

## **Авторска справка за приносите на научните трудове на гл.ас. д-р Станислав Стефанов Станимиров**

във връзка с участие в конкурс за заемане на академичната длъжност „Доцент“  
(професионално направление 4.2. Химически науки (Органична химия – Фотохимия)),  
обявен в ДВ, бр. 63 от 30.07.2021 г.

Кандидатът е съавтор на 19 научни публикации в списания реферирани и индексирани в световните бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus; 6 публикации – Q1; 5 публикации – Q2; 6 публикации – Q3; 1 публикации – Q4), и 1 в списание без квартал . В конкурса за доцент, кандидатът участва с 16 научни публикации. Към момента на подаване на документите за участие в конкурса са забелязани 125 цитата (реферирани и индексирани в Scopus), h факторът е 7. Научните резултати са представени в общо 10 устни доклади и постерни съобщения на национални и международни форуми.

Научните приноси, в представените за участие в конкурса публикации, са в областта на синтеза, фотофизичното и физикохимично охарактеризиране на различни органични молекули, както и на техни метални комплекси. Тези съединения са изследвани заради приложенията им като излъчватели в електролуминесцентни устройства, сензори или като съединения за оптичен запис на информация. С помощта на УВ електронна абсорционна и емисионна спектроскопия, както и на техники с времева резолюция, като фемтосекундна транзитна абсорбция и измервания на флуоресцентното време на живот, са установени различни фотофизични и термодинамични параметри на изследваните съединения.

Основните приноси могат да бъдат обобщени в следните научни направления:

1. Използване на електронната спектроскопия за определяне на фотофизичните и структурни свойства на европиеви комплекси на  $\beta$ -дикарбонилни съединения [1-7].
2. Спектрално охарактеризиране на електролуминесцентни органоиридиеви комплекси използвани като излъчватели в електролуминесцентни устройства [8-10].

3. Използване на електронната спектроскопия за определяне на термодинамични и фотохимични параметри на системи от органични молекули използвани като сензори или за оптичен запис на информация [11-16].

Авторската справка за приносите на кандидата е базирана само на научните трудове, включени в конкурса за доцент.

### **1. Използване на електронната спектроскопия за определяне на фотофизичните и структурни свойства на европиеви комплекси на $\beta$ -дикарбонилни съединения.**

Европиевите комплекси с  $\beta$ -дикарбонилни лиганди са съединения, които луминесцират в червено при възбуждане с УВ светлина (350 nm) [7]. Това голямо стоксово отместване се дължи на механизма на пренос на енергия от възбудения лиганд, през неговото триплетно ниво, към  $^5D_1$  и  $^5D_0$  нивата на Eu(III) йона. Ефективността и спектралните свойства на тези комплекси зависи от обкръжението на металния йон. Определянето на фотофизичните свойства и структурни особености на редица новосинтезирани европиеви комплекси, използвайки различни техники на електронната абсорционна и емисионна спектроскопия, са научните приноси на статиите включени в това научно направление.

Бяха синтезирани нови тернарни европиеви комплекси с поли(оксиетилен фосфатни) лиганди с различна дължина на оксиетиленовата верига между фосфатните групи. Самата синтетична процедура за получаването на фосфатните полимери беше подобрена с използването на мека Хюнингс база N-етилдиизопропил амин и използването на пропиленоксид като агент, който реагира с образуващите се в хода на реакцията тетраамониеви хлориди. По този начин бяха получени поли(оксиетилен фосфати) с добив и чистота превъзхождащи наличните до момента процедури [3].

Фотофизичните свойства на поли(оксиетилен фосфат) трис ( $\beta$ -дикетонатни) комплекси на европий (III) са изследвани посредством флуоресцентна спектроскопия и такава с времева разделителна способност. Луминесцентните квантови добиви и ефективност за енергийния трансфер от  $\beta$ -дикетонатните лиганди към Eu (III) йона са определени за изследваните комплекси чрез използване на дивизионно контролиран флуоресцентен резонансен трансфер на енергия [4]. Получените резултати показват ефектът на полимерните лиганди върху фотофизичните свойства на комплексите и е установена

връзка с дължината на оксиетиленовата верига между две фосфатни групи. Изчислени са Фьорстеровите радиуси на синтезираните съединения с помощта на Сулфородамин 101, който е използван като акцептор. Измерените разстояния между молекулите на донорите и акцепторите при еднакви моларни съотношения акцептор / донор илюстрират разликата в структурата на тернарния и полимерния комплекс в разтвор дори при ниска концентрация.

