

보존제로서 1,2-도데실아미노프로판디올의 합성 및 1,2-알칸디올 화합물의 혼합 효과

차경은 · 광상운 · 정국인* · 김영호[†]

충남대학교 응용화학공학과, *㈜비제이바이오캡
(2022년 1월 12일 접수, 2022년 2월 21일 수정, 2022년 3월 7일 채택)

Synthesis of 1,2-Dodecylaminopropanediol and Its Mixing Effect with 1,2-Alkanediols as Preservatives

Kyung-On Cha, Sang-Woon Kwak, Kook-In Jeong* and Young-Ho Kim[†]

Department of Chemical Engineering and Applied Chemistry, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea
*BJ BIOCHEM, Inc., Daejeon 34025, Korea
(Received January 12, 2022; Revised February 21, 2022; Accepted March 7, 2022)

초 록

본 연구에서는 1,2-알칸디올계 화합물의 보존력과 친수성을 향상할 목적으로 12개의 탄소 사슬 길이와 아민기를 갖는 1,2-도데실아미노프로판디올(1,2-dodecylaminopropanediol, 1,2-DDAP)의 합성을 설계하였다. 1,2-DDAP는 40 °C의 에탄올(ethanol) 용매에서 도데실아민(dodecyl amine, DDA)과 3-모노클로로-1,2-프로판디올(3-monochloro-1,2-propanediol, 3-MCPD)의 반응에 의해 제조하였으며, 그 수율과 순도는 1:0.8의 DDA:3-MCPD 몰 비와 2 h의 반응 조건에서 각각 약 56%와 98%였다. 1,2-DDAP의 항균 효과는 1,2-옥탄디올(1,2-octanediol, 1,2-ODIOL) 또는 1,2-데칸디올(1,2-decanediol, 1,2-DDIOL)과 비교하여 10~100배 낮은 농도에서 미생물에 대한 최소억제농도와 최소살균농도 값을 나타내었다. 1,2-DDAP의 친수성을 바탕으로 1,2-DDAP로 물에 난용성인 1,2-ODIOL 또는 1,2-DDIOL을 소량 첨가하여 혼합 보존제를 제조하였다. 항균력 시험에서 혼합 보존제는 1,2-DDAP 단독사용 대비 동등 이상의 미생물 억제효과를 나타내었다. 응용을 위해 로션(화장품 제형)에서 보존 효과를 확인한 결과, 1,2-DDAP는 1,2-ODIOL 또는 1,2-DDIOL과 비교하여 0.3~0.6배의 낮은 농도에서 유사한 항균력을 나타내었다. 따라서 1,2-DDAP의 단독 사용 및 1,2-ODIOL 또는 1,2-DDIOL을 소량 혼합하여 사용하는 것이 제품 내 보존제에 대한 좋은 대안으로 사용될 수 있을 것이다.

Abstract

In this study, the synthesis of 1,2-dodecylaminopropanediol (1,2-DDAP) having a 12 carbon chain length and an amine group was designed to improve the preservation and hydrophilicity of 1,2-alkanediol-based compounds. 1,2-DDAP was prepared by reacting dodecylamine (DDA) with 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in an ethanol solvent at 40 °C, and its yield and purity were about 56% and 98%, respectively, under a reaction condition of 2 h and a DDA:3-MCPD molar ratio of 1:0.8. The antimicrobial effect of 1,2-DDAP showed the values of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) against microorganisms at concentrations of 10 to 100 times lower than those of 1,2-octanediol(1,2-ODIOL) or 1,2-decanediol (1,2-DDIOL). Based on the hydrophilic properties of 1,2-DDAP, mixed preservatives were prepared by adding small amounts of 1,2-ODIOL or 1,2-DDIOL, which are poorly soluble in water, with 1,2-DDAP. Mixed preservatives exhibited an effect of inhibiting microorganisms equal to or greater than that of 1,2-DDAP alone in antimicrobial activity tests. As a result of confirming the preservation effect in lotion (cosmetic formulation) for application, 1,2-DDAP showed similar antimicrobial activity at concentrations of 0.3 to 0.6 times lower than that of 1,2-ODIOL or 1,2-DDIOL. Therefore, it is considered that the use of 1,2-DDAP alone and the mixed use with small amounts of 1,2-ODIOL or 1,2-DDIOL can be a good alternative to preservatives in the product.

Keywords: Preservatives, 1,2-Alkanediol, 1,2-Dodecylaminopropanediol, Anti-microbial efficacy, Antiseptic ability in cosmetics

[†] Corresponding Author: Chungnam National University
Department of Chemical Engineering and Applied Chemistry, Daejeon 34134, Korea
Tel: +82-42-821-5898 e-mail: yh_kim@cnu.ac.kr

1. 서 론

화장품, 인체용 세정제, 가정용 세정제 및 식품에는 물, 동·식물유, 지방, 탄수화물 등과 같은 각종 세균의 영양원들이 함유되어 있다. 상기 제품들은 미생물에 의한 부패를 방지하고 장기적으로 보관하기 위하여 보존제(preservatives)의 사용이 필수적으로 요구된다. 특히, 제품이 미생물에 오염될 경우 기능이 저하될 뿐만 아니라 피부, 눈, 점막 등을 손상시킬 수 있으므로 제품을 구성하는 핵심 성분 중 하나로 보존제를 사용하고 있다[1,2]. 한편, 보존제는 반드시 필요한 성분이나 피부에 직접 사용하는 제품의 경우 보존제가 접촉성 피부염 등의 피부 알러지(skin allergy) 유발 물질, 환경호르몬(environmental hormone) 등 인체에 해롭게 작용하는 경우가 많아 항상 안전성 문제의 논란 성분으로 자리잡고 있다[3].

국내에서 문제를 유발했던 메틸이소치아졸리논(methylisothiazolinone) 성분은 대체제가 없어 일부 제품에서는 아직도 꾸준히 사용되고 있다. 대표적인 보존제로 사용되고 있는 파라벤(paraben)류는 발암성의 문제가 있으며, 페녹시에탄올(phenoxyethanol)도 유독물질인 페놀(phenol)과 에틸렌옥사이드(ethyleneoxide)로 제조되어 안전성 이슈가 꾸준히 제기되는 물질이다. 국내외에서 이들을 대체하려는 연구들이 지속되고 있으나 안전성 논란에도 불구하고 아직 메틸이소치아졸리논, 페녹시에탄올 등의 사용량이 증가하고 있다는 것은 대체 보존제의 연구가 많이 부족하다는 것을 의미한다[4-9].

최근에는 유해성 보존제의 대체제로 1,2-알칸디올(1,2-alkanediol)계 화합물을 사용하기 시작하였다. 이는 기존 보존제들이 DNA, 미토콘드리아(mitochondria) 등에 손상을 주는 유전적인 작용으로 인해 인체에까지 악영향을 미치는 반면, 1,2-알칸디올계 화합물의 경우 미생물의 세포벽이나 세포막에 선택적으로 손상을 주어 미생물을 제어하는 방식이기 때문이다. 따라서 1,2-알칸디올계 화합물의 경우, 사용 허용치가 매우 높으며, 이 허용치 이상의 고농도에서도 피부 자극이 거의 없는 것으로 알려져 있다[10-12]. 그러나 인체에는 비교적 안전할지라도 실제 제품에 적용 시 세균에서의 효능에 비해 진균에서의 효능이 낮기 때문에 기존 보존제 대비 많은 양을 사용해야 하는 단점도 있다[13].

