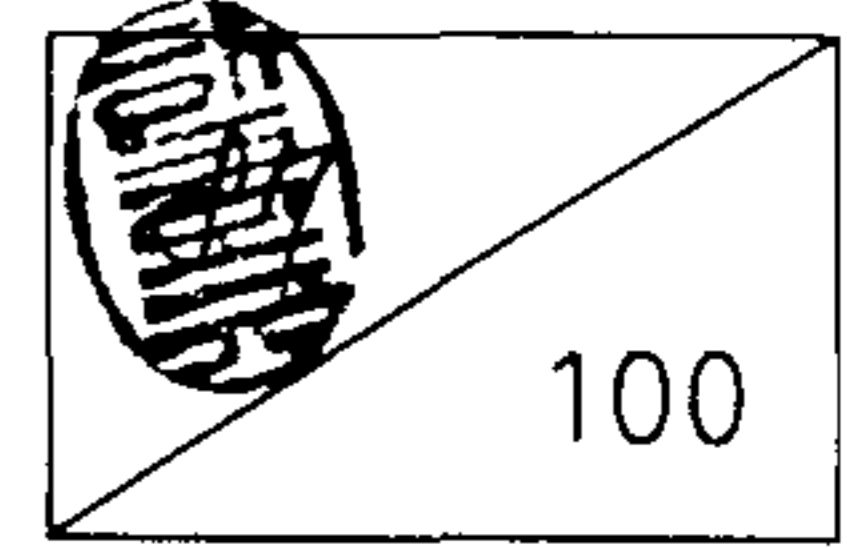


제 3 차 년 도
최 종 보 고 서

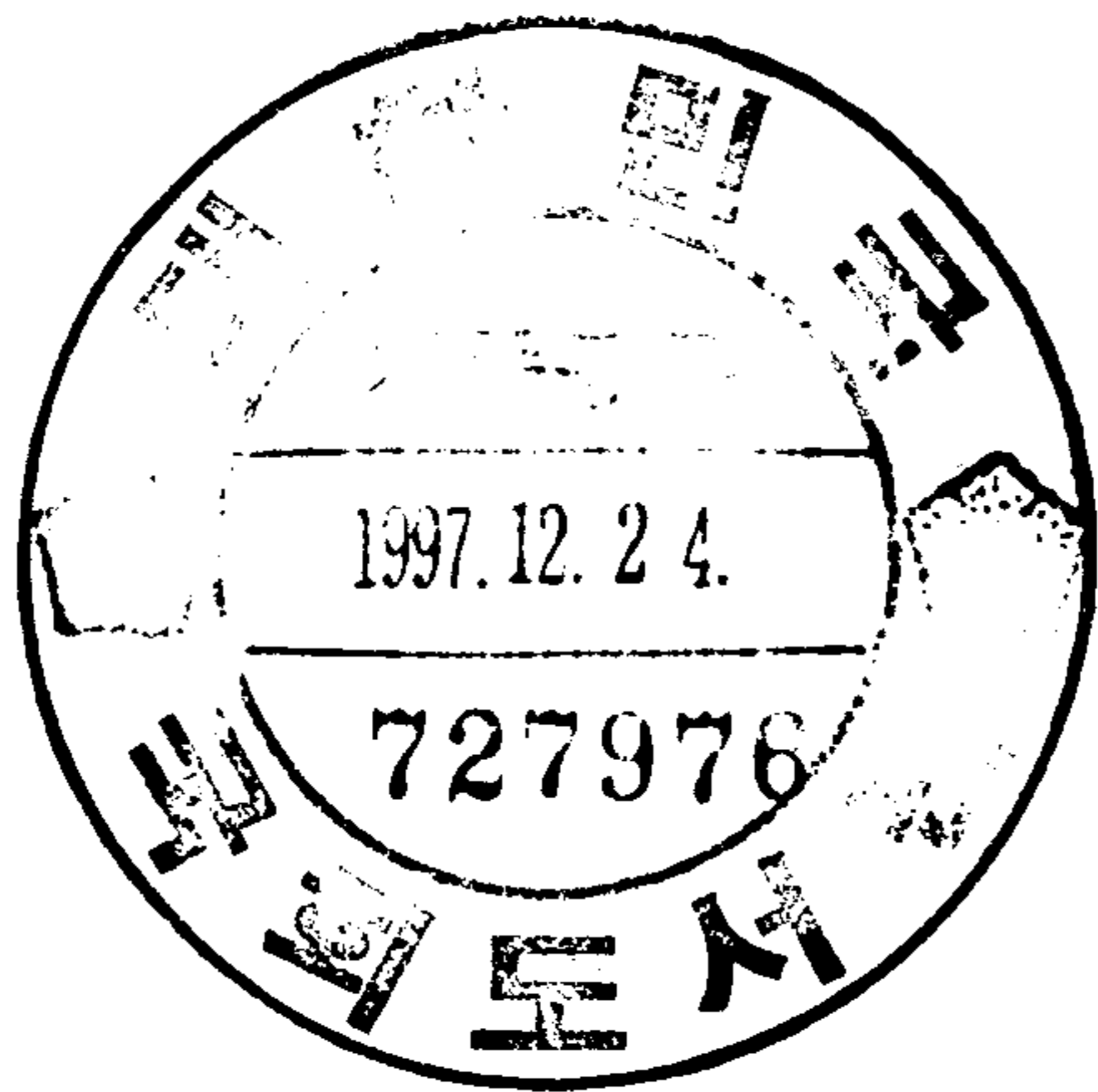


응애구제약의 개발에 관한 연구

A Study on the Development of Acaricide for Honeybee

연구기관
한국과학기술연구원

농 립 수 산 부



제 출 문

농림수산부 장관 귀하

본 보고서를 “응애구제약의 개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

1997. 11. 30.

주관연구기관명: 한국과학기술연구원

총괄연구책임자: 한 호 규

연구 원: 남 기 달

장 기 혁

이 희 경

오 형 섭

이 상 원

배 수 열

전 종 연

박 익 규

이 점 중

여 백

요 약 문

I. 제 목

응애구제약의 개발에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 중요성

우리나라의 양봉산업은 비록 그 규모가 작기는 하지만, 그 질이 외국의 것과 비교해 볼때 우수하다. 양봉은 벌꿀의 생산 뿐만 아니라 화분의 가루받이등의 일이 더욱 중요한 것이며, 경제적인 면으로 볼때 벌꿀의 생산은 전체 양봉산업중 약 20%의 기여에 해당된다고 한다. 그런데 최근의 양봉산업에서의 큰 문제점은 주로 수입된 꿀벌에서 감염된 진드기(응애)로 말미암아 심한 경우에는 벌의 전멸을 가져올 수 있다는 것이다. 앞으로 더욱 규모가 커질 것으로 예상되는 근교농업 및 농산물 생산자의 고소득을 이루기 위해서 요구되는 비닐하우스를 이용한 농업에서는 농산품의 고품질화를 위해서 필연적으로 꽃가루 수정의 과정에서 꿀벌을 필요로 한다. 그러나 국내 양봉산업의 실정을 미루어 볼때 양봉의 수입은 절대적으로 필요하나 앞서 지적한 대로 수입벌에서 기생하는 진드기로 말미암아의 그 피해는 날로 심각해지고 있다. 진드기 구제를 위한 여러가지 약제가 세계적으로 개발되어 판매되고 있으나 그 사용량이 한정되었고 사용범위가 지리적으로 넓어서 상당히 고가로 판매되고 있는 실정이다. 국내에도 약 수년전부터 세계적인 소수의 외국회사에서 개발된 약제가 수입되어 판매되고 있으나 가격이 워낙 고가인 관계로 그 사용량이 미미한 실정이다. 따라서 국내에서 사용하기에 편리하고 가격이 저렴한 진드기 구제약제를 선별하여 그 약제의 합성 및 제제화를 통하여 사용법을 보급함으로써 약제의 올바른 사용으로 국내의 양봉산업에 기여하는 것은 의의있는 일이다.

III. 연구개발 내용 및 범위

국내외에서 판매 보급되고 있는 양봉용 응애구제약들의 생물활성의 특성, 효력, 약제처리의 편리성, 합성방법, 안전성, 대량 합성에 소요되는 가격, 진드기 내성문제, 편리성등을 바탕으로 국내생산의 타당성을 조사한 다음, 약제의 약효 및 안전성이 우수하고 경제적으로 국내 생산이 적절한 약제들을 선별하였다. Fluvalinate, flumethrin, bromopropylate, cymiazole, amitraz, 그리고 coumafos등이 세계적으로 사용이 많이 사용되는 원제들이며, 각각 다른 생물학적 특성을 갖고 있다. 본 연구에서는 원제로부터 제품화될 수 있도록 전자현미경 분석, 원제의 추출, 분리, 확인의 방법을 통하여 대량생산이 가능한 방법을 모색하였다. 피레트로이드계열의 fluvalinate 및 flumethrin은 drug delivery system을 이용한 고분자물질과 함께 제제화되었으며 증기압에 의해 진드기가 구제된다는 점을 고려하여 제형화를 확립하였다. 혼연제로 사용되는 bromopropylate는 종이에 흡착시켜 만들어진 제품인 Flovex의 생산을 위한 원제의 합성, 제제화의 know-how도 연구하였다. 경구투여제로 사용되는 cymiazole은 효과가 우수하며 설탕사양액과 함께 투여하는 특징을 가지고 있으며 본 연구에서 합성에 성공하였고 대량생산을 위한 합성공정을 최적화하였다. 상품화를 위한 제제화 및 현장시험에서도 우수한 결과를 얻었으며 그 합성방법에 관해 국내특허를 출원하였다. 쉽게 가수분해되어 보관상에 문제가 제기된 amitraz의 합성 및 제제화도 시도하였다. 쿠마포스,테트라디폰 등의 기존 약제들의 특성을 파악하여 소개하였다. 미래의 진드기 약 개발을 목표로 테트라진 유도체인 Flutenzine등의 합성법도 확립하였다. 국내 원료 공급과 진드기에 대한 내성을 고려한 피레스 로이드 계열의 과수 응애약을 벌의 진드기 약으로 응용하고자 제형화를 모색하기도 하였고, 꿀벌진드기 구제를 위한 선진국에서 최근에 추진되고 있는 방법, 즉, 개미산과 essential oils들도 소개하고 국내 적용을 위한 시험을 수행하였다.

응애류는 저항성을 쉽게 가진다는 특성을 고려하여 국내의 실정에 알맞는 몇가지 약제들을 선택하고 그 사용상의 주의점과 사용방법을 추천하였다.

IV, 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

연구개발결과: 국내에서 사용하기에 경제적이며 편리한 양봉용 진드기 구제약의 특징을 살려 첫째, 시미아졸 (cymiazole)의 국내합성을 성공하였다. 국내 생산을 위한 등록을 마쳤으며 국내특허를 출원중이다. 둘째, fluvalinate 의 고분자물질과의 제제화 know-how를 습득하였다. 셋째, bromopropylate의 생산공정을 확립하고 고분자화합물과의 제제화 know-how를 습득하였다. 넷째, 저항성 문제에 대비한 기존과수 응애약을 벌진드기 약으로 개발하고자 Talstar 제형화를 시도하였고, 다섯째, 미래의 진드기약 원제로 사용코자 테르라진 유도체인 Flutenzin의 실험실적 합성에 성공하였다. 그리고 최근에 선진국에서 많이 소개되고 있는 개미산의 사용에 대한 기초적인 실험을 수행하였다.

활용에 대한 건의: 진드기의 특징은 화학약품에 대하여 내성이 쉽게 생기므로 약제의 발현기작에 따라서 선발된 약제를 교대로 사용할 필요가 있다. 따라서 양봉가에게 본 연구에서 선발된 약제를 교대로 사용하여 내성문제를 극복해야한다. 전량 수입에 의존하고 있는 진드기 구제약제를 본 연구에서 국산화에 성공한 시미아졸 (cymiazole)을 국내 생산하여 양봉가에게 저렴하게 공급해야 한다.

여 백

SUMMARY

(영문 요약)

A Study on the Development of Acaricide for Honeybee

Contagion of Varroa mite and tracheal mite parasited in the honeybee is serious problem since a honeybee was imported from overseas, which may resulted in wipe out by its breeding. Because several remedies developed in foreign countries were imported for expensive price, some beekeepers misuse agrochemical acaricides or insecticide by themselves for control of mites. Problems of mite resistance to the pyrethroid acaricides and residues in honeybee products have prompted beekeepers to look for alternative control. In response to demands by domestic beekeepers for cheaper price to get them, for more information on how to control of mite, and for prevention the misuse of the chemicals, we aimed the synthesis of the acaricides effective against the mites parasitic in honeybee.

A feasibility study on production of acaricides used in worldwide was carried out by considering their biological properties, effectiveness, labor cost for application, synthetic procedures, safety, cost for mass production, the property of mite resistance and convenience in use. As a result, several chemicals were selected. Fluvalinate, flumethrin, bromopropylate, cymiazole, amitraz, and cuomafos are treated in domestic as well as in foreign countries and they have their own biological activities respectively. Pyrethroid

fluvalinate and flumethrin are formulated with polymeric compounds or chemicals, and their vapor pressure control mite. This study include the possible procedure for domestic mass production through an electronic microscope, extraction of active chemicals from Apistan and Baybarol, separation, and identification. Synthesis of bromopropylate and know-how of the formulation of Folvex were studied. One of best acaricide, cymiazole which could be apply with sugar solution by oral administration was synthesized and optimized for mass production. The result of the field study on cymiazole synthesized in the laboratory with appropriate formulation was successful. A convenient and economic synthetic method of cymiazole was applied for a domestic patent. Synthesis and formulation of amitraz which was known that it was hydrolyzed easily were attempted.

Alternative techniques for control of mite were introduced in this project. These methods involves formic acid and essential oils, however, not these products are approved in some countries and so information about their use in not always readily available.

Considering the property of mite resistance against the chemicals, several appropriate chemicals for domestic situation were selected and it is suggested that the selected chemicals according to the its mode of action would be treated by turns.

CONTENTS

(영문목차)

| | |
|--|-----|
| I. Introduction | 13 |
| 1. Purpose and scope of the study | 13 |
| II. Results and Discussion | 15 |
| 1. Process of the study | 15 |
| 2. Class of effective medicines, properties, and syntheses | 16 |
| a. Fluvlinate | 18 |
| b. Bromopropylate | 38 |
| c. Coumafos | 42 |
| d. Cymiazole | 46 |
| e. Amitraz | 70 |
| f. Tetradifone | 88 |
| g. Flumethrin | 90 |
| h. Flutenzine | 98 |
| i. Formic acid | 103 |
| h. Essential oils | 111 |
| III. Conclusion | 117 |
| Appendix 1 NMR and IR Spectra | 119 |
| Appendix 2 Electron microscope photographs | 133 |
| Appendix 3 X-Ray crystallography | 155 |
| Appendix 4 Miscellaneous | 169 |

여 백

목 차

| | |
|-----------------------------------|-----|
| 제 1 장 서 론 | 13 |
| 제 1 절 연구개발의 목적과 범위 | 13 |
| 제 2 장 결과 및 토의 | 15 |
| 제 1 절 연구 추진방법 | 15 |
| 제 2 절 약제의 종류, 특성, 합성 | 16 |
| 제 1 항 홀루발리네이트 | 18 |
| 제 2 항 브로모프로필레이트 | 38 |
| 제 3 항 쿠마포스 | 42 |
| 제 4 항 시미아졸 | 46 |
| 제 5 항 아미트라즈 | 70 |
| 제 6 항 테트라디폰 | 88 |
| 제 7 항 플루메트린 | 90 |
| 제 8 항 플루텐진 | 98 |
| 제 9 항 개미산 | 103 |
| 제 10 항 에센셜오일 | 111 |
| 제 3 장 결 론 | 117 |
| 부 록 1 수소핵자기공명스펙트럼, 적외선흡수스펙트럼 | 119 |
| 부 록 2 전자현미경 사진 | 133 |
| 부 록 3 X-ray 결정 데이터 | 155 |
| 부 록 4 기타 | 169 |

여 백

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 목적과 범위

우리나라의 양봉산업은 비록 그 규모가 작기는 하지만, 국내에서 생산되는 벌꿀이 제약산업에 상당부분이 공급되고 있으며 그 질이 외국의 것과 비교해 볼때 우수하다. 양봉은 벌꿀의 생산 뿐만 아니라 꽃가루, 로얄제리의 생산, 화분의 가루받이등의 일이 더욱 중요한 것이며 경제적인 면으로 볼때 벌꿀의 생산은, 전체 농업에 양봉이 기여하는 것의 약 20% 밖에 차지하고 있지 않다고 한다. 그런데 최근의 양봉산업에서의 큰 문제점 중의 하나는 주로 수입된 꿀벌에서 전염된 진드기(응애)로 말미암아 심한 경우에는 벌의 전멸을 가져올 수 있다는 것이다. 그런데 앞으로 더욱 규모가 커질 것으로 예상되는 근교농업 및 농산물 생산자의 고소득을 이루기 위해서 요구되는 비닐하우스를 이용한 농업에서는 농산품의 고품질화를 위해서 필연적으로 꽃가루 수정의 과정에서 꿀벌을 필요로 한다. 그러나 국내의 양봉산업의 실정을 미루어 볼때 양봉의 수입은 절대적으로 필요하나 앞서 지적한 대로 수입벌에서 기생하는 진드기로 말미암아의 그 피해는 날로 심각해지고 있다. 진드기 구제를 위한 여러가지 약제가 세계적으로 개발되어 판매되고 있으나 그 사용량이 한정되었고 사용범위가 지리적으로 넓어서 상당히 고가로 판매되고 있는 실정이다. 국내에도 약 수년전부터 세계적인 소수의 외국회사에서 개발된 약제가 수입되어 판매되고 있으나 가격이 워낙 고가인 관계로 그 사용량이 미미한 실정이다. 따라서 국내에서 사용하기에 편리하고 가격이 저렴한 진드기 구제약제를 선별하여 그 약제의 합성 및 제제화를 통하여 사용법을 보급함으로써 약제의 올바른 사용으로 국내의 양봉산업에 기여함을 목적으로한다.

본 연구에서는 국내외에서 판매 보급되고 있는 양봉용 응애구제약들의 특성, 효력, 합성방법, 안전성, 합성가격등을 바탕으로 국내생산의 타당성을 조사한 다음, 약제의 약효 및 안전성이 우수하고 경제적으로

국내 생산이 적절한 약제들을 선별한다. 특히 응애류는 저항성을 쉽게 가진다는 특성을 고려하여 약제들을 선택하고 그 사용상의 주의점과 사용방법을 고려한다. 선별된 약제를 합성하고 제제화 및 야외 실험을 수행하여 양봉가들의 사용에 필요한 의견을 반영하는 것이 양봉가의 현장 애로사항을 해결하는 길이다. 나아가서 국산화를 위하여 국내특허출원 및 등록을 함으로서 국내생산의 길을 열고 적절한 시기에 원만한 보급을 할 수 있다. 아울러 최근에 응애구제약으로 대두되고 있는 새로운 약제를 chemical abstract, 최근 학회에서의 발표된 자료, 국외 전문가와의 토의 및 인터넷등을 통하여 얻고 이들 약제를 국내에서 시험함은 가치 있는 일이다.

제 2 장 결과 및 토의

제 1 절 연구 추진방법

(1) 지금까지 국내를 포함한 세계적으로 사용되고 있는 진드기구제 약에 대한 조사는 Chemical Abstract, 양봉가의 의견수집, 양봉약제의 취급회사등을 통하여 수행하였으며, 최근의 약제의 출현, 개발, 또는 사용에 대한 정보는 Selected Chemical Abstract "Novel Pesticide and Herbicide", 최근의 양봉관련 국내.외 학회나 학회지 및 internet 조사를 통하여 얻었다. 약제의 물리, 화학적인 성질, 약효의 특징 및 독성데이터 등은 Chemical Abstract에서 얻은 자료 또는 Pesticide Manual 등에서 입수하였다.

(2) 약제의 합성: 문헌조사에 의해서 밝혀진 약제의 순수한 화합물의 일부는 유기합성법을 통하여 직접 실험실적 스케일로 합성하였으며 합성이 어려운 화합물은 제제화가 되어있는 제품으로 부터 순수한 화합물을 물리, 화학적인 성질의 차이를 이용하여 분리하였다.

(3) 국내생산의 가능성 타진 (경제성 및 기술적인 문제): 문헌조사에 의해서 밝혀진 약제들의 구조식으로 부터 국내에서의 생산가능성을 타진하였다. 즉, 국내 생산에서의 문제점 - 국내 생산에서의 가격과 국제 가격과의 비교, 국내 생산 시설의 경우 투자에 대한 타당성, 국내에서 원자재의 수급의 가능성 등 - 및 국내 시장 및 국제 시장의 조사를 하였다.

(4) 제제화: 일부의 화합물은 양봉용 사용을 위해서 제제화를 모색하였다. 다시말하면, Drug Delivery System을 이용한 약효의 지속 및 효율적인 약제의 배출이 되도록 고분자물질과의 혼합 또는 적당한 물질 (예를 들면 설탕등) 과 혼합하여 사용할 수 있도록 하였고 상품화를 목적으로 보관, 이동에 편리한 방법을 제시하였다.

(5) 약제의 투여와 효과의 판단(진드기의 종류, 투여약제, 투여시기,

투여방법에 따른 효과): 현재 양봉가들이 사용하고 있는 대표적인 약제들을 농촌진흥청 수의과학연구소에 의뢰, 양봉가에 의뢰, 그리고 본 연구실에서 직접 양봉군에 투여하여 그들의 약효를 비교 시험한 결과 페리진액 90.8%, Apitol 92.2%, Folvex 82.1%, 신등전 74.3%, 만박 90.5%의 방제율 (무처리대조군 3.2%)을 나타냈다.

(6) 양봉가의 사용에 관한 의견 청취, 해결 방법에 대한 의견제시: 현재 양봉에 관한 제품을 취급하고 있는 업체와 협조하여 실제로 양봉가의 의견을 청취하여 양봉가의 의견 - 사용상의 문제점, 가격, 편리성, 투여방법, 투여시기, 양봉의 특성등 - 을 청취하여 본 과제가 실용화하는데에서의 문제점을 미리 파악하였다.

(7) 국내 생산 및 기업화를 위한 등록: 가장 국내생산이 적합한 화합물인 cymiazole 의 합성에 관한 국내특허를 출원하였고, 다른 제품은 제형화에 관한 기술 및 know-how를 보유하고 있다. 국내의 동물약품 제조업체에 의뢰하여 cymiazole의 등록을 마쳤다.

제 2 절 약제의 종류 및 특성

진드기 구제약제는 그 약효의 작용기작으로 구분할 때 대략 다음의 3 가지로 대별된다.

첫째, 진드기의 경구흡수에 의한 구제: 진드기가 꿀벌에 기생하는 것을 이용하여 꿀벌의 먹이에 약제를 혼합 급이함으로써 꿀벌의 체액을 빨아먹은 진드기가 구제된다.

둘째, 진드기의 경피의 접촉성에 의한 구제: 이들 약제는 혼연제와 혼증제로 대별되며, 혼증제는 일반적으로 인축에는 저독성이며 곤충에 약효가 강한 피레스로이드계열의 약제를 많이 사용한다. 이 약제는 사용상에 상당한 장점이 많이 있으나 어독성이 심하며, 주변 환경에 피해를 줄 수 있을 뿐만 아니라 진드기의 내성 (진드기의 생애가 짧아 더욱 문제임)에 의해 지속적 사용은 금기시 되어 있어서 상당한 문제를 야기하

여 수년동안 사용 후에는 다른 약제를 바꾸어 주어야 한다.

셋째, 훈연제로의 사용상의 불편이 따른지만 약효는 상당히 인정된다.

다음은 진드기 구제에 효과적으로 알려진 화합물들중에서 가장 효과적인 화합물들의 주요성분, 상품명 및 특징을 표1에 나타냈다.

표 1.

| 주요 성분 | 상 품 명 | 특 징 |
|----------------|---------------------------------------|--|
| fluvalinate | Apistan strip Mavrik, Manpu, 피투 | 훈증제, 사용간편, 내성문제 심각, 환경오염의 가능성이 높음, 가격이 높음 |
| bromopropylate | Folvex | 훈연제, 사용상의 번거로움, 비교적 안전 |
| coumafos | Perizin | 소비내 살포, 사용상의 번거로움, 비교적 안전, 약해가 보고됨 |
| amitraz | Maicut | 훈증제, 불안정한 화합물, 사용상의 주의 요 |
| cymiazole | Apitol | 먹이 사양시 투여, 사용상의 간편, 비교적 안전 |
| tetradifon | 신등전 | 훈연지, 사용상의 번거로움 |
| flumethrin | Bayvarol | 훈증제, 사용간편, 현재 내성문제 없음, 환경오염 가능성이 낮음, 유효기간이 길다. |

이들 화합물 중에서 약효가 인정되고 비교적 사용상의 문제점이 적은 몇가지 화합물에 대한 화학, 물리적인 성질 및 원료분석을 하고 또한 원료합성, 제형화, 등의 과정을 각론별로 연구한 내용은 다음과 같다.

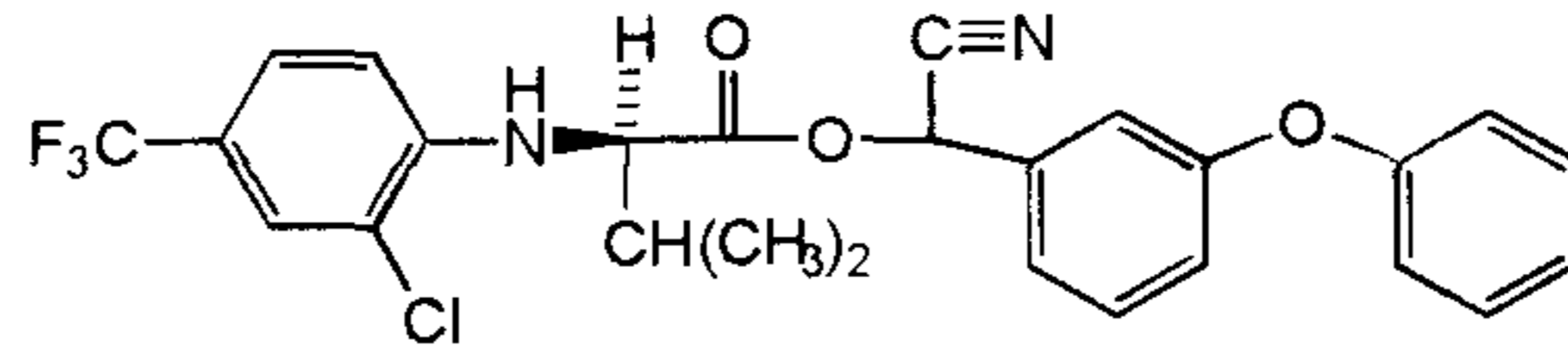
제 1 항 : 원제명, Fluvalinate

(1) 상품명 : 아피스탄(Apistan), Mavrik, Klartan, 피투, 만박

(2) 화학명 : (R,S)- α -cyano-3-phenoxybenzyl, N-(2-chloro- α ,
 α -trifluoro-p-tolyl)-DL-valinate; Cyano(3-phenoxyphenyl)methyl
N-[2-chloro-4-(trifluoromethyl)phenyl]-D-valinate.

분자식 : $C_{26}H_{22}ClF_3N_2O_3$

구조식 :



(3) 생산회사 및 국가별 제품과 특성:

a) 미국의 아피스탄: 아피스탄은 미국 Zocon corp사가 1977년 PVC 수지 형태에 fluvalinate와 함께 mold하여 유효성분이 서서히 증발되게 개발한 제품이다. 현재 Sandoz 및 Misubishi에서 생산되며 미국, 캐나다, 호주 유럽등에서 널리 쓰이며 American Bee Journal에 가장 많이 선전되는 유일한 진드기 구제약이다.

b) 중국의 Manpu(한국에서는 만박으로 칭함): 미루나무 판자, 즉 두께 약 1 mm의 나무에 fluvalinate를 흡착시킨 것으로, 약이 쉽게 증발되어 일정기간이 지나면 약이 소멸되어 효과가 없음을 후술하는 분석 방법으로 확인 하였다. 중국에서는 fluvalinate를 수입하여 사용한다고 하는데 정확한 정보는 아니다.

c) 일본의 마부릭 : 마부릭은 과수진드기 구제약으로 부영제 등 첨가물과 등과 혼합된 fluvalinate 주성분의 농약살충제로 개발된 농약이다. 물에 섞어서 나무젓가락에 묻혀 말린 것을 벌통입구를 통하여 넣어 줌으로서 약효 발현을 일으키는데, 나무 젓가락에 묻이는 약량을 알 수 없고, 또 물에 녹지 않는 부유물의 흰 가루(아마도 부영제)가 바람에 날리거나 떨어져서 벌통 내부에 오염될 수 있는 조잡한 약이다. 그러나 문

제되는 것은 값이 저렴하다는 이유로 음성적으로 국내에 유입되어 너무 널리 오용되고 있어서 남용의 문제, 가축의 피해, 그리고 특히 내성문제를 심각하게 제기하고 있다.

d) 한국의 피투: 처음에 중국의 만박과 일반 양봉가의 젓가락에 묻혀 사용하는 것을 응용하여 제제화한 것 같으며 원제의 출처는 알 수 없지만 마부릭 부유물을 사용한 것 처럼 보인다. 맨 처음 시제품은 흰스티로폴 판에 아피스탄 크기로 만들어 알미늄 종이에 10개씩 싸서 만들어진 제품이며 그 이후 이를 보완하여 나무 판자에 중국의 Manpu와 비슷하게 만들었다. 용량 표시가 없고 유효기간은 2년으로 한정되어 있다. 제조원은 대성미생물, 한국 동물약품, 중앙케미칼(주) 3사 였는데 최근에 중앙케미칼에서만 나무판자에 흡착시켜 판납되는 제품이다. 피투는 1993.10-1994. 9 수의 과학 연구소에서 가시응애 구제약으로 연구되어 값싸게 국산화 하는 것이 그 목적이었던 제품으로 1995. 3월에 양봉협회 보에 발표되기 시작하였다.

이것 외에 진멸판이라 하여 남쪽 모 지방의 양봉원이나 양봉가들을 통하여 허가되지 않은 제품들이 유통되고 있었는데 이것도 역시 마부릭 수용액을 합판 조각에 아피스탄 크기로 만들어 흡착 건조 포장된 약으로 약량이나 허가, 제조일 미상의 제품으로 유통되고 있었다. 이밖의 이 계통약은 가시응애 출현으로 값싸고 유용하게 쓰려는 영세 양봉인들이 무분별하게 사용하고 있어 약해와 내성을 가중시키고 있는 것이 현실이다.

a) Mavrik BEC은 tau-fluvalinate 72g과 thiometou 200g을 섞은 약으로 가장 많이 사용되었다.

b) Amalux는 tau-fluvalinate 40g과 quinalphos 300g을 섞은 약이다.

c) Procarb : wp는 tau-fluvalinate 50g과 hexythiazox 30g을 넣고 1kG양이 되도록 제형화한 것으로 Nippon soda사 개발품이다.

d) Torero는 tau-fluvalinate와 clofentezine의 합제이다. 이밖에

일반적인 진드기 구제약으로서 Spur, EW 등이 있다.

e) Apistan; Vp는 1kg의 plastic strip속에 10g의 fluvalinate가 들어 있는 것이다.

(4) 관련특허 및 문헌 :

a) Henrick, C.A.;Garcia, B.A; *U.S. Pat.* 4243819 (1981)

b) Anderson, R. J.; Adams, K. G.; Henrick, C. A., *U.S. Pat* 4260,333 (1981).

c) *Ger. Pat* 2,812,169 (1978, Zoecon)

d) Henrick, C.A.;Garcia, B.A; *U.S. Pat* 4,411,912 (1983).

e) *J. of Apicultural Res.* 31(2) 70-76 (1992).

f) Anderson R.J.; Adams, K.G.; Henrick. C.A. *J. Agric. Food chem.*, 33(3) 508-14 (1985)

g) Henrick. C.A.; Garcia. B. A.; Staal. G.B.; Cerf. D. C.; Anderson.R.J.; Gill.K. Chinn.H.R.; Labovitz. J. N.; Leippe. M. M.; *Pestic. Sci.* 11(2), 224-41 (1980).

(5) 물리, 화학적 특성: 분자량 502.5; 노란색 점성의 액체; 끓는점 450 °C ; 증기압 < 0.013 mPa (25 °C); 점도 1.29g /cm³; 물에서 용해도 0.002 mg/kg; 0.005 ug/ mL; 2 ppb, 상온에서 2년간 안정; 빛에 약간 불안정, 유기용매에 매우 잘 용해, 헥산에 약간 용해됨. Fluvalinate는 D.L-isomers의 혼합물로 되었고 점성의 노란색 기름상의 액체인데 공기 중에 노출되면 붉은 빛이 난다. 50°C에서 1년 보관하여도 안정하였다. 물에 불용이나 흙속에서의 반감기가 30일, 미생물이 많은 모래흙에 반감기는 15일, 광 분해되어 3-phenoxy benzoic acid로 분해됨

(6) 독성데이터: 쥐 (acute oral) LD₅₀ >3000 mg/kg; 새 (bobwhite quail) >2510 mg/kg; 물고기 (rainbow trout) LC₅₀ 0.029

mg/l; carp LC₅₀(96h) 0.0048 mg/l; Daphnia 0.0074 mg/l; 눈 피부에 약간의 독성을 나타내나 심한 알러지, 피부 반응등은 나타내지 않는다. 새에 약간의 독성, LC₅₀ > 2150 kg, 거위 >5620 ppm/Kg; 물고기에 높은 독성있슴; 돌연변이를 일으키는 물질은 아님; 닭에 21일간 20,000 mg/kg/day을 투여하여 신경전달 체계를 측정한 결과 이상징후 없슴; 고양이에 2.5 mg/kg/day해도, 쥐에 20 mg/kg/day에 투여하여 암유발 효과 측정결과 carcinogenic에 영향 없슴.

(7) 사용상의 특징: 훈증제로 사용되며 cyanopyrethroid계 살충제로서 해충에 탁월한 살충효과를 나타냄과 더불어 꿀벌에 대한 독성이 아주 낮아 벌에 피해를 주지 않는다. 벌통의 내부에 걸어놓고 오랜시간 동안 방제 가능하고 사용자에게 최소한의 노출로 사용상의 안정성이 매우 높다. 최근의 양봉가의 노동 인구의 감소라는 측면에서 훈연지보다 편리하고 인건비가 적게들어 경제적이다. 소비 5매군 이상에서는 2매의 스트립을 3-4번째소비와 7,8번째 소비사이에 떨어지게 놓는다. 소비 5매군 이하의 벌통에는 1매의 스트립을 3-4번째 소비사이에 처리하는데 이른 봄이나 가을에 처리하는 것이 우리나라에서는 유리하다. 주의할점은 채밀기에 벌통내에 걸어 놓지 않도록 하고, 응애에 내성을 극소화하기 위해 벌통내에 6-8주이상 방치하지 말것이며, 출하 예정인 꿀에 접촉되지 않아야 하고, 투약시 장갑을 사용하고 약을 취급시 흡연, 식사, 음료수등을 먹지 않도록 해야하며, 투약후 28일이 경과된후에는 반드시 아피스탄스트립을 제거해야한다. 특히 이 약은 바람에 의해서 누에에 막대한 피해를 줄 수 있으므로 잠사 근처에서의 사용에 주의 하여야 한다.

(8) 약효의 특성 : 일반적인 피레스로이드계열의 살충제와 마찬가지로 소량으로도 어독성이 상당히 심하며, 진드기에 대한 내성에 의한 약효의 감소가 다른약제와 비교하여 심하므로 사용상의 세심한 주의가 요구되며 장기간의 사용에 의해서 내성에 의한 약효의 급격한 감소가

우려된다. 장기간의 사용 또는 오용으로 인해 내성 원인이 나타나는 징후가 우리나라 전역에서 나타났다. 아피스탄은 담황색 투명 프라스틱 스트립으로서 fluvalinate 원제를 제제화하여 주성분이 서서히 장시간 방출되도록 제조한 훈증 발산제이다. 따라서 장시간 방제 가능하고, 사용하기 간편하며, 오용의 위험을 최소화할 수 있고, 벌의 피해가 극소화 될 뿐만 아니라 사용자에게 최소한의 노출로 안정성이 높다는 장점이 있다.

(9) 원제의 습득(분리, 정제) 및 확인 : Apistan strip, 만박, 마브릭, 피투등의 시판제품에서 유효성분을 유기용매로 추출, 분리하여 구조 및 성분비를 수소 및 탄소핵자기공명스펙트럼, 적외선 흡수스펙트럼, 질량분석스펙트럼, 원소분석기, 고성능액체크로마토그래피등의 여러가지 분석기기를 이용하여 분석하였다. 특히 전자현미경에 의한 분석은 제형화연구에 많은 정보를 주었다.

(가) 전자현미경에 의한 관찰 : Apistan은 fluvalinate를 주성분으로 고분자물질과 혼합하여 제품화 한 것으로 일정양의 fluvalinate 가 서서히 훈증에 의해 작용되는 것으로 알려져 있다. Fluvalinate와 고분자물질이 어떻게 구성, 제품화되어 있으며 그 고분자물질이 무엇인지를 알기 위해서 전자현미경 및 추출 실험을 수행하였다.

광학현미경은 Leica Wild MP 552 ; Reichert Metaplan 2 기기를 사용하였고 400배 배율로 관찰하였다. 일반적인 실험 방법은 다음과 같다.

① 전원 상태를 확인하고
② 본체 좌측에 붙어 있는 Power Swich와 Light Power Swich를 on 시킨다.

③ 이 상태에서 관찰하려는 대상에 초점을 맞추기 전에 우측과 좌측의 대한렌즈를 보면서 우측의 Scale ruler와 좌측의 Rectangular flame이 자신의 눈에 뚜렷하게 보이도록 초점을 맞춘다. 이때 절대로 무

리한 힘을 가하지 말고 현재의 상태에서 크게 벗어나지 못하게 할 것.

④ 상기 3번의 상황에서 Scale ruler와 좌측의 Rectangular frame의 초점이 정확히 맞지 않을 경우에는 사진을 찍어도 초점이 맞지 않게 되므로 이점을 특히 유의 할 것.

관찰 1. 아피스탄스트립 관찰

① 용매를 씻기전 아피스탄스트립을 500배 광학 현미경으로 관찰(부록 2, 사진 1); 담황색 아피스탄 스트립 1편에서 일정 크기(가로x세로, 3cm X 1cm)로 잘라서 메틸알콜 10 ml로 표면만 씻어낸 다음 상온에서 건조한 후 연담황 부드러운 스트립을 얻었다. 이것을 500배 광학 현미경으로 관찰하고 사진(부록 2, 사진 2)을 찍었다.

② 가로 x 세로(3cm x 1cm)파편을 메탄올에 겔을 씻어냈다. 본래 아피스탄스트립은 담황색이었으며 메탄올에 씻은 후 색은 연담황색이었다. 용매로 씻지않은 담황색 아피스탄 스트립을 현미경으로 관찰하고 사진을 찍은 결과 위의 사진 2와 별 다른 차이가 없었다.

③ 시편을 가로x세로(3cm X 1cm)로 잘라서 현미경 위에 올려 놓고 메틸알콜 1방울을 떨어뜨렸다. 스트립 위의 용매가 퍼져나가는 것을 관찰하니 용매는 표면 시료를 녹이면서 퍼져들어갔다 (부록 2, 사진 3). 15분 동안 용매가 증발될때 기름상의 시료는 용액으로 녹아드어갔으며 용매가 모두 휘발된 후 기름상 혹은 고화된 고체가 스트립 가운데면에 몰려서 두껍게 엉겨붙어 있었다(부록 2, 사진 4, 확대사진: 사진 5). 따라서 아피스탄 제품은 fluvalinate와 polymer(PVC 등)가 혼합 binding하여 extrusion한 것이다. 아피스탄의 특성은 porous하여 쉽게 증발되는 성질을 갖고 있다고 사료되었다.

④ 아피스탄스트립을 0.8184g으로 잘랐다. 클로로포름(50mL)에 2시간 동안 침지시켜 fluvalinate를 추출하고 다시 메탄올(50mL)에 1시간 동안 추출한 다음 상온에서 용매를 증발시켜 건조하였다. 녹갈색 스트립이 딱딱하게 굳어졌다. 무게는 1.0439g이었다.

⑤ 아피스탄스트립을 0.8647g으로 잘라서 만들었다. 클로로포름

(50mL)에 2시간 동안 침지하여 fluvalinate를 추출한 다음 상온에서 건조하였다(용매를 증발시켰다). PVC 및 가소제가 들어간 것 같이 연갈색으로 부드러워졌다. 무게는0.9641g이었다.

⑥ 아피스탄스트립 0.9265g으로 잘라서 시편을 만들었다. 클로로포름 (50mL)에 2시간 동안 침지하여 fluvalinate + 가소제등을 추출하고 다시 아세토니트릴 (50mL)에 교반하여 fluvalinate를 1시간 동안 추출하였다. 상온에서 용매를 증발시킨다음 건조하여 무게(0.9663g)를 잰다.

⑦ 아피스탄스트립을 메탄올 (50mL)에 2시간 동안 침지시킨 후 꺼내어 용매를 제거하여 무게(0.8741g)를 잰다.

⑧ 광학 현미경에 놓고 메탄올 1방울을 떨어뜨렸는데 녹아나오는 것이 없었다.

관찰 2. 본 연구에서 fluvalinate 원제를 고분자 물질과 제형화 한 다음 (후술하였슴) 광학현미경으로 분석하였다. Apistan과 유사하거나 그것보다 혼증 메카니즘을 더 유리하게 제형화하였다.

(나) 아피스탄으로 부터 fluvalinate의 분리와 확인

방법 1. Apistan strip 1매(8.20 g, fluvalinate 10 % W/W, 꿀벌 응애 방제용 담황색 투명 프라스트릭, 10매/1봉 밀봉 포장)를 디에틸에테르(200 ml)에 조각내어 넣고 상온에서 3시간동안 교반한 다음 용매를 증발시켜 담황색 기름상의 액체 3.25g을 얻었다. 여과된 프라스틱 스트립을 다시 클로로포름(200 ml)에 넣고 상온에서 2시간 동안 교반한 다음 용매를 감압증발로 제거하여 갈색 기름상의 액체(1.0g)을 얻었다. 전체 추출물은 4.25g으로 Apistan strip 전체무게의 51.8 %에 해당된다. 이 혼합물 중 10% 즉 0.82g 만이 순수한 원제 fluvalinate 라고 할때 3.4g은 혼합제, 계면활성제, 보조제, 또는 증량제라 판단되었다. 전체 추출물 4.25g를 실리카겔 Q-23 (Merck제, 230-400 mesh)과 에틸아세테이트:n-헥산(4:1)을 전개액으로한 flash 크로마토그래피로 분리(Rf =

0.32)하였다. 핵자기공명스펙트럼, 적외선스펙트럼, 질량분석, Beilstein test 에서 negative, 원소분석등으로 아피스탄스트립의 원료인 fluvalinate임을 확인 하였다.

방법 2. 아피스탄 스트립 1매 (7.96g)를 조각내어 클로로포름 (200 ml)에 넣고 1시간동안 상온에서 교반하여 내용물을 1차 추출하여 연갈색 기름상의 액체(2.6g)를 얻었다. 여과된 프라스틱 스트립을 다시 에틸알콜(200 ml)로 추출하여 갈색 점성의 액체 (0.3g)을 얻었다. 이것을 방법 1과 동일한 방법으로 분석하였다. 추출된 전체 혼합물은 2.9 g 이었다.

방법 3. 아피스탄스트립 1개의 무게는 7.778 g 이었다. 삼각플라스크에 잘라서넣고 클로로포름(50ml)을 가하고 1시간 상온에서 교반한 다음 여과하고 유기층을 감압증발하여 엷은 갈색 기름상의 액체 1.64 g 을 얻었다. 추출 후 남은 스트립은 상온에서 1시간 동안 건조한 다음의 무게는 8.213 g이었다. 여액의 증발 잔유물은 엷은막크로마토그래피(Rf 값, 0.51)에서 앞 실험에서 얻은 fluvalinate와 동일하게 나타났다.

방법 4. 아피스탄 스트립 1매(8.02 g)를 가위로 약 20등분으로 잘라 디클로로메탄 (100 ml)에 침지하고 24시간동안 상온에서 교반하였다. 더니 모두 용매에 녹아 있었다. 연갈색 혼합물 액체를 감압증발기에서 용매를 제거하여 8.06 g을 얻었다. 이것을 수소핵자기공명스펙트럼으로 확인한 결과 3가지 이상의 혼합물로서 fluvalinate가 함유되어 있다는 것만 확인 하였다.

(다) 만박으로 부터 fluvalinate의 분리와 확인

방법 1 만박 stick 2개를 메틸렌클로라이드(200 ml)에 넣고 27 시간 동안 상온에서 방치한 다음 여과하고 유기층을 무수 황산마그네슘으로 건조하고 감압증발로 용매를 제거하여 연갈색 기름상의 액체 (472mg)을 얻었다.

방법 2. 250 ml 둥근 바닥 플라스크에 만박 stick 2개(7.34 g)를 적당한 크기로 잘라넣고 에틸알콜(200 ml)를 가한 다음 2시간동안 가열

환류하였다. 방법 1과 동일한 방법으로 후처리하여 갈색 기름상의 액체 혼합물(410mg)을 얻었다. 방법 1과 2에서 얻은 혼합생성물을 실리카겔 Q-23 (Merk제, 230-400 mesh)과 에틸아세테이트-n-헥산 (4:1)을 전개액으로 flash 크로마토그래피로 분리하여 fluvalinate를 얻었다. 이것은 (나)의 방법 1에서 얻은 것과 수소핵자기공명스펙트럼에서 동일하였다.

방법 3. 중국에서 비공식적으로 입수한 "만푸"라는 제품은 나무에 fluvalinate를 침지시킨 제품으로 정량분석 결과 원료가 0.002 %이하였다. 이는 포장,보관 또는 유통과정에서 원료가 유실된 것이 아닌가 추측되었다.

(라) 마브리크로 부터 fluvalinate의 분리와 확인

마브리크는 후루바수화제로서 fluvalinate 5%와 계면 활성제, 보조제, 증량제가 95 %인 제제이다. 한편 일본제 마브리크 수화제는 fluvalinate 20%, 광물질 성분 및 계면활성제가 80%인 제제이다. 국산 및 일본제 모두 동일한 fluvalinate가 주성분이며 (나)의 방법 1과 동일한 방법으로 확인하였다.

(10) 분석결과:

① 수소핵자기공명스펙트럼 : 부록 1, Fig 1 참조

^1H NMR (300 MHz)(CDCl_3) δ 0.99-1.12 (m, 6H, isopropyl methyl), 1.25 (m, 1H, isopropyl CH), 4.01 (t, 1H, $J = 6.2$ Hz, tert CH), 6.38-6.58 (m, 1H, tert CH), 6.97-7.52 (m, 13H, ArH and NH);

② 탄소핵자기공명스펙트럼 : 부록 1, Fig 2 참조

^{13}C NMR (78.5 MHz)(CDCl_3) δ 18.6, 31.5, 61.6, 63.1, 110.6-158.4, 170.7.

③ 적외선흡수스펙트럼 : 부록 1, Fig 3 참조

IR (KBr) 1327, 1613, 1756 cm^{-1}

④ 박층크로마토그래피 (Silical Gel GF254 30-200 mesh, 전개 용매: n-hexane : ethylacetate=80:20) Rf 값 = 0.51.

나) PVC에 첨가된 첨가제.

① HPLC(High Pressure Liquid Chromatography) (HP 1090M)

② 분석 조건 :

Column : ODS 200mm x 4.6mm, 5 μ m

Solvent : Acetonitrile

Eluent : start acetonitrile/water=4/6, 5min. acetonitrile 100%

Flow rate : 1.0 μ l/min.

Detector : DAD 220nm

③ 분석결과 :일반적으로 사용되며, 현재 당 분석팀에서 보유한 Standard UV 안정제는 detection되지 않음. 아피스탄속에 포함된 원료 (fluvalinate)는 10.3 %였고, 첨가제는 butylcitrate 혹은 tributyl acetylcitrate라고 추측되는 가소제가 10.0 % 이었다. 아피스탄 속의 가소제 종류를 알기 위하여 한양화학(주)에 의뢰하였다. PVC 주 성분 속의 가소제는 16%들어 있고, 가소제는 acetyl tri-N-butyl citrate 라고 추측되었다. PVC등급도 측정하였다.

HPLC data of extracted mixture from Apistan strip : 부록 4, Fig 1.

다) PVC Sheet.

① 분석장비 : XRF

② 시료 전처리 : PVC를 전기로에서 500 $^{\circ}$ C로 태운 후 autobead sampler에 bead제조 후 XRF 측정.

③ Rh원소는 X-선 source에서 나온 것이고, Br은 releasing agent로 들어가 원소인.

④ 결과

| 시료명 | COMPONENT |
|-----------|---------------|
| PVC SHEET | Fe, Al, Si, S |

라) Poly vinyl chloride 분자량 측정.

① Column : Waters μ -styrigel series(10^5 - 10^4 - 10^3 -500Å pore size)

② Solvent : tetrahydrofuran

③ standard : PVC Narrow std. Calibration.

④ Flow rate : 2ml/min.

⑤ detector : RI

⑥ 상온 GPC 분석 결과.

| 시료명 | 입력명 | M_n | M_w | Polydispersity |
|--------|--------|---------|----------|----------------|
| Sample | BMDG 1 | 61055 | 138061 | 2.26 |
| P-700 | BMDG 2 | 34266 | 73708 | 2.15 |
| P-800 | BMDG 3 | 37906 | 79535 | 2.10 |
| P-1000 | BMDG 4 | 51341 | 98332 | 1.92 |
| | | (60454) | (114251) | (1.89) |

※ ()안의 값은 R.T 12min~13min 고분자량대의 shouler를 제외하여 Calibration한 것임.

※ 각 시료의 Distribution 비교 data 유첨.

※ Sample은 PVC data에 따르면 P-1300의 값과 같은 값을 나타냄.

참고사항:

GPC of PVC BMDG 1 : 부록 4, Fig 2

GPC of PVC BMDG 2 : 부록 4, Fig 3

GPC of PVC BMDG 3 : 부록 4, Fig 4

GPC of PVC BMDG 4 : 부록 4, Fig 5

Result of GPC. : 부록 4, Fig 6

마) HPLC에 의한 fluvalinate의 정량분석.

Apistan strip에 들어있는 주 성분이 fluvalinate라는 것은 정성분석으로 확인된 바 있다. 아피스탄 속의 fluvalinate 정량분석은 High Pressure Liquid Chromatography로 다음과 같은 조건에서 실행하였으며 분석 결과는 앞서기술한 바와 같이 10.3 %였다..

1) HPLC : Waters, Lambda Max Model 481

2) Column: Capillary column 300 mm X 3mm i.d., Hypersil ODS

3) Solvent: 20 % Water : 80% acetonitrile 혼합용액

4) Flow rate : 1.5 ml/min

5) Chart speed : 0.5 cm/ min

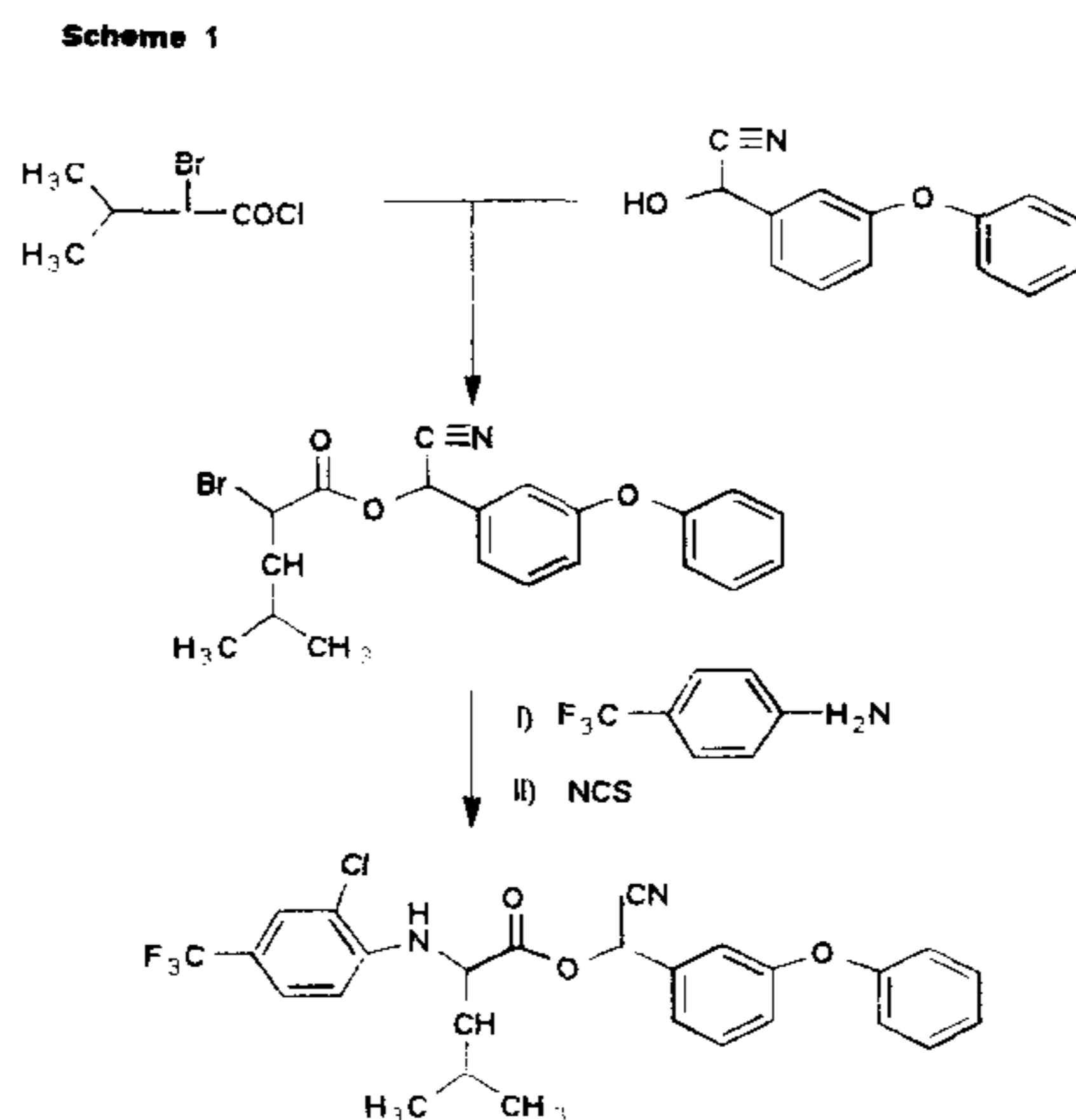
6) detector: Ultra violet detector 254 nm

7) Injector: On column capillary injector

(11) 합성법 (Scheme 1):

단계 1] 2-Bromoisovaleric acid chloride 의 합성.

2-Bromoisovaleric acid (5.18g, 28.6 mmol)의 에틸에테르 (30ml)용액을 0°C로 냉각하고 디메틸포름아미드 (1.3ml)을 가하고 여기에 thionyl chloride(3ml, 42.9 mol)을 10분간에 걸쳐 적가하였다. 실온에서 1시간 동안 반응하고 반응물을 감압증발하여 연갈색 기름상의 액체인 acid chloride (6.72g, 100%)를 얻었다. 피리딘 대신 당량 만큼의 트리에틸아민을 사용하기도 한다.



단계 2] α -Bromoisovalerate의 합성

2-Bromoisovaleric acid chloride (6.7g, 28.6 mmol)의 에틸에테르 용액 (30mL)을 얼음 욕조에서 5°C이하로 냉각하고 m-phenoxybenzaldehyde cyanohydrin (6.44g, 28.6 mmol)을 가하고 10분 동안에 걸쳐서 피리딘 (4.6 mL)를 가하였다. 반응혼합물을 상온에서 20시간 동안 교반하고 찬 얼음물에 (50 mL)와 2N-황산 (30 mL)에 붓고 에틸에테르(30mL x 2)로 추출하였다. 유기층을 10% 중탄산소다수와 찬물 (50mL x 2) 및 brine (10 mL)용액으로 차례로 씻고 무수 황산 마그네슘으로 건조시킨 다음 감압 증발하여 갈색 기름상의 액체인 m-phenoxy- α -cyanobenzyl α -bromoisovalerate (10.4g, 94%)를 얻었다.

단계 3] cyano(3-phenoxy phenyl)methyl N-[4-(trifluoro methyl)phenyl]-D.L-valinate의 합성

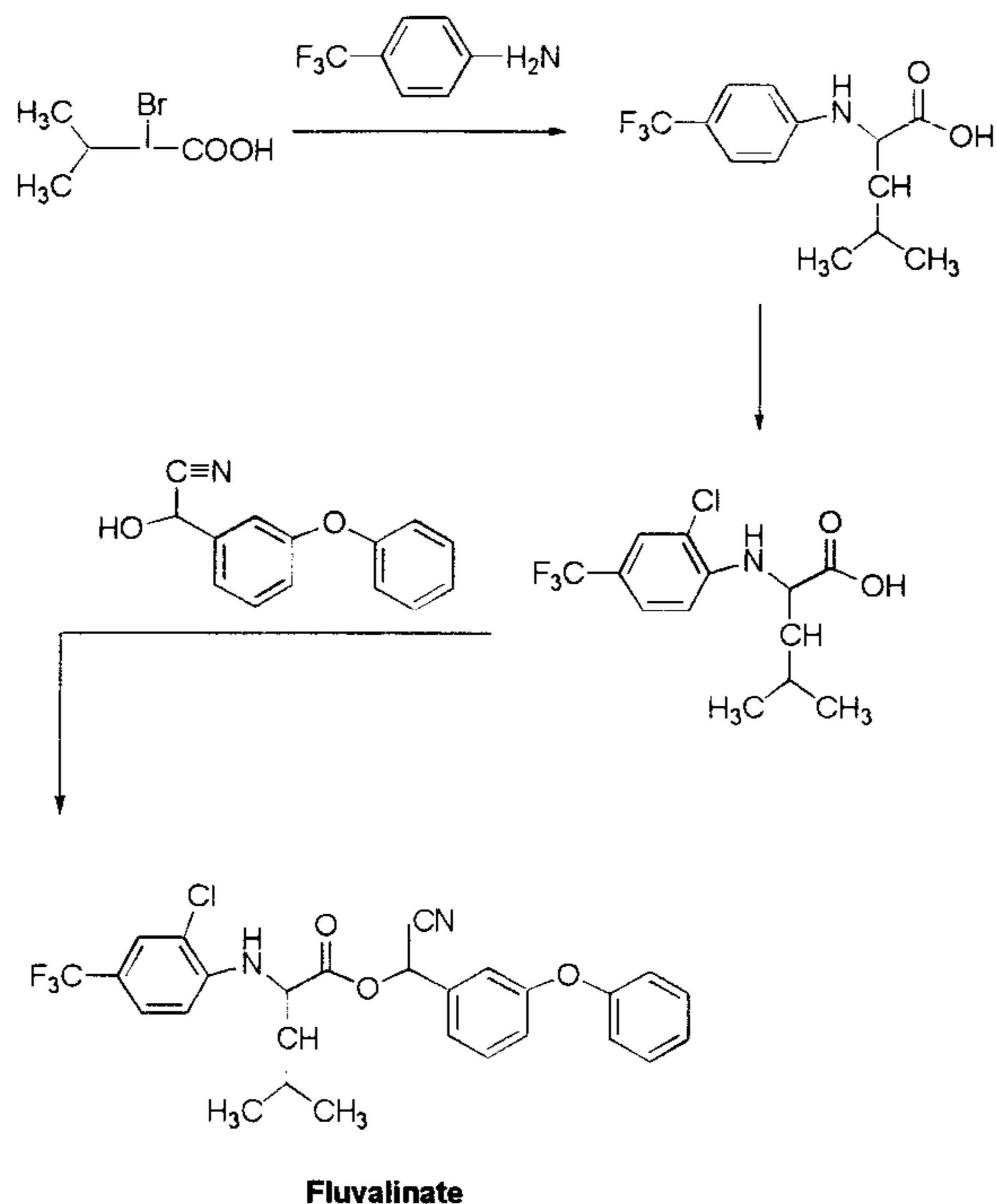
m-phenoxybenzaldehyde cyanohydrin(2.0g, 5.15 mmol)의 HMPT(Hexamethylphosphorous triamide, 85%)(4mL)를 24°C로 유지하고 p-trifluoromethylaniline (2.49g, 15.45 mmol)과 potassium iodide (30 mg)을 가하고 65°C 기름욕조에서 90시간 동안 가온하며 교반하였다.

반응혼합물을 얼음물 (20mL)와 2N-황산 (10mL)에 붓고 에틸에테르 (30ml x 3)로 추출하였다. 유기층을 찬물과 brine 용액으로 각각 씻고 무수 황산 칼슘으로 건조 여과한 다음 용매를 제거하여 갈색기름상의 액체인 N-(p-trifluoromethyl phenyl) valine의 m-phenoxy- α -cyanobenzyl ester(1.48 g, 63%)을 얻었다.

단계 4] cyano(3-phenoxyphenyl)methyl N-[2-chloro-4-(trifluoro methyl) phenyl]-D,L-valinate의 합성.

N-(p-trifluoromethylphenyl)valine의 m-phenoxybenzyl ester (1.47 g, 3.25 mmol)의 벤젠 (15 mL)용액을 질소 충전하에서 교반하면서 N-chlorosuccinimide (0.45 g, 3.41 mmol)을 가하고 2 시간동안 가열 환류 하였다. 반응혼합물을 얼음욕으로 냉각하여 생성되는 succinimide 고체를 여과하고 유기층을 찬물과 brine용액으로 각각 씻은 다음 무수 황산 나트륨으로 건조 후 여과한 후 감압 증발하여 검갈색 기름상의 액체를 얻었다. 이것을 에틸에테르와 n-헥산 (10:90)전개액으로한 silica gel preparative TLC로 분리하여 기름상의 최종물질인 D,L-valinate유도체 즉 fluvalinate (0.48 g, 30 %)를 얻었다.

(R-)-2-Bromo-3-methylbutanoic acid와 4-trifluoromethylaniline 을 당량으로 반응하고 벤젠 또는 사염화탄소 용매에서 N-chloro succinimide (1.2eq)를 가하고 가열 환류하여 R-valine carboxylic acid를 얻은 다음 이것을 α -cyano-3-phenoxybenzylalcohol과 dicyclohexyl carbodiimide(DCC)존재하에서 반응하여 fluvalinate를 얻는 방법도 있다 (Scheme II).



Scheme II

(12) 제형화

가. 액체인 fluvalinate를 메틸알콜에 녹이고 폴리에틸렌 수지와 10%되도록 혼합하였다. 혼합된 담황색 고체를 상온에서 용매를 서서히 제거하며 폴리에틸렌 수지에 골고루 섞이도록 문힌 다음 180 °C에서 압출기로 압력을 가하여 가공하였다. 여기에 PVC, 가소제, 첨가제를 일정 비율로 섞은 다음 온도와 압력을 가해서 blending하였다 (부록 4, Fig 7). 제품은 원료의 양 즉 w/w %에 따라서 KIST-F 계열로 명명하였고, 이같은 실험은 시행착오를 거듭하며 반복과 개선실험을 하였다 (부록 4, Fig 8). 폴리에틸렌 가공품의 plate 크기를 18cm x 3.5cm x 3.5 mm or 3.0mm(길이x 세로 x 두께), 무게= 11.054 g 이 되도록 잘라서 벌통내 소비 사이에 걸어놓을 수 있도록 아래 표 2-6과 같이 제형화하였다.

나. 제형화는 fluvalinate를 원료로 한 시제품과 후에 기술된 다른 약제를 원료로한 시제품들과 비교할 수 있도록 표에 작성하였다. 특히, 두 성분이상의 합제나 혼합제제와는 약효상승, 내성감소등의 측면에서 대단한 성과를 거두었으며 know-how를 가지게 되었다.

다. 제형화한 것을 (9)의 원제습득시와 같이 분석하고 (10)에서와 같이 각종 분석방법으로 재확인 하였고(부록 2, 사진 6, 7, 8, 9) 이 일부 분석실험만 다음과 같이 기술한다. KIST-F-3스트립 1개에서 일정 크기로 잘라 무게를 재어보니 1.3886 g 이었다. 밑이 둥근 플라스크에 시편을 넣고 클로로포름(50 ml)를 가한 다음 상온에서 1시간 동안 교반하여 추출하였다. 추출액을 여과하여 분리하고 상온에서 감압 증발하여 용매를 제거하여 갈색 기름상의 액체 0.277 g 얻었다. 여과 후 남은 PVC 스트립은 연황갈색으로 추출 전 칼라와 쉽게 구분되지 않았다. 스트립은 상온에서 30분이 지나도 flexibility는 여전히 변함없었다. 스트립의 무게는 1.4948 g으로 오히려 처음 무게보다 늘었다. 이는 메틸알콜 용매를 흡수하였기 때문으로 생각되었다. 추출하여 얻은 생성 혼합물은 얇은막 크로마토그래피로 확인하였고, TLC 분석 결과 두 개의 점이 보였다. 즉, 헥산과 에틸아세테이트(40/10, vol/vol) 전개액으로 Rf값이 0.51인 fluvalinate 과 Rf 0.60의 가소제(DOP)임이 밝혀졌다. 다음은 후술하는 Talstar, Amitraz등과 함께 fluvalinate등을 원료로 한 제형화한 것이다 (표 2, 표 3, 표 4, 표 5, 표 6).

표 2

| Sample | Chemical | Content | 가소제 | 안정제 | 전체무게 |
|----------|--------------|---------|------|-----|------|
| KST-T-5 | Talstar | 0.01 g | 16 % | 4 % | 9 g |
| KST-T-6 | Talstar | 0.01 g | 20 % | 4 % | 10 g |
| KST-A-7 | Amitraz | 0.18 g | 20 % | 4 % | 9 g |
| KST-TA-8 | Talstar 40 % | 0.004 g | 20 % | 4 % | 9 g |
| | Amitraz 60 % | 0.1 g | | | |

표 3

| Sample | Chemical | Content | 가소제 | 안정제 | 전체무게 |
|----------|--------------|---------|------|-----|------|
| KST-T-5 | Talstar | 0.01 g | 16 % | 4 % | 9 g |
| KST-T-6 | Talstar | 0.01 g | 20 % | 4 % | 10 g |
| KST-A-7 | Amitraz | 0.18 g | 20 % | 4 % | 9 g |
| KST-TA-8 | Talstar 40 % | 0.004 g | 20 % | 4 % | 9 g |
| | Amitraz 60 % | 0.1 g | | | |

표 4

| Sample | Chemical | Content | Plasticizer | 안정제 | 전체무게 |
|----------|--------------|------------|-------------|-----|------|
| KST-T-9 | Talstar | 1.0%(part) | 20 % | 4 % | 12g |
| KST-T-10 | Talstar | 0.2%(part) | 20 % | 4 % | 12 g |
| KST-A-11 | Fluvalinate | 10%(part) | 18 % | 5 % | 13 g |
| KST-TA-8 | Talstar 40 % | 0.004 g | 20 % | 4 % | 9 g |
| | Amitraz 60 % | 0.1 g | | | |

표 5

| Sample | Chemical | Content | Plasticizer | 안정제 | 전체무게 |
|----------|-------------|------------|-------------|-----|------|
| KST-T-9 | Talstar | 1.0%(part) | 20 % | 4 % | 12g |
| KST-T-10 | Talstar | 0.2%(part) | 20 % | 4 % | 12 g |
| KST-A-11 | Fluvalinate | 10%(part) | 18 % | 5 % | 13 g |

표 6.

| Sample | Chemical | Content | Plasticizer | 안정제 | 전체무게 |
|---|--------------|------------|-------------|-----|------|
| KST-T-12 | Talstar(PVC) | 1.0%(part) | 20 % | 4 % | 12g |
| KST-T-13 | Talstar(종이) | 1.0%(part) | 20 % | 4 % | 12 g |
| KST-A-14 | Fluvalinate | 10%(part) | 18 % | 5 % | 13 g |
| KST-A-15 Fluvalinate cotain and coating | | | | | |

(13) 현장 활성 실험: 본 연구에서 플라스틱 (PVC) 에 fluvalinate 또는 amitraz등을 가소제와 함께 extrusion 하여 제조한 시제품을 시험하였다.

장소 서울 근교, 강원도 (홍천근교), 경기도 (안성근교) 및 충청북도(진천, 음성), 충청남도 (당진근교), 전라남도 (김제, 전주 부안근교)등.

일시: 1996년 - 1997년

실험결과 : 아피스탄과 KIST-F 계열 의 비교실험에서 진드기 구제율은 큰 차이가 없었다. 원료를 fluvalinate와 amitraz 비교시 amitraz 가 효율이 떨어지는 것 같았으나 제제화 실험의 미숙에 의한 결과인지 amitraz와 fluvlinate의 약효의 차이인지 구별하지 못하였다. 6% fluvalinate가 포함된 스트립은 22일 경과후 유연성이 비교적 유지 되었다. 그러나 아미트라즈로 만든 스트립은 22일 경과후 유연성이 떨어져 딱딱하게 경화되었다. 따라서 산화 방지제를 첨가해야 할 것으로 사료된다.

꿀벌응애에 대한 방제 실험 결과 시험벌통 1-4는 진드기가 거의 구제되지 못하였으며 따라서 약효가 없다는 결론으로 Talstar는 꿀벌진드기 구제원제에서 제외시키고자 한다. 시험벌통 5와 6은 24시간보다 48시간대에 약효가 더 좋았던 반면 시험벌통 7,8은 24시간 까지가 약효받

현이 우수하였다. 스트립 7, 8의 두께가 제품 5, 6의 두께보다 얇게 만들어진 시제품이었다. 두껍게 만들면 폴루바리네이트의 방출 속도가 느리고 얇으면 방출속도가 빠르다는 것을 알았다. 방출속도의 조절은 플라스틱의 두께와 관계있다는 것을 알았다.

여기서 제제화한 것을 다시 살펴보면 KST-A-15 는 플라스틱에 KST-A-14와 같이 만든것의 표면에 폴루바리네이트 50 mg를 에틸알콜 5mL에 녹여 스포이드로 스트립의 표면에 떨어뜨리고 dryer로 바람을 불어 건조하였다. 연붉은 갈색 스트립의 표면이 미끄럽고 끈적거렸으나 냄새는 나지 않았다. 전술한 바 처럼 플라스틱 두께는 방출속도와 관련이 있고 표면에 뿌리거나 발라서 제형화하면 너무 방출이 빠르고 노출이 많아서 약해를 받았다. 만푸, 피투, 마브릭(마브릭의 젓가락 문혀 이용하는 것), 아피스탄은 폴루바리네이트 원료인데 어떤 제형으로 하느냐에 따라 약해없이 효과 적으로 진드기 구제에 이용된다. 방출속도를 비교하여보면 스티로폴(표면에만 부착될거임), 나무판 또는 나무젓가락, 플라스틱 순서로 느려질 것이고, 같은 재질을 사용할 경우 두꺼울수록, 흡착이 잘될수록, 농도가 묽을수록, 온도가 낮을수록 훈증 방출속도는 느려질 것이다. 방출속도가 느리면 약효가 미약하여 적기에 방제가 불가능하므로 약으로서의 효능이 떨어질 것이며 재질에 잔류하여 환경 피해적 요인도 나타날 수 있을 것이다. 플라스틱제품으로 만들 경우 가소제나 첨가제의 종류와 양에 따라, 제형시의 압력과 온도 시간에 따른것도 방출속도에 영향을 미칠것으로 생각되어 제형화 연구시에 고려되었다.

(14) 국내 생산 및 사용상의 문제점: 농약 살충제중 비교적 인축에 해가 적은 피레스로이드계열로 분류되나 심각한 어독성의 문제로 사용이 기피되고 있는 실정이다. 이 화합물을 합성하기 위해서는 취급에 위험한 시약과 고온을 필요로하는 공정 또는 부산물이 만히 생성되는 공정이 포함되며 반응공정이 길어 국내의 생산의 경우, 시설투자비에 비하여 국내의 시장이 너무 협소하여 현재로서는 불리하다. 심각한 어독성

으로 인하여 사용후 남은 약제를 물에 흘려보내다거나 임의로 방치하면 환경오염을 심각하게 일으킬 수 있다. 또 약효가 훈증에 의해서 발휘되므로 바람에 의해서 사용장소 근처의 잠사의 누에가 피해를 볼 염려가 있다. 특히, 응애류의 경우 세대교체의 기간이 짧아 내성으로 인한 약효의 현저한 감소가 항상 문제로 제기된다. 본 약제류는 특히 내성이 쉽게 발생하는 피레스로이드계열의 화합물이다. 국내에서도 1996년 가을에 이미 내성에 의한 약효감소가 본 연구진에 의해서 조사된 바 있다. 현재의 약효는 인정되나 다른 약제의 출현이 요구된다. 실제로 유럽에서는 본 약제가 양봉에서 진드기 구제용으로 사용되었으나 내성에 의한 약효의 감소 문제가 야기되어 현재는 사용량이 현저히 감소하였다.

(15) 결론: Fluvalinate 는 상온에서의 증기압($<0.013\text{mPa}/25\text{ }^{\circ}\text{C}$)에 의한 진드기가 구제된다. 그러나 단시간 내에 많은 양의 fluvalinate 가 적용되면 벌의 몰살을 가져올 수 있으며 유효량 보다 적게 사용하면 진드기에 내성을 증가시킬 뿐이다. 따라서 일정한 기간동안 (약 20여일) 서서히 유효량의 증기압을 유지시킬 수 있는 방법이 필요하다. 고분자물질에 혼합하여 사용하는 것이 다른 제품보다는 효과적이며 정확한 방법이다. 본 연구에서는 기존 유통상품들로부터 fluvalinate를 추출하였고 제형화를 모색하기 위해서 여러 가지 분석법으로 원료 및 첨가제를 분석하였다. 이러한 결과로부터 fluvalinate를 고분자물질 (PVC, PE등)등과 혼합, 가공하여 제조할 수 있는 기술 및 know-how를 확립하였다.

참고로 본 연구에서 구제된 진드기(mites ; *Acarapis woodi*)의 종류와 특징을 광학현미경으로 관찰하였다(부록2. 사진 23-26 참고).

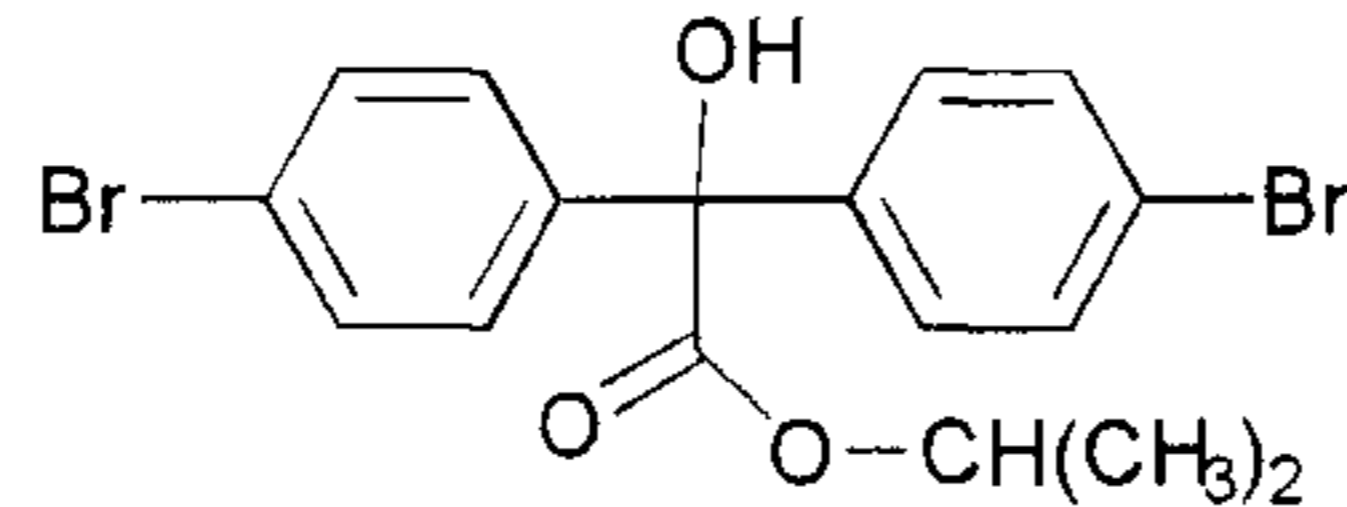
제 2 항 : 원제명, Bromopropylate

(1) 상품명 : 폴백스, Nuvan, Acarol, 다카르1호, 다카르3호

(2) 화학명 : Isopropyl 4,4'-dibromobenzilate, 1-Methylethyl
-4-bromo- α -(4-bromophenyl)- α -hydroxybenzeneacetate.

분자식 : C₁₇H₁₆Br₂O₃

구조식 :



(3) 생산회사: Ciba-Geigy

(4) 관련특허 및 문헌: GB 1178850; BE691105; CH 471065

(5) 물리적 특성: 분자량 428.1; 담황색 또는 무색의 결정성 고체; 증기압 0.011 mPa (20 °C); 녹는점, 77 °C; 비중 1.59 g /cm³; 용해도; <0.5mg /l.

(6) 독성데이터 : 쥐 (acute oral) LD₅₀ >5000 mg/kg, 새 (Japanese quail) >2000mg/kg; 물고기 (rainbow trout) LC₅₀ 0.35; (carp) 2.4 mg/l; 벌 LC₅₀ 183 ug/bee.

(7) 사용상의 특징: 무밀기 및 유밀기에 사용

(8) 약효의 특성: 폴백스 한개의 스트립에 370mg의 bromopropylate 가 특수 흡수지에 흡착되어 있으며 벌통내에 훈연지를 태워서 연기를 발생시킴으로서 약제의 진드기에의 접촉에 의하여 약효가 발휘되며 벌의 몸통에 붙은 진드기를 떨어뜨려 제거함.

(9) 원제의 습득 및 결과

폴백스에서의 추출:

방법 1. 국내에서 응애구제약 농약으로 사용되고 있는 제품, 에이 카를 유제 (상품명: 보배단)250g을 취하여 상온에서 감압 증발하고 석유 에테르 적당량을 서서히 가하면서 흔들었다. 24시간동안 20 °C 에서 방치하여 생성된 연갈색 고체 (17g)를 얻었다. 이것은 상품인 폴백스에서 추출한 것과 수소핵자기공명스펙트럼, 적외선흡수스펙트럼에서 동일하였다.

방법 2. 보배단 50g을 증류수 100ml에 서서히 가하면 흰 부유물이 생성된다. 이것을 디클로로메탄 100ml씩 2회에 걸쳐서 추출하였으며, 이때 유기층을 분리하는데 2일이 걸렸다. 유기층은 무수황산 나트륨으로 건조하고 감압증발하여 갈색기름상의 액체 18g을 얻었다. 방법 1에서와 비슷한 과정으로 확인하였다.

(10) 분석결과:

① 수소핵자기공명스펙트럼 : 부록 1, Fig 4 참조

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 2.17 (s, 3H, isopropyl CH_3), 2.27 (s, 3H, isopropyl CH_3), 4.27 (br.s, 1H, tert OH), 5.07 (m, 1H, J = 5.5 Hz, isopropyl CH), 7.10–7.53 (m, 8H, ArH).

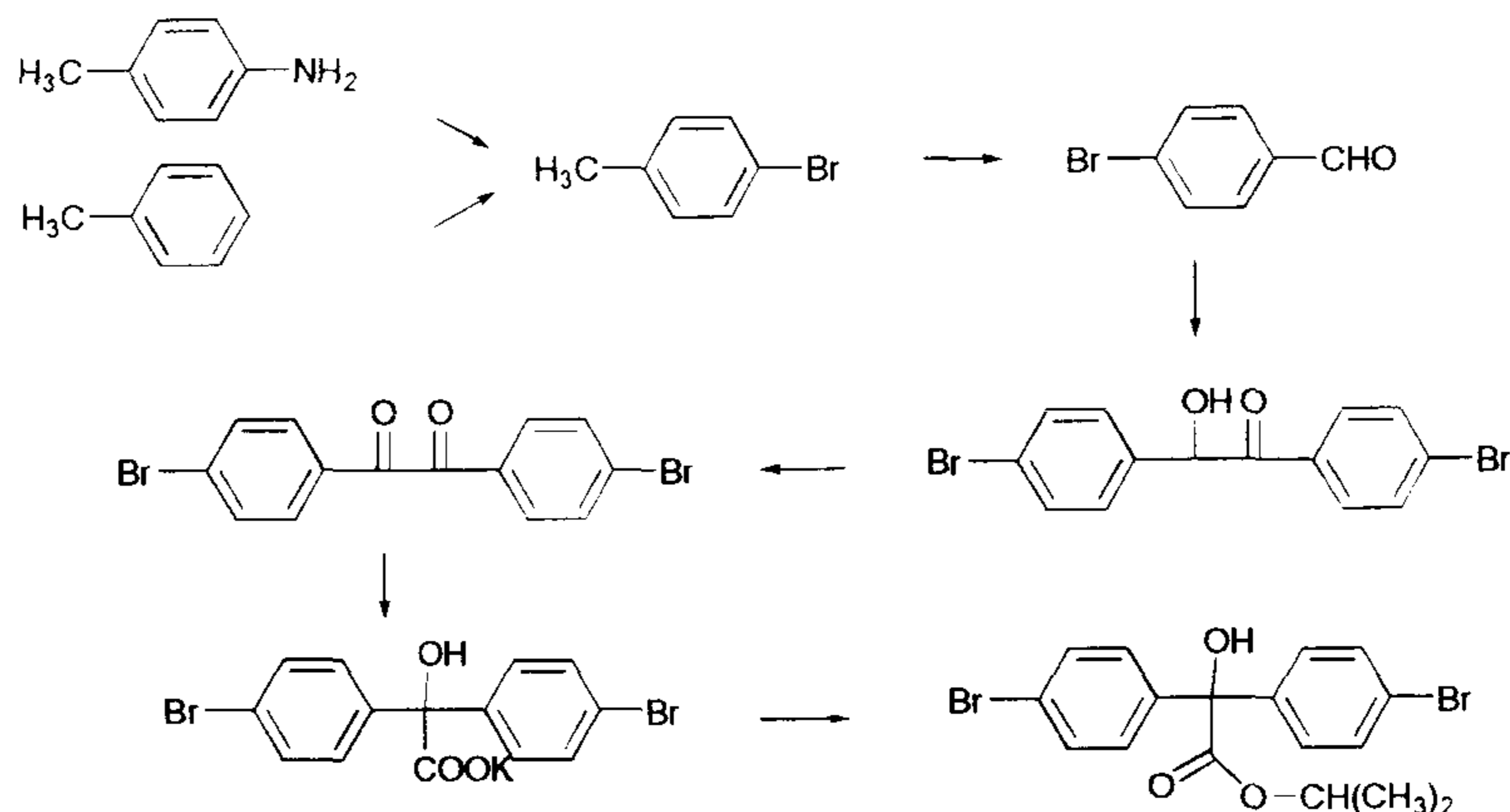
② 적외선흡수스펙트럼 : 부록 1, Fig 5 참조

IR (KBr) 1102, 1254, 1488, 1718, 3470 cm^{-1} .

