

(19)대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

|                                         |                                     |                                          |
|-----------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------|
| (51) 。 Int. Cl.<br>C07C 69/66 (2006.01) | (45) 공고일자<br>(11) 등록번호<br>(24) 등록일자 | 2006년08월21일<br>10-0613900<br>2006년08월10일 |
|-----------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------|

|           |                 |           |                 |
|-----------|-----------------|-----------|-----------------|
| (21) 출원번호 | 10-2004-0049686 | (65) 공개번호 | 10-2006-0000731 |
| (22) 출원일자 | 2004년06월29일     | (43) 공개일자 | 2006년01월06일     |

(73) 특허권자 대한민국

(72) 발명자 최만영  
전라북도 김제시 진봉면 정당리 991

김두호  
전라북도 익산시 동산동 삼호아파트 6동 604호

이건휘  
전라북도 전주시 완산구 중화산동1가 현대아파트 103동 1402호

나승용  
경기도 수원시 팔달구 매탄4동 한국2차아파트 108동 505호

김재덕  
경기도 수원시 권선구 권선동 1298번지 상록아파트 515동 1502호

(74) 대리인 윤동열

(56) 선행기술조사문헌  
WO9900850 A1  
\* 심사관에 의하여 인용된 문헌

심사관 : 오세주

(54) 진딧물의 생물적 방제에 사용되는 진디혹파리 성페로몬 및그의 합성방법

요약

본 발명은 진디혹파리를 이용한 진딧물의 생물적방제에서 상기 진디혹파리의 밀도 조사에 사용되는 진디혹파리 성페로몬 및 그의 합성방법에 관한 것으로서, 본 발명의 진디혹파리 성페로몬은 진디혹파리를 방사하기 전 또는 후에 포장 내 밀도를 예측하여 진딧물의 효율적인 방제를 가능하게 한다.

대표도

도 1

## 색인어

진딧물 \* 진디혹파리 \* 성페로몬 \* 합성방법 \* 생물적 방제

## 명세서

### 도면의 간단한 설명

도 1은 암컷 진디혹파리 1마리에서 추출된 캔디데이트 페로몬(CP)에 대한 불꽃이온화검출기(FID) 및 전기촉각그래프검출기(EAD) 반응을 나타낸 것이다.  
 도 2는 진디혹파리 암컷 및 구조이성체 4종을 이용하여 Y-튜브로 수컷의 유인효과를 검정한 결과를 나타낸 것이다.  
 도 3a는 (2,7)-디아세톡시트리데칸의 4종류의 구조이성체 각각의 트랩에 유인된 진디혹파리 수를 조사한 결과를 나타낸 것이며,  
 도 3b는 (2R,7S)-디아세톡시트리데칸에 다른 구조이성체를 혼합하여 처리한 경우에 각각의 트랩에 유인된 진디혹파리의 수를 조사한 결과를 나타낸 것이다.

### 발명의 상세한 설명

#### 발명의 목적

#### 발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 진디혹파리를 이용한 진딧물의 생물적 방제에 있어서, 상기 진디혹파리의 밀도 조사에 사용되는 진디혹파리 성페로몬 및 그의 합성방법에 관한 것이다. 본 발명의 진디혹파리 성페로몬은 진디혹파리를 방사하기 전 또는 후에 포장 내 밀도를 예측하여 진딧물의 효율적인 방제를 가능하게 한다.

진디혹파리는 파리목 혹파리과 혹파리아과에 속하며, 유럽, 아시아, 북미, 아프리카 등에서 분포하고 있는 것으로 알려져 있다. 진디혹파리는 80여 종에 달하는 진딧물을 포식하며, 방사 지점으로부터 먼 곳으로 잘 날아가지 않는 특징을 가지므로 진딧물의 생물적 방제에 널리 사용되고 있다.

또한, 진디혹파리의 성충은 밤에 왕성하게 활동하므로 온실 내에서 낮 동안에 온도가 높을 때에도 고온에 잘 적응하여 우리 나라의 시설 환경에 적합하고, 시설 내에 방사하면 장기간 생존하고 번식하기 때문에 접종적인 방법으로도 이용할 수 있다.

