



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년06월14일
(11) 등록번호 10-1747125
(24) 등록일자 2017년06월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23L 1/30 (2006.01) A61K 36/752 (2006.01)
C07D 311/30 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A23L 33/105 (2016.08)
A61K 36/752 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-7012243
(22) 출원일자(국제) 2015년08월09일
심사청구일자 2015년05월11일
(85) 번역문제출일자 2015년05월11일
(65) 공개번호 10-2015-0072420
(43) 공개일자 2015년06월29일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2013/071664
(87) 국제공개번호 WO 2014/057727
국제공개일자 2014년04월17일
(30) 우선권주장
JP-P-2012-227173 2012년10월12일 일본(JP)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020110134742 A*
CN102603697 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
고쿠리츠다이가쿠호진 류큐다이가쿠
일본국 오키나와현 나카가미군 니시하라쵸 아자
센바루 1 반지
가부시키가이샤 오키나와리서치센터
일본국 오키나와현 우루마시 아자 스자키 12반지
75
(72) 발명자
테루야, 토시아키
일본국 오키나와현 9030213 나카가미군 니시하라
쵸 아자 센바루 1 반지, 씨/오 고쿠리츠다이가쿠
호진 류큐다이가쿠
테루야, 유토
일본국 오키나와현 9012424 나카가미군 나카조무
라 미나미우에하라997-3 나기사아파트2-6
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이원희

전체 청구항 수 : 총 7 항

심사관 : 염금희

(54) 발명의 명칭 감귤류 유래의 노비레틴 및 탄게레틴 함유물의 제조 방법 및 그 방법으로 얻은 노비레틴 및 탄게레틴 함유물

(57) 요약

안전성, 경제성 및 산업화에 우수한 노비레틴(nobiletin) 및 탄게레틴(tangeretin)을 고농도로 함유하는 분획을 제조하는 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다. 상기 목적은 (1-1) 감귤류를 열수로 처리함으로써 열수 처리물을 얻는 공정; (1-2) 상기 열수 처리물을 건조하여 건조물을 얻는 공정; (1- 3) 상기 건조물을 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매로 처리함으로써 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질을 얻는 공정; (3) 상기 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질을 농축 및/또는 건조하여 노비레틴 및 탄게레틴 농축물을 얻는 공정; 및 (4) 상기 노비레틴 및 탄게레틴 농축물을 묽은 알칼리로 처리하여 불용성 성분으로 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 얻는 공정을 포함하는, 노비레틴 및 탄게레틴 함유물의 제조 방법 및 그 방법으로 제조된 노비레틴 및 탄게레틴 고농도 함유물에 의해 해결된다.

(52) CPC특허분류

C07D 311/30 (2013.01)

A23V 2200/308 (2013.01)

A23V 2200/322 (2013.01)

A23V 2250/21162 (2013.01)

A61K 2236/00 (2013.01)

(72) 발명자

스기야마, 사키

일본국 오키나와현 9030125 나카가미군 니시하라쵸

우에하라63-1 우인구스히루우에하라 402고

우, 제-태

일본국 도쿄도 1780063 네리마구 히가시오오이주미
2-42-8 539고시즈

명세서

청구범위

청구항 1

하기의 공정 (1-1) 내지 (1-3), 공정 (3) 및 (4)를 포함하거나, 또는 공정 (2), 공정 (3) 및 (4)를 포함하는, 노비레틴(nobiletin) 및 탄게레틴(tangeretin) 함유물의 제조 방법:

- (1-1) 감귤류를 50 내지 80 ℃에서 1 내지 12 시간 동안 열수로 세척하여 열수 처리물을 얻는 공정;
- (1-2) 상기 열수 처리물을 건조하여 건조물을 얻는 공정;
- (1-3) 상기 건조물을 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매로 처리하여 노비레틴 및 탄게레틴 용해물을 얻는 공정;
- (2) 감귤류를 50 내지 70℃의 온도로 유지된 노비레틴 및 탄게레틴 수용성 온 용매에서 1 내지 36 시간 동안 처리하여 노비레틴 및 탄게레틴 용해물을 얻는 공정;
- (3) 상기 노비레틴 및 탄게레틴 용해물을 농축 또는 건조하여 노비레틴 및 탄게레틴 농축물을 얻는 공정; 및
- (4) 상기 노비레틴 및 탄게레틴 농축물에 0.5 내지 20 %(w/v)의 알칼리 수용액을 실온에서 처리하여 불용성 성분으로 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 얻는 공정.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 공정 (1-1)은 2 내지 4시간 동안 세척하여 열수 처리물을 얻는 공정인 것을 특징으로 하는 노비레틴 및 탄게레틴 함유물의 제조 방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 공정 (2)는, 감귤류를 50 내지 70℃의 온도로 유지된 노비레틴 및 탄게레틴 수용성인 온 용매에서 1 내지 8시간 동안 처리하고 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질을 얻는 공정인 것을 특징으로 하는 노비레틴 및 탄게레틴 함유물의 제조 방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매 또는 상기 노비레틴 및 탄게레틴 수용성인 온 용매는 20 내지 100%(v/v) 에탄올인 것을 특징으로 하는 노비레틴 및 탄게레틴 함유물의 제조 방법.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매 또는 상기 노비레틴 및 탄게레틴 수용성인 온 용매는 20 내지 50%(v/v) 에탄올인 것을 특징으로 하는 노비레틴 및 탄게레틴 함유물의 제조 방법.

청구항 6

제 1항에 있어서, 상기 공정 (4)는 상기 노비레틴 및 탄게레틴 농축물에 1 내지 3%(w/v)의 알칼리 수용을 실온에서 처리하여 불용성 성분으로 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 얻는 공정인 것을 특징으로 하는 노비레틴 및 탄게레틴 함유물의 제조 방법.

청구항 7

제 1항에 있어서, 상기 감귤류는 시퀘샤(Citrus depressa), 온주밀감(C.unshiu), 홍귤(C.tachibana), 빈귤(C.leiocarpa), 기리미칸(C.tardiva), 지미캉(C.succosa), 키슈 귤(C. kinokuni), 동정귤(C.erythrosa), 진귤(C.sunki), 홍귤나무(C.deliciosa), 노빌리스(C.nobilis), 폰칸(C.reticulata), 편귤(C.tangeina), 하나유자(C.hanayu), 만다린 오렌지(C.reticulata), 산키(C.sunki) 청귤(C.nippokoreana), 데폰(Dekopon) 및 청해(Kiyomi)로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 1종의 식물인 것을 특징으로 하는 노비레틴 및 탄게레틴 함유물의 제조 방법.

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

발명의 설명

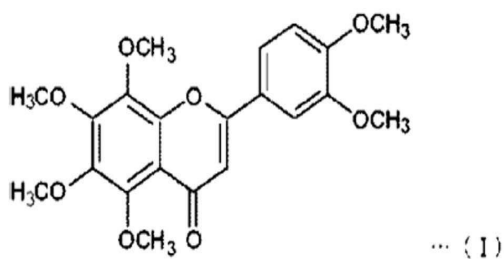
기술 분야

[0001] 본 발명은 감귤류 유래의 노비레틴(nobiletin) 및 탄게레틴(tangeretin) 함유물의 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

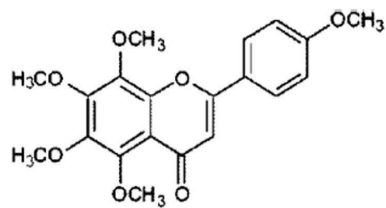
[0002] 노비레틴(nobiletin) 및 탄게레틴(tangeretin)은 감귤류에 들어있는 폴리 메톡시 플라보노이드(Poly methoxy flavonoids)의 일종이다. 노비레틴은 하기의 식 (I)로 표시되는 구조를 가지고 있다. 탄게레틴은 하기의 식 (II)로 표시되는 구조를 가지고 있다. 노비레틴 및 탄게레틴은 발암 억제 작용, 혈당 저하 작용 및 알츠하이머 병의 예방 효과 등의 다양한 약리 작용을 갖는 것으로 알려져 있다.

화학식 1



[0003]

화학식 2



... (11)

[0004]

[0005]

폰칸(C. reticulata) 및 시퀘샤(Citrus depressa) 등의 감귤류는 주스 또는 잼 등의 가공용 원료로 사용되는 경우가 많다. 감귤류가 이러한 가공에 제공되는 경우 주로 과육이 이용되고, 착즙 후 과육과 껍질 등은 착즙 잔사로 폐기되고 있다. 그러나 노비레틴 및 탄게레틴은 과육보다 이러한 착즙 잔사에 많이 포함되어 있다. 감귤 착즙 잔사의 일부는 정유의 추출 및 가축 등의 사료로 재활용되고 있지만, 노비레틴 및 탄게레틴을 포함한 식품 소재의 원료로 기대되고 있지 않다.

[0006]

특개 2005-145824(이하, '특허 문헌 1'이라한다. 상기 문헌에 기재는 여기에 공개로 인용된다.)은 폰칸의 적과 과일을 환류하여 30% 에탄올로 1시간 추출하여 얻어진 잔류물을 90℃ 이상의 뜨거운 물에서 1시간 추출하고, 농축 후 옮겨 부어, 상층액을 얻고, 이를 다공성 흡착 수지에 통과시킨 후 70% 에탄올로 용출하여 노비레틴을 얻는 방법이 기재되어있다.