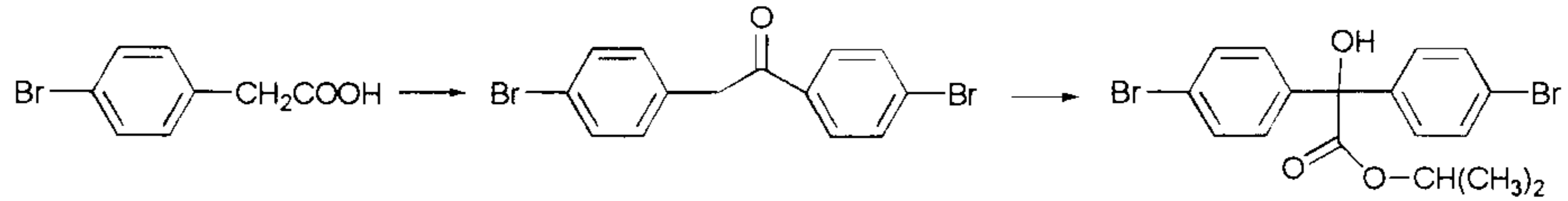
③ 녹는점: 75–77 $^\circ\text{C}$;

(11) 합성법:

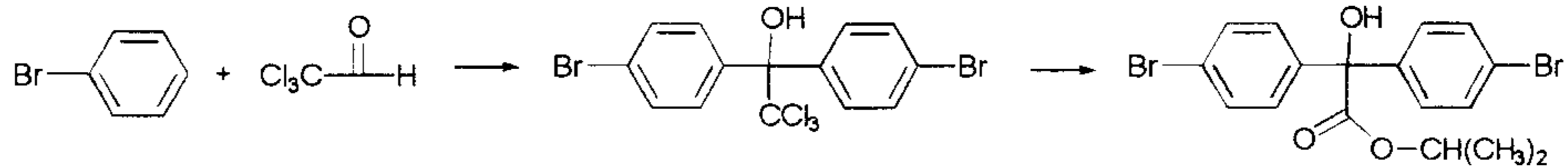
Route A



Route B.



Route C.



(13) 제형화: 제형화에 앞서 fumigant strip 훈연지인 폴백스, 다카르 1호(연갈색), 다카르3호(청색)을 각각 디클로로메탄으로 추출하여 원료 분석을 하였고 이를 중심으로 훈연지 제형화 연구를 수행하였다. 두께가 0.3mm인 여과지를 가로 X 세로 (2 X 9.7 cm)크기로 일정하게 잘라서 미리 준비한 potassium nitrate 50 g을 증류수 250 ml에 녹인 용액(이것을 1차용액이라함)에 5분간 담근후 5분, 10분, 20분, 30분, 1시간 간격으로 각각 건풍시켰다. Bee wax는 클로로포름에 잘 녹고 Parafin wax는 벤젠, 클로로포름, 가온된 알콜에 잘 녹는 것을 알아냈다. Bee wax 일정량을 클로로포름 200ml에 녹인 용액(이것을 2차용액이라함)에 3분 - 20분 동안 적신 다음 1시간, 2시간, 5시간, 12시간, 24 시간, 48시간 실온에서 각각 건풍 건조하고 훈연 실험을 하였다. 상기와 같은 실험을 반복하여 연기 발생양, 훈연시간, 일정한 모양으로의 훈연, 불꽃의 발생정도, 사용상의 간편성, 상품으로의 외적 모양, 색깔 등의 최적 조건을 찾았다. 다음 표와 같이 제형화한 훈연지(KIST-OX, KIST-OY)를 시중의 상품과 비교 실험하였다 (표7).

표 7

| | | | | | |
|------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 상품명 | 폴백스 | 다카르1호 | 다카르 3호 | KIST-0X | KIST-0Y |
| 훈연시간 | 6분 | 4분 | 5-6분 | 8분 | 7분 |
| 비고 | 일정하게 타들어감 | 불꽃이 약간씩 뿜 | 불꽃이 약간씩 뿜 | 불꽃이 약간씩 뿜 | 일정하게 타들어감 |

(14) 국내 생산 및 사용상의 문제점: 원료의 국내 합성에는 기술상의 문제가 없으나 생산에서 부산물의 생성이 많고 제형화에 여러가지의 know how가 있다. 원료를 합성하지 않고 수입하여 국내에서 제형화 하는 경우에 총생산비의 약 12 %가 원료약품 값으로 산출되었다. 원료의 생산보다는 제형화를 통한 국내 생산 및 공급이 더 적절하다고 생각된다. 약효는 인정되나 훈연제로 사용되어 노동력이 많이 필요하다는 단점이 있다. 앞서 지적한 바와 같이 진드기의 약제에 대한 내성의 문제가 제기될 수 있으므로 제형화의 국산화를 통한 국내 개발이 바람직하다.

(15) 결론: 훈연지 형태로 사용가능하며, 비교적 오랫동안 사용되어 온 약제로서 현재 양봉가의 노동력의 감소로 인한 선호도가 떨어져 있으나 진드기의 내성문제의 대두로 인하여 앞으로 사용 가능한 약제이다. 본 연구에서는 원제로부터 훈연제로서의 제형화를 통한 제조기술을 확립하였다.

제 3 항 : 원제명, Coumafos

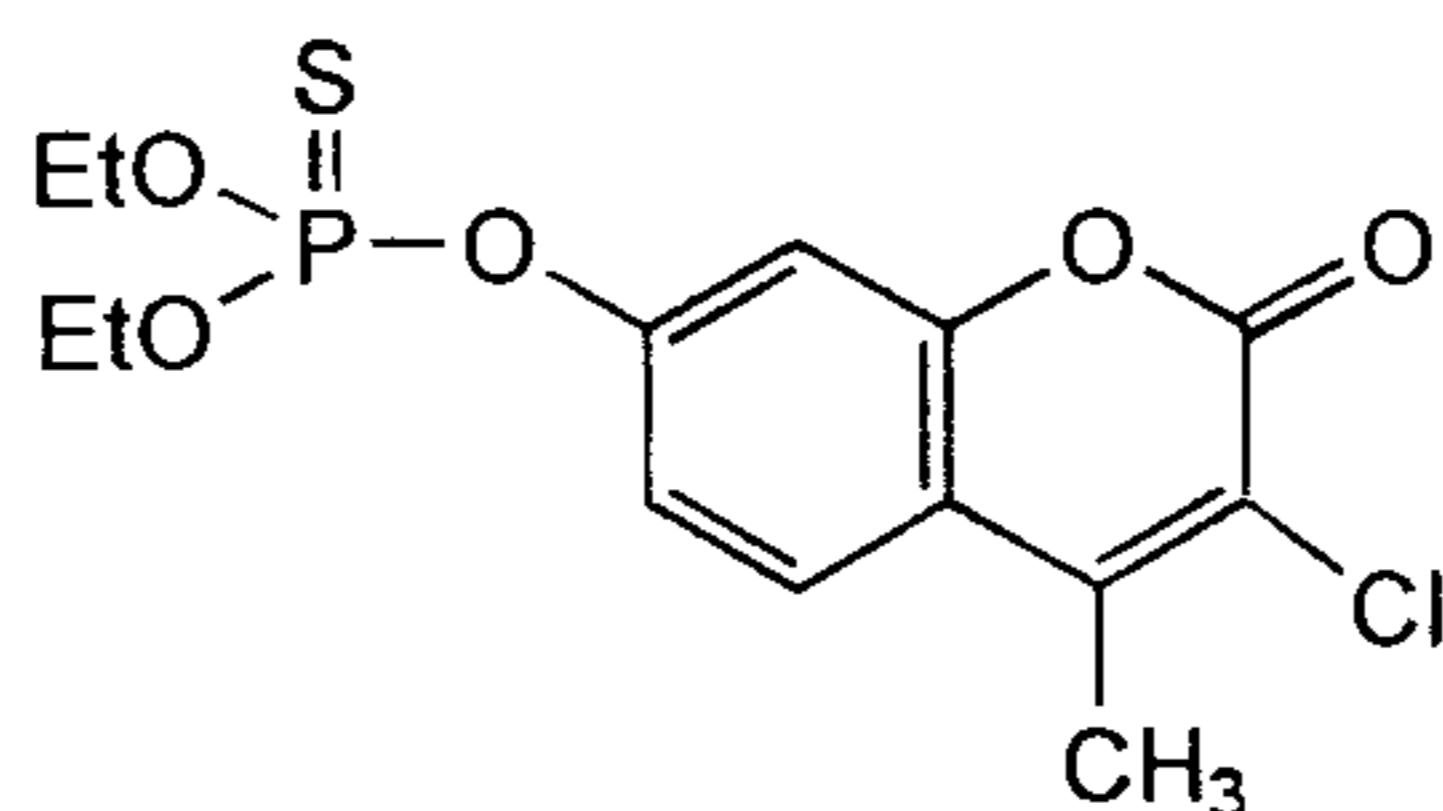
(1) 상품명 : 페리진액. Asuntol, Perizin. Baymix, meldane, Muscatox, Resitox.

(2) 화학명: O-3-chloro-4-methyl-2-oxo-2H-chromen-7-yl-

o,o-diethyl phosphorothioate, O-3-chloro-4-methylcoumarin-7-yl
 O,O-diethyl phosphorothioate, 3-Chloro-7-diethoxyphosphino
 thioxyloxy-4-methylcoumarin, O-(3-chloro-4-methyl-2-oxo-2H-
 1-benzopyran-7-yl) O,O-diethyl phosphorothioate, 3-Chloro-7-
 hydroxy-4-methylcoumarin O-ester with O,O-diethyl
 phosphorothioate

분자식 : C₁₄H₁₆ClO₅PS

구조식 :



(3) 생산회사: Bayer에서 생산, 국내에서는 한국바이엘에서 판매.

(4) 관련특허 및 문헌 :

a) Schrader, Ger. pat. 881194(1951).

b) Schrader, U.S. pat. 2748146(1956).

c) Krueger et al *J. Agr. Food Chem.* **7**, 183, (1959).

d) Gaines, T. B., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **14**, 515 (1969).

e) Fed. Regist 57(70), 12560-601 (1992); *C. A.* **117**: 75787.

f) Wang, Richard H. S. U. S. pat. 4788298; *C. A.* **110**:114680.

g) Sam D. Fine., Fed. Regist 35(39), 3756-7 (1970); *C. A.* **72**:
109895.

h) Kirk, J. K. Fed. Regist 34(84), 7237-8 (1969); *C. A.* **71**:
20992.

I) Kirk, J. K. Fed. Regist 32, 15545 (1967); *C.A.* **68**: 38360.

(5) 물리적 특성: 분자량 362.8; 무색 결정성 고체; 증기압 0.013

mPa; 녹는점, 95°C; 비중 1.474l; 약한 알카리 조건이나 약간 불안정함; 용해도, 물 1.5mg /L.

(6) 독성데이터: 쥐(acute oral), LD₅₀ 41 mg/ kg. 새 (bobwhite quail) 4.3 mg/kg, (mallard ducks) 29.8 mg/kg.

(7) 사용상의 특징: 꿀벌의 유충이 거의 없을 때, 즉 이른봄(산란개시전) 및 가을철, 월동전에 주로 사용해야 효과적이라 하며, 벌통 1통에 페리진 액 1ml당 물 50ml로 희석하여 분무 또는 투여하는데 응애진단에는 1회투여로 충분하나, 응애 구제시에는 전봉군에 7일 간격으로 2회 투여 한다. 외부 기온이 15°C이하일 때 사용금지해야하며 본제가 피부에 접촉되지 않도록 주의를 요망하며, 접촉되면 즉시 물로 세척하거나 의사의 지시에 따라 황산아트로핀 1 % 용액을 처치한다. 약물을 투여할 벌통수에 알맞게 계산해서 적정 비율로 물에 섞어 사용하고 일단 물에 희석된 액은 남김없이 사용한다. 수밀기 6주이내에는 본제 사용을 절대 금지요망한다. 3-10 %정도의 낙봉이 있을때에는 사용을 금지하고, 부저병, 노제마병, 급성 바이러스성 전염병, 농약에 중독되었을 때, 비오는날, 심한 바람이 부는날, 기압이 고르지 못한 산악지대에서는 사용을 금한다. 즉 이른 봄이나 늦 가을의 하루중 가장 가장 벌들의 활동이 활발할 때 사용한다. 1-2봉군에 시험적으로 투여하고 30분-1시간 경과후 낙봉 관찰하여 이상이 없을 때 사용하도록한다. 이는 과거의 기존약이 4-6회 투여해야하는데비해 빠른 약효를 나타낸다.

(8) 약효의 특성: 유기인 계열의 화합물로서 분무제 또는 급이제로 개발되었으며 약제 1L중에 쿠마포스 원제 8g이 녹아 있으며 적당량의 유화제와 부영제가 혼합된 꿀벌 진드기의 진단 및 구제약이다. 약제의 과량 투여시 벌이 죽는 약해가 발생한 경우가 있다. 약리 메카니즘은 응애의 아세틸콜린분해효소를 파괴하거나 아세틸 콜린의 축적으로 흥분되

어 마비 상태에 이른 다음 결국 진드기가 죽게되는 과정으로 구제된다. 즉 진드기의 신경이 페리진 액으로 인한 자극을 받으면 전기적 신호가 생기고 그 전기적 신호가 신경연결 부위의 아세틸 콜린산을 분비하도록 한다. 아세틸 콜린은 인접한 신경을 자극하여 신호를 전달하며 전달한 아세틸 콜린은 아세틸콜린 분해효소를 파괴함으로써 더 이상의 신호를 보내지 않게 되고, 아세틸콜린의 축적은 응애에게 지속적인 자극을 주어 과도한 흥분과 마비 사망에 이르도록 한다. 약제의 과량 투여시 벌이 죽는 약해가 발생한 경우가 있다.

(9) 분석법:

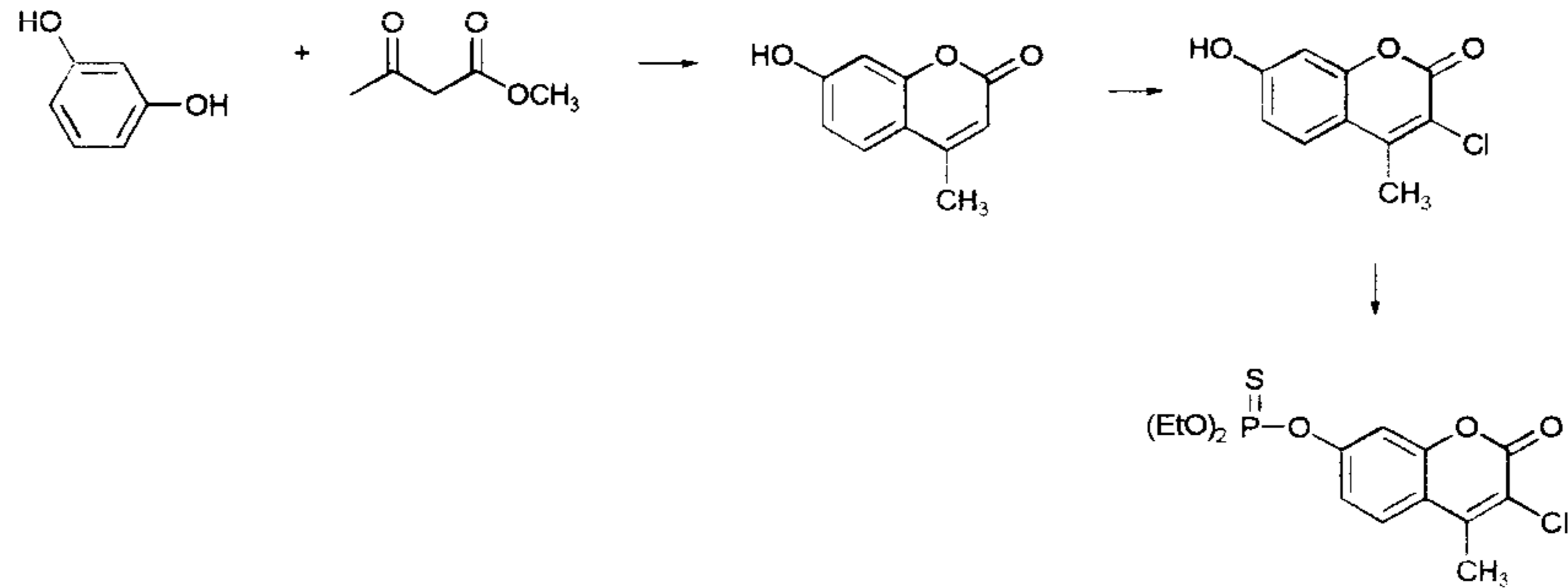
방법 1. 페리진 (시중 상품) 10g을 메틸렌클로라이드 50 ml 와 증류수 20 ml를 가한 다음 분액깔대기로 분리하여 유기층을 건조한 다음 상온에서 감압증발로 용매를 제거하였다. 생성된 기름상의 액체를 얻었다 (수소핵자기공명스펙트럼 : 부록 1, Fig 6).

방법 2. 페리진 (시중 상품) 10g을 클로로포름 50 ml 와 증류수 20 ml를 가한 다음 분액깔대기로 분리하여 유기층을 건조한 다음 50 °C 물중탕에서 감압증발로 용매를 제거하였다. 생성된 기름상의 액체를 얻었다 (수소핵자기공명스펙트럼 : 부록 1, Fig 7).

① 얇은막크로마토그래피 (Silical Gel GF 254 230-400 mesh, 전개용매, n-hexane : ethylacetate = 40:10) Rf 값 = 0.55

② 수소핵자기공명스펙트럼 : 부록 1, Fig 6 및 Fig 7.

(10) 합성법:



(11) 국내생산 및 사용상의 문제점: 원제의 합성에는 특별한 문제점은 없으나 일반적으로 포스페이트계열의 약품이 갖는 강한 독성 때문에 공해물질의 배출 및 취급상의 주의를 요한다. 지금까지 페리진액으로 시판되고 있는 약제의 유효성분의 함량이 수년전에 비해서 줄었다. 약해가 발생이 알려져 있으며 유사한 방법에 의한 진드기 구제, 즉, 대체약의 출현으로 인하여 장래에는 사용량이 줄어들 것으로 예상된다.

(12) 결론: 양봉가의 노동력의 감소, 약해의 발생 경험, 대체약의 출현등으로 인하여 국내개발이 적합치 않다.

제 4 항 : 원제명, Cymiazole

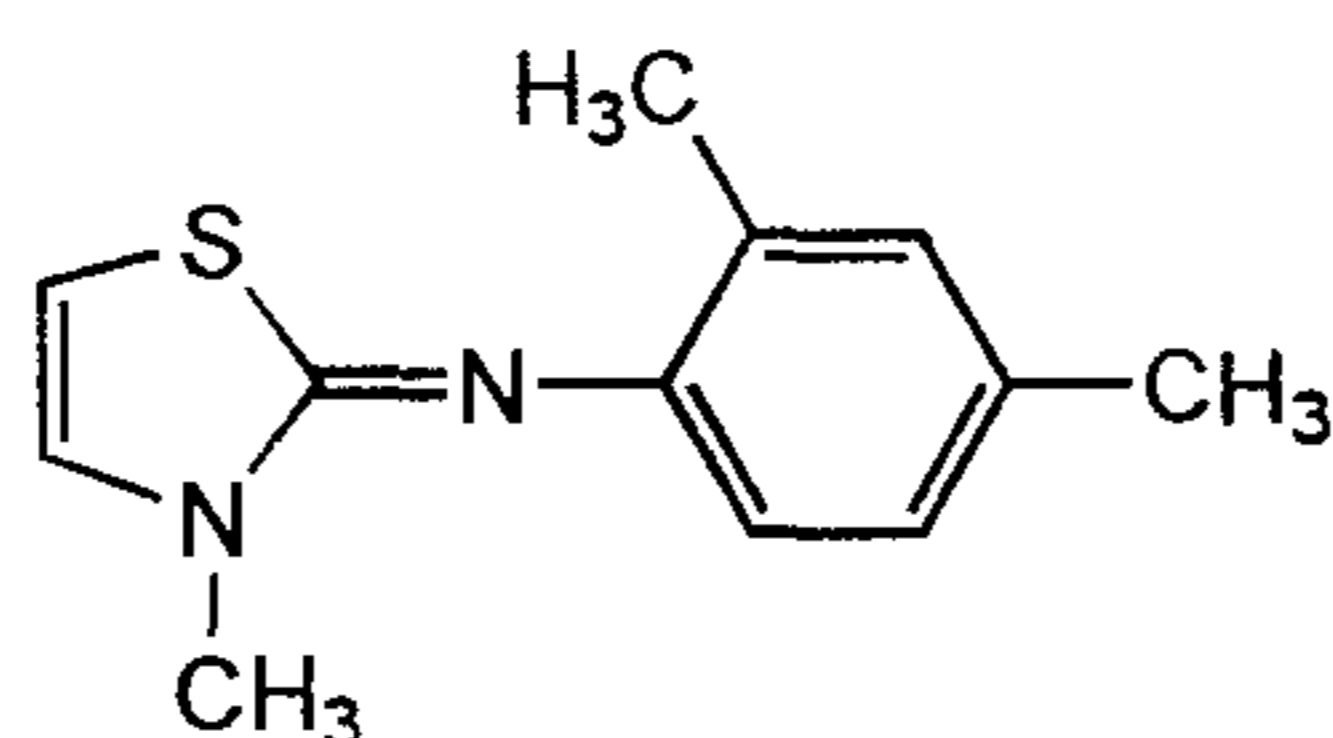
(1) 상품명 : 아피톨 (Apitol); Tifatol

(2) 일반명 및 화학명: N-2,3-dihydro-3-methyl-1,3-thiazole-2-ylidene-2,4-xylylidine (IUPAC), Thiazoline compounds, Substituted 2-(phenylimino) thiazolidines, 2-Aryliminothiazolines, Xymiazol, 2-(2',4'-dimethyl phenyliminio)-3-methyl-4-thiazoline, 3-methy-2-

(2',4'-dimethylphenyliminio)-4-thiazoline, N-3-methyl-4-thiazoline-2-ylidene-2,4-xylidine (C.A), 2,4-dimethyl-N-(3-methyl-2(3H)thiazolyldine) benzenamine, Benzenamine 2,4-dimethyl-N-(3-methyl-2(3H)-thiazolyldine).

분자식 : C₁₂H₁₄N₂S

구조식 :



(3) 생산회사: Ciba-Geigy

(4) 관련 특허 및 문헌:

(가) 한국 양봉학회지, 8(1) 48-55 (1993) : 꿀벌 응애에 대한 Apitol의 방제효과 : 꿀벌 응애 방제를 위하여 phenothiazine과 chlorobenzilate계통의 약제가 사용되어 왔으나 저항성과 안정성의 문제가 야기되어 왔으며 Sineacar 즉 chlorobenzilate계통약은 약효가 별로 없다는 보고가 있고, 국내에서는 신등전, 진멸지 등의 혼연지와 bromopropylate 계열의 Folbex-VA, fluvalinate계열의 Apistan strip이 사용되어 왔는데, 이 논문에서는 아피톨은 우수한 방제효과와 높은 안전성을 나타냈고 이 약의 특징적 메카니즘인 침투성 약제인 관계로 봉개된 유아방의 꿀벌응애도 방제하는 측면과 먹이는 방법으로 월동군의 꿀벌응애를 처리해 주는데 있어서 노동력 절감이 확실하고, 특히 꿀벌응애의 약제 저항성 발달의 저해를 위한 약제의 혼용 측면에서도 중요한 역할을 할 것이라고 결론지었다.

(나) Apidologie 23(2), 97-106 (1992) : Mentol, Amitraz, Apistan, Apitol 등 4개의 약을 농도와 제제화에 따라서 Acarapis woodi 진드기 구제 효과 활성실험을 하였다. Apitol 실험에 대해서만 선택하여 언급하

면,

첫째, Cymiazole 2.0g 과 Citric acid 4.0g 을 Sugar/water ;2/1 용액 2.25L로 녹여서 제제화 한것을 각각의 벌통에 급이하였다.

둘째, Cymiazole 4.0g 과 Citric acid 4.0g 을 Sugar/water ;2/1 용액 0.75 L로 녹여서 제제화 한것을 각각의 벌통에 급이하였다.

(다) Apidologie 20(1), 41-51 (1989) : Apitol를 이용한 멕시코 북서부 지방의 꿀벌군에서 이뤄진 *Acarapis woodi* 응애 방제 실험으로 진드기의 감염도가 적은것 (10% 미만 감염), 중간정도 감염된것(즉 20-60 %), 많이 감염된것(90-100%)으로 구분하여 17.5 % cymiazole 를 300 mg/ ml 농도의 약제로 조제하여 300, 600 과 1000 ml 씩 일주일 간격으로 3회 각각 급이하였다. 처리후 떨어진 진드기 비율은 0.53, 0.84 그리고 0.63 이었다.

(라) Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 02235877 [90,235877] : 2-Iminothiazoline 유도체의 합성에 대하여 기술하였다.

(마) EP 025413 (1980) : 2-Iminothiazoline 유도체염의 제조에 대하여 제안한 특허이다.

(바) BE 841504

(사) GB 1527807

(아) J. Apicultural Research 33(2), 83-86 (1994) : 이태리의 Paolo Cabras팀에 의해 보고된 최근 문헌으로서, *Apis mellifera ligustica* 각각의 꿀벌군에 Apitol 약 2g(17.5% cymiazole)을 20% 설탕용액 100ml에 녹여서 뿌려 주었다. 약의 투여후 12일 과 15일 경과후에 죽은 벌과 꿀을 시료로 취하여 liquid Chromatograph로 분석하였다. 하루 지난후에 벌꿀에서 cymiazole 이 2.45 ppm, 12일 지난후에 2.45 ppm 이 잔류해 있었다. 벌의 체내의 cymiazole 잔류량은 하루 지난후에 84.12 ppm과 12일 지난후에는 급격히 감소하여 0.07ppm 밖에 남지 않았다. 꿀벌의 체내 잔류량의 급격한 감소는 cymiazole이 꿀벌 체내에서 매우 빨리 분해된다는 것을 의미한다. 그러나 이태리에서 허용된 농도인 0.01ppm을

넘는다고 보고하였다.

(자) Pestycydy 4, 9-15 (1994) : 꿀벌보호를 위한 폴란드 제 3세대 Varroa 진드기 살충 약품에 관한 연구로서,

제 1 세대 살충제로 아미트라즈, 브로모프로필레이트 그리고 말라티온으로 혼중, 스프레이, 분무용 약품이었다.

제 2 세대 약품으로는 coumafos와 cymiazole 함유 살충제로서 스프레이용 또는 벌에게 먹이는 약들이다. 이와 비교되는 약제가 Bayer사에서 개발한 Varroa진드기 살충 성분을 지닌 페리진 이었다.

제 3 세대 약품은 새로운 메카니즘의 생물학적 활성을 나타내는 pyretroid 계열로 fluvalinate와 flumetrim가 원제이다. 이들의 상품명은 아피스탄(Apistan)과 바이바롤(Baywarol)이며 86-100%의 살충효율을 나타낸다고 보고 하였다. 이 논문에서는 약에 대한 면역성과 약효상승 효과에 대한 효율을 극대화 하기위한 실험으로 혼용제제화 연구를 하였는바, 제 1세대 살충제인 아미트라즈, 브로모프로필, 말라티온과 3:1 또는 4:1로 혼합하여서 실험을 하였다. 말라티온 합제는 강한 살충효과에도 불구하고 유해하여 부적합하였고, 아미트라즈합제는 약효성분이 빠른 속도로 저하되었다.

(5) 물리, 화학적 특성: 분자량 218.3; 무색의 백색 결정성 고체; 증기압 2.4 mmHg (20 °C); 70 °C에서 가수분해에 안정; 녹는점, 44 °C; 비중 1.19; 물에 대한 용해도 150 mg/l, 20 °C).

(6) 독성데이터: 쥐 (oral) LD₅₀ 725 mg/kg, 쥐 (acutel) LD₅₀ >3100 mg/kg, 새 (Japaneses quail 1212, Peking duckings 540 mg/kg); 물고기 (rainbow trout, LC₅₀ 12, carp LD₅₀ 32 mg/l.

(7) 사용상의 특징: 사양 혼합제, 처리는 봉군 천체에 동시에 실시하고 늦은 여름에서 가을로 기온이 10 °C이상의 안정된 날씨가 좋으며,

무밀기에 사용 권장.

아피톨 1g중 cymiazole hydrochloride 0.175 g 함유

| 내용 | 사용 방법 | | | |
|----------|------------------|---------------|-----------------|----------------|
| | 1.0 g (1/2 봉) | 2.0 g (1봉) | 3.0 g (3/2봉) | 4.0 g (2 봉) |
| 아피톨 | 1.0 g (1/2 봉) | 2.0 g (1봉) | 3.0 g (3/2봉) | 4.0 g (2 봉) |
| 시미아졸염양 | 0.175 g | 0.35 g | 0.525 g | 0.700 g |
| 사양액 양 | 250 ml | 500 ml | 750 ml | 1000 ml |
| 소비수 / 1통 | 2-4 매 | 5-7매 | 8-10 매 | 11-14매 |

아피톨 1박스에 2.0g 아피톨 6봉이 들어 있다. 아피톨 6봉을 3000 ml(3 L)의 사양수에 녹여 위 도표에 따라 마지막 월동 사양시에 사양기 내에 부어서 급이한다. 아피톨과 혼합한 사양액이 남으면 각 벌통에 골고루 나누어 처리해도 된다. 처리전에 흰 종이를 바닥에 깔고 약 처리후 2-3일 후에 내검하여 진드기 유무를 확인한다.

(8) 약효의 특성: 꿀벌의 소화기를 통하여 몸에 흡수되고 벌의 체액을 흡입한 진드기는 죽음. 소량으로도 약효가 높아 봉군 전체에 효과가 급속히 확산된다. 성봉은 물론 유아, 봉아, 유봉시기 등에 아무런 피해가 없다. 따라서 탁월한 퇴치, 좋은 기호성, 벌에 대한 안정성 등의 장점이 있다.

(9) 원제의 습득(분리 및 합성) : 시중에서 판매되고 있는 스위스의 Ciba-Geigy 회사 제품인 아비톨 (Apitol)로 부터 유효성분의 추출, 정제 및 분석하여 본 연구실에 제조한 것과 유효성분의 비교 분석한 결과, ¹H NMR, IR, HPLC, 녹는점에서 동일하였다.

원료 분석실험 1 : 연노랑색의 미립자 아피톨 2g에 메틸렌클로라이

드 10 ml를 가하고 상온에서 20분동안 교반한 다음 여과하고 여액을 건조하고 감압 증발하여 연갈색 거품상의 액체 345mg을 얻었다. 이것은 첨부한 얇은막 크로마토그래피(thin layer chromatography) 및 ^1H NMR에 의하여 주성분인 cymiazole으로 확인되었다. 여액을 분리하고 남은 흰색 고체(filter cake)는 상온에서 건조하여 1.62g 이었는데, 이것은 화학적 및 물리적 특징을 여러 가지의 스펙트럼을 통하여 확인한 결과 과당이었다. 이 흰색 고체는 증류수 2ml에 잘 용해되었고 이 용액을 7% 중탄산소다수, pH 6-7로 제조한 후 메틸렌클로라이드로 추출하였으나 잔유물을 얻지 못하였다.

원료 분석실험 2 : 고체상의 아피톨 5g을 증류수 15ml에 녹이고 1N 수산화나트륨 용액으로 pH 9-11로 조절한 다음 디크로로메탄 150ml로 추출하였다. 유기층을 무수황산나트륨으로 건조, 여과하고 감압증발로 용매를 제거하여 연갈색 거품상의 액체 880 mg을 얻었다. 이것은 원료 분석실험1의 방법과 같이 얇은막크로마토그래피 및 ^1H NMR에 의하여 cymiazol 임이 확인되었다.

원료 분석실험 3 : 원료 분석실험 2에 의하여 얻은 연갈색 기름상의 액체인 티아졸리딘유도체 500mg을 둥근바닥 flask에 1N 염산 2-3 ml를 가하고 상온에서 30분 동안 교반하였다. 이 혼합물을 45 °C 수욕조에서 감압증발한다음 건조하고 메틸렌클로라이드 30 ml로 추출한 후 무수황산마그네슘으로 건조시키고 용매를 제거하여 갈색 거품상의 액체인 cymiazol 590mg (100%)를 얻었다.

원료 분석실험 4 : 제품 아비톨 0.3 g을 물 0.5ml에 녹이고 Silica gel GF 254(Merk) plate에 spot하여 n-헥산과 에틸아세테이트(50-50, v/v)를 전개액으로 전개하였다. 전개용기에서 silica gel plate를 꺼내어 상온에서 용매를 충분히 휘발시키고 UV lamp (short wave)로 확인하며

$R_f = 0.01-0.1$ 과 $R_f = 0.4$ 물질을 각각 증류수와 클로로포름으로 추출하고 여과한 다음 감압증발로 용매를 제거하여 얇은막 크로마토그래피와 수소핵자기공명스펙트럼으로 확인한 결과 이들은 cymiazol free amine 과 cymiazol HCl salt가 평형관계에 있음을 증명되었다. 얇은막 크로마토그래피에서 전개액을 n-헥산와 에틸아세테이트 혼성용매 비율을 80:20으로 하면 분리도가 더 우수하였다.

(10) 분석결과:

① 수소핵자기공명스펙트럼 : 부록 1, Fig 8

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 2.16 (s, 3H, CH_3), 2.27(s, 3H, CH_3), 3.38 (s, 3H, N- CH_3), 5.76 (d, 2H, $J=4.8$ Hz, 5- CH_2), 6.44 (d, 2H, $J=4.8$ Hz, 4- CH_2), 6.84-7.01 (m, 3H, aromatic H);

② 탄소핵자기공명스펙트럼 : 부록 1, Fig 9

^{13}C NMR d 17.7, 21.1, 38.1, 107.1, 126.4, 128.4, 132.1, 134.7, 139.6, 169,7;

③ 적외선흡수스펙트럼 : 부록 1, Fig 10

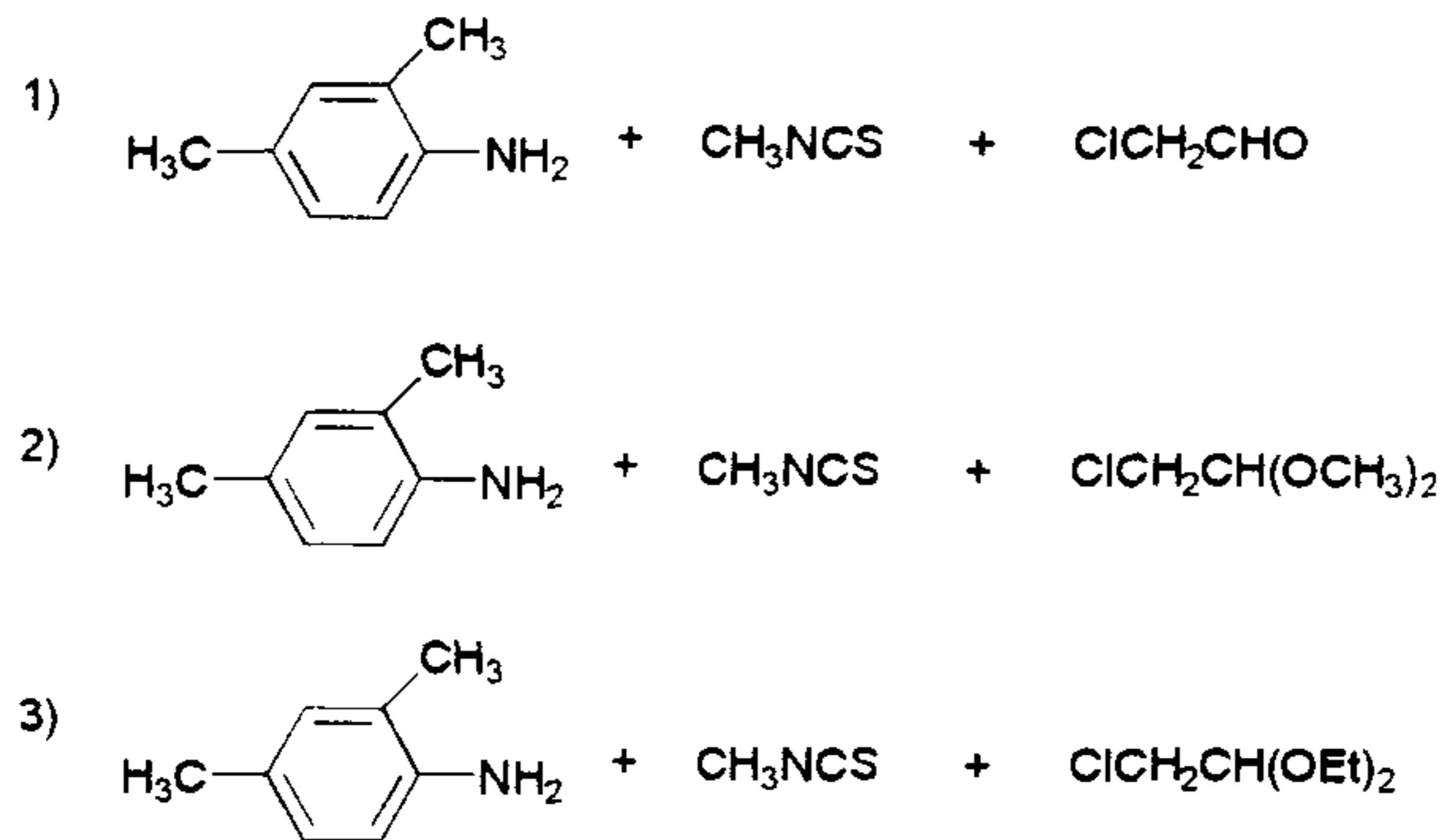
FT-IR (KBr) 1421, 1589 cm^{-1} ;

④ 녹는점: 208-210 $^{\circ}\text{C}$;

⑤ TLC : Silical Gel GF254, 전개용매, n-hexane:ethylacetate = 30:70), $R_f = 0.6$.

(11) 원제의 합성법:

합성스킴: 다음과 같이 3가지의 방법이 있으며 이들 중 본 연구에서는 가장 경제적이며 효율적인 방법을 선택하였다.



(가) 일반적인 실험방법 : 수소핵자기공명스펙트럼(^1H NMR)은 Varian EM-360A(60 MHz) 또는 Gemini 300(300 MHz) 스펙트라메타를 사용하여 TMS를 표준물질로 δ 값으로 표기하였다. 적외선흡수스펙트럼(IR)은 Analect Moldel FX-6160 FT-IR spectrophotometer를 사용하여 얻었다. 녹는점은 Electrothermal Melting Point 기기를 사용하였으며 보정하지 않았다. High Pressure Liquid Chromatography는 Waters model 481로 한국과학기술연구원 화학분석센터에서 수행하였다. 클로로아세트알데히드 디메틸아세트알, 클로로아세트알데히드.디에틸아세트알, 아닐린 유도체, 티오우레아등의 반응용 시약은 Aldrich Chem. Co. 또는 일본제를 구입하였고 아세톤, 디클로로메탄, 에틸알콜, 1,4-디옥산, 에틸아세테이트, 에틸에테르, 이소프로필알콜, n-헥산등의 공업용 또는 시약용 유기용매는 국내에서 구입하였으며, 무수황산마그네슘, 무수황산나트륨, 무수탄산칼륨등의 건조용 시약도 국내에서 구입하였다.

(나) N-(2,4-dimethyl-phenyl)-N'-methyl-thiourea의 합성.

합성실험 나-1. 4-아미노-1,3-디메틸벤젠 (200g)을 1,4-디옥산(200 ml)에 녹이고 트리에틸아민(100 ml)를 가하였다. 반응혼합물에 메틸이소티오시아네이트 (124 g)을 가하였다. 디아조화반응으로 free아민이 된것을 확인한다음 반응혼합물에 1000 ml의 따뜻한 증류수와 500 ml의 초산을 가하였다. 생성된 침전물을 여과하고 물로 세척하고 메틸알콜로 충분히 씻었다. 흰색고체인 우레아 유도체 (282g, 90%)를 얻었고 녹는점

은 150-152 °C이었다.

합성실험 나-2. 2,4-디메틸아닐린 (12.118g, 12.4ml, 0.1 mol)의 디옥산(15 ml)용액을 상온에서 교반하면서 isothiocyanic acid methyl ester (7.678g, 0.105 moles)의 1,4-디옥산 (5 ml) 용액을 서서히 가하였다. 이때 강한 발열반응이었으며 반응혼합액을 50-60 °C으로 유지시켰으며 반응시작 3분후 또는 10분후 침전이 생성되었다. 상온으로 냉각하면서 30분간 더 교반한 후 여과하였고 회색 침전물을 에틸에테르로 씻고 건조하여 고체 14g을 얻었으며, 여과액은 감압증발로 농축하여 2차 생성물 2.8 g을 얻었다. 전체수율은 86.5% (16.8g) 이었다.

합성실험 나-3. 2,4-디메틸아닐린 (188.8 g, 192.6 ml, 1.5579 moles)의 디옥산 (300 ml)용액을 상온에서 교반하면서 isothiocyanic acid methyl ester(120.6 g, 1.641 moles)을 가하였다. 강한 발열반응의 반응혼합물은 반응 10분 경과 후 70 °C로 상승하였으며, 30분 경과시에 40 °C가 되었으며 침전이 생성되었다. 상온으로 냉각하면서 30분간 더 교반한 후 여과하였고 백색 침전물을 초산, 물과 에틸에테르로 각각 씻고 상온에서 건조하여 결정성 고체 (262g, 수율 87.4 %)을 얻었다.

합성실험 나-4. 98% Isothiocyanic acid methyl ester (78.3 g, 0.105 moles)의 아세톤 (150 ml)용액에 2,4-디메틸아닐린(123.65ml, 0.1 mole)의 아세톤 (50 ml)용액을 상온에서 교반하면서 가하였다. 강한 발열반응의 반응혼합물은 반응 30분동안 다음과 같이 변화하였다. 반응을 완결하고 반응온도를 서서히 냉각하여 35 °C정도 되었을때 에틸에테르 (200 ml)를 가하고 상온서 30분동안 더 교반하고 여과하여 흰색고체인 urea 유도체 (170g, 87.5 %)를 얻었다.

- 다 음 -

3분 반응 경과 후 20 °C 맑은용액

8분 반응 경과 후 50 °C 맑은용액

10분 반응 경과 후 68 °C 흰 침전 생성시작

12분 반응 경과 후 68 °C 흰 침전 생성

15분 반응 경과 후 60 °C 흰 침전 생성
 16분 반응 경과 후 50 °C 흰 침전 생성
 20분 반응 경과 후 48 °C 흰 침전 생성
 30분 반응 경과 후 26 °C 흰 침전 생성

합성실험 나-5. 고체인 isothiocyanic acid methyl ester (98 %)를 50 °C 수욕조에서 녹혀 156.6 g (2.10 moles)를 3000 ml의 삼각 flask 에 취하였다. 이 반응기에 mechanical stirrer와 온도계를 장치하고 공업용 아세톤 (200 ml)를 가하였다. 상온에서 2,4-디메틸아닐린 (247.3 g, 2.0 mole)의 아세톤 (200 ml) 용액을 상온에서 교반하면서 서서히 가하였다. 반응혼합물은 발열반응이었으며 반응혼합물의 온도와 침전물의 생성변화를 아래의 다음에 표기하였다. 아닐린 유도체를 모두 가한 후 반응물의 온도가 40 °C 정도로 내렸을때 에틸에테르 800 ml를 2회에 걸쳐 서서히 가하고, 상온에서 60분동안 교반한 후 생성된 흰색 고체를 여과하여 urea유도체 (300 g, 77.3 %)를 얻었다.

- 다 음 -

5분 반응 경과 후 50 °C 맑은용액
 7분 반응 경과 후 60 °C 맑은용액
 14분 반응 경과 후 68 °C 흰 침전 생성 시작
 (Magnetic stirrer로 교반 잘 안됨)
 15분 반응 경과 후 70 °C 흰 침전 생성
 16분 반응 경과 후 68 °C 흰 침전 생성
 20분 반응 경과 후 60 °C 흰 침전 생성
 28분 반응 경과 후 50 °C 흰 침전 생성
 60분 반응 경과 후 26 °C 흰 침전 생성

20분과 28분 경과시에 적당량의 diethyl ether 가함.

합성실험 나-6. 합성실험 나-5와 동일한 방법으로 고체인 isothiocyanic acid methyl ester (98%) 235 g (3.214 moles)를 가열하여 녹여 3000 ml 삼각 flask에 취하였다. 이 반응기에 mechanical stirrer와 온도계를 장치하고 공업용 아세톤 (300 ml)를 가하였다. 2,4-디메틸아닐린 (371 g, 3.06 mole)의 아세톤(300 ml) 용액을 상온에서 교반하면서 가하였다. 반응혼합물의 최대 발열온도는 70 °C였고, 반응 완결 후 결정을 씻기 위한 에틸에테르는 1200 ml 가 사용되었다. 수율은 82 % (488 g).

합성실험 나-7 : 합성실험 나-6과 동일한 방법으로 98% isothiocyanic acid methyl ester 255 g (3.419 moles)를 3L 삼각 flask에 취하고, 공업용 아세톤 (300 ml)으로 용해시켰다. 반응기에 2,4-디메틸아닐린 (394 g, 3.251 mole)의 아세톤(300 ml) 용액을 상온에서 교반하면서 가하였다. 이때 발열반응으로서 반응혼합물의 최대 온도는 72 °C 이었다. 반응 완결 후 미반응의 출발물질, 부산물등을 에틸에테르 1000ml를 사용하여 씻었다. 수율은 85 % (537 g).

합성실험 나-8 : 합성 실험 나-6과 동일한 방법으로 98 % Isothiocyanic acid methyl ester 310 g(4.23 moles)를 3L 삼각 flask에 취하고, 공업용 아세톤 (400 ml)으로 용해시켰다. 반응기에 2,4-디메틸아닐린 (496.8 g, 4.10 mol)의 아세톤(400 ml) 용액을 상온에서 교반하면서 가하였다. 반응혼합물의 최대 발열온도는 67 °C이었다. 반응 완결 후 미반응의 출발물질, 부산물등을 에틸에테르 1200ml를 사용하여 씻었다. 수율은 88.5% (727 g).

합성실험 나-9 : 합성실험 나-6과 동일한 방법으로 98% Isothiocyanic acid methyl ester 125 g(1.709 mol)를 2000 ml flask에 취하고, 공업용 아세톤(150 ml)에 용해시켰다. 반응기에 2,4-디메틸아닐린 (216 g, 1.782 mol)의 아세톤(150 ml) 용액을 상온에서 교반하면서 가하였다. 반응혼합물의 최대 발열 온도는 65 °C 이었다. 반응 완결 후 미반응의 출발물질, 부산물등을 에틸에테르 500ml를 사용하여 씻었다.

수율은 80.4 % (267 g).

합성실험 나-10 : 합성실험 나-6과 동일한 방법으로 98% isothiocyanic acid methyl ester 511.84 g(7.00 mol)를 5L beaker에 취하고, 아세톤 (660 ml)에 용해시켰다. 반응기에 2,4-디메틸아닐린 (848.26 g, 7.00 mol)의 아세톤(660 ml) 용액을 상온에서 교반하면서 가하였다. 반응혼합물의 최대 발열 온도는 50 °C 이었다. 반응 완결 후 미반응의 출발물질, 부산물등을 에틸에테르 1200ml를 사용하여 씻었다. 수율은 49 % (870 g).

합성실험 나-11 : 합성실험 나-6과 동일한 방법으로 98% isothiocyanic acid methyl ester 511.84 g (7.00 mol)를 3L beaker에 취하고, 아세톤(400 ml)에 용해시켰다. 반응기에 2,4-디메틸아닐린(848.26 g, 7.00 mole)의 아세톤(400 ml) 용액을 상온에서 교반하면서 가하였다. 반응혼합물의 최대 발열 온도는 80 °C 이었다. 반응 완결 후 미반응의 출발물질, 부산물등을 에틸에테르 1500ml를 사용하여 씻었다. 수율은 83 % (1130 g).

합성실험 나-12 : 합성실험 나-6과 동일한 방법으로 98% isothiocyanic acid methyl ester 510 g (6.84 mol)를 3L 삼각 flask에 취하고, 아세톤 (500 ml)에 용해시켰다. 반응기에 98% 2,4-디메틸아닐린 (496.8 g, 4.10 mole)의 아세톤(500 ml) 용액을 상온에서 교반하면서 가하였다. 반응혼합물의 최대 발열 온도는 80 °C 이었다. 반응 완결 후 미반응의 출발물질, 부산물등을 에틸에테르 1500ml를 사용하여 씻었다. 수율은 83 % (1100 g).

합성실험 나-13 : 합성실험 나-6과 동일한 방법으로 98% isothiocyanic acid methyl ester 510 g (6.84 mol)를 3L 삼각 flask에 취하고, 아세톤 (600 ml)에 용해시켰다. 반응기에 98% 2,4-디메틸아닐린 (496.8 g, 4.10 mole)의 아세톤(500 ml) 용액을 상온에서 교반하면서 가하였다. 반응혼합물의 최대 발열 온도는 80 °C 이었다. 반응 완결 후 미반응의 출발물질, 부산물등을 에틸에테르 1500ml를 사용하여 씻었다. 수

율은 73 % (970 g).

합성실험 나-14 : 합성실험 나-6과 동일한 방법으로 98% isothiocyanic acid methyl ester 510 g (6.84 mol)를 3L 삼각 flask에 취하고, 아세톤 (500 ml)에 용해시켰다. 반응기에 98% 2,4-디메틸아닐린 (496.8 g, 4.10 mole)의 아세톤(500 ml) 용액을 상온에서 교반하면서 가하였다. 반응혼합물의 최대 발열 온도는 78 °C 이었다. 반응 완결 후 미반응의 출발물질, 부산물등을 에틸에테르 1200ml를 사용하여 씻었다. 수율은 90 % (1200 g).

합성실험 나-15 : 합성실험 나-6과 동일한 방법으로 98% isothiocyanic acid methyl ester 510 g (6.84 mol)를 3L 삼각 flask에 취하고, 아세톤 (500 ml)에 용해시켰다. 반응기에 98% 2,4-디메틸아닐린 (496.8 g, 4.10 mole)의 아세톤(500 ml) 용액을 상온에서 교반하면서 가하였다. 반응혼합물에 아세톤 (1500 ml) 가하여 최대 발열온도를 68 °C 로 조절하였다. 반응 완결 후 미반응의 출발물질, 부산물등을 에틸에테르 1200ml를 사용하여 씻었다. 수율은 72.2 % (960 g)이었으나 순도는 우수하였다.

상기의 결과를 토대로 한국특허를 출원하였다:

발명의 명칭: 티아졸리딘 유도체 염산염의 개선된 제조방법

출원번호 : 95-11006 호

참고사항

시미아졸의 결정 사진: 부록 2, 사진 14

Apitol 의 sugar에 coating된 사진: 부록 2, 사진 15

시미아졸의 X-ray crystallgraphy data: 부록 3

(12) 안정성 실험

본 연구에서 합성된 cymiazole의 안정성을 검토하기 위하여 온도

(5-30 °C)에 대한 안정성, 산화에 의한 영향을 보기 위하여 산소 존재하에서, 빛에 대한 안정성등을 실험하였다. 즉, 일정량의 합성된 cymiazole을 물에 녹이고 상온, 30 °C, 공기중에서, 햇빛하에서 그리고 산소 존재하에서 수일 내지 10개월동안 방치하였으나 출발물질로 회수되었다. 다시말하면 합성된 cymiazole은 상온에서 산화나 분해없이 안정하였다.

(13) 제형화실험

제형화실험은 용액형과 과립형으로 나뉘서 수행하였다.

a) 용액형 (부록 4. 특허 및 동물약품 허가서 표지)

용액형은 동물의약품으로 등록하였으므로 자세한 기록을 생략하며 다음과 같은 과정으로 수행하였다.

① 제형 : N,2,3-dihydro-3-methyl-1,3-thiazole-2-ylidene-2,4-xylylidine의 염산염 원료 84g과 첨가제 A,B 등 396g을 증류수로 1L되도록 녹인다.

② 원료 약품의 분량등을 독성자료와 약리효과 등을 고려하여 확립하였다.

③ 성상, 제형 효능과효과를 나타내어 정립하였다.

④ 제형후 성상의 물리, 화학적 특성을 확립하였다.

⑤ 안정성, 유효성 실험을 5 °C이하, 25 °C, 50 °C 이상으로 나누어 시간별, 일별, 월별, 연도별로 수행하여 확립하였다.

⑥ 약제 처리후 꿀벌 대사작용과 약의 잔류성에 대한 영구를 수해하였다.

⑦ 제제한 약과 원액양에 따른 뿌리주는 약법, 먹이는 법 등사용법 확립함.

⑧ 포장 단위, 주의 사항을 확립한다.

⑨ 국가검정, 동물약품등의 표시에 의해 제품의 시험, 기준 및 시험방법을 수립하였고, 아울러 정량분석, 정성분석, 순도분석을 확립하였다.

b) 과립형

제형화 실험 1. Uni Glatt model fluid bed processor (유동층과립기)에 의한 제형화: 씨앗물질(Seed material)로 제일제당에서 생산되는 갈색설탕(sugar) 570 g을 유동층과립기(Uni Glatt model fluid bed processor)에 넣고, 물(150ml)에 시미아졸염산염(100g)을 녹인 맑은 용액을 아래와 같은 조건에서 분사하며, 과립으로 코팅(coating)제조하였다(부록 4, Fig 9). 이 계통의 제형제품명칭을 Highkill-A-1라 임의로 칭하였다. 우선 기기를 수분이 없이 건조한 다음 갈색설탕을 가하였다. 기기의 아래쪽에서 수분이 제거된 공기로 흡입, 분사하여 설탕을 날린다. 시미아졸염산염 수용액을 일정한 속도로 분사시킨다. 분사시키면서 분사통을 고무망치로 두두려서 위쪽 공기 출구 형접여과 장치가 막히는 것과 기벽에 붙은 것을 방지하려고 노력한다. 형접여과장치가 막히면 압력이 올라가는데 이것은 반응기전체에 골고루 분사되는 것을 급속도로 저하시킨다. 밑에서 공기분사를 아무리 잘시켜도 이 결과는 마찬가지다.

시험장소 : 한국식품연구원 축산물가공연구소

유동층과립기의 반응조건 :

주입속도 : 30 psi에서 분당/약 3-6ml

Spraying air ; 2 bar

Exhaust air flap ; 30 °

Chamber temp : 25 °C

| Pale brown clear solution | Time |
|---------------------------|--------|
| 290 mL | 00 min |
| 250 mL | 25 min |
| 175 mL | 30 min |
| 150 mL | 35 min |
| 125 mL | 40 min |
| 100 mL | 45 min |
| 75 mL | 50 min |

| | |
|-------|--------|
| 50 mL | 55 min |
| 25 mL | 60 min |
| 00 mL | 70 min |

비고 : 주입이 끝난 후 탭물 20 mL를 추가로 가하고 분사한 후 약 10분 동안 흡입, 건조하였다.

제형화 실험 2: 갈색 sugar 570 g을 Seed material로 유동층과립기에 넣고, 무수메틸알콜(200 mL)에 녹인 시미아졸 염산염(100g)을 녹인 맑은 용액을 아래와 같은 조건에서 분사하며, 과립으로 코팅(coating)제조하였다. 이 계통의 제형제품명칭을 Highkill-B-1-A라 임의로 칭하였다. 수분이 없이 건조한 기기의 아래쪽에 갈색설탕을 넣고 수분이 제거된 공기로 흡입, 분사하여 설탕을 날리면서 시미아졸염산염 메탄올용액을 일정한 속도로 분사시킨다. 분사시키면서 분사통을 고무망치로 두들려서 위쪽 공기 출구 형접여과 장치가 막히는 것과 기벽에 붙은 것을 방지하려고 노력한다. 형접여과장치가 막히면 압력이 올라가는데, 시미아졸염산염 메탄올용액을 1/3쯤 까지 가하여도 압력의 변화는 없는 것으로 봐서 윗쪽 여과장치의 막힘은 없었다. 그러나 1/2쯤 가하였을때부터 압력이 서서히 올라갔으며 실험이 끝난 후 윗 여과형접에 시미아졸 가루가 많이 붙어 있었다. 이에 대한 토론은 후술하고자 한다.

시험장소 : 한국식품연구원 축산물가공연구실

유동층과립기의 반응조건 :

주입속도 : 30 psi에서 분당/약 3-6ml

Spraying air ; 2 bar

Exhaust air flap ; 30 °

Chamber temp : 35-40 °C

| Pale brown clear solution | Time |
|---------------------------|--------|
| 290 mL | 00 min |
| 200 mL | 22 min |

| | |
|--------|--------|
| 100 mL | 44 min |
| 00 mL | 72 min |

주입이 끝난 후 메탄올 30 mL로 용기를 씻으며 더 가하여 분사한 후 약 10분동안 흡입, 건조하였다. 그리고 물 5 mL정도를 호스를 씻기 위하여 흡입, 분사하였다. 이때 큰 뭉치의 가루가 형성되었다. 이는 처음부터 물을 일정량 배합해야 된다는 원리를 깨우쳐 준 결과로 사료되었다. 40 °C 의 반응온도를 상온(20 °C)으로 낮추면서 약 20분간 더 건조하였다. 반응 후 기기를 제거하여 보니 형검여과장치 공기출구에 시미아졸염이 미세한 가루형태로 붙어있었다. 이 결과는 물용매만을 사용할 때와 현저한 차이가 있었다.

광학현미경분석 : KIST 기계윤활연구실의 도움으로 실험 1과 2에서 과립형으로 제형화한 것을 시바-가이기의 아피틀 제품과 비교, 확인하는 관찰, 연구를 수행하였다. Leica Wild MP 552 ; Reichert Metaplan 2 기기로 100-400배 배율로 관찰하였다. 일반적인 실험 방법은 다음과 같다.

- (1) 전원 상태를 확인하고
- (2) 본체 좌측에 붙어 있는 Power Swich와 Light Power Swich를 on 시킨다.
- (3) 이 상태에서 관찰하려는 대상에 초점을 맞추기 전에 우측과 좌측의 대한렌즈를 보면서 우측의 Scale ruler와 좌측의 Rectangular flame이 자신의 눈에 뚜렷하게 보이도록 초점을 맞춘다. 이때 절대로 무리한 힘을 가하지 말고 현재의 상태에서 크게 벗어나지 못하게 할 것.
- (4) 상기 3번의 상황에서 Scale ruler와 좌측의 Rectangular flame의 초점이 정확히 맞지 않을 경우에는 사진을 찍어도 초점이 맞지 않게 되므로 이점을 특히 유의 할 것.

광학현미경 관찰실험

1) Cymiazole hydrochloride Crystal

| No. | Mag(배율) | Sample | Remark |
|-----|---------|--------|--------|
| 1. | 200배 | 시미아졸염 | 방향변화 |
| 2. | 200배 | 시미아졸염 | 방향변화 |
| 3. | 200배 | 시미아졸염 | 방향변화 |

1-3번 관찰결과는 표면입자가 큰데 녹았다가 다시 입자화되면서 더 작은 입자를 형성시키고 있다.

2) Sugar

| | | | |
|----|------|-------|---------|
| 4. | 100배 | Sugar | |
| 5. | 200배 | Sugar | |
| 6. | 200배 | Sugar | |
| 7. | 200배 | Sugar | Reflect |

설탕의 크기는 비슷하였다. 설탕 1개의 표면을 각도를 달리 해 관찰해 보면 6각으로 각면이 평면에 가까웠다.

3) Highkill-B-1-A : 실험2의 반응과정을 중간 즉 15분후에 채취한 것이다. 즉 씨앗물질로 갈색설탕을 유동층과립기에 넣고, 무수메틸알콜(200 mL)에 녹인 시미아졸염산염을 녹인 맑은 용액을 분사하여 과립으로 코팅시키는데, 15분 지난 다음 채취한 시료이다.

- 8. 100배
- 9. 200배

검정 부분은 설탕표면이고 하얀부분이 시미아졸염이 부착된 부분이다. 시미아졸이 알갱이로 붙어있는 모습이다.

4) Highkill-B-1-A : 실험2의 반응과정중 30분후에 채취한 시료이다.

- 10. 200배
- 11. 400배

시미아졸의 붙은 양이 증가되었습. 하얀부분이 증가되었습.

본래 시미아졸은 큰 결정이었는데, 녹였다가 분무하는과정에서 좀 더 작은 알갱이로 됨을 알 수 있었다.

5) Highkill-B-1-A : 실험2의 반응과정중 45분후에 채취한 시료이다.

- 12. 200배
- 13. 400배
- 19. 400배 Reflect

방향을 달리하면서 관찰하여보니 흰부분 즉 시미아졸표면 코팅된 부분이 증가 되고 있다.

7) 아피톨.

- 20. 100배
- 21. 200배
- 22. 200배 Reflect
- 23. 100배 Reflect
- 24. 400배

설탕 표면이 울퉁불퉁함을 알수 있었고 설탕의 표면도 상대적으로 좁을 뿐만아니라 시미아졸의 입자도 작아서 효율성 있게 설탕에 부착되어 있음을 알수 있었다.

8) Highkill-A-1 : 실험1의 반응과정중 70분후에 채취한 시료이다.

- 25. 100배
- 26. 200배
- 27. 400배

물에 설탕을 녹이지는 않았지만 시미아졸수용액이 뿜질하는 과정에서 설탕을 일부 용해시키므로써 입자로 딱 붙어있는 곳이 많다.

9) 아피톨.

- 28. 100배 Reflect
- 29. 300배 Reflect

시미아졸 붙어 있는 site가 많다.

참고사항

시미아졸 coating하기전의 sugar의 사진: 부록 2, 사진 16

시미아졸의 sugar에 coating된 모양: 부록 2, 사진 17, 18, 19, 20, 21

합성 시미아졸과 아비톨의 비교사진: : 부록 2, 사진 22

구제된 진드기의 모습: 부록 2, 사진 23, 24, 25, 26

광학현미경 관찰결과로부터 다음과 같은 결론을 얻었다.

첫째, 아피톨에 사용한 설탕과 본연구에 이용한 설탕의 색은 유사한 황색 설탕이라는 것은 일치하였다.

둘째, 아피톨에 사용한 설탕의 표면은 근본적으로 거칠고 울퉁불퉁하여 알갱이가 잘 붙도록되어 있었다. 즉 각이 없고 표면이 거칠게 파여 있거나 튀어 나와 있고, 돌처럼 우툴두툴하여 시미아졸이 포어러스한곳에 잘 붙도록 되어 있었다. 반면 국산 설탕은 각이 있는 직육면체로 표면이 매끄럽고 평평하여 알갱이 붙기가 어렵거나 잘 떨어질 가능성이 높다. 따라서 Sugar의 표면 모양은 과립형 제형화 과정에 중요한 변수였다.

셋째, 씨앗물질로 설탕이 가장 좋았다. 시미아졸염을 물에 녹여서 분사하면 설탕도 녹으면서 결정이 혼합되어 코팅되므로 떨어질 염려가 전혀 없었다. 이것은 잘 붙은 만큼 떨어지지 않아서 다시 녹여서 꿀벌에 급이할 때, 용해도가 낮아질 것으로 사료 되었다(실험1 참조). 그러나 잘 건조되지 않아서 수분이 남아있으므로 색도가 어둡고 오래 보관이 어려울것으로 사료되었다. 또한 Highkill-B-1 계통은 시미아졸염이 분해될 가능성도 매우 높다.

넷째, 설탕은 물에 녹고 알콜 등과 같은 유기용매에 불용성이다. 설탕을 녹이지 않고 시미아졸염만 녹여서 코팅할시에는 메틸알콜을 사용하면 되었다(실험 2 참조). Highkill-B-1은 입자는 떨어질수 밖에 없

다. Sugar에 1 μm 이하의 작은 입자만 붙어 있다. 입자는 Van der Waals force에 의해서만 붙어있다.

다섯째, 접착속도 즉 시미아졸의 분사속도를 가능한한 늦추는 것이 중요한 변수일것이고, 용해도 변형을 위해 물(10%)와 메탄올(90%) 혼용매의 사용 등이 유리한 코팅 용매일것으로 사료되었다.

여섯째, 유동층과립기내의 반응온도를 20-40°C 까지 조정하였다. 반응온도의 상승시킴으로서 수분발수에 유리할것이나 서서히 실온화한 다음 코팅을 종말시키는 것이 유리할 것으로 사료되었다.

(14) 국내생산 및 사용상의 문제점:

원료 시약의 구입과 합성은 현재의 국내의 기술로 충분하며 공장화도 가능하다. 상술한 바 처럼 본 연구결과를 특허출원중 (한국특허) 이다. 생산에 있어서 화학공해물질인 부산물도 비교적 적고 원료비가 제품의 판매가에 비해 월등히 낮으므로 국내생산, 공급에 적합하다고 판단된다.

(15) 현장 활성 실험.

본 연구에서 합성된 시미아졸의 이름을 임의로 살려비라고 칭하였다.

살려비(시미아졸) 급이방법 1.

원제 : 살려비(Sallyoubi: cymiazole hydrochloride)

먹이는 양 : 아피톨과 비교한 시미아졸염의 급이량 규격.

| 내용 | 사용 방법 | | | |
|----------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| | 1.0 g(1/2 봉) | 2.0 g(1 봉) | 3.0 g (3/2 봉) | 4.0 g (2 봉) |
| 시미아졸염양 | 0.175 g | 0.35 g | 0.525 g | 0.700 g |
| 사양액 양 | 250 ml (0.25리터) | 500 ml (0.5리터) | 750 ml (0.75리터) | 1000 ml (1.0리터) |
| 소비수 / 1통 | 2-4 매 | 5-7매 | 8-10 매 | 11-14매 |

사용방법

- ① 살려비 2.1그램을 3000 ml(3 L)의 사양수에 녹여 위 도표에 따라 사양한다.
- ② 유밀기에 사양하지 않는다.
- ③ 마지막 월동 사양시에 사양기내에 부어서 급이한다.
- ④ 살려비와 혼합한 사양액이 남으면 각 별통에 골고루 나누어 처리해도 된다.
- ⑤ 처리전에 흰 종이를 바닥에 깔고 약 처리후 2-3일 후에 내검하여 진드기 유무를 확인한다.

살려비(Sallyeobi) 급이방법 2.

사용방법 2-1.

살려비 1병(살려비 2.1그램 함유)을 3 리터의 사양수에 잘 녹여 아래 도표에 따라 사양한다.

| 내용 | 사용 방법 | | |
|----------|-------------------|--------------------|--------------------|
| | 살려비 양 | 0.35 g | 0.52 g |
| 사양액 양 | 500 ml (0.5리터) | 750 ml (0.75리터) | 1000 ml (1.0리터) |
| 소비수 / 1통 | 5-7매 | 8-10 매 | 11-14매 |

사용방법 2-2

살려비 1병(살려비 2.1그램 함유)을 3 리터의 사양수에 녹여 아래 도표에 따라 사양한다.

| 내용 | 사용 방법 | | |
|------|------------|--------|---------|
| | 살려비양(2.1g) | 1병 | 1병 |
| 소비 수 | 5-7 매 | 8-10 매 | 11-14 매 |
| 별통 수 | 6 통 | 4 통 | 3 통 |

주의할점]

- 1) 무밀기에 사용한다. 유밀기 1개월전에 사양하지 않는다.
- 2) 가능한한 급이직전에 사양액에 녹인다.
- 3) 어린이 손에 닿지 않도록하고, 일반적인 농약 사용법에 준한다
- 4) 살려비와 혼합한 사양액이 남으면 각 별통에 골고루 나누어 처리해도 된다.
- 5) 마지막 월동 사양시에 사양기내에 부어서 급이하는 것이 가장 효과적이나 진드기 발생이 심하면 1)과 같이 무밀기에 사용한다.
- 6) 사용방법 2-1과 사용방법 2-2는 같은 내용이다. 따라서 이해하기 편한 것으로 사용한다.

주의사항: 처리하기 전에, 흰 종이나 셀로판지를 바닥에 깔고 1-2통을 2-3일 먼저 처리하여 진드기 유무를 확인한 다음 약효결과 평가를 하는 것이 바람직하다.

살려비(Sallyeobi) 급이법 3.

살려비 1병(살려비 2.1그램 함유)을 3 리터의 사양수에 녹여 아래 도표에 따라 사양한다.

| 내용 | 사용 방법 | | |
|------------|-------|--------|---------|
| | 1병 | 1병 | 1병 |
| 살려비양(2.1g) | 1병 | 1병 | 1병 |
| 소비 수 | 5-7 매 | 8-10 매 | 11-14 매 |
| 별통 수 | 6 통 | 4 통 | 3 통 |

주의할점

- 1) 무밀기에 사용한다. 유밀기 1개월전에 사양하지 않는다.
- 2) 가능한한 급이직전에 사양액에 녹인다.
- 3) 어린이 손에 닿지 않도록하고, 일반적인 농약 사용법에 준한다
- 4) 살려비와 혼합한 사양액이 남으면 각 별통에 골고루 나누어 처리해도 된다.
- 5) 마지막 월동 사양시에 사양기내에 부어서 급이하는 것이 가장 효과적이나 진드기 발생이 심하면 1)과 같이 무밀기에 사용한다.

(16) 결론:

벌이 경구투여로 부터 벌의 체액을 통하여 약효가 발휘되는 약제로서 인축에 대한 독성이 낮다 (독성데이터 참조). 물에 잘 녹아 유밀기의 사용보다는 무밀기의 사용이 권장됨. 열, 공기, 산화에 의한 연구결과 상당히 안정한것으로 판명되었다. 소량으로 약효가 발휘되므로 운반에 유리하다. 실제로 벌에 대한 투여결과 기호성에 문제가 없다. 본 연구팀의 의견으로는 월동사양에 설탕과 혼합투여하여 좋은 결과를 얻을 것으로 기대된다. 또한 국산생산 및 공급을 위하여 국내의 동물약품제조업체에서 국내등록을 마쳤다. 본 연구의 결과를 국내의 양봉학회 및 양봉학회지에 다음과 같이 게재 또는 발표하였고 국내 특허를 출원중에 있다.

(17) 기타 사항:

Cymiazole 의 염산염은 상온에서 백색의 고체로서 벌의 기호성에 문제가 제기된 바 있다. 본 연구에서는 이를 해결하기 위하여 정제 및 수용액상에서의 pH의 조절(pH meter 사용)을 통하여 이 문제를 해결하였다. 즉, 수분이나 공기 중에 cymiazole이 노출되면 산염이 유기화합물과 유리되어 불균일한 pH를 나타냄도 알았다. 수용액속에서 유리되는 염산염이 강산이므로 농도에 따른 산성도의 차이는 매우 예민하였다. 소비가 6-7매인 벌통에 1.5g의 시미아졸을 상온(20 °C)에서 가할 때 물에 양(mL)에 따른 pH 변화는 표 4와 같았으며 이를 바탕으로 급이농도를 결정한다. 1.5g 시미아졸을 사용할 때 증류수 75mL되도록 녹이며 pH 3.45가 되며 pH 3.45 이상이 되면 벌이 비교적 기호성이 좋으나 pH 3.45보다 더 산성이 강해지면 벌이 기호성이 급격히 떨어진다. 시미아졸 염의 순도가 낮으면 혀 끝은 특 쏘는 맛이 매우 강해진다. 시미아졸은 그 자체가 단맛을 지녀서 기호성이 극대되고 있는 특성을 가지고 있다. 표 8에 시미아졸과 용매의 양에 따른 pH를 나타냈다.

표 8

| 순번 | 시미아졸(g) | 실험온도(°C) | 용매양(ml) | pH | 비고 |
|----|---------|----------|---------|------|----------|
| 1 | 1.5 | 20 | 10 | 2.94 | |
| 2 | 1.5 | 20 | 15 | 3.08 | |
| 3 | 1.5 | 20 | 20 | 3.14 | |
| 4 | 1.5 | 20 | 30 | 3.23 | |
| 5 | 1.5 | 20 | 40 | 3.31 | |
| 6 | 1.5 | 20 | 50 | 3.35 | |
| 7 | 1.5 | 20 | 60 | 3.40 | |
| 8 | 1.5 | 20 | 70 | 3.44 | |
| 9 | 1.5 | 20 | 75 | 3.45 | Standard |
| 10 | 1.5 | 20 | 90 | 3.50 | |
| 11 | 1.5 | 20 | 100 | 3.53 | |
| 12 | 1.5 | 20 | 200 | 3.70 | |
| 13 | 1.5 | 20 | 300 | 3.38 | |
| 14 | 1.5 | 20 | 400 | 3.88 | |
| 15 | 1.5 | 20 | 500 | 3.93 | |

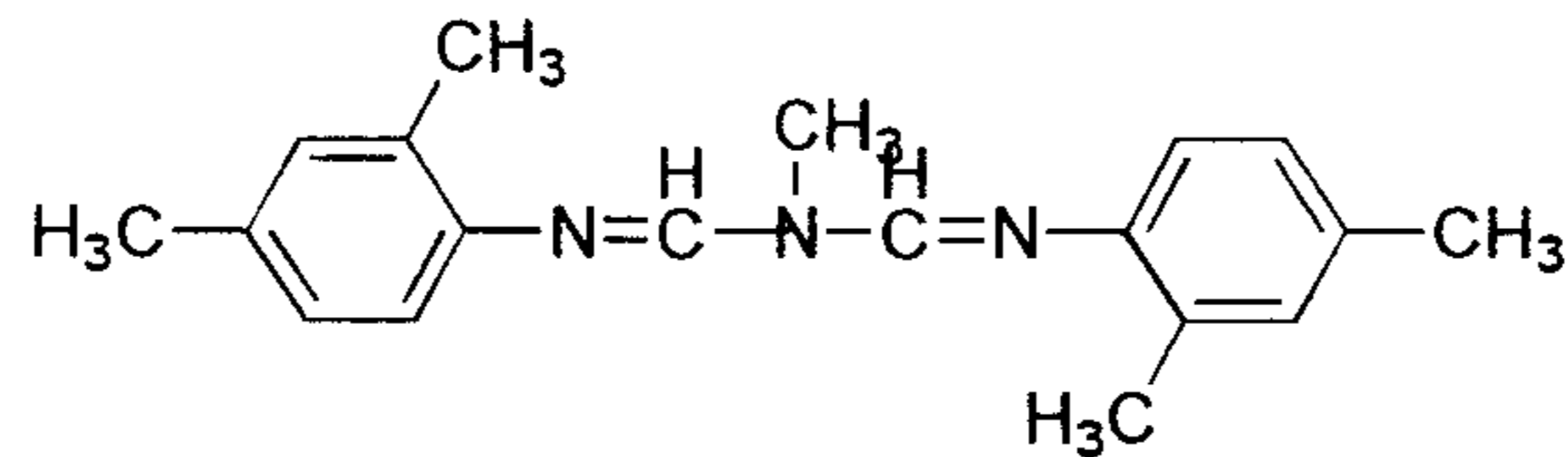
제 5 항 : 원제명, Amitraz

(1) 상품명 : Azadieno, Azaform, Ectodex, Micut, Maticur, Mitac, Triatic, Triatox, Taktic 등으로 사과,감귤, 소나무, 기타 과수용애류에 사용되어온 약으로 1974년 우리나라에서는 마이캣트, Amit등의 농약으로 등록되어 amitraz 20 % 유제로 시판되었고, 바로캣트라는 훈연타입의 꿀벌진드기 구제약으로 사용된 바가 있다.

(2) 화학명: N-methyl bis(2,4-xilyliminomethyl)amine; N,N'
bis(2,4-xilyliminomethyl) amine; 1,5-di-(2,4-dimethylphenyl)-3-
methyl-1,3,5-trizapenta-1,4-diene

분자식 : C₁₉H₂₃N₃

구조식 :



Amitraz

(3) 생산회사; The Boots Co., AgrEvo, Atabay, Q.E.A.C.A.

(4) 관련특허 및 문헌;

a) Sledzinski, B.; Cieslak, L., Pol. PL 146200 (86-258463)
(1986); *C.A* 112:55261

b) Kruk, I.; Bounias, M., *Sci. Total Environ.* 123-124 and
195-203 (1992); *C.A.* 118: 6499.

c) D'Angelo, M.; Radrigues, M. A. La R., *Ecotoxicol.
Environ. Saf.* 33(2), 163-167 (1996) ; *C. A.* 124: 335279.

d) Gusejnov, Firudin I.; Moskva Viktor V., et al., SU
90-4815192 (Russian Pat.), *C. A.* 123: 339373.

e) Han, H.; Hu, W.; Li, Q., *Zhejiang Gongye Daxue
Xuebao* 23(1) , 16-22 (1955)(Chinese); *C. A.* 123: 32445.

f) Xu, D.; Yan, W.; Xu, Z., *Zhejiang Gongye
Daxue Xuebao* 23(1), 8-15 (1995) (Chinese); *C. A.* 122:
308623.

g) Xu, Z., Yan, W.; *Zhejiang Gongxueyuan Xuebao* 38,
1-7 (1988) (Chinese); *C. A.* 110: 231190.

h) Dudai, Y.; Buxbaum, J.; Corfas, G.; Ofarim, , M.,*J. Comp.
Physiol.*, A 161(5), 739-746 (1987), *C. A.* 108: 17473.

- I) Yim, G. K. W.; Holsapple, M. P.; Pfister, W. R.; Hollingworth, R. M. *Life Sci.* **23** (25), 2509–2515, ; *C. A.* 90: 116136
- j) Harrison I. R., et al, U. S. Pat 3,884,968 (1975).
- k) Harrison, I. R.; Kozlik, A. ; McCarthy, J. F.; Palmer, B. H.; Wakerley, S. B.; Watkins, T. I.; Weighton, D. M. *Pesti. Sci.* **3**, 679–680 (1972).
- l) Martinuzzi, E. A.; Colonna, A. O.; BR 8203202 (1983) (Brazil pat.) ; *C. A.* **100**: 6100
- m) Martinuzzi, E. A.; Colonna, A. O.; BR 8207373 (1983) (Brazil pat.) ; *C. A.* **99**: 158040
- n) Guedes, M. J.; Fernandez, B. H.; Prevedello, M. R., BR 8206729 (1982); *C. A.* **99**: 157986.
- o) Harrison, I. R.; McCarthy, J. F.; Palmer, B. H.; Kozlik, A. Ger. Offen DE 2061132 (1971).; *C. A.* **75**: 63443.
- p) GB 1327935.
- q) U. S. Pat. 3700720.
- r) Harrison I. R., et al, U. S. Pat 3781355 (1973).
- s) Takeo S., Ichiko, M., Yoshihiko I., *J. Org. Chem.*, **36**(19) 2876–2880 (1971).
- t) Harrison I. R., Tick Biol. Control. (Proc. Int. Conf.) 123–127 (1981).
- u) Harrison I. R., et al, U. S. Pat 3,729,565 (1973).
- v) Harrison I. R., et al, U. S. Pat 3,864,497 (1975).
- w) Winlson, W. T., Collins, A. M.; *American Bee Journal* **33**(12) 871 (1993).
- x) Douglas D. C.; *American Bee Journal* **32**(12) 764 (1992).

(5) 물리, 화학적 특성: 무색의 단상 결정성고체, 분자량 293.4, 녹는 점 86-83 °C, 증기압(vapor pressure)0.34 mpa, 점도 1.128 g/cm³, PKa 4.2, 흡표면에서 햇빛에의해 분해되는 속도 DT₅₀ < 1h, PH 7 이하에서 분해되기 쉬우며 수분에 의해서도 분해되기 쉬움, 물에용해도 <1mg/1L, 300g/ 1L of acetone, xylene.

(6) 독성데이터: 쥐에 경구투여시 LD₅₀은 1600 g/kg, 꿀벌에 경구 투여시 LD₅₀은 0.012 Al/Bee, LD₅₀은 3.6 mg,

(7) 사용상의 특징: 농약 살충제로 시중에서 판매되고 있는 제품 마이갓트(Mitac)을 솜에 묻히거나 작은 용기에 담아서 벌통의 입구에 놓아 약제가 혼중되어 벌통내부로 스며들어가면서 약효가 발휘되는데 약해, 남용등의 위험한 요소를 갖고 있다.

(8) 약효의 특성: 혼중제로 사용가능하며 화학구조식으로 볼때 가수 분해가 잘되므로 보관이 용이하지 않다. 즉 화학구조상 C=N결합이 있어서 불안정한 물질의 특성이 있고, 특히 산에 약한 화학적 특성으로 보관 및 사용상의 어려움과 제제화의 난점이 있다.

(9) 원제의 습득: 국내에서 응애구제약 농약으로 사용되고 있는 제품인 마이갓트는 amitraz 20%, 용제 및 안정제 (극미량) 을 혼합한 것이다. 크로마토그래피법에 의해서 amitraz를 분리하여 구조를 확인였다.

(10) 분석결과:

① 수소핵자기공명스펙트럼 : 부록 1, Fig 11

¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ 2.26 and 2.29 (2s, 12H, CH₃), 3.49 (s, 6H, NCH₃), 6.69-7.00 (m, 6H, ArH), 7.95 (s, 2H, vinyl CH);

② 적외선흡수스펙트럼: 부록 1, Fig 12

IR (KBr) 1080, 1200, 1292, 1598, 1566 cm^{-1} ;

③ 얇은막크로마토그래피법 (Silical Gel GF254, 전개용매 n-hexane : ethyl acetate = 40:10), Rf 값 = 0.53 .

(11) 합성법:

a) N-2,4-Dimethylphenyl-paratoluenesulfonate G 의 합성. 2,4-디메틸아닐린(12.11 g, 0.1 mol)과 N-메틸포름아미드(42.41 g, 42 mL, 0.718 mol)혼합물을 실온으로 유지하고 파라-톨루엔술폰닐클로라이드(23.83 g, 0.125 mol)을 반응시키면 발열 반응이 일어난다. 따라서 반응물의 온도를 20-30 °C를 유지하기 위하여 파라-톨루엔술폰닐클로라이드를 20분간에 걸쳐서 적가하였다. 이것을 찬물에서 2시간 동안 반응하고 찬물에 부은 다음 10N-수산화나트륨으로 PH 10-11로 조절하면 생성되는 흰색 침전을 얻었다. 이것을 메틸렌클로라이드에 녹이고 무수황산마그네슘으로 건조하고 용매를 제거하여 기름상의 액체를 얻었다. 반응생성물을 cyclohexane에서 재결정하여 흰색 침상 결정(3.37 g, 8.6 %)를 얻었다. 얇은막크로마토그래피에서의 에틸아세테이트와 노르말-헥산(1:1)혼합용매에서의 Rf 값은 0.25이며 GC-질량분석스펙트럼에서 분자량 275로 화합물 G가 증명되었다.

