



ХИМИКОТЕХНОЛОГИЧЕН И МЕТАЛУРГИЧЕН УНИВЕРСИТЕТ

ФАКУЛТЕТ ПО ХИМИЧНИ ТЕХНОЛОГИИ

КАТЕДРА „ОРГАНИЧЕН СИНТЕЗ”

инж. Венцислав Венелинов Баков

ДИСЕРТАЦИЯ

на тема

„Синтез и фотофизично изследване на нови флуоресцентни сензори, базирани на 1,8-нафталимидни архитектури“

за придобиване на образователната и научна степен „доктор”
по научна специалност 5.10. Химични технологии
(Технология на финия органичен и биохимичен синтез)

Научен ръководител:

доц. д-р инж. Николай Георгиев

София, 2023 г.

Съдържание:

I.	Въведение	4
II.	Литературен преглед	6
1.	Луминесценция	6
2.	Оптични молекулни сензори	13
2.1.	Вътрешно молекулен пренос на заряд (ВПЗ) и оптични молекулни сензори базирани на вътрешно молекулен пренос на заряд	16
2.2.	Усукан вътрешно молекулен пренос на заряд (УВПЗ) и оптични молекулни сензори базирани на усукан вътрешно молекулен пренос на заряд	21
2.3.	Фотоиндуциран електронен трансфер заряд (ФЕТ) и оптични молекулни сензори базирани на фотоиндуциран електронен трансфер	24
2.4.	Енергиен трансфер и оптични молекулни сензори базирани на енергиен трансфер	27
2.4.1.	Тривиален енергиен трансфер	27
2.4.2.	Резонансен енергиен трансфер	27
2.4.2.1.	ФРЕТ-сензори базирани на промяната в разстоянието между донор и акцептор ...	28
2.4.2.2.	ФРЕТ-сензори базирани на приближаването на флуорофорите един към друг	30
2.4.2.3.	ФРЕТ-сензори базирани на промяна в спектралното припокриване между донора и акцептора	30
2.5.	Емисия вследствие на агрегация (ЕСА) и оптични молекулни сензори базирани на емисия вследствие на агрегация	31
2.6.	Сензори базирани на измервания, при които се използва съотношението на интензитета на флуоресценция при две различни дължини на вълните	34
2.6.1.	Рейшиометрични сензори базирани на вътрешномолекулен пренос на заряд	35
2.6.2.	Рейшиометрични сензори базирани на емисия вследствие на агрегация	36
2.6.3.	Рейшиометрични сензори базирани на резонансен енергиен трансфер	37
3.	Молекулни логически устройства	38
4.	1,8-нафталимидите като молекулни сензори	41
4.1.	Приложение във ВПЗ системи	43
4.2.	Приложение в УВПЗ системи	45
4.3.	Приложение във ФЕТ системи	46
4.4.	Приложение във ФРЕТ системи	49
4.5.	Приложение в ЕСА системи	51
5.	Заключение	59

III.	Цели на дисертационния труд	60
IV.	Резултати и обсъждане	61
1.	Изследване на 1,8-нафталимидни ФЕТ-системи с емисия в твърдо състояние	61
1.1.	Производни на 1,8-нафталимида с „горен” и „долен” рецептор	61
1.1.1.	Производни на 1,8-нафталимида с „горен” рецептор	62
1.1.1.1.	Дизайн и синтез на 1,8-нафталимида с „горен” рецептор	62
1.1.1.2.	Сензорни свойства на производни на 1,8-нафталимида с „горен” рецептор	63
1.1.2.	Производни на 1,8-нафталимида с „долен” рецептор	72
1.1.2.1.	Дизайн и синтез на производни на 1,8-нафталимида с „долен” рецептор	72
1.1.2.2.	Сензорни свойства на 1,8-нафталимидни производни с „долен“ рецептор	74
1.1.3.	Производни на 1,8-нафталимиди с „горен“ тетраметилпиперидинов рецептор	77
1.1.3.1.	Дизайн и синтез на 1,8-нафталимиди с „горен“ тетраметилпиперидинов рецептор	77
1.1.3.2.	Сензорни свойства на 1,8-нафталимиди с „горен“ тетраметилпиперидинов рецептор.....	78
2.	Производни на 1,8-нафталимида базирани на вътрешномолекулен пренос на заряд (ВПЗ).....	84
2.1.	Дизайн и синтез на 1,8-нафталимидни производни базирани на ВПЗ	84
2.2.	Сензорни свойства на 1,8-нафталимидни производни базирани на ВПЗ	86
3.	Водоразтворими производни на 1,8-нафталимида	91
3.1.	Дизайн и синтез на водоразтворими производни на 1,8-нафталимида	91
3.2.	Сензорни свойства на водоразтворими производни на 1,8-нафталимида	92
3.2.1.	Сензорни свойства на съединение 28	92
3.2.2.	Сензорни свойства на съединение 31	97
3.2.3.	Сензорни свойства на съединение 32	102
V.	Изводи и научни приноси.....	108
VI.	Експериментална част	110
6.1.	Използвани материали и разтворители	110
6.2.	Методи и апаратура	110
6.3.	Синтези	111
VII.	Литературни източници	121
	Списък на научните публикации на инж. Венцислав Баков включени в дисертационния труд	134
	Списък на забелязаните цитати върху публикациите, включени в дисертационния труд	135

I. Въведение

Сферата на приложение на молекулните сензори е изключително широка. На практика всяка природна или синтетична молекула в заобикалящата ни среда трябва да бъде анализирана, а процесите в които тя участва - проучени. Съществува нарастваща нужда за контрол и мониторинг на огромен набор съединения в околната среда, особено на тези, свързани със замърсяването. Новосинтезираните съединения трябва да бъдат изследвани и селектирани като потенциални биологично активни вещества или като неефективни или опасни съединения. Необходимо е да се избере правилен подход за получаване на необходимата информация и този подход все по-осезаемо се съсредоточава в употребата на молекулни сензори.

Флуоресцентната спектроскопия е особено важна за конструиране на сензори. Тя се характеризира с много висока чувствителност и бърз сигнал, който често може да бъде разчетен дори с просто око. Най-голямото ѝ предимство е възможността тя да бъде прилагана в най-разнообразни системи благодарение на практически безкрайния набор от флуоресцентни молекулни сензори, които могат да се синтезират. Освен за детекция на химически агенти в твърда, течна и газообразна фаза тя може да бъде прилагана и в живи организми за следене на процеси или анализ на определени характеристики на живата среда. Това е възможно благодарение на факта, че флуоресцентният сигнал може да бъде регистриран от разстояние чрез неинвазивни техники.

Конструирането на флуоресцентни сензори е базирано на използването на процеси, които вследствие на междумолекулно взаимодействие на рецептора с мишената променят свойствата на сензора в широк диапазон. При това става възможно преминаването му между „изключено” и „включено” състояние и/или обратно. Такива процеси са фотоиндуциран електронен трансфер (ФЕТ), вътрешномолекулен пренос на заряд (ВПЗ), усукан вътрешномолекулен пренос на заряд (УВПЗ) и флуоресцентен резонансен енергиен трансфер (FRET).

Особено атрактивно е използването на няколко стратегии за сензорен дизайн в една молекула, което води до получаването на „интелигентни сензори”, различаващи една измежду много специфични мишени, или даващи сигнал само при наличието на определена комбинация от мишени.

Обикновено традиционните органични флуорофори осигуряват високи квантови добиви само в разредени разтвори, докато тяхната флуоресценция е до голяма степен отслабена при високи концентрации поради феномена на агрегационно гасене (АГ), което

води до безизлъчвателна дезактивация. Това значително ограничава практическото им приложение като хемосензорни материали. По този начин разширяването на принципите на молекулните сензори от разтвор към твърда фаза в момента е основен приоритет. Етап в тази посока е разработването на различни полимери и наночастици с ковалентно свързани хемосензорни флуорофори. Ковалентното свързване обаче изисква допълнителни синтетични стъпки, което е сериозен недостатък. Алтернативен подход за проектиране на твърди флуоресцентни сензорни материали се основава на емисията вследствие на агрегация (ЕСА).

От друга страна, способността на флуоресцентните сензори да превключват между „включено“ и „изключено“ състояние допуска те да бъдат разглеждани и като бинарни елементи, което позволява да се направи връзка между молекулите и програмирането - Молекулната логика.

Успехът на молекулните сензори сигурно нямаше да е толкова впечатляващ ако не беше изключителното разнообразие от флуоресцентни молекули, което позволява конструирането и прилагане на сензори за най-различни среди, условия и мишени. Един такъв пример са базираните на 1,8-нафталимид флуорофори. Притежаващи отлични флуоресцентни характеристики и висока светлостабилност, тези молекули са традиционно прилагани като багрила за полимерни и текстилни материали от десетилетия.

Във основа на гореизложеното си поставихме за цел дизайн, синтез и изследване на 1,8-нафталимидни сензорни архитектури опериращи едновременно посредством емисия в твърдо състояние и ФЕТ, ЕСА и ВПЗ, както и синтез и изследване на нови водоразтворими сензорни 1,8-нафталимидни.

II. Литературен преглед

1. Луминесценция

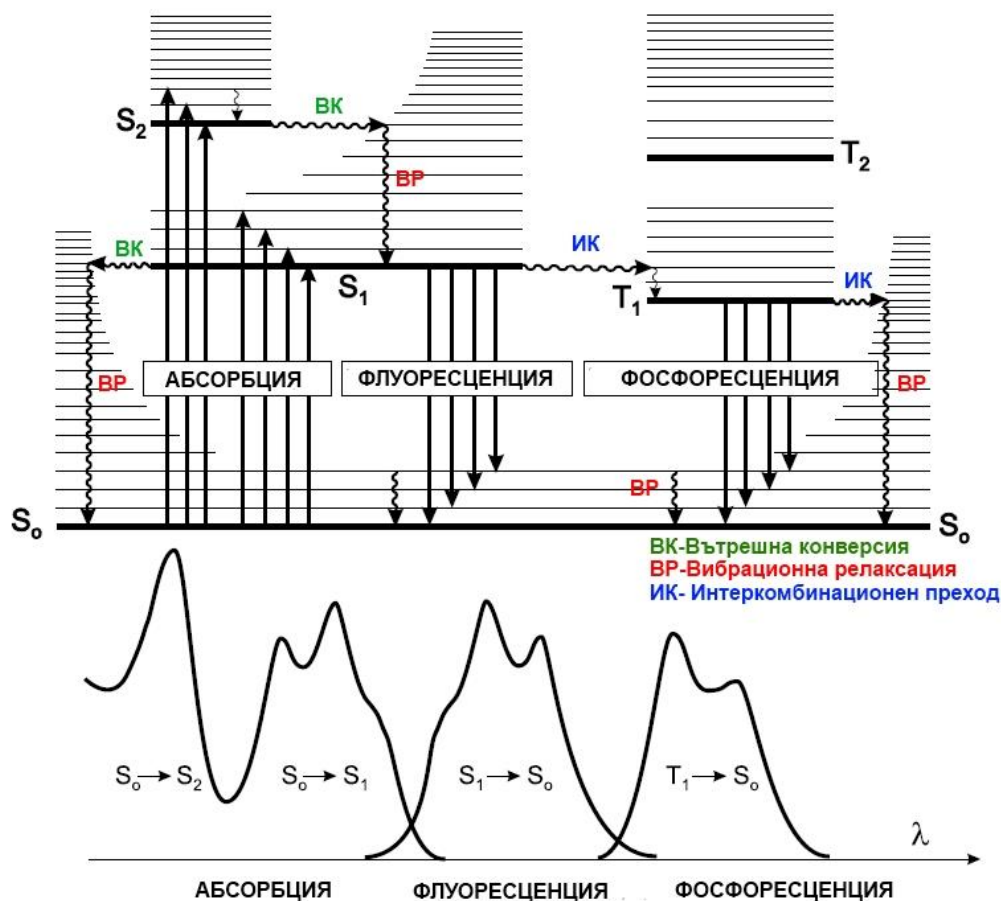
Луминесценция е общото наименование на явлението, при което се наблюдава емисия на фотони от атоми, молекули или йони във възбудено състояние, вследствие на което частиците се връщат в основно състояние [1]. Луминесценцията винаги е предшествана от преминаване на емитиращата частицата във възбудено състояние [2].

Луминесценцията се класифицира според източника на възбуждане. В **Таблица 1** са представени различните видове луминесценция [3]:

<i>Вид луминесценция</i>	<i>Източник на възбуждане</i>
Фотолуминесценция (флуоресценция, фосфоресценция)	Абсорбция на светлина (фотони) от UV- и Vis- област
Радиолуминесценция	Рентгенови лъчи (α -, β -, γ - и рентгенови лъчи)
Катодолуминесценция	Катодни лъчи (сноп от електрони)
Електролуминесценция	Електрически ток
Термолуминесценция	Нагриване
Хемилуминесценция	Химична реакция
Биолуминесценция	Биохимична реакция
Триболуминесценция	Енергия, отделена при разрушаване на кристали
Сонолуминесценция	Ултразвук

Таблица 1: Видове луминесценция

Процесите, които настъпват при абсорбция и емисия на светлина се илюстрират от диаграмата на Яблонски (**Фигура 1**).



Характеристични времена
Абсорбция 10^{-15} s
Вибрационна релаксация $10^{-12} - 10^{-10}$ s
Продължителност на живота на възбуденото състояние $10^{-10} - 10^{-7}$ s • Флуоресценция
Интеркомбинационен преход $10^{-10} - 10^{-8}$ s
Вътрешна конверсия $10^{-11} - 10^{-9}$ s
Продължителност на живота на възбуденото състояние $10^{-6} - 10$ s • Фосфоресценция

Фигура 1: Диаграма на Яблонски. Илюстрация на процесите на взаимодействие на молекулата със светлината и техните характеристични времена. Относителните позиции на спектрите на абсорбция, флуоресценция и фосфоресценция.

В една молекула атомите са свързани помежду си чрез σ и π връзки, които се образуват при припокриване на атомните орбитали и формиране на молекулни орбитали. При обикновени условия електроните от свързващите молекулни орбитали се намират в основно синглетно състояние или ниво S_0 . Всяко електронно ниво се състои от вибрационни поднива (ν_0, ν_1, ν_2). В основно състояние електроните се намират на нулевото вибрационно подниво (ν_0) на ниво S_0 .

В зависимост от структурата на молекулата и изграждащите я атоми, електроните, които участват в електронния преход могат да са σ , π или n . Орбиталата, на която се разполага електронът, може да бъде антисвързваща σ^* или π^* орбитала. Енергията на възможните електронни преходи нараства в следния ред:

$$n \rightarrow \pi^* < \pi \rightarrow \pi^* < n \rightarrow \sigma^* < \sigma \rightarrow \pi^* < \sigma \rightarrow \sigma^*$$

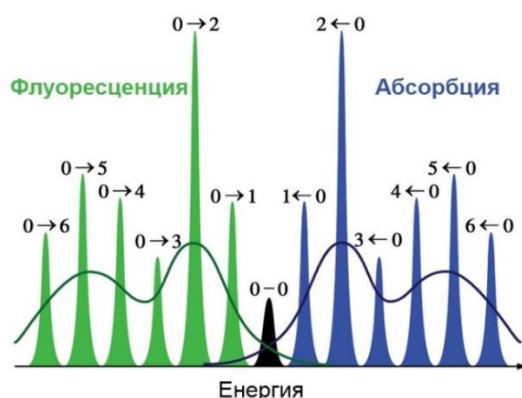
Енергията необходима за осъществяване на преходи на σ електрони е много голяма и е от диапазона на далечната УВ област. За $n \rightarrow \pi^*$ и $\pi \rightarrow \pi^*$ преходите е необходима значително по-малко енергия и близката УВ и видима светлина са достатъчни за тях. Освен това, ако π електроните участващи в преход са част от делокализирана спрегната система, енергията на прехода намалява и колкото по-голяма е делокализираната система, толкова по-ниска е необходимата енергия за осъществяване на електронен преход. Количествена мярка за способността на веществата да абсорбират светлина се дава от величината Абсорбция – A и се подчинява на закона Ламберт-Беер (**Уравнение 1**):

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda)lc \quad (1)$$

Където $\varepsilon(\lambda)$ е моларния екстинкционен коефициент, l е дебелината на абсорбиращият слой, а c е концентрацията на абсорбиращото вещество. Моларният екстинкционен коефициент е мярка за способността на едно вещество да абсорбира светлина в даден разтворител и обикновено се дава в $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. За съединения с $n \rightarrow \pi^*$ преходи ε е от порядъка на няколко стотици, а за молекули с $\pi \rightarrow \pi^*$, ε е много по-голям и може да достигне 10^5 .

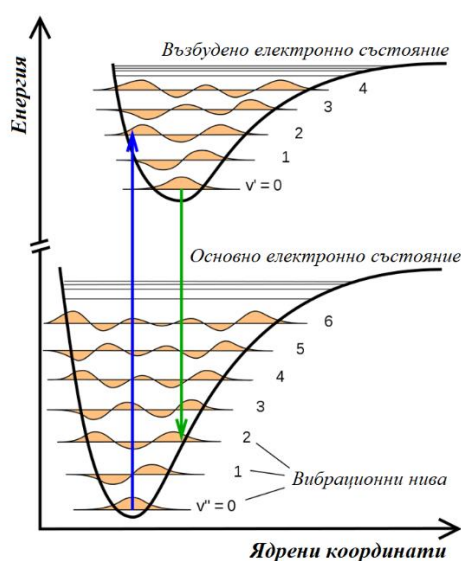
След поглъщане на енергия електроните могат да преминат на някое от вибрационните нива на възбудените състояния S_1 или S_2 , т. е. освен чисто електронните преходи, които са преходи от нулевото вибрационно ниво на основното състояние до нулевото вибрационно ниво на възбудено състояние (0-0 преходите) съществуват и преходи, при които се променя и вибрационната енергия на електроните, например 0-1 или 0-2 преходи.

Интензитетът на абсорбционните и емисионни ивици зависи от вероятността за осъществяване на даден електронен преход (**Фигура 2**).



Фигура 2: Абсорбционен и флуоресцентен спектри, изградени от ивици, чийто интензитет зависи от вероятността за осъществяване на даден преход.

Абсорбцията е изключително бърз процес (10^{-15} s), който довежда до преразпределяне на електронната плътност в молекулата, докато от друга страна ядрата на атомите имат нужда от повече време, за да се пренаредят и да отговорят на новото електронно състояние. По тази причина електронните преходи в една молекула настъпват без съществени промени на ядрените координати. Освен това, по-вероятни са тези електронни преходи, които съответстват на минимални промени в ядрените координати. Поради това, от показаната на **Фигура 3** диаграма на потенциалната енергия, се вижда, че за представения пример най-вероятният електронен преход е $S_{0,v} \rightarrow S_{1,v_2}$ (т. нар. вертикален преход) и абсорбционният пик, съответстващ на този преход, е с най-голям интензитет. Тази закономерност е известна като правилото на Франк-Кондон и важи както за електронните преходи при абсорбция, така и за преходите при флуоресценция [4].



Фигура 3: Правило на Франк-Кондон за вертикални електронни преходи на възбуждане и емисия.

При преминаване във възбудено състояние електроните могат да запазят спиновата си ориентация или да я променят. Така например, когато електрон премине от основно синглетно състояние S_0 на някое от по-високите синглетни енергетични нива S_1 или S_2 преходът е синглет-синглетен. От S_1 или S_2 електронът би могъл да промени спина си и да премине в триплетно състояние T_1 , като преходът се нарича интеркомбинационен (**Фигура 1**). Триплетното състояние има по-ниска енергия от синглетното.

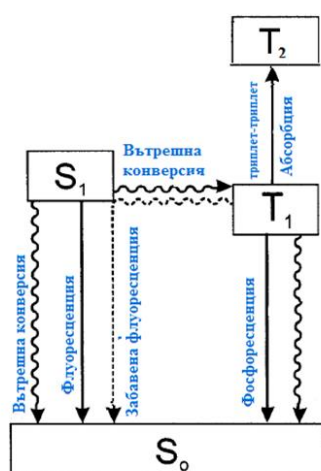
След възбуждане молекулата се стреми да се върне в основно състояние като това може да стане посредством безизлъчвателни или излъчвателни преходи. Важна характеристика на излъчвателните преходи е, че те винаги започват от нулевото вибрационно ниво на първото възбудено състояние т. е. от S_{1,v_0} или T_{1,v_0} . Когато молекулата е възбудена до състояние по-високо от S_{1,v_0} , първо се наблюдава бърза безизлъчвателна релаксация до S_{1,v_0} от където започва флуоресцентна емисия. По тази причина емисията не зависи от енергията на възбуждане – тя винаги е резултат от $S_1 \rightarrow S_0$ прехода (правило на Каша).

Безизлъчвателната дезактивация може да стане посредством:

- **Вътрешна конверсия (ВК)** - при която молекулата се освобождава от излишната енергия под формата на топлина. Вътрешната конверсия е безизлъчвателен преход между две електронни състояния от една и съща мултиплетност. В разтвор този процес е последван от вибрационна релаксация към най-ниското вибрационно ниво на последното електронно състояние. Излишната вибрационна енергия може да бъде трансферирана до разтвора чрез сблъскване на възбудена молекула със заграждащите я молекули на разтворителя.
- Вътрешната конверсия $S_1 \rightarrow S_0$ е възможна, но не е толкова ефективна от конверсията $S_2 \rightarrow S_1$, защото енергийната разлика между S_1 и S_0 е много по-голяма. По тази причина вътрешната конверсия от S_1 до S_0 може да се конкурира с емисията на фотони (флуоресценция) и интеркомбинационното превръщане до триплетно състояние, от което емисия на фотони е възможно да се наблюдава (фосфоресценция) [1,2].
- **Вибрационна релаксация (ВР)** - излишната енергия се предава при сблъсък с друга молекула. Ако молекулата може да остане в най-ниското си състояние (S_1, v_0) за повече от 10^{-9} сек. и няма други конкуриращи процеси, тогава е възможно тази молекула да излъчи флуоресцентна радиация. Преходът водещ до флуоресценция започва от (S_1, v_0) до едно от вибрационните нива на основното състояние S_0 . Превръщането на погълнатата от молекулата енергия може да бъде съпроводено с

промяна на спина на възбудения електрон, т.е. с преминаване в триплетно възбудено състояние $S \rightarrow T$.

- **Интеркомбинационни преходи (ИК)** - преходите между две изоенергични вибрационни нива, принадлежащи на електронни състояния от различни мултиплетности. Възбудена молекула в нулево вибрационно ниво на S_1 (S_{1,v_0}) може да се придвижи до изоенергично вибрационно ниво на T_n триплетно състояние; тогава вибрационната релаксация я довежда до най-ниското вибрационно ниво на T_1 . Следва отново връщане в основно синглетно състояние $T_1 \rightarrow S_0$ преход, като може да стане или безизлъчвателно (ИК) или чрез излъчване на фотон (**Фигура 4**). В последния случай процеса е фосфоресценция (Φ).



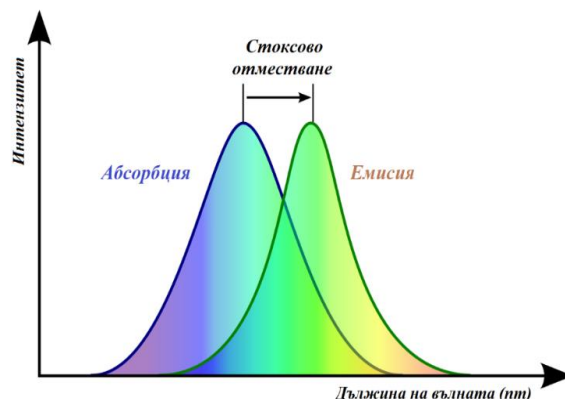
Фигура 4: Молекулни преходи

Интеркомбинационното превръщане е достатъчно бързо (10^{-7} – 10^{-9} s) за да се конкурира с останалите възможности за деактивация от S_1 (флуоресценция и вътрешна конверсия, $S_1 \rightarrow S_0$) [2].

Когато молекулата преминава от S_{1,v_0} към основно състояние с емисия на фотон, процесът се нарича флуоресценция. Когато емисията настъпва след промяна на спиновата ориентация от T_{1,v_0} , процесът е фосфоресценция.

Флуоресцентните електронни преходи също се подчиняват на правилото на Франк-Кондон. Както се вижда от фигура 2 най-вероятният електронен преход за дадения пример е $S_{1,v_0} \rightarrow S_{0,v_2}$, т.е. в процесите на абсорбцията и флуоресценция участват идентични електронни преходи (0-2 за абсорбцията и 0-2 за емисията). Това е причината и за факта, че емисионният спектър е огледален образ на абсорбционния или по-точно, на частта от абсорбционния спектър съответстваща на $S_0 \rightarrow S_1$ прехода, но изместен към по-ниска енергия.