Разработената спектроскопска техника, с използване на лантаноидни комплекси, за определяне на размера на молекулите или по-точно за измерване на разстоянието между частиците в системата донор-акцептор има предимство пред останалите FRET техники, заради надеждността на получените резултати. Това е така защото при FRET измерванията основен източник на грешка идва от параметър, който държи сметка за ориентацията на диполните моменти на донора и акцептора по време на преноса на енергия, и който обикновено е трудно да бъде определен. При лантаноидният резонансен пренос на енергия (LRET) това се преодолява заради микросекундното време на луминесценция на тези съединения, за което време става пълно завъртане на донора и акцептора и въпростният геометричен фактор клони към константа равна на 2/3. По този начин използвайки тази техника и различни лантаноидни комплекси, не само европиеви може да се определи размера на различни комплекси на включване на багрила в циклодекстрини, дендримери, метал-органични мрежи и др.

Беше установена рН зависимостта на емисионния квантов добив на новите водоразтворими европиеви поли(оксиетилен фосфат) трис ( $\beta$ -дикетонатни) комплекси [6] и ефекта на усилване на луминесценцията на тези съединения в разтвор и в твърдо състояние, в присъствие на амини или амоняк. Забелязахме този ефект и при тернарния европиев комплекс на дибензоилметана. Оказа се, че наблюдаваното усилване на емисията на тези съединения в присъствие на амини е нов сензорен ефект, който не може да се обясни с блокиране на безизлъчвателните пътища за релаксация на възбуденото състояние на Eu (III) комплекса, в следствие на изместване на водните молекули от вътрешната координационна сфера на комплекса. С помощта на фемтосекундната транзитна абсорбция, изследвайки динамиката на релаксация на възбуденото състояние на комплексите доказахме, че координацията на амина повлиява вероятността за интерконбинационна конверсия в лиганда като по този начин се увеличава населеността на триплетното ниво и от там емисионния квантов добив на комплексите [1]. Доколкото ни е известно докладваме за първи път за подобен ефект на

влияние върху интерконбинационната конверсия на лиганда, чрез координация на донорна молекула (NH<sub>3</sub>) през метален йон.

Заради това, че са от интерес за микробиологията, биохимията и молекулярна биология, изследвахме предрезонансно възбудената емисия на европий(III) тристеноилтрифлуорацетилацетонат (EuTTA) тернарните комплекси имащи аминокординирани съединения като четвърти лиганд и поли (оксиетилен фосфат) трис (β-дикетонато) Eu (III) комплекси (EuPOEPAT). Емисионните свойства на тези съединения са свързани с тяхната възможна употреба за биомаркери в системи за тестване и визуализация на биологични структури, като ДНК, протеини или като сензори за амини или рН. Благодарение на изключително ниската си токсичност POEPAT полимерите са подходящи за носители на биологично активни субстанции [2, 5].

Показвахме, че предрезонанското възбуждане с висок интензитет ( $\sim 10^{14}$  W/cm<sup>2</sup> във фокалния обем) ултракъси импулси от fs лазери, може да се използва за получаване на емисия с достатъчен интензитет от разредени водни разтвори или тънки филми на Eu(III) координирани комплекси в частност тези съдържащи теноилтрифлуорацетилацетонатни лиганди. Като образци сме използвали EuTTA-диамини и EuPOEPAT полимери, но резултатите са валидни за широк клас лантаноидни комплекси имащи подобен абсорбционен профил с ивица около 400 nm, което е втората хармонична Ti:sapphire лазер.

Въпреки, че ефективността на абсорбцията и съответно преноса на енергия от лиганда към метала са далече от оптималния, интензитета и качеството на спектъра на получената луминесценция могат да бъдат достатъчни за целите на флуоресцентната микроскопия, био-диагностика и други флуорометрични анализи.

Специално за европиевите комплекси, където двуфотонната емисия и Eu(III) луминесценцията са в червения спектрален диапазон, предрезонанското възбуждане със синя светлина може да бъде разумна алтернатива на инфрачервената двуфотонна спектроскопия, особено в спектралната област, където двуфотонната абсорбция на комплекса е слаба. Също дифракционния лимит фокалния фокус на лъч с 400 nm дължина на вълната е два пъти по-малък от този на лъч с 800 nm и това свойство може да е от значение там, където има изискване за повишена спектрална резолюция.

## 2. Спектрално охарактеризиране на електролуминесцентни органоиридиеви комплекси използвани като излъчватели в електролуминесцентни устройства.

