

Carpenter bee pheromone의 2-methyl-5(S)-hexanolide의 부분 입체선택적 합성

장재혁 · 이상준 · 김정한*

연세대학교 공과대학 식품생물공학과

초록 : Ethyl acetoacetate를 빵효모가 환원해 생산한 ethyl-(S)-3-hydroxy-butyrate(**2a**)를 키랄 출발물질로 하여 수목에 피해를 끼치는 해충인 carpenter bee의 수컷이 분비하는 성 페로몬인 cis-2-methyl-5-hexanolide(**1**)을 diastereomer로 합성하였다. 역합성적 분석을 통한 합성계획으로부터 T-Goal로 Wittig반응을 잡고 출발물질을 환원하여 얻은 알데히드 **4**와 triethyl 2-phosphonopropionate(**7**)을 Horner-Emmons반응시켜 α,β -불포화 에스테르 **5**를 얻은 뒤 catalytic hydrogenation과 lactonization을 시켜 carpenter bee 페로몬 **1**을 전체수율 37%로 쉽고 간단하게 합성하였다(1993년 11월 2일 접수, 1993년 12월 27일 수리).

Pheromone은 동일한 종의 곤충이 그들 상호간에 의사소통 수단으로 이용하는 제외분비 화학물질이다. 식물과 곤충은 자연계에서 서로 밀접한 연관을 맺고 있어서 서로 영향을 주고받는다. 따라서 식량의 증산이나 임업 원재료의 확보를 위해 곤충의 Pheromone을 미래의 무공해 농약으로 농업과 임업분야에 요긴하게 쓸수있으나 곤충체내에서 극미량만이 생산되므로 이들의 정확한 작용을 연구하고 이를 토대로 인간이 유용하게 연구하는데 어려움있다. 따라서 화학적으로 대량생산할 필요가있고 전합성을 통해 정확한 입체화학적 규명이 필요하다. 많은 곤충 Pheromone들이 이미 전합성을 통해 입체선택적으로 합성되었고 그 합성된 Pheromone을 이용해 활성 분자의 정확한 입체구조와 field test를 통해 무공해 농약으로서 가능성을 제시한 바 있다.^{1,2)} Cis-2-methyl-5-hexanolide는 북미주에 서식하는 carpenter bee(*Xylocopa Hirutissima*)의 수컷이 턱밀샘에서 분비하는 pheromone 중 가장 큰 생리활성을 갖는 주성분으로 암컷을 자극하여 교미를 촉진하는 물질로 밝혀져있다. 이러한 cis-2-methyl-5-hexanolide의 합성방법은 몇몇 연구자들에 의해 고안되었다. Wheeler 등은 2,5-dimethylpentanone을 Bayer-Villiger 산화시켜 네가지 입체이성질체를 라세믹 혼합물로 얻은바³⁾ 있으나 각각의 enantiomer를 분리하기가 매우 어려운 단점이 있으며, Pirkle과 Adams는 합성 중간체인 5-cyanopentane-2-ol이 라세믹 혼합물로 얻어져

이들을 순수한 enantiomer로 분리하기 위하여 (R)-(-)-1(1-naphthyl)ethyl isocyanate를 이용해 diastereomer 형태의 carbamate를 만들어 광학분리한 후 몇번의 합성 단계를 거쳐 최종적으로 목적 화합물을 diastereomer로 얻은바⁴⁾ 있으나 이들의 방법은 항상 광학분리라는 어려운 분리단계를 거친다. 반면 Mori 등은 이같이 라세믹 혼합물의 분리가 번거러워 비대칭합성을 하여 한가지 enantiomer를 얻은 바 있다.⁵⁾ 출발물질 자체를 광학활성이 있는 methyl- β -hydroxyisobutyrate의 한 가지 enantiomer와 ethyl(S)-lactate의 두 가지 화합물로부터 각각 2(R)-methyl-3-phenylsulfonyl 1-butanol과 1,2(R)-epoxypropane을 얻은 뒤 두 화합물을 결합시켜 목적화합물을 순수하게 얻은 바 있다. 이같은 합성방법은 매우 훌륭한 방법이나 출발물질 자체가 순수한 enantiomer로서 가격이 매우 비싸다는 점을 고려할 때 대량생산에 문제가 있다.⁶⁾ 따라서 본 연구에서는 산업적 실용화가 가능하도록 효율적으로 생리활성이 있는 carpenter bee pheromone의 합성방법을 고안하고자 하였다. Fig. 1에서 볼 수있듯이 Baker's yeast를 이용하여 키랄출발물질이 되는 (S)-3-hydroxybutanoate(**2a**)를 대량으로 얻어 간단하고 비교적 쉬운 반응경로를 선택해 신속하게 carpenter bee pheromone의 diastereomer를 전체수율 37%로 얻을수 있었다.