진디혹파리의 발육기간은 매우 짧아서 25℃에서 15일 정도면 한 세대를 마칠 수 있다. 진디혹파리의 생식력은 집단 내에 있는 암컷 비율 (60-70%)과 산란중인 암컷의 진딧물 탐색 능력에 의하여 결정된다. 알은 진딧물 콜로니 부근에 직접 산란하며, 오이 잎 하나에 3마리 정도만 있으면 산란한다. 산란수는 진딧물 밀도에 따라 달라지며, 부화한 다음에는 유충의 사망률은 낮다.

유충은 진딧물의 헤모 림프를 빨아먹고, 나아가 진딧물 콜로니를 모두 먹어치우기도 한다. 유충은 특히 진딧물의 밀도가 높으면 특수한 독소를 분비하여 필요한 양의 2배에 해당하는 진딧물을 마비시켜 놓은 다음 먹는다.

진디혹파리는 유럽과 북미에서는 이미 상업화에 성공하여, 94년 현재 북미에서는 34개 천적회사에서 판매되고 있고, 97년 현재 유럽에서는 4개 천적회사에서 생산 및 판매되고 있다.

생물적 방제는 약제방제에 비하여 안전하고 환경친화적이라는 장점이 있지만 진디혹파리를 이용한 방제기술의 경우, 진디혹파리를 사육하기 위해서는 진딧물을 먹이로 제공하기 때문에 다른 생물적 방제에 비하여 생산비가 높은 것이 단점이다.

따라서, 진디혹파리를 이용한 생물적 방제작업을 최대한 경제적으로 또한 효과적으로 수행하기 위해서는 진디혹파리의 방사 전 또는 후에 정확하고 신속하게 진디혹파리의 밀도를 파악하는 것이 매우 중요하다.

#### 발명이 이루고자 하는 기술적 과제

이에 본 발명자들은 인공적으로 합성된 진디혹파리의 성페로몬을 이용하여 진디혹파리를 방사하기 전과 후에 포장 내 밀도를 예측함으로써 진디혹파리를 효율적이고 경제적으로 이용할 수 있음을 발견하고 본 발명을 완성하였다.

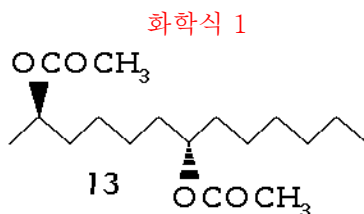
따라서, 본 발명의 목적은 진디혹파리를 이용한 진딧물의 생물적 방제에서 진디혹파리의 포장 내 밀도를 예측하는데 사용되는 진디혹파리 성페로몬을 제공하는 것이다.

또한, 본 발명의 목적은 상기 진디혹파리 성페로몬의 합성방법을 제공하는 것이다.

### 발명의 구성 및 작용

본 발명은 진디혹파리를 이용한 진딧물의 생물적 방제에 있어서, 상기 진디혹파리의 밀도 조사에 사용되는 진디혹파리 성페로몬 및 그의 합성방법에 관한 것이다. 본 발명의 진디혹파리 성페로몬은 진디혹파리를 방사하기 전 또는 후에 포장 내 밀도 및 시기를 예측하여 진딧물의 효율적인 방제를 가능하게 한다.

본 발명의 진디혹파리 성페로몬은 진딧물류의 천적인 진디혹파리의 암컷이 분비하는 것으로서, 본 발명에서는 진디혹파리의 성페로몬을 인공적으로 추출하고 GC-EAD, GC-MS, NMR 등을 이용하여 그 성분을 분석하였다. 분석 결과, 진디혹파리 성페로몬은 (2R,7S)-디아세톡시트리데칸((2R,7S)-DIACETOXYTRIDEKANE)인 것으로 밝혀졌으며, 본 발명에 의해서 인공적으로 합성된 하기 화학식 1의 진디혹파리 성페로몬이 수컷 유인효과가 있음을 실험을 통하여 확인하였다.



#### [참조예 1] 진디혹파리 성페로몬의 성분 분석

진디혹파리 성페로몬을 추출하기 위하여, 진디혹파리 암컷 복부의 8~9마디 사이에 있는 페로몬샘을 분리하여 hexanone으로 추출하였다. 그 다음, 상기 추출물에 대하여 가스 크로마토그래피(Gas Chromatography), 및 가스 크로마토그래피와 진디혹파리의 안테나를 생물센서로 이용하는 분석법인 GC-EAD 기법을 이용하여 그 성분을 분석하였다. 도 1은 암컷 1 마리에서 추출된 candidate 페로몬(candidate pheromone, CP)에 대한 불꽃이온화검출기(Flame ionization detector, FID) 및 전기촉각그래프검출기(electroantennographic detector, EAD) 반응을 그래프로 나타낸 것이다.

