

## 벼와 피에 대한 Fenoxaprop-ethyl의 이성체효과

김태준\* · 김진석 · 최정섭 · 장해성 · 조광연

한국화학연구원

**요약** : Fenoxaprop-ethyl R(+), S(-) 및 racemic mixture의 벼와 피에 대한 온실조건에서 제초활성 및 선택성과 aryloxyphenoxypropionate계열 제초제의 작용점으로 알려진 ACCase의 억제정도를 비교하였다. 온실에서의 벼와 피에 대한 식물체반응에서 R(+), S(-) 이성체가 가장 강한 생육저해를 보였고, S(-) 이성체에서 가장 약한 반응을 나타내어 fenoxaprop-ethyl R(+), S(-) 이성체가 활성형태임을 확인하였다. 온실에서 피에 대한 억제정도는 ACCase에 대한 *in vitro* 억제반응의 결과와 일치하여 fenoxaprop의 작용점은 효소 ACCase임을 알았다. 벼, 피간의 선택성 지수의 비교에서 온실실험의 결과 R(+), S(-) 이성체와 racemic mixture인 경우에는 각각의 값이 0.6과 0.8로 비교적 낮았으나, S(-) 이성체의 경우에는 약 1.5로써 S(-) 이성체의 벼에 대한 안전성 폭이 R(+), S(-) 이성체보다 넓은 것으로 나타났다. 하지만, 이러한 경향이 *in vitro* 수준에서는 이성체간 선택성지수의 차이는 인정되지 않았다. 따라서 작용점상에서 fenoxaprop-ethyl의 벼, 피간 근본적 선택성은 존재하지 않는 것으로 판단된다.(2001년 4월 2일 접수, 2001년 4월 26일 수리)

**Key words** : Chirality, fenoxaprop-ethyl, rice, barnyardgrass, selectivity.

### 서론

Aryloxyphenoxypropionates(AOPPs) 계열에 속하는 fenoxaprop-ethyl은 1984년 AgrEvo사에서 개발된 화본과 전용제초제(grasskillers, GKs) 중의 하나로 그 작용점은 식물의 엽록체내에서 acetyl-CoA로부터 지방산 생합성과정 중 최초의 탄소원인 malonyl-CoA(C2) 생성을 촉매하는 효소인 acetyl-coenzyme A carboxylase(ACCCase, EC 6.4.1.2)로 알려져 있다(Secor와 Cseke, 1988; Konishi 등, 1996; Herbert 등, 1997). Fenoxaprop은 유럽지역에서 주로 광엽작물에서의 화본과잡초의 방제 또는 맥류재배에서의 메귀리 방제를 위해 사용되고 있으며, 국내에서는 벼재배에서 피의 방제를 위하여 bentazon과의 합제로써 건담작과에서 벼 2.5엽기 이후에 사용하는 경엽처리용 제초제로 등록되어 있다(농약공업협회, 2000). 하지만, 벼에 대한 안전성은 만족할만한 수준이 못되어 재배농가에서 그 실제적 사용은 제한되어 있는 실정이다.

Chiral 중심탄소를 지니고 있는 AOPP계열의 제초제는 R(+), S(-)의 이성체가 존재하고, 이들 이성체간에는 현저한 생물활성의 차이가 있음이 알려져 있다. 즉, R이성체가 S이성체에 비해 제초활성이 강하다는 것인데, 이러한 이유로 상품화된 AOPP계열의 제초제는 대부분이 R(+), S(-) 이성체로 시판되고 있다. Secor와 Cseke(1988)은 haloxyfop의 각 이성체가 옥수수, 콩의 경우 식물체에서의 생리활성의 차이를 보이는 원인이 그 작용점으로 알려진 효소 ACCCase의 결합 부위가 각 이성체를 별도로 인식할 수 있는 능력을 지니고 있기 때문이라고 해석하였다.

하지만 아직까지 fenoxaprop-ethyl 이성체의 벼와 피에 대한 효과는 조사, 보고된 바 없다. 상기에 언급한 바와 같이 벼에 대한 약해가 우려되는 fenoxaprop의 작용점과 벼

에 대한 선택성의 원인을 구체적으로 구명하는 것은 앞으로 fenoxaprop의 벼에 대한 사용문제에 대한 보다 핵심적인 정보를 제공할 것이다.

