



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년01월16일
(11) 등록번호 10-1696673
(24) 등록일자 2017년01월10일

- | | |
|--|---|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01N 31/02 (2006.01) A01N 25/02 (2006.01)
A01N 25/08 (2006.01) A01N 65/48 (2009.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
A01N 31/02 (2013.01)
A01N 25/02 (2013.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2016-0125224</p> <p>(22) 출원일자 2016년09월29일
심사청구일자 2016년09월29일</p> <p>(56) 선행기술조사문헌
JP2005074776 A*
KR1020080097036 A*
논문 Industrial Crops and Products, vol. 40 (2012)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌</p> | <p>(73) 특허권자
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)</p> <p>(72) 발명자
박기웅
대전광역시 유성구 엑스포로 448, 204동 1202호(전민동, 엑스포아파트)
김영국
대전광역시 유성구 엑스포로 448, 409동 1601호(전민동, 엑스포아파트)
(뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
최규환</p> |
|--|---|

전체 청구항 수 : 총 2 항

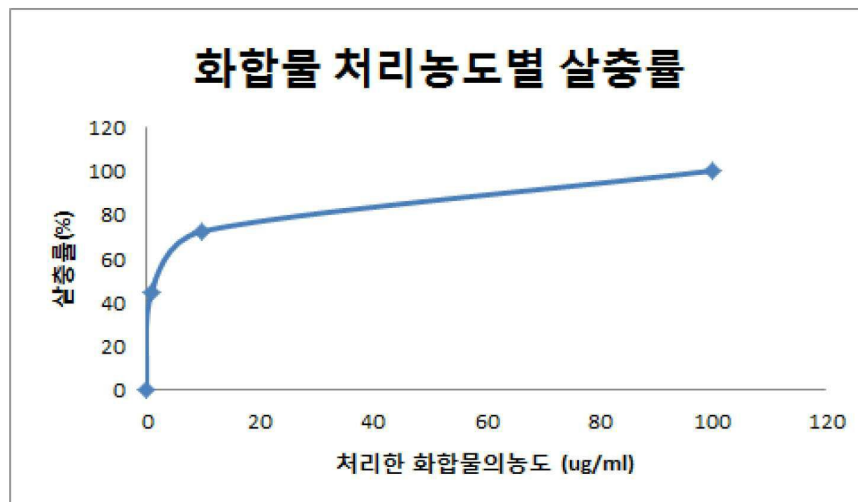
심사관 : 이선화

(54) 발명의 명칭 초두구로부터 유래한 화합물을 유효성분으로 함유하는 살유충제 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 2,3,22,23-테트라하이드록시-2,6,10,15,19,23-헥사메틸-6,10,14,18-테트라코사테트라엔, 이의 염 또는 상기 화합물을 함유하는 초두구 추출물을 유효성분으로 포함하는 살유충제 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명의 살유충 활성을 갖는 상기 화합물은 천연 소재로부터 분리하여 사용할 수 있어 인축에 보다 안전한 환경친화적 해충 방제제로 유용하게 이용될 수 있을 것이다.

대표도 - 도7



(52) CPC특허분류

A01N 25/08 (2013.01)

A01N 65/48 (2013.01)

Y10S 424/10 (2013.01)

(72) 발명자

김영태

대전광역시 대덕구 계족산로 135, 402동 602호(송
촌동, 선비마을아파트)

이중구

대전광역시 유성구 엑스포로 448, 109동 603호(전
민동, 엑스포아파트)

황기선

대전광역시 동구 계족로 137, 107동 1201호(대동,
새들피휴먼시아1단지)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2016-1918-01

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 LINC사업 산학공동기술개발사업

연구과제명 천연자원인 초두구로부터 탐색한 환경친화적 살충제 제조방법

기 여 율 1/1

주관기관 충남대학교

연구기간 2016.06.01 ~ 2016.12.31

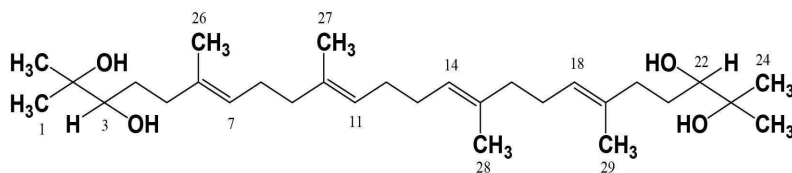
명세서

청구범위

청구항 1

하기 화학식 1의 2,3,22,23-테트라하이드록시-2,6,10,15,19,23-헥사메틸-6,10,14,18-테트라코사테트라엔 (2,3,22,23-tetrahydroxy-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-6,10,14,18-tetracosatetraene) 또는 이의 염을 유효 성분으로 포함하는 살유충제.

[화학식 1]



청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항의 살유충제를 이용하는 살유충 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 초두구로부터 유래한 화합물을 유효성분으로 함유하는 살유충제 및 이의 용도에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 초두구 추출물에서 분리정제한 2,3,22,23-테트라하이드록시-2,6,10,15,19,23-헥사메틸-6,10,14,18-테트라코사테트라엔 화합물의 살유충 활성에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인류는 산업혁명 이후 효율적인 농업을 지향하여 식량의 대량 생산과 소비를 꾸준히 발전해왔다. 현대 농업에 있어서 농약은 고품질의 농작물을 안정적으로 대량 생산하기 위해서 필수적인 요소이며, 이러한 농약은 작물과 대상 병해충의 종류에 따라 쓰임새가 달라지므로 현재 국내에도 수 백 종의 농약이 제조·판매되고 있다. 그러나 화학적 기술에 기초한 농업의 산업화는 자연 생태계의 파괴, 병해충의 농약 저항성 증대 및 환경오염 등 예기치 않은 많은 사회적 문제를 야기시켰다. 유기합성농약의 수 십년에 걸친 연용과 남용으로 인해, 해충군의 이상격발 또는 저항성 해충의 출현, 인간을 비롯한 비목적체에 대한 독성발현 및 환경계의 오염 등의 많은 부작용을 야기하고 있다.