Разликата в енергията на възбуждане и емисия се нарича Стоксово отместване (**Фигура 5**). Стоксовото отместване е важна характеристика на флуорофорите, която дава информация за разликата между основно и възбудено състояние на даден флуорофор.



Фигура 5: Стоксово отместване

Така например, ако диполният момент на молекулата в даден разтворител нараства при преминаване във възбудено състояние, Стоксовото отместване също нараства. Стоксовото отместване се дава като разлика между абсорбционния и емисионния максимум, изразена във вълново число (**Уравнение 2**). От практическа гледна точка детекцията на флуоресцентен сигнал е по-лесна когато Стоксовото отместване е по-голямо [3].

$$\Delta\nu = \nu_a - \nu_f \quad (2)$$

Отделните вибрационните ивици не винаги могат да се видят при снемане на спектър в разтвор и твърдо състояние, въпреки че при някои ароматни въглеводороди, като антрацен и нафтаген, те могат ясно да бъдат различени. Най-често обаче, абсорбционните и емисионни ивици на даден хромофор са уширени, без ясна вибрационна структура. Причините за този ефект са две - хомогенно и нехомогенно уширяване. Хомогенното уширяване е вследствие на почти непрекъснатия набор вибрационни поднива на всяко енергетично ниво (фигура 3). Нехомогенното уширяване зависи от средата, в която е снет спектърта и е следствие от промяна в структурата на солватращата обвивка.

Други важни характеристики на флуоресцентната емисия са квантовият добив и времето на живот. Времето на живот е времето, в което флуорофора се намира във възбудено състояние преди да емитира фотон и да се върне в основно състояние, обикновено е между 10^{10} - 10^8 s.

Квантовият добив е отношението между броя емитирани към броя абсорбирани фотони [5]. Той може да бъде изчислен по **Уравнение 3**:

$$Q = \frac{I_{\Phi}}{I_A} = \frac{K_{\Phi}}{K_{\Phi} - K_{nr}} \quad (3)$$

Където Q е квантовия добив, I_{Φ} е интензитета на флуоресцентния сигнал, I_A е интензитета на абсорбираната светлина, K_{Φ} е константа на вероятността за флуоресцентен преход и K_{nr} е константа на вероятността за безизлъчвателен преход.

Така дефинираният квантов добив зависи от редица фактори, от които с най-съществени са: температурата, разтворителя, рН на средата, присъствие на тежки метали или други гасящи флуоресценцията съединения.

2. Оптични молекулни сензори

Според дефиницията одобрена от IUPAC, химичен сензор е устройство, което трансформира химична информация, варираща от концентрация на определена проба до тотален композиционен анализ, в аналитично полезен сигнал. Следователно сензорът може да се счита едновременно като проектирана молекула и миниатюризирано аналитично устройство, което предоставя информация в реално време в присъствие на определени компоненти в многокомпонентни системи. В по-тесен смисъл сензорът е молекула или надмолекулна единица, която е способна селективно да свързва молекулната мишена и да предоставя информация относно това свързване. В по-широк смисъл сензорът трябва да включва и електроника за контрол и обработка на софтуер и други необходими елементи, за да може сигнала не само да се запише, но да бъде и разбираем [6, 7].

Дизайнът на сензори е от особена важност, поради високото търсене в аналитичната химия, биохимия, медицина и др. Голям брой химични и биохимични анализи могат да бъдат открити чрез флуоресцентни методи.

Най-елементарната и широко разпространена дефиниция на сензор е “чувствителен елемент, който усеща и реагира на дразнене”, т.е. приема информация и я трансформира във форма съответстваща на нашето възприятие, познание и разбиране. Съгласно тази дефиниция сензорът трябва да изпълнява две функции. Първата е да осигури взаимодействие с мишената по високо селективен начин, разпознавайки я от други обекти със сходни структура и свойства, каквито се очаква да притежава изследваната система. Структурата отговорна за това е наречена разпознаващ елемент или рецептор. Другата

функция на сензора е да “визуализира” това взаимодействие, докладвайки за него чрез осигуряване на сигнал, който лесно да бъде улавян и анализиран. Структурата отговорна за възпроизвеждането на този сигнал се нарича репортер [6, 8].

Сетивната функция в действителност може да бъде осъществена на молекулярно ниво. Това се постига чрез комбиниране на рецептор и репортер в една молекула. Репортера се подбира, така че да притежава електрохимични или спектроскопски свойства, които се изменят чрез следващото взаимодействие с анализа. Изходният електрохимичен или спектроскопски сигнал може да бъде използван за количествено определяне на специфични гости (аналити) [9].

Молекулните рецептори са дефинирани като органични структури, изградени от ковалентни връзки, така че са способни да свързват селективно йони или молекулни субстрати, посредством различни междумолекулни взаимодействия. Като резултат от тези взаимодействия се събират две или повече частици, изграждащи супрамолекула. Химията на изкуствените рецепторни молекули обобщава координационната химия, като обхваща всички видове субстрати: катионни, анионни или неутрални органични частици, неорганични или с биологична природа.

Многобройните методи, използвани за детекция на анализити често изискват сложна апаратура, проби в голям размер и не позволяват продължително наблюдение. Поради това съществува необходимост от сензорни методи с широко приложение, които да могат да бъдат прилагани за всяка мишена, да разчитат на ниска цена, лесна за използване апаратура и да са подходящи за полеви анализ. Освен това те трябва да притежават много бързо време за отговор и достатъчно висока пространствена резолюция, способна да позволи получаването на микроскопски изображения на разпределението на анализа и интерпретация на микропроби съдържащи хиляди петна. Такъв метод съществува – това е **флуоресценцията**. Тя се разграничава от останалите методи, предложени за регистриране на взаимодействието сензор- мишена поради следните си предимства: на първо място - свръх-чувствителност; втората отличителна характеристика на флуоресценцията е високата скорост на отговора. Времето за отговор може да достигне 10^{-8} - 10^{-9} сек. и е ограничено от продължителността на светене на флуоресценцията и от скоростта на фотохимичното или фотофизичното събитие, което осигурява отговора. Високата пространствена резолюция, която може да се постигне чрез флуоресценцията също е съществена, тъй като тя позволява получаването на клетъчни изображения. Тази резолюция в обикновената микроскопия е ограничена до около 500 nm. Този лимит се дължи на ефекта на дифракция на светлината, когато измеренията станат съизмерими или по-малки от дължината на вълната. Поради неагресивния и недеструктивния характер на флуоресцентните сензорни

методи, те могат да бъдат изключително полезни за медицински и биологични приложения. Също така е възможна дистанционна детекция чрез използване на оптични влакна с молекулен сензор имобилизиран на единия край на влакното. Най-голямото предимство на флуоресцентните сензори е тяхната гъвкавост. Флуоресцентната детекция по същество е фотофизичен процес съчетан с молекулен процес на взаимодействие между сензор и мишена. Поради това детекция може да бъде постигната във всяка среда: твърда, течна или газообразна и на граничната повърхност между тях. Основният механизъм на отговор винаги остава един и същ и не влияе върху образуването на супрамолекулярни структури [10].

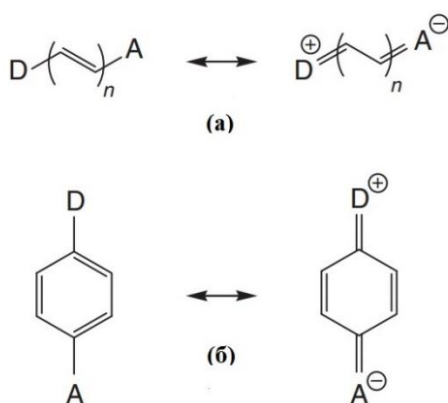
Дизайнът на флуоресцентни сензори е от особена важност, поради високото търсене в аналитичната химия, клиничната биохимия, медицината и при опазване на околната среда. Многобройни химични и биохимични анализи могат да бъдат открити чрез флуоресцентните методи: катиони (H^+ , Li^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Al^{3+} , Cr^{3+}), аниони (халогенни, цитратни, карбоксилатни, фосфатни), неутрални молекули (въглеhidрати-глюкоза) и газове (O_2 , CO_2 , NO).

В областта на флуоресцентната детекция съществуват множество термини като: флуоресцентни сензори, флуоросензори, флуоресцентни оптични сензори и т.н. Важно е да се направи ясно разграничаване между супрамолекулярния остатък, който сигнализира за присъствието на анализа чрез промени в своите флуоресцентни характеристики и цялото оптично устройство, тоест източникът на светлина, подходящо имобилизиращ анализ-отговарящ молекулен остатък, оптичната система (включваща влакно или не) и светлинния детектор (фотомножител или фотодиод), свързан към подходяща електроника за изобразяване на сигнала. По принцип флуоресцентният сензор представлява цялото устройство, въпреки че в много от публикациите авторите използват термина флуоресцентен сензор за флуоресцентния молекулен остатък, разпознаващ анализа. За да се избегне объркване е препоръчително в последния случай да се използва термина флуоресцентен молекулен сензор [11].

Молекулярните сензорни системи, при които флуоресценцията преминава между "on" и "off" състояния под действието на химично стимулиране, могат да бъдат изградени съгласно няколко принципа: вътрешномолекулен пренос на заряд (ВПЗ), фотоиндуциран електронен трансфер (ФЕТ), енергиен трансфер (ЕТ) и емисия вследствие на агрегация (ЕСА)[6, 7].

2.1. Вътрешно молекулен пренос на заряд (ВПЗ) и оптични молекулни сензори базирани на вътрешно молекулен пренос на заряд

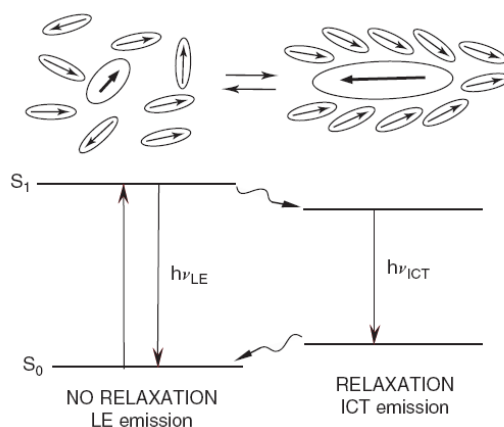
Преносът на заряд е играе важна роля в много химични и биологични процеси, включително фотосинтезата и метаболизма [6, 12]. Последните технологични приложения на материалите, базирани на пренос на заряд, включват органични светлинни диоди (OLED), преобразуване на слънчева енергия, флуоресцентни сензори, нелинейно-оптични материали и т.н. Процесът на пренос на заряд може да бъде разделен на две широки категории. Преносът на заряд от богата на електрони донорна част към бедна на електрони акцепторна част, разположени в различни молекули, известно като междумолекулен пренос на заряд. Въпреки това, ако донорът и акцепторът принадлежат към една и съща молекула, явлението се нарича вътрешномолекулен пренос на заряд (ВПЗ). ВПЗ процесът обикновено протича във фотовъзбудено състояние, което молекулата достига при поглъщане на светлина с подходяща дължина на вълната. Фотовъзбуждането улеснява преносът на електрон от една част на молекулата (йона) към другата ѝ част, което прави разпределението на заряда във възбудено състояние значително различно от това в основното състояние [6, 12]. ВПЗ чрез връзка се осъществява в молекули, в които донорните и акцепторните групи са свързани чрез π -спрегната система (**Фигура 6**).



Фигура 6: Вътрешномолекулно преразпределение на заряд (а) в (поли)енова система и (б) в ароматна донорно-акцепторна молекула. Преразпределението на заряд от донор (D) към акцептор (A) се случва във възбудено състояние през π -спрегната система.

При възбуждане, във флуоресцентните системи се предизвиква движението на електрон от една орбитала на друга. Ако първоначалните и крайните орбитали са

разделени в пространството, електронният преход е придружен от почти мигновена промяна в диполния момент на флуорофора. Когато органичният флуорофор съдържа електрон-донорна група (често диалкиламино група) спрегната с електрон-акцепторна група (често карбонилна), електронната поляризация във възбудено състояние се повишава значително, поради възникналия пренос на електрони от електрон-донора към електрон-акцептора. При тези условия, молекулата на флуорофора и околните молекули на разтворителя не се намират в състояние на равновесие, особено ако разтворителят е силно полярен (**Фигура 7**). Поради това молекулите на разтворителя и флуорофора започват да се въртят по време на жизнения цикъл на възбуденото състояние на флуорофора, докато системата не достигне термодинамично равновесие. Това явление се нарича вътрешно молекулен пренос на заряд (ВПЗ) [4, 6].

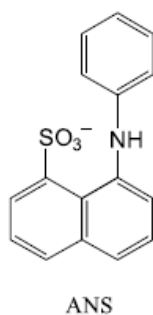


Фигура 7: Схема на вътрешно молекулен пренос на заряд.

Колкото по-висока е полярността на разтворителя, толкова по-ниска е енергията на релаксация на флуорофора. В резултат на това в силно полярни разтворители, се наблюдават големи Стоксови отмествания. Тъй като преходите на ВПЗ във възбудено състояние генерират голям диполен момент, полярните разтворители лесно солватират флуорофора във възбудено състояние. Това води до стабилизация на възбуденото състояние на молекула и понижаване на квантовия добив на флуоресценция в полярни разтворители, особено във вода.

Силната зависимост на фотофизичните характеристики на флуорофорите, притежаващи преход на ВПЗ, ги определя като потенциални сензори за полярност (проби за полярност). Една от най-известните проби за полярност е *1-анилино-8-нафтаден сулфонат* (АНС), получена от Уебър и Лоурънс през 1954 година [13]. Тя се отличава с интересната особеност, че не притежава флуоресценция във водни разтвори и флуоресцира силно в разтворители с ниска полярност. Тази функция позволява на АНС да

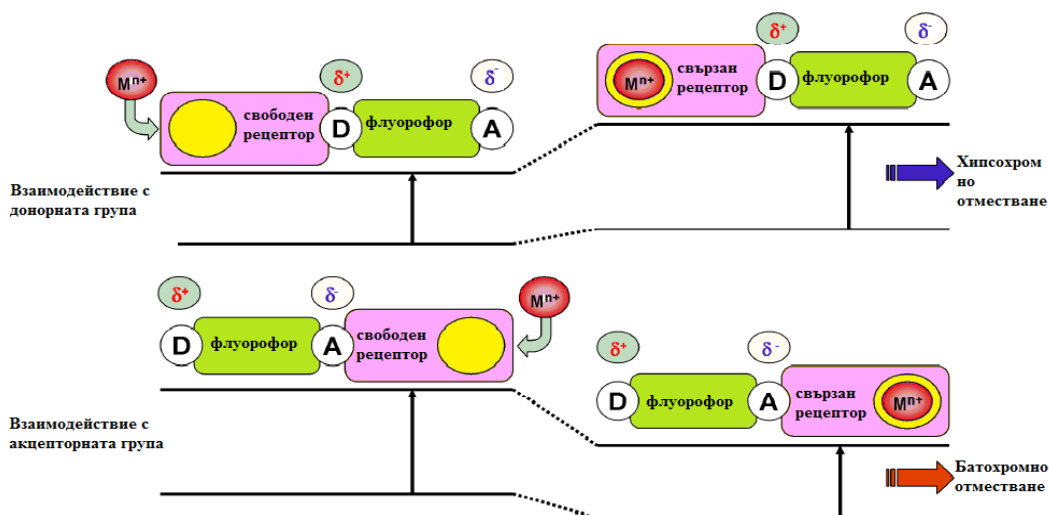
визуализира само хидрофобни региони на биологични системи без смущения от страна на нефлуоресцентните молекули на АНС (**Фигура 8**), които остават в околната водна среда.



Фигура 8: АНС (1-анилино-8-нафтален сулфонат).

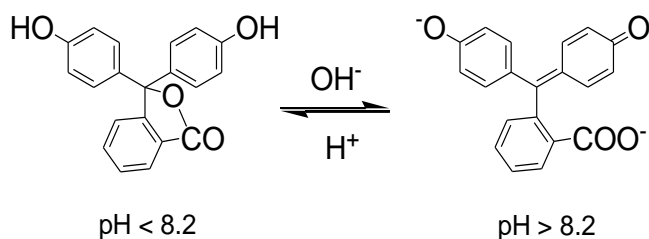
При молекулните сензорите основани на ВПЗ, рецепторът е директно свързан с електрон-донорна/електрон-акцепторна група, която е спрегната с електрон-акцепторна/електрон-донорна група. Тоест рецепторът и хромофорът представляват една и съща електронна система. При възбуждане на системата, флуорофорът претърпява вътрешномолекулен пренос на заряд от донора към акцептора. При това положение не се реализира състояние с разделени заряди (за разлика от ФЕТ сензорите), а поляризация на молекулата. Генерираният във възбудено състояние диполен момент води до Стоксово отместване, което силно зависи от околната средата. По този начин може да бъде предвидено, че наличие на гост в близост до донор-акцепторна част, ще води до промени във фотофизичните свойства на флуорофора, въздействайки върху ефективността на ВПЗ [14].

Когато група (като амино групата), изпълняваща електрон-донорна роля във флуорофора взаимодейства с катион, той редуцира електрон-донорния характер на тази група. В резултат на намаленото спрежение и понижената поляризация се наблюдава хипсохромно отместване в абсорбционния спектър, придружено с намаляване на моларния абсорбционен коефициент (**Фигура 9**). Обратно, когато катион взаимодейства с акцепторната група, това води до повишаване на електрон-акцепторния ѝ характер. Абсорбционният спектър се измества този път батохромно, а моларният абсорбционен коефициент расте. Флуоресцентните спектри се изместват в същата посока както абсорбционните. Освен тези отмествания, често са наблюдавани и промени в квантовите добиви и продължителността на светене. Логично е да се заключи, че анионите ще предизвикват обратен ефект [6, 15].



Фигура 9: Механизъм на действие на молекулен сензор за катион, базиран върху вътрешно молекулен пренос на заряд.

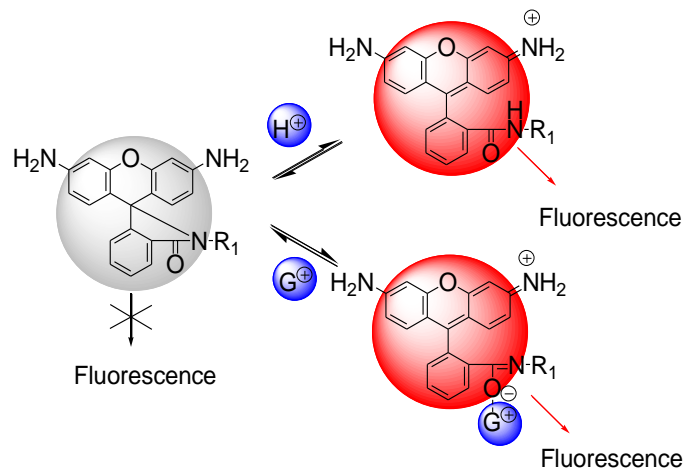
Първите цветни индикатори в аналитичната химия са базирани на ВПЗ. Така например фенолфталеина, в неутрална и кисела среда, се намира в безцветната си лактамна форма - $\text{pH} < 8.2$ (Фигура 10). В алкална среда ($\text{pH} > 8.2$) структурата се йонизира и лактамният цикъл се отваря, при което възниква спрегнатата система, в краищата на която се формират силна електрон-донорна група (фенолатен анион) и силна електрон акцепторна група (карбонилна група). При възбуждане на така получената йонизирана структура на фенолфталеина възниква ВПЗ, който води до появата на виолетов цвят [6, 16].



Фигура 10: Механизъм на действие на фенолфталеин.

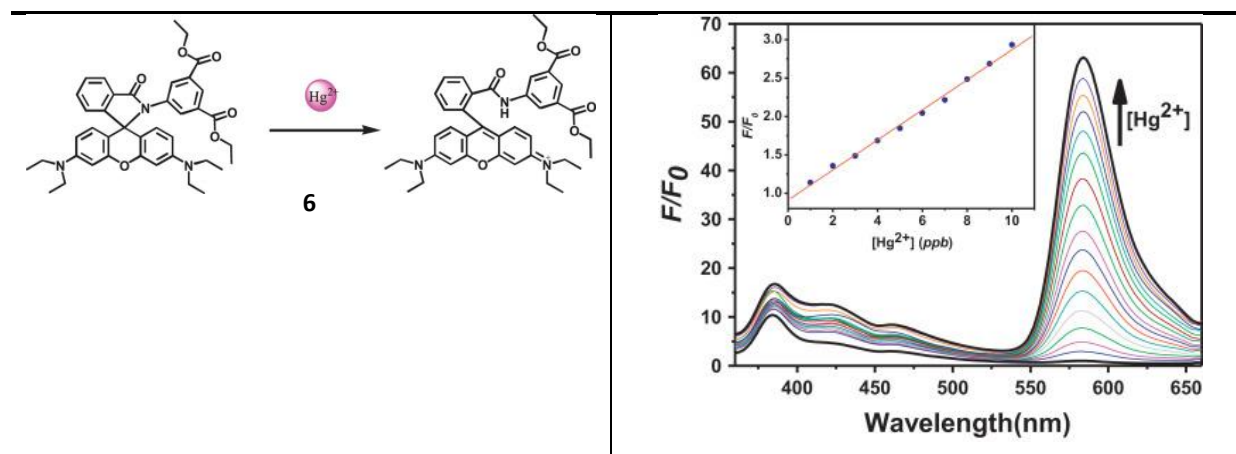
Едни от най-широко разпространените флуоресцентни молекулни детектори базирани на вътрешно молекулен пренос на заряд са сензорите опериращи посредством отваряне на хетероциклен пръстен. Най-известните представители от този клас съединения са 9-фенилхидразидните и 9-фениламидните производни на родамина. Употребата на родамините, като “off-on” сензори е възможно благодарение на химичното равновесие между спиролактамния пръстен и отварянето му в amidна или (хидразидна)

форма. В отсъствие на аналит amidите (или хидразидите) на родамина се намират в безцветната си циклична спиролактамна форма (**фигура 11**). В кисела среда или в присъствие на катиони спиролактамният цикъл се отваря и родаминът преминава в цветната си amidна форма, поради възникване на спрегната система способна на вътрешно молекулен пренос на заряд [17].



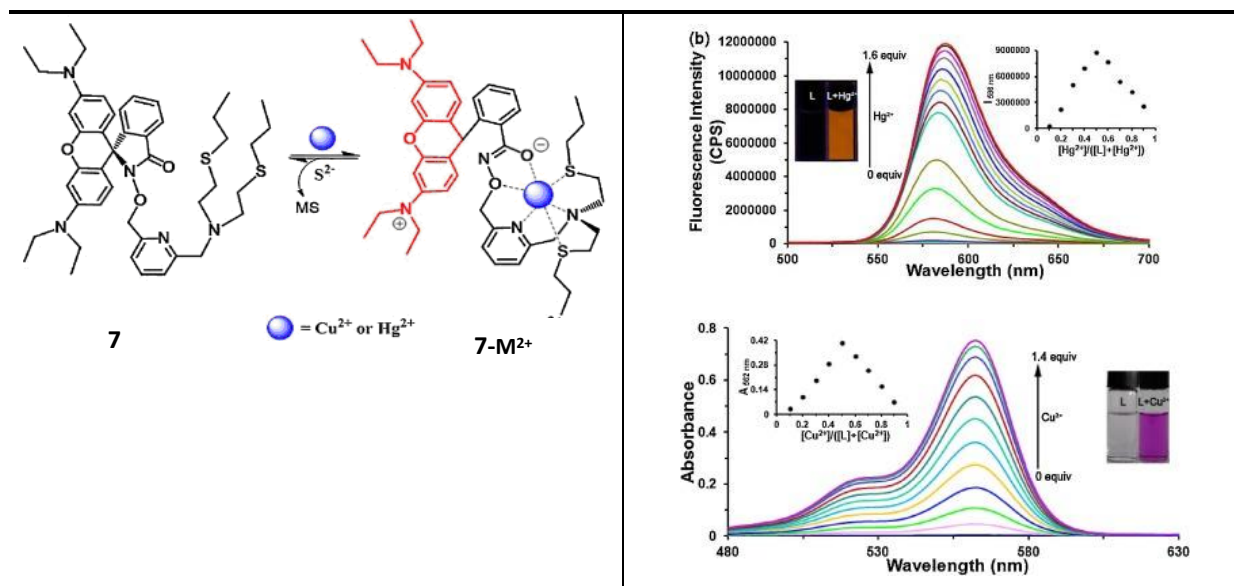
Фигура 11: Принцип на действие на родаминовите сензори при откриване на аниони.

