(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년04월05일
(11) 등록번호 10-1251338
(24) 등록일자 2013년04월01일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A01N 37/18* (2006.01) *A01N 65/08* (2009.01)
*A01P 7/04* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0112743
(22) 출원일자 2010년11월12일
심사청구일자 2010년11월12일
(65) 공개번호 10-2012-0051349
(43) 공개일자 2012년05월22일
(56) 선행기술조사문헌
Planta Med., Vol. 67, pp. 863-864(2001)*
Phytomedicine, Vol. 9, pp. 249-253(2002)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
**경기도**
경기도 수원시 팔달구 효원로 1 (매산로3가)
(72) 발명자
**이지영**
서울특별시 관악구 솔밭로7길 16, 302동 502호 (봉천동, 낙성대현대홈타운)
**한영희**
경기도 수원시 팔달구 세지로314번길 73 (지동)
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**특허법인 동원**

전체 청구항 수 : 총 6 항 심사관 : 유준석

(54) 발명의 명칭 **농작물 해충의 살충활성을 가지는 화합물, 이를 포함한 살충활성 조성물 및 그의 살충방법**

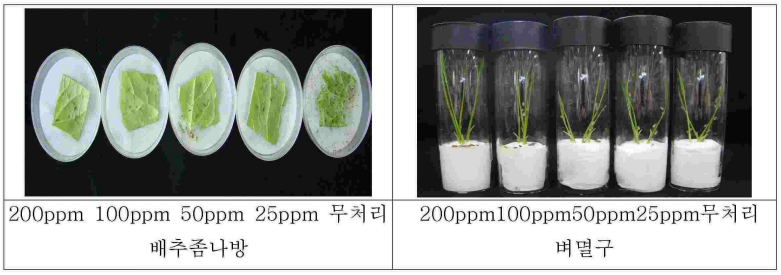
## (57) 요 약

본 발명은 배추좀나방(*Plutella xylostella*), 벼멸구과(*Nilaparvata lugens*) 해충의 살충활성을 가지는 화합물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 합성 농약을 대체할 수 있는 천연식물, 즉 족도리풀(*Asarum sieboldii*) 뿌리로부터 분리 정제한 화합물과 그 화합물을 유효성분으로 포함한 살충활성 조성물 및 상기 화합물 또는 상기 살충활성 조성물을 이용하여 살충하는 방법에 관한 것이다.

본 발명의 방법에 따라 족도리풀(*Asarum sieboldii*)의 뿌리로부터 분리 정제한 배추좀나방(*Plutella xylostella*), 벼멸구과(*Nilaparvata lugens*) 해충의 살충활성이 뛰어난 천연 농약화합물을 제조하여 합성 농약을 대체할 수 있고, 이로 인해 종래 합성 농약으로 토양이 오염되는 문제를 해결하는 효과가 있다.

또한, 족도리풀(*Asarum sieboldii*) 뿌리로부터 분리 정제한 화합물을 유효성분으로 포함한 살충활성 조성물 및 이들을 함유한 방제제를 개발하여 배추좀나방(*Plutella xylostella*), 벼멸구과(*Nilaparvata lugens*)의 충해를 예방하거나 방제하는 데 탁월한 효과를 가져올 수 있다.

*대 표 도* - 도1



| 200ppm 100ppm 50ppm 25ppm 무처리 | 200ppm100ppm50ppm25ppm무처리 |
|---|---|
| 배추좀나방 | 벼멸구 |

(72) 발명자

**소호섭**

경기도 성남시 분당구 불정로 361, 511동 702호 (서현동, 효자촌)

**이현주**

경기도 수원시 영통구 영통로 232, 벽적골8단지아파트 822동 2006호 (영통동)

**김성기**

경기도 수원시 영통구 봉영로 1526, 살구골 7단지아파트 704동 1601호 (영통동)

**임재욱**

경기도 수원시 권선구 권중로 31, 신안 303-1002 (권선동, 풍림아파트)

**박경열**

경기도 화성시 석우동 55 동탄예당마을 롯데캐슬아파트 145-1803

**김영호**

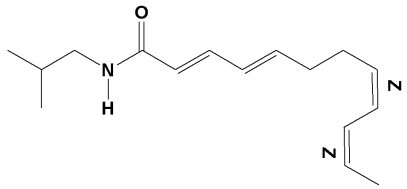
경기도 수원시 영통구 청명북로 33, 삼성래미안아파트 433-1204 (영통동)

## *특허청구의 범위*

**청구항 1**

다음 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 배추좀나방(*Plutella xylostella*) 해충의 살충활성 조성물.

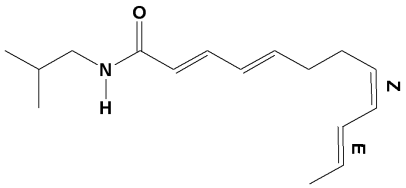
화학식 1



**청구항 2**

다음 화학식 2로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 배추좀나방(*Plutella xylostella*) 해충의 살충활성 조성물.

화학식 2



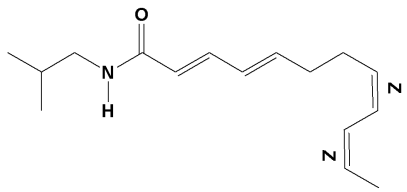
**청구항 3**

제1항 또는 제2항의 살충활성 조성물을 이용한 배추좀나방(*Plutella xylostella*) 해충의 살충방법.

**청구항 4**

다음 화학식 1로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 벼멸구과(*Nilaparvata lugens*) 해충의 살충활성 조성물.

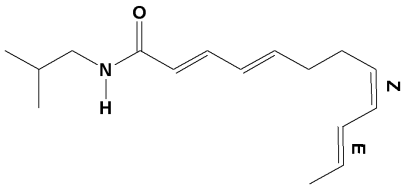
화학식 1



**청구항 5**

다음 화학식 2로 표시되는 화합물을 유효성분으로 포함하는 벼멸구과(*Nilaparvata lugens*) 해충의 살충활성 조성물.

