

제올라이트-효소 촉매를 이용한 ρ, α -Dimethyl Benzyl Alcohol의 2상 동적 속도론적 광학분할

차연주 · 고문규* · 박용호†

한양대학교 재료화학공학부, *건양대학교 화학생명공학과
(2006년 10월 12일 접수, 2006년 11월 9일 채택)

Biphasic Dynamic Kinetic Resolution of ρ, α -Dimethyl Benzyl Alcohol over Zeolite-Enzyme Catalysts

Yeon-Ju Cha, Moon-Kyu Ko*, and Yeung-Ho Park†

Division of Materials and Chemical Engineering, Hanyang University, Ansan 425-791, Korea

*Department of Chemical and Biochemical Engineering, Konyang University, Nonsan 320-711, Korea

(Received October 12, 2006; accepted November 9, 2006)

ρ, α -dimethyl benzyl alcohol을 효과적으로 분할하기 위하여 2상 동적 속도론적 광학분할(biphasic dynamic kinetic resolution, DKR)반응을 실시하였다. 라세미화 반응을 위하여 촉매로 산성 제올라이트를 사용하였고 속도론적 광학분할(kinetic resolution, KR)을 위하여 고정화 효소를 촉매로 사용하였다. 유기용매와 물을 용매로 사용하는 이상 DKR 반응에서, acyl donor, 반응온도, 기질의 농도, 두 가지 촉매의 상대적 비율 및 교반속도 등의 공정변수를 변화시켜가면서 DKR반응의 전환율과 생성물의 광학순도에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과, ρ, α -dimethyl benzyl alcohol의 DKR 반응에서 99% 이상의 광학순도를 가지는 생성물을 최대 88%의 높은 수율로 얻을 수 있었으며, 높은 TON에서도 반응의 효율성이 유지되었고 촉매의 재사용 시에도 지속적인 활성을 나타내었다.

ρ, α -dimethyl benzyl alcohol was resolved by the biphasic dynamic kinetic resolution (DKR). Acidic zeolite was used as a racemization catalyst while immobilized enzyme was employed for kinetic resolution. The effects of the process variables including nature of acyl donor, reaction temperature, substrate concentration, ratio of the two catalysts and stirring rate on the conversion and enantiomeric purity of the product were investigated. In DKR of ρ, α -dimethyl benzyl alcohol, the product of 99% ee was obtained with a maximum yield of 88%. The high performance of the catalyst system was maintained in the condition of higher TON and under repeated use.

Keywords: biphasic dynamic kinetic resolution, ρ, α -dimethyl benzyl alcohol, acidic zeolite, immobilized enzyme, process variables

1. 서 론

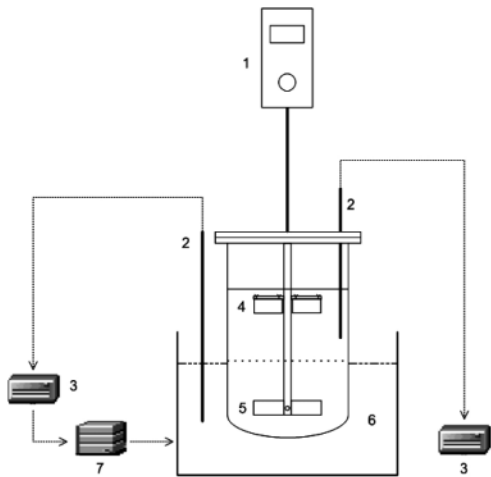
촉매를 이용한 키랄화합물의 합성법 중 널리 쓰이는 방법 중의 하나가 효소를 촉매로 이용하는 속도론적 광학분할(kinetic resolution, KR)법이다. 이 방법은 효소를 이용하므로 반응 조건이 온화하고 환경 친화적이며 에너지 소비가 적은 장점을 가지고 있지만 사용된 라세미체인 기질 중 한 가지 광학 이성질체만을 생성물로 변화시켜 분리하기 때문에 반응이 완료되었을 때 원하는 광학 이성질체의 최대수율이 50% 밖에 안 된다는 단점이 있다.

이러한 KR의 단점을 해결하기 위해 최근 동적 속도론적 광학분할(dynamic kinetic resolution, DKR) 방법이 많이 연구되고 있다[1-3]. DKR 방법은 효소적 분할 반응과 기질의 라세미화 반응을 동시에 수

행하여 라세미 혼합물 상태의 기질을 모두 광학 순도가 높은 생성물로 변화시키는 방법이다. 이 경우 입체 선택적 반응이 일어남과 동시에 기질의 두 이성질체 중 반응성이 느린 것이 라세미화 반응을 통해 반응성이 큰 것으로 변하게 되어 최대 이론 수율이 100%가 될 수 있다. 이는 입체 선택적 반응을 일으키는 효소와 라세미화 반응을 일으키는 촉매를 결합하여 사용함으로써 가능해진다.

