



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2022-0023767  
(43) 공개일자 2022년03월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A01N 43/40 (2006.01) A01N 65/38 (2009.01)  
A01P 7/04 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A01N 43/40 (2013.01)  
A01N 65/38 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2021-7040057  
(22) 출원일자(국제) 2020년06월24일  
심사청구일자 없음  
(85) 번역문제출일자 2021년12월07일  
(86) 국제출원번호 PCT/EP2020/067706  
(87) 국제공개번호 WO 2020/260392  
국제공개일자 2020년12월30일  
(30) 우선권주장  
19182100.8 2019년06월24일  
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인  
필립모리스 프로덕츠 에스.에이.  
스위스, 씨에이취-2000, 네우차텔, 쿠아이 얀레나  
우드 3  
(72) 발명자  
형, 줄리아  
스위스, 2000 너샤텔, 께 장르노 3, 씨/오 필립모  
리스 프로덕츠 에스.에이.  
이바노프, 니콜라이  
스위스, 2000 너샤텔, 께 장르노 3, 씨/오 필립모  
리스 프로덕츠 에스.에이.  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
강철중

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 기생충 방제를 위한 조성물 및 방법

**(57) 요약**

본 발명은 이의 가장 넓은 양태에서 담배 식물의 추출물을 포함하는 제형 및/또는 본원에 제공된 것과 같은 화학식 I의 화합물, 특히 아나타빈을 포함하는 제형, 및 체외기생충, 특히 곤충에 의한 침입을 감소시키기 위한 이의 대응하는 용도에 관한 것이다. 본원에는 본 발명의 농후화된 추출물 및/또는 제형을 제조하는 방법 및 본원에 제공된 추출물 및/또는 제형을 사용하여 체외기생충을 방제하는 방법이 또한 제공된다.

(52) CPC특허분류

**A01P 7/04** (2021.08)

(72) 발명자

**카민스키, 카츠페르**

스위스, 2000 너샤텔, 꺾개 장르노 3, 씨/오 필립모  
리스 프로덕츠 에스.에이.

**마주로프, 아나톨리**

미국, 노스캐롤라이나 27410, 길포드, 그린즈버러,  
3704 팀버록 드라이브

**쇼데렛 웨버, 산드라**

스위스, 2000 너샤텔, 꺾개 장르노 3, 씨/오 필립모  
리스 프로덕츠 에스.에이.

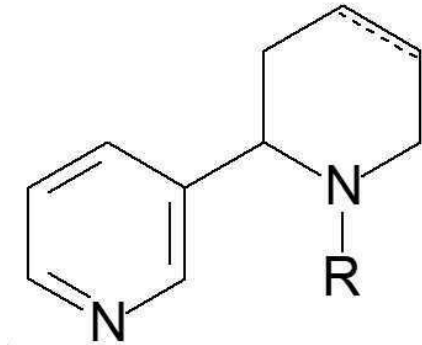
명세서

청구범위

청구항 1

체외기생충의 침입을 감소시키는 데 사용하기 위한, 바람직하게는 체외기생충의 침입을 감소시키기 위한 기피제 (repellent)로서 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 염 또는 결정:

[화학식 I]



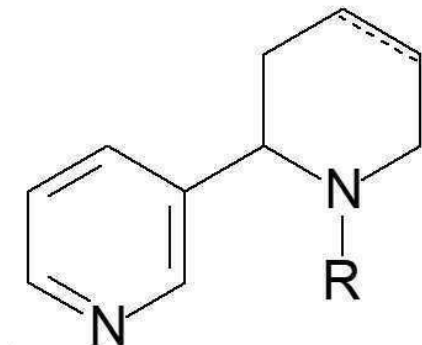
R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬을 나타내고,

----- 은 이중 결합을 나타냄.

청구항 2

체외기생충 침입의 처리에 사용하기 위한, 바람직하게는 체외기생충 침입의 처리에서 체외기생충 살충제 (ectoparasiticide)로서 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 염 또는 결정:

[화학식 I]



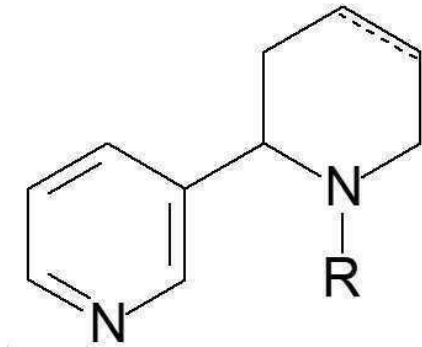
R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬을 나타내고,

----- 은 이중 결합을 나타냄.

청구항 3

바람직하게는 체외기생충의 침입을 감소시키기 위한 기피제로서, 체외기생충의 침입을 감소시키기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 염 또는 결정의 용도:

[화학식 I]



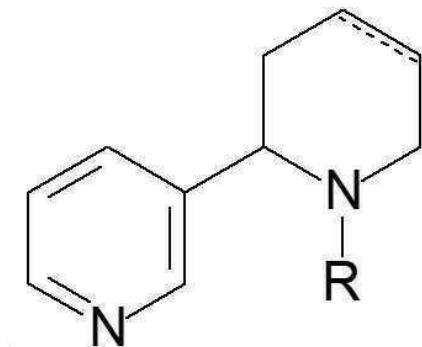
R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬을 나타내고,

-----은 단일 결합 또는 이중 결합을 나타냄.

청구항 4

바람직하게는 체외기생충 침입의 처리를 위한 체외기생충 살충제로서, 체외기생충 침입의 처리를 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 염 또는 결정의 용도:

[화학식 I]



R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬을 나타내고,

-----은 단일 결합 또는 이중 결합을 나타냄.

청구항 5

제1항 또는 제2항의 용도를 위한 화합물; 또는 제3항 또는 제4항의 용도로서, R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬을 나타내고,

바람직하게는, R은 수소를 나타내는, 화합물 또는 용도.

청구항 6

제1항, 제2항 및 제5항 중 어느 한 항의 용도를 위한 화합물; 또는 제3항 내지 제5항 중 어느 한 항의 용도로서, -----은 이중 결합을 나타내는, 화합물 또는 용도.

청구항 7

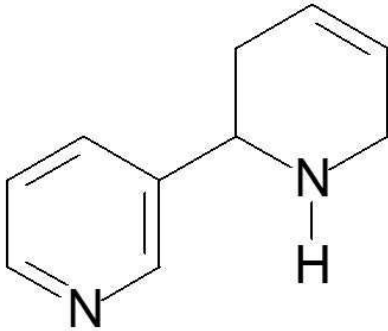
제1항, 제2항, 제5항 및 제6항 중 어느 한 항의 용도를 위한 화합물; 또는 제3항 내지 제6항 중 어느 한 항의 용도로서, 상기 화합물은 아나타빈, S-(-) 아나타빈, R-(+) 아나타빈, S-(-) 아나타빈과 R-(+) 아나타빈의 혼합

물, 또는 S(-) 아나타빈과 R(+) 아나타빈의 라세미체(racemate)인, 화합물 또는 용도.

**청구항 8**

화학식 Ia의 화합물에 대해 농후화된 담배 추출물을 포함하는 체외기생충의 침입을 감소시키기 위한 제형:

[화학식 Ia]



**청구항 9**

제8항에 있어서, 체외기생충 살충제로서 용도를 위한 제형.

**청구항 10**

제8항에 있어서, 기피제로서 용도를 위한 제형.

**청구항 11**

제8항에 있어서, 담배 추출물은 니코티아나 타바쿰(*Nicotiana tabacum*)의 품종으로부터 생성되고, 주요 알칼로이드는 니코틴이 아닌, 제형 또는 용도를 위한 제형.

**청구항 12**

제8항 또는 제11항의 제형 또는 제9항 내지 제11항 중 어느 한 항의 용도를 위한 제형으로서, 상기 화합물은 아나타빈, S(-) 아나타빈, R(+) 아나타빈, S(-) 아나타빈과 R(+) 아나타빈의 혼합물, 또는 S(-) 아나타빈과 R(+) 아나타빈의 라세미체인, 제형 또는 용도를 위한 제형.

**청구항 13**

제8항, 제11항 및 제12항 중 어느 한 항의 제형 또는 제9항 내지 제12항 중 어느 한 항의 용도를 위한 제형으로서, 담배 추출물 중의 화학식 Ia의 화합물의 함량은 미가공된 담배 식물에서보다 높은, 제형 또는 용도를 위한 제형.

**청구항 14**

제13항에 있어서, 화학식 Ia의 화합물은 화학식 Ia의 화합물의 특이적 농후화를 초래하는 적어도 하나의 단계를 포함하는 방법에 의해 수득되는, 제형 또는 용도를 위한 제형.

**청구항 15**

제13항 또는 제14항에 있어서, 본 발명의 추출물에 포함된 것과 같이 화학식 I의 화합물의 상대 함량은 1%, 또는 1% 내지 2%, 또는 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% 또는 50%만큼 증가한, 제형 또는 용도를 위한 제형.

**발명의 설명**

**기술 분야**

본 발명은 이의 가장 넓은 양태에서 담배 식물의 추출물을 포함하는 제형 및/또는 본원에 제공된 것과 같은 화

[0001]

학식 I의 화합물, 특히 아나타빈을 포함하는 제형, 및 체외기생충, 특히 곤충 및/또는 거미류에 의한 침입의 감소를 위한 이의 대응하는 용도에 관한 것이다. 본원에는 본 발명의 농후화된 추출물 및/또는 제형을 제조하는 방법 및 본원에 제공된 추출물 및/또는 제형을 사용하여 체외기생충을 방제하는 방법이 또한 제공된다.

**배경 기술**

[0002] 동물 또는 사람의 기생충 침입은 매우 바람직하지 않다. 인간 또는 동물, 예를 들어 말, 개 및 고양이는 모두 다수의 내부 기생충 및 외부 기생충의 숙주 역할을 할 수 있다. 기생충의 존재는 불편함, 건강 및 수행 장애와 심지어 사망으로 이어질 수 있다. 예를 들어, 미국에서는 매년 수백만 마리의 개와 고양이가 벼룩, 진드기 및 응애에 대해 치료된다. 벼룩, 진드기 및 응애 침입은 불편함을 크게 야기하고, 애완동물과 인간에게 질병을 전파한다.

[0003] 기생충을 퇴치하는 데 여러 부류의 살충제가 효과적이다. 예를 들어, 기생충 침입을 위해 동물을 치료하기 위해 피레스로이드, 유기 포스페이트, 유기 카바메이트 및 페닐피라졸을 사용한다. 개와 고양이에서 체외기생충 방제를 위해 새로 개발된 이소옥사졸린 부류가 최근에 출시되었다. 항기생충제를 제형화하는 다양한 방법이 당업계에 공지되어 있다. 이들 제형은 경구 치료제, 식이 보충제, 분말, 분무제, 국소 치료제(예를 들어, 침지 및 푸어 온(pour on)) 및 샴푸를 포함한다. 이들 제형의 각각은 기생충과 싸우는 데 있어서 약간의 효능을 갖지만, 그 제형은 일반적으로 합성 살충제(insecticide) 또는 기피제(repellent)를 포함한다. 합성 살충제는 인간과 동물에게 유해한 환경 효과를 유발하는 것으로 알려져 있다. 마찬가지로, 피레트린은 국화 꽃에서 추출되었지만 가공 및 표준화가 어렵다.

[0004] 천연 살충제, 즉 활성 성분으로서 천연 식물 정유를 포함하는 살충제는 미국 특허 제5,439,690호, 제5,693,344호, 제6,114,384호 및 제6,531,163호에 개시된 것과 같이 기생충으로부터 보호하고자 하는 서식지 또는 부위에 분무제, 분말 또는 액체의 형태로 천연 살충제를 적용함으로써 개미, 바퀴벌레 및 벼룩과 같은 가정에 있는 기생충을 사멸하는 것으로 공지되어 있다.

[0005] 천연 화합물 또는 추출물은 당업계에, 예를 들어 문헌[Jufri et al. (2016) International Journal of PharmTech Research 9, No. 7, pp. 140-145]에 의해 또한 기재되어 있다.

[0006] 추가로, 담배(니코티아나 속 종) 잎, 분말, 추출물 또는 훈증제는 의학적으로 중요하고 수의학적으로 중요한 농업용 해충 또는 기생충을 방제하기 위해 수 세기 동안 사용되어 왔다. 그러나, 담배의 주요 알칼로이드 니코틴 및 보다 특이적이고 강력한 합성 농약(pesticide)의 발견에 관한 안전성 우려 때문에, 니코틴 기반 제품은 현재 상업적으로 이용 가능하지 않다. 합성 네오니코티노이드는 니코틴과 구조적으로 관련되고 농업적 및 수의학적 농약으로서 널리 사용되지만, 합성 네오니코티노이드는 담배 관련 알칼로이드와는 달리 곤충 니코틴성 아세틸콜린 수용체(nAChR)에 대해 더 높은 선택도를 가지며, 척추동물 니코틴 수용체에 대한 결합이 감소한다. 이의 고유한 물리화학적 특징(광안정성, 비휘발성 및 친수성)은 농약으로서의 이의 성공을 설명할 뿐만 아니라, 광범위한 환경 오염을 초래하는 과도한 사용을 설명한다. 네오니코티노이드는 이제 생태계의 생존에 대한 주요 관심사가 되었다. 꽃가루 매개체, 수생 및 토양 커뮤니티에 미치는 입증된 영향, 그리고 한때 인지되었던 것보다 더 문제가 많은 독성 프로파일은 농업에서의 사용을 제한하거나 완전히 금지하고 전세계적으로 합성 농약의 사용을 피하기 위한 계획을 밀어붙이고 있다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0007] 담배의 주요 알칼로이드 니코틴 또는 구조적으로 관련된 합성 네오니코티노이드의 사용과 관련된 우려의 관점에서, 차별화된 작용 방식으로 인해 니코틴 또는 합성 네오니코티노이드보다 더 양호한 안전성 프로파일을 갖고 더 환경 친화적인 해결책을 제공하는 인간 및/또는 동물에 대해 체외기생충을 방제하는 데 사용하기 위한 자연 발생 화합물 및 조성물에 대한 필요성이 여전히 존재한다.

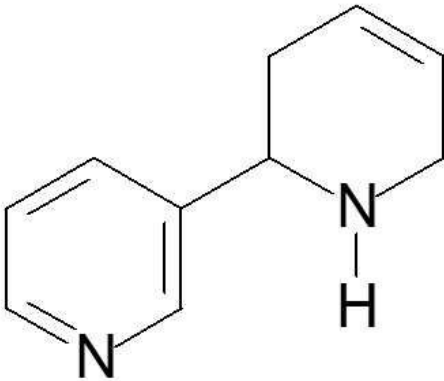
**과제의 해결 수단**

[0008] 상기 기술적 문제에 대한 해결책은 본원에서 제공된 구현에 및 청구범위에서 규정된다.

[0009] 따라서, 본 발명은 특히 다음의 구현예에 관한 것이다:

[0010] 1. 화학식 Ia의 화합물에 대해 농후화된 담배 추출물을 포함하는 체외기생충의 침입을 감소시키기 위한 제형:

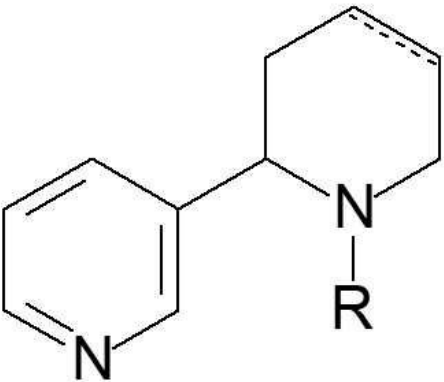
[화학식 Ia]



[0011]

[0012] 2. 체외기생충의 침입을 감소시키기 위한 화학식 I의 화합물, 또는 이의 염 또는 결정의 용도:


[화학식 I]



[0013]


[0014] 상기 식 중,

[0015] R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬을 나타내고,

[0016]  은 단일 결합 또는 이중 결합을 나타낸다.

[0017] 3. 구현예 2에 있어서, R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬을 나타내는, 용도.

[0018] 4. 구현예 2 또는 구현예 3에 있어서, R은 수소를 나타내는, 용도.

[0019] 5. 구현예 2 내지 구현예 4 중 어느 하나에 있어서,  은 이중 결합을 나타내는, 용도.

[0020] 6. 구현예 1의 제형 또는 구현예 2 내지 구현예 5 중 어느 하나의 용도로서, 체외기생충은 벼룩, 진드기 및 응애를 포함하는 곤충 또는 거미류 유래인, 제형 또는 용도.

[0021] 7. 구현예 1 또는 6의 제형 또는 구현예 2 내지 구현예 6 중 어느 하나의 용도로서, 상기 화합물은 아나타빈, S(-) 아나타빈, R(+) 아나타빈, S(-) 아나타빈과 R(+) 아나타빈의 혼합물, 또는 S(-) 아나타빈과 R(+) 아나타빈의 라세미체(racemate)인, 제형 또는 용도.

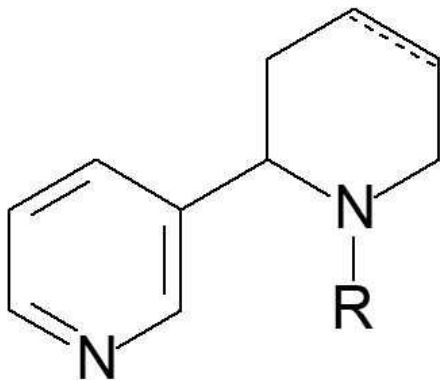
[0022] 8. 구현예 2 내지 구현예 7 중 어느 하나에 있어서, 상기 제형은 제1항에 정의된 것과 같은, 용도.

[0023] 9. 구현예 1, 구현예 6 또는 구현예 7 중 어느 하나에 있어서, 담배 추출물은 니코티아나 타바쿰(*Nicotiana tabacum*), 니코티아나 글루티노사(*Nicotiana glutinosa*), 니코티아나 글라우카(*Nicotiana glauca*) 또는 니코티

아나 데브네이(Nicotiana debneyi)로부터 생산되는, 제형.

- [0024] 10. 구현예 9에 있어서, 니코티아나 타바쿰은 PMT, TN90 또는 ITB683인, 제형.
- [0025] 11. 구현예 9에 있어서, 니코티아나 타바쿰은 PMT, TN90, K326, 스텔라(Stella) 또는 ITB683의 품종인, 제형.
- [0026] 12. 구현예 9에 있어서, 담배 추출물은 니코티아나 타바쿰의 품종으로부터 생산되고, 주요 알칼로이드는 니코틴이 아닌, 제형.
- [0027] 13. 구현예 1의 제형 또는 구현예 2 내지 구현예 8 중 어느 하나의 용도로서, 상기 제형 또는 화합물은 국소 제형, 샴푸 조성물, 세정 조성물 또는 치료 조성물의 형태로 적용되는, 제형 또는 용도.
- [0028] 14. 구현예 13에 있어서, 국소 제형, 샴푸 조성물, 세정 조성물 또는 치료 조성물은 로션, 크림, 연고, 겔, 폼(foam), 패치, 분말, 고체, 스펀지, 테이프, 증기, 페이스트, 팅크제 또는 분무제의 형태인, 제형 또는 용도.
- [0029] 15. 구현예 13 또는 구현예 14에 있어서, 상기 제형 또는 화합물은 포유동물, 특히 인간, 개, 고양이, 소, 말 또는 양에 적용되는, 제형 또는 용도.
- [0030] 16. 구현예 1의 제형 또는 구현예 2의 용도로서, 상기 제형 또는 화합물은 물체 또는 식물에 적용되는, 제형 또는 용도.
- [0031] 본 발명은 추가로 다음의 양태에 관한 것이다.
- [0032] 양태 1: 체외기생충의 침입을 감소시키는 데 사용하기 위한, 바람직하게는 체외기생충의 침입을 감소시키기 위한 기피제로서 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 염 또는 결정:

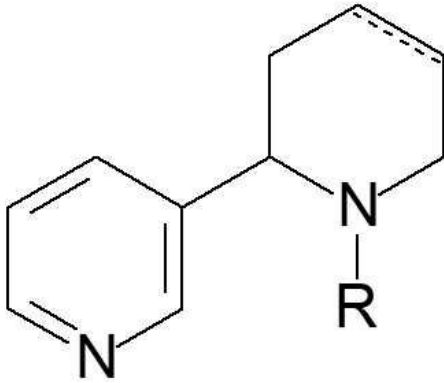
[화학식 I]



- [0033] .
- [0034] 상기 식 중,
- [0035] R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬을 나타내고,
- [0036] 은 이중 결합을 나타낸다.
- [0037] 양태 2: 체외기생충 침입의 처리에 사용하기 위한, 바람직하게는 체외기생충 침입의 처리에서 체외기생충 살충제(ectoparasiticide)로서 사용하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 염 또는 결정:



[화학식 I]



[0038]

[0039]


[0040]

[0041]

[0042]

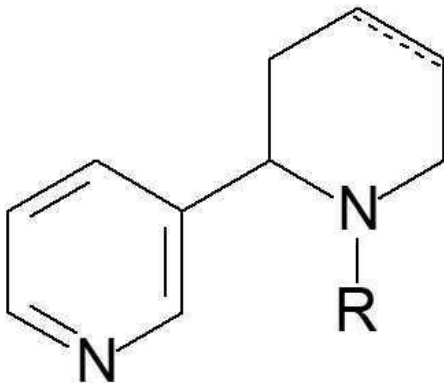
상기 식 중,

R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬을 나타내고,

 은 이중 결합을 나타낸다.

양태 3: 바람직하게는 체외기생충의 침입을 감소시키기 위한 기피제로서, 체외기생충의 침입을 감소시키기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 염 또는 결정의 용도:

[화학식 I]



[0043]

[0044]


[0045]

[0046]

[0047]

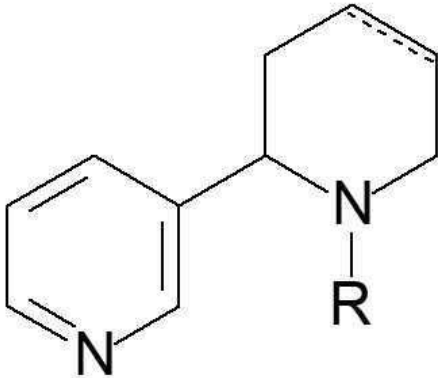
상기 식 중,

R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬을 나타내고,

 은 단일 결합 또는 이중 결합을 나타낸다.

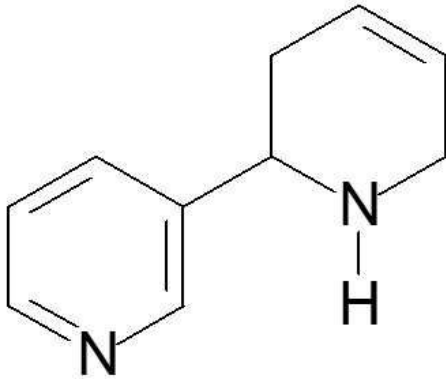
양태 4: 바람직하게는 체외기생충 침입의 처리를 위한 체외기생충 살충제로서, 체외기생충 침입의 처리를 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 이의 염 또는 결정의 용도:

[화학식 I]



- [0048]
- [0049] 상기 식 중,
- [0050] R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬을 나타내고,
- [0051] 은 단일 결합 또는 이중 결합을 나타낸다.
- [0052] 양태 5: 양태 1 또는 양태 2의 용도를 위한 화합물; 또는 양태 3 또는 양태 4의 용도로서, R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬을 나타내고, 바람직하게는 R은 수소를 나타내는, 화합물 또는 용도.
- [0053] 양태 7: 양태 1 내지 양태 2 및 양태 5 내지 양태 6 중 어느 하나의 용도를 위한 화합물; 또는 양태 3 내지 양태 6 중 어느 하나의 용도로서, 은 이중 결합을 나타내는, 화합물 또는 용도.
- [0054] 양태 8: 양태 1 내지 양태 2 및 양태 5 내지 양태 7 중 어느 하나의 용도를 위한 화합물; 또는 양태 3 내지 양태 7 중 어느 하나의 용도로서, 체외기생충은 벼룩, 진드기 및 응애를 포함하는 곤충 또는 거미류 강 유래인, 화합물 또는 용도.
- [0055] 양태 9: 양태 1 내지 양태 2 및 양태 5 내지 양태 8 중 어느 하나의 용도를 위한 화합물; 또는 양태 3 내지 양태 8 중 어느 하나의 용도로서, 상기 화합물은 아나타빈, S(-) 아나타빈, R-(+) 아나타빈, S(-) 아나타빈과 R-(+) 아나타빈의 혼합물, 또는 S(-) 아나타빈과 R-(+) 아나타빈의 라세미체인, 화합물 또는 용도.
- [0056] 양태 10: 양태 1 내지 양태 2 및 양태 5 내지 양태 9 중 어느 하나의 용도를 위한 화합물; 또는 양태 3 내지 양태 9 중 어느 하나의 용도로서, 상기 화합물은 국소 제형, 샴푸 조성물, 세정 조성물 또는 치료 조성물의 형태로 적용되는, 화합물 또는 용도.
- [0057] 양태 11: 양태 10의 용도를 위한 화합물; 또는 양태 10의 용도로서, 국소 제형, 샴푸 조성물, 세정 조성물 또는 치료 조성물은 로션, 크림, 연고, 겔, 폼, 패치, 분말, 고체, 스펀지, 테이프, 증기, 페이스트, 텅크제 또는 분무제의 형태인, 화합물 또는 용도.
- [0058] 양태 12: 양태 1 내지 양태 2 및 양태 5 내지 양태 11 중 어느 하나의 용도를 위한 화합물; 또는 양태 3 내지 양태 11 중 어느 하나의 용도로서, 상기 화합물 또는 국소 제형은 포유동물, 특히 인간, 개, 고양이, 소, 말 또는 양에 적용되는, 화합물 또는 용도.
- [0059] 양태 13: 양태 1 및 양태 5 내지 양태 11 중 어느 하나의 용도를 위한 화합물; 또는 양태 4 내지 양태 11 중 어느 하나의 용도로서, 상기 화합물은 물체 또는 식물에 도포되는, 화합물 또는 용도.
- [0060] 양태 14: 화학식 Ia의 화합물에 대해 농후화된 담배 추출물을 포함하는 체외기생충의 침입을 감소시키기 위한 제형:

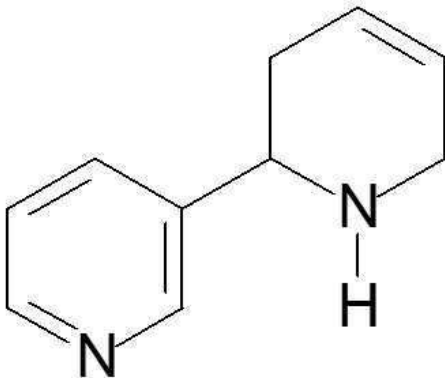
[화학식 Ia]



- [0061]
- [0062] 양태 15: 제외기생충 살충제로서 사용하기 위한 양태 14의 제형.
- [0063] 양태 16: 기피제로서 사용하기 위한 양태 14의 제형.
- [0064] 양태 17: 양태 14의 제형 또는 양태 15 또는 양태 16의 용도를 위한 제형으로서, 담배 추출물은 *니코티아나 타바쿰*, *니코티아나 글루티노사*, *니코티아나 글라우카* 또는 *니코티아나 테브네이*로부터 생산되는, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0065] 양태 18: 양태 17에 있어서, *니코티아나 타바쿰* 품종은 PMT, TN90, K326, 스텔라 또는 ITB683, 바람직하게는 PMT, TN90 또는 ITB683인, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0066] 양태 19. 양태 17에 있어서, 담배 추출물은 *니코티아나 타바쿰*의 품종으로부터 생성되고, 주요 알칼로이드는 니코틴이 아닌, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0067] 양태 20: 양태 14 및 양태 17 내지 양태 19 중 어느 하나의 제형 또는 양태 15 내지 양태 19 중 어느 하나의 용도를 위한 제형으로서, 제외기생충은 벼룩, 진드기 및 응애를 포함하는 곤충 또는 거미류 강 유래인, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0068] 양태 21: 양태 14 및 양태 17 내지 양태 20 중 어느 하나의 제형 또는 양태 15 내지 양태 20 중 어느 하나의 용도를 위한 제형으로서, 상기 화합물은 아나타빈, S-(-) 아나타빈, R-(+) 아나타빈, S-(-) 아나타빈과 R-(+) 아나타빈의 혼합물, 또는 S-(-) 아나타빈과 R-(+) 아나타빈의 라세미체인, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0069] 양태 22: 양태 14 및 양태 17 내지 양태 21 중 어느 하나의 제형, 또는 양태 15 내지 양태 21 중 어느 하나의 용도를 위한 제형으로서, 상기 제형은 국소 제형, 샴푸 조성물, 세정 조성물 또는 치료 조성물의 형태로 적용되는, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0070] 양태 23: 양태 22의 제형 또는 양태 22의 용도를 위한 제형으로서, 국소 제형, 샴푸 조성물, 세정 조성물 또는 치료 조성물은 로션, 크림, 연고, 겔, 폼, 패치, 분말, 고체, 스펀지, 테이프, 증기, 페이스트, 팅크제 또는 분무제의 형태인, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0071] 양태 24: 양태 14 및 양태 17 내지 양태 23 중 어느 하나의 제형 또는 양태 15 내지 양태 23 중 어느 하나의 용도를 위한 제형으로서, 상기 제형은 포유동물, 특히 인간, 개, 고양이, 소, 말 또는 양에 적용되는, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0072] 양태 25: 양태 14 및 양태 17 내지 양태 24 중 어느 하나의 제형 또는 양태 15 내지 양태 24 중 어느 하나의 용도를 위한 제형으로서, 상기 제형 또는 화합물은 물체 또는 식물에 적용되는, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0073] 양태 26: 양태 14 및 양태 17 내지 양태 25 중 어느 하나의 제형 또는 양태 15 내지 양태 25 중 어느 하나의 용도를 위한 제형으로서, 담배 추출물 중의 화학식 Ia의 화합물의 함량은 미가공된 담배 식물에서보다 높은, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0074] 양태 27: 양태 26에 있어서, 화학식 Ia의 화합물은 화학식 Ia의 화합물의 특이적 농후화를 초래하는 적어도 하나의 단계를 포함하는 방법에 의해 획득되는, 제형 또는 용도를 위한 제형.

- [0075] 양태 28: 양태 26 또는 양태 27에 있어서, 본 발명의 추출물에 포함된 것과 같이 화학식 I의 화합물의 상대 함량은 1%만큼 증가한, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0076] 양태 29: 양태 26 또는 양태 27에 있어서, 본 발명의 추출물에 포함된 것과 같이 화학식 I의 화합물의 상대 함량은 1% 내지 2%만큼 증가한, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0077] 양태 30: 양태 26 또는 양태 27에 있어서, 본 발명의 추출물에 포함된 것과 같이 화학식 I의 화합물의 상대 함량은 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% 또는 50%만큼 증가한, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0078] 양태 31: 양태 14 및 양태 17 내지 양태 30 중 어느 하나의 제형 또는 양태 15 내지 양태 30 중 어느 하나의 용도를 위한 제형으로서, 담배 추출물은 담배 추출물 중의 화학식 Ia의 화합물의 함량이 담배 추출물이 수득된 미가공된 담배 식물에서보다 적어도 1% 더 높다는 점에서 농후화된, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0079] 양태 32: 양태 14 및 양태 17 내지 양태 31 중 어느 하나의 제형 또는 양태 15 내지 양태 31 중 어느 하나의 용도를 위한 제형으로서, 담배 추출물은 담배 추출물 중의 화학식 Ia의 화합물의 함량이 니코티아나 타바쿰 스텔라 중의 미가공된 담배 식물에서보다 적어도 1% 더 높다는 점에서 농후화된, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0080] 양태 33: 양태 14 및 양태 17 내지 양태 32 중 어느 하나의 제형 또는 양태 15 내지 양태 32 중 어느 하나의 용도를 위한 제형으로서, 담배 추출물은, 60°C 및 70% 상대 습도에서 24시간 동안 건조되고 분쇄된 잎의 g 당 10 mL의 메탄올을 1회 사용하여 후속하여 분쇄된, 4개월령의 니코티아나 타바쿰 스텔라 중의 식물의 잎을 60°C의 온도에서 추출하여 수득된 추출물보다 적어도 1 중량% 더 많은 화학식 Ia의 화합물을 함유한다는 점에서 농후화된, 제형 또는 용도를 위한 제형.
- [0081] 이와 같이, 본 발명은 화학식 Ia의 화합물에 대해 농후화된 담배 추출물을 포함하는 체외기생충의 침입을 감소시키기 위한 제형에 관한 것이다:

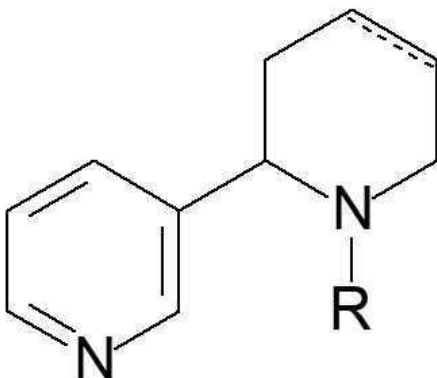
**[화학식 Ia]**




[0082]

[0083] 이는 화학식 I의 화합물의 특정 예이다:

**[화학식 II]**



[0084]

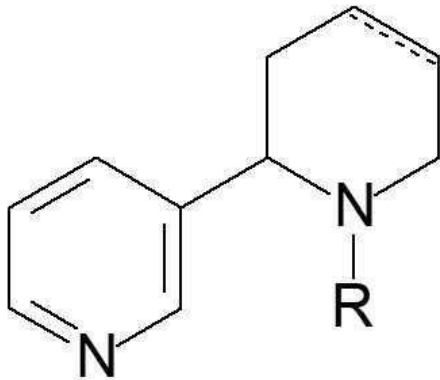
- [0085] 상기 식 중,
- [0086] R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬을 나타내고,
- [0087]  은 단일 결합 또는 이중 결합을 나타낸다.
- [0088] 본 발명의 문맥에서, 체외기생충은 다양한 기간 동안 다른 유기체(숙주 유기체)의 피부 또는 외부 막, 예컨대 비늘, 깃털, 모발에 사는 유기체, 및 특히 혈분과 같은 유인을 위해 다른 유기체에 의존하는 유기체를 포함하는 것으로 이해된다. 즉, 체외기생충이라는 용어는 진드기 및 벼룩과 같이 비교적 긴 기간 동안 숙주 유기체의 피부 또는 외부 막에 남아 있는 유기체, 및 간헐적인 체외기생충으로 지칭될 수 있는, 모기 및 체체파리와 같이 비교적 짧은 시간 동안 숙주에 남아 있는 유기체 둘 모두를 포함한다.
- [0089] 본 발명자들은 놀랍게도 그리고 예상치 못하게 화학식 I의 화합물, 특히 아나타빈이 벼룩, 진드기 및 응애, 특히 진드기를 포함하는, 체외기생충, 특히 곤충 또는 거미류에 의한 침입의 감소에 있어서 개선된 효과를 갖는 것을 발견하였다. 침부된 실시예에 도시된 바와 같이, 화학식 I의 화합물, 특히 아나타빈의 효과는 니코틴의 효과에 비해 특히 개선되는데, 니코틴은 담배 추출물에 포함된 가장 효과적인 기피제로서 종래 기술에서 고려되었다. 따라서, 특히, 본 발명은 화학식 Ia의 화합물, 특히 아나타빈의 존재를 위해 농후화된 담배 추출물을 포함하는 체외기생충의 침입을 감소시키기 위한 제형에 관한 것이다.
- [0090] 도 3a 및 도 3b에 도시된 바와 같이, 본 발명자들은 놀랍게도 염기 형태의 아나타빈이 HCl 염 형태보다 상당히 더 양호한 모기 기피제임을 발견하였다. 따라서, 아나타빈이 본 발명에서 유리 염기로서 사용되는 것이 바람직하다.
- [0091] 본 발명 내에서, "농후화된"은, 본 발명의 담배 추출물을 포함하는 제형에서 화학식 Ia의 화합물, 특히 아나타빈의 함량이 특히 당업계에 공지된 담배 추출물에서 발견되는 평균 함량과 비교하여 당업자에 의해 예상되는 함량과 비교하여 증가한다는 것을 의미한다. 본 발명자들이 놀랍게도 화학식 Ia의 화합물, 특히 아나타빈이 니코틴 또는 니코틴 농후화된 추출물과 비교하여 기피제/체외기생충 살충제, 바람직하게는 기피제로서 더 높은 효능을 나타낸다는 것을 발견한 이후로, 화학식 Ia의 화합물, 특히 아나타빈의 존재에 대해 농후화된 본 발명의 담배 추출물을 포함하는 제형은 체외기생충, 특히 곤충 및/또는 진드기에 의한 침입을 감소시키는 데 있어서 놀랍게도 더 높은 효능을 가진다.
- [0092] 바람직하게는, "농후화된"이라는 용어는 담배 추출물 중의 화학식 Ia의 화합물의 함량이 담배 추출물이 수득되는 비가공된 담배 식물에서보다 적어도 1% 더 높다는 것을 나타낸다. 더욱 바람직하게는, "농후화된"이라는 용어는 담배 추출물이 종 니코티아나 타바쿰 품종 스텔라의 미가공된 담배 식물에서보다 적어도 1% 더 높은 담배 추출물 중의 화학식 Ia의 화합물의 함량을 갖는다는 것을 나타낸다. 더욱 바람직하게는, "농후화된"이라는 용어는 담배 추출물이 동일한 조건 하에서 청구된 담배 추출물의 제조에 사용된 것과 동일한 용매를 사용하여 4개월령의 종 니코티아나 타바쿰 품종 스텔라의 식물의 잎을 추출하여 수득된 추출물보다 적어도 1 중량% 더 많은 화학식 Ia의 화합물을 함유한다는 것을 나타낸다. 더욱 바람직하게는, "농후화된"이라는 용어는 담배 추출물이 4개월령의 종 니코티아나 타바쿰 품종 스텔라의 식물(바람직하게는 완전히 성숙하게 전통적으로 재배되고, 바람직하게는 토평 공정(topping process)으로 처리됨(파종 부분 제거))의 식물의 잎을 60°C의 온도에서 추출하여 수득된 추출물보다 적어도 1 중량% 더 많은 화학식 Ia의 화합물을 함유한다는 것을 나타내고, 이것은 60°C 및 70% 상대 습도에서 24시간 동안 건조되고 분쇄된 잎의 g 당 10 mL의 메탄올을 1회 사용하여 후속하여 분쇄된다. 잎의 추출은 바람직하게는 하기와 같이 수행된다: 모든 식물 잎을 60°C 및 70% 상대 습도에서 24시간 동안 오븐 건조하고, 유리 비드로 400 rpm에서 8시간 동안 진탕시켜 분쇄한다. 각각의 선택된 담배 품종/종에 대해, 2 g의 분쇄된 잎 분말을 50 mL의 유리 병에 넣는다. 20 mL의 메탄올(예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피 등급, 99.9% 이상의 순도, Sigma-Aldrich, 미국 미주리주 세인트 루이스 소재)을 60°C에서 분쇄된 잎에 첨가한다. 이후, 혼합물을 30분 동안 음과 처리하고(예를 들어, Branson 3510-DTH 초음파 클리너; 미국 코네티컷주 덴버리), 필터 종이(125 mm Ψ, 셀룰로스 종이; 바람직하게는 Whatman® Maidstone, 영국)를 보유하는 필터 컬럼으로 경사 여과한다. 여과액을 20 mL의 메탄올로 음과 처리하고 다시 여과한다. 이후, 생성된 여과액을 회전 증발기에 넣어 용매를 제거하고, 남은 추출물은 16시간 동안(모든 물이 제거될 때까지) 추가로 동결건조한다(예를 들어, Labconco 카탈로그 번호 7934030; 미국 미주리주 캔자스 시티).
- [0093] 추가로, "농후화된"이라는 용어는 담배 추출물 중의 화학식 Ia의 화합물의 함량 대 추출물 중의 니코틴의 함량의 질량비가 0.05 이상, 바람직하게는 0.1 이상, 더 바람직하게는 0.2 이상, 훨씬 더 바람직하게는 0.5 이상, 더욱 더 바람직하게는 1.0 이상, 더욱 훨씬 더 바람직하게는 2.0 이상, 또는 심지어 4.0 이상임을 나타낼 수 있




다.

[0094] 본 발명 내에서, 체외기생충과의 침입을 감소시키는 것은 본 발명의 제형 또는 화합물의 기피 활성 및/또는 본 발명의 제형 또는 화합물의 사멸 활성을 통해 달성될 수 있다. 이와 같이, 본 발명의 제형 또는 화합물은 곤충 및/또는 진드기와 같은 체외기생충에 대해 기피 활성과 살해 활성 둘 모두 또는 기피 활성 또는 살해 활성을 가질 수 있다. 기피 활성 및/또는 살해 활성은 본원에서 제공된 방법, 특히 하기 실시예 부문에서 본원에 사용되는 바와 같은 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 활성 성분이 없는 대조군 및 동일한 검정 방법을 적용할 때와 비교했을 때 적어도 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%의 침입 감소가 달성되는 것이 본 발명 내에서 바람직하다.

[0095] 추가의 구현예에서, 본 발명은 체외기생충, 특히 곤충 및/또는 진드기, 바람직하게는 곤충의 방제를 위한 화학식 I의 화합물, 또는 이의 염 또는 결정, 특히 아나타빈의 용도에 관한 것으로서, 화학식 I은 다음과 같다:

[화학식 I]



- [0096]  상기 식 중,
- [0097] R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬을 나타내고,
- [0099]  은 단일 결합 또는 이중 결합을 나타낸다.
- [0100] C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬 기의 예는 메틸, 에틸, n-프로필, 이소-프로필, n-부틸, 이소-부틸, sec-부틸, tert-부틸, n-펜틸 (아밀), 2-펜틸(sec-펜틸), 3-펜틸, 2-메틸부틸, 3-메틸부틸(이소-펜틸 또는 이소-아밀), 3-메틸부트-2-일, 2-메틸부트-2-일 및 2,2-디메틸프로필(네오펜틸)을 포함한다.
- [0101] 본 발명 내에서, R이 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> 알킬을 나타내는 것이 바람직하다.
- [0102] R이 수소를 나타내는 것이 추가로 바람직하다.
- [0103] 게다가 또는 대안적으로,  이 이중 결합을 나타내는 것이 바람직하다.
- [0104] 본원에서 사용되거나 본 발명의 제형에 포함된 바와 같은 화합물은 순수한 형태이거나, 예를 들어 적합한 부형제 또는 첨가제와 조합될 수 있다.
- [0105] 보다 구체적으로 본 발명의 구현예에서, 상기 화합물은 아나타빈이다. 본 발명 내에서, 아나타빈은 라세미체일 수 있거나, 하나의 거울상이성질체 형태는 거울상이성질체 과량으로 존재할 수 있다. 따라서, 아나타빈은 S(-) 아나타빈 또는 R(+) 아나타빈일 수 있거나, 두 거울상이성질체 형태 사이에 임의의 비율로 존재할 수 있다.
- [0106] 본 발명의 일 구현예에서, 본원에 제공된 것과 같은 화학식 Ia의 화합물, 특히 아나타빈은 식물 유래의 추출물의 형태로 제공된다. 본 발명의 특정 구현예에서, 식물은 담배이다.
- [0107] 본 발명 내에서 담배 식물은 니코티아나 타바쿰, 니코티아나 글루티노사, 니코티아나 글라우카 또는 니코티아나 데브네이 중의 것이 바람직하다. 니코티아나 타바쿰은 TN90, ITB683 또는 PMT 담배 식물인 것이 특히 바람직하다. 니코티아나 타바쿰은 또한 바람직하게는 K326 또는 스텔라 담배 식물일 수 있다.

- [0108] 담배 추출물이 니코티아나 타바쿰의 품종으로부터 생산되는 것이 또한 바람직하며, 여기서 주요 알칼로이드는 니코틴이 아니다.
- [0109] 본원에서 사용되는 바와 같이, PMT는 니코틴의 생합성이 변형되어, 제조된 니코틴의 양을 감소시키고 화학식 I의 화합물의 양을 증가시키는 돌연변이체 담배 식물을 지칭한다. 니코틴 생합성은 보인자로서 S-아데노실메티오닌을 사용하여 효소, 퍼트레신 N-메틸퍼트라아제(PMT)에 의해 폴리아민, 푸트레신의 메틸화에 의해 시작하여 N-메틸푸트레신이 된다. 이는 니코틴 생합성에 전구체 대사물질이 행해지게 하는 첫 번째 단계이다. PMT 효소는 효소 분류 체계에 따라 EC 2.1.1.53으로 분류된다. 담배 게놈에서, PMT 1a, PMT 1b, PMT2, PMT3 및 PMT4로 지정된, 푸트레신 N-메틸퍼트라아제를 암호화하는 5개의 유전자가 공지되어 있다. 이들 PMT 유전자 중 임의의 하나 이상의 활성이 본 발명의 추출물의 시작 공급원을 제공하는 데 유리하게 사용될 수 있는 담배 식물이 고려된다. 이들 PMT 유전자 중 임의의 하나 이상의 활성은 안티센스 뉴클레오티드, 특히 RNAi와 같은 재조합 DNA 기술에 의해 감소할 수 있다. 대안적으로, 전통적인 육종은 (돌연변이 유발에 의해) 생성하는데 적용될 수 있고, 니코틴을 적게 생산하는 이들 유전자 중 임의의 하나 이상에 돌연변이(들)를 보유하는 돌연변이체 식물에 대해 스크리닝되고 육종될 수 있다. 형질전환 방법에 의해 생성된 돌연변이체 담배 식물(PMT: mutant tobacco plant)의 사용 또는 안정한 돌연변이체 담배 식물의 용도가 본 발명에 의해 포함된다. PMT 담배 식물의 예는 WO 2015157359호에 기재되어 있고, 이는 본원에 참고로 포함된다.
- [0110] 본 발명 내에서, 화학식 I의 화합물, 특히 아나타빈, 또는 추출물로서의 화학식 Ia 또는 본 발명의 제형은 국소 제형의 형태로 적용될 수 있다.
- [0111] 당업자는 다양한 국소 제형을 알고 있다. 그러나, 본 발명 내에서, 국소 제형이 로션, 크림, 연고, 젤, 폼, 패치, 분말, 고체, 스펀지, 테이프, 증기, 페이스트 또는 팅크제의 형태인 것이 바람직하다. 국소 제형은 더욱 바람직하게는 액체 제형, 예컨대 푸어 온, 스팟 온(spot on) 및 분무 제형으로부터 선택될 수 있다.
- [0112] 따라서, 본 발명의 일 구현예에서, 상기 화합물은 포유동물, 특히 인간, 개, 고양이, 소 또는 말의 피부에 적용된다.
- [0113] 본 발명의 화합물, 추출물, 제형은 광범위한 기생충에 대해 효과적이지만, 기생충이 체외기생충, 특히 절지동물문의 체외기생충, 더 구체적으로는 벼룩, 진드기 및 응애를 포함하는 곤충 또는 거미류로부터의 체외기생충류인 것이 본 발명 내에서 바람직하다.
- [0114] 따라서, 본 발명의 일 구현예에서, 살충제 또는 체외기생충 살충제로서의 본 발명의 화합물, 추출물 또는 제형의 용도가 제공된다.
- [0115] 본 발명의 추가의 구현예에서, 곤충 기피제 또는 체외기생충 기피제로서의 본 발명의 화합물, 추출물 또는 제형의 용도가 제공된다.
- [0116] 다른 구현예에서, 본 발명은 담배 식물의 추출물을 포함하는 제형을 제공하기 위한 방법에 관한 것이고, 상기 방법은 (a) 담배 식물의 잎의 분쇄된 분말을 수득하는 단계를 포함하고; (b) 추출용 용매, 일 구현예에서는 메탄올을 분쇄된 분말에 첨가하는 단계; (c) 선택적으로 (b)에서 수득된 혼합물을 음과 처리하는 단계; (d) 혼합물을 여과하는 단계(여기서, 단계 (d)는 바람직하게는 수회 반복됨); (e) (d)에서 수득된 여과액을 증발시키는 단계; 및 (f) 선택적으로 추출물을 동결건조하는 단계를 포함한다.
- [0117] 상기 본원에 제공된 방법에 의해 수득된 추출물을 포함하는 제형이 본원에 또한 제공된다.
- [0118] 본 발명의 추가의 양태 및 구현예는 이러한 설명이 계속됨에 따라 명백해질 것이다.

### 도면의 간단한 설명

- [0119] **도 1** 진드기 기피제 시험의 개략도. 30개 내지 60개의 진드기 유충이 원형 무대(8.96 cm<sup>2</sup>)의 미처리된 영역에 침착되어, 표면의 한 사분면(2.25 cm<sup>2</sup>)이 처리된다. 1분 후, 2분의 기간 동안 처리 영역 및 비처리 영역에서의 진드기의 분포를 측정한다. 기피제/저해제 효과는 %로 표현된다: 100%는 진드기가 처리된 표면을 완전히 회피함을 의미한다. 독성은 8분의 지속기간에 걸쳐 동일한 설정에서 측정되고, 사망률은 8분의 시작과 종료 사이의 운동성 감소 %로 표현된다. 투여량은, 상기 화합물 또는 추출물이 웰의 하단에 증착됨에 따라, 표면 단위(m<sup>2</sup>) 당 양(mg 또는 몰농도)으로 표현된다. 순수 화합물: 마이크로몰/m<sup>2</sup>로 주어진 용량; 추출물: 마이크로그램/m<sup>2</sup>로 주어진 투여량. 시험을 3회 반복(triplicate) 수행하였다.

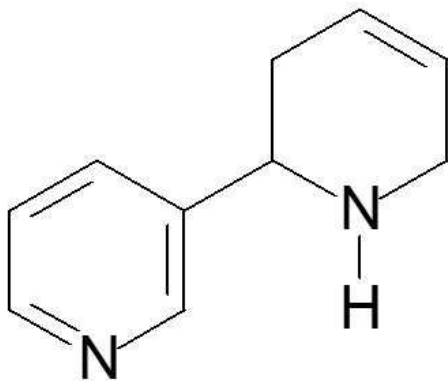
**도 2** (A) 알. 상귀네우스 진드기 유충, (B) 알. 상귀네우스 성체 진드기 및 (C) 익소테스 리시누스(Ixodes ricinus) 약충에 대한 8개의 담뱃잎 추출물의 기피제 활성. 각각의 농도에 대해, 3의 시험 반복의 중앙값 효능이 도시되어 있다. N,N-디에틸-m-톨루아미드(DEET)를 양성 대조군으로서 사용하였고, 8.5 mg/m<sup>2</sup>에서만 시험하였고, 기피 이외에 시험 농도에서 관찰된 진드기 억제 활성의 백분율을 시험하였다. 진드기가 처리된 웰로 방출된 후 1분에서 시작하여 2분 동안 기피를 모니터링하였다. 억제는 진드기 방출 후 첫 1분과 9분 사이의 운동성 차이로서 결정되었다.

**도 3** HCl 염으로서 및 염기 형태로서의 아나타빈의 모기 기피성 검정으로부터의 데이터.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0120] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 당업자에 의해 흔히 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.
- [0121] 달리 표시되지 않는 경우, 용어 "약"은 주어진 수치 값을 지칭하는 거울상이성질체 과량 평균 ±4%를 규명하는데 사용된다. 본 발명의 구현예의 각각에서, "약"이 결실될 수 있다.
- [0122] "바람직하게"라는 용어는 본 발명에서 요구되지 않지만, 개선된 기술적 효과를 초래할 수 있고, 이에 따라 바람직하지만 필수적인 것은 아닌 특징 또는 구현예를 기술하도록 사용된다.
- [0123] 본원에 언급된 수치와 관련하여, 달리 명시적으로 언급되지 않는 한, 수치 값의 소수점 마지막 자리는 바람직하게는 정확성 정도를 나타낸다. 이와 같이, 다른 오차 한계가 주어지지 않는 한, 최대 한계는 바람직하게는 반올림 규칙을 소수점 마지막 자리에 적용하여 확인된다. 따라서, 2.5의 값은 바람직하게는 2.45 내지 2.54의 오차 한계를 갖는다.
- [0124] 특히, 본 발명은 특히 화학식 Ia의 화합물에 대해 농후화된 담배의 추출물을 포함하는 체외기생충에 의한 침입을 감소시키기 위한 제형에 관한 것이다:

**[화학식 Ia]**

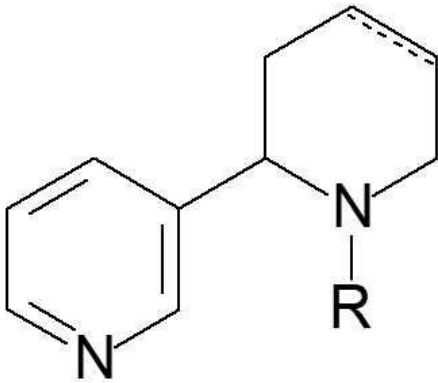


[0125]



[0126] 이는 화학식 I의 화합물의 특정 예이다:


[화학식 I]



[0127]

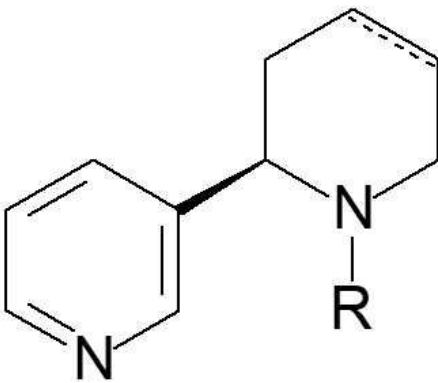
[0128] 상기 식 중,

[0129] R은 수소 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> 알킬을 나타내고,

[0130]  은 단일 결합 또는 이중 결합을 나타낸다.

[0131] 화학식 Ia를 포함하는 화학식 I의 화합물은 키랄 탄소 원자를 함유하고, 이에 따라 예를 들어 하기 화학식 I-1 및 화학식 I-2에 도시된 것과 같은 입체화학을 가질 수 있다:

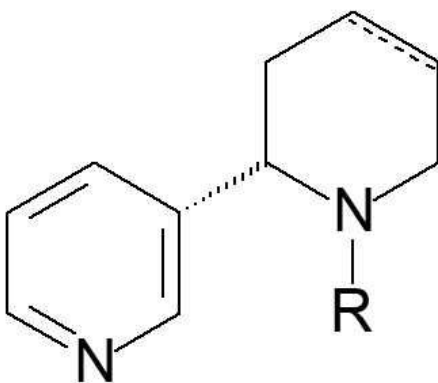
[화학식 I-1]



[0132]

및

[화학식 I-2]



[0133]

- [0134] 상기 식 중, 화학식 I과 관련하여 제시된 정의가 적용된다.
- [0135] 다음에서, 달리 언급되지 않는 한, 본 발명의 추출물을 포함하는 제형이 고려되는 한, 화학식 I의 화합물에 관한 참조는 화학식 Ia의 화합물과 관련된 것으로 간주된다. 그러나, 본 발명에 따른 용도의 맥락에서, 화학식 I의 화합물에 관한 참조는 일반적으로 화학식 I의 화합물 및 이의 임의의 염 또는 결정, 바람직하게는 화학식 Ia의 화합물과 관련된 것으로 이해되어야 한다.
- [0136] 담배 추출물 중의 상기 화학식 Ia의 화합물, 특히 아나타빈의 함량이 미가공된 담배 식물에서보다 높은 경우, 추출물은 본 발명의 의미 내에서 "농후화된" 것으로 간주된다. 따라서, 본 발명의 담배 추출물은 화학식 Ia의 화합물, 특히 아나타빈의 특정한 농후화를 초래하는 적어도 하나의 단계를 포함하는 방법에 의해 수득된다.
- [0137] 화학식 Ia의 화합물, 특히 아나타빈은 그의 함량이 증가하는 한 임의의 정도만큼 농후화될 수 있다. 예를 들어, 농후화는 1%일 수 있는데, 이는 본 발명의 추출물에 포함된 화학식 I의 화합물, 특히 아나타빈의 상대 함량이 1%만큼, 예를 들어 1% 내지 2%만큼 증가한다는 것을 의미한다. 본 발명 내에서, 농후화는 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% 또는 50%만큼인 것이 바람직하다.
- [0138] 본 발명 내에서, 화학식 I의 화합물이 아나타빈인 것이 바람직하다. 당업자가 알 수 있듯이, 아나타빈은 2가지 거울상이성질체 형태인 S 아나타빈 및 R 아나타빈으로 존재할 수 있다. 본 발명의 추출물 또는 제형에 함유된 아나타빈은, 대안적으로 (R)-(+)-아나타빈의 거울상이성질체 과량으로 표현되는, R-(+)-아나타빈 및 S(-)-아나타빈의 비의 임의의 전체 범위로 존재할 수 있고, 이는 놀랍게도 S(-)-아나타빈으로서 훨씬 더 효과적인 것으로 나타났다.
- [0139] 본원에서 사용되는 바와 같이, R-(+)-아나타빈 및 S(-)-아나타빈의 "비율"이 달리 명시적으로 언급되지 않는 한, R-(+)-아나타빈 및 S(-)-아나타빈의 중량비를 지칭하는 것으로 이해되어야 한다. R-(+)-아나타빈 및/또는 S(-)-아나타빈의 용매화물을 사용하면, 용매는 이에 따라 이 계산에서 무시되어야 한다. 바꾸어 말하면, "R-(+)-아나타빈 및 S(-)-아나타빈의 비율은 다음과 같이 계산된다:

$$\text{R-(+)-아나타빈 및 S(-)-아나타빈의 비율} = \frac{\text{중량 기준 R-(+)-아나타빈의 양}}{\text{중량 기준 S(-)-아나타빈의 양}}$$

- [0140]
- [0141] 당업자에 의해 공지된 바와 같이, R-(+)-아나타빈 및 S(-)-아나타빈의 경우에서처럼, 키랄성만이 다른 화합물의 비율은 비제한적인 예로서 키랄 지지체를 사용하는 크로마토그래피, 편광된 광의 회전의 편광계 측정, 키랄 시프트 시약을 사용하는 핵 자기 공명 분광법, 또는 모셔 산(Mosher's acid)과 같은 키랄 화합물을 사용한 화합물의 유도체화에 이어서 크로마토그래피 또는 핵 자기 공명 분광법을 포함하는 당업계에 공지된 다수의 방식으로 결정될 수 있다. 거울상이성질체는 키랄 고압 액체 크로마토그래피(HPLC) 및 라세미체, 즉 아나타빈의 직접적인 분별 결정화를 포함하는 당업자에게 공지된 방법에 의해, 공결정화에 존재하는 특정한 수소 결합 상호작용의 형성을 이용하는 키랄 공결정화 기술에 의해 혼합물로부터 추가로 분리될 수 있다(Springuel GR 등, 2012; 및 미국 특허 제6,570,036호 참조). 유용한 공결정화 파트너는 만델산, 말산, 타르타르산 및 이의 유도체의 거울상이성질체를 포함하거나; 거울상이성질체는 비대칭 합성에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 문헌 Eliel 및 Wilen, 1994을 참조한다.
- [0142] 본 발명의 조성물의 R-(+)-아나타빈 및 S(-)-아나타빈의 비율(키랄 순도로도 지칭될 수 있음)은 또한 그의 거울상이성질체 과량(ee)의 관점에서, 통상적으로 그리고 바람직하게는 키랄 HPLC에 의해 결정되고 하기 식에 의해 계산될 수 있다:
- [0143]  $ee = (A_R - A_S)/(A_R + A_S) \times 100\%$ ,
- [0144] 상기 식 중,  $A_R$ 은 R-(+)-아나타빈의 피크 면적이고,  $A_S$ 는 샘플 용액의 HPLC 크로마토그램에서 S(-)-아나타빈의 피크 면적이다.
- [0145] 화학식 Ia의 화합물, 특히 아나타빈은 본 발명의 추출물 또는 제형에 또는 용매화물 또는 공결정으로서 본원에 제공된 용도에 존재할 수 있다.
- [0146] 이와 관련하여, 본 발명 내에서, "용매화물"은 하나 이상의 용매 분자와 R-(+)-아나타빈 또는 S(-)-아나타빈 중 어느 하나의 회합 또는 복합체를 지칭한다. 용매화물을 형성하는 용매의 예는 물, 이소프로판올, 에탄올, 메

탄올, 디메틸 설펝시드(DMSO), 에틸 아세테이트, 아세트산 및 에탄올아민을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 용어 "수화물"은 용매 분자가 물인 복합체를 지칭한다.

[0147] "공결정"은 주변 조건 하에서 그 순수한 형태로 고형인 적어도 2개의 상이한 화합물을 함유하는 결정질 구조를 지칭한다. 적어도 2개의 상이한 화합물은 R-(+) 아나타빈 및/또는 S(-) 아나타빈 및/또는 본원에 제공된 조성물 또는 추출물의 임의의 추가의 성분을 포함할 수 있다. 공결정은 중성 분자 종으로부터 제조되며, 모든 종은 결정화 후에 중성으로 유지되고; 또한, 통상적으로 그리고 바람직하게는, 이들은 2개 이상의 건물 화합물이 정의된 화학량론적 비율로 존재하는 결정질 균질 상 물질이다. 본원에서 문헌 Wang Y 및 Chen A, 2013; 및 문헌 Springuel GR 등, 2012; 및 미국 특허 제6,570,036호를 참조한다. R-(+) 아나타빈 및 S(-) 아나타빈이 임의의 다형성의 형태일 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 이러한 공결정을 제조하기 위한 다양한 공결정 및 기술은, Royal Society of Chemistry에 의해 2012년에 출판되고, 특히 15장 및 16장에서 Johan Wouters 및 Luc Quere에 의해 편집된 문헌[RSC Drug Discovery, Pharmaceutical Salts and Co-crystals]에 기술되어 있다. 공결정 형성체의 바람직한 예는 본 참고문헌의 표 16.1에 개시된 것이다. 훨씬 더 바람직한 공결정은 본원에 개시된 바와 같은 (R) 내지 (S)-비율로 α-하이드록시 산, α-케토산 및/또는 α-케토 아마이드와 아나타빈 거울상이성질체의 공결정을 포함한다. α-하이드록시 산의 예는 아드롤락트산, 벤질산, 4-클로로만델산, 시트르산, 3,4-디하이드록시만델산, 에틸 피루베이트, 갈락투론산, 글루코노락톤, 글루쿠론산, 글루쿠로놀락톤, 글리콜산, 2-하이드록시부탄산, 2-하이드록시펜탄산, 2-하이드록시헥산산, 2-하이드록시헵탄산, 2-하이드록시옥탄산, 2-하이드록시노난산, 2-하이드록시데칸산, 2-하이드록시운데칸산, 4-하이드록시만델산, 3-하이드록시-4-메톡시만델산, 4-하이드록시-3-메톡시만델산, α-하이드록시아라키돈산, α-하이드록시부티르산, α-하이드록시이소부티르산, α-하이드록시라우르산, α-하이드록시미리스탄산, α-하이드록시팔미트산, α-하이드록시스테아르산, 3-(2`-하이드록시페닐)락트산, 3-(4`-하이드록시페닐)락트산, 락트산, 말산, 만델산, 메틸락트산, 메틸피루베이트, 점액산, α-페닐아세트산, α-페닐피루브산, 피루브산, 사카린산, 타르타르산 및 타르트론산을 포함한다. α-케토산의 예는 2-케토에탄산(글리옥살산), 메틸 2-케토에타노에이트, 2-케토프로판산(피루브산), 메틸 2-케토프로파노에이트(메틸 피루브산), 에틸 2-케토프로파노에이트(에틸 피루베이트), 프로필 2-케토프로파노에이트(프로필 피루베이트), 2-페닐-2-케토에탄산(벤조일포름산), 메틸 2-페닐-2-케토에타노에이트(메틸 벤조일포르메이트), 에틸 2-페닐-2-케토에타노에이트(에틸 벤조일포르메이트), 3-페닐-2-케토프로판산(페닐피루브산), 메틸 3-페닐-2-케토프로파노에이트(메틸 페닐피루베이트), 에틸 3-페닐-2-케토프로파노에이트(에틸 페닐피루베이트), 2-케토부탄산, 2-케토펜탄산, 2-케토헥산산, 2-케토헵탄산, 2-케토옥탄산, 2-케토도데칸산 및 메틸 2-케토옥타노에이트를 포함한다. α-케토 아마이드의 예는 α-케토산의 상기 실시예 중 어느 하나를 1차 아민 또는 2차 아민과 반응시켜 수득 가능한 임의의 화합물을 포함한다.

[0148] 본 발명의 추출물, 화합물 또는 제형은 기생충, 특히 체외기생충의 기생충인 곤충의 방제에서의 사용을 위해, 특히 이에 의한 침입의 감소를 위해 또한 제공된다. 따라서, 특히, 본 발명은 벼룩, 진드기 및 응애 등을 포함하는 곤충 또는 거미류 강으로부터의 체외기생충, 특히 절지동물문(phylum arthropoda)으로부터의 체외기생충에 의한 침입을 감소시키기 위한 본원에서 제공된 추출물, 화합물 또는 제형의 용도에 관한 것이다.

[0149] 본 발명의 맥락에서, 곤충은 특히 벼룩일 수 있다. 그러나, 본 발명 내에서 "곤충"이라는 용어는 목 인시목(Lepidoptera), 딱정벌레목(Coleoptera), 동시아목(Homoptera), 노린재목(Heteroptera), 파리목(Diptera), 총체벌레목(Thysanoptera), 메뚜기목(Orthoptera), 이목(Anoplura), 벼룩목(Siphonaptera), 털이목(Mallophaga), 줌목(Thysanura), 흰개미목(Isoptera), 다듬이벌레목(Psocoptera) 및 막시목(Hymenoptera)의 곤충을 포함한다. 그러나, 본 발명은 특히 인간 또는 동물에게 문제가 되고 병원균, 예를 들어 파리, 예컨대 무스카 도메스티카(Musca domestica), 무스카 베투스티시마(Musca vetustissima), 무스카 아우툼날리스(Musca autumnalis), 판니아 카니쿨라리스(Fannia canicularis), 사르코파가 카르나리아(Sarcophaga carnaria), 루실리아 쿠프리나(Lucilia cuprina), 하이포테르마 보비스(Hypoderma bovis), 하이포테르마 리나에툼(Hypoderma lineatum), 크리소미아 클로로피가(Chrysomya chloropyga), 데르마토피아 호미니스(Dermatobia hominis), 코킬로미아 호미니보락스(Cochliomyia hominivorax), 사르테로필루스 인테스티날리스(Gasterophilus intestinalis), 오에스트루스 오비스(Oestrus ovis), 스토목시스 칼시트란스(Stomoxys calcitrans), 헤오마토비아 이리탄스(Haematobia irritans) 및 긴빨과이라목, 예컨대 깔따구, 세라토포고니다에(Ceratopogonidae), 시물리다에(Simuliidae), 및 플레오보토마(Phlebotoma) 및 루트조미아 게네라(Lutzomyia genera)를 포함하는 사이코디다에(Psychodidae), 예를 들어 벼룩, 예컨대 크테노세팔리데스 펠리스(Ctenocephalides felis) 및 크테노세팔리데스 카니스(Ctenocephalides canis)(고양이 및 개 벼룩), 제노프실라 케오피스(Xenopsylla cheopis), 풀렉스 이리탄스(Pulex irritans), 데르마토피루스 페네트란스(Dermatophilus penetrans), 흡혈 이(이목), 예컨대 헤마토피누스 종(Hematopinus spp), 솔레노포테스 종(Solenopotes spp), 리노그나투스 종(Linognathus spp), 페디

클루스 후마니스(*Pediculus humanis*), 씹는 이(털이목), 예컨대 보비콜라(*Bovicola*)(다말리나) 오비스 및 보비콜라 보비스(*Bovicola bovis*), 무는 파리 및 말파리(등에과), 헤마토포타 종(*Haematopota* spp.), 예컨대 헤마토포타 플루비알리스(*Haematopota pluvialis*), 타바니데아 종(*Tabanidea* spp). 예컨대 타바누스 니그로비타투스(*Tabanus nigrovittatus*), 크리소프시나에 종(*Chrysopsinae* spp.), 예컨대 크리소프스 카에쿠티엔스(*Chrysops caecutiens*), 체체파리, 예컨대 species of 글로시니아(*Glossinia*), 성가신 곤충, 특히 바퀴, 예컨대 블라텔라 게르마니카(*Blatella germanica*), 블라타 오리엔탈리스(*Blatta orientalis*) 및 페리플라네타 아메리카나(*Periplaneta americana*)를 보균하는 것에 관한 것이다.

[0150] 본 발명의 맥락에서, 거미류 종의 체외기생충은 특히 진드기 및 응애를 포함하는 목 응애목의 체외기생충일 수 있다. 진드기의 대표는 예를 들어 더마니서스 갈리나에(*Dermanyssus gallinae*), 사르코프테스 스카비에이(*Sarcoptes scabiei*), 프소로프테스 오비스(*Psoroptes ovis*) 및 프소러르케이테스(*Psorergates*) 종이다. 알려진 진드기의 대표는 예를 들어 부필루스(*Boophilus*), 암블리오마(*Amblyomma*), 아노센터(*Anocentor*), 데마센터(*Dermacentor*), 헤마피살리스(*Haemaphysalis*), 히알롬마(*Hyalomma*), 익소테스(*Ixodes*), 리피센터(*Rhipicentor*), 마르가롭루스(*Margaropus*), 리피세팔루스(*Rhipicephalus*), 아르가스(*Argas*), 오토비우스(*Otobius*) 및 오르니토도로스(*Ornithodoros*) 등이고, 이들은 소, 말, 돼지, 양 및 염소와 같은 가축, 닭, 칠면조 및 거위와 같은 가금류, 밍크, 여우, 친칠라, 토끼 등과 같은 털 보유 동물뿐만 아니라 고양이 및 개와 같은 반려 동물, 그러나 또한 인간을 포함하는 온혈 동물을 침입한다.

[0151] 진드기는 딱딱한 진드기와 부드러운 진드기로 나눌 수 있다. 딱딱한 진드기는 1마리, 2마리 또는 3마리의 숙주 동물을 감염시키는 것을 특징으로 한다. 이들은 지나가는 숙주 동물에 자체가 부착하고 혈액 또는 체액을 빨아낸다. 완전히 울혈된 암컷 진드기는 숙주 동물로부터 떨어져 나와서, 바닥에 또는 유충이 부화하는 임의의 다른 보호된 부위에 많은 양의 알(2000개 내지 3000개)을 적합한 틈에 낳는다. 이들은 숙주 동물로부터 혈액을 빨아들이기 위해 결국 숙주 동물을 찾아간다. 한 마리의 숙주 동물에게만 침입하는 진드기의 유충은 2회 탈피하고, 이에 따라 이들이 선택한 숙주를 떠나지 않으면서 약충이 되고 결국에는 성체 진드기가 된다. 2마리 또는 3마리의 숙주 동물을 침입하는 진드기의 유충은 혈액을 섭취한 후 동물을 떠나고, 현지 환경에서 탈피하고, 2번째 또는 3번째 숙주의 혈액을 빨아들이기 위해 약충 또는 성체 진드기로서 이 숙주를 찾아간다.

[0152] 진드기는 전세계적으로 많은 인간 및 동물 질병의 전파와 확산의 원인이다. 이의 경제적 영향 때문에, 가장 중요한 진드기 속은 부필루스, 리피세팔루스, 익소테스, 히알롬마, 암블리오마 및 데마센터이다. 이들은 바이러스성, 박테리아성(리케치아 및 시로케테스를 포함) 및 원생동물 질병의 보균자이고, 진드기 마비 및 진드기 중독 증을 유발한다. 심지어 단일 진드기가 마비를 유발하여, 그 타액이 섭취 동안에 숙주 동물로 침투할 수 있다. 진드기에 의해 야기되는 질병은 보통 여러 숙주 동물을 감염시키는 진드기에 의해 전파된다. 이러한 질병, 예를 들어 아나플라즈마증, 에르리히증, 바베시아증, 타일레리아증 및 심수병은 전세계에서 많은 수의 가축 및 농장 동물의 사망 또는 손상의 원인이다. 온대 기후의 많은 국가에서, 익소테스 속의 진드기는 만성적으로 유해한 라임병의 체제를 야생 동물에서 인간으로 전파한다. 질병의 전파와는 별개로, 진드기는 가축 생산에서 엄청난 경제적 손실의 원인이다. 손실은 숙주 동물의 죽음에 국한되지 않고, 또한 날가죽의 손상, 성장의 상실, 우유 생산의 감소 및 육류 가치의 감소를 포함한다. 진드기 침입이 동물에게 미치는 유해한 영향이 수년 동안 알려졌고, 진드기 방제 프로그램을 사용하여 엄청난 진전이 이루어졌지만, 현재까지는 이러한 기생충을 완전히 만족스럽게 방제하거나 제거하는 방법이 발견되지 않았고, 게다가 진드기는 종종 화학적 활성 성분에 대한 내성을 발생하였다.

[0153] 가축과 애완동물에 대한 벼룩의 침입은 만족스럽게 해결되지 않았거나 상당한 비용으로만 해결할 수 있는 문제를 여전히 소유자에게 나타낸다. 진드기에서처럼, 벼룩은 골칫거리일 뿐만 아니라, 질병의 보균자이다. 예를 들어, 여기에서 언급되는 것은 치료하기 어려운 개의 심각한 피부 질병인 벼룩 아토피성 피부염(FAD: Flae Atopic dermatitis)이다. 벼룩은 특히 습하고 따뜻한 기후 영역, 예를 들어 지중해, 미국 남부 등에서 다양한 진균 질병을 숙주 동물로부터 숙주 동물 및 사육사로 전파할 수 있다. 특히, 위험에 처한 사람들은 면역계가 약화된 사람 또는 면역계가 아직 완전히 발달되지 않은 소아이다. 복잡한 생활 주기로 인해, 특히 대부분의 공지된 방법이 기본적으로 날가죽에서의 성체 벼룩의 방제에 관한 것이므로, 벼룩의 방제를 위한 공지된 방법 중 어느 것도 완전히 만족스럽지 않고, 벼룩의 다양한 유약 단계를 완전히 바꾸지 않게 두고, 이는 동물의 날가죽에 존재할 뿐만 아니라, 바닥, 카펫, 동물의 잠자리, 의자, 정원 및 침입된 동물이 접촉하는 모든 다른 장소에 존재한다. 벼룩 처리는 비용이 많이 들 수 있으며 장기간에 걸쳐 계속되어야 한다.

[0154] 성공은 보통 침입된 동물, 예를 들어 인간, 개, 고양이, 소, 말, 그러나 동시에 침입된 동물이 자주 다니는 모

든 위치를 처리하는 것에 따라 달라진다.

- [0155] 논 의 중 인 화 학 식 I 의 화 합 물 의 특 정 장 점 은 이 들 이 매 우 효 과 적 이 고 동 시 에 온 혈 동 물 에 대 한 독 성 이 매 우 낮 다 는 것 이 므 로, 이 러 한 복 잡 한 절 차 는 본 화 학 식 I 의 화 합 물 에 의 해 불 필 요 하 다.
- [0156] 추 가 로 개 선 되 거 나 더 오 래 지 속 되 는 작 용 을 달 성 하 기 위 해 본 발 명 에 따 른 화 학 식 I 의 화 합 물 은 동 일 한 활 성 구 를 갖 는 다 른 물 질 또 는 살 충 제 또 는 다 른 활 성 개 선 물 질 과 혼 합 되 고 이 후 적 용 될 수 있 다.
- [0157] 활 성 성 분 이 많 은 경 우 에 온 혈 동 물 에 적 용 되 고 물 론 피 부 와 접 촉 하 기 때 문 에, 적 합 한 제 형 부 형 제 는 화 장 품 에 공 지 된 부 형 제 및 투 여 형 태 이 다. 이 들 은 용 액, 에 멀 선, 연 고, 크 림, 페 이 스투, 분 말, 분 무 액 등 의 형 태 로 투 여 될 수 있 다.
- [0158] 본 발 명 에 따 른 화 학 식 I 의 화 합 물 은 분 무, 침 지 또 는 푸 어 온 기 법 을 포 함 하 는 국 소 투 여 에 적 합 한 임 의 의 기 법 에 의 해 동 물 에 적 용 하 기 위 해 제 형 화 될 수 있 다. 더 욱 바 람 직 한 적 용 기 술 은 체 외 기 생 충 에 대 한 장 기 간 보 호 를 제 공 하 는 것 을 목 표 로 하 는 (소 의 경 우) 팔 지, 목 걸 이 또 는 귀 태 그 와 같 은 서 방 형 장 치 를 포 함 한 다.
- [0159] 본 발 명 에 따 른 화 학 식 I 의 화 합 물 은 바 람 직 하 게 는 애플 리 케 이 터 장 치, 예 컨 대 총, 분 무 액 을 사 용 하 여 동 물 의 피 부 에 외 부 적 으 로 적 용 되 거 나, 동 물 이 침 지 제 형 의 수 조 에 침 지 된 다.
- [0160] 특 히, 적 합 한 제 형 은 액 체 형 태 또 는 에어 로 졸 형 태 로 적 용 될 수 있 다. 에어 로 졸 형 태 는 추 진 제 로 서 액 체 또 는 가 스 를 사 용 할 수 있 다. 이 들 은 예 를 들 어 프 로 판, 부 탄, 디 메 틸 에 테 르, CO<sub>2</sub>, 또 는 할 로 겐 화 저 급 알 킬 가 스 (예 를 들 어, 할 로 겐 화 C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> 알 킬), 및 이 들 중 2 개 이 상 의 혼 합 물 과 같 은 분 무 캔 에 필 요 한 종 래 의 추 진 제 가 스 를 포 함 한 다.
- [0161] 특 히, 본 발 명 에 따 른 화 학 식 I 의 화 합 물 은 침 입 영 역 에 서 직 접 분 무 될 수 있 도 록 제 형 화 되 거 나, 고 형 지 지 체 에 결 합 될 수 있 거 나, 시 간 방 출 재 료 에 캡 수 화 될 수 있 다.
- [0162] 고 체 지 지 체 는 반 려 동 물 에 대 한 흔 한 외 부 기 생 충 과 싸 우 도 록 설 계 된 목 걸 이 의 형 태 로 제 공 될 수 있 다. 이 들 목 걸 이 는 통 상 적 으 로 활 성 물 질 의 5 내 지 40% 를 함 유 하 는 플 라 스틱 재 료 의 매트 리 크 스 로 보 통 이 루 어 진 매트 리 크 스 로 구 성 되 고, 연 장 된 시 간 에 걸 쳐 활 성 성 분 의 방 출 을 허 용 한 다. 따 라 서, 이 목 걸 이 는 체 외 기 생 충 에 대 해 오 래 지 속 되 는 보 호 를 보 장 한 다.
- [0163] 가 축 또 는 애 완 동 물, 예 컨 대 소, 말, 당 나 귀, 낙 타, 개, 고 양 이, 가 금 류, 양, 염 소 등 에 투 여 하 기 위 해, 소 위 '푸 어 온' 또 는 '스 팟 온' 제 형 이 또 한 적 합 하 고; 이 들 액 체 또 는 반 액 체 제 형 은 날 가 죽 또 는 깃 털 의 작 은 영 역 에 만 적 용 되 어 야 한 다 는 이 점 을 가 지 며, 확 산 오 일 또 는 다 른 확 산 첨 가 제 의 비 율 로 인 해, 다 른 일 을 할 필 요 없 이 전 체 날 가 죽 또 는 깃 털 에 홀 로 분 산 되 고, 전 체 영 역 에 걸 쳐 활 성 이 된 다.
- [0164] 물 론, 무 생 물 물 질, 예 를 들 어 의 류 또 는 개 및 고 양 이 바 구 니, 마 구 간, 카 펫, 커 튼, 거 주 구 역, 온 실 등 이 상 기 제 형 으 로 처 리 될 수 있 고, 이 에 따 라 기 생 충 감 염 으 로 부 터 보 호 될 수 있 다.
- [0165] 인 체 에 서 의 적 용 을 위 해, 적 용 이 더 욱 매 려 적 이 게 하 도 록 향 수 와 같 은 기 분 좋 은 향 의 에 쟌 스 를 첨 가 할 수 있 다.
- [0166] 본 발 명 의 바 람 직 한 구 현 예 에 서, 본 발 명 의 화 합 물 또 는 본 발 명 의 추 출 물 은 국 소 제 형 의 형 태 로 적 용 된 다.
- [0167] 이 와 같 이, 본 발 명 에 따 르 면, 화 학 식 I 의 화 합 물, 특 히 아 나 타 빈 을 포 함 하 는 제 형 이 제 공 된 다.
- [0168] 특 정 구 현 예 에 서, 화 학 식 I 의 화 합 물 은 리 포 줌 에 배 치 될 수 있 다. 본 발 명 에 따 르 면, 화 학 식 I 의 화 합 물 을 캡 수 화 하 기 위 한 리 포 줌 을 형 성 하 기 위 해 임 의 의 인 지 질 및/또 는 인 지 질 유 도 체, 예 컨 대 리 소 포 스 포 리 피 드 를 사 용 할 수 있 다. 적 합 한 인 지 질 및/또 는 인 지 질 유 도 체 는 레 시 틸, 리 소 레 시 틸, 포 스 파 티 디 콜 린, 포 스 파 티 디 에 탄 올 아 민, 포 스 파 티 디 이 노 시 톨, 포 스 파 티 디 글 리 세 롤, 포 스 파 티 디 산, 포 스 파 티 디 세 린, 리 소 포 스 파 티 디 콜 린, 리 소 포 스 파 티 디 에 탄 올 아 민, 리 소 포 스 파 티 디 글 리 세 롤, 리 소 포 스 파 티 디 산, 리 소 포 스 파 티 디 세 린, PEG-포 스 파 티 디 에 탄 올 아 민, PVP-포 스 파 티 디 에 탄 올 아 민, 이 들 의 조 합 등 을 포 함 하 지 만, 이 들 로 제 한 되 지 는 않 는 다.
- [0169] 일 부 구 현 예 에 서, 달 갈 또 는 대 두 로 부 터 유 래 된 레 시 틸 을 인 지 질 로 서 사 용 할 수 있 다. 이 러 한 레 시 틸 은 미 국 코 네 티 켓 주 옥 스 퍼 드 소 재 의 American Lecithin Company 로 부 터 PHOSPHOLIPON® 85G, PHOSPHOLIPON® 90G 및 PHOSPHOLIPON® 90H (PHOSPHOLIPON® 90G 의 완 전 수 소 화 된 버 전) 로 서 상 업 적 으 로 이 용 가 능 한 것 들 을 포 함 한 다. 다 른 적 합 한 레 시 틸 은 Nikko Chemicals 로 부 터 의 LECINOL S-10® 레 시 틸 을 포 함 한 다.
- [0170] 화 학 식 I 의 화 합 물 또 는 화 학 식 I 을 포 함 하 는 대 안 적 인 제 형 을 함 유 하 는 리 포 줌 을 형 성 하 기 위 해 상 기 인 지 질

또는 이의 유도체를 사용될 수 있다. 구현예에서, 리포솜을 형성하기 위해 고 포스파티딜콜린 함량을 갖는 레시틴을 사용할 수 있다. 일부 구현예에서, 사용될 수 있는 고 포스파티딜콜린 레시틴은 최소 약 85%의 리놀레산계 포스파티딜콜린을 함유하는 대두 유래 레시틴인 PHOSPHOLIPON® 85G를 포함한다. 이 레시틴은 사용하기 쉽고, 임의의 다른 특별한 첨가제의 첨가 없이 낮은 공정 온도(약 20°C 내지 약 55°C에서 마이크론이하 리포솜을 생성할 수 있다. PHOSPHOLIPON® 85G는 포스파티딜콜린 외에도 약 5% 내지 7%의 포스파티드산을 함유한다. 포스파티드산은 생성된 제형에 음의 표면 전하를 부여하고, 가공 시간 및 공정 에너지를 감소시키고, 안정한 형태의 형성을 돕는다.

[0171] 일부 구현예에서, 전반적인 레올로지 특성 및 가공 특성을 개선하고, 보관 동안 미생물학적 무결성을 보장하기 위해 추가 성분을 제형과 배합할 수 있다. 이러한 성분은, 제한 없이, 흡수제, 소포제, 산성화제, 알칼리화제, 완충제, 항균제, 항산화제(예를 들어, 토크페롤, BHT, 폴리페놀, 피트산) 결합제, 생물학적 첨가제, 킬레이트제(예를 들어, 디나트륨 EDTA, 테트라나트륨 EDTA, 나트륨 메타실리케이트 등), 변성제, 보존제(예를 들어, 이미다졸리디닐 우레아, 다이아졸리디닐 우레아, 페녹시에탄올, 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤 등), 환원제, 가용화제, 용매, 점도 조절제, 습윤제, 증점제, 및 이들의 조합을 포함한다. 이들 추가 성분은 분산액의 약 0.001 중량% 내지 약 10 중량%, 구현예에서는 분산액의 약 0.1 중량% 내지 약 1 중량%의 양으로 존재할 수 있다.

[0172] 제형에 첨가될 수 있는 적합한 습윤제의 예는 폴리올 및 폴리올 유도체, 예컨대 글리세롤, 디글리세롤, 트리글리세롤, 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 부틸렌 글리콜, 펜틸렌 글리콜(본원에서 때때로 1,2-펜탄 디올로 지칭됨), 이소프레네글리콜 (1,4-펜탄 디올), 1,5-펜탄 디올, 헥실렌 글리콜, 에리스리톨, 1,2,6-헥산트리올, 폴리에틸렌 글리콜, 예컨대 PEG-4, PEG-6, PEG-7, PEG-8, PEG-9, PEG-10, PEG-12, PEG-14, PEG-16, PEG-18, PEG-20, 이들의 조합, 당 및 당 유도체(프럭토스, 글루코스, 말토스, 말티톨, 만니톨, 이노시톨, 소르비톨, 소르비틸 실란디올, 수크로스, 트레할로스, 자일로스, 자일리톨, 글루쿠론산 및 이의 염), 에톡실화된 소르비톨(Sorbeth-6, Sorbeth-20, Sorbeth-30, Sorbeth-40), 및 이들의 조합을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 일부 구현예에서, 상업적으로 입수 가능한 1,2-펜탄 디올, 예컨대 HYDROLITE-5® 펜틸렌 글리콜(Symrise GmbH로부터 상업적으로 입수 가능함)이 사용될 수 있다. 다른 구현예에서, 프로필렌 글리콜이 사용될 수 있다. 이러한 습윤제는 사용되는 경우 분산액의 약 0.1 중량% 내지 약 20 중량%의 양으로, 구현예에서는 분산액의 약 3중량% 내지 약 10 중량%의 양으로 존재할 수 있다.

[0173] 일부 구현예에서, 페녹시에탄올과 같은 보존제 및 부틸렌 글리콜, 헥실렌 글리콜, 펜틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌 글리콜과 같은 습윤제가 둘 모두 제형에 첨가될 수 있다. 구현예에서, 펜틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌 글리콜은 페녹시에탄올과 조합될 때 습윤성을 제공하고 농축물의 보존을 도울 수 있다. 페녹시에탄올 및 펜틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌 글리콜 혼합물은 수용성이고 비휘발성이어야 한다.

[0174] 화학식 I의 화합물은 생성된 농축물에 농축물의 약 10 중량% 내지 농축물의 약 30 중량%, 구현예에서는 농축물의 약 18 중량% 내지 농축물의 약 26 중량%, 일부 구현예에서는 농축물의 약 21 중량% 내지 농축물의 약 22 중량%의 양으로 존재할 수 있다. 농축물 중의 인지질의 양은 농축물의 약 1 중량% 내지 농축물의 약 20 중량%, 구현예에서는 농축물의 약 4 중량% 내지 농축물의 약 12 중량%일 수 있고, 잔량은 용매, 습윤제 및 보존제이다.

[0175] 생성된 제형은 직접 투여될 수 있거나, 구현예에서는 임의의 허용 가능한 담체와 조합될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "허용 가능한 담체" 및 "허용 가능한 담체들"이라는 용어는 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 등 없이 인간 또는 동물의 조직과 접촉하여 사용하기에 적합하고, 합리적인 이익/위험 비율에 상응하고, 이들의 의도된 용도에 대해 효과적인 화합물뿐만 아니라, 이들 화합물의 염 및 생체적합성 유도체를 지칭한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 약학적으로 허용 가능한 담체는 물, 분산액 매질, 코팅, 항균제 및 항진균제, 안정화 부형제, 흡수 증강제 또는 지연제, 중합체 결합제 및 중합체 접착제를 포함하는 중합체, 이들의 조합 등을 포함하는 임의의 및 모든 용매를 포함한다. 이러한 물질은 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이어야 하고, 완충제, 예컨대 TRIS-HCl, 포스페이트, 시트레이트, 아세테이트 및 다른 유기산 염; 항산화제, 예컨대 아스코르브산; 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 펩티드, 예컨대 폴리알라기닌, 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체킬레이트제, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루탐산, 아스파르트산 또는 아르기닌; 단당류, 이당류, 및 셀룰로스 또는 이의 유도체, 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함하는 다른 탄수화물; 킬레이트제, 예컨대 EDTA; 당 알코올, 예컨대 만니톨 또는 소르비톨; 반대이온, 예컨대 나트륨 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 TWEEN, PLURONICS 및/또는 폴리에틸렌 글리콜을 포함할 수 있다.

- [0176] 이러한 매질 및 제제의 사용은 당업자의 범위 내에 있다. 보충 활성 성분은 또한 상기 조성물에 혼입될 수 있다.
- [0177] 구현예에서, 상기 담체는 담체 시스템을 형성하기 위해 단독으로 또는 조합하여 사용될 수 있다. 적합한 담체 시스템은 당업자의 범위 내에 있고, 로션, 크림, 젤, 에멀션, 분산액, 고체, 고체 스틱, 반고체, 에어로졸 또는 비에어로졸 폼, 분무제, 세럼, 경피 접촉제 패치 시스템, 이들의 조합 등을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 구현예에서, 리포솜은 리포솜 농축물에 있을 수 있고, 상기에 기재한 바와 같이 투과 증강제와 함께 도입될 수 있다. 구현예에서, 투과 증강제는 본 개시내용의 조성물을 형성하기 위해 리포솜 농축물에 첨가된 수 상에 존재할 수 있다. 구현예에서, 제형은 경피 전달에 사용될 수 있다.
- [0178] 이와 같이, 화학식 I의 화합물은 상기 조성물의 약 0.5 중량% 내지 약 20 중량%, 구현예에서는 상기 조성물의 약 0.75 중량% 내지 약 10 중량%, 다른 구현예에서는 상기 조성물의 약 1 중량% 내지 약 7.5 중량%, 다른 구현예에서는 상기 조성물의 약 1.25 중량% 내지 약 5 중량%, 다른 구현예에서는 상기 조성물의 약 1.5 중량% 내지 약 3 중량%의 양으로 최종 조성물, 구현예에서는, 로션, 크림 또는 상기에 기재된 임의의 다른 적합한 형태로 존재할 수 있다. 다른 구현예에서, 화학식 I의 화합물은 상기 조성물의 약 0.2 중량% 내지 약 50%, 바람직하게는 약 5 중량% 내지 약 50 중량%, 구현예에서는 상기 조성물의 약 10 중량% 내지 약 50 중량%의 양으로 최종 조성물, 구현예에서는, 로션, 크림 또는 상기에 기재된 임의의 다른 적합한 형태로 존재할 수 있다.
- [0179] 예를 들어, 일부 구현예에서, 로션 또는 크림은 유상을 포함할 수 있고, 이는 결국 연화제, 지방 알코올, 유화제, 이들의 조합 등을 포함할 수 있다. 예를 들어, 유상은 C12-15 알킬 벤조에이트(Finetex Inc. (미국 뉴저지주 에디슨 소재)로부터 FINSOLV제 TN으로서 상업적으로 입수 가능함), 카프르산-카프릴산 트리글리세라이드(Huls로부터 MIGLYOL제 812로서 상업적으로 입수 가능함) 등과 같은 연화제를 포함할 수 있다. 사용될 수 있는 다른 적합한 연화제는 식물성 유래 오일(옥수수유, 홍화유, 올리브유, 마카다미아 너트 오일 등); 카프레이트, 리놀레이트, 디리놀레이트, 이소스테아레이트, 푸마레이트, 세바케이트, 락테이트, 시트레이트, 스테아레이트, 팔미테이트 등을 포함하는 다양한 합성 에스테르; 합성 중쇄 트리글리세라이드, 실리콘 오일 또는 중합체; 세틸 알코올, 스테아릴 알코올, 세테아릴 알코올, 라우릴 알코올, 이들의 조합 등과 같은 지방 알코올; 및 글리세릴 스테아레이트, PEG-100 스테아레이트, 글리세릴 스테아레이트, 글리세릴 스테아레이트 SE, 스테아르산, 팔미트산, 올레산 등을 포함하는 중화되거나 부분적으로 중화된 지방산을 포함하는 유화제; 지방산, Cetareth-20, Ceteth-20, PEG-150 스테아레이트, PEG-8 라우레이트, PEG-8 올레에이트, PEG-8 스테아레이트, PEG-20 스테아레이트, PEG-40 스테아레이트, PEG-150 디스테아레이트, PEG-8 디스테아레이트, 이들의 조합 등을 함유하는 식물성 오일 추출물; 또는 당업자의 범위 내에서 피부 진정에 사용된 다른 비극성 화장품 또는 약학적으로 허용 가능한 물질, 이들의 조합 등을 포함한다.
- [0180] 연화제, C<sub>12-15</sub> 알킬 벤조에이트는 진정 및 전연성을 위해 포함될 수 있다. 연화제는 존재하는 경우 총 조성물의 약 0.2 중량% 내지 약 15 중량%의 양으로, 구현예에서는 총 조성물의 약 2 중량% 내지 약 6 중량%의 양으로 존재할 수 있다. 세틸 알코올 및 스테아릴 알코올과 같은 알코올을 첨가하여 크림에 바디 또는 질감을 부여할 수 있다. 세틸 알코올 스테아릴 알코올 둘 모두를 사용하는 경우, 세틸 알코올 대 스테아릴 알코올의 비율은 약 2:1 내지 약 1:2일 수 있고, 왁스 알코올은 총 조성물의 약 1 중량% 내지 약 6 중량%, 구현예에서는 총 조성물의 약 2 중량% 내지 약 4 중량%를 차지한다.
- [0181] 상기에 언급한 바와 같이, 이 유상은 유화제를 또한 포함할 수 있다. 적합한 유화제는 글리세릴 스테아레이트, PEG-100 스테아레이트, 글리세릴 스테아레이트 SE, 글리세릴 스테아레이트 시트레이트, 이들의 조합 등을 포함하는 스테아레이트를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 구현예에서, 스테아레이트의 조합은 유화제로서 유상에 사용될 수 있다. 예를 들어, 수중유(o/w) 에멀션을 형성하도록 유화제로서 글리세릴 스테아레이트 및 PEG-100 스테아레이트 혼합물(구현예에서는, ICI Americas로부터 ARLACEL® 165로서 상업적으로 입수 가능한 글리세릴 스테아레이트와 폴리에틸렌 글리콜 100 스테아레이트의 혼합물)을 사용할 수 있다. 이러한 조합에서, PEG-100 스테아레이트는 일차 유화제로서 작용할 수 있고, 글리세릴 스테아레이트는 공 유화제일 수 있다. 유화제는 총 조성물의 약 2 중량% 내지 약 8 중량%의 양으로, 구현예에서는 총 조성물의 약 3 중량% 내지 약 5 중량%의 양으로 존재할 수 있다.
- [0182] 이 유상에서 상기에 기술된 것과 같은 유화제 대 연화제의 중량비는 약 10:1 내지 약 1:2, 일부 구현예에서는 약 2:1 내지 약 1:1일 수 있다.
- [0183] 유상은 존재하는 경우 약 5 중량% 내지 약 20 중량%의 로션 또는 크림의 양으로 존재할 수 있고, 구현예에서는

약 8 중량% 내지 약 15 중량%의 로션 또는 크림의 양으로 존재할 수 있다. 상기 리포솜으로 형성된 로션 또는 크림은 수상을 또한 포함할 수 있고, 이는 구현예에서 상기에 기재된 투과 증강제뿐만 아니라 습윤제 및 보존제를 포함하여 상기에 기재된 제2 상을 형성하기 위해 조합된 항목을 포함할 수 있다. 따라서, 구현예에서, 본원에서 설명된 바와 같은 리포솜을 보유하는 로션 또는 크림의 형성에 사용되는 수상은 상기에 기술된 제2 상을 포함할 수 있다. 게다가, 구현예에서, 원하는 점도를 갖는 로션 및/또는 크림을 제공하기 위해 때때로 본원에서 점도제로 지칭되는 점도 조절제를 첨가하는 것이 바람직할 수 있다.

[0184] 수상에 첨가될 수 있는 적합한 점도제는 음이온성 중합체 및 비이온성 중합체를 포함하는 수용성 중합체를 포함한다. 유용한 중합체는 비닐 중합체, 예컨대 CTFA 명칭이 CARBOMER인 가교결합된 아크릴산 중합체, 폴루란, 만난, 스크렐로글루칸, 폴리비닐피롤리돈, 폴리비닐 알코올, 구아 검, 하이드록시프로필 구아 검, 잔탄 검, 아카시아 검, 아라비아 검, 트라가칸스, 갈락탄, 캐롭 검, 카라야 검, 로커스트 콩 검, 카라기닌, 펙틴, 아밀로펙틴, 아가, 퀸스 시드(사이드니아 오블롱가 밀(Cydonia oblonga Mill)), 전분(쌀, 옥수수, 감자, 밀), 조류 콜로이드(조류 추출물), 미생물학적 중합체, 예컨대 텍스트란, 숙시노글루칸, 전분계 중합체, 예컨대 카르복시메틸 전분, 메틸하이드록시프로필 전분, 알긴산계 중합체, 예컨대 알긴산나트륨, 알긴산 프로필렌 글리콜 에스테르, 아크릴레이트 중합체, 예를 들어 나트륨 폴리아크릴레이트, 폴리에틸아크릴레이트, 폴리아크릴아미드, 폴리에틸렌아민, 및 무기 수용성 물질, 예컨대 벤토나이트, 알루미늄 마그네슘 실리케이트, 라포나이트, 헥토나이트, 및 무수 규산을 포함한다. 진술한 것의 조합도 구현예에서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, CARBOMER 940과 같은 CARBOMER는 크림 제제의 유동학적 특성을 제어하고 일차 에멀션에 안정성을 추가하기 위한 점도제로서 첨가될 수 있다.

[0185] 점도제는 사용되는 경우 상기 조성물의 약 0.1 중량% 내지 약 2 중량%, 구현예에서는 상기 조성물의 약 0.25 중량% 내지 약 0.6 중량%의 양으로 존재할 수 있다.

[0186] 대안적으로, 수상은 당업자의 범위 내에서 글리콜, 폴리올, 락테이트, 아미노산, 펩티드, 당, 우레아, 나트륨 PCA, 히알루론산, 또는 이들의 염과 같은 다른 가용성 습윤제, 또는 임의의 다른 적합한 습윤제, 또는 수용성 또는 수분산성 보습제를 함유할 수 있다. 습윤제 대 투과 증강제 대 보존제 대 점도제의 중량비는 약 20:10:1:1 내지 약 10:20:1:1, 일부 구현예에서는 약 15:10:2:1 내지 약 10:15:1:1일 수 있다.

[0187] 이와 같이, 상기에 언급된 바와 같이, 본 개시내용의 로션 및/또는 크림을 형성하기 위해 사용된 수상은 물, 습윤제, 보존제, 점도제 및 투과 증강제를 포함할 수 있다. 예를 들어, 구현예에서, 적합한 수상은 글리세린, 펜틸렌 글리콜 및/또는 프로필렌 글리콜, 에톡시디글리콜, 페녹시에탄올, 물 및 CARBOMER 940의 조합을 포함할 수 있다.

[0188] 일부 구현예에서, 점도제는 선택적으로 물과 조합되어, 선택적으로 상기에 기술된 바와 같은 보존제와 조합되어 상기에 기술된 바와 같은 습윤제에서 분산액으로서 수상에 첨가될 수 있다. 예를 들어, 구현예에서 CARBOMER 940은 물, 프로필렌 글리콜과 페녹시에탄올의 혼합물에 분산된 CARBOMER 940을 함유하는 2% 분산액과 같은 분산액으로서 첨가될 수 있다. 이 CARBOMER 940 분산액은 배치 제조 공정에서 별도로 제조될 수 있다. CARBOMER 940과 같은 점도제를 수상에 별도의 분산액으로서 첨가하는 경우, 점도제 대 습윤제 대 보존제 대 물의 중량비는 약 0.3:2:0.05:10 내지 약 0.5:1:0.2:10, 일부 구현예에서는 약 0.1:0.5:0.05:9 내지 약 0.2:1:0.1:9일 수 있다.

[0189] 수상은 존재하는 경우 약 60 중량% 내지 약 80 중량%의 로션 또는 크림의 양으로, 구현예에서는 약 63 중량% 내지 약 71 중량%의 로션 또는 크림의 양으로 존재할 수 있다.

[0190] 일부 구현예에서, 중화 상 또는 완충 상으로서 본원에서 지칭될 수 있는 제3 상은 크림 또는 로션의 형성에서 또한 첨가될 수 있다. 이러한 단계의 성분은 물, 아민, 예컨대 트리에탄올아민, 트리아소프로판올아민, 2-아미노-2-메틸-1,3-프로판디올, 트리스(하이드록시메틸)아민, 2-아미노부탄올, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 염, 예컨대 락트산나트륨, 락트산칼륨, 시트르산나트륨, 시트르산칼륨, 나트륨 또는 칼륨 모노포스페이트, 디포스페이트 또는 트리포스페이트, 붕산나트륨, 붕산칼륨, 산, 예컨대 락트산, 시트르산, 인산, 붕산, 이들의 조합 등을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지는 않는다. 물은 이 단계에서 다른 성분에 대한 용매 및 희석제로서 작용할 수 있다. 트리에탄올아민과 같은 아민은 수상에서 산 성분의 중화제로서 작용할 수 있는데, 예컨대 CARBOMER 아크릴산 공중합체; 추가 염, 예컨대 락트산나트륨 용액(물 중 60% w/w) 및 추가 산, 예컨대 락트산은 완충 시스템으로서 첨가되어서, 크림의 최종 pH를 약 4.8 내지 약 6으로, 일부 구현예에서는 약 5 내지 약 5.5로(피부의 천연 pH 범위 내) 조절하고 유지할 수 있다. 구현예에서, 수상 또는 유사한 물질의 CARBOMER 940 아크릴 공중합체는 완전히 중화되고 그의 완전한 점도 가능성을 발생시켜야 하기 때문에, 약 5 이상의 pH가 유용할 수 있다.



- [0191] 구현예에서, 트리에탄올아민과 같은 아민의 적합한 양은 최종 조성물의 약 0.5 중량% 내지 약 2 중량%, 최종 조성물의 약 1 중량% 내지 약 1.5 중량%의 양으로 존재하도록 첨가될 수 있다. 락트산나트륨과 같은 염의 적합한 양은 최종 조성물의 약 0.5 중량% 내지 약 3 중량%, 최종 조성물의 약 1 중량% 내지 약 1.5 중량%의 양으로 존재하도록 첨가될 수 있다. 구현예에서, 락트산과 같은 산의 적합한 양은 최종 조성물의 약 0 중량% 내지 1 중량%, 일부 구현예에서는 최종 조성물의 약 0.25 중량% 내지 약 0.75 중량%, 일부 구현예에서는 최종 조성물의 약 0.5% 중량의 양으로 존재하도록 첨가될 수 있다. 중화제 및/또는 완충제는, 최종 조성물의 약 0.01 중량% 내지 약 10 중량%, 최종 조성물의 약 2 중량% 내지 약 4 중량%의 양으로 존재하도록 첨가될 수 있다.
- [0192] 중화상은 존재하는 경우 약 0.1 중량% 내지 약 15 중량%의 로션 또는 크림의 양으로, 구현예에서는 약 5 중량% 내지 약 8% 중량의 로션 또는 크림의 양으로 존재할 수 있다.
- [0193] 구현예에서, pH 조절제 및 완충제, 등장성 조절제, 습윤제 등, 예를 들어 아세트산나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 올레이트 등을 포함하지만 이들로 제한되지는 않는 다른 가용성 성분이 또한 첨가될 수 있다. 첨가될 수 있는 다른 완충제는 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화암모늄, 모노에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 디이소프로판올아민, 아미노메틸프로판올, 트리메타민, 테트라하이드록시프로필 에틸렌디아민, 시트르산, 아세트산, 락트산 및 락트산의 염, 예컨대 락트산나트륨, 락트산칼륨, 락트산리튬, 락트산칼슘, 락트산마그네슘, 락트산바륨, 락트산알루미늄, 락트산아연, 시트르산나트륨, 아세트산나트륨, 락트산은, 락트산구리, 락트산철, 락트산 망간, 락트산암모늄, 이들의 조합 등을 포함한다. 이들 첨가제는, 유상, 수상, 중화상, 안료, 이들의 조합 등을 포함하는, 크림 또는 로션을 형성하는 데 사용되는 상기에 기술된 임의의 상에 첨가될 수 있다.
- [0194] 구현예에서, 상기에 기술된 제형의 사용은 다양한 농도로 화학식 I의 화합물을 갖는 다양한 조성물의 제조의 맞춤형 허용할 수 있다. 예를 들어, 구현예에서, 이는 투여용 최종 조성물 중에 화학식 I의 화합물의 양보다 약 10배 내지 약 15배 더 높은 농도로 화학식 I의 화합물을 가질 수 있다. 제조를 위해, 큰 배치의 농축물이 제조될 수 있고, 그런 다음 농축물의 다수의 부분이 다양한 농도에서 생리활성제를 갖는 다수의 조성물을 제조하는데 사용될 수 있다. 이는 본 발명의 조성물에서 화학식 I의 화합물의 농도를 맞추는 데 있어서 큰 유연성을 허용한다.
- [0195] 생성된 크림, 로션 등은 긴 저장 수명을 가질 수 있고, 즉 이들은 적어도 약 2년 동안, 구현예에서는 약 2년 내지 약 10년 동안 보관 중에 안정적으로 유지될 수 있다.
- [0196] 본 발명의 특정 구현예에 따르면, 세정 조성물 또는 샴푸 조성물, 특히 화학식 I의 화합물, 특히 아나타빈을 포함하는, 인간을 포함하는 동물을 위한 세정 조성물 또는 샴푸가 제공된다. 상기 조성물은 선택적으로 적어도 하나의 습윤제 또는 보습제, 적어도 하나의 계면활성제, 적어도 하나의 스킨 컨디셔너, 적어도 하나의 헤어 컨디셔너, 적어도 하나의 세정제, 적어도 하나의 각질제거제, 적어도 하나의 오일, 적어도 하나의 향산화제, 적어도 하나의 보존제, 적어도 하나의 연화제(진정제), 적어도 하나의 수렴제, 방향제(들) 및 물을 포함할 수 있다.
- [0197] 샴푸에 사용될 수 있는 일부 습윤제는 헤어 컨디셔너 및/또는 스킨 컨디셔너로서 또한 작용할 수 있다. 사용될 수 있는 일부 계면활성제는 헤어 컨디셔너, 및/또는 폼 부스터, 및/또는 세정제로서 또한 작용할 수 있다. 사용될 수 있는 일부 헤어 컨디셔너는 스킨 컨디셔너로서 또한 작용할 수 있다. 사용될 수 있는 일부 오일은 스킨 컨디셔너로서 또한 작용할 수 있다. 사용될 수 있는 일부 피부 연화제는 스킨 컨디셔너로서 또한 작용할 수 있다. 사용될 수 있는 일부 수렴제는 스킨 컨디셔너로서 또한 작용할 수 있다.
- [0198] 선택적으로, 상기 조성물은 또한 점도 조절제, 예를 들어 염화나트륨을 사용하여 제형화될 수 있다. 선택적으로, 상기 조성물은 특정 수준의 pH의 유지가 필요하면 임의의 흔히 사용되는 완충액 시스템을 사용하여 또한 제형화될 수 있다. 예를 들어, 시트르산을 사용하여 pH를 조정할 수 있다.
- [0199] 상기 조성물 중의 보습제(들)의 총 농도는 총 조성물의 약 1 내지 10 질량%일 수 있다. 사용될 수 있는 보습제의 일부 비제한적인 예는 글리세린, 꿀 및 조류 추출물을 포함한다. 사용될 수 있는 보습제의 다른 비제한적인 예는 우레아, 락트산나트륨, 및 일부 아미노산, 예컨대 글리신 또는 히스티딘을 포함한다.
- [0200] 상기 조성물(들) 중의 세정제(들)의 총 농도는 총 조성물의 약 25 내지 40 질량%일 수 있다. 사용될 수 있는 세정제의 일부 비제한적인 예는 라우릴황산나트륨 및 PEG-80 소르비탄 라우레이트를 포함한다.
- [0201] 상기 조성물 중의 계면활성제(들)의 총 농도는 총 조성물의 약 10 내지 20 질량%일 수 있다. 사용될 수 있는 계

면활성제의 일부 비제한적인 예는 나트륨 C<sub>14-16</sub> 올레핀 술포네이트, 디나트륨 코캄포디아세테이트 및 PEG-80 소르비탄 라우레이트를 포함한다.

- [0202] 상기 조성물 중의 스킨 컨디셔너(들)의 총 농도는 총 조성물의 약 2 내지 15 질량%일 수 있다. 사용될 수 있는 스킨 컨디셔너의 일부 비제한적인 예는 글리세린, 밀 아미노산, 라반둘라 안구스티폴리아(라벤더) 추출물, PEG-120 메틸 글루코스 트리올레에이트, 꿀, 멘타 펠레기움 추출물, 쿠쿠미스 사티부스(오이) 열매 추출물, 카멜리아 시멘시스 잎 추출물, 샴모밀라 레쿠티타(마트리카리아) 꽃 추출물, 로스마리누스 오피시날리스(로즈마리) 잎 추출물, 토코페릴 아세테이트, 조류 추출물 및 하마멜리스 비르기니아나(위치 헤이즐)을 포함한다.
- [0203] 상기 조성물(들) 중의 헤어 컨디셔너(들)의 총 농도는 총 조성물의 약 2 내지 10 질량%일 수 있다. 사용될 수 있는 헤어 컨디셔너의 일부 비제한적인 예는 글리세린, 디나트륨 코캄포디아세테이트 및 밀 아미노산을 포함한다.
- [0204] 상기 조성물 중의 각질제거제(들)의 총 농도는 총 조성물의 약 0.1 내지 1 질량%일 수 있다. 사용될 수 있는 각질제거제의 하나의 비제한적인 예는 브로멜라인이다.
- [0205] 상기 조성물 중의 오일(들)의 총 농도는 총 조성물의 약 0.1 내지 2 질량%일 수 있다. 사용될 수 있는 오일의 일부 비제한적인 예는 라반둘라 안구스티폴리아(라벤더) 추출물 및 세드러스 아틀란티카(시더우드) 바크 오일을 포함한다.
- [0206] 상기 조성물 중의 향산화제(들)의 총 농도는 총 조성물의 약 0.1 내지 3 질량%일 수 있다. 사용될 수 있는 향산화제의 일부 비제한적인 예는 멜라류카 알테르미폴리아(티트리) 잎 오일, 카멜리아 시멘시스 잎 추출물 및 토코페릴 아세테이트를 포함한다.
- [0207] 상기 조성물 중의 보존제(들)의 총 농도는 총 조성물의 약 0.1 내지 1 질량%일 수 있다. 사용될 수 있는 보존제의 일부 비제한적인 예는 메틸이소티아졸리논 및 메틸클로로이소티아졸리논을 포함한다.
- [0208] 상기 조성물 중의 연화제(들)의 총 농도는 총 조성물의 약 0.1 내지 2 질량%일 수 있다. 사용될 수 있는 연화제의 일부 비제한적인 예는 PEG-120 메틸 글루코스 트리올레에이트 및 쿠쿠미스 사티부스(오이) 과일 추출물을 포함한다.
- [0209] 상기 조성물(들) 중의 아스트리젠트(들)의 총 농도는 총 조성물의 약 0.1 내지 1 질량%일 수 있다. 사용될 수 있는 아스트리젠트의 하나의 비제한적인 예는 하마멜리스 비르기니아나(위치 헤이즐)이다.
- [0210] 상기에 기재된 요건을 충족하는 임의의 조성물은 당업자에게 공지된 통상적인 제형화 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 수성 조성물을 형성하기 위해 예를 들어 신속한 교반을 사용함으로써 상기에 기재된 성분들을 서로 혼합하고, 이후 물을 첨가할 수 있다. 대안적으로, 별도의 용기에서의 각각의 성분은 물에 예비 용해되거나, 달리 물과 혼합되어 복수의 수계 시스템을 생성할 수 있고, 이들 각각은 별도의 용기에 함유된다. 이후, 최종 조성물을 형성하기 위해 모든 용기의 내용물을, 예를 들어 교반 또는 진탕에 의해 배합할 수 있다.
- [0211] 원하는 경우, 당업자는 상기 조성물을 형성하는 성분을 혼합하는 다른 방법을 설계할 수 있다. 선택된 혼합 방법에 상관없이, 당업자는 상기 조성물 중의 각각의 성분의 농도가 상기에 기재된 한계를 만족시키도록 각각의 성분의 이러한 분량을 제공할 것이다.
- [0212] 동물의 치료를 위한 방법이 추가로 제공된다. 상기 조성물은 상기에 기술된 절차에 따라 제조될 수 있고, 이어서 선택적으로 동물을 세척할 수 있다. 이후, 상기 조성물은 체외기생충에 대한 보호를 필요로 하는 동물의 피부에 국소로 적용될 수 있다. 상기 조성물을 동물의 피부에 적용하기 위해 다양한 방법이 사용될 수 있다. 예를 들어, 상기 조성물은 종래의 수동 작동 펌프를 사용하여 분무될 수 있다. 대안적으로, 상기 조성물은 에어로졸 제조를 위해 통상적으로 공지된 방법을 사용하여 에어로졸을 형성하도록 제형화될 수 있다. 당업자는 상기 조성물을 적용하기 위한 다른 방법을 고안할 수 있다.
- [0213] 본 발명은 또한 침입, 특히 체외기생충인 곤충 또는 거미류를 포함하는 곤충 또는 거미류에 의한 침입으로부터 물체를 보호하는 방법을 제공한다. 일 구현예에서, 상기 방법은 물체의 표면을 화학식 I의 화합물, 특히 아나타빈을 포함하는 치료 조성물과 접촉시키거나 이것으로 덮는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 치료 조성물을 포함하는 분무 장치를 사용함으로써, 물체의 표면을 접촉시키거나 덮는 것이 달성될 수 있다. 이와 같이, 본 발명은 또한 예를 들어 식물 또는 의류와 같은 곤충-기피제 물체 또는 거미류-기피제 물체를 제공한다. 식물은 식물의 섬유에 흡수된 기피제 분자를 갖는다. 식물은 의류에 사용하기에 적합하며, 보다 구체적으로는,

곤충, 특히 체외기생충에 노출될 위험이 있을 수 있는, 개인이 착용하도록 설계된 보호 의복에 사용하기에 적합하다. 본 발명의 기피제 화합물은 비제한적인 예로서 섬유 또는 직물을 화학식 I의 화합물을 함유하는 수조에 침지하는 것, 섬유 또는 직물에 분무제를 제공하는 것, 또는 섬유 또는 직물을 세척하는 것을 포함하는 다양한 방식으로 직물에 혼입될 수 있다. 본 발명 내에서, 섬유 또는 직물에 대한 본 발명의 제형의 양은, 체외기생충에 의한 침입을 감소시키는 원하는 효과를 달성하기 위해 당업자에 의해 변할 수 있다. 섬유 또는 직물에 본 발명의 제형 또는 화합물의 적어도 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$  의 농도를 달성하기에 충분한 양을 사용하는 것이 본 발명 내에서 바람직하다. 섬유 또는 직물에 본 발명의 제형 또는 화합물의 최대 300  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$  의 양을 사용하는 것이 본 발명 내에서 더욱 바람직하다. 특히, 0.1일 내지 30일 동안, 특히 1시간 내지 48시간 동안, 특히 4시간 내지 8시간 동안 체외기생충에 대한 보호를 달성하기에 충분한 양을 사용하는 것이 바람직하다.

[0214] 추가의 구현예에서, 화학식 I의 화합물, 특히 아나타빈을 포함하는 본 발명의 국소 제형은 로션, 크림, 연고, 젤, 폼, 패치, 분말, 고체, 스펀지, 테이프, 증기, 페이스트 또는 덩크제의 형태일 수 있다. 추가의 예는 용액과 같은 액체 형태의 아나타빈이다.

[0215] 하기 실시예는 본 발명을 실시예의 내용으로 제한하지 않으면서 본 발명을 추가로 기술한다.

[0216] **실시예**

[0217] **1. 유기체**

[0218] **1.1 담배 식물**

[0219] 니코티아나 종 및 품종의 설명은 표 1에 제시되어 있다. 선택은 발명자의 데이터 및 문헌으로부터 이전에 알려진 이들의 알칼로이드 함량, 및 시설에서의 공장 가용성에 기초하였다.

**표 1**

식물 특징 및 관련된 조 추출물 단위명

식물 종	균주	기원	주요 알칼로이드	담뱃잎 추출물 ID
니코티아나 타바쿰	PMT	온실	아나타빈	PMT
엔. 타바쿰	스텔라(버얼리종)	경지	니코틴	스텔라
엔. 타바쿰	K326(버지니아)	온실	니코틴	K326
엔. 타바쿰	TN90(버얼리종)	온실	니코틴	TN90
엔. 타바쿰	ITB 683(버지니아)	경지	니코틴	ITB 683
엔. 글루티노사	야생형 종	온실	노르니코틴	글루티노사
엔. 글라우카	야생형 종	온실	아나바신	글라우카
엔. 데브네이	야생형 종	온실	아나바신	데브네이

[0220]

[0221] **1.2 생물검정을 위한 진드기**

[0222] Ecto Services Inc.(미국 노스캐롤라이나주 헨더슨)로부터 완전히 율혈된 암컷 또는 음식 비공급된 성체 진드기로서 알. 상키네우스 진드기를 구입하였다. 산란 및 유충 발생을 위해, 암컷을 28℃ 및 80% 상대 습도에서 유지시켰다. 부화된 유충 및 성체 진드기를 사용 전까지 동일한 환경 조건 하에서 유지하였다.

[0223] 익소테스 리시누스 약충을 Insect Service GmbH(독일 베를린)로부터 구입하였고, 사용 전까지 28℃ 및 80% 상대 습도를 유지하였다.

[0224] **2 식물 배양**

[0225] 엔. 타바쿰 TN90 및 K326 재배종뿐만 아니라 엔. 글라우카, 엔. 글루티노사 및 엔. 테브네이의 종자를 발명자의 종자 저장고로부터 입수하였다. 형질전환 TN90 계통 PMT(06TN2048)를 Altria Client Services LLC(미국 버지니아주 리치몬드)로부터 입수하였다. 특허 WO 2015157359호 A1에 기술된 바와 같이 아그로박테룸 매개된 형질전환을 사용하여 PMT 계통을 제조하였다. 종자를 토양 함유 플로팅 트레이 내로 파종하였다. 잘 발달된 식물을 5ℓ의 병에 옮기고, 완전히 성장할 때까지 16/8시간 인공 광/암 광주기 하에 배양하였다.

[0226] 개화 시에, 모든 식물을 적시하였다. 적시 후 2주에, 각각의 식물로부터 대표적인 완전히 자란 잎을 샘플링하였다. 메탄올 중의 조 추출물 제조에 모든 샘플을 즉시 사용하였다.

[0227] 경지 재배를 위해, 엔. 타바쿰 스텔라(버지니아종 담배) 및 엔. 타바쿰 ITB 683(버지니아종 담배)의 종자를 현지 공급원으로부터 얻고, 토양 함유 플로팅 트레이로 파종한 후, 온실에서 성장시키고, 담배 농업 관행에 따라 경지에 이식하였다. 소식물체를 스위스 서부(보주의 칸톤)에서 헥타르 당 24,000의 밀도로 심었다. 잎 샘플을 토핑 후 2주에 완전히 성숙한 식물로부터 수집하고, 미정제 메탄올 추출물 제조를 위해 즉시 실험실로 옮겼다.

[0228] **3 조 추출물 제조**

[0229] 모든 식물 잎을 60℃에서 24시간 동안 오븐 건조하고, 400 rpm에서 8시간 동안 유리 비드로 진탕하여 파괴하였다. 각각의 선택된 담배 품종/종에 대해, 2 g의 분쇄된 잎 분말을 50 Ml의 유리 병에 넣었다. 20 mL의 메탄올(HPLC 등급, 99.9% 순도 이상, Sigma-Aldrich, 미국 미조리주 세인트루이스)을 분쇄된 잎에 첨가하였다. 이후, 혼합물을 30분 동안 음과 처리(Branson 3510-DTH 초음파 클리너; 미국 코네티컷주 덴버리)하고, Whatman® 필터 종이(125 mm  $\Psi$ , 셀룰로스 종이; 영국 메이드스톤)를 보유하는 필터 컬럼으로 경사 여과하였다. 여과액을 20 mL의 메탄올로 음과 처리하고 다시 여과하였다. 이후, 생성된 여과액을 회전 증발기에 넣어 용매를 제거하고, 물을 모두 제거할 때까지 나머지 추출물을 16시간 동안 추가로 동결건조하였다(Labconco 카탈로그 번호 7934030; 미국 미조리주 캔자스 시티). 메탄올성 잎 추출물을 동일한 추출 절차에 따라, AnalytiCon Discovery GmbH(독일 포츠담)에서 또는 내부적으로 제조하였다.

[0230] **4 담배 조 추출물에서의 알칼로이드 정량화**

[0231] 약 25 mg의 조 추출물을 물/메탄올에 용해하고(3:7, 내부 표준으로서 500 ng/mL의 퀴놀린을 가짐; 5 mL), 여과하고(기공 크기가 0.2  $\mu$ m 인 Pisherbrand™ 멸균 PES 주사기 필터; Thermo Fisher Scientific(미국 매사추세츠주 왈탐), 추출 혼합물에 의해 1: 200 희석하여 질량 분석법(UHPLC-MS)과 결합된 초고성능 액체 크로마토그래피에 의해 피리딘 알칼로이드 분석을 위한 샘플(니코틴, 노르니코틴, 아나타빈, 아나바신, 코티닌 및 미오스민)을 제조하였다. Q-Exactive 질량 분석계(Thermo Fisher Scientific)에 결합된 Ultimate 3000 UHPLC 시스템에서 모든 6개의 알칼로이드의 동시 측정을 수행하였다. Acquity HSS T3 컬럼(1.7  $\mu$ m, 100 X 2.1 mm; Waters, 미국 매사추세츠주 밀포드)에서 크로마토그래피 분리를 수행하였고, 컬럼 온도를 45℃로 설정하였다. 용리액은 구배 (0분 10%의 B; 0.25분 10%의 B; 4.25분 98%의 B; 5.25분 98%의 B; 유속: 0.5 mL/분)로 적용된 물 중의 아세트산 암모늄(10 mM; pH 8.9; 용리액 A) 및 메탄올 중의 아세트산암모늄(10 mM; 용리액 B)였다. 주입 부피는 5  $\mu$ L였다. 니코틴, 노르니코틴, 아나바신, 아나타빈, 코티닌 및 미오스민을 각각 3.89분, 2.76분, 3.27분, 3.36분, 2.62분 및 3.47분 동안 용리하고, 양의 전기분무 이온화 후 [M+H]<sup>+</sup> 의사분자 이온으로서 검출하였다. 각각의 목표 알칼로이드의 농도는 건조 중량 그램 당 밀리그램으로 표현되었다. 조 추출물에서 목표 알칼로이드의 물 농도를 진드기 기피제 시험에 사용된 조 추출물의 농도에 대해 계산되고, 다음 식에 따라 제곱미터 당 마이크로몰로 표현되었다:

[0232] **5. 화합물**

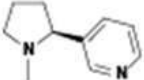
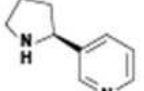
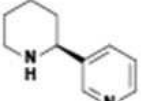
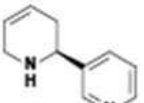
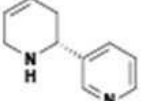
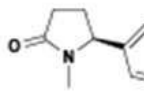
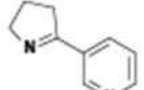
[0233] **5.1 담배 알칼로이드**

[0234] 담뱃잎 추출물에 의해 관찰된 활성을 규명하기 위해 담배 순수 알칼로이드를 진드기 기피제/억제 접촉 시험에

사용하였다. Sigma-Aldrich로부터 (S)-니코틴, (S)-노르니코틴, (S)-아나바신, (S)-코티닌 및 미오스민 표준품을 구입하였다. (S)-아나타빈 및 (R)-아나타빈 거울상이성질체를 WuXi AppTec Co., Ltd. (중국 상하이)에 의해 합성하였다(표 2).

**표 2**

선택된 담배 알칼로이드, MW, 분자량

	화학 구조	명칭	MW
1		(S)-니코틴	162.23
2		(S)-노르니코틴	148.21
3		(S)-아나바신	162.23
4		(S)-아나타빈 디하이드로클로라이드	233.14
5		(R)-아나타빈 디하이드로클로라이드	233.14
6		(S)-코티닌	176.22
7		미오스민	146.19

[0235]

[0236] 라세믹 아나타빈을 문헌[Deo and Crooks (1996) Tetrahedron Letters 37(8), pp. 1137-1140]에 기재된 변형된 절차에 따라 수득하였다. (S)-거울상이성질체 및 (R)-거울상이성질체를 키랄 초임계 유체 크로마토그래피에 의해 분리하고, 개선된 알칼로이드 안정성을 위해 염산염으로 변환하였다.

[0237] 알칼로이드의 스톡 용액을 사용 직전에 에탄올 중의 20 밀리몰(mM) 용액으로서 제조하였다. 보관 용액을 장기 보관을 위해 암소에서 22°C에서 유지하였다.

[0238] 5.2 생물검정 양성 대조군

[0239] 생물검정에 사용된 양성 대조군 N-N-디에틸-m-톨루아미드[DEET])를 Merck(미국 뉴저지주 케닐워스)로부터 얻었다.

[0240] 6. 생물검정

[0241] 유기체의 DMSO 내성 상한 또는 특정 생물검정 제약조건에 따라 생물검정에서의 추출물의 농도를 선택하였다. 양성 대조군을 최소 유효 농도에서 시험하였다.

[0242] 6.1 진드기 기피제/억제 접촉 시험

- [0243] 시험 화합물 또는 추출물의 기피제/저해제 가능성을 평가하기 위해 검정을 사용한다. 검정은 이차 종점으로서 억제 효능의 예비 평가를 포함한다. 억제는 보통 사망에 선행하는 중독 및 마비의 상태로 정의될 수 있다 (Wickham et al. (1974) Pesticide Science 5(5): 657-664). 이 시험은 적합한 숙주 사냥지를 발견하기 위해 이것의 서식지를 탐색하는 진드기의 탐구 거동 및 기피제 또는 자극성 물질로 처리된 영역을 피하는 이것의 경향에 의존한다. 진드기 억제는 노출 기간이 끝날 때 죽은 진드기와 살아있는 진드기의 수를 수집하고 계수하는 것에 의해서가 아니라, 정의된 기간 동안 총 운동성의 감소로서 표현된다.
- [0244] 메탄올(추출물) 또는 에탄올(알칼로이드)로 희석된 식물 추출물 또는 합성 순수 알칼로이드를 6웰 플레이트에서 웰의 바닥에 침착시켰다. 각각의 웰의 바닥면의 1개의 사분면(2.54 cm<sup>2</sup>)만을 처리하였다. 용매가 증발되게 정치시켰다. 따라서, 식물 추출물의 최종 농도는 합성 알칼로이드에 대해 mg/m<sup>2</sup> 또는 제곱미터당 마이크로몰( $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ )로 발현되었다. 식물 추출물에 적용된 최종 농도는 893(오직 알. 상키네우스 성체), 446, 141, 44.6, 14.1 및 4.46 mg/m<sup>2</sup>, 및 순수 알칼로이드에 대해 300, 100, 30, 10 및 3  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ 였다. 약 50개의 알. 상키네우스 진드기 유충 및 정확히 5개의 알. 상키네우스 성체, 또는 5개의 아이. 리시누스 약충을 각각의 웰의 비처리된 영역에 첨가하였다. 양성(DEET, 상업용 진드기 기피제) 및 음성(메탄올 또는 에탄올) 대조군을 병렬로 평가하였다. 시험된 각각의 농도는 3회 이상의 시험 반복으로 실행되었다. 가열 플레이트에서 1분 인큐베이션한 후, 머신 비전에 의해 처리된 사분면 및 비처리된 사분면 각각에서의 진드기 이동 빈도를 기록하였다. 3개의 비처리된 사분면에서의 이동 중앙값으로서 비처리된 표면에서의 진드기 이동을 연산하였다. 저해를 추정하기 위해, 1분 예비노출 기간 후 알. 상키네우스 유충에 대해 2분의 기간에 걸쳐, 그리고 알. 상키네우스 성체 및 아이. 리시누스 약충에 대해 3분 동안 기록을 수행하였다. 억제 효과를 평가하기 위해, 기록을 9분까지 연장하였다(1분 예비노출 기간에 시작하여 추가 8분 동안 지속됨).
- [0245] 저해 활성을 다음과 같이 계산하였다:
- [0246] 저해 백분율 =  $1 - (\text{처리된 영역에서의 이동} / \text{비처리된 영역에서의 이동}) \times 100$ .
- [0247] 처리된 영역에서 기록된 총 이동 대 비처리된 영역에서 기록된 이동 간의 50%의 차이는 유의한 것으로 간주되었다.
- [0248] 진드기 억제 효과를 유사하게 계산하였다:
- [0249] 억제 백분율 =  $1 - (\text{영상화 기간의 종료 시 이동} / \text{영상화 기간의 시작 시 이동}) \times 100$ .
- [0250] 1분 예비노출 동안 기록된 총 이동과 기록 9분에 측정된 총 이동 간의 50%의 차이는 유의한 것으로 간주되었다.
- [0251] 6.2 통계 분석
- [0252] 통계 분석에 담배 조 추출물에서 관찰된 살충 활성의 반복 측정의 중앙값을 사용하였다(SAS 9.2, SAS Institute Inc., 미국 노스캐롤라이나주). 제1 단계로서, 다중공선성 분석이 수행되고 추가 통계 분석에서 코티닌의 배제로 이어졌다. 이후, 관찰된 효능에서 알칼로이드의 역할을 예측하기 위해 예측인자의 단계적 포함 및 이들의 2차 상호 작용과 함께 선형 모형을 사용하였다.
- [0253] 7. 결과
- [0254] 7.1 담배 추출물에서 선택된 알칼로이드의 정량화
- [0255] 엔. 타바쿰 품종을 포함하는 니코티아나 속의 좋은 알칼로이드를 다양한 정도로 축적한다. 다수의 담배 성분(탄수화물, 아미노산, 피리딘 알칼로이드, 안료, 이소프레노이드, 테르페노이드, 카르복실산, 폴리페놀, 스테롤 및 무기 화합물) 중에서, 알칼로이드는 니코틴의 향기생충 이력으로 인해 특정 관심을 촉발한다. 알칼로이드가 진드기에 대해 관찰된 생물학적 활성에서 역할을 하는지, 그리고 알칼로이드가 이 효능의 원인일 수 있는지를 이해하기 위해, UHPLC-MS를 사용하여 선택된 담배 식물(니코틴, 노르니코틴, 아나바신, 아나타빈, 코티닌 및 미오스민)에서 주요 피리딘 알칼로이드를 정량화하였다(표 3).

**표 3**

조 추출물 중량의 그램당 밀리그램으로 표현된 담배 추출물에서의 피리딘

알칼로이드 농도

추출물	알칼로이드					
	니코틴	노르니코틴	아나바신	아나타빈	코티닌	미오스민
PMT	3.95 (18.12)	0.3 (1.37)	0.78 (3.56)	<b>16.68</b> <b>(76.55)</b>	0.04 (0.2)	0.04 (0.2)
스텔라	<b>108.38</b> <b>(93.47)</b>	1.88 (1.62)	1.01 (0.87)	4.55 (3.92)	0.1 (0.09)	0.03 (0.02)
K326	<b>48.93</b> <b>(92.87)</b>	0.96 (1.82)	0.55 (1.04)	2.16 (4.09)	0.07 (0.14)	0.02 (0.04)
TN90	<b>90.9</b> <b>(92.67)</b>	1.45 (1.48)	1.1 (1.12)	4.48 (4.57)	0.11 (0.11)	0.06 (0.06)
ITB 683	<b>38.82</b> <b>(87.8)</b>	0.47 (1.07)	1.65 (3.73)	3.18 (7.19)	0.06 (0.13)	0.04 (0.08)
글루티노사	11.02 (65.24)	<b>4.78</b> <b>(28.32)</b>	0.27 (1.6)	0.55 (3.23)	0.22 (1.31)	0.05 (0.31)
글라우카	4.67 (46.76)	0.15 (1.47)	<b>5.02</b> <b>(50.28)</b>	0.09 (0.95)	0.03 (0.26)	0.03 (0.28)
데브네이	6.57 (81.25)	0.37 (4.59)	<b>0.88</b> <b>(10.93)</b>	0.07 (0.92)	0.1 (1.19)	0.09 (1.11)

[0256]

[0257]

괄호 안의 값은 모든 측정된 알칼로이드의 백분율 조성을 나타낸다. 각각의 식물 추출물에서 주요 피리딘 알칼로이드의 값은 굵은 글씨로 표시된다.

[0258]

니코틴은 엔. 타바쿰 경지에서 성장한 스텔라 및 ITB 683의 조 추출물 및 온실에서 성장한 TN90 및 K326 품종에서 주요 알칼로이드였다. 아나타빈은 형질전환 엔. 타바쿰 TN90 PMT 계통의 조 추출물에서 주요 알칼로이드이지만, 니코틴은 또한 이 품종(18.1%)에 존재하였다. 노르니코틴의 최고 농도(4.78 mg/g)를 엔. 글루티노사 추출물(글루티노사)에서 측정하였지만, 니코틴(11.02 mg/g)은 이 추출물에서 주요 알칼로이드였다. 아나바신의 최고 농도는 엔. 글라우카 추출물(Glauca, 5.02 mg/g)에서 발견되었지만, 니코틴은 유사한 분량 및 비율로 이 추출물에 존재하였다. 니코틴이 주요 화합물(6.57 mg/g)이긴 했지만, 엔. 데브네이 추출물(Debneyi, 0.88 mg/g)에서 총 측정된 알칼로이드의 일부로서 아나바신이 또한 비교적 고도로 농축되었다.

[0259]

향진드기 활성화에 대해 시험된 담배 조 추출물에서의 주요 알칼로이드의 가능한 역할을 이해하기 위해, 진드기 기피제/억제 생물검정에서 본 발명자들은 순수 알칼로이드 (S)-니코틴, (S)-노르니코틴, (S)-아나바신 및 (S)-아나타빈 및 (R)-아나타빈에 의해 전체 투여량 곡선 반응을 분석하였다. 이 검정에 대한 적절한 농도 범위를 확립하기 위해, 각각의 추출 희석액(4.46 내지 893 mg/m<sup>2</sup>)에서 측정된 각각의 알칼로이드의 분량을 몰 농도로 변환하였다. 조 추출물 중의 알칼로이드 농도 범위는 1 내지 596 μmol/m<sup>2</sup>의 니코틴, 0.14 내지 28.8 μmol/m<sup>2</sup>의 노르니코틴, 0.024 내지 27.6 μmol/m<sup>2</sup>의 아나바신 및 0.5 내지 93 μmol/m<sup>2</sup>의 아나타빈였다.

[0260] 7.2 담뱃잎 조 추출물에 의한 기생충 생물검정

[0261] 모든 8개의 담뱃잎 추출물은 여러 희석액에 걸쳐 *알. 상퀴네우스* 유충에 대해 상당한 기피제 활성을 나타냈다 (도 3a). 5개의 추출물(스텔라, K326, TN90, ITB 683 및 글라우카)은 양성 대조군 DEET와 유사하거나 그보다 낮은 최소 유효 농도를 가졌다. 더욱이, 스텔라 및 TN90은 446 mg/m<sup>2</sup>의 농도로 각각 진드기 유충의 74% 및 77%를 신속하게 억제하였다. 동일한 농도에서, 2개의 다른 추출물인 K326 및 ITB 683은 각각 진드기의 42% 및 48%를 억제하였다.

[0262] 모든 추출물에 대한 농도 곡선 반응은 중형이었고, 최고 농도(446 mg/m<sup>2</sup>)가 가장 효과적이지는 않았다. 추출물의 절반에 의해 나타난 억제 활성이 기피 기록 동안 진드기 운동성에 영향을 미치고 기피의 평가를 편향시킬 수 있지만, 억제 활성 없이 추출물에서도 이 효과가 관찰되었다. 생물검정에서, 진드기는 탈출 가능성이 없이 폐쇄 영역으로 제한되었다. 고농도에서, 시험 웰의 하나의 사분면에 침착된 담배 추출물은 웰의 더 큰 부분에 영향을 미칠 수 있고, 이의 다수의 성분의 증기압에 따라 웰의 총 대기를 포화시킬 수 있었다. 노출된 진드기는 출구를 찾지 않으면서 이 자극성 환경을 탈출하려고 시도할 것이고, 따라서 처리된 표면을 포함하여 웰에서 더 많은 이동을 생성할 것이다.

[0263] 이 양성 결과에 기초하여, 다른 진드기 단계 및 종에 대한 이의 활성 스펙트럼을 평가하기 위해 8개의 담뱃잎 추출물을 성체 *알. 상퀴네우스*(도 2b, 표 6 및 표 7) 및 *아이. 리시누스*의 약충(도 2c)에 대해 추가로 시험하였다.

[0264] *알. 상퀴네우스* 성체 진드기(도 2b)에서, 추출물의 기피 활성은 일반적으로 유충에 의해 관찰된 것보다 낮았다 (도 2a). 6개의 추출물, K326, TN90, ITB 683, 글루티노사, 글라우카 및 데브네이는 893 mg/m<sup>2</sup>의 최고 농도에서 유의한 기피를 나타냈다. 중앙값 효능에 기초한 최소 유효 농도는 TN90의 경우 141 mg/m<sup>2</sup>, K326 및 ITB 683의 경우 44.6 mg/m<sup>2</sup> 및 글라우카의 경우 14 mg/m<sup>2</sup>였다. 3가지 농도(893 내지 44.6 mg/m<sup>2</sup>)에 걸쳐 스텔라 추출물에 의해 그리고 893 및 446 mg/m<sup>2</sup>에서 TN90에 의해 진드기 억제가 관찰되었다. 각각 14 mg/m<sup>2</sup> 및 44.6 mg/m<sup>2</sup>에서 글라우카 및 데브네이 추출물에 의해 진드기 억제가 또한 발생했다.

[0265] *아이. 리시누스* 약충 진드기 생물검정(도 2c)에서, 약간의 추출물이 유의한 진드기 기피를 발휘했다. 스텔라 및 K326은 446 mg/m<sup>2</sup>에서 활성이고, TN90은 44.6 mg/m<sup>2</sup>에서 활성이었다. 게다가, 글루티노사는 2가지 농도(446 및 141 mg/m<sup>2</sup>)에 걸쳐 경계 활성을 나타냈다. 반대로, 진드기 억제는 446 mg/m<sup>2</sup>의 가장 높은 시험 농도에서 스텔라, K326, TN90, 및 ITB 683에서 매우 높았고(89% 내지 99.8%), 진드기의 70%는 141 mg/m<sup>2</sup>의 TN90 일 추출물에 의해 여전히 영향을 받았다.

[0266] 7.3 *알. 상퀴네우스* 유충에 대한 선택된 순수 알칼로이드의 진드기 기피제/억제 효능

[0267] (S)-니코틴, (S)-노르니코틴, (S)-아나바신 및 아나타빈 (S) 이성질체 및 (R) 이성질체를 300, 100, 30, 10 및 3 μmol/m<sup>2</sup>에서 시험하여, 8개의 담뱃잎 추출물에서 측정된 농도의 대부분을 다뤘다. 코티닌 및 미오스민은 추출물의 총 알칼로이드 함량의 1.3% 이하로 구성되기 때문에 시험을 위해 고려되지 않았다(표 3 참조). 3회 반복으로 3개의 독립적인 시험 세트를 생성하였다(표 4). (S)-아나바신을 제외한 모든 순수 알칼로이드는 300 μmol/m<sup>2</sup>에서 *알. 상퀴네우스* 유충에 대한 기피제 활성을 나타냈다. 흥미롭게도, (S)-아나바신은 58% 활성의 중앙값으로 100 μmol/m<sup>2</sup>에서 더 활성이었다. (S)-노르니코틴은 300 μmol/m<sup>2</sup>의 가장 높은 시험 농도(81% 활성)에서 오직 활성이었다. 최상의 진드기 기피 효과는 (R)-아나타빈(30 μmol/m<sup>2</sup>에서 62%, 100 μmol/m<sup>2</sup>에서 84%) 및 (S)-아나타빈(30 μmol/m<sup>2</sup>에서 54%, 100 μmol/m<sup>2</sup>에서 86%)에서 관찰되었다. 30 μmol/m<sup>2</sup>에서, (S)-니코틴 및 (R)-아나타빈은 여전히 각각 55% 및 62%의 기피를 발휘하였다. 이 결과는 동일한 농도에서 양성 대조군 DEET의 효과에 필적하였고, DEET에 대한 활성의 중앙값 백분율은 30 μmol/m<sup>2</sup>에서 64%였다. 그러나, DEET는 (각각 (R)-아나타빈 및 (S)-아나타빈에 대해 34% 및 38%의 중앙값에 대해) 57%의 중앙값으로 아나타빈의 2개의 이성질체보다 10 μmol/m<sup>2</sup>에서 더 활성으로 유지되었다.

[0268] (S)-니코틴 및 (R)-아나타빈은 300 μmol/m<sup>2</sup>(각각 95% 및 53%의 중앙값)에서 *알. 상퀴네우스* 유충을 효과적으로



억제하였다(표 4). 100  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ 에서, (R)-아나타빈의 중앙값 활성은 여전히 55%였지만, 37%의 중앙값으로 니코틴에 대한 유의 한계 미만으로 감소하였다. 다른 순수 알칼로이드에서는 다른 유의한 진드기 억제 효과가 관찰될 수 없었다.

**표 4**

알. 상귀네우스 진드기 유충에 대한 순수 담배 알칼로이드의 기피제 및 억제 활성

화합물	농도 [ $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ]	기피			억제		
		중앙값 (Q1-Q3) [%]	N	최소 유효 농도 [ $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ]	중앙값 (Q1-Q3) [%]	N	최소 유효 농도 [ $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ]
(S)- 니코틴	300	<b>56.2 (36.5-81.9)</b>	9	300 - 30	<b>94.5 (80.3-100)</b>	9	300
	100	27.8 (0-67.9)	6		37.1 (10.2-73.9)	6	
	30	<b>55.0 (13.6-85.0)</b>	9		26.4 (2.1-42.4)	9	
	10	41.8 (36.7-53.0)	6		1.3 (0.2-18.1)	6	
	3	18.1 (3.2-27.3)	6		3.4 (0-9.9)	6	
(S)- 노르니코 틴	300	<b>81.1 (70.1-93.1)</b>	9	300	18.7 (8.8-48.6)	9	> 300
	100	42.2 (20.4-68.3)	6		9 (6.45-18.7)	6	
	30	27.9 (4.5-81.9)	9		9.9 (6.4-13.3)	9	
	10	35.3 (27.3-48.5)	6		0.4 (0-17.2)	6	
	3	12.3 (2.2-18.4)	6		0.7 (0.1-7.8)	6	

[0269]

(S)-아나바신	300	40.5 (11.1-65.1)	9	>300-100	9.5 (6.7-14.4)	9	> 300
	100	<b>58.0 (55.2-63.1)</b>	6		6.0 (0.9-9.0)	6	
	30	46.9 (30.4-92.6)	9		10.4 (7.5-24.4)	9	
	10	42.4 (28.8-60.8)	6		6.9 (0.9-13.2)	6	
	3	6.6 (0.7-18.0)	6		0 (0-0)	6	
(S)-아나타빈 디하이드로클로라이드	300	<b>79.8 (72.6-83.8)</b>	9	30	14.2 (0-24.0)	9	> 300
	100	<b>86.2 (66.5-99.3)</b>	6		23.8 (18.6-32.8)	6	
	30	<b>54.4 (34.7-58.5)</b>	9		14.7 (3.2-21.2)	9	
	10	38.1 (28.1-49.4)	6		4.2 (2.4-12.6)	6	
	3	38.4 (26.3-46.9)	6		0 (0-10.1)	6	
(R)-아나타빈 디하이드로클로라이드	300	<b>88.3 (79.6-94)</b>	9	30	<b>52.7 (32.8-60.1)</b>	9	100
	100	<b>84.3 (77.5-87.8)</b>	6		<b>54.5 (35.2-61.2)</b>	6	
	30	<b>62.0 (37.8-69.1)</b>	9		11.1 (1.3-16.8)	9	
	10	34.4 (24.3-49.2)	6		7.5 (0-26.0)	6	
	3	20.8 (3.5-32.8)	6		0 (0-0)	6	
DEET	300	<b>100 (100-100)</b>	9	10	11.1 (3.1-17.7)	9	> 300
	100	<b>75.7 (67.5-86.8)</b>	6		5.2 (0.8-17.3)	6	
	30	<b>63.9 (55.3-94.5)</b>	9		2.4 (0-6.4)	9	
	10	<b>57.3 (42.6-65.1)</b>	6		10.0 (4.4-15.2)	6	
	3	31.1 (28.1-32.2)	6		0.7 (0-17.2)	6	
에탄올	용매 대조군	9.7 (0-24.5)	2 7	nd	13.4 (5.4-26.6)	2 8	nd

[0270]

[0271]

Q1, 데이터세트의 제1 사분위수(25%). Q3, 데이터세트의 제3 사분위수(75%). N, 시험 반복 수 nd, 결정되지 않음. 최소 유효 농도는 계산된 활성 중앙값이 활성 유의성의 한계(50%)보다 큰 더 낮은 농도이다. 활성 유의성의 한계를 초과하는 백분율 값은 굵은 글씨로 표시되어 있다.

[0272]

7.4 및 추출물의 진드기 기피/억제 활성에서 담배 주요 알칼로이드의 기여, 통계 분석

[0273]

담배 식물 알칼로이드 함량은 식물 품종, 배치, 온실에서의 성장 조건, 위치, 대기 오염, 및 경지 품종, 저장 및 건조 조건에 대한 기후 조건과 같은 많은 인자에 의해 영향을 받는다. 이들 식물로부터 유래된 미정제 및 추출물은 성분들 간의 상호 작용이 알려지지 않은 매우 복잡한 혼합물이다. 모두는 생물검정에서 관찰된 변동성에 기여하여, 및 추출물의 개별 성분의 역할에 대한 평가가 매우 어렵게 한다. 이러한 한계를 염두에 두고, 본 발명자들은 진드기 기피제/억제 생물검정에서 관찰된 활성에서 8개의 상이한 담배 및 추출물에서 정량화된 주요 알칼로이드의 가상적인 기여를 조사하였다. 알. 상귀네우스 유충 및 성체, 및 아이. 리시누스 약충 진드기 생물검정으로부터의 데이터는 조합되고 선형 통계 모델을 사용하여 분석되었다. 진드기 종 및 및 추출물의 활성에 대한 단계 영향을 또한 평가하였다. 3의 반복실험 내에서의 변동성으로 인해, 진드기 기피 및 억제에 대해 통계 분석에 중앙값을 사용하였다.

[0274]

억제 활성을 예측하는 데 사용된 선형 모델에서, 니코틴은 모델의 분산의 35%를 설명하였고, 및 추출물의 억제

활성과 상당히 상관되었다( $p < 0.0001$ ). 진드기 종 및 단계는 모델에 적당히 영향을 미쳐, 분산의 2.3%만을 설명하였다( $p < 0.05$ ). 기피를 예측하는 데 사용된 선형 모델에서, 알칼로이드는 시험된 추출물에 의해 관찰된 활성에 주로 영향을 미치는 것으로 확인될 수 없었다. 그러나, 진드기 종 및 단계는 추출물의 기피제 활성에 상당히 영향을 미쳤고, 모델의 분산의 51%를 차지하였다( $p < 0.0001$ ).

[0275] 니코틴의 경우, 알. 상귀네우스 진드기 유충에 대해서만 시험하였지만, 모델의 결과는 순수 알칼로이드에 의한 결과는 결과에 따랐다(표 4 참조). 순수 (S)-니코틴은 동일한 진드기 종 및 단계에 대해  $446 \text{ mg/m}^2$ 에서 치사 효과를 발휘하는 조 추출물에서 관찰된 바와 같이,  $300 \text{ } \mu\text{mol/m}^2$  ( $48.7 \text{ mg/m}^2$ )에서 진드기 유충의 95% 및  $100 \text{ } \mu\text{mol/m}^2$  ( $16.2 \text{ mg/m}^2$ )에서 37%를 억제하였다(TN90: 77%,  $40.5 \text{ mg/m}^2$ 의 니코틴; 스텔라: 74%,  $48.3 \text{ mg/m}^2$ 의 니코틴; K326: 42%,  $21.8 \text{ mg/m}^2$ 의 니코틴; ITB 683: 48%,  $17.3 \text{ mg/m}^2$ 의 니코틴). 높은 수준의 니코틴을 함유하는 일 추출물의 억제 효과가 알. 상귀네우스 성체(스텔라 및 TN90) 및 아이. 리시누스 약충(스텔라, K326, TN90, 및 ITB 683)에 대해  $446 \text{ mg/m}^2$ 에서 또한 관찰되었다.

[0276] 순수 화합물로서 (R)-아나타빈은  $300$  및  $100 \text{ } \mu\text{mol/m}^2$ 에서 유의한 억제 활성을 나타냈지만, 아나타빈은 일 추출물에 의해 관찰된 효과에 영향을 미치는 것으로 모델에서 확인되지 않았다. 아나타빈은 통계 모델에서 2개의 별개의 거울상 이성질체로서 분석되지 않았지만, 라세미체로서 이 알칼로이드는 스텔라에서  $13.1 \text{ } \mu\text{mol/m}^2$ , TN90에서  $11.1 \text{ } \mu\text{mol/m}^2$ , ITB 683에서  $7.9 \text{ } \mu\text{mol/m}^2$  및 K326에서  $5.35 \text{ } \mu\text{mol/m}^2$ 를 오직 차지하였고,  $893 \text{ mg/m}^2$ 의 일 추출물 농도, 즉 순수 알칼로이드의 최소 유효 농도 한계보다 10배 낮았다. 게다가, 동일한 이유로 아나타빈이 풍부한 PMT 일 추출물에서는 특정한 억제 효과가 관찰되지 않았다.

[0277] 기피의 면에서, 추출물의 최소 유효 농도는 알. 상귀네우스 유충에 대해  $4.7 \text{ mg/m}^2$  내지  $44.6 \text{ mg/m}^2$ 의 범위였다. 순수 화합물로서 시험된 알칼로이드는 일반적으로 조 추출물(조 추출물 최소 억제 농도에서 대응하는 알칼로이드의 몰농도:  $3 \text{ } \mu\text{mol/m}^2$ 의 니코틴,  $0.45 \text{ } \mu\text{mol/m}^2$ 의 노르니코틴,  $0.14 \text{ } \mu\text{mol/m}^2$ 의 아나바신 및  $4.7 \text{ } \mu\text{mol/m}^2$ 의 아나타빈)에서 측정된 것과 동등한 농도에서는 활성이 아니었다. 일 추출물이 발휘한 기피는 알. 상귀네우스 성체에 대해 3 내지 10의 인자만큼 낮았고, 아이. 리시누스 약충에 대한 생물검정 유의 한계에 거의 도달하지 못하였으므로, 일 추출물과 순수 알칼로이드 사이에서 활성의 비교가 그려질 수 없었다. 진드기 종과 단계 간의 민감도 차이는 통계 모델에 의해 강력하게 또한 지적되었다.

[0278] 시험된 순수 알칼로이드 중에서, (S)-아나타빈 및 (R)-아나타빈은 DEET의 것과 가깝게 알. 상귀네우스 유충에 대한 가장 낮은 최소 유효 농도를 나타냈다. (R)-아나타빈은 또한  $300$  및  $100 \text{ } \mu\text{mol/m}^2$ 에서 진드기를 유의하게 억제하였다.

**표 5**

알칼로이드 화합물(아나타빈·HCl, N=3, 표 4에 기재된 데이터의 하위집단)의 효능

화합물	투여량	사망률 %	기피성 %	MEC ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ )
니코틴	300	99	-	30
	30	33	56	
	3	11	23	
노르니코틴	300	49	70	300
	30	11	5	
아나타빈 R	300	24	97	30
	30	-	62	
	3	-	0	
아나타빈 S	300	-	78	300
	30		12	
아나바신	300	14	9	>300
DEET	300	11	100	300<MEC<30
	30	-	26	
	3	-	27	
EtOH	용매 대조군	11	0	

[0279]

표 6

담배 추출물(1)의 효능

추출물	투여량	사망률 %	MEC(사망률)	기피성 %	MEC(기피성) (mg/m <sup>2</sup> )
추출물 10112 (PMT)	446	7	> 446	50	44.6
	141	0		56	
	44.6	4		70	
	14	5		42	
	4.46	0		35	
추출물 10113 스텔라(경지)	446	74	446	74	< 4.46
	141	0		56	
	44.6	0		81	
	14	5		51	
	4.46	0		53	
추출물 10114(글루티노사)	446	0	> 446	62	14
	141	0		73	
	44.6	0		49	
	14	0		69	
	4.46	0		44	
추출물 10115 (엔. 글라우카)	446	3	> 446	51	< 4.46
	141	3		69	
	44.6	0		51	
	14	0		72	
	4.46	0		68	
DEET	8.5	-	-	81.6	8.5
MetOH		-	-	13	-

[0280]

표 7

담배 추출물(2)의 효능

추출물	투여량	사망률 %	MEC(사망률)	기피성 %	MEC(기피성) (mg/m <sup>2</sup> )
추출물 10112 (PMT)	446	7	> 446	50	44.6
	141	0		56	
	44.6	4		70	
	14	5		42	
	4.46	0		35	
추출물 10113 스텔라(경지)	446	74	446	74	< 4.46
	141	0		56	
	44.6	0		81	
	14	5		51	
	4.46	0		53	
추출물 10114 (글루티노사)	446	0	> 446	62	14
	141	0		73	
	44.6	0		49	
	14	0		69	
	4.46	0		44	
추출물 10115 (엔. 글라우카)	446	3	> 446	51	< 4.46
	141	3		69	
	44.6	0		51	
	14	0		72	
	4.46	0		68	
DEET	8.5	-	-	81.6	8.5
MeOH		-	-	13	-

[0281]

[0282]

**8. 아나타빈 화합물의 모기 기피성 검정**

[0283]

본 발명의 화합물을 에탄올과 혼합하여 조성물을 제조하고, 이 조성물은 표면에 도포되고 건조될 수 있다. 표면을 본 발명의 화합물로 처리하고 건조한 후, 이것을 사람의 체온까지 가열하고, 각각의 화합물의 기피성을 측정하기 위해 성체 *아에테스 아에집티* 모기에 의해 따뜻한 표면에 모기가 소비한 총 시간과 착지의 수를 머신 비전에 의해 자동적으로 기록하였다.

[0284]

(따뜻한 표면에 대한 개별 착지의 수에 기준) 기피성은 대조군의 백분율 감소로서 표현되고, 여기서 비히클 용매로만 처리된 따뜻한 표면에 착지하는 모기의 평균 수가 계수된다. 100%는 따뜻한 표면에 착지한 모기가 없다는 것을 의미한다.

[0285]

여전히 따뜻한 표면에 착지한 모기의 경우, 따뜻한 표면에서 소비한 시간이 또한 기록되고 대조군의 백분율로서

표현되고, 이는 모기가 비히클 용매로만 처리될 때 동일한 따뜻한 표면에서 소비한 평균 시간에 해당한다. 100%는 모기가 처리된 따뜻한 표면에서 비히클 용매로만 처리된 따뜻한 표면에서와 동일한 시간을 소비함을 의미한다.

[0286] 화합물이 없거나(위약) 화합물 희석액이 표면에 퍼져 있는 18.9 cm<sup>2</sup> 및 100 마이크로리터의 용액의 표면을 사용해 각각의 화합물/투여량을 3회 반복 시험하고, 시험 전에 건조되게 하였다. 3회 반복에서 평균 및 표준 오차를 계산한다. (비히클 용매만을 사용하는) 대조군은 에탄올에 의해 실행한다. 동일한 모기 집단을 처음에 비히클 용매로 처리된 따뜻한 표면에 노출시킨 다음, 화합물로 처리된 표면에 노출시킨다. 화합물의 처리 투여량이 표에서 표면 단위 면적 당 최종 농도에 맞게 보장하도록 시험 화합물을 포함하는 용액의 농도를 조정하였다.

[0287] 표 7 및 도 3a 및 도 3b는 HCl 염으로서 그리고 이의 염기 형태로 아나타빈을 시험한 결과를 보여준다. 놀랍게도, 염기 형태의 아나타빈은 HCl 염 형태보다 상당히 더 양호한 모기 기피제이다. 이는 또한 HCl 염 형태의 아나타빈과 비교하여 염기 형태의 아나타빈으로 처리된 표면에서 모기가 소비한 훨씬 더 짧은 시간에 의해 표현된다.

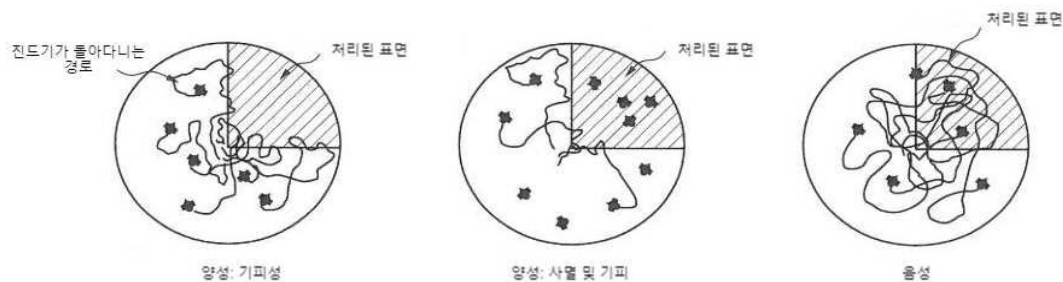
표 8

시험 화합물 아나타빈	치료/투여량 [ $\mu\text{mo}$ 1/m <sup>2</sup> ]	평균 착지 [%, 대조군과 비교됨]	표준 오차	평균 프로빙 시간 [%, 대조군과 비교됨]	표준 오차
S 거울상이성질체 HCl 염	760	28.2	9.7	62.7	13.5
	380	25.4	33.1	71.5	16.4
R 거울상이성질체 HCl 염	760	42.9	35.0	48.5	29.9
	380	8.1	37.4	128.9	57.8
S 거울상이성질체 염기	380	90.0	4.3	1.6	0.8
	75	86.5	12.0	20.6	10.0
R 거울상이성질체 염기	380	77.9	21.16	2.7	1.4
	75	68.9	20.5	29.0	11.8

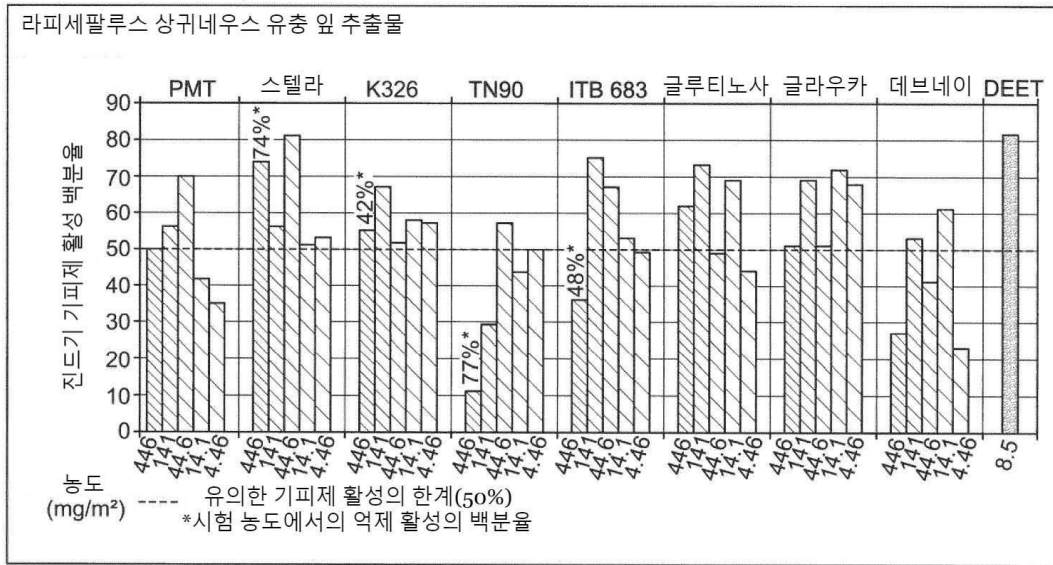
[0288]

도면

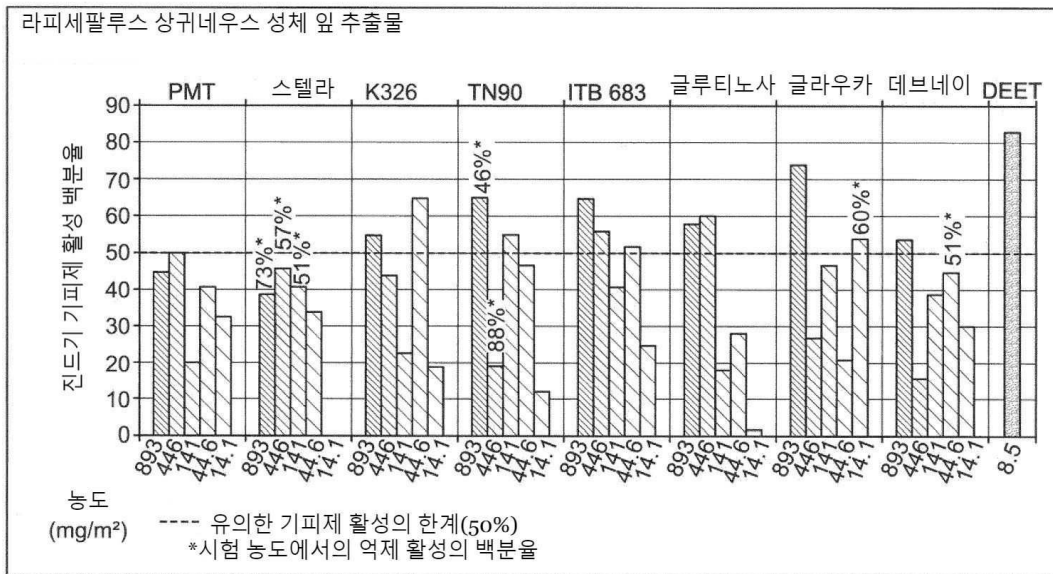
도면1



도면2a

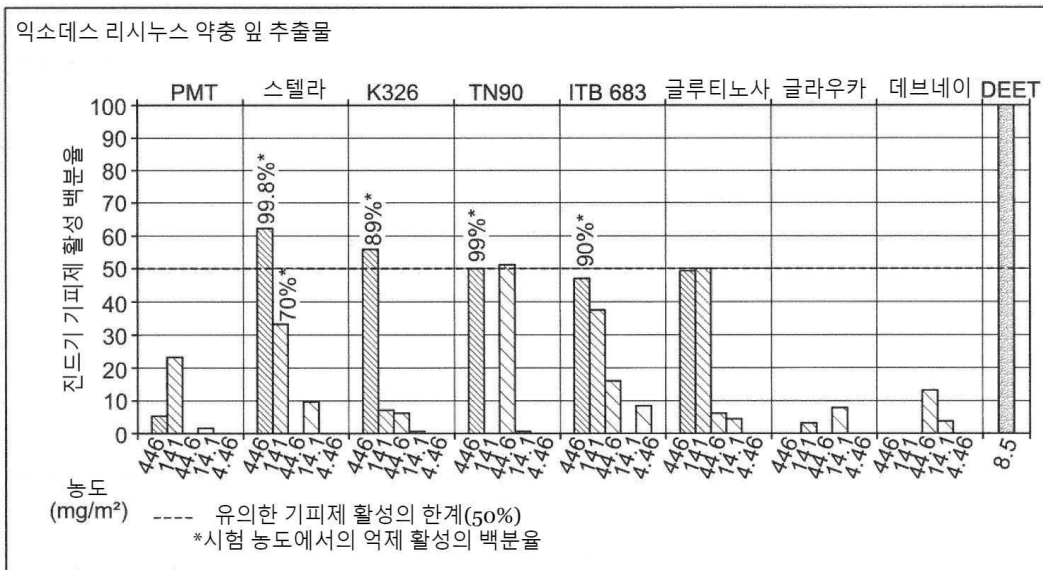


도면2b

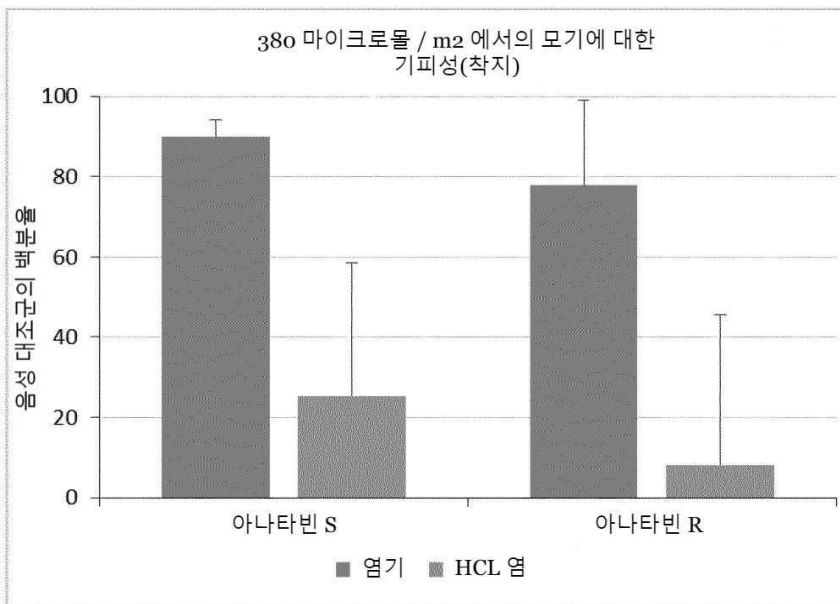




도면2c



도면3a



도면 3b

