

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова

праця на правах рукопису

Харченко Дар'я Вікторівна

УДК 544.363+544.4+541.182+547.815.1

ДИСЕРТАЦІЯ

**КІНЕТИКА ГІДРОЛІЗУ ЕСТЕРІВ СПОЛУК ФЛУОРЕСЦЕЇНОВОГО РЯДУ В
ОРГАНІЗОВАНИХ РОЗЧИНАХ**

Спеціальність 102 «Хімія»

Галузь знань 10 Природничі науки

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Д.В. Харченко

Науковий керівник Мchedлов-Петросян Микола Отарович,

академік НАН України, доктор хімічних наук, професор

Харків - 2025

АНОТАЦІЯ

Харченко Д. В. Кінетика гідролізу естерів сполук флуоресцеїнового ряду в організованих розчинах. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 Хімія» (Галузь знань 10 Природничі науки). – Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, 2025.

Останнім часом зростає інтерес до вивчення різних фізико-хімічних процесів у організованих розчинах, таких як міцелярні системи та супрамолекулярні комплекси. Вони відіграють важливу роль у різних галузях науки і техніки — від фармацевтики до створення нових матеріалів. Особливу увагу привертають дослідження реакцій у таких середовищах, оскільки організовані розчини можуть істотно змінювати механізм та кінетику хімічних перетворень.

Одним із важливих прикладів є гідроліз естерів сполук флуоресцеїнового ряду, що активно використовуються як флуоресцентні зонди у біохімії та медицині. Більшість наявних досліджень кінетики гідролізу проводилася у водних або індивідуальних органічних розчинниках, тоді як вплив міцел і каліксаренів на перебіг цих реакцій ще потребує детальнішого вивчення. У цьому напрямку потреба у поглибленому аналізі впливу організованих розчинів на швидкість і механізм хімічних реакцій стає актуальною.

Отже, **метою дисертаційної роботи** було виявлення особливостей кінетики гідролізу естерів сполук флуоресцеїнового ряду в організованих розчинах поверхнево-активних речовин і каліксаренів.

У роботі досліджено гідроліз діацетил- і дилаурилфлуоресцеїну, а також естерів нітропохідних флуоресцеїну у водних та водно-етанольних середовищах. Окрему увагу приділено вивченню впливу міцелярних систем і супрамолекулярних агрегатів каліксаренів на швидкість і механізм перебігу реакцій гідролізу. Визначено кінетичні параметри гідролізу в різних середовищах та механізми впливу міцелярних і супрамолекулярних структур на швидкість реакцій.

Вивчено спектральні властивості та кислотно-основні рівноваги нітропохідних флуоресцеїну у водних і водно-етанольних розчинах, а також проаналізовано залежність параметрів йонної рівноваги та кінетичних характеристик гідролізу відповідних естерів у цих середовищах.

Додатково досліджено вплив організованих розчинів на гідроліз естерів *пара*-нітрофенолу, що дозволило порівняти ефекти організованих середовищ, а особливо каліксаренів для субстратів різної природи.

Для дослідження були використані поверхнево-активні речовини катіонного, аніонного, неіонного та цвітеріонного типів, а також каліксарени з різними довжинами алкільних замісників, що дозволило оцінити внесок електростатичних та гідрофобних взаємодій у перебіг досліджуваних процесів.

Для проведення експерименту та обробки результатів використано наступні методи та підходи:

1. Спектрофотометрія: для визначення констант швидкості реакцій і спектральних характеристик нітропохідних флуоресцеїну.
2. Потенціометричний метод – для визначення рН розчинів
3. Динамічне розсіювання світла (ДРС): для визначення розміру та заряду колоїдних частинок.

Новизна одержаних результатів:

1. Розвинуто метод спектрофотометричного визначення констант швидкості обох стадій двоступінчастого гідролізу естерів флуоресцеїну у водних та міцелярних розчинах поверхнево-активних речовин.

Запропонований метод дозволяє чітко розділити перебіг двох послідовних стадій гідролізу завдяки аналізу змін спектральних характеристик у часі.

Використання цього підходу забезпечує можливість визначення окремих кінетичних констант для першої та другої стадій реакції навіть у організованих середовищах. Метод застосовано до аналізу гідролізу діацетил- і дилаурилфлуоресцеїну у воді та міцелярних системах ПАР, дозволяючи коректно обчислювати кінетичні параметри під час зміни природи середовища.

2. Досліджено вплив організованих розчинів поверхнево-активних речовин різної природи (катіонних, аніонних та неіонних) на швидкість гідролізу естерів флуоресцеїну.

Показано, що катіонні міцелярні системи ЦТАБ та ЦПХ, суттєво прискорюють гідроліз естерів у порівнянні з водним середовищем. Це прискорення обумовлене накопиченням гідроксид-іонів у шарі Штерна позитивно заряджених міцел. Проте розрахунок істинної концентрації гідроксид-іонів у мікрооточенні субстрату показує, що ефективна швидкість реакції може бути знижена через "відволікаючий ефект" — специфічну взаємодію між гідроксид-іонами та катіонними головними групами міцел, що обмежує доступність реагентів для реакції. Аніонні ПАР, навпаки, призводять до зниження швидкості реакції через відштовхування гідроксид-іонів від поверхні міцел.

3. Вперше продемонстровано значний каталітичний ефект супрамолекулярних агрегатів каліксаренів із холіновими групами на ободі на реакцію гідролізу естерів флуоресцеїну.

Досліджено вплив каліксаренів з холіновими замісниками на швидкість гідролізу діацетилфлуоресцеїну. Показано, що каліксарени з холіновими групами значно прискорюють перебіг реакції завдяки специфічній локалізації гідроксид-іонів поблизу естерної групи субстрату. Показано також, що подовження алкільного ланцюга каліксаренів від C_3 до C_{12} сприяє зростанню ефективності каталізу, що свідчить про важливу роль гідрофобних

взаємодій у структурі агрегатів. Швидкість реакції гідролізу у присутності каліксаренів зростає до 1800 разів порівняно з водним середовищем.

4. Підтверджено універсальність каталітичної дії каліксаренів із холіновими групами на прикладі прискорення гідролізу естерів *пара*-нітрофенолу.

Дослідження гідролізу *пара*-нітрофеніл ацетату та *пара*-нітрофеніл пальмітату у присутності катіонних ПАР та агрегатів каліксаренів із холіновими групами показали, що останні забезпечують надзвичайно високий каталітичний ефект. Для *пара*-нітрофеніл ацетату константа швидкості реакції у каліксаренових агрегатах зростає приблизно у 200 разів порівняно з водним розчином. Це свідчить про універсальність каталітичного механізму каліксаренів із холіновими групами та їх здатність до створення ефективних мікрооточень для різних типів субстратів.

5. Виявлено залежність ефективності організованих розчинів від структури субстрату: вплив довжини гідрофобного ланцюга на швидкість гідролізу.

Порівняння гідролізу *пара*-нітрофеніл ацетату та *пара*-нітрофеніл пальмітату показало, що довгий вуглеводневий ланцюг пальмітату сприяє глибшому зануренню молекули в гідрофобне ядро агрегатів, що ускладнює доступ гідроксид-іонів до реакційного центру і знижує швидкість реакції у 5,6 разів. Це демонструє важливу роль просторової доступності функціональної групи для ефективності псевдофазового каталізу.

6. Встановлено критичну роль макроциклічної архітектури каліксаренів у забезпеченні високої каталітичної активності.

Порівняння каталітичної активності каліксарену з холіновими групами та відповідної «чверті» структури — сполуки *N,N*-диметил-*N*-гідроксиетил-4-додецилоксибензиламонію хлориду — показало, що макроциклічна будова каліксарену суттєво підвищує ефективність каталізу гідролізу естерів.

Спостерігається суттєве зменшення константи швидкості у разі використання "чверті" каліксарену, що вказує на важливість саме каліксаренового ефекту для ефективного каталізу.

7. Досліджено вплив йонної сили середовища на швидкість гідролізу в міцелярних і каліксаренових системах.

Показано, що збільшення йонної сили середовища призводить до зниження швидкості реакцій гідролізу як у присутності класичних катіонних ПАР, так і у агрегатах каліксаренів. Це пов'язано з екрануванням поверхневого електричного потенціалу агрегатів і відповідним зменшенням локальної концентрації гідроксид-йонів біля субстрату. Такий ефект підтверджує важливість електростатичних взаємодій для ефективного псевдофазового каталізу.

8. Вперше встановлено вплив положення нітрозамісника в залишку фталевої кислоти молекули флуоресцеїну на кислотно-основні властивості, стан таутомерної рівноваги та кінетичні параметри гідролізу естерів у водних і водно-етанольних розчинах.

Досліджено кислотно-основні рівноваги 3'-, 4'- та 5'-нітрофлуоресцеїнів шляхом визначення їх констант дисоціації у воді та у 50 мас.% водно-етанольному розчині. Виявлено, що введення нітрогрупи у різні положення змінює стабільність лактонної, цвиттеріонної та іонізованих форм молекули. Спостерігається зміщення таутомерної рівноваги у бік цвиттеріонної форми у воді, а також переважання лактонного таутомеру у водно-етанольному розчині. Встановлено, що положення нітрозамісника також впливає на співвідношення констант швидкості стадій гідролізу, модифікуючи механізм перебігу реакції.

9. Встановлено залежність ефективності каталізу в організованих середовищах від положення нітрозамісника у молекулі флуоресцеїну.

Дослідження гідролізу 3'-, 4'- та 5'-нітрофлуоресцеїнових естерів у присутності мицелярних систем та каліксаренів виявило, що ефективність прискорення реакції істотно залежить від положення нітрогрупи. У мицелях ЦТАБ найбільший каталітичний ефект спостерігається для 3'-нітрофлуоресцеїну, тоді як у каліксаренових системах максимальне прискорення характерне для 5'-нітрофлуоресцеїну. Це свідчить про важливість просторової орієнтації субстрату у псевдофазовому середовищі та вплив електронної природи замісника на доступність реакційного центру.

10. Вперше проаналізовано ефекти зміни природи організованого середовища на співвідношення констант швидкості двох стадій гідролізу.

Виявлено, що в організованих середовищах змінюється не тільки загальна швидкість гідролізу, але й співвідношення констант першої і другої стадій. У присутності катіонних мицел реакція першої стадії прискорюється сильніше, тоді як у каліксаренових системах прискорення обох стадій відбувається більш рівномірно. Це вказує на різний механізм впливу організованого середовища на перебіг кожного етапу гідролізу.

11. Розширено уявлення про роль гідрофобних і електростатичних взаємодій у процесах супрамолекулярного каталізу.

Порівняння ефектів ПАР і каліксаренів показало, що електростатичні взаємодії відіграють провідну роль у мицелярних системах, тоді як у каліксаренових агрегатах ключовим чинником є комбінація електростатичних і гідрофобних ефектів. Структура каліксаренових агрегатів забезпечує одночасно високий локальний електричний потенціал і створення гідрофобного мікрооточення для субстрату, що дозволяє досягати високої ефективності каталізу навіть для різних за природою естерів.

Практичне використання одержаних результатів:

Практичне значення отриманих у дисертаційній роботі результатів полягає у можливості їх застосування для оптимізації умов проведення реакцій гідролізу естерів флуоресцеїну в аналітичній хімії, біохімії та фармацевтичних дослідженнях. Виявлені закономірності щодо впливу міцелярних середовищ та каліксаренових агрегатів на кінетику гідролізу можуть бути використані для створення нових високочутливих флуоресцентних зондів, які здатні селективно реагувати у складних біологічних середовищах.

Отримані дані щодо каталітичних властивостей каліксаренових агрегатів, особливо залежність швидкості гідролізу від довжини вуглеводневого ланцюга, відкривають перспективи для цілеспрямованого дизайну нових супрамолекулярних каталізаторів із заданими властивостями. Це може знайти застосування в синтетичній хімії для прискорення реакцій гідролізу та естерифікації, які є важливими для фармацевтичних і біотехнологічних процесів.

Методика роздільного визначення кінетичних параметрів для двоступеневих реакцій гідролізу може бути впроваджена в аналітичну практику лабораторій, що займаються контролем ферментативних процесів, дослідженням активності ферментів та моніторингом стану навколишнього середовища. Запропонований метод дозволяє отримувати більш точні та інформативні результати порівняно з традиційними підходами, що дає змогу більш ефективно контролювати та оптимізувати умови реакцій.

Отримані дані щодо кислотно-основних властивостей нітропохідних флуоресцеїну можуть бути використані для створення нових рН-чутливих зондів для медико-біологічних досліджень. Виявлені особливості кислотно-основної рівноваги та таутомерії можуть бути застосовані для розробки систем сенсорів, які реагують на зміни кислотності середовища, зокрема в біологічних тканинах, де необхідно точне вимірювання та контроль внутрішньоклітинних параметрів.

Отримані результати є корисними для створення супрамолекулярних систем, здатних регулювати швидкість реакцій за допомогою контрольованого вибору

середовища (наприклад, типу міцел чи каліксаренових агрегатів). Такі системи перспективні для використання в сучасних нанотехнологіях, зокрема в якості наноконтейнерів для доставки ліків чи контрольованого вивільнення активних речовин.

Дисертація викладена на 158 сторінках і містить 13 таблиць, 33 рисунки та 94 посилання на літературні джерела.

Ключові слова: гідроліз, кінетика, гідрофобність, флуоресцеїн, рН-чутливі барвники, органічні барвники, молекулярна структура, молекулярні агрегати, супрамолекулярні комплекси, комплекси «господар–гість», каліксарени, поверхнево-активні речовини, міцелярні системи, організовані розчини, спектри.

ABSTRACT

Kharchenko D. V. Kinetics of Hydrolysis of Esters of Fluorescein Compounds in Organized Solutions. – Qualification scientific work as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in Specialty 102 Chemistry (10 Natural Sciences). – V. N. Karazin Kharkiv National University, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2025.

Recently, there has been a growing interest in the study of various physicochemical processes in organized solutions, such as micellar systems and supramolecular complexes. These systems play an important role in different fields of science and technology — from pharmaceuticals to the development of new materials. Particular attention is paid to the study of reactions in such media, as organized solutions can significantly alter the mechanism and kinetics of chemical transformations.

One important example is the hydrolysis of esters of fluorescein compounds, which are actively used as fluorescent probes in biochemistry and medicine. Most existing studies on the kinetics of hydrolysis have been conducted in aqueous or individual organic solvents, whereas the influence of micelles and calixarenes on the course of these reactions still requires more detailed investigation. In this direction, the need for an in-depth analysis of the influence of organized solutions on the rate and mechanism of chemical reactions remains relevant.

Thus, **the aim of this dissertation** was to identify the peculiarities of the kinetics of hydrolysis of esters of fluorescein compounds in organized solutions of surfactants and calixarenes.

The study investigates the hydrolysis of diacetylfluorescein, dilaurylfluorescein, and nitro-substituted fluorescein esters in aqueous and water-ethanol media. Special attention was paid to studying the influence of micellar systems and supramolecular aggregates of calixarenes on the rate and mechanism of hydrolysis reactions. Kinetic parameters of hydrolysis in different media and mechanisms of the influence of micellar and supramolecular structures on reaction rates were determined.

The spectral properties and acid-base equilibria of nitrofluorescein derivatives in aqueous and water-ethanol solutions were studied, and the dependence of ionic equilibrium parameters and kinetic characteristics of hydrolysis of the corresponding esters in these media was analyzed.

Additionally, the influence of organized solutions on the hydrolysis of para-nitrophenyl esters was investigated, allowing for the comparison of the effects of organized media, especially calixarenes, for substrates of different nature.

For the study, surfactants of cationic, anionic, nonionic, and zwitterionic types were used, as well as calixarenes with different alkyl chain lengths, which made it possible to assess the contribution of electrostatic and hydrophobic interactions to the course of the studied processes.

The following methods and approaches were used for conducting experiments and processing the results:

1. Spectrophotometry: for determining the rate constants of reactions and the spectral characteristics of nitrofluorescein derivatives.
2. Potentiometric method: for measuring the pH of solutions.
3. Dynamic Light Scattering (DLS): for determining the size of colloidal particles.

Novelty of the obtained results:

1. A method for the spectrophotometric determination of the rate constants of both stages of the two-step hydrolysis of fluorescein esters in aqueous and micellar solutions of surfactants has been developed.

The proposed method enables a clear separation of the two sequential stages of hydrolysis by analyzing changes in spectral characteristics over time. The use of this approach allows for the determination of individual kinetic constants for the first and second stages of the reaction even in organized media. The method was applied to the analysis of the hydrolysis of diacetyl- and

dilaurylfluorescein in water and micellar systems of surfactants, enabling the accurate calculation of kinetic parameters under varying medium conditions.

2. The influence of organized solutions of surfactants of different types (cationic, anionic, and nonionic) on the hydrolysis rate of fluorescein esters has been studied.

It was shown that cationic micellar systems such as IQTAB and CTAC significantly accelerate the hydrolysis of esters compared to aqueous media. This acceleration is due to the accumulation of hydroxide ions in the Stern layer of positively charged micelles. However, the calculation of the true concentration of hydroxide ions in the substrate's microenvironment indicates that the effective reaction rate may decrease due to the "distracting effect" — the specific interaction between hydroxide ions and the cationic headgroups of micelles, which limits the availability of reactants for the reaction. In contrast, anionic surfactants lead to a decrease in reaction rate due to the repulsion of hydroxide ions from the micelle surface.

3. The catalytic effect of supramolecular aggregates of calixarenes with choline groups on the hydrolysis of fluorescein esters has been demonstrated for the first time.

The influence of calixarenes with choline substituents on the hydrolysis rate of diacetylfluorescein was studied. It was shown that calixarenes with choline groups significantly accelerate the reaction by specifically localizing hydroxide ions near the ester group of the substrate. It was also demonstrated that extending the alkyl chain length of calixarenes from C3 to C12 increases catalytic efficiency, highlighting the important role of hydrophobic interactions in the structure of the aggregates.

4. The universality of the catalytic action of calixarenes with choline groups was confirmed by the accelerated hydrolysis of para-nitrophenyl esters.

Studies on the hydrolysis of para-nitrophenyl acetate and para-nitrophenyl palmitate in the presence of cationic surfactants and calixarene aggregates with choline groups showed a significantly high catalytic effect. For para-nitrophenyl acetate, the hydrolysis rate constant in calixarene aggregates increases approximately 200 times compared to water. This indicates the universality of the catalytic mechanism of choline-modified calixarenes and their ability to create effective microenvironments for different types of substrates.

5. The dependence of the efficiency of organized solutions on the structure of the substrate — specifically, the impact of hydrophobic chain length on the hydrolysis rate — has been revealed.

Comparison of the hydrolysis of para-nitrophenyl acetate and para-nitrophenyl palmitate showed that the long hydrocarbon chain of palmitate promotes deeper insertion of the molecule into the hydrophobic core of aggregates, which hinders hydroxide ion access to the reaction center and reduces the reaction rate by a factor of 5.6. This demonstrates the importance of the spatial accessibility of the functional group for the efficiency of pseudo-phase catalysis.

6. The critical role of the macrocyclic architecture of calixarenes in ensuring high catalytic activity has been established.

A comparison of the catalytic activity of a calixarene with choline groups and the corresponding "quarter-calixarene" structure — N,N-dimethyl-N-hydroxyethyl-4-dodecyloxybenzylammonium chloride — showed that the macrocyclic structure significantly enhances the catalytic efficiency of ester hydrolysis. A significant decrease in the hydrolysis rate was observed when using the quarter-calixarene, highlighting the importance of the full calixarene structure for effective catalysis.

7. The effect of ionic strength on the hydrolysis rate in micellar and calixarene systems has been studied.

It was shown that increasing the ionic strength of the medium leads to a decrease in hydrolysis reaction rates both in the presence of classical cationic surfactants and calixarene aggregates. This is due to the screening of the surface electric potential of aggregates and the corresponding reduction in the local concentration of hydroxide ions near the substrate. Such an effect confirms the critical role of electrostatic interactions in efficient pseudo-phase catalysis.

8. For the first time, the influence of the position of the nitro substituent in the phthalic acid residue of the fluorescein molecule on the acid-base properties, tautomeric equilibrium state, and kinetic parameters of ester hydrolysis in aqueous and water-ethanol solutions has been established.

The acid-base equilibria of 3'-, 4'-, and 5'-nitrofluoresceins were studied by determining their dissociation constants in water and in 50 mass% water-ethanol solution. It was revealed that the introduction of a nitro group at different positions changes the stability of the lactone, zwitterionic, and ionized forms of the molecule. A shift of the tautomeric equilibrium toward the zwitterionic form in water and the predominance of the lactone tautomer in water-ethanol solution were observed. It was also shown that the position of the nitro substituent affects the ratio of rate constants for the hydrolysis stages, thereby modifying the reaction mechanism.

9. The dependence of catalytic efficiency in organized media on the position of the nitro substituent in the fluorescein molecule has been established. Studies of the hydrolysis of 3'-, 4'-, and 5'-nitrofluorescein esters in the presence of micellar systems and calixarene aggregates revealed that the efficiency of reaction acceleration depends significantly on the position of the nitro group. In IQTAB micelles, the greatest catalytic effect was observed for 3'-nitrofluorescein, while in calixarene systems, the maximum acceleration was

characteristic for 5'-nitrofluorescein. This highlights the importance of the spatial orientation of the substrate in the pseudo-phase medium and the electronic nature of the substituent in determining the accessibility of the reaction center.

10. For the first time, the effects of the nature of organized media on the ratio of the rate constants of the two stages of hydrolysis have been analyzed. It was found that organized media not only change the overall hydrolysis rate but also alter the ratio of the first and second stage rate constants. In the presence of cationic micelles, the acceleration of the first hydrolysis stage is more pronounced, while in calixarene aggregates, the acceleration of both stages occurs more evenly. This indicates different mechanisms of the influence of organized media on the reaction pathway at each step.
11. The understanding of the role of hydrophobic and electrostatic interactions in supramolecular catalysis processes has been expanded. Comparison of the effects of surfactants and calixarenes showed that electrostatic interactions play the leading role in micellar systems, whereas in calixarene aggregates, a combination of electrostatic and hydrophobic effects is the determining factor. The structure of calixarene aggregates provides a high local electric potential and a hydrophobic microenvironment for the substrate, enabling high catalytic efficiency even for substrates of different natures.

Practical application of the obtained results:

The practical significance of the results obtained in this dissertation lies in their potential application for optimizing the conditions of hydrolysis reactions of fluorescein esters in analytical chemistry, biochemistry, and pharmaceutical research.

The identified patterns regarding the influence of micellar media and calixarene aggregates on the kinetics of hydrolysis can be used to create new highly sensitive fluorescent probes capable of selective response in complex biological environments

The data obtained on the catalytic properties of calixarene aggregates, especially the dependence of hydrolysis rates on the hydrocarbon chain length, open prospects for the targeted design of new supramolecular catalysts with desired properties.

This can find application in synthetic chemistry for accelerating hydrolysis and esterification reactions, which are important for pharmaceutical and biotechnological processes.

The method for separately determining the kinetic parameters of two-step hydrolysis reactions can be implemented in the analytical practice of laboratories involved in monitoring enzymatic processes, studying enzyme activity, and environmental monitoring.

The proposed method allows for more accurate and informative results compared to traditional approaches, enabling more effective control and optimization of reaction conditions.

The data obtained on the acid-base properties of nitrofluorescein derivatives can be used to create new pH-sensitive probes for biomedical research.

The revealed features of acid-base equilibrium and tautomerism can be applied to develop sensor systems that respond to changes in medium acidity, particularly in biological tissues where precise measurement and control of intracellular parameters are required.

The obtained results are useful for the development of supramolecular systems capable of regulating reaction rates through controlled selection of the environment (e.g., the type of micelles or calixarene aggregates).

Such systems are promising for use in modern nanotechnologies, particularly as nanocontainers for drug delivery or for the controlled release of active substances.

The dissertation comprises 158 pages and includes 13 tables, 33 figures, and 94 references.

Keywords: hydrolysis, kinetics, hydrophobicity, fluorescein, pH-sensitive dyes, organic dyes, molecular structure, molecular aggregates, supramolecular complexes, host–guest complexes, calixarenes, surfactants, micellar systems, organized solutions, spectra

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Cheipesh, T. A.; Kharchenko, D. V.; Taranets, Y. V.; Rodik, R. V.; Mchedlov-Petrossyan, N. O.; Poberezhnyk, M. M.; Kalchenko, V. I. Reaction Rates in Aqueous Solutions of Cationic Colloidal Surfactants and Calixarenes: Acceleration and Resolution of Two Steps of Fluorescein Diesters Hydrolysis. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* **2020**, *606*.
<https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2020.125479>.
2. Kharchenko, D. V.; Farafonov, V. S.; Cheipesh, T. A.; Mchedlov-Petrossyan, N. O.; Rodik, R. V.; Kalchenko, V. I. Catalytic Properties of Calixarene Bearing Choline Groups in the Processes of Ester Hydrolysis. *Theoretical and Experimental Chemistry* **2022**, *58* (5), 363–371. <https://doi.org/10.1007/s11237-023-09752-x>.
3. Cheipesh, T. A.; Mchedlov–Petrossyan, N. O.; Bogdanova, L. N.; Kharchenko, D. V.; Roshal, A. D.; Vodolazkaya, N. A.; Taranets, Y. V.; Shekhovtsov, S. V.; Rodik, R. V.; Kalchenko, V. I. Aggregates of Cationic Calix[4]Arenes in Aqueous Solution as Media for Governing Protolytic Equilibrium, Fluorescence, and Kinetics. *J Mol Liq* **2022**, *366*. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2022.119940>.
4. Kharchenko, D. V.; Shekhovtsov, S. V.; Cheipesh, T. A.; Mchedlov-Petrossyan, N. O.; Karazin, V. N. MONONITROFLUORESCEINS IN AQUEOUS MEDIA: ACID-BASE EQUILIBRIA, TAUTOMERISM, AND HYDROLYSIS OF DIACETATES. *Ukrainian Chemistry Journal* **2024**, *90* (9), 3–18.
<https://doi.org/10.33609/2708-129X.90.9.2024.3-18>.

Наукові праці апробаційного характеру (тези доповідей на наукових конференціях) за темою дисертації:

1. Харченко Д. В., Чейпеш Т. О., Шеховцов Спектральні та кислотно-основні характеристики нітропохідних флуоресцеїну, Тези доповідей XVII Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів "Хімічні Каразінські читання – 2025", Харків, Україна, 29 квітня 2025; ХНУ ім. В.Н. Каразіна: Харків, 2025; с 202–203
2. Харченко Д.В., Чейпеш Т.А., Родик Р.В Кинетика гидролиза сложных эфиров флуоресцеина в водных растворах каликсаренов, Тези доповідей XI Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів "Хімічні Каразінські читання – 2019", Харків, Україна, 22–24 квітня 2019; ХНУ ім. В.Н. Каразіна: Харків, 2019; с 169–170
3. Харченко Д.В., Чейпеш Т.А., Родик Р.В Кинетика гидролиза сложных эфиров флуоресцеина в водных растворах катионных ПАВ и каликсаренов, Тези доповідей II Міжнародної наукової конференції студентів, аспірантів і молодих вчених "Хімічні Проблеми сьогодення", Вінниця, Україна, 19–21 березня 2019; ТОВ "Твори": Вінниця, 2019; с 145
4. Харченко Д.В., Чейпеш Т.А Влияние среды на скорость реакций гидролиза диацетилпроизводных флуоресцеина, Тези доповідей X Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів "Хімічні Каразінські читання – 2018", Харків, Україна, 23–25 квітня 2018; ХНУ ім. В.Н. Каразіна: Харків, 2018; с 202–203
5. Харченко Д.В., Чейпеш Т.А. Кинетика реакций ступенчатого гидролиза диацетилфлуоресцеина в водных и водно-этанольных смесях, Тези доповідей IX Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів "Хімічні Каразінські читання – 2017", Харків, Україна, 18–20 квітня 2017; ХНУ ім. В.Н. Каразіна: Харків, 2017; с 202–203

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ.....	23
ВСТУП.....	26
РОЗДІЛ 1 ОРГАНІЗОВАНІ РОЗЧИНИ НА ОСНОВІ КОЛОЇДНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН ТА КАЛІКСАРЕНІВ.....	29
1.1 Гідроліз дієстерів флуоресцеїну	29
1.2 Загальна характеристика організованих розчинів ПАР і каліксаренів.....	31
1.2.1 Поверхнево-активні речовини	31
1.2.2 Загальна характеристика та особливості каліксаренів.....	33
1.2.3 Агрегація каліксаренів у водних розчинах.....	34
1.2.4 Чинники, що впливають на агрегацію каліксаренів.....	34
1.3 Солюбілізація.....	36
1.3.1 Солюбілізація в міцелярних системах	36
1.3.2 Вплив середовища на спектри поглинання барвників	37
1.4 Вплив організованих розчинів на швидкість реакції	39
Висновки до розділу 1	41
РОЗДІЛ 2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	42
2.1 Реактиви	42
2.2 Обладнання та прилади	43
2.3 Посуд	44
2.4 Приготування розчинів та методика вимірювання.....	44
Висновки до розділу 2	46
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ КІНЕТИКИ РЕАКЦІЇ ГІДРОЛІЗУ ЕСТЕРІВ ФЛУОРЕСЦЕЇНУ.....	47

3.1 Методологія дослідження гідролізу естерів флуоресцеїну у воді і водно-етанольному розчині	47
3.2 Гідроліз діацетил флуоресцеїну у воді	56
3.1.2 Гідроліз у естерів флуоресцеїну у водно-етанольному середовищі	58
3.3 Гідроліз естерів флуоресцеїну у ПАР	59
3.2.1 Оцінювання істинних констант швидкості в міцелярному середовищі. 66	
3.4 Вплив каліксаренів на кінетику гідролізу діестерів флуоресцеїну.....	72
3.5 Кінетика гідролізу моноацетилфлуоресцеїну	84
Висновки до розділу 3	88
РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ СПЕКТРАЛЬНИХ ТА КИСЛОТНО-ОСНОВНИХ ХАРАКТЕРИСТИК НІТРОПОХІДНИХ ФЛУОРЕСЦЕЇНУ ТА ВПЛИВ ПАР І КАЛІКСАРЕНІВ НА КІНЕТИКУ РЕАКЦІЇ ГІДРОЛІЗУ ЇХ ЕСТЕРІВ.....	
4.1 Рівновага у воді	91
4.2 Рівновага у водно-етанольному розчині	100
4.3 Метилловий естер 3'нітрофлуоресцеїну у водно-етанольному розчині	104
4.4 Кінетика гідролізу у воді та у водно-етанольному середовищі	107
4.4 Кінетика гідролізу в організованих розчинах ПАР і каліксаренів.....	111
Висновки до розділу 4	118
РОЗДІЛ 5 ВПЛИВ ОРГАНІЗОВАНИХ РОЗЧИНІВ НА РЕАКЦІЮ ГІДРОЛІЗУ ЕСТЕРІВ <i>пара</i>-НІТРОФЕНОЛІВ	
5.1 Дослідження реакції гідролізу 4-нітрофеніл ацетату	123
5.2 Дослідження впливу ПАР на реакцію гідролізу естерів <i>пара</i> -нітрофенолу	125
5.3 Вплив каліксаренів на кінетику реакції гідролізу <i>пара</i> -нітрофенолу	128
5.4 Молекулярно-динамічне моделювання взаємодії каліксаренів з естерами <i>пара</i> -нітрофенолу	130

Висновки до розділу 5	134
ВИСНОВКИ.....	135
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	138
ДОДАТКИ.....	151

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

ДРС – Динамічне розсіювання світла

ПАР – поверхнево-активна речовина

ККМ – критична концентрація міцелоутворення

ЦТАБ – цетилтриметиламонію бромід

ЯМР – ядерний магнітний резонанс

ККА – критична концентрація агрегації

ЦПХ – цетилпиридинію хлорид

ЦДАПС – цетилдиметиламонійпропансульфонат

ДСН - натрій додецилсульфат

ТХ-100 – тритон Х-100

C₃-C₄A-Ch – 5,11,17,23-Тетра(*N,N*-диметил-*N*-гідроксіетиламоній)метилен-25,26,27,28-тетрапро-пілоксикаликс[4]арену тетрахлорид

C₆-C₄A-Ch – 5,11,17,23-тетра(*N,N*-диметил-*N*-гідроксіетиламоній)метилен-25,26,27,28-тетрагексилоксикаликс[4]арену тетрахлорид

C₈-C₄A-Ch – 5,11,17,23-тетра(*N,N*-диметил-*N*-гідроксіетиламоній)метилен-25,26,27,28-тетраоктилоксикаликс[4]арену тетрахлориду

C₁₂-C₄A-Ch – 5,11,17,23-тетра(*N,N*-диметил-*N*-гідроксіетиламоній)метилен-25,26,27,28 тетрадодецилоксикаликс[4]арену тетрахлориду

C₁₂-C₄A-Im – 5,11,17,23-тетра(*N*-метилімідазолій)метилен-25,26,27,28-тетрадодецилоксикаликс[4]арену тетрахлорид

C₁-C6A-Ch — 5,11,17,23,29,35-гекса(*N,N*-диметил-*N*-гідроксіетиламонійметилєн)-37,38,39,40,41,42-гексаметоксикаликс[6]арєну гєксахлориду

C₁₂-Bn-Ch — *N,N*-диметил-*N*-гідроксієтил-4-додецилоксибензиламонію хлорид

ДБУ — 1,8-діазабіцикло[5,4,0]ундец-7-єн

DAFI — діацєтилфлуорєсцєїн

DLFI — дилаурилфлуорєсцєїн

FI²⁻ — діанієн флуорєсцєїну

MeFI⁻ — моноанієн метоксифлуорєсцєїну

HF⁻ — моноанієн флуорєсцєїну

AcFI⁻ - моноанієн ацєтилфлуорєсцєїну

AMFI — ацєтилметилфлуорєсцєїн

*p*NPA — ацєтат *пара*-нітрофєнолу

*p*NPP — пальмітат *пара*-нітрофєнолу

ФРВ — функцій розподілу відстані

A_t— оптичне поглинання на певній довжині хвилі після закінчення часу *t* від початку реакції,

A_∞ — це значєння оптичного поглинання, що спостєрігаєтьєся при повному перєтворєнні барвника у кінцєвий продукт реакції.

ε_{λ,*p*} — коєфіцієнт молярного поглинання *p*-ї частинки сполуки при *i*-тій довжині хвилі;

t — час, с;

[*i*] — равноважна концентрація *i*-тої частинки;

$c_{0,i}$ – вихідна концентрація i -тої речовини, моль/л;

c_i – аналітична концентрація i -тої речовини, моль/л;

I – йонна сила розчину, моль/л;

α_i – мольна частка i -тої частинки, %;

pH – показник активності йона водню;

K_{ai} – термодинамічна константа i -тої ступені дисоціації;

K_a^a – «уявна» константа іонізації;

K_T , K_T' , K_T'' , K_{T_x} – константи таутомерних рівноваг;

k_i' – константа швидкості псевдопершого порядку i -тої стадії реакції

k_i – справжня константа швидкості i -тої стадії реакції;

λ – довжина хвилі, нм;

$\lambda_{\max}$ – довжина хвилі в максимумі спектру, нм;

$\varepsilon_{\max}$ – максимальний коефіцієнт молярного поглинання, л·моль⁻¹·см⁻¹;

ВСТУП

Реакції гідролізу складних ефірів (далі – естерів) є одними з фундаментальних процесів, що мають важливе значення у хімії, біохімії, фармакології, біотехнологіях та аналітичній практиці. Особливе місце серед таких реакцій посідає гідроліз естерів флуоресцеїну, що пояснюється унікальними фізико-хімічними властивостями цієї сполуки. Завдяки високій інтенсивності флуоресценції та здатності змінювати спектральні характеристики залежно від кислотно-основних властивостей середовища похідні флуоресцеїну широко використовуються як флуоресцентні зонди^[1-3], індикатори^[4] та сенсори в біохімічних дослідженнях, клінічній діагностиці, а також у аналітичній практиці для визначення активності ферментів та мікроорганізмів.^[5-7]

У сучасних умовах зростає інтерес до вивчення впливу організованих середовищ, таких як міцелярні системи поверхнево-активних речовин (ПАР) і супрамолекулярних агрегатів каліксаренів, на кінетику та механізм реакцій гідролізу. Це пов'язано з можливістю створення на їх основі унікальних каталітичних систем та розширення областей їх практичного використання. Організовані розчини здатні суттєво впливати на хімічні процеси завдяки особливостям своєї структури, зокрема формуванню псевдофаз, що характеризуються локальною зміною полярності, електростатичного потенціалу, а також специфічними взаємодіями з молекулами субстрату.^[8-13]

Незважаючи на значний науковий інтерес до цієї тематики, механізми впливу міцелярних середовищ і супрамолекулярних агрегатів каліксаренів на двостадійний гідроліз естерів флуоресцеїну залишаються недостатньо вивченими.

У літературі зазвичай розглядається загальна картина гідролізу естерів флуоресцеїну, проте відсутній детальний аналіз кожної стадії окремо, що суттєво обмежує розуміння тонких механізмів реакції. Крім того, недостатньо систематизовані відомості щодо впливу замісників у молекулі флуоресцеїну на перебіг гідролізу.^[14-16]

Враховуючи актуальність зазначеної проблематики, **метою** цієї дисертаційної роботи було вивчення особливостей кінетики гідролізу естерів флуоресцеїну, зокрема діацетил- і дилаурилфлуоресцеїну, а також естерів нітропохідних флуоресцеїну та естерів *пара*-нітрофенолу в організованих розчинах, що містять поверхнево-активні речовини та каліксарени. Для досягнення поставленої мети були визначені наступні **завдання**:

- Дослідити особливості двостадійного гідролізу діацетил- і дилаурилфлуоресцеїну у водних та водно-етанольних розчинах.
- Оцінити вплив поверхнево-активних речовин різного зарядового типу на швидкість гідролізу естерів флуоресцеїну.
- Визначити роль структурних особливостей каліксаренів, зокрема довжини вуглеводневого ланцюга, у каталізі реакцій гідролізу.
- Вивчити кінетику гідролізу нітропохідних флуоресцеїну, проаналізувати вплив положення нітрогрупи на кислотно-основні рівноваги та таутомерні перетворення.

Для досягнення поставлених цілей було використано спектрофотометричні методи, що дозволяють детально відслідковувати зміну концентрації реагентів і продуктів реакції в процесі гідролізу. Також застосовано потенціометричний метод для контролю рН та метод динамічного розсіювання світла для визначення розмірів колоїдних агрегатів у мицелярних системах.

Наукова новизна роботи полягає в тому, що було виявлено основні закономірності впливу мицелярних і супрамолекулярних середовищ на кінетику двоступеневого гідролізу естерів флуоресцеїну. Вперше було систематично досліджено каталітичні властивості каліксаренових агрегатів і встановлено, що подовження алкільних замісників каліксаренів суттєво прискорює реакцію. Крім того, проведено аналіз впливу нітро замісників у молекулі флуоресцеїнів та їхній вплив на швидкість реакції гідролізу відповідних естерів.

Практичне значення одержаних результатів полягає у можливості їх застосування для створення нових високочутливих флуоресцентних зондів, розробки ефективних каталітичних систем, а також у методиках контролю

ферментативних реакцій у біологічних системах та сучасних біоаналітичних технологіях.

Авторка висловлює свою подяку науковому керівнику, доктору хімічних наук, професору, академіку НАН України Мchedлову-Петросяну Миколі Отаровичу за наукове наставництво, підтримку та цінні поради, а також кандидату хімічних наук, доцентці Чейпеш Тетяні Олександрівні — за допомогу в постановці завдань, обговоренні результатів і формуванні дослідницьких навичок. Вдячність висловлюється також старшому науковому співробітнику Шеховцову Сергію Вікторовичу за синтез досліджуваних сполук, всебічну допомогу з експериментами та консультації, а кандидату хімічних наук, доценту Фарафонову Володимирі Сергійовичу — за провідну роль у молекулярно-динамічному моделюванні й підтримку, що сприяла освоєнню даного методу дослідження. Окрема вдячність співробітникам Інституту органічної хімії НАН України доктору хімічних наук Родіку Роману Васильовичу та доктору хімічних наук, академіку НАН України Кальченку Віталію Івановичу за надані каліксаренові сполуки.

РОЗДІЛ 1 ОРГАНІЗОВАНІ РОЗЧИНИ НА ОСНОВІ КОЛОЇДНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН ТА КАЛІКСАРЕНІВ

1.1 Гідроліз діестерів флуоресцеїну

Гідролі діестерів флуоресцеїну є поширеним методом аналізу активності ферментів у різноманітних біологічних середовищах, організованих розчинах, а також для визначення метаболічної активності мікроорганізмів у природних зразках.^[14–27] Зокрема, використання похідних флуоресцеїну, таких як кальцеїн-АМ^[28], є стандартною практикою для оцінювання внутрішньоклітинної активності естераз, що є важливим маркером клітинної життєздатності. Схема гідролізу естерів флуоресцеїну зображена на Рисунку 1.1.

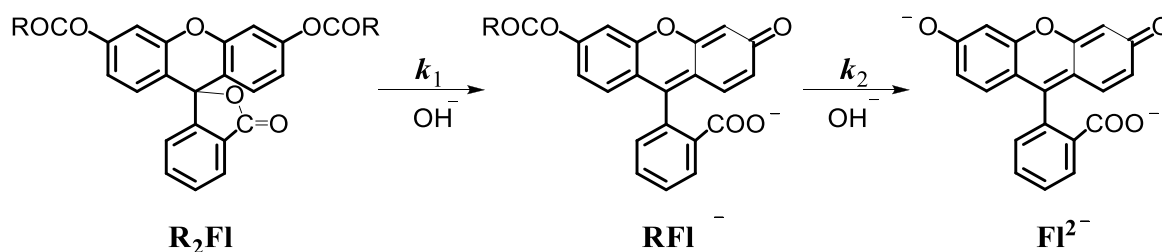


Рисунок 1.1 Схема реакції лужного гідролізу діестерів флуоресцеїну.

Дослідження С. Ліу та інших ^[29] демонструє застосування реакції гідролізу як у двофазній октанол-водній системі, так і всередині фосфоліпідних везикул, підкреслюючи потенціал ліпідних агрегатів діяти як каталізатори і надавати додаткову інформацію про біохімічні механізми, що може мати значення в фармакології та синтетичній біології.

Зазвичай, для аналізу кінетики реакцій гідролізу похідних флуоресцеїну реєструють зміни оптичних властивостей досліджуваних речовин у процесі перетворення. Це зумовлено тим, що гідроліз естерних груп, розташованих безпосередньо в хромофорній ксантеновій частині барвника, супроводжується істотними змінами спектральних характеристик, що дозволяє безперервно контролювати динаміку зміни концентрації реагентів за допомогою спектроскопії у реальному часі.

В оцінці ферментативної активності часто достатньо зареєструвати лише утворення кінцевого продукту – діаніону флуоресцеїну. Для цього застосовують, зокрема, метод Шнюрера і Россваля, який передбачає зупинку гідролізу додаванням ацетону через певні проміжки часу та вимірювання оптичного поглинання при довжині хвилі 490 нм, що відповідає максимуму спектральної смуги діаніона флуоресцеїну у водних розчинах.^[30]

Альтернативною методикою є моніторинг змін інтенсивності флуоресценції у часі, що має лінійну залежність від концентрації продукту реакції. У попередніх роботах, зокрема у дослідженні Зонтага, застосовувалися вимірювання флуоресценції при довжині хвилі 516 нм, що дозволяло відслідковувати виключно утворення інтенсивно флуоресціюючого діаніона. Проте визначення обох констант швидкості на основі єдиної кінетичної залежності часто супроводжується значними похибками через недостатню кількість експериментальних точок.^[14]

Гофман і Зернец запропонували методику вимірювання інтенсивності флуоресценції розчинів діацетатів і моноацетатів флуоресцеїну у фосфатних буферних системах із використанням меншої довжини хвилі збудження ($\lambda = 365$ нм). Це дозволило аналізувати першу стадію реакції гідролізу в умовах мінімальної флуоресценції кінцевого діаніонного продукту, підтвердивши таким чином кінетику першого порядку для неферментативного гідролізу. Водночас швидке перетворення моноацетатної форми і неможливість отримання її у чистому вигляді створює додаткові труднощі у визначенні кінетичних параметрів.^[16,31]

В усіх вищезгаданих дослідженнях процес гідролізу дієстерів флуоресцеїну часто розглядається як одностадійний, попри те, що молекули містять дві естерні групи. Відповідно, доцільним є розгляд реакції гідролізу як двох послідовних стадій, що забезпечує точніше розуміння механізму і впливу різних факторів на кожний етап окремо.

У межах даної роботи спектрофотометричний метод застосовано для дослідження кінетики гідролізу діацетил- та дилаурилфлуоресцеїну в

організованих міцелярних розчинах поверхнево-активних речовин та каліксаренів, що дає змогу отримати детальну інформацію про особливості перебігу кожної окремої стадії реакції та механізми їхнього каталізу в таких системах.

1.2 Загальна характеристика організованих розчинів ПАР і каліксаренів

1.2.1 Поверхнево-активні речовини

Поверхнево-активні речовини – це сполуки, здатні зменшувати поверхневий натяг води, концентруючись на межі фаз. Вони містять гідрофільний та гідрофобний фрагменти, що обумовлює їхню дифільність. Гідрофобну частину найчастіше становить вуглеводневий ланцюг. Залежно від природи гідрофільної групи ПАР поділяють на неіонні, цвітеріонні, аніонні та катіонні. У катіонних ПАР гідрофільну частину зазвичай утворюють четвертинні амонієві або піридинієві групи, тоді як у аніонних – сульфатні, сульфонатні, фосфатні чи карбоксильні. Для неіонних ПАР характерною є наявність поліоксіетиленового ланцюга у складі гідрофільної групи. Завдяки своїй дифільності ПАР демонструють специфічні властивості у водному середовищі: 1) знижують поверхневий натяг шляхом адсорбції та впорядкування молекул на межі поділу фаз; 2) мають обмежену розчинність у воді в молекулярному стані; 3) утворюють міцели за досягнення критичної концентрації міцелоутворення (ККМ); 4) здатні розчиняти певні сполуки як на поверхні, так і всередині міцел [32].

У водних розчинах поверхнево-активні речовини проявляють здатність до самовпорядкування, що обумовлюється їхньою структурною особливістю — наявністю як полярного, так і неполярного фрагментів у молекулі. При досягненні ККМ молекули ПАР починають агрегувати, утворюючи міцели — динамічні надмолекулярні структури, в яких гідрофобні частини молекул орієнтовані всередину, а гідрофільні – назовні, взаємодіючи з водним середовищем.[33]

Процес міцелоутворення ПАР з термодинамічної точки зору є сприятливим, оскільки зменшує вільну енергію системи за рахунок зниження контакту гідрофобних частин молекул з водою. При цьому рівновага між мономерними

молекулами ПАР і міцелами визначається термодинамічними параметрами, такими як ентальпія й ентропія утворення міцел. На значення ККМ впливають різні фактори, зокрема температура, йонна сила розчину, довжина гідрофобного ланцюга та наявність домішок.^[33]

Існують різні теоретичні підходи до опису процесу міцелоутворення. Модель множинних рівноваг розглядає утворення міцел як поступовий процес асоціації молекул ПАР через низку рівноважних станів, де кожний наступний агрегат формується з певною константою асоціації. Натомість модель псевдофази трактує міцелярний розчин як систему, у якій міцели виступають окремою фазою, а перехід молекул ПАР із мономерного стану в міцелярний описується аналогічно фазовому переходу.^[33]

Вивчення процесів міцелоутворення має велике значення для розуміння поведінки ПАР у водних середовищах, зокрема для регулювання їхніх властивостей у біологічних системах, фармацевтичних препаратах та хімічних процесах. Саме тому подальший аналіз впливу міцел на реакційну здатність речовин є важливим аспектом цього дослідження.

Міцели більшості ПАР у водному середовищі зазвичай мають близьку до сферичної сферичну форму, у якій гідрофобні хвости молекул орієнтовані всередину, а гідрофільні групи взаємодіють із водою. Ця модель, запропонована Хартлі^[34], справедлива для розведених розчинів, проте при збільшенні концентрації ПАР морфологія міцел часто змінюється, переходячи від сферичних до циліндричних та ламелярних структур. Наприклад, у розчинах цетилтриметиламонію броміду (ЦТАБ) при низьких концентраціях переважають мономерні форми, тоді як при зростанні концентрації спостерігається поступовий перехід до сферичних міцел, потім до циліндричних і, зрештою, до рідкокристалічних фаз.^[35]

Більш сучасні моделі будови міцел, зокрема блочна модель Фромгерца, припускають, що сферична форма міцел є усередненим результатом динамічних

змін у розташуванні молекул. Міцели можуть містити від кількох десятків до сотні мономерів ПАР, а їхній радіус визначається довжиною витягнутої молекули ПАР. Наприклад, міцели ЦТАБ мають радіус близько 2,56 нм.^[36]

Структурно міцели складаються з ядра, утвореного гідрофобними хвостами, та поверхневого шару, що містить полярні головні групи ПАР. Для йонних ПАР поверхневий шар включає також протиіони, які частково нейтралізують заряд міцели, утворюючи так званий шар Штерна. Навколо нього формується дифузійний шар Гуї–Чепмена, що містить йони, розподілені у водному середовищі.^[32,33]

Шар Штерна відрізняється фізико-хімічними властивостями від навколишньої водної фази. Його діелектрична проникність наближається до значень органічних розчинників, таких як спирти. Наприклад, ефективна діелектрична проникність шару Штерна для міцел ЦТАБ становить приблизно 36. Полярність цього середовища може бути оцінена за допомогою спектральних зондів, проте варто враховувати, що їхнє розташування в міцелі впливає на отримані результати.^[35,37]

1.2.2 Загальна характеристика та особливості каліксаренів

Каліксарени – це макроциклічні сполуки, що складаються з повторюваних ароматичних фрагментів, з'єднаних між собою метиленовими містками. Їхня унікальна чашоподібна структура (від грец. "calix" – чаша) здатна забезпечити наявність як полярних, так і неполярних областей в межах однієї молекули. Це робить каліксарени перспективними супрамолекулярними рецепторами, здатними до селективного зв'язування різних йонів і молекул ^[38].

В залежності від кількості ароматичних фрагментів у циклі розрізняють калікс[4]арени, калікс[6]арени, калікс[8]арени тощо. Каліксарени характеризуються конформаційною рухливістю, що визначає їхню здатність до утворення різних структур, зокрема «конусної», «частково-конусної», 1,2-альтернатної та 1,3-альтернатної форм ^[38].

Функціоналізація каліксаренів дозволяє модифікувати їхні властивості, змінюючи розчинність, здатність до комплексоутворення та взаємодію з біологічними молекулами. Введення замісників у *пара*-положення відносно гідроксильних груп або модифікація останніх відкриває нові перспективи для застосування каліксаренів у матеріалознавстві, аналітичній хімії, каталізі та біомедичних дослідженнях [39–44].

1.2.3 Агрегація каліксаренів у водних розчинах

Каліксарени, залежно від їхньої структури, здатні до утворення агрегатів у водних розчинах, утворюючи агрегати, подібні до міцел. Цей процес визначається природою замісників, розміром макроциклу та розчинником. Агрегація каліксаренів досліджувалась за допомогою низки методів, включаючи кондуктометрію, тензіметрію, ядерний магнітний резонанс (ЯМР), динамічне розсіювання світла (ДРС) та трансмісійну електронну мікроскопію [45–47].

Гідрофобно-функціоналізовані каліксарени часто порівнюють із геміні-ПАР, які містять два гідрофобні радикали та йонні групи, з'єднані містком. Вони демонструють високу поверхневу активність, низькі ККМ і здатність до утворення нанорозмірних агрегатів з певною морфологією [48,49].

1.2.4 Чинники, що впливають на агрегацію каліксаренів

На процес агрегації каліксаренів впливають різноманітні чинники, зокрема хімічна структура, конформація молекул, природа розчинника, взаємодія з гостьовими молекулами та зовнішні умови. Нижче наведено опис деяких з цих факторів:

- Хімічна структура та конформація:

Конформація каліксаренів, зокрема конусна або 1,3-альтернатна, суттєво впливає на їхню здатність до утворення агрегатів. Наприклад, каліксарени в 1,3-альтернатній формі можуть утворювати нанокапсульні структури завдяки унікальному розташуванню їхніх функціональних груп.[50]

Розмір і конформація каліксаренового каркаса впливають на критичну концентрацію агрегації (ККА) та визначають різноманіття морфологій утворених структур, таких як міцели або везикули.^[51]

- Вплив розчинника:

Розчинника та його полярність суттєво впливають на процес агрегації каліксаренів. Наприклад, у малополярних розчинниках, таких як хлороформ, π - π стекінг взаємодії сприяють утворенню агрегатів, тоді як у полярних розчинниках спостерігається інша агрегаційна поведінка. Зокрема, у сумішах тетрагідрофурану та метанолу каліксаренові агрегати відрізняються за формою та розмірами залежно від пропорцій цих розчинників.^[50]

- Взаємодія типу «гість–господар»:

Каліксарени проявляють потужні взаємодії з гостьовими молекулами, які можуть модулювати їхню агрегацію. Включення молекул-гостей, наприклад біполярних дикатіонів, може змінювати розмір і заряд агрегатів, приводячи до формування супраамфіфільних поверхнево-активних частинок.^[51,52]

- Зовнішні умови:

Зміни умов, таких як полярність середовища чи поверхневий тиск, можуть індукувати морфологічні переходи агрегатів каліксаренів. Наприклад, калікс[6]біскроун сполуки за умов збільшення полярності середовища переходять від везикулярної форми до нанотрубчастих структур.^[52] Наявність йонів металів і концентрація солей також впливають на стабільність і динаміку утворення агрегатів каліксаренів.^[53]

- Додаткові чинники:

Присутність поверхнево-активних речовин може як сприяти, так і перешкоджати агрегації каліксаренів залежно від природи ПАР та вибору розчинника.^[54]

Хоча агрегація каліксаренів визначається переважно згаданими факторами, важливим є те, що процес може бути підлаштований під конкретні застосування,

як доставка ліків чи молекулярне розпізнавання, завдяки високій адаптивності каліксаренових систем до змін умов середовища.^[55] Це підкреслює універсальність і широкі можливості каліксаренових сполук, як у науці, так і у промисловості.

1.3 Солюбілізація

Солюбілізація — це процес, що дозволяє розчиняти малорозчинні у воді сполуки завдяки їх включенню до організованих середовищ, таких як міцели або супрамолекулярні структури каліксаренів.^[56] Цей процес базується на кількох видах взаємодій:

- Гідрофобна взаємодія сприяє залученню неполярних молекул до внутрішньої частини агрегатів.
- Електростатичне притягання відіграє ключову роль у зв'язуванні заряджених молекул із протилежно зарядженими поверхнями організованих структур.
- Водневі зв'язки формуються між полярними ділянками молекул та функціональними групами супрамолекулярних частинок, стабілізуючи їх розташування в розчині.

1.3.1 Солюбілізація в міцелярних системах

Міцели за рахунок своєї диференційованій полярності, дозволяють розміщувати різні молекули у відповідних областях своєї структури^[57,58]:

- Гідрофобні сполуки міцели утримують у внутрішньому неполярному ядрі.
- Полярні сполуки, зокрема барвники, локалізуються на межі між ядром та поверхневим шаром, де можуть взаємодіяти з гідрофільними групами ПАР.

На ефективність процесу солюбілізації впливають різні чинники:

- Довжина вуглеводневого ланцюга молекул ПАР: чим довший ланцюг, тим краще розчиняються гідрофобні сполуки.
- Температурні зміни: можуть впливати на гідратацію поверхневих груп міцел і змінювати їх здатність до солюбілізації.

- Наявність йонів у розчині: електроліти можуть змінювати характер взаємодії між міцелою та молуколою, що впливає на її локалізацію.

Каліксарени здатні утворювати комплекси з органічними та неорганічними сполуками за механізмом "гість- господар". Цей процес може відбуватися через^[38,59]:

- Гідрофобне захоплення, коли неполярні молекули потрапляють до внутрішньої порожнини каліксарену.
- Електростатичну взаємодію між зарядженими групами каліксаренів і розчиненими йонами та молекулами.
- Формування координаційних зв'язків у разі зв'язування металів або інших йонів.
- Утворення екзокомплексів за участю декількох молекул каліксаренів.

1.3.2 Вплив середовища на спектри поглинання барвників

Вплив міцел на спектри поглинання та емісії барвників у розчинах є багатогранним явищем, яке супроводжується змінами оптичних властивостей барвників через їхню взаємодію з міцелами ПАР. Такі взаємодії можуть спричиняти зсуви довжин хвиль поглинання та емісії, зміни інтенсивності, а також фотофізичних характеристик барвників. Присутність міцел значною мірою впливає на оточення барвника, змінюючи характер електронних переходів та стабільність. Нижче розглянуто ключові аспекти цих взаємодій.

- Зміни спектрів поглинання

Зсув піків поглинання: Взаємодія барвників із міцелами часто призводить до зміщення піків поглинання. Наприклад, дослідження бромфенолового синього із міцелами ЦТАБ показало систематичні зміни поглинання зі збільшенням концентрації ПАР, що свідчить про зміщення спектра поглинання барвника під час формування міцел.^[60]

Червоний зсув для аніонних барвників: Еозин Y у змішаному аніонному міцелярному середовищі демонструє червоний зсув у спектрі УФ-поглинання, що

вказує на стабілізацію збудженого стану барвника внаслідок утворення міцел, і як результат, зсув спектра в довгохвильову область.^[61]

- Зміни спектрів емісії:

Посилення флуоресценції: Наявність міцел може підвищувати інтенсивність флуоресценції барвників. Наприклад, взаємодія бромкрезолового зеленого із міцелами Tween 20 призводила до зростання інтенсивності поглинання та флуоресценції, особливо при концентраціях, вищих за критичну концентрацію міцелоутворення.^[62]

Уповільнена флуоресценція: У випадку термічно активованої уповільненої флуоресценції міцели впливають на емісійні властивості барвника, змінюючи його оточення, що може викликати зміни часу життя флуоресценції та квантового виходу.^[63]

- Фотофізичні властивості:

Стабілізація та гасіння: Інкапсуляція барвників у міцелах може сприяти стабілізації як основного, так і збудженого станів. Наприклад, геміціанінові барвники в міцелах NaDDBS демонструють зниження енергії електронних переходів через утворення йонних пар. ^[64]

- Вплив мікрров'язкості:

Мікрров'язкість міцелярного середовища впливає на час оберальної релаксації молекул барвника. Наприклад, флуоресцеїн у зворотних міцелах демонстрував зміни флуоресцентної анізотропії та оберальної динаміки у зв'язку зі збільшенням гідродинамічного радіуса ^[65].

Приклади та застосування:

Резонансний перенос енергії: У системах, де барвники інкапсульовані в міцели (наприклад, міцели ЦТАБ з індокарбоціанінами), спостерігається посилення резонансного переносу енергії, що дозволяє вивчати структуру наночастинок і використовувати їх у біовізуалізації.^[66]

Розробка функціональних матеріалів: Здатність міцел змінювати фотофізичні властивості барвників є важливою для створення матеріалів із заданими люмінесцентними характеристиками, які використовуються для біологічних досліджень та діагностичних застосувань.^[64]

Хоча міцели зазвичай позитивно впливають на оптичні властивості барвників завдяки створенню унікального мікрооточення, іноді така взаємодія може бути несприятливою. Наприклад, барвники та ПАР із однаковими зарядами можуть зазнавати електростатичного відштовхування, що ускладнює ефективне утворення міцел і взаємодію з барвником^[61]. Крім того, особливості будови барвника і ПАР, зокрема заряд та гідрофобність, суттєво впливають на результат взаємодії, підкреслюючи складність та варіативність систем «міцела–барвник».

1.4 Вплив організованих розчинів на швидкість реакції

Поверхнево-активні речовини відіграють значну роль у впливі на швидкість хімічних реакцій, змінюючи середовище, в якому ці реакції відбуваються. ПАР можуть як каталізувати, так і гальмувати реакції залежно від їх структури, заряду та концентрації. Взаємодія ПАР із субстратами часто досліджується за допомогою моделей, таких як псевдофазова, кооперативна та стехіометрична, що допомагають зрозуміти їхній вплив на різні типи реакцій, включаючи реакції Дільса-Альдера, окисно-відновні, фотохімічні та ферментативні реакції.^[67,68]

Механізми впливу ПАР:

- Концентрування: ПАР здатні утворювати міцели, які створюють унікальне мікрооточення, що може прискорювати швидкість реакцій. Наприклад, наявність міцел може локально підвищувати концентрацію реагентів, таким чином прискорюючи реакцію. Цей ефект особливо помітний при окисненні мальтози церієм (IV) у кислому середовищі, де ПАР, такі як ДСН та ЦТАБ, суттєво прискорюють реакцію.^[69]
- Стабілізація перехідних станів: ПАР можуть зв'язувати субстрати через електростатичні взаємодії та водневі зв'язки, що стабілізує перехідні стани

або проміжні продукти, знижуючи енергію активації і збільшуючи швидкість реакції. Це добре продемонстровано при окисненні мальтози, де ПАР сприяють зв'язуванню молекул мальтози з міцелами.[⁶⁹]

- Псевдофазова модель: Псевдофазова модель часто використовується для опису впливу міцел на швидкість реакцій. Згідно з цією моделлю, міцели розглядаються як окремі фази, в які можуть розподілятися реагенти, що призводить до змін швидкості реакції. Наприклад, гідроліз орґанофосфорних сполук у присутності димерних ПАР демонстрував значне прискорення, що пояснюється саме цією моделлю.[⁷⁰]

Приклади впливу ПАР:

- Реакції Дільса-Альдера: ПАР, такі як натрій докузат і ЦТАБ, можуть прискорювати реакції Дільса-Альдера в п'ять разів порівняно з реакціями у індивідуальних розчинниках. Це прискорення пояснюється зниженням енергії активації при збільшенні концентрації ПАР.[⁷¹]
- Реакції гідролізу: ПАР, такі як додецилсульфат натрію (ДСН) і поліоксіетилен лауриловий ефір, прискорюють гідроліз ефірів фосфорної кислоти. Швидкість реакції зростає зі збільшенням діелектричної проникності середовища, а присутність солей ще більше підвищує швидкість реакції.[^{72,73}]
- Нуклеофільні реакції: У випадку нуклеофільного гідролізу *пара*-нітрофеніл ацетату ПАР, такі як алкілтрифенілфосфоній бромід, значно збільшують константи швидкості реакції. Ефективність ПАР залежить від довжини гідрофобного ланцюга та структури головної групи.[⁷⁴]

Отже, ПАР є універсальним інструментом для модуляції кінетики реакцій, але їхній вплив значною мірою залежить від конкретного хімічного середовища та природи реагентів. Розуміння цих взаємодій через моделювання та експериментальні дослідження є необхідним для оптимізації їх використання у хімічних процесах.

Висновки до розділу 1

1. Сучасні уявлення про організовані розчини, зокрема міцелярні системи поверхнево-активних речовин та супрамолекулярні структури каліксаренів свідчать про їх перспективність, як середовищ для проведення реакцій гідролізу естерів. Особливості структурної організації цих систем значною мірою визначають їхню здатність до впливу на швидкість і механізм реакцій.
2. Розглянуто механізми утворення міцел, фактори, що впливають на цей процес, зокрема тип зарядженості та природу поверхнево-активних речовин. Катіонні, аніонні, неіонні та цвітеріонні ПАР мають різні властивості щодо концентрування реагентів і, відповідно, по-різному впливають на кінетику гідролізу естерів.
3. Конформаційна рухливість каліксаренів, а також природа замісників відіграють визначальну роль у формуванні супрамолекулярних агрегатів у воді, що здатні суттєво змінювати швидкість реакцій за рахунок гідрофобних і електростатичних взаємодій.
4. Явище солюбілізації сполук у міцелярних системах і каліксаренових агрегатах є ключовим з точки зору впливу на кінетику реакції. Розподіл речовин між водною фазою та міцелярною або каліксареновою псевдофазою визначається гідрофобними, електростатичними та водневими взаємодіями, що може значно впливати на кінетичні характеристики реакцій.
5. Спектральні характеристики барвників зазнають істотних змін залежно від їхнього оточення, зокрема в міцелярних і каліксаренових системах. Це відкриває можливості застосування спектральних зондів для аналізу структури організованих розчинів та моніторингу перебігу реакцій у цих середовищах.

РОЗДІЛ 2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

2.1 Реактиви

Діацетилфлуоресцеїн та також метоксіфлуоресцеїн були синтезовані та очищені старшим науковим співробітником кафедри фізичної хімії С.В. Шеховцовим. Чистоту отриманих речовин контролювали спектрофотометрично.

3'-, 4'-, 5'-нітрофлуоресцеїни та діестери цих сполук також були синтезовані і очищений старшим науковим співробітником кафедри фізичної хімії С.В. Шеховцовим

Ділаурилфлуоресцеїн, в свій час, був наданий проф. С. Н. Штиковим (Саратовський державний університет імені М. Г. Чернишевського, Російська Федерація).

para-нітрофеніл ацетат був синтезований В.І. Кальченко в лабораторії органічної хімії академії наук НАН України.

para-нітрофеніл пальмітат був синтезований і очищений старшим науковим співробітником кафедри фізичної хімії С.В. Шеховцовим з 4-нітрофенолу.

Поверхнево-активні речовини: *N*-цетил- *N,N*-триметиламоній бромід, $C_{16}H_{33}(CH_3)_3N^+(Br^-)$ (ЦТАБ), фірми Sigma-Aldrich, *N*-цетилпіридиній хлорид (ЦПХ), $C_{16}H_{33}C_5H_5N^+(Cl^-)$ та *N*-цетил-*N,N*-диметиламонійпропансульфонат, $C_{16}H_{33}(CH_3)_2N^+(CH_2)_2SO_3^-$ (ЦДАПС), фірми «Sigma». Натрію *N*-додecilсульфат, ДСН, (Vekton, Російська Федерація), Геміні-ПАР тетраметилен-1,4-бис(*N,N*-диметил-*N*-цетиламоній бромід, $C_{16}H_{33}(CH_3)_2N^+(Br^-)(CH_2)_4N^+(Br^-)(CH_3)_2C_{16}H_{33}$ був синтезований старшим науковим співробітником С. В. Шеховцовим.

Препарати каліксаренів – 5,11,17,23-Тетра(*N,N*-диметил-*N*-гідроксіетиламоній)метилен-25,26,27,28-тетрапро-пілоксикаликс[4]арен тетрахлорид (C_3 -C4A-Ch), 5,11,17,23-тетра(*N,N*-диметил-*N*-гідроксіетиламоній)метилен-25,26,27,28-тетрагексилоксикаликс[4]арену (C_6 -C4A-Ch), 5,11,17,23-тетра(*N,N*-диметил-*N*-гідроксіетиламоній)метилен-25,26,27,28-тетраоктилоксикаликс[4]арену тетрахлориду (C_8 -C4A-Ch), 5,11,17,23-тетра(*N,N*-диметил-*N*-гідроксіетиламоній)метилен-25,26,27,28

тетрадецилоксикаликс[4]арену (C_{12} -C4A-Ch), 5,11,17,23-тетра(*N*-метилімідазолій)метилен-25,26,27,28-тетрадецилоксикаликс[4]арену (C_{12} -C4A-Im тетрахлориди, 5,11,17,23,29,35-гекса(*N,N*-диметил-*N*-гідроксіетиламонійметилен)-37,38,39,40,41,42-гексаметоксикаликс[6]арену гексахлориду (C_1 -C6A-Ch), а також *N,N*-диметил-*N*-гідроксіетил-4-додeciлоксибензиламонію (C_{12} -Bn-Ch) хлорид – були синтезовані доктором хімічних наук Р. В. Родіком (Інститут органічної хімії, Київ).

Розчин лугу готували з насиченого (безкарбонатного) розчину NaOH, використовуючи бідистильовану воду, очищену від CO₂ шляхом кип'ятіння, і зберігали без доступу діоксиду вуглецю. NaCl, перекристалізований з водного розчину, використовували без додаткового очищення. Кристалогідрат тетрабората натрію очищали перекристалізацією з води. Етанол (95.5 %) був очищений перегонкою, ацетонітрил був очищений за стандартною методикою.

Для підтримання сталого значення рН розчинів використовували також хлоридну кислоту кваліфікації «чистий для аналізу», а також стандартні буферні розчини: боратний рН = 9,18, фосфатний рН = 6,68, фталатний рН = 4,01, тетраоксалатний рН = 1,68, і буферні розчини, які були приготовані на основі оцтової та ортофосфатної кислот кваліфікації «чистий для аналізу».

1,8-Діазабіцикло[5,4,0]ундец-7-ен (ДБУ, Aldrich) був використаний без попереднього очищення.

2.2 Обладнання та прилади

Для вимірювання світлопоглинання розчинів використовували спектрофотометри Hitachi U2000 та U2001 з термостатованим кюветним відділенням. Перед початком роботи спектрофотометри були відкалібровані за дейтерієвою лампою. Використовувалися кварцові та скляні кювети з товщиною поглинаючого шару, рівною 1 см.

Дзетасайзер Nano ZS Malvern був використаний для вимірювання розмірів та ζ-потенціалу частинок у розчинах ПАР методом динамічного розсіювання світла

(ДРС) при $25,0 \pm 0,01^\circ\text{C}$. Довжина хвилі лазера приладу становить 632,8 нм, потужність – 4 мВат, кут детектування розсіяного світла – 173° . Для вимірювання використовувалася кварцова кювета з товщиною поглинаючого шару, що дорівнювала 1 см, а також занурювальний електрод. Час урівноважування системи становив 120 с, кількість вимірювань – 6–10 разів; кожне вимірювання складалося з 10–20 пробігів, що автоматично встановлюється програмним забезпеченням. Значення рН розчинів визначали потенціометричним методом.

Для вимірювання ЕРС кола з переносом зі скляним електродом компенсаційним методом використовували потенціометр постійного струму, і рН-метр мілівольтметр як нуль-інструмент. Калібрування електрода проводилось за стандартними буферними розчинами (рН 9.18; 6.86; 4.01; 1.68) при температурі 25°C .

2.3 Посуд

При проведенні експерименту було використано мірні колби на 10, 25, 50 та 100 мл, піпетки Мора, градуйовані піпетки, бюретки, бюкси, лійки та шпателі.

2.4 Приготування розчинів та методика вимірювання

Для отримання робочих розчинів вихідний розчин естерів флуоресцеїну в ацетонітрилі змішували з етанолом (96% об.) або водою, додавали ПАР або каліксарени і витримували 15 – 20 хв для встановлення робочої температури, додавали розчин лугу або буферний розчин, попередньо нагрітий до тієї ж температури. Час додавання буферного розчину вважали часом початку реакції. У робочому розчині об'ємна частка ацетонітрилу не перевищувала 1 – 2%. Концентрація барвника в робочих розчинах була близько $1 \cdot 10^{-5}$ М, надалі, 1 М = 1 моль дм^{-3} .

рН Розчину створювали за допомогою NaOH або буферних розчинів. Кислотність розчинів визначали потенціометрично.

При дослідженні фіксували залежність оптичного поглинання робочого розчину від часу. Експеримент проводили в умовах термостатування при $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

При визначенні констант дисоціації для створення розчинів із різними значеннями рН використовували хлоридну, оцтову, фосфорну, діетилбарбітурову кислоти та буру аналітичної чистоти. Через обмежену розчинність у воді вихідні розчини барвників готували в ацетонітрилі з додаванням 0,013 М діазабіцикло[5.4.0]ундек-7-ену (ДБУ). Концентрація барвників у робочих розчинах знаходилася в межах $(5-10) \times 10^{-6}$ М, якщо не зазначено інше. Граничні лужні форми барвників отримували у розведених розчинах NaOH, а в деяких випадках – у присутності ДБУ. Для кожної системи кількість розчинів з різними значеннями рН становила від 25 до 32.

Для розрахунків використовували хемометричну програму CLINP та довжини хвиль у діапазоні 430–510 нм із кроком 1 нм [75]. йонну силу розчинів підтримували на рівні $I = 0,05$ М за допомогою натрію хлориду аналітичної чистоти. У деяких кислих розчинах, наприклад, при значеннях рН у воді нижче 1,3, йонна сила в розчинах HCl була вищою.

Висновки до розділу 2

1. Наведено інформацію про реактиви, матеріали та обладнання, які було використано у процесі експериментальних досліджень, а також способи їх підготовки та очистки.
2. Описано методики приготування досліджуваних розчинів, умови проведення спектрофотометричних, потенціометричних вимірювань та визначення розмірів агрегатів методом динамічного розсіювання світла.

РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ КІНЕТИКИ РЕАКЦІЇ ГІДРОЛІЗУ ЕСТЕРІВ ФЛУОРЕСЦЕЇНУ

Гідроліз естерів флуоресцеїну є типовим прикладом послідовної хімічної реакції другого порядку, яка слугує зручною моделлю для вивчення механізмів каталізу. Завдяки вираженим флуоресцентним властивостям такі сполуки широко використовуються в біохімії та аналітичній хімії для дослідження активності ферментів і характеристик реакційного середовища.

У рамках цього дослідження проаналізовано вплив водного та водно-етанольного середовища на кінетику гідролізу, що є критично важливим для розуміння механізмів взаємодії субстратів із розчинником. Використання змішаних розчинників, таких як водно-етанольні системи, дозволяє моделювати умови, близькі до біологічних, де реакції можуть відбуватися в неоднорідних середовищах із різними гідрофобно-гідрофільними властивостями.

Таким чином, дослідження кінетики гідролізу естерів флуоресцеїну у різних середовищах дозволяє розширити наше розуміння процесів, що відбуваються в складних системах, і сприяє подальшому розвитку методів контролю ферментативних реакцій та аналітичних протоколів.

3.1 Методологія дослідження гідролізу естерів флуоресцеїну у воді і водно-етанольному розчині

Під час проведення дослідження для аналізу кінетичних параметрів гідролізу були використані два естери флуоресцеїну, що відрізняються довжиною вуглеводневого ланцюга: діацетилфлуоресцеїн (DAFI) та дилаурилфлуоресцеїн (DLFI). Діацетилфлуоресцеїн містить короткі ацетильні залишки, які легко гідролізуються у водному середовищі, тоді як дилаурилфлуоресцеїн має довші гідрофобні лаурилові фрагменти, що впливають на його розчинність та взаємодію з організованими розчинами.

Дослідження проводили у водних та водно-етанольних розчинах, що дозволяло оцінити вплив полярності розчинника на кінетику гідролізу.

Гідроліз відбувався у боратних буферних розчинах, що забезпечувало підтримання стабільного рівня рН протягом усього експерименту. Для контролю йонної сили розчину використовували натрію хлорид (NaCl), що дозволяло мінімізувати вплив побічних ефектів, пов'язаних зі зміною електростатичних взаємодій у реакційному середовищі.

Дослідження проводили при контрольованих температурних умовах, що дозволяло забезпечити високу відтворюваність експериментальних даних. Використання термостатованих кювет дає змогу підтримувати сталу температуру реакційної суміші, усуваючи можливі температурні флуктуації, які можуть впливати на швидкість реакції. Це особливо важливо при порівнянні кінетичних параметрів у різних середовищах, оскільки навіть незначні зміни температури можуть суттєво впливати на константи швидкості.

Гідроліз естерів флуоресцеїну є двостадійним процесом, у якому перша стадія відповідає утворенню моноаніону барвника, а друга – повному розщепленню складноефірного зв'язку з утворенням діаніонної форми флуоресцеїну. Визначення кінетичних параметрів цих стадій є ключовим для розуміння механізмів впливу різних факторів, таких як природа розчинника, йонна сила середовища та присутність каталізаторів, зокрема поверхнево-активних речовин та супрамолекулярних структур.

Однією з головних цілей цього розділу є аналіз особливостей перебігу обох стадій реакції гідролізу, що дозволить розділити їхній внесок у загальний механізм розпаду естерів. Для цього доцільно використовувати методи, які забезпечують високу чутливість до змін у структурі та електронній конфігурації молекул у процесі реакції. Найбільш перспективним у цьому контексті є метод видимої спектрофотометрії, оскільки гідроліз супроводжується суттєвою перебудовою ксантенового хромофора, що, своєю чергою, викликає значні зміни у формі та інтенсивності смуги поглинання.

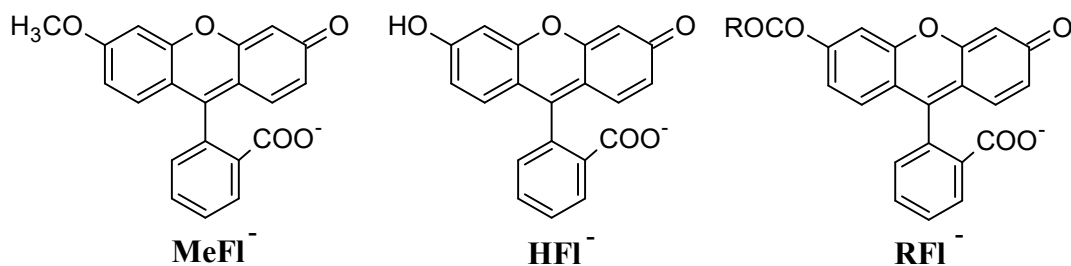


Рисунок 3.1. Аніонна форма метилового ефіру флуоресцеїну MeFl⁻, and аніона флуоресцеїну HFl⁻ і аніонна форма моноестеру флуоресцеїну RFl⁻

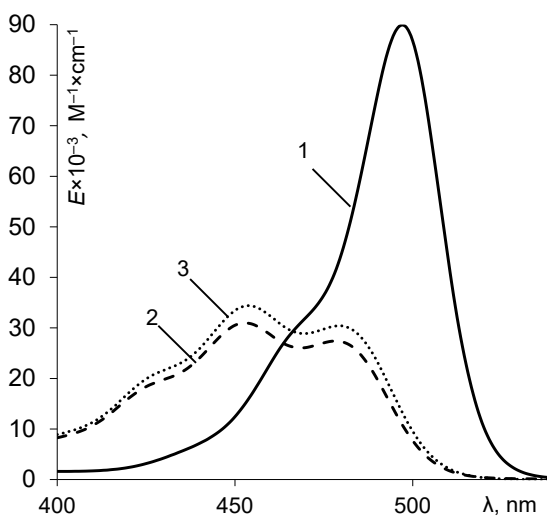


Рисунок 3.2. Спектри поглинання діаніона флуоресцеїну Fl²⁻ (1), метоксифлуоресцеїну MeFl⁻ (2) та моноаніона флуоресцеїну HFl⁻ (3) у водно-етанольній суміші (50 мас. %).

Флуоресцеїнові сполуки мають унікальні спектральні характеристики, які залежать від їхнього кислотно-основного стану. Зокрема, негативний заряд на ксантеновому фрагменті призводить до виникнення інтенсивної смуги поглинання йону Fl²⁻, максимум якої спостерігається в діапазоні 490–500 нм (Рисунок 3.2). Водночас лактонна форма флуоресцеїну є безбарвною, що пов'язано зі sp³-гібридним станом центрального атома карбону, який порушує кон'югацію у хромофорній системі. Хіноїдна структура ксантенового фрагменту, що характерна для моноаніону RFl⁻, має широкий спектр із кількома максимумами поглинання, що додатково ускладнює його ідентифікацію.

Однією з головних проблем під час спектроскопічного аналізу є те, що максимальний вихід проміжного продукту реакції, як правило, є невисоким, що значно ускладнює його безпосереднє вимірювання спектральними методами. Однак цей недолік можна частково компенсувати, використовуючи апроксимацію спектральних характеристик частинок AcFl^- та Fl^- через спектри метоксифлуоресцеїну або моноаніону флуоресцеїну.

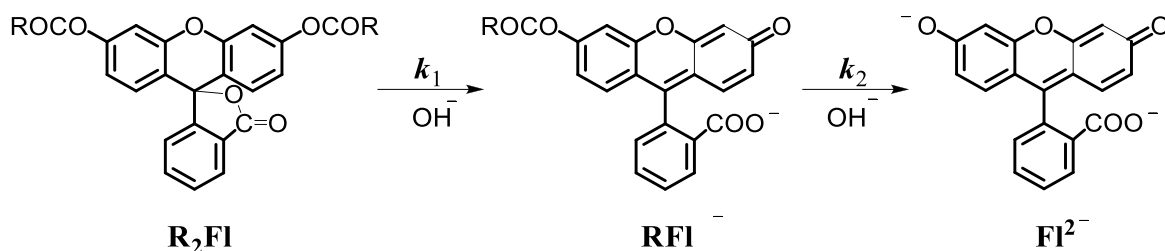


Рисунок 3.3 Схема реакції лужного гідролізу діестерів флуоресцеїну

Це можливо завдяки структурній подібності ксантенового хромофора в зазначених молекулах (Рисунок 3.1). Дійсно, спектри метоксифлуоресцеїну та моноаніону флуоресцеїну практично ідентичні, незважаючи на присутність метильної групи у першій сполуці, що підтверджує доцільність використання такого підходу для аналізу проміжних продуктів реакції.

Таким чином, у даному розділі досліджується кінетика та механізм гідролізу естерів флуоресцеїну в різних умовах, із застосуванням методів спектрофотометрії у видимій області спектра. Розділення стадій реакції дозволяє встановити вплив різних чинників на швидкість процесу, а також визначити можливі механізми каталітичного прискорення за участю організованих середовищ, таких як поверхнево-активні речовини та супрамолекулярні структури. Отримані результати є важливими для подальшого застосування флуоресцентних естерів у біохімічних дослідженнях та аналітичних методах, що використовуються для визначення ферментативної активності та характеристик біологічних систем.

Отже, експериментальна методика дослідження дозволила отримати точні кінетичні характеристики гідролізу естерів флуоресцеїну, що є необхідним для

подальшого аналізу механізму їхнього розкладу та впливу різних факторів на швидкість реакції.

Характер змін спектрів у часі представлений на Рисунок 3.4, де показано динаміку зміни поглинання протягом перебігу реакції гідролізу. Для більшої точності аналізу та кращого виявлення проміжних продуктів було застосовано нормалізацію спектральних даних, як це зазначено у відповідному рисунку.

Нормалізація поглинання є важливим етапом у дослідженні, оскільки дозволяє виділити ключові особливості спектральних змін, що можуть залишитися непомітними при використанні стандартного представлення спектрів. Зокрема, застосування такого підходу дає можливість чітко спостерігати короткохвильове поглинання, яке відповідає появі проміжного продукту гідролізу на першій стадії реакції.

Таким чином, обраний метод обробки спектральних даних дозволяє не лише отримати більш точну картину змін у часі, але й забезпечує можливість коректного ідентифікування всіх проміжних та кінцевих продуктів реакції. Це має важливе значення для подальшого аналізу механізму гідролізу естерів та визначення кінетичних параметрів процесу.

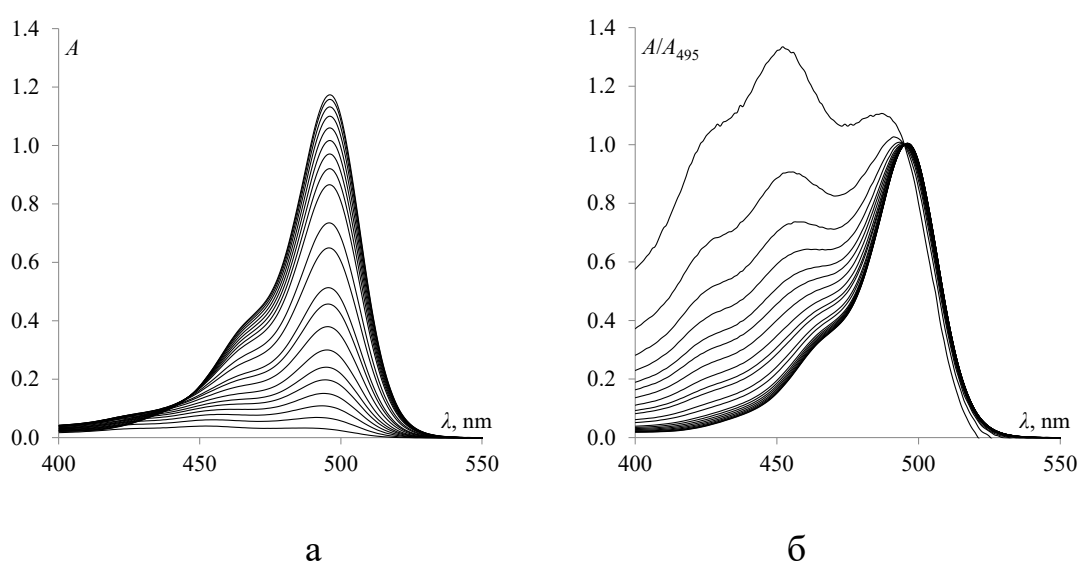


Рисунок 3.4. Спектр поглинання (а) та нормалізований спектр поглинання (б) під час гідролізу DAF1 у 50% водно-етанольному розчині, $t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Для кожної з досліджуваних систем було отримано спектр моноаніону метоксифлуоресцеїну, який є структурно подібним до досліджуваних продуктів гідролізу естерів флуоресцеїну. Це дозволило використовувати його молярні коефіцієнти поглинання для точного визначення поточної концентрації йону $C_nH_{2n+1}COFl^-$ у реакційному середовищі при заданому моменті часу t . Такий підхід забезпечує надійність кількісного аналізу, оскільки безпосереднє вимірювання концентрації проміжних продуктів у подібних реакціях може бути ускладненим через їхню низьку стабільність або накладання їх спектрів на спектри оптичного поглинання інших компонентів.

Окремо слід зазначити, що можливість існування однозарядного моноестеру лактонної форми флуоресцеїну була виключена. Це пояснюється тим, що в попередніх дослідженнях [76] було зроблено висновок про малоймовірність утворення лактонного моноаніону флуоресцеїну в досліджуваних умовах. У раніше проведених експериментах було показано, що структура лактонної форми флуоресцеїну не дозволяє стабільного утворення моноаніону, оскільки перехід у таку форму супроводжується зміною електронної структури молекули, що призводить до зниження ефективної делокалізації заряду в хромофорній системі.

Таким чином, отримані спектри та розраховані значення концентрацій продуктів гідролізу підтверджують правильність обраного методологічного підходу. Використання молярних коефіцієнтів поглинання моноаніону метоксифлуоресцеїну дозволяє отримати точні дані про перебіг реакції та визначити кінетичні параметри гідролізу, що має важливе значення для подальшого аналізу механізму цієї реакції.

Поглинання у спектральному діапазоні 420–450 нм є чітким індикатором утворення йонів RFI^- у процесі гідролізу (Рисунок 3.4). Наявність цієї смуги поглинання свідчить про поступове перетворення вихідного субстрату в його аніонну форму внаслідок розщеплення естерного зв'язку та депротонування ксантенового фрагмента.

Для кількісного визначення концентрацій продуктів реакції використано методику розрахунку на основі молярних коефіцієнтів поглинання. Зокрема, знаючи молярні коефіцієнти поглинання аналогічного однозарядного аніону та йону Fl^{2-} (Рисунок 3.4), можна розрахувати поточні концентрації RFl^- і Fl^{2-} на будь-якому етапі перебігу реакції. Це дозволяє не тільки відстежувати зміну концентрації окремих йонних форм у часі, а й оцінювати ефективність першої та другої стадій гідролізу.

Окрім визначення абсолютних концентрацій йонів RFl^- та Fl^{2-} , можна також розрахувати частки вихідного субстрату, що на певний момент часу перетворилися на відповідні продукти реакції. Це виконується на основі рівнянь (3.1) та (3.2), які описують зміну концентрацій залежно від часу. Такий підхід дозволяє отримати більш детальну картину кінетики процесу та оцінити, внесок кожної стадії у загальну швидкість реакції.

Таким чином, використання спектральних характеристик продуктів гідролізу у видимій області спектру, а також розрахунок концентрацій на основі молярних коефіцієнтів поглинання є ключовими інструментами для детального аналізу механізму реакції та визначення кінетичних параметрів кожного етапу процесу.

$$\frac{A_t \varepsilon_{\text{Fl}^{2-}}}{A_\infty} = \alpha_{\text{RFl}^-} \varepsilon_{\text{RFl}^-} + \alpha_{\text{Fl}^{2-}} \varepsilon_{\text{Fl}^{2-}} \quad (3.1)$$

$$\alpha_{\text{R}_2\text{Fl}} + \alpha_{\text{RFl}^-} + \alpha_{\text{Fl}^{2-}} = 1 \quad (3.2)$$

Значення A_t та A_∞ використовуються для оцінки змін у спектрі поглинання барвника в процесі реакції. Зокрема, A_t – це поглинання на певній довжині хвилі після закінчення часу t від початку реакції, тоді як A_∞ – це значення поглинання, що спостерігається при повному перетворенні барвника у діаніон Fl^{2-} . Як правило, таке перетворення відбувається через тривалий час, зазвичай приблизно через один тиждень після початку реакції, коли реакція повністю завершується.

Значення ϵ_{RFI^-} і $\epsilon_{\text{FI}^{2-}}$ — це молярні коефіцієнт поглинання відповідної форми барвника на цій самій довжині хвилі. Значення молярних коефіцієнтів поглинання для FI^{2-} були одержані безпосередньо, тоді як для йону RFI^- їх отримували шляхом моделювання на основі спектрів метоксифлуоресцеїну та моноаніону флуоресцеїну, враховуючи їхню структурну подібність. Це стало можливим завдяки подібності ксантенового хромофора у цих молекулах, що дозволяє використовувати їхні спектральні характеристики для оцінки поведінки RFI^- у реакційному середовищі.

Залежності молярних часток різних йонних форм флуоресцеїну від часу гідролізу діацетилфлуоресцеїну у водному середовищі та у водно-спиртовому розчині представлені на Рисунок 3.5. На цих графіках відображено динаміку перетворення вихідної естерної форми в її послідовні гідролізні продукти, включаючи моноаніонну та діаніонну форми флуоресцеїну.

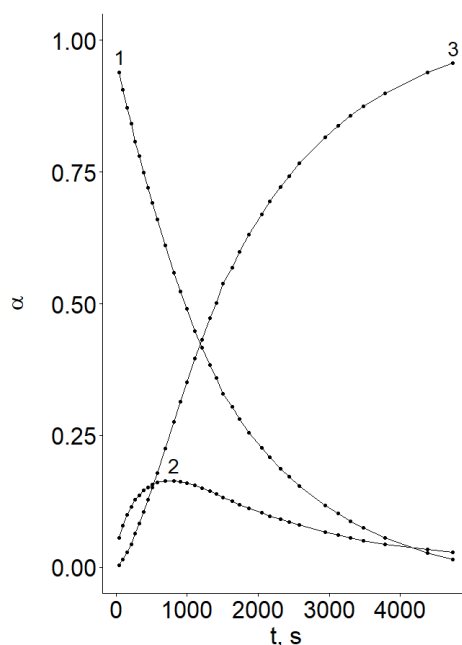


Рисунок 3.5 Залежності молярних часток DAFI (1), AcFI^- (2) та FI^{2-} (3) діацетилфлуоресцеїну у 50 % водно-етанольному розчині при $\text{pH} = 10,5$ та йонній силі 0,05 М (NaCl + боратний буфер).

Отримані результати дозволяють простежити особливості перебігу реакції та підтвердити відповідність кінетичних закономірностей запропонованій на Рисунок 3.3.

Відповідні залежності свідчать про поступове накопичення продуктів гідролізу з характерним перетворенням моноаніонної форми у діаніонну, що підтверджує двостадійний механізм реакції. Таким чином, експериментальні дані узгоджуються з передбаченнями теоретичної моделі та підтверджують коректність запропонованої схеми гідролізу.

Константи швидкості реакцій псевдопершого порядку, k_1' та k_2' , при заданих концентраціях гідроксид-йону можуть бути визначені за рівняннями (3.3)–(3.5).^[77]

$$\alpha_{R_2FI} = e^{-k_1't} \quad (3.3)$$

$$\alpha_{RFI^-} = \frac{k_1'}{k_2' - k_1'} \left(e^{-k_1't} - e^{-k_2't} \right) \quad (3.4)$$

$$\alpha_{FI^{2-}} = 1 - \frac{k_2'}{k_2' - k_1'} e^{-k_1't} + \frac{k_1'}{k_2' - k_1'} e^{-k_2't} \quad (3.5)$$

Максимальний вихід проміжної форми RFI^- можна оцінити за допомогою наступного виразу:

$$\alpha_{RFI^-, \max} = \left(\frac{k_2'}{k_1'} \right)^{\frac{k_2'/k_1'}{1 - k_2'/k_1'}} \quad (3.6)$$

і відповідає часовому інтервалу $t_{\max}$:

$$t_{\max} = \frac{\ln k_2' - \ln k_1'}{k_2' - k_1'} \quad (3.7)$$

Результати, представлені на Рисунок 3.5, демонструють типовий приклад гідролізу дієстерів, підтверджуючи двостадійний механізм реакції. Спостерігається послідовне перетворення вихідного субстрату спочатку у проміжну моноаніонну форму RFI^- , а потім у кінцевий продукт – діаніон FI^{2-} .

Однак варто враховувати, що у випадку, коли швидкість першої стадії значно нижча за швидкість другої ($k'_1 \ll k'_2$), проміжна форма не накопичується у достатній кількості для її виявлення спектрофотометричними методами. У таких умовах RFI^- швидко переходить у кінцевий продукт, що може ускладнювати експериментальний аналіз її утворення.

3.2 Гідроліз діацетил флуоресцеїну у воді

Для подальшого аналізу впливу різних факторів на кінетику гідролізу діацетилфлуоресцеїну (DAFI) необхідно насамперед розглянути перебіг цієї реакції у водному середовищі. Визначення кінетичних параметрів у чистій воді є важливим етапом, оскільки дозволяє отримати вихідні дані для порівняння з гідролізом у більш складних системах, таких як водно-етанольні середовища, міцелярні розчини чи супрамолекулярні структури. Саме в нейтральному або слаболужному водному середовищі можна безпосередньо оцінити базові константи швидкості, а також встановити основні закономірності реакції без додаткового впливу координаційних або гідрофобних взаємодій, які можуть бути присутніми в інших середовищах.

Були визначені істинні константи швидкості гідролізу DAFI, аналізуючи кінетичні залежності у водному середовищі при різних концентраціях гідроксид-йонів. Як показано на Рисунку 3.6, залежність констант швидкості від концентрації йонів HO^- є лінійною, що підтверджує підпорядкування реакції кінетиці другого порядку.

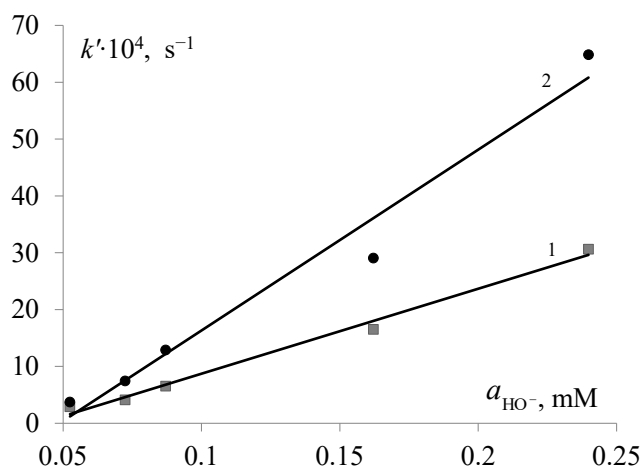


Рисунок 3.6 Залежність значень k'_1 (1) та k'_2 (2) гідролізу діацетилфлуоресцеїну від активності йонів HO^- у воді.

Використовуючи рівняння 3.8 для обробки експериментальних даних, було розраховано істинні константи швидкості гідролізу: для першої стадії $k_1=13.8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, а для другої $k_2=25 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Розрахунки проводилися з урахуванням йонного добутку води, прийнятого рівним 13.81 при йонній силі 0.05 М. Це дозволяє зробити висновок, що у водному середовищі швидкість другої стадії гідролізу перевищує швидкість першої приблизно в 1,8 рази.

$$k' = k \cdot c(\text{HO}^-) \quad (3.8)$$

де k — це константа швидкості для даного етапу реакції, а $c(\text{HO}^-)$ — концентрація гідроксид-йонів у розчині.

Таким чином, отримані результати підтверджують класичний двостадійний механізм гідролізу, де першою стадією є відщеплення однієї ацетильної групи з утворенням проміжного моноаніону RFI^- , а другою – повне перетворення у діаніон FI^{2-} . Визначення цих параметрів у водному середовищі створює основу для подальшого порівняння впливу інших факторів, таких як склад розчинника, присутність поверхнево-активних речовин або супрамолекулярних структур, на кінетику цього процесу.

Одним із ключових спостережень у дослідженні кінетики гідролізу діацетилфлуоресцеїну є те, що швидкість другої стадії реакції перевищує

швидкість першої. Такий результат може здаватися неочікуваним, оскільки після першої стадії утворюється негативно заряджена частинка, що теоретично повинно ускладнювати подальшу взаємодію з гідроксид-йонами через електростатичне відштовхування. Однак отримані кінетичні параметри свідчать про зворотне, що можна пояснити декількома факторами. По-перше, стабілізація нейтральної лактонної форми в першій стадії гідролізу може зменшувати її реакційну здатність, сповільнюючи процес відщеплення першої ацетильної групи. Відомо, що рівновага між лактонною і хіноїдною формами може зміщуватися залежно від полярності середовища, а підвищена стабільність лактонного циклу у водному розчині може слугувати фактором, що гальмує перший етап реакції. По-друге, після першої стадії відсутній стеричний ефект двох ацетильних груп, що може знижувати енергетичний бар'єр другої стадії реакції. Нарешті, в деяких випадках спостерігається інверсія констант ступінчастої дисоціації, що також може відігравати роль у зміні швидкостей реакційних стадій. Таким чином, отримані дані свідчать про те, що кінетика гідролізу діацетилфлуоресцеїну визначається не лише електростатичними ефектами, а й структурними факторами та рівновагою між різними формами субстрату, що необхідно враховувати при аналізі механізму цієї реакції.

3.1.2 Гідроліз у естерів флуоресцеїну у водно-етанольному середовищі

Для того, щоб провести коректне порівняння швидкостей гідролізу між добре розчинним у воді DAFI та малорозчинним DLFI, було досліджено перебіг реакції у 50 мас. % водно-етанольному розчині при $\text{pH} = 10,50$. Вибір такого середовища пояснюється тим, що дилаурилфлуоресцеїн (DLFI) є гідрофобною сполукою і практично не розчиняється у чистій воді, що унеможливило безпосереднє дослідження його кінетичних параметрів у водному середовищі. Водно-етанольна суміш дозволяє підтримувати достатню розчинність обох сполук, зберігаючи при цьому контрольовані експериментальні умови. Дані для DLFI були отримані з попередніх роботи [78] і використовуються для порівняння із експериментальними результатами для DAFI.

Аналіз отриманих кінетичних параметрів показав, що значення константи швидкості першої стадії гідролізу (k_1') для DAFI і DLF1 практично не відрізняються: $(13,1 \pm 0,4) \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ для DAFI та $(13,4 \pm 0,6) \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ для DLF1. Це свідчить про подібні механізми першої стадії реакції для обох сполук у водно-етанольному середовищі.

Однак у випадку другої стадії реакції спостерігається суттєва різниця між константами швидкості. Значення k_2' для DAFI виявилось значно нижчим $((26,0 \pm 0,4) \times 10^{-4} \text{ с}^{-1})$, тоді як для DLF1 ця константа майже вдвічі більша $((55,8 \pm 0,6) \times 10^{-4} \text{ с}^{-1})$. Це свідчить про те, що в умовах змішаного водно-етанольного середовища гідрофобні взаємодії та відмінності у структурі молекул впливають на перебіг другої стадії гідролізу, прискорюючи цю реакцію для DLF1.

Для отримання істинних констант швидкості другого порядку у водно-етанольному розчині необхідно враховувати зміну йонного добутку води у присутності органічного співрозчинника. Відповідно до даних Gutbezahl і Grunwald, значення йонного добутку у 50 мас. % етанолу становить 14,88 (молярна шкала) [79]. Використовуючи це значення, було розраховано істинні константи швидкості для DAFI: $k_1=31, \text{ M}^{-1}\text{с}^{-1}$ і $k_2=62, \text{ M}^{-1}\text{с}^{-1}$

Для DLF1 отримані значення значно вищі: $k_1=32, \text{ M}^{-1}\text{с}^{-1}$, а $k_2=134, \text{ M}^{-1}\text{с}^{-1}$

Ці результати підтверджують, що у водно-етанольному середовищі друга стадія гідролізу для DLF1 відбувається значно швидше, ніж для DAFI. Це можна пояснити меншою стабільністю проміжного моноаніону у випадку довголанцюгової гідрофобної групи, що спрощує доступ гідроксид-йонів до другого реакційного центру.

3.3 Гідроліз естерів флуоресцеїну у ПАР

У мицелярних розчинах ПАР естери флуоресцеїну виявляють тенденцію до зв'язування з мицелярною псевдофазою, що пояснюється їхньою гідрофобною природою. Цей ефект зумовлений тим, що гідрофобні частини молекул прагнуть уникати контакту з водним середовищем, тому вони сорбуються на межі поділу фаз

або занурюються у гідрофобний внутрішній шар міцел. У випадку катіонних ПАР процес сорбції та утримання молекул естерів може додатково посилюватися електростатичними взаємодіями. Оскільки гідроліз призводить до утворення аніонних форм флуоресцеїну (моноаніону та діаніону), у катіонних міцелах продукти реакції можуть утримуватися міцніше за рахунок електростатичного притягування між негативно зарядженими аніонними продуктами та позитивно зарядженими головками катіонних ПАР.

У всіх експериментах, якщо не зазначено інше, йонна сила водної фази підтримувалася на рівні 0,05 М за допомогою додавання NaCl. Це було необхідно для виключення впливу змінної йонної сили на кінетичні параметри реакції та забезпечення коректності порівняння між різними системами.

Результати досліджень продемонстрували суттєву відмінність у впливі різних типів міцелярних систем на швидкість гідролізу. Так, у присутності міцел аніонної ПАР ДСН реакція гідролізу фактично припиняється навіть при рН 11. Це пояснюється тим, що негативно заряджений шар Штерна міцел ДСН створює електростатичний бар'єр, що перешкоджає проникненню гідроксид-йонів у міцелярну псевдофазу. Оскільки гідроліз відбувається при взаємодії з йонами HO^- , їхнє ефективне усунення із реакційного мікрооточення призводить до повного гальмування реакції.

У випадку неіонної ПАР TX-100 (третон X-100) реакція також відбувається надзвичайно повільно, що свідчить про відсутність суттєвого впливу цієї ПАР на концентрацію HO^- у реакційній зоні. Лише при підвищенні рН до ~ 12 можна спостерігати появу помітної кількості продукту реакції – діаніону флуоресцеїну (Fl^{2-}). Це свідчить про те, що у неіонних міцелах не відбувається ані суттєвого концентрування гідроксид-йонів, ані їхнього витіснення, тому реакція продовжується лише завдяки рівноважному розподілу реагентів між міцелярною та водною фазами.

Подібна ситуація спостерігається у випадку цвितтеріонної ПАР ЦДАПС, де також не було виявлено значного впливу на швидкість гідролізу. Незважаючи на те, що такі ПАР мають як позитивно, так і негативно заряджені фрагменти, вони не створюють умов для суттєвої зміни локальної концентрації йонів HO^- у міцелярній псевдофазі. Як наслідок, швидкість реакції у присутності цієї ПАР залишається близькою до тієї, що спостерігається у водному розчині без ПАР.

На противагу цьому, у системах з катіонними міцелями гідроліз значно прискорюється. Це пояснюється тим, що катіонні ПАР концентрують негативно заряджені гідроксид-йони у реакційному мікрооточенні за рахунок електростатичних взаємодій. Такий ефект призводить до суттєвого зростання локальної концентрації HO^- поблизу сорбованих на міцелях молекул субстрату, що, у свою чергу, збільшує швидкість нуклеофільної атаки на естерні зв'язки та прискорює реакцію.

Таким чином, отримані результати дозволяють зробити висновок, що головним фактором, який визначає прискорення гідролізу у міцелярних розчинах, є підвищення ефективної (локальної) концентрації HO^- у псевдофазі. Катіонні міцели сприяють концентрації гідроксид-йонів і, відповідно, прискорюють реакцію, тоді як аніонні міцели, навпаки, усувають HO^- із реакційного середовища, значно гальмуючи перебіг процесу. Неіонної та цвितтеріонні ПАР демонструють незначний вплив на кінетику реакції, що вказує на відсутність специфічних взаємодій між реагентами та міцелярним середовищем.

Гідроліз DAFI значно прискорюється при переході з водного середовища до міцелярних розчинів катіонних ПАР, зокрема ЦТАБ і ЦПХ, що наведено в Таблиці 3.1. Основним чинником цього прискорення є збільшення локальної концентрації гідроксид-йонів у шарі Штерна катіонних міцел. Оскільки негативно заряджені гідроксид-йони притягуються до позитивно заряджених головок катіонних ПАР, їхня концентрація в безпосередній близькості до міцел значно зростає, що створює сприятливі умови для гідролізу естерних зв'язків.

Отримані експериментальні дані підтверджують цей ефект. При йонній силі 0,05 М (буферна система + NaCl) у розчинах ЦТАБ значення констант швидкості реакції гідролізу DAFI суттєво зростають порівняно з водним середовищем: для першої стадії k_1 збільшується з 13,8 до 84 М⁻¹с⁻¹, а для другої стадії k_2' — з 25 до 204 М⁻¹с⁻¹. Це підтверджує, що катіонні міцели виконують роль катализатора, концентруючи реагенти та створюючи сприятливе реакційне мікрооточення.

Однак варто зазначити, що в мицелярних системах отримані значення k_1 і k_2 , визначені за стандартною методикою, не є абсолютними константами швидкості. Вони відображають спостережувані або ефективні константи, оскільки реальна концентрація гідроксид-йонів у мицелярній фазі відрізняється від їхньої концентрації у водній фазі. Це відбувається через перерозподіл йонів між водним середовищем і мицелярною псевдофазою, що змінює доступність реагентів у різних зонах розчину. Таким чином, пряме порівняння констант швидкості у воді та в мицелярних розчинах потребує додаткового врахування локальних концентрацій йонів у псевдофазі.^[80,81]

Таблиця 3.1 Значення констант швидкості псевдопершого порядку, с⁻¹, при йонній силі 0,055 М (0,005 М боратний буфер + 0,045 М NaCl), якщо не зазначено інше.

Середовище	DAFI		DLFI		k_2 / k_1	
	$k_1' \times 10^4$	$k_2' \times 10^4$	$k_1' \times 10^4$	$k_2' \times 10^4$	A ₂ FI	L ₂ FI
Вода (pH = 9.72) ^a	3.5±0.2	4.5±0.3	—	—	1.3	—
50 % етанол, pH = 10.5 ^b	13.1±0.4	26.0±0.8	13.4±0.6 ^c	55.8±0.6 ^c	2.0	4.2
ЦТАБ (0.003 М), pH = 9.16	3.49±0.08	10.5±0.2	5.22±0.09 ^d	18.8±0.1 ^d	3.0	3.6

Продовження Таблиці 3.1.

ЦТАБ (0.003 М), pH = 9.16 ^e	3.46±0.15	13.8±0.6	—	—	4.0	—
ЦПХ (0.01 М), pH = 9.16	4.6±0.4	8.7±0.8	0.53±0.06	1.8±0.2	1.9	3.4
Геміні 16–4–16 (5×10 ⁻⁴ М), pH = 9.16	2.89±0.08	5.57±0.15	0.53±0.02	0.80±0.03	1.9	1.5

a — бура + NaOH; b — стандартний боратний буфер + NaOH, йонна сила 0,029 М;
c — pH = 10,6; d — йонна сила 0,01 М; e — 0,045 М NaBr замість NaCl.

Ще одним важливим аспектом, який слід враховувати при аналізі міцелярного каталізу гідролізу естерів флуоресцеїну, є розмір агрегатів, що утворюються в розчині. Відомо, що поверхнево-активні речовини можуть формувати не лише класичні сферичні міцели, а й більш складні надмолекулярні структури, особливо у присутності гідрофобних субстратів. Вплив розміру агрегатів на кінетику реакції може бути значним, оскільки доступність реагентів до активної зони, а також розподіл йонів у системі можуть залежати від характеру цих частинок.

Для оцінки розмірів міцелярних агрегатів у досліджуваних системах було проведено аналіз методом ДРС. Отримані дані дозволили виявити значні відмінності у структурній організації розчинів, що містять різні поверхнево-активні речовини та флуоресцеїнові естери.

Зокрема, дослідження показало, що у більшості розчинів ЦТАБ спостерігається формування агрегатів розміром близько 5 нм, що відповідає класичним міцелам. Однак у системі ЦТАБ + DLF1 було виявлено утворення значно більших частинок розміром 150–190 нм (Рисунок 3.7). Це свідчить про зміну характеру агрегації молекул у присутності цього субстрату. Ймовірно, утворення

таких великих агрегатів пов'язане з високою гідрофобністю DLFI, яка сприяє утворенню змішаних надмолекулярних структур, відмінних від звичайних міцел.

Цікаво, що подібні великі агрегати не спостерігаються у випадку системи ЦТАБ + DAFI, що вказує на те, що довжина алкільного ланцюга в субстраті відіграє важливу роль у формуванні таких структур. У випадку ЦПХ утворення великих агрегатів також не спостерігалось, що додатково підкреслює специфічну взаємодію між DLFI і міцелами ЦТАБ.

Склад і структура змішаних агрегатів, що формуються у системі ЦТАБ–DLFI, залишаються до кінця не з'ясованими. Можливо, ці великі частинки співіснують у розчині разом зі звичайними міцелами ЦТАБ, однак останні стають менш помітними у ДРС-аналізі через наявність значно більших утворень. Такий ефект може призводити до зміни доступності субстрату та реагентів у реакційній системі, що, у свою чергу, впливає на кінетику гідролізу.

Додатково було встановлено, що у процесі гідролізу у системі ЦТАБ + DLFI кількість великих агрегатів поступово зменшується. Це може свідчити про зміну рівноваги між різними типами частинок у розчині під час перетворення субстрату у більш гідрофільні продукти гідролізу. Оскільки продукти реакції є більш полярними порівняно з вихідним естером, вони можуть втрачати спорідненість до гідрофобної псевдофази і мігрувати у водну фазу, що призводить до поступової дестабілізації великих агрегатів.

Таким чином, отримані результати підтверджують, що характер агрегації може суттєво змінюватися залежно від природи субстрату. Зокрема, у випадку DLFI спостерігається утворення нестандартних великих агрегатів у розчинах ЦТАБ, які поступово руйнуються в процесі гідролізу. Подальші дослідження необхідні для детальнішого з'ясування структури таких агрегатів та їхнього впливу на кінетичні параметри реакції.

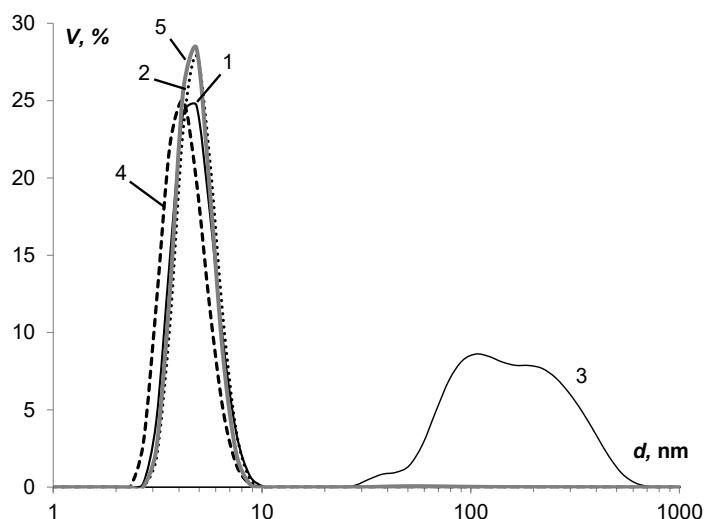


Рисунок 3.7. Розподіл за розміром (за об'ємом) колоїдних частинок за об'ємом розсіювання для систем: ЦТАБ (1); ЦТАБ + DAFI (2); ЦТАБ + DLF1 (3); ЦПХ (4); ЦПХ + L₂FI (5); йонна сила 0,05 М NaCl, рН відповідає воді, що насичена повітрям; усі концентрації відповідають умовам, використаним у кінетичних дослідженнях.

І саме в міцелярному середовищі ЦТАБ, на відміну від інших катіонних ПАР-систем, швидкість гідролізу DLF1 перевищує швидкість гідролізу DAF1. Такий результат є доволі нетиповим, оскільки у водному середовищі та у більшості міцелярних розчинів гідроліз DAF1 зазвичай відбувається швидше або принаймні з тією ж швидкістю, що і для DLF1.

Ймовірно, така поведінка пояснюється особливостями розташування молекул субстрату в міцелярній псевдофазі. У звичайних сферичних міцелах катіонних ПАР молекули DLF1, через наявність довгих лаурилових ланцюгів, мають значно вищу гідрофобність, ніж DAF1. Це сприяє їх глибшому зануренню в гідрофобне ядро міцел, де концентрація гідроксид-йонів є значно нижчою, що ускладнює доступ до естерних груп і може сповільнювати реакцію гідролізу. Навпаки, DAF1, який містить коротші ацетильні залишки, є менш гідрофобним і, відповідно, розташовується ближче до поверхні міцели, у зоні шару Штерна, де відбувається концентрування гідроксид-йонів. Це створює сприятливі умови для гідролізу DAF1 у класичних катіонних міцелах, таких як у розчинах ЦТАБ і ЦПХ.

Однак у системі ЦТАБ + DLF1 утворюються великі колоїдні частинки розміром 150–190 нм, що суттєво відрізняються від класичних сферичних міцел, у яких домінують частинки розміром близько 5 нм. Це свідчить про зміну характеру агрегації молекул ПАР та субстрату. Ймовірно, такі великі агрегати мають іншу структуру, в якій естерна група DLF1 стає більш доступною для взаємодії з гідроксид-йонами, що й забезпечує підвищену швидкість гідролізу.

Ця особливість є характерною саме для системи ЦТАБ + DLF1, оскільки в розчинах ЦПХ подібних великих агрегатів не спостерігається, а швидкість гідролізу DLF1 залишається нижчою за DAF1. Це узгоджується з очікуваним розподілом субстратів у класичних сферичних міцелах. Така відмінність у поведінці міцелярних розчинів вказує на те, що крім загальних закономірностей міцелярного каталізу, значну роль відіграють специфічні надмолекулярні ефекти, що виникають у присутності певних субстратів.

Отримані результати свідчать, що у випадку великих колоїдних агрегатів у системі ЦТАБ + DLF1 гідроліз може відбуватися значно швидше, ніж у класичних міцелярних розчинах. Це пояснюється зміною доступності реакційних центрів у таких надмолекулярних утвореннях, що створює сприятливі умови для взаємодії естерних груп з гідроксид-йонами. Подальші дослідження необхідні для детального з'ясування структури цих агрегатів та механізму їхнього впливу на кінетику гідролізу.

3.2.1 Оцінювання істинних констант швидкості в міцелярному середовищі

Для пояснення впливу міцелярного середовища на кінетику гідролізу естерів флуоресцеїну необхідно використовувати модель псевдофазного йонного обміну (PIE), яка є загальноприйнятою у фізико-хімічних дослідженнях і була розроблена Березіним, Бантоном та їхніми співробітниками [82]. Ця модель описує процеси розподілу йонів між водною фазою та міцелярною псевдофазою, що є ключовим для розуміння механізму каталізу в міцелярних системах.

Оскільки реакція гідролізу в міцелярному середовищі відбувається в шарі Штерна міцел ЦТАБ, для коректного опису цих процесів необхідно знати константи йонного обміну, які визначають рівноважний розподіл гідроксид-йонів між водною фазою та міцелями. Визначення цих параметрів є необхідним для оцінки реальної концентрації гідроксид-йонів у реакційній зоні, що, у свою чергу, дозволяє розрахувати істинні константи швидкості гідролізу.

У досліджуваних умовах, коли реакція відбувається в боратному буфері, міцели ЦТАБ можуть містити три типи протийонів: бромід-йони, борат-йони та гідроксид-йони. Кожен із цих аніонів конкурує за взаємодію з позитивно зарядженими головками молекул ПАР, і їхній розподіл у шарі Штерна визначається рівноважними константами йонного обміну.

Ці рівноваги описуються рівняннями(3.9, 3.10). Вони дозволяють оцінити, яка частка гідроксид-йонів насправді знаходиться в реакційній зоні міцел у порівнянні із загальною концентрацією HO^- у водному середовищі. Врахування цього розподілу є критично важливим для корекції спостережуваних кінетичних параметрів та визначення істинних констант швидкості гідролізу, що базуються на реальній доступності нуклеофільних агентів у міцелярному середовищі.

$$K_{\text{HO}^-}^{\text{Br}^-} = \frac{[\text{HO}^-]_w [\text{Br}^-]_m}{[\text{HO}^-]_m [\text{Br}^-]_w}. \quad (3.9)$$

$$K_{\text{HO}^-}^{\text{H}_2\text{BO}_3^-} = \frac{[\text{HO}^-]_w [\text{H}_2\text{BO}_3^-]_m}{[\text{HO}^-]_m [\text{H}_2\text{BO}_3^-]_w} \quad (3.10)$$

Квадратні дужки у рівняннях позначають рівноважні концентрації відповідних йонів, а індекси w та m вказують, до якої саме фази вони належать – водної чи міцелярної. Оскільки у наведених рівноважних виразах співвідношення концентрацій йонів визначаються за константами йонного обміну, на першому етапі наближених розрахунків можна знехтувати внеском коефіцієнтів активності.

Це спрощує аналіз і дозволяє отримати перші оцінки рівноважного розподілу йонів між фазами.

Для кількісної оцінки розподілу аніонів між водною фазою та шаром Штерна міцел ЦТАБ були використані значення констант йонного обміну, отримані в роботі Бартета та співавторів [83]. Відповідно до цих даних, відносна спорідненість аніонів до міцелярної поверхні визначається наступними значеннями: для бромід-йонів Br^- ця величина становить 21, для борат-йонів H_2BO_3^- – 0,16, а для гідроксид-йонів HO^- – 3,2. Це означає, що бромід-йони мають найвищу спорідненість до позитивно заряджених головок ЦТАБ і переважно концентруються у шарі Штерна, тоді як гідроксид-йони та борат-йони мають значно нижчу тенденцію до зв'язування з поверхнею міцел.

Однак при оцінці розподілу боратних форм у водному середовищі необхідно враховувати, що аніон $\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$ у водному розчині зазнає гідролізу і перетворюється на дві молекули борної кислоти H_3BO_3 та два йони H_2BO_3^- . Це змінює ефективну рівновагу між боратними формами, тому доцільніше використовувати скориговані значення констант йонного обміну: 1,6 для H_2BO_3^- та 0,08 для H_3BO_3 .

На першому етапі розрахунків можна провести оцінку рівноважної концентрації бромід-йонів у водній фазі, нехтуючи впливом буфера на систему та присутністю HO^- у шарі Штерна міцел. Такий підхід дозволяє отримати базові значення для подальших розрахунків реального розподілу йонів у міцелярному середовищі та оцінити їхній вплив на швидкість реакції гідролізу. Відповідне рівняння для визначення концентрації Br^- у водній фазі наведено нижче.

$$[\text{Br}^-]_w = c_{\text{NaBr}} + cmc + (1 - \beta)(c_{\text{CTAB}} - cmc) \quad (3.11)$$

У цьому аналізі ККМ для ЦТАБ позначається як cmc , а параметр β визначає частку поверхневого заряду міцел, що нейтралізується протийонами у розчині. Ці параметри є ключовими для визначення рівноважного розподілу йонів між водною фазою та шаром Штерна міцелярних агрегатів.

Відомо, що у чистій воді критична концентрація міцелоутворення для ЦТАБ становить 0,001 М. Однак у присутності 0,045 М NaBr спостерігається значне зниження цього значення, і ККМ опускається до менше ніж 1×10^{-4} М. Це пояснюється ефектом зменшення електростатичного відштовхування між позитивно зарядженими головками молекул ПАР, що сприяє агрегації молекул ЦТАБ у міцели при нижчих концентраціях.

Для подальших розрахунків було прийнято, що $\beta = 0,83$, що означає, що 83 % поверхневого заряду міцел нейтралізовано протийонами. Концентрація ЦТАБ у розчині становила 0,003 М, що дозволило оцінити рівноважну концентрацію бромід-йонів у водній фазі, яка дорівнює 0,0457 М.

На основі цих параметрів була проведена оцінка концентрації гідроксид-йонів у водному середовищі. Виходячи з розрахунків, рівноважна концентрація HO^- у водній фазі була прийнята рівною 0,01 М.

Оцінка співвідношення концентрацій гідроксид-йонів та бромід-йонів у водній фазі дає значення $\text{HO}^-/\text{Br}^- = 0,0175$, що свідчить про значну перевагу бромід-йонів у водному середовищі. Аналогічно, рівноважна концентрація H_2BO_3^- у водному середовищі була розрахована як $1,12 \times 10^{-3}$ М, тоді як для H_3BO_3 це значення склало $1,88 \times 10^{-5}$ М.

Далі була проведена оцінка реальної концентрації HO^- у шарі Штерна міцелярних агрегатів. Якщо припустити, що початкова концентрація гідроксид-йонів у водній фазі становить $1,8 \times 10^{-5}$ М, то після врахування рівноважних процесів середнє значення концентрації гідроксид-йонів у шарі Штерна становить $5,6 \times 10^{-5}$ М.

Для оцінки локальної концентрації гідроксид-йонів у шарі Штерна також було зроблено припущення, що густина міцел є близькою до густини води, а об'єм шару Штерна, в якому розташовуються протийони, становить 50 % від загального об'єму міцели. Виходячи з цих даних, було отримано значення концентрації

гідроксид-йонів у шарі Штерна, яке дорівнює $1,06 \times 10^{-4} \text{ М}$ (у перерахунку на об'єм цього шару).

Таким чином, проведені розрахунки дозволяють кількісно оцінити реальну концентрацію НО^- у реакційній зоні міцелярних агрегатів, що є критично важливим для визначення істинних кінетичних параметрів гідролізу в міцелярному середовищі.

Оскільки значення спостережуваних констант швидкості для першої та другої стадій гідролізу становлять відповідно $3,46 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ та $13,8 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$, то, застосовуючи рівняння (3.8), можна розрахувати істинні константи швидкості для цих стадій реакції. Отримані значення становлять $k_1 = 3,2 \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$ та $k_2 = 13,0 \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$.

Попри те, що під час розрахунків були використані певні наближення та спрощення, отримані результати безсумнівно вказують на те, що істинні константи швидкості гідролізу в міцелярному середовищі є нижчими за відповідні значення у водному розчині, де $k_1 = 13,8 \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$, а $k_2 = \text{М}^{-1}\text{с}^{-1}$. Це свідчить про те, що спостережуване прискорення реакції у присутності міцелярного середовища, яке можна побачити в Таблиці 3.1 (з урахуванням різниці у значеннях рН), є частково оманливим. Коли ж проводиться розрахунок істинних констант швидкості, враховуючи реальну доступність гідроксид-йонів у реакційній зоні, ефект прискорення виявляється значно менш вираженим.

Це явище є добре відомим і детально описаним у літературі [82]. Для пояснення зменшення істинної константи швидкості другої стадії гідролізу k_2 зазвичай використовується аргумент, пов'язаний із зниженням полярності міцелярного середовища порівняно з водним розчином. У менш полярному середовищі, яким є гідрофобна псевдофаза міцел, взаємодія двох негативно заряджених частинок – аніонного продукту першої стадії гідролізу та гідроксид-йона – стає менш ефективною через електростатичне відштовхування. Оскільки полярність середовища безпосередньо впливає на стабільність та реакційну

здатність йонних частинок, у таких умовах ймовірність взаємодії між аніонними реагентами зменшується, що сповільнює реакцію.

Однак така інтерпретація не може повною мірою пояснити зменшення значення істинної константи швидкості першої стадії гідролізу k_1 , оскільки ця стадія не передбачає взаємодії двох аніонів. Отже, для пояснення цього явища необхідні додаткові фактори. Одним із можливих механізмів, що пояснює зниження швидкості першої стадії гідролізу, є так званий "відволікаючий" ефект ("diverting" effect) [80,81].

Ця концепція передбачає, що гідроксид-йони, хоч і концентруються у шарі Штерна катіонних міцел, можуть частково взаємодіяти з позитивно зарядженими головками молекул ПАР, що зменшує їхню реальну доступність для нуклеофільної атаки на субстрат. Іншими словами, хоча загальна кількість HO^- у міцелярній фазі збільшується, їх значна частка може бути "зв'язана" електростатичними взаємодіями з катіонними групами ПАР і, відповідно, менш ефективно брати участь у реакції гідролізу.

Додатково варто зазначити, що вплив міцелярного середовища на першу стадію реакції може також пояснюватися локальним мікрооточенням субстрату. Якщо молекула субстрату занурена глибше у гідрофобний шар міцели, доступ гідроксид-йонів до реакційного центру може бути обмеженим, що додатково зменшує швидкість реакції. Водночас у водному середовищі, де таких структурних обмежень немає, реакція відбувається швидше.

Таким чином, хоча міцелярне середовище справді змінює кінетику гідролізу, його каталізуючий ефект не є однозначним. Спостережуване зростання швидкості реакції в міцелярному середовищі пояснюється збільшенням локальної концентрації гідроксид-йонів, проте при розрахунку істинних констант швидкості стає очевидним, що внаслідок специфічних міжмолекулярних взаємодій цей ефект може частково компенсуватися іншими факторами, такими як зменшення

полярності середовища, електростатичне зв'язування HO^- із катіонними головками ПАР та зміни доступності реакційного центру субстрату.

3.4 Вплив каліксаренів на кінетику гідролізу дієстерів флуоресцеїну

Найцікавіші кінетичні результати були отримані для водних розчинів амфифільних калікс[4]аренів $\text{C}_n\text{-C4A-Ch}$. Загальна формула цих сполук представлена на рисунку 3.8:

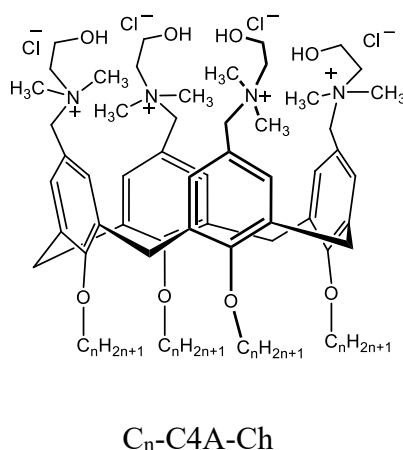


Рисунок 3.8 Структурна формула $\text{C}_n\text{-C4A-Ch}$: $n = 3; 6; 8; 12$.

У попередніх дослідженнях, проведених на кафедрі було вивчено кінетику гідролізу DLF1 у водних розчинах каліксаренів при $\text{pH} \approx 9,0$ (зазвичай використовувався 0,004 М боратний буфер). Отримані тоді результати дозволяють зробити три основні висновки.^[77]

По-перше, розділення двох стадій гідролізу за допомогою використаного підходу виявилось неможливим. Це означає, що відношення констант швидкості k_2'/k_1' є дуже великим, що вказує на швидке проходження другої стадії реакції після утворення проміжного моноаніону.

По-друге, прискорення гідролізу у присутності каліксаренів є менш вираженим, ніж у розчинах 50 % водно-етанольної суміші або міцелярних розчинах ЦТАБ. Це свідчить про те, що хоча каліксарени здатні впливати на кінетику реакції,

їх ефект є менш значним порівняно з класичними міцелярними системами або змішаними розчинниками.

По-третє, швидкість гідролізу зростає зі збільшенням довжини вуглеводневого ланцюга в структурі каліксаренів. Це вказує на те, що гідрофобні взаємодії можуть відігравати ключову роль у механізмі каталізу гідролізу в таких системах. Наприклад, у випадку C_1-C_6A-Ch повне перетворення $DLFl$ у кінцевий продукт Fl^{2-} при $pH = 9,18$ не досягається навіть після 5 днів експерименту.

Ці результати є важливими для розуміння впливу каліксаренів на кінетику гідролізу флуоресцеїнових естерів та слугують основою для подальших досліджень у цьому напрямку.

На відміну від результатів, отриманих для дилаурилфлуоресцеїну^[77,84], агрегати C_n-C_4A-Ch суттєво прискорюють гідроліз діацетилфлуоресцеїну. Цей ефект є несподіваним і не узгоджується з попередніми спостереженнями, які вказували на значно слабший вплив подібних агрегатів на кінетику гідролізу $DLFl$. Більше того, отримані результати суперечать даним, отриманим для цих двох субстратів у присутності ліпази^[25], де ефективність каталізу була подібною для обох сполук. Це вказує на те, що у випадку каліксаренових агрегатів механізм гідролізу може відрізнятися від інших середовищ, і цей вплив необхідно детальніше вивчити.

Один із найважливіших аспектів, що був встановлений у ході цього дослідження, полягає в тому, що для більшості випадків вдалося окремо визначити константи швидкості першої та другої стадій реакції, k_1 та k_2 (Таблиця 3.2). Це можна вважати важливим досягненням, оскільки в попередніх дослідженнях подібних систем часто спостерігалася ситуація, коли стадії гідролізу проходили надто швидко, і їх було важко розділити експериментально.

Ще однією важливою особливістю є те, що гідроліз діацетилфлуоресцеїну у присутності каліксаренових агрегатів відбувається досить швидко навіть у

небуферному водному середовищі при рН 6,28–6,62. Це вказує на те, що в цьому випадку основним нуклеофільним агентом виступають молекули води, а не гідроксид-йони, як у більш лужних розчинах. Такий результат є нетиповим, оскільки в більшості інших досліджених середовищ для ефективного гідролізу потрібно підвищене значення рН, що забезпечує достатню концентрацію HO^- .

Таблиця 3.2 Значення констант швидкості, s^{-1} , реакцій гідролізу псевдопершого порядку DAFI.

Середовище ^a	рН	$\lambda_{\text{max}} \text{ FI}^{2-}$, nm ^b	$k_1' \times 10^4$	$k_2' \times 10^4$	k_2 / k_1
Вода	9,72 ^c	498	3,5±0,2	4,5±0,3	1,3
ЦТАБ (0,003 М)	9,16 ^c	501	3,49±0,08	10,5±0,2	3,0
C ₁₂ -C4A-Im	9,16 ^c	507	5,0±0,2	23,8±1,0	4,8
C ₁₂ -Bn-Ch	6,62 ^d	498	1,31±0,03	7,61±0,15	5,8
C ₆ -C4A-Ch	6,3–6,6 ^d	504	0,283±0,008	—	—
C ₈ -C4A-Ch	6,3–6,4 ^d	504	0,31±0,16	—	—
C ₁₂ -C4A-Ch	6,28 ^d	505	1,84±0,04	7,76±0,17	4,2
C ₁₂ -Bn-Ch	8,64 ^e	498	7,9±0,2	9,6±0,2	1,2
C ₁ -C6A-Ch	8,43 ^e	499	4,09±0,05	23,1±0,3	5,6
C ₃ -C4A-Ch	8,67 ^e	504	13,6±0,5	40,8±1,5	3,0
C ₆ -C4A-Ch	8,32 ^e	505	21,7±0,4	63,6±1,2	2,9
C ₈ -C4A-Ch	8,32 ^e	506	22,3±0,8	88±3	3,9
C ₁₂ -C4A-Ch	8,44 ^e	505	36,2±0,08	182,1±0,4	5,0

^a Концентрації каліксаренів: C₁₂-C4A-Im та C₁₂-C4A-Ch: $1,8 \cdot 10^{-4}$ М; C₃-C4A-Ch: 0,003М; усі інші: 0,001М. ^b У водному середовищі максимум поглинання FI^{2-} становить 490,5 нм. ^c Боратні буферні системи. ^d У воді, без додавання буфера та солей. ^e Буферні системи на основі діетилбарбітурової кислоти; загальна йонна сила 0,045 М, співвідношення сіль : кислота = 2,3.

Важливим фактором, що впливає на поведінку продукту реакції, є значний позитивний електростатичний потенціал міцелярної поверхні каліксаренових

агрегатів. Як відомо, у водному середовищі при таких значеннях рН (близько 6,5) спостерігається часткове протонування продукту реакції Fl^{2-} з утворенням HFl^- , що впливає на спектральні характеристики системи. Однак у присутності каліксаренових агрегатів цей процес значно утруднений, що може бути наслідком специфічної взаємодії аніонного продукту реакції з позитивно зарядженими групами агрегатів. Це також може вказувати на те, що значна частина продукту реакції залишається у стабільному діаніонному стані навіть у слаболужному середовищі.

Для повноцінного аналізу отриманих даних було проведене порівняння з іншими системами. У Таблиці 3.2 наведено також кінетичні параметри гідролізу при $\text{pH} \approx 9$ у мицелярних розчинах ЦТАБ та у присутності іншого каліксарену, що не містить холінової групи. Це дозволяє оцінити роль холінового фрагменту у каталізі реакції. Результати показали, що для каліксарену без холінової частини C_{12} -СА4-Ім (Рисунок 3.9), який також здатний утворювати агрегати у водному середовищі, швидкість реакції гідролізу лише у 1,4–2,3 рази вища, ніж у мицелярних розчинах ЦТАБ.

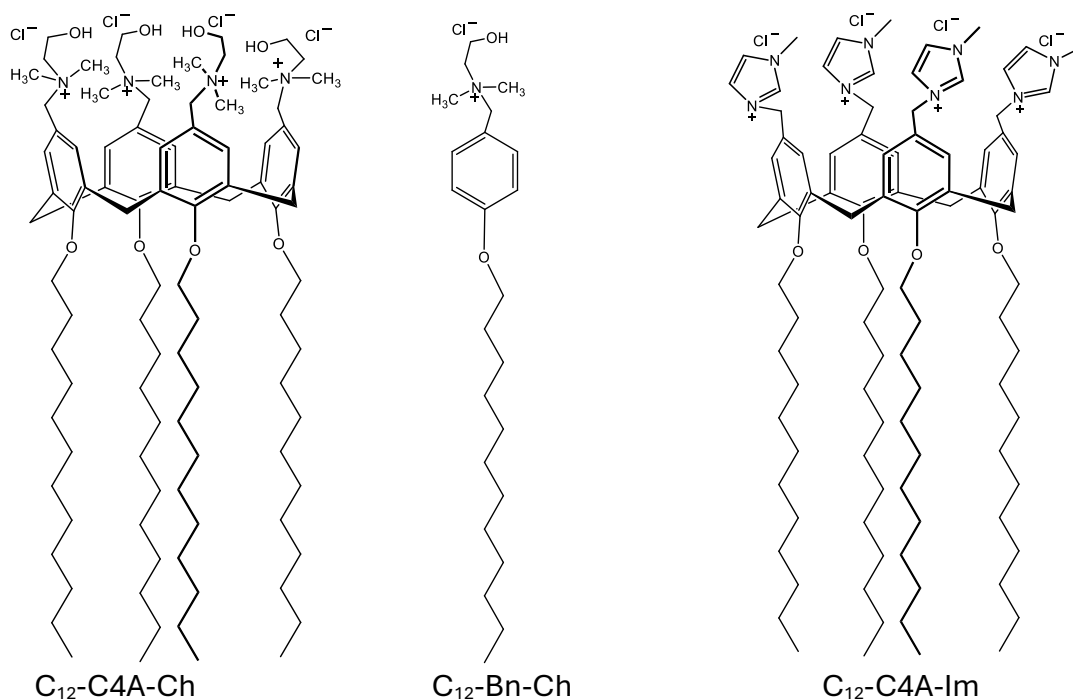
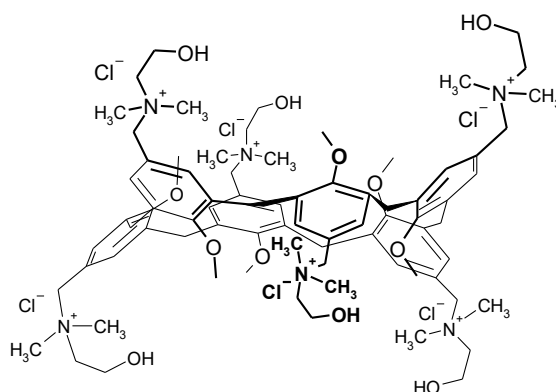


Рисунок 3.9 Структурні формули каліксарену з холіновим фрагментом $\text{C}_{12}\text{-C4A-Ch}$, її «чверті» $\text{C}_{12}\text{-Bn-Ch}$ та каліксарену з імідазолієвим фрагментом $\text{C}_{12}\text{-C4A-Im}$.

C₁-C6A-Ch**Рисунок 3.10** Структурна формула каліксарену C₁-C6A-Ch.

Це свідчить про те, що прискорення реакції у присутності каліксаренів значною мірою залежить від їхньої хімічної структури. Зокрема, наявність холінових груп може відігравати критичну роль у стабілізації реакційного середовища та у взаємодії з продуктами гідролізу. Ця особливість може бути пов'язана із специфічними міжмолекулярними взаємодіями, які формуються у таких системах.

Також слід зазначити, що для сполук C₁-C₆A-Ch характерною є конформація 1,3,5-alternate [85], що може також відігравати важливу роль у їхньому каталізі. Подальші дослідження необхідні для уточнення механізму взаємодії цих агрегатів із субстратом та продуктами гідролізу.

Для кращої порівняльної оцінки отриманих результатів значення констант швидкості, виміряні при рН 9,2–8,3, були перераховані до умов рН 8,64 (Таблиця 3.3). Водночас дані, отримані при ще нижчих значеннях рН, не були включені до аналізу, оскільки в цьому діапазоні кислотності, відповідно до загальновідомих закономірностей, реакція відбувається переважно за участю молекул води, а не гідроксид-йонів, що може впливати на коректність порівняння кінетичних параметрів.

Таблиця 3.3 Значення константи швидкості, s^{-1} , реакції гідролізу псевдопершого порядку DAFI при 25 °C, перераховані для pH 8,64.

Міцели (агрегати):	$k_1' \times 10^4$	$k_2' \times 10^4$
Вода	0,29	0,38
ЦТАБ (0.003 M)	1,0	3,2
C ₁₂ -C4A-Im	1,5	7,2
C ₁₂ -Bn-Ch	7,9	9,6
C ₁ -C6A-Ch	6,0	34,2
C ₃ -C4A-Ch	12,7	38,1
C ₆ -C4A-Ch	45,4	132,9
C ₈ -C4A-Ch	46,6	182,4
C ₁₂ -C4A-Ch	57,4	283,6

Отримані результати демонструють, що у присутності агрегатів C₁₂-C₄A-Ch швидкість гідролізу діацетилфлуоресцеїну суттєво зростає. Значення констант швидкості першої та другої стадій реакції є відповідно у 198 та 746 разів вищими, ніж у водному середовищі. Такий значний каталізуючий ефект каліксаренових агрегатів вказує на принципові відмінності їхньої дії порівняно з іншими дослідженими системами, що потребує детальнішого аналізу.

Порівняння різних каліксаренових похідних показує, що найбільш виражене прискорення реакції відбувається у присутності холіновмісних сполук. Це підтверджує ключову роль холінових груп у каталізі гідролізу. Ймовірно, позитивно заряджена четвертинна амонієва група може взаємодіяти як із субстратом, так і з продуктами реакції, стабілізуючи їх у реакційній зоні. Це може як полегшувати доступ нуклеофільного агента (гідроксид-йонів або молекул води) до реакційного центру, так і сприяти зменшенню енергії активації гідролізу.

Значний вплив на швидкість реакції також має довжина вуглеводневого ланцюга у структурі каліксарену. Було встановлено, що подовження алкільних

замісників сприяє прискоренню гідролізу. Це може бути пов'язано з посиленням гідрофобної взаємодії між молекулами субстрату та агрегатами каліксарену, що, у свою чергу, підвищує локальну концентрацію субстрату у реакційній зоні і сприяє ефективнішому перебігу реакції. Однак, навіть каліксаренові похідні з короткими вуглеводневими ланцюгами, такі як C_1-C_6A-Ch , демонструють високу каталітичну активність. Незважаючи на меншу гідрофобність, така структура містить шість холінових груп, що створюють сприятливе електростатичне середовище для реакції, забезпечуючи прискорення гідролізу до рівня, подібного до агрегатів C_3-C_4A-Ch .

Цікаво, що каліксаренові агрегати демонструють значно вищу каталітичну ефективність порівняно з традиційними катіонними ПАР. Наприклад, сполука $C_{12}-Bn-Ch$, яка структурно відповідає чверті $C_{12}-C_4A-Ch$, також прискорює реакцію, однак її ефект є менш вираженим, ніж у повноцінних каліксаренових агрегатах. Вона все ж показує вищу активність, ніж ЦТАБ або $C_{12}-C_4A-Im$, що підтверджує, що навіть часткове збереження структури каліксарену з холіновим фрагментом позитивно впливає на перебіг реакції.

Аналіз спектрів поглинання продукту реакції показує, що у присутності $C_{12}-C_4A-Ch$ та $C_{12}-C_4A-Im$ продукт повністю зв'язується псевдофазою, що свідчить про його стабілізацію в межах агрегату і відсутність вивільнення у водну фазу. Крім того, молекули DAFI, які є гідрофобними та практично нерозчинними у воді, активно сорбуються агрегатами каліксаренів, що додатково сприяє підвищенню ефективності реакції.

Спостережений ефект має певну схожість із результатами, отриманими для гідролізу *пара*-нітрофенілдіфенілфосфату, *етил-пара*-нітрофенілфосфатмоноаніону та естерів карбонових кислот *пара*-нітрофенолу у міцелярних розчинах катіонних ПАР, що містять 1-гідроксиетильний ланцюг, приєднаний до атома азоту в алкіламонієвій групі. Це підтверджує, що механізм каталізу в системах із каліксареновими агрегатами може мати спільні риси з

механізмами, спостереженими у традиційних мицелярних розчинах, де значну роль відіграють електростатичні взаємодії та зміна локальної концентрації реагентів.

Загалом отримані результати демонструють, що каліксаренові агрегати, особливо ті, що містять холінові групи, можуть відігравати важливу роль у каталізі гідролізу естерів. Вони забезпечують значне прискорення реакції порівняно з водним середовищем та класичними мицелярними системами, що відкриває можливість використання подібних супрамолекулярних структур для створення ефективних каталізаторів. Подальші дослідження у цьому напрямку дозволять глибше зрозуміти механізми їх дії та розробити нові функціональні матеріали на основі каліксаренів.

З іншого боку, через значну довжину вуглеводневого ланцюга молекули дилаурилфлуоресцеїну, ймовірно, занурюються надто глибоко у гідрофобну частину агрегатів, що унеможлиблює їхнє безпосереднє наближення до холінового центру. У таких умовах взаємодія субстрату з позитивно зарядженими холіновими групами є значно утрудненою або взагалі відсутньою, що пояснює, чому для DLF1 не спостерігається каліксареновий ефект.

Водночас слід враховувати, що після першої стадії гідролізу відбувається утворення аніону LFl^- , який може змінювати своє положення в агрегаті. Внаслідок цього йонізовані форми продукту гідролізу можуть переміщуватися ближче до поверхневого шару агрегату, де вони стають більш доступними для взаємодії з навколишнім середовищем, зокрема з гідроксид-йонами або іншими каталізуючими компонентами. Це може бути однією з причин відхилення кінетики гідролізу DLF1 від загальноприйнятої схеми, що підтверджується спектральними даними.

На відміну від цього, у випадку DAF1 ситуація принципово інша. Його молекули залишаються у поверхневому шарі агрегатів, де взаємодія з навколишнім середовищем є більш активною. Крім того, ацетильна група цього естеру добре вписується у внутрішню порожнину каліксаренового агрегату, яка містить чотири

холінові групи. Це створює сприятливі умови для стабілізації субстрату, а також для підвищення локальної концентрації нуклеофільного агента у безпосередній близькості до реакційного центру. Така організація простору значно полегшує перебіг гідролізу та пояснює більш виражений каталізуючий ефект каліксаренів у випадку DAFI порівняно з DLF1.

Додатково слід зазначити, що у міцелярних розчинах катіонних ПАР також спостерігається прискорення гідролізу DAFI порівняно з водним середовищем. Це підтверджує загальну тенденцію до підвищення реакційної здатності субстрату у впорядкованих надмолекулярних системах. Водночас серед усіх досліджених катіонних міцелярних систем був виявлений один виняток – міцели ЦТАБ, у яких спостерігаються колоїдні частинки аномально великого розміру. Це може бути наслідком специфічних процесів агрегації молекул ПАР, які впливають на доступність субстрату для нуклеофільної атаки. Великий розмір агрегатів може ускладнювати дифузію гідроксид-іонів до активного центру молекули DAFI, що компенсує каталізуючий ефект, який зазвичай спостерігається в таких середовищах.

Подібна тенденція була також відзначена у водно-етанольному середовищі (Таблиця 3.1) та у присутності ліпази [25], де, навпаки, гідроліз DLF1 відбувається швидше, ніж DAFI. У випадку ферментативного каталізу така поведінка пояснюється відповідністю довжини вуглеводневого ланцюга розміру активного центру ферменту. Це узгоджується з відомими механізмами ферментативного гідролізу: ферменти мають певні структурні обмеження у взаємодії з субстратами, що визначає їхню специфічність до певних молекул. У цьому випадку довжина лаурилового ланцюга виявилася оптимальною для зв'язування субстрату в активному центрі ліпази, що забезпечує більш ефективний перебіг реакції.

Цікаво, що подальше подовження вуглеводневого ланцюга призводить до сповільнення гідролізу відповідних флуоресцеїнових естерів [25]. Це ще раз підкреслює важливість структурної відповідності між субстратом та середовищем,

у якому відбувається реакція. Такий ефект можна пояснити збільшенням гідрофобності субстрату, що ускладнює його доступ до активного центру ферменту або каталізуючих компонентів середовища.

Загалом отримані результати демонструють, що вплив агрегатів каліксаренів на швидкість гідролізу залежить від їхньої здатності стабілізувати субстрат у реакційно активному середовищі, а також від взаємодії субстрату з функціональними групами агрегату. У випадку DAFI його розташування у поверхневому шарі та можливість взаємодії з холіновими групами сприяють підвищенню швидкості реакції. Натомість для DLF1, який через свою гідрофобність занурюється глибше в агрегат, каліксареновий ефект не проявляється, а кінетика реакції відхиляється від загальноприйнятої моделі.

Подальші дослідження механізмів впливу каліксаренів на кінетику гідролізу можуть дати додаткове розуміння щодо ролі надмолекулярних структур у каталізі органічних реакцій, а також сприяти розробці нових ефективних каталітичних систем на основі функціоналізованих каліксаренів.

Також важливо розглянути роль довжини вуглеводневого ланцюга C_n у структурі каліксаренових похідних, оскільки вона безпосередньо впливає на кінетику гідролізу. Наприклад, константи швидкості реакції значно збільшуються в 4,5–7,4 рази при переході від C_3 - C_4A -Ch до C_{12} - C_4A -Ch (Таблиця 3.3). Це вказує на те, що зростання довжини ланцюга позитивно впливає на прискорення реакції, і чим довший вуглеводневий ланцюг, тим більш ефективно відбувається гідроліз.

Водночас, якщо порівнювати розміри частинок у воді та у розчині 0,05 M NaCl, спостерігається цікава закономірність. У воді зв'язок між молекулярною структурою і розміром частинок є більш складним, але в розчині NaCl розмір агрегатів збільшується із збільшенням n : для C_3 - C_4A -Ch розмір складає 3–4 нм, для C_6 - C_4A -Ch — $5,4 \pm 1,5$ нм, для C_8 - C_4A -Ch — $5,3 \pm 1,1$ нм, і для C_{12} - C_4A -Ch — $8,4 \pm 2,9$ нм. Це підтверджує, що з ростом довжини вуглеводневого ланцюга збільшується і

розмір агрегатів, що в свою чергу може покращити каталіз і реакційну здатність системи.^[83]

Що цікаво, великі агрегати, ймовірно, мають більш компактну і менш гідратовану структуру, що також сприяє прискоренню гідролізу. Таке розміщення молекул у агрегатах дозволяє покращити доступ до активного центру субстрату і зменшити енергію активації реакції, що сприяє швидшому хімічному процесу.

Загалом, це вказує на те, що саме зростання розміру агрегатів, яке відбувається при збільшенні довжини вуглеводневих ланцюгів, сприяє кращому стабілізуванню субстрату та каталізу реакції гідролізу. Однак важливо також зазначити, що збільшення розміру агрегатів не завжди є лінійно пропорційним збільшенню швидкості реакції, оскільки різні структурні особливості можуть впливати на ефективність каталізу.

Також важливо розуміти, що зв'язок між молекулярною структурою та розмірами частинок в чистій воді є більш складним, оскільки молекули ПАР можуть мати різні конфігурації, що залежить від умов середовища, таких як йонна сила. Проте в розчині NaCl, де можна спостерігати стабільніші агрегати, зростання розміру частинок йде в одному напрямку зі збільшенням довжини вуглеводневого ланцюга. Тому варто враховувати, що такі агрегати можуть мати важливі каталізуючі властивості в залежності від того, як структуровані молекули ПАР у міцелярному середовищі.

Отже, результати показують, що збільшення довжини вуглеводневого ланцюга та розміру агрегатів сприяє ефективному каталізу, але потрібно враховувати і інші фактори, такі як гідратація та впорядкованість молекул у системах, що дозволяють їм працювати більш ефективно. Ці аспекти будуть важливі для подальших досліджень щодо механізмів каталізу в супрамолекулярних системах.

Однак повне виключення переносу ацильної групи в реакційному процесі, як показано на Рисунку 3.11 (зверху), не можна вважати як остаточно доведене так і неможливе. Враховуючи, що таке явище може мати місце під впливом специфічних умов в середовищі, повне виключення цього процесу є складним для підтвердження без детальніших досліджень.

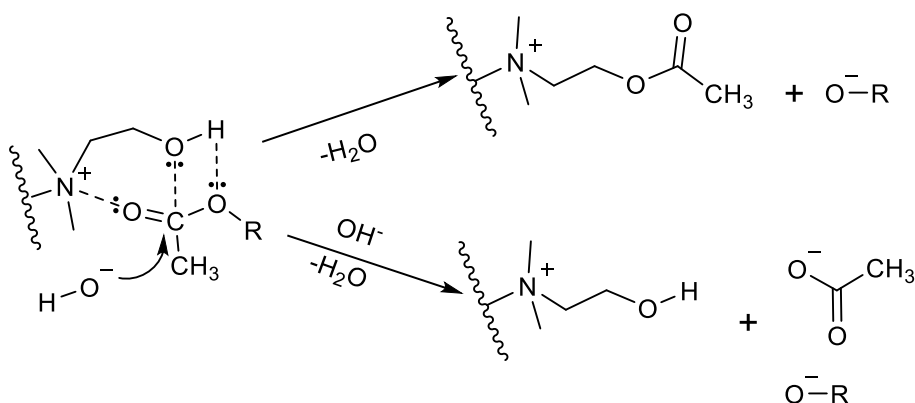


Рисунок 3.11. Можливі пояснення прискорення гідролізу естерів в агрегатах каліксаренів.

Лабільність протону ОН-групи, що входить до складу широкого краю $\text{C}_n\text{A}-\text{CH}$, безперечно збільшується через наявність чотирьох сусідніх позитивних зарядів. Це пояснюється тим, що наявність декількох позитивних зарядів у молекулі каліксарену створює дуже сприятливі умови для полегшення віддачі протону. Оскільки наявність позитивних заряджених груп поблизу ОН-групи значно знижує енергію активації для протонування, цей процес стає більш ймовірним і сприяє підвищенню реакційної здатності молекули. В результаті, молекула стає більш схильною до участі в реакціях, які передбачають передачу протону.

Цікаво, що подібна лабільність протону була відзначена для інших катіонних амфіфільних сполук, таких як $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}(\text{CH}_3)_2\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$, для яких Бантон та його колеги повідомляють значення $\text{p}K_a = 12,4-12,9$ в умовах міцелярних розчинів [86]. Це свідчить про те, що у таких системах амфіфільних катіонів, які містять як гідрофільні, так і гідрофобні групи, значення $\text{p}K_a$ може бути змінене в залежності

від умов середовища, в якому ці молекули знаходяться. У таких середовищах з високою концентрацією йонів або у міцелярних системах каталіз протонування може бути значно прискорений.

На відміну від цього, для холіну, який також містить позитивно заряджений атом азоту і гідроксильну групу, значення pK_a становить 13,9, що є високим і свідчить про менш виражену лабільність протону порівняно з амфіфільними катіонами. Це означає, що в системах на основі холіну протонування відбувається менш інтенсивно, що, ймовірно, знижує реакційну здатність молекули в порівнянні з іншими катіонними сполуками, які містять додаткові електронно-акцепторні групи.

Таким чином, дані про значення pK_a для амфіфільних катіонів та холіну дозволяють зробити висновок про важливість електронної структури молекул і взаємодії з навколишнім середовищем для визначення їх реакційної здатності. Наявність сусідніх позитивних зарядів у молекулах каліксаренів, що призводить до зниження енергії активації для реакцій з протонами, робить ці молекули важливими каталізаторами в різних хімічних процесах, включаючи гідроліз естерів.

3.5 Кінетика гідролізу моноацетилфлуоресцеїну

З метою глибшого вивчення особливостей механізму гідролізу дієстерів флуоресцеїну було досліджено гідроліз ацетилметилфлуоресцеїну (AMFI) як модельної сполуки. Використання напівсиметричної структури дозволяє ізолювати ефекти окремої ацильної групи та детальніше простежити кінетичні особливості першої стадії реакції. Схема гідролізу ацетилметилфлуоресцеїну представлена на Рисунку 3.11.

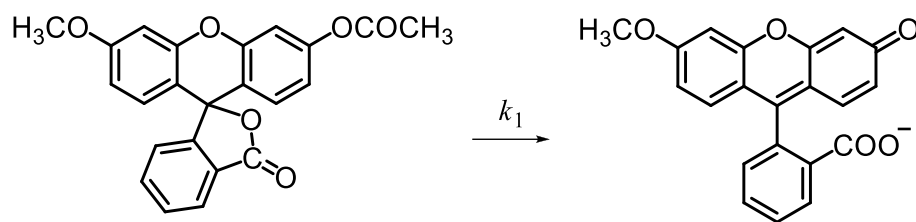


Рисунок 3.12. Схема гідролізу ацетилметилфлуоресцеїну

Результати представлені в Таблиці 3.4 у вигляді констант швидкості псевдопершого порядку при pH 8,64.

Таблиця 3.4 Значення константи швидкості, s^{-1} , реакції гідролізу псевдопершого порядку DAF1 та AMF1 при 25 °C, визначені в боратному буфері та перераховані для pH 8,64.

Середовище	I, M	DAF1		AMF1
		$k_1' \times 10^4$	$k_2' \times 10^4$	$k_1' \times 10^4$
Вода	0,05	0,29	0,38	0,15
C_{12} -Bn-Ch(1mM)	0,05	7,9	9,6	30
C_{12} -C4A-Ch(0,18mM)	0,045	57	284	45
C_{12} -C4A-Ch(0,18mM)	0,001	1140	7023	—
ЦТАБ(3,0mM)	0,05	1,0	3,2	—

По-перше, значення константи швидкості для модельної сполуки, ацетилметилфлуоресцеїну, виявляється вдвічі меншим, ніж для діацетилфлуоресцеїну. Це можна пояснити зі статистичної точки зору, оскільки молекули діацетилфлуоресцеїну мають дві ацильні групи, які можуть бути піддані омиленню. На першій стадії реакції кожна з цих груп може бути омилена, що підвищує ймовірність наявності двох реакційних точок на молекулі. Натомість модельна сполука, ацетилметилфлуоресцеїн, містить лише одну ацильну групу, тому процес гідролізу або сапоніфікації відбувається тільки для цієї однієї групи,

що знижує загальний ефект і відповідно зменшує значення константи швидкості у два рази.

По-друге, ситуація змінюється в присутності колоїдних агрегатів, зокрема у випадку сполуки C_{12} -Bn-Ch, де молекули утворюють агрегати, що може сприяти змінам у кінетичних властивостях. Молекулярна структура C_{12} -Bn-Ch досліджувалась у порівнянні з C_{12} -C₄A-Ch, оскільки, ймовірно, агрегати каліксаренів можуть сприяти більш ефективному каталізу гідролізу, змінюючи доступність реакційних груп для нуклеофільних атак. Це порівняння дозволяє краще зрозуміти механізм реакції та потенційний каталіз у колоїдних середовищах, де молекули каліксаренів можуть формувати більш стабільні, активні комплекси.

Очевидно, різниця у результатах обумовлена тим, як ці естери розташовані в міцелярних агрегатах каліксаренів. Різне положення естерів у цих агрегатах може змінювати доступність молекул для реакції, оскільки міцелярні структури можуть забезпечувати різний рівень взаємодії з реагентами, впливаючи на кінетику процесу. Це пояснює різницю у поведінці естерів у різних міцелярних системах і підкреслює саме каліксареновий ефект. Наявність чотирьох позитивно заряджених груп підвищує лабільність протону ОН-групи на широкому ободі каліксарену, що знижує енергію активації для протонування і загалом підвищує реакційну здатність молекули.

По-третє, зниження йонної сили в розчині C_{12} -C₄A-Ch в 45 разів призводить до значного збільшення значень констант швидкості, k_1 та k_2 , у 20–25 разів. Це можна пояснити тим, що зменшення йонної сили сприяє екрануванню поверхневого електричного заряду на міцелах при певній йонній силі 0,045 М NaCl, що, в свою чергу, знижує міжфазний поверхневий потенціал. В таких умовах реакція може відбуватися більш ефективно, оскільки зменшення потенціалу на межі фаз знижує енергію активації для взаємодії з субстратом.

Крім того, порівнюючи ці результати з водним середовищем, можна побачити, що в агрегатах C_{12} -C₄A-Ch при йонній силі 0,001 М значення констант

швидкості k_1 та k_2 збільшуються у $3,9 \times 10^3$ та $1,85 \times 10^4$ разів відповідно. Це підкреслює ефективність каліксаренових агрегатів у порівнянні з водними розчинами, що свідчить про їхню здатність значно прискорювати реакцію завдяки специфічній організації молекул у псевдофазах.

Матеріали цього підрозділу представлені в публікаціях [77,87].

Висновки до розділу 3

1. Розвинуто новий метод для окремого спектрофотометричного визначення констант швидкості двоступінчастого гідролізу. Цей підхід застосовано до гідролізу діацетил- і дилаурилфлуоресцеїну у водних міцелярних розчинах ПАР. Метод дозволяє чітко визначати константи для кожної стадії реакції і коректно обчислювати їх при різних умовах середовища.
2. Катіонні ПАР демонструють явне прискорення гідролізу, однак розрахунок істинної концентрації йонів HO^- у шарі Штерна за допомогою моделі псевдофазного йонного обміну вказує на уповільнення реакції. Це спостереження можна пояснити через так званий «відволікаючий ефект», тобто через сильну взаємодію між катіонними головними групами і HO^- йонами в шарі Штерна, що знижує доступність HO^- для реакції.
3. Швидкість гідролізу різко зростає в водних розчинах катіонних каліксаренів з холіновою групою на широкому ободі. Однак цей ефект спостерігається тільки для діацетилфлуоресцеїну, а не для дилаурилфлуоресцеїну, оскільки останній глибше проникає в гідрофобне ядро агрегатів. Це свідчить про те, що для ефективного каталізу важливу роль відіграє не тільки наявність функціональних груп, але й організація молекул у агрегатах.
4. Подовження вуглеводневого ланцюга від C_3 до C_{12} сприяє прискоренню реакції для діацетилфлуоресцеїну. Константи швидкості збільшуються в 200–750 і до 1800 разів, що підкреслює вплив довжини ланцюга на каталіз гідролізу. Цей результат вказує на важливість гідрофобних взаємодій у підвищенні ефективності каталізу в таких системах.
5. Каліксарен, з імідазолієвими групами замість холінових, викликає набагато менший ефект, що ближче до ефекту звичайних катіонних ПАР. Це підкреслює значущість холінових груп у молекулі каліксарену для прояву потужного каталізуючого ефекту.

6. Сполука, яку можна вважати «чвертю» каліксарену з холіновою групою, прискорює гідроліз, але набагато менше, ніж відповідний каліксарен. Це підтверджує, що потужний макроциклічний ефект зберігається лише в повних каліксаренових структурах, а часткові молекули не можуть повністю реалізувати каталізуючі властивості.

РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ СПЕКТРАЛЬНИХ ТА КИСЛОТНО-ОСНОВНИХ ХАРАКТЕРИСТИК НІТРОПОХІДНИХ ФЛУОРЕСЦЕЇНУ ТА ВПЛИВ ПАР І КАЛІКСАРЕНІВ НА КІНЕТИКУ РЕАКЦІЇ ГІДРОЛІЗУ ЇХ ЕСТЕРІВ

Гідроліз естерів флуоресцеїну є важливим процесом у хімії органічних естерів, і раніше ми детально досліджували кінетику цього процесу для діацетилфлуоресцеїну. У цьому розділі ми розглядаємо гідроліз естерів нітрофлуоресцеїнів, зокрема діацетатів нітрофлуоресцеїнів, що містять нітрогрупу в залишку фталевої кислоти. У порівнянні з флуоресцеїном, наявність нітрогрупи значно змінює кислотно-основні властивості та кінетику гідролізу цих сполук. Вивчення кислотно-основних та таутомерних рівноваг нітрофлуоресцеїнів у воді та водно-етанольних розчинах допомагає зрозуміти, як ці зміни впливають на швидкість гідролізу. Наскільки нам відомо, кислотно-основні властивості, 3'-, 4'- та 5'- нітрофлуоресцеїнів у воді та водно-етанольних розчинах ще ніким не досліджувались.

Нітрофлуоресцеїни ведуть себе в розчинах як двоосновні кислоти, здатні до протонування в залежності від рН середовища, що визначає їхню здатність до зміщення рівноваги між різними формами молекул.



Це впливає на реакційну здатність естерів у різних розчинах, що важливо для розуміння кінетики реакцій.

Особливу увагу ми приділяємо кінетиці гідролізу нітрофлуоресцеїнів у міцелярних розчинах катіонних ПАР.

4.1 Рівновага у воді

Спектри поглинання у видимій області при різних значеннях рН у воді та залежності поглинання від рН представлені на Рисунках 4.1 та 4.2 відповідно.

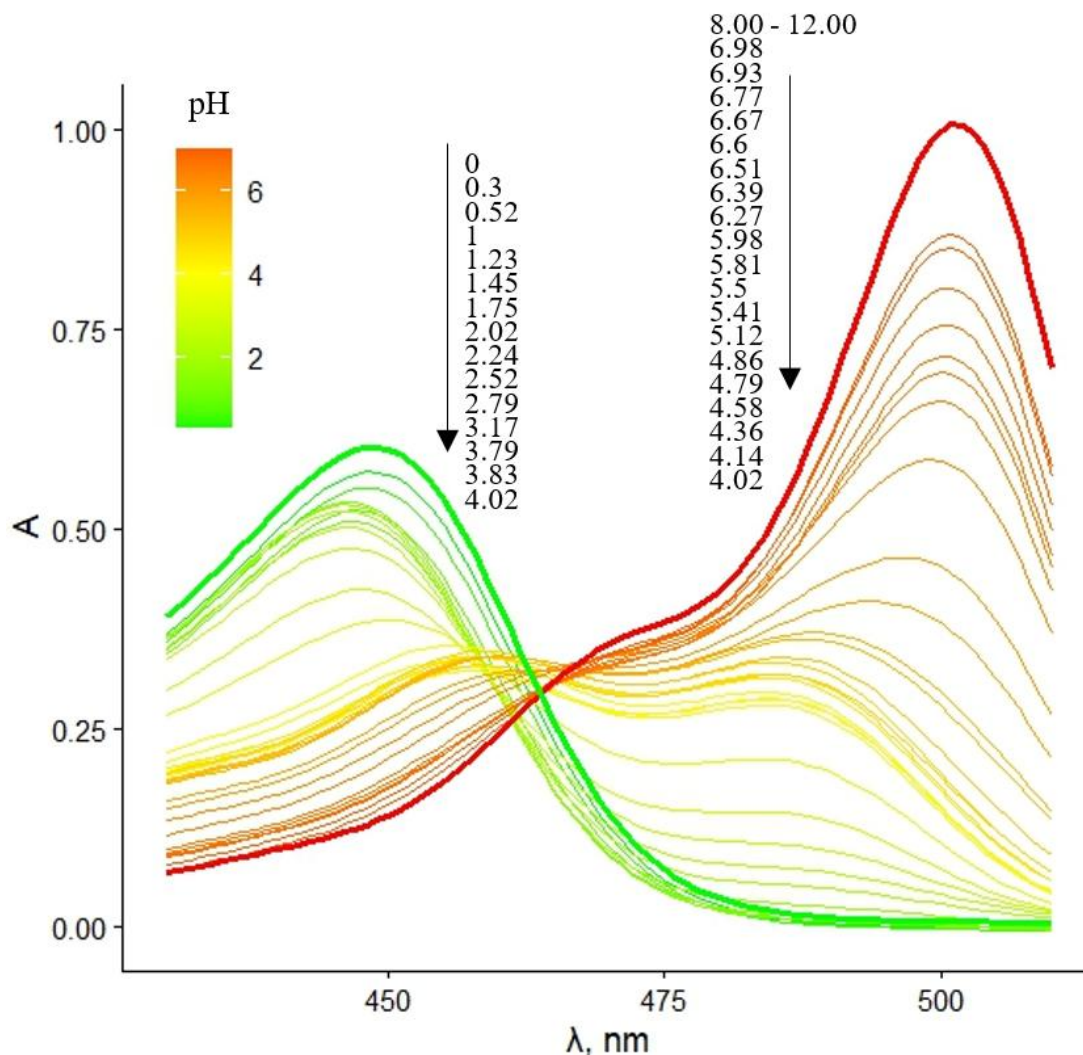


Рисунок 4.1. Спектри поглинання 3'-нітрофлуоресцеїну у водних розчинах при 25 °C за різних значень рН; $I = 0,05$ М, за винятком розчинів із рН < 1,3. Значення рН подано в шкалі активності до рН 1,3; нижче цього рівня використано концентраційну шкалу (логарифм концентрації HCl).

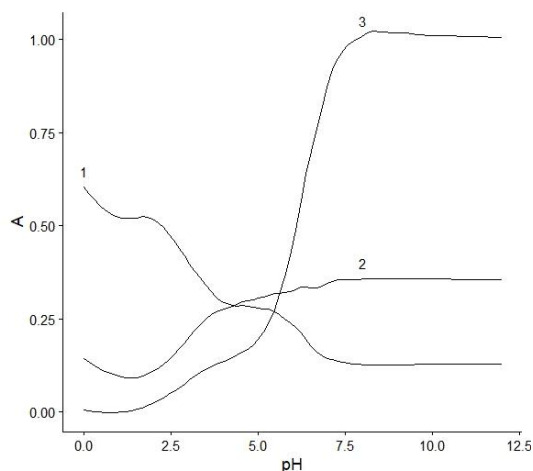


Рисунок 4.2. Залежність поглинання 3'-нітрофлуоресцеїну від рН при довжинах хвиль 448 нм (1), 470 нм (2) та 501 нм (3); 25 °С, $I = 0,05$ М, за винятком розчинів із рН нижче 1,3.

Результати дослідження представлені в Таблиці 4.1, де наведено значення констант дисоціації нітрофлуоресцеїнів. Для розрахунку цих значень було використано програму CLINP^[75] з застосуванням рівняння Дебая–Гюккеля для обчислення коефіцієнтів активності йонів. Цей підхід дозволяє врахувати взаємодію йонів у розчині, що є важливим для точного визначення термодинамічних параметрів дисоціації. У водних розчинах коефіцієнти активності для одно- та двозаряджених йонів склали 0,822 та 0,457 відповідно.

Також було визначено спектри поглинання для різних рівноважних форм барвників, таких як H_3R^+ , R^{2-} , H_2R та HR^- . Спектри для форм H_3R^+ та R^{2-} були виміряні безпосередньо в розчинах з відповідною кислотністю, зокрема, для H_3R^+ в розчині 1,0 М HCl , а для R^{2-} в розчині 0,042 М NaOH . Ці вимірювання дозволяють чітко ідентифікувати спектри цих йонних форм і оцінити їхні оптичні характеристики.

Що стосується інших форм барвників, таких як H_2R та HR^- , їхні спектри були виділені з експериментальних даних. Це було зроблено шляхом одночасного розрахунку разом з константами дисоціації для кожної з цих форм. Такий підхід

дозволяє отримати точну інформацію про стабільність і властивості кожної форми молекули у водному середовищі та зрозуміти, як зміни рН впливають на поведінку барвників. Це, в свою чергу, важливо для подальшого дослідження кінетики гідролізу естерів у різних умовах середовища.

Таблиця 4.1 Параметри йонних рівноваг нітрофлуоресцеїнів у воді при 25 °С, I = 0,05 М^(a, b).

Параметри ^c	3'-нітрофлуоресцеїн	4'-нітрофлуоресцеїн	5'-нітрофлуоресцеїн
pK_{a0}	1.06±0.01(0.98)	1.86 ± 0.01 (1.78)	1.87 ± 0.02(1.78)
pK_{a1}	2.82± 0.01 (2.9)	3.66 ± 0.01(3.74)	3.68 ± 0.02(3.76)
pK_{a2}	6.28± 0.01(6.54)	6.36 ± 0.01(6.62)	6.54 ± 0.007(6.80)
$\lambda_{max}/\varepsilon$ (H ₃ R ⁺)×10 ⁻³	449 nm /55.72	443 nm /59.73	444 nm /60.29
$\lambda_{max}/\varepsilon$ (H ₂ R)×10 ⁻³	446 nm /43.89	439 nm /23.86	441 nm /26.56
$\lambda_{max}/\varepsilon$ (HR ⁻)×10 ⁻³	459 nm /31.44	457 nm /34.48	458 nm /35.21
	485 nm /29.96	477 nm /33.44	481 nm /33.84
$\lambda_{max}/\varepsilon$ (R ²⁻)×10 ⁻³	501 nm /93.1	497 nm /85.65	499 nm /94.03
α (H ₂ Z [±])	≈0.8	0.36	0.43
α (H ₂ Q)	> 0.01	0.11	0.07
α (H ₂ L)	≈0.2	0.53	0.50
$pK_{\pm,COOH}$	≈ 1.1	2.22	2.14
$pK_{0,OH}$	— ^d	2.74	2.93
$pK_{1,COOH}$	— ^d	2.78	2.60
$pK_{1,Z}$	≈ 2.7	3.30	3.39

^a Значення pK_a , наведені в дужках, є термодинамічними. ^b Молярні коефіцієнти поглинання ε подано в одиницях М⁻¹·см⁻¹. ^c Для флуоресцеїну значення pK_a становлять 2,22; 4,37 та 6,55; термодинамічні значення — 2,14; 4,45 та 6,80 [88]. ^d Точну оцінку зробити неможливо.

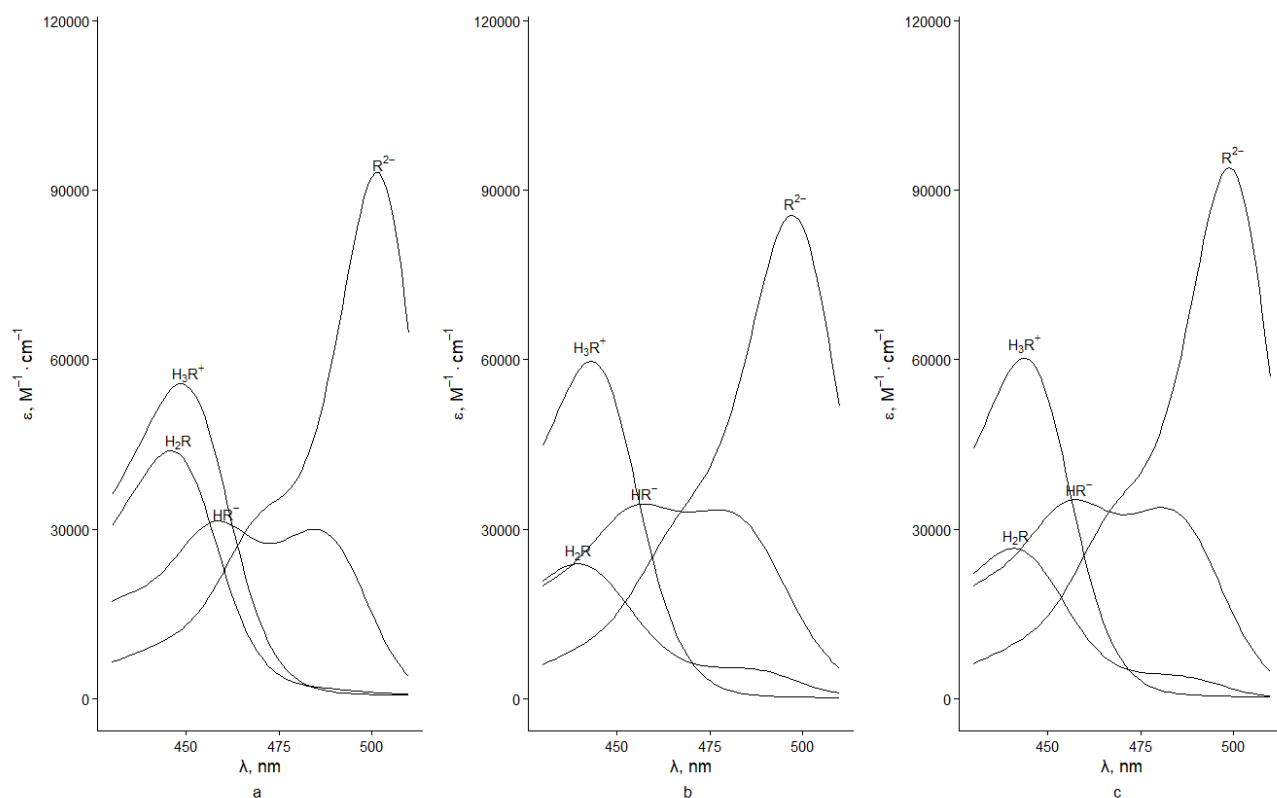


Рисунок 4.3. Спектри поглинання рівноважних форм 3'-нітрофлуоресцеїну (а), 4'-нітрофлуоресцеїну (b) та 5'-нітрофлуоресцеїну (с) у воді при 25 °С, $I = 0,05$ М (NaCl + буфер), за винятком спектрів катіонів.

Для пояснення отриманих даних слід розглянути детальну схему кислотно-основної та таутомерної рівноваги (Рисунок 4.4) [88,89].

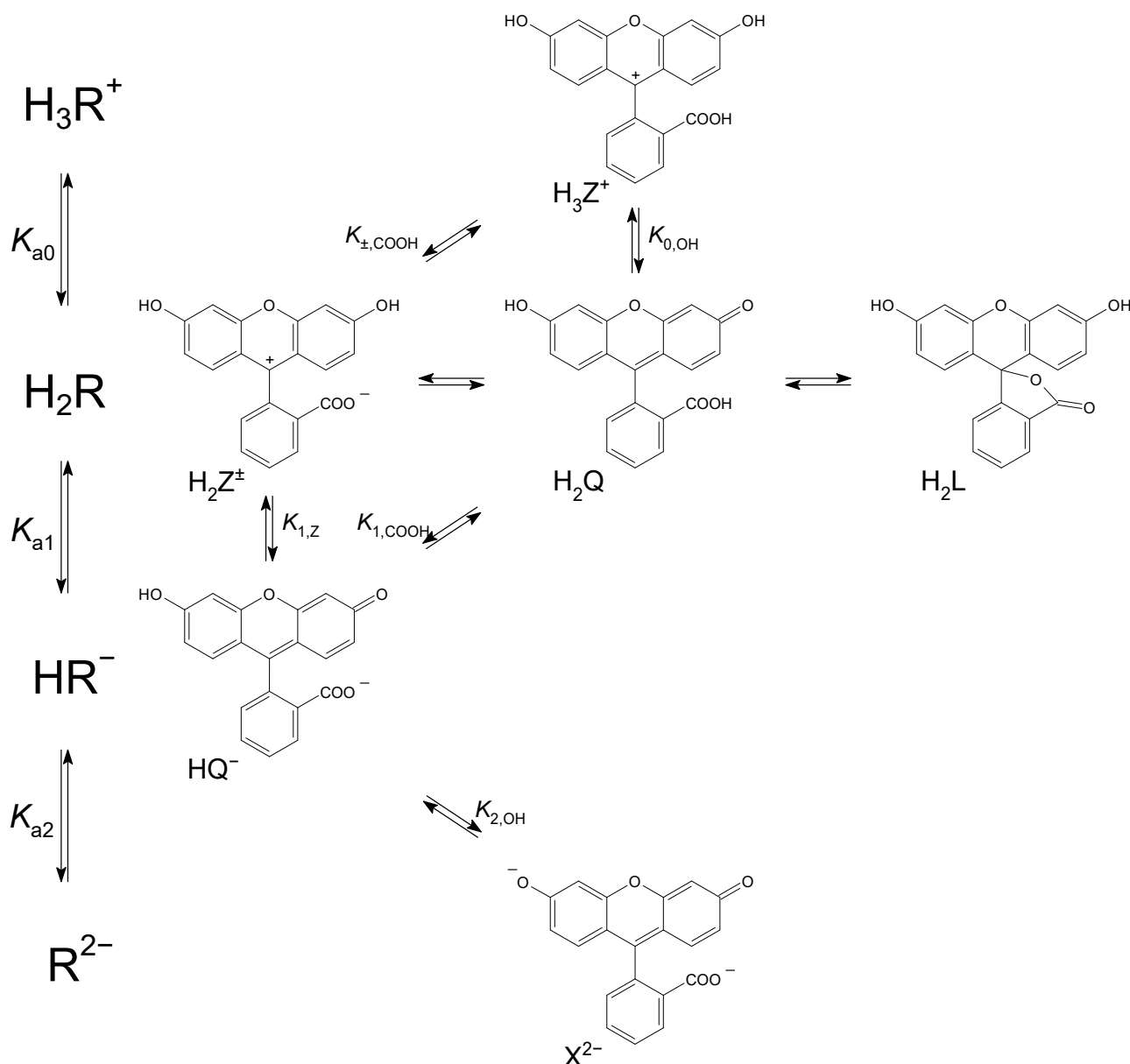


Рисунок 4.4 Йонні та молекулярні структури флуоресцеїну в розчині.

Добре відомо, що спектри поглинання різних таутомерних нейтральних форм барвників флуоресцеїну демонструють певну подібність спектрам йонних форм. Це стосується як цвиттеріонної $H_2Z^\pm$, так і хіноїдної форми H_2Q у видимій області спектру. Ці спектри аналогічні спектрам катіонної форми H_3R^+ (яка відповідає структурі H_3Z^+ , зображеній на Рисунок 4.5) та аніонної форми HR^- (структура HQ^- на Рисунок 4.5) відповідно [88,89]. На основі таких подібностей можна коректно порівнювати таутомерні форми, визначаючи їхні кінетичні та термодинамічні параметри.

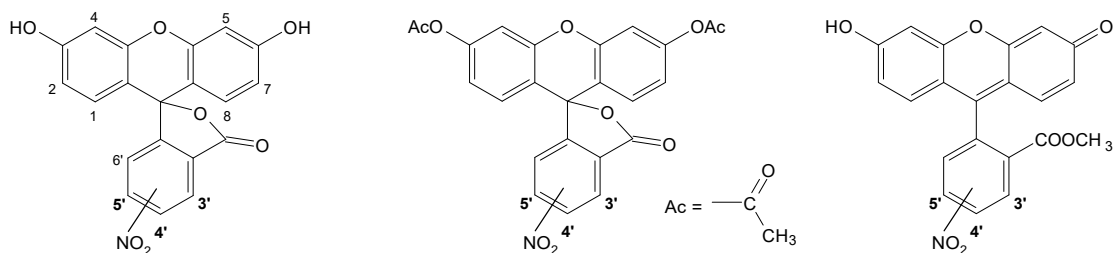


Рисунок 4.5 Молекулярні структури нітрофлуоресцеїнів, їх діацетатів та естерів.

Дисоціація карбоксильної групи ($\text{COOH} \rightarrow \text{COO}^- + \text{H}^+$) має незначний вплив на спектри, призводячи до невеликого гіпсохромного зсуву смуги поглинання. Лактонний таутомер H_2L є безбарвним. Це відбувається через те, що в його молекулі атом вуглецю C_9 перебуває в sp^3 -гібридизованому стані.

Щоб оцінити частки різних форм барвника, у дослідженні використовувалися спектри катіонної та аніонної форм замість відповідних таутомерних форм H_2R . Знаючи, що дисоціація COOH групи викликає лише невеликий зсув максимуму поглинання, можна оцінити частку кожної з форм, враховуючи ці зміни. В таблиці 4.1 наведено ці частки для різних форм молекул барвників.

Такий підхід дозволяє ефективно оцінити рівноваги між різними формами молекул та їхні властивості в залежності від середовища та реакційних умов.

Для незаміщеного флуоресцеїну раніше були визначені такі частки: $\alpha (\text{H}_2\text{Z}^+) = 0,22$, $\alpha (\text{H}_2\text{Q}) = 0,11$ та $\alpha (\text{H}_2\text{L}) = 0,67$.^[88] Це означає, що найбільшу частину становить лактонний таутомер (H_2L), за ним слідує цвиттеріонний таутомер (H_2Z^+), а найменшу частку складає хіноїдний таутомер (H_2Q). Такі значення є типовими для незаміщеного флуоресцеїну, де лактонний таутомер найбільш стабільний за досліджуваних умов.^[89]

У випадку нітропохідних флуоресцеїнів, стабільність цвиттеріонного таутомера збільшується, що зумовлено підвищеною кислотністю групи COOH завдяки впливу групи NO_2 . Ця група є електронним акцептором, що підвищує кислотність молекули та стабілізує цвиттеріонну форму. Як наслідок нітрогрупа,

що знаходиться в позиціях 3', 4' та 5' на молекулі, має значний вплив на стабільність таутомерів.

Особливу роль відіграє *орто*-ефект у 3'-нітрофлуоресцеїні. *Орто*-положення нітрогрупи по відношенню до COOH значно впливає на стабільність таутомерів, що ускладнює точне визначення часток хіноїдного та лактонного таутомерів у цьому випадку.

У випадку інших двох барвників, частки цвиттеріонного та хіноїдного таутомерів можна оцінити більш надійно, оскільки у цих випадках вплив *орто*-ефекту є меншим, і рівновага між формами є більш стабільною. Ці результати наведені в Таблиці 4.1.

Згідно з отриманими даними, рівноваги та таутомерні частки можна описати за допомогою рівнянь, що впливають із схеми зображеної на Рисунку 4.4. Зокрема, рівняння (4.4) та (4.5), які дозволяють більш точно описати дисоціаційні та таутомерні процеси для кожної молекули.

$$pK_{a0} = pK_{\pm, \text{COOH}} + \log \alpha(\text{H}_2\text{Z}^{\pm}) = pK_{0, \text{OH}} + \log \alpha(\text{H}_2\text{Q}) \quad (4.4)$$

$$pK_{a1} = pK_{1, \text{COOH}} - \log \alpha(\text{H}_2\text{Q}) = pK_{1, \text{Z}} - \log \alpha(\text{H}_2\text{Z}^{\pm}) \quad (4.5)$$

Термодинамічні значення мікроскопічних констант дисоціації для незаміщеного флуоресцеїну, представлені в дослідженні, показують важливі аспекти поведінки молекули при зміні рН середовища. Були отримані наступні значення: $pK_{\pm, \text{COOH}} = 2,80$, $pK_{0, \text{OH}} = 3,10$, $pK_{1, \text{COOH}} = 3,49$ та $pK_{1, \text{Z}} = 3,79$ [88]. Ці константи дисоціації відображають стабільність різних форм молекул флуоресцеїну при різних значеннях рН. Зокрема, $pK_{\pm, \text{COOH}}$ відповідає дисоціації карбоксильної групи, а $pK_{0, \text{OH}}$ та $pK_{1, \text{Z}}$ стосуються гідроксильної групи та інших структурних елементів молекули, що відображають їхню кислотно-основну поведінку.

Зниження $pK_{1, \text{COOH}}$ для 4'- та 5'-нітрофлуоресцеїнів порівняно з вихідним незаміщеним флуоресцеїном є важливим індикатором впливу нітрогрупи.

Зниження становить 0,71 для 4'-нітрофлуоресцеїну та 0,89 для 5'-нітрофлуоресцеїну, що свідчить про сильнішу кислотність у цих похідних. Це зниження значень $pK_{1,COOH}$ показує, що нітрогрупа в таких положеннях значно збільшує кислотність молекул, полегшуючи дисоціацію карбоксильної групи.

Що стосується $pK_{\pm,COOH}$, то для 4'- та 5'-нітрофлуоресцеїнів зниження становить 0,58 та 0,66 відповідно. Це вказує на те, що нітрогрупа в *мета*- та *пара*-положеннях по відношенню до карбоксильної групи також має вплив на кислотно-основну рівновагу, хоча цей вплив менш виражений порівняно з $pK_{1,COOH}$.

Ці зміни у значеннях дисоціаційних констант корелюють з *мета*- та *пара*-ефектами нітрогрупи в бензойній кислоті, що є підтвердженням теоретичних розрахунків і співвідносяться з відомими значеннями $\sigma_m = 0,71$ та $\sigma_p = 0,78$, які використовуються для оцінки електронного ефекту замісників у ароматичних сполуках. Ці дані підтверджують, що зміщення в кислотно-основних рівновагах нітрофлуоресцеїнів є результатом електронних ефектів нітрогрупи, які полегшують дисоціацію на певних етапах реакцій, що важливо для подальшого розуміння кінетики гідролізу цих відповідних сполук.

Згідно з отриманими результатами, ефекти для значень $pK_{0,OH}$ для 4'- та 5'-нітрофлуоресцеїнів складають 0,36 та 0,17 відповідно, що свідчить про різну міру впливу нітрогрупи на кислотність гідроксильної групи OH. Нітрогрупа в позиції 4' має значно більший вплив на кислотність гідроксильної групи порівняно з 5'-нітрофлуоресцеїном, що може бути пов'язано з положенням групи NO_2 у залишку фталевої кислоти. Відмінність у значеннях показує, як зміщення у молекулярній структурі може впливати на електронний ефект, навіть у відсутності прямої кон'югації між бензойним та ксантеновим фрагментами молекули.

Що стосується значень $pK_{1,Z}$, то для 4'- та 5'-нітрофлуоресцеїнів ефекти складають 0,49 та 0,40 відповідно. Це показує, що нітрогрупа у позиції 4' також має сильніший вплив на кислотно-основні властивості молекули, ніж група в позиції 5'. Однак, при цьому варто відзначити, що різниця між впливом 4'- та 5'-заміщення не

така велика, як у випадку $pK_{0,OH}$, що вказує на більш загальний вплив нітрогрупи на молекулу.

Ці результати демонструють, що навіть у випадку відсутності прямої кон'югації між бензойною та ксантеновою частинами молекули флуоресцеїну, сильні електрофільні властивості групи NO_2 можуть суттєво змінювати кислотність гідроксильної групи OH . Це підтверджує важливість електронних ефектів, які можуть поширюватися на молекули, навіть якщо між певними частинами молекули немає прямого зв'язку. У цьому контексті також важливо, що 4'-заміщення має більший ефект, оскільки знаходиться в *пара*-положенні щодо вузлового атома вуглецю, що відповідає за передачу електронів у молекулі флуоресцеїну.

Цікаво, що зниження значення $pK_{1,Z}$ для 3'-нітрофлуоресцеїну складає 0,78, що є значно вираженішим порівняно з іншими позиціями. Це зниження можна пояснити стеричним фактором, який впливає на молекулярну структуру. У випадку 3'-нітрофлуоресцеїну, через особливості просторового розташування нітрогрупи, між двома частинами молекули виникає зміна кута, що призводить до посиленого впливу нітрогрупи на загальну кислотність молекули. Це змінює конфігурацію молекули, що, в свою чергу, збільшує кислотність в цьому випадку.^[90]

Додатково варто звернути увагу на зниження значення pK_{a2} , яке відповідає $pK_{2,OH}$ на Рисунку 4.4. Це зниження значень для різних позицій нітрогрупи є наступним: для 3'-нітрофлуоресцеїну зниження становить 0,26, для 4'-нітрофлуоресцеїну — 0,18, а для 5'-нітрофлуоресцеїну зниження взагалі відсутнє (значення 0). Це свідчить про те, що вплив нітрогрупи на кислотно-основні властивості молекули є різним залежно від її положення на кільці флуоресцеїну, причому найбільш помітний ефект спостерігається у 3'-позиції, що ще раз підтверджує важливість стеричних і електронних факторів при формуванні рівноваги молекул в різних умовах середовища.

4.2 Рівновага у водно-етанольному розчині

Видимі спектри поглинання при різних значеннях рН у 50 мас. % водно-етанольному розчині та залежності молярної абсорбції від рН показані на Рисунках 4.6 та 4.7 відповідно.

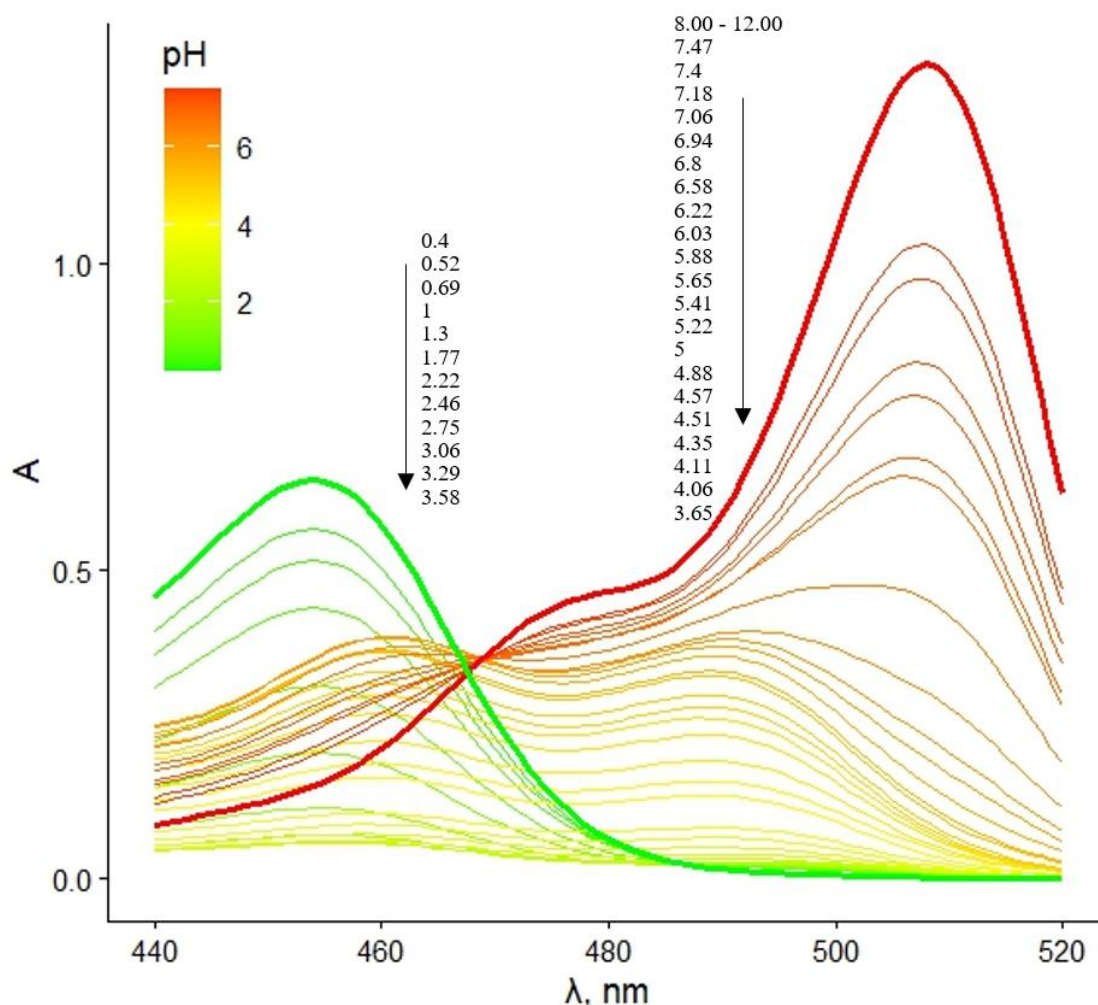


Рисунок 4.6. Спектри поглинання 3'-нітрофлуоресцеїну у 50 мас. % водно-етанольних розчинах за різних значень рН при 25 °С; $I = 0,05$ М, за винятком розчинів із рН < 1,3. Значення рН подано в шкалі активності до рН 1,3; нижче цього рівня використано концентраційну шкалу (логарифм концентрації HCl).

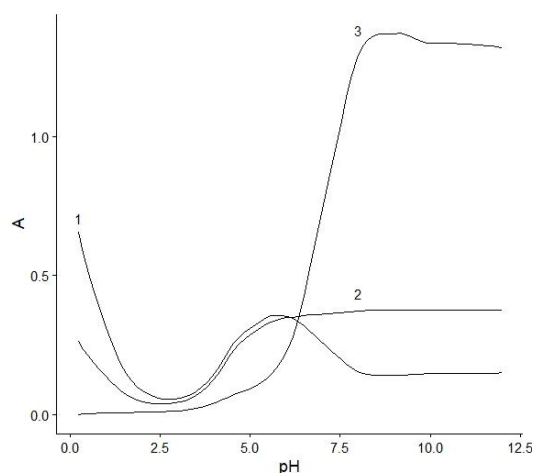


Рисунок 4.7. Залежність поглинання 3'-нітрофлуоресцеїну від рН у 50 мас. % водно-етанольному розчині при довжинах хвиль 454 нм (1), 470 нм (2) та 508 нм (3); 25 °С, $I = 0,05$ М, за винятком розчинів із рН нижче 1,3.

У Таблиці 4.2 наведені результати дослідження рівноваг у 50 мас. % водно-етанольному розчині. Відносна діелектрична проникність цього розчинника при 25 °С становить 49,0 [88]. Це значення є важливим, оскільки воно характеризує здатність розчинника екранувати електричні заряди молекул, що може впливати на дисоціацію та стійкість різних форм молекул барвників.

Таблиця 4.2 Параметри йонних рівноваг нітрофлуоресцеїнів у 50 мас. % етанолі, $I = 0,05$ М^а).

Параметри ^b	3'- нітрофлуоресцеїн	4'- нітрофлуоресцеїн	5'- нітрофлуоресцеїн
pK_{a0}	$0,94 \pm 0,005$ (0,78) ^b	$1,12 \pm 0,004$ (0,96)	$0,92 \pm 0,008$ (0,76)
pK_{a1}	$4,33 \pm 0,01$ (4,49)	$5,26 \pm 0,01$ (5,42)	$5,30 \pm 0,01$ (5,46)
pK_{a2}	$6,97 \pm 0,01$ (7,44)	$7,03 \pm 0,01$ (7,50)	$7,12 \pm 0,01$ (7,59)
λ_{max}/ϵ (H_3R^+) $\times 10^{-3}$	454/49,39	448 / 57,474	449/58,175
λ_{max}/ϵ (H_2R) $\times 10^{-3}$	444 / 2,631 479 / 1,645	459 / 1,183; 489 / 1,108	455 / 1,482 481 / 1,123
λ_{max}/ϵ (HR^-) $\times 10^{-3}$	448 / 31,519 477 / 27,880	457 / 34,744; 482 / 32,195	459 / 38,132; 486 / 35,741
λ_{max}/ϵ (R^{2-}) $\times 10^{-3}$	508 / 101,08	503 / 90,206	506 / 111,796

Продовження Таблиці 4.2.

α ($\text{H}_2\text{Z}^\pm$)	0,018	—	—
α (H_2Q)	0,058	0,034	0,035
α (H_2L)	0,929	0,966	0,965
$\text{p}K_{0,\text{OH}}$	2,20	2,43	2,22
$\text{p}K_{1,\text{COOH}}$	3,24	3,95	4,00

^a Значення $\text{p}K_a$, наведені в дужках, є термодинамічними. ^b Молярні коефіцієнти поглинання ϵ подано в одиницях $\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. ^c Для флуоресцеїну термодинамічні значення $\text{p}K_a$ становлять 0,94; 6,82 та 7,66 [88].

Термодинамічні значення констант дисоціації для досліджуваних сполук були обчислені за допомогою рівняння Дебая–Гюккеля. Значення коефіцієнтів активності для одно- та двозаряджених йонів складають 0,69 і 0,23, відповідно. Спектри окремих форм барвників, що були досліджені в цьому розчиннику, представлені на рисунку 4.8.

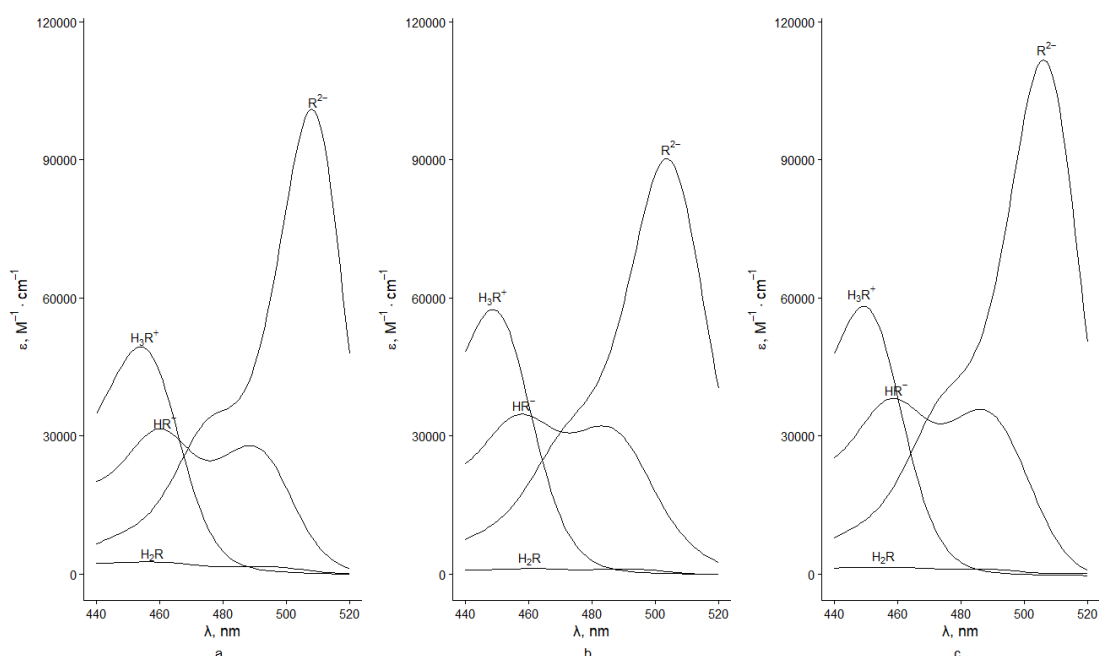


Рисунок 4.8. Спектри поглинання рівноважних форм 3'-нітрофлуоресцеїну (а), 4'-нітрофлуоресцеїну (b) та 5'-нітрофлуоресцеїну (c) у 50 мас.% водно-етанольному розчині; 25 °C, $I = 0,05 \text{ M}$ ($\text{NaCl} + \text{буфер}$), за винятком спектрів катіонів.

При переході від води до цього бінарного розчинника найпомітнішою зміною є значне зниження молярної абсорбції нейтральної форми H_2R . Це явище можна пояснити значним зсувом рівноваги таутомерів у бік безбарвного лактонного таутомера.

Використовуючи підхід, описаний раніше, було оцінено значення α (H_2Q) для H_2Q , що відповідає хіноїдному таутомеру. При цьому не було зафіксовано серйозних ознак наявності цвиттеріонної форми $H_2Z^\pm$, що зазвичай має місце у водних розчинах. Це вказує на те, що у водно-етанольному розчині, в порівнянні з водним, стабільність цвиттеріонного таутомера зменшується, і він швидше переходить в інші форми.

Однак у випадку 3'-нітрофлуоресцеїну були зафіксовані деякі ознаки присутності таутомеру $H_2Z^\pm$. Це, з одного боку, свідчить про нестабільність хіноїдної таутомерної форми в органічних розчинниках, де розчинник має меншу полярність, ніж вода. З іншого боку, наявність $H_2Z^\pm$ також підтверджує підвищену кислотність $COOH$ групи в присутності NO_2 групи в *орто*--положенні, що має електронний вплив на молекулу. Це електронний ефект нітрогрупи значно підвищує кислотність молекули, що призводить до того, що невелика частина молекул все ж залишається в цвиттеріонній формі $H_2Z^\pm$ навіть у 50 мас. % водно-етанольному розчині.

Ці спостереження демонструють важливість електронних та стеричних ефектів, які впливають на стабільність таутомерних форм барвників у різних середовищах, зокрема в органічних розчинниках, і допомагають краще розуміти механізми, що лежать в основі таких перетворень.

Значення $pK_{0,OH}$ для 4'-нітро- та 5'-нітрофлуоресцеїну демонструють значні зміни при переході від води до водно-етанольного розчину. Так, для 4'-нітрофлуоресцеїну значення $pK_{0,OH}$ зменшується на 0,31 одиниці, а для 5'-нітрофлуоресцеїну — на 0,71 одиниць. Це свідчить про те, що в водно-етанольному

розчині нітрогрупа на 4' та 5' позиціях впливає на кислотно-основну поведінку молекул, змінюючи їхню здатність до протонування.

Однак для значень $pK_{1,COOH}$ спостерігається інший ефект — вони збільшуються для обох нітропохідних флуоресцеїнів. Для 4'-нітрофлуоресцеїну $pK_{1,COOH}$ збільшується на 1,17 одиниці, а для 5'-нітрофлуоресцеїну — на 1,40 одиниць при переході від води до водно-етанольного розчину.

Такі зміни є типовими для катіонних і нейтральних кислот у різних середовищах. Зокрема, флуоресцеїн демонструє аналогічні, але менш виражені зміни в цих значеннях, що дорівнюють $-0,69$ для $pK_{0,OH}$ та $+1,89$ для $pK_{1,COOH}$ в водному середовищі [88].

Що стосується різниці між $pK_{1,COOH}$ для флуоресцеїну і його нітропохідними, вона збільшується з переходом до водно-етанольного розчину. Для 4'-нітро- та 5'-нітрофлуоресцеїну різниця складає 1,43 та 1,38 відповідно, що є значним збільшенням порівняно з водним розчином, де ця різниця складає 0,71 та 0,89 для цих барвників. Це свідчить про те, що нітрогрупа має більший вплив на кислотно-основні рівноваги в неводних середовищах.

Загалом, ці зміни дозволяють зробити висновок, що постійна ρ за Гамметтом, яка відображає чутливість молекули до змін у середовищі, збільшується в неводних розчинах, таких як водно-етанольні, порівняно з водою. Це свідчить про підвищену чутливість молекул нітрофлуоресцеїнів до змін у середовищі, що, ймовірно, впливає на їхню реакційну здатність та стабільність в таких розчинах.

4.3 Метилловий естер 3'нітрофлуоресцеїну у водно-етанольному розчині

Для глибшого розуміння рівноваги, що встановлюється у водно-етанольному розчині, були визначені константи дисоціації метилового естеру 3'-нітрофлуоресцеїну. Це дозволяє отримати точні дані щодо того, як заміщення групи $COOH$ на метильну, впливають на кислотно-основну поведінку сполуки в різних середовищах, зокрема в органічних розчинниках. Вивчення дисоціації цього метилового естеру є важливим для порівняння з поведінкою інших нітропохідних

флуоресцеїну, а також для розуміння загальних тенденцій у поведінці молекул при зміні середовища. Це дає змогу точніше прогнозувати їхні властивості і реакційну здатність у різних умовах, що є важливим для подальшого дослідження їхньої кінетики. Схема дисоціації метилового естеру 3'-нітрофлуоресцеїну представлена на рисунку 4.9.

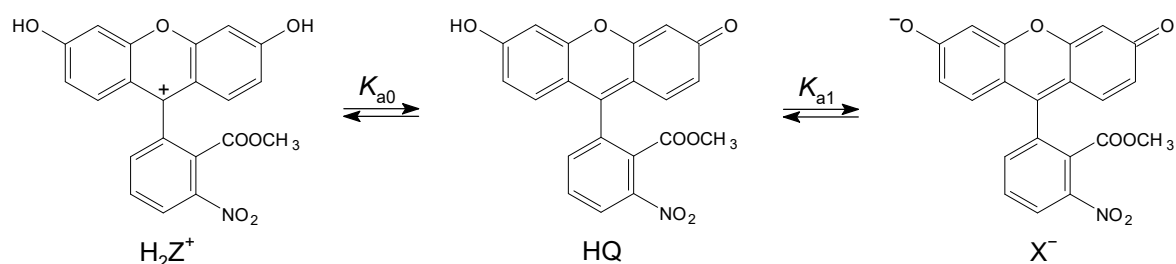


Рисунок 4.9. Дисоціація метилового естеру 3'-нітрофлуоресцеїну в розчині.

Спектри поглинання при різних значеннях рН представлені на рисунку 4.10, що дає можливість оцінити зміни поглинання барвника в залежності від кислотності середовища. Рівноважні параметри, отримані в результаті вимірювань, наведені в Таблиці 4.3, що дозволяє детально оцінити дисоціаційні характеристики барвника.

Таблиця 4.3 Параметри рівноваг метилового естеру 3'-нітрофлуоресцеїну у 50 мас. % етанолі^(a, b).

pK_{a0}	1.79 ± 0.01 (1.83) ^c
pK_{a1}	6.43 ± 0.02 (6.59)
$\lambda_{\max} / \varepsilon$ (H_2R^+) $\times 10^{-3}$	456 nm / 63.19
$\lambda_{\max} / \varepsilon$ (HR) $\times 10^{-3}$	462 nm / 33.34 492 nm / 28.34
$\lambda_{\max} / \varepsilon$ (R^-) $\times 10^{-3}$	514 nm / 107.29

^a $I = 0,05$ М. ^b Молярні коефіцієнти поглинання ε подано в одиницях $M^{-1} \cdot cm^{-1}$.

Значення pK_{a0} цього барвника відповідає значенню $pK_{0,OH}$ вихідної сполуки, що показано в Таблиці 4.2. З огляду на можливі похибки при вимірюваннях, можна вважати, що співпадіння результатів є задовільним. Для флуоресцеїну та його етилового естеру в 50 мас. % водно-етанольному розчині значення $pK_{0,OH}$ складають 2,41 та 2,05 відповідно [88], що відображає зміни кислотно-основних властивостей молекул при заміщенні групи $COOH$ на естер.

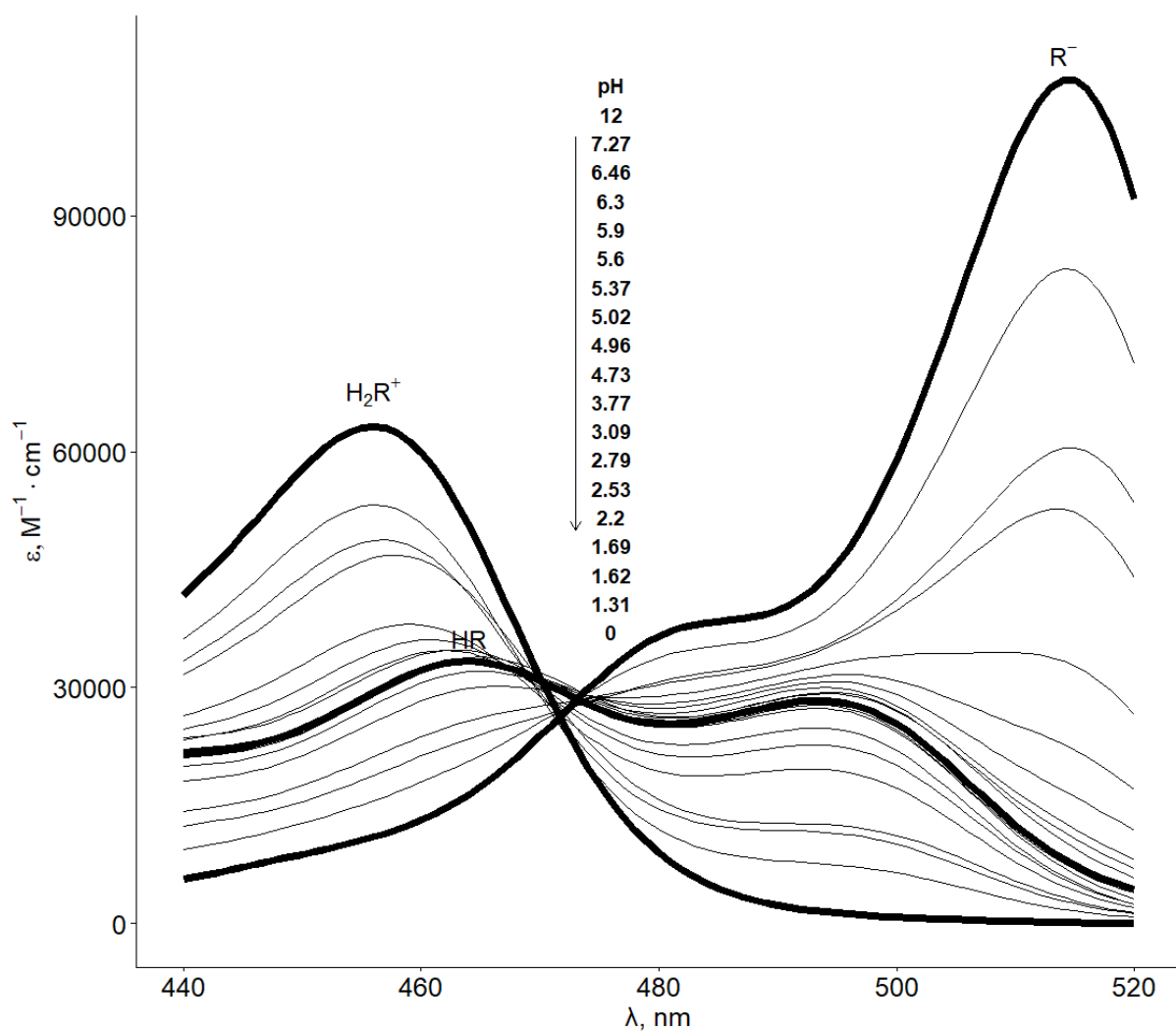


Рисунок 4.10. Спектри поглинання метилового естеру 3'-нітрофлуоресцеїну у 50 мас. % етанолі при 25 °C за різних значень pH; $I = 0,05$ M, за винятком розчинів із $pH < 1,3$. Значення pH подано в шкалі активності до pH 1,3; нижче цього рівня використано концентраційну шкалу (логарифм концентрації HCl). Жирні криві відповідають спектрам поглинання рівноважних форм.

Різницю між значеннями $pK_{a1} = 6,59$ для метилового естеру та $pK_{a2} = 7,44$ можна пояснити впливом негативного заряду карбоксилатної групи на дисоціацію гідроксильної групи у ксантоновій частині молекули. Цей вплив можна охарактеризувати через рівняння Бьєррума – Кірквуда – Вестгаймера, яке описує взаємодію між зарядженими частинами молекули та їх вплив на кислотно-основну рівновагу.^[88,90] Згідно з цим рівнянням, негативний заряд карбоксилатної групи може знижувати здатність гідроксильної групи до дисоціації, що призводить до зменшення кислотності молекули, тобто збільшення значення pK_a для гідроксильної групи на 0.85 одиниць. Враховуючи цей ефект, різниця між значенням pK_{a1} для метилового естеру та pK_{a2} для іншої форми молекули є результатом впливу такого електронного ефекту.

Крім того, порівняння значень pK_{a2} для флуоресцеїну та pK_{a1} для його етилового естеру показує різницю 0,95, що теж вказує на певні зміни в кислотно-основних властивостях молекул при заміщенні групи COOH в молекулі флуоресцеїну на етилову групу. Цей ефект можна пояснити змінами в молекулярній структурі та електронному середовищі після такої заміни.^[88]

4.4 Кінетика гідролізу у воді та у водно-етанольному середовищі

Аналогічно естерам флуоресцеїну для опису цього процесу гідролізу естерів нітрофлуоресцеїну використовується той самий метод визначення констант, що передбачає розрахунок констант швидкості псевдопершого порядку k' при фіксованому значенні рН. Це дозволяє спростити математичний опис реакції, де швидкість гідролізу залежить від концентрації гідроксид-іонів в розчині. Схема лужного гідролізу діацетилпохідних нітрофлуоресцеїнів представлена на рисунку 4.11.

Згідно з цією моделлю, константа швидкості k' виражається через рівняння $k' = k \cdot c(\text{HO}^-)$, де k — це константа швидкості для даного етапу реакції, а $c(\text{HO}^-)$ — концентрація гідроксид-іонів у розчині.

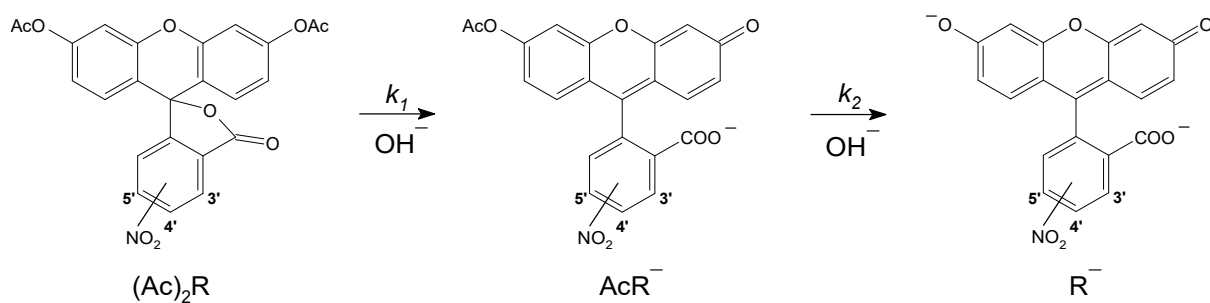


Рисунок 4.11. Лужний гідроліз діацетилпохідних нітрофлуоресцеїнів.

Спектральні дані, представлені на Рисунку 4.12, показують два основні типи спектрів забарвлених форм, що утворюються в ході реакції. Нормалізовані спектри чітко демонструють наявність цих двох форм, дозволяючи розрізнити їх у спектральному діапазоні.

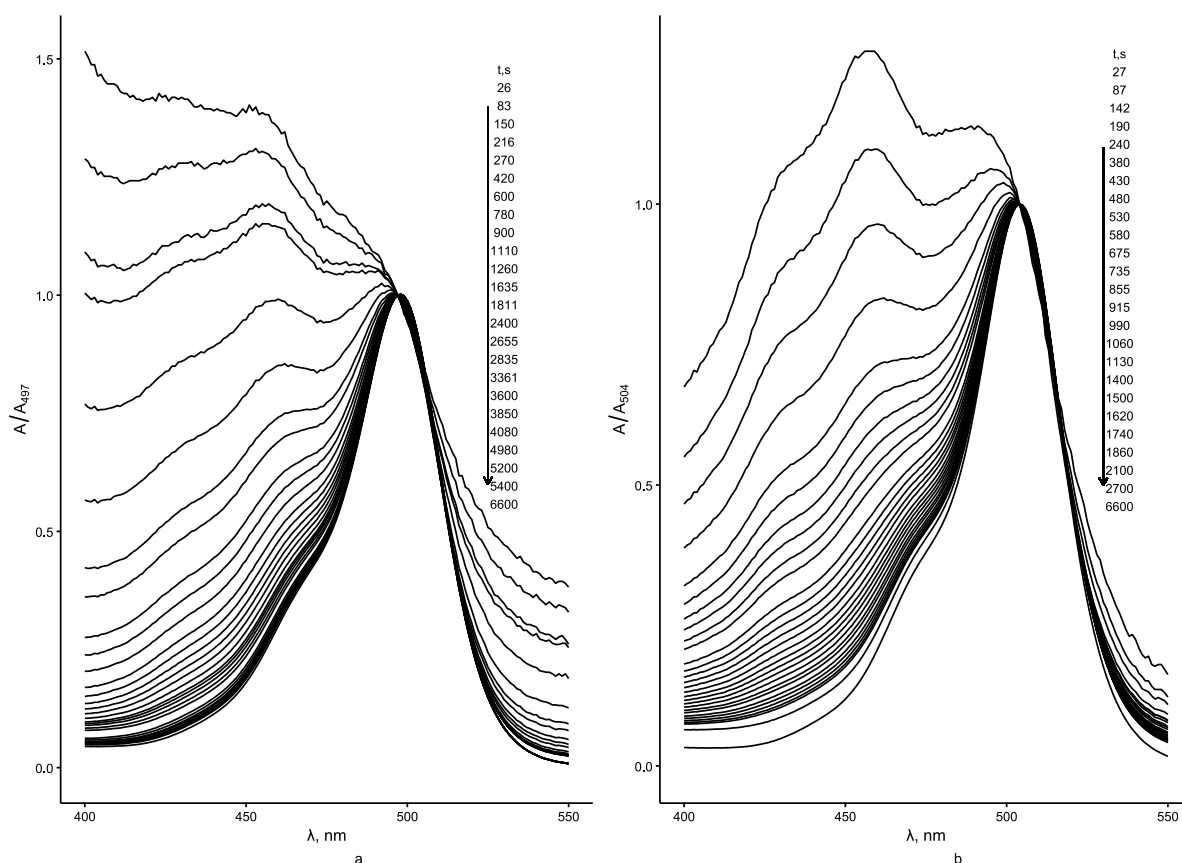


Рисунок 4.12. Нормалізовані спектри поглинання під час гідролізу 4'-нітрофлуоресцеїну у воді (а) та у 50 мас. % водно-етанольному розчині (b); 25 °C, $I = 0,05$ M (NaCl + буфер).

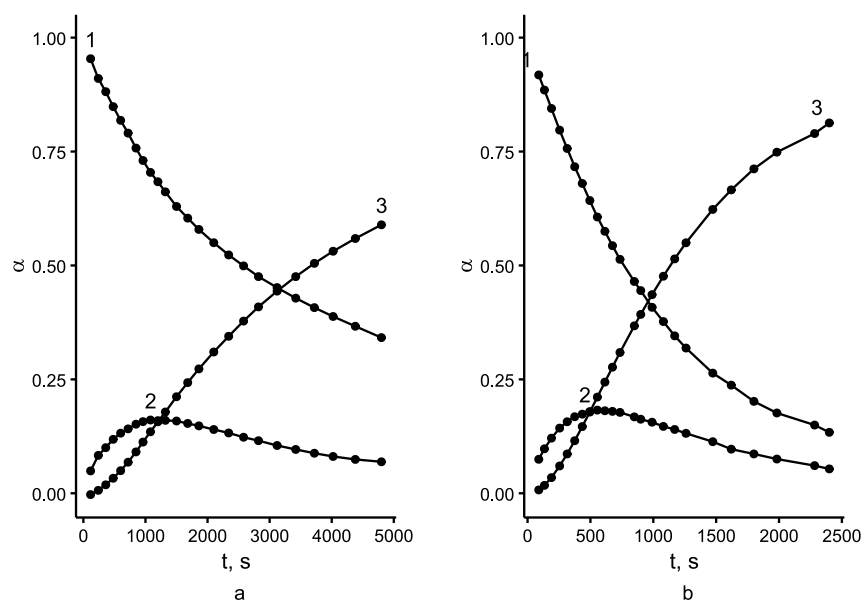


Рисунок 4.13. Залежності мольних часток $(Ac)_2R$ (1), AcR^- (2) та R^{2-} (3) 5'-нітрофлуоресцеїну у воді (а) та у 50 мас. % водно-етанольному розчині (b); 25 °C, $I = 0,05$ М (NaCl + боратний буфер).

Залежність часток трьох форм від часу представлена на рисунку 4.13. Кінетичні результати дослідження наведені в Таблиці 4.4.

Таблиця 4.4. Константи швидкості гідролізу нітрофлуоресцеїнів у розчині при 25 °C, $I = 0,05$ М.

Сполука	pH	k_1', c^{-1}	k_2', c^{-1}	k_2/k_1
Вода				
Діацетил флуоресцеїн	9.72	3.5 ± 0.2	4.5 ± 0.3	1.29
Діацетил 3'-нітрофлуоресцеїн	9.67	1.39 ± 0.04	6.72 ± 0.2	4.84
Діацетил 4'-нітрофлуоресцеїн	9.74	4.29 ± 0.13	12.2 ± 0.4	2.85
Діацетил 5'-нітрофлуоресцеїн	9.74	2.44 ± 0.13	9.56 ± 0.5	3.91
50 мас. % водно-етанольний розчин				
Діацетил флуоресцеїн	10.50	13.10 ± 0.4	26.00 ± 0.8	1.98
Діацетил 3'-нітрофлуоресцеїн	10.36	7.16 ± 0.08	27.83 ± 0.3	3.89
Діацетил 4'-нітрофлуоресцеїн	10.38	11.28 ± 0.33	24.69 ± 0.25	2.19
Діацетил 5'-нітрофлуоресцеїн	10.28	8.55 ± 0.19	27.71 ± 0.6	3.24

Порівняння значень k_1 та k_2 для певної сполуки в двох різних розчинниках показує, що в деяких випадках не спостерігається значних змін у кінетичних параметрах, а в інших — спостерігається уповільнення швидкості гідролізу у водно-етанольному розчині.

Особливо цікаво, що для всіх нітропохідних барвників значення k_2/k_1 , яке є співвідношенням констант швидкості другої стадії гідролізу до першої є більшим, ніж для вихідного флуоресцеїну. Це свідчить про те, що для нітропохідних барвників відбуваються певні зміни в реакційних механізмах або стабільності молекул у порівнянні з вихідною сполукою. Проте, причини цього явища не є до кінця зрозумілими і можуть залежати від специфічних взаємодій між молекулою та розчинником, а також від електронних ефектів, зумовлених наявністю нітрогрупи.

Вплив нітрогрупи на значення k_2' демонструє схожі тенденції з її впливом на K_{a2} . Хоча між ареновим кільцем і флуоресцеїновою частиною молекули немає кон'югації, електрофільні властивості нітрогрупи все ж викликають незначне збільшення значень як K_{a2} , так і k_2' .

Згідно з результатами, у воді значення pK_{a2} для флуоресцеїну та його нітропохідних є наступними: для флуоресцеїну 6,80, для 3'-нітрофлуоресцеїну 6,52, для 4'-нітрофлуоресцеїну 6,62 та для 5'-нітрофлуоресцеїну 6,80. Це свідчить про те, що наявність нітрогрупи в різних положеннях молекули дещо знижує кислотність, зменшуючи pK_{a2} у порівнянні з флуоресцеїном. Однак ці зниження є відносно незначними.

При перерахунку значень k_2' на рН 9,74 для тих самих зразків отримуємо такі значення швидкості другої стадії гідролізу: $4,93 \text{ с}^{-1}$ для флуоресцеїну, $7,89 \text{ с}^{-1}$ для 3'-нітрофлуоресцеїну, $12,2 \text{ с}^{-1}$ для 4'-нітрофлуоресцеїну та $9,56 \text{ с}^{-1}$ для 5'-нітрофлуоресцеїну. Це демонструє, що присутність нітрогрупи в молекулі сприяє збільшенню швидкості другого етапу гідролізу, і знову ж таки, найбільший ефект спостерігається для 4'-нітрофлуоресцеїну, де нітрогрупа знаходиться в *мета*-положенні відносно карбоксильної групи і в *пара*- до атому C_9 .

У водно-етанольному розчині, де рН становить 10,36, відповідні значення pK_{a2} для тих самих сполук зростають: для флуоресцеїну 7,66, для 3'-

нітрофлуоресцеїну 7,44, для 4'-нітрофлуоресцеїну 7,50 та для 5'-нітрофлуоресцеїну 7,59. Це вказує на те, що в присутності етанолу кислотність молекул дещо підвищується, ймовірно, через зменшення полярності розчинника, що знижує стабільність дисоційованих форм молекул.

Що стосується значень k_2' у водно-етанольному розчині, то вони значно вищі: 18,8 s^{-1} для флуоресцеїну, 27,83 s^{-1} для 3'-нітрофлуоресцеїну, 25,57 s^{-1} для 4'-нітрофлуоресцеїну та 33,31 s^{-1} для 5'-нітрофлуоресцеїну. Це свідчить про те, що етанол, зменшуючи полярність середовища, підвищує швидкість другого етапу гідролізу, особливо для нітропохідних, де спостерігається більш виражений ефект у порівнянні з флуоресцеїном.

Таким чином, можна зробити висновок, що наявність нітрогрупи в молекулі флуоресцеїну суттєво впливає на кінетику гідролізу, збільшуючи швидкість другого етапу реакції, і що це збільшення виразніше в органічних розчинниках, таких як водно-етанольний.

Вплив нітрогрупи на першу константу швидкості (k_1') не такий чітко виражений, як на другу константу. Це можна пояснити кількома факторами. З одного боку, sp^3 -гібридизація вузлового атома вуглецю C_9 може обмежувати електронний вплив нітрогрупи на реакцію. Таке обмеження впливає на реакційну здатність молекули, оскільки в sp^3 -гібридизованому стані атом вуглецю не здатний передавати електрони так ефективно, як в sp^2 -гібридизованому стані, що може бути важливим для реакцій з нуклеофільними агентами, такими як гідроксид-йон. З іншого боку, вплив нітрогрупи на k_1' також важко оцінити через відсутність константи рівноваги, яку можна було б порівняти з константою швидкості k_1' .

4.4 Кінетика гідролізу в організованих розчинах ПАР і каліксаренів

Аналогічно системам у воді і водно-етанольному розчині, гідроліз нітропохідних діацетилфлуоресцеїну в організованих розчинах є двостадійним процесом, як показано на рисунку 4.11. Загалом, в організованих розчинах, зокрема в присутності ЦТАБ та каліксарену, спостерігається значне прискорення обох стадій гідролізу порівняно з гомогенним водним середовищем.

Подібно до водних і водно-етанольних розчинів, спектральні дані, представлені на Рисунку 4.14, ілюструють два основні типи забарвлених форм, що виникають під час реакції, які чітко розрізняються на нормалізованих спектрах у відповідному діапазоні.

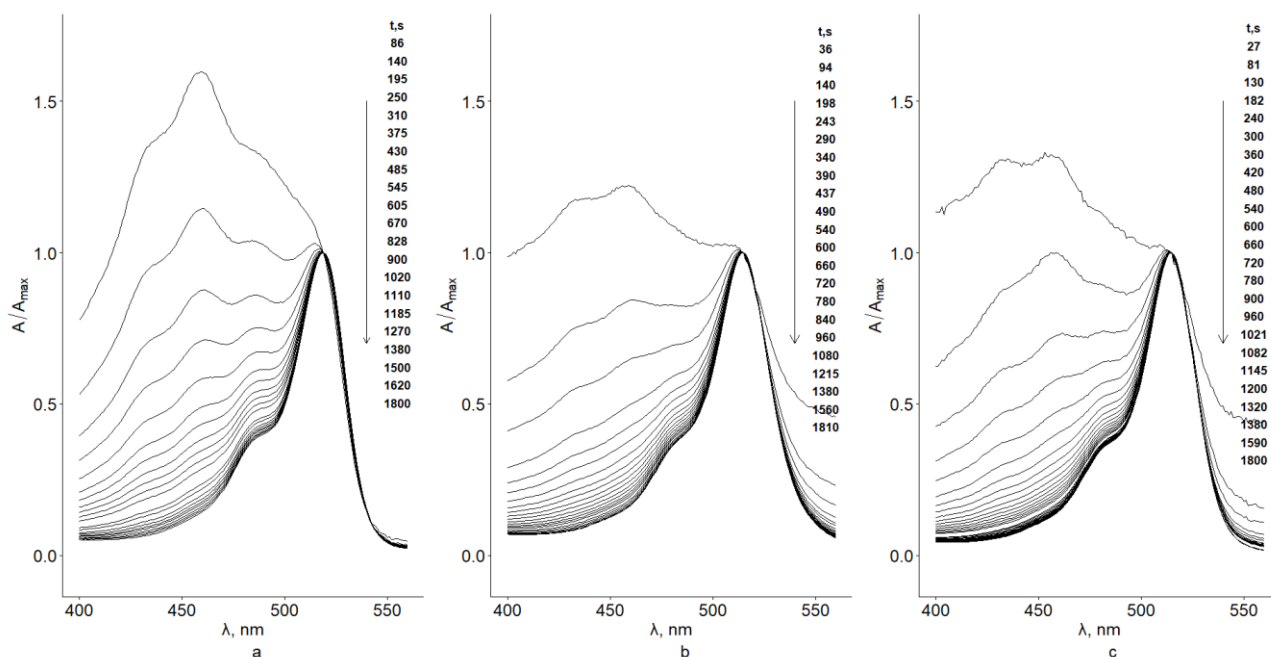


Рисунок 4.14. Нормалізовані спектри поглинання під час гідролізу 3'-нітрофлуоресцеїну (a), 4'-нітрофлуоресцеїну (b) та 5'-нітрофлуоресцеїну (c) у водному розчині каліксарену C_{12} -C4A-Ch; 25 °C, $I = 0,05$ M (NaCl + буфер).

Залежність часток трьох форм від часу представлена на Рисунку 4.15.

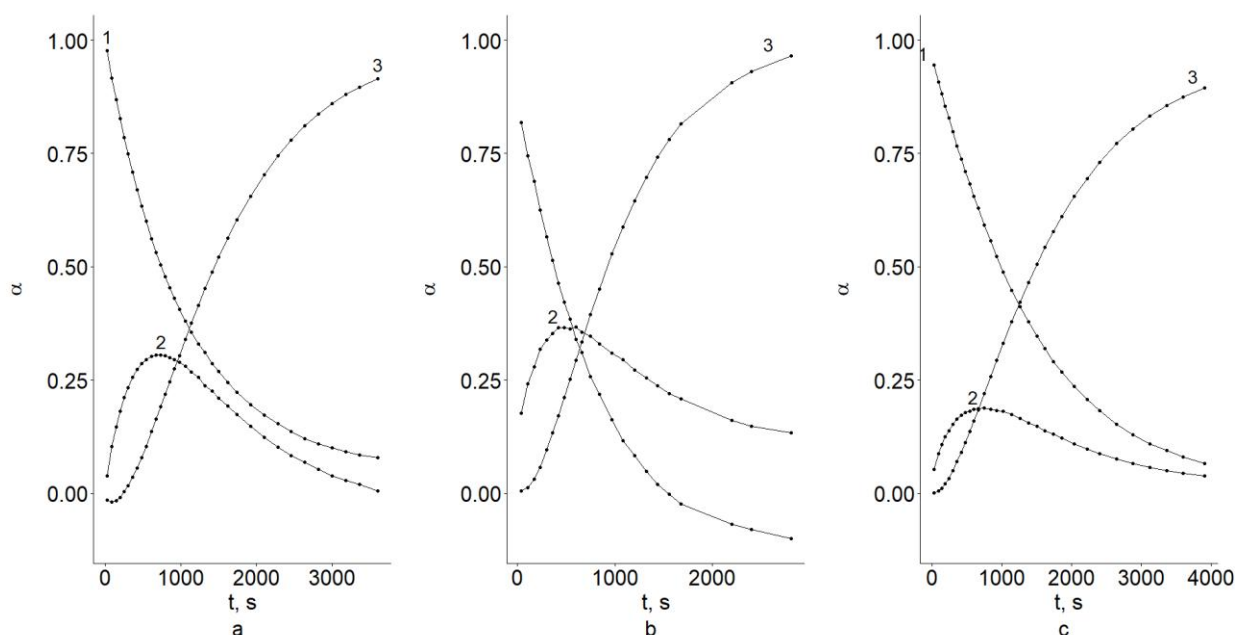


Рисунок 4.15. Залежності мольних часток $(Ac)_2R$ (1), AcR^- (2) та R^{2-} (3) 3'-нітрофлуоресцеїну (а), 4'-нітрофлуоресцеїну (b) та 5'-нітрофлуоресцеїну (с) у водному розчині C_{12} -Bn-Ch; 25 °C; 25 °C, $I = 0,05$ М (NaCl + боратний буфер).

У таблиці 4.5 наведено значення k_1' і k_2' для діацетилфлуоресцеїну та його 3'-, 4'-, 5'-нітропохідних у трьох типах організованих середовищ. Для зручності порівняння даних для різних систем всі значення констант були приведені до єдиного рН 8.64. Ці дані представлені в таблиці 4.6. З отриманих даних видно, що характер впливу організованого середовища на швидкості обох стадій гідролізу суттєво залежить від типу організованих розчинів.

Таблиця 4.5 Константи швидкості гідролізу нітрофлуоресцеїнів у розчині при 25 °C, $I = 0,05$ М.

Сполука	рН	λ_{max}	k_1', c^{-1}	k_2', c^{-1}	k_2/k_1
ЦТАБ					
Діацетил флуоресцеїн	9.16	501	3.49 ± 0.08	10.5 ± 0.3	3.0
Діацетил 3'-нітрофлуоресцеїн	9.22	514	3.21 ± 0.06	19.2 ± 0.4	5.97
Діацетил 4'-нітрофлуоресцеїн	9.14	509	3.4 ± 0.3	10.7 ± 0.9	3.18
Діацетил 5'-нітрофлуоресцеїн	9.17	509	1.80 ± 0.19	9.3 ± 0.9	5.17

Продовження Таблиці 4.5.

C ₁₂ -Bn-Ch					
Діацетил флуоресцеїн	8.64	502	7.9±0.2	9.6±0.2	1.2
Діацетил 3'-нітрофлуоресцеїн	7.87	514	7.6±0.2	10.9±0.3	1.4
Діацетил 4'-нітрофлуоресцеїн	7.81	510	19.5±1.5	19.6±1.5	1
Діацетил 5'-нітрофлуоресцеїн	7.85	511	7.0±0.1	21.8±0.1	3.1
C ₁₂ -C4A-Ch					
Діацетил флуоресцеїн	8.44	505	36.2±0.08	182.1±0.4	5.0
Діацетил 3'-нітрофлуоресцеїн	7.87	519	21.33±0.9	29.0±1.2	1.4
Діацетил 4'-нітрофлуоресцеїн	7.83	514	32.52±1.8	50±3	1.5
Діацетил 5'-нітрофлуоресцеїн	7.85	514	10.4±0.2	39.9±0.6	3.8

Таблиця 4.6 Константи швидкості гідролізу нітрофлуоресцеїнів у розчині при 25 °C, $I = 0,05$ М перераховані до рН=8.64.

Сполука	$k_1', \text{с}^{-1}$	$k_2', \text{с}^{-1}$	k_2/k_1
ЦТАБ			
Діацетил флуоресцеїн	1.1	3.2	3.0
Діацетил 3'-нітрофлуоресцеїн	0.8	5.0	5.97
Діацетил 4'-нітрофлуоресцеїн	1.1	3.4	3.18
Діацетил 5'-нітрофлуоресцеїн	0.5	2.7	5.17
C ₁₂ -Bn-Ch			
Діацетил флуоресцеїн	7.9	9.6	1.2
Діацетил 3'-нітрофлуоресцеїн	45.0	64.2	1.4
Діацетил 4'-нітрофлуоресцеїн	131.6	132.6	1
Діацетил 5'-нітрофлуоресцеїн	43.1	134.2	3.1

Продовження Таблиці 4.6.

C ₁₂ -C4A-Ch			
Діацетил флуоресцеїн	57.4	288.6	5.0
Діацетил 3'-нітрофлуоресцеїн	125.6	170.9	1.4
Діацетил 4'-нітрофлуоресцеїн	210.0	323.9	1.5
Діацетил 5'-нітрофлуоресцеїн	64.0	245.8	3.8
Вода			
Діацетил флуоресцеїн	0.29	0.37	1.29
Діацетил 3'-нітрофлуоресцеїн	0.13	0.63	4.83
Діацетил 4'-нітрофлуоресцеїн	0.34	0.97	2.85
Діацетил 5'-нітрофлуоресцеїн	0.19	0.76	3.92

У присутності мицелярного розчину ЦТАБ константи швидкості гідролізу для нітропохідних залишаються невисокими, однак демонструють чітке зростання порівняно з водним середовищем. Значення k_1' варіюють у межах 0,5–1,1 с⁻¹, а k_2' — від 2,7 до 5,0 с⁻¹. Спостерігається збільшення швидкості як першої, так і другої стадії реакції у 2–7 разів у порівнянні з аналогічними процесами у воді. Важливо, що для всіх нітропохідних друга стадія залишається суттєво швидшою за першу, що є типовим для гідролізу естерів флуоресцеїну у лужному середовищі. Найбільші абсолютні значення констант спостерігаються для 3'- і 4'-нітропохідних, що свідчить про позитивний вплив електронно-акцепторного замісника на стабільність проміжного продукту і полегшення нуклеофільної атаки. Проте загальний каталітичний ефект міцел ЦТАБ залишається помірним. Це може бути пов'язано з тим, що структура міцели створює лише певне підвищення локальної концентрації реагентів без достатньої специфічної взаємодії із субстратом. Таким чином, у системі ЦТАБ реалізується мицелярний каталіз, що помірно пришвидшує перебіг гідролізу завдяки електростатичній концентрації HO^- і частковій сольобілізації субстрату.

Більш суттєве прискорення реакції спостерігається у присутності амонієвого амфіфілу C₁₂-Вп-Ch. Константи швидкості для першої стадії зростають до 43,1–

$131,6 \text{ s}^{-1}$, а для другої — до $64,2\text{--}134,2 \text{ s}^{-1}$. Відносно водного середовища це означає підвищення швидкості гідролізу приблизно у 50–100 разів. Таке прискорення свідчить про набагато ефективнішу організацію мікрооточення субстрату порівняно із ЦТАБ. Імовірно, агрегація молекул $\text{C}_{12}\text{-Bn-Ch}$ забезпечує не тільки локальне накопичення гідроксид-йонів, але й створення гідрофобних осередків, де поляризований субстрат краще стабілізується та орієнтується для взаємодії з нуклеофілом. Цікаво, що співвідношення між швидкостями першої та другої стадій у цій системі зменшується, наближаючись до одиниці для 3'- і 4'-нітропохідних. Це свідчить про те, що в умовах високої локальної концентрації реагентів обидві стадії перебігають швидко і з невеликим впливом електронних ефектів замісника, особливо на першу стадію. Водночас для 5'-нітропохідного аналога співвідношення залишається вищим, що свідчить про більшу стабілізацію проміжної аніонної форми. Таким чином, у системі $\text{C}_{12}\text{-Bn-Ch}$ ключову роль у пришвидшенні реакції відіграє загальний фізико-хімічний вплив організованого середовища, що сприяє підвищенню ефективності нуклеофільної атаки на обидві ацетильні групи субстрату.

Найвиразніше прискорення лужного гідролізу спостерігається у присутності катіонного каліксарену $\text{C}_{12}\text{-C4A-Ch}$. Значення констант швидкості сягають $64,0\text{--}210,0 \text{ s}^{-1}$ для першої стадії і $170,9\text{--}323,9 \text{ s}^{-1}$ для другої. Це означає збільшення швидкості гідролізу у 300–1000 разів порівняно з водним розчином. Каталітичний ефект каліксарену зумовлений поєднанням кількох чинників: ефективною гідрофобною сольобілізацією субстрату всередині агрегатів, концентрацією гідроксид-йонів поблизу позитивно заряджених центрів і багатоточковою стабілізацією перехідних станів завдяки макроциклічній будові каліксарену.

Значення констант свідчать, що не тільки перша, але й друга стадія гідролізу сильно прискорюється, причому для 5'-нітропохідного аналога друга стадія залишається помітно швидшою за першу. Це вказує на те, що в даному середовищі стабілізація проміжної дисоційованої форми субстрату є найбільш ефективною. Загальний результат демонструє, що катіонні агрегати каліксарену не просто

прискорюють гідроліз, а ще й створюють умови для селективної стабілізації окремих проміжних форм, що може бути використано для тонкої регуляції реакційної здатності різних похідних.

Порівняльний аналіз трьох організованих середовищ показує, що ступінь прискорення лужного гідролізу нітропохідних флуоресцеїну зростає у ряді ЦТАБ < C12-Bn-Ch < C12-C4A-Ch. Водночас вплив положення нітрогрупи на швидкість реакції залишається помітним і у організованих середовищах.

Таким чином, результати демонструють, що організовані системи на основі катіонних амфіфілів значною мірою впливають на кінетику лужного гідролізу нітропохідних діацетилфлуоресцеїну, забезпечуючи не лише пришвидшення реакції, але й зміну ролі електронних ефектів замісників у визначенні швидкості окремих стадій процесу.

Результати, представлені в цьому розділі, частково опубліковані в роботі [91].

Висновки до розділу 4

1. Константи дисоціації для 3'-, 4'- та 5'-нітрофлуоресцеїну були визначені як у воді, так і в 50 мас. % водно-етанольному розчині, що дозволило порівняти їх кислотно-основні властивості в різних середовищах.
2. Стан таутомерної рівноваги молекул нітрофлуоресцеїнів суттєво відрізняється від стану вихідного флуоресцеїну. Зокрема, спостерігається різке збільшення частки цвітеріону та дестабілізація безбарвного лактонного таутомеру у порівнянні з незаміщеним флуоресцеїном.
3. У водно-етанольному розчині переважає лактонний таутомер, що вказує на іншу стабільність таутомерних форм у порівнянні з водними розчинами.
4. Вплив нітрогруп на швидкість гідролізу є відносно малим через відсутність прямої кон'югації між двома частинами молекули, що обмежує електронний ефект нітрогрупи на процес гідролізу.
5. Проте для всіх нітропохідних барвників співвідношення k_2/k_1 є вищим, ніж для вихідного флуоресцеїну, що вказує на зміну кінетики гідролізу при наявності нітрогрупи в молекулі.
6. Лужний гідроліз нітропохідних діацетилфлуоресцеїну в організованих розчинах (ЦТАБ, C_{12} -Bn-Ch, C_{12} -C4A-Ch) супроводжується суттєвим прискоренням обох стадій реакції порівняно з водним розчином, причому ступінь пришвидшення зростає в ряду ЦТАБ < C_{12} -Bn-Ch < C_{12} -C4A-Ch.
7. Вплив нітрогрупи на кінетику гідролізу залежить від положення замісника та структури організованого середовища: у ЦТАБ найбільш виражений ефект спостерігається для естеру 3'-нітрофлуоресцеїну, тоді як у C_{12} -Bn-Ch і C_{12} -C4A-Ch — для 5'-нітрофлуоресцеїну.
8. Для естерів нітропохідних флуоресцеїну встановлено збереження каталітичного ефекту каліксарену з холіновою часткою C_{12} -C4A-Ch, що виявляється у значному підвищенні швидкості гідролізу — у 300–1000 разів

порівняно з водним середовищем. Це свідчить про універсальну природу каліксаренового каталізу в досліджених системах.

РОЗДІЛ 5 ВПЛИВ ОРГАНІЗОВАНИХ РОЗЧИНІВ НА РЕАКЦІЮ ГІДРОЛІЗУ ЕСТЕРІВ *para*-НІТРОФЕНОЛІВ

Оскільки наші попередні дослідження зосереджувалися на прискоренні гідролізу естерів флуоресцеїну, виникла необхідність детальніше вивчити каталізуючі властивості холінових каліксаренів у контексті гідролізу більш традиційного субстрату, такого як 4-нітрофеніл ацетат. Цей естер, внаслідок реакції гідролізу, перетворюється на яскраво забарвлений жовтий аніон 4-нітрофенолят, що дозволяє легко відстежувати процес за допомогою фотометричних методів. Використання фотометрії для аналізу змін у концентрації аніону надає можливість точно визначити константу швидкості реакції гідролізу, що є критично важливим для оцінки ефективності каталізаторів. Крім того, для всебічного порівняння було проведено дослідження гідролізу 4-нітрофеніл пальмітату. Цей субстрат вже широко використовується в кінетичних дослідженнях [92], що дозволяє порівняти ефективність каталізаторів у різних системах. Дослідження гідролізу обох субстратів не лише розширить наше розуміння механізмів каталізу в організованих розчинах, але й надасть нові дані для подальшого розвитку теорії гідролізу естерів у присутності холінових каліксаренів.

Результати цих експериментів можуть відкрити нові перспективи для оптимізації каталітичних систем і розробки більш ефективних методів синтезу, що в свою чергу вплине на різні галузі хімічної промисловості.

Для порівняння кінетичні дослідження проводилися також у розчинах катіонних ПАР, які теж здатні прискорювати реакції гідролізу. Це дозволить оцінити вплив різних умов на активність каталізаторів та їх взаємодію з субстратами, що є важливим аспектом для подальшого вдосконалення технологій у цій галузі.

Реакція гідролізу естерів карбонових кислот є оборотною реакцією, яка прискорюється як йонами водню, так і гідроксид йонами. Положення рівноваги в

кислому середовищі визначає співвідношення початкових концентрацій реагентів та продуктів реакції, у той час, коли у лужному середовищі реакція гідролізу практично не оборотна через нейтралізацію утворених кислот [93]. Схема реакції омилення естерів *пара*-нітрофенолу може бути записано як показано на Рисунку 5.1.

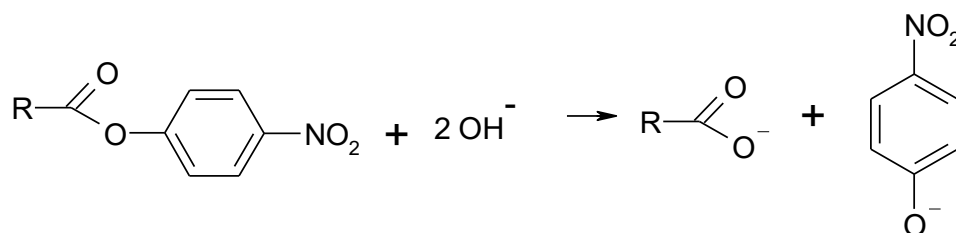


Рисунок 5.1. Лужний гідроліз естерів *пара*-нітрофенолу.

Відповідно до наведеного вище, механізмом реакції омилення естерів *пара*-нітрофенолу, швидкість цього процесу буде визначатися виразом:

$$v = kc(pNPR)c(\text{OH}^-) \quad (5.1)$$

де k — константа швидкості другого порядку, а $c(n)$ — поточні концентрації реагуючих частинок.

Якщо ця реакція протікає в буферному розчині з постійною концентрацією гідроксид йонів, то її швидкість можна описати кінетичним рівнянням псевдопершого порядку:

$$v = k'c(pNPR) \quad (5.2)$$

де k' — константа швидкості реакції псевдопершого порядку

У цих умовах кінетичне рівняння реакції має вигляд

$$-\frac{dc(pNPR)}{dt} = k'c(pNPR) \quad (5.3)$$

А рішенням цього рівняння є:

$$k' = \frac{1}{t} \ln \frac{c(pNPR)_0}{c(pNPR)_t} = \frac{1}{t} \ln \frac{c(pNPR)_0}{c(pNPR)_0 - c(pNP)_t} \quad (5.4)$$

де $c(pNPR)_0$ і $c(pNPR)_t$ — початкова концентрації ефіру в розчині і його концентрація у моменті часу t , відповідно;

$c(pNP)_t$ — поточна концентрація *пара*-нітрофенолу.

Оскільки в результаті реакції весь естер переходить у нітрофенол, то $c_{pNPR0} = c(pNP)_\infty$, де $c(pNP)_\infty$ — концентрація *пара*-нітрофенолу після закінчення реакції. Тоді:

$$k' = \frac{1}{t} \ln \frac{c(pNPR)_\infty}{c(pNPR)_\infty - c(pNP)_t} \quad (5.5)$$

Іон нітрофенолу має інтенсивне забарвлення з максимумом поглинання на довжині хвилі 405 нм, в той час як естер і йон карбонової кислоти не поглинають у видимій області. Тому в ході перебігу реакції світопоглинання розчину, в якому протікає гідроліз естеру, зростає, що легко фіксується при проведенні вимірювань на спектрофотометрі.

Значення концентрацій частинок, які входять в рівняння (5.5), в різні моменти часу, можуть бути визначені виходячи із закону Бугера–Ламберта–Бера. Це дозволяє перетворити рівняння (5.5) до виду:

$$\ln(A_\infty - A_t) = \ln A_\infty - k't \quad (5.6)$$

де A_∞ — оптичне поглинання розчину після закінчення реакції;

A_t — оптичне поглинання в момент часу t .

З рівняння 5.6 видно, що величина $\ln (A_{\infty} - A_t)$ є лінійною функцією від часу, у зв'язку з чим тангенс кута нахилу графіка в координатах $\ln (A_{\infty} - A_t) - t$, дорівнює $-k'$.

5.1 Дослідження реакції гідролізу 4-нітрофеніл ацетату

Як вихідну точку для дослідження кінетичних характеристик процесу гідролізу 4-нітрофеніл ацетату було обрано експериментальне вивчення реакції у водному середовищі без додавання жодних поверхнево-активних речовин, які потенційно можуть впливати на швидкість перебігу реакції. Це дозволило визначити базову кінетичну поведінку системи та використати отримані дані як контрольні для подальшого порівняння з системами, що містять ПАР або інші організовані структури.

На Рисунку 5.1 представлений набір спектрів поглинання, зареєстрованих упродовж реакції, де зміна інтенсивності сигналу є функцією часу. Зокрема, спостерігається збільшення поглинання на довжині хвилі 405 нм, що відповідає накопиченню продукту реакції — 4-нітрофенолят-йону, який утворюється внаслідок гідролізу субстрату. Отримані спектральні дані свідчать про поступовий перебіг реакції з чіткою ізосбестичною точкою, що підтверджує відсутність побічних процесів або проміжних стадій, здатних впливати на спектральні характеристики системи.

Як приклад, на Рисунку 5.2 представлено типові спектри поглинання в системі C₁₂-C4A-Ch — 4-нітрофеніл ацетат як функція часу, t . Значення A_{∞} на довжині хвилі 405 нм відповідає поглинанню при повному перетворенні субстрату в 4-нітрофенолят.

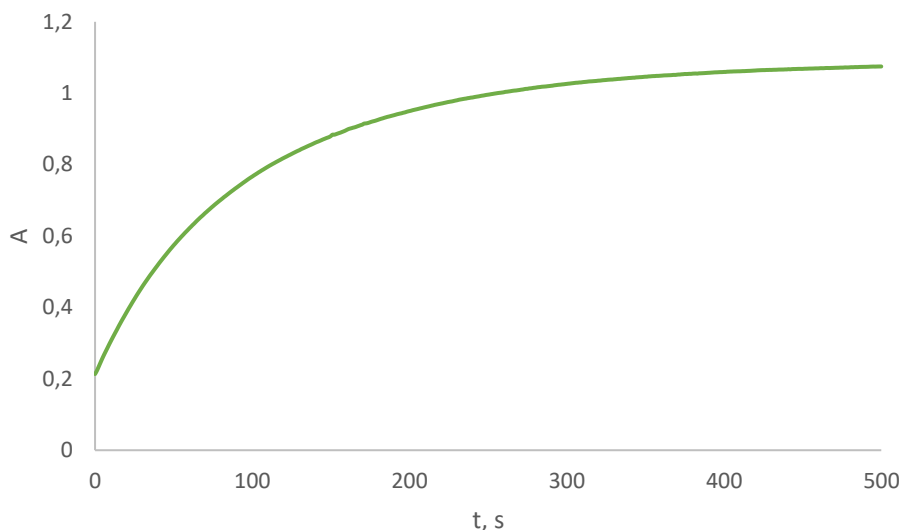


Рисунок 5.2. Кінетична крива гідролізу 4-нітрофенілацетату у боратному буфері у присутності C_{12} -C4A-Ch – 4 як функція часу, t . Поглинання вимірювалось при довжині хвилі 405нм.

Аналіз кінетичних залежностей (Рисунок 5.3) показав, що графік залежності $\ln(A_{\infty} - A_t)$ від часу є лінійним, що свідчить про підпорядкування процесу кінетичному рівнянню псевдопершого порядку. Це вказує на те, що швидкість реакції визначається лише концентрацією вихідної речовини, а інші фактори, такі як можлива адсорбція на поверхні чи участь додаткових каталізаторів, не впливають на механізм гідролізу в досліджених умовах.

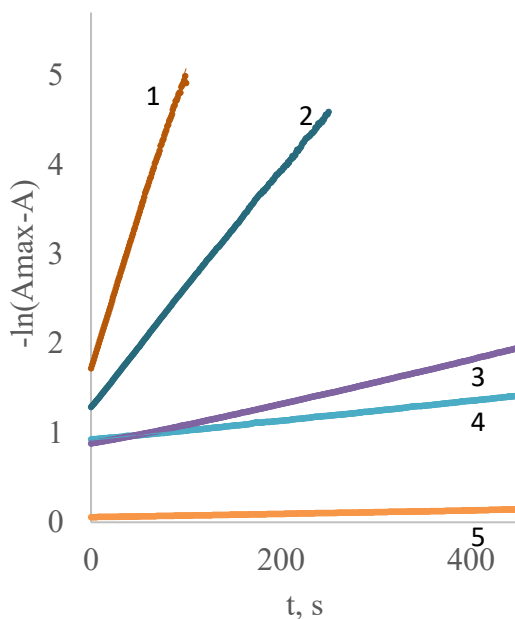


Рисунок 5.3. Залежності $-\ln(A_{\infty}-A_t)$ у боратних буферних розчинах у присутності C_{12} -C4A-Ch(1), C_{12} -Bn-Ch (2), ЦПХ (3), ЦТАБ (4) та без цих компонентів (5) як функція часу t . Поглинання вимірювалось при довжині хвилі 405нм.

Кутовий коефіцієнт отриманих лінійних залежностей у координатах $\ln(A_{\infty} - A_t) - t$ був використаний для розрахунку константи швидкості псевдопершого порядку, яка є фундаментальною характеристикою даного процесу і може слугувати для подальшого порівняння з аналогічними реакціями в присутності організованих середовищ.

5.2 Дослідження впливу ПАР на реакцію гідролізу естерів *пара*-нітрофенолу

Як відомо, катіонні поверхнево-активні речовини здатні суттєво прискорювати реакції гідролізу завдяки механізму концентрування гідроксид-йонів (HO^-) на поверхні міцел. Це явище зумовлене електростатичною взаємодією між позитивно зарядженими амфіфільними молекулами ПАР та негативно зарядженими гідроксид-йонами, що призводить до локального підвищення концентрації останніх у мікрооточенні субстрату. Як наслідок, підвищується доступність реагентів, що може супроводжуватися зниженням енергії активації та загальним прискоренням реакції.

У цьому дослідженні було проведено експериментальне визначення впливу двох катіонних ПАР — ЦТАБ та ЦПХ — на кінетику гідролізу двох естерів: ацетату (p NPA) та пальмітату (p NPP) *пара*-нітрофенолу. На Рисунку 5.3 показані кінетичні залежності для даних система. Результати аналізу представлені в таблицях 5.1-5.3 показали, що для гідролізу p NPPа константи швидкості, отримані в присутності міцелярних розчинів ЦТАБ і ЦПХ, є близькими за величиною, що свідчить про схожість механізмів впливу цих ПАР на реакцію. Натомість у випадку гідролізу p NPA спостерігається значна різниця між ефектами двох ПАР: константа швидкості реакції у присутності ЦПХ приблизно вдвічі перевищує відповідне значення для ЦТАБ.

Таблиця 5.1 Константи швидкості гідролізу 4-нітрофеніл ацетату в боратному буфері, 25 °C, $I = 0,01$ М

ПАР	c , mM	pH	$10^4 k'$, s^{-1}	k , $M^{-1} s^{-1}$
—	0	9,40	$1,83 \pm 0,01$	5,9
ЦТАБ	3,0	9,35	$11,18 \pm 0,02$	40,6
ЦПХ	10,0	9,35	$23,46 \pm 0,07$	85,2
C ₁₂ -C4A-Ch	0,4	9,33	$332,8 \pm 1,6$	1265
C ₁₂ -Bn-Ch	1,0	9,25	$134,3 \pm 0,2$	614

Таблиця 5.2 Константи швидкості гідролізу 4-нітрофеніл ацетату в боратному буфері, 25 °C, $I = 0,05$ М

ПАР	c , mM	pH	$10^4 k'$, s^{-1}	k , $M^{-1} s^{-1}$
—	0	9,40	$1,83 \pm 0,01$	5,9 ^a
ЦТАБ	3,0	9,29	$3,28 \pm 0,01$	11,4
ЦПХ	10,0	9,33	$5,10 \pm 0,03$	16,1
C ₁₂ -C4A-Ch	0,4	9,33	$58,95 \pm 0,07$	186

^a $I = 0,01$ М.

Таблиця 5.3 Константи швидкості гідролізу 4-нітрофеніл пальмітату в боратному буфері, 25 °C, $I = 0,01$ M

ПАР	c , mM	pH	$10^4 k'$, s^{-1}	k , $M^{-1} s^{-1}$
ЦТАБ	3,0	9,93	$4,40 \pm 0,03$	4,2
ЦПХ	10,0	9,93	$4,74 \pm 0,02$	4,5
C ₁₂ -C4A-Ch	0,4	9,93	$247,5 \pm 0,5$	226
C ₁₂ -Bn-Ch	1,0	9,36	$83,2 \pm 0,6$	295

Більш детальний аналіз показав, що швидкість гідролізу *p*NPA у присутності ЦТАБ зростає майже в 7 разів порівняно з реакцією у чистій воді, тоді як для ЦПХ цей показник перевищує 14-кратне збільшення. Така суттєва різниця у впливі ПАР може бути зумовлена відмінностями у їхній взаємодії з досліджуваними субстратами, а також відмінностями у структурі міцелярних агрегатів, що утворюються в розчині. Зокрема, наявність піридинієвої групи в молекулі ЦПХ може сприяти більш ефективному залученню субстрату до реакційного мікрооточення, покращуючи його орієнтацію відносно активного центру.

Окрім ефекту катіонних ПАР, досліджено також вплив йонної сили середовища на кінетику гідролізу. При підвищенні йонної сили розчину від 0,01 M до 0,05 M спостерігалось зменшення швидкості реакції, що може бути пояснено ефектом екранування заряду міцелярних агрегатів. За таких умов знижується ефективність концентрування HO^- на поверхні міцел, що призводить до меншої доступності цих йонів у реакційному середовищі.

Кількісно ці зміни підтверджуються розрахунками електрокінетичного потенціалу: при додаванні NaCl у розчин відбувається його зниження з початкових +80 мВ до значень у діапазоні +(10–40) мВ. Це підтверджує, що екранування заряду поверхні міцел впливає на кінетичні характеристики реакції, і зменшення електростатичної взаємодії з гідроксид-йонами веде до уповільнення реакції.

Окремо варто зазначити, що через обмежену розчинність *p*NPP у водному середовищі не вдалося отримати кінетичні параметри його гідролізу у відсутності ПАР. Проте результати експериментів у мицелярних розчинах свідчать, що різниця між впливом ЦТАБ і ЦПХ на гідроліз цього естеру є мінімальною, на відміну від *p*NPA, для якого вплив різних катіонних ПАР виявився більш суттєвим.

Отримані результати підкреслюють важливість ретельного підбору ПАР при каталізі гідролізу естерів, оскільки вибір конкретного амфіфілу може значною мірою впливати на кінетичні параметри реакції. Крім того, вплив йонної сили на ефективність каталізу вказує на необхідність контролю складу середовища при розробці подібних реакційних систем.

5.3 Вплив каліксаренів на кінетику реакції гідролізу *пара*-нітрофенолу

Отримані експериментальні дані безперечно підтверджують, що як для ацетату, так і для пальмітату 4-нітрофенілу, присутність каліксарену C₁₂-C4A-Ch та спорідненої сполуки C₁₂-Bn-Ch призводить до значного прискорення гідролізу, яке суттєво перевищує ефект, викликаний стандартними катіонними ПАР, такими як ЦТАБ і ЦПХ. Це вказує на принципову відмінність у механізмі дії каліксаренів, які не тільки концентрують реагенти в гідрофобному мікрооточенні, а й, ймовірно, здійснюють додаткову специфічну взаємодію із субстратом, полегшуючи розрив складноефірного зв'язку.

Таким чином, наші результати підтверджують ефект, раніше встановлений при вивченні гідролізу естерів флуоресцеїну, що свідчить про універсальність впливу холінових каліксаренів на реакції цього типу. Ця властивість каліксаренових сполук може мати широке практичне застосування в галузі каталізу, оскільки їхній вплив не лише збільшує швидкість реакції, а й відкриває перспективи створення нових каталізаторів із регульованими властивостями для органічного синтезу та біохімічних процесів.

Кількісний аналіз кінетичних даних демонструє, що в присутності каліксарену константа швидкості гідролізу збільшується більш ніж у 200 разів

порівняно з водним середовищем та приблизно у 30 разів порівняно з катіонною ПАР ЦТАБ. Це підкреслює його виняткову ефективність як каталізатора у вивченій реакції. Споріднена сполука C_{12} -Vn-Ch також значно прискорює гідроліз, хоча отримані значення констант швидкості для неї приблизно вдвічі нижчі, ніж для каліксарену, що вказує на дещо слабший вплив через відмінності в молекулярній будові.

Подібно до впливу йонної сили на катіонні ПАР, збільшення концентрації йонів у розчині супроводжується зменшенням швидкості реакції у присутності каліксарену. При підвищенні йонної сили в 5 разів (з 0,01 М до 0,05 М) константа швидкості зменшується у 6,8 рази. Це може бути пояснено екрануванням зарядів на поверхні агрегатів каліксарену, що знижує ефективність концентрації HO^- поблизу активного центру реакції.

У випадку гідролізу *para*-нітрофеніл пальмітату каліксарен також значно перевищує ПАР за ефективністю каталізу — константа швидкості для нього в 50 разів вища, ніж у стандартному водному розчині. Однак, на відміну від результатів для ацетату, для цього субстрату не спостерігається суттєвої різниці між каліксареном та спорідненою сполукою C_{12} -Vn-Ch: значення констант швидкості для обох каталізаторів є дуже близькими. Це може свідчити про те, що у випадку більш гідрофобного естеру вплив структурних особливостей каліксаренів на реакційну здатність субстрату є менш вираженим.

Цікаво, що незалежно від типу каталізатора (ПАР чи каліксарену), швидкість гідролізу 4-нітрофеніл ацетату завжди вища, ніж у випадку 4-нітрофеніл пальмітату. Проте для катіонних ПАР ця різниця становить приблизно 10–20 разів, тоді як у присутності C_{12} -Vn-Ch та C_{12} -C4A-Ch — лише 2–5 разів. Це явище можна пояснити відмінностями у глибині занурення естерної групи всередину агрегатів: через гідрофобну природу пальмітатного залишку він прагне розміщуватися глибше в міцелярному або каліксареновому середовищі, що потенційно віддаляє його від зарядженої поверхні агрегату та зменшує ефективність взаємодії з гідроксид-йонами.

Можна припустити, що ця різниця між ацетатом і пальмітатом є менш вираженою у випадку каліксаренів через більш «пухку» структуру агрегатів цих сполук у розчині. На відміну від катіонних ПАР, агрегати каліксаренів можуть мати менш упорядковану організацію, що дозволяє субстрату залишатися доступнішим для реакції незалежно від гідрофобності його залишку.

Таким чином, отримані результати не лише підтверджують високу каталітичну активність каліксаренів, а й демонструють складність та багатофакторність механізмів їхньої дії. Подальші дослідження в цьому напрямку можуть сприяти розробці нових, більш ефективних каталізаторів із прогнозованими властивостями, що матимуть потенційне застосування у промислових і лабораторних умовах.

5.4 Молекулярно-динамічне моделювання взаємодії каліксаренів з естерами *para*-нітрофенолу

Для глибшого розуміння кінетичних результатів доцентом Володимиром Фарафоновим було здійснено молекулярно-динамічне моделювання агрегатів C_{12} - C_{4A} -Ch у водних розчинах, що містять хлорид натрію. Моделювання виконано з огляду на число агрегації, яке дорівнює 6 та відповідає обраному розміру агрегатів.

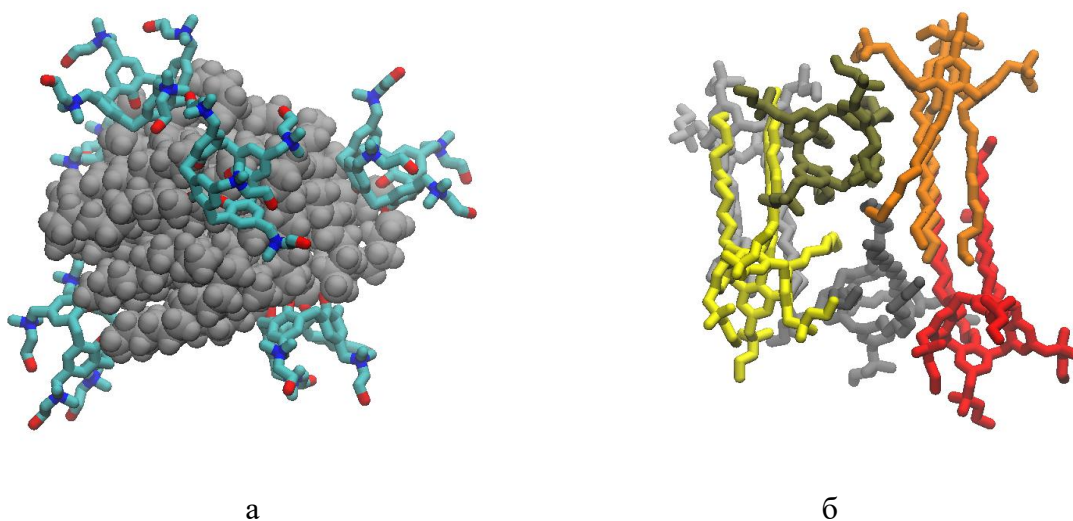


Рисунок 5.4 Структура агрегатів C_{12} - C_{4A} -Ch (а, б); у «а» вуглеводневі радикали ПАР показані світло-сірим кольором.

На Рисунку 5.4 наведено мікроскопічну структуру таких міцел; протиіони Cl^- і коіони Na^+ на рисунку не показані.^[94]

Ці результати переконливо засвідчують, що агрегати каліксаренів дійсно мають структуру, аналогічну йонним ПАР.

На Рисунку 5.5 показано структури комплексів субстрат + агрегат каліксарену.

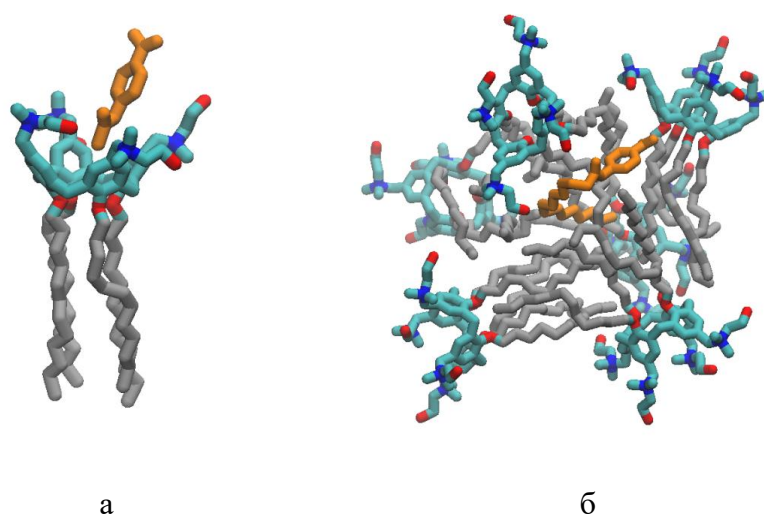


Рисунок. 5.5 Структура комплексу 4-нітрофеніл ацетату з $\text{C}_{12}\text{-C4A-Ch}$ (а), та структура агрегату $\text{C}_{12}\text{-C4A-Ch}$ з включеною молекулою 4-нітрофеніл пальмітату (б). Вуглеводневі радикали ПАР показані світло-сірим кольором

Отримані результати показують, що молекула 4-нітрофеніл ацетату залишається всередині чаші молекули $\text{C}_{12}\text{-C4A-Ch}$ протягом усього періоду молекулярно-динамічного моделювання у випадку, коли її початкова орієнтація передбачала розташування ацетильної групи всередину чаші, а нітрогрупи — назовні, в напрямку до водного середовища. Це свідчить про стійке зв'язування молекул у подібній конфігурації, що ілюструє структура комплексу на Рисунок 5.4 а. У протилежному випадку, коли молекула на початку моделювання орієнтована інакше, вона швидко десорбується до водного середовища, після чого знову адсорбується вже на поверхні вуглеводневого ядра міцели.

У випадку, коли субстрат початково розміщений на поверхні агрегату, десорбція у розчин протягом молекулярно-динамічного моделювання не спостерігається. Отже, можна відокремити два основні типи локалізації молекули 4-нітрофеніл ацетату в міцелах: всередині чаші мономера ПАР із орієнтацією естерної групи всередину, а також на поверхні вуглеводневого ядра міцели.

Натомість *пара*-нітрофеніл пальмітат, що є типовою дифільною сполукою, інтегрується в агрегат каліксарену, стаючи його складовою частиною (Рисунок 5.4 б). При цьому аренове кільце, навіть якщо початково було розміщене в чаші C₁₂-C_{4A}-Ch, залишає її та надалі локалізується на поверхні вуглеводневого ядра міцели, не демонструючи при цьому взаємодії з чашами мономерів ПАР.

Для кількісної характеристики положення субстратів відносно каталітично активних холінових груп міцели було проведено розрахунок ФРВ (функцій розподілу відстані) між атомами кисню естерної групи субстрату та атомами кисню і нітрогену холінових фрагментів ПАР. У розрахунках враховувався найближчий до субстрату холіновий фрагмент серед усіх наявних. Отримані ФРВ дозволяють оцінити середню близькість субстрату до каталітичного центру міцели. Відповідні графіки для обох субстратів представлені на Рисунку 5.5.

Як видно, у випадку постійного перебування молекули 4-нітрофеніл ацетату в чаші каліксарену C₁₂-C_{4A}-Ch ФРВ має один чітко виражений вузький пік на короткій відстані $\approx 0,45$ нм. Це значення є близьким до суми ван дер Вальсівських радіусів двох атомів, яка дорівнює $\approx 0,3$ нм. Навпаки, коли цей субстрат локалізований на поверхні міцели, спостерігаються значно більші значення відстані ($> 0,6$ нм), що свідчить про відсутність тісної взаємодії з чашею та неможливість утворення екзокомплексу. Аналогічна картина характерна і для 4-нітрофеніл пальмітату.

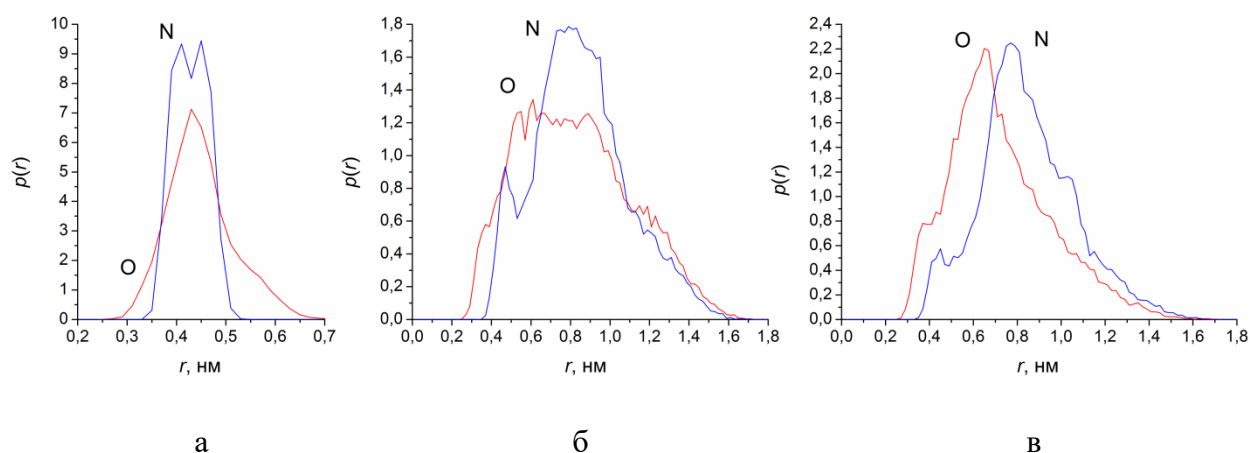


Рисунок 5.5 ФРВ між атомами О естерної групи субстрату та атомами О (червоні криві) або N (сині криві) найближчого холінового фрагменту ПАР для: ацетату 4-нітрофенілу, розташованого у чаші молекули C_{12} -C4A-Ch (а), ацетату *para*-нітрофенілу, адсорбованого на поверхні міцели (б), пальмітату 4-нітрофенілу, включеного у склад міцели (в).

Отримані результати добре корелюють з експериментально визначеними константами швидкості гідролізу двох досліджуваних естерів. Якщо припустити, що реальна ситуація для *para*-нітрофеніл ацетату відповідає проміжному стану між конфігураціями «а» та «б», то стає зрозумілою різниця між константами швидкості гідролізу двох естерів у розчинах C_{12} -C4A-Ch.

Дані, викладені в цьому розділі, були раніше опубліковані в науковій статті [94].

Висновки до розділу 5

1. У міцелярних розчинах стандартних катіонних ПАР гідроліз 4-нітрофеніл ацетату прискорюється у 7–14 разів порівняно з водним розчином. Це пояснюється, зокрема, концентруванням гідроксильних йонів на поверхні міцел, що сприяє підвищенню локальної концентрації реагентів.
2. У присутності агрегатів тетрахлориду 5,11,17,23-тетра(*N,N*-диметил-*N*-гідроксиетиламоній)метилен-25,26,27,28-тетрадодецидокси калікс[4]арену спостерігається значно активніший каталіз — константа швидкості гідролізу 4-нітрофеніл ацетату зростає приблизно у 200 разів за йонної сили 0,01 М.
3. Отримані результати узгоджуються з попередніми дослідженнями, де подібний ефект спостерігався для гідролізу моно- та дієстерів флуоресцеїну в розчинах ПАР, що містять аналогічні функціональні групи.
4. Для 4-пальмітил ацетату в розчинах каліксарену константа швидкості гідролізу у 5,6 разів менша, ніж для 4-нітрофеніл ацетату. Це пояснюється глибшим зануренням довгого вуглеводневого ланцюга пальмітату у внутрішню частину агрегату, що віддаляє естерну групу від поверхні, а також від заряджених гідроксиетиламонієвих груп, що відіграють ключову роль у каталізі.
5. Каталітичний ефект сполуки *N,N*-диметил-*N*-гідроксиетил-4-додецилоксибензиламоній хлориду, яка є «чвертю» зазначеного каліксарену, лише вдвічі менший у випадку 4-нітрофеніл ацетату, але у випадку 4-пальмітил ацетату його ефективність навіть дещо перевищує ефективність макроциклічної сполуки. Це може бути пояснено особливостями структури агрегатів двох типів та їх взаємодією з різними субстратами.
6. Збільшення йонної сили середовища спричиняє гальмування реакції гідролізу як у розчинах традиційних катіонних ПАР, так і в агрегатах каліксаренів. Це пов'язано з екрануванням поверхневого електричного потенціалу, що зменшує ефективність концентрування гідроксид-йонів поблизу субстрату та, відповідно, знижує швидкість реакції.

ВИСНОВКИ

У результаті проведеного дослідження досягнена мета дисертаційної роботи: виявлені особливості кінетики гідролізу естерів сполук флуоресцеїнового ряду в організованих розчинах поверхнево-активних речовин і каліксаренів.

1. Новий підхід до окремого спектрофотометричного визначення констант швидкості двоступінчастого гідролізу вдалося застосувати до гідролізу діацетилфлуоресцеїну та естерів 3'-, 4'- та 5'-нітрофлуоресцеїнів у воді, водному етанолі та в усіх досліджених організованих розчинах.
2. Перехід від водного розчину до 50 мас. % водного етанолу суттєво не впливає на кінетику гідролізу. При чому введення нітрогрупи в молекулу флуоресцеїну на швидкість гідролізу естерів призводить до відносно малих ефектів через відсутність прямої кон'югації між двома частинами молекули. Проте для всіх нітропохідних барвників співвідношення k_2/k_1 є вищим, ніж для вихідного флуоресцеїну, що вказує на зміну кінетики гідролізу при наявності нітрогрупи в молекулі.
3. Константи дисоціації для 3'-, 4'- та 5'-нітрофлуоресцеїну були вперше визначені як у воді, так і в 50 мас. % водно-етанольному розчині, що дозволило порівняти їх кислотно-основні властивості в різних середовищах. У воді спостерігається різке збільшення частки цвितтеріону та дестабілізація безбарвного лактонного таутомера у порівнянні з незаміщеним флуоресцеїном. У водно-етанольному розчині переважає лактонний таутомер, що вказує на іншу стабільність таутомерних форм у порівнянні з водними розчинами.
4. Суттєве прискорення швидкості реакцій гідролізу у водних розчинах спостерігається у присутності міцел катіонних поверхнево-активних речовин та агрегатів катіонних каліксаренів, головним чином тетрахлоридів 5,11,17,23-тетра(*N,N*-диметил-*N*-гідроксietiламоній)

метилен-25,26,27,28-тетраалкілоксиаликс[4]арену, для естерів як флуоресцеїнів, так і для *para*-нітрофенолу. Головною причиною є концентрування йонів HO^- у шарі Штерна колоїдних агрегатів, але у кожному типі організованих розчинів перебіг реакцій має виражену специфіку. Вплив нітрогрупи на кінетику гідролізу залежить від положення замісника та характеру організованого середовища.

5. Особливо виражений каталітичний ефект знайдено для калікс[4]аренів, декорованих по широкому ободу холіновими залишками. Ефект спостерігається для гідролізу усіх досліджених ацетатів. Прискорення реакцій гідролізу у порівнянні з водним розчином сягає 18 тисяч разів. Запропоновано схему для розуміння каталітичного ефекту.
6. Величина цього ефекту збільшується разом з подовженням вуглеводневого ланцюга від C_3 до C_{12} , що свідчить про внесок гідрофобних взаємодій, та знижується при підвищенні йонної сили внаслідок екранування поверхневого позитивного заряду агрегатів, що обумовлює онцентрації гідроксильних йонів в шарі Штерна.
7. Каталітичний ефект у разі імідазолієвого калікс[4]арену лише дещо вищий ніж для міцел броміду цетилтриметиламонію, в той час як довголанцюгова сполука з однією холіновою групою, хлорид *N,N*-диметил-*N*-гідроксіетил-4-додецилоксибензиламонію, і особливо холіновий калікс[6]арен с групами CH_3 замість довгих вуглеводневих ланцюгів значно прискорюють реакцію.
8. Гідроліз ацетату *para*-нітрофенолу у міцелярних розчинах броміду цетилтриметиламонію та хлориду цетилпіридинію прискорюється у 7–14 разів порівняно з водним розчином, але у присутності агрегатів калікс[4]арену з вуглеводневим радикалом C_{12} —приблизно у 200 разів. Але у разі пальмітату *para*-нітрофенолу в розчинах каліксарену константа швидкості гідролізу у 5,6 разів менша, ніж для ацетату. Це пояснюється

глибшим зануренням довгого вуглеводневого ланцюга пальмітату у внутрішню частину агрегату, що віддаляє естерну групу від поверхні, а також від заряджених гідроксиетиламонієвих груп, що відіграють ключову роль у каталізі. Це нагадує ефекти, що були раніше описані для дилаурилфлуоресцеїну.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- (1) Yu, J.; Yu, H.; Wang, S.; Qi, Y. Progress in Research of Zinc Ion Fluorescent Probes for Biological Imaging. *J Lumin* **2024**, 266. <https://doi.org/10.1016/J.JLUMIN.2023.120318>.
- (2) Le Guern, F.; Mussard, V.; Gaucher, A.; Rottman, M.; Prim, D. Fluorescein Derivatives as Fluorescent Probes for Ph Monitoring along Recent Biological Applications. *Int J Mol Sci* **2020**, 21 (23), 1–23. <https://doi.org/10.3390/IJMS21239217>.
- (3) Chen, Y. Recent Advances in Excimer-Based Fluorescence Probes for Biological Applications. *Molecules* **2022**, 27 (23). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27238628>.
- (4) Duff, A. F.; Bielke, L. R.; Relling, A. E. Technical Note: Fluorescein as an Indicator of Enteric Mucosal Barrier Function in Preruminant Lambs. *J Anim Sci* **2020**, 98 (7). <https://doi.org/10.1093/JAS/SKAA198>.
- (5) Keerthana, S.; Sam, B.; George, L.; Sudhakar, Y. N.; Varghese, A. Fluorescein Based Fluorescence Sensors for the Selective Sensing of Various Analytes. *J Fluoresc* **2021**, 31 (5), 1251–1276. <https://doi.org/10.1007/S10895-021-02770-9>.
- (6) Guilbault, G. G.; Kramer, D. N. Lipolysis of Fluorescein and Eosin Esters. Kinetics of Hydrolysis. *Anal Biochem* **1966**, 14 (1), 28–40. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(66\)90053-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(66)90053-4).
- (7) Kramer, D. N.; Guilbault, G. G. A Substrate for the Fluorometric Determination of Lipase Activity. *Anal Chem* **1963**, 35 (4), 588–589. https://doi.org/10.1021/AC60197A027/ASSET/AC60197A027.FP.PNG_V03.
- (8) Zaafouri, Z.; Bauer, D.; Batôt, G.; Nieto-Draghi, C.; Coasne, B. Cooperative Effects Dominating the Thermodynamics and Kinetics of Surfactant Adsorption in Porous Media: From Lateral Interactions to Surface Aggregation. *Journal of Physical*

- Chemistry B* **2020**, *124* (47), 10841–10849.
<https://doi.org/10.1021/ACS.JPCB.0C08226>.
- (9) Zhou, H.; Shiel, E.; Bell, T.; Lin, S.; Lenhert, S. Kinetic Mechanism of Surfactant-Based Molecular Recognition: Selective Permeability across an Oil-Water Interface Regulated by Supramolecular Aggregates. *Journal of Physical Chemistry B* **2023**, *127* (47), 10201–10214. <https://doi.org/10.1021/ACS.JPCB.3C05017>.
- (10) Pfrang, C.; Milsom, A.; Squires, A.; Ward, A. Molecular Self-Organisation in Surfactant Atmospheric Aerosol Proxies. **2025**.
<https://doi.org/10.5194/EGUSPHERE-EGU24-18810>.
- (11) Chen, H.; Tong, K. The Contributions of Supramolecular Kinetics to Dynamics of Supramolecular Polymers. *Chempluschem* **2022**, *87* (10).
<https://doi.org/10.1002/CPLU.202200279>.
- (12) Lavanya, K.; Vemuri, R. S. S.; Pulipaka, S.; Kilana, V. N.; Kandisa, R. V. Surfactant Micelles as Catalysts: Kinetic Modelling and Key Models. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry* **2024**, *11* (3), 1165–1180.
<https://doi.org/10.18596/JOTCSA.1399457>.
- (13) Wehner, M.; Würthner, F. Supramolecular Polymerization through Kinetic Pathway Control and Living Chain Growth. *Nat Rev Chem* **2020**, *4* (1), 38–53.
<https://doi.org/10.1038/S41570-019-0153-8>.
- (14) Sontag, W. A Comparative Kinetic Study on the Conversion of Fluoresceindiacetate to Fluorescein in Living Cells and in Vitro. *Radiat Environ Biophys* **1977**, *14* (1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/BF01331024>.
- (15) Sontag, W. Changes of Fluoresceindiacetate-Hydrolysis and -Transport in Mammalian Cells after Ultra-Violet- and Gamma Irradiation. *Radiat Environ Biophys* **1977**, *14* (1), 13–20. <https://doi.org/10.1007/BF01331025>.

- (16) Hofmann, J.; Sernetz, M. A Kinetic Study on the Enzymatic Hydrolysis of Fluoresceindiacetate and Fluorescein-Di- β -d-Galactopyranoside. *Anal Biochem* **1983**, *131* (1), 180–186. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(83\)90151-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(83)90151-3).
- (17) Vitecek, J.; Petrlova, J.; Adam, V.; Havel, L.; Kramer, K. J.; Babula, P.; Kizek, R. A Fluorimetric Sensor for Detection of One Living Cell. *Sensors* **2007**, *7* (3), 222–238. <https://doi.org/10.3390/S7030222>.
- (18) Breeuwer, P.; Drocourt, J. L.; Bunschoten, N.; Zwietering, M. H.; Rombouts, F. M.; Abee, T. Characterization of Uptake and Hydrolysis of Fluorescein Diacetate and Carboxyfluorescein Diacetate by Intracellular Esterases in *Saccharomyces Cerevisiae*, Which Result in Accumulation of Fluorescent Product. *Appl Environ Microbiol* **1995**, *61* (4), 1614–1619. <https://doi.org/10.1128/AEM.61.4.1614-1619.1995>.
- (19) Swisher, R.; Carroll, G. C. Fluorescein Diacetate Hydrolysis as an Estimator of Microbial Biomass on Coniferous Needle Surfaces. *Microb Ecol* **1980**, *6* (3), 217–226. <https://doi.org/10.1007/BF02010387>.
- (20) Battin, T. J. Assessment of Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Esterase Activity in Natural Stream Sediment Biofilms. *Science of the Total Environment* **1997**, *198* (1), 51–60. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(97\)05441-7](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(97)05441-7).
- (21) Adam, G.; Duncan, H. Development of a Sensitive and Rapid Method for the Measurement of Total Microbial Activity Using Fluorescein Diacetate (FDA) in a Range of Soils. *Soil Biol Biochem* **2001**, *33* (7–8), 943–951. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00244-3](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00244-3).
- (22) Taylor, J. P.; Wilson, B.; Mills, M. S.; Burns, R. G. Comparison of Microbial Numbers and Enzymatic Activities in Surface Soils and Subsoils Using Various Techniques. *Soil Biol Biochem* **2002**, *34* (3), 387–401. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(01\)00199-7](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00199-7).

- (23) Green, V. S.; Stott, D. E.; Diack, M. Assay for Fluorescein Diacetate Hydrolytic Activity: Optimization for Soil Samples. *Soil Biol Biochem* **2006**, *38* (4), 693–701. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2005.06.020>.
- (24) Sánchez-Monedero, M. A.; Mondini, C.; Cayuela, M. L.; Roig, A.; Contin, M.; De Nobili, M. Fluorescein Diacetate Hydrolysis, Respiration and Microbial Biomass in Freshly Amended Soils. *Biol Fertil Soils* **2008**, *44* (6), 885–890. <https://doi.org/10.1007/S00374-007-0263-1>.
- (25) Ge, F. Y.; Chen, L. G.; Zhou, X. L.; Pan, H. Y.; Yan, F. Y.; Bai, G. Y.; Yan, X. L. Synthesis and Study on Hydrolytic Properties of Fluorescein Esters. *Dyes and Pigments* **2007**, *72* (3), 322–326. <https://doi.org/10.1016/J.DYEPIG.2005.09.012>.
- (26) Eshghi, H.; Mirzaie, N.; Asoodeh, A. Synthesis of Fluorescein Aromatic Esters in the Presence of P 2O5/SiO2 as Catalyst and Their Hydrolysis Studies in the Presence of Lipase. *Dyes and Pigments* **2011**, *89* (2), 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2010.09.013>.
- (27) Grimm, J. B.; Gruber, T. D.; Ortiz, G.; Brown, T. A.; Lavis, L. D. Virginia Orange: A Versatile, Red-Shifted Fluorescein Scaffold for Single- And Dual-Input Fluorogenic Probes. *Bioconjug Chem* **2016**, *27* (2), 474–480. <https://doi.org/10.1021/ACS.BIOCONJCHEM.5B00566>.
- (28) Su, L.; Gao, K.; Tian, Y.; Xiao, X.; Lu, C.; Xu, J.; Yan, X. Mitochondrial Esterase Activity Measured at the Single Organelle Level by Nano-Flow Cytometry. *Anal Chem* **2024**, *96* (2), 810–820. <https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.3C04321>.
- (29) Liu, S.; Kumar, K.; Bell, T.; Ramamoorthy, A.; Van Winkle, D.; Lenhert, S. Lipid-Based Catalysis Demonstrated by Bilayer-Enabled Ester Hydrolysis. *Membranes (Basel)* **2024**, *14* (8). <https://doi.org/10.3390/MEMBRANES14080168>.

- (30) Schnurer, J.; Rosswall, T. Fluorescein Diacetate Hydrolysis as a Measure of Total Microbial Activity in Soil and Litter. *Appl Environ Microbiol* **1982**, 43 (6), 1256–1261. <https://doi.org/10.1128/AEM.43.6.1256-1261.1982>.
- (31) Anzo, K.; Harada, M.; Okada, T. Enhanced Kinetics of Pseudo First-Order Hydrolysis in Liquid Phase Coexistent with Ice. *Journal of Physical Chemistry A* **2013**, 117 (41), 10619–10625. https://doi.org/10.1021/JP409126P/SUPPL_FILE/JP409126P_SI_001.PDF.
- (32) Myers, D. Surfactant Science and Technology. *Surfactant Science and Technology* **2020**. <https://doi.org/10.1002/9781119465829>.
- (33) *Dynamics of Surfactant Self-Assemblies : Micelles, Microemulsions, Vesicles and Lyotropic Phases*, 1st ed.; Raoul Zana, Ed.; CRC Press: Boca Raton, 2005; Vol. 125. <https://doi.org/10.1201/9781420028225>.
- (34) Hartley, G. S. State of Solution of Colloidal Electrolytes. *Quarterly Reviews, Chemical Society* **1948**, 2 (2), 152–183. <https://doi.org/10.1039/QR9480200152>.
- (35) Khan, M. N.; Fagge, I. I. Kinetics and Mechanism of Cationic Micelle/Flexible Nanoparticle Catalysis: A Review. *Progress in Reaction Kinetics and Mechanism* **2018**, 43 (1), 1–20. <https://doi.org/10.3184/146867818X15066862094905>.
- (36) Fromherz, P. Micelle Structure: A Surfactant-Block Model. *Chem Phys Lett* **1981**, 77 (3), 460–466. [https://doi.org/10.1016/0009-2614\(81\)85185-8](https://doi.org/10.1016/0009-2614(81)85185-8).
- (37) Farafonov, V. S.; Lebed, A. V.; McHedlov-Petrosyan, N. O. Character of Localization and Microenvironment of Solvatochromic Reichardt's Betaine Dye in Sodium n-Dodecyl Sulfate and Cetyltrimethylammonium Bromide Micelles: Molecular Dynamics Simulation Study. *Langmuir* **2017**, 33 (33), 8342–8352. <https://doi.org/10.1021/ACS.LANGMUIR.7B01737>.
- (38) Gutsche, C. D. Calixarenes: An Introduction. **2008**. <https://doi.org/10.1039/9781847558190>.

- (39) Valeur, B.; Leray, I. Ion-Responsive Supramolecular Fluorescent Systems Based on Multichromophoric Calixarenes: A Review. *Inorganica Chim Acta* **2007**, *360* (3), 765–774. <https://doi.org/10.1016/J.ICA.2006.07.027>.
- (40) Gutsche, C. D.; Rogers, J. S.; Stewart, D.; See, K. A. Calixarenes: Paradoxes and Paradigms in Molecular Baskets. *Pure and Applied Chemistry* **1990**, *62* (3), 485–491.
<https://doi.org/10.1351/PAC199062030485/MACHINEREADABLECITATION/RIS>.
- (41) Arimura, T.; Kawabata, H.; Matsuda, T.; Muramatsu, T.; Satoh, H.; Fujio, K.; Manabe, O.; Shinkai, S. New Water-Soluble Host Calixarenes Bearing Chiral Substituents. *Journal of Organic Chemistry* **1991**, *56* (1), 301–306.
https://doi.org/10.1021/JO00001A057/ASSET/JO00001A057.FP.PNG_V03.
- (42) Liu, Y.; Han, B. H.; Chen, Y. T. Molecular Recognition and Complexation Thermodynamics of Dye Guest Molecules by Modified Cyclodextrins and Calixarenesulfonates. *Journal of Physical Chemistry B* **2002**, *106* (18), 4678–4687.
<https://doi.org/10.1021/JP015603R>.
- (43) Danil De Namor, A. F.; Cleverley, R. M.; Zapata-Ormachea, M. L. Thermodynamics of Calixarene Chemistry. *Chem Rev* **1998**, *98* (7), 2495–2525.
<https://doi.org/10.1021/CR970095W;ISSUE:ISSUE:10.1021/CHREAY.1998.98.ISSUE-7;WGROU:STRING:ACHS>.
- (44) Bauer, L. J.; Gutsche, C. D. Calixarenes. 15. The Formation of Complexes of Calixarenes with Neutral Organic Molecules in Solution. *J Am Chem Soc* **1985**, *107* (21), 6063–6069.
https://doi.org/10.1021/JA00307A040/ASSET/JA00307A040.FP.PNG_V03.
- (45) Rodik, R. V.; Klymchenko, A. S.; Jain, N.; Miroshnichenko, S. I.; Richert, L.; Kalchenko, V. I.; Mély, Y. Virus-Sized DNA Nanoparticles for Gene Delivery Based on Micelles of Cationic Calixarenes. *Chemistry - A European Journal* **2011**, *17* (20), 5526–5538.

<https://doi.org/10.1002/CHEM.201100154;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTE R>.

- (46) Ukhatskaya, E. V.; Kurkov, S. V.; Matthews, S. E.; El Fagui, A.; Amiel, C.; Dalmas, F.; Loftsson, T. Evaluation of a Cationic Calix[4]Arene: Solubilization and Self-Aggregation Ability. *Int J Pharm* **2010**, *402* (1–2), 10–19. <https://doi.org/10.1016/J.IJP Harm.2010.09.011>.
- (47) Morozova, J. E.; Kazakova, E. K.; Mironova, D. A.; Shalaeva, Y. V.; Syakaev, V. V.; Makarova, N. A.; Konovalov, A. I. Investigation of Tetramethylenesulfonated Calix[4]Resorcinarene Interactions with Azo Dyes in Aqueous Solution. *Journal of Physical Chemistry B* **2010**, *114* (41), 13152–13158. https://doi.org/10.1021/JP106060P/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JP-2010-06060P_0010.GIF.
- (48) Rodik, R. V.; Klymchenko, A. S.; Jain, N.; Miroshnichenko, S. I.; Richert, L.; Kalchenko, V. I.; Mély, Y. Virus-Sized DNA Nanoparticles for Gene Delivery Based on Micelles of Cationic Calixarenes. *Chemistry - A European Journal* **2011**, *17* (20), 5526–5538. <https://doi.org/10.1002/CHEM.201100154;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTE R>.
- (49) Basiílio, N.; Garcia-Rio, L.; Martiín-Pastor, M. Calixarene-Based Surfactants: Evidence of Structural Reorganization upon Micellization. *Langmuir* **2012**, *28* (5), 2404–2414. https://doi.org/10.1021/LA204004H/SUPPL_FILE/LA204004H_SI_001.PDF.
- (50) Xiao, Z.; Yang, W.; Yan, F.; Ji, L.; Li, W.; Wang, W. Assembly of Calix[4]Arene Carboxylic Acid Derivatives by Hydrogen Bonding. *CrystEngComm* **2019**, *21* (3), 439–448. <https://doi.org/10.1039/C8CE01655K>.
- (51) Tian, H. W.; Liu, Y. C.; Guo, D. S. Assembling Features of Calixarene-Based Amphiphiles and Supra-Amphiphiles. *Mater Chem Front* **2020**, *4* (1), 46–98. <https://doi.org/10.1039/C9QM00489K>.

- (52) Liang, Q.; Chen, G.; Guan, B.; Jiang, M. Structural Factors of Amphiphilic Calix[6]Biscrowns Affecting Their Vesicle-Nanotube Transitions in Self-Assembly. *J Mater Chem* **2011**, *21* (35), 13262–13267. <https://doi.org/10.1039/C1JM10895F>.
- (53) Tokunaga, Y.; Sakon, H.; Kanefusa, H.; Shimomura, Y.; Suzuki, K. Molecular Dynamics of Amphiphilic Calixarene. *Arkivoc* **2003**, *2003* (8), 135–143. <https://doi.org/10.3998/ARK.5550190.0004.814>.
- (54) Pandey, S.; Kar, J. R.; Azam, A.; Pandey, S.; Chawla, H. M. Competitive Self and Induced Aggregation of Calix[4]Arene Ethers and Their Interaction with Pinacyanol Chloride and Methylene Blue in Nonaqueous Media. *J Solution Chem* **2010**, *39* (1), 107–120. <https://doi.org/10.1007/S10953-009-9489-X>.
- (55) García-Rio, L.; Basílio, N. Supramolecular Surfactants Derived from Calixarenes. *Curr Opin Colloid Interface Sci* **2019**, *44*, 225–237. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2019.11.004>.
- (56) Lau, E. Preformulation Studies. *Sep Sci Technol* **2001**, *3* (C), 173–233. [https://doi.org/10.1016/S0149-6395\(01\)80007-6](https://doi.org/10.1016/S0149-6395(01)80007-6).
- (57) Rosen, M. J.; Kunjappu, J. T. Surfactants and Interfacial Phenomena: Fourth Edition. *Surfactants and Interfacial Phenomena: Fourth Edition* **2012**. <https://doi.org/10.1002/9781118228920>.
- (58) Myers, D. Surfactant Science and Technology: Third Edition. *Surfactant Science and Technology: Third Edition* **2005**, 1–380. <https://doi.org/10.1002/047174607X>.
- (59) Cacciapaglia, R.; Mandolini, L.; Salvio, R. *Supramolecular Catalysis by Calixarenes*, Second Edi.; Elsevier, 2013; Vol. 1. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.05618-3>.
- (60) Zheng, J.; Ma, Z.; Zhang, Q.; Qiu, L.; Wang, Z.; Wang, N. Effect of CTAB Premicelle and Micelle Formation on Bromophenol Blue Spectra. *ChemistrySelect* **2024**, *9* (12). <https://doi.org/10.1002/SLCT.202400090>.

- (61) Sobika, M.; Karunanithi, S.; Dash, S. Studies on Anionic Dye Eosin Y in Mixed Anionic Micellar Medium. *Results Chem* **2024**, *7*. <https://doi.org/10.1016/J.RECHEM.2023.101220>.
- (62) Naz, A.; Khan, S.; Sajjad, A.; Mehreen, K.; Sajid, M.; Qaiser, M.; Bukhari, S. W.; Rehman, A.; Noreen, T.; Karim, K.; Abid, H. M. U. Unveiling Synergistic Bonds: Exploring Spectroscopic Interactions between Tween 20 and Bromocresol Green for Enhanced Applications. *Journal of Health and Rehabilitation Research* **2024**, *4* (1), 836–842. <https://doi.org/10.61919/JHRR.V4I1.525>.
- (63) Hoffman-Rusin, E.; Monka, M.; Grzywacz, D.; Kozakiewicz, K.; Liberek, B.; Serdiuk, I. E.; Bojarski, P. Spectral Properties of Red/NIR Emitters as Photosensitizers in Water-Micelles Medium. **2022**, *78*. <https://doi.org/10.1117/12.2646677>.
- (64) Naeem, K.; Naseem, B.; Shah, S. S.; Shah, S. W. H. Optical Properties of Voltage Sensitive Hemicyanine Dyes of Variable Hydrophobicity Confined within Surfactant Micelles. *Mater Res Express* **2017**, *4* (11). <https://doi.org/10.1088/2053-1591/AA9798>.
- (65) Someya, Y.; Yui, H. Fluorescence Lifetime Probe for Solvent Microviscosity Utilizing Anilinonaphthalene Sulfonate. *Anal Chem* **2010**, *82* (13), 5470–5476. <https://doi.org/10.1021/AC100116J>.
- (66) Delledonne, A.; Morla-Folch, J.; Anzola, M.; Bertocchi, F.; Vargas-Nadal, G.; Köber, M.; Sissa, C.; Ventosa, N.; Painelli, A. Increasing Resonance Energy Transfer upon Dilution: A Counterintuitive Observation in CTAB Micelles. *J Mater Chem C Mater* **2021**, *9* (33), 10952–10964. <https://doi.org/10.1039/D1TC02888J>.
- (67) Samiey, B.; Cheng, C. -H.; Wu, J. ChemInform Abstract: Effects of Surfactants on the Rate of Chemical Reactions. *ChemInform* **2015**, *46* (36). <https://doi.org/10.1002/CHIN.201536296>.

- (68) Samiey, B.; Cheng, C. H.; Wu, J. Effects of Surfactants on the Rate of Chemical Reactions. *J Chem* **2014**, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/908476>.
- (69) Dahadha, A. A.; Hassan, M.; Mfarej, T.; Bani Issa, R.; Saadh, M. J.; Al-Dhoun, M.; Abunuwar, M.; Talat, N. T. The Catalytic Influence of Polymers and Surfactants on the Rate Constants of Reaction of Maltose with Cerium (IV) in Acidic Aqueous Medium. *J Chem* **2022**, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/2609478>.
- (70) Lakra, J.; Tikariha, D.; Kumar, B. Significance of Dimeric Surfactant on Kinetic Study of Organophosphorus Compounds. *Int J Chem Kinet* **2022**, 54 (8), 461–469. <https://doi.org/10.1002/KIN.21574>.
- (71) Lü, H.; An, X.; Cai, H. Kinetic Study of the Hetero Diels-Alder Reaction in Surfactant Solutions. *Colloid Journal* **2013**, 75 (2), 181–184. <https://doi.org/10.1134/S1061933X13020105>.
- (72) Yadav, H.; Bhoite, S. A.; Singh, A. K. Kinetic and Mechanistic Study of Micellar Effect of Hydrolytic Reaction of Di-2-Methoxy-4-Nitroaniline Phosphate. *J Dispers Sci Technol* **2017**, 38 (1), 121–131. <https://doi.org/10.1080/01932691.2016.1146614>.
- (73) Yadav, H.; Bhoite, S. A.; Singh, A. K. Effect of Surfactants on Hydrolysis of Mono-N-Ethyl-o-Toluidine Phosphate. *Tenside, Surfactants, Detergents* **2016**, 53 (2), 182–194. <https://doi.org/10.3139/113.110424>.
- (74) Ghosh, K. K.; Kolay, S.; Satnami, M. L.; Moore, S.; Palepu, R. M.; Dafonte, P. R. Kinetics of Reaction of Oximate α -Nucleophiles with p-Nitrophenyl Acetate in Alkyltriphenyl Phosphonium Bromide Micelles. *J Dispers Sci Technol* **2007**, 28 (2), 213–218. <https://doi.org/10.1080/01932690601057655>.
- (75) Dmytriy Konyaev; Sergiy Myerniy; Yuriy Kholin. CLINP. <http://chemo.univer.kharkov.ua/kholin/clinp.html#authors> (accessed 2025-04-28).
- (76) Mchedlov-Petrosyan, N. O.; Cheipesh, T. A.; Shekhovtsov, S. V.; Redko, A. N.; Rybachenko, V. I.; Omelchenko, I. V.; Shishkin, O. V. Ionization and Tautomerism

- of Methyl Fluorescein and Related Dyes. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* **2015**, *150*, 151–161. <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2015.05.037>.
- (77) Cheipesh, T. A.; Kharchenko, D. V.; Taranets, Y. V.; Rodik, R. V.; Mchedlov-Petrosyan, N. O.; Poberezhnyk, M. M.; Kalchenko, V. I. Reaction Rates in Aqueous Solutions of Cationic Colloidal Surfactants and Calixarenes: Acceleration and Resolution of Two Steps of Fluorescein Diesters Hydrolysis. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* **2020**, *606*. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2020.125479>.
- (78) Cheipesh T. A.; Taranets Y. V.; Mchedlov-Petrosyan N. O. Kinetics of Alkaline Hydrolysis of Dilaurylfluorescein in Aqueous Ethanol and Micellar Solution of Cetyltrimethylammonium Bromide. *Kharkiv University Bulletin. Chemical Series* **2014**, *23* (23), 5–13. <https://doi.org/10.26565/2220-637X-2014-23-01>.
- (79) Gutbezahl, B.; Grunwald, E. The Acidity and Basicity Scale in the System Ethanol-Water. The Evaluation of Degenerate Activity Coefficients for Single Ions^{1a}. *J Am Chem Soc* **1953**, *75* (3), 565–574. https://doi.org/10.1021/JA01099A015/ASSET/JA01099A015.FP.PNG_V03.
- (80) Laguta, A. N.; Eltsov, S. V.; Mchedlov-Petrosyan, N. O. Kinetics of Alkaline Fading of Methyl Violet in Micellar Solutions of Surfactants: Comparing Piskiewicz's, Berezin's, and Pseudophase Ion-Exchange Models. *Int J Chem Kinet* **2019**, *51* (2), 83–94. <https://doi.org/10.1002/KIN.21231;REQUESTEDJOURNAL:JOURNAL:10974601>.
- (81) Laguta, A. N.; Eltsov, S. V.; Mchedlov-Petrosyan, N. O. Micellar Rate Effects on the Kinetics of Nitrophenol Violet Anion Reaction with HO[–] Ion: Comparing Piskiewicz's, Berezin's, and Pseudophase Ion-Exchange Models. *J Mol Liq* **2019**, *277*, 70–77. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2018.12.012>.

- (82) Bunton, C. A.; Nome, F.; Quina, F. H.; Romsted, L. S. Ion Binding and Reactivity at Charged Aqueous Interfaces. *Acc Chem Res* **1991**, *24* (12), 357–364. https://doi.org/10.1021/AR00012A001/ASSET/AR00012A001.FP.PNG_V03.
- (83) Bartet, D.; Gamboa, C.; Sepúlveda, L. Association of Anions to Cationic Micelles. *Journal of Physical Chemistry* **1980**, *84* (3), 272–275. https://doi.org/10.1021/J100440A010/ASSET/J100440A010.FP.PNG_V03.
- (84) Чейпеш Т.О. ФЛЮОРЕСЦЕНЦІЯ В РОЗЧИНАХ: ПРОТОЛІТИЧНІ РІВНОВАГИ, ОПТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ КАЛІКСАРЕНІВ, ХНУ імені В.Н. Каразіна, Харків, 2015.
- (85) Mchedlov-Petrosyan, N. O.; Vodolazkaya, N. A.; Rodik, R. V.; Bogdanova, L. N.; Cheipesh, T. A.; Soboleva, O. Y.; Kryshchal, A. P.; Kutuzova, L. V.; Kalchenko, V. I. Colloidal Nature of Cationic Calix[6]Arene Aqueous Solutions. *Journal of Physical Chemistry C* **2012**, *116* (18), 10245–10259. https://doi.org/10.1021/JP210405S/SUPPL_FILE/JP210405S_SI_001.PDF.
- (86) Bunton, C. A.; Ionescu, L. G. Hydrolysis of Di- and Trisubstituted Phosphate Esters Catalyzed by Nucleophilic Surfactants. *J Am Chem Soc* **1973**, *95* (9), 2912–2917. https://doi.org/10.1021/JA00790A030/ASSET/JA00790A030.FP.PNG_V03.
- (87) Cheipesh, T. A.; Mchedlov–Petrosyan, N. O.; Bogdanova, L. N.; Kharchenko, D. V.; Roshal, A. D.; Vodolazkaya, N. A.; Taranets, Y. V.; Shekhovtsov, S. V.; Rodik, R. V.; Kalchenko, V. I. Aggregates of Cationic Calix[4]Arenes in Aqueous Solution as Media for Governing Protolytic Equilibrium, Fluorescence, and Kinetics. *J Mol Liq* **2022**, *366*. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2022.119940>.
- (88) Mchedlov-Petrosyan, N. O.; Cheipesh, T. A.; Shekhovtsov, S. V.; Redko, A. N.; Rybachenko, V. I.; Omelchenko, I. V.; Shishkin, O. V. Ionization and Tautomerism of Methyl Fluorescein and Related Dyes. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* **2015**, *150*, 151–161. <https://doi.org/10.1016/J.SAA.2015.05.037>.

- (89) Bogdanova, L. N.; Mchedlov-Petrosyan, N. O.; Vodolazkaya, N. A.; Lebed, A. V. The Influence of β -Cyclodextrin on Acid-Base and Tautomeric Equilibrium of Fluorescein Dyes in Aqueous Solution. *Carbohydr Res* **2010**, *345* (13), 1882–1890. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2010.07.002>.
- (90) Mchedlov-Petrosyan, N. O.; Cheipesh, T. A.; Moskaeva, E. G.; Shekhovtsov, S. V.; Ostrovskiy, K. I. Towards Understanding of Stepwise Acid-Base Dissociation in Systems Inclined to Tautomerism: Nitro Derivatives of Fluorescein in Dimethyl Sulfoxide. *J Mol Liq* **2023**, *386*. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2023.122540>.
- (91) Kharchenko, D. V.; Shekhovtsov, S. V.; Cheipesh, T. A.; Mchedlov-Petrosyan, N. O.; Karazin, V. N. MONONITROFLUORESCEINS IN AQUEOUS MEDIA: ACID-BASE EQUILIBRIA, TAUTOMERISM, AND HYDROLYSIS OF DIACETATES. *Ukrainian Chemistry Journal* **2024**, *90* (9), 3–18. <https://doi.org/10.33609/2708-129X.90.9.2024.3-18>.
- (92) K. V. Roshchyna; U. L. Litvinova; S. V. Eltsov. Micellar Effects in Kinetics of Reaction of Alkaline Hydrolysis P-Nitrophenylpalmitate. *Kharkov University Bulletin* **2014**, *23* (46), 24–31.
- (93) Okubo, T.; Ise, N. The Alkaline Hydrolyses of P-Nitrophenyl Esters in the Presence of Polyelectrolytes. *Journal of Organic Chemistry* **1973**, *38* (18), 3120–3122. https://doi.org/10.1021/JO00958A011/ASSET/JO00958A011.FP.PNG_V03.
- (94) Kharchenko, D. V.; Farafonov, V. S.; Cheipesh, T. A.; Mchedlov-Petrosyan, N. O.; Rodik, R. V.; Kalchenko, V. I. Catalytic Properties of Calixarene Bearing Choline Groups in the Processes of Ester Hydrolysis. *Theoretical and Experimental Chemistry* **2022**, *58* (5), 363–371. <https://doi.org/10.1007/S11237-023-09752-X/METRICS>.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації, у періодичних наукових виданнях держав, що входять до міжнародних наукометричних баз Scopus або Web of Science:

1. Cheipesh, T. A.; Kharchenko, D. V.; Taranets, Y. V.; Rodik, R. V.; Mchedlov-Petrosyan, N. O.; Poberezhnyk, M. M.; Kalchenko, V. I. Reaction Rates in Aqueous Solutions of Cationic Colloidal Surfactants and Calixarenes: Acceleration and Resolution of Two Steps of Fluorescein Diesters Hydrolysis. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* **2020**, 606. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFA.2020.125479>.

Особистий внесок здобувача: проведення дослідження, розробка методології, валідація.

2. Kharchenko, D. V.; Farafonov, V. S.; Cheipesh, T. A.; Mchedlov-Petrosyan, N. O.; Rodik, R. V.; Kalchenko, V. I. Catalytic Properties of Calixarene Bearing Choline Groups in the Processes of Ester Hydrolysis. *Theoretical and Experimental Chemistry* **2022**, 58 (5), 363–371. <https://doi.org/10.1007/s11237-023-09752-x>.

Особистий внесок здобувача: проведення дослідження, розробка методології, валідація.

3. Cheipesh, T. A.; Mchedlov-Petrosyan, N. O.; Bogdanova, L. N.; Kharchenko, D. V.; Roshal, A. D.; Vodolazkaya, N. A.; Taranets, Y. V.; Shekhovtsov, S. V.; Rodik, R. V.; Kalchenko, V. I. Aggregates of Cationic Calix[4]Arenes in Aqueous Solution as Media for Governing Protolytic Equilibrium, Fluorescence, and Kinetics. *J Mol Liq* **2022**, 366. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2022.119940>.

Особистий внесок здобувача: проведення дослідження, візуалізація результатів

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації, у фахових періодичних наукових виданнях, що не входять до міжнародних наукометричних баз:

1. Kharchenko, D. V; Shekhovtsov, S. V; Cheipesh, T. A.; Mchedlov-Petrosyan, N. O.; Karazin, V. N. MONONITROFLUORESCAINS IN AQUEOUS MEDIA: ACID-BASE EQUILIBRIA, TAUTOMERISM, AND HYDROLYSIS OF DIACETATES. *Ukrainian Chemistry Journal* **2024**, 90 (9), 3–18. <https://doi.org/10.33609/2708-129X.90.9.2024.3-18>.

Особистий внесок здобувача: проведення дослідження, розробка методології, валідація, візуалізація результатів

Тези доповідей:

1. Харченко Д. В., Чейпеш Т. О., Шеховцов С. В. Спектральні та кислотно-основні характеристики нітропохідних флуоресцеїну, Тези доповідей XVII Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів "Хімічні Каразінські читання – 2025", Харків, Україна, 29 квітня 2025; ХНУ ім. В.Н. Каразіна: Харків, 2025; с 202–203
2. Харченко Д.В., Чейпеш Т.А., Родик Р.В Кинетика гидролиза сложных эфиров флуоресцеина в водных растворах каликсаренов, Тези доповідей XI Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів "Хімічні Каразінські читання – 2019", Харків, Україна, 22–24 квітня 2019; ХНУ ім. В.Н. Каразіна: Харків, 2019; с 169–170
3. Харченко Д.В., Чейпеш Т.А., Родик Р.В Кинетика гидролиза сложных эфиров флуоресцеина в водных растворах катионных ПАВ и каликсаренов, Тези доповідей II Міжнародної наукової конференції студентів, аспірантів і молодих вчених "Хімічні Проблеми сьогодення", Вінниця, Україна, 19–21 березня 2019; ТОВ "Твори": Вінниця, 2019; с 145
4. Харченко Д.В., Чейпеш Т.А Влияние среды на скорость реакций гидролиза диацетилпроизводных флуоресцеина, Тези доповідей X

Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів "Хімічні Каразінські читання – 2018", Харків, Україна, 23–25 квітня 2018; ХНУ ім. В.Н. Каразіна: Харків, 2018; с 202–203

5. Харченко Д.В., Чейпеш Т.А. Кинетика реакций ступенчатого гидролиза диацетилфлуоресцеина в водных и водно-этанольных смесях, Тези доповідей IX Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів "Хімічні Каразінські читання – 2017", Харків, Україна, 18–20 квітня 2017; ХНУ ім. В.Н. Каразіна: Харків, 2017; с 202–203

ДОДАТОК Б

Розмір частинок у колоїдних системах

Таблиця Б.1 Розмір частинок у колоїдних системах ПАР у воді визначені методом ДРС.

Система	За інтенсивністю, нм	За об'ємом, нм
ЦТАБ (0.003 М) + NaCl (0.05 М)	5.4±1.1	4.8±1.1
ЦТАБ (0.003 М) + NaCl (0.05 М), pH 4.0	5.7±1.3	4.9±1.2
ЦТАБ (0.006) + NaCl (0.05 М)	5.2±1.0	4.7±1.0
ЦТАБ (0.003 М) + NaCl (0.05 М) + ацетонітрил ^а	5.4±1.0	4.9±1.0
ЦТАБ (0.003 М) + NaBr (0.10 М)	7.1±1.6	6.1±1.5
ЦТАБ (0.003 М) + NaCl (0.05 М) + Ac ₂ F1	5.5±0.9	5.0±1.0
ЦТАБ (0.003 М) + NaCl (0.05 М) + L ₂ F1, pH 4.0	153±65	27.8±6.1; 129±68
ЦТАБ (0.003 М) + NaCl (0.05 М) + L ₂ F1 після гідролізу, pH=4.0	5.6±1.1	5.0±1.1
ЦТАБ (0.003 М) + NaCl (0.05 М) + L ₂ F1	193±89	177±107
ЦТАБ (0.006 М) + NaCl (0.05 М) + L ₂ F1	170±75	150±84
ЦПХ (0.01 М) + NaCl (0.05 М)	4.9±1.1	4.4±1.0
ЦПХ (0.01 М) + NaCl (0.05 М), pH 4.0	5.5±1.5	4.5±1.2
ЦПХ (0.01 М) + NaCl (0.05 М) + Ac ₂ F1, pH 4.0	5.2±1.2	4.5±1.1
ЦПХ (0.01 М) + NaCl (0.05 М) + L ₂ F1	5.2±0.9	0
ЦПХ (0.01 М) + NaCl (0.05 М) + L ₂ F1, pH 4.0	5.2±1.0	4.7±1.0
ДСН (0.01 М) + NaCl (0.05 М)	4.8±0.9	4.4±0.9
ДСН (0.01 М) + NaCl (0.05 М) + ацетонітрил ^а	4.6±0.8	4.2±0.8
ДСН (0.01 М) + NaCl (0.05 М) + Ac ₂ F1	4.7±0.8	4.3±0.9
ДСН (0.01 М) + NaCl (0.05 М) + L ₂ F1	206±112	92±38; 299±126
TX100 (0.01 М) + NaCl (0.05 М)	9.4±3.2	7.1±2.3

Продовження Таблиці Б.1

TX100 (0.01 M) + NaCl (0.05 M) + Ac ₂ Fl	9.2±2.9	7.1±2.2
TX100 (0.01 M) + NaCl (0.05 M) + L ₂ Fl	9.0±2.9	6.9±2.1
ЦДАПС (0.01 M) + NaCl (0.05 M)	6.5±1.5	5.6±1.4
ЦДАПС (0.01 M) + NaCl (0.05 M) + Ac ₂ Fl	6.4±1.5	5.5±1.4
ЦДАПС (0.01 M) + NaCl (0.05 M) + L ₂ Fl	6.1±1.5	5.3±1.3
C ₃ -C4A-Ch (0.003 M) + NaCl (0.05 M) ^b	3–4	3–4
C ₆ -C4A-Ch (0.0011 M) + NaCl (0.05 M) ^b	5.4±1.5	4.4±1.2
C ₈ -C4A-Ch (0.0014 M) + NaCl (0.05 M) ^b	5.3±1.1	4.8±1.1
C ₁₂ -C4A-Ch (0.00019 M) + NaCl (0.05 M) ^b	8.4±2.8	6.7±1.9
C ₁₂ -C4A-Im (0.001 M) + NaCl (0.05 M) ^b	9±3	7±2

a Оскільки матричні розчини DLFl готували в ацетонітрилі, робочі розчини містили не більше ніж 5 % CH₃CN. Тому контрольні вимірювання ДРС проводили без DLFl, але з ацетонітрилом.

b За відсутності додавання NaCl розподіл за розмірами є більш складним і відрізняється для C₃, C₆, C₈ та C₁₂.

ДОДАТОК В

Критичні концентрації міцелоутворення (ККМ) поверхнево-активних речовин

У воді при 25 °С значення ККМ для використаних ПАР становлять:

$9,8 \times 10^{-4}$ М (ЦПХ) [1],

$8,2 \times 10^{-3}$ М (ДСН),

$9,8 \times 10^{-4}$ М (ЦТАЮ),

$2,4 \times 10^{-4}$ М (ТХ-100) [2],

5×10^{-5} М (ЦДАПС) [3],

$3,2 \times 10^{-5}$ М (Gemini 16–4–16) [4].

[1] J. J. Chung, S. W. Lee, Y.L. Kim, Bull. Korean Chem. Soc. 13 (1992) 647–649.

[2] K. V. Roshchina, S. V. Eltsov, A. N. Laguta, N. O. Mchedlov-Petrosyan, J. Mol. Liquids 201 (2015) 77–82.

[3] S. V. Malyovaniy, N. A. Vodolazkaya, N. O. Mchedlov-Petrosyan, V. D. Orlov, Proc. Nat. Acad. Sci. Ukraine 2003, no. 1, 145–148.

[4] D. Kumar, M. Abdul Rub, RSOS. <http://doi.org/10.1098/rsos.191648>.

ДОДАТОК Г

Зміни розміру частинок під час реакції гідролізу в системі СТАВ–L2FI

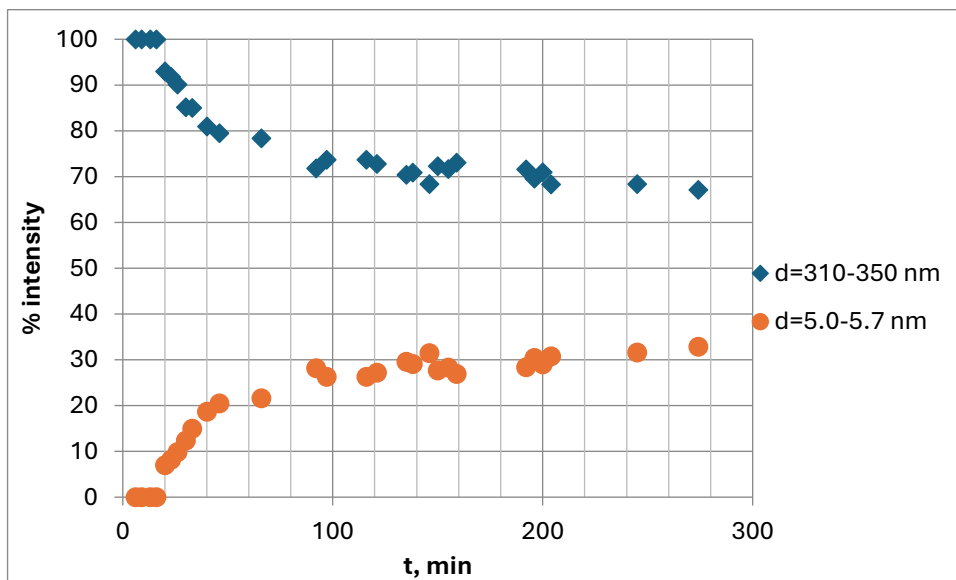


Рисунок Г.1. Зміна розподілу розміру частинок з часом: гідроліз DLFI у розчині СТАВ, рН 8,4; розподіл за інтенсивністю.

ДОДАТОК Д

Порівняння констант швидкості, визначених із фільтрацією та без неї

Таблиця Д.1 Константи швидкості гідролізу з фільтрацією розчинів та без неї

Система	$k_1' \times 10^4, \text{с}^{-1}$	$k_2' \times 10^4, \text{с}^{-1}$
ЦТАБ, фільтрований	19.5±0.4	50.0±1.1
ЦТАБ, нефільтрований	21.2±0.2	43.2±0.4
C ₁₂ -C4A-Ch, фільтрований	25.9±0.9	131.0±4.4
C ₁₂ -C4A-Ch, нефільтрований	28.3±1.5	131±8

ПРОТОКОЛ
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 15:38:06 02.06.2025

Назва файлу з підписом: Kharchenko_diss.pdf.asice
Розмір файлу з підписом: 2.4 МБ

Перевірені файли:
Назва файлу без підпису: Kharchenko_diss.pdf
Розмір файлу без підпису: 2.6 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: Харченко Дар'я Вікторівна
П.І.Б.: Харченко Дар'я Вікторівна
Країна: Україна
РНОКПП: 3557511926

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 15:38:01 02.06.2025

Сертифікат виданий: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг
Серійний номер: 382367105294AF9704000000942A0D00400EDF03
Тип носія особистого ключа: ЗНКІ криптомодуль ІІТ Гряда-301
Алгоритм підпису: ДСТУ 4145
Тип підпису: Кваліфікований
Тип контейнера: Підпис та дані в архіві (розширений) (ASiC-E)
Формат підпису: З повними даними ЦСК для перевірки (CAdES-X Long)
Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2025.02.05 13:00

ПРОТОКОЛ
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 15:38:06 02.06.2025

Назва файлу з підписом: Kharchenko_diss.pdf.asice
Розмір файлу з підписом: 2.4 МБ

Перевірені файли:
Назва файлу без підпису: Kharchenko_diss.pdf
Розмір файлу без підпису: 2.6 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: Харченко Дар'я Вікторівна
П.І.Б.: Харченко Дар'я Вікторівна
Країна: Україна
РНОКПП: 3557511926

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 15:38:01 02.06.2025

Сертифікат виданий: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг
Серійний номер: 382367105294AF9704000000942A0D00400EDF03
Тип носія особистого ключа: ЗНКІ криптомодуль ІІТ Гряда-301
Алгоритм підпису: ДСТУ 4145
Тип підпису: Кваліфікований
Тип контейнера: Підпис та дані в архіві (розширений) (ASiC-E)
Формат підпису: З повними даними ЦСК для перевірки (CAdES-X Long)
Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2025.02.05 13:00