DKR 반응에 있어서 라세미화 반응을 위한 촉매로서는 주로 전이 금속 촉매가 사용되어 왔다. Williams는 allyl acetate의 DKR 반응에 lipase-palladium combo 촉매를 사용하였고[4], 이차 알코올의 DKR 반응에 lipase-rhodium 촉매를 사용하였으나[5], 높은 반응수율을 얻는데는 실패하였다. Backvall은 lipase-ruthenium 촉매를 사용하여 효과적인 DKR 반응을 수행하였고[6], DKR 반응의 상업적 공정에 대해서도 보고된 바 있다[7]. 그러나 이러한 전이금속 촉매들은 고가이고 재사용도 어려우며 공기에 민감하여 취급이 어렵고, 반응 속도가 낮은

† 주 저자 (e-mail: parkyh@hanyang.ac.kr)



- 1. Mechanical Driver
- 2. Thermometer
- 3. Temperature
- 4. 400 mesh gauze basket
- 5. Mechanical Stirrer
- 6. Oil Bath
- 7. TPR

Figure 1. Apparatus for biphasic DKR.

Table 1. Range of Experimental Operation Conditions on Biphasic Reaction

Condition	Range
Reaction Temperature	40 ~ 80 °C
Agitation Speed	300 ~ 500 rpm
Feed concentration	0.0254 ~ 0.72 M
Catalyst amount (enzyme)	55 ~ 220 mg
Catalyst amount (zeolite)	207 ~ 620 mg

문제점이 있다.

한편 비균일질 촉매를 이용한 DKR 반응도 보고된 바 있는데, Reets는 lipase에 의한 amine의 KR 반응에서 라세미화 촉매로 Pd/C를 사용하여 99% ee와 64%의 수율을 얻었으나, 반응속도가 매우 느린 문제점이 있었다[8]. Wuyts는 Ru을 hydroxyapatite에 담지하여 benzylic, alliphatic alcohol의 라세미화 반응에 사용하였으나 반응시간이 매우 길고 광학순도가 충분히 낮아지지 않았으며[9], Amberlyst[®]15과 Deloxan[™]과 같은 acid polymer에 담지된 고체산도 라세미화 촉매로 사용된 것으로 보고되었다[10,11]. Wuyts는 1-phenylethanol의 DKR 반응에서 라세미화 촉매로서 산성 제올라이트를 사용하였는데[12,13], 제올라이트 촉매를 이용한 라세미화 반응은 물층에서, 효소 분할 반응은 유기용매층에서 이루어지도록 하는 2상 계(biphasic system)를 통하여 수율 90%, 99% ee의 좋은 결과를 얻었다. 하지만 Wuyts의 DKR 반응은 기질이 1-phenylethanol에 한정되어 있고 반응에 대한 상세한 분석이 결여되어 있으며, turnover number (TON)도 너무 낮아 산업적으로 적용하는데 한계를 가지고 있었다. 본 연구에서는, 이러한 결과의 산업적 적용성을 높여 보고자, 상기연구에 사용된 기질과 다른 화합물인 ρ, α -dimethyl benzyl alcohol에 대해 2상 DKR을 수행하면서, 반응생성물들의 변화과정에 대한 상세분석을 통해 공정조건에 따른 반응 특성의 변화를 조사하여 최적반응조건을 찾아보았고, 생산비를

절감하기 위한 방편으로서 촉매의 재이용 및 높은 TON 조건에서의 반응 가능성에 대해서도 탐색하여 보았다.

2. 실험

2.1. 물 질

ρ, α -dimethyl benzyl alcohol은 Fluka사에서 공급된 시약을 사용하였다. Vinyl octanoate (VO)는 TIC사에서 판매되는 99% 시약을 구입하여 사용하였고, octanoic acid (OA)는 Aldrich사에서 판매되는 99.5% 시약을 사용하였다. 용매로 사용되는 n-octane은 Yakuri사에서 공급된 고순도 시약을 별도의 정제 없이 사용하였고 증류수는 3차 초순수 증류수를 사용하였다. 라세미화 촉매로 사용된 제올라이트는 NH₄⁺ 형태를 공기 분위기에서 5 h 소성시켜 H⁺ 형태로 바꾸어 사용하였다. 분할반응에 사용된 효소는 Sigma 사로부터 Novozym[®] 435를 구입하여 사용하였다.

2.2. 2상 DKR 장치

2상 DKR 반응에 사용되는 반응 장치도는 Figure 1과 같다. 반응기는 125 mL 용량으로 유리 반응기를 사용하였는데, 반응액의 교반은 mechanical stirrer에 의해 수행되었다. 물과 비극성 유기 용매가 두 층을 이루고 각각의 층에서 서로 다른 촉매에 의해 두 가지 반응이 동시에 일어나는 2상 반응이기 때문에, 두 가지 촉매가 서로 섞이지 않도록 유기층에는 shaft 중간에 주머니를 장착하여 효소를 담도록 하였고, 수층에는 제올라이트 입자들이 액중에 떠 있도록 온화한 속도로 교반 해주었다. 효소를 담을 주머니는 400 mesh (3.7 μm)의 구멍을 가진 천으로 0.3~0.9 mm 범위의 입자 크기를 가지는 Novozym[®] 435가 반응 중 빠져나오지 않으면서 반응물의 출입은 가능하도록 하였다. 효소 주머니는 shaft 상단에 고정시켜서, 효소가 반응 중 아래의 물 층과 접촉하지 않도록 하였다. 반응에 사용된 기름 중탕(Oil bath)의 온도는 자동 온도 조절장치로 유지하였다.