[0003] 이에 세계 석학들이 인류의 생존환경을 보존하기 위하여 지구의 온난화와 환경오염을 줄이자고 주장하였고, 국제적인 협의 중에서 인축(人畜)에 악영향을 많이 미치는 유기합성농약의 생산과 사용을 점차적으로 제한하자고 합의하였다. 2004년에 전 세계 국가들은 과거 10년간 사용하던 화학합성 유기인계 및 유기염소계 농약 총생산량의 50%까지 생산이 감축되었고, 2010년까지 다시 화학합성 유기인계 및 유기염소계 농약의 생산을 50% 감소시키기로 국제적으로 동의하여 현재 실행 중에 있다. 유기인계 및 유기염소계 농약 감축생산에 합의한 후, 전 세계적으로 농약 개발에 관련된 많은 연구진이 유기인계 및 유기염소계 농약을 대체할 수 있는 환경친화적 살충제를 개발하려고 많은 노력을 하고 있으나, 아직 유기인계 살충제인 고독성 농약을 대체할 새로운 기작의 안전한 살

충제를 개발하지 못하고 있는 실정이다. 이에 농약생산 감축회의 협정내용이 지켜지기 어려운 상황이며, 안전한 살충제가 생산되지 않고 사용할 살충제의 양이 부족하게 된다면 식량 생산에 관련된 농업 뿐 만 아니라 여러 가지 산업에서 문제가 대두될 것으로 예상되고 있다.

[0004] 작물의 보호 목적으로 사용되는 농약은 잡초와 병해충에 대하여 방제 효과가 우수하여야 하지만, 인체 또는 가축에 대하여 독성이 없거나 크지 않아야 하며, 환경 중에서 쉽게 분해되어 오염원으로 작용하지 않아야 한다. 이렇게 여러 가지 문제점을 해결하기 위하여, 저독성 또는 무독성이며 무공해성의 농약 개발이 진행 중이며, 그 중에서 생물농약에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 생물농약은 미생물 농약, 생화학 농약 및 천적을 이용한 방법으로 대별되어 있고, 자연계에 존재하는 생물체 및 그로부터 유래한 소재를 이용하여 농작물의 생산 및 보존에 피해를 미치는 미생물, 해충 및 잡초 등을 방제하는 작물 보호제이다. 미생물 농약은 진균, 세균, 바이러스 및 원생동물 등 살아있는 미생물을 이용하여 농업에 해를 주는 미생물, 해충 및 잡초 등의 방제제이고, 생화학 농약은 자연계에 존재하는 천연자원으로부터 활성화합물을 추출하여 이용하는데, 신호전달에 관련된 활성물질 또는 생약 방제제로 구분되어 있다. 한편, 생화학 농약에는 동·식물, 페로몬, 효소 및 광물질 등의 천연 성분으로 구성되는 천연물농약 그리고 식물체에 도입된 유전자에 의해 식물에서 생산되는 농약 등이 있다. 이와 같은 생물농약은 잔류성이 비교적 적으며 인축 및 환경에 악영향을 미치지 않아 화학합성농약의 대체제로 이용하려고 개발이 진행되고 있다. 그러나 이와 같은 친환경적 농약은 현재까지는 일반적으로 원재료의 취급이 용이하지 않고, 방제가(control value)가 화학합성농약과 비교하면 아주 낮아 산업화에 어려움이 있으며, 범용화에 한계를 나타내고 있는데 그 이유로는 대부분의 생물농약 및 천연자원 유래 농약은 가격이 고가(高價)라 경제성이 낮고 실효성이 적으며, 방제 효과가 낮거나 효과가 극히 제한적이고, 약효가 속효성(rapid action)이 아닌 경우가 많기 때문에 화학합성농약의 사용자들로부터 호응을 얻지 못하고 있는 실정이다.

[0005] 그러나 전 세계는 화학합성농약의 지나친 사용으로 인한 토양과 수질의 오염, 토양 미생물과 천적 감소로 인한 생태계 교란 등의 환경 문제가 커다란 사회적 이슈로 부각되어 있는 상태이다. 근래에 이르러서 농약의 연속적이고 지속적인 사용에 의해서 이전에 사용하던 농약보다 많은 양의 농약을 살포하여도 방제 효과가 저조해지는 병해충의 농약저항성 문제가 대두되고 있으며, 또한 농산물에서 종종 독성이 강한 농약이 허용치 이상으로 검출되어 식품으로서의 가치가 상실되는 경우까지 발생하고 있다. 이렇듯 농약 사용에 따른 바람직하지 못한 다양한 직·간접적인 부작용이 발생하게 되었다. 그리고 농작물에 잔류된 농약 중에 인체에 영향을 미치는 농약인 경우에 이를 섭취하면 인체에 치명적인 위해 요인으로 작용하고 있다.

[0006] 경제의 발전으로 소득수준이 향상되어 농산물에 대한 소비자의 인식이 전환됨에 따라 안전한 먹거리, 즉 유기농 산물을 포함한 친환경 농산물을 찾는 소비자가 늘어나고 있다. 친환경 농산물의 생산을 위해서는 무엇보다도 유기화학농약과 비료를 대체할 수 있는 것이 필요하다. 고독성의 유기화학농약을 대체할 수 있는 약제를 확보하고 인간과 가축에 대하여 안전하고, 환경독성 문제를 해결하며 친환경 농산물 생산을 위한 종합적 병해충 관리에 중요한 기술로 생물농약이 제시되고 있다.