Table 1에 나타난 바와 같이, 1,2-알칸디올계 화합물의 특징적인 물성은 알킬 사슬 길이(alkyl chain length)가 길어질수록 보존력은 증가

하나 녹는점이 증가하는 단점이 있다. 녹는점이 상온 이상이면 제품 내에서 분자의 활동성이 둔화되어 효능이 감소하고, 물에 대한 용해도가 감소하므로 물이 주성분인 제품에서 사용이 어렵게 된다. 따라서 알킬기의 탄소 수가 6개인 1,2-hexanediol을 제외한 원료는 제품에 적용하는데 제한적인 부분이 많으며, 적용할 수 있는 알킬 기의 탄소 수는 8개가 한계이다. 이러한 이유로 8개의 탄소 수를 갖는 1,2-octanediol(1,2-ODIOL), ethylhexylglycerin, glyceryl monocaprylate 등이 제한된 함량으로 사용되고 있고, 10개의 탄소 수를 갖는 1,2-decanediol(1,2-DDIOL)은 유기 용매에 용해하여 극히 일부분만 사용되고 있다[14-17].

따라서 본 연구에서는 탄소 수가 12개로 알킬 사슬 길이가 긴 불용성의 1,2-dodecanediol(1,2-DODIOL) 구조에 친수기를 결합하는 방식으로 1,2-dodecylaminopropanediol(1,2-DDAP)을 합성하였으며, 합성물의 물 용해성과 항균효과를 조사하였다. 이때 1,2-알칸디올 종류 중 항균 효과는 좋으나 난용성으로 많은 양을 사용하기 어려운 1,2-ODIOL 및 1,2-DDIOL과의 항균 효과를 비교 관찰하였다. 더 나아가, 1,2-DDAP와 1,2-ODIOL 또는 1,2-DDIOL의 혼합 사용에 따른 항균효과를 조사하였다.

2. 실험

2.1. 합성 물질의 구조 설계

친수기를 갖는 디올(diol) 구조를 만들기 위해 적은 양으로도 매우 우수한 보존력을 갖고 있으나, 물에 난용성이라는 이유로 제품에 제한적으로 사용되고 있는 1,2-알칸디올 구조를 선정하여 그 용해성을 보완하는 방법으로 구조를 설계하였다. 첫째, 분자 말단의 디하이드리알코올(dehydric alcohol) 구조는 미생물 제어에 중요한 역할을 하는 구조이므로 말단에 1,2-디하이드록실기(1,2-dehydroxyl)는 그대로 유지하였다. 둘째, 알킬 사슬 길이는 1,2-ODIOL과 1,2-DDIOL이 갖는 8개 및 10개의 탄소 수보다 사슬 길이가 길어 미생물 제어 효과가 클 것으로 예상되고, 코코넛이나 팜 열매 씨앗에 많이 존재하여 상업적으로 구하기 쉬우며, 유통량도 가장 많아 경제적인 것으로 예상되는 탄소 수 12개의 도데실(dodecyl)기를 선택하였다. 셋째, 알킬 사슬 길이가 증가하면 친수기인 디하이드리기를 포함하고 있을 지라도 물에

Table 1. Types and Characteristics of 1,2-Alkanediol according to Carbon Number

Alkyl Chain Type		Structure	MIC* (%)	Water Solubility (%)
Carbon number	Compounds			
C6	1,2-hexanediol		2	100
	1,2-octanediol		0.25	0.3
C8	ethyl hexyl glycerin		0.2	0.1
	glyceryl monocaprylate		0.25	0.1
C10	1,2-decanediol		0.07	0.03
C12	1,2-dodecanediol		-	< 0.003

*MIC : Minimum inhibition concentration.

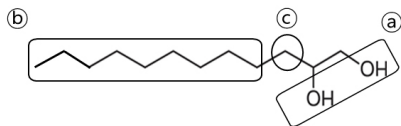


Figure 1. Design of 1,2-alkanediol derivatives with anti-microbial activity. (a) Retention of diol structure: key structure of Hinge role in microbial cell membrane (b) Longer alkyl group design: the longer the alkyl group, the better the preservative power at low concentrations. (c) A hydrophilic group (amine group) is placed to compensate for the solubility caused by the lengthening of the alkyl group.

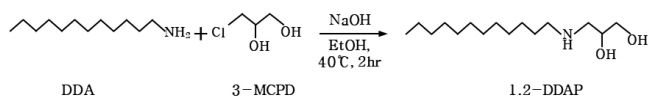
대한 상용성이 급격히 감소하기 때문에 제품 내에서의 보존력도 감소하게 된다. 한편, 분자량이 큰 친수기는 기존 디하이드릭 알코올의 보존력을 약화하는 효과를 주기 때문에 이를 최소화할 필요가 있었다. 따라서 합성 물질에 추가해야 할 친수기의 구조로서 분자량이 적은 아민(amine)기를 선택하여 Figure 1과 같은 구조를 갖는 1,2-알칸디올 유도체를 설계하였다.

2.2. 합성 및 분석

본 연구에서 합성에 사용된 도데실아민(dodecyl amine, DDA), 3-모노클로로-1,2-프로판디올(3-monochloro-1,2-propanediol, 3-MCPD) 및 에탄올(ethanol)은 Fisher (Springfield, NJ, USA) 사에서 구입하여 사용하였다. 그 이외의 시약은 Sigma (St. Louis, MO, USA) 사에서 구입한 특급 및 1급 시약을 사용하였다. 증류수는 Milli Q (Millipore Co., Milford, MA, USA)에서 18 M Ω ·cm로 통과시킨 것을 사용하였다. 합성 장치는 500 mL 용량의 둥근 바닥 4구 플라스크, 적하 깔때기, 환류 냉각기, 온도계, 질소 주입관 등으로 구성하였다.

1,2-알칸디올 유도체인 1,2-DDAP의 합성 반응식을 Scheme 1에 나타내었다. 합성을 위하여 먼저 500 mL 용량의 둥근바닥 4구 플라스크에 에탄올 용매를 사용하여 DDA 1 mol과 알칼리 촉매인 수산화나트륨(NaOH, flake)을 교반기에 넣고 온도를 40 °C로 가열하며 수산화나트륨이 서서히 용해되도록 1시간 동안 교반한다. 수산화나트륨이 모두 용해되면 40 °C에서 원하는 mol 수의 3-MCPD를 적하 깔때기를 통해 서서히 적하하고 2시간 동안 환류시키며 반응한다. 반응이 진행되는 동안 시료를 채취하여 GC를 이용하여 잔류하는 3-MCPD의 양을 확인하였으며, 3-MCPD가 모두 소모되어 검출되지 않는 상태를 확인한 후 반응을 종결하였다. 반응이 완료된 후 생성된 염화나트륨(NaCl)을 여과하여 제거하였으며, 회전 농축 증발기로 에탄올을 모두 감압 제거하여 페이스트(paste) 상의 고형물을 얻었다. 그 후, 미반응 아민을 제거하기 위하여 헵탄(n-heptane)을 넣어 50 °C로 1시간 동안 교반한 다음, 여과 및 건조하여 백색의 고체 합성물을 얻었으며, 합성물 1,2-DDAP의 순도와 수율을 확인하였다.

