

항균성 Poly(vinyl alcohol) 치환체의 합성 및 특성

정 대 원

수원대학교 고분자공학과

(1996년 11월 15일 접수)

Synthesis and Antifungal Activities of Poly(vinyl alcohol) Derivatives

Dae-won Chung

Department of Polymer Engineering, The University of Suwon, Suwon 440-600, Korea

(Received November 15, 1996)

요약: 항균성 물질인 methyl 2-benzimidazolecarbamate (일반명 carbendazim, CBZ)를 aluminium isopropoxide 존재 하에서 85 °C, DMSO용매 중에서 poly(vinyl alcohol) (PVA)과 반응시켜 PVA의 hydroxyl기의 일부에 CBZ가 결합한 항균성 고분자 물질 (PVA-CBZ)을 합성하였다. PVA-CBZ의 구조는 FT-IR 및 ¹H-NMR 스펙트럼으로, 미반응 CBZ의 존재여부는 TLC 및 ¹H-NMR 스펙트럼으로 확인하였다. *Aspergillus niger*를 대상으로 하여 halo zone test 방법에 의하여 항균성을 측정한 결과, PVA-CBZ는 매우 우수한 항균력을 나타내었다.

ABSTRACT: An organic fungicide, methyl 2-benzimidazolecarbamate (CBZ) was reacted with poly(vinyl alcohol) (PVA) at 85 °C in DMSO in the presence of aluminium isopropoxide. From the FT-IR and ¹H-NMR spectra of the product (PVA-CBZ), it was found that CBZ was grafted to the PVA through carbamate bonding. The absence of unreacted CBZ in PVA-CBZ was confirmed by TLC and ¹H-NMR analysis after a careful work-up. The antifungal activities of PVA-CBZ against *Aspergillus niger* was demonstrated by halo zone test.

Keywords: poly(vinyl alcohol), methyl 2-benzimidazolecarbamate, antifungal polymers.

서 론

최근 환경문제에 대한 높은 관심과 생활양식의 고급화에 따라 식품보관용 용기, 칫솔, 문구류, 세탁기의 세탁조, 정수기의 필터 등과 같은 일상 생활용품으로 사용되어지는 고분자 소재에 항균성을 부여한 제품들의 수요가 날로 높아지고 있다.¹ 이와 같은 항균성 고분자의 가장 일반적인 형태는 zeolite를 금속 이온으로 처리한 무기계 항균제를 고분자 소재에 첨가하는 것이다. 그러나 무기항균제는 비교적 고가이며, 또한 미량의 항균제가 사용 중에 고분자 소재로부터 용출되어 항균제의 독성이 문제점으로 부각되기도 한다.² 반면에, 유기계 항균제를 첨가하는 경우에는 고분자와의 상용성이 낮은 유기항균제가 용출되

어, 고분자 소재의 항균력이 사용 중에 급격히 저하되는 치명적인 결점이 있다. 따라서, 항균력을 장시간 유지할 수 있는 방법의 하나로서 고분자화된 항균제의 개발이 최근 주목을 받고 있다.

Pittman은 pentachlorophenyl acrylate와 아크릴계통의 단량체를 공중합시킨 고분자가 *Pseudomonas* sp.에 대하여 우수한 항균력을 나타낸다고 보고하였다.³ 또한 Cho 등은 항균성 물질로 알려져 있는 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether를 acrylate화하여, 2'-히드록시에틸메타크릴레이트⁴ 또는 메틸메타크릴레이트와⁵ 공중합하였다. 생성된 공중합체의 항박테리아성은 매우 우수한 것으로 나타났다. 기본적으로, 항균성 고분자의 합성 방법은 (1) 기존의 항균제에 중합가능한 관능기를 도입하여 중합하는 방

법, (2) 상호 반응 가능한 관능기를 갖는 기존의 고분자와 항균제를 화학적으로 결합시키는 방법 등이 있다. 그러나, 상기 예에서 나타난 바와 같이 대부분의 항균성 고분자는 (1)의 방법에 의해서 합성된 것이며, (2)의 방법에 의하여 합성된 항균성 고분자의 예는 아직까지 없었다.

고분자에 첨가되어 사용되는 유기계 항균제로서, 독성이 낮은 ($LD_{50}=6400$ mg/kg for rat)⁶ imidazole 계통의 항균제인 methyl 2-benzimidazolecarbamate (일반명 carbendazim, CBZ)가 최근 주목을 받고 있다. CBZ는 1960년대에 살충제의 일종으로 알려지기 시작하였으나,^{7,8} 일상생활 주변에 존재하는 곰팡이의 성장억제에도 탁월한 효과가 있다는 사실이 밝혀지면서 도료, 접착제 등의 용도에도 널리 사용되고 있다.¹

본 논문에서는 CBZ를 고분자에 반응시킨 후, 그의 항균성을 조사하는 것을 목적으로 한다. 고분자로서는 CBZ와 반응 가능한 hydroxyl기를 포함하는 poly(vinyl alcohol) (PVA)을 선택하여, PVA의 hydroxyl기와 CBZ의 carbamate기 사이의 에스터 교환 반응에 의해서 항균성을 지닌 PVA 유도체 (PVA-CBZ)를 합성한 후, FT-IR, ¹H-NMR 등에 의해 구조를 확인하였다. 또한, 토양에 다량 분포하며, 식품 및 섬유제품 등에서도 발생하는 *Aspergillus niger* (*A. niger*)를 대상으로 하여, halo zone test에 의해 PVA-CBZ의 항균성을 측정하였다.

실 험

시 약. CBZ (Aldrich, 98%)는 시약용을 톨루엔으로부터 재결정하여 사용하였다. Aluminium isopropoxide (Aldrich, 99.99+%)는 테시케이터 안에서 12시간 이상 진공건조 후 사용하였다. Dimethyl sulfoxide (DMSO)는 시약용을 진공증류하여 사용하였다. PVA (약리화학공업주식회사, 경화도 90%, 평균분자량=1500) 및 기타 시약은 시약용을 정제없이 사용하였다. 박막크로마토그래피 (TLC)는 fluorescent indicator가 흡착된 silica gel (Aldrich)을 사용하였다.

합성반응. 둥근 플라스크에 PVA 4.4 g (100 unit mmole), CBZ 1.9 g (10 mmole), aluminium isopropoxide 0.1 g (0.5 mmole) 및 DMSO 30 mL

를 첨가하고, 60 °C로 가열한 후, PVA가 완전히 용해될 때까지 DMSO를 첨가하였다. 15 mL의 DMSO를 추가로 첨가하여 완전히 용해된 것을 확인하고, short path 증류장치를 부착한 후, 85 °C로 가열하며 교반을 계속하였다. 이때 리시버 플라스크에 증류되어 모이는 메탄올의 양을 확인하므로써 반응의 진전을 알 수 있었다. 12시간 경과 후, 반응물을 계속 교반하면서 온도를 40 °C로 낮추고 1 L의 아세톤에 침전시켰다. 실과 같은 형태의 생성물 (PVA-CBZ)을 여과한 후, 아세톤으로 씻어내고 50 °C에서 건조하였다. TLC에 의해 생성물 중의 미반응 CBZ의 존재여부를 확인하여, CBZ가 남아있을 경우에는 PVA-CBZ를 DMSO에 녹여 아세톤에 침전시키는 조작을 반복하였다. 두번의 침전 조작에 의해 미반응 CBZ가 완전히 제거된 PVA-CBZ 3.9 g을 얻었다.

생성물의 분석. FT-IR (Bomen B-100) 스펙트럼은 시료의 KBr pellet을 제조하여 측정하였다.

PVA-CBZ의 DMSO에 대한 용해도가 매우 낮으므로, ¹H-NMR (Bruker, DRX 500 MHz)의 측정은 DMSO-d₆를 용매로 하여 80 °C에서 수행하였다. 비교를 위하여 CBZ 및 PVA도 동일한 조건 하에서 ¹H-NMR을 측정하였다. 생성물의 TLC는 ethyl acetate/n-hexane (1/2)을 전개용매로 사용하여 silica gel의 glass plate상에서 측정하였으며, UV lamp 하에서 각 spot의 존재여부를 판단하였다.

항균성 측정. 합성한 PVA-CBZ의 항균성을 halo zone test 방법⁹에 의하여 측정하였다. 비교를 위하여 PVA에 대해서도 동일한 방법으로 항균성을 측정하였다. 멸균된 petri dish (직경 10 cm)에 potato dextrose의 agar 배지를 제조한 후, *A. niger* 포자액을 얇게 도포하였다. 한편, PVA 또는 PVA-CBZ의 0.5% DMSO용액 20 μ L를 지름 0.7 cm의 여과지에 떨어뜨린 후, 자외선 하의 clean bench에서 1시간 방치하였다. 이 여과지를 *A. niger*가 도포된 agar 배지의 중앙에 올려 놓고, 30 °C 항온배양기에서 72시간 배양한 후, 여과지 주위에서의 *A. niger* 성장여부를 육안으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

합성반응 및 분석. 일반적으로, 에스터 교환반응은

aluminium isopropoxide와 같은 촉매 하에서 가역적으로 일어나나, 부산물로 생성되는 메탄올을 제거함으로써 역반응을 억제할 수 있다. 따라서, PVA의 hydroxyl기와 CBZ의 carbamate기 사이의 에스터 교환반응에서도, 반응온도를 85 °C로 유지하며 생성되는 메탄올을 제거하였다. 또한, 증류된 메탄올의 양을 측정함으로써 개략적인 반응도를 판단할 수 있었다. 이와 같은 에스터 교환반응의 반응조건 및 결과를 Table 1에 나타내었다. Table 1의 각각의 반응에 있어서, 반응개시 후 7~10시간 사이에 메탄올의 증류가 멈추었으나, 반응시간을 동일하게 유지하기 위하여 총 반응시간은 12시간으로 고정하였다. No. 6의 경우에는 9시간 경과 후부터 더 이상의 메탄올은 증류되지 않았으나, 반응시간 변화에 의한 영향을 알아보기 위해서 24시간 반응시켰다.

에스터 교환반응 후, 아세톤에 침전시켜 얻어진 생성물 (PVA-CBZ)의 TLC를 측정하면, PVA-CBZ는 plate상에서 전혀 움직이지 않고 original spot에 그대로 남아있으며 (즉, $R_f=0$), CBZ는 $R_f=0.65$ 에서 발광하므로, 생성물 중의 미반응 CBZ의 존재여부를 용이하게 판단할 수 있었다. 모든 반응에 있어서, 생성물을 hot DMSO에 용해시켜 아세톤에 침전시키는 조작을 두번 반복하여 미반응 CBZ를 완전히 제거할 수 있었다.

CBZ, PVA 및 PVA-CBZ의 IR 스펙트라를 Fig. 1에 나타내었다. CBZ의 스펙트럼 (a)에는 carbamate기에 기인하는 피크가 1599 cm^{-1} 및 1637

Table 1. Reaction Conditions and Results

reaction number	conditions ^a			yield ^b	CBZ content ^c in PVA-CBZ
	[CBZ]/[PVA]	[AIP ^d]/[CBZ]	reaction time		
1	10 mol%	5 mol%	12 h	64%	8 mol%
2	15 mol%	5 mol%	12 h	50%	12 mol%
3	20 mol%	5 mol%	12 h	43%	18 mol%
4	25 mol%	5 mol%	12 h	45%	21 mol%
5	30 mol%	5 mol%	12 h	43%	19 mol%
6	30 mol%	10 mol%	24 h	39%	18 mol%

^a Reaction temperature, 85 °C.

^b Weight of PVA-CBZ purified/(weight of PVA reacted + weight of CBZ reacted) $\times 100(\%)$.

^c γ values in Scheme 1, determined by $^1\text{H-NMR}$ in DMSO-d_6 at 80 °C.

^d Aluminium isopropoxide.

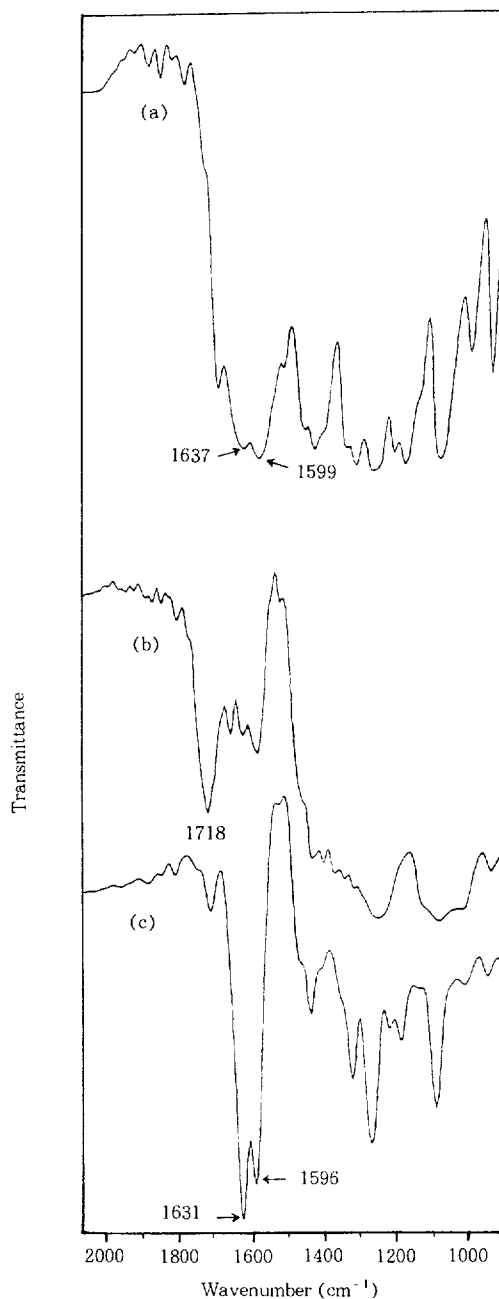


Figure 1. FT-IR spectra of (a) CBZ, (b) PVA, and (c) PVA-CBZ with CBZ content of 19 mol%.

cm^{-1} 에 나타나는 것을 알 수 있으며, 경화도가 90%인 PVA의 스펙트럼 (b)에서는 10% 존재하는

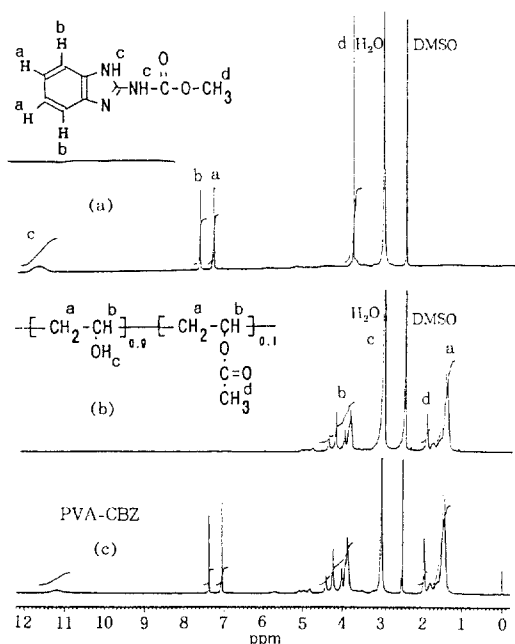
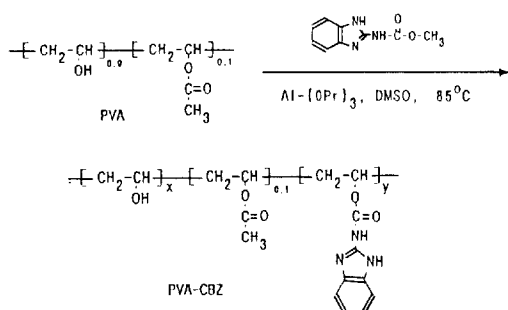


Figure 2. ^1H -NMR spectra of (a) CBZ, (b) PVA, and (c) PVA-CBZ with CBZ content of 19 mol%.



Scheme 1

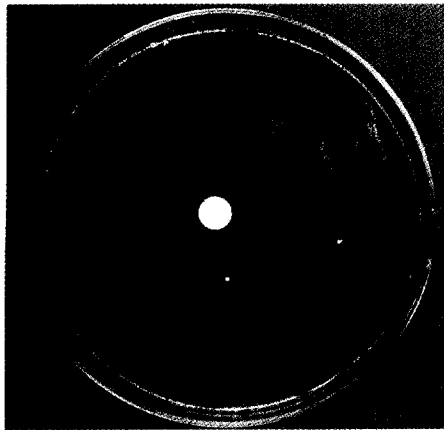
vinyl acetate의 에스터기에 기인하는 피이크가 1718 cm^{-1} 에 나타나는 것 이외에는 특징적인 피이크는 존재하지 않는다. 반면에, PVA-CBZ의 스펙트럼 (c)에서는 CBZ의 IR 스펙트럼과 유사하게 1596 cm^{-1} 및 1631 cm^{-1} 에 강한 흡수대가 나타나므로, PVA-CBZ는 CBZ가 PVA의 hydroxyl기에 carbamate 결합에 의해서 도입된 것을 시사하고 있다. 더욱 확실한 구조해석은 ^1H -NMR에 의해서 수행하였다.

CBZ, PVA 및 PVA-CBZ의 ^1H -NMR 스펙트라

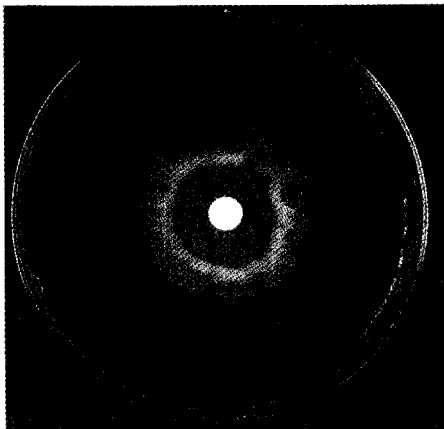
를 Fig. 2에 나타내었다. 먼저, PVA (b) 및 PVA-CBZ (c)의 스펙트럼을 비교하여 보면, PVA-CBZ의 스펙트럼에서 7., 7.4 및 11.2 ppm에 새로운 피이크가 생긴 것 이외에는 동일한 것을 알 수 있다. CBZ의 스펙트럼 (a)에서 알 수 있듯이, 7.1 및 7.4 ppm의 피이크는 CBZ의 벤즈이미다졸기의 벤젠환의 proton이며, 11.2 ppm의 피이크는 CBZ의 이미다졸기 및 카르바메이트기의 -NH에 기인하는 proton으로 목적으로 하는 물질이 생성된 것이 확인되었다. 또한, CBZ 중의 methyl기의 proton에 기인하는 피이크는 3.7 ppm에 나타나나, PVA-CBZ의 ^1H -NMR 스펙트럼에서는 나타나지 않은 사실로부터 PVA-CBZ 중에는 미반응 CBZ가 존재하지 않는 것이 확인되었다. 미반응 CBZ의 존재여부는 앞에서 기술한 바와 같이, TLC로부터도 간단하게 확인할 수 있었다. 반응에 사용한 PVA는 경화도가 약 90%로서 vinyl acetate기를 약 10% 포함하고 있어 ^1H -NMR이 복잡하게 나오나, PVA의 methylene backbone proton이 1.5 ppm에 나타나는 것을 알 수 있다. 따라서, PVA-CBZ의 ^1H -NMR 중의 7.1 ppm과 1.5 ppm의 피이크의 면적비에서 PVA-CBZ 중의 CBZ 함량 mol% (Scheme 1에서 y값)를 구했다.

이와 같이 결정한 CBZ 함량 mol%를 Table 1에 나타냈다. Table 1에서, 반응물 중의 PVA에 대한 CBZ의 mol%와 PVA-CBZ 중의 CBZ 함량 mol%를 비교하여 보면, 25 mol% 이하의 CBZ를 반응시켰을 경우 (reaction number 1~4)에는 대부분의 CBZ가 반응하는 것을 알 수 있다. 그러나, 30 mol%의 CBZ를 반응시켰을 경우 (reaction number 5)의 함량%는 반응시킨 CBZ양보다 현저히 낮으며, reaction number 6과 같이 반응시간을 연장하고 촉매의 사용량을 늘려도 18 mol%만 반응하였다. 이와 같은 결과로부터, PVA의 hydroxyl기의 약 20 mol%에 한 CBZ의 carbamate기가 결합할 수 있는 것으로 보이며, 이는 bulky한 CBZ가 PVA의 측쇄에 다량으로 도입되기 어렵기 때문으로 판단된다.

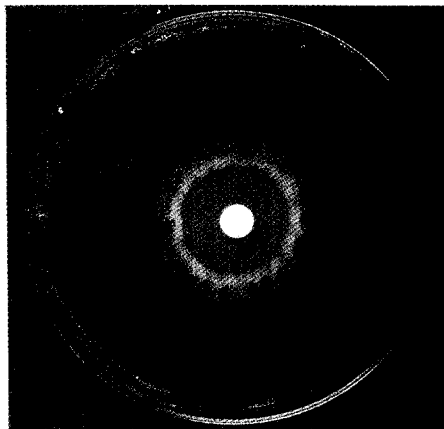
PVA-CBZ의 용해도. PVA-CBZ의 용해도는 PVA와는 큰 차이가 있어, 메탄올, 에탄올, 아세톤, THF, 톨루엔 및 디클로로메탄 등의 용매에 불용이나, 80 $^{\circ}\text{C}$ 의 DMSO에는 약 5 wt% 까지 용해되었다. 또한 0.5 wt%의 DMSO 용액은 실온에서 용해되지



(a)



(b)



(c)

Figure 3. Halo zone test against *A. niger*; (a) PVA, (b) PVA-CBZ with CBZ content of 8 mol%, and (c) PVA-CBZ with CBZ content of 19 mol%.

는 않으나, 일단 가열하여 용해시킨 후 실온으로 유지하여도 침전이 형성되지는 않았다. 따라서, $^1\text{H-NMR}$ 의 측정은 2 wt%의 DMSO-d_6 용액을 사용하여 80°C 에서 측정하였으며, 항균성 측정을 위해서는 0.5 wt%의 DMSO 용액을 가열하여 제조한 후, 실온에서 사용하였다.

PVA-CBZ의 항균성. 일반적으로, CBZ의 methyl ester기를 다른 종류의 alkyl ester로 교환하여도 항균력은 유지되는 것으로 알려져 있다.¹⁰ 따라서, 합성된 PVA-CBZ에서도 항균력이 유지될 것으로 추측되나, halo zone test에 의하여 정확한 항균력을 판단하였다.

Fig. 3에 PVA (a), CBZ 함량%가 8 mol%인 PVA-CBZ (b) 및 19 mol%인 PVA-CBZ (c)의 halo zone test 결과를 나타내었다. PVA의 DMSO 용액을 떨어뜨린 여과지의 경우에는, agar 배지상의 모든 표면에서 균일하게 *A. niger*가 성장한 것이 나타났다. 그러나, PVA-CBZ의 경우에는, 여과지 주위로 곰팡이가 성장하지 못하여 형성된 반경 1 cm 정도의 투명한 영역이 나타나, PVA-CBZ가 높은 항균성을 지니고 있음을 알 수 있다. Fig. 3의 (b)와 (c)를 비교하여 보면, CBZ의 치환량에 무관하게 여과지 주위의 투명한 영역의 직경은 거의 일정하게 나타났다. 또한, CBZ 함량%가 12, 18, 21 mol%인 PVA-CBZ의 경우에도 유사한 결과가 얻어졌다.

일반적으로, 저분자 항균제의 경우에는 halo zone test에 의해 생기는 투명한 영역의 직경은 항균제 농도의 log값에 비례하는 것으로 알려져 있다. 그러나, 고분자 물질인 PVA-CBZ의 경우에는 agar 배지상에서 극히 제한적으로 확산되며, 확산도는 CBZ의 함량%에 무관한 것으로 사료된다. 따라서, halo zone test에 의해서 얻어지는 투명한 영역의 넓이는 PVA-CBZ 중의 CBZ 함량%에 의존하지 않는 것으로 판단된다.

결 론

항균제로서 널리 사용되고 있는 methyl 2-benzimidazolecarbamate (CBZ)를 에스터 교환반응에 의해서 poly(vinyl alcohol) (PVA)의 측쇄에 도입한 새로운 형태의 고분자 항균제를 합성하였다. 본

합성방법에 의해 CBZ의 함량이 20 mol% 정도인 PVA-CBZ는 용이하게 합성되었다. PVA-CBZ의 구조는 FT-IR 및 $^1\text{H-NMR}$ 에 의해서 확인하였으며, 미반응 CBZ가 남아있지 않은 것도 확인되었다. PVA-CBZ의 용해도는 PVA에 비해서 많은 차이가 있었으며, 알코올 계통의 용매, 아세톤 및 THF 등에 녹지 않았으나, 80 $^{\circ}\text{C}$ 의 DMSO에는 약 5 wt% 까지 용해되었다. PVA 및 합성한 PVA-CBZ의 항균력을 *A. niger*를 대상으로 하여 halo zone test를 통하여 측정한 결과, 8 mol% 이상의 CBZ를 함유하는 PVA-CBZ에는 곰팡이의 성장을 억제하는 효과가 있는 것이 확인되었다. PVA-CBZ는 기존의 고분자와 항균제를 사용하여, 한 단계 반응에 의해서 용이하게 합성할 수 있으며, 향후 항균용지 등의 분야에 응용될 수 있으리라 기대된다.

감사의 글: 항균력 측정에 큰 도움을 주신 (주)유평 대덕기술원의 방상구 박사님께 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Y. Inoue, "Bactericide and Fungicide for a Comfortable Environment", ch. 3, CMC, Tokyo, 1992.
2. Y. Inoue, *Polymer Digest*, **46**, 84 (1994).
3. C. U. Pittman, Jr., *J. Appl. Polym. Sci.*, **26**, 2403 (1981).
4. S. T. Oh, C. S. Ha, and W. J. Cho, *Polymer(Korea)*, **18**, 309 (1994).
5. S. T. Oh, C. S. Yoo, B. K. Min, C. S. Ha, and W. J. Cho, *Polymer(Korea)*, **18**, 276 (1994).
6. A. P. K. Reddy and K. Satyanarayana, *Pesticides*, **22**, 21 (1988).
7. G. P. Clemons and H. D. Sisler, *Phytopathology*, **59**, 705 (1969).
8. G. P. Clemons and H. D. Sisler, *Pestic. Biochem. Physiol.*, **1**, 32 (1971).
9. G. Lancini, F. Parenti, and G. G. Gallo, "Antibiotics Multidisciplinary Approach", ch. 2, Plenum Press, New York, 1995.
10. B. H. Lee, K. G. Kim, D-W. Chung, S. G. Bang, J. W. Chong, and J. S. Han, Korea Patent 94-21450.