2.3. 실험절차

제올라이트와 증류수 50 mL를 반응기에 담은 후 같은 분량의 유기 용매를 반응물인 ρ, α -dimethyl benzyl alcohol과 VO와 함께 주입하였다. 효소에 물이 닿지 않게 유의하여 반응기에 교반기를 장착하고, 반응온도는 목표 수준까지 증가시키고 나서 60여 min 동안 안정화시킨 후에 교반을 시작하였으며, 교반이 시작되는 그 순간부터 반응 시간으로 간주하였다. 반응이 끝난 후 최종 생성물은 유기용매층을 0.6 M NaHCO₃ 용액으로 추출하여 얻었는데, 이러한 DKR 반응의 대략적인 조건은 Table 1에 제시된 바와 같다.

2.4. 생성물 분석

반응시료는 DKR 실험 동안 일정한 시간 간격으로 취하여 FID 검출기가 장착된 기체크로마토그래피(GC, HP 6890 plus)로 분석하였다. 반응생성물의 정량 분석을 위하여는 5%의 phenyl methylpolysiloxane이 코팅된 Agilent사의 HP-5 컬럼을 사용하였고, 광학 순도의 계산을 위해서는 14%의 cyanopropylphenyl과 86%의 dimethyl polysiloxane으로 구성된 고정상에 β-cyclodextrin 성분이 코팅되어 있는 키랄 칼럼(CYCLODEXB, 60 m × 0.25 mm × 0.25 μm)을 사용하였다. 이상 DKR 반응에 의한 미지의 생성물들의 정성분석은 질량분석기(GC/MS, Shimadzu Co.)를 이용하여 수행하였다.

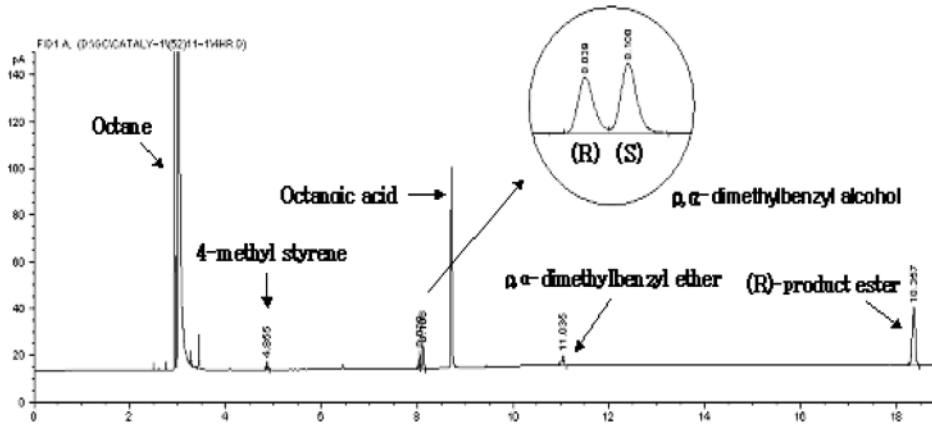


Figure 2. GC chromatogram of the product.

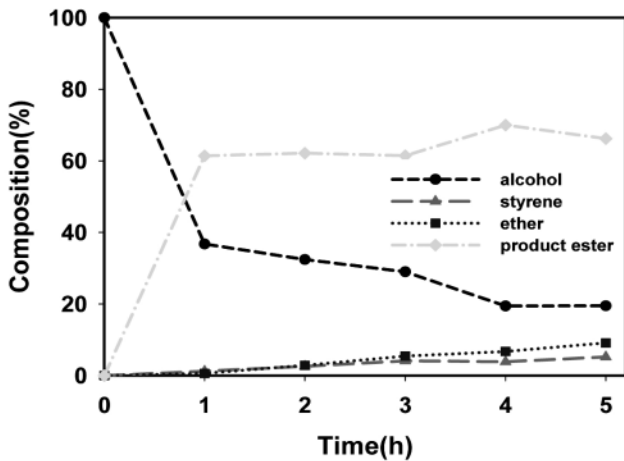


Figure 3. Product distribution from DKR of ρ, α-dimethylbenzyl alcohol (zeolite:enzyme=110:620).

3. 결과 및 고찰

2상 DKR 공정의 최적화를 위해서는 이러한 반응계에서 DKR 반응의 여러 가지 공정 변수들이 반응 전환율과 선택도에 어떠한 영향을 미치는지를 알아야 하므로 먼저 각 변수의 값을 변화시키면서 반응에 미치는 영향을 조사해 보았다.

기본조건 하에서의 반응 생성물을 분석한 결과, ρ, α-dimethyl benzyl alcohol의 2상 DKR 반응의 주 생성물로는 (R)- ρ, α-dimethyl benzyl octanoate가 얻어졌고 이 외에 methyl styrene과 ρ, α-dimethyl benzyl ether가 얻어졌는데 이들에 대한 기체크로마토그램은 Figure 2와 같다. 1-(ρ-tolyl)ethyl ether의 생성반응에 대해서는, 본 연구와 유사한 1-phenyl ethanol의 DKR 반응에서 1-phenylethyl ether가 제올라이트에 의한 라세미화 반응의 부반응에 의해 생성되는 것으로 보고된 바 있다[13]. 반응생성물들의 시간에 따른 변화는 Figure 3에 보여진 것과 같은데, 반응 초기 1 h까지는 ester가 빠르게 생성되다가 속도가 줄면서 styrene과 ether가 조금씩 생성되는 것을 관찰할 수 있었으며, 반응물인 alcohol의 전환속도는 반응 후 1 h이 지나면서 현저하게 줄어드는 것을 확인할 수 있었다.

