

ORIGINAL ARTICLE

새로운 로다민 6G 하이드록시 쿠마린 유도체의 합성과 형광특성

박성호 · 장승현*

대구대학교 화학과

Synthesis and Fluorescence Properties of New Rhodamine 6G Derivarives Containing Hydroxy Coumarin Moiety

Seong Ho Park, Seung Hyun Chang*

Department of Chemistry, Daegu University, Gyeongsan 38453, Korea

Abstract

In this study, we synthesized fluorescent sensors from rhodamine 6G derivatives and hydroxy coumarin. The synthetic routes to the rhodamine 6G derivatives containing hydroxy coumarin are shown in Fig. 1. Two derivatives were synthesized through Schiff base reactions. The structures of the new compounds were confirmed by melting point, ¹H-NMR, and GC-MS analyses. The compounds were found to selectively bind to tin (Sn²⁺) ion by fluorescence titration using various metal cations. Longer carbon chains gave more sensitivity. Sn²⁺ ions exhibited the strongest fluorescence among the nime ions. The binding analysis using Job plots suggested that compounds form 1:1 complexes with the Sn²⁺ ions.

Key words : Rhodamine 6G, Coumarin, Fluorescence, Chemosensor

1. 서론

자연에 존재하는 중금속들(Sn²⁺, Hg²⁺, Cd²⁺, Pb²⁺, As³⁺)은 우리가 알고 있듯이 인간이나 동물들에게 심각한 질병들을 야기할 수 있다. 그 중 주석(Sn²⁺)은 중금속으로서 자연환경에서는 적은 양으로 발견이 된다. 인간은 음식, 청량음료, 살충제, 치약 등으로 유기주석화합물에 노출이 된다(Bao et al., 2014). 현재까지 발표된 보고에 따르면 주석은 SnCl₂의 형태로 존재하는데 Sn²⁺는 인간의 몸에 있는 백혈구나 DNA에 빠르게 손상을 줄 수 있다고 보고되었다(Rojas et al., 1999). 이렇듯 우리 몸에 치명적인 영향을 줄 수 있는

중금속 이온을 잡는 화학센서에 대한 연구가 활발히 연구 중이다. 그리고 화학센서는 분석물과 감응물질의 화학적인 반응을 통하여 분석물을 선택적으로 인지하고, 높은 민감성을 가지고 분석하는 방법으로 화학의 또다른 한 분야로 자리 잡고 있다(Huang et al., 2005).

쿠마린은 가시광선영역에서 높은 형광과 높은 양자수율을 가지며 우수한 광안정성을 가지고 있다. 특히 쿠마린 유도체 같은 경우 3-과 7-의 위치에 치환기나 전자받개가 위치할 경우 흡광과 발광능력을 쉽게 조절할 수가 있다(Jagtap et al., 2011). 쿠마린은 광택제, 레이저 염료, 비선형 광학 발색단, 전기소자 그리고

Received 8 August, 2016; Revised 12 September, 2016;

Accepted 12 September, 2016

*Corresponding author : Seung Hyun Chang, Department of Chemistry, Daegu University, Gyeongsan 38453, Korea
Phone : +82-53-850-6442
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.

형광화학센서로 다양하게 사용되고 있으며 넓은 분야에서 응용이 되고 있다(Ozkutuk et al., 2016).

로다민 중심의 화학센서들도 마찬가지로 훌륭한 물리적인 능력을 가지고 있다. 로다민 6G는 xanthene 유도체로 자주 레이저의 염료로 사용되고 있다(Vogel et al., 2003). 로다민의 spiro고리 유도체들은 감응하는 금속이온이 첨가되었을 때 닫혀있던 spiro고리가 열리면서 소광되어있던 형광이 강한 형광과 색의 변화가 일어나게 된다(Ahamed et al., 2011). 이러한 과정으로 주로 금속이온을 잡는 화학센서로서 많이 보고가 되어 있다(Huang et al., 2005).

이번 연구에서는 로다민 6G 유도체와 쿠마린알데하이드를 Schiff base 반응으로 합성하였다. 이것을 Melting point, $^1\text{H-NMR}$, GC-Mass를 통하여 합성여부를 확인하였고, 합성한 화합물 4와 5에 다양한 금속양이온을 첨가했을 때 특정 금속양이온에 감응하는 것을 확인했다. 그리고 연속변화법을 통하여 특정 금속양이온과 화합물이 어떻게 복합체를 형성하는지 연구해 보았다. 이를 통하여 형광화학센서의 활용 가능성을 확인하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료 및 기기

Rhodamine 6G, 4-methylumbelliferone, hexamethylenetetramine, trifluoroacetic acid (TFA), acetic anhydride, pyridine, ethylenediamine, 1,3-diaminopropane, ethanol, methylene chloride, magnesium sulfate anhydrous, 금속시약들(SnCl_2 , CaCl_2 , FeCl_3 , CoCl_2 , KCl , NiCl_2 , CuCl_2 , MgCl_2 , HgCl_2 , ZnCl_2)과 용매들은 Aldrich, Duksan, Acros, junsei사에서 구입하여 사용하였다. 녹는점은 Laboratory devices사의 Mel-Temp II를 사용하였고, $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼은 Varian Mercury사의 300MHz NMR Spectrometer를 사용하여 측정하였으며, TMS를 내부기준물질로 한 CDCl_3 를 용매로 사용하였다. 화학적 이동(δ)은 ppm단위로 기록하였다(multiplicity : s=singlet, d=doublet, t=triplet, q=quartet, m=multiplet). 질량 스펙트럼은 Shimadzu사의 QP5050 GC-Mass Spectrometer를 사용하여 측정하였으며 흡수 스펙트럼은 Hewlett Packard사의

diode array Spectrophotometer (HP8523)를 사용하여 얻어진 형광 스펙트럼은 Jasco사의 FP-6300 형광분광기를 사용하여 측정하였다.

2.2. 실험방법

2.2.1. 화합물 1의 합성방법

화합물 1은 CH_2Cl_2 50 mL에 4-methylumbelliferone을 3 g (17.02 mmol) 녹인 후 Ac_2O 2 mL (21.1 mmol)를 넣고 pyridine을 3 mL 떨어뜨린 후 24시간 동안 교반시킨다. 그 후 회전 증발기를 이용해 용매를 증발시키고 남은 물질은 CH_2Cl_2 에 녹여 magnesium sulfate anhydrous로 남은 수분을 제거한다. 그리고 남은 용액은 다시 회전증발기로 용매를 증발시키면 흰 고체가 생성된다. 이 고체를 TFA에 녹여 hexamethylenetetramine을 1.5 g 넣고 8시간 환류교반시킨다. 과량의 TFA를 제거한 후 30 mL의 물을 넣고 1시간 동안 교반시킨다. 그러면 노란색의 고체가 생성된다. 이후 감압여과를 통해 고체를 걸러낸다. Yield 21%; m.p : 174.0°C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ ppm 12.21 (s, 1 H) 10.62 (s, 1 H) 7.70 (d, 1 H) 6.95 (d, 1 H) 6.22 (s, 1 H) 2.50 (s, 3 H) ; GC-MS : Calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_4$ m/z (M) 204.18, Observed for m/z (M) 204.

2.2.2. 화합물 2의 합성방법

화합물 2는 아르곤 기류에서 2 g의 rhodamine 6G (4.17 mmol)와 ethylenediamine 1.12 mL (16.70 mmol)을 100 mL 2구 플라스크에 넣고 ethanol 25 mL에 녹인 후 65°C로 48시간동안 환류 교반시킨다. 그 후 methylene chloride와 증류수를 사용하여 추출을 2회 정도 반복하여 유기 층을 분리했다. 그 후 회전 증발기를 이용해 용매를 증발시키고 methylene chloride와 n-Hexane으로 재결정하였다. 그 결과 분홍색 고체를 얻었다. Yield 85%; m.p : 257°C, $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ ppm 7.92 (m, 1 H) 7.44 (m, 2 H) 7.04 (m, 1 H) 6.36 (s, 2 H) 6.22 (s, 2 H) 3.50 (s, 2 H) 3.20 (m, 6 H) 2.46 (t, 2 H) 1.90 (s, 6 H) 1.32 (t, 6 H) ; GC-MS : Calculated for $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_2$ m/z (M) 456.58, Observed for m/z (M) 456.

2.2.3. 화합물 3의 합성방법

화합물 3은 아르곤 기류에서 1 g의 rhodamine 6G

(2.09 mmol)와 1,3-Diaminobutane 0.8 mL (8.36 mmol)를 100 mL 2구 둥근 플라스크에 넣고 ethanol 20 mL에 녹인 후 65°C로 48시간 동안 환류 교반시킨다. 그 후 methylene chloride와 증류수를 사용하여 추출을 2회 정도 반복하여 유기 층을 분리했다. 그 후 회전증발기를 이용해 용매를 증발시키고 methylene chloride와 n-Hexane으로 재결정하였다. 그 결과 분홍색 고체를 얻었다. Yield 81%; m.p : 211°C, ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.92 (m, 1 H) 7.44 (m, 2 H) 7.03 (m, 1 H) 6.35 (s, 2 H) 6.20 (s, 2 H) 3.20 (q, 6 H) 2.45 (t, 2 H) 1.90 (s, 6 H) 1.32 (t, 6 H) 1.90 (m, 2 H); GC-MS : Calculated for C₃₀H₃₆N₄O₂ m/z (M) 470.61, Observed for m/z (M) 470.

2.2.4. 화합물 4의 합성방법

화합물 4는 아르곤 기류에서 0.1 g의 화합물 2 (0.212 mmol)와 coumarin aldehyde 0.05 g (0.263 mmol)을 2구 플라스크에 넣고 ethanol 15 mL에 녹인 후 70°C로 48시간동안 환류 교반시킨다. 그 후 methylene chloride와 증류수를 사용하여 추출을 2회 정도 반복하여 유기 층을 분리했다. 그 후 회전증발기를 이용해 용매를 증발시키고 methylene chloride와 n-Hexane으로 재결정하였다. 그 결과 옅은 노란색의 고체를 얻었다. Yield 66%; m.p : 154.7°C, ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.50 (s, 1 H) 7.95 (m, 1 H) 7.45 (m, 2 H) 7.05 (m, 1 H) 7.72 (d, 1 H) 6.36 (s, 2 H) 6.20 (s, 2 H) 6.03 (s, 1 H) 3.52 (t, 2 H) 3.32 (t, 2 H) 3.19 (q, 4 H) 2.37 (s, 3 H) 1.86 (s, 6 H) 1.32 (t, 6 H); GC-MS : Calculated for C₄₃H₄₂N₄O₂ m/z (M) 642.74,

Observed for m/z (M) 642.

2.2.5. 화합물 5의 합성방법

화합물 5는 아르곤 기류에서 0.1 g의 화합물 4(0.213 mmol)과 coumarin aldehyde 0.05 g (0.263 mmol)을 2구 플라스크에 넣고 ethanol 15 mL에 녹인 후 70°C로 48시간동안 환류 교반시킨다. 그 후 methylene chloride와 증류수를 사용하여 추출을 2회 정도 반복하여 유기 층을 분리했다. 그 후 회전증발기를 이용해 용매를 증발시키고 methylene chloride와 n-Hexane으로 재결정하였다. 그 결과 옅은 노란색의 고체를 얻었다. Yield 48%; m.p : 161°C, ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 8.58 (s, 1 H) 7.98 (m, 1 H) 7.49 (m, 2 H) 7.09 (m, 1 H) 6.66 (d, 1 H) 6.15 (s, 2 H) 6.12 (s, 2 H) 5.99 (s, 1 H) 3.35 (t, 2 H) 3.20 (m, 6 H) 2.35 (s, 2 H) 1.95 (s, 6 H) 1.48 (t, 2 H) 1.30 (t, 6 H); GC-MS : Calculated for C₄₄H₄₄N₄O₂ m/z (M) 656.77, Observed for m/z (M) 656.

3. 실험결과 및 토의

3.1. 합성

7-hydroxy-4-methyl coumarin을 이용하여 2단계 반응으로 화합물 1을 합성하였다. 그리고 rhodamine 6G를 ethylenediamine과 1,3-diaminopropane으로 화합물 2와 화합물 3을 합성하였다. 그 후 화합물 1과 로다민 유도체들을 각각 에탄올에 용해시켜 화합물 4와 화합물 5를 합성하였다. 이렇게 합성한 화합물들을 ¹H-NMR 스펙트럼으로 확인해 봤을 때 화합물 4와

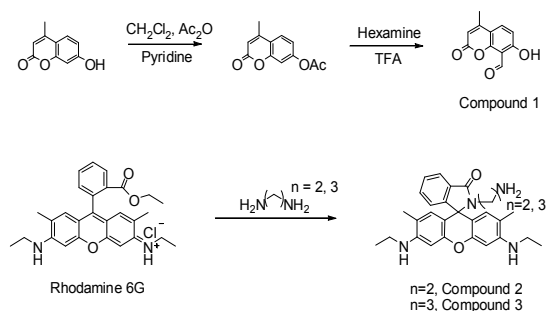


Fig. 1. Synthesis route of compounds 1, 2 and 3.

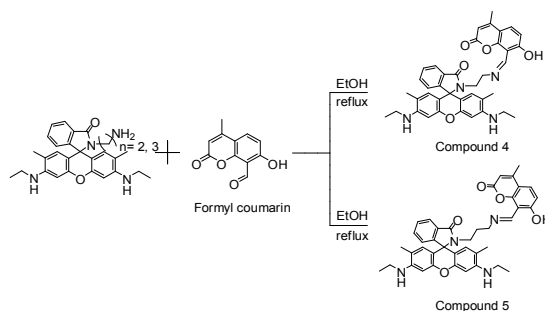


Fig. 2. Synthesis route of compounds 4 and 5.

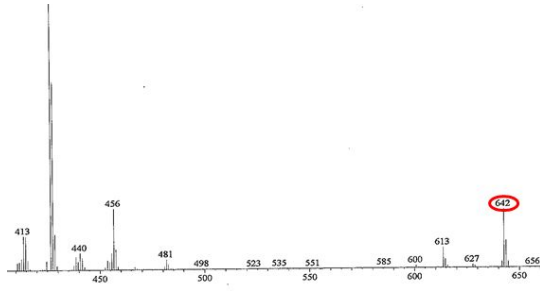


Fig. 3. GC-MS spectrum of compound 4.

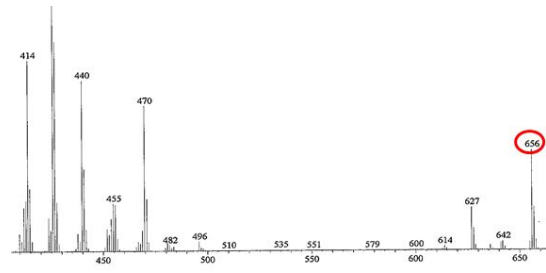


Fig. 4. GC-MS spectrum of compound 5.

화합물 5의 반응물이 가지고 있는 aldehyde 피크가 δ 10.62 ppm에서 사라지고, 각각 δ 8.50 ppm, 8.58 ppm에서 imine결합에 해당하는 양성자 피크가 나타난 것을 확인했다. 화합물 4와 화합물 5 모두 singlet으로 나타났다. GC-MS 스펙트럼으로 각 화합물의 총 분자량을 확인했을 때 화합물 4는 피크가 $m/e=642$ 로 나타난 것을 확인하였으며(Fig. 3), 화합물 5의 경우 $m/e=656$ 으로 나타난 것을 확인하였다(Fig. 4). 합성된 화합물 4와 화합물 5에 여러 가지 금속을 정량적으로 첨가하였을 때 어떠한 금속에 감응하는지 알아보기 위하여 흡수 및 형광 스펙트럼으로 확인하였으며, 또한 화합물과 감응하는 금속과의 배위율을 알아보기 위하여 연속변화법으로 확인하였다.

3.2. 물리적 특성

합성한 화합물 4와 화합물 5에 대한 물리적 특성을

알아보기 위하여 다양한 금속을 첨가하여 형광스펙트럼을 측정하였다. 그래서 어떠한 금속에 대하여 감응하는지 알아보았다. 화합물 4와 화합물 5 모두 다양한 금속이온들 중 Sn^{2+} 이온을 첨가했을 때 형광의 세기가 증가하면서 가장 강한 선택성을 나타내었다(Fig. 5 and Fig. 6).

합성한 화합물 4와 화합물 5를 일정한 농도에서 감응하는 금속을 정량적으로 적가해 형광 스펙트럼을 측정한 결과 강한 형광을 나타냈으며 일정하게 형광이 증가했다. 화합물들을 500 nm에서 여기시킨 결과 화합물 4는 550 nm에서(Fig. 7), 화합물 5도 550 nm(Fig. 8)에서 형광이 가장 강하게 나타났다.

합성한 화합물 4와 화합물 5는 감응하는 금속과의 배위율을 확인하기 위하여 Job's Plot을 나타내는 실험을 하였다. 화합물 4와 화합물 5는 500 nm에서

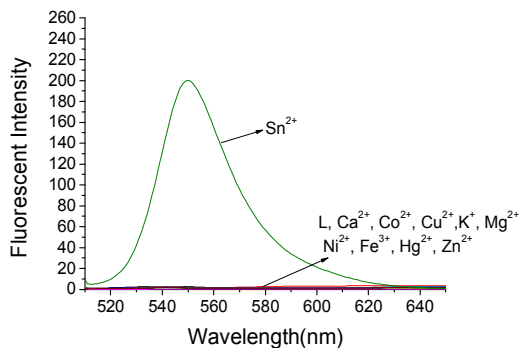


Fig. 5. Fluorescence emission spectra of compound 4(5.0 μ M) in Ethanol upon the addition of various metal cation (excitation at 500 nm and emission slit : 5).

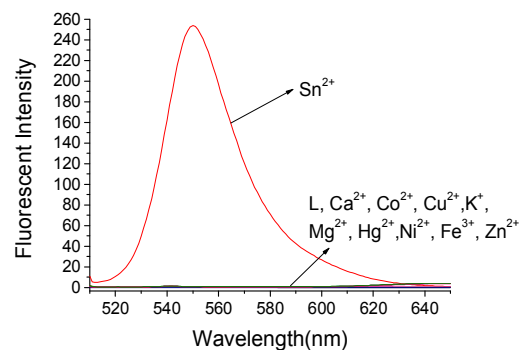


Fig. 6. Fluorescence emission spectra of compound 5(5.0 μ M) in Ethanol upon the addition of various metal cation (excitation at 500 nm and emission slit : 5).

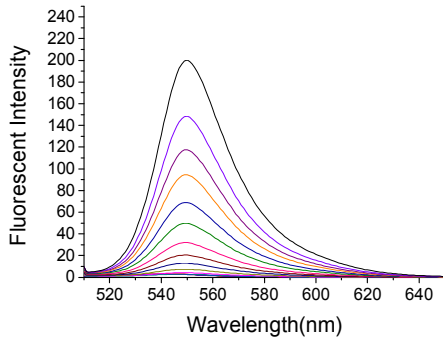


Fig. 7. The emission spectra of compound 4(5.0 μM) complexed with the addition of Sn²⁺ in Ethanol(excitation at 500 nm).

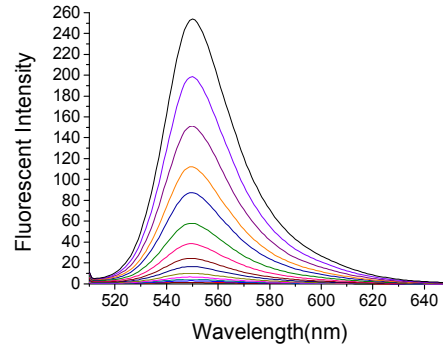


Fig. 8. The emission spectra of compound 5(5.0 μM) complexed with the addition of Sn²⁺ in Ethanol(excitation at 500 nm).

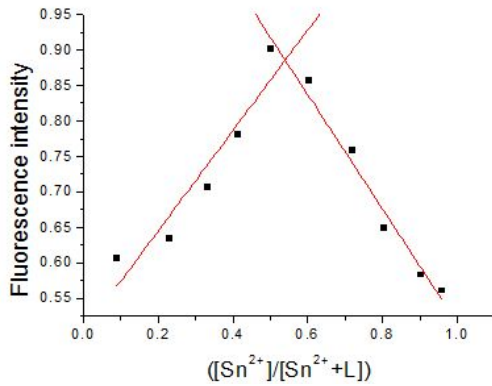


Fig. 9. Job plot of the complex with the addition Sn²⁺ ion in compound 4.

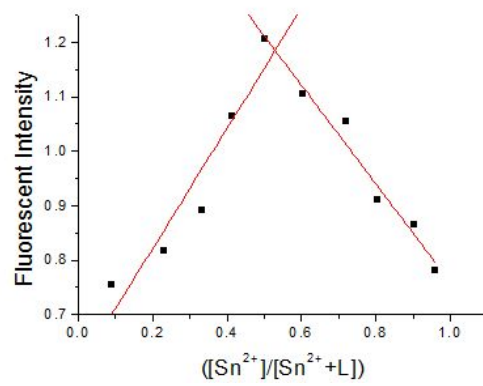


Fig. 10. Job plot of the complex with the addition Sn²⁺ ion in compound 5.

여기서 최대 형광 세기값을 가진 550 nm에서 확인한 결과 $[Sn^{2+}]/([Sn^{2+}]+[L])$ 의 몰분율이 약 0.5(Fig. 9 and Fig. 10)일 때 최대 형광세기 값을 가지고 그 후 값이 떨어지는 것으로 나타났다. 그러므로 화합물과 금속과의 배위는 1:1로 된다는 것을 확인 할 수 있었다. 몰분율이 0.5 이상으로 갈수록 최대 형광세기가 감소하는 원인은 감응하고 있는 리간드에 비해 감응하지 못한 리간드의 양이 더 늘어나 상대적으로 최대형광의 세기가 감소하게 된다.

4. 결론

이번 연구에서는 coumarin과 로다민 6G 유도체를 이

용하여 합성하였다. 로다민 6G의 경우 ethylenediamine과 1,3-diaminopropane을 사용하여 spiro고리가 형성된 유도체를 합성하였으며 coumarin의 경우 2단계 반응으로 aldehyde기를 도입하여 두 화합물을 합성하였다. 합성한 화합물 4와 화합물 5는 형광스펙트럼으로 확인한 결과 다른 이온들 중 특히 Sn²⁺이온에 가장 민감하게 반응한 것으로 나타났으며 로다민 6G와 coumarin사이의 alkyl의 길이가 길어질수록 Sn²⁺이온에 대하여 선택성이 매우 크게 나타나 형광이 증가하는 것을 알 수 있었다. 로다민 6G 유도체로 합성한 화합물들은 금속 양이온을 첨가하게 되면 로다민에 형성되었던 spiro고리가 열리게 되면서 전자의 공명으로

인하여 소광되어 있던 형광강도가 점차 증가하게 된다. 그리고 화합물 4와 화합물 5는 최대형광을 나타낸 금속인 Sn²⁺이온과 연속변화법을 이용하여 몰분율이 0.5일 때 가장 높은 것으로 보아 배위율이 1:1로 된다는 것을 확인하였다.

REFERENCES

- Ahamed, B. N., Ghosh, P., 2011, An integrated system of pyrene and rhodamine-6G for selective colorimetric and fluorometric sensing of mercury(II), *Inorganica Chimica Acta*, 372, 100-107.
- Bao, X., Cao, X., Nie, X., Jin, Y., Zhou, B., 2014, RBAP, a rhodamine b-based derivative: Synthesis, crystal structure analysis, Molecular simulation, and its application as a selective fluorescent chemical sensor for Sn²⁺, *Molecules*, 19, 7817-7831.
- Beija, M., Afonso, C. A. M., Martinho, J. M. G., 2009, Synthesis and applications of rhodamine derivatives as fluorescent probes, *Chem. Soc. Rev.*, 38, 2410-2433.
- Cao, L., Jia, C., Zhang, Q., Wang, N., Xue, Y., Du, D., 2014, A highly selective fluorescence turn-on detection of Al³⁺ and Ca²⁺ based on a coumarin-modified rhodamine derivative, *Tetrahedron Letters*, 55, 4062-4066.
- Chen, X., Pradhan, T., Wang, F., Kim, J. S., Yoon, J. Y., 2012, Fluorescent chemosensors based on spiroring-opening of xanthenes and related derivatives, *Chem. rev.*, 112, 1910-1956.
- Huang, C. Y., 1982, Determination of binding stoichiometry by the continuous variation method: The job plot, *Methods in Enzymology*, 87, 509-525.
- Huang, Z. B., Chang, S. H., 2005, Synthesis and characterization of novel ionophores of double-armed penta-crown ethers, *Tetrahedron Lett.*, 46, 5351-5355.
- Huang, Z. B., Kang, T. J., Chang, S. H., 2005, The synthesis of unique structures of tetra-crown ethers through Michael addition, *Tetrahedron Lett.*, 46, 3461-3464.
- Jagtap, A. R., Satam, V. S., Rajule, R. N., Kanetkar, V. R., 2001, Synthesis of highly fluorescent coumarinyl chalcones derived from 8-acetyl-1,4-diethyl-1,2,3,4-tetrahydro-7H-pyrano[2,3-g]quinoxalin-7-one and their spectral characteristics, *Dyes and Pigments*, 91, 20-25.
- Kim, D. S., 2012, A study on the efficacy of the coumarine derivatives with anti-inflammatory activity in the trifoliolate orange extract, *J. of Korean Oil Chemists Soc.*, 29, 609-616.
- Lee, K.-S., Kim, H.-J., Kim, G.-H., Shin, I.-J., Hong, J.-I., 2008, Fluorescent chemodosimeter for selective detection of cyanide in water, *Org. Lett.*, 10, 49-51.
- Ozkutuk, M., Ipek, E., Aydinler, B., Mamas, S., Seferoglu, Z., 2016, Synthesis, spectroscopic, thermal and electrochemical studies on thiazolyl azo based disperse dyes bearing coumarin, *Journal of Molecular Structure*, 1108, 521-532.
- Rojas, E., Herrera, L.-A., Poirier, L.-A., Ostrosky-Wegman, P., 1999, Are metals dietary carcinogens?, *Mutation Research*, 443, 157-181.
- Viau, C. M., Guecheva, T. N., Sousa, F. G., Pungartnik, C., Brendel, M., Saffi, J., Henriques, J. A. P., 2009, SnCl₂-induced DNA damage and repair inhibition of MMS-caused lesions in V79 Chinese hamster fibroblasts, *Arch Toxicol*, 83, 769-775.
- Wei, T.-B., Zhang, P., Shi, B.-B., Chen, P., Lin, Q., Liu, J., Zhang, Y.-M., 2013, A highly selective chemosensor for colorimetric detection of Fe³⁺ and fluorescence turn-on response of Zn²⁺, *Dyes and Pigment*, 97, 297-302.
- Yi, C., Song, B., Tian, W., Cui, X., Qi, Q., Jiang, W., Qi, Z., Sun, Y., 2014, Fluorescent sensor of fluorene derivatives having phosphonic acid as a fluorogenic ionophore: Synthesis and static quenched properties for Fe(III), *Tetrahedron Letters*, 55, 5119-5123.
- Yan, M. H., Li, T. R., Yang, Z. Y., 2011, A novel coumarin schiff-base as a Zn(II) ion fluorescent sensor, *Inor. Chem. Comm.*, 14, 463-465.
- Zhang, X., Sumiya, S., Shiraishi, Y., Hirai, T., 2009, Effects of alkyl chain length on Cu(II)-selective green fluorescence of rhodamine-diacetic acid conjugates, *Journal of Photochemistry and Photobiology A. Chemistry*, 205, 215-220.