녹는점 92-93 °C;

수소핵자기공명스펙트럼 : 부록 1, Fig 13 참조:

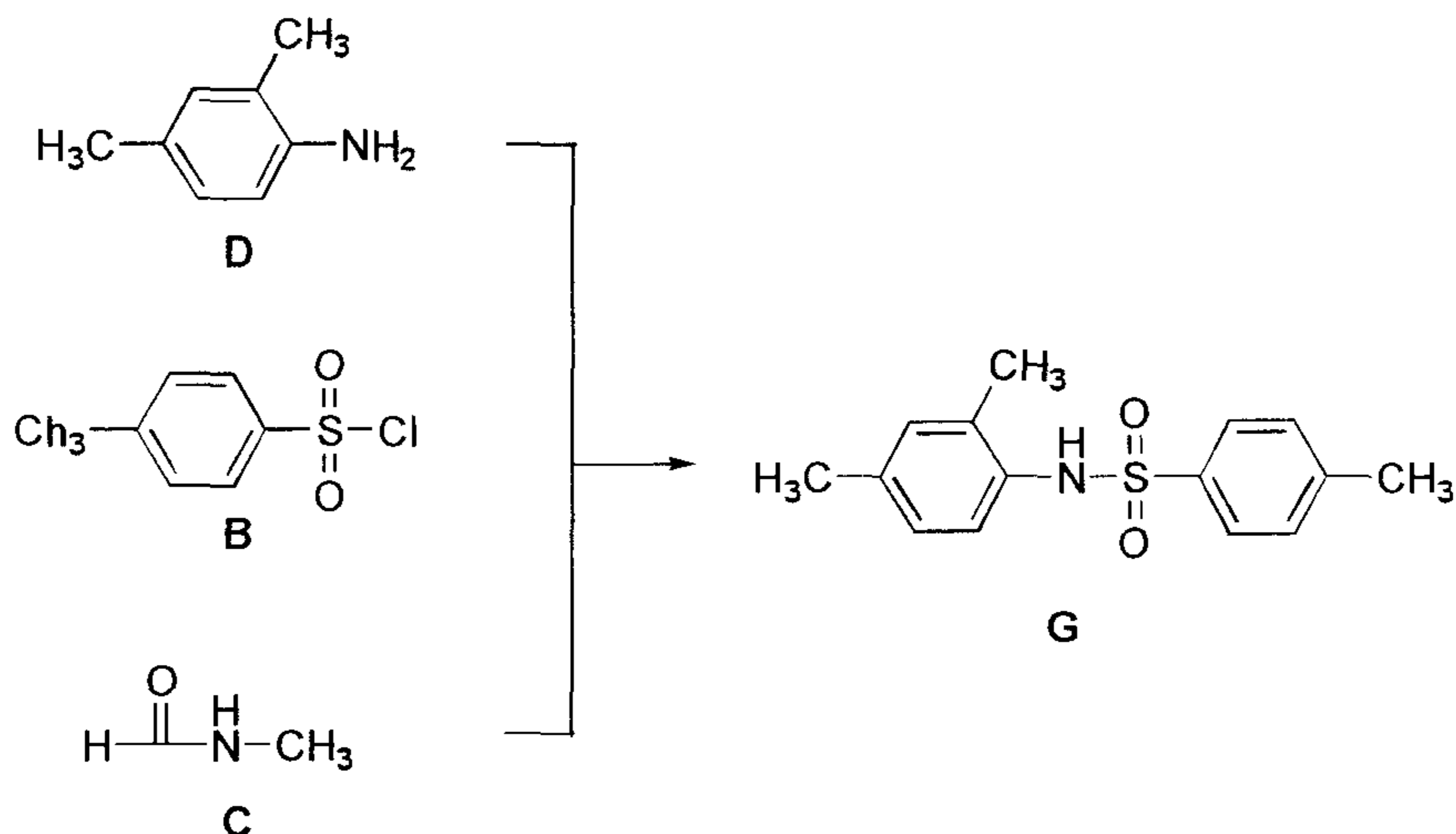
^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ 1.96 (s, 3H, CH_3), 2.25 (s, 3H, CH_3), 2.39 (s, 3H, CH_3), 6.43 (s, 1H, NH), 6.90-7.62 (m, 7H, 2XArH);

IR(KBr) 1500, 1332, 1164, 678 cm^{-1} ;

mass spectrum (70 eV) m/z (relative intensity) 275 (M^+ , 41), 120 ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}$, 100).

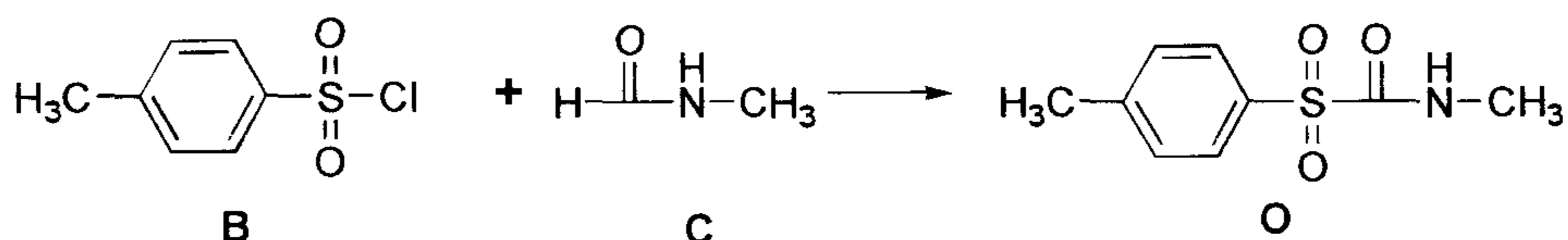
이 NMR tube에 증류수 1 drop을 가하고 세계 10분간 흔들어

아민의 중수소 치환반응을 한 다음 수소핵자기공명스펙트럼을 보았다. ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ 1.96 (s, 3H, CH_3), 2.25 (s, 3H, CH_3), 2.39 (s, 3H, CH_3), 6.89-7.62 (m, 7H, 2XArH)로서 6.43 ppm에 나타났던 단일선의 아민기가 없어졌다 (부록 1, Fig 14 참조).



Scheme 5-1. Sulfonime G

b) p-Toluenesulfonyl-N-methylamide **O** 의 합성: 파라-톨루엔술포닐클로라이드(2.383 g, 0.0125 mol)과 N-메틸포름아미드(4.241 g, 4.0 mL, 0.0718 mol)를 반응시키면 p-toluenesulfonyl-N-methylamide **O** (2.58 g, 97 %)가 수율로 얻어졌다. 얇은막크로마토그래피에서의 에틸아세테이트와 노르말-헥산(1:1) 혼합용매에서의 R_f 값은 0.37이며 GC-질량분석스펙트럼에서 분자량 213로 나타났다 (부록 1, Fig 15 참조).



c) N-2,4-Dimethylphenyl-N'-methylformimidine **E** 의 합성.

방법 1]

단계 1] 2,4-디메틸아닐린 염산염 **A**의 합성: 2,4-디메틸아닐린 (60.9 g, 61 mL, 0.5 mol)에 35% 염산용액(52 g)을 20분간에 걸쳐서 가하면 반응온도가 70 °C까지 상승한다. 이것을 얼음 욕조에서 교반하여 냉각시키면 흰 침전이 생성되며 이것을 여과한 다음 다시 에틸알콜에 부유시켰다가 여과하여 정제하고 에틸에테르로 씻어낸 후 감압펌프에 의해 건조시켜 백색의 2,4-디메틸아닐린의 염산염(51 g, 65 %)를 얻었다. 모액을 감압증발시켜 용해량을 최소화시킨 다음에 에틸알콜과 에틸에테르 혼합액중에서 결정화하면 연갈색의 염산염(25 g)을 더 얻을 수 있었다. 전체수율이 97%가 되었다.

단계 2] N-2,4-Dimethylphenyl-N'-methylformimidine **E**의 합성 : 2,4-디메틸아닐린 염산염 **A**(15.768 g, 0.1 mol)과 N-메틸포름아미드(41.35 g, 0.70 mol)의 혼합물을 40 °C미만이 되도록 유지하며 교반하면서 파라-톨루엔술폰닐클로라이드(29.83 g, 0.125 mol)과 를 5분간에 걸쳐서 적가하였다. 상온에서 1시간 동안 더 반응하면 갈색 용액으로 되었고 이것을 찬물(200mL)와 얼음(100g)혼합액에 한번에 붓으면 무색의 맑은 용액이 되었다. 반응혼합물을 10N 수산화나트륨 수용액으로 PH 9-11가 되도록 맞추면 침전이 생성되었고 이를 여과하여 백색 침상의 결정(10.5 g)을 얻었다. 생성침전물을 메틸렌클로라이드에 다시 녹이고 무수황산마그네슘으로 건조 후 여과하고 용매를 감압 증발로 제거하여 높은 순도의 흰색고체인 N-2,4-Dimethyl-N'-methylformimide **E** (10.0 g, 65 %)을 얻었다(Fig 14). 이것은 에틸아세테이트와 노르말-헥산(1:1, v/v)혼합 전개액에서 Rf값이 0.2인데 끌고 올라가는 모양이 U. V. Lamp에 극성이 강한 형태로 나타났다. 이것은 실온에서 아미트라즈로 약 10 % 전환되어 있었다.

방법 2]

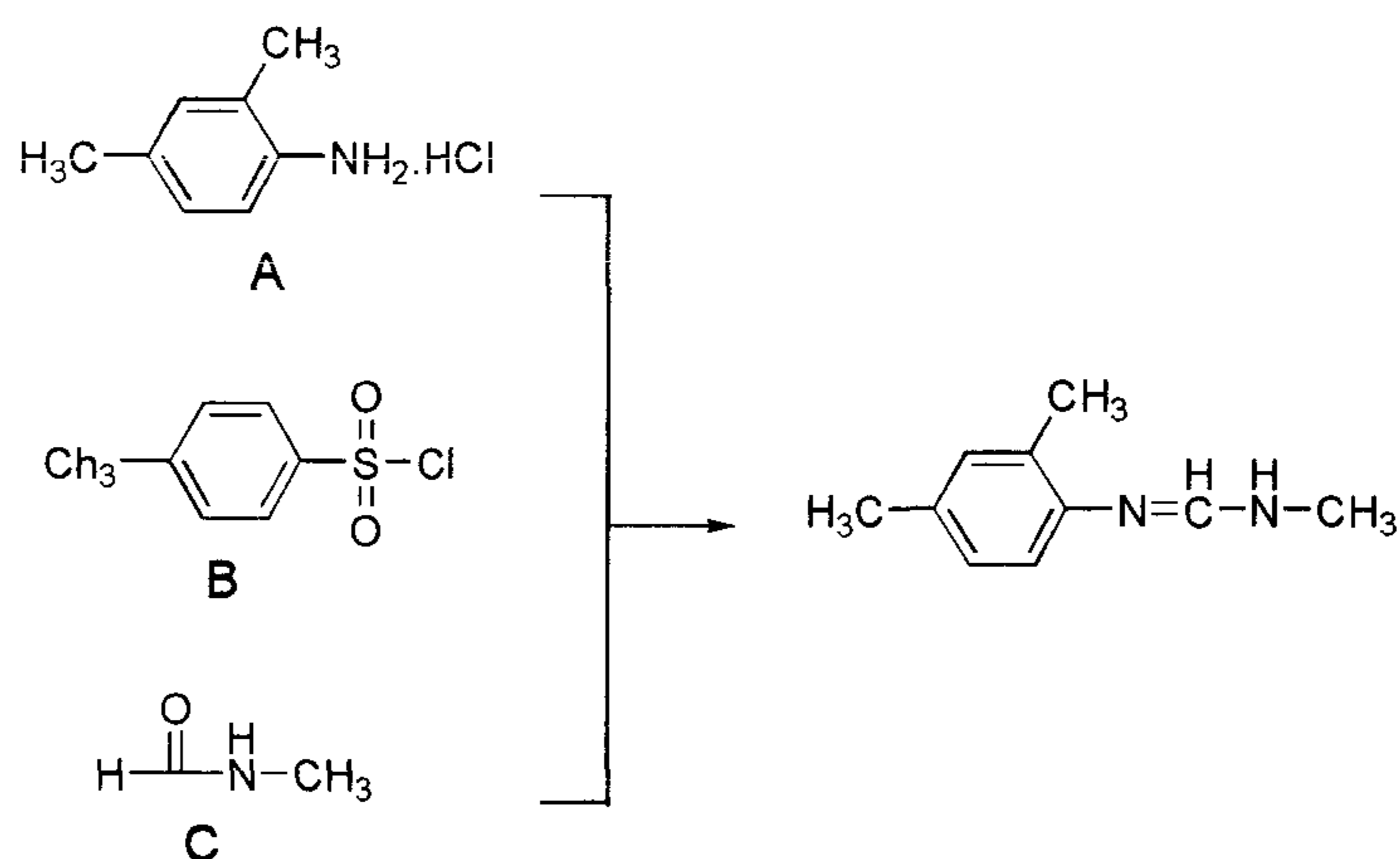
2,4-디메틸아닐린 염산염 A(1.578 g, 0.01 mol)과 N-메틸포름아미드(4.13 g, 4.0 mL, 0.070 mol)을 실온에서 녹인 혼합액에 파라-톨루엔술폰닐클로라이드(2.383 g, 0.0125 mol)를 반응온도가 30-35 °C 되도록 유지하여 가한 다음 실온으로 온도를 유지하고 1시간 동안 반응하고 찬물(60 mL)에 부으면 흰 우유빛 부유물이 생성되었다. 반응혼합물을 10 °C이하로 유지하면서 10N 수산화나트륨 수용액으로 PH 10-12로 조절하면 흰 침전이 생성되었고 이것을 즉시 여과하여 다시 클h로포름에 녹이고 방법1]과 같이 정제하여 백색 여과물(1.1 g)를 얻었다. GC-질량 분석스펙트럼에서 분자량 162로 화합물 E가 증명되었으며 아미트라즈가 약 10% 전환된 혼합물이었다.

녹는점 74-76 °C;

^1H NMR (300 MHz)(CDCl_3) δ 2.24(s, 3H, Ar- CH_3), 2.28(s, 3H, Ar- CH_3), 2.98(s, 3H, N- CH_3), 4.50(br, s, 1H, NH), 6.66 (d, J=7.8 Hz, 1H, 6-ArH), 6.91 (d, J=7.8 Hz, 1H, 5-ArH), 6.97 (s, 1H, 3-ArH), 7.51 (br, s, 1H, N=CH) (부록 1, Fig 16 참조).

IR(KBr) 1634, 1492, 1210 cm^{-1} ;

mass spectrum (70 eV) m/z (relative intensity) 162 (M^+ , 100), 147($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, 44), 132($\text{M}^+ - \text{NHCH}_3$, 70)



Scheme 5-2.

N-2,4-dimethylphenyl-N'-methylformimide **E**

(Step 1)

d) 1,5-Di-(2,4-dimethylphenyl)-3-methyl-1,3,5-triazapenta-1,4-diene (Amitraz) 의 합성.

방법 1] N-2,4-Dimethylphenyl-N'-methylformamimidine **E**(0.5 g, 3.086 mmol) 크실렌용액(10 mL)에 녹이고 파라-톨루엔술폰산(0.01 g)을 가한 다음 24시간 동안 가열 환류하면서 반응하였고 반응 용매를 감압 증발로 제거하여 연갈색과 흰색의 중간정도의 기름상액체인 아미트라즈 (42%)를 얻었다.

방법 2]

N-2,4-디메틸페닐-N'-메틸포름아미딘 **E**(10 g, 61.7 mmol)를 크실렌(200 mL)에 녹이고 파라-톨루엔술폰산(587 mg, 3 mmol)를 가한 다음 24시간 동안 가열 환류하였다. 반응혼합물을 상온으로 냉각하고 감압 증발하여 연갈색 기름상의 액체를 얻었다. 이것을 에틸아세테이트와 n-헥산 (8:2, v/v)을 전개액으로 짧은 관크로마토그래피로 분리하여 연갈색 고체인 1,5-Di-(2,4-dimethylphenyl)-3-methyl-1,3,5-triazapenta-

1,4-diene (7.23 g, 80 %)을 얻었다. 이것은 이소프로필알콜에서 재결정하여 흰색 침상 고체를 얻었다. 녹는점 87-89 °C; ¹H NMR (300 MHz)(CDCl₃) δ 2.26(s, 6H, Ar-CH₃), 2.29(s, 6H, Ar-CH₃), 3.49(s, 3H, N-CH₃), 6.70 (d, J=7.8 Hz, 2H, 6-ArH), 6.95 (d, J=7.8 Hz, 2H, 5-ArH), 7.00 (s, 2H, 3-ArH), 7.95 (br, s, 2H, N=CH); IR(KBr) 1622, 1598, 1082 cm⁻¹; mass spectrum (70 eV) m/z (relative intensity) 293 (M⁺, 60), 278(M⁺-CH₃, 2.5), 263(M⁺-(CH₃)₂, 3.0), 162(60), 147(71), 77(100).

방법 3]

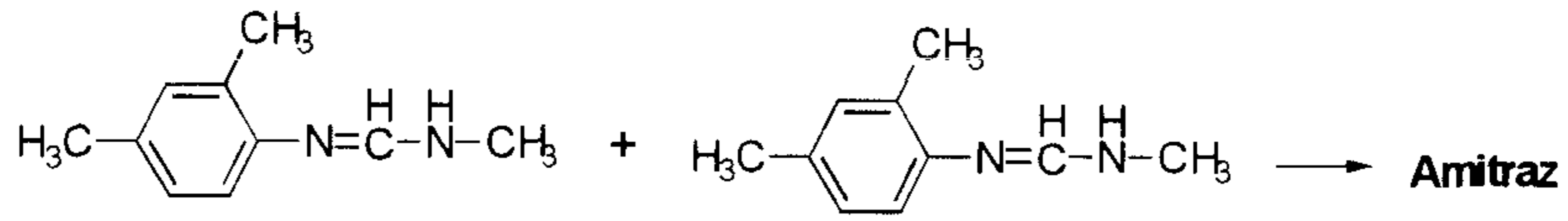
N-2,4-디메틸페닐-N'-메틸포름마미딘 E(16.2g, 0.1 mol)의 무수에탄올(80 mL)에 녹이고 파라-톨루엔술포산(951 mg, 5 mmol)를 가한 다음 28시간 동안 가열 환류하였다. 반응혼합물을 감압 증류하여 용매인 에탄올을 약 40ml 제거하였다. 이것을 상온에서 48시간 동안 방치하면 갈색 고체 아미트라즈(8.45 g, 58 %)을 얻었다. 이것의 ¹H NMR, 녹는점 및 질량 분석 결과 방법1]에서 얻은것과 동일하였다.

방법 4]

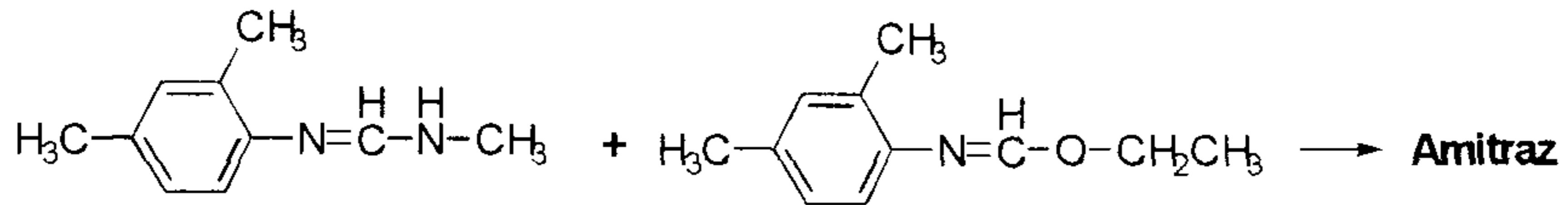
N-메틸포름마미드 C(4.13g, 4 mL, 70 mmol)에 2,4-디메틸아닐린 염산염 A(1.58 g, 10 mmol)을 녹이고 반응 온도를 35 °C로 유지하면서 토실 클로라이드 B(2.3 g, 12 mmol)를 적가하였다. 반응혼합물을 2시간 동안 더 교반한 다음, 질소 충전하에서 톨루엔(80ml)를 가하고 48시간 동안 가열 환류하였다. 생성 혼합물을 상온으로 냉각한 후, 여과하고 여액을 방법1]과 같이 후 처리과정을 거쳐 생성물 E(1.54 g, 52.4 %)을 얻었다. 앞서 기술한 분석 결과(10)에 수소핵자기공명스펙트럼, 적외선흡수분광스펙트럼, 얇은막크로마토그래피로 나타냈다.

본 방법은 다음 그림에 나타낸 것처럼 3가지 방법이 있으나 산축매에 N-2,4-Dimethyl-N'-methylformamide E를 이합화하는 방법을 택하였다.

[Method 1]



[Method 2]



[Method 3]

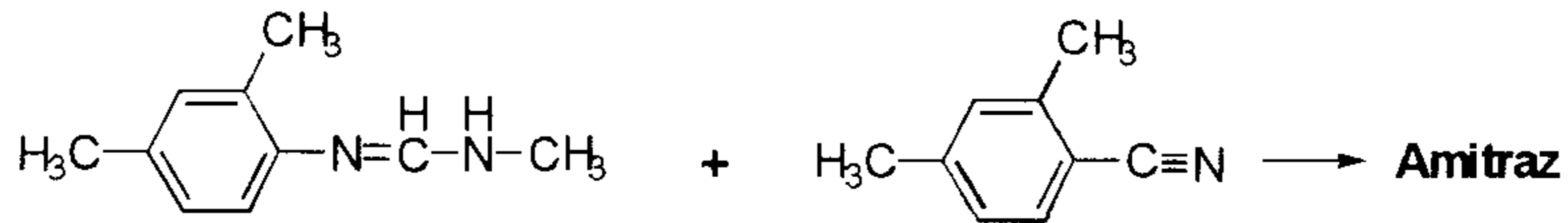
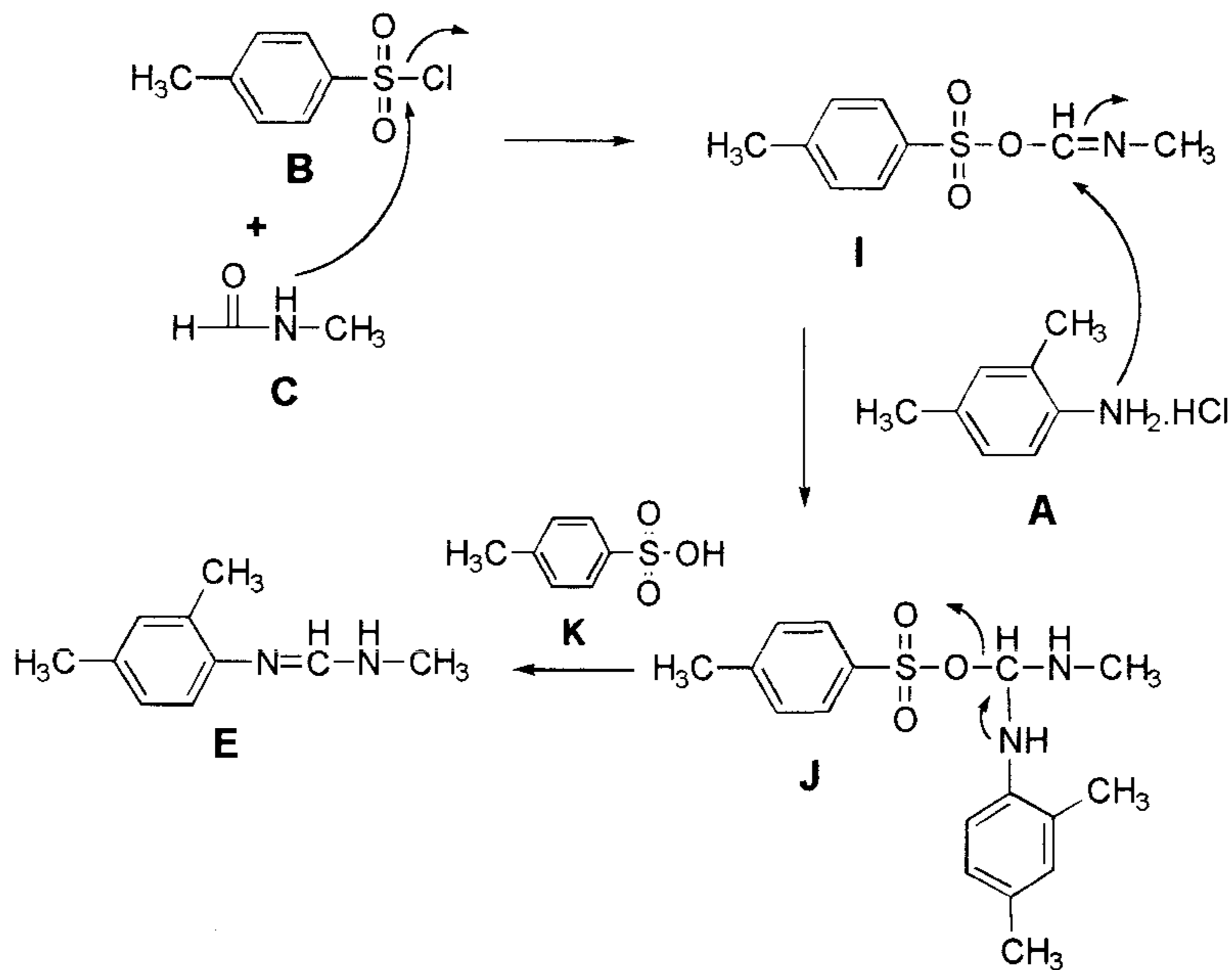
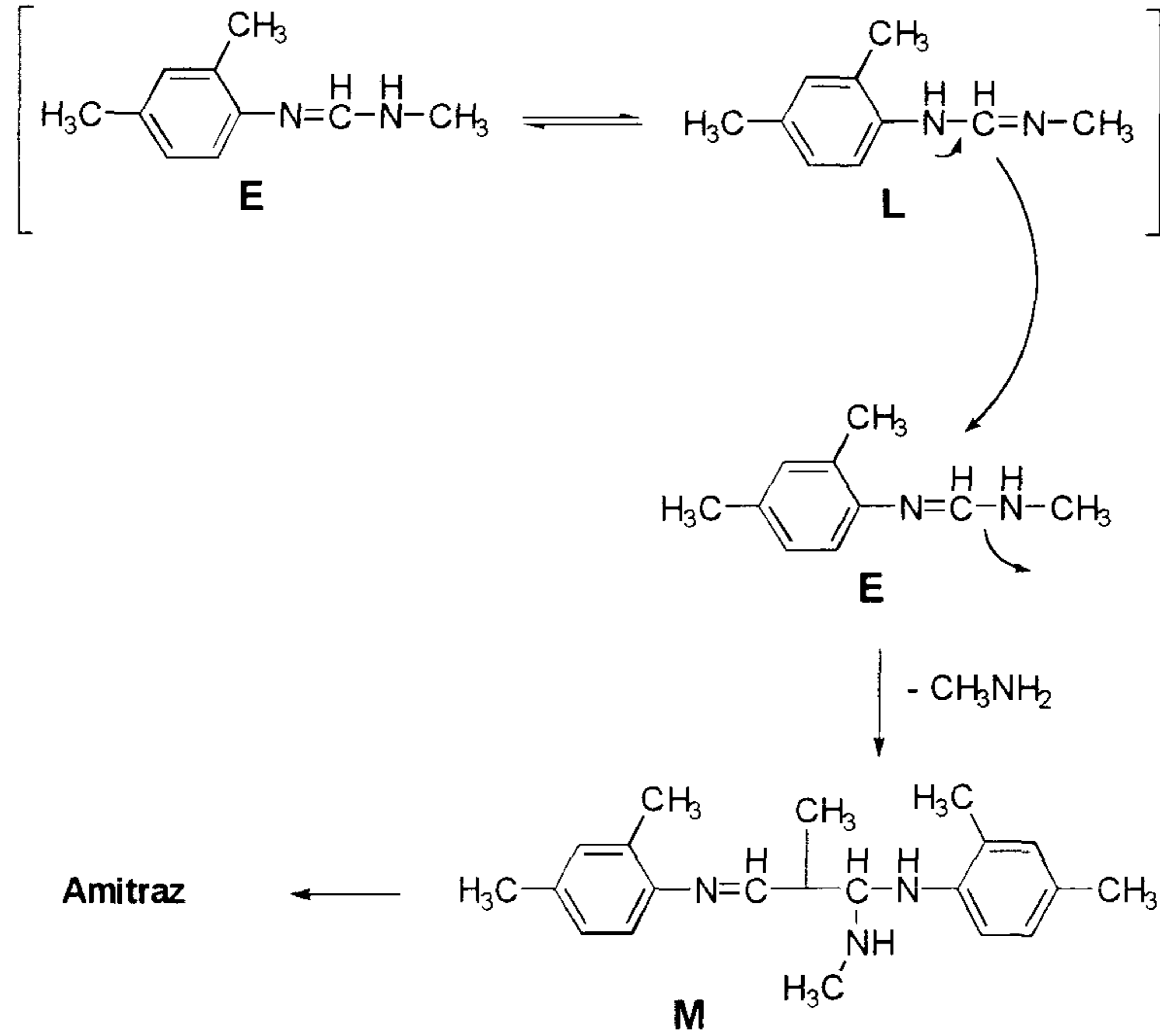


Fig. Preparation of Amitraz (Step 2)

e) 전체반응결과에 대한 토의 및 생성 반응기전.





아닐린과 염산을 당량으로 반응시켜 아닐린 염산염 **A**를 제조하고 두번째 단계로 N-메틸포름마미드 **C**와 아닐린 염산염 **A**의 혼합액에 파라-톨루엔술폰닐클로라이드 **B**을 반응하여 N-2,4-디메틸페닐-N'-메틸포름마미드 **E**를 합성하였다. 세번째 단계에서는 합성된 화합물(5)의 이합체화반응(dimerization reaction)에 의해서 1,5-디-(2,4-디메틸페닐)-3-메틸-1,3,5-트리아자펜타-1,4-디엔를 얻었다.

첫번째 단계에서 아닐린염산염 **A**을 일반적인 방법으로 만들 수 있었다. 톨루엔, 벤젠, 자일렌등의 무수유기용매의 아닐린 용액에 염화수소가스를 가하여 제조하면 다음 반응으로 직접 진행할 수 있는 유리한 점이 있으나 독가스인 염화수소를 다루는 것이 불편하고 고가이므로 진한염산을 사용하였는데 이때 강한 발열 반응으로 45 °C 이상 반응온도가 올라가면 갈색 침전이 생성되므로 얼음 수욕조에서 40 °C 이하로 반응하여 고순도의 아닐린 염산염을 얻을수 있었다. 반응후 처리시 진한 염산 대신 1N에서 6N 의 묽은 염산을 사용할 수 있으나 다시 물을

제거해야하고, 결정화하는데 물의 양이 최소인 것이 유리하였으며 결정화 및 여과시에 역용매(anti-solvent)로 에틸에테르를 사용하면 상온에서도 건조 시간이 짧은 장점이 있었다. 아닐린·염산염 **A**은 에틸알콜 소량으로 가온하여 녹인 다음 서서히 냉각, 방치하여 재결정하였다. 두 번째 단계에서 2,4-디메틸아닐린·염산염 **A** 1당량에 N-메틸포름아미드 **C**를 과량(4-7배) 가하여 녹이고, 파라-톨루엔술폰닐클로라이드 **B**은 반응물 **A**에 대하여 25% 과량 가했는데 공장화 단계에서는 2,4-디메틸아닐린·염산염 **A**와 같은 당량 까지 현저히 낮출수 있을 것으로 생각되었다. 파라-톨루엔술폰닐클로라이드 **B**을 가하면 강한 발열 반응으로 서서히 적가하는 것이 유리하였으며 발열 온도를 관찰하여 적가 속도를 늦춤과 동시에 찬 얼음 욕조로 냉각시키는 것이 좋았는데 온도만 40 °C 이하로 유지할수 있다면 적가 속도는 더 빨라도 될것으로 생각되었으며 완전한 생성물로의 전환을 위해 반응시간을 1시간 더 교반하였다. 반응이 종료된 것을 얇은막크로마토그래피로 확인하고 10N-수산화나트륨으로 pH 9-11으로 조절하여 생성되는 고체 부산물은 제거하였다. 중간 생성물 **E**의 합성시에 최종물질 아미트라즈이 약 10% 얻어 졌는데 반응온도를 상온으로 낮추고 파라-톨루엔술폰닐클로라이드 **B**을 서서히 가하는 경우에 N-2,4-디메틸페닐-N'-메틸포름아미드 **E**의 생성을 증가시킬 수 있었다.

중간체 **E**는 수소핵자기공명스펙트럼에 의하면 페닐유도체의 두 개 메틸기는 각각 강한 intensity를 나타냈고, 2차 아민기는 넓은단일기(broad single spectrum)을 나타냈으며, 중수소 치환반응으로 확인할 수 있었다. 페닐기의 5,6-위치의 2개의 수소는 coupling constant 값이 7.8 Hz였다. 이미노기의 비닐수소는 δ 7.51 ppm의 낮은 자기장에서 나타났다. 질량분석스펙트럼(GC mass)에서는 분자이온(M^+)이 상대크기 100으로 나타났다.

N-메틸포름아미드**C**의 아미드의 질소 비공유전자쌍이 파라-톨루엔술폰닐클로라이드 **B**의 유힘을 공격하여 중간체 **I**으로 된 다음 아닐린

· 염산염 A의 아민질소가 화합물 I의 이민 탄소를 공격하여 두 번째 중간체 J이 생성된 다음 화합물 E로 전환된 반응기전을 제안하였다. 이때 염화 수소가 유리된 2,4-디메틸아닐린을 사용할 경우 아닐린의 질소 비공유전자쌍이 N-메틸포름마미드 C의 아미드 질소의 비공유전자쌍보다 친핵성이 강하여 파라-톨루엔술폰닐클로라이드 B의 유험에 친핵성 반응을 우선하게 공격하여 부산물인 화합물 I이 생성된 것으로 추정되므로 아닐린 · 염산염 A으로 이민 질소의 친핵체로서의 반응성을 조절하는 것이 유리하다고 판단되었다.

중간체 E는 2차 탄소의 양옆에 2개의 질소 즉 이미노기와 2차아민을 함께 갖고 있으며 화합물 L과 같이 평형 상태로 존재하는데 (Takeo et al, 1971) 온도가 상승하면 L의 아민의 비공유전자쌍의 추진력(driving force)에 의해 콘쥬게이트되어 있어 메틸옆 이민이 중간체 E의 탄소를 공격하여 중간체 M가 생성되고 생성물인 아미트라즈로 전환된 것으로 생각되었다.

N-2,4-디메틸페닐-N'-메틸포름마미드 E는 분자간 반응의 이합체화 과정에서 N-메틸 질소와, C=N의 이중결합이 관여된 반응으로 생각되며 분자량이 중간화합물 E의 배(분자량 324)로 증가되었다가 메틸아민(M⁺ 31)이 쉽게 제거되는 결과로 최종 생성물 아미트라즈가 얻어졌다. 또한 출발물질 A와 C를 먼저 가하고 다음으로 토실 클로라이드 B을 1.3당량 가하였으며, 비극성 톨루엔 용매에서 과량으로 넣은 B의 잔유물과 부산 산성물질이 산 촉매작용을 하므로서 이합체화반응을 촉진하여 생성물인 아미트라즈가 52 % 수율로 전환됨도 확인하였다.

화합물 아미트라즈의 구조는 3차 N-메틸기를 중심으로 이미노-2,4-디메틸아닐린이 대칭으로 놓여있다. 수소핵자기공명스펙트럼에서 아닐린의 오르토, 파라, 두 개의 메틸기의 수소가 대칭으로 6개씩 δ 2.26 ppm 과 δ 2.29 ppm에 각각 단일선으로 나타냈고, N-메틸기는 δ 3.49 ppm에 단일선을 나타냈으며, 이미노기의 대칭인 2개의 비닐수소는 δ 7.95 ppm에 넓은 단일선을 나타냈다. 화합물 아미트라즈의 질량분석

스펙트럼은 분자이온(M^+)이 상대크기 60으로 m/z 293에 나타났고, GC에서 분열된 페닐기가 상대크기 100으로 m/z 77를 나타냈다.

상기 반응에서 2,4-디메틸아닐린, 염산염을 사용하는 것은 중요한 know-how이었다. 만약 성질이 유사한 유리된 아민상태의 2,4-디메틸아닐린을 대신 사용할 경우에 강한 발열반응이었으며 반응생성물은 N-2,4-디메틸페닐-파라톨루엔술폰네이트 O임이 밝혀졌다. 또한 N-메틸포름마미드와 p-톨루엔술폰닐클로라이드를 같은 당량으로 반응하고 cyclohexane용매로 녹여 24시간 이상 상온에서 방치하면 수정형 결정성 고체인 화합물 O가 7.6 % 수율로 얻어졌다. 이것은 매우 안정하였고 옅은막크로마토그래피에 의하면 에틸아세테이트와 헥산(40:10, v/v)혼합 전개액에서 R_f 값이 0.25 였다. 질량분석 스펙트럼에 의하면 분자이온(M^+) 275가 확인되었고, 수소핵자기공명스펙트럼 및 중수소 치환반응으로부터 N-2,4-디메틸-파라톨루엔술폰네이트 O의 구조를 확신할 수 있었다.

(12) 제형화: 제형화를 PVC 또는 폴리에틸렌으로 스트립 형태를 만들고자 구상하여 기존 약과 비교하였다 (표 9).

아미트라즈는 백색의 분말로 톨루엔, 자일렌등의 용매에 잘녹아서 제형화시에 첨가제와 같이 혼합하여 폴리에틸렌 수지 또는 PVC와 혼합하였다. 즉 1개의 폴리에틸렌 스트립당 0.036g이 적량일것으로 가정하고, 가정량의 5배인 0.18g을 약량으로 정하였다. 혼합된 고체를 폴리에틸렌 수지에 골고루 섞이도록 문힌 다음 180 °C에서 압출기로 압력을 가하여 가공하였다. 이때 가소제, 첨가제를 일정 비율로 섞은 다음 온도와 압력을 가해서 blending하였고 이를 sheet plate가공법으로 제제화하였다. 이때 스트립당 아미트라즈 0.18 g, 가소제 20 %, 안정제 4%, 산화방지제 일정양의 비율이 되도록 혼합하여 브렌딩하였다. 아울러 폴리비닐클로라이드 수지에, 가소제(DOP)와 열안정제 및 산화방지제등 첨가제를 일정 비율로 섞은 다음 온도와 압력을 가해서 sheet plate하는 방법

| Chemical 특성 | Fluvalinate | Amitraz |
|-----------------------------|------------------------|-------------------------|
| 상품(농공협회) | Apistan | Miticur |
| Vapor pressure | <0.013mPa | 바로캣트 |
| State | 기름상의 액체 | 백색고체분말 |
| mp | bp >450 °C | 86-88 °C |
| 점도 | 1.29 g/cm ² | 1.128 g/cm ² |
| LD ₅₀ (경피)Rabbit | >3000mg/kg | ===== |
| LD ₅₀ (경구)rat | >20,000g | ===== |
| 응애약 | 마브릭수화제 50% 제제 | ===== |
| 응애구제약효비교 | 99 % control | 97 % control |
| 진드기약 개발시 | 800 mg/strip | ===== |
| 진드기약 | 10%아피스탄 | ===== |

표 9. Properties of Fluvalinate and Amitraz

으로 제형화하였다. 혼중 및 약효 효율성을 높이기 위하여 원료의 양 (% , w/w)을 증감하여 반복.개선 실험을 하였고, 다른 응애약과의 합제 브랜딩도 병행하였다. 과거 아미트라즈의 실패 원인은 가수분해 되는 것으로 판단하여 제제화시 가장 유의할점으로 지적되었고 둘째는 장기간 보관하여도 잘 분해가 되지 않아야 한다는 점이었다. 제품은 원료의 양 즉 w/w %에 따라서 KIST-F 계열로 앞서와 같이 명명하였고, 이같은 실험은 시행착오를 거듭하며 반복과 개선실험을 하였다. 아미트라즈 양은 국내 벌의 크기를 감안하고 기존 페리진의 약량을 참고하여 스트립 무게의 2%미만으로 정하기도 하였고 타스타와 혼제형의 제품도 약효 실험코자 제형화하였다. 스트립의 평균무게는 9-11.0 g 되도록 만들고, 폴리에틸렌 가공품의 plate 크기를 18cm x 3.5cm x 3.5 mm or 3.0mm(길이x 세로 x 두께)로 성형하였다. 이것을 벌통내 소비 사이에 걸어놓을 수 있도록 아래와 같이 제형화하였다 (표 10 참조).

표 10

| Sample | Chemical | Content | 가소제 | 안정제 | 전체무게 |
|----------|--------------|---------|------|-----|------|
| KST-T-5 | Talstar | 0.01 g | 16 % | 4 % | 9 g |
| KST-T-6 | Talstar | 0.01 g | 20 % | 4 % | 10 g |
| KST-A-7 | Amitraz | 0.18 g | 20 % | 4 % | 9 g |
| KST-TA-8 | Talstar 40 % | 0.004 g | 20 % | 4 % | 9 g |
| | Amitraz 60 % | 0.1 g | | | |

제형화 제품의 분석 : KIST-F-4, 제조한 스트립 3.6 g를 일정하게 가위로 잘라서 밀리등근 플라스크에 넣고 클로로포름 (50 ml)로 상온에서 1시간 동안 교반하여 추출한 다음 여과 후 감압 증발하여 연노란색의 투명한 기름상 액체 0.336 g을 얻었다. 이 생성물은 얇은막크로마토그래피 확인하였고, 헥산 과 에틸아세테이트(40/10, vol/vol) 전개액으로 Rf값이 0.55 였으며 아울러 수소핵자기공명스펙트럼으로도 아미트라즈 임이 확인되었다. 이실험의 목적은 본 연구실 제품의 1차 분석자료로 이용코자 한 것이다.

(13) 현장 활성화 실험

a) 아미트라즈를 프라스틱스트립에 포화시켜 사용한 것은 93% teracheal mite를 control 한다.

b)아미트라즈를 프라스틱스트립에 포화시켜 사용한 것은 70% teracheal mite를 control 한다.

c) 일주일 에 3회씩 처리한 결과임

제형 1 : 제형화한 Miticur strip을 주 3회 간격으로 3주동안 실시한 결과이다.

제형 2 : 0.2 %의 아미트라즈를 흡착시킨 여과지에 초석을 가하

여 혼연 스트립처럼 제형화한 다음 벌통의 밑 바닥에 넣고 주3회 처리한 결과이다.

제형 3 : 19.8 %의 아미트라즈 4mL를 벌통의 위쪽에 석고살 통위에 넣고 종이로 덮은 방법으로 주 3회 처리하였다.

제형 4 : 65 % 개미산 30 mL를 석고살통속에 종이패들을하여 흡착시키고 주3회 처리함.

제형 5 : 아미트라즈를 넣지 않고 제형2와 같이 만들었다.

제형 6 : 무처리군

| | 제형 1 | 제형 2 | 제형 3 | 제형 4 | 제형 5 | 제형 6 |
|---------------|---------|----------------|-------------|--------------|----------------|------|
| colonie 수 | 25 | 25 | 25 | 25 | 10 | 10 |
| 1주 후(진드기 사망율) | 35 % | 39 % | 66 % | 79 % | 34 % | 30 % |
| 3주 후(진드기 사망율) | 22 % | 23 % | 96 % | 94 % | 24 % | 25 % |
| 처리방법 | Maticur | liquid Maticur | Mitac strip | Formo c acid | 혼연스트립(Mitac없슴) | 무처리군 |

(14) 결론: 국내생산 및 사용상의 문제점

경제적인 합성방법을 통하여 국산화를 할 수 있도록 원제 합성에 성공하였다. 국내 시판중인 농약인 마이카트 유제로부터 아미트라즈 원제를 추출하여 여러 가지 분석기기를 이용하여 비교 분석의 결과 동일하였다. 이 제품은 화학구조상 판단할 때 쉽게 물과 반응하여 가수분해될 수 있고, 결국 약효가 없어질 수 있기 때문에 보관을 오래할 수 없고 사용상에도 주의가 필요하다. 따라서 아미트라즈의 화학적인 성질을 바탕으로 가수분해를 방지할 수 있는 제형화를 수립하였다.

시약의 구입, 합성방법에는 문제가 없으나 정제시에 공해성 화학 부산물이 많고 가수분해가 쉽게되므로 제형화에서 know-how 가 요구된다.

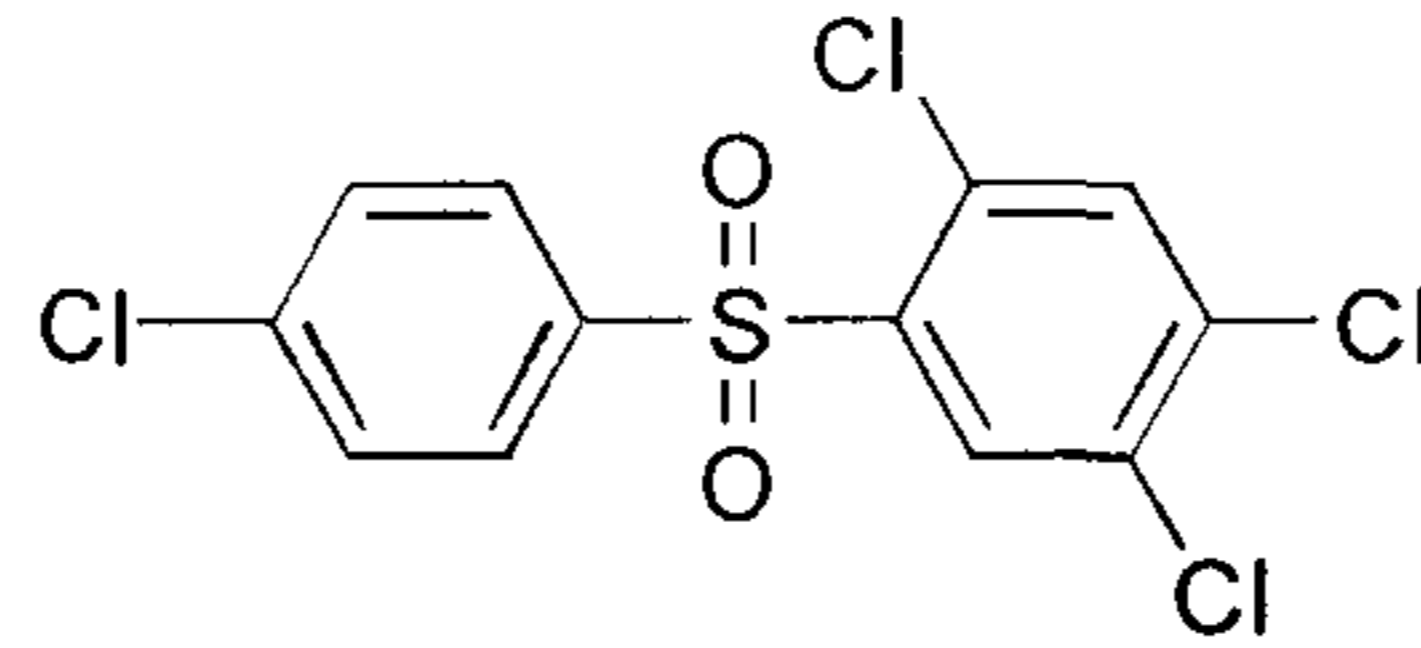
제 6 항 : 원제명, Tetradifone

(1) 상품명 : 신등전 훈연지, Tedion V-18, Tetradifone, 테니온유

(2) 화학명 : 4-Chlorophenyl 2,4,5-trichlorophenyl sulfone;
2,4,4',5-tetrachlorodiphenyl sulfone; 1,2,4-trichloro-5-[(4-chlorophenyl)
sulfonyl]benzene ; p-chlorophenyl 2,4,5-trichlorophenyl sulfone.

분자식: $C_{12}H_6Cl_4O_2S$

구조식:



(3) 생산회사 : 국내 : 성원화학, 한농, 동방, 삼공(테디온유제)

국외 : Solvay Duphar

(4) 관련특허 및 문헌 :

a) Huisman, H. O., Meltzer. J., Netherlands. W.; U. S. Pat
2,812,281 (1957)

b) Huisman H. O., Uhlenbroek J. H., Meltzwr J., *Rec. Trav.
Chem.* **77**, 103-122 (1957).

c) NL 81359

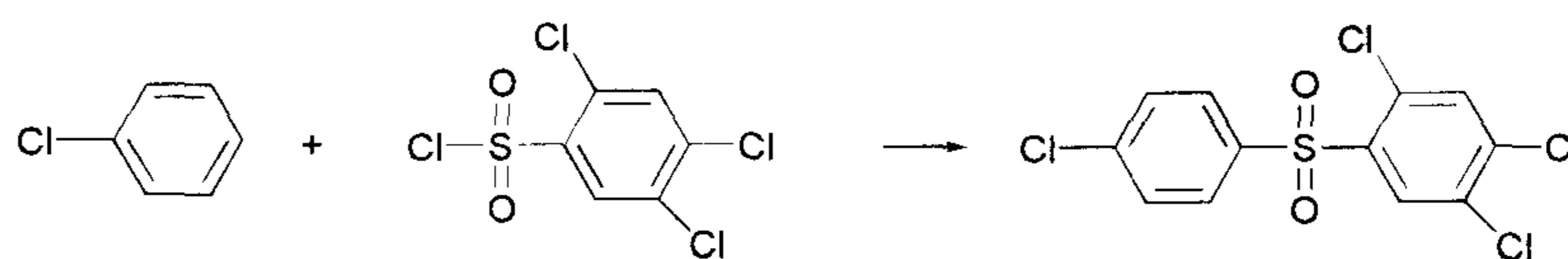
(5) 물리, 화학적 특성 : 분자량 356.0; 연노란 결정성 고체; 증기압
0.001 mPa; 녹는점. 144 °C; 산 또는 염기용액중에서 상당히 안정; 햇빛
이나 강한 산화제에도매우 안정함; 용해도, 물 0.05mg/L

(6) 독성데이터 : 쥐 (acute oral) LD₅₀ 14700 mg/ kg; 새 (bobwhite
quail) >5000 mg/kg; 물고기 (carp) LC50 >10 mg/l.

(7) 사용상의 특징 : 훈연지, 신등전훈연지는 본래 농약 살충제인 테트라디폰을 벌 진드기약으로 개발한 것이다. 테디올 유제는 tetradifone 8%, 유화제, 그리고 용제 92%의 혼합물이다. 배, 사과, 감등의 응애류 발생초기에 뿌려주는 약으로 꽃이피기전, 후에 사용되는 약으로 유기염 소제 계통의 살비제이다. 테디올 유제 사용할 때 주의 사항중에 꿀벌에 피해가 있으므로 꽃이 피어있는 기간중에 사용하면 안된다는 주의사항이 있다. 이것은 벌에 대한 독성이 다른 농약에 비하여 비교적 적다는 의미도 될 수 있다. 신등전훈연지는 종이에 일정량의 tetradifone을 흡착시킨 훈연지이다.

(8) 약효의 특성 : 벌에는 비교적 안전한 (LD50 (contact) >1250 $\mu\text{g}/\text{bee}$) 로 알려져 있다. 벌통내에서 훈연시킴으로서 벌에 붙은 진드기를 구제시킨다

(9) 합성법 : 관련특허에 따라 간단히 scheme을 살펴보았다. Tetradifone은 Friedal-craft반응에 의하여 합성된다.



1,2,4-trichlorobenzene(2.76몰)을 90 $^{\circ}\text{C}$ 로 유지하고 교반하면서 chlorosulfonic acid(19몰)을 적가한 다음 스팀욕조에서 3시간 동안 반응하였다. 반응혼합물을 냉각하고 찬 얼음물에 부으면 2,4,5-trichlorobenzene sulphonylchloride가 얻어졌다. 이것을 석유에테르에서 40-60 $^{\circ}\text{C}$ 로 끓여 녹인다음 방치하여 결정을 얻었다. 2,4,5-trichlorobenzene sulphonylchloride(0.23몰)을 물(0.28몰)을 녹인 다음 thiophene이 제거된 벤젠 용매에서 Lewis산인 aluminum chloride (0.23몰)을 가하고 실온에서 교반하였다. 반응물을 80-90 $^{\circ}\text{C}$ 의 기름욕조에서 1시간 반동안 반응하고 찬 얼음물에 부었다. 반응 혼합물을 에틸 아세테이트에 녹이고 석유에테르를 가하면 결정성 고체인

2,4,5-trichlorodiphenyl sulphone을 얻었다. 녹는점 127-129 °C.

(10) 결론 : 국내생산의 대상에서 제외되었기 때문에 본 연구에서는 합성하지 않음.

제 7 항 : 원제명, Flumethrin

(1) 상품명 : 바이바를 스트립, Bayticol

(2) 화학명 : α -cyano-4-fluoro-3-phenoxybenzyl

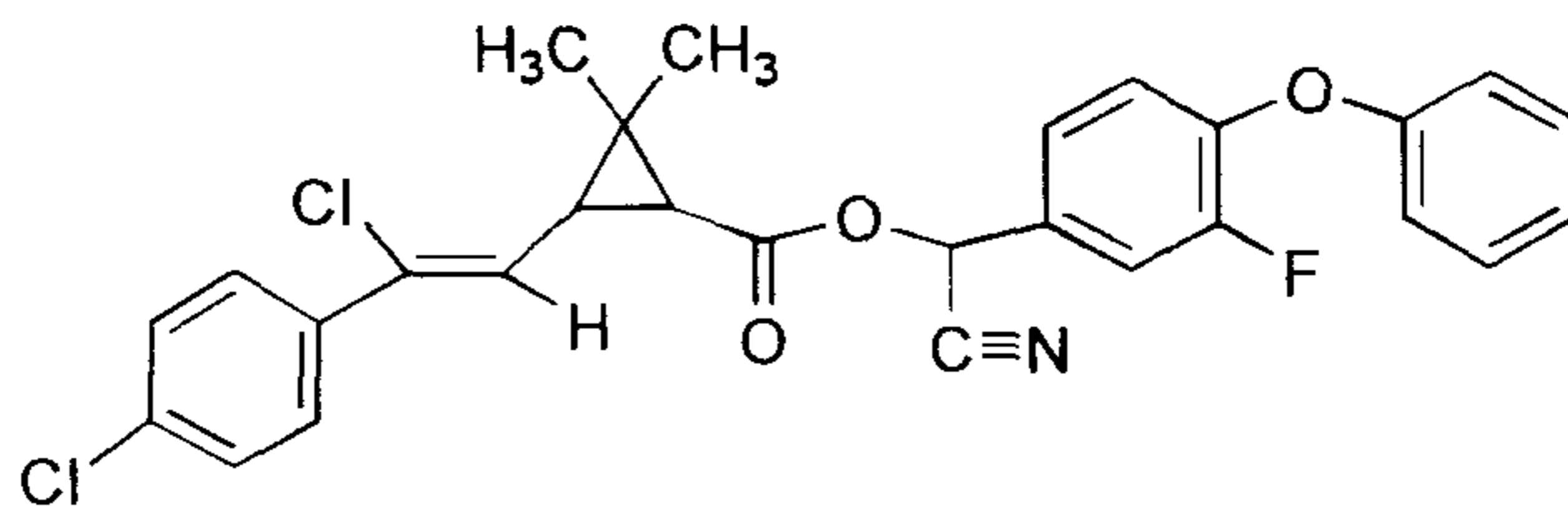
3-(β ,4-dichlorostyryl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate;

cyano(4-fluoro-3-phenoxyphenyl)methyl

3[2-chloro-2-(4-chlorophenyl)ethynyl]-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate

분자식: $C_{28}H_{22}Cl_2OFN_3$

구조식:



(3) 생산회사 :

국내 : 바이엘코리아(국내제조원은 없고 판매만 함)

국외 : 독일 Bayer

(4) 관련특허 및 문헌 :

a) Rainer F. W.; Ingeborg H. C.; Wilhelm S. W, U. S. Pat.,

4,276,306 (1981).

b) H. Neuhauser, *Vmr, Vet. Med. Rev.* 2, pp158-168 (1982).

c) T. H. Hopkins, I.R. Woodley, *Vmr, Vet. Med. Rev.* 2, 130-139 (1982).

d) *American Bee Journal*, August 564 (1995).

e) Fuchs, R. et al Eur. Pat. Appl. 26,437 (1981).

f) Eur. Pat. Appl. 24,612 (1981).

g) Fuchs, Rainer et al Eur. Pat. Appl. 24,588 (1981).

h) Ger. Pat 2730515 (1979).

i) H. Neuhauser, *Vmr, Vet. Med. Rev.* 2, 130-139 (1982).

j) Gough, H. J.; Wilkinson W.; Proc. -Br. Prot. Conf. Pests Dis, 1, pp 331-335(1984).

k) Smart, Lesley E.; Stevenson, J. H., *Bee World*, 63(4), 150-152 (1982).

l) Illarionov, A. I.; *Agrokhimiya*, 8, 121-125(1991).

m) Ferrer-Dufol, M.; Martinez-Vinuales, A. I.; Sanchez-Acedo, C.; *J. Of Apicultural Res*, 30(2), 103-106(1991).

n) Ger. Offen DE2,916,358(1980).

o) Ger. Offen DE2,932,920(1980).

(5) 물리화학적 특성 : 저밀도 폴리에틸렌 스트립에 플루메스린을 제형화하여 사용하고있음. 플루메스린 스트립 제형화 제품의 무게는 6.61 g.

(6) 독성데이터 : 일반 피레스로이드계통 화합물과 같이 어독성, 수질오염등의 염려가 있다.

(7) 사용상의 특징 : 원제 플루메스린을 폴리에틸렌에 제형화한 것으로

로 벌통내에 2주이상 6주까지 걸어놓아 진드기를 구제한다. 만상균일 경우 2-4 스트립을 사용하고 2-4매균일 경우 1-2 스트립을 사용한다. 피레스노이드 계통 농약으로 응애 구제 효능이 99%에 달한다는 비공식 보고가 있다. 바이바롤은 한 개의 스트립당 flumethrin 3.6 mg이 폴리에틸렌에 흡착시켜 성형 시킨것이다. Flumethrin은 복잡한 과정을 거쳐서 합성되는 화합물로서 국내의 시장성, 공장의 시설투자등을 고려할 때 원제의 국내생산에 의한 공급 보다는 국내의 제형화를 통한 제품화가 더 적합하다고 생각된다.

(8) 약효의 특성 : 꿀벌응애의 진단과 구제에 이용되며 아피스탄원제의 플루바리네이트에 비하여 222배의 약효가 인정된다고 보고되기도 하였다. 따라서 본 약제의 개발로 기존 피레스로이드계통의 내성에 의한 피해를 줄일수 있는 최근의 약으로 생각된다.

(9) 원제의 습득 : 국내 수입업체에서 최근에 입수함.

추출방법 : Bayvarol strip 12개를 잘게 잘라서 플라스크에 넣고 2시간 동안 메틸렌클로라이드로 추출한 다음 무수황산마그네슘으로 건조하고 여과한 후 용매를 감압증발하여 기름상의 액체를 얻었다.

(10) 분석 결과:

① 수소핵자기 공명스펙트럼 (부록 1, Fig. 17)

② 적외선 흡수스펙트럼 (부록 1, Fig. 18)

③ 얇은막크로마토그래피 : 전개용매 n-hexane:ethyl acetate = 1:1, Rf = 0.87

전자현미경 관찰: Bayvarol-strips 1편에서 일정 크기(가로x세로, 3cm X 1cm)로 잘라서 메틸알콜 20 ml로 표면만 씻어낸 다음 상온에서 건조한 후 광학 현미경으로 관찰하였다. 얻어진 시편은 본래 상품과 비

교한 결과 표면이 더 매끄러웠다. 시약(flumetrin)이 폴리에틸렌 필름의 겉에만 표면처리(coating)되어 있는가를 관찰하였다. Bayvarol-strip를 광학현미경으로 관찰하면서 메틸알콜 1방울을 떨어뜨리고 메탄올이 스트립 표면의 시약을 용해시켜 퍼져나가는지 또는 증발되는지 알아보니 알콜은 떨어진 상태에서 증발되면서 극히 일부의 coating된 시약을 녹이고 있었다. 메틸알콜이 모두 증발된 후 표면 중간에 희색 띠를 두른 듯이 표현된 것이 기름상의 원제라고 추측되었다. 이들 각각을 사진 찍어 관찰하였다.

바이바롤스트립 상품(부록 2, 사진 10)

관찰하며 메탄올 적가한 것(부록 2, 사진 11)

메탄올로 표면만 씻어낸 것(부록 2, 사진 12)

메탄올로 녹인 후 증발된 모양(부록 2, 사진 13)

(11) 합성에 필요한

a) 시약 :

3,3-Dimethyl-4-pentenoic acid methyl ester

4-Chlorobenzotrithloride

4-Chlorobenzoic acid

Potassium fluoride

Potassium cyanide

Sodium phenoxide, trihydrate

Sodium cyanide

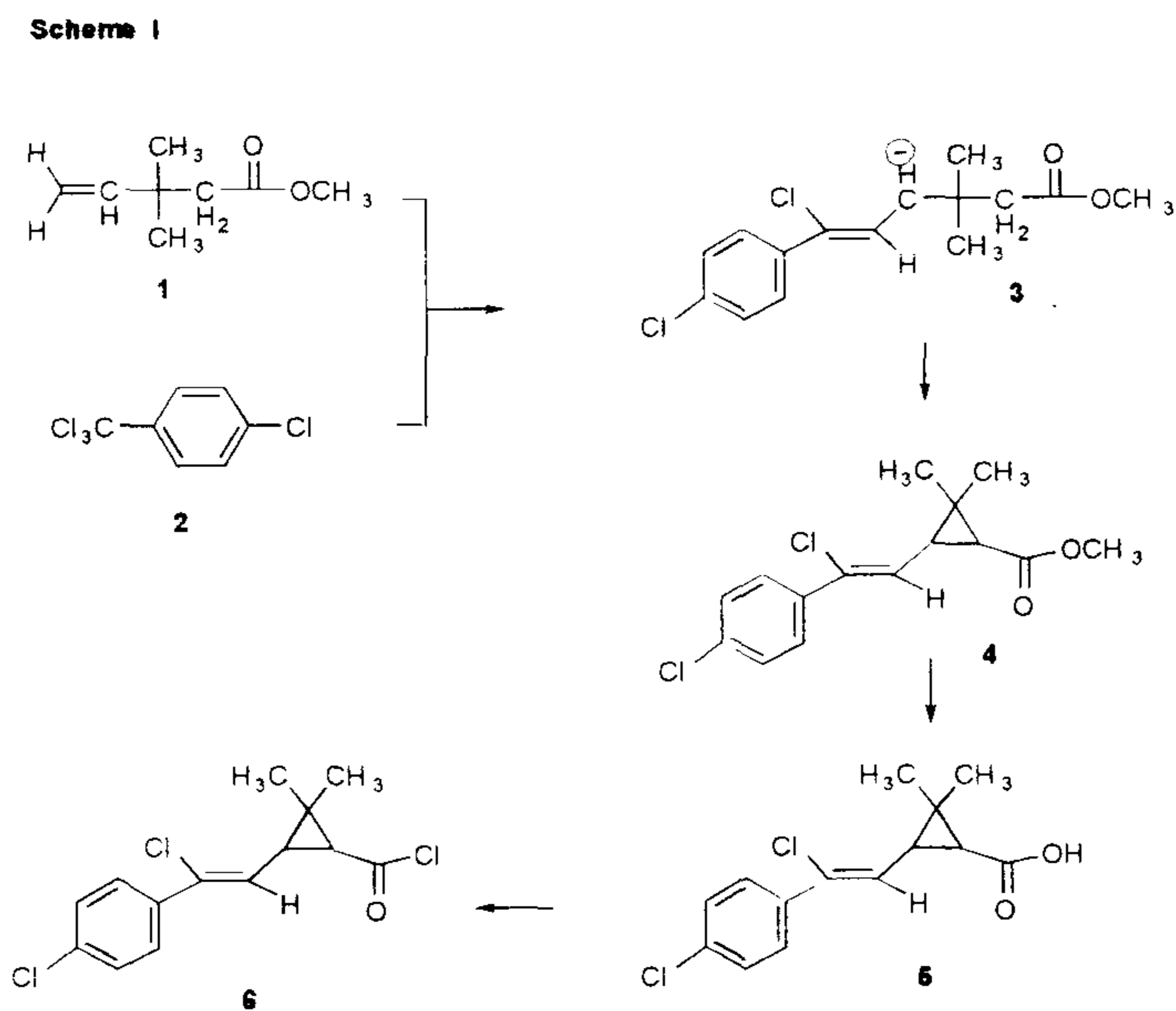
Chromium(VI) oxide

Sodium methoxide, powder

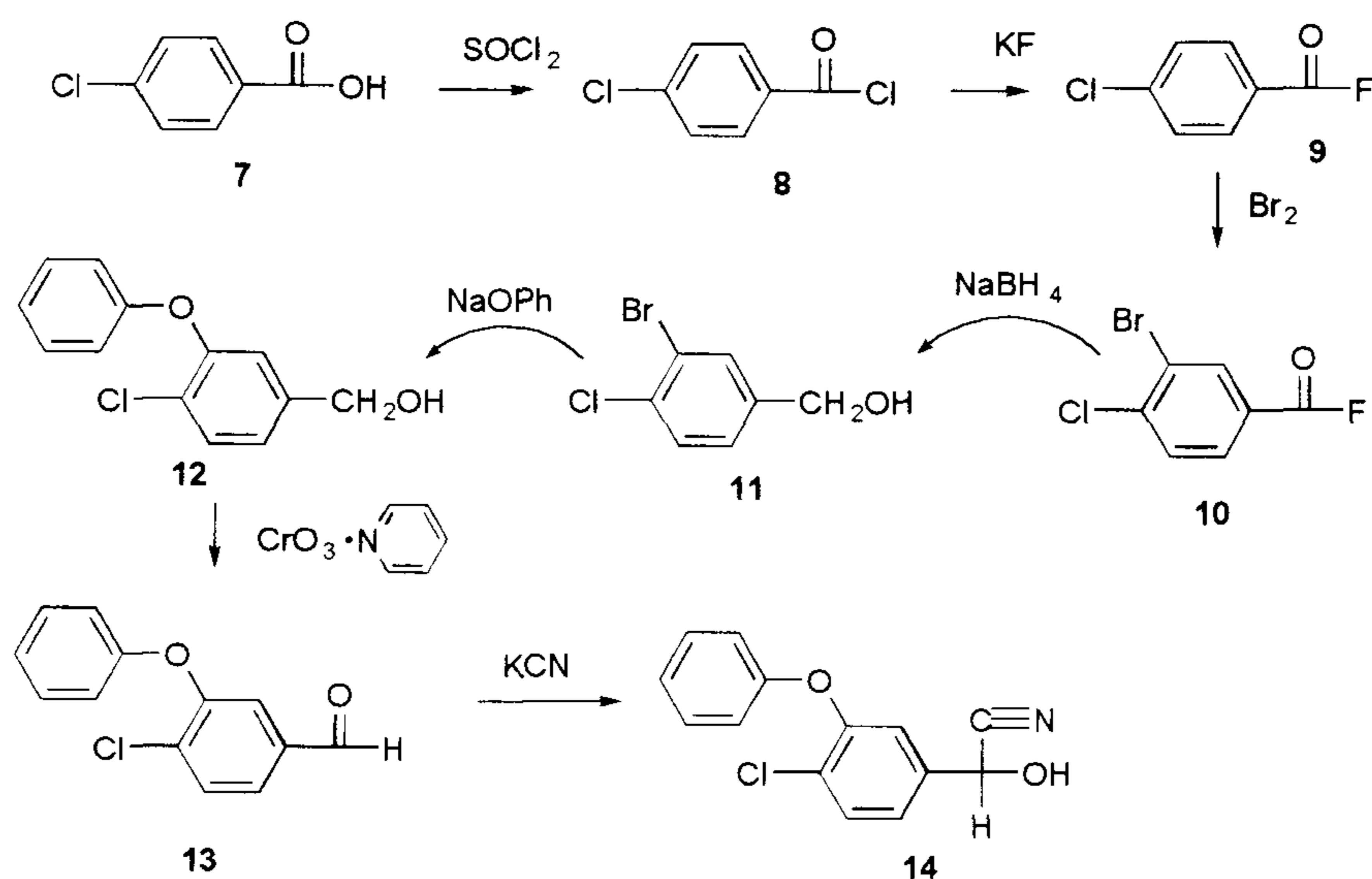
기타 용매

b) 원료합성 실험 : 본 연구에서는 원제인 flumethrin은 합성을 시

도하지 않았다. 그 이유는 다음과 같다. 합성 시약의 가격을 감안하지 않더라도 반응 경로를 조사한 바 (3가지 이상의 문헌을 토대로)에 의하면 10여 단계(Scheme I, II, III)의 반응을 거쳐야 하는 어려움이 있다. 각각의 합성 단계마다 반응조건 즉 온도, 압력, 용매선택, 용매량, 반응시간, 반응물의 양, 몰수의 합리성을 검토하여 최적화 해야하고, 수율과 순도 높이기, 정제 방법, 확인방법등의 변수를 고려해야한다. 우선 반응 경로를 3단계로 구분하며 보았다. Scheme I에서 3,3-dimethyl-4-pentenoic acid methyl ester과 4-chlorobenzotrichloride으로 부터 중간체 3를 제조하고 sodium methoxide로 처리하여 cyclopropyl ring을 형성 시킨 다음 카르복실산 메틸에스테르를 수산화나트륨으로 가수분해하여 화합물 5를 얻고, 이를 티오닐클로라이드로 아실화 반응시켜 화합물 6을 합성하였다.

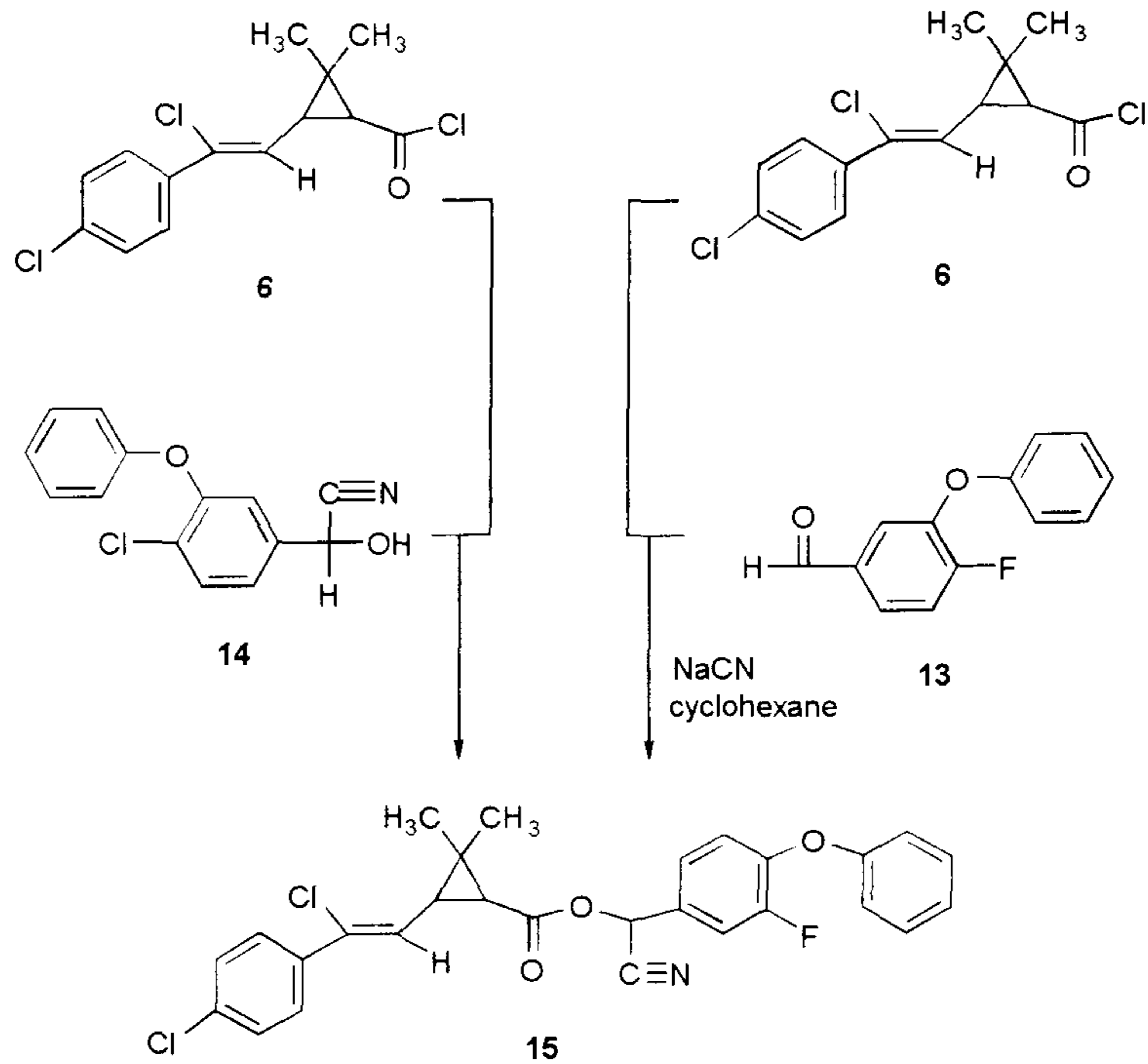


Scheme II



Scheme II에 나타낸 바 처럼, 4-chlorobenzoic acid를 무수벤젠 또는 테트라히드로퓨란(THF)용매에서 티오닐클로라이드로 카르복실산을 아실화하고 불화칼륨으로 불화아실화 하여 중간체 9를 만들고, 이것을 다음 브롬으로 벤젠핵의 메타위치에 메타브롬을 도입하였고, sodium borohydride로 환원반응시켜 화합물 10을 얻는다. 화합물 10에 sodium phenoxide 메타 펜옥시 유도체 11을 얻고, 유도체 11 pyridium chromium oxide를 처리하여 벤질기를 알데히드로 다시 산화하고 시안산칼륨과의 반응으로 스킴 2의 최종 물질인 화합물 14를 얻는다. Scheme III에서 화합물 6과 14를 반응하여 flumethrin 15을 얻는 방법과 카르복실산 6과 알데히드 유도체 13를 반응한 후 시안산칼륨으로 목표물질 15을 얻는 방법이 있다.

Scheme III



(12) 제형화 :

Bayvarol strips을 유사한 사용상의 특징을 가진 상품과 비교하였다 (Table 11). 미국 양봉학회지(American Bee Journal, August 1995, P564)가 아피스탄 스트립과 비교한 것을 고찰하면, 아피스탄 스트립은 V. Jacobsoni 진드기 치료제로 미국 전역에 사용되고 있으나 tracheal 진드기 치료에는 효과적이지 못하다고 보고하고 있다. 유럽의 Bayer, Leverkusen가 개발한 원제가 flumethrin이며, 상품명인 Bayvarol인 Varroa진드기 구제약으로 사용되고 있는데 아피스탄과 유사한 효과를 나타낸다고 소개되었다. 특히 바이바롤스트립에 약효를 나타내는 화학물 질인 flumethrin이 3.6 mg들어 있는데 반하여 아피스탄스트립에는 800mg이나 포함되어 있다고 발표되었다. 이는 flumethrin이 fluvalinate

Table 11. Properties of Bifenthrin, Fluvalinate, and Flumethrin

| Chemical 특성 | Bifenthrin* | Fluvalinate | Flumethrin |
|-----------------------------|-------------------------|------------------------|--------------|
| 상품(농공협회) | 타스타 | Apistan | Bayvarol |
| Vapor pressure | 0.024mPa(상온) | <0.013mPa | |
| State | Solid | oil | oil |
| mp | 68-70°C | bp >450°C | |
| 점도 | 1.210 g/cm ² | 1.29 g/cm ² | |
| LD ₅₀ (경피)Rabbit | >2000mg/kg | >3000mg/kg | |
| LD ₅₀ (경구)rat | >54.5mg | >20,000g | |
| 응애약 | Talstar 1-2% 수화제 | 마브릭수화제 50% 제제 | Bayticol |
| 응애구제약효비교 | 10,000 | 1 | 222 |
| 진드기약 개발시 | >1mg/strip | 800 mg/strip | 3.6 mg/strip |
| 진드기약 | 0.2%신진드기약 | 10%아피스탄 | Bayvarol |

*: 수소핵자기공명스펙트럼 : 부록 1, Fig 19

보다 약 222배 강력한 효과가 있다는 것을 나타낸 것이다. 이것이 아피스탄보다 바이바를을 사용케하는 가장 중요한 이유다. 이들 약품의 독성이 유사하다면, 화학약품이 바이바를에는 아피스탄보다 222배 적게 들어 있어서 꿀이나 beewax에 잔류 화학량이 그 만큼 낮을 수 있다는 것이다. 또한 바이바를은 tracheal 진드기에도 약효가 우수하다는 것이다. 진드기 구제 실험에서 2개의 바이바를 스트립을 사용할 경우 진드기 감염 수준이 현저히 감소한다는 것을 실험으로 증명하였으며 약효 증진을 위하여 1통의 벌에 4개의 스트립을 걸어 놓음으로서 약효가 증진됨도 확인되었다. 이렇게 tracheal 진드기의 침입에 대한 바이바를효과는 한 번 사용할시에 나타났지만 성충 진드기와 알에서의 감염비율도 현저히 감소됨을 알았다. 이같은 결과로 꿀벌의 두종류 진드기 즉 varroa진드기와 tracheal 진드기 구제에 사용될수 있다고 판단되었다. 바이바를은 Bayer

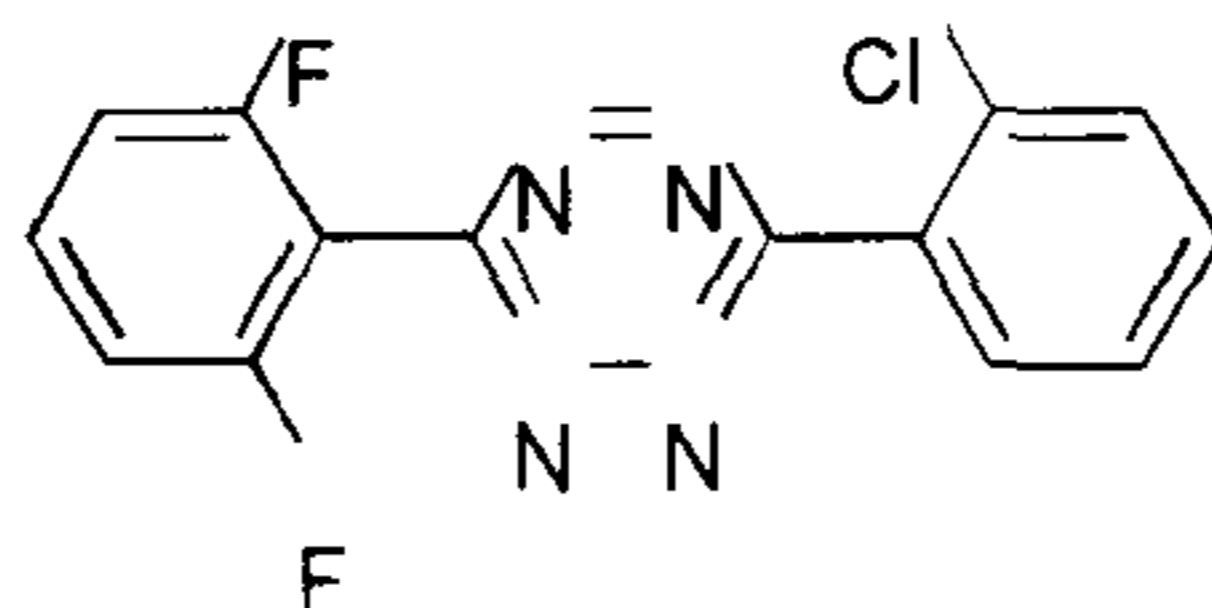
에서 생산되고 있으나 북아메리카에는 아직 등록되지 않은 약이며, 물론 우리나라에도 미등록상태이다. 국내의 실정으로 보아 사용량에 한계가 있고 그 개발에 필요한 경비와 시간을 고려한다면 원제를 수입한 다음 본 연구에서 성공한 제제화의 know-how를 살려 국산화가 바람직하다.

제 8 항 : 신약 (원제명: Flutenzine)의 실험 :

(1) 상품명 : 테트라진

(2) 일반명 또는 화학명: Flutenzine; 3-(2-chlorophenyl)-6-(2,6-difluorophenyl)-1,2,4,5-tetrazine으로서 SZI-121 이라는 번호로 1992년에 발표되었다.

구조식 :



(3) 관련특허 및 문헌;

a) AG Chem. New Comp. Review Vol 13, 1995.

b) Parssons, J. H.; EP 0005912(1979).

c) P. J. Brooker, J. H; Parsons, J. Reid, P. J. West; *Pest. Sci.* 18 179-190 (1987).

d) The Forth International Conference on Heterocyclic Chem. p281 (1996).

- e) Parssons, J. H.; EP 00029657(1980).
- f) Pilgram, K. H. G ; EP 0248466(1981).
- g) Pilgram K. H., Wittsell, L. E., Skiles, R. D., James, A. L., Dawson, J. W.; *J. Agric. Food. Chem.*, 25(4), 888-892 (1977).
- h) *J. of Pest. Sci.* 18(4) 313 (1993).