정성 분석을 위하여 GC와 NMR 분석을 수행하였다. GC는 합성된 시료 0.05 g을 바이알(vial)에 넣고 메탄올로 10 g을 채워 0.5% 농도로 준비한 후 GC (2010 PLUS)로 3-MCPD의 잔량 여부를 분석하여 반응의 진행 및 완료를 확인하였다. 이때 컬럼(column)은 DB-5MS [30.0 m (L)×0.25 mm (I.D.)×0.25 μ m (thickness)]를 사용하였다. 운반 기체는 N₂를 사용하였으며 3 mL/min로 공급하였다. 분리를 위한 컬럼의 온도는 초기 온도 70 °C에서 5 min 동안 유지한 다음, 10 °C/min로 310 °C까지 상승시켰다. 주입기(injector) 온도는 270 °C 그리고 FID 검출기(detector)의 온도는 310 °C로 유지하였으며, column flow는



Scheme 1. Synthesis of 1,2-Dodecylaminopropanediol (1,2-DDAP).

1 mL/min (split ratio 30)의 조건에서 분석하였다. ¹H-NMR spectra는 Bruker Biospin AVANCE III HD 400MHz NMR spectrometer를 사용하였다. CDCl₃ (chloroform-*d*) 용매로 측정하였으며, chemical shift는 ppm 단위로, coupling constant(J)는 Hz로 측정하였다.

2.3. 용해성

합성된 1,2-DDAP의 물에 대한 용해성을 측정하기 위하여 비커에 원하는 함량 별로 각각 넣고 물을 넣은 다음 상온에서 교반하였다. 그 후 pH가 7이 될 때까지 HCl (35%) 용액을 서서히 적하하며 약 30분 이상 혼합 교반기(agi mixer)로 혼합하였다. 교반이 되지 않는 농도까지 증화하였으며, 각 농도별 1,2-DDAP 수용액의 점도 변화를 확인하였다. 한편, 난용성인 1,2-ODIOL 및 1,2-DDIOL의 경우 항균력이 있는 수용액상의 보존제로 용해성을 개선시킨다면, 물을 사용하는 컨슈머(consumer) 제품에 적용하는 데 매우 장점을 가질 것으로 기대되었다. 따라서 10, 20, 30 및 40%의 1,2-DDAP 수용액을 함유한 비커로 1,2-ODIOL 또는 1,2-DDIOL를 각각 넣어 주었으며 총 합이 100ml가 되도록 하였다. 이 후 혼합 교반기를 사용하여 50 °C에서 30분 동안 교반하였다.

용해 특성을 확인하기 위한 모든 시료는 용기에 넣어 밀봉하고 각각 4 °C, 25 °C 및 40 °C의 항온을 유지하는 인큐베이터에서 약 10일 동안 보관한 다음, 육안으로 분리, 투명도, 부유물 등의 현상을 관찰하였다. 10일 후에도 동일한 온도에서 투명하고 균일한 외관과 부피의 변화가 없을 때를 시료가 평형에 도달한 것으로 간주하였으며, 이때를 안정한 제형으로 판단하고 결과를 얻었다. 이 과정에서 사용된 1,2-ODIOL, 1,2-DDIOL 및 HCl (35%)은 Sigma (USA) 사 제품을 사용하였고, 가용화 된 용액의 점도 측정을 위하여 점도계는 Brookfield사의 Viscometer (spindle no. 61~64)를 사용하였다.

2.4. 항균 효과

1,2-ODIOL, 1,2-DDIOL 및 1,2-DDAP의 단독 사용, 1,2-DDAP와 1,2-ODIOL의 혼합 그리고 1,2-DDAP와 1,2-DDIOL의 혼합 사용에 대하여 미생물에 대한 최소억제농도(minimum inhibition concentration: MIC)와 최소살균농도(minimum bactericidal concentration: MBC)를 평가하였다. 이를 위하여 실험에 사용된 시험 균주로서 *Escherichia coli* (*E. Coli*, ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 6538) 및 *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*, ATCC 9027)는 tryptic soy broth (TSB)의 액체배지에 도달하여 35 ± 2 °C에서 24-48 h 동안 배양하고, *Candida albicans* (*C. albicans*, ATCC 10231), *Aspergillus brasiliensis* (*A. brasiliensis*, ATCC 16404)는 sabouraud dextrose broth (SDB)의 액체배지에 도달하여 35 ± 2 °C에서 72 h 동안 배양하여 MIC를 측정하였다. *E. coli*, *S. aureus* 및 *P. aeruginosa*는 tryptic soy agar (TSA)의 고체배지 그리고 *C. albicans*와 *A. brasiliensis*는 potato dextrose agar (PDA)의 고체배지에 접종한 다음, MIC 측정과 같은 배양조건으로 배양하여 MBC를 측정하였다.

배양에 사용한 배지 및 시약은 TSB (BACTO, USA), SDB, TSA,

Table 2. Composition of Experimental Lotions Base

Ingredients		Contents (%)
Phase	Compounds	
A	cetearyl alcohol	0.5
	glyceryl stearate/PEG-100 stearate	1
	glyceryl stearate	1
	caprylic/capric triglyceride	3
	squalane	5
	PEG-40 stearate	1
	sorbitan stearate	0.5
B	glycerin	5
	1,3-butylene glycol	5
	triethanolamine	0.12
C	deionized water	Up to 100 mL
	carbomer	0.12

PDA (DIFCO, USA), Dimethyl Sulfoxide (대정화금, Korea, DMSO)와 생리 식염수를 사용하였고, 각 제품에 접종한 미생물의 초기접종 균 수로서 세균은 1×10^6 CFU/g 그리고 진균은 1×10^5 CFU/g 이상이 되도록 접종을 하였다. 색상 변화를 관찰하여 각 시료의 MIC와 MBC 값을 구하였으며, 결과 판정을 위한 각 튜브(tube)에서 균의 성장 여부는 균과 혼합 초기부터 투명도가 떨어져 기기 측정으로 판단이 어려웠기 때문에 육안으로 확인하였다.

2.5. 화장품 보존력 시험 (Challenge test)

1,2-ODIOL, 1,2-DDIOL 및 1,2-DDAP의 단독 사용, 1,2-DDAP와 1,2-ODIOL의 혼합 그리고 1,2-DDAP와 1,2-DDIOL의 혼합 사용 시 화장품 내 조성에 따라 보존력에 관한 평가를 진행하였다. 보존력 평가 방법은 국가별 상이한 평가 기준을 가지고 있는데, 본 시험에서는 CTFA에서 제시하는 M-3 법과 KoKo 법을 참고하였으며, 이를 기준으로 보존력을 평가하였다[18]. 보존제를 첨가하지 않은 화장품(로션)을 제조하여 대조군으로 하고, 1,2-ODIOL, 1,2-DDIOL 및 1,2-DDAP가 농도별로 첨가된 양성대조군 그리고 여러 농도별로 혼합된 1,2-DDAP와 1,2-ODIOL 및 1,2-DDAP과 1,2-DDIOL 각 혼합 시료들을 제조하여 시험군으로 사용하였다.