[0007]

또한 특개 2006-327998(이하, '특허 문헌 2'이라한다. 상기 문헌에 기재는 여기에 공개로 인용된다.)에는 오렌지 껍질 오일을 감압 증류하여 리모넨을 제외한 잔류 기름을 박막 증류한 후, 약 25배의 70% 에탄올을 첨가하고 가열 환류하여 노비레틴 및 탄게레틴을 함유하는 폴리 메톡시 플라보노이드를 제조하는 방법이 개시되어있다.

[0008]

또한, 현재 시판되고 있는 제품으로는 주식회사 아크 레이가 판매하고 있는 제품이 알려져 있다(비 특허 문헌 1 참조, 상기 문헌에 기재는 여기에 공개로 인용된다.).

선행기술문헌

특허문헌

[0009]

(특허문헌 0001) 특허 문헌 1 : 특개 2005-145824

(특허문헌 0002) 특허 문헌 2 : 일본 특허 공개 2006-327998

비특허문헌

[0010]

(비특허문헌 0001) 비 특허 문헌 1 : 기능성 식품 재료 - 아크 레이 >> 시퀘샤 엑기스 "비레틴 제품 사용 <URL : <http://ebn.arkray.co.jp/products/shiikuwasha-extract/detail-02/>>

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011]

감귤류에 포함되어있는 노비레틴(nobiletin), 탄게레틴(tangeretin) 및 기타 폴리 메톡시 플라보노이드(Poly methoxy flavonoids)는 서술한 바와 같은 몇 개의 약리 작용을 갖고 있기 때문에 수요가 증가하고 있다. 따라서, 노비레틴 및 탄게레틴을 함유하는 천연물질(이하 노비레틴 및 탄게레틴 함유물이라 하는)을 효율적으로 제조하는 방법이 있다면, 노비레틴 및 탄게레틴 함유물질을 식품 소재로 이용하는 것이 더욱 기대될 것이다.

- [0012] 그러나 특허 문헌 1에 기재된 방법은 환류로 1시간 추출하고, 그 후, 90℃ 이상의 뜨거운 물에서 추출하는 공정을 포함 및 열을 사용하는 단계를 포함하기 때문에 작업자에게 위험이 크고, 또한 경제성이 떨어지는 방법이라는 문제가 있다.
- [0013] 특허 문헌 2에 기재된 방법은 감압 증류에 의한 잔류 기름의 제조 및 박막 증류하는 공정을 포함하고, 또한 대량의 70% 에탄올이 필요하기 때문에 위험하고 비경제적인 방법이라는 문제가 있다.
- [0014] 비 특허 문헌 1에 기재된 제품은 노비레틴 및 탄게레틴의 함유율이 10% 전후(w/w)이기 때문에 노비레틴 및 탄게레틴의 함유율의 아주 작은 제품이라, 식품 소재의 원료로서는 될 수 없다는 문제가 있다.
- [0015] 따라서, 본 발명의 목적은 종래 기술과 비교하여, 안전성이 있고; 사용하는 용매량 및 공정 수가 적지 않기 때문에 경제성 및 산업화에 뛰어나며; 또한 노비레틴 및 탄게레틴의 함유율이 큰 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 제조하는 방법 및 그 방법으로 얻을 수 있는 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 제공하는 것이다

과제의 해결 수단

- [0016] 본 발명자들은 상기 목적을 달성하기 위해 예의 검토한 결과, 감귤류를 열수 처리 및 용매 추출 처리에 제공하는 것 또는 감귤류를 온 용매 추출 처리에 제공하는 것으로 노비레틴(nobiletin) 및 탄게레틴(tangeretin) 용해물을 얻고, 이어 상기 노비레틴 및 탄게레틴 용해물을 묽은 알칼리로 처리하여, 높은 함유율의 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 얻는 데 성공하였다. 또한 이러한 방법은 특허 문헌 1 및 특허 문헌 2에 기재된 방법에 비해 사용하는 용매량이 적고, 온도도 낮게 설정할 수 있으며, 또한 간편한 공정으로 이루어졌기 때문에 안전성, 경제성 및 산업화에 좋은 방법임을 발견하였다. 본 발명은 이러한 지견에 따라 완성된 발명이다
- [0017] 따라서, 본 발명에 의하면 다음 공정 (1-1) 내지 (1-3) 또는 공정 (2), 공정 (3) 및 (4)를 포함하는, 노비레틴 및 탄게레틴 함유물의 제조 방법이 제공된다:
- [0018] (1-1) 감귤류를 열수로 처리함으로써 열수 처리물을 얻는 공정;
- [0019] (1-2) 상기 열수 처리물을 건조하여 건조물을 얻는 공정;
- [0020] (1-3) 상기 건조물을 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매로 처리함으로써 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질을 얻는 공정;
- [0021] (2) 감귤류를 노비레틴 및 탄게레틴 수용성인 온 용매로 처리함으로써 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질을 얻는 공정;
- [0022] (3) 상기 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질을 농축 및/또는 건조하여 노비레틴 및 탄게레틴 농축물을 얻는 공정; 및
- [0023] (4) 상기 노비레틴 및 탄게레틴 농축물을 묽은 알칼리로 처리하여 불용성 성분으로 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 얻는 공정.
- [0024] 바람직하게는 상기 공정 (4)의 단계 후에 다음 공정 (5)를 더 포함한다.
- [0025] (5) 상기 노비레틴 및 탄게레틴 함유 농축물에 10%(v/v) 이하의 메탄올을 첨가하고 처리하여 메탄올 불용성 성분을 얻는 공정.
- [0026] 바람직하게는 상기 공정 (1-2)는 상기 열수 처리물을 여과하여 얻은 여과 잔류물을 압착하거나, 압착하지 않고 건조하여 상기 열수 처리물에서 수분을 제거하여 건조물을 얻는 과정이다.
- [0027] 바람직하게는 상기 공정 (1-1)은 감귤류를 50 내지 80℃의 온도로 유지된 열수로 2 내지 4시간 동안 처리하고 열수 처리물을 얻는 공정이다.
- [0028] 바람직하게는 상기 공정 (2)는 감귤류를 50 내지 70℃의 온도로 유지된 노비레틴 및 탄게레틴 수용성인 온 용매에서 1 내지 8시간 동안 처리하고 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질을 얻는 공정이다.
- [0029] 바람직하게는, 상기 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매 또는 상기 노비레틴 및 탄게레틴 수용성인 온 용매가 20 내지 100%(v/v) 에탄올, 보다 바람직하게는 20 내지 50%(v/v) 에탄올이다.
- [0030] 바람직하게는 상기 공정 (4)는 상기 노비레틴 및 탄게레틴 농축물에 1 내지 3%(w/v)의 알칼리 수용액을 실온에

서 처리함으로써 불용성 성분으로 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 얻는 공정이다.

- [0031] 바람직하게는, 상기 감귤류는 시퀘샤(*Citrus depressa*), 온주밀감(*C.unshiu*), 홍귤(*C.tachibana*), 빈귤(*C.leiocarpa*), 기리미칸(*C.tardiva*), 지미캉(*C.succosa*), 키슈 귤(*C. kinokuni*), 동정귤(*C.erythrosa*), 진귤(*C.sunki*), 홍귤나무(*C.deliciosa*), 노빌리스(*C.nobilis*), 폰칸(*C.reticulata*), 편귤(*C.tangeina*), 하나유자(*C.hanayu*), 만다린 오렌지(*C.reticulata*), 산키(*C.sunki*) 청귤(*C.nippokoreana*), 데폰(*Dekopon*) 및 청해(*Kiyomi*)로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 1종의 식물이다.
- [0032] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, 본 발명의 방법으로 제조된 노비레틴 및 탄게레틴 함유물이 제공된다.
- [0033] 바람직하게는, 상기 노비레틴 및 탄게레틴 함유물 중 노비레틴의 함유율이 45%(w/v) 이상이고 또한 탄게레틴의 함유율이 25%(w/v) 이상이다.
- [0034] 바람직하게는, 상기 노비레틴 및 탄게레틴 함유물 중의 시네프린(*synephrine*)의 함유율이 검출 하한치 미만이다.
- [0035] 본 발명의 노비레틴 및 탄게레틴 함유물질의 또 다른 측면으로, 노비레틴의 함유율이 45%(w/v) 이상이며, 탄게레틴의 함유율이 25%(w/v) 이상이고, 또한 시네프린의 함유량이 검출 하한치 미만인, 감귤류 유래의 노비레틴 및 탄게레틴 함유물이 제공된다.
- [0036] 본 발명의 또 다른 측면으로, 다음의 발명이 제공된다.
- [0037] 1. 감귤류의 과일을 압착하여 얻은 착즙 잔사를 열수 세척하고, 열수 세척 잔사를 얻는 잔사 취득 공정과; 상기 제거 잔류물을 건조시켜, 20 내지 40% 에탄올로 추출하여 추출물을 얻는 에탄올 추출물 취득 공정과; 상기 에탄올 추출물을 저온에서 농축하여 농축물을 얻는 농축 취득 공정과; 상기 농축물에 묽은 알칼리를 첨가하여 교반 처리하여, 불용성 성분을 취득하는 알칼리 불용성 성분 취득 공정과; 상기 알칼리 불용성 성분을 에탄올로 용출시키는 에탄올 용출 공정;을 갖는, 노비레틴 및 탄게레틴 고농도 함유 분획의 제조 방법.
- [0038] 2. 상기 감귤류는 시퀘샤(*Citrus depressa*), 홍귤(*C.tachibana*), 빈귤(*C.leiocarpa*), 기리미칸(*C.tardiva*), 지미캉(*C.succosa*), 키슈 귤(*C. kinokuni*), 동정귤(*C.erythrosa*), 진귤(*C.sunki*), 홍귤나무(*C.deliciosa*), 노빌리스(*C.nobilis*), 폰칸(*C.reticulata*), 편귤(*C.tangeina*), 하나유자(*C.hanayu*), 및 청귤(*C.nippokoreana*)로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 한다.
- [0039] 3. 농축 취득 공정과, 상기 알칼리 불용성 성분 취득 공정 사이에, 상기 농축물에 메탄올을 첨가하여 처리하고, 메탄올 불용성 성분을 취득하는 메탄올 불용성 성분 취득 공정을 더 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0040] 4. 상기 잔사 취득 공정에서 가열 건조는, 50 내지 70℃, 15 내지 45분의 조건에서 이루어지는 것을 특징으로 한다.
- [0041] 5. 상기 잔사 취득 공정에서 가열 건조는, 60℃, 30분의 조건에서 이루어지는 것을 특징으로 한다.
- [0042] 6. 상기 잔사 취득 공정에서 열수 추출은, 50 내지 80℃의 온 용매에서 2 내지 4시간의 조건에서 이루어지는 것을 특징으로 한다.
- [0043] 7. 상기 잔사 취득 공정에서 열수 추출은, 70℃, 3시간의 조건에서 이루어지는 것을 특징으로 한다.
- [0044] 8. 상기 잔사 공정에서 열수 추출 후 잔사의 취득은, 보류 입자 지름 5 μm 이하의 필터를 사용하여 수행되는 것을 특징으로 한다.
- [0045] 9. 상기 에탄올 추출 공정에서 가열 건조는, 50 내지 70℃, 15 내지 45분의 조건에서 수행되는 것을 특징으로 한다.
- [0046] 10. 상기 에탄올 추출 공정에서 가열 건조는, 60℃, 30분의 조건에서 수행되는 것을 특징으로 한다.
- [0047] 11. 상기 에탄올 추출물 취득 공정에서 에탄올 추출은, 20 내지 40% 에탄올을 사용하여 1 내지 5일간 실온에서 이루어지는 것을 특징으로 한다.
- [0048] 12. 상기 에탄올 추출물 취득 공정에서 에탄올 추출은, 30% 에탄올을 이용하여 실온에서 행해지는 것을 특징으로 한다.
- [0049] 13. 상기 에탄올 추출물 취득 공정에서 얻어진 에탄올 추출액은, 50℃ 이하의 온도에서 소정의 시간 농축하는 것을 특징으로 한다.

