

ORIGINAL ARTICLE

새로운 로다민 B 페노시아진 유도체의 합성과 형광 특성

손문수 · 장승현*

대구대학교 화학과

Synthesis and Fluorescent Properties of New Rhodamine B Containing Phenothiazine Moiety

Moon Su Son, Seung Hyun Chang*

Department of Chemistry, Daegu University, Gyeongsan 712-714, Korea

Abstract

A colorimetric chemosensors Sn^{2+} have been designed and synthesized by three steps. The spirolactam ring-opening process of rhodamine B is one of the most useful mechanisms for controlling fluorescence properties. Herein, new fluorescent chemosensors 1 and 2 based on rhodamine B containing phenothiazine derivative were synthesized. They exhibit selective fluorescence enhancement behaviour in the presence of Sn^{2+} ion. Complexation between these compounds and the metal cations were confirmed through continuous variation method. It is observed that compounds 1, 2, and Sn^{2+} ion are complexed by 1:1 formation. Especially the proposed compounds 1 and 2 exhibit quick, simple and facile synthetic route.

Key words : Rhodamine B, Fluorescent, Chemosensor, Phenothiazine

1. 서론

화학센서 연구는 화학의 한 분야로 분석물질과 감응 물질과의 화학적 반응을 통해서 분석물질을 선택적으로 감지하고 분석하는 방법이다. 현재 세계적으로 환경과 밀접한 중금속 및 생체 내 주요물질과 이온들에 대한 새로운 센서의 설계 및 연구가 꾸준히 되어 오고 있다 (Culzoni 등, 2013; Kim와 Quang 등, 2007; Liu 등, 2013; Valeur와 Leray 등, 2000). 가장 보편적으로 이용되고 있는 화학센서는 분석하고자 하는 이온 혹은 물질이 센서의 인식부분과 결합을 하게 되면 신호를 나타내는 부분에서 형광변화 혹은 색변화를 보여주고 분석하고자 하는 물질의 존재나 농도를 알아낼 수 있는 방법이다.

그러므로 효과적인 화학센서는 대상 분자를 얼마나 선택적으로 인지 할 수 있는지 대상 분자와의 상호작용을 민감하게 신호화 하는지에 따라서 결정되고 호스트와 게스트의 선택적인 착물 형성에 의해 물리적인 신호로 분석 대상물질을 감지 할 수 있어야 한다. 화학센서가 완성되기까지는 화학, 물리, 생명과학, 전기, 전자 그리고 최근에는 나노과학에 이르기까지 다양한 전문 지식이 필요하다. 분석하고자 하는 물질 혹은 에너지를 감지하는 방법에도 형광, 색 변화, 전기화학적 분석방법 등 다양한 기술들이 이용되고 있지만 특히 이러한 여러 분석 방법들 중에서도 형광 변화를 이용하는 방법은 10^{-9} M 농도에서도 신호를 관찰할 수 있는 뛰어난 감도와 다른 분석 방법들에 비해 비교적 측정 방법이 간단하다는 장점을 지니기

Received 24 March, 2015; Revised 13 May, 2015;

Accepted 18 May, 2015

*Corresponding author : Seung Hyun Chang, Department of Chemistry, Daegu University, Gyeongsan 712-714, Korea
Phone: +82-53-629-6435
E-mail: shchang@daegu.ac.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.

© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

때문에 널리 이용되고 있다(Bao 등, 2014; Bhalla 등, 2013; Breul 등, 2013; Weng 등, 2013).

Rhodamine은 다른 형광염료들과는 달리 높은 양자 수율과 긴 흡수, 방출 파장을 가지고 있으며 광안정성이 뛰어나서 레이저 염료로 사용되며 형광 현미경, 형광학, 유동 세포계측법, 생명공학과 화학센서 등 광범위하게 연구되고 있다(Sahana 등, 2013; Sivaraman 등, 2012; Wang 등, 2012; Zhang 등, 2013). 본 연구에서는 rhodamine B와 phenothiazine을 이용하여 합성한 화합물을 통해 다양한 금속양이온에 대한 선택성과 특성을 비교 검토하였다.

2. 실험

2.1. 실험방법

Phenothiazine, iodoethane, sodiumhydroxide, phosphorus(V) oxychloride, rhodamine B, ethylenediamine, 1,3-diaminopropane, 금속 시약들(AlCl_3 , KCl , CaCl_2 , FeCl_3 , CoCl_2 , NiCl_2 , CuCl_2 , ZnCl_2 , SnCl_2 , MgCl_2 , HgCl_2)과 용매들은 Aldrich, Junsei, Daejung, Duksan, Fluka사에서 구입하여 사용하였다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼은 Varian Mercury사의 300 MHz NMR Spectrometer로 측정하였으며, TMS를 내부 기준물질로 한 CDCl_3 를 용매로 사용하고 화학적 이동(δ)은 ppm 단위로 기록하였다(multiplicity: s=singlet, d=doublet, t=triplet, q=quartet, m=multiplet). 녹는점은 Laboratory devices사의 Mel-Temp II를 사용하였고, 적외선 스펙트럼은 Genesis II FT-IR Spectrometer를 사용하였다. 질량 스펙트럼은 Shimadzu사의 QP5050 GC-Mass Spectrometer와 Joel사의 JMS 700 low Resolution Mass Spectrometer를 이용하여 측정하였다. 흡수 스펙트럼은 Hewlett Packard사의 diode array Spectrophotometer (HP8523)를 사용하였으며, 얻어진 형광 스펙트럼은 Jasco사의 FP-6300 형광분광기를 사용하여 측정하였다.

2.2. 합성

2.2.1. 화합물 3의 합성

아르곤 기류에서 phenothiazine 1 g (5.0 mmol)과 sodiumhydroxide 0.4 g (10.0 mmol)을 dimethylsulfoxide 15 ml에 녹여 100 ml 2구 둥근 플라스크에 넣고 iodoethane 0.5 ml (6.0 mmol)을 첨가하여 60 °C로 4시간 동

안 환류 교반시킨다. 그 다음 methylene chloride와 증류수를 사용하여 추출을 3회 정도 반복하여 유기층을 분리한다. 이렇게 분리된 유기용액을 감압 하에서 회전증발기로 용매를 제거하고 실리카 겔이 충전된 컬럼 크로마토그래피로 2:1의 n-hexane과 methylene chloride 전개액을 이용하여 정제했다. 그 결과 흰색 고체를 얻었다. Yield 84.2 % ; mp: 101-103 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.15 (m, 4H) 6.88 (m, 4H) 3.92 (m, 2H) 1.42 (t, 3H); GC-MS : Calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NS}$ m/z (M) 227.32, Observed for m/z (M) 227.

2.2.2. 화합물 4의 합성

아르곤 기류에서 화합물 3 1.5 g (6.7 mmol)을 dimethylformamide 3 ml와 1,2-dichloroethane 20 ml에 녹여 100 ml 2구 둥근 플라스크에 넣고 얼음 배스(0 °C)에서 POCl_3 0.8 ml (8.7 mmol)를 첨가한다. 그리고 70 °C에서 24시간동안 환류 교반시킨다. 그 다음 methylene chloride와 증류수를 사용하여 추출을 3회 정도 반복하여 유기층을 분리한다. 이렇게 분리된 유기용액을 감압 하에서 회전증발기로 용매를 제거하고 실리카 겔이 충전된 컬럼 크로마토그래피로 3:1의 n-hexane과 methylene chloride 전개액을 이용하여 정제했다. 그 결과 노란색 고체를 얻었다. Yield 59.2 % ; mp: 94-96 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ ppm 9.78 (s, 1H) 7.62 (m, 2H) 7.14 (m, 2H) 6.92 (m, 3H) 3.98 (q, 2H) 1.46 (t, 3H); GC-MS : Calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NOS}$ m/z (M) 255.33, Observed for m/z (M) 255.

2.2.3. 화합물 5의 합성

아르곤 기류에서 rhodamine B 1 g (2.09 mmol)을 ethanol 30 ml에 녹여 100 ml 2구 둥근 플라스크에 넣고 ethylenediamine 9.8 ml (0.2 mol)를 첨가하여 78 °C로 36시간 동안 환류 교반시킨다. 그 다음 methylene chloride와 증류수를 사용하여 추출을 3회 정도 반복하여 유기층을 분리한다. 이렇게 분리된 유기용액을 감압 하에서 회전증발기로 용매를 제거하고 methylene chloride와 n-hexane으로 재결정한다. 그 결과 연한 분홍색 고체를 얻었다. Yield 79.1 % ; mp: 200-204 °C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.90 (m, 1H) 7.44 (m, 2H) 7.08 (m, 1H) 6.42 (m, 2H) 6.36 (d, 2H) 6.26 (m, 2H) 3.32 (q, 8H) 3.18 (t, 2H) 2.38 (t, 2H) 1.16 (t, 12H);

GC-MS : Calculated for $C_{30}H_{36}N_4O_2$ m/z (M) 484.63, Observed for m/z (M) 484.

2.2.4. 화합물 6의 합성

아르곤 기류에서 rhodamine B 1 g (2.1 mmol)을 ethanol 30 ml에 녹여 100 ml 2구 둥근 플라스크에 넣고 1,3-diaminopropane 0.7 ml (8.4 mmol)를 첨가하여 78 °C로 36시간 동안 환류 교반시킨다. 그 다음 methylene chloride와 증류수를 사용하여 추출을 3회 정도 반복하여 유기층을 분리한다. 이렇게 분리된 유기용액을 감압 하에서 회전증발기로 용매를 제거하고 methylene chloride와 n-hexane으로 재결정한다. 그 결과 연한 분홍색 고체를 얻었다. Yield 77.1 % ; mp: 175-180 °C, 1H -NMR(300 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 7.90 (m, 1H) 7.44 (m, 2H) 7.08 (m, 1H) 6.42 (m, 2H) 6.38 (d, 2H) 6.26 (m, 2H) 3.34 (q, 8H) 3.22 (t, 2H) 2.48 (t, 2H) 1.18 (m, 14H); GC-MS : Calculated for $C_{31}H_{38}N_4O_2$ m/z (M) 498.66, Observed for m/z (M) 498.

2.2.5. 화합물 1의 합성

아르곤 기류에서 화합물 4 0.03 g (0.12 mmol)과 화합물 5 0.085 g (0.18 mmol)을 ethanol 15 ml에 녹여 100 ml 2구 둥근 플라스크에 넣고 70 °C로 36시간 동안 환류 교반시킨다. 그 다음 methylene chloride와 증류수를 사용하여 추출을 3회 정도 반복하여 유기층을 분리한다. 이렇게 분리된 유기용액을 감압 하에서 회전증발기로 용매를 제거하고 chloroform과 n-hexane으로 재결정한다. 그 결과 노란색 고체를 얻었다. Yield : 44.7 % ;

mp: 158-162 °C, 1H -NMR (300 MHz $CDCl_3$) δ ppm 7.88 (m, 2H) 7.42 (m, 2H) 7.34 (m, 2H) 7.10 (m, 3H) 6.86 (m, 3H) 6.44 (m, 2H) 6.36 (d, 2H) 6.24 (m, 2H) 3.92(q, 2H) 3.40 (m, 4H) 3.32 (q, 8H) 1.40 (t, 3H) 1.14 (t, 12H); FAB-MS : Calculated for $C_{45}H_{47}N_5O_2S$ m/z (M) 721.95, Observed for m/z (M) 721.7.

2.2.6. 화합물 2의 합성

아르곤 기류에서 화합물 4 0.03 g (0.12 mmol)과 화합물 6 0.09 g (0.18 mmol)을 ethanol 15 ml에 녹여 100 ml 2구 둥근 플라스크에 넣고 70 °C로 36시간 동안 환류 교반시킨다. 그 다음 methylene chloride와 증류수를 사용하여 추출을 3회 정도 반복하여 유기층을 분리한다. 이렇게 분리된 유기용액을 감압 하에서 회전증발기로 용매를 제거하고 chloroform과 n-hexane으로 재결정한다. 그 결과 노란색 고체를 얻었다. Yield : 42.5 % ; mp: 138-144 °C, 1H -NMR (300 MHz $CDCl_3$) δ ppm 7.94 (s, 1H) 7.90 (m, 1H) 7.42 (m, 4H) 7.12 (m, 3H) 6.88 (m, 3H) 6.44 (m, 2H) 6.36 (d, 2H) 6.24 (m, 2H) 3.94 (q, 2H) 3.36-3.20 (m, 12H) 1.52 (m, 2H) 1.42 (t, 3H) 1.14 (t, 12H); FAB-MS : Calculated for $C_{46}H_{49}N_5O_2S$ m/z (M) 735.98, Observed for m/z (M) 735.7.

3. 결과 및 토의

3.1. 합성

화합물 1과 2의 1H -NMR 스펙트럼에서는 반응물이 가지고 있는 aldehyde 피크가 δ 9.78 ppm부근에서 사라

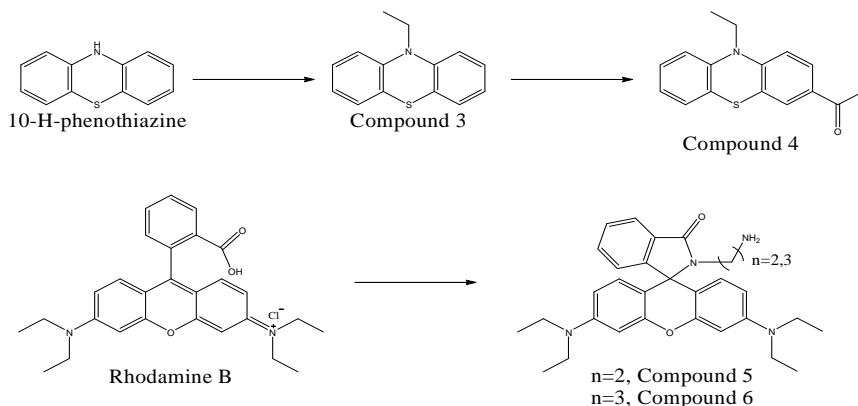


Fig. 1. Synthesis route of compounds 3, 4, 5, and 6.

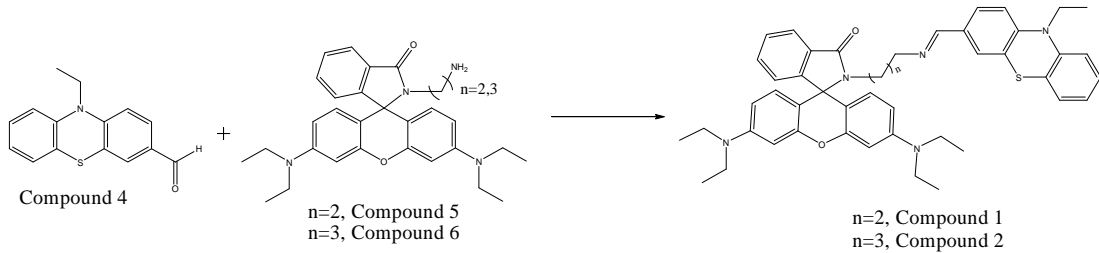


Fig. 2. Synthesis route of compounds 1 and 2.

지고 δ 7.88 ppm, 7.94 ppm에서 imine의 양성자 피크가 나타났다. 화합물 1의 경우는 주위의 양성자 피크의 영향으로 인해 중첩되어서 나타났고, 화합물 2의 경우에는 singlet으로 나타났다. Phenothiazine이 가지고 있는 양성자의 피크는 δ 7.22 ppm, 6.78 ppm 사이에서 주위의 환경에 따라서 multiplet과 δ 3.94 ppm에서 quartet

으로 δ 1.14 ppm에서 triplet으로 나타났다.

화합물의 FAB-MS 스펙트럼에서 분자량(M^+)에 해당하는 피크가 화합물 1에서는 $m/e=721.7$ 로 나타났다 (Fig. 3). 그리고 화합물 2에서는 $m/e=735.7$ 로 나타난 것을 확인하였다(Fig. 4).

물리적 특성을 알아보기 위해서 합성된 화합물 1과 2

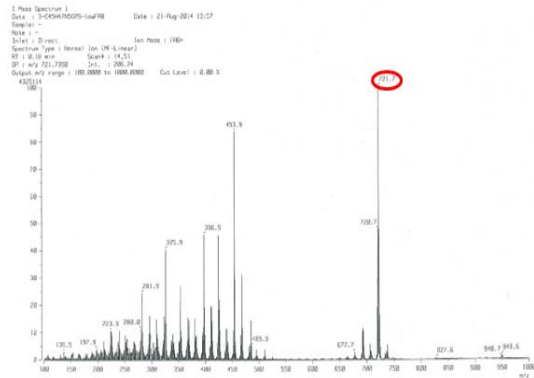


Fig. 3. FAB-MS spectrum of compound 1.

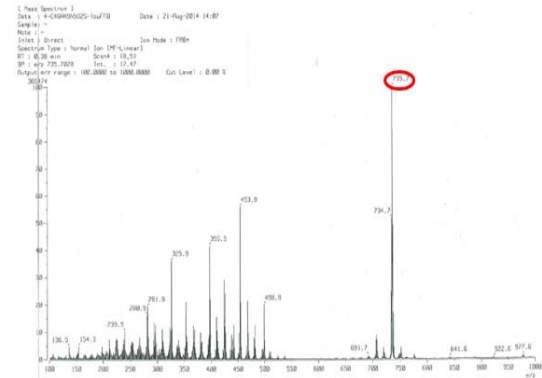


Fig. 4. FAB-MS spectrum of compound 2.

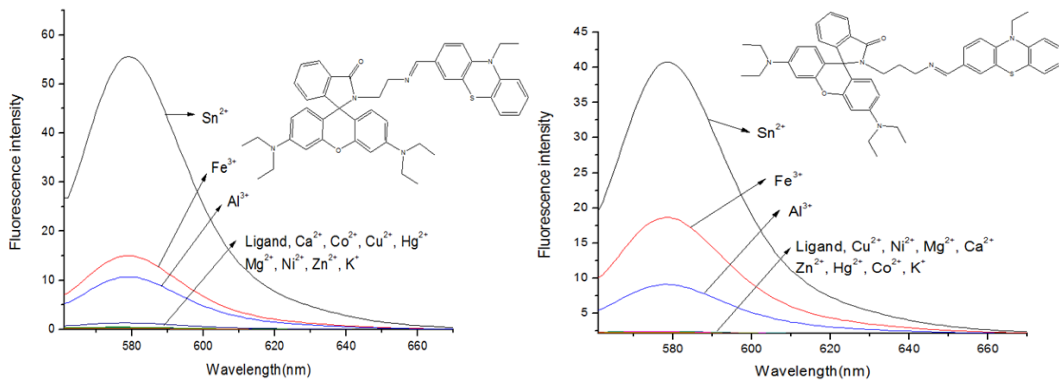


Fig. 5. Fluorescence emission spectra of compounds 1 and 2 in acetone/0.01 M Tris-HCl buffer(9:1, v/v, pH 7.2) upon the addition of various metal cation (excitation at 550 nm, excitation and emission slit:5).

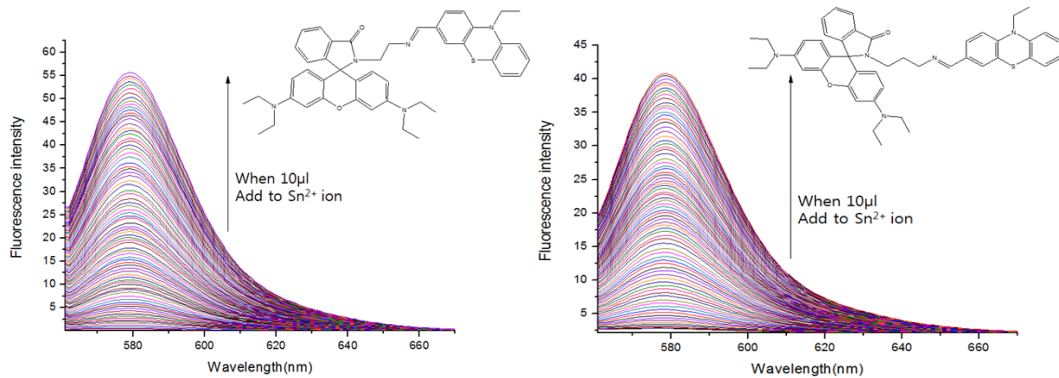


Fig. 6. The emission spectra of compounds 1 and 2 complexed with the addition of Sn^{2+} in Acetone/0.01 M Tris-HCl buffer(9:1, v/v, pH 7.2, excitation at 550 nm).

에 여러 가지 금속을 첨가하여 흡수 및 형광 스펙트럼을 몰 비법으로 확인하였으며, 화합물과 금속과의 배위율을 알아보기 위해서 연속변화법을 통해 확인하였다.

3.2. 물리적 특성

합성된 화합물을 일정한 농도에서 형광 스펙트럼을 측정한 결과 강한 형광을 나타냈다. 화합물은 최대흡수 파장에서 여기 시켜 형광 스펙트럼을 측정하지 않고, 550 nm에서 여기 시킨 결과 화합물 1에서는 575 nm (Fig. 5), 화합물 2에서는 574 nm에서 형광이 나타났다(Fig. 5).

합성된 화합물 1과 2에 다양한 금속을 정량적으로 첨가한 형광스펙트럼의 결과를 나타냈다(Fig. 5). 화합물 1과 2 모두 다양한 금속이온들 중에서 Sn^{2+} 를 정량적으로 첨가했을 때 형광의 세기가 증가하면서 가장 강한 선택성을 나타내는 결과를 얻었다(Fig. 6).

합성한 화합물 1과 2와 금속과의 배위율을 확인하기 위해 Job Plot을 나타내는 실험을 하였다. 화합물 1과 2는 550 nm에서 여기 시켜 최대형광세기가 579 nm에서 확인한 결과 $[\text{Sn}^{2+}]/([\text{Sn}^{2+}]+[\text{L}])$ 의 몰분율이 약 0.5, $[\text{Sn}^{2+}]/([\text{Sn}^{2+}]+[\text{L}])$ 의 몰분율이 약 0.5일 때 최대 형광세기값을 가지는 것으로 나타났다. 그러므로 화합물과 금속과의 배위율은 1:1로 된다는 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 7).

4. 결론

본 연구에서는 phenothiazine 유도체와 로다민 B 유도체의 합성을 통해서 새로운 화합물을 합성하였다. 로다민 B 유도체들과 합성한 화합물들은 금속양이온이 첨가되면서 로다민의 스피로라탐 고리형태는 원래 닫혀진 형태에서 선택성이 있는 금속을 첨가하게 되면 열린 형

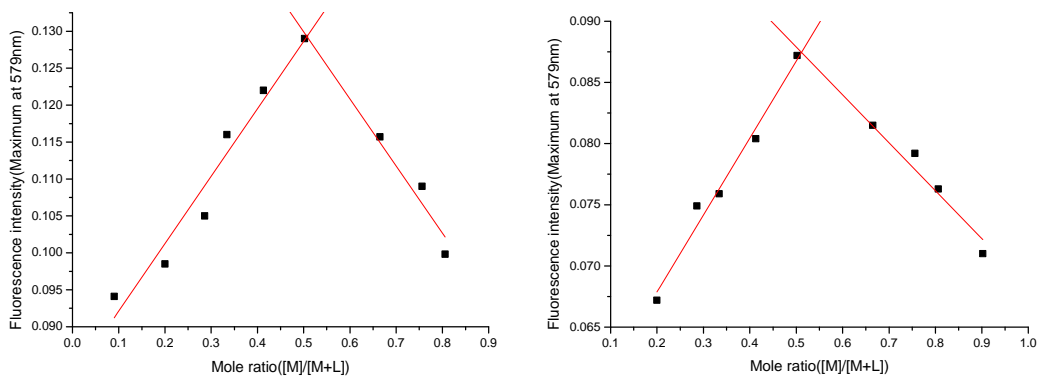


Fig. 7. Job's plot of the complex with the addition Sn^{2+} in compound 1 and compound 2.

태로 형광 강도가 증가하게 된다. 합성된 화합물 1과 2는 로다민 B와 phenothiazine 사이의 알케인의 길이가 짧을수록 Sn²⁺이온에 대한 선택 능력이 크게 나타난다는 것을 알 수 있었다. 이는 로다민 B의 구조에서 스피로락탐의 산소와 질소에 대한 비공유 전자들의 영향으로 인해 형광강도가 증가하게 나타난다는 것을 알 수 있었다. 화합물 1과 2는 연속변화법을 이용해 몰분율이 0.5일때 최대형광을 갖게됨으로 화합물과 금속간의 배위율은 1:1로 배위가 된다는 것을 확인하였다.

감사의 글

이 논문은 대구대학교 학술연구비 지원으로 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCE

- Bao, X., Shi, J., Nie, X., Zhou, B., Wang, X., Zhang, L., Liao, H., Pang, T., 2014, A new rhodamine B-based 'on-off' chemical sensor with high selectivity and sensitivity toward Fe³⁺ and its imaging in living cells, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22, 4826-4835.
- Bhalla, V., Sharma, N., Kumar, N., Kumar, M., 2013, Rhodamine based fluorescence turn-on chemosensor for nanomolar detection of Fe³⁺ ions, *Sensors and Actuators B.*, 178, 228-232.
- Breul, A. M., Hager, M. D., Schubert, U. S., 2013, Fluorescent monomers as building blocks for dye labeled polymers: synthesis and application in energy conversion, biolabeling and sensors, *Chem. Soc. Rev.*, 42, 5366-5407.
- Culzoni, M. J., Munoz de la Pena, A., Machuca, A., Goicoechea, H. C., 2013, Rhodamine and BODIPY chemodosimeters and chemosensors for the detection of Hg²⁺, based on fluorescence enhancement effects, *Anal. Methods*, 5, 30-49.
- Kim, J. S., Quang, D. T., 2007, Calixarene-derived fluorescent probes, *Chem. Rev.*, 107, 3780-3799.
- Liu, Z., He, W., Guo, Z., 2013, Metal coordination in photoluminescent sensing, *Chem. Soc. Rev.*, 42, 1568-1600.
- Sahana, A., Banerjee, A., Lohar, S., Banik, A., Mukhopadhyay, S. K., Safin, D. A., Babashkina, M. G., Bolte, M., Garcia, Y., Das, D., 2013, FRET based tri-color emissive rhodamine-pyrene conjugate as an Al³⁺ selective colorimetric and fluorescence sensor for living cell imaging, *Dalton Trans*, 42, 13311-13314.
- Sivaraman, G., Anand, T., Chellappa, D., 2012, Turn-on fluorescent chemosensor for Zn(II) via ring opening of rhodamine spirolactam and their live cell imaging, *Analyst*, 137, 5881-5884.
- Valeur, B., Leray, I., 2000, Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition, *Coordination Chemistry Reviews*, 205, 3-40.
- Wang, Q., Li, C., Zou, Y., Wang, T. Y., Huang, C., 2012, A highly selective fluorescence sensor for Tin (Sn⁴⁺) and its application in imaging live cells, *Org. Biomol. Chem.*, 10, 6740-6746.
- Weng, J., Mei, Q., Zhang, B., Jiang, Y., Tong, B., Fan, Q., Ling, Q., Huang, W., 2013, Multi-functional fluorescent probe for Hg²⁺, Cu²⁺ and ClO⁻ based on a pyrimidin-4-yl phenothiazine derivative, *Analyst*, 138, 6607-6616.
- Zhang, D., Li, M., Wang, M., Wang, J., Yang, X., Ye, Y., Zhao, Y., 2013, A rhodamine-phosphonate off-on fluorescent sensor for Hg²⁺ in natural water and its application in live cell imaging, *Sensors and Actuators B.*, 177, 997-1002.