Key words : Carpenter bee pheromone, Baker's yeast, 키랄전구체
*Corresponding author : J.-H. Kim

재료 및 방법

실험재료

구조의 확인에는 Bruker AC-80(80 MHz) NMR spectrometer와 Jeol NMR spectrometer (270 MHz)를 이용하였다. 컬럼 크로마토그래피용 실리카 겔은 Merck사의 Kieselgel 60(Art. No. 7734)을 이용하였고 실험에 사용한 모든 시약은 시약급이다. Ethyl 2-bromopropionate, oxalyl chloride, n-BuLi(1.6 M in Hexane), p-toluenesulfonic acid(pTsOH, 1H₂O), ethyl 4-acetyl-butyrate 등은 Aldrich Co. 제품을, Pd-C(5%)는 Fluka, lithium aluminum hydride(LAH)와 triethylphosphite [(EtO)₃P], diisopropylamine은 Janssen, p-toluenesulfonyl chloride(pTsCl)는 Hayashi, pyridine은 서울화성제품을 사용하였고 기타 용매는 동양이화학 제품을 이용하였다.

실험방법

1) Ethyl(S)-3-hydroxybutyrate(**2a**)의 합성

Ethyl acetoacetate 13.4 g을 오 방법⁷⁾과 동일하게 시행하여 무색 투명한 화합물 **2a**를 12 g 얻었다. TLC(EtOAc : cyclohexane = 1 : 2)에서 R_f=0.3~0.35에 단일 spot를 확인하였다. bp₁₁=53~54°C (수율 97%)

2) Ethyl (S)-3-tetrahydropyranloxybutyrate(**2b**)의 합성

얼음조에 설치한 250 ml 둥근 플라스크에 dihydropyran(DHP) 3.15 g(37.5 mmol)과 hydroxyester(**2a**) 3.3 g (25 mmol)을 넣고 건조된 디클로로메탄 80 ml에 녹인 뒤 디클로로메탄에 녹인 pyridinium toluenesulfonate (PPTS) 0.6 g(0.1 eqv.)을 첨가하여 교반시켰다. 격렬히 교반하면서 상온으로 온도를 올린 뒤 12시간을 반응시켰다. 반응액을 에테르 400 ml로 희석한 뒤 반 쪼 포화된 소금물로 한번 세척하여 무수 Na₂SO₄로 건조하고 여과 농축해 노란 기름상을 얻었다. 위 농축액을 5 cm vigreux column을 달아 분별증류하여 무색투명한 기름상을 5.4 g (25 mmol) 얻었다(수율 98%). TLC(EtOAc : cyclohexane = 1 : 1)에서 R_f=0.7인 단일 spot를 확인하였다. (bp₁₁=98~100°C): ¹H-NMR(CDCl₃) δ 4.75(m, 1H), 4.15(q, 2H), 3.75(m, 1H, 2H), 2.45(m, 2H), 1.75(m, 6H), 0.88~1.55(m, 6H)

3) (S)-3-tetrahydropyranloxybutan-1-ol(**3**)의 합성

100 ml 3구 둥근 플라스크에 LiAlH₄ 0.48 g(12.3 mmol)을 넣고 건조된 에테르 70 ml를 천천히 첨가하였다. 위 현탁액을 잘 교반하면서 50°C로 가열하여 LiAlH₄를 녹인 뒤 tetrahydropyranloxyester(**2b**) 3.53 g(16.32 mmol)을 에테르 3 ml에 녹여 천천히 떨어뜨리며 첨가한다. 잠시