- [0050] 14. 상기 알칼리 불용성 성분 취득 공정에서 알칼리 처리는, 1 내지 3% 알칼리로 실온에서 4 내지 8일간 진행되는 것을 특징으로 한다.
- [0051] 15. 상기 알칼리 불용성 성분 취득 공정에서 불용성 성분의 취득은, 보류 입자 지름 5 μm 이하의 필터를 사용하여 수행되는 것을 특징으로 한다.
- [0052] 16. 상기 불용성 성분은 메탄올로 용출시켜, 보류 입자 지름 5 μm 이하의 필터를 사용하여 여과하는 것을 특징으로 한다.
- [0053] 17. 상기 제조 방법으로 제조된, 노비레틴 및 탄게레틴 고농도 함유 분획.
- [0054] 18. 상기 노비레틴 및 탄게레틴 고농도 함유 분획은 분획 중 노비레틴 함량이 45%(w/v)이며, 탄게레틴 함량이 25%(w/v) 이상인 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

- [0055] 본 발명의 방법에 의하면, 종래 기술에 비해 안전성, 산업화 및 경제성이 우수한 방법으로써, 노비레틴(nobiletin) 및 탄게레틴(tangeretin)을 고농도로 함유하는 감귤류 유래 조성물을 제조하는 것이 가능하다. 또한, 본 발명의 노비레틴 및 탄게레틴 함유물질에 의하면, 노비레틴 및 탄게레틴 함유물질의 식품 소재, 예를 들면, 식품 원료 및 식품 조성물로 이용이 더욱 기대된다. 또한 노비레틴 및 탄게레틴의 생리 활성을 이용하여 의약품 및 화장품의 용도에 제공할 수 있다. 그 경우, 본 발명의 노비레틴 및 탄게레틴 함유물은 단독 또는 다른 첨가제와 함께 식품용, 화장품용 또는 의약품용 분말제, 과립제, 정제, 액체, 페이스트제, 캡슐제, 겔화제 및 크림제 등의 다양한 형태로 제공될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0056] 다음은 본 발명에 대해 더욱 상세하게 설명한다.
- [0057] 본 발명에 따른 노비레틴(nobiletin) 및 탄게레틴(tangeretin) 함유물의 제조 방법은, 원료인 감귤을 가열 및 용매 추출하여 얻은 노비레틴 및 탄게레틴 용해물을 묽은 알칼리 처리함으로써, 감귤류에 포함된 당질 및 지방산 등의 성분이 제거된 노비레틴 및 탄게레틴을 고농도로 함유하는 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 불용성 성분으로 제조하는 것을 특징으로 하는 방법이다. 본 발명의 방법은, 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질을 얻는 공정의 차이에 의해, 제 1 및 제 2 측면으로 구별하여 나눌 수 있다.
- [0058] 우선, 본 발명의 방법의 첫 번째 측면은, 다음 공정 (1-1) 내지 (1-3)과 공정 (3) 및 (4)를 포함한다:
- [0059] (1-1) 감귤류를 열수로 처리함으로써 열수 처리물을 얻는 공정;
- [0060] (1-2) 상기 열수 처리물을 건조하여 건조물을 얻는 공정;
- [0061] (1-3) 상기 건조물을 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매로 처리함으로써 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질을 얻는 공정;
- [0062] (3) 상기 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질을 농축 및/또는 건조하여 노비레틴 및 탄게레틴 농축물을 얻는 공정; 및
- [0063] (4) 상기 노비레틴 및 탄게레틴 농축물을 묽은 알칼리로 처리하여 불용성 성분으로 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 얻는 공정.
- [0064] 다음으로, 본 발명의 방법의 두 번째 측면은, 다음 공정 (2), 공정 (3) 및 (4)를 포함한다.
- [0065] (2) 감귤류를 노비레틴 및 탄게레틴 수용성인 온 용매로 처리함으로써 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질을 얻는 공정;
- [0066] (3) 상기 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질을 농축 및/또는 건조하여 노비레틴 및 탄게레틴 농축물을 얻는 공정; 및

