

생촉매를 이용한 광학활성 에폭사이드 생산

¹이 은 열 · ²최 원 재 · ¹윤 성 준 · ¹김 희 숙 · [†]최 차 용
¹경성대학교 공과대학 식품공학과, ²서울대학교 공과대학 공업화학과
 (접수 : 1999. 2. 8., 게재승인 : 1999. 5. 31.)

Biocatalytic Production of Chiral Epoxides

Eun Yeol Lee¹, Won Jae Choi², Sung Jun Yoon¹, Hee Sook Kim¹, and Cha Yong Choi^{†2}

¹Department of Food Science and Technology, College of Engineering, Kyungshung University, Pusan 608-736, Korea and

²Department of Chemical Technology, College of Engineering, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

(Received : 1999. 2. 8., Accepted : 1999. 5. 31.)

Chiral epoxides are key intermediates for the production of chiral pharmaceuticals, agrochemicals, and functional food additives. Chiral epoxides can be produced by either chemical or biological method. In biocatalytic production routes, chiral epoxides can be produced *via* epoxidations of prochiral alkenes by monooxygenase or peroxidase. Kinetic resolution of racemic epoxides using whole cells of bacteria or fungi might be commercially useful, since it is possible to obtain chiral epoxides with high optical purities from relatively cheap and readily available racemic epoxides. Some bioprocesses already are commercially developed; the biocatalytic production of chiral epichlorohydrin *via* microbial stereospecific dehalogenation, and lipase-catalyzed enantioselective hydrolysis in a hollow fiber membrane bioreactor for the production of chiral methyl *trans*-3-(4-methoxyphenyl)glycidate, the intermediate for calcium antagonist diltiazem. The importance of biocatalytic production of chiral epoxides with several examples from literature are presented

Key Words · chiral epoxides, biocatalytic production, monooxygenase, peroxidase, kinetic resolution

서 론

에폭사이드 (epoxide)는 불안정한 3개 고리구조와 산소 원자의 전기음성도에 기인한 극성때문에 반응성이 우수하여 친전자성반응, 친핵성반응, 산·염기반응, 산화·환원반응 등 다양한 반응을 시킬 수 있다(1) 이러한 다양한 반응성과 함께 광학 성질을 가지는 광학활성 에폭사이드 (chiral epoxide)는 광학활성 의약품, 농약 및 기능성 식품 합성용 중간체로 널리 사용될 수 있다. 예로, 광학활성 epichlorohydrin (ECH)은 beta-blockers 등의 광학활성 의약품 중간체로 사용될 수 있으며, 또한 강유전성 액정 등에도 이용되는 등 그 응용범위가 매우 넓다(Figure 1).

광학활성 에폭사이드는 유기합성 또는 생촉매 (biocatalyst)를 이용하여 생산할 수 있다 대표적인 유기합성법인 Jacobsen 에폭사화반응법은 알켄 기질을 manganese-based salen 촉매를 이용하여 직접 에폭사화반응을 시키는 기술로써, *cis*-알켄을 기질로 사용하는 경우 86 ~ 98% *ee* (enantiomeric excess = [(R-S)/(R+S)] × 100%) 정도의 광학선택성을 보이며 반응 속

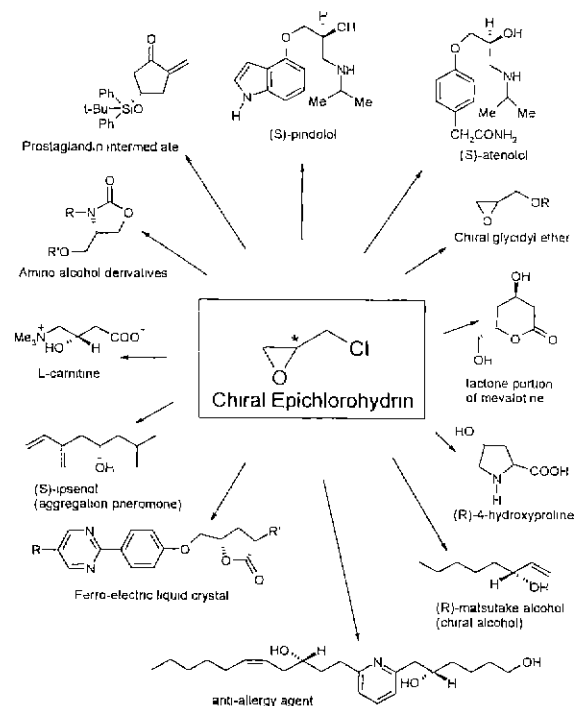


Figure 1. Application of chiral epichlorohydrin.

