

Авторска справка за приносния характер на научните трудове на гл. ас. д-р
Стела Минковска-Додова, Институт по катализ, БАН /за участие в
конкурса за “доцент” (ДВ бр. 68/02.08.2013)

Справката е съставена върху 15 научни съобщения [1-15], 2 устни доклада и 15 постерни съобщения на национални и международни научни конференции. 11 от представените научни съобщения са публикувани в индексирани от SCOPUS списания, а една е изпратена за публикация. Към момента на подаване на документите за конкурса са регистрирани 113 цитата върху 10 от публикациите, като 39 от тях са с *response factor* $\tau_1 \leq 1.5$ [год]. Като приложение е включен автореферата за придобиване на образователната и научна степен “доктор” [a1]. Част от резултатите от изследванията са включени в 4 дипломни работи и две дисертации и са популяризирани пред научната общност с 3 поканени лекции, 2 доклада и 15 постерни съобщения на международни и национални научни конференции.

Справката очертава *пет основни научни направления*:

1. Синтез на нови фото- и термохромни съединения с потенциални възможности за комплексообразуване и охарактеризиране на съединенията със съвременни методи за анализ.
2. Фотохимични изследвания на синтезираните нови съединения в разтвор и йонни течности. Определяне на основните параметри, които дават оценка за ефективността на фотохромното превръщане.
3. Термохромни изследвания на серия нови спирооксазини и определяне на основните термодинамични характеристики на равновесието между затворената спироциклична (SO) и отворената мероцианинова форма (MC).
4. Комплексообразователни свойства на синтезираните нови съединения от спирооксазинов тип и съединението от диарилетенов тип.
5. Биологични приложения на багрилата и биофилмите.

Основните приноси от научната дейност на гл. ас. д-р Стела Минковска могат да бъдат изложени накратко по следния начин:

- 1. Приноси в областта на синтеза на нови фотохромни съединения с потенциална възможност за комплексообразуване и тяхното структурно охарактеризиране [3,8,11,12,14,к3,к4,к6,к13,к17,a1].**

Съществено място в съвременните технологии заемат химични и фотохимични процеси, основани на вътрешномолекулни трансформации, от особен интерес сред които са фотохромните превръщания. Уникалните възможности за практическо приложение на фотохромните превръщания в оптичния запис и съхраняване на информация, за оптични превключватели, дисплеи, динамични биосензори, в системи за акумулиране на слънчева енергия, в катализа, оптичната електроника и биоелектроника, както и във фотосоларната и нелинейната оптика, налагат конкретни изисквания към тяхната структура, което се постига с насочен синтез на съединения с очаквани свойства.

1.1. Чрез насочен синтез са синтезирани едно незаместено съединение от спирооксазинов тип (моделно съединение) и 9 нови спиронафтоксазина с различни заместители в индолиновия и нафтоксазиновия фрагмент [3,8,к4,к6,к7]. Важно място