후 거품이 줄어들면 약 다섯시간 동안 환류시켰다. TLC로 반응종결을 확인한 다음, 0.48 ml 증류수, 0.48 ml 15% NaOH 수용액, 1.44 ml 증류수를 순서대로 첨가해 격렬히 교반 후 온도를 상온으로 내리고 무수 MgSO₄를 두껍게 간 sintered glass funnule를 통해 여과하고 에테르로 여러번 세척한 뒤 유기층을 모아 농축하여 화합물 **3**을 2.83 g(16.3 mmol) 얻었다(수율 98%): ¹H-NMR(CDCl₃) 4.69~4.74(br, 1H), 3.34~4.17(br, m, 5H), 1.55~1.84(m, 6H), 1.12~1.23(d, 3H)

4) (S)-3-Tetrahydropyranloxybutyraldehyde(**4**)의 합성
50 ml 둥근 플라스크를 dry ice-acetone bath(-78°C)에 담근 뒤 CH₂Cl₂ 20 ml를 넣고 oxalyl chloride 0.5 ml(5.75 mmol)를 첨가하였다. 냉각조의 온도가 -50 내지 -60°C가 되면 0.82 ml DMSO(11.54 mmol)를 2.4 ml의 디클로로메탄에 희석하여 재빨리 첨가하였다. 5분 후 화합물 **3**을 1.0 g(5.75 mmol)을 천천히 첨가하였다. 15분 후, triethylamine 1.6 ml(23.1 mmol)를 첨가하고 5분 후, 온도를 상온으로 올렸다. 반응액의 온도가 상온이 되면 증류수 25 ml를 넣어 층을 나눈 뒤 물층은 디클로로메탄으로 추출하여 유기층을 모으고 무수 MgSO₄로 건조, 여과 후 농축한 뒤 컬럼 크로마토그래피(silica gel, EtOAc : cyclohexane = 1 : 2, R_f 0.45~0.5)로 분리하여 화합물 **4**를 0.45 g(수율 92%)을 얻었다: ¹H-NMR(CDCl₃) 9.57 (1H, J=2.1 Hz), 4.67(1H), 3.75(2H), 3.5(1H), 2.6(2H), 1.6(6H), 1.4(3H)

5) Triethyl 2-phosphonopropionate(**7**)의 합성

Oil bath상의 25 ml들이 둥근 플라스크에 triethylphosphite, 4.6 g(27.6 mmol)을 넣고 잘 저어주면서 서서히 가열하여 160°C에 이르도록 한 다음에 2-bromoethylpropionate, 5 g(27.6 mmol)을 조심스럽게 가열하였다니 축합 부산물로 ethylbromide가 단순 증류되었다. 첨가가 끝난 뒤 온도를 재빨리 190°C로 올린 뒤 1시간 동안 반응을 시켰다. 반응액을 60°C로 방냉시킨 뒤 바로 감압증류(bp₈=132~133°C)하여 무색 투명한 기름상의 화합물 **7**을 5.75 g(24.1 mmol) 얻었다(수율 88%). TLC(EtOAc : cyclohexane = 1 : 2), R_f=0.4: ¹H-NMR(CDCl₃) δ 4.4~4.6(6H, m), 3.6~2.7(1H), 1.75(3H), 1.41~1.12(m, 9H)

6) Ethyl 2-methyl-(S)-5-tetrahydropyranloxyhex-2-enoate(**5**)의 합성

50 ml 둥근 플라스크에 화합물 **7**을 0.6 g(2.6 mmol)을 넣고 dry iceacetone bath(-78°C)와 질소 대기하에서 THF 10 ml와 에테르 5 ml에 녹였다. 위 용액을 잘 교반하면서 1.6 M nBuLi 1.75 ml(2.8 mmol)을 천천히 첨가하고 30분 뒤에 화합물 **4** 0.4 g(2.33 mmol)을 천천히 첨가하였다. 반응액의 색깔이 옅어지면 n-BuLi 1.75 ml를

다시 첨가하였다. 이 반응액의 온도를 -78°C 에서 상온으로 천천히 상승시킨 뒤 4시간을 교반시킨 후 차가운 포화 NH_4Cl 수용액 8 ml를 두번에 나누어 첨가하였다. 침전물을 여과하여 제거한다음 얻어진 유기층을 증류수, 포화된 NaHCO_3 수용액, 증류수, 포화소금불 차례로 세척한 뒤 부수 MgSO_4 로 건조하였다. 여과 후 농축하여 투명한 미색 기름상의 혼합물을 1.2 g 얻고 컬럼 크로마토그래피(실리카겔, $\text{EtOAc} : \text{cyclohexane} = 1 : 2$, $R_f = 0.85$)로 분리하여 순수한 α, β -불포화에스테르 **5**를 0.52 g (2.0 mmol) 얻었다(수율 78%): $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 5.95/6.75(1H, =CH-, tq; Z/E), 4.6(1H, THP, m), 4.15(2H, -OCH₂, q), 3.75(2H, THP, m), 3.55(1H, THPO-CH, m), 2.65(2H, -CH₂-, m), 1.8(3H,d), 1.5(6H, THP, m), 1.2 1.1(3H, t)

