

효모와 정밀화학



KIST유전공학연구소 서영배 · 고영희

1. 서 론

정밀화학을 대표하는 것으로서는 의약품, 농약, 향료, 아미노산, 염료, 액정, 고가의 화학약품 등이 있으며 이들은 모두 고부가가치 상품의 선두를 달리고있다. 이들중 생물이 대상이 되는 의약품, 농약, 향료 등의 기원은 동식물들의 생리활성물질이며 이러한 생리활성물질에 대한 연구가 현재 세계 각처에서 활발히 진행되고 있다.

이들 생리활성물질들은 거의 대부분이 분자내에 부제탄소(chiral carbon)를 가진 광학활성체로 존재하고 있으며 광학활성과 생리활성과의 사이에 어떤 상관관계가 있다는 것은 오래 전부터 잘 알려진 사실이다. 이에 대한 실례를 그림 1에 나타내었다.

이러한 사실은 생물이 chiral성 분자(각종 아미노산)로 구성되어 있다-chiral성 분위기-는 것을 생각하면 당연한 사실의 반영이며, 생체 내에서 2개의 enantiomer(거울상 이성질체-광학활성만 반대일뿐 다른 물리적, 화학적 성질은 똑같음)는 전혀 다른 화합물로써 인지될 수 있다는것을 이야기해 준다. 따라서 어떤 활성화합물을 합성해서 그 화합물의 생리활성을 정확하게 평가 하려면 광학적으로 순수한 형태로 각각의 enantiomer를 합성하지 않으면 안된다.

더우기, 대상이 우리 인간을 상대로 하는 의약품의 경우에는 입체화학과 생리활성과의 관계를 신중히 신중을 가해서 해석하지 않으면 안된다. 의약품에 있어서 thalidomide의 비극을 살펴보면, 실은 라세

미체(racemic type-각각의 enantiomer의 등량화합물)를 사용한 것이었다. 그후 광학활성과 생리활성 간의 상관관계를 조사해본 결과 2개의 enantiomer 중에서 (S)-체에서는 선천성 기형 발생을 유발하고 (R)-체에서는 부작용없이 원하는 진정작용만을 나타낸다는 것이 판명 되었다. 이와같이 양 enantiomer중에서 한쪽의 enantiomer가 부작용을 나타내는 것에 비하여 한쪽의 enantiomer가 전혀 활성을 나타내지않는 비활성의 경우나 또는, 활성을 저하시키는 경우는 그래도 좋은 편이라 할 수 있다. 그렇지만 후자의 경우도 효율을 반이하로 저하시키는 우를 범하는 것과 같다고 할 수 있다. 최근의 의약품 승인에 있어서 광학활성 의약품의 경우에는 광학활성과 생리활성 간의 상관관계를 필수적으로 요구하는 경향으로 흘러 가고 있다.

이와같이 의약품을 중심으로한 광학활성 생리활성물질의 제조 즉, 정밀유기합성은 정밀화학의 꽃이라 할 수 있다. 이러한 광학활성물질은 통상의 유기화학적 수법으로 합성하면 라세미체로 얻어지고 광학활성체로 얻을 수 없다. 그래서 최근 chiral중심을 가지는 간단한 화합물(광학활성합성원료-chiral building block, chiral synthon)을 원료로해서 입체선택적으로 반응을 조절함으로써 다양한 광학활성 표적 화합물을 합성하는 방법이 활발히 진행되고 있다. chiral building block의 제조 방법을 살펴보면 다음과 같은 방법이 있다.

