

## 신규 잔디 제초제 메티오졸린(methiozolin) 개발

구석진<sup>1\*</sup>, 황기환<sup>1</sup>, 전만석<sup>1</sup>, 김성현<sup>1</sup>, 임종수<sup>1</sup>, 이동국<sup>1</sup>  
정근희<sup>1</sup>, 고영관<sup>2</sup>, 류재욱<sup>2</sup>, 구동완<sup>2</sup>, 우재춘<sup>2</sup>

## Development of The New Turf Herbicide Methiozolin

Suk-Jin Koo<sup>1\*</sup>, Ki-Hwan Hwang<sup>1</sup>, Man-Seok Jeon<sup>1</sup>, Sung-Hun Kim<sup>1</sup>  
Jongsoo Lim<sup>1</sup>, Dong-Guk Lee<sup>1</sup>, Kun-Hoe Chung<sup>1</sup>, Young-Kwan Ko<sup>2</sup>  
Jae-Wook Ryu<sup>2</sup>, Dong-Wan Koo<sup>2</sup> and Jae-Chun Woo<sup>2</sup>

**ABSTRACT** Methiozolin (5-(2,6-difluoro-benzyloxymethyl)-5-methyl-3-(3-methyl-thiophen-2-yl)-4,5-dihydro-isoxazole) is a new turf herbicide in isoxazoline chemistry. The herbicide controls grass weeds and has a high safety to various cool and warm season turfgrasses. This paper describes basic chemical, biological, and regulatory information of methiozolin.

**Key words:** Methiozolin; MRC-01; turfgrass.

### 물질 개요

Methiozolin의 명칭, 화학구조 및 이화학특성 등은 표 1과 같다.

### 발굴 경위

Methiozolin은 isoxazoline 계통의 신물질이다. Isoxazoline계에서의 신물질은 세계적으로 별로 진행

**Table 1.** Structure and physicochemical properties.

Common name	Methiozolin
Chemical name (IUPAC)	5-(2,6-Difluoro-benzyloxymethyl)-5-methyl-3-(3-methyl-thiophen-2-yl)-4,5-dihydro-isoxazole
Emperical formula	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> F <sub>2</sub> NO <sub>2</sub> S

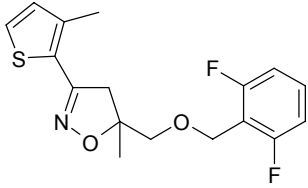
<sup>1</sup> (주)목우연구소, 305-333 대전광역시 유성구 어은동 51, 한국생명공학연구원 바이오센터 311호(Moghu Research Center Ltd., BVC 311, Daejeon 305-333, Korea).

<sup>2</sup> 한국화학연구원, 306-600 대전시 유성구 장동 100(Korea Research Institute of Chemical Technology, PO Box 107, Daejeon 306-600, Korea).

\* 연락저자(Corresponding author) : Phone) +82-42-862-4951, Fax) +82-42-862-4950, E-mail) bioweed@naver.com

(Received October 18, 2010; Examined October 22, 2010; Accepted October 25, 2010)

Table 1. Continued.

Common name	Methiozolin		
Structure			
Solubility (mg/L)	Water : 3.4, Acetonitrile : >1,000, Acetone : >1,000, Methanol : 560, Ethanol : 350, Methylene chloride : >1,000, Ethylacetate : >1,000, Chloroform : >1,000, Hexane : 26, Toluene : >1,000, DMSO : >1,000		
CAS No.	403640-27-7	Melting point	50.198 °C
Molecular weight	337.39	Vapor pressure	$1.9 \times 10^{-13}$ mmHg

되지 않은 계통이다. Methiozolin과 구조적으로 유연 관계에 있는 물질들로는 Rheinheimer 등(1991)이 최초로 합성 및 보고하였는데, 생물활성에 대한 상세한 자료 제시 없이 일부 화합물이 유체에 대해서 안전성이 있고 발아전처리로 잡초들을 방제한다고 보고한 바 있다. 이후 Munro와 Patel(1993)은 isoxazoline에 nitro기를 포함하는 benzene환을 도입한 유도체에 대해 보고하였다. 그리고 森田 등(1997)은 isoxazoline에 각종 alkyl, alkoxy, allyl기를 포함하는 유도체를, 또 上原 등(2001)은 isoxazoline에 pyrazole 치환체를 도입한 유도체의 합성과 벼 제초제로서의 생물활성에 대해 보고하였다.