(4) 사용상의 특징: 혼중제

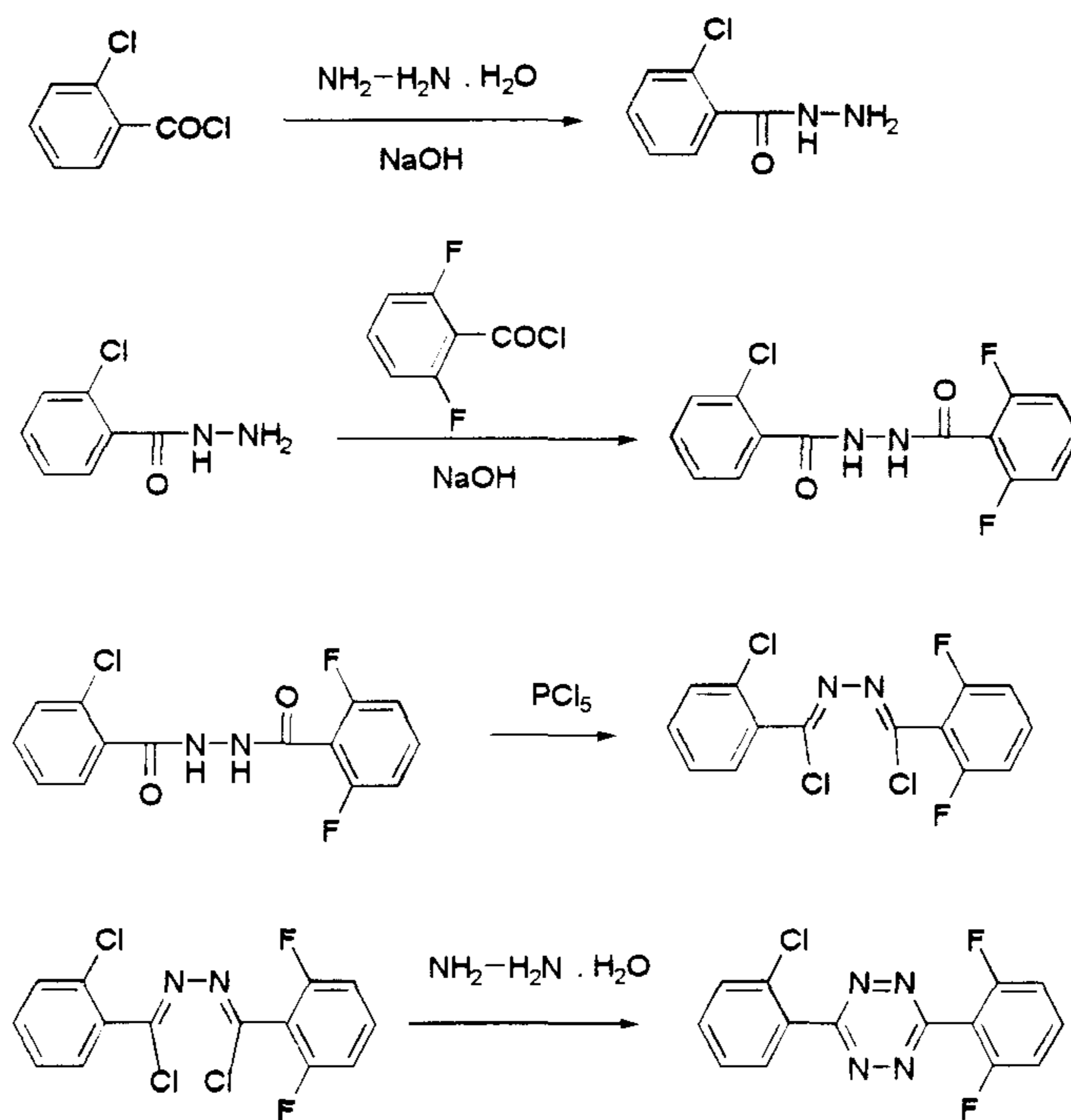
(5) 분석결과: 수소핵자기공명스펙트럼 (부록 1, Fig 20)

(6) 합성법: [Flutenzine의 개발 과정]

유럽 양봉학회와 국제 헤테로 학회에서 최근에 입수한 진드기 구제 약제에 대한 검증을 거쳐 테트라진 유도체를 새로 선정하고 이의 국산화를 위해 합성 정보를 얻고 다음과 같이 추진체계를 세워 연구하였다.

a) 피레스로이드 계통 살충제를 양봉 진드기 구제약으로 개발하여 사용하고 있는 시점에서 2-3년 앞의 내성을 고려한 또 다른 계통의 약이 유럽에서 발표된 바 있다. 1차년도 보고서(보고서 번호 : UCG0534-5598-6)에서 Clofentezine이 Fluvalinate의 합제로 소개한 바 있는데 이보다 진보성이 있는 Flutenzine이 최근에 소개되었다. 제4차 국제헤테로고리 화학회에 3,6-disubstituted-1,2,4,5-tetrazine 유도체를 반응 과정을 달리하여 발표한 정보도 입수되었다. 본 연구진은 Flutenzine을 합성하기로 하고 다음과 같은 과정을 거쳐 제조하였다.

Scheme



b) 오르토-클로로벤조일클로라이드와 히드라진으로부터 chlorobenzoyl hydrazide를 얻었다.

c) 두 번째 단계로 chlorobenzoyl hydrazide와 2,6-difluorobenzoyl chloride를 수산화나트륨 존재하에서 반응하여 비대칭의 N'-(2,6-difluorobenzylidene)-N-2-chlorobenzoyl hydrazine를 100 %의 좋은 수율로 얻었다 (부록 1, Fig 21 참조).

d) 세 번째 단계로 N'-(2,6-difluorobenzylidene)-N-2-chlorobenzoyl hydrazine을 염소화 반응으로 염소화 반응을하여 N,N'-dichlorohydrazine이 20% 미만의 낮은 수율로 N-(2,6-dichlorobenzylidene)-N'-(2-chloro-2,6-difluorobenzylidene)hydrazine을 얻었다 (부록 1, Fig 22 참조).

e) N-(2,6-dichlorobenzylidene)-N'-(2-chloro-2,6-difluorobenzylidene)hydrazine을 히드라진히드레이트와 당량으로 반응하여 비대칭 테트라

진 6각고리 유도체를 73%의 좋은 수율로 합성하였다.

각 단계마다 얇은막크로마토그래피 또는 재결정 방법으로 순수하게 분리정제하였고 1차 TLC법으로 확인하고 2차 질량분석스펙트럼 또는 핵자기공명스펙트럼으로 구조를 확인하였다. 녹는점 측정도 병행하였다. 전체 수율은 좋지 않았지만 최종 물질을 얻는다는데 목표를 두고 합성에만 전념하였기 때문에 최적화 조건을 확립하고 수율을 극대화 시키는데는 시간과 노력이 필요할 것이다.

단계 1] 2-chlorobenzoic hydrazide의 합성 : 하이드라진 하이드레이트(순도 80%, 3.12g, 2.503g, 0.05mole)의 수용액 (0.31ml)에 수산화나트륨(2.02g, 0.0505mole)의 수용액(6.9ml)을 0-5 °C얼음욕조에서 가하고 o-chlorobenzoyl chloride (8.838g, 6.4ml, 0.0505mole)을 10분간에 걸쳐서 가하였다. 이때 강한발열반응으로 반응이 올라가서 35 °C이하로 유지하였으며 온도가 낮아지자 흰색침전이 생성되었다. 반응물의 온도를 상온으로 유지한 다음 30분 동안 더 반응하고 여과하였으며 아세톤과 물 (v/v, 1:1)소량으로 씻어낸 후 상온에서 공기로 건조하여 흰색고체의 중간체 2 (7.0g)을 얻었다. 수율 82.07% $R_f=0.09$ (1:1 = EtOAc+Hexane, v/v) Mass(M^+) relative intensity 111(M^+-59 , 36) 75(M^+-95 ,20) 170(M^+ , 48) 139(M^+-31 , 100).

단계 2] N'-(2,6-difluorobenzylidene)-N-2-chlorobenzoyl hydrazine의 합성 : 2-클로로 벤조산 히드라지드 (3.476g, 0.02mol)의 수용액(10ml)를 0-5 °C얼음욕조에서 냉각시킨다음 수산화나트륨 (0.815g, 0.020mole)의 수용액 (10ml)를 같은 반응조건에서 가하였다. 여기에 2,6-difluorobenzoyl chloride (3.597g, 0.02mol)를 10분간 적가하여 반응 혼합물의 온도를 25 °C 이하로 유지하였다. 상온에서 30분동안 반응한 다음 여과하고 아세톤과 물 (v/v, 1:1)혼합용액으로 씻고 건조하여 흰색

고체 (6.20g, 99.9%)을 얻었다. ^1H NMR(300MHz)(DMSO- d_6) δ 7.69-7.61(m, 7H, 2ArH) 10.62 and 10.82 (br, 2S, 2H, -NH-NH-).

단계 3] N-(α ,2-dichlorobenzoylidene-N'-(α -chloro-2,6-difluorobenzylidene) hydrazine)의 합성: N'-(2,6-difluorobenzylidene)-N-2-chlorobenzoyl hydrazine (2.775 g, 8.931 mmol)의 사염화탄소(10 ml) 부유물에 phosphorous pentachloride (4.091 g, 19 mmol)의 사염화탄소 (10 ml) 용액을 가하고 1시간동안 가열환류하였다. 상온에서 냉각하고 감압증발하여 노란색 기름상의 액체를 얻었다. 이것을 n-Hexane : EtOAc (v/v, 4:1)용액으로 판 크로마토그래피로 분리하여 순수한 액체 (0.5689 g, 18.30%)을 얻었다. $R_f=0.875$ (n-Hexane : EtOAc= 4:1,v/v) 수율, 18.30%, ^1H NMR(300MHz)(CHCl_3) δ 7.00-7.68(m, 7Ar, 2ArH).

단계 4] 3-(2-chlorophenyl)-6-(2,6-difluorophenyl)-1,2,4,5-tetrazine의 합성 : 80% Hydrazine hydrate (0.254 g, 0.317 ml, 5.074 mmol)의 에탄올 (6ml)용액을 가열환류하면서 N-(α ,2-dichlorobenzoylidene-N'-(α -chloro-2,6-difluorobenzylidene) hydrazine (0.504 g, 1.44 mmol)을 가하면서 30분간 가열 환류하였다. 상온으로 냉각시킨 다음 감압증발하여 노란색 기름상의 액체(0.72 g)을 얻었다. 생성혼합물을 무수 에틸알콜에서 재결정하여 흰색 결정(0.32g, 73 %)을 얻었다. 이것은 n-Hexane : EtOAc (v/v 4:1)용액을 사용하는 얇은막 크로마토그래피에서 R_f 값 0.202 이었다. ^1H NMR(300MHz)(CDCl_3) δ 7.01(t, 2H, J=8.1Hz 2,6-difluoro-o-ArH), 7.26-7.47(m, 4H, ArH) 6.98-7.61(m, 7H, 2ArH).

(7) 결론: 진드기 구제용 신약개발의 시도로서 tetrazine 유도체 2개를 합성하였다.

제 9 항 : 개미산

상술한 약제는 대부분 농약 살충제로 개발된 약제들로서 벌에 대한 약해가 비교적 적은 화합물중에서 벌의 응애구제용으로 개발된 약제들이다. 이들 외에 최근에 양봉에 관한 국내외 학회, 잡지, 그리고 internet에 formic acid, oxalic acid, lactic acid등이 소개되었다. 이들중 비교적 약효가 인정되어 널리 연구가 되고 있는 개미산에 대한 꿀벌의 응애구제용으로의 효과와 국내 사용의 적응성을 시험하였다.

현재 진드기 (*Varroa jacobsoni*, tracheal mite (*Acarapis wood*))의 구제약으로 세계적으로 가장 효과적이라고 알려져 있으며 널리 사용되고 있는 fluvalinate 는 얼마나 오래동안 사용해도 되는지 의문이다. 진드기 구제약제 (화학약품)에 대한 내성은 상당히 빠른시간내에 (약 3년)에 나타나기 때문에 이들의 사용에 세심한 주의(올바른사용, 남용, 과량사용 금지)가 요구된다. Fluvalinate는 비상시에만 사용해야한다는 의견이 지배적이다. 일본에서는 phenothiazine에 대한 내성이 알려져 있다. 이들 화학약품은 때로는 벌에 대한 독성이 강하고 꿀이나 왁스 (beeswax)에 오염의 위험이 항상 존재하고 있다.

진드기 구제에 대한 개미산의 사용은 전부터 알려져 있으나 최근에 들어 진드기의 내성, 화학약품의 벌꿀 및 왁스에의 오염등의 문제가 제기됨에 따라서 선진국에서 그 사용이 활발히 검토되고 있다. 특히 현재 사용되고 있는 상술한 여러 가지 화학약품의 꿀 및 꿀벌 생산물에 잔류농약등의 문제가 장래에 대두될 수 있기 때문에 보다 안전한 진드기 구제약이 시급히 요구되고 있다. 개미산은 가격이 저렴하고 쉽게 구할 수 있는 장점이 있으나 아직까지 그 사용방법이 확립되어 있지 않은 상태다. 본 연구에서는 선진국의 자료를 입수하여 국내 사용에 대한 적용실험을 수행하였다. 개미산의 사용을 위해서는 알아야 할 개미산의 물리적인 성질은 다음과 같다.

화학식: HCOOH

분자량: 46.03

끓는점: 100.8 °C (1 기압에서)

녹는점: 8.4 °C

비중: 1.22

증기압 (20 °C에서) 33.55 mmHg

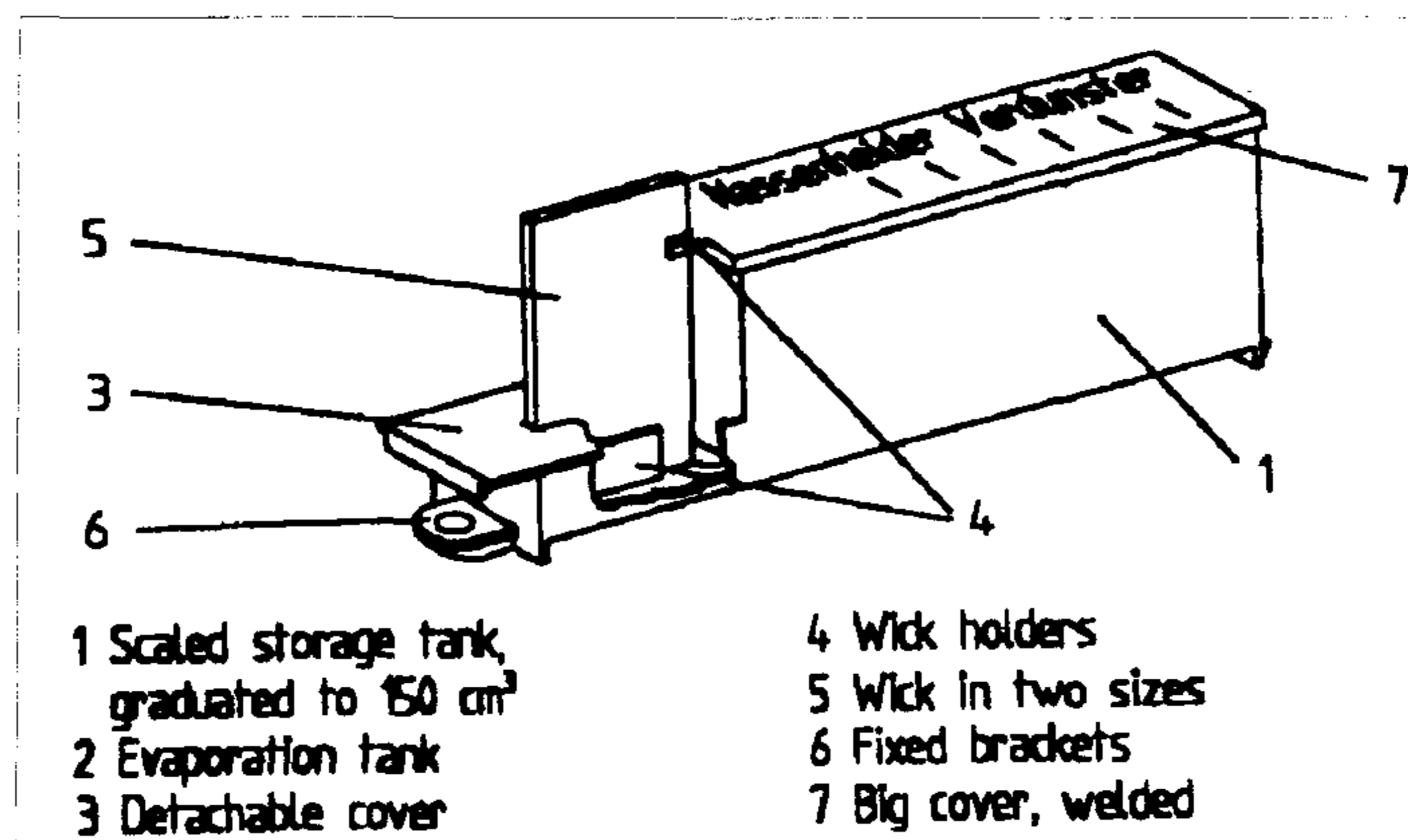
LD₅₀ (mice) 1100 mg/Kg, 145 mg/Kg (주사)

시약용의 진한 개미산은 87%로 물에 잘 녹는다.

부식성의 산으로 취급에 주의를 요한다.

개미산의 사용을 위하여 고안된 제품을 소개하면 다음과 같다.

(1) Nassenheider 증발기: 독일에서 개발된 제품으로 상당히 증발력이 강하다. 증발량을 시간에 따라서 측정할 수 있으며 벌이 직접 개미산과 접촉하지 않도록 고안된 진보된 제품도 판매되고 있다. 본 연구실에서는 이 제품을 구입하여 양봉가의 협조아래 실험을 수행하였다.



부록 4, Fig 10 참조

독일의 E. R. B. Polaczek 박사와 B. Schricker 박사가 함께 관한 것으로 여왕봉이나 유충의 손실없이 90% 이상 진드기 구제에 효과가 있

다고 소개되었다. 상기의 그림에서 보는 바와 같이 이 간단한 장치는 프라스틱 재질로 제조되었으며 증발된 개미산의 양을 측정할 수 있도록 눈금이 그려져있다. 개미산을 아래에 충분히 넣고 증발을 최대한으로 도울 수 있도록 종이로 만든 두꺼운 판을 개미산에 잠기도록 놓고 이 장치를 소비의 중간에 고정시키면된다. 이 장치를 사용한 결과를 인용하면 다음과 같다.

가. 개미산이 모두 증발되는데는 평균 4.7일이 소요되었다. 7월부터 9월까지 (독일) 평균 18.3g/24h이 비율로 개미산이 증발되었고 최대 30g/24h이었다. 9월에는 평균 7.8g/24h이 소모되었다.

나. 성봉으로부터의 진드기의 평균 구제율은 7월 89%(최소 53.3%, 최대 97.4%)이었다. 9월의 구제율은 평균 95.9% (최소 84.6%, 최대 99.6%) 이었다. 여름에는 유봉에 기생하고 있는 진드기의 구제율은 87.6%(최소 61.5%, 최대 94.1%) 이었고 가을에는 평균 91.5% (최소 86.4%, 최대 100%)이었다.

(2) FAM-Liebefeld 증발기: 둥근판속에 흡착종이를 넣고 구멍 뚫린 또 다른 둥근판을 돌려서 증발량을 조절할 수 있도록 만든 프라스틱 제품이다.



흡착종이에 개미산을 흡착시켜 외부온도에 따라서 개미산이 증발될 수 있는 구멍을 조절할 수 있도록 만든 제품이며 벌통의 상부에 놓을

수 있다.

상기의 제품은 독일 및 스위스에서 개발된 제품이다. 개미산의 꿀벌 응애에 대한 작용메카니즘을 연구함으로써 외국산을 대신할 수 있는 국내에서 값싸고 손쉽게 구할 수 있는 증발기를 고안이 필요하다. 따라서 본 연구에서는 상기의 Nassenheider 증발기 및 개미산의 증발에 적절하며 저렴하고 쉽게 구할 수 있는 용기를 선택하여 실험을 수행하였다.

(가) 용기의 선택:

개미산의 효력을 나타내기 위해서는 일정한 시간동안에 일정 증기압의 개미산이 벌통내부에 존재하는 것이 중요하다. 개미산에 부식성이 없는 플라스틱제품을 사용하기로 하였다. 경제적으로 유리하고 구하기 쉬운 비누곽 및 석고살용기를 사용하였다.

- 비누곽의 이용: 개미산의 물리적 성질에 의한 비교적 일정한 농도의 증기압을 일정한 시간동안 나타낼 수 있으며 값싸고 손쉽게 구할 수 있는 용기로서 비누곽을 선택하였다. 시중에서 손쉽게 구할 수 있는 비누곽 (가로 약 10.5 cm, 세로 약 7.5 cm, 높이 약 2.5 cm)은 아래부분에 여러개의 구멍(약 10개)이 뚫려져 있고 위부분의 뚜껑은 약 130-145ml의 액체가 들어갈 수 있는 비교적 여러가지의 화학물질에 안정한 플라스틱 재질의 제품이다. 비누곽을 거꾸로 뒤집어서 사용한다면 일정한 양의 개미산을 투여할 수 있으며 비누곽의 구멍은 개미산 증기의 확산을 어느정도 제어할 수 있을 것으로 생각되었다. 이 구멍이 너무 작으면 벌이 그 구멍을 메워버리기 때문에 일정기간이 지나면 막혀버린다. 그러나 시중에서 판매되는 비누곽의 구멍은 상당히 커서 (지름 약 1cm) 개미산을 처리할 기간동안에 그런일이 없었다. 개미산은 휘발성 자극성의 액체이기 때문에 취급상의 부주의에 의한 위험을 방지 및 개미산의 급속한 증발을 방지하기 위하여 스폰지 또는 이와 유사한 제품 (예를 들면 폴리머 재질의 수세미)에 85-87%의 개미산 50 ml를 흡수시켜 비누곽의

뚜껑에 넣고 비누곽의 아래부분인 구멍이 뚫린 부분을 덮었다.

이 시험용기를 벌통내부에 놓는 방법은 여러 가지가 있을 수 있다. 즉, 벌통의 상부, 중간위치, 그리고 하부에 놓을 수 있다. 실제로 중간위치에 이 새로 고안된 증발기를 설치하는 것은 다른 특별한 장치를 요구하였기 때문에 벌통의 상부 및 하부에 설치하여 실험을 수행하는 거싱 가장 간편하였다. 이 고안된 장치를 상부에 설치하는 근거는 개미산의 비중은 1.22 로서 물보다 무겁고 벌통 내부에 공기가 상부로부터 하부로 흐른다는 사실에 있다. 그러나 벌통내부에 벌들의 날개짓에 의한 공기가 서로 섞이고 있으며 상부에 설치하는 어려움이 있다면 하부에 놓을 때의 효과를 시험하기 위하여 하부에 설치할 수도 있으므로, 상부 및 하부에 각각 설치하여 시험하였다.

- 석고살용기의 이용(부록 4, Fig 11): 석고병 치료를 위한 석고살을 담은 용기는 국내에서 생산되는 가로 14cm, 세로 8.5 cm, 높이 1.7 cm의 간단한 플라스틱재질 제품으로 약 160ml의 액체를 담을 수 있다. 뚜껑에는 지름 2 mm의 57개의 구멍이 있으며 벌통의 상부에 설치하기에 좋다. 그러나 구멍이 너무 작아 개미산이 효과적으로 증발될지 의심스럽고 벌이 구멍을 propolize할 수 있어서 장기간 사용하지 못한다.

(나) 개미산의 적용실험방법 및 결과

실험방법: 벌통 내부를 깨끗이 청소한 다음 벌통 하부에 깨끗한 흰색의 종이를 깔아 놓았다. 이때 소비의 숫자는 6-7개 이었고 벌의 숫자 및 상태는 비교적 양호하였으며 약 12 개월동안 진드기 구제약을 처리하지 않은 벌통이었다. 육안으로 보아 진드기가 벌의 몸통위에서 발견된 것으로 보아 진드기에 삼하게 감염되었음을 알 수 있었다. 이때의 외부 온도는 최저 20 °C, 최고 30 °C 정도의 늦여름에서부터 최저 10 °C, 최고 20 °C 정도의 초가을 (8월 - 10월)이었다.

- 비누곽에 뚜껑에 또는 석고살에 프라스텍재질로 만들어진 스폰지를 적당한 크기로 잘라놓고 진한 (85-87%) 개미산 50 ml를 부었다. 뚜

경을 덮어 개미산이 피부에 닿지 않도록 고무장갑과 마스크를 필히 착용하여야하며 되도록 증기를 호흡하지 않도록 해야한다. 비누곽의 구멍 뚫린 아래부분을 덮고 구멍뚫린 부분을 위로하여 벌통 소비의 상부 또는 하부에 각각 하나씩 놓았다. 소비포를 덮고 벌통의 뚜껑을 닫은 다음 3일 후에 벌통 바닥에 떨어져 죽은 진드기의 숫자를 측정하였다.

- Nassenheider 증발기의 이용(부록 4, Fig 10)

이 증발기의 장점은 일정량의 증발속도를 제어할 수 있으며 그 증발량을 시간에 따라서 측정할 수 있다. 본 연구에서 실험한 결과에 따르면 증발량이 상술한 비누곽의 그것에 비하여 상당히 빠르다는 것이다. 일정한 양의 개미산을 일정시간동안 유지하는데는 상당히 장점이 있으나 외국에서 생산된 제품이기 때문에 가격이 비싸고 적기에 공급하는데에 문제가 있을 것으로 보인다. 또 다른 하나의 문제점은 벌이 진한 개미산을 회피하는 것으로 보아 증발기의 설치 주위에 있는 소비는 약해가 입을 염려가 있다.

실험방법: 진한(85-87%) 개미산 50ml를 Nassenheider 증발기에 넣고 소비 사이에 세워서 장치하였다. 1일 후에 개미산은 모두 증발되어 남아있지 않았으며 약 1/3의 벌이 죽어서 벌통 아래에 쌓여있었고 살아 남은 벌은 증발기에서 되도록 멀리 위치하였다. 이것은 개미산의 증발속도가 너무빨라서 벌에 약해를 입은 결과이다. 따라서 개미산의 투여에서 시기, 외부온도, 투여방법, 개미산의 농도, 증발속도를 제어할 수 있는 방법이 필요하다.

(다) 기타: 증발속도 제어를 위한 시도

개미산의 증발의 속도를 제어하기 위하여 값싸고, 취급하기 쉽고, 사용후 처리에 용이하고 문제없는 새로운 장치 또는 재질이 요구되었다. 본 연구에서는 마른 콩에 개미산을 흡수시킨 시제품을 시험하였다. 콩은 사용후에도 썩어버리기 때문에 환경친화적이며 구하기 쉽다는 장점이

있다. 마른 콩에 개미산 (50-87%) 50-80 ml를 2 - 5시간동안 상온에서 담가놓은 다음 개미산이 흡습된 콩을 증발기 또는 시중에서 판매되는 비누곽에 넣어 소비사이, 소비 아래 또는 소비 상부등에 3일 - 10일 동안 넣어두어 진드기 구제률을 확인하였다. 콩은 개미산을 흡수하여 자기 무게의 약 110-180% 부피는 130-200% 까지 증가되었고 이와같은 무게와 부피증가는 2시간동안 95% 이상 증가되었으며 반면, 자연발산되는 시간은 콩을 사용하지 않은경우보다 5-20배 가량 늦게 증발되었다. 그러나 그 효과는 비누곽에 액체의 개미산을 투여하였을때에 비하여 낮았으나 효과는 인정되었다.

개미산의 증발속도는 진드기 구제의 결과와 밀접한 관계가 있었다. 즉, 증발속도가 빠르면 단시간에 진드기 구제률이 높았으나 약해로 인한 꿀벌이 죽는 경우가 발생하였다. 그러나 증발속도가 느리면 진드기 구제의 효과가 낮아 3번째의 처리에서도 죽은 진드기가 발견되었다. 개미산의 증발속도는 벌통 내부의 온도, 외부의 온도, 습도등과 밀접한 관계에 있기 때문에 앞으로 정확하고 과학적인 계량에 의한 증발량을 측정하여 처리하는 것이 바람직하다고 생각된다.

참고사항: 다음은 캐나다에서 2년동안의 시험 결과를 요약한 것으로 internet에서 얻은 자료이다.

(1) 개미산은 태양 빛 아래에서 뜨거울 때 사용해서는 안된다. 여왕봉이 죽을 수도 있다.

(2) 아래 바닥의 벌이 앉는 자리에 직접 투여하여서는 안된다.

(3) 기온이 30 °C 이상인 곳에서 사용하면 벌이 상당량 죽고 통계에 의하면 30% 여왕봉 손실이 있다. 기온이 30 °C 이상일 때 65% 의 개미산을 사용하면 투여 후 1일내에 봉군의 활동을 흔트러트리며 결국 여왕봉이 도망하거나 벌이 일부분 죽는다.

주의사항:

- (1) 피부손상과 눈의 손상 우려, 어린이로부터 보호 요구된다.
- (2) 시장으로 나갈 꿀이나 왁스를 생산할때는 사용하지 말 것
- (3) 외부의 기온이 10 - 30 °C 인 때만 사용할 것
- (4) 사용할 때에 벌통의 문은 개봉할 것
- (5) 봄에는 꿀을 모으기 전 2주 동안 처리할 것
- (6) 가을철에는 꿀을 모두 모은 다음 처리하여도 됨

사용방법

(1) Tracheal mites의 구제를 위해서: 개미산 (65%) 30-40 ml를 벌통 바닥에 또는 15 cm x 15cm 내프킨이나 종이 수건에 묻혀서 바닥에 놓거나 위에 걸어 놓는다. 5-7일 간격으로 3번 처리한다. 이때 종이 패드는 다시 사용해도 된다.

(2) Varroa mites의 구제를 위해서: 개미산 (65%) 30-40 ml를 벌통 바닥에 또는 15 cm x 15cm 내프킨이나 종이 수건에 묻혀서 바닥에 놓거나 위에 걸어 놓는다 (위에 놓는 것은 덜 효과적임). 1-4일 간격으로 3 - 6 번 처리한다.

(3) Tracheal mites와 Varroa mites의 동시 구제를 위해서: 개미산 (65%) 30-40 ml를 벌통 바닥에 또는 15 cm x 15cm 내프킨이나 종이 수건에 묻혀서 바닥에 놓거나 위에 걸어 놓는다 (위에 놓는 것은 Varroa 구제를 위해서는 덜 효과적임). 4일 간격으로 4-6번 처리한다. 종이 패드는 다시 사용해도 된다.

(4) Varroa mite 의 검색: 벌통 바닥에 흰종이를 깔고 3x3 mm 의 그물망을 친다. 개미산 (65%) 40ml를 흡수종이에 묻혀서 그물망 위에 놓거나 벌통 위쪽에 놓는다. 24시간 후에 떨어진 진드기를 검색하며 3일 후에 다시 검색한다.

제 10 항 : Essential oils

최근 선진국, 특히 미국과 유럽에서 진드기 구제에 효과적으로 알려져 활발히 연구가 진행되고 있는 것은 essential oils이다. Essential oils은 대부분 식물에서 추출하거나 steam distillation하여 제조하는 것으로서 천연물이다. 이들의 사용법은 아직까지 구체적으로 확립되어 않으며 최근의 벌에 관련된 잡지, 또는 일부의 연구자들에 의해서 관심을 끌고 있다. 특히, 환경의 오염과 식품에의 농약등 화학물질의 오염의 염려가 되는 이즈음의 시기에 소개되고 있는 essential oils은 인축에는 물론 벌에도 비교적 무해할 것이라는 기대와 더불어 관심을 끌고 있다. 만일 essential oil이 진드기 구제약으로 사용될 수 있다면 여러 가지의 잇점, 특히 벌꿀에 잔류할 가능성이 있는 약제의 독성에 대한 염려가 적다는 것이다. Essential oils의 종류는 상당히 많지만 본 연구에서는 선택된 몇가지 essential oils의 진드기 구제에 관한 실험을 수행하였다. Essential oil의 종류는 상당히 많으나 (부록 4, Fig 12) 본 연구에서 취급하고자 하는 종류는 다음과 같다.

Cassia, Citronella, Clove, Eucalyptus, Jasmine, Lavender, Patchhouly, Peppermint, Rosemary, Spearmint, Tea tree, Wintergreen

(가) 국내적용 실험 : 여러 가지 정보를 통하여 입수한 근거로 국내 사용의 타당성을 조사하기 위하여 몇가지 essentail oil을 선택하여 투여하였다. 본 연구에서 사용한 essential oil은 미국의 J. Crow Company에서 구입하였다. 실험기간은 1997년 8월 - 9월이었다.

① Speamint 30 ml를 Nassenheider 증발기에 가하고 1일 동안 벌통 내부에 설치하였다. 벌중 약 80%의 죽었으며 애벌레도 죽어있음이 관찰되었다., 특히 beeswax도 일부 녹아내렸다.

② Wimtergreen oil 30 ml를 Nassenheider 증발기에 가하고 1일 동안 벌통 내부에 설치하였다. 증발기의 양쪽 옆의 소비에는 벌이 없는 것

으로보아 벌이 이 약제를 기피하였으며 벌 몸통에서 여전히 진드기의 모습이 관찰되었다. 다시말하면 이 약제는 신속한 약효를 발현하지 않는 것으로 보이며 처리 시기와 방법에 관한 더 자세한 연구가 요구된다.

③ Peppermint oil 30 ml를 Nassenheider 증발기에 가하고 1일 동안 벌통 내부에 설치하였다. 증발기의 양쪽 옆의 소비에는 벌이 없는 것으로보아 벌이 이 약제를 기피하였으며 벌 몸통에서 여전히 진드기의 모습이 관찰되었다. 다시말하면 이 약제는 신속한 약효를 발휘하지 않는 것으로 보이며 처리 시기와 방법에 관한 더 자세한 연구가 요구된다.

④ Syrup의 제조 및 처리

설탕 (450g)이 포함된 사양수에 wintergreen oil (1cc)를 넣고 잘 저어서 벌의 사양기를 이용하여 투여하였다. 같은 방법으로 spearmint oil (1cc)을 사양수에 섞어서, 한국산 후추 (구입)에서 추출하여 결정화한 peperine (부록 1, Fig 23) 0.5g을 최소량의 에탄올에 녹인 다음 사양수에 섞어서, peppermint oil (2cc)를 사양수에 섞어서, thymol (0.35g)을 에탄올 (20ml)에 녹인 다음 사양수에 섞어서, 그리고 cedar leaf oil (캐나다에서 구입한 것을 분별증류를 통하여 정제한 것)을 사양수에 섞어서 각각 벌의 사양기를 이용하여 투여하였다.

또 다른 방법으로 essential oils를 에탄올에 녹인 다음 사양수와 혼합하여 투여하였다. 에탄올을 사용한 이유는 대체로 essential oils이 물과는 잘 녹지 않기 때문에 물과 잘 혼합되도록 사용한였다. 설탕 (450g)이 포함된 사양수에 에탄올 (20cc)에 녹인 wintergreen oil (2cc)를 넣고 잘 저어서 벌의 사양기를 이용하여 투여하였다. 같은 방법으로 에탄올 (20cc)에 녹인 spearmint oil (2cc)을 사양수에 섞어서, 한국산 후추 (구입)에서 추출하여 결정화한 0.5g을 에탄올 (20cc)에 녹인 다음 사양수에 섞어서, peppermint oil (2cc)를 사양수에 섞어서, thymol (2g)을 에탄올 (20ml)에 녹인 다음 사양수에 섞어서, 그리고 에탄올 (20cc)에 녹인 cedar leaf oil (캐나다에서 구입한 것을 분별증류를 통하여 정제한 것, 2cc)을 사양수에 섞어서 각각 벌의 사양기를 이용하여 투여하였다.

상술한 방법으로 제조한 syrups은 종류에 따라서 조금씩 차이는 있었으나 모두 벌에 기호성은 대체로 양호하였다.

⑤ Grease patties의 제조 및 처리

설탕 (240g), shorting 기름 (미국산, 150g), 그리고 wintergreen oil (21cc) 를 beaker (1L) 에 넣고 잘 섞었다. Tea tree oil (11.5cc), 그리고 patchouli oil (11.5cc)을 사용하여 같은 방법으로 grease patties를 제조하였다. 제조된 grease patties를 각각 유리판위에 놓고 벌통의 상부 또는 하부에 3일동안 각각 놓았다. 진드기 구제는 벌통내부의 하부에 놓은 종이 위에 떨어진 진드기의 숫자를 세어서 효과의 유무 및 약효의 정도를 판단하였다.

- 결과: 일부의 봉군에서는 약해가 발생하였고, 뚜렷한 응애구제의 효과를 얻지 못하였다. 장기적인 투여만이 약효를 기대할 수 있거나 essential oils는 국내의 환경조건에 맞지 않는 것으로 판단된다.

⑥ Tracking strips 의 제조(부록 4, Fig 13): 적당한 크기의 유리판 (plexiglass) 7cm x 30 cm를 받침판으로 사용하였다. Canola oil 55g을 20g의 beeswax와 섞어 뜨겁게 데워 녹인 다음 잘 저었다. 2-3 스푼을 tracking strip 에 발라 벌통안의 입구 안쪽에 놓았다.

- 결과: 뚜렷한 응애구제의 효과를 얻지 못하였다. 장기적인 투여만이 약효를 기대할 수 있거나 essential oils는 국내의 환경조건에 맞지 않는 것으로 판단된다.

참고: 다음은 internet 및 국내외 학회에서 소개된 essential oils의 사용과 주의점에 대한 것을 요약한 것이다.

(가) Essential oils: Essential oil 에는 cinnamon oil, citronella oil, lemongrass oil, mint 및 mint oil (예를 들면, patchouli oil), peppermint oil등이다. 미국의 어느 지역에서는 90 °F (15.6 °C) 의 기후에서도 mite의 구제가 가능한 방법에 대한 소개하였다. 늦가을에서부터 초겨울에 이

르기까지의 계절에 essential oil 에 의해서 진드기의 구제가 쉽다. grease patties, wintergreen, tea tree, 또는 patchouli oils이 포함된 syrup으로 처리하면 모든 진드기를 구제할 수 있다. 이때 inert 첨가물을 넣어도 된다. 즉, cloves, mineral oil, parrain was, wintergreen oil 등을 말한다. 어떤 경우에는 Fumidil Terramycin 등을 섞어 사냥하는 방법이 시도되기도 한다.

(1) Syrup 의 제조: wintergreen 또는 spearmint 25 방울 (1cc)을 2 컵 (약 1 파운드, 453.6그램) 의 설탕이 들어 있는 quart jar (0.95리터) 에 넣고 뜨거운 물을 가하여 컵을 채운다. 이때 oil을 설탕가루에 넣은 다음 반드시 뜨거운 물 (너무 뜨거우면 oil 이 증발할 것이다)을 가하여야 한다. 그리고 벌에게 사냥을 한다 wintergreen spearmint 그리고 peppermint oil 모두 좋은 결과를 나타낸다.

(2) Grease patties: 설탕 4컵 2컵의 shortening 그리고 21cc의 wintergreen oil, 21cc의 patchouli oil, 21cc 의 tea tree oil, 또는 이들 2 가지 oil 의 각각 11.5 cc (예를 들면 wintergree + patchouli) (이들의 비율은 1/4 oz 의 essential oil 에 대하여 1 파운드의 설탕과 grease에 해당된다)를 섞어 만든다. 이들을 잘 섞고 (장갑을 끼고 또는 큰 수퓸을 사용한다, 왜냐하면 wintergree oil 은 그정도의 농도에서 독성이 있다. patchouli oil 은 독성이 없다) 3.5인치 햄버거 처럼 4온스의 patties를 만든다. 이들을 나누어 벌통의 위에 (벌통당, 약 반 파운드 또는 8온스의 patties를 사용) 놓는다.

(3) Tracking strips: 유리판 (plexiglass) 7.5 cm x 35.5 cm를 essential oil 이 들어 있는 slurry 의 받침판으로 사용한다. slurry 의 제조법은 다음과 같다. canola oil 17.5oz (2and 1/5컵)를 6.5oz (4/5컵 보다 약간 많게) 의 녹은 beeswax을 섞어 뜨겁게 데운다. 잘 저어 8oz의 프라스틱 컵 3개에 나누어 담는다. 식히면 마치 구두약이나 연고처럼된다. 2-3 스푼을 tracking strip 에 바르고 벌통안의 입구 안쪽에 세로로 놓는다. 벌이 소문을 드나들 때 반드시 이 slurry를 밟게된다. 그리고 벌은

이것을 먹고 다른 벌에게 먹이로 주어 없앨 것이다. 이 작업을 5일 후에 반복한다. 사용한 slurry, 죽은 mites, 죽거나 손상된 벌을 긁어내고 새 slurry를 다시 바른다. plexiglass 대신에 masonite 나 유사한 것으로 대체해도 된다.

(4) 벌통 상부에 놓을 종이: 새로 태어난 일벌의 기생하는 varroa mite 의 구제를 위해서. canolar oil 2컵, wintergreen 11cc를 스퀴즈 병에 넣는다 종이 타올의 양쪽편에서 6선을 그리면서 짜서 뿌린다. 그러면 모든 타올이 적셔질 것이다. 벌은 그것을 1주일 내에 씹어 먹고 다른곳으로 옮길 것이다.

varroa mite 의 구제효과 측정: patties 와 tracking strip을 벌통의 바닥에 놓아 24-48시간내에 그 숫자를 세면된다. essential oil 은 우리들이 시험한 결과에 의하면 apistan 보다 효과가 좋은 것으로 나타났다. Syrup을 먹이거나 (꿀이 들어오는 시기는 제외), patties (꿀이 들어오는 시기에는 사용하지 않음) 및 tracking strips (특히 꿀이 들어오는 시기에 효과가 큼)을 번갈아 가면서 사용할 때 효과가 가장 좋았다. Spearmint oil이 들어있는 patties 는 벌이 밀납으로 쌓았지만 (propolized) wintergreen, tea tree, patchouli oil은 그렇지 않았다.

여왕봉: essential oil에 의해서 여왕봉이 교미를 위해서 나를 때 방향설정을 잘못할 수 있으므로 교비시에는 사용하지 않을 것을 권장함.

숫벌: 숫벌방은 varroa mite의 번식을 위해서 좋은 조건을 가지므로 그 숫자를 최소로 유지시키는 것이 좋다.

여 백

제 3 장 결 론

양봉산업은 벌꿀의 생산 뿐만 아니라 꽃가루의 가루받이등이 더욱 중요한 것으로, 앞으로 더욱 규모가 커질 것으로 예상되는 근교농업 및 농산물 생산자의 고소득을 이루기 위해서 요구되는 비닐하우스를 이용한 농업에서는 농산품의 고품질화를 위해서 필연적으로 필요로 한다. 그런데 최근의 양봉산업에서의 큰 문제점 중의 하나는 주로 수입된 꿀벌에서 전염된 진드기(응애)로 말미암아 심한 경우에는 벌의 전멸을 가져올 수 있다는 것이다. 진드기 구제를 위한 여러가지 약제가 세계적으로 개발되어 판매되고 있으며 국내에도 약 수년전부터 세계적인 소수의 외국회사에서 개발된 약제가 수입되어 판매되고 있다. 국내에서 사용하기에 편리하고 가격이 저렴한 진드기 구제약제를 선발하여 그 약제의 합성 및 제제화를 통하여 사용법을 보급함으로써 약제의 올바른 사용으로 국내의 양봉산업에 기여함을 목적으로 하였다.

본 연구에서는 국내외에서 판매 보급되고 있는 양봉용 응애구제약들의 특성, 효력, 합성방법, 안전성, 합성가격등을 바탕으로 양봉가의 의견을 반영하여 국내생산의 타당성을 조사한 다음, 약제의 약효 및 안전성이 우수하고 경제적으로 국내 생산이 적절한 약제들을 선발하였다. 응애류는 저항성을 쉽게 가진다는 특성을 고려하였고 그 사용상의 주의점과 사용방법을 고려하였다. 선발된 약제를 합성하고 제제화 및 야외 실험을 수행하였으며 국산화를 위하여 약효가 우수하고 공정이 간단한 시미아졸 (cymizazole)의 국내특허출원 및 등록하였다. 기타 플루발리네이트(flualinate), 브로모프로필레이트(bromopropylate), 아미트라즈(amitraz), 플루메트린(flumethrin)등의 약제에 대한 제제화 know-how도 습득하였다. 최근에 공해, 오염의 염려를 대비하여 최신의 응애구제의 개선된 약제 및 그 사용에 대해서도 여러 선진국으로부터의 정보를 입수하여 좋은 결과를 얻었다.

여 백

부 록 1

NMR, IR, 등의 스펙트럼

여 백

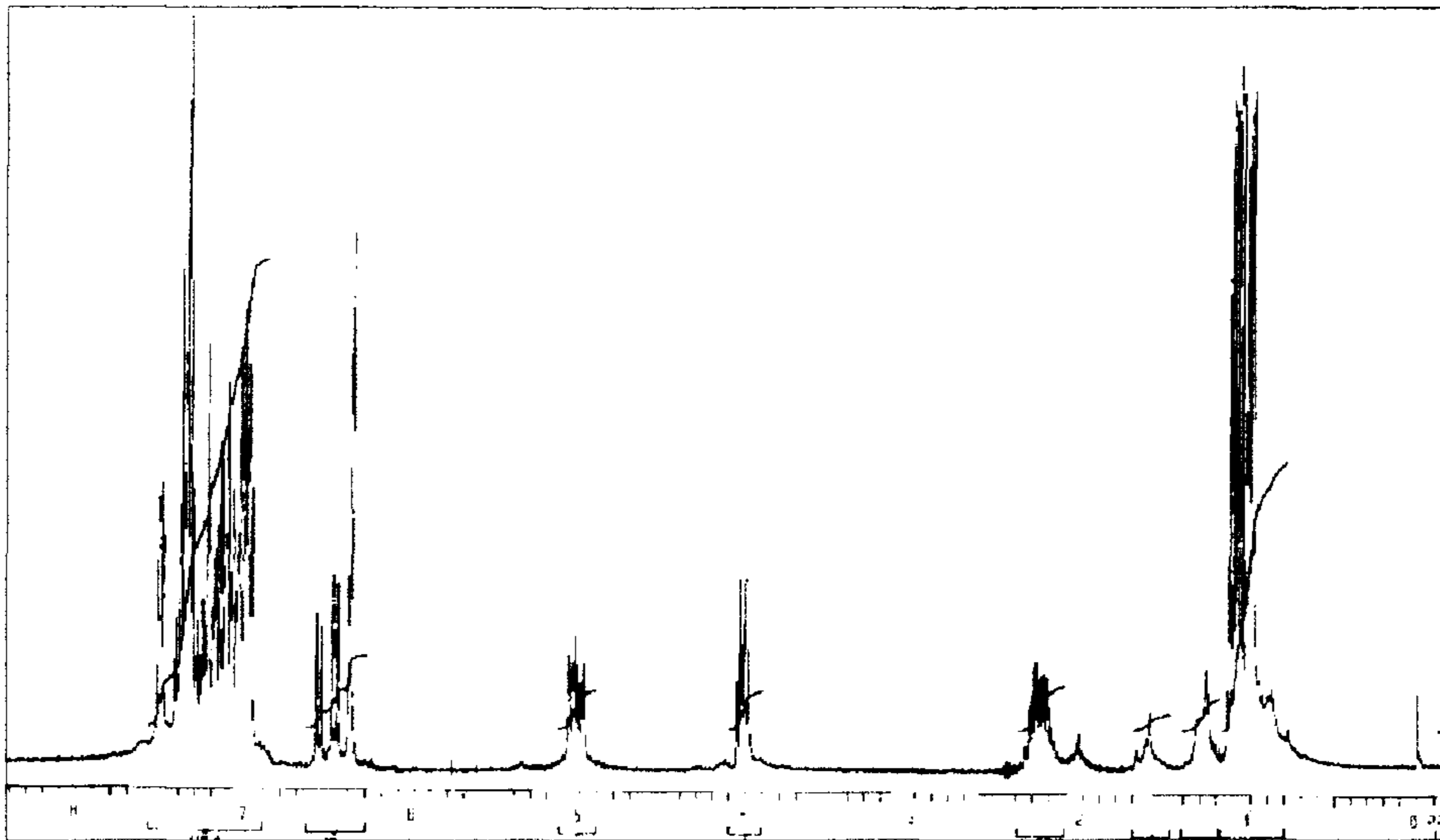


Fig 1. Fluvalinate : Apistan (300 MHz, ^1H NMR, Chloroform-d)

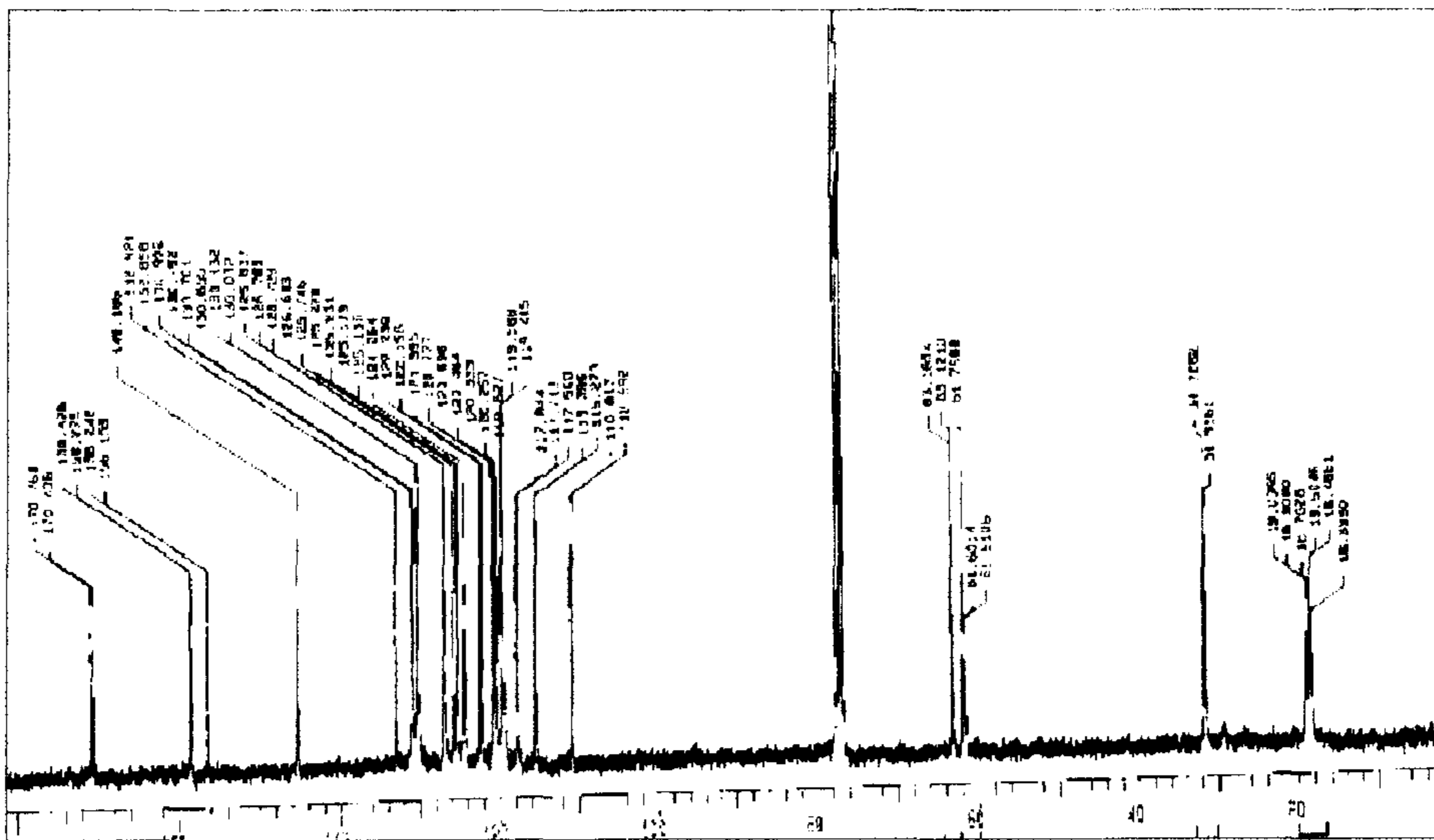


Fig 2. Fluvalinate : Apistan (Chloroform-d, 78.5 MHz ^{13}C NMR)

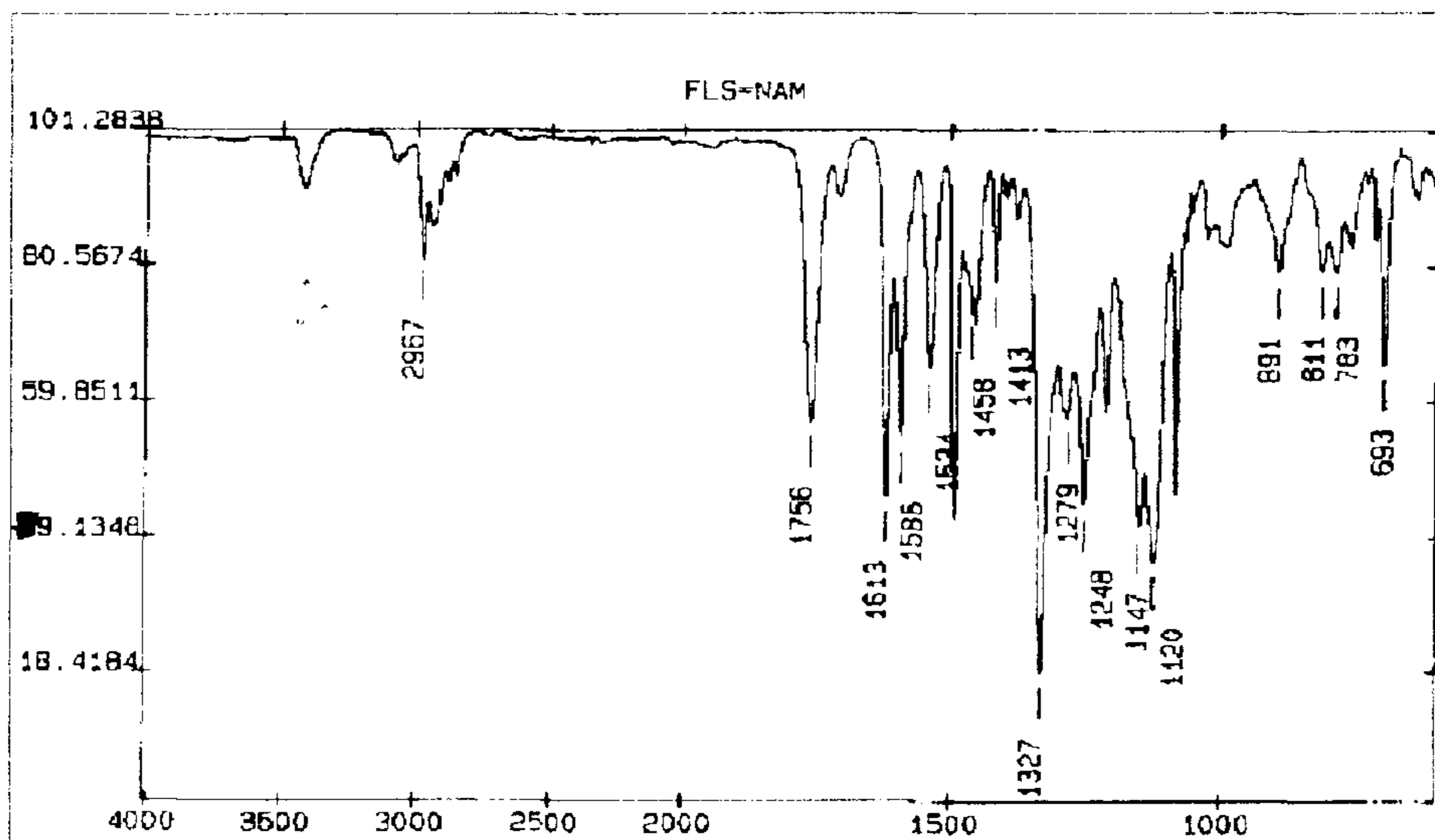


Fig 3. Fluvalinate : Apistan (KBr, FT-IR)

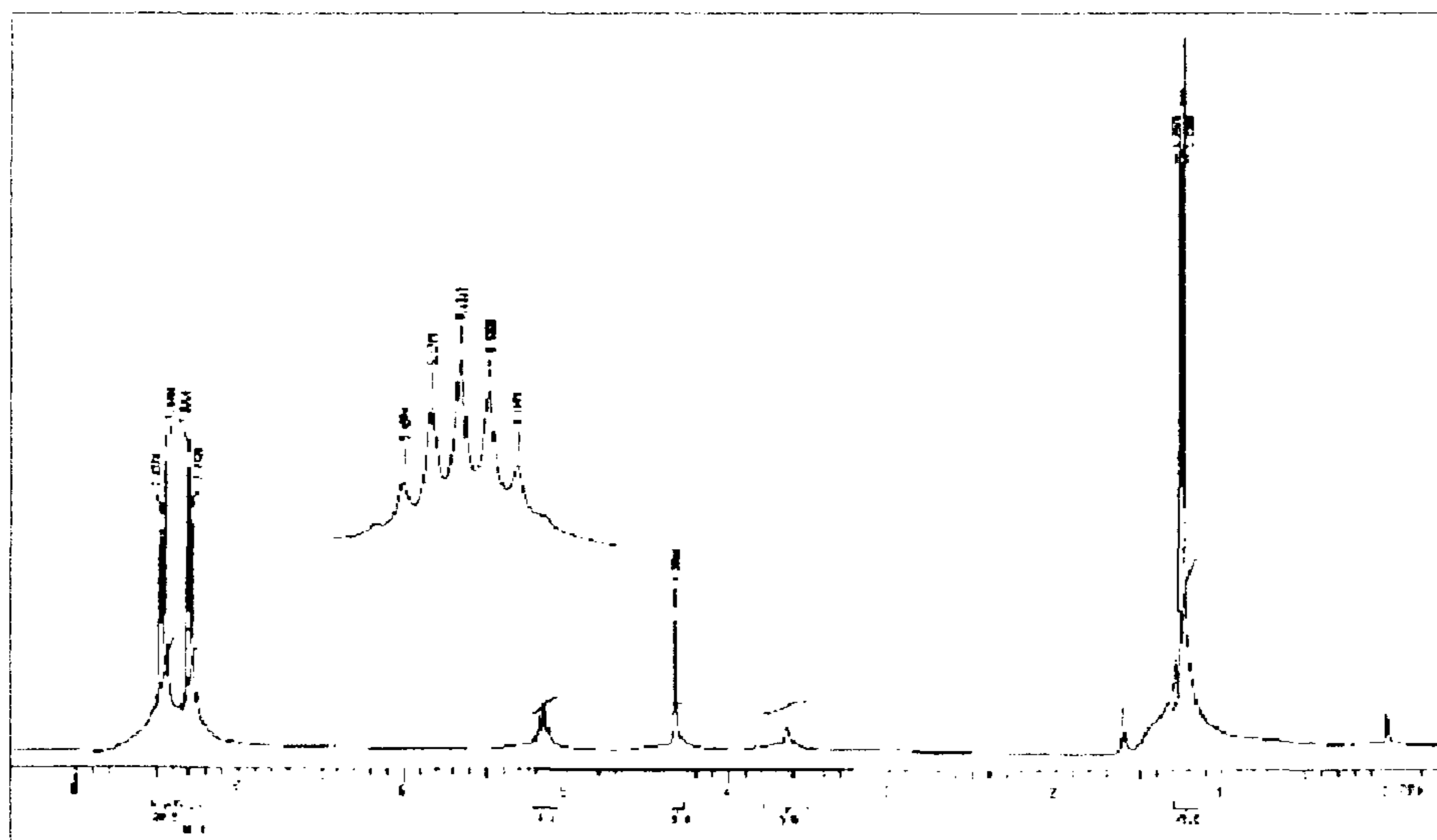


Fig 4. Bromopropylate (Chloroform-d, 300 MHz ¹H NMR)

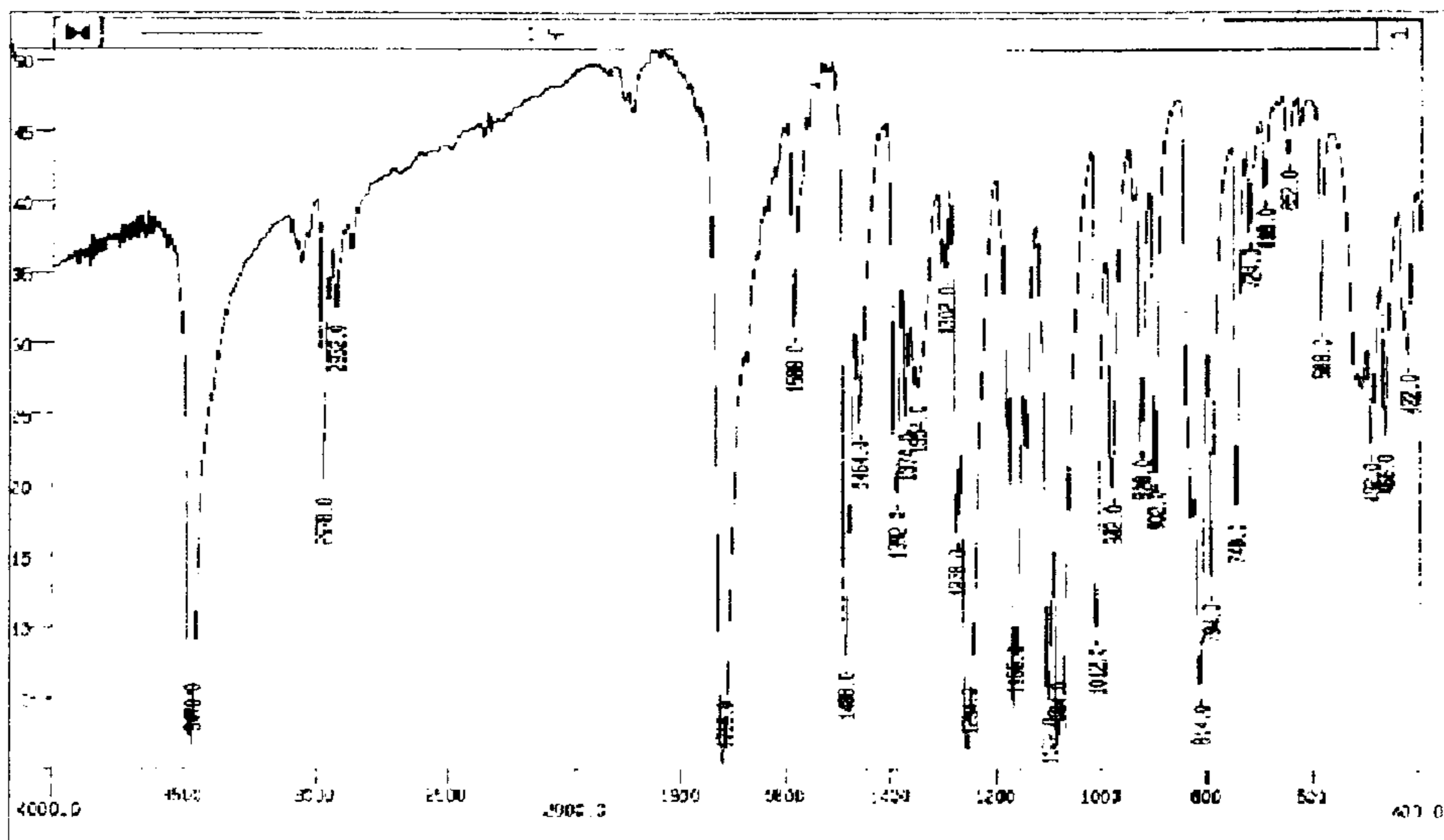


Fig 5. Bromopropylate (KBr, FT-IR)

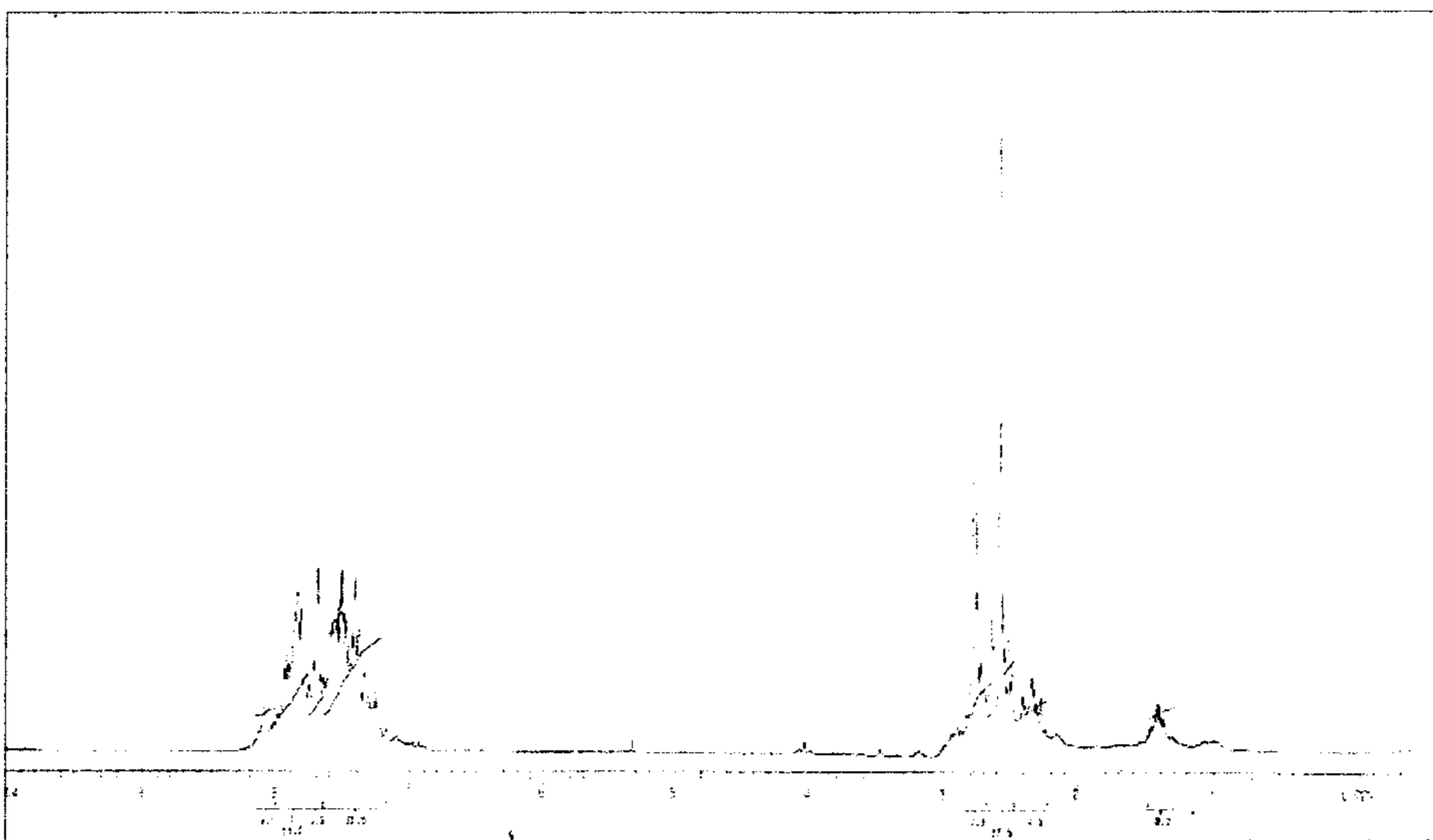


Fig 6. Coumphos (extracted with methylene chloride)
(Chloroform-d, 300 MHz ^1H NMR)

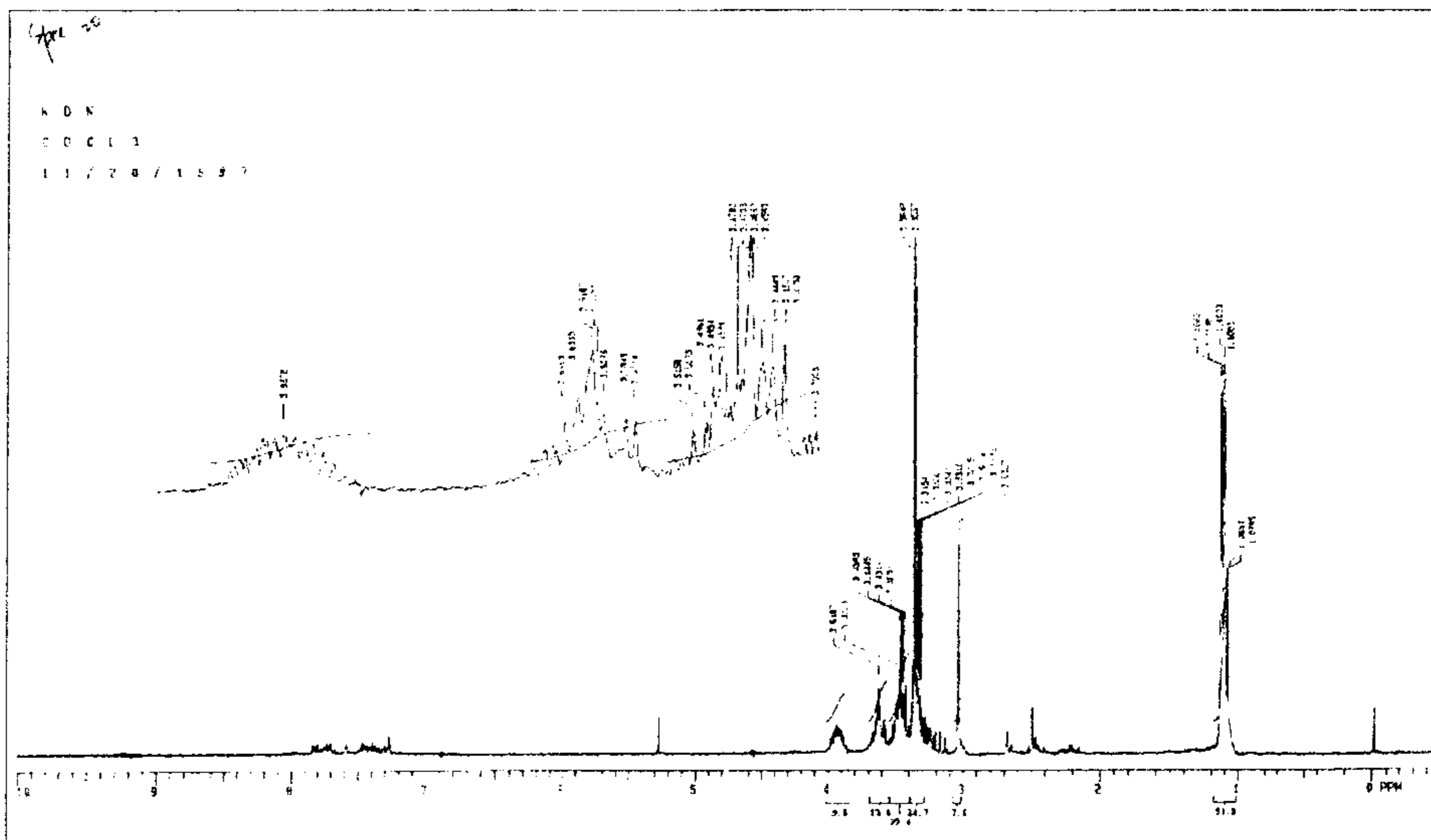


Fig 7. Coumphos (Chloroform-d, 300 MHz ^1H NMR)

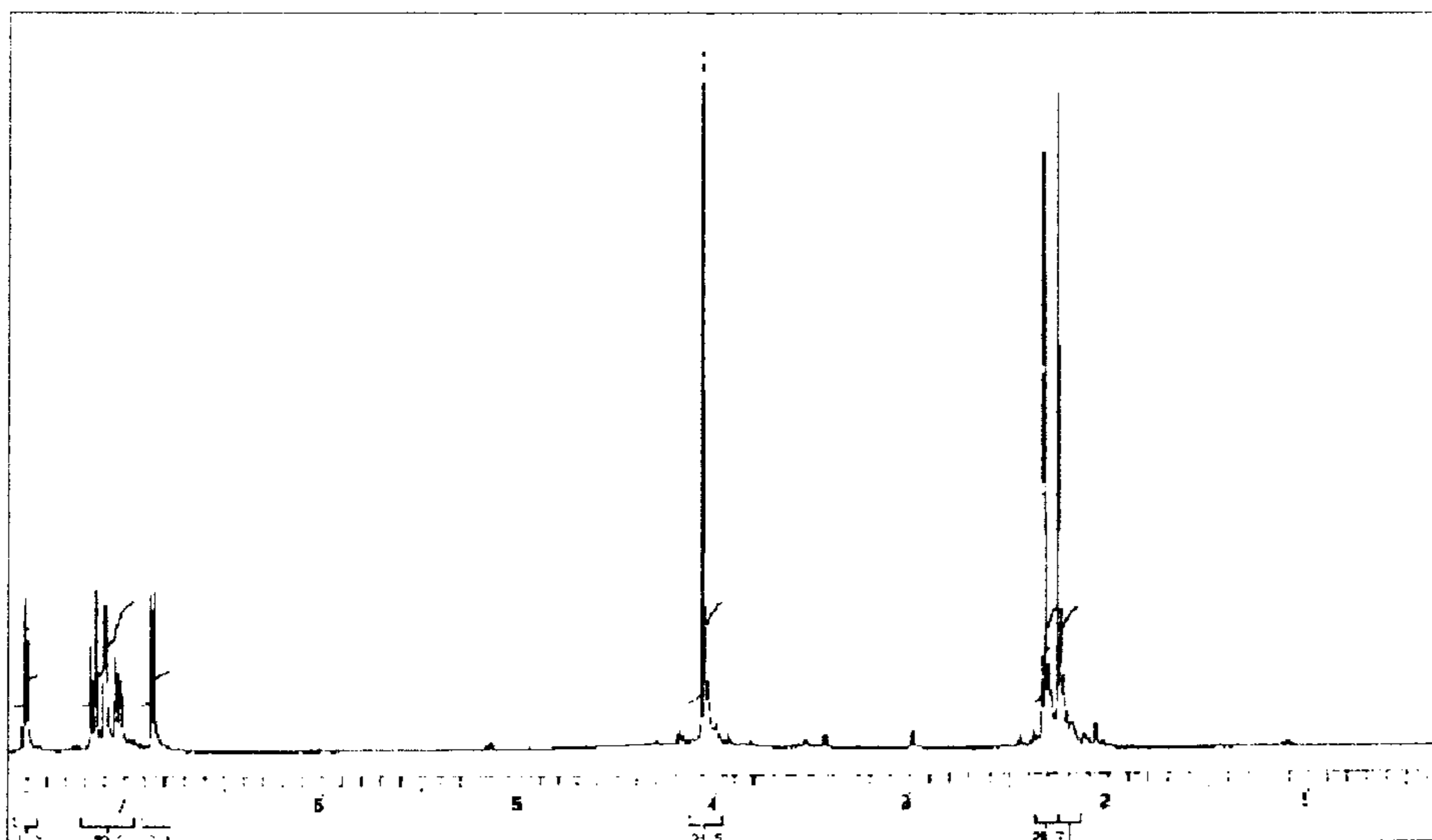


Fig 8. Cymiazole hydrochloride (Chloroform-d, 300 MHz ^1H NMR)

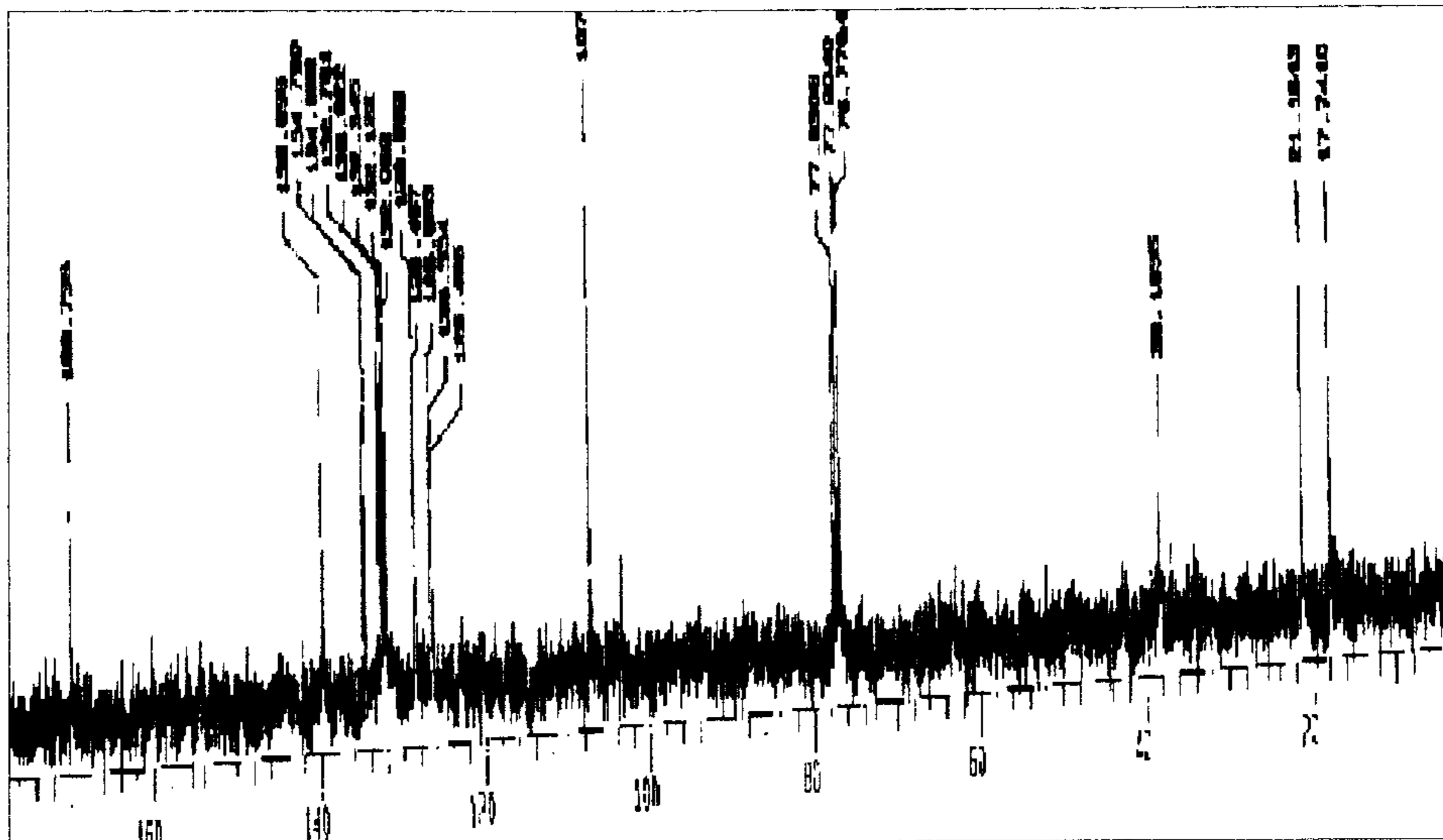


Fig 9. Cymiazole. HCl (Chloroform-d, 78.5 MHz ^{13}C NMR)

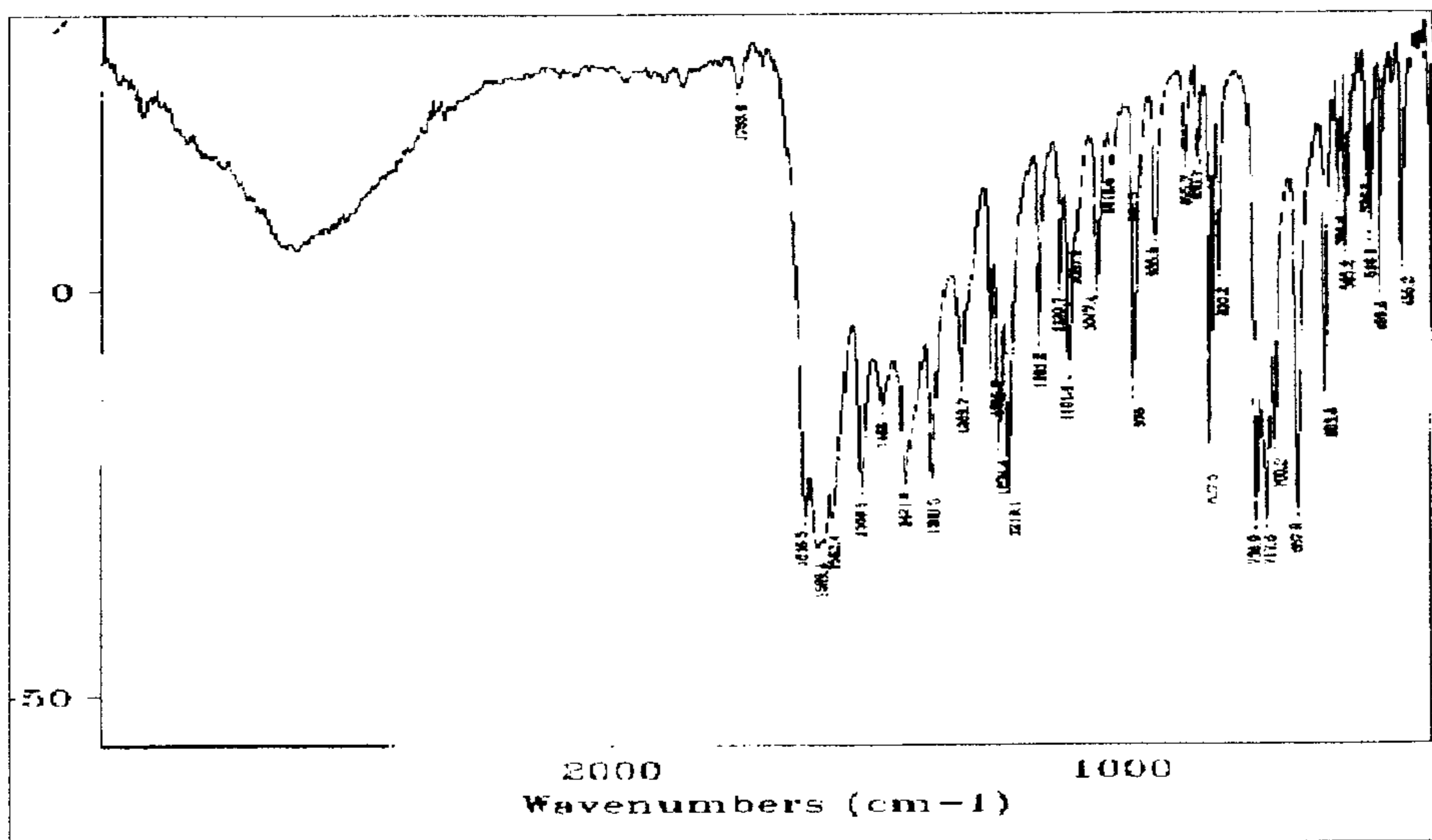


Fig 10. Cymiazole hydrochloride (KBr, FT-IR)