준비된 각 시험물질이 첨가된 화장품에 *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* 및 *A. brasiliensis* 배양액을 $1 \times 10^{5-6}$ CFU/g이 되도록 접종한 후 상온 보관하였다. 접종 후 4, 7, 14, 21 및 28 일에 각각 시료를 취하여 적당한 비율로 준비된 희석액에 희석하였다. 이 후 멸균된 검출용 agar 배지에 도말하고 24시간 항온기에서 배양한 다음 colony 수를 확인하여 경과일에 따른 접종균의 사멸 상태를 확인하였다.

2.6. 화장품(로션)의 제조

보존력을 실험하기 위해 화장품(로션) 제조는 Table 2의 처방대로 제조를 하였다. 로션 제조의 간략한 과정을 살펴보면, (A)상을 60~80 °C에서 완전 용해한 후, (B)상을 (A)상에 투입한다. (A)와 (B)상을 혼합 교반기에서 4,000 rpm으로 5 min 동안 유회시킨다. 그 곳에 (C)상을 투입한 다음 혼합 교반기에서 4,000 rpm으로 5 min 동안 교반하고 서서히 냉각하여 유회된 상태의 로션을 얻었다. 제조된 로션과 단독 및 혼합 보존제를 함량별로 각각 혼합한 다음 실험에 사용하였다.

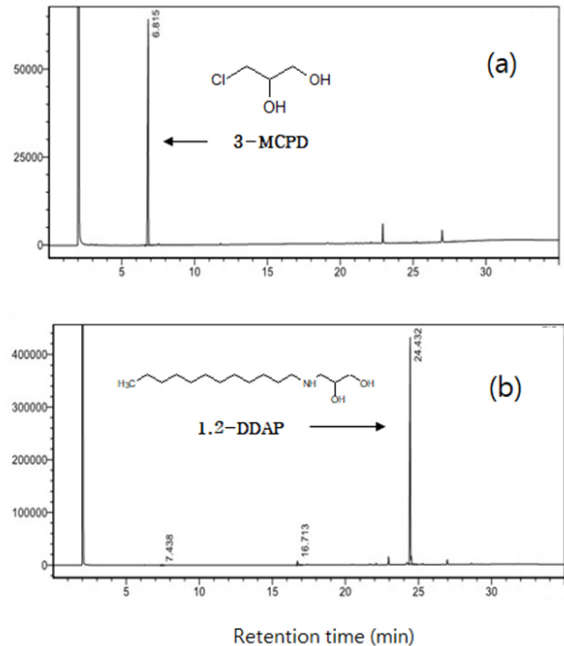


Figure 2. Gas chromatogram of (a) 3-MCPD and (b) products after completion of the reaction.

3. 결과 및 고찰

3.1. 1,2-DDAP의 합성 및 구조확인

에탄올 용매를 사용하고 DDA와 3-MCPD의 반응에 의해 1,2-DDAP를 합성하는 과정에서 반응의 진행 도중 일정량의 시료를 채취하였다. 채취한 시료는 GC 분석을 진행하였으며, 3-MCPD의 함량의 변화를 통하여 반응의 진행 정도를 확인하였다. 3-MCPD는 Figure 2의 (a)에 보여주는 바와 같이 사용된 GC의 분석 조건에서 약 6.8 min의 머무름 시간을 나타낸다. 3-MCPD가 반응에 모두 참여하여 그 특정 피크가 없어진 다음 반응을 종료하였다. 반응 종료 후 대표적인 GC 분석 결과를 Figure 2의 (b)에 나타냈는데, 여기서 생성물 1,2-DDAP는 약 24.4 min의 머무름 시간을 나타냈다. 제조된 반응 생성물은 수세 및 n-헥산을 이용하여 정제하였으며, 백색의 고체를 생성물로 얻었다. 최적화된 반응 조건(DDA:3-MCPD의 몰 비 = 1:0.8, 온도: 40 °C, 시간: 2 hr)에서 고체 생성물인 1,2-DDAP의 수율은 약 56%였으며, 98%의 순도를 갖는 것으로 나타났다. Figure 3은 합성한 고체 생성물의 $^1\text{H-NMR}$ 결과를 나타낸 것으로 1,2-DDAP의 구조를 확인할 수 있었다.

3.2. 용해성

합성한 1,2-DDAP의 함량을 증가시키고 HCl를 가하여 pH 7로 중화시키며 수용액을 제조하였다. 그 결과, Figure 4에서 볼 수 있는 바와 같이 수용액 상에 1,2-DDAP의 농도가 증가할수록 점도는 증가하는 것으로 나타났다. 점도는 45% 1,2-DDAP 농도까지 비교적 완만하게 증가하였으며, 그 이상의 농도에서 매우 급격하게 증가하는 것으로 나타났다. 50% 농도의 경우 5000 cps로 매우 높은 점도 값을 나타냈으며, 불투명한 겔 성상이 관찰되었다. 이는 친수기와 친유기를 갖는 계면활성제에서 관찰할 수 있는 바와 같이, 1,2-DDAP가 일정 농도 이상 증가하면 유방성 액정(lyotropic liquid crystal) 구조의 거동을 보인다는 것을 의미한다. 따라서 1,2-DDAP 수용액 내 1,2-ODIOL 및

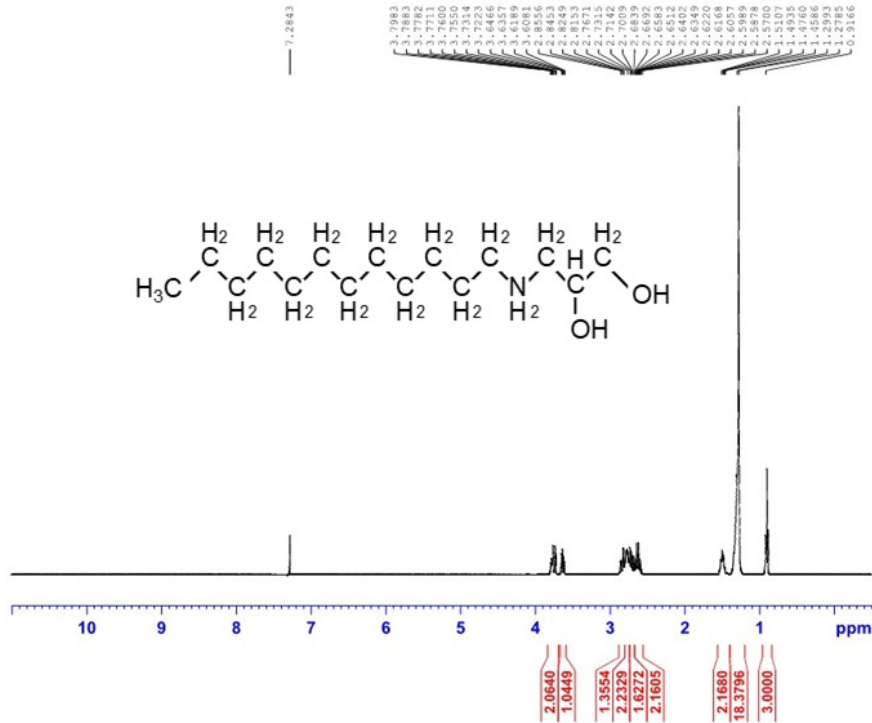


Figure 3. ^1H -NMR spectrum of 1,2-DDAP. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 3.76 (2H, m, $-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{OH}$, $-\text{CH}_2-\text{CHOH}-\text{CH}_2-$), 3.62 (1H, dd, $J = 4.12, 11.02$ Hz, $-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{OH}$), 2.83 (1H, dd, $J = 4.12, 12.18$ Hz, $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}-$), 2.76 (2H, br, $-\text{OH}$), 2.70 (2H, m, $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}-$), 2.63 (2H, m, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-$), 1.48 (2H, m, $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 1.27 (18H, m, $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_9-\text{CH}_3$), 0.90 (3H, t, $-\text{CH}_3$).