- [0067] (4) 상기 노비레틴 및 탄게레틴 농축물을 묶은 알칼리로 처리하여 불용성 성분으로 노비레틴 및 탄게레틴 함유 물을 얻는 공정.
- [0068] 본 발명의 감귤류는 노비레틴 및 탄게레틴을 함유하는 감귤류 식물이면 특별히 한정되지 않는다. 본 발명의 감귤류로, 예를 들어 끼노토(Citrus chinotto), 자파 오렌지(Jaffa orange), 자파(Joppa orange), 네이블 오렌지(navel orange), 발렌시아 오렌지(Valencia orange), 후쿠하라 오렌지(Fukuhara orange), 블러드 오렌지(blood orange), 베르가못(bergamot) 등의 오렌지류; 오랑로(orangelos), 자몽(grapefruits) 등의 자몽류; 카보스(kabosu), 키요오카 오렌지(Kiyooka orange), 카피어 라임(Kaffir lime), 산보칸(Citrus sulcata), 시쿠와사(Taiwan tangerine), 유자(citron), 영귤(Citrus sudachi), 등자나무(bitter orange), 신희(Niihime fruit), 불수감(Buddha's hand), 유코(Yuukou mandarin), 유감(yukan fruit), 유자귤(yuzu), 라임(lime), 레몬(lemon) 등의 향산(aroma acid citrus fruits) 감귤; 칵테일 과일(cocktail fruit), 아마나즈 오렌지(Amanatsu), 노란색 귤(yellow mikan), 자바라(Citrus jabara), 쇼난 골드(Shonan gold), 스위트(sweetie), 여름 귤(natsumikan), 핫 사쿠(Citrus hassaku), 하루카(Haruka), 히메 코하루(Himekoharu), 히나타 여름(Hyuganatsu) 등의 잡감(miscellaneous citrus fruits)류; 아키의 빛(한라봉)(Akino kagayaki(dekopon)), 이요칸(Iyokan), 에히메와 제 28호(Ehime Kasi No. 28), 키요미(kiyomi), 사가 카시 34호(한라봉)(Saga Kasi No. 34(dekopon)), 시온노메구미(shion no megumi), 데코 폰(한라봉)(shiranuhi(dekopon)), 세토카(setoka), 세토미(setomi, 다이마사키(한라봉)(daimasaki(dekopon)), 탄칸(Citrus tankan), 하루미(harumi), 히노유타카(한라봉)(hinoyutaka(dekopon)), 머콧(murcott), 레이코우(Reikou) 등의 탄귤(tangors)류; 농업 과일(Ugli fruit), 썸머프레쉬(Summer fresh), 스위트스프링(Sweet spring), 세미 놀(Seminole), 탄제로(tangelo), 미네오라(Minneola) 등의 탄제로(tangelos)류; 안세이칸(Anseikan), 카와치반칸(Kawachibankan), 벤페이유(Banbeiyu), 분담(포멜로)(pomelo(jabon)) 등의 분담(pomelos)류; 온주 귤(Citrus unshiu), 오즈 4호(Otsuyongou), 카라만시(Calamansi), 칸페이(Kanpei), 체리오렌지(Citrus kinokuni), 공사(감귤류)(Citrus leiocarpa), 사쿠라지마 귤(Sakurajima mikan), 타치바나(Citrus tachibana), 유가와라오렌지(Fujinaka mikan), 폰칸(ponkan), 만다린 오렌지(mandarin orange) 등의 감귤류; 탱자 나무(trifoliate oranges) 등의 탱자 나무속; 장엽 금귤(longleaf kumquat), 장실 금귤(oval kumquat), 닝보 금귤(Fortunella crassifolia Swingle), 복주 금귤(Jiangsu kumquat), 홍콩 금귤(Hong kong kumquat), 마루미노루 금귤(round kumquat) 등의 금귤(kumquats) 속, 또는 이와 같은 금귤 속을 들 수 있으며, 바람직하게는, 시퀘샤(Citrus depressa), 온주밀감(C.unshiu), 홍귤(C.tachibana), 빈귤(C.leiocarpa), 기리미칸(C.tardiva), 지미캉(C.succosa), 키슈 귤(C.kinokuni), 동정귤(C.erythrosa), 진귤(C.sunki), 홍귤나무(C.deliciosa), 노빌리스(C.nobilis), 폰칸(C.reticulata), 편귤(C.tangeina), 하나유자(C.hanayu), 만다린 오렌지(C.reticulata), 산키(C.sunki) 청귤(C.nippokoreana), 데폰(Dekopon) 및 청해(Kiyomi)이다. 본 발명의 감귤류는 1종 또는 2종 이상이면 좋고, 상기 구체적인 예로 들은 감귤류의 교배종도 좋다.
- [0069] 본 발명에서 사용할 수 있는 감귤류의 부위는, 노비레틴 및 탄게레틴을 함유하는 부위라면 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 과일뿐만 아니라, 껍질, 착즙 잔사(찌꺼기), 전정 잎과 잔가지 건조물 등을 원료로 사용할 수 있다. 시퀘샤나 폰칸 등의 경우, 과일 껍질 및 착즙 잔사를 사용하는 것이 노비레틴 및 탄게레틴의 단위 중량 당 함유량이 많기 때문에 바람직하다. 한편, 전정 잎과 잔가지 등은 단위 중량 당 노비레틴 및 탄게레틴의 함량은 과피만큼 많지는 않지만, 대량으로 발생한다. 따라서 이들을 사용하여 환경 부하를 경감 할 수 있는 가능성이 있다.
- [0070] 감귤 착즙 잔사를 얻는 방법은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 감귤류의 과일을 압착기로 처리하여 착즙 잔사를 얻을 수 있다. 압착기는 특별히 한정되지 않지만, 롤 프레스기, 천 프레스기, 원심 여과식 분리 장치 등을 사용하는 것이 착즙 껍질을 효율적으로 얻을 수 있기에 바람직하다.
- [0071] 감귤류의 과일과 껍질 및 착즙 잔사의 건조물을 얻는 방법은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 감귤류를 50 내지 70℃, 15 내지 45분의 조건에서 가열 건조함으로써 감귤류의 건조물을 얻을 수 있다. 이때 50℃ 이하에서 건조 시키면 15 내지 45분이라는 짧은 시간 안에 충분히 건조 시킬 수 없을 가능성이 있으며, 70℃를 넘은 온도에서 건조 시키면, 감귤류 중에 포함되는 성분이 건조 중 변성될 수 있다. 따라서, 감귤류를 가열 건조할 때, 약 60℃에서 약 30분간 건조 시키는 것이 바람직하다.
- [0072] 공정 (1-1)에서는 감귤류를 열수로 처리함으로써 열수 처리물을 얻는다. 감귤류를 열수로 처리함으로써, 감귤류 중 당분을 열 수중에 용출하는 등, 당분을 제거 할 수 있다. 온 용매는 50℃ 이상의 온도로 유지된 열수인

것이 바람직하다. 열수의 온도가 50℃ 미만인 경우는 감귤류 중 수용성 협잡물을 충분히 제거할 수 없을 가능성이 있다. 한편, 열수의 온도가 80℃를 넘는 경우에는 공정 작업자에게 위험이 있고, 또한 연료비도 요할 수에서 열수의 온도는 50 내지 80℃ 인 것이 보다 바람직하다. 감귤류를 열수 처리 시간은 감귤류 중 수용성 협잡물을 충분히 제거 할 수 있는 시간이면 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 1시간 이상, 바람직하게는 2시간 이상, 보다 바람직하게는 2 내지 4시간이다. 공정 (1-1)의 바람직한 양태는, 예를 들면, 감귤류를 50 내지 80℃의 온도로 유지된 열수로 2 내지 4시간 동안 처리하고 열수 처리물을 얻는 공정이다. 공정 (1-1)의 구체적인 양태는 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 증류수에 감귤류를 더한 용기를 온수에 넣고 50 내지 80℃의 온도에서 2 내지 4시간 유지하는 공정을 포함한다. 여기서 열수 처리를 약 70℃, 약 3시간의 조건으로 하는 것이 더욱 바람직하다.

[0073] 공정 (1-1)에서 얻을 수있는 열수 처리물은 감귤류와 물의 혼합물이다. 따라서, 공정 (1-2)의 단계 후에 건조 효율 및 취득 효율성의 관점에서 열수 처리물을 보류 입자 지름 5 μm 이하의 필터를 사용하여 여과 처리하는 등 보통 알려진 고액 분리 수단에 의해 고체 잔사로 취득하는 것이 바람직하다. 필터를 사용시에는 보류 입자 지름을 3 μm 이하로 하면 더욱 효율을 높일 수 있다. 또한, 공정 (1-1)에서 이용한 감귤류가 과일과 껍질인 경우는 공정 (1-2)의 단계 후에 건조 효율 및 취득 효율성의 관점에서 열수 처리물과 열수 처리물의 찌꺼기를 압착하는 등 착즙 잔사로하는 것이 바람직하다. 따라서, 본 발명의 방법에 있어서, 공정 (1-1)의 단계 후에 열수 처리물의 잔류물을 얻는 공정과 열수 처리물의 찌꺼기를 압착하여 착즙 잔사를 얻는 공정을 포함할 수 있다. 또한, 본 발명에서 열수 처리물은 공정 (1-1)에서 얻은 열수 처리물 이외에, 열수 처리물의 잔사와 착즙 잔사 등, 열수 처리물에서 수분을 줄이는 것과 같이 가공 한것을 포함한다.

[0074] 공정 (1-2)에서는 공정 (1-1)에서 얻은 열수 처리물을 건조하여 건조물을 얻는다. 상기 건조 열수 처리물의 함수율이 수습 %미만, 바람직하게는 10% 이하가 되도록 건조하면 특별히 한정되지 않지만, 약 50 내지 80℃ 수습 분 내지 수습 시간의 조건의 가열 건조인 것이 바람직하다. 열수 처리물을 50℃ 이하에서 건조 시키면, 수습 분이라는 짧은 시간 안에 충분히 건조 시킬 수 없을 가능성이 있고, 한편 열수 처리물을 80℃보다 온도에서 건조 시키면, 열수 처리물에 포함된 성분이 건조 중에 변성 될 수 있다. 따라서, 산업화시에는 열수 처리물은 건조기 등을 이용하여, 약 50 내지 80℃에서 수 시간 내지 수습 시간 건조하는 것이 바람직하고, 70℃에서 12 내지 24시간이 보다 바람직하다. 이러한 건조 처리에 따라, 공정 (1-2)를 통해 노비레틴 및 탄게레틴을 함유하며, 또한 함수율이 10% 미만인 건조물이 얻어진다.

[0075] 공정 (1-3)에서는, 공정 (1-2)에서 얻은 건조물을 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매로 처리함으로써 노비레틴 및 탄게레틴 용해물을 얻는다. 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매는 노비레틴 및 탄게레틴을 용해할 수 있는 용매이면 특별히 제한되지 않고, 예를 들면, 노비레틴 및 탄게레틴에 용이성 용매, 구체적으로는 에탄올과 에틸아세테이트 등의 유기 용매나 이러한 유기 용매와 물의 혼합 용매 등을 들 수 있다. 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매로 에탄올과 물의 혼합 용매를 사용하는 경우, 예를 들어 20 내지 100%(v/v) 에탄올로 할 수 있다. 그러나 에탄올 농도가 20%(v/v) 미만에서는 추출 효율이 나쁠 수 있고, 또한 에탄올 농도가 50%(v/v)을 넘어도 추출 효율이 크게 향상되지 않기 때문에 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매로는 20 내지 50%(v/v) 에탄올이 바람직하고, 30%(v/v) 에탄올 추출이 효율, 안전성 및 산업화의 관점에서 보다 바람직하다. 또한 공정 (1-3)의 처리 조건은 건조물의 노비레틴 및 탄게레틴이 용매에 용해하는데 적합한 조건이면 특별히 한정되지 않고, 적절히 샘플링하여 용액의 노비레틴 및 탄게레틴의 농도 확인하여 결정하면 되지만, 예를 들면, 실온에서 1 내지 5일 조건에서 실시 할 수 있으나, 실온 하에서 3일간 실시하는 것이 추출 효율 측면에서 바람직하다. 노비레틴 및 탄게레틴 용해물의 노비레틴 및 탄게레틴의 회수율은 특별히 한정되지 않지만, 원료인 감귤류에 포함된 노비레틴 및 탄게레틴의 가정 함량(59 mg/g)을 기준으로 40%(23.6 mg/g) 이상인 것이 바람직하고, 70%(41.3 mg/g) 이상인 것이 보다 바람직하며, 90%(53.1 mg/g) 이상인 것이 더욱 바람직하고, 95%(56.1 mg/g) 이상인 것이 더욱 바람직하다.