3.1. Acyl Donor의 영향

먼저 acylating agents의 양에 따른 영향을 보면 반응생성물의 광학 순도는 99% 이상으로 유지되나(Table 2의 1-3항), VO의 양이 증가됨에 따라 주 생성물인 product ester의 생성 속도가 증가되나 선택도는 조금씩 감소됨을 볼 수 있었다. 또한 2당량의 VO를 일정 시간 간격으로 투입하여 보았는데, 이 때 반응 초기에 과량의 VO를 넣어 주는 것과 비교하여 반응 전환율과 선택도가 모두 증가하는 모습을 보였다. 반응물의 분석 시 VO의 농도가 감소하면서 OA의 농도가 증가되는 것이 목격되었는데 이는 VO가 반응 중 OA로 가수분해 된다는 것을 나타낸다. 따라서, acyl donor로서 OA의 영향도 조사해 보았는데 (Table 2의 5, 6항), 같은 시간 동안 반응 하였을 경우 VO대신 OA를 사용하였을 때는 수율과 선택도 모두 감소함을 알 수 있었다. 따라서 Figure 3에서 관찰되듯이 acyl donor로서 VO를 투입하여 반응할 때 반응속도가 1 h 후에 급격히 떨어지는 것은, 처음에 투입된 VO가 OA로 가수분해 되면서 이후의 분할 반응이 OA에 의한 에스테르화 반응을 통하여 이루어지게 되기 때문으로 보여진다.

VO를 반응에 사용할 경우 OA보다 반응속도가 빨라지는 것은 두 acyl donor의 반응성차이로 설명된다. 예를 에스테린 VO를 acyl donor로 사용하였을 경우에는, VO와 기질 간의 에스테르 교환 반응의 부산물로 생성되는 알칼이 keto-enol tautomerization반응을 통하여 빠르게 알데하이드로 tautomerization된다. 이 반응은 비가역 반응이라서 기질의 에스테르화 반응에서 평형을 정반응 방향으로 이동시키게 하므로, free carboxylic acid인 OA를 사용하였을 경우와 비교하여 반응이 훨씬 빠르게 일어나는 것으로 사료된다.

3.2. 제올라이트 촉매와 효소 비율에 따르는 영향

DKR에서는 두 가지 촉매에 의한 반응들의 결과가 복합적으로 얻어지게 되므로 두 촉매의 양의 비율의 영향이 중요할 수 있다. Table 3은 두 촉매의 비율이 생성물의 수율과 선택도에 미치는 영향을 나타낸 것이다. 두 촉매의 상대적 비율에 따라 반응 속도와 선택도의 차이뿐만 아니라 생성되는 부산물의 종류와 양에도 영향을 미치는 것을 볼 수 있었다. 기본조건(2항) 대비하여, 제올라이트의 비율이 증가할수록 (1, 4항) alcohol의 %e값이 감소하고 styrene과 ether의 양이 증가하면서 product ester의 수율이 크게 감소함이 관찰되었다. alcohol의 %e값의 감소는 라세미화 촉매인 산성 제올라이트의 양이 증가함에 따라 분할반응 보다 라세미화 반응이 더 활발하게 일어나기 때문으로

Table 2. The Effect of Acyl Donor on Biphasic DKR^a

Entry	Acyl donor	Acyl equiv.	Conv. [%]	Selectivity ^b [%]	Yield [%]			%ee _{ester}	%ee _{alcohol}
					ester	styrene	ether		
1	Vinyl octanoate	2	79.66	96.27	76.70	2.55	0	>99	15
2	Vinyl octanoate	10	87.87	95.97	84.33	2.22	1.32	>99	18
3	Vinyl octanoate	20	89.08	93.93	83.67	2.81	2.60	>99	22
4	Vinyl octanoate	20 ^c	90.25	97.65	88.13	2.12	0	>99	23
5	Octanoic acid	2	68.70	90.22	61.98	6.72	0	>99	16
6	Octanoic acid	10	69.15	64.39	65.27	3.88	0	>99	17

^a Reaction conditions: 413 mg H-beta zeolite, 110 mg Novozym[®] 435, 1.27 mmol ρ, α -dimethylbenzyl alcohol, 50 mL octane, 50 mL, DI water, 60 °C, 300 rpm, 5 h, acyl donor added at the beginning of the reaction.

^b Selectivity to product ester.

^c 2 equiv. h⁻¹.