7) Ethyl 2-methyl-(S)-5-tetrahydropyranlyoxyhexanoate(**6**)의 합성

30 ml 둥근 플라스크에 Pd-C(5%) 0.11 g을 넣고 건조된 메탄올 8 ml를 넣었다. 상온에서 교반하면서 α, β -불포화 에스테르 **5**를 1.3 g(5.08 mmol)을 천천히 첨가하였다. 진공펌프로 반응용기 안의 공기를 제거하고 새겉으로 씌운 고무풍선에 수소를 가득 채워 주사바늘을 통해

수소를 불어 넣고 반응 중간 중간에 수소를 빼고 TLC로 반응의 진행 정도를 확인하면서 반응 종결까지 총 4일간 교반시켰다. 반응이 끝나면 규조토를 깔 sintered glass funnel을 통해 여과하고 약 15 ml의 에테르로 세척한 뒤 모인 유기층을 감압 농축하여 TLC(ether : hexane = 1 : 1)에서 $R_f = 0.6$ 인 노란 기름상 **6**을 1.24 g(4.83 mmol) 얻었다(수율 95%): $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 4.1~3.7(m, 3H), 3.7~3.4(m, 3H), 2.0~1.8(m, 1H), 1.7~1.3(m, 6H), 1.2~0.9(t, 3H)

8) 2-methyl-5-(S)-hexanolide(**1**)의 합성

25 ml 둥근 플라스크에 클로로포름 10 ml와 PPTS 0.05 g(0.194 mmol)을 넣고 질소 대기하에서 교반했다. 위 용액에 화합물 **6** 0.5 g(1.94 mmol)을 2 ml 클로로포름에 녹여 첨가하였다. 위 반응액을 12시간 동안 reflux시켰다. TLC로 반응종결을 확인한 뒤 상온으로 반응액의 온도를 내린 후, 소량의 물로 세척한 뒤 NaHCO_3 수용액으로 중화하고 포화 소금물로 씻은 뒤 무수 Na_2SO_4 로 건조하고 여과한 뒤 농축하였다. 컬럼 크로마토그래피(Silica gel, Ether : hexane = 1 : 1, $R_f = 0.2$)로 분리하여 불순물을 제거한 뒤 n-Hexane으로 12차례 재결정하여 흰색 바늘상 결정인 lactone 화합물 **1** 0.17 g(1.33 mmol)을 얻었다(수율 68%): $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3, 270 \text{ MHz})$ δ 4.47(m, 1H, -OCH), 2.67~2.35(m, 1H, COCH), 2.15~1.87(m, 2H), 1.55(m, 2H), 1.35(d, 3H), 1.25(dd, 3H)

결과 및 고찰

빵효모를 이용한 ethyl acetoacetate의 입체선택적 환원은 이미 잘 연구되어 일반적인 시약처럼 익숙하게 사용할 수가 있다. 일반적으로 기존 문헌에 보고된^{10, 12)} 빵효모를 이용한 케톤기의 알콜로의 환원 예들에서는 수율 65%정도에 enantiomeric excess(ee)값이 94~96%의 결과들이 보고되었으나, 본 실험실 오원택의 방법⁷⁾을 이용하면 수율 91%, ee값 98%로 높은 수율과 높은 입체선택성으로 손쉽게 ethyl(S)-3-hydroxybutyrate를 얻을 수 있어서 그대로 본 실험에 이용하였다. 화합물 **2a**의 히드록시기 보호를 위한 THP 에테르는 대다수의 염기 조건에 안정한 보호기이며 도입과 분리가 쉬워 널리 쓰인다. 산촉매로는 p-toluenesulfonic acid와 PPTS를 이용했다. p-TsOH는 디클로로메탄에 녹지 않으므로 디옥산에 녹여 소량 첨가하였다. 반응액의 성상은 반응 시간의 경과에 따라 점차 녹색을 띤 노란색으로 변하였다. 그런데 산 촉매로 toluenesulfonic acid를 이용했을 경우 반응이 24시간이 걸렸으나 PPTS를 이용했을 때는 12시간에 반응이 종결되었고 반응액의 색도 변화가 없이