Родаминовите производни са едни от най-известните флуоресцентни сензори за бързо откриване на високо токсичните Hg^{2+} катиони. Така например в родамин 6 (**Фигура 12**) чрез обратимо отваряне на спиролактамния цикъл е постигнат строго селективен сензорен ефект към Hg^{2+} -катиони. Както може да се види от спектрите представени на **Фигура 12**, в неутрална среда единствено присъствието на живак води до силно повишаване на флуоресцентния сигнал на сензорната система 6 [18].



Фигура 12: Родаминов сензор за Hg^{2+} -катиони.

Интерес представлява родаминов сензор, опериращ в два режима (**фигура 13**). В абсорбционен режим сензорът позволява откриване на Cu^{2+} -катиони, а във флуоресцентен- на Hg^{2+} -катиони [19].



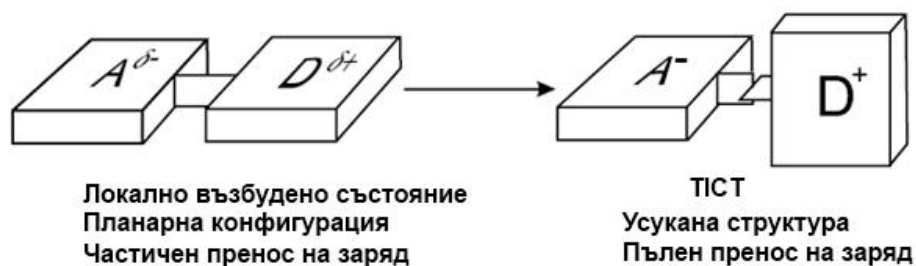
Фигура 13: Сензор за Hg^{2+} - и Cu^{2+} -катиони.

2.2. Усукан вътрешно молекулен пренос на заряд (УВПЗ) и оптични молекулни сензори базирани на усукан вътрешно молекулен пренос на заряд

Усуканият вътрешномолекулен пренос на заряд (УВПЗ) е процес на пренос на електрон, който възниква при фото възбуждане в молекули, които обикновено съдържат донорна и акцепторна част, свързани с проста връзка. След вътрешномолекулен усукване, УВПЗ се връща в основно състояние или чрез излъчване с батохромно отместване, или чрез безизлъчвателна релаксация. Емисионните свойства са потенциално зависими от околната среда, което прави базираните на УВПЗ флуорофори идеални сензори за различни разтворители и вискозитет. Наблюдават се и базирани на УВПЗ материали, които са флуоресцентни при агрегиране [20].

След преминаване във възбудено състояние, при което според правилото на Франк-Кондон молекулата все още запазва своята планарност, следва релаксация на възбудената молекула с молекулите на разтворителя, което може да доведе до ротации на някой от заместителите и той да излезе от равнината на хромофорната система (Фигура 14). Това състояние с променена геометрия е стабилизирано от полярния разтворител и може да доведе до пълен пренос на заряд. До каква степен и в каква посока ще бъде повлияна флуоресценцията зависи от спецификата на флуорофора. Възможна е появата на нова емисионна ивица в полярни разтворители, както е случаят с 4-N,N-диметиламинобензонитрил [21-22], при който диметиламино групата се разполага под прав ъгъл с π -спрегнатата система, при което се наблюдава пълен пренос на заряд от нея към цианофенилната група. При други съединения УВПЗ води до загуба на

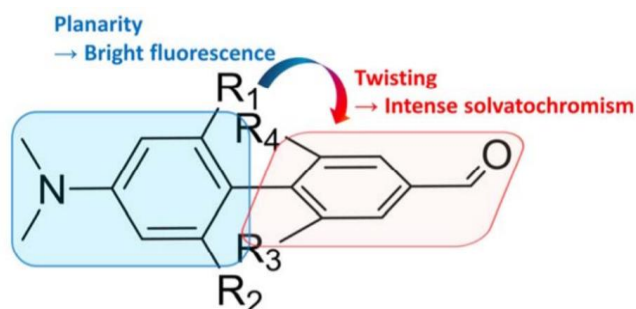
флуоресценция в полярни разтворители, поради намаляване на енергията на безизлъчвателните преходи [23].



Фигура 14: Схематично представяне на УВПЗ.

Както става ясно, средата оказва голямо влияние върху енергията на електронните преходи, а от там и върху интензитет, форма и позиция на флуоресцентната ивица. Освен от средата, флуоресценцията зависи още и от нейния вискозитет, температура, рН, присъствие на гасители и др.

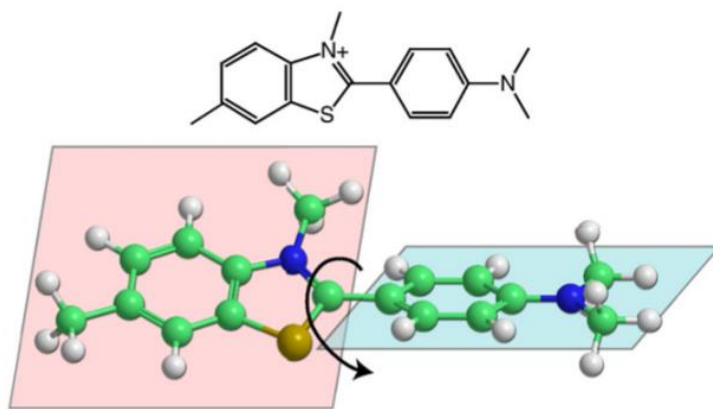
УВПЗ конформациите се проявяват ясно в полярни среди и чрез заместване на силни донори и акцептори. Например, сензори за полярност на околната среда, чиито донори, когато полярността на околната среда надхвърли определен праг за включване/изключване, гасят флуоресценцията *чрез* пренос на електрон [24]. Ядрото обикновено е само умерено чувствително към промените в околната среда [25]. Използвайки този принцип, диполните моменти във възбудено състояние и произтичащите от тях солватохромизми – способността да променят цвета си в отговор на промените в полярността на разтворителя – на push-pull бифенили (**Фигура 15**) бяха модулирани просто чрез налагане на ограничения на усукване [26].



Фигура 15: Схематично представяне на солватохромизма в „push-pull“ бифенили.

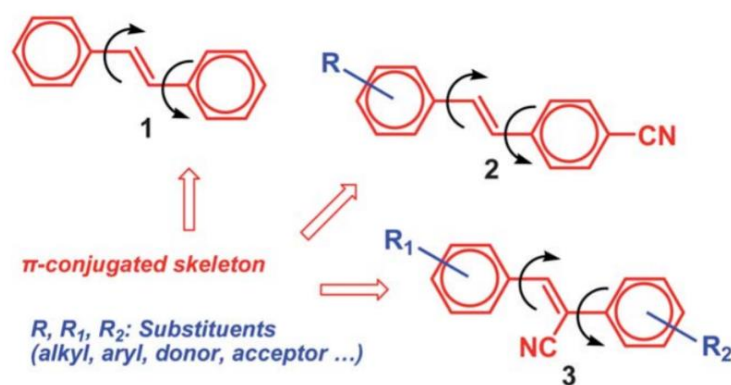
В зависимост от съотношението на електронен трансфер и локално възбудено състояние, директно свързаните донор-акцепторни системи драстично променят дължините на вълните на флуоресцентно излъчване, квантовите добиви,

продължителността на живота и спектралните форми. Тези динамични характеристики са много полезни за флуоресцентно изобразяване на вискозитета на средата, особено в биологични системи. Конкретният клас УВПЗ-активни флуорофори, наречени „молекулярни ротори“, може да повиши интензитета на флуоресценцията им в пространствено ограничени среди, като вискозни среди [27].



Фигура 16: Тиофлавин-Т (ThT).

Тиофлавин-Т (Фигура 16) е добре известен УВПЗ-базиран молекулен ротор, използван в *in vitro* клетъчни биологични и биомедицински анализи, по-специално в анализи за откриване на лекарства и механистични изследвания по отношение на свързаните с амилоид невродегенеративни заболявания [28]. Друг пример за молекулярни ротори за изобразяване на вътреклетъчния микровискозитет са производните на α -цианостилбен (Фигура 17) [29].



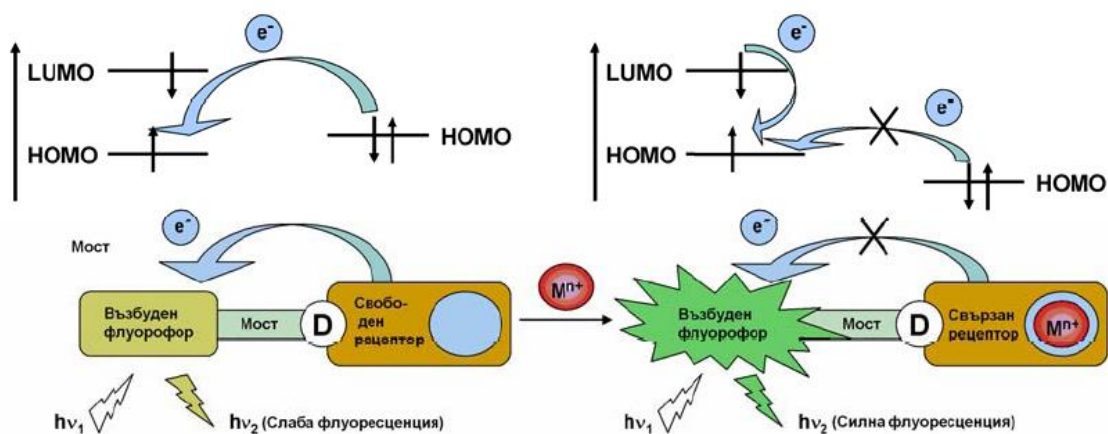
Фигура 17: Химични структури на (1) стилбен, (2) 4-цианостилбен и (3) α -цианостилбен. Стрелките показват вътрешномолекулярното въртене на ароматните групи.

2.3. Фотоиндуциран електронен трансфер заряд (ФЕТ) и оптични молекулни сензори базирани на фотоиндуциран електронен трансфер

Явлението фотоиндуциран електронен трансфер (ФЕТ) е един от основните принципи, прилаган при проектирането на молекулни системи, притежаващи способността да променят в широки граници своите т.нар. “включено” и “изключено” състояния, което зависи от техните луминесцентни, магнитни или електронни свойства [6, 30]. Те представляват особен интерес, защото могат да бъдат променяни или настройвани чрез използване на външни източници като йони, молекули, светлина и др. Част от тази бързо развиваща се област е разработването на химични сензори, прекъсвачи и логически и математични молекулни апарати.

Фотоиндуцираният електронен трансфер е явление, при което абсорбцията на светлина от една молекула води до пренос на електрон към друга молекула или компонент от композитна система. След преминаването на електрона се формира молекулно-радикална йонна двойка или се образува двойка електрон-дупка (органична полупроводникова нано структура). Тези електрон-дупки или йонни двойки имат определен живот, след който рекомбинират по излъчвателен или безизлъчвателен път [31].

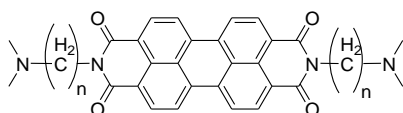
Феноменът на фотоиндуцирания електронен трансфер е открит през 60^{те} години на вече отминалия век, но първите ФЕТ системи се появяват към края на 70^{те}. Истинското им развитие обаче започва чак след 80^{те} с работите на Де Силва и продължава до днес [32]. Най-популярният начин за проектиране на сензорни системи е създаването на архитектура “флуорофор-мост-рецептор”, при която компонентите се подбират така, че електронният трансфер между флуорофора и рецептора да води до “изключен” флуоресцентен сигнал (**Фигура 18**). В присъствие на метални йони или протони възможността за електронен трансфер се прекратява и флуоресцентният сигнал е “включен”. При възбуждане на флуорофора, електрон от най-високо заетата молекулна орбитала преминава на по-ниска не свързваща молекулна орбитала. Това позволява да се осъществи електронен преход от високо заетата молекулна орбитала на донор-рецептора на високо заетата молекулна орбитала на флуорофор-акцептора, което води до гасене на флуоресценцията на флуорофора. След присъединяване на гост-катиона M^{n+} (**Фигура 18**) към рецептора, окислителният потенциал на последния се увеличава и енергийното ниво на неговата молекулна орбитала става по-ниско от това на флуорофора. В този случай ФЕТ ефект не може да се реализира и сензорът започва да флуоресцира [6, 33].



Фигура 18: *Механизъм на действие на молекулен сензор за катиони, базиран върху фотоиндуциран трансфер.*

За разлика от сензорните системи базирани върху ВПЗ, при ФЕТ сензорите рецептора не е внедрен директно във флуорофорната единица и процесът протича в рамките на две отделни електронни системи. Електронните състояния в следствие на тази реакция не са свързани с поляризация на молекулата, а с разделяне на заряди. ФЕТ и ВПЗ състоянията са лесно различими по тяхното абсорбционно и емисионно поведение. При ФЕТ силното гасене на флуоресцентния сигнал настъпва без спектрални отмествания на абсорбционните и емисионните ивици. При ВПЗ настъпват промени не само в интензивността на флуоресценция, но е налице и промяна в положението на абсорбционните и емисионните ивици [34].

Важно е да се отбележи, че алифатни вериги с дължина над три въглеродни атома практически не се употребяват като разделителен фрагмент (“мост”). С увеличаване на разстоянието между флуорофора и рецептора, възможността за ФЕТ рязко намалява и при разделяне през четири въглеродни атома често е едва забележим [35].

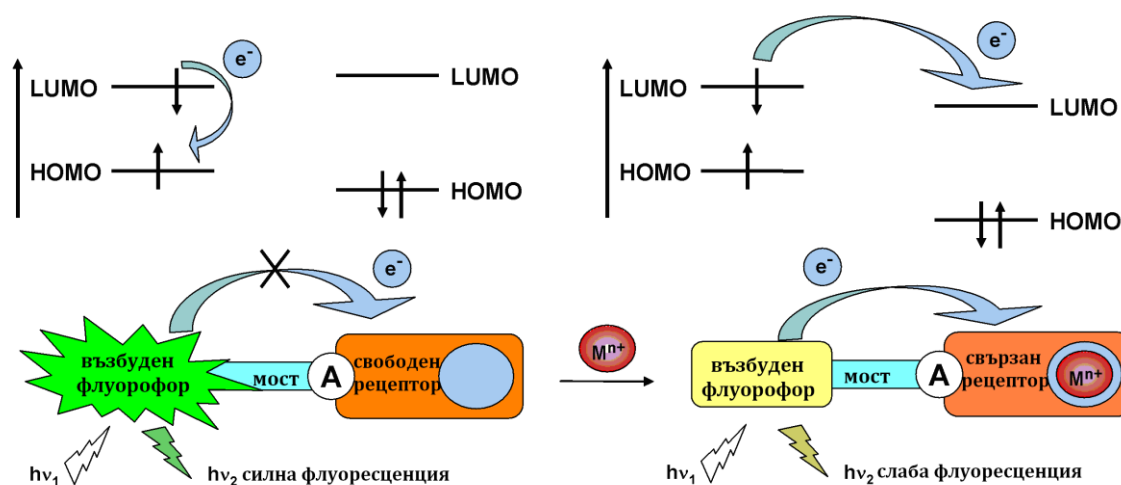


Фигура 19: *Перилендиимидни ФЕТ сензорни системи.*

По-големият брой на въглеродните атоми в “моста” не е задължително обаче да води до нарастване на разстоянието между флуорофора и рецептора. Така например в илюстрираната на **Фигура 19** перилендиимидна ФЕТ система, при нарастване на броя на въглеродните атоми на “моста” от 1 до 3 се повишава ефективността на ФЕТ процеса.

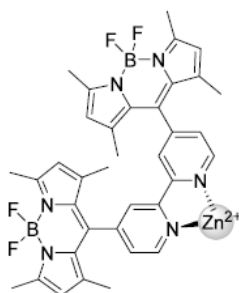
Причината за това е, че по-дългата въглеродородна структура е по-гъвкава и позволява съгъване на “мост-рецепторната” архитектура към флуорофора.

Посоченият на **Фигура 18** механизъм не е единственият вариант за осъществяване на ФЕТ. При координиране на “гости” е възможен електронен пренос от флуорофора във възбудено състояние към рецептора или “госта”, при което се наблюдава гасене на флуоресцентния сигнал. Този процес се нарича “обратен” или окислителен ФЕТ и рецепторът не участва с най-високо заетата, а с най-ниско незаета молекулна орбитала (**Фигура 20**)[36].



Фигура 20: Механизъм на действие на молекулен сензор за катиони, базиран върху “обратен” фотоиндуциран трансфер.

В отсъствие на гост в системата, най-ниско незаетата молекулна орбитала на рецептора се намира на по-високо енергийно ниво от тази на флуорофора и не влияе на процеса флуоресценция. Присъединяването на гост към рецептора води до понижаване на енергийното ниво на най-ниско незаетата му орбитала, което става по-ниско от това на флуорофора и се осъществява безизлъчвателен ФЕТ (**Фигура 20**). С други думи луминофорът излъчва светлина в отсъствие на определяния анализит и не емитира в негово присъствие. Този тип сензорни системи се наричат “*on-off*” оптични молекулни сензори. Типичен пример за ФЕТ сензорна система, базирана върху “обратен” фотоиндуциран трансфер е представен на **Фигура 21**. Илюстрираният молекулен сензор е изграден от BODIPY флуорофор и бипиридилов рецептор за селективно разпознаване на Zn^{2+} и протони. Установено е, че в присъствие на определяните анализити, сензорната система силно понижава квантовият си добив (**Фигура 21**), вследствие на протичането на ФЕТ процес от флуорофора във възбудено състояние към свързания с анализита рецептор [36].

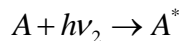
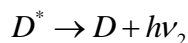
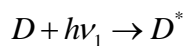


Фигура 21: ФЕТ сензорна система, базирана върху “обратен” фотоиндуциран трансфер.

2.4. Енергиен трансфер и оптични молекулни сензори базирани на енергиен трансфер

2.4.1. Тривиален енергиен трансфер

Енергийният трансфер между два флуорофора може да се осъществи по излъчвателен механизъм (тривиален енергиен трансфер) или безизлъчвателен механизъм (резонансен енергиен трансфер). Тривиалният трансфер може да бъде представен по следният начин:

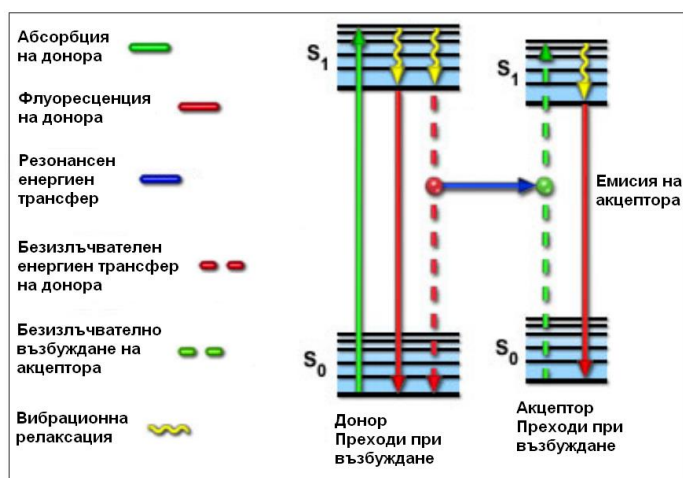


Този механизъм може да бъде важен процес, ако акцепторът (А) абсорбира в региона от дължини на вълните, при които излъчва донорът (D). Ефективността на процеса се определя от квантовия добив на донора и оптичната плътност на акцептора, при дължината на вълната на донорната емисия. Възможността акцепторната молекула да реабсорбира светлина е обратно пропорционална на квадрата на разстоянието между донора и акцептора. Когато донорът и акцепторът са еднакви молекули емисионната реабсорбция няма голямо значение, поради обичайно слабото припокриване между емисията и абсорбцията им. Енергийният трансфер по тривиален механизъм се характеризира с промяна в донорния емисионен спектър, постоянна продължителност на светене на донора и липса на зависимост от вискозитета на средата [37].

2.4.2. Резонансен енергиен трансфер

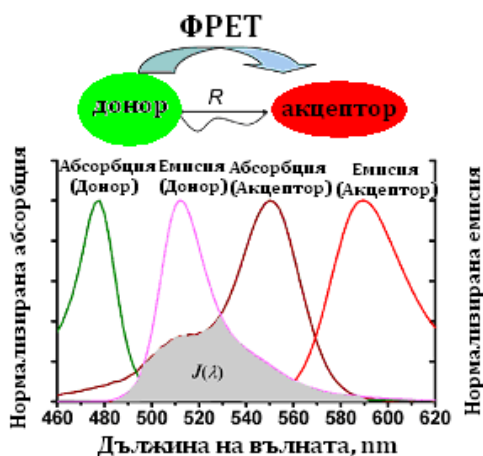
Резонансен енергиен трансфер може да се наблюдава когато емисионният спектър на една молекула, наречена донор (D), припокрива абсорбционния спектър на друга молекула, акцептор (A). При този процес не е задължително акцепторната молекула да бъде флуорофор. Важно е да се отбележи, че резонансният енергиен трансфер не включва

светлинно излъчване на донора. Резонансният енергиен трансфер не се осъществява в резултат на емисия на донора и реабсорбцията и от акцептора, тоест при резонансен енергиен трансфер няма междинен фотон (Фигура 22) [4].



Фигура 22: Резонансен енергиен трансфер, представен чрез диаграма на Яблонски.

Най-съществено значение за ефективността на резонансния енергия трансфер оказват разстоянието между донора и акцептора и степента на спектралното им припокриване. Поради тази причина тези два фактора се имат предвид и при проектирането на сензорни молекули, опериращи посредством енергиен трансфер (Фигура 23) [38].



Фигура 23: Фактори, оказващи влияние върху ефективността на ФРЕТ.

2.4.2.1. ФРЕТ-сензори базирани на промяната в разстоянието между донор и акцептор

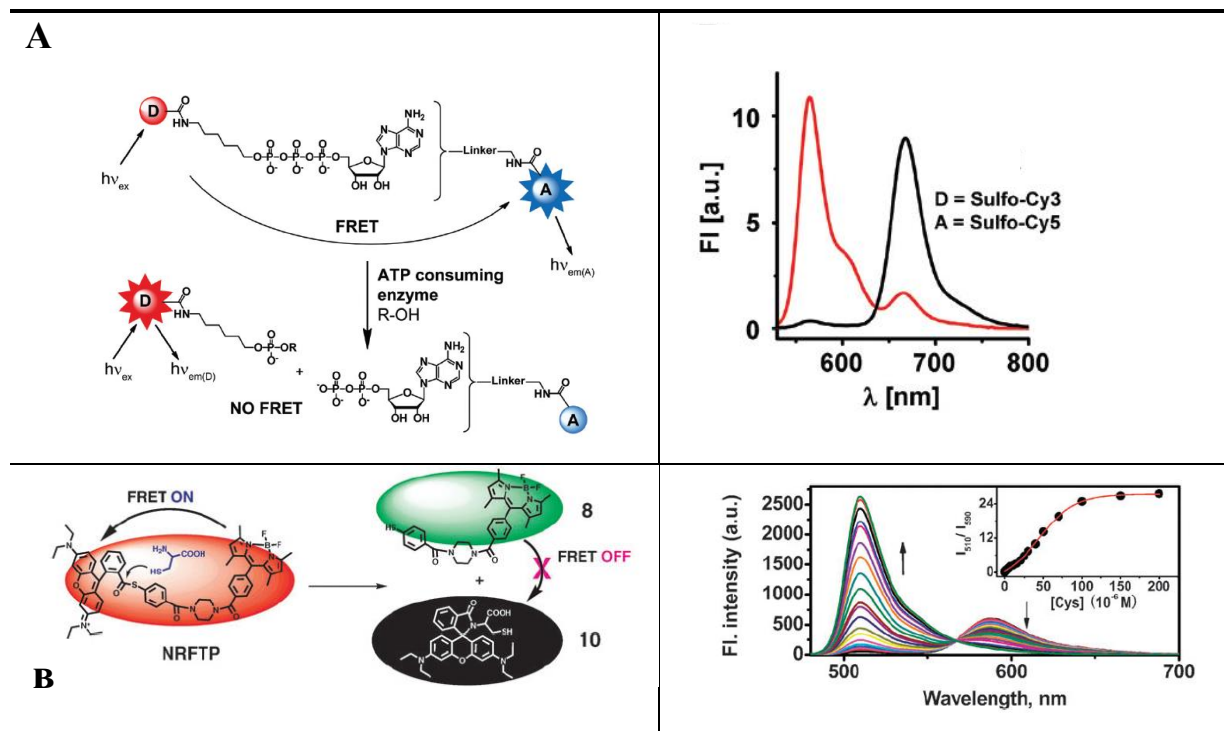
Ефективността на резонансния енергия трансфер силно зависи от разстоянието между донора и акцептора. Тази ефективност драстично намалява, когато дистанцията

между донора и акцептора стане голяма и на практика ФРЕТ не може да протече (Фигура 24). Първите ФРЕТ-сензори, базирани на промени в разстоянието между донора и акцептора са докладвани през 1991 година [39].