Органометалните съединения на преходните метали са едни от най-добрите и най-интензивно изследвани през последното десетилетие излъчватели във фосфоресциращи органични светлинно-излъчващи устройства (OLED) [8, 9]. Тези комплекси съдържат петчленен хелатен пръстен с въглеродни и азотни атоми, координирани към метала. Неутралните хомолептични трис-циклометални  $\text{Ir}(\text{C}^{\wedge}\text{N})_3$  комплекси и хетеролептичните бис-циклометални комплекси  $(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2\text{IrL}$  (L = спомагателен лиганд) на основата на 2-фенилпиридин (ppy) и сродни лиганди са едни от най-популярните и добре проучени иридиеви комплекси. Силното спин-орбитно взаимодействие улеснява интеркомбинационната конверсия, както и усилва последващата излъчвателна дезактивация от триплетното възбудено състояние до основното състояние. Обикновено фосфоресценцията се дължи на релаксация от триплетни нива с различна природа. Електронните преходи, отговорни за фосфоресценцията в тези комплекси, са комбинация от преходи с пренос на заряд от метал към лиганд ( $^1\text{MLCT}$ ,  $^3\text{MLCT}$ ) и лигандно центрирани (LC)  $^3(\pi\text{-}\pi^*)$  преходи. С циклометални лиганди иридий (III) предпочитат да образуват бис-циклометални комплекси  $(\text{C}^{\wedge}\text{N})_2\text{IrL}$  (L-спомагателен лиганд) въпреки, че MLCT характерът на първото възбудено ниво е характерен за комплекси с максимален брой метал въглерод  $\sigma$ -връзки.

С помощта на серия хетеролептични Ir (III) комплекса ние определихме ефекта на заместителя в циклометалния бензотиазолов остатък на комплекса Ir. Тъй като тези комплекси са  $^3(\pi, \pi^*)$  емитери, те са чувствителни към размера на спрегнатата  $\pi$ -система. По този начин  $\pi$  електронодонорните заместители изместват батохромно емисионната ивица. Освен това подвижността на тези групи е от решаващо значение за фосфоресцентния квантов добив. Установихме, че диметиламино и метокси производни имат по-нисък квантов добив. Най-ниското излъчвателно триплетно състояние на тези комплекси, е комбинация от MLCT и LC състояния. Приносът на всяко от тези състояния определя характера на фосфоресцентната емисия. Този принос се определя от коефициента на смесване  $\alpha$  и зависи от спин-орбиталното взаимодействие, конфигурационното взаимодействие и енергетичната разлика между състоянията. Открихме [10], че емисионните свойства на комплексите зависят от

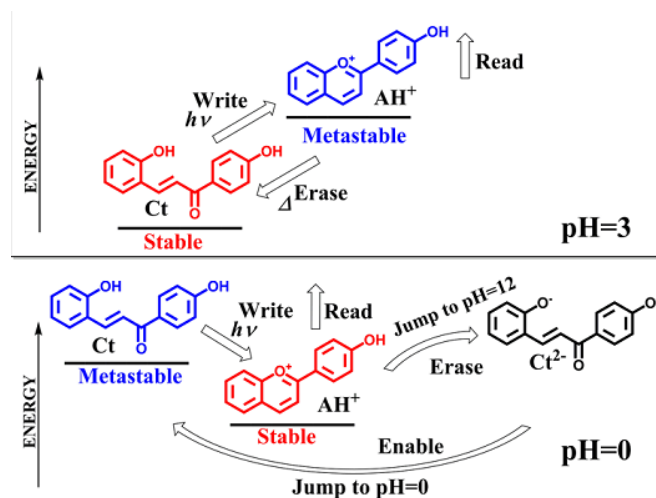
температурата. Като причина за това посочваме промяна в характера на излъчвателното състояние. Предполагаме, че става преход от  ${}^3\text{LC}$  към  ${}^3\text{MLCT}$  доминиращ характер на  $T_1$  състоянието, при охлаждане от стайна температура до 77K. Правим това заключение след изследване на фотофизичните свойства комплексите в разтвори с различна полярност, на база на абсорбционните и емисионни спектри заснети при стайна температура и 77K в разтвор, както и на изследване на емисионната анизотропия на комплексите в полимерни матрици.