화학식 2



**청구항 6**

제4항 또는 제5항의 살충활성 조성물을 이용한 벼멸구과(*Nilaparvata lugens*) 해충의 살충방법.

**청구항 7**

삭제

# 명 세 서

## 기 술 분 야

[0001] 본 발명은 배추좀나방(*Plutella xylostella*), 벼멸구과(*Nilaparvata lugens*) 해충의 살충활성을 가지는 화합물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 합성 농약을 대체할 수 있는 천연식물, 즉 족도리풀(*Asarum sieboldii*) 뿌리로부터 분리 정제한 화합물과 그 화합물을 유효성분으로 포함한 살충활성 조성물 및 상기 화합물 또는 상기 살충활성 조성물을 이용하여 살충하는 방법에 관한 것이다.

## 배 경 기 술

[0002] 본 발명의 살충 대상되는 배추좀나방과(*Plutella xylostella*) 해충은, 나비목(鱗翅目) 집나방과에 해당하며, 성충은 몸길이 약 6㎜이며 날개길이가 12 ~ 16㎜인 작은 나방이다. 앞날개는 회흑색 또는 회황색이다. 배추 또는 양배추 등의 겨자과 작물을 가해하는 해충이다. 알은 타원형으로 납작하고 진주광택을 내며 그물 모양의 무늬가 있고 엷은 황록색이다. 유충은 원통형이고 앞뒤가 가늘며 몸은 대개 녹색이지만 담황색, 황적색 또는 회색 등 변이가 심하다. 먹이풀의 앞뒷면에 1개씩 낱개로 산란한다. 유충은 잎맥을 따라 잎살만 먹는다. 자라면서 잎 뒷면에 기생하며 겉껍질만 남기고 갉아먹는다. 배추좀나방과(*Plutella xylostella*) 해충에 의한 병충해는 1년 중 주로 5-6월에 특히 발생이 많으나 여름에는 발생이 적고 가을에 다시 많아진다. 피해가 심하면 작물 전체가 희게 보인다. 주로 배추, 양배추 또는 무 등의 잎을 먹는다. 한국에서는 최근에 특히 산간 지방을 중심으로 그 피해가 많이 나타나고 있다.

[0003] 본 발명의 살충 대상인 벼멸구(*Nilaparvata lugens*)는, 매미목(同翅目) 멸구과에 속하는 곤충으로써. 흰등멸구, 노랑다리멸구와 함께 쌀을 생산하는 벼의 큰 해충이다. 벼멸구(*Nilaparvata lugens*)는 장시형(長翅型)은 머리꼭대기에서 날개끝까지 4.5 ~ 5㎜이고, 단시형은 3.3㎜ 내외로, 온몸이 연한 갈색 또는 어두운 갈색이며 약간 광택이 있다. 머리의 융기(隆起)는 뚜렷하지 않다. 그래서 갈색멸구라고도 칭한다. 도톰한 넓적다리마디는 도톰하며 종아리마디는 길고 날씬하다. 그러나 매미충과와는 달리 종아리마디에 센털이 줄지어 있지 않으며, 발목마디와 종아리마디 사이에 '가동거'라는 커다란 돌기가 있다. 뒷다리의 첫째 발목마디에 2~6개의 가시가 줄지어 있다. 벼멸구(*Nilaparvata lugens*) 해충은 볏대 아랫부분의 즙액을 빨아먹으므로 피해를 입으면 벼가 쉽게 쓰러진다. 벼멸구(*Nilaparvata lugens*) 해충으로부터 피해를 입으면 벼가 잘 자라지 않고 심하면 벼가 말라죽는다. 피해시기에 따라 벼 농작물의 수량이 급속하게 감소되며, 쌀의 품질도 떨어진다. 조생종보다는 만생종 품종에서 피해가 많고 척박한 토양보다 비옥한 토양에서 피해가 많다. 또 건답보다는 습답에서 피해가 많다. 중국 남부 지역에서 6~7월 남서풍을 타고 옮겨오는 해충으로, 한국에서는 남서 해안 지역에서 나타나 피해를 많이 일으킨다. 나타나는 시기가 빠른 해에는 6월 하순부터 발생해 3세대를 경과하면서 증식해 피해를 준다. 동남아시아, 호주 등지에 분포한다.

[0004] 본 발명의 족도리풀(*Asarum sieboldii*)은 쥐방울 덩굴목 쥐방울 덩굴과의 여러해살이풀에 해당하며 산지의 나무

그늘에서 자란다. 쌍떡잎식물로서 잎은 보통 2개씩 나오고 긴 자루가 있으며 심장 모양으로 나비 5 ~ 10㎝이고 가장자리가 밋밋하다. 잎은 뿌리줄기의 마디에서 보통 2장씩 나오는데 하트모양으로 긴 잎자루에 달린다. 가장자리는 밋밋하고 뒷면 맥 위에 털이 밀생한다. 4월에 잎 사이에서 꽃대가 나와 그 끝에 검붉은 색의 꽃이 1개가 옆으로 보고 핀다. 꽃이 피기 전의 닫힌 꽃봉오리가 부이들이 머리에 쓰는 족두리를 닮았으며 딱딱한 편이다. 꽃잎은 없고 꽃받침통 위쪽이 3갈래로 갈라져 뒤로 젖히는데 갈래 조각은 대개 삼각형이다. 장과인 열매는 꽃받침조각이 남고 8~9월에 익는다. 족도리풀(*Asarum sieboldii*)의 뿌리줄기는 마디가 많고 옆으로 비스듬히 기며 마디에서 뿌리가 내린다. 뿌리줄기는 옆으로 비스듬히 기면서 자라는데 마디가 많고 수염뿌리가 내린다. 뿌리를 '세신이라 하여 한약재로 이용한다. 그리고 족도리풀(*Asarum sieboldii*)은 산지 숲 속에서 자라는 다년생 초본이다. 국외로는 일본, 중국 등지에 분포한다.

