

환경 친화적 정밀화학물질 합성을 위한 생물유기합성의 접목

(Bio-Organic Synthesis: Integration of Biosynthesis and Organic Synthesis for New Environmentally Friendly Fine Chemical Synthesis)

Review

김동휘 - 세종대학교 생명공학대학 식품공학과

1. 서론 (Introduction)

화학 산업은 생산 집약적 산업으로 하나의 중요한 Keystone Industry로 구분되고 있다. 다양한 화학물질은 인간이 살아가는 현대사회의 중요한 기본 물질로, 주거시설, 식품, 농업, 의약, 전기 통신을 비롯한 모든 분야에 필수적으로 사용된다. 전세계적으로 연간 2억 7천만 ton의 석유화학제품을 이용하여 년 \$1.5 trillion의 화학물질이 생산되고 있으며, 이러한 화학물질 생산업계의 가장 큰 과제는 지속적으로 생산성을 유지할 수 있는 새로운 기술의 개발이다 (Development of Sustainable Chemical Process - Long term Sustainability). 최근 석유의 가격의 상승에 따른 공급의 불확실성 및 소비자의 환경 보존에 대한 관심의 집중으로 인해 화학 업계의 장기적인 생산성 유지에 관한 연구는 Renewable feed stock을 이용해 화학 물질을 생산하는 생합성 공정 (Biosynthesis)의 개발에 집중되고 있다. 하지만 생합성 공정을 통해, 농산물을 비롯한 재활용이 가능한 원부자재를 이용한 화학물질의 대량 생산은 기존의 유기합성과 비교하여, 생산성 및 가격 경쟁 면에서 단기간 내 유기합성을 대체할 가능성이 적다. 이 논문은 최근에 연구노력이 집중되고 있는

Biotechnology를 화학 업계에 응용시켜 기존의 원부자재 (feed stock) 또는 유기합성을 통해 생성된 기본 소재에 생물체의 생물 전환 (Biotransformation) 기능을 조화시켜 독특한 새로운 물질을 합성하거나, 기존의 유기합성 공정의 최적화를 통해 생산성과 경제성이 높은 환경 친화적 새로운 화학합성방법인 생유기합성 (Bio-Organic synthesis)의 개발에 초점을 맞추고 있다. 환경 친화적 생유기합성의 공정 개발은 과거 10여 년 동안 대다수의 국제적 화학 회사의 연구소 및 대학 화학/화학공업 관련 연구소의 화학 관련 R&D의 중요한 과제 중의 하나였다. 이러한 연구 노력은 작게는 유럽 공동체 (European Union; EU)를 중심으로 추진되는 "Process Innovation towards a Cleaner Environment" 부터 크게는 "Kyoto-Conference" 통한 세계적인 경향으로 나타나고 있으며, CO₂배출을 최소화할 수 있는 생촉매 (Biocatalysis)를 비롯한 환경 친화적 촉매의 개발 및 생산 공정의 개발과 재활용이 가능한 생물 소재의 사용에 목표를 두고 있다. 생유기합성은, 최근까지의 석유화학 제품을 이용해 유기합성을 통한 정밀화학물질의 생산을, 새롭게 개발된 분자생물학 (Molecular Biology)를 비롯한 생명공학 (Biotechnology) 기술과 정보 과학 (Information Science)를 연계한

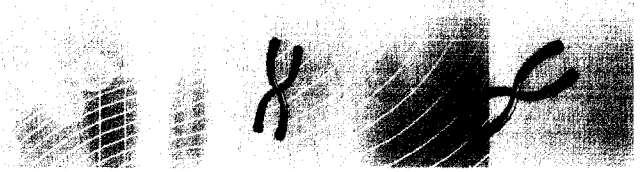


Table 1. 생유기합성에 이용되는 다양한 효소 및 미생물 (Koeller and Wong, 2001)

| Enzyme Activity | Reactions |
|-------------------------------------|--|
| Esterase / Lipase | Ester Hydrolysis, Ester Formation |
| Amidase (Protease / Acylase) | Amide Hydrolysis, Amide Formation |
| Dehydrogenase | Oxidoreduction of Alcohols and Ketones |
| Oxidase (Monooxydase / Dioxygenase) | Oxidation |
| Peroxidase | Oxidation, Epoxidation, Halohydration |
| Kinase | ATP dependent Phosphorylation |
| Aldolase / Transketolase | Aldol Reaction (C-C Bond Formation) |
| Glycosidase / Glycosyltransferase | Glycosidic Bond Formation |
| Phosphorylase / Phosphotase | Formation / Hydrolysis of Phosphate |
| Sulphotransferase | Formation of Sulphate esters |
| Transaminase | Amino Acid Synthesis (C-N Bond) |
| Hydrolase | Hydrolysis |
| Isomerase / Lyase / Hydratase | Isomerization / Addition / Elimination / Replacement |

Multidisciplinary Science로, 재조합 기술 (Combinatory Technology)의 하나로써 생합성법과 유기합성법을 접목한 새로운 생유기합성 Program 개발의 가능성을 제시하고 있다.

2. 생유기합성 (Bio-Organic Synthesis)

유기합성기술은 의약품을 포함한 모든 석유화학 제품의 생산에 가장 중요한 도구로서 개발되었다. 앞으로도 유기합성기술은 지속적으로 이용되겠지만, 화학물질의 선택적인 합성 및 생산성 (Selectivity and Efficiency)을 높이기 위해 주로 이용되는 중금속을 비롯한 유독한 Organo-metallic 촉매의 사용은 환경에 유해할 뿐 아니라, 유기합성반응이 대부분 높은 온도나 기압 하에서 이루어져 많은 Energy를 소모하기 때문에 이에 따른 2차적인 환경 오염의 부작용을 지니고 있다. 이러한 환경 오염의 부작용을 극복하기 위해 환경 친화적인 새로운 합성기술 개발이 요구되며, 생유기합성기술을 기반으로 한 합성기술이 새로운 가능성을 제시하고 있다.

