

아프리카 난 *Aerangis confusa*의 향기성분 methyl 3-methyloctanoate의 합성

김현옥 · 김영주 · 김병길 · 서영배*

경북대학교 생명공학부 미생물학과

Synthesis of Methyl 3-methyloctanoate, the Key Perfume Component of African Orchid *Aerangis confusa*

Hyun-Ok Kim, Young-Ju Kim, Bieong-Kil Kim and Young-Bae Seu*

Department of Microbiology, Kyungpook National University,
1370 Sangyeokdong, Bookgu, Daegu, 702-701, Korea

Received 8 August, 2005; Accepted 9 September, 2005

Synthesis of methyl 3-methyloctanoate, a perfume component isolated from African orchid *Aerangis confusa* (or *Aerangis kirkii*) was achieved starting from itaconic acid in 9 steps. Itaconic acid is one of the cheapest organic compounds which is the fermentation product of microorganism *Asp. terreus*. As the key intermediate, 2-methyl-1,4-butanediol 4-acetate was obtained through the enzymatic regioselective hydrolysis of 2-methyl-1,4-butanediol diacetate with lipase. After Grignard reaction and oxidation, 3-methyloctanoic acid was obtained and converted to the various corresponding scented esters with a variety of alkyl alcohols, and the resulting fragrant esters are expected to be utilized as the aroma additive materials in cosmetics, drinks and foods.

Key words: orchid, perfume, methyl 3-methyloctanoate, itaconic acid, scent ester, aroma

서 론

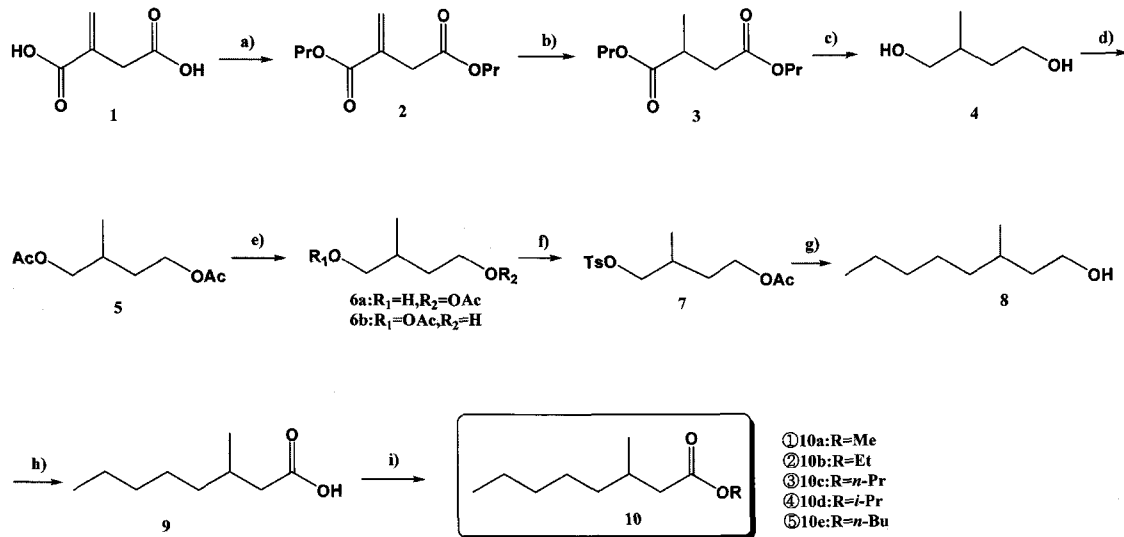
천연향료물질은 식품산업이나 향장산업 등 정밀화학산업에 있어서 중요한 첨가소재물질이다. 다양한 향에 대한 소비자들의 요구가 증가함에 따라 천연물질로부터 향료를 추출하고 규명하는 일은 산업적으로 중요할 뿐만 아니라 국가적으로는 천연자원의 개발이라는 이점이 있다. 향료물질의 생산은 크게 화학적인 합성과 천연물질로부터의 추출을 통해서 얻을 수 있는데, 다양한 천연물의 추출물로부터 밝혀진 수많은 향료를 화학적인 합성을 통해 효과적으로 저렴하게 대량 합성하고 향료물질의 화학적 변형을 통해 다양한 합성향료를 제조함으로써 향장산업이나 식품산업 등 고부가가치산업적에 더 유용하게 이용할 수 있다.

Racemate의 methyl 3-methyloctanoate는 아프리카산 난(*Aerangis confusa*, *Aerangis kirkii*) 꽃의 주 향기성분으로 검출되어 과일 향을 나타내는 것으로 보고 되어있다.¹⁾ 한편 Hasegawa 향료(주) 등에서는 천연의 상기 화합물을 화장품용 또는 식품첨가용 향료조성물의 조합소재로 응용하기 위하여 각각의 광학 활성체를 합성하였으며 (R)-type과 (S)-type의 각 enantiomer에서는 라세

메이트에서는 나타나지 않는 서로 다른 꽃향과 과일향 계열의 특성을 나타내었으며 특히 (S)-(-)-methyl 3-methyloctanoate를 조합향료 조성물로 사용하였을 때는 라일락꽃을 상기시키는 꽃 향을, (R)-(+)-ethyl 3-methyloctanoate를 조합향료 조성물로 사용하였을 때는 파인애플향과 같은 과일향의 특성을 가지며 각 향 특성의 지속성 또한 우수한 것으로 보고하였으며,^{2,3)} 특히 methyl 3-methyloctanoate와 같이 부분구조로 methyl 결가지를 가지는 화합물들이 휘발성물질들로 꽃이나 과일에 있어서 향기 성분으로 널리 존재한다.⁴⁾

본 연구에서는 branched methyl group을 가지는 아프리카산 난의 꽃향으로 천연향기성분인 methyl 3-methyloctanoate의 합성전략은 2-methyl-C8의 기본골격은 2-methyl-C4 block과 C4-block의 Grignard 반응으로 연결하며, 2-methyl-C4 block은 2-methylene-C4골격을 가지는 itaconic acid로부터 유도하기로 하였다. 미생물 *Asp. terreus*가 생산하는 값싼 발효산물인 itaconic acid를^{5,6)} 출발물질로 하여 제조한 branched methyl group을 부분 구조로 가지는 2-methyl-1,4-butanediol 4-acetate를 중간체로 하여 전 공정 9단계로 합성하였으며(Scheme 1) 최종 향기성분 methyl 3-methyloctanoate의 ester 부분에서 methyl ester 대신 다양한 알킬 ester 화합물을 합성하여 향 특성의 다양한 변화를 기대하며 화장품이나 식품산업에 있어서 유용한 향료조성물의 첨가소재로 응용하고자 합성을 시도하였다.

*Corresponding author
Phone: +82-53-950-5380; Fax: +82-53-955-5522
E-mail: ybseu@knu.ac.kr



Scheme 1. (a) *i*-PrOH, H₂SO₄/heating, (b) H₂, Pd/C/EtOH, (c) LiAlH₄/THF, (d) Ac₂O/pyridine, (e) LPS, titanium (IV) isopropoxide/ phosphate buffer (pH 7.0), (f) *p*-TsCl/CH₂Cl₂, pyridine (g) BrMgCH₂CH₂CH₂CH₃/THF, (h) Cr(IV)O₃/acetone, (i) ① H⁺/MeOH, ② H⁺/EtOH, ③ H⁺/*n*-PrOH, ④ H⁺/*i*-PrOH, ⑤ H⁺/*n*-BuOH.

재료 및 방법

시약 및 기기. 본 연구에서 사용한 출발물질인 itaconic acid 및 Cr(IV)O₃, LiAlH₄, CuBr 등의 시약은 Aldrich 사에서 구입하여 사용하였고 EtOH, *iso*-PrOH, MeOH, THF, benzene, CH₂Cl₂, Et₂O 등의 유기용매는 1급 시약을 재증류하여 사용하였으며, lipase PS(LPS)는 Amano Co.에서 구입하여 사용하였다. Column용 silica gel 은 70-230 mesh(Merck), TLC 역시 Merck(1.05554)사 제품을 사용하였다. ¹H-NMR은 Varian 300 MHz FT-NMR 분광기(내부 표준물질 TMS, 용매는 CDCl₃ 사용)로 측정하였으며, gas chromatography는 Shimadzu사 GC-17A(capillary column CBP5-M 25 m×0.25 mm/carrier gas N₂)를 사용하였다.

Itaconic acid diisopropyl ester 2의 합성. 환류냉각기와 탈수장치를 부착한 1l 둥근 플라스크에 itaconic acid 130.0 g (1.0 mol)과 isopropanol 200 ml를 넣어 benzene 1.0 l에 녹인 후 반응정도에 따라 H₂SO₄를 소량 첨가하여 가열하면서 교반하였다. 2일간 반응시킨 후 TLC로 반응의 진행을 확인하고, NaHCO₃로 중화 후 감압 농축하여 용매를 제거한 후 얻어진 물질을 감압증류 하여 210.0 g의 diisopropyl ester 2(C₁₁H₁₈O₄, 214.12, 수득율: 98%)를 얻었다.

Diisopropyl 2-Methylsuccinate 3의 합성. 고압용기에 21.40 g (0.10 mol)의 olefin 기질 2와 10%-Pd/C 0.13 g, EtOH 50 ml을 넣은 후 고압의 수소 가스를 충전한 상태에서 반응시켰다. 24 시간의 격렬한 교반 후, GC로 반응진행여부를 확인하고 기질이 완전히 소멸 하였을 때 반응을 중단시키고 celite 감압여과 후 감압농축 하였다. 이것을 다시 EtOAc로 희석하고 무수 MgSO₄로 탈수시킨 후 celite로 감압여과 한 다음 감압농축 하여 별도의 정제과정을 거치지 않고 깨끗한 21.60 g의 diisopropyl 2-methylsuccinate 3(수득율: ≈100%)을 얻을 수 있었다.

2-Methyl-1,4-butanediol 4의 합성. 환류냉각기가 부착된 건조된 two neck flask에 기질 10.8 g(50 mmol)과 무수 THF 30 ml를 넣어 질소 치환 시키고 ice-bath에서 -30°C로 냉각시킨다. 충분히 냉각된 후, LAH 2.30 g(61 mmol)을 건조된 THF 20 ml에 희석시켜 syringe로 천천히 적하하였다. 반응정도를 GC로 확인하여 기질이 없어지면 10% H₂SO₄수용액을 넣어 반응을 종료하고 유기층을 분리해내고 수용액 층을 EtOAc로 반복 추출하였다. 추출액을 포화 NaHCO₃수용액으로 세척한 후 무수 MgSO₄로 탈수하고 celite로 감압여과 한 다음 감압농축 하였다. 농축된 crude diol을 silica gel column chromatography(eluent: hexane/EtOAc=2/1)로 정제하여 4.31 g의 diol 4(C₅H₁₂O₂, 104.15, 수득율: 83%)를 얻었다.

2-Methyl-1,4-butanediol diacetate 5의 합성. CaCl₂관을 부착한 둥근 플라스크에 diol 3 4.31 g(41.4 mmol)을 pyridine 30 ml에 녹인 후 ice-bath속에서 충분히 냉각시키고 Ac₂O 10.8 g (106 mmol)을 천천히 첨가한 후 온도를 서서히 올려 실온에서 교반하였다. 반응이 종료되면 MeOH을 과량 첨가해서 감압농축 하여 pyridine을 어느 정도 제거하였다. 이것을 다시 EtOAc로 희석하고 포화 CuSO₄ 수용액으로 여러 번 세척하여 남아있는 pyridine을 완전히 제거한 후 brine로 세척했다. 이것을 무수의 MgSO₄로 건조한 후 celite로 감압여과하고 감압농축 하여 silica gel column chromatography(eluent: hexane/EtOAc=4/1)로 정제하여 8.17 g(C₉H₁₆O₄, 188.22, 수득율: 99%)의 diacetate 5를 얻었다.

2-Methyl-1,4-butanediol 4-acetate 6a의 합성. 기질 1.00 g (5.3 mmol)의 *di*-acetate 5를 sodium phosphate buffer(pH 7.0) 25 ml에 titanium(IV) isopropoxid 0.76 g(0.5eq)과 함께 넣어 1 시간 이상 교반시킨 후, LPS 1.0 g을 넣어 2시간 동안 교반하였다. TLC에서 diol 4가 생성되는 시점에서 GC로 모니터링 (60-130°C: 2°C/min: Rt-6a/17.96 min, Rt-6b/18.16 min) 한 후 반응을 멈추고 celite로 여과하여 여과액을 EtOAc로 추출한 후

포화 NaHCO_3 수용액으로 세척한 다음 무수의 MgSO_4 로 탈수한 후 감압 농축한 **6a**와 **6b**의 혼합물을(8.1:2.0 on GC) silica gel column chromatography(eluent: hexane/EtOAc = 7/3)로 정제하여 mono-acetate **6a** 0.55 g($\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_3$, 146.18, 70%)을 얻었다.

Tosylate 7의 합성. CaCl_2 관을 부착한 둥근 플라스크에 mono-acetate **6a** 4.15 g(28.4 mmol)을 CH_2Cl_2 30 ml에 녹이고 pyridine 2.7 ml를 넣은 후 ice-bath에서 냉각시킨 후 *p*-TsCl 6.48 g(34.1 mmol)을 넣고 10시간동안 반응시킨 후 얼음을 넣어 반응을 종료시켰다. 반응액을 EtOAc로 희석 후, 포화 CuSO_4 수용액으로 처리하여 pyridine을 제거하고 brine으로 씻은 후 무수 MgSO_4 로 탈수했다. celite로 여과한 뒤, 감압농축하고 이를 silica gel column chromatography(eluent: hexane/EtOAc = 6/1)로 정제하여 tosylate **7**을 7.63 g($\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_5\text{S}$, 300.37, 수득율: 89%) 얻었다. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.77 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.33 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.11-3.96 (m, 2H), 3.90-3.82 (m, 2H), 2.43 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.95-1.89 (m, 1H), 1.76-1.65 (m, 1H), 1.49-1.37 (m, 1H), 0.92 (d, J = 6.9 Hz, 3H)

3-Methyl-1-octanol 8의 합성. 건조된 2-neck flask에 CuBr 5.31 g(37.1 mmol)와 THF 10 ml를 넣은 후 -30°C 로 냉각시킨 후 1-bromobutane 으로부터 제조한 약 1.0M 농도의 Grignard reagent 93 ml(93 mmol)을 천천히 적하하였다. 1시간동안 교반 후 온도를 -70°C 로 냉각시키고 2.78 g(9.3 mmol)의 tosylate **7**을 무수 THF 15 ml에 희석 후 실린지로 천천히 적하한 후 온도를 실온까지 서서히 올리면서 5시간 동안 교반하였다. NH_4Cl 수용액을 첨가하여 반응을 종료시키고 Et_2O 로 추출한 후, 포화 NaHCO_3 수용액과 brine으로 세척한 후 무수 MgSO_4 로 탈수하였다. 반응물을 celite로 감압여과한 후 감압 농축하여 silica gel column chromatography(eluent: hexane/EtOAc = 8/1)로 정제하여 1.15 g의 3-methyl-1-octanol **8**($\text{C}_9\text{H}_{20}\text{O}$, 144.25, 수득율: 82%)을 얻었다. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.71-3.64 (m, 2H), 1.62-1.56 (m, 2H), 1.41-1.36 (m, 1H), 1.34-1.23 (m, 8H), 0.89 (d, J = 6.5 Hz, 3H), 0.88 (t, J = 6.5 Hz, 3H)

3-Methyloctanoic acid 9의 합성. 알코올 **8** 1.75 g(13 mmol)을 acetone 15 ml에 녹인 후 ice-bath에서 냉각시킨다. 다른 용기에 Cr(IV)O_3 1.7 g(17.0 mmol)과 H_2O 8.50 ml를 넣고 교반하면서 H_2SO_4 를 한 방울씩 섞어주었다. 이것을 기질을 녹인 반응용기에 천천히 적하하여 12시간 반응시켰다. 반응물을 농축하여 acetone을 제거하고 EtOAc로 추출하여 무수 MgSO_4 로 탈수한 후 celite로 감압여과, 감압 농축하였다. 다시 EtOAc로 희석 후 NaHCO_3 수용액을 넣어 교반시켜 수층만을 취하여 HCl을 이용하여 pH를 3.0으로 낮추고 다시 EtOAc로 추출하는 것을 반복했다. 추출한 유기층을 무수 MgSO_4 로 탈수한 후 celite로 감압여과하고 감압농축 하여 silica gel column chromatography(eluent: hexane/ Et_2O = 7/1)로 정제하여 1.57 g의 acid **9**($\text{C}_9\text{H}_{18}\text{O}_2$, 158.24, 수득율: 76%)를 얻었다. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.37 (dd, J = 6.0, J = 15, 1H), 2.14 (dd, J = 8.4, J = 14, 1H), 1.98-1.93(m, 1H), 0.96(d, J = 6.6, 3H), 0.88 (t, J = 6.6, 3H)

Methyl 3-methyloctanoate 10a의 합성. 환류냉각기를 부착한

건조된 둥근 플라스크에 acid **9** 1.40 g(8.8 mmol) 넣고, MeOH 30 ml과 $c\text{-H}_2\text{SO}_4$ 소량을 천천히 넣고 환류 가열하면서 8시간동안 반응시켰다. 반응 종료 후 Et_2O 로 희석한 다음 포화 NaHCO_3 수용액과 brine으로 세척하고, 무수 MgSO_4 로 탈수한 다음 celite로 감압여과, 감압농축 하였다. 얻어진 crude oil을 silica gel chromatography(eluent: hexane/ Et_2O = 2/1)로 정제하여 1.17 g의 최종화합물 ester **10a**($\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_2$, 172.26, 수득율: 77%)를 얻었다. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.67 (s, 3H), 2.31 (dd, J = 5.7 Hz, J = 14.4 Hz, 1H), 2.13 (dd, J = 14.7, J = 6.6, 1H), 2.15-1.88 (m, 1H), 1.36-1.99 (m, 8H), 0.09 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.88 (t, J = 6.6, 3H).

Ethyl 3-methyloctanoate 10b의 합성. Acid **9** 0.90 g(5.7 mmol)/EtOH 30 ml, $c\text{-H}_2\text{SO}_4$ 으로부터 **10a**의 합성방법과 같은 방법으로 0.82 g($\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_2$, 186.29, 수득율: 77%)의 ethyl ester 화합물 **10b**를 얻었다.

Propyl 3-methyloctanoate 10c의 합성. Acid **9** 0.85 g(5.4 mmol)/*n*-PrOH 30 ml, $c\text{-H}_2\text{SO}_4$ 으로부터 **10a**의 합성방법과 같은 방법으로 0.91 g($\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2$, 200.32, 수득율: 84%)의 propyl ester 화합물 **10c**를 합성하였다.

Isopropyl 3-methyloctanoate 10d 합성. Acid **9** 1.00 g(6.3 mmol)/*iso*-PrOH 30 ml, $c\text{-H}_2\text{SO}_4$ 으로부터 **10a**의 합성방법과 같은 방법으로 0.95 g($\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2$, 200.32, 수득율: 75%)의 isopropyl ester 화합물 **10d**를 얻었다.

Butyl 3-methyloctanoate 10e의 합성. Acid **9** 1.00 g(6.3 mmol)/*n*-BuOH 30 ml, $c\text{-H}_2\text{SO}_4$ 으로부터 **10a**의 합성방법과 같은 방법으로 0.86 g($\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{O}_2$, 214.34, 수득율: 64%)의 butyl ester 화합물 **10e**를 합성하였다.

결 과

난 꽃의 천연향기성분 methyl 3-methyloctanoate는 C8 골격의 octanoic acid의 3번 위치에 methyl 곁가지를 가진 methyl ester 구조이며, 이는 3-methyloctanol의 산화로 쉽게 얻을 수 있다. 여기서 methyl 곁가지 부분은 2-methyl-1,4-butanediol에서 도입하며 나머지 C4-골격을 곁합시켜 3-methyloctanol을 합성하였으며, 2-methyl-1,4-butanediol의 2-methylbutane 골격은 싼 가격에 쉽게 구할 수 있는 *Asp. terreus*가 생산하는 미생물 발효산물 itaconic acid를 출발물질로 하여 유도하였다. 물론 2-methyl-1,4-butanediol은 2-methylsuccinic acid로부터 합성할 수 있으나⁷⁾ itaconic acid 보다 침수배 이상의 고가이다.

출발물질 itaconic acid **1**을 환원시키기 쉽게 산 촉매 하에서 isopropyl alcohol을 이용하여 ester **2**를 합성하였다. Lithium aluminum hydride(LAH)와 같은 강한 환원제를 사용한 itaconic ester **2**의 환원⁸⁾ 원하는 2-methyl-1,4-butanediol을 얻을 수 있으나 olefin 부분이 환원 되지 않은 2-methylene-1,4-butanediol이 주 생성물로 얻어졌으며, 이를 변형시킨 여러 환원 조건을 시도하였으나 ester 부분과 함께 olefin 까지 완전히 환원되지 않았기에 2단계반응으로 시도하였다. 먼저 itaconic ester의 이중결합 부분을 가압 수소가스 조건 하에서 10% palladium-carbon 촉매반응으로 hydrogenation 반응으로 2-methylsuccinate

3을 제조한 후 LAH로 ester 부분을 환원시켜 methyl 결가지를 가지는 골격의 2-methyl-1,4-butanediol 4를 합성하였다. 2-Methyl-1,4-butanediol의 양 말단의 두 일차 알코올 그룹을 화학적인 방법으로 어느 한쪽만을 보호기로 보호하는 것은 극히 비효율적이므로, 먼저 양쪽의 일차 알코올을 모두 acetylation 시킨 di-acetate 5로 전환 후 그 다음 한쪽의 acetyl 그룹만을 제거하였다. 위치선택적인 mono-acetylation 반응은 P. Ferraboschi 그룹이 이용한 방법으로⁹⁾ lipase를 생물촉매로 사용한 위치선택적 가수분해반응(regioselective hydrolysis)을 titanium 금속을 함께 이용하여 만족스러운 수율은 아니지만 개량된 방법으로 1번 위치의 acetyl 그룹만이 가수분해된 mono-acetate인 원하는 2-methyl-1,4-butanediol 4-acetate 6a를 얻을 수 있었으며, 탈보호된 일차 알코올 그룹은 pyridine 용매 하에서 *p*-tosylchloride로 처리하여 alkylation을 위한 이탈기를 가지는 tosylate 7을 합성하였다. 1-Bromobutane으로 제조한 Grignard reagent를 tosylate 7에 처리하여 C4-block이 alkylation된 acid의 전구체인 3-methyl-1-octanol 8을 Grignard reaction으로 합성하였다. 일차알코올 8을 산화시켜 3-methyl-1-octanoic acid 9로 전환시켰으며 여기에 산 촉매 하에 methyl alcohol과 탈수반응 시켜 최종 ester 향기성분 methyl 3-methyloctanoate 10을 전 공정 9단계로 합성완료 하였다. 최종 에스테르화 반응에서 methyl alcohol 대신 다양한 알코올들을 사용하여 여러 ester 화합물 alkyl 3-methyloctanoate를 합성하였으며 이들 각각의 최종 ester 향료화합물들은 서로 상이한 향기를 나타내었다.

고 찰

Methyl 결가지를 가지는 methyl ester 구조의 아프리카산 난(*Aerangis confusa*, *Aerangis kirkii*) 꽃의 천연향기성분 methyl 3-methyloctanoate를 미생물 *Asp. terreus*의 발효산물인 아주 값이 싼 itaconic acid를 출발물질로 하여 제조한 methyl가지를 가지는 2-methyl-1,4-butandiol 4를 합성한 후 양쪽 말단의 일차 알코올 부분을 lipase를 생물촉매로 이용한 위치선택적 가수분해반응으로 mono-acetate 6a을 거쳐 전 공정 9단계로 최종 향기성분 methyl 3-methyl octanoate를 합성하였다. 최종 향기성분의 methyl ester대신 다양한 알킬 ester 화합물을 합성에서 향의 상이한 변화가 나타났으며 이들은 화장품이나 식품산업에 있어서 유용한 향료조성물의 첨가소재로 응용이 기대되며, 전 공정 중 반응 수율이 높지 않은 lipase를 사용한 위치선택적 가수분해반응 단계를 고 수율로 개량하면 대량합성도 가능하리라 기대한다.

초 록

Branched methyl group을 가지는 아프리카산 난(*Aerangis confusa*, *Aerangis kirkii*) 꽃의 천연향기성분인 methyl 3-methyloctanoate를 값싼 미생물 발효산물인 itaconic acid를 출발

물질로 하여 제조한 branched methyl group을 부분구조로 가지는 2-methyl-1,4-butandiol를 중간체로 하여 전 공정 9단계로 합성하였다. 최종 향기성분 methyl 3-methyloctanoate의 methyl ester대신 다양한 알킬 ester 화합물을 합성하여 그 향을 비교한 결과 서로 상이한 향 특성을 나타내므로 화장품이나 식품산업에 있어서 유용한 향료조성물의 첨가소재로 개발 가능하리라 사료 된다.

Key words: 난초, 난향, 향료, methyl 3-methyloctanoate, 방향제, itaconic acid, scent ester

감사의 글

본 연구는 경북대학교 연구지원(2000/05)에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. R.Caiser (1993) In *The Scent of orchids*. Elsevier, Amsterdam.
2. Mori, K. and Kitahara, T. (1995) Preparation of optically active 3-methyloctanoates for perfume compositions, Japan Patent 07233119.
3. Kitahara, T., Hyun, K. S., Tamogami, S. and kaiser, R. (1994) Synthesis of both enantiomers of methyl 3-methyloctanoate, key component for the scent of African orchids and determination of their absolute configuration. *Nat. Prod. Lett.* **5**, 157-64.
4. Teranishi, R., Buttery, R. G. and Sugisawa, H. (1998) In *Bioactive volatile compounds from plants*. American Chemical Society, Washington DC.
5. Yahiro, K., Shibata, S., Jia, S. R., Park, Y. S. and Okabe, M. (1997) Efficient itaconic acid production from raw corn starch. *J. Ferment. Bioeng.* **85**, 69-71.
6. Reddy, C. S. K., and Singh, R. P. (2002) Enhanced production of itaconic acid from corn starch and market refuse fruits by genetically manipulated *Aspergillus terreus* SKR10. *Bioresour. Technol.* **85**, 69-71.
7. Paride G, Patrizia F., Silvana C. and Enzo S. (1993) Studies on the enantioselectivity of the transesterification of 2-methyl-1,4-butanediol and its derivatives catalyzed by *Pseudomonas fluorescens* lipase in organic solvents. *Tetrahedron: Asymmetry*. **4**, 997-1006.
8. Fetizon, M., Golfier, M. and Louis, J-M. (1975) Oxydations par le carbonate d'argent sur celite-XIII: Preparation de lactones. *Tetrahedron*. **31**, 171-176.
9. Ferraboschi, P., Grisenti, P., Manzocchi, A. and Santaniello, E. (1994) Regio- and enantioselectivity of *Pseudomonas cepacia* lipase in the transesterification of 2-substituted-1,4-butanediols. *Tetrahedron: Asymmetry* **5**, 691-698.