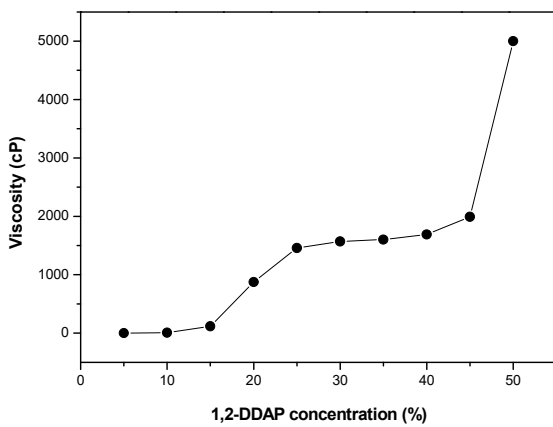


Figure 4. Effect of 1,2-DDAP concentration in aqueous solution on viscosity.

1,2-DDIOL의 가용화 농도를 확인하기 위한 연구에서 1,2-DDAP 농도는 점도가 비교적 낮은 45% 이하의 조건에서 수행하였다.

Figure 5는 25 °C에서 10, 20, 30 및 40%의 1,2-DDAP 수용액 중에 1,2-ODIOL 및 1,2-DDIOL의 가용화 한계 농도를 측정된 결과를 나타낸 것이다. 여기서 가용화 한계 농도는 1,2-ODIOL 및 1,2-DDIOL을 첨가했을 때 상이 분리 또는 현탁 상태로 되지 않고 안정적으로 유지되는 최대 가용화 양을 의미한다. 1,2-ODIOL과 1,2-DDIOL의 가용화 한계 농도는 20%의 1,2-DDAP에서 각각 7.9%와 5.0%의 최대값을 나타낸 후 감소하는 것으로 나타났다. 측정된 가용화 한계농도 이하에

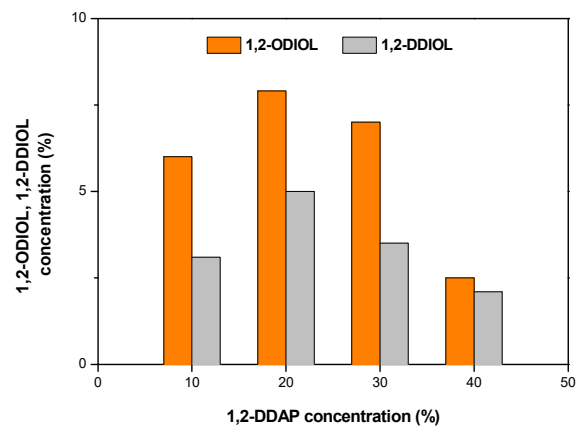


Figure 5. Solubilization limit concentration of 1,2-ODIOL and 1,2-DDIOL in aqueous solution containing 1,2-DDAP.

서는 모두 투명한 성상을 나타냈으며, 상온에서 3개월 이상 경과하여도 혼탁, 침전 및 분리 없이 안정한 성상을 유지하였다[19].

3.4. 항균 효과

1,2-ODIOL, 1,2-DDIOL 및 1,2-DDAP를 단독으로 사용하고 *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, 및 *A. brasiliensis*의 5가지 각각의 균주에 대한 MIC와 MBC를 평가한 결과를 Figure 6에 나타내었다. 여기서 MIC와 MBC로 평가된 농도 이상에서는 균 성장이 효과적으로 억제된다는 것을 의미한다.

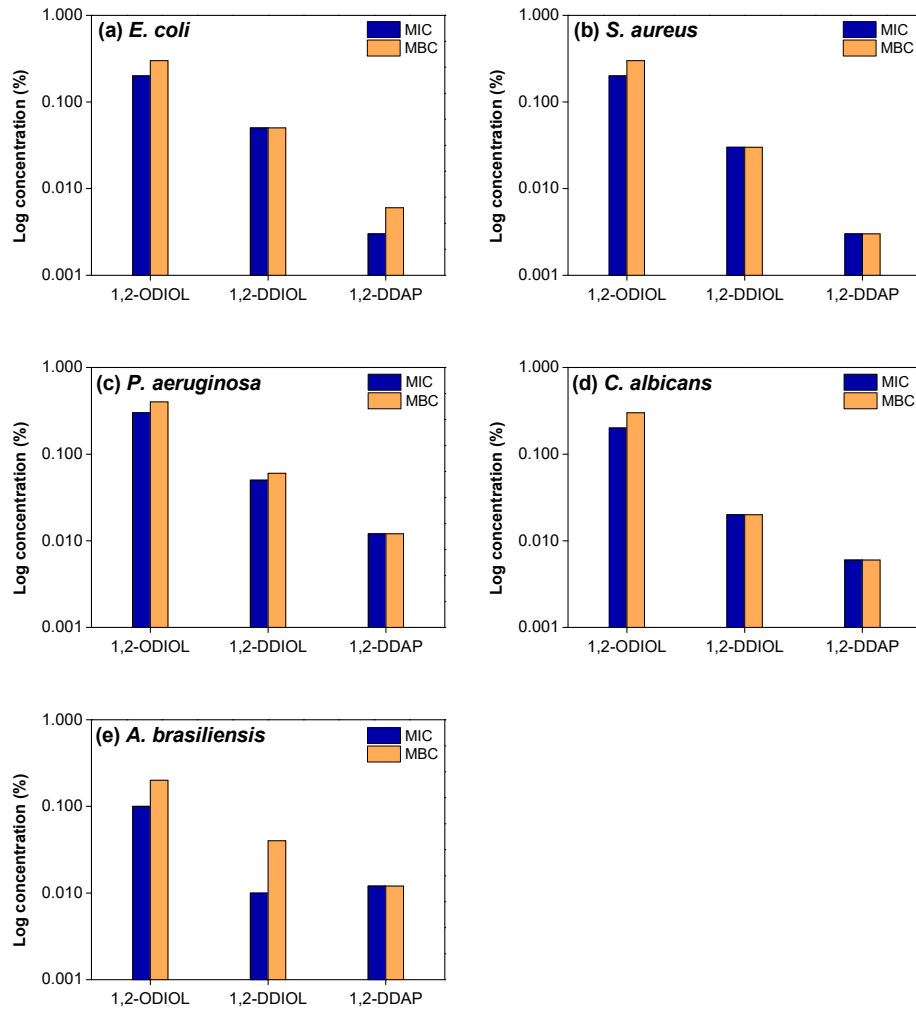


Figure 6. MIC(%) and MBC(%) values of single preservatives against (a) *E. coli*, (b) *S. aureus*, (c) *P. aeruginosa*, (d) *C. albicans*, and (e) *A. brasiliensis*.