Table 3. The Effect of the Amount of Enzyme and Zeolite^a

Entry	Enzyme [mg]	H-beta zeolite [mg]	t [h]	Acyl donor ^b	Conv. [%]	Selectivity ^c [%]	Yield [%]			%ee _{ester}	%ee _{alcohol}
							ester	styrene	ether		
1	55	413	5	VO	70.53	86.28	60.85	5.52	4.16	>99	8
2	110	413	5	VO	79.66	96.27	76.70	2.55	0	>99	15
3	220	413	5	VO	78.76	91.16	71.80	3.75	3.21	>99	18
4	110	620	5	VO	80.53	82.21	66.20	5.20	9.13	>99	8
5	110	207	5	VO	77.41	94.26	72.97	2.54	1.90	>99	20

^a Reaction conditions: H-beta zeolite, Novozym[®] 435, 1.27 mmol ρ, α -dimethylbenzyl alcohol, 50 mL octane, 50 mL DI water, 60 °C, 300 rpm, acyl donor added at the beginning of the reaction.

^b VO = vinyl octanoate.

^c Selectivity to product ester.

해석되었다.

이와는 반대로 산성 제올라이트에 대한 효소의 비율이 기본 조건 대비하여 증가함에 따라(3, 5항) 반응물의 전환율과 선택도가 약간 감소하고 ρ, α -dimethyl benzyl alcohol의 %ee값이 증가하였다. 아울러 효소가 증가했을 때 같은 반응 시간동안 VO가 감소되고 OA가 생성되는 속도가 증가하는 것이 관찰되었다. alcohol의 ee값 증가는 알콜의 라세미화 반응 보다 효소에 의한 분할 반응이 더 활발하게 일어나기 때문이며, 또한 acyl donor인 VO가 OA로의 전환이 증가하는 것도 효소에 의한 가수분해 반응이 왕성해 지기 때문으로 사료된다. 이에 따라, 효소의 증가에 따른 반응 속도와 수율의 변화는 acyl donor로서 활성이 높은 VO가 활성이 낮은 OA로 전환되기 때문이라고 생각된다.

제올라이트의 양이 413 mg으로 일정한 경우, 효소의 양이 기본조건 반으로 줄면, 반응전환율이 70.53%로 크게 감소하나(1항), 효소의 양을 2배로 늘렸을 경우에는 반응전환율이 기본조건인 경우보다 약간 감소하여 78.76%로 됨으로써(3항), 기본조건인 효소 110 mg을 사용하는 것이 최적의 조건임을 보여주었다. 이상의 결과를 요약하면, 제올라이트와 효소의 양을 적절히 조절하여 라세미화와 분할 두 반응의 속도를 맞추어 줌으로써 반응속도 및 수율을 극대화시킬 수 있을 것으로 사료된다.

3.3. 반응온도의 영향

ρ, α -dimethyl benzyl alcohol의 이상 DKR 반응에서 반응 온도를

40, 60, 80 °C로 달리하여 수율과 %ee값에 미치는 영향을 살펴보았다. Figure 4, 5를 보면 반응 온도가 높아질수록 수율이 감소하는 대신 부산물인 4-methyl styrene의 양은 증가하며, product ester의 %ee값과 alcohol의 %ee값이 감소하는 것이 관찰되었다. 이러한 결과는 반응 온도가 높아짐에 따라 제올라이트에 의한 ρ, α -dimethyl benzyl alcohol의 탈수 반응이 활발히 일어나 4-methyl styrene과 같은 부산물의 생성량이 증가하기 때문으로 생각할 수 있다. 분할 반응에 사용된 Novozyme[®] 435는 40~60 °C 범위에서 좋은 활성을 나타내며 반응 온도가 60 °C일 때까지만 변형이 일어나지 않는다고 보고된 바 있다. 따라서, 높은 온도에서 효소의 활성이 떨어져 분할반응이 억제되거나 제올라이트에 의한 라세미화 반응은 활발하게 일어나게 되어 ester의 수율이 떨어지고 그의 %ee값도 96%까지 낮아지게 되며, 기질인 alcohol의 %ee값도 낮아지게 되는 것으로 사료된다.

3.4. 유기용매의 종류에 따른 영향

2상 DKR 반응에서 사용되는 유기용매는 물과 섞이지 않으며 물보다 비중이 작아 물 위에 존재해야 한다. 따라서 비극성 용매인 toluene, octane, cyclohexane을 분할 반응의 용매로 사용하였다. 여러 가지 반응용매를 사용하여 얻어진 반응결과가 Figure 6에 제시되어 있는데, toluene을 용매로 사용하였을 때는 수율이 19.48%로서 가장 낮은 결과를 나타내었고, cyclohexane과 octane을 사용하였을 때는 수율이 각각 60%, 70%로 증가됨을 보였다.