при насочения синтез на спирооксазините има предварителното модифициране на двата фрагмента на молекулата. Заместителите в оксазиновата част оказват влияние на фотохромните и термохромните свойства на спирооксазините, а тези в индолиновата част подобряват тяхната разтворимост, сродство към полимерни матрици и фотоустойчивост. Синтезираните спирооксазини съдържат -ОН, -ОСН₃, и бензотиазолиллов заместител в спирооксазиновата част на молекулата, което ги прави потенциални комплексообразуватели. Съединенията са модифицирани в индолиновата част на молекулата, -СН₃ групата при -N имино атом е заменена с -С₄Н₉, което подобрява разтворимостта на съединенията в неполярни разтворители. Други две заместени съединения съдържат нафталенов цикъл, кондензиран с бензеновото ядро, който оказва влияние върху тяхните спектрално-кинетични свойства [3,к4,кб]. Спирооксазините с бензотиазолиллов заместител бяха модифицирани в индолиновата част на молекулата, чрез въвеждане при -N имино атом на естер и карбоксилова киселина [8, к12]. От всички синтезирани нови съединения, единствено спирооксазина, съдържащ заместител естер при -N имино атом беше получен в кристално състояние, подходящ за кристалографски изследвания. С помощта на рентгенова кристалография експериментално беше установено, че молекулата на съединението се състои от два хетероцикленни фрагмента, индолинов и нафтооксазинов, свързани със спиrowъглероден атом в тетраедрична sp³ хибридизация, така че двата фрагмента в изходната затворена спирооксазинова (SO) форма са ортогонални един на друг, доказано с интерпланарния ъгъл (88.71°). Спиrowъглеродният атом от индолиновата част е извън равнината и индолиновата група е спрегната по отношение на кислородния атом от оксазиновия пръстен. Дължината на спиро връзката C_{спиро}-O е 1.468(2) Å, слабо удължена спрямо данните от литературата за подобни съединения и това се потвърждава от разцепването на спиrowръзката причинено от аномерен ефект. Взаимната перпендикулярност на индолиновата и нафтоксазиновата част на молекулата обуславя ортогоналност на техните π-електронни системи, което дава основание в първо приближение оптичните свойства на двете части на молекулата на спирооксазина да се считат за независими. Оксазиновият пръстен не е в квадратно-планарна конформация. Бензотиазолилловата група е копланарна спрямо нафтоксазиновия пръстен. Получаването в кристална форма на едно от синтезираните съединения от спирооксазинов тип ни даде възможност експериментално да потвърдим структурата на синтезираните от нас съединения. Съединенията са охарактеризирани с елементарен и ¹H-ЯМР анализ. Всички съединения са получени с 99% чистота за приложение във фотохимичните изследвания. Добивите на синтезираните спирооксазини са между 10 и 35%.

1.2. Синтезирано е едно ново спироциклично съединение от спиропиранов тип, съдържащо карбоксилна група, непосредствено до спиrowъглеродния атом с потенциални възможности за комплексообразуване. Съединението е охарактеризирано с елементарен анализ, ¹H-ЯМР анализ и ¹³C-ЯМР. Добивът на чистия продукт е 75%. Изследвани са солватохромните свойства на съединението в разтворители с различна полярност [12, к13].

1.3. Синтезирано е ново съединение от диарилетенов тип, (1,2- бис[2- метил -5-(1,10-фенантролин- 2 -ил)- 3- тиенил]хексафлуороциклопентен, съдържащо 1,10-фенантролинов заместител като хелатен агент в двата края на молекулата с удължаване на конюгацията, когато преобладава затворената форма **1C**, получена при облъчване на отворената форма **1O**. Безцветната отворена форма **1O** е получена с добив 21%. Съединението е охарактеризирано с ¹H-ЯМР анализ, ИЧ и масспектрален анализ [11].

Като обобщение: разширени са границите на приложимост на известни синтетични методи, като са получени нови функционални заместени фотохромни съединения от

спиропиранов, спирооксазинов и диарилетенов тип с различни заместители в основната структура на молекулата. Получените нови фотохромни съединения са използвани за по-нататъшни изследвания. В сътрудничество с колеги от Университета в Дъблин (Dublin City University, Ирландия) и от университета в Йокохама, Япония (Yokohama National University) синтезираните съединения са охарактеризирани със съвременни техники за анализ.

2. Приноси в областта на свойствата на получените нови фотохромни съединения, солватохромизъм и кинетични изследвания [2,4,8,9,10,11,к4,к6,к13].

Основните параметри, които дават оценка за ефективността на фотохромното поведение на синтезираните съединения са: обратимост на фотохромното превръщане, скорост на спонтанното обезцветяване, положение и интензитет на видимата абсорбционна ивица на отворената цветна форма, а също и т. нар. умора - продължителност на облъчването, при което изходната абсорбция се понижава наполовина. Този параметър дава представа за броя на циклите, в които фотохромното съединение може да участва и е важен за неговото практическо приложение.

2.1. Фотохимични изследвания в разтвор.

2.1.1. Фотохимични изследвания на синтезираните нови спирооксазини в разтвор [2,4,8,к4,к6].

