Cu(II)-Chitosan Complex의 DFP 분해 반응 연구

A Study on the Decomposition of DFP using Cu(II)-Chitosan Complex

계영식*	정우영*	김동욱*
Young-Sik Kye	Woo Yong Chung	Dongwook Kim
박양기*	송시욱*	정근홍*
Yangki Park	Siuk Song	Keunhong Jeong

Abstract

In this study, we have proposed a novel decomposition agent composed of Cu(II) and soluble chitosan for organophosphorus chemical agents. Compared to the autohydrolysis, the soluble Cu(II)-Chitosan complex hydrolyzed DFP more effectively. Results show that soluble Cu(II)-Chitosan complex enhances the hydrolysis of DFP in 4~6 folds compared to the autohydrolysis of DFP in buffer solution. This study provides the possibility of using this soluble Cu(II)-Chitosan complex as the environmental friendly decomposition agent which can substitute current DS-2 decomposition agent.

Keywords : Cu(II)-Chitosan Complex(구리(II)-키토산 착물), DFP(디에프피), Nerve agent(신경작용제), Decomposition(분해), Hydrolysis(가수분해)

1. 서론

화학작용제는 대량살상무기(WMD : Weapons of Mass Destruction)의 일종으로서 근대적 의미의 화학무기는 1915년부터 사용되어왔다. 그 중에서 전 세계적으로 가장 많이 합성된 작용제는 유기인산(Organophosphorus) 계열의 신경작용제이다. 신경작용제는 신경 말단의 시냅스(Synapse)에서 방출된 신경전달물질 아세틸콜린(Acetylcholine)을 가수분해하는 acetylcholinesterase의 활

성자리인 serine hydroxyl기를 phosphorylation하여, 이 효소의 활성을 억제함으로써 신경전달 체계를 교란하여 근육을 수축된 상태로 유지시키는 독성을 가지 있다. 신경작용제의 일반적인 구조는 Fig. 1과 같다^[1].

신경작용제의 제독을 위하여 현재 사용되고 있는 제독제는 DS-2(Decontaminating Solution No. 2)용액이다. DS-2는 70 %(w/w)의 diethylenetriamine과 28 %(w/w)의 ethylene glycol monomethyl ether, 그리고 2 %의 sodium hydroxide로 구성되어 있다. 강한 nucleophile인 2-methoxy-ethanol anion을 형성한 뒤 신경작용제와 반응하여 diester를 형성하고, 추가적인 반응이 계속 진행된다. Diester를 형성하는 일차반응만으로도 충분한 화학작용제 제독효과가 있는 것으로 알려져 있다. DS-2

† 2012년 6월 14일 접수~2012년 9월 14일 게재승인

* 육군사관학교(Korea Military Academy)

책임저자 : 계영식(kye@kma.ac.kr)

제독반응의 일반적인 메커니즘은 아래와 같다^[2](Fig. 2).

종류	X	R ₁	R ₂
GA	CN	N(CH ₃) ₂	C ₂ H ₅
GB	F	CH ₃	CH(CH ₃) ₂
GD	F	CH ₃	CH(CH ₃)C(CH ₃) ₃
GE	F	C ₂ H ₅	OCH(CH ₃) ₂
GF	F	CH ₃	Cyclo-C ₆ H ₁₁
DFP	F	OCH ₂ (CH ₃) ₂	CH ₂ (CH ₃) ₂

Fig. 1. Structures of G-series nerve agents and DFP

Fig. 2. General reaction mechanism between DS-2 and nerve agents

DS-2는 매우 효율적인 제독제이나 부식성이 매우 강하여 플라스틱, 고무, 가죽제품, 페인트 등에 손상을 줄 수 있으며 피부에도 손상을 줄 수 있다는 단점이 있다. 또한 이는 공기 중에 노출 될 경우에 다량의 수분에 의해 빠르게 분해되므로 수분이 많은 상태에서는 사용이 제한된다. 또한 걸프전에서 사용된 대량의 DS-2는 환경오염의 문제를 일으켜 Gulf War Syndrome의 주요 원인으로 지적되고 있다. 따라서 친환경적이고 안전하며 궁극적으로는 회수까지도 할 수 있는 제독제의 개발이 시급하며 이에 본 연구에서는 Chitosan과 Cu(II) complex를 이용하여 새로운 제독제로서의 가능성을 제시하고자 한다.

Chitosan은 일반적으로 새우, 게, 곤충 등의 갑피를 형성하고 있는 Chitin으로부터 합성된다. Chitin은 셀룰로오스 다음으로 풍부한 천연 다당류이다. Chitin은 인체에 전혀 무해하고 항 미생물성을 가지고 있다고 알려져

져 있다^[3]. Chitin과 Chitosan의 구조적 특성은 다음과 같다. Chitin은 Fig. 3에 보이는 것과 같이 *N*-아세틸-*D*-글루코사민 단위체가 무수히 결합하여 이루어진 다당류 고분자 물질이다. Chitin과 chitosan은 pyranose의 C₂ 위치에서 Chitin은 *N*-acetyl기가, Chitosan은 아세틸기가 떨어져 아미노기가 결합되어 있다는 점이 다르다^[4].

Fig. 3. Structures of Chitin and Chitosan

Chitin으로부터 합성되는 Chitosan은 일반적으로 용해도가 낮고 분자량이 크지만, 최근 연구를 통해 저분자량 수용성 Chitosan이 개발되었다. 이러한 저분자량 수용성 Chitosan은 독성이 없을 뿐 아니라, 생체 사용에 적합하고, 생분해 된다는 특성으로 인해 의료, 화장품, 식품 및 섬유분야 등에 광범위하게 응용되고 있다.^[5] 최근에는 Chitosan의 중금속 흡착능력을 이용한 폐수처리, Cu(II)-Chitosan Complex를 이용한 hydroquinone 분해 등 환경분야로의 응용도 활발히 진행되고 있다^[6,7].

본 연구실에서는 전이 금속 촉매를 이용하여 유사 신경작용제인 diisopropyl fluorophosphate(DFP)를 분해하는 연구를 진행해왔다. DFP는 신경작용제와 그 구조가 유사하나 독성은 상대적으로 적은 특성을 가지고 있으며 많은 연구 논문에서 실 작용제 대신 사용되는 surrogate compound이다^[8]. 따라서 본 연구실에서는 최근에 보고된 Cu(II)-Chitosan Complex를 기준으로 고분자형 Chitosan Complex 구조(HM-Chitosan Complex)와 저분자 수용성 Chitosan Complex 구조(LM-Chitosan Complex)를 각각 합성하여 DFP에 대한 분해효과를 측정하였다.

2. 실험 방법

가. Cu(II)-Chitosan Complex 합성

실험에 사용된 시약은 미국의 Sigma Aldrich 제품을 구입하여 사용하였으며 필요한 경우 문헌에 알려진 방법으로 정제하여 사용하였다. DFP는 독성이 있으므로 Fluka 제품을 스위스에서 직수입하여 사용하였다. 가수분해 반응속도 측정은 기존 논문^[8]에 보고된 바와 같이 F-selective electrode(96-09BN모델)를 이용하여 분석하였다(Orion EA 940 Expandable Ion Analyzer). Cu(II)-Chitosan Complex 합성은 기존의 보고된 논문을 참고하였으며 세부 실험 과정은 다음과 같다^[9].

1) Cu(II)-HM-Chitosan Complex 합성

Chitosan(Sigma Aldrich 제품, 0.32 g)을 상온에서 0.1 M HCl 용액 20 mL에 녹인 후 Chitosan이 모두 녹아 겔 성분의 투명한 상태로 될 때까지 교반한다. 여기에 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (67 mg)을 넣어 30분간 추가 교반하였으며 교반 후 투명한 청색의 겔이 형성되었다. 여기에 0.1 M NaOH 300 mL를 점적 후 교반하였으며 교반 후 청색 투명 방울이 엉켜있는 형태의 고체가 만들어졌다. 이를 여과지로 분리하였으며 이후 증류수로 중성이 될 때까지 씻어 주었다. 걸러낸 고체를 진공건조기에서 24시간 이상 건조하여 청색의 고체가 얻어졌으며 이를 막자사발로 분쇄하여 청색의 분말 0.3 g을 얻었다.

2) Cu(II)-LM-Chitosan Complex 합성

저 분자량 수용성 Chitosan($\overline{M}_w = 18,759$ Da, 탈아세틸화도 = 93 %, Chitosan unit = 107 ea, Chitin unit = 6 ea)은 기존의 보고된 논문^[10]을 따라 합성된 고체 분말을 순천대학교 나재운 교수로부터 받아서 별도의 정제과정 없이 사용하였다. LM-Chitosan은 Cu(II) complex를 만들기 위해서 고분자량 Chitosan의 경우 처럼의 물에 녹이기 위한 용해과정이 필요하지 않으므로 0.32 g의 LM-Chitosan을 상온에서 50 mL methanol에 녹였다. 이후 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (67 mg)을 methanol 10 mL에 녹인 용액을 점적한 후 4시간 동안 교반하여 얻어진 진한 노란색의 용액을 진공건조기에서 24시간 이상 건조하여 어두운 황색의 고체가 얻었다. 이를 막자사발로 분쇄하여 최종적으로 황색 분말 0.32 g을 얻었다.

나. DFP 분해반응 실험

DFP 분해반응 실험은 기존에 보고된 논문을 참고

로 하였다^[8]. 이를 간략히 요약하면 다음과 같다. Isopropanol에 DFP를 녹여서 4.925×10^{-3} M의 stock solution을 만들었으며, 여러 농도에서의 반응속도 측정을 위해 Cu(II)-Chitosan Complex의 농도는 각각 DFP의 10배, 5배를 사용하였다. pH는 HEPES 1 mM을 사용하여 8.0으로 고정되었으며 항온 수조기를 사용하여 온도는 25 °C로 균일하게 유지되었다. 반응속도는 DFP의 분해에 의해 생성된 F^- 이온의 농도를 Orion 96-09 F-selective electrode로 측정한 뒤 유사1차 반응적분형에 대입하여 구하였다. 이에 100 mL의 buffer에 각 착물의 농도가 6.6×10^{-4} M이 되도록 하고 F-전극을 설치하였다. 전극이 안정화된 이후에 DFP를 녹인 isopropanol 0.67 mL를 부가하여 DFP의 최종 농도가 3.3×10^{-5} M가 되도록 하였다. pH 8 조건에서 DFP의 가수분해반응에 의한 농도 손실을 확인하기 위해 100 시간 이상 대조군 실험을 실시하였으며(Fig. 4, 5) 이후 Cu(II)-Chitosan complex에 의한 분해 반응속도를 측정하였다. 최초 20시간까지는 30분 단위로 농도를 측정하였으며, 이후에는 1시간 단위로 측정하였다(Fig. 6).

3. 결과 및 고찰

관련 논문^[9]에 의하면 각 Chitosan에 Cu^{2+} 가 결합되어있는 정도를 6.6 %라고 제시하고 있으며 본 연구에서도 같은 방법으로 합성이 이루어졌으므로 이를 기준으로 제독제의 농도를 결정하였다. 측정 결과 pH 8에서 DFP의 자연분해반응에 의한 F^- 이온농도 변화 그래프를 얻었으며(Fig. 4) 이를 기준으로 pH 8에서 DFP의 자연 분해에 따른 $\ln([F]_{\infty} - [F]_t)$ 시간의 그래프를 얻었다(Fig. 5).

pH 8에서 DFP의 가수분해반응은 Fig. 5에서 보는 바와 같이 시간 vs. $\ln[F]$ 그래프가 선형관계를 보이는 것으로 확인할 수 있다. 유사 1차 반응속도상수(k_{obsd})는 nonlinear least square방법으로 산출하였다. 측정결과 pH 8에서 이뤄지는 DFP 자연분해 속도 상수(k_{obs})는 $2.377 \times 10^{-4} \text{ h}^{-1}$ 으로 측정되었으며 이를 기준으로 반감기를 계산한 결과 반감기($t_{1/2}$)는 2,915 시간으로 계산되었다.

Cu(II)-HM-Chitosan Complex는 물에 전혀 녹지 않아 heterogeneous 상태에서 고체 표면에서 반응이 이루어질 것으로 기대하였으나 예상과는 다르게 대조군보다 분해를 촉진하는 역할은 하지 못했다(data not shown).

Fig. 4. F^- ion concentration in DFP auto-hydrolysis in pH8 HEPES buffer

Fig. 5. $\ln([F]_{\infty} - [F]_t)$ vs. time graph of DFP auto-hydrolysis in pH8 HEPES buffer

Fig. 6. F^- ion concentration in DFP hydrolysis by Cu(II)-LM-Chitosan(5-folds)

Fig. 7. $\ln([F]_{\infty} - [F]_t)$ vs. time graph of DFP hydrolysis by Cu(II)-LM-Chitosan(5-folds)

반면 Cu(II)-LM-Chitosan Complex는 일부 완전히 용해되지 않은 부분이 있었지만 pH 8의 대조군보다 분해 속도가 빨라진 것이 확인되었다(Fig. 6~9).

그래프에서 보듯이, Cu(II)-HM-Chitosan Complex와는 다르게 Cu(II)-LM-Chitosan Complex는 효과적으로 DFP를 분해하였다. Cu(II)-HM-Chitosan Complex의 농도가 5배일 경우 속도 상수(k_{obs})는 $1.03 \times 10^{-3} h^{-1}$ 으로 계산되었으며 농도가 10배일 때의 속도상수(k_{obs}) $1.29 \times 10^{-3} h^{-1}$ 로 계산되었다. 이를 이용하여 반감기를 계산한 결과 Cu(II)-HM-Chitosan Complex의 농도가 5배, 10배일 경우 반감기($t_{1/2}$)는 각각 673h, 537h 임이 확인되었다. Cu(II)-LM-Chitosan Complex가 주어진 농도와 온도, pH조건하에서 5배, 10배의 Complex농도하에서 각각 약 4배, 6배의 속도 증가를 의미한다(Fig. 10).

Fig. 8. F^- ion concentration in DFP hydrolysis by Cu(II)-LM-Chitosan(10-folds)

Fig. 9. $\ln([F]_{\infty} - [F]_t)$ vs. time graph of DFP hydrolysis by Cu(II)-LM-Chitosan(10-folds)

Fig. 10. $\ln([F]_{\infty} - [F]_t)$ vs. time graph of DFP hydrolysis by auto-hydrolysis and Cu(II)-LM-Chitosan

4. 결론

현재 군에서 화학작용제의 장비제독을 위해 가장 많이 쓰이는 DS-2 제독제는 환경적인 부담이 큰 물질이다. 따라서 앞으로 부식성으로 인한 피해를 줄일 수 있는 친환경적인 제독제가 개발되어야 한다.

Cu(II)-Chitosan Complex는 기존 연구논문에서 제시하였듯이^[9] Cu^{2+} 가 Chitosan에 결합하여 기존의 DFP를 가수분해할 수 있는 형태로의 구조를 갖춘 상태로 합성이 된다(Fig. 11).

Cu(II)-HM-Chitosan Complex는 DFP를 분해하는 반응성을 보이지 않았다. Schmuhl 등은 Cu^{2+} 가 chitosan과 complex를 형성할 때 따로 떨어져 있는 Chitosan dimer

가 planar 결합을 하며, 이러한 결합구조로 인해 나선형으로 치밀하게 쌓이게 된다고 하였다^[11](Fig. 12). 이런 구조가 형성되는 경우 Cu^{2+} 센터의 DFP와의 접촉이 불가능하기 때문에 반응성이 떨어지게 될 것으로 판단된다.

Fig. 11. Proposed structure of Cu(II)-Chitosan complex

Fig. 12. Proposed structure of formation of HM chitosan chelates with Cu ion

반면 Cu(II)-LM-Chitosan Complex는 Chitosan chain이 길지 않아 planar 구조가 비교적 적거나 적층구조가 형성되지 않기 때문에 Chitosan에 결합하고 있는 Cu(II)가 DFP에 작용하여 hydrolysis가 가능했을 것이다. 또한 용해도에 따른 반응성의 차이 또한 DFP 분해의 차이를 가져왔을 것이다. 따라서 추후에 Chitosan을 이용한 제독제의 개발을 위해서는 Chitosan chain을 최대한 짧게 하여 Cu(II) Complex를 만들어야 하며 이로써 용해도 또한 증대시켜 화학작용제에 대한 반응성을 높일 수 있도록 하여야 한다.

본 연구실에서 수행한 이번 연구는 문제가 되고 있는 제독제인 DS-2를 대체할 수 있는 친환경적인 물질인 Chitosan을 이용한 제독제의 개발을 위한 초석을 다졌다는데 그 의미가 있겠다. 또한 본 연구를 통하여

Chitosan에 Cu^{2+} 를 결합시켜 DFP 분해 속도를 증가시킴으로써 화학작용제 가수분해 반응 촉매로서의 가능성을 제시하였다. 추후 연구를 통해 반응성과 촉매제로서의 활성을 증대시킨다면 여러 종류의 지지체에 결합시켜^[12] 회수가 가능한 친환경적이고 인체에 무해한 제독제의 개발을 앞당길 수 있을 것이다.

후 기

본 연구는 2011년 화랑대연구소 연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- [1] 이승달, 양일우, 이남택, 정우영, 계영식, 김성일, 김동욱, “군사화학”, pp. 331~338, 도서출판 봉명, 2002.
- [2] 이종철, 이용한, 박훈, 최승주, “Methylphosphonicdifluoride의 가수분해 및 가수분해 생성물로부터 HF의 회수 연구”, HWAHAK KONGHAK, 제41권, 제4호, pp. 464~470, 2003.
- [3] 홍동숙, 최윤정, 장종문, 이준우, “키틴유도체의 국내외 시장동향 분석”, J. Chitin Chitosan, Vol. 16, No. 2, pp. 65~71, 2011.
- [4] 나재식, “Chitosan의 초음파분해에서 온도영향”, J. Chitin Chitosan, Vol. 14, No. 3, pp. 155~159, 2009.
- [5] 장미경, 나재운, “생체 내 특정 조직의 표적을 위한 키틴산 유도체”, Appl. Chem. Eng., Vol. 21, No. 6, pp. 593~602, 2010.
- [6] 김태훈, 김두언, 성아영, “생체적합성을 가진 천연고분자의 응용 및 기능성에 관한 연구”, J. Kor. Chem. Soc., Vol. 53, No. 5, pp. 547~552, 2009.
- [7] 김갑근, 강익중, “연속식 환류반응기에서 가교결합된 키틴산 복합막을 이용한 중금속 흡착 평가”, J. Chitin Chitosan, Vol. 14, No. 2, pp. 72~78, 2009.
- [8] 계영식, 정근홍, 정우영, “전이금속촉매를 사용한 DFP 분해 성능 연구”, Appl. Chem. Eng., Vol. 21, No. 1, pp. 1~5, 2010.
- [9] R. Sulakova, R. Hrdina, G. Soares, “Oxidation of Azo Textile Soluble Dyes with Hydrogen Peroxide in the Presence of Cu(II) Chitosan Heterogeneous Catalysts”, Dyes and Pigments, Vol. 73, pp. 19~24, 2007.
- [10] J. Nah, M. Jang, “Spectroscopic Characterization and Preparation of Low Molecular, Water-Soluble Chitosan with Free-Amine Group by Novel Method”, J. Polym. Sci. : Part A : Polym. Chem., Vol. 40, pp. 3796~3803, 2002.
- [11] R. Schmuhl, H. M. Krieg, and K. Keizer, “Adsorption of Cu(II) and Cr(VI) ions by chitosan: Kinetics and Equilibrium Studies”, Water SA, Vol. 27, No. 1, pp. 1~7, 2001.
- [12] 정우영, 계영식, “Merrifield-Type Diaminatedpolystyrene-Cu(II) 불균일 촉매에 의한 Sarin과 Soman 분해반응 연구”, 한국군사과학기술학회지, Vol. 2, pp. 164~175, 2000.