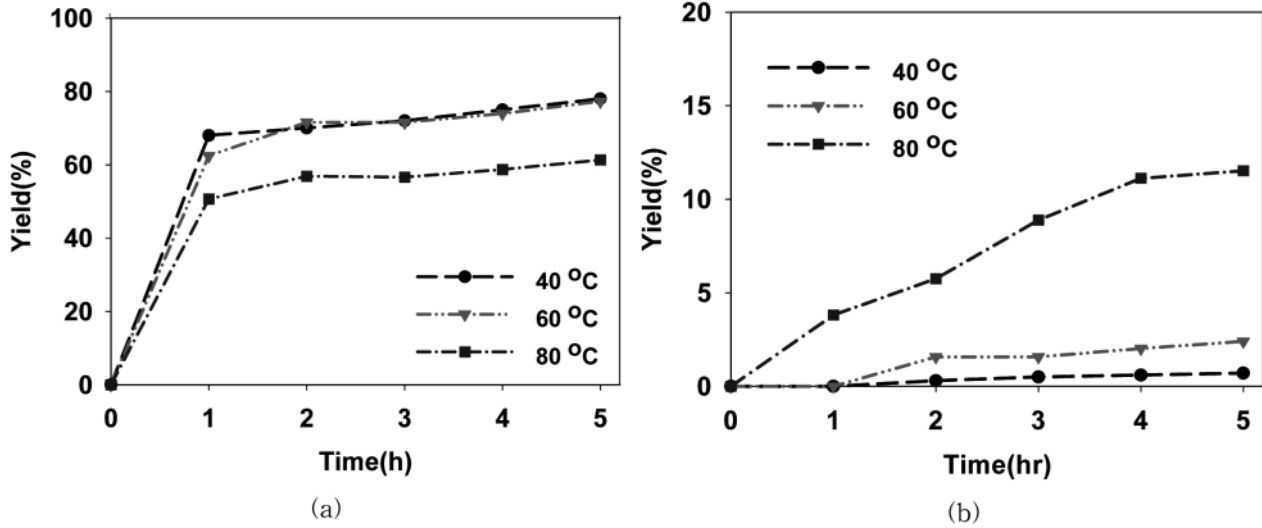


Figure 4. The effect of temperature on biphasic DKR. (Reaction conditions: 1.27 mmol ρ, α -dimethylbenzyl alcohol, 50 mL octane, 50 mL DI water, 300 rpm, H-beta zeolite, Novozym[®] 435, acyl donor added at the beginning of the reaction.) (a) Product ester yield, (b) 4-Methylstyrene yield.

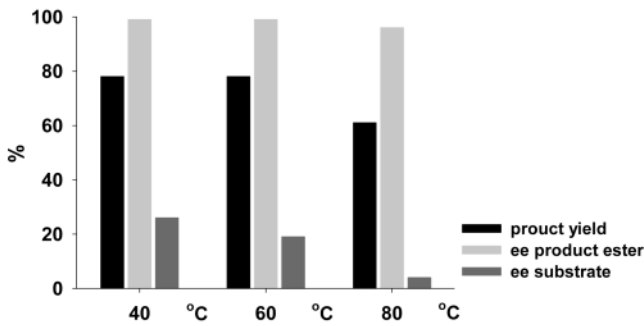


Figure 5. The effect of temperature on biphasic DKR (Reaction conditions: 1.27 mmol ρ, α -dimethylbenzyl alcohol, 50 mL octane, 50 mL DI water, 300 rpm, H-beta zeolite, Novozym[®] 435, acyl donor added at the beginning of the reaction. Data taken after 5 h).

toluene은 반응에 사용된 용매들 중 가장 낮은 비극성도를 가지므로 toluene 중에는 상당량의 물이 존재하게 되고 이로 인한 product ester의 가수분해 반응이 야기됨으로서 ester로의 acylation 전환율이 감소하게 되는 것으로 보여진다. 또한 물 층에 존재하는 alcohol의 양이 증가함에 따라 물 층에서 일어나는 제올라이트 촉매에 의한 알코올의 라세미화 반응이 상대적으로 활발해짐에 따라 알코올의 ee값도 감소하는 것으로 보인다. 이에 반해 cyclohexane과 octane과 같이 비극성도가 큰 용매를 사용하면 물이 유기층에서 배제되어 이러한 부반응이 억제되고 이에 따라 product ester로의 수율이 증가되는 것으로 생각된다.

3.5. 촉매의 재사용 실험

DKR반응의 경제성을 높이기 위해 촉매인 제올라이트와 고정화 효소의 재사용 실험을 수행하였는데, 촉매의 회수를 위하여 반응 종료 후 효소는 촉매 주머니에 담은 채 octane으로 세척하여 남아있는 물질을 씻어내었다. 제올라이트의 재사용을 위해서는 상층의 유기용매를 제거한 후 남은 제올라이트는 원심분리기를 이용하여 octane과 물로

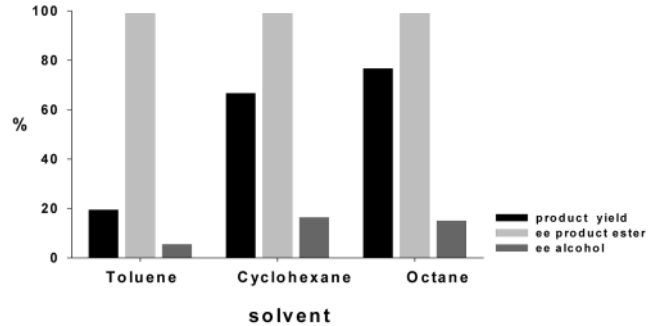


Figure 6. The effect of solvent on biphasic DKR (Reaction conditions: 1.27 mmol ρ, α -dimethylbenzyl alcohol, 50 mL organic solvent, 50 mL DI water, 300 rpm, 60 °C, H-beta zeolite, Novozym[®] 435, acyl donor added at the beginning of the reaction).