[†] Corresponding Author Department of Chemical Technology, College of Engineering, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

Tel : 02-880-7071, Fax : 02-888-1604

e-mail : choicy@plaza.snu.ac.kr

도 또한 빠른 편이다. 그러나, 이 기술은 *trans*-알켄 등에는 적용할 수 없는 등 사용할 수 있는 기질이 제한적이라는 단점도 존재하고 있다(2). Cobalt-based salen 촉매를 이용한 화학적 분할법은 단말에폭사이드 (terminal epoxide) 라세믹혼합물을 광학선택적으로 가수분해시키는 방법으로(3), 이 공정에서는 물 이외의 다른 유기 용매를 사용하지 않아 환경친화적이며 고가의 촉매를 0.5 mol% 정도의 낮은 농도에서 사용하므로 경제성도 우수하다. 예로 propylene oxide 라세믹혼합물 기질을 12시간 정도 화학분할시켜 광학활성 propylene oxide를 98% *ee* 및 44% 수율로 얻었고, 부산물로 생성되는 고가의 광학활성 1,2-diol도 98% *ee* 및 50% 수율로 얻었다. 단점으로는 사용되는 촉매가 너무 고가이고, 단말에폭사이드 등의 기질에만 제한적으로 적용되며 scale-up이 어렵다는 문제점도 있다

유기합성법에서의 여러 가지 문제점을 극복하기 위한 대안으로 생촉매를 이용한 광학활성 에폭사이드 합성법 연구가 활발히 진행 중이다(4,5). 광학선택성이 우수한 효소 또는 미생물 등의 생촉매를 이용한 광학활성 에폭사이드 생산은, 알켄 (alkene) 기질을 직접 에폭시화반응을 시키는 방법과 에폭사이드 라세믹혼합물을 광학분할시키는 방법으로 구분할 수 있다. 특히 에폭사이드 가수분해효소 (epoxide hydrolase)를 이용한 라세믹혼합물 광학분할법은 cofactor가 요구되지 않고 효소를 쉽게 얻을 수 있으며 또한 세포 자체를 직접 사용할 수 있다는 등의 장점으로 인하여 상업화 가능성이 높은 방법으로 알려져 있다. 본 총설에서는 미생물 유래의 에폭사이드 가수분해효소를 이용한 광학선택적 가수분해 기술을 중심으로 생촉매를 이용한 광학활성 에폭사이드 생산 관련 연구 및 향후 전망에 대해 논하기로 한다.

알켄 기질의 광학선택적 에폭시화 반응법

직접 에폭시화반응법 (direct epoxidation)

직접 에폭시화반응법은 cytochrome P-450 monooxygenase 등의 산화효소를 이용하여 알켄 기질을 광학선택적으로 에폭시화시키는 방법이다(Figure 2a). 알칸 (alkane)을 유일 탄소원으로 사용하여 분리한 *P. oleovorans* 유래의 monooxygenase는 6개에서 12개사이의 탄소를 가진 단말알켄 (terminal alkene)을 광학활성 에폭사이드로 변환 시켜주는 반면(5), 6개 이하의 기질에서는 수산화반응 (hydroxylation)까지 진행되기도 하며 기질로 단말알켄이 아니거나 알릴-알코올 (allylic alcohol) 기질 등을 사용하면 에폭시화반응을 시키지 못한다(6). 반면에 저분자량의 단말알켄을 탄소원으로 사용하여 분리한 *Mycobacterium* sp., *Xanthobacter* sp., *Nocardia* sp 등은 단순한 구조의 단말알켄 기질을 99% *ee* 정도의 높은 광학순도로 에폭시화반응을 시키며(7), 생성된 광학활성 에폭사이드는 수산화반응까지 진행되지 않는다는 장점도 있으므로 보다 효과적이라고 할 수 있다.

상업화 연구로 allyl-aryl ether를 beta-blocker 합성용 중간체인 (S)-arylglycidyl ether로 변환시키는 공정 개발이 시도되었는데(Figure 2b), *ee* 값은 98 ~ 100%로 우수했으나 수율이 낮아 상업화되지는 못했다(8). 일반적으로 monooxygenase 등의 미생물 산화효소를 이용하는 경우 cofactor 재생산의 필요성, 낮은 효소 안정성, 그리고 산물저해 현상 등으로 인해 공정 생

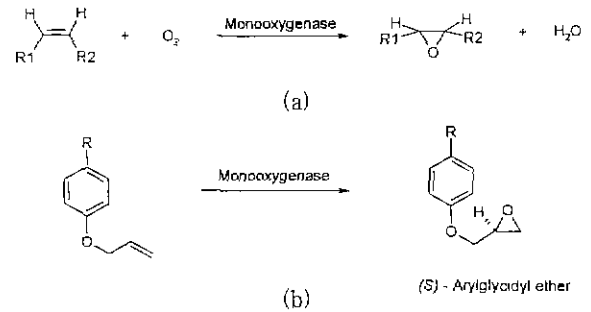


Figure 2. Direct epoxidation of alkene by monooxygenase (a) and direct epoxidation of ally-aryl ether for the production of beta-blocker intermediates (b).

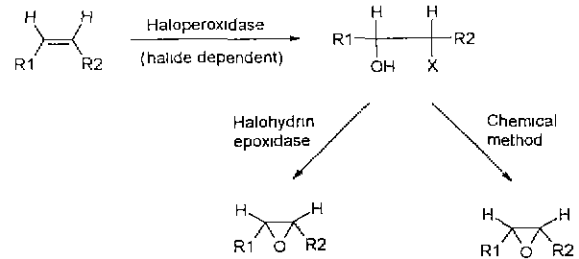


Figure 3 Two-step epoxidation by haloperoxidase.