Изследванията на фотохромизма на синтезираните спирооксазини са проведени при облъчване с УВ светлина в разтворители с различна полярност. В полярна среда в спектрите на всички изследвани съединения се наблюдава и видима абсорбционна ивица между 590 и 660 nm, която се дължи на частичното им превръщане в отворената мероцианинова форма под действие на полярния разтворител. В полярни разтворители за всички съединения е характерно батохромно отместване на видимата абсорбционна ивица, положителен фотохромизъм. Това показва, че тези разтворители по-добре стабилизират възбуденото състояние на цветната форма отколкото основното, тъй като основното състояние на молекулата на фотомероцианина е по-слабо полярно от възбуденото и има конфигурация по-близка до хиноидната структура, а възбуденото - до цвистерийонната.

Важна характеристика на отворената мероцианинова форма на спиронафтоксазините е интензитетът на нейното оцветяване, който се представя с т. нар. "цветност" (colourability). Нейната стойност зависи от ϵ на видимата абсорбционна ивица и от квантовия добив Φ_c на реакцията на фотооцветяване. Всички изследвани съединения се характеризират с висок интензитет на оцветяването на техните мероцианинови форми във всички изследвани разтворители, която за едно от съединенията в етанол достига до 8.45×10^4 .

Получените резултати за заместените спирооксазини, сравнени с резултатите за незаместеното съединение показват, че заместителите и смяната на разтворителя дават възможност да се регулират спектрално-кинетичните свойства на изследваните фотохромни съединения така, че времето на живот на фотомероцианиновата форма да варира в широки интервали от 2 до 125 секунди. Резултатите, получени за тмс-50 показват, че неполярните разтворители нивелират ефекта на заместителите и данните за времето на живот на МС форма на всички заместени съединения в тях са практически еднакви. В полярни разтворители влиянието на заместителите върху тмс-50 се проявява

отчетливо и най-силно в етанол. В този разтворител времето на живот на отворената мероцианинова форма за незаместеното съединение е 2 секунди, а за съединенията с бензотиазолилов заместител в нафтоксазиновата част и нафталенов цикъл, кондензиран с бензеновото ядро в индолиновата то е 125 секунди. Съчетаването на ефекта на бензотиазолиловия заместител в нафтоксазиновия фрагмент с този на нафталеновия цикъл, кондензиран с бензеновото ядро в индолиновия, затруднява свободната ротация при рециклизацията на молекулата и значително удължава времето на живот на отворената ѝ цветна форма. Така със смяна на разтворителя и подходящи заместители, може да се регулира времето на живот на отворената цветна форма, което е от значение за приложението на съединенията в практиката. Като правило заместителите оказват по-силно влияние върху фотохромните свойства на съединенията, отколкото разтворителя, което доказва необходимостта от синтеза на нови съединения с предварително зададени свойства.

Проведените изследвания във връзка с устойчивостта на синтезираните съединения към фоторазрушаване показваха, че спирооксазините могат да участват от 2000 до 4000 фотохромни цикъла, което е предимство на спирооксазините пред останалите фотохромни съединения и ги поставя в едно от първите места по интерес от гледна точка на приложение в практиката.

2.1.2. Фотохимични изследвания на съединението от диарилетенов тип (1,2-бис[2-метил-5-(1,10-фенантролин-2-ил)-3-тиенил]хексафлуороциклопентен) [11].

Фотохимичната реакция на съединението от диарилетенов тип е изучена в разтворители с различна полярност. Установено е, че съединението проявява обратим фотохромизъм при алтернативни цикли на облъчване във всички разтворители. Определени са конверсионното съотношение, коефициента на моларна абсорбируемост на затворената цветна форма (**1C**), изолирана с флаш хроматография. Стойността на квантовия добив на фотохимичната реакция на затваряне на пръстена (0.75) при 366 nm облъчване е много по-голяма, в сравнение с намерената стойност на квантовия добив на отваряне на пръстена, съответно 0.0066, на което се дължи високата стойност на степента на превръщане на затворената цветна форма при облъчване.

2.1. Фотохимични изследвания на спирооксазините в йонни течности [9,10,к11,к14].