그러나 이들 화합물에서는 특기할만한 활성이 없었으므로 동 계통에서 상업화된 물질도 전무하였다. 이후 Ryu 등(2005)은 isoxazoline환에 치환된 thiophene환을 도입한 유도체에 대해서 보고하였으며 이 특히 중한 화합물로 5-(2,6-Difluoro-benzyloxymethyl)-5-methyl-3-(3-methyl-thiophen-2-yl)-4,5-dihydro-isoxazole이 포함되어 있다. Hwang 등(2005)에 의하면 이 화합물은 벼 제초제로서 온실 담수조건 발아전처리로 이앙벼에 대해서 안전성이 높고  $125\text{g ha}^{-1}$  이상에서 피, 물달개비, 마디꽃, 여뀌바늘, 알방동산이 등 일년생잡초를 완전히 방제하며, 특히 피에 대해서는 2~4엽기까지 방제한다고 보고하였다. 또 bensulfuron-methyl 등 sulfonylurea계 제초제와 혼합하여 입제로

처리하였을 때 벼에 대한 안전성이 높고 피를 비롯한 각종 일년생 및 다년생잡초를 방제한다고 하였다. 그러나 이 화합물은 상업화 개발에는 이르지 못하였고 기타 생물활성이나 용도에 대해서는 알려진 바가 없었으나, 구와 황(2007)은 이 물질이 잔디 제초제로서 유효하다고 보고한 후에 isoxazoline 유도체 중 최초로 2010년 잔디 제초제로 상업화개발이 되었으며 methiozolin이라는 일반명이 부여되었다.

## 기본 생물활성

Methiozolin은 Ryu 등(2005), Hwang 등(2005)에 의해 담수조건에서의 활성에 대해서는 기술되어 있으나 그 외 발조건이나 건담조건에 대한 효력에 대한 기술은 없었다. 구와 황(2007)은 methiozolin이 온실 발조건에서 발아전 처리 시  $100 \sim 500\text{g ha}^{-1}$  약량으로 콩, 옥수수, 목화, 밀, 벼 등 주요 작물에 대해 높은 안전성을 가지면서 피, 강아지풀, 미국개기장, 바랭이 등 화본과 잡초만을 선택적으로 방제한다고 보고하였다(표 2). 경엽처리 할 경우에는 옥수수와 콩은 감수성인 반면에 벼, 밀, 목화에는 안전하였고  $500\text{g ha}^{-1}$ 에서 피, 강아지풀, 미국개기장, 바랭이 등 화본과 잡초를 방제하고, 어저귀, 자귀풀, 등에 대해서도 다소 생육억제효과가 관찰되었다.

**Table 2.** Greenhouse screening result of methiozolin (Koo and Hwang 2007)<sup>1)</sup>.

Rate (g ha <sup>-1</sup> )	Crop					Grass weeds				Broadleaf weed			
	Corn	Rice	Wheat	Soybean	Cotton	ECHCG <sup>2)</sup>	SETVI	PANDI	DIGSA	ABUTH	AESIN	IPOAN	XANST
Pre-emergence													
500	0	0	0	0	0	10	10	10	10	0	0	0	2
250	0	0	0	0	0	10	9	9	10	0	0	0	2
125	0	0	0	0	0	10	9	9	9	0	0	0	1
62.5	0	0	0	0	0	4	3	8	9	0	0	0	0
31.2	0	0	0	0	0	2	1	5	1	0	0	0	0
Post-emergence : 3 Leaf stage													
500	8	0	0	6	0	9	9	8	9	7	6	4	3
250	3	0	0	2	0	7	5	6	6	3	3	3	1
125	2	0	0	0	0	3	2	3	5	1	1	2	0
62.5	2	0	0	0	0	2	1	1	3	0	0	1	0
31.2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

<sup>1)</sup> Visual evaluation 2 weeks after application (0 : no efficacy, 10 : complete control).