생유기합성은 정밀 화학 물질의 생산을 위해 유기합성법에 생합성법을 접목시키는 것으로 "자연 (Nature)"의 생합성기술을 이용하여 유기합성법의 한계인 복잡한

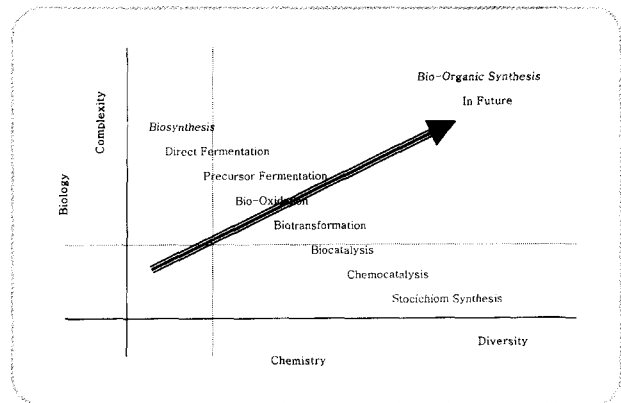


Figure 1. 생유기합성: 생합성과 유기합성의 접목 (Personal Communication).

구조의 합성물질을 정확하게 합성할 뿐만 아니라, 중금속 촉매를 비롯한 반응조건을 환경 친화적으로 바꾸기 위한 노력의 일환이다. "자연 (Nature)"은 다양한 생화학적 반응을 이용하여, 다양하면서도 복잡한 구조를 가진 생활성 물질 (Bioactive compound)을 세포내의 순한 반응 조건하에서 지속적으로 생산해 왔다. 가장 많이 알려진 세포 내 생화학적 반응은 Hydroxylation, Oxido-Reduction, Decarboxylation, Acylation, Glycosylation, Halogenation 등이며, 이와 같은 다양

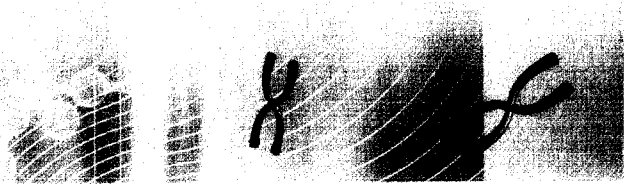
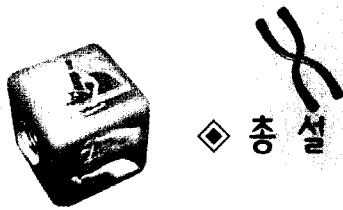
Table 2. 최근에 개발되어 화학회사에서 사용되고 있는 생유기합성 공정

| Product | Reaction | Enzyme | Organism |
|--|---|--------------------------------|------------------------------------|
| Amides, alcohols, acids | | | |
| Enantiopure alcohols | Resolution | Lipase | |
| R-Amide; S-amine | Resolution | Lipase | |
| R-Mandelic acid | Hydrolysis | Nitrilases | |
| Amino acids, penicillins | | | |
| Non-proteinogenic | | | <i>P.putida, M.neoaurum,</i> |
| L-amino acids | Kinetic resolution | Amidases | <i>O.antropii, rec.E. coli</i> |
| L-Aspartic acid | Addition of ammonia | Aspartic acid Ammonia lyase | <i>E. coli</i> |
| Aspartame (L- α -aspartyl-L-phenylalanine methyl ester) | Selective coupling | Thermolysine | <i>B. subtilis</i> |
| 6-Aminopenicilanic acid (6-APA) | Hydrolysis | Penicilin acylase | <i>E. coli</i> |
| Semisynthetic penicilins | Selective coupling | Acyases | <i>E. coli</i> |
| N-Heterocyclic compounds | | | |
| 6-Hydroxynicotinic acid | Addition of water | Niacin hydroxylase | <i>A. xylooxidans LK1</i> |
| 5-Hydroxypyrazine-carboxylic acid | Addition of water | Nitrilase/hydroxylase | <i>Agrobacterium</i> DSM 6336 |
| 6-Hydroxy-S-nicotine | Addition of water | Hydroxylase | <i>A. oxydans</i> NRRL-B-3603 |
| 4-[6-Hydroxypyridin-3-yl]-4-oxobutyrate | Complex reaction | Several | <i>Pseudomonas</i> sp. DSM 8653 |
| Non-proteinogenic amino acids | | | |
| S-Piperazine-2-carboxylic acid | Selective amidase | Stereospecific amidases | <i>K. terrigena</i> DSM 9174 |
| 5-Methylpyrazine-2-carboxylic acid | Selective oxidation of a methyl substituent on an aromatic N-heterocycle (pyrazine) | Xylene oxidation pathway | <i>P. putida</i> ATCC 33015 |

한 화학반응은 단순히 유기합성을 통해 합성하기에 어려운 생활성 유기물질을 생산하는데 사용되었다 (Table 1). 자연계에서 합성되는 유기 물질은 다용도 (Multifunctional)로 사용되며, 대부분 선택적인 광활성 (Selective Chirality) 을 지니고 있어, 전형적인 유기합성을 통해서 생산되기 어려운 경우가 대부분이다. 그러나 생유기합성 기술은 *de novo* Biosynthesis 를 통한 생합성 및 생물 전환을 이용하여 새로운 유기물질을 생산할 뿐만 아니라, 화학물질 전환 (Chemical Derivatization) 기술을 통해 다양한 기능성기 (Functional group)를 첨가함으로써 기능성이 증가된 새로운 화학구

조의 다양한 유기화학물질을 얻을 수 있다 (Figure 1). 생유기합성의 경우에는 여러 가지 장점이 있는데, 이는 다양한 화학 물질을 생산할 수 있는 다양한 반응의 조합 (Versatility), 전구 물질의 선택 (Substrate Selectivity), 최종 생산물의 선택적인 광활성 (Regioselectivity / Enantioselectivity), 화학 반응기의 선택 (Chemoselectivity) 과 모든 생유기합성 반응이 상온에서 이루어질 수 있다는 점이며, 생물전환법을 응용한 생유기합성 생산기술을 이용할 경우 다음과 같은 효과를 기대할 수 있다.