[0005] 본 발명에서는 배추 등에 충해를 입히는 배추좀나방과(*Plutella xylostella*) 해충에 대한 생체 내 실험(*in vivo*)검정에 초점을 맞추었고, 벼멸구는 포장재배 실험을 통한 충해 억제 및 방제에 의한 살충율 여부를 확인하였다.

[0006] 배추좀나방과, 벼멸구의 방제를 위한 식물유래 천연물질 탐색에 대한 연구를 진행하는 동안, 족도리풀 뿌리의 메탄올 추출물이 배추에 발생하는 배추좀나방에 대하여 높은 살충 활성을 나타내는 것을 발견하였다. 생물검정법과 각종 크로마토그래피 기술을 이용하여, 배추좀나방에 대하여 살충 활성을 갖는 족도리풀 뿌리의 메탄올 추출물로부터 특정 화합물(하기 화학식 1,2 구조의 화합물)을 성공적으로 분리하였다.

## *발명의 내용*

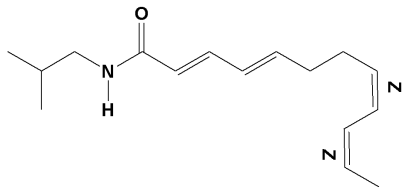
### *해결하려는 과제*

[0007] 본 발명자들은 배추, 무 등의 채소를 재배하는 농가의 골칫거리인 배추좀나방과 우리나라 최대 농작물인 벼에 충해를 입히는 벼멸구를 방제할 수 있는 친환경 살충조성물을 개발하기 위하여 족도리풀(*Asarum sieboldii*) 식물에 대해 연구한 결과, 족도리풀 뿌리 추출물, 또는 이로부터 분리한 화합물이 배추좀나방 및 벼멸구에 대하여 탁월한 살충 효과를 발휘하는 사실을 알게 되었다.

[0008] 그래서 본 발명의 목적은 본 발명의 방법에 의해 족도리풀 뿌리로부터 분리한 살충활성을 가지는 하기 화학식 1, 2의 화합물을 제공하는데 있다.

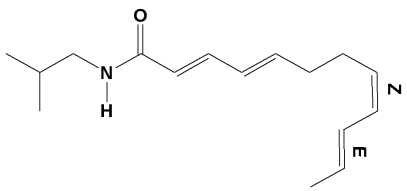
[0009] 또한, 본 발명의 다른 목적은 족도리풀 뿌리로부터 분리된, 다음 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물을 포함하는 농작물 해충의 살충활성 조성물을 제공하는데 있다.

[0010] 화학식 1



[0011]

[0012] 화학식 2



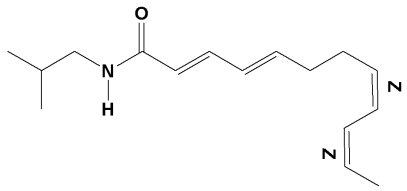
[0013]

[0014] 또한, 본 발명의 목적은 족도리풀 뿌리로부터 분리된, 상기 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물을 포함하는 살충활성 조성물을 이용하여 농작물 해충을 살충하는 방법을 제공하는 것이다.

## *과제의 해결 수단*

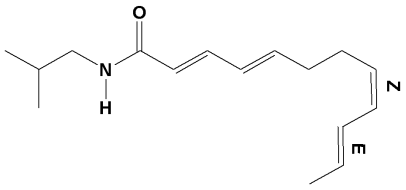
[0015] 본 발명은 배추좀나방과(*Plutella xylostella*) 해충, 벼멸구(*Nilaparvata lugens*) 해충의 살충활성을 가지는 다음 화학식 1 또는 화학식 2로 표시되는 화합물인 것이다.

[0016] 화학식 1



[0017]

[0018] 화학식 2



[0019]

[0020] 이하, 본 발명을 더욱 상세히 설명하면 다음과 같다.

[0021] 본 발명에 있어서는, 농작물 해충, 특히 배추좀나방과(*Plutella xylostella*) 해충, 벼멸구(*Nilaparvata lugens*) 해충에 대한 강한 살충활성을 갖는 식물 추출물에 대한 연구를 통해, 족도리풀(*Asarum sieboldii*) 뿌리의 메탄올 추출물이 식물체에 침입한 배추좀나방과(*Plutella xylostella*) 또는 벼멸구(*Nilaparvata lugens*) 해충에 대하여 높은 방제효과를 나타내는 것을 확인하였다.

[0022] 상기한 족도리풀(*Asarum sieboldii*)로부터 살충 성분을 단리하기 위해서 최적의 추출 유기용매를 스크리닝하였다.

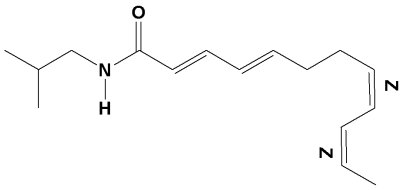
[0023] 이를 위하여 먼저, 배추좀나방과(*Plutella xylostella*) 해충, 그리고 벼멸구(*Nilaparvata lugens*) 해충에 대하여 다양한 유기용매 추출물의 살충활성검사를 실시하였다. 그 결과, 메탄올 추출물이 80% 이상의 아주 강력한 살충활성을 나타내는 것을 확인하여 조추출 단계를 위한 유기용매로써 메탄올이 선택되었다.