### **3. Използване на електронната спектроскопия за определяне на термодинамични и фотохимични параметри на системи от органични молекули използвани като сензори или за оптичен запис на информация.**

Влиянието на  $\beta$ -циклодекстрин върху системата от химични равновесия на съединението 4',7-дихидроксифлавилиум е изследвано в рамката на рН скокове, последвано от УВ абсорбционна спектроскопия, флаш фотолиза, кинетични измервания и ЯМР. Транс халкона е съединението от тази система което най-силно взаимодейства с  $\beta$ -циклодекстрина. В слабо кисела среда 95% от транс халкона ( $2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) в присъствие на  $\beta$ -циклодекстрин ( $9 \times 10^{-3} \text{ M}$ ) се очаква да образува комплекс с домакина (стабилитетна константа  $2.2 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ ) за разлика от флавилиевия катион, който не образува комплекс (стабилитетна константа  $\approx 0$ ). Облъчването на транс халкона в присъствие на 9 mM  $\beta$ -циклодекстрин води до получаване на флавилиевия катион. По този начин, използвайки светлина е възможно да разрушим комплекса оставяйки кухината на  $\beta$ -циклодекстрина празна. Този процес е обратим и транс халкона образува отново комплекс с  $\beta$ -циклодекстрина когато облъчването се прекрати. Това се дължи на термодинамично по-благоприятното превръщане на флавилиевия катион в транс халкон в присъствие на  $\beta$ -циклодекстрин [15].

Използвайки абсорбционната спектроскопия сме определили стабилитетните константи на всички молекулни видове от термодинамичната система на 4',7-дихидроксифлавилиума с  $\beta$ -циклодекстрин. Образуването на комплексите с  $\beta$ -циклодекстрин повлияват химичните равновесия в системата като изменят стойностите на равновесните константи. Образуването на домакин-гост комплексите благоприятства изместването на равновесията към незаредените молекули във водна среда и ниско рН. Фотохимичните експерименти доказват повишаване на квантовия

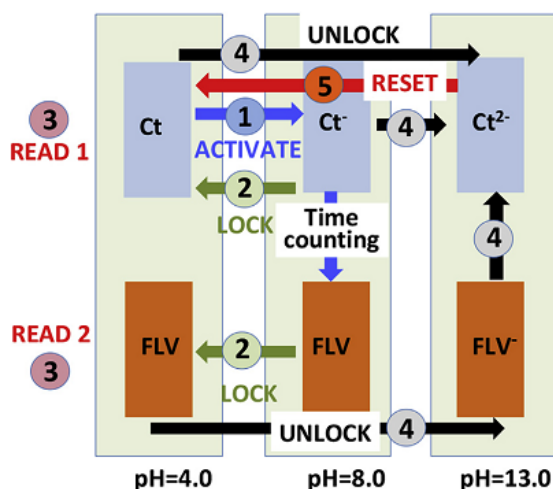
добив на транс в цис халкона при облъчване в присъствие на  $\beta$ -циклодекстрин от 0.07 до 0.1, съответно.



Изследвана е възможността [13], метастабилните състояния на системата от химични съединения на флавилиевия катион, да се използват в модели на цикли за запис, четене и изтриване на информация в оптични памет. Необходимо изискване за достигане на метастабилното състояние в тези системи е съществуването на висока бариера на цис-транс изомеризация, каквато е присъща за 4'-хидроксифлавилиума. В оптичните памет, метастабилното състояние може да бъде сигналът, който да се отчита в процеса на прочитане на информацията. В този случай спонтанното изтриване е предотвратено от метастабилното състояние. И обратно, метастабилното състояние може да бъде първоначалното състояние, което да блокира нежелан етап на спонтанно записване. Със съединението 4'-хидроксифлавилиум може да се осъществят и двата сценария в зависимост последователността на рН буферирането преди абсорбцията на светлина. В това изследване е установена рН зависимост на константите на разпределение между молекулите на термодинамичната система и ефективността на фотохимичната трансформация, в зависимост от присъствието на  $\beta$ -циклодекстрин. Установихме, че продължителността на живот на състояние на това съединение е от порядъка на години. В тази система транс халкона при рН = 0 има време на живот 160 и 7 години съответно в отсъствие и присъствие на 8 mM  $\beta$ -циклодекстрин. Метастабилното състояние е фотохромно и при облъчване на транс халкона се получава термодинамично стабилния продукт. Тази система представлява оптична памет способна на писане-четене-изтриване, където метастабилното състояние предотвратява спонтанната поява на сигнал. Противно на повечето оптични памет

базирани на фотохромни системи, предложената тук дава сигнал, който не може да бъде изтрит спонтанно. Взаимодействието на 4'-хидроксифлавилиума с  $\beta$ -циклодекстрина намалява времето на живот на метастабилното състояние, но за сметка на това увеличава квантовия добив на цис-транс фотоизомеризацията и така увеличава цялосната производителност на процеса, което има връзка с капацитета на модела за оптична памет.