분석 결과, 극성이 다른 3종의 칼럼(DB-5, DB-23, DB-210)을 이용하여 얻어진 체류지수(RI, retention index)를 근거로 진디혹파리 성페로몬의 화학구조를 추정하여, 2개의 아세틸기를 갖는 탄소수 13개의 탄수화물의 일종이 진디혹파리의 페로몬 성분임을 확인하였다.

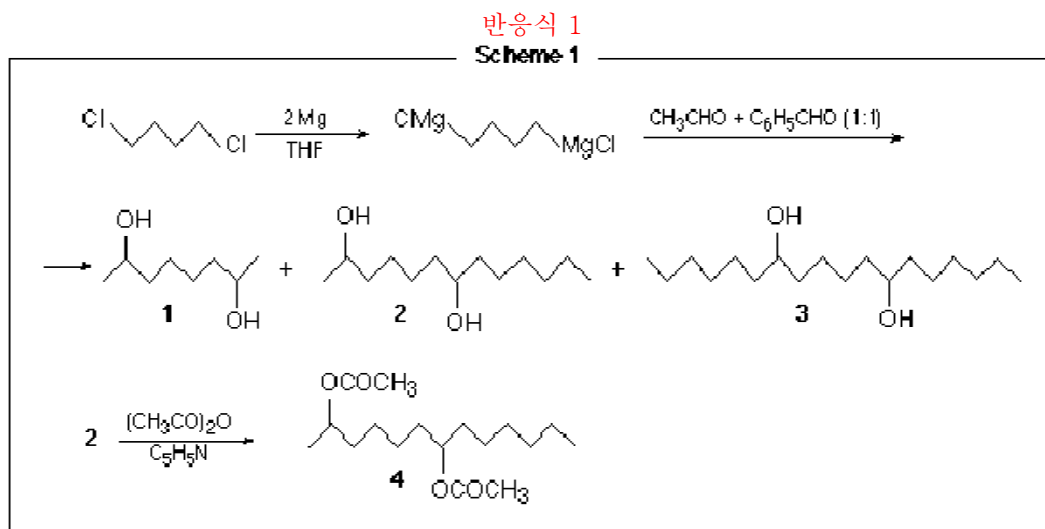
#### [참조예 2] 모델 페로몬 성분인 (2,7)-디아세톡시트리데칸((2,7)-Diacetoxytridecane) 합성

참조예 1에서 분석한 결과에 기초하여, 하기 합성과정에 따라 모델 페로몬 성분을 합성하였으며, 합성과정을 하기 반응식 1에 나타내었다.

(1) 15 mmol(1.65 ml)의 1,4-디클로로부탄(1,4-Dichlorobutane)과 1.1 g의 Mg (45 mmol)을 50 ml의 THF와 함께 3시간 동안 반응시켜 그리냐드 시약(Grignard reagent)을 형성;

(2) 반응액을 0℃까지 식힌 다음, 1.12 ml(20 mmol)의 아세트알데히드(acetaldehyde)와 2.80 ml(20 mmol)의 헵타날(heptanal) 혼합액에 30 ml의 THF을 한 방울씩 떨어뜨리며 저어주고 30분 동안 반응시킨 후, 진한 NH<sub>4</sub>Cl액으로 반응을 정지시켜 그 반응 산물을 에테르(ether)(3 × 75 ml)로 추출하여 브라인(brine)으로 세척한 후, 무수 황산마그네슘(MgSO<sub>4</sub>)으로 감압 건조;

(3) 반응산물(반응식 1의 디올(diols) 1, 2, 3 = 1.1 : 2 : 0.9)을 50 g의 실리카(silica) 칼럼을 이용하여 헥산/에테르(hexane/ether)(에테르 비율 : 15% 내지 50%)로 분리추출한 후, 0.40 g (1.73 mmol)의 디올 2를 과량의 무수초산(1 ml)과 피리딘(3 ml)으로 아세틸화시켜 칼럼 크로마토그래피로 0.415 g의 디아세톡시트리데칸(diacetoxytridecane)(반응식 1의 화학식 4)(1.38 mmol, 80% 수율)을 얻었다.