본 연구는 온실조건에서 fenoxaprop-ethyl 각 이성체의 벼에 대한 안전성과 피에 대한 효과를 조사하고, 작용점상에서의 활성 및 선택성을 알아보고자 벼와 피로부터 추출한 *in vitro* ACCCase 효소활성검정을 수행하였다.

### 재료 및 방법

#### 시험약제

실험에 사용된 fenoxaprop-P-ethyl[(+)-2-[4-[(6-chloro-2-benzoxazolyl)oxy]phenoxy]propanoic acid ethyl ester]는 한국화학연구소에서 합성된 순도 98%이상의 원제를 사용하였고, 온실실험에서 경엽처리를 위한 최종 살포액은 0.1% Tween 20이 함유된 60% acetone용액이었다. 사용된 처리용액의 대조구에 대한 약해는 없었다(자료 미제시). R(+), racemic mixture 및 S(-)이성체의 R:S의 비율은 각각 98:2, 49:51 및 30:70이었다.

#### 식물체에 대한 농도반응

표면적이 350 cm<sup>2</sup>인 플라스틱 사각팟트에 적당량의 사질양토를 채우고 벼와 논피를 파종한 다음 8일 후에 각 이성체의 fenoxaprop-ethyl을 0.9, 1.9, 3.8, 7.5, 15, 30, 60 g AI ha<sup>-1</sup>의 농도로 경엽처리하였다. 경엽처리는 SB6 spray chamber(R&D Sprayer, Inc., USA)에서 실시하였고, flat pan식 노즐(8002EV, Spraying System Co., USA)이 장착된 CO<sub>2</sub> 압력살포기를 사용하였으며, 살포량은 920 L ha<sup>-1</sup>이었다. 약효는 경엽처리 14일 후에 0(no injury) - 100(complete kill)단위로 달관평가 하였다. 실험은 4반복 완전임의 배치법으로 수행하였고, probit analysis를 통하여 피에 대한 90%방제에 필요한 농도(ED<sub>90</sub>)와 벼에 대한 10% 약

\*연락처자

Table 1. Whole-plant dose response of each chiral isomer of fenoxaprop-ethyl in rice and barnyardgrass under a greenhouse condition

Rate (g ai/ha)	R(+)		Racemic		S(-)	
	ORYSA <sup>a)</sup>	ECHOR	ORYSA	ECHOR	ORYSA	EHCOR
	Visual injury (%) <sup>b)</sup>					
60	100	100	70	100	50	100
30	70	100	55	100	20	100
15	40	100	30	100	0	100
7.5	30	100	10	80	0	50
3.8	30	95	0	35	0	0
1.9	0	40	0	0	0	0
0.9	0	0	0	0	0	0

<sup>a)</sup>ORYSA, rice (*Oryza sativa* L.); ECHOR, barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* P. B. var. *oryzicola* Ohwi).

<sup>b)</sup>The values represent means with 4 replicates and scaled 0 (no injury) and 100 (complete death).

해 농도(ED<sub>10</sub>)를 산출하고 선택성지수(ED<sub>10</sub>/ED<sub>90</sub>)을 비교하였다. 생육기간 중 온실의 일 평균온도는 22~27°C, 낮 최고온도는 30~35°C, 그리고 밤 최저온도는 12~18°C이었다.

#### In vitro ACCase 효소활성검정

실험에 사용된 NaH<sup>14</sup>CO<sub>3</sub>(NEC086, 37 MBq)는 Dupont사에서, acetyl-CoA(lithium salt)와 ATP(magnesium salt)는 Sigma사로부터 각각 구입하였다. 온실조건에서 2.5엽기까지 생육한 동진벼와 강피의 지상부를 절단하고 -70°C의 냉동고에 보관한 다음 실험의 시료로써 사용하였다. 벼와 피의 생체중 각 5 g과 10 g의 시료에 추출완충액[1 mM EDTA, 10% glycerol(v/v), 2 mM isoascorbic acid, 1 mM PMSF, 0.5% PVP-40, 20 mM DTT가 함유된 100 mM Tris(pH 8.5)]을 1 : 3 (wt : vol)가하여 막자사발에서 유탕봉으로 약 5분간 마쇄하고 27,000 g에서 10분간 원심분리(J2-21M/E, Beckman)하였다. 이때 벼의 경우 원심분리 후 상정액을 취하여 Sephadex G25가 충전된 PD-10 column(Amersham Pharmacia Biotech AB, Sweden)을 이용하여 제염한 다음 반응을 위한 효소액으로 사용하였다. 피의 경우에는 적합한 효소반응을 위해 1차와 2차 각각 20%와 40% ammonium sulfate에 의하여 부분정제한 다음 제염 후 반응효소액으로 사용하였다(김 등, 2000). 제염과정에서의 사용한 완충액은 2.5 mM MgCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O, 1.0 mM DTT, 50 mM KCl이 함유된 50 mM Tricine(pH 8.5)이었고 반응효소액의 준비를 위한 모든 과정은 4°C에서 수행하였다.