[0076] 공정 (1-3)에 의해 얻어지는 노비레틴 및 탄게레틴 용해물은 일정량의 고형분을 포함한다. 따라서, 공정 (4)의 단계 후에 처리 효율의 관점에서 공정 (1-3)에 의해 얻은 노비레틴 및 탄게레틴 용해물을 보류 입자 지름 10 μm 이하의 필터, 바람직하게는 3 μm 이하의 필터를 이용한 여과 등의 고액 분리 수단에 이용하여 액체 성분으로 취득하는 것이 바람직하다. 따라서, 본 발명에 있어서, 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질에는 공정 (1-3)에 의해 얻어지는 고형분 함유 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질 이외에, 고형분을 제거한 액상 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질이 포함된다.

[0077] 공정 (2)에서는 감귤류를 노비레틴 및 탄게레틴 수용성인 온 용매로 처리함으로써 노비레틴 및 탄게레틴 용해물을 얻는다. 공정 (2)에서는 감귤류에서 노비레틴 및 탄게레틴을, 노비레틴 및 탄게레틴 수용성인 온 용매에 의

해 효율적으로 용출시키기 위해, 공정 (2)에서 사용하는 감귤류는 착즙 잔사 또는 착즙 잔사의 건조물인 것이 바람직하다. 노비레틴 및 탄게레틴 수용성인 온 용매는 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매를 50 내지 70℃, 바람직하게는 약 60℃로 유지한 것이다. 공정 (2)의 처리 시간은 감귤류에서 노비레틴 및 탄게레틴을 용매에 충분히 용출 할 수 있는 시간이면 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 1시간 이상, 바람직하게는 2시간 이상, 보다 바람직하게는 4 내지 8시간이다. 공정 (2)의 용매 처리에서 얻은 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질은 공정 (1-3)과 마찬가지로 유지 입자 직경 10 μm 의 카트리지 필터를 이용한 여과 등의 고액 분리 수단에 제공하여 액체 성분으로 취득하는 것이 바람직하다.

[0078] 본 발명의 방법은 공정 (1-3) 또는 공정 (2)에서 얻은 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질을 농축하고 건조 또는 둘 모두를 함으로써, 노비레틴 및 탄게레틴 농축물을 얻는 공정(3)을 포함한다. 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질의 농축 방법은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 노비레틴 및 탄게레틴 용해물의 용매를 저온에서 소정의 시간을 들여 승화시켜 건조 상태의 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 농축하는 방법이다. 노비레틴 및 탄게레틴의 농축은 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매를 제거하고 용해된 노비레틴 및 탄게레틴 농축물을 얻을 수 있으면 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 노비레틴 및 탄게레틴 가용성인 용매로 20 내지 100% (v/v) 에탄올을 사용하는 경우, 함유 성분의 변성 방식을 고려하여 50℃ 이하의 온도에서 수십 분에서 몇 시간, 바람직하게는 10분 내지 2시간에 걸쳐 농축한다. 또한 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질의 건조 방법은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 노비레틴 및 탄게레틴 용해 물질 또는 그 농축물을 가열 건조 또는 동결 건조하는 방법을 들 수 있다.

[0079] 공정 (4)에서 노비레틴 및 탄게레틴 농축물을 묽은 알칼리로 처리하여 불용성 성분으로 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 얻는다. 노비레틴 및 탄게레틴 농축물을 묽은 알칼리로 처리하여 용액 중의 지방산 등의 협잡물 성분을 제거하고, 노비레틴 및 탄게레틴을 고농도로 함유하는 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 얻을 수 있다. 묽은 알칼리는 노비레틴 및 탄게레틴 농축물의 협잡물을 분해하고, 또한 노비레틴 및 탄게레틴을 분해하지 않는 것이면 특별히 한정되지 않고, 예를 들면, 수산화 나트륨 수용액과 수산화 칼륨 수용액으로 이루어진 군에서 선택되는 묽은 알칼리 수용액을 들 수 있다. 묽은 알칼리의 알칼리 농도는 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 묽은 알칼리가 수산화 나트륨 수용액인 경우, 0.1 내지 20%(w/v)로 할 수 있으며, 바람직하게는 0.5 내지 10%(w/v)이고, 보다 바람직하게는 1 내지 3%(w/v)이다.

[0080] 공정 (4)의 노비레틴 및 탄게레틴 농축물의 묽은 알칼리 처리는, 예를 들어, 노비레틴 및 탄게레틴 농축물과 1 내지 3%(w/v)의 알칼리 용액을 접촉시켜 실온에서 1 내지 6일간 실시할 수 있다. 공정 (4)의 구체적인 양태로는 특별히 한정되는 것은 아니지만, 노비레틴 및 탄게레틴 농축물과 1%(w/v)의 수산화 나트륨 수용액의 혼합물을 실온에서 1 내지 2일간 교반하며 실시될 수 있다.

[0081] 공정 (4)를 실시하여 불용성 성분으로 노비레틴 및 탄게레틴 함유물이 얻어진다. 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 수득하기 위해서는 원심 분리 및 여과 등의 통상 알려진 고액 분리 수단을 이용할 수 있다. 또한 노비레틴 및 탄게레틴 함유물질은, 예를 들어 식품 원료로 사용할 경우에는 물로 세척하는 등 중화하는 것이 바람직하다. 또한 노비레틴 및 탄게레틴 함유물은 정제 공정에 제공할 수 있다. 예를 들어, 수득 및 물 세척한 노비레틴 및 탄게레틴 함유물과 노비레틴 및 탄게레틴 수용성 용매를 혼합한 것을 고액 분리하여 액체 성분으로 불순물이 감소된 노비레틴 및 탄게레틴 함유물을 얻을 수 있다.

[0082] 본 발명의 방법에 의해 얻어지는 노비레틴 및 탄게레틴 함유물은, 종래 기술과 비교하여 노비레틴 및 탄게레틴을 고농도로 함유하는 감귤류 유래 조성물로, 예를 들어, 노비레틴 및 탄게레틴의 함유율이 25%(w/v) 이상인 노비레틴 및 탄게레틴 함유물인 것이 바람직하고, 노비레틴의 함유율이 45%(w/v) 이상이고, 또한 탄게레틴의 함유율이 25%(w/v) 이상인 노비레틴 및 탄게레틴 함유물인 것이 보다 바람직하다.

[0083] 또한, 본 발명자들은 본 발명의 방법에 의해 얻어지는 노비레틴 및 탄게레틴 함유물은 인체에 악영향을 미칠 가능성이 있는 시네프린의 함유율이 매우 작은 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명의 방법의 바람직한 양태는 시네프린의 함유율이 0.5%(w/v) 미만, 바람직하게는 시네프린의 함유율이 검출 하한치 미만인 노비레틴 및 탄게레틴 함유물의 제조 방법이다. 노비레틴, 탄게레틴 및 시네프린의 함량은 하기 서술하는 실시예에 기재된 방법에 의해 측정할 수 있다.

[0084] 본 발명의 방법은 본 발명의 목적을 달성할 수 있는 한, 상기 공정 이외에도 다양한 공정을 포함할 수 있다. 예를 들어, 공정 (4)의 단계 전에 노비레틴 및 탄게레틴 농축물과 노비레틴 및 탄게레틴 불용성 유기 용매를 혼합한 후, 고액 분리 수단에 의해 불용성 성분을 얻는 공정을 포함할 수 있다. 또한 해당 공정 후, 상기 불용성 성분과 노비레틴 및 탄게레틴 수용성 용매를 혼합한 후 고액 분리 수단에 의해 수용성 성분을 얻는 공정과,

수용성 성분을 농축하는 공정을 추가할 수 있다. 노비레틴 및 탄게레틴 불용성 유기 용매는 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, 10%(v/v) 이하의 메탄올 및 에탄올을 들 수 있다.

[0085] 본 발명의 방법은 또 다른 측면으로, 감귤류 과일을 압착 및 건조 또는 압착 및 건조하지 않고 열수 세척하고, 열수 세척 잔류물을 얻는 잔사 취득 공정과; 상기 제거 잔류물을 건조시켜 20 내지 40% 에탄올로 추출하여 추출 물을 얻는 에탄올 추출물 취득 공정과; 상기 에탄올 추출물을 저온에서 농축하여 농축물을 얻는 농축 취득 공정과; 상기 농축물에 묽은 알칼리를 첨가하여 교반 처리하여 불용성 성분을 취득하는 알칼리 불용성 성분 취득 공정과; 상기 알칼리 불용성 성분을 에탄올로 용출시키는 에탄올 용출 공정;을 갖는, 노비레틴 및 탄게레틴 고농도 함유 분획의 제조 방법으로 표현하는 것도 가능하다.

