

**СОФИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ”  
ФАКУЛТЕТ ПО МЕДИЦИНА**

**КАТЕДРА ХИМИЯ И БИОХИМИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ**

**Иво Коцев Грабчев**

**ВЛИЯНИЕ НА ЗАМЕСТИТЕЛИТЕ В СТРУКТУРАТА НА 1,8-НАФТАЛИМИДИ  
ВЪРХУ СПЕКТРАЛНИТЕ, СЕНЗОРНИТЕ И МИКРОБИОЛОГИЧНИТЕ ИМ  
СВОЙСТВА**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**На дисертационен труд за присъждане на научната степен**

*Доктор на науките*

**Научно направление 4.2 Химически науки**

*/Органична химия/*

**София, 2016 г.**

Дисертацията съдържа 157 страници, в които са включени 98 фигури, 42 схеми и 26 таблици с позоваване на 172 литературни източника. Дисертационният труд е базиран на изследвания, отразени в 46 публикации, които са цитирани 761 пъти в научната литература (по SCOPUS).

Дисертацията е обсъдена и насочена за защита на заседание на катедрен съвет на Катедрата „Органична химия и фармакогнозия” към Факултета по химия и фармация на СУ „Св. Климент Охридски“, състоял се на 24.03.2016 година.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на \_\_\_\_\_ година от \_\_\_\_\_ часа  
в \_\_\_\_\_ зала на Факултета по химия и фармация на СУ „Св. Климент Охридски“.  
Материалите по защитата са на разположение в Деканата на ФХФ, СУ, бул. „Джеймс  
Баучър“ 1, стая 107.

---

**Използвани съкращения:**

ППА	Полипропилен амин
ПАМАМ	Полиамидоамин
АН	Аценафтен
НА	1,8-нафталов анхидрид
БНА	4-бромо-1,8-нафталов анхидрид
ННА	4-нитро-1,8-нафталов анхидрид
НАН	4-нитроаценафтен
АНБ	4-бромоаценафтен
БАН	4-бромо- <i>N</i> -алил-1,8-нафталимид
ДМФ / DMF	<i>N,N</i> -диметилформаид
ДМСО	Диметилсулфоксид
ТХФ	Тетрахидрофуран
АН	Ацетонитрил
ГПХ	Гел-проникваща хроматография
St	Стирен
ММА	Метилметакрилат
ТСХ	Тънкослойна хроматография
ДСМ	Дихлорметан
ТФА	Трифлороцетна киселина
ТЕА	Триетиламин
ФЕТ	Фотоиндуциран електронен трансфер
ФУ	Флуоресцентно усилване
ФГ	Флуоресцентно гасене
SERS	Повърхностно усилен Раманова спектроскопия
Ag NPs	Сребърни наночастици
ЕПР	Електрон парамагнитен резонанс
СЕМ	Сканираща електронна микроскопия
МИК	Минималната инхибираща концентрация

## Увод

Флуоресцентните съединения намират приложение в медицината, фармацевцията, биологията, опазването на околната среда и в различни авангардни научни области. Сред известните флуорофорни структури, използвани в тези направления, важно място заемат производните на 1,8-нафталимида. Те имат компактни молекули, отличаващи се с интензивна флуоресцентна емисия, комбинирана с ярък цвят, който може да се изменя в широки граници (в зависимост от приложението), като при това притежават висока фото- и термостабилност. При специален дизайн на 1,8-нафталиמידните производни се осъществява фотоиндуциран електронен трансфер (ФЕТ), който е в основата на най-ефективните флуоресцентни сензори за бързо откриване на различни по природа метални йони и биопродукти в живите организми или в околната среда.

Развитието на новите технологии налага дизайн и синтез на нови флуоресцентни полимери с подобрени експлоатационни характеристики. По-голяма част от тях се получават при съполимеризацията на традиционни мономери с нискомолекулни полимеризиращи флуорофори, при което се постига структурно модифициране на полимера с включени флуоресцентни звена в макромолекулата. Те се отличават с равномерност на флуоресцентното излъчване, дължащо се на регулярното (на молекулно ниво) разпределение на флуорофорите и устойчивост на мокра обработка и органични разтворители. При структурното модифициране на полимерите може да се варира цветът на флуоресцентната емисия в предварително зададена спектрална област, като се използват флуорофори с желани спектрални свойства.

През последните 30 години с развитието на синтетичната органична химия се разработват и изследват нов тип триизмерни макромолекули, наречени дендримери, отличаващи се от линейните полимери със своята монодисперсност и перфектно разклонена симетрична структура. Те съчетават свойствата на ниско- и високомолекулните вещества, поради което интереса към този клас съединения непрекъснато нараства. Разработени са флуоресцентни дендримери, съдържащи хромофорни фрагменти в конкретни, предопределени позиции на молекулата, което води до появата на нови свойства и нови области на приложение. Дендримерите намират приложение в светлосъбиращи системи, наподобяващи биологичния фотосинтетичен апарат на растенията. Изследва се потенциалът им в генното инженерство, фармацевцията, за транспорт на лекарствени средства, за изработване на светлоизлъчващи диоди, при химичния анализ на замърсители в околната среда и др.

Опазването на околната среда е основна задача на съвременното общество. Анализът на замърсители от различен произход във въздуха, почвата и водните източници е предизвикателство за учените в много страни. Редица научни лаборатории се занимават с разработването на нови детектори за откриването на тези замърсители. Това поражда стремеж към разработване на молекулни устройства, способни да изпълняват сензорни функции, каквито са флуоросензорите, задвижвани от светлината и реагиращи с промяна във флуоресцентната си емисия.

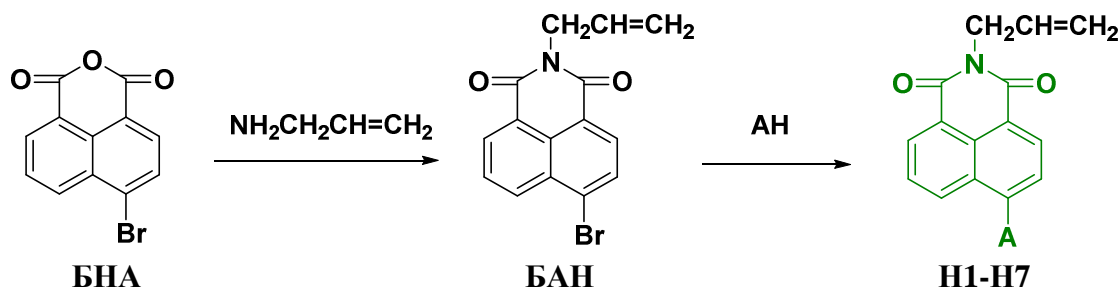
Настоящият дисертационен труд разглежда влиянието на заместителите в структурата на 1,8-нафталиמידните производни върху функционалните им

характеристики. Показано е как включването на различен брой 1,8-нафталимидни единици в една молекулна структура влияе върху тези характеристики.

В първата глава е описан и дискутиран синтезът на нови полимеризиращи 1,8-нафталимидни производни и възможността им да участват в съполимеризационни процеси с традиционни мономери, използвани в полимерната химия. Показана е логичната връзка за синтеза на първите полимеризиращи 1,8-нафталимиди със сензорни свойства и линейни полимери с включени в страничната верига сензорни фрагменти. Нов етап от развитието на химията на 1,8-нафталимидите е включването им към полипропилен амин (ППА) и полиамодоамин (ПАМАМ) дендримери от различни генерации, при което са получени нови флуоресцентни дендримери с уникални свойства. Във втората част са изследвани фотофизичните свойства на мономерните 1,8-нафталимидни производни и модифицираните с тях линейни полимери и дендримери. Специално внимание е отделено на влиянието на полярността на средата върху фотофизичните характеристики, с оглед изясняване на възможността за осъществяване на ФЕТ. Третата глава описва използването на ИЧ-спектроскопия за охарактеризиране на модифицирани с 1,8-нафталимиди ППА дендримери. Четвъртата глава е посветена на тези 1,8-нафталимидни съединения (ниско и високомолекулни), при които ФЕТ е добре изразен, с оглед възможността за използването им като детектори за откриване на различни по природа биологично важни метални йони и йони на тежки и преходни метали в околната среда и живите организми. Обсъдено е влиянието на металните йони и 1,8-нафталимидната структура върху сензорния им капацитет. В пета и шеста глава е описан синтеза и охарактеризирането на Cu(II) и Zn(II) комплекси с някои 1,8-нафталимидни лиганди и е изследвана микробиологичната им активност.

## Синтез на нови полимеризиращи 1,8-нафталиמידни флуорофори с жълто-зелена флуоресценция

Схематично получаването на 1,8-нафталиמידни производни с amino заместители в С-4 позиция и алилна група, свързана към имидния азотен атом е показано на **Схема 1**.



**Схема 1.** Синтез на 1,8-нафталиמידни производни с amino заместител при С-4, чрез нуклеофилна замяна на бромнен атом.

Изходният 4-бромо-нафталов анхидрид (**БНА**) взаимодейства с алиламин в среда на кипящ метилов алкохол до получаване на 4-бромо-N-алил-1,8-нафталиמיד (**БАН**). Важно условие в този случай е алиламинът да бъде в еквимолни количества спрямо **БНА**, тъй като с първични амини нафталовите анхидриди взаимодействат преимуществено с анхидридната групировка и след нейното изчерпване при излишък от амин в реакционната среда, той участва в заместителни реакции с бромния атом в С-4 позиция. Това е и главната причина да не могат да бъдат получени нафталови анхидриди с вторични amino групи в С-4 позиция. След изолиране на **БАН** нуклеофилната замяна на бромния атом със съответните амини се провежда в среда на 2-метоксиетанол до получаване на крайните продукти **Н1-Н7** (**Схема 1**).

No	А
<b>Н1</b>	морфолино
<b>Н2</b>	пиперидино
<b>Н3</b>	пиролидино
<b>Н4</b>	$\text{NHCH}_3$
<b>Н5</b>	$\text{NHCH}_2\text{CH}_3$
<b>Н6</b>	$\text{N}(\text{CH}_3)_2$
<b>Н7</b>	$\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$
<b>Н8</b>	$\text{NH}_2$
<b>Н9</b>	$\text{NHCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$
<b>Н10</b>	$\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2)_2$

За получаването на 1,8-нафталиמיד с първична amino група в С-4 позиция предварително нитро групата от 4-нитро-нафталовия анхидрид (**ННА**) се редуцира с калаен дихлорид в среда на солна киселина, след което 4-amino-нафталовият анхидрид

(АНА) реагира с алиламин по метода, описан по-горе до получаване на съответния краен продукт (Н8), както е показано на Схема 2.

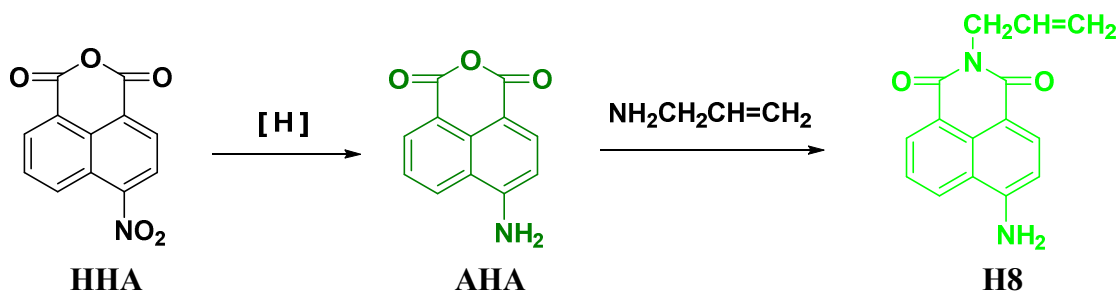


Схема 2. Синтез на 4-амино-*N*-алил-1,8-нафталиמיד (Н8).

Възможност за получаване на нова структурна разновидност на горепосочените 1,8-нафталиמידни производни е въвеждането на полимеризиращата алиламинна група към въглеродния атом от С-4 позиция, както е показано на Схема 3.

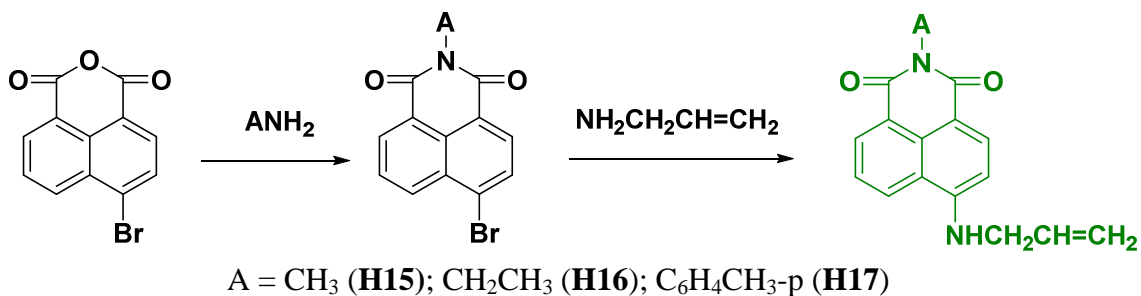


Схема 3. Синтез на 4-алиламино-*N*-заместени-1,8-нафталимиди.

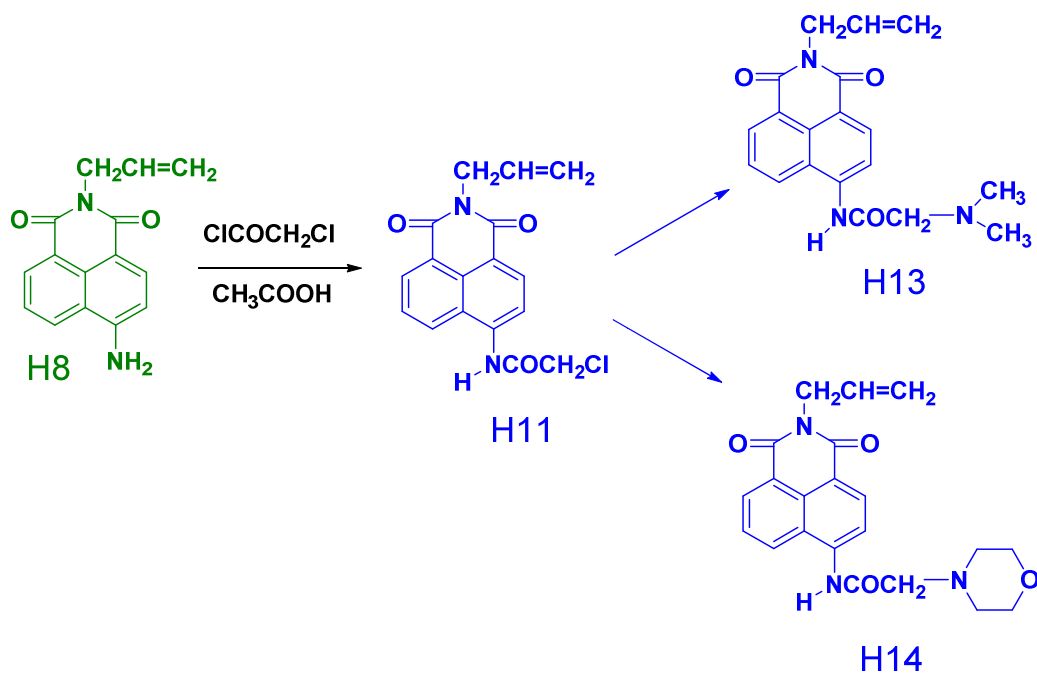


Схема 4. Получаване на Н11, Н13 и Н14.

Ацилираните amino групи намаляват електрондонорните свойства на азотния атом спрямо съответните amino групи в резултат на изтегляне на електронната

плътност към ацилираните остатъци. Нови синьо флуоресциращи 1,8-нафталимидни производни са получени след ацилиране на amino групата от 4-амино-*N*-алил-1,8-нафталимид (**H8**) с хлорацетил хлорид (**H11**) и следваща замяна на хлорния атом от **H11** с амини (диметиламин -**H13** или морфолин -**H14**) (Схема 4).

### Синтез на нови полимеризиращи 4-алкокси-1,8-нафталимидни флуорофори със синя флуоресценция

При замяна на amino с алкокси група в С-4 позиция на 1,8-нафталимидната структура могат да се получат флуорофори, излъчващи виолетова и синя флуоресценция.

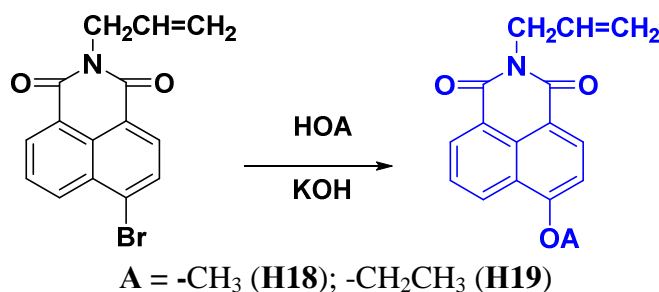


Схема 5. Синтез на 4-алкокси-*N*-алил-1,8-нафталимидни производни.

И тук, както и при amino заместените 1,8-нафталимидни производни като полимеризираща група е използвана алиловата група, свързана към имидния азотен атом, а в С-4 позиция в хромофорната система са въведени метокси (**H18**) и етокси (**H19**) заместители. Нуклеофилната замяна на бромния атом с алкокси групите е проведена в среда на съответните алкохоли, а като база е използвана калиева основа (Схема 5).

### Синтез на 1,8-нафталимидни производни със сензорни свойства

С оглед получаване на хетерогенен флуоресцентен сензор за метални йони и протони във водни среди, през 2001 г. синтезирахме първият полимеризиращ сензор на база 1,8-нафталимид, излъчващ жълто-зелена флуоресценция. При синтеза като рецепторен фрагмент е използван *N,N*-диметиламиноетиламин (**H20**), който въведен в хромофорната система при С-4 дава възможност за осъществяване на ФЕТ в молекулата на 1,8-нафталимида. По-късно е синтезиран друг полимеризиращ флуоресцентен сензор с *N*-метилпиперазин като рецепторен фрагмент (**H21**). И в двата случая нуклеофилната замяна на нитро с amino група е проведена в среда ДМФ, при стайна температура (Схема 6).



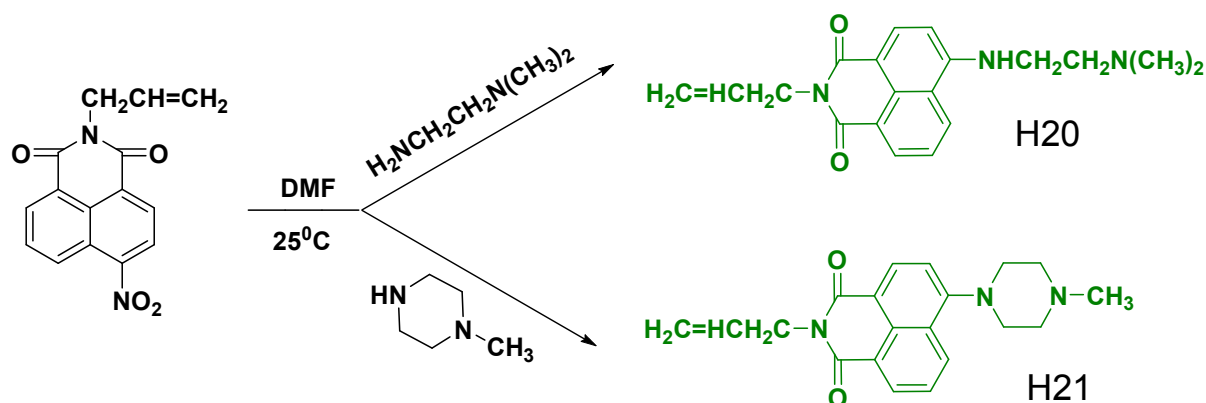


Схема 6. Нуклеофилна замяна на нитро група на 4-нитро-*N*-алил-1,8-нафталиמיד с алифатни амини.

С оглед обогатяване на цветовата гама като заместител в С-4 позиция на 1,8-нафталиמידната хромофорна система за първи път през 2005 год. от нас е използван *N,N*-диметиламиноетанол като рецепторен фрагмент, при което новосинтезирания 1,8-нафталиמיד излъчва синя флуоресценция. В този случай 4-бром-*N*-алил-1,8-нафталиמיד взаимодейства с *N,N*-диметиламиноетанол в присъствие на КОН до получаване на продукт **H22** съгласно **Схема 7**.

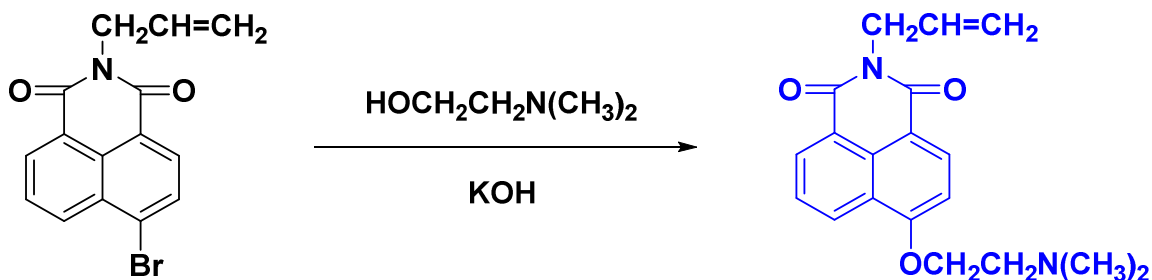


Схема 7. Синтез на 4-(*N,N*-диметиламиноетилокси)-*N*-алил-1,8-нафталиמיד (**H22**) със синя флуоресценция.

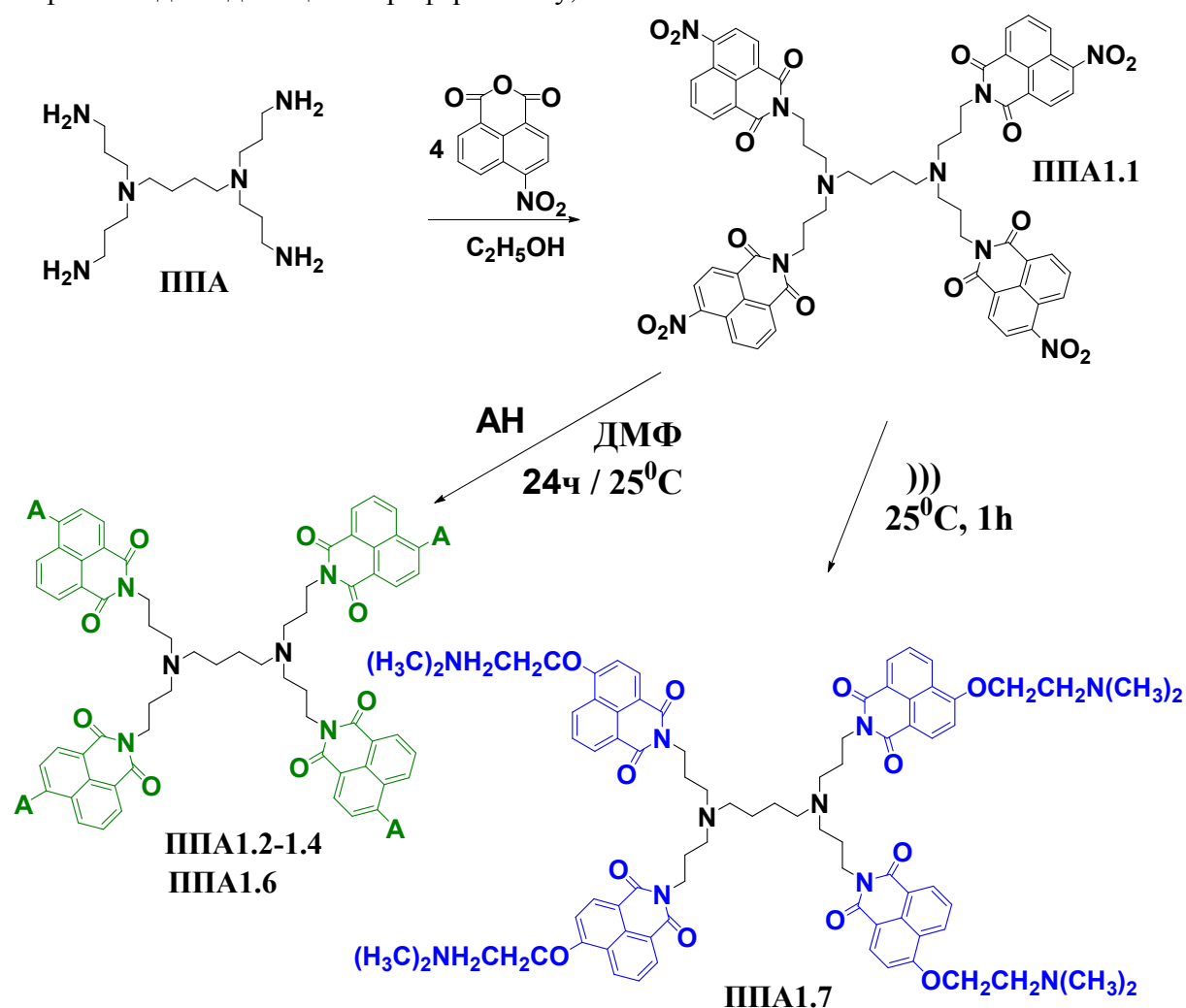
### Синтез на модифицирани с 1,8-нафталимиди ППА

Полипропиленамин (ППА) и полиаминоамин (ПАМАМ) дендримерите са сложни, съвършено разклонени триизмерни макромолекули с уникална структура и свойства, които съчетават свойствата на ниско- и високомолекулните вещества. Като следваща стъпка от синтетичната ни работа във връзка с развитието на химията на 1,8-нафталиמידните съединения беше да получим флуоресцентни ПАМАМ и ППА дендримери от различни генерации с ковалентно свързани в периферията им 1,8-нафталиמידни флуорофори с вариране природата на заместителите в С-4 позиция. Изборът на 1,8-нафталиמידите като флуорофори за модифицирането им се базира на натрупания от нас опит в изследването на мономерните нискомолекулни флуорофори. От друга страна 1,8-нафталиמידите флуорофори не бяха използвани за структурно модифициране на ПАМАМ и ППА дендримери.

## Модифициране в периферията на ППА дендримери от различни генерации с 1,8-нафталиמידни производни

Синтез на ППА дендримери от първа генерация с 4-амино-1,8-нафталиמידни единици

ППА дендримерите от първа генерация съдържат четири крайни свободни amino групи, които могат да взаимодействат с 1,8-нафталови анхидриди по описаните методи при нискомолекулните 1,8-нафталиמידни производни. В този случай 4-нитро-1,8-нафталов анхидрид взаимодейства с периферните първични amino групи на ППА дендримера до получаване на дендример със свързани четири 4-нитро-1,8-нафталиמידни единици в периферията му, както е показано на **Схема 8**.



**Схема 8.** Получаване на ППА от първа генерация модифицирани с 1,8-нафталиמידни.

При дизайна на новите ППА дендримери като амини са използвани *N,N*-диметиламиноетилендиамин (ППА1.2), *N*-метилпиперазин (ППА1.3) и пропиламин (ППА1.4). Първите два амина успешно са използвани при синтеза на флуоресцентни нискомолекулни сензори, базиращи се на ФЕТ и за нас беше интересно да ги

използваме при синтеза на ППА с оглед сравняване влиянието на вида на дендримерната матрица върху фотофизичните характеристики и сензорните свойства. От друга страна беше да изследвано влиянието на броя на флуоресцентните 1,8-нафталиמידни единици върху фотофизичните характеристики и сензорния капацитет на новосинтезираните ППА дендримери.

В едноетапен синтез са получени и два дендримера, при които като заместители в С-4 позиция на 1,8-нафталиמידната структура има водороден атом или първична амино група. За целта 1,8-нафталов анхидрид (A = H) (**ППА1.6**) или 4-амино-1,8-нафталов анхидрид (A = NH<sub>2</sub>) (**ППА1.5**) взаимодействат с ППА дендример съгласно **Схема 8**.

*Синтез на ППА дендримери от първа генерация с 4-алкокси-1,8-нафталиמידни единици*

Използваният за първи път рецепторен фрагмент - *N,N*-диметиламиноетокси група (**OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>**) със синя флуоресценция за детекция на метални йони и протони при синтеза на полимеризиращия 1,8-нафталиמידен сензор **H22** успешно е използван в синтеза на синьо флуоресциращ ППА дендример чрез нуклеофилната замяна на нитро групата с **OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>** остатък в условията на ултразвуков синтез, при което реакцията е проведена при стайна температура до получаване с количествен добив и висока чистота ППА дендример със синя флуоресценция (**ППА1.7**), съгласно **Схема 8**.

*Синтез на ППА дендримери от втора и трета генерация с 4-аминозаместени-1,8-нафталиמידни единици*

Нови флуоресцентни ППА дендримери с осем 4-аминозаместени-1,8-нафталиמידни единици са получени при кондензация на ППА дендример от втора генерация с 4-нитро-1,8-нафталов анхидрид до получаване на дендример с осем нафталиמידни единици в периферията. След нуклеофилната замяна на нитро групата с различни по структура амино групи в среда на ДМФ са получени крайните продукти с жълт цвят и с различна по интензивност жълто-зелена флуоресценция (**Схема 9**).

Използвани са различни по природа амини с оглед намиране на връзка между структура и свойства на ППА дендримери, така и за изясняване ролята на дендримерната генерация върху функционалните свойства на модифицираните с 1,8-нафталиמיד ППА дендримери.

ППА дендример от трета генерация съдържа 16 крайни първични амино групи, които взаимодействат с 4-амино-1,8-нафталов анхидрид до получаване на дендример **ППА3.1**.

Всички новосинтезирани дендримери са изолирани в твърдо агрегатно състояние за разлика от немодифицираните ППА дендримери, които са вискозни течности независимо от тяхната генерация. Те са добре разтворими в органични разтворители, но не се разтварят във вода.

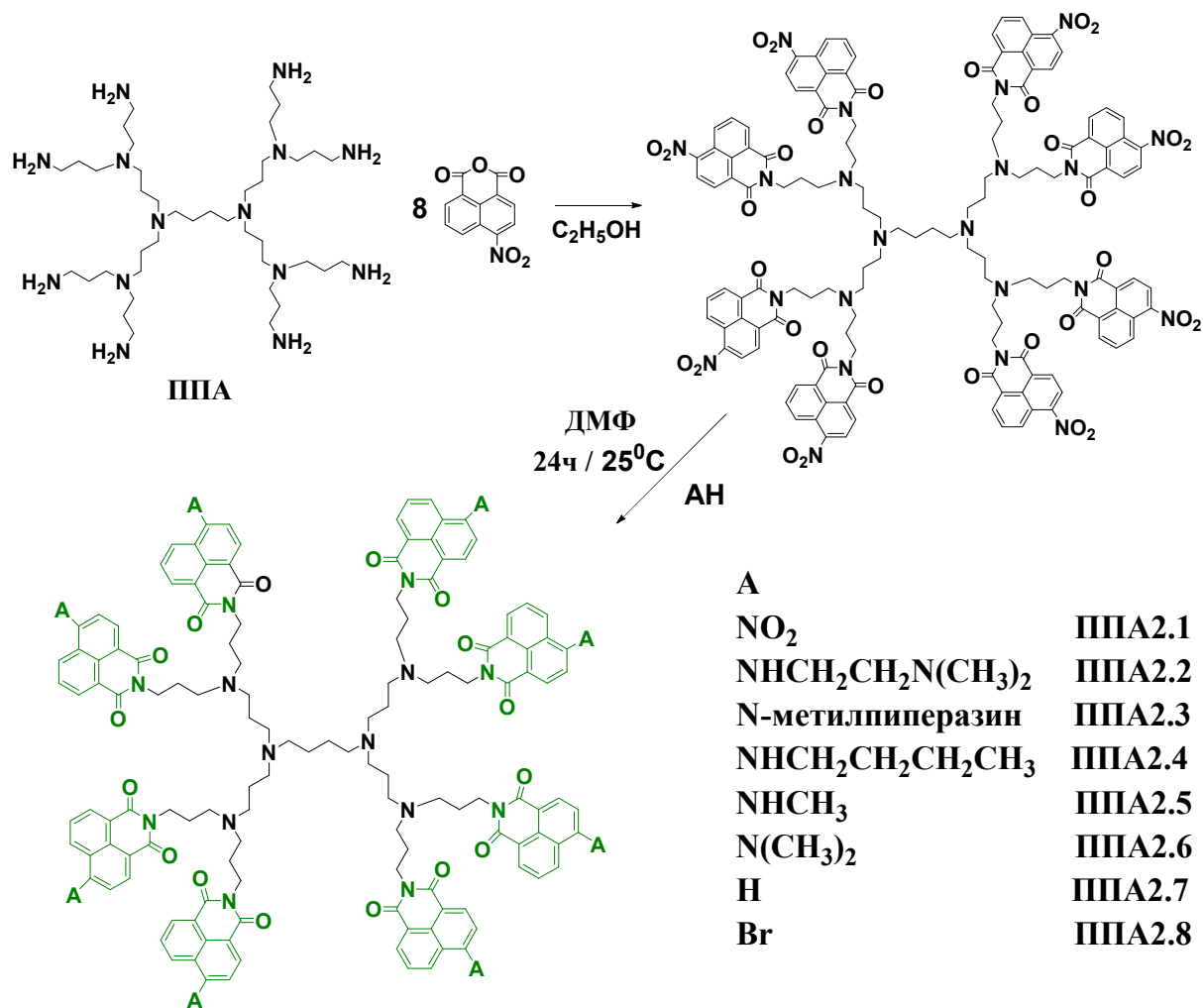


Схема 9. Получаване на модифицирани с 1,8-нафталимиди ППА дендримери от втора генерация.

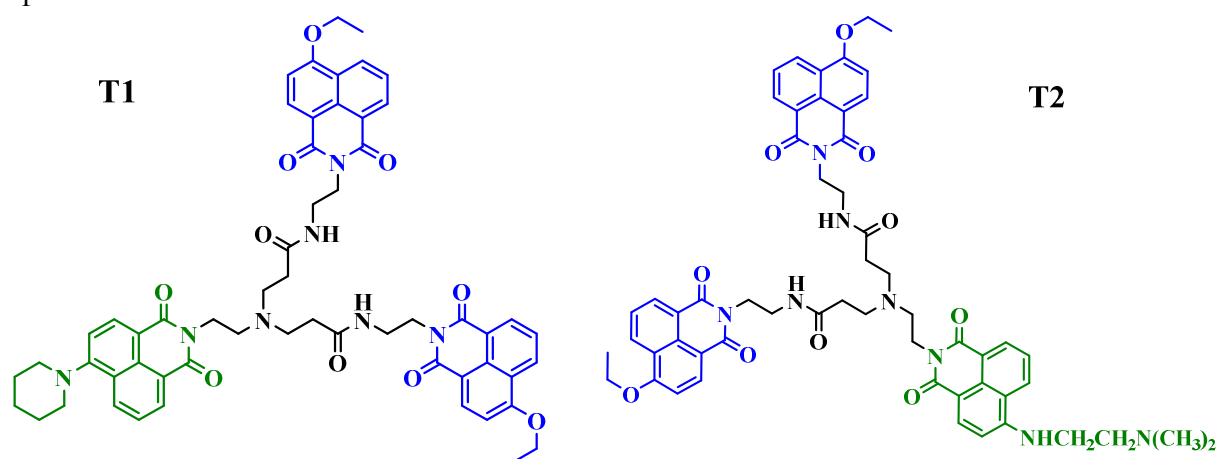
### Синтез на модифицирани с 4-*N,N*-диметиламиноетиленамино-1,8-нафталиמידни производни ПАМАМ дендримери

По аналогични синтетични схеми, както при ППА дендримерите са получени серия от ПАМАМ дендримери, модифицирани с 1,8-нафталиמידни производни от различни генерации. В този дисертационен труд са използвани резултатите от спектралните им характеристики и сензорната активност на тези от тях, които съдържат като заместител *N,N*-диметиламиноетиленамино групи ( $-NHCH_2CH_2N(CH_3)_2$ ) при С-4 атом (**ПАМАМ1**, **ПАМАМ2.1** и **ПАМАМ3**), където цифровия индекс показва номера на генерацията.

### Синтез на фотоактивни триподи с 1,8-нафталиמידни флуоресцентни единици

Като се базирахме на опита ни при периферната модификация на ПАМАМ и ППА дендримери беше разработена нова спектрално-енергийна концентрираща система с отлични абсорбционни и емисионни характеристики като се очаква това да

доведе до получаването на флуоресцентни сензори с голяма чувствителност и многократно усилване на сигнала. По този начин се получават т.нар. светлинни антени или системи, които абсорбират светлината и пренасят енергия до реакционен център. В тези структури възбуждащата енергия, получена при абсорбцията от определени хромофори, ефективно се пренася към друг хромофор, участващ в същата молекулярна система. Тази абсорбираща система с антенен ефект е аналогия на схемата на фотосинтеза в природата и има същата функция да абсорбира и концентрира светлинната енергия в едно активирано място. Получаването на ПАМАМ дендрони **T1** и **T2** с „антена ефект“ е осъществено чрез многоетапен синтез, а техните химични структури са показани на **Схема 10**. С оглед комбиниране свойствата на съединения с „антена ефект“, с тези на сензорите, структурата на дендронната молекула на **T2** беше моделирана по такъв начин, че енергийният трансфер от алкокси производните да се насочи към сигналната единица на сензорната част от молекулата, в резултат на което да се повиши чувствителността при детекцията на метални йони и протони. За целта като рецепторен фрагмент е използван *N,N*-диметилетилендиамин, който има доказани много добри свойства на рецепторен фрагмент при дизайна на флуоресцентни сензори. По този начин се съчетават в една молекула сензорните свойства с тези на антена ефекта.



**Схема 10.** Химични структури на антена триподи **T1** и **T2**.

### Синтез на триподи със синя и жълто-зелена флуоресценция

Освен дендроните с „антена ефект“, в структурата на които има три 1,8-нафталиמידни фрагменти бяха синтезирани две нови съединения, съдържащи amino или алкокси заместители, без възможност за осъществяване на енергиен трансфер, но със сензорни свойства, както е показано на **Схема 11**. За инициране на жълто-зелена или синя флуоресценция в С-4 позиция са въведени *N,N*-диметиламиноетиламино (**T3**) и *N,N*-диметиламиноетилалкокси (**T4**) групи.