여러 번 세척하였다. 이전의 연구에서는[13] 제올라이트의 재사용 실험에서 물층을 octane으로 2회 추출하여 세척한 후 물과 제올라이트 suspension은 그대로 다음 반응에 사용하였기 때문에 물 층에 미 반응물이 완전히 제거되지 않고 남아있을 확률이 높았었다. Figure 7에서 보면 원심분리기를 이용한 촉매의 재사용 실험에서 5회 재사용 후에도 높은 촉매 활성을 나타내었는데, 촉매를 재사용 하는 동안 지속적으로 99% 이상의 product ester의 ee값과 60% 이상의 수율을 나타내었으며, 낮은 기질 alcohol의 %ee값을 20% 미만으로 유지하여 제올라이트와 효소의 재이용 가능성이 매우 높음을 보여주었다.

3.6. 기질 농도의 영향

1-phenylethanol의 2상 DKR 반응 연구에서는 용매 중 기질의 농도가 너무 낮아서[13] 상업적 의미를 가지기 어려우므로 본 연구에서는 기질의 농도를 높여서 반응을 수행해 보았다. 이를 위해서 촉매의 양은 같게 유지시키고 ρ, α -dimethyl benzyl alcohol의 농도를 기본 반응 조건인 용매의 0.35% 수준에서 용매의 10% 수준까지 증가시켜보았다. 그 결과가 Table 4에 제시되어 있는데, 반응물의 농도가 용매의

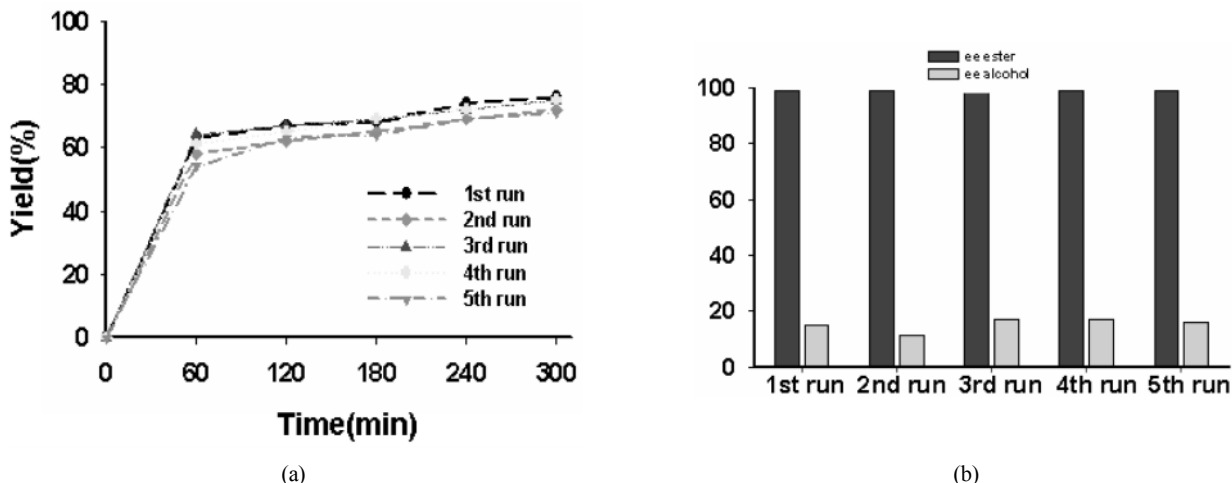


Figure 7. The effect of catalysts reuse (Reaction conditions: 1.27 mmol ρ, α -dimethylbenzyl alcohol, 50 mL organic solvent, 50 mL DI water, 300 rpm, 60 °C, H-beta zeolite, Novozym® 435, acyl donor added at the beginning of the reaction. Data in (b) taken after 5 h) (a) product ester yield, (b) enantiomeric excess.

Table 4. The Effect of Substrate Concentration on Biphaic DKR^a

Entry	Substrate concentration [M]	Conv. [%]	Selectivity ^b [%]	Yield [%]			%ee _{ester}	%ee _{alcohol}
				ester	styrene	ether		
1	0.025	79.66	96.27	76.70	2.55	0	>99	15
2	0.36	79.78	98.04	78.22	1.03	0.53	>99	26
3	0.72	60.21	94.42	56.85	2.58	0.78	>99	14
3-1	400 rpm	66.28	95.73	63.45	1.52	1.31	>99	14
3-2	500 rpm	59.64	92.04	54.89	1.55	0.35	>99	30
3-3	1 st reuse	53.50	97.98	52.42	1.08	0	>99	34
3-4	2 nd reuse	58.16	99.16	57.67	0.49	0	>99	34

^a Reaction conditions: 50 mL octane, 50 mL DI water, 300 rpm, 413 mg H-beta zeolite, 110 mg Novozym® 435, 5 h, 2equiv, VO added at the beginning of the reaction.

^b Selectivity to product ester.

5%인 0.36 M로 14.4배 증가시켰을 때는 반응 전환율과 수율이, 반응물 농도가 낮은 경우와 비슷한 결과를 나타내었으나, 반응물을 용매의 10%인 0.72 M까지 28.8배 증가시켰을 때는 반응 전환율은 60%, ester 수율은 57%까지 감소하는 모습을 보였다.

