

보존제로서 선형 1,2-알킬아미노프로판디올의 합성과 항균활성

차경은 · 광상운 · 정국인* · 김영호[†]

충남대학교 응용화학공학과, *㈜ 비제이바이오캡
(2022년 6월 13일 접수, 2022년 7월 12일 수정, 2022년 7월 13일 채택)

Synthesis of Linear 1,2-Alkylaminopropanediols as Preservatives and Antimicrobial Activity

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 June 13, 2022; Revised July 12, 2022; Accepted July 13, 2022)

초 록

알킬 사슬의 탄소 수가 10개, 12개, 14개 및 16개인 직쇄상 1,2-알칸디올의 친수성을 향상할 목적으로 1,2-알킬아미노프로판디올(1,2-alkylaminopropanediol, 1,2-AAP)의 합성을 설계하였다. 1,2-AAP는 40 °C 에탄올(ethanol) 용매에서 2 h 동안 3-모노클로로-1,2-프로판디올(3-monochloro-1,2-propanediol, 3-MCPD)과 10, 12, 14 및 16의 탄소 수를 갖는 선형 알킬아민 화합물과의 반응에 의해 합성하였다. 합성한 4 종류 1,2-AAP의 수율과 순도는 각각 51~58%와 85~99% 범위의 것으로 나타났다. 정제된 페이스트 또는 고체 합성물로 pH 7까지 산(HCl)을 가하여 4 종류 1,2-AAP의 아민염을 제조한 다음, 용해성과 항균효과를 시험하였다. 물에 대한 용해 농도는 1,2-데실아미노프로판디올(1,2-decylaminopropanediol, 1,2-DAP)이 100%, 1,2-도데실아미노프로판디올(1,2-dodecylaminopropanediol, 1,2-DDAP)이 50%, 1,2-테트라데실아미노프로판디올(1,2-tetradecylaminopropanediol, 1,2-TDAP)이 0.1%이었으며, 1,2-헥사데실아미노프로판디올(1,2-hexadecylaminopropanediol, 1,2-HDAP)은 용해되지 않았다. 항균 효과는 알킬 사슬의 길이가 증가할수록 향상되었다. 응용을 위해 1,2-AAP가 적용된 로션(화장품 제형)에서 보존효과를 확인한 결과 0.005~0.2% 범위의 낮은 농도에서 매우 우수한 항균력을 보였다.

Abstract

The synthesis of 1,2-alkylaminopropanediols (1,2-AAPs) was designed to improve the hydrophilicity of linear 1,2-alkanediols having 10, 12, 14, and 16 carbon atoms in the alkyl chain. 1,2-AAPs were synthesized by reacting 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) with linear alkylamines having 10, 12, 14 or 16 carbon atoms in an ethanol solvent at 40° C for 2 h. The yield and purity of four types of 1,2-AAPs synthesized were found to be in the range of 51-58% and 85-99%, respectively. The amine salts of four types of 1,2-AAPs were prepared from a purified paste or solid compound by adding an acidic solution (HCl) to pH 7, and then their solubilities and antibacterial effects were tested. 1,2-decylaminopropanediol, 1,2-dodecylaminopropanediol, and 1,2-tetradecylaminopropanediol were all dissolved in water at concentrations of 100%, 50%, and 0.1%, respectively, however 1,2-hexadecylaminopropanediol was not. The antibacterial effect was improved as the length of the alkyl chain increased. As a result of confirming the preservative effect of the lotion (cosmetic formulation) applied with 1,2-AAP for application, it showed very strong antibacterial activity at low concentrations ranging from 0.005% to 0.2%.

Keywords: Preservatives, Linear 1,2-Alkanediol, 1,2-Alkylaminopropanediol, Antimicrobial efficacy, Antiseptic ability in cosmetics

1. 서 론

화장품이나 세정제제품류에는 물을 포함하여 미생물의 번식에 유용한 성분들이 매우 풍부하기 때문에, 제품의 장기간 보관이나 사용 중

에도 다양한 미생물에 노출되어 오염되기 쉽다. 따라서 화장품 및 세정제제품류에는 이를 방지하기 위하여 보존제가 필수적으로 사용되고 있으며, 화장품을 포함한 관련 산업의 발달과 함께 보존제의 종류와 사용량도 크게 증가하고 있다[1,2].

현재까지 오랫동안 사용되어온 보존제로는 대부분 화학 보존제로서 경제적이며 보존 효과가 좋은 파라벤(paraben), 페녹시에탄올(phenoxyethanol), 메틸이소치아졸리논(methylisothiazolinone) 등이 있다. 이들 화학 보존제는 적은 양으로도 미생물의 증식을 억제하여 제품의 안정성을 향상시키는 효과가 우수한 것으로 알려져 있다[3-7]. 그러나, 피부에 직접 발라 사용하는 화장품의 경우, 알러지(allergy) 등

[†] 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

에 의한 접촉성 피부염, 환경호르몬 자극 등과 같은 피부 질환을 유발할 수 있다[8-10]. 특히 피부 보호 및 안전이 중요한 화장품의 경우 제품에 표기된 화학 보존제의 성분으로 인해 소비자의 우려가 크게 증가하고 있다. 따라서 화장품에 사용하는 모든 화학 보존제는 제품군에 따라 종류나 함량의 제한이 필요한 원료로 지정하여 관리하고 있다. 이와 같이 소비자의 안전에 대한 여러 요구 사항으로 인해 화장품 업계는 보존제를 사용하지 않는 무보존제 제품이나 스스로 보존효과를 갖는 원료를 사용하는 자가보존제 제품에 많은 관심을 갖고 있다[11].

최근에는 보습제로도 사용할 수 있으며 자체 항균 작용을 할 수 있는 선형(liner) 1,2-알칸디올(1,2-alkanediol)류의 원료를 이용하여 화장품 분야에서 보존제로 사용하기 위한 연구가 지속적으로 진행되고 있다. 현재 1,2-알칸디올계 화합물의 경우, 인체에는 비교적 안전한 것으로 알려져 있으나 실제 제품에 적용시 세균에서의 효능에 비해 진균에서의 효능이 비교적 낮아 기존 보존제 대비 많은 양을 사용해야 하는 단점이 있다[12-16].

Table 1에 나타낸 바와 같이, 1,2-알칸디올계 화합물은 탄소로 되어 있는 알킬 사슬(alkyl chain)의 길이가 증가할수록 보존력은 향상된다. 그러나 녹는점이 상온 이상이면 제품 내에서 분자의 활동성이 떨어져 항균력이 감소하고 물에 대한 용해력도 감소한다. 이로 인해 물이 주 성분인 화장품이나 세정제 제품 내에서 1,2-알칸디올계 화합물을 사용하는 것은 많은 어려움이 있다. 1,2-알칸디올계 화합물 중 상업적으로 가장 많이 사용하고 있는 물질은 탄소 수가 6개인 1,2-헥산디올(1,2-hexanediol)이며 제품내에서 2% 이상의 고농도를 사용해야 한다. 탄소 수가 8개인 1,2-옥탄디올(1,2-octanediol)은 0.2~0.3% 함량으로도 항균력을 나타내므로 1,2-헥산디올 대비 사용 함량을 1/10 수준으로 낮출 수 있으나 물에 대한 용해성 감소로 인해 적용할 수 있는 제형이 제한적이다. 또한, 탄소 수가 10개인 1,2-데칸디올(1,2-decanediol)의 경우, 유기 용매에 녹여 극히 제한적인 경우에만 사용되고 있다[17-19]. 따라서 우리는 이전 연구에서 알킬 사슬의 탄소 수 길이가 12개인 디올(diol) 구조의 화합물에 친수기를 도입하는 방식으로 물에 대한 용해성을 보완하고자 하였다. 그 결과, 구조 설계를 통하여 합성한 화합물은 물에 대한 용해성이 강화되었으며, 화장품 제형을 통하여 제품에 적용하였을 때 우수한 항균력을 나타낸다는 것을 확인하였다[20]. 따라서 후속 연구로서 알킬 사슬의 길이가 다른 다양한 물질로의 적용 확대를 위한 연구가 요구되었다.

본 연구에서는 알킬 사슬의 길이가 커서 적은 함량으로도 항균력이 높을 것으로 예상되는 물질이나, 물을 사용하는 제품에서 난용성 또는 불용성으로 적용하기 어려운 물질을 대상으로 하였다. 즉 알킬 사슬의 탄소 수가 10개, 12개, 14개 및 16개인 1,2-알칸디올의 구조에 친수기를 결합하는 방식으로 4종의 선형 1,2-알킬아미노프로판디올(1,2-alkylaminopropanediol, 1,2-AAP)을 합성하였다. 합성한 4종 1,2-AAP의 물에 대한 용해성과 화장품 제형을 통한 항균 특성을 조사하였다.

2. 실험

2.1. 합성 물질의 구조 설계

1,2-알칸디올에서 분자 말단에 존재하는 디하이드릭 알코올(dehydric alcohol) 구조는 미생물 제어에 중요한 역할을 하는 구조이다[19]. 따라서 합성하고자 하는 물질의 말단에 1,2-디하이드록실기(1,2-dehydroxyl)는 그대로 유지하였다. 한편, 알킬 사슬의 길이가 길수록 미생물 제어 효과는 우수하나 물에 대한 용해성이 감소하여 난용성이거나 불용성

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

Alkyl Chain Type		MIC* (%)	Water Solubility (%)
Carbon Number	Compounds		
C ₆	1,2-hexanediol	2	100
C ₈	1,2-octanediol	0.25	0.3
C ₁₀	1,2-decanediol	0.07	0.03
C ₁₂	1,2-dodecanediol	-	< 0.003

*MIC : Minimum inhibition concentration.

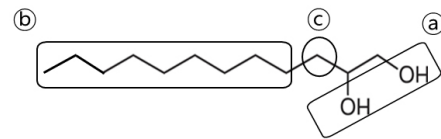


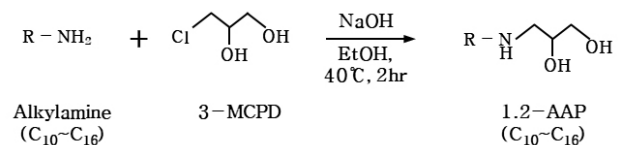
Figure 1. Design of 1,2-alkanediol derivatives with antimicrobial activity. (a) Retention of diol structure: key structure of Hinge role in microbial cell membrane. (b) Longer alkyl group design: the longer the alkyl group, the better the preservative power at low concentrations. (c) A hydrophilic group (amine group) is placed to compensate for the solubility caused by the lengthening of the alkyl group[20].

이 된다. 이로 인해 상업적으로 사용이 어려운 탄소 수 10개의 데실(decyl), 12개의 도데실(dodecyl), 14개의 테트라데실(tetradecyl), 16개의 헥사데실(hexadecyl)기를 알킬 사슬의 길이로 선택하였다. 더 나아가, 1,2-알칸디올의 디하이드릭과 함께 친수 구조를 강화시키기 위해 분자량이 적은 아민(amine)기를 선택하여 Figure 1과 같은 구조를 갖는 1,2-알칸디올 유도체를 설계하였다[20].

2.2. 합성 및 기기분석

본 연구에서 4종 1,2-AAP의 합성 반응 과정은 모두 동일하게 진행하였고, Scheme 1에 나타내었다. 합성에 사용된 decyl amine (DA), dodecyl amine (DDA), tetradecyl amine (TDA), hexadecyl amine (HDA), 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) 및 에탄올(ethanol)은 Fisher (Springfield, NJ, USA)사에서 구입하여 사용하였다. 그 외의 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 ·cm 로 통과시킨 것을 사용하였다. 합성 장치는 500 mL 용량의 둥근 바닥 4구 플라스크, 적하 깔때기, 환류 냉각기, 온도계, 질소 주입관 등으로 구성하였다.

합성을 위하여 먼저 500 mL 용량의 둥근 바닥 4구 플라스크에 에탄올 용매, 각각의 알킬아민(alkyl amine, AA) 1 mol, 그리고 알칼리 촉매인 수산화나트륨(NaOH, flake)을 넣고 40 °C에서 1시간 동안 교반하였다. 수산화나트륨이 모두 용해되면 40 °C를 유지하면서 3-MCPD를 mol 농도별로 변화시키며 적하 깔때기를 통해 천천히 적하하고 2시



Scheme 1. Synthesis of 1,2-Alkylaminopropanediol (1,2-AAP).

간 동안 환류시키며 반응하였다. 반응이 진행되는 동안 시료를 채취하고 GC를 이용하여 잔류하는 3-MCPD의 양을 확인하였으며, 3-MCPD가 모두 소모되어 검출되지 않는 상태를 확인한 후 반응을 종결하였다.

반응이 끝난 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 교반한 다음 여과 및 건조하였다. 1,2-Decylaminopropanediol (1,2-DAP)은 백색의 페이스트(paste)상으로 합성물을 얻었다. 그리고 1,2-Dodecylaminopropanediol (1,2-DDAP), 1,2-tetradecylaminopropanediol (1,2-TDAP), 및 1,2-hexadecylaminopropanediol (1,2-HDAP)은 백색의 고체상으로 합성물을 얻었다, 그 후 합성된 4종 생성물들의 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 다음, GC (2010 PLUS)로 3-MCPD의 잔량의 여부를 분석하여 반응의 진행 및 완료를 확인하였다. 이때 컬럼은 DB-5MS [30.0 m(L) × 0.25 mm (I.D.) × 0.25 μm (thickness)]를 사용하였고 운반 기체는 N₂를 사용하였으며 3 mL/min의 유속으로 공급하였다. 분리를 위한 컬럼의 온도는 초기 온도 70 °C에서 5 min동안 유지한 다음, 10 °C/min로 310 °C까지 상승시켰다. 주입기(injector) 온도는 270 °C 그리고 FID 검출기(detector)의 온도는 310 °C로 유지하였으며, column flow는 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 4종의 1,2-DAP, 1,2-DDAP, 1,2-TDAP 및 1,2-HDAP의 물 용해성을 측정하기 위해 비이커에 함량별로 각각 넣고 상온에서 물을 넣은 다음 교반하였다. 그 후 1M HCl 용액을 pH가 7이 될 때까지 서서히 적하한 다음 약 30분 이상 혼합교반기(agi mixer)로 혼합하였다, 교반이 되지 않는 농도까지 증화하였으며, 합성한 1,2-DAP, 1,2-DDAP, 1,2-TDAP 및 1,2-HDAP 각 시료의 점도 변화를 확인하였다.

용해 특성을 위한 모든 시료는 용기에 넣어 밀봉하여 동일 온도를 유지하는 4 °C, 25 °C, 40 °C 인큐베이터에 약 10일 동안 보관한 다음, 육안으로 분리, 투명도, 부유물 등의 현상을 관찰하였다. 10일 후에도 해당 온도에서 투명하고 균일한 외관과 부피의 변화가 없을 때 시료가 평형에 도달한 것으로 간주하였으며, 이때를 안정한 제형으로 판단하고 결과를 얻었다. 이 과정에서 사용된 HCl은 Sigma (USA) 사 제품을 사용하였으며, 가용화된 용액의 점도 측정을 위하여 점도계는 Brookfield 사의 Viscometer (spindle no. 61~ 64)를 사용하였다.

2.4. 항균효과

1,2-DAP, 1,2-DDAP, 1,2-TDAP 및 1,2-HDAP의 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 액체 배지에 도말하여 35±2 °C에서 24~48 h 동안 배양하고, *Candida albicans* (*C. albicans*, ATCC 10231) 및 *Aspergillus brasiliensis* (*A. brasiliensis*, ATCC 16404)는 sabouraud dextrose broth (SDB)의 액체배지

에 도말하여 35±2 °C에서 72 h 동안 배양한 다음 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, PDA (DIFCO, USA), dimethyl sulfoxide (대정화학, Korea, DMSO) 및 생리 식염수를 사용하였다. 각 제품에 접종한 미생물의 초기접종 균수로서 세균은 1 × 10⁶ CFU/g 그리고 진균은 1 × 10⁵ 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 낮아 가기 측정으로 판단이 어려웠기 때문에 육안으로 확인하였다.

2.5. 화장품 보존력 시험

1,2-DAP, 1,2-DDAP의 단독 사용, 물용해성이 매우 낮은 1,2-TDAP, 1,2-HDAP는 1,2-DDAP와 혼합 사용하여 화장품 내 조성에 따른 보존력 시험(Challenge test)을 실시하였다. 보존력 평가 방법은 국가별 상이한 평가 기준을 가지고 있다. 본 실험에서는 CTFA (Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association)에서 제시하는 M-3법과 KoKo법을 기준으로 보존력을 평가하였다[21]. 보존제를 첨가하지 않은 화장품(로션)을 제조하여 대조군으로 하고, 1,2-DAP 및 1,2-DDAP가 농도별로 첨가된 양성대조군 그리고 1,2-DDAP와 혼합된 1,2-TDAP 및 1,2-HDAP 각각의 시료를 농도별로 혼합한 시험군을 제조하여 사용하였다.

준비된 각 시험물질이 첨가된 화장품에 *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* 및 *A. brasiliensis* 배양액을 1 × 10⁵⁻⁶ 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 이전 연구와 동일하게 Table 2의 처방대로 제조를 하였다[20]. 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

Table 2. Composition of Experimental Lotions Base[20]

Phase	Ingredients	
	Compounds	Content (%)
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

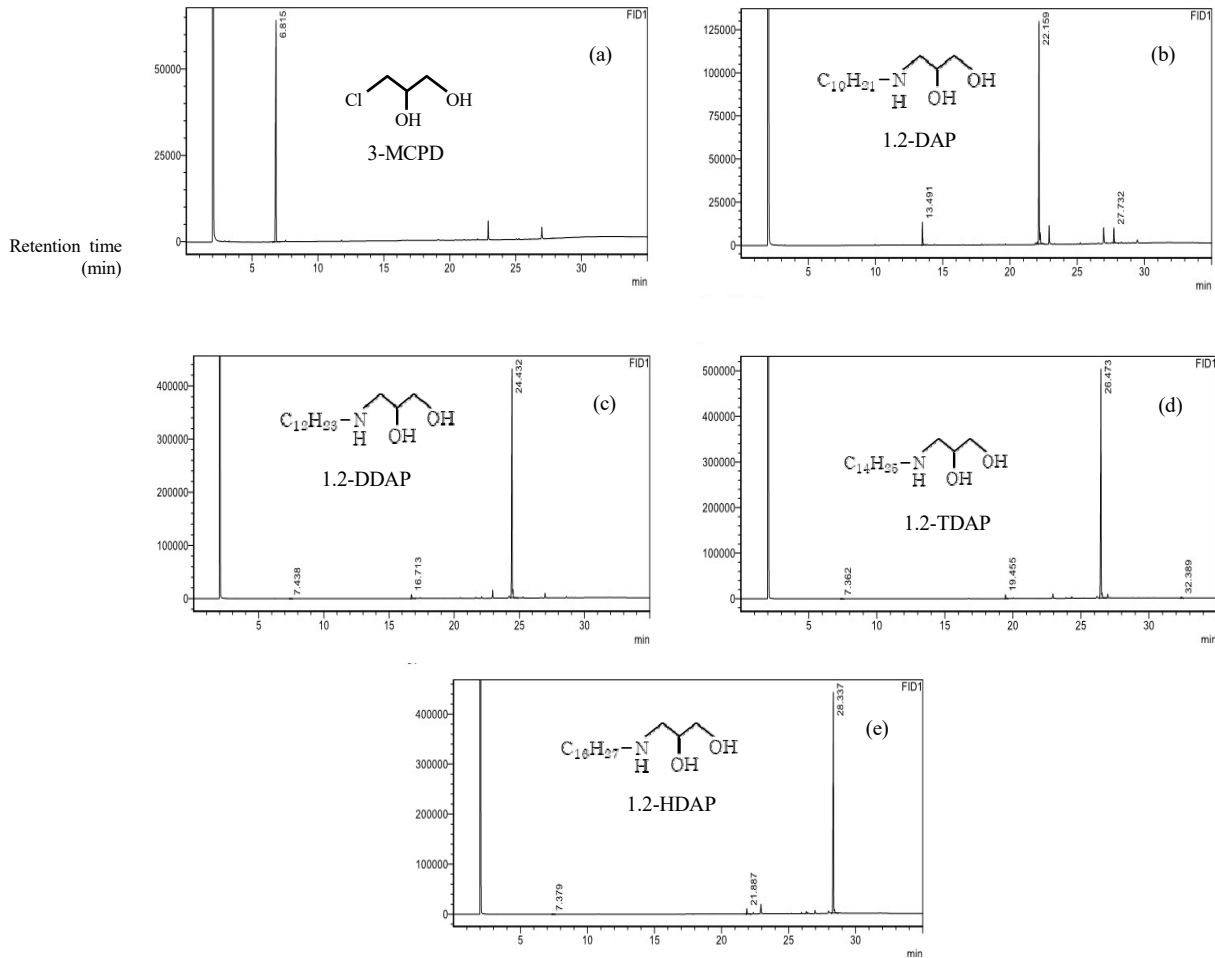


Figure 2. Gas chromatogram of (a) 3-MCPD, (b) 1,2-DAP, (c) 1,2-DDAP, (d) 1,2-TDAP and (e) 1,2-HDAP products after completion of the reaction.

유화시킨다. 그 곳에 (C)상을 투입한 다음 혼합 교반기에서 4,000 rpm으로 5 min 동안 교반하고 서서히 냉각하여 유화된 상태의 로션을 얻었다. 제조된 로션과 단독 및 혼합 보존제를 함량별로 각각 혼합한 다음 실험에 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 구조 확인

알킬기의 탄소 수가 10개, 12개, 14개 및 16개인 알킬아민을 각각 3-MCPD와 에탄올 용매로 합성하는 과정에서 반응 진행 중에 일정량의 시료를 채취하였다. 채취한 시료는 3-MCPD의 함량변화를 GC로 분석하면서 반응의 진행정도를 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), (c), (d), (e)에 나타냈는데, 여기서 생성물 1,2-DAP는 약 22.4 min, 1,2-DDAP는 약 24.4 min, 1,2-TDAP는 약 26.5 min, 그리고 1,2-HDAP는 약 28.3 min의 머무름 시간을 나타냈다. 합성한 반응 생성물은 수세한 다음 n-헵탄을 이용하여 정제하였으며, 백색의 고체를 생성물로 얻었다. 여기서 1,2-DAP는 백색의 페이

스트를 그리고 1,2-DDAP, 1,2-TDAP 및 1,2-HDAP는 백색의 고체를 생성물로 얻었다. 최적화된 반응 조건(AA:3-MCPD의 몰 비=1:0.8, 온도: 40 °C, 시간: 2 hr)에서 페이스트 생성물인 1,2-DAP의 수율은 약 51%이고 순도는 85%였다. 1,2-DDAP의 수율은 56%이고, 순도는 98%였다. 1,2-TDAP와 1,2-HDAP의 수율은 58%이고 순도는 99%를 갖는 것으로 나타났다. Figure 3은 합성한 고체 생성물의 ¹H-NMR 결과를 나타낸 것으로서 (a)는 1,2-DAP, (b)는 1,2-DDAP, (c)는 1,2-TDAP 그리고 (d)는 1,2-HDAP의 구조를 각각 확인할 수 있었다.

3.2. 용해성

합성한 1,2-DAP, 1,2-DDAP, 1,2-TDAP 및 1,2-HDAP의 함량을 각각 변화시키고 HCl를 가하여 pH 7로 중화시키며 수용액을 제조하고자 하였다. 이때 1,2-DAP, 1,2-DDAP, 1,2-TDAP 및 1,2-HDAP 각각의 용해도를 Figure 4에 나타내었다. 1,2-DAP는 합성물 그대로 직접 HCl을 가하여 pH 7의 중성이 되면 완전 투명한 액상이 되었으며 물에 100% 용해되었다. 백색의 고체인 1,2-DDAP는 농도를 높여가며 HCl로 중화시키며 수용액을 만든 결과, 50% 농도까지는 점도가 완만히 증가하였다. 그러나 50% 농도 이상으로 증가했을 때, 5,000 cps의 매우 높은 점도 값을 나타냈으며 불투명한 겔 성상이 관찰되었다.

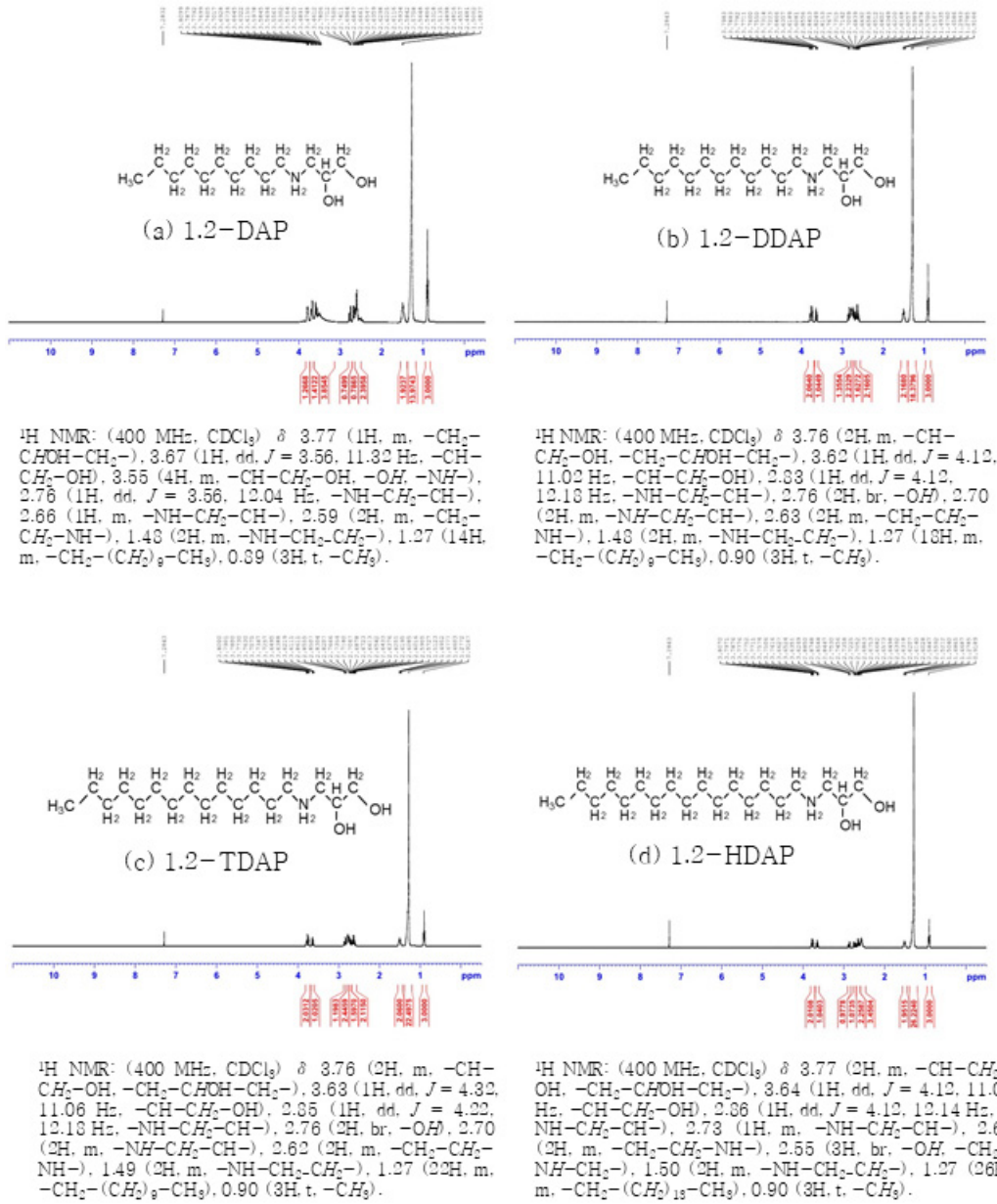


Figure 3. ¹H-NMR spectra of (a) 1,2-DAP, (b) 1,2-DDAP, (c) 1,2-TDAP and (d) 1,2-HDAP products.

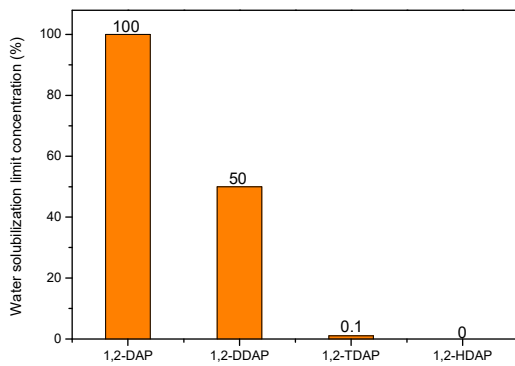


Figure 4. Water solubilization limit concentration of 1,2-DAP, 1,2-DDAP, 1,2-TDAP and 1,2-HDAP.

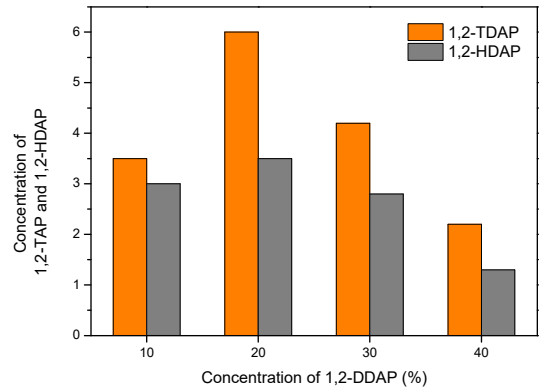


Figure 5. Solubilization limit concentration of 1,2-TDAP and 1,2-HDAP in aqueous solution containing 1,2-DDAP.

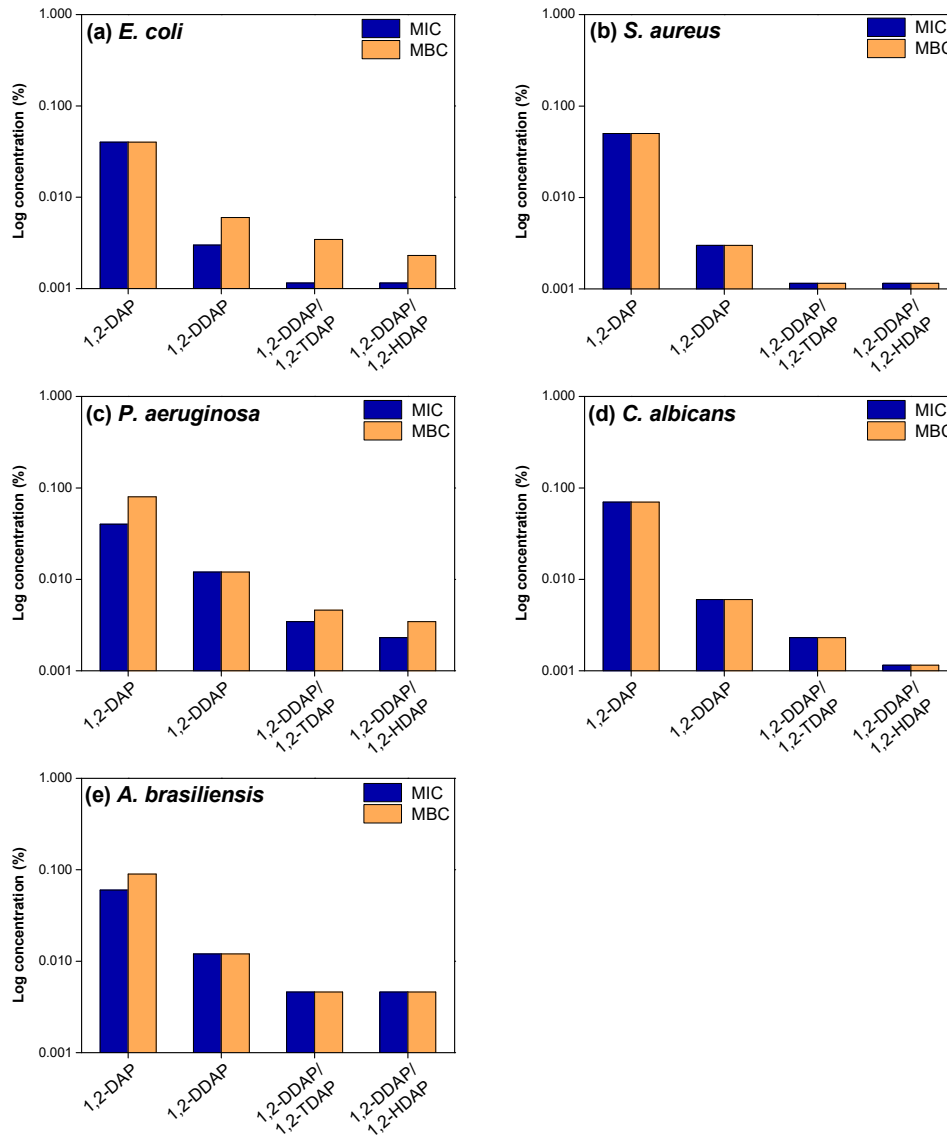


Figure 6. MIC(%) and MBC(%) values of single preservatives against (a) *E. coli*, (b) *S. aureus*, (c) *P. aeruginosa*, (d) *C. albicans*, and (e) *A. brasiliensis*.

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[22]. 1,2-TDAP는 0.1% 이상에서 분리 및 침전물 생성으로 더 이상 용해성이 증가되지 않았고, 1,2-HDAP는 물에 용해되지 않았다.

Figure 5는 25 °C에서 20%의 1,2-DDAP 수용액 중에 1,2-TDAP, 1,2-HDAP의 가용화 한계 농도를 측정된 결과를 나타낸 것이다. 여기서 가용화 한계 농도는 1,2-TDAP 및 1,2-HDAP을 첨가했을 때 상이 분리 또는 현탁 상태로 되지 않고 안정적으로 유지되는 최대 가용화 양을 의미한다. 1,2-TDAP과 1,2-HDAP의 가용화 한계 농도는 20%의 1,2-DDAP에서 각각 6%와 3.5%의 최대값을 나타낸 후 감소하는 것으로 나타났다. 측정된 가용화 한계농도 이하에서는 모두 투명한 성상을 나타냈으며, 상온에서 3개월 이상 경과하여도 혼탁, 침전 및 분리가 없이 안정한 성상을 유지하였다[23].

3.4. 항균 효과

1,2-DAP, 1,2-DDAP의 단독사용과 1,2-DDAP와 1,2-TDAP 혼합물(1,2-DDAP/1,2-TDAP), 1,2-DDAP와 1,2-HDAP 혼합물(1,2-DDAP/1,2-HDAP)을 사용하였을 때 *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, 및 *A. brasiliensis*의 5가지 균주에 대한 MIC와 MBC를 평가한 결과를 Figure 6에 나타내었다. 여기서 MIC와 MBC로 평가된 농도 이상에서는 균 성장이 효과적으로 억제된다는 것을 의미한다.

Figure 6에 의하면, *E. coli*에 대한 MIC의 경우 1,2-DAP는 0.04%, 1,2-DDAP는 0.003%, 1,2-DDAP/1,2-TDAP와 1,2-DDAP/1,2-HDAP는 0.00115% 이었고, MBC는 1,2-DAP 0.04%, 1,2-DDAP는 0.006%, 1,2-DDAP/1,2-TDAP는 0.00345%, 1,2-DDAP/1,2-HDAP는 0.0023%로 나타났다. *S. aureus*에 대한 MIC의 경우 1,2-DAP는 0.05%, 1,2-DDAP는 0.003%, 1,2-DDAP/1,2-TDAP과 1,2-DDAP/1,2-HDAP는 0.00115% 이었고, MBC는 1,2-DAP 0.05%, 1,2-DDAP 0.003%, 1,2-DDAP/1,2-TDAP과 1,2-DDAP/1,2-HDAP는 0.00115%에서 균 성장이 효과적

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

Sample	Concentration (%)	<i>E. coli</i>					<i>S. aureus</i>					<i>P. aeruginosa</i>					<i>C. albicans</i>					<i>A. brasiliensis</i>				
		Time (days)																								
		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-DAP	0.2	+++	+++	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+++	+++	++	-
	0.4	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+++	+++	+	-	-
	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-
1,2-DDAP	0.05	+++	+++	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+	-	-	-	+++	+++	++	+	-
	0.07	+++	+++	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+++	++	+	-
	0.09	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+++	+	-	-
1,2-DDAP /1,2-TDAP	0.005	+++	+++	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	+	-	-	-	+++	+++	+++	++	-
	0.010	+++	+++	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+++	+	-	-
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+	-	-	-
1,2-DDAP /1,2-HDAP	0.005	+++	+++	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-	+++	+++	+	-	-
	0.010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-
	0.015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-	++	+	-	-	-

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

으로 억제되었다. *P. aeruginosa*에 대한 MIC는 1,2-DAP는 0.04%, 1,2-DDAP는 0.012%, 1,2-DDAP/1,2-TDAP는 0.00345%, 1,2-DDAP/1,2-HDAP는 0.0023%이었고, MBC는 1,2-DAP는 0.08%, 1,2-DDAP는 0.012%, 1,2-DDAP/1,2-TDAP는 0.0046%, 1,2-DDAP/1,2-HDAP는 0.00345%에서 균 성장이 효과적으로 억제되었다. *C. albicans*의 MIC와 MBC는 동일한 농도로 1,2-DAP는 0.07%, 1,2-DDAP는 0.006%, 1,2-DDAP/1,2-TDAP는 0.0023%, 1,2-DDAP/1,2-HDAP는 0.00115%이었다. *A. brasiliensis*의 MIC는 1,2-DAP는 0.06%, MBC는 0.09%이었고, MIC와 MBC가 동일한 농도인 1,2-DDAP는 0.012%, 1,2-DDAP/1,2-TDAP는 0.0046%, 1,2-DDAP/1,2-HDAP는 0.0046%에서 균 성장이 효과적으로 억제되었다. Okukawa 등[24]은 1,2-알칸디올계 화합물의 항균효과에서 알킬기가 길수록 항균력이 좋아진다는 것을 보고하고 있다. 이와 유사하게 친수기가 결합된 구조인 4종류의 1,2-AAP의 경우에도 알킬기가 길수록 항균력이 좋아지는 유사한 경향을 확인할 수 있었다.

또한, 친수기가 있지만 알킬기가 길어 물용해성이 개선되지 않은 1,2-TDAP, 1,2-HDAP를 1,2-DDAP에 혼합시켜 항균력을 확인한 결과, 1,2-DDAP 단독 사용 대비 혼합 사용하면 약 2~5배 낮은 농도에서 MIC, MBC가 나타남으로, 알킬기가 긴 1,2-AAP를 혼합 사용하면 항균효과가 더 좋아짐을 확인하였다.

3.5. 화장품에서의 보존 효과

1,2-DAP, 1,2-DDAP 단독 및 1,2-DDAP/1,2-TDAP, 1,2-DDAP/1,2-HDAP가 화장품 보존제로 이용될 수 있는가를 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 10⁵⁻⁶ cfu/mL의 균을 TNTC (too numerous to count)로 접종하여 시작하였으며 28일차까지 약 일주일 간격으로 균의 감소 효과를 확인하였으며, 그 결과를 Table 3에 나타내었다.

보존력 평가는 초기 접종 시 10⁵⁻⁶ cfu/ml의 균을 TNTC로 시작하였고, 28일차까지 약 일주일 간격으로 균의 감소효과를 확인한 결과, 각 농도에서 균의 감소하는 속도는 다르지만, 3종의 세균과 효모에서는 1,2-DAP 0.2%, 0.4%, 0.6%, 1,2-DDAP 0.05%, 0.07%, 0.09%에서 14일차에 모두 균이 검출되지 않았다. 그러나 1,2-DAP 0.2%, 1,2-DDAP

는 0.05%, 0.07%의 농도에서 *A. brasiliensis*의 감소효과가 다소 떨어져 28일차가 되어서야 균이 검출되지 않았다.

또한 1,2-DDAP 20%에 1,2-TDAP와 1,2-HDAP 3%를 각각 가용화시킨 혼합시료는 0.005%, 0.01%, 0.015%의 낮은 농도에서도 3종의 세균과 효모에서 14일차에 균이 검출되지 않았고, *A. brasiliensis*는 1,2-DDAP 단독 사용에서와 마찬가지로 1,2-DDAP/1,2-TDAP의 혼합물은 21일차에서 검출되지 않았고, 이에 대비 1,2-DDAP/1,2-HDAP는 상대적으로 보존력이 다소 양호하였다.

로션에서의 보존력은 0.015~0.2%의 낮은 농도에서도 효과가 좋았으나, 기존 1,2-알칸디올의 항균효과 연구[20]로부터 얻어진 세균, 효모, 곰팡이에서의 항균력과 비교했을 때 아민기를 함유하는 1,2-AAP의 경우에는 세균 대비 곰팡이의 항균효과가 다소 감소하는 현상을 나타내었다.

4. 결 론

본 연구에서는 알킬 사슬의 탄소 수가 10개, 12개, 14개 및 16개이고, 1,2-알칸디올 구조에 친수성 증가를 위하여 아민기를 결합시킨 4종의 1,2-AAP를 설계하고 합성을 진행하였다. 합성된 물질들은 물에 대한 용해성 및 MIC와 MBC를 통하여 항균력을 확인하였다. 더 나아가 화장품 제형에서의 보존 효과를 평가하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 알킬 사슬의 탄소 수가 각각 10개, 12개, 14개와 16개인 1,2-DAP, 1,2-DDAP, 1,2-TDAP와 1,2-HDAP를 51~58%의 수율과 85~99%의 순도로 성공적으로 합성하였다. 1,2-DAP는 백색의 paste 상으로 얻어졌으며, 나머지 3종은 백색의 고체상으로 얻었다. HCl로 아민염화시켜 용해성을 확인한 결과, 1,2-DAP와 1,2-DDAP는 수용액상으로 쉽게 제조할 수 있었다. 그러나 1,2-TDAP와 1,2-HDAP는 물에 거의 용해하지 않았는데, 이를 1,2-DDAP와 혼합하여 3~6%까지 가용화 시킬 수 있었다.
2. 합성물의 MIC, MBC를 실험한 결과, 알킬 사슬이 길어질수록 적은 농도에서도 항균효과가 우수하였으며, 1,2-DDAP로 1,2-TDAP 및 1,2-HDAP를 가용화시킨 혼합물도 낮은 농도에서 항균력의 상승효과를 확인하였다.

3. 화장품에서의 보존력은 1,2-DAP는 0.2%, 1,2-DDAP 0.05% 그리고 1,2-DDAP와 1,2-TDAP 및 1,2-HDAP 혼합물에서 0.005%에서 보존효과를 보였으며, 이는 기존의 1,2-알칸디올 대비 최대 40배 낮은 농도에서도 매우 향상된 보존 효과를 나타내었다.

References

- M. S. Ryu, *Effect of Antiseptics for Prevention of Microbial Contamination in Cosmetics*, Master Dissertation, Sungkyunkwan University, Seoul, Korea (1990).
- 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).
- 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).
- 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).
- J. K. Poudrier, Final Report on the Safety Assessment of Phenoxyethanol, *J. Am. Coll. Toxicol.*, **9**, 259-277 (1990).
- 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).
- 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).
- B. Croshaw, Preservatives for cosmetics and toiletries, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **28**, 3-16 (1977).
- A. Kunicka-Styczyńska, M. Sikora, and D. Kalemba, Antimicrobial activity of lavender, tea tree and lemon oils in cosmetic preservative systems, *J. Appl. Microbiol.*, **107**, 1903-1911 (2009).
- 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).
- M. Sigg and R. Daniels, Investigations on alkanediols as alternative preservatives in a nonionic hydrophilic cream, *Pharmaceutics*, **12**, 1117 (2020).
- H. Mekata, The viewpoint of formulation design for preservative-free and paraben-free cosmetics, *J. Soc. Cosmet. Chem. Jpn.*, **51**, 2-11 (2017).
- 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).
- 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).
- 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).
- I. K. Yoo, J. I. Kim, and Y. K. Kang, Conformational preferences and antimicrobial activities of alkanediols, *Comput. Theor. Chem.*, **1064**, 15-24 (2015).
- 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).
- 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).
- J. I. Kim, *Study on the Challenge Test and Safety Assessments of 1,2-Alkanediols in Cosmetics*, PhD Dissertation, Hannam University, Daejeon, Korea (2016).
- K. O. Cha, S. W. Kwak, K. I. Jeong, and Y. H. Kim, Synthesis of 1,2-dodecylaminopropanediol and its mixing effect with 1,2-alkanediols as preservatives, *Appl. Chem. Eng.*, **33**, 179-187 (2022).
- W. Siegert, Comparison of microbial challenge testing methods for cosmetics, *Househ. Pers. Care Today*, **8**, 32-39 (2013).
- F. Schambil and M. J. Schwuger, Interfacial and colloidal properties. In: J. Falbe (ed.). *Surfactants in Consumer Products*, 170-177, Springer, Berlin, Germany (1987).
- 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).
- 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; kocha777@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