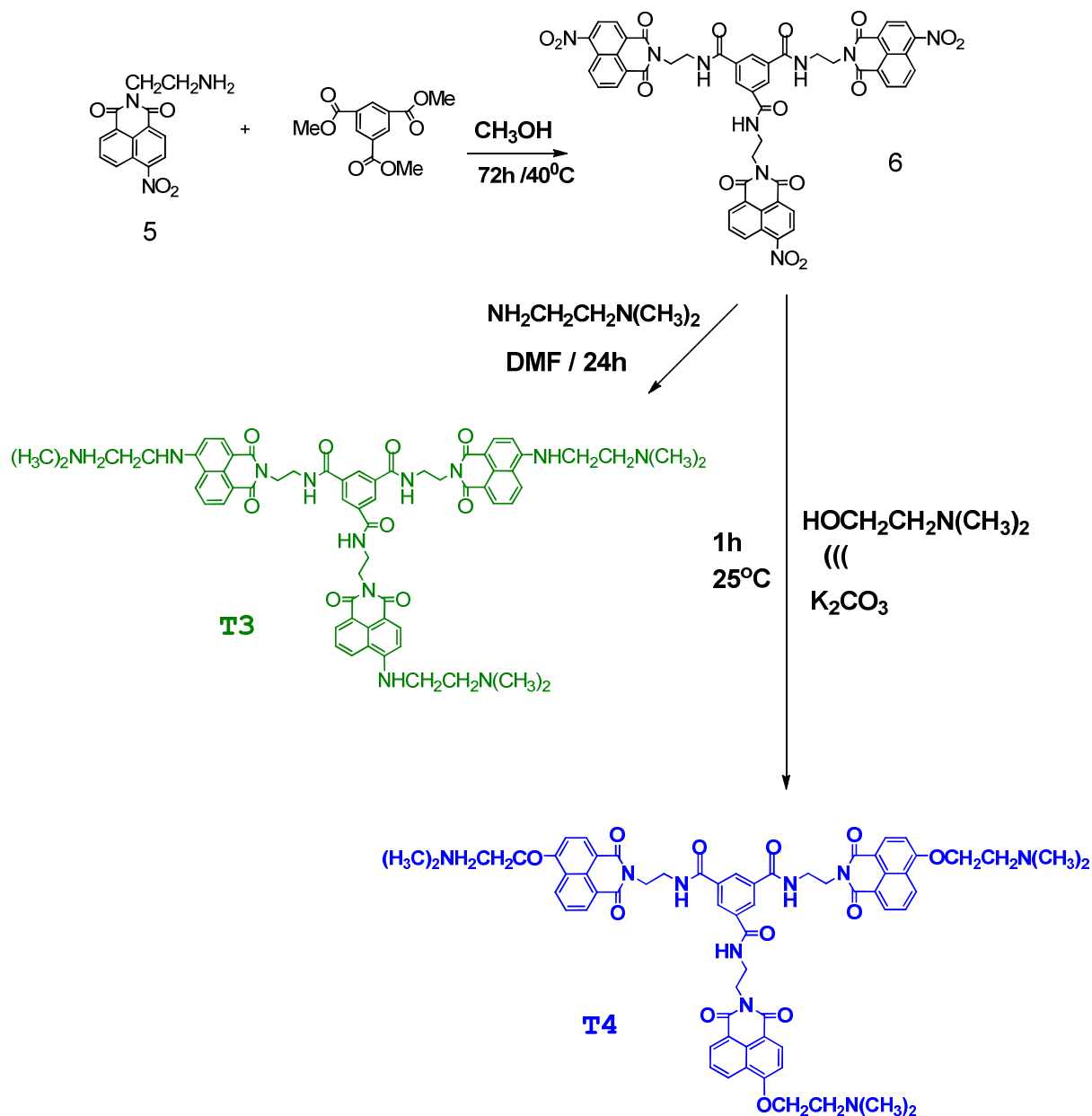


Схема. 11. Синтез на триподи T3 и T4.

### Спектрални свойства на 1,8-нафталиמידните флуорофори с жълто-зелена флуоресценция

В Таблица 1 са дадени фотофизични характеристики на синтезираните 1,8-нафталиמידни флуорофори в разтвор на етанол. Всички 1,8-нафталиמידни флуорофори имат жълт цвят, с абсорбционни максимуми в областта 390-443 нм и излъчват жълто-зелена флуоресценция с максимуми при 518-528 нм. Природата на заместителя в С-4 позиция на нафталеновото ядро съществено влияе върху фотофизичните им характеристики.

При флуорофор H8 с първична amino група като заместител, абсорбционният максимум е при 430 нм. Замяната на единият водороден атом с алкилна група (метилна-

**H4**) или (етилна-**H5**) оказва слабо влияние върху позицията на абсорбционните им максимуми, които са хипсохромно отместени и са съответно при 432 и 436 nm. При наличието на (диметилна-**H6**) или (диетилна-**H7**) група, противно на очакванията ни се наблюдава хипсохромно изместване с 16 nm (**H6** и **H7**). В този случай електрондонорните алкилови групи би трябвало да увеличат донорната способност на алкилираните аминокислотни групи, в резултат на което поляризацията на молекулата да се засили и съответните максимуми да са батохромно отместени.

**Таблица 1.** Фотофизични характеристики на 1,8-нафталимидни флуорофори в разтвор на етанол

		<b>H1</b>	<b>H2</b>	<b>H3</b>	<b>H4</b>	<b>H5</b>	<b>H6</b>	<b>H7</b>	<b>H8</b>
$\lambda_A$	nm	390	410	443	432	436	416	416	430
$\epsilon$	$l \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	12600	6900	15800	13600	10200	9800	11200	10600
$\lambda_F$	nm	522	525	528	522	525	520	523	518
$(\nu_A - \nu_F)$	$\text{cm}^{-1}$	6483	5342	3633	3991	3888	4807	4918	3950
$\Phi_F^a$		0.11	0.05	0.05	0.99	0.88	0.04	0.06	$\approx 1.00$

Наблюдаваният ефект на хипсохромно отместване се дължи на конформационни промени, свързани със свободното въртене около връзката C-4-N и възможността за т.н. *peri* ефект, при който водородният атом от C-5 взаимодейства с едната метилна група от диметиламино групата при C-4, в резултат на което тя застава перпендикулярно на нафталеновото ядро. По този начин се нарушава конформацията на хромофорната система. Това, от своя страна, води до драстично намаляване на безизлъчвателната дезактивация при прехода от първо възбудено  $S_1$  в основно  $S_0$  състояние. Подобно поведение е наблюдавано и при изследване спектралното поведение на серия 1,8-нафталимидни производни с различни заместители при C-4 атом, а към имидния азотен атом е свързана 2-хидроксиетилна група вместо алилната. Това показва, че спектралните свойства силно зависят от взаимодействието на електрондонорните заместители в C-4 позиция и електрон-акцепторните карбонилни групи, докато влиянието на заместителя от имидния азотен атом е незначително.

Количествено квантовата ефективност на флуорофорите се измерва с квантовия добив на флуоресценция -  $\Phi_F$ . При изследваните флуорофори той е в твърде широки граници (**Таблица 1**). Високи стойности за  $\Phi_F$  са намерени при **H4**, **H5** и **H8**, със заместители при C-4 съответно първични или вторични аминокислотни групи. В тези случаи квантовият добив е в границите  $\Phi_F = 0.88-0.99$ , което показва, че голяма част от погълнатата светлинна енергия е освободена под формата на флуоресцентна емисия. При флуорофори **H1-H3**, **H5** и **H6**, при които заместителите в C-4 позиция са третични аминокислотни групи с циклична или не циклична структура, квантовите добиви на флуоресценция са ниски  $\Phi_F = 0.04-0.11$ . В тези случаи ниската квантова ефективност на 1,8-нафталимидните флуорофори се дължи на изменение плоскостната структура на хромофорната система в резултат на стеричното въртене на заместителите. Така делът на безизлъчвателната дезактивация при прехода  $S_1 \rightarrow S_0$  е значителен. Аналогични

резултати са получени при съединения **H9** и **H10** със заместители алиламино и диалиламино групи, където квантовите добиви са съответно  $\Phi_F = 0.76$  и  $0.99$ .

Разликата между позициите на абсорбционния и флуоресцентен максимум, наречена Стоксово отместване ( $\nu_A - \nu_F$ ), се изразява в  $\text{cm}^{-1}$  и показва различията в свойствата и структурата на съединенията в основно и първо възбудено състояние. При сравняване стойностите за съединения **H1-H10** се вижда, че природата на заместителите влияе съществено и върху Стоксовото изместване. Може да се каже, че най-високи стойности има, когато заместителят е третичен амин, докато при първична и вторична amino група Стоксовото изместване има по тесни граници.

Изследвани са фотофизичните характеристики на **H15-H17** с алиламино група при С-4 в разтвор на етанол [55]. Те абсорбират във видимата област с абсорбционни максимуми при 428-434 nm и излъчват жълто-зелена флуоресценция при 524-526 nm. Високият квантов добив на флуоресценция ( $\Phi_F = 0.74-0.94$ ) показва, че при прехода  $S_1 \rightarrow S_0$ , делът на безизлъчвателната дезактивация е малък, както и при нафталиמידните производни с първична amino група при С-4.

### Спектрални свойства на 1,8-нафталиמידните флуорофори със синя флуоресценция

Изследвани са спектралните характеристики на синтезираните флуорофори (**H18** и **H19**) в разтвор на етанол и хлороформ. В изследваните разтворители **H18** и **H19** са безцветни, абсорбират в близката UV област с максимуми при 360-362 nm в етанол, като позицията им не зависи от вида на заместителите в С-4 позиция (**Таблица 2**). Флуоресцентните максимуми са в областта 438-449 nm и стойностите им зависят, както от вида на заместителя в С-4 позиция, така и от полярността на средата.

**Таблица 2.** Фотофизични характеристики на **H11**, **H12**, **H18** и **H19** в разтвор на етанол и хлороформ

	в етанол				в хлороформ			
	<b>H18</b>	<b>H19</b>	<b>H11</b>	<b>H12</b>	<b>H18</b>	<b>H19</b>	<b>H11</b>	<b>H12</b>
$\lambda_A$ nm	360	362	360	362	368	366	368	372
$\log \epsilon$	4.05	4.02	3.99	4.00	4.41	4.37	4.03	4.05
$\lambda_F$ nm	438	440	450	457	449	446	456	459
$\nu_A - \nu_F$ $\text{cm}^{-1}$	4947	4897	5555	5742	4902	4901	5244	5095
$\Phi_F$	0.79	0.74	0.53	0.58	0.85	0.82	0.51	0.53

Квантовият добив на флуоресценция е сравнително висок и почти не зависи от вида на алкокси групата. При прехода от етанол към хлороформ при съединения **H18** и **H19** освен батохромното изместване на абсорбционните и флуоресцентни максимуми, се увеличава и излъчваната флуоресценция, което се изразява с увеличение на квантовия добив на флуоресценция ( $\Phi_F = 0.82-0.85$ ) в хлороформ.

Ацилирането на първичната amino група при съединение **H8** с хлорацетилхлорид води до промяна на електрондонорната природа на amino групата поради силния електрон-акцепторен характер на хлорацетилния остатък.



Абсорбционните максимуми са силно хипсохромно изместени спрямо тези на **H8** със 70 нм, като поглъщат в УВ-област при 360-362 нм и излъчват синьо-зелена флуоресценция с максимуми при 450-457 нм. Слабо батохромно изместване е регистрирано при прехода от етанол към хлороформ с 8-19 нм. По-големи стойности за Стоксовото изместване са наблюдавани и при двата разтворителя, а квантовият добив съответно е около два пъти по-нисък. При сравняване на фотофизичните характеристики на **H11** и **H12** с тези на **H18** и **H19** се вижда, че абсорбционните максимуми имат близки стойности, докато флуоресцентните са батохромно изместени с 10-12 нм. Стоксовото изместване е в по-широки граници, а квантовият добив е значително по-нисък  $\Phi_F = 0.53-0.58$ . Тези разлики се дължат на различната електрондонорна способност на ациламино заместителите в сравнение с тези на алкокси групата.

Замяната на хлорния атом от съединение **H11** с диметиламино (**H13**) или морфолино (**H14**) групи не променя електронните им характеристики.

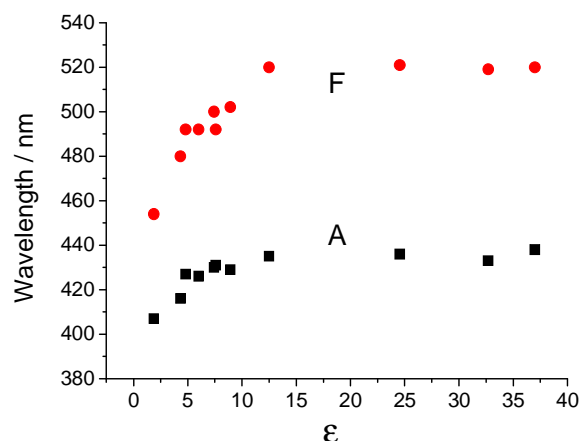
### Фотофизични характеристики на съединения **H20**, **H21** и **H22**

Основните фотофизични характеристики на трите съединения със сензорни рецепторни фрагменти, свързани към 1,8-нафталимидната хромофорна система (**H20**, **H21** и **H22**), са изследвани в органични разтворители с различна полярност с оглед потенциалното им приложение като ФЕТ сензори. Фотофизичните им свойства ще зависят, както от донорно-акцепторното взаимодействие в хромофорната система, така и от възможността за протичане на ФЕТ от крайната аминокиселинна група, свързана към заместителя в С-4 позиция към 1,8-нафталимидния флуорофор.

В органични разтворители съединения **H20** и **H21** имат интензивен жълто-зелен цвят. Абсорбционните максимуми на **H20** са при 407-438 нм, докато тези на съединение **H21** са хипсохромно изместени и са в областта 394-400 нм. Съответните флуоресцентни максимуми на двете съединения са при 454-520 нм и 507-518 нм. Резултатите показват, че абсорбционните и флуоресцентни максимуми на двете съединения зависят от една страна от полярността на средата, а от друга страна видът на аминокиселинната група влияе съществено върху поляризацията на 1,8-нафталимидната хромофорна система и от там върху позицията на съответните максимуми.

Графичната зависимост на абсорбционните и флуоресцентни максимуми на **H20** от полярността на разтворителите е показана на **Фигура 1**. Вижда се, че в сравнение с неполярните среди, абсорбционните и флуоресцентните максимуми при полярните разтворители са батохромно изместени ( $\Delta\lambda_A = 31$  nm и  $\Delta\lambda_F = 76$  nm) с положителен солватохромизъм. В тези случаи промяната в позициите на максимумите зависи съществено от полярността на средата и от специфичните флуорофор-разтворител взаимодействия.

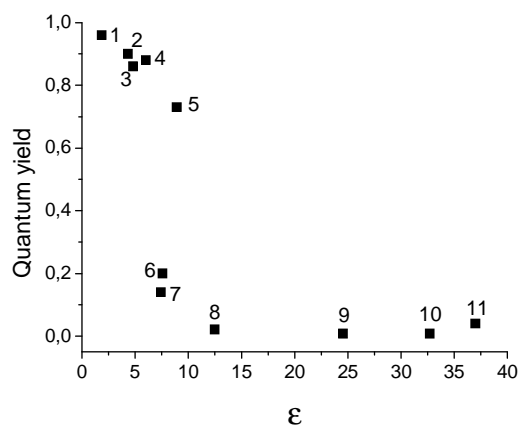
Полярността на разтворителя не влияе съществено върху позицията на абсорбционните максимуми на съединение **H21**, докато флуоресцентните са слабо батохромно изместени при прехода от полярни в неполярни разтворители.



**Фигура 1.** Абсорбционни (A) и флуоресцентни (F) максимуми на съединение **H20** като функция от полярността на разтворителите  $\epsilon$ .

Стоксовото изместване ( $\nu_A - \nu_F$ ) при **H20** е в границите  $2543-3827 \text{ cm}^{-1}$ , докато **H21** има значително по-високи стойности и е в границите  $5276-6068 \text{ cm}^{-1}$ . Видът на заместителя при С-4 оказва съществено влияние върху този параметър.

На **Фигура 2** е показана зависимостта на квантовия добив от полярността на разтворителите, от където се вижда, че в полярни среди **H20** излъчва много слаба флуоресценция и той се усилва 120 пъти в неполярни среди. При съединение **H21** това усилване е по-слабо изразено (9.1 пъти), но се следва същата зависимост. Тази значителна разлика в стойностите на  $\Phi_F$  на двете съединения се дължи на възможността за ФЕТ, който е по-добре застъпен в полярни разтворители.



**Фигура 2.** Зависимост на квантовия добив на **H20** от полярността на разтворителите ( $\epsilon$ ): 1-п-хексан, 2-диетилетер, 3-хлороформ, 4-етилацетат, 5-дихлорметан, 6-тетрахидрофуран, 7-трихлоретан, 8-2-пропанол, 9-етанол, 10-метанол, 11- ДМФ.

Алкокси заместеният 1,8-нафталиמיד (**H22**) поглъща в УВ спектрална област с максимуми при 363-366 нм и излъчва синя флуоресценция във видимата област при

429-436 нм. Тези резултати показват, че максимумите на съединение **H22** са силно хипсохромно изместени спрямо тези на аминозаместените производни (**H20** и **H21**). Наличието на *N,N*-диметиламино група, свързана с етиленов мост към С-4 на нафталимидната структура, влияе на квантовия добив, като в ацетонитрил той е  $\Phi_F = 0.009$  и се усилва 88 пъти до  $\Phi_F = 0.796$  в среда на тетраhydroфуран. Получените резултати са твърде различни в сравнение с тези за 4-алкокси-*N*-алил-1,8-нафталимиди **H18** и **H19** в полярни разтворители, където квантовите добиви са подобни на тези в неполярни разтворители. Голямата разлика се дължи на гасенето на ФЕТ в неполярни среди и възстановяването на флуоресцентната емисия на **H22**.

### Фотофизични характеристики на съполимерите на 1,8-нафталимидни флуорофори в страничната верига

Абсорбционните и емисионни характеристики на флуоресцентните съполимери са изследвани в разтвор и в тънък полимерен филм във връзка с използването им като хомогенни и хетерогенни полимерни сензори за метални йони и протони. Спектралните характеристики на Poly(*St-co-H20*) и Poly(*MMA-co-H20*) показват, че в разтвор на дихлорметан техните абсорбционни максимуми са при  $\lambda_A = 396$  и  $385$  нм, докато съответните флуоресцентни максимуми са при  $\lambda_F = 485$  и  $483$  нм.

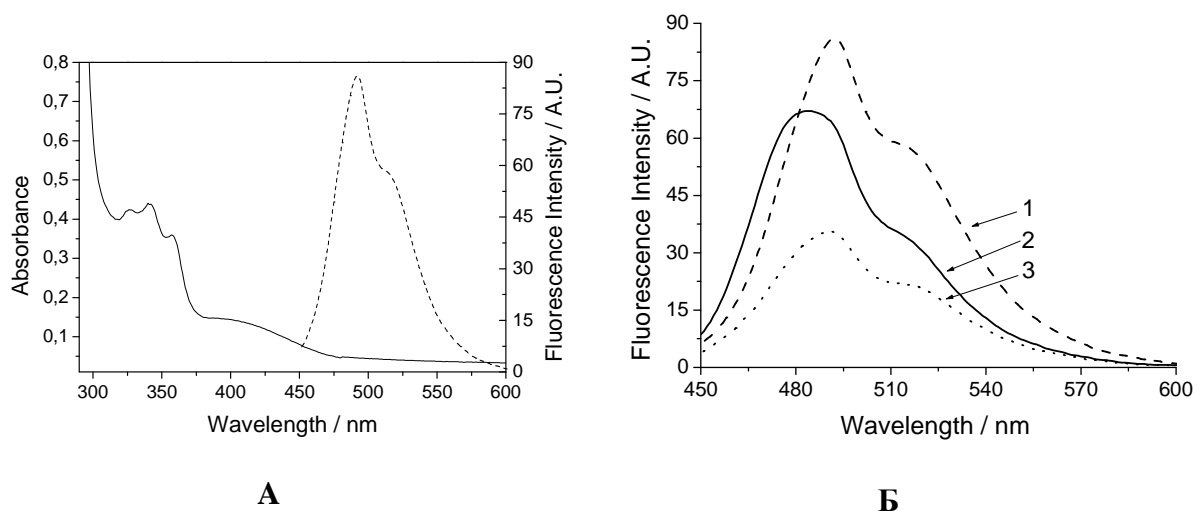
Абсорбционният максимум на Poly(*St-co-H20*) в твърд полимерен филм с дебелина  $40 \mu\text{m}$  е при  $\lambda_A = 398$  нм, а флуоресцентният максимум е при  $\lambda_F = 497$  нм, които са хипсохромно изместени в сравнение с мономерния 1,8-нафталимид. Тази разлика в максимумите се дължи на фиксирането на хромофорната система в твърдата полимерна матрица, при което възможността за конформационни промени в хромофорната система е минимална. Освен това разликата в полярността на средата също влияе върху фотофизичните характеристики на 1,8-нафталимида.

В твърдо състояние poly(*MMA-co-H20*) има жълт цвят и интензивна флуоресценция. В разтвор на хлороформ абсорбционният спектър е с широка безформена ивица, с не много добре изразен максимум при около  $400$  нм, докато флуоресцентният максимум е добре структуриран и е при  $491$  нм (**Фигура 3А**).

Флуоресцентните спектри на съполимера и на мономера **H20** в разтвор на хлороформ са почти идентични (**Фигура 3Б**). Флуоресцентният максимум в твърд полимерен филм е слабо хипсохромно изместен спрямо този в разтвор, което може да се обясни с подредеността на флуорофорите в твърдата полимерна матрица. Тези резултати показват, че по време на полимеризацията и в резултат на свързването към основната полимерна верига не настъпват структурни промени в хромофорната система на 1,8-нафталимидните флуорофори, които да променят техните спектрални характеристики.

В тънък полимерен филм съполимер poly(*St-co-H22*) излъчва синя флуоресценция при  $434$  нм, а максимумът от спектъра на възбуждане е при  $371$  нм. В разтвор на ДМФ абсорбционният максимум е добре изразен при  $368$  нм, а съответният

флуоресцентен максимум е при 431 нм. Тези резултати са подобни на мономерния 1,8-нафталимид **H22** и на poly(St-co- **H22**) в твърдо състояние.



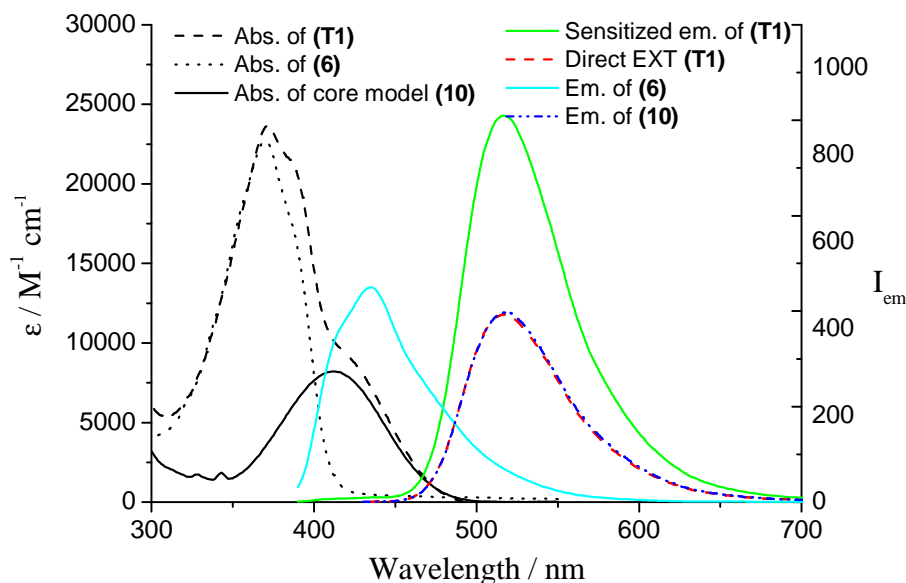
**Фигура 3.** Абсорбционни и флуоресцентни спектри на poly(MMA-co-**H20**) в разтвор на хлороформ (А) и флуоресцентни спектри на poly(MMA-co- **H20**) в хлороформ на (**H20**) (1), в твърд полимерен филм (2) и в хлороформ (3) (Б).

### Фотофизични характеристики на триподи **T1** и **T2** в органични разтворители с различна полярност

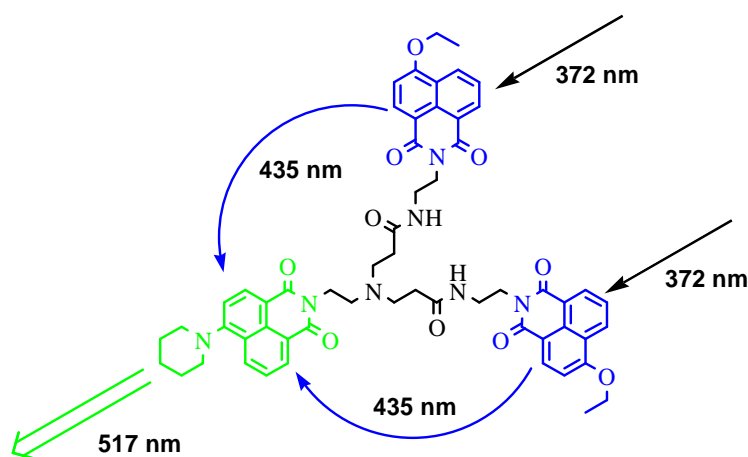
При **T1** абсорбционните максимуми в органични разтворители са в УВ-област  $\lambda_A = 366-372$  nm, което съответства на абсорбцията на етокси заместените 1,8-нафталимидни единици от структурата на **T1** и излъчват жълто-зелена флуоресценция с максимуми при  $\lambda_F = 517-539$  nm, която е характерна за 4-пиперидин-1,8-нафталимидния флуорофор.

На **Фигура 4** са показани абсорбционните и флуоресцентни спектри на **T1** и на моделните съединения **6** и **10** в разтвор на хлороформ. Както се вижда от фигурата, абсорбционният максимум на **T1** е при 372 nm, което се дължи на абсорбцията на двата 4-етокси заместени 1,8-нафталимидни флуорофори, в структурата му. Тъй като 4-пиперидин-1,8-нафталимиден фрагмент поглъща във видимата спектрална област при 420 nm и двата максимума са твърде близко разположени един до друг ( $\Delta\lambda = 48$  nm), резултантният абсорбционен спектър на **T1** ще бъде спектъра получен от припокриването на двата им абсорбционни спектри. Много добре се вижда, че рамото от абсорбционния спектър се дължи на абсорбцията на 4-пиперидин-1,8-нафталимидния фрагмент от структурата на **T1**. Съединение **6**, което има в структурата си само два 4-етокси-1,8-нафталимидни фрагмента е използвано като моделно съединение за донорния фрагмент на антена **T1**, а съединение **10** е съответно моделно съединение за акцепторния фрагмент. От сравняването на емисионните спектри на **T1** с **6** се вижда, че при възбуждане при ( $\lambda_{\text{ЕХТ}} = 372$  nm), което съответства на абсорбционните максимуми на двете съединения, съединение **6** излъчва синя флуоресценция с максимум 435 nm, а антена **T1** има флуоресцентен максимум при ( $\lambda_F =$

517 nm) с интензивен жълто-зелен цвят и никакво излъчване при 435 nm. От друга страна, при възбуждане на **T1** с ( $\lambda_{\text{EXT}} = 420$  nm), е регистриран спектър със същия профил и максимум, но с по-ниска интензивност, който е идентичен със спектъра, получен от моделното съединение **10**. Тези резултати показват, енергийният трансфер от донорните 4-етокси заместени 1,8-нафталиמידни фрагменти към акцепторния 4-пиперидин-18-нафталиמידен фрагмент, както е показано на **Схема 12**.



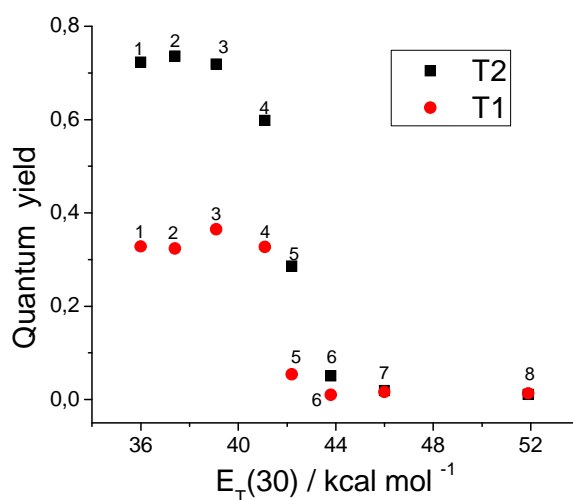
**Фигура 4.** Абсорбционни и флуоресцентни спектри на съединения **T1**, **6** и **10** в разтвор на хлороформ.



**Схема 12.** Предложен механизъм на енергиен трансфер на **T1**.

Фотофизичните характеристики на **T2** показват, че антена **T2** има два ясно изразени абсорбционни максимума. Единият максимум е в ултравиолетовата област при  $\lambda_A = 361$ - $366$  nm (характерен за алкокси производните на 1,8-нафталимида), а другият - във видимата област при  $\lambda_A = 420$ - $437$  nm (характерен за аминозаместения 1,8-

нафталимид) от структурата на дендрона, което е характерно и за **T1**. Стойностите на моларните екстинкционни коефициенти ( $\epsilon$ ) са в съотношение 2:1, като по-големите отговарят на алкокси производните. При възбуждане с  $\lambda_{\text{EXT}} = 435$  nm е получен спектър само с един флуоресцентен максимум при 520 nm, което показва, че е осъществен пълен енергиен трансфер от алкокси производните към съответния 4-*N,N*-диметиламиноетилендиамино 1,8-нафталимид, подобно на **T1**. (Схема 12).



**Фигура 5.** Зависимост на квантовия добив на **T1** и **T2** от полярността на средата ( $E_T(30)/\text{kcal mol}^{-1}$ ): 1-диоксан, 2-тетраhydroфуран, 3-хлороформ, 4-дихлорметан, 5-ацетон, 6-ДМФ, 7-ацетонитрил, 8-етанол.

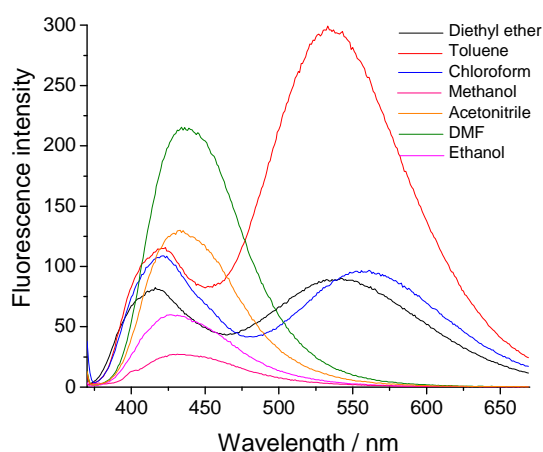
Квантовите добиви на флуоресценция ( $\Phi_F$ ) на **T1** и **T2** силно зависят от полярността на разтворителите, както е показано на **Фигура 5**. В полярна среда  $\Phi_F$  е нисък, докато в неполярна среда той се увеличава седемдесет пъти, което се дължи на ФЕТ при 1,8-нафталимида с amino заместител в С-4 позиция. От сравнението на  $\Phi_F$  с получените за **T1** се вижда, че в неполярни среди той е 2 пъти по-висок, докато в полярни те са еднакви, което потвърждава направеното заключение за силното влияние на ФЕТ върху квантовата ефективност на **T2**.

#### Фотофизични характеристики на триподи **T3** и **T4**

Функционалните свойства на триподи **T3** и **T4** са изследвани в органични разтворители с различна полярност с оглед изучаване на възможностите за използването им като ФЕТ сензори за протони и метални йони. Техните цветови и флуоресцентни характеристики ще зависят от поляризацията на нафталимидната хромофорна система. Амидните групи от структурата на **T3** и **T4** могат да взаимодействат и с карбонилните групи от 1,8-нафталимидната структура и по този начин да променят поляризацията на хромофорната система, но основно заместителите в С-4 позиция ще влияят върху фотофизичните характеристики на съединенията чрез тяхната електрондонорна способност.

В разтвор на ДМФ триподът със свързани 4-нитро-1,8-нафталиמידни фрагменти абсорбира в УВ-област при  $\lambda_A = 328$  nm, което се дължи на електрон-акцепторната природа на нитро групата. Заместването ѝ с *N,N*-диметиаминоетиламино група променя драстично поляризацията на трипода и максимумите на неговата абсорбция се изместват батохромно във видимата спектрална област ( $\lambda_A = 426$ - $435$  nm), което обуславя и техния жълт цвят в разтвор, дължащ се на прехода  $S_0 \rightarrow S_1$ . При **T4** заместването на нитро групата с *N,N*-диметиаминоетилокси група, също променя поляризацията на нафталиמידната хромофорна система, но в по-слаба степен и абсорбционните максимуми са при ( $\lambda_A = 362$ - $366$  nm), което показва, че в тези разтворители трипод **T4** е безцветен.

Флуоресцентните максимуми при трипод **T3** зависят от полярността на разтворителите и са в областта  $\lambda_F = 505$ - $529$  nm с добре изразен положителен солватохромизъм. На **Фигура 6** са показани флуоресцентните спектри в различни по полярност органични разтворители на **T4**, като се вижда, че флуоресцентното излъчване зависи строго от полярността на средата. В този случай специфичното хромофор-разтворител взаимодействие предизвиква не само промяна в поляризацията на 1,8-нафталиמידната структура, водещо до промяна в позицията на флуоресцентните максимуми и конформационни промени в хромофорната структура, които се улесняват от гъвкавата етилендиамино група, която ги свързва с бензеновото ядро. В полярни разтворители трипод **T4** има само един флуоресцентен максимум, който е в областта при  $\lambda_F = 415$ - $423$  nm. Това е индикация за запазване планарността на 1,8-нафталиמידната структура и отсъствие на взаимодействие между нафталиמידните хромофори във възбудено състояние, което води до преобладаване на мономерна флуоресценция.



**Фигура 6.** Флуоресцентни спектри на **T4** в органични разтворители ( $c = 1.10^{-5}$  mol l<sup>-1</sup>).

В неполярни разтворители се появява втори максимум при  $\lambda_F = 535$ - $558$  nm, изместен батохромно спрямо първия, дължащ се на ексимерна флуоресцентна емисия, поради специфично пренареждане на 1,8-нафталиמידните фрагменти в молекулата на трипода. В тези разтворители 1,8-нафталиמידните флуорофори са доближени на достатъчно близко разстояние един до друг. Вероятно дипол-диполните



взаимодействия между молекулите на трипода и полярните разтворители стабилизират възбуденото състояние така, че триподът излъчва само мономерна флуоресценция.

За определяне на квантовата ефективност на триподи **T3** и **T4** е използван квантовият добив на флуоресценция, който силно зависи от полярността на разтворителите. При **T3** той варира в границите  $\Phi_F = 0.010-0.61$  и намалява с увеличаване полярността на средата, което се дължи на ФЕТ. При **T4** най-ниски стойности за  $\Phi_F$  има при протните разтворители като метанол и етанол ( $\Phi_F = 0.01$ ), докато в неполярният толуен неговата стойност се увеличава 75 пъти ( $\Phi_F = 0.750$ ). Като се сравнят стойностите за  $\Phi_F$  на двата трипода може да се направи заключението, че видът на заместителите в С-4 позиция не влияе съществено върху квантовата ефективност на двата трипода, като и двата трипода излъчват силна флуоресценция, но с различен цвят.

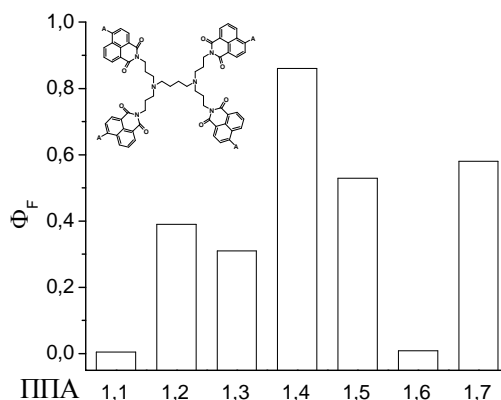
### Спектрални свойства на ППА дендримери

За изясняване влиянието на заместителите в С-4 позиция от 1,8-нафталимидната структура, основните фотофизични характеристики на ППА дендримери от първа генерация са сравнени в разтвор на дихлорметан. В случаите, когато като заместител в С-4 позиция е използван водороден атом (**ППА1.6**) или нитро група (**ППА1.1**), които нямат електрондонорна способност, абсорбционните максимуми са в УВ област ( $\lambda_A = 320$  nm) и за двете съединения. Замяната на електрон-акцепторната нитро група с аминок групи (**ППА1.2-ППА1.5**) предизвиква силно батохромно изместване в абсорбционните максимуми и в този случай те са във видимата спектрална област при 408-430 nm, съответстващи на прехода  $S_0 \rightarrow S_1$ , като спектралните криви са без вибрационни структури. Моларният екстинкционен коефициент на ППА дендримерите е в границите  $\epsilon = 47300-50600$  l mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, чиито стойности са приблизително четири пъти по-високи в сравнение с мономерните 1,8-нафталимидни производни със същите заместители в С-4 позиция. Разликата в химичната структура на дендримери **ППА1.2** и **ППА1.7** се състои в хетероатомите свързани с С-4 от 1,8-нафталимидната структура. Различната електрондонорна способност на азотния и кислороден атом предизвиква драстична промяна в спектралното им поведение, което е характерно и за мономерните 1,8-нафталимиди. При дендример **ППА1.7** абсорбцията е в УВ-област с максимум при  $\lambda_A = 362$  nm, а излъчваната флуоресценция е със син цвят и максимум при  $\lambda_F = 410$  nm. Стоксовото изместване на изследваните дендримери е в границите 3234-4795 cm<sup>-1</sup> и варира в зависимост от природата на заместителите при С-4 атом. Тези стойности са в съгласие с тези на съответните мономерни 1,8-нафталимиди.

Промяната в квантовата ефективност на ППА дендримери в зависимост от заместителите на нафталимидната структура е показна на **Фигура 7**. Вижда се, че в разтвор на дихлоретан излъчваната от тях флуоресценция е с различен интензитет, като квантовите добиви на флуоресценция са в широка граница  $\Phi_F = 0.009-0.860$ . Най-ниска стойност е изчислена за **ППА-1.6** с  $\Phi_F = 0.009$ , което се дължи на отсъствието на електрондонорен заместител. Наличието на аминок заместител води до усилване на

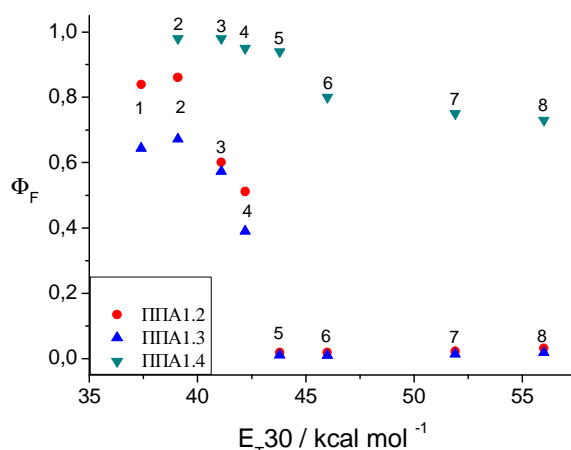


флуоресценцията и съответните квантови добиви са  $\Phi_F = 0.36-0.860$ , като най-висок е при **ППА1.4** с н-бутиламино заместител. При съединение **ППА1.1** със заместител нитро група, не е регистрирана флуоресцентна емисия, което се дължи на електрон-акцепторната природа на нитро групата, която в случая е гасител на флуоресцентната емисия. С цел изясняване процесите на фотоиндуциран електронен трансфер на ППА, дендримерите са изследвани в органични разтворители с различна полярност.



**Фигура 7.** Квантов добив на флуоресценция на ППА дендримери от първа генерация в разтвор на дихлоретан.

Изчислените квантови добиви на флуоресценция за **ППА1.4** са много високи като слабо се влияят от полярността на средата, но с тенденция за по-високи стойности в неполярните среди  $\Phi_F = 0.73-0.98$  (**Фигура 8**).



**Фигура 8.** Зависимост на квантовия добив **ППА1.2-ППА1.4** в органични разтворители с различна полярност: 1-Тетрахидрофуран, 2-Хлороформ, 3-Дихлорметан, 4-Ацетон, 5-ДМФ, 6-Ацетонитрил, 7-Пропанол, 8-Етанол, 9-Метанол.

Интересен ефект върху стойностите за  $\Phi_F$  е наблюдаван при полярни хидроксилсъдържащи разтворители като метанол, етанол и n-бутанол. Вижда се, че стойностите за  $\Phi_F$  са по-ниски в сравнение с другите полярни разтворители като ацетонитрил, ДМСО и ДМФ, което се дължи на взаимодействието между 1,8-

нафталимидните флуорофори с алкохолните молекули. В резултат на това се образуват водородни връзки между C=O групите от 1,8-нафталимидната структура и хидроксилните групи от алкохолните молекули, които благоприятстват безизлъчвателните процеси при прехода  $S_1 \rightarrow S_0$  и води до намаляване на квантовия добив на флуоресценция.

Подобно спектрално поведение е наблюдавано при изследване на фотофизичните характеристики на **ППА1.5**, при който като заместител в С-позиция има първична амино група. Квантовият добив на флуоресценция зависи изключително от полярността и химичната структура на разтворителите и по-специално от възможността за образуване на междумолекулни водородни връзки. Това особено силно е изразено когато като разтворители се използват алкохоли, като в тези случаи квантовите добиви са много ниски  $\Phi_F = 0.04-0.07$ . Този ефект е твърде различен, ако се сравнят квантовите добиви на **ППА1.5** с тези на мономерни 1,8-нафталимиди с първична амино група, които са в границата  $\Phi_F = 0.59-0.99$ . По-ниските стойности при дендримерните молекули вероятно се дължат на конформационни промени и ограничаване степените на свобода в резултат на фиксирането на 1,8-нафталимидната молекула към дендримерния скелет.

**ППА1.2** и **ППА1.3** дендримери в разтвор също са оцветени в жълт цвят и имат абсорбционни максимуми при  $\lambda_A = 426-438$  нм за **ППА1.2** и  $\lambda_A = 403-418$  нм за **ППА1.3**.

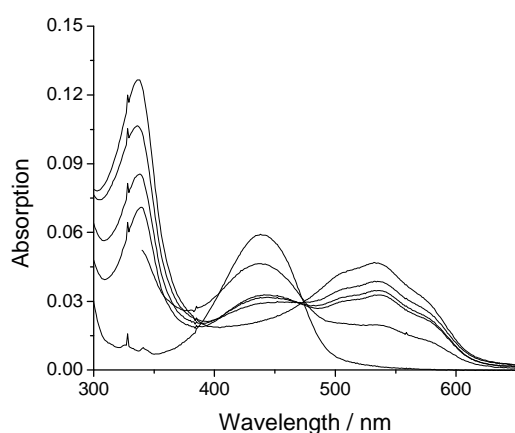
Разликата в позицията на максимумите на двата дендримера се дължи на химичната природата на заместителите при С-4 атом, като по-добре изразената електрондонорна способност на вторичния амин (**ППА1.2**) предизвиква абсорбция в по-дълговата спектрална област спрямо тази на дендример **ППА1.3**. От друга страна, конформационните промени при цикличния *N*-метилпиперазинов заместител също така оказват влияние върху фотофизичните характеристики на този дендример, което особено личи от стойностите на Стоксовото изместване, където се наблюдават значително по-високи ( $4825-5051$   $\text{cm}^{-1}$  **ППА1.3**), докато при **ППА1.2** те са в областта  $3533-3924$   $\text{cm}^{-1}$ .

От **Фигура 8** се вижда изключителната зависимост на квантовия добив на **ППА1.2** и **ППА1.3** от полярността на средата за разлика от дендример **ППА1.4**. Разликата в стойностите за  $\Phi_F$  се дължи на влиянието на заместителя в С-4 позиция и по-специално на влиянието от отдалечената третична амино група, способна да предизвика ФЕТ към нафталимидната хромофорна система. Подобен трансфер на електрони се благоприятства в полярните органични системи и съответните квантови добиви са с ниски стойности. Относително по-ниските  $\Phi_F$  при **ППА1.3** се дължат на възможните конформационни промени, свързани с *N*-метилпиперазиновия заместител, възникнали от въртенето на пиперазиновото ядро около N-C-4 връзката и от там нарушаване равнинната планарност спрямо нафталеновото ядро. При дендример **ППА1.4**, където не е възможно осъществяването на ФЕТ процес разликата за  $\Phi_F$  се дължи само на взаимодействията му с молекулите на разтворителя.

При дендример **ППА1.7** поради наличието на  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$  група флуоресцентната емисия също е зависима от полярността на средата и високи

стойности за  $\Phi_F$  са получени при неполярните разтворители, което се обяснява с ФЕТ процесите, които се благоприятстват в полярна среда. Най-нисък  $\Phi_F$  е намерен в разтвор на етанол и метанол ( $\Phi_F = 0.07$ ) и стойността му се увеличава повече от 10 пъти в неполярния хлороформ ( $\Phi_F = 0.72$ ).

Промяната в абсорбционните спектри на ППА1.4 в присъствие на натриева основа е показана на **Фигура 9А**, от където се вижда, че по време на титруването на дендримера с натриева основа абсорбцията при  $\lambda_A = 438$  нм значително намалява. В същото време се образуват две нови ивици: едната в УВ-област при  $\lambda_A = 337$  нм, а другата във видимата област с максимум при 536 нм и формиране на много добре изразена изобестична точка при 474 нм.

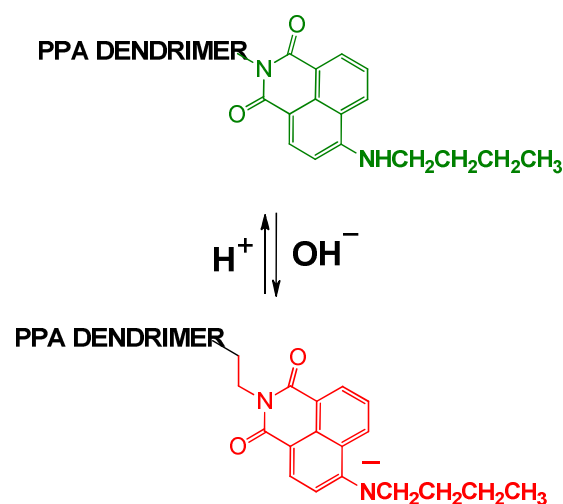


А



Б

**Фигура 9.** Абсорбционни спектри на ППА1.4 ( $c = 1.10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) в разтвор на ДМФ при различни концентрации на натриева основа (А) и промяна на цвета от жълт в черен след добавяне на натриева основа (Б).

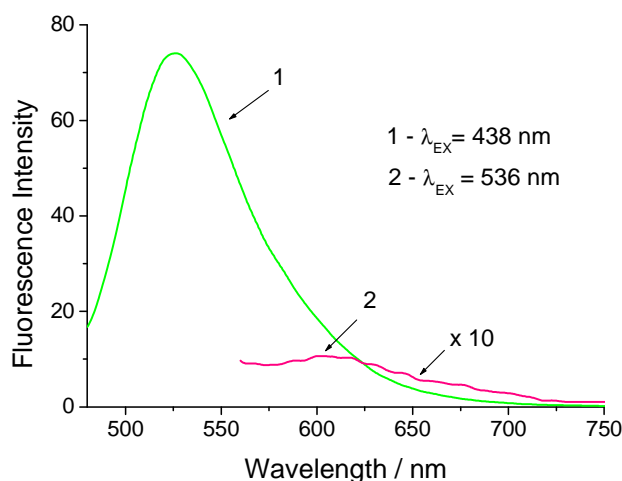


**Схема 13.** Киселинно-основно взаимодействие на ППА1.4 в разтвор на ДМФ.

Образуването на новите абсорбционни максимуми се дължи на депротонирането на бутиламино групата при С-4 атом, предизвикано от  $\text{OH}^-$  и образуването на отрицателен заряд при азотния атом, както е показано на **Схема 13**.

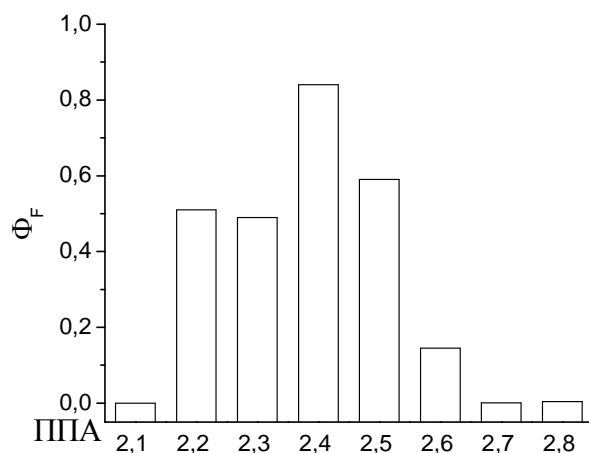
Това води до усилване на електронната плътност при азотния атом свързан с С-4 атом, в резултат на което абсорбционният максимум е батохромно изместен с 98 нм и разтворът на **ППА1.4** сменя цвета си от жълт в червен, както може да се види от **Фигура 9Б**. Новообразуваната дълговълнова ивица във видимата област е вибронна ивица с пренос на заряд с три максимума съответно при 506 нм, 536 нм и 575 нм. Във воден разтвор на ДМФ подобна цетова промяна не се наблюдава. Вероятно в такъв разтвор депротонираният amino анион много бързо реагира с водните молекули и възстановява протонния дефицит и цветът на разтвора не се променя.

Флуоресцентният спектър на **ППА1.4+NaOH**, получен при възбуждане с 536 нм има широка ивица на флуоресценция с максимум при  $\lambda_F = 603$  нм, със слаба интензивност (**Фигура 10**). Това прави този дендример много подходящ като цетови сензор за протони в неводни среди. Нашите изследвания бяха насочени към намиране на цетови сензор за откриване на метални йони, като предлаганият метод се основава на факта, че силната основа не деструктурира 1,8-нафталиמידната хромофорна система. От друга страна в присъствието на еквимолни количества HCl процесът е обратим, при което цветът се променя от червен в жълт.



**Фигура10.** Флуоресцентни спектри на **ППА1.4** преди (1) и след (2) добавяне на еквимолни количества натриева основа.

Спектралните характеристики на **ППА2.1-ППА2.8** са подобни на тези за ППА дендримери от първа генерация. Модифицираните ППА дендримери от втора генерация имат квантов добив на флуоресценция  $\Phi_F = 0.001-0.840$  (**Фигура 11**). Синьо излъчващите дендримери (**ППА2.7** и **ППА2.8**) са със значително по-нисък  $\Phi_F$  в сравнение с тези с жълто-зелена флуоресценция, което се дължи на електрондонорната природа на заместителите. В случаите на **ППА2.5** и **ППА2.6** по-ниските стойности за вторият дендример се дължат на конформационните промени и нестабилност във възбудено състояние, в резултат на въртенето на двете метилови групи. Дендример **ППА2.3** има силна флуоресценция, която се дължи и на факта, че ФЕТ процесът преобладава над конформационните промени.



**Фигура 11.** Квантов добив на флуоресценция на ППА дендримери от втора генерация в разтвор на дихлоретан.

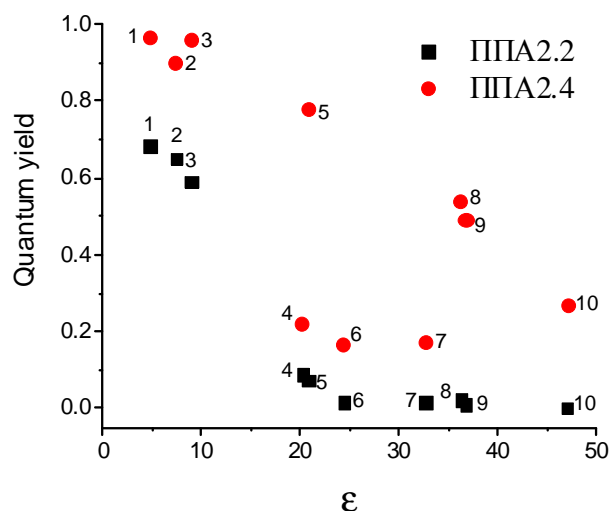
Дендример **ППА2.8** поглъща в УВ област, като видът на разтворителя не влияе върху позицията на абсорбционния максимум, който е при  $\lambda_A = 344-345$  нм. Моларните екстинкционни коефициенти са в границата  $\epsilon = 84000-91800 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  и са осем пъти по-високи от съответните 4-бромо-1,8-нафталимиди. Косвено това показва пълното взаимодействие на 4-бромо-1,8-нафталовия анхидрид с осемте свободни amino групи от ППА дендримерната молекула. В разтвор на ацетонитрил дендримерът има добре изразен флуоресцентен максимум при 434 нм, докато в разтвор на ДМСО и хлороформ са наблюдавани два флуоресцентни максимума. Първият е типичен за мономерната флуоресценция и е при 413 и 417 нм, докато вторият е батохромно изместен с 86 нм и 135 нм и е при 503 и 548 нм, което се дължи на ексимерната флуоресценция, възникнала в резултат на доближаването на 1,8-нафталиמידните флуорофори.

Фотофизичните характеристики на **ППА.2.7** са много близки до тези на **ППА1.6**, с изключение на моларния екстинкционен коефициент, който е 2 пъти по-висок. Дендримери **ППА2.5** и **ППА2.6**, които се различават само по една метилна група в заместителя в С-4 позиция, проявяват коренно различни фотофизични свойства. И двете съединения поглъщат във видимата спектрална област, като позицията на абсорбционните им максимума зависи от полярността на разтворителите, като е наблюдаван положителен солватохромизъм. В този случай абсорбционните максимума са при 441-432 нм за **ППА2.5** и 426-416 нм за **ППА2.6**, докато флуоресцентните са при 508-532 нм (**ППА2.5**) и съответно при 506-526 нм (**ППА2.6**). Хипсохромното изместване на двата максимума при **ППА2.6** се дължи на *peri* ефекта с участие на метиленовите групи от 4-диметиламино заместителя от С-4 позиция с водородния атом от С-5 позиция. Този ефект е минимално застъпен при метиламино заместителя в същата позиция от структурата на **ППА2.5**. На тези конформационни промени се дължат и по-широките граници за стойности на Стоксовото изместване при **ППА2.6**. Големи разлики в изчислените квантови добиви на флуоресценция са установени при двата дендримера. Значително по-високи са стойностите за **ППА2.5** ( $\Phi_F = 0.262-0.765$ ),

докато тези за **ППА2.6** са при  $\Phi_F = 0.094-0.172$ , като и за двата дендримера квантовата ефективност е добре изразена.

Интерес представляваше да се сравнят и фотофизичните характеристики на **ППА2.2** и **ППА2.4**, които имат като заместители съответно  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$  и  $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ . Абсорбционните максимуми на двете съединения са във видимата област и са с характерни ивици с пренос на заряд, като полярността на разтворителите влияе съществено върху тяхната позиция. Наблюдаван е положителен солватохромизъм с разлика в максимумите  $\Delta\lambda_A = 16$  nm за **ППА2.2** и  $\Delta\lambda_A = 14$  nm за **ППА2.4**. Освен разликата в поляризацията на 1,8-нафталиמידните флуорофори влияние оказват и взаимодействието им с органичните разтворители. При сравняване на позицията на флуоресцентните максимуми в неполярни и полярни среди се вижда типично батохромно изместване с  $\Delta\lambda_F = 24$  nm и  $\Delta\lambda_F = 29$  nm. Големите разлики в батохромното изместване се обясняват с усилване на диполния момент на молекулата при възбуждане, дължащо се на преразпределение на електронната плътност. Възбудените молекули са по-добре стабилизирани в полярни разтворители в резултат на силното взаимодействие с диполите на разтворителите. Разликата в Стоксовото отместване за двата дендримера е почти еднакво, което показва, че вида на заместителите в С-4 позиция не предизвиква конформационни промени. Също така беше интересно да се види как квантовата ефективност на дендримерите зависи от полярността на средата. При дендример **ППА2.2** квантовият добив е в границите  $\Phi_F = 0.002-0.684$ , докато при **ППА2.4** той е  $\Phi_F = 0.172-0.97$  (**Фигура 12**).

**Фигура 12** показва зависимостта на квантовия добив от полярността на органичните разтворители изразена чрез диелектрична константа ( $\epsilon$ ).



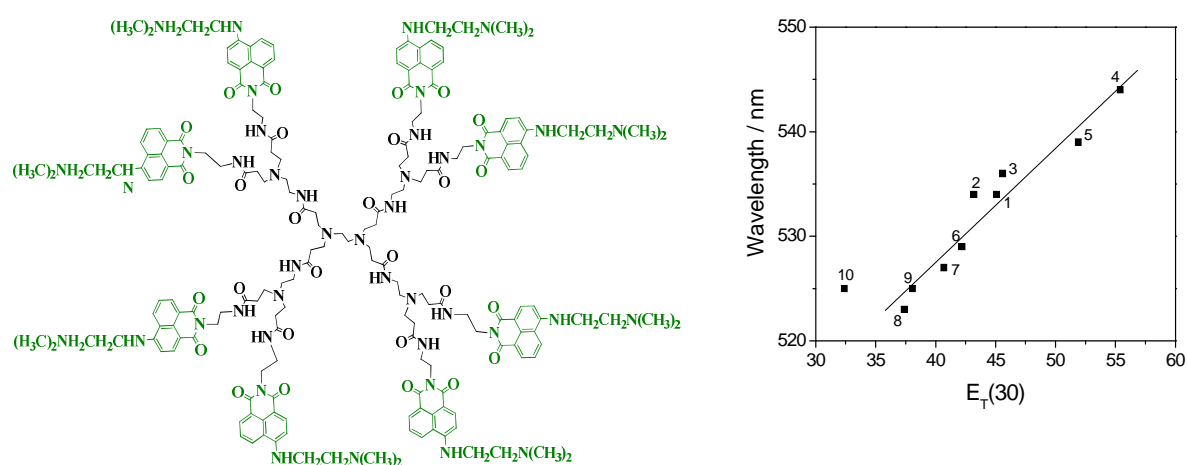
**Фигура12.** Зависимост на квантовия добив на флуоресценция на **ППА2.2** и **ППА2.4** от полярността на разтворителите ( $\epsilon$ ): 1-хлороформ, 2-тетраhydroфуран, 3-дихлорметан, 4-пропанол, 5-ацетон, 6-етанол, 7-метанол, 8-ацетонитрил, 9-ДМФ, 10-ДМСО.

Както се вижда, квантовите добиви са високи в неполярни среди и за двата дендримера. В полярни разтворители дендримерите имат по-слабо изразено излъчване,

което се дължи на ФЕТ процесите. Интересен ефект е наблюдаван при ППА2.4 в алкохолни разтвори.

### Спектрални свойства на ПАМАМ дендримери

Сравняването на фотофизичните характеристики на ППА2.2 с ПАМАМ дендример от втора генерация модифициран със същия 1,8-нафталиמיד (ПАМАМ2.1) ни дава възможност да изследваме влиянието на структурата на дендримерните молекули върху функционалните им характеристики. Както се вижда от химичната структура на ПАМАМ2.1 (Фигура 23) в сърцевината на дендримерната молекула са разположени амидни и третични amino групи свързани с етиленов мост.



**Фигура 13.** Химична структура на ПАМАМ2.1 и зависимост на флуоресцентния максимум на дендримера от полярноостта на органичните разтворители E<sub>T</sub>(30): 1. ДМСО; 2. ДМФ; 3. Ацетонитрил; 4. Метанол; 5. Етанол; 6. Ацетон; 7. Дихлорметан; 8. Тетрахидрофуран; 9. Етилацетат; 10. Хлороформ.

Абсорбционните спектри на ПАМАМ2.1 са в областта, където поглъща и ППА2.2, докато флуоресцентните имат слабо батохромно изместване предимно в хидроксил-съдържащите разтворители (Фигура 13). В този случай има възможност за образуване на водородни връзки с амидните групи, в резултат на което се променя поляризацията на нафталиמידната молекула. Моларният екстинкционен коефициент в различните разтворители е в границите 60200-72600 mol l<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, който е по-нисък в сравнение с ППА2.2. Това от своя страна оказва влияние върху квантовите добиви на флуоресценция, които при ПАМАМ2.1 са в границите Φ<sub>F</sub> = 0.012-0.034 и са значително по-ниски в сравнение с ППА2.2. Тези резултати показват, че дендримерната структура играе съществена роля във формирането на фотофизичните характеристики на модифицираните с 1,8-нафталиמידни единици дендримери. Вероятно при ПАМАМ2.1 има по-силно комбиниране на ФЕТ процесите с тези на разтворител-флуорофор взаимодействията. ПАМАМ2.2 е със същата химична структура, както ПАМАМ2.1, но разликата е само в хетероатома, свързан към С-4 атом от 1,8-нафталиמידната структура. Заместването на amino с алкокси група в хромофорната система измества



хипсохромно абсорбционните и флуоресцентни максимуми, които са в областта  $\lambda_A = 363\text{-}433$  нм и  $\lambda_F = 433\text{-}445$  нм.

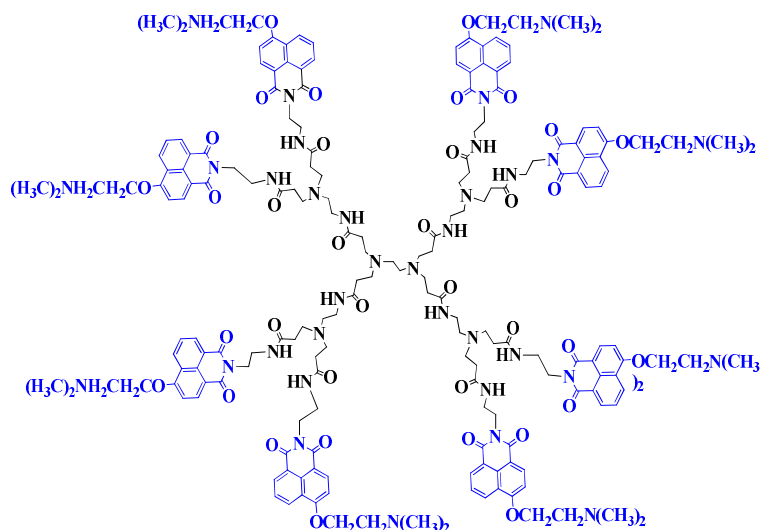
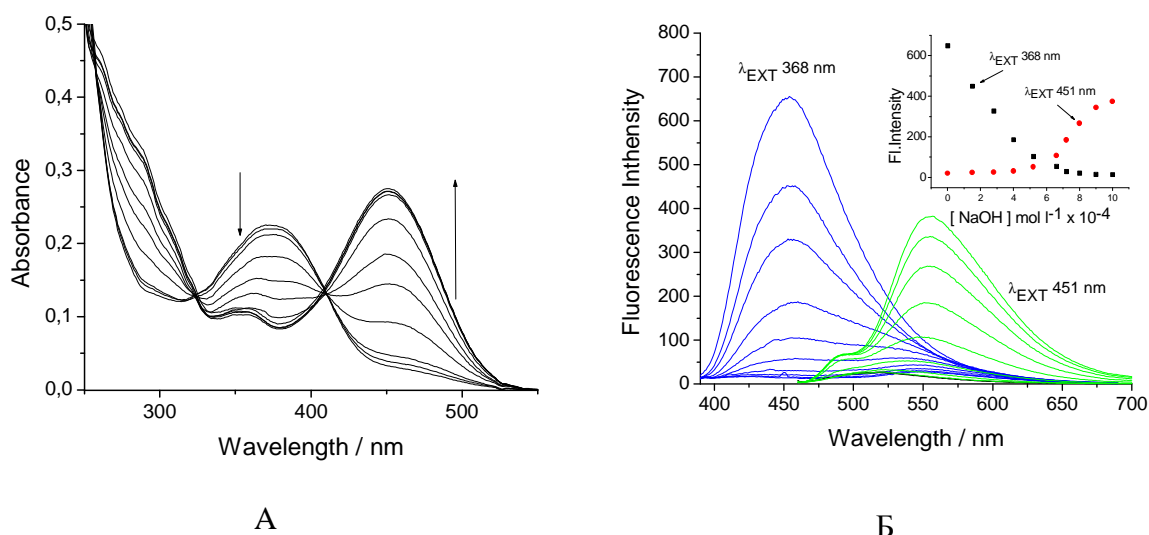


Схема 14. Химична структура на ПАМАМ2.2.

Изследвано е влиянието на хидроксилните йони и протони в неводни среди като ДМФ върху абсорбционните и флуоресцентни спектри на ПАМАМ2.2. **Фигура 14** показва промяната на абсорбционните спектри на дендримера при титруване с натриева основа с концентрация ( $c = 0\div 1 \times 10^{-3}$  mol l<sup>-1</sup>), при което абсорбцията при 368 нм намалява и успоредно с това се образува нов максимум при 451 нм. Също така се виждат двете много добре оформени изобестични точки при 323 нм и 409 нм. При тези условия разтвора от безцветен се променя до жълт. Цветовата промяна се дължи на образуването на амидо – имидното превръщане (**Схема 15**).



**Фигура 15.** Абсорбционни (А) и флуоресцентни (Б) спектри на ПАМАМ2.2 ( $c = 3.0 \times 10^{-6}$  mol l<sup>-1</sup>) в разтвор на ДМФ при различни концентрации на натриева основа ( $c = 0\div 1.0 \times 10^{-3}$  mol l<sup>-1</sup>).



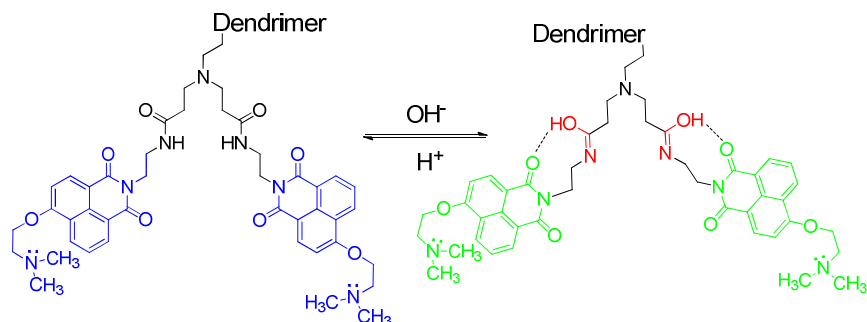


Схема 15. Механизъм на киселинно-основно превръщане на ПАМAM2.2 в разтвор на ДМФ.

Подобно на изследването с абсорбционната спектроскопия е проследено и влиянието на алкалната среда върху флуоресцентната интензивност на ПАМAM2.2. При титруването с натриева основа е изследвана промяната на флуоресцентната интензивност на дендримера при дължини на възбуждане 368 нм и 451 нм, като получените флуоресцентни спектри при двете дължини на възбуждане са показани на **Фигура 15Б**. При възбуждане с 368 нм, флуоресцентната интензивност намалява с увеличаване концентрацията на хидроксилните йони. В същото време има усилване на интензитета на флуоресценцията, получен при възбуждане с 451 нм. Намаляването на флуоресценцията при възбуждане при 368 нм се дължи на реакцията на натриевата основа с amidната група и превръщането ѝ в енолна форма (**Схема 15**). Това променя поляризацията на 1,8-нафталимида и индуцира излъчването на жълта флуоресценция с максимум при 560 нм. При подкисляване на разтвора, жълтият цвят изчезва, което означава, че процеса е обратим.

ППА дендример от трета генерация съдържа 16 ковалентно свързани 4-амино-1,8-нафталиמידни флуорофора към дендримерната периферия (**ППА3.1**), **Схема 16**.

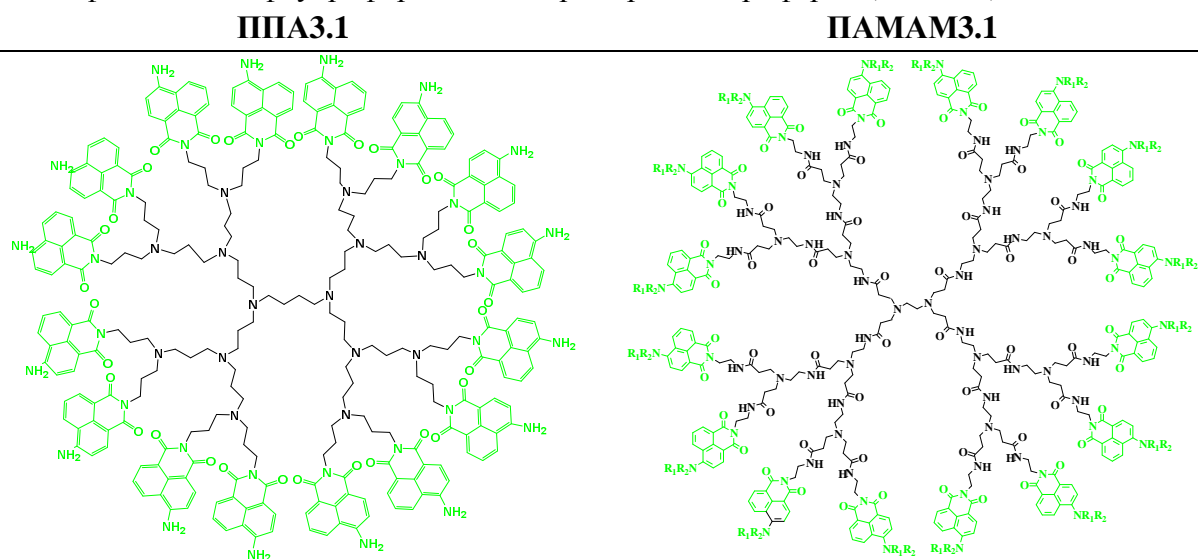


Схема 16. Химични структури на ППА3.1 и ПАМAM3.1

При **ППА3.1** поляриността на разтворителите влияе върху спектралните свойства и е установен положителен солватохромен ефект. В този случай поляриността на

разтворителите влияе не само върху позицията на флуоресцентните максимуми, но и върху интензитета на излъчваната флуоресценция. Това, от своя страна, се отразява на стойностите на квантовите добиви, които са в интервала  $\Phi_F = 0.06 - 0.99$ , като високите стойности са в неполярните среди. От друга страна, образуването на водородни връзки с алкохолните молекули води до драстично намаляване излъчването на флуоресценция и квантовите добиви имат стойности в областта 0.04-0.06. При дендримера от по-голяма генерация (**ППА3.1**)  $\Phi_F$  са по-високи в сравнение с тези от по-ниската дендримерна генерация **ППА1.5**. Също така в сравнение с **ППА1.5** при **ППА3.1** моларния екстинкционен коефициент е много по-висок и е в границите  $\epsilon = 122000 - 149000 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

В разтвор на ДМФ **ПАМАМ3**, който е модифициран с шестнадесет 1,8-нафталимидни фрагмента, абсорбира при 438 нм и излъчва при 536 нм, с квантов добив на флуоресценция  $\Phi_F = 0.09$ . Тази по-ниска стойност за  $\Phi_F$  в сравнение с **ППА3.1** ( $\Phi_F = 0.23$ ), се дължи на спецификата на заместителите, при 1,8-нафталимидите от **ПАМАМ3**, където е възможен ФЕТ от диметиламино фрагмента на заместителя в С-4 позиция. От друга страна, ако сравним квантовите добиви на флуоресценция в разтвор на ДМФ с тези на дендримерите от първа генерация **ПАМАМ2.1** ( $\Phi_F = 0.023$ ), от нулева генерация **ПАМАМ1** ( $\Phi_F = 0.11$ ) и на мономерния нафталимид **Н20** ( $\Phi_F = 0.04$ ) се вижда, че няма значителна разлика, което показва, че дендримерната генерация не влияе съществено върху ФЕТ процесите в 1,8-нафталимидната структура.

### Сензорни свойства на мономерни 1,8-нафталимиди със сензорни свойства

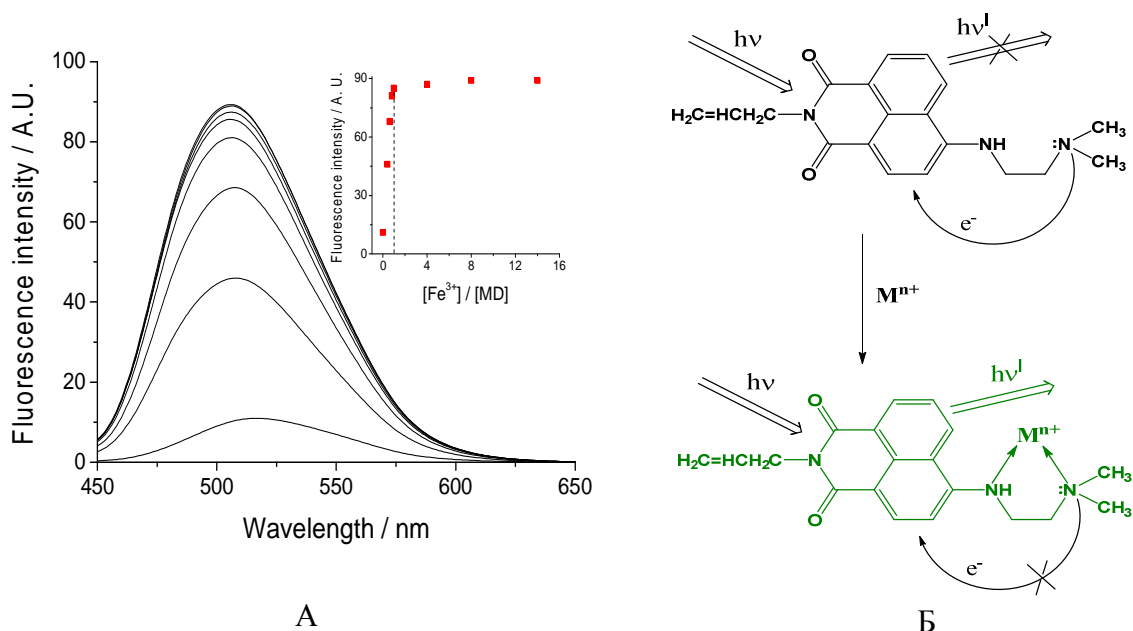
Синтезираните три 1,8-нафталимидни съединения със сензорни свойства са изградени по архитектурата флуорофор-мост-рецептор. Влиянието на моста и рецептора се отразява върху способността на сензорните молекули да откриват и разпознават различни по природа аналити. Структурата на новосинтезираните нафталимидни производни (**Н20**), (**Н21**) и (**Н22**) дава възможност за извършването на фотоиндуциран електронен пренос. Поради тази причина са изследвани сензорните им свойства спрямо протони и различни по природа метални йони на някои тежки и преходни метали, които са едни от най-често срещаните замърсители на околната среда или е необходимо следенето на тяхната концентрация като биологично важни метални йони в живите организми и растения.

В молекулите на **Н20** и **Н22** рецепторният фрагмент е диметиламино групата, свързана с етиламино или етилокси група от С-4 атом на нафталимидното ядро. Този рецепторен фрагмент съдържа третичен азотен атом, с неподделена електронна двойка, способна да се протонира и да комплексообразува с различни по природа метални катиони. Както при **Н20** и **Н22**, така и при **Н21**, рецептор е периферният третичен азотен атом от метилпиперазиновия пръстен. С оглед изясняване сензорната активност на мономерните 1,8-нафталимидни производни **Н20**, **Н21** и **Н22**, са изследвани основните им фотофизични характеристики спрямо различни металните йони ( $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ) в полярни разтворители като ацетонитрил и ДМФ.

Изборът се базира на факта, че те са добри разтворители както на изходните лиганди, така и на металните соли и техните комплекси. Освен това в тези разтворители изследваните три 1,8-нафталиמידни производни имат нисък квантов добив на флуоресценция благодарение на осъществявания ФЕТ.

При изследване влиянието на металните катиони върху фотофизичните характеристики на **H20**, **H21** и **H22**, е установено, че интензитетът на флуоресценция нараства в присъствие на метални катиони при трите 1,8-нафталимиди, като факторът на усилване (ФУ) зависи както от природата на рецепторния фрагмент в сензорната молекула, така и от природата на анализирувания метален йон.

**Фигура 16** показва усилването на флуоресцентната интензивност на **H20** с нарастване концентрацията на  $\text{Fe}^{3+}$  йони до една определена концентрация, след което флуоресценцията не расте, което показва образуването на стабилен метален комплекс със стехиометрия 1:1, както може да се види от малката фигура.



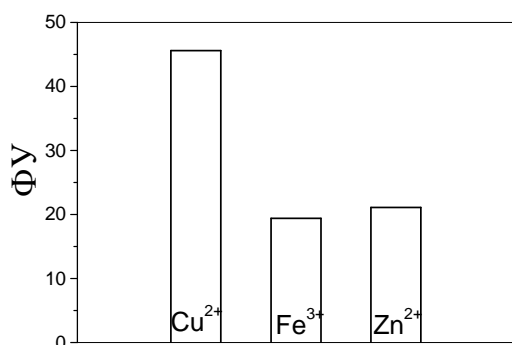
**Фигура 16. А)** Флуоресцентни спектри на **H20**, в разтвор на ацетонитрил при различни концентрации на  $\text{Fe}^{3+}$  ( $c = 0-10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ ). Малката фигура показва промяната на интензитета на флуоресценцията от концентрацията на  $\text{Fe}^{3+}$  йони; **Б)** Предложен маханизъм на комплекс на **H20** с метални йони.

В разтвор на ацетонитрил съединение **H20** излъчва слаба флуоресценция, което се дължи на ефективния ФЕТ процес между неподделената електронна двойка от рецепторния *N,N*-диметиламино фрагмент към фотовъзбудения 1,8-нафталиמיד. След добавянето на метални йони към разтвора се образуват стабилни комплекси с участието на неподделените електронни двойки от рецепторния фрагменти, както е показано на **Фигура 16Б**. По този начин ангажирането на неподделената електронна двойка прекъсва възможността за ФЕТ, което води до усилване на флуоресцентната интензивност. Наличието на вторична amino група и отсъствие на рецепторен фрагмент в структурата на **H2**, **H4**, **H5** или **H19** не води до усилване на флуоресценцията, поради липсата на възможност за образуване на комплекси.

Образуването на тези координативни връзки на металните йони с 1,8-нафталимидите предизвиква от една страна гасене на ФЕТ процеса и съответно усилване на флуоресцентната емисия, а от друга страна се намалява електрондонорната способност на ароматния азотен атом при С-4, което променя поляризацията на хромофорната система и от там флуоресцентните максимуми се изместват към по-късите дължини на вълната.

Изследвана е и способността на **H20** да образува комплекси с някои метални йони като  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Pb}^{2+}$  в разтвор на ДМФ, при концентрации на йоните до  $c = 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ . В този разтворител най-силно ФУ е наблюдавано в присъствие на  $\text{Fe}^{2+}$ , ФУ = 32.46. За другите метални йони също са получени добри резултати, ФУ = 8.91 за  $\text{Ni}^{2+}$ , ФУ = 11.25 за  $\text{Zn}^{2+}$  и ФУ = 12.26 за  $\text{Pb}^{2+}$ . В сравнение с получените резултати в разтвор на ацетонитрил тези в ДМФ имат малко по-високи стойности за ФУ, което показва по-висока чувствителност към изследваните йони.

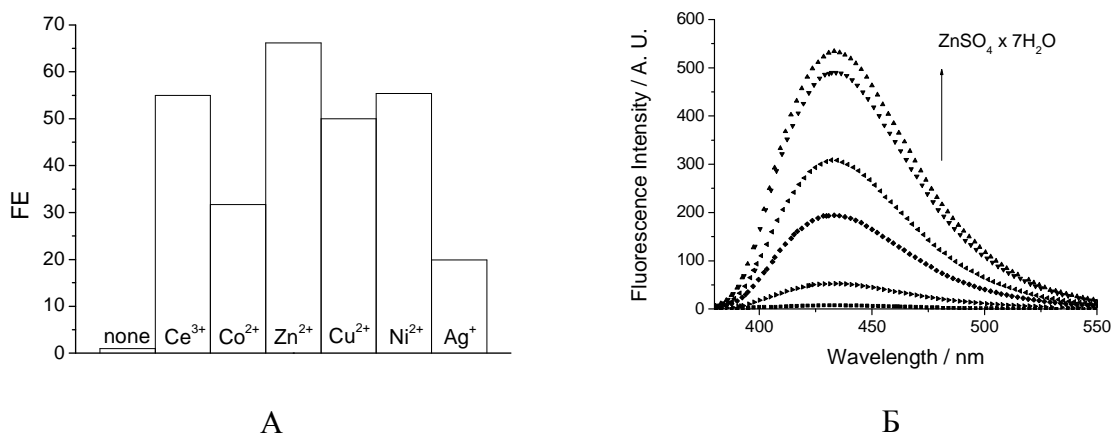
Резултатите от ФУ на **H21** в разтвор на ацетонитрил в присъствие на три биологично важни метални йони, каквито са  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  са показани на **Фигура 17**.



**Фигура 17.** Флуоресцентно усилване на **H21** в ацетонитрил ( $c = 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) в присъствие на метални йони ( $c = 3 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ).

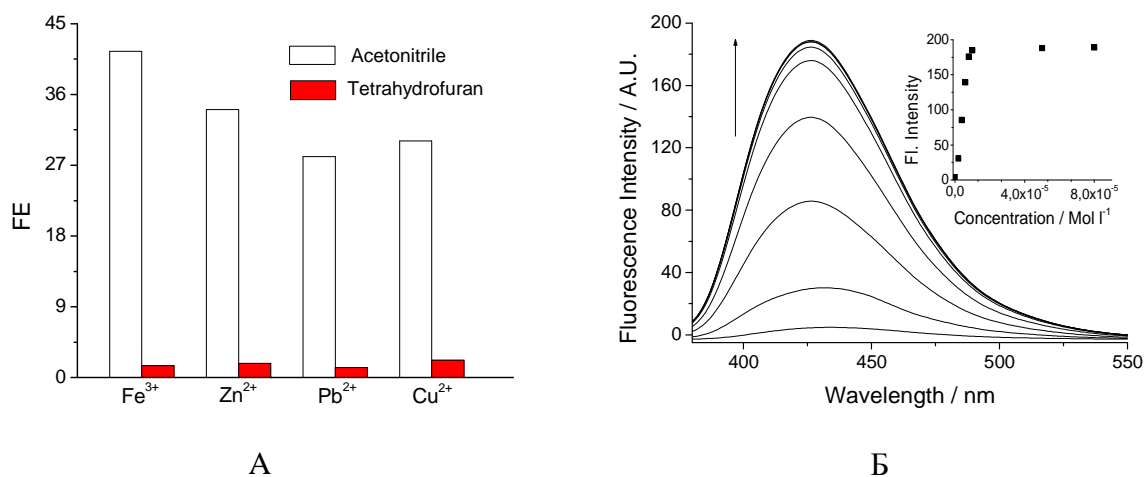
Най-голямо влияние върху интензитета на флуоресценция оказват  $\text{Cu}^{2+}$ , за които ФУ = 45.6. Два пъти по-ниско усилване е регистрирано при  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  йони, където стойностите са съответно 21.1 и 19.4. И при **H21** видът на металните йони влияе върху способността за образуване на стабилни комплекси. Флуоресцентните максимуми са хипсохромно изместени от 517 нм до 507 нм, което означава образуването на комплекс с двата азотни атома от N-метилпиперазиновия заместител при С-4. От друга страна изследваните метални йони усилват значително повече флуоресцентната интензивност в сравнение със съединение **H21**. Това показва, че при мономерните 1,8-нафталимидни съединения N-метилпиперазиновият рецепторен фрагмент има по-добри функционални характеристики в сравнение с N,N-диметиламиноетиламино групата при образуването на металните комплекси в разтвор.

За съединение **H22** в разтвор на ДМФ най-висока стойност на ФУ има  $\text{Zn}^{2+}$  (ФУ = 66.2). За останалите изследвани метални катиони ФУ също има високи стойности: 55.4 ( $\text{Ni}^{2+}$ ), 55.0 ( $\text{Ce}^{3+}$ ), 50.0 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) и 31.7 ( $\text{Co}^{2+}$ ) (**Фигура 18**). Тези резултати показват много добра чувствителност на **H22** към изследваните метални йони и способността му да образува стабилни комплекси с тях.



**Фигура 18.** Влияние на метални йони ( $c = 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ ) върху ФУ на **H22** в разтвор на ДМФ (А); Флуоресцентни спектри на **H22** в разтвор на ДМФ ( $10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) в присъствие на различни концентрации на  $\text{Zn}^{2+}$  (Б).

В разтвор на ТХФ, където  $\Phi_F = 0.796$ , ФУ на **H22** спрямо  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Pb}^{2+}$  е незначително ( $\Phi_U = 1.3-2.2$ ), както се вижда от **Фигура 19**. Това се дължи на неполярния характер на разтворителя, при който не се осъществява ФЕТ и квантовият добив на флуоресценция е висок. В този случай ефектът от образуване на металните комплекси е незначителен, тъй като полярността на разтворителя гаси ФЕТ. Това показва, че този разтворител не дава добри резултати при изследване на сензорния капацитет на **H22**.

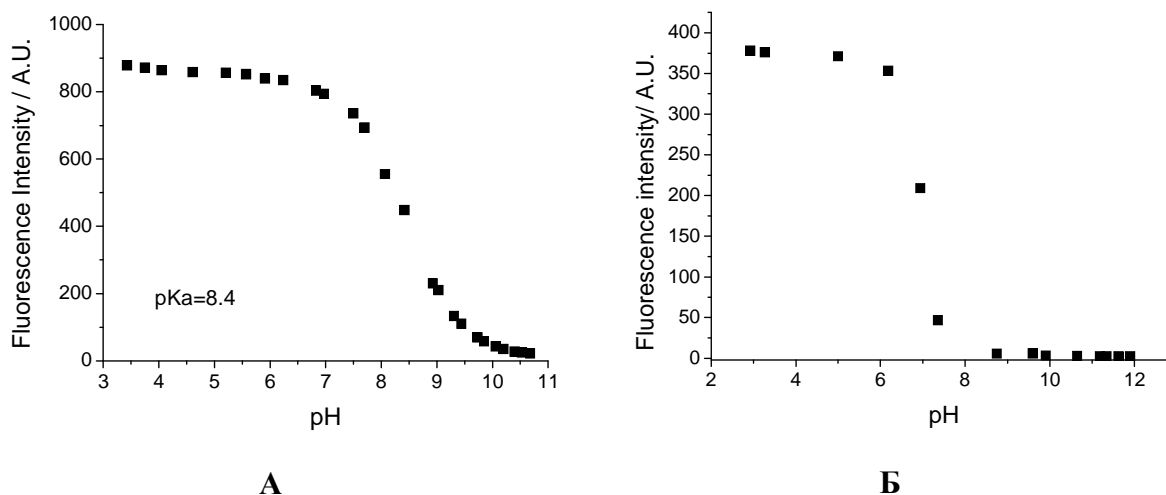


**Фигура 19.** Влияние на метални йони върху ФУ на **H22** ( $c = 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) в разтвор на ДМФ (А); Флуоресцентни спектри на **H22** в разтвор на ацетонитрил ( $c = 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) в присъствие на различни концентрации на  $\text{Zn}^{2+}$  ( $c = 0 - 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ ) (Б).

В разтвор на ацетонитрил, където квантовият добив на флуоресценция на **H22** е много нисък ( $\Phi_F = 0.009$ ), поради ФЕТ процеса, присъствието на металните йони в разтвора усилва значително интензитета на флуоресценция, като най-добър ефект е получен при  $\text{Fe}^{3+}$  йони.

### Влияние рН на средата върху флуоресцентната интензивност на **H20**, **H21** и **H22**

Изследвано е влиянието на концентрацията на протоните върху интензитета на флуоресценцията на **H20**, **H21** и **H22** в разтвори етанол-вода в съотношение 1:4, при различни рН стойности. В алкална среда съединенията почти не излъчват флуоресцентна емисия, поради осъществяването на ФЕТ процес, както се вижда от графично представените резултати на **Фигура 20**. С увеличаването на концентрацията на протоните в средата се постига усилване на интензитета на флуоресценцията до достигане на една определена стойност, което се дължи на протонирането на третичния азотен атом на заместителя в четвърта позиция на нафталиמידното ядро в кисела среда. При титруване на разтвор на **H22** с киселина, интензитетът на флуоресценцията рязко нараства в интервала от рН = 9.0 – 7.0, след което кривата оформя плато. Разликата във флуоресцентната емисия при прехода от алкална към кисела среда е 40 пъти, което показва много добро превключване на флуоресценцията чрез вариране на рН стойностите на средата. При съединение **H20** където разликата в структурата е само при атома в С-4 позиция, се наблюдава подобна спектрална зависимост, но флуоресцентното усилване е по-слабо  $FU = 18$ , което в този случай се дължи на разликата в електрондонорната способност на азотния и кислороден атом.



**Фигура 20.** Влияние на рН върху интензитета на флуоресценцията на **H22** (А) и **H21** (Б) в разтвор етанол/вода (1:4, v/v).

Подобни промени в интензитета на флуоресценцията се наблюдавани и в спектрите на **H21**, като кривата на зависимостта достига плато и запазва постоянна стойност при по-ниски стойности на рН < 6.0. След достигане на определена стойност на рН, фотофизичните свойства на нафталиמידните производни се променят и интензитетът на флуоресценцията рязко нараства. Усилването на флуоресценцията при прехода от алкална към кисела среда е  $FU = 79$  пъти, което е приблизително два пъти по-силно в сравнение със съединение **H22** и четири пъти по-силно спрямо тази на **H20**. Вероятно в случая освен ФЕТ ефекта върху интензитета на флуоресценцията, влияние оказват и конформационните промени, които се наблюдават при протонирането на рецепторните фрагменти.

Изчислени са рК<sub>a</sub> стойностите, които за **H20** са рК<sub>a</sub> = 7.8, за **H21** тя е рК<sub>a</sub> = 6.9, а тази за **H22** рК<sub>a</sub> = 8.4. Вижда се, че киселинността на нафталимидните производни зависи от природата на заместителя при С-4 атом. Стойността на рК<sub>a</sub> е по-висока за **H22**, който съдържа алкокси заместител в С-4 на нафталимидното ядро. От двете аминокзаместени производни **H21** има протолитна константа рК<sub>a</sub>, близка до физиологичното рН в живите организми, което позволява с него да се провеждат подобни изследвания.

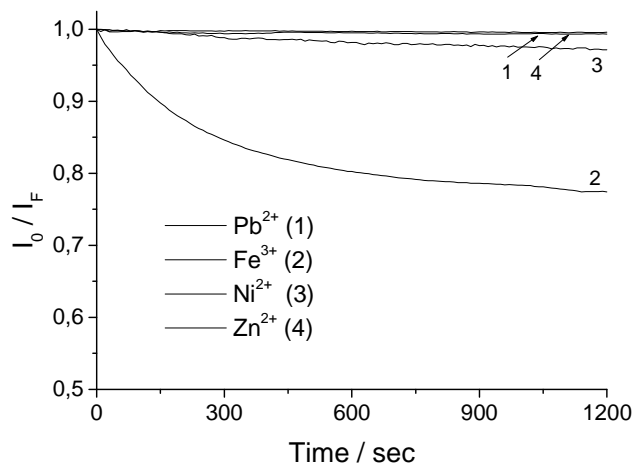
### Сензорни приложения на флуоресцентни линейни полимери

Сензорните свойства на новосинтезираните линейни полимери, съдържащи нафталимидни съмомери със сензорни свойства са изследвани като тънки полимерни филми или в разтвор на ДМФ спрямо различни по природа метални йони.

Влиянието на Cu<sup>2+</sup> върху флуоресцентната интензивност на poly(St-co-**H20**) и poly(ММА-co-**H20**) са изследвани във воден разтвор. В случая на poly(ММА-co-**H20**) е намерено усилване на флуоресцентната интензивност с фактор ФУ = 2.2, което се обяснява с координирането на Cu<sup>2+</sup> йони с азотния атом от рецепторния фрагмент на 1,8-нафталимиданата структура. Обратно при изследването на poly(St-co-**H20**) при същите условия се наблюдава гасене на флуоресцентната интензивност (ФГ = 0.62). Това намаляване на флуоресценцията се дължи на различната микроструктура и подреденост в полистиреновия филм, което затруднява проникването на Cu<sup>2+</sup> йони и възможността за координиране с бидентатният рецепторен фрагмент, което да доведе до гасене на ФЕТ процеса. Първоначалните изследвания при детекция на Cu<sup>2+</sup> йони насърчиха по нататъшните ни изследвания за проучване на възможността за детекция и на други метални йони. Аналогично полимерен филм poly(St-co-**H20**) с дебелина 40 μm е изследван в буферен разтвор (CH<sub>3</sub>COOH/NaCH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>) при рН = 5 в присъствие на (Pb<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> и Fe<sup>3+</sup>) йони с концентрация 1x10<sup>-4</sup> mol l<sup>-1</sup>. Сензорната активност спрямо металните йоните е проследена чрез промяната на флуоресцентната интензивност на полимера. Поради затрудненото проникване на йоните и възможността да взаимодействат с рецепторните фрагменти на 1,8-нафталимидните флуорофори в твърдата полимерна матрица, за да се получи добър спектрален отговор е необходим по-продължителен контакт на полимера с аналитите. Както се вижда от **Фигура 21** изследваният полимер реагира само с Fe<sup>3+</sup> йони, при което се наблюдава намаляване на флуоресцентната интензивност. Този ефект е най-добре изразен в първите 10 мин, след което изменението е незначително. В случая на Pb<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> флуоресцентната емисия намалява твърде слабо (до 3 %), докато при Fe<sup>3+</sup> гасенето достига до 25 %. Fe (III) много по-лесно проникват в полимерната матрица, което вероятно се дължи на по-малкия йонен радиус в сравнение с останалите метални йони. Фактът, че Pb<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> йони във воден разтвор не влияят върху флуоресцентната интензивност на poly(St-co-**H20**), прави този полимер селективен при детекцията на Fe<sup>3+</sup>. Гасенето на флуоресценцията вероятно се дължи на взаимодействието на Fe<sup>3+</sup> с карбонилните групи или р-електроните от ароматното нафталено ядро, което променя поляризацията на флуорофора и намалява флуоресцентната интензивност. Разликата



във флуоресцентната интензивност на мономерния **H20** и poly(St-co-**H20**) се дължи от една страна на твърдата полимерна матрица, но вероятно природата на разтворителите, в които се намират металните йони също оказва влияние.



**Фигура 21.** Промяна на флуоресцентната интензивност с времето на poly(St-co-**H20**) в твърд полимерен филм в присъствие на метални йони с концентрация ( $c = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ ) в буферен разтвор ( $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{NaCH}_3\text{COO}^-$ ) при  $\text{pH} = 5$ .

Подобна на poly(St-co-**H20**) тенденция е получена и при изследване на сензорните свойства на модифицирани с **H21** полимерни филми: poly(St-co-**H21**) и poly(ММА-co-**H21**) спрямо  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$ . И при двата полимера изследваните метални йони гасят флуоресценцията за разлика от мономерния нафталимид (**H21**), където металните катиони предизвикват нарастване на интензитета на флуоресценция.

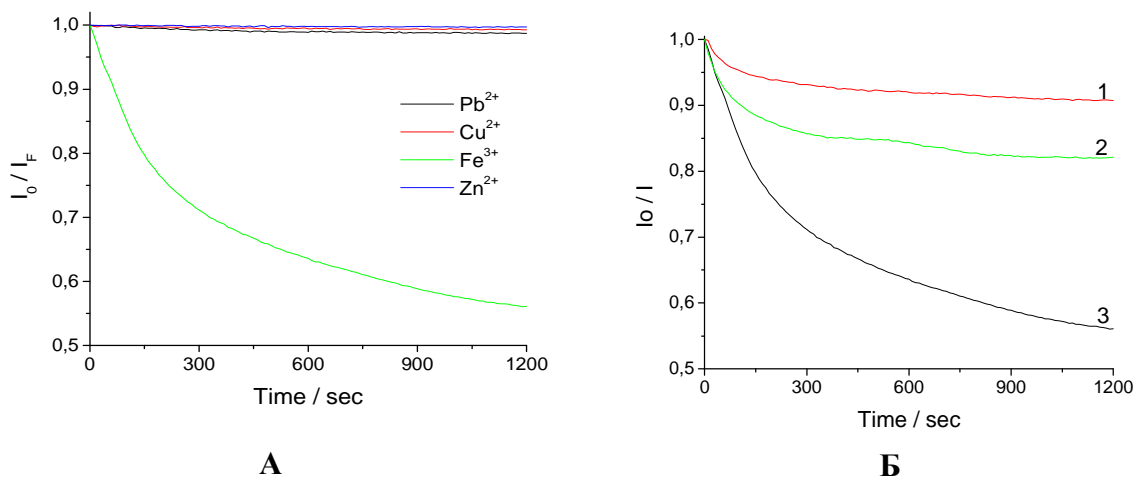
Изследвана е промяната на интензитета на флуоресценция на poly(St-co-**H21**) в буферен разтвор ( $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{NaCH}_3\text{COO}^-$ ) при  $\text{pH} = 5$  в присъствие на металните йони с концентрация ( $c = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ ). Подобно на другите изследвани полимерни филми и тук проникването на металните йони в полимерния филм се затруднява и е необходим по-продължителен контакт. Установено е, че  $\text{Fe}^{3+}$  йони гасят флуоресценцията през първите 5 мин, след което до десетата минута намаляването е по-слабо изразено, а след това гасенето е незначително. Фигурата също така показва, че само в присъствието на  $\text{Fe}^{3+}$  йони флуоресценцията се гаси, като това гасене достига до 45 %. При  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  практически не се наблюдава промяна във флуоресценцията ( $\text{ФГ} = 2-4 \%$ ).

Както в полистиреновия съполимер, така и в poly(ММА-co-**H21**) флуоресцентната емисия се гаси само в присъствието на  $\text{Fe}^{3+}$ .

Изследван е ефектът на металните йони върху флуоресцентната интензивност на полимерен филм (poly(St-co-**H22**)) с дебелина  $40 \mu\text{m}$  в буферен разтвор ( $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{NaCH}_3\text{COO}^-$ ) при  $\text{pH} = 5.0$ . И в този полимерен филм твърдата структура на (poly(St-co-**H22**)) затруднява проникването на металните йони и възможността им да контактуват с рецепторните фрагменти на 1,8-нафталимида намалена. Промяната на флуоресцентната интензивност в присъствието на ( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Pb}^{2+}$ ) с концентрация  $c = 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  е показана на **Фигура 22А**. Вижда се, че съполимера гаси



флуоресценцията си само в присъствието на  $\text{Fe}^{3+}$  йони, като най-силно този ефект се проявява през първите 10 минути с  $\Phi\Gamma = 40\%$ , след което той е незначителен. При  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  флуоресцентната интензивност намалява незначително (2-3 %). Отсъствието на ефект на  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  и значителното флуоресцентно гасене прави този полимерен филм селективен за откриване на  $\text{Fe}^{3+}$  във водни разтвори.



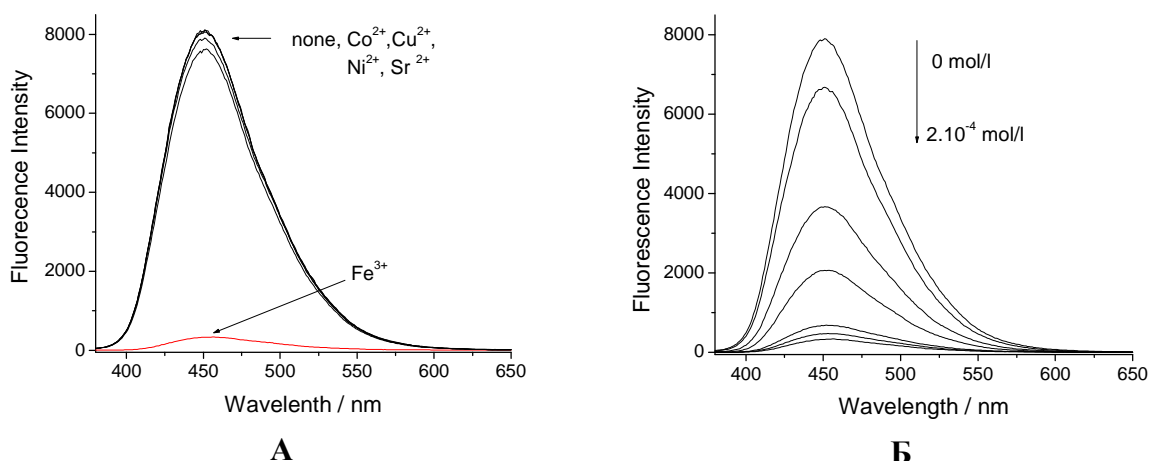
**Фигура 22.** Промяна на флуоресцентната интензивност на poly(St-co-H22) в присъствие на различни метални йони (А) и различни концентрации на  $\text{Fe}^{3+}$ : 1 ( $5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ); 2 ( $5 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ); 3 ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ ) (Б) в буферен разтвор ( $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{NaCH}_3\text{COO}^-$ ) при  $\text{pH} = 5.0$ .

Промяната на флуоресцентната интензивност на poly(St-co-H22) при три различни концентрации на  $\text{Fe}^{3+}$  е показана на **Фигура 22Б**. При концентрация  $5 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$  гасенето е 10 %; при  $5 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$  то е 19 % и при  $1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  се достига 45 % флуоресцентно гасене. Резултатите показват, че poly(St-co-H22) има потенциал да бъде използван като ефективен и селективен хетерогенен сензор за откриване на  $\text{Fe}^{3+}$  във водни среди.

В присъствие на различни по природа метални йони –  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ , флуоресцентната емисия на твърдия полимерен филм poly(St-co-H13) се променя, както може да се види от **Фигура 23А**. Слабо влияние върху флуоресценцията (само 1-5 %) е установено при:  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ , докато при  $\text{Fe}^{3+}$  гасенето е 96 %. Подобно спектрално поведение е наблюдавано и при poly(St-co-H14). Това прави тези два полимера добри селективни сензори за откриване на  $\text{Fe}^{3+}$  във водни среди, дори и в присъствието на други метални йони. Изменението на флуоресцентната интензивност, предизвикана от  $\text{Fe}^{3+}$  йони с концентрации до  $2 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  е показано на **фигура 23Б**. Вижда се, че първоначалното добавяне на  $\text{Fe}^{3+}$  йони ( $c = 5 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) предизвиква гасене на флуоресценцията с 16 %, което е много добра индикация за чувствителност на полимера към  $\text{Fe}^{3+}$  йони. По-нататъшното увеличаване на концентрацията им води до ново намаляване на интензитета на флуоресценция и при концентрация  $2 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  е постигнато 96 % гасене.

От направения анализ на сензорните свойства на флуоресцентните хетерогенни полимерни сензори може да се каже, че ковалентното свързване на флуорофора в

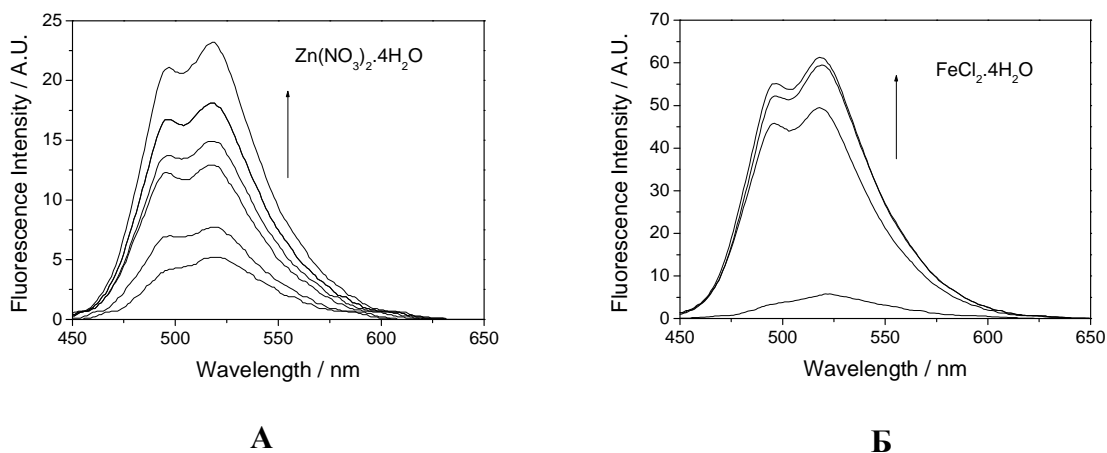
полимерната верига променя сензорните му свойства и механизма на действие. Определящо за селективността на анализа при полимерните сензори е природата на изследваните катиони, при което най-забележими промени във флуоресценцията на съполимерите се наблюдават в присъствие на  $\text{Fe}^{3+}$  катиони.



**Фигура 23.** Влияние на металните йони с концентрация  $c = 2 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  (А) и влияние концентрацията на  $\text{Fe}^{3+}$  йони върху интензитета на флуоресценцията на poly(St-co-N13) във водна среда.

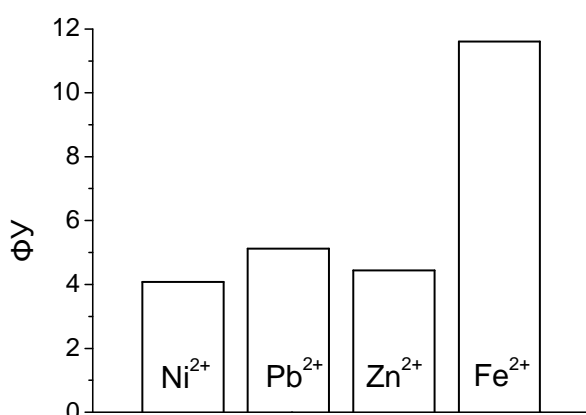
### Сензорни свойства на линейни полимерни сензори в разтвор на ДМФ

Освен като хетерогенни полимерни сензори, синтезираните съполимери са изследвани и в разтвор на ДМФ като хомогенни полимерни сензорни системи. ДМФ е добър разтворител както за полимерите, така и за солите на изследваните метални йони. На **Фигура 24** са представени спектрите на poly(MMA-co-N20) в разтвор на ДМФ и в различни концентрации на  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ .



**Фигура 24.** Промяна на флуоресцентната интензивност на poly(MMA-co-N20) в разтвор на ДМФ и в присъствие на различни концентрации на  $\text{Zn}^{2+}$  до  $5 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  (А) и  $\text{Fe}^{2+}$  до  $1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  (Б) йони. Концентрацията на полимера е  $5 \text{ g l}^{-1}$ .

Металните йони предизвикват усилване на флуоресцентната интензивност, която расте с увеличаване концентрацията им, което се дължи на образуване на комплекс на йоните с рецепторния фрагмент от 1,8-нафталимидна молекула и последващо гасене на ФЕТ процеса. Това, както и при мономерните сензорни молекули предизвиква възстановяване на флуоресценцията. След достигане на една пределна концентрация, около  $1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ , отговаряща на образуването на метален комплекс, флуоресцентната интензивност не се променя. Най-висока стойност има при  $\text{Fe}^{2+}$ , която е около  $\text{ФУ} = 12.0$  (**Фигура 25**). Останалите три метални йона имат приблизително еднакво влияние, което е в границите  $\text{ФУ} = 4-5$ . Влиянието на металните йони върху интензитета на флуоресценция е подобно на това, предизвикано от тях при мономерния 1,8-нафталимиден сензор в същия разтворител, но с по-слаба интензивност.



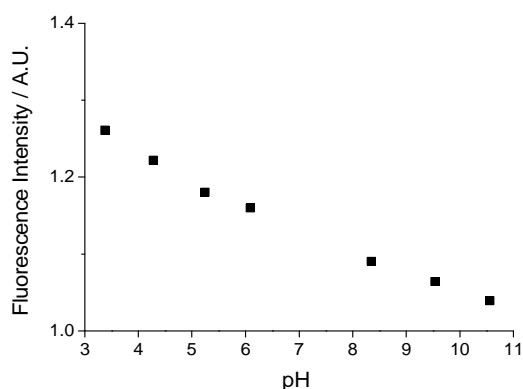
**Фигура 25.** Флуоресцентно усилване на poly(MMA-co-H20) в присъствие на метални йони в разтвор на *N,N*-диметилформамид.

Както при мономерните сензори, така и при полимерните, важно свойство е чувствителността към присъствие на метални йони. На **Фигура 25** е показано, че при концентрация  $1 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$  на  $\text{Fe}^{2+}$  флуоресценцията на poly(MMA-co-H20) се усилва  $\text{ФУ} = 8.86$ , докато при другите метални йони това усилване е в границите 1.5-1.9. Това показва, много добрата чувствителност на полимера към  $\text{Fe}^{2+}$  йони, която е по-добра от съответния мономерен сензор.

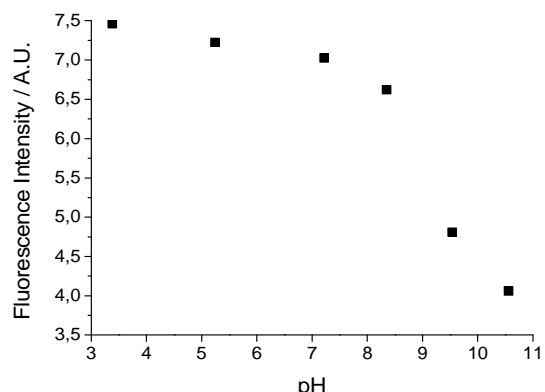
### Влияние на рН върху флуоресцентната интензивност на твърди полимери във водни среди

На **Фигура 26** е показана зависимостта на интензитета на флуоресценцията на твърдите полимерни филми poly(MMA-co-H20) и poly(ST-co-H20) от рН на водни разтвори. Вижда се, че флуоресценцията се усилва при прехода от алкална към кисела среда, като това усилване е по-добре изразено при poly(ST-co-H20). При poly(MMA-co-H20) флуоресценцията расте едва 20 %, което може да се обясни с образуването на слаби междумолекулни взаимодействия между протонираната аминок група от рецепторния фрагмент и карбонилните групи от (поли)метилметакрилатния полимер. По-добрият резултат, получен при poly(ST-co-H20) в сравнение с poly(MMA-co-H20), може да се

обясни с различията в полимерна структура, при която е невъзможно образуването на междумолекулни взаимодействия с 1,8-нафталиמידните флуорофори.



poly(MMA-co-H20)

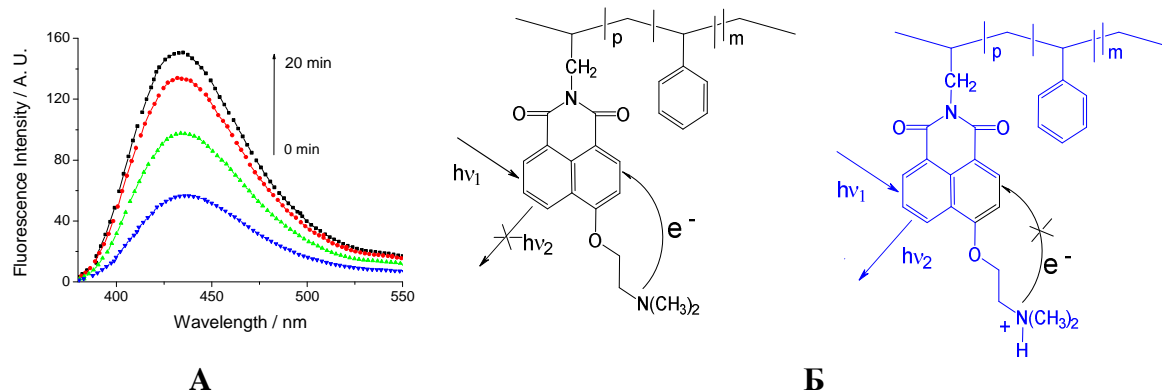


poly(ST-co-H20)

**Фигура 26.** Промяна интензитета на флуоресценция на poly(MMA-co-H20) и poly(ST-co-H20) в различни рН области.

И в двата случая флуоресцентното усилване е по-слабо изразено в сравнение с мономерния нафталиמיד **H20**, което се дължи на плътната полимерна структура и възможността за проникване на протоните до рецепторния фрагмент. От друга страна при сравнение на влиянието на протоните върху флуоресцентна интензивност на полимерите спрямо металните йони, по-силната флуоресцентна интензивност при протоните може да се обясни със значително по-малкия им йонен радиус и от там – с по-лесното им проникване през твърдата полимерна матрица до рецепторните фрагменти на 1,8-нафталиמידните флуорофори.

Мономерният флуорофор **H22** излъчва интензивна флуоресценция при рН < 6.5, което ни даде възможност за изследване на неговия съполимер със стирен при рН = 5. На **Фигура 27А** е показано усилване на флуоресценцията на полимерния филм с времето на контакт във воден разтвор при рН = 5, което дължи на гасенето на ФЕТ в кисела среда, който се осъществява от отдалечения азотен атом от *N,N*-диметиламино групата към 1,8-нафталиמידната хромофорна система.

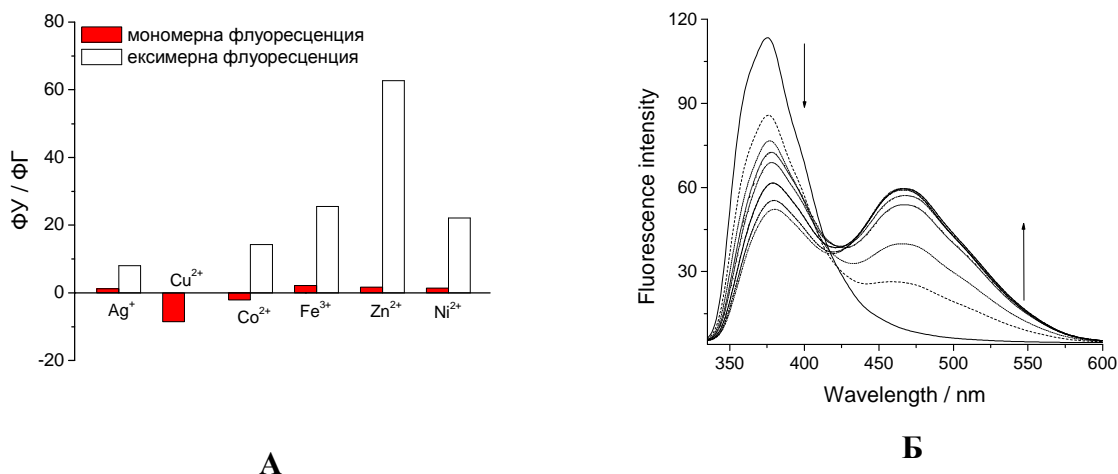


**Фигура 27.** Усилване на флуоресценцията с времето на контакт на poly(St-co-H22) при рН = 5 (А) и ФЕТ механизъм (Б).

Протонирането на рецепторния фрагмент спира електронния трансфер и това възстановява флуоресцентната емисия на полимера (**Фигура 27Б**). Слабо отместване е наблюдавано във флуоресцентните спектри, което се дължи на протонирането на рецепторния фрагмент. Тези резултати показват, че твърдият полимерен филм poly(St-co-H20) може да се използва като ефективен “off-on” превключващ детектор в различни рН области. Ефектите на включено и изключено състояние са обратими.

### Изследване сензорния капацитет на модифицирани с 1,8-нафталиמיד ППА дендримери

С оглед на потенциалното приложение на новосинтезираните ППА дендримери като ФЕТ сензори за откриване на йони за нас представляваше интерес да се изследват фотофизичните им свойства в присъствие на различни по природа метални йони ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ ).



**Фигура 28.** Флуоресцентно усилване и гасене на ППА.1.6 в присъствие на метални йони (А) и влияние на  $\text{Co}^{2+}$  върху флуоресцентната интензивност (Б).

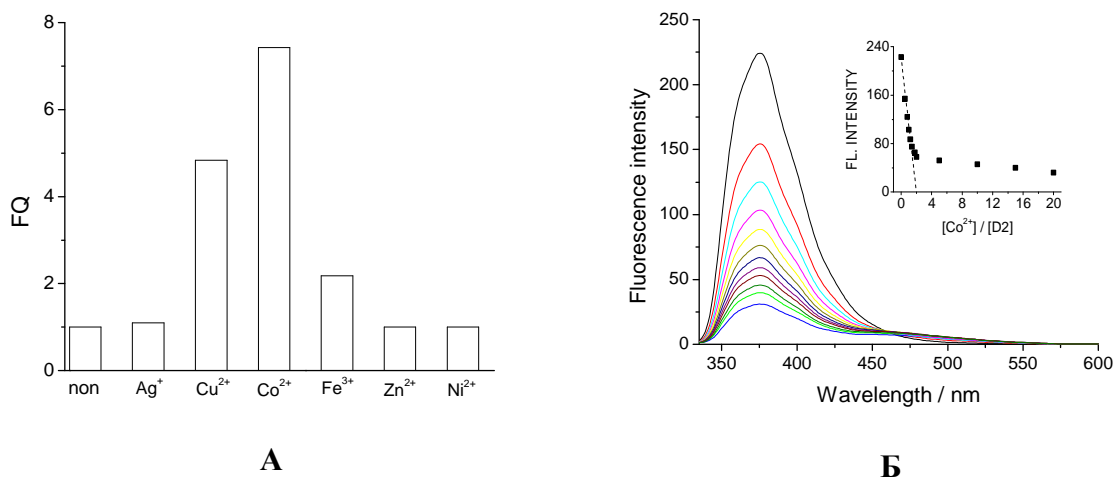
Изследвано е влиянието на метални йони върху флуоресценцията на ППА1.6 и е установено, че  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Co}^{2+}$  гасят мономерната емисия като по-силно това е при  $\text{Cu}^{2+}$ , докато останалите йони имат незначително усилване на флуоресценцията (**Фигура 28А**).

Влиянието на различни концентрации от  $\text{Co}^{2+}$  върху флуоресцентната интензивност на ППА1.6 е показано на **Фигура 28Б**. С увеличаване концентрацията на  $\text{Co}^{2+}$  йони флуоресцентната интензивност на максимума при  $\lambda_F = 375$  nm намалява и успоредно с това се появява нов пик с максимум при  $\lambda_F = 468$  nm с добре оформена изобестична точка при 420 nm. В този случай флуоресцентният максимум при  $\lambda_F = 375$  nm е характерен за мономерната флуоресцентна емисия, а наличието на втория максимум е типичен за екцимерната флуоресценция. Тя се дължи на енергиен трансфер между два еднакви 1,8-нафталиמידни флуорофора, като единият от тях е в основно състояние, а другият във възбудено. ППА1.6 има четири еднакви 1,8-нафталиמידни единици, които имат относително висока степен на свобода, така че да могат да се

доближат на достатъчно близко разстояние при образуване на комплекс с металните йони, при което във спектъра съществуват двете спектрални форми **Фигура 28Б**.

Наличието на металните катиони ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ ) води до нарастване на интензитета на ексимерната емисия, с фактор по-голям, от фактора на нарастване на мономерната емисия. Очевидно координирането на метални йони влияе върху конформацията на дендримера, така че се облекчава енергийния обмен между нафталиמידните фрагменти и интензитетът на ексимерната емисия нараства. Най-добре това е изразено при  $\text{Zn}^{2+}$ , където нарастването е 65 пъти. Изключение се наблюдава в присъствие на  $\text{Cu}^{2+}$ , където нараства стойността на фактора на гасене на мономерната емисия. Най-вероятно конформационните промени, предизвикани от координирането на  $\text{Cu}^{2+}$  катиони нарушават пространствената конфигурация на хромофорите. Стехиометрията на комплексите е 1:1.

За разлика от **ППА1.6** в спектрите на **ППА2.7** не се наблюдава ексимерна емисия, а само гасене на флуоресценцията в присъствие на металните йони. От **Фигура 29А** се вижда, че  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  катиони, гасят флуоресцентната емисия, като най-голяма стойност на ФГ е изчислена за  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$ , докато  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  не оказват влияние.



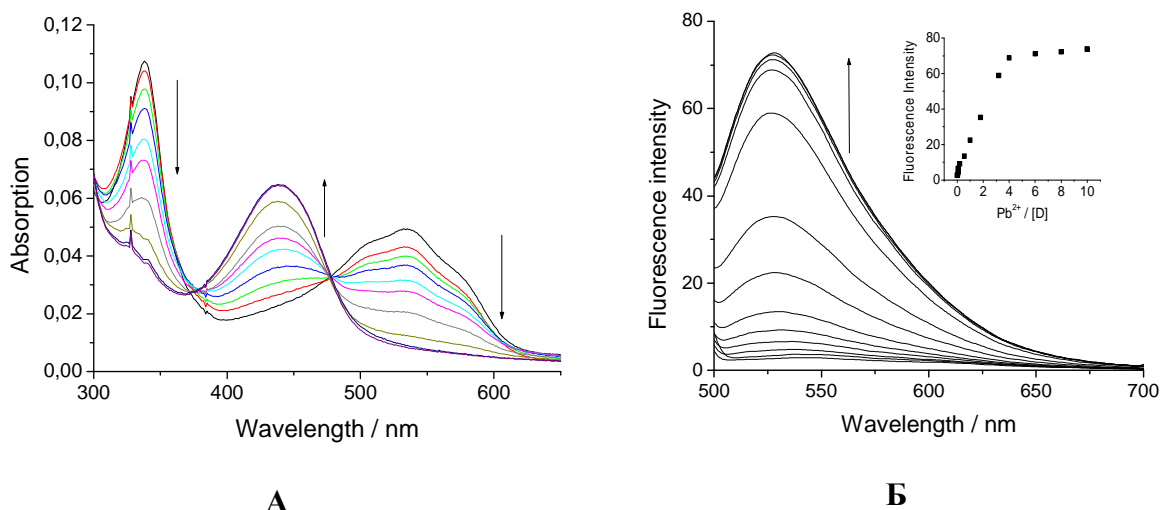
**Фигура 29.** Влияние природата на флуоресцентна активност на **ППА2.7** в зависимост от металните йони (А) и от концентрацията на  $\text{Co}^{2+}$  (Б) в разтвор на ацетонитрил.

Изменението на флуоресцентните спектри на **ППА2.7** с увеличаване концентрацията на  $\text{Co}^{2+}$  е показано на **Фигура 29Б**, като е намерено, че с увеличаване концентрацията на  $\text{Co}^{2+}$ , интензитетът на флуоресценция намалява в концентрационния обхват  $0 \div 2 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ . Първоначалното добавяне на  $\text{Co}^{2+}$  ( $c = 1 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ ) към разтвора на **ППА1.7** предизвиква намаляване на флуоресцентната интензивност с 32 %, което показва много добра сензорна чувствителност. По-нататъшното титруване с  $\text{Co}^{2+}$  до ( $c = 2 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ) води до намаляване на флуоресцентната интензивност, след което намаляването е незначително. Както може да се види от малката фигура на **Фигура 29Б**, намерената стехеометрия на комплекса е 1:2. В този случай металните йони образуват комплекси с третичните amino групи от дендримерната структура, което се потвърждава от факта, че намаляването на интензитета на флуоресценция при

увеличаване на концентрацията на  $\text{Co}^{2+}$  йони в средата, не е съпроводено с промяна в позицията на флуоресцентния максимум. **Фигура 29Б** показва също, че преобладаваща е мономерната флуоресценция.

#### Влияние на металните йони върху фотофизичните свойства на ППА1.4

Функционалните свойства на **ППА1.4** в присъствие на различни по природа метални йони ( $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ ) са изследвани от гледна точка на приложението му като цветови и флуоресцентен сензор за откриване на метални йони в безводни среди. Изборът на ДМФ като разтворител е продиктуван от факта, че в присъствие на натриева основа **ППА1.4** променя цвета си от жълт в черен. **Фигура 30А** показва промяната на флуоресцентните спектри при титруване с  $\text{Pb}^{2+}$ .



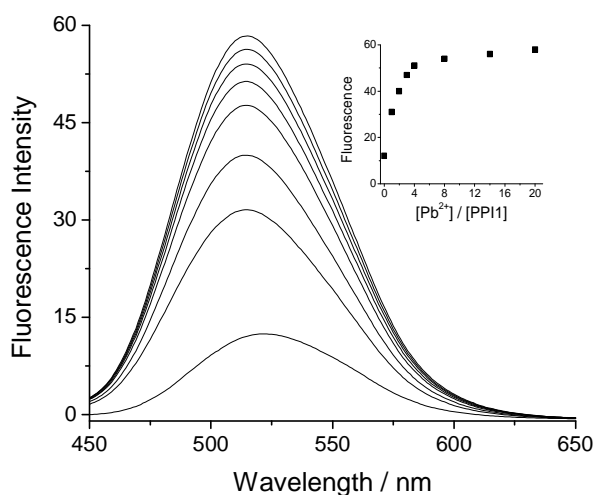
**Фигура 30.** Абсорбционни (А) и флуоресцентни (Б) спектри на **ППА1.4** +  $\text{NaOH}$  ( $1.10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ), в разтвор на ДМФ при добавяне на различни концентрации  $\text{Pb}^{2+}$ .

Както се вижда, максимумите при 337 nm и 536 nm намаляват, докато този при 438 nm расте. След концентрация на  $\text{Pb}^{2+}$  от  $4.10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$  тяхната промяна е незначителна. Това показва, че четирите  $\text{Pb}^{2+}$  йона взаимодействат с четирите депротонирани бутиламино групи в С-4 позиция, като по този начин компенсират техния електронен дефицит. **Фигура 30Б** показва промяната във флуоресцентната интензивност като функция от концентрацията на  $\text{Pb}^{2+}$  йони. Свободният от метални йони (**ППА1.4** + ДМФ +  $\text{NaOH}$ ) разтвор излъчва много слаба флуоресценция. Добавянето на  $\text{Pb}^{2+}$  йони с концентрация до  $c = 1 \times 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  предизвиква значително усилване на флуоресцентната интензивност. Ниските концентрации от  $\text{Pb}^{2+}$  усилват флуоресценцията, което показва много добра чувствителност към изследваните йони. Също така четири  $\text{Pb}^{2+}$  йона взаимодействат с четирите депротонирани бутиламино групи от дендримерната молекула. Останалите изследвани метални йона ( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ ) имат същото спектрално поведение. Най-добър ефект за ФУ е постигнат при  $\text{Pb}^{2+}$  ( $\Phi_U = 26.85$ ). За другите метални йони са намерени също добри резултати съответно: 25.74 ( $\text{Zn}^{2+}$ ), 20.30 ( $\text{Co}^{2+}$ ), 25.75 ( $\text{Fe}^{3+}$ ) и 20.35 ( $\text{Cu}^{2+}$ ). Само в присъствие на  $\text{Ni}^{2+}$  ФУ е



незначително ( $\Phi_U = 1.26$ ). Вероятно  $Ni^{2+}$  не образуват стабилни комплекси с депротонираните бутиламино групи от 1,8-нафталимидната структура. Подобни експерименти са проведени в разтвор на ацетонитрил и тетраhydroфуран, като е установено, че при тях **ППА 1.4** не променя спектралните си характеристики. Това се дължи на факта, че в тези разтворители не настъпва депротониране на бутиламино групите от **ППА 1.4** дендримерна молекула.

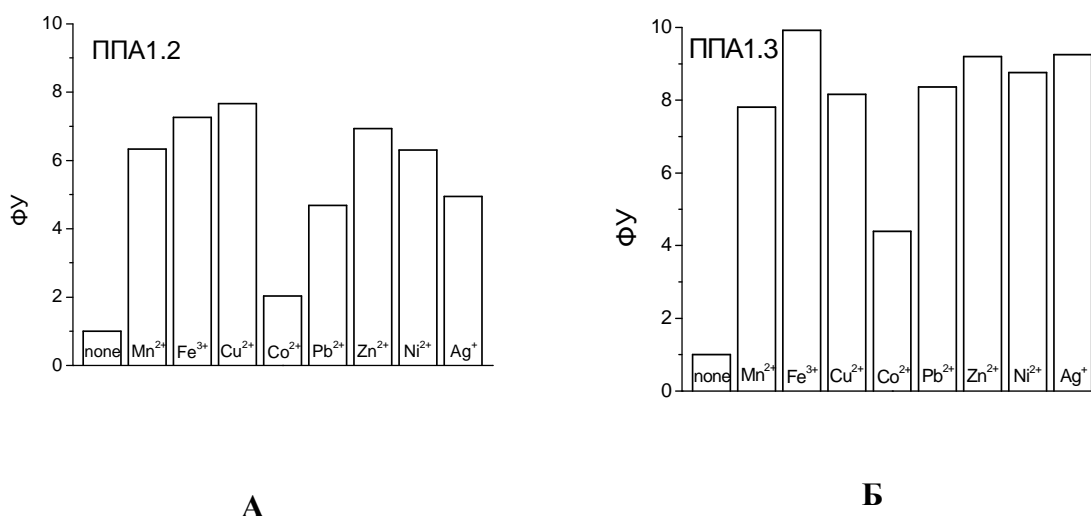
**Фигура 31** показва усилването на флуоресцентната емисия на **ППА1.2** с увеличаване концентрацията до  $2 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$  на  $Pb^{2+}$  в разтвор на ацетонитрил. Добавянето на  $Pb^{2+}$   $1.66 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$  усилва флуоресцентната емисия с 46 %, което показва много добра чувствителност на дендримера към тези йони. Увеличаването на  $Pb^{2+}$  до  $c = 4 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$  също усилва флуоресценцията, докато по-нататъшното добавяне на  $Pb^{2+}$  има слабо влияние. Малката фигура от **Фигура 31** показва, че една дендримерна молекула образува комплекс с четири метали йони.



**Фигура 31.** Флуоресцентни спектри на **ППА1.2** ( $c = 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ) в разтвор на ацетонитрил при концентрации  $Pb^{2+}$  в областта от 0 до  $2 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ . Малката фигура показва зависимостта на флуоресценцията от концентрацията на  $Pb^{2+}$ .

Позицията на флуоресцентния максимум е хипсохромно изместен с 10 nm: от 523 nm до 513 nm в резултат на образуване на комплекса. Това означава, че електрондонорния азотен атом, свързан с C-4, участва в образуването на комплекса. Аналогично на  $Pb^{2+}$  йони, останалите изследвани йони ( $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  и  $Ag^+$ ) имат подобен ефект върху флуоресцентната интензивност, като  $\Phi_U$  е в границите 5-8. (**Фигура 32А.**) Подобно на **ППА1.2** при добавяне на метални йони, флуоресцентната интензивност на **ППА1.3** се усилва, като усилването е малко по-добре изразено в сравнение с **ППА1.2** (**Фигура 32Б**). И при двата дендримера най-слаб ефект е регистриран в присъствие на  $Co^{2+}$ , които вероятно не могат да образуват стабилен комплекс с дендримерите и тяхната флуоресценция остава по-ниска.

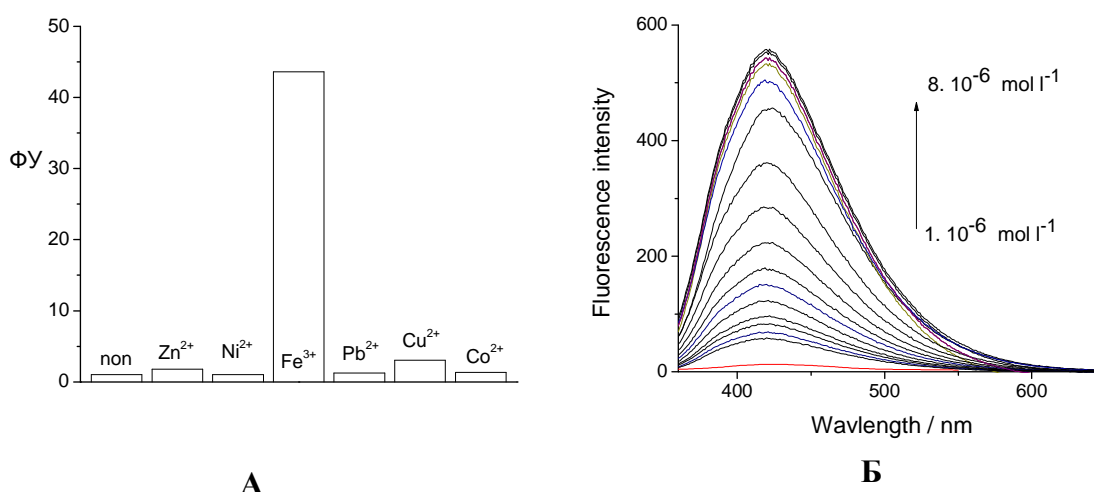




**Фигура 32.** Флуоресцентно усилване (ФУ) на **ППА1.2** и **ППА1.3** ( $c = 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ) в присъствие на метални йони ( $c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) в разтвор на ацетонитрил.

Металните комплекси с ППА дендримерите имат по-тясно Стоксово изместване в сравнение със свободните дендримери. Това показва стабилизиране на планарността, на нафталиמידната система след образуването на комплексите и от там усилване на флуоресценцията, вследствие намаляване на безизлъчвателните процеси. Изчислените квантови добиви на металните комплекси на **ППА1.2** и **ППА1.3** са от 10 до 20 пъти по-високи от съответните квантови добиви на флуоресценция на дендримерите в отсъствие на металните йони с изключение на  $\text{Co}^{2+}$ .

Интересен резултат е получен при изследване **ППА1.7** като детектор за откриване на  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  в рзтвор на ацетонитрил. На **фигура 32А** са представени изчислените стойности за ФУ при концентрация  $c = 4 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ .

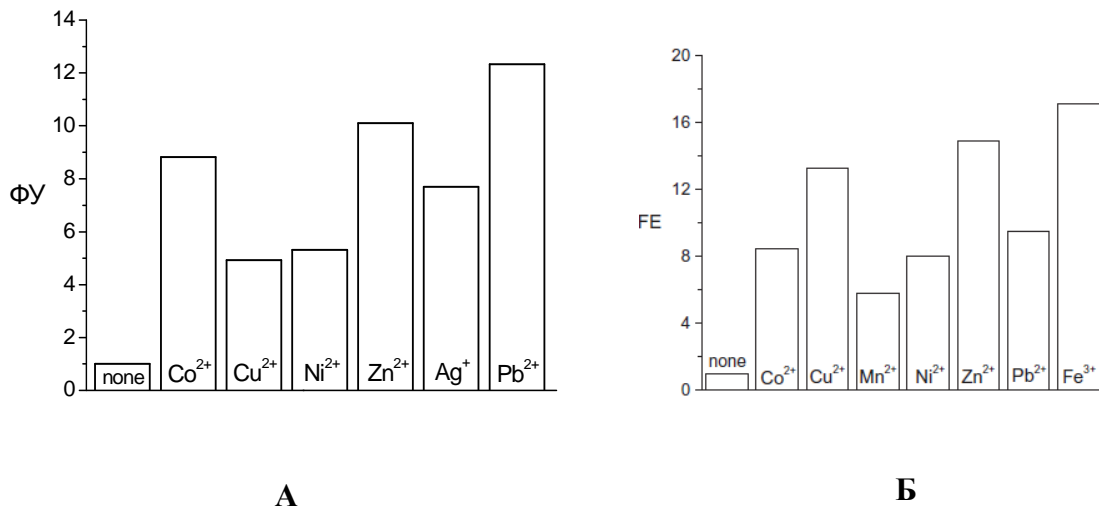


**Фигура 32.** Флуоресцентно усилване (ФУ) на **ППА1.7** ( $c = 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ) (А) в присъствие на метални йони в присъствие на метални йони с концентрация ( $c = 4 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ) в разтвор на ацетонитрил. Промяна на флуоресцентната интензивност на **ППА1.7** ( $c = 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ) при различни концентрации на  $\text{Fe}^{3+}$  йони (Б).

Вижда се, че  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  и  $Ni^{2+}$  предизвикват незначително усилване на флуоресцентната интензивност ( $\Phi Y = 1.01-1.81$ ), докато в присъствие на  $Cu^{2+}$  усилването е малко по-силно. ( $\Phi Y = 3.07$ ). Добавянето на  $Fe^{3+}$  предизвиква значително усилване на флуоресцентната интензивност, което вероятно се дължи на бързото образуване на стабилен комплекс на  $Fe^{3+}$  с кислородния и азотен атом от 4-*N,N*-диметиламиноетокси заместител при С-4 от 1,8-нафталимидната структура.

Промяната на флуоресцентната интензивност с добавяне на различно количество  $Fe^{3+}$  до  $8 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$  е показано на **Фигура 32Б**. В този случай  $\Phi Y = 44.95$ . Най-малкото откриваемо количество за  $Fe^{3+}$  йони е  $2 \cdot 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ , а концентрационния обхват  $2 \cdot 10^{-7} - 4 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$  може да се използва за количествено откриване на тези йони. Тези стойности са значително по-ниски от откриваемите  $Fe^{3+}$  в биологични системи или в околната среда, които са в ppm концентрационен обхват. Това показва високия потенциал на **ППА1.7** при дизайна на селективни сензори за откриване на  $Fe^{3+}$  йони в концентрации над ppm скалата.

При изследване сензорните свойства на дендримери от втора генерация се установи, че те имат различно спектрално поведение. При **ППА2.2** със *N,N*-диметиламиноетиленамино заместител при С-4 атом се наблюдава усилване на флуоресцентната емисия при всички изследвани метални йони (**Фигура 33А**), като най-добър резултат е постигнат при  $Pb^{2+}$  йони ( $\Phi Y = 12.33$ ), а най-нисък при  $Cu^{2+}$  ( $\Phi Y = 4.99$ ) с използвани концентрации ( $c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ).

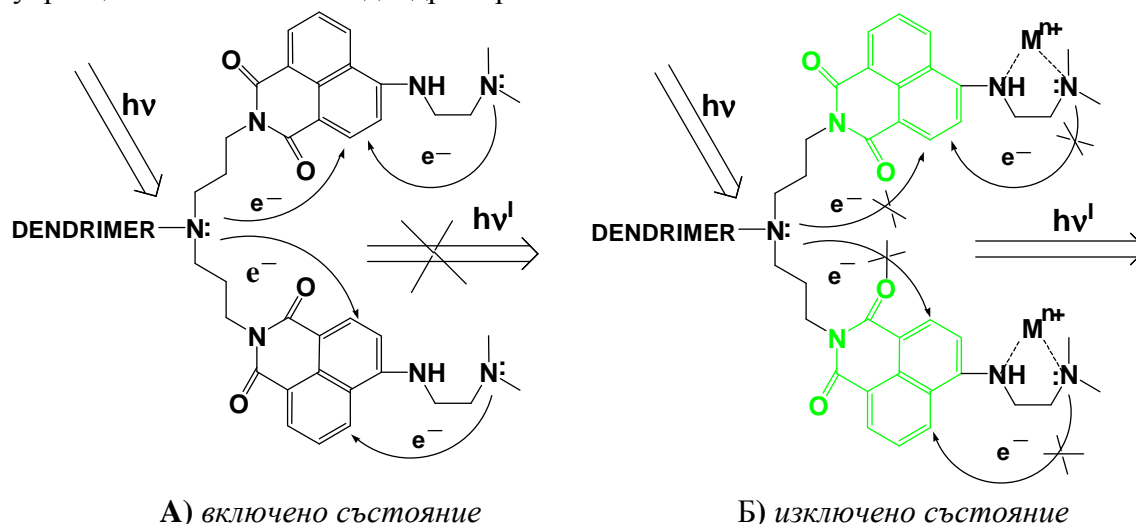


Фигура 33. Флуоресцентно усилване (ФУ) на ППА2.3 ( $c = 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ).

Дендример **ППА2.3**, при който като заместител е използван *N*-метилпиперазин, също има възможността за осъществяване на ФЕТ, като по този начин металните йони могат да влияят върху спектралното поведение на дендримера. Получените резултати показват, че изследваните метални йони  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  и  $Fe^{3+}$  усилват флуоресцентната интензивност, като най-силно е усилването при  $Fe^{3+}$  ( $\Phi Y = 17.0$ ) (**Фигура 33Б**). Спектрофотометрично е установено, че осем метални йона, образуват комплекс с **ППА2.3** дендример. Минималното откриваемо количество за метални йони

с ППА2.3 е  $1 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ , което потвърждава направеното по-горе заключение, че ППА дендримерите имат по-висока чувствителност към металните йони в сравнение с ниско молекулните 1,8-нафталиמידни производни.

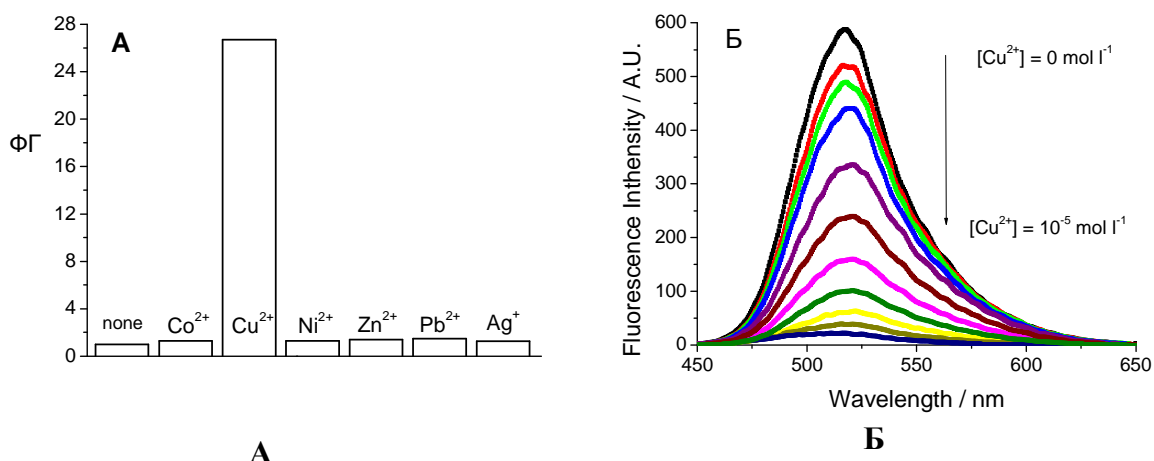
На **схема 17** е показана надмолекулната система “Флуорофор-Мост-Рецептор” за откриване на метални йони като “гост” и ППА дендример като “домакин”. Взаимодействието на рецептора (*N,N*-диметиламино групата) и флуорофора (1,8-нафталимида) предизвиква фотоиндуциран електронен трансфер, в резултат на което флуоресцентната емисия на дендримера се гаси и системата е във *включено състояние*.



**Схема 17.** Надмолекулна влючена/изключена “Рецептор-Мост-Флуорофор” система за детекция на метални йони.

Координирането на металните йони със свободните електронни двойки при рецепторните азотни атоми, намалява донорния им потенциал, а това от своя страна предизвиква намаляване или напълно изключване на електронния трансфер, в резултат на което се образува флуоресцентно излъчващ комплекс с “*изключено състояние*” на ФЕТ в системата. (**Схема 17B**).

При ППА2.4, където заместителят в С-4 позиция е пропиламино група и отсъства възможност за ФЕТ процес, металните йони имат коренно различен ефект върху флуоресцентната емисия в тяхно присъствие (**Фигура 34A**). В този случай квантовият добив на флуоресценция в разтвор на ацетонитрил е сравнително висок  $\Phi_F = 0.583$ . При  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  и  $Ag^+$  не се наблюдава изменение на флуоресценцията, което показва, че тези йони не образуват стабилни комплекси с ППА2.4. Значително силно гасене на флуоресценцията се постига в присъствието на  $Cu^{2+}$ , което се дължи на образуване на комплекс на медните йони с третичните азотни атоми от сърцевината на ППА дендримерна структура. В резултат на това се осъществява енергиен трансфер към 1,8-нафталиמידните флуорофори, което води до гасене на флуоресцентната емисия. Резултатите показват, че ППА2.4 може да се използва като селективен сензор за  $Cu^{2+}$  йони.



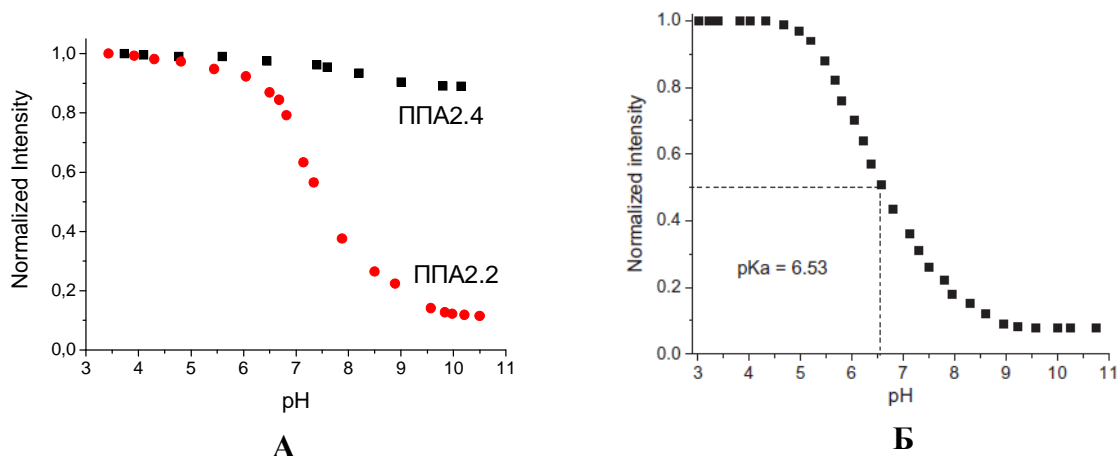
**Фигура 34.** Флуоресцентно гасене (ФГ) на ППА2.4 ( $c = 1 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ) (А) в присъствие на метални йони с концентрация ( $c = 1 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) в разтвор на ацетонитрил (А). Промяна на флуоресцентната интензивност на ППА2.4 при различни концентрации на  $\text{Cu}^{2+}$  йони (Б).

Както е показано на **Фигура 34Б**, флуоресцентно гасене се постига след добавяне на  $\text{Cu}^{2+}$  йони в концентрационен интервал  $0-1 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ . При концентрация  $1 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$  гасенето е 11.5 %, което показва много добра чувствителност към тези йони и нисък концентрационен праг на откриването им. С увеличаване концентрацията на  $\text{Cu}^{2+}$  йони до  $1 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$  флуоресценцията на ППА2.4 се гаси до 96 %, след което намаляването на флуоресценцията е незначително (**Фигура 34Б**). В резултат на образуване на  $\text{Cu}^{2+}$  комплекс, дендримерът не променя позицията на флуоресцентния максимум, което е в съответствие с допускането, че комплексът е образуван в сърцевината на дендримера, докато при ППА2.2 и ППА2.3 комплекс се образува преимуществено с рецепторните фрагменти на 1,8-нафталимидите. При ППА2.4 комплексът е със съотношение 1:2 спрямо  $\text{Cu}^{2+}$  йони. С възможността медните йони да образуват комплекс и с вътрешността на дендримерната молекула се обясняват по ниските стойности за ФУ при ППА2.2 и ППА2.3 като крайния резултат е сборен от двата ефекта. Преобладаващ в случая е ефектът на усилване на флуоресценцията, вследствие на гасене на фотоиндуцирания електронен процес.

### Влияние на рН върху флуоресцентната интензивност на ППА дендримери във водна среда

Установено е, че с увеличаване концентрацията на протоните в средата, интензитетът на флуоресценция нараства до достигане на определена стойност на рН, която е различна и зависи, главно от вида на заместителя в нафталиמידното ядро (**Фигура 35А**). При ППА2.2 със заместител  $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$  с преминаване от алкална към кисела среда, флуоресцентната емисия расте и кривата на нарастване има сигмоидален характер, като нарастването е най-добре изразено в областта 9,5-6.5. При рН стойности по-малки от 6.5 покачването на флуоресценцията е незначително.

Флуоресцентната интензивност при  $\text{pH} = 3.4$  е девет пъти по-висока от тази при  $\text{pH} = 10.6$ , което показва много добро  $\text{pH}$  превключване и управление на фотоиндуцирания електронен трансфер.



**Фигура 35.** Зависимост на флуоресцентната интензивност на дендримери **ППА2.2** и **ППА2.4** (А) и **ППА2.3** (Б) в разтвор етанол:вода (1:4 v/v) от  $\text{pH}$  на средата.

Дендример **ППА2.3** с *N*-метилпиперазинов рецепторен фрагмент е изследван в  $\text{pH}$  интервал от 3.1 до 10.9, като е намерена висока чувствителност, което се дължи на протонирането на отдалечения третичен атом [ $>\text{N}-\text{CH}_3$ ] от *N*-метилпиперазиновия заместител. При  $\text{pH}$  стойности по-малки от 4.8 дендримерът не променя флуоресценцията си. При  $\text{pH} > 5$  се наблюдава драстично намаляване на флуоресцентната интензивност и накрая при  $\text{pH} > 9$  отново флуоресцентната интензивност не се променя. Както и при **ППА2.2**, протонирането на третичния азотен атом спира ФЕТ процеса и флуоресценцията се усилва. В  $\text{pH}$  интервала 10-4.0 това усилване е около девет пъти (**Фигура 35Б**). При **ППА2.4** дендример, който не притежава рецептор, очаквано не се регистрират промени във флуоресцентната интензивност като функция от  $\text{pH}$  на средата. Това показва, че протонирането на третичните азотни атоми от дендримерната сърцевина не влияе съществено върху флуоресцентната интензивност на **ППА2.2**.

Изследвано е и влиянието на концентрацията на протоните при  $\text{pH} = 3.2-11.1$  върху интензитета на флуоресценция и на дендримерите от първа генерация със същите заместители и рецепторни фрагменти, свързани към С-4.

$\text{pKa}$  стойностите на ППА дендримерите са представени в **Таблица 3**, като са сравнени с тези от мономерните 1,8-нафталиמידни сензори **Н20** и **Н21**. Резултатите показват, че те зависят от вида на заместителя, като по-ниски стойности и при двата дендримера са получени при тези със заместител *N*-метилпиперазин. Това означава, че генерацията не влияе съществено върху киселинно-основните характеристики на дендримерите, а видът на заместителя при С-4 атом е от съществено значение. При ППА дендримерите със заместител  $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$  стойностите за  $\text{pKa}$  са в областта 7.4-7.9, докато тези с *N*-метилпиперазинов заместител са 6.4-6.5. При дендримери **ППА1.6** и **ППА2.7**, с водороден атом при С-4 са с по-високи  $\text{pKa}$

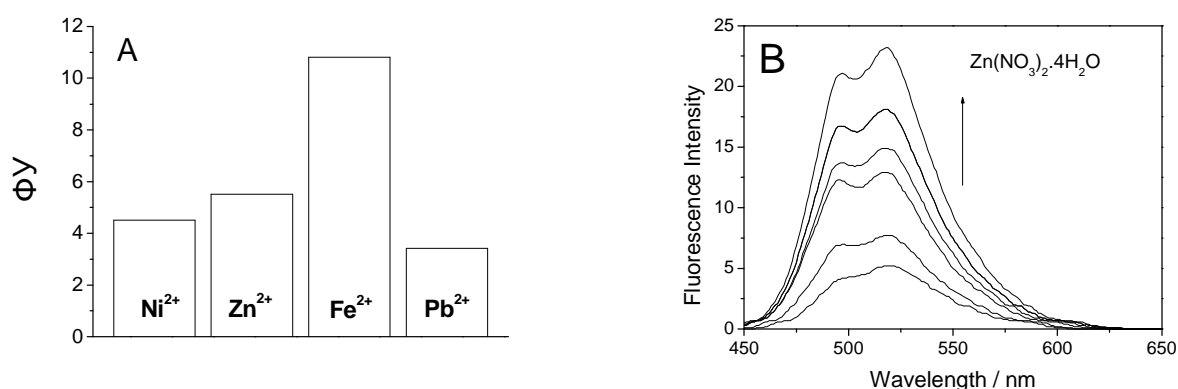
стойности и са съответно 9.7 и 8.7, което показва, че протонирането се осъществява в силно кисела среда и тези дендримери могат да се използват при мониторинг на рН в алкални среди. При сравняване на дендримерните и мономерните сензорни 1,8-нафталиמידни системи се вижда, че рКа зависи от заместителя, свързан към С-4 атом и слабо зависи от заместителя свързан към имидния азотен атом.

**Таблица 3.** рКа на ППА дендримери и мономерни сензори

Заместител при С-4	ППА1	ППА2	Мономерен сензор
-NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	7.9	7.4	7.8
N-метилиперазин	6.4	6.5	7.0
H	9.7	8.7	-

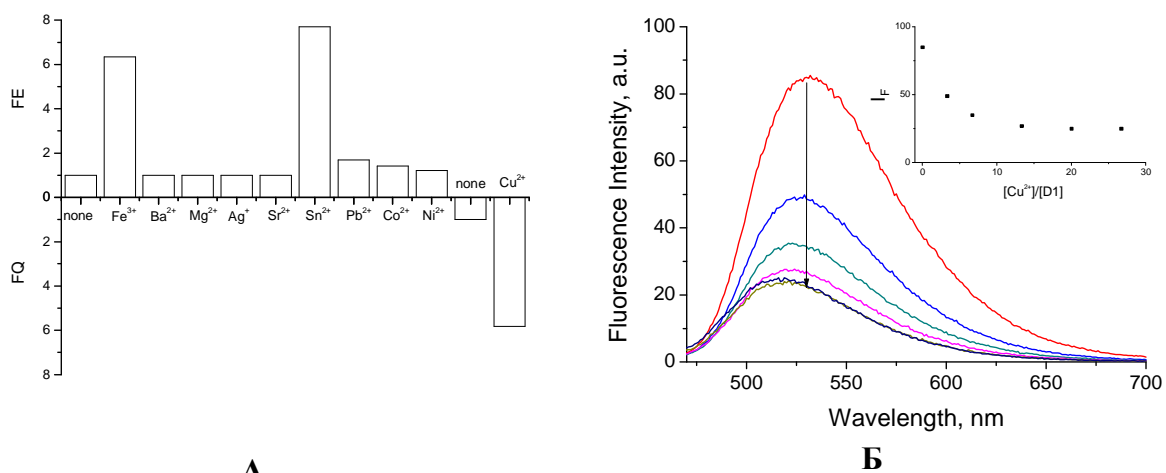
### Влияние на металните йони върху фотофизичните свойства на модифицирани ПАМАМ дендримери от различни генерации

Изследван е сензорният капацитет на ПАМАМ дендримери от различни генерации, модифицирани с *N,N*-диметиламиноетиламино-1,8-нафталиמיד в разтвор на ДМФ спрямо различни метални йони и протони. При **ПАМАМ1**, при който има четири 1,8-нафталиמידни единици в периферията е установено, че в присъствие на метални йони флуоресцентната интензивност се усилва няколкократно, като силата ѝ зависи от видът им. От показаната на Фигура 36А графика, се вижда, че най-висока стойност за ФУ при Fe<sup>2+</sup>. Фотофизичните характеристики на **ПАМАМ1** в отсъствие и присъствие на изследваните метални йони показват, че абсорбционният максимум не се променя, докато флуоресцентният е слабо хипсохромно изместен с  $\Delta\lambda_F = 3-6$  nm. Усилването на флуоресцентната интензивност в присъствието на металните йони води до значително повишаване на квантонтовия добив на флуоресценция. С увеличаване концентрацията на металните йони интензитетът расте (**Фигура 36Б**) до един предел, който за **ПАМАМ1** е при концентрации от порядъка на 10<sup>-4</sup> M.



**Фигура 36.** Флуоресцентно усилване на **ПАМАМ1** в присъствие на различни по природа метални йони (А). Зависимост на интензитета на флуоресценция от концентрацията на Zn<sup>2+</sup> ( $c = 0-1 \times 10^{-4}$  M) (Б).

Интересни резултати са постигнати при изследване сензорния потенциал на **ПАМАМ2** дендример от по-висока генерация (**Фигура 37А**).

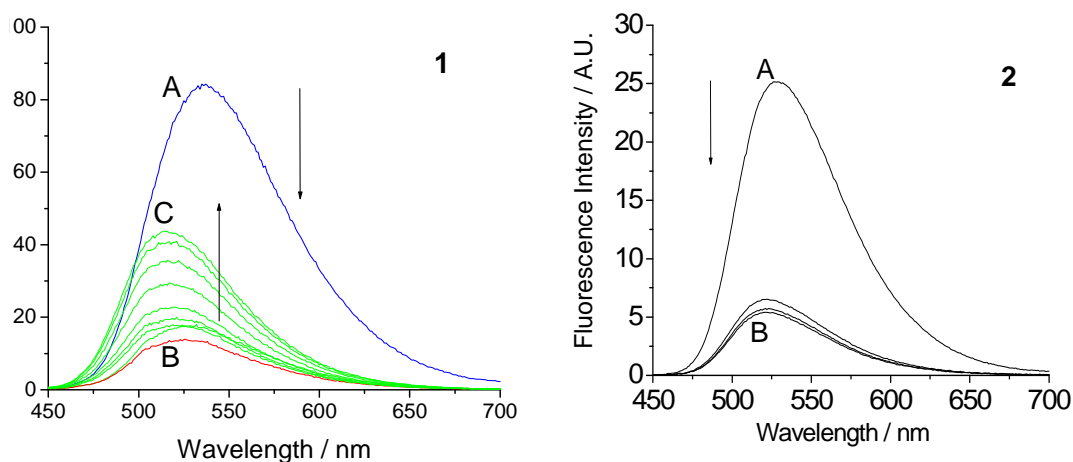


**Фигура 37.** Флуоресцентно усилване на **ПАМАМ2.1** в присъствие на различни по природа метални йони (А) Зависимост на интензитета на флуоресценцията от концентрацията на  $\text{Cu}^{2+}$  ( $c = 0\text{-}1 \times 10^{-5}\text{M}$ ) (Б).

Вижда се, че само  $\text{Sn}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  усилват флуоресцентната интензивност, докато  $\text{Cu}^{2+}$  оказва значително гасене на флуоресценцията. Влиянието на  $\text{Cu}^{2+}$  върху интензитета на флуоресценцията с увеличаване концентрацията показва, че гасенето е съпроводено със силно хипсохромно изместване на флуоресцентния максимум (**Фигура 37Б**). За разлика от  $\text{Sn}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ , които преимуществено взаимодействат с рецепторните фрагменти, като гасят ФЕТ и по този начин усилват флуоресцентната интензивност,  $\text{Cu}^{2+}$  координират преимуществено с дендримерната сърцевина, което предизвиква гасене на флуоресценцията.

При **ПАМАМ3** дендример, при който има шестнадесет 1,8-нафталиמידни флуорофорни единици в периферията,  $\text{Cu}^{2+}$  йони оказват различно въздействие върху флуоресцентната интензивност (**Фигура 38**). Първоначално се наблюдава гасене на флуоресцентната емисия ( $\text{ФГ} = 6.2$ ), съпроводено със слабо хипсохромно изместване на флуоресцентния максимум, което се обяснява с допускането, че при ниските концентрации на  $\text{Cu}^{2+}$  се образуват комплекси в сърцевината на дендримерната молекула (**Фигура 38А**). С повишаване концентрацията на  $\text{Cu}^{2+}$ , интензитетът на флуоресценцията се усилва ( $\text{FE} = 3.2$ ), което се дължи на координацията на  $\text{Cu}^{2+}$  със рецепторния фрагмент от заместителя в С-4 на 1,8-нафталиמידните флуорофори. В резултат на това ФЕТ от *N,N*-диметиламино фрагмента към 1,8-нафталиמידния акцептор се гаси и флуоресценцията расте. Усилването на флуоресцентната интензивност при **ПАМАМ1** дендример от нулева генерация, съдържащ четири 1,8-нафталиמידни единици в периферията показва, че дендримерът няма подходящо разположени координационни центрове в сърцевината, за да се позволи ефективно комплексообразуване там и периферните 1,8-нафталиמידни рецептори са единственото място за образуване на меден комплекс.

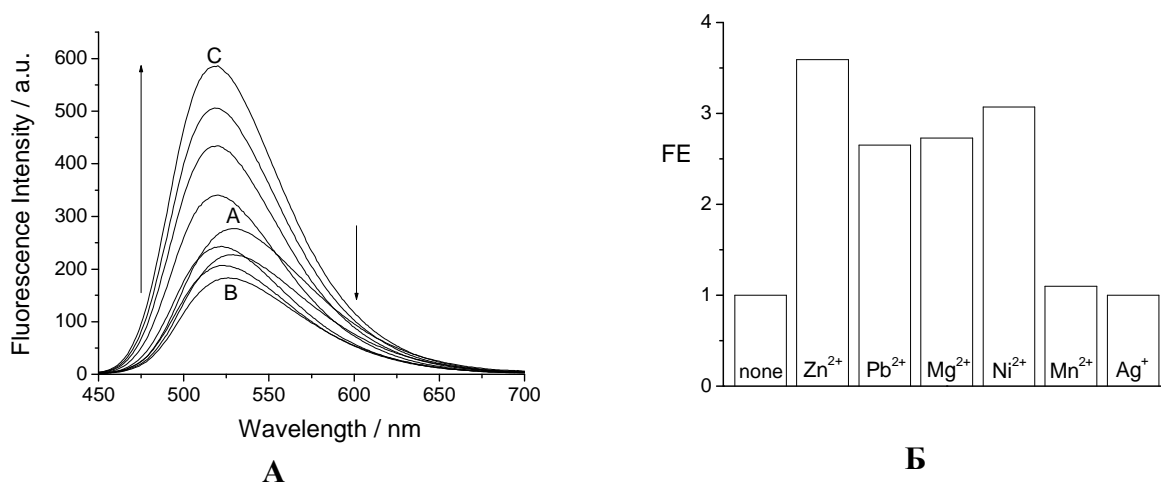




**Фигура 38.** Влияние концентрацията на  $\text{Cu}^{2+}$  върху флуоресцентната интензивност на ПАМАМ3 (1) и дендример с п-хексиламино заместители в С-4 позиция (2).

При ПАМАМ дендример с п-хексиламино заместители в С-4 позиция на 1,8-нафталиמידните флуорофори от периферията на дендримера, поради липса на рецепторни фрагменти, в присъствие на  $\text{Cu}^{2+}$  се наблюдава само гасене на флуоресценцията (ФГ = 4.5), дори при високи концентрации на  $\text{Cu}^{2+}$  до  $1 \times 10^{-3}$  М (Фигура 38Б).

Сензорната активност на ПАМАМ3 е изследвана и към други метални йони като  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  и  $\text{Ag}^+$ . Ефектът от влиянието на  $\text{Fe}^{3+}$  е показан на Фигура 39. Първоначално с добавянето на желязните йони флуоресцентната интензивност намалява (спектър В), което подобно и при медните йони се дължи на образуването на комплекс със сърцевината на дендримерната молекула и този процес е бързо обратим, тъй като с увеличаване концентрацията на  $\text{Fe}^{3+}$  интензитетът на флуоресценция бързо се увеличава (спектър С).



**Фигура 39.** Зависимост на интензитета на флуоресценция от концентрацията на  $\text{Fe}^{3+}$  (с = 0-  $1 \times 10^{-4}$ М) (А). Флуоресцентно усилване на ПАМАМ3 в присъствие на различни по природа метални йони (Б).

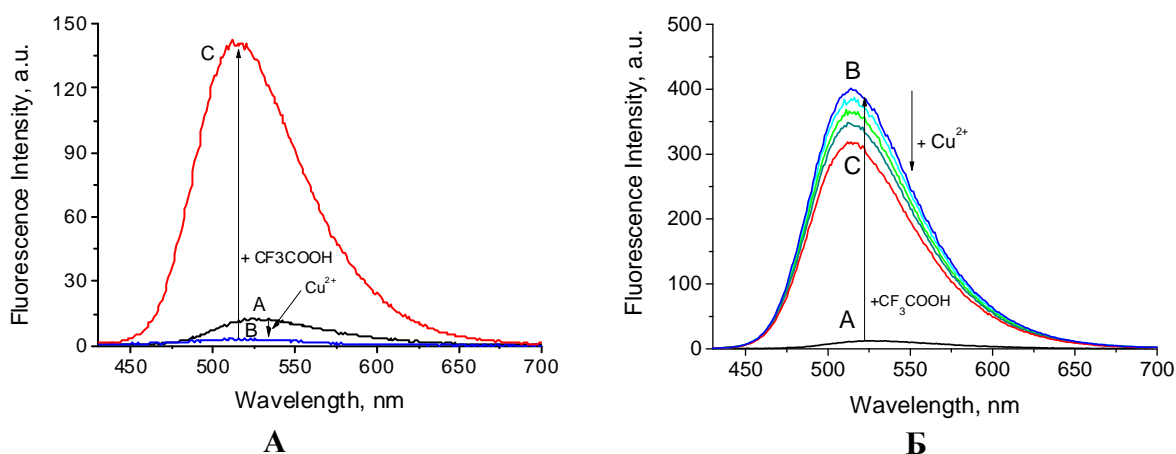


В този случай  $\text{Fe}^{3+}$  образуват комплекс с рецепторните фрагменти на 1,8-нафталиמידните флуорофори като по този начин се гаси ФЕТ и флуоресцентната емисия се възстановява, а резултантната флуоресценция е съвкупност от двата ефекта.

На **Фигура 39Б** е показано ФУ на **ПАМАМ3** от където се вижда, че най- силен ефект е получен при  $\text{Zn}^{2+}$  йони.

Изследвано е и комплексното влияние на протони и медни йони върху фотофизичните свойства на ПАМАМ дендримерните молекули. Нуждата от тези изследвания бе породена от факта, че медните йони показват различен ефект върху мономерните и дендримерните молекули, както вече бе описано.

При прибавяне на  $\text{Cu}^{2+}$  йони към разтвора на дендример **ПАМАМ2.1** (спектр А **Фигура 40А**), флуоресцентният интензитет намалява  $\text{FQ} = 4.1$  (Спектр В). Добавянето на трифлуороцетна киселина към последната система води до драстично повишаване на интензитета на флуоресценция,  $\text{FE} = 46.67$ .



**Фигура 40.** Комплексно влияние на  $\text{CF}_3\text{COOH}$  и  $\text{Cu}^{2+}$  върху флуоресцентната интензивност на **ПАМАМ2.1**.

В последния случай диметиламино групите при С4 на нафталиמידното ядро са протонирани и ФЕТ процесът е блокиран. **Фигура 40Б** представя промените във флуоресцентната интензивност на дендримера при добавяне на същите количества киселина и медни йони като в предишния случай, но в обратен ред. Добавянето на трифлуороцетна киселина (**Спектр В**) води до силно увеличаване на интензитета,  $\text{FU} = 33.3$ . Отместването на емисионния максимум от 526 на 513 nm се дължи на протонирането на третичните amino групи от заместителя в позиция С-4. Като се добавят медни йони към тази система флуоресцентната интензивност намалява с 20 %, без да се променя позицията на максимума. Това поведение може да се обясни с комплексообразуване между медните йони и вътрешността на дендримера. Различните спектрални свойства на **система С**, при която финалните концентрации на всички съединения са еднакви и се променя само редът на добавяне, което дава възможност да се контролират спектралните характеристики в желана посока.

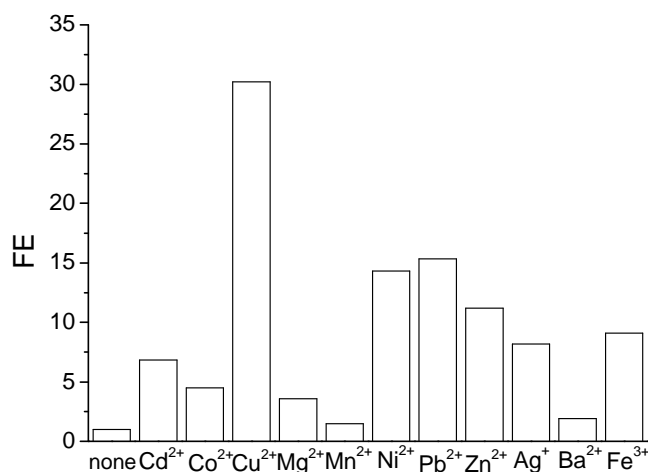
Изследвано е влиянието на силата на киселината върху протониращата способност на **ПАМАМ3**. Като примери са използвани оцетната киселина ( $\text{pKa} = 4.62$ ) и трифлуороцетната киселина ( $\text{pKa} = 2.62$ ). Поради слабите киселинни свойства на

оцетната киселина нейното влияние върху фотофизичните свойства на **ПАМАМ3** е много слабо изразено ( $\Phi_U = 1.22$ ). Силно увеличаване на флуоресцентната интензивност ( $\Phi_U = 9.36$ ) и съответно на квантовия добив на флуоресценция ( $\Phi_F = 0.72$ ) е постигнато при използване на трифлороцетна киселина. В този случай поради значително по-голямата сила на трифлуороцетната киселина, третичните групи от рецепторния фрагмент се протонират лесно, което от своя страна води до гасене на ФЕТ и усилване на флуоресцентната емисия на дендримера.

Както при ППА дендримерите и при ПАМАМ дендримерите от различните генерации е изследвано влиянието на рН върху флуоресцентната им интензивност във водна среда. Намерено е, че в алкална среда всички изследвани ПАМАМ дендримери имат слаба флуоресцентна интензивност, която се усилва значително в кисела среда. Изчислените рКа константи показват, че рН зависимостта на дендримерите е различна. При **ПАМАМ1** рКа = 7.8, **ПАМАМ2.1** рКа = 7.2, **ПАМАМ3** рКа = 8.4, което показва, че дендримерната генерация влияе върху киселинно-основните взаимодействия. От друга страна при ПАМАМ дендримери от една и съща генерация, отговорен за тези взаимодействия е заместителят в С-4 позиция. При **ПАМАМ2.2** с алкокси заместители рКа = 5.8, което е значително по-ниско от дендримера с amino заместители (рКа = 7.2).

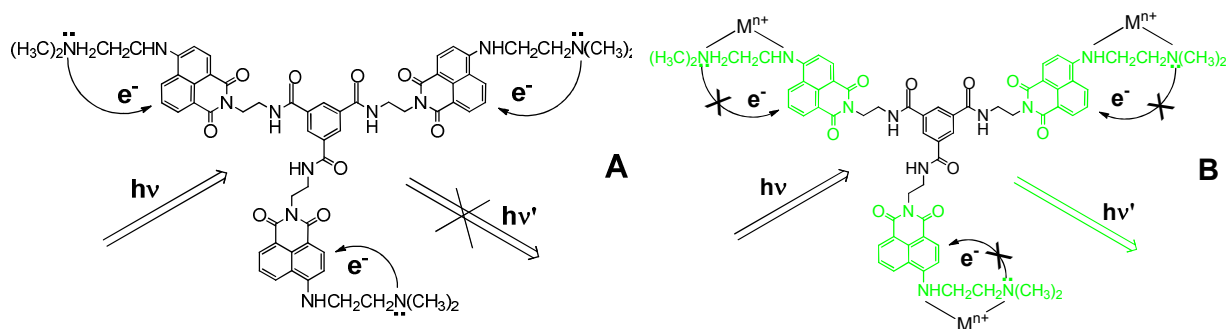
### Влияние на метални йони върху фотофизичните свойства на Т3 и Т4 в среда на ацетонитрил.

В отсъствие на метални йони трипод **Т3** излъчва слаба жълто-зелена флуоресценция ( $\Phi_F = 0.016$ ), което е предпоставка за добър ФЕТ процес. В присъствие на метални йони тя се усилва, като усилването зависи от природата на металния йон, както може да се види от данните представени на **Фигура 41**.



**Фигура 41.** Флуоресцентно усилване (ФУ) на трипод **Т3** ( $c = 1 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) в присъствие на различни по природа метални йони ( $c = 3 \times 10^{-5} \text{ mol.l}^{-1}$ ) в среда на ацетонитрил.

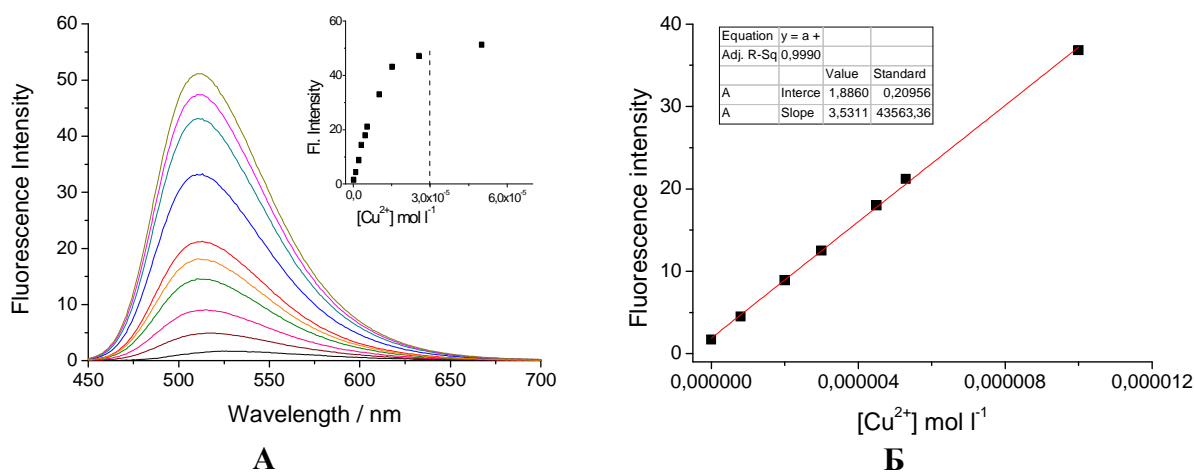
Най-силно влияние върху флуоресцентната интензивност оказват  $\text{Cu}^{2+}$  йони, където флуоресцентното усилване е  $\Phi\text{У} = 30.2$ . Сравнително добро усилване е наблюдавано в присъствието на  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Pb}^{2+}$  ( $\text{FE} = 11.2-14.3$ ). Метални катиони като  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$   $\text{Fe}^{3+}$  предизвикват по-слабо усилване ( $\text{FE} = 7.4-8.2$ ), докато ( $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$ ) имат незначителен ефект върху флуоресцентната интензивност. Най-вероятно по време на образуването на комплексите  $\text{Cu}^{2+}$  образуват по-стабилен комплекс с двата азотни атома от рецепторния фрагмент. В този случай медният комплекс на трипода задейства механизма на ФЕТ “OFF-ON” превключване, както е показано на **Схема 18**.



**Схема 18.** Механизъм на фотоиндуциран електронен трансфер (А) и неговото гасене (В) за Т3.

Усилването на флуоресцентната емисия и хипсохромното изместване на флуоресцентните максимуми потвърждават образуването на координативни връзки на металните йони с азотните атоми (-NH) от заместителя при С-4 от нафталеновото ядро и отдалечения азотен атом от *N,N*-диметиламино групата.

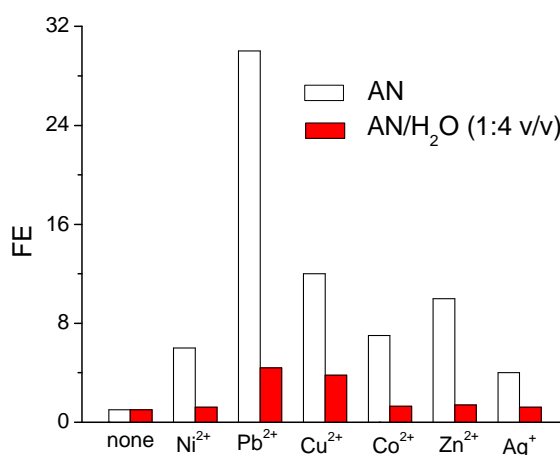
Типичните промени във флуоресцентната интензивност на трипод Т3, предизвикани от увеличаване концентрацията на  $\text{Cu}^{2+}$  йони са представени на **Фигура 42А**. С увеличаване концентрацията на медните йони до  $3.0 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ , флуоресцентната интензивност расте.



**Фигура 42.** Флуоресцентни спектри на Т3 ( $c = 1 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) в ацетонитрил при различни концентрации на  $\text{Cu}^{2+}$  йони до  $c = 3 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$  (А); Линейна зависимост на интензитета на флуоресценция на Т3 ( $c = 1 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) от концентрацията на  $\text{Cu}^{2+}$  (Б).

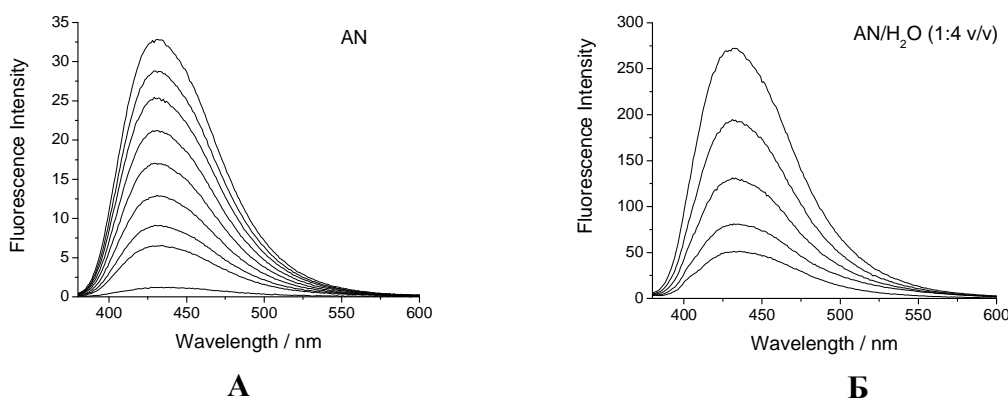
От фигурата също така се вижда, че три  $\text{Cu}^{2+}$  йона образуват комплекс със стехиометрия 1:3, а минималното откриваемо количество е  $8.0 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ . Флуоресцентният титрувален профил показва образуването на права ( $R = 0.9990$ ) в концентрационната област  $8.0 \times 10^{-7} \div 1.0 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$  (Фигура 42Б).

Подобни изследвания са направени и с трипод **T4**, като е изследвана сензорната активност спрямо  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  и  $\text{Cu}^{2+}$ . Усилване на флуоресцентната интензивност също е установено, като най-силен ефект в ацетонитрил при трипод **T4** е получен при  $\text{Pb}^{2+}$  ( $\text{ФУ} = 30.6$ ) (Фигура 43). За другите метални йони също е регистрирано добро усилване на флуоресценцията: 12.1 ( $\text{Cu}^{2+}$ ) и 10.2 ( $\text{Zn}^{2+}$ ). Най-слабо усилване ( $\text{ФУ} = 4.3$ ) е получено за  $\text{Ag}^+$ . Подобно на трипод **T3** и при **T4** образуваните комплекси са в съотношение 1:3.



**Фигура 43.** Флуоресцентно усилване (ФУ) на **T4** ( $c = 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) в ацетонитрил (AN) и AN/H<sub>2</sub>O (1:4 v/v) в присъствие на метални йони ( $c = 3.10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ,  $\lambda_{\text{ext}} = 365 \text{ nm}$ ).

Влиянието на металните йони върху флуоресцентната интензивност е тествано и в среда ацетонитрил-вода (1:4 v/v) с оглед използването на този трипод за детекция на тези йони във водни среди. Както се вижда от **Фигура 44** флуоресцентното усилване е много по-слабо изразено.

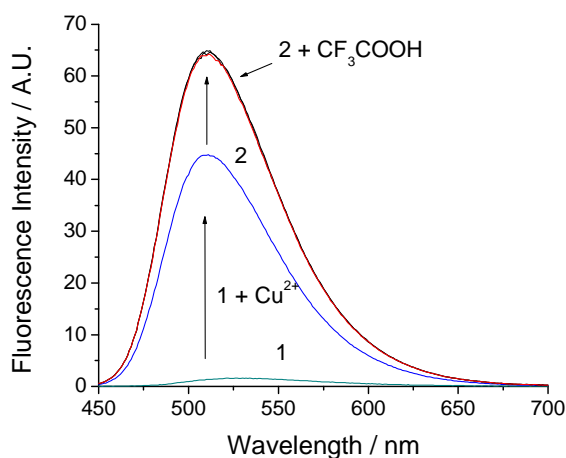


**Фигура 44.** Флуоресцентни спектри на **T4** в ацетонитрил (А) и ацетонитрил – вода (Б) ( $c = 1 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) при различни концентрации на  $\text{Pb}^{2+}$  йони.

Само  $\text{Pb}^{2+}$  ( $\text{ФУ} = 5.4$ ) и  $\text{Cu}^{2+}$  ( $\text{ФУ} = 3.8$ ) образуват стабилни комплекси във водни среди, докато другите метални йони имат незначително усилване на флуоресценцията ( $\text{ФУ} = 1.2-1.4$ ). Вероятно водните молекули координират преимуществено с металните йони преди те да могат да координират с рецепторните фрагменти на трипод **T4**.

### Влияние на рН върху фотофизичните свойства на триподи **T3** и **T4**

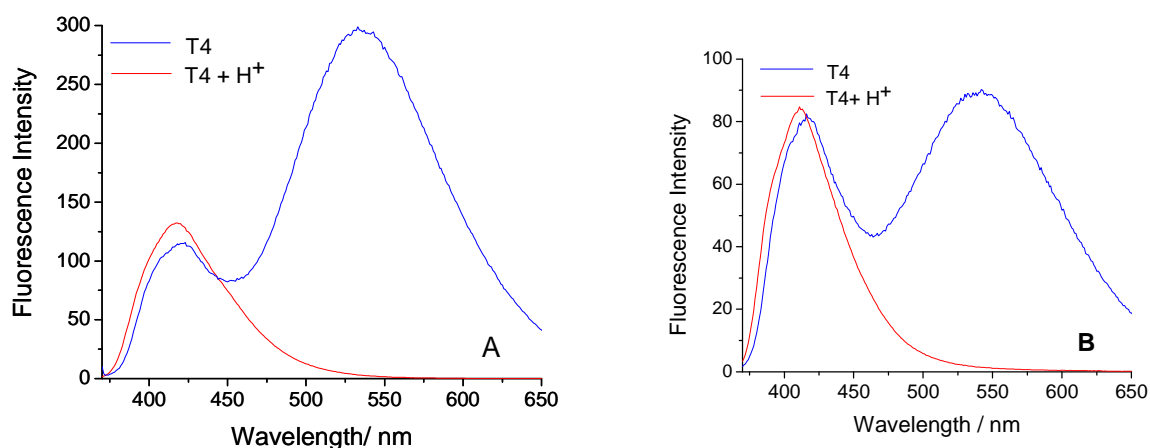
Флуоресцентната интензивност на триподи **T3** и **T4** като функция от рН на среда в смес вода-етанол (4:1v/v) е изследвана с цел използването им като рН детектори със синя и жълто-зелена флуоресценция. Двата трипода имат значително усилване на флуоресценцията при прехода от алкална в кисела среда, което при **T3** е  $\text{ФУ} = 63.2$  и е два пъти по силно от това на **T4**. Освен това двата трипода имат различна рН зависимост. При **T4** флуоресцентната интензивност се променя значително в интервала  $\text{pH} = 6 \div 8$ , докато при **T3** в кисела среда не се достига плато, а излъчваната флуоресценция плавно намалява до  $\text{pH} = 9.5$ , след което се запазва постоянна стойност в алкална среда. Изчислените  $\text{pK}_a = 7.44$  (**T3**) и  $\text{pK}_a = 7.18$  (**T4**) стойности, като двете попадат във физиологичната рН област и могат да се използват за биологични и медицински измервания. Получените  $\text{pK}_a$  стойности са по-ниски от тези на мономерни 1,8-нафталиמידни производни.



**Фигура 45.**

Флуоресцентна интензивност на **T4**: (1) изходен, (2) в присъствие на  $\text{Cu}^{2+}$  ( $c = 1 \times 10^{-5}$  мол/л).

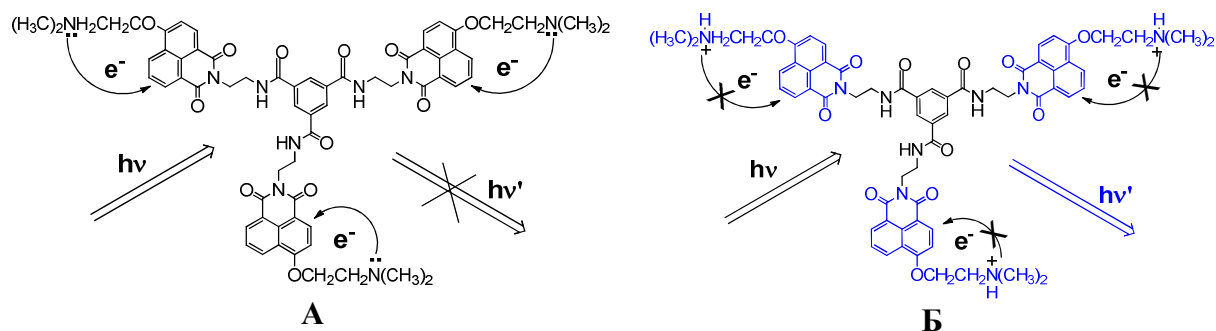
Изследвано е влиянието на  $\text{Cu}^{2+}$  и протони върху спектралното поведение на трипод **T3** в разтвор на ДМФ, а получените резултати са представени на **Фигура 45**. При добавяне на  $\text{Cu}^{2+}$  ( $c = 1 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) към трипод **T3** (спектр 1), флуоресцентната интензивност нараства с  $\text{ФУ} = 28.9$  (спектр 2), което се дължи на гасенето на ФЕТ процеса вследствие на образуване на комплекс с рецепторния фрагмент. Добавяне на еквимолни количества трифлуороцетна киселина към разтвора предизвиква ново усилване на флуоресценцията ( $\text{ФУ} = 46.7$ ), което показва, че  $\text{H}^+$  от трифлуороцетната киселина измества  $\text{Cu}^{2+}$  от координативните им връзки с рецепторните фрагменти. Добавянето на нови количества киселина не променя интензитета на флуоресценция, което потвърждава пълното първоначално протониране на рецепторните фрагменти.



**Фигура 46.** Флуоресцентни спектри на **T4** в разтвор на толуен (А) и диетилетер (Б) в кисела и неутрална среда.

На **Фигура 46** са показани флуоресцентни спектри на **T4** в разтвор на толуен и диетилетер в кисела и неутрална среда. В двата неполярни разтворителя е наблюдавана мономерна флуоресценция при 415 nm и 421 nm и ексимерна флуоресценция с максимуми съответно при 540 nm и 535 nm. При прибавяне на еквимолни количества от HCl в се наблюдават само мономерните спектри, докато ексимерната флуоресценция изчезва. В този случай протонирането на третичните азотни атоми от рецепторните фрагменти води до реорганизация на флуорофорните единици и преобладаване на мономерна флуоресценция.

Механизмът на флуоресцентното усилване на трипод **T4** в кисела среда е показан на **Схема 19**.

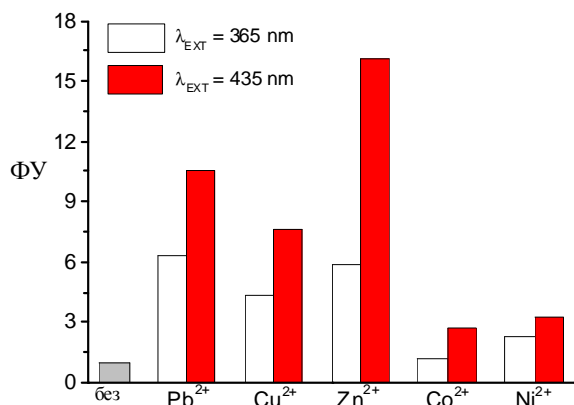


**Схема 19.** Предложен механизъм на протониране на 1,8-нафталиמידни флуорофори от **T4** в кисела среда и протичане и гасене на ФЕТ.

Силата на флуоресцентна емисия се дължи на ФЕТ, който се осъществява от *N,N*-диметиламино групата на рецепторния фрагмент към 1,8-нафталиמידната хромофорна система, в резултат на което флуоресценцията се гаси (**Схема 19А**). След протонирането на *N,N*-диметиламино групата електронният трансфер се спира и флуоресценцията се възстановява (**Схема 19Б**). Силната флуоресценция в кисела среда при **T3** се подчинява аналогично на същите закономерности. Резултатите от влиянието

на рН върху интензитета на флуоресценция на двата трипода показва, че те могат да се използват като обратими „off-on” превключващи детектори, контролирани от рН на средата.

Трипод **T2** е синтезиран с цел изследване комбинирането на сензорния капацитет с този на “антена ефекта”. За целта по описаните вече методи са изследвани различни по природа метални йони в разтвор на ацетонитрил при възбуждане с дължини на вълната, отговарящи за донорните и акцепторни фрагменти от трипода. Присъствие на  $Zn^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  и  $Cu^{2+}$  флуоресцентната интензивност е значителна, като най-добър резултат е получен в присъствие на  $Zn^{2+}$ . Другите два йона  $Co^{2+}$  и  $Ni^{2+}$  имат по-слабо изразен ефект (**Фигура 47**). Усилването на интензитета на флуоресценция на дендрон **T2** в присъствието на различни концентрации  $Zn^{2+}$  при  $\lambda_{EXT} = 435 \text{ nm}$  е показано на **Фигура 48А**. Успоредно с увеличаването ѝ се наблюдава и хипсохромно изместване на флуоресцентния максимум от 520 нм до 500 нм. Този ефект показва, че образуването на комплекса на  $Zn^{2+}$  се осъществява при *N,N*-диметиламиноетилендиамино фрагмента от **T2**. Хипсохромното изместване се дължи на отслабване на електрондонорната способност на азотен атом при С-4 в резултат на ангажиране на свободната му електронна двойка, участваща в образуването на комплекса, както и при други сензорни молекули със същия рецепторен фрагмент. Намерено е, че най-малкото откриваемо количество с **T2** е  $1.66 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ , което показва много добра чувствителност към  $Zn^{2+}$  йони. Установено, че един  $Zn^{2+}$  йон образува комплекс с **T2** при стехиометрично съотношение 1:1.



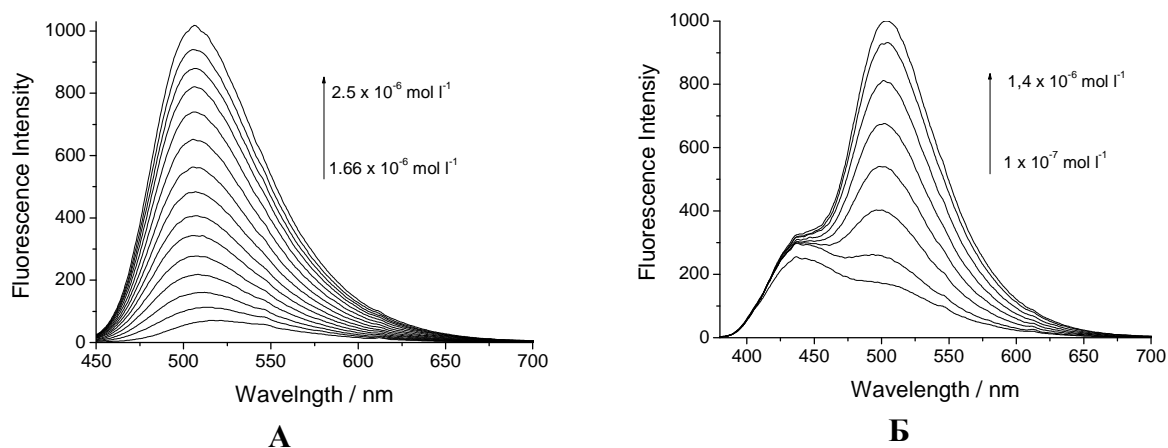
**Фигура 47.**

Флуоресцентно усилване (ФУ) на **T2** ( $c = 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ) в присъствие на метални йони в разтвор на ацетонитрил при две различни дължини на възбуждане  $\lambda_{EXT} = 365 \text{ nm}$  и  $\lambda_{EXT} = 435 \text{ nm}$ .

Изследвано е и изменението на флуоресцентната интензивност при различни концентрации на  $Zn^{2+}$  в концентрационен интервал ( $c = 1 \times 10^{-7} - 1.4 \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ), но с възбуждане при  $\lambda_{EXT} = 365 \text{ nm}$  (**Фигура 48Б**). Вижда се, че флуоресцентният спектър в отсъствие на  $Zn^{2+}$  има два максимума при 435 нм и при 490 нм. С увеличаване концентрацията на  $Zn^{2+}$  излъчваната жълто-зелена флуоресценция расте ( $\lambda = 490 \text{ nm}$ ), като се оформя добре структуриран максимум при около 500 нм. Максимумът при 435 нм и излъчваната синя флуоресценция остават почти непроменени. Това показва, че в резултат на енергийния трансфер се образува комплекс, излъчващ жълто-зелена флуоресценция. При най-ниската концентрация  $1 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$  флуоресценцията се усилва с 8.5 %, което показва много добра флуоресцентна чувствителност и нисък праг за



откриване на  $Zn^{2+}$  йони. В този случай най-малкото откриваемо количество е  $1 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ , което е близо с един порядък по-високо от това получено с облъчване при 435 нм. От друга страна използването на двете дължини на възбуждане, увеличава концентрационния обхват, който е по-голям в сравнение с всеки един поотделно, при откриване на тези метални йони.

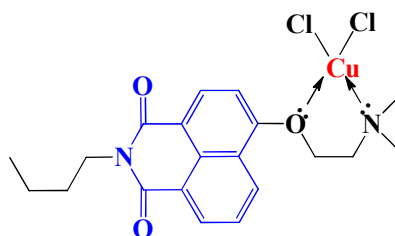


**Фигура 48.** Изменение на флуоресцентната интензивност на **T2** в разтвор на ацетонитрил ( $c = 1. \times 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ ) при  $\lambda_{\text{EXT}} = 435 \text{ nm}$  (А) и  $\lambda_{\text{EXT}} = 365 \text{ nm}$  (Б).

### Синтез и охарактеризиране на метални комплекси с 1,8-нафталиמידни лиганди

В последните години много научни изследвания са съсредоточени върху синтеза на нови метални комплекси с различни по произход органични лиганди като потенциални антимикробни агенти, подобряващи противогъбичното или антибактериално действие на съществуващи химиотерапевтици. С оглед разширяване областите на приложение на синтезираните от нас 1,8-нафталимиди със сензорни свойства, за които беше показано чрез спектрални методи, че образуват стабилни метални комплекси в разтвор и намиране връзка структура-свойства, бяха синтезирани и изолирани метални комплексни на някои 1,8-нафталимиди и ППА дендримери като лиганди.

### Cu(II) комплекс на 4-(диметиламиноетокси)-N-бутил-1,8-нафталиמיד

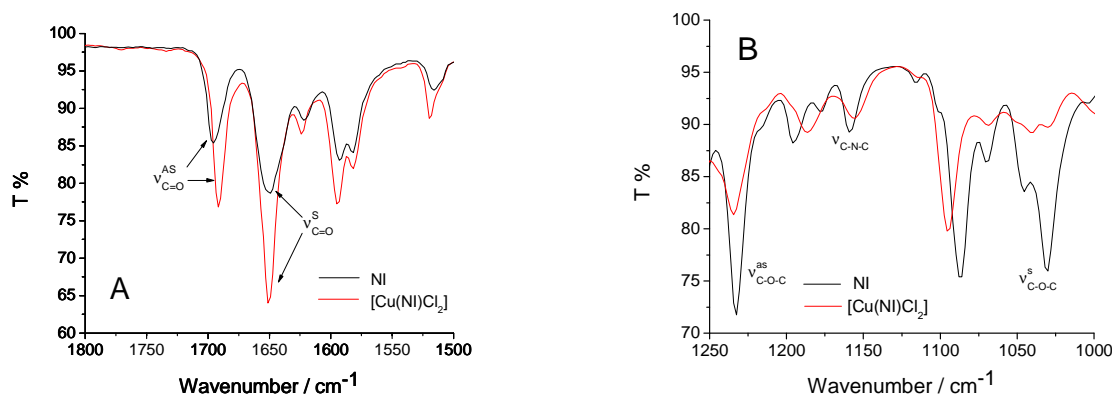


**Схема 20.** Предложена структура на  $[Cu(NI)Cl_2]$  комплекс.

При сравняване на ИЧ данни, получени за  $[Cu(NI)Cl_2]$  с тези за изходния лиганд, се вижда слабото измесване в позициите на характеристичните ивици, а разликата е главно в интензитета на ивиците в тази област, което показва, че няма координиране на

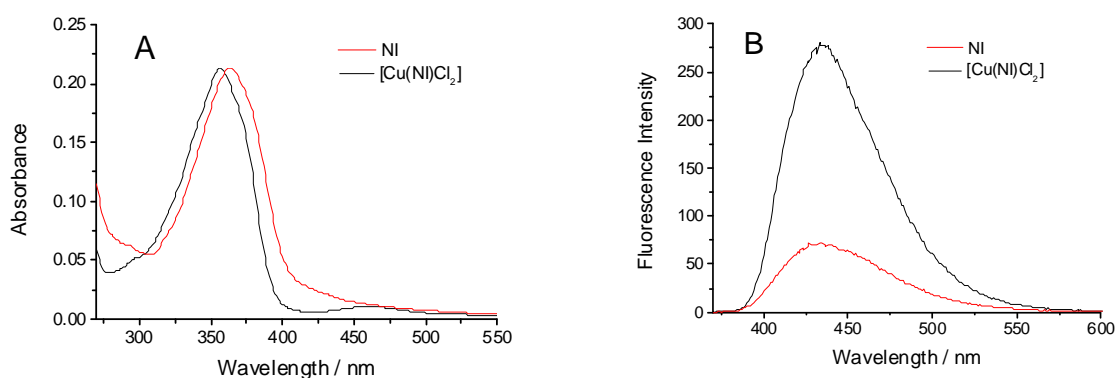


медните йони с C=O (Фигура 49). От друга страна това е индикация за разлика в поляризацията на двете съединения. Абсорбционните ивици при  $1350\text{-}1352\text{ cm}^{-1}$  са характерни за имидните връзки (C-N-C) от 1,8-нафталиמידната структура. Трептенията при  $1159\text{-}1232\text{ cm}^{-1}$  се дължат на C-N връзките. Характеристичните трептения за етерната връзка C-O-C на свободния лиганд са при  $1030\text{ cm}^{-1}$  и  $1233\text{ cm}^{-1}$ . В спектъра на  $[\text{Cu}(\text{NI})\text{Cl}_2]$  се наблюдава драстично намаляване на интензитета на ивицата при  $1233$  и  $1030\text{ cm}^{-1}$ , което показва, че кислородните атоми участват в образуване на комплекса, както е показано на Схема 20.



Фигура 49. ИЧ спектри на NI (A) и  $[\text{Cu}(\text{NI})\text{Cl}_2]$  (B).

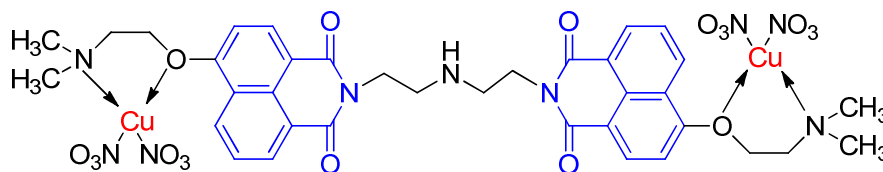
Абсорбционният максимум на  $[\text{Cu}(\text{NI})\text{Cl}_2]$  е изместен с 8 нм спрямо този на лиганда, но по-интересен резултат е наблюдаван във видимата област, където е оформен слабо интензивен пик при 464 нм, който вероятно е резултат от образуването на комплекс, поради предизвиканата промяна в поляризацията на 1,8-нафталиמידната хромофорна система. Образуването на комплекс  $[\text{Cu}(\text{NI})\text{Cl}_2]$ , предизвиква усилване на флуоресцентната интензивност без да се променя флуоресцентният максимум (Фигура 50Б).



Фигура 50. Абсорбционни (A) и флуоресцентни (B) спектри на NI и  $[\text{Cu}(\text{NI})\text{Cl}_2]$  в разтвор на ацетонитрил.

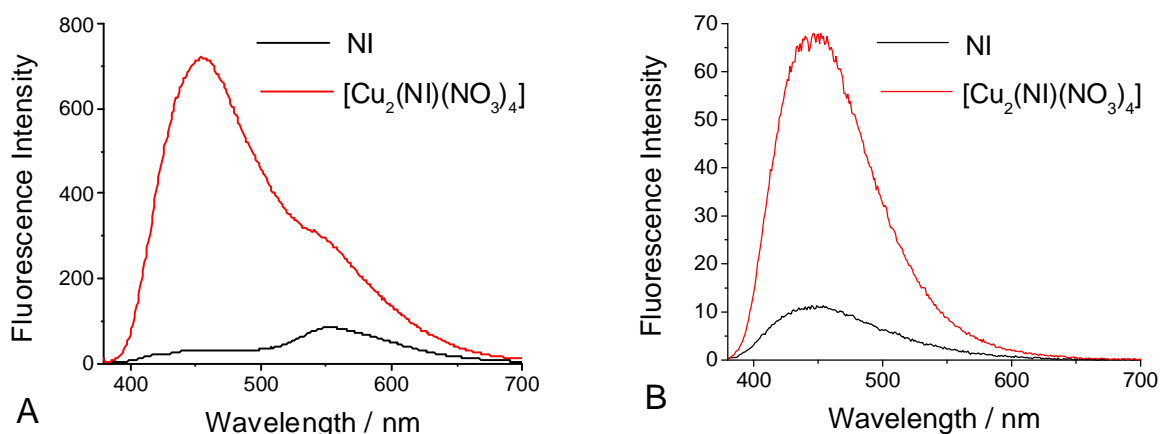
### Cu(II) комплекс на Бис-1,8-нафталиמיד със синя флуоресценция

Бис-нафталиמידът (NI) и неговият меден комплекс  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  са изследвани с абсорбционна и флуоресцентна спектроскопия в разтвор на ДМСО и ацетонитрил.



**Схема 21.** Предложена структура на меден комплекс на бис-1,8-нафталимид  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$ .

В двата органични разтворителя абсорбционният максимум на лиганда е при 365 нм, а медният комплекс  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  е хипсохромно изместен с 6 нм. В разтвор на ДМСО 1,8-нафталимидният лиганд излъчва слаба флуоресценция с максимум при 455 нм и три пъти по-интензивна при 552 нм, което се дължи на ексимерна флуоресценция, предизвикана от специално близко подреждане на двата нафталимидни флуорофора и възможността за енергиен трансфер между тях (**Фигура 51А**), докато в разтвор на ацетонитрил е регистриран само един флуоресцентен максимум при 450 нм (**Фигура 51Б**).

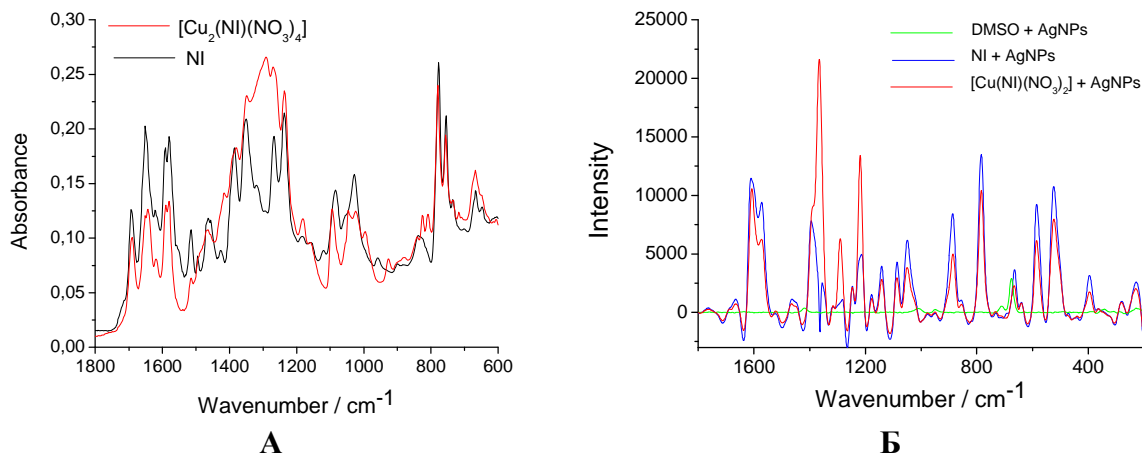


**Фигура 51.** Флуоресцентни спектри на бис-1,8-нафталимиден лиганд ( $c = 1 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ) и  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  в разтвор на ДМСО (А) и ацетонитрил (В)

В разтвор на ацетонитрил това препоръждане се затруднява поради разликата в полярността на разтворителите или диполното взаимодействие флуорофор-разтворител. Образоването на медния комплекс  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  води до усилване на флуоресцентната интензивност без промяна на флуоресцентния максимум само в разтвор на ацетонитрил. В ДМСО интензитетът на флуоресценция при 455 нм се усилва 25 пъти, докато пикът при 552 нм е като рамо в общия флуоресцентен спектър (**Фигура 51А**). Това показва, че при образуване на комплекса  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  двата нафталимидни флуорофора се отдалечават един от друг и планарността се стабилизира, в резултат на което преобладава мономерната флуоресценция.

За да получим информация за структурата на медния  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  комплекс са проведени изследвания с помощта на ИЧ и Раман спектроскопия. Поради многото функционални групи в спектрите на лиганда и на медния комплекс са регистрирани

множество пикове, като интерпретирането е базирано на основните характеристични ивици, които са в спектралната област  $600\text{ cm}^{-1}$  -  $1800\text{ cm}^{-1}$  за ИЧ и  $200\text{ cm}^{-1}$  -  $1800\text{ cm}^{-1}$  за Раман спектрите (**Фигура 52**).



**Фигура 52.** ИЧ (А) и Раман спектри (Б) на бис-1,8-нафталимид (NI) и  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$ .

От сравнението на спектрите на лиганда и комплекса  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  се вижда значителна разлика в спектъра на металния комплекс, което се дължи на вибрационните трептения на  $-\text{NO}_3$  група, която е координативно свързана към медния йон. Нова интензивна ивица при  $1290\text{ cm}^{-1}$  е регистрирана в спектъра на  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  комплекс, която се дължи на образуването металния комплекс. Ивиците при  $823$ ,  $996$  и  $1414\text{ cm}^{-1}$  също се дължат на симетричните и азсиметрични трептения на  $-\text{NO}_3$  група.

Повърхностно усилена Раманова спектроскопия е използвана като допълнителен метод за охарактеризиране на бис-нафталимида и  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$ . На **Фигура 52Б** са съпоставени SERS спектрите на лиганда + Ag NPs и  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  + Ag NPs и двата в разтвор на ДМСО, а като стандарт е използван ДМСО + Ag NPs. Вижда се, че в областта  $200\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$  двата спектъра са почти идентични, като разликата е главно в интензитета, който е по-добре изразен за лиганда. Интересна разлика е наблюдавана в областта  $1200\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$  за лиганда и медния комплекс  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$ . Интензитетът на пиковете при  $1218$  и  $1371\text{ cm}^{-1}$  в спектъра на  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  е много по-висок в сравнение с лиганда, а нова интензивна ивица се появява при  $1289\text{ cm}^{-1}$ , която се отнася до вибрационните трептения на  $-\text{NO}_3$  група.

### **Cu(II) комплекс на Бис-1,8-нафталимид с жълто-зелена флуоресценция**

Два нови лиганда с жълто-зелена флуоресценция, означени като L1 и L2 са синтезирани и изследвани спектрофотометрично за възможността им да координират с медни йони. Установено, е че за разлика от бис-нафталимида със синя флуоресценция, те образуват стабилен комплекс с медните йони в съотношение 1:1, както е показано на **Схема 22**.

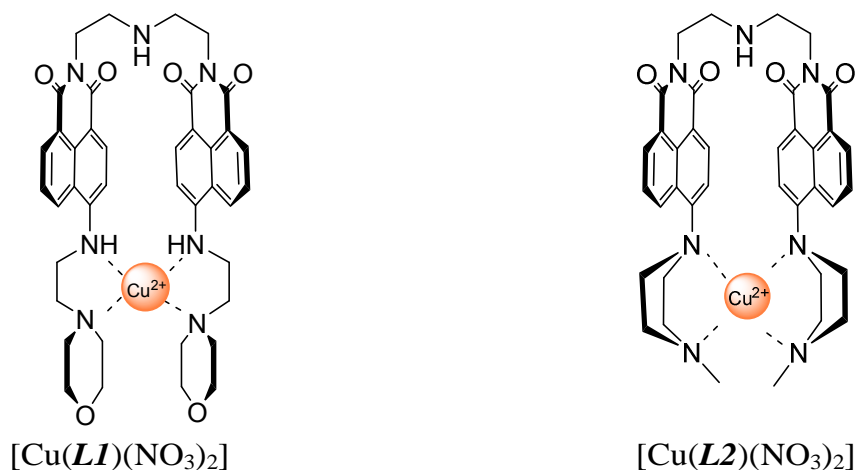
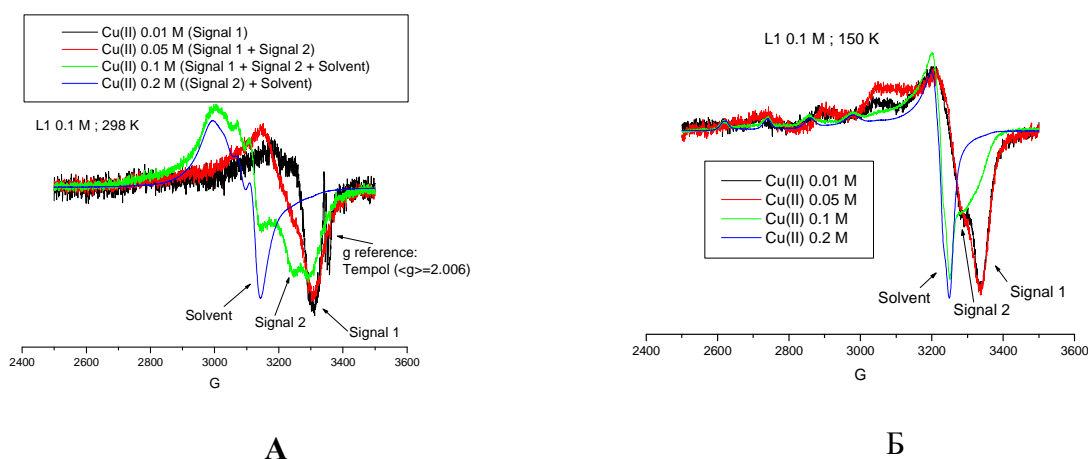


Схема 22. Предложен механизъм за образуване на медни комплекси на *L1* и *L2*.

### ЕПР анализ на $Cu(II)$ – *L1* и *L2* комплекси

ЕПР спектрите на *L1* и *L2* лигандите в ДМФ и ДМСО са анализирани при нарастване концентрацията на  $Cu(II)$  йони. На **Фигура 53** са представени нормализираните спектри на *L1* в ДМФ при добавянето на  $Cu(II)$  йони с различна концентрация при 298 К (а) и 150 К (б). Регистрирани са различни сигнали при вариране концентрациите на  $Cu(II)$  йони, чиито пикове са посочени със стрелки на фигурата. Подобни резултати са получени за *L2*. От ЕПР данните може да се направи извода, че образуваните медни комплекси са в съотношение 1:1, както е показано на **Схема 22**.



Фигура 53. Избрани ЕПР експериментални спектри на *L1* в разтвор на ДМФ, съдържащи различни концентрации  $Cu(II)$  при 298 К (А) и 150 К (В).

### Синтез на ПША металодендримери

ПША дендример от втора генерация с осем 4-бром-1,8-нафталиמידни фрагменти в дендримерната периферия образува стабилен комплекс взаимодействия с  $Cu(II)$  и  $Zn(II)$  (Схема 23).

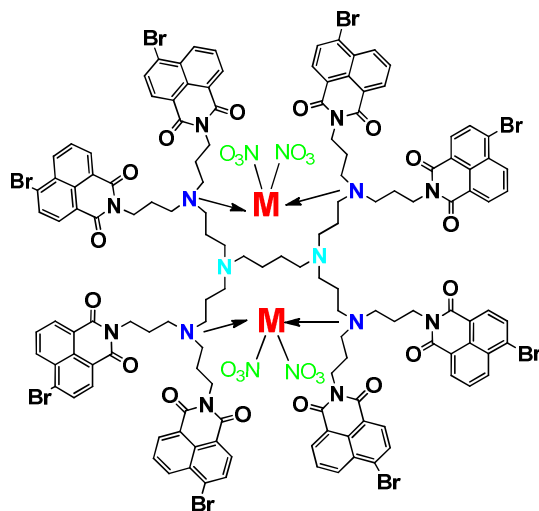
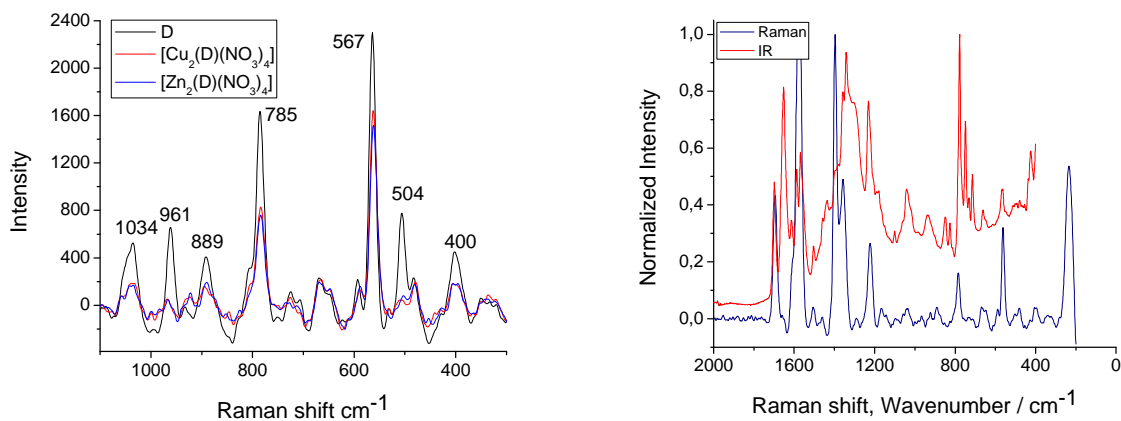


Схема 23. Структура на метални комплекси с ППА2.8 (M = Cu или Zn).



А

Б

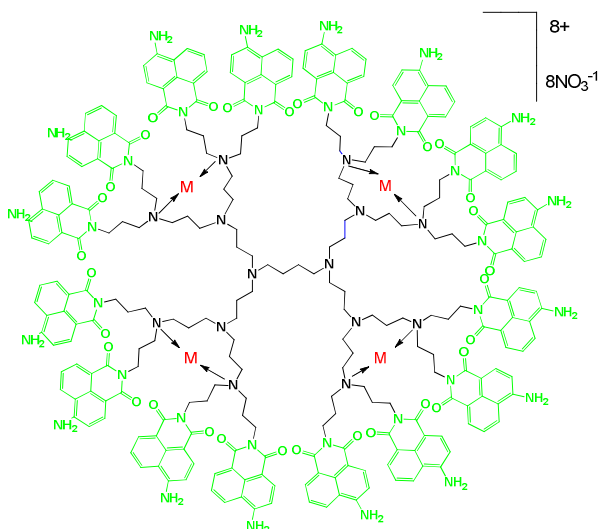
Фигура 54. А) Раман спектри (ацетонитрил+Ag NPs) на ППА2.8 (D), [Cu<sub>2</sub>(D)(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] и [Zn<sub>2</sub>(D)(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]

Рамановите спектри на ППА2.8 и неговите метални комплекси [Cu<sub>2</sub>(D)(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] и [Zn<sub>2</sub>(D)(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] в разтвор на ацетонитрил + Ag NPs са показани на Фигура 54А. В областта 200 cm<sup>-1</sup> – 1800 cm<sup>-1</sup> двата спектъра са почти идентични, а е регистрирана само разлика в интензитета им при някои ивици, която се дължи на промяна на поляризацията на молекулата след образуване на комплексите. ИЧ и Раманов спектър на [Zn<sub>2</sub>(D)(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] са показани на Фигура 54Б от където се вижда много доброто съответствие между тях. Това показва, че тези два спектрални метода могат да се използват за охарактеризиране на дендримерни молекули и техни метални комплекси. От фигурата се вижда също, че в Рамановия спектър липсва характеристичната ивица за C=O групата при 1653 cm<sup>-1</sup>. Също така някои ивици са слабо изместени една спрямо друга при използване на двата спектрални метода.

Спектофотометрично е установено че дендример **ППА1.5**, които има два третични атома в дендримерната структура образува комплекси с един метален йон, докато дендример **ППА3.1** координира с четири метални йона, както е показано на **Схема 23**.

**Таблица 4.** Фотофизични характеристики на **ППА3.1** в кисела среда и в присъствие на метални йони

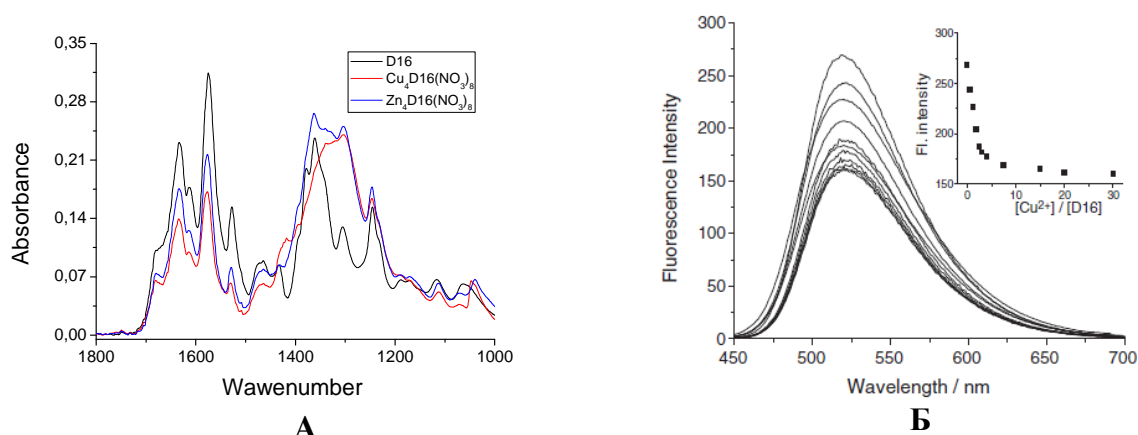
	$\lambda_A$ nm	$\epsilon$ l mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup>	$\lambda_F$ nm	$\nu_A - \nu_F$ cm <sup>-1</sup>	$\Phi_F$
-	345	84000	434	5944	0.009
H <sup>+</sup>	340	86300	446	6990	0.126
Cu <sup>2+</sup>	344	81900	439	6290	0.012
Zn <sup>2+</sup>	347	84100	441	6143	0.022



**Схема 24.** Структура на метални комплекси с **ППА3.1** (M = Cu или Zn).

Спектрите в ИЧ област на **ППА3.1** и на неговите [Cu<sub>4</sub>D16(NO<sub>3</sub>)<sub>8</sub>] и [Zn<sub>4</sub>D16(NO<sub>3</sub>)<sub>8</sub>] комплекси са показани на **Фигура 55**, от където се вижда значителната разлика в областта 1000-1400 cm<sup>-1</sup>, където са регистрирани характеристичните трептения от нитратната (-NO<sub>3</sub>) група. Пиковите при 1336-1338 cm<sup>-1</sup>, 1301-1304 cm<sup>-1</sup>, 826-830 cm<sup>-1</sup> се дължат на трептенията на нитратната група и взаимодействието ѝ с металните йони. Ивиците при 1039-1048 cm<sup>-1</sup> съответстват на N-O деформационни трептения от O-NO. Както и при другите изследвани 1,8-нафталимиди карбонилните групи не участват в образуването на металните комплекси. Подобно спектрално различие е установено и при дендример **ППА1.6** и неговите Cu(II) и Zn(II) комплекси.

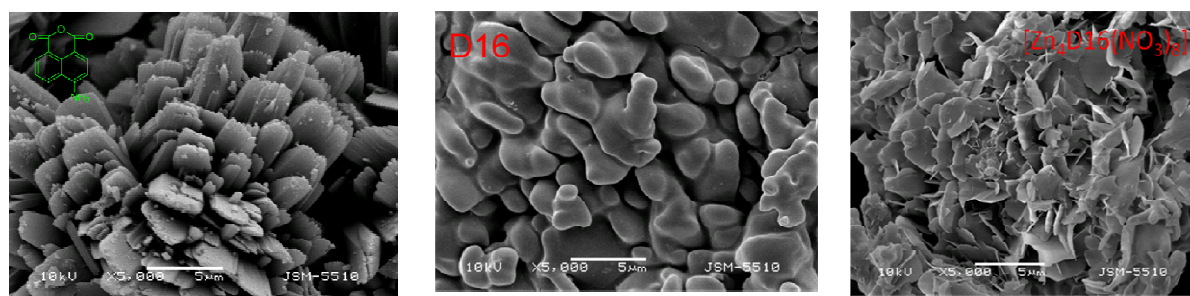
**Фигура 55Б** показва зависимостта на флуоресцентната интензивност на **ППА2.1** от концентрацията на Cu(II) йони. Вижда се, че след титруване с Cu(II) йони се наблюдава гасене на флуоресцентната интензивност с увеличаване на добавените йони. В този случай третичните азотни атоми координират с Cu(II) йони, в резултат на което се гаси флуоресценцията. Малката фигура показва, че четири Cu(II) йони участват в образуването на комплекса с дендримера, както е показано на **Схема 24**. Подобен резултат е получен и при използване на Zn(II) йони при същите условия.



**Фигура 55.** ИЧ спектри на **ППА3.1** и негови Cu(II) и Zn(II) комплекси (А) и зависимост на флуоресцентната интензивност на **ППА3.1** от концентрацията на металните йони в разтвор на ДМФ (Б).

#### СЕМ анализ на **ППА1.8** и **ППА3.1** и техните метални комплекси

Микрографиите на 4-амино-1,8-нафталов анхидрид, на модифицирания с него ППА дендример от трета генерация и на Zn(II) комплекс са показани на **Фигура 56**.



**Фигура 56.** СЕМ микрографии на 4-аминонафталов анхидрид и модифицирани ППА дендримери ППА1.6 и ППА3.1 при увеличение 5000.

4-амино-1,8-нафталов анхидрид има характеристична кристална структура, която се променя след неговото ковалентно свързване към дендримерните молекули. Модифицираният с него ППА дендример **ППА3.1** има аморфна структура със заоблени сферични форми. Zn(II) комплекси за двата дендримери образуват кристална люспеста структура и те са различни в сравнение с тези на Cu(II) комплекси.

#### Антимикробна активност

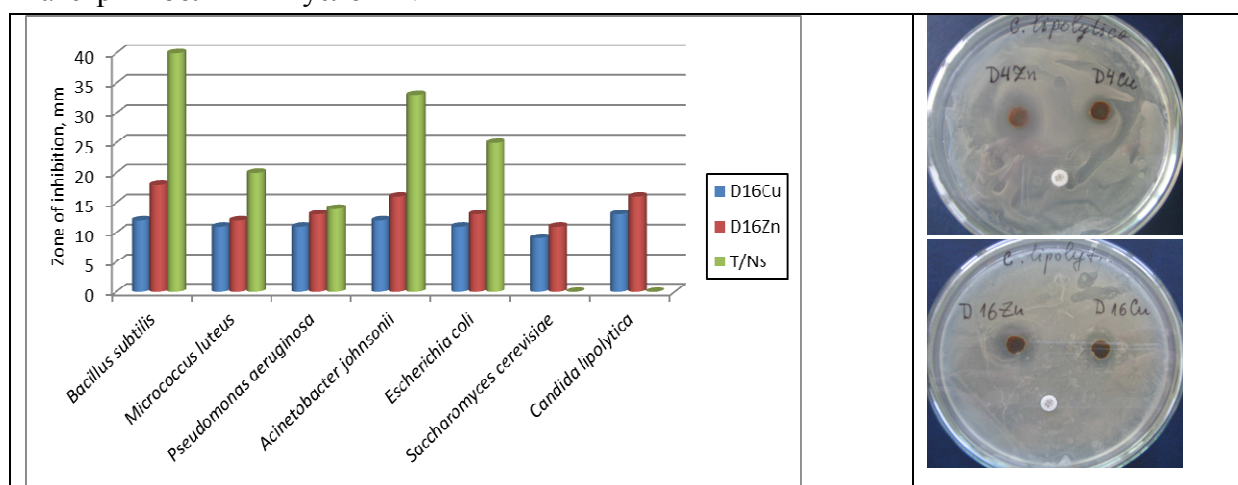
През последните десетилетия повишената и постоянно нарастваща резистентност на редица често срещани патогени към почти всички търговски антимикробни препарати налага неотложната необходимост от търсене на нови по-ефективни съединения с подобрени антимикробни свойства. Усилията на учените са насочени към изследването на различни по природа и структура съединения с цел откриване и разработване на нови устойчиви вещества с антимикробен потенциал.



В литературата досега не са намерени научни съобщения за използване на металодендримери като антимикуробни и противогъбични препарати. Това ни насочи към изследване на ППА металодендримери от първа, втора и трета генерация, периферно модифицирани с 1,8-нафталимиди, където като метални йони са използвани Cu(II) и Zn(II). За изясняване връзката структура-биологична активност са изследвани и бис-1,8-нафталимиди, съдържащи две 1,8-нафталиמידни единици, а така също и мономерни 1,8-нафталимиди. Това ни дава информация за изясняване влиянието на структурата и молекулното тегло на 1,8-нафталиמידните лиганди върху антимикуробната им активност спрямо различни моделни микробни щамове.

Антимикуробната активност на новосинтезираните Cu(II) и Zn(II) комплекси на ППА1.6 и ППА.3.1 (Схема 24) е изследвана спрямо шест бактериални култури (три грам-отрицателни и три грам-положителни) и два щам дрозди. Дендримери ППА1.6 и ППА.3.1 без метални йони не проявяват антибактериална активност. От зоните на инхибиране на растежа е установено, че дендримерните метални комплекси проявяват до умерена активност спрямо тестваните щамове (Фигура 57), като активността на ППА.3.1 е по-висока от тази на ППА1.6. От друга страна Zn (II) комплекси показват малко по-висока активност в сравнение със съответните Cu(II) комплекси. Най-широки зони на инхибиране са наблюдавани при проби [ZnD4(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] и [Zn<sub>2</sub>D16(NO<sub>3</sub>)<sub>8</sub>] срещу бактериални култури *B. subtilis* (съответно 14 мм и 18 мм) и *Ac. johnsonii* (съответно 13 мм и 16 мм).

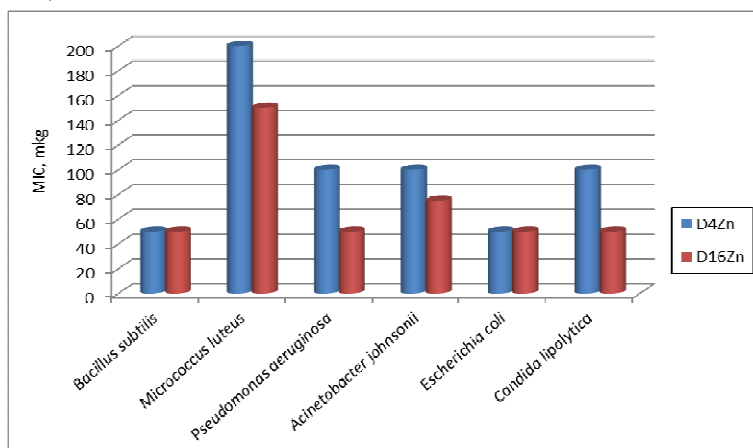
От значение е проявената активност на Zn(II) комплекси срещу бактериите *E. coli* и *Ac. johnsonii*, признати като упорити патогени, причиняващи клинични инфекции, особено при пациенти с имунни проблеми. Комплексите проявяват добро противогъбично действие срещу патогенните дрозди *C. lipolytica* със зони на инхибиране 14 мм и 15 мм съответно за [ZnD<sub>4</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] и [Zn<sub>4</sub>D<sub>16</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>8</sub>] проби, които показват устойчивост към нистатин, използван като контролен фунгицид (Фигура 57). Това е много добър резултат, понеже *C. lipolytica* е известен патоген при използване на катетри в болнични условия.



**Фигура 57.** Зони на инхибиране на растежа на различни бактерии и дрозди от проби [Cu<sub>4</sub>D16(NO<sub>3</sub>)<sub>8</sub>] и [Zn<sub>4</sub>D16(NO<sub>3</sub>)<sub>8</sub>], сравнени с търговски продукти като стандарт: гентамицин (G) и нистатин (NS). **И** зони на инхибиране на растежа на патогенните дрозди *Candida lipolytica* от Cu(II) и Zn(II) комплекси на ППА1.6 и ППА. 3.1.



Минималните инхибиращи концентрации на Zn(II) комплекси бяха определени спрямо шест микробни култури. Както се вижда от **Фигура 58**, МИК стойностите на Zn(II) комплекси на двата дендримера са в областта от 50 до 200  $\mu\text{g}$ . Ние установихме, че  $[\text{ZnD}_4(\text{NO}_3)_2]$  комплекс е с по-висока ефективност (с най-ниска стойност на МИК) спрямо *B. subtilis* и *E. coli* и  $[\text{Zn}_4\text{D16}(\text{NO}_3)_8]$  комплекс – спрямо *B. subtilis*, *E. coli* и *P. aeruginosa*, и дрождите *C. lipolytica*. Най-високи стойности на МИК са определени срещу *M. luteus*, което показва ниска ефективност на изследваните съединения спрямо този бактериален щам.



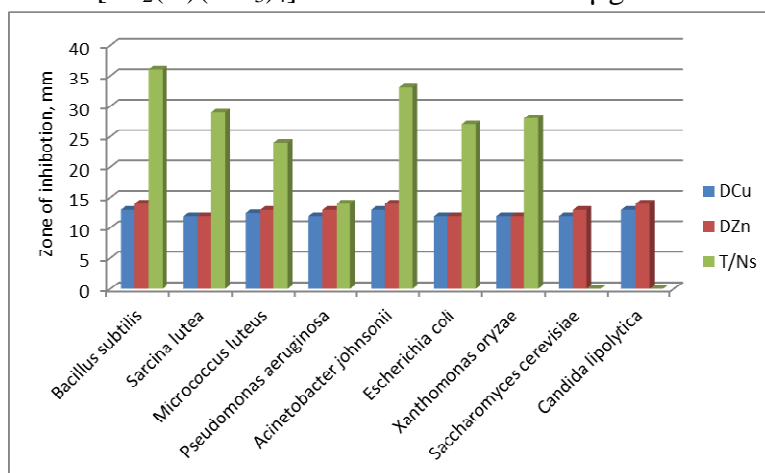
**Фигура 58.** МИК на метални комплекси  $[\text{ZnD}_4(\text{NO}_3)_2]$  и  $[\text{Zn}_4\text{D16}(\text{NO}_3)_8]$  спрямо някои бактерии и гъбички.

Липидната разтворимост на дендримерите е решаващ фактор за контролиране на тяхната антимикробна активност. Образоването на метален комплекс намалява полярността на металния йон и увеличава делокализирането на  $\pi$ -електрони в целия хелатен пръстен и по този начин се постига увеличаване на липофилността на металния комплекс. Тези промени са малко по-добре изразени при цинк-комплексите  $[\text{ZnD}_4(\text{NO}_3)_2]$  и  $[\text{Zn}_2\text{D16}(\text{NO}_3)_8]$ , в сравнение с Cu(II) комплекси. Повишената липофилност на комплексите улеснява проникването им в липидната мембрана и блокирането на метал свързващите места на ензимите в микробните клетки.

Антимикробната активност на **ППА2.8** дендример и на неговите комплекси  $[\text{Cu}_2(\text{D})(\text{NO}_3)_4]$   $[\text{Zn}_2(\text{D})(\text{NO}_3)_4]$  (**Схема 41**) е изследвана спрямо Грам-отрицателни (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter johnsonii* и *Xanthomonas oryzae*) и четири Грам-положителни (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Sarcina lutea* and *Micrococcus luteus*) бактерии, и спрямо шамовите дрожди *Candida lipolytica* и *Saccharomyces cerevisiae* [99].

Свободният от метални йони **ППА2.8** дендример не потиска растежа на тестваните култури, докато дендримерните комплекси показват сходни зони на инхибиране спрямо седем от осемте бактериални щама и двете гъбични култури, които са в диапазона 12-14 мм, което показва умерена антимикробна активност. Антибактериалната активност на пробите е около 2 пъти по-ниска от тази на използваните стандарти тетрацилин и нистидин спрямо шест от тестваните бактериални щамове и сходна с тази на тетрацилина спрямо *Pseudomonas aeruginosa*.

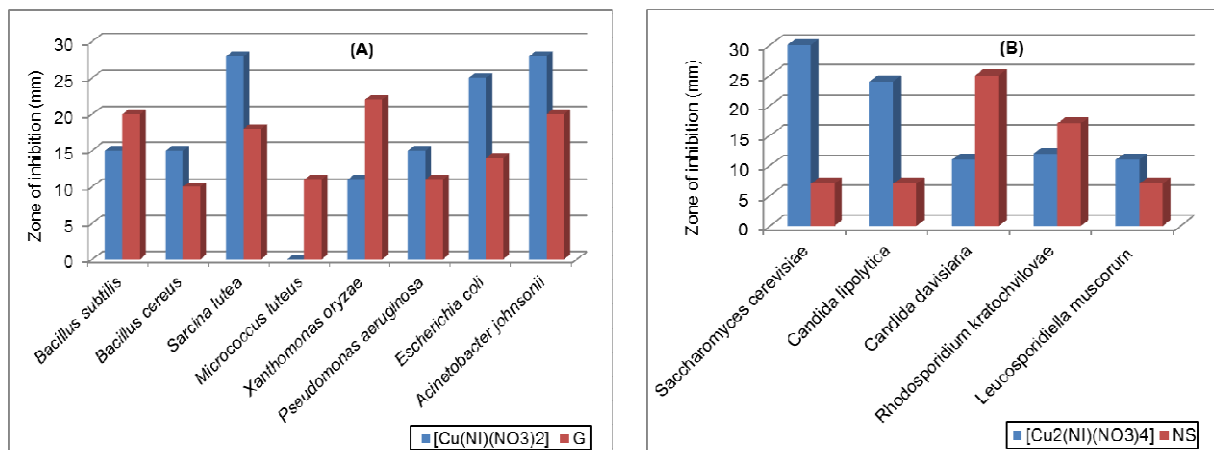
Не е наблюдавана зона на инхибиране на растежа на *B. cereus*, което показва устойчивост на щам към двата метални комплекси. От важно значение е добрата антибактериална активност на пробите срещу грам-положителния *M. luteus* и грам-отрицателния *Ac. Johnsonii*. Комплексите проявяват добре изразено противогъбично действие срещу патогенния щам *C. lipolytica*, който не се повлиява от нистатина като контролно противогъбично средство (**Фигура 59**). МИК на  $[\text{Cu}_2(\text{D})(\text{NO}_3)_4]$  варират от 50 до 300  $\mu\text{g}$ , а тези за  $[\text{Zn}_2(\text{D})(\text{NO}_3)_4]$  са в областта 50-200  $\mu\text{g}$ .



**Фигура 59.** Зони на инхибиране на растежа на някои бактериални и гъбични щамове от металните комплекси  $[\text{Cu}_2(\text{D})(\text{NO}_3)_4]$  (DCu) и  $[\text{Zn}_2(\text{D})(\text{NO}_3)_4]$  (DZn).

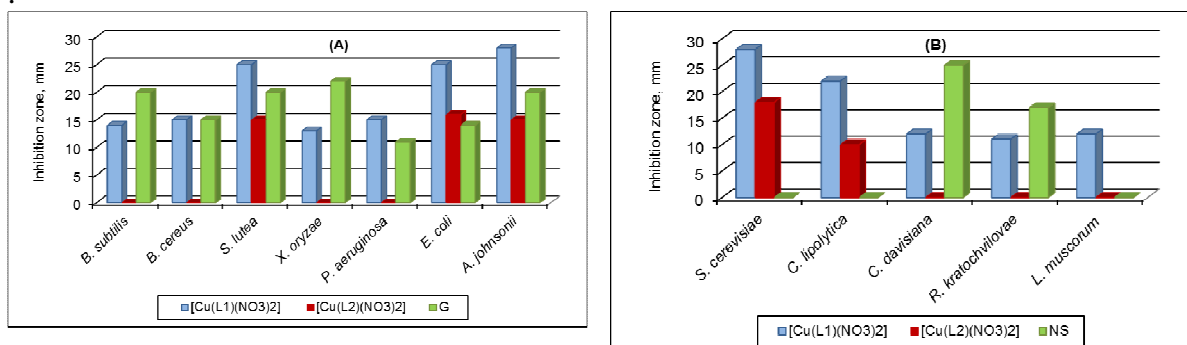
Микробиологичната активност на свободния от медни йони бис 4-N,N-диметиламиноетилокси-1,8-нафталиמיד (NI) и неговия комплекс  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  показаха, че свободният бис-1,8-нафталиמידният лиганд не показва активност спрямо тестваните щамове. Медният комплекс  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  показва съизмерими или по-добри зони на инхибиране на растежа на повечето индикаторни бактерии в сравнение с използвания стандарт тетрациклин (**Фигура 60А**). Висока антибактериална активност на  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  е наблюдавана спрямо *S. lutea*, *E. coli* и *A. johnsonii* (зони на инхибиране 25-28 мм), последвани от добра активност спрямо *B. subtilis*, *B. cereus* и *P. aeruginosa* (със зони на инхибиране 15 мм) и по-слаба активност срещу *X. oryzae* (зона на инхибиране 11 мм).

Съединение  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  проявява силно противогъбично действие срещу дрождите *S. cerevisiae* и *C. lipolytica* (зони на инхибиране съответно 30 мм и 24 мм) и по-слаба активност спрямо другите изследвани култури дрожди (зони на инхибиране 11-12 мм) (**Фигура 60В**). Минималната инхибираща концентрация за  $[\text{Cu}_2(\text{NI})(\text{NO}_3)_4]$  показва, че най-висок ефект се постига при *Bacillus subtilis*. Резултатите сочат, че медният комплекс проявява антимикробна активност с МИК от 45 до 160  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , като най-ниската концентрация е намерена срещу *B. Cereus* (45  $\mu\text{g}/\text{m}$ ), следвана от *P. aeruginosa* и *S. lutea* (120 и 130  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , съответно). Срещу другите тествани култури МИК са в областта 150-300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . От фигурата се вижда, че *X. oryzae* и *M. luteus* са по-устойчиви и съответните стойности са 200-300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

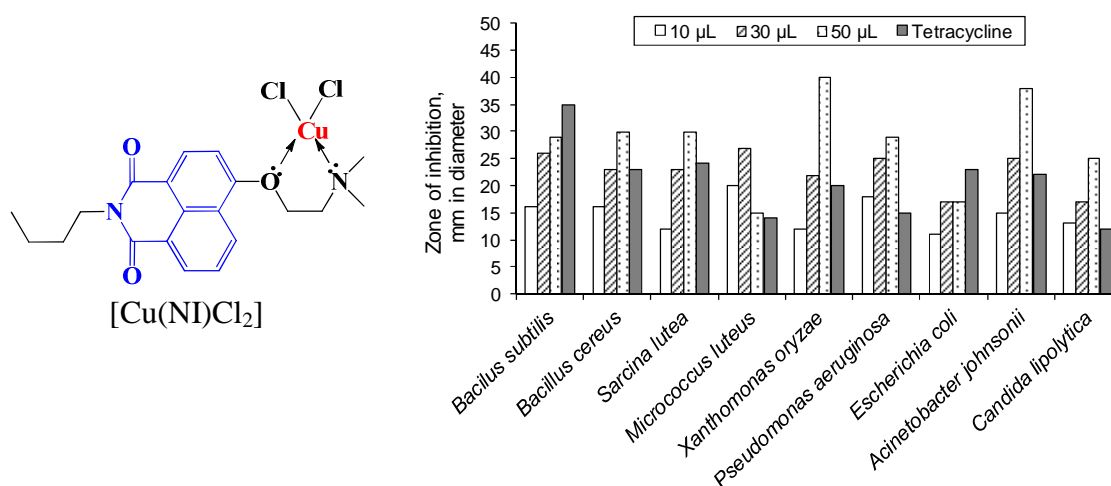


**Фигура 60.** Зони на инхибиране на растежа на някои бактерии (A) и дрожди (B) от изследваната проба [Cu<sub>2</sub>(NI)(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>], сравнени с търговските препарати гентамицин (G) и нистидин (NS) (A).

Микробиологичната активност на лигандите [Cu(LI)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] и [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], както и на техните метални комплекси със структури представени на **Схема 23**. **Фигура 31** показва средните стойности на диаметъра на зоните на инхибиране (в мм) на [Cu(LI)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] и [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] комплекси срещу 7 различни бактерии: *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Sarcina lutea*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter johnsonii* и *Xanthomonas oryzae* (a) и 5 различни щамове дрожди: *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida lipolytica*, *Candida davisiana*, *Rhodospiridium kratochvilovae* и *Leucosporidiella muscorum* (Б). Микробиологичната активност на лигандите [Cu(LI)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] и [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], показва че медният комплекс [Cu(LI)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] инхибира растежа на 12 от 13-те изследвани микробни щамове, докато комплексът [Cu(L<sub>2</sub>)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] проявява инхибираща активност спрямо три от тестваните бактерии и два щамове дрожди. За [Cu(LI)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] зоните на инхибиране са 25 мм, 28 мм и 22 мм и са по-големи от тези за [Cu(L<sub>2</sub>)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (съответно 16 мм, 20 мм и 10 мм).



**Фигура 61.** Зони на инхибиране (в мм) на [Cu(LI)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] и [Cu(L2)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] на растежа на различни по природа бактерии (A) и дрожди (B), сравнени с търговски продукти като стандарт: гентамицин (G), и нистадин (NS).



**Фигура 62.** Зони на инхибиране на [Cu(NI)Cl<sub>2</sub>] спрямо някои тест култури и тетрациклин като стандарт.

[Cu(NI)Cl<sub>2</sub>] комплекс инхибира растежа на всички тествани индикаторни култури, като зоните на инхибиране бяха по-високи в сравнение с тези на стандартния агент. Най-висока инхибираща активност е наблюдавана срещу *X. oryzae* и *A. johnsonii* със зони на инхибиране съответно 40 и 38 мм, следвана от тази спрямо *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *B. cereus* and *S. lutea* (зони в диапазона 29 - 30 мм) (Фигура 62). Най-ниска инхибираща активност на изследвания меден комплекс е наблюдавана спрямо *E. coli* със зона на инхибиране 17 mm и много добра активност спрямо дрождите *C. lipolytica* (25 мм). Следователно този комплекс има потенциал да бъде използван при дизайна на нови ефективни антимикробни препарати. Фактът, че [Cu(NI)Cl<sub>2</sub>] има висока активност срещу фитопатогенните бактерии *X. oryzae* е добра перспектива за неговото приложение за растителна защита в селското стопанство.

От получените резултати може да се направи изводът, че всички изследвани метални комплекси проявяват антибактериална и противогъбична активност спрямо различни по природа бактерии и гъбични щамове. Металните комплекси проявяват различна активност спрямо тестваните щамове бактерии и дрожди, което се дължи на различната им биологична структура, а оттам и на възможността на металните комплекси да проникнат през клетъчната мембрана. От друга страна, резултатите показват, че изследваните метални комплекси проявяват специфичност спрямо определен щам. Най-общо може да се каже, че микробиологичната активност намалява с увеличаване на молекулното тегло на комплексите, като най-високи стойности за инхибиращата зона са наблюдавани при мономерните 1,8-нафталиמידни комплекси. Малко по-слаби, но достатъчно високи са тези при бис-1,8-нафталиמידни комплекси. При дендримерните комплекси активността намалява, което вероятно се дължи на това, че те са с няколко пъти по-високо молекулно тегло, което затруднява проникването им през клетъчната мембрана на микробната клетка и постигането на целта на очакваното антимикробно действие.

## Заклучение

С разработването на този дисертационен труд са синтезирани и охарактеризирани 25 нови неописани в литературата 1,8-нафталиמידни производни с полимеризираща група, свързана към хромофорната система и е показана принципната възможност те да участват в съполимеризационни процеси с винилови или метакрилови мономери, при което се получават прозрачни флуоресцентни съполимери. Свързването на 1,8-нафталиמידните мономерни звена към полимерната верига не променя молекулните характеристики на получените съполимери. Чрез специален дизайн и целенасочен синтез са синтезирани нови полимеризиращи 1,8-нафталиמידни производни, реагиращи на външни въздействия с промяна на фотофизичните си свойства. Като рецепторни фрагменти за детекция на метални йони и протони са използвани третични amino групи, свързани чрез етиленов мост към C-4 атом от 1,8-нафталиמידната хромофорна система. Наличието на полимеризиращата група прави тези 1,8-нафталиמידни производни по-атраaktivни във връзка с използването им при синтеза на хетерогенни и хомогенни полимерни сензори.

През последните 30 години като алтернатива на синтетичната работа при традиционните линейни полимери са разработени значителен брой нелинейни разклонени дендримерни структури с уникални функционални свойства. С разработването на дисертационния труд за първи път са синтезирани ПАМАМ и ППА дендримери от различни генерации периферно модифицирани с 1,8-нафталимиди. Варирани са заместителите в C-4 позиция на 1,8-нафталиמידната хромофорна система, като особено актуални са тези с рецепторни фрагменти и с проявен сензорен капацитет. Намерени са най-подходящите синтетични условия, като възможност за синтез при стайна температура, съкращаване времетраенето с използване на ултразвуков синтез и др.

Базирайки се на нашия опит при периферната модификация на ППА и ПАМАМ дендримери, ние разработихме спектрално-енергийни концентриращи системи с отлични абсорбционни и емисионни характеристики, които са изкуствен аналог на схемата на фотосинтеза в природата и имат същата функция да абсорбират и концентрират светлинната енергия в едно активирано място. В комбинация със специфични сензорни фрагменти, свързани към 1,8-нафталиמיד като сигнален флуорофор, е постигнато усилване на сигнала в такава система и повишаване чувствителността при откриване на метални йони.

Съществено внимание при разработването на дисертационния труд е обърнато на изследване на фотофизичните характеристики на ниско- и високомолекулните 1,8-нафталиמידни производни. Изведена е структурна зависимост за влиянието на заместителите при C-4 атом и при имидния азотен атом, като е показано, че спектралните характеристики зависят съществено от електрондонорната природа на заместителите в C-4 позиция, докато тези свързани към имидния азотен атом оказват слабо влияние. Установено е, че първична или вторична amino група при C-4 предизвиква силна флуоресцентна емисия, докато третичните циклични или нециклични amino групи драстично намаляват флуоресцентното излъчване, което се

дължи на конформационни промени и излизане на заместителите от планарната форма на хромофорната система. При 1,8-нафталимидните производни с отдалечена третична amino група, свързана с етиламино или етилокси мост към C-4 атом е наблюдавана силна зависимост на флуоресцентната интензивност от полярността на средата, което се дължи на ФЕТ процесите, които са по-силно изразени в полярни среди. Това прави тези съединения слабо емитиращи в полярни и силно флуоресциращи в неполярни разтворители, свойство, което е залегнало в основата на дизайна на ФЕТ сензорни системи. Така, познавайки тези характеристики на мономерните 1,8-нафталимидни производни, ние успешно ги приложихме при синтеза на дендримерите, като са получени нови ППА дендримера с различни функционални свойства. За изясняване ролята на дендримерната структура при изследване фотофизичните и сензорни свойства на ПАМАМ дендримерите, са използвани само тези от тях, които съдържат като заместител *N,N*-диметиламиноетиленамино групи при C-4 атом.

Установено е, че нискомолекулните 1,8-нафталимидни съединения проявяват много добра сензорна чувствителност спрямо различни по природа йони с концентрации до  $1 \times 10^{-4}$  M. Също така тези съединения са чувствителни към промени в рН на средата, като в кисела среда интензитетът на флуоресценция е значително по-силен, отколкото в алкална. Тази рН чувствителност се запазва в твърдите полимерни филми, докато детекторната способност към метални йони е различна в сравнение с мономерните 1,8-нафталимидни съединения. Установено е, че твърдите полимерни матрици със сензорни фрагменти са селективни спрямо Fe(III) във водни разтвори, което се дължи на по-малкия йонен радиус на Fe(III) спрямо останалите йони. Така той по-лесно преминава през твърдата полимерна матрица и достига до сензорния фрагмент. Свързването на 1,8-нафталимидните флуорофори с рецепторни фрагменти към дендримерни молекули повишава чувствителността спрямо металните йони в концентрационния обхват  $10^{-5}$ - $10^{-7}$  M, което се дължи на дендримерния ефект.

Фактът, че нискомолекулните 1,8-нафталимидни производни със сензорни свойства и периферно модифицирани с тях ПАМАМ и ППА дендримери могат да образуват комплекси с метални йони в разтвор, позволи да се изследва възможността за изолиране на стабилни метални комплекси с цел изучаване на микробиологичната им активност. Във връзка с това от нас са синтезирани и охарактеризирани 1,8-нафталимидни комплекси с Zn(II) и Cu(II) с оглед изясняване връзката структура микробиологична активност. Установено е, че металните комплекси на мономерните и бис-1,8-нафталимидни производни имат висока антибактериална и противогъбична активност спрямо различни грам (+) и грам (-) бактерии и гъбички. С увеличаване молекулната маса на лигандите (при ППА дендримери, модифицирани с 1,8-нафталимидни единици) микробиологичната активност намалява. Получените резултати имат предимно емпиричен характер и като начален етап и ново направление от развитието на химията на 1,8-нафталимидните съединения с микробиологични свойства, подобни изследвания ще бъдат приоритетни в нашите бъдещи изследвания с цел изясняване механизма на микробиологичната активност на металодендримерите.



### Научни приноси

В дисертационния труд са обобщени резултатите от нашите изследвания в периода 1993-2015, отразени в 46 публикации. Общият брой на цитатите по трудовете според SCOPUS към 1.03.2016 г. е 761.

- ❑ Поставено е началото на систематичното изследване на химията и функционалните свойства на 1,8-нафталимидите в България.
- ❑ За първи път са синтезирани полимеризиращи 1,8-нафталимидни ФЕТ сензори и първите хетерогенни полимерни сензори с включени ензорни фрагменти към основната полимерна верига и започнаха изследвания върху флуоресцентни молекулни устройства, задвижвани от светлината, способни да изпълняват сензорни функции
- ❑ За първи път е използван *N,N*-диметиламиноетилокси рецептор при дизайна на 1,8-нафталимидни ФЕТ сензори със синя флуоресценция.
- ❑ За първи път с 1,8-нафталимидни производни са модифицирани ПАМAM и ППА дендримери от първа, втора и трета генерация с цел използването им като чувствителни системи за откриване на метални йони и протони
- ❑ Синтезирани са нови съединения с „антена ефект“ на база комбинация на 4-амино- и 4-алкокси заместени 1,8-нафталимиди с възможност за енергиен трансфер и комбиниране със сензорни свойства при детекцията на метални йони.
- ❑ Установено е, че свързването на няколко 1,8-нафталимидни фрагмента със сензорни свойства в структурата на една молекула (триподи и дендримери от различни генерации) повишава чувствителността и селективността при детекцията на метални йони, в сравнение с мономерните 1,8-нафталимидни сензори.
- ❑ За първи път са синтезирани, изолирани и охарактеризирани флуоресцентни ППА металодендримери.
- ❑ Изследвана е микробиологичната активност на нови Cu(II) и Zn(II) комплекси с 1,8-нафталимиди като лиганди спрямо различни по природа грам(+) и грам (-) бактерии и гъбични щамове. Показана е висока антибактериална и противогъбична активност при мономерни и бис-1,8-нафталимидни комплекси и умерена активност при металодендримерите.



**Публикации на автора, включени в дисертационния труд**

		IF	Цит
1.	T. Konstantinova, P. Meallier, <b>I. Grabchev</b> , The Synthesis of some 1,8-Naphthalic Anhydride Derivative as Dyes for Polymeric Materials, <b>Dyes and Pigments</b> , 22 (1993) 191-198.	3.966	49
2.	Tz. Philipova, I. Karamancheva, <b>I. Grabchev</b> , Absorption Spectra of Some N-substituted-1,8- Naphthalimides, <b>Dyes and Pigments</b> , 28 (1995) 91-99.	3.966	11
3.	<b>I. Grabchev</b> , P. Meallier, T. Konstantinova, M. Popova, Synthesis of Some Unsaturated 1,8-Naphthalimide Dyes, <b>Dyes and Pigments</b> , 28 (1995) 41-46.	3.966	16
4.	<b>I. Grabchev</b> , Tz. Philipova, P. Meallier, S. Guittonneau, Influence of Substituents on the Spectroscopic and Photochemical Properties of Naphthalimide Derivatives, <b>Dyes and Pigments</b> , 31 (1996) 31-34.	3.966	26
5.	T. Konstantinova, <b>I. Grabchev</b> , On the Copolymerization of Styrene with Some Dyes that are Naphthalimide Derivatives, <b>J. Appl. Polym Sci.</b> , 62 (1996) 447-449.	1.768	10
6.	<b>I. Grabchev</b> , Tz. Philipova, The Synthesis of Some 1,8-Naphthalic Anhydride Derivatives as Dyes for Polymeric Materials, <b>Ind. J. Chem.</b> , 36B (1997) 264-266.	0.387	0
7.	<b>I. Grabchev</b> , T. Konstantinova, The Synthesis of Some Polymerizable Naphthalimide Derivatives for Use as Fluorescent Brighteners, <b>Dyes and Pigments</b> , 33 (1997) 197-203.	3.966	37
8.	<b>I. Grabchev</b> , T. Konstantinova, S. Guittonneau, P. Meallier, Photochemisry of Some 1,8-Naphthalic Anhydride Derivatives, <b>Dyes and Pigments</b> , 35 (1997) 361-366	3.966	32
9.	T. Konstantinova, <b>I. Grabchev</b> , On the Polymerization of Styrene and Acrylonitrile with 1,8- Naphthalimide Derivatives, (Optical Brightening Agents), <b>Polymer International</b> , 43 (1997) 39-44.	2.409	21
10.	T. Filipova, <b>I. Grabchev</b> , I. Petkov, Synthesis and Spectral Properties of New N-Substituted Naphthlimide Luminophores for Structural Coloration of Polymethyl-methacrylate and Polystyrene, <b>J. Polym Sci., A: Polymer Chem.</b> 35 (1997) 1069-1076.	3.313	19
11.	<b>I. Grabchev</b> , Photophysical Characteristics of Polymerizable 1,8-Naphthalimide Dyes and their Copolymers with Styrene or Methylmethacrylate, <b>Dyes and Pigments</b> , 38 (1998) 219-226.	3.966	17
12.	<b>I. Grabchev</b> , I. Moneva, Synthesis and Properties of Vinilic Copolymers with Fluorescent Moieties as Optical Brighteners for Liquid Crystals, <b>J. Appl. Polym Sci.</b> , 74 (1999) 151-157.	1.768	19
13.	<b>I. Grabchev</b> , R. Betcheva, Copolymerization and Photostabilization of Methylmethacrylate with 1,8-Naphthalimide Fluorescent Brighteners, <b>J. Photochem. Photobiol. A. Chem.</b> , 142 (2001) 73-78.	2.495	35
14.	<b>I. Grabchev</b> , X. Qian, Y. Xiao, R. Zhang, Novel heterogeneous PET fluorescent sensors selective for transition metal ions or protons: polymers regularly labelled with naphthalimide, <b>New J. Chem.</b> , 26 (2002) 920-926.	3.086	43
15.	<b>I. Grabchev</b> , J.-M. Chovelon, X. Qian, Polyamidoamine Dendrimer with Peripheral 1,8-naphthalimide Groups Capable of Acting as PET Fluorescent Sensor for Metal Cations, <b>New J. Chem.</b> , 27 (2) (2003) 337.	3.086	62

- 
16. **I. Grabchev**, J.-M. Chovelon, Synthesis and Functional Properties of Green Fluorescent Poly(methylmetacrylate) for Use in Liquid Crystal Systems, **Polymer for Advanced Technology**, 2003, 14 (9) 601-608 1.757 38
  17. **I. Grabchev**, J.-M. Chovelon, X. Qian, Copolymer of 4-*N,N*-dimethylaminoethylene-*N*-allyl-1,8-Naphthalimide with Methylmethacrilate as Selective Fluorescent Chemosensor in Homogeneous System for Metal Cations, **J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry**, 158 (2003) 37-43. 2.495 57
  18. **I. Grabchev**, J.-P. Soumillion, B. Muls, G. Ivanova, Poly(amidoamine) dendrimer peripherally modified with 4-*N,N*-dimethylaminoethyleneamino -1,8-naphthalimide as sensor of metal cations and protons, **J. Photochem. Photobiol. Science**, 3 (2004) 1032-1037. 2.267 17
  19. **I. Grabchev**, J.-M. Chovelon, A. Nedelcheva, Green fluorescence poly(amidoamine) dendrimer functionalized with 1,8-naphthalimide units as potential sensor for metal cations, **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry** 183 (2006) 9-14. 2.495 27
  20. S. Sali, S. Guittonneau, **I. Grabchev**, A novel blue fluorescent chemosensor for metal cations and protons, based on 1,8-naphthalimide and its copolymer with styrene, **Polymers for Advanced Technologies**, 17 (2006) 180-185. 1.757 15
  21. **I. Grabchev**, S. Sali, R. Betcheva, V. Gregoriou, New green fluorescent polymer sensors for metal cations and protons, **European Polymer Journal**, 43 (2007) 4297-4305. 3.005 51
  22. **I. Grabchev**, P. Bosch, M. McKenna, A. Nedelcheva, Synthesis and spectral properties of new green fluorescent poly(propyleneimine) dendrimers modified with 1,8-naphthalimide as sensors for metal cations, **Polymer**, 48 (23) (2007) 6755-6762. 3.562 14
  23. **I. Grabchev** and J.-M. Chovelon, New blue fluorescent sensors based of 1,8-naphthalimide for metal cations and protons, **Dyes and Pigments**, 77 (2008) 1-6. 3.966 27
  24. **I. Grabchev**, S. Dumas, J.-M Chovelon, Studying the photophysical properties of a polymerizable 1,8-naphthalimide dye and its copolymer with styrene as potential fluorescent sensors for metal cations, **Polymers for Advanced Technologies** 2008, 19, 316-321. 1.757 14
  25. **I. Grabchev**, S. Dumas, J.-M. Chovelon, A. Nedelcheva, First generation poly(propyleneimine) dendrimers functionalised with 1,8-naphthalimide units as fluorescence sensors for metal cations and protons, **Tetrahedron**, 64 (2008) 2113-2119. 2.641 20
  26. M. McKenna, **I. Grabchev**, P. Bosch, Synthesis of a new 1,8-naphthalimide based PAMAM-type dendron and investigating its potentiality for light-harvesting **Dyes and Pigments**, 81 (2009) 180-186. 3.966 17
  27. **I. Grabchev**, P. Bosch, M. McKenna, D. Staneva, A new colorimetric and fluorimetric sensor for metal cations based of poly(propyleneimine) dendrimer modified with 1,8-naphthalimide, **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 201 (2009) 75-80. 2.495 16
  28. **I. Grabchev**, D. Staneva, J.-M. Chovelon, Photophysical investigations on the sensor potential of novel, poly(propyleneimine) dendrimers modified with 1,8-naphthalimide units, **Dyes and Pigm.**, 85 (2010) 189. 3.966 17
-

- |     |   |       |    |
|-----|---|-------|----|
| 29. | <b>I. Grabchev</b> , D. Staneva, S. Dumas, J.-M. Chovelon, Metal ions and protons sensing properties of new fluorescent 4- <i>N</i> -methylpiperazine-1,8-naphthalimide terminated poly(propyleneamine) dendrimer, <b>Journal Molecular Structure</b> , 999 (2011) 16-21.   | 1.602 | 16 |
| 30. | <b>I. Grabchev</b> , P. Bosch, D. Staneva, A new detector for metal cations based on the combined effect of photoinduced electron transfer and light harvesting system, <b>Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry</b> , 222 (2011) 288-292.  | 2.495 | 4  |
| 31. | D. Staneva, P. Bosch, <b>I. Grabchev</b> , Ultrasonic synthesis and spectral characterization of a new blue fluorescent dendrimer as highly selective chemosensor for Fe <sup>3+</sup> cations, <b>Journal of Molecular Structure</b> , 1015 (2012) 1-5.  | 1.602 | 10 |
| 32. | <b>I. Grabchev</b> , D. Staneva, I. Betcheva, Fluorescent dendrimers as sensors for biologically important metal ions, <b>Current Medical Chemistry</b> , 19 (2012) 4976-4983.  | 3.853 | 10 |
| 33. | <b>I. Grabchev</b> , P. Mokreva, V. Gancheva, L. Terlemezyan Synthesis and structural dependence of the functional properties of new green fluorescent poly(propyleneamine) dendrimers, <b>Journal of Molecular Structure</b> , 1038 (2013) 101-105.  | 1.602 | 2  |
| 34. | S. Yordanova, <b>I. Grabchev</b> , S. Stoyanov, I. Petkov, New detectors for metal cations and protons based on PAMAM dendrimers modified with 1,8-naphthalimide units, <b>Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry</b> , 283 (2014) 1-7.  | 2.495 | 4  |
| 35. | <b>D. Staneva</b> , I. Grabchev, Spectral Analysis of Poly(Propyleneamine) Dendrimers Peripherally Modified with 1,8-naphthalimides, <b>International Journal of Polymer Analysis and Characterization</b> , 18 (5) (2013) 390-397.   | 1.264 | 0  |
| 36. | H.T. Temiz, I.H. Boyaci, <b>I. Grabchev</b> , U. Tamer, Surface enhanced Raman spectroscopy as a new spectral technique for quantitative detection of metal ions, <b>Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy</b> , 116 (2013) 339-347.  | 2.35  | 4  |
| 37. | <b>I. Grabchev</b> , S. Yordanova, S. Stoyanov, I. Petkov, Synthesis of new blue fluorescent polymerizable 1,8-naphthalimides and their copolymers with styrene as sensors for Fe(III) cations, <b>Journal of Chemistry, Hindawi Publishing Corporation</b> , 2014, Article ID 793721, 7 pages, <a href="http://dx.doi.org/10.1155/2014/793721">http://dx.doi.org/10.1155/2014/793721</a> . | 0.772 | 0  |
| 38. | D. Staneva, P. Bosch, A.M. Asiri, L.A. Taib, <b>I. Grabchev</b> , Studying pH dependence of the photophysical properties of a blue emitting fluorescent PAMAM dendrimer and evaluation of its sensor potential, <b>Dyes and Pigments</b> 105 (2014) 114-120   | 3.966 | 8  |
| 39. | D. Staneva, E. Vasileva-Tonkova, M.S.I. Makki, A. Asiri, <b>I. Grabchev</b> , Combination of sensor potential and antimicrobial activity of a new 4-(2-dimethylaminoethoxy)- <i>N</i> -butyl-1,8-naphthalimide, <b>J. Molecular Structure</b> , 1071 (2014) 88-94.  | 1.602 | 0  |
| 40. | D. Staneva, <b>I. Grabchev</b> , P. Mokreva, Electronic and infrared spectral studies on the poly(propyleneamine) dendrimers peripherally modified with 1,8-naphthalimides, <b>Journal of Chemical Technology and Metallurgy</b> , 49 (6) (2014) 569-576.   | -     | 0  |

- 
41. M.S.I. Makki, D.Staneva, T.R. Sobahi, P. Bosch, R.M. Abdel-Rahman, **I. Grabchev**, Design and synthesis of a new fluorescent tripod for chemosensor applications, **Tetrahedron**, 70 (2014) 9366-9373 2.641 0
  42. D. Staneva, E. Vasileva-Tonkova, M.S.I. Makki, T.R. Sobahi, R.M. Abdel-Rahman, I.H. Boyaci, A.M. Asiri, **I. Grabchev**, Synthesis and spectral characterization of a new PPA dendrimer modified with 4-bromo-1,8-naphthalimide and in vitro antimicrobial activity of its Cu(II) and Zn(II) metal complexes, **Tetrahedron**, 71 (2015) 1080. 2.641 0
  43. D. Staneva, M.S.I. Makki, T.R. Sobahi, P. Bosch, R.M. Abdel-Rahman, A. Asiri, **I. Grabchev**, Synthesis and spectral characterization of a new blue fluorescent tripod for detecting metal cations and protons, **Journal of Luminescence**, 162 (2015) 149-154. 2.719 1
  44. **I. Grabchev**, S. Yordanova, E. Vasileva-Tonkova, P. Bosch, S. Stoyanov, Poly(propylenamine) dendrimers modified with 4-amino-1,8-naphthalimide: Synthesis, characterization and in vitro microbiological tests of their Cu(II) and Zn(II) complexes, **Inorganica Chimica Acta**, 438 (2015) 179–188. 2.046 0
  45. S. Yordanova, H.T. Temiz, I.H. Boyaci, S. Stoyanov, E. Vasileva-Tonkova, A.M. Asiri, **I. Grabchev**, Synthesis, characterization and in vitro antimicrobial activity of a new blue fluorescent Cu(II) metal complex of bis-1,8-naphthalimide, **Journal of Molecular Structure**, 1101 (2015) 50-56. 1.602 0
  46. M. Ottaviani, S. Yordanova, M. Cangiotti, E. Vasileva-Tonkova, C. Coppola, S. Stoyanov, **I. Grabchev**, Spectral characterization and in vitro microbiological activity of new bis-1,8-naphthalimides and their Cu(II) complexes, **Journal of Molecular Structure**, 1110 (2016) 72-82. 1.602 0