효소반응을 위한 완충액은 10 mM KCl, 5 mM ATP, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 2.5 mM DTT, 0.15 mM NaH<sup>14</sup>CO<sub>3</sub>(specific activity 251.6 MBq mole<sup>-1</sup>)가 함유된 20 mM Tricine-KOH(pH 8.5)였으며, 32°C의 수조에서 10 μL acetyl-CoA(최종농도 0.8 mM)를 첨가함에 의해 10분간 반응하였다. 처리된 제조제의 최종농도는 0.01, 0.1, 1, 10 μM이었고, 처리시의 용매는 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 사용하였으며 반응액에 포함된 DMSO의 최종농도는 5%이

었다. 반응 10분 후에 12 N HCl 20 μL를 첨가하여 반응을 정지시키고 80°C 항온수조에서 1시간 동안 건조시킨 다음 0.5 mL의 50% ethanol과 4 mL의 LSC cocktail용액(Beckman, USA)을 순차적으로 첨가하여 LSC로 용기내 물질의 방사능을 측정하였다. 반응에 사용된 조효소액의 단백질량은 100-150 μg이었으며 완충액 및 기질과 조효소액을 포함한 최종 반응액의 양은 200 μL이었다. Probit분석을 이용하여 피에 대한 I<sub>50</sub>과 벼에 대한 I<sub>10</sub>을 구하고 각 이성체의 벼, 피간 선택성지수를 비교하였다. 반응에 사용된 효소액의 단백질정량은 Bradford(1976)법에 준하였으며, 각 실험은 3반복으로 2회 이상 수행하였고 자료의 정리는 모든 측정치의 평균값으로 표기하였다.

## 결과 및 고찰

### 식물체에 대한 농도반응

표 1은 fenoxaprop-ethyl 각 이성체가 온실에서의 벼와 피에 대한 농도반응을 조사한 결과이다. 각 이성체의 피에 대한 ED<sub>90</sub>는 R(+) 이성체의 경우 3.5, racemic mixture의 경우 10.0, S(-)의 경우 12.0 g ha<sup>-1</sup>로써(표 2) R 이성체의 저해효과가 가장 강한 것으로 나타났다. 각 이성체의 벼에 대한 농도반응에서도 비슷한 경향을 보여 R 이성체에서 그 약해가 가장 심하였다(표 1). 따라서 기 보고된 다른 종류의 AOPP계열의 제조제와 동일하게 fenoxaprop의 활성형태는 R 이성체라는 사실을 확인하였다. S(-) 이성체의 경우에도 상당한 정도의 생물활성을 보이는 것으로 나타났는데(표 1), 이는 실험에 사용된 S(-) 이성체에 약 30% 정도의 R(+) 이성체가 혼입되었기 때문인 것으로 사료된다. 한편, S(-) 이성체의 경우 피 방제력이 약하기는 하였지만, 벼에 대한 약해도 줄어들어 15 g ha<sup>-1</sup>의 처리에서도 약해는 관찰되지 않았다(표 1). 이러한 경향은 벼/피에 대한 선택성지수의 비교에서 S 이성체의 선택성지수가 1.5인 반면 R(+) 이성체의 경우에는 0.57로써 S(-) 이성체의 선택성 폭이 R(+) 이성체보다 넓은 것으로 나타났다(표 2). 따라서 fenoxaprop의 수도작 사용에 있어 순수한 R(+) 이성체

**Table 2. Comparison of selectivity indices at whole-plant level of each isomer of fenoxaprop-ethyl in rice and barnyardgrass**

Isomers	ORYSA	ECHOR	ED <sub>10</sub> /ED <sub>90</sub>
	ED <sub>10</sub> <sup>a</sup>	ED <sub>90</sub>	
	g AI ha <sup>-1</sup>		
R(+)	2.0	3.5	0.6
Racemic	7.5	10.0	0.8
S(-)	18.0	12.0	1.5

<sup>a</sup>ED<sub>10</sub> and ED<sub>90</sub> represent the doses required to produce 10% and 90% growth inhibition in rice and barnyardgrass, respectively.