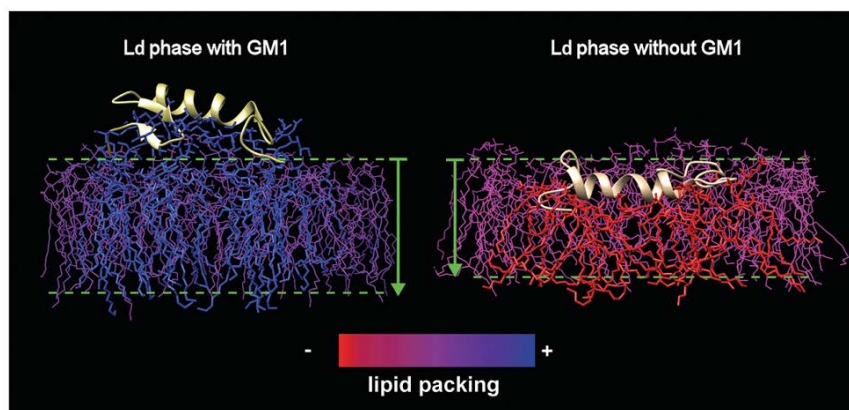
Системата от състояния и химични реакции на антоцианините са биологичен пример, който илюстрира сложността на биологичните системи. Синтетично получените производни на антоцианините, биха могли да играят роля на изкуствени системи, способни да имитират биологичен процес. Образуването на флаванони от 2'-хидроксифлавилиеви съединения е още един пример за възможностите на тези синтетични съединения. Демонстрирахме възможността да има цикличен таймер на молекулярно ниво, управляван от рН манипулации. Тази функция, заедно с тези докладвани по-рано по отношение на оптичната памет, показват потенциала на тези системи, био-вдъхновени от антоцианините [12].



Молекулярните таймери играят важна роля в биологичните процеси чрез регулиране на физиологичните функции по отношение на времето. 2'-Хидроксифлавилиевите съединения могат да се разглеждат като модел, който илюстрира концепцията за таймер на молекулярно ниво с нулиране. Цикълът за определяне на таймера на молекулярно ниво започва с транс халкона (Ct). Таймерът се активира при директен скок на рН от буферен разтвор с рН = 4 до рН = 8. При това рН започва реакцията, която превръща Ct<sup>-</sup> във флаванон. Системата може да бъде заключена чрез обратно връщане до рН = 4,0, което превръща останалите Ct<sup>-</sup> в Ct (флаванонът остава



нереагирал) и съотношението Ct / флаванон зависи от времето, изтекло между етапите на активиране и заключване. Отключването може да бъде постигнато чрез скок на рН от рН = 1,0 до рН = 13,0, който превръща както Ct, така и флаванона в Ct<sup>2-</sup>. Системата може да бъде нулирана за нов цикъл чрез рН скок от рН = 13 до рН = 4. С изключение на „таймер” реакцията, която служи за отчитане на времето, всички останали реакции протичат за времето на смесване на буферните разтвори.



Болестта на Алцхаймер (AD) се характеризира с свръхпроизводство на амилоид- $\beta$  пептид (Ab), който образува фибрили под въздействието на микродомени на салове, съдържащи ганглиозид GM1 [11]. Слой-наподобяващи структурирани течни домейни (Lo), съдържащи GM1, подобряват полимеризацията на амилоид- $\beta$ . Експериментално е установено, че Ab се свързва за предпочитане с фазата на неструктурирани течни домейни (Ld), а не с фазата Lo в присъствието на GM1. Тук е изследвано взаимодействието на Ab (1–42) с GM1-съдържащи двуфазни Lo – Ld гигантски везикули. Експериментите с флуоресцентна колокализация потвърждават, че Ab (1–42) се свързва за предпочитане с Ld фазата. Ефектът на Ab (1–42) върху динамиката на нарастване на Lo-Ld беше изследван с помощта на фотоиндуцирано спинопално разлагане, което имитира нанодомейн-микродомейн сливане на слоеве. Ab влияе върху кинетиката на фазата на грубост и размера на получените микродомейни. Ефектът зависи от това коя фаза е в мнозинство: когато микродомейните Lo се формират в Ld фаза, скоростта им на растеж става по-бавна, а крайният им размер е по-малък в присъствието на Ab (1–42), докато когато Ld микродомейните се формират във фаза Lo, темпът на растеж става по-бърз, а окончателният размер по-голям. Флуориметричните измервания върху големите везикули с помощта на маркера Laurdan показват, че свързването на Ab (1–42) съответно увеличава или намалява компактността на Ld фазата в присъствието или отсъствието на GM1. Съответно