1) 화학적 부제합성법

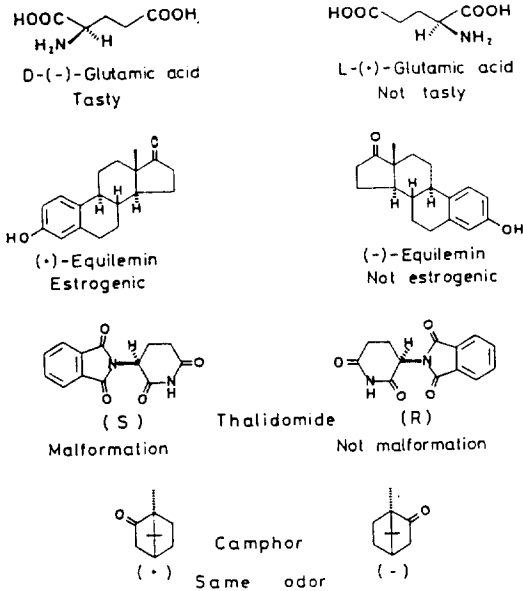


그림 1. Chirality and biological activity.

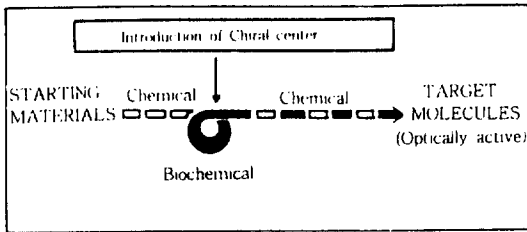


그림 2. Synthesis of optically active compounds.

- 2) 라세미체의 광학분할법
- 3) 입수 용이한 광학활성 천연물(당, 아미노산등)을 직간접으로 이용하는 방법
- 4) 효소법(효소 또는 미생물에 의한 부제유도법)

이러한 방법들 중 합성화학자들은 일반성, 범용성이 높은 화학적 방법(1,2,3)을 주로 이용하지만 최근에는 합성의 초기 단계에 다양한 유용 생리활성물질의 합성 중간체로서의 이용에 목적을 두고 입체특이적성질(stereospecificity)과 입체선택적성질(stereoselectivity)이 높은 생물학적 방법을 도입하여 chiral building block을 창조하는데 많은 노력을 기울여 왔다(그림 2).

본 총설에서는 최근 생리활성물질의 광학활성체 합성에 많이 이용되는 생물학적 방법인 산화, 환원,

STERESELECTIVE REDUCTION OF A PROCHIRAL KETONE BY YEAST

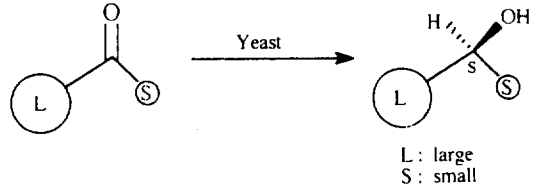


그림 3. Prelog Rule.

가수분해, 에스테르화, 탄소-탄소 결합반응 등에서 간단하게 이용할 수 있는 미생물의 환원반응, 특히 주위에서 손쉽게 구할 수 있는 빵 효모(Saccharomyces cerevisiae)를 이용한 케톤의 부제환원반응(asymmetric reduction)에 의한 여러가지 유용한 chiral building block의 제조와 이들의 생리활성물질합성 응용에 관해 간단히 소개하고자 한다.

2. Chiral Building Blocks by Yeast Reduction

2-1. 효모의 환원반응

1960년대에 Prelog¹, Mosher² 등의 선구적인 연구에 의해 baker's yeast에 의한 케톤류의 부제환원의 입체화학은 그림 3에 나타낸 것과 같이 경험적으로 일반화된 Prelog 법칙으로서 잘 알려져 있으며 최근 합성화학자들은 케톤으로부터 광학활성 알코올의 제조에 손쉽게 구할 수 있는 yeast를 biocatalyst로 널리 이용하고 있다.

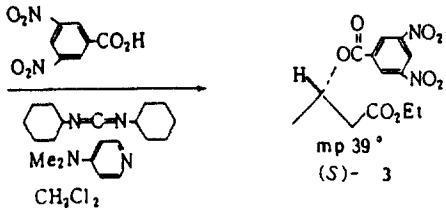
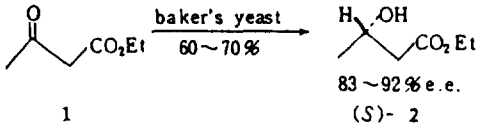
2-2. Keto ester의 환원

2-2-1. Ethyl 3-hydroxybutanoate

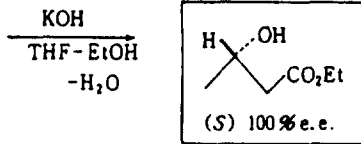
생리활성 천연물에는 CH₃CH(OH)CH₂R 구조의 부제탄소를 분자내에 가지는 것들이 많이 존재하며 광학활성인 ethyl 3-hydroxybutanoate는 이러한 구조를 구축하는 유용한 합성원료이다.