보다는 R(+)과 S(-)형태의 조합하여 사용함에 의해 벼에 대한 안전성이 어느 정도 향상될 수 있을 것이라 생각된다.

**In vitro ACCase 억제효과**

대부분의 AOPP계열의 제초제는 R(+) 이성체가 생물활성을 지니고 있으므로 R 이성체의 형태를 원제로 하여 상품화되어 있다. AOPPs계열 제초제의 선택성과 저항성 원인은 그 작용점인 ACCase의 감수성 차이에 기인한다는 설명이 지배적이다(Konishi 등, 1996; Seefeldt 등, 1996; Herbert 등, 1997; Reverdatto 등, 1999).

따라서 fenoxaprop-ethyl의 각 이성체가 벼와 피에서의 ACCase에 미치는 영향을 알아보는 것은 1차 작용점을 파악하는 것 뿐만 아니라 벼와 피간의 근본적인 선택성 원인을 해석하기 위해 중요한 사항이 된다.

그림 1은 fenoxaprop-ethyl 각 이성체가 벼와 피의 ACCase에 미치는 영향을 조사한 결과이다. 벼와 피로부터

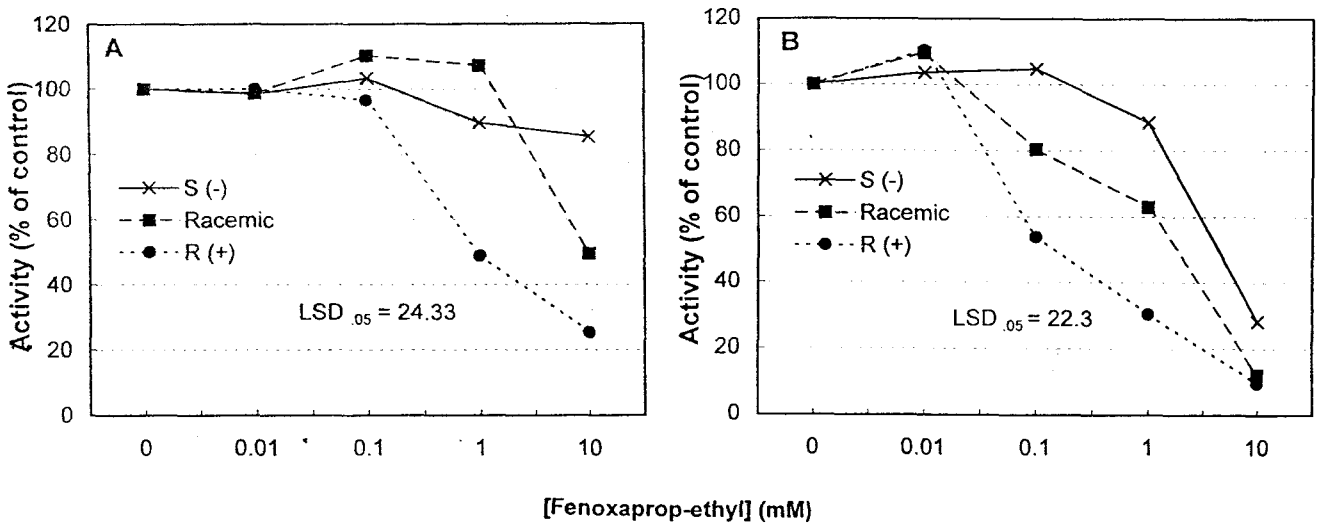
**Table 3. Selectivity of each isomer of fenoxaprop-ethyl between rice and barnyardgrass at the target enzyme level**

Isomers	ORYSA	ECHOR	I <sub>10</sub> /I <sub>50</sub>
	I <sub>10</sub> <sup>a</sup>	I <sub>50</sub>	
	μ M		
R(+)	0.19	0.21	0.9
Racemic	4.52	3.89	1.16
S(-)	7.89	7.23	1.09

<sup>a</sup>I<sub>10</sub> and I<sub>50</sub> represent the concentration required to 10% and 50% ACCase inhibition in rice and barnyardgrass, respectively.