<sup>2)</sup> ECHCG, *Echinochloa crus-galli*, barnyardgrass; SETVI, *Setaria viridis*, yellow foxtail; PANDI, *Panicum dichotomiflorum*, fall panicum; DIGSA, *Digitaria sanguinalis*, large crabgrass; ABUTH, *Abutilon theophrasti*, velvetleaf; AESIN, *Aeschynomene indica*, Indian jointvetch; IPOAN, *Ipomoea angulata*, roundleaf morningglory; XANST, *Xanthium strumarium*, common cocklebur.

### 작용기작

Isoxazoline계통의 화합물의 작용기작은 미지라고 보고되어 있다(Hwang 등 2005). Methiozolin의 발아 전 처리 시 감수성인 피 등 화본과에서 나타나는 증상은 발아와 초엽 신장까지는 정상적으로 이루어지며 제1엽이 초엽 속에서 초엽상단까지는 생장을 하다가 생장이 완전히 정지되는 양상을 보였다. 이 때 조

식의 변형, 비틀림과 같은 증상은 전혀 없었고, 색깔의 변화도 없거나 백화 탈색되는 현상을 보였는데, 기존의 여러 알려진 작용기작의 제초제와는 뚜렷이 구분되었다(Lee 등 2007). 감수성을 보인 옥수수를 실험재료로 사용하기 위하여 수경상태에서 뿌리 생장반응을 측정한 결과 GR<sub>50</sub>(신규 생장을 50% 억제하는 농도)는 0.03μM이었고 처리 후 6시간 이후부터 신규 생장이 억제되었다. 수경상태의 옥수수 뿌

**Table 3.** Dose response of methiozolin on the incorporation of [<sup>14</sup>C]glucose into corn cell wall constituents (Lee et al 2007).

Concentration (μM)	Cellulose	GAX <sup>1)</sup> 1	GAX2	Pectin	Starch	Cytoplasm
----- % to untreated control -----						
Untreated	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
0.001	96.5	100.8	115.9	97.1	92.0	119.5
0.01	109.9	102.7	119.4	103.0	99.7	109.3
0.1	42.0	79.6	69.5	128.6	117.4	141.7
1	29.8	45.1	51.9	167.2	115.4	165.0

<sup>1)</sup> GAX : Glucuronoarabinoxylans.

리에 [ $^{14}\text{C}$ ]glucose를 이용하여 세포벽 생합성 저해 정도를 측정한 결과  $1\mu\text{M}$  농도에서 cellulose 및 hemicellulose의 생합성을 50% 이상 저해하는 강력한 저해활성이 측정되었다(표 3). 이러한 저해정도는 기존의 알려진 세포벽 생합성 저해제인 dichlobenil이나 quinclorac의 경우보다 훨씬 더 강한 것이었다. 다만, 옥수수 뿌리에서 관측한 세포벽 생합성 저해효과는 약제처리 후 12시간 이후부터 측정되어 생장반응이 저해된 이후에 측정되었기 때문에 세포벽 저해가 일차적 작용점인지 2차 반응인지는 불확실하다고 보고하였다(Lee 등 2007). Methiozolin의 작용점에 대해서는 추후 계속 연구가 필요한 분야이다.