[0007] 미국 환경청은 최소 위험 살충제로 분류된 제품에 들어간 천연 성분에 대해서는 안전성 실험을 면제해주고 있다. 하지만 기존 일반 살충제 업체들을 대변하는 특수 소비자 제품 협회에서는 이러한 면제 조치 때문에 일부 몰지각한 기업에서는 천연 제품들을 약효도 입증 받지 않은 상태에서 시장에 무차별적으로 상품을 내놓고 있다며, 안전성 실험 면제조치를 재검토해 달라는 청원을 미국 환경청에 제출하였다. 한편 우리나라를 포함한 OECD 국가에서는 환경오염 및 잔류농약 등의 부작용으로부터 인류를 보호하기 위하여 고독성의 유기합성농약과 화학합성비료의 사용을 줄이자는 친환경농업정책을 적극 추진하고 있다. 2009년 친환경농산물 시장규모는 2008년 대비 17% 정도 증가한 3조 7,355억원으로 확인되었으며, 저농약 신규 인증제가 폐지되는 2010년에는 증가세가 둔화되어 4조 940억원, 2013년에는 5조 955억원으로 추정되었다. 저농약 인증제 자체가 폐지되는 2015년에는 저농약 농가 일부가 무농약 인증이나 유기 인증으로 전환을 가정하면 2013년보다 감소한 4조 9,216억원이 될 것으로 전망되었고, 이후 점차 회복되어 2020년에는 전체 농산물 시장규모의 20%인 7조 676억원이 될 것으로 전망되고 있다. 또한 최근 농약 개발의 동향을 분석해보면 유기합성농약 이외에 향후 10년 안에 전세계 생물학적 제제 시장이 5조원 이상으로 확대될 것으로 전망되고 있고, 국내 생물농약 시장도 1,000억원으로 확대될 것으로 예상되며 관련 기술의 발전에 따라 그 가능성은 점점 높아질 것으로 예상되고 있다.

[0008] 본 발명은 자연계에 널리 존재하는 천연자원에서 살유충제를 탐색하는 과정에서 초두구 (*Alpinia katsumadai*)를 선발하였고, 초두구를 비극성 유기용매로 추출한 추출물과 이로부터 순수 분리한 화합물의 살유충 활성을 확인한 것으로, 안전성이 확보된 저독성 살유충활성 식물 추출물과 그로부터 분리된 활성화합물은 친환경 해충 방제제로 이용될 수 있다.

[0009] 한편, 천연농약 조성물에 대한 종래의 공지기술로서는 한국공개특허 제2006-0071380호에 제충국 추출물과 고삼 추출물을 동시에 함유하고, 이들 원료가 지닌 유효성분의 살충 및 기피효능을 보다 활성화 하기 위하여 콩 지방산을 콜로이드 입자 상태로 분해한 콩 추출물과 참깨기름, 침투제 등을 추가로 함유하고 있으며, 광범위한 스펙트럼의 다양한 살충 효능을 얻기 위하여 필요에 따라 님오일(멀구슬나무 오일), 백부근(百部根) 추출물, 백양나무 추출물, 측백나무 추출물, 피마자 추출물 등을 추가로 함유하는 '식물 추출물을 이용한 생물 농약으로써의 천연 살충제'가 개시되어 있고, 한국등록특허 제0278796호에는 목초액, 이소레시킨, 지방산을 함유한 '살충 및 생육촉진용 목초액 조성물'이 개시되어 있으나, 본 발명의 초두구로부터 유래한 2,3,22,23-테트라하이드록시-2,6,10,15,19,23-헥사메틸-6,10,14,18-테트라코사테트라엔 화합물을 유효성분으로 함유하는 살유충제 및 이의 용도에 대해서는 기재된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 초두구의 메탄올 추출물에서 살유충 활성을 확인하고, 상기 추출물의 분획물 중 살유충 활성이 확인된 클로로포름 분획물로부터 살유충 활성물질들을 순수 분리·정제하여, 분리된 활성물질의 구조를 규명하였고, 상기 활성물질을 배추좀나방 및 멸강나방의 유충에 처리하여 살유충 활성을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기 과제를 해결하기 위해, 본 발명은 2,3,22,23-테트라하이드록시-2,6,10,15,19,23-헥사메틸-6,10,14,18-테트라코사테트라엔 (2,3,22,23-tetrahydroxy-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-6,10,14,18-tetracosatetraene), 이의 염 또는 상기 화합물을 함유하는 초두구 (*Alpinia katsumadai*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 살유충제를 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 상기 살유충제를 이용하는 살유충 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0013] 본 발명의 살유충 활성을 갖는 화합물 2,3,22,23-테트라하이드록시-2,6,10,15,19,23-헥사메틸-6,10,14,18-테트라코사테트라엔은 천연 소재로부터 분리하여 사용할 수 있어 인축에 보다 안전한 환경친화적 해충 방제제로 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 초두구에서 분리한 화합물의 고분해 ESI-MS 분석 결과이다.

도 2는 초두구에서 분리한 화합물의 ^1H -NMR 스펙트럼에 의한 분석 결과이다.

도 3은 초두구에서 분리한 화합물의 ^{13}C -NMR 스펙트럼에 의한 분석 결과이다.

도 4는 초두구에서 분리한 화합물의 DEPT 스펙트럼에 의한 분석 결과이다.

도 5는 초두구에서 분리한 화합물의 ^1H - ^1H COSY 스펙트럼에 의한 분석 결과이다.

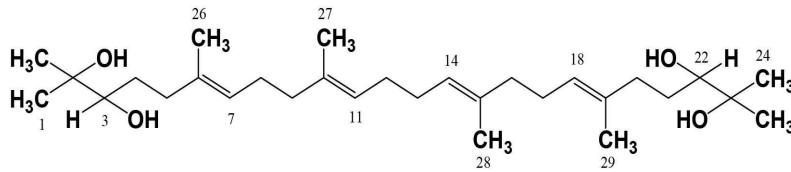
도 6은 초두구에서 분리한 화합물의 HMBC 스펙트럼에 의한 분석 결과이다.

도 7은 초두구에서 분리한 화합물의 배추좀나방 유충에 대한 살유충률을 보여주는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 2,3,22,23-테트라하이드록시-2,6,10,15,19,23-헥사메틸-6,10,14,18-테트라코사테트라엔 (2,3,22,23-tetrahydroxy-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-6,10,14,18-tetracosatetraene), 이의 염 또는 상기 화합물을 함유하는 초두구 (*Alpinia katsumadai*) 추출물을 유효성분으로 포함하는 살유충제를 제공한다.