1976년 baker's yeast로 β-keto ester 1을 부제환원시키면 (S)-alcohol 2가 얻어진다는 것이 Ridley 등에 의해 보고된³ 이후 많은 연구자들에 의해 이 부제환원이 검토되었으며 이들은 약 83~92% e.e.의 광학순도를 가지는 (S)-2가 60~70%의 수율로 얻어진다고 보고하였다(그림 4).

광학순도의 측정은 Frater³는 광학활성 Shift 시약



Recrystallization



報告者	(α) _D (CHCl ₃)	optical purity
Ridley et al.	+ 38.5°	----
Seebach et al. ⁴	- 36 ~ + 36.5°	84-85% e.e.
Frater	+ 31.3°	70% e.e.
Meyers et al.	+ 41.7°	97% e.e.
Mori	+ 32.7°	86-87% e.e.
Mori et al.	- 37.5°	92% e.e.
Schurig et al. ⁴	- 39.5°	89.2% e.e.

그림 4. Preparation of ethyl (S)-3-hydroxybutanoate.

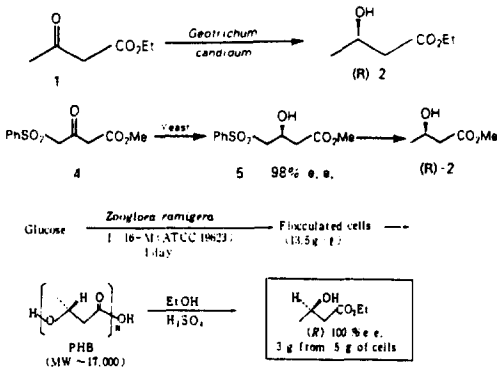


그림 5. Preparation of ethyl (R)-3-hydroxybutanoate.

Eu(hfc)₃ 존재하에 NMR 측정으로 70% e.e.로 그리고 Meyers⁶ 등은 같은 방법으로 97% e.e. 이상이라 보고하였으며 Mori 등은^{7,8} 대응하는 MTPA ester를 Shift 시약 Eu(fod)₃ 존재하에 NMR 측정과

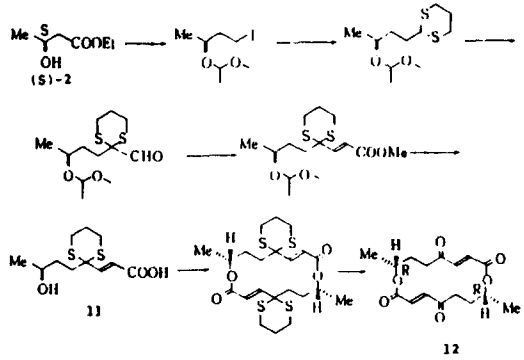


그림 6. Natural products synthesized from 2.

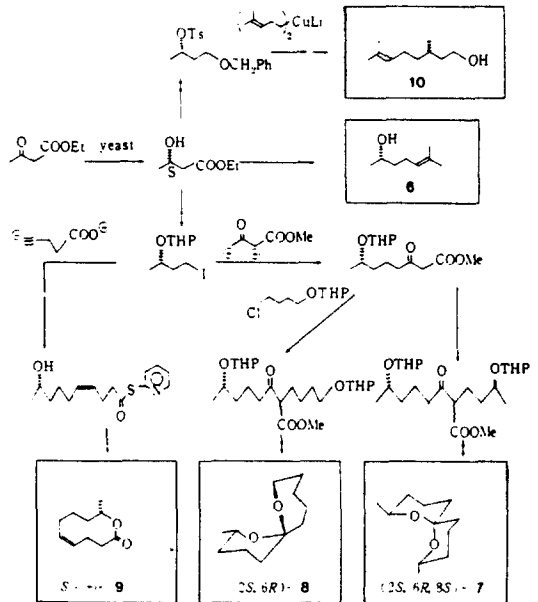


그림 7. Synthesis of (-)-pyrenophorin.

capillary-GLC 분석으로 86~87% e.e.와 92% e.e.라고 보고하였다.