[0086] 본 발명의 방법으로 제조되는 노비레틴 및 탄게레틴 함유물은 다른 양태로서, 본 발명에 포함되어 있다. 본 발명의 노비레틴 및 탄게레틴 함유물은 본 발명의 방법으로 제조되고, 또한 종래 기술에 비해 노비레틴 및 탄게레틴을 고농도로 함유하는 감귤류 유래 조성물이면 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 식품용 원료로 적용해서 제품 생산시 비용 측면에서 노비레틴 및 탄게레틴의 함유율은 25%(w/v) 이상인 노비레틴 및 탄게레틴 함유물인 것이 바람직하고, 노비레틴의 함유율이 45%(w/v) 이상이고, 또한 탄게레틴의 함유율이 25%(w/v) 이상인 노비레틴 및 탄게레틴 함유물인 것이 보다 바람직하다. 또한, 본 발명의 노비레틴 및 탄게레틴 함유물은 시네프린의 함유율이 0.5%(w/v) 미만인 것이 더욱 바람직하고, 시네프린의 함유율이 검출 하한치 미만인 것이 더욱 바람직하다. 또한, 본 발명의 노비레틴 및 탄게레틴 함유물질의 또 다른 측면으로 노비레틴의 함유율이 45%(w/v) 이상이며, 탄게레틴의 함유율이 25%(w/v) 이상이어야 하며, 시네프린의 함유율이 검출 하한치 미만인, 감귤류 유래의 노비레틴 및 탄게레틴 함유물이 제공된다.

[0087] 다음, 본 발명의 방법의 구체적 양태로서 시퀘샤를 압착하여 착즙 잔사 및 착즙 찌꺼기를 원료로 노비레틴 및 탄게레틴의 고농도 함유 분획을 제조하는 방법을 설명하지만, 본 발명의 방법은 다음의 것으로 한정되지 않는다.

[0088] 먼저 시퀘샤를 물로 세척한 다음, 시퀘샤 과일을 그대로 압착할 수 있는 다양한 압착기로 압착 처리를 한다. 이러한 압착기로, 예를 들어, 2개의 압축 롤 사이에 10 내지 20 메쉬의 회전식 네트를 사이에 두고 회전시켜, 연속적으로 공급되는 시퀘샤 과일을 두 압축 롤로 압착하는 롤 프레스 착즙 기계, 시퀘샤 과일을 여과포에 싸서 압축 착즙하는 여과포 프레스, 원심 여과식 분리 장치 등을 들 수 있다.

[0089] 주스를 압착한 착즙 잔사는 소정의 양, 예를 들면, 약 300 내지 약 500 g (습 중량)으로 정량한다. 이어서, 잔류물, 예를 들면 약 50 내지 70℃로, 건조기 등을 이용하여 건조시킨다. 건조시킨 착즙 잔사의 무게(건조 중량)를 정량한 후, 건조 착즙 잔사를 적당한 용기에 넣고, 상기 건조 중량의 1 내지 2배의 증류수를 첨가하여, 상기 용기를 약 60 내지 80℃의 온 용매로 옮겨 1 내지 3시간 추출한다. 추출 후, 비커를 온 용매로부터 밖으로 꺼내 자연 냉각시킨 후, 예를 들어, 보류 입자 지름 5 μm 이하의 여과지를 흡인 여과기에 깔고 추출액의 전량을 흡인 여과하고 잔류물을 여과한다.

[0090] 얻어진 잔류물을 다시 상기와 마찬가지로 약 50 내지 70℃로, 건조기 등을 이용하여 건조시켜 정량한다. 건조 무게의 2 내지 3배의 에탄올을 첨가하여 실온에서 2 내지 4일 추출한다. 이어서, 상기와 같이 추출액 전량을 흡인 여과하고 잔류물을 여과한다. 여액을 약 30 내지 40℃에서 15 내지 60분간 농축한다.

[0091] 얻어진 농축물이 농축물 8 내지 10배의 1%(w/v) 수산화 나트륨 수용액을 첨가하여 실온에서 잘 섞는다. 실온에서 1 내지 2일, 예를 들어, 교반기를 사용하여 혼합액을 교반을 계속한다. 그 후, 예를 들어, 보류 입자 지름 5 μm 이하의 여과지를 깔때기에 넣고 자연 여과하고 가용성 성분과 불용성 성분을 분리한다. 얻어진 불용성 성분을 1 내지 2배의 물로 세척한다. 남은 불용성 성분을 5 내지 10배 에탄올로 용출시킨다. 그 후, 에탄올 가용분을 실온에서 약 15 내지 60분간 농축한다. 농축 액량은 농축 전에 무게의 약 1/15 내지 1/20이고, 상기 액량을 측정한다.

[0092] 상기 농축액에 액량 8 내지 10배의 약 0.5 내지 2%(w/v) 수산화 나트륨 수용액을 넣고 잘 혼합한다. 이어서, 실온에서 4 내지 8일, 예를 들어, 교반기를 사용하여, 상기 혼합액을 교반을 계속한다. 그 후, 예를 들어, 보류 입자 지름 5 μm 이하의 여과지를 깔때기에 넣고 자연 여과하고 잔류물을 분리한다. 상기와 같이 하여 노비레틴 및 탄게레틴을 높은 함량으로 함유하는 분획을 얻을 수 있다.

[0093] 다음은, 실시예를 들어 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 그러나, 본 발명이 다음의 실시예에 의해 한정되는

것은 아니다.

[0094] 실시예

[0095] 노비레틴 및 탄게레틴의 함량(mg)은 Develosil ODS-HG-5 컬럼 및 이동상으로 MeOH:H₂O = 70:30을 사용하여 유속 1 ml/분, 측정 파장 215.0 nm로 설정하여 각각 약 8 내지 9분, 약 11 내지 12분의 보유 시간을 갖는 피크로 검량선법에 의해 측정하였다.

[0096] 시네프린의 함량(mg)은 Develosil ODS-HG-5 컬럼 및 이동상으로 CH₃CN:H₂O = 2:98(0.1% TFA 포함하는)를 이용하여 유속 1 ml/분, 측정 파장 223.0 nm로 설정하여 각각 약 8 내지 9분의 보유 시간을 갖는 피크로 검량선법에 의해 측정하였다.

[0097] <실시예 1>

[0098] 오키나와 동촌산 시퀘샤(Citrus depressa) 찌꺼기 500 g을 세척 후, 약 70℃의 증류수 1800 ml를 가하고, 약 70℃의 뜨거운 물에 넣고 3시간 가열 처리하였다. 얻어진 가열 처리물을 보류 입자 지름 3 μm의 여과지(ADVANTEC, No.131)를 칸 흡인 여과기를 이용하여 흡인 여과하고 잔류물을 얻었다. 잔류물을 압착기로 착즙하였다.

[0099] 착즙 후 착즙 잔사 300 g(습 중량)을 정량하고, 드라이어(파나소닉, EH5101P 터보 드라이)를 사용하여 약 60℃에서 30분간 건조시켜, 건조 껍질 150 g을 얻었다. 상기 착즙 잔사에 2배 무게의 30%(v/v) 에탄올을 첨가하여 실온에서 3일간 에탄올 추출하였다. 보류 입자 지름 3 μm의 여과지(ADVANTEC, No.131)를 칸 흡인 여과기를 이용하여 흡인 여과하고, 여액 3200 mg을 얻었다(표 1에서 "에탄올 추출 후 (1)"). 얻어진 여과액을 회전식 감압 농축기로 농축하여 농축액을 얻었다.

[0100] 농축액을 10배의 1%(w/v) 수산화 나트륨 수용액을 가하여 교반기에서 1일 동안 실온에서 교반하였다. 얻어진 불용성 성분을 2배의 물로 세척하였다. 남은 불용성 성분을 5 내지 10배의 100%(v/v) 에탄올로 용출시켰다. 이어서 에탄올 용출 성분을 흡인 여과기를 이용하여 침전물을 여과 분리하였다. 얻어진 여액의 농축 건조물 66.3 mg 중 노비레틴 및 탄게레틴과 함량을 HPLC로 측정 한 결과, 표 1에서와 같이 각각 34.0 mg 및 16.8 mg이며 함유율은 약 77 중량%였다. 또한 회수율 (%)은 시퀘샤 찌꺼기 500 g에 포함된 노비레틴 및 탄게레틴의 함유량을 500 mg으로 상정하고 구하였다.

표 1

성분	노비레틴		탄게레틴		회수율(%)
	함유량(mg)	함유율(wt%)	함유량(mg)	함유율(wt%)	
에탄올 추출 후(1)	70.4	2.2	32.0	1.0	20.4
알칼리 처리 후에 에탄올 추출 후(2)	34.0	51.3	16.8	25.4	10.1

[0101]

[0102] <실시예 2>

[0103] 오키나와 동촌산 시퀘샤 찌꺼기 500g을 세척 후, 약 70℃의 증류수 1800 ml를 가하여, 약 70℃의 뜨거운 물에 넣고 3시간 가열 처리하였다. 얻어진 가열 처리물을 보류 입자 지름 3 μm의 여과지(ADVANTEC, No.131)를 칸 흡인 여과기를 이용하여 흡인 여과하고 잔류물을 얻었다.

[0104] 잔류물 500 g(습 중량)을 정량하고, 드라이어(파나소닉, EH5101P 터보 드라이)를 사용하여 약 60℃에서 30분간 건조시켜, 건조 껍질 225 g을 얻었다. 상기 착즙 잔사에 2배 무게의 100%(v/v) 에탄올을 첨가하여 실온에서 3일간 에탄올 추출하였다. 보류 입자 지름 3 μm의 여과지(ADVANTEC, No.131)를 칸 흡인 여과기를 이용하여 흡인 여과하고 여액을 얻었다. 여액을 농축 건조하고, 농축 건조 물 13.1 g을 얻었다(표 2에서 "에탄올 추출 후 (1)"). 얻어진 여과액을 회전식 감압 농축기로 농축하여 농축액을 얻었다.