Огромният интерес към йонните течности в последните години се определя от техните уникални свойства: пренебрежимо ниско парно налягане, ниски температури на топене, широк температурен диапазон, в който те се намират в течно състояние, термо- и електрохимична стабилност, висока йонна проводимост и др. Този клас съединения е обособен в отделно направление в т.нар. зелена химия. През последните години йонните течности, наречени още “моделируеми разтворители” – успешно заместват традиционните органични разтворители в процесите на био- и химичен катализ, използват се като електролити за батерии и соларни клетки, като екстрагенти за екстракция, като биоциди и в още много сфери на научната дейност и в индустрията. За първи път е проведено системно изследване на свойствата на съединения от спиропиранов и спирооксазинов тип в йонни течности, съдържащи $[NTf_2]^-$ анион, като са определени кинетичните и термодинамичните параметри на термичното равновесие. Наблюдаваната термична релаксация на спирооксазина в йонни течности е по-бавен процес отколкото в молекулни разтворители с подобна полярност, което показва висока

степен на взаимодействие между йонните течности и цвтерйонните изомери **MC**, водещо съответно до увеличаване на времето на живот за цветните **MC**-йонни комплекси (19.6 s в ацетонитрил и 90.9 s в йонни течности). Получените термодинамични параметри за процеса на релаксация **MC**→**SO** зависят в по-голяма степен от температурата в полярни протонни йонни разтвори, отколкото в апротонни йонни разтвори. Установено е, че активиращата енергия има по-високи стойности в йонните разтвори в сравнение с молекулните разтвори, поради което времето на живот на мероциановата форма е по-голямо. Това се дължи на по-голямата енергетична бариера на релаксация на отворената цветна мероцианова форма до затворена безцветна спирооксазинова форма. Приложението на йонните течности като разтворители е важно за приложението на спиропираните и спирооксазините, тъй като те позволяват да се регулира времето на живот на отворената мероцианинова форма.

Предложен е метод за изследване на наноструктурните полярни и неполярни части в йонните течности на основата на имидазол с помощта на фотохромни багрила (спиропиран и спирооксазин). Експериментално са изследвани промените в техните термодинамични и кинетични параметри в зависимост от дължината на въглеродородната част на имидазолиевия катион на йонните течности. Показано е, че от двете спироциклични фотохромни съединения съединението от спиропиранов тип е по-добър индикатор, с ясно изразени линейни зависимости на повечето параметри от дължината на веригата. Сравнението на скоростните константи на релаксация на спиропирана в различни разтворители – етанол и ацетон от една страна и имидазолиевите от друга, показва ясна тенденция към увеличение на константите на релаксация, както при преминаване от полярни към неполярни, така и при самите полярни в случай на увеличаване на дължината на веригата в неполярната им част на имидазолиевия катион. Линейно увеличение се наблюдава и на ентропията и активиращата енергия. Намерено е, че константите на равновесие нарастват по отношение увеличаване на дължината на катионната веригата на йонните течности и за спиропирана и спирооксазина. Това предполага, че спироцикличните съединения съществуват в по-голяма степен в спироцикличната си форма във всяка от йонни течностите, отколкото в мероцианиновата. Термодинамичните параметри ΔS° , ΔH° , ΔG° , не успяха да дадат ясна връзка за скоростта на термична релаксация, което показва, че сложността на йонните течности сами по себе не позволяват да се отчете допълнителното взаимодействие.

Част от резултатите, получени при изследване на свойствата на спиропираните и спирооксазините в йонни течности са включени в дисертационния труд на д-р Саймон Колеман от Dublin City University с ръководител, професор Дермот Даймонд.

3. Термохромни изследвания на синтезираните съединения и определяне на основните термодинамични характеристики на равновесието между затворената спироциклична и отворената мероцианинова форма [15,к15,к17].