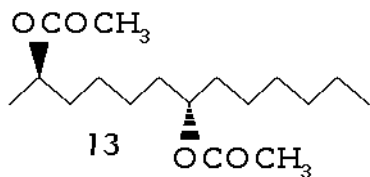


[실시예] 구조이성체 (2*R*,7*S*)-디아세톡시트리데칸((2*R*,7*S*)-diacetoxytridecanes)의 합성

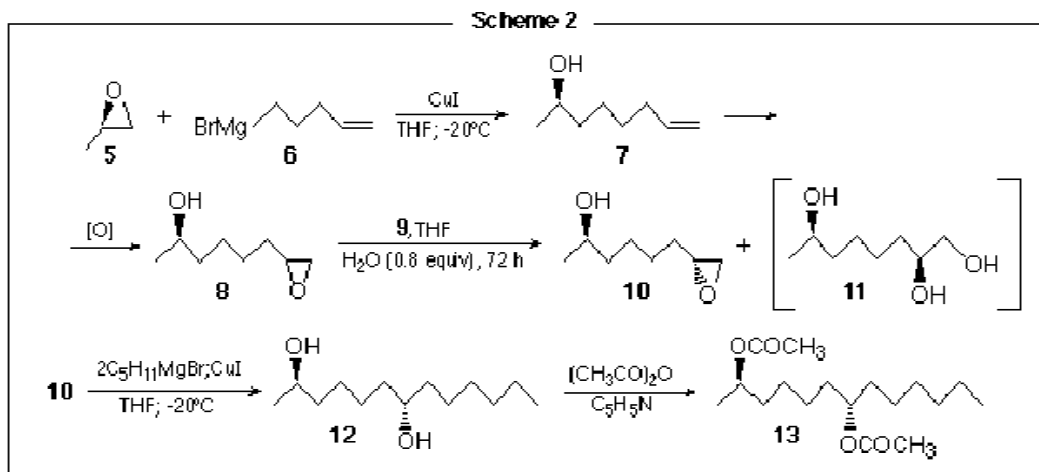
하기 합성과정에 따라 진디혹파리의 성페로몬을 합성하고, 합성과정을 하기 반응식 2에 표시하였다.

- (1) 28.6mmol(2ml)의 (R)-프로필렌옥사이드((R)-Propylene oxide)(반응식 2의 화학식 5)와 40mmol의 1-펜텐-5-일 마그네슘 브로마이드(1-pentene-5-yl magnesium bromide)(반응식 2의 화학식 6)를 4mmol(0.76g)의 요오드화구리(CuI)를 촉매로 하여 -20℃에서 1시간 동안 반응시킴;
- (2) 반응산물을 0℃가 되도록 한 후, 진한 염화암모늄(NH<sub>4</sub>Cl)을 첨가하여 반응을 정지시키고, 가스 크로마토그래피를 이용하여 (2*R*)-7-옥텐-2-올((2*R*)-7-octen-2-ol)(반응식 2의 화학식 7) 순수분리;
- (3) 과량의 *m*-클로로-과벤조산(*m*-chloro-perbenzoic acid)(9.6g, 43mmol) 및 디클로로메탄(dichloromethane)과 함께 0℃에서 5시간, 실온에서 2시간 산화;
- (4) 염(2N NaOH)을 처리하여 50ml의 에테르(ether)로 3.6g의 말단 에폭사이드(terminal epoxide)(반응식 2의 화학식 8)를 추출;
- (5) 7.0mmol(1.00g)의 말단 에폭사이드(terminal epoxide)를 Co(II) 살렌(salene (Jacobsens 제조)) 촉매(반응식 2의 화학식 9)와 함께 2ml의 무수 THF속에서 72시간 동안 HKR(0.80 당량의 H<sub>2</sub>O (0.1ml)소모)를 수행;
- (6) (2*R*,7*R*)-1,2-에폭시-7-히드록시옥탄((2*R*,7*R*)-1,2-Epoxy-7-hydroxyoctane)(반응식 2의 화학식 10)을 크로마토그래피[SiO<sub>2</sub> 10 g; 용매 에테르/헥산 (1:1)]로 분리;
- (7) 과량의 펜틸마그네슘 브로마이드(pentylmagnesium bromide)(21mmol)와 2.1mmol(0.40g)의 요오드화구리(CuI) 촉매 하에 -25℃에서 1시간 처리;
- (8) (2*R*,7*S*)-입체이성체((2*R*,7*S*)-stereoisomer)(반응식 2의 화학식 12)를 2ml의 아세트산무수물(acetic anhydride) 과 5ml의 피리딘(pyridine)을 넣어 12시간 동안 실온에서 에스테르화; 및
- (9) 크로마토그래피를 이용하여 하기 화학식 1로 표시되는 (2*R*,7*S*)-디아세톡시트리데칸((2*R*,7*S*)-Diacetoxytridecane)(반응식 2의 화학식 13) 0.90g을 정제.