추출된 효소 ACCase는 R 이성체에 의해 가장 강하게 그리고 S 이성체에 의해 가장 약하게 억제되어 기 보고된 haloxyfop(Secor 와 Cseke, 1988)이성체의 옥수수 ACCase에 대한 억제반응과 일치하는 결과를 얻었다. 이는 온실에서 농도반응성(표 1)과 *in vitro*에서의 ACCase억제양상(그림 1)이 동일하다는 결과로써 fenoxaprop의 작용점은 효소 ACCase임을 의미하고 있다.

하지만, 각 이성체의 *in vitro* ACCase 억제활성에 대한 선택성지수의 비교(표 3)에서는 이성체의 종류에 관계없이 그 차이가 인정되지 않아 식물체반응에서 S 이성체가 벼, 피간 선택성 폭이 증가한 표 2의 결과와는 일치하지 않았다. 따라서, 식물체수준에서 fenoxaprop-ethyl의 벼와 피에 대한 선택성원인은 작용점인 ACCase에 대한 감수성차이만으로는 설명할 수 없으며 그 외 체내에서의 흡수 및 대사 과정이 관여하고 있는 것으로 추정되었고, R과 S 이성체의 작용점상에서의 근본적인 선택성은 없었다.



**Fig. 1. Dose response of leaf-tissue acetyl-CoA carboxylase between rice (A) and barnyardgrass (B) to stereoisomer of fenoxaprop-ethyl.**

## 인용문헌

- Bradford, M. (1976) A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248~254.
- Herbert, D., K. A. Walker, L. J. Price, D. J. Cole, K. E. Pallett, S. M. Ridley and J. L. Harwood (1997) Acetyl-CoA carboxylase--a graminicide target site. *Pestic. Sci.* 50:67~71.
- Konishi, T., Shinohara K, Yamada K and Sasaki Y (1996) Acetyl-CoA carboxylase in higher plants: most plants other than gramineae have both the prokaryotic and the eukaryotic forms of this enzyme. *Plant Cell Physiol.* 37(2):117~122.
- Reverdatto S., V. Beilinson and N. C. Nielsen (1999) A multisubunit acetyl coenzyme A carboxylase from soybean. *Plant Physiol.* 119:961~978.
- Secor, J. and C. Cseke (1988) Inhibition of acetyl-CoA carboxylase activity by haloxyfop and tralkoxydim. *Plant Physiol.* 86:10~12.
- Seefeldt, S. S., E. P. Fuerst, D. R. Gealy, A. Shukla, G. P. Irzyk and M. D. Devine (1996) Mechanism of resistance to diclofop of two wild oat(*Avena fatua*) biotypes from the Willamette valley of Oregon. *Weed Sci.* 44:776~781.
- 김태준, 신희제, 김진석, 정봉진, 조광연 (2000) 벼와 피에 석 *in vitro* acetyl-coenzyme A carboxylase 효소활성검정. *한국잡초학회지* 20:208~216.
- 한국화학연구소. 1998. 신농약 효능검사 및 기반기술 연구. 한국과학기술부.

---

**Chiral effect of fenoxaprop-ethyl on rice (*Oryza sativa*) and barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*)**

Tae-Joon Kim\*, Jin-Seog Kim, Jeong-Sup Cho, Hae-Sung Chang and Kwang Yun Cho(Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejeon 305-600, Korea)

**Abstract :** A greenhouse study was conducted to evaluate the effect of R(+), S(-) and racemic mixture of fenoxaprop-ethyl on rice and barnyardgrass. In addition, *in vitro* acetyl-coenzyme A carboxylase inhibition to those chiral compounds was determined. In the greenhouse trial, the R(+) and S(-) fenoxaprop showed respectively the highest and the lowest biological activity on both plants. This dose-response in whole plant level was consistent with the result of *in vitro* dose-response of acetyl-coenzyme A carboxylase. These results confirmed that the R(+) isomer is biologically more active than the S(-) isomer, and the target site of fenoxaprop is the enzyme acetyl-coenzyme A carboxylase. It was an interesting result that rice safety was improved in the S(-) isomer compared with the R(+), and the respective selectivity index was 1.5 and 0.57 in a greenhouse experiment; however, those values resulting from ACCase assay were not substantially different each other at *in vitro* level. Those results suggested that the fundamental selectivity of fenoxaprop-ethyl between rice and barnyardgrass would not exist at target site level.

---

\*Corresponding author (Fax : +82-42-681-4913, E-mail : tjkim@pado.kRICT.re.kr)