로안토시아니딘 함량은 저온 추출의 경우에 있어서 그 함량이 높았으나, 수피 전건중량을 기준으로 하면 25℃의 경우 4.5%에 불과하므로 이보다 높은 온도에서 프로안토시아니딘을 추출하는 것이 경제성 있는 것으로 판단되었다.

<34> 표 1. 라디아타 소나무 수피의 열수 추출물 수율과 프로안토시아니딘의 함량

시료	추출온도(℃)	추출물 수율(%)	PA(추출물에 대한 %)	PA(수피 전건 중량에 대한 %)
라디아타 소나무 수피	25	6.2	72.5	4.5
	60	12.5	66.0	8.4
	100	23.1	62.3	13.5
	120	23.2	58.5	12.8

<36> \*PA : 프로안토시아니딘

<37> <실시예 2>

<38> 라디아타 소나무 수피 80~200mesh 분말 30kg(전건 중량 기준)을 액비(라디아타 소나무 수피 분말/물) 10, 추출 온도 100℃, 추출 시간 1시간의 조건에서 추출하고 100μm의 필터를 이용하여 여과하였다. 라디아타 소나무 수피 여과 후 얻은 잔사는 다시 80℃의 물 300L로 1회 세정하고 상기에서 얻은 라디아타 소나무 열수 추출물 및 세정액을 합쳐 25℃가 되도록 냉각시켰다. 냉각 후 생성되는 침전은 0.5μm의 필터로 여과하고 여과물은 50℃에서 감압농축하였다. 이때 감압농축은 잔사의 수분함량이 250±10%가 되도록 실시하였다. 감압농축 후 소나무 수피 농축물을 무수 에탄올로 추출 처리하였다. 처리 후 발생하는 침전은 다시 10μm 필터로 여과하고 여과물은 60℃에서 진공 건조시켰다.

<39> 상기에서 라디아타 소나무 수피 열수 추출물을 여과, 농축 후 알코올로 추출하여 얻은 프로안토시아니딘을 실험구로 하고, 라디아타 소나무 수피 열수 추출물을 Sephadex LH-20으로 정제하여 얻은 순수 프로안토시아니딘을 대조구로 하여 각각의 실험구 및 대조구에 대한 열수 추출물 효율, 열수 추출물의 산가수 분해 후 중성당 함량, 프로안토시아니딘의 순도를 측정하고 그 결과를 아래의 표 2에 정리하여 나타내었다.

<40> 표 2. 라디아타 소나무 수피 정제 전후의 당함량 및 프로안토시아니딘 순도

방 법	추출물 수율 (%)	산가수분해 후 중성당 함량(%)	PA 순도 <sup>1)</sup> (%)
열수추출	20.1	12.8	86
열수추출 후 알코올 추출	14.0	7.8	91

<42> 1) 프로안토시아니딘의 순도는 부탄올-염산법(Nicolas, V. 외 5인, Analytica Chemica Acta, 513; 247(2004))으로 확인하였으며, 이때 순도 확인을 위하여 사용된 시료는 라디아타 소나무 수피 열수 추출물을 Sephadex LH-20으로 정제하여 얻은 순수 프로안토시아니딘이다.

<43> 상기 표 2에서 나타난 것처럼 소나무 수피 열수 추출 단독의 경우 수피 탄수화물에서 유래하는 중성 당류가 12.8%로서 매우 높지만, 이를 알코올로 재추출하면 약 5%의 탄수화물 감소가 가능하며, 결과적으로 프로안토시아니딘의 순도를 91%까지 높일 수 있다는 결론을 얻었다. 즉, 탄수화물을 제거하기 위하여 효모 등을 이용하지 않아도 단순한 용매 재추출로 39%의 탄수화물 제거가 가능하였다.

<44> 이상의 결과로부터 소나무 수피의 열수 추출 조건을 검토하여 생리활성 기능이 뛰어난 프로안토시아니딘을 다량 얻을 수 있는 추출 조건의 확립과 이들 열수 추출물을 다시 재침전, 정밀여과, 저급 알코올에 의한 역추출 등의 공정에 의하여 소나무 수피로부터 고순도의 프로안토시아니딘을 분리할 수 있다는 것을 나타내었다.

<45> 상술한 바와 같이, 본 발명의 바람직한 실시예를 참조하여 설명하였지만 해당 기술 분야의 숙련된 당업자라면 하기의 특허청구범위에 기재된 본 발명의 사상 및 영역으로부터 벗어나지 않는 범위 내에서 본 발명을 다양하게 수정 및 변경시킬 수 있음을 이해할 수 있을 것이다.

**발명의 효과**

<46> 상기 실시예의 결과에서 나타낸 것처럼 종래의 기술에서 확실하지 않은 소나무 수피에서의 프로안토시아니딘을 다량으로 얻을 수 있는 추출 조건을 확립하였으며, 또한 열수 추출 단독으로는 탄수화물의 다량 혼입에 의한 프로안토시아니딘의 순도가 문제가 되었으나, 저급 알코올 추출 공정을 설정함에 의하여 소나무 수피로부터 순도 높은 프로안토시아니딘을 용이하게 생산 할 수 있음을 알 수 있다.

<47> 본 발명은 현재 폐기되거나 연료로 사용되고 있는 소나무 수피로부터 다양한 생리활성을 가지는 프로안토시아니딘을 순도 높게 분리할 수 있어 앞으로 관련산업에 크게 기여할 수 있다.

<48> 본 발명에 의하여 얻어진 프로안토시아니딘은 순도가 90% 이상 이므로 의약품원료, 건강보조식품은 물론 화장품, 각종 식품첨가물 및 고급 염료로서 사용될 수 있다.