*** 환경친화적 생산 공정 개발 및 최소한의 환경오



염물질 방출

- ◆◆ 선택적인 광활성 유기물질의 생산
- ◆◆ 새로운 유기합성 물질의 개발 및 새로운 유기공정의 개발

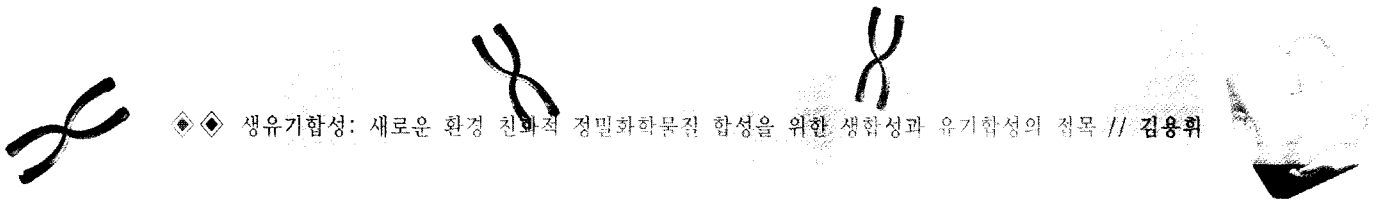
최근의 생유기합성은 기존의 생물체의 대사 작용을 통한 생합성능력을 이용할 뿐만 아니라, 효소의 대사 활성을 높이기 위해 유전자 재조합 (Gene shuffling) 을 이용한 Molecular Evolution 또는 자연계로부터 생화학 반응성이 높은 새로운 효소를 다양한 환경으로부터 분리 선정함으로써 효소의 생화학적 기능을 향상시켜 새로운 유기합성물질을 생산하는데 응용되고 있다. Whole cell을 이용한 생물전환법의 생유기합성 공정은 미생물 자체가 이용할 수 없는 전구물질을 미생물이 지니고 있는 효소 반응을 이용하여 활성 물질로 사용하는 방법으로, 이것은 효소를 이용한 생물전환법과 비교하여 경제적인 면에서 가장 바람직하며, 특히 Co-factor를 필요로 하는 Redox Biotransformation에는 그 가치가 절대적으로 인정되고 있다. Enzyme과 마찬가지로, 미생물은 Molecular Evolution 기술을 이용한 Whole Cell Evolution을 통해 새로운 또는 증가된 대사 작용을 지닌 재조합 미생물 (Recombinant Microorganisms)로 개발된다. 재조합된 미생물은 다단계의 유기합성 과정을 단순화하여 1 단계의 생유기합성 과정을 통해 복잡한 구조를 가진 고부가가치 화학 물질의 생산에 이용될 수 있다.

3. 산업적 생물유기합성기술 (Industrial Bio-Organic Synthesis)

산업적 생물전환기술을 접목한 생유기합성기술의 이용은 주로 제약회사와 농약회사를 중심으로 의약품 및 농업 관련 정밀 화학 물질 개발에 이용되고 있으며, 식품 분야에서도 일부 이용되고 있다. 과거 10년 동안 정밀화학 분야에서는 생물전환기술 (Biotransformation)

을 이용한 산업적 수준의 경쟁력을 가진 새로운 공정이 개발되었으며, 그 수는 계속해서 늘어나는 추세이다 (Table 2). 최근까지 150여종의 산업형 생유기합성공정이 개발되어 화학 및 제약 관련 회사에서 대부분 이용되고 있으나, 경제적인 이유로 식품 및 화장품 관련회사에서는 아직 이용되지 않고 있다. 화학회사들은 생유기합성 공정을 이용하여 다양한 화학물질을 생산하는데 이러한 화학물질들은 작게는 100 ton/년 (i.e., 6-aminopenicillanic acid)에서 10,000 ton/년 (i.e., Acrylamide)의 규모로 생산되고 있다. 하지만 생유기합성을 통한 유기합성물 생산량은 전체 화학 시장의 2% 밖에 차지하지 못한다 (\$25 Billion).

생물전환을 이용한 새로운 생유기합성의 공정은 포도당과 같은 탄수화물을 Carbon 이나 Energy Source를 이용한 de novo 생합성과는 달리, 한 개의 전구물질 또는 연속된 생화학 반응을 이용해 활성을 지닌 고부가의 화학제품을 생산하는 것을 말한다. 전구 물질은 대부분 식물을 비롯한 자연에서 추출한 물질이거나, 유기합성을 통한 중간체를 이용하는 경우가 대부분이다. 이러한 산업 생산공정은 Whole Cell 또는 Enzyme을 이용하거나, 또는 함께 사용하여 개발되었다. 산업적 생유기합성기술은 실질적으로 선택적인 광활성 물질의 생산에 가장 많이 응용되었는데, 선택적인 광활성 물질의 생산은 Hydrolase 등의 분해 효소를 이용한 특정 Stereoisomer를 분리 정제하는 방법 (Optical Resolution)과 Oxidoreductase 등의 다양한 합성 관련 Enzyme를 이용하여 전구 물질로부터 순수한 특성의 광활성 물질을 생산하는 방법 (Optically Pure Isomer Synthesis)으로 구분된다. 또한 Molecular Evolution 및 Genomic Database를 이용한 생화학 기능이 향상된 새롭게 재조합된 효소와 미생물도 실질적으로 정밀화학제품 생산에 응용되어, Non-natural amino acid synthesis (DSM, Degussa)와 Asymmetric Reduction of Ketones (Daicel) 등에 산업적으로 이용되고 있다. 이러한 Direct Gene Evolution / Shuffling을 이용한 새로운 생촉매 생산 기술은 전구



물질의 선택적 활성을 높인 생촉매(Substrate Specificity)의 개발뿐만 아니라, 같은 생촉매를 통한 다양한 합성 물질을 생산할 수 있는 생산 공정 (Broad Substrate Specificity)의 개발에도 초점을 맞추어 개발되고 있다 (One Infrastructure/Technology Platform).