[0024] 본 발명에 따르면, 족도리풀(*Asarum sieboldii*) 뿌리를 건조하여 분쇄한 건시료와 유기용매, 바람직하게는 메탄올을 1 : 10 내지 1 : 40의 중량비율로 혼합하여 48시간 이상 상온에서 추출하여 여과한 후 여과액을 진공감압농축기를 이용하여 완전농축하고 동결건조기에서 건조시켜서 건조형태의 추출물을 얻는다.

[0025] 상기한 방법으로 얻어진 족도리풀(*Asarum sieboldii*)에 대한 메탄올 조추출물을 헥산, 에틸아세테이트 및 부탄올로 순차적으로 분획하여 3개의 유기용매층과 1개의 수용액층을 얻었다. 4개의 층 중에서 헥산층이 배추좀나방에 가장 강력한 활성을 나타내었고(표 3-족도리풀 헥산층 컬럼크로마토그래피 분획의 배추좀나방 살충효과), 에틸아세테이트층, 부탄올층 및 수용액층 순서로 활성을 보였다.

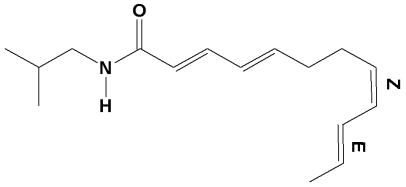
[0026] 따라서 헥산층으로부터 족도리풀(*Asarum sieboldii*) 뿌리의 살충활성 성분을 단리하고자 하였다. 상기한 헥산층으로부터 생물검정법을 통해 하기한 화학식 1과 화학식 2로 표시되는 화합물을 족도리풀(*Asarum sieboldii*)로부터 성공적으로 분리하였다. 분리한 화합물에 대하여는 질량분석, 핵자기공명분석(NMR) 및 문헌 비교 등을 통하여 구조를 결정하였다.

[0027] 화학식 1



[0028]

[0029] 화학식 2



[0030]

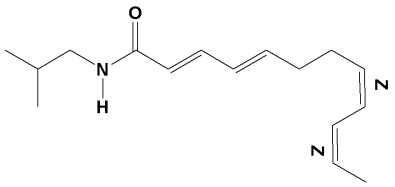
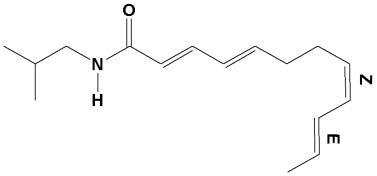
[0031] 본 발명에 있어서, 구조분석 결과에 따르면 **소치모 메이저(Sauchimohe_major)(major 6)의** $^{1}$H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 스펙트럼에서 $d_H$ 7.14 (*J*=14.8, 10.4 Hz, H-3), 6.24 (*J*=16.4, 10.4 Hz, H-4), 6.30-5.91 (5H, overlap), 5.80 (*J*=14.8 Hz, H-2), 5.52 (H-10) 및 5.39 (*J*=9.2, 6.4 Hz, H-11)의 값으로부터 올레피닉 메틴 프로톤 시그널(olefinic methine proton signal)을 확인할 수 있었고, $d_H$ 3.14 (2H, t, *J*=6.8, H-13), 1.76 (1H, m, H-14), 0.89 (6H, *J*=6.4 Hz, H-15, 16)의 시그널로부터 이소부틸렌 그룹(isobutylene group)을 확인할 수 있었다. 또한 고자장 영역에서, 겹쳐있는 2개의 메틸렌(methylene) [$d_H$ 2.22 (4H, H-6, 7)] 시그널 및 말단 메틸 시그널(terminal methyl signal) [$d_H$ 1.71 (*J*=6.4 Hz, H-12)]이 확인되었다. $^{13}$C-NMR 및 DEPT 스펙트럼에서 16개의 탄소 시그널(carbon signal)을 확인 할 수 있었고, HSQC 그펙트럼의 크로스 피크(cross-peak)를 확인 한 결과 각 시그널을 동정 할 수 있었다. 저자장 영역에서, 카보닐 질소 시그널(carbonyl-nitrogen signal) [$d_c$ 166.51 (C-1)] 및 다수의 올레피닉 메틴 탄소 시그널(olefinic methine carbon signal) [$d_c$ 141.70 (C-5), 140.88 (C-3), 128.83 (C-4), 130.07 (C-11), 126.75 (C-10), 124.31 (C-8), 124.18 (C-9), 122.47 (C-2)]이 관측되었다. 고자장 영역에서는 1개의 메틴 탄소(methine carbon) [$d_c$ 28.67 (C-14)], 3개의 메틸렌 탄소(methylene carbon) [$d_c$ 47.02 (C-13), 32.93 (C-6), 26.81 (C-7)], 및 메틸 탄소 시그널(methyl carbon signal) [$d_c$ 20.21 (C-15, 16), 13.21 (C-12)]이 관측되었다. 저자장으로 이동된 질소-메틸렌 시그널(nitrogen-metylene signal) [$d_H$ 3.14 (H-13)]이 HMBC 스펙트럼에서 메틴 카본(methine carbon) [$d_c$ 28.67 (C-14)] 및 메틸 탄소(methyl carbon) [$d_c$ 20.21 (C-15, 16)]과의 크로스-피크(cross-peak)를 확인한 결과, 각 시그널의 연결고리를 확인 할 수 있었고, 카보닐 질소 시그널(carbonyl-nitrogen signal) [$d_c$ 166.51 (C-1)]과의 크로스-피크(cross-peak)를 보여줌에 따라, 이소부틸아마이드 그룹(isobutylamide group)임을 증명하였다. $^{1}$H-$^{1}$H COSY 스펙트럼으로부터 이중결합의 위치가 C-2, C-4, 및 C-8, C-10 임을 확인하였다. 올레피닉 메틴 프로톤(olefinic methine proton) (H-2, H-3)이 14.8 Hz로 카플링하는 것으로 미루어 *trans*-배향임을 확인하였고, H-4 과 H-5의 커플링 값이 16.4 Hz로 *trans*-배향임을 증명하였다. HSQC 스펙트럼의 크로스-피크(cross-peak)를 확인 된 올레핀 메틴 프로톤 시그널(olefine methine proton signal) [$d_H$ 5.39 (H-11)]의 coupling 값이 9.2 Hz로 *cis*-배향임을 증명하였고, 말단 메틸(terminal methyl) (H-12)과 6.4 Hz로 커플링함에 따라 이중결합의 위치를 결정 하였다. 위 데이터를 종합해 본 결과, 소치모 메이저(sauchimohe_major)는 dodeca-2*E*,4*E*,8*Z*,10*Z*-tetraenoic acid isobutylamide (화합물 **1**)로 구조 동정하였다.