### 잔디 제초제로서의 특성

Methiozolin을 한국 들잔디와 벤트그라스, 켄터키 블루그라스, 페레니얼 라이그라스 등 한지형 잔디에 처리한 결과  $2\text{kg ha}^{-1}$  처리에서 경미한 약해가 처리 후 2주에 관찰되었으나 이후 회복되었고, 그 이하 약량에서는 전혀 약해가 없었다(표 4). 한편 효력면에서

methiozolin은 화분과 잡초에 대한 효력이 강하였으므로(표 2), 잔디에서 주요 화분과 잡초인 새포아풀, 바랭이에 대하여 발아전부터 여러 생육기에 걸쳐 약량반응을 살펴본 바, methiozolin은 이들 잡초에 대해 발아전~1엽기 처리는  $0.25\text{kg ha}^{-1}$ 부터 2~3엽기 처리에서는  $1\text{kg ha}^{-1}$ 에서 90% 이상의 뛰어난 방제가를 나타내었다. 종합적으로 methiozolin은  $0.25\sim 2\text{kg ha}^{-1}$  범위에서 각종 잔디에 새포아풀과 바랭이 등 주요화분과 잡초의 방제용으로 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

$0.5\text{kg ai ha}^{-1}$ 를 기준량으로 하여 2008~9년 간 수행한 등록시험용 약효약해시험결과는 표 5와 같다. 전국 6개소의 춘계 처리 시험결과 새포아풀, 바랭이 등 각종 화분과 잡초를 88.5~99.8%까지 안정적으로 방제하였고 잔디에 대한 약해는 전무하거나 매우 경미하여 실용성이 인정되었다.

### 안전성

Methiozolin 원제는 각종 인축독성시험에서 대부

Table 4. Phytotoxicity<sup>1)</sup> of methiozolin in turf sods (Koo and Hwang 2007).

Herbicide	Rate (kg ha <sup>-1</sup> )	Warm season			Cool season								
		Zoysiagrass ( <i>Z. japonica</i> )			Creeping bentgrass			Kentucky bluegrass			Perennial ryegrass		
----- Evaluation time (weeks after application) -----													
		2	4	6	2	4	6	2	4	6	2	4	6
Methiozolin	4	2.7 <sup>2)</sup>	1.7	1.0	2.3	3.0	2.0	2.8	3.0	1.0	3.0	2.7	2.0
	2	1.3	0.2	0.0	2.3	1.7	1.0	2.7	1.3	0.0	2.7	1.3	1.0
	1	0.7	0.0	0.0	1.8	0.5	0.2	0.8	0.7	0.0	0.7	0.3	0.0
	0.5	0.0	0.0	0.0	1.3	0.2	0.0	0.3	0.2	0.0	0.3	0.0	0.0
	0.25	0.0	0.0	0.0	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Dithiopyr	1.92	3.7	3.3	3.0	3.3	4.2	4.2	3.7	4.2	4.2	3.3	2.7	2.3
	0.96	2.3	1.5	1.3	2.3	1.7	2.0	2.2	2.7	2.7	2.0	2.0	1.3
	0.48	1.0	1.0	0.7	1.5	0.3	0.3	1.5	0.5	0.7	1.3	0.3	0.3
LSD <sub>0.05</sub>		0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.3	0.2	0.3	0.3	0.1	0.1	0.1

<sup>1)</sup> Visual evaluation : 0 (no phytotoxicity)~10 (complete plant death).

<sup>2)</sup> Mean of 3 replicates.

**Table 5.** Official efficacy test results of methiozolin 25% EC in Korea<sup>1, 2)</sup>.

Year	Site	Application time	POAAN <sup>3)</sup>	DIGSA	ALOAE	ECHCG	SETVI	PASTH	Total
2008	Yongin	April 28	-	95.0	85.0	87.9	-	-	91.3
2008	Jeju	March 17	96.9	96.5	-	-	-	-	96.7
2009	Yongin	April 28	100	100	98.1	-	-	-	99.1
2009	Gunpo	April 11	92.6	88.1	86.4	-	-	-	90.1
2009	Chuncheon	April 11	-	99.7	100	100	100	-	99.8
2009	Seoul	May 18	-	85.3	-	-	-	85.8	85.5

<sup>1)</sup> The application rate was 0.5 kg ai ha<sup>-1</sup>. Efficacy was evaluated at 40 days after application (DAA) by counting the number of weeds and measuring its dry weight in a quadrat of 50×50 cm. Data were presented as mean percent control relative to the untreated control. All the tests were conducted in a randomized block design with 3 replicates.

