

ฟลูออเรสเซนซ์เซ็นเซอร์สำหรับไอออนของโลหะจากอนุพันธ์ฟลูออรีน



นายเจนวิทย์ เขาแก้ว



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2556  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



5471937523

METAL ION FLUORESCENT SENSORS FROM FLUORENE DERIVATIVES

Mr. Chenwit Khaokeaw

2905392830




A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Petrochemistry and Polymer  
Science  
Faculty of Science  
Chulalongkorn University  
Academic Year 2013  
Copyright of Chulalongkorn University

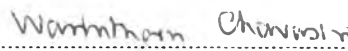
Thesis Title METAL ION FLUORESCENT SENSORS FROM  
FLUORENE DERIVATIVES  
By Mr. Chenwit Khaokeaw  
Field of Study Petrochemistry and Polymer Science  
Thesis Advisor Associate Professor Paitoon Rashatasakhon, Ph.D.  
Thesis Co-Advisor Associate Professor Mongkol Sukwattanasinitt,  
Ph.D.

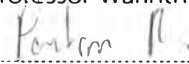
---


Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial  
Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

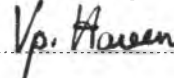
  
..... Dean of the Faculty of Science  
(Professor Supot Hannongbua, Dr.rer.nat.)


THESIS COMMITTEE

  
..... Chairman  
(Assistant Professor Warinthorn Chavasiri, Ph.D.)

  
..... Thesis Advisor  
(Associate Professor Paitoon Rashatasakhon, Ph.D.)

  
..... Thesis Co-Advisor  
(Associate Professor Mongkol Sukwattanasinitt, Ph.D.)

  
..... Examiner  
(Associate Professor Voravee Hoven, Ph.D.)

  
..... External Examiner  
(Jutatip Boonsombat, Ph.D.)



เจนวิทย์ เขาแก้ว : ฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์สำหรับไอออนของโลหะจากอนุพันธ์  
ฟลูออรีน . (METAL ION FLUORESCENT SENSORS FROM FLUORENE  
DERIVATIVES) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร. ไพฑูรย์ รัชตะสาคร, อ.ที่ปรึกษา  
วิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร. มงคล สุขวัฒนาสินีทธิ์, 52 หน้า.

อนุพันธ์ซาลิซิลของฟลูออรีนชนิดใหม่ 4 ตัวได้ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยใช้ปฏิกิริยาควบคู่  
ที่มีฟัลเลเดียมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และได้มีการพิสูจน์ทราบโครงสร้างโดยเทคนิคโปรตอน และ  
คาร์บอนนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ แมสสเปกโตรเมตรี ยูวีวิสซิเบิล และฟลูออเรสเซนต์สเปก  
โทรสโกปี การศึกษาสมบัติทางแสงในฟอสเฟตบัพเฟอร์พีเอช 8.0 พบว่าสารเหล่านี้มีความยาว  
คลื่นของการดูดกลืนแสงสูงสุดในช่วง 304-330 นาโนเมตร และสารที่มีหมู่ 9,9-ไดออกทิล  
ฟลูออรีน (F1-F2) มีความยาวคลื่นของการคายพลังงานแสงสูงสุดระหว่าง 420 และ 430 นาโน  
เมตรและผลได้เชิงควอนตัมเท่ากับ 2.7 และ 4.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่สารที่มีหมู่ 9-ฟลูออรี  
โนน และสารที่มีหมู่ 9-ไดโซยาโนเมทิลฟลูออรีนนั้นไม่สามารถคายพลังงานแสงได้เนื่องจากผล  
ของการเกิดการถ่ายเทพะจุภายในโมเลกุลโดยหมู่ซาลิซิลและกระบวนการถ่ายเทอิเล็กตรอนที่  
ถูกเหนี่ยวนำโดยแสงจากอิเล็กตรอนที่ไม่ได้อยู่ในพันธะของหมู่คาร์บอนิลกับพาย-อิเล็กตรอนของ  
ฟลูออรีน ในกรณีที่ไม่มีสารลดแรงตึงผิว สารละลายของสารที่มีหมู่แอลไคนิลซาลิซิลสามารถ  
แสดงการระงับสัญญาณอย่างจำเพาะกับคิวปริกและเฟอร์รัสไอออน ความจำเพาะต่อคิวปริก  
สามารถเพิ่มขึ้นได้โดยการเติมไตรตัน X-100 ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครโมลาร์ ซึ่งเป็นความเข้มข้น  
ที่ต่ำกว่าค่าความเข้มข้นวิกฤตของไมเซลล์ โดยประสิทธิภาพสูงสุดของการตรวจวัดคิวปริกไอออน  
ในสารละลายเท่ากับ 1.47 ส่วนในพันล้านส่วน ผลการทดสอบเบื้องต้นบนกระดาษพบว่าสามารถใช้  
ใช้สารละลายของ F2 ในเทตราไฮโดรฟิวแรนเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ในการตรวจวัดคิวปริกและ  
เฟอร์รัสไอออนด้วยตาเปล่าได้ที่ 40 พิโคโมล

สาขาวิชา ปิโตรเคมีและวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ ลายมือชื่อนิสิต บอณักร วัฒนวิทย์

ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก [ลายมือ]

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม [ลายมือ]



# # 5471937523 : MAJOR PETROCHEMISTRY AND POLYMER SCIENCE

KEYWORDS: FLUORENE / SALICYLIC ACID / FLUORESCENCE SENSOR / CU2+

CHENWIT KHAOKEAW: METAL ION FLUORESCENT SENSORS FROM FLUORENE DERIVATIVES. ADVISOR: ASSOC. PROF. PAITON RASHATASAKHON, Ph.D., CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. MONGKOL SUKWATTANASINITT, Ph.D., 52 pp.

Four novel salicyl derivatives of fluorene are successfully synthesized by palladium-catalyzed coupling reactions. The compounds are characterized by  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR, MALDI-TOF MS, UV-Vis, and fluorescence spectroscopy. Photophysical investigations of these water soluble compounds in pH 8.0 phosphate buffer show maximum absorption wavelengths in the range of 304-330 nm. For compounds with 9,9-dioctylfluorene group (F1-F2), the emission maxima appear around 420 and 430 nm with the quantum yields of 2.7 and 4.4%, respectively. However, the compounds with 9-fluorenone (F3) and 9-dicyanomethylenefluorene group (F4) are non-emissive due to the combination of the internal charge transfer caused by the salicylate group and the photo-induced electron transfer from the non-bonding electron of the carbonyl group and the pi-electron of the fluorene. Without the surfactant, the solution of compound with the alkynyl salicylate group (F2) exhibits a selective fluorescence quenching by  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$ . The selectivity towards  $\text{Cu}^{2+}$  is enhanced by the addition of Triton X-100 at 30  $\mu\text{M}$ , the concentration in which lower than the critical micelle concentration. The optimal efficiency for detection of  $\text{Cu}^{2+}$  in solution phase can be calculated to 1.47 ppb. Preliminary tests of paper-based suggest that a 50  $\mu\text{M}$  solution of F2 in THF can be used as a naked-eye sensor for  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$  ions of 40 picomole.

Field of Study: Petrochemistry and  
Polymer Science

Academic Year: 2013

Student's Signature ..... 

Advisor's Signature ..... 

Co-Advisor's Signature ..... 



## ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my deep gratitude to my advisor, Associate Professor Dr. Paitoon Rashatasakhon , my co-advisor Associate Professor Dr. Mongkol Sukwattanasinitt for their generous advice, invaluable guidance and encouragement throughout the course of this research.

I would like to gratefully acknowledge the committee, Assistant Professor Dr. Warinthorn Chavasiri, Associate Professor Dr. Vorawee Hoven and Dr. Jutatip Boonsombat for their comments, guidance and extending cooperation over my presentation. I would like to thank Assistant Professor Dr. Sumrit Wacharasindhu for their attention and suggestions during our research group meeting. I would like to express my gratitude to Material Advancement via Proficient Synthesis (MAPS Group), Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University for providing the chemicals and facilities throughout the course of study.

A deep affectionate gratitude is acknowledged to my beloved family for their understanding, encouragement and support throughout the education course. I especially thank Ms. Manutchanok Boonsri, Ms. Pondchanok Chinapang, Ms.Chanantida Jongwahan, Ms. Nopparat Thavornsin and Ms. Kanokthorn Boonkitpatarakul for their suggestions, guidance and help during the course of my graduate research.

I would like to thanks Nanotechnology Center (NANOTEC), NSTDA, Ministry of Science and Technology, Thailand, through its program of Center of Excellence Network. This work is part of the Project for Establishment of Comprehensive Center for Innovative Food, Health Products and Agriculture supported by the Thai Government Stimulus Package 2 (TKK2555, SP2), the Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund of Chulalongkorn University (RES560530126-AM) and 90th Anniversary of Chulalongkorn University Fund.

Finally, I would like to express my thankfulness to my beloved parents who always stand by my side during both of my pleasant and hard time.



## CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT .....	iv
ENGLISH ABSTRACT .....	v
ACKNOWLEDGEMENTS .....	vi
CONTENTS .....	vii
LIST OF TABLE .....	ix
LIST OF FIGURE .....	x
LIST OF SCHEMES .....	xiii
LIST OF ABBREVIATIONS .....	xiv
CHAPTER I INTRODUCTION .....	1
1.1 Fluorescent chemosensor .....	1
1.2 Fluorescence .....	1
1.3 Fluorescence quenching .....	2
1.4 Internal charge transfer states.....	4
1.5 Fluorene-based derivatives as fluorescent sensors.....	5
1.6 Salicylic acid as receptor unit for detection of metal ions.....	6
1.7 Objectives of this research.....	9
CHAPTER II EXPERIMENTAL .....	10
2.1 Chemicals and materials .....	10
2.2 Analytical instruments .....	10
2.3 Synthesis.....	11
2.3.1 Preparation of methyl 4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)salicylate (1).....	11
2.3.2 Preparation of F1 .....	11
2.3.3 Preparation of 2,7-diethynyl-9,9-dioctyl-9H-fluorene (4).....	12
2.3.4 Preparation of F2 .....	13
2.3.5 Preparation of 2,7-dibromo-9H-fluoren-9-one (6).....	14
2.3.6 Preparation of 2,7-diethynyl-9,9-dioctyl-9H-fluorene (8).....	14



	Page
2.3.7 Preparation of F3 .....	15
2.3.8 Preparation of F4 .....	16
2.4 Photophysical property study.....	16
2.4.1 UV-Visible spectroscopy.....	16
2.4.2 Fluorescence spectroscopy.....	16
2.4.3 Fluorescence quantum yields.....	16
2.5 Fluorescent sensor study.....	17
2.5.1 Metal ion sensor .....	17
2.5.2 Surfactant enhancement.....	17
CHAPTER III RESULTS AND DISCUSSION.....	18
3.1 Synthesis and characterization of fluorophores.....	18
3.2 Photophysical properties .....	24
3.3 Metal ion sensor .....	26
3.4 Surfactant enhancement.....	28
3.5 Indication of Cu <sup>2+</sup> -F2 complexation; an EDTA test.....	33
3.6 Paper-based sensor .....	34
CHAPTER IV CONCLUSION .....	36
4.1 Conclusion.....	36
REFERENCES .....	37
APPENDIX .....	40
VITA.....	52





LIST OF TABLE

Table 3.1 Photophysical properties of F1-F4 in PBS (10 mM, pH 8.0). ..... 24



## LIST OF FIGURE

Figure 1.1 Basic principle of chemosensors .....	1
Figure 1.2 Jablonski Energy Diagram .....	2
Figure 1.3 Diagram explaining dynamic or collisional quenching .....	2
Figure 1.4 Effect of temperature on quenching mechanism .....	4
Figure 1.5 Potential energy surfaces of the ground state ( $S_0$ ) is excited to and $S_1$ or $S_2$ and then relaxed to LE, and ICT (FC = Franck-Condon). .....	5
Figure 1.6 Structure of compound had ethoxyethoxy groups as peripherals group ....	5
Figure 1.7 Structure of both compounds from fluorene derivative .....	6
Figure 1.8 Structure of polyfluorene derivative compound .....	6
Figure 1.9 Proposed structure of copper (II)-salicylate complex .....	7
Figure 1.10 Structure of 1,3,5-triphenylbenzene as core and salicylic acid as peripheral group .....	7
Figure 1.11 Structure of n-phenylcabazole as core unit and salicylic acid as receptor	8
Figure 1.12 Structure of phenylene-ethylene as core and salicylic acid as ended-group .....	8
Figure 1.13 Target molecules .....	9
Figure 3.1 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) of <b>1</b> and <b>2</b> in $\text{CDCl}_3$ and <b>F1</b> in $\text{DMSO-}d_6$ .....	19
Figure 3.2 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) of <b>3</b> and <b>4</b> in $\text{CDCl}_3$ .....	20
Figure 3.3 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) of <b>5</b> in $\text{CDCl}_3$ and <b>F2</b> in $\text{DMSO-}d_6$ .....	20
Figure 3.4 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) of <b>6</b> <b>7</b> and <b>8</b> in $\text{CDCl}_3$ .....	22
Figure 3.5 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) of <b>3d</b> and <b>F3</b> in $\text{DMSO-}d_6$ .....	22
Figure 3.6 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) of <b>F3</b> and <b>F4</b> in $\text{DMSO-}d_6$ .....	24
Figure 3.7 Normalized absorption of <b>F1-F4</b> and emission spectra of <b>F1-F2</b> in 10 mM phosphate buffer saline pH 8.0 .....	25
Figure 3.8 Proposed geometry change in <b>F1</b> .....	25
Figure 3.9 Proposed charge tranfers mechnism of <b>F4</b> .....	26
Figure 3.10 Fluorescence spectra of <b>F1</b> (10 $\mu\text{M}$ ) in the presence of 17 metal ions (100 $\mu\text{M}$ ) in PBS (10 mM, pH 8.0) .....	26
Figure 3.11 Fluorescence quenching of <b>F1</b> and (10 $\mu\text{M}$ ) by various metal ions (100 $\mu\text{M}$ ) in PBS (10 mM, pH 8.0) .....	27



<b>Figure 3.12</b> Fluorescence spectra of <b>F2</b> (10 $\mu\text{M}$ ) in the presence of 17 metal ions(100 $\mu\text{M}$ ). in PBS (10 mM, pH 8.0).....	27
<b>Figure 3.13</b> Fluorescence quenching of <b>F2</b> and (10 $\mu\text{M}$ ) by various metal ions (100 $\mu\text{M}$ ) in PBS (10 mM, pH 8.0).....	28
<b>Figure 3.14</b> The Stern-Volmer plots of fluorescence quenching of <b>F2</b> (1 $\mu\text{M}$ ) by $\text{Cu}^{2+}$ (left) and $\text{Fe}^{2+}$ (right).....	28
<b>Figure 3.15</b> Fluorescence spectrum of <b>F2</b> (10 $\mu\text{M}$ ) towards various surfactant (40 $\mu\text{M}$ ) .....	29
<b>Figure 3.16</b> Enhancement efficient of various surfactants with <b>F2</b> .....	29
<b>Figure 3.17</b> Effects of various surfactants on fluorescent signal of <b>F2</b> and its responses towards $\text{Cu}^{2+}$ .....	30
<b>Figure 3.18</b> Quenching efficiencies of <b>F2</b> with $\text{Cu}^{2+}$ under various surfactants .....	30
<b>Figure 3.19</b> Quenching efficiencies of <b>F2</b> by $\text{Cu}^{2+}$ and $\text{Fe}^{2+}$ under various concentration of Triton X-100.....	31
<b>Figure 3.20</b> Fluorescence signals response of <b>F2</b> with Triton X-100 towards various metal ions .....	31
<b>Figure 3.21</b> Bar chart shows fluorescence quenching of <b>F2</b> with Triton X-100 towards various metal ions .....	32
<b>Figure 3.22</b> Fluorescence intensity ratio of <b>F2</b> ( $I_0/I_0-I_M$ ) in presence $\text{Cu}^{2+}$ and another metal ions .....	33
<b>Figure 3.23</b> Stern-Volmer plot of fluorescence quenching of <b>F2</b> with Triton X-100 by $\text{Cu}^{2+}$ .....	33
<b>Figure 3.24</b> Effect of EDTA on recovery fluorescence intensity, inset: photogenic of <b>F2</b> with Triton X-100 (left), photogenic of <b>F2</b> with Triton X-100 after $\text{Cu}^{2+}$ was added, and photogenic of addition of EDTA. ....	34
<b>Figure 3.25</b> Photogenic of <b>F2</b> use as paper-based sensor for detection $\text{Cu}^{2+}$ (top) and $\text{Fe}^{2+}$ (bottom). ....	35
<b>Figure A.1</b> $^1\text{H-NMR}$ of <b>1</b> in $\text{CDCl}_3$ .....	41
<b>Figure A.2</b> $^1\text{H-NMR}$ of <b>2</b> in $\text{CDCl}_3$ .....	41
<b>Figure A.3</b> $^1\text{H-NMR}$ of <b>F1</b> in $\text{DMSO-}d_6$ .....	42
<b>Figure A.4</b> $^{13}\text{C-NMR}$ of <b>F1</b> in $\text{DMSO-}d_6$ .....	42
<b>Figure A.5</b> $^1\text{H-NMR}$ of <b>3</b> in $\text{CDCl}_3$ .....	43



Figure A.6 $^1\text{H-NMR}$ of <b>4</b> in $\text{CDCl}_3$ .....	43
Figure A.7 $^1\text{H-NMR}$ of <b>5</b> in $\text{CDCl}_3$ .....	44
Figure A.8 $^1\text{H-NMR}$ of <b>F2</b> in $\text{DMSO-}d_6$ .....	44
Figure A.9 $^{13}\text{C-NMR}$ of <b>F2</b> in $\text{DMSO-}d_6$ .....	45
Figure A.10 $^1\text{H-NMR}$ of <b>6</b> in $\text{CDCl}_3$ .....	45
Figure A.11 $^1\text{H-NMR}$ of <b>7</b> in $\text{CDCl}_3$ .....	46
Figure A.12 $^1\text{H-NMR}$ of <b>8</b> in $\text{CDCl}_3$ .....	46
Figure A.13 $^1\text{H-NMR}$ of <b>9</b> in $\text{CDCl}_3$ .....	47
Figure A.14 $^1\text{H-NMR}$ of <b>F3</b> in $\text{DMSO-}d_6$ .....	47
Figure A.15 $^{13}\text{C-NMR}$ of <b>F3</b> in $\text{DMSO-}d_6$ .....	48
Figure A.16 $^1\text{H-NMR}$ of <b>F4</b> in $\text{DMSO-}d_6$ .....	48
Figure A.17 $^{13}\text{C-NMR}$ of <b>F4</b> in $\text{DMSO-}d_6$ .....	49
Figure A.18 MALDI-TOF-MS of <b>F1</b> .....	49
Figure A.19 MALDI-TOF-MS of <b>F2</b> .....	50
Figure A.20 HRMS of <b>F3</b> .....	50
Figure A.21 MALDI-TOF-MS of <b>F4</b> .....	51



## LIST OF SCHEMES

Scheme 3.1 Synthesis of F1 .....	18
Scheme 3.2 Synthesis of F2 .....	19
Scheme 3.3 Synthesis of F3 .....	21
Scheme 3.4 Pd-catalyzed cross-coupling reaction on dibromo dicyanomethylene derivative .....	23
Scheme 3.5 Synthesis of F4 .....	23



## LIST OF ABBREVIATIONS

A	acceptor
Ar	aromatic
calcd	calculated
$^{13}\text{C}$ NMR	carbon-13 nuclear magnetic resonance
$\text{CDCl}_3$	deuterated chloroform
D	donor
d	doublet (NMR)
dd	doublet of doublet (NMR)
$\text{DMSO-d}_6$	deuterated dimethyl sulfoxide
equiv	equivalent (s)
g	gram (s)
$^1\text{H}$ NMR	proton nuclear magnetic resonance
Hz	Hertz
HRMS	high resolution mass spectrum
h	hour (s)
ICT	internal charge transfer
IR	infrared
$J$	coupling constant
MALDI-TOF MS	matrix assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry
mg	milligram (s)
mL	milliliter (s)
mmol	millimole (s)
$m/z$	mass per charge
m	multiplet (NMR)
mp	melting point
MW	molecular weight

2905392820



M	molar
MHz	megahertz
nmol	nanomole (s)
pmol	picomole (s)
rt	room temperature
s	singlet (NMR)
THF	tetrahydrofuran
UV	ultraviolet
$\delta$	chemical shift
$^{\circ}\text{C}$	degree Celsius
$\mu\text{L}$	microliter (s)
$\mu\text{M}$	micromolar (s)
$\Phi$	quantum yield
% yield	percentage yield