[0032] **소치모 마이너(Sauchimohe_minor) (minor 4)의** $^{1}$H-NMR 및 $^{13}$C-NMR 스펙트럼은 화합물 **1**과 매우 유사한 값을 나

타내었지만, 올레핀 메틴 프로톤 시그널(olefine methine proton signal) [$d_H$ 5.67 (H-11)]의 커플링 값이 14.8 Hz로 화합물 **1**과는 달리 *trans*-배향임을 증명하였고, dodeca-2*E*,4*E*,8*Z*,10*E*-tetraenoic acid isobutylamide (화합물 **2**)로 구조 동정하였다. 프로톤 NMR 스펙트럼의 각 시그널의 적분 값을 계산 한 결과, 두 화합물은 6:4의 비율로 혼합되어 있음을 확인하였다.(표 1)

*표 1*

[0033]

| 화합물 |  |  |
|---|---|---|
| 화합물명 | 화학식 1 :<br>dodeca-2*E*,4*E*,8*Z*,10*Z*-tetraenoic acid isobutylamide | 화학식 2 :<br>dodeca-2*E*,4*E*,8*Z*,10*E*-tetraenoic acid isobutylamide |
| 분자량 | 247 | 247 |

## *발명의 효과*

[0034] 본 발명의 방법에 따라 족도리풀(*Asarum sieboldii*)의 뿌리로부터 분리 정제한 배추좀나방(*Plutella xylostella*), 벼멸구과(*Nilaparvata lugens*) 해충의 살충활성이 뛰어난 천연 농약화합물을 제조하여 합성 농약을 대체할 수 있고, 이로 인해 종래 합성 농약으로 토양이 오염되는 문제를 해결하는 효과가 있다.

[0035] 또한, 족도리풀(*Asarum sieboldii*) 뿌리로부터 분리 정제한 화합물을 유효성분으로 포함한 살충활성 조성물 및 이들을 함유한 방제제를 개발하여 배추좀나방(*Plutella xylostella*), 벼멸구과(*Nilaparvata lugens*)의 충해를 예방하거나 방제하는 데 탁월한 효과를 가져올 수 있다.

## *도면의 간단한 설명*

[0036] 도 1(A)는 족도리풀 뿌리로부터 분리한 화합물의 배추 식물체 상에서 배추좀나방에 대한 살충활성을 나타낸 사진이다(200, 100, 50, 25(ppm), 무처리군과 비교), 도 1(B)는 족도리풀 뿌리로부터 분리한 화합물의 벼 식물체 상에서 벼멸구에 대한 살충활성을 나타낸 사진이다(200, 100, 50, 25(ppm), 무처리군과 비교).

도 2는 본 발명에 따른 화합물의 $^{1}$H-NMR 스펙트럼을 나타낸 그래프이다.

도 3은 본 발명에 따른 화합물의 $^{13}$C-NMR 스펙트럼을 나타낸 그래프이다.

도 4는 본 발명에 따른 헥산층 컬럼크로마토그래피 분획에 따른 화합물 분리를 나타낸 도면이다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0037] 이하, 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세히 설명하면 다음과 같다. 하기 실시예는 단지 본 발명을 구체적으로 설명하는 것으로, 본 발명의 권리범위가 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0038] **실시예 1 족도리풀 뿌리의 조추출물 제조**

[0039] 족도리풀 뿌리(*Asarum sieboldii*)를 경동시장 (경동한약재시장)에서 구입하여 사용하였다.

[0040] 상기 족도리풀 뿌리(*Asarum sieboldii*)의 건시료 2kg를 100% 메탄올(MeOH) 10L에 24시간 담가서 상온에서 추출하였다. 얻어진 추출물을 여과하고 남은 것은 동일한 방법으로 1회 더 추출하였다. 얻어진 여액을 모두 합치고

감압농축하여 메탄올(MeOH) 조추출물을 얻었다.

[0041] **실시예 2 족도리풀(Asarum sieboldii) 뿌리의 용매별 분획층의 살충활성**

[0042] 상기 족도리풀 뿌리(*Asarum sieboldii*)의 건시료 2kg를 100% 메탄올(이하 'MeOH'), 10L에 24시간 담가서 상온에서 추출하였다. 메탄올 조추출물을 40℃ 이하의 진공 하에 회전식 증류기로 감압 농축하였다. 상기 수득된 MeOH 조추출물을 Hexane (1000mL×3)와 $H_2O$ (1000mL)로 분배 추출하였고, 다시 $H_2O$층을 ethyl acetate (EtOAc, 1000mL×3)로 분배 추출하였다. 다시 $H_2O$층을 *n*-butanol (*n*-BuOH, 1000mL×3)로 분배 추출하였다. 각 층을 감압농축하여 Hexane (93.5g, ASH), EtOAc 분획 (25.0g, ASE), *n*-BuOH 분획 (10.1g, ASB) 및 $H_2O$ 분획을 얻었다.

