

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.⁶
A61K 35/78

(11) 공개번호 특2000-0000090
(43) 공개일자 2000년01월15일

(21) 출원번호	10-1999-0039109
(22) 출원일자	1999년09월13일
(71) 출원인	민병길 대전광역시 유성구 어은동 52번지 한국과학기술연구원 생명공학연구소 유전 자원센터 남봉길 서울특별시 서초구 방배3동 983-18 수성빌딩 3층
(72) 발명자	민병길 대전광역시 유성구 어은동 52번지 한국과학기술연구원 생명공학연구소 유전 자원센터 남봉길 서울특별시 서초구 방배3동 983-18 수성빌딩 3층
(74) 대리인	송재욱

심사청구 : 있음

(54) 은행잎의 유효성분 추출방법 및 그의 추출장치

요약

본 발명은 은행잎중의 유효성분인 플라보노이드와 징코라이드를 효과적으로 추출방법 및 그 추출 장치에 관한 것이다. 좀 더 구체적으로 본 발명은 은행잎을 크로마토그래피법 즉 LLC추출법(Liquid-Liquid Chromatography extract method)에 의해 용매의 비중 차와 시료의 용해성을 높임으로서 기존의 추출방법에 비해 짧은 시간에 유효성분을 효과적으로 추출할 뿐만 아니라 유기용매의 사용량을 줄일 수 있는 환경친화적인 추출방법 및 그 추출장치인 것이다.

본 방법에는 LLC추출법에 의해 은행잎뿐만 아니라 모든 생약의 추출물 중 유효성분을 효과적으로 추출하는 방법으로 잔류용매를 제거한 후 동결건조 또는 열풍건조에 의해 분말화하는 공정을 포함한다.

본 방법에 의해 생산된 은행잎 분말은 GFG(Ginkgo Flavonol Glycosides) 함량이 30% 이상으로 기존의 24%에 비해 유효성분의 추출이 우수하였다.

대표도

도1

명세서

도면의 간단한 설명

도1 본 발명의 LLC추출장치 상세도

도면의 부호설명

- (1)모터(2)저비중용매배출구 및 수층배출구(3)시료투입구
- (4)용매재순환(5)저비중용매투입구(MEK투입구)
- (6)고비중용매투입구(MEK투입구)(7)고비중용매투입구(수층배출구)
- (8)임펠라 (9)유리관

C: 컨트롤러 P: 펌프

발명의 상세한 설명**발명의 목적****발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술**

본 발명은 은행잎의 유효성분 추출방법 및 그의 추출장치에 관한 것이다. 좀 더 구체적으로 본 발명은 은행잎을 크로마토그래피를 응용한 추출방법 즉 LLC 추출방법(Liquid-Liquid Chromatography extract method)에 의해 용매의 비중차와 시료의 용해성을 높임으로서 기존의 추출방법에 비해 짧은 시간에 유효성분을 효과적으로 추출하는 방법으로 은행잎뿐만 아니라 모든 생약의 추출물을 본 방법에 의해 유효성분을 추출하여 잔류용매를 제거한 후 동결건조 또는 열풍건조에 의해 분말화하는 공정을 포함한다.

은행잎의 유효성분은 플라보노이드계 화합물과 테르페네 화합물(bilobalide, ginkgolide A, B, C, D, M, J)임이 이미 밝혀져 있고 또한 플라보노이드계 화합물의 성분은 flavanol glycoside류와 biflavone류로 분리할 수 있으며, 이들 중 약효를 나타내는 것은 kaempferol, quercetin, isorhamnetin의 배당체이다.

이들의 약효성분은 1965년 혈관 및 혈류 장애의 치료에 사용된 이후 콜레스테롤 감소, 관상동맥의 확장, 혈액순환의 증진 및 혈압의 저항 감소작용에 현저한 효과를 나타낼 뿐만 아니라 관상성 심장질환의 협심증, 고혈압증에 대하여도 치료효과가 인정되어 국내외에서 개발되어 있으며 현재는 항암, 숙취제거, 이명, 에이즈치료에 대한 연구도 진행되고 있다.