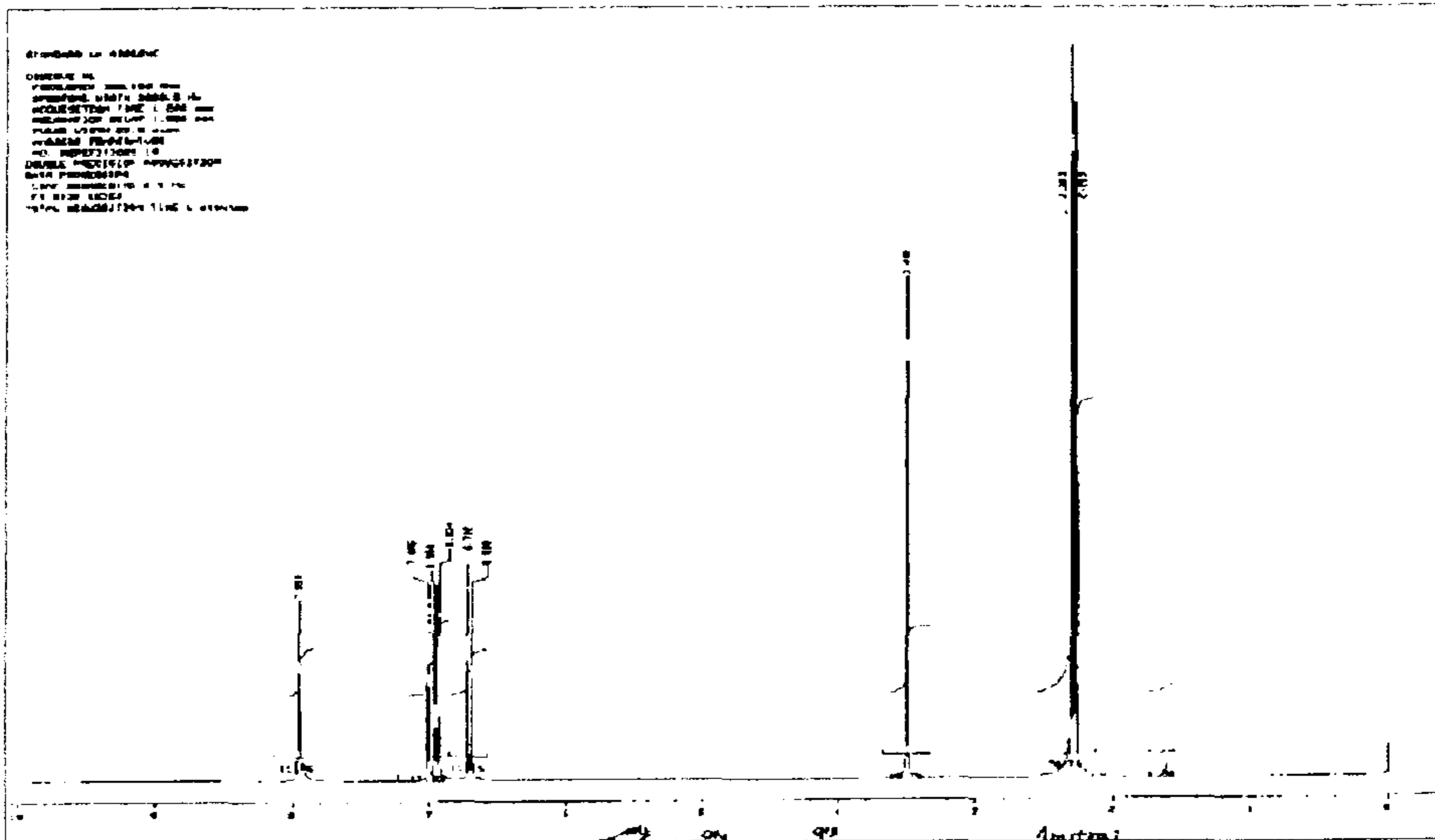


Fig 11. Amitraz (Chloroform-d, 300 MHz ^1H NMR)

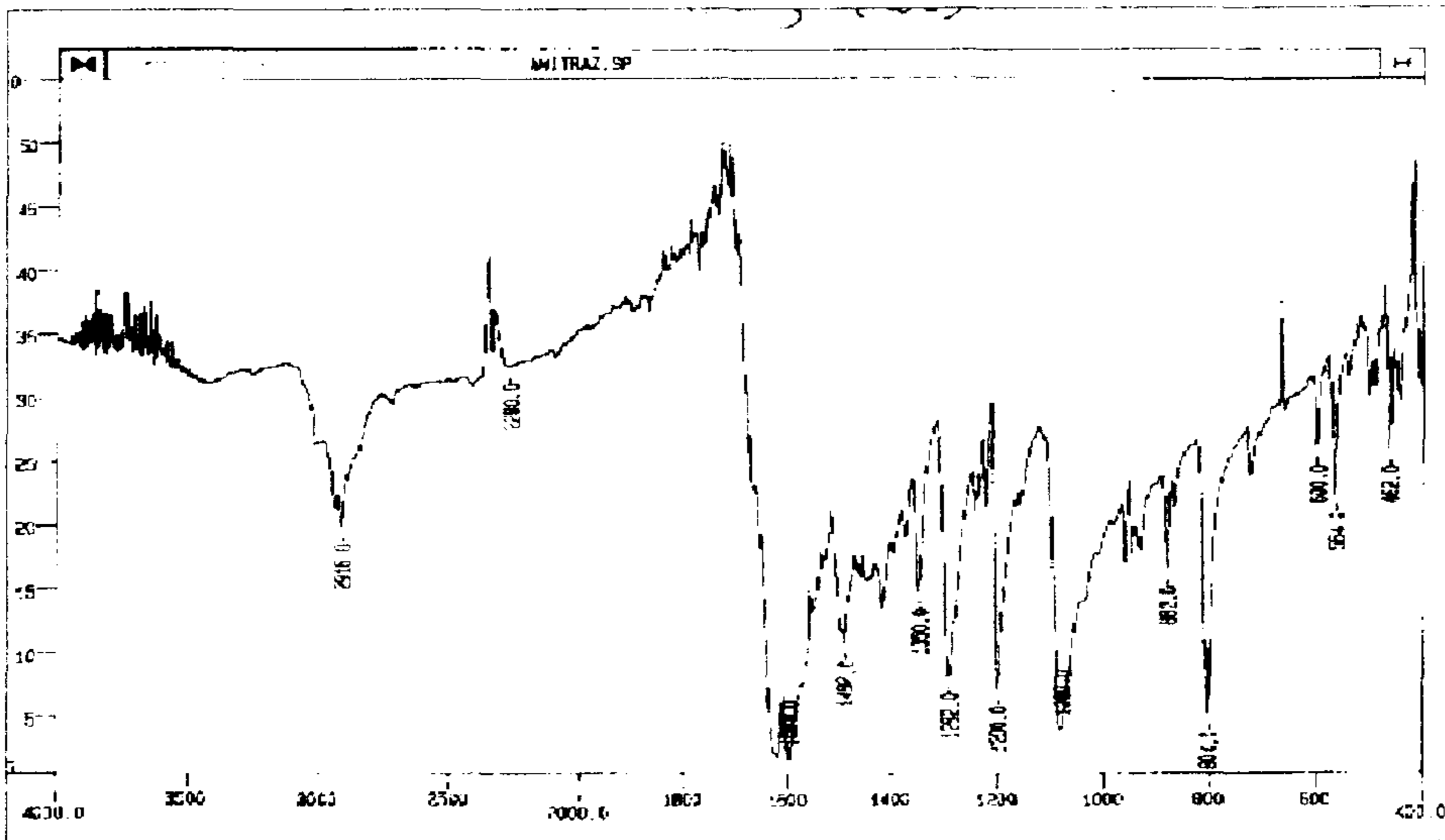


Fig 12. Amitraz (KBr, FT-IR)

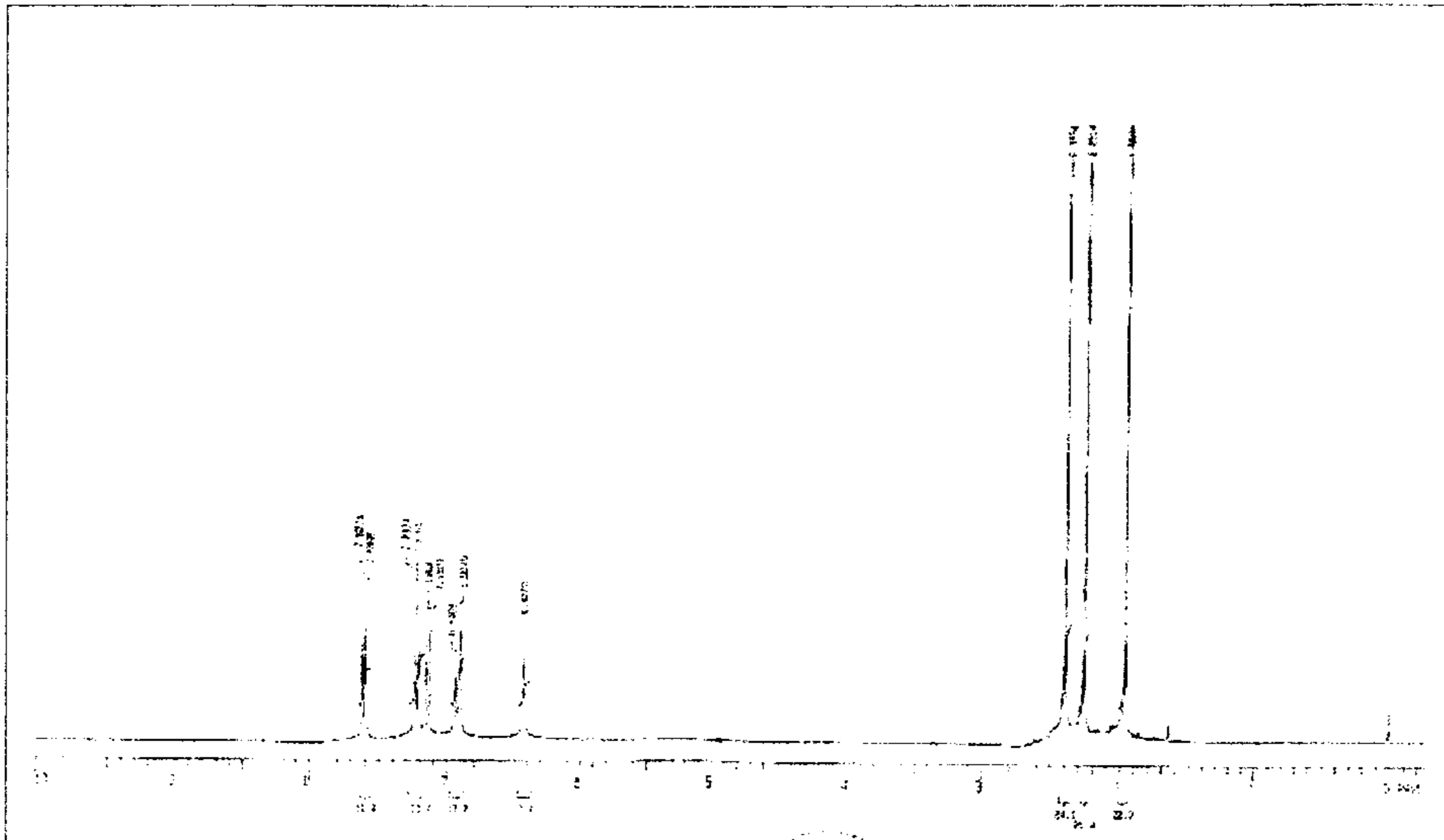


Fig 13. Sulfonamide deriv.(Chloroform-d, 300 MHz ^1H NMR)

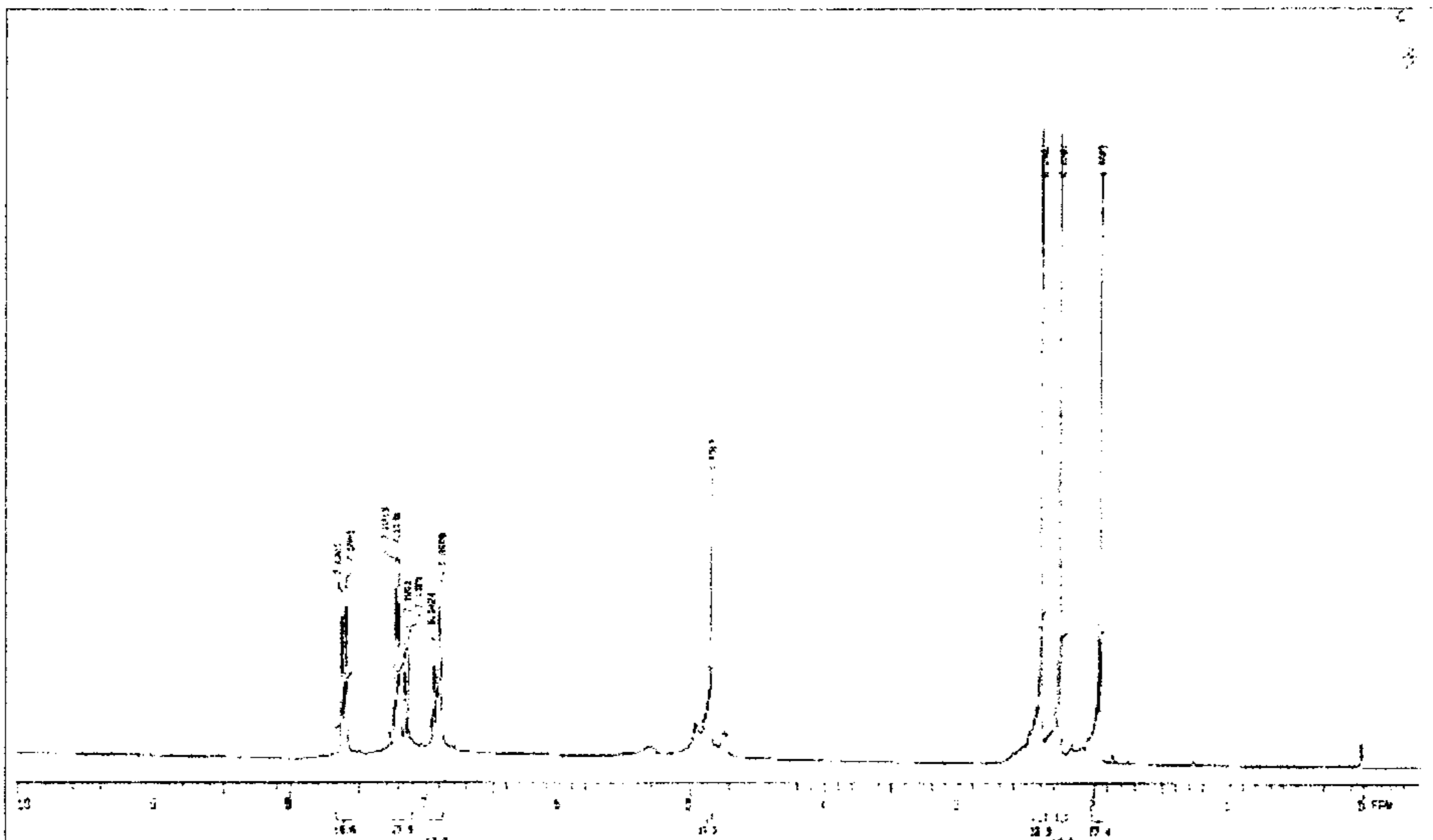


Fig 14. Sulfonamide derivatives(D_2O exchange)
(CDCl_3 , 300 MHz ^1H NMR)

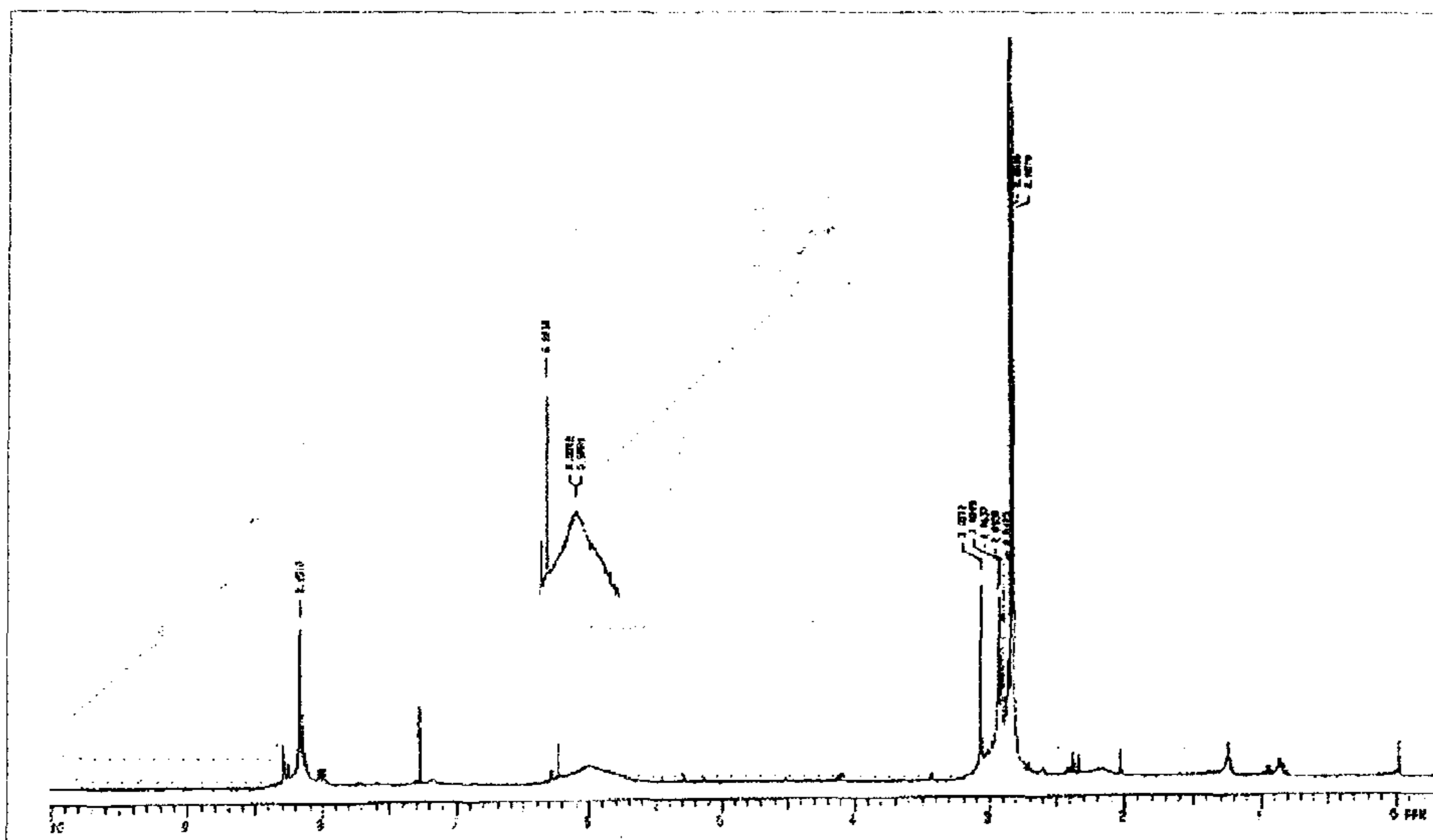


Fig 15. p-Toluenesulfonyl amide (CDCl_3 , 300 MHz ^1H NMR)

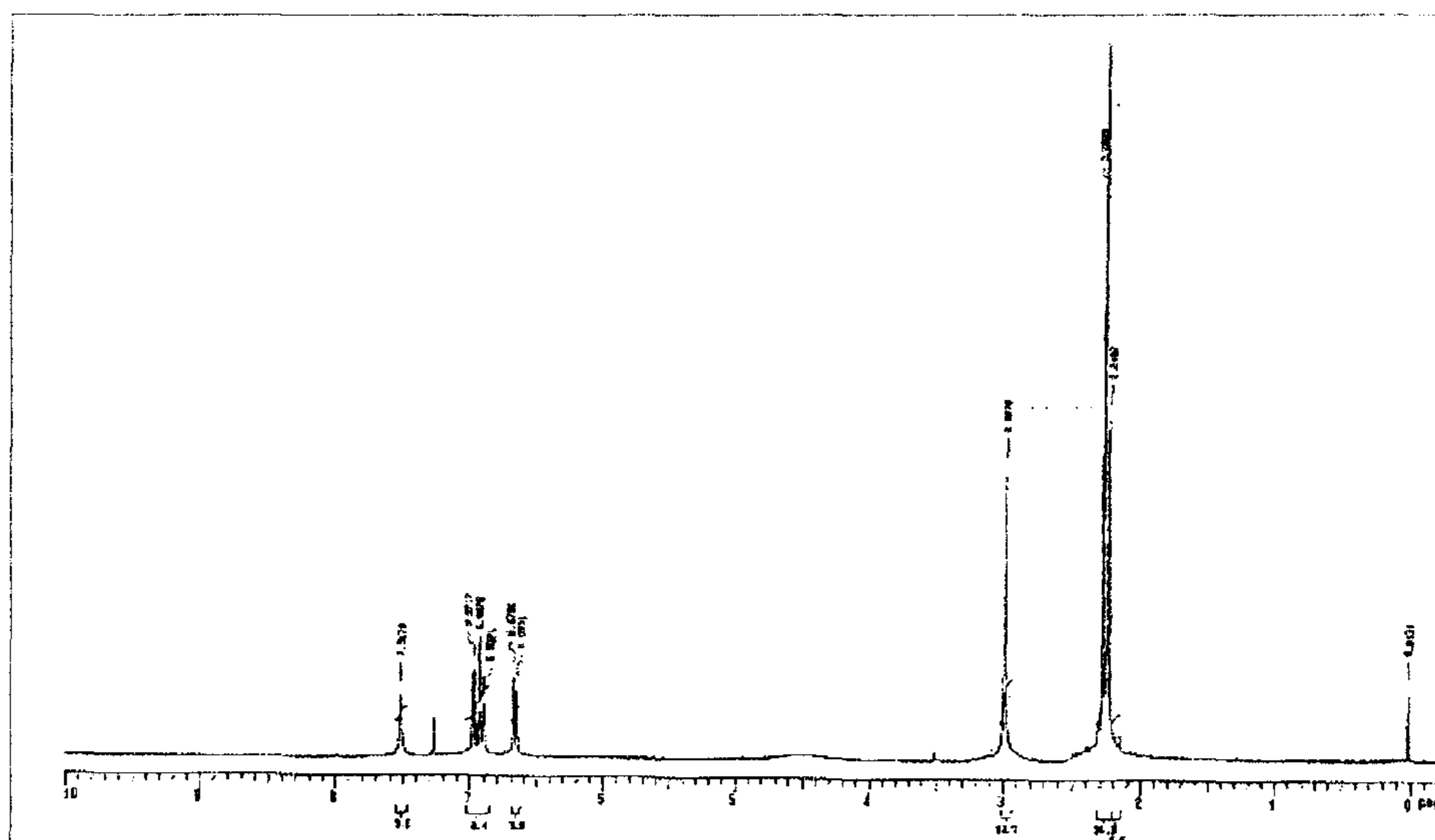


Fig 16. N-2,4-dimethylphenyl-N'-methylformamide
(CDCl_3 , 300 MHz ^1H NMR)

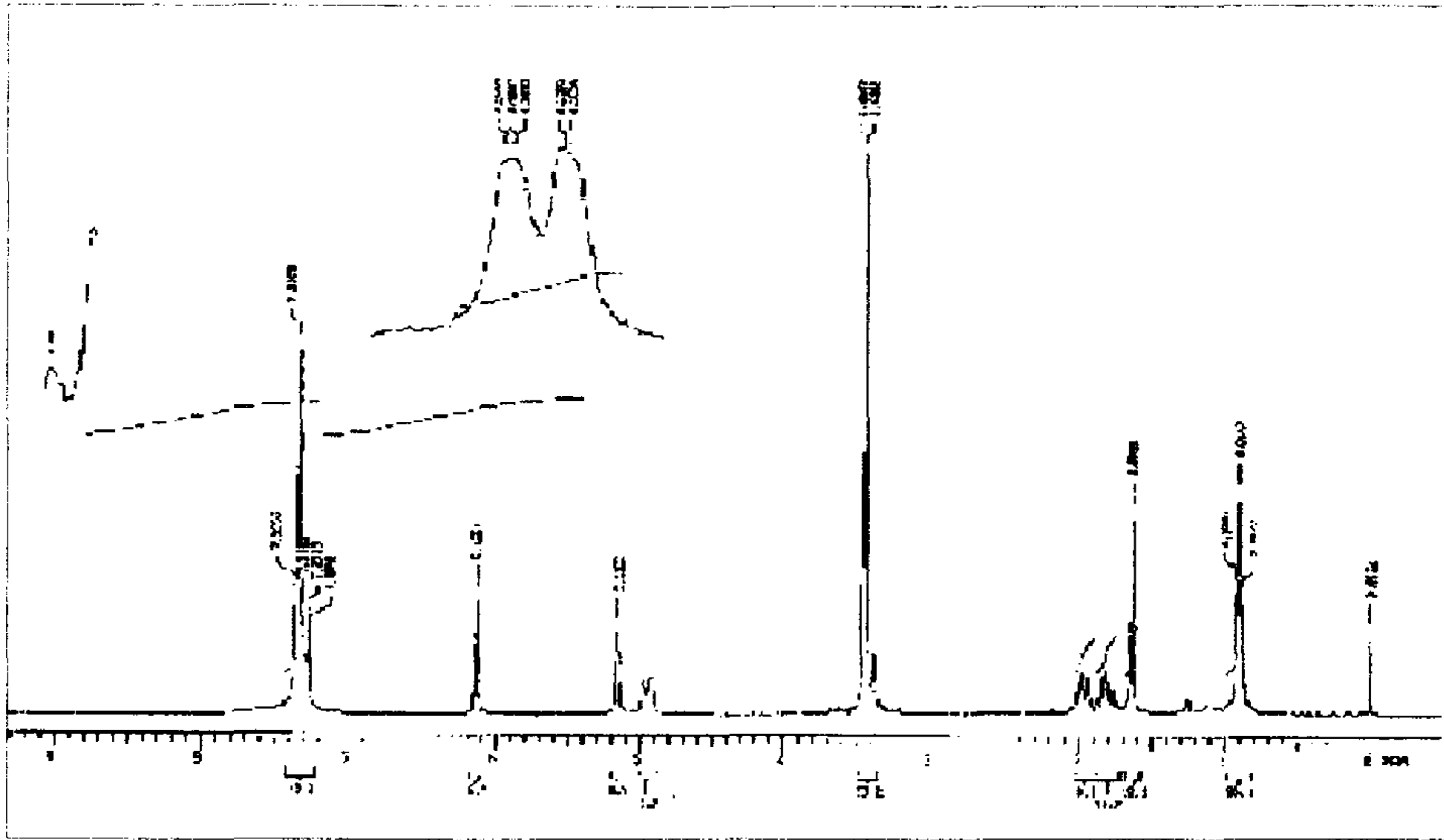


Fig 17. Flumethrin (Chloroform-d, 300 MHz ^1H NMR)

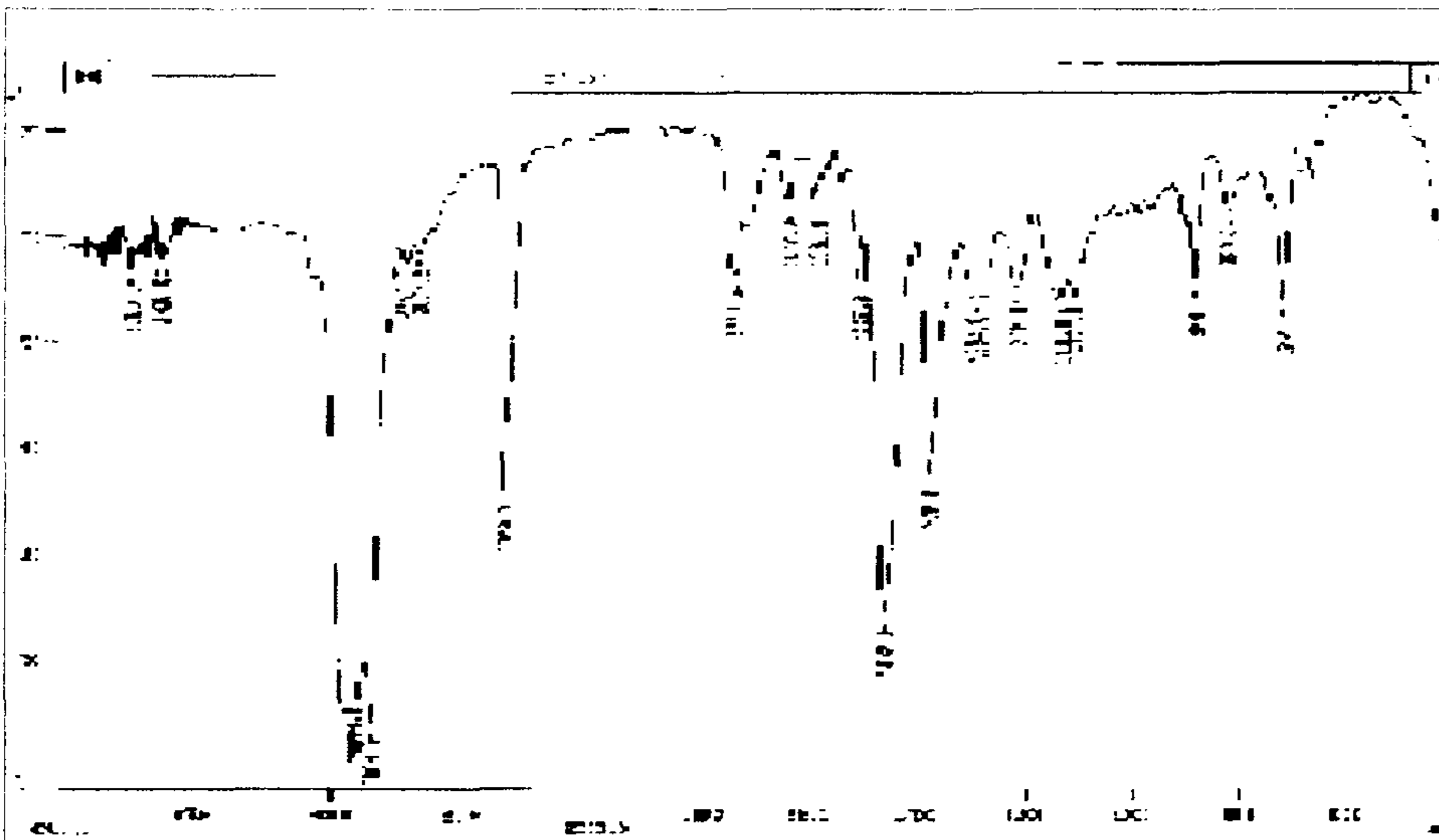


Fig 18. Flumethrin (KBr, FT-IR)

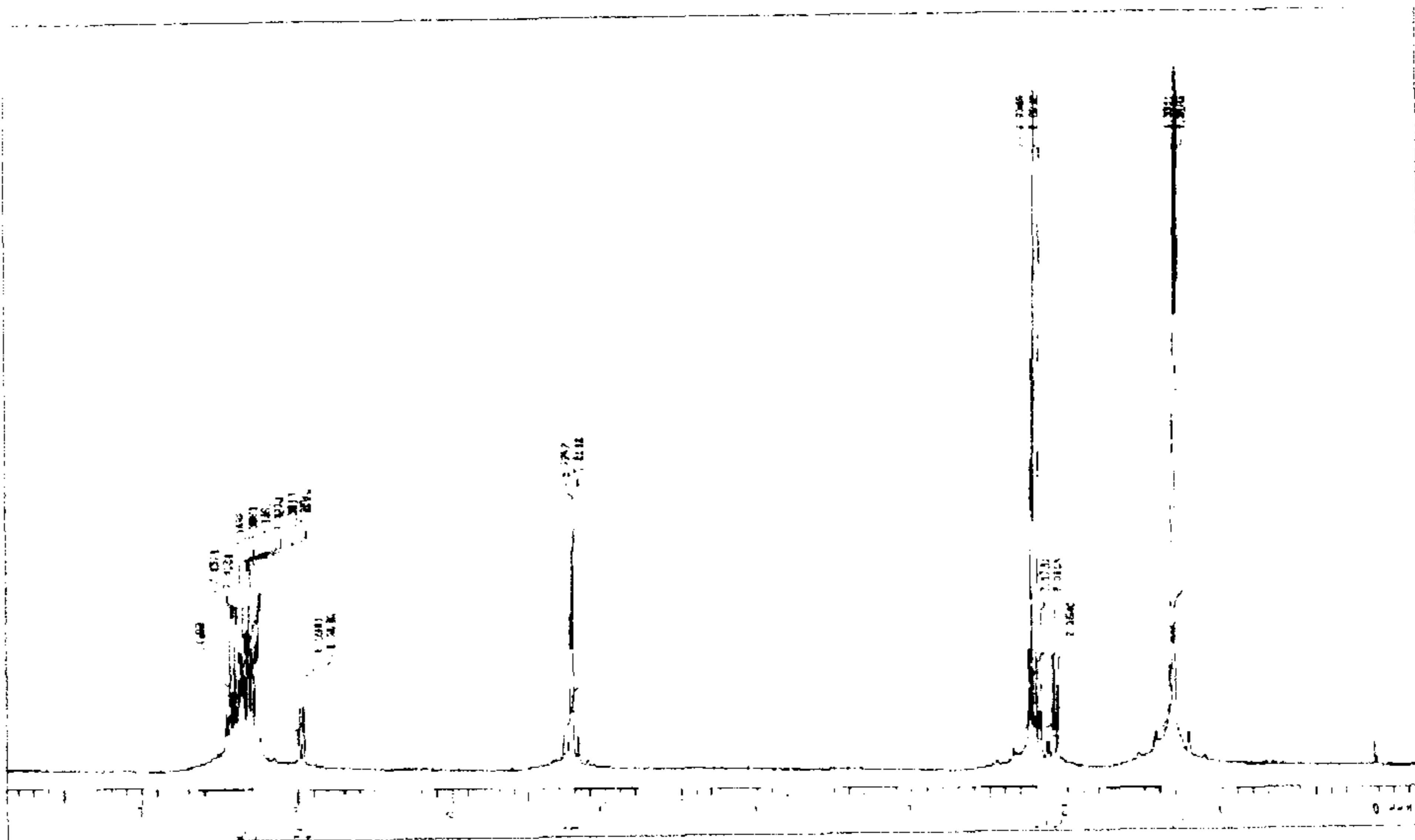


Fig 19. Bifenthrin : Talstar (Chloroform-d, 300 MHz ^1H NMR)

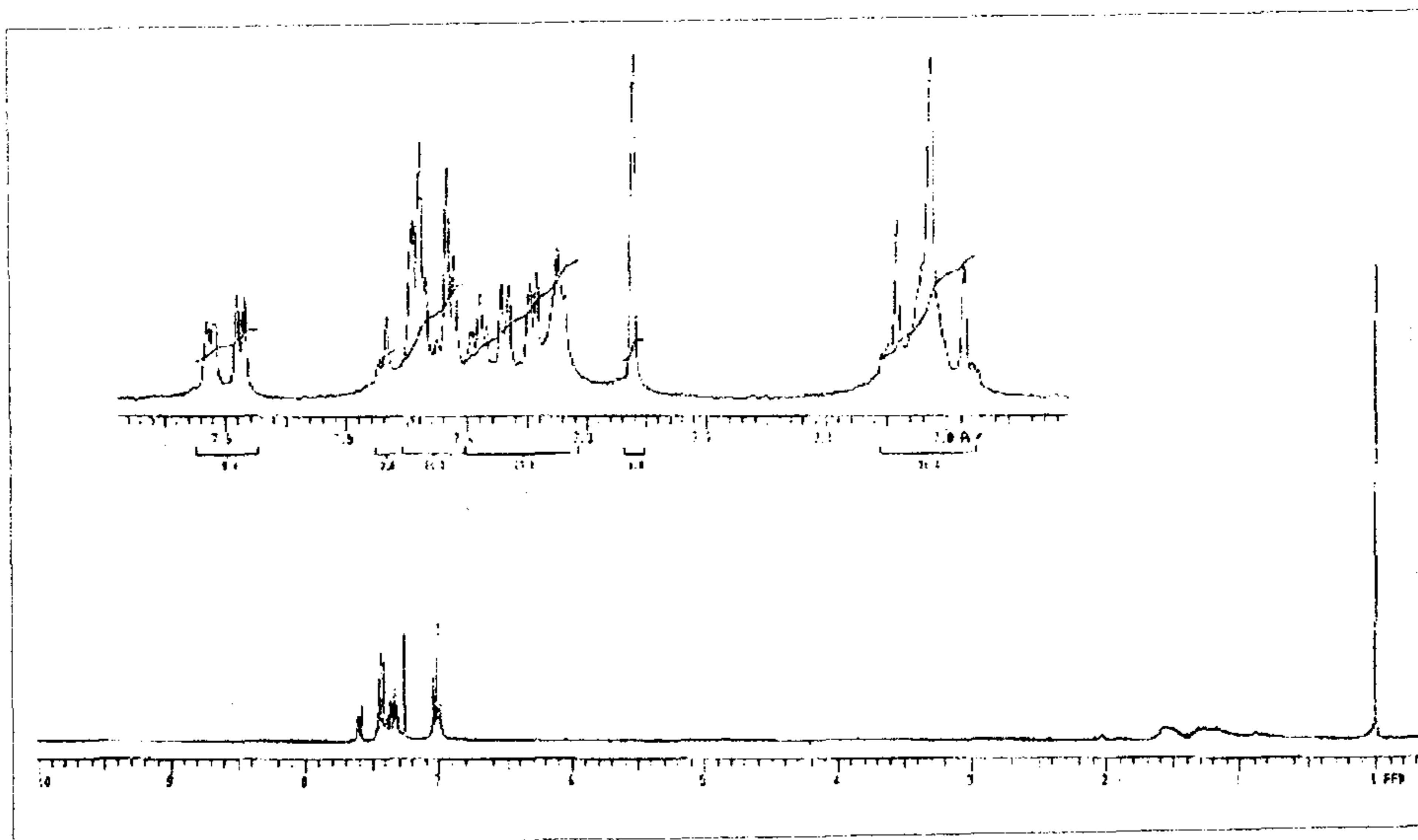


Fig 20.
 3-(2-chlorophenyl)-6-(2,6-difluorophenyl)-1,2,4,5-hydrazine
 ($\text{CDCl}_3\text{-d}$, 300 MHz, ^1H NMR)

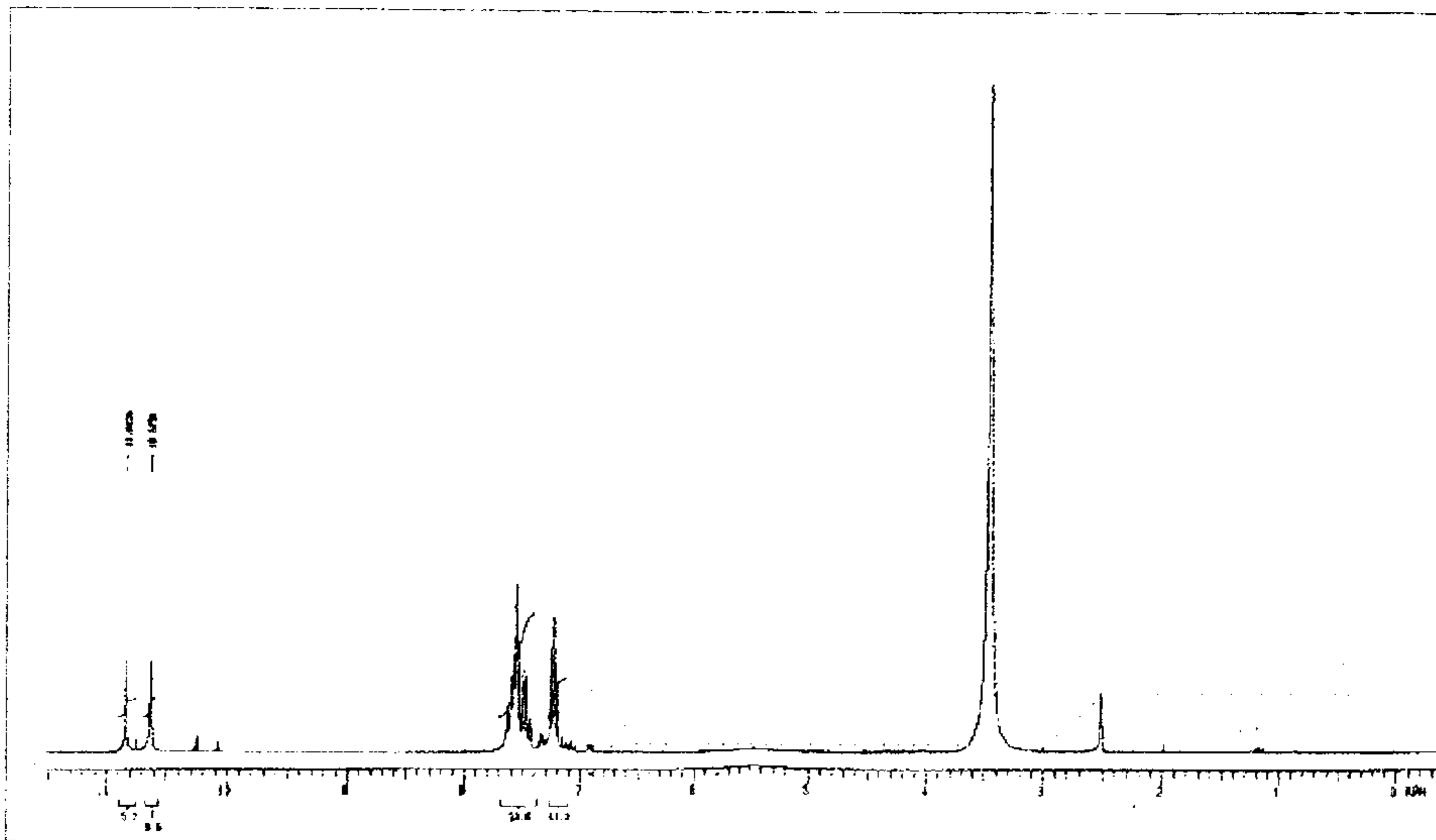


Fig 21. N' -(2,6-difluorobenzylidene)- N -2-chlorobenzoylhydrazine
(Chloroform-d, 300 MHz ^1H NMR)

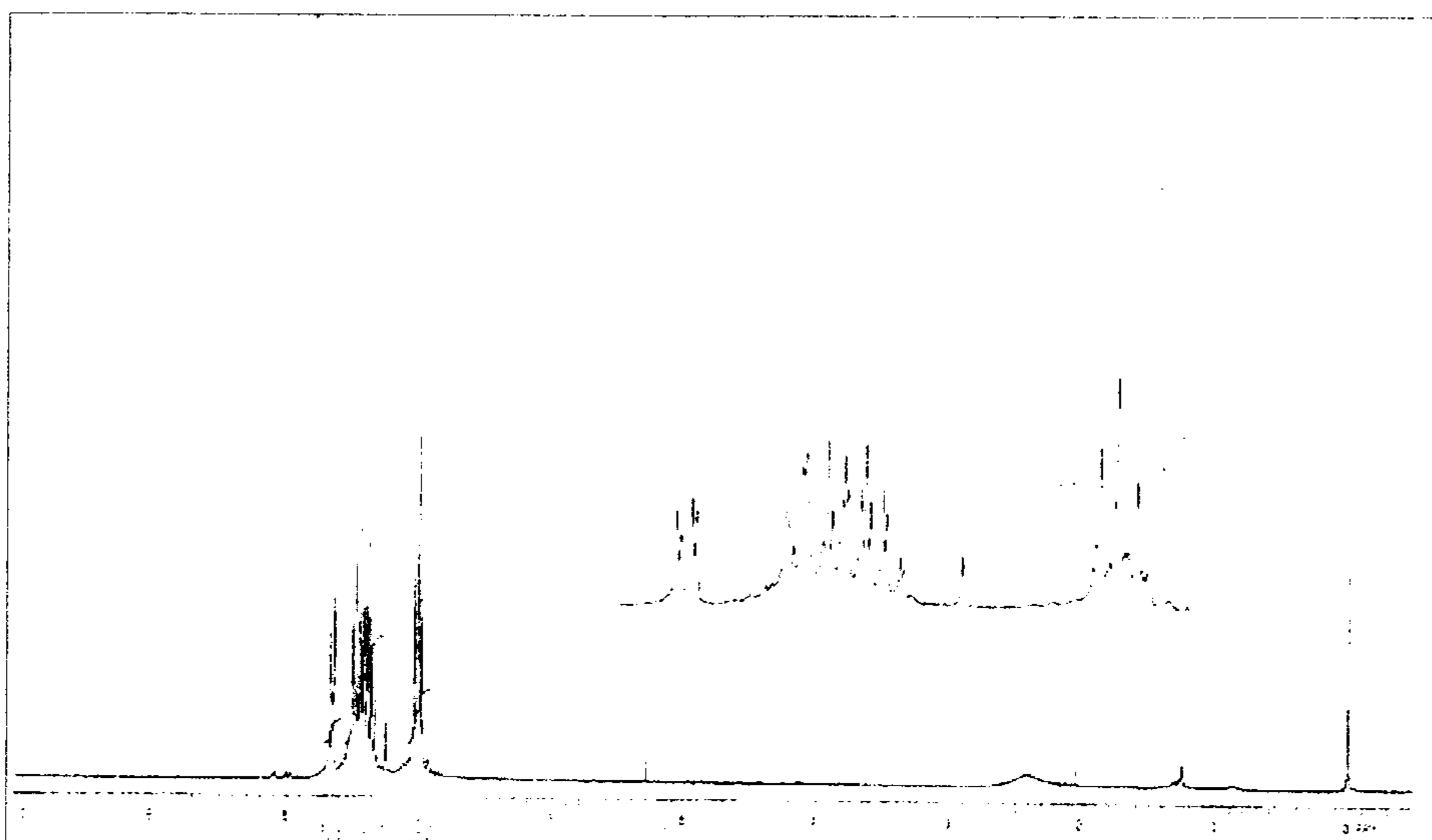


Fig 22.
 N -(α ,2-dichlorobenzylidene)- N' -(α -chloro-2-chloro-2,6-difluorobenzylidene)hydrazine (CDCl_3 -d, 300 MHz, ^1H NMR)

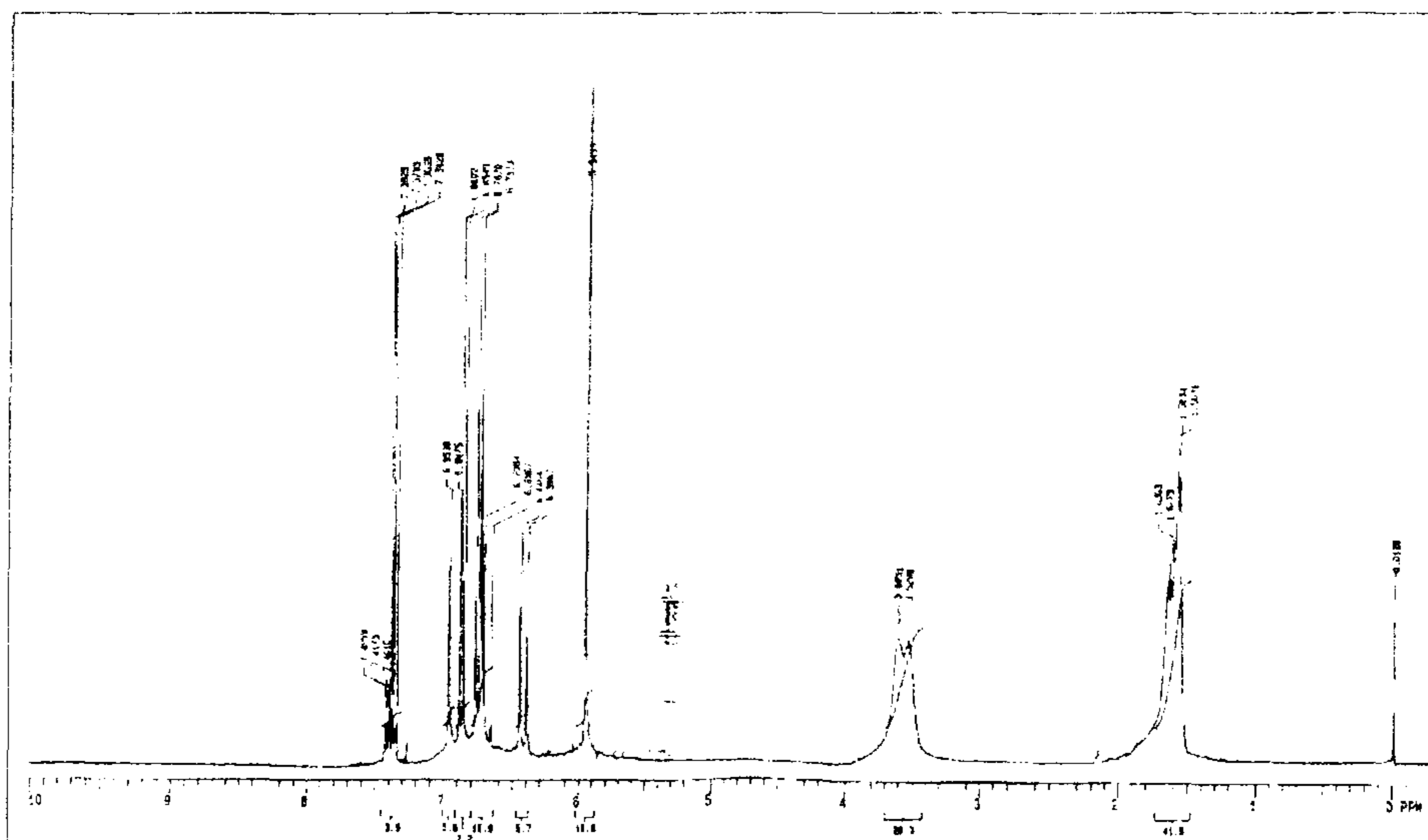


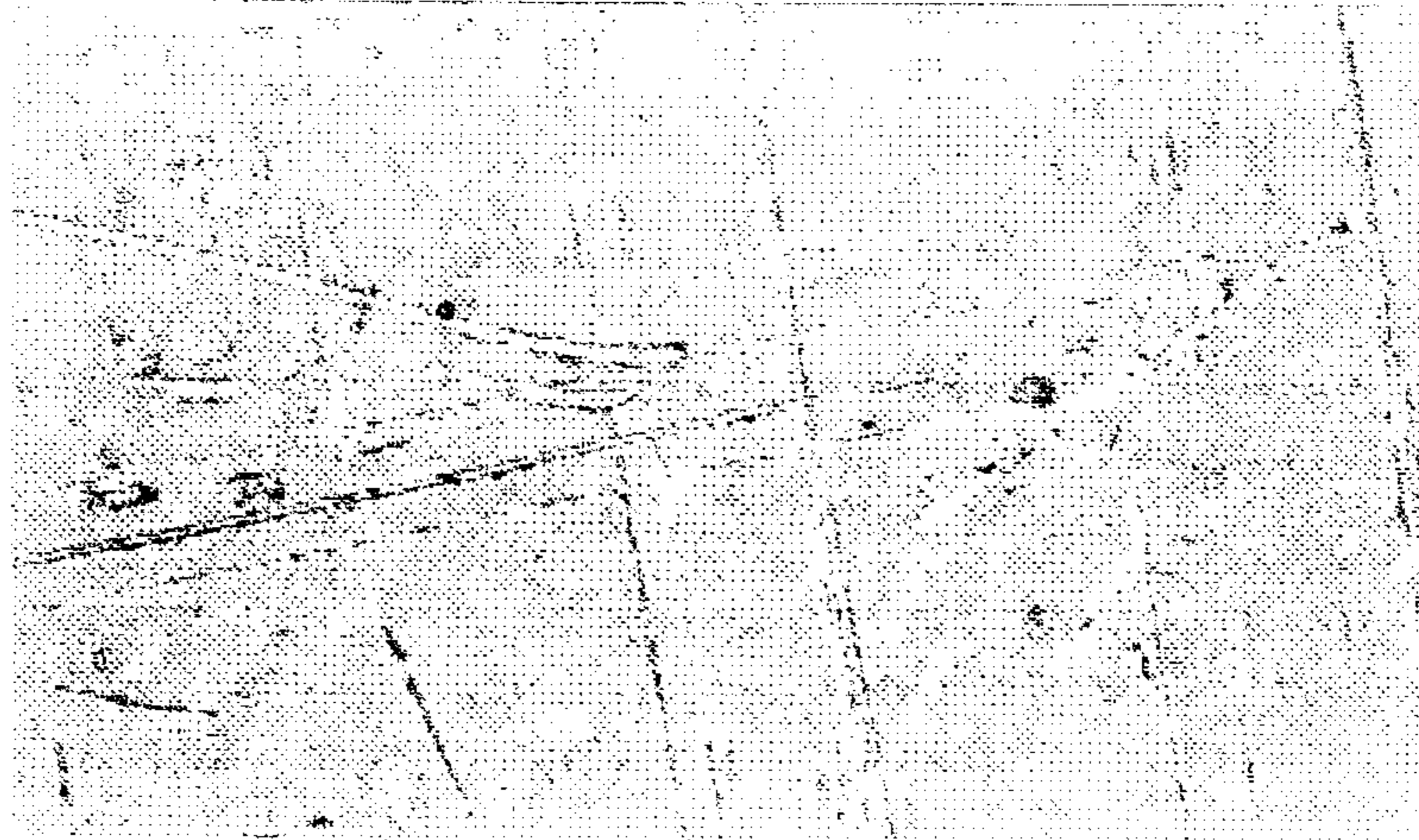
Fig 23. Peperine (300 MHz, ^1H NMR, Chloroform-d)

부 록 2

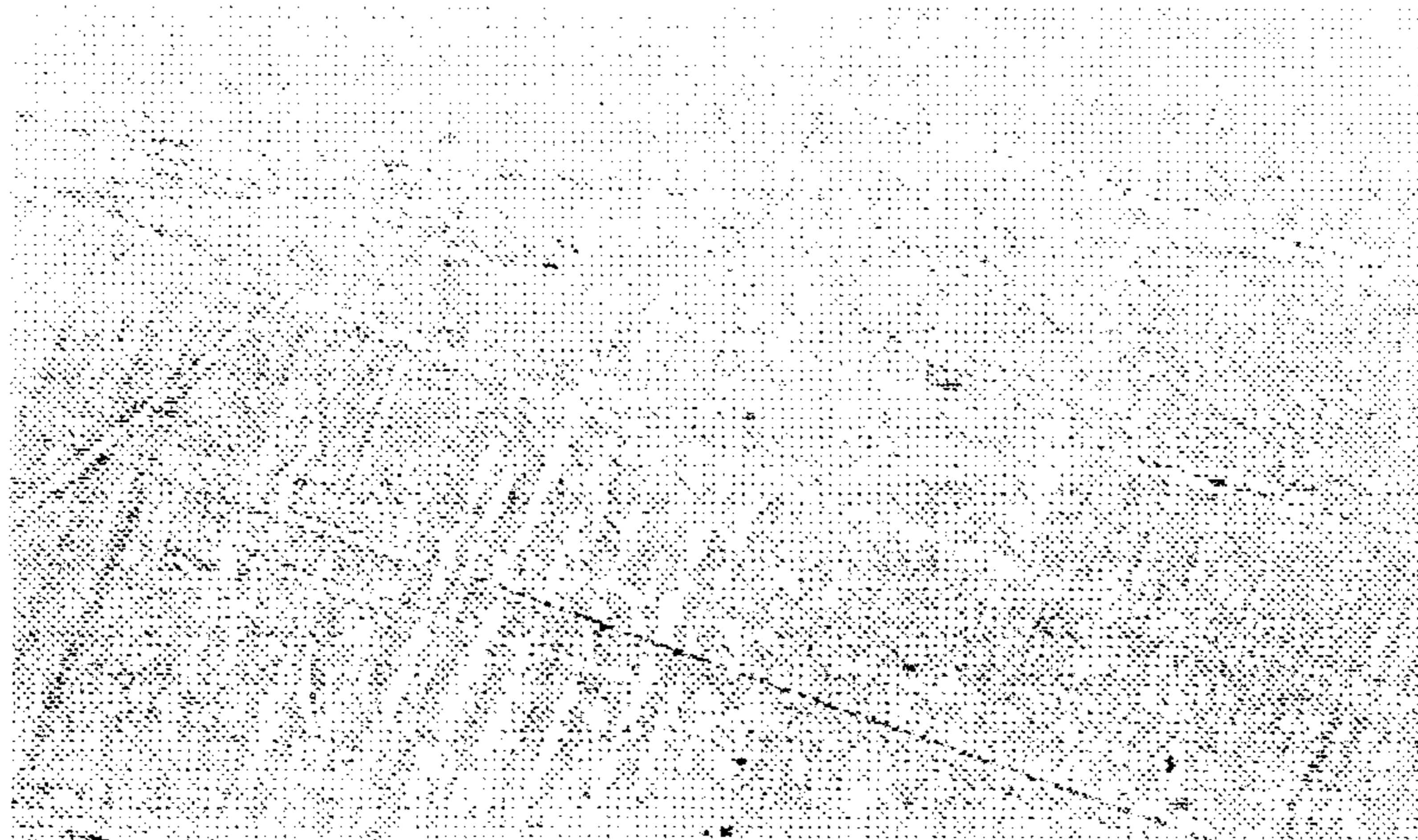
제형화 제품의 전자현미경 사진

여 백

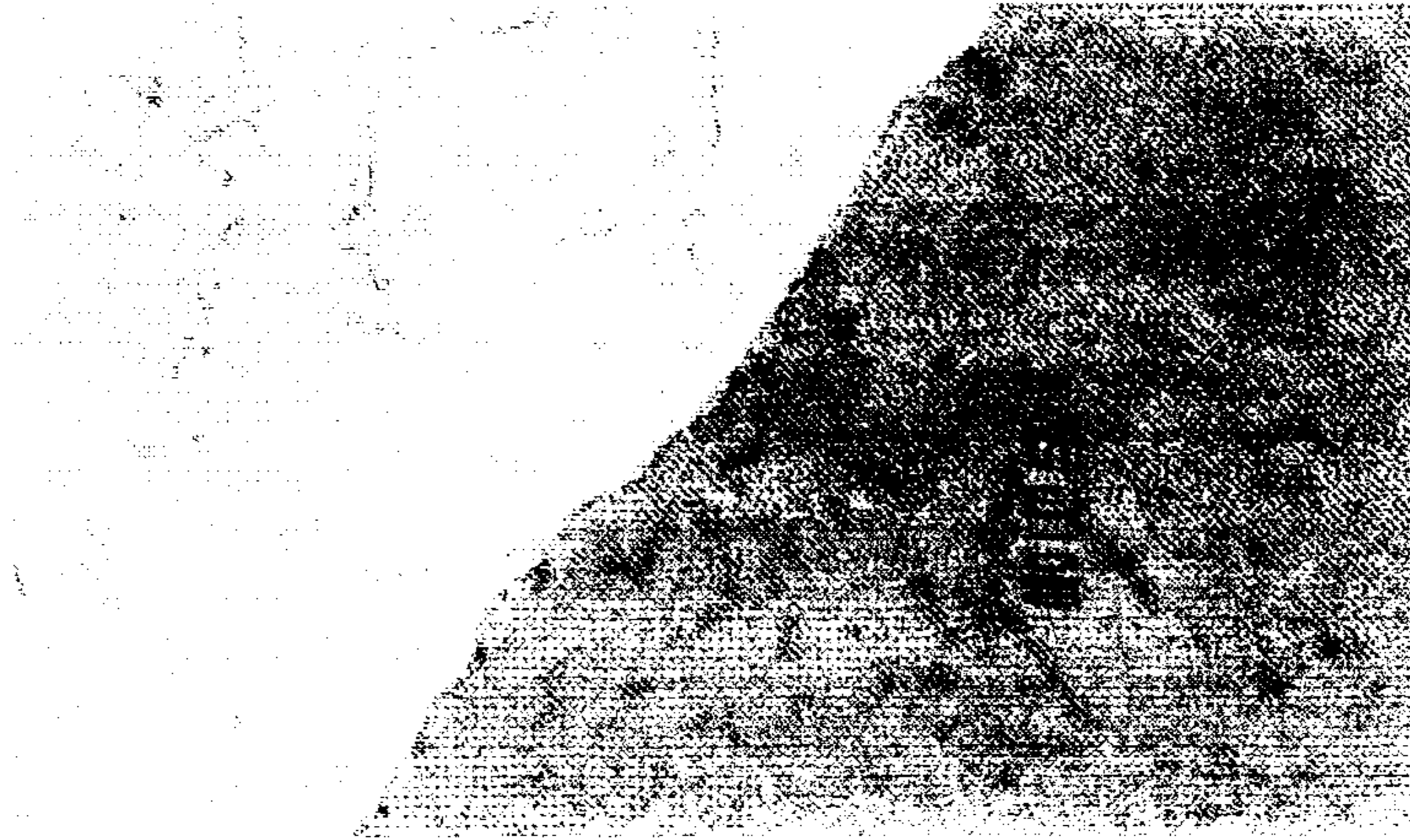
1) Apistan strip를 500배 광학현미경으로 표면 관찰.



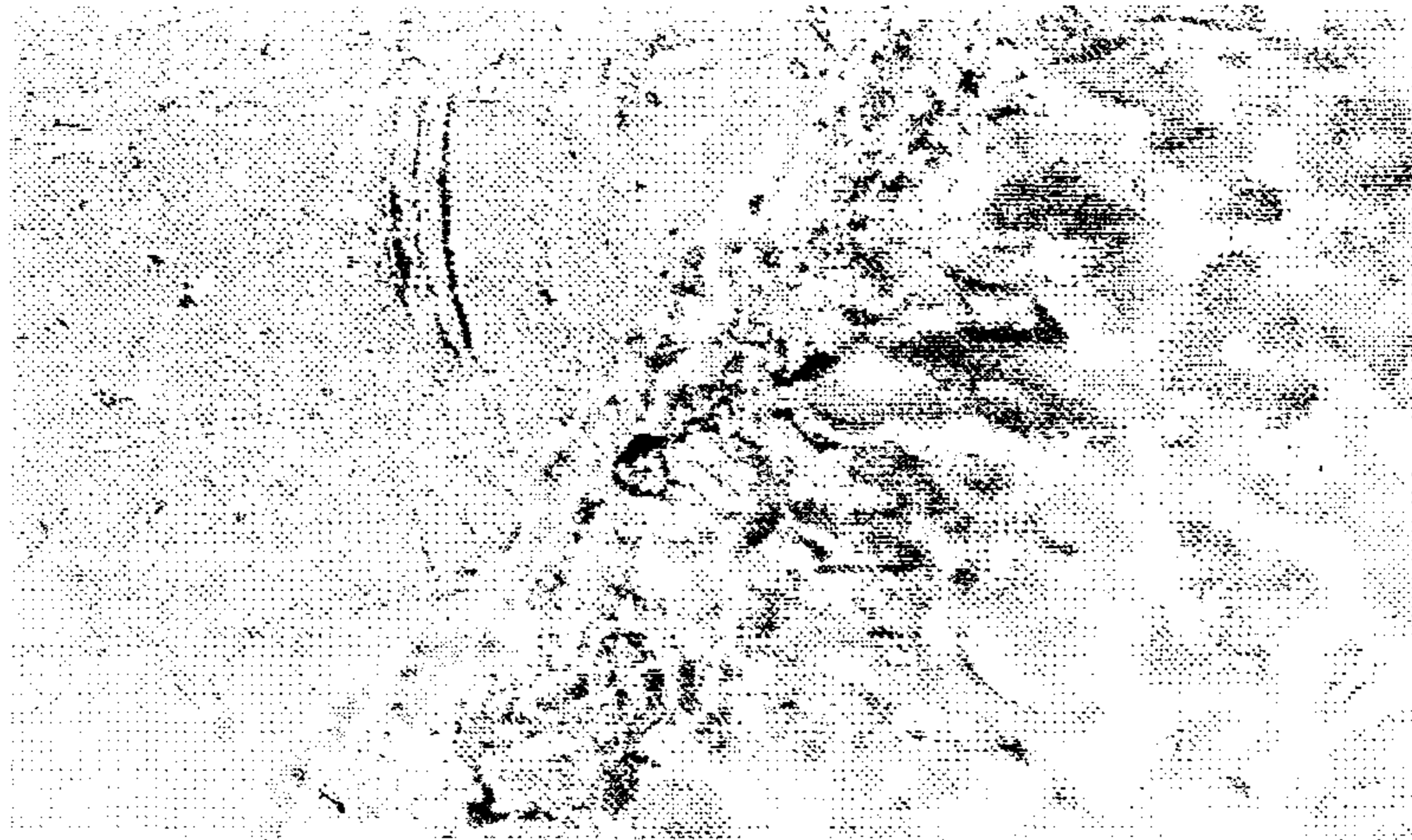
2) Apistan strip 표면만 메탄올로 세척한후 1시간 건조후의 PVC strip.



3) Apistan strip을 배탄을 1방울하에 약이 녹아들어가는 모습



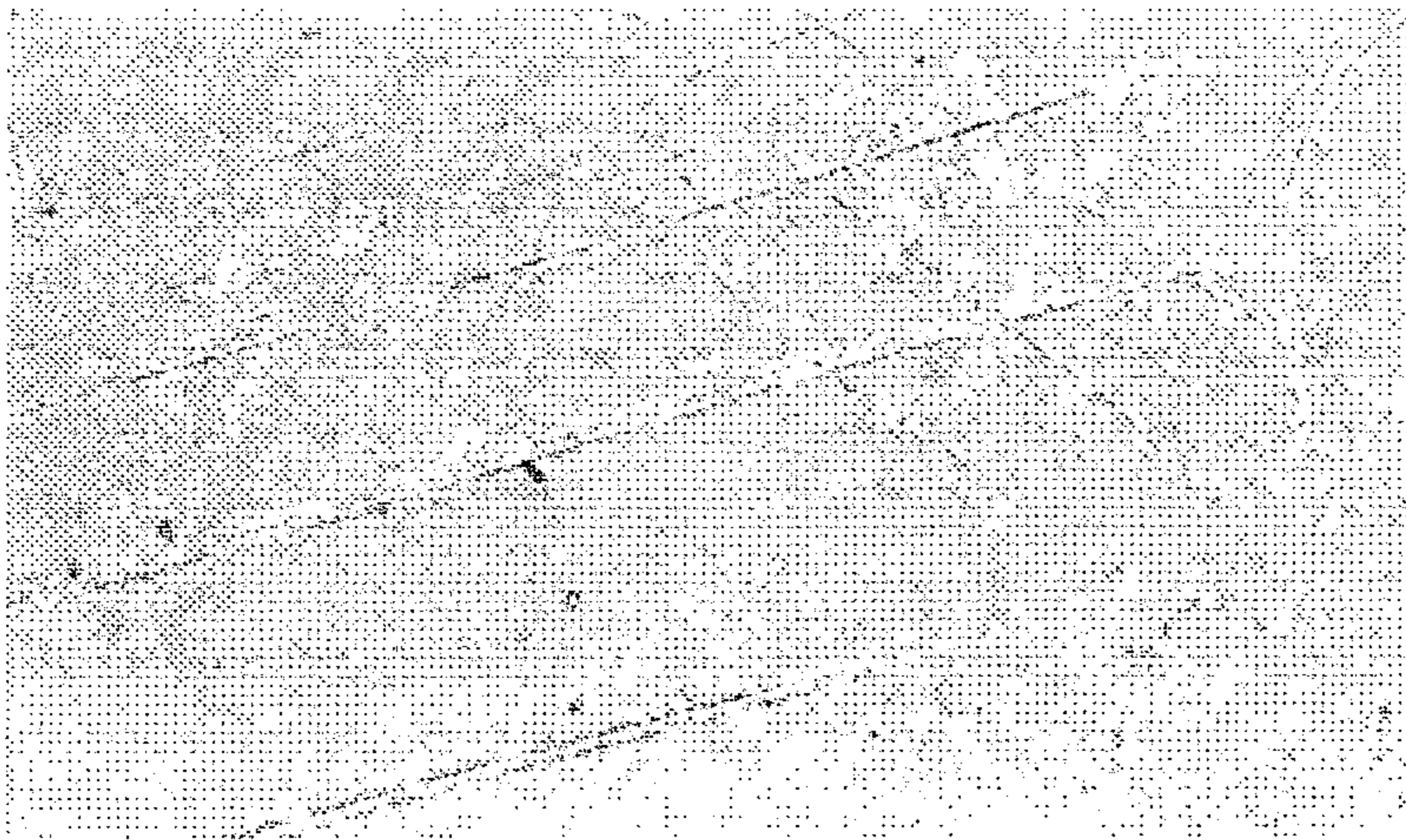
4) Apistan strip에 배탄을 1방울을 떨어뜨린 후
Fluvalinate약이 녹아서 퍼져나간후 약이 붓쳐있는 모습.



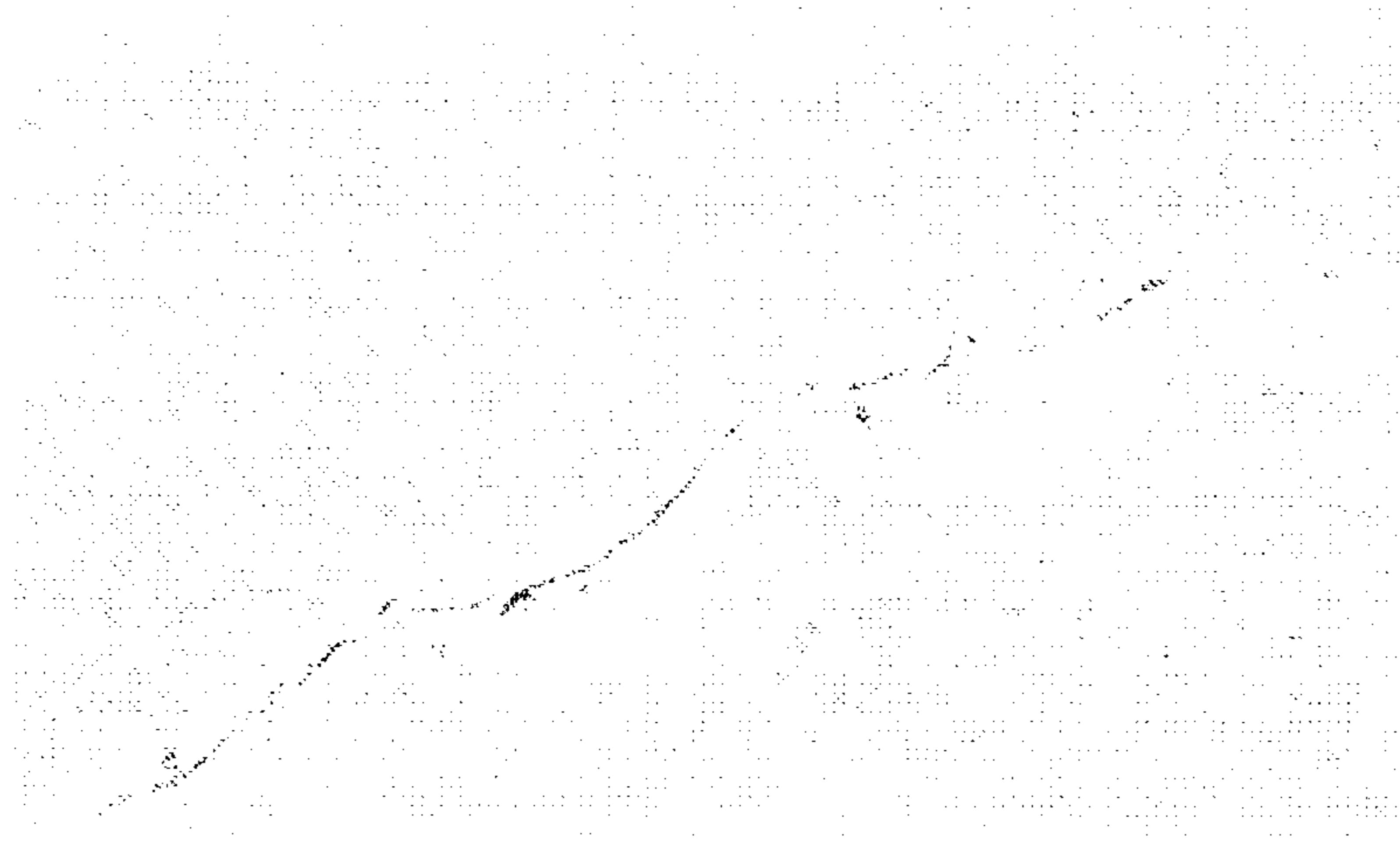
5) 사진4)의 부분 확대(현미경사진을 찍고 완전히 바른상태)



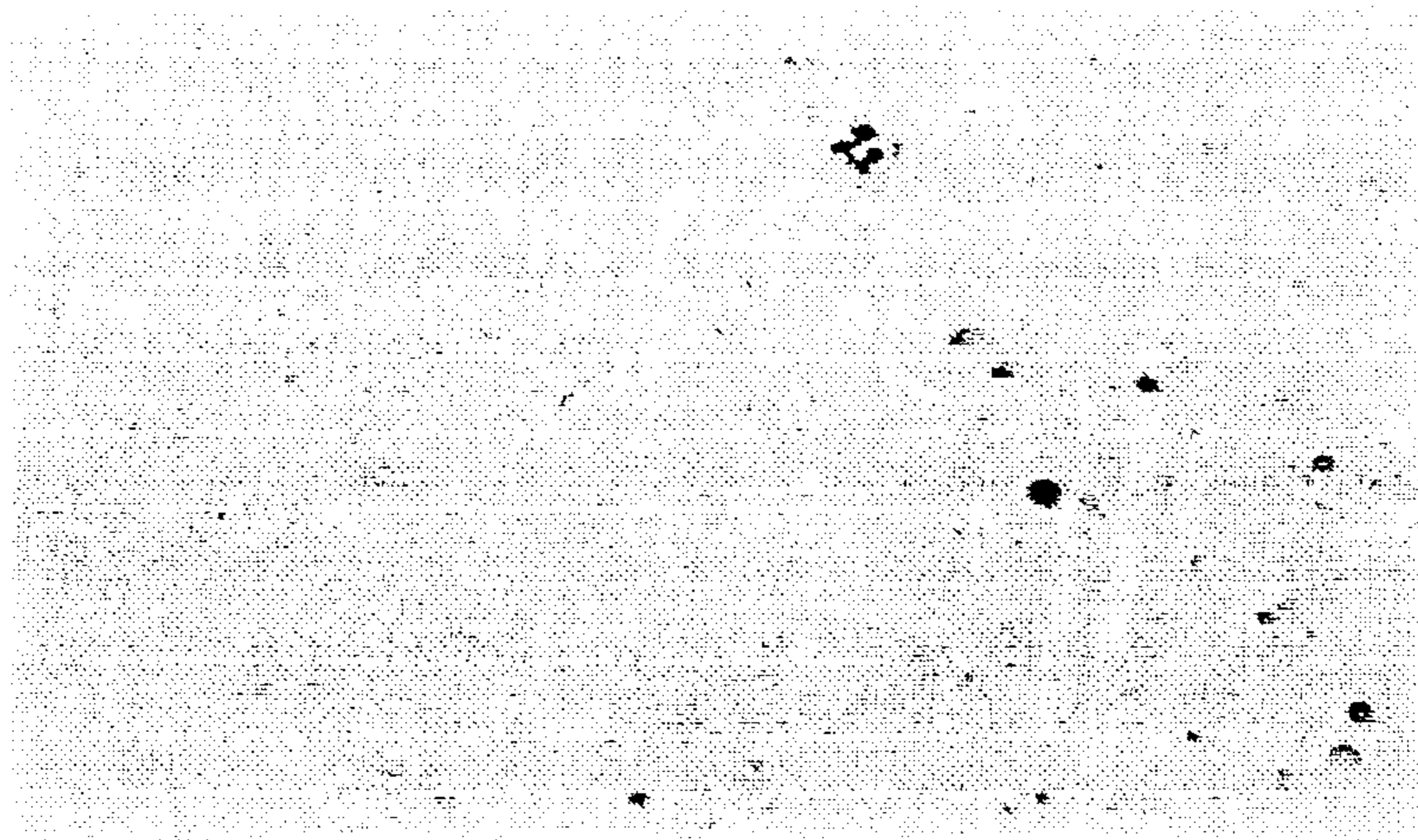
6) 본연구를 통하여 제형화 한 제품; KST-F-1



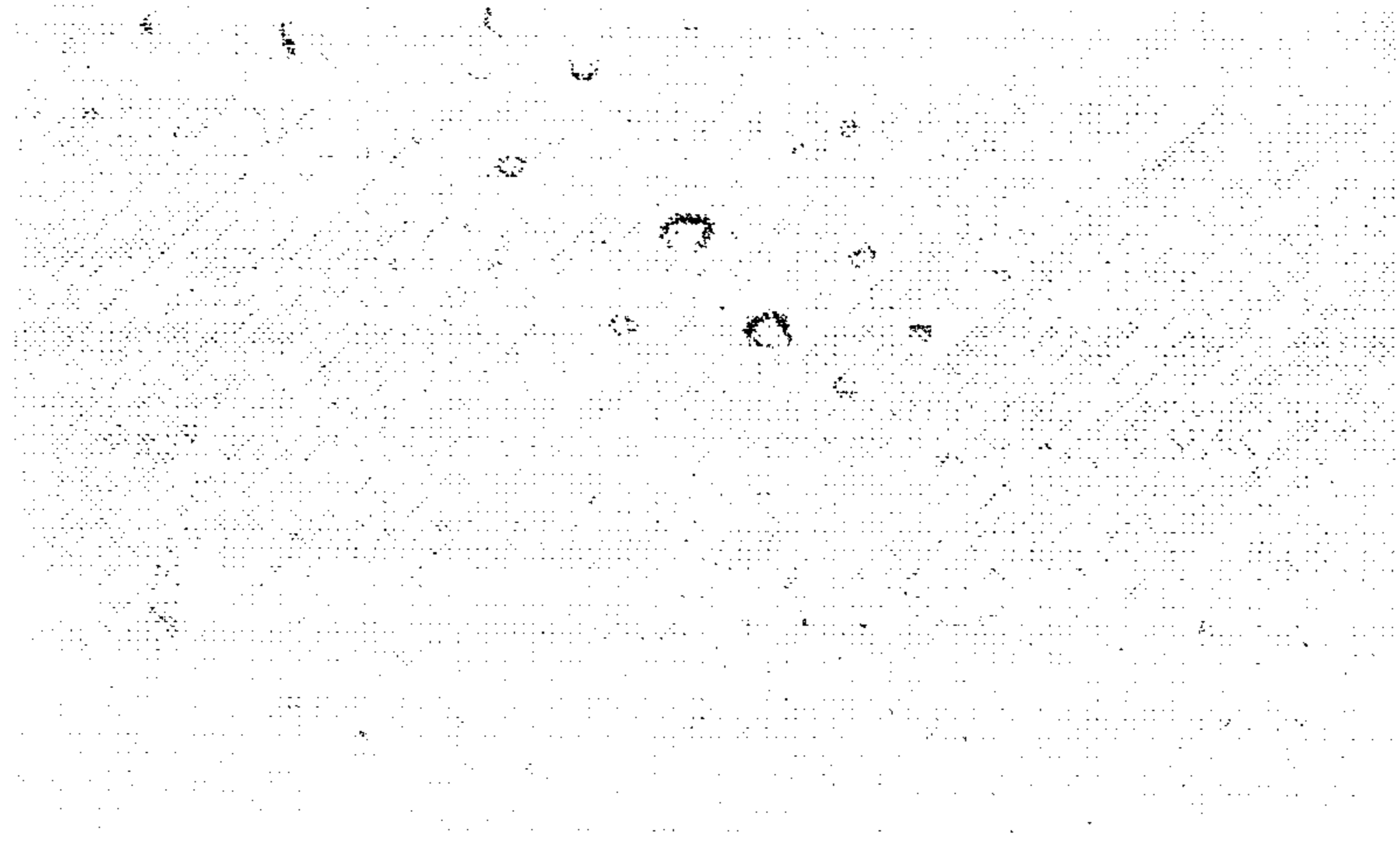
7) KST-F-1에 배탄을 현방울을 떨어뜨린후 Fluvalinate약이 녹아 퍼져나가는 현상(A).



8) KST-F-1에 배탄을 현방울을 떨어뜨린후 Fluvalinate약이 녹아 퍼져나가는 현상(B).



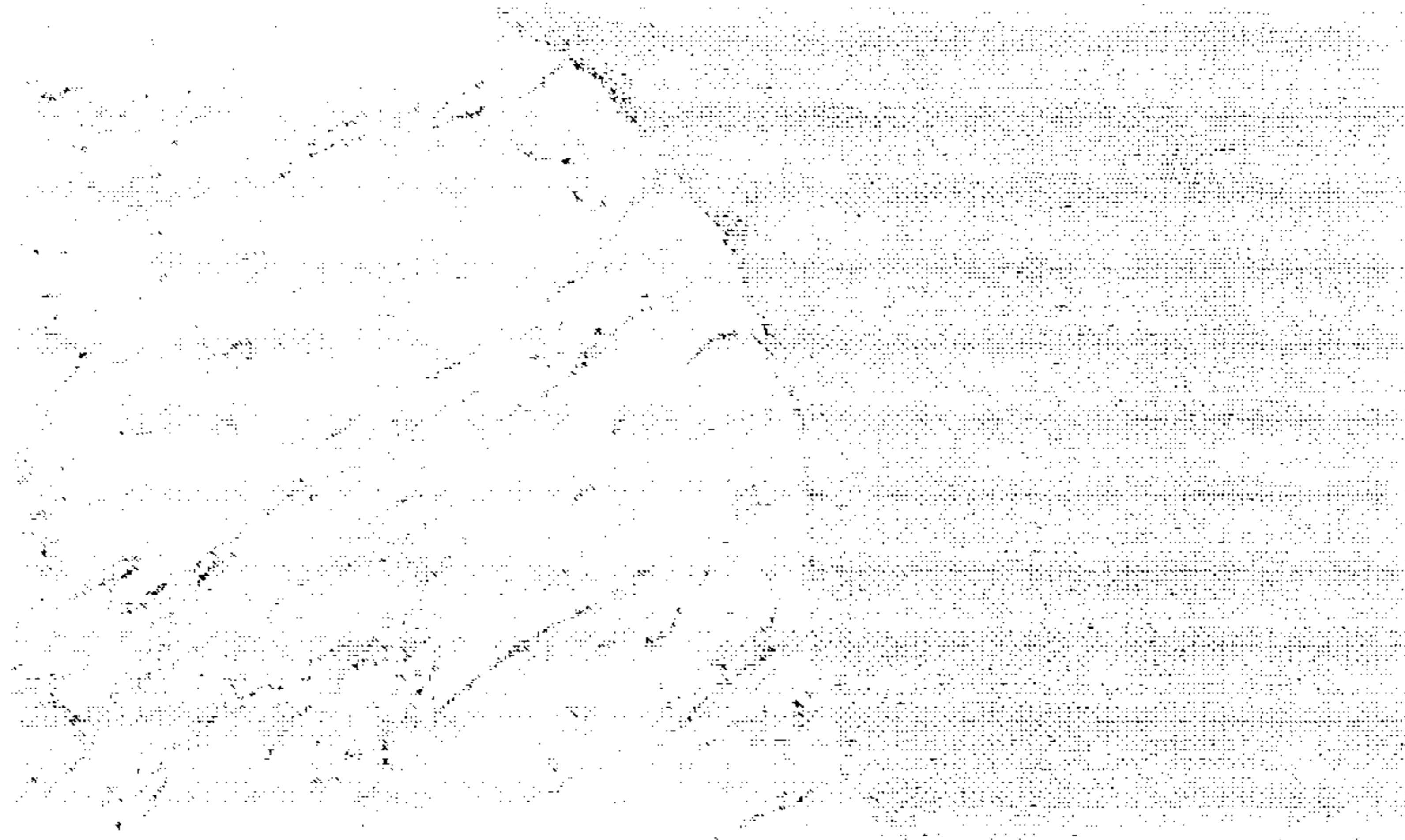
9) KST-F-1에 배턴을 한방울을 떨어뜨린 후 Fluralinate 약이 녹아 퍼진 후 마른상태.