[0043] **실시예 3 족도리풀(Asarum sieboldii) 추출물로부터 살충물질의 분리**

[0044] 상기 실시예 2의 방법으로 얻어진, 헥산(Hexane) 분획(93.5g)으로부터 silica gel column chromatography (이하 c.c.) (ϕ×컬럼크기cm, *n*-Hexane : EtOAc = 10:1→5:1→3:1→1:1, $CH_2Cl_2$ : MeOH = 10:1→7:1→5:1→3:1→2:1→1:1MeOH)를 실시하여 60mL씩 분취하였다. 각 분취액을 TLC (*n*-Hexane:EtOAc=5:1, 3:1, $CHCl_3$:MeOH=5:1)로 확인하여 유사한 부분들을 함께 모으고 농축하여 17개의 분획물(ASH1~ASH17)을 얻었다. 그중 H5분획 (11.9g)에 대하여 silica gel c.c.(ϕ3×20cm, $CH_2Cl_2$ : acetone = 98:2)를 실시하여 총 8개의 분획을 얻었다(H51~ASH58). 그중 H57번 분획에 대하여 화학식 구조(compound 1과 2)를 분리하였다(표 3, 4).

[0045] 화합물에 대한 NMR 데이터를 하기 표 2에 기재하였다. 또한, 도 2 및 3에는 화합물의 $^{1}$H-NMR과 $^{13}$C-NMR 스펙트럼을 도시하였다.

*표 2*

[0046] **400MHz에서 이성체(isomers) 1 and 2($CDCl_3$)의 $^{1}$H- and $^{13}$C-NMR 데이터**

| 위치 · 배열 | 이성체(Isomer 1) | | 이성체(Isomer 2) | |
|---|---|---|---|---|
| | $\delta_C$ | $\delta_H$ (multi, *J* Hz) | $\delta_C$ | $\delta_H$ (multi, *J* Hz) |
| 1 | 166.51 | | 166.51 | |
| 2 | 122.47 | 5.81(H, d, 14.8) | 122.45 | 5.81(H, d, 14.8) |
| 3 | 140.88 | 7.14(H, dd, 14.8, 10.4) | 140.90 | 7.14(H, dd, 14.8, 10.4) |
| 4 | 128.83 | 6.12(H, dd, 16.4, 10.4) | 128.82 | 6.12(H, dd, 16.4, 10.4) |
| 5 | 141.70 | 6.02(H, overlapped) | 141.78 | 6.02(H, overlapped) |
| 6 | 32.93 | 2.22(2H, overlapped) | 33.05 | 2.22(2H, overlapped) |
| 7 | 26.81 | 2.22(2H, overlapped) | 26.99 | 2.27(2H, overlapped) |
| 8 | 124.31 | 2.27(2H, overlapped) | 126.80 | 5.52(H, overlapped) |
| 9 | 124.18 | 6.25(H, m) | 129.85 | 5.40(H, overlapped) |
| 10 | 126.75 | 5.52(H, overlapped) | 127.96 | 5.22(H, m) |
| 11 | 130.07 | 5.40(H, overlapped) | 129.38 | 5.67(H, dd, 14.8, 6.4) |
| 12 | 13.21 | 1.71(3H, d, 6.4) | 18.37 | 1.74(3H, d, 6.4) |
| 1' | 47.02 | 3.13(2H, t, 6.8) | 47.02 | 3.13(2H, t, 6.8) |
| 2' | 28.67 | 1.79(H, m) | 28.67 | 1.79(H, m) |
| 3' | 20.21 | 0.89(3H, d, 6.8) | 20.21 | 0.89(3H, d, 6.8) |
| 4' | 20.21 | 0.89(3H, d, 6.8) | 20.21 | 0.89(3H, d, 6.8) |

[0047] **실험예 1 - 용매분획에 의한 분획층별 배추좀나방 살충효과**

[0048] 족도리풀(*Asarum sieboldii*) 뿌리로부터 살충 성분을 분리하는 과정에서 얻어진 용매분획에 의한 분획층 별 Hexane, EtOAC, BuOH 또는 Water{1000, 500, 250의 처리농도(mg $L^{-1}$)} 배추좀나방 살충효과에 대한 실험결과는 하기 표 3에 기재하였다.

*표 3*

[0049] **용매분획에 의한 분획층별 배추좀나방 살충효과**

| 분획용매 | 처리농도($mgL^{-1}$) | 살충율(%) | |
|---|---|---|---|
| | | 24시간 | 48시간 |
| Hexane | 1000 | 100.0±0 | 93.3±0 |
| | 500 | 80.9±10.0 | 80.9±10.0 |
| | 250 | 83.3±15.3 | 83.3±15.3 |
| EtOAC | 1000 | 100.0±0 | 93.3±0 |
| | 500 | 75.1±20.0 | 80.9±10.0 |
| | 250 | 56.7±5.8 | 60.0±0 |
| BuOH | 1000 | 93.3±11.6 | 87.1±10.8 |
| | 500 | 69.3±17.3 | 69.3±17.3 |
| | 250 | 36.7±20.8 | 36.7±20.8 |
| Water | 1000 | 6.7±11.6 | 12.4±21.6 |
| | 500 | 5.8±10.0 | 5.8±10.0 |
| | 250 | 13.3±5.8 | 13.3±5.8 |

[0050] 한편, 헥산층은 처리농도 250, 500에서도 80%이상의 살충율을 보였으며, 처리농도 1000에서는 100%로 가장 우수한 살충효과를 나타냈다. 또한 에틸아세테이트층도 처리나 부탄올 처리농도 250 및 수용액층 처리농도 250에서는 37%, 13% 정도로 높지 않은 살충효과를 나타냈다.

[0051] 이 실험 결과 헥산층의 액제로 사용된 정제된 화합물의 살충활성은 250, 500 및 1000 ㎍/㎖ 농도로 결정되었다. 화합물 250, 500 및 1,000 ㎍/㎖의 농도에서 81 내지 100% 사이의 살충율을 나타내었다.