Figure 6에 의하면, *E. coli*에 대한 MIC의 경우 1,2-ODIOL 0.2%, 1,2-DDIOL 0.05%, 1,2-DDAP 0.003% 이며, MBC의 경우 1,2-ODIOL 0.3%, 1,2-DDIOL 0.05%, 1,2-DDAP 0.006%로 나타났다. *S. aureus*에 대한 MIC의 경우 1,2-ODIOL 0.2%, 1,2-DDIOL 0.03%, 1,2-DDAP 0.003%이며, MBC의 경우 1,2-ODIOL 0.3%, 1,2-DDIOL 0.03%, 1,2-DDAP 0.003%로 나타났다. *P. aeruginosa*에 대한 MIC의 경우 1,2-ODIOL 0.3%, 1,2-DDIOL 0.05%, 1,2-DDAP 0.012%이며, MBC의 경우 1,2-ODIOL 0.4%, 1,2-DDIOL 0.06%, 1,2-DDAP 0.012%로 나타났다. *C. albicans*에 대한 MIC의 경우 1,2-ODIOL 0.2%, 1,2-DDIOL 0.02%, 1,2-DDAP 0.006%이며, MBC의 경우 1,2-ODIOL 0.3%, 1,2-DDIOL 0.02%, 1,2-DDAP 0.006%로 나타났다. *A. brasiliensis*에 대한 MIC의 경우 1,2-ODIOL 0.1%, 1,2-DDIOL 0.01%, 1,2-DDAP 0.012%이며, MBC의 경우 1,2-ODIOL 0.2%, 1,2-DDIOL 0.04%, 1,2-DDAP 0.012%로 나타났다.

상기 결과와 같이 MIC 및 MBC로 평가한 항균 효과는 거의 모든 균주에 대하여 1,2-DDAP > 1,2-DDIOL > 1,2-ODIOL 순서로 우수한 것으로 나타났다. 이것은 1,2-알칸디올계 보존제에서 알킬기가 길수록 항균력이 좋아진다는 기존의 연구 결과와 같이 친수기가 결합된 구조

에서도 유사한 경향을 나타낸다는 것을 의미한다[20].

한편, 1,2-DDAP 단독, 1,2-DDAP와 1,2-ODIOL 혼합물(1,2-DDAP/1,2-ODIOL), 1,2-DDAP와 1,2-DDIOL 혼합물(1,2-DDAP/1,2-DDIOL)을 사용하였을 때 *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* 및 *A. brasiliensis*의 5가지 균주에 대한 MIC와 MBC를 측정된 결과를 Figure 7에 나타내었다. 이때 1,2-DDAP 단독의 경우 20% 용액을 원액으로 사용하고 원하는 농도로 희석하여 사용하였다. 혼합물 제조 과정에서 기준으로 제조한 혼합물 원액은 용해성 결과를 바탕으로 1,2-DDAP 10~30% 용액에서 충분히 용해되는 1,2-DDIOL의 농도를 고려하였다. 따라서 1,2-DDAP는 20%로 고정하고 여기에 1,2-ODIOL 또는 1,2-DDIOL를 각각 3%로 혼합하여 23% 용액을 원액으로 제조하였으며, 원하는 농도로 희석하여 사용하였다.

Figure 7에 의하면, *E. coli*의 경우 1,2-DDAP/1,2-ODIOL의 MIC 및 MBC는 동일한 농도인 0.0046%이었으며, 1,2-DDAP/1,2-DDIOL의 MIC는 0.0023% 그리고 MBC는 0.0046%로 나타났다. *S. aureus*의 경우 1,2-DDAP/1,2-ODIOL의 MIC 및 MBC는 동일한 농도인 0.0046%이었으며, 1,2-DDAP/1,2-DDIOL의 MIC 및 MBC도 동일한 농도인 0.0023%로 나타났다. *P. aeruginosa*의 경우 1,2-DDAP/1,2-ODIOL의

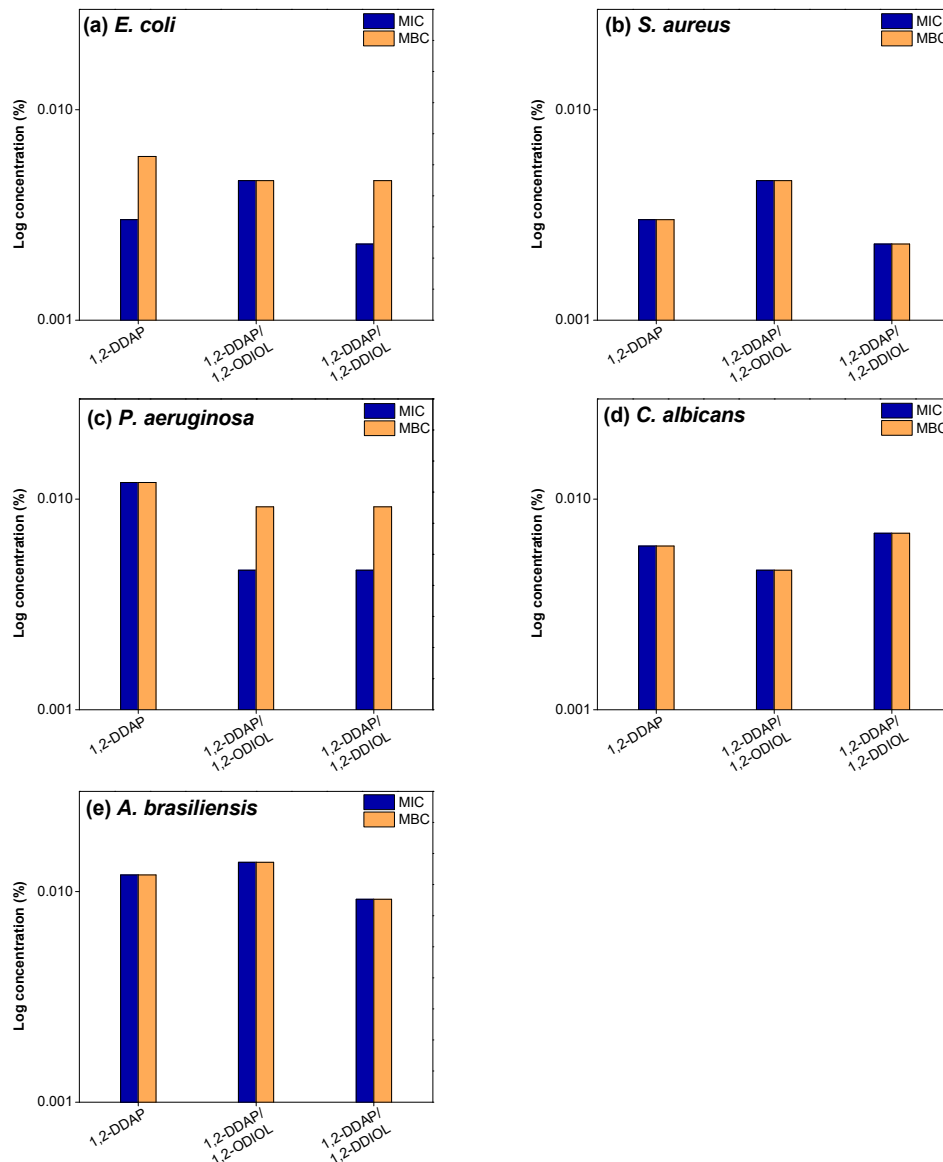


Figure 7. MIC(%) and MBC(%) values of mixed preservatives against (a) *E. coli*, (b) *S. aureus*, (c) *P. aeruginosa*, (d) *C. albicans*, and (e) *A. brasiliensis*.