диференциалните ефекти на Аb върху спинодалното разлагане се интерпретират като резултат от различни ефекти на пептида върху напрежението на Lo-Ld линията, модулирано от GM1. Такъв модулиращ ефект на Аb върху динамиката на домейна може да бъде важен за липидните салове при сигнални нарушения при AD, както и при Аb фибриляция.

София, 9.6.2021 г.

1. Stanimirov, S.S., A.A. Trifonov, and I.C. Buchvarov, *Discovering of the L ligand impact on luminescence enhancement of Eu(Dibenzoylmethane)<sub>3</sub>Lx complexes employing transient absorption spectroscopy*. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2021. **258**: p. 119832.
2. Hadjichristov, G.B., et al., *The luminescence response of Eu(III)-thenoyltrifluoroacetate complexes upon preresonant excitation with femtosecond laser pulses*. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2010. **75**(1): p. 448-52.
3. Stanimirov, S., et al., *Synthesis and spectral properties of novel fluorescent poly(oxyethylene phosphate) tris(beta-diketonate) europium (III) complexes*. J Fluoresc, 2009. **19**(1): p. 85-95.
4. Stanimirov, S. and I. Petkov, *Photophysical properties of novel fluorescent poly(oxyethylene phosphate) tris(beta-diketonate) europium (III) complexes*. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2009. **72**(5): p. 1127-33.
5. Saltiel, S.M., et al., *Femtosecond laser spectroscopy of europium complexes in solutions*. 2009. **7501**: p. 750100.
6. Stanimirov, S. and I. Petkov, *Novel pH responsive luminescent poly(oxyethylene phosphate) tris(beta-diketonate) europium (III) complexes*. Cent. Eur. J. Chem., 2008. **6**(3).
7. Stanimirov, S.S., G.B. Hadjichristov, and I.K. Petkov, *Emission efficiency of diamine derivatives of tris[4,4,4-trifluoro-1-(2-thienyl)-1,3-butanediono]europium*. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2007. **67**(5): p. 1326-32.
8. Ivanov, P., et al., *New cyclometalated Iridium(III) beta-dicetone complex as phosphorescent dopant in Organic light emitting devices*. Journal of Physics: Conference Series, 2017. **794**: p. 012021.
9. Ivanov, P., et al., *New yellow-emitting phosphorescent cyclometalated iridium(III) complex*. Journal of Physics: Conference Series, 2012. **398**: p. 012052.
10. Ivanov, P., et al., *Synthesis and photophysical properties of yellow-emitting iridium complexes. Effect of the temperature on the character of triplet emission*. J Fluoresc, 2012. **22**(6): p. 1501-7.
11. Staneva, G., et al., *The Alzheimer's disease amyloid-beta peptide affects the size-dynamics of raft-mimicking Lo domains in GM1-containing lipid bilayers*. Soft Matter, 2018. **14**(47): p. 9609-9618.
12. Slavcheva, S., et al., *On the multistate of 2'-hydroxyflavylium-flavanone system. Illustrating the concept of a timer with reset at the molecular level*. Dyes and Pigments, 2018. **158**: p. 465-473.
13. Petrov, V., et al., *Origin of the metastable stability in flavylium multistate systems*. J Phys Chem A, 2015. **119**(12): p. 2908-18.
14. Stanimirov, S.S. and Z.A. Velkov, *STUDY OF RADICAL-SCAVENGING ACTIVITY*. Chemistry: Bulgarian Journal of Science Education, 2013. **22**(3): p. 6.

15. Petrov, V., et al., *Emptying the beta-cyclodextrin cavity by light: photochemical removal of the trans-chalcone of 4',7-dihydroxyflavylium*. J Phys Chem A, 2013. **117**(41): p. 10692-701.
16. Deligeorgiev, T., T. Tsvetkova, and S. Stanimirov, *Synthesis of novel water-soluble fluorescent coumarins bearing sulphonic and hydroxyl groups*. Coloration Technology, 2011. **127**(6): p. 434-439.