[0052] 그리고 상기 화합물 1의 처리 양에 비례하여 반응하는 것으로 나타났다{도 1(A), 1(B)}. 도 1(A)에서 족도리풀 뿌리로부터 분리한 화합물의 배추 식물체 상에서 배추좀나방에 대한 살충활성을 나타내었는데(200, 100, 50, 25(ppm), 무처리군과 비교), 처리농도가 높아질수록 살충효과가 높았다. 또한, 도 1(B)에서 확인하듯이 족도리풀 뿌리로부터 분리한 화합물의 벼 식물체 상에서 벼멸구에 대한 살충활성이 나타났다(200, 100, 50, 25(ppm), 무처리군과 비교). 특히 200ppm의 처리농도에서는 벼에 붙은 벼멸구가 모두 사멸된 것을 확인할 수 있다.

[0053] **실험예 2- 배추좀나방 살충 활성 검정**

[0054] 족도리풀 추출물의 살포액을 이용하여 배추좀나방의 생물검정을 엽절편법으로 실시하였다. 배춧잎을 F5 ㎝로 잘라 물에 적신 여과지가 놓인 페트리 디쉬에 놓고 배추좀나방 3령 유충을 15마리씩 접종한 후 농도별 족도리풀 메탄올 추출물을 각각 10초간 살포하여 후드에서 4시간 건조시켰다. 사육실에서 보관하면서 24시간, 48시간 후에 살충율을 조사하였다 생사판별은 붓끝으로 충체를 접촉하여 이동하지 못한 개체를 죽은 것으로 간주하였다.

[0055] **살충률 =사충수/(사충수+생충수)×100**

[0056] 족도리풀(Asarum sieboldii) 뿌리로부터 얻어진 조추출물, 유기용매 분획물, 실시예 3의 살충제 조성물 및 분리된 화합물의 배추좀나방에 대한 살충 활성 검정을 실시하였다. 표 4는 헥산층 족도리풀 헥산층 컬럼크로마토그래피 분획의 배추좀나방 살충효과를 17개로 나눈 실험 결과치이다.

*표 4*

[0057] **족도리풀 헥산층 컬럼크로마토그래피 분획의 배추좀나방 살충효과**

| 소분획 | 살충율(%) | |
|---|---|---|
| | 24시간 | 48시간 |
| H1 | 0.0 | 23.3±5.8 |
| H2 | 6.7±5.8 | 16.7±5.8 |
| H3 | 16.7±15.3 | 26.7±15.3 |
| H4 | 23.3±25.2 | 30.0±20.0 |
| **H5** | **100±0** | **100±0** |
| H6 | 16.7±15.3 | 43.3±25.2 |
| H7 | 93.3±11.6 | 93.3±11.6 |
| H8 | 11.9±11.6 | 25.3±21.9 |
| H9 | 30.0±26.5 | 36.7±25.2 |
| H10 | 20.0±17.3 | 36.7±5.8 |
| H11 | 100±0 | 100±0 |
| H12 | 20.0±17.3 | 53.3±15.3 |
| H13 | 3.3±5.8 | 40.0±10.0 |
| H14 | 0.0±0 | 13.3±15.3 |
| H15 | 6.7±11.6 | 60.0±17.3 |
| H16 | 13.3±15.3 | 43.3±11.6 |
| H17 | 13.3±11.6 | 36.7±25.2 |

[0058] *처리농도 500mg $L^{-1}$

[0059] 상기 실시예 2의 방법으로 얻어진, 헥산(Hexane) 분획(93.5g)으로부터 silica gel column chromatography (이하 c.c.) (∮×컬럼크기cm, *n*-Hexane : EtOAc = 10:1→5:1→3:1→1:1, $CH_2Cl_2$ : MeOH = 10:1→7:1→5:1→3:1→2:1→1:1MeOH)를 실시하여 60mL씩 분취하였다. 각 분취액을 TLC (*n*-Hexane:EtOAc=5:1, 3:1, $CHCl_3$:MeOH=5:1)로 확인하여 유사한 부분들을 함께 모으고 농축하여 17개의 분획물(H1~H17)을 얻었다. 상기 족도리풀 헥산층 컬럼크로마토그래피 17개 분획 중 배추좀나방 살충효과가 가장 뛰어난 H5을 선별하고, H5분획 (11.9g)에 대하여 silica gel c.c.(∮3×20cm, $CH_2Cl_2$ : acetone = 98:2)를 실시하여 총 8개의 분획을 다시 얻었다(H51~H58). 다시 분획한 결과 H51~H58 H57의 데이터 중 H57번 분획에 대하여 화학식 구조(compound 1과 2)를 분리하였다(표 4, 5, 도 4).

[0060] [표 5]

[0061] **H51~H58분획의 컬럼크로마토그래피 분획의 살충효과**

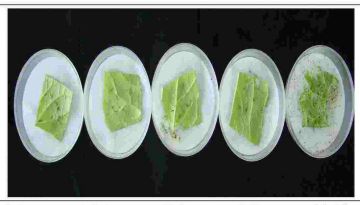
| 처리농도 / 소분획 | 100mg·L$^{-1}$ | | 50mg·L$^{-1}$ | |
|---|---|---|---|---|
| | 24시간 | 48시간 | 24시간 | 48시간 |
| H51 | 21.8±14.3 | 23.8±20.0 | 3.1±5.4 | 2.9±5.0 |
| H52 | 9.3±9.3 | 11.6±5.0 | 0.0±0 | 18.3±10.2 |
| H53 | 31.1±21.6 | 69.3±15.0 | 15.6±5.4 | 27.0±1.7 |
| H54 | 65.3±18.7 | 75.1±5.0 | 15.6±10.8 | 21.0±15.6 |
| H55 | 93.3±0 | 86.7±0 | 31.1±5.4 | 46.5±6.5 |
| H56 | 93.3±0 | 86.7±0 | 68.4±5.4 | 83.8±5.0 |
| **H57** | **93.3±0** | **86.7±0** | **93.3±0** | **86.7 ±0** |
| H58 | 18.7±0 | 23.8 ±3.9 | 18.7±9.3 | 23.1±13.2 |