얻어진 광학순도 80~90% e.e.의 hydroxy ester는 대응하는 결정성 3,5-dinitrobenzoate 3의 재결정으로 순수하게 정제한 후 가수분해시킴으로써 순수한 100% e.e.의 (S)-2를 얻을 수 있다.

한편 대응하는 ethyl(R)-3-hydroxybutanoate는 *Geotrichum candidum*에 의한 1의 부채환원으로 89.6% e.e.의 광학순도를 가지는 (R)-2가 얻어진다는 것이 보고되었으며¹⁰ 또 다른 방법으로는 분자내에 제거가 용이한 phenylsulfonyl기(large group)으로써

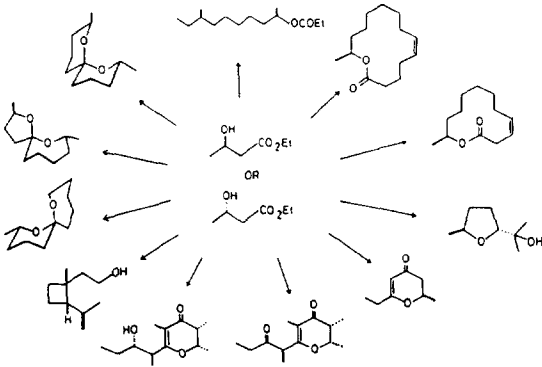


그림 8. Utilization of optically active ethyl 3-hydroxybutanoate.

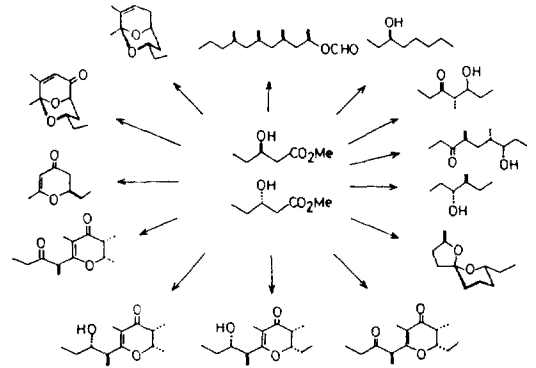


그림 10. Utilization of optically active methyl 3-hydroxypentanoate.

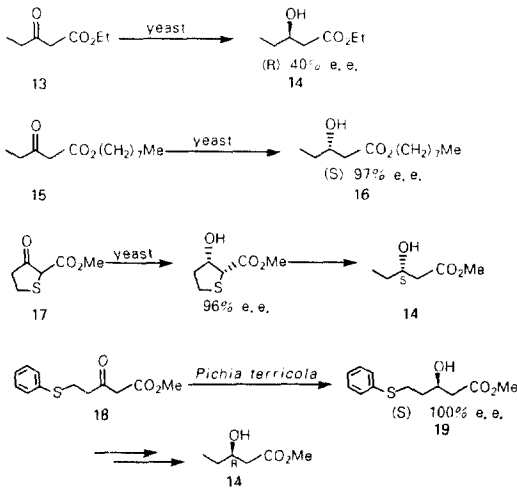


그림 9. Preparation of both the enantiomers of methyl 3-hydroxypentanoate.