화학식 1



[0016]

[0017]

본 발명에서 상기 화학식 1의 화합물은 천연 소재로부터 공지의 방법으로 분리하거나, 공지의 화학적 합성법으로 합성할 수 있다. 또한, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은 시판되는 것을 구입하여 사용할 수 있다.

[0018]

본 발명의 일 구현 예에 따른 살유충제에서, 상기 화학식 1의 화합물은 초두구로부터 분리된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0019]

또한, 본 발명의 일 구현 예에 따른 살유충제에서, 상기 화학식 1의 화합물을 함유하는 초두구 추출물은 초두구 분말의 물, 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올 또는 이의 혼합 용매 추출물일 수 있고, 바람직하게는 초두구 분말의 메탄올 추출물일 수 있고, 구체적으로는 분말화된 초두구 1,000g에 95% 메탄올을 초두구 중량 대비 3배로 가하여 밀폐된 용기에서 빛을 차단시킨 상태로 서늘한 장소에서 하루에 두 번씩 흔들어 섞어주면서 7일 동안 추출한 후 여과하여 제조된 것일 수 있다.

[0020]

본 발명의 용어 '살충제'는 사람이나 농작물에 해(害)가되는 병해충의 사망률을 증가시키거나 성장률을 저해시키는 효과를 지닌 약제로, 농림해충 구제가 목적인 농약과 위생해충 방제를 위한 방역용 살충제로 많이 사용되며, 특수한 경우를 제외하고는 대부분의 살충제는 농림해충과 위생해충에 공통으로 사용된다. 또한 그 작용 대상의 종류에 따라 살란제(알을 죽이는 것), 살유충제(유충을 죽이는 것) 및 살성충제(성충을 죽이는 것)로 분류할 수 있다.

[0021]

우리나라에서는 농작물 해충 가운데 나비목 (*Lepidoptera*) 해충이 약 40%를 차지하는 것으로 보고 되어있는데 (식물보호학회, 1986), 나비목 해충은 주로 유충태로서 피해를 주며, 대부분의 유충은 광식성(polyphagous)이고, 많은 종들이 작물에 심각한 피해를 준다. 나비목에 속하는 종들은 부화부터 작물에 피해를 주기 시작함으로써 나비목 해충의 방제는 유충 및 성충 모두를 방제하는 것이 중요하다.

[0022]

본 발명의 상기 화학식 1의 화합물은 실시예를 통해 살유충 활성이 있음을 확인하였으므로, 상기 화학식 1의 화합물, 이의 염 또는 상기 화학식 1의 화합물을 함유하는 초두구 추출물을 유효성분으로 포함하는 본 발명의 살유충제는 해충의 유충들에 대한 방제 효력을 나타내어 살충 효과를 발휘하는 것이다.

[0023]

본 발명의 살유충제가 효과를 발휘하는 해충으로는, 배추좀나방 (*Plutella xylostella*), 멸강나방 (*Pseudaletia separata*), 파밤나방(*Spodoptera exigua*), 복숭아심식나방(*Carposina niponensis*), 이화명나방(*Chilo suppressalis*), 흑명나방(*Cnaphalocrocis medinalis*), 배명나방(*Ectomyelois pyrivorella*), 왕담배나방 (*Helicoverpa armigera*), 담배나방(*Helicoverpa assulta*), 오이금무늬밤나방(*Anadevidia peponis*), 콩금무늬밤나방(*Ctenoplosia agnata*), 담배거세미나방(*Spodoptera litura*), 검거세미나방(*Rhyacia ypsilon*) 또는 거세미나방(*Agrotis segetum*) 등일 수 있고, 바람직하게는 배추좀나방 또는 멸강나방일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0024]

본 발명에 따른 상기 화학식 1의 화합물을 살유충제의 유효성분으로 사용할 경우, 그것은 임의의 기타 성분들의 첨가없이 화합물 자체 또는 염산이나 황산과 같은 무기산, 또는 p-톨루엔술포산과 같은 유기산과의 농화학적으로 허용 가능한 염의 형태로도 사용될 수 있다. 그러나 본 발명의 화합물은 통상 고체 담체, 액체 담체, 기체 담체 또는 유인물과 혼합하거나, 염기성 물질, 예컨대 다공질 세라믹 플레이트 또는 부직포에 흡수시킨 후, 계면활성제 및 필요한 경우, 기타 보조제들을 첨가하여, 이를 각종 형태들, 예를 들어 오일 스프레이, 유화 가능한 농축물, 습윤성 분말, 유동물, 과립, 더스트, 에어로졸, 혼연제, 증기화가 가능한 제형물, 스모킹 제형물, 독성 유인물, 진드기방지용 시이트 또는 수지 제형물로 제형화 할 수 있다.

[0025]

상기 각 제형물들은 통상 유효성분으로서 본 화합물을 0.01 내지 95 중량%까지 함유할 수 있다. 제형물에 사용될 수 있는 고체 담체의 종류에는, 카울린 점토, 규조토, 합성 수화된 산화규소, 벤토나이트, 푸바사미 점토 및

산성 점토 등의 점토 물질의 미세 분말 또는 과립; 각종 탈크, 세라믹 및 기타 무기 물질, 예컨대 건운모, 석영, 황, 황성탄, 탄산칼슘 및 수화된 실리카; 및 화학적 비료, 예컨대 황산암모늄, 인산암모늄, 질산암모늄, 염화암모늄이 포함될 수 있다. 액체 담체에는, 물; 알콜, 예컨대 메탄올 및 에탄올; 케톤, 예컨대 아세톤 및 메틸 에틸 케톤; 방향족 탄화수소, 예컨대 벤젠, 톨루엔, 자일렌, 에틸벤젠 및 메틸나프탈렌; 지방족 탄화수소, 예컨대 헥산, 시클로헥산, 케로신 및 라이트 오일; 에스테르, 예컨대 에틸 아세테이트 및 부틸 아세테이트; 니트릴, 예컨대 아세토니트릴 및 이소부티르니트릴; 에테르, 예컨대 디이소프로필에테르 및 디옥산; 산 아마이드, 예컨대 N,N-디메틸포름아미드 및 N,N-디메틸아세트아미드; 할로겐화 탄화수소, 예컨대 디클로로메탄, 트리클로로에탄 및 사염화탄소; 디메틸 술폰; 및 식물성 오일, 예컨대 대두유 및 면실유가 포함될 수 있다. 기체 담체 또는 추진제에는, 부탄 가스, 액화석유 가스, 디메틸 에테르 및 이산화탄소가 포함될 수 있다.

[0026] 독성 유인물에 사용되기 위한 유인물 물질로 그레인 분말, 식물성 오일, 슈거 및 결정성 셀룰로스; 산화방지제, 예로 디부틸히드록시톨루엔 및 노르디 히드로구아아아레트산; 보존제, 예컨대 데히드로아세트산; 비식용 방지용 물질, 예로 고추 분말; 및 유인성 풍미, 예로 치즈 풍미 또는 양파 풍미가 포함될 수 있다.

[0027] 계면활성제에는, 알킬 술페이트, 알킬 술포네이트, 알킬 아릴술포네이트, 알킬 아릴 에테르 및 그것의 폴리옥시 에틸렌 유도체, 폴리에틸렌 글리콜 에테르, 다가 알콜 에스테르 및 당 알콜 유도체가 포함될 수 있다.

[0028] 접착제 또는 분산제와 같은 보조제에는, 카세인, 젤라틴; 다당류, 예컨대 전분, 아라비아검, 셀룰로스 유도체 및 알긴산; 리그닌 유도체, 벤토나이트, 슈거 및 합성 수용성 중합체, 예컨대 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈 및 폴리아크릴산이 포함될 수 있다.

[0029] 안정화제에는, 이소프로필 산 포스페이트, 2,6-디-tert-부틸-4-메틸페놀, 2-tert-부틸-4-메톡시페놀 및 3-tert-부틸-4-메톡시페놀의 혼합물, 식물성 오일, 미네랄 오일, 지방산 및 그것의 에스테르가 포함될 수 있다.

[0030] 본 발명의 화합물이 살유충제로 사용될 경우, 적용량은 통상 10 에이커 당, 0.1 내지 100g이다. 물로 희석한 후 사용되는 유화 가능한 농축물, 습윤성 분말, 유동물 및 기타 유사 제형화물들의 경우, 그 적용 농도는 통상 1 내지 100,000ppm 의 범위이다. 과립, 더스트 또는 기타 유사 제형화물의 적용은, 희석하지 않은 제형화물로서 수행된다. 본 발명의 화합물을 유행병 예방을 위한 살유충제로 사용할 경우, 그것들이 유화 가능한 농축물, 습윤성 분말, 유동물 또는 기타 유사 제형화물일 경우에는 0.1 내지 500ppm의 농도가 되도록 물로 희석하고, 그것들이 오일 스프레이, 에어로졸, 혼연제, 독성 유인물, 진드기방지용 시이트 또는 기타 유사 제형화물일 경우에는 그대로 적용한다. 상기 적용량 및 농도는, 제형화의 형태, 적용 시기, 장소 및 방법, 해충의 종류, 손해 정도 및 기타 요인들에 따라 다를 수 있으므로, 상기 범위에 한정되지 않고 증감이 가능하다.

[0031] 또한 본 발명의 상기 화합물은 다른 살곤충제, 살선충제, 살진드기제, 살세균제, 살진균제, 제초제, 식물 성장 조절제, 시너지스트, 비료, 토양 컨디셔너 및 또는 동물 사료와 함께, 혹은 그것들과 별도로 하되 동시에 또는 순차적으로 사용될 수 있다.

[0032] 본 발명은 또한, 본 발명의 살유충제를 이용하는 살유충 방법을 제공한다.

[0033] 구체적으로, 본 발명의 살유충 방법은 살충제의 제형, 살충 대상 개체, 장소 및 방법 등의 다양한 요인을 감안하여 본 발명의 살유충제를 적용시키는 것을 포함하며, 바람직하게는 본 발명의 살유충제를 유효량으로 해충의 유충 서식지 또는 유충 개체에 직접 처리하는 단계를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0034] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0035] 실시예 1. 살유충 활성물질의 분리 및 정제

[0036] 본 발명에 사용된 초두구는 대전 약전시장에서 구입한 후 식물분류 전문가에게 확인하였다. 구입한 초두구에서 이물질을 제거하고 물로 깨끗이 세척하여 그늘에서 건조한 후, 분쇄기로 분말화시켰다. 분말화된 초두구 1,000g에 95% 메탄올을 건조된 초두구 중량에 대하여 3배로 가하여 뚜껑이 있는 용기에 넣어 빛이 보이지 않고 서늘한 장소에 두면서, 7일간 하루에 두 번씩 흔들어 섞어주면서 추출한 후 여과지를 깔고 여과하였다. 상기 여과액을 60℃ 온도의 항온수조에서 감압 농축하여 조추출물 201g을 얻었다. 상기 조추출물에서 활성물질의 유기용매 추출성을 알아보기 위하여 조추출물 중 1g을 취하여 물 10ml에 현탁시키고 동량의 클로로포름, 에틸아세테이트 및 노말 헥산을 이용하여 각각의 용매추출물을 얻고, 감압하에 각 용매들을 증발시키고 각 용매추출물의 살유충 활성을 배추좀나방(*Plutella xylostella* L.) 유충을 사용하여 확인하였다.

[0037] 각 용매추출물의 살유충 활성을 비교한 결과, 클로로포름으로 추출한 추출물에서 가장 우수한 살유충 활성이 확

인되어, 상기 메탄올 조추출물을 클로로포름으로 재추출하고 감압 농축하여 추출물 73.1g을 얻었다. 살유충 활성을 나타내는 활성물질을 순수 분리정제하기 위하여 실리카겔 컬럼 크로마토그래피(230-400 mesh, 1 kg, Merck, 독일)를 수행하였는데, 용출액으로는 클로로포름:메탄올(100:0, 90:1, 70:1, 50:1, 30:1, 15:1, 5:1 및 1:1, 각 2ℓ)로 구성된 농도구배 용매 시스템을 이용하여 용출하였고, 박막 크로마토그래피에서 전개하고 나타나는 모양을 참고하여 분획을 나누었다. 각 분획의 살유충 활성을 측정하여 가장 높은 살유충 활성이 있는 클로로포름:메탄올 = 70:1 분획물을 감압 농축시켜 추출물 4.35g을 얻었다. 상기 추출물에서 살유충 활성물질을 분리하기 위하여 ODS(octadecyl silica) 컬럼 크로마토그래피로 분획을 나누었는데, 용출 용매로는 70%, 80%, 90% 및 100% 메탄올을 사용하였다. 살유충 활성이 높은 분획들을 모아 단일물질로 분리하기 위하여 최종적으로 고속액체 크로마토그래피를 수행하였는데 컬럼으로는 YMC Jsphere ODS H-80(250 × 20mm)을 사용하였고, 용출 용매로는 90% 메탄올을 6ml/min으로 흘려주면서 피크별, 시간별로 물질을 나누어받아 각 분획별로 살유충 활성을 확인하였다. 활성물질의 검출은 UV 210nm에서 수행하였으며, 살유충 활성물질은 25분에 용출되는 피크였으며 이 피크 분획을 감압 건조시켜 순수물질로 508mg을 얻었다.

[0038] 초두구로부터 분리된 화합물(이하 화합물 1)은 무색의 오일로, 분자량 측정기에서 분자량을 측정한 결과 $[M+Na]^+$ 가 m/z 501로 나타나 분자량은 478로 측정되었고, 고분해 ESI-MS(electrospray ionization mass spectrometry)에서 분자식이 $C_{30}H_{54}O_4$ 로 추정되었다(도 1). 화합물 1의 자외선 흡광도를 측정한 결과 최대 흡수치가 210nm에서 나타났다.

[0039] 화합물 1의 구조를 결정하기 위한 NMR(nuclear magnetic resonance) 시험 중에, 1H -NMR 스펙트럼에서는 네 개의 올레핀 프로톤(olefinic proton, δ 5.13, 5.18)이 관찰되었으며, 네 개의 메틸 프로톤(methyl proton, δ 1.59, 1.61), 올레핀 그룹에 연결된 6개의 메틸렌 프로톤(methylene proton, δ 1.99, 2.08, 2.01)이 관찰되었다. 그리고 4개의 메틸렌 프로톤(δ 1.40, 1.58, 2.06과 2.23), 수산기(hydroxyl group)에 결합된 두개의 메틴 프로톤(methin proton, δ 3.36) 및 4개의 말단 메틸 프로톤(δ 1.15, 1.19)이 관찰되었다. 추가적으로, δ 72.9과 δ 78.2의 두 메틸렌 탄소의 존재로부터 수산기의 존재를 확인할 수 있었다(도 2).

[0040] 고분해 ESI-MS에서 화합물 1은 탄소가 30개 존재할 것으로 추정되었는데, ^{13}C -NMR 질량분석 스펙트럼에서 추정 탄소수의 반에 해당되는 15개의 탄소가 관찰되어 이 화합물이 구조 내에서 반으로 접으며 겹쳐져 보여지는 대칭 구조를 갖고 있는 것으로 추정되었다(도 3). 완전한 구조를 결정하기 위하여 DEPT(distortionless enhancement by polarzation transfer)(도 4)와 1H - 1H COSY(도 5) 그리고 HMBC 스펙트럼(도 6)을 통하여 물질의 구조를 결정하였다.

[0041] 상기의 분석 결과들과 이전 발표된 문헌(Nishiyama Y *et al.* Phytochemistry 1996; 42(3):803-807)에서 발표한 물질의 기기 분석치를 비교한 결과, 화합물 1은 비교 문헌의 물질과 일치하는 구조로 확인되었으며, 화합물명은 2,3,22,23-테트라하이드록시-2,6,10,15,19,23-헥사메틸-6,10,14,18-테트라코사테트라엔(2,3,22,23-tetrahydroxy-2,6,10,15,19,23-hexamethyl-6,10,14,18-tetracosatetraene)으로 판명되었다.

[0042] 실시예 2. 배추좀나방(*Plutella xylostella* L.) 유충에 대한 살유충 활성 분석

[0043] 본 발명에 사용된 배추좀나방(*Plutella xylostella* L.) 유충은 2016년 7월 충북대학교 김길하 교수실에서 분양받아 사용하였다. 상기 실시예 1에서 분리정제한 화합물 1은 정확하게 무게를 측정하여 아세톤 10% 용액에 녹인 후 트리톤 X-100 100ppm 수용액 9배에 혼합하였다. 유충의 먹이는 양배추 생육시 살충제를 사용하지 않았던 것을 선택하여 그 중에서 균일한 발육상태의 양배추 잎을 지름 3.0cm 잎 디스크 보러로 잘라내고, 준비된 활성검색물질 용액에 30초간 충분히 잠길 정도로 침적한 후 꺼내 후드 내에서 유기용매를 날려 보냈다. 증류수로 적신 여과지가 깔린 페트리 플레이트(55 × 20mm)에 상기 활성검색물질이 처리된 잎을 올려놓고, 2령 유충을 유충체가 상하지 않도록 이동시켜 플레이트당 10마리 정도씩 3반복으로 시험하였다. 활성검색물질이 처리된 양배추 잎이 먹이로 제공된 유충은 항온실(25±1℃, 상대습도 40-45%, 16시간 명 및 8시간 암 조건)에서 사육하며 24, 48, 72 및 96시간 후에 유충의 살충 정도를 조사하였다. 무처리구는 활성검색물질을 넣지 않고 아세톤 10% 용액에 트리톤 X-100 100ppm 수용액 9배를 처리한 용액을 전술한 활성검색물질 처리방법과 같은 방법으로 시험하였다. 화합물 1의 살유충 활성검색 실험은 3반복으로 실시하였고 반수치사농도를 산출하였다.

[0044] 그 결과, 화합물 1을 0~100μg의 농도로 유충에 처리하고 24시간 간격으로 살충 정도를 측정하였을 때 무처리 대조구와 비교하여 화합물 1 처리구는 지속적인 농도의존적으로 배추좀나방 유충에 살유충 효과가 있음을 확인하였다(표 1 및 도 7).

표 1

[0045]

화합물 1의 배추좀나방 유충에 대한 살유충 활성

약제	농도 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	반복	개체수	살유충수				살유충률(%) $\pm$ SD
				1일	2일	3일	4일	
화합물 1	100	1	9	3	7	9	9	100.0 $\pm$ 0.0
		2	10	4	5	8	10	
		3	10	5	9	9	10	
	10	1	10	0	6	6	8	72.4 $\pm$ 13.2
		2	7	0	4	4	4	
		3	10	1	1	6	8	
	1	1	10	1	0	0	3	44.8 $\pm$ 13.1
		2	10	0	0	2	5	
		3	11	0	1	1	6	
대조구	0	1	10	0	0	0	0	0.0 $\pm$ 0.0
		2	11	0	0	0	0	
		3	10	0	0	0	0	

[0046]

실시예 3. 멸강나방(*Pseudaletia separata*) 유충에 대한 살유충 활성 분석

[0047]

시험에 사용된 멸강나방 유충은 2016년 7월 충북대학교 김길하 교수실에서 분양받아 사용하였다. 멸강나방은 실내에서 누에 인공사료를 공급하면서 아크릴 케이지(30 × 30 × 30cm)에 넣어 사육하였다. 실내 사육조건은 25~28℃의 온도, 16시간 명 및 8시간 암 조건, 그리고 상대습도는 50~60%로 하였다. 살유충활성 실험은 사육조건과 동일한 조건에서 수행하였다.

[0048]

멸강나방 유충에 대한 살유충 활성 실험은 상기 실시예 1에서 분리정제한 화합물 1을 정확하게 무게를 측정하여 각 농도로 희석하여 약액에 배추 잎 절편(직경 5cm)을 30초간 침지한 후 음건시켜 1회용 페트리디쉬(5.5 × 2cm)에 습과 여과지(Φ 5.5cm)를 깔고 음건시킨 배추 잎을 올렸다. 멸강나방 유충을 10마리 정도씩 넣어주고 화합물 처리 1일, 2일, 3일 및 4일 간격으로 살유충률을 조사하였으며, 실험은 3반복으로 수행하였다.

[0049]

그 결과, 화합물 1을 0~100 μg 의 농도로 유충에 처리하고 24시간 간격으로 살충 정도를 측정하였을 때 대조구와 비교하여 화합물을 처리한 실험구는 지속적이고 농도의존적으로 멸강나방 유충에 살유충 효과가 나타났다(표 2).

표 2

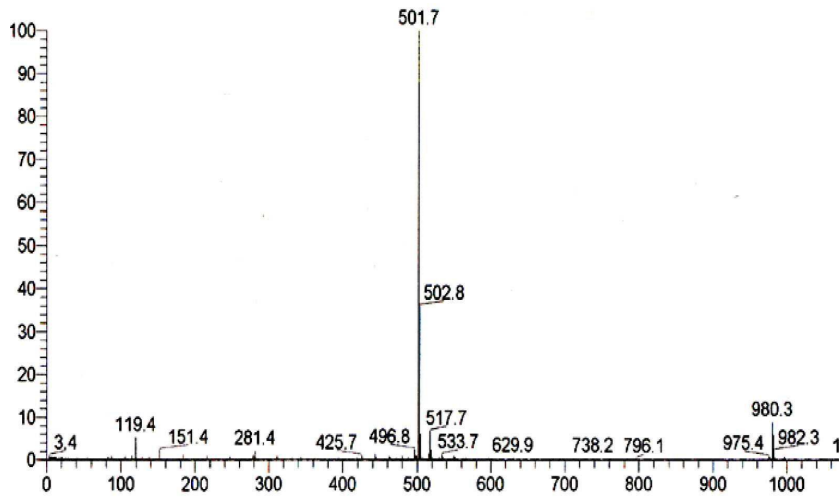
[0050]

화합물 1의 멸강나방 유충에 대한 살유충 활성

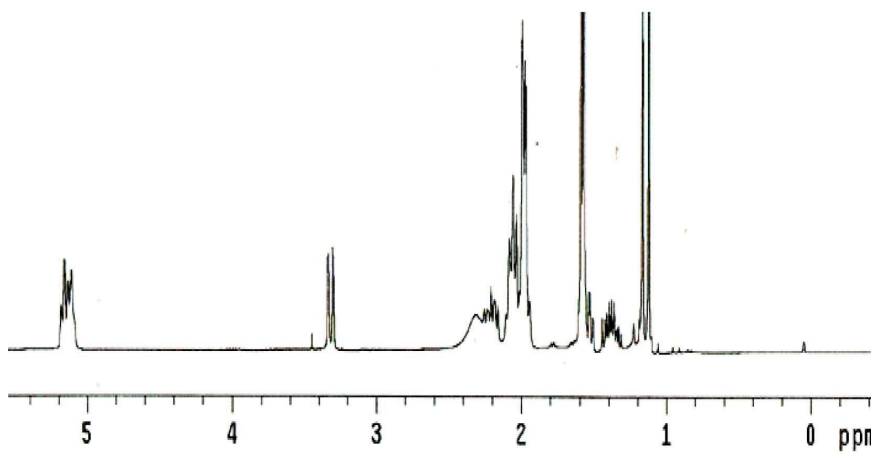
약제	농도 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	반복	개체수	살유충수				살유충률(%) $\pm$ SD
				1일	2일	3일	4일	
화합물 1	100	1	10	0	0	0	5	62.6 $\pm$ 14.1
		2	10	0	0	0	6	
		3	9	0	1	1	7	
	10	1	9	0	2	2	4	47.0 $\pm$ 18.5
		2	9	0	1	5	6	
		3	10	0	0	1	3	
	1	1	10	0	0	0	0	7.0 $\pm$ 6.1
		2	10	0	0	0	1	
		3	9	0	0	1	1	
대조구	0	1	10	0	0	0	0	0.0 $\pm$ 0.0
		2	11	0	0	0	0	
		3	10	0	0	0	0	