[0062]

[0063] 상술한 실시예, 시험예 및 도면은 발명의 내용을 상세히 설명하기 위한 목적일 뿐, 발명의 기술적 사상의 범위를 한정하고자 하는 목적이 아니며, 이상에서 설명한 본 발명은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 있어 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 여러 가지 치환, 변형 및 변경이 가능하므로 상기 실시예 및 첨부된 도면에 한정되는 것이 아님은 물론이며, 후술하는 청구범위 뿐만이 아니라 청구범위와 함께 균등범위를 포함하여 판단되어야 한다.

## *도면*

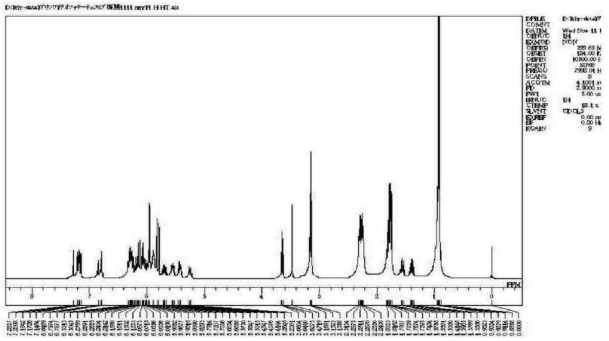
### *도면1*



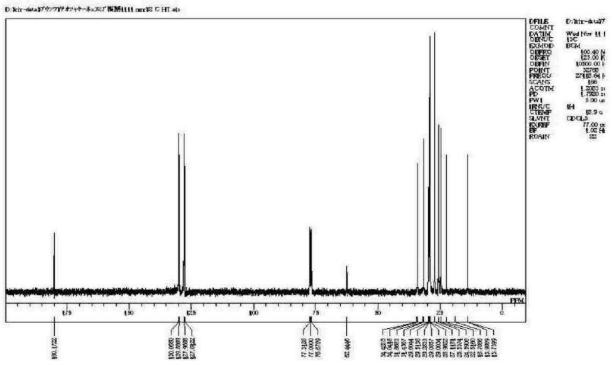
200ppm 100ppm 50ppm 25ppm 무처리
배추좀나방

200ppm100ppm50ppm25ppm무처리
벼멸구

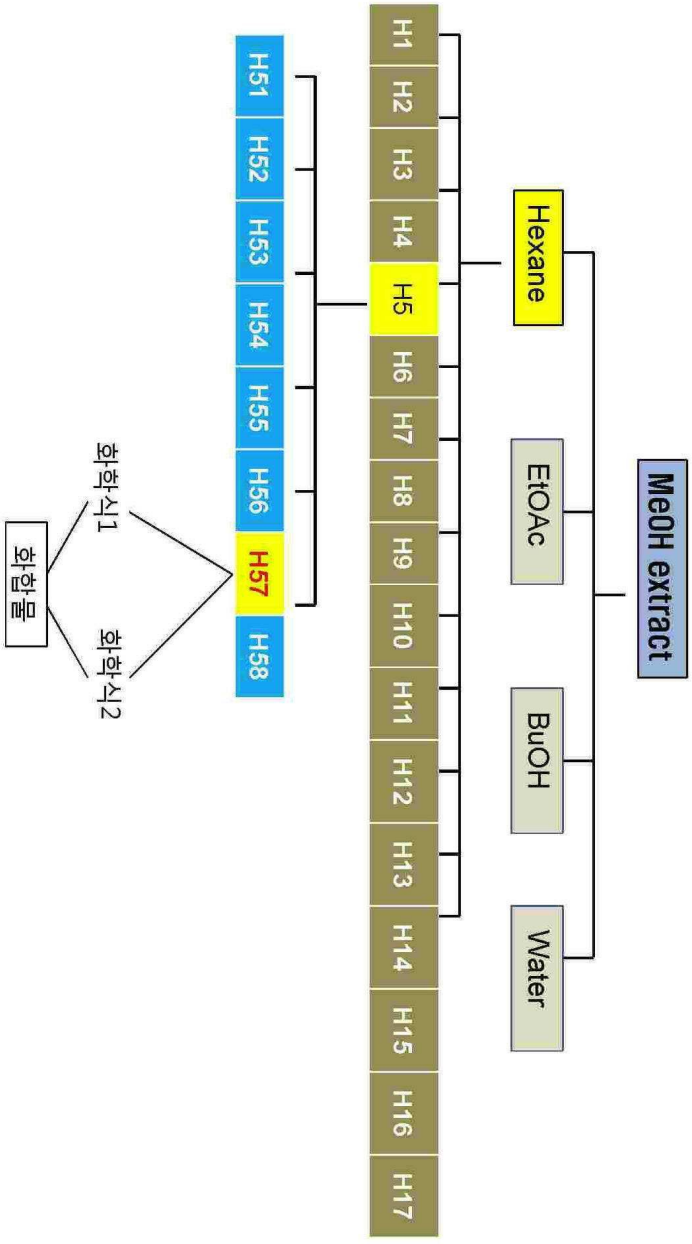
### *도면2*



도면3



도면4


MeOH extract
Hexane
EtOAc
BuOH
Water
H1
H2
H3
H4
H5
H6
H7
H8
H9
H10
H11
H12
H13
H14
H15
H16
H17
H51
H52
H53
H54
H55
H56
H57
H58
화합물
화학식1
화학식2