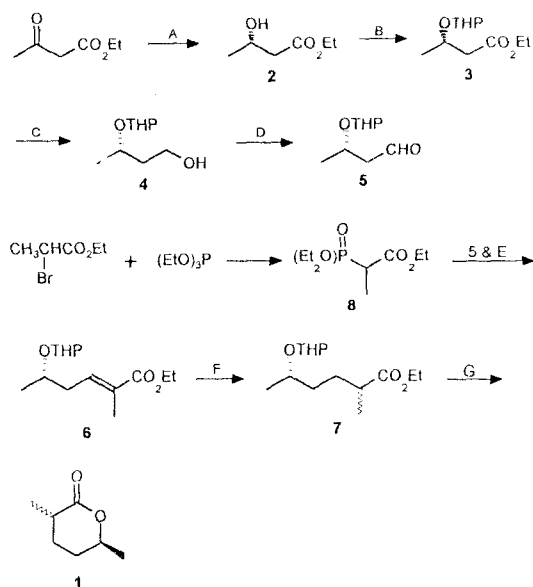


Fig. 1. Synthetic scheme of 2-methyl-5(S)-hexanolide.

A. Baker's yeast, 30°C , 4days; B. DHP, PPTS, CH_2Cl_2 ; C. LAH, Et_2O , room temp., 5 hrs; D. $(\text{COCl})_2$, DMSO, Et_3N , CH_2Cl_2 , -60°C -r.t., 30 min; E. n-BuLi, Et_2O -THF, -78°C -r.t., 4 hrs; F. H_2 , Pd-C (5%), MeOH, r.t., 4 hrs; G. PPTS, CH_2Cl_2 , reflux, 12 hrs.

깨끗하게 진행되었다. Wittig반응을 위한 알데히드 화합물 **3**을 에스테르로부터 마련하기 위해서 hydride 환원제인 LiAlH_4 를 쓰되 정확히 hydride가 한 기질에 하나만 공급되도록 diethylamine을 이용하였다.⁶⁾ 용매로 pentane을 사용하면 hydride를 하나 제공한 뒤 형성된 AlH_3 이 diethylamine과 complex를 이루어 0°C에서 고체로 침전하므로 쉽게 반응이 진행정도를 알수있었다. 2° hydroxyl기를 THP로 보호한 뒤 LiAlH_4 로 에스테르를 알코올까지 환원시킨 뒤 Swern oxidation을 이용해 높은 수율로 알데히드 **4**를 얻을 수 있었다. 또한 Wittig반응을 위한 화합물 **7**의 합성은 일반적으로 Wittig반응에 쓰이는 ylide는 Ph_3P 를 이용해 얻는데 이 경우, 부산물로 형성되는 $\text{Ph}_3\text{P}=\text{O}$ 를 결정의 형태로 제거하려면 번거로운 재결정을 반복해야 하였다. 그러나 $(\text{EtO})_3\text{P}$ 를 사용하면 부산물로 생기는 salt가 물에 잘 녹아 수월하게 제거되어 triethylphosphite를 이용하였고 triphenylphosphine보다 가격이 대단히 싸고 ylide의 합성이 간편하며 짧은 시간에 만들 수 있었다. 본 실험에서는 온도의 조절이 중요하였는데, 이는 실험에 사용된 시약들이 $(\text{EtO})_3\text{P}$ 의 경우, bp=156°C, 그리고 Ethyl 2-bromopropionate가 bp=156~160°C 이므로 온도가 160°C를 넘지 않도록 반응시키고 일단, P-C 결합이 형성되면 반응온도를 올려서 Br 이온이 phosphite의 ethyl기를 공격해 EtBr를 형성하여 종류되어 나오도록 하였다. 화합물 **7**이 포함되어있는 반응액에 n-BuLi을 첨가하여 에스테르의 α -위치에 음이온을 만들어 알데히드 **4**와 Wittig반응을 시켜 목적화합물 **5**를 높은 수율로 얻었다. ¹H NMR spectrum상에서 C3의 vinyl proton과 α -methyl의 proton간의 allylic coupling과 cis/trans substitution에 따른 chemical shift값에 따라 E/Z olefin의 비율이 약 3:2인 것으로 해석하였다. 화합물 **6**을 합성하기위한 수소화 반응에 있어서 공기 중의 산소는 반응의 진행을 저해하거나 불순물을 형성시킨다고 알려져 있으므로 진공펌프로 공기를 빼내고 수소를 채우는 조작을 거듭함으로써 산소를 거의 제거한 후 반응시켜 총 4일이 지나 반응을 종결하였다. 본 실험에서 수소화 반응의 시간이 길어진 것은 기질이 trisubstituted olefin인데다 THP group이 bulky하여 기질이 촉매표면으로 가까이 접근하는 것을 방해했기 때문인 것으로 생각된다.