Фигура 24: Детекционен принцип на сензори, базирани на FRET, модулирани чрез разстояние между донора и акцептора. Ефективност на FRET според разстоянието между донор и акцептор.

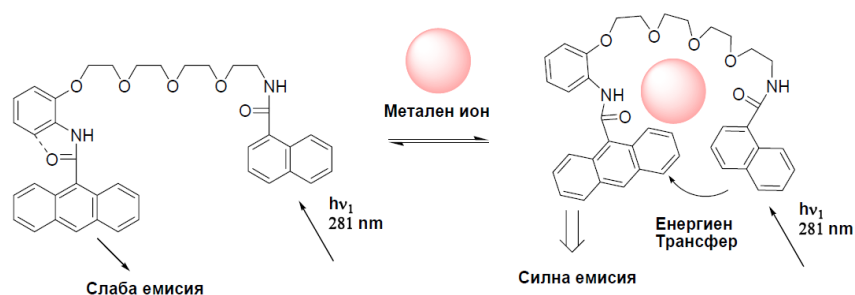
Наскоро бяха докладвани няколко ФРЕТ сензора, опериращи посредством разкъсване на връзката между донора и акцептора. В отсъствие на анализ, в системата протича енергиен трансфер и се наблюдава емисия само на акцептора. Прибавянето на АТФ (аденозинтрифосфатни) ензими (Фигура 25А) или съответно тиол (Фигура 25В) води до разкъсване на връзката между донорната и акцепторната единици, енергиен трансфер не може да протече, при което се отчита емисия само на донора [40-41].



Фигура 25: ФРЕТ сензори базирани на промяна в разстоянието между донора и акцептора.

2.4.2.2. ФРЕТ-сензори базирани на приближаването на флуорофорите един към друг

Неотдавна беше синтезиран флуоресцентен хемосензор (Фигура 26), с два различни флуорофора (нафталин и антрацен) в двата края на полиетерен мост. Това съединение показва висока флуоресцентна ефективност, единствено при комплексообразуване с метални йони, поради протичане на енергиен трансфер при приближаване на флуорофорите [42].

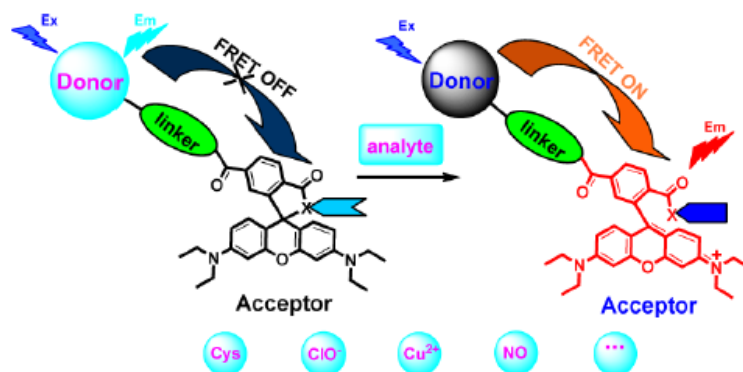


Фигура 26: Сензор за откриване на метални йони, опериращ посредством енергиен трансфер.

2.4.2.3. ФРЕТ-сензори базирани на промяна в спектралното припокриване между донора и акцептора

Ефективността на ФРЕТ силно зависи от спектралното припокриване на емисията на донора и абсорбцията на акцептора. Това дава възможност за проектиране ФРЕТ сензори на базата на индуцирана от свързване с анализа промяна на спектралното припокриване. Един от основните методи за модулиране на спектралното припокриване е базиран на отместването на абсорбцията на акцептора, към по-големите дължини на вълната, което често е предизвикателство да се реализира на практика [39]. Тази стратегия се реализира най-лесно чрез донорно-акцепторна двойка в която акцепторният флуорофор е амидно родаминово производно. Уникално свойство на родамина е, че може да съществува в две форми – спиролактамна, когато пръстенът е затворен и амидна, когато спиролактамния пръстен е затворен. В амидна форма родаминът има абсорбция при около 550 nm и силна флуоресцентна емисия, докато спиролактамната форма по същество няма абсорбция във видимата област и не флуоресцира. Тези характеристики на родамина са широко използвани в дизайна на сензори, при който анализът води до отместване на абсорбцията на акцептора. Така в отсъствие на анализ се наблюдава емисия само на донора, тъй като не е налице спектрално припокриване между донора и акцептора. Свързването с мишената води до отместване на абсорбцията на акцептора до степен в

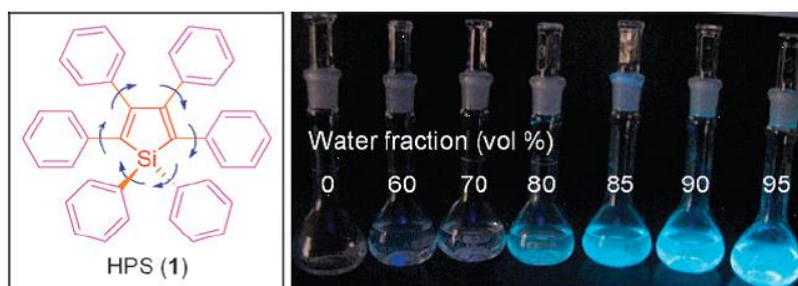
която има спектрално припокриване с донорната емисия, което води до протичане на ФРЕТ и се наблюдава емисия само на акцептора (**Фигура 27**).



Фигура 27: Механизъм на родаминови ФРЕТ сензори.

2.5. Емисия вследствие на агрегация (ЕСА) и оптични молекулни сензори базирани на емисия в следствие на агрегация

Емисията вследствие на агрегация (ЕСА), е ново фотофизично явление, открито в група от луминогени, които не са флуоресцентни в разтвор, но са силно излъчващи в агрегирано или в твърдо състояние. След първата публикация за ЕСА луминогени от Танг през 2001 г., (**Фигура 28**) те се превърнаха в перспективна научноизследователска област и броят на научните трудове относно новите ЕСА молекули и техните приложения нараства експоненциално.



Фигура 28: (Отляво) Структура на хексафенилсилола. (Вдясно) Разтвори на хексафенилсилол в смеси ацетонитрил-вода с различно съотношение под UV лампа.

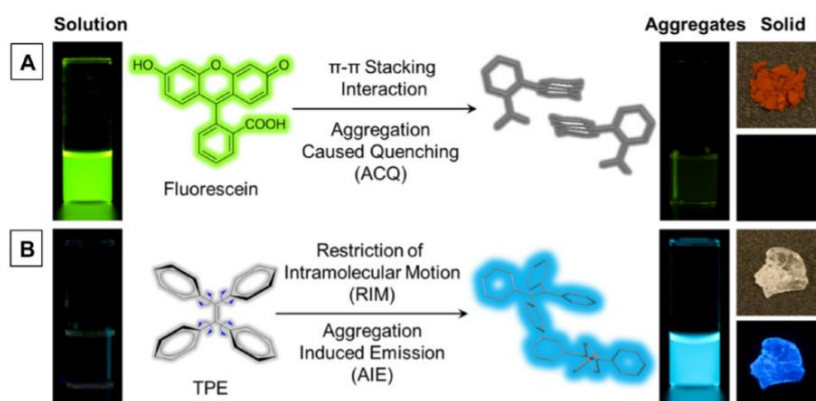
Често срещано явление е, че агрегацията на хромофорните разтвори води до гасене на флуоресценцията. Конвенционалните флуорофори, като флуоресцеин, обикновено са флуоресцентни, когато са в разреден разтвор (**Фигура 29А**). Тяхната флуоресценция

намалява или угасва при повишаване на концентрацията [43-44]. Повечето от тези конвенционални флуорофори приемат плоски дисковидни форми, които лесно биха претърпели силни π подреждащи взаимодействия, когато са в непосредствена близост до концентриран разтвор или агрегатно състояние. В такава ситуация възбудените състояния често се разпадат по безизлъчвателни пътища, което е известно като агрегационно гасене (АГ) на излъчената светлина [45].

Ефектът на агрегационно гасене (АГ) затруднява приложението на конвенционални флуоресцентни материали в много аспекти. За оптоелектронни приложения като органични светоизлъчващи диоди (OLED) луминесцентните материали се използват като тънки твърди филми и кристали. Натрупването (агрегацията) на багрила, причиняващо намаляване на квантовия добив на флуоресценция в твърдо състояние, се превръща в една от основните пречки в развитието на ефективни оптоелектронни устройства. Поради ефекта агрегационно гасене, изследователите често изучават и използват флуорофори като изолирани молекули в много разреждени разтвори. Емисиите на разреждени разтвори често са слаби, което води до слаба чувствителност във флуоресцентните сензорни системи, особено в биологични изследвания на следи от аналити. Чувствителността не може да бъде подобрена чрез просто увеличаване на багрилото, за да се анализира концентрацията поради ефекта на АГ. Малкият брой молекули на багрилото в разреждени разтвори също може бързо да бъде фотообезцветен при възбуждане от източник на флуоресцентна светлина, което води до лоша фотостабилност за дългосрочно измерване и проследяване. Нещо повече, багрилата със равнинна спрегната система също показват малки Стоксови отмествания и се наблюдава реабсорбция на емисиите на багрилото, което допълнително намаляват тяхната ефективност [46].

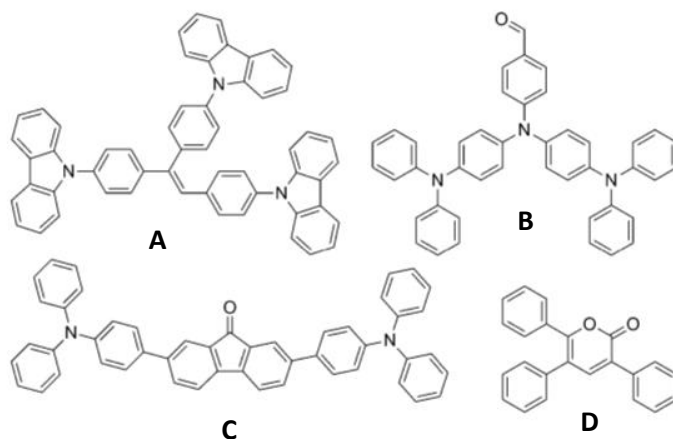
Емисията вследствие на агрегация (ЕСА), е уникално фотофизично явление, свързано с хромофорната агрегация. Вместо гасене на флуоресценцията, емитирането на луминогени с ЕСА характеристики води до включване на флуоресценцията. Тетрафенилетена (ТФЕ) е един от архетипите на ЕСА луминогените. За разлика от повечето молекули с агрегационно гасене, ТФЕ е във витлова (пропелерна) форма с четири периферни фенилови пръстена (ротори), усукани от централния олефин (статор). В състояние на разтвор при възбуждане, фенилните пръстени претърпяват активни вътремолекулни въртеливи (усукващи) движения заедно с С-С връзките срещу статора. Такива динамични движения биха послужили като път за безизлъчвателно гасене на възбуденото състояние и в резултат на това почти не може да се установи флуоресценция за изолираните молекули ТФЕ в разреден разтвор (**Фигура 29В**). Добавянето на голямо

количество разтворител, (напр. вода) в разтвора би принудило хидрофобните молекули да се агрегират. Веднъж агрегирани, вътремолекулните движения ще бъдат ограничени поради пространственото пречене [47].



Фигура 29: (А) Конвенционалните флуорофори като флуоресцеина имат силно излъчване в състояние на разтвор. Но емисията е загасена са в агрегатно или твърдо състояние поради взаимодействия на π - π подреждане. (В) Тетрафенилетенът (ТФЕ) има витлообразна структура и е способен на ЕСА, т.е. започва да флуоресцира при образуването на агрегати.[47]

Примери за съдържащи хетероатом луминогени са показани на **Фигура 30**. Луминогените А и D излъчват синя светлина в агрегирано състояние, поради липсата на донорно-акцепторни взаимодействия в системите. Въпреки че трифениламинът (ТФА) сам по себе си не е ЕСА активен, неговата витлоподобна структура го прави полезен градивен елемент за изграждането на ЕСА луминогени, чиито цветове на емисия могат да бъдат настроени чрез различни комбинации от ТФА единици с други приемащи електронни групи. Това се демонстрира от ЕСА луминогените, съдържащи донорни двойки-бензалдехид (В) и флуоренон (С), които излъчват съответно в зелено и червено, поради различните взаимодействия в двете системи [48].



Фигура 30: Примери за amino- и кислород-съдържащи ECA луминогени.

2.6. Сензори базирани на измервания, при които се използва съотношението на интензитета на флуоресценцията при две различни дължини на вълните

Флуоресцентните измервания, при които се използва съотношението на интензитета на флуоресценцията при две различни дължини на вълните, са едни от най-ефективните методи за детекция на различни аналити. Това е така, тъй като при тях се осигурява вградена корекция на въздействията на околната среда, както и стабилност при осветяване, позволяваща точен и количествен анализ, дори и в сложни системи [49] В практиката е прието тези сензори да се наричат рейшиометрични сензори, от английски език ratiometric sensors – отношение при две измервания.

Флуоресцентните сензорни молекули за образна диагностика на клетъчни молекули са се превърнали в главна тема при химико-биологичните изследвания през последните две десетилетия. Флуоресцентният сензор е изгоден поради високата си чувствителност. Въпреки това, измерването на флуоресценцията чрез увеличаване на нейния интензитет, без голяма промяна на дължината на вълната на възбуждане или емисия, може да бъде повлияно от много фактори, като локализацията на сензора, промени в околната среда около сензора (например: рН, температура и полярност), ефективност на улавяне на емисиите и промени в интензитета на възбуждане [50].

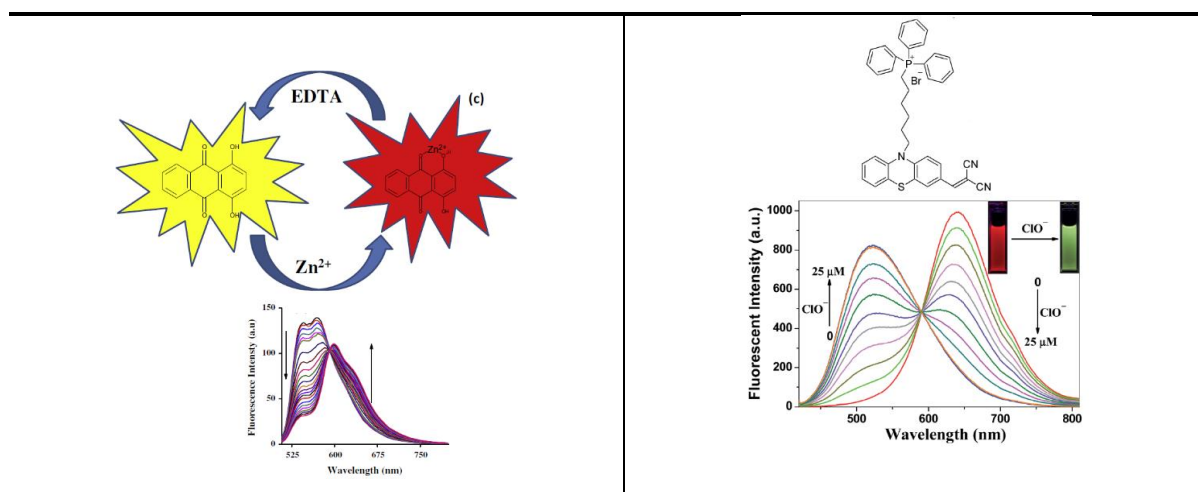
За да се намали влиянието на такива фактори, измерването базирано на съотношението на сигналите на флуоресценцията се използва, именно, като едновременен запис на интензитета на флуоресценцията при две дължини на вълните и изчисляване на съотношението им.

Тази техника осигурява по-голяма точност в сравнение с измерване при единична дължина на вълната и е подходяща за клетъчни образни изследвания. За да се извърши измерване на съотношението на интензитета на флуоресценция при две различни дължини на вълните, сензорът трябва да показва голяма промяна в неговия емисионен или абсорбционен спектър след като реагира (или се свърже) с целевата молекула [51].

Няколко явления могат да бъдат използвани за постигането на рейшиометричен анализ – вътрешномолекулен пренос на заряд, флуоресценция вследствие на агрегация и резонансен енергиен трансфер [48].

2.6.1. Рейшиометрични сензори базирани на вътрешномолекулен пренос на заряд

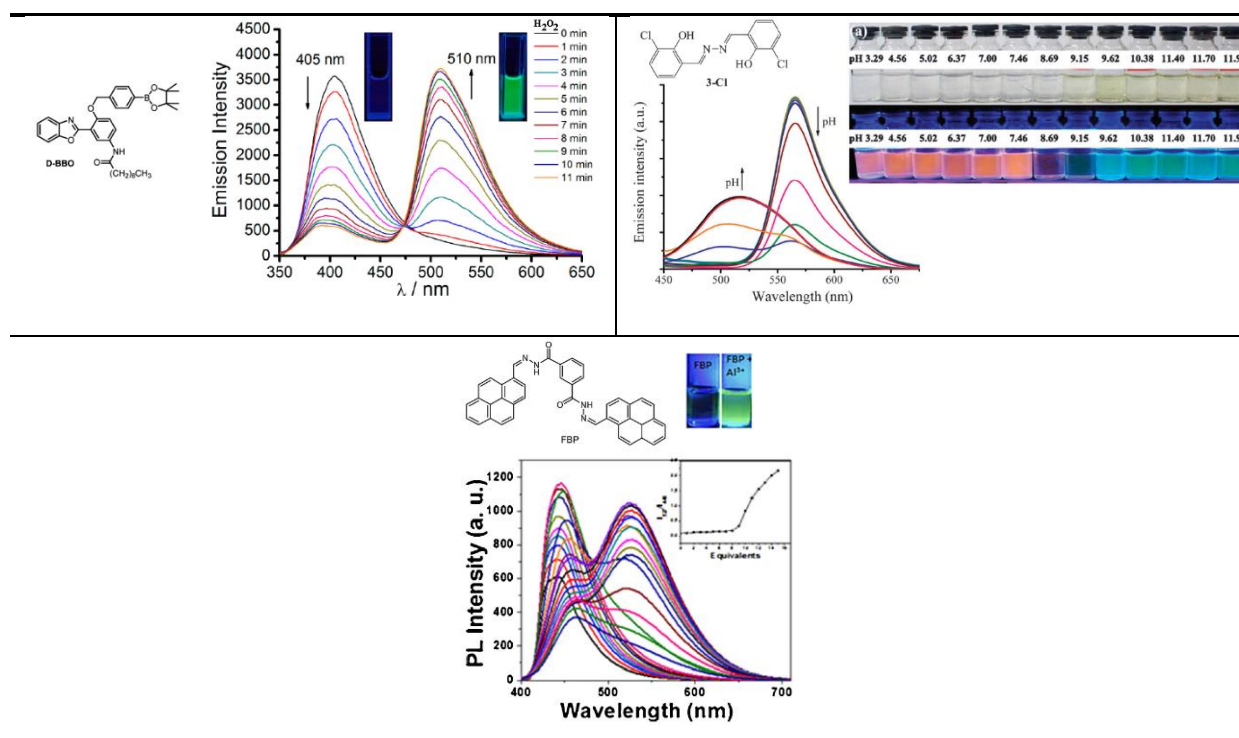
Сензорите, базирани на ВПЗ се характеризират с електрон-донорна група спрегната с електрон-акцепторна група в една молекула, което води до поляризация на молекулата във възбудено състояние. Когато електрон-донорната група във флуорофора взаимодейства с катион, нейният донорен характер намалява. В резултат на намаленото спрежение и понижената поляризация се наблюдава хипсохромно отместване в абсорбционния спектър. Обратно, когато катион взаимодейства с акцепторната група, това води до повишаване на електрон-акцепторния ѝ характер и абсорбционният спектър се измества този път батохромно. Флуоресцентните спектри се изместват в същата посока както абсорбционните. Така хипсо- или батохромното отместване в абсорбционните и флуоресцентните спектри след свързване с аналит позволяват проектирането на рейшиометрични сензори [52]. Тази стратегия за рейшиометрично разпознаване на катиони е представена за първи път от Вальор и оттогава са синтезирани голям брой сензори за различни аналити. Типични примери са представени на **Фигура 31** [53-54].



Фигура 31: ВПЗ рейшиометрични сензори.

2.6.2. Рейшиометрични сензори базирани на емисия в следствие на агрегация

Повечето рейшиометрични флуоресцентни сензори са базирани на най-често срещаните флуорофори като емисионни единици. Тези флуорофори обикновено гасят флуоресценцията си вследствие на агрегация във водна среда или физиологични буфери, което се дължи на безизлъчвателна релаксация на възбудените състояния на агрегатите. Затова тези сензори обикновено се използват в разредени разтвори; Въпреки това, когато разтворът е много разреден, възникват някои проблеми, като слаби аналитични сигнали и слабочувствителна детекция. За разлика от повечето конвенционални флуорофори, някои органични молекули са нефлуоресцентни в мономерно състояние, но имат силна емисия когато агрегират, като мономерната и ексимерната форми лесно се различават по своята позиция в абсорбционния и емисионния спектър. Така съединенията, при които се наблюдава флуоресценция вследствие на агрегация предлагат една нова платформа за дизайн на рейшиометрични сензори с висока чувствителност [55]. Наскоро са разработени редица такива сензори за откриване на различни аналити (**Фигура 32**) [56-58].



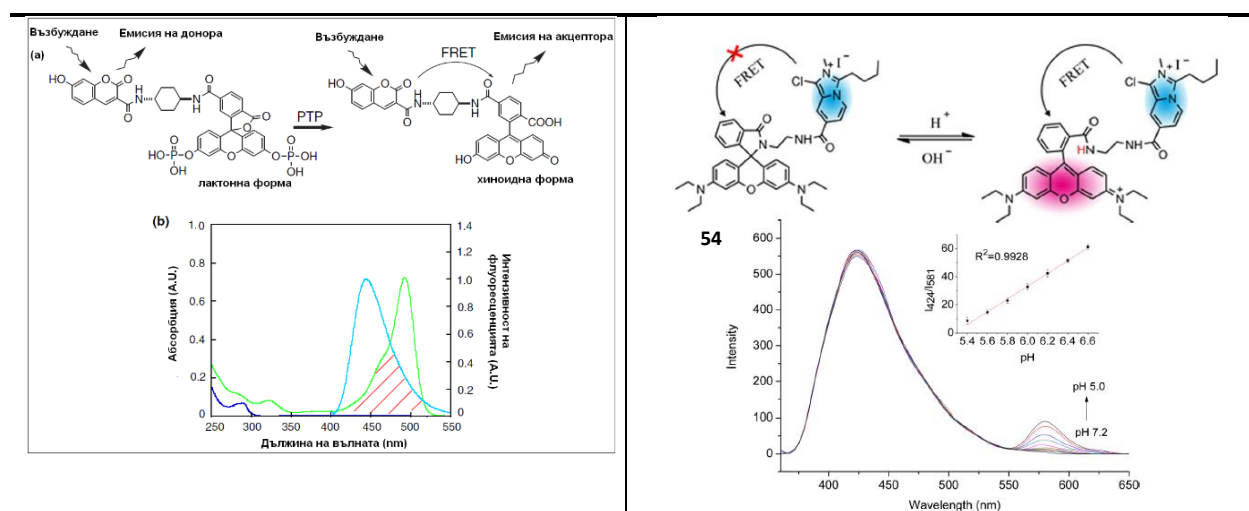
Фигура 32: Рейшиометрични сензори на базата на ECA.