산성이 낮은 편이다. 이러한 문제점들 중에서 산물저해 현상을 줄이기 위하여 cyclohexane과 같은 무극성 유기용매를 첨가하여 생성된 에폭사이드를 제거시켜 생산성을 높인 결과가 보고되기는 하였으나 상업화되지는 못하였다(9).

이단계 에폭시화반응 (two-step epoxidation)

이단계 에폭시화반응은 할로젠 이온 존재하에서 haloperoxidase를 이용하여 알켄을 α,β-halohydrin으로 만든 후, 화학반응을 통해 halohydrin의 할로젠기를 제거시키면서 에폭사이드를 만들거나 또는 halohydrin epoxidase를 이용하여 에폭사이드를 만드는 방법이다(Figure 3). 이때 haloperoxidase는 H2O2로부터 환원당량 (reducing equivalent)을 얻어 첫단계 반응을 진행시킨다. 해양 곰팡이인 *Caldaryomyces fumago*로부터 분리한 chloroperoxidase는 cytochrome P-450 monooxygenase와 유사한 구조를 보이며, 할로젠 이온이 존재하지 않아도 알켄 기질을 직접 에폭시화반응을 시키는 것으로 보고되었다(10).

에폭사이드 라세믹혼합물의 광학분할

에폭사이드 라세믹혼합물의 광학분할은 각각의 광학이성질체에 대한 가수분해효소의 분해 속도 차이를 이용하여 순수한 광학이성질체를 분리하는 방법으로, 이론적 수율이 50%이므로 에폭사이드 라세믹혼합물 기질이 값싼 경우 매우 유용한 방법이 될 수 있다

에폭사이드 가수분해효소를 이용한 광학선택적 가수분해

동물 간 및 cytosol에 존재하는 liver epoxide hydrolase, glutathione S-transferase, liver microsome 등의 효소는 상업적 의미가 약하므로 미생물 유래의 에폭사이드 가수분해효소를

이용한 광학분할한 다루기로 한다. 미생물 유래의 에폭사이드 가수분해효소는 알켄 등의 탄소원을 동화시킬 때 사용되는데, 알켄은 monooxygenase에 의해 에폭사이드가 된 후 에폭사이드 가수분해효소에 의해 diol 형태로 분해된 후 다음 대사 과정을 거쳐 동화된다. 그러므로 원하는 광학활성 에폭사이드와 같은 탄소골격을 가진 알켄 기질을 동화시킬수 있는 미생물을 선별하면 원하는 에폭사이드 가수분해효소를 일반적으로 얻을 수 있다. 에폭사이드 가수분해효소는 *Rhodococcus* sp., *Mycobacterium* sp. 등과 같은 박테리아, *Aspergillus niger*, *Beauveria sulfurescens* 등과 같은 곰팡이 및 *Rhodotorula glutinis* 등과 같은 효모에서 광범위하게 발견되고 있다(11-21).

에폭사이드 가수분해효소의 기질 선택성을 살펴보기 위하여 다양한 입체 구조를 가진 에폭사이드 라세믹혼합물을 기질로 사용하고 동결건조시킨 *Rhodococcus* sp., *Mycobacterium* sp. 세포를 이용하여 Tris-buffer (pH 7-8) 용매에서 가수분해 반응을 실시한 결과(11), 짧은 사슬 길이를 가진 2-mono-substituted 에폭사이드 또는 bulky한 사슬을 가진 에폭사이드나 meso-에폭사이드 등에 대해서는 낮은 광학 선택성을 보인 반면, 긴 사슬 길이의 2-mono 또는 2,2-disubstituted 에폭사이드 기질에 대해서는 높은 광학 선택성을 보였다. 특히 2,2-disubstituted 에폭사이드에 대한 광학선택성이 매우 우수하였는데, 치환된 두개의 알킬기 사이의 크기 차이가 커질수록 광학선택성이 증가하였다. 이러한 결과로 부터 에폭사이드 가수분해효소는 에폭사이드 링에 친핵성 반응을 할 수 있는 촉매 활성 부위 주위에 치환된 알킬기를 입체선택적으로 잡아 주는 광학 인지 부위(chirality recognition site)가 존재함을 예측할 수 있다

Styrene oxide, *trans*-1-phenyl-1,2-epoxypropane 등을 기질로 하여 분리한 효모인 *Rhodotorula glutinis*는 aryl, alicyclic 및 aliphatic 에폭사이드 등을 광학선택적으로 가수분해시킬 수 있다(15). 특히 benzyl glycidyl ether에 대한 활성이 높게 나와 이러한 에폭사이드 가수분해효소는 phenyl기 등과 같은 소수성 치환기가 있는 기질에 대한 선택성이 우수함을 알 수 있고, 에폭사이드 링에 methyl기가 있는 경우에는 유용한 분해 산물인 diol의 ee 값도 98% 이상이 되었다. 상업적 의미가 있는 연구 사례로는 HIV 프로티아제 저해제의 side chain으로 사용되는 indene oxide를 광학선택적으로 분해시키는 공정 개발을 들 수 있는데, 높은 광학적 순도를 얻을 수는 있으나 생산성은 아직은 낮은 편이다.