작용)를 도입한 기질4를 이용한 baker's yeast 환원이 보고되어 있다(그림 5). 그후 보다 더 광학순도가 높고 대량으로 (R)-2를 얻기위해 다음과 같은 방법이 개발되었다. 1976년 Tomita¹¹ 등에 의해 황성오니균 *Zoogloea ramigera* I-16-M(ATCC 19623)이 균체내에 대량으로 (무계비 60~70%) poly(3-hydroxybutanoic acid)(PHB)를 축적한다는 것을 보고하였으며 균체를 직접 가에탄올 분해함으로써 광학순도 100% e.e.의 (R)-2를 제조하였다¹².

화학실험실에서 용이하게 얻어지는 고풍학순도의 ester 2는 각종 광학활성 천연물의 양 enantiomer 합성에 널리 이용되고 있다. Mori 등의 (R)-및 (S)-2를 이용한 딱정벌레 (*Gnathotrichus retusus*)의

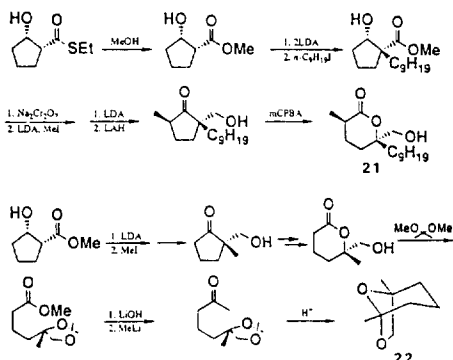
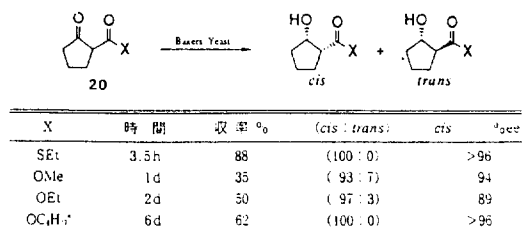
pheromone인 sulcatol 67, spiro환을 가지는 벌 (*Andrena wikella* 및 *Andrena haemorrhoea*)의 pheromone 7,88, 13 및 하늘소 (*Phoracantha synouyma*)의 방어물질인 phoracantuoride-J 914 그리고 향료 물질인 citronellol 1015의 합성을 그림 6에 나타내었다.

Seebach¹⁶ 등은 절대구조가 알려져 있지 않은 세 포독을 나타내는 (-)-phrenophorin 12를 (S)-2에서 출발하여 합성하여 천연형의 (-)-12는 (R,R) 배치의 절대구조를 가진다고 결정하였다(그림 7). 기타 여러 응용예들을 그림 8에 나타내었다¹⁷.

2-2-2. Methyl 3-hydroxypentanoate

부분구조로 $CH_3CH_2CH(OH)CH_2R$ 구조를 가지는 많은 생리활성물질들의 광학활성체 합성에 3-hydroxypentanoate의 양enantiomer 역시 유용한 chiral building block이다. Frater¹⁸는 ethyl 3-oxopentanoate 13의 baker,s yeast에 의한 부제환원을 검토한 결과 광학순도 40% e.e.의 (R)-alcohol 14'를 67%의 수율로 얻었으며, 이를 이용하여 딱정벌레 *Scoly multistriatus*의 pheromone 구성성분의 하나인 4-methyl-3-heptanol의 비천연형 (3R,4R)체를 합성하였다.

여기서 acetoacetate보다 탄소수가 단하나 증가하는데 따른 baker's yeast환원의 입체선택성의 큰 변화를 보여준다. 그러나 기질을 ethyl ester 대신에 octyl ester 15로 변화시키면 (S)-alcohol 16인 환원 생성물을 높은광학순도로 얻을 수 있다¹⁹. 또한 5환원인 thiophene환의 keto ester 17을 기질로 이용하면 (S)-14의 제조도 보고되고 있다²⁰.

그림 11. Reduction of cyclic β -keto ester.

그리고 Mori 등은²¹ Prelog법칙의 응용으로 bulky group으로서 S원자를 함유하는 기질 18을 사용하여 고온성 효모 *Pichia terricla*로 환원시켜 광학순도 100% e.e.의 (S)-hydroxy ester 19를 얻었으며 이를 화학적으로 처리하여 methyl (R)-3-hydroxy pentanoate 14를 제조하였다(그림 9).