MIC 및 MBC는 각각 0.0046% 및 0.0092%이었으며, 1,2-DDAP/1,2-DDIOL의 MIC 및 MBC는 각각 0.0046% 및 0.0092%로 나타났다. *C. albicans*의 경우 1,2-DDAP/1,2-ODIOL의 MIC 및 MBC는 동일한 농도인 0.0046%이었으며, 1,2-DDAP/1,2-DDIOL의 MIC 및 MBC도 동일한 농도인 0.0069%로 나타났다. *A. brasiliensis*의 경우 1,2-DDAP/1,2-ODIOL의 MIC 및 MBC는 동일한 농도인 0.0138% 이었으며, 1,2-DDAP/1,2-DDIOL의 MIC 및 MBC도 동일한 농도인 0.0092%로 나타났다.

1,2-DDAP와 1,2-ODIOL 또는 1,2-DDIOL을 혼합하여 사용한 경우, 1,2-DDAP를 단독 사용했을 때의 항균효과가 그대로 반영될 수 있다는 것을 의미하듯이 전반적으로 유사하거나 우수한 항균 특성을 나타냈다. 특히 1,2-DDAP와 1,2-DDIOL을 혼합한 1,2-DDAP/1,2-DDIOL의 경우 *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, 및 *A. brasiliensis*와 같은 대부분의 균주에 대하여 항균효과가 다소 개선된 것으로 나타났다. 이

것은 1,2-DDAP 단독사용시 항균력이 1,2-ODIOL 및 1,2-DDIOL보다 10~100배 우수하며, 1,2-DDIOL의 일정량을 추가로 혼합하여 사용하더라도 단독 사용 시의 항균력을 그대로 유지하거나 약간의 상승효과를 기대할 수 있다는 것을 의미한다.

3.5. 화장품에서의 보존 효과

1,2-ODIOL, 1,2-DDIOL, 1,2-DDAP, 1,2-DDAP/1,2-ODIOL 및 1,2-DDAP/1,2-DDIOL이 화장품 보존제로 이용될 수 있는 가를 확인할 목적으로 원하는 농도의 보존제가 첨가된 O/W (oil in water) 제형의 화장품(로션)을 제조하고 여기에 5가지 균주들을 접종하여 보존력 실험을 진행하였다. 이때 보존력 평가를 위하여 초기 10^{5-6} cfu/mL의 균을 TNTC (Too Numerous To Count)로 접종하여 시작하였으며 28일차까지 약 일주일 간격으로 균의 감소 효과를 확인하였으며, 그 결과를 Table 3에 나타내었다.

Table 3. Challenge Test of Single and Mixed Preservatives in Cosmetic Emulsion

Sample	Concentration (%)	Time (days)																								
		<i>E. coli</i>					<i>S. aureus</i>					<i>P. aeruginosa</i>					<i>C. albicans</i>					<i>A. brasiliensis</i>				
		4	7	14	21	28	4	7	14	21	28	4	7	14	21	28	4	7	14	21	28	4	7	14	21	28
1,2-ODIOL	0.3	+++	+	-	-	-	+++	++	-	-	-	+++	+	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+	-	-	-
	0.4	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+++	+	-	-	-
	0.5	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-
1,2-DDIOL	0.1	+++	++	-	-	-	++	+	-	-	-	++	+	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+	-	-	-
	0.2	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+++	+	-	-	-
	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-
1,2-DDAP	0.05	+++	+++	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	+	-	-	-	+++	+++	++	++	-
	0.07	+++	+++	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+++	++	++	-
	0.09	++	+	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+++	+	-	-
1,2-DDAP/ 1,2-ODIOL	0.01	+++	+++	-	-	-	++	+	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	++	-	-	-	+++	+++	++	+	-
	0.03	+++	+++	-	-	-	++	+	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	++	-	-	-	+++	+++	++	+	-
	0.05	+++	+++	-	-	-	-	+	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	++	-	-	-	+++	+++	+	-	-
1,2-DDAP /1,2-DDIOL	0.01	+++	+++	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	+	-	-	-	+++	+++	++	+	-
	0.015	+++	+++	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	++	++	+	-
	0.02	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+++	+	-	-

* Immediately after inoculation : TNTC (Too Numerous To Count),
 * +++: heavy growth, ++: moderate growth, +: slight growth, -: free of growth.

Table 3에 의하면, 사용된 보존제의 종류와 농도에 따라 균이 감소하는 속도는 서로 다른 것으로 나타났다. *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* 및 *C. albicans*와 같이 3종의 세균과 효모에 대하여 1,2-ODIOL, 1,2-DDIOL 그리고 1,2-DDAP가 적용된 모든 농도에서 14일차가 되었을 때 균이 검출되지 않았다. 그러나 *A. brasiliensis*에 대하여 상대적으로 낮은 농도인 0.05% 및 0.07%의 1,2-DDAP를 적용한 시료에서 균의 감소 효과가 크지 않았으며 28일차가 되어야 균이 검출되지 않았다.

한편, 1,2-DDAP/1,2-ODIOL 및 1,2-DDAP/1,2-DDIOL의 혼합 보존제가 적용된 경우에도 *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* 및 *C. Albicans*에 대하여 적용된 모든 농도에서 14일차에 균이 검출되지 않았으며, *A. brasiliensis*에 대하여 1,2-DDAP를 단독으로 사용한 경우와 유사하게 각 혼합 보존제의 농도에 따라 균 감소 속도에서의 차이가 존재했으며, 21일차 또는 28일차가 되어야 검출되지 않는 것으로 나타났다.

결론적으로 로션에서의 1,2-DDAP 보존력은 1,2-ODIOL 및 1,2-DDIOL 대비 0.3~0.6배 첨가만으로도 거의 동등한 효과를 나타낸다는 것을 확인하였다. 한편, *A. brasiliensis*에 대하여 1,2-DDAP의 보존력이 다소 감소하는 부분은 1,2-ODIOL 또는 1,2-DDIOL 첨가에 의해 보강이 가능한 것으로 나타났다. 따라서, 1,2-DDAP, 1,2-DDAP/1,2-ODIOL 및 1,2-DDAP/1,2-DDIOL 보존제는 용해성과 항균성이 우수하기 때문에 화장품에 포함한 다양한 제품에서 용이하고 효과적인 보존제로 적용이 가능할 것으로 기대된다.