곰팡이인 *Aspergillus niger*를 이용하여 mono-substituted aryl 에폭사이드 및 glycidyl oxirane ether 등에 대한 광학선택성 가수분해 연구 결과를 살펴보면, styrene oxide에 대한 광학선택성과 수율이 가장 우수하였으며 ECH는 광학선택성은 우수한 반면 수율이 낮으므로 수율 향상에 대한 연구 필요성이 있다(22).

2-Monosubstituted 또는 2,2-disubstituted 에폭사이드 이외에도 다양한 종류의 에폭사이드 라세믹혼합물을 에폭사이드 가수분해효소를 이용하여 광학선택적으로 가수분해시킬 수 있다. *Pseudomonas* sp.로부터 분리한 에폭사이드 가수분해효소를 이용하면 *cis*-2,3-disubstituted 에폭사이드 라세믹혼합물중에서 (9R,10S)-광학이성질체만을 선택적으로 가수분해시켜 (9R,10R)-*threo*-diol로 만들어 제거할 수 있고 분해되지 않은 (9S,10R)-광학이성질체를 이용하여 성 pheromone인 (+)-disparlure를 95% ee 값으로 합성할 수 있다(Figure 4a) 2,2,3-Trisubstituted

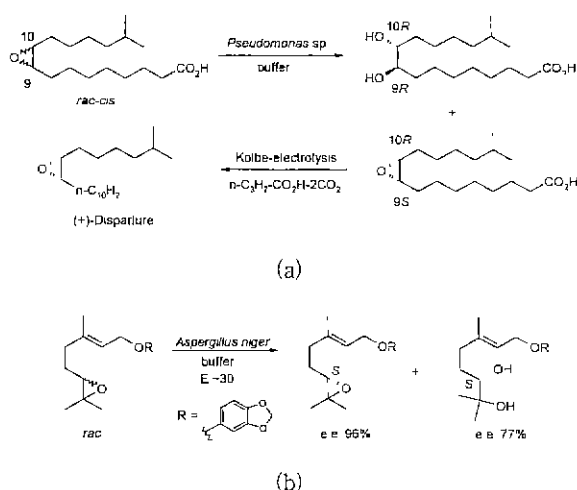


Figure 4. Enantioselective hydrolysis of *cis*-2,3-disubstituted epoxide (a) and 2,2,3-trisubstituted oxirane (b).

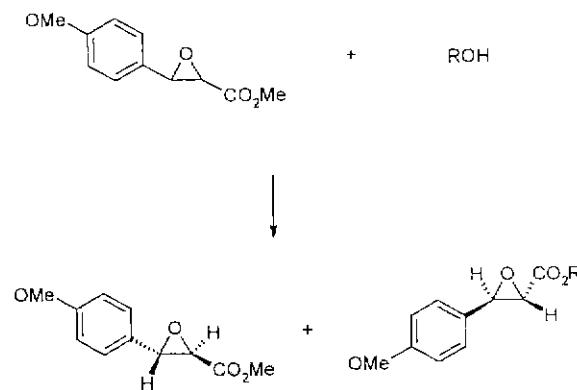


Figure 5. Lipase-catalyzed alcoholysis for the production of diltiazem intermediate.

terpene 에폭사이드 라세믹혼합물을 *Aspergillus* sp. 세포를 이용하여 광학분할시키면, (R)-광학이성질체만 가수분해되고 곤충의 유약호르몬으로 사용되는 (S)-광학이성질체를 96% ee 값으로 얻을 수 있다(Figure 4b).

에폭사이드 에스터 라세믹혼합물의 분할

이 방법은 lipase 등을 이용하여 에폭사이드기가 있는 에스터 라세믹혼합물을 광학선택적으로 가수분해시켜 광학활성 에폭사이드를 분리하는 기술이다. Calcium channel blocker인 diltiazem 합성을 위한 핵심 중간체인 methyl *trans*-3-(4-methoxyphenyl)glycidate는 lipase의 alcoholysis 반응을 이용하여 광학선택적으로 얻을 수 있다(Figure 5). 이 효소 반응에서는 기질 및 생성물이 물에 용해되지 않으므로 유기 용매 시스템을 사용하였는데, *tert*-pentyl 알코올 등 3차 알코올을 사용하는 경우 97% ee 정도의 높은 광학순도와 60% 정도의 수율로 얻을 수 있었다(23).