반응물의 농도를 높였을 때 반응 전환율과 수율이 낮아지는 것이 교반이 불충분하여 일어나는 것인지를 알아보기 위하여 교반 속도를 증가시킨 후 반응을 실시하여 보았다. 그 결과, 교반 속도가 400 rpm으로 증가하였을 때 반응 속도와 수율이 다소 증가하였지만 500 rpm으로 증가시켰을 경우 오히려 감소하는 경향을 보여줌으로써, 반응물의 농도를 높일 때는 교반속도를 적절히 증가시켜 주는 것이 필요한 것으로 나타났다. 교반속도가 증가되면, 다량 투입된 기질의 아래 위 층간 활발한 물질전달 효과에 의해 반응속도가 증가할 수 있으나, 500 rpm 이상으로 과다하게 교반속도가 증가하게 되면 유기용매층과 물층의 층분리 상태가 파괴되어, 기질의 물질전달 개선 효과보다는 유층 내 물의 유입에 의한 product ester의 가수분해가 더 큰 영향을 미쳐서 오히려 수율이 감소하게 되는 것으로 생각된다.

이상의 결과가 더욱 큰 산업적인 의미를 갖도록 높은 TON에서 촉매의 재이용 가능성을 알아보기 위한 실험을 실시하였는데, 용매의 10% 수준인 높은 농도에서 촉매를 3회 연속 사용 하였을 때 alcohol

의 반응 속도는 다소 감소하나 부산물인 styrene과 ether가 감소하여 생성물의 선택도가 개선되는 모습을 나타내었다. 재사용 하였을 때 styrene과 ether가 감소하는 것은 제올라이트의 활성이 다소 저하되기 때문으로 생각되는데, 제올라이트에 의한 라세미화도 느려짐에 따라 alcohol의 %ee값도 34%까지 상승하는 것이 관찰되었고, 반응이 반복됨에 따라 제올라이트의 색이 붉게 변색되는 것도 관찰되었다. 이를 요약하면, 생산속도를 높이기 위해 반응물 농도를 과도하게 증가시키는 경우에는 촉매의 성능이 떨어지게 되므로, 반응물 농도를 적절한 정도까지만(본 실험의 경우는 원래 조건의 14.4배까지) 높이는 것이 필요하다고 생각된다.

4. 결 론

제올라이트와 효소를 사용한 ρ, α -dimethyl benzyl alcohol의 2상 동적 속도론적 광학분할 반응(DKR)에 있어서, acyl donor의 종류와 양, 반응 온도, 제올라이트와 효소 촉매의 양, 반응 용매의 종류 등의 공정변수들이 원하는 생성물의 수율과 반응속도에 크게 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이들 공정변수들은 반응 중 유층에서의 분할반응과 수층에서의 라세미화 반응간의 균형에 영향을 주는 것으로 보이

며 이러한 2상 계 반응에서 최대의 수율을 얻기 위해서는 반응물이 물층에서보다 유기층에서 더 활발히 반응에 참여할 수 있도록 반응 조건을 만들어 주는 것이 중요하였다. 따라서 상기의 반응을 ester를 acyl donor로 이용하고, 저온에서, 효소에 비해 낮은 비율의 제올라이트를 사용하여 octane 용매에서 반응시키는 경우, 99%의 높은 광학순도를 가지는 ester를 최대 88%의 높은 수율로 얻을 수 있었다. 나아가, 제올라이트-효소로 구성된 2상의 촉매반응계가 높은 반응물 농도 조건에서도 적용이 가능하고 재이용도 가능하여서, 매우 경제적이고 효율적인 반응 시스템임이 입증되었으며, 후속 연구를 통하여 적용대상 반응물의 범위만 넓혀 간다면 이러한 반응계가 광학분할을 위해 상업적으로 널리 활용될 수 있으리라 생각된다.

참 고 문 헌

1. M. J. Kim, Y. Ahn, and J. Park, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **13**, 578 (2002).
2. M. T. El Gihani and J. M. J. Williams, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **3**, 11 (1999).
3. S. Panke and M. G. Wubbolts, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **13**, 11 (2002).
4. J. V. Allen and J. M. J. Williams, *Tetrahedron Lett.*, **37**, 1859 (1996).
5. P. M. Dinh, J. A. Howarth, A. R. Hudnott, J. M. J. Williams, and W. Harris, *Tetrahedron Lett.*, **37**, 7623 (1996).
6. B. A. Persson, A. L. E. Larsson, M. L. Ray, and J. E. Bäckvall, *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 1645 (1999).
7. M. A. Rauhi, *Chem. Eng. News.*, **80**, 45 (2002).
8. M. T. Reetz and K. Schimossek, *Chimia*, **50**, 668 (1996).
9. S. Wuyts, D. E. De Vos, F. Verpoort, D. Depla, R. De Gryse, and P. A. Jacobs, *J. Catal.*, **219**, 417 (2003).
10. D. W. House, US Patent 5,476,964 (1995).
11. S. Y. Kalliney and M. V. Ruggeri, WO Patent 91/08196 (1991).
12. S. Wuyts, K. Temmerman, D. De vos, and P. Jacobs, *Chem. Commun.*, 1928 (2003).
13. S. Wuyts, K. De Temmerman, D. E. De Vos, and P. A. Jacobs, *Chem. Eur. J.*, **11**, 386 (2005).