[0105] 농축액을 10배의 1%(w/v) 수산화 나트륨 수용액을 가하여 교반기에서 1일 동안 실온에서 교반하였다. 얻어진 불용성 성분을 2배의 물로 세척하였다. 남은 불용성 성분을 5 내지 10배의 100%(v/v) 에탄올로 용출시켰다. 이어서 에탄올 용출 성분을 흡인 여과기를 이용하여 침전물을 여과 분리하였다. 여액을 농축 건조하고 얻어진 노비레틴 및 탄게레틴 고함유물 76.0 mg 중 노비레틴 및 탄게레틴 함량을 HPLC로 측정 한 결과, 표 2와 같이 각각 43.9 mg 및 26.8 mg이며, 함유율은 약 93 중량%였다. 하기 표 2에서, 노비레틴 및 탄게레틴의 함량 함유율 및 회수율은 상기 실시예 1과 동일하게 구하였다.

표 2

공정 \ 성분	노비레틴		탄게레틴		회수율(%)
	함유량(mg)	함유율(wt%)	함유량(mg)	함유율(wt%)	
에탄올 추출 후(1)	368	2.8	172	1.3	108
알칼리 처리 후에 에탄올 추출 후(2)	43.9	57.8	26.8	35.3	14.1

[0106]

[0107] <실시예 3>

[0108] 시케샤 찌꺼기 50 g(습 중량)을 정량하고, 드라이어(파나소닉, 품번 EH5101P 터보 드라이)를 사용하여 약 60℃에서 30분간 건조시켜, 건조 껍질 15 g을 얻었다. 얻어진 건조 껍질에 약 70℃의 증류수 100 ml를 가하여 약 70℃의 뜨거운 물에 넣고 3시간 동안 가열 추출하였다. 얻어진 추출액을 보류 입자 지름 3 μm의 여과지(ADVANTEC, No.131)를 간 흡인 여과기를 이용하여 흡인 여과하고 잔류물을 얻었다.

[0109] 얻어진 잔류물을 건조시켜 2배 무게의 100%(v/v) 에탄올을 첨가하여 실온에서 3일간 에탄올을 추출하였다. 보류 입자 지름 3 μm의 여과지(ADVANTEC, No.131)를 간 흡인 여과기를 이용하여 흡인 여과하고 여액을 얻었다(표 3에서 "에탄올 추출 후 (1)"). 얻어진 여과액을 회전식 감압 농축기로 농축하여 건조 상태 농축액 1.15 g을 얻었다. 상기 농축액에 2배 무게의 10%(v/v) 메탄올을 가하여 용해시키고, 4 × 15 g에서 30분간 실온에서 원심 분리하여, 10% 메탄올 불용성 성분과 수용성 성분으로 분리하였다.

[0110] 얻어진 10%(v/v) 메탄올 불용성 성분 1배의 50%(v/v) 에탄올을 첨가하여 4 × 10 g에서 30분간 실온에서 원심 분리하고, 불용성 성분과 수용성 성분으로 나누었다. 수용성 성분을 40℃에서 30분간 농축하고 10배의 1%(w/v) 수산화 나트륨 수용액을 가하여 교반기에서 6일 동안 실온에서 교반하였다. 이어 보류 입자 지름 3 μm의 여과지(ADVANTEC, No.131)를 간 흡인 여과기를 이용하여 흡인 여과하고 침전물 및 여과액을 분리하였다. 얻어진 침전물을 2배의 물로 세척한 다음 5 내지 10배의 100%(v/v) 에탄올로 용출시켰다. 이어서 에탄올 용출 성분을 흡인 여과기를 이용하여 침전물을 여과 분리하였다. 얻어진 여과액을 농축 건조하여, 노비레틴 및 탄게레틴 고함유 정제물 28.4 mg을 수득하였다. 고함유 정제물 중 노비레틴 및 탄게레틴과 함량을 HPLC로 측정한 결과, 표 3에서와 같이 각각 14.1 mg 및 11.2 mg이며, 함유율은 약 89 중량%였다. 하기 표 3의 노비레틴 및 탄게레틴의 함량 함유율 및 회수율은 상기 실시예 1과 동일하게 구하였다.

표 3

공정 \ 성분	노비레틴		탄게레틴		회수율(%)
	함유량(mg)	함유율(wt%)	함유량(mg)	함유율(wt%)	
에탄올 추출 후(1)	32.2	2.8	17.2	1.5	98.8
알칼리 처리 후에 에탄올 추출 후(3)	14.1	49.7	11.2	39.4	50.6

[0111]

[0112] 상기와 같은 방법으로, 노비레틴 및 탄게레틴을 고농도로 함유하는 분획을 수득하였다. 얻어진 분획은 지금까지

지 제조되어온 분획보다 몇 배 높은 농도의 노비레틴 및 탄게레틴을 포함하기 때문에, 이러한 화합물을 간편하게 제조하는 것이 가능해진다. 또한, 본 발명의 방법에 의해 얻어진 고농도 분획을 이용하는 것으로, 이러한 화합물 및 그 유사체 제조시 비용면에서의 우위성이 높아진다.

[0113] <실시예 4>

[0114] 하기 로트(ロット) 1 내지 3으로 노비레틴 및 탄게레틴을 고농도로 함유하는 분말을 얻었다.

[0115] [로트 1]

[0116] 건조 시퀀샤 찌꺼기 70 kg을 30%(v/v) 에탄올 450 ℓ를 사용하여 60℃에서 2 시간 추출하였다. 추출 경과 후, 1시간 및 2시간의 추출물 및 이를 농축시킨 추출물을 샘플링하여 카트리지 필터(유지 입자 직경 10 μm)로 여과한 후 여액을 농축하여 용액의 양을 130 ℓ로 줄였다. 상기 용액과 동량(130 ℓ)의 2%(w/v) 수산화 나트륨 수용액을 넣고, 용액을 실온에서 밤새 교반하였다. 이 후, 용액을 원심 분리하여 침전 분말 319 g(습 중량)을 얻었다. 얻어진 분말을 물에 담근 후 여과하는 작업을 두번 반복하였다. 물로 세척하고 다시 여과한 후 여과지상의 잔류물을 에탄올에 침지시켰다. 잔류물을 흡인 여과하여 얻어진 에탄올 추출액을 농축하여, 노비레틴 및 탄게레틴 고함유 분말 62.5 g(노비레틴 함유량 42.8 wt%, 탄게레틴 함유량 45.9 wt%)을 얻었다. 결과는 표 4에 나타내었다.

표 4

공정 \ 성분	전량	노비레틴		탄게레틴		회수율 (%)
		함유율	함유량	함유율	함유량	
추출액 농축 후(g)	2340g	5.5wt%	128.7g	3.5wt%	81.9g	60.1%
NaOH 처리 건조 전	319g		26.8g		28.6g	15.8%
NaOH 처리 건조 후	92.5g	28.9wt%	26.8g	30.9wt%	28.6g	15.8%
물 세척 후	-	-	-	-	-	-
EtOH 용출물	62.5g	42.8wt%	26.8g	45.9wt%	28.6g	15.8%

[0118] [로트 2]

[0119] 건조 시퀀샤 찌꺼기 55 kg을 30%(v/v) 에탄올 450 ℓ를 사용하여 60℃에서 1시간 추출하고, 실온에서 하룻밤 정지한 후 카트리지 필터(유지 입자 직경 10 μm)로 여과한 후 여과액을 농축하여, 용액의 양을 80 ℓ로 줄였다. 상기 용액과 동량의 2%(w/v) 수산화 나트륨 수용액을 넣고, 용액을 6℃로 냉각하면서 교반하였다. 그 후, 용액을 원심 분리하여 수산화 나트륨 처리물 1534 g을 얻었다. 얻어진 수산화 나트륨 처리물 중 1294 g을 물로 세척하였다. 그 후, 원심 분리하여 상층액과 침전물로 분리하였다. 상기 침전물을 동결 건조한 후, 물로 세척하여 분말 92.6 g을 얻었다. 다시 물 세척 후, 분말을 에탄올에 녹여 흡인 여과를 실시하였다. 에탄올 용출 성분을 농축하여, 노비레틴 및 탄게레틴 고함유 분말 58.2 g(노비레틴 함유량 54.2 wt%, 탄게레틴 함유량 36.0 wt%)을 얻었다. 회수율은 24.3%였다.

[0120] [로트 3]

[0121] 건조 시퀀샤 찌꺼기 55 kg을 30%(v/v) 에탄올 450 ℓ를 사용하여 60℃에서 1시간 추출하고, 실온에서 하룻밤 정지한 후 카트리지 필터(유지 입자 직경 10 μm)로 여과한 후 여과액을 농축하여, 용액의 양을 95 ℓ로 줄였다. 상기 용액 5 ℓ를 분무 건조하여 90 ℓ의 농축액에 동량의 2%(w/v) 수산화 나트륨 수용액을 넣고 용액을 20 내지 25℃로 유지하고 교반하였다. 그 후, 용액을 원심 분리하여 수산화 나트륨 처리물 260 g을 얻었다. 상기 수산화 나트륨 처리물을 물로 세척하였다. 그 후, 원심 분리하고 침전물을 동결 건조하여 물 세척 후 분말 90.7 g을 얻었다. 다시 물 세척 후 분말을 에탄올에 녹여 흡인 여과를 실시하였다. 에탄올 용출 성분을 농축하여, 노비레틴 및 탄게레틴 고함유 분말 76.3 g(노비레틴 함유량 50.2 wt%, 탄게레틴 함유량 31.2 wt%)을 얻었다.

회수율은 25.2 %였다.