Lipase에 의한 가수분해 반응을 이용하여 광학활성 에폭사이드를 합성한 예로는, glycidol ester를 선택적 가수분해를 시켜 광학활성 에폭사이드알코올을 만드는 것이다(Figure 6a). 이 반응에서의 광학선택성은 R₁의 구조에 따라 크게 영향을 받는데, 탄

소 사슬 길이가 길수록 ee 값이 높아지는 경향이 있었다(24) 광학활성 1,2-에폭시알칸은 Figure 6b에서와 같이 첫단계에서 lipase를 이용하여 광학활성 diol monotosylate를 만든 후 염기를 이용한 에폭시화반응을 통해 만들 수도 있다(25). 가수분해 반응 이외에도 *P. fluorescens* 유래의 lipase를 이용한 transesterification 반응으로 광학활성 2-substituted epoxyalkanol (Figure 6c)을 높은 ee 값으로 얻을 수 있다(26).

Lipase를 매개체로 하여 에폭사이드 링을 광학선택적으로 여는 동시에 아민 등과 반응을 시킨 연구 결과도 보고되었다(27) 이 반응은 (S)-광학이성질체가 약리 효과를 보이는 beta-blocker 합

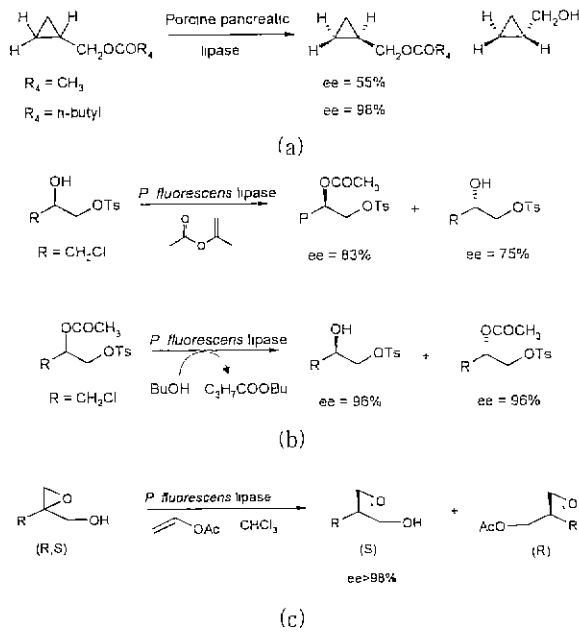


Figure 6 Production of chiral epoxy alcohol via lipase catalyzed hydrolysis (a), lipase-catalyzed esterification and hydrolysis for the production of chiral 1,2-epoxyalkane (b), and lipase-catalyzed transesterification for the production of chiral 2-substituted epoxyalkanol (c).

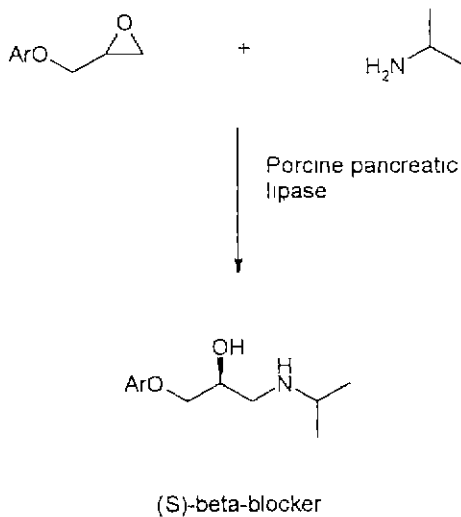


Figure 7 Lipase-catalyzed enantioselective ring opening for (S)-beta-blocker synthesis

성에 응용되었는데 (Figure 7), 유기 용매상에서 porcine pancreatic lipase를 매개체로 하여 3-(1-naphthylxy)-1,2-epoxypropane과 프로필아민을 첨가하여 반응을 시키면 99% ee 수준으로 (S)-propanol amine ((S)-propanolol)을 얻을 수 있었다. 반응 용매로는 hexane, ethyl acetate 보다는 toluene을 사용하였을때 ee 값이 우수하였다. 단 한번의 반응만으로 라세믹혼합물로부터 특정 광학이성질체에게만 첨가 반응을 시킬 수 있다는 장점에도 불구하고, 실제적으로는 기질의 벤젠 링에 도입된 치환기의 위치 및 크기에 따라 ee 값 및 수율이 상당히 변하고 사용할 수 있는 기질이 매우 제한적이기 때문에 상업적 의미는 약한 편이다.

상업화 사례

Diltiazem 중간체 합성

94년 세계시장 11억불 규모의 고혈압 치료제 diltiazem의 합성용 핵심중간체인 methyl trans-3-(4-methoxyphenyl)glycidate를 생촉매를 이용하여 생산하는 공정이 Sepracor사에 의해 개발되어 상업화되었다 상업화 성공의 가장 큰 요인으로는, 얻고자 하는 광학이성질체와 가수분해된 부산물을 동력학적 분할과 동시에 in situ로 분리시킬 수 있는 중공사막 반응기 시스템의 개발을 들 수 있다 Figure 8에서와 같이, 셀 부위에 흐르는 유기 용매에 용해되어 있는 에스터 기질은 막에 고정화되어 있는 lipase에 의해 가수분해된 후, 수용액이 흐르는 루멘 (lumen) 부위로 용해되어 제거됨으로써 광학분할과 동시에 반응생성물도 분리할 수 있다는 장점이 있다 이외에도 가역적인 효소 고정화가 가능하고 효소를 재회수하기 위한 별도의 회수 공정이 필요 없으며, 반응을 저해하는 생성물을 제거시키 줌으로써 동력학적 분할 속도를 향상시킬 수 있었으며, 이상계 (two-phase)에서 흔히 일어나는 에멀전 형성 등의 문제가 일어나지 않는다는 장점도 있다 현재 이 공정은 Tanabe사의 기존 공정을 대체하여 원가 절감 등의 상업적 성공을 거두고 있으며, 50 톤/년 규모로 생산되고 있다(28-30)