최종 화합물인 **1**의 합성을 위해 THP 에테르로 보호된 hydroxyl기를 연한 산촉매로 깨는 동시에 그 조건하에서 in situ로 lactonization하였다. 이에 사용한 산촉매는

PPTS로 pyridine에 p-toluenesulfonic acid monohydrate를 첨가해 반응시킨 뒤 아세톤으로 재결정하여 얻은 뒤 사용하였는데 이 방법의 장점은 본 촉매의 산도가 그리 크지 않아서 후시 일어날 지도 모르는 chiral hydroxy기의 epimerization을 막는 것이다.⁶⁾ 이 반응은 PPTS가 보호기를 제거하여 hydroxy기가 노출되면 산 촉매하에서 에스테르의 carbonyl탄소를 공격함으로써 락톤을 형성하게 되는 것으로 deprotection과 lactonization을 동시에 진행시킴으로써 분리에 따른 수율의 감소를 줄일 수 있었다. 이때 생성된 cis와 trans의 생성비는 NMR spectrum에서 거의 1:1 정도로 나타난다.

감사의 글

이 연구는 한국과학재단(과제번호; 921-0300-028-2) 연구비의 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. Tamaki, Y., Honma, K. and Kawasaki, K.: Appl. Ent. Zool, 12(1) : 60(1977)
2. Mori, K.: "The Total Synthesis of Natural Products" Vol. 4, p.2, J.Apsimon, ed., A Wiley-Interscience Publication,(1981)
3. Wheeler, J. W., Evanse, S. L., Blum, M. S., Velthius, H. H. and de camargo, J. M. K.: Tetrahedron Lett., 45 : 4029(1976)
4. Pirkle, W. H. and Adams, P. E.: J. Org. Chem., 43 : 378(1978)
5. Mori, K. and Senda, S.: Tetrahedron, 41 : 541(1985)
6. Scott, J. W.: "Asymmetric Synthesis" Vol. 4, p. 20, J. D. Morrison, ed., Academic Press,(1984)
7. 오원택: "빵효모를 이용한 알킬 α -메틸- β -케토펜탄산의 입체선택적 환원 및 Sitophilure와 (S)-3-Octanol의 합성" p. 28, 연세대학교 박사학위 논문(1991)
8. Greene, T. W. and Wuts, P.G.M.: "Protective Groups in Organic Synthesis" 2nd ed., John Wiley & Sons, (1991), references cited therein
9. Leopold, E. J.: Org.Synth., Coll. Vol. 7 : 258(1990)
10. Seebach, D., Sutter, M., Weber, R. H. and Zuger, M. F.: Org. Synth., 63 : 1(1985)
11. Mori, K. and Tamida, K.: Tetrahedron, 37 : 3221 (1981)
12. Tsutsui, H. and Mitusunobu, D.: Tetrahedron Lett., 25 : 2159(1984)

The diastereoselective synthesis of 2-methyl-5(S)-hexanolide

Jay-Hyok Chang, Sang-Jun Lee and Jung-Han Kim* (Department of Food and biotechnology, Yonsei University, Seoul, Korea)

Abstract : 2-methyl-5(S)-hexanolide(**1**); the major component of pheromonal blend of the male carpenter bee was synthesized via Horner-Emmons reaction from Ethyl(S)-3-hydroxybutyrate(**2a**) which had been obtained by Baker's Yeast reduction in overall yield 39%.