또한 징코라이드는 1967년 일본의 나카니시 등에 의해 최초로 분리되어 구조가 확인된 후 혈소판 활성화인자(Platelet-Activating Factor)와 경쟁적 반응으로 천식, 기관지염, 노인성치매, 알레르기, 심장질환, 쇼크증상, 류마티스질환, 기타 순환기질환에 유용하게 이용되고 있으나 이들은 은행잎에 존재하는 양이 극히 적어 이를 효과적으로 추출 분리하는 방법이 또한 연구되고 있다.

국내특허공보 공고번호 제94-3054호에는 은행잎 엑기스 수용액을 초음파추출기를 이용하여 메틸에틸케톤 단일용매로 증류하여 후라본글리코사이드를 수득한 후 에탄올에 용해시킨 후, 이온교환수지를 통과시키는 공정으로 이루어진 은행잎으로부터 고농도의 후라본글리코사이드 엑기스를 제조하는 방법이 기재되어 있으며,

국내공개특허공보 공개번호 제91-19635호에 은행잎 분말을 칼럼에 충전한 후 실온에서 에테르나 엑산류, 초산에틸-아세톤혼합액을 차례로 통과시키고 플라보노이드 화합물의 추출액에 저급알콜을 통과시킨 후 에탄올로 정제한 다음, 무기염류를 혼합하여 유기층을 분리하여 감압 건조한 견고물을 무수저급알콜에 녹이고 여기에 실리카겔을 가하여 흡착분리 한 후, 클로로포름이나 디클로로메탄으로 세척하고 무수 저급알콜로서 다시 용출시켜 감압 건조함을 특징으로 하는 은행잎분말로부터 플라보노이드의 추출방법이 공개되어 있으나,

상기 종래의 은행잎 추출방법들은 대부분 많은 유기용매로 수 차례에 정제함으로써 유효성분을 추출하는 방법으로 최종산물에 미량의 유기용매가 잔존할 수 있다는 우려성이 있을 뿐만 아니라, 여러 공정을 거치는데 필요한 추출시설 설치에 따른 시설비의 과대부담, 다단계공정을 거치면서 발생하는 유효성분의 손실 등으로 기존 은행잎 엑기스분말은 매우 고가로 형성되어 완제품에 대한 가격부담이 문제시되고 있으며 또한 이들 원료는 현재 대부분 중국에서 수입되어 무역수지의 적자에 일익을 담당하고 있는 실정이다.

발명이 이루고자하는 기술적 과제

상기와 같은 문제점을 해결하고자, 본 발명은 은행잎의 유효성분을 추출함에 있어서 LLC장치를 이용한 추출방법을 도입하여 단시간 내에 추출을 완료할 수 있는 방법을 개발함으로써 시간과 경비를 절약함과 동시에 이들의 유효성분의 함량을 기존의 추출방법과 비교하여 매우 우수한 방법임을 확인하였고 또한 국내 농산물의 이용 차원에서 본 발명을 완성하게 되었다.

결국 본 발명의 목적은 유기용매의 사용량을 줄이고 크로마토그래피법을 이용한 추출법에 의해 다량의 유효성분을 추출 분리함으로써 유효성분의 양을 증가시키고 또한 환경친화적인 은행잎의 유효성분 추출방법 및 그의 추출장치를 제공하는데 그 목적이 있는 것이다.