[화학식 1]



반응식 2



(2*R*,7*S*)-diacetoxytridecane의 화학구조적 특성: Anal. calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>: C 67.96; H 10.73. Found: C 68.01; H 10.78. <sup>1</sup>H NMR: CDCl<sub>3</sub>, δ = 4.80–4.92 (2H, m), 2.03 (3H, s), 2.02 (3H, s), 1.45–1.55 (6H, m), 1.21–1.35 (12H, m), 1.19 (3H, d), 0.88 (3H, t); GC-MS [*m/z* (relative intensity)]: 41 (19), 43 (100), 55 (20), 67 (37), 81 (24), 95 (84), 97 (37), 111 (31), 113 (29), 125 (21), 180 (4), 197 (8).

[시험예 1] 구조이성체 (2,7)-디아세톡시트리데칸((2,7)-diacetoxytridecanes)에 대한 생물검정

실시예와 같은 방법으로 각각 합성된 구조이성체 4종((2*R*,7*R*)-, (2*R*,7*S*)-, (2*S*,7*R*)-, (2*S*,7*S*)- 디아세톡시트리데칸)에 대한 진디혹파리 수컷의 안테나 반응을 GC-EAD법으로 분석한 결과 4종 모두 안테나 반응을 유발하였다. 그러나 진디혹파리 암컷 및 구조이성체 4종을 이용하여 Y-tube로 수컷의 유인효과를 검정한 결과, 도 2에 표시된 바와 같이 암컷에는 수컷 20개체 중 8마리가 유인된 반면, (2*R*,7*S*)-디아세톡시트리데칸에는 18마리, (2*R*,7*R*)-디아세톡시트리데칸에는 12마리가 유인되어 암컷자체를 이용했을 때 보다도 높은 유인효과를 보였다. 단, (2*S*, 7*R*)- 및 (2*S*, 7*S*)-에 대해서는 각각 4마리 및 5마리로 낮은 유인효과를 나타내었다. 이러한 결과에 의하여, (2*R*, 7*S*)-디아세톡시트리데칸이 진디혹파리의 성페로몬 활성을 가진다는 것을 확인할 수 있었다.

[시험예 2] 온실내 트랩을 이용한 유인효과 검정

시험예 1에서 사용된 4종류의 구조이성체에 의한 수컷 유인효과를 포장(온실)내에서 조사하였다. 수컷의 포획을 위하여 성페로몬 후보물질을 각각 1μg씩 2~4개 성분을 조합하여 처리한 끈끈이트랩을 이용하였다. 진디혹파리를 각각의 트랩이 설치된 온실마다 500마리씩 풀어놓고 7일 후 각각의 트랩에 유인된 진디혹파리 수를 조사하였다.

그 결과, 도 3a에 표시된 바와 같이, (2*R*,7*S*)-디아세톡시트리데칸 처리구에서 높은 유인효과를 보인 반면에 다른 구조이성체를 처리하였을 경우는 무처리구와 비슷한 매우 적은 유인효과를 보였다.

또한, (2*R*,7*S*)-디아세톡시트리데칸에 다른 구조이성체 물질을 혼합하여 처리하였을 때에는, 도 3b에 표시된 바와 같이, (2*R*,7*R*)- 및 (2*S*,7*R*)-을 혼합하여 처리한 트랩에서는 오히려 유인된 수컷의 수가 매우 낮아 유인을 억제하는 것으로 조사되었다.