도면

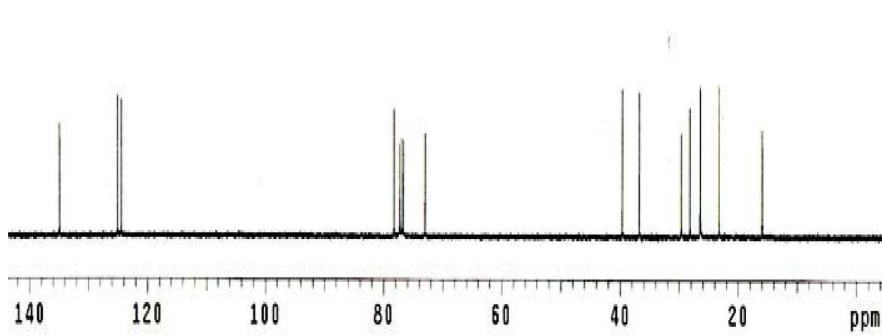
도면1



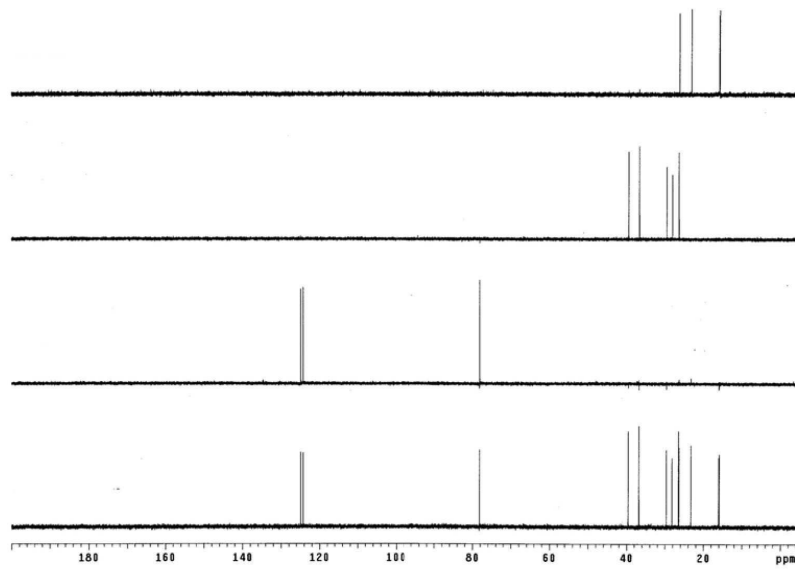
도면2



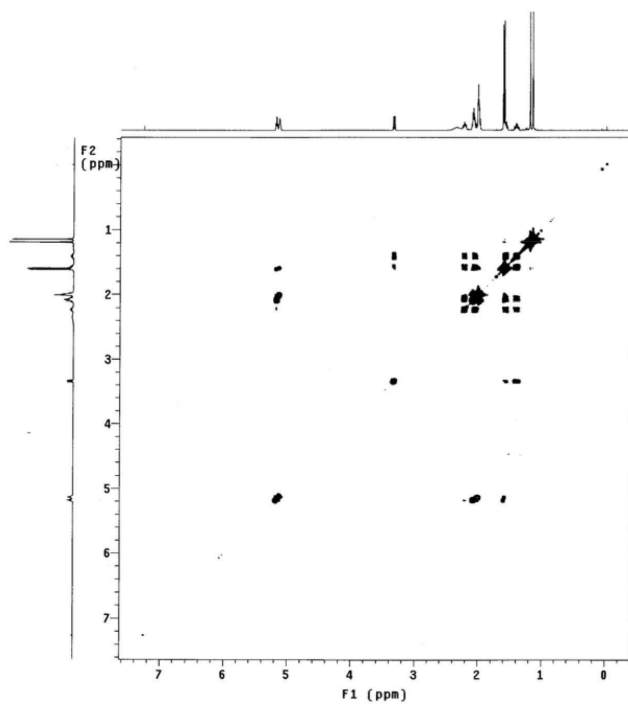
도면3



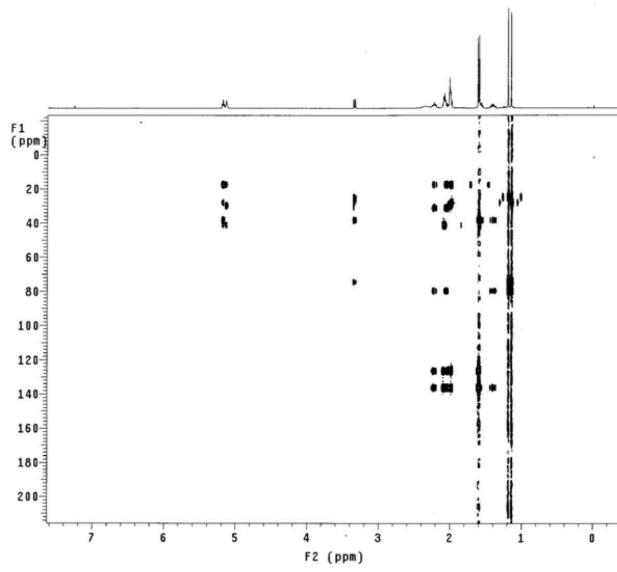
도면4



도면5



도면6



도면7