<실시예 5>

시퀘샤 찌꺼기 건조물 55 g을 30%(v/v) 에탄올 450 ml에 담가 70℃의 용액에서 2시간 추출하였다. 추출액을 부직포로 여과하였다. 추출액을 일부 농축하여 정량, HPLC 측정을 실시하여 노비레틴 및 탄게레틴의 함량을 계산하였다. 같은 방법으로 30%(v/v) 에탄올 대신에 40%(v/v), 50%(v/v), 70%(v/v) 에탄올을 이용하였다. 회수율은 건조 찌꺼기 55 g에 275 mg이 포함되어 있다고 가정하여 계산하였다. 결과는 표 5에 나타내었다.

표 5

	중량	노비레틴		탄게레틴		회수율
		함유율	함유량	함유율	함유량	
30%	2268mg	3.9wt%	89mg	1.7wt%	37mg	46.2%
40%	2525mg	3.2wt%	81mg	1.5wt%	38mg	43.1%
50%	1770mg	4.0wt%	71mg	2.2wt%	39mg	39.9%
70%	1831mg	3.9wt%	71mg	2.1wt%	38mg	39.9%

<실시예 6>

건조 시퀘샤 찌꺼기 55 kg을 30%(v/v) 에탄올 450 l에 담가, 60℃에서 6시간 추출하고 실온에서 하룻밤 정지한 후 카트리지 필터(유지 입자 직경 10 μm)로 여과한 후 여과액을 농축하여, 실시 용액의 양을 130 l로 줄이고, 시퀘샤 추출액을 추출했다. 이 시퀘샤 추출액의 동결 건조 분말 5 g(노비레틴 195 mg(3.9 중량%), 탄게레틴 100 mg(2.0 중량%) 함유)에 1%(w/v) 수산화 나트륨 수용액을 30 ml를 첨가하여, 시퀘샤 알칼리 처리물을 얻었다. 상기 알칼리 처리물을 16시간 순환 교반한 후, 원심 분리하여 침전물 1을 얻었다. 상기 침전물 1을 물로 세척한 후, 원심 분리하여 침전물 2를 얻었다. 이 공정은 상층액이 중성이 될 때까지 진행하였다. 마지막으로 얻어진 침전물을 건조한 것(1.1 g)에 100%(v/v) 에탄올을 더하여, 원심 분리 후, 얻은 여액을 농축하여 분말 344 mg을 얻었다. 상기 분말은 노비레틴 159 mg(46.3 중량%) 및 탄게레틴 87 mg(25.3 중량%)이 포함되어 있었다. 상기 방법에 의하면, 동결 건조 분말에 포함되어 있던 노비레틴 및 탄게레틴을 80% 이상 회수할 수 있었다.

<실시예 7>

건조 시퀘샤 찌꺼기 55 kg을 30%(v/v) 에탄올 450 l에 담가, 60℃에서 6시간 추출하고 실온에서 하룻밤 정지한 후 카트리지 필터(유지 입자 직경 10 μm)로 여과, 농축을 실시하여, 용액의 양을 130 l로 줄이고, 시퀘샤 추출액을 얻었다. 상기 시퀘샤 추출액의 농축 건조물 4.5 g(노비레틴 175 mg(3.9 중량%), 탄게레틴 90 mg(2.0 중량%) 함유)에 1%(w/v) 수산화 나트륨 수용액을 30 ml 첨가하여, 시퀘샤 알칼리 처리물을 얻었다. 상기 알칼리 처리물을 16시간 순환 교반한 후 원심 분리하여 침전물 1을 얻었다. 상기 침전물 1을 물로 세척한 후 원심 분리하여 침전물 2를 얻었다. 상기 공정은 상층액이 중성이 될 때까지 진행하였다. 마지막으로 얻어진 침전물을 건조한 것(760mg)에 100%(v/v) 에탄올을 더하여, 원심 분리 후, 여액을 농축하여 분말 344 mg을 얻었다. 상기 여액은 노비레틴 159 mg(44.2 중량%) 및 탄게레틴 87 mg(22.7 중량%)이 포함되어 있었다. 상기 방법에 따르면 농축액에 포함되어 있던 노비레틴 및 탄게레틴을 60% 이상 회수 할 수 있었다.

<참고예 1>

시퀘샤 잎 589 g(습 중량)을 정량하고, 건조기(도료 건조화 계기 (주), WFO-1001SD)를 사용하여 약 80℃에서 16시간 건조시키고, 건조 잎 218 g을 얻었다. 얻어진 건조 잎 5 g에 약 70℃의 증류수 100 ml를 가하여, 약 70℃의 뜨거운 물에 넣고 3시간 가열 추출하였다. 얻어진 추출액을 보류 입자 지름 3 μm인 여과지 (ADVANTEC 사 제 No.131)를 칸 흡인 여과기를 이용하여 흡인 여과하고 잔류물을 얻었다.

얻어진 잔류물을 건조시키고, 여기에 2배 무게의 30%(v/v) 에탄올을 첨가하여 실온에서 3일간 에탄올 추출하였다. 보류 입자 지름 3 μm의 여과지(ADVANTEC, No.131)를 칸 흡인 여과기를 이용하여 흡인 여과하고 여액을 얻

었다. 얻어진 여과액을 회전식 감압 농축기로 농축하여 건조 상태의 농축액을 얻었다. 여기에 얻어진 농축액과 같은 부피의 물과 에틸 아세테이트를 가하여 용해시키고 분액을 실시하였다. 에틸 아세테이트 용해분을 농축하고, 노비레틴 함유량 24.4 wt%, 탄게레틴 함유량 11.2 wt%인 추출물을 얻었다.

[0132] <참고예 2>

[0133] 말린 시퀘샤 잎 5 g에 100 ml의 약 70℃의 증류수를 가하여 약 70℃의 뜨거운 물에 넣고 3시간 가열 추출하였다. 얻어진 추출액을 보류 입자 지름 3 μm의 여과지(ADVANTEC, No.131)를 간 흡인 여과기를 이용하여 흡인 여과하고 잔류물을 얻었다.

[0134] 얻어진 잔류물을 건조시켜, 여기에 무게의 2배의 100%(v/v) 에탄올을 첨가하여 실온에서 3일간 에탄올 추출하였다. 보류 입자 지름 3 μm의 여과지(ADVANTEC, No.131)를 간 흡인 여과기를 이용하여 흡인 여과하고 여액을 얻었다. 얻어진 여과 액을 회전식 감압 농축기로 농축하여 건조 상태의 농축액을 얻었다. 여기에 얻어진 농축액과 같은 부피의 물과 에틸 아세테이트를 가하여 용해시키고 분배 추출을 실시하였다. 에틸 아세테이트 용해분을 농축하고, 노비레틴 함량 6.9 wt%, 탄게레틴 함량 5.2wt%인 추출물을 얻었다.

[0135] <참고예 3>

[0136] 말린 시퀘샤 잎 5 g에 약 70℃의 증류수 100 ml을 가하여 약 70℃의 뜨거운 물에 넣고 3시간 가열 추출하였다. 얻어진 추출액을 보류 입자 지름 3 μm의 여과지(ADVANTEC, No.131)를 간 흡인 여과기를 이용하여 흡인 여과하고 잔류물을 얻었다.

[0137] 얻어진 잔류물을 건조시켜 여기에 무게의 2배의 100%(v/v) 에탄올을 첨가하여 실온에서 3일간 에탄올 추출하였다. 보류 입자 지름 3 μm의 여과지(ADVANTEC, No.131)를 간 흡인 여과기를 이용하여 흡인 여과하고 여액을 얻었다. 얻어진 여과 액을 회전식 감압 농축기로 농축하여 건조 상태의 농축액을 얻었다. 여기에 얻어진 농축액과 같은 부피의 물과 에틸 아세테이트를 가하여 용해시키고 분액을 실시하였다. 에틸 아세테이트 용해분을 농축하고, 노비레틴 함량 6.9 wt%, 탄게레틴 함량 5.2 wt%의 추출물을 얻었다. 같은 방법으로 100%(v/v) 에탄올 대신에 30%(v/v) 에탄올, 50%(v/v) 에탄올과 70%(v/v) 에탄올을 이용하여 각각 추출하였다. 결과를 표 6에 나타낸다.

표 6

에탄올 농도(%)	에틸 아세테이트 추출물 중량(mg)	함유물(%)	
		노비레틴	탄게레틴
30	82	24.4	11.2
50	122	18.0	15.6
70	174	13.2	7.9
100	361	6.9	5.2

[0139] 지금까지 에탄올 농도가 상승하면 에틸 아세테이트 추출물 무게는 증가하지만, 노비레틴 및 탄게레틴의 함량은 30%(v/v) 에탄올 또는 50%(v/v) 에탄올을 사용할 때 높으며, 상기 농도의 에탄올을 사용할 때, 추출 효율이 높은 것으로 나타났다. 다음과 같이하여 시퀘샤 잎에서도 노비레틴 및 탄게레틴을 고농도로 함유하는 분획을 얻었다. 얻어진 분획은 지금까지 생산되어진 분획보다 몇 배 높은 농도에서 노비레틴 및 탄게레틴을 포함하기 때문에, 이러한 화합물을 간편하게 제조할 수 있게된다. 또한, 본 발명의 방법에 의해 얻어진 고농도 분획을 이용하는 것으로, 이러한 화합물 및 그 유사체의 제조시 비용면에서의 우위성이 높아진다.

산업상 이용가능성

[0140] 본 발명은 식품, 의약품 및 화장품 분야에서 유용하며 특히 크림제, 젤 크림제, 화장수로 또는 이들에 함유 가능하다는 점에서 유용하다.