따라서, 시험예 1의 경우와 마찬가지로 (2*R*,7*S*)-디아세톡시트리데칸이 우수한 수컷 유인효과를 가짐을 알 수 있었다.

발명의 효과

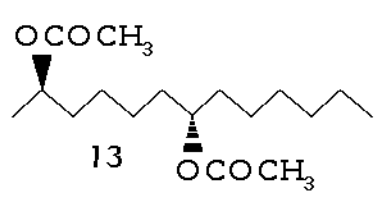
이상에서 살펴본 바와 같이, 본 발명의 진디혹파리 성페로몬은 진디혹파리를 이용한 진딧물의 생물학방제에서 상기 진디혹파리의 밀도 조사에 사용됨으로써, 진디혹파리를 방사하기 전 또는 후에 포장 내 밀도를 예측하여 진딧물의 효율적인 방제를 가능하게 한다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

하기 화학식 1로 표시되는 진디혹파리 성페로몬 화합물인 (2R,7S)-디아세톡시트리데칸((2R,7S)-diacetoxytridecane).

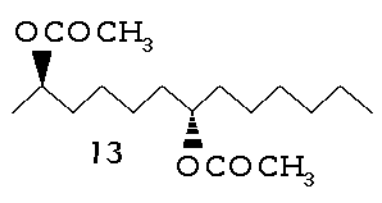
[화학식 1]



청구항 2.

하기 화학식 1의 진디혹파리 성페로몬 화합물을 유효성분으로 함유하는 수컷 진디혹파리 유인용 조성물.

[화학식 1]



청구항 3.

- (1) 28.6mmol(2ml)의 (R)-프로필렌옥사이드((R)-Propylene oxide)와 40mmol의 1-펜텐-5-일 마그네슘 브로마이드(1-pentene-5-yl magnesium bromide)를 4mmol(0.76g)의 요오드화구리(CuI)를 촉매로 하여 -20℃에서 1시간 동안 반응;
- (2) 반응산물을 0℃가 되도록 한 후, 진한 염화암모늄(NH<sub>4</sub>Cl)을 첨가하여 반응을 정지시키고, 가스 크로마토그래피를 이용하여 (2R)-7-옥텐-2-올((2R)-7-octen-2-ol) 순수분리;
- (3) 과량의 m-클로로-과벤조산(m-chloro-perbenzoic acid)(9.6g, 43mmol) 및 디클로로메탄(dichloromethane)과 함께 0℃에서 5시간, 실온에서 2시간 산화;
- (4) 염(2N NaOH)을 처리하여 50ml의 에테르(ether)로 3.6g의 말단 에폭사이드(terminal epoxide)를 추출;
- (5) 7.0mmol(1.00g)의 말단 에폭사이드(terminal epoxide)를 Co(II) 살렌(salene (Jacobsens 제조)) 촉매와 함께 2ml의 무수 THF속에서 72시간 동안 HKR(0.80 당량의 H<sub>2</sub>O (0.1ml)소모)를 수행;

(6) (2R,7R)-1,2-에폭시-7-히드록시옥탄((2R,7R)-1,2-Epoxy-7-hydroxyoctane)을 크로마토그래피 [ $\text{SiO}_2$  10 g; 용매 에테르/헥산 (1:1)]로 분리;

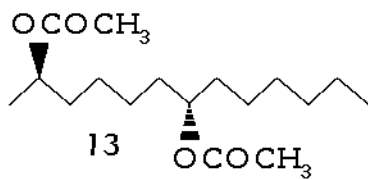
(7) 과량의 펜틸마그네슘 브로마이드(pentylmagnesium bromide)(21mmol)와 2.1mmol(0.40g)의 요오드화구리( $\text{CuI}$ ) 촉매 하에  $-25^\circ\text{C}$ 에서 1시간 처리;

(8) (2R,7S)-입체이성체((2R,7S)-stereoisomer)를 2ml의 아세트산무수물(acetic anhydride) 과 5ml의 피리딘(pyridine)을 넣어 12시간 동안 실온에서 에스테르화; 및

(9) 크로마토그래피를 이용하여 (2R,7S)-디아세톡시트리테칸((2R,7S)-Diacetoxytridecane) 0.90g 정제;