생유기합성을 통한 생산 공정의 개발은 개개의 합성 물질에 따른 개별의 Capital Investment를 통한 생산시설 설비보다는, 특수화된 한 개의 공정을 개발하여 유사한 화학물질을 생산할 수 있는 시설을 설치하는 경우가 많다 (One Infrastructure/Technology Platform). 유기합성을 생유기합성 공정으로 전환하기 위해서는 생유기합성 기술개발 및 생산 시설 설비를 위한 최소의 Capital Investment를 통한 높은 생산성 확보에 따른 경제적 경쟁력 강화에 달려있으며, 경제적 경쟁력은 고효율의 생유기합성기술 뿐만 아니라, 생산 단가에 커다란 영향을 미치는 분리 정제를 위한 생성물질의 농도 (Product concentration) 및 수율 (Yield)에 달려있다. 생유기합성을 통해 생산된 정밀 화학 물질은 Extraction, Distillation, Membrane Filtration 또는 Crystallization 등의 다양한 분리기술방법을 이용하여 분리 정제된다. 하지만 생유기합성을 이용해 합성된 화학물질은 대체로 반응액 내에서 농도가 낮으며, 이러한 낮은 농도의 화학물질을 효과적으로 분리 정제할 수 있는 기술 개발이 생유기합성을 이용한 경제적 산업공정의 개발에 중요한 요소가 된다.

대부분의 산업형 생유기합성 공정은 Batch System 혹은 Plug-Flow Reactor Configuration을 중심으로 개발되는 경우가 대부분이며, Immobilization기술은 산소를 비롯한 물질의 Diffusion의 한계로 인하여 산업용 생유기합성 공정의 개발에 한계를 지니고 있어 부분적으로 Continuous Reactor와 함께 이용되기도 한다. 그리고 다른 생유기합성 공정과 달리 Well-Stirred Reactor를 이용한 생물전환공정은 미생물을 비롯한 외부의 오염을 최소화 할 수 있어 생유기합성의 공정의 생산성을 극대화 할 수 있는 최상의 Aseptic System의 개발이 가

능하다. 또한 생유기합성의 생산성을 높이기 위하여 화학 반응 공정의 개선에도 많은 연구가 진행되었다. 최근에는 Organic Solvent를 이용한 Hydrolase의 역화학 합성을 (i.e., Transesterification or Amidation Reaction) 통한 생물전환 방법이 많이 연구 되었지만, 산업적으로 개발된 공정은 10개 미만이다. 하지만 Organic Solvent를 Aqueous Phase에 첨가하여, Organic Solvent를 전구 물질과 생성 물질의 Reservoir로 이용하는 Biphasic Biotransformation Reaction이 개발되어 13개 이상의 산업적 Multiphase Biotransformation 생산공정이 개발되었다. 대부분의 경우, 전구 물질은 Powder 형태로 존재하여 Water Solubility가 떨어지는데 이는 전체적인 생산성을 떨어뜨리는 중요한 요소가 된다. 이러한 이유로 전구 물질을 용해할 수 있는 Organic Solvent를 이용한 Multiphase Biotransformation 생산공정이 개발되어 이용되기도 한다. 효소뿐만 아니라 Whole cell을 이용한 Multiphase Biotransformation 공정의 경우, 여기에 첨가된 Organic Solvent는 전구물질의 Reservoir로서 작용할 뿐만 아니라, 전구 물질의 Toxicity를 줄여주기 때문에 많은 양의 전구 물질을 첨가 할 수 있게 한다. 그러므로 Organic Solvent를 통한 *in Situ* Extraction은 합성물질의 독성을 줄이고 분해를 방지하여, 생물전환의 효율성을 극대화 하기도 한다. *in Situ* Extraction를 통한 최종 산물의 분리 정제는 전구 물질 및 최종 생성물의 이화학적 특성 (Physical and Chemical Properties)에 따라 결정되는데, 일반적으로 Distillation과 Crystallization이 이용되며, Extractant의 이화적 성질을 이용한 Solid-phase Extraction 또는 Liquid-phase Extraction 기술이 응용되기도 한다.

4. 제약산업의 생유기합성기술의 이용 (Bio-Organic Synthesis in the Pharmaceutical Industry)

최근에는 많은 제약회사에서 생물전환기술을 비롯한

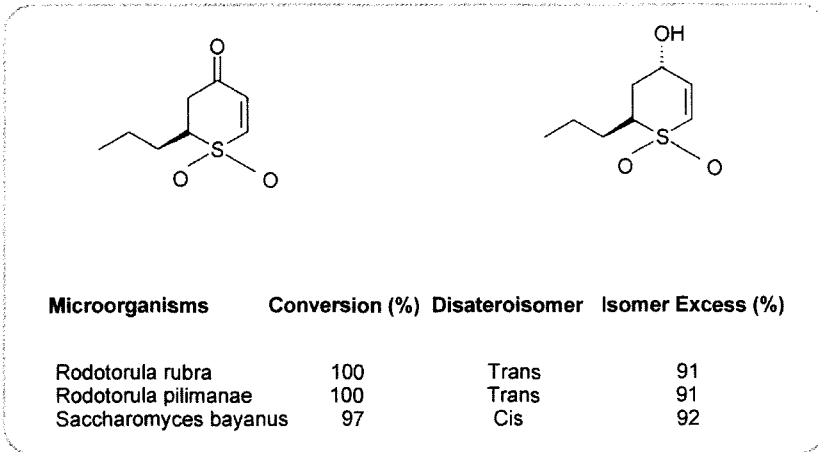
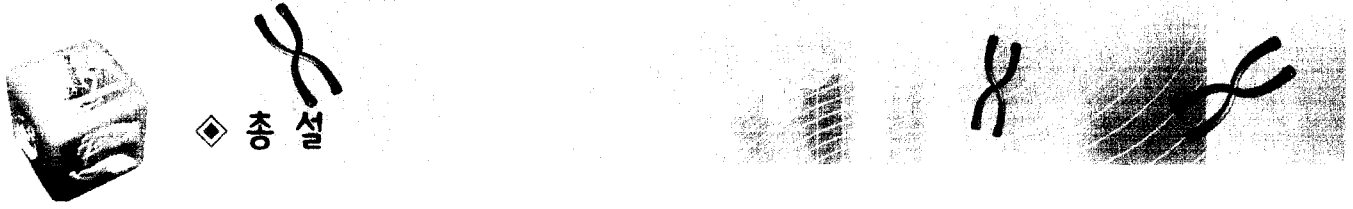


Figure 2. 생유기합성공정. Carbonic Anhydrase Inhibitor 생산을 위한 다양한 미생물을 이용한 Ketosulfone의 비대칭 Bioreduction (Buckland et. Al., 2000).

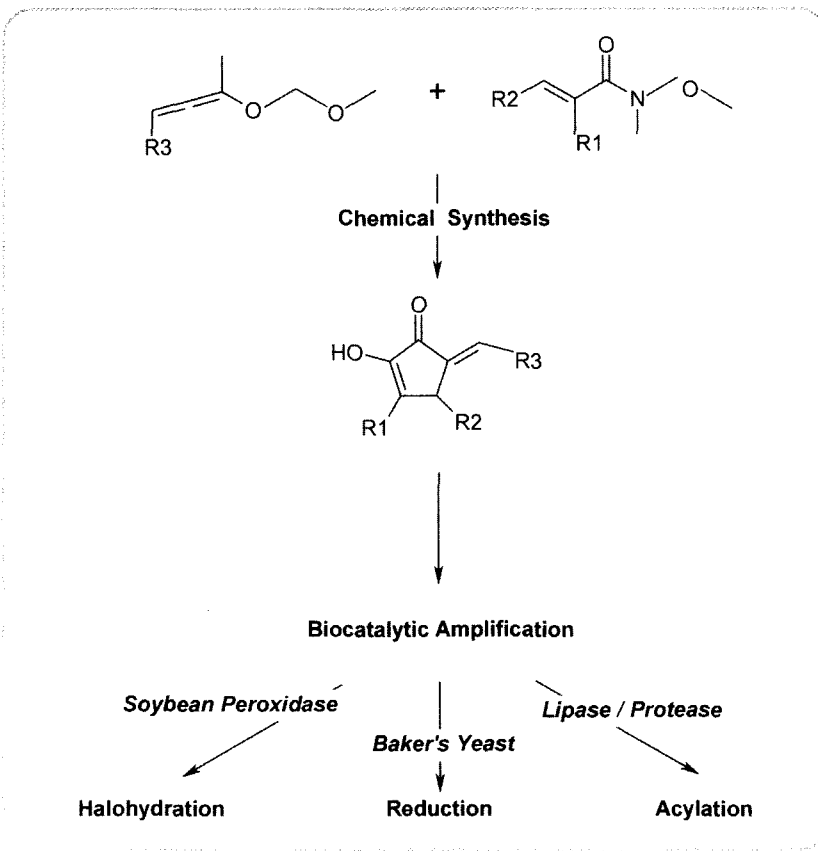
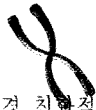


Figure 3. 생유기합성공정. 유기합성을 통한 Cyclopentenone의 합성 후 생물전환법을 이용한 다양한 화학물질의 합성 (Rich et. Al., 2002).

생유기합성기술을 이용하여, 항암제, 항 Virus 제제, 항생제, 항신경제, Cholesterol-lowering Agent, Calcium Channel Blocker, ACE Inhibitor 등의 생산을 위한 의약 중간체, 의약 Metabolites 및 의약품 자체를 생산하는 기술을 개발하여 이용하고 있다. 의약품은 상대적으로 높은 생산 단가를 가지고 있어, 제약회사는 새로운 생활성 물질 개발 계획의 일환으로 생물전환 기술을 이용한 생유기합성 생산공정을 활발하게 개발하고 있으며, 적게는 1kg 에서 100kg 규모로 고부가의 의약품 및 전구 물질을 생산하고 있다. 이러한 작은 규모의 생산량은 대부분 임상 실험을 추진할 수 있는 정도의 양으로서, 빠른 시간 내 예비 신약을 생산함으로써 전체적인 신약 개발 기간을 최소화할 수 있는 장점이 있다. 신약개발에는 높은 생산 단가에 대한 제한 보다는 임상실험 등을 통한 예비신약의 효능 검사에 걸리는 시간적 제한과 제약회사간의 경쟁에 따른 적기의 신약 생산에 더 큰 제약을 받기 때문에, 상대적으로 고비용의 생유기합성 생산공정개발에 적극적이다. 또한 제약 업체는 신약 개발 기간을 단축하기 위해 신약 생산을 위한 전구 물질 (Building Block) 또는 중간체 (Intermediate) 생산을 생합성 또는 유기합성의 기술을 보유하고 있는 연구시설을 통해 위탁 생산하며, 위탁 생산된 전구 물질 또는 중간체를 이용해 제약 업체 자체내의 종합적인 제약 생산 기술 공정 (Multiple-Step Synthesis Process)을 개발한다.

제약회사에서 개발된 생유기합성기술은 미생물 등의 선택적인 생합성 능력과 유



기합성을 합성공정에 접목시켜 생활성이 높은 물질을 선택적으로 생산하거나, 활성이 다양한 형태의 의약품을 생산하는데 이용되고 있다. 예를 들어, Glaucoma의 치료를 위한 Carbonic Anhydrase Inhibitor의 생산을 위해서는 의약품 중간체가 선택적 광활성을 지녀야 하는데, 미생물의 경우 종(species)에 따라 다양한 선택적인 광활성 이성질체를 생합성 할 수 있다. 선택적 광활성 이성질체를 생산하기 위해 복잡한 유기합성 단계를 거치지 않고 Whole-Cell을 이용한 1 단계의 합성 기술이 개발되어 사용되고 있다 (Figure 2). 또한 생유기합성은 유기합성을 통해 새롭게 합성된 항생제, 항암제를 비롯한 다양한 전구물질 또는 중간체에 생물전환법을 이용한 다양한 기능성 그룹 (Functional Groups)을 첨가 또는 변환시켜 생리활성의 역가 및 범위를 증가시킬 수 있는데, 예를 들면 항생제 및 항암 물질의 기본 구조를 가진 Conjugated Cyclopentenone의 다양한 생물전환법을 이용해 다양한 유도체를 합성하는 방법이 연구 개발되었다 (Figure 3).

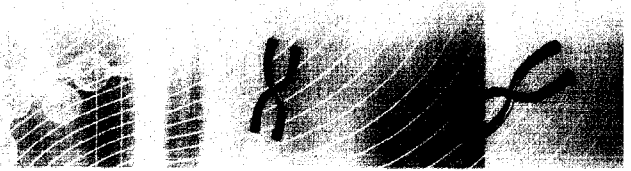
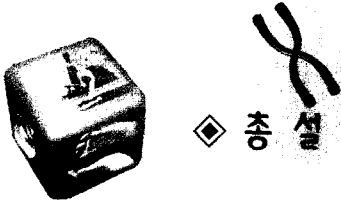
하지만 효소 또는 Whole Cell을 이용한 다양한 의약품의 합성을 위한 생유기합성법의 응용은 상업적인 효소 공급의 제한과 다양한 생유기합성 능력 (Biochemical Reaction Activity)를 지닌 미생물 균주의 확보가 제한되어 실질적으로 산업공정 개발에 응용되기에는 한계가 있다. 최근에는 Novozymes를 비롯한 산업용 효소를 생산하던 효소 생산 전문 업체도, 제약 회사의 생유기합성 기술 개발 노력에 부응하기 위하여, 과거의 전형적인 대단위 산업규모의 효소 생산체계뿐만 아니라 소규모의 주문 생산 체계를 겸비하고 있다. 예를 들어, 새로운 효소를 다양한 환경에서 동정된 미생물로부터 분리하거나 새롭게 재조합하여, 현재 사용되고 있는 효소의 활성을 극대화 (Optimization)시키는 전문적인 소규모의 주문생산을 한다. 이러한 소규모 생산을 위해, 최근 10년간의 연구 결과에 따라 산업화된 Direct- Evolution, Shuffling과 Genomic Information을 이용해 다양한 기술이 개발되었고 이로 인해 재조합 효소를 이용한 산업

적 의약품 합성이 활성화 되었다.

5. 화학생명공학을 위한 미생물의 역할 (Micro-organisms for Chemical Biotechnology)

미생물은 고대로부터 인간 생활과 밀접한 관계를 유지하였으며, 미생물 발효를 통한 식품 생산 등에 관계되어 오랫동안 다각도로 연구되어 왔다. Pasteur 이후 과거 100여 년 동안 미생물의 대사 작용에 관한 연구 활동이 활발했으며, 그 연구영역은 발효 (Traditional Fermentation)에서부터 환경 및 생물공학 등의 다양한 분야로 확대되었다. 이 모든 분야의 연구결과는 미생물의 생화학적 특성 및 미생물 대사활동에 관여하는 다양한 효소의 기작 및 특성 관한 많은 연구 결과를 내놓았다. 최근 새로운 미생물의 발견과 대사작용 대한 연구는, Bayer-Villiger Reaction, Diels-Alder Reaction, Bamberger Rearrangement, Strecker Degradation, Beckman Rearrangement, Kolbe-Schmidt Reaction 등의 유기합성의 기본을 이루는 다양한 화학반응이 미생물의 대사 작용에서 발견됨에 따라, 생유기합성 이용한 새로운 유기물질을 생성할 수 있는 가능성을 열어놓았다. 특히 Nitrile hydrolysis, Ketone Reduction, Hydrocyanation, Hydroxylation 및 Amidation Reaction은 화학 업체의 기본적인 유기합성의 일부분으로 이용되고 있으며, 미생물을 이용한 Epoxidation 및 Bayer-Villiger Reaction을 비롯한 다양한 생화학 반응을 이용한 생유기합성 기술개발이 함께 진행되고 있다.

최근에는 모든 대사관계 연구결과는 Metabolic Pathways (www.umbbd.ach.umn.edu), Genomes (www.microbialgenome.org), 및 Enzyme (www.expasy.ch) 등의 다양한 Database로 체계화 되어 모든 연구자들이 손쉽게 미생물의 대사작용에 관한 정보를 얻을 수 있다. 이러한 다양한 Database는 Biochemical Engineering 과 접목되어 새로운 영역인 화학생물공학 (Chemical Biotechnology)로 확대되어, 화학 업계에서는 화학생물



공학분야 중 유기합성과 생합성을 조합한 생유기합성 분야가 개발되었다. 생유기합성 반응은 상온 및 대기압에서 이루어져 환경친화적이며 경쟁력이 있는 생산 공정의 개발로 이어지고 있다. 산업적으로 성공적인 생유기합성을 이용한 화학 합성 공정의 개발을 위해서는 심도 있는 미생물대사학 (Microbial Physiology)를 중심으로 효소생화학 (Biochemistry) 및 화학 공학 (Chemical Engineering) 지식이 필요하다. 또한 미생물 대사에 따른 화학물질의 합성에 있어서, 공정 후의 분리 정제 기술 개발이 경제적인 생유기합성 개발의 중요한 요소로 작용하므로 최적의 전구 물질의 선택 및 효과적인 생성물의 분리 정제를 위하여 미생물과 생유기합성의 최적 조건을 결정하기 위한 유기적인 관계에 관한 기본적인 연구 활동이 필요하다. 따라서 미생물은 미생물을 이용

한 Whole Cell 생유기합성 공정에 관계할 뿐만 아니라, 다양한 효소를 생산할 수 효소의 생산원으로서도 그 중요성이 인정되어, 미생물을 통한 화학생물공학의 발전에 중요한 역할을 할 것이다.

6. 전망 (Outlook)

다양한 효소를 이용한 효소 대사 반응 (Biochemical Reaction Scheme)은 BioCatalysis (www.accelrys.com) 또는 미네소타 주립대학의 Biocatalysis Database (www.umbbd.ach.umn.edu)을 통해 확인할 수 있고 모두 35,000 이상의 효소 반응이 Database화 되어 누구나 사용 가능하다. 또한 제한적이지만 다양한 미생물의 전체적인 Genomic Map의 완성으로 새로운 효소를 발견할 수 있으며, 새로운 생유기합성 생산 공정을 개발할 수 있는 가능성을 열어놓았다. 다양한 환경조건에서 독특한 대사 작용을 가지고 있는 미생물 (Microbial Diversity)의 발견은 미래의 환경 친화적 화학 물질 생산을 위한 근간을 이룰 수 있다. 많은 Database를 이용하여 새로운 효소를 찾기 위한 High-through Put Screening방법의 개발, 새로운 Recombinant Organisms의 개발, Fermentation을 비롯한 새로운 Reaction Technology의 개발은 화학 업계의 기본적인 유기합성의 연구 구조를 바꿀 수 있을 것이다. 전통적인 유기합성과 달리 생유기합성법은 생촉매를 이용하여 다양한 고부가의 화학 물질을 생산하는 방법으로, 이를 위해선 가장 경제적이고, 효과적인 효소 및 미생물의 대사작용을 선택할 수 있는 새로운 연구 방법의 개발이 선행되어야 한다. 이러한 내용이 최근에는 "Process Chemistry"의 개념으로 응용되고 있다 (Figure 4). 미생물 또는 효소를 이용한 경쟁력을 갖춘 생물 전환법의 산업화는 낮은 생산 수율 (Reaction activity)과 전구 물질 및 합성물질의 독성에 의한 생산성의 저하를 극복해야 한다. 이러한 문제를 극복하기 위해서는 기

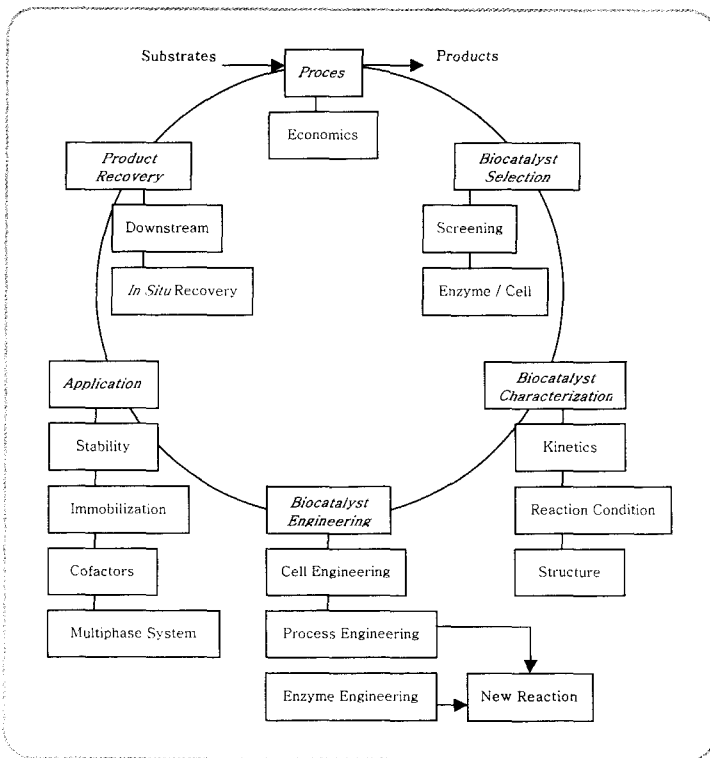


Figure 4. 경제적인 생유기합성 공정 개발을 위한 "Process Chemistry"의 개념을 이용한 최적의 생촉매 (Biocatalyst)의 선정 (Schmid et. al., 2001).

본적으로 효소 및 미생물을 포함한 생물체의 안정성과 Reactor내에서의 영향에 관한 연구가 지속되어야 하지만, 대부분의 경우 생산공정개발 (Process Engineering) 과정을 통해서도 생물전환의 생산성을 증가시킬 수 있다. 이러한 면에서 미생물학자 (Microbiologist - Microbial Screening / Strain Development / Whole Cell Evolution), 분자 생물학자 (Molecular Biologist - Enzyme Design / Molecular Evolution), 화학자 (Chemist - Biochemistry / Organic Chemistry)를 포함한 화학공학자 (Chemical Engineer - Reaction Kinetics / Reactor Design)간의 공동 작업을 통해 경쟁력을 가진 새로운 산업형 생유기합성 생산공정을 성공적으로 개발할 수 있다. "Process Chemistry"의 Multidiscipline을 이용한 다양한 연구 집단의 공동 연구 노력은 단기간 내 경쟁력을 가진 새로운 생유기합성 기술의 산업화에 필수적이며, "Process Chemistry"를 통해 축적된 생유기합성의 생산공정기술, Bioreactor 설계 및 운영에 관한 연구 결과는 실험실에서 개발된 Bioprocess의 상업화 (Commercialization)을 위한 Scale-up 기준을 제공한다. 다시 말해, 생물공정을 위한 각종의 반응 조건 (온도, pH, 압력, Solvents, Reagents)과 생물공정의 지속성 (Sustainability)과 관련된 전구 물질의 다양화, 그에 따른 Waste의 최소화 및 부산물의 처리 방법, 기존의 유기합성 반응과의 유기적 호환성에 관한 조건을 실험실내에서 극대화하여, 단시간 내 Scale-up을 통해 화학물질의 상업화를 가능하게 할 수 있다 (Shortening Scale-up Time and Time-to-Market).

유기합성과 비교하여 생유기합성을 이용한 화학물질 합성의 경쟁력은 생촉매의 생유기합성의 생산성 및 안정성에 달려있는데, 일반적으로 최종 산물의 가격이 \$20/kg 이하인 경우, 최소한 1,000 ton/year의 규모여야 하며, 최종 합성 물질이 \$20-30/kg 보다 비쌀 경우, Molecular Evolution을 통한 생촉매의 생산성 및 안정성을 극대화하여 가격 경쟁력을 높일 수 있다. 1900년대의 화학 산업이 Polymer 합성을 이용하여 발전하였

지만, 2000년대의 화학 산업은 생물공학을 접목한 지속 가능한 화학 산업 (Sustainable Chemical Industry)을 기반으로 지속적으로 발전할 것이다.

참고문헌

- Arnold, F.H. 2001. Combinatorial and Computational Challenges for Biocatalyst Design. *Nature* 409:253-257.
- Beilen, J.B., Duetz, W.A., Schmid, A., and Witholt, B. 2003. Practical Issues In the Application of Oxygenases. *Trends Biotechnol.* 21:170-177.
- Bruggink, A., Straathof, A.J., and van der Wielen, L.A. 2003. A "Fine" Chemical Industry for Life Science Products: Green Solutions to Chemical Challenges. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 80:69-113.
- Buckland, B.C., Robinson, and D.K., Chartrain, M. 2000. Biocatalysis for Pharmaceuticals - Status and Prospects for a Key Technology. *Metabolic Eng.* 2:42-48.
- Choudary, B.M., Kantam, M.L., and Santhi, P.L. 2000. New and Ecofriendly Options for the Production of Specialty and Fine Chemicals. *Catalysis Today* 57:17-32.
- Duetz, W.A., Beilen, J.B., and Witholt. 2001. Using Proteins in their Natural Environment: Potential and Limitations of Microbial Whole-Cell Hydroxylations in Applied Biocatalysis. *Current Opinion in Biotechnol.* 12:419-425.
- Hagedorn, S., and Kaphammer, B. 1994. Microbial Biocatalysis in the Generation of Flavor and Fragrance Chemicals. *Ann. Rev. Microbiol.* 48:773-800.
- Huisman, G.W., and Gray, D. 2002. Towards Novel Processes for the Fine-chemical and Pharmaceutical Industries. *Current Opinion Biotechnol.* 13:352-358.
- Khosla, C., and Harbury, P.B. 2001. Modular Enzymes. *Nature* 409:247-252.
- Koeller, K.M., and Wong, C-H. 2001. Enzymes for Chemical Synthesis. *Nature* 409:232-240.
- Parales, R.E., Bruce, N.C., Schmid, A., and Wackett, L.P. 2002. Biodegradation, Biotransformation, and Biocatalysis (B3). *Appl. Environ. Microbiol.* 68:4699-4709.
- Patel, R.N. 2001. Biocatalytic Synthesis of Intermediates for the Synthesis of Chiral Drug Substance. *Current Opinion Biotechnol.* 12:587-604.
- Patel, R.N., Banerjee, A., and Szarka, L.J. 1995. Synthesis of Four Chiral Pharmaceutical Intermediates by Biocatalysis. *J. Agri. Chem. Society* 72:1247-1264.
- Rich, J.O., Michels, P.C., and Khmelnsky, Y.L. Combinatorial Biocatalysis. 2002. *Current Opinion Chem. Biol.* 6:161-167.
- Schmid, A., Dordick, J.S., Hauer, B., Wubbolfts, M., and Witholt, B. 2001. Industrial Biocatalysis Today and Tomorrow. *Nature.* 409:258-268.
- Schmid, A., Hollmann, F., Park, J.B., and Buhler, B. 2002. The Use



of Enzymes in the Chemical Industry in Europe. *Current Opinion Biotechnol.* 13:359-366.

Schoemaker, H.E., Mink, D., and Wubbolts, M.G. 2003. Dispelling the Myths- Biocatalysis in Industrial Synthesis. *Science* 299:1694-1697.

Straathof, A.J.J., Panke, and S., Schmid, A. 2002. The Production of Fine Chemicals by Biotransformations. *Current Opinion Biotechnol.* 13:548-556.

Stuart, M.T., DiCosimo, and R., Nagarajan, V. 2002. Biocatalysis: Applications and Potentials for the Chemical Industry. *Trend in*

Biotechnol. 20:238-242.

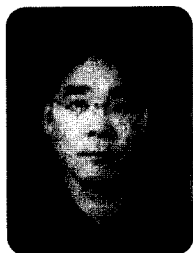
Walsh, C. 2001. Enabling the Chemistry of Life. *Nature.* 409: 226-231.

Wilke, D. 1999. Chemicals from Biotechnology: Molecular Plant Genetics to Challenge the Chemical and the Fermentation Industry. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52:135-145.

Zaks, A. 2001. Industrial Biocatalysis. *Current Opinon Chem. Biol.* 5:130-136.

Zhao, H., Chockalingam, K., and Chen, Z., 2002. Directed Evolution of Enzymes and Pathways for Industrial Biocatalysis. *Current Opinion Biotechnol.* 13:104-110.

약 력



김용휘

- 1977. 3. - 1981. 2. 고려대학교 (식품공학과, 농학사)
 - 1984. 9. - 1986. 5. University of Illinois at Chicago (Biological Science)
 - 1986. 9. - 1991. 10. University of Illinois at Urbana-Champaign (Food Microbiology, Ph.D.)
 - 1991. 10. - 1992. 8. Univeristy of Illinois Postdoctoral Associate
 - 1992. 9. - 1995. 6. United States Department of Agriculture Research Microbiologist
 - 1995. 7. - 2003. 8. International Flavor and Fragrances Inc. R&D Group Leader
 - 2003. 3. - 현재 세종대학교 생명과학대학 식품공학과 부교수
- 주연구분야 : 생유기합성 (Bio-Organic Synthesis) / 생물공학 (Bioprocess)