<sup>2)</sup> Phytotoxicity was visually evaluated on 10, 20, 30, 40 DAA in a scale of 0 (no phytotoxicity) to 9 (complete plant death). There was no phytotoxicity detected except for Gunpo and Seoul. At Gunpo phytotoxicity was rated 1 at both 0.5 and 1 kg ha<sup>-1</sup> at 10 DAA to creeping bentgrass; and was rated 1 at 1 kg ha<sup>-1</sup> at 20 DAA. The phytotoxicity was recovered thereafter (Data not shown).

<sup>3)</sup> POAAN, *Poa annua*, annual bluegrass; DIGSA, *Digitaria sanguinalis*, large crabgrass; ALOAE, *Alopecurus aeqularis*, shortawn foxtail; ECHCG, *Echinochloa crusgalli*, barnyardgrass; SETVI, *Setaria viridis*, yellow foxtail; PASTH, *Paspalum thunbergii*, Japanese paspalum.

분 시험 guideline 상 최고용량에서도 무독하였으며, 유전독성, 최기형성도 전무하였다. 환경독성 중 어독

성, 물벼룩 급성 독성, 조류(藻類) 생장저해 등에서는 LC<sub>50</sub> 또는 EC<sub>50</sub>가 2ppm 수준으로 국내 어독성 분류

**Table 6.** Toxicological properties of methiozolin active ingredient and formulation.

Material	Tests	Test system	Result
Active ingredient (>97% purity)	Acute Oral	Rat	LD50 > 2,500mg/kg b.w.
	Acute dermal	Rat	LD50 > 2,500mg/kg b.w.
	Skin irritation	Rabbit	Non-irritant
	Skin sensitization	Guinea pig	Non-sensitizer
	Eye irritation	Rabbit	Mild irritant
	Subchronic (13 week feeding)	Rat	NOAEL 5,000ppm
	Reverse mutation assay		Negative
	Chromosome aberration test		Negative
	Micronucleus test	Mouse	Negative
	Teratogenecity	Rat	NOAEL (F0) 1,000mg/kg/d NOAEL (F1) 1,000mg/kg/d
	Teratogenecity	Rabbit	NOAEL (F0) 1,000mg/kg/d NOAEL (F1) 1,000mg/kg/d
Formulation (25% EC)	Acute Oral	Rat	LD50 > 2,000mg/kg b.w.
	Acute dermal	Rat	LD50 > 2,000mg/kg b.w.
	Skin irritation	Rabbit	Mild-irritant
	Skin sensitization	Guinea pig	Non-sensitizer
	Eye irritation	Rabbit	Irritant

**Table 7.** Ecotoxicological properties of methiozolin active ingredient and formulation.

Material	Tests	Test system	Result
Active ingredient (>97% purity)	Fish acute	Medaka	LC <sub>50</sub> (96 h) = 2.24ppm
	Fish acute	Rainbow trout	LC <sub>50</sub> (96 h) = 1.53ppm
	Invertebrate acute	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (48 h) = 2.04ppm
	Algal growth inhibition	<i>S. capricornutum</i>	EC <sub>50</sub> (72 h) = 2.88ppm
	Bee acute/contact	<i>Apis mellifera</i>	LD <sub>50</sub> (48 h) >100µg/bee
	Earthworm acute	<i>Eisenia foetida</i>	LC <sub>50</sub> > 1,000mg/kg soil
	Avian oral	Japanese quail	NOAEL 2,000mg/kg b.w.
	Avian dietary	Japanese quail	NOAEL 5,000ppm
	Silkworm	<i>Bombyx mori</i>	LD <sub>50</sub> > 1,000mg/kg
Formulation (25% EC)	Fish acute	Koi carp	LC <sub>50</sub> (96 h) = 1.22 ppm

상 2급과 3급의 경계선에 위치하는 것 외, 꿀벌, 지렁이, 누에, 조류(鳥類) 등에 독성이 없었다(표 7). 제제(25% EC)도 저독성, 어독성 2급으로 분류되었고, 용제에서 기인하는 안자극과 피부자극이 있었다(표 6).

