

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені В.Н. Каразіна

**Кафедра хімічної метрології**

УДК 543.422.3 + 543.426 + 543.429.23 + 543.544.5 + 543.51 + 543.55 + 547.638.1

*До захисту допускаю*

\_\_\_\_\_ Завідувач кафедри  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 р. д.х.н., проф. О.І. Юрченко

**НОВІ 4-ЗАМІЩЕНІ ПОХІДНІ 2'-ГІДРОКСИХАЛКОНУ  
ЯК ПОТЕНЦІЙНІ ЛЮМІНОФОРИ ДЛЯ ЕХЛ-АНАЛІЗУ**

Кваліфікаційна робота магістра  
II курсу хімічного факультету  
**СКРИПНІКА ДАНИЛА  
АНДРІЙОВИЧА**

Наукович керівник  
к.х.н., доцент  
  
Консультант  
д.ф.-м.н., професор



О.О. Решетняк

Ю.Т. Жолудов

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота містить 2 розділи, 62 сторінки, 27 рисунків, 9 таблиць, 48 формул, 40 використаних літературних джерел.

Об'єкт дослідження: органічні сполуки – 4-заміщені похідні 2'-гідроксихалкону.

Предмет дослідження: оптичні та електрохемілюмінесцентні (ЕХЛ) властивості 4-заміщених похідних 2'-гідроксихалкону.

Мета роботи: синтезувати чотири 4-заміщених похідних 2'-гідроксихалкону та дослідити їхні оптичні властивості для можливого використання люмінофорів в ЕХЛ-аналізі.

Методи дослідження:  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопія, хромато-мас-спектрометрія, спектрофотометрія, флуориметрія, електрохемілюмінесцентна спектроскопія.

Результати та їх новизна: проведено літературний огляд джерел, що містять інформацію про явище ЕХЛ, його механізми та застосування, а також інформацію про клас сполук халконів, їх синтез та прикладне значення; синтезовано чотири 4-заміщені похідні 2'-гідроксихалкону, структуру та чистоту яких встановлено методами ЯМР-спектроскопії та хромато-мас-спектрометрії; досліджено оптичні властивості отриманих сполук, а саме: світлопоглинання розчинів цільових сполук у дихлорметані, фотолюмінесценцію цільових сполук у твердій фазі, ЕХЛ цільових сполук у полімерних плівках. Отримані дані про ЕХЛ мають потенційне застосування в ЕХЛ-аналізі. Показано, що три з чотирьох синтезованих сполук мають сигнал ЕХЛ, що може бути використано надалі для дослідних та практичних цілей.

Ключові слова: ЕЛЕКТРОГЕНЕРОВАНА ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЯ, ФОТОЛЮМІНЕСЦЕНЦІЯ, ЛЮМІНОФОРИ, ЕХЛ-АНАЛІЗ, 4-ЗАМІЩЕНІ ПОХІДНІ 2'-ГІДРОКСИХАЛКОНУ.

## ABSTRACT

The qualifying work contains 2 volumes, 62 pages, 27 figures, 9 tables, 48 formulas, 40 literature items.

The objects of research are organic compounds – 4-substituted 2'-hydroxychalcone derivatives.

The subject of research is optical and electrochemiluminescence (ECL) properties of 4-substituted 2'-hydroxychalcone derivatives.

The objective of the work is synthesis of 4-substituted 2'-hydroxychalcone derivatives and their optical properties research for possible application of luminophores in ECL analysis.

The research methods: <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy, liquid chromatography – mass spectrometry, spectrophotometry, fluorimetry, electrochemiluminescence spectroscopy.

Results and their novelty: the literature review, that was carried out, contains an information about ECL phenomenon, its mechanisms and application as well as an information about chalcones compound class, their synthesis and applied relevance; four 4-substituted 2'-hydroxychalcone derivatives were synthesized, their structure and purity were determined by NMR spectroscopy and LC-MS methods; optical properties were researched, namely: absorbance of target substances solutions in dichloromethane, photoluminescence of target substances in a solid phase, ECL of target substances in polymer films. Obtained data about ECL have a potential application in ECL analysis. It was shown that three out of four synthesized compounds have ECL signal that could be applied in the future for research and practical purpose.

Key words: ELECTROGENERATED CHEMILUMINESCENCE, PHOTOLUMINESCENCE, LUMINOPHORES, ECL ANALYSIS, 4-SUBSTITUTED 2'-HYDROXYCHALCONE DERIVATIVES.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ .....	6
ВСТУП .....	7
1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД .....	9
1.1 Явище електрогенерованої хемілюмінесценції (ЕХЛ) .....	9
1.2 Механізм ЕХЛ .....	10
1.2.1 Іонна анігіляція .....	11
1.2.2 Механізм ЕХЛ із використанням співреагента .....	12
1.2.3 Катодна люмінесценція .....	17
1.3 Люмінофори .....	18
1.3.1 Неорганічні люмінофори .....	18
1.3.2 Органічні люмінофори .....	19
1.4 Електрохемілюмінесцентний метод аналізу (метод ЕХЛ) .....	21
1.4.1 Метрологічні характеристики методу ЕХЛ .....	21
1.4.2 Варіанти проведення .....	22
1.5 Досліджувані структури – похідні 2'-гідроксихалкону .....	23
1.5.1 Біосинтез і лабораторний синтез халконів .....	23
1.5.2 Застосування халконів .....	25
2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА .....	27
2.1 Реактиви, матеріали та обладнання .....	27
2.2 Методики експерименту .....	31
2.2.1 Методики синтезу похідних 2'-гідроксихалкону .....	31
2.2.2 Методика очистки синтезованих сполук .....	33
2.2.3 Методики приготування розчинів .....	34
2.2.4 Методика підготовки електрохімічної комірки до експерименту ....	35
2.2.5 Методики дослідження ЕХЛ люмінофорів з використанням методу цикловольтамперометрії (CVAM) та методу хроноамперометрії (CAM) .....	36
2.2.6 Методики обробки результатів вимірювань .....	37

2.3 Результати та їх обговорення .....	41
2.3.1 Результати синтезу похідних 2'-гідроксихалкону .....	41
2.3.2 Результати дослідження структури синтезованих сполук .....	41
2.3.3 Результати дослідження світлопоглинання розчинів синтезованих сполук .....	46
2.3.4 Результати дослідження фотолюмінесценції синтезованих сполук	47
2.3.5 Результати дослідження електрохемілюмінесценції синтезованих сполук .....	50
 ОХОРОНА ПРАЦІ .....	 56
 ВИСНОВКИ .....	 57
 СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....	 59

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

ЕХЛ	– електрохемілюмінесценція;
ЕЛ	– електролюмінесценція;
ФЛ	– фотолюмінесценція;
ХЛ	– хемілюмінесценція;
ЯМР	– ядерно-магнітний резонанс;
CVAM	– циклічна вольтамперометрія;
SAM	– хроно амперометрія;
ДФА	– 9,10-дифенілантрацен;
ТМФД	– N,N,N',N'-тетраметил- <i>пара</i> -фенілендіамін;
ТПА	– трипропіламін;
EtOH	– етанол;
MeOH	– метанол;
PVB	– полівінілбутираль;
C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>	– пірен;
[Ru(bpy) <sub>3</sub> ] <sup>2+</sup>	– тріс(біпіридил)рутеній (II);
Na[B(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>4</sub> ]	– тетрафенілборат натрію;
A	– світлопоглинання;
I	– інтенсивність випромінювання;
«х.ч.»	– хімічно чистий;
S <sub>1</sub>	– перший збуджений синглетний стан;
S <sub>0</sub>	– основний стан;
s	– синглет;
d	– дует;
t	– триплет;
m	– мультиплет.

## ВСТУП

На сьогоднішній час існує безліч аналітичних методів для визначення якісного та кількісного складу хімічних речовин та сумішей. Один з таких – метод електрогенерованої хемілюмінесценції, що заслужив славу точного та високочутливого методу аналізу.

Явище ЕХЛ активно використовують в хімічному аналізі з другої половини ХХ ст., і з тих пір даний метод не перестає розвиватися і активно застосовуватись. Учені віднаходять все нові й нові сполуки, що мають потенційне та реальне значення для ЕХЛ-аналізу. Похідні 2'-гідроксихалкону – одні з таких речовин. Халкони активно застосовують в біохімічних, біологічних та медичних дослідженнях, зокрема як протизапальні, антибактеріальні та протиракові препарати, як регулятори росту агрокультур, як барвники.

Завдяки своїй електронній будові халкони та їх похідні, в тому числі 4-заміщені похідні 2'-гідроксихалкону, виявляють помітні оптичні властивості, зокрема здатність люмінесцювати. Вибір структур органічних сполук для дослідження в рамках даної роботи заснований на інформації, зазначеної в науковій літературі. Так, у роботі [1] було проведено аналіз кристалографічних даних похідних 2'-гідроксихалкону, який показав здатність даних сполук до люмінесценції (флуоресценції) за рахунок внутрішньомолекулярного переходу протону у збудженому стані. Автори роботи [2] зазначають, що 4-(піролідин-1-іл)- та 4-(піперидин-1-іл)халкони, а також їхні відповідні 4'-метилкарбоксилати виявляють люмінесцентні властивості: у результаті експериментів та розрахунків отримали високі значення інтенсивності випромінювання при фотолюмінесценції цих речовин, а також високі значення Стоксового зсуву та квантового виходу.

Метою роботи стало: синтезувати чотири 4-заміщених похідних 2'-гідроксихалкону та дослідити їхні оптичні властивості для можливого використання люмінофорів у ЕХЛ-аналізі.

Для цього необхідно було вирішити такі завдання:

- за реакцією альдольно-кетонової конденсації синтезувати чотири 4-заміщених похідних 2'-гідроксихалкону;
- методами колонкової рідинної хроматографії та перекристалізації отримати спектрально чисті сполуки; методами  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопії та хромато-мас-спектрометрії підтвердити структуру синтезованих сполук;
- методами спектрофотометрії та флуориметрії дослідити оптичні властивості синтезованих сполук у розчинах та у кристалічному стані;
- дослідити електрохемілюмінесцентні властивості синтезованих сполук, використовуючи для генерації ЕХЛ-сигналу методи циклічної вольтамперометрії та хроноамперометрії.

## 1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

### 1.1 Явище електрогенерованої хемілюмінесценції

Люмінесценція – явище випромінювання світла без виділення теплової енергії. Явище люмінесценції засноване на переході атома, молекули чи іона зі збудженого стану в основне, при якому відбувається виділення надлишкової енергії електрона у вигляді фотонів. Це називається емісією світла. Речовини, які здатні емітувати світло під дією різноманітних збуджень, називаються люмінофорами [3].

Люмінесценція може бути викликана різними факторами. Якщо світіння відбувається при дії УФ-випромінювання або дією світла з іншим діапазоном довжин хвиль, таке явище називається фотолюмінесценцією (ФЛ). Якщо речовина світиться від струшування або удару, тобто механічної дії, це називатиметься триболлюмінесценцією. Люмінесценція також може виникати за рахунок дії електричного струму (електролюмінесценція, ЕЛ) або хімічної реакції (хемілюмінесценція, ХЛ).

Окрім вище перерахованих видів випромінювання світла, існує також електрохемілюмінесценція, або електрогенерована хемілюмінесценція (ЕХЛ), яка відбувається через дію електрохімічної реакції. Цей вид поєднує у собі ЕЛ і ХЛ, тобто хімічна реакція, в процесі якої формується частинка у збудженому стані, стимулюється електричним струмом.

Історія електрохемілюмінесценції починається у 20-х роках ХХ століття, коли було досліджено залежність емісії світла від напруги, що подається. Одним із перших подібний експеримент було проведено Уайлдером Банкрофтом та Гаррі Вайзером [4], коли ртутний анод вступав у реакцію окиснення з галогенами, що давало випромінювання світла. Явище ЕХЛ стали активно досліджувати у 1960-х рр. [5–7]. У цих роботах розглядалася люмінесценція органічних ароматичних речовин. На сьогоднішній день відомо багато люмінофорів, як органічних, так і неорганічних.

## 1.2 Механізм ЕХЛ

Процес ЕХЛ полягає у собі утворення частинки у збудженому стані з подальшою емісією фотонів. Збуджена частинка формується за рахунок взаємодії двох інших – окисника та відновника (зазвичай це іон-радикали). При цьому відбувається рекомбінація, і в результаті утворюються дві нейтральні частинки, структурно ідентичні реагентам, але з іншою електронною структурою: одна частинка знаходиться у збудженому стані, інша – в основному [8].

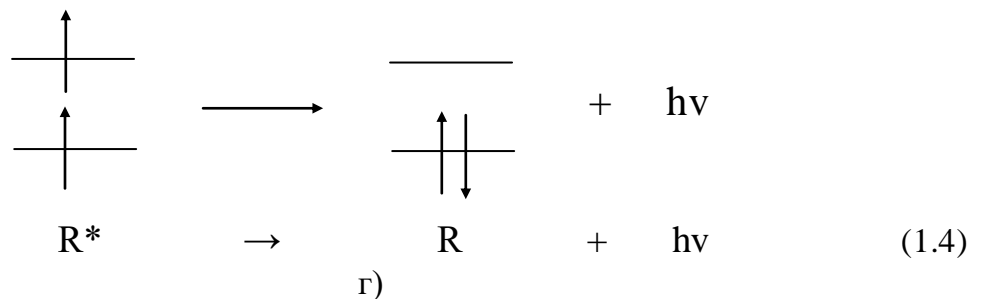
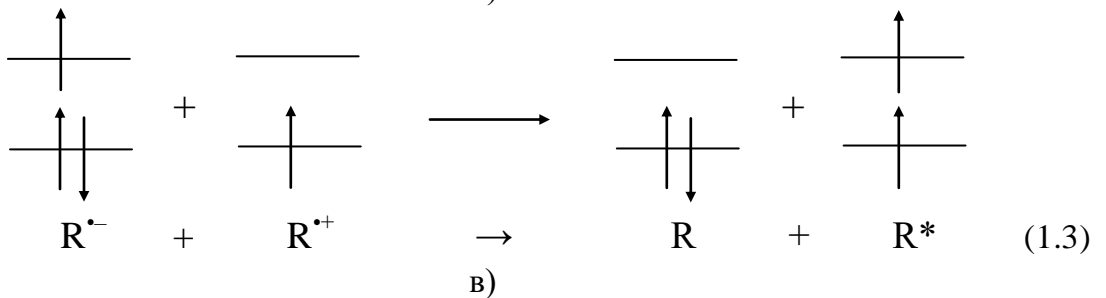
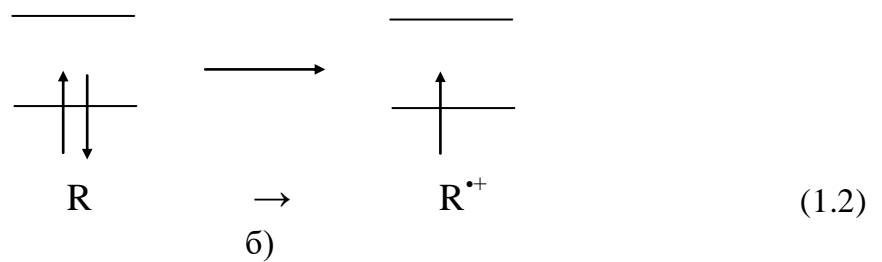
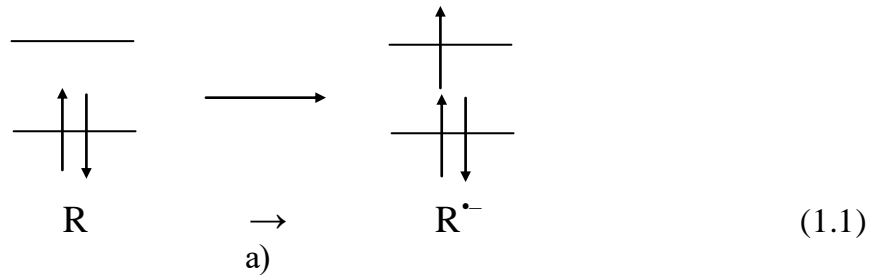


Рисунок 1.1. Загальна схема електрохемілюмінесценції: а) утворення аніон-радикала; б) утворення катіон-радикала; в) утворення частинки у збудженому стані; г) емісія світла при переході в основний стан.

### 1.2.1 Іонна анігіляція

Механізм іонної анігіляції передбачає утворення двох частинок – окисника та відновника (зазвичай це частинки однієї та тієї ж самої речовини, які мають різну електронну структуру), які взаємодіють між собою та утворюють збуджену частинку, що здатна емітувати світло.

Існує два випадки, коли продукується така частинка: коли утворюється молекула у синглетному стані або утворюється молекула у триплетному стані. Перший випадок називається енергійно достатнім, коли енергії частинки вистачає для того, щоб при переході в основний стан вона [частинка] змогла випромінювати світло. Такий шлях утворення збудженої частинки називається S-шляхом. Прикладом такої системи може бути іонна анігіляція іон-радикалів 9,10-дифенілантрацену (ДФА), структурна формула якого зображена на рис. 1.2:



Рівняння (1.5) та (1.6) показують процес утворення на поверхні електродів електронодонорної та електроноакцепторної частинок, які вступають у реакцію іонною анігіляції (1.7), в результаті якої утворюється молекула ДФА у збудженому електронному стані, яка в подальшому переходить в основний стан, випромінюючи фотон (1.8) [9].

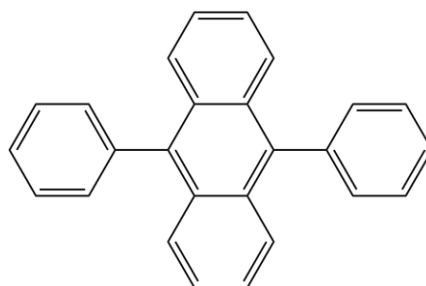
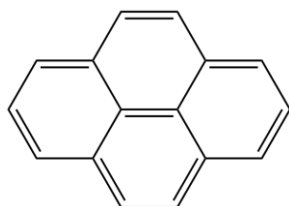
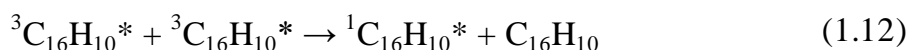
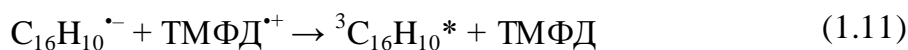
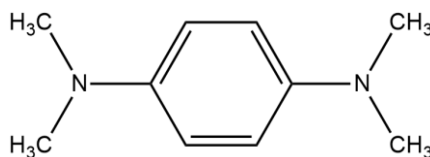


Рисунок 1.2. Структурна формула 9,10-дифенілантрацену.

Іншу ситуацію можна спостерігати, коли частинка знаходиться у триплетному стані, і її енергії не вистачає для емісії світла. У цьому випадку згенеровані шляхом іонної анігіляції частинки взаємодіють між собою, в результаті чого утворюється частинка у синглетному стані, яка здатна емітувати світло. Цей шлях називається Т-шляхом, а тип анігіляції – триплет-триплетним. Т-шлях можна спостерігати, наприклад, у реакції між іон-радикалами  $C_{16}H_{10}$  (пірен, рис. 1.3, а) та ТМФД (N,N,N',N'-тетраметил-пара-фенілендіамін, рис. 1.3, б) [10]:



а)



б)

Рисунок 1.3. Структурні формули пірену (а) та N,N,N',N'-тетраметил-пара-фенілендіаміну (б).

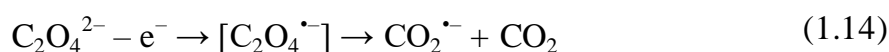
У реакції (1.11) відбувається утворення триплету пірену, який, рекомбінуючи із самим собою, дає молекулу пірену у синглетному стані (1.12), яка й випромінює світло (1.13).

### 1.2.2 Механізм ЕХЛ із використанням співреагенту

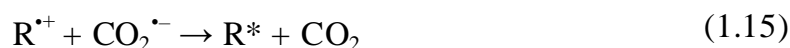
Складність здійснення механізму іонної анігіляції, яка полягає у нездатності генерації люмінесцентних частинок у багатьох розчинниках через недостатньо широкий інтервал потенціалів на робочому електроді [11], побудило вчених

шукати інші шляхи відтворення ЕХЛ. Таким шляхом виявився спосіб із використанням співреагенту – додаткової речовини, яка вступає у реакцію рекомбінації із частинкою люмінофору.

Першою такою речовиною став оксалат-іон [12], що при від’єднанні електрону розпадається на дві частинки: молекулу вуглекислого газу та аніон-радикал оксиду вуглецю (IV), який є досить сильним відновником у водному середовищі:



При реакції  $\text{CO}_2^{\bullet-}$  із катіон-радикалом люмінофору утворюється частинка у збудженому стані:



Прикладом ЕХЛ із використанням співреагенту є взаємодія  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$  – сполук тріс(2,2'-біпіридин)рутенію (II) – із ТПА – трипропіламіном (рис. 1.4, б) [13]. Тріс(2,2'-біпіридин)рутеній (II) (рис. 1.4, а) є найрозповсюдженішим та найбільш вивченим люмінофором у ЕХЛ. При збудженні він дає помітне випромінювання, через що з ним зручно працювати та проводити кількісний аналіз. У той же час, ТПА – найбільш вживаний співреагент у ЕХЛ-аналізі. Через його високу ефективність він є еталоном для визначення ефективності нових співреагентів, що випробовуються та є потенційно робочими.

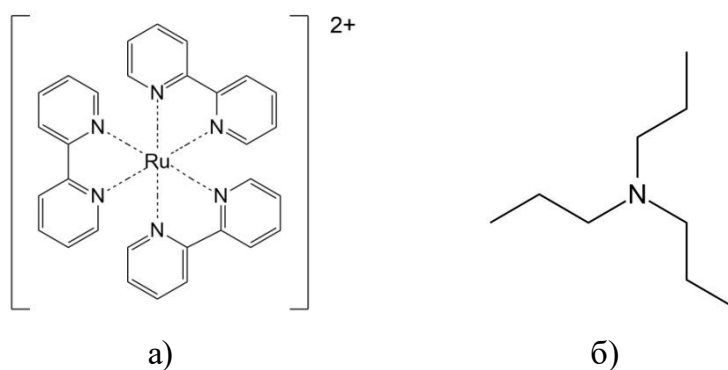


Рисунок 1.4. Структурні формули іону тріс(2,2'-біпіридин)рутенію (II) (а) та трипропіламіну (б).

Незважаючи на відносну легкість проведення подібних дослідів, механізм взаємодії люмінофору зі співреагентом є досить складним, а точніше – різноманітним: реакція люмінофору зі співреагентом може відбуватися за декількома шляхами [14]:

Схема 1

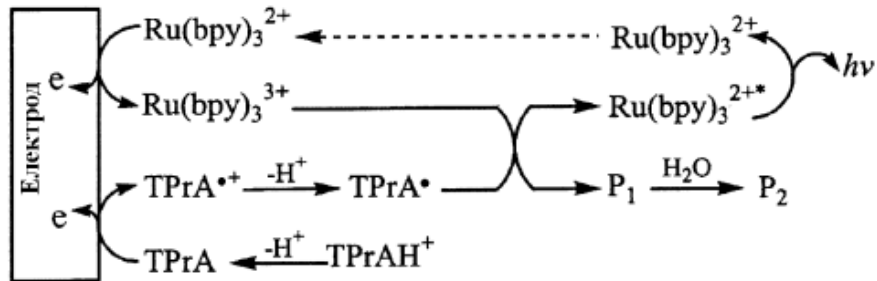


Схема 2

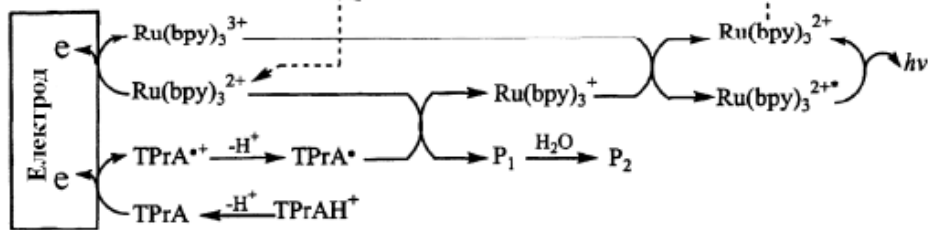


Схема 3

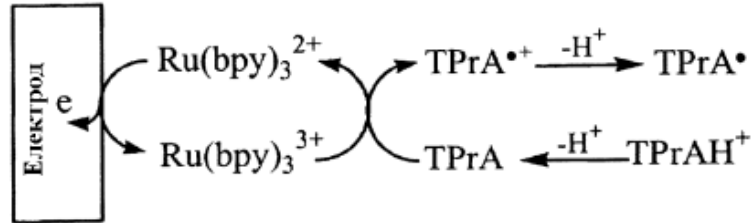


Схема 4

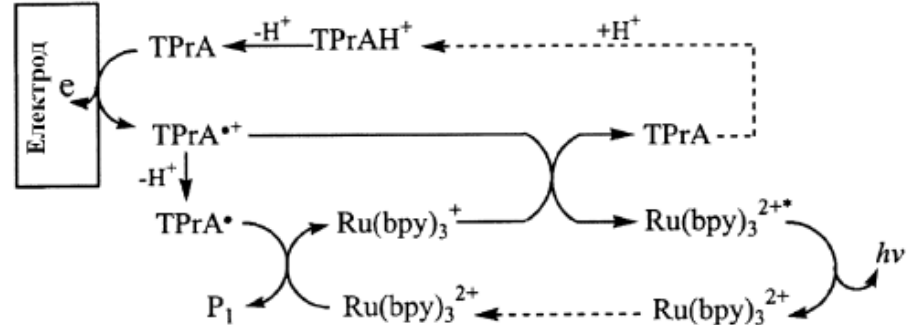


Рисунок 1.5. Схеми реакцій трипропіламіну із  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$   
 $(\text{P}_1 = (\text{C}_3\text{H}_7)_2\text{N}^+=\text{CH}-\text{C}_2\text{H}_5; \text{P}_2 = (\text{C}_3\text{H}_7)_2\text{NH} + \text{C}_2\text{H}_5\text{CHO})$ .

Так, на схемі 1 (рис. 1.5) зображено «класичний» шлях утворення випромінюючої частинки: депротонована форма трипропіламіну окиснюється до

катіон-радикалу, який, віддавши протон, рекомбінує із окисненою формою люмінофору, в результаті чого утворюється частинка-емітер –  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+\bullet}$  – та інші продукти реакції.

На схемі 2 зображено схожий, але більш складний механізм: радикал ТПА реагує з неокисненою формою –  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ , в результаті чого комплексна сполука відновлюється до  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^+$ ; відновлена частинка реагує з окисненою за механізмом іонної анігіляції, і за рахунок цієї взаємодії утворюється збуджена частинка –  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+\ast}$ , яка переходить в основний стан, випромінюючи світло.

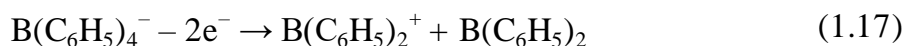
Схема 4 показує, мабуть, найбільш цікавий варіант взаємодії: катіон-радикал ТПА реагує із відновленою формою люмінофору  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^+$ , в результаті чого утворюється іон-радикал  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+\bullet}$ , який як наслідок емітує.

До речі, зі схеми 3 ми можемо побачити, що емісія світла відбувається не завжди: спостерігається рекомбінація, в результаті якої люмінофор повертається до основного стану без випромінювання, у той час як молекула співреагенту стає іон-радикалом, тобто відбувається передача ланцюгу, але без обриву («класичної» взаємодії іонів / іон-радикалів).

При генерації ЕХЛ у присутності ТПА необхідно підтримувати таке значення рН, щоб трипропіламін знаходився у депротонаній формі, але й не вступав у конкуруючі реакції, які б заважали емісії світла. Оптимальне значення рН = 7,5.

До типових співреагентів, що використовуються у дослідах з ЕХЛ, відносяться системи з оксалат- та персульфат-іонами ( $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  та  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$  відповідно), які, до речі, схожі за механізмом дії, а також системи з амінами, зокрема з ТПА, механізм дії якого розглядався вище.

Одним з найпопулярніших співреагентів є тетрафенілборат натрію  $\text{Na}[\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4]$  (ТФБ), який використовувався при виконанні цієї роботи. Аналіз, проведений Девідом Геске на платинових електродах [15], показав, що в ацетонітрилі ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) тетрафенілборат-іон піддається двоелектронному окисненню та подальшій взаємодії із водою з утворенням дифенілборної кислота:



У підкислених розчинах тетрафенілборат-іон існувати не може, адже реагує із кислотою з утворенням трифенілборану:

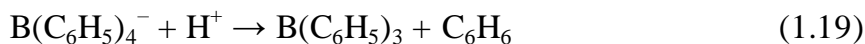
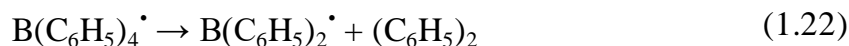
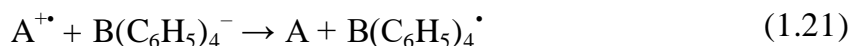
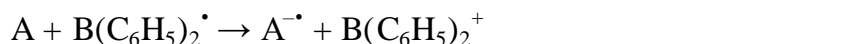


Схема електрогенерованої хемілюмінесценції люмінофору А із ТФБ у якості співреагента виглядає наступним чином [16]:



Утворений радикал реагує як з початковою, так і з окисненою формою люмінофору. У першому випадку генерується аніон-радикал, який потім рекомбінує із катіон-радикалом з утворенням збудженої частинки, що емітує світло:



У другому випадку одразу формується збуджений стан люмінофору, який, переходячи в основний стан, випромінює фотон:



### 1.2.3 Катодна люмінесценція

Інший тип люмінесценції, що суттєво відрізняється від іонної анігіляції та взаємодії зі співреагентом, – катодна люмінесценція, або ЕХЛ на гарячих електронах [17]. Таке явище спостерігається на металевих електродах, вкритих тонкою плівкою (менше 5 нм) цього металу (алюмінію або танталу). Існує три варіанти взаємодії гарячих електронів із люмінофором:

- приєднання до частинки люмінофору з утворенням аніону / аніон-радикалу та подальшою взаємодією з катіоном / катіон-радикалом і генерацією частинки у збудженому стані;
- утворення окисненої форми люмінофору та подальша взаємодія із гарячим електроном та генерацією емітеру ЕХЛ;
- перенос енергії гарячого електрону до люмінофору.

## 1.3 Люмінофори

Як вже було сказано вище, люмінофорами називаються речовини, які здатні випромінювати світло під дією збудження (у випадку ЕХЛ – збудження за рахунок електрохімічної реакції). Такі речовини можуть бути як неорганічного, так і органічного походження.

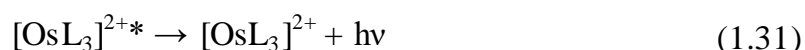
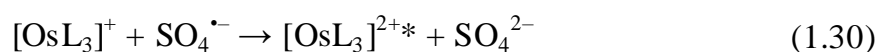
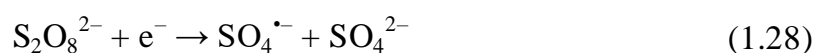
### 1.3.1 Неорганічні люмінофори

До неорганічних люмінофорів відносяться комплексні речовини, зазвичай утворені іонами наступних металів: Ag, Al, Au, Cd, Cr, Cu, Eu, Hg, Ir, Mo, W, Os, Pd, Pt, Re, Ru, Si, Tb, Tl. Також зустрічаються комплекси, де центральним атомом виступає атом кремнію [18].

Першим неорганічним люмінофором, який повинен був показати сутність електрогенованої хемілюмінесценції, був вже відомий нам тріс(2,2'-біпіридин)рутений (II). Він досі є найбільш популярним люмінофором через його особливі властивості:  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$  має високу розчинність як у водних, так і у неводних розчинах, сильну інтенсивність випромінювання та можливість вступати у реакції переносу електрона при легко досяжних потенціалах.

Окрім  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ , є й інші популярні люмінофори на основі рутенію:  $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$  (тріс(1,10-фенантролін)рутений (II)),  $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dmbp})]^{2+}$  (біс(2,2'-біпіридин)-4,4'-диметил-2,2'-біпіридинрутений (II)),  $[\text{Ru}(\text{dmphen})_3]^{2+}$  (тріс(4,7-диметил-1,10-фенантролін)рутений (II)),  $[\text{Ru}(\text{dmbp})_3]^{2+}$  (тріс(4,4'-диметил-2,2'-біпіридин)рутений (II)).

Серед неорганічних люмінофорів найбільш цікаві комплекси платинових металів. Так, широко досліджені були сполуки осмію в якості люмінофору. Одними з перших таких люмінофорів були комплекси  $[\text{Os}(\text{bpy})_3]^{2+}$  та  $[\text{Os}(\text{phen})_3]^{2+}$  [19]. У якості співреагента виступав персульфат-іон, а механізм люмінесценції можна представити наступним чином:



де L – bpy або phen.

Пізніше [20] також досліджувалися й інші комплекси осмію з більш складними лігандами:  $[\text{Os}(\text{bpy})_2\text{diphos}]^{2+}$  (1,2-біс(дифенілфосфіно)етан-біс(2,2'-біпіридин)осмій (II)),  $[\text{Os}(\text{phen})_2\text{dppm}]^{2+}$  (1,2-біс(дифенілфосфіно)метан-біс(2,2'-біпіридин)осмій (II)),  $[\text{Os}(\text{bpy})_2\text{Fc-p}]^{2+}$  (біс(2,2'-біпіридин)-1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероценосмій (II)) та багато інших. Зазвичай досліди із цими комплексами проводяться в ацетонітрилі.

### 1.3.2 Органічні люмінофори

Перелік органічних емітерів набагато ширший за попередній. Перші детально розглянуті досліди були проведені на початку 1960-х рр. із вже відомим нам 9,10-дифенілантраценом [21] та рубреном (9,10,11,12-тетрафенілнафтаценом, рис. 1.6) [22].

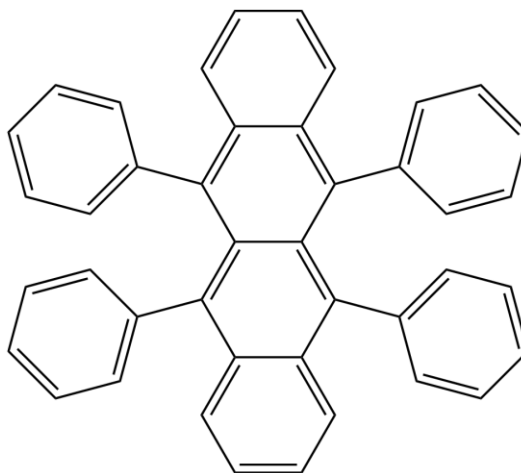


Рисунок 1.6. Структурна формула рубрену.

Перебіг реакції заснований на механізмі іонної анігіляції. Самі ж реакції відбувались у середовищі ДМФА (N,N-диметилформамід).

Порівнюючи різноманітність органічних люмінофорів із такою серед неорганічних комплексів, можна подумати, що в якості емітеру ЕХЛ можна взяти будь-яку органічну речовину. І дійсно, дуже багато органічних сполук можна помістити у ЕХЛ-комірку та отримати позитивний результат. Це можуть бути і різноманітні вуглеводні (як от ДФА чи рубрен), і гетероцикли, наприклад вітаміни чи барвники, і солі органічних кислот, і навіть полімери. У якості люмінофору також можуть виступати і амінокислоти, наприклад триптофан. Робота, виконана випускницею ХНУ ім. В.Н. Каразіна Наталією Лисак, присвячена визначенню вмісту триптофану у лікарських засобах «Амінол» (виробник – «Юрія-Фарм»), «Триптофан» (виробник – «Вансітон») та «Аміновітол» (виробник – «БіоТестЛаб») за допомогою ЕХЛ-аналізу (співреагент – тетрафенілборат натрію, робочий діапазон –  $3,0 \cdot 10^{-7} \div 9,9 \cdot 10^{-4}$  моль/л); за результатами аналізу, тільки у перших

двох препаратах вміст амінокислоти відповідає заявленому, у третьому зразку виявлена кількість триптофану була значно нижчою за заявлену виробником [23].

Класичним органічним люмінофором є люмінол (5-аміно-2,3-дигідро-1,4-фталазиндіон). Перші досліді із люмінесценцією люмінолу були проведені ще у 1920-х рр. Першу докладну роботу було видано у 1954-му році, де ЕХЛ люмінолу виникала на поверхні крапаючого ртутного електрода [24].

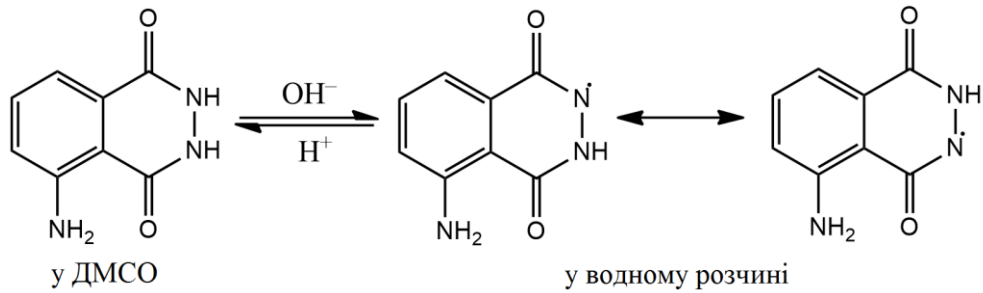


Рисунок 1.7. Структурна формула люмінолу та поведження у різних розчинниках.

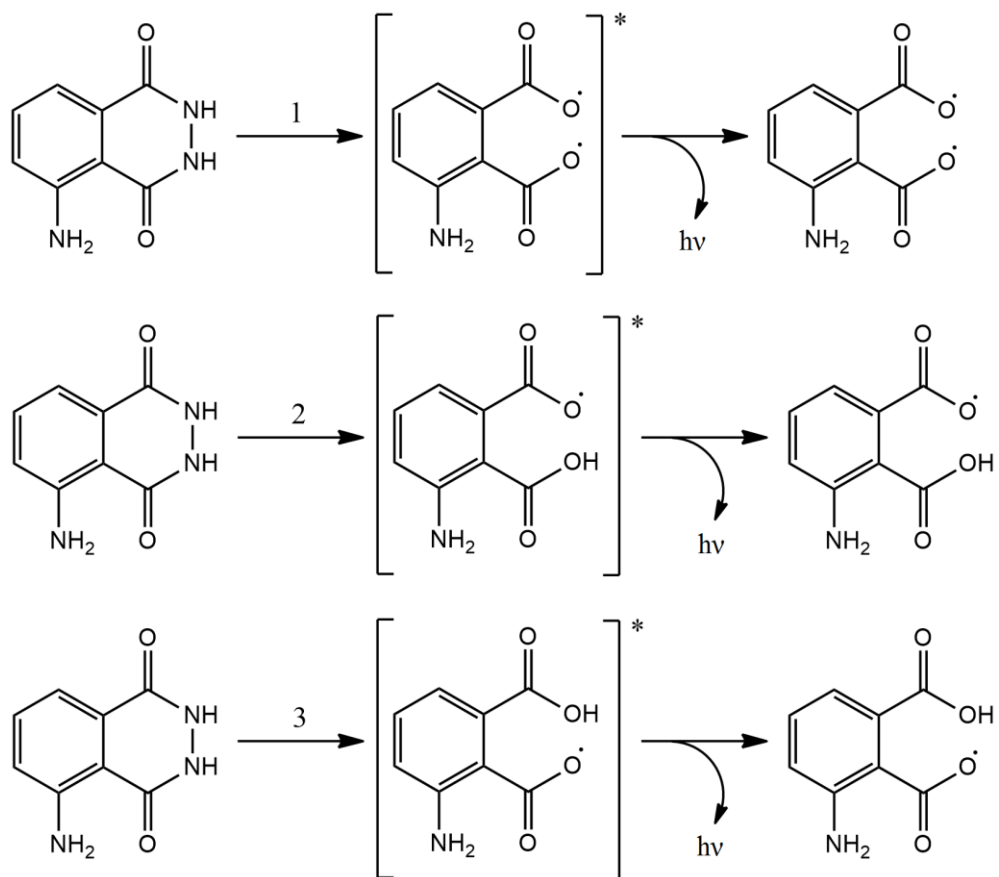


Рисунок 1.8. ЕХЛ люмінолу: 1 – при електроокисненні з / без  $O_2$  /  $H_2O_2$ ; 2 – електроокиснення з наступним відновленням  $O_2$  або навпаки; 3 – електровідновлення з  $O_2$ .

## 1.4 Електрохемілюмінесцентний метод аналізу (метод ЕХЛ)

Як і всі наукові відкриття, метод ЕХЛ повинен був надбати практичного значення. Явище електрохемілюмінесценції виявилось підґрунтям для вельми ефективного методу кількісного аналізу.

Такі методи засновані на механізмі генерації ЕХЛ із співреагентом.

### 1.4.1 Метрологічні характеристики методу ЕХЛ

Метод ЕХЛ відрізняється високою чутливістю та низькими значеннями межі визначення. Згідно теорії, метод настільки чутливий, що може визначити навіть одну молекулу, тобто випромінювання однієї частинки. У 1984 році науковці з Техаського університету (США) провели експеримент, у якому використали тріс(2,2'-біпіридин)рутений (II) в якості люмінофору та оксалат-іон в якості співреагенту. Найменша концентрація  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ , яку вони змогли визначити, склала  $1 \cdot 10^{-13}$  моль/л при робочому діапазоні  $10^{-13} \div 10^{-7}$  моль/л [25].

У іншій роботі розглядалося підвищення ефективності ЕХЛ в системі полі(9,9-диоктилфлуореніл-2,7-дііл)ових полімерних точок, що мають карбоксильні групи, за рахунок гасіння сигналу, який видає побічний продукт – перекис водню; гасником цієї емісії виступає біосенсор – мікроРНК-155, концентрація якої й визначається [26]. У цьому випадку межа виявлення, тобто мінімальна концентрація, яку можна було визначити, склала  $12,2 \cdot 10^{-18}$  моль/л в діапазоні вимірювань від  $5 \cdot 10^{-17}$  до  $10^{-9}$  моль/л.

Окрім високої чутливості, метод ЕХЛ має також високу селективність, тобто аналітичний сигнал може бути прив'язаним до однієї речовини та не залежати від присутності інших сполук. Так, наприклад, був розроблений високоселективний спосіб визначення сульфід-іонів за допомогою ЕХЛ, яка виникає на поверхні модифікованого графітового електроду за рахунок перетворення молекули кисню на пероксид-іон та подальшого утворення збудженої частинки  $\text{S}_2^*$ ,

випромінювання якої підсилюється у присутності родаміну Б. Діапазон концентрацій, в якому проводилося дослідження, становив від  $6,0 \cdot 10^{-10}$  моль/л до  $1,0 \cdot 10^{-8}$  моль/л; межа виявлення  $S^{2-} - 2 \cdot 10^{-10}$  моль/л [27].

Так як метод ЕХЛ представляється як точний та чутливий, то справедливо буде вказати, що досліді, проведені за цим методом, мають мати схожі за значенням результати, тобто від ЕХЛ-аналізу вимагається бути прецизійним, повторюваним. Прецизійність характеризується величиною стандартного відхилення  $s$ , яка у випадку, наприклад, фотолюмінесценції (ФЛ) не перевищує 5% [28], у той час як електрохемилюмінесценція використовує той же самий принцип реєстрації випромінювання, що й ФЛ. Отже, прецизійність методу ЕХЛ залежатиме від електрохімічних процесів, які, в свою чергу, залежать від стану електроду, на якому виникають. Підводячи підсумок, можна сказати, що прецизійність ЕХЛ висока, але обмежена якістю/станом реєстратора та електроду.

#### 1.4.2 Варіанти проведення ЕХЛ-аналізу

Власне, визначення концентрації досліджуваної речовини залежить або від концентрації люмінофору, або від концентрації співреагенту. У першому варіанті майже завжди береться система  $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ /ТПА, за виключенням деяких винятків, де використовуються інші джерела світла, наприклад хелатні сполуки тербію (III) [29]. До цього виду ЕХЛ-аналізу відноситься також і імуноаналіз – найбільш розповсюджений спосіб застосування ЕХЛ-аналізу на практиці. За допомогою сигналу ЕХЛ виявляють ознаки гепатиту, діабету, різноманітних інфекційних захворювань, хвороби Альцгеймера, а також різноманітні біомаркери, як то  $\alpha$ -фетопротеїн, фрагменти іРНК, ракові клітини тощо [18].

Другий варіант ЕХЛ-аналізу також передбачає використання в якості люмінофору  $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ , а у якості співреагенту – трипропіламін та аміни взагалі. Окрім амінів, цей вид ЕХЛ-аналізу залучає також нікотинамідаденіндинуклеотид (НАД), який грає важливу роль у ферментативному аналізі, оксалат-іон та інші співреагенти [30].

Є приклади методик ЕХЛ-аналізу, у яких сам аналіт виступає у ролі співреагента. У якості емітера ЕХЛ, як вже зрозуміло, найчастіше виступає тріс(біпіридин)рутеній, а у якості співреагента може бути цілий список речовин, наприклад спирти, амінокислоти, алкалоїди, солі органічних кислот, структури живих організмів, як то антигени проти ВІЛ [31].

## 1.5 Досліджувані структури – похідні 2'-гідроксихалкону

Серед біосинтетичних сполук дуже багато знаходять своє застосування саме в біохімії та медицині. Одним з таких класів речовин є халкони – похідні 1,3-дифеніл-2-пропен-1-ону.

### 1.5.1 Біосинтез та лабораторний синтез халконів

Біосинтез халконів відбувається у вищих рослин за наступним механізмом: L-фенілаланін, що утворюється внаслідок шикиматного шляху, перетворюється на *n*-кумароїл-СоА через утворення коричної кислоти; у свою чергу, *n*-кумароїл-СоА вступає в реакцію із трьома молекулами малоніл-СоА, активованими внаслідок декарбоксілювання: приєднуючись до молекули *n*-кумароїл-СоА, вони формують ланцюжок з трьох ацильних фрагментів, що циклізується під дією фермента халкон-синтази (рис. 1.9) [32].

В органічному синтезі існує 3 основних шляхи утворення халконів (рис. 1.10) [33]:

- 1) Альдольна конденсація з похідних ацетофенону та бензальдегіду в кислому або лужному середовищі;
- 2) Сполучення Сузукі: з'єднання фенілборонової та коричної кислот під дією паладію в основному середовищі;

3) Сполучення Хека: реакція між ариляльдегідами та похідними стиролу з використанням оксиду вуглецю (II) у присутності паладієвого каталізатору.

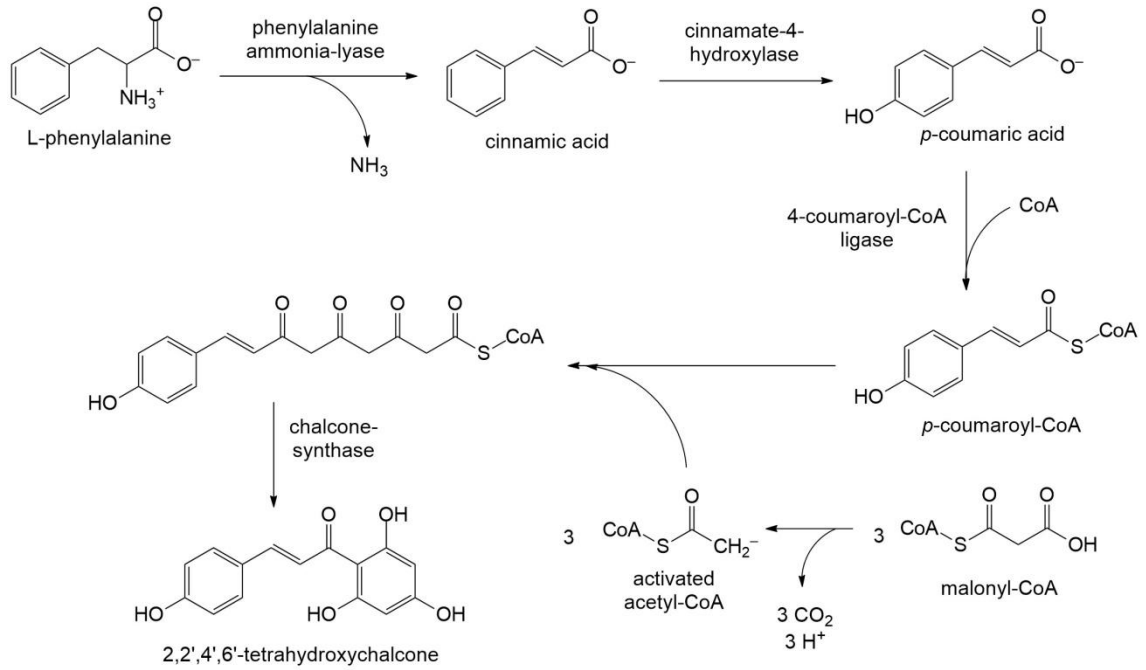


Рисунок 1.9. Схема біосинтезу халконів з L-фенілаланіну.

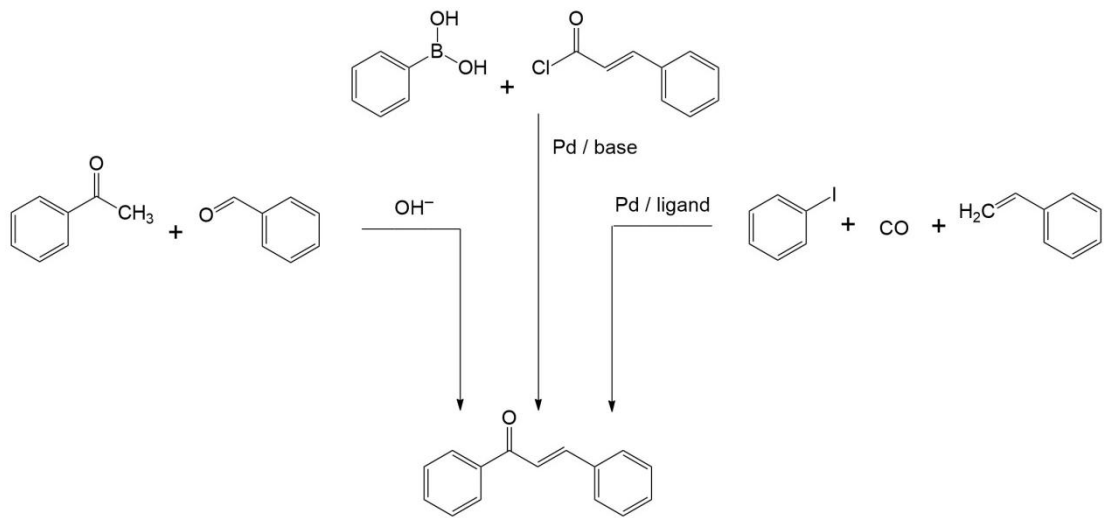


Рисунок 1.10. Основні шляхи синтезу похідних халкону.

### 1.5.2 Застосування халконів

Як вже було сказано, похідні халконів мають чимало галузей для застосування. Одна з них – сільське господарство, де вони застосовуються в якості протигрибкових засобів. Так, наприклад, 2',4'-дигідрокси-3'-метоксихалкон і 2',4'-дигідроксихалкон виявляють фунгіцидні властивості відносно таких видів патогенних грибів, як *Phomopsis longicolla*, *Alternaria alternate*, *Fusarium equiseti*, *F. graminearum*, *F. verticillioides*, *Colletotrichum truncatum* і *Sclerotium bataticola*, окрім того, дані похідні халкону пригнічують зростання видів *P. longicolla* і *C. truncatum* при використанні в концентрації 6,25 мкг/мл. Окрім того, халкони застосовуються також для відлякування комах та боротьби з нематодами – фітогельмінтами [34].

У фармакологічній галузі халкони застосовуються в якості протимікробних, протизапальних та протиалергічних препаратів; також халкони знайшли застосування в якості протипухлинних засобів, у тому числі – проти ракових захворювань []. Більшість халконів, активних щодо онкологічних утворень, діють як цитотоксичні агенти, що блокують процес полімеризації білку тубуліну в структуру мікротрубки. Тубулін представляє собою цитоскелетний білок, який існує як димер  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиниць; мікротрубки, які є результатом полімеризації тубуліну, безпосередньо беруть участь в поділі та підтриманні життєдіяльності клітини, у тому числі онкоклітин. [35]

Також халкони застосовуються в хімічному аналізі. Так, похідні 2'-гідроксихалкону можуть утворювати стабільні комплекси із берилієм та алюмінієм, що дає можливість для гравіметричного аналізу металів у цих комплексах, однак у присутності ЕДТА вміст берилію в пробі можна визначити селективно. Берилій утворює з 2'-гідроксихалконами комплексну сполуку у співвідношенні 1:2 (рис. 1.11), що можна визначити також у присутності іонів  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{V}^{5+}$ ,  $\text{Ti}^{4+}$ ,  $\text{Ce}^{4+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ , а також іонів цирконію і торію [36]. Окрім гравіметричного, відомі також приклади використання 2'-гідроксихалконів у спектрофотометричному аналізі при визначенні вмісту заліза (III) [37] та германію [38].

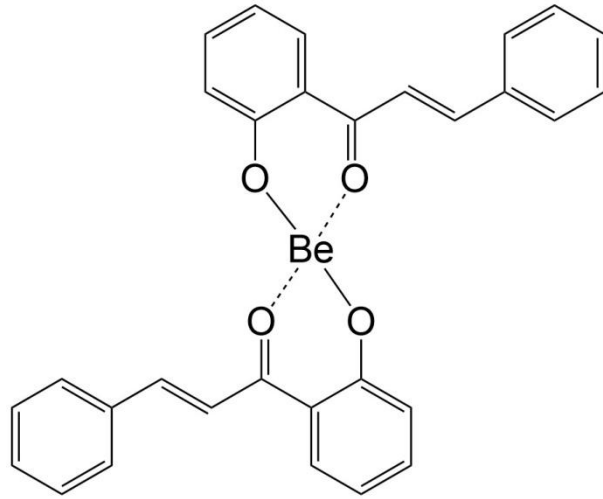


Рисунок 1.11. Комплекс 2'-гідроксичалкону з берилієм.

## 2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

### 2.1 Реактиви, матеріали та обладнання

Реактиви, що використовували під час виконання роботи:

- 1-(2-гідроксифеніл)етанон (2-гідроксиацетофенон): чистота 95%, виробництво ТОВ «НВП “Єнамін”»;
- 4-метоксибензальдегід: чистота 95%, виробництво ТОВ «НВП “Єнамін”»;
- 4-(N,N-диметиламіно)бензальдегід: чистота 95%, виробництво ТОВ «НВП “Єнамін”»;
- 4-морфолінобензальгід: чистота 95%, виробництво ТОВ «НВП “Єнамін”»;
- 1,2,3,5,6,7-гексагідропіrido[3,2,1-*ij*]хінолін-9-карбальдегід: чистота 95%, виробництво ТОВ «НВП “Єнамін”»;
- натрію гідроксид, «х.ч.»;
- калію гідроксид, «х.ч.»;
- кислота оцтова, крижана, «х.ч.»;
- натрію гідрокарбонат, «х.ч.»;
- натрію гідросульфат, «х.ч.»;
- натрію сульфат, «х.ч.»;
- натрію дигідрофосфат, «х.ч.»;
- натрію гідрофосфат, «х.ч.»;
- натрію тетрафенілборат, «х.ч.»;
- полівінілбутираль (PVB; SIGMA ALDRICH);
- натрію тетрафенілборат ( $\text{Na}[\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4]$ ; Fluka, р.ч.  $\geq 99\%$ );
- метанол, «х.ч.»;
- етанол, «х.ч.» ( $\varphi = 96\%$ );
- хлороформ, «х.ч.»;
- етиацетат, «х.ч.»;
- гексан, «х.ч.»;
- дихлорметан, «х.ч.»;

- SiO<sub>2</sub> немодифікований, «х.ч.»;
- шліф-порошок – алюміній оксид (Buchler, Alumina Powders, лінійний розмір частинок – 0,3 мкм).
- дистильована вода.

Обладнання, що використовували при виконанні синтезу сполук:

- колби круглодонні місткістю 100 мл зі шліфом 14/23 мм виробництва «Synthware Glass Inc.»;
- зворотній холодильник зі шліфом 14/23 мм виробництва «Synthware Glass Inc.»;
- мішалка магнітна РІВ-03.2 з термопарою виробництва ТОВ «РІВА-СТАЛЬ»;
- ваги лабораторні електронні з межею зважування 300 г;
- роторний випарювач ІКА RV-3-V виробництва «ІКА-Werke GmbH & Co. KG»;
- колба Бунзена місткістю 100 мл виробництва «SIMAX»;
- фільтр Шотта місткістю 20 мл;
- ділильна воронка місткістю 500 мл виробництва «Synthware Glass Inc.»;
- льодо-спиртова баня;
- стакан хімічний місткістю 250 мл виробництва ТОВ «Стеклоприбор»;
- піпетки градуйовані місткістю 1 та 2 мл 2 класу точності;
- шпателі сталеві.

Обладнання, що використовували для підтвердження структури синтезованих сполук:

- спектрометр «Varian Unity INOVA» при робочій частоті 400 МГц використовували для вимірювання спектрів <sup>1</sup>H-ЯМР (вимірювання проводили співробітники відділу ЯМР-спектроскопії ТОВ «НВП “Єнамін”»);
- рідинний хроматограф «Agilent 1260 Infinity II» з УФ-датчиком ( $\lambda_{\text{випр}} = 215$  та  $254$  нм) та мас-детектором ( $m/z = 150\text{--}450$ ) використовували для вимірювання мас-спектрів речовин (вимірювання проводили співробітники ТОВ «НВП “Єнамін”»).

Обладнання, що використовували для дослідження світлопоглинання та фотолюмінесценції синтезованих сполук:

- спектрофотометр «Specord 210 Plus» використовували для вимірювання спектрів світлопоглинання розчинів сполук (вимірювання проводили в лабораторії ТОВ «НВП “Снамін”») за наступних характеристик приладу:
  - 1) діапазон довжин хвиль: 190–1000 нм;
  - 2) товщина щілини-монохроматора: 1 нм;
  - 3) значення довжини хвилі при зміні лампи: 320 нм;
  - 4) режим вимірювання: сканування;
  - 5) швидкість сканування: 50 нм/с;
  - 6) корекція: стандартна;
- флуориметр «Perkin Elmer LS55» використовували для вимірювання фотолюмінесценції розчинів та сухих речовин в режимі сканування. Використовували кварцові кювети з  $l = 1$  см (вимірювання проводили в лабораторії кафедри аналітичної хімії КНУ ім. Т.Г. Шевченка);
- ваги аналітичні електронні з межою зважування 200 г;
- колби мірні місткістю 50 та 100 мл 2 класу точності;
- піпетки градуйовані місткістю 1 мл 2 класу точності;
- шпателі сталеві.

Обладнання, що використовували при дослідженні ЕХЛ:

- комплекс «ЕЛАН-2», що включає:
  - 1) потенціостат «Autolab PGSTAT128N» (рис. 2.1, а);
  - 2) джерело живлення високої напруги «Hamamatsu Model C9525» (рис. 2.1, а);
  - 3) ФЕП-140 (для «ЕЛАН-2», білужний Sb-K-Cs фотокатод) (рис. 2.1, б);
  - 4) перетворювач струму в напругу (ПЧН) (рис. 2.1, в);
  - 5) світлонепроникний бокс (рис. 2.1, б);
  - 6) балон з аргоном;
  - 7) комірку для ЕХЛ-композиції, що містить: скловуглецевий електрод GC-5 (glassy carbon); платиновий протиелектрод; хлоридсрібний електрод порівняння; капіляр для барботажу;

- аналітичні ваги II класу типу АДВ-200;
- центрифуга (рис. 2.1, г);
- піпет-дозатори «DragonLab» одноканальні місткістю 10–100 та 100–1000 мкл;
- піпет-дозатор «Колор» одноканальний місткістю 1–10 мкл;
- пробірки типу «Епендорф» місткістю 0,2; 1,5; 2,0 мл.



а)



б)



в)



г)

Рисунок 2.1. Обладнання, що використовували під час дослідження ЕХЛ:  
 а) потенціостат «Autolab PGSTAT128N» (знизу) та джерело живлення високої напруги «Hamamatsu Model C9525» (зверху); б) ФЕП-140 та світло непроникний бокс у збірці; в) перетворювач струму в напругу; г) центрифуга.

## 2.2 Методики експерименту

### 2.2.1 Методики синтезу похідних 2'-гідроксисалкону

В основі синтезу лежить реакція альдольно-критонової конденсації між 2-гідроксиацетофеноном та відповідною похідною бензальдегіду у присутності сильної основи (гідроксиду натрію або калію); у результаті реакції утворюється відповідна 4-заміщена похідна 2-гідроксисалкону (рис. 2.1) [39].

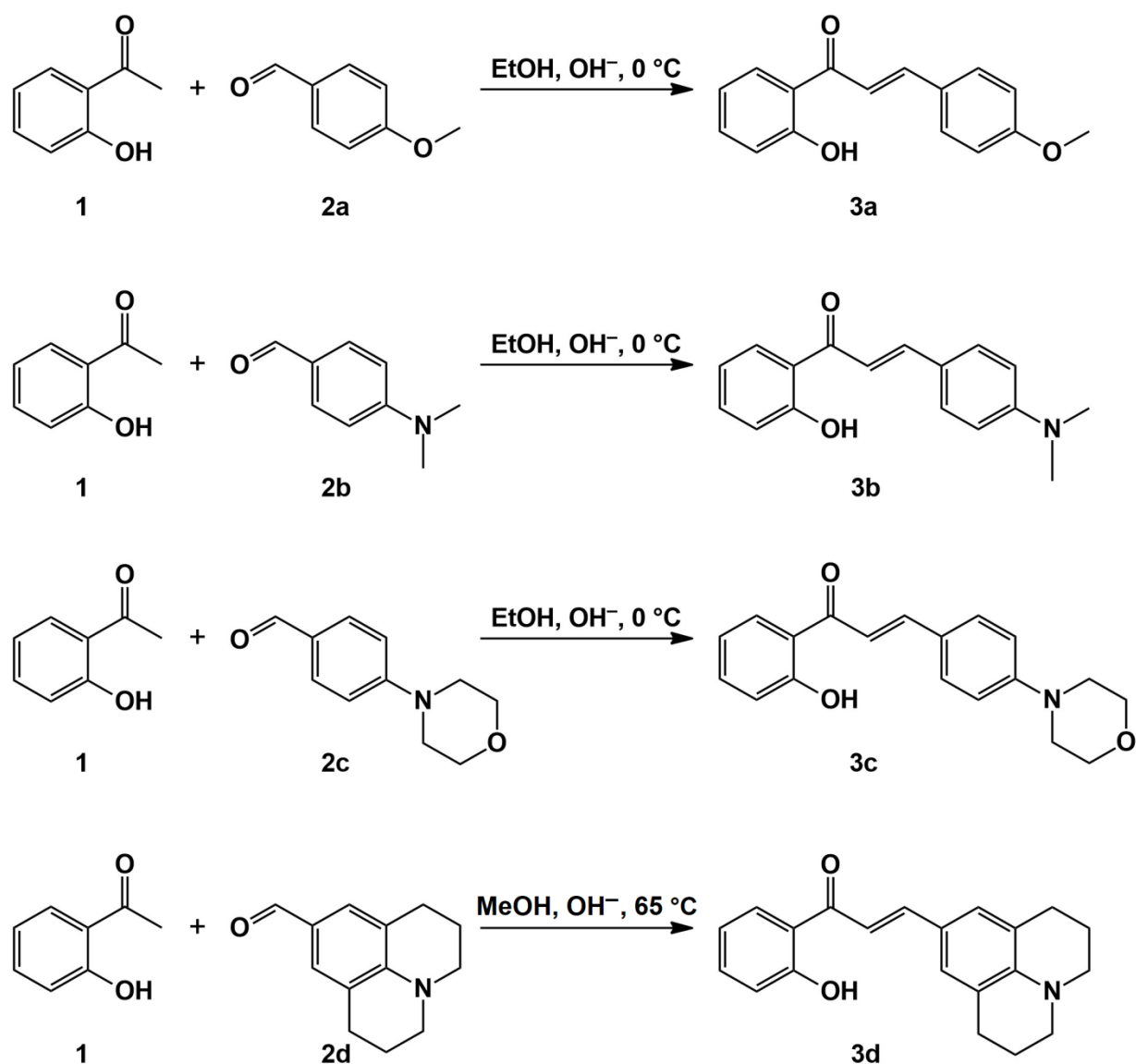


Рисунок 2.2. Схема синтезу 4-заміщених похідних 2'-гідроксисалкону.

**Методика синтезу 2'-гідрокси-4-метоксихалкону (3a):**

11,8 ммоль (3,00 г) 2-гідроксиацетофенону (**1**) та 11,8 ммоль (3,00 г) 4-метоксибензальдегіду (**2a**) розчиняють у 50 мл етанолу, охолоджують за допомогою льодо-спиртової бані до 0 °С та додають 5,0 мл 40%-ого водного розчину NaOH по краплях при інтенсивному перемішуванні. Суміш залишають на 18 годин у закритій колбі, після чого отриманий глинистий залишок поміщують у холодну дистильовану воду та доводять рН розчину до значення 7–8 за допомогою 30%-ого розчину оцтової кислоти. Утворений осад відфільтровують та промивають водою (тричі по 20 мл), перерозчиняють у хлороформі та висушують над сульфатом натрію; розчин відфільтровують від осаду та упарюють до повного видалення розчинника та випадіння осаду.

**Методика синтезу 4-N,N-диметиламіно-2'-гідроксихалкону (3b):**

11,2 ммоль (2,86 г) 2-гідроксиацетофенону (**1**) та 11,2 ммоль (3,00 г) 4-N,N-диметиламінобензальдегіду (**2b**) розчиняють у 50 мл етанолу, охолоджують за допомогою льодо-спиртової бані до 0 °С та додають 4,8 мл 40%-ого водного розчину NaOH по краплях при інтенсивному перемішуванні. Суміш залишають на 18 годин у закритій колбі, після чого отриманий глинистий залишок поміщують у холодну дистильовану воду та доводять рН розчину до значення 7–8 за допомогою 30%-ого розчину оцтової кислоти. Утворений осад відфільтровують та промивають водою (тричі по 20 мл), перерозчиняють у хлороформі та висушують над сульфатом натрію; розчин відфільтровують від осаду та упарюють до повного видалення розчинника та випадіння осаду.

**Методика синтезу 2'-гідрокси-4-морфолінохалкону (3c):**

9,7 ммоль (2,47 г) 2-гідроксиацетофенону (**1**) та 9,7 ммоль (3,00 г) 4-N,N-диметиламінобензальдегіду (**2c**) розчиняють у 50 мл етанолу, охолоджують за допомогою льодо-спиртової бані до 0 °С та додають 4,1 мл 40%-ого водного розчину NaOH по краплях при інтенсивному перемішуванні. Суміш залишають на 18 годин у закритій колбі, після чого отриманий глинистий залишок поміщують у холодну дистильовану воду та доводять рН розчину до значення 7–8 за допомогою 30%-ого розчину оцтової кислоти. Утворений осад відфільтровують та промивають

водою (тричі по 20 мл), перерозчиняють у хлороформі та висушують над сульфатом натрію; розчин відфільтровують від осаду та упарюють до повного видалення розчинника та випадіння осаду.

Методика синтезу 3-(1',2',3',5',6',7'-гексагідропіrido[3',2',1'-ij]хінолін-9-іл)-1-(2''-гідроксифеніл)проп-2-ен-1-ону (**3d**):

6,2 ммоль (1,59 г) 2-гідроксиацетофенону (**1**) та 6,2 ммоль (2,00 г) юлолідинового альдегіду (**2d**) розчиняють у 30 мл метанолу, додали 2,1 г КОН при інтенсивному перемішуванні та нагрівають до 65 °С з використанням зворотнього холодильника. Суміш залишають на 18 годин, після чого охолоджують до кімнатної температури, поміщують у холодну дистильовану воду, підкислюють розчин за допомогою  $\text{NaHSO}_4$  та доводять рН розчину до значення 8 за допомогою  $\text{NaHCO}_3$ . Отриманий розчин заливають у ділительну воронку та екстрагують продукт у хлороформ (тричі по 100 мл). Відділену органічну фазу висушують над сульфатом натрію; розчин відфільтровують від осаду та упарюють до повного видалення розчинника та випадіння осаду.

### 2.2.2 Методика очистки синтезованих сполук

Отримані суміші речовин очищають за допомогою методу колонкової рідинної хроматографії. В якості нерухої фази використовують немодифікований  $\text{SiO}_2$ , в якості елюенту – суміш розчинників етилацетат/гексан у співвідношенні 1 : 8. Суміші попередньо розчиняють в невеликій кількості елюенту та поміщують на змочену цим елюентом нерухому фазу. Виділені фракції упарюють за допомогою роторного випарювача.

### 2.2.3 Методики приготування розчинів

Вихідні розчини досліджуваних сполук **3a–3d** з концентрацією  $5 \cdot 10^{-4}$  моль/л для вимірювання світлопоглинання та фотолюмінесценції готують з наважок, враховуючи, що  $5 \cdot 10^{-5}$  моль сухої речовини розчиняють в 100 мл дихлорметану; робочі розчини досліджуваних сполук з концентрацією  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л готують шляхом розведення вихідних розчинів у 100 разів.

Етанольний розчин полівінілбутиралу (PVB) з масовою концентрацією 10 г/л готують з наважок, враховуючи, що 10 мг полівінілбутиралу розчиняють в 1 мл етилового спирту. Повне розчинення полімеру відбувається приблизно через 48 годин.

Розчин тетрафенілборату натрію  $\text{Na}[\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4]$  з концентрацією 0,01 моль/л готують з наважок, враховуючи, що 3,4 мг  $\text{Na}[\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4]$  розчиняють в 1 мл фосфатного буферного розчину (pH = 6,86).

Вихідні розчини досліджуваних сполук **3a–3d** з концентрацією 0,01 моль/л для вимірювання ЕХЛ готують по наважці, враховуючи, що  $10^{-5}$  моль сухої речовини розчиняють в 1 мл дихлорметану.

Робочі розчини досліджуваних сполук **3a–3d** готують наступним чином:

- готують розчин А: до 20 мкл вихідного розчину люмінофору додають 57 мкл етанольного розчину полівінілбутиралу;
- готують розчин Б: до 10 мкл розчину А додають 140 мл етилового спирту.

Молярна концентрація люмінофору у робочому розчині Б дорівнює  $1,73 \cdot 10^{-4}$  моль/л. В цьому розчині виконується оптимальне співвідношення PVB : EtOH = 1 : 18, необхідне для наступного нанесення полімерної плівки на електрод.

## 2.2.4 Методика підготовки електрохімічної комірки до експерименту

Електрохімічна комірка, що складається з кварцового стакану та кришки з АБС-пластику, містить триелектродну систему (рис. 2.3, а): робочий дисковий скловуглецевий електрод GC-5 ( $d = 3$  мм), запресований у тефлонову оболонку (рис. 2.3, б); платиновий протиелектрод та електрод порівняння (хлоридсрібний електрод, занурений у насичений розчин KCl).

Поверхню робочого електроду обробляють дихлорметаном та етиловим спиртом для розчинення залишків плівки, що могла залишитися від попередніх дослідів, та промивають дистильованою водою. Потім робочу поверхню електроду полірують шліф-порошком та ретельно промивають дистильованою водою.

Підготовлений електрод затискають у ротор центрифуги та наносять на робочу поверхню електроду за допомогою піпет-дозатора 8 мкл робочого розчину люмінофору. У процесі обертання електроду навколо своєї осі із частотою 2000 об/хв утворюється полімерна плівка з люмінофором.



а)



б)

Рисунок 2.3. Електрохімічна комірка для вимірювання ЕХЛ:

а) робочий електрод (червона клема), платиновий протиелектрод (біла клема), електрод порівняння (синя клема); б) зовнішній вигляд дискового скловуглецевого робочого електроду GC-5 ( $d = 3$  мм), запресованого у тефлонову оболонку.

У електрохімічну комірку наливають 2,97 мл етанольного розчину полівінілбутиралу, 0,03 мл розчину співреагента  $\text{Na}[\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4]$  (молярна концентрація солі стає  $10^{-4}$  моль/л); занурюють електроди, у тому числі робочий електрод із нанесеною на нього плівкою. Впродовж 10 хв комірку насичують аргоном, який додають за допомогою капіляру (рис. 2.3, а), для видалення кисню з атмосфери комірки аби запобігти побічним реакціям, що можуть потенційно заважати вимірюванням. По закінченню барботажу капіляр підіймають над поверхнею рідини для запобігання турбулентності в приелектродному просторі робочого електроду, закривають бокс кришкою та починають вимірювання.

2.2.5 Методики дослідження ЕХЛ люмінофорів з використанням методу цикловольтамперометрії (CVAM) та методу хроноамперометрії (СAM)

Дослідження ЕХЛ для всіх люмінофорів проводять за однакових робочих умов до комплексу «ЕЛАН-2» (табл. 2.1 і 2.2).

Таблиця 2.1. Робочі умови для вимірювань за допомогою комплексу «ЕЛАН-2» з використанням методу CVAM.

Характеристика	Значення
Діапазон напруги, що прикладається, В	0 ÷ 1,8
Швидкість сканування, мВ/с	100
Крок сканування, мВ	1,07
Коефіцієнт перетворення, В/мкА	10
Діапазон напруги на ФЕП, В	-1400 ÷ 1400

Таблиця 2.2. Робочі умови для вимірювань за допомогою комплексу «ЕЛАН-2» з використанням методу САМ.

Характеристика	Значення
Значення імпульсного потенціалу, В	1,2
Тривалість стану спокою, с	0,5
Тривалість імпульсу, с	0,5

Таблиця 2.2. Робочі умови для вимірювань за допомогою комплексу «ЕЛАН-2» з використанням методу САМ (продовження).

Характеристика	Значення
Тривалість післясвітіння, с	0,5
Крок сканування, мс	2,5
Діапазон напруги на ФЕП, В	-1400 ÷ 1400

### 2.2.6 Методика обробки результатів вимірювань.

При обчисленні інтенсивності сигналу ЕХЛ враховують рівень фоновому сигналу, який реєструють під час стану спокою системи ( $U = 0$  В).

$$I_{BG} = \frac{\sum_{i=1}^{200} I_{BG,i}}{200}, \quad (2.1)$$

де

$\bar{I}_{BG}$  – середній фоновий сигнал окремого скану («BG» – background), В/мкА;

$I_{BG,i}$  – і-ий фоновий сигнал, В/мкА;

200 – кількість значень фоновому сигналу протягом часу спокою системи

Із середніх значень фоновому сигналу, розрахованих таким чином для всіх сканів серії з 10 послідовних сканів, також брали середнє значення:

$$\langle \bar{I}_{BG} \rangle = \frac{\sum_{i=1}^{10} \bar{I}_{BG,i}}{10}, \quad (2.2)$$

де

$\langle \bar{I}_{BG} \rangle$  – середній фоновий сигнал серії сканів, В/мкА;

$\bar{I}_{BG,i}$  – середній фоновий сигнал і-ого скану в серії, В/мкА.

Значення напівширини довірчого інтервалу для середнього значення розраховували за формулою:

$$\Delta \bar{I}_{BG} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{10} (I_{BG,i} - \langle I_{BG} \rangle)^2}{10 \cdot (10 - 1)}} \cdot t_{f,P}, \quad (2.3)$$

де

$\Delta \bar{I}_{BG}$  – напівширина довірчого інтервалу, В/мкА;

$t_{f,P}$  –  $t$ -критерій Стьюдента при числі ступенів свободи  $f = 9$  і ймовірності

$P = 0,95$ .

Отримане середнє значення фонового сигналу для серії сканів віднімали від кожного окремого значення максимальної інтенсивності в серії для врахування фонового сигналу:

$$I_{\text{true},i} = I_i - \langle I_{BG} \rangle, \quad (2.4)$$

де

$I_{\text{true},i}$  –  $i$ -е істинне значення максимальної інтенсивності ЕХЛ, В/мкА;

$I_i$  –  $i$ -е значення максимальної інтенсивності ЕХЛ без врахування фонового сигналу, В/мкА.

Для 10 розрахованих істинних значень максимальної інтенсивності ЕХЛ також оцінили середнє значення для 3 паралельних серій сканів:

$$\bar{I}_{\text{true}} = \frac{\sum_{i=1}^3 I_{\text{true},i}}{3}, \quad (2.5)$$

де

$\bar{I}_{\text{true}}$  – середнє значення максимальної інтенсивності ЕХЛ для 3 паралельних серій, В/мкА,

та значення напівширини довірчого інтервалу за формулою:

$$\Delta I_{\text{true}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^3 (I_{\text{true},i} - \bar{I}_{\text{true}})^2}{3 \cdot (3 - 1)}} \cdot t_{f,P}, \quad (2.6)$$

де

$\Delta I_{\text{true}}$  – напівширина довірчого інтервалу, В/мкА;

$t_{f,P}$  –  $t$ -критерій Стюдента при числі ступенів свободи  $f = 2$  і ймовірності  $P = 0,95$ .

Для інтегральних величин також були здійснені подібні розрахунки. Для цього фонові сигнали всередині серії були проінтегровані та усереднені:

$$I_{\text{BG,int}} = \int_{t_0}^{t_1} I(t)_{\text{BG}} dt, \quad (2.7)$$

де

$I_{\text{BG,int}}$  – інтегральний фоновий сигнал окремого скану, В·с/мкА;

$I(t)_{\text{BG}}$  – функція інтенсивності фонового сигналу від часу;

$t_0, t_1$  – початковий та кінцевий час стану спокою відповідно, с.

Отримані значення інтегральних фонових сигналів усереднили для серії з 10 послідовних сканів:

$$\langle I_{\text{BG,int}} \rangle = \frac{\sum_{i=1}^{10} I_{\text{BG,int},i}}{10}, \quad (2.8)$$

де

$\langle I_{\text{BG,int}} \rangle$  – середній інтегральний фоновий сигнал серії сканів, В·с/мкА;

$I_{\text{BG,int},i}$  – інтегральний фоновий сигнал  $i$ -ого скану в серії, В·с/мкА;

$$\Delta I_{\text{BG,int}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{10} (I_{\text{BG,int},i} - \langle I_{\text{BG,int}} \rangle)^2}{10 \cdot (10 - 1)}} \cdot t_{f,P}, \quad (2.9)$$

де

$\Delta I_{BG,int}$  – напівширина довірчого інтервалу, В·с/мкА;

$t_{f,P}$  –  $t$ -критерій Стюдента при числі ступенів свободи  $f = 9$  і ймовірності  $P = 0,95$ .

Отримане значення середнього інтегрального фонового сигналу відняли від кожного значення інтегральної інтенсивності ЕХЛ для оцінки істинних значень інтенсивності:

$$I_{int} = \int_{t_0}^{t_1} I(t) dt, \quad (2.10)$$

$$I_{true,int,i} = I_{int,i} - \langle I_{BG} \rangle, \quad (2.11)$$

де

$I_{int}$  – інтегральна інтенсивність без врахування фонового сигналу, В·с/мкА;

$I(t)$  – функція інтенсивності фонового сигналу від часу;

$t_0, t_1$  – початковий та кінцевий час імпульсного потенціалу відповідно, с;

$I_{true,int,i}$  –  $i$ -е істинне значення інтегральної інтенсивності ЕХЛ, В·с/мкА;

$I_{int,i}$  –  $i$ -е значення інтегральної інтенсивності ЕХЛ без врахування фонового сигналу, В·с/мкА.

Для 3 паралельних серій сканів також оцінили середнє значення кожного з 10 послідовних сканів у серії:

$$\bar{I}_{true,int} = \frac{\sum_{i=1}^3 I_{true,int,i}}{3}, \quad (2.12)$$

де

$\bar{I}_{true,int}$  – середнє значення інтегральної інтенсивності ЕХЛ для 3 паралельних серій, В·с/мкА,

та напівширину довірчого інтервалу для цього значення:

$$\Delta I_{\text{true,int}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^3 (I_{\text{true,int},i} - I_{\text{true,int}})^2}{3 \cdot (3 - 1)}} \cdot t_{f,P}, \quad (2.13)$$

де

$\Delta I_{\text{true,int}}$  – напівширина довірчого інтервалу, В·с/мкА;

$t_{f,P}$  –  $t$ -критерій Стюдента при числі ступенів свободи  $f = 2$  і ймовірності

$P = 0,95$ .

## 2.3 Результати та їх обговорення

### 2.3.1 Результати синтезу похідних 2'-гідроксихалкону

Згідно з методикою 2.2.1, у лабораторії органічного синтезу ТОВ «НВП “Єнамін”» було синтезовано чотири похідні 2'-гідроксихалкону (сполуки **3a**, **3b**, **3c** і **3d**). Маса неочищених продуктів склала:

- **3a** – 4,22 г (75%),
- **3b** – 3,21 г (59%),
- **3c** – 4,57 г (91%),
- **3d** – 0,94 г (30%).

Після очистки синтезованих сполук методом колонкової рідинної хроматографії (методика 2.2.2) отримали продукти чистотою 80–90%. Спектрально чисті речовини отримали за допомогою методу перекристалізації: сполуку **3a** перекристалізували з етанолу, сполуки **3b–3d** – із хлороформу.

### 2.3.2 Результати дослідження структури синтезованих сполук

Структуру синтезованих сполук підтвердили за допомогою методів  $^1\text{H}$ -ЯМР- та хроматомас-спектроскопії.

На рис. 2.4 вказана нумерація атомів водню в молекулі 4-заміщеної похідної 2'-гідроксихалкону; в табл. 2.3 наведено значення хімізсувів спектрів  $^1\text{H}$ -ЯМР для сполук **3a–3d**; на рис. 2.5-2.8 наведено  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектри синтезованих сполук.

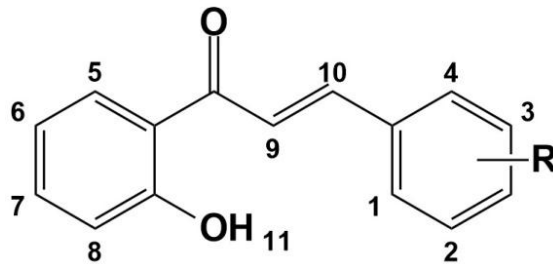
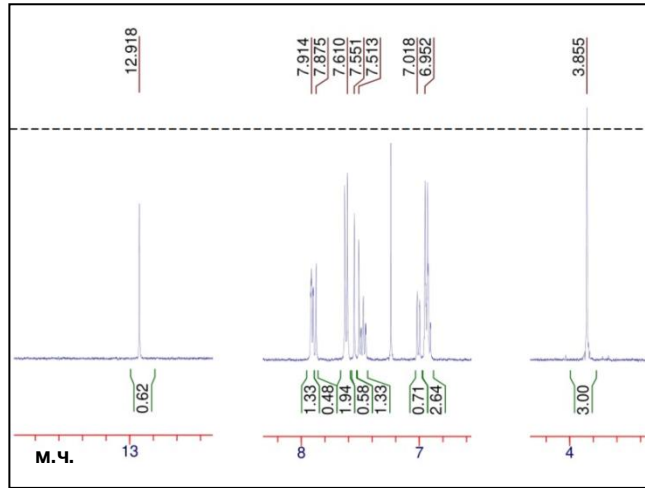
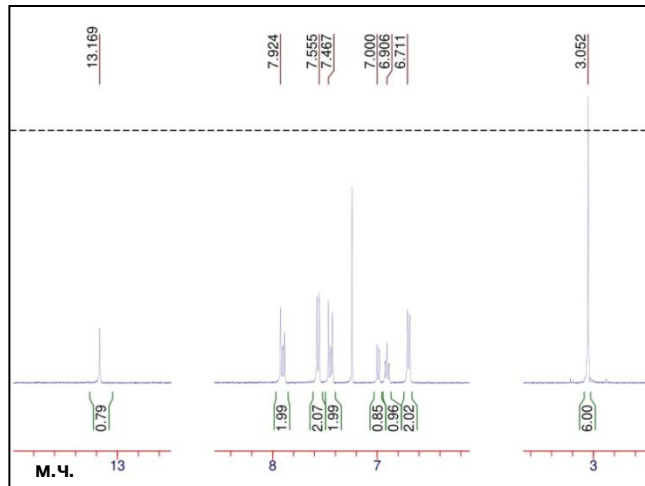
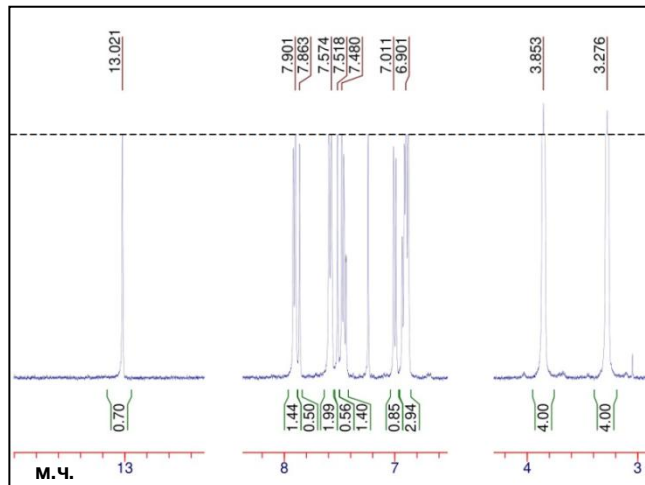
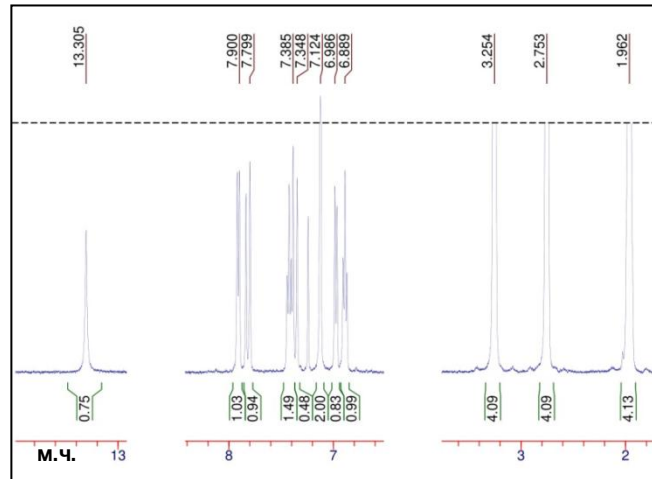


Рисунок 2.4. Нумерація атомів водню в молекулі 4-заміщеної похідної 2'-гідроксихалкону.

Таблиця 2.3. Зведена таблиця характеристичних значень хімічних зсувів спектрів  $^1\text{H}$ -ЯМР для сполук **3a–3d**.

Позиція атому водню	Мультиплетність	$\delta$ , м.ч.			
		<b>3a</b>	<b>3b</b>	<b>3c</b>	<b>3d</b>
H <sub>1</sub>	d	7,61	7,56	7,57	7,12
H <sub>2</sub>	d	6,96	6,71	6,90	–
H <sub>3</sub>	d	6,96	6,71	6,90	–
H <sub>4</sub>	d	7,61	7,56	7,57	7,12
H <sub>5</sub>	d	7,87	7,92	7,90	7,90
H <sub>6</sub>	t	6,95	6,95	6,90	6,89
H <sub>7</sub>	t	7,51	7,47	7,48	7,38
H <sub>8</sub>	d	7,02	7,00	7,01	6,99
H <sub>9</sub>	d	7,55	7,47	7,52	7,35
H <sub>10</sub>	d	7,55	7,92	7,86	7,80
H <sub>11</sub>	s	12,92	13,17	13,02	13,30
Характерні атоми водню	–	3,86 (s)	3,05 (s)	3,28 (t) 3,85 (t)	1,96 (t) 2,75 (p) 3,25 (t)

Рисунок 2.5.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр полуки **3а**.Рисунок 2.6.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр полуки **3б**.Рисунок 2.7.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр полуки **3с**.

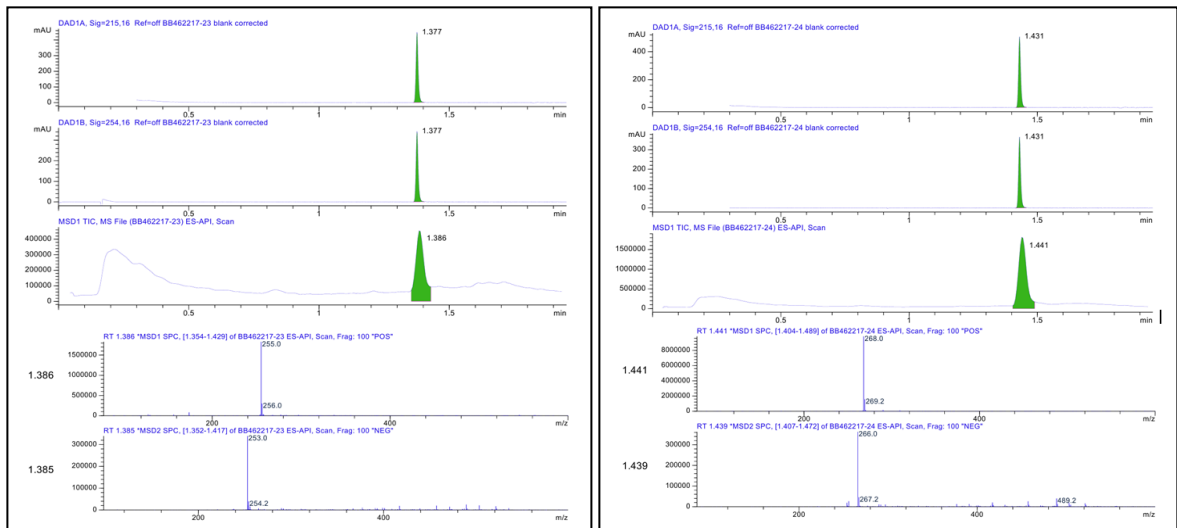
Рисунок 2.8.  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр сполуки **3d**.

Аналізуючи отримані  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектри для сполук **3a–3d**, можна зробити висновок, що якісний склад продуктів відповідає очікуваному, оскільки загальна інтегральна площа піків відповідає кількості атомів водню в речовинах; окрім цього, на зображених ЯМР-спектрах відсутні домішкові піки (окрім піку розчинника – хлороформа), що свідчить про високу чистоту (> 95%) отриманих сполук. Для підтвердження структури продуктів значення хімізсувів порівняли із такими значеннями з літературних даних (табл. 2.4) [40].

Таблиця 2.4. Характеристичні значення хімічних зсувів  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектру для 2'-гідрокси-4-метоксигалкону [40].

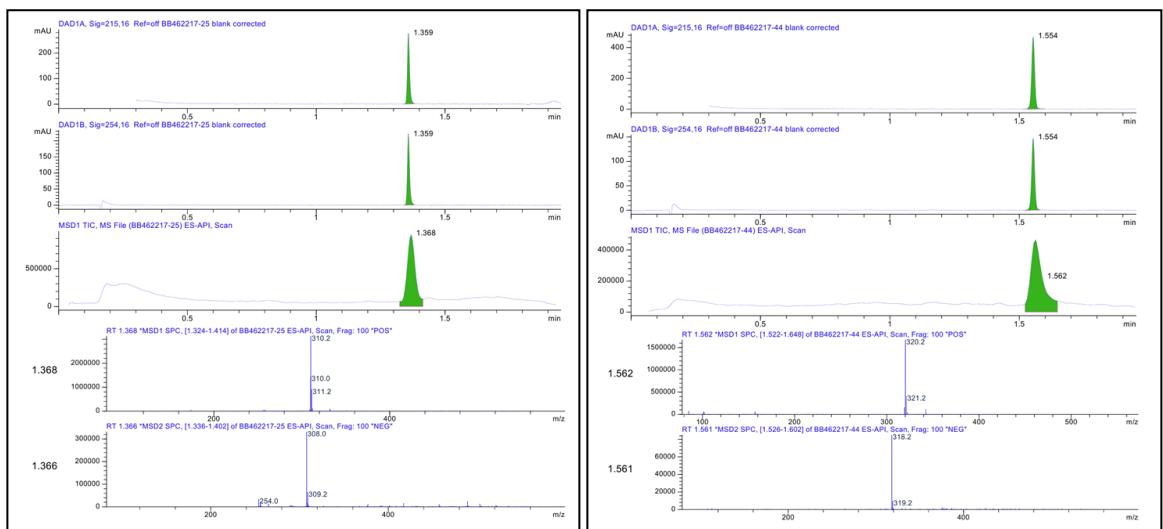
Позиція атому водню	$\delta$ , м.ч	Мультиплетність	Позиція атому водню	$\delta$ , м.ч	Мультиплетність
H <sub><math>\alpha</math></sub>	7,93	d	H <sub>3'</sub>	6,99	d
H <sub><math>\beta</math></sub>	7,83	d	H <sub>4'</sub>	7,55	ddd
H <sub>2</sub>	7,89	d	H <sub>5'</sub>	7,00	m
H <sub>3</sub>	7,04	d	H <sub>6'</sub>	8,26	dd
H <sub>4</sub>	–	–	4-OCH <sub>3</sub>	3,83	s
H <sub>5</sub>	7,04	d	2'-ОН	12,72	s
H <sub>6</sub>	7,89	d			

На рис. 2.9 наведено хроматограми та мас-спектри синтезованих 4-заміщених похідних 2'-гідроксихалкону, оперуючи якими, можна заявити про дуже високу чистоту (близько 100%) отриманих сполук, оскільки на хроматограмах спостерігається лише один пік, у мас-спектрі якого видно лише один молекулярний іон  $[M]$  плюс ізотопний іон  $[M+1]$ , наявність якого зумовлена природним вмістом в органічних речовинах ізоотопу вуглецю-13.



а)

б)



в)

г)

Рисунок 2.9. Хроматограми та мас-спектри 4-заміщених похідних 2'-гідроксихалкону: а) **3a**; б) **3b**; в) **3c**; г) **3d**.

### 2.3.3 Результати дослідження світлопоглинання розчинів синтезованих сполук

Для проведення вимірювання використовували розчини досліджуваних сполук з молярною концентрацією  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л у дихлорметані. Вимірювання світлопоглинання проводили у кварцевих кюветах товщиною  $l = 1$  см; в якості розчину порівняння виступав дихлорметан. На рис. 2.10 наведено спектри поглинання досліджуваних розчинів, в табл. 2.5 – характеристики спектрів.

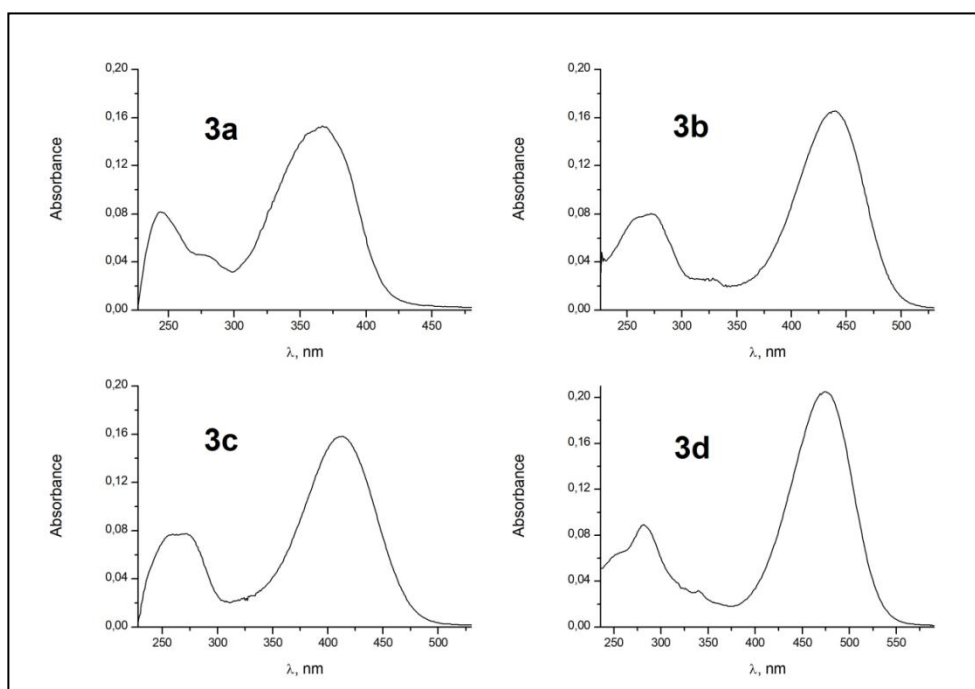


Рисунок 2.10. Спектри поглинання розчинів синтезованих сполук з концентрацією  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л у дихлорметані.

Таблиця 2.5. Значення максимального поглинання розчинів сполук з концентрацією  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л у дихлорметані та значення довжин хвилі, що їм відповідають.

Сполука	$\lambda_{\max,1}$ , нм	$A_{\max,1}$	$\lambda_{\max,2}$ , нм	$A_{\max,2}$
<b>3a</b>	244	0,0817	367	0,1529
<b>3b</b>	272	0,0803	440	0,1654
<b>3c</b>	272	0,0777	413	0,1583
<b>3d</b>	282	0,0894	475	0,2051

Як відомо, положення довгохвильової смуги поглинання залежить від природи замісника у 2'-гідроксихалкону. Наявність більш складного за структурою фрагмента у сполуці **3d** призвела до зсуву більш ніж на 30 нм смуги поглинання та збільшенню її інтенсивності на 30%.

### 2.3.4 Результати дослідження фотолюмінесценції синтезованих сполук

Досліджували люмінесцентні властивості двох розчинів сполук з концентрацією  $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л у дихлорметані та у ацетонітрилі. На жаль, люмінесценцію зафіксувати не вдалося для всіх чотирьох сполук. Збільшення концентрації речовин у 100 разів, зміна характеристик приладу (діапазон вимірювань, ширина вихідної та вхідної щілини) також не дала результатів.

Дослідження люмінесцентних властивостей речовин у твердому стані дало позитивний сигнал. При опроміненні ультрафіолетом навіть візуально спостерігали світіння сполук **3b**, **3c** і **3d** (рис. 2.11).

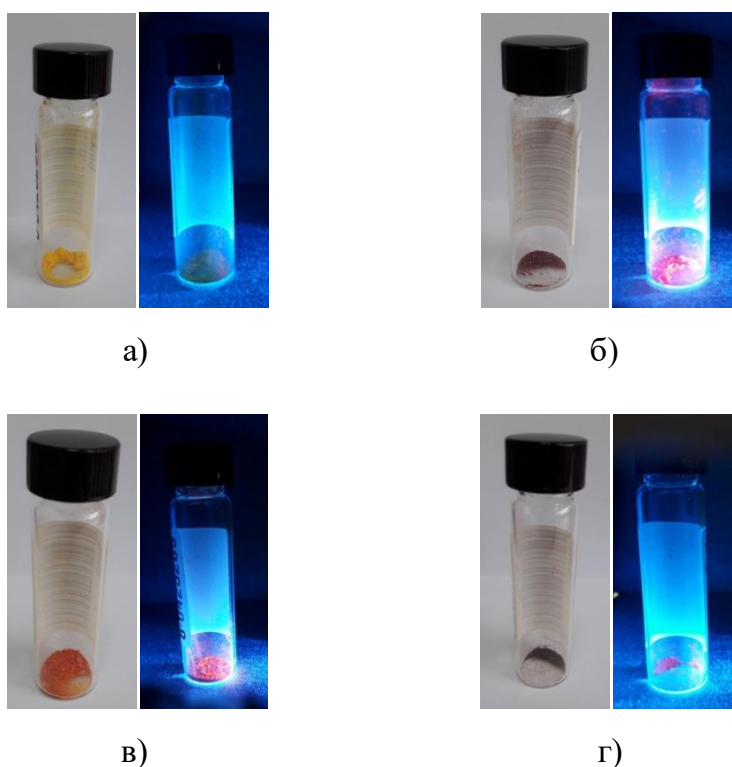


Рисунок 2.11. Зовнішній вигляд 4-заміщених похідних 2'-гідроксихалкону у видимому світлі та при опроміненні ультрафіолетом: а) **3a**; б) **3b**; в) **3c**; г) **3d**.

Результати дослідження фотолюмінесценції синтезованих сполук у твердому стані представлено на рис. 2.12 та в табл. 2.6.

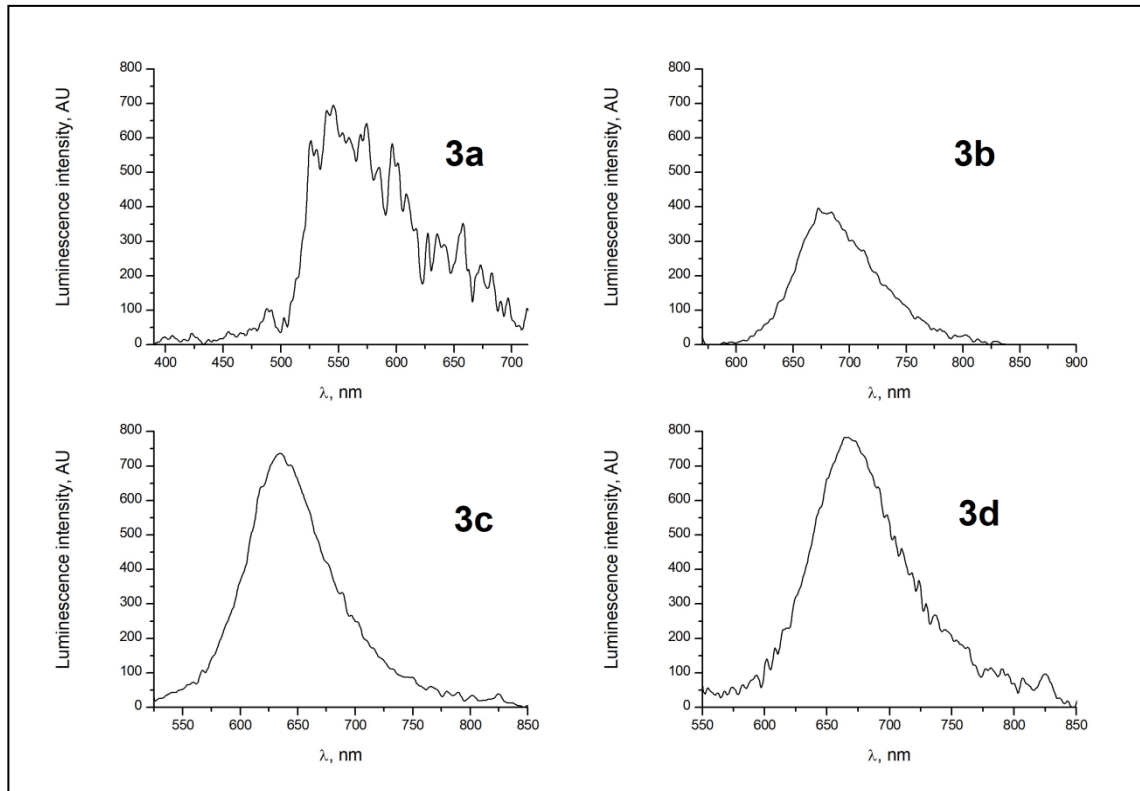


Рисунок 2.12. Спектри фотолюмінесценції (флуоресценції) синтезованих сполук у твердому стані.

Таблиця 2.6. Значення максимальної інтенсивності фотолюмінесценції сполук у твердому стані та значення довжин хвилі, що їм відповідають.

Сполука	$\lambda_{\text{max}}$ , нм	$I_{\text{max}}$ , AU
<b>3a</b>	—	—
<b>3b</b>	672	407,4
<b>3c</b>	636	737,4
<b>3d</b>	665	783,2

Спектр сполуки **3a** виявився неінформативним через автоматичне налаштування чутливості приладу та, як наслідок, завищення шумового сигналу.

На жаль, ми не виміряли спектри поглинання твердих синтезованих сполук, однак відомо, що максимуми смуг поглинання речовин у твердому стані та в

розчині близькі [1]. У такому випадку можна говорити про значний (майже на 200 нм) батохромний Стоксів зсув смуги випромінювання в порівнянні зі смугою поглинання. Інтенсивність сигналу для сполук **3c** і **3d** виявилася майже вдвічі більшою, ніж для сполуки **3b** (таблиця 2.6).

При дослідженні 2'-гідроксихалкону та трьох його 4'-заміщених похідних, що несуть алкілоксигрупи різного розміру, автори роботи [1] теж встановили відсутність флуоресценції для речовин у розчиненому стані та її наявність для цих же речовин у кристалічному стані. На думку авторів, причинами відсутності випромінювання можуть бути наступні фактори:

- інтенсивна релаксація збудженого стану: в основному стані молекули халконів планарні, у том числі за рахунок водневого зв'язку між 2'-гідроксильною та карбонільною групою; у збудженому стані даний Н-зв'язок слабне, і фрагменти молекули починають обертатися відносно один одного, внаслідок чого порушується планарність, тобто спряження делокалізованих  $\pi$ -зв'язків, а енергія переходу  $S_1 \rightarrow S_0$  зменшується;
- інтеркомбінаційна конверсія: через перехід молекулярної орбіталі із синглетного  $\pi\pi^*$ -стану в триплетний  $\pi\pi^*$ -стан енергія релаксації зі стану  $S_1$  в основний також зменшується;
- внутрішньомолекулярне перенесення протона у збудженому стані: основність карбонільної групи забезпечує перехід протона з 2'-гідроксильної групи – тобто фототаутометризацію: утворений фототаутомер має нижчу енергію, внаслідок чого відбувається безвипромінювальний перехід; дане явище характерне для рідкої фази.

Таким чином, було доведено, що синтезовані нами сполуки дійсно є люмінофорами, тобто є підстава для дослідження їх електрохемілюмінесценції.

### 2.3.5 Результати дослідження електрохемілюмінесценції синтезованих сполук

ЕХЛ вимірювали в лабораторії «Аналітичної оптохемометрики» ім. проф. М.М. Рожицького на кафедрі біомедичної інженерії ХНУРЕ (рис. 2.13).



Рис. 2.13. Лабораторія «Аналітичної оптохемометрики» ім. проф. М.М. Рожицького.

Дослідження ЕХЛ проводили при використанні ПЗ «Nova 1.7 Autolab» за допомогою двох методів генерації ЕХЛ-сигналу: цикловольтамперометрії (CVAM) та хроноамперометрії (СAM).

Метод цикловольтамперометрії полягає у прикладанні до протиелектроду комірки лінійно зростаючої та лінійно спадаючої після значення  $U_{\max}$  напруги, тобто збільшення (зменшення) потенціалу поступове і однакове на кожному окремому проміжку часу (рис. 2.14, а).

Метод хроноамперометрії полягає у прикладанні імпульсного (прямокутного) потенціалу, тобто в різкому збільшенні напруги на протиелектроді і, як наслідок, робочому електроді (рис. 2.14, б).

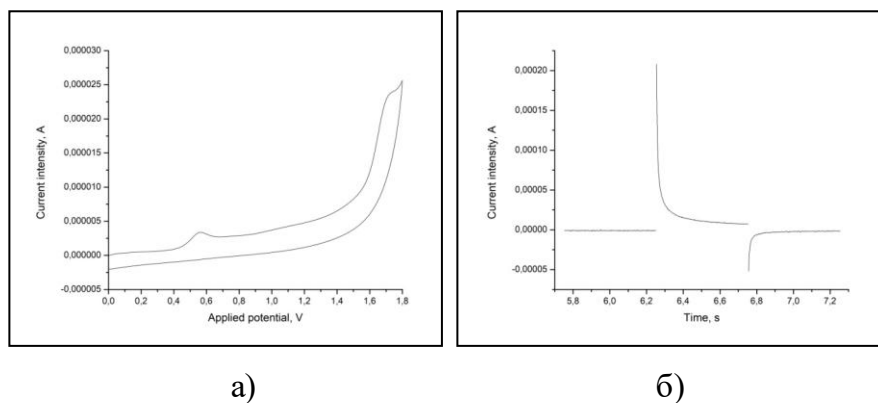


Рисунок 2.14. Графіки залежності сили струму: а) від прикладеного потенціалу (метод цикловольтамперметрії); б) від часу при фіксованому значенні імпульсного потенціалу (метод хроноамперметрії).

У результаті було отримано по 3 паралельні вимірювання ЕХЛ для усіх досліджуваних сполук при використанні методу CVAM; значення сигналу були усереднені між собою. Графічні залежності інтенсивності ЕХЛ від прикладеної напруги для кожного люмінофору представлено на рис. 2.15. Можемо спостерігати невисоку інтенсивність ЕХЛ у сполук **3b–3d** (відношення сигнал-шум не більше 4); сполука **3a** електрохемілюмінесценції за використання методу CVAM не виявила.

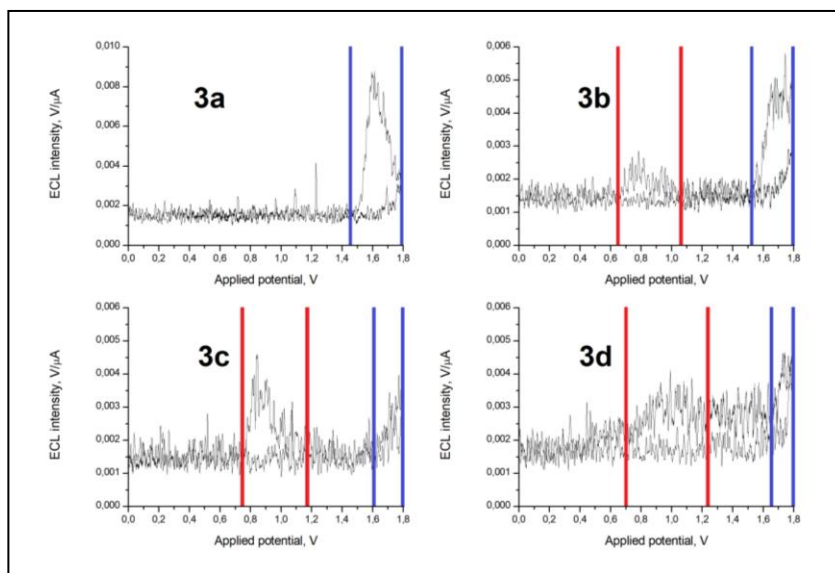


Рисунок 2.15. Залежності інтенсивності ЕХЛ від прикладеної напруги для досліджуваних сполук при використанні методу цикловольтамперметрії: між червоними лініями – область випромінювання люмінофору; між синіми лініями – область випромінювання продуктів перетворення співреагента.

Таблиця 2.7. Значення інтервалу випромінювання та значення максимальної інтенсивності ЕХЛ сполук **3a–3d** за використання методу CVAM.

Сполука	Інтервал випромінювання, В	$I_{\max}$ , В/мкА
<b>3a</b>	–	–
<b>3b</b>	0,65–1,10	0,0026
<b>3c</b>	0,75–1,20	0,0044
<b>3d</b>	0,60–1,25	0,0040

<sup>1</sup> Значення інтенсивності ЕХЛ приведено без урахування рівня фонового сигналу.

У табл. 2.7 наведено значення максимальної інтенсивності ЕХЛ сполук **3a–3d** при використанні методу CVAM та інтервали напруги, що їм відповідають. Отримані значення інтервалів напруги, а точніше – максимальні значення напруги, при яких спостерігається ЕХЛ, є значеннями потенціалу, який можна прикласти до платиного протиелектроду для генерації імпульсного ЕХЛ-сигналу. Для зручності та створення відтворюваних умов експерименту слід прикласти максимальне значення потенціалу, при якому спостерігається спадання (погасання) сигналу ЕХЛ; нами було вирішено задати значення імпульсного потенціалу  $U_{\text{imp}} = 1,2$  В.

У випадку дослідження ЕХЛ люмінофорів з використанням методу хроноамперометрії вимірювання проводили з використанням полімерних плівок люмінофорів. Плівки піддавали дії імпульсного потенціалу без заміни протягом 10 послідовних сканів для перевірки стабільності досліджуваних сполук (за виключенням **3a**, для якого провели 5 послідовних сканів). Між повторними сканами комірку барботували аргоном для видалення кисню та летких продуктів електрохімічної реакції.

Для усіх досліджуваних сполук було отримано по 3 паралельні серії 10 послідовних сканів з використанням подачі імпульсу напруги на протиелектрод. Результати виміру були усереднені між собою.

Значення максимальних та інтегральних інтенсивностей ЕХЛ при використанні методу хроноамперометрії з урахуванням напівширини довірчого

інтервалу та відносного стандартного відхилення  $s_r$  внесено у табл. 2.8 і 2.9 відповідно; графічні залежності при використанні методу хроноамперометрії для кожного люмінофору представлено на рис. 2.15.

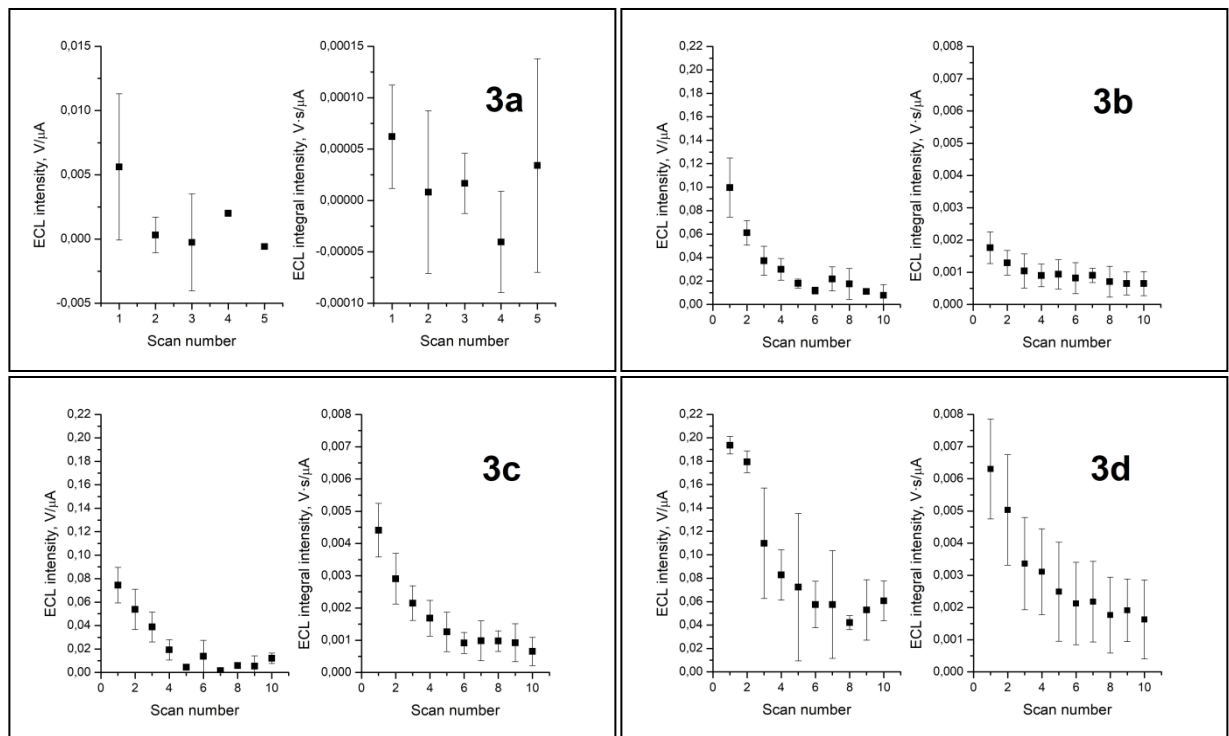


Рисунок 2.16. Залежності інтенсивності ЕХЛ від кількості сканів при використанні методу хроноамперометрії: ліві графіки – залежності максимальної інтенсивності ЕХЛ від номеру скану,  $I_{\text{true,max}}$  – №; праві графіки – залежності інтегральної інтенсивності ЕХЛ від номеру скану,  $I_{\text{true,int}}$  – №.

Як видно із рис. 2.16 та табл. 2.8 і 2.9, (руйнування) люмінофорів у плівці відбувається після 4–5 сканів. На підставі отриманих даних на даний момент важко віддати перевагу якому-небудь електрохімічному методу генерації ЕХЛ (цикловольтамперометрії або хроноамперометрії).

Таблиця 2.8. Значення максимальної інтенсивності електрогенерованої хемілюмінесценції сполук **3a–3d**, що отримані за використанням методу САМ.

№ скану	<b>3a</b>			<b>3b</b>			<b>3c</b>			<b>3d</b>		
	$\bar{I}_{\text{true}}$ , мВ/мкА	$\Delta\bar{I}_{\text{true}}$ , мВ/мкА	$s_r$	$\bar{I}_{\text{true}}$ , мВ/мкА	$\Delta\bar{I}_{\text{true}}$ , мВ/мкА	$s_r$	$\bar{I}_{\text{true}}$ , мВ/мкА	$\Delta\bar{I}_{\text{true}}$ , мВ/мкА	$s_r$	$\bar{I}_{\text{true}}$ , мВ/мкА	$\Delta\bar{I}_{\text{true}}$ , мВ/мкА	$s_r$
1	6	14	1,0	100	62	0,2	74	38	0,2	194	19	0,04
2	0,3	3	4	61	26	0,17	54	43	0,3	179	23	0,05
3	-0,2	9	-15	37	31	0,3	39	32	0,3	110	117	0,4
4	2,0	0,6	0,1	30	23	0,3	19	22	0,4	83	54	0,3
5	-0,6	0,6	-0,4	18	9	0,2	4	6	0,6	72	156	0,9
6	–	–	–	12	7	0,2	14	34	1,0	58	50	0,3
7	–	–	–	22	26	0,5	1,6	3	0,8	58	114	0,8
8	–	–	–	18	33	0,8	6	6	0,4	42	15	0,14
9	–	–	–	11,1	5	0,17	5	22	1,6	53	63	0,5
10	–	–	–	8	22	1,13	12	11	0,4	61	42	0,3

Таблиця 2.9. Значення інтегральної електрогенерованої хемілюмінесценції сполук **3a–3d**, що отримані за використанням методу САМ.

№ скану	<b>3a</b>			<b>3b</b>			<b>3c</b>			<b>3d</b>		
	$\bar{I}_{\text{true,int}}$ , МВ·с/ мкА	$\Delta\bar{I}_{\text{true,int}}$ , МВ·с/ мкА	$s_r$	$\bar{I}_{\text{true,int}}$ , МВ·с/ мкА	$\Delta\bar{I}_{\text{true,int}}$ , МВ·с/ мкА	$s_r$	$\bar{I}_{\text{true,int}}$ , МВ·с/ мкА	$\Delta\bar{I}_{\text{true,int}}$ , МВ·с/ мкА	$s_r$	$\bar{I}_{\text{true,int}}$ , МВ·с/ мкА	$\Delta\bar{I}_{\text{true,int}}$ , МВ·с/ мкА	$s_r$
1	0,06	0,13	0,8	1,8	1,2	0,3	4	2	0,2	6	4	0,2
2	0,01	0,20	10	1,3	1,0	0,3	3	2	0,3	5	4	0,3
3	0,02	0,07	1,8	1,0	1,3	0,5	2,2	1,3	0,2	3	4	0,4
4	-0,04	0,12	-1,2	0,9	0,9	0,4	1,7	1,4	0,3	3	3	0,4
5	0,03	0,3	3	0,9	1,1	0,5	1,3	1,5	0,5	2	4	0,6
6	–	–	–	0,8	1,2	0,6	0,9	0,8	0,4	2	3	0,6
7	–	–	–	0,9	0,6	0,2	1,0	1,5	0,6	2	3	0,6
8	–	–	–	0,7	1,2	0,7	1,0	0,8	0,3	2	3	0,7
9	–	–	–	0,6	0,9	0,5	0,9	1,5	0,6	2	2	0,5
10	–	–	–	0,6	0,9	0,6	0,6	1,1	0,7	2	3	0,8

## ОХОРОНА ПРАЦІ

Усі експерименти з синтезу речовин проводились згідно встановленій інструкції з техніки безпеки, що діє на науково-виробничому підприємстві «Єнамін».

Окрім цього, були дотримані вимоги роботи зі шкідливими речовинами, такі як органічні розчинники, що виявляють токсичні та канцерогенні властивості, можуть викликати подразнення (іританти) та хімічні опіки та/або є пожежо- та вибухонебезпечними: застосовані засоби індивідуального захисту (халат, рукавиці, захисні окуляри), вентиляція (тяги); робочі поверхні вироблені з негорючих матеріалів (кераміка, метал).

При роботі з електричними приладами також було дотримано правил техніки безпеки: перед та під час роботи із технікою перевірялась цілісність корпусу та дротів, відсутність у безпосередній близькості джерел води або органічних розчинників, що можуть призвести до пошкодження техніки або виникнення пожежонебезпечної ситуації.

## ВИСНОВКИ

1. Проведено літературний огляд жерел, що містять інформацію про явище ЕХЛ, його механізми та застосування, а також інформацію про клас сполук халконів, їх синтез та прикладне значення.
2. За реакцією альдольно-котонової конденсації між 2-гідроксиацетофеноном та відповідною похідною бензальдегіду проведено синтез таких сполук:
  - 2'-гідрокси-4-метоксихалкону (**3a**);
  - 4-N,N-диметиламіно-2'-гідроксихалкону (**3b**);
  - 2'-гідрокси-4-морфолінохалкону (**3c**);
  - 3-(1',2',3',5',6',7'-гексагідропіrido[3',2',1'-ij]хінолін-9-іл)-1-(2''-гідроксифеніл)проп-2-ен-1-ону (**3d**).
3. Доказано структуру спектрально чистих синтезованих сполук за допомогою методів <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопії та хромато-мас-спектрометрії.
4. Показано, що положення та інтенсивність довгохвильової смуги поглинання розчинів сполук **3a**, **3b**, **3c**, **3d** у дихлорметані залежить від природи замісника у 4-му положенні молекули 2'-гідроксихалкона.
5. Встановлено, що розчини синтезованих сполук у дихлорметані та у ацетонітрилі не люмінесціюють, однак сполуки **3b**, **3c**, **3d** у кристалічному стані виявляють люмінесцентні властивості.
6. Встановлено, що сполуки **3b**, **3c**, **3d** у полімерних плівках на основі полівінілбутиралу, нанесених на скловуглецевий електрод, дають ЕХЛ-сигнал, згенерований методами цикловольтамперометрії та хроноамперометрії.

Автори виражають глибоку вдячність за активну участь у постановці, проведенні синтезу та обговоренні отриманих результатів професору кафедри хімічного матеріалознавства ХНУ ім. В.Н. Каразіна РОШАЛЮ Олександрю Давидовичу; старшому досліднику кафедри аналітичної хімії КНУ ім. Т.Г. Шевченка ЛИННИКУ Ростиславу Петровичу та старшому науковому співробітнику кафедри органічної хімії ХНУ ім. В.Н. Каразіна ГЛАДКОВУ Євгену Станіславовичу.

За матеріалами роботи опубліковані тези доповіді «Нові 4-заміщені похідні 2'-гідроксихалкону як потенційні люмінофори для ЕХЛ-аналізу» до конференції «ХVІ Хімічні Каразінські читання».

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Скиттл", is centered on a light gray rectangular background.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Serdiuk, I. E., Wera, M., Roshal, A. D. Structural and Spectral Features of 4'-Substituted 2'-Hydroxychalcones in Solutions and Crystals: Spectroscopic and Theoretical Investigations. *J. Phys. Chem. A*. **2018**, *122* (8), 2030–2038.
2. Baig, H., Iqbal, A., Rasool, A., Hussain, S. Z., Iqbal, J., Alazmi, M., AlGhadhban, A., Sulieman, A. M. E., Said, K. B., Rehman, H., Saleem, R. S. Z. Synthesis and Photophysical, Electrochemical, and DFT Studies of Piperidyl and Pyrrolidinyl Chalcones. *ACS Omega*. **2023**, *8* (31), 28499–28510.
3. Казанкин О.Ф., Марковский Л.Я., Миронов И.А., Пекерман Ф.М., Петошина Л.Н. Неорганические люминофоры. — Л.: Химия, 1975. — 192 с.
4. Bancroft, W. D., Weiser, H. B. Flame Reactions, III. *J. Phys. Chem.* **1913**, *18* (9), 762–781.
5. Hercules, D. M. Chemiluminescence Resulting from Electrochemically Generated Species. *Science*. **1964**, *145* (3634), 808–809.
6. Visco, R. E., Chandross, E. A. Electroluminescence in Solutions of Aromatic Hydrocarbons. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86* (23), 5350–5351.
7. Santhanam, K. S. V., Bard, A. J. Chemiluminescence of Electrogenerated 9,10-Diphenylanthracene Anion Radical. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87* (1), 139–140.
8. Бых А.И., Васильев Р.Ф., Рожицкий Н.Н.. Электрохемилюминесценция органических соединений. Итоги науки и техники. Сер. Радиационная химия. Фотохимия. — М.: ВИНТИ, 1979. — Т. 2. — С. 135.
9. Жолудов Ю.Т. Електрохемилюмінесцентні сенсори на основі модифікованих функціональних електродів. Дисертація на здобуття наук. ступ. док. фіз.-мат. наук за спец. 01.04.01 — фізика приладів, елементів та систем, Харківський національний університет радіоелектроніки, Харків, 2021.
10. Tachikawa, H., Bard, A. J. Electrogenerated chemiluminescence. Effect of a magnetic field on the delayed fluorescence and ECL of several systems involving excimers or exciplexes. *Chem. Phys. Lett.* **1974**, *26* (4), 568–573.

11. Adamson, N. S., Theakstone, A. G., Soulsby, L. C., Doeven, E. H., Kerr, E., Hogan, C. F., Francis P. S., Dennany, L. Emission from the working and counter electrodes under co-reactant electrochemiluminescence conditions. *Chem. Sci.* **2021**, *12* (28), 9770–9777.
12. Rubinstein, I., Bard, A. J. Electrogenerated chemiluminescence. 37. Aqueous ECL systems based on tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(2+) and oxalate or organic acids. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103* (3), 512–516.
13. Noffsinger, J. B., Danielson, N. D. Generation of chemiluminescence upon reaction of aliphatic amines with tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(III). *Anal. Chem.* **1987**, *59* (6), 865–868.
14. Miao, W., Choi, J.-P., Bard, A. J. Electrogenerated Chemiluminescence 69: The Tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II),  $(\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+})/\text{Tri-n-propylamine}$  (TPrA) System Revisited – A New Route Involving TPrA<sup>•+</sup> Cation Radicals. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (48), 14478–14485.
15. Geske D. H. The electrooxidation of the tetraphenylborate ion; an example of a secondary chemical reaction following the primary electrode process. *J. Phys. Chem.* **1959**, *63* (7), 1062–1070.
16. Bilash, O. M., Zholudov, Y. T., Rozhitskii, M. M. Electrochemiluminescent detection of labile radical intermediates of electrochemical reactions. *J. Solid State Electrochem.* **2011**, *15* (10), 2127–2131.
17. Ala-Kleme, T., Kulmala, S., Jiang, Q. Generation of free radicals and electrochemiluminescence from simple aromatic molecules in aqueous solutions. *Luminescence*, **2006**, *21* (2), 118–125.
18. Richter, M. M. Electrochemiluminescence. *Chem. Rev.* **2004**, *104* (6), 3003–3036.
19. Bolletta, F., Rossi, A., Balzani, V. Chemiluminescence on oxidation of tris(2,2'-bipyridine)chromium (II): Chemical generation of a metal centered excited state. *Inorg. Chim. Acta*, **1981**, *53*, L23–L24.
20. Abruña, H. D. Electrochemiluminescence of Osmium Complexes. *J. Electrochem. Soc.* **1985**, *132* (4), 842.
21. Visco, R. E., Chandross, E. A. Electroluminescence in Solutions of Aromatic Hydrocarbons. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86* (23), 5350–5351.

22. Hercules, D. M., Lansbury, R. C., Roe, D. K. Chemiluminescence from the Reduction of Rubrene Radical Cations. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88 (20), 4578–4583.
23. Zholudov, Y. T., Lysak, N. M., Snizhko, D. V., Reshetniak, O. O., Xu, G. Electrochemiluminescent analysis of tryptophan in aqueous solutions based on its reaction with tetraphenylborate anion. *Analyst.* **2020**, 145, 3364–3369.
24. Vojtř, V. Chemilumineszenz um die Quecksilbertropfenelektrode. *Collect. Czech. Chem.* **1954**, 19 (5), 868–872.
25. Ege, D., Becker, W. G., Bard, A. J. Electrogenerated chemiluminescent determination of tris(2,2'-bipyridine)ruthenium ion  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  at low levels. *Anal. Chem.* **1984**, 56 (13), 2413–2417.
26. Liu, D., Zhang, X., Zhao, J., Chen, S., Yuan, R. An ultrasensitive sensing platform for microRNA-155 based on  $\text{H}_2\text{O}_2$  quenched hydroxide-dependent ECL emission of PFO Pdots. *Biosens. Bioelectron.* **2019**, 111872.
27. Huang, R., Zheng, X., Qu, Y. Highly selective electrogenerated chemiluminescence (ECL) for sulfide ion determination at multi-wall carbon nanotubes-modified graphite electrode. *Anal. Chim. Acta.* **2007**, 582 (2), 267–274.
28. Левшин Л.В., Салецкий А.М. Люминесценция и ее измерения: Молекулярная люминесценция. — М.: Изд-во МГУ, 1989. — 272 с.
29. Kulmala, S., Suomi, J. Current status of modern analytical luminescence methods. *Anal. Chim. Acta*, **2003**, 500 (1-2), 21–69.
30. Jameison, F., Sanchez, R. I., Dong, L., Leland, J. K., Yost, D., Martin, M. T. Electrochemiluminescence-Based Quantitation of Classical Clinical Chemistry Analytes. *Anal. Chem.* **1996**, 68 (8), 1298–1302.
31. Gudibande, S. R., Kenten, J. H., Link, J., Friedman, K., Massey, R. J. Rapid, non-separation electrochemiluminescent DNA hybridization assays for PCR products, using 3'-labelled oligonucleotide probes. *Mol. Cell. Prob.* **1992**, 6 (6), 495–503.
32. Dao, T. T. H., Linthorst, H. J. M., Verpoorte, R. Chalcone synthase and its functions in plant resistance. *Phytochem. Rev.* **2011**, 10 (3), 397–412.
33. Ugwu, D. I., Ezema, B. E., Okoro, U. C., Eze, F. U., Ekoh, O. C., Edbujor, M. C., Ugwuja, D. I. Syntheses and pharmacological applications of calcones: a review. *Int. J. Chem. Sci.* **2015**, 13 (1), 459–500.

34. Díaz-Tielas, C., Graña, E., Reigosa, M. J., & Sánchez-Moreiras, A. M. Biological activities and novel applications of chalcones. *Planta Daninha*. **2016**, *34* (3), 607–616.
35. Ducki, S. Antimitotic Chalcones and Related Compounds as Inhibitors of Tubulin Assembly. *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2009**, *9* (3), 336-347.
36. Naidu, R. R. 2'-hydroxychalcone as an analytical reagent for beryllium. *Talanta*. **1975**, *22* (7), 614–616.
37. Syamasundar, K. Chalcones as inorganic analytical reagents: Part I. Spectrophotometric investigation of iron 2': 4'-dihydroxy chalcone complex. *Springer India*. **1964**, *59*, 241-250.
38. Syamasundar, K. Chalcones as inorganic analytical reagents: Part III. Spectrophotometric study of the germanium complex with 2', 3', 4'-trihydroxy chalcone. *Springer India*. **1968**, *67*, 90–98.
39. Rammohan, A., Reddy, J. S., Sravya, G., Rao, C. N., Zyryanov, G. V. Chalcone synthesis, properties and medicinal applications: a review. *Environ. Chem. Lett.* **2020**, *18*, 433–458.
40. Yong, Y., Ahn, S., Hwang, D., Yoon, H., Jo, G., Kim, Y. H., Kim, S. H., Koh, D., Lim, Y. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectral assignments of 2'-hydroxychalcones. *Magn. Reson. Chem.* **2013**, *51* (6), 364–370.