4. 결 론

본 연구에서는 1,2-알칸디올 구조에 친수기로서 아민기를 결합시켜 용해성이 강화된 1,2-DDAP를 합성하였으며, 난용성인 1,2-ODIOL와 1,2-DDIOL의 가용화력을 향상하고자 하였다. 더 나아가 제조한 보

존제들의 항균력과 화장품 제형에서의 보존력을 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 순도 98%인 고체상의 1,2-DDAP을 약 56%의 수율로 합성하였으며, HCl로 아민염화시켜 수용액상으로 쉽게 제조할 수 있었다. 제조된 1,2-DDAP는 용해성 시험에서 계면활성제와 유사한 거동을 하였으며, 난용성인 1,2-ODIOL와 1,2-DDIOL를 가용화하는데 효과적이었다.
2. 합성한 1,2-DDAP의 MIC와 MBC를 시험한 결과, 1,2-ODIOL 또는 1,2-DDIOL 대비 10배에서 100배 이상의 항균 효과를 나타냈으며, 1,2-DDAP/1,2-ODIOL 및 1,2-DDAP/1,2-DDIOL 혼합 보존제를 사용하는 경우 일부 균에서 항균력의 시너지 효과를 나타냈다.
3. 1,2-DDAP를 화장품에 적용했을 때, 그 보존력은 1,2-ODIOL, 1,2-DDIOL과 비교하여 0.3~0.6배의 낮은 농도에서도 우수한 균 감소 효과를 나타냈으며, 1,2-ODIOL 또는 1,2-DDIOL을 추가로 혼합하는 경우 보존력을 향상할 수 있는 것으로 나타났다. 더 나아가 1,2-DDAP를 기반으로 한 보존제의 경우 항균력과 함께 용해성이 우수하여 다양한 제품에서 용이하고 효과적인 보존제로 적용이 가능함을 확인하였다.

References

1. S. J. Hiom, Preservation of medicines and cosmetics. In: A. P. Fraise, P. A. Lambert, and J.-Y. Maillard (eds.). *Russell, Hugo and Ayliffe's, Principles and Practice of Disinfection, Preservation & Sterilization*, 4th ed., 484-486, Wiley-Blackwell, Oxford, UK (2004).
2. M. S. Ryu, *Effect of Antiseptics for Prevention of Microbial Contamination in Cosmetics*, Master Dissertation, Sungkyunkwan University, Seoul, Korea (1990).
3. A. Kunicka-Styczyńska, M. Sikora, and D. Kalembe, Antimicrobial

- activity of lavender, tea tree and lemon oils in cosmetic preservative systems, *J. Appl. Microbiol.*, **107**, 1903-1911 (2009).
4. F. A. Andersen, Final amended report on the safety assessment of methyl paraben, ethylparaben, propylparaben, isopropylparaben, butylparaben, isobutylparaben, and benzylparaben as used in cosmetic products, *Int. J. Toxicol.*, **27**, 1-82 (2008).
 5. M. G. Soni, I. G. Carabin, and G. A. Burdock, Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens), *Food Chem. Toxicol.*, **43**, 985-1015 (2005).
 6. P. D. Darbre and P. W. Harvey, Paraben esters: review of recent studies of endocrine toxicity, absorption, esterase and human exposure, and discussion of potential human health risks, *J. Appl. Toxicol.*, **28**, 561-578 (2008).
 7. J. K. Poudrier, Final report on the safety assessment of phenoxyethanol, *J. Am. Coll. Toxicol.*, **9**, 259-277 (1990).
 8. B. Dreno, T. Zuberbier, C. Gelmetti, G. Gontijo, and M. Marinovich, Safety review of phenoxyethanol when used as a preservative in cosmetics, *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, **33**, 15-24 (2019).
 9. J. Geier, H. Lessmann, A. Schnuch, and W. Uter, Recent increase in allergic reactions to methylchloroisothiazolinone/methylisothiazolinone: is methylisothiazolinone the culprit?, *Contact Derm.*, **67**, 334-341 (2012).
 10. H. Mekata, The viewpoint of formulation design for preservative-free and paraben-free cosmetics, *J. Soc. Cosmet. Chem. Jpn.*, **51**, 2-11 (2017).
 11. S. B. Levy, A. M. Dulichan, and M. Helman, Safety of a preservative system containing 1,2-hexanediol and caprylyl glycol, *Cutan. Ocul. Toxicol.*, **28**, 23-24 (2009).
 12. T. A. Gaonkar, I. Geraldo, M. Shintre, and S. M. Modak, In vivo efficacy of an alcohol-based surgical hand disinfectant containing a synergistic combination of ethylhexylglycerin and preservatives, *J. Hosp. Infect.*, **63**, 412-427 (2006).
 13. E. Lee, S. An, S.-A. Cho, Y. Yun, J. Han, Y. K. Hwang, and T. R. Lee, The influence of alkane chain length on the skin irritation potential of 1, 2-alkanediols, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **33**, 421-425 (2011).
 14. I. K. Yoo, J. I. Kim, and Y. K. Kang, Conformational preferences and antimicrobial activities of alkanediols, *Comput. Theor. Chem.*, **1064**, 15-24 (2015).
 15. P. Ziosi, S. Manfredini, A. Vandini, S. Vertuani, and M. Fraternali, Caprylyl glycol/phenethyl alcohol blend for alternative preservation of cosmetics, *Cosmet. Toilet.*, **128**, 538-549 (2013).
 16. K. S. Warner, S. K. Li, and W. I. Higuchi, Influences of alkyl group chain length and polar head group on chemical skin permeation enhancement, *J. Pharm. Sci.*, **90**, 1143-1153 (2001).
 17. J. I. Kim, *Study on the Challenge Test and Safety Assessments of 1,2-Alkanediols in Cosmetics*, PhD Dissertation, Hannam University, Daejeon, Korea (2016).
 18. W. Siegert, Comparison of microbial challenge testing methods for cosmetics, *Househ. Pers. Care Today*, **8**, 32-39 (2013).
 19. J. J. Choi, W. G. Cho and M. J. Rang, Synergistic surface activities and phase behavior in mixtures of a diglyceryl cationic surfactant and a conventional anionic surfactant, *Korean Chem. Eng. Res.*, **46**, 799-805 (2008).
 20. M. Okukawa, T. Watanabe, M. Miura, H. Konno, S. Yano, and Y. Nonomura, Antibacterial activity of 1,2-alkanediol against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, *J. Oleo Sci.*, **68**, 759-763 (2019).
- #### Authors
- Kyung-On Cha; M.Sc., Ph.D. Candidate, Department of Chemical Engineering and Applied Chemistry, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea; kocho777@naver.com
Sang-Woon Kwak; M.Sc., Ph.D. Candidate, Department of Chemical Engineering and Applied Chemistry, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea; mtdice@naver.com
Kook-In Jeong; Ph.D., CEO, BJ BIOCHEM, Inc., Daejeon, 34025, Korea; redox818@naver.com
Young-Ho Kim; Ph.D., Professor, Department of Chemical Engineering and Applied Chemistry, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea; yh_kim@cnu.ac.kr