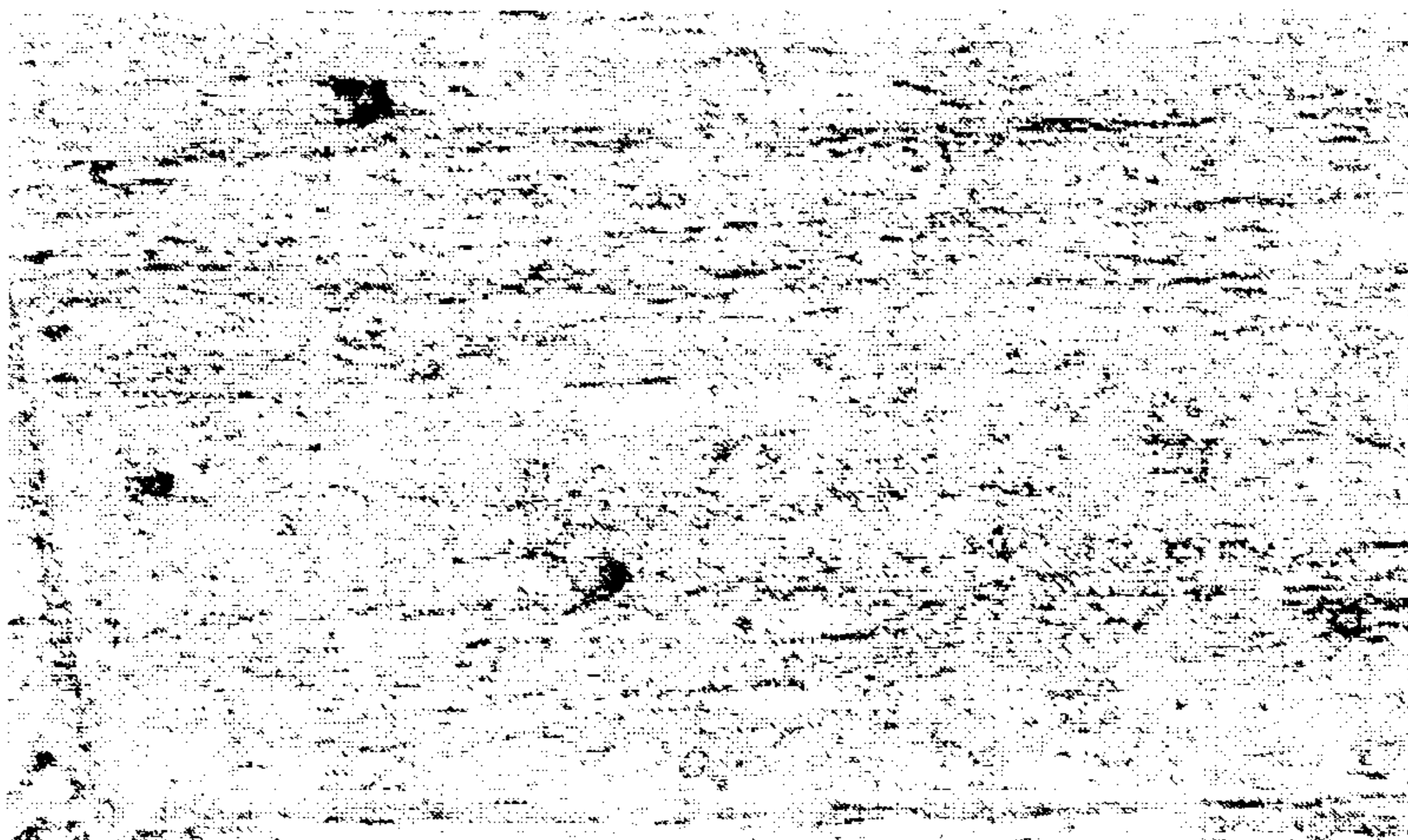
10) Bayvavol 표본 : poly ethylene strip으로 되어있고 표본에 균일하게 Flumethrin이 입혀있다.



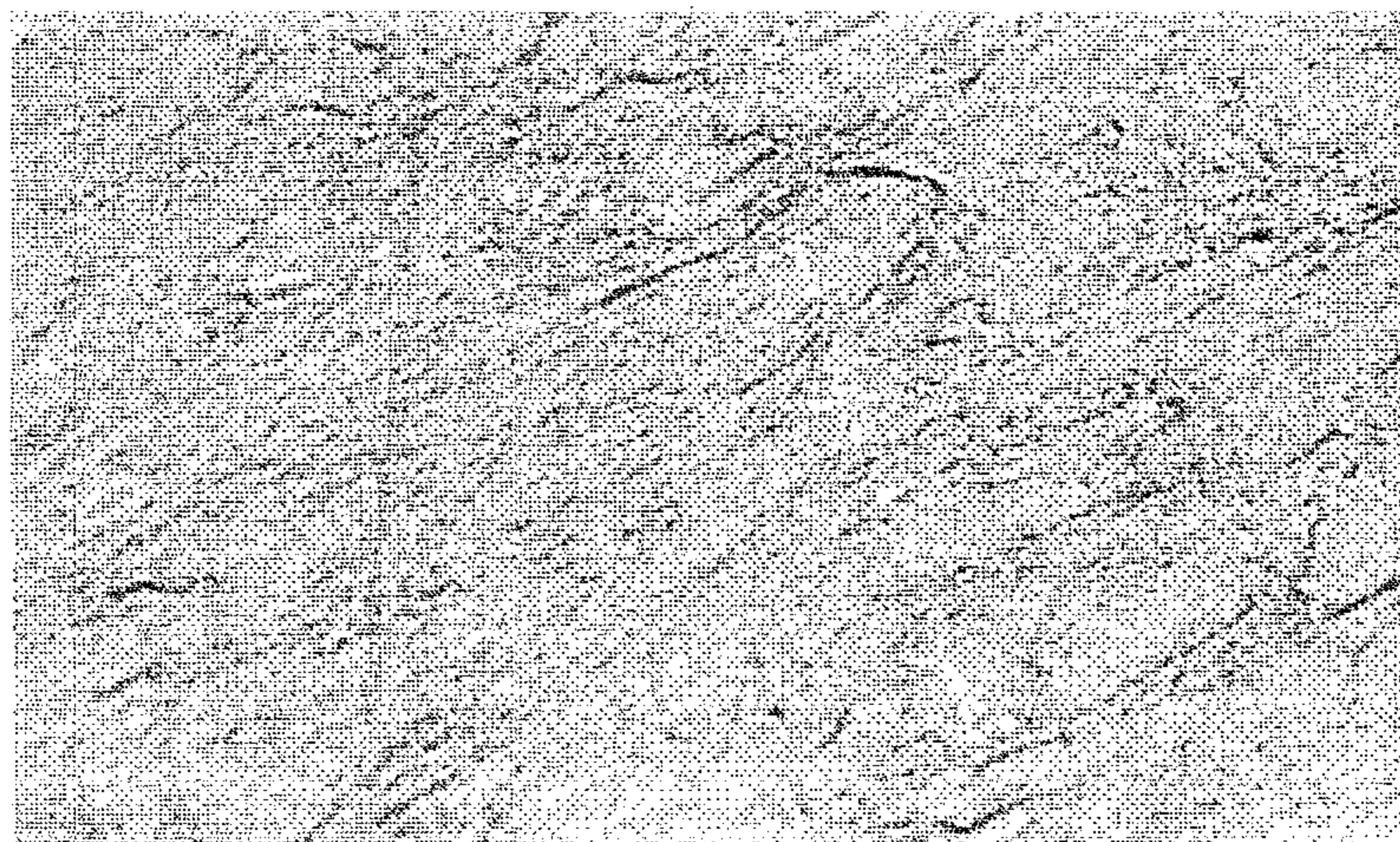
11) Bayvavol 표면에 페탄을 현방울을 떨어뜨렸을 때 Flumethrin이 녹아들어가는 현상.



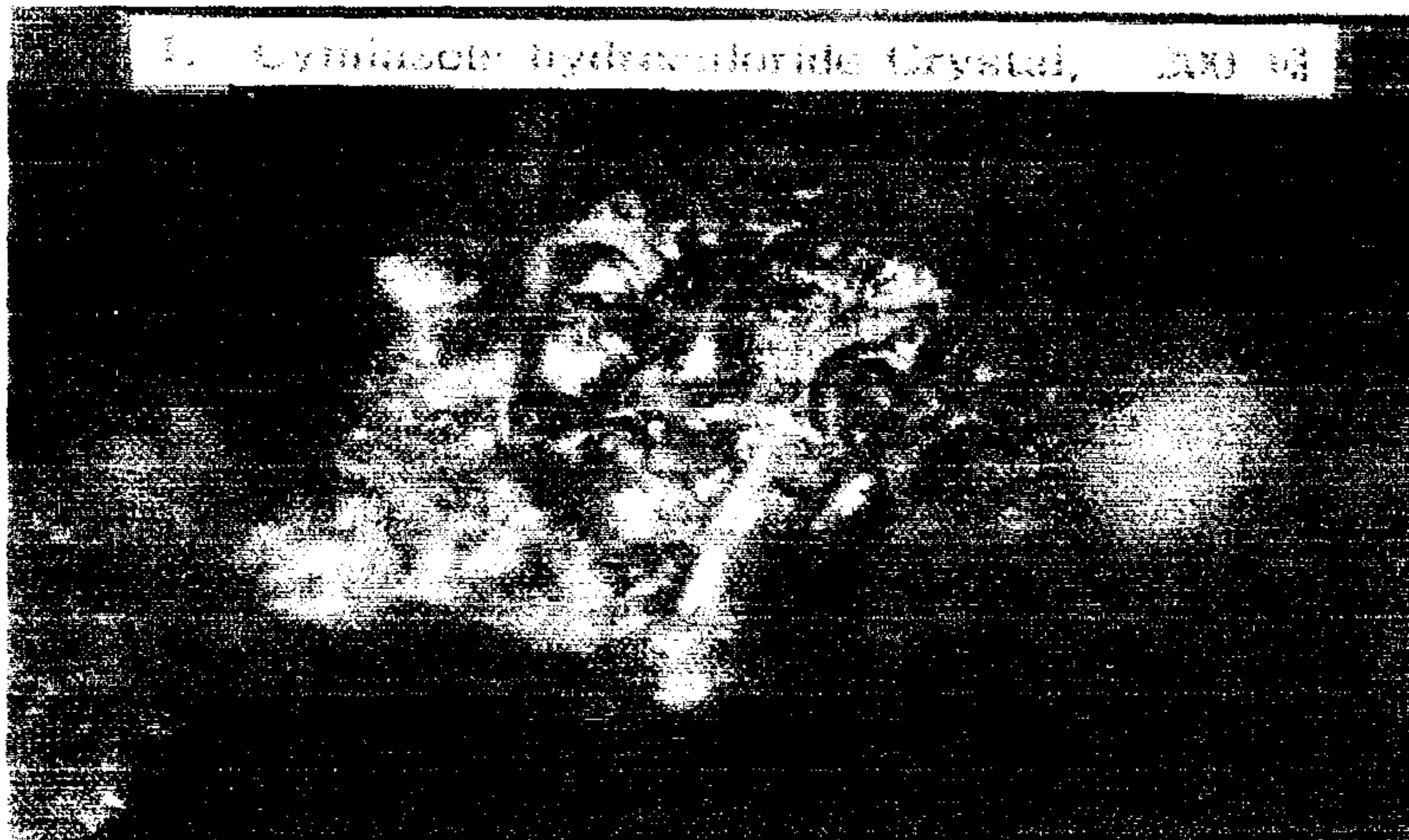
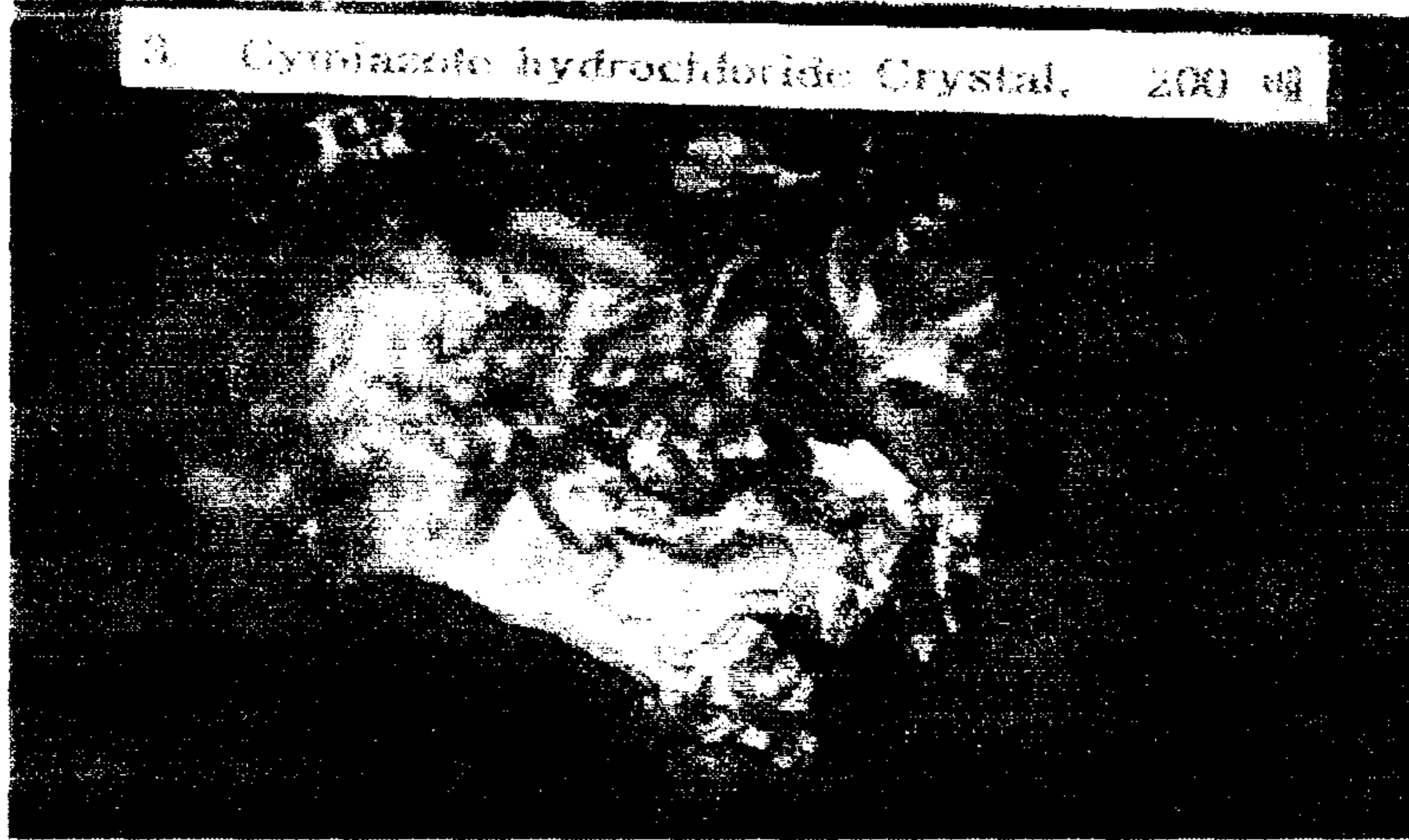
12) Bayvavol 표면을 메탄올로 Flumethrin을 딱아낸후 poly ethylene 모양.



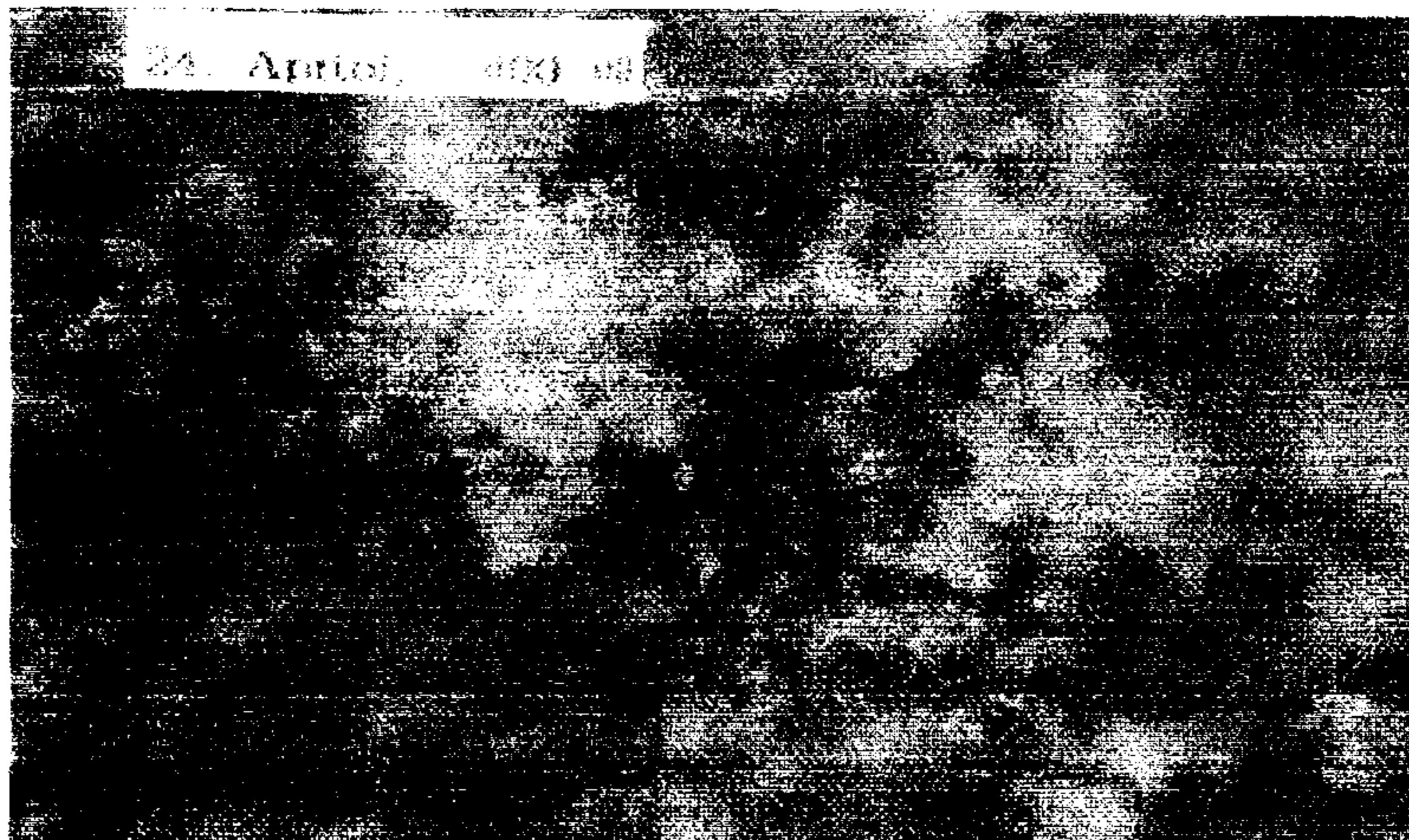
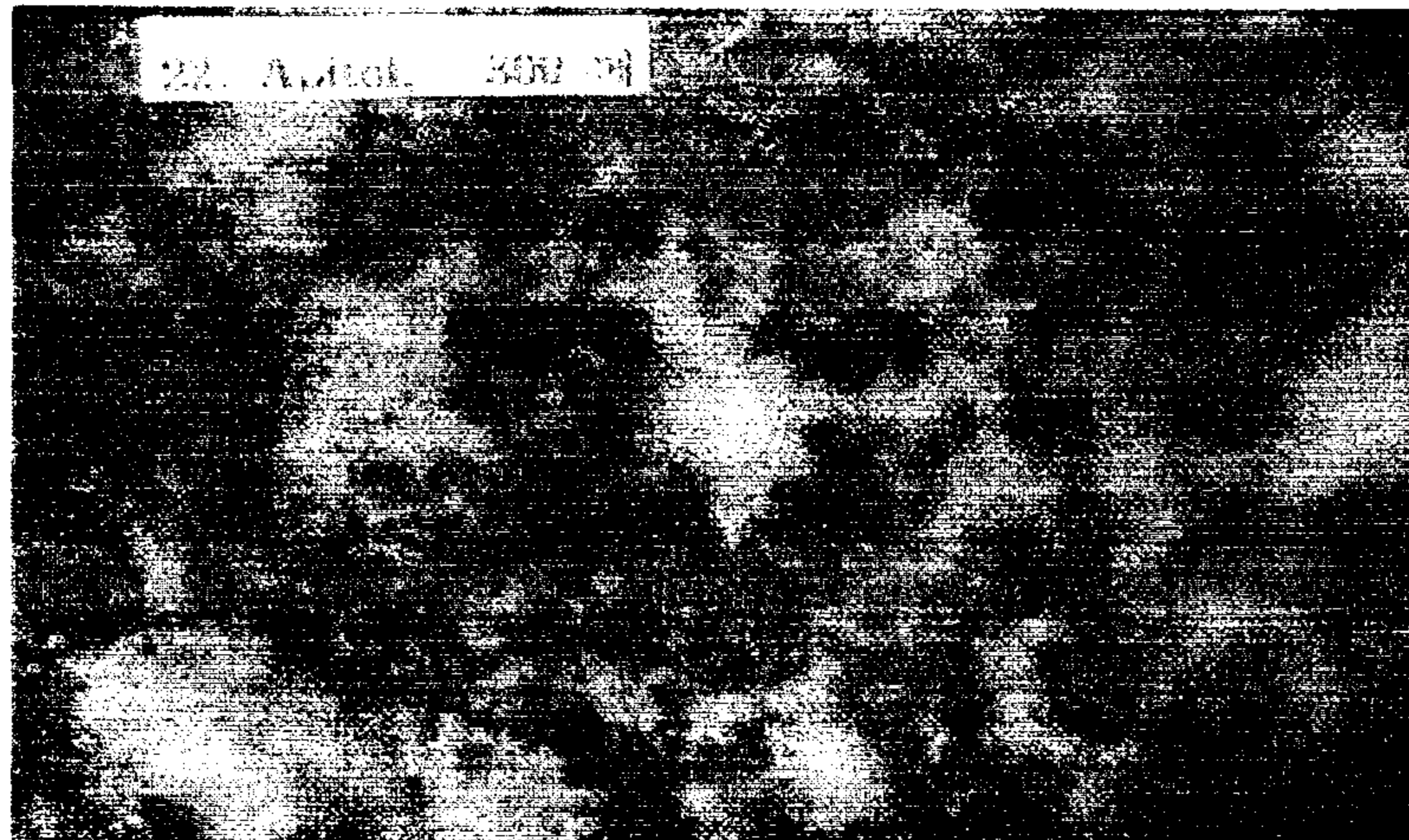
13) Bayvavol 표면의 Flumethrin이 녹았다가 메탄올이 증발된 후의 모양.



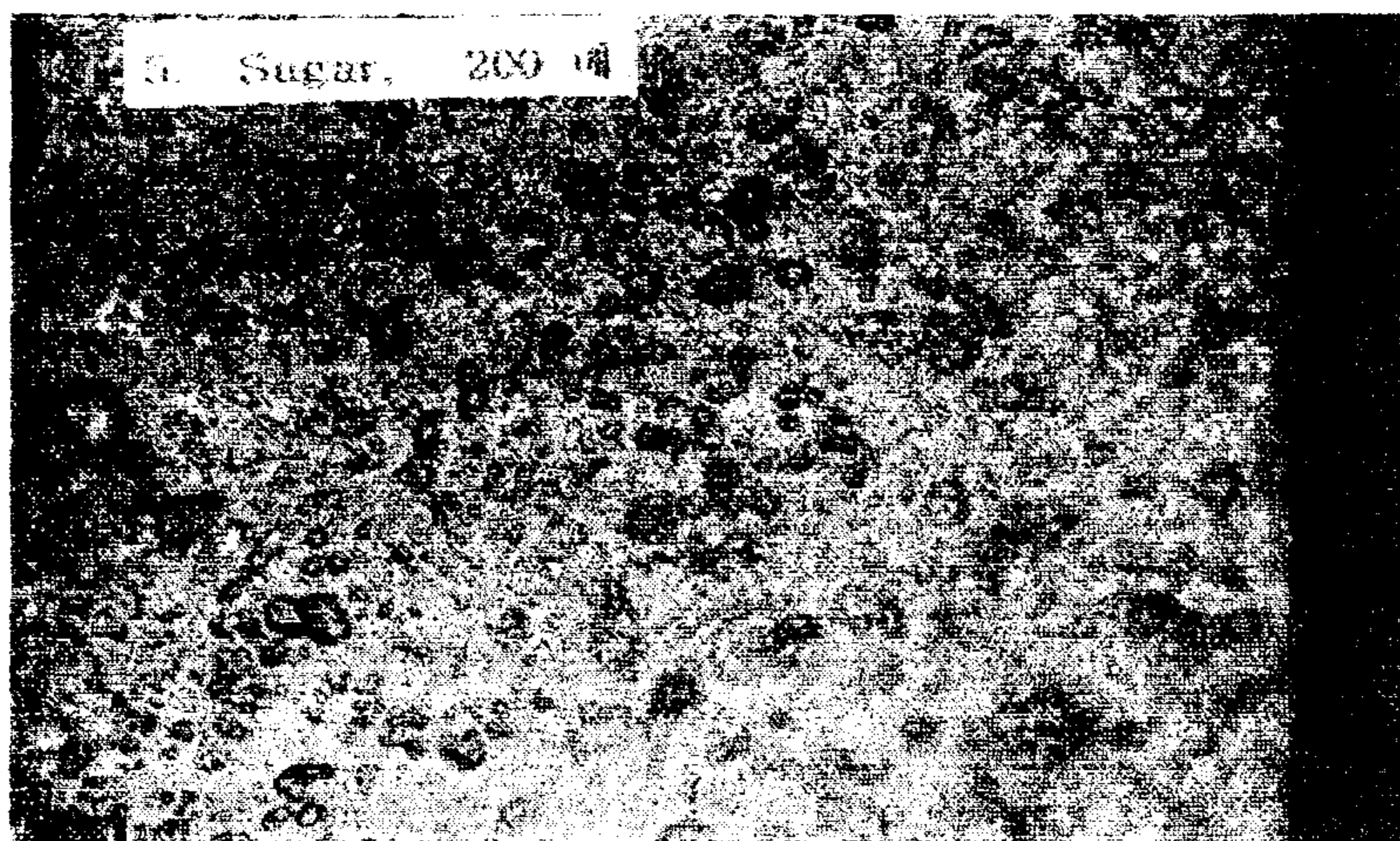
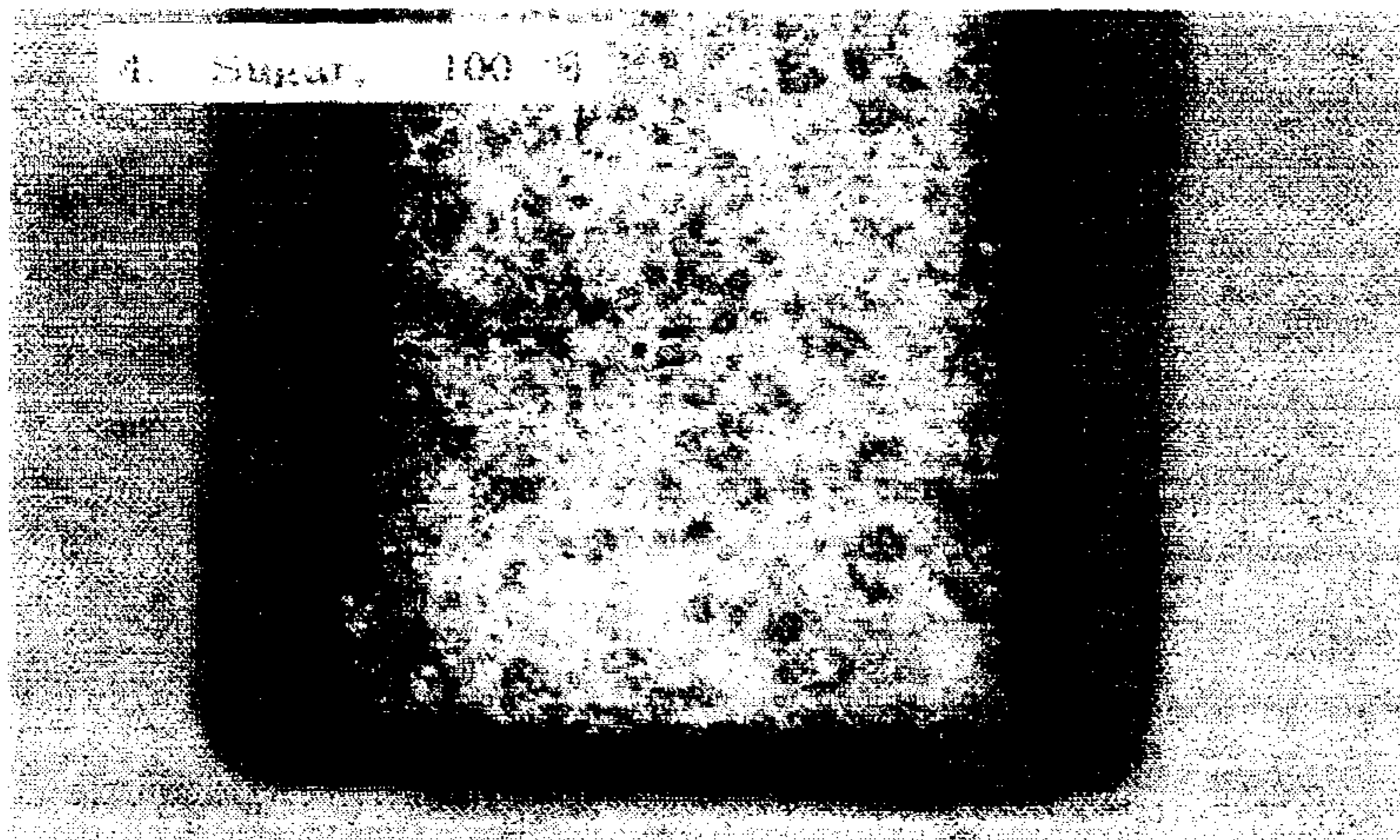
14) 합성한 cymiazole · HCl 결정의 광학현미경 사진.



15) Apitol : Sugar에 Cymiazole · HCl이 coating된
광학현미경 사진.



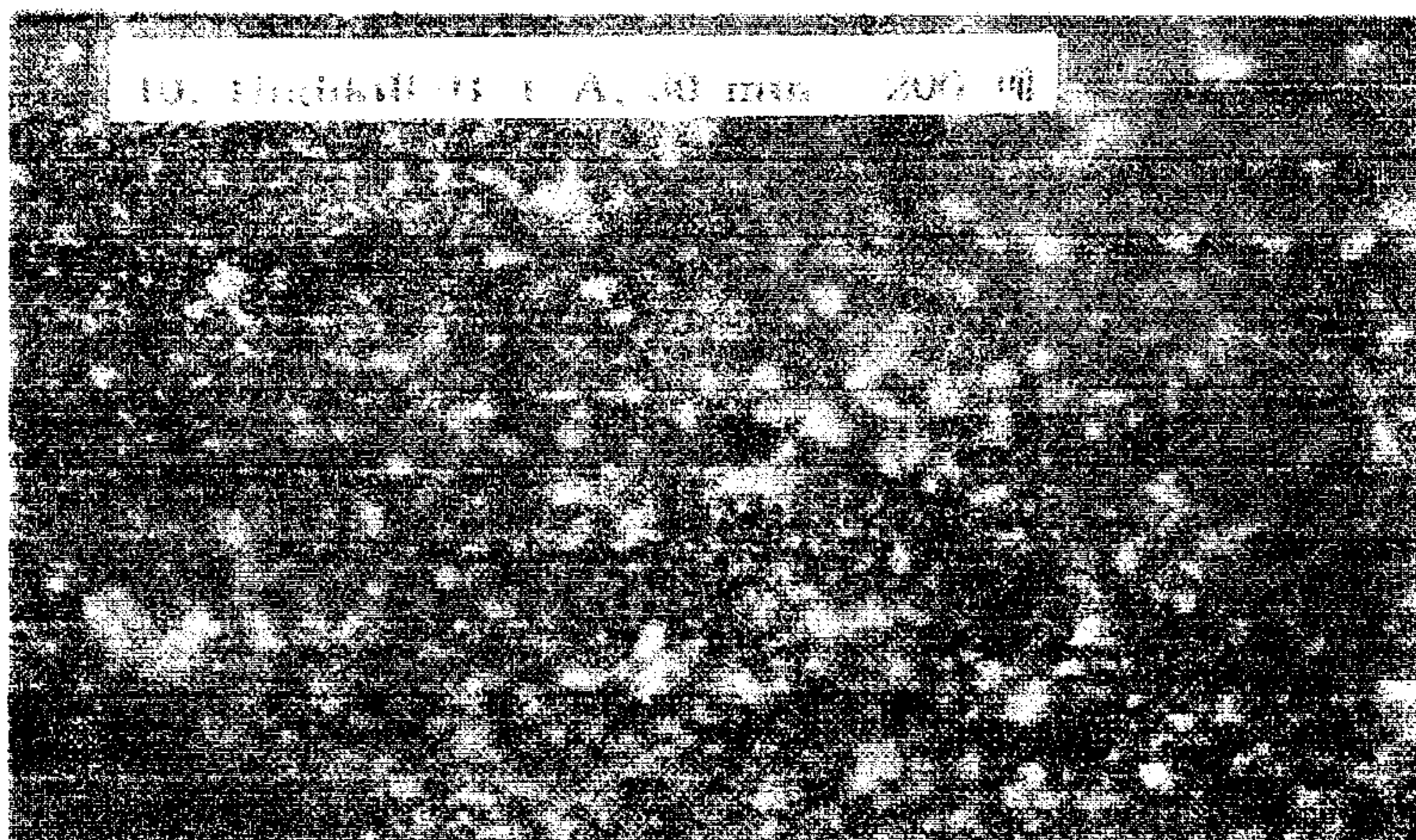
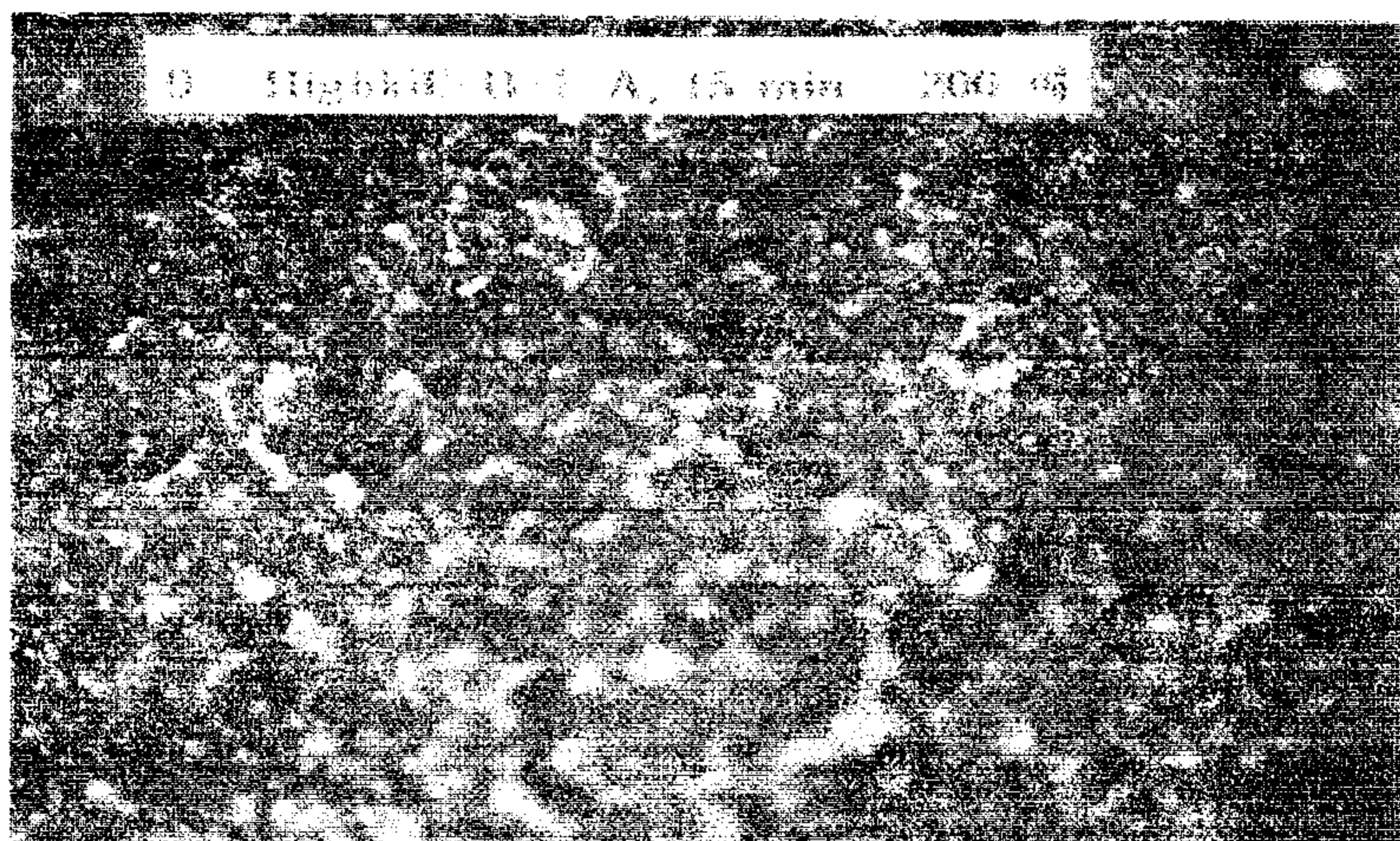
16) Sugar : Cymiazole · HCl 결정과 coating 하기 전 흰색 sugar의 광학현미경 사진



17) Cymiazole - HCl 결정이 sugar에 coating된 모양 :
흰부분이 sugar

(상) coating 후 15분 200배

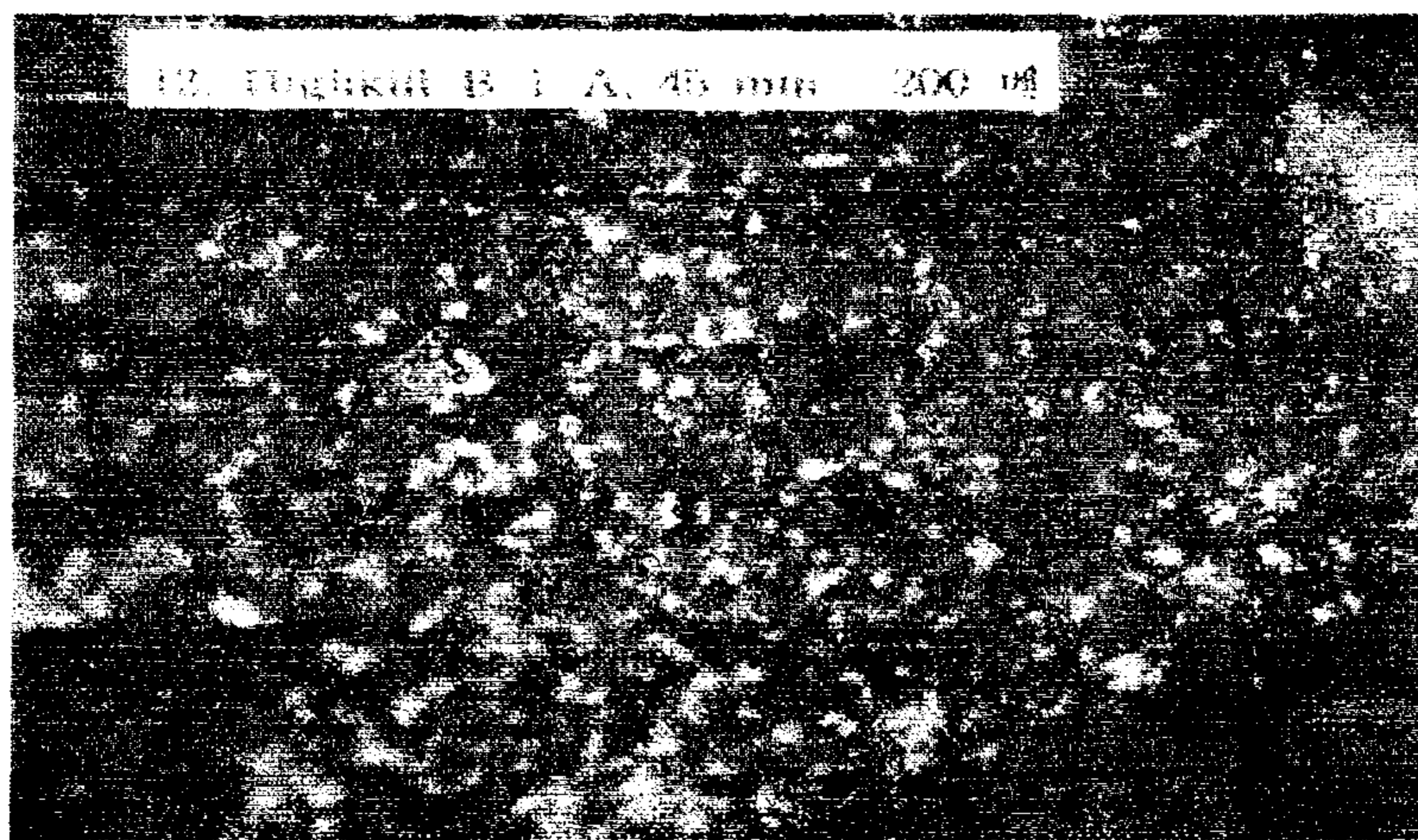
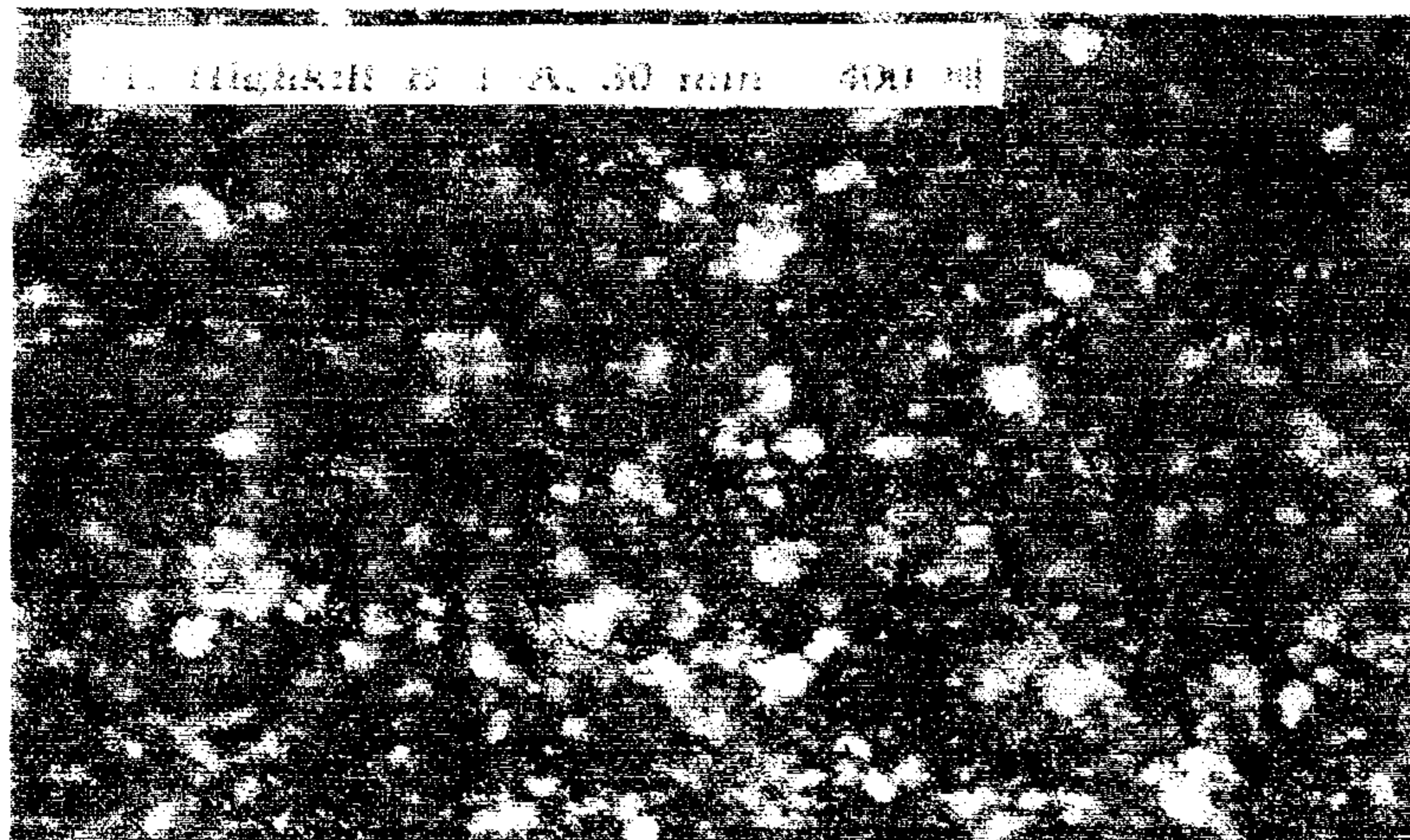
(하) coating 후 30분 200배



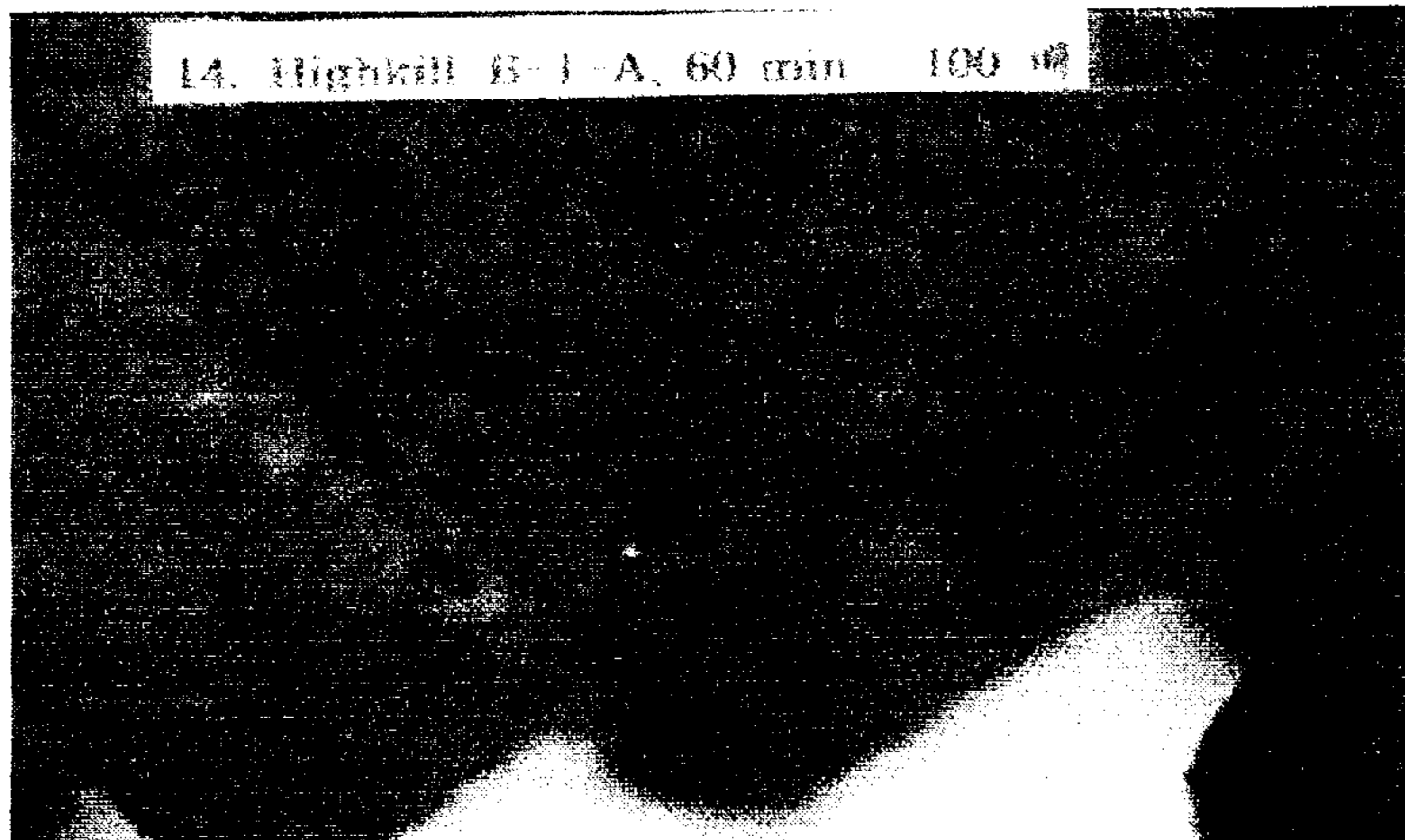
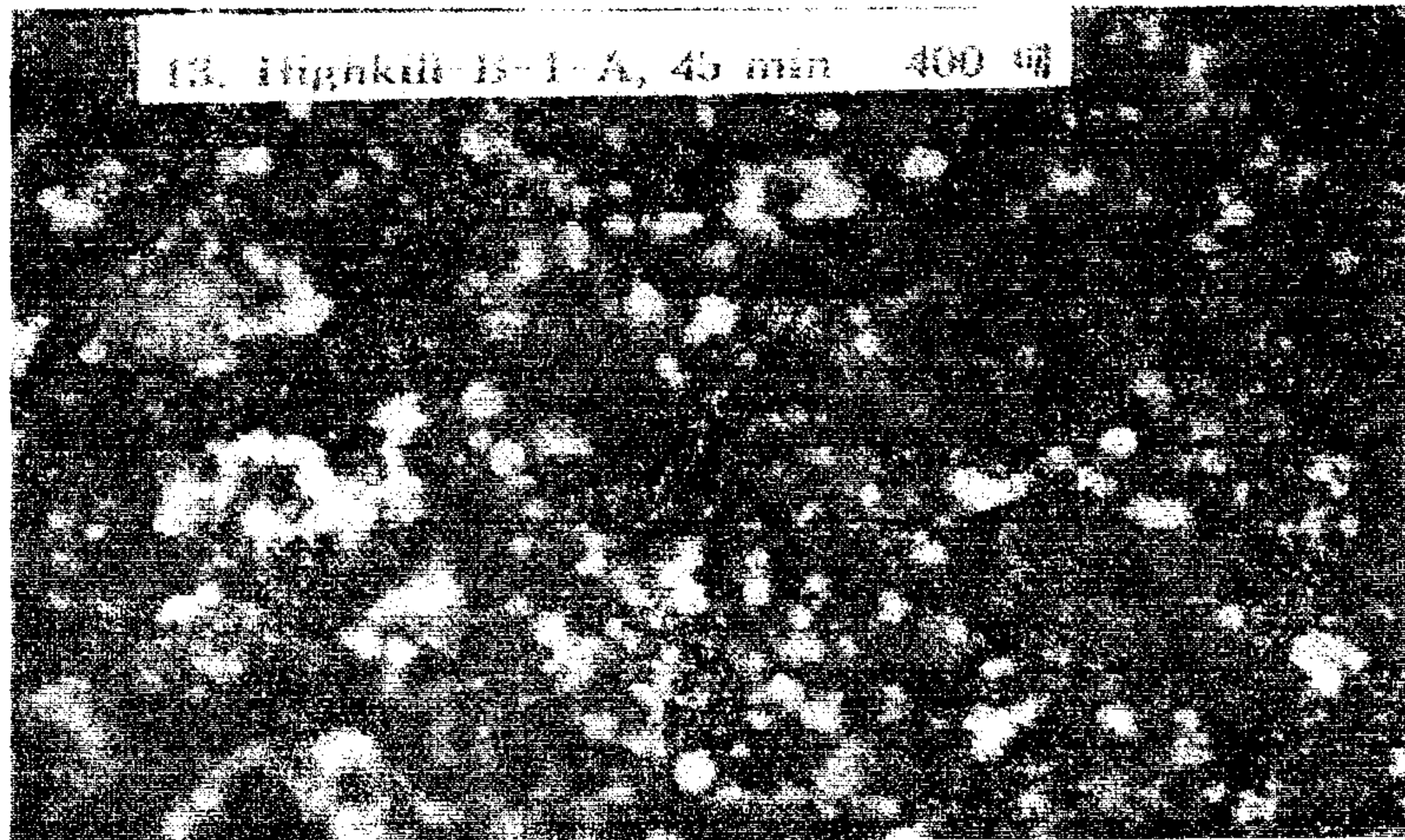
18) Cymiazole - HCl 결정이 sugar에 coating된 모양

(상) coating 후 30분 경과 200배

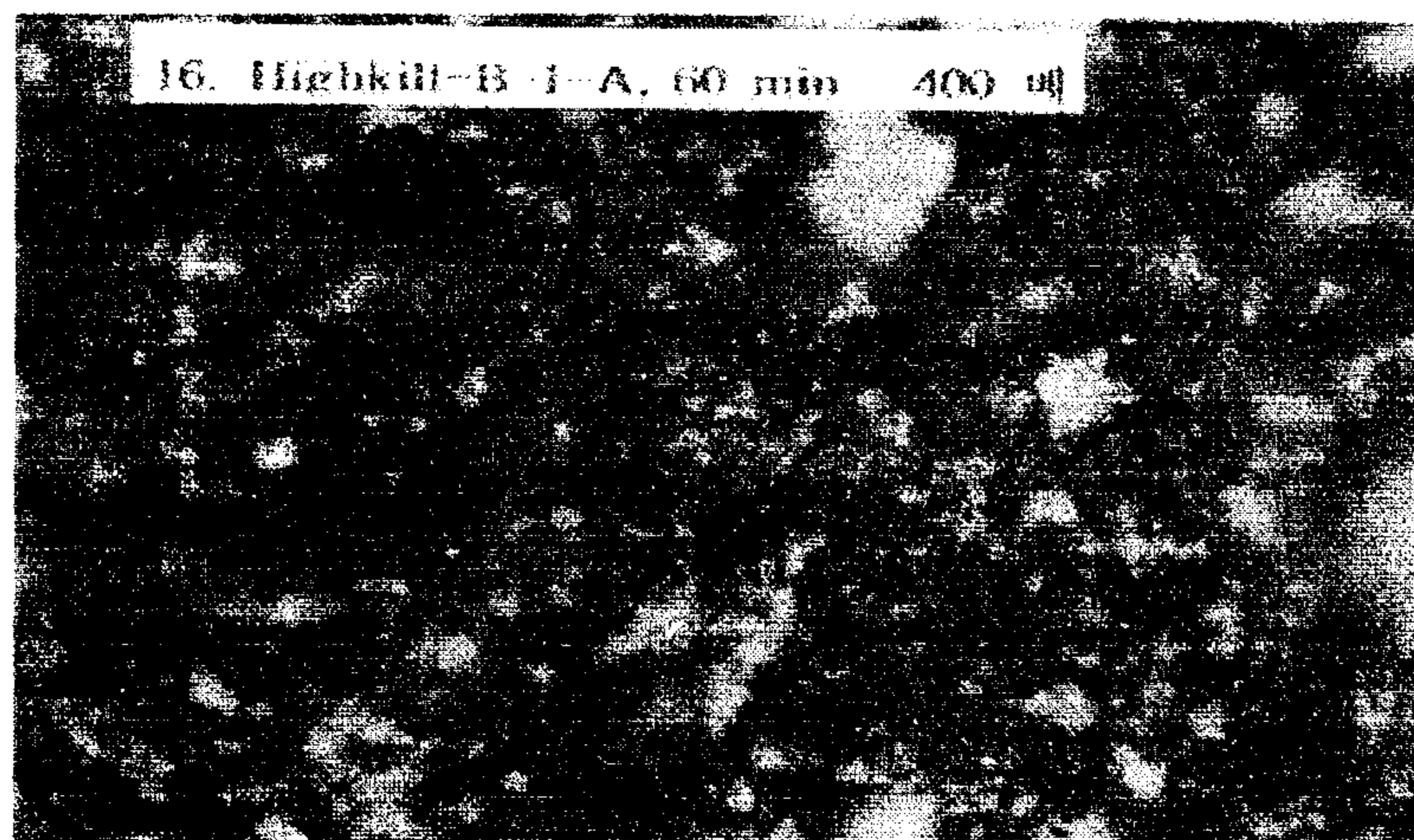
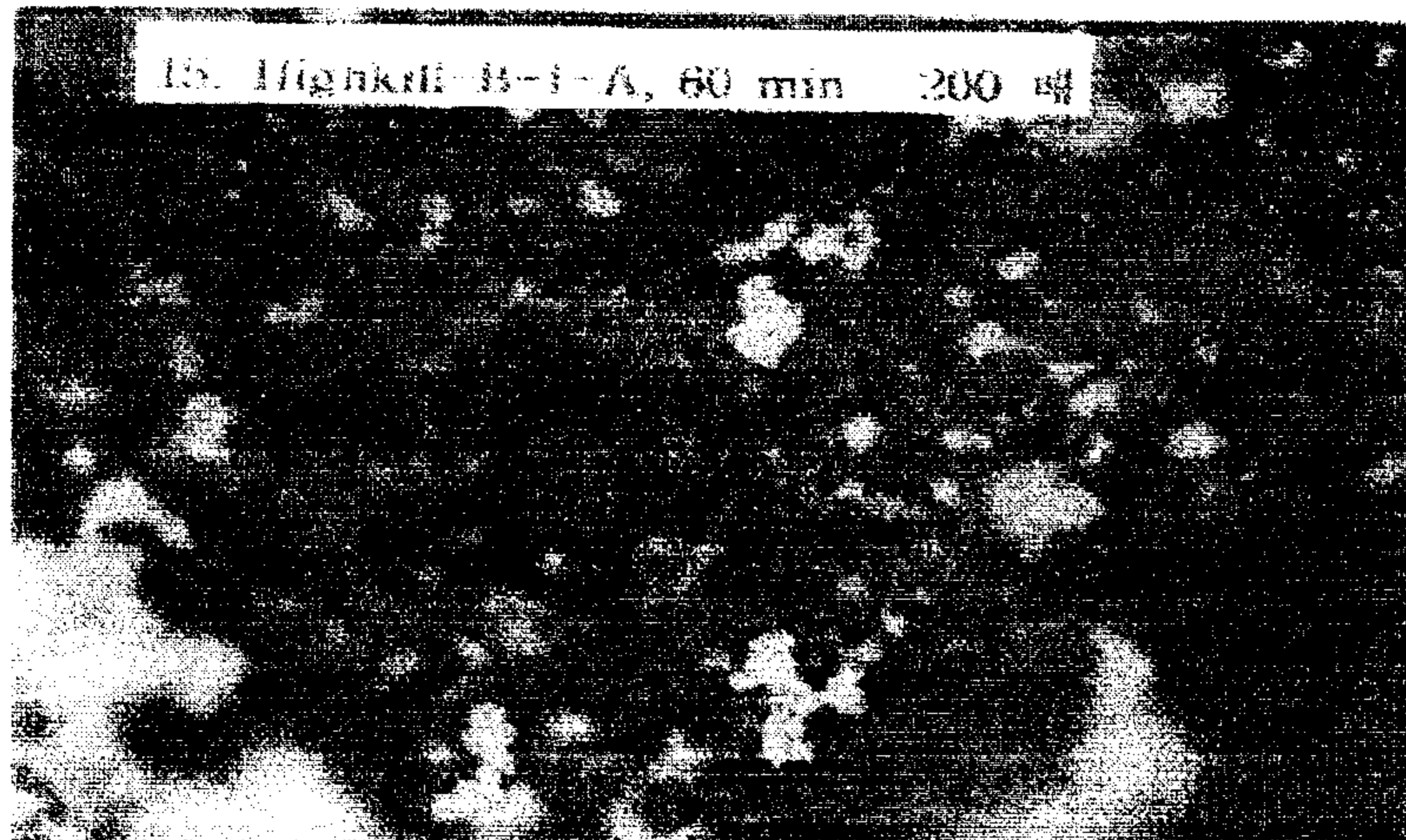
(하) coating 후 45분 경과 200배



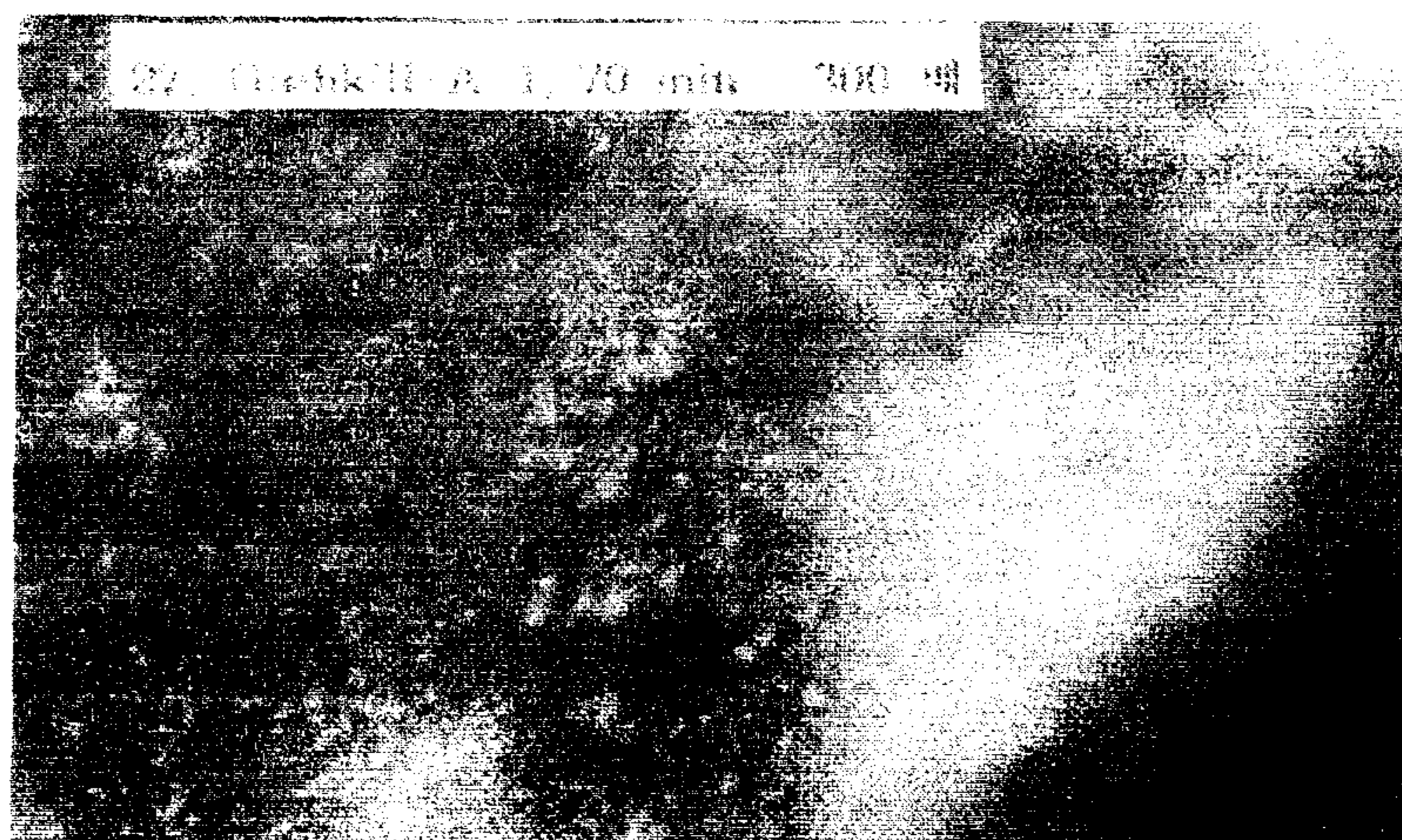
19) Cymiazole - HCl 결정이 sugar에 coating된 모양
(상) coating 후 40분 경과 400배
(하) coating 후 60분 경과 100배



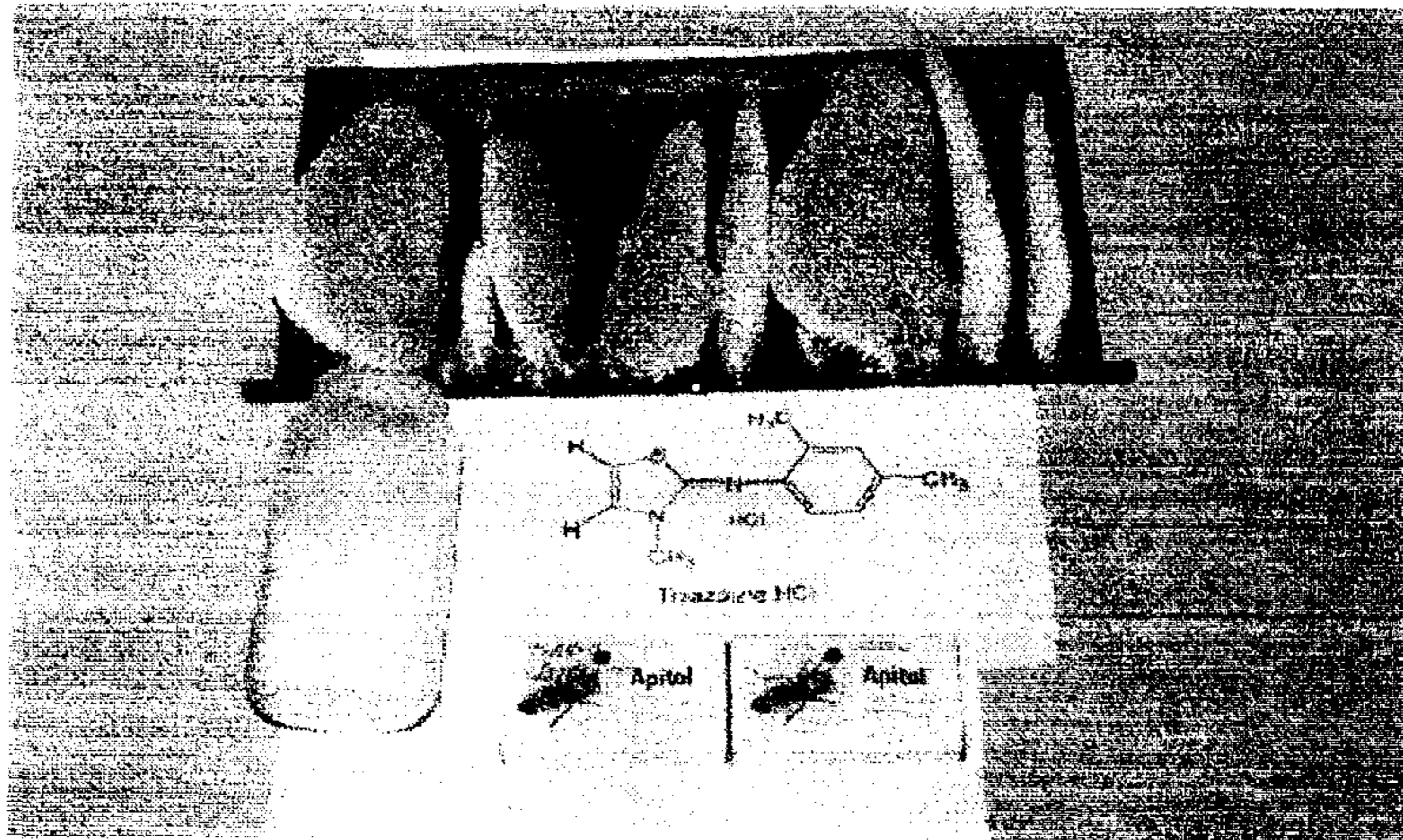
- 20) Cymiazole - HCl 결정이 sugar에 coating된 모양
(상) coating 후 60분 경과 200배
(하) coating 후 60분 경과 400배



21) Cymiazole · HCl 결정이 sugar에 coating된 모양
(상) coating 후 70분 경과 200배
(하) coating 후 70분 경과 300배



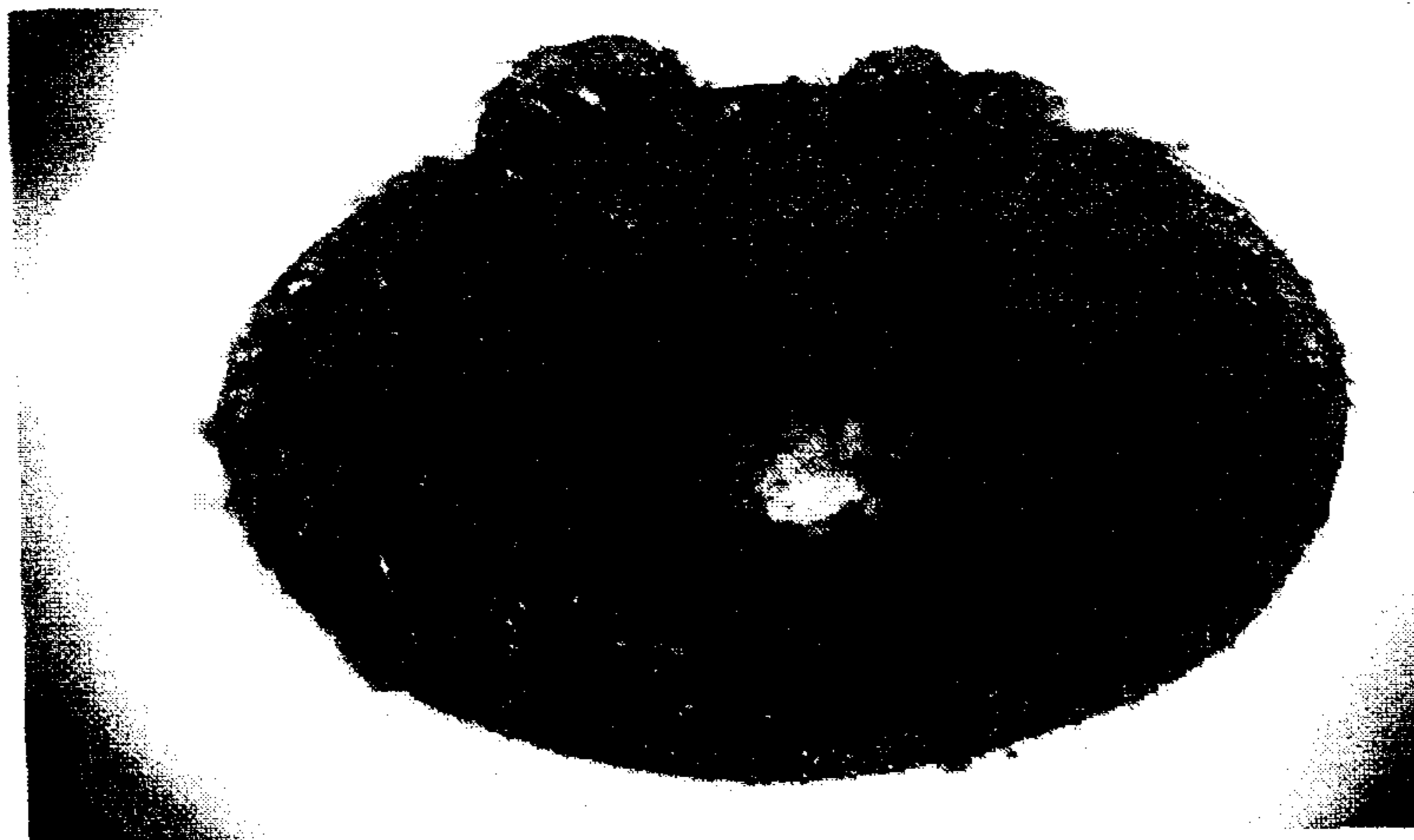
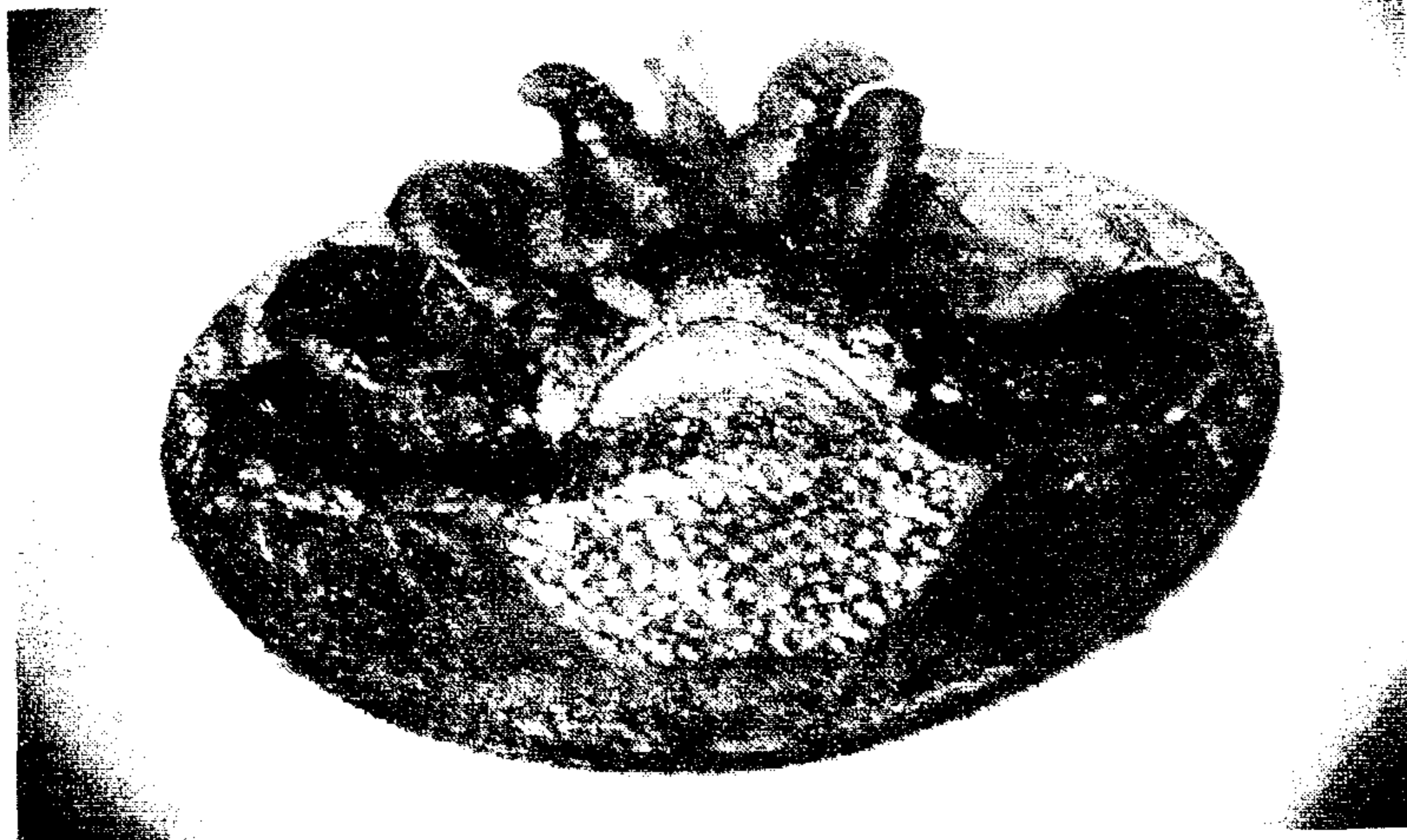
22) 합성한 Cymiazole · HCl salt와 이 약의 처리 후 구제된 벌통내의 벌집들 (1997.8.)



23) 구제된 진드기의 광학현미경 관찰.

(상)앞면 50배

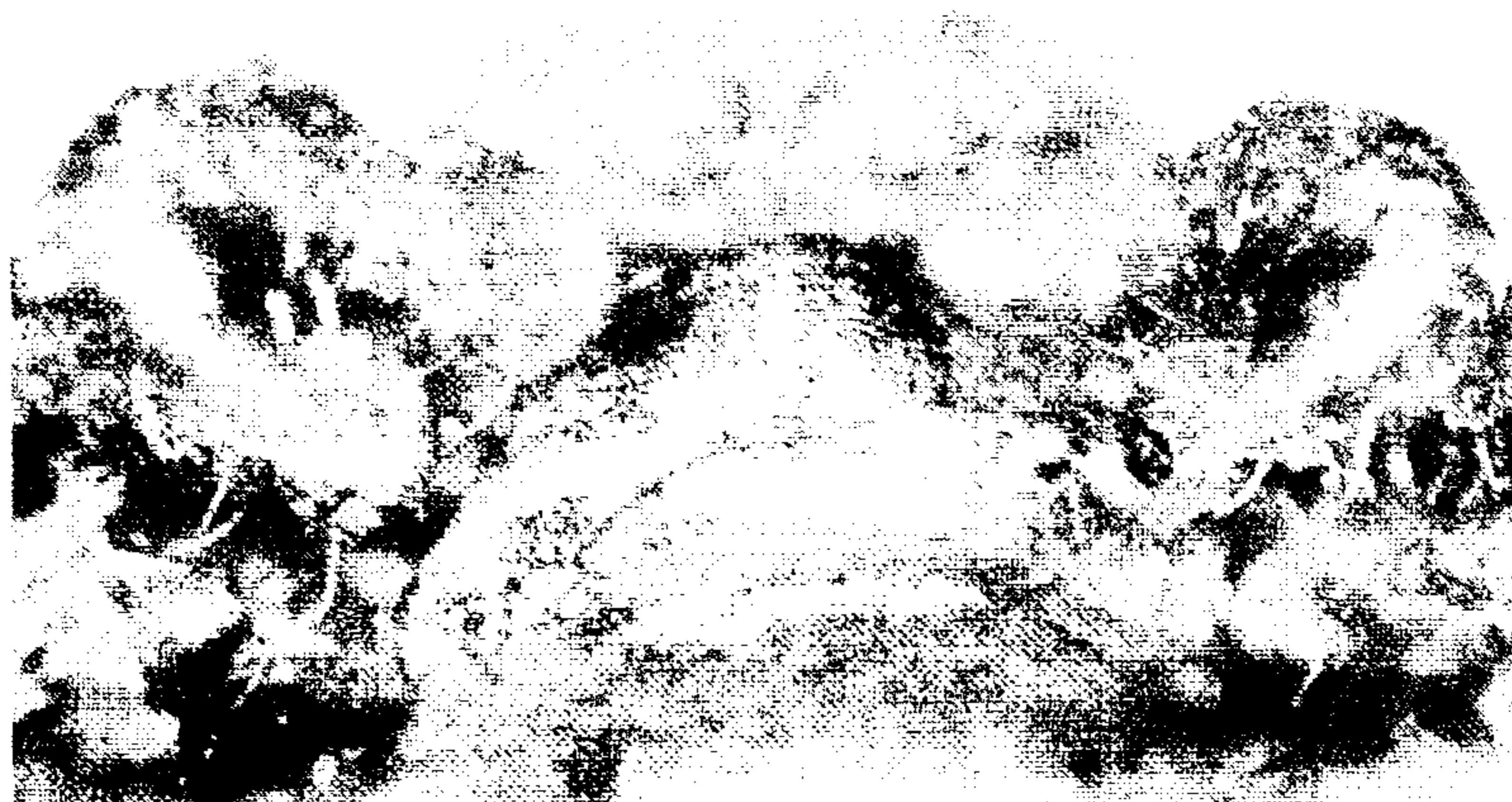
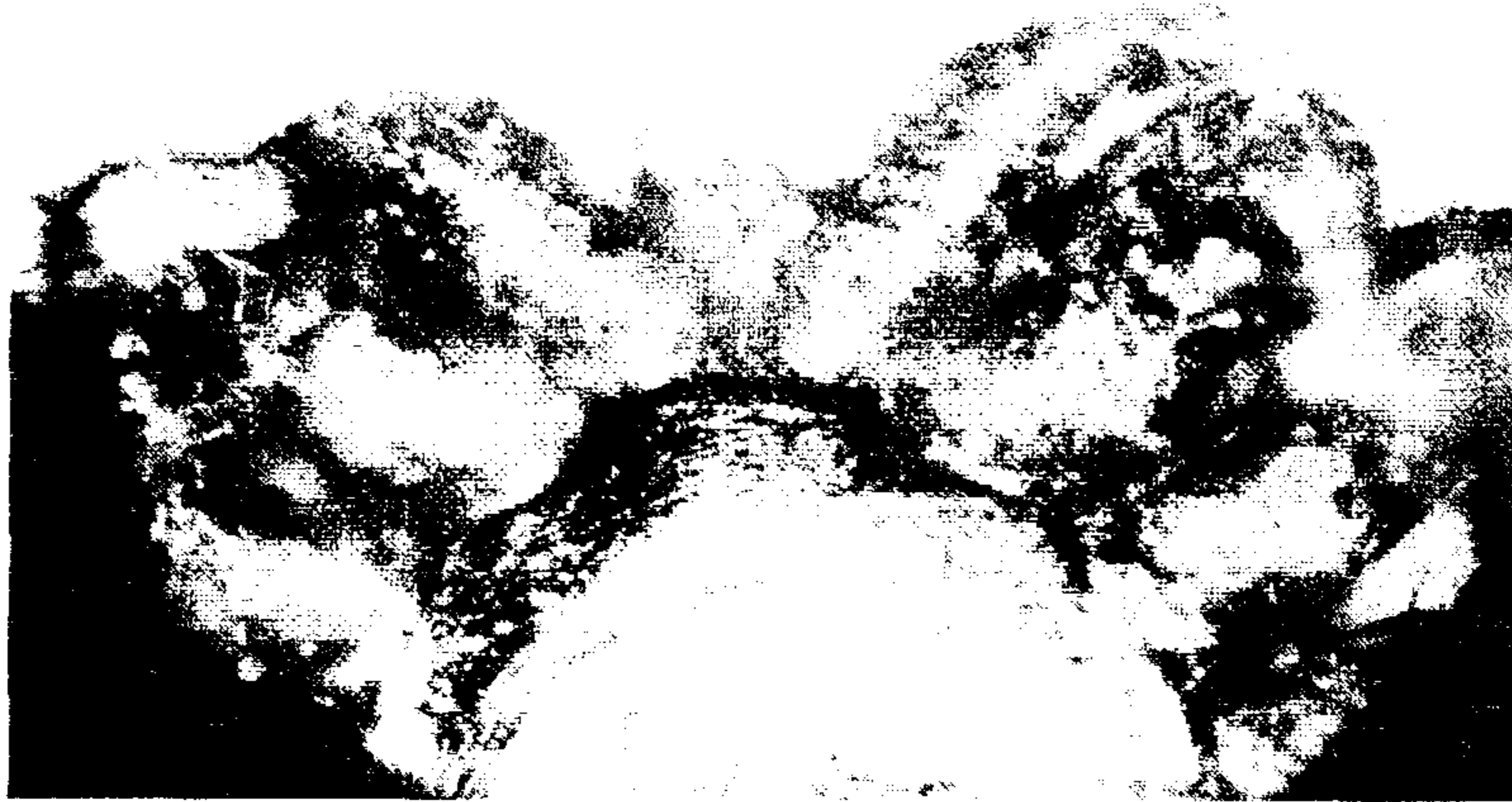
(하)뒷면 ; 등부분 50배



24) 구제된 진드기의 광학현미경 관찰.