Frater은 곤충 pheromone인 4-methyl-3-heptanol을 합성하였으며 Mori 등도 serricornin, lardolure, L-hexanolide 등 다수의 pheromone을 합성하였다¹⁷(그림 10).

한편, Fujisawa 등은 또 다른 형태의 keto ester 20의 빵 효모에 의한 환원은 cis체가 우선적으로 생성되며 이를 이용한 항생물질 (1R,5S)-(-)-malyngolide 21과 곤충 pheromone인 frontalin 22의 합성을 보고 하였다(그림 11)¹⁸.

2-3. Ketone의 환원

Ketone의 환원에 있어서 일반적인 화학적인 수법으로는 다양한 관능성을 가지는 ketone의 부제환원에도 효모는 다른 부반응을 별로 보이지 않기 때문에 많이 이용되고 있다. 단순 ketone 또는 diketone의 부제환원을 이용한 간단한 몇가지 예를 살펴보면 chiral synthon으로 (S)-3-hydroxy-2,2-dimethylcyclohexanone¹⁷이 있으며, epoxy alcohol 23제

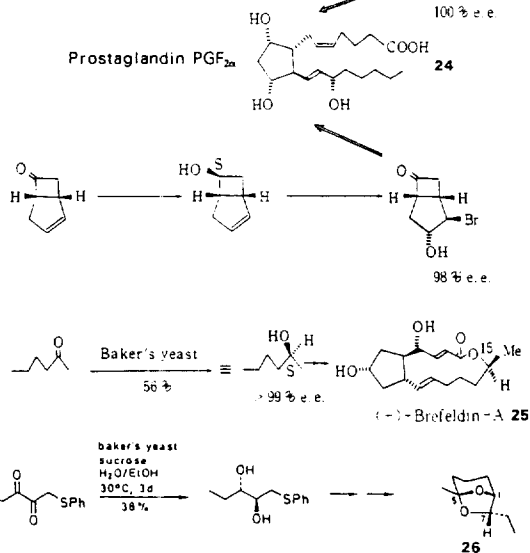
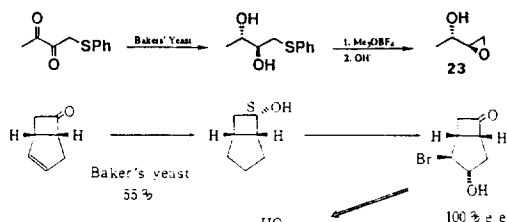
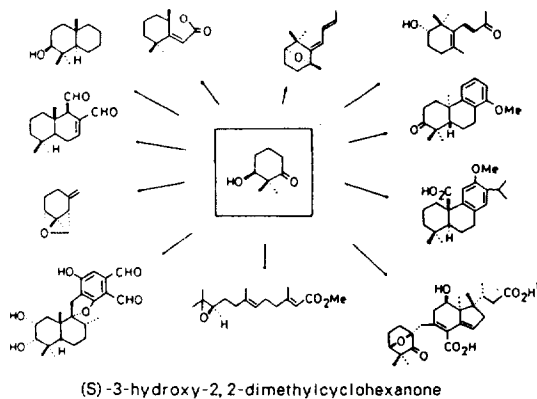


그림 12. Reduction of ketone.

조¹⁹, 천연형 prostaglandin PGF-2 2420, 항생물질 (+)-brefeldin-A 2521, (+)-endo-brevicomin 2622의 합성 등이 있다(그림 12).

