

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND

Keemia instituut

Helen Sepman

**ORGAANILISTE KOLMETSÜKLILISTE BENSOTIENOPÜRIMIDIINI TÜÜPI
ÜHENDITE KÕRGTEMPERATUURSETE FOSFORESTSENTSOMADUSTE
KIRJELDAMINE**

Bakalaureuse töö

6 EAP

Juhendaja: teadur Erki Enkvist PhD

Tartu 2019

INFOLEHT

Orgaaniliste kolmetsükliliste bensotienopürimidiini tüüpi ühendite toatemperatuursete fosforesentsomaduste kirjeldamine

Orgaaniliste ühendite fosforesents toatemperatuuril ja kõrgematel temperatuuridel on ebatavaline nähtus, mida soodustab raske aatomi olemasolu ühendis ning õhuhapniku eest kaitsev ja molekuli jäigalt siduv maatriks. Töös kirjeldati varasemalt sünteesitud kolmetsükliliste bensotienopürimidiini tüüpi ühendite fosforesentsomadusi PVA maatriksis, sünteesiti ilma raske aatomita (broomita) sarnane ühend ning uuriti selle mõju molekuli fosforesentsomadustele. Selgus, et heterotsüklis väävlit sisaldavate broomiga seotud ühendite eluead jäid vahemikku 42-45 ms, broomi eemaldamisel molekulist kasvas fosforesentsi eluiga kuni 229 ms. Ühendite fosforesentsi kvantsaagised PVA-s olid kõikide ühendite puhul sarnased ja jäid vahemikku 31-34%. Töös kirjeldatud ühendid võiksid leida kasutust odavama ja keskkonnasõbralikuma alternatiivina fosforesentsil põhinevates hapniku- ja temperatuurisensorites ning OLED-ides.

Märksõnad: toatemperatuurne fosforesents

CERCS kood ja nimetus: P390 Orgaaniline keemia

Room-temperature phosphorescence of organic tricyclic benzothienopyrimidine type molecules

Room-temperature phosphorescence of organic compounds is rather an uncommon process and is induced by a heavy atom in the molecule and a rigid matrix that prevents thermal relaxation and quenching by dioxygen. In this research the phosphorescence characteristics of previously synthesised tricyclic benzothienopyrimidine type molecules that were embedded in PVA matrix were described and a new similar molecule was synthesised that did not contain a heavy atom (bromine). The molecules bonded to bromine containing sulphur in heterocycle showed lifetimes from 39 to 45 ms, the molecule without bromine had a lifetime of 229 ms. Quantum yields of this type of molecules were quite similar in the range of 31 and 34%. Molecules described in this research could be used as cheaper and more environmentally friendly alternatives in phosphorescence based oxygen and temperature sensors and in OLEDs.

Keywords: room-temperature phosphorescence

CERCS code and names: P390 Organic chemistry

Sisukord

1. Sissejuhatus.....	5
2. Kirjanduse ülevaade	6
2.1. Fotoluminestsents.....	6
2.1.1. Luminestsentskiirgust kirjeldavad karakteristikud	7
2.1.2. Luminestsentssignaali kustutajad.....	8
2.1.3. Fosforestsentsi saavutamine toatemperatuuril ja selle rakendused.....	9
2.1.4. Orgaanilised valgust emiteerivad diodid	12
2.1.5. Raske aatomi efekt	13
2.1.6. Maatriksisse sidumine	14
2.2. Uuritavad ained	15
3. Kasutatud aparatuur, karakteriseeritavad ained ja meetodid.....	17
3.1. Kasutatud aparatuur ja kemikaalid	17
3.2. Karakteriseeritavad ained ja meetodid	17
3.2.1. Ühendi 1 süntees	18
3.2.2. Ühendi 5 süntees	19
3.2.3. Kontsentratsiooni määramine	21
3.2.4. Ühendi polümeermaatriksisse sidumine	21
3.2.5. Ergastus- ja emissioonispektrite mõõtmine	23
3.2.6. Luminestsentssignaali eluigade mõõtmine	23
4. Tulemused ja arutelu	25
4.1. Emissiooni- ja ergastusspektrid	25
4.2. Eluead toatemperatuuril PVA maatriksis	26
4.3. Eluead erinevates maatriksites	27
4.4. Luminestsentsi temperatuurisõltuvuse uurimine.....	28
4.5. Kvantsaagised	30
Kokkuvõte.....	32
Summary	33
Kasutatud kirjandus	33
Lisad	37
Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks	44

Lühendid

ACN – atsetonitriil

ACQ – agregatsioonist põhjustatud kustumine (ingl *aggregation caused quenching*)

APS – ammooniumpersulfaat

ARC – adensiini analoogi ja oligoarginiini konjugaadid

ATP – adensiintrifosfaat (ingl *adenosine triphosphate*)

DMF – dimetüülformamiid

HOMO – kõrgeima energiaga asustatud molekulaarorbitaal (ingl *highest occupied molecular orbital*)

EtOAc – etüülatsetaat

FRET – Försteri resonantsenergia ülekanne (ingl *Förster resonance energy transfer*)

HPLC – kõrgefektiivne-vedelikkromatograafia (ingl *high performance liquid chromatography*)

LUMO – madalaima energiaga okupeerimata/vaba molekulaarorbitaal (ingl *lowest unoccupied molecular orbital*)

MS – massispektromeeter

TMR – tuumamagnetresonantsspektroskoopia (ingl *nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR*)

OLED – orgaaniline valgust emiteeriv diod (ingl *organic light emitting diode*)

PET – fotoindutseeritud elektroni ülekanne (ingl *photoinduced electron transfer*)

PMMA – polümetüülmetakrülaad

PVA – polüvinüülalkohol

PVP – polüvinüülpürrolidoon

RTP – toatemperatuurne fosforesents (ingl *room temperature phosphorescence*)

TFA – trifluoroäädikhape

TLC – õhukese kihi kromatograafia (ingl *thin layer chromatography*)

TMED – tetrametüületüleendiamiid

Tris – trihüdrosümetüülaminometaan

1. Sissejuhatus

Luminestsents on füüsikaline nähtus, mille käigus elektroonselt ergastatud aine relakseerub ning vabanev energia emiteeritakse footonina. Ergastatud olekute põhjal jaguneb luminestsents kaheks – fluorestsentsiks ja fosforestsentsiks. Fluorestsentsi korral on ergastatud elektron paardunud põhiolekus oleva vastassuunalise spinniga (singletne olek) elektroniga, relakseerumine on seetõttu spinn-lubatud ja toimub kiiresti. Fosforestsentsi puhul on ergastatud elektron paardunud põhiolekus asuva samasuunalise spinniga elektroniga, seega on kiirguslik relakseerumine spinn-keelatud ning toimub vaid teatud tingimustel ja palju aeglasemalt kui relakseerumine singletsest olekust. Fosforestsents on levinud madalatel temperatuuridel, sest kõrgematel temperatuuridel eksisteerivad deaktivatsiooniprotsessid nagu temperatuurist ja molekulidevahelistest interaktsioonidest põhjustatud mittekiirguslik relaksatsioon ja signaali kustutamine (ingl *quenching*) tripletse õhuhapniku mõjul [1], [2].

Fosforestseeruvad ühendid leiavad kasutust spetsiifilistes valdkondades, kus pikaajaline kiirgus omab olulist eelist fluorestseeruvate ühendite ees. Toatemperatuuril fosforestseeruvaid aineid on vähe ning need vajavad kindlaid keskkonnatingimusi, mistõttu on fosforestsentsil põhinevad meetodid vähem levinud. Teatud juhtudel saab aine fosforestsentsomaduste avaldumist soodustada raske aatomi lisamisega, aine sidumisega maatriksisse ning vesiniksidestamise abil [2].

Hiljutised edusammud orgaaniliste ühendite kõrgtemperatuurse ehk toatemperatuurse fosforestsentsi osas on tekitanud huvi molekulide edasiarendusteks. Need võiksid leida kasutust bioloogiliste süsteemide aeglahutusega jälgimisel, hapniku- ja temperatuurisensoritena ning elektroluminestsentsseadmetes (OLED-id), võimaldades saavutada efektiivsemaid ja parema jõudlusega seadmeid. Orgaanilisi fosforestseeruvaid ühendeid on lihtsam keemiliselt modifitseerida ning nende kasutamine anorgaaniliste fosforestseeruvate ühendite asemel muudaks materjalid keskkonnasõbralikemaks ja alandaks ka nende hinda [2].

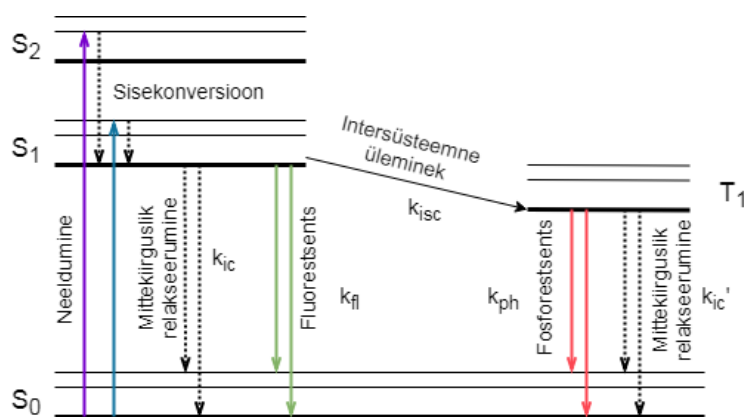
Töö eesmärk oli kirjeldada olemasolevaid toatemperatuuril fosforestseeruvaid bensotienopürimidiini tüüpi molekule, sünteesida uus baasstruktuur, mis sarnanes eelmistega, kuid millel puudus raske aatom, uurida struktuuri muudatuste mõju molekulide luminestsentsomadustele ning võrrelda molekulide luminestsentsomadusi erinevates maatriksites. Fosforestseeruvate molekulide omadusi kirjeldatakse ergastus- ja emissioonispektritega ning eluigade ja kvantsaagisega.

2. Kirjanduse ülevaade

2.1. Fotoluminestsents

Luminestsentsiks nimetatakse elektroonselt ergastatud aine relakseerumist, millega kaasneb footoni eraldumine, ning see jaguneb relakseerumisele eelnevate ergastatud olekute põhjal kaheks – fluorestsentsiks ning fosforestsentsiks. On üsna levinud, et mõlemad ergastatud olekud on aines samaaegselt esindatud ning seetõttu toimuvad fluorestsents ja fosforestsents paralleelselt [1].

Fluorestsentsi korral on ergastatud elektron paardunud vastassuunalise ehk antiparalleelse spinniga elektroniga (singletne olek) ning relakseerumine toimub kiiresti, sest üleminek on spinn-lubatud. Eluead jäävad fluorestsentsi puhul nanosekundi skaalasse ($10^{10} - 10^8$ s). Singletse ergastatud oleku elektroni antiparalleelne spinn saab minna üle samasuunaliseks ehk paralleelseks spinniks ning molekul läheb singletsest olekust madalama energiaga tripletseks olekusse (spinn-seotud on kaks samasuunalise spinniga elektroni). Sellist üleminekut nimetatakse süsteemisiseseks üleminekuks (ingl *intersystem crossing*). Kui elektron on ergastatud olekus paardunud samasuunalise spinniga elektroniga (tripletne olek), ei ole relakseerumine spinn-lubatud ning seetõttu toimub elektroni relakseerumine aeglasemalt kui fluorestsentsi puhul. Kiirguslikku relakseerumist ergastatud tripletsest olekust nimetatakse fosforestsentsiks ning selle eluead ulatuvad orgaanilistel ainetel mikro- ja millisekunditeni ning harvem isegi sekunditeni [1]. Valguse neeldumist ja emissiooni molekulis kirjeldatakse Jablonski diagrammiga (joonis 1), millel kujutatakse molekuli erinevates ergastatud olekutes võimalikke toimuvaid protsesse.



Joonis 1. Jablonski diagramm. Singletses põhiolekus (S_0) oleva molekuli kõrgeima energiaga asustatud orbitaali (ingl *highest occupied molecular orbital*, HOMO) elektron ergastatakse footoni neeldumisel (violetne ja sinine nool) kõrgema energiaga singletsesse olekusse (S_1 , S_2)

ehk madalaima energiaga okupeerimata/vabale molekulaarorbitaalile (ingl *lowest unoccupied molecular orbital, LUMO*). Toimub soojuslik relakseerumine madalaima energiaga vibratsioonilisse olekusse ehk sisekonversioon (mustad katkendlikud nooled). Seejärel saab toimuda kiire relakseerumine põhiolekusse S_0 ($LUMO \rightarrow HOMO$), mille käigus emiteeritakse foton (fluorestsents; rohelised nooled) või intersüsteemne üleminek tripletesse olekusse (T_1), mille käigus elektroni spinn muutub. Tripletsest olekust saab toimuda relakseerumine, mis ei ole spinn-lubatud ning on seetõttu aeglasem (fosforestsents; punased nooled).[1]

2.1.1. Luminestsentskiirgust kirjeldavad karakteristikud

Molekuli neeldumisspektri maksimum ei lange emissioonispektri maksimumiga kokku, sest pärast ergastamist toimuvad kiired üleminekud singletse oleku madalama vibratsioonilise energiaga tasemele ja seetõttu kaotab elektron energiat. Neelduva ja emiteeritava footoni energiatega vahet nimetatakse Stokesi nihkeks (ingl *Stokes shift*). Fosforestsentsi puhul on Stokesi nihe suurem ning kiiratavad lainepikkused suuremad, sest süsteemisisel üleminekul kaotatakse energiat. Enamasti ei sõltu molekuli emissioonispektri kuju ergastavast energiast [1].

Elektroni ergastamisele põhioleku singletsest olekust kõrgemale singletsesse olekusse järgneb kiire relakseerumine, mis võib toimuda kolmel viisil – mitte-kiirguslik relakseerumine põhiolekusse (ingl *internal conversion*; kiiruskonstant k_{ic}), kiirguslik relakseerumine põhiolekusse ehk fluorestsents (kiiruskonstant k_f) või üleminek madalama energiaga tripletesse olekusse ehk süsteemisisene üleminek (ingl *intersystem crossing*; kiiruskonstant k_{isc}). Tripletsest olekust saab relakseerumine toimuda mitte-kiirguslikult, tehes läbi uue mittekiirgusliku relakseerumise (kiiruskonstant K_{ic}') või kiirguslikult ehk fosforestseerudes (kiiruskonstant k_{ph}) [3].

Kvantsaagiseks nimetatakse neeldunud ja emiteeritud footonite suhet ning selle väärtus jääb nulli ja ühe vahele. Fluorestsentsi puhul on kvantsaagiseks ergastatud singletsest olekust relakseerumisel eraldunud footonite ja kõikide neelatud footonite suhe, mis avaldub kiiruskonstantidega [3]:

$$\Phi_f = \frac{k_f}{k_{ic} + k_f + k_{isc}}$$

(valem 1)

Fosforestsentsi puhul on kvantsaagiseks ergastatud tripletest olekust relakseerumisel eraldunud footonite ja kõikide neelatud footonite suhte:

$$\Phi_{ph} = \eta_{isc} \times \eta_{ph} = \frac{k_{ph} \times k_{isc}}{(k_{ic}' + k_{ph})(k_{ic} + k_{fl} + k_{isc})}$$

(valem 2)

kus η_{isc} on ergastatud singletsest olekust tripletesse olekusse ülemineku efektiivsus ning η_{ph} fosforestsentsi efektiivsus tekkinud tripletest olekust [3].

Luminesentsi elueaks nimetatakse keskmist aega, mille molekul enne relakseerumist ergastunud olekus veedab. Seda defineeritakse kui aega, mis kulub ergastatud elektronide kontsentratsiooni vähenemiseks naturaalarvu e korda. Fluorestsentsi eluiga avaldub [3]:

$$\tau(S1) = \frac{1}{(k_{ic} + k_{fl} + k_{isc})}$$

(valem 3)

Fosforestsentsi eluiga avaldub kiiruskonstantide kaudu [3]:

$$\tau(T1) = \frac{1}{(k_{ic}' + k_{ph})}$$

(valem 4)

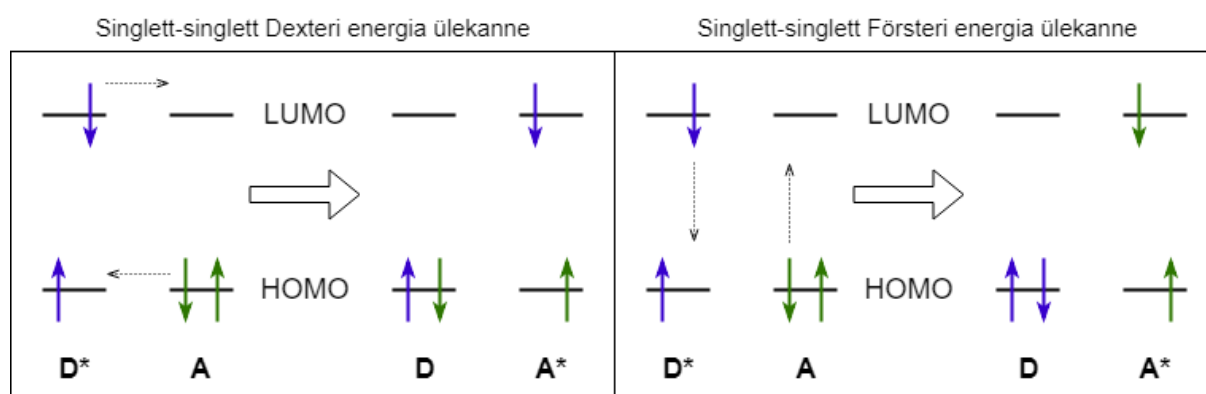
2.1.2. Luminesentssignaali kustutajad

Kiirguslik relakseerumine ei ole isoleeritud protsess, mistõttu esineb mitmeid konkureerivaid protsesse, mis deaktiveerivad ergastatud olekut (nimetatakse ka kustutamiseks). Enamasti toimub kustutamine mitme mehhanismi kombinatsioonina [1].

Üks võimalus kustutamiseks on elektronvahetus ehk Dexteri mehhanism. Luminofoori ergastatud elektron kantakse üle kustutava molekuli (ingl quencher) madalaimale mitteokupeeritud orbitaalile. Kustutaja kannab luminofoorile ühe elektroni tagasi oma madalaimalt okupeeritud orbitaalilt ning seetõttu jääb ta ise ergastatud olekusse, seega kantakse energia üle kustutajale (joonis 2). Elektronide ülekandmise tõttu on Dexteri kustutamismehhanism eelduseks väikesed vahemaad doonori ja aktseptori molekulide vahel ($R < 10\text{\AA}$) ning seetõttu nimetatakse seda ka kontaktkustutamiseks (elektronpilved kattuvad).

Mittekiirguslik deaktivatsioon võib toimuda kustutava molekuliga interakteerudes (dünaamiline kustutamine) või moodustades kustutajaga komplekse, mis ei luminesseeru (staatiline kustutamine) [1].

Dexteri kustutamise viisi tulemus sarnaneb Försteri resonantsenergia ülekandega (Förster resonance energy transfer, FRET), mille käigus toimub mittekiirguslik energia ülekande doonor- ja aktseptorkromofoori vahel. Kuna toimub energia ja mitte elektronide ülekandmine, siis toimub FRET oluliselt suurema distant si korral ($R=10-100\text{\AA}$ molekulide ülemineku dipoolidest mõõdetuna) [1].



Joonis 2 . Dexteri ja Försteri energia ülekanne. Dexteri mehhanismi korral toimub energia ülekande kõrgema ja madalama energiaga elektronide vahetuse teel, Försteri resonantsenergia ülekande korral kantakse energia üle mittekiirguslikult [1].

Raske aatomi (näiteks halogeeni) poolt luminesentssignaali kustutamine toimub süsteemisisese ülemineku tõttu, mille käigus kustutatakse fluoretsentsi kuid selle arvelt võib tõusta fosforetsentsi osakaal. Fosforetsentsi üheks levinud kustutajaks on tripletne õhuhapnik. Luminesseeruvate ühendite puhul võib probleemiks osutuda ka agregatsioonist põhjustatud kustumine (ingl *aggregation induced quenching*, ACQ), mille korral molekulidest tekkinud agregaad ei luminesseeru. Lisaks võivad kõrge kontsentratsiooni juures hakata molekulid isetekitatud kiirgust ka neelama ja seega väheneb emiteeritava valguse intensiivsus, mistõttu tuleb aineid lahjendada [1], [4].

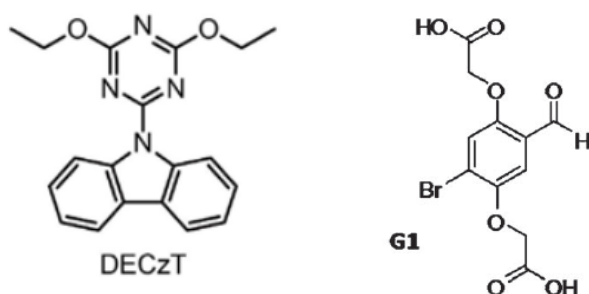
2.1.3. Fosforetsentsi saavutamine toatemperatuuril ja selle rakendused

Orgaaniliste ühendite fosforetsents toatemperatuuril ja eriti lahustes ei ole kuigi levinud ning suurema tõenäosusega leiavad aset kiired tripletse oleku deaktivatsiooniprotsessid nagu temperatuurist ja molekulidevahelistest interaktsioonidest tulenev mittekiirguslik

relakseerumine ning signaali kustutamine tripletse õhuhapniku poolt. Siiski on võimalik kõrgtemperatuurset fosforesentsi erinevatel viisidel hõlbustada [3].

Luminesents ehk kiirguslik relakseerumine konkureerib soojusliku relakseerumisega, mistõttu on see eelistatud jäikade, näiteks tsükleid ja kaksiksidemeid sisaldavate molekulide puhul. Ka molekulidevahelised vesiniksidemed muudavad süsteemi jäigemaks. Fosforesentsi orgaanilistes ühendites on täheldatud halogeene, boori, väävli, seleeni, telluuri jt raskeid mittemetalle või poolmetalle ning tsükleid ja karbonüülrühmi sisaldavates molekulides, kelaatides, nanoosakestes ning kristallides [2].

Enamasti jäävad fosforesentsi eluead vahemikku 0,1 kuni 10 millisekundit ning tavaliselt jääb kvantsaagise väärtus vahemikku 1-10% [2]. Samas on ka silmapaistvaid erandeid, mille puhul on molekulide fosforesentsi eluigasid või kvantsaagiseid suudetud tõsta. Näiteks saab vesiniksidestamise abil tekkida uus tripletse energia tase, mis pikendab fosforesentsi eluiga - madalmolekulaarse hapniku ja lämmastikku sisaldava tsüklilise ühendi DECzT (joonis 3) puhul oli fosforesentsi eluiga 1,35 s ning kvantsaagis 0,6% [5]. PVA (100% hüdroliüsitud) maatriksisse on seotud ka bromobensaldehüüdi derivaat (joonis 3), mille fosforesentsi eluiga oli 4,7 ms ning kvantsaagis 24% [6].



Joonis 3. Pika elueaga madalmolekulaarne ühend DECzT (vasakul) ning bromobensaldehüüdi derivaat (paremal) [5], [6].

Üheks võimaluseks fosforesentsi soodustada on molekulide sidumine polümeermaatriksisse, mis fikseerib molekulid, pärssides mittekiirguslikku relakseerumist, ning isoleerib molekulid, kaitstes neid õhuhapniku kustutava toime eest. Näiteks on valmistatud toatemperatuuril fosforestseeruvaid kileid, kasutades vees lahustuvaid konjugeeritud polümeere nagu polüvinüülalkohol (PVA) ja polüvinüülpürrolidoon (PVP), millesse seotakse fosforestseeruv ühend. Valmistatud kilede fosforesentsomadused toatemperatuuril ja madalatel

temperatuuridel ei erinenud märgatavalt, mille põhjal võib arvata, et polümeermaatriks sidus molekulid jäigalt ning soojusliikumisest tulenev mittekiirguslik relaksatsioon polnud eriti oluline [2].

Teiseks võimaluseks on kasutada molekulis karbonüülrühmi või aromaatsid fragmente, mis sisaldavad rasket aatomit (näiteks väävlit, seleeni, broomi või joodi). Rasket aatomid soodustavad intersüsteemseid üleminekuid tripletesse olekusse ja sealt kiirgumist fosforesentsina [7].

Fosforesceeruvad ühendid võimaldavad bioloogiliste süsteemide aeg-lahutusega jälgimist, mis jätavad ergastamise ja mõõtmise alguse vahele ajalise viivituse, mistõttu ei jõua rakkude auto-fluorestsents detektorisse ning kogu mõõdetav signaal pärineb fosforesceeruvast ainetest. Selliseid fosforesceeruvaid ja bioloogiliselt aktiivseid ühendeid, mis on rakku viidud, saab kasutada bioanalüüsides. Molekulide viimisel rakku seonduvad nad jäigalt valguga ning ergastamisel ja fosforescentskiirguse intensiivsuse mõõtmisel saab hinnata vastava proteiinkinaasi kontsentratsiooni ning mikroskoobi abil selle jaotust rakus [2].

Fosforesentsil põhinevad optilised sensorid on kõrge tundlikkuse ja selektiivsusega, ei vaja referentsignaali ning on kasutatavad ka „in-situ“ mõõtmistel, mistõttu kasutatakse neid peamiselt hapniku, aga ka teiste analüütide mõõtmiseks ning temperatuuri mõõtmisel. Fosforesentsil põhinevate sensorite eeliseks on nende pikk luminescentsi eluiga, mistõttu saab teha odavaid poolestusajal põhinevaid optilisi sensoreid, ning eemaldada ergastamisel tekkiva tagasihajunud valguse ning lühiealise fluorestsentsi mõju mõõtmisele kasutades aeglahutusega mõõtmist [8].

Molekulaarne õhuhapnik kustutab (ingl *quenching*) tõhusalt fosforesentsi, mistõttu on suurem osa fosforesentsil põhinevatest sensoritest kõrge tundlikkusega hapnikusensorid. Fosforesceeruvate sondidega on võimalik teha ka „in vivo“ hapniku mõõtmisi, näiteks on kasutusel Pd-porfüriin kompleksid, mis on keemiliselt stabiilsed, pika elueaga (μ s suurusjärgus) ja emitteerivad lähis-infrapunast valgust, mis rakkudes vähesemal määral neeldub [8].

Orgaaniliste ainete fluorestsents- ja fosforesentsomadused sõltuvad temperatuurist. Temperatuuri tõustes väheneb luminescentsi eluiga, sest suureneb vibratsioonilise relakseerumise käigus eraldunud energia osakaal ning seetõttu saab luminesceeruvaid ühendeid kasutada temperatuurisensorites. Temperatuuri mõõtmiseks peavad ühendid omama

piisavalt suurt efekti temperatuuri muutumisel, olema suure kvantsaagisega, sobima töötamiseks vedelas või tahkes faasis ning ka vajalikus temperatuurivahemikus, samal ajal termotöötlusele vastu pidades. Mõõtmisi on võimalik teha valmistades luminesseeruvatest ühenditest sondid või kiled ([9]).

Samuti leiab fosforescents toatemperatuuril kasutust orgaanilistes valgust emiteerivates diodides (ingl *organic light emitting diode*; OLED), kus elektrilisel ergastamisel tekib palju (75%) tripletses olekus molekule. Kuna enamikel ainetel toimub tripletsest olekust relakseerumine mittekiirguslikult, siis efektiivsuse tõstmiseks tuleb OLED-ides kiirgusliku relakseerumise suurendamiseks ära kasutada ka tripletse oleku energia, seda näiteks kasutades toatemperatuuril fosforesseeruvaid molekule [10].

2.1.4. Orgaanilised valgust emiteerivad diodid

Orgaaniliste valgust emiteerivate diodide puhul juhitakse laengukandjad läbi kile, mis sisaldab orgaanilisi fluorestseeruvaid ja fosforesseeruvaid ühendeid. Laengukandjad rekombineeruvad, moodustades singletses ja tripletses olekus (suhtega 1:3) eksitonid ehk elektroni ja augu seotud paarid ning kuna 75% eksitonidest on tripletses olekus, tuleb OLED-ide efektiivsuse suurendamiseks kasutada ära ka tripletse oleku energia, mis tavatingimustes eraldub mittekiirguslikult. Praegused OLED-id kasutavad selleks haruldaste metallide (nt iriidiumi ja plaatina) komplekse, mis omavad häid fosforescentsomadusi, kuid on kallid. Üks alternatiiv organometallilistele kompleksidele oleks kasutada aineid, kus tripletsest olekust valguse kättesaamiseks ehk kvantsaagise tõstmiseks on kuumutamine (ingl *thermally activated delayed fluorescence*, TADF), mille käigus toimub pöörd-süsteemisisene üleminek. Üleminekul viiakse tripletne eksiton soojusenergia toimel singletsesse olekusse, mis kiiresti laguneb (viivitusega fluoretsents). Selline tasakaaluline üleminek tagasi singletsesse olekusse saab toimuda vaid juhul, kui tripleti ja singleti energiate vahe on väike ($<0,2$ eV), ning selliste spetsiifiliste ühendite sünteesimine on suhteliselt keeruline [11].

Kuna tripletse eksitoni kiirguslik lagunemine toimub enamasti vaid madalatel temperatuuridel (fosforescents), siis on teine viis kvantsaagise tõstmiseks kasutada OLED-ides toatemperatuuril fosforesseeruvaid ühendeid, mis soodustaksid tripletsete eksitonide kiirguslikku relakseerumist. Sellised molekulid, mis annavad välja nii fluoretsents- kui ka fosforescentskiirgust, suudaksid emiteerida kahte erinevat lainepikkust, mistõttu saaks valgeid OLED-e toota vaid üht sorti emitteritega [10].

Tripletse oleku energiat on võimalik ka mittekiirguslikult üle kanda, sidudes fosforestseeruva molekuli külge fluorestsentsvärv. Tripletse oleku energia kantakse molekulisiselt FRET mehhanismiga fluorofoorile, mille singletse oleku energia on tripletse oleku energiast madalam ning mis fluorestseerub [12].

2.1.5. Raske aatomi efekt

Fosforestsentsi tekkimiseks vajalik, kuid formaalselt keelatud süsteemisisene üleminek on soodustatud ning toimub kiiremini, kui molekulis esineb raskeid aatomeid. Aatomnumbri kasvades tugevneb spinn-orbitaalne vastasmõju ning erinevate spinnidega ergastatud olekute energiatasemed hakkavad „segunema“, mistõttu on süsteemisesed üleminekud tõenäolisemad (spinn-orbitaalne sidestus on võrdeline aatomnumbri neljanda astmega Z^4). Seetõttu on fosforestsents rohkem levinud metalliaatomeid sisaldavate molekulide puhul, kuid seda soodustavad ka näiteks raskemad halogeeniaatomid. Raske aatomi efekti on uuritud naftaleeni halogeeniaatomitega derivaatides, mille tulemusena leiti, et raskema aatomi puhul kasvab fosforestsentsi kvantsaagis, kuid kahaneb fosforestsentkiirguse eluiga [3].

Võrreldud on ka VIA rühma elemente (O, S, Se ja Te) sisaldavate heteroaromaatsete tsüklitega toatemperatuuril luminestsseeruvaid aineid, mis erinesid teineteisest vaid heteroaatomi poolest ning leiti, et nii fluorestsentsi ja fosforestsentsi eluead on madalama aatommassiga elemendi puhul suuremad, elemendi massi kasvades fluorestsentsi kvantsaagis kahanes kuid fosforestsentsi oma enamasti kasvas [13].

Varasemalt on meie grupi poolt kirjeldatud erinevaid bioanalüüsides kasutust leidvaid orgaanilisi molekule, mis seondumisel proteiinkinaasidega suudavad kiirata pika elueaga luminestsentsi. Tihti on esinenud nendes seeriates aineid, mis erinevad teineteisest vaid heteroaromaatses fragmendis esineva raske aatomi poolest, sisaldades seleeni või väävli. Väävli sisaldava fragmendi luminestsentsi intensiivsus on tihti olnud umbes 100 korda väiksem kui seleeni sisaldava fragmendi puhul, kuid fosforestsentsi eluead on väävliga ühendite puhul olnud pikemad. Artiklites kirjeldati nende molekulide luminestsentsomadusi, kus vastavad inhibiitorid olid seondunud lahuses proteiinkinaasidega, kuid käesoleva töö eesmärk on kirjeldada ühe sellise klassi kolmetsükliliste ühendite luminestsentsomadusi tahkes polümeeris [7].

2.1.6. Maatriksisse sidumine

Toatemperatuurse fosforesentsi soodustamiseks saab metallivabad orgaanilised ühendid siduda sobivasse maatriksisse või osa juhtudel ka muuta kristalliliseks. Jäika maatriksisse sidumisel lumineestseeruvad molekulid fikseeritakse, mistõttu pole vibratsiooniline relakseerumine soodustatud ning suurem hulk energiat eraldub kiirgusena, seega suureneb kvantsaagis. Kristalliseeritud metallivabade orgaaniliste ühendite kvantsaagised osutuvad sageli madalateks, sest kõrge kontsentratsiooni korral võivad lumineestseeruvad molekulid ise kustutajatena käituma hakata (ingl *self-quenching*) ning väikse Stokesi nihke puhul võivad nad kiiratud lumineestsentssignaali ka neelata, seega käsitletakse antud töös ainult erinevatesse maatriksitesse seotud molekulide fosforesentsi, kus üksikud molekulid on eraldi [3].

Maatriks peab olema läbipaistev, luminofooriga keemiliselt ühilduv ning kaitsma seda õhuhapniku kustutava toime eest. Olenevalt kasutusvaldkonnast on oluline ka polümeermaatriksi klaasiolekust sulaolekusse ülemineku temperatuuride vahemik ehk polümeeri pehmenemistemperatuur, sest sellises vahemikus ja kõrgematel temperatuuridel ei ole molekulid enam jäigalt seotud ning kiirgusliku relaksatsiooni osakaal väheneb [3].

Maatriksitena on leidnud kasutust nii polümetüülmetakrülaad (PMMA) kui ka vees lahustuvad polüvinüülalkohol (PVA) ja polüvinüülpürrolidoon (PVP), mis on lihtsasti käideldavad ning seovad molekuli piisavalt jäigalt, et relakseerumine toimuks suuremal määral kiirguslikult. PVA on amfoteerne polümeer ning võrreldes teiste vees lahustuvate molekulidega on tema pindpinevus suurem. Ta on elastne ning hapnikukindel, sest moodustab tänu vesiniksidemetele tiheda maatriksi [3], [14].

Polümeeride ristsidumine muudab samuti maatriksit jäigemaks ning võimalik on ka luminofoori kovalentselt maatriksi külge siduda. Seda on kasutatud ka organometalliliste ühenditega seadmete termostabiilsuse ja solvendikindluse parandamiseks. Glutaaraldehüüd on üks tuntumaid valguliste ühendite ristsidumisel kasutatavaid reagente, olles madala hinnaga ja suure reaktiivsusega. Ta on lihtsa struktuuriga ning efektiivne siduja, kuid kuna glutaaraldehüüd võib esineda olenevalt keskkonnatingimustest rohkem kui kümnes erinevas vormis, siis ei ole tal ühte kindlat reageerimismehhanismi. Samuti on kasutatud maatriksina geele, mis moodustavad hüdrofoobse struktuuri, mille vahele luminofoorid jäigalt fikseeritakse [3], [15]–[17].

2.2. Uuritavad ained

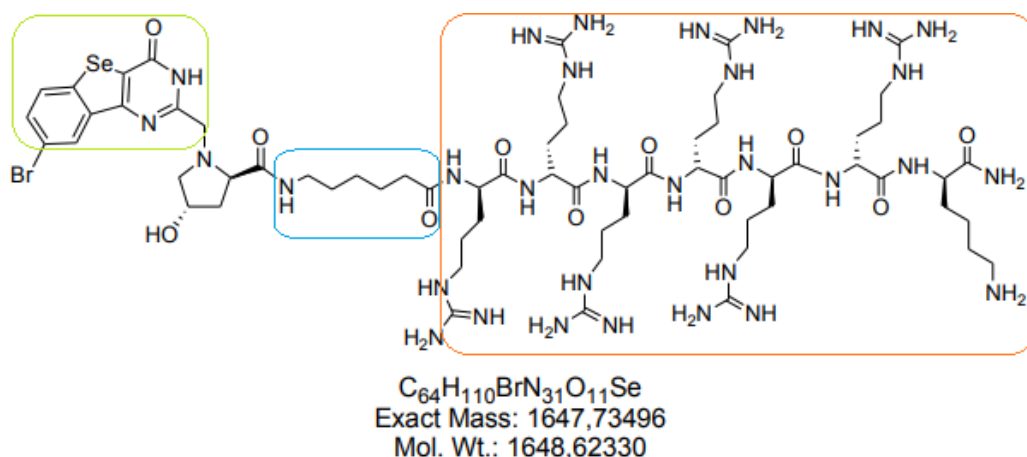
Varasemalt on kolmetsükliliste bensotienopürimidiini tüüpi ühendite luminesentsomadusi kirjeldatud PIM-kinaasidega seostumisel, kuna molekul leiab nukleotiidi analoogina kasutust bisubstraatsete proteiinkinaaside inhibiitorites. Selliseid inhibiitoreid nimetatakse esimeste taoliste molekulide järgi ka ARCideks (adenosiini analoogi ja oligoarginiini konjugaadid) [7].

Proteiinkinaasid on valgud, millel on kahe sidumiskohaga aktiivtsentrid, kuhu seonduvad energiakandja adenosiintrifosfaat (ATP) ning valg, mis ATP-lt saadud fosforüülrühma arvelt fosforüleeritakse. PIM-tüüpi proteiinkinaasid reguleerivad elutähtsaid rakuprotsesse ning nende kõrgendatud hulk rakus on omane pahaloomulistele kasvajatele, mistõttu on inhibiitorite süntees nende proteiinkinaasidele oluline uurimisteema [18]–[20].

Kolmetsükliliste väävlit või seleeni sisaldavate molekulide luminesentsomadusi on varasemalt uuritud bisubstraatse inhibiitori koostises. Kinaasiga seondunud molekulid on jäigalt fikseeritud ning kustutava õhuhapniku eest kaitstud, mistõttu nad luminesceeruvad. Täheldati, et seleeni sisaldava inhibiitori fosforestsents oli intensiivsem, kuid lühema elueaga, väävli puhul oli fosforestsentsi eluiga veidi pikem, aga valguse intensiivsus palju nõrgem, seega oli pikaajalise luminesentsi kvantsaagis seleeniga ühendite korral palju suurem [18]–[20].

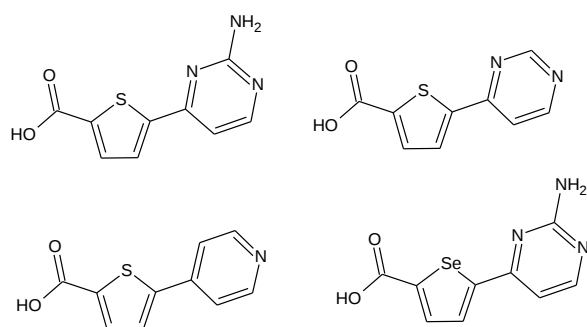
Bisubstraatne inhibiitor (joonis 4) koosneb nukleotiidi lämmastikaluse analoogist, mis seostub proteiinkinaasi ATPd siduvasse tsentrisse, peptiidist, mis seostub kindlaid aminohapete kõrvalrühmi siduvasse aktiivtsentrisse ning linkeri(te)st, mis need kaks osa üheks molekuliks ühendab [7], [18]–[20].

Oligo-D-arginiini sisaldavad ARC-id suudavad läbida rakumembraani ning on rakus keemiliselt stabiilsed. Nende seostumisel proteiinkinaasi aktiivtsentritesse fikseeritakse molekul jäigalt ning ta on õhuhapniku eest kaitstud. Seostunud sondide ergastamisel on seetõttu soojuslik relaksatsioon takistatud ning nad luminesceeruvad toatemperatuuril, mitteseostunud sondid seevastu ei luminesceeru. ARC-tüüpi inhibiitorite ergastusmaksimumid jäävad vahemikku 300–370 nm ning emissioonimaksimumid 450–600 nm vahemikku. ARC-ide sonde kasutatakse peamiselt bioanalüüsides, uurimaks proteiinkinaaside aktiivsust ning inhibiitorite sidumist. Luminescentssignaali võimendamiseks läbi triplett-singlett FRET-i seotakse molekuli külge ka fluorofoore [7], [20].



Joonis 4. Bisubstraatne inhibiitor ARC-3157 näitel. Lämmastikaluse analoog on ümbritsetud rohelise kastiga ning peptiid punase kastiga. Sinise kasti sees asub linker, mis kaks aktiivtsentrisse seonduvat molekuli üheks seob ning kastidest väljas on aminohape hüdroksüproliin [7].

Hiljuti on bioorgaanilise keemia õppetoolis kirjeldatud AGC grupi kinaaside inhibiitorite luminesentsomadusi PVA maatriksis. Aromaatsete heterotsükklis väävlit sisaldavate ühendite (joonis 5) fosforestsentsi eluead PVA-s jäid vahemikku 25-43 ms ning kvantsaagised vahemikku 1-3% [12]. Need numbrid ületasid tunduvalt kinaasi kompleksides mõõdetud väärtuseid, millest tekkis huvi ka teiste seeriade kinaasi inhibiitorite luminesentsomaduste vastu maatriksisse seotuna.



Joonis 5. Hiljuti uuritud AGC kinaaside inhibiitorites sisalduvad fosforestseeruvad väävlit ja seleeni sisaldavad molekulid [12].

3. Kasutatud aparatuur, karakteriseeritavad ained ja meetodid

3.1. Kasutatud aparatuur ja kemikaalid

Töös kasutatud solvendid ja kemikaalid on ostetud Sigma-Aldrichist, Rathburnist ja Flukast. PVA (Mowiol® 10-98, Sigma-Aldrich) 7% lahuse valmistas Joana Jõgela [12].

Kontsentratsiooni määramiseks ning UV-Vis neeldumisspektri mõõtmiseks kasutati UV-Vis spektromeetrit NanoDrop 2000c (Thermo Scientific) ning tarkvara NanoDrop 2000.

Ained puhastati Shimadzu LC Solution (Prominence) kõrgefektiivse-vedelikkromatograafia (HPLC) süsteemiga, kasutades dioodrea detektorit (SPD M20A), pöördfaas-kolonne Luna C18 (5µm, 250 x 4.6mm) ning süstimine toimus käsitsi. Eluentidena kasutati 0,1% TFA (trifluoroatsetaathape) lahust vees (eluent A) ning 0,1% TFA lahust atseetonitriilis (ACN, eluent B), voolukiirus 1 ml/min. Massispektri mõõtmiseks kasutati mass-spektromeetrit Shimadzu LCMS-2020. Andmetöötlus viidi läbi kasutades LabSolutions (versioon 5.82 SP1) tarkvara.

^1H ja ^{13}C NMR spektrid mõõdeti Bruker Ascend NMR spektromeetriga (700 MHz).

Luminesentssignaali eluigade mõõtmiseks kasutati spektrofluoromeetrit FluoroMax-4 (HORIBA Jobin Yvon), temperatuuri hoidmiseks kasutati termostateerivat küvetihoidjat, mis kasutas Q-Blue programmi.

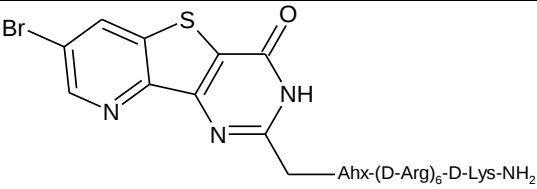
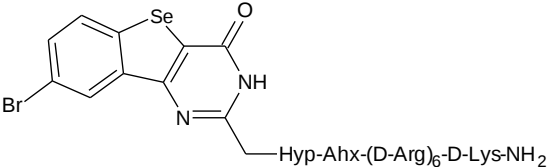
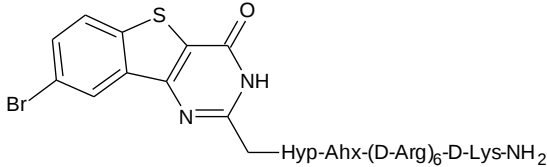
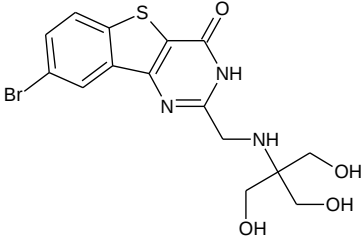
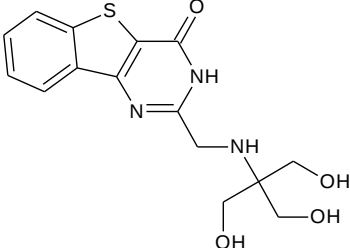
Ergastus ja emissioonispektrite mõõtmisel kasutati firma Corning 384 süvendiga mikrotiiterplaati (#4514), kuhu pipeteeriti 20 µl uuritava aine ja PVA lahust. Mõõtmised sooritati SynergyNEO ja Citation5 (Biotek) mikrotiiterplaadi lugejatega kasutades programmi Gen5 Image+ 3.04.

Andmetöötlus viidi läbi programmidega GraphPad Prism 5 ning Microsoft Office Excel 2007.

3.2. Karakteriseeritavad ained ja meetodid

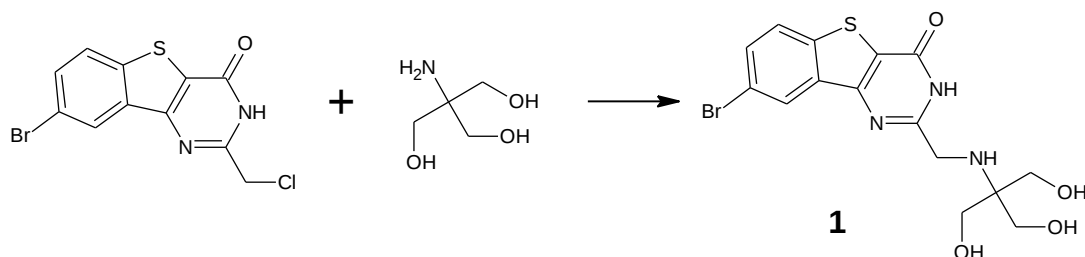
Antud töös kasutatud inhibiitorid ARC-3126 ja ARC-3104 on sünteesinud ning HPLC süsteemiga puhastanud Ramesh Ekambaram, inhibiitori ARC-3157 Erki Enkvist [7]. Kõikide kirjeldatavate ühendite struktuurid on välja toodud tabelis 1.

Tabel 1. Kirjeldatavad ARC-tüüpi inhibiitorid ning heteroaromaatsed nukleotiidide analoogid ja nende koodid.

Aine kood/nimi	Struktuur ja molekulmass
ARC-3126	 MW = 1470,7039 g/mol
ARC-3157	 MW = 1647,7397 g/mol
ARC-3104	 MW = 1599,7905 g/mol
Ühend 1	 MW = 414,2742 g/mol
Ühend 5	 MW = 335,3781 g/mol

3.2.1. Ühendi 1 süntees

Kasutati Ramesh Ekambarami poolt inhibiitori ARC-3104 jaoks sünteesitud ja puhastatud 8-bromo-2-(klorometüül)[1]bensotieno[3,2-d]pürimidiin-4(3H)-ooni, mida sooviti muuta hüdrofiilsemaks, et seda vesilahust kasutades maatriksisse siduda. Reaktsiooni käigus asendati kloor Trisiga (trihüdroksümetüülaminometaan).



Joonis 6. 8-bromo-2-([1,3-dihüdoksü-2-(hüdoksümetüül)prop-2-üül]amino)metüül[1]-bensotieno[3,2-d]pürimidiin-4(3H)-ooni süntees. Ühendi külge sünteesiti Tris, mille hüdoksüülrühmad ja sekundaarne amiin muudavad selle vees paremini lahustuvaks.

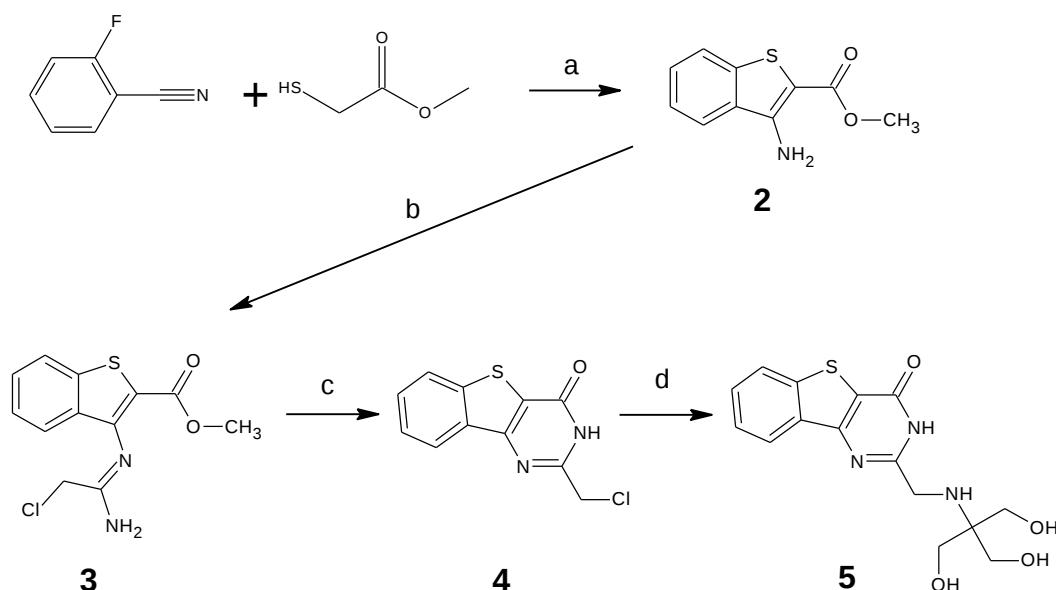
Trihüdoksümetüülaminometaan (Tris) (74 mg, 10 ekvivalenti) ning 8-bromo-2-(klorometüül)[1]bensotieno[3,2-d]pürimidiin-4(3H)-oon (21 mg, 1 ekvivalent) kaaluti ümarkolbi ning lisati 1 ml dimetüülformamiidi (DMF). Lahust kuumutati 80 °C juures üks tund, DMF eemaldati vaakumrotaatoraurustiga ning saadi kollakas viskoosne vedelik. Produkt ekstraheeriti vee ja kloroformi segus, reageerimata Tris lahustus vees. Sademe kujul saadud produkt, mis ei lahustunud hästi ei vees ega orgaanikakihis, eraldati tsentrifuugides ning vedelik dekanteeriti pealt. Konversioonisaagis oli HPLC põhjal hea (96%), kuid valitud puhastamise viis ei olnud kogu produkti kätte saamiseks parim. Puhtuse kontrollimiseks mõõdeti HPLC-MS ja NMR spektrid (lisad 3 ja 5).

^1H NMR (700MHz, DMSO- d_6): 3.409 (6H, Tris), 3.967 (s, 2H, CH₂), 7.801 (d, 1H, $J = 5.3$ Hz), 8.134 (d, 1H, $J = 4.2$ Hz), 8.302 (d, 1H, $J = 0.7$ Hz)

^{13}C NMR (700MHz, DMSO- d_6): 44.14, 60.61, 60.80, 118.64, 122.11, 125.42, 126.12, 131.60, 135.77, 139.36, 151.83, 158.26, 161.17

3.2.2. Ühendi 5 süntees

Aine ARC-3104 nukleotiidi analoogi sünteesieeskirja põhjal sünteesiti ilma broomita ühend 2-(klorometüül)[1]bensotieno[3,2-d]pürimidiin-4(3H)-oon, mis hiljem samuti kloori asendamisel Trisiga hüdrofiilsemaks muudeti [7], [21].



Joonis 7. 2-({[1,3-dihüdrosü-2-(hüdrosümetüül)prop-2-üül]amino}metüül)[1]bensotieno-[3,2-d]pürimidiin-4(3H)-ooni süntees. Sünteesi etapid: (a) 2-fluorobensonitriili ja metüül-2-merkptoatsetaat; (b) kloroatseetonitriil, 4M HCl dioksaanis; (c) kuumutamine dioksaani tagasijooksu temperatuuril; (d) Tris, toatemperatuuril segamine.

Ühendi 2 süntees

Kolb asetati jäävanni, sellesse lisati 325 µl 2-fluorobensonitriili, 3 ml DMFi ning 281 µl metüül-2-merkptoatsetaati ning jäeti seejärel pooleks tunniks segama. Reaktsioonisegule lisati tilkhaaval 5M NaOH (0,9 ml) ning segati 3h 0°C juures. Ekstraheerimiseks valati segusse külma 5% NaHCO₃ lahust ning etüülatsetaati (EtOAc). Orgaanikakihti ekstraheeriti kokku kolm korda, kaks korda 5% NaHCO₃ lahusega ning kolmas kord NaCl küllastunud lahusega. Etüülatsetaati kuivatati MgSO₄ soolaga. EtOAc aurustati vaakumrotaatoraurustis ning saadi oranž viskoosne vedelik. Osa sellest (119 mg vedelikku) puhastati kolonnkromatograafiaga ning saadi 20 mg kollakat tahket ainet (vaheühend 2).

Ühendite 3 ja 4 süntees

Vaheühendile 2 (joonis 7) (20 mg) lisati 2,5 ml 4M HCl dioksaanis ning 2-kloroatseetonitriili (59,6 µl, 10x liias), segu segati 3h toatemperatuuril (saadi vaheühend 3). Seejärel jäeti segu üleöö dioksaani tagasijooksu temperatuuril kuumutama (saadi vaheühend 4). Dioksaan aurustati vaakumrotaatoraurustiga ning saadi pruun tahkis, mis puhastati kolonnkromatograafiaga ja saadi 5 mg vaheühendit 4.

Ühendi 5 süntees

Vaheühendile **4** (5 mg) lisati 25 mg Trisi (10 ekvivalenti) ja 1 ml DMFi ning segu jäeti toatemperatuuril üleöö segama. Produkt puhastati preparatiivse TLCga ja väiksem mõõtmistes kasutatud osa HPLC-ga. Puhtuse kontrollimiseks mõõdeti HPLC-MS ning NMR ^1H spekter (lisad 4. Ja 6.). Kõikide vaheetappide toimumisi kontrolliti TLCga (õhukese kihi kromatograafia).

^1H NMR (700MHz, DMSO- d_6): 3.405 (s, 6H, Tris), 3.952 (s, CH_2), 7.5856 (t, 1H, $J = 7$ Hz), 7.656 (t, 1H, $J = 7.7$ Hz), 8.125 (d, 1H, $J = 8.4$), 8.225 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz)

3.2.3. Kontsentratsiooni määramine

Lahuste kontsentratsioonid määrati NanoDrop 2000c aparatuuriga. Enne kontsentratsioonide mõõtmist mõõdeti nullspekter Milli-Q veega ning seejärel mõõdeti lahuste neelduvused, mille väärtus võeti viimasest maksimumist vahemikus 330-350 nm. Kontsentratsiooni arvutamiseks kasutati Beer-Lamberti seadust: $\log \frac{I_0}{I} A = \epsilon c d$, kus A on lahuse neelduvus kindlal lainepikkusel, ϵ on molaarne neelduvuskoefitsient kindlal lainepikkusel, c on kontsentratsioon ja d on vahemaa, mille valgus lahuses läbib (kasutatud masina puhul 0,1 cm). Arvutustes kasutati molaarse neelduvuse väärtusena $\epsilon=5700 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, mis oli eelnevalt määratud sama tüüpi ainete puhul, mille spektrid olid sarnased [7], Kuna täpne kontsentratsioon ei ole antud töös oluline ning kvantsaagis sellest ei sõltu, siis ei määratud ainetele uusi ja täpsemaid molaarseid neelduvuskoefitsiente.

3.2.4. Ühendi polümeermaatriksisse sidumine

Uurimaks maatriksi mõju luminesentssignaali elueale, seoti aine PVA maatriksisse, ristsidestati PVA maatriksit glutaaraldehüüdiga ning katsetati maatriksina ka polüvinüülpürrolidooni ja akrüülamiidi geeli. Aine seoti maatriksisse, valmistades maatriksi ja aine 0,10 või 0,25 mM lahus vees, mis kanti alusele, ning lasti veel auruda ning maatriksil taheneda. Alusena kasutati 1 cm läbimõõduga kvartsdiske. Maatriksil lasti vähemalt 72 tundi kuivada (kui kuivas vähem aega, hoiti proove enne mõõtmist vähemalt 2 tundi vaakumis).

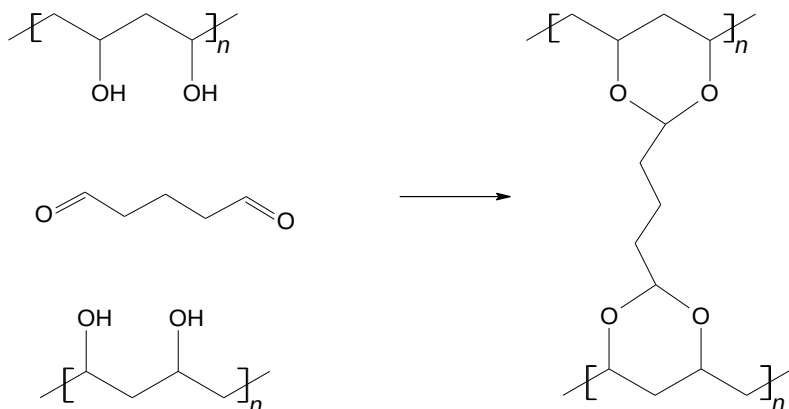
PVA

Kasutati 7% PVA lahust vees (massi järgi). 1.5 ml plastikuubi valmistati 0,10 ja 0,25 mM uuritava aine PVA lahused, kasutades teadaoleva kontsentratsiooniga uuritava aine vesilahust, segati vorteksiga ning pipteeriti 20 μl lahust kvartsdiskile, mis pipeti otsaga laiali aeti. Plaadid

jäeti vähemalt 24 h kuivama ning asetati seejärel kogu vee eemaldamiseks kuni ööpäevaks vaakumisse.

Aldehüüdiga maatriksisse ristsidemete tekitamine

Maatriksi PVA polümeeride ristsidumiseks kasutati pentaandialdehüüdi ehk glutaaraldehüüdi, mille iga molekul seob neli PVA OH-rühma (joonis 8). Selleks, et siduda 10% OH-rühmadest lisati PVA ja aine segusse glutaaraldehüüdi suhtes 1:40 PVA-ga. Valmistamaks PVA ja glutaaraldehüüdi lahus, mõõdeti 1.5 ml plastiktuubi 7% PVA lahust, mis kaaluti üle. Arvutati PVA moolide kogus massi järgi ($M = 43 \text{ g/mol}$) ning lisati glutaaraldehüüdi 5% vesilahust (moolide järgi 40 korda vähem). Plaatidel lasti nädal aega kapis kuivada.



Joonis 8. Ristsidestamisel seob üks glutaaraldehüüdi molekul nelja PVA OH-rühmad.

PVP

1.5 ml plastiktuubi kaaluti 21,8 mg polüvinüülpürrolidooni (PVP) ning sellele lisati 435 destilleeritud vett. PVP lahustust täielikult vees ning saadi 5% PVP lahus, millest pipeteeriti 60 μl teise 1.5 ml plastiktuubi, kuhu lisati ühendi 1 vesilahust (kokku 6 nmol ühendit). Valmistati kaks 2 nmol ainet sisaldavat disk, millel lasti õhu käes 24 h kuivada ning neid hoiti 4 h vaakumis.

Akrüülamiidi geel

Akrüülamiidi valmistamiseks tehti akrüülamiidi 10% lahus, milleks kaaluti 978 mg akrüülamiidi ning lisati 9,78 ml vett. 1.5 ml plastiktuubi pipeteeriti 1 ml 10% akrüülamiidi lahust ning sellele lisati aktivaatorid APS (ammooniumpersulfaat), mille 10% lahust lisati 5

μl, ja TMED (tetrametüületüleendiamiid), mida lisati 1 μl. Seejärel pipeteeriti 60 μl lahust 1.5 ml plastiktuubi, kuhu lisati ühendi 1 vesilahust (kokku 6 nmol ühendit). Valmistati kaks 2 nmol ainet sisaldavat disk, mis kuivasid 24 h õhu käes ning neid hoiti seejärel 4 h vaakumis.

3.2.5. Ergastus- ja emissioonispektrite mõõtmine

Aeglahutusega ergastus- ja emissioonispektrid mõõdeti mikrotiiterplaadilugejatega SynergyNEO ja Citation5. Proovi ettevalmistus on kirjeldatud peatükis 3.2.4 PVA maatriksiga diskide valmistamise all, 20 μl 0,10 mM lahust kanti diski asemel mikrotiitersüvendisse. Iga proovi kohta valmistati viis 2 nmol ainet sisaldavat süvendit ning plaadil lasti õhu käes seista vähemalt nädal (kui plaat kuivas vähem aega, hoiti seda enne mõõtmisi vähemalt tund aega vaakumis).

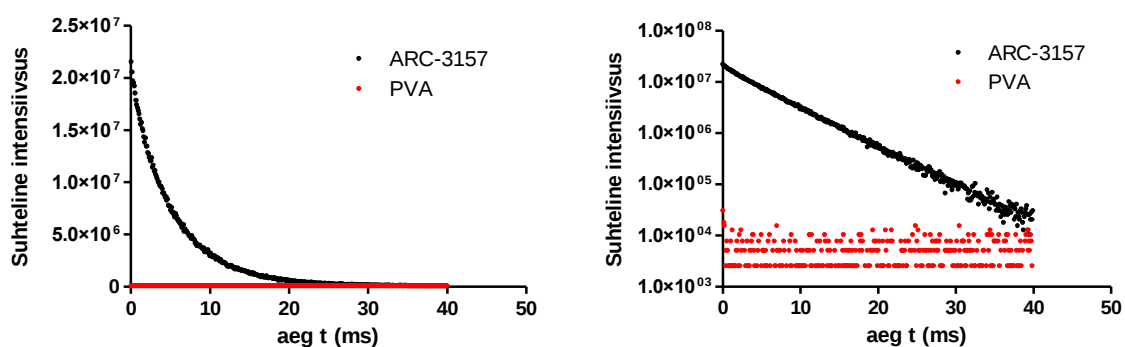
Ergastusspektri mõõtmise parameetrid: mõõdeti 1 nm sammuga vahemikus 250-380 nm, emissiooni mõõdeti lainepikkusel 500 nm. Emissioonispekter mõõdeti 1 nm sammuga vahemikus 400-800 nm, ergastamise lainepikkus oli 330 nm. Aegviivitus ergastamise ja mõõtmise alustamisel vahel oli 100 μs ning signaali koguti 2000 μs.

3.2.6. Lumineentsentsignaali eluigade mõõtmine

Aeglahutusega lumineentsentsignaali mõõdeti FluoroMax-4 spektrofluoromeetriga, kasutades välist termostateeritavat küvetihoidjat. Maatriksisse seotud ainega kvartsdisk asetati diagonaalselt küveti ning mõõdeti lumineentsentsignaali kustumist. Mõõtmiste parameetrid varieerusid ainete lõikes: ergastuslainepikkus oli 340(10) nm, emissiooni mõõdeti 500(10) nm juures, signaali koguti ühe mõõtmispunkti jaoks 1 kuni 2 ms, aegviivitus oli 0,2-5 ms, üht punkti mõõdeti 20 korda, viivituse aega muudeti maksimaalselt kuni 1000 ms sõltuvalt lumineentsentsignaali elueast.

Hindamaks fosforentsentsignaali intensiivsuse sõltuvust temperatuurist mõõdeti lumineentsentsignaali kustumised lisaks toatemperatuuridele ka 25, 45 ja 75 °C juures kasutades Q-Blue programmiga juhitud termostateeritavat küvetihoidjat. Programmis valiti sobiv temperatuur, küvetihoidjal lasti soojeneda vastava temperatuurini ning seejärel lasti proovil enne mõõtmise alustamist pool tundi antud temperatuuril seista, temperatuure muudeti juhuslikus järjekorras.

Mõõdeti ka PVA signaal, mis oli samas suurusjärgus taustamüraga ning tulenes masina müra-
 müra, seetõttu võis edasistes mõõtmistes PVA signaali arvestamata jätta (joonis 9).



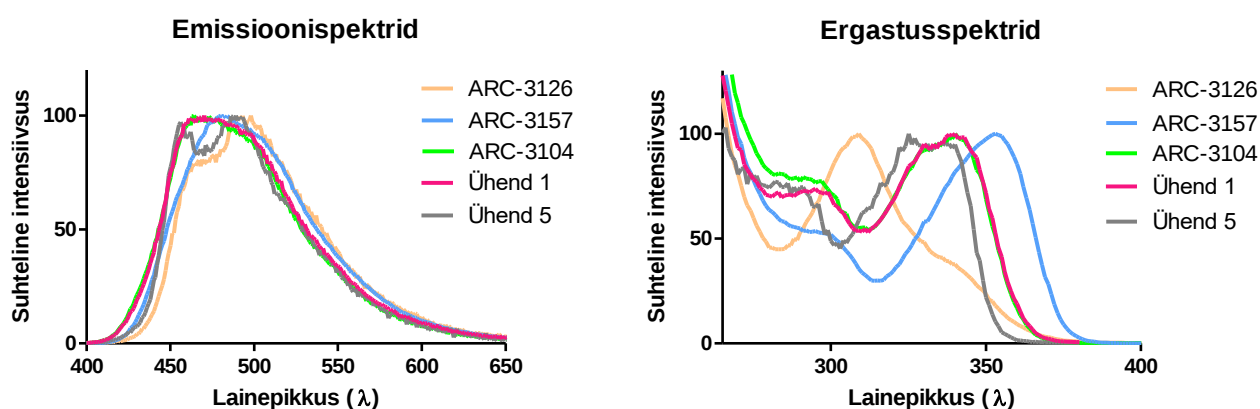
Joonis 9. ARC-3157 ja PVA luminescentssignaalide intensiivsused samade mõõtmis-
 parameetrite korral lineaarsel ja logaritmilisel skaalal. PVA luminescentssignaal tulenes
 masina müra signaalist ning oli samas suurusjärgus ARC-3157 mõõtmise müra signaaliga.

4. Tulemused ja arutelu

Töö käigus kirjeldati viie aine – ARC-3126, ARC-3157, ARC-3104, ühend 1 ja ühend 5 luminesentsomadusi – ergastus- ja emissioonikiirguse spektrid, luminesentssignaali eluead sõltuvalt temperatuurist ning kvantsaagised. Sünteesiti uus ühendi 1 sarnane kuid ilma broomita kolmetsükliline bensotienopürimidiini tüüpi ühend 5, et kirjeldada raske aatomi eemaldamise mõju kvantsaagisele ja luminesentssignaali elueale. Kuna sünteesi peamine eesmärk oli kätte saada mõõtmisteks vajalik kogus soovitud ühend, ei optimeeritud sünteesi ning puhastamisest tulenevate probleemide ja aine kao tõttu preparatiivseid saagiseid vaheühenditele ega lõpp-produktile ei määratud.

4.1. Emissiooni- ja ergastusspektrid

Mõõdetud emissioonispektrite põhjal emiteerivad kõik ühendid lainepikkuste vahemikus 460-500 nm (joonis 10) ning ka UV-lambi all kiirgasid diskid silmaga nähtavat rohelist värvi valgust. Ergastusspektri maksimumid varieeruvad aga ühendite lõikes, kõige väiksema energiaga ergastusmaksimumiga on heterotsükli seleeni sisaldav ARC-3157 (353 nm), ARC-3104 ning selle inhibiitori nukletiidi ühend 1 spektrid ühtivad (340 nm), ühend 5 ergastusspekterile on omane kahe maksimumiga ergastusspekter (325 ja 335 nm) ning kõrgeima energiaga ergastusmaksimumiga on ühend ARC-3126 (309 nm). Kõikide ühendite (välja arvatud ARC-3126) spektrid olid sarnase kujuga ning ergastusspektrid langesid kokku neeldumisspektritega. Ergastus- ja emissioonimaksimumid on ka välja toodud tabelis 7.



Joonis 10. Ühendite ARC-3126, ARC-3157, ARC-3104, ühend 1 ja ühend 5 fosforesentsi emissiooni- ja ergastusspektrid.

4.2. Eluead toatemperatuuril PVA maatriksis

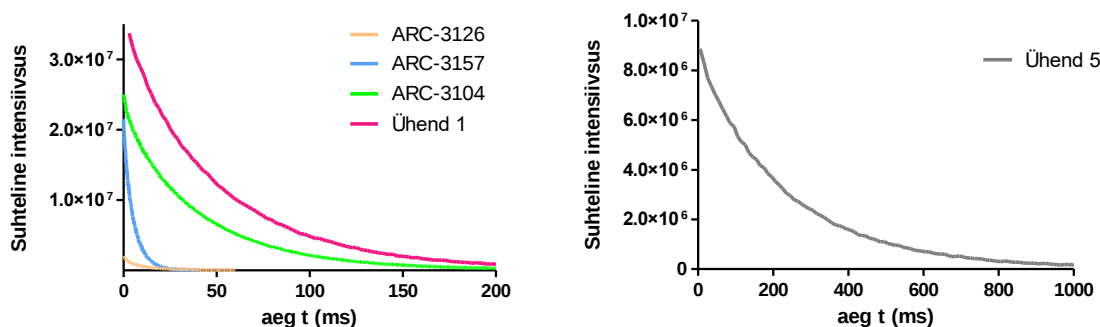
Esmalt mõõdeti kõikide ühendite puhul luminesentssignaali kustumine toatemperatuuril ning signaali kustumise analüüsimiseks lähendati mõõtmisandmetele üheeksponentsiaalne kustumiskõver. Fluorestsentssignaali kustumine ajas võrreldes fosforestsentssignaaliga on oluliselt kiirem ning aeglahutusega mõõtmisel fluorestsentskiirgus detektorisse ei jõua. Madalamatel temperatuuridel on luminesentsiga konkureerivate protsesside mõju kõikidele molekulidele ühtlasem ja ühesugune, mistõttu kirjeldab üheeksponentsiaalne kustumiskõver edukalt mõõdetud kustumiskõvera. Kõigi viie ühendi fosforestsentssignaali eluigade väärtused koos standardhälvetega on toodud tabelis 2 ning kustumiskõverad on välja toodud joonisel 11.

Tabel 2. ARC-3157, ARC-3104, ühendi 1 ja ühendi 5 luminesentsi keskmised eluead toatemperatuuril.

Aine kood/nimi	ARC-3126		ARC-3157	ARC-3104	Ühend 1	Ühend 5
Luminesentsi eluiga τ (ms), Veahinnang $\Delta\tau$ (ms)	$\tau_{aeglane}$ (59%)*	τ_{kiire} (41%)*	5,2 $\pm 0,08$	42,8, $\pm 2,12$	46,8 $\pm 2,6$	229,4 $\pm 1,3$
	13,4 $\pm 0,98$	2,4 $\pm 0,38$				

* - kahekomponentse kustumise korral on tärniga välja toodud kummagi komponendi osakaal

Kuna toatemperatuuril tehtud mõõtmised tehti esmase hinnangu andmiseks eluea pikkusele, ei tehtud ühenditele ARC-3157 ning ARC-3126 korduskatseid ning tulemuste veahinnang on antud kõvera regressioonanalüüsi järgi usaldusnivool 95%. ARC-3104, ühendi 1 ja 5 puhul on leitud mitme mõõtmise keskmine ning veahinnanguna antud standardhälve usaldusnivool 95%.



Joonis 11. PVA maatriksisse seotud ARC-3157, ARC-3104, ARC-3126, ühend 1 ja ühend 5 luminesentssignaalide kustumised toatemperatuuril.

Fosforestsentsi eluigade võrdlusest selgus, et lühima elueaga oli ühend ARC-3157, mida põhjustas ühendis sisalduv seleen, sest üldiselt kehtib seaduspära, et mida raskemat aatomit molekul sisaldab, seda suurem on fosforestsentsi osakaal kuid ka seda lühem on selle eluiga. Ka ühendi ARC-3126 keskmine fosforestsentsi eluiga jäi samasse suurusjärku ühendi ARC-3157 elueaga, kuid kuna kustumissignaale lähendati kaheeksponentsiaalne kõver, siis võis ARC-3126 olla kahes vormis (tautomeerid vms) ning seetõttu on tabelis välja toodud nii kiire kui aeglase kustumisega komponendi kustumise eluead ning osakaalud protsentides. Ühendil ARC-3126 oli ka teistest erineva kujuga ergastusspekter ning tema ergastus- ja neelduvusspekter ei langenud kokku, seega tema omadusi edasi ei uuritud. Ühendi 1 ja ARC-3104 fosforestsentsi eluead olid ligikaudu sama pikad ning ilma raske aatomita ühendi 5 eluiga oli võrreldes ühendiga 1 ligikaudu viis korda pikem. Seega sai kinnitust kirjanduse põhjal tehtud oletus, et raske aatom molekulis muudab fosforestsentsi eluea lühemaks.

4.3. Eluead erinevates maatriksites

Erinevate maatriksite mõju luminescentssignaali elueale uuriti ühendi 1 põhjal. Lisaks PVAg valmistatud diskidele tehti ka glütaaraldehüüdiga ristsidestatud PVAg, PVPga ning akrüülamiidi geeliga diskid. Luminescentssignaale mõõdeti toatemperatuuril ning eluead on koos veahinnanguga (standardhälve usaldusnivool 95%) toodud välja tabelis 3.

Tabel 3. Erinevates maatriksites toatemperatuuril mõõdetud ühendi 1 eluead.

Maatriks	PVA	PVA (töödeldud glütaaraldehüüdiga)	PVP	Akrüülamiid geel	
Eluiga τ (ms), Veahinnang $\Delta\tau$ (ms)	46,8 $\pm 2,6$	35,3 $\pm 7,1$	1,0 $\pm 0,2$	τ_{aeglane} (63%)*	τ_{kiire} (37%)*
				25,3 $\pm 7,0$	2,5 $\pm 0,8$

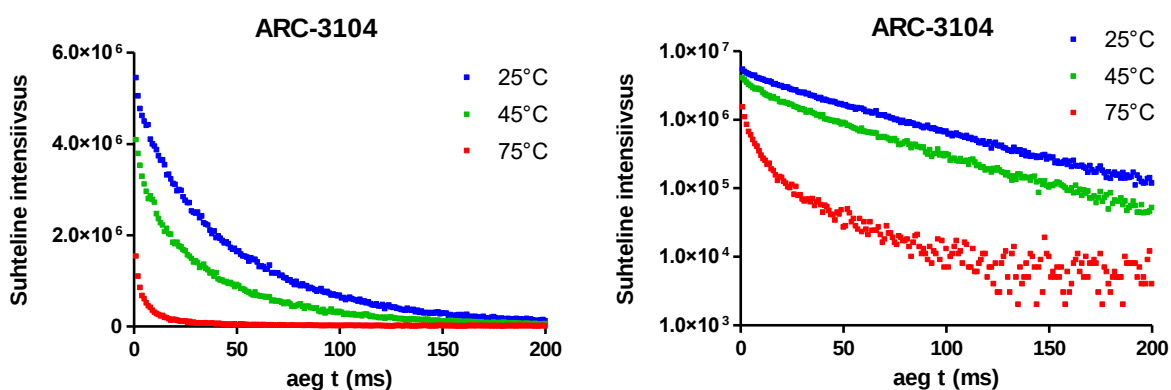
* - kahekomponentse kustumise korral on tärniga välja toodud kummagi komponendi osakaal

Maatriksina varasemalt kasutatud leidnud PVA andis teiste proovitud maatriksitega võrreldes parimad tulemused, mille puhul ühendi 1 fosforestsentsi eluiga oli 46,8 ms. Ristsidumisel eluiga ei pikenenud, vaid lühenes pisut (35,34 ms). Üks võimalikke põhjuseid võiks olla see, et glütaaraldehüüd võis maatriksi muuta hõredamaks ning seetõttu võis hapnik molekulidele lihtsamini juurde pääseda ja signaali kustutada. PVP maatriksis oli ühendi 1 fosforestsentsi eluiga teistega võrreldes mitukümmend korda lühem (1,5 ms), mis võis tuleneda sellest, et maatriks ei sidunud molekule jäigalt, näiteks ei moodustunud vesiniksidemeid ning seetõttu molekul ei fosforestseerunud. Akrüülamiidi puhul oli kustumine kahekomponentne, kuid

aeglasema kustumise eluiga oli ligikaudu poole kiirem kui PVA maatriksi puhul. Akrüülamiid muutus ajaga ka valgeks ja läbipaistmatuks, mistõttu ei sobiks ta maatriksiks.

4.4. Luminestsentsi temperatuurisõltuvuse uurimine

Kõrgematel temperatuuridel on molekulidega toimuvad liikumised suuremad ja seega on fosforesentssignaali kustumine kiirem. Ilmnes, et 75°C juures mõõdetud signaalidele on täpsem lähendada kaheeksponentsiaalseid kustumiskõveraid, sest kõrgemal temperatuuril ei ole luminestsentsiga konkureerivate protsesside mõju molekulidele enam ühesugune ning osa molekulidest kustuvad kiiremini. Joonisel 11 on välja toodud ARC-3104 kustumiskõverad kolmel erineval temperatuuril ning on näha, et logaritmilises teljestikus on madalamatel temperatuuridel võimalik lähendada mõõdetud signaalile sirge, kuid 75°C juures ei ole sõltuvus enam lineaarne. Ühendite ARC-3157, ühend 1 ja ühend 5 temperatuurisõltuvuste graafikud on toodud välja lisades (Lisa 2.) ning ühendite fosforesentsi eluead erinevatel temperatuuridel on toodud välja tabelis 4. Kõikide ühendite puhul tehti ka kordusmõõtmised, kokku tehti igal temperatuuril iga ühendi kohta vähemalt kaks, kõrgematel temperatuuridel kuni neli mõõtmist.



Joonis 12. ARC-3104 luminestsentssignaali kustumine temperatuuridel 25°C, 45°C ja 75°C. Parempoolsel graafikul on suhteline intensiivsus logaritmilisel skaalal.

Joonisel 12 on ühendi ARC-3104 puhul näha, kuidas temperatuuri kasvades ühendi fosforesentsi eluiga väheneb ning väheneb ka kvantsaagis (joone alune pindala). Sama seaduspära täheldati ka kõikide teiste ühendite puhul, mis oli ka ootuspärane, sest temperatuuri kasvades domineerib soojusliikumisest tulenev mittekiirguslik relakseerumine. Temperatuurivahemikus 25-75°C kahaneb fosforesentsi eluiga uuritavate ühendite korral kuni neli korda.

Tabel 4. ARC-3157, ARC-3104, ühendi 1 ja ühendi 5 luminescentsi keskmised eluead ja nende hälbed temperatuuridel 25°C, 45°C ja 75°C.

	ARC-3157		ARC-3104		Ühend 1		Ühend 5	
τ (ms) 25°C Veahinnang $\Delta\tau$ (ms)	5,3 ± 0,9		43,8 ± 1,2		42,3 ± 2,9		228,6 ± 13,3	
τ (ms) 45°C Veahinnang $\Delta\tau$ (ms)	4,5 ± 0,9		30,4 ± 4,7		27,9 ± 10,3		127,7 ± 0,8	
	$\tau_{aeglane}$ (34%)*	τ_{kiire} (66%)*	$\tau_{aeglane}$ (68%)*	τ_{kiire} (32%)*	$\tau_{aeglane}$ (65%)*	τ_{kiire} (35%)*	$\tau_{aeglane}$ (63%)*	τ_{kiire} (37%)*
τ (ms) 75°C Veahinnang $\Delta\tau$ (ms)	3,0 ± 0,1	0,7 ± 0,4	10,4 ± 1,4	1,6 ± 0,4	13,9 ± 5,8	2,0 ± 0,6	71,2 ± 18,4	16,4 ± 6,9

* - kahekomponentse kustumise korral on tärniga välja toodud kummagi komponendi osakaal

Signaali intensiivsuse maksimumi (I_0), milleks on lähendatava kustumiskõvera lõikepunkt y-teljega, ning eluea korrutisena saab anda esialgsed hinnangud kvantsaagise kohta antud temperatuuril, sest kustumiskõvera joone alune pindala kirjeldab kvantsaagist. Hinnangud kahe aine – ARC-3104 ning ühendi 1 kohta on toodud välja tabelites 5 ja 6. Kvantsaagiste võrdlemiseks erinevatel temperatuuridel on arvutuslik kvantsaagis temperatuuril 25°C võetud sajaks protsendiks ning teistel temperatuuride kvantsaagised on arvutatud selle suhtes.

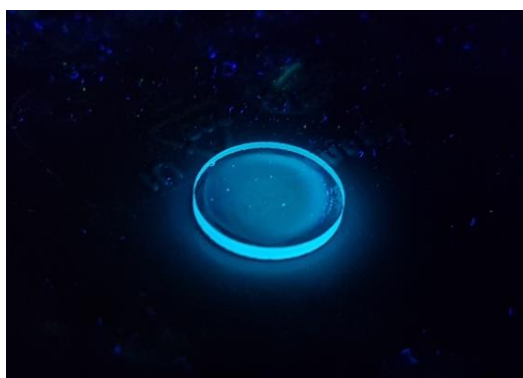
Tabelid 5 ja 6. Signaali maksimaalse intensiivsuse ja eluea korrutisena leitud hinnangulised kvantsaagised ARC-3104 ja ühendi 1 põhjal.

ARC-3104					Ühend 1				
T (°C)	I_0 (AU)	τ	$I_0 * \tau$	%	T (°C)	I_0 (AU)	τ	$I_0 * \tau$	%
25	5,00E+06	43,8	2,19E+08	100	25	3,24E+06	42,3	1,37E+08	100
45	4,28E+06	30,4	1,30E+08	59	45	2,41E+06	27,9	6,72E+07	49
75	2,29E+06	10,4	2,38E+07	11	75	1,50E+06	13,9	2,09E+07	15

Võrreldi samasuguste kolmetsükliliste ühendite ARC-3104 ning ühendi 1 kvantsaagiste erinevusi erinevatel temperatuuridel. Muutused olid sarnased, 45°C juures oli mõlema aine puhul kvantsaagised ligikaudu poole võrra vähenenud ning 75°C juures oli kvantsaagis ligikaudu kümnendik algsest 25°C juures olnud kvantsaagisest. Varasemalt bioorgaanilise keemia õppetoolis kirjeldatud kahetsükliliste väävlit sisaldavate fosforestseeruvate molekulidega võrreldes on uuritavate ainete temperatuurisõltuvus tugevam, sest fosforestsentsi eluea muutused temperatuurivahemikus 25-75°C on kuni neljakordsed

(varasemalt kirjeldatud ühendite puhul kahekordne erinevus) ning erinevalt kahetsüklilistest fosforestseeruvatest ühenditest sõltub nende ühendite korral ka I_0 olulisel määral temperatuurist. Varem uuritud ühendid olid hüdrofiilsemad, mistõttu võisid nad maatriksisse tugevamini seotud olla ning seetõttu sõltusid nende ühendite eluead mõõdetud vahemikus vähem temperatuurist.

Tuleb arvestada, et I_0 on hinnanguline suurus, sest valgus tuleb diskilt erinevatest suundadest erineva intensiivsusega välja nagu on näha ka jooniselt 12. Suur osa valguses tuleb välja külje pealt ning samuti mõjutab PVA kihi reljeef valguse neeldumist ja väljumissuunda, mis tõttu võib erinevate mõõtmiste korral jõuda detektorisse suhteliselt erinev hulk valgust. Korrektsemaks intensiivsuste võrdlemiseks on tarvilik teha tahkete proovide mõõtmised integratsioonisfääriga.



Joonis 13 . Foto diskist UV-lambi all, mille peale on kantud 2 nmol ARC-3104 PVA lahuses. Valgus tuleb erinevates suundades erineva intensiivsusega välja. Fotol on värvid veidi nihkes ning silmaga vaadates näivad diskid kiirgavat pigem rohelist valgust.

4.5. Kvantsaagised

Iga aine kohta valmistati 2 ja 5 nmol ainet sisaldavad diskid, mis saadeti Inglismaale Durhami Ülikooli, kus mõõdeti integreerivad sfääri kasutades fosforestsentsi kvantsaagised doktor Lars-Olof Pålssoni poolt. Mõõtmiste tulemused 5 nmol ainet sisaldavate diskide kohta on toodud tabelis 5.

Tabel 7. Ühendite ARC-3157, ARC-3104, ühendi 1 ja ühendi 5 ergastus- ja emissiooni-maksimumid ning kvantsaagised.

Aine nimetus	ARC-3157		ARC-3104		Ühend 1		Ühend 5	
EX, EM (nm)	353	480	340	464	340	470	309	489
Kvantsaagis (%)	30		32		34		34	

Tabelis 7 on toodud ARC-3157, ARC-3104 ning ühendi 1 puhul ühe mõõtmise tulemused, mis on esmased hinnangud kvantsaagistele ning täpsemate tulemuste jaoks oleks tarvis teha kordusmõõtmisi. Ühendi 5 puhul, mille mõõtmised olid tehtud hiljem, on leitud kolme mõõtmise keskmine. Kvantsaagiste mõõtetulemustest selgus, et võrreldes varasemalt PVAsse seotud AGC seeria fosforestseeruvate ühenditega tehtud mõõtmistega on fosforestsentsi kvantsaagised nendel ainetel umbes kümme korda suuremad [12]. Töö käigus uuritud ühendid on struktuuri osas jäigemad kui varasemalt uuritud ühendid ning neis ei esine fosfooris pöörlevaid sidemeid ja sellest tulenevaid erinevaid konformatsioone, mis võib olla põhjus, et kvantsaagised ning mõnel juhul ka fosforestsentsi eluead on uuritavate ühendite puhul suuremad. Proteiinkinaaside aktiivtsentritesse seostunult nende ainete seeriade vahel olulist erinevust luminestsentsi intensiivsustes ei esinenud, sest ühendid olid ühte moodi seotud ning mittekiirguslikke protsesside osakaal lahuses oli suur. Arvestades, et ARC-3157 molaarne neeldumiskoeffitsient on oluliselt madalam kui teistel fosforestseeruvatel inhibiitoritel, siis võis kolmetsükliliste ühendite korral nende luminestsentsi kvantsaagis ka lahuses olla mõnevõrra kõrgem.

Kokkuvõte

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärk oli kirjeldada kolmetsükliliste bensotienopürimidiini tüüpi ühendite fosforestsentsomadusi – nende ergastus- ja emissioonispektreid, luminescentssignaali kustumise eluigasid ning kvantsaagiseid. Sünteesiti ka uus baasstruktuur, mis sarnanes eelmistega, kuid millel puudus broomi aatom ning selle kaudu uuriti raske aatomi mõju ühendi fosforestsentsomadustele.

Ühendite emissioonispektrite maksimumid jäid vahemikku 460-500 nm ning kõik ühendid kiirgasid ka silmaga UV-lambi all vaadates rohelist valgust. Kirjeldatavate ühendite ergastusspektrid olid sarnase kujuga ning langesid kokku neeldumisspektritega.

Seejärel mõõdeti ühendite fosforestsentsi eluead toatemperatuuril. Kõige lühema elueaga oli seleeni sisaldav ARC-3157 (5,2 ms), ARC-3104 ning selle ilma peptiidita analoogi ühendi 1 eluead olid sarnased (vastavalt 42,8 ja 46,8 ms) ning ilma broomit ühendi 5 fosforestsentsi eluiga oli võrreldes ühendiga 1 ligikaudu viis korda pikem (229 ms). Seega sai kinnitust kirjanduse põhjal tehtud oletus, et rasked aatomid molekulis muudavad fosforestsentsi eluead lühemaks. Samas olid nende ühendite toatemperatuurse fosforestsentsi kvantsaagised väga sarnased ning jäid vahemikku 31-34% mis on võrreldes varasemalt uuritud sarnaste kahetsükliliste molekulidega võrreldes ligikaudu kümme korda kõrgemad.

Uuriti ka erinevate maatriksite mõju luminescentssignaali elueale. Võrreldi PVA, glutaaraldehüüdiga töödeldud PVA, PVP, ning akrüülamiidi geeli maatriksitena ühendi 1 põhjal. Katsetatud maatriksitest osutus efektiivseimaks siiski algselt kasutatud PVA. Glutaaraldehüüdiga töötlemine võis muuta maatriksit hõredamaks, soodustades luminescentssignaali kustutava õhuhapniku juurdepääsu, PVP ei suutnud arvatavasti molekule piisavalt jäigalt siduda ning akrüülamiidi geel muutus ajaga läbipaistmatuks, mistõttu ei sobinud teised maatriksid edasisteks katsetusteks.

Lisaks kirjeldati ka temperatuuri mõju luminescentssignaale temperatuuridel 25, 45 ja 75°C. Antud vahemikus vähenes ühendite fosforestsentsi eluiga kuni neli korda, mistõttu oleks nende üks potentsiaalne kasutusvaldkond temperatuurisensorid.

Töös kirjeldatud ühendid võiksid leida kasutust odavamana ja keskkonnasõbralikumana alternatiivina fosforestsentsil põhinevates hapniku- ja temperatuurisensorites ning OLED-ites, mis on antud ühendite puhul ka edasiseks arengusuunaks.

Room-temperature phosphorescence of organic tricyclic benzothienopyrimidine type molecules

Helen Sepman

Summary

The aim of this bachelor thesis was to describe the phosphorescence characteristics of some tricyclic benzothienopyrimidine type molecules – their excitation and emission spectra, luminescence lifetimes and quantum yields. In addition, a new similar molecule was synthesised that did not contain a heavy atom (bromine) and the effect of a heavy atom in the molecule was explored.

The emission maxima of all the molecules were in the range of 460 to 500 nm and all samples seemed to emit green light under the UV-lamp. Excitation spectra had similar shapes and were identical to the corresponding absorption spectra.

First, the phosphorescence lifetimes of the molecules were measured on room temperature. Molecule containing selenium had the shortest lifetime (5,19 ms), ARC-3104 and substance 1 with sulphur had similar lifetimes (42,8 and 46,8 ms accordingly) and the lifetime of substance 5 (with sulphur and without bromine) was 229 ms that is approximately five times longer than the lifetime of substance 1. Therefore, the hypothesis based on literature was confirmed that an heavy atom in the molecule shortens the lifetime of phosphorescence. Quantum yields of molecules at room temperature were quite similar being in the range of 31-34%, which is approximately ten times higher compared to previously analyzed similar molecules that contained two cycles.

The impact of different matrices to phosphorescence signal was analyzed. Substance 1 was embedded in PVA, PVA treated with glutaric aldehyde, PVP and polyacrylamide gel matrices. The formerly used PVA matrix showed the best results in comparison with others. Treating with glutaric aldehyde might have made the matrix sparse and give access to dioxygen, which quenches the luminescence. PVP was probably not able to bond molecules into a rigid matrix and polyacrylamide gel turned opaque which made them unsuitable for further analysis.

Temperature dependence of phosphorescence lifetimes were also analysed on temperatures 25, 45 and 75°C. In this range, the lifetimes decreased up to four times which makes this type of molecules suitable for temperature sensors.

Molecules described in this research could be used as cheaper and more environmentally friendly alternatives in phosphorescence based oxygen, temperature sensors and in OLEDs which is the further research field for this subject.

Kasutatud kirjandus

- [1] J. R. Lakowicz, „Principles of Fluorescence Spectroscopy Third Edition“, 2006.
- [2] S. Mukherjee ja P. Thilagar, „Recent advances in purely organic phosphorescent materials“, *Chem. Commun.*, 2015.
- [3] M. Baroncini, G. Bergamini, ja P. Ceroni, „Rigidification or interaction-induced phosphorescence of organic molecules“, *Chem. Commun.*, 2017.
- [4] S. M. Parke ja E. Rivard, „Aggregation Induced Phosphorescence in the Main Group“, *Israel Journal of Chemistry*. 2018.
- [5] Z. An *et al.*, „Stabilizing triplet excited states for ultralong organic phosphorescence“, *Nat. Mater.*, 2015.
- [6] M. S. Kwon, D. Lee, S. Seo, J. Jung, ja J. Kim, „Tailoring Intermolecular Interactions for Efficient Room-Temperature Phosphorescence from Purely Organic Materials in Amorphous Polymer Matrices“, *Angew. Chemie - Int. Ed.*, 2014.
- [7] R. Ekambaram, G. B. Manoharan, E. Enkvist, K. Ligi, S. Knapp, ja A. Uri, „PIM kinase-responsive microsecond-lifetime photoluminescent probes based on selenium-containing heteroaromatic tricycle“, *RSC Adv.*, kd 5, nr 117, lk 96750–96757, 2015.
- [8] I. Sánchez-Barragán, J. M. Costa-Fernández, A. Sanz-Medel, M. Valledor, ja J. C. Campo, „Room-temperature phosphorescence (RTP) for optical sensing“, *TrAC - Trends Anal. Chem.*, 2006.
- [9] X. D. Wang, O. S. Wolfbeis, ja R. J. Meier, „Luminescent probes and sensors for temperature“, *Chem. Soc. Rev.*, 2013.
- [10] R. Kabe, N. Notsuka, K. Yoshida, ja C. Adachi, „Afterglow Organic Light-Emitting Diode“, *Adv. Mater.*, 2016.
- [11] T. J. Penfold, F. B. Dias, ja A. P. Monkman, „The theory of thermally activated delayed fluorescence for organic light emitting diodes“, *Chemical Communications*. 2018.
- [12] J. Jögelä, A. Uri, L.-O. Pålsson, ja E. Enkvist, „Almost complete radiationless energy

- transfer from excited triplet state of a dim phosphor to a covalently linked adjacent fluorescent dye in purely organic tandem luminophores doped into PVA matrix“, *J. Mater. Chem. C*, 2019.
- [13] A. Kremer *et al.*, „Walking Down the Chalcogenic Group of the Periodic Table: From Singlet to Triplet Organic Emitters“, *Chem. - A Eur. J.*, 2015.
- [14] H. A. Al-Attar ja A. P. Monkman, „Room-temperature phosphorescence from films of isolated water-soluble conjugated polymers in hydrogen-bonded matrices“, *Adv. Funct. Mater.*, 2012.
- [15] I. Migneault, C. Dartiguenave, M. J. Bertrand, ja K. C. Waldron, „Glutaraldehyde: Behavior in aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking“, *BioTechniques*. 2004.
- [16] M. S. Kwon *et al.*, „Suppressing molecular motions for enhanced roomtemperature phosphorescence of metal-free organic materials“, *Nat. Commun.*, 2015.
- [17] H. Wang, H. Wang, X. Yang, Q. Wang, ja Y. Yang, „Ion-unquenchable and thermally ‘on-Off’ reversible room temperature phosphorescence of 3-bromoquinoline induced by supramolecular gels“, *Langmuir*, 2015.
- [18] D. Lavogina, E. Enkvist, ja A. Uri, „Bisubstrate inhibitors of protein kinases: From principle to practical applications“, *ChemMedChem*. 2010.
- [19] M. Kasari *et al.*, „Responsive microsecond-lifetime photoluminescent probes for analysis of protein kinases and their inhibitors“, *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics*, 2013.
- [20] E. Enkvist *et al.*, „Protein-induced long lifetime luminescence of nonmetal probes“, *ACS Chem. Biol.*, 2011.
- [21] Z. F. Tao *et al.*, „Discovery of 3H-benzo[4,5]thieno[3,2-d]pyrimidin-4-ones as potent, highly selective, and orally bioavailable inhibitors of the human protooncogene proviral insertion site in moloney murine leukemia virus (PIM) kinases“, *J. Med. Chem.*, 2009.

Lisad

Lisa 1. Luminestsentssignaali kustumised toatemperatuuril

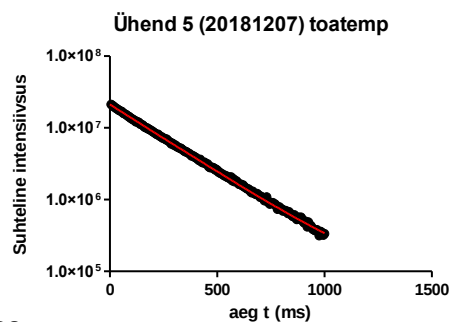
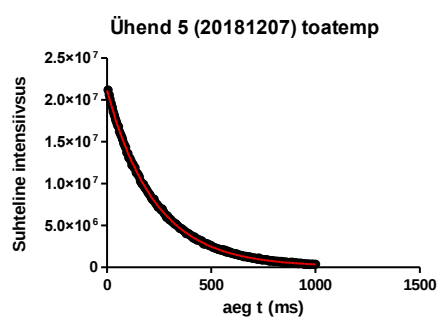
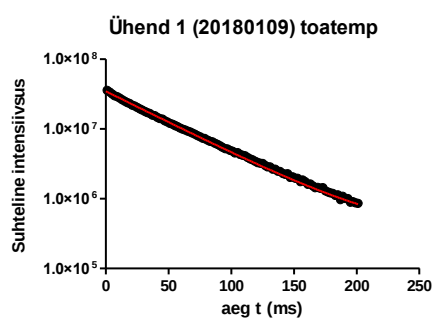
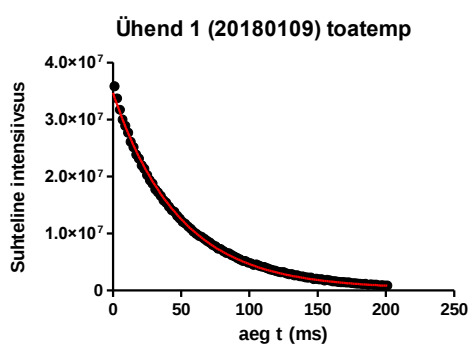
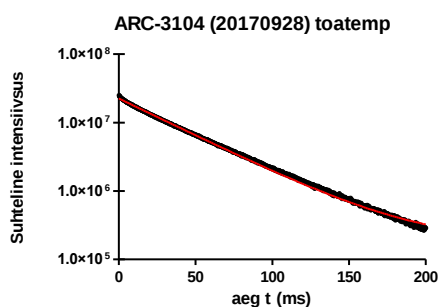
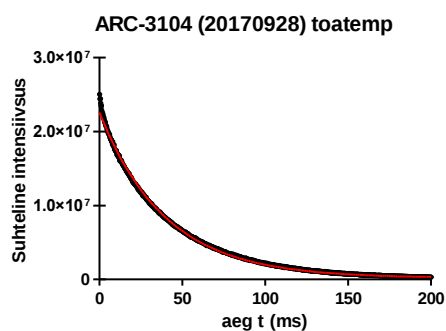
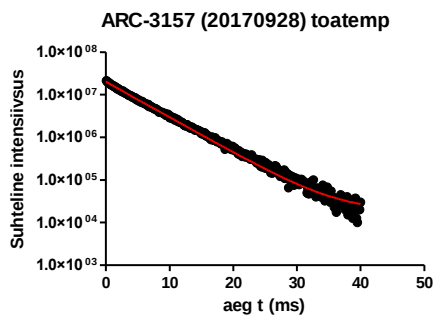
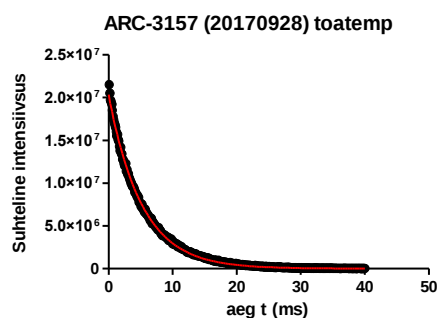
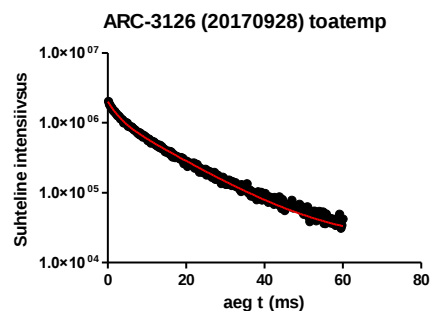
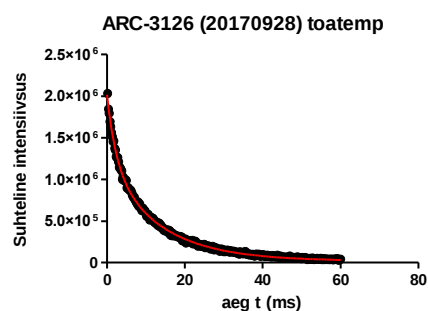
Lisa 2. Ühendite ARC-3157, ühendi 1 ja ühendi 5 temperatuurisõltuvused graafikul

Lisa 3. Ühendi 1 kromatogramm ja mass-spekter

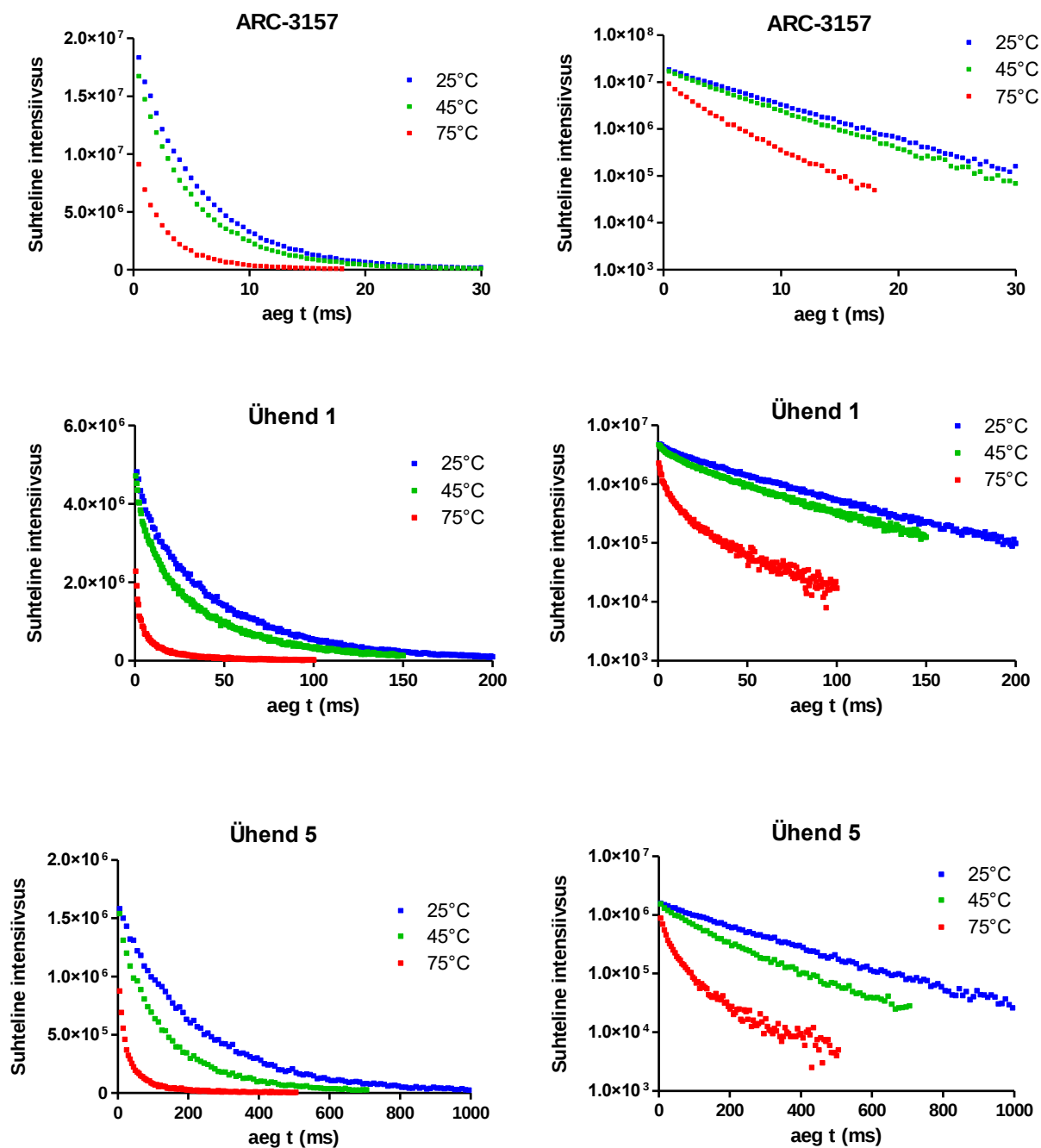
Lisa 4. Ühendi 5 kromatogramm ja mass-spekter

Lisa 5. Ühendi 1 ^1H ja ^{13}C NMR spektrid

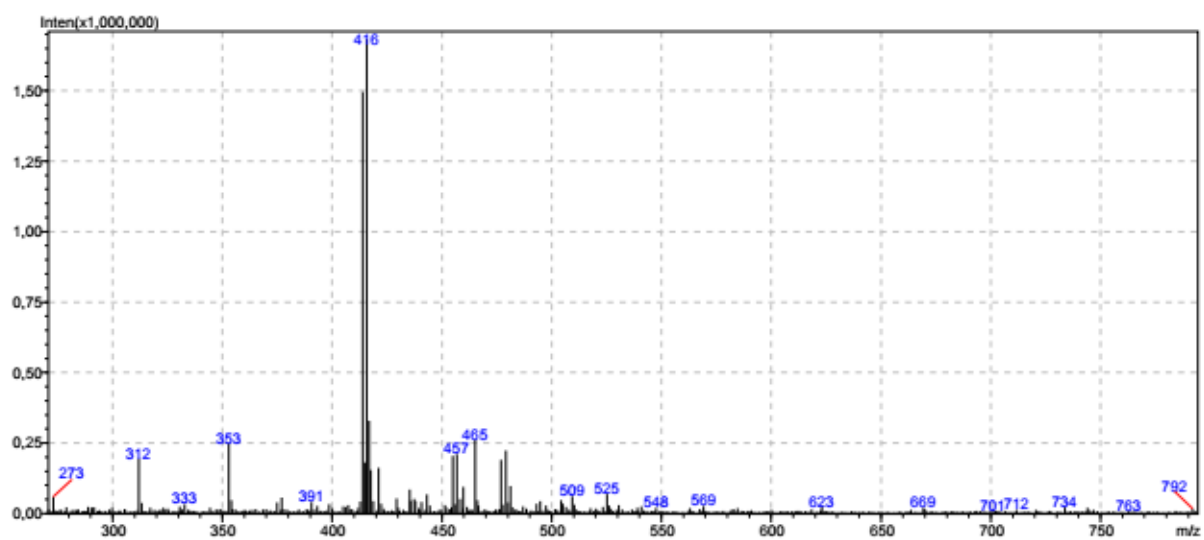
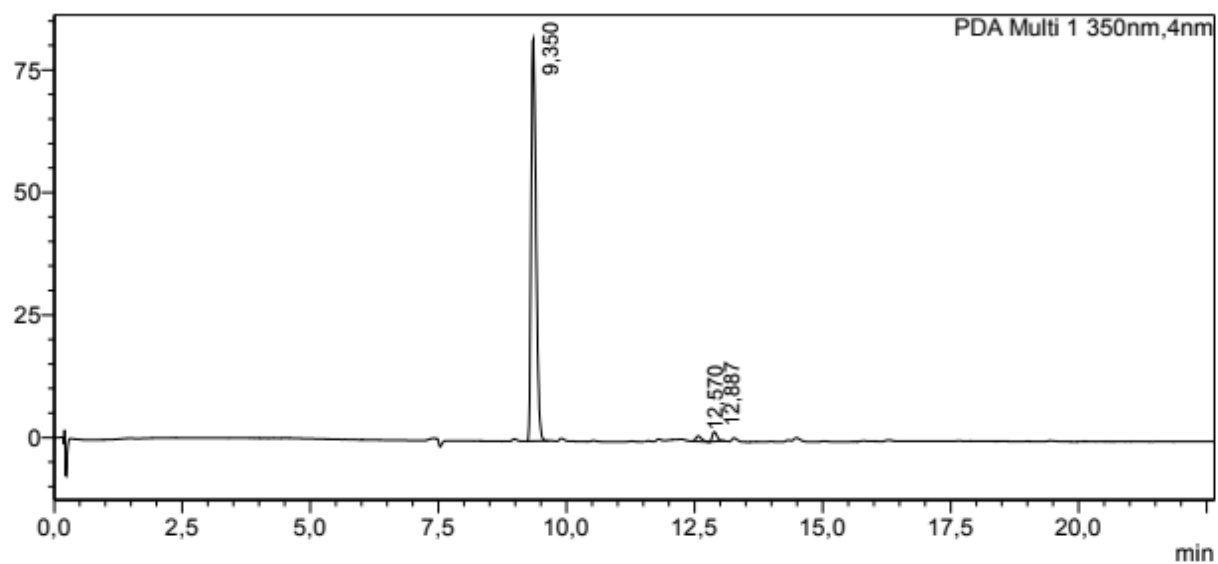
Lisa 1. Luminestsentssignaali kustumised toatemperatuuril



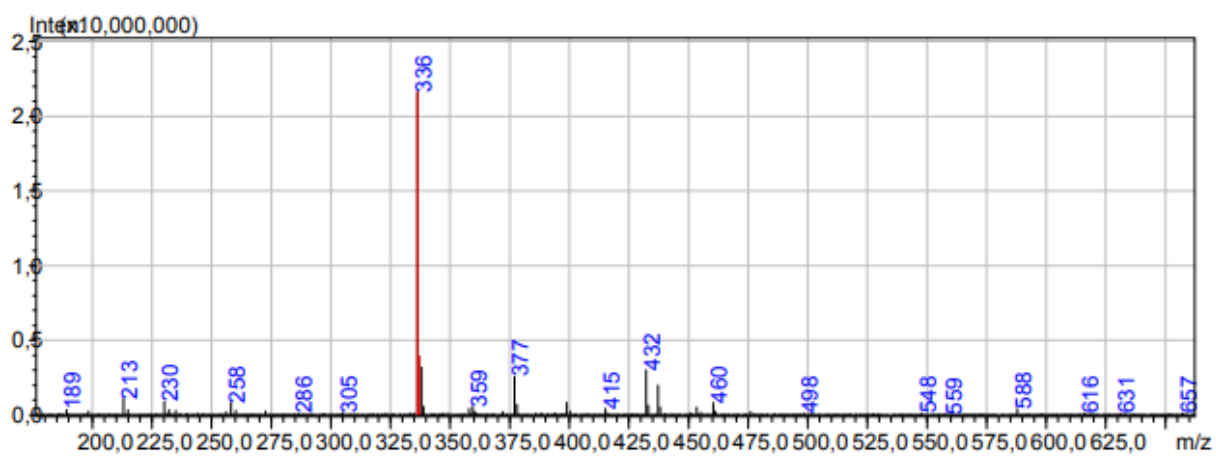
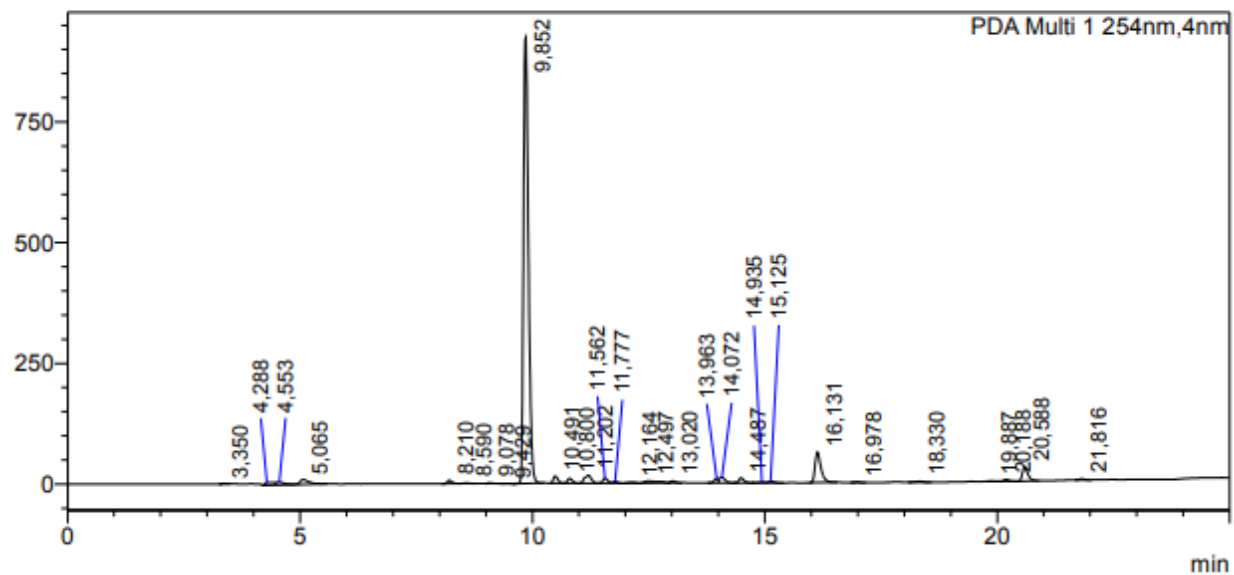
Lisa 2. Ühendite ARC-3157, ühendi 1 ja ühendi 5 temperatuurisõltuvused graafikul



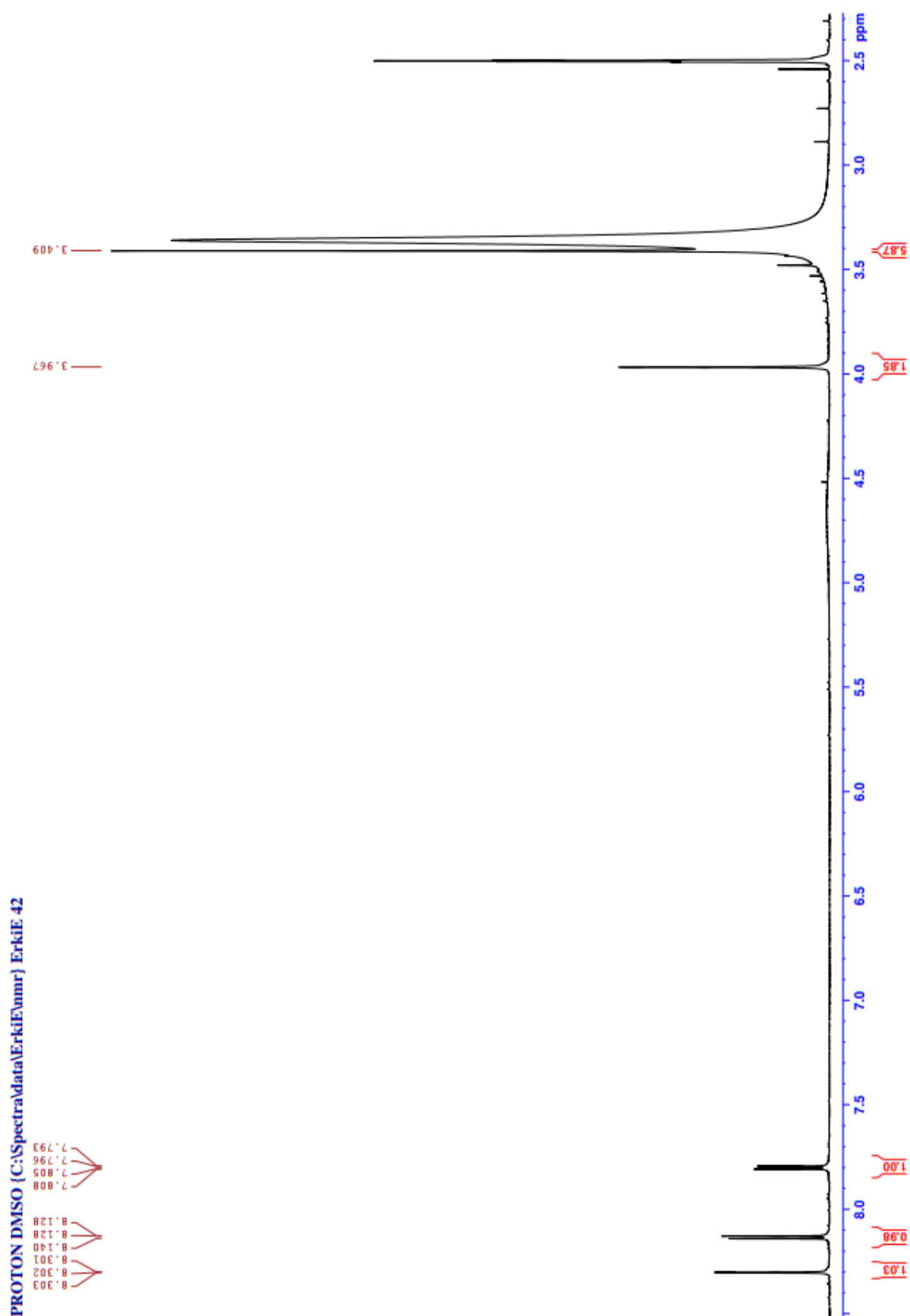
Lisa 3. Ühendi 1 kromatogramm ja mass-spekter



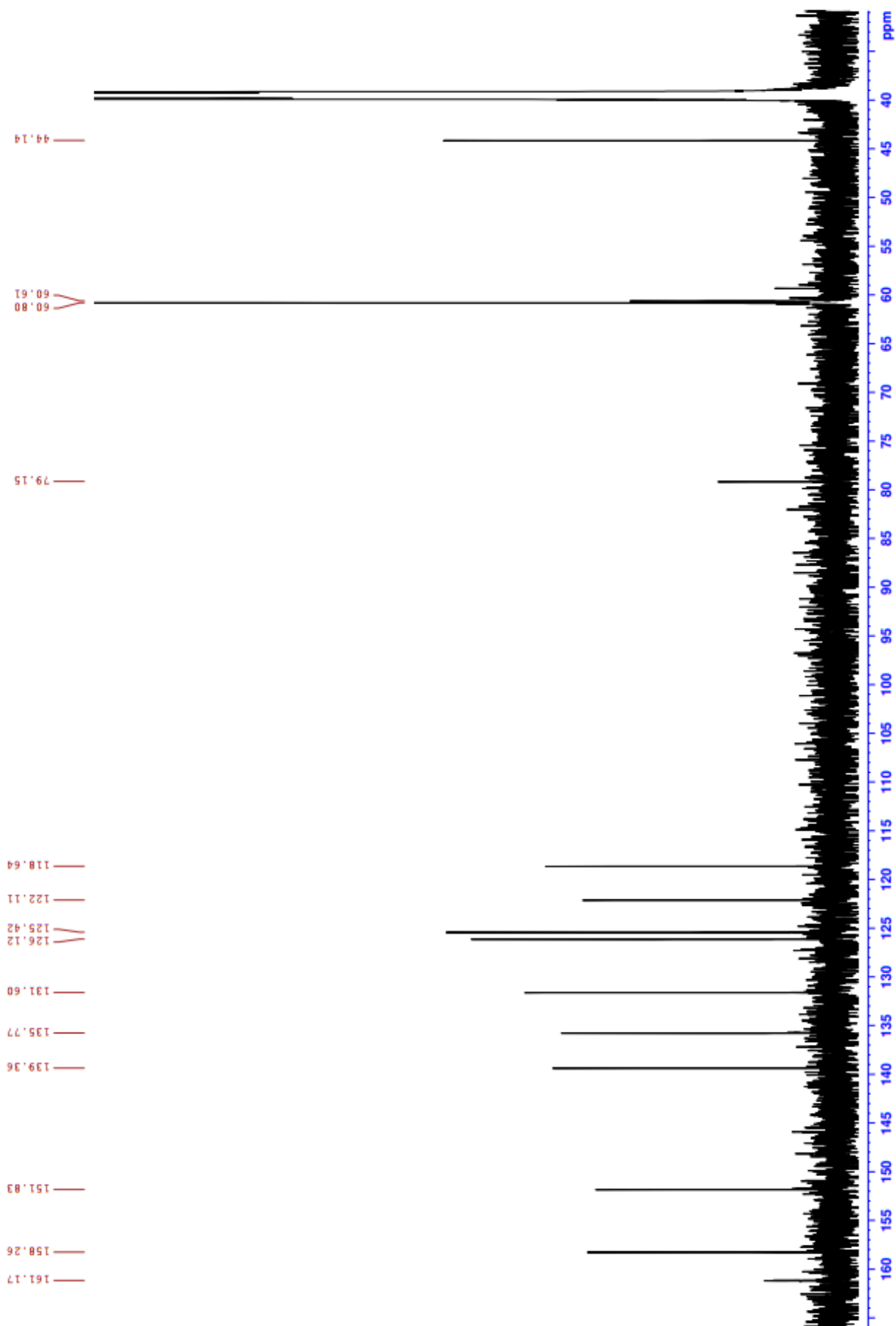
Lisa 4. Ühendi 5 kromatogramm ja mass-spekter



Lisa 5. Ühendi 1 ^1H ja ^{13}C NMR spektrid



C13CPD DMSO (C:\Spectra\data\ErkiE\nmr) ErkiE 42



Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Helen Sepman (sünnikuupäev 04.10.1997)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose

ORGAANILISTE KOLMETSÜKLILISTE BENSOTIENOPÜRIMIDIINI TÜÜPI
ÜHENDITE KÕRGTEMPERATUURSETE FOSFORESTSENTSOMADUSTE
KIRJELDAMINE,

mille juhendaja on Erki Enkvist

- 1.1.reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
- 1.2.Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 3.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, alates **31.05.2021** kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
2. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Tartus, 31.05.2019