광학활성 ECH 생산

Daiso사는 라세믹 2,3-dichloro-1-propanol 또는 라세믹 3-chloro-1,2-propanediol로부터 미생물 탈할로젠화 반응 (microbial dehalogenation)을 이용하여 epichlorohydrin 합성 전구체인 광학활성 2,3-dichloro-1-propanol과 glycidol 합성 전

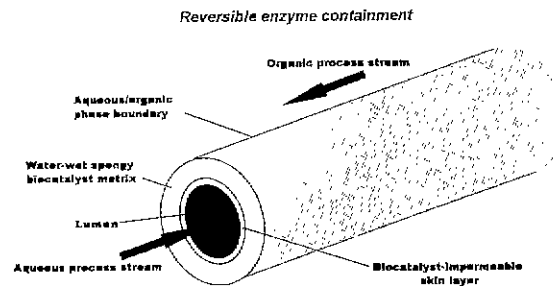
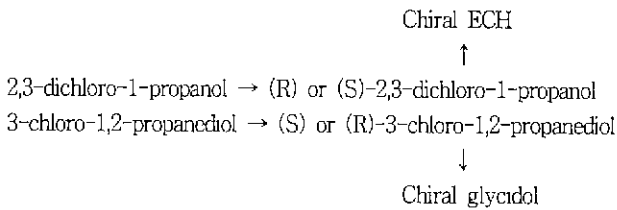


Figure 8. Hollow fiber membrane bioreactor system for the kinetic resolution of methyl trans-3-(4-methoxyphenyl)glycidate, the intermediate for diltiazem synthesis.

구체인 광학활성 3-chloro-1,2-propanediol을 생산하는 공정을 개발하였다(31-33).



(R)-광학이성질체만을 탈할로겐화 반응을 시킬 수 있는 *Alcaligenes* sp와 (S)-광학이성질체에만 선택적으로 작용하는 *Pseudomonas* sp.를 이용하여 99.4% ee 및 38% 수율로 각각의 광학활성 전구체를 얻었다. 이 기술은 기질인 halohydrin의 물에 대해 용해도가 낮으며 dehalogenase의 활성이 낮다는 문제점이 있으나, 현재 상업화 되어 \$400 ~ 500/kg 정도의 가격으로 광학활성 ECH를 생산하고 있다.

전망 및 연구방향

알켄 기질을 직접 에폭시화반응을 시켜 광학활성 에폭사이드를 생산하는 경우, 반응을 촉매하는 효소인 monooxygenase가 multicomponent로 구성되어 있고 반응시 cofactor가 요구되므로 활성이 높은 효소를 분리하여 사용하기는 어렵다. 에폭사이드 가수분해효소 역시 multicomponent로 구성되어 있는 경우가 많으므로 분리된 효소보다도 세포 자체에서의 활성이 높은 편이다. 그러므로 이러한 효소를 분리·정제하여 사용하기 보다는 세포 자체를 이용하는 것이 보다 효율적이라고 판단할 수 있다. Monooxygenase가 있는 세포를 이용하여 알켄 기질을 직접 에폭시화시키는 방법은 높은 ee 값을 기대할 수는 있으나 효소의 수명이 짧고 효율적인 cofactor 재순환이 요구되며 극심한 산물 저해 등으로 인하여 경제성 있는 상업화 공정의 개발까지는 많은 제한이 따를 것으로 예상되는 반면, 에폭사이드 가수분해효소를 가지고 있는 미생물 세포를 이용한 광학선택적분할법은 일반적으로 효소 발현 유도가 요구되지 않고 cofactor가 필요 없으며, 유용한 합성중간체로 사용되는 diol이 분해 산물로 생성되며 높은 광학순도를 얻을 수 있으므로 상업화 가능성이 우수하다고 평가할 수 있다. 그러므로, 에폭사이드 가수분해효소가 있는 미생물 세포를 이용하여 저렴한 라세믹 에폭사이드를 광학분할시키는 기술의 개발은 중요하다. 라세믹 기질에 대한 광학선택적 가수분해 활성이 우수한 미생물 균주 확보, 에폭사이드가 세포에 독성을 줄 수 있어 낮은 기질 농도로 사용된다는 단점을 극복하기 위하여 높은 기질 농도에서 반응을 구현하기 위한 유기 용매 시스템, 이성분 시스템, 세포 고정화 및 효소 반응기 개발 등을 통해 라세믹 기질 대비 10배 이하의 가격으로 광학활성 에폭사이드를 생산할 수 있는 기술을 개발하면 상당한 규모의 광학활성 에폭사이드 중간체 시장 형성을 기대할 수 있을 것이다. 또한, 에폭사이드 가수분해효소 반응에서 nucleophile로 작용하는 물 대신에 알코올, 아민, hydrazine과 같은 여러종류의 친핵성 시약을 사용하면 단순 가수분해 반응 이외에도 광학선택적 alcoholysis, aminolysis, azidolysis 반응과 같은 유용한 합성반응을 일으킬 수 있다. 이와 같은 반응에 대한 지금까지의