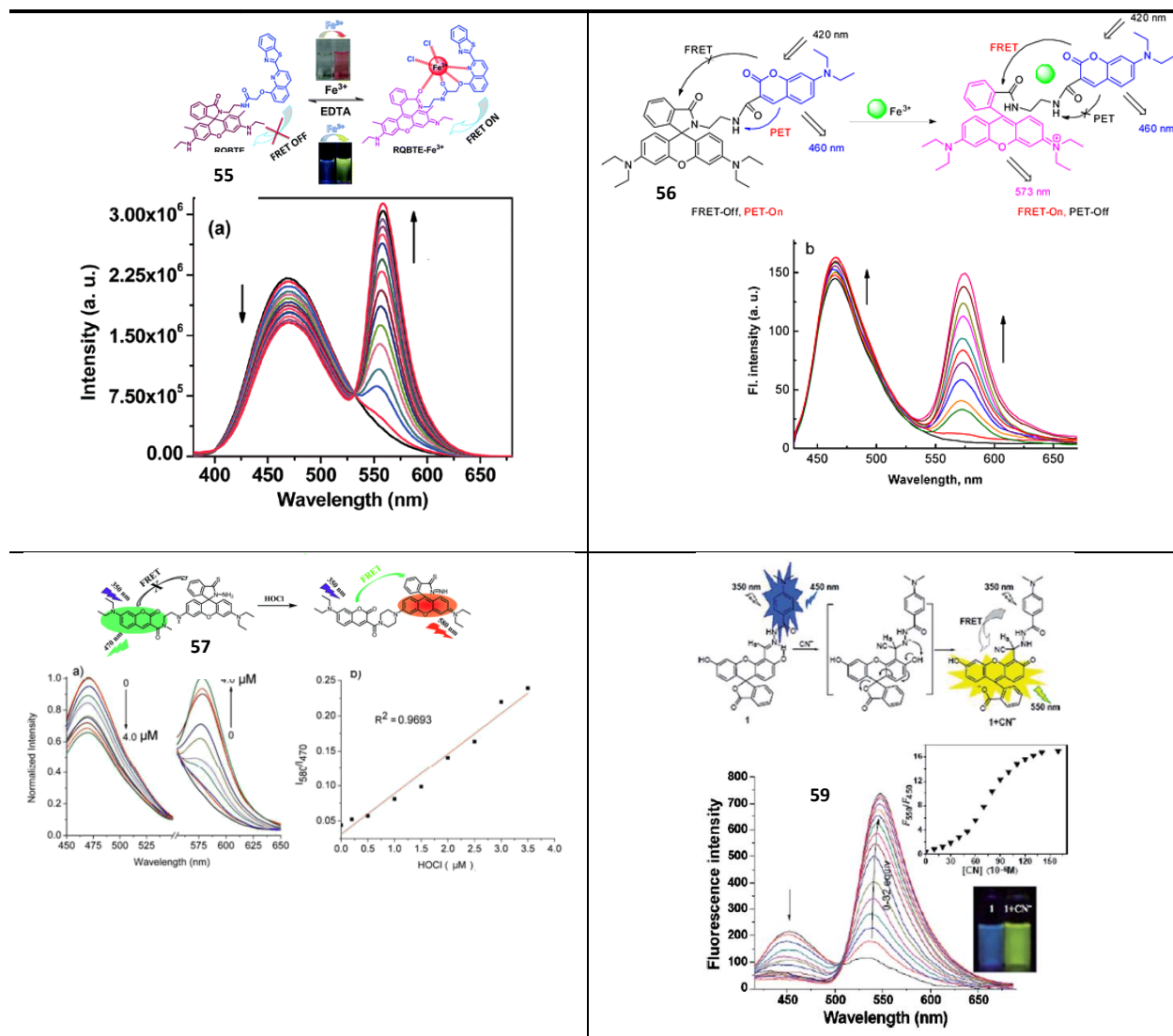
2.6.3. Рейшиометрични сензори базирани на резонансен енергиен трансфер

Един ефективен подход при дизайна на флуоресцентни рейшиометрични сензори е употребата на резонансен енергиен трансфер, тъй като при него се наблюдава емисия при две различни дължини на вълната с един-единствен източник на възбуждане. За разлика от ВПЗ сензорите, при който абсорбционния максимум се отмества и може да има припокриване на емисионните пикове, което да затрудни правилното изчисляване на съотношението между интензитета на флуоресценцията при двете дължини на вълната (рейшиометричен анализ), при сензорите базирани на ФРЕТ този проблем може да бъде избегнат, тъй като взаимодействието на пробата с анализа може да повлияе само на интензитета на абсорбционните пикове, но не и на тяхната позиция.

При ФРЕТ сензорите емисията на донора, която е при относително по-малка дължина на вълната индуцира/предизвиква емисия на акцептора при по-голяма дължина на вълната, със съотношение на интензитета между тях модулирано от гост-аналита. Така чрез измерването на съотношението на интензитета на флуоресценцията при тези две дължини на вълната могат да бъдат разработени рейшиометрични сензори, при които влиянието от концентрацията на пробата и инструменталните фактори да бъдат елиминирани, което води до по-надеждно количествено откриване. В допълнение, тъй като псевдо-Стоксовите отмествания на ФРЕТ сензорите са по-големи, отколкото Стоксовите отмествания на донора или акцептора, възможните грешки от самогасене, както и в резултат от разсейването на светлината от източника на възбуждане могат да бъдат ефективно избегнати.

Използвайки тези предимства на ФРЕТ през последните години са докладвани много рейшиометрични сензори, опериращи по този механизъм (**Фигура 33**) [59-64].





Фигура 33: ФРЕТ рейшиометрични сензори.

3. Молекулни логически устройства

Минимизирането на полупроводниковите елементи вече е достигнало своята граница, поради което проектирането на молекулни устройства, способни да извършват логически операции добива широк интерес. В полупроводниковите устройства логическите елементи работят чрез двоична система, кодирайки сигналите под определена прагова стойност като 0 и над нея като 1 (ниско и високо напрежение). Математиката чрез която се извършват аритметичните действия в тях се нарича Булева алгебра. Тя се основава на предположението на Джордж Бул, че чрез задаване на кратки въпроси, на които може да се отговори само с “ДА” или “НЕ”, може да се стигне до всяка истина. В логическите устройства отговор “ДА” се кодира като 1, а НЕ като 0. Този процес е осъществим на молекулно ниво по няколко начина, но към момента най-често се

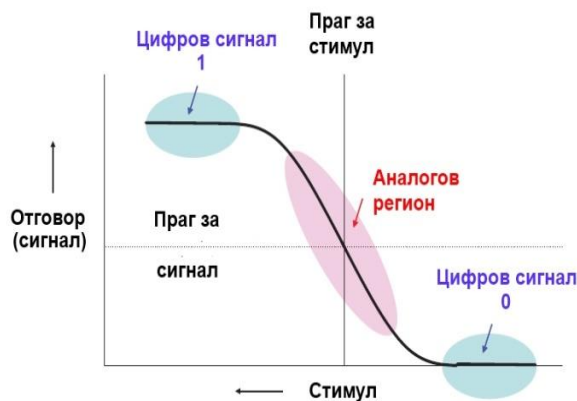
реализира чрез оптичните свойства на флуоресцентните молекулни сензори, посредством ниски и високи концентрации на гост молекули на вход и отчитане на флуоресцентната интензивност на продукта на изход (слаба емисия- 0 или силна емисия-1)[65].

Логическите устройства в класическите електронни полупроводникови системи са базирани на модела „*стимул-отговор*”. Те изпълняват логически функции в зависимост от информация, която приемат на вход, преобразуват я и я подават като информация на изход. Сигналят на изхода служи за входен сигнал на следващия логически елемент. Молекулните хемосензори и превключватели оперират на принципа „*аналит-сигнал*”, който по своята същност е аналогичен на модела „*стимул-отговор*”. Поради това тези молекули се радват на все по-голям интерес в качеството им на Молекулни Логически Устройства (МЛУ). За разлика от електронните логически устройства, МЛУ не работят с волтаж като входен и изходен сигнал. При тях природата на входния сигнал може да е най-разнообразна - химически вход, например молекули, йони; характеристика на средата - температура, полярност; оптичен вход- облъчване при определена дължина на вълната и др. Изходният сигнал най-често е оптичен – флуоресцентна интензивност, флуоресцентно време на живот, абсорбция; но би могъл да бъде химично отместване в ЯМР, както и много други химични явления. Химичните входове са лесни за прилагане в лаборатория, оптичните изходи са бързи и могат да бъдат регистрирани със сравнително проста апаратура, а някои дори с просто око, например, абсорбционни промени или пък поява на флуоресценция. Стратегиите за конструиране на МЛУ, както и при сензорите, са базирани на използването на ФЕТ, ФРЕТ, ВПЗ и ЕСА. Както и в класическите логически устройства и тук сигналите на вход и изход могат да приемат стойности 1 и 0 в двоична система или „висок” и „нисък” сигнал.

Благодарение на изключително малките си размери МЛУ биха могли да се прилагат в биологични единици, каквито са живите клетки, където класическите (логически устройства) ЛУ не намират приложение. Клетките функционират на базата на различни процеси, регулирани от концентрацията на съответните химични входове. В случай на отклонение от нормалното състояние, едно МЛУ би могло да отчете логически промените в концентрацията като „висок” и „нисък” сигнал на вход и да отговори с освобождаване на терапевтичен агент или да генерира сигнал за диагностика - оптичен „изход”.

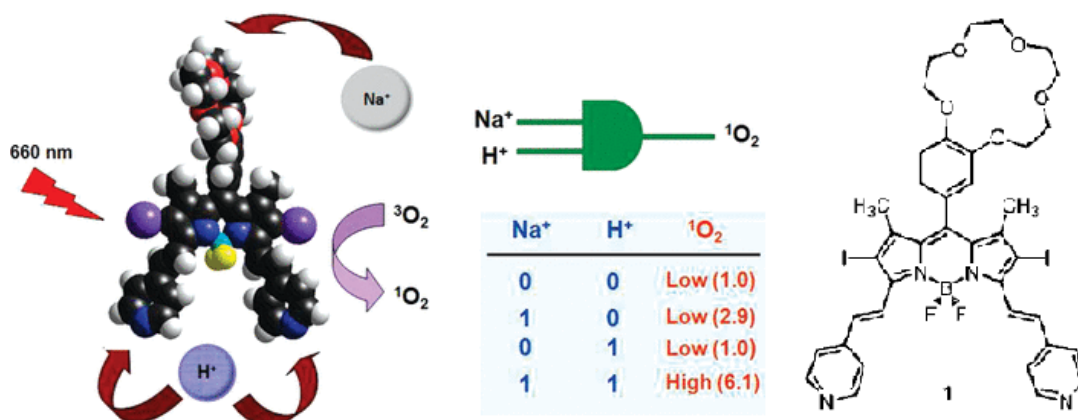
Цифровизацията на информацията от един молекулен сензор се състои в отчитане на сигнала в двата края на титрувалната му крива, където промени в концентрацията на анализа не влияят на сигнала. Така получаваме бинарен сигнал 0 или 1, които от химична гледна точка съответстват на свободен и вързан с мишената сензор (**Фигура 34**). ЛУ

използват Булева логика, с променливи, които могат да имат само две стойности 0 и 1 или TRUE и FALSE (един бит е една променлива, която може да заема стойност 0 или 1), и отношения като AND, OR, и др. Най-простия пример за ЛУ са тези с един вход и един изход. Възможностите за входен сигнал са две 0 и 1, на изход също.



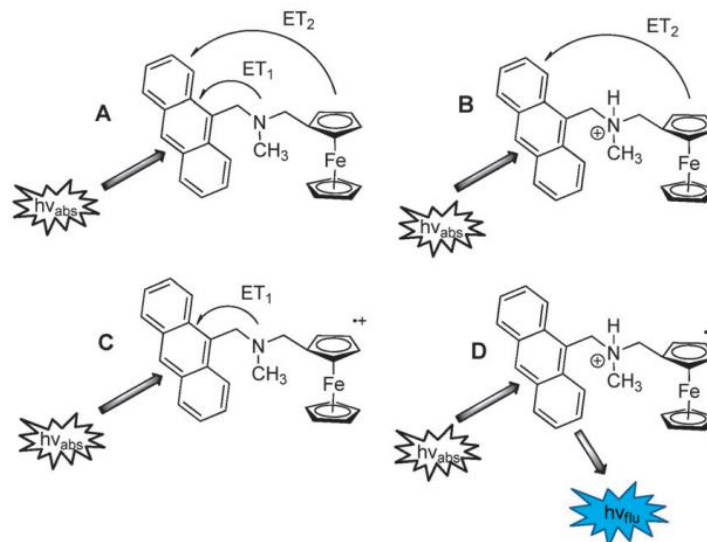
Фигура 34: Титрувална крива на сензор или крива стимул-отговор на МЛУ.

Производно на добре познато багрило BODIPY (Фигура 35) се оказва задоволителен сенсibiliзатор за синглетен кислород. Освен това скоростта на генериране на синглетен кислород може да се модулира от два свързани с рака клетъчни параметъра - концентрацията на натриеви йони и киселинността. Скоростта на генериране на синглетен кислород е максимална, когато са добавени натриеви йони и органична киселина. Работата на този молекулен сензор следва логиката AND, което въвежда допълнителен слой селективност във фотодинамичното действие на съединението. Трябва също да се отбележи, че в тази система сензорните, изчислителните и изпълнителните функции се реализират в рамките на една молекула [66].



Фигура 35: Молекулна портичка AND със селективност при генерирането на синглетен кислород за фотодинамична терапия.

Молекулна AND логическа портичка на антраценова основа (**Фигура 36**) показва флуоресцентен изход в метанол след химическо окисление на фероценовата част с Fe(III) и протониране на третичния амин. Този клас сензори може да има практически приложения в науката за корозията и изобразяването на живи клетки [67].

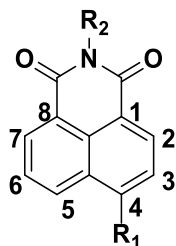


Фигура 36: Логическа портичка AND, илюстрираща четирите състояния и пътищата за деактивиране на електронния трансфер.

4. 1,8-нафталимидите като молекулни сензори

Флуоресценцията се наблюдава основно при съединения с π -електрони. Особено силна флуоресценция се наблюдава при термодинамично твърди молекули, например при ароматни съединения. Причината за отсъствие на флуоресценция при много молекули са конкурентно протичащи процеси на безизлъчвателна дезактивация.

Синтезът на нови флуоресцентни съединения е насочен, не към създаване на нови класове флуорофори, а към усъвършенстването на вече утвърдените. Важно място сред съединенията с π -електрони заемат производните на 1,8-нафталимида (**Фигура 37**), отличаващи се с висока химична стабилност и интензивна флуоресценция.

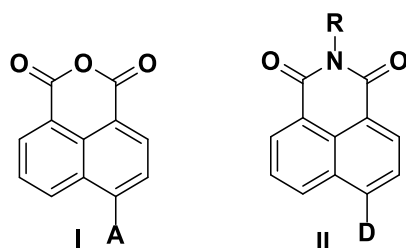


Фигура 37: Структура на 1,8-нафталимида с различни заместители R_1 и R_2 .

Те притежават π -спрегната система, в която са включени акцепторен заместител (имидна група) и донорен заместител (обикновено в позиция С-4). Основното предимство на тези съединения е възможността за лесна функционализация на тези две позиции в нафталиמידната молекула за придобиване на желаните характеристики.[68-72]

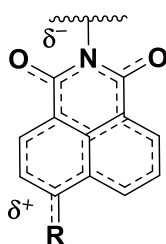
Нафталиמידните флуорофори успешно намират все по-широко приложение за флуоресцентно маркиране в медицината [73], в лазерните технологии [74-75], в течно-кристалните дисплеи [76], в органични светодиодите [77-79] и др.

1,8-нафталиמידните структури се получават при взаимодействие на производни на нафталовия анхидрид (или неговите 4-хлоро-, 4-бромо-, 4-сулфо- и 4-нитро-производни) с амини и последващо заместване на акцепторен (А) заместител, предварително въведен в позиция С-4, с донорен (D) (Фигура 38). Това най-често представлява нуклеофилно заместване на халогени или нитрогрупа с амини или алкоксиращи агенти.



Фигура 38: Производни на 1,8-нафталимида.

Поляризацията на нафталиמידната молекула се осъществява в резултат на донорно-акцепторно взаимодействие между заместителите в С-4 позиция на нафталеновото ядро и карбонилните групи от имидната групировка (Фигура 39).



Фигура 39: Разпределение на електронната плътност в 1,8-нафталиמיד.

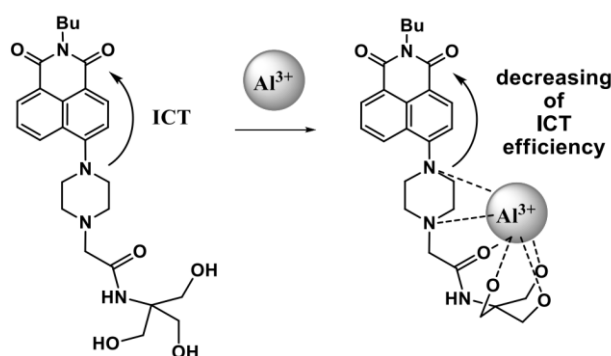
При 1,8-нафталиמידите абсорбционните и емисионните свойства са функция на донорния характер на С-4 заместителя. Така например, по-слабо електронодонорната алкокси група води до абсорбция в близката UV-област и синя емисия. По-силно донорната аминогрупа отменя абсорбцията и емисията батохромно и получените съединения притежават абсорбция във видимата част на спектъра и жълто зелена

флуоресценция. По този начин фотофизичните свойства на нафталимидите (НИ) могат лесно да бъдат „настройвани” с въвеждане на подходящи заместители в позиция С-4. От друга страна, възможността за въвеждане на различни остатъци в *N*-позиция на нафталимидното ядро позволява допълнително да се работи върху функционалността на молекулата, например, за подобряване на нейната разтворимост.

Характерен за НИ е $\pi \rightarrow \pi^*$ прехода, който определя високият им екстинкционен коефициент и интензивна емисия. НИ също притежават голямо Стоксово отместване, което позволява да бъдат възбудени в абсорбционния максимум, водещо до максимален флуоресцентен сигнал. Тези съединения се характеризират и с висока светлостабилност.

4.1. Приложение във ВПЗ системи

Разработването на флуоресцентни ВПЗ сензори, базирани на 1,8-нафталимидни архитектури, често предполага участието на електрон-донорни заместители на С-4 позиция на нафталимидното ядро в рецепторната част. По този начин, 4-пиперазин-заместено производно на нафталимида представено на **Фигура 40** се използва [80] за изследване на алуминиеви катиони в метанол. Координирането на азотния атом от Al^{3+} йони води до отслабване на неговите донорни свойства и намаляване на количеството енергия, което е необходимо за пренос на заряд в системата по време на фотовъзбуждане. Това води до късовълново изместване на максимумите на абсорбция и флуоресценция на лиганда при координация с метални йони.

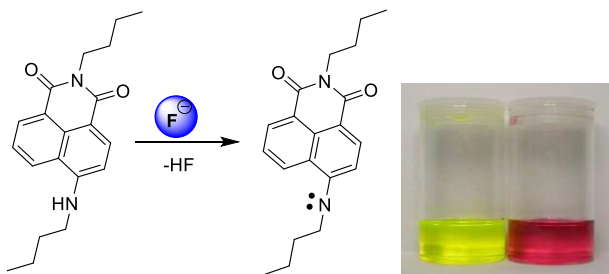


Фигура 40: Сензор за алуминиеви катиони в метанол.

Повишаването на флуоресценцията на съединението на **Фигура 40** при свързване с Al^{3+} йони е свързано с блокирането на безизлъчвателната релаксация на възбуденото състояние на молекулата в резултат на образуването на комплекс с алуминиевите катиони. Това представлява флуоресценция с повишена хелатация, т.е. засилване на флуоресценцията в резултат на хелатация [81]. Дисоциационната константа на

съединението е 4,88. Съединение 10 се свързва обратимо с алуминиеви катиони с висока селективност в сравнение с други метални катиони във водни разтвори, което обуславя приложението му в екологичния анализ.

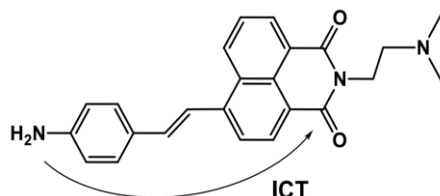
Сензорите базирани на ВПЗ освен за откриване на катиони, се използват и за аниони. По-голямата част от сензорите, отговорни за разпознаване на аниони, са базирани върху реакция на депротониране на кисели азот-съдържащи групи в сензорната молекула. Изследване показва, че ефектът на ВПЗ в съединението показано на **Фигура 41** е полезен инструмент за определяне на F^- . Сензорът се основава на фотофизичното поведение на 4-амино-1,8-нафталимидната си структура. Тези съединения са цветни и притежават интензивна флуоресценция (обикновено излъчват с максимум при 550 nm), тъй като те притежават големи диполни моменти във възбудено състояние, дължащи се на тяхната ВПЗ природа. След добавянето F^- -аниони (като $(C_4H_9)_4N^+$ сол) е установена промяна в абсорбционните ивици на разглежданите съединения в разтвор на DMSO, вследствие на депротониране на 4-амино дозорната част на молекулите. Процесът на депротониране на амино групата води (**Фигура 41**) до значително повишаване на електронната плътност на азотния атом, което е свързано със силно повишаване на ефективността на ВПЗ прехода и батохромно изместване на абсорбция (цветът се променя от жълто-зелен до пурпурен) [82].



Фигура 41: Механизъм на действие и колориметрични променени на сензор за разпознаване на F^- .

Флуоресцентният рН сензор представен на **Фигура 42** съдържа две богати на електрони аминогрупи, чието протониране причинява различни спектрални промени [83]. Той е ВПЗ хромофор, тъй като съдържа аминостирилен заместител с донорни свойства, които са в спрежение с карбонилните групи на нафталимидната единица. Тъй като стойността на рН на сместа DMSO-вода (3:1, v/v) намалява от 6,0 на 3,0, по-основната диметиламино група, която играе ролята на донор на ФЕТ в системата, се подлага първо на протониране. Този процес води до засилване на флуоресценцията на сензора. Свързването с ВПЗ донорния протон (от NH_2 групата) води до драстично намаляване на

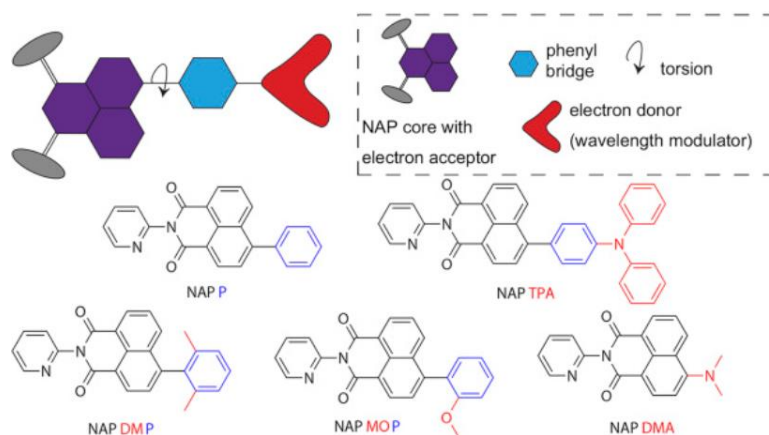
неговите електрон-донорни свойства, което води до увеличаване на енергийната разлика между граничните молекулярни орбитали на комплекса и първоначалния лиганд. Това води до хипсохромно изместване на максимумите на абсорбция и флуоресценция на сензора при комплексообразуване.



Фигура 42: Структура на нафталиמידен рН-сензор.