(상)더듬이 부분 100배

(하)입부분 50배



25) 구제된 진드기의 광학현미경 관찰.

(상) 다리부분 100배

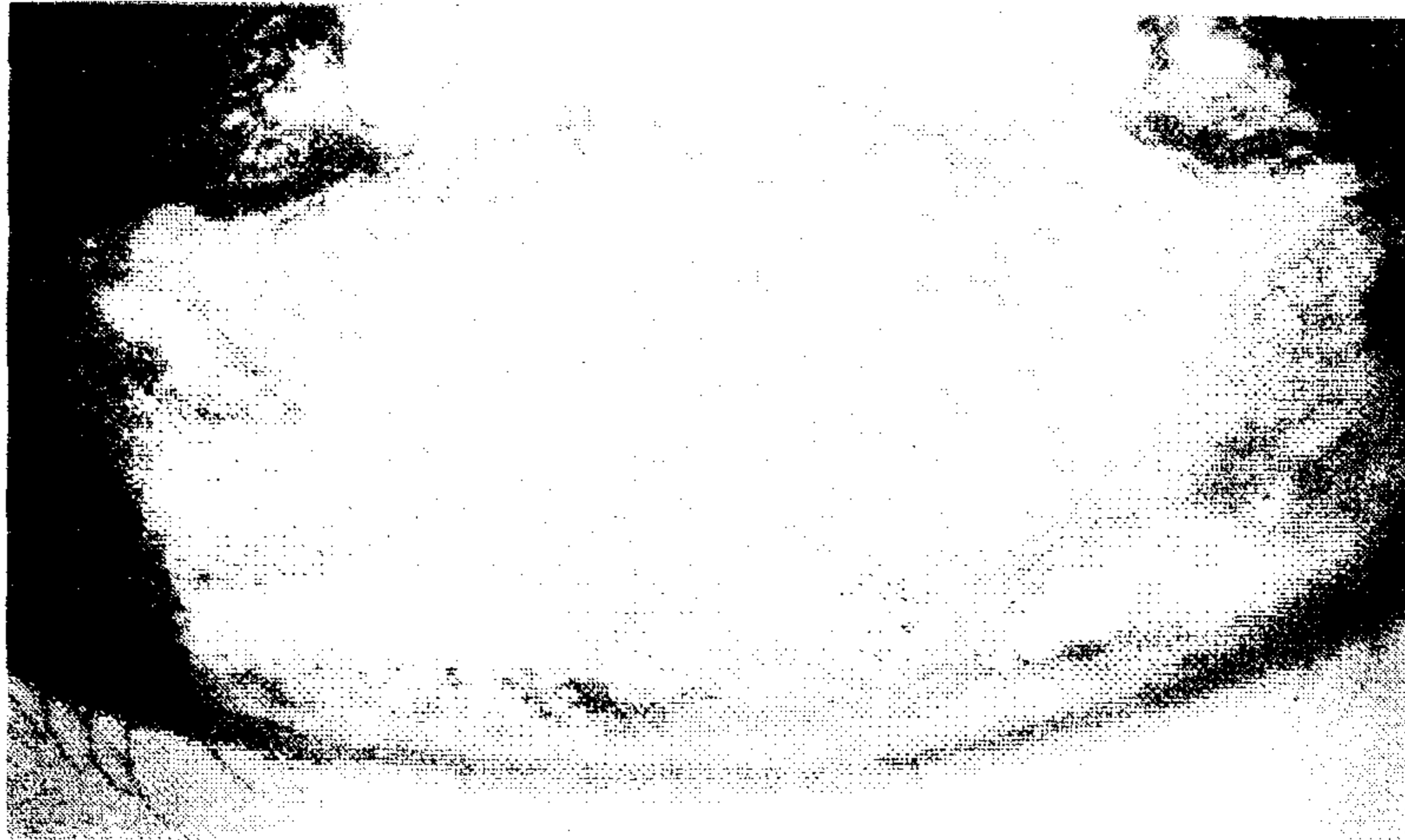
(하) 가슴부분 100배



26) 구제된 진드기의 광학현미경 관찰.

(상)꼬리부분 100배

(하)등부분 200배



부 록 3

X-Ray Data Cymiazole.HCL structure

여 백

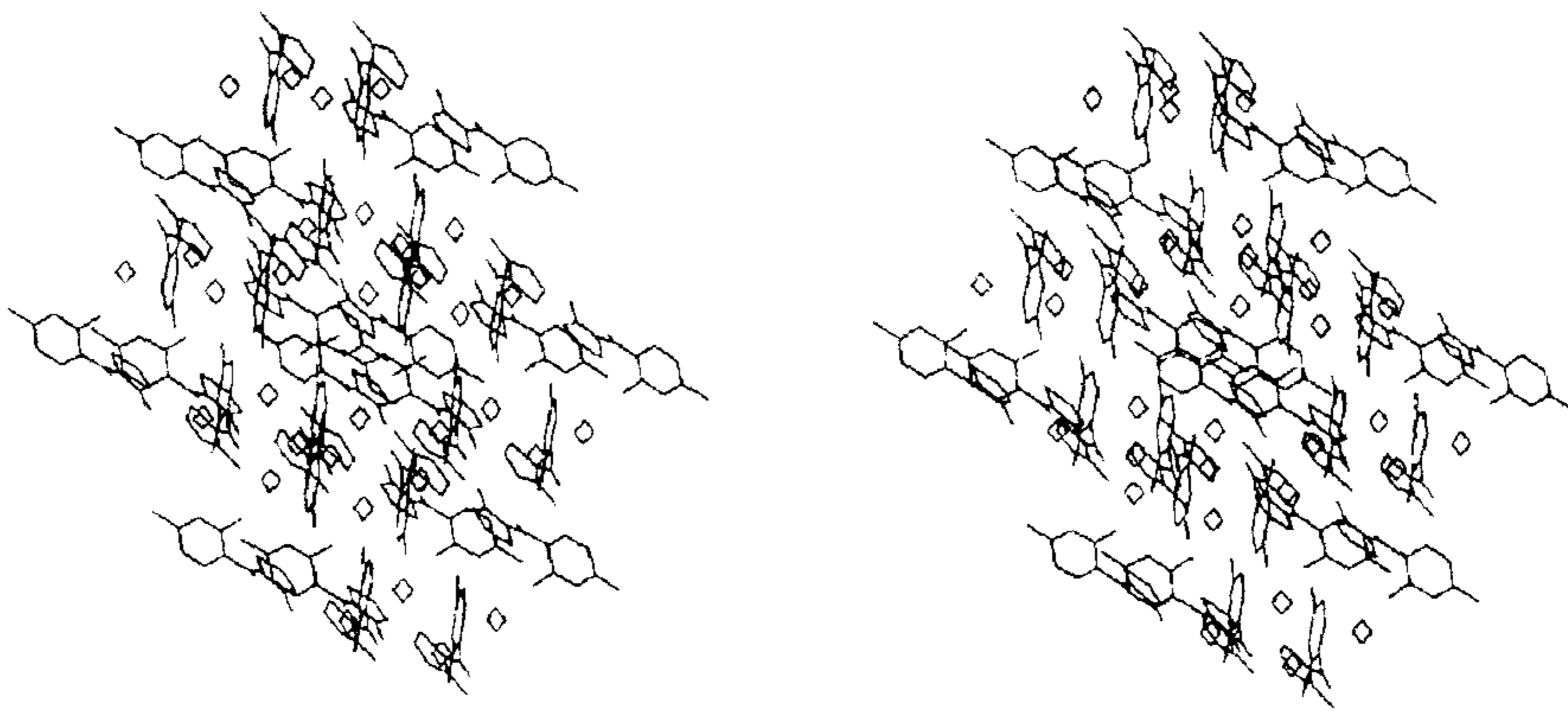
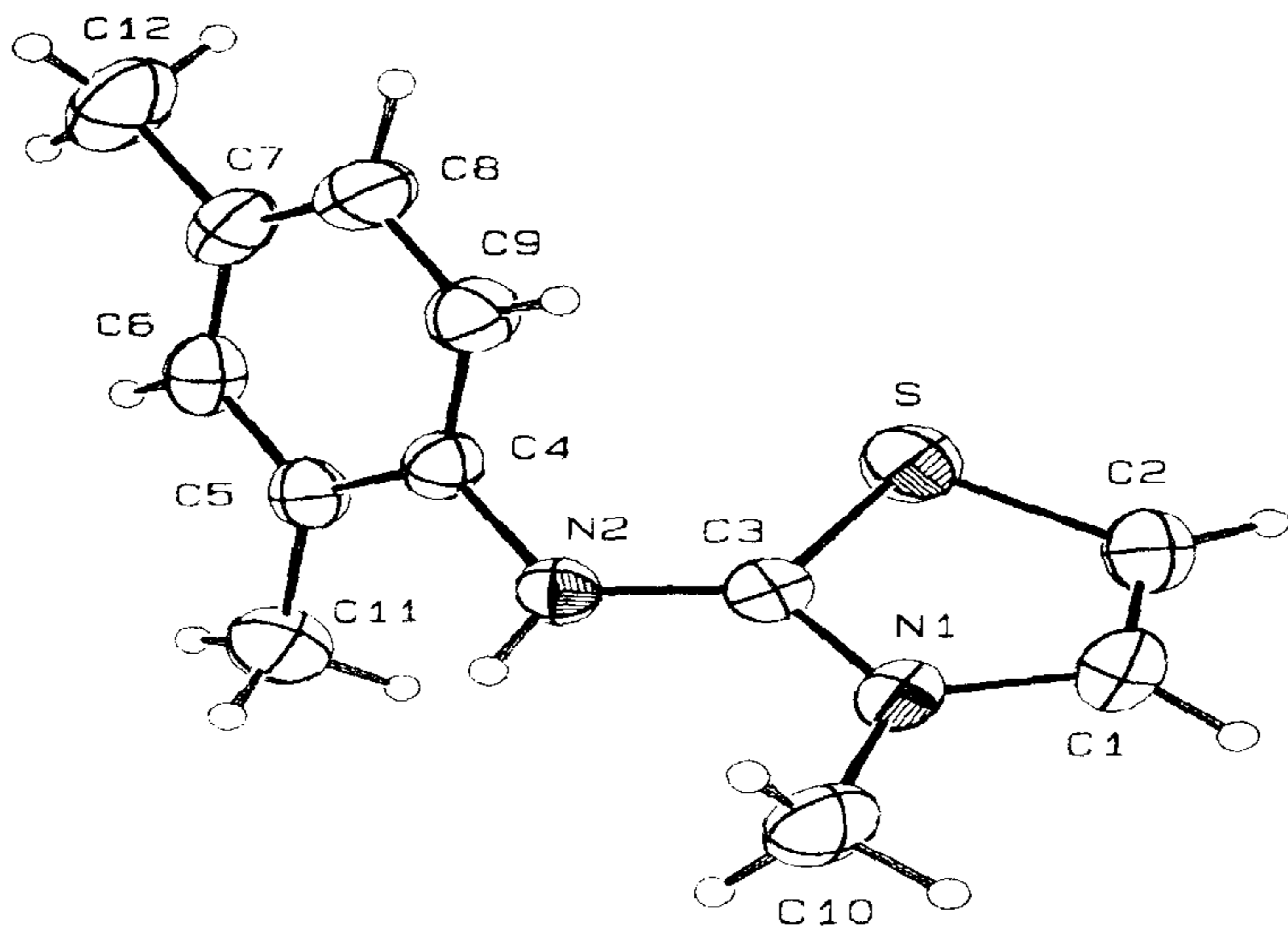


Table S1. Details of Crystallographic Data for $C_{12}H_{15}N_2Cl_1S_1$

| | |
|--|--|
| formula | $C_{12}H_{15}N_2Cl_1S_1$ |
| fw | 254.77 |
| temperature, K | 293(2) |
| wavelength, Å | 0.71073 |
| crystal system | monoclinic |
| space group | $P2_1/n$ (no. 14) |
| a, Å | 8.834(2) |
| b, Å | 13.063(4) |
| c, Å | 11.509(3) |
| β , deg | 106.34(2) |
| V, Å ³ | 1274.4(5) |
| Z | 4 |
| d_{calc} , g/cm ³ | 1.328 |
| absorption coefficient, mm ⁻¹ | 0.438 |
| F(000) | 536 |
| crystal size, mm | 0.45 x 0.45 x 0.55 |
| theta range, deg | 2.41 - 24.98 |
| index ranges | $0 \leq h \leq 10, 0 \leq k \leq 15, -13 \leq l \leq 13$ |
| reflections collected | 1940 |
| independent reflections ($I > 2\sigma(I)$) | 1808 [R(int)=0.0664] |
| refinement method | full-matrix least-squares on F^2 |
| data to parameter ratio | 1808/181 |
| GOF on F^2 | 1.213 |
| final R indices ($I > 2\sigma(I)$) | $R_1 = 0.0398, wR_2 = 0.1274$ |
| R indices (all data) | $R_1 = 0.0405, wR_2 = 0.1276$ |
| largest diff. peak and hole | 0.357 and -0.267 e.Å ⁻³ |

$$R_1 = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|$$

$$wR_2 = (\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum wF_o^4)^{1/2}, \text{ where } w = 1/(\sigma^2 F_o^2 + (0.083P)^2 + 0.33P)$$

$$\text{where } P = (\text{Max}(F_o^2, 0) + 2F_c^2)/3$$

**Table S2. Atomic Coordinates ($\times 10^3$) and Equivalent
Isotropic Displacement Parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$)
for CKH₂**

| | x | y | z | U(eq) |
|-------|----------|---------|----------|-------|
| Cl | 1205(1) | 5459(1) | 8379(1) | 51(1) |
| S | -3551(1) | 2609(1) | 8706(1) | 53(1) |
| N(1) | -3373(3) | 4540(2) | 8593(2) | 39(1) |
| N(2) | -977(2) | 3702(2) | 8711(2) | 35(1) |
| C(1) | -4935(4) | 4321(3) | 8538(3) | 54(1) |
| C(2) | -5223(4) | 3338(3) | 8583(4) | 64(1) |
| C(3) | -2473(3) | 3707(2) | 8695(2) | 34(1) |
| C(4) | -50(3) | 2790(2) | 9001(2) | 33(1) |
| C(5) | 685(3) | 2393(2) | 8182(2) | 35(1) |
| C(6) | 1599(3) | 1515(2) | 8519(3) | 40(1) |
| C(7) | 1745(3) | 1020(2) | 9609(3) | 42(1) |
| C(8) | 982(3) | 1433(2) | 10395(3) | 45(1) |
| C(9) | 101(3) | 2319(2) | 10100(2) | 39(1) |
| C(10) | -2758(4) | 5580(2) | 8620(3) | 56(1) |
| C(11) | 520(4) | 2883(3) | 6969(3) | 49(1) |
| C(12) | 2717(4) | 62(3) | 9930(4) | 66(1) |

Table S3. Bond Lengths(A) and Angles(°) for CKH_2

| | |
|-----------------|----------|
| S-C(3) | 1.723(3) |
| S-C(2) | 1.729(4) |
| N(1)-C(3) | 1.333(3) |
| N(1)-C(1) | 1.394(4) |
| N(1)-C(10) | 1.460(4) |
| N(2)-C(3) | 1.317(3) |
| N(2)-C(4) | 1.432(3) |
| C(1)-C(2) | 1.313(5) |
| C(4)-C(9) | 1.378(4) |
| C(4)-C(5) | 1.387(4) |
| C(5)-C(6) | 1.394(4) |
| C(5)-C(11) | 1.505(4) |
| C(6)-C(7) | 1.384(4) |
| C(7)-C(8) | 1.381(4) |
| C(7)-C(12) | 1.505(4) |
| C(8)-C(9) | 1.382(4) |
| <hr/> | |
| C(3)-S-C(2) | 90.1(2) |
| C(3)-N(1)-C(1) | 113.3(2) |
| C(3)-N(1)-C(10) | 123.3(2) |
| C(1)-N(1)-C(10) | 123.3(2) |
| C(3)-N(2)-C(4) | 120.9(2) |
| C(2)-C(1)-N(1) | 113.5(3) |
| C(1)-C(2)-S | 111.8(2) |
| N(2)-C(3)-N(1) | 125.2(2) |
| N(2)-C(3)-S | 123.4(2) |
| N(1)-C(3)-S | 111.3(2) |
| C(9)-C(4)-C(5) | 120.9(2) |
| C(9)-C(4)-N(2) | 119.2(2) |
| C(5)-C(4)-N(2) | 119.9(2) |
| C(4)-C(5)-C(6) | 117.6(2) |
| C(4)-C(5)-C(11) | 122.0(2) |
| C(6)-C(5)-C(11) | 120.4(2) |
| C(7)-C(6)-C(5) | 122.4(2) |
| C(8)-C(7)-C(6) | 118.2(2) |
| C(8)-C(7)-C(12) | 120.9(3) |
| C(6)-C(7)-C(12) | 120.8(3) |
| C(7)-C(8)-C(9) | 120.7(3) |
| C(4)-C(9)-C(8) | 120.1(3) |

**Table S4. Anisotropic Displacement Parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$)
for (K#) .**

| | U_{11} | U_{22} | U_{33} | U_{23} | U_{13} | U_{12} |
|-------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Cl | 51(1) | 47(1) | 64(1) | -4(1) | 32(1) | -9(1) |
| S | 40(1) | 43(1) | 75(1) | 11(1) | 13(1) | -8(1) |
| N(1) | 31(1) | 38(1) | 46(1) | 3(1) | 11(1) | 6(1) |
| N(2) | 31(1) | 28(1) | 48(1) | 3(1) | 15(1) | 1(1) |
| C(1) | 33(2) | 66(2) | 63(2) | 14(2) | 14(1) | 12(2) |
| C(2) | 30(2) | 75(2) | 86(2) | 24(2) | 14(2) | -3(2) |
| C(3) | 32(1) | 34(1) | 35(1) | 3(1) | 9(1) | 1(1) |
| C(4) | 29(1) | 28(1) | 43(1) | -2(1) | 9(1) | 1(1) |
| C(5) | 31(1) | 35(1) | 38(1) | -7(1) | 10(1) | -4(1) |
| C(6) | 33(1) | 37(1) | 53(2) | -14(1) | 14(1) | -1(1) |
| C(7) | 33(1) | 33(1) | 53(2) | -4(1) | 2(1) | 3(1) |
| C(8) | 44(2) | 43(2) | 46(2) | 6(1) | 7(1) | 6(1) |
| C(9) | 39(1) | 43(2) | 37(1) | -2(1) | 13(1) | 6(1) |
| C(10) | 50(2) | 33(2) | 83(2) | 5(1) | 17(2) | 10(1) |
| C(11) | 57(2) | 52(2) | 43(2) | -3(1) | 20(2) | -1(2) |
| C(12) | 51(2) | 45(2) | 96(3) | 2(2) | 9(2) | 16(1) |

The anisotropic displacement factor exponent takes the form:

$$-2 \varphi^2 [h^2 a^2 U_{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U_{12}]$$

Table S5. Hydrogen Coordinates ($\times 10^4$) and Isotropic Displacement Parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for C_6H_6

| | x | y | z | U(eq) |
|--------|-----------|----------|-----------|--------|
| H(10A) | -3604(4) | 6061(2) | 8532(3) | 84 |
| H(10B) | -2290(4) | 5667(2) | 7968(3) | 84 |
| H(10C) | -1976(4) | 5695(2) | 9378(3) | 84 |
| H(12A) | 3156(4) | -112(3) | 9282(4) | 99 |
| H(12B) | 2060(4) | -489(3) | 10056(4) | 99 |
| H(12C) | 3554(4) | 174(3) | 10658(4) | 99 |
| HN2 | -547(39) | 4242(26) | 8533(28) | 49(9) |
| H(1) | -5691(40) | 4851(28) | 8487(28) | 57(9) |
| H(2) | -6159(48) | 3050(30) | 8511(32) | 67(10) |
| H(6) | 2051(38) | 1219(24) | 7938(28) | 47(8) |
| H(8) | 1028(39) | 1122(25) | 11197(30) | 56(9) |
| H(9) | -358(38) | 2603(23) | 10571(27) | 46(8) |
| H(11A) | 1063(40) | 2463(24) | 6477(29) | 55(9) |
| H(11B) | -565(59) | 2941(35) | 6483(37) | 91(13) |
| H(11C) | 887(51) | 3556(33) | 7029(36) | 80(12) |

Table S6. Observed and Calculated Structure Factors for CCl_2

Page 1

| h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s |
|----|---|---|------|------|-----|-----|----|---|------|------|-----|----|---|---|------|------|-----|-----|----|---|------|------|-----|----|---|---|------|------|-----|
| 2 | 0 | 0 | 214 | 204 | 1 | 0 | 12 | 0 | 117 | 122 | 1 | 8 | 4 | 1 | 147 | 152 | 2 | 2 | 10 | 1 | 54 | 52 | 2 | -6 | 3 | 2 | 84 | 86 | 1 |
| 4 | 0 | 0 | 362 | 374 | 2 | 1 | 12 | 0 | 119 | 117 | 1 | -9 | 5 | 1 | 118 | 118 | 2 | 3 | 10 | 1 | 167 | 170 | 2 | -5 | 3 | 2 | 195 | 211 | 2 |
| 6 | 0 | 0 | 227 | 208 | 3 | 3 | 12 | 0 | 196 | 203 | 2 | -8 | 5 | 1 | 38 | 35 | 3 | 4 | 10 | 1 | 59 | 66 | 2 | -4 | 3 | 2 | 505 | 516 | 2 |
| 8 | 0 | 0 | 282 | 285 | 4 | 4 | 12 | 0 | 67 | 62 | 2 | -7 | 5 | 1 | 319 | 315 | 3 | 5 | 10 | 1 | 91 | 107 | 2 | -3 | 3 | 2 | 246 | 249 | 2 |
| 10 | 0 | 0 | 42 | 35 | 3 | 5 | 12 | 0 | 76 | 75 | 2 | -6 | 5 | 1 | 223 | 220 | 2 | 7 | 10 | 1 | 120 | 117 | 2 | -2 | 3 | 2 | 497 | 498 | 2 |
| 1 | 1 | 0 | 61 | 70 | 1 | 6 | 12 | 0 | 85 | 79 | 2 | -5 | 5 | 1 | 538 | 539 | 3 | -7 | 11 | 1 | 102 | 95 | 2 | -1 | 3 | 2 | 281 | 281 | 1 |
| 2 | 1 | 0 | 865 | 786 | 6 | 1 | 13 | 0 | 184 | 191 | 2 | -4 | 5 | 1 | 157 | 155 | 2 | -6 | 11 | 1 | 116 | 120 | 2 | 0 | 3 | 2 | 482 | 480 | 5 |
| 3 | 1 | 0 | 67 | 63 | 1 | 2 | 13 | 0 | 153 | 155 | 2 | -3 | 5 | 1 | 280 | 257 | 2 | -5 | 11 | 1 | 94 | 94 | 2 | 1 | 3 | 2 | 507 | 493 | 2 |
| 4 | 1 | 0 | 195 | 186 | 2 | 3 | 13 | 0 | 99 | 98 | 2 | -2 | 5 | 1 | 124 | 129 | 1 | -4 | 11 | 1 | 49 | 35 | 2 | 2 | 3 | 2 | 287 | 276 | 2 |
| 5 | 1 | 0 | 437 | 405 | 2 | 4 | 13 | 0 | 28 | 31 | 4 | -1 | 5 | 1 | 738 | 763 | 2 | -2 | 11 | 1 | 330 | 341 | 3 | 3 | 3 | 2 | 194 | 209 | 2 |
| 6 | 1 | 0 | 78 | 82 | 1 | 5 | 13 | 0 | 111 | 114 | 2 | 0 | 5 | 1 | 45 | 46 | 1 | -1 | 11 | 1 | 136 | 138 | 1 | 4 | 3 | 2 | 279 | 272 | 2 |
| 7 | 1 | 0 | 38 | 53 | 2 | 2 | 14 | 0 | 45 | 51 | 3 | 1 | 5 | 1 | 56 | 49 | 1 | 0 | 11 | 1 | 270 | 280 | 2 | 5 | 3 | 2 | 66 | 69 | 1 |
| 8 | 1 | 0 | 186 | 186 | 2 | 3 | 14 | 0 | 38 | 32 | 3 | 2 | 5 | 1 | 246 | 234 | 2 | 1 | 11 | 1 | 89 | 91 | 1 | 7 | 3 | 2 | 189 | 184 | 2 |
| 9 | 1 | 0 | 120 | 128 | 1 | 4 | 14 | 0 | 134 | 137 | 2 | 3 | 5 | 1 | 972 | 887 | 10 | 2 | 11 | 1 | 76 | 77 | 1 | 8 | 3 | 2 | 84 | 89 | 2 |
| 10 | 1 | 0 | 77 | 74 | 2 | 1 | 15 | 0 | 94 | 93 | 2 | 4 | 5 | 1 | 208 | 210 | 2 | 4 | 11 | 1 | 140 | 145 | 1 | 9 | 3 | 2 | 45 | 35 | 3 |
| 0 | 2 | 0 | 244 | 251 | 1 | 2 | 15 | 0 | 48 | 50 | 3 | 5 | 5 | 1 | 175 | 178 | 2 | 5 | 11 | 1 | 100 | 99 | 2 | -9 | 4 | 2 | 48 | 52 | 3 |
| 1 | 2 | 0 | 1054 | 977 | 5 | -9 | 0 | 1 | 118 | 128 | 1 | 6 | 5 | 1 | 103 | 107 | 1 | 6 | 11 | 1 | 67 | 66 | 2 | -8 | 4 | 2 | 51 | 48 | 2 |
| 2 | 2 | 0 | 910 | 838 | 7 | -5 | 0 | 1 | 341 | 312 | 2 | 7 | 5 | 1 | 204 | 208 | 2 | -5 | 12 | 1 | 70 | 67 | 2 | -7 | 4 | 2 | 202 | 197 | 2 |
| 3 | 2 | 0 | 406 | 398 | 2 | -3 | 0 | 1 | 367 | 365 | 2 | 9 | 5 | 1 | 82 | 78 | 2 | -4 | 12 | 1 | 84 | 85 | 2 | -6 | 4 | 2 | 299 | 297 | 3 |
| 4 | 2 | 0 | 58 | 55 | 1 | -1 | 0 | 1 | 719 | 699 | 4 | -9 | 6 | 1 | 151 | 154 | 2 | -3 | 12 | 1 | 148 | 136 | 2 | -5 | 4 | 2 | 105 | 93 | 1 |
| 5 | 2 | 0 | 263 | 269 | 2 | 1 | 0 | 1 | 238 | 208 | 1 | -8 | 6 | 1 | 59 | 60 | 2 | -2 | 12 | 1 | 33 | 32 | 3 | -4 | 4 | 2 | 248 | 245 | 2 |
| 6 | 2 | 0 | 168 | 172 | 2 | 3 | 0 | 1 | 576 | 563 | 2 | -6 | 6 | 1 | 243 | 251 | 3 | -1 | 12 | 1 | 71 | 75 | 2 | -3 | 4 | 2 | 351 | 370 | 2 |
| 7 | 2 | 0 | 129 | 136 | 1 | 5 | 0 | 1 | 88 | 81 | 1 | -5 | 6 | 1 | 53 | 44 | 2 | 0 | 12 | 1 | 52 | 51 | 2 | -2 | 4 | 2 | 737 | 755 | 2 |
| 1 | 3 | 0 | 386 | 374 | 1 | -10 | 1 | 1 | 57 | 55 | 2 | -4 | 6 | 1 | 37 | 37 | 2 | 1 | 12 | 1 | 145 | 144 | 2 | -1 | 4 | 2 | 144 | 142 | 1 |
| 2 | 3 | 0 | 834 | 782 | 7 | -9 | 1 | 1 | 122 | 121 | 1 | -3 | 6 | 1 | 214 | 207 | 2 | 4 | 12 | 1 | 53 | 62 | 2 | 0 | 4 | 2 | 66 | 63 | 1 |
| 3 | 3 | 0 | 356 | 355 | 2 | -8 | 1 | 1 | 140 | 143 | 2 | -2 | 6 | 1 | 343 | 319 | 2 | 5 | 12 | 1 | 137 | 139 | 2 | 1 | 4 | 2 | 318 | 329 | 2 |
| 4 | 3 | 0 | 190 | 192 | 2 | -7 | 1 | 1 | 169 | 157 | 2 | -1 | 6 | 1 | 280 | 266 | 2 | 6 | 12 | 1 | 102 | 106 | 2 | 2 | 4 | 2 | 573 | 576 | 2 |
| 5 | 3 | 0 | 85 | 87 | 1 | -6 | 1 | 1 | 171 | 170 | 2 | 0 | 6 | 1 | 118 | 125 | 1 | -2 | 13 | 1 | 72 | 79 | 2 | 3 | 4 | 2 | 116 | 113 | 1 |
| 6 | 3 | 0 | 206 | 218 | 2 | -5 | 1 | 1 | 168 | 176 | 2 | 1 | 6 | 1 | 173 | 180 | 1 | 0 | 13 | 1 | 74 | 70 | 1 | 4 | 4 | 2 | 308 | 297 | 3 |
| 7 | 3 | 0 | 122 | 118 | 2 | -3 | 1 | 1 | 224 | 217 | 2 | 2 | 6 | 1 | 91 | 67 | 1 | 1 | 13 | 1 | 57 | 64 | 2 | 5 | 4 | 2 | 59 | 56 | 1 |
| 8 | 3 | 0 | 21 | 26 | 5 | -2 | 1 | 1 | 72 | 244 | 1 | 3 | 6 | 1 | 275 | 273 | 3 | 2 | 13 | 1 | 44 | 38 | 3 | 6 | 4 | 2 | 138 | 136 | 1 |
| 9 | 3 | 0 | 45 | 39 | 3 | -1 | 1 | 1 | 105 | 101 | 1 | 4 | 6 | 1 | 235 | 232 | 3 | 5 | 13 | 1 | 88 | 81 | 2 | 7 | 4 | 2 | 74 | 66 | 2 |
| 0 | 4 | 0 | 582 | 585 | 1 | 0 | 1 | 1 | 424 | 419 | 20 | 5 | 6 | 1 | 290 | 283 | 3 | -4 | 14 | 1 | 66 | 61 | 2 | 8 | 4 | 2 | 96 | 90 | 2 |
| 1 | 4 | 0 | 138 | 144 | 1 | 1 | 1 | 1 | 255 | 260 | 1 | 6 | 6 | 1 | 251 | 259 | 2 | -2 | 14 | 1 | 88 | 85 | 2 | 9 | 4 | 2 | 85 | 91 | 2 |
| 2 | 4 | 0 | 201 | 185 | 2 | 2 | 1 | 1 | 741 | 632 | 7 | 7 | 6 | 1 | 162 | 159 | 2 | -1 | 14 | 1 | 33 | 40 | 4 | -8 | 5 | 2 | 60 | 65 | 2 |
| 3 | 4 | 0 | 361 | 352 | 2 | 3 | 1 | 1 | 313 | 317 | 2 | 8 | 6 | 1 | 96 | 94 | 2 | 0 | 14 | 1 | 57 | 58 | 1 | -6 | 5 | 2 | 188 | 187 | 2 |
| 4 | 4 | 0 | 94 | 103 | 1 | 4 | 1 | 1 | 147 | 139 | 1 | 9 | 6 | 1 | 76 | 78 | 2 | 2 | 14 | 1 | 75 | 73 | 2 | -5 | 5 | 2 | 25 | 27 | 3 |
| 5 | 4 | 0 | 112 | 110 | 1 | 5 | 1 | 1 | 152 | 147 | 2 | -8 | 7 | 1 | 52 | 49 | 2 | -2 | 15 | 1 | 78 | 74 | 2 | -4 | 5 | 2 | 100 | 91 | 1 |
| 6 | 4 | 0 | 204 | 204 | 2 | 6 | 1 | 1 | 125 | 136 | 1 | -6 | 7 | 1 | 133 | 139 | 2 | -1 | 15 | 1 | 180 | 174 | 2 | -3 | 5 | 2 | 99 | 91 | 1 |
| 8 | 4 | 0 | 86 | 89 | 2 | 7 | 1 | 1 | 299 | 296 | 3 | -5 | 7 | 1 | 121 | 126 | 1 | 2 | 15 | 1 | 58 | 58 | 2 | -2 | 5 | 2 | 140 | 141 | 1 |
| 9 | 4 | 0 | 43 | 33 | 3 | 8 | 1 | 1 | 104 | 106 | 1 | -4 | 7 | 1 | 76 | 74 | 1 | -10 | 0 | 2 | 36 | 34 | 3 | -1 | 5 | 2 | 135 | 127 | 1 |
| 1 | 5 | 0 | 92 | 80 | 1 | 9 | 1 | 1 | 58 | 56 | 2 | -3 | 7 | 1 | 83 | 86 | 1 | -8 | 0 | 2 | 180 | 192 | 2 | 0 | 5 | 2 | 170 | 160 | 1 |
| 2 | 5 | 0 | 67 | 63 | 1 | -9 | 2 | 1 | 178 | 167 | 2 | -2 | 7 | 1 | 447 | 444 | 2 | -6 | 0 | 2 | 416 | 449 | 3 | 1 | 5 | 2 | 122 | 114 | 1 |
| 4 | 5 | 0 | 26 | 20 | 2 | -8 | 2 | 1 | 73 | 76 | 2 | -1 | 7 | 1 | 253 | 237 | 2 | -4 | 0 | 2 | 998 | 896 | 9 | 2 | 5 | 2 | 167 | 151 | 1 |
| 5 | 5 | 0 | 170 | 169 | 2 | -7 | 2 | 1 | 285 | 286 | 3 | 0 | 7 | 1 | 352 | 341 | 3 | -2 | 0 | 2 | 1267 | 1243 | 6 | 3 | 5 | 2 | 216 | 206 | 2 |
| 6 | 5 | 0 | 86 | 82 | 1 | -5 | 2 | 1 | 71 | 77 | 1 | 1 | 7 | 1 | 267 | 267 | 2 | 0 | 0 | 2 | 70 | 49 | 3 | 5 | 5 | 2 | 84 | 82 | 1 |
| 8 | 5 | 0 | 190 | 189 | 2 | -4 | 2 | 1 | 146 | 129 | 1 | 2 | 7 | 1 | 254 | 238 | 2 | 2 | 0 | 2 | 852 | 733 | 7 | 6 | 5 | 2 | 283 | 283 | 3 |
| 0 | 6 | 0 | 527 | 521 | 2 | -3 | 2 | 1 | 627 | 640 | 2 | 3 | 7 | 1 | 34 | 36 | 2 | 4 | 0 | 2 | 293 | 270 | 2 | 7 | 5 | 2 | 67 | 67 | 2 |
| 1 | 6 | 0 | 16 | 24 | 3 | -2 | 2 | 1 | 248 | 233 | 1 | 4 | 7 | 1 | 111 | 111 | 1 | 6 | 0 | 2 | 196 | 203 | 2 | 8 | 5 | 2 | 67 | 65 | 2 |
| 2 | 6 | 0 | 136 | 123 | 2 | -1 | 2 | 1 | 288 | 285 | 1 | 5 | 7 | 1 | 83 | 79 | 1 | 8 | 0 | 2 | 166 | 168 | 2 | -9 | 6 | 2 | 52 | 57 | 3 |
| 3 | 6 | 0 | 268 | 268 | 2 | 0 | 2 | 1 | 325 | 337 | 1 | 7 | 7 | 1 | 49 | 56 | 2 | -10 | 1 | 2 | 51 | 51 | 3 | -8 | 6 | 2 | 56 | 61 | 2 |
| 4 | 6 | 0 | 124 | 126 | 1 | 1 | 2 | 1 | 57 | 50 | 1 | 8 | 7 | 1 | 95 | 100 | 2 | -9 | 1 | 2 | 42 | 37 | 3 | -7 | 6 | 2 | 170 | 173 | 2 |
| 5 | 6 | 0 | 291 | 298 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1050 | 971 | 7 | -8 | 8 | 1 | 95 | 95 | 2 | -8 | 1 | 2 | 91 | 90 | 1 | -6 | 6 | 2 | 227 | 229 | 2 |
| 6 | 6 | 0 | 167 | 166 | 2 | 3 | 2 | 1 | 275 | 269 | 2 | -7 | 8 | 1 | 176 | 179 | 2 | -7 | 1 | 2 | 101 | 92 | 1 | -5 | 6 | 2 | 223 | 222 | 2 |
| 8 | 6 | 0 | 40 | 47 | 3 | 4 | 2 | 1 | 286 | 288 | 2 | -6 | 8 | 1 | 90 | 93 | 1 | -6 | 1 | 2 | 217 | 214 | 3 | -4 | 6 | 2 | 55 | 53 | 1 |
| 9 | 6 | 0 | 103 | 102 | 2 | 5 | 2 | 1 | 620 | 636 | 3 | -5 | 8 | 1 | 69 | 63 | 1 | -5 | 1 | 2 | 285 | 301 | 2 | -3 | 6 | 2 | 471 | 468 | 2 |
| 1 | 7 | 0 | 21 | 32 | 3 | 6 | 2 | 1 | 56 | 45 | 1 | -4 | 8 | 1 | 108 | 113 | 1 | -4 | 1 | 2 | 188 | 180 | 2 | -2 | 6 | 2 | 344 | 343 | 2 |
| 2 | 7 | 0 | 497 | 513 | 2 | 7 | 2 | 1 | 44 | 37 | 2 | -3 | 8 | 1 | 353 | 370 | 3 | -3 | 1 | 2 | 307 | 320 | 2 | -1 | 6 | 2 | 380 | 379 | 2 |
| 3 | 7 | 0 | 133 | 118 | 1 | 9 | 2 | 1 | 42 | 35 | 3 | -2 | 8 | 1 | 206 | 203 | 3 | -2 | 1 | 2 | 61 | 61 | 1 | 0 | 6 | 2 | 96 | 91 | 1 |
| 4 | 7 | 0 | 51 | 58 | 1 | -8 | 3 | 1 | 68 | 66 | 2 | -1 | 8 | 1 | 278 | 274 | | | | | | | | | | | | | |

| h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s |
|----|----|---|------|------|-----|-----|---|---|------|------|-----|----|----|---|------|------|-----|-----|---|---|------|------|-----|----|---|---|------|------|-----|
| 2 | 8 | 0 | 88 | 92 | 1 | -2 | 3 | 1 | 390 | 393 | 2 | 6 | 8 | 1 | 206 | 211 | 2 | 6 | 1 | 2 | 275 | 281 | 3 | -9 | 7 | 2 | 51 | 48 | 3 |
| 3 | 8 | 0 | 99 | 90 | 1 | -1 | 3 | 1 | 211 | 194 | 1 | 7 | 8 | 1 | 30 | 43 | 4 | 7 | 1 | 2 | 134 | 128 | 2 | -8 | 7 | 2 | 166 | 162 | 2 |
| 4 | 8 | 0 | 62 | 64 | 1 | 0 | 3 | 1 | 124 | 122 | 1 | 8 | 8 | 1 | 95 | 101 | 2 | 8 | 1 | 2 | 107 | 105 | 1 | -7 | 7 | 2 | 116 | 110 | 1 |
| 5 | 8 | 0 | 65 | 60 | 1 | 1 | 3 | 1 | 703 | 639 | 7 | -8 | 9 | 1 | 65 | 65 | 2 | -10 | 2 | 2 | 148 | 143 | 2 | -6 | 7 | 2 | 32 | 37 | 3 |
| 6 | 8 | 0 | 25 | 27 | 4 | 2 | 3 | 1 | 534 | 532 | 2 | -7 | 9 | 1 | 82 | 81 | 2 | -9 | 2 | 2 | 92 | 89 | 2 | -5 | 7 | 2 | 39 | 41 | 2 |
| 7 | 8 | 0 | 90 | 88 | 2 | 3 | 3 | 1 | 214 | 202 | 2 | -6 | 9 | 1 | 40 | 40 | 3 | -8 | 2 | 2 | 45 | 46 | 2 | -4 | 7 | 2 | 414 | 416 | 3 |
| 1 | 9 | 0 | 34 | 39 | 2 | 4 | 3 | 1 | 350 | 340 | 2 | -5 | 9 | 1 | 158 | 155 | 2 | -7 | 2 | 2 | 276 | 272 | 3 | -3 | 7 | 2 | 45 | 45 | 1 |
| 2 | 9 | 0 | 111 | 111 | 1 | 5 | 3 | 1 | 224 | 215 | 3 | -3 | 9 | 1 | 168 | 163 | 2 | -6 | 2 | 2 | 157 | 147 | 2 | -2 | 7 | 2 | 177 | 183 | 2 |
| 3 | 9 | 0 | 195 | 201 | 2 | 7 | 3 | 1 | 68 | 62 | 2 | -2 | 9 | 1 | 165 | 169 | 2 | -5 | 2 | 2 | 186 | 184 | 2 | -1 | 7 | 2 | 44 | 53 | 1 |
| 4 | 9 | 0 | 67 | 63 | 2 | 9 | 3 | 1 | 61 | 64 | 2 | -1 | 9 | 1 | 257 | 263 | 3 | -3 | 2 | 2 | 121 | 137 | 1 | 0 | 7 | 2 | 536 | 547 | 3 |
| 5 | 9 | 0 | 216 | 218 | 2 | -9 | 4 | 1 | 155 | 148 | 2 | 0 | 9 | 1 | 194 | 188 | 2 | -2 | 2 | 2 | 389 | 384 | 1 | 1 | 7 | 2 | 66 | 62 | 1 |
| 7 | 9 | 0 | 69 | 68 | 2 | -8 | 4 | 1 | 73 | 76 | 2 | 1 | 9 | 1 | 107 | 104 | 1 | -1 | 2 | 2 | 521 | 524 | 1 | 2 | 7 | 2 | 37 | 35 | 2 |
| 8 | 9 | 0 | 100 | 96 | 2 | -7 | 4 | 1 | 195 | 195 | 2 | 2 | 9 | 1 | 100 | 99 | 1 | 0 | 2 | 2 | 24 | 25 | 1 | 4 | 7 | 2 | 166 | 164 | 2 |
| 0 | 10 | 0 | 543 | 538 | 3 | -6 | 4 | 1 | 233 | 248 | 3 | 3 | 9 | 1 | 169 | 171 | 2 | 1 | 2 | 2 | 321 | 310 | 1 | 5 | 7 | 2 | 53 | 54 | 2 |
| 1 | 10 | 0 | 312 | 317 | 3 | -5 | 4 | 1 | 194 | 193 | 2 | 4 | 9 | 1 | 71 | 78 | 2 | 2 | 2 | 2 | 149 | 144 | 1 | 6 | 7 | 2 | 99 | 101 | 1 |
| 3 | 10 | 0 | 87 | 87 | 1 | -4 | 4 | 1 | 208 | 201 | 2 | 5 | 9 | 1 | 103 | 106 | 1 | 3 | 2 | 2 | 194 | 195 | 2 | 7 | 7 | 2 | 90 | 96 | 2 |
| 4 | 10 | 0 | 283 | 292 | 3 | -3 | 4 | 1 | 495 | 487 | 2 | 6 | 9 | 1 | 36 | 29 | 3 | 4 | 2 | 2 | 107 | 112 | 1 | 8 | 7 | 2 | 70 | 62 | 2 |
| 5 | 10 | 0 | 44 | 38 | 3 | -2 | 4 | 1 | 140 | 141 | 1 | 7 | 9 | 1 | 126 | 122 | 2 | 5 | 2 | 2 | 75 | 64 | 1 | -8 | 8 | 2 | 99 | 96 | 2 |
| 7 | 10 | 0 | 63 | 60 | 2 | -1 | 4 | 1 | 185 | 183 | 2 | -6 | 10 | 1 | 44 | 45 | 3 | 6 | 2 | 2 | 49 | 43 | 2 | -7 | 8 | 2 | 63 | 61 | 2 |
| 1 | 11 | 0 | 47 | 39 | 2 | 0 | 4 | 1 | 607 | 610 | 2 | -5 | 10 | 1 | 137 | 140 | 2 | 7 | 2 | 2 | 133 | 128 | 2 | -5 | 8 | 2 | 122 | 125 | 1 |
| 2 | 11 | 0 | 171 | 171 | 2 | 1 | 4 | 1 | 182 | 181 | 2 | -4 | 10 | 1 | 112 | 122 | 1 | 8 | 2 | 2 | 160 | 164 | 2 | -4 | 8 | 2 | 109 | 110 | 1 |
| 3 | 11 | 0 | 74 | 73 | 1 | 3 | 4 | 1 | 785 | 775 | 2 | -3 | 10 | 1 | 53 | 50 | 2 | 9 | 2 | 2 | 26 | 31 | 5 | -3 | 8 | 2 | 44 | 46 | 2 |
| 4 | 11 | 0 | 50 | 47 | 2 | 4 | 4 | 1 | 64 | 61 | 1 | -2 | 10 | 1 | 70 | 70 | 1 | -9 | 3 | 2 | 48 | 41 | 2 | -2 | 8 | 2 | 67 | 64 | 1 |
| 5 | 11 | 0 | 81 | 79 | 2 | 5 | 4 | 1 | 391 | 381 | 3 | -1 | 10 | 1 | 103 | 100 | 1 | -8 | 3 | 2 | 169 | 177 | 2 | 0 | 8 | 2 | 242 | 238 | 2 |
| 6 | 11 | 0 | 88 | 82 | 2 | 7 | 4 | 1 | 159 | 155 | 2 | 0 | 10 | 1 | 155 | 156 | 2 | -7 | 3 | 2 | 83 | 87 | 1 | 1 | 8 | 2 | 191 | 195 | 2 |
| 2 | 8 | 2 | 46 | 44 | 2 | 4 | 1 | 3 | 66 | 67 | 1 | -5 | 7 | 3 | 37 | 38 | 2 | -8 | 0 | 4 | 316 | 317 | 3 | -8 | 6 | 4 | 96 | 100 | 2 |
| 3 | 8 | 2 | 40 | 39 | 2 | 5 | 1 | 3 | 254 | 246 | 3 | -4 | 7 | 3 | 172 | 176 | 2 | -6 | 0 | 4 | 443 | 429 | 3 | -7 | 6 | 4 | 141 | 138 | 2 |
| 4 | 8 | 2 | 57 | 52 | 2 | 6 | 1 | 3 | 28 | 4 | 3 | -3 | 7 | 3 | 115 | 98 | 1 | -4 | 0 | 4 | 436 | 440 | 2 | -5 | 6 | 4 | 310 | 322 | 3 |
| 7 | 8 | 2 | 123 | 126 | 1 | 8 | 1 | 3 | 139 | 140 | 2 | -2 | 7 | 3 | 135 | 130 | 1 | -2 | 0 | 4 | 544 | 544 | 2 | -4 | 6 | 4 | 244 | 250 | 3 |
| 8 | 8 | 2 | 162 | 162 | 2 | 9 | 1 | 3 | 38 | 30 | 3 | -1 | 7 | 3 | 55 | 51 | 1 | 0 | 0 | 4 | 1423 | 1347 | 5 | -3 | 6 | 4 | 187 | 189 | 2 |
| -8 | 9 | 2 | 47 | 42 | 3 | -10 | 2 | 3 | 104 | 108 | 2 | 0 | 7 | 3 | 170 | 166 | 1 | 2 | 0 | 4 | 116 | 377 | 1 | -2 | 6 | 4 | 153 | 164 | 2 |
| -7 | 9 | 2 | 138 | 139 | 2 | -9 | 2 | 3 | 180 | 180 | 3 | 1 | 7 | 3 | 21 | 24 | 3 | 4 | 0 | 4 | 258 | 277 | 3 | -1 | 6 | 4 | 421 | 426 | 2 |
| -5 | 9 | 2 | 160 | 166 | 2 | -8 | 2 | 3 | 35 | 39 | 3 | 2 | 7 | 3 | 89 | 90 | 1 | 6 | 0 | 4 | 21 | 1 | 4 | 0 | 6 | 4 | 256 | 255 | 2 |
| -3 | 9 | 2 | 210 | 210 | 2 | -7 | 2 | 3 | 223 | 219 | 2 | 3 | 7 | 3 | 169 | 167 | 2 | 8 | 0 | 4 | 120 | 115 | 1 | 1 | 6 | 4 | 219 | 203 | 3 |
| -2 | 9 | 2 | 108 | 104 | 1 | -6 | 2 | 3 | 139 | 134 | 2 | 4 | 7 | 3 | 32 | 35 | 3 | -10 | 1 | 4 | 59 | 64 | 2 | 2 | 6 | 4 | 74 | 77 | 1 |
| -1 | 9 | 2 | 166 | 170 | 2 | -5 | 2 | 3 | 312 | 322 | 2 | 6 | 7 | 3 | 234 | 238 | 2 | -8 | 1 | 4 | 141 | 138 | 2 | 3 | 6 | 4 | 227 | 219 | 3 |
| 0 | 9 | 2 | 267 | 257 | 6 | -4 | 2 | 3 | 168 | 162 | 1 | 7 | 7 | 3 | 76 | 77 | 2 | -7 | 1 | 4 | 99 | 98 | 1 | 5 | 6 | 4 | 150 | 155 | 2 |
| 1 | 9 | 2 | 171 | 177 | 2 | -3 | 2 | 3 | 24 | 31 | 2 | 8 | 7 | 3 | 36 | 45 | 4 | -6 | 1 | 4 | 213 | 200 | 2 | -8 | 7 | 4 | 128 | 121 | 1 |
| 2 | 9 | 2 | 127 | 125 | 1 | -2 | 2 | 3 | 559 | 586 | 2 | -7 | 8 | 3 | 97 | 94 | 1 | -5 | 1 | 4 | 215 | 210 | 3 | -7 | 7 | 4 | 112 | 112 | 1 |
| 3 | 9 | 2 | 260 | 264 | 3 | -1 | 2 | 3 | 798 | 733 | 7 | -6 | 8 | 3 | 212 | 213 | 2 | -4 | 1 | 4 | 379 | 367 | 2 | -6 | 7 | 4 | 284 | 283 | 3 |
| 4 | 9 | 2 | 120 | 124 | 2 | 0 | 2 | 3 | 363 | 355 | 4 | -5 | 8 | 3 | 186 | 192 | 2 | -3 | 1 | 4 | 190 | 200 | 2 | -5 | 7 | 4 | 239 | 244 | 3 |
| 5 | 9 | 2 | 42 | 47 | 2 | 1 | 2 | 3 | 263 | 259 | 2 | -4 | 8 | 3 | 115 | 113 | 1 | -2 | 1 | 4 | 159 | 155 | 2 | -4 | 7 | 4 | 155 | 155 | 2 |
| 6 | 9 | 2 | 49 | 47 | 2 | 2 | 2 | 3 | 127 | 144 | 1 | -3 | 8 | 3 | 56 | 59 | 1 | -1 | 1 | 4 | 88 | 84 | 1 | -3 | 7 | 4 | 71 | 64 | 1 |
| 7 | 9 | 2 | 52 | 54 | 3 | 3 | 2 | 3 | 354 | 347 | 2 | -2 | 8 | 3 | 221 | 220 | 3 | 0 | 1 | 4 | 113 | 108 | 1 | -2 | 7 | 4 | 238 | 256 | 3 |
| -7 | 10 | 2 | 52 | 48 | 2 | 4 | 2 | 3 | 83 | 87 | 1 | -1 | 8 | 3 | 169 | 167 | 2 | 1 | 1 | 4 | 119 | 121 | 1 | -1 | 7 | 4 | 107 | 108 | 1 |
| -6 | 10 | 2 | 106 | 104 | 1 | 5 | 2 | 3 | 56 | 54 | 2 | 0 | 8 | 3 | 39 | 39 | 1 | 2 | 1 | 4 | 99 | 95 | 1 | 0 | 7 | 4 | 173 | 166 | 1 |
| -5 | 10 | 2 | 49 | 44 | 2 | 6 | 2 | 3 | 39 | 33 | 2 | 1 | 8 | 3 | 63 | 56 | 1 | 3 | 1 | 4 | 58 | 58 | 1 | 1 | 7 | 4 | 42 | 43 | 2 |
| -4 | 10 | 2 | 164 | 169 | 2 | 7 | 2 | 3 | 152 | 146 | 2 | 2 | 8 | 3 | 252 | 255 | 3 | 4 | 1 | 4 | 203 | 194 | 2 | 2 | 7 | 4 | 102 | 105 | 1 |
| -3 | 10 | 2 | 199 | 209 | 2 | 8 | 2 | 3 | 103 | 108 | 2 | 3 | 8 | 3 | 226 | 241 | 2 | 5 | 1 | 4 | 307 | 298 | 3 | 3 | 7 | 4 | 146 | 159 | 2 |
| -2 | 10 | 2 | 265 | 269 | 3 | -10 | 3 | 3 | 46 | 45 | 3 | 4 | 8 | 3 | 103 | 107 | 1 | 6 | 1 | 4 | 100 | 99 | 1 | 4 | 7 | 4 | 71 | 76 | 2 |
| 0 | 10 | 2 | 177 | 171 | 2 | -9 | 3 | 3 | 152 | 154 | 2 | 5 | 8 | 3 | 73 | 74 | 2 | 8 | 1 | 4 | 108 | 111 | 2 | 6 | 7 | 4 | 28 | 23 | 4 |
| 2 | 10 | 2 | 436 | 442 | 3 | -7 | 3 | 3 | 155 | 145 | 2 | 6 | 8 | 3 | 33 | 37 | 4 | -9 | 2 | 4 | 115 | 116 | 1 | 7 | 7 | 4 | 35 | 31 | 3 |
| 3 | 10 | 2 | 201 | 204 | 2 | -6 | 3 | 3 | 102 | 106 | 1 | 7 | 8 | 3 | 158 | 160 | 2 | -7 | 2 | 4 | 53 | 54 | 2 | -8 | 8 | 4 | 38 | 36 | 3 |
| 4 | 10 | 2 | 34 | 38 | 3 | -5 | 3 | 3 | 60 | 58 | 1 | -7 | 9 | 3 | 157 | 165 | 2 | -6 | 2 | 4 | 39 | 28 | 2 | -7 | 8 | 4 | 71 | 71 | 2 |
| 5 | 10 | 2 | 79 | 78 | 2 | -4 | 3 | 3 | 214 | 214 | 2 | -5 | 9 | 3 | 151 | 146 | 2 | -5 | 2 | 4 | 231 | 242 | 2 | -6 | 8 | 4 | 91 | 97 | 1 |
| 6 | 10 | 2 | 102 | 104 | 2 | -2 | 3 | 3 | 116 | 117 | 1 | -4 | 9 | 3 | 87 | 85 | 1 | -4 | 2 | 4 | 80 | 76 | 1 | -5 | 8 | 4 | 180 | 171 | 2 |
| -7 | 11 | 2 | 39 | 34 | 3 | -1 | 3 | 3 | 341 | 334 | 2 | -3 | 9 | 3 | 184 | 186 | 2 | -3 | 2 | 4 | 201 | 194 | 2 | -4 | 8 | 4 | 211 | 221 | 2 |
| -6 | 11 | 2 | 159 | 158 | 2 | 0 | 3 | 3 | 361 | 347 | 6 | -2 | 9 | 3 | 107 | 109 | 1 | -2 | 2 | 4 | 58 | 54 | 1 | -3 | 8 | 4 | 262 | 264 | 3 |
| -5 | 11 | 2 | 62 | 64 | 2 | 1 | 3 | 3 | 46 | 35 | 1 | -1 | 9 | 3 | 165 | 166 | 2 | -1 | 2 | 4 | 763 | 762 | 2 | -1 | 8 | 4 | 117 | 125 | 1 |
| -4 | 11 | 2 | 55 | 57 | 2 | 2 | 3 | 3 | 319 | 307 | 2 | 0 | 9 | 3 | 106 | 105 | 1 | 0 | 2 | 4 | 84 | 77 | 1 | 1 | 8 | 4 | | | |

| h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s |
|-----|----|---|------|------|-----|----|---|---|------|------|-----|-----|----|---|------|------|-----|-----|---|---|------|------|-----|-----|----|---|------|------|-----|
| -5 | 12 | 2 | 45 | 45 | 3 | -6 | 4 | 3 | 235 | 252 | 3 | -4 | 10 | 3 | 29 | 31 | 3 | -9 | 3 | 4 | 61 | 59 | 2 | -3 | 9 | 4 | 331 | 332 | 3 |
| -3 | 12 | 2 | 109 | 104 | 1 | -5 | 4 | 3 | 162 | 159 | 2 | -3 | 10 | 3 | 39 | 32 | 3 | -7 | 3 | 4 | 258 | 257 | 3 | -2 | 9 | 4 | 87 | 90 | 1 |
| -2 | 12 | 2 | 45 | 44 | 2 | -3 | 4 | 3 | 102 | 94 | 1 | -1 | 10 | 3 | 76 | 81 | 1 | -6 | 3 | 4 | 314 | 327 | 3 | -1 | 9 | 4 | 84 | 76 | 1 |
| 0 | 12 | 2 | 81 | 78 | 2 | -2 | 4 | 3 | 195 | 211 | 2 | 0 | 10 | 3 | 189 | 198 | 1 | -5 | 3 | 4 | 57 | 58 | 1 | 0 | 9 | 4 | 109 | 106 | 1 |
| 1 | 12 | 2 | 133 | 133 | 1 | -1 | 4 | 3 | 218 | 215 | 2 | 1 | 10 | 3 | 191 | 196 | 2 | -4 | 3 | 4 | 343 | 338 | 2 | 1 | 9 | 4 | 45 | 47 | 2 |
| 3 | 12 | 2 | 101 | 105 | 1 | 0 | 4 | 3 | 210 | 202 | 6 | 4 | 10 | 3 | 68 | 69 | 2 | -3 | 3 | 4 | 353 | 350 | 2 | 2 | 9 | 4 | 58 | 64 | 2 |
| 5 | 12 | 2 | 86 | 86 | 2 | 2 | 4 | 3 | 134 | 149 | 1 | 5 | 10 | 3 | 169 | 165 | 2 | -2 | 3 | 4 | 416 | 442 | 2 | 4 | 9 | 4 | 124 | 127 | 1 |
| -5 | 13 | 2 | 124 | 123 | 2 | 3 | 4 | 3 | 175 | 168 | 2 | -7 | 11 | 3 | 74 | 77 | 2 | -1 | 3 | 4 | 272 | 257 | 2 | 5 | 9 | 4 | 120 | 121 | 1 |
| -4 | 13 | 2 | 112 | 109 | 2 | 5 | 4 | 3 | 187 | 184 | 2 | -6 | 11 | 3 | 36 | 35 | 3 | 0 | 3 | 4 | 223 | 216 | 3 | -7 | 10 | 4 | 67 | 70 | 2 |
| -3 | 13 | 2 | 52 | 53 | 2 | 6 | 4 | 3 | 142 | 143 | 2 | -5 | 11 | 3 | 103 | 102 | 1 | 1 | 3 | 4 | 199 | 201 | 2 | -6 | 10 | 4 | 163 | 163 | 2 |
| -2 | 13 | 2 | 63 | 65 | 2 | 8 | 4 | 3 | 55 | 59 | 2 | -4 | 11 | 3 | 242 | 249 | 2 | 2 | 3 | 4 | 493 | 519 | 2 | -5 | 10 | 4 | 75 | 74 | 2 |
| -1 | 13 | 2 | 134 | 133 | 1 | -9 | 5 | 3 | 278 | 275 | 3 | -3 | 11 | 3 | 80 | 77 | 1 | 3 | 3 | 4 | 148 | 134 | 2 | -4 | 10 | 4 | 184 | 179 | 2 |
| 0 | 13 | 2 | 99 | 94 | 1 | -8 | 5 | 3 | 103 | 101 | 1 | -2 | 11 | 3 | 107 | 106 | 1 | 4 | 3 | 4 | 98 | 100 | 1 | -3 | 10 | 4 | 80 | 78 | 1 |
| 1 | 13 | 2 | 79 | 79 | 2 | -5 | 5 | 3 | 403 | 418 | 3 | -1 | 11 | 3 | 141 | 140 | 1 | 5 | 3 | 4 | 81 | 79 | 1 | -2 | 10 | 4 | 429 | 438 | 3 |
| 3 | 13 | 2 | 139 | 138 | 2 | -4 | 5 | 3 | 95 | 106 | 1 | 0 | 11 | 3 | 292 | 298 | 2 | 6 | 3 | 4 | 125 | 123 | 1 | -1 | 10 | 4 | 281 | 274 | 3 |
| 4 | 13 | 2 | 60 | 58 | 2 | -3 | 5 | 3 | 582 | 595 | 2 | 1 | 11 | 3 | 48 | 51 | 2 | -10 | 4 | 4 | 78 | 74 | 2 | 0 | 10 | 4 | 387 | 393 | 2 |
| -4 | 14 | 2 | 32 | 32 | 4 | -2 | 5 | 3 | 106 | 93 | 1 | 2 | 11 | 3 | 92 | 94 | 1 | -9 | 4 | 4 | 121 | 120 | 2 | 1 | 10 | 4 | 106 | 107 | 1 |
| -3 | 14 | 2 | 53 | 52 | 2 | -1 | 5 | 3 | 197 | 207 | 2 | 4 | 11 | 3 | 95 | 89 | 2 | -7 | 4 | 4 | 74 | 78 | 1 | 2 | 10 | 4 | 120 | 117 | 1 |
| -2 | 14 | 2 | 150 | 155 | 2 | 0 | 5 | 3 | 29 | 30 | 1 | 5 | 11 | 3 | 67 | 69 | 2 | -6 | 4 | 4 | 258 | 254 | 3 | 4 | 10 | 4 | 113 | 113 | 1 |
| -1 | 14 | 2 | 67 | 69 | 2 | 1 | 5 | 3 | 490 | 510 | 2 | 6 | 11 | 3 | 30 | 40 | 5 | -5 | 4 | 4 | 227 | 230 | 3 | 6 | 10 | 4 | 36 | 30 | 3 |
| 0 | 14 | 2 | 49 | 51 | 2 | 2 | 5 | 3 | 166 | 163 | 2 | -6 | 12 | 3 | 85 | 83 | 2 | 4 | 4 | 4 | 367 | 379 | 2 | -7 | 11 | 4 | 48 | 48 | 3 |
| 2 | 14 | 2 | 141 | 138 | 2 | 4 | 5 | 3 | 91 | 88 | 1 | -5 | 12 | 3 | 154 | 155 | 2 | -3 | 4 | 4 | 37 | 34 | 1 | -4 | 11 | 4 | 85 | 80 | 2 |
| 3 | 14 | 2 | 71 | 69 | 2 | 5 | 5 | 3 | 392 | 393 | 3 | -4 | 12 | 3 | 28 | 27 | 4 | -2 | 4 | 4 | 181 | 187 | 1 | -3 | 11 | 4 | 104 | 108 | 1 |
| -9 | 0 | 3 | 48 | 50 | 2 | 6 | 5 | 3 | 115 | 116 | 1 | -3 | 12 | 3 | 82 | 76 | 2 | -1 | 4 | 4 | 41 | 20 | 1 | -2 | 11 | 4 | 178 | 183 | 2 |
| -7 | 0 | 3 | 90 | 94 | 1 | 7 | 5 | 3 | 163 | 165 | 2 | -2 | 12 | 3 | 60 | 64 | 2 | 0 | 4 | 4 | 85 | 83 | 1 | -1 | 11 | 4 | 87 | 88 | 2 |
| -5 | 0 | 3 | 512 | 479 | 2 | 8 | 5 | 3 | 55 | 54 | 2 | -1 | 12 | 3 | 101 | 99 | 1 | 2 | 4 | 4 | 122 | 108 | 1 | 0 | 11 | 4 | 149 | 150 | 1 |
| -3 | 0 | 3 | 492 | 493 | 2 | -9 | 6 | 3 | 66 | 59 | 2 | 0 | 12 | 3 | 155 | 155 | 2 | 3 | 4 | 4 | 257 | 253 | 3 | 1 | 11 | 4 | 44 | 45 | 3 |
| -1 | 0 | 3 | 956 | 931 | 6 | -8 | 6 | 3 | 87 | 87 | 2 | 1 | 12 | 3 | 134 | 138 | 2 | 4 | 4 | 4 | 333 | 333 | 3 | 2 | 11 | 4 | 78 | 78 | 2 |
| 1 | 0 | 3 | 180 | 163 | 2 | -7 | 6 | 3 | 228 | 224 | 2 | 3 | 12 | 3 | 76 | 74 | 2 | 5 | 4 | 4 | 66 | 66 | 2 | 3 | 11 | 4 | 147 | 148 | 2 |
| 3 | 0 | 3 | 78 | 70 | 1 | -6 | 6 | 3 | 181 | 186 | 2 | 4 | 12 | 3 | 41 | 45 | 3 | 6 | 4 | 4 | 164 | 158 | 2 | 4 | 11 | 4 | 27 | 32 | 5 |
| 5 | 0 | 3 | 341 | 331 | 3 | -5 | 6 | 3 | 114 | 112 | 1 | -5 | 13 | 3 | 93 | 84 | 2 | 7 | 4 | 4 | 44 | 46 | 3 | 5 | 11 | 4 | 72 | 74 | 2 |
| 7 | 0 | 3 | 211 | 222 | 2 | -4 | 6 | 3 | 93 | 89 | 1 | -4 | 13 | 3 | 111 | 114 | 2 | -8 | 5 | 4 | 36 | 43 | 3 | -5 | 12 | 4 | 135 | 134 | 2 |
| 9 | 0 | 3 | 105 | 103 | 2 | -3 | 6 | 3 | 243 | 245 | 2 | -3 | 13 | 3 | 118 | 120 | 1 | -7 | 5 | 4 | 132 | 126 | 1 | -4 | 12 | 4 | 30 | 33 | 4 |
| -10 | 1 | 3 | 77 | 74 | 2 | -2 | 6 | 3 | 211 | 226 | 2 | -2 | 13 | 3 | 98 | 103 | 2 | -5 | 5 | 4 | 115 | 114 | 1 | -3 | 12 | 4 | 52 | 54 | 2 |
| -9 | 1 | 3 | 157 | 158 | 2 | -1 | 6 | 3 | 273 | 280 | 2 | -1 | 13 | 3 | 50 | 51 | 2 | -4 | 5 | 4 | 136 | 145 | 2 | -2 | 12 | 4 | 85 | 88 | 2 |
| -8 | 1 | 3 | 206 | 218 | 2 | 0 | 6 | 3 | 30 | 26 | 1 | 0 | 13 | 3 | 51 | 49 | 1 | -3 | 5 | 4 | 295 | 278 | 2 | -1 | 12 | 4 | 253 | 249 | 2 |
| -7 | 1 | 3 | 158 | 173 | 2 | 2 | 6 | 3 | 101 | 96 | 1 | 1 | 13 | 3 | 30 | 29 | 4 | -2 | 5 | 4 | 277 | 266 | 2 | 0 | 12 | 4 | 116 | 114 | 1 |
| -6 | 1 | 3 | 47 | 54 | 1 | 3 | 6 | 3 | 289 | 278 | 3 | 3 | 13 | 3 | 113 | 113 | 2 | -1 | 5 | 4 | 35 | 40 | 1 | 3 | 12 | 4 | 77 | 78 | 2 |
| -5 | 1 | 3 | 115 | 124 | 1 | 4 | 6 | 3 | 94 | 95 | 1 | 4 | 13 | 3 | 93 | 93 | 2 | 0 | 5 | 4 | 265 | 262 | 1 | -3 | 13 | 4 | 226 | 224 | 3 |
| -4 | 1 | 3 | 233 | 249 | 2 | 5 | 6 | 3 | 189 | 190 | 2 | -3 | 14 | 3 | 77 | 75 | 2 | 1 | 5 | 4 | 100 | 84 | 1 | -2 | 13 | 4 | 168 | 170 | 2 |
| -3 | 1 | 3 | 415 | 418 | 2 | 6 | 6 | 3 | 195 | 197 | 2 | -2 | 14 | 3 | 83 | 83 | 2 | 2 | 5 | 4 | 192 | 188 | 2 | 0 | 13 | 4 | 81 | 81 | 1 |
| -2 | 1 | 3 | 139 | 136 | 1 | 7 | 6 | 3 | 98 | 104 | 2 | 0 | 14 | 3 | 40 | 41 | 2 | 3 | 5 | 4 | 159 | 155 | 2 | 1 | 13 | 4 | 132 | 138 | 1 |
| -1 | 1 | 3 | 238 | 236 | 1 | 8 | 6 | 3 | 77 | 82 | 2 | 2 | 14 | 3 | 116 | 117 | 2 | 4 | 5 | 4 | 155 | 160 | 2 | 2 | 13 | 4 | 46 | 47 | 3 |
| 0 | 1 | 3 | 1524 | 1507 | 28 | -9 | 7 | 3 | 60 | 65 | 2 | 3 | 14 | 3 | 50 | 49 | 3 | 5 | 5 | 4 | 60 | 64 | 2 | 3 | 13 | 4 | 50 | 43 | 3 |
| 1 | 1 | 3 | 750 | 668 | 7 | -8 | 7 | 3 | 125 | 131 | 1 | -2 | 15 | 3 | 74 | 76 | 2 | 6 | 5 | 4 | 82 | 84 | 2 | -4 | 14 | 4 | 107 | 108 | 2 |
| 2 | 1 | 3 | 142 | 148 | 1 | 7 | 7 | 3 | 79 | 75 | 2 | -1 | 15 | 3 | 63 | 60 | 2 | 8 | 5 | 4 | 131 | 127 | 2 | -2 | 14 | 4 | 75 | 77 | 2 |
| 3 | 1 | 3 | 68 | 75 | 1 | -6 | 7 | 3 | 180 | 180 | 2 | -10 | 0 | 4 | 147 | 141 | 2 | -9 | 6 | 4 | 117 | 117 | 2 | 0 | 14 | 4 | 39 | 39 | 3 |
| -9 | 0 | 5 | 33 | 40 | 3 | -8 | 6 | 5 | 85 | 84 | 2 | -6 | 0 | 6 | 142 | 141 | 2 | -2 | 6 | 6 | 162 | 176 | 2 | 5 | 1 | 7 | 110 | 105 | 1 |
| -7 | 0 | 5 | 37 | 39 | 2 | -7 | 6 | 5 | 83 | 83 | 2 | -4 | 0 | 6 | 431 | 454 | 2 | -1 | 6 | 6 | 48 | 41 | 1 | 6 | 1 | 7 | 40 | 47 | 3 |
| -5 | 0 | 5 | 30 | 28 | 2 | -6 | 6 | 5 | 80 | 81 | 1 | -2 | 0 | 6 | 381 | 398 | 2 | 0 | 6 | 6 | 80 | 86 | 2 | 7 | 1 | 7 | 73 | 74 | 2 |
| -3 | 0 | 5 | 116 | 100 | 1 | -5 | 6 | 5 | 179 | 178 | 2 | 0 | 0 | 6 | 671 | 831 | 156 | 1 | 6 | 6 | 179 | 176 | 2 | -10 | 2 | 7 | 52 | 52 | 3 |
| -1 | 0 | 5 | 19 | 27 | 1 | -4 | 6 | 5 | 160 | 169 | 2 | 2 | 0 | 6 | 70 | 231 | 1 | 3 | 6 | 6 | 34 | 32 | 3 | -8 | 2 | 7 | 26 | 27 | 4 |
| 1 | 0 | 5 | 402 | 402 | 2 | -3 | 6 | 5 | 185 | 187 | 2 | 6 | 0 | 6 | 106 | 98 | 1 | 5 | 6 | 6 | 81 | 81 | 2 | -7 | 2 | 7 | 254 | 262 | 2 |
| 3 | 0 | 5 | 467 | 464 | 3 | -2 | 6 | 5 | 334 | 321 | 3 | -9 | 1 | 6 | 115 | 110 | 1 | 6 | 6 | 6 | 39 | 35 | 3 | -6 | 2 | 7 | 54 | 48 | 2 |
| 5 | 0 | 5 | 96 | 99 | 1 | -1 | 6 | 5 | 94 | 83 | 1 | -8 | 1 | 6 | 73 | 72 | 2 | -9 | 7 | 6 | 107 | 103 | 2 | -5 | 2 | 7 | 157 | 158 | 2 |
| 7 | 0 | 5 | 126 | 128 | 2 | 0 | 6 | 5 | 182 | 181 | 1 | -7 | 1 | 6 | 78 | 78 | 1 | -8 | 7 | 6 | 133 | 137 | 2 | -4 | 2 | 7 | 69 | 72 | 1 |
| -10 | 1 | 5 | 82 | 83 | 2 | 1 | 6 | 5 | 340 | 353 | 3 | -6 | 1 | 6 | 40 | 41 | 2 | -7 | 7 | 6 | 71 | 72 | 2 | -3 | 2 | 7 | 160 | 171 | 2 |
| -8 | 1 | 5 | 51 | 51 | 2 | 2 | 6 | 5 | 144 | 146 | 2 | -5 | 1 | 6 | 293 | 292 | 3 | -6 | 7 | 6 | 78 | 74 | 1 | -2 | 2 | 7 | 66 | 72 | 1 |
| -7 | 1 | 5 | 226 | 227 | 2 | 3 | 6 | 5 | 58 | 59 | 2 | -4 | 1 | 6 | 135 | 134 | 2 | -5 | 7 | 6 | 78 | 80 | 1 | -1 | 2 | 7 | 48 | 61 | 1 |
| -6 | 1 | 5 | 137 | 147 | 2 | 4 | 6 | 5 | 48 | 44 | 2 | -3 | 1 | 6 | 168 | 153 | 2 | -4 | 7 | 6 | 147 | | | | | | | | |