연구에서는 광학선택성과 반응속도가 낮은 편인데, 그 이유는 효소가 촉매로서의 역할보다는 광학이성질체를 구분해주는 보조자로써의 역할이 더 컸기 때문에 판단되므로 광학선택성이 우수하며 반응속도도 효율적으로 증가시켜줄 수 있는 새로운 에폭사이드 가수분해효소 선별 및 반응 시스템 개발도 중요한 연구 방향이 될 것이다.

요 약

광학활성 에폭사이드는 광학활성 의약품, 농약, 기능성 식품 제조용 핵심 유기중간체로 사용될 수 있다. 광학활성 에폭사이드의 생물공학적 생산 사례로는 diltazem 합성용 중간체인 methyl trans-3-(4-methoxyphenyl)glycidate를 lipase를 고정화한 증공사막 반응기를 이용하여 생산되고 있으며, 미생물 탈할로겐화반응을 이용하여 광학활성 epichlorohydrin 및 glycidol도 생산되고 있다. 생물공학적으로 광학활성 에폭사이드를 생산하는 방법은 크게 두 가지로 구분할 수 있는데, 알켄 등을 기질로 하여 monooxygenase나 peroxidase 등을 이용하여 직접 에폭시화반응을 시키는 방법과 막테리아, 곰팡이, 효모 유래의 미생물 에폭사이드 가수분해효소를 이용하여 라세믹 에폭사이드를 광학분할시켜 얻는 방법이 있다. 특히, 에폭사이드 가수분해효소를 이용한 광학활성 에폭사이드 생산은 높은 광학순도를 얻을 수 있으며 일반적으로 라세믹 에폭사이드를 값싸고 쉽게 구할 수 있어 상업화 가능성이 우수하므로 이에 대한 많은 연구개발이 필요하다.

참 고 문 헌

1. Besse, P and H. Veschambre (1994), Chemical and biological synthesis of chiral epoxides, *Tetrahedron*, **50**, 8885-8927.
2. Gao, Y., R. M. Hanson, J. M. Klunder, S. Y. Ko, H. Masamune, and K. B. Sharpless (1987), Catalytic asymmetric epoxidation and kinetic resolution: Modified procedures including *in situ* derivatization, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5765-5780
3. Tokunaga, M., J. F. Larrow, F. Kakiuchi, and E. N. Jacobsen (1997), Asymmetric catalysis with water: Efficient kinetic resolution of terminal epoxides by means of catalytic hydrolysis, *Science*, **277**, 936-938.
4. Leak, D. J., P. J. Aikens, and M. Seyed-Mahmoudian (1992), The microbial production of epoxides, *TIBTECH*, **10**, 256-261
5. Mahmoudian, M., and A.L.O. Michael (1992), Biocatalysts for production of chiral epoxides, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **37**, 23-27.
6. Fu, H., G. J. Shen, and C. H. Wong (1991), Asymmetric epoxidation of allyl alcohol derivatives by omega-hydroxylase from *Pseudomonas oleovorans*, *Recueil Trav. Chim. Pays Bas.*, **110**, 167-170.
7. Mahmoudian, M. and A. Michael (1992), Production of chiral epoxides by an ethene-utilizing *Micrococcus* sp.,