4.2. Приложение в УВПЗ системи

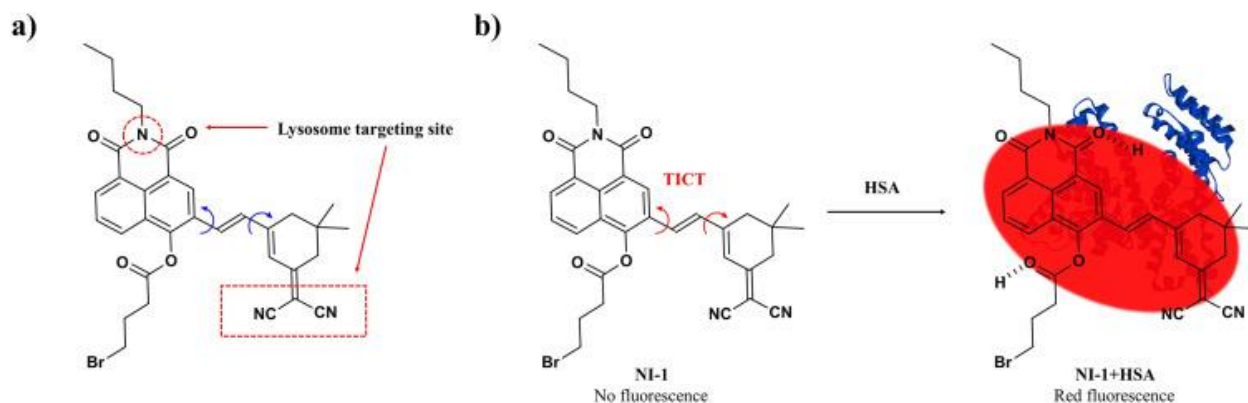
Въпреки че повечето от ВПЗ молекулите показват регулируема дължина на вълната на излъчване в различни среди, интензитетът им във водна среда често е слаб поради състоянието на усукан ВПЗ и ефекта на агрегационно гасене. Установено е, че замената с фенилов фрагмент в 4-позиция на нафталимида може да предотврати агрегационното гасене на обикновените нафталиמידни съединения във воден разтвор и кристално състояние. Като се имат предвид техните относително прости структури и синтез, фенил-заместващите нафталимиди могат да бъдат разработени като ново поколение нафталиמידни флуорофори в широка емисионна гама (**Фигура 43**) [84].



Фигура 43: Производни на 4-фенил нафталимида.

Съобщава се за нов нафталиמידен сензор NI-1 (**Фигура 44**), който специфично открива HSA (човешки серумен албумин) във вътреклетъчните лизозоми с "включване" на флуоресцентния сигнал. В клетката N-съдържащата малонитрилна група на NI-1 може да се свърже с лизозомата. Освен това NI-1 може да навлезе специфично в хидрофобната

кухина на HSA в лизозомата. Поради силата на свързване между NI-1 и HSA, силното стерично препятствие и хидрофобният джоб в HSA възпрепятстват ефекта на усукан вътрешно молекулен пренос на заряд (УВПЗ) в самата молекула. Поради това NI-1 излъчва силна червена флуоресценция. По-важното е, че NI-1 може ефективно да се използва за биоизобразяване на екзогенни и ендогенни HSA в лизозомата. Тези резултати показват, че сензорът NI-1 има голям потенциал за изследване на по-нататъшната функция на HSA за фармацията и медицината [85].



Фигура 44: УВПЗ нафталимен сензор за специфично открива HSA (човешки серумен албумин) в лизозоми.

4.3. Приложение във ФЕТ системи

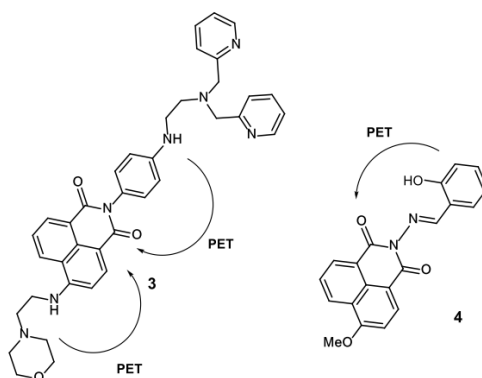
Неотдавна 1,8-нафталимидите намериха приложение и като супрамолекулярни единици при изследване на фотоиндуцирания електронен трансфер (ФЕТ). Обичайно, при конструиране на 1,8-нафталимидни ФЕТ устройства, въвеждането на “мост-рецептор” в 4-та позиция на нафталимида се предпочита пред това в *N*-позиция. Причина за това е факта, че притежаващия “мост-рецептор” в 4-та позиция флуорофор има по-висок редукционен потенциал от свързания в *N*-позиция, вследствие на което термодинамичната вероятност за възникване на ФЕТ процес е няколко пъти по-висока.

N-заместените-1,8-нафталимиди проявяват необичайно високо усилване на флуоресцентния си сигнал при наличие само на някои метали. Освен това е интересно да се отбележи, че вероятността за осъществяване на ФЕТ процес при тези съединения намалява с усилване на донорната способност на заместителя в 4-та позиция на флуорофора. Тоест най-силно изразен ФЕТ при 1,8-нафталимиди с рецептори в *N*-позиция се наблюдава в 4-халагено производни и намалява от незаместените, през 4-метокси до 4-

амино производните. Причина за това е, че повишаването на донорната способност на заместителя в 4-та позиция на нафталимида води до намаляване на електронния дефицит на флуорофора.

На базата на ФЕТ концепция са създадени редица флуоресцентни “off-on” или “on-off” сензори с висока чувствителност и селективност за откриване на най-разнообразни йони и молекули.

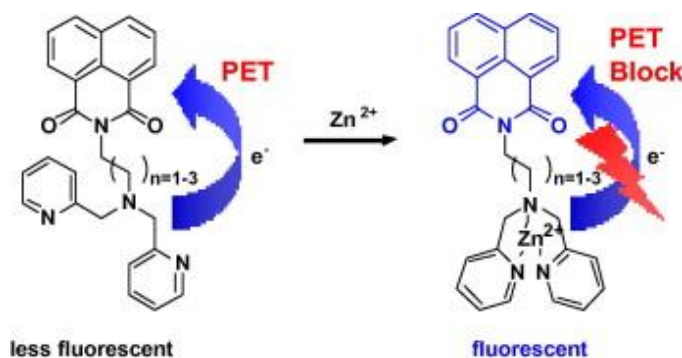
Съединение 3, притежаващо два донорни ФЕТ фрагмента е докладвано като успешен сензор за цинкови йони в лизозоми (**Фигура 45**) [86]. Рецепторната част на молекулата е представена от дипиколоил етилендиаминова част, прикрепена към нафталиמידния флуорофор чрез фениленов фрагмент. Наличието на аминогрупата във фениловата част води до увеличаване на НОМО енергията на сензора и засилва ФЕТ ефекта в молекулата, което осигурява високата чувствителност на 3 към координацията на рецептора от катиона. Четвъртата позиция на нафталиמידното ядро е заета от морфолинова единица, която осигурява натрупването на сензора в лизозомите. Освен това тя се явява втората донорна част, пренасянето на електрон от която води до гасене на нафталиמידната флуоресценция.



Фигура 45: Флуоресцентни ФЕТ сензори за цинкови катиони.

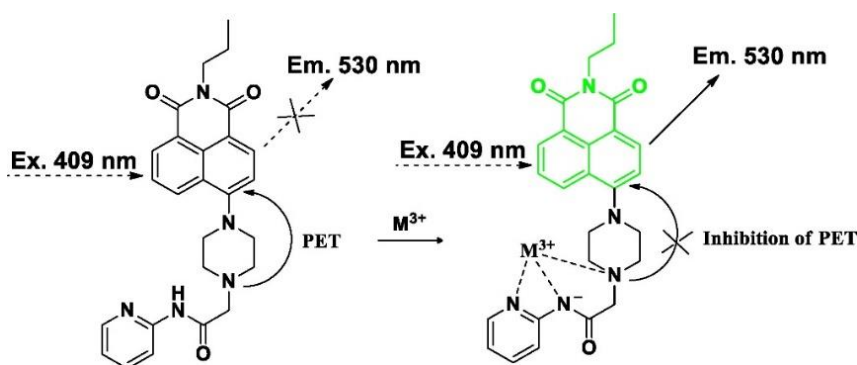
ФЕТ сензор 4 за детекция на Zn^{2+} катиони (**Фигура 45**) е разработен на базата на производно на 4-метокси-1,8-нафталиמיד, съдържащо салицилиденова амино рецепторна група при имидния азотен атом. Сензор 4 демонстрира флуоресцентен отговор за Zn^{2+} катиони в разтвор на ацетонитрил поради образуването на комплекси лиганд-метал със състав 1:1 и 2:1 [87]. Сензор 4 селективно се свързва с цинкови катиони за разлика от Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} и Pb^{2+} . Квантово-химичните изчисления на граничните орбитали показаха, че отговорът на 4 е свързан с потискането на ФЕТ процеса в свободния лиганд.

Разработени са базирани на нафталиמיד флуоресцентни хемосензори (**Фигура 46**), които показват усилване на флуоресценцията при свързване на Zn^{2+} йони в 10 mM HEPES буфер (pH 7,4) при 25 °C. Повишаването на флуоресценцията се дължи на прекъсване на ФЕТ процеса от азотните атоми към нафталиמידната част. Колкото по-дълъг е въглеродородния мост ($n = 1-3$) на сензора, толкова по-малка става ефективността на ФЕТ. Сред изследваните сензори, този с най-къс въглеродородния мост показва най-висока селективност и чувствителност за Zn^{2+} йони спрямо други йони на преходни метали и йони на алкални метали във вода [88].



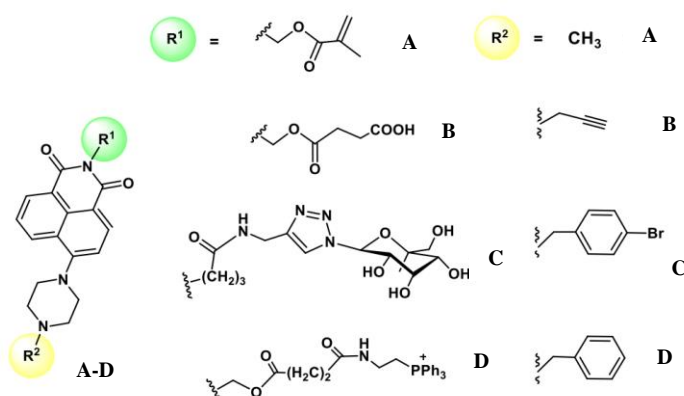
Фигура 46: Нафталимиден ФЕТ сензор за Zn^{2+} йони.

Докладван е мултианалитен сензор (**Фигура 47**) за селективно откриване на Fe^{3+} , Al^{3+} и Cr^{3+} йони във водни и биологични проби. Чрез селективни взаимодействия с Fe^{3+} , Al^{3+} и Cr^{3+} йони се образуват комплекси със сензора. По този начин ФЕТ процеса в сензора се инхибира, включва се флуоресценцията и това позволява откриването на Fe^{3+} , Al^{3+} и Cr^{3+} йони. Едновалентни и двувалентни метални йони, както и други конкуриращи се тривалентни катиони не пречат на процеса на откриване. Сензорът е стабилен в биологичния диапазон на pH, пропусклив е за мембрани, нелетален при експерименталните условия и полезен за изобразяване на вътреклетъчни нива на Fe^{3+} , Al^{3+} или Cr^{3+} в живи HaCaT клетки (човешки кератиноцитни клетки) [89].



Фигура 47: Нафталимиден ФЕТ сензор за Fe^{3+} , Al^{3+} и Cr^{3+} йони.

Разработена е серия от флуоресцентни рН-сензори (**A-D**) на базата на 4-пиперазин-заместени нафталимиди (**Фигура 48**) [90-93]. Тези рН сензори имат един и същ рецептор (пиперазинова част в С-4 позиция на нафталиמידното ядро), но съдържат различни функционални части при имидния азотен атом. Съединение **A** включва метакрилатна част, която предлага възможност за сензорна полимеризация и създаване на тънки филми за *in vitro* рН анализ. Сензор **B** съдържа остатък от янтарна киселина за по-нататъшно имобилизиране върху наночастици. Съединение **C** включва галактозна част, която опростява проникването му в клетките чрез ендоцитоза и натрупване в лизозоми. И накрая, сензор **D** съдържа положително заредена трифенилфосфониева група, която подпомага доставянето му до митохондриите. Емисията на съединения **A-D** в алкалната среда се гаси в резултат на пренос на електрон от богатата на електрони пиперазинова част. Протонирането на азотния атом на пиперазина блокира ФЕТ процеса, което води до усилване на флуоресценцията. Стойностите на рКа за тези сензори са съответно 6.83, 6.47, 6.73 и 6.18. Работните стойности на рН на средата са в рамките на 4,5–7,5.



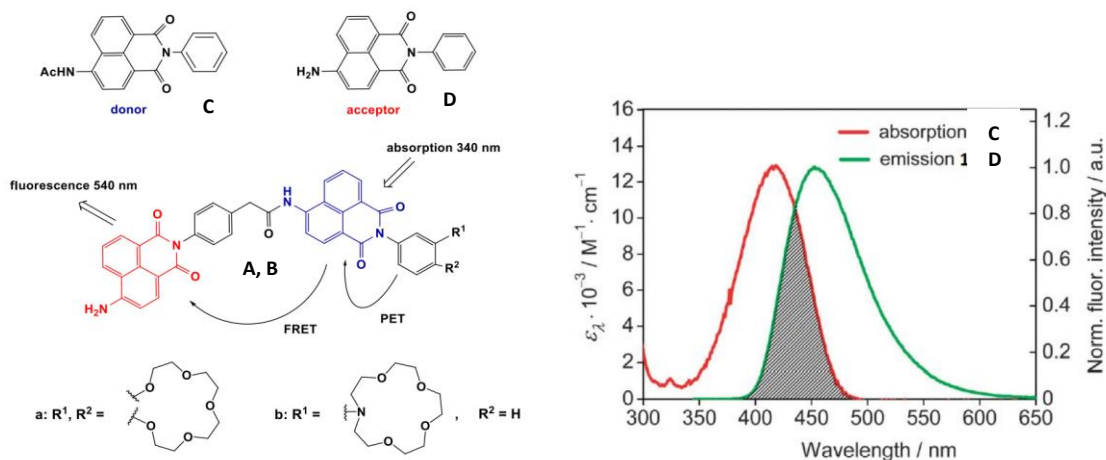
Фигура 48: Нафталиמידни ФЕТ рН сензори.

4.4. Приложение във ФРЕТ системи

Резонансният енергиен трансфер (ФРЕТ) е един от най-популярните фотофизични процеси, които се използват при разработването на оптични сензори. Той е резултат от дипол-диполното взаимодействие между два фотоактивни фрагмента [94].

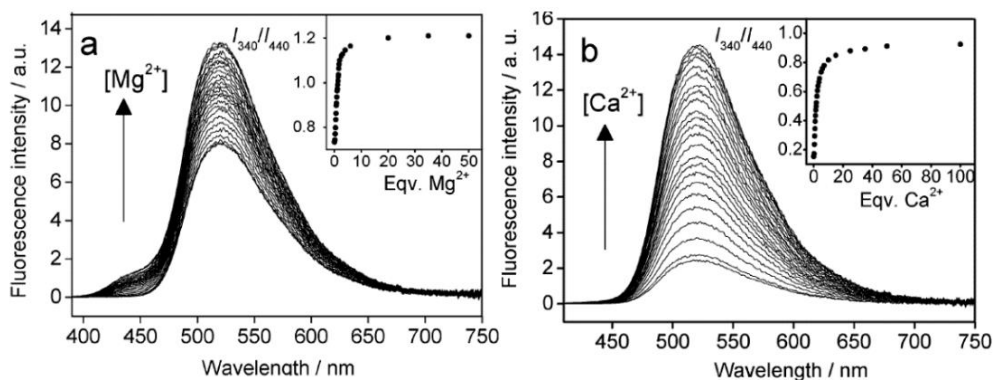
Описани са бис-хромофорни флуоресцентни сензори **A** и **B** на базата на 1,8-нафталиמידни производни, носещи бензо-15-краун-5 и N-фенил-аза-15-краун-5 етерни фрагменти като рецептори (**Фигура 49**) [95]. За да се изпълни основното условие за реализиране на ФРЕТ процеса в системите, за донор и акцептор са избрани нафталиמידни производни **C** и **D** (**Фигура 49**). Както може да се види от **Фигура 49**,

емисионната ивица за **D** е разположена в диапазона от 440–460 nm, като частично се припокрива с абсорбционния спектър на **C**, който има максимум при 417 nm.



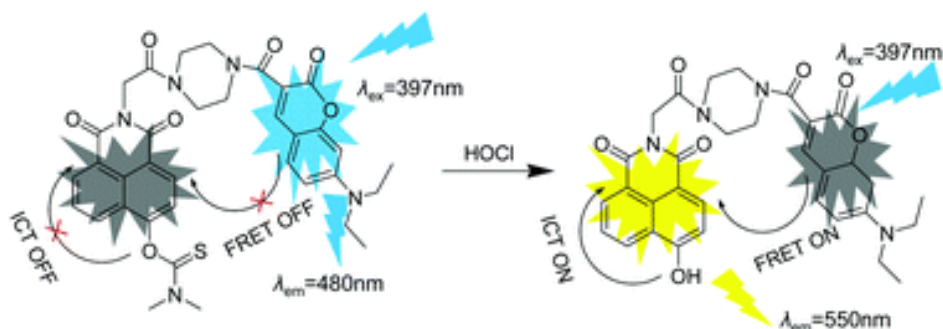
Фигура 49: Структури на сензори **A** и **B** и монохромофори **C** и **D**. **B** - Припокриване между абсорбционния спектър на **D** и спектъра на излъчване на **C** в ацетонитрил.

Както е известно въвеждането на краун етерна единица във флуорофори на базата на нафталиמיד може да доведе до реализиране на ФЕТ процес в системата, което води до гасене на флуоресценцията на нафталимида. Следователно, излъчването на донорния фрагмент на **A** и **B** се гаси в резултат на реализирането на два конкурентни процеса в системите - електронен трансфер и пренос на енергия (**Фигура 49**). ФЕТ процесът в съединения **A** и **B** е катион-зависим, като в присъствието на метални катиони, способни да координират остатъка от краун етер, неговата ефективност намалява. Блокирането на ФЕТ-процеса води до нарастване на интензитета на флуоресценция на акцепторния фрагмент в резултат на пренос на енергия от донора. **Фигура 50** представя резултатите от спектрофлуорометрично титруване на ацетонитрилови разтвори на **A** и **B** съответно с магнезиев и калциев перхлорати. Добавянето на метални катиони към сензорните разтвори води до нарастване на интензитета на флуоресценция при около 520 nm, което съответства на емисионния максимум на 4-амино-1,8-нафталимида.



Фигура 50: Промени във флуоресцентните спектри на съединения **A** (a) и **B** (b) в ацетонитрил при 340 nm.

Конструиран е рейшиометричен флуоресцентен сензор (**Фигура 51**) за високоселективно откриване на хипохлориста киселина въз основа на комбинирани механизми на вътрешномолекулен пренос на заряд (ВПЗ) и флуоресцентен резонансен енергиен трансфер (ФРЕТ). В разработената молекула като донор на енергия е използвано кумариново производно, а като рецептор - нафталамиден флуорофор, който е модифициран с диметилтиокарбаматна група като разпознаваща единица за HOCl. При отсъствие на HOCl нафталимидният рецептор се изключва от ВПЗ и ФРЕТ процеса от кумариновия донор към нафталимидния рецептор се предотвратява. При добавяне на HOCl нафталимидният рецептор се включва и ФРЕТ се осъществява. Базираният на ВПЗ-ФРЕТ флуоресцентен сензор за хипохлориста киселина показва висока селективност и много кратко време за реакция (<2 s) и добра биосъвместимост. Освен това сензорът не показва почти никаква клетъчна токсичност и е ефективно приложен за рейшиометрично флуоресцентно изобразяване на HOCl в HeLa клетки (клетки от рак на маточната шийка).[96]

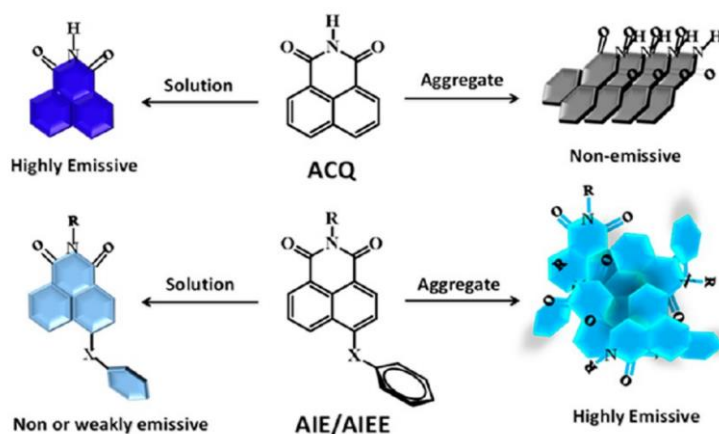


Фигура 51: ВПЗ-ФРЕТ-флуоресцентен рейшиометричен сензор за определяне на хипохлориста киселина.

4.5. Приложение в ЕСА системи

През последните десетилетия, въпреки че N-имид-функционализирани нафталимиди са широко използвани като класически флуорофори, техните свойства на агрегационно гасене обаче скриват потенциалните им приложения. След откриването на ЕСА като явление се откриват нови хоризонти за приложение на 1,8-нафталимидните флуорофори. Както е показано на **Фигура 52**, силно флуоресциращите планарни нафталимидни молекули (в разтвор) са засегнати от гъстото подреждане в агрегирано състояние чрез образуването на H-агрегати. Заместването в С-4 позиция на ядрото им с твърдо ароматно ядро обаче ограничава

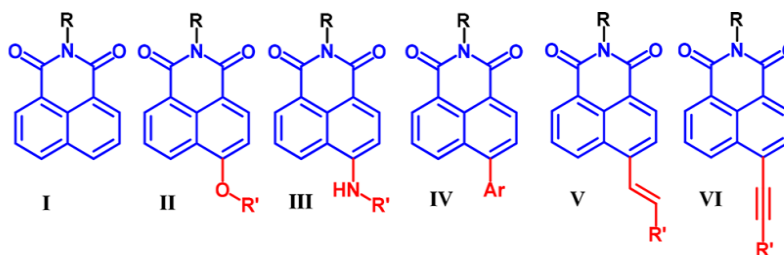
агрегацията от Н-тип (нефлуоресциращи или слабо флуоресциращи в разтвор поради динамично въртене и вибрации) и стават силно флуоресциращи в агрегирано и твърдо състояние (**Фигура 52**). Този пример установява, че флуорофор с агрегационно гасене (АГ) може лесно да бъде трансформиран в ЕСА-активен материал чрез нарушаване на неговата планарност посредством ароматно заместване в НИ-ядро. Съществуват и някои други методи, като например добавяне на единици с АГ към полимерна верига за синтезиране на ЕСА-флуорофори. Основната цел на подобна структурна трансформация е да се ограничи възможността на молекулите да образуват Н-агрегати чрез π - π подреждане в лош разтворител или в твърдо състояние [97].



Фигура 52: Графично представяне на НИ с АГ и ЕСА НИ в разтвор и агрегирано състояние.

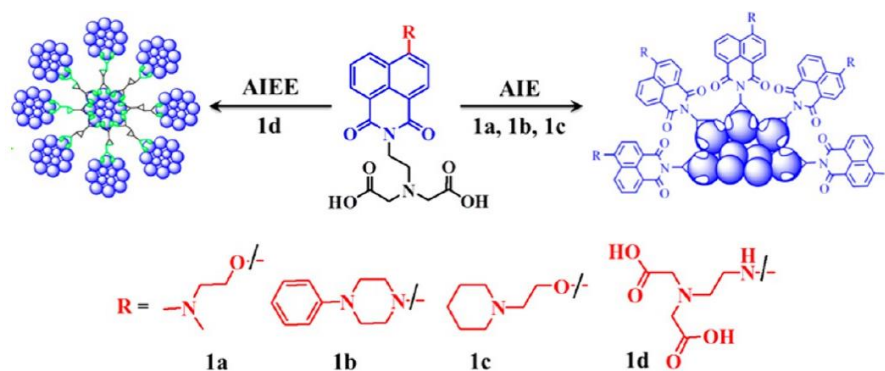
Досега са докладвани редица нафталимидни (НИ) производни с висок флуоресцентен квантов добив в твърдо или агрегирано състояние чрез въвеждане на различни органични заместители в С-4 позиция или чрез N-функционализация и са открити различни области с потенциални приложения. Тези ЕСА луминогени намират приложение и могат да бъдат ефективно използвани в OLED, маркиране на живи клетки, молекулни логически устройства, лекарствени носители и други [97].

Представители на 1,8-нафталимидите с различни N-функционализация и заместители в С-4 позиция са представени на **Фигура 53**.



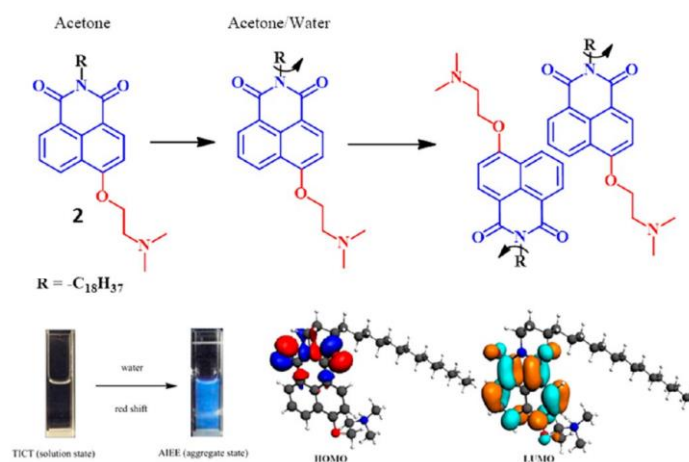
Фигура 53: НИ структури с различни заместители.

Четири нафталимидни (НИ) водоразтворими флуорофори с карбоксилни групи бяха разработени от колектива на Сън и бяха успешно използвани като сензори за казеин посредством ЕСА [97-101]. Тези НИ са приложени за количествено определяне на казеин в проби от мляко на прах. Молекулите притежават донорни и акцепторни единици, които могат да модулират техните фотофизични свойства чрез промяна на полярността на разтворителя. Самоасоцирането и УВПЗ играят значителна роля, което доведе до намаляване на интензитета на флуоресценция в състояние на разтвор. Тези молекули се свързват ефективно с остатъци от тирозин и триптофан, присъстващи в хидрофобната кухня на казеина, които следователно са отговорни за агрегацията на молекулите върху повърхността на казеина с повишена емисия. Най-високата чувствителност е постигната с флуорофор *1d* поради наличието на четири карбоксилни групи, които са свързани с казеина по-компактно и стават по-хидрофобни (Фигура 54).



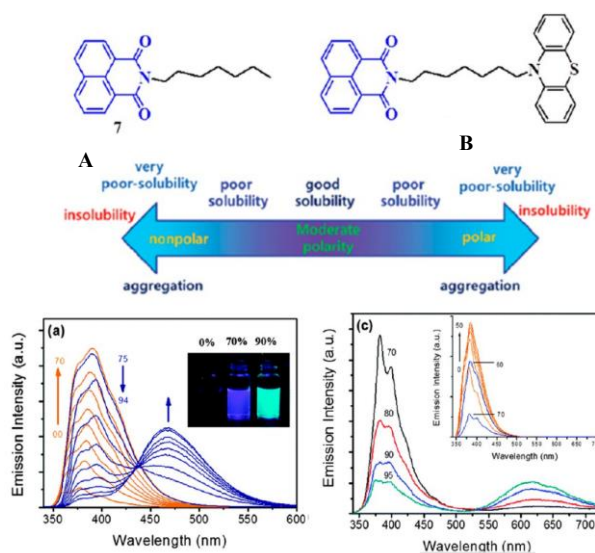
Фигура 54: Взаимодействие на водоразтворими НИ с казеин.

Янг и съавтори съобщават за донорно-акцепторен (Фигура 55) НИ флуорофор с положителен солватохромизъм, който е приложен като протонен сензор [102]. Дължините на вълните на абсорбция и емисия са изместени батохромно, а интензитетът на емисията намалява от неполярни към полярни разтворители. Флуоресцентните спектри са снети при различно рН. В рН диапазона от 7,6 до 5,0 се наблюдава постепенно увеличаване на интензитета на хипсохромно изместената емисия. Това се дължи главно на протонирането на имидната част, която ограничава фотоиндуцирания електронен трансфер (ФЕТ) в молекулите и служи като протонен сензор.



Фигура 55: Сензор за протони и предложени механизми за ЕСА и УВПЗ.

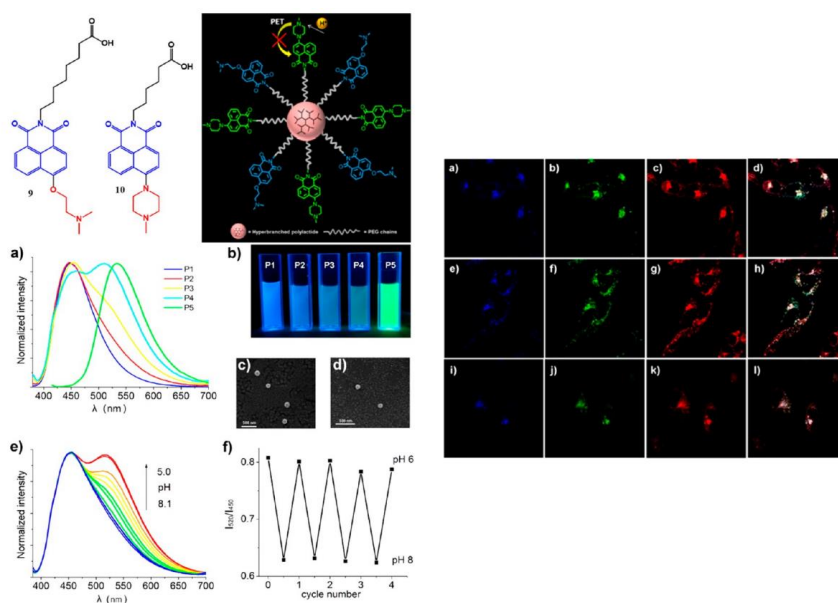
Чо и колегите му изследват влиянието на полярността на разтворителя върху характера на агрегацията. Те съобщават за два нафталимидни ЕСА-флуорофора, за да опишат причината за явлението ЕСА при различните видове НИ-производни [103]. Химичните структури на флуорофорите са показани на **Фигура 56**. Както е показано на **Фигура 56**, флуорофор **A** показва батохромно изместване на ЕСА в силно полярни или неполярни разтворители и може да се свърже с образуването на ексимер чрез междумолекулно π - π взаимодействие. В случая на **B** обаче, при комбинацията Д-А (донор-акцептор), ЕСА може да се дължи на образуването на комплекс с вътрешномолекулен пренос на заряд (екзиплекс).



Фигура 56: Структурни формули и емисионни спектри на съединения **A** и **B**.

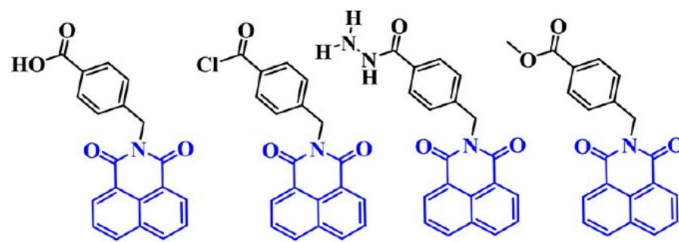
Смет и съавтори съобщават за първи път за хиперразклонена полимерна наночастица с ЕСА активност (**Фигура 57**) [104]. Полимерните НИ nano частици способни на ЕСА са използвани рейшиометрично за вътреклетъчен рН сензор. Тези

полимери показват отлична биосъвместимост и също така могат да се натрупват селективно в киселинните органели на живите клетки. Преди да се синтезират полимерите, ЕСА активността на мономерите е изследвана в различни съотношения ДМФ/вода и е установено, че и двата мономера проявяват ЕСА свойства във вода със съответно синя и зелена емисии. За да се получи по-добра представа за агрегационните свойства на хиперразклонения полимер заедно с ролята на отделните мономерни, са синтезирани пет полимера (P1-P5) чрез промяна на съотношението на двата мономера. Сред всички полимери полимерът P1 проявява най-ефективно ЕСА активност. Полимерите показват рейшиометрична промяна на цвета в зависимост от рН. Реагиращите на рН полимери бяха изследвани при различни рН диапазони от 4,7 до 8,0. Сред всички полимери P3 демонстрира голяма промяна на емисионния цвят от синьо (~450 nm) до зелено (~520 nm) при преминаване съответно от рН 8,1 до 5. Реакцията на рН се дължи на вътрешномолекулния ФЕТ от донорната към акцепторната част на НИ. Изследвания на вътреклетъчното рН в HeLa клетки (клетки от рак на маточната шийка) са показани с флуоресцентни микроскопски снимки на **Фигура 57**.



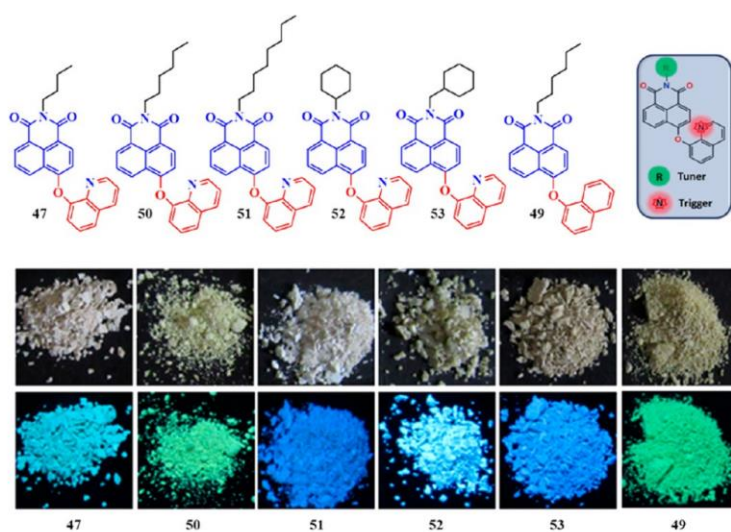
Фигура 57: Рейшиометричен рН сензор.

Четири нови N-функционализирани 1,8-нафталимидни производни са синтезирани от Мишра и сътрудници чрез промяна на функционалните групи върху фениловия пръстен (**Фигура 58**).[105] Те образуват флуоресцентни наноагрегати в разтвор вода/DMF и проявяват ЕСА.



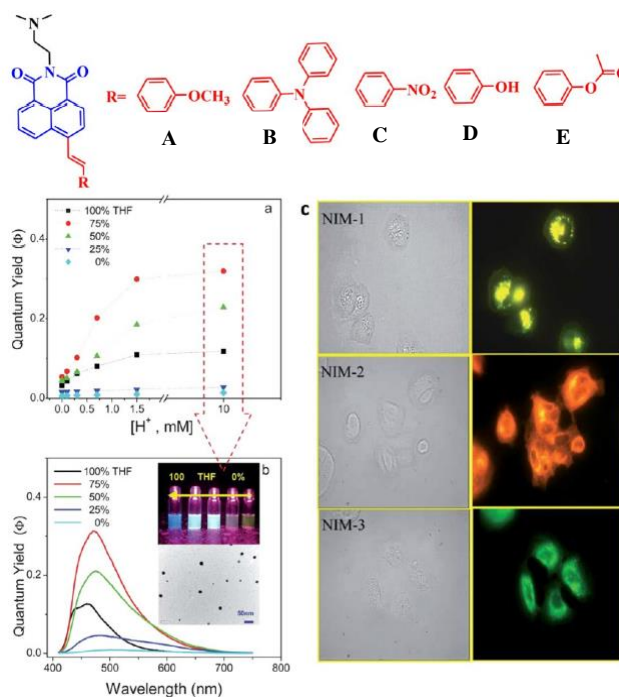
Фигура 58: N-функционализирани 1,8-нафталиimidни производни.

В свое изследване Айер и сътрудници формулират нова методология за фина настройка на фотофизичните и наноморфологичните свойства чрез промяна на неспрегнатата верига [105]. Чрез синтезиране на серия от шест ъглови "V"-образни НИ флуорофори (**Фигура 59**) се стига до заключението, че азотният атом действа като задействаща единица, докато страничната верига се държи като настройваща част. Различни експериментални и теоретични изследвания потвърдиха, че страничната верига генерира различна сила на обемност около ядрото на НИ, което контролира междумолекулните π - π взаимодействия, водещи до различна емисия в твърдо състояние и морфология на наноагрегатите. Тези открития установяват прост и уникален метод за прецизен контрол на цветовете на излъчване и наноморфологията на малки молекули чрез промяна на неспрегнатата алкилна верига. Установено е, че хинолин-заместените НИ откриват селективно фенолни нитро-експлозиви във водна среда. Механизмът на засичане е подробно проучен, което води до заключението за участието на множество механизми като ФЕТ, резонансен енергиен трансфер (ФРЕТ) и дезагрегация на наноагрегатите.



Фигура 59: Химични структури на "V"-образни НИ флуорофори и техни снимки при облъчване с ултравиолетова светлина (365 nm) и облъчване с бяла светлина.

Серия НИ производни (**A-E**) с донорно-акцепторна архитектура са докладвани от групата на Чанг чрез заместване на 4-метоксистирен, 4-(N,N-дифениламино)стирен, 4-нитростирен и 4-хидроксистирен и са представени техните абсорбционни свойства [106]. Изследвани са техните ЕСА характеристики и практическата им приложимост е илюстрирана чрез клетъчно изобразяване. Стироловите производни, заместени с **B** и **C**, показват ниска флуоресценция в разредени разтвори, но емитират в агрегирано състояние (**Фигури 60A и 60B**). Интензитетът на излъчване на **C** се засилва драстично при добавяне на воден разтвор на киселина поради образуването на самоагрегирани флуоресцентни наночастици от протонирания **C**. Всички производни са добре диспергирани в цитоплазмата с добра клетъчна проникваемост. Благодарение на техните ЕСА свойства, чрез тези сензорни молекули е постигнато ярко клетъчно изобразяване на клетъчна линия на аденокарцином на човешката гърда (MCF7) при различни дължини на вълната. (**Фигура 60C**). Молекули **A** и **B** (**Фигура 60**) са кокултивирани с нормални белодробни фибробластни клетки MRC-5 и клетки на белодробен рак CL1-0 и резултатите показват, че въпреки че **B** не е в състояние да разграничи нормалните и раковите клетки, молекулата **B** се разсейва в цитоплазмата на нормалните живи клетки, докато се натрупва в раковите клетки, което води до способността за ярко изобразяване. Тези различни масиви от клетъчни оцветявания означават, че **B** може да се използва за разграничаване на раковите от нормалните клетки.



Фигура 60: Химични структури на съединения **A-E**. (а) Графики на квантовия добив на флуоресценция на **HA C** при различни количества на разтворителя. (б) Промени във

флуоресценцията за *C* при 0, 25, 50, 75 и 100 процента водни разтвори на 10 mM HCl в THF при 400 nm. (в) Флуоресцентни снимки на MCF-7 клетки от рак на гърдата..

Флуоресцентни сензори, съдържащи 1,8-нафталамидни фрагменти, се използват за откриване на биомолекули в областта на околната среда и биологията. Повечето от тях обаче показват само един флуоресцентен изход за един анализ, което ги прави недостатъчни за откриване на повече анализи. Разработен е нов лизозомно-таргетиран двойно чувствителен към анализи флуоресцентен сензор на основата на 1,8-нафталамид (DPPP) за откриване на рН и паладий (Pd^0) (Фигура 61), използвайки два различни емисионни канала. Сензорът показва висока селективност, големи Стоксови отмествания ($\Delta\lambda \geq 100$ nm) и засилен отговор към рН със синя емисия при 485 nm чрез морфолинова група и отговор към концентрацията на Pd^0 с жълта емисия при 545 nm чрез алилкарбаматна група. DPPP е успешно използван за следене на рН и концентрацията на Pd^0 в лизозомата на HeLa клетки (клетки от рак на маточната шийка) и клетки на риба зебра с помощта на флуоресцентна микроскопия [107].



Фигура 61: Лизозомно-таргетиран флуоресцентен сензор за откриване на рН и паладий (Pd^0).

5. Заключение

На база на направения литературен анализ фокусирахме изследванията в настоящата работа върху флуорогенните производни на 1,8-нафталимида поради тяхната ярка флуоресценция, големи стокови отмествания и висока химична и фотостабилност. Най-големият недостатък на този клас флуорофори е тяхната ниска разтворимост във вода. Това значително ограничава приложението им в редица области като аналитичната химия, биологията и медицината. Обикновено традиционните органични флуорофори осигуряват високи квантови добиви само в разредени разтвори, докато тяхната флуоресценция е до голяма степен отслабена при високи концентрации поради феномена на агрегационно гасене (АГ). Алтернативен подход за проектиране на твърди флуоресцентни сензорни материали се основава на емисията вследствие на агрегация (ЕСА). Още от споменаването ѝ за първи път емисията вследствие на агрегация (ЕСА) се превръща в едно от най-привлекателните полета за синтез на нови флуорофори и хемосензорни системи. Всички изследвани съединения са проектирани като ФЕТ флуоресцентни проби, базирани на класически модел "флуорофор-мост-рецептор", където богатият на електрони третичен амин е рецептора за протони, а 1,8-нафталиמידният флуорофор е флуоресцентната сигнализираща част.

III. Цели на дисертационния труд

Целите на настоящия дисертационния труд могат да бъдат обобщени както следва:

- Синтез и изследване на 1,8-нафталимидни сензорни архитектури опериращи едновременно посредством емисия в твърдо състояние и ФЕТ.
- Синтез и изследване на 1,8-нафталимидни сензорни архитектури опериращи едновременно посредством емисия в твърдо състояние и ВПЗ.
- Синтез и изследване на нови водоразтворими 1,8-нафталимидни сензорни архитектури опериращи едновременно посредством емисия в твърдо състояние и ВПЗ.

IV. Резултати и обсъждане

1. Изследване на 1,8-нафталимидни ФЕТ-системи с емисия в твърдо състояние

1.1. Производни на 1,8-нафталимида с „горен“ и „долен“ рецептор

Рационалните синтетични методи за получаване на 1,8-нафталимидни хемосензори позволяват две възможности за включване на ФЕТ-рецепторни фрагменти във флуорофорната система. В първият вариант, известен като "горен" рецептор, рецепторният фрагмент е свързан с N-позиция на 1,8-нафталимидната архитектура. При втория вариант, наречен „долен“ рецептор, рецепторният фрагмент е директно свързан към C-4 позиция на 1,8-нафталимидния флуорофор [108].

Термодинамично и в двата случая ФЕТ процесът от непротонираните аминокислотни рецептори е осъществим, но изискват електронът да навлезе във флуорофора през различно електрическо поле, което се отразява на неговата ефективност [109-110]. Добре известно е, че флуорофорната система на 1,8-нафталимида е ВПЗ π -електронна система, в чието възбудено състояние възниква високо ефективен пренос на заряд от C-4 електрон-донорната позиция към карбонилния електрон-акцепторни групи, при което се генерира значителен диполен момент с отрицателен полюс в имидния край на молекулата и положителен в позиция C-4 на нафталимида [111-112]. Големият диполен момент във възбудено състояние поражда силно фотогенерирано електрическо поле. В зависимост от своя заряд и величина, това молекулярно електрическо поле може да инхибира или ускори преминаващ електрон във възбудено състояние на 1,8-нафталимид. По този начин процесът на ФЕТ гасене на флуоресценцията се ускорява в системите с „долен“ рецептор, където електроните навлизат в пространството на 1,8-нафталимидния флуорофор през неговото привличащо електрично поле (**Схема 1**).

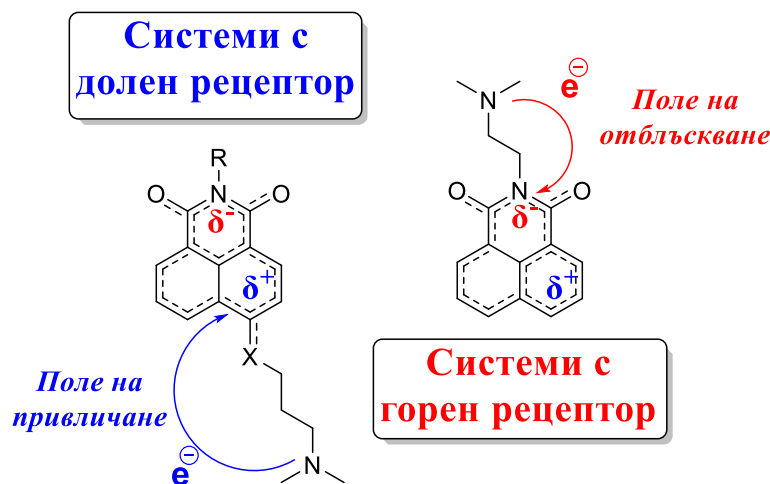


Схема 1: Диполен характер и посока на ФЕТ в 1,8-нафталиמידни системи с “долен” и “горен” рецептор.

За разлика от това, в системите с „горен“ рецептор силното отблъскващо поле около имидната част на молекулата сериозно ограничава ФЕТ процеса от N-позиция в богати на електрони структури, каквито са 4-амино-1,8-нафталиמידите. Този ефект значително се понижава в по-бедните на електрони 1,8-нафталиמידни производни. Затова интерес представляваше да се синтезират, изследват и сравнят различни 1,8-нафталиמידни архитектури притежаващи „горен“ и “долен” рецептор.

1.1.1. Производни на 1,8-нафталимида с “горен” рецептор

1.1.1.1. Дизайн и синтез на 1,8-нафталимида с “горен” рецептор

Производните на 1,8-нафталимида, съдържащи ФЕТ "горен" рецепторен фрагмент, се синтезират съгласно **Схема 2**. Съединения **4**, **5** и **6** са получени съгласно известни в литературата методики [113-115] след кондензация на 1,8-нафталов анхидрид **1**, 4-хлоро-1,8-нафталов анхидрид **2** и 4-бромо-1,8-нафталов анхидрид **3** с N,N-диметилендиамин в кипящ етанол. Съединение **7** е получено по известна методика, чрез взаимодействие на етилендиамин и 1,8-нафталов анхидрид **1** във вода [109]. Синтезът на 1,8-нафталиמיד **8** се получава след изчерпателно присъединяване на метилакрилат към първичната алифатна аминогрупа на N-(2-аминоетил)-1,8-нафталиמיד **8** по реакцията на Михаел. Съединение **9** се получава при кондензация на 1,8-нафталов анхидрид **1** с N-2-хидроксиетилетилендиамин в етанол при кипене. Новият 1,8-Нафталиמיד **10** е синтезиран чрез присъединяване по Михаел на метилакрилат към съединение **9** в метанол при стайна температура.

Синтезираното ново съединение **10** е охарактеризирано с Rf стойности от ТСХ анализ,

елементен анализ, UV-VIS, FT-IR и ^1H NMR спектроскопия. А известните 1,8-нафталимидни съединения са идентифицирани чрез температура на топене и с Rf стойности.

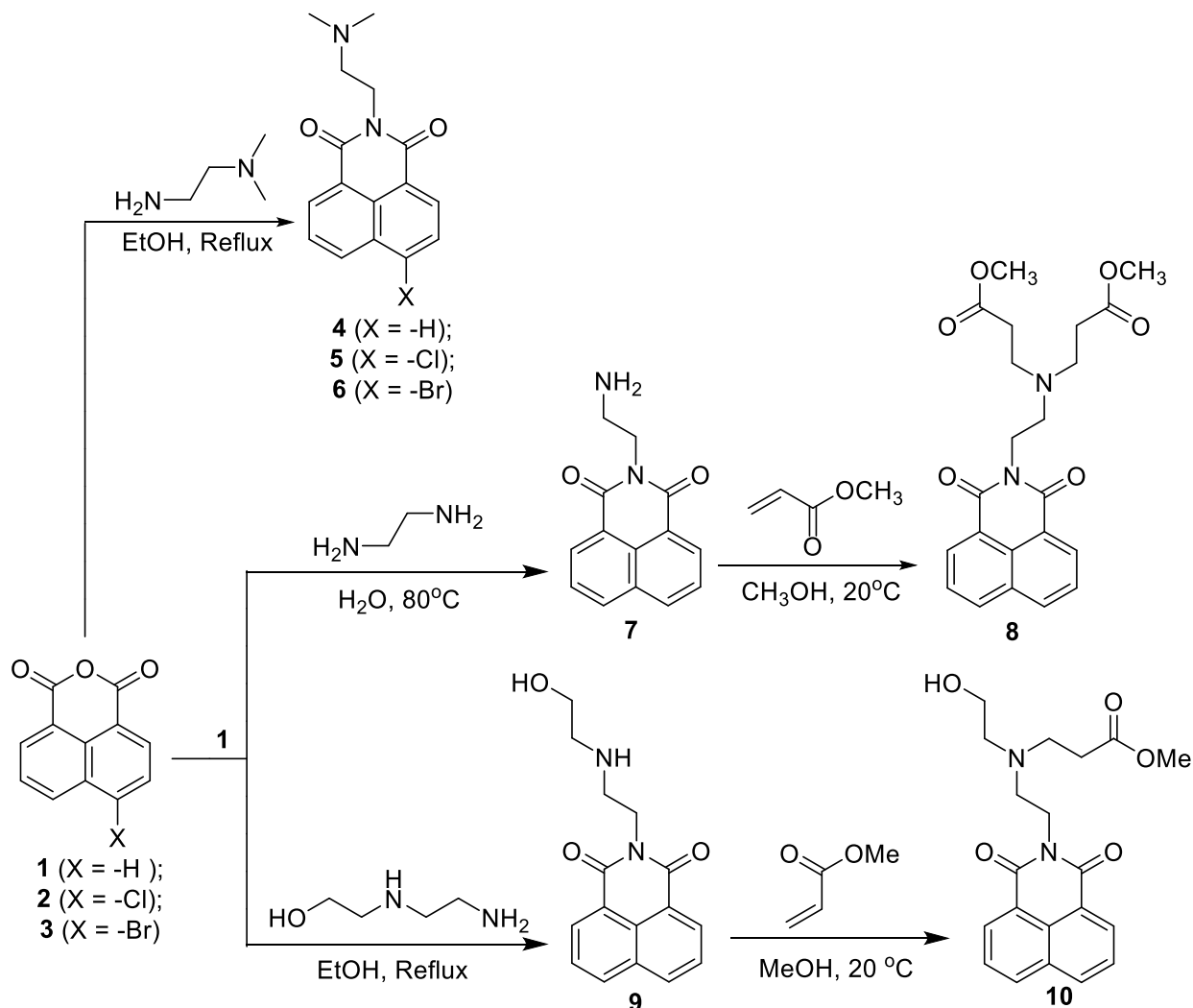
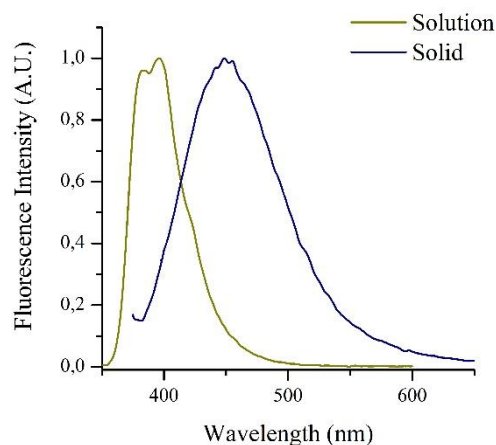


Схема 2: Получаване на производни на 1,8-нафталимида с “горен” рецептор.

1.1.1.2. Сензорни свойства на производни на 1,8-нафталимида с “горен” рецептор

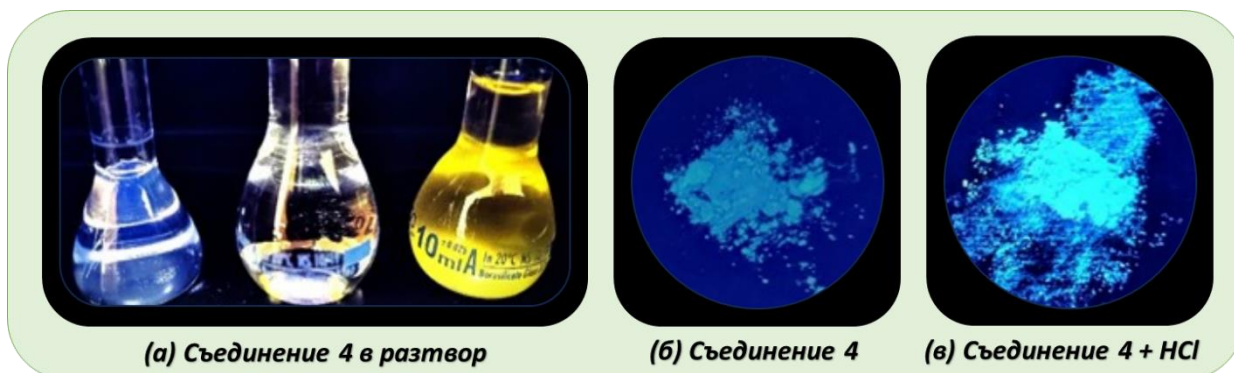
➤ Сензорни свойства на съединение 4

Сензорният 1,8-нафталимид **4** е типична флуоресцентна сензорна система с добре изразен ФЕТ, която се базира на формата „флуорофор-мост-рецептор“ [114]. Благодарение на протичането на ФЕТ процеса, съединение **4** показва много ниска флуоресцентна емисия в разреден разтвор. След протониране на третичния amino рецептор, ФЕТ процесът се прекъсва и се появи ярка флуоресценция в диапазона 350–500 nm с максимум при 396 nm (Фигура 62).



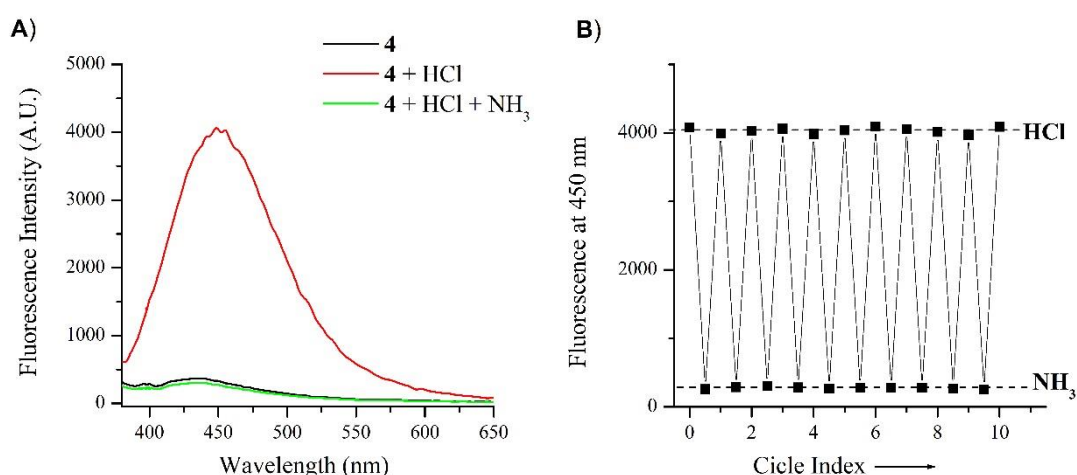
Фигура 62: Нормализирани флуоресцентни спектри на сензорно съединение **4** във воден разтвор при рН 4 и тънък филм на сензор **4**, изложен на HCl пари.

В концентриран разтвор, съединение **4** показва слаба зелена флуоресценция, която намалява след разреждане (**Фигура 63А**). Наблюдаваната зелена флуоресценция в концентрирани разтвори е обичайна за незаместени и 4-халогено-заместени 1,8-нафталимиди, тъй като се дължи на емисия вследствие на агрегация (ЕСА). Докладваните досега в литературата 1,8-нафталимиди показват много по-силна флуоресценция, вероятно поради липсата на ФЕТ-процес. За да потвърди това твърдение, прах от съединение **4** беше изложен на киселинни пари (HCl) и под UV-лампа ($\lambda = 366 \text{ nm}$) беше установено, че поради прекъснатия ФЕТ-процес, то показва ярка емисия в агрегирано състояние след излагане на киселинни пари (**Фигура 63В**). Очевидно наблюдаваните флуоресцентни свойства на **4** се основават едновременно на латентно действаща ЕСА и прекъснат ФЕТ процес. Използването на прах за сензорни цели е неудобно от практична гледна точка, поради което сензор **4** беше изследван като флуоресцентно-чувствителен материал в агрегирано състояние в тънък филм върху предметно стъкло. За целта нафталимид **4** беше разтворен в смес от етанол и хлороформ (1:1). След това така приготвените наситени разтвори (10^{-2} M) се нанасят върху предметно стъкло и разтворителят се изпарява. За да се получи латентна ЕСА, тънките филми се приготвят от концентрирани разтвори, съдържащи 10^{-2} M от съединение **4**, защото в противен случай използването на разредени разтвори води до доминираща мономерна флуоресцентна емисия.

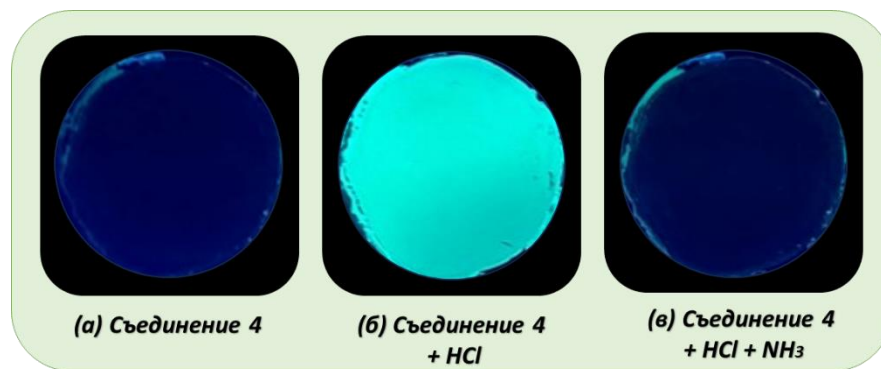


Фигура 63: (а) Разтвори на съединение **4** в DMSO при 10^{-4} M (вляво), 10^{-3} M (среда) и 10^{-2} M (вдясно) и сензор **4** в прахообразно състояние преди (б) и след (в) излагане на пари на HCl.

Подобно на разредения разтвор, приготвеният тънък филм на базата на съединение **4** показва ниска флуоресценция преди излагане на HCl-пари и интензивно флуоресцентно излъчване след излагане на HCl-пари, дължащо се на прекъснатият ФЕТ-процес (**Фигура 64A**), което се вижда дори без апаратура (**Фигура 65**). Въпреки това, наблюдаваният флуоресцентен спектър е с широка ивица в интервала между 370 nm и 600 nm, с максимум при 450 nm. Наблюдаваният батохромно изместен флуоресцентен спектър на сензор **4** в агрегатно състояние в сравнение с този в разреден разтвор е очакван и можеше да се обясни с образуването на J-агрегати [116-117]. Според екситонната теория на Каша в J-агрегацията, състоянието на молекулата се разглежда като дипол, а екситонното състояние на агрегата се разделя на две нива чрез взаимодействието на преходни диполи.



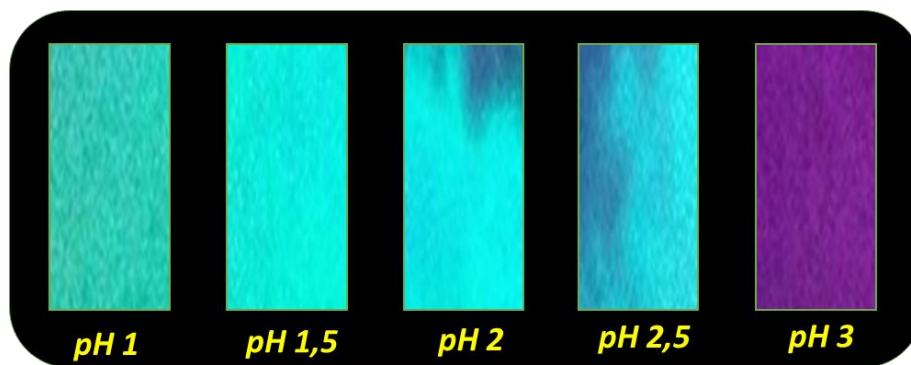
Фигура 64: Флуоресцентни спектри на тънък филм от съединение **4**, изложен първо на HCl и след това на пари на NH_3 ($\lambda_{\text{ex}} = 370$ nm) (A) и Цикли на депротониране и протониране на съединение **4** (B).



Фигура 65: Тънък филм от съединение 4 под UV лампа (а), изложен първо на HCl-пари (б) и след това на NH₃-пари (в).

Беше установено, че ярката флуоресценция на изготвения тънък филм от съединение 4, изложено на изпарения на HCl, може да бъде „изключено“ до първоначалното си състояние след излагане на изпарения на NH₃ (Фигура 64). В допълнение, излъчването на тънкия филм се превключва обратимо между „изключено“ и „включено“ състояние 10 пъти без значителни промени и в двете състояния (Фигура 64В). Наблюдаваното усилване на флуоресценцията се изчислява на $FE = 13.3$ (максималния интензитет на флуоресценция на съединението, когато е изложено на солнокисели пари, разделено на максималния интензитет на флуоресценция след излагане на амонячни пари). Освен това, получените флуоресцентни и нефлуоресцентни филми показват стабилен флуоресцентен сигнал при стайни условия за най-малко 2 седмици. Тези резултати ясно показват, че съединение 4 може успешно да се използва като ефективна платформа за бързо откриване на киселинни и базични пари в твърдо състояние.

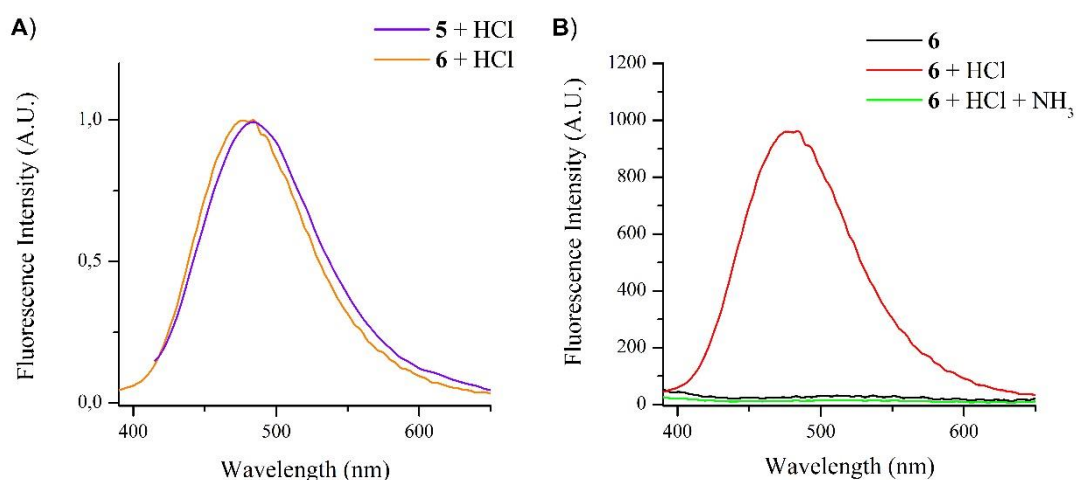
Хартията е обещаващ материал за производство на интелигентни устройства като хемосензори, защото позволява по-лесна работа и преносимост на много ниска цена. Ето защо в разтвор на 4 се потапя филтърна хартия и разтворителят се изпарява, за да се получат индикаторни хартиени ленти с хемосензорни свойства. Така подготвените индикаторни хартиени ленти показаха точно същата флуоресцентна реакция спрямо киселинни и базични пари като тънките филми върху стъкло. Освен това беше проучена способността им да определят рН във воден разтвор и беше установено, че получените хартиени ленти на базата на съединение 4 са подходящ индикатор за определяне на рН в интервала 2,5–1,5 (Фигура 66).



Фигура 66: Флуоресцентна промени на индикаторни хартиени ленти на базата на 1,8-нафталиמיד **4** при различни рН.

➤ **Сензорни свойства на съединения 5 и 6**

За да се определят хемосензорните свойства в твърдо състояние и влиянието на халогенни заместители в С-4 позиция при 1,8-нафталимиди на базата на класическия ФЕТ формат „флуорофор-мост-рецептор“, са изследвани и съединения **5** и **6**, съдържащи хлор и бром в позиция С-4. Беше установено, че халогените в С-4 позиция благоприятстват емисиите в твърдо състояние в 1,8-нафталиמידните ФЕТ- системи и ефектът на различните С-4 халогенни заместители е незначителен (**Фигура 67**).



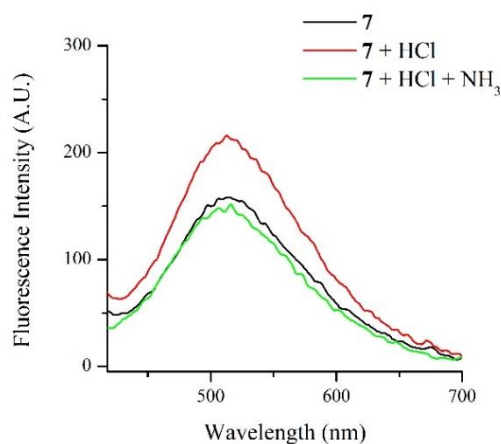
Фигура 67: Нормализирани флуоресцентни спектри на тънки филми от **5** и **6** ($\lambda_{ex} = 370$ nm), изложени на HCl-пари (A) и флуоресцентни спектри на твърд филм от сензор **6**, изложени първо на HCl-пари и след това на NH₃-пари (B).

Както може да се види от **Фигура 67А**, след излагане на HCl, тънките филми на съединения **5** и **6** показват ярка флуоресценция в диапазона 400–600 nm, с максимум при около 480 nm. Подобно на съединение **4**, и двата филма обратимо превключват своите емисии между „изключено“ и „включено“ състояние след излагане на HCl и пари на NH₃ (**Фигура 67В**) няколко пъти, тъй като наблюдаваното усилване на флуоресценцията е

повече от 60 пъти ($FE = 64.2$). Подготвените хартиени ленти от съединения **5** и **6** показват идентичен сензорен отговор. Трябва да се отбележи че флуоресцентното усилване при халогено заместените 1,8-нафталимиди е около пет пъти по силно от съответния незаместен нафталимид **4**, което показва че наличието на халоген значително повишава сензорната ефективност.

➤ Сензорни свойства на съединение 7

Тънкият филм изготвен от съединение **7** беше изследван след излагане на HCl-пари и NH₃-пари, за да се определи способността на първичното amino група от 2-аминоетиловия фрагмент да служи като ФЕТ протонен рецептор в агрегирано състояние. Получените резултати са в съответствие с тези, получени по-рано в литературата за разтвори. Тънкият филм от съединение **7** показва добре изразен ЕСА, позиционирана при 513 nm, поради възможността на първичната amino група да участва във водородни връзки, което стимулира ЕСА. Въпреки това, наблюдаваните филми показват слаб хемосензивен отговор поради по-ниския окислителен потенциал на първичната amino група, което намалява възможността за осъществяване на ФЕТ-процес. Наблюдаваното усилване на флуоресценцията след излагане на HCl-пари и NH₃-пари е едва $FE = 1.4$ (**Фигура 68**).

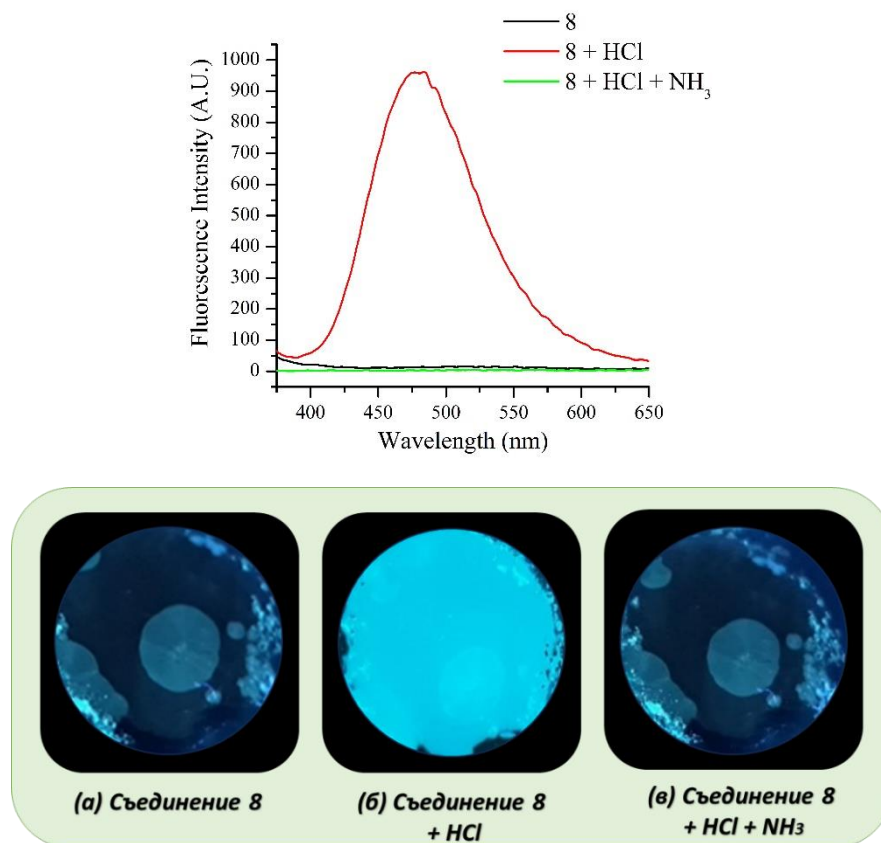


Фигура 68: Флуоресцентни спектри на твърд филм от сензор **7**, изложен първо на HCl-пари и след това на пари на NH₃-пари ($\lambda_{ex} = 370$ nm).

➤ Сензорни свойства на съединение 8

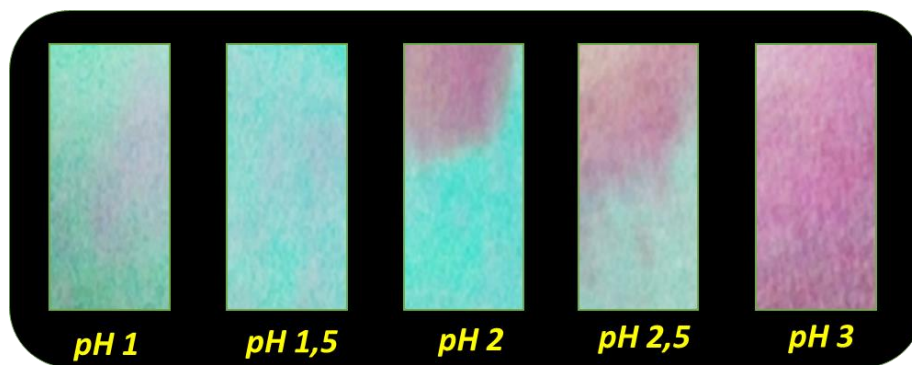
Вследствие на ФЕТ-процеса в твърда фаза полученият нафталимид **8** показва слаба емисия в интервала 400-650 nm. При пропускане на HCl-пари през нафталимида третичната amino група се протонира и се възпрепятства ФЕТ-процесът, при което се наблюдава интензивна емисия, сигналът на флуоресценцията се увеличава около 60 пъти.

Този процес може да бъде обърнат и сензорът отново да премине в „изключено” състояние като се изложи на NH_3 -пари и по този начин флуоресценцията се гаси, като тук сигналът намалява около 200 пъти. Преминаването между „включено” и „изключено” състояние на 1,8-нафталимид **8** е илюстрирано на **Фигура 69**.



Фигура 69: Влияние на HCl и NH_3 върху флуоресцентните свойства на сензор **8** в твърдо състояние.

Освен това беше установено, че сензор **8** може да бъде използван за определяне на рН на средата във водни разтвори с невъоръжено око. За целта бяха направени индикаторни ленти от филтърна хартия напоена със сензорното съединение **8**. Както може да се види от **Фигура 70**, чрез потапяне на получените индикаторни хартиени ленти във водни разтвори може да се определи рН на средата в интервал 2,5-1.

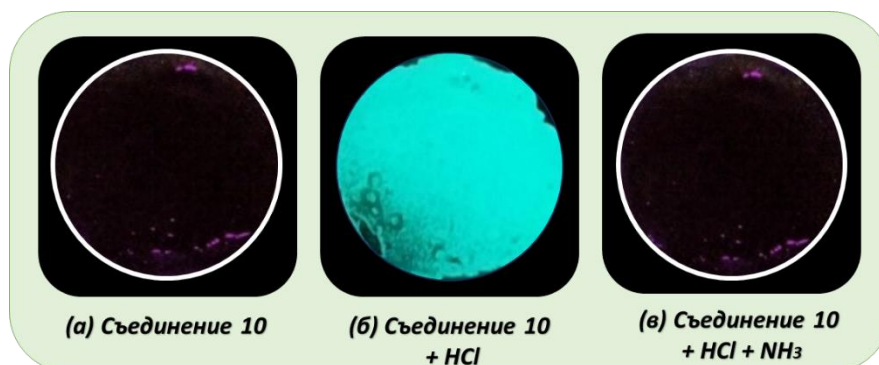


Фигура 70: Флуоресцентна промени на индикаторни хартиени ленти на базата на 1,8-нафталимид 8 при различни рН.

➤ Сензорни свойства на съединение 10

Новосинтезираният сензор **10** е проектиран върху “флуорофор-мост-рецепторна” архитектура, при която 1,8-нафталимидната половина е флуорофора, а третичният азотен атом има роля на рецептор за протони. В така изградената структура, се