Термохромните свойства на пет от синтезираните нови съединения от спирооксазинов тип с различни заместители са изучени в разтворители с различна полярност. Съединенията са поляризуеми, което води до равновесие между тяхната затворена и отворена форма в интервала от изследвани температури (20-60 °C) в отсъствие на светлина. Термичното равновесие между основното заселено състояние на безцветната и цветната форма зависи както от полярността на разтворителя, така и от природата на заместителя. Концентрацията на отворената форма нараства с нарастване на полярността на разтворителя. Определени са термодинамичните характеристики на

равновесието между затворената спироциклична и отворената **МС** форма в ацетон на съединенията с бензотиазолилов заместител. Установено е, че отварянето на спироцикличния пръстен не е спонтанна реакция, като за положителните стойности на ΔG° допринасят както положителните промени в енталпията, така и отрицателните стойности на ΔS° , дължащи се на по-добрата подреденост на разтворителя около отворената полярна **МС** форма, отколкото около изходната спироциклична форма.

4. Комплексообразователни свойства на незаместеното съединение и синтезираните нови съединения от спирооксазинов тип. Комплексообразователни свойства на съединението от диарилетенов тип [2,5,6, 11,к1,к2,к3,к5,к7,к12,к15].

4.1. Фотохимични свойства на незаместения 1,3,3-триметилспиро [индолино-2,3'-[3Н]-нафто-[2,1-b] [1,4]оксазин] (0) в присъствие на йони на преходни метали [2].

Установено е, че незаместеният спирооксазин не проявява склонност към комплексообразуване и имино азотният атом на 1' място в нафтоксазиновата част не участва в координация. При продължително облъчване на разтвора (от 5 до 30 минути) в присъствие на Cu(II), Fe(III) или Cr(III) се получават странични силно флуоресциращи продукти, трайни неограничено дълго време. Спектрите, записани периодично при съхраняване на облъчените разтвори за няколко седмици на тъмно показваха, че фотопревръщането на незаместения спирооксазин е необратимо. Необратимото образуване на фотопродукти с такава абсорбция е типично за спирооксазини и появата им в облъчения разтвор се обяснява с разрушаване на спирооксазина чрез фотоокисление с кислорода на въздуха, катализирано от металните йони. Природата на получените продукти е обстойно изследвана и механизма на фотоокислението е описан в литературата. Характерна особеност на получените необратими фотопродукти е наблюдаваната от нас интензивна жълта флуоресценция, която е цитирана в литературата като първия случай на стабилна флуоресценция след продължително облъчване с УВ светлина на незаместеното съединение в присъствие на йони на преходни метали. Флуоресцентният квантов добив ($0.23 \pm 0.58 \text{ mol/einstein}$) е изчислен спрямо флуоресцеин.

4.2. Изследване на комплексообразователните свойства на синтезираните нови заместени съединения от спирооксазинов тип [5,6,к1,к2,к3,к5,к7,к12,к15].

Цветните свойства и времето на живот на отворената **МС** форма, което е важно за приложение на фотохромните съединения в практиката могат да се регулират както бе отбелязано в 2.1. чрез средата (разтвор или твърда матрица), поляриността на разтворителя и др. Съществена възможност за такова регулиране дава комплексообразуването с метални йони. Синтезираните спирооксазини съдържат -ОН, и съответно бензотиазолилов заместител в нафтоксазиновата част, подходящо разположени спрямо кислородния атом от спировръзката, което дава възможност за комплексообразуване на отворената им цветна **МС** форма с образуване на стабилен 5- или 6- членен хелатен цикъл. Проведено е системно изследване върху комплексообразуването на 6 нови съединения от групата на спироиндолинонафтоксазините, което ги описва от кинетична, термодинамична и структурна гледна точка и постига висока ефективност на фотохромното превръщане (квантов добив на фотохимичната реакция $0.75-0.90 \text{ mol/einstein}$). Като