- J. Ind. Microbiol.*, **11**, 29-35.
8. Mahmoudian, M. and A. Michael (1992), Stereoselective epoxidation of phenyl allyl ether by alkene-utilizing bacteria, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **37**, 28-31.
 9. Schwartz, R. D. and C. J. McCoy (1977), Epoxidation of 1,7-octadiene by *Pseudomonas oleovorans* Fermentation in the presence of cyclohexane, *Appl. Environ. Microbiol.*, **34**, 47-49
 10. Geigert, J., D. J. Dalietos, D. S. Hirano, T. D. Lee, and S. L. Neidleman (1986), Epoxidation of alkenes by chloroperoxidase catalysis, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **136**, 778-782.
 11. Faber, K., M. Mischitz, and W. Kroutil (1996), Microbial epoxide hydrolases, *Acta Chemica Scandinavica*, **50**, 249-258.
 12. Hechtberger P., G. Wirnsberger, M. Mischitz, N. Klempier, and K. Faber (1993), Asymmetric hydrolysis of epoxides using an immobilized enzyme preparation from *Rhodococcus* sp., *Tetrahedron: Asymmetry*, **4**, 1161-1164.
 13. Mischitz, M., K. Faber, and K. Willetts (1995), Isolation of a highly enantioselective epoxide-hydrolase from *Rhodococcus* sp. NCIMB 11216, *Biotechnol. Lett.*, **17**, 893-898.
 14. Grogan, G., S. M. Roberts, and A. J. Willetts (1996), Novel aliphatic epoxide hydrolase activities from dematiaceous fungi, *FEMS Microbiol. Lett.*, **141**, 239-243.
 15. Weijers, C. A. G. M. (1997), Enantioselective hydrolysis of aryl, alicyclic and aliphatic epoxides by *Rhodotorula glutinis*, *Tetrahedron: Asymmetry*, **8**, 639-647.
 16. Weijers, C. A. G. M. and J. A. M. de Bont (1991), Enantioselective degradation of 1,2-epoxyalkanes by *Nocardia* H8, *Enzyme Microb. Technol.*, **13**, 306-308.
 17. de Bont, J. A. M. (1993), Bioformation of optically pure epoxides. *Tetrahedron. Asymmetry*, **4**, 1331-1340.
 18. Matsuyama, A. and Y. Kobayashi (1994), *European Patent Application*, 0611826 A2
 19. Moreau, S. P., C. Morisseau, J. Zylber, A. Archelas, J. Baratti, and R. Furstoss (1996), Microbiological transformations. 33 Fungal epoxide hydrolases applied to the synthesis of enantiopure *para*-substituted styrene oxides A mechanistic approach, *J. Org. Chem.*, **61**, 7402-7407.
 20. Moreau, S. P., A. Archelas, and R. Furstoss (1996), Microbiological transformations 31 Synthesis of enantiopure epoxides and vicinal diols using fungal epoxide hydrolase mediated hydrolysis, *Tetrahedron Lett.*, **37**, 3319-3322.
 21. Morisseau, C., H. Nellasah, A. Archelas, R. Furstoss, and J. C. Baratti (1997), Asymmetric hydrolysis of racemic *para*-nitrostyrene oxide using an epoxide hydrolase preparation from *Aspergillus niger*, *Enzyme Microb. Technol.*, **20**, 446-452.
 22. Choi, W. J., E. C. Huh, H. J. Park, E. Y. Lee, and C. Y. Choi (1998), Kinetic resolution for optically active epoxides by microbial enantioselective hydrolysis, *Biotechnol. Techniques*, **12**, 225-228.
 23. Kanerva, L.T., and O. Sundholm (1993), Lipase catalysis in the resolution of racemic intermediates of diltiazem synthesis in organic solvents, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.1*, **13**, 1385-1389
 24. Landner, W. E. and G. M. J. Whitesides (1984), Lipase-catalyzed hydrolysis as a route to esters of chiral epoxy alcohols, *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 7250-7251.
 25. Chen, C. S. and Y. C. Liu (1989), A chemoenzymatic access to optically active 1,2-epoxides, *Tetrahedron Lett.*, **30**, 7165-7168
 26. Ferraboschi, P., D. Brembilla, P. Grisenti, and E. Santanello (1991), Enzymatic resolution of 2-substituted oxiranemethanols, a class of synthetically useful building-blocks bearing a chiral quaternary center, *J. Org. Chem.*, **56**, 5478-5480.
 27. Kamal, A., Y. Damayanthi, and M. V. Rao (1992), Stereoselective synthesis of (S)-propanol amines. Lipase catalyzed opening of epoxides with 2-propylamine, *Tetrahedron: Asymmetry*, **3**, 1361-1364.
 28. Matsumae, H., M. Furui, and T. Shibatani (1993), Lipase-catalyzed asymmetric hydrolysis of 3-phenylglycidic acid ester, the key intermediate in the synthesis of diltiazem hydrochloride, *J. Ferment. Bioeng.*, **75**, 93-98
 29. Matsumae, H., M. Furui, T. Shibatani, and T. Tosa (1994), Production of optically active 3-phenylglycidic acid ester by the lipase from *Serratia marcescens* on a hollow-fiber membrane reactor, *J. Ferment. Bioeng.*, **78**, 59-63
 30. Furui, M., T. Furutani, T. Shibatani, Y. Nakamoto, and T. Mori (1996), A membrane bioreactor combined with crystallizer for production of optically active (2R,3S)-3-(4-methoxyphenyl)-glycidic acid methyl ester, *J. Ferment. Bioeng.*, **81**, 21-25.
 31. Kasai, N., K. Tsujimura, K. Unoura, and T. Suzuki (1990), Degradation of 2,3-dichloro-1-propanol by a *Pseudomonas* sp., *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 3185-3190.
 32. Nakamura, T., F. Yu, W. Mizunashi, and I. Watanabe (1991), Microbial transformation of prochiral 1,3-dichloro-2-propanol into optically active 3-chloro-1,2-propanediol, *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 1931-1933
 33. Suzuki, T., N. Kasai, R. Yamamoto, and N. Minamiura (1992), Isolation of a bacterium assimilating (R)-3-chloro-1,2-propanediol and production of (S)-3-chloro-1,2-propanediol using microbial resolution, *J. Ferment. Bioeng.*, **73**, 443-448.