### 환경동태

Methiozolin은 토양 중에서 미생물과 자외선에 의해 분해 소실되는 것으로 밝혀졌으며 특이한 주요 대사산물이 나오지 않고 처리량 대비 5% 미만의 많은 minor metabolites가 생성되었다. 호기성 토양대사 시험에서 <sup>14</sup>C-methiozolin은 주요 대사산물 생성없이 초기 10일경에 미생물에 의해 빠르게 분해 소실되는 양상을 보였고, 특히 표지된 <sup>14</sup>C은 주로 CO<sub>2</sub>와 bound residue로 귀착되었다(자료 생략). 포장 잔류 시험에서 반감기는 약 10일로 나타났고 토양흡착성이 양호하여 토양중 이동성 분류(mobility class)는 일반토양에서는 “Low”, 사질토에서는 ”Medium”으로 분류되었으며 실제 column leaching test에서도 동일한 결과를 얻었다. 즉, methiozolin은 환경 중에 오래 잔류하거나 특이적 대사물질을 생성하지 않으며 토양 중에서 이동할 가능성도 매우 낮아 친환경적 화합물임이 입증되었다(자료 생략).

### 결론

Methiozolin은 유사계통의 화합물 중 세계적으로 최초 상업화 사례인 독특한 물질이다. 화분과 잡초에 대한 높은 활성을 가지면서 각종 작물에 안전성을 가지는데 특히 잔디에서 새포아풀, 바랭이 등을 잘 방제하는 성질을 이용하여 잔디 제초제로서 상업화에 성공하였다. Methiozolin은 작용기작 또한 신규이며 식물세포벽의 생합성을 저해한다. 또한, 인축독성, 환경독성, 환경동태 측면에서 신농약으로 갖추어야 할 유망한 특성을 두루 갖추었다.

### 감사의 말씀

메티오졸린의 개발은 지식경제부 “고저항성 잡초 방제용 신규 발제초제 개발” 과제(2005. 7.~2010. 6.)의 지원을 받아 이루어졌습니다.

### 인용문헌

구석진, 황기환. 2007. 제초성 5-벤질옥시메틸-1,2이속사졸린 유도체 화합물의 용도. 대한민국특허 제 10-0814420.

森田 健, 大野 利治, 桒水 辰也, 木戸 庸裕. 1997. 个ノキ

- サゾリン誘導体及び除草劑. 日本公開特許公報(A) 1997-143171.
- 上原 正浩, 村井 政彦, 馬判 勉, 安藤 旦治. 2001. イソキサゾリン誘導体及び除草劑 並びその使用方法. 日本公開特許公報(A) 2001-158787.
- Munro D. M., and S. B. Patel. 1993. Herbicidal compounds. US Patent 5, 262, 388.
- Hwang I. T., H. R. Kim, D. J. Jeon, K. S. Hong, J. H. Song and K. Y. Cho. 2005. 5-(2,6-Dofluorobenzyl)oxymethyl-5-methyl-3-(3-methylthiophene-2-yl)-1,2-isoxazoline as a useful rice herbicide. *J. Agric. Food Chem.* 53:8639-8643.
- Lee, J. N., S. J. Koo, K. H. Hwang, I. T. Hwang, D. J. Jeon and H. R. Kim. 2007. Mode of action of a new isoxazoline compound. Proc. 21st APWSS Conf. 597-601, Colombo, Sri Lanka.
- Rheinheimer J., K. Eicken, H. Theobald, T. Kueenhoechner, F.-O. Westphalen, B. Wuerzer, J. Frank and N. Meyer. 1991. Isoxazolines, their preparation and their use. US Patent 4, 983,210.
- Ryu E. K., H. R. Kim, D. J. Jeon, J. W. Song, K. M. Kim, J. N. Lee, H. C. Kim and K. S. Hong. 2002. Preparation of herbicidal 5-benzyloxymethyl-1,2-isoxazoline derivatives of weed control in rice. Patent No. WO 200209185.