| h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s |
|----|---|---|------|------|-----|----|----|---|------|------|-----|-----|---|---|------|------|-----|-----|----|---|------|------|-----|----|---|---|------|------|-----|
| 5 | 1 | 5 | 113 | 115 | 1 | -2 | 7 | 5 | 189 | 189 | 2 | 6 | 1 | 6 | 98 | 97 | 2 | -6 | 8 | 6 | 97 | 95 | 1 | -5 | 3 | 7 | 174 | 170 | 2 |
| 6 | 1 | 5 | 74 | 70 | 2 | -1 | 7 | 5 | 33 | 32 | 2 | 7 | 1 | 6 | 65 | 66 | 2 | -5 | 8 | 6 | 183 | 179 | 2 | -4 | 3 | 7 | 46 | 51 | 2 |
| 7 | 1 | 5 | 141 | 143 | 2 | 0 | 7 | 5 | 101 | 99 | 2 | -10 | 2 | 6 | 57 | 53 | 2 | -3 | 8 | 5 | 69 | 75 | 1 | -3 | 3 | 7 | 70 | 78 | 1 |
| -9 | 2 | 5 | 165 | 156 | 2 | 1 | 7 | 5 | 291 | 304 | 3 | -8 | 2 | 6 | 63 | 64 | 2 | -1 | 8 | 6 | 24 | 22 | 4 | -2 | 3 | 7 | 81 | 81 | 1 |
| -7 | 2 | 5 | 190 | 196 | 2 | 2 | 7 | 5 | 408 | 409 | 3 | -7 | 2 | 6 | 219 | 217 | 2 | 0 | 8 | 6 | 58 | 54 | 2 | -1 | 3 | 7 | 225 | 231 | 3 |
| -6 | 2 | 5 | 39 | 33 | 2 | 3 | 7 | 5 | 187 | 189 | 2 | -6 | 2 | 6 | 100 | 102 | 1 | 1 | 8 | 6 | 221 | 222 | 2 | 0 | 3 | 7 | 26 | 20 | 2 |
| -5 | 2 | 5 | 286 | 302 | 3 | 5 | 7 | 5 | 96 | 92 | 1 | -5 | 2 | 6 | 168 | 161 | 2 | 2 | 8 | 6 | 39 | 46 | 3 | 1 | 3 | 7 | 133 | 127 | 2 |
| -4 | 2 | 5 | 245 | 249 | 2 | 6 | 7 | 5 | 48 | 42 | 3 | -4 | 2 | 6 | 88 | 101 | 1 | 3 | 8 | 6 | 44 | 46 | 3 | 2 | 3 | 7 | 41 | 44 | 2 |
| -3 | 2 | 5 | 336 | 326 | 2 | -8 | 8 | 5 | 116 | 117 | 2 | -3 | 2 | 6 | 130 | 113 | 1 | 4 | 8 | 6 | 85 | 84 | 2 | 3 | 3 | 7 | 168 | 160 | 2 |
| -2 | 2 | 5 | 167 | 173 | 1 | -7 | 8 | 5 | 149 | 149 | 2 | -2 | 2 | 6 | 279 | 272 | 2 | -5 | 9 | 6 | 146 | 148 | 1 | 4 | 3 | 7 | 141 | 137 | 2 |
| -1 | 2 | 5 | 107 | 121 | 1 | -6 | 8 | 5 | 89 | 95 | 1 | -1 | 2 | 6 | 196 | 196 | 2 | -4 | 9 | 6 | 124 | 121 | 1 | 5 | 3 | 7 | 216 | 210 | 3 |
| 0 | 2 | 5 | 132 | 131 | 3 | -5 | 8 | 5 | 164 | 161 | 2 | 0 | 2 | 6 | 132 | 173 | 3 | 3 | 9 | 6 | 76 | 76 | 1 | 6 | 3 | 7 | 64 | 57 | 2 |
| 1 | 2 | 5 | 98 | 109 | 1 | -4 | 8 | 5 | 226 | 229 | 2 | 1 | 2 | 6 | 221 | 197 | 2 | -2 | 9 | 6 | 90 | 93 | 1 | -9 | 4 | 7 | 23 | 9 | 5 |
| 2 | 2 | 5 | 65 | 58 | 1 | -3 | 8 | 5 | 82 | 84 | 1 | 3 | 2 | 6 | 84 | 94 | 1 | -1 | 9 | 6 | 110 | 106 | 1 | -8 | 4 | 7 | 55 | 52 | 2 |
| 3 | 2 | 5 | 75 | 76 | 1 | -1 | 8 | 5 | 137 | 139 | 2 | 4 | 2 | 6 | 78 | 84 | 1 | 0 | 9 | 6 | 224 | 230 | 1 | -6 | 4 | 7 | 157 | 160 | 2 |
| 4 | 2 | 5 | 162 | 156 | 3 | 0 | 8 | 5 | 227 | 228 | 3 | 5 | 2 | 6 | 72 | 73 | 2 | 1 | 9 | 6 | 112 | 114 | 1 | -5 | 4 | 7 | 89 | 90 | 1 |
| 5 | 2 | 5 | 181 | 179 | 2 | 1 | 8 | 5 | 192 | 202 | 2 | 6 | 2 | 6 | 69 | 69 | 2 | 2 | 9 | 6 | 83 | 83 | 2 | -4 | 4 | 7 | 86 | 90 | 1 |
| 6 | 2 | 5 | 79 | 77 | 2 | 2 | 8 | 5 | 113 | 113 | 1 | 7 | 2 | 6 | 38 | 41 | 4 | 4 | 9 | 6 | 76 | 78 | 2 | -3 | 4 | 7 | 52 | 44 | 2 |
| 7 | 2 | 5 | 74 | 77 | 2 | 3 | 8 | 5 | 90 | 92 | 1 | -10 | 3 | 6 | 142 | 141 | 2 | -7 | 10 | 6 | 82 | 80 | 2 | -2 | 4 | 7 | 100 | 103 | 1 |
| 8 | 2 | 5 | 31 | 20 | 4 | 4 | 8 | 5 | 164 | 166 | 2 | -9 | 3 | 6 | 97 | 99 | 2 | -6 | 10 | 6 | 48 | 47 | 3 | -1 | 4 | 7 | 168 | 158 | 2 |
| 10 | 3 | 5 | 75 | 76 | 2 | 5 | 8 | 5 | 66 | 66 | 2 | -6 | 3 | 6 | 99 | 100 | 1 | -4 | 10 | 6 | 324 | 320 | 4 | 0 | 4 | 7 | 123 | 126 | 1 |
| -8 | 3 | 5 | 76 | 78 | 2 | -7 | 9 | 5 | 117 | 113 | 1 | -7 | 3 | 6 | 61 | 62 | 2 | -3 | 10 | 6 | 149 | 149 | 2 | 2 | 4 | 7 | 58 | 60 | 2 |
| -7 | 3 | 5 | 47 | 48 | 2 | -4 | 9 | 5 | 38 | 35 | 3 | -6 | 3 | 6 | 286 | 287 | 3 | -2 | 10 | 6 | 206 | 203 | 2 | 3 | 4 | 7 | 309 | 306 | 3 |
| -6 | 3 | 5 | 137 | 136 | 2 | -3 | 9 | 5 | 78 | 84 | 1 | -5 | 3 | 6 | 192 | 106 | 1 | -1 | 10 | 6 | 74 | 76 | 2 | 4 | 4 | 7 | 115 | 115 | 1 |
| -5 | 3 | 5 | 139 | 131 | 2 | -2 | 9 | 5 | 171 | 170 | 2 | -4 | 3 | 6 | 238 | 234 | 3 | 0 | 10 | 6 | 233 | 230 | 2 | -9 | 5 | 7 | 227 | 225 | 3 |
| -4 | 3 | 5 | 30 | 35 | 2 | -1 | 9 | 5 | 121 | 122 | 1 | -2 | 3 | 6 | 359 | 364 | 2 | 1 | 10 | 6 | 30 | 25 | 4 | -8 | 5 | 7 | 73 | 69 | 2 |
| -3 | 3 | 5 | 76 | 59 | 1 | 0 | 9 | 5 | 298 | 295 | 5 | -1 | 3 | 6 | 343 | 331 | 2 | 2 | 10 | 6 | 133 | 138 | 2 | -7 | 5 | 7 | 152 | 147 | 2 |
| -2 | 3 | 5 | 701 | 698 | 2 | 1 | 9 | 5 | 111 | 113 | 1 | 0 | 3 | 6 | 172 | 169 | 1 | 3 | 10 | 6 | 78 | 79 | 2 | -5 | 5 | 7 | 287 | 294 | 3 |
| -1 | 3 | 5 | 94 | 69 | 1 | 3 | 9 | 5 | 156 | 154 | 2 | 1 | 3 | 6 | 57 | 53 | 1 | -6 | 11 | 6 | 144 | 142 | 2 | -4 | 5 | 7 | 99 | 99 | 1 |
| 0 | 3 | 5 | 344 | 329 | 1 | 4 | 9 | 5 | 40 | 44 | 3 | 2 | 3 | 6 | 158 | 166 | 2 | -5 | 11 | 6 | 72 | 67 | 2 | -3 | 5 | 7 | 231 | 225 | 3 |
| 1 | 3 | 5 | 262 | 259 | 2 | -6 | 10 | 5 | 74 | 74 | 2 | 3 | 3 | 6 | 84 | 81 | 1 | -4 | 11 | 6 | 56 | 56 | 2 | -2 | 5 | 7 | 48 | 48 | 2 |
| 2 | 3 | 5 | 188 | 187 | 2 | -5 | 10 | 5 | 24 | 30 | 5 | 5 | 3 | 6 | 21 | 16 | 5 | -3 | 11 | 6 | 120 | 111 | 1 | -1 | 5 | 7 | 188 | 193 | 2 |
| 3 | 3 | 5 | 204 | 200 | 2 | -4 | 10 | 5 | 40 | 40 | 3 | 6 | 3 | 6 | 103 | 100 | 1 | -2 | 11 | 6 | 73 | 78 | 2 | 0 | 5 | 7 | 50 | 50 | 1 |
| 4 | 3 | 5 | 80 | 81 | 1 | -3 | 10 | 5 | 96 | 92 | 1 | 7 | 3 | 6 | 133 | 137 | 2 | -1 | 11 | 6 | 167 | 168 | 2 | 1 | 5 | 7 | 168 | 168 | 2 |
| 6 | 3 | 5 | 51 | 51 | 3 | -2 | 10 | 5 | 50 | 46 | 2 | -9 | 4 | 6 | 79 | 78 | 2 | 0 | 11 | 6 | 68 | 65 | 1 | 3 | 5 | 7 | 94 | 91 | 1 |
| 8 | 3 | 5 | 36 | 33 | 4 | -1 | 10 | 5 | 198 | 202 | 2 | -8 | 4 | 6 | 129 | 123 | 2 | 1 | 11 | 6 | 168 | 172 | 2 | 4 | 5 | 7 | 119 | 117 | 1 |
| -9 | 4 | 5 | 85 | 82 | 2 | 0 | 10 | 5 | 50 | 47 | 1 | -7 | 4 | 6 | 95 | 96 | 1 | 2 | 11 | 6 | 35 | 33 | 3 | 5 | 5 | 7 | 241 | 232 | 3 |
| -8 | 4 | 5 | 157 | 163 | 2 | 1 | 10 | 5 | 135 | 131 | 2 | -6 | 4 | 6 | 124 | 124 | 1 | 3 | 11 | 6 | 39 | 39 | 3 | 6 | 5 | 7 | 52 | 56 | 3 |
| -7 | 4 | 5 | 53 | 51 | 2 | 2 | 10 | 5 | 170 | 170 | 2 | -5 | 4 | 6 | 106 | 106 | 1 | 4 | 11 | 6 | 85 | 88 | 2 | -9 | 6 | 7 | 49 | 58 | 3 |
| -6 | 4 | 5 | 72 | 70 | 1 | 3 | 10 | 5 | 112 | 111 | 1 | -4 | 4 | 6 | 226 | 213 | 3 | -4 | 12 | 6 | 72 | 77 | 2 | -8 | 6 | 7 | 56 | 51 | 2 |
| -5 | 4 | 5 | 46 | 41 | 2 | 4 | 10 | 5 | 41 | 40 | 3 | -3 | 4 | 6 | 107 | 116 | 1 | -3 | 12 | 6 | 184 | 176 | 3 | -7 | 6 | 7 | 90 | 93 | 2 |
| -4 | 4 | 5 | 103 | 122 | 1 | -7 | 11 | 5 | 98 | 97 | 2 | -2 | 4 | 6 | 317 | 311 | 2 | -2 | 12 | 6 | 39 | 41 | 3 | -6 | 6 | 7 | 36 | 32 | 3 |
| -3 | 4 | 5 | 166 | 152 | 2 | -6 | 11 | 5 | 145 | 141 | 2 | -1 | 4 | 6 | 127 | 121 | 1 | -1 | 12 | 6 | 35 | 34 | 4 | -5 | 6 | 7 | 54 | 52 | 2 |
| -2 | 4 | 5 | 28 | 21 | 2 | -5 | 11 | 5 | 36 | 32 | 3 | 0 | 4 | 6 | 198 | 197 | 2 | 0 | 12 | 6 | 33 | 25 | 3 | -4 | 6 | 7 | 180 | 178 | 2 |
| -1 | 4 | 5 | 165 | 170 | 1 | -4 | 11 | 5 | 92 | 96 | 2 | 1 | 4 | 6 | 163 | 162 | 2 | 1 | 12 | 6 | 95 | 96 | 2 | -3 | 6 | 7 | 56 | 56 | 2 |
| 0 | 4 | 5 | 115 | 120 | 2 | -3 | 11 | 5 | 82 | 90 | 2 | 2 | 4 | 6 | 231 | 227 | 3 | -2 | 13 | 6 | 110 | 108 | 2 | -1 | 6 | 7 | 200 | 192 | 2 |
| 1 | 4 | 5 | 185 | 185 | 2 | -1 | 11 | 5 | 49 | 49 | 2 | 3 | 4 | 6 | 195 | 210 | 2 | -1 | 13 | 6 | 166 | 163 | 2 | 0 | 6 | 7 | 132 | 126 | 2 |
| 3 | 4 | 5 | 98 | 104 | 1 | 0 | 11 | 5 | 152 | 155 | 3 | 4 | 4 | 6 | 46 | 55 | 2 | 0 | 13 | 6 | 85 | 87 | 1 | 1 | 6 | 7 | 46 | 46 | 2 |
| 4 | 4 | 5 | 94 | 94 | 1 | 1 | 11 | 5 | 44 | 38 | 3 | 5 | 4 | 6 | 43 | 45 | 3 | 1 | 13 | 6 | 53 | 57 | 3 | 2 | 6 | 7 | 96 | 96 | 1 |
| 5 | 4 | 5 | 223 | 216 | 2 | 2 | 11 | 5 | 170 | 174 | 2 | -9 | 5 | 6 | 26 | 21 | 5 | -5 | 0 | 7 | 140 | 139 | 2 | 3 | 6 | 7 | 218 | 219 | 2 |
| 6 | 4 | 5 | 127 | 130 | 2 | 3 | 11 | 5 | 39 | 32 | 3 | -8 | 5 | 6 | 69 | 71 | 2 | -3 | 0 | 7 | 187 | 191 | 2 | 4 | 6 | 7 | 102 | 106 | 1 |
| 7 | 4 | 5 | 105 | 102 | 2 | -5 | 12 | 5 | 134 | 131 | 2 | -7 | 5 | 6 | 93 | 96 | 1 | -1 | 0 | 7 | 413 | 407 | 2 | -7 | 7 | 7 | 77 | 23 | 4 |
| -9 | 5 | 5 | 81 | 84 | 2 | -4 | 12 | 5 | 28 | 20 | 4 | -6 | 5 | 6 | 85 | 86 | 1 | 1 | 0 | 7 | 321 | 319 | 3 | -6 | 7 | 7 | 45 | 41 | 2 |
| -8 | 5 | 5 | 49 | 48 | 2 | -2 | 12 | 5 | 96 | 98 | 2 | -5 | 5 | 6 | 160 | 161 | 2 | 3 | 0 | 7 | 182 | 187 | 2 | -5 | 7 | 7 | 128 | 127 | 2 |
| -7 | 5 | 5 | 434 | 437 | 3 | -1 | 12 | 5 | 38 | 38 | 3 | -4 | 5 | 6 | 117 | 121 | 1 | 5 | 0 | 7 | 172 | 164 | 2 | -4 | 7 | 7 | 116 | 115 | 1 |
| -6 | 5 | 5 | 180 | 180 | 2 | 0 | 12 | 5 | 64 | 58 | 1 | -3 | 5 | 6 | 57 | 54 | 1 | -10 | 1 | 7 | 68 | 62 | 2 | -3 | 7 | 7 | 115 | 123 | 1 |
| -5 | 5 | 5 | 312 | 312 | 3 | 1 | 12 | 5 | 101 | 98 | 1 | -2 | 5 | 6 | 169 | 168 | 2 | -9 | 1 | 7 | 192 | 193 | 2 | -1 | 7 | 7 | 55 | 60 | 2 |
| -4 | 5 | 5 | 62 | 57 | 1 | 2 | 12 | 5 | 57 | 60 | 2 | -1 | 5 | 6 | 57 | 44 | 1 | -8 | 1 | 7 | 201 | 209 | 3 | 0 | 7 | 7 | 107 | 108 | 3 |
| -3 | 5 | 5 | 483 | 484 | 2 | 3 | 12 | 5 | 84 | 84 | 2 | 1 | 5 | 6 | 56 | 56 | 1 | -7 | 1 | 7 | 106 | 107 | 1 | 1 | 7 | 7 | 159 | 161 | 2 |
| -2 | 5 | 5 | 102 | 100 | 1 | -4 | 13 | 5 | 27 | 24 | 5 | 2 | 5 | 6 | 71 | 75 | 1 | -6 | 1 | 7 | 149 | 154 | 2 | 2 | 7 | 7 | 102 | 103 | 1 |
| -1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| | | | | | | Table 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|----|---|------|------|-----|---------|---|---|------|------|-----|----|---|---|------|------|-----|----|---|----|------|------|-----|----|---|----|------|------|-----|
| h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s |
| -9 | 6 | 5 | 116 | 113 | 2 | -8 | 0 | 6 | 297 | 303 | 3 | -3 | 6 | 6 | 382 | 368 | 3 | 3 | 1 | 7 | 80 | 79 | 1 | -2 | 8 | 7 | 152 | 154 | 2 |
| -1 | 8 | 7 | 47 | 47 | 2 | -3 | 4 | 8 | 185 | 182 | 2 | -9 | 2 | 9 | 178 | 179 | 2 | -4 | 0 | 10 | 404 | 415 | 3 | 1 | 1 | 11 | 23 | 23 | 1 |
| 2 | 8 | 7 | 114 | 111 | 1 | -2 | 4 | 8 | 180 | 178 | 2 | -8 | 2 | 9 | 64 | 66 | 2 | -2 | 0 | 10 | 174 | 168 | 2 | 2 | 1 | 11 | 40 | 39 | 3 |
| 3 | 8 | 7 | 58 | 58 | 2 | -1 | 4 | 8 | 73 | 68 | 1 | -7 | 2 | 9 | 40 | 49 | 3 | 0 | 0 | 10 | 113 | 173 | 66 | -8 | 2 | 11 | 34 | 31 | 4 |
| 5 | 8 | 7 | 56 | 56 | 2 | 0 | 4 | 8 | 36 | 30 | 2 | -6 | 2 | 9 | 159 | 158 | 2 | 2 | 0 | 10 | 68 | 63 | 2 | -7 | 2 | 11 | 120 | 124 | 2 |
| -7 | 9 | 7 | 75 | 71 | 2 | 1 | 4 | 8 | 169 | 172 | 2 | -5 | 2 | 9 | 31 | 40 | 3 | -8 | 1 | 10 | 54 | 49 | 2 | -6 | 2 | 11 | 40 | 41 | 3 |
| -6 | 9 | 7 | 156 | 154 | 2 | 2 | 4 | 8 | 49 | 50 | 2 | -3 | 2 | 9 | 162 | 165 | 2 | -7 | 1 | 10 | 115 | 111 | 1 | -4 | 2 | 11 | 83 | 87 | 2 |
| -5 | 9 | 7 | 125 | 130 | 1 | 3 | 4 | 8 | 61 | 60 | 2 | -2 | 2 | 9 | 164 | 171 | 2 | -6 | 1 | 10 | 87 | 91 | 2 | -3 | 2 | 11 | 48 | 45 | 2 |
| -4 | 9 | 7 | 71 | 76 | 2 | 5 | 4 | 8 | 59 | 51 | 2 | -1 | 2 | 9 | 177 | 171 | 2 | -5 | 1 | 10 | 87 | 82 | 2 | -2 | 2 | 11 | 55 | 56 | 2 |
| -3 | 9 | 7 | 46 | 49 | 2 | 6 | 4 | 8 | 75 | 81 | 2 | 0 | 2 | 9 | 91 | 90 | 1 | -3 | 1 | 10 | 68 | 67 | 2 | -1 | 2 | 11 | 51 | 54 | 3 |
| -2 | 9 | 7 | 105 | 100 | 1 | -8 | 5 | 8 | 71 | 69 | 2 | 2 | 2 | 9 | 52 | 56 | 2 | -2 | 1 | 10 | 91 | 93 | 1 | 0 | 2 | 11 | 109 | 102 | 1 |
| -1 | 9 | 7 | 191 | 184 | 2 | -7 | 5 | 8 | 72 | 71 | 2 | 3 | 2 | 9 | 58 | 50 | 2 | -1 | 1 | 10 | 178 | 177 | 2 | 1 | 2 | 11 | 58 | 61 | 2 |
| 0 | 9 | 7 | 107 | 101 | 3 | -6 | 5 | 8 | 146 | 149 | 2 | -9 | 3 | 9 | 25 | 21 | 5 | 0 | 1 | 10 | 99 | 120 | 27 | 3 | 2 | 11 | 45 | 44 | 3 |
| 1 | 9 | 7 | 105 | 109 | 1 | -5 | 5 | 8 | 26 | 40 | 4 | -8 | 3 | 9 | 138 | 137 | 1 | 1 | 1 | 10 | 92 | 92 | 1 | -8 | 3 | 11 | 59 | 61 | 2 |
| 2 | 9 | 7 | 146 | 150 | 2 | -4 | 5 | 8 | 41 | 30 | 2 | -7 | 3 | 9 | 67 | 68 | 2 | 2 | 1 | 10 | 40 | 51 | 3 | -7 | 3 | 11 | 82 | 75 | 2 |
| 3 | 9 | 7 | 72 | 72 | 2 | -2 | 5 | 8 | 214 | 207 | 2 | -5 | 3 | 9 | 94 | 86 | 1 | 4 | 1 | 10 | 113 | 110 | 2 | -6 | 3 | 11 | 137 | 133 | 2 |
| -7 | 10 | 7 | 63 | 61 | 2 | -1 | 5 | 8 | 151 | 154 | 2 | -4 | 3 | 9 | 163 | 162 | 2 | -8 | 2 | 10 | 45 | 46 | 3 | -3 | 3 | 11 | 157 | 154 | 2 |
| -3 | 10 | 7 | 67 | 65 | 2 | 0 | 5 | 8 | 125 | 126 | 4 | -3 | 3 | 9 | 99 | 97 | 1 | -7 | 2 | 10 | 67 | 65 | 2 | -2 | 3 | 11 | 134 | 133 | 2 |
| -1 | 10 | 7 | 70 | 69 | 2 | 1 | 5 | 8 | 37 | 32 | 3 | -2 | 3 | 9 | 90 | 86 | 1 | -6 | 2 | 10 | 203 | 197 | 3 | -1 | 3 | 11 | 38 | 14 | 3 |
| 0 | 10 | 7 | 132 | 133 | 1 | 2 | 5 | 8 | 158 | 160 | 2 | -1 | 3 | 9 | 229 | 223 | 2 | -5 | 2 | 10 | 180 | 185 | 2 | 1 | 3 | 11 | 105 | 108 | 2 |
| 1 | 10 | 7 | 25 | 30 | 5 | 3 | 5 | 8 | 40 | 40 | 3 | 0 | 3 | 9 | 216 | 209 | 2 | -4 | 2 | 10 | 47 | 51 | 2 | 2 | 3 | 11 | 50 | 50 | 3 |
| 3 | 10 | 7 | 60 | 58 | 2 | -8 | 6 | 8 | 89 | 89 | 2 | 1 | 3 | 9 | 44 | 46 | 2 | -3 | 2 | 10 | 73 | 70 | 2 | -7 | 4 | 11 | 53 | 53 | 3 |
| 4 | 10 | 7 | 29 | 33 | 5 | -7 | 6 | 8 | 249 | 241 | 2 | 2 | 3 | 9 | 97 | 99 | 1 | -1 | 2 | 10 | 183 | 185 | 2 | -6 | 4 | 11 | 24 | 18 | 5 |
| -5 | 11 | 7 | 45 | 42 | 3 | -6 | 6 | 8 | 127 | 127 | 1 | 3 | 3 | 9 | 109 | 111 | 1 | 0 | 2 | 10 | 169 | 167 | 3 | -5 | 4 | 11 | 97 | 93 | 2 |
| -4 | 11 | 7 | 161 | 161 | 2 | -5 | 6 | 8 | 188 | 190 | 2 | 5 | 3 | 9 | 45 | 40 | 3 | 1 | 2 | 10 | 50 | 49 | 2 | -4 | 4 | 11 | 89 | 88 | 2 |
| -3 | 11 | 7 | 56 | 54 | 2 | -4 | 6 | 8 | 79 | 82 | 1 | -9 | 4 | 9 | 32 | 34 | 4 | 2 | 2 | 10 | 144 | 146 | 1 | -3 | 4 | 11 | 46 | 51 | 3 |
| -2 | 11 | 7 | 164 | 165 | 2 | -3 | 6 | 8 | 43 | 44 | 2 | -8 | 4 | 9 | 86 | 90 | 2 | 3 | 2 | 10 | 44 | 41 | 3 | -2 | 4 | 11 | 49 | 53 | 3 |
| 0 | 11 | 7 | 174 | 165 | 4 | -2 | 6 | 8 | 106 | 106 | 1 | -7 | 4 | 9 | 166 | 172 | 2 | -7 | 3 | 10 | 47 | 51 | 3 | -1 | 4 | 11 | 155 | 159 | 2 |
| -5 | 12 | 7 | 70 | 73 | 2 | -1 | 6 | 8 | 133 | 132 | 2 | -4 | 4 | 9 | 69 | 68 | 2 | -6 | 3 | 10 | 178 | 181 | 2 | 1 | 4 | 11 | 127 | 129 | 1 |
| -4 | 12 | 7 | 41 | 41 | 3 | 0 | 6 | 8 | 56 | 55 | 1 | -3 | 4 | 9 | 169 | 169 | 2 | -3 | 3 | 10 | 81 | 89 | 1 | 3 | 4 | 11 | 58 | 58 | 3 |
| -3 | 12 | 7 | 89 | 86 | 2 | 1 | 6 | 8 | 157 | 163 | 2 | -2 | 4 | 9 | 136 | 134 | 2 | -2 | 3 | 10 | 71 | 63 | 2 | -7 | 5 | 11 | 142 | 145 | 2 |
| -1 | 12 | 7 | 60 | 65 | 2 | 2 | 6 | 8 | 75 | 72 | 2 | -1 | 4 | 9 | 26 | 16 | 4 | -1 | 3 | 10 | 82 | 88 | 2 | -6 | 5 | 11 | 47 | 51 | 3 |
| 0 | 12 | 7 | 59 | 56 | 2 | 3 | 6 | 8 | 41 | 46 | 3 | 1 | 4 | 9 | 72 | 74 | 2 | 0 | 3 | 10 | 93 | 98 | 3 | -5 | 5 | 11 | 142 | 142 | 2 |
| 1 | 12 | 7 | 115 | 111 | 2 | 4 | 6 | 8 | 36 | 31 | 4 | 5 | 4 | 9 | 127 | 123 | 2 | 1 | 3 | 10 | 86 | 82 | 2 | -2 | 5 | 11 | 48 | 45 | 2 |
| -2 | 13 | 7 | 96 | 103 | 2 | -8 | 7 | 8 | 145 | 140 | 2 | -7 | 5 | 9 | 252 | 256 | 3 | 2 | 3 | 10 | 38 | 35 | 3 | -1 | 5 | 11 | 116 | 113 | 1 |
| -1 | 13 | 7 | 94 | 90 | 2 | -6 | 7 | 8 | 57 | 55 | 2 | -6 | 5 | 9 | 84 | 85 | 2 | 3 | 3 | 10 | 29 | 26 | 4 | 2 | 5 | 11 | 40 | 33 | 3 |
| 0 | 13 | 7 | 77 | 77 | 2 | -5 | 7 | 8 | 71 | 67 | 2 | -5 | 5 | 9 | 39 | 43 | 3 | -6 | 4 | 10 | 58 | 61 | 2 | -6 | 6 | 11 | 59 | 56 | 2 |
| -8 | 0 | 8 | 87 | 87 | 2 | -4 | 7 | 8 | 228 | 229 | 2 | -4 | 5 | 9 | 40 | 40 | 2 | -5 | 4 | 10 | 161 | 163 | 2 | -5 | 6 | 11 | 25 | 14 | 5 |
| -6 | 0 | 8 | 312 | 318 | 3 | -2 | 7 | 8 | 52 | 57 | 2 | -3 | 5 | 9 | 219 | 220 | 2 | -4 | 4 | 10 | 131 | 137 | 1 | -4 | 6 | 11 | 100 | 92 | 2 |
| -4 | 0 | 8 | 161 | 170 | 2 | -1 | 7 | 8 | 171 | 165 | 2 | -1 | 5 | 9 | 79 | 86 | 1 | -1 | 4 | 10 | 64 | 66 | 2 | -2 | 6 | 11 | 83 | 88 | 2 |
| -2 | 0 | 8 | 439 | 448 | 3 | 0 | 7 | 8 | 106 | 104 | 1 | 1 | 5 | 9 | 242 | 243 | 2 | 0 | 4 | 10 | 101 | 109 | 2 | -1 | 6 | 11 | 108 | 103 | 2 |
| 0 | 0 | 8 | 179 | 304 | 178 | 1 | 7 | 8 | 80 | 80 | 2 | 2 | 5 | 9 | 92 | 83 | 2 | 2 | 4 | 10 | 103 | 103 | 2 | 0 | 6 | 11 | 91 | 83 | 1 |
| 2 | 0 | 8 | 133 | 125 | 1 | 2 | 7 | 8 | 48 | 42 | 2 | 3 | 5 | 9 | 37 | 32 | 3 | 3 | 4 | 10 | 56 | 52 | 2 | 1 | 6 | 11 | 87 | 89 | 2 |
| 4 | 0 | 8 | 50 | 54 | 2 | 3 | 7 | 8 | 50 | 47 | 3 | 4 | 5 | 9 | 52 | 48 | 3 | -8 | 5 | 10 | 31 | 32 | 4 | 2 | 6 | 11 | 127 | 128 | 2 |
| 6 | 0 | 8 | 38 | 43 | 4 | -8 | 8 | 8 | 33 | 36 | 4 | -8 | 6 | 9 | 84 | 85 | 2 | -5 | 5 | 10 | 56 | 53 | 2 | -6 | 7 | 11 | 71 | 79 | 2 |
| -9 | 1 | 8 | 57 | 41 | 2 | -7 | 8 | 8 | 86 | 80 | 2 | -7 | 6 | 9 | 67 | 73 | 2 | -4 | 5 | 10 | 152 | 150 | 2 | -5 | 7 | 11 | 71 | 77 | 2 |
| -8 | 1 | 8 | 37 | 42 | 3 | -6 | 8 | 8 | 66 | 63 | 2 | -4 | 6 | 9 | 23 | 13 | 4 | -3 | 5 | 10 | 50 | 55 | 2 | -3 | 7 | 11 | 93 | 97 | 2 |
| -7 | 1 | 8 | 77 | 81 | 2 | -5 | 8 | 8 | 56 | 50 | 2 | -3 | 6 | 9 | 115 | 121 | 1 | -2 | 5 | 10 | 63 | 65 | 2 | 0 | 7 | 11 | 33 | 30 | 3 |
| -6 | 1 | 8 | 111 | 108 | 1 | -4 | 8 | 8 | 47 | 48 | 2 | -2 | 6 | 9 | 152 | 145 | 2 | 0 | 5 | 10 | 63 | 59 | 1 | 1 | 7 | 11 | 84 | 81 | 2 |
| -4 | 1 | 8 | 219 | 221 | 2 | -3 | 8 | 8 | 164 | 170 | 2 | -1 | 6 | 9 | 84 | 83 | 1 | 1 | 5 | 10 | 46 | 40 | 3 | -4 | 8 | 11 | 30 | 31 | 4 |
| -3 | 1 | 8 | 173 | 162 | 2 | -2 | 8 | 8 | 48 | 45 | 2 | 0 | 6 | 9 | 54 | 52 | 3 | 2 | 5 | 10 | 75 | 73 | 2 | -2 | 9 | 11 | 72 | 74 | 2 |
| -2 | 1 | 8 | 30 | 32 | 3 | 0 | 8 | 8 | 146 | 146 | 4 | 1 | 6 | 9 | 72 | 76 | 2 | 3 | 5 | 10 | 32 | 27 | 4 | -4 | 0 | 12 | 58 | 59 | 2 |
| -1 | 1 | 8 | 81 | 91 | 1 | 1 | 8 | 8 | 41 | 42 | 3 | 2 | 6 | 9 | 106 | 111 | 1 | -5 | 6 | 10 | 50 | 51 | 2 | -2 | 0 | 12 | 137 | 142 | 2 |
| 0 | 1 | 8 | 33 | 36 | 2 | 2 | 8 | 8 | 97 | 96 | 2 | 4 | 6 | 9 | 44 | 46 | 3 | -4 | 6 | 10 | 101 | 106 | 1 | 0 | 0 | 12 | 68 | 60 | 1 |
| 1 | 1 | 8 | 69 | 65 | 1 | 4 | 8 | 8 | 54 | 54 | 3 | -8 | 7 | 9 | 59 | 60 | 2 | -3 | 6 | 10 | 95 | 90 | 2 | -5 | 1 | 12 | 42 | 43 | 3 |
| 2 | 1 | 8 | 105 | 99 | 1 | -7 | 9 | 8 | 149 | 142 | 2 | -7 | 7 | 9 | 78 | 79 | 2 | -1 | 6 | 10 | 40 | 36 | 3 | -3 | 1 | 12 | 57 | 56 | 2 |
| 3 | 1 | 8 | 136 | 135 | 2 | -4 | 9 | 8 | 72 | 68 | 2 | -6 | 7 | 9 | 82 | 76 | 2 | 0 | 6 | 10 | 25 | 22 | 4 | -2 | 1 | 12 | 65 | 69 | 2 |
| 4 | 1 | 8 | 87 | 89 | 2 | -3 | 9 | 8 | 62 | 53 | 2 | -5 | 7 | 9 | 82 | 79 | 2 | 2 | 6 | 10 | 96 | 97 | 2 | 0 | 1 | 12 | 48 | 45 | 2 |
| 6 | 1 | 8 | 89 | 92 | 2 | -1 | 9 | 8 | 67 | 62 | 2 | -4 | 7 | 9 | 94 | 91 | 2 | -6 | 7 | 10 | 90 | 94 | 2 | 1 | 1 | 12 | 65 | 68 | 2 |
| -8 | 2 | 8 | 130 | 129 | 2 | 0 | 9 | 8 | 38 | 42 | 2 | -3 | 7 | 9 | 100 | 107 | 1 | -3 | 7 | 10 | 115 | 109 | 1 | 2 | 1 | 12 | 65 | 62 | 2 |
| -7 | 2 | 8 | 116 | 115 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s | h | k | l | 10Fo | 10Fc | 10s |
|----|---|----|------|------|-----|----|----|----|------|------|-----|----|----|----|------|------|-----|----|----|----|------|------|-----|----|---|----|------|------|-----|
| 3 | 2 | 8 | 53 | 52 | 2 | -2 | 11 | 8 | 86 | 86 | 2 | -5 | 8 | 9 | 89 | 83 | 2 | -5 | 9 | 10 | 64 | 58 | 2 | -5 | 3 | 12 | 68 | 72 | 2 |
| 4 | 2 | 8 | 62 | 59 | 2 | -1 | 11 | 8 | 92 | 97 | 2 | -4 | 8 | 9 | 76 | 75 | 2 | -4 | 9 | 10 | 34 | 32 | 4 | -3 | 3 | 12 | 26 | 29 | 5 |
| 6 | 2 | 8 | 112 | 113 | 2 | 0 | 11 | 8 | 37 | 33 | 3 | -3 | 8 | 9 | 63 | 66 | 2 | -3 | 9 | 10 | 43 | 43 | 3 | -2 | 3 | 12 | 50 | 51 | 3 |
| -9 | 3 | 8 | 70 | 69 | 2 | 2 | 11 | 8 | 37 | 36 | 4 | -2 | 8 | 9 | 80 | 80 | 2 | -2 | 9 | 10 | 74 | 67 | 2 | -1 | 3 | 12 | 65 | 61 | 2 |
| -8 | 3 | 8 | 85 | 83 | 2 | -2 | 12 | 8 | 59 | 61 | 3 | -1 | 8 | 9 | 100 | 96 | 1 | -1 | 9 | 10 | 27 | 27 | 5 | 0 | 3 | 12 | 23 | 23 | 5 |
| -7 | 3 | 8 | 115 | 108 | 1 | -1 | 12 | 8 | 54 | 55 | 3 | 0 | 8 | 9 | 25 | 24 | 5 | 0 | 9 | 10 | 74 | 76 | 1 | -6 | 4 | 12 | 74 | 74 | 2 |
| -6 | 3 | 8 | 217 | 216 | 2 | -7 | 0 | 9 | 78 | 74 | 2 | 1 | 8 | 9 | 37 | 40 | 3 | -4 | 10 | 10 | 149 | 147 | 2 | -3 | 4 | 12 | 78 | 78 | 2 |
| -5 | 3 | 8 | 211 | 207 | 2 | -5 | 0 | 9 | 264 | 272 | 3 | 3 | 8 | 9 | 53 | 49 | 3 | -3 | 10 | 10 | 61 | 60 | 3 | -2 | 4 | 12 | 37 | 33 | 4 |
| -4 | 3 | 8 | 336 | 350 | 3 | -3 | 0 | 9 | 389 | 391 | 3 | -4 | 9 | 9 | 125 | 124 | 2 | -2 | 10 | 10 | 53 | 54 | 3 | -1 | 4 | 12 | 29 | 21 | 4 |
| -3 | 3 | 8 | 22 | 22 | 4 | -1 | 0 | 9 | 80 | 83 | 1 | -3 | 9 | 9 | 71 | 76 | 2 | -1 | 10 | 10 | 61 | 57 | 2 | 0 | 4 | 12 | 82 | 87 | 1 |
| -2 | 3 | 8 | 49 | 31 | 2 | 1 | 0 | 9 | 247 | 244 | 3 | -2 | 9 | 9 | 45 | 45 | 3 | 0 | 10 | 10 | 131 | 120 | 1 | 1 | 4 | 12 | 45 | 43 | 3 |
| -1 | 3 | 8 | 83 | 92 | 1 | 3 | 0 | 9 | 106 | 106 | 1 | -1 | 9 | 9 | 73 | 66 | 2 | -5 | 0 | 11 | 43 | 40 | 3 | -6 | 5 | 12 | 57 | 54 | 3 |
| 0 | 3 | 8 | 25 | 19 | 3 | 5 | 0 | 9 | 54 | 55 | 3 | 0 | 9 | 9 | 128 | 122 | 2 | -3 | 0 | 11 | 135 | 136 | 1 | -2 | 5 | 12 | 118 | 114 | 2 |
| 2 | 3 | 8 | 100 | 98 | 1 | -8 | 1 | 9 | 114 | 115 | 2 | -5 | 10 | 9 | 62 | 62 | 2 | -1 | 0 | 11 | 207 | 210 | 3 | -4 | 6 | 12 | 28 | 27 | 4 |
| 3 | 3 | 8 | 45 | 50 | 2 | -7 | 1 | 9 | 112 | 111 | 1 | -4 | 10 | 9 | 67 | 68 | 2 | -8 | 1 | 11 | 41 | 41 | 3 | -3 | 6 | 12 | 61 | 63 | 2 |
| 4 | 3 | 8 | 46 | 39 | 3 | -6 | 1 | 9 | 43 | 46 | 2 | -3 | 10 | 9 | 60 | 64 | 2 | -7 | 1 | 11 | 65 | 58 | 2 | -2 | 6 | 12 | 48 | 51 | 3 |
| 6 | 3 | 8 | 47 | 51 | 3 | -4 | 1 | 9 | 162 | 162 | 2 | 0 | 10 | 9 | 61 | 56 | 1 | -6 | 1 | 11 | 97 | 100 | 2 | -4 | 7 | 12 | 71 | 71 | 2 |
| -9 | 4 | 8 | 36 | 31 | 3 | -3 | 1 | 9 | 96 | 97 | 1 | 1 | 10 | 9 | 154 | 151 | 2 | -5 | 1 | 11 | 36 | 31 | 3 | -1 | 7 | 12 | 29 | 31 | 5 |
| -8 | 4 | 8 | 66 | 71 | 2 | -2 | 1 | 9 | 63 | 68 | 2 | -4 | 11 | 9 | 85 | 83 | 2 | -4 | 1 | 11 | 65 | 70 | 2 | -3 | 0 | 13 | 76 | 66 | 2 |
| -7 | 4 | 8 | 137 | 135 | 1 | -1 | 1 | 9 | 311 | 309 | 3 | -2 | 11 | 9 | 74 | 69 | 2 | -3 | 1 | 11 | 65 | 61 | 2 | -1 | 0 | 13 | 87 | 92 | 2 |
| -6 | 4 | 8 | 288 | 288 | 3 | 0 | 1 | 9 | 83 | 89 | 1 | -1 | 11 | 9 | 47 | 49 | 3 | -2 | 1 | 11 | 124 | 121 | 1 | -4 | 1 | 13 | 86 | 85 | 2 |
| -5 | 4 | 8 | 125 | 131 | 2 | 1 | 1 | 9 | 96 | 94 | 1 | -8 | 0 | 10 | 226 | 223 | 3 | -1 | 1 | 11 | 85 | 87 | 2 | 0 | 1 | 13 | 59 | 57 | 2 |
| -4 | 4 | 8 | 121 | 124 | 1 | 5 | 1 | 9 | 29 | 18 | 4 | -6 | 0 | 10 | 76 | 85 | 2 | 0 | 1 | 11 | 65 | 60 | 1 | -5 | 2 | 13 | 76 | 74 | 2 |
| -4 | 2 | 13 | 53 | 48 | 3 | -5 | 3 | 13 | 109 | 106 | 2 | -2 | 3 | 13 | 25 | 20 | 5 | -3 | 4 | 13 | 45 | 47 | 3 | | | | | | |
| 0 | 2 | 13 | 65 | 61 | 2 | -4 | 3 | 13 | 57 | 57 | 3 | -1 | 3 | 13 | 92 | 89 | 2 | -2 | 4 | 13 | 49 | 46 | 3 | | | | | | |

E

부 록 4

여 백

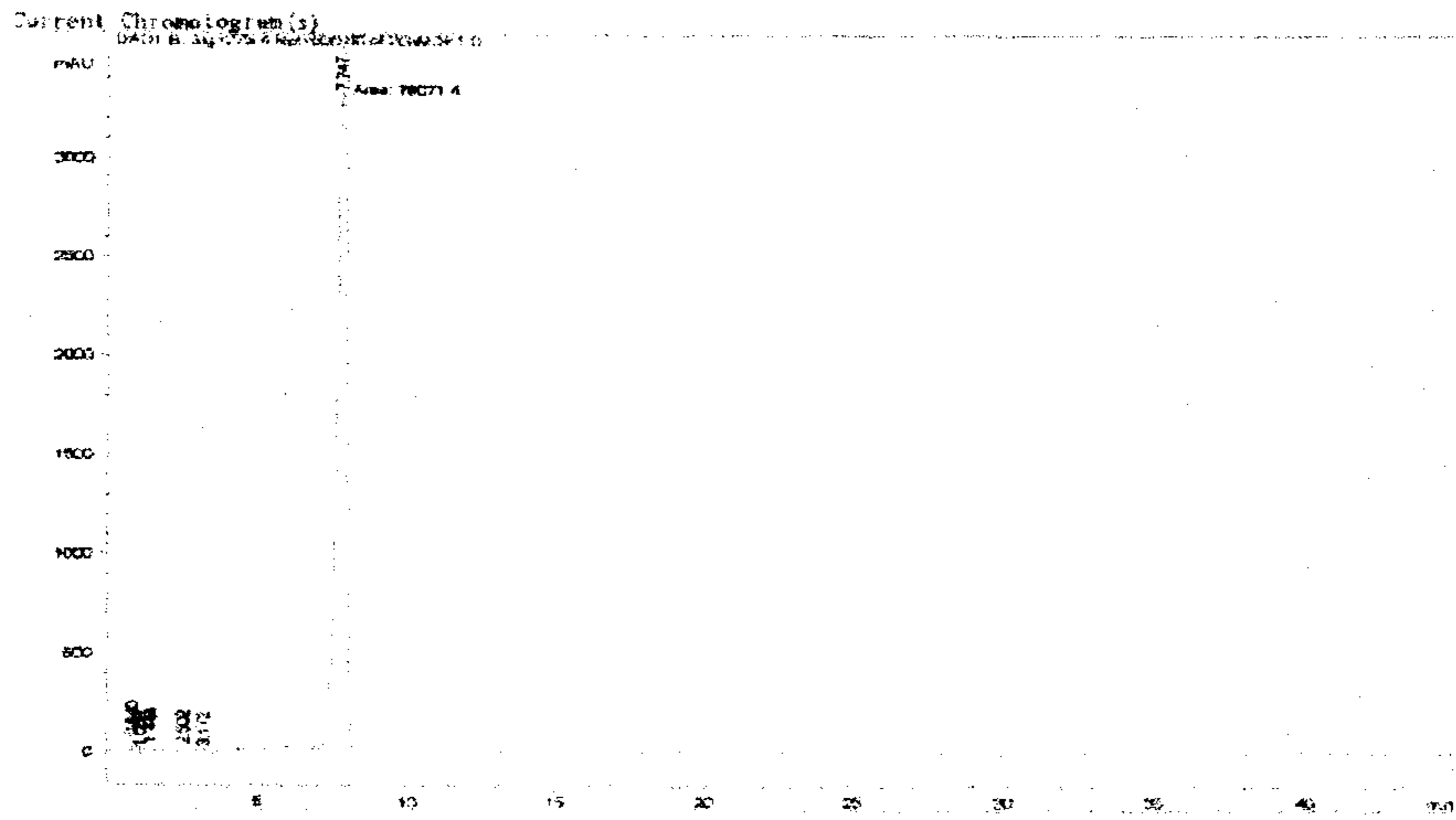


Fig 1. HPLC data of extracted mixture from Apistan strip.

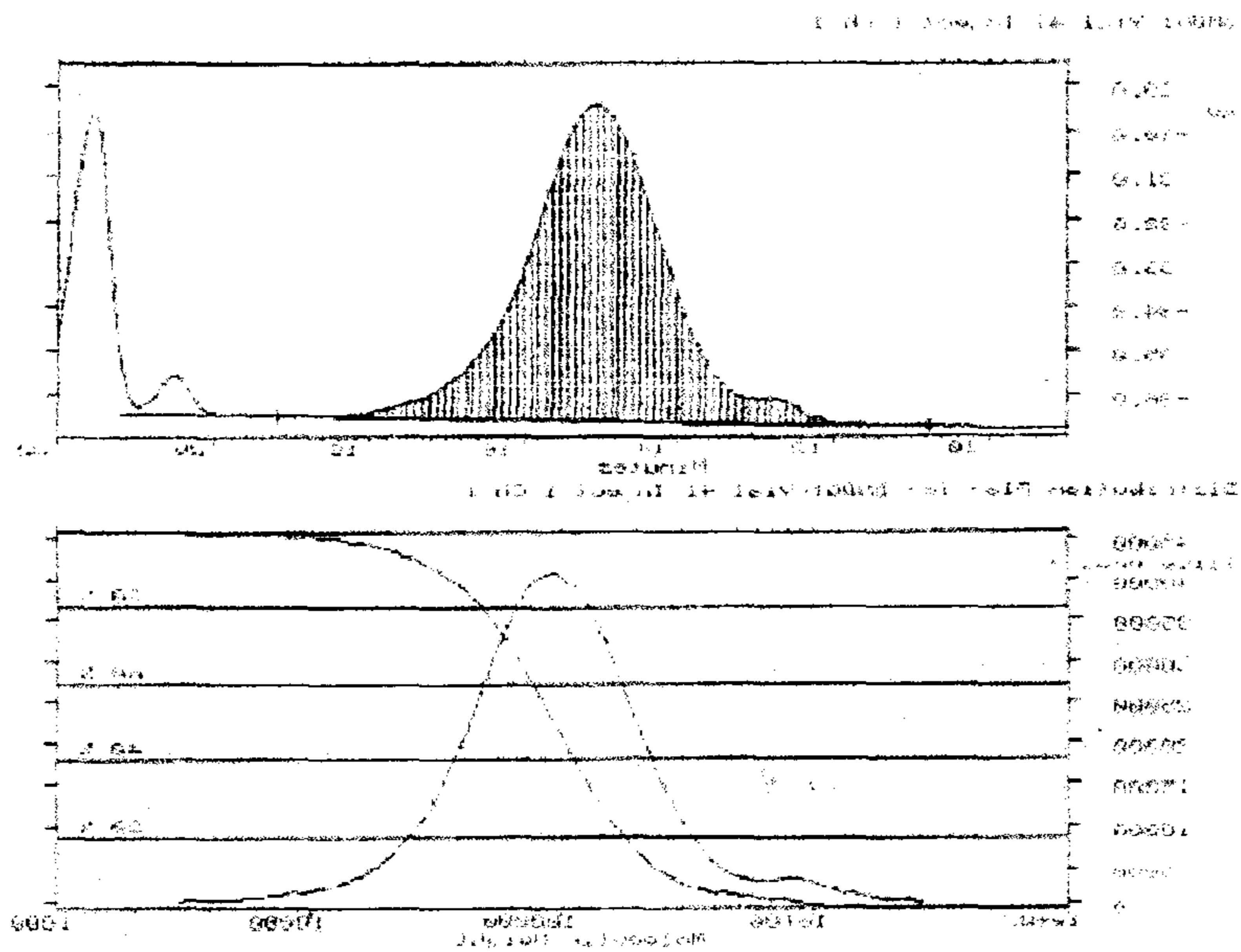


Fig 2. GPC of PVC BMDG 1.

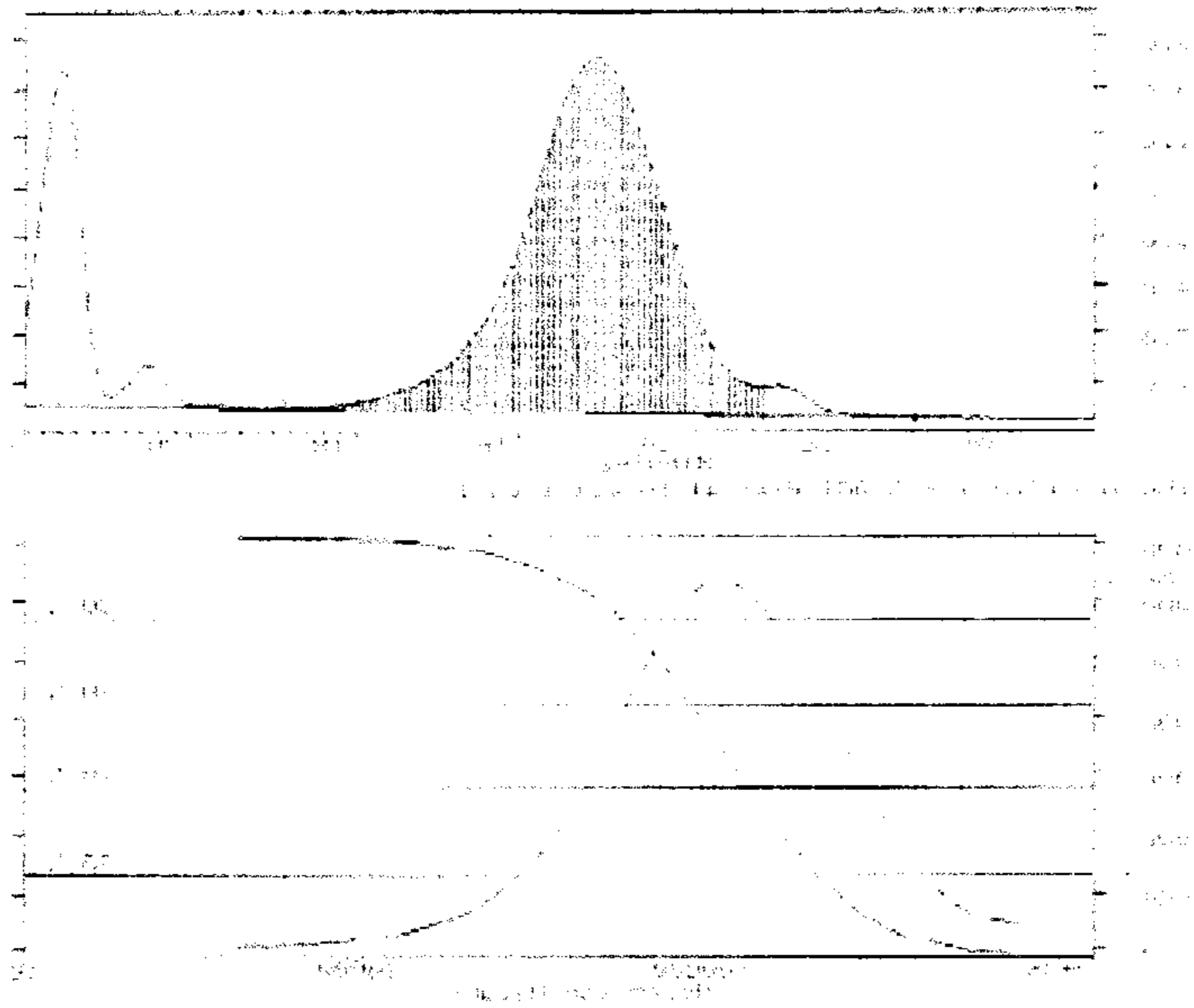


Fig 3. GPC of PVC BMDG 2

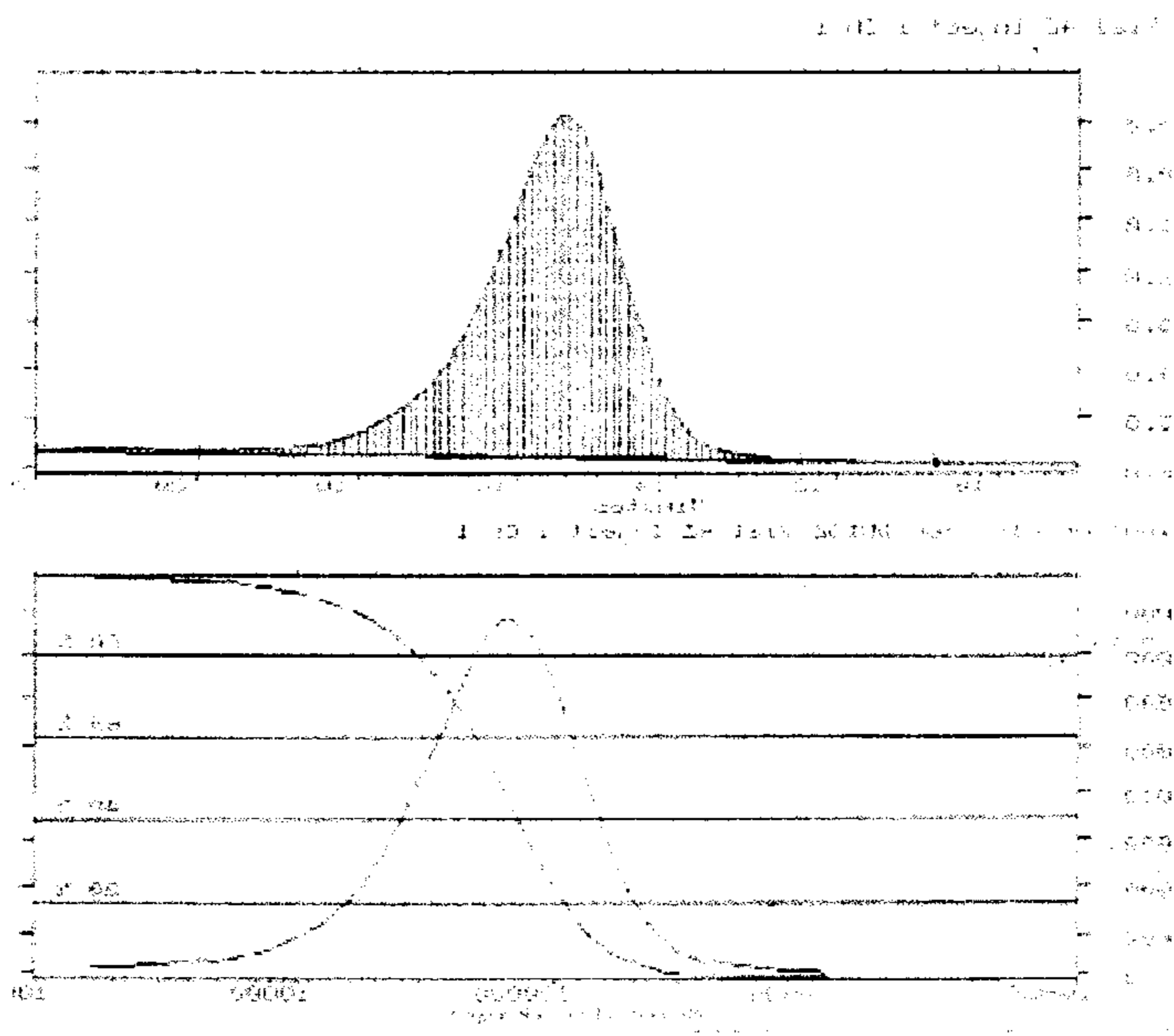


Fig 4. GPC of PVC BMDG 3.

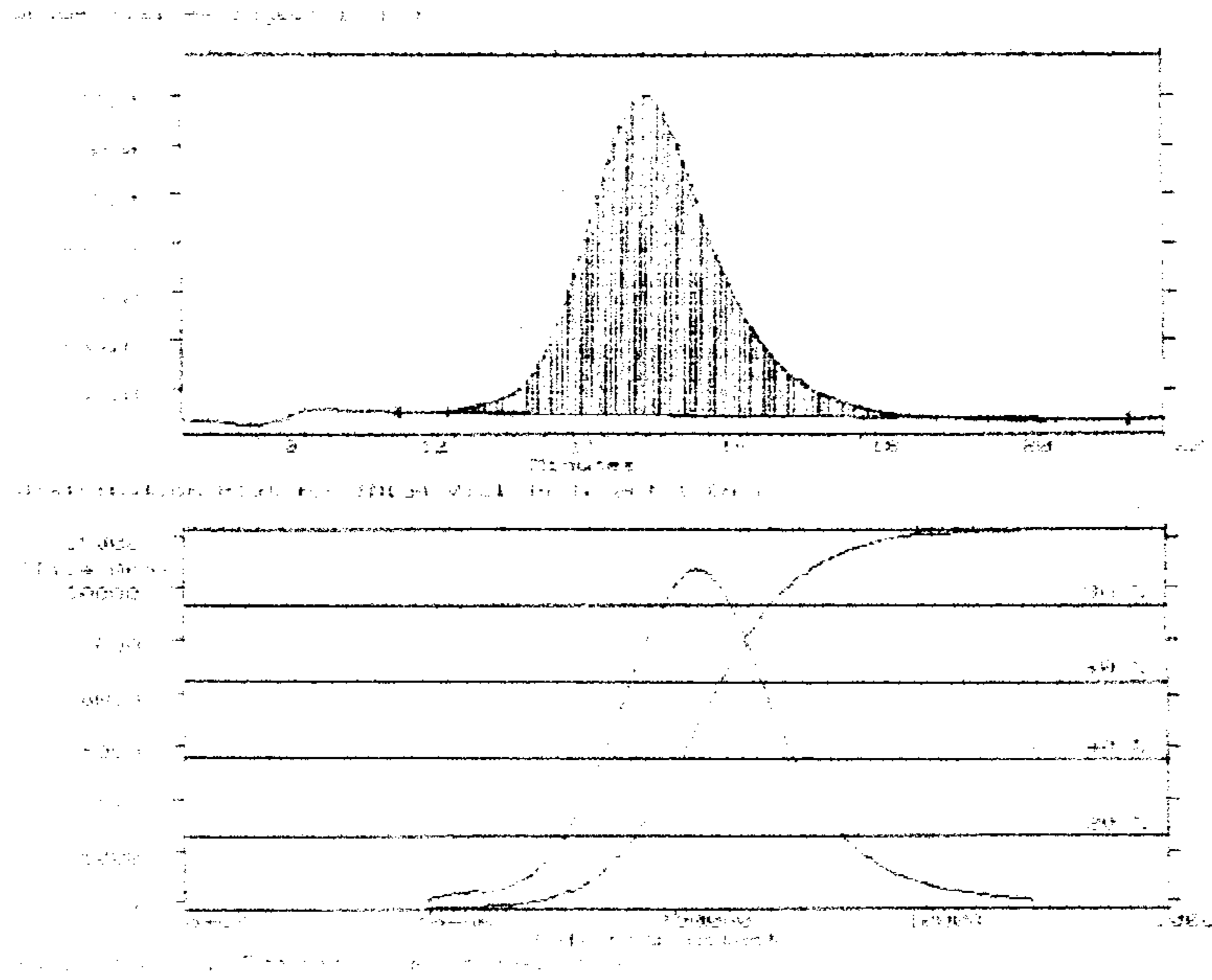


Fig 5. GPC of PVC BMDG 4.

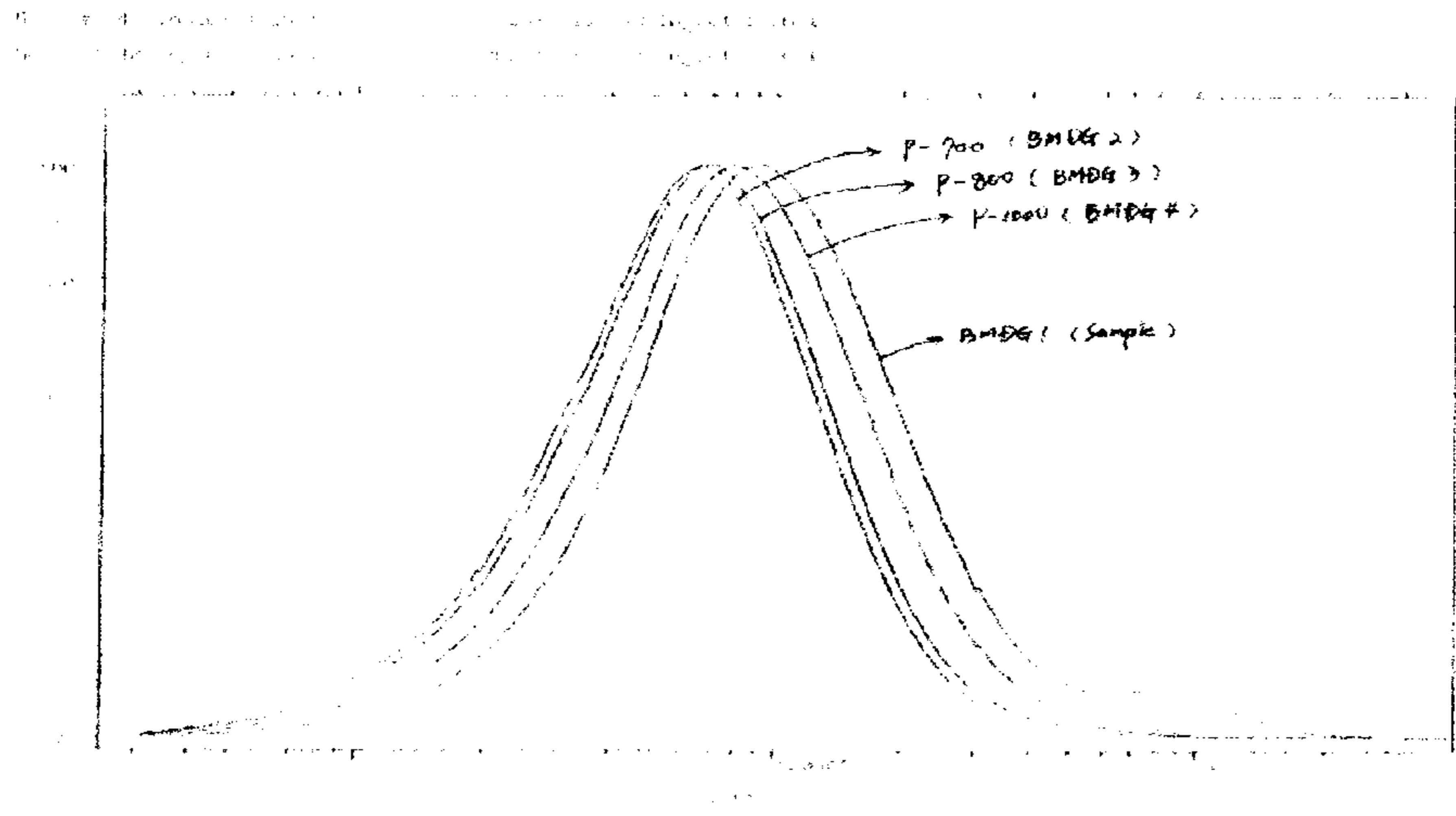


Fig 6. Result of Gel Permeation Chromatography(total).

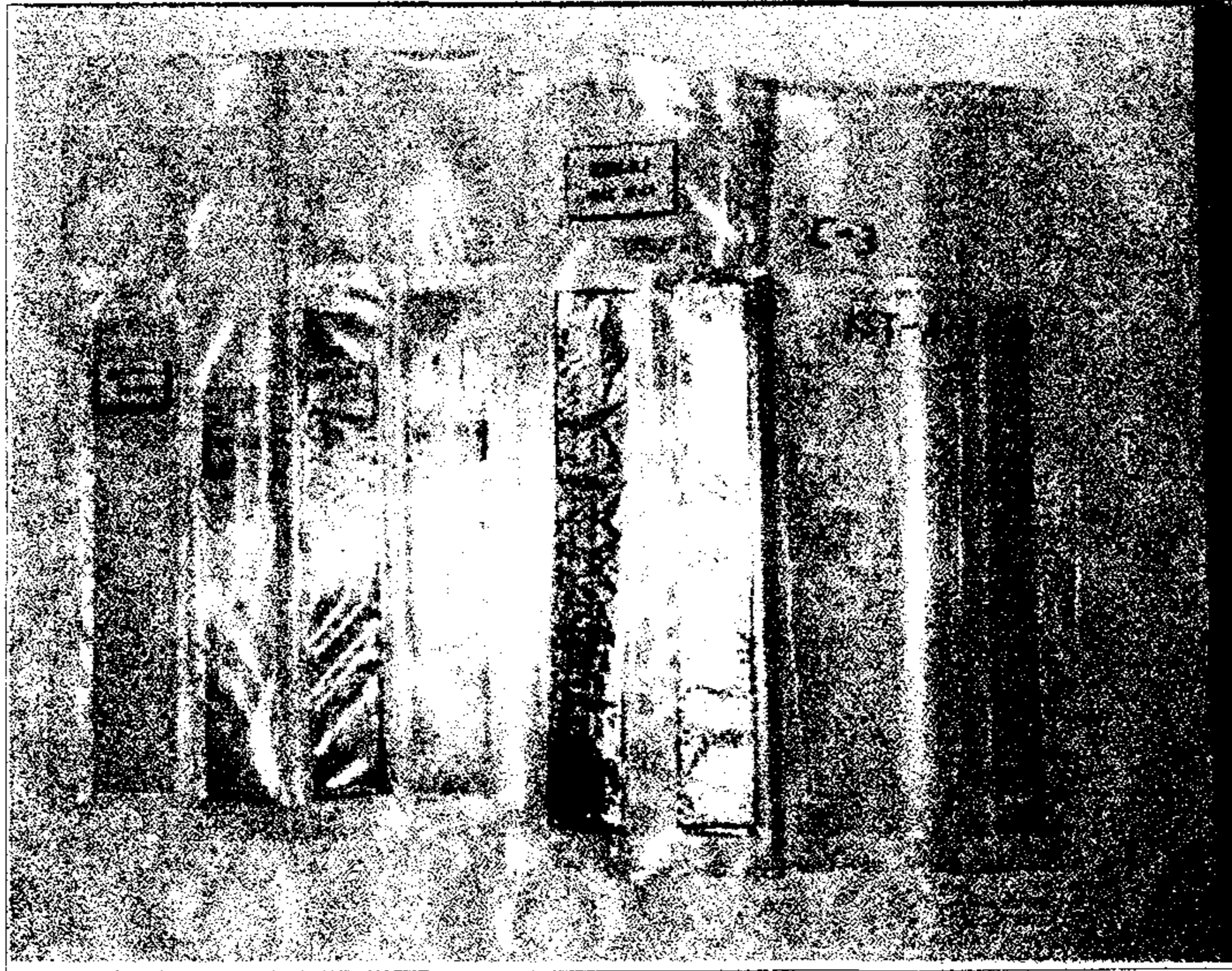


Fig. 7. Fluvalinate제품; 첨가제와 원료
그리고 다양한 제법으로 제형화함.



Fig. 8. Fluvalinate와 첨가제 양을
다양한 제법으로 제형화함.

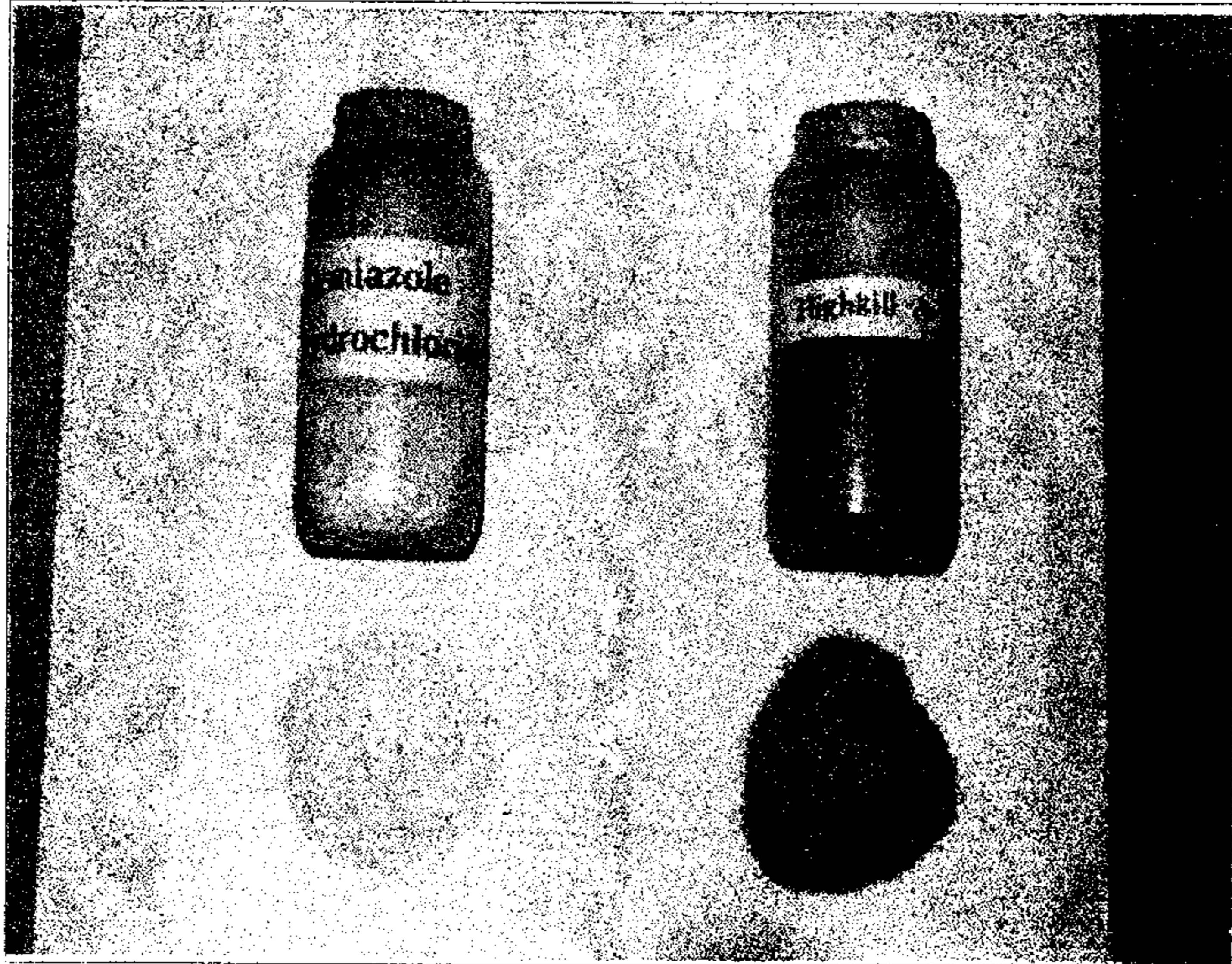


Fig. 9. Cymizol 제형화 제품.

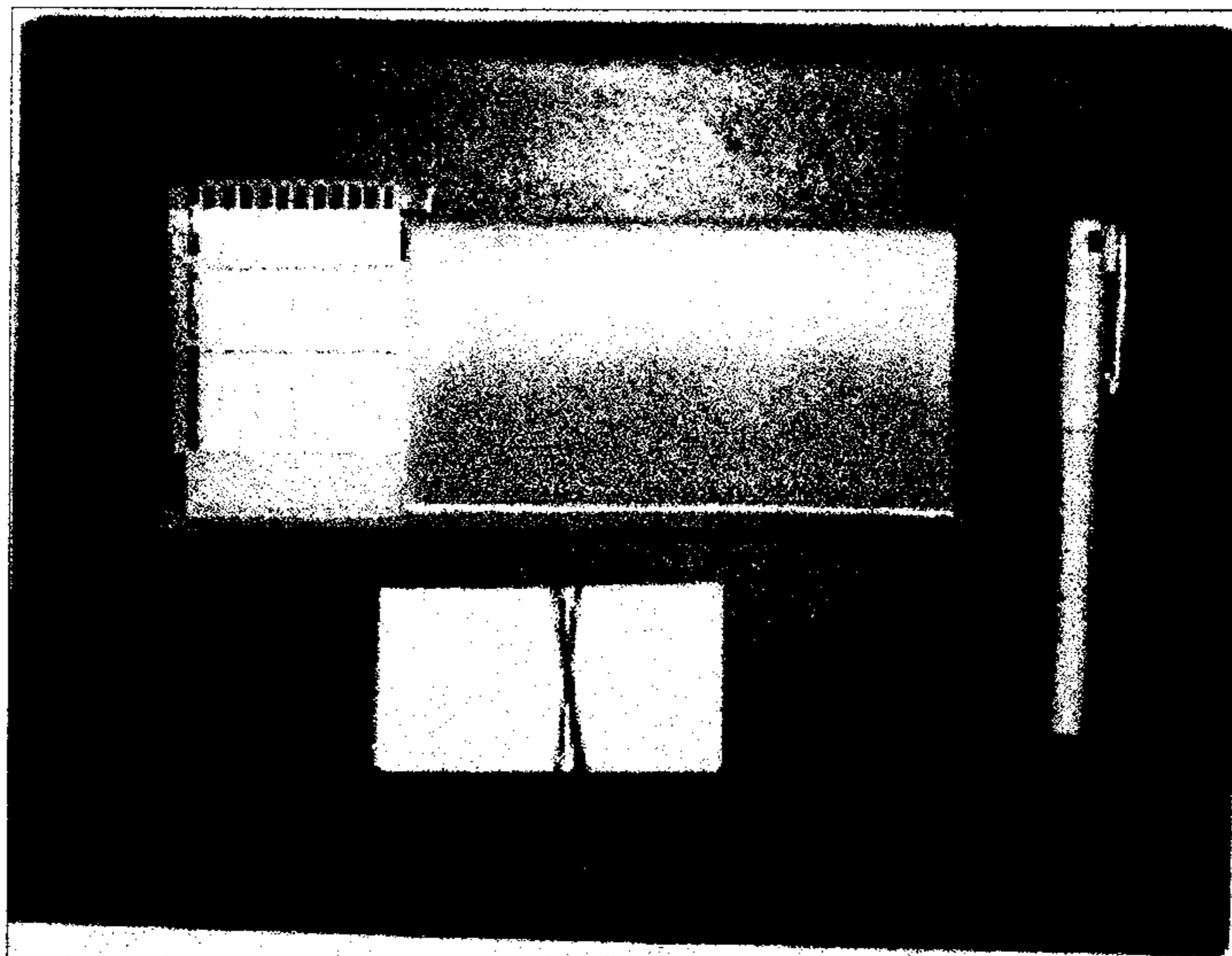


Fig. 10. Formacid evaporate

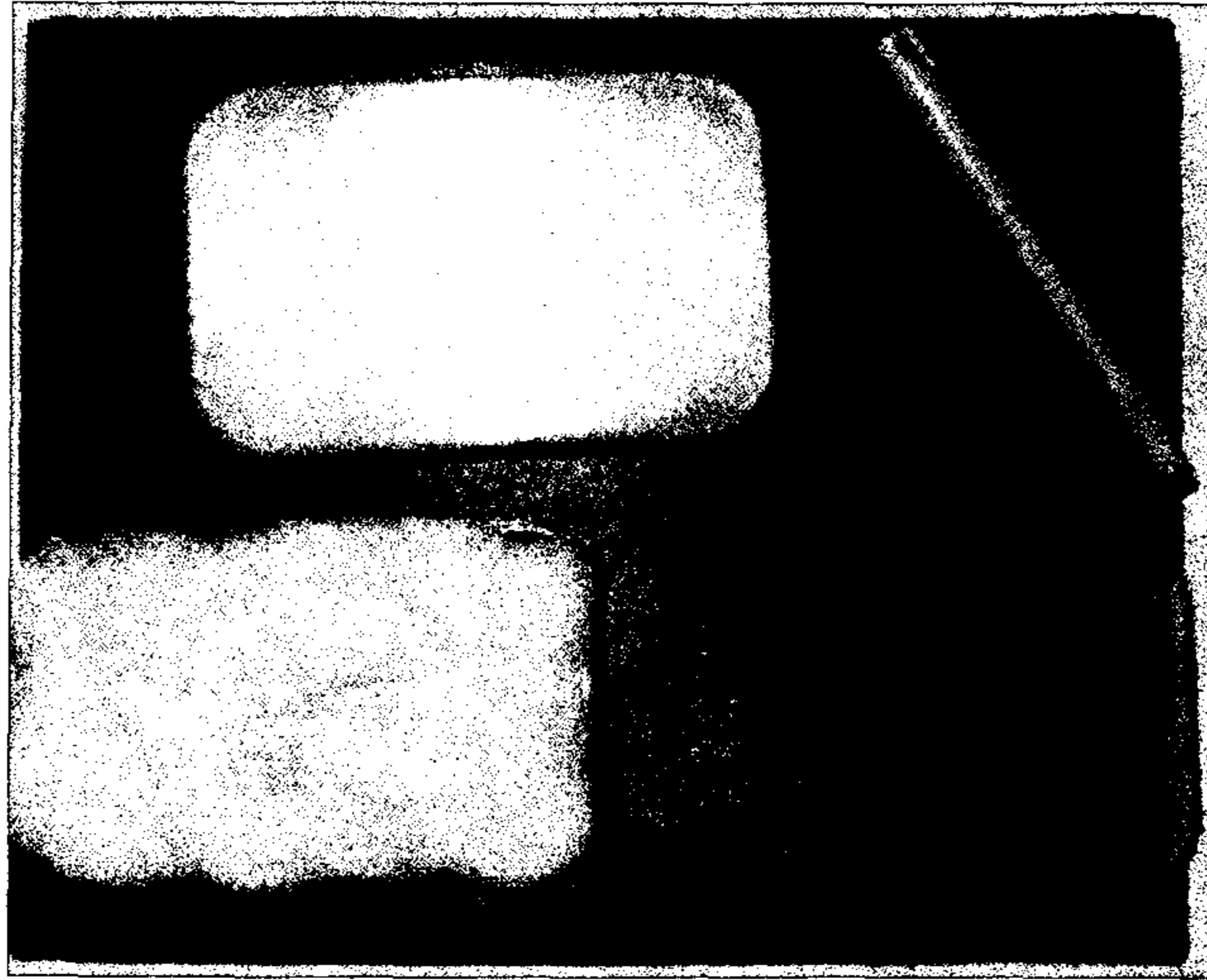


Fig. 11. 석고살용기를 이용한 증발기

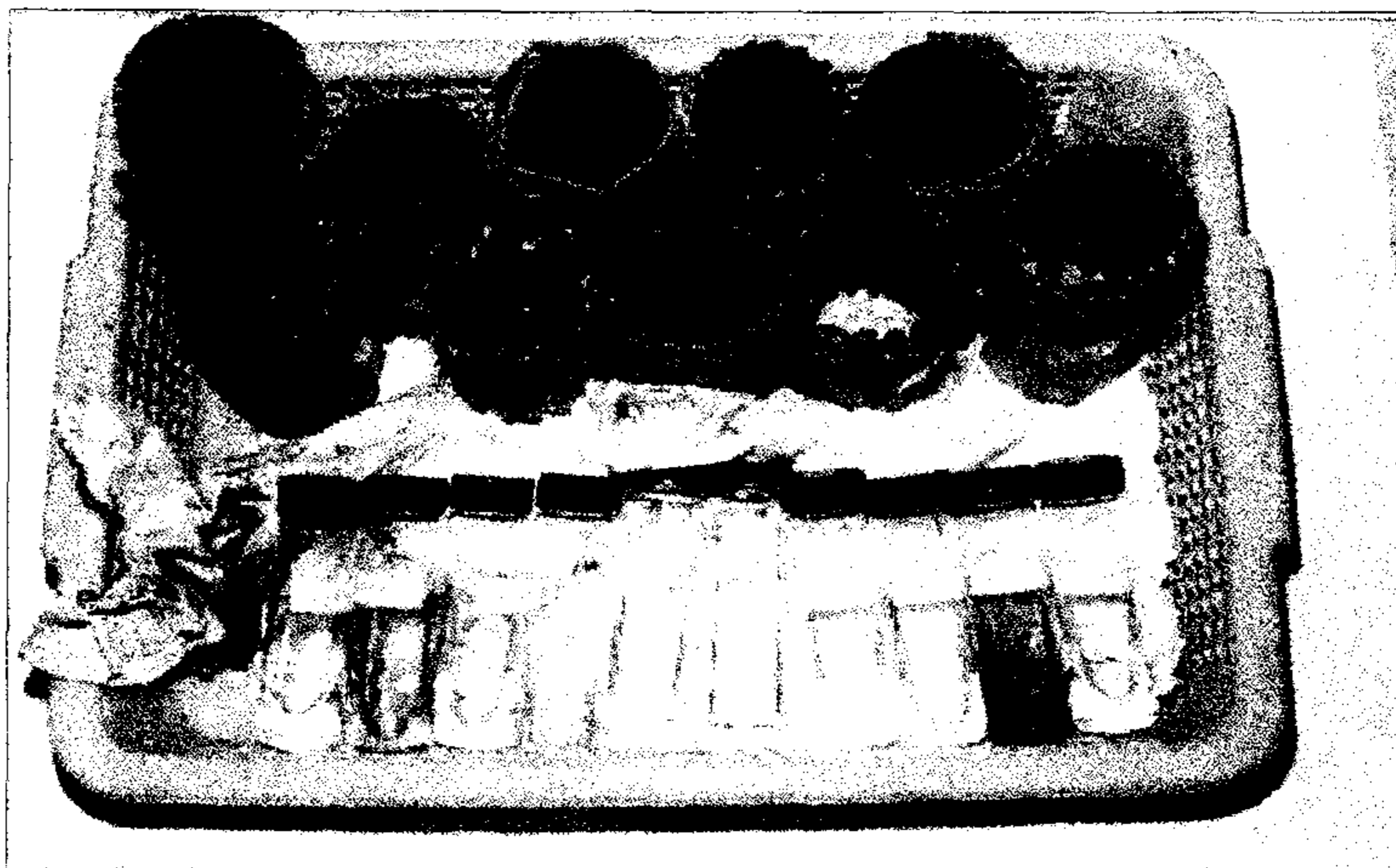


Fig. 12. Essention Oil

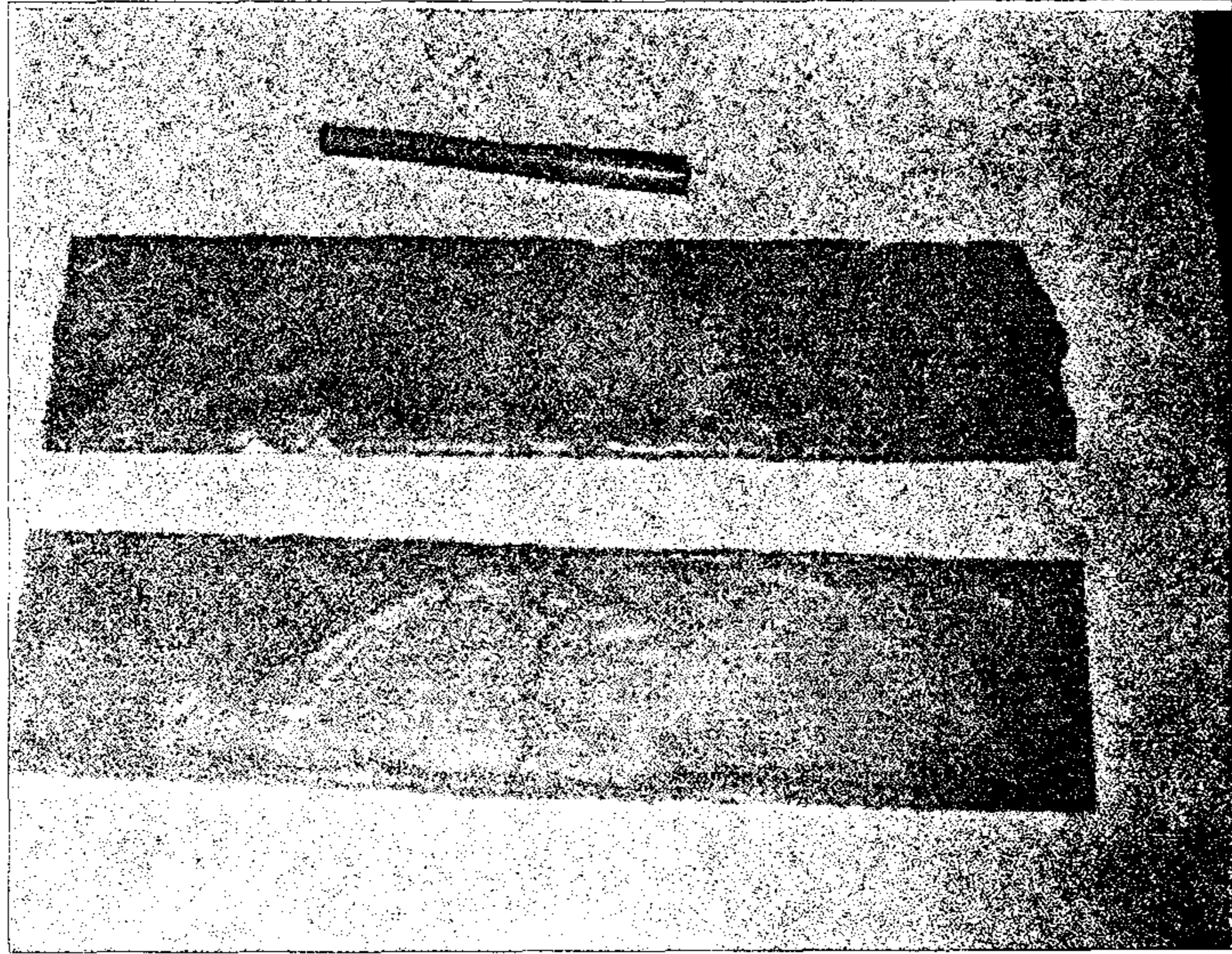


Fig. 13. Tracking strips

허가번호 제 6 - 79 호

동물용의약품등 제조 수입 품목허가증

| | | | | | |
|---|---|---|--------------|-----|-------------|
| 업 | 체 | 명 | (주)고려케미칼 | | |
| 업 | | 종 | 동물용의약품 제조업 | | |
| 제 | 품 | 명 | 고려 염산시미아졸 원료 | | |
| 구 | | 분 | 동물용의약품 원료 | | |
| 허 | 가 | 조 | 건 | - | |
| 최 | 초 | 허 | 가 | 년월일 | 1995. 3.29. |
| 부 | | 포 | : | 별 | 첨 |

동물용의약품등취급규칙 제3조7항·제4조제3항 또는 제7조제3항의 규정에 의하여 위와 같이 허가~~조건부 허가~~합니다.

1995 년 3 월 29 일

농 립 수 산 부 장 관 인

허가번호 제 6 - 80 호

동물용의약품등 제 조립 품목허가증

업 체 명 (주)고려케미칼
 업 종 동물용의약품 제조업
 제 품 명 바로킬(VAROKIL)
 구 분 동물용의약품
 허 가 조 건 -
 최초 허가 년월일 1995. 3.29.
 부 표 : 별 첨

동물용의약품등취급규칙 제3조7항·제4조제3항 또는 제7조제3항의 규정에 의하여 위와 같이 허가~~(조건부 허가)~~합니다.

1995 년 3 월 29 일

농 립 수 산 부 장