3. 결 론

이상 효모의 다양한 화학적 이용중에서²³ 효모의 부제환원반응을 이용한 chiral building block의 제

조와 이를 이용한 광학활성 생리활성물질의 합성에 대하여 살펴 보았다. 효모의 환원반응을 이용한 광학활성 알콜의 제조는 미생물 학자들에 의해 오래 전부터 연구되어 왔으나 합성화학자의 손에 들어온 것은 최근의 일이라 하겠으며, 이러한 환원생성물인 광학활성 알콜은 생리활성물질의 합성에 있어서 유용한 합성중간체이며 광범위한 응용의 가능성을 가지고 있다. 최근 고부가 가치상품으로 부상된 광학활성 생리활성물질의 합성에 있어서 생물학적인 입체특이적, 입체선택성 성질을 이용한 효모의 환원반응은 다양한 기질에 적용이 가능하므로 합성경로의 입안단계에서 적당한 기질을 설계하여 적용시키면 간편한 chiral center의 도입을 가능케하며 복잡한 반응에 있어서 효율 좋은 합성방법의 개발이 가능하리라 기대된다.

참고문헌

1. V. Prelog, *Pure Appl. Chem.*, **9**, 119 (1964).
2. R. MacLeod, H. Prosser, L. Fikentscher, J. Lanyi and H.S. Mosher, *Biochemistry*, **3**, 838 (1964).
3. B.S. Deol, D.D. Ridley and G. Simpson, *Aust. J. Chem.*, **29**, 2459 (1976).
4. a) B. Seuring and D. Seebach, *Helv. Chim. Acta*, **60**, 1175 (1975). b) E. Hungerbuhler, D. Seebach and D. Wasmuth, *Helv. Chim. Acta*, **64**, 1467 (1981). c) K. Hintzer, B. Koppenhofer and V. Schurig, *J. Org. Chem.*, **47**, 3853 (1982).
5. G. Frater, *Helv. Chim. Acta*, **62**, 2825 (1979).
6. A. I. Meyers and R. A. Amos, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 870 (1980).
7. K. Mori, *Tetrahedron*, **37**, 1341 (1981).
8. K. Mori and Tanida, *Tetrahedron*, **37**, 3221 (1981).
9. 4-a), b).
10. a) B. Wipf, E. Kupfer, R. Bertazzi and H.G.W. Leuenberger, *Helv. Chim. Acta*, **66**, 485 (1983). b) K. Nakamura, K. Ushio, S. Oka, A. Ohno and S. Yasui, *Tetrahedron Lett.*, **25**, 3979 (1984).
11. T. Fukui, A. Yoshimoto, M. Matsumoto, S. Hosokawa, T. Saito, H. Nishikawa and K. Tomita, *Arch. Microbiol.*, **110**, 149 (1976).
12. D. Seebach, and M.F. Zuger, *Helv. Chim. Acta*, **65**, 495 (1982).
13. K. Mori, and M. Maturada, *Liebigs Ann. Chem.*, **157** (1984).
14. T. Kitahara, K. Koseki, and K. Mori, *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 389 (1983).
15. K. Mori, and T. Sugai, *Synthesis*, 752 (1982).
16. B. Seuring, and D. Seebach, *Liebigs Ann. Chem.*, 2044 (1978).
17. Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry*, Vol. 1, *Stereoselective Synthesis(Part A)*, Elsevier, 1988, pp. 677-712.
18. G. Frater, *Helv. Chim. Acta*, **62**, 2829 (1979).
19. K. Mori, H. Mori, and T. Sugai, *Tetrahedron*, **41**, 919, (1985).
20. R.W. Hoffmann, and W. Ladner, *Chem. Ber.*, **116**, 1631 (1983); *Tetrahedron Lett.*, **23**, 3479 (1982).
21. T. Sato, H. Maeno, T. Noro, T. Fugisawa, *Chem. Lett.*, 1988, 1739.
22. T. Fugisawa, E. Kojima, T. Sato, *Chem. Lett.*, 1987, 2227.
23. a) R.F. Newton, J.P. Derek, P. Reynolds, S. Young, and S.M. Roberts, *J.C.S. Chem. Comm.*, 1979, 908. b) R.F. Newton and S.M. Roberts, *Tetrahedron*, **36**, 2163 (1989).
24. C. Le Drian and A.E. Greene, *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, 5473 (1982).
25. K. Mori, M. Ishikura, and Y.B. Seu, *Synthesis*, 1991, 487.
26. Rene Csuk and B.I. Glanzer, *Chem. Rev.*, **91**, 49-97 (1991).