

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені В. Н. Каразіна  
**Кафедра органічної хімії**

УДК 541.35

Д о з а х и с т у д о п у с к а ю

Завідувач кафедри

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 р.

Андрій ДОРОШЕНКО

Особливості спектральної поведінки  
4',5-диметоксифлавонолу в протонних розчинниках

Кваліфікаційна робота магістра

II курсу хімічного факультету



**ПАНФІЛОВОЇ МАРІЇ ДМИТРІВНИ**

Науковий керівник

д.х.н., проф. А.О. Дорошенко

ХАРКІВ 2024

## РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота складається з літературного огляду, експериментальної частини, обговорення, висновків та додатків. Загальний обсяг роботи - 41 сторінка, робота містить 16 рисунків та 3 таблиці. Список літературних першоджерел - 81 посилання.

Об'єкт дослідження: спектральна поведінка 4',5-диметоксифлавонолу в протонних розчинниках.

Мета дипломної роботи є встановлення факту екранування карбонільної групи від утворення міжмолекулярних водневих зв'язків похідної флавонолу за рахунок метокси-групи в положенні 5 молекули.

В роботі було розглянуто вплив зовнішніх чинників на спектральну поведінку похідних 3-гідроксифлавонолів: замісників різної природи, рН, розчинників, тощо, зміни у характері перебігу реакції переносу протона при утворенні міжмолекулярних водневих зв'язків. За методикою Альгара-Фліна-Ойамади було синтезовано модельну сполуку, 3-гідрокси-5-метокси-2-(4'-метоксифеніл)-хромон (45MF). Чистоту отриманого зразку було визначено методом рідинної хроматомас-спектрометрії, будову підтверджено за допомогою  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопії. Проведено комп'ютерне моделювання будови, специфічних міжмолекулярних взаємодій і фотофізики досліджуваної молекули з подальшою експериментальною перевіркою отриманих результатів. Встановлено факти інгібування утворення аніонних форм навіть у протонних розчинниках та часткове екранування неподіленої електронної пари карбонільної групи від утворення міжмолекулярних водневих зв'язків.

Ключові слова: 4',5-диметоксифлавонол, синтез похідних 3-ОН-хромону, комп'ютерне моделювання, водневі зв'язки, спектральні властивості, ESPIT.

## ABSTRACT

The qualification work consists of a literature review, experimental part, discussion, conclusions and appendices. The total volume of the work is 41 pages, the work contains 16 figures and 3 tables. List of primary literary sources - 81 references.

Object of research: spectral behavior of 4',5-dimethoxyflavonol in protic solvents.

The aim of the work is to establish the fact of the carbonyl group shielding from the formation of intermolecular hydrogen bonds of the flavonol derivative due to the methoxy group introduction in position 5 of the molecule.

The influence of external factors on the spectral behavior of 3-hydroxyflavonol derivative: substituents of different nature, pH, solvents, etc., changes in the character of the proton transfer reaction during the formation of intermolecular hydrogen bonds was considered. A model compound, 3-hydroxy-5-methoxy-2-(4'-methoxyphenyl)-chromone (45MF) was synthesized using the Algar-Flynn-Oyamada procedure. The purity of the obtained sample was determined by liquid chromatography mass spectrometry, the structure was confirmed by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy. Computer modeling of the structure, specific intermolecular interactions and photophysics of the studied molecule was carried out, followed by experimental verification of the obtained results. The facts of inhibition of the formation of anionic forms even in protic solvents and partial shielding of the lone electron pair of the carbonyl group from the formation of intermolecular hydrogen bonds have been established.

Key words: 4',5-dimethoxyflavonol, synthesis of 3-OH-chromone derivatives, computer modeling, hydrogen bonds, spectral properties, ESPIT.

## Зміст

|                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| СКОРОЧЕННЯ ТА АБРЕВІАТУРИ .....                                                                                                                                       | 5  |
| ВСТУП.....                                                                                                                                                            | 6  |
| 1 ЕСІРТ В МОЛЕКУЛАХ ПОХІДНИХ 3-ГІДРОКСИФЛАВОНІВ ТА ЇХ<br>АНАЛОГІВ (літературний огляд) .....                                                                          | 9  |
| 1.1. Вплив розчинників різної природи на спектри флуоресценції.....                                                                                                   | 10 |
| 1.2. Вплив міжмолекулярних водневих зв'язків на реакцію<br>внутрішньомолекулярного переносу протона в 3-гідроксихромоновому<br>ряду в розчинниках різної природи..... | 11 |
| 1.3. Вплив природи замісників на флуоресцентні властивості 3-ОН-<br>флавіонів .....                                                                                   | 13 |
| 2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА .....                                                                                                                                      | 18 |
| 3 РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ .....                                                                                                                                      | 22 |
| 3.1. Комп'ютерне моделювання .....                                                                                                                                    | 22 |
| 3.2 Експериментальні спектральні дослідження .....                                                                                                                    | 27 |
| ВИСНОВКИ .....                                                                                                                                                        | 34 |
| ПОДЯКИ.....                                                                                                                                                           | 34 |
| СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ПЕРШОДЖЕРЕЛ.....                                                                                                                                  | 35 |

## СКОРОЧЕННЯ ТА АБРЕВІАТУРИ

3-НС - 3-гідроксихромон

3-НФ - 3-гідроксифлавонол

реакція ESIPT - внутрішньомолекулярна реакція фотопереносу протона у електронно-збудженому стані

Н-зв'язки - водневі зв'язки

AIM – теорія атомів в молекулах Р. Бейдера (R.F.W. Bader)

ESIPT – excited state intramolecular proton transfer reaction, реакція внутрішньомолекулярного переносу протона у електронно-збудженому стані

ISC – intersystem crossing, інтеркомбінаційна конверсія

## ВСТУП

Флуоресцентні властивості 3-гідроксохромонів (3-НС) є об'єктом постійного інтересу дослідників в галузі органічної хімії, оптики та біофізики на протязі більш ніж пів-вікової історії цих сполук, завдячуючи особливостям їх фотохімічної поведінки. Похідні 3-НС мають здатність до інтенсивної багатосмугової флуоресценції у видимому та ультрафіолетовому діапазонах при збудженні певними довжинами хвилі. Наявність декількох смуг випромінювання, яка взагалі не є характерною для більшості флуоресцентних молекул, формується за рахунок реакції внутрішньомолекулярного переносу протона у збудженому стані (ESIPT) [1-3], яка приводить до утворення двох добре розділених смуг флуоресценції, одна з них відноситься до так званого нормального ( $N^*$ ), а інша - до таутомерного ( $T^*$ ) збудженого стану. В спектрах поглинання і флуоресценції можуть спостерігатись також і смуги аніонних форм ( $A^*$ ) [4], утворенню яких в протонодонорних або нуклеофільних середовищах сприяє легкість дисоціації гідроксильної групи в положенні 3 молекули. Спектроскопічні параметри обговорюваних смуг у спектрах флуоресценції та зміни у їх відносній інтенсивності багато в чому визначаються будовою 3-гідроксихромонового хромофора, це надає сполукам хромонового ряду широкі можливості аналітичного використання в різних галузях. Багато похідних 3-гідроксихромонів були синтезовані та запропоновані як флуоресцентні зонди для моніторингу полярності середовища, координації іонів металів та електричних полів. В певних умовах подібні молекули можуть демонструвати фотохімічну активність, яка передбачає, зокрема, утворення оксіранових похідних.

3-гідроксихромони також використовувалися як важливі субстрати для синтезу потенційно фотореактивних молекул, які при фото-опроміненні утворюють поліциклічні продукти непередбачуваної структури.

В кваліфікаційній роботі розглянуто хімічну будову похідних 3-гідроксохромону, механізм формування їх спектрів флуоресценції, а також їх застосування в різних галузях, таких як біомедицина, матеріалознавство, сенсорна та органічна електроніка

3-гідроксохромони та їх похідні, являють собою клас ароматичних сполук, що містять карбонільну і гідроксильну групи єнольної природи, які входять до складу оксигенвмісного шестичленного гетероциклу і зв'язані внутрішньомолекулярним водневим зв'язком [5]. Ці компоненти відіграють ключову роль у формуванні багатосмугових спектрів флуоресценції. Це відбувається тому, що наявність в структурі молекули розташованих у безпосередній близькості протондонорної та протоноакцепторної групи дозволяють 3-гідроксихромонам реалізувати внутрішньомолекулярну реакцію

(фото)переносу протона (ESIPT), яка багато в чому й забезпечує їхні оптичні властивості. Завдяки особливостям своєї спектральної поведінки 3-гідроксихромони викликають чималий науковий інтерес в хімічних, біохімічних та біологічних дослідженнях, об'єктом яких є різноманітні прояви їх флуоресценції. Сукупність особливостей будови молекул цих сполук та їх флуоресцентних властивостей забезпечує їм широке застосування в аналітичній хімії, екологічному аналізі, біології та медицині, перш за все, як оптичних зондів широкої сфери застосування. Слід відзначити, що люмінесцентні властивості сполук 3-гідроксихромонового ряду можуть змінюватись в залежності від замісників в молекулі та природи навколишнього середовища.

Серед різноманіття класів сполук, здатних до реакції внутрішньо-молекулярного фотопереносу протона, найбільш популярними та найбільш широко вивченими є такі похідні 3-гідроксихромонів, як 3-гідроксифлавоноли (ЗНФ) [5]. Вони дійсно є унікальним випадком молекулярних систем, до складу яких входить високо кислотна протондонорна гідроксильна ОН-група єнольної природи ( $C=C-OH$ ), яка може вважатись однією з найсильніших кислотних груп незаряджених органічних сполук. У той же час, протонакцепторна карбонільна група хрому внаслідок  $\pi$ -кон'югації демонструє незвично високу основність серед кетонів з сусідніми високо поляризованими вуглецевими зв'язками  $C=C$  [6]. Обидві представлені функціональні групи значно збільшують свою відповідно кислотність ( $-OH$ ) і основність ( $>C=O$ ) в нижньому синглетному збудженому стані, що є головною умовою для їх участі в реакції переносу протона у збудженому стані в існуючій «нормальній формі»  $N^*$ . В результаті утворюється продукт реакції ESIPT - форма  $T^*$ , яка має назву «фототаутомер», вона випромінює флуоресценцію в більш довгохвильовому діапазоні і має аномально високий Стоксів зсув, який відраховується від довгохвильового максимуму в ультрафіолетовому спектрі поглинання до максимуму смуги флуоресценції форми  $T^*$  [7]. Це пов'язано з тим, що фототаутомерна форма є нестабільною в основному стані через швидку реакцію зворотного переносу протона. Для незаміщеної молекули 3-гідроксифлавонола можна спостерігати лише малоінтенсивні смуги випромінювання у фіолетовому діапазоні для нормальної форми  $N^*$  та смуги флуоресценції зеленого кольору для таутомерної форми  $T^*$  в більшості чистих та змішаних розчинниках, з можливістю регулювання співвідношення інтенсивностей смуг  $N^*/T^*$  різними зовнішніми факторами, наприклад: температурою [8], наявністю катіонів металів [9-10], органічних/біоорганічних сполук [11-12], міцел [13-15], клітинних мембран [16-18], тощо [19].

Застосування співвідношення інтенсивностей смуг  $N^*/T^*$  (яка регулюється, насамперед, швидкістю реакції фотопереносу протона [20-21]) як

аналітичного параметра, що не залежить від інтенсивності збудження, привело до появи групи раціометричних (від англійського слова *ratio*, що означає співвідношення) методів флуоресцентного детектування [22-24], у які були залучені декілька хімічно модифікованих 3-гідроксифлавонів. Їх синтезують в лабораторіях по всьому світу протягом останніх десятиліть для вирішення важливих експериментальних завдань у галузях фармацевтичної, аналітичної, екологічної, біофізичної, медичної хімії, тощо. Багатосмугові флуоресцентні барвники продукують низку незалежних аналітичних сигналів на основі положення, інтенсивності, часу згасання флуоресценції та їх взаємних комбінацій (тільки один із яких – співвідношення інтенсивностей  $N^*/T^*$ ). Це дозволяє отримати додаткову інформацію про досліджувані системи та підвищує значущість флуоресцентних 3-гідроксофлавонових барвників як сучасних аналітичних інструментів хімічного зондування та хімії матеріалів. Проводились також експерименти з використанням 3-гідроксифлавонолів як основи активних середовищ фотохімічних лазерів з переносом протону [25].

Основною перевагою 3-гідроксихромонів як флуоресцентних зондів є формування кількох незалежних аналітичних сигналів від однієї молекули, які є віддзеркаленням різних параметрів досліджуваного об'єкта/середовища одночасно [26]. Можливо збільшити кількість аналітичних сигналів шляхом введення додаткових сайтів переносу протона в молекулі зонду. Можливість перенаправлення реакції ESIPT на проходження в різних альтернативних напрямках [27-29] може привести до появи додаткових смуг флуоресценції фототаутомерних форм, що, в свою чергу, дозволить побудувати додаткові співвідношення інтенсивності смуг випромінювання, наприклад,  $T_1^*/N^*$  та  $T_2^*/N^*$ . Це збільшує кількість інформаційних каналів, по яким зонд надає інформацію про стан навколишнього середовища.

В одній з недавніх публікацій нашої дослідницької групи [30] було показано, що з усієї сукупності специфічних взаємодій флавонольних зондів з молекулами свого найближчого оточення [31-32], найбільший вплив становлять міжмолекулярні водневі зв'язки за неподіленою електронною парою карбонільного атому оксигена, яка не приймає участі у внутрішньомолекулярному водневому зв'язку з 3-ОН групою. В даному дослідженні було висунуте припущення, що утворенню подібних водневих зв'язків можна завадити [33], вводячи в положення 5 об'ємні замісники, наприклад, алкільні або алкоксильні групи. Для перевірки цієї гіпотези була синтезована 5-метокси похідна флавонолу (4',5-диметоксифлавонол), яка й стала предметом даної кваліфікаційної роботи.



## 1 ESИРТ В МОЛЕКУЛАХ ПОХІДНИХ 3-ГІДРОКСИФЛАВОНІВ ТА ЇХ АНАЛОГІВ (літературний огляд)

Реакція внутрішньомолекулярного переносу протона була вперше досліджена в роботах А. Велера на прикладі саліцилової кислоти та її естерів [34-35]. В подальшому цей феномен був досліджений і для інших класів органічних сполук, але на даний момент найбільш популярними ESИРТ-системами є похідні 3-гідроксихромону/3-гідроксифлавону.

Одними з перших досліджень флуоресцентних властивостей 3-гідроксифлавонів є роботи П.К. Сенгупти та М. Каші починаючи з 1979 р., наприклад, [5], в яких приведено дослідження флуоресценції молекул природних флуоресцентних барвників, 3-гідроксифлавону і кверцетину, які в охолоджених розчинах та при кімнатній температурі виявляли флуоресценцію від яскраво-жовтого до жовто-зеленого кольору, однак мали пік смуги у електронному спектрі поглинання приблизно при 350 нм. Було з'ясовано, що люмінесценція у жовто-зеленій області спектру в цих молекулах походить з таутомерної форми вихідної молекули, яка утворюється в результаті переносу протона в синглетному збудженому стані через невисокий потенційний бар'єр у потенціалі водневого зв'язку з подвійним мінімумом. В результаті подальших досліджень виявилось, що реакція переносу протона відбувається згідно емпіричному правилу, відповідно до якого перехід у основний стан, що супроводжується флуоресценцією, відбувається з найнижчого коливального підрівня електронного рівня  $S_1$  [36]. Також було виявлено, що перехід від звичайної флуоресценції до флуоресценції таутомерної форми з переносом протона дуже сильно залежить від в'язкості розчинника, а наявність міжмолекулярних водневих зв'язків із розчинником може запобігти таутомерізації, тобто гальмувати реакцію переносу протона [37]. Також на умови для реакції ESИРТ негативно впливає дейтерування розчинника [38].

Процес фотопереносу протона носить адіабатичний характер [21], що приводить до появи мінімум двох смуг поглинання у органічних гетероароматичних сполук з внутрішньомолекулярним водневим зв'язком в нейтральних розчинниках, що є відмінною рисою їх від інших органічних флуорофорів.

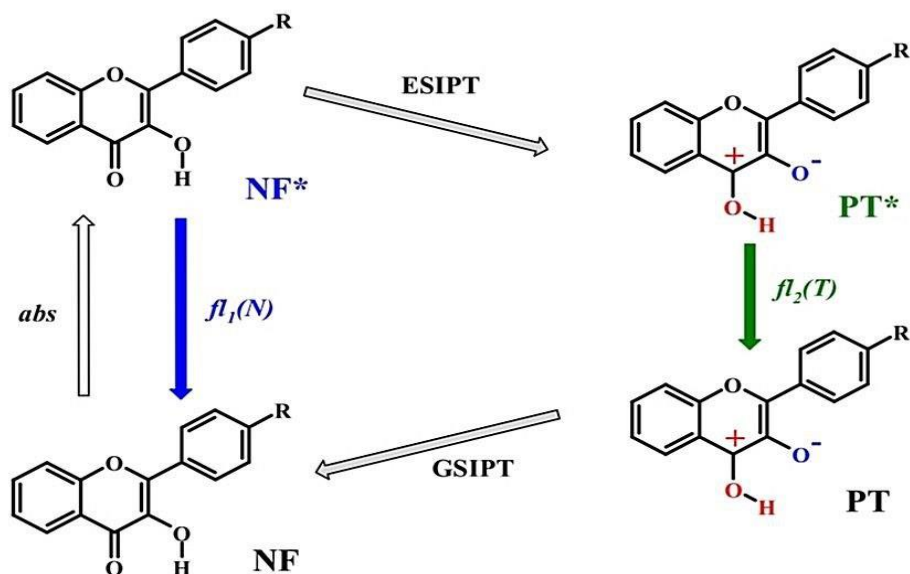


Рисунок 1.1. Механізм процесів переносу протона в основному та електронно-збуджених станах похідних 3-ОН-флавонолу.

### 1.1. Вплив розчинників різної природи на спектри флуоресценції

Завдяки підвищеній кислотності єнольної ОН-групи в протонних розчинниках, таких як спирти, або у високоосновних розчинниках, (формамід/ДМФА/ДМСО), електронейтральні нормальні форми 3-гідроксифлавонолів часто співіснують в основному стані з дисоційованими аніонними формами [4, 39]. На спектрі аніонні форми проявляються появою низько інтенсивних довгохвильових смуг поглинання, що часто зумовлює світло-жовтувате забарвлення розчинів 3-гідроксифлавонолів. Наявність аніонної форми легко довести різким підвищенням її поглинання при додаванні лугу до спиртових розчинів 3-гідроксифлавонолів. Таким чином, в спектрах флуоресценції 3-гідроксифлавонолів в спиртових розчинах або в ДМФА можна спостерігати наявність трьох смуг випромінювання, що перекриваються, замість звичних двох: смуга нормальної форми N\*, аніонної A\* і фототаутомерної T\* відповідно [40-41]. Іноді це приводить до спостереження «випромінювання білого світла флуоресценції», коли згадані вище три широкі смуги (порівняної інтенсивності) покривають майже всю видиму область спектру. Але часто це – вкрай бажаний ефект...

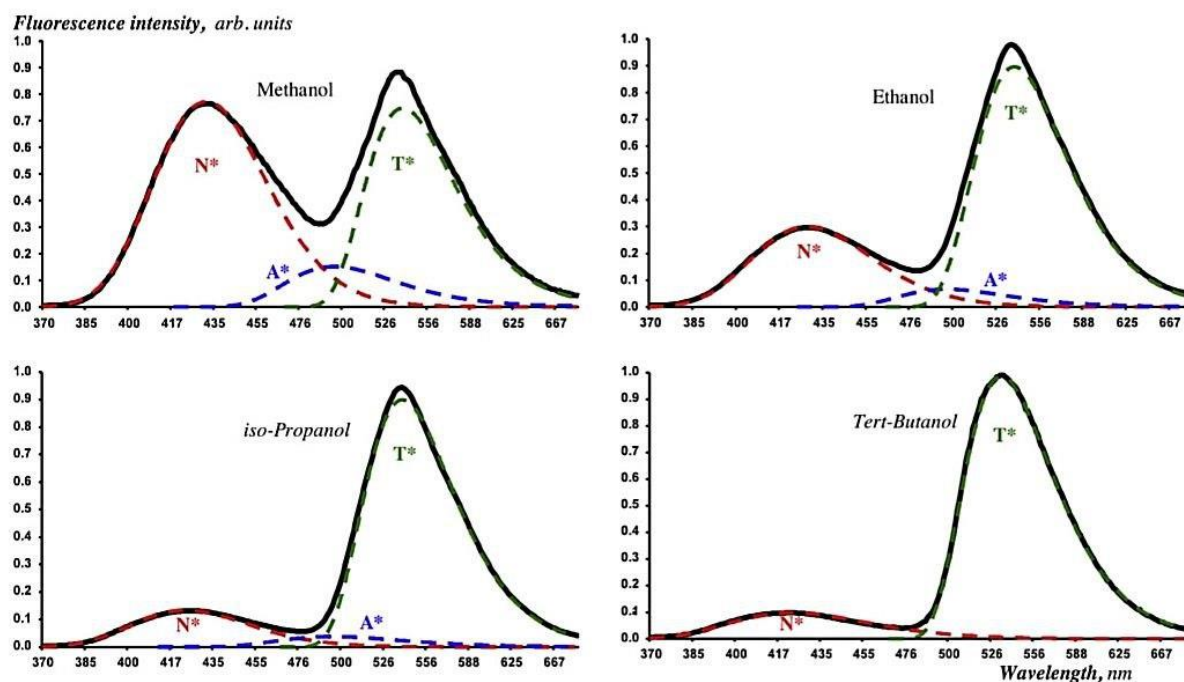


Рисунок 1.2. Спектри флуоресценції при стаціонарному збудженні 4-метокси-флавонолу в метанолі, етанолі, ізопропанолі та трет-бутанолі з результатами їх розкладання на окремі смуги випромінювання: нормальна форма N\* - штриховий червоний, аніон A\* - штриховий синій, фототаутомер T\* - штриховий зелений.

## 1.2. Вплив міжмолекулярних водневих зв'язків на реакцію внутрішньомолекулярного переносу протона в 3-гідроксифлавоновому ряду в розчинниках різної природи

Оскільки утворення міжмолекулярних Н-зв'язків з протонодонорними молекулами уповільнює реакцію переносу протона, то правильний підбір розчинника є важливим фактором, який регулює характер раціометричної флуоресценції 3-НС сполук. Важливим параметром протонного розчинника є його електрофільність (середня кислотність, здатність до Н-зв'язування). Очевидно, що чим сильнішими виявляються міжмолекулярні Н-зв'язки з молекулами розчинника, тим більш принципово вони впливають на швидкість реакції переносу протона.

В спиртових розчинах 3-гідроксифлавонони утворюють кілька видів Н-зв'язаних комплексів, серед яких є так звані "зовнішні", "гідроксильні" та "хелатні". Причому найважливішим серед усіх можливих Н-зв'язків з молекулою флавонолу є саме "зовнішні", де міжмолекулярний Н-зв'язок утворюється з атомом кисню карбонільної групи (завдяки його неподіленій електронній парі, яка не бере участь у внутрішньомолекулярному Н-зв'язку з 3-ОН-групою) [30]. Вбудовування протонної молекули в хелатну порожнину

між групами флавонолу  $>C=O$  і 3-OH не має суттєвого впливу на внутрішньомолекулярний перенос протонів у збудженому стані [30].

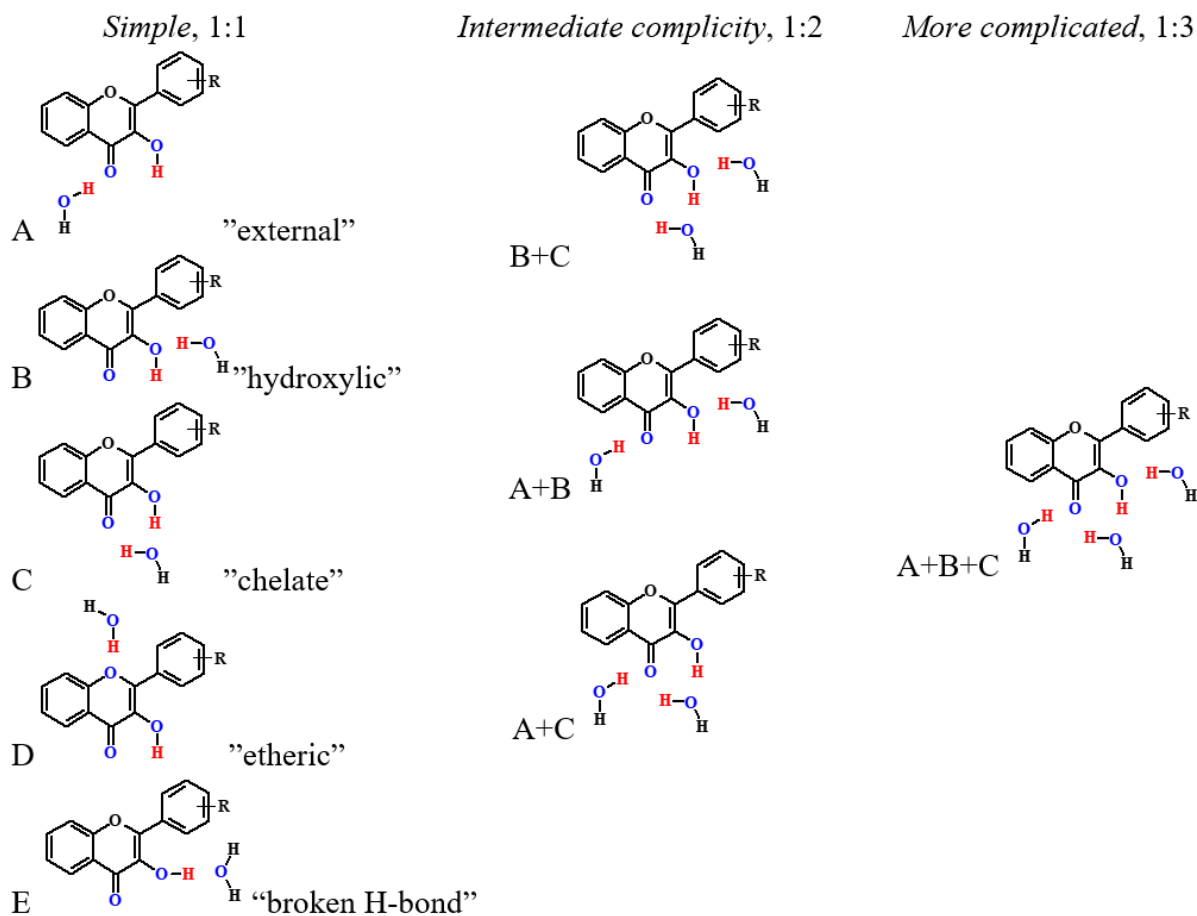


Рисунок 1.3. Типи комплексів з міжмолекулярними Н-зв'язками з молекулами протонодонора (води), які утворюють похідні 3-гідроксифлавононів.

У воді та спиртах з коротким ланцюгом більшість Н-зв'язаних комплексів є переважно «зовнішніми» та «гідроксильними» відповідно, але збільшення довжини вуглеводневого ланцюга, ступеня розгалуженості та просторового об'єму призводить до збільшення кількості «гідроксильних» та хелатних комплексів і аналогічно, зменшується внесок карбонільного «зовнішнього» Н-зв'язаного комплексу, який є основним фактором сповільнення реакції переносу протона [30]. Утворення таких «зовнішніх» комплексів можливо регулювати стеричними факторами, що сприяють або запобігають міжмолекулярним Н-зв'язкам протонних молекул одна з одною та з карбонільною групою 3-гідроксифлавононів. Наприклад, в хромонових похідних з додатковим анелюванням бензольного кільця за положеннями 5,6 [33] атом гідрогену при атомі карбону в положенні 5 розташований у безпосередній близькості від карбонільної групи, і, таким чином сприяє просторовому екрануванню міжмолекулярного Н-зв'язку з протонодонорними молекулами (розчинника). Подібна структурна модифікація забезпечує стеричну недоступність «зовнішньої» неподіленої пари атома оксигена

карбонільної групи, яка не бере участі в утворенні типового для сполук родини флавонолів внутрішньомолекулярного Н-зв'язку.

В спиртових розчинах 3-НF без домішок води відбувається дисоціація 3-ОН групи в основному стані, що призводить до появи слідів аніонної форми в цих розчинах. Оскільки збуджена аніонна форма  $A^*$  не демонструє кінетичного взаємозв'язку з нормальними формами  $N^*$  або фототаутомером  $T^*$  [42], це не впливає на фотохімічні процеси, і тому появу аніонної форми як третьої емісійної частинки слід розглядати як стаціонарний фактор, який має обмежений внесок у фолтохімічні перетворення в системі.

В статті [30] дійшли висновку, що на швидкість реакції переносу протона значно впливають тільки такі міжмолекулярні фактори, як стерична доступність та кислотність спиртів. Серед цих двох факторів кислотність спиртів, яка також регулюється утворенням між їх молекулами міжмолекулярних Н-зв'язків, є більш важливим фактором для регулювання швидкості ESIPT у протонних середовищах.

### 1.3. Вплив природи замісників на флуоресцентні властивості 3-ОН-флавонів

Як відомо, в спектрах поглинання та флуоресценції 3-гідроксихромонів положення смуг  $N^*$  і  $T^*$  залежать від природи введених замісників. Електронодонорні групи в 3-НС приводять до послідовного червоного зсуву смуги випромінювання, а також збільшують співвідношення інтенсивності смуг флуоресценції  $N^*/T^*$ . А електроноакцепторні групи, навпаки, мають зворотний вплив на ці параметри [43].

Одним з перших досліджень з питання впливу замісників різної природи на флуоресценцію 3-гідроксихромонів, була робота [31]. Автори розглядали флуоресцентні властивості 7-ацетамідо-2-арил-3-гідроксихромонів у воді та інших полярних розчинниках порівняно з модельними сполуками без ацетиламіно-групи (рис. 1.4). Виявилося, що у порівнянні з добре вивченою молекулою **1**, всі інші (**2**, **3** і **1a–3a**) демонстрували набагато більший квантовий вихід флуоресценції у водному розчині. Більш того, виявилося, що 7-ацетамідозаміщені 3-гідроксихромони володіють чудовими флуоресцентними властивостями, пов'язаними саме з реакцією переносу протона, а не з фотодисоціацією в збудженому стані. Це були перші 3-гідроксохромонові барвники, які продемонстрували ефективне двохсмугове випромінювання з добрим спектральним розділенням в протонних середовищах, включаючи воду.

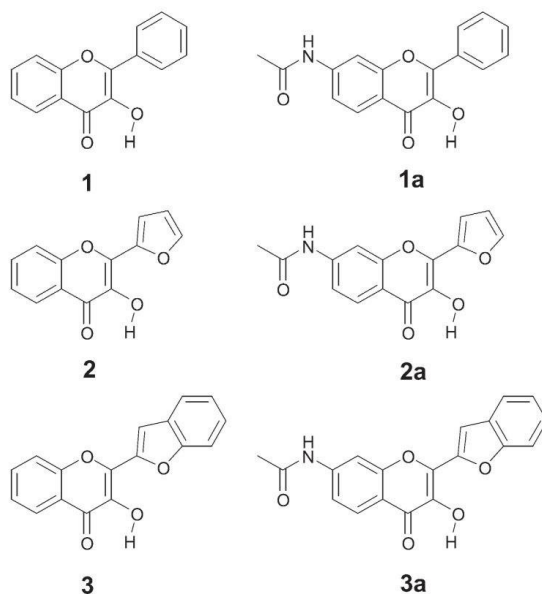


Рисунок 1.4. Будова молекул ацетиламіно-заміщених 3-гідроксихромонів та їх модельних сполук.

Протягом дослідження також було виявлено, що заміна 2-фенільного кільця на 2-фурил або 2-бензофурил в 2-3 рази збільшує квантовий вихід флуоресценції у воді та інших полярних розчинниках. Цей ефект пояснюється вищою планарністю 2-фурил- і 2-бензофурил-3-гідроксихромонів у порівнянні з їх 2-фенільними аналогами. Крім того, введення 7-ацетиламіно-групи приводить до майже дворазового збільшення квантового виходу флуоресценції у воді для молекул **1a** та **2a**, тоді як в органічних розчинниках цей ефект спостерігається лише для сполуки **2a**.

Введення 7-метокси-групи в структуру 4'-діалкіламіно-3-гідроксифлавонолів, приводить до значного збільшення квантових виходів в органічних розчинниках.

Було також розглянуто вплив рН для всіх вказаних сполук методом спектрофотометричного титрування [31]. За результатами було зазначено, що підвищення рН від 7 до 9 одиниць призводить до появи та збільшення інтенсивності довгохвильової смуги близько 420 нм і зменшення короткохвильової смуги при 340–360 нм, разом зі наявністю чіткої ізобестичної точки.

Серед усієї групи сполук, здатних до реакції фотопереносу протона, найбільш широко дослідженими на даний час є ті, в яких протодонорна група розташована між двома різними протонакцепторними центрами. Така будова дозволяє створювати в молекулі тільки один внутрішньомолекулярний водневий зв'язок з одним із центрів. Якщо протонакцепторні центри однакові та(або) їх енергії будуть порівняними, можуть утворюватися два альтернативні

внутрішньомолекулярні водневі зв'язки в динамічній рівновазі в основному стані  $S_0$ . В такому випадку можуть реалізовуватись дві окремі реакції переносу протона, які проходять у різних напрямках. В свою чергу, це приводить до появи декількох різних таутомерних форм, які, відповідно, мають різні фотофізичні властивості та по-різному реагуватимуть на зовнішні фактори [27-29].

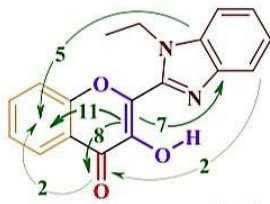
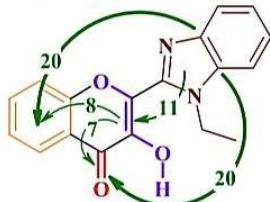
Відомо, що похідні 3-гідроксихромонів, які мають 6-членний азотний гетероцикл у положенні 2 є досить слабо флуоресцентними [44-45], на відміну від сполук, які містять у складі 5-членні (бенз)імідазол або піразолвмісні замісники, останні демонструють набагато вищі квантові виходи. Це можна пояснити тим, що піридинові/хінолінові атоми нітрогену розташовані ближче до основного донора протонів 3-НС, 3-гідроксигрупи. Таким чином, їх гідроксильна група переходить з «флавонольного» Н-зв'язку на карбонільний атом оксигену до «альтернативного» напрямку в бік атома нітрогену в гетероциклі.

Це призводить до зближення енергії флуоресцентного синглетного збудженого стану  $S_1^*$  та триплетних рівнів  $n\pi^*$  карбонільної групи  $C=O$ , що, нарешті, проявляється у більш ефективному безвипромінювальному розсіюванні енергії стану  $S_1^*$  за механізмом інтеркомбінаційної конверсії (ISC), швидкість якої може бути достатньо високою, щоби успішно конкурувати з випромінюванням флуоресценції та навіть з реакцією переносу протона.

Підвищити флуоресценцію в піридинових 3-гідроксихромонах можна шляхом блокування гетероциклічних атомів нітрогену шляхом протонування їх в слабо кислому середовищі, що призводить до перенаправлення їх внутрішньомолекулярних Н-зв'язків на карбонільний атом оксигену, і до значного зростання флуоресценції.

Правда, існують випадки, коли реакція переносу протона проходить незвичайним шляхом і атом гідрогену переноситься навпаки до атому нітрогену. Це було розглянуто в роботі [46] на прикладі спеціально синтезованої сполуки 2-(1-етил-1Н-бензімідазол-2-іл)-3-гідрокси-4Н-хромен-4-ону (**NEtBi3HC**).

Таблиця 1.1. Перерозподіл електронної густини при переході з основного у електронно-збуджений стан та енергії внутрішньомолекулярного водневого зв'язку (з його відносним збільшенням відносно основного стану, %) і довжини хімічних зв'язків, пов'язаних із центром внутрішньомолекулярного Н-зв'язку у двох найважливіших конформаціях **NEtBi3HC** з Н-зв'язком між атомами нітрогену або кисню.

| Conformation            | Ground-to-excited state electron density redistribution ( <i>Charge Transfer Numbers</i> ) | Excited-to-ground state ( $S_1^*-S_0$ ) dipole moments vector difference | $S_1^*$ state H-bond energy (kcal/mol)), selected bonds lengths (Å) |
|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| NEtBi3HC <sub>(1)</sub> |           | $\Delta\mu \sim 7.6$ D                                                   | 20.8 (+43%)<br>C–O 1.311<br>O–H 1.034<br>H...N 1.590                |
| NEtBi3HC <sub>(2)</sub> |          | $\Delta\mu \sim 21.5$ D                                                  | 15.3 (+91%)<br>C–O 1.334<br>O–H 1.030<br>H...N 1.662                |

Ця молекула може існувати в трьох конформаціях, одна з яких потребує внутрішньомолекулярного Н-зв'язку з гетероциклічним атомомнітрогену, (який є більш енергетично вигідним через відсутність додаткової стабілізації двох альтернативних конформацій водневим зв'язком типу  $\text{NH}\cdots\text{O} < \text{H}$ , ) а дві інші – внутрішньомолекулярного Н-зв'язку з атомом кисню карбонільної групи ЗНС. Таким чином, ці конформації повинні характеризуватися різним напрямком і природою внутрішньомолекулярного Н-зв'язку.

Як відомо, реакцію ESIPT запускає переміщення електронної густини внаслідок специфічного її перерозподілу при переході від основного до збудженого стану, що зміцнює енергії внутрішньомолекулярних водневих зв'язків у синглетному збудженому стані. Останнє може бути різним для конформерів **NEtBi3HC** з Н-зв'язком до нітрогену або до кисню.

Оскільки найбільш енергетично вигідною є та конформація досліджуваної сполуки **NEtBi3HC**, яка утворює внутрішньомолекулярний Н-зв'язок між її 3-гідроксигрупою та атомом нітрогену бензімідазольного фрагмента, це також стає єдиним найвірогіднішим напрямком реакції ESIPT, тому що не очікується перенаправлення внутрішньомолекулярного водневого зв'язку в основному або збудженому стані на карбонільний атом кисню.



В результаті цього дослідження було виявлено перший випадок незвичайного шляху реалізації ESIPТ до атома нітрогену в ряду 3-ОН-2-гетарил -хромонів, який супроводжується ефективним випромінюванням, а не гасінням флуоресценції [46].

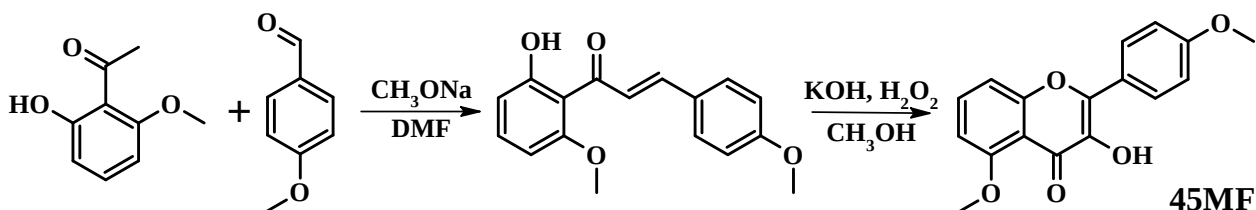
Хоча при синтезі сполук похідних 3-гідроксифлавонолів для збільшення квантового виходу флуоресценції зосереджуються зазвичай на введенні в базову молекулу електродонорних замісників, існують також випадки флуоресцентних нітросполук наприклад, різні нітростилбени.

В дослідженні [43] розглядаються флуоресцентні властивості NO<sub>2</sub>-похідних флавонольного ряду на прикладі 4'-нітрофлавонолу (**NO<sub>3</sub>HF**). Хоча нітрогрупа має репутацію ефективного гасника флуоресценції [47-49], дана сполука в електронно-збудженому стані нормальної форми N\* демонструє високу швидкість переходу S<sub>1</sub>\*(ππ\*)-T(ππ\*,NO<sub>2</sub>), в результаті чого можна спостерігати збільшення Стоксова зсуву довгохвильової смуги випромінювання в жовто-помаранчевій області спектра

У фототаутомерній формі 4'-нітрофлавонол (**NO<sub>3</sub>HF**) проявляє низький рівень безвипромінювального розсіювання енергії збудження, але доволі велику тривалість T\*-флуоресценції та певну чутливість до навколишнього середовища, що дає можливість розглядати його для застосування як хімічного або біологічного флуоресцентного зонду.

## 2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Цільову сполуку, 3-гідрокси-5-метокси-2-(4'-метоксифеніл)-хромон (**45MF**), було синтезовано за традиційним методом Альгара-Фліна-Ойамади [50-52], який передбачає проміжне отримання відповідного заміщеного 2'-ОН-халкона з подальшою його окиснювальною циклізацією у похідну 3-ОН-флавону.



**1-(2-гідрокси-6-метоксифеніл)-3-(4-метоксифеніл)проп-2-ен-1-он.** 2-гідрокси-6-меток시아цетофенон 1 г (6.02 ммоль) та 4-метоксибензальдегід 0.82 г (6.02 ммоль) розчинили в ДМФА, після чого додали метилат натрію 0.98 г (18.05 ммоль) і залишили перемішуватись при кімнатній температурі на протязі 2 годин. Реакційну суміш розвели водою та нейтралізували до pH~6. Осад, що утворився, відфільтрували та промили водою, висушили на повітрі при кімнатній температурі. Вихід: 1.6 г (93.5 %).

**3-гідрокси-5-метокси-2-(4-метоксифеніл)-4Н-хромен-4-он (45MF).** 1-(2-гідрокси-6-метоксифеніл)-3-(4-метоксифеніл)проп-2-ен-1-он 1.6 г (5.63 ммоль) розчинили в метиловому спирті та додали гідроксид калію 0.95 г (16.88 ммоль). Після перемішування впродовж 5 хвилин додали 2 мл 33% розчину перекису водню. Реакційну суміш витримали при кімнатній температурі і постійному перемішуванні впродовж 2 годин. Після нейтралізації до pH~6, осад, що випав, відфільтрували та промили невеликою кількістю метилового спирту. Вихід: 1.05 г (63 %).

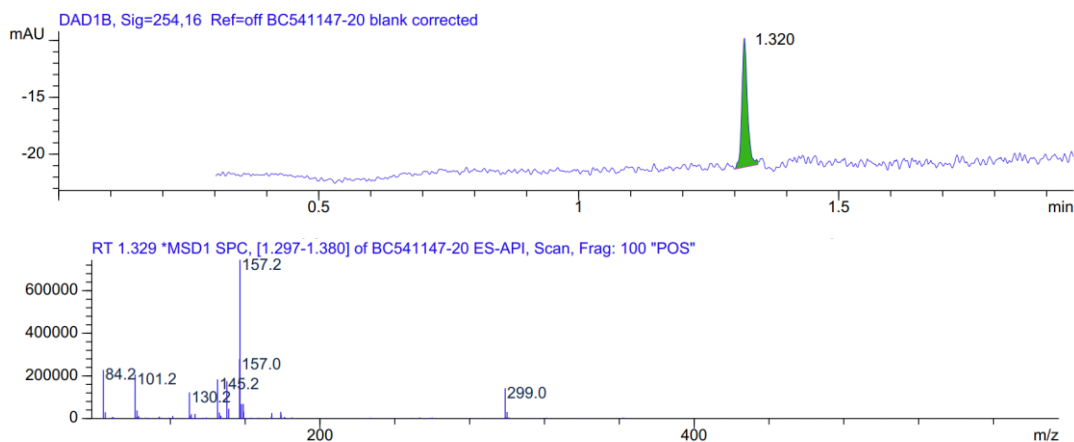


Рисунок 2.1. Хроматограма та мас-спектр фракції з часом виходу 1.32 хвилини зразка цільової сполуки, електроспрей-іонізація, позитивні іони.

Чистоту отриманого зразку визначали методом рідинної хроматомас-спектрометрії із застосуванням приладу LCMS Agilent 1100 LC MSD SL, електроспрей іонізація, колонка SUPELCO Ascentis Express C18 2.7  $\mu\text{m}$  4.6 $\times$ 150 mm. Хроматографічне дослідження представлено на рисунку 2.1 (зверху), присутність домішок вихідних або побічних сполук не зафіксовано. Мас-спектр головного компонента наведено на рисунку 2.1 (знизу). Масове число  $m/z$  молекулярного іону  $(M+H)^+ \sim 299.0$  відповідає елементному складу цільової сполуки,  $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_5$ , молекулярна маса 298.29.

Спектри протонного та карбонового ядерного магнітного резонансу досліджуваної сполуки представлені на рисунках 2.2-2.3.

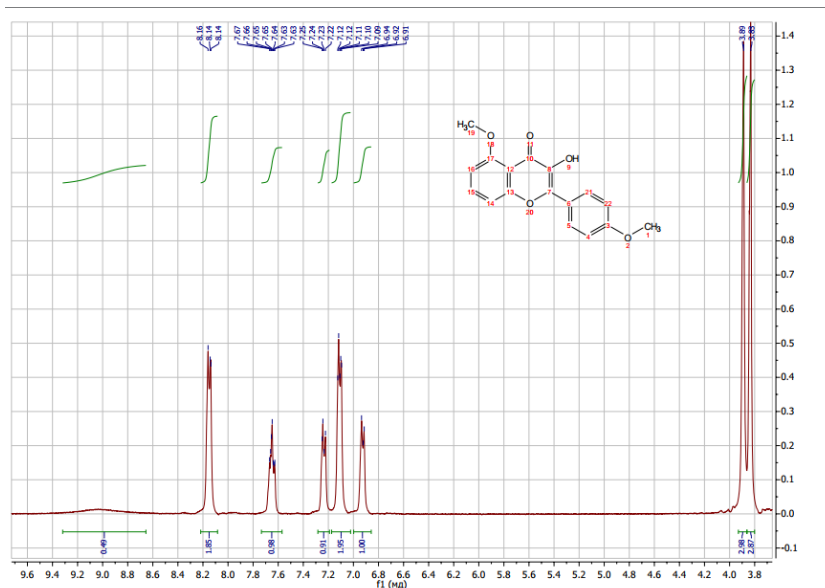


Рисунок 2.2. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  цільової сполуки ( $\text{DMSO-d}_6$ , 400 МГц).

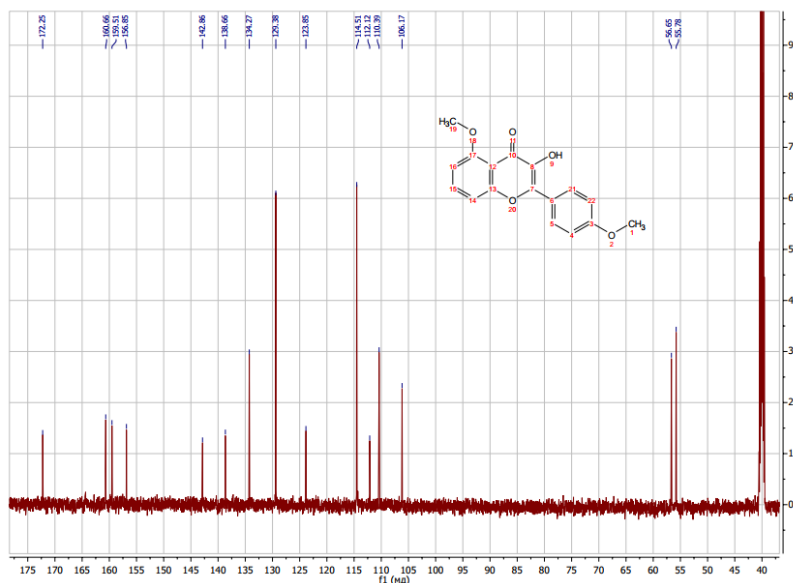


Рисунок 2.3. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  цільової сполуки ( $\text{DMSO-d}_6$ , 151 МГц).

Інтерпретація спектрів ЯМР була проведена при співставленні розрахункових даних щодо магнітного екранування окремих атомів з експериментальними положеннями сигналів у протонному (за виключенням чутливого до міжмолекулярних взаємодій рухливого протона 3-ОН-групи) та карбоновому спектрах, як це було зроблено в роботах [53-56]. В обох випадках спостерігалася добра лінійна кореляція. Відповідні дані представлені на рисунку 2.4.

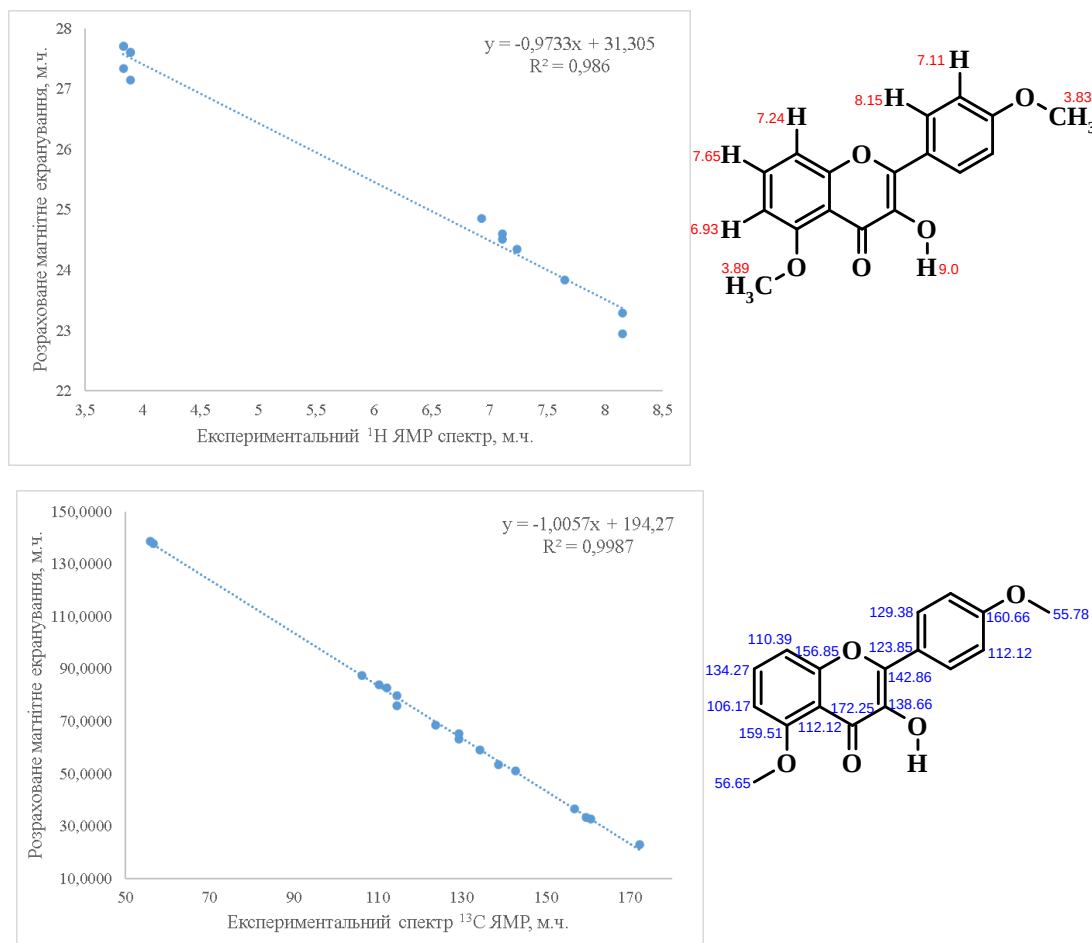


Рисунок 2.4. Кореляції розрахованих даних магнітного екранування (magnetic shielding, м.ч.) з експериментально виміряними положеннями окремих сигналів (м.ч.) в молекулі **45MF** та віднесення сигналів в протонному та карбоновому спектрах за допомогою встановлених кореляцій.

Сpektри поглинання були виміряні на спектрометрі Agilent Cary 3500 UV-Vis Multicell, спектри та квантові виходи [57] флуоресценції – на спектрофлуориметрі Hitachi 850, флуоресцентний стандарт – розчин бісульфату хініну у 0.5 М водній сульфатній кислоті ( $\phi \sim 0.546$  [58]). Розділення спектрів флуоресценції на індивідуальні смуги випромінювання (деконволюція) проводилась нелінійним методом найменших квадратів з апроксимацією форми індивідуальної смуги асиметричної лог-нормальною функцією [59].

Реагенти для синтезу та розчинники для спектральних вимірювань були надані компанією Укроргсинтез, м. Київ.

Комп'ютерне моделювання було здійснено у схемі DFT/TDDFT (потенціал електронної густини b3lyp [60], орбітальний базис cc-pvdz [61]) за допомогою програмного пакету Gaussian 09 [62] (оптимізація молекулярної геометрії, енергетичні характеристики), спектри поглинання розраховували у програмному пакеті NWChem 5.1 [63], який включає додатковий модуль для аналізу електронних збуджень (ESSA [64-65]). Енергії активації реакції фотопереносу протона оцінювали за методом QST3 [66]. Для аналізу розподілу електронної густини в досліджуваній молекулі, а також для оцінки енергії водневих зв'язків за емпіричним рівнянням Еспінози [67] застосовувались елементи теорії атомів в молекулі (AIM) Бейдера [68-70]. Врахування ефектів розчинника при розрахунку спектрів ЯМР за методом GIAO [71] проводилося в межах моделі PCM [72-73] (для діелектричної проникності ДМСО,  $\epsilon \sim 46.8$ ).

### 3 РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

Особливості впливу міжмолекулярних водневих зв'язків з молекулами розчинника або з протонодонорними домішками на спектральні властивості і фотофізику люмінесцентних похідних 3-гідроксифлавону [74-75] у найбільшому ступені обумовлює взаємодія з т.з. «зовнішньою» неподіленою електронною парою атома оксигену карбонільної групи, яка не входить до складу сайту фотопереносу протона і не приймає участі в формуванні внутрішньомолекулярного водневого зв'язку [30] (Схема 3.1, Б). Утворення обговорюваного міжмолекулярного Н-зв'язку призводить до гальмування реакції фотопереносу протона (ESIPT), це також має негативний вплив і на загальний квантовий вихід флуоресценції. В науковій літературі відомі спроби блокування «зовнішньої» неподіленої електронної пари за рахунок анилювання додаткового бензольного кільця у хромоновій частині молекули [33] (Схема 3.1, В), але це також, як правило, дещо погіршує флуоресцентні властивості подібних систем [76].

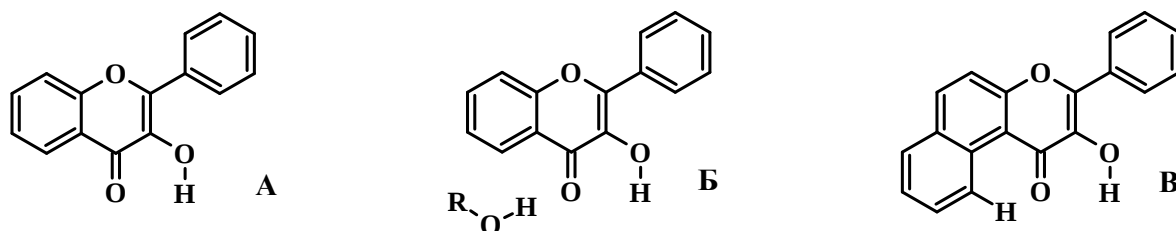


Схема 3.1.

Предметом даного дослідження є похідна флавонолу, в якій для спроби блокування утвореного обговорюваного міжмолекулярного водневого зв'язку в 5 положення молекули введено групу  $\text{OCH}_3$ . Попередньою гіпотезою було, що вказаний замісник за рахунок свого об'єму та конформаційної мобільності ускладнить утворення «зовнішнього» Н-зв'язку. Окрім того, власні неподілені пари атома оксигену метоксигрупи можуть скласти певну конкуренцію водневим зв'язкам з протонодонорними молекулами в розчині.

#### 3.1. Комп'ютерне моделювання

Однією з задач даного дослідження є комп'ютерне моделювання будови і фотофізики досліджуваної молекули з подальшою експериментальною перевіркою отриманих результатів.

Конформаційна мобільність двох метоксигруп була промодельована у вигляду потенціальних функцій їх обертання навколо ординарних зв'язків С-О. Якщо для метоксигрупи в положенні 4 це обертання повинно бути лише незначно загальмованим, то для групи в положенні 5 розташування у площині карбонільного угруповання, в умовах їх максимального просторового зближення, є неможливим. Відповідні потенційні залежності представлені на рисунку 3.1.

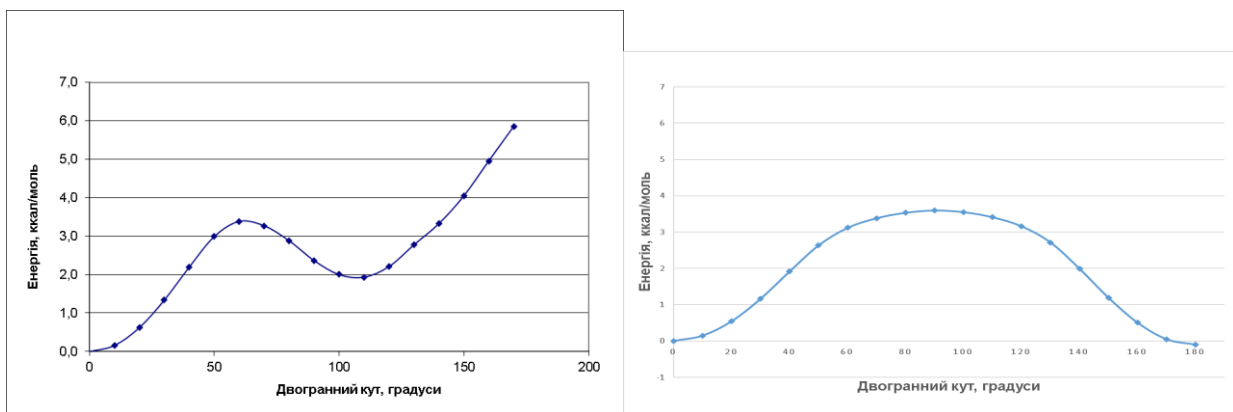
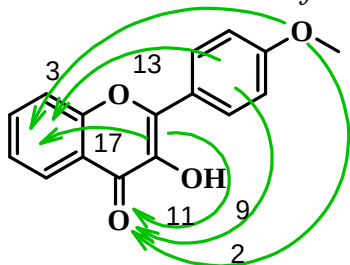


Рисунок 3.1. Розраховані потенційні криві обертання метоксигруп в положеннях 5 та 4' навколо ординарних зв'язків С-О в молекулі **45MF**.

Потенціальні бар'єри не є надто великими і обговорюване обертання в обох випадках є достатньо вільним, але найбільш вірогідним просторовим положенням метоксигрупи в положення 5 є її анти-розташування відносно карбонільної групи в площині хромонового біциклу. Стосовно  $\text{OCH}_3$  групи в положенні 4, вона може займати два майже рівновірогідних положення (енергетична різниця  $\sim 0.1$  ккал/моль). В подальшому для розрахунків буде обрано одне з них, адже принципової різниці у фотофізиці двох обговорюваних граничних конформацій ми не очікуємо.

Вплив 5-метокси групи на характер перерозподілу електронної густини в досліджуваній молекулі був проаналізований у межах підходу ESSA у порівнянні з 4'-метокси-флавонолом, який був об'єктом дослідження нашої наукової групи декілька років тому [30]. Розраховані спектральні характеристики обох молекул виявились дуже подібними, на рисунку 3.2 показані дані для довгохвильового електронного переходу в спектрах поглинання, які обумовлюють спектральні і фотофізичні характеристики органічних молекул.

27390  $\text{cm}^{-1}$  / 365 нм /  $f \sim 0.477$



27580  $\text{cm}^{-1}$  / 363 нм /  $f \sim 0.488$

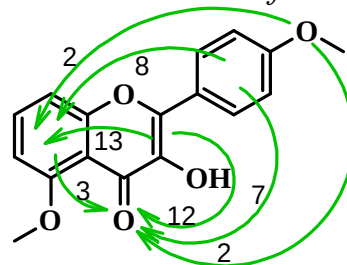


Рисунок 3.2. Параметри довгохвильових електронних переходів в спектрах поглинання (положення / інтенсивність), перерозподіл електронної густини при збудженні  $S_0 \rightarrow S_1$  в молекулах 4'-метоксифлавонола та **45MF** (розрахунок TDDFT).

З результатів, що представлені на рис. 3.2 витікає, що, з точки зору електронної спектроскопії, найважливішими електроноакцепторними центрами обох молекул є карбонільна група і анельоване бензольне кільце хромонового біциклу, а роль електронодонора відіграє єнольний фрагмент  $C=C-OH$  та бічне бензольне кільце з 4'-гідроксигрупою. Введення додаткової метоксигрупи в положення 5 приводить до мінімальних змін, найпомітнішою з яких є легке зниження перерозподілу між єнольним угрупованням та анельованим кільцем, а також новий не дуже суттєвий напрям перерозподілу електронної густини з анельованого бензольного кільця на карбонільну групу. Це дає нам змогу зробити припущення, що 5- $OCH_3$ -група буде впливати на спектральну поведінку **45MF** лише як певне збурення (ауксохром за класичними уявленнями автора хромофорної теорії Ніколаса Вірта), яке принципово нічого не змінює, а з іншого боку - також як певний регулятор міжмолекулярних водневих зв'язків за участі «зовнішньої» електронної пари карбонільної групи. В свою чергу, 4'-метоксифлавонол є адекватною модельною сполукою для дослідження останнього ефекту.

На рисунку 3.3 (ліворуч) показана структура молекули **45MF** та її моногідрату у формалістиці метода AIM Бейдера [69] – координати атомів, шляхи хімічних зв'язків (*bond path* [70, 77]) та критичні точки хімічних зв'язків типу (3, -1).

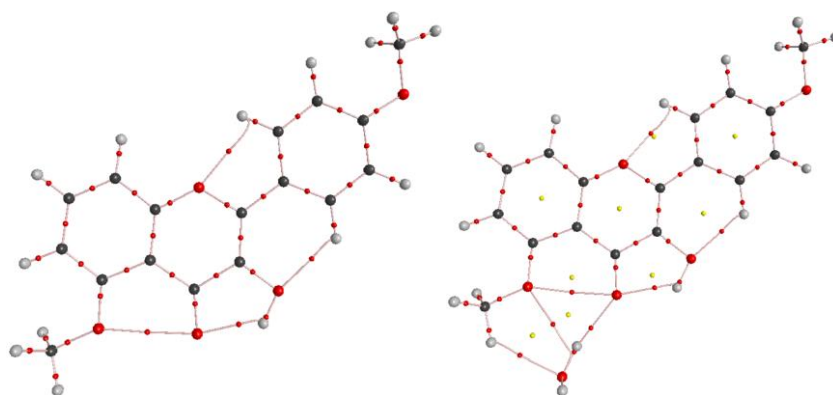


Рисунок 3.3. Молекула **45MF** (ліворуч) та її моногідрат (праворуч) за карбонільною групою: показані *bond paths* та критичні точки хімічних зв'язків (3, -1) типу (розрахунок DFT).

Окрім ковалентних хімічних зв'язків у **45MF** можна відстежити скорочені внутрішньомолекулярні контакти, найбільш тривким з них є водневий зв'язок  $C=O \cdots HO$ . За напівемпіричним методом Еспінози [67] із застосуванням параметрів критичної точки (3, -1) може бути оцінена його енергія, яка за даними розрахунку виявляється рівною 9.6 ккал/моль. В молекулі **45MF** наявні ще декілька слабких некласичних водневих зв'язків за



участю атомів гідрогену при атомах карбону, які сприяють формуванню єдиної площини хромоного біциклу та бічного бензольного кільця. Також сформований *bond path* [77] зі своєю критичною точкою між атомами оксигену карбонільної та 5-ОСН<sub>3</sub> груп. Вірогідно, йдеться про певне перекривання електронних хмар неподілених пар цих угруповань (ми можемо трактувати її як *n,n*-спряження). Оцінка за Еспінозою, при всій обмеженій коректності її застосування в даному випадку [78], дає для цього типу взаємодій до 3.6 ккал/моль.

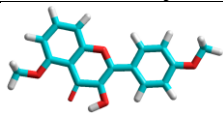
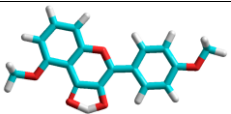
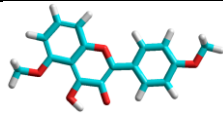
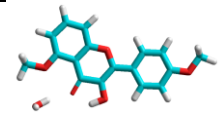
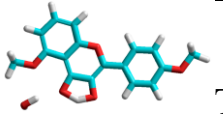
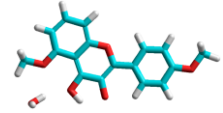
Показаний на рисунку 3.3 моногідрат **45MF** не є єдиним можливим, адже в цій молекулі присутні ще декілька неподілених електронних пар, які можуть відігравати роль акцепторів водневого зв'язку. Більш того, молекула протонного розчинника може вбудовуватись у хелатну порожнину між карбонільною та гідроксильною групами, і це не приводить до суттєвої варіації швидкості фотопереносу протона. Але, як було показано у одній зі статей нашої дослідницької групи [30], саме гідрат за «зовнішньою» неподіленою електронною парою має найбільше значення для фотофізики похідних флавонолу, оскільки саме він є фактором суттєвого гальмування ESIPT.

В моногідраті за карбонільною групою дещо послаблюється внутрішньомолекулярний водневий зв'язок у ESIPT-сайті, до 9.4 ккал/моль. Енергія міжмолекулярного Н-зв'язку карбонільної групи з молекулою води становить 4.8 ккал/моль. Одночасно існує *bond path* від того ж атома гідрогену молекули води й на атом оксигену 5-метоксигрупи, 3.1 ккал/моль. Зберігається взаємодія (спряження) неподілених електронних пар 5-метокси- і карбонільної груп, яке навіть дещо посилюється до 3.7 ккал/моль. Спектрально, утворення обговорюваного моногідрату, за результатами розрахунку, повинно привести до певного батохромного зсуву довгохвильової смуги поглинання, 600 см<sup>-1</sup> (+8 нм), що є характерним для більшості карбонільних сполук.

В електронно-збудженій молекулі **45MF**, так само, як і у інших похідних флавонолу, відбувається підсилення внутрішньомолекулярного Н-зв'язку між карбонільною та гідроксильною групами, обидві угруповання зближуються в просторі, це створює умови для переносу протона між ними. У S<sub>1</sub> стані негідратованої досліджуваної молекули розрахована енергія внутрішньомолекулярного водневого зв'язку досягає 19.6 ккал/моль, це майже вдвічі більше аналогічного показника основного стану і є основою рушійної сили реакції фотопереносу протона. При утворенні моногідрату підсилення водневого зв'язку в електронно-збудженому стані вже не є настільки великим, тільки 16.4 ккал/моль (порівняно з 9.4 у основному стані), але цього вистачає для переносу протона.

Для напівкількісної оцінки можливого впливу обговореного міжмолекулярного Н-зв'язку на швидкість процесу фотопереносу протона, нами було проведено оптимізацію геометрії нормальної і таутомерної форм, а також перехідного стану між ними, а на цій основі були розраховані енергії активації прямого та зворотного ESIPT у електронно-збудженому стані. Відповідні дані представлені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1. Енергії активації ESIPT в молекулі **45MF** та її моногідраті за результатами TDDFT-розрахунку.

| Молекула                                                                                | Енергія, <i>hartree</i> | $\Delta E_{act}$ , ккал/моль |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------|
|  N*    | -1032.28509561          | 0.499<br><br>8.458           |
|  TS*   | -1032.28430027          |                              |
|  T*    | -1032.29777904          |                              |
|  N*   | -1108.72482362          | 1.404<br><br>6.923           |
|  TS* | -1108.72258866          |                              |
|  T*  | -1108.73362091          |                              |

Слід відмітити, що як у **45MF**, так і в його моногідраті за карбонільною групою, реакція фотопереносу протона у електронно-збудженому стані є практично незворотною, адже енергія активації зворотного процесу суттєво переважає таку для прямого процесу. Таким чином, за відсутності факторів її гальмування, в спектрах флуоресценції (в сухих апротонних розчинниках середньої полярності) слід очікувати наявності лише одної смуги випромінювання. Розрахункові результати щодо моногідрату свідчать про суттєве гальмування фотопереносу протона (за нескладним розрахунком, приблизно у 2.5 рази), адже в таких умовах енергія активації прямого ESIPT зросла з ~0.5 до ~1.4 ккал/моль. Енергія активації зворотної реакції при цьому трішки знижується, однак все ще значно перевищує показник прямої реакції. Таким чином, не слід очікувати встановлення у електронно-збудженому стані класичної рівноваги, ESIPT в моногідраті також повинна залишатися необоротною.

Аналогічна оцінка гальмування реакції фотопереносу протона в моногідраті молекули 4'-метоксифлавонолу, яка була зроблена в статті , складає ~2.9 разів. В цілому, ESIPT в молекулі **45MF** повинен відбуватися більш ніж вдвічі швидше, ніж у модельній сполуці без 5-OCH<sub>3</sub> групи.

Таким чином, за результатами виконаного комп'ютерного моделювання можна зробити попередній висновок, що у певному ступені екранування карбонільної групи від міжмолекулярних водневих зв'язків за рахунок розташованої поряд з нею метоксигрупи в молекулі **45MF** все ж таки відбувається. В проведеному моделюванні був задіяний протонодонор найменшого розміру – молекула води, крім того, всі розрахунки були здійснені у стаціонарному режимі, без врахування просторової рухливості та конформаційних ефектів. Є сподівання, що динамічні ефекти сприятимуть збільшенню ступеня екранування небажаного міжмолекулярного водневого зв'язку.

### 3.2 Експериментальні спектральні дослідження

Сpektри поглинання досліджуваної сполуки були виміряні в серії апротонних розчинників різної полярності, від гексану до ДМФА. Також була досліджена серія спиртів із різним об'ємом вуглеводневого залишку, від метанолу до третинного бутилового спирту. Типові спектри наведені на рисунку 3.4. Слід відзначити, що у більшості апротонних розчинників спектри флуоресценції досліджуваної сполуки є однополосними і складаються лише з довгохвильової смуги фототаутомерної форми при 530-535 нм. В спектрі **45MF** в метанолі представлена також нормальна форма при ~430 нм, яка за інтенсивністю є майже у 2 рази нижчою за фототаутомер, що відображає досить помірну швидкість взаємоперетворення N\*→T\* у електронно-збудженому стані.

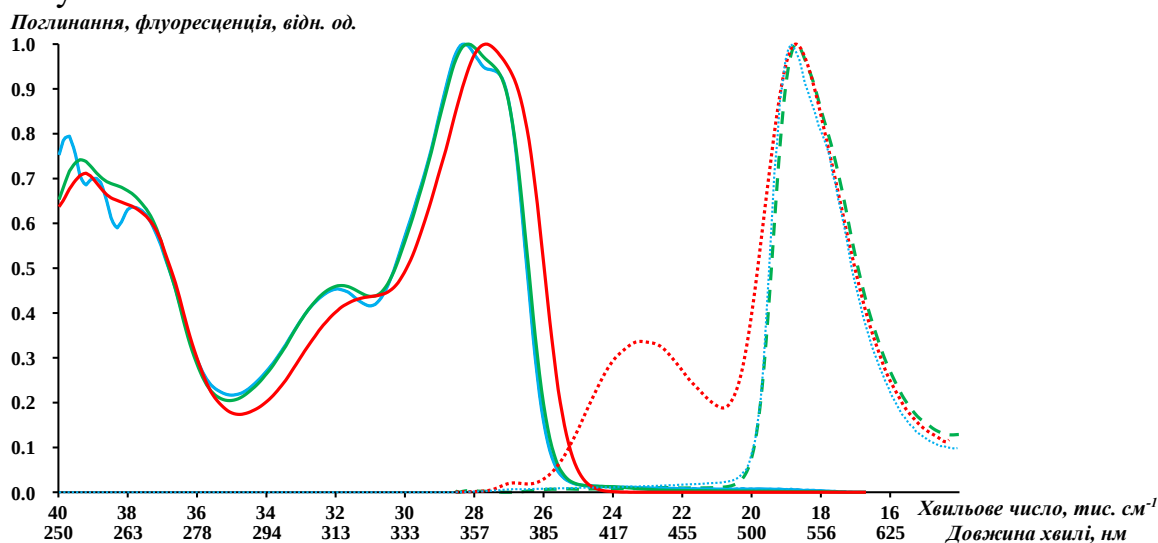
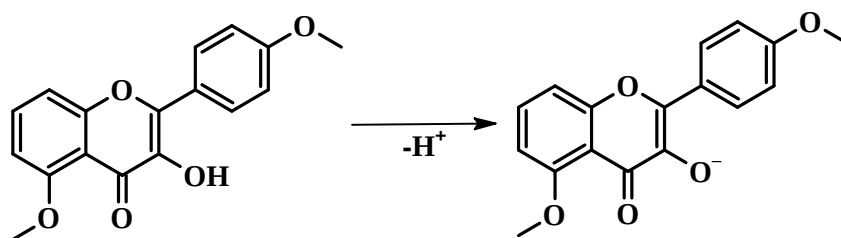


Рисунок 3.4. Сpektри поглинання і флуоресценції **45MF** у розчинниках різної природи: гексані (блакитні лінії), ацетонітрилі (зелені) і метанолі (червоні).

В довгохвильовому діапазоні першої смуги поглинання більшості представників родини 3-гідроксихромену зазвичай спостерігається плече, наявність якого обумовлена частковим утворенням аніонної форми вже у основному стані.



Подібна поведінка є типовою для різноманітних похідних та аналогів флавонолу, вона обумовлена високою чутливістю 3-гідроксихромонових систем до протодонорних та/або нуклеофільних сполук у розчині [4, 39, 79-81]. Відповідно, смуга випромінювання аніонної форми також є у більшості випадків присутньою в спектрі флуоресценції. Таким чином, врахування аніонної форми є обов'язковим завданням спектральних та спектрально-кінетичних досліджень в родині 3-гідроксифлавонолу, незважаючи на те, що вона сама по собі не демонструє високу інтенсивність флуоресценції та не приймає участі в утворенні фототаутомерної форми - продукту реакції ESIPT [42]. Спектри флуоресценції аніонних форм в нейтральному розчині можуть бути отримані за умов селективного збудження в довгохвильовому плечі при 420-430 нм, спектри поглинання аніонів в спиртових розчинах можна вимірювати безпосередньо при додаванні до спиртового розчину їдкого лугу. Відповідні спектрограми приведені на рисунку 3.5.

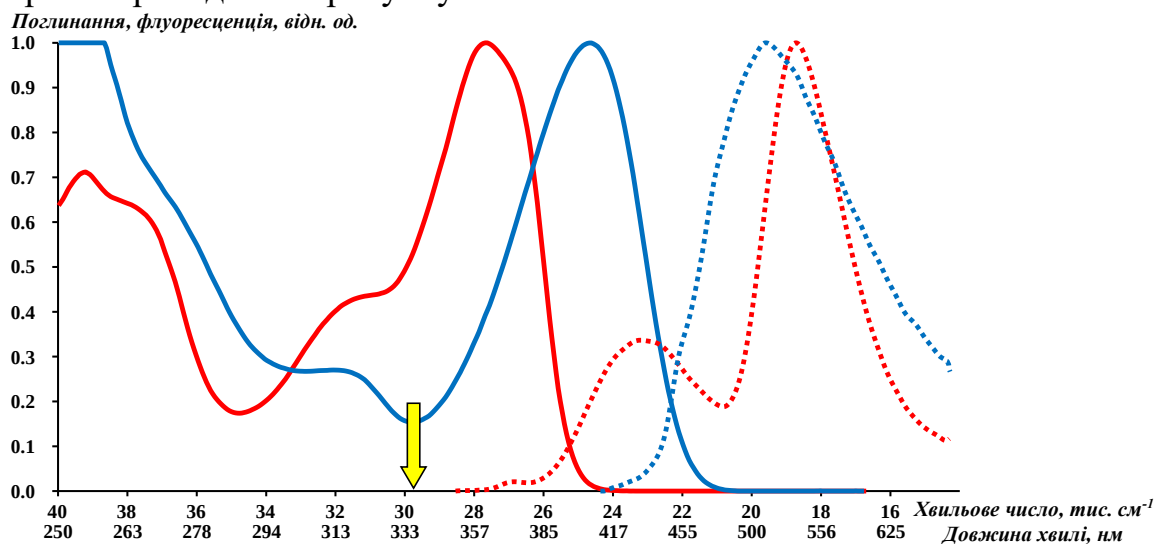


Рисунок 3.5. Спектри поглинання і флуоресценції **45MF** в нейтральному (червоні лінії) і слабо лужному (блакитні) метанольних розчинах.

Нормування спектру поглинання аніонної форми по довгохвильовому плечу, як правило, дозволяє встановити співвідношення спектрів обох протолітичних форм, які спостерігаються у основному стані та обрати

довжину хвиля збудження, яка б дозволила мінімізувати фракцію аніонних частинок у вимірюваних спектрах [30].

Досліджувана сполука **45MF** у більшості розчинників не демонструє наявності довгохвильового поглинання аніонної форми (рис. 3.4, 3.5, ДОДАТКИ), подібна поведінка є нетиповою для похідних і аналогів 3-гідроксихромону. Поява аніонної форми в основному стані не фіксується в спиртових розчинах навіть при додаванні води (вологість розчинника є визнаною причиною її виникнення в апротонному середовищі), рис. 3.6. Пояснень такому факту може бути принаймні два: 1) введення електронодонорної метоксигрупи у положення 5 пригнічує дисоціацію гідроксильної групи чисто за рахунок електронних факторів, 2) для полегшення дисоціації гідроксильної групи необхідним є утворення водневого зв'язку за «зовнішньою» неподіленою електронною парою карбонільної групи, що у сполуки **45MF** ускладнюється за рахунок просторового розташування 5-ОСН<sub>3</sub>-групи. Встановлення конкретних причин обговорюваної поведінки потребує проведення спеціального дослідження, яке виходить за межі даної кваліфікаційної роботи.

Результати співставлення спектрів поглинання досліджуваної сполуки в нейтральному та лужному спиртовому розчині (рис. 3.5) дозволили обрати для вимірювання спектрів флуоресценції найбільш оптимальну довжину хвилі збудження - 335 нм (позначена на рис. 3.5 жовтою стрілкою), на якій поглинання, а відповідно – й фотозбудження аніонної форми є мінімальним. Це забезпечуватиме мінімізацію її впливу на отримувані результати.

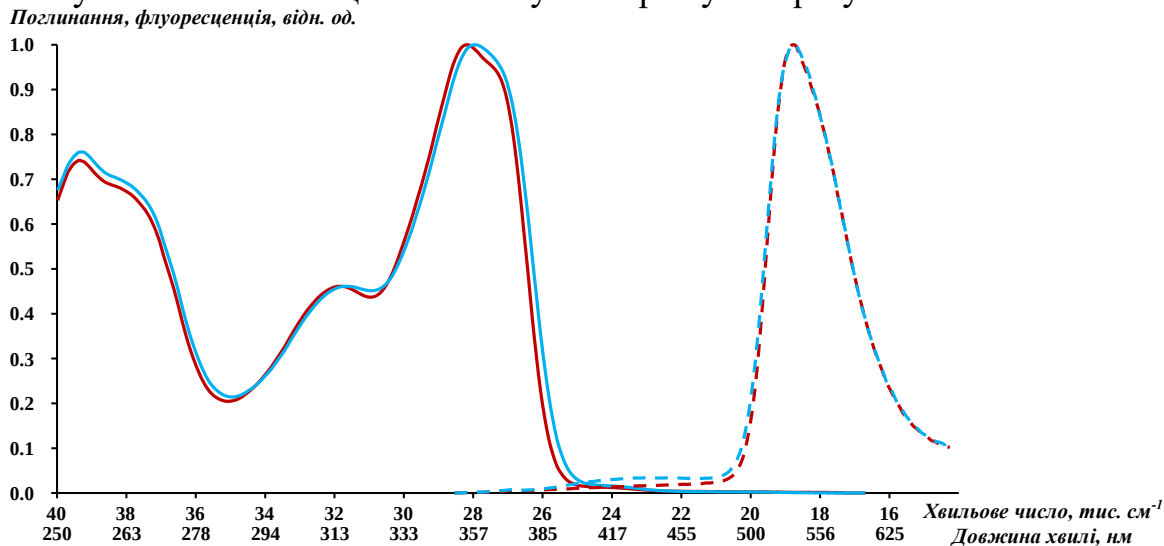


Рисунок 3.6. Спектри поглинання і флуоресценції **45MF** в ацетонітрилі без (коричневі лінії) та з додаванням (блакитні) невеликої кількості води.

Додавання води до ацетонітрильного розчину досліджуваної сполуки не призводить до появи поглинання аніонної форми (рис. 3.6). Про утворення міжмолекулярних водневих зв'язків у цьому випадку свідчить невеликий, але

цілком помітний довгохвильовий зсув першої смуги поглинання, а також невелике відносне підвищення інтенсивності смуги флуоресценції нормальної форми. Останнє відображає певне гальмування реакції фотопереносу протона за рахунок утворення Н-зв'язку за «зовнішньою» неподіленою електронною парою атома оксигену карбонільної групи, це супроводжується також зниженням загального квантового виходу флуоресценції.

Реакція фотопереносу протона також суттєво гальмується (про що свідчить висока інтенсивність короткохвильової смуги флуоресценції) в розчині **45MF** в диметилформаміді, вірогідними причинами чого можуть бути як велика полярність цього розчинника, так і домішки вологи в ньому, від яких його достатньо складно відчистити, беручи до уваги високу нуклеофільність ДМФА. Подібна поведінка фіксується й для спиртових розчинів.

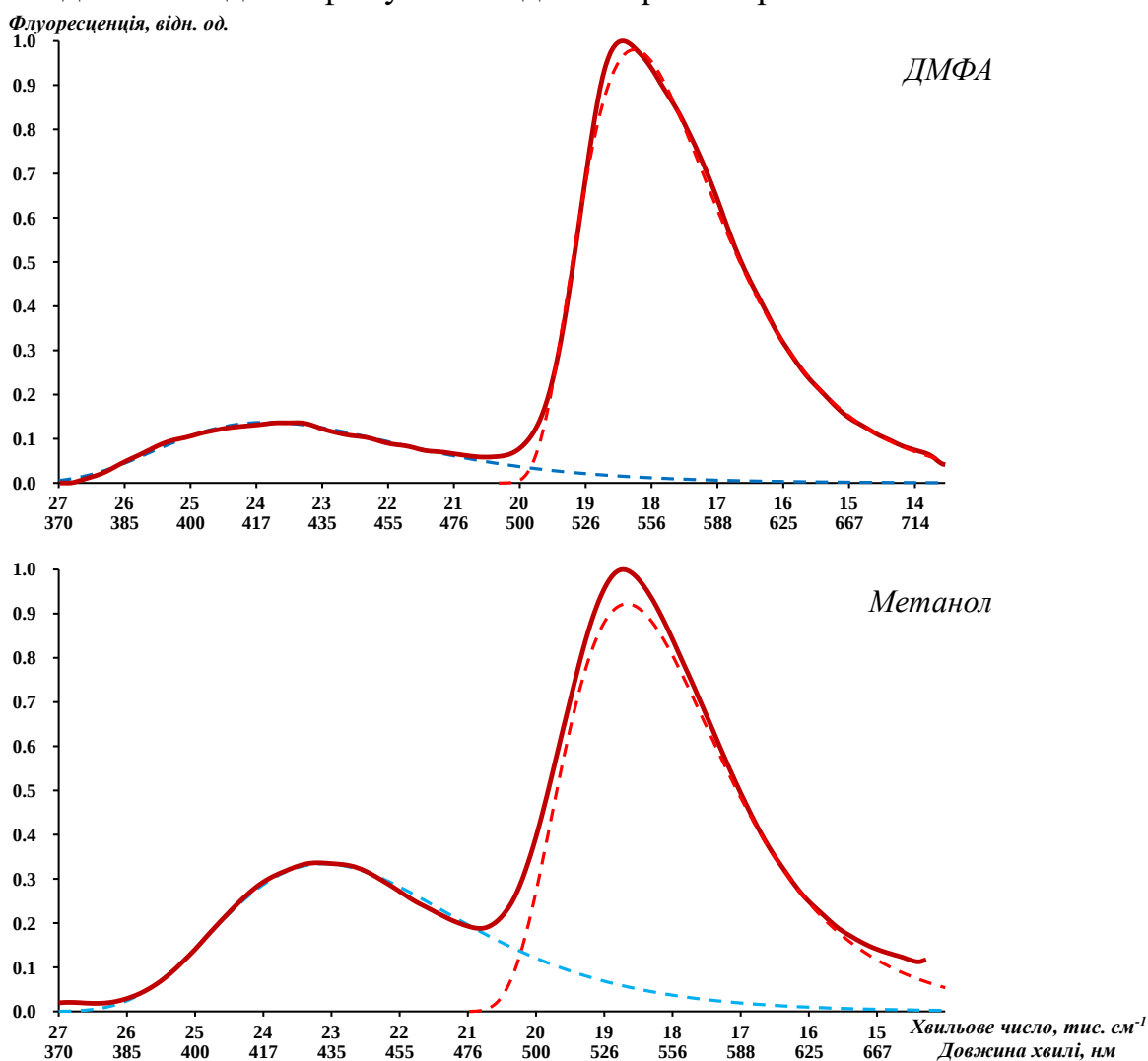


Рисунок 3.7. Деконволюція (розділення) спектрів флуоресценції **45MF** в диметилформаміді (зверху) та метанолі (знизу) на складові смуги нормальної та фототаутомерної форм.

На рисунку 3.7, як приклад, показано результат математичної деконволюції (розділення) спектрів **45MF** в метанолі та диметилформаміді на

їх складові компоненти – смуги випромінювання нормальної та фототаутомерної форм. Виходячи з особливостей спектральної поведінки досліджуваної сполуки (див. дискусію вище), наявність аніонної форми при цьому не враховувалась.

На якісному рівні питання про можливе (часткове) інгібування утворення міжмолекулярних водневих зв'язків за «зовнішньою» неподіленою електронною парою атома кисню карбонільної групи можна відстежити при порівнянні спектрів флуоресценції **45MF** та модельного 4-метоксифлавонолу в спиртових розчинах. На рисунку 3.8 приведені відповідні спектри у метанолі, етанолі та ізопропанолі, для модельної сполуки – дані роботи [30].

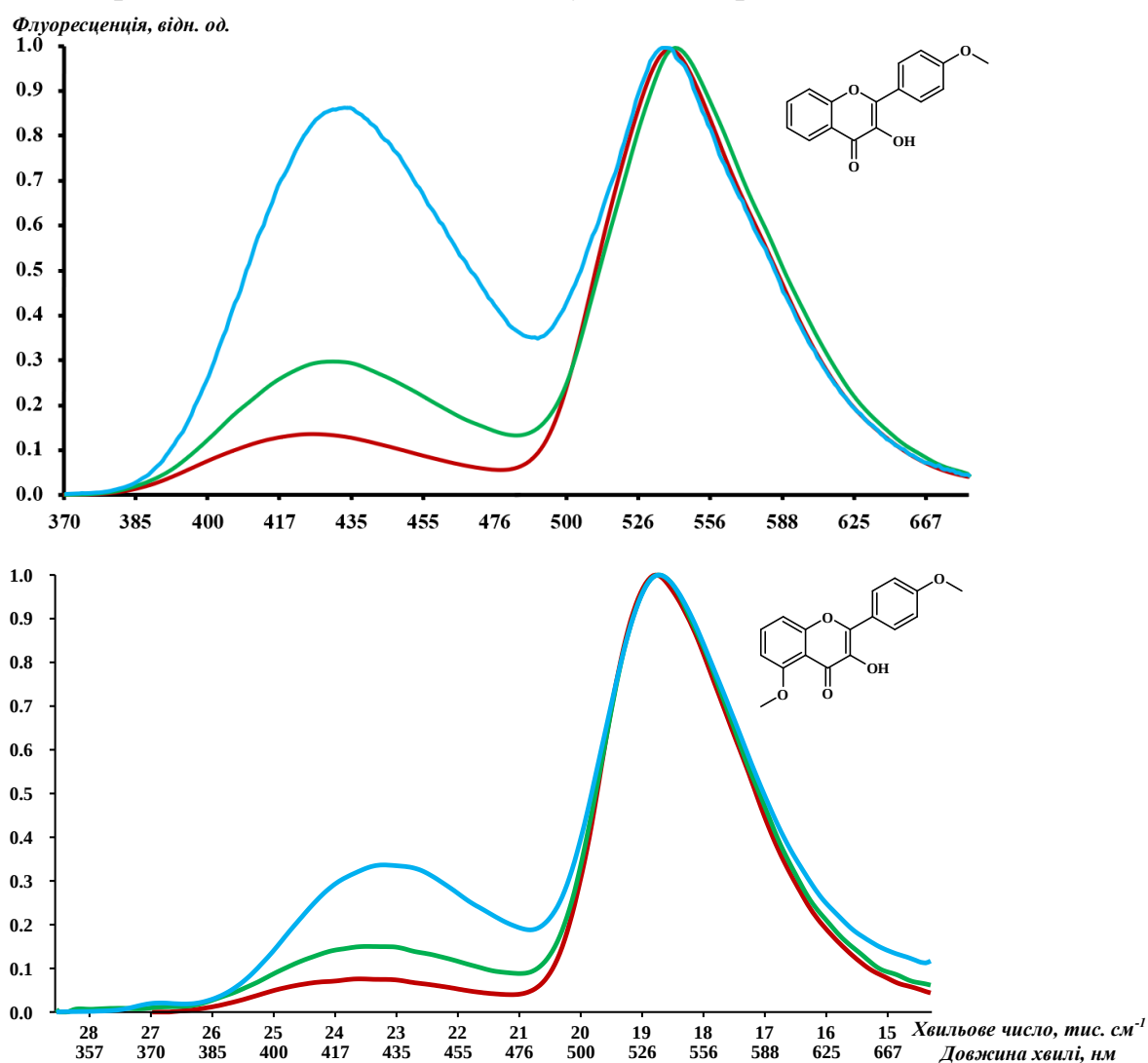


Рисунок 3.8. Спектри флуоресценції 4-метокси- (зверху) та 4',5-диметокси- (знизу) похідних флавонолу в метанолі (блакитні криві), етанолі (зелені) та ізопропіловому спирті (коричневі), нормовані на інтенсивність смуги випромінювання фототаутомерної форми.

Досліджений набір спиртів відрізняється об'ємом вуглеводневого радикалу в їх молекулах, останній створює просторові перешкоди для

утворення міжмолекулярних водневих зв'язків, а також регулює протонодонорні властивості гідроксильної групи. Як було показано в роботі [30], саме кислотність протонодонорної молекули є визначальним фактором гальмування ESIPT в молекулах похідних і аналогів флавонолу, яке в їх спектрах флуоресценції відображається на співвідношенні інтенсивностей смуг випромінювання нормальної та фототаутомерної форм. Просторові перешкоди, які створює об'ємний вуглеводневий радикал, є фактором другого порядку.

Співставлення спектрів, представлених на рисунку 3.8, дозволяє прийти до висновку, що введення поряд з карбонільною групою угруповання  $\text{OCH}_3$  не в змозі забезпечити повного блокування міжмолекулярних водневих зв'язків з карбонільною групою, а лише у певному ступені їх послаблює.

Таким чином, чутливість сполуки **45MF**, як потенційного флуоресцентного зонду, до протонодонорних сполук (води, спиртів, тощо) буде приблизно вдвічі послабленою.

Загальні дані щодо спектрально-флуоресцентних властивостей досліджуваної сполуки представлені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1. Спектральні характеристики 4',5-диметоксифлавонолу в розчинниках різної полярності та протонодонорної здатності.

| Розчинник                | Погли-<br>нання                  | Флуоресценція                    |                       |                                  |                       |           |                  |
|--------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|-----------|------------------|
|                          |                                  | N*                               | $\Delta\nu_{ST}$      | T*                               | $\Delta\nu_{ST}$      | $I_T/I_N$ | $\varphi_\Sigma$ |
| Гексан                   | 28510 $\text{cm}^{-1}$<br>351 нм | -                                | -                     | 18860 $\text{cm}^{-1}$<br>530 нм | 9640 $\text{cm}^{-1}$ | -         |                  |
| Бензен                   | 28000 $\text{cm}^{-1}$<br>357 нм | -                                | -                     | 18720 $\text{cm}^{-1}$<br>534 нм | 9280 $\text{cm}^{-1}$ | -         |                  |
| Метилен<br>хлорид        | 27860 $\text{cm}^{-1}$<br>359 нм | -                                | -                     | 18840 $\text{cm}^{-1}$<br>531 нм | 9020 $\text{cm}^{-1}$ | -         |                  |
| Бутилацетат              | 28320 $\text{cm}^{-1}$<br>353 нм | -                                | -                     | 18680 $\text{cm}^{-1}$<br>535 нм | 9640 $\text{cm}^{-1}$ | -         |                  |
| Ацетонітрил              | 28180 $\text{cm}^{-1}$<br>355 нм | -                                | -                     | 18780 $\text{cm}^{-1}$<br>533 нм | 9400 $\text{cm}^{-1}$ | -         |                  |
| ДМФА                     | 28100 $\text{cm}^{-1}$<br>356 нм | 24020 $\text{cm}^{-1}$<br>416 нм | 4080 $\text{cm}^{-1}$ | 18440 $\text{cm}^{-1}$<br>542 нм | 9660 $\text{cm}^{-1}$ | 4.28      |                  |
| Метанол                  | 27640 $\text{cm}^{-1}$<br>362 нм | 23200 $\text{cm}^{-1}$<br>431 нм | 4440 $\text{cm}^{-1}$ | 18720 $\text{cm}^{-1}$<br>534 нм | 8920 $\text{cm}^{-1}$ | 1.88      |                  |
| Метанол +<br><i>NaOH</i> | 24660 $\text{cm}^{-1}$<br>406 нм | 19580 $\text{cm}^{-1}$<br>511 нм | 5080 $\text{cm}^{-1}$ | -                                | -                     | -         | -                |
| Етанол                   | 27620 $\text{cm}^{-1}$<br>362 нм | 23480 $\text{cm}^{-1}$<br>426 нм | 4140 $\text{cm}^{-1}$ | 18740 $\text{cm}^{-1}$<br>534 нм | 8880 $\text{cm}^{-1}$ | 3.88      |                  |
| <i>ізо</i> -<br>пропанол | 27660 $\text{cm}^{-1}$<br>362 нм | 23620 $\text{cm}^{-1}$<br>423 нм | 4040 $\text{cm}^{-1}$ | 18780 $\text{cm}^{-1}$<br>532 нм | 8880 $\text{cm}^{-1}$ | 8.67      |                  |
| <i>трет</i> -<br>Бутанол | 27740 $\text{cm}^{-1}$<br>360 нм | 23760 $\text{cm}^{-1}$<br>421 нм | 3980 $\text{cm}^{-1}$ | 18800 $\text{cm}^{-1}$<br>532 нм | 8920 $\text{cm}^{-1}$ | 9.5       |                  |



Сполука **45MF** не демонструє суттєвої сольватохромії або сольватофлуорохромії, у більшості випадків флуоресценція нормальної форми не спостерігається, навіть у випадку високого вмісту води в апротонних розчинниках. Причиною такої поведінки є висока швидкість процесу фотопереносу протона, який гальмується лише у спиртових розчинах.

В спиртовому середовищі, так же, як і переважна більшість досліджених раніше похідних флавонолу, **45MF** формує приладно-незалежний раціометричний аналітичний сигнал (співвідношення інтенсивностей смуг випромінювання нормальної та фототаутомерної форм), який регулюється протонодонорною здатністю середовища (табл. 3.1).

Окрім традиційного використання похідних і аналогів флавонолу як флуоресцентних зондів різноманітної спрямованості, вони знаходять широке застосування також і як металочутливі хемосенсорні сполуки. Введення метоксі-групи в положення 5 матиме суттєвий вплив на зв'язування катіонів металів, передбачити який на базі отриманих в даній роботі відомостей неможливо. Утворення металокомплексів хелатного типу з катіонами металів невеликого розміру, скоріше за все, залишиться практично таким же, як і в флавонольній серії в цілому. В той же час, утворення нехелатних комплексів за участю «зовнішньої» неподіленої електронної пари карбонільної групи може як інгібуватись за рахунок просторових перешкод, так і, навпаки, ставати більш вірогідним. Адже в утворенні подібних комплексів можуть прийняти участь також і неподілені електронні пари атома оксигену 5-метоксигрупи. З'ясування особливостей взаємодії **45MF** з катіонами металів виходить за межі цієї роботи і потребуватиме спеціальних додаткових експериментальних досліджень і комп'ютерного моделювання.

## ВИСНОВКИ

1. Синтезовано похідну флавонолу з метоксигрупою в положенні 5, яка потенційно спроможна ускладнювати утворення міжмолекулярних водневих зв'язків за участю «зовнішньої» неподіленої електронної пари атома кисню карбонільної групи. Проведена її ідентифікація за допомогою комплексу сучасних фізико-хімічних методів дослідження.

2. За даними квантово-хімічних розрахунків показано, що введена в положення 5 молекули **45MF** метоксигрупа не спроможна повністю запобігти утворенню міжмолекулярного водневого зв'язку за карбонільною групою, а лише певним чином його послаблює, що відбивається на гальмуванні процесу фотопереносу протона при електронному збудженні досліджуваної сполуки.

3. Метоксигрупа в положенні 5 молекули похідної флавонолу зменшує вірогідність дисоціації її гідроксильної групи в основному стані, в результаті чого в спектрах флуоресценції не реєструється також і смуга випромінювання аніонної форми.

4. Експериментальними дослідженнями флуоресцентних властивостей 4',5-диметоксифлавонолу підтверджено часткове інгібування впливу міжмолекулярних водневих зв'язків з гідроксилвмісними сполуками на перебіг реакції внутрішньомолекулярного переносу протона у електронно-збудженому стані. В результаті цього досліджувана молекула як потенційний флуоресцентний зонд демонструє суттєво меншу чутливість до протонних розчинників, а також до наявності вологи в апротонних розчинниках.



## ПОДЯКИ

Авторка роботи щиро дякує компанії Укроргсинтез (м. Київ) за надані розчинники та реагенти, а також за допомогу в проведенні хроматографічного аналізу та вимірюванні мас- і ЯМР-спектрів.

Комп'ютерне моделювання проведено на розрахункових потужностях ДНУ «НТК Інститут Монокристалів» НАН України, м. Харків.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ПЕРШОДЖЕРЕЛ

1. Pivovarenko V. G., Klymchenko A. S. Fluorescent probes based on charge and proton transfer for probing biomolecular environment. *Chem. Record* **2024**, 24 (2), e202300321.
2. Lu C., Xu J., Song Z., Dai Z. Advancements in esipt probe research over the past three years based on different fluorophores. *Dyes Pigm.* **2024**, 224 111994.
3. Udhayakumari D., Jerome P., Vijay N., Hwan Oh T. Esipt: An approach and future perspective for the detection of biologically important analytes. *J. Lumin.* **2024**, 267 120350.
4. Parthenopoulos D. A., Kasha M. Ground state anion formation and picosecond excitation dynamics of 3-hydroxyflavone in formamide. *Chem. Phys. Lett.* **1990**, 173 (4), 303-309.
5. Sengupta P. K., Kasha M. Excited state proton-transfer spectroscopy of 3-hydroxyflavone and quercetin. *Chem. Phys. Lett.* **1979**, 68 (2), 382-385.
6. Hoshino Y., Takeda S. I., Hamada M., Takeno N. Basicity of  $\gamma$ -pyrones, chromones and flavones. *J. Chem. Soc. Japan* **1982**, (9), 1492-1498.
7. Itoh M., Tokumura K., Tanimoto Y., Okada Y., Takeuchi H., Obi K., Tanaka I. Time-resolved and steady-state fluorescence studies of the excited-state proton transfer in 3-hydroxyflavone and 3-hydroxychromone. *Journ. Amer. Chem. Soc.* **1982**, 104 (15), 4146-4150.
8. Ushakou D. V., Tomin V. I. Spectroscopic methods for the study of energetic characteristics of the normal and photoproduct forms of 3-hydroxyflavones. *Spectrochim. Acta A* **2018**, 204 40-47.
9. Roshal A. D., Grigorovich A. V., Doroshenko A. O., Pivovarenko V. G., Demchenko A. P. Flavonols as metal-ion chelators: Complex formation with  $\text{mg}^{2+}$  and  $\text{ba}^{2+}$  cations in the excited state. *J. Phys. Chem. A* **1999**, 127 (1), 89-100.
10. Svechkarev D., Dereka B., Doroshenko A. Mercury ions complexation with a series of heterocyclic derivatives of 3-hydroxychromone: Spectral effects and prospects for ultrasensitive  $\text{hg}^{2+}$  probing. *j. Phys. Chem. A* **2011**, 115 (17), 4223-4230.
11. Qin T., Liu B., Xu Z., Yao G., Xu H., Zhao C. Flavonol-based small-molecule fluorescent probes. *Sens. Act. B: Chem.* **2021**, 336 129718.
12. Xu Z., Zhao X., Zhou M., Zhang Z., Qin T., Wang D., Wang L., Peng X., Liu B. Donor engineering on flavonoid-based probes to enhance the fluorescence brightness in water: Design, characterization, photophysical properties, and application for cysteine detection. *Sens. Actuat. B: Chem.* **2021**, 345 130367.
13. Dennison S. M., Guharay J., Sengupta P. K. Intramolecular excited-state proton transfer and charge transfer fluorescence of a 3-hydroxyflavone derivative in micellar media. *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy* **1999**, 55 (4), 903-909.
14. Mondal S., Basu S., Mandal D. Ground- and excited-state proton-transfer reaction of 3-hydroxyflavone in aqueous micelles. *Chem. Phys. Lett.* **2009**, 479 (4), 218-223.

15. Ghosh D., Batuta S., Das S., Begum N. A., Mandal D. Proton transfer dynamics of 4'-n,n-dimethylamino-3-hydroxyflavone observed in hydrogen-bonding solvents and aqueous micelles. *J. Phys. Chem. B* **2015**, *119* (17), 5650-5661.
16. Bondar O. P., Pivovarenko V. G., Rowe E. S. Flavonols - new fluorescent membrane probes for studying the interdigitation of lipid bilayers. *BBA - Biomembranes* **1998**, *1369* (1), 119-130.
17. Darwich Z., Kucherak O. A., Kreder R., Richert L., Vauchelles R., Mély Y., Klymchenko A. S. Rational design of fluorescent membrane probes for apoptosis based on 3-hydroxyflavone. *Meth. Appl. Fluor.* **2013**, *1* (2), 025002.
18. Sahu A. K., Mishra A. K. Photophysical behavior of plant flavonols galangin, kaempferol, quercetin, and myricetin in homogeneous media and the dmpe model membrane: Unveiling the influence of the b-ring hydroxylation of flavonols. *J. Phys. Chem. B* **2022**, *126* (15), 2863-2875.
19. Zhong Y., Chen Y., Feng X., Sun Y., Cui S., Li X., Jin X., Zhao G. Hydrogen-bond facilitated intramolecular proton transfer in excited state and fluorescence quenching mechanism of flavonoid compounds in aqueous solution. *J. Molec. Liquids* **2020**, 112562.
20. Liu Z.-Y., Hu J.-W., Chen C.-L., Chen Y.-A., Chen K.-Y., Chou P.-T. Correlation among hydrogen bond, excited-state intramolecular proton-transfer kinetics and thermodynamics for -oh type proton-donor molecules. *J. Phys. Chem. C* **2018**, *122* (38), 21833-21840.
21. Strandjord A. J. G., Courtney S. H., Friedrich D. M., Barbara P. F. Excited-state dynamics of 3-hydroxyflavone. *J. Phys. Chem.* **1983**, *87* (7), 1125-1133.
22. Demchenko A. P. The problem of self-calibration of fluorescence signal in microscale sensor systems. *Lab Chip* **2005**, *5* (11), 1210.
23. Demchenko A. P. The concept of  $\lambda$ -ratiometry in fluorescence sensing and imaging. *J. Fluorescence* **2010**, *20* (5), 1099-1128.
24. Demchenko A. P. Practical aspects of wavelength ratiometry in the studies of intermolecular interactions. *J. Mol. Struct.* **2014**, *1077* 51-67.
25. Chou P., McMorro D., Aartsma T. J., Kasha M. The proton-transfer laser. Gain spectrum and amplification of spontaneous emission of 3-hydroxyflavone. *J. Phys. Chem.* **1984**, *88* (20), 4596-4599.
26. Klymchenko A. S., Mély Y., Demchenko A. P., Duportail G. Simultaneous probing of hydration and polarity of lipid bilayers with 3-hydroxyflavone fluorescent dyes. *BBA - Biomembranes* **2004**, *1665* (1), 6-19.
27. Svechkarev D. A., Baumer V. N., Syzova Z. A., Doroshenko A. O. New benzimidazolic 3-hydroxychromone derivative with two alternative mechanisms of the excited state intramolecular proton transfer reaction. *J. Molec. Struct.* **2008**, *882* (1-3), 63-69.
28. Svechkarev D. A., Karpushina G. V., Lukatskaya L. L., Doroshenko A. O. 2-(benzimidazol-2-yl)-3-hydroxychromone derivatives: Spectroscopic properties and a possible alternative intramolecular proton phototransfer. *Central Eur. J. Chem.* **2008**, *6* (3), 443-449.

29. Chepeleva L. V., Matsakov A. Y., Kondratyuk Z. A., Yaremenko F. G., Doroshenko A. O. Pyrazolyl 3-hydroxychromones: Regulation of esipt reaction by the “flavonol-like” intramolecular hydrogen bonding to carbonyl group oxygen, which dominates over the “alternative” h-bond to heterocyclic nitrogen. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2010**, 209 (2), 163-173.
30. Doroshenko A. O., Kyrychenko A. V., Valyashko O. M., Kotlyar V. M., Svechkarev D. A. 4'-methoxy-3-hydroxyflavone excited state intramolecular proton transfer reaction in alcoholic solutions: Intermolecular versus intramolecular hydrogen bonding effect. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2019**, 383 111964.
31. Klymchenko A. S., Pivovarenko V. G., Ozturk T., Demchenko A. P. Modulation of the solvent-dependent dual emission in 3-hydroxychromones by substituents. *New j. Chem.* **2003**, 27 (9), 1336-1343.
32. Shynkar V. V., Klymchenko A. S., Demchenko A. P., Mely Y. In *H-bond sensing with 3-hydroxyflavones: Steady-state and time-resolved fluorescence studies*, Photonics Europe, SPIE: 2004; p 11.
33. Klymchenko A. S., Pivovarenko V. G., Demchenko A. P. Elimination of the hydrogen bonding effect on the solvatochromism of 3-hydroxyflavones. *J. Phys. Chem. A* **2003**, 107 (21), 4211-4216.
34. Weller A. Fast reactions of excited state molecules. *Progr. React. Kinet.* **1961**, 1 187-214.
35. Klopffer W. Intramolecular proton transfer in electronically excited molecules. In *Advances in photochemistry*, Pitts Jr., J. N.; Hammond, G. S.; Gollnick, K., Eds. John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 1977; Vol. 10, pp 311-358.
36. Kasha M. Characterization of electronic transitions in complex molecules. *Disc. Faraday Soc.* **1950**, 9 14.
37. McMorro D., Kasha M. Proton-transfer spectroscopy of 3-hydroxychromones. Extreme sensitivity to hydrogen-bonding perturbations. *Journ. Amer. Chem. Soc.* **1983**, 105 (15), 5133-5134.
38. Strandjord A. J. G., Barbara P. F. Hydrogen/deuterium isotope effects on the excited-state proton transfer kinetics of 3-hydroxyflavone. *Chem. Phys. Lett.* **1983**, 98 (1), 21-26.
39. Shynkar V. V., Klymchenko A. S., Mély Y., Duportail G., Pivovarenko V. G. Anion formation of 4'-(dimethylamino)-3-hydroxyflavone in phosphatidylglycerol vesicles induced by hepes buffer: A steady-state and time-resolved fluorescence investigation. *J. Phys. Chem. B* **2004**, 108 (48), 18750-18755.
40. Sun W., Li S., Hu R., Qian Y., Wang S., Yang G. Understanding solvent effects on luminescent properties of a triple fluorescent esipt compound and application for white light emission. *J. Phys. Chem. A* **2009**, 113 (20), 5888-5895.
41. Massue J., Jacquemin D., Ulrich G. Molecular engineering of excited-state intramolecular proton transfer (esipt) dual and triple emitters. *Chem. Letters* **2018**, 47 (9), 1083-1089.

42. Dereka B., Letrun R., Svechkarev D., Rosspeintner A., Vauthey E. Excited-state dynamics of 3-hydroxyflavone anion in alcohols. *J. Phys. Chem. B* **2015**, *119* (6), 2434-2443.
43. Chumak A. Y., Mudrak V. O., Kotlyar V. M., Doroshenko A. O. 4'-nitroflavonol fluorescence: Excited state intramolecular proton transfer reaction from the non-emissive excited state. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2021**, *406* 112978.
44. Svechkarev D., Doroshenko A., Baumer V., Dereka B. Nature of dual fluorescence in 2-(quinolin-2-yl)-3-hydroxychromone: Tuning between concurrent h-bond directions and esipt pathways. *J. Lumin.* **2011**, *131* (2), 253-261.
45. Chen C.-L., Lin C.-W., Hsieh C.-C., Lai C.-H., Lee G.-H., Wang C.-C., Chou P.-T. Dual excited-state intramolecular proton transfer reaction in 3-hydroxy-2-(pyridin-2-yl)-4h-chromen-4-one. *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113* (1), 205-214.
46. Chumak A. Y., Denysieva Y. O., Kolomoitsev O. O., Kotlyar V. M., Shvets E. H., Doroshenko A. O. N-ethyl substituted 2-benzimidazolyl-3-hydroxychromone: Atypical to highly fluorescent dyes of flavonol series excited state intramolecular proton transfer to nitrogen. *J. Lumin.* **2020**, *223* 117206.
47. Lippert E. Spektroskopische untersuchung der fluoreszenz von nitroverbindungen. *Z. Phys. Chem.* **1954**, *2* 328-35.
48. Mewes J.-M., Jovanovic V., Marian C. M., Dreuw A. On the molecular mechanism of non-radiative decay of nitrobenzene and the unforeseen challenges this simple molecule holds for electronic structure theory. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16* 12393-12406.
49. Mehra K. S., Jha S., Menon A. M., Chopra D., Sankar J. The deeper it goes, the brighter it glows: Nir emissive nitro-terrylene diimides with deep lumos. *Royal Soc. Chem.* **2023**.
50. Algar J., Flynn J. P. A new method for the synthesis of flavonols. *Proc. Roy. Irish Acad. B* **1934**, *42* 1-8.
51. Smith M. A., Neumann R. M., Webb R. A. A modification of the algar-flynn-oyamada preparation of flavonols. *J. Heterocycl. Chem.* **1968**, *5* (3), 425-426.
52. Gunduz S., Goren A. C., Ozturk T. Facile syntheses of 3-hydroxyflavones. *Org. Lett.* **2012**, *14* (6), 1576-1579.
53. Kolos N. N., Nazarenko N. V., Shishkina S. V., Doroshenko A. O., Shvets E. G., Kolosov M. A., Yaremenko F. G. Synthesis, study of the structure, and modification of the products of the reaction of 4-aryl-4-oxobut-2-enoic acids with thiourea. *Chem. Heterocycl. Comp.* **2020**, *56* (9), 1202-1209.
54. McHedlov-Petrosyan N. O., Shekhovtsov S. V., Moskaeva E. G., Omelchenko I. V., Roshal A. D., Doroshenko A. O. New fluorescein dyes with unusual properties: Tetra- and pentanitrofluoresceins. *J. Molec. Liquids* **2022**, *367* 120541.
55. Obukhova O. M., McHedlov-Petrosyan N. O., Vodolazkaya N. A., Patsenker L. D., Doroshenko A. O. Stability of rhodamine lactone cycle in solutions: Chain&ndash;ring tautomerism, acid&ndash;base equilibria, interaction with lewis acids, and fluorescence. *Colorants* **2022**, *1* (1), 58-90.

56. Shekhovtsov S. V., Omelchenko I. V., Shishkina S. V., Doroshenko A. O., Vus K. O., Vlasenko H. S., McHedlov-Petrosyan N. O. 3'-nitro- and 3'-aminofluoresceins: Appearance of previously missing dyes *Colorants* [Online], 2023, p. 500-518.
57. Demas J. N., Crosby G. A. Measurement of photoluminescence quantum yields. Review. *J. Phys. Chem.* **1971**, 75 (8), 991-1024.
58. Melhuish W. H. Absolute spectrofluorometry. *J. Res. Nat. Inst. Stand. Techn. A* **1972**, 76A (6), 547-560.
59. Siano D. B., Metzler D. E. Band shapes of the electronic spectra of complex molecules. *Journ. Chem. Phys.* **1969**, 51 (5), 1856-1861.
60. Becke A. D. Density-functional thermochemistry. Iii. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98 (7), 5648-5652.
61. Woon D. E., Dunning T. H. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. Iii. The atoms aluminum through argon. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98 (2), 1358-1371.
62. Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G. A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H. P., Izmaylov A. F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J. L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomer J., J.A. , Peralta J. E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J. J., Brothers E., Kudin K. N., Staroverov V. N., Keith T., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J. C., Iyengar S. S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam J. M., Klene M., Knox J. E., Cross J. B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R. E., Yazyev O., Austin A. J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J. W., Martin R. L., Morokuma K., Zakrzewski V. G., Voth G. A., Salvador P., Dannenberg J. J., Dapprich S., Daniels A. D., Farkas O., Foresman J. B., Ortiz J. V., Cioslowski J., Fox D. J. *Gaussian 09, revision b.01*, Gaussian, Inc.: Wallingford CT, 2010.
63. Bylaska E. J., de Jong W. A., Govind N., Kowalski K., Straatsma T. P., Valiev M., Wang D., Apra E., Windus T. L., Hammond J., Nichols P., Hirata S., Hackler M. T., Zhao Y., Fan P.-D., Harrison R. J., Dupuis M., Smith D. M. A., Nieplocha J., Tipparaju V., Krishnan M., Wu Q., Van Voorhis T., Auer A. A., Nooijen M., Brown E., Cisneros G., Fann G. I., Fruchtl H., Garza J., Hirao K., Kendall R., Nichols J. A., Tsemekhman K., Wolinski K., Anchell J., Bernholdt D., Borowski P., Clark T., Clerc D., Dachsel H., Deegan M., Dyall K., Elwood D., Glendening E., Gutowski M., Hess A., Jaffe, Johnson B., Ju J., Kobayashi R., Kutteh R., Lin Z., Littlefield R., Long X., Meng B., Nakajima T., Niu S., Pollack L., Rosing M., Sandrone G., Stave M., Taylor H., Thomas G., van Lenthe J., Wong A., Zhang Z. *Nwchem, a computational chemistry package for parallel computers, version 5.1*, Pacific Northwest National Laboratory, Richland, Washington, 99352-0999, USA: 2007.
64. Luzanov A. V., Zhikol O. A. Electron invariants and excited state structural analysis for electronic transitions within cis, rpa, and tddft models. *Int. J. Quant. Chem.* **2009**, 110 (4), 902-924.

65. Luzanov A. V., Zhikol O. A. Excited state structural analysis: Tddft and related models. In *Practical aspects of computational chemistry i*, Leszczynski, J.; Shukla, M. K., Eds. Springer: Dordrecht, 2011.
66. Peng C., Ayala P. Y., Schlegel H. B., Frisch M. J. Using redundant internal coordinates to optimize equilibrium geometries and transition states. *J. Comput.l Che.* **1996**, *17* (1), 49-56.
67. Espinosa E., Molins E., Lecomte C. Hydrogen bond strengths revealed by topological analyses of experimentally observed electron densities. *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *285* (3), 170-173.
68. Bader R. F. W. Atoms in molecules. *Acc. Chem. Res.* **1985**, *18* (1), 15-18.
69. Bader R. F. W. A quantum theory of molecular structure and its applications. *Chem. Rev.* **1991**, *91* (5), 893-928.
70. Bader R. F. W. A bond path: A universal indicator of bonded interactions. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102* (37), 7314-7323.
71. Wolinski K., Hinton J. F., Pulay P. Efficient implementation of the gauge-independent atomic orbital method for nmr chemical shift calculations. *Journ. Amer. Chem. Soc.* **1990**, *112* (23), 8251-8260.
72. Tomasi J., Mennucci B., Cammi R. Quantum mechanical continuum solvation models. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (8), 2999-3094.
73. Mennucci B., Cappelli C., Guido C. A., Cammi R., Tomasi J. Structures and properties of electronically excited chromophores in solution from the polarizable continuum model coupled to the time-dependent density *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113* (13), 3009-3020.
74. Lazzaroni S., Dondi D., Mezzetti A., Protti S. Role of solute-solvent hydrogen bonds on the ground state and the excited state proton transfer in 3-hydroxyflavone. A systematic spectrophotometric study. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2018**, *17* (7), 923-933.
75. Mezzetti A., Protti S. Flavonols and 3-hydroxychromones: New applications for a class of environment-sensitive fluorescent molecules. *Chimica oggi* **2020**, *38* (3), 34-37.
76. Svechkarev D. A., Bukatich I. V., Doroshenko A. O. New 1,3,5-triphenyl-2-pyrazoline-containing 3-hydroxychromones as highly solvatofluorochromic ratiometric polarity probes. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2008**, *200* (2), 426-431.
77. Bader R. F. W. Bond paths are not chemical bonds. *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113* (38), 10391-10396.
78. Zhikol O. A., Shishkin O. V. Estimating stacking interaction energy using atom in molecules properties: Homodimers of benzene and pyridine. *Intern.l Journ. Quant. Chem.* **2012**, *112* (18), 3008-3017.
79. Mandal P. K., Samanta A. Evidence of ground-state proton-transfer reaction of 3-hydroxyflavone in neutral alcoholic solvents. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107* (32), 6334-6339.



80. Protti S., Mezzetti A., Cornard J.-P., Lapouge C., Fagnoni M. Hydrogen bonding properties of dmso in ground-state formation and optical spectra of 3-hydroxyflavone anion. *Chem. Phys. Lett.* **2008**, 467 (1), 88-93.
81. Chevalier K., Grün A., Stamm A., Schmitt Y., Gerhards M., Diller R. Esipt and photodissociation of 3-hydroxychromone in solution: Photoinduced processes studied by static and time-resolved uv/vis, fluorescence, and ir spectroscopy. *J.Phys. Chem. A* **2013**, 117 (44), 11233-11245.