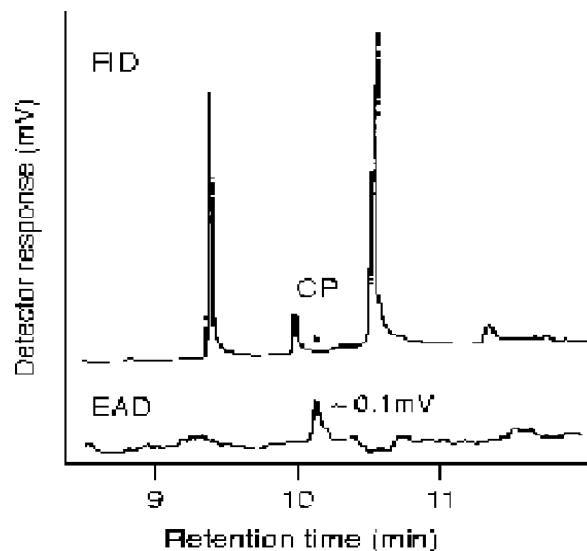
를 포함하는 하기 화학식 1의 진디혹파리 성페로몬 화합물의 합성방법.

[화학식 1]

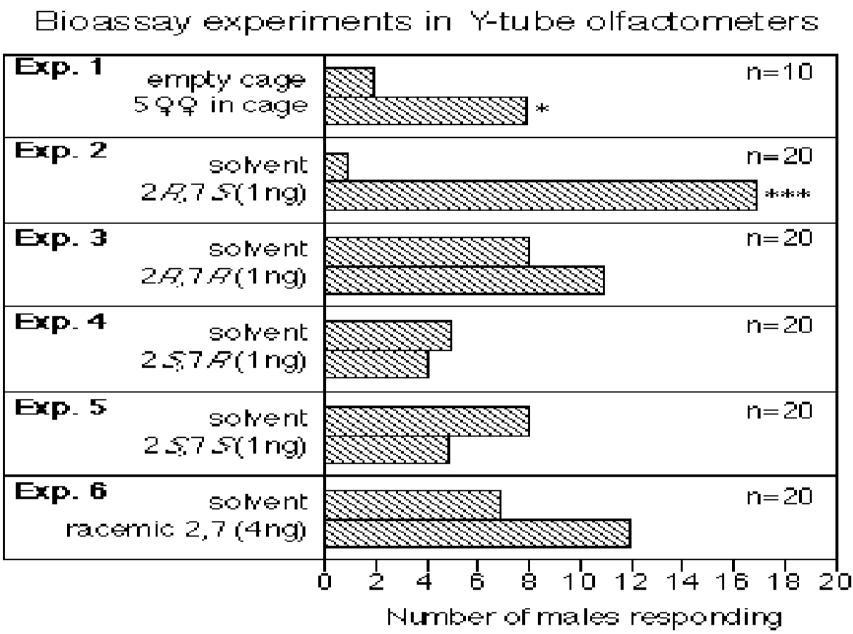


도면

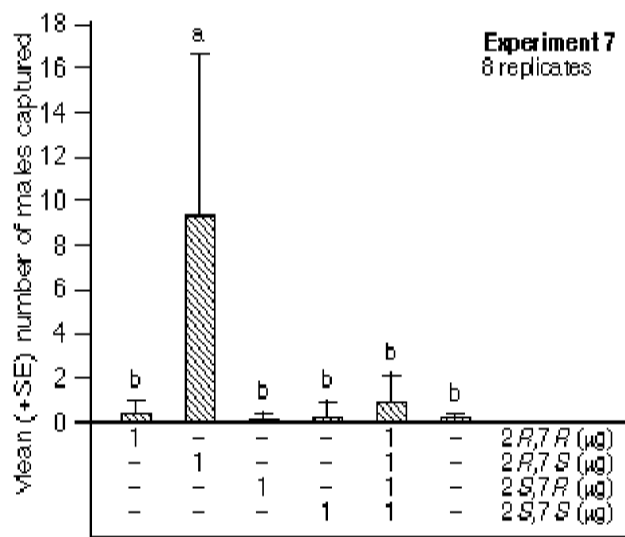
도면1



도면2



도면3a



도면3b