발명의 구성 및 작용

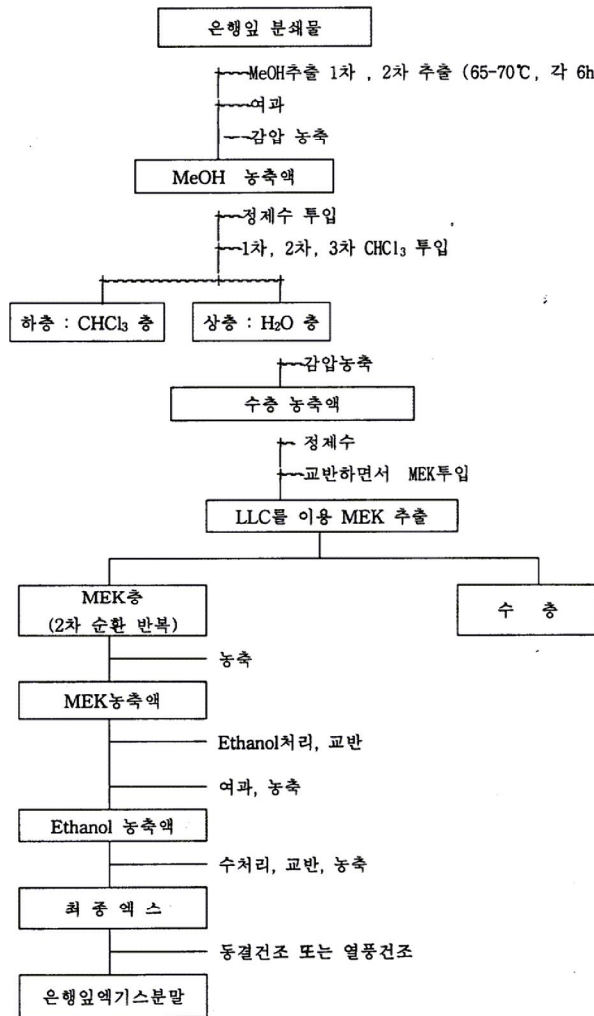
상기와 같은 목적을 달성하고자, 본 발명은 은행잎 분쇄물 100Kg을 약 3-7배의 에탄올로서 1차 및 2차 추출을 행한 후 그 여액을 감압농축하여 3-4회 클로로포름으로 독성물질을 제거한 후 수층을 회수하여 여과 감압농축하여 수층을 직접 LLC추출장치에 투입하고 메틸에틸케톤{MEK(Methyl Ethyl Ketone)}로 추출함으로써 은행잎의 유효성분을 신속하고 효과적으로 분리하고자 하는 방법으로서 이때 추출물의 GFG(Ginkgo Flavonol Glycosides)함량은 기존의 추출방법이 일반적으로 약 10-12% 정도인데 비하여 본 방법으로는 약 17-19±1.8%이며 이를 에탄올 처리 후 열풍 또는 동결 건조 후 분말화되면 29±1.2%로서 현재까지의 방법에 의한 은행잎 엑스 분말의 기준치인 24%에 비해 매우 수율이 높은 추출방법이다.

또한 LLC추출장치를 이용한 추출법에 의해 MEK로 용매 추출시 시료와 MEK의 비를 1:0.8, 1:1, 1:1.5, 1:2, 1:3의 비율로 추출할 경우 GFG의 함량이 각각 11.652, 16.938, 17.518, 17.836, 18.102, 14.642%가 측정되어 용매의 사용량을 최대한 억제하면서 최대의 추출효과를 감안할 때 시료와 용매의 투입량은 1:1-2의 비가, 더 바람직하게는 1:1.5의 비가 가장 효과적이다.(표 1 참조)

표 1. LLC 추출시 시료와 추출용매(MEK)와의 첨가 비율에 따른 GFG함량의 비교

시료와 추출용매와의 비율		GFG함량 (%)
시료(수층)	추출용매(MEK층)	
1	3	14.642
1	2	18.102
1	1.5	17.836
1	1	17.518
1	0.8	16.938
1	0.5	11.652

본 발명의 LLC법에 의한 은행잎엑기스분말의 추출방법 계통도



실시예를 통하여 본 발명을 상세히 설명하기로 한다.