комплексообразуватели са изследвани йони на преходни метали: Cr(III) (d^3), Mn(II) (d^5), Fe(III) (d^5), Fe(II) (d^6), Co(II) (d^7), Ni(II) (d^8), Cu(II) (d^9), Zn(II) (d^{10}) и йони с конфигурация на благороден газ: Al(III), Ba(II), Mg(II) и Sr(II). При облъчване с УВ светлина, съединенията, съдържащи -ОН заместител в орто положение спрямо пиранилния O атом, образуват комплекси с Al(III), Cu(II) и Fe(II), а тези с бензотиазлиллов заместител – с Co(II), Ni(II) и Zn(II) в полярна среда. В зависимост от природата на металния йон и полярността на разтворителя е създадена възможност за регулиране на времето на живот на цветната форма от 2 секунди до 42 минути. Установено е, че в полярни разтворители изследваните спирооксазини частично преминават в отворената си цветна форма и на тъмно, поради което макар и бавно, комплексообразването в тях протича и без облъчване. Скоростопределящ етап на реакцията в този случай е отварянето на спироцикличния пръстен. Кинетичните данни, получени за отварянето на този пръстен и за спонтанната рециклизация на молекулата след фотолиза показват, че те се подчиняват на кинетично уравнение на реакция от първи порядък. Определени са скоростните константи на двата процеса и от тяхното отношение е намерена константата на равновесие между спирооксазиновата и мероцианиновата форма в добро съответствие с данните от термодинамичните изследвания.

4.2. Комплексообразователни свойства на 1,2-бис [2-метил-5-(1,10 фенантролин -2-ил)-3-тиенил] хексафлуороциклопентан [11,к16].

Изследвана е комплексообразователната способност на фенантролиновата част на молекулата на синтезираното ново съединение от диарилетенов тип 1,2-бис [2-метил-5-(1,10 фенантролин-2-ил)-3-тиенил] хексафлуороциклопентен, съдържащ 1,10 фенантролин на двата края на молекулата като хелатен агент с Fe (II), Fe (III), Cu (II), Cu(I), Ni (II) и Zn (II) в хлороформ и ацетонитрил в съотношение 1:1, 1:2 и 1:10, съотношение лиганд:метал. Видимата абсорбционна ивица на **1O** формата при облъчване с УВ светлина в присъствие на тези йони остава непроменена с изключение на Cu(I). При облъчване на **1O** в присъствие на един еквивалент на Cu(I) се наблюдава нова интензивна абсорбционна ивица, батохромно отместване спрямо ивицата на **1C** формата, дължаща се на образувания комплекс. Установено е, че от всички изследвани метални йони стабилен комплекс се образува само с Cu(I), т.е. синтезираното съединение е селективен комплексообразувател. Изолиран е комплекс на **1O** с Cu(I) в твърдо състояние с висок добив. С ^1H ЯМР, ИЧ, МС и УВ спектроскопия е охарактеризиран получения комплекс. За определяне на състава на комплекса с Cu(I) е използван метода на изомоларната серия. За отворената и затворената форма на съединението съответно **1O** (376 nm) и **1C** (363 nm) в ацетонитрил е установено, че състава на комплекса е 1:1. С помощта на DFT (Density Functional Theory) изчисления е намерено, че комплекса има тетраедрална структура.

5. Биологични приложения на багрилата и биофилмите [7,13,к8,к9,к10].

Съвместно с колеги от Университета в Букурещ са получени и охарактеризирани с физични и химични методи биофилми с възможност за вграждане в жив организъм. Изготвени са трикомпонентни биофилми на основата на поливинил алкохол, хидроксиапатит и колаген гел. Те са изследвани с помощта на Фурие-трансформации, инфрачервена спектроскопия, определяне на контактния ъгъл, измерване на грапавост и изследване жизнеността на fiberblast (протеинови) клетки в зависимост от съдържанието на хидроксиапатит в полимерната матрица. Подобни биофилми биха

намерили широко приложение за покритие на метални импланти, за транспорт на лекарства, за използване като основа за полиферация на клетки в живи биологични системи, за цитотоксични тестове.

Публикуваният обзор за флуоресцентно маркиране на протеини – едни от важните макромолекули е полезен, защото показва възможностите на тази нова и перспективна технология. Тя отваря нови възможности за приложение на други перспективни техники, например имунофлуоресценцията, флоуцитометрията, флуоресцентната микроскопия и показва нейните предимства, голяма разделителна способност и добра чувствителност.

27.07.2013 г.
София

Изготвил справката:
/гл. ас. д-р Стела Минковска/