실시 예1(은행잎 엑기스 추출방법)

은행잎을 분쇄하여 그의 유효성분을 추출하고자 은행잎 분쇄물 100Kg을 약 3-7배의 메탄올로서 1차 및 2차 추출하고 그 여액을 감압농축한 후 은행잎에 함유된 진코릭산(ginkgoric acid)등의 독성성분을 제거하기 위하여 정제수와 클로로포름을 가하여 3회에 걸쳐 용매추출을 하였다. 그중 수층을 분리, 여과 농축하여 이를 시료로 LLC 추출장치에 넣고 상부에는 정제수를, 하부에는 MEK를 가하여 임펠러를 작동하면서 2회에 걸쳐 용매를 순환시켜 4-6시간 추출하였다. 이 중 MEK 층을 취하여 여과농축 후 에탄올로 2회 추출한 뒤 에탄올 층을 여과 감압농축하고 초저온냉동기(deep freezer)내에 보관하면서 동결건조 혹은 열풍 건조한 다음 분쇄하여 분말화하였다. 이는 식품 또는 제약공업에서 널리 사용되는 건조방법으로 인체 내 유해성이 없는 방법으로 확인되었다.

실시 예 2(LLC장치를 이용한 은행잎의 유효성분 추출시 시료와 용매의 비율)

LLC장치에 의한 유효성분 추출시 유효성분의 추출물을 최대한 얻기 위해 정제수를 함유한 시료와 추출용매(MEK)의 사용조건을 확립하고자 LLC 추출장치에 시료와 추출용매(MEK)의 비율을 1:0.5, 1:0.8, 1:1, 1:1.5, 1:2, 1:3의 비율로 첨가하여 GFG의 함량을 비교 검토하였다(참조 표 1).

표 1에서 보는바와 같이 MEK 추출용매의 사용량이 많을수록 GFG의 함량은 증가되었으나 추출양에 따른 용매사용의 효과를 비교할 때 1:2의 비율에서 GFG함량이 가장 높은 12.806%를 나타냈으나 최적 용매사용효율을 감안하면 오히려 1:1.5의 비율이 추출용매 사용의 절감의 측면에서 더 바람직하다.

따라서 본 발명에서는 LLC 추출장치에서 사용되는 정제수를 포함한 시료와 추출용매(MEK)와의 비율은 1:1.5-2의 비가 적절하며 더 바람직하게는 용매의 사용량을 줄이면서 최대의 추출효과는 1:1.5이다.

실시 예 3(본 발명에 의해 추출된 은행잎 엑기스분말의 GFG 함량 확인)

은행잎을 추출함에 있어서 용매추출의 순서에 따라서 각 추출물의 GFG 함량을 측정하였다. 그 결과 표 2에서 보는바와 같이 은행잎 추출의 가장 중요한 공정인 LLC 추출장치에서의 MEK추출물이 GFG 함량이 급격히 증가된 17.967%를 나타냈다. 이는 기존의 방법에 비하여 본 방법이 LLC추출장치를 사용함으로써 GFG 함량의 증가를 나타낸 것으로 이 농축액을 에탄올추출을 거쳐 동결건조 또는 열풍건조 후의 GFG 함량은 30.28%로 측정되어 기존의 은행잎 엑기스 분말의 24% 보다 약 1.25배의 GFG 함량의 증가를 나타냈다.

이러한 LLC 추출법에 의한 은행잎의 유효성분의 추출에서 GFG 함량의 급격한 증가는 용매추출이 연속적으로 순환되면서 임펠러에 의해 상분리(phase separation)를 증가시킴으로써 분리계수를 상승하여 추출량이 높아졌으며 또한 추출시 여러 단계의 추출공정에서 발생하는 손실을 최소화 한 방법으로 이는 용매추출방법이 간단하면서도 용매의 사용량이 적고 회수율이 높아 용매 사용량을 최소화 할 수 있어 환경친화적인 방법이다.

표 2. 은행잎엑스 추출 단계별 추출액의 GFG 함량의 변화

시 료	GFG 함량(%)
에탄올 농축액	3.578
클로로포름 처리 후 수층	5.509
MEK 농축액 (LLC 처리)	17.967
에탄올농축액	23.324
은행잎엑스 분말	30.284

도면을 간단히 설명하면 다음과 같다.

도1은 LLC추출장치를 도시한 것으로서, (1)모터, (2)저비중용매배출구 및 수층배출구, (3)시료투입구, (4)용매재순환파이프, (5)저비중용매투입구(MEK투입구), (6)고비중용매투입구(MEK투입구), (7)고비중용매투입구(수층배출구), (8)임펠라, (9)유리관, C: 콘트롤러, P: 펌프를 나타낸 것임을 알 수 있다.

본 발명의 LLC추출장치는 상부에 모터(1)가 구성되어 있으며 하부에는 유리로 구성된 몸체(9)가 형성되어 있으며, 상기모터(1)에 의해 작동되며 유리로 구성된 몸체의 내부에 형성된 다수의 임펠라(8)과, 상기 유리관(9)의 상부로 연결되어 고비중용매를 투입하는 투입구(수층배출구)(7)과, 상기 유리관(9)의 하부에서 저비중용매를 투입하는 투입구(MEK투입구)(5)와, 상기 유리관(9)의 중간 부분에 시료를 투입하는 시료투입구(3)과, 상기 유리관(9)의 상부에 형성되어 있으며 저비중 용매를 배출하는 배출구 및 수층배출구(2)와, 상기 투입구에 연결된 용매재순환파이프(4)와 기타 펌프, 콘트롤러 및 밸브를 포함하여 구성됨을 특징으로 하는 은행잎에서 유효성분을 추출하는 LLC(Liquid-Liquid Chromatography)추출장치인 것이다.

LLC추출법은 비중 차를 이용하여 물질을 추출, 분리하는 방법으로서 용매를 이용한다는 점에서는 기존의 방법과 동일하나 본 발명에 의한 방법은 물성을 최대한 이용하여 분리의 이론단수를 높임으로서 기존의 추출방법보다 매우 효과적으로 유효성분을 추출할 수 있는 장치이다. 도1에서와 같이 용매의 비중차와 시료의 물성을 최대한 이용할 수 있도록 임펠라(8)를 다량 장착하여 분리계수를 상승시켰으며 상부에는 비중이 큰 용매(7)를, 하부에는 비중이 작은 용매가 투입(5)되어 은행잎 엑기스의 유효성분을 최대한 추출될 수 있도록 고안한 장치이다.

본 발명자는 LLC 추출장치에서 임펠라의 수를 4-8개 장착하여 연구한 결과 임펠라가 적은 수에서는 추출시간이 매우 길어지고 임펠라의 수가 많은 경우에는 용매의 혼합이 불균형하게 이루어져 본 추출방법에서는 임펠라가 6개일 때 가장 추출효과가 효율적임을 확인하여 본 발명을 완성하게 되었다.

추출장치는 유리(9)로 구성되어 있다

일반적으로 용매 추출법에 있어서 추출에 가장 큰 영향을 미치는 인자로서는 계면장력, 용질의 용해성, 에멀전의 형성 등이 있으며 본 추출법에서는 이들 인자를 고려하여 분리 방해요인을 최대한 억제 또는 제거할 수 있는 방법으로 개선하였으며 본 방법의 응용범위로는 고가 화합물의 추출, 비등점이 비슷한 화합물의 분리, 비등점이 높은 화합물, 공비화합물, 특히 열에 민감한 화합물 등에 본 방법이 유효하게 사용될 수 있다.

발명의 효과

상기와 같은 본 발명은 용매의 비중 차와 시료의 용해성을 높임으로서 기존의 추출방법에 비해 짧은 시간에 유효성분을 효과적으로 추출할 뿐만 아니라 유기용매의 사용량을 줄일 수 있는 환경친화적인 추출방법이다.

본 방법에는 LLC추출방법에 의해 은행잎뿐만 아니라 모든 생약의 추출물 중 유효성분을 효율적으로 추출하는 효과가 있는 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

은행잎에서 유효성분을 추출방법에 있어서, 은행잎을 메탄올 및 에탄올로 추출, 농축하고 클로로포름으로 독성물질을 제거한 후 LLC 추출법을 이용하여 메틸에틸케톤 용매로 유효성분을 추출 후 메탄올 또는 에탄올로 정제, 여과, 농축하여 동결건조 또는 열풍건조하여 분말화하는 공정을 포함하는 은행잎으로부터 유효성분의 추출방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 은행잎을 분쇄하여 그의 유효성분을 추출하고자 여러번 메탄올로 추출하고, 그 여액을 감압농축한 후, 은행잎에 함유된 진코릭산(ginkgolic acid)등의 독성성분을 제거하기 위하여 정제수와 클로로포름을 가하여 수차례에 걸쳐 용매추출을 한 다음, 그중 수층을 분리, 여과 농축하여 이를 LLC(Liquid-Liquid Chromatography)추출장치에 넣고 정제수와, 메틸에틸케톤(MEK)을 가하여 임펠러를 작동하면서 수차례에 걸쳐 용매를 순환시켜 4-6시간 추출한 후에, 상기 MEK 층을 취하여 여과농축 후 에탄올로 수차례 반복하여 추출한 뒤 에탄올 층을 여과 감압농축하고 초저온냉동기(deep freezer)내에 보관하면서 동결건조시키거나, 열풍 건조한 다음 분쇄하여 분말화하여 제조함을 특징으로 하는 은행잎으로부터 유효성분의 추출방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 은행잎의 유효성분의 추출에서 GFG 함량의 급격한 증가시키기 위하여, 용매추출이 연속적으로 순환되면서 임펠러에 의해 상분리(phase separation)를 증가시킴으로서 분리계수를 상승하여 추출량을 높였으며, 또한 추출시 여러 단계의 추출공정에서 발생하는 손실을 최소화하여 간단하면서도 용매의 사용량이 적고 회수율이 높아 용매 사용량을 최소화시킴을 특징으로 하는 은행잎으로부터 유효성분의 추출방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기한 LLC 추출법의 단독 또는 연속공정으로 생산하는 것을 포함하여 은행잎을 엑기스 분말화시킴을 특징으로 하는 은행잎으로부터 유효성분의 추출방법.

청구항 5

제1항에 있어서 상기 추출에서 LLC 추출법에 사용되는 시료와 추출용매(MEK)의 비가 1:1~2의 비로 적용되는 용매비율임을 특징으로 하는 은행잎으로부터 유효성분의 추출방법.

청구항 6

은행잎에서 유효성분을 추출하는 추출장치에 있어서, 상부에 모터(1)가 구성되어 있으며 하부에는 유리로 구성된 몸체(9)가 형성되어 있으며, 상기모터(1)에 의해 작동되며 유리로 구성된 몸체의 내부에 형성된 다수의 임펠라(8)과, 상기 유리관(9)의 상부로 연결되어 고비중용매를 투입하는 투입구(수층배출구)(7)과, 상기 유리관(9)의 하부에서 저비중용매를 투입하는 투입구(MEK투입구)(5)와, 상기 유리관(9)의 중간 부분에 시료를 투입하는 시료투입구(3)과, 상기 유리관(9)의 상부에 형성되어 있으며 저비중 용매를 배출하는 배출구 및 수층배출구(2)와, 상기 투입구에 연결된 용매재순환파이프(4)와 기타 펌프, 컨트롤러 및 밸브를 포함하여 구성됨을 특징으로 하는 은행잎에서 유효성분을 추출하는 LLC(Liquid-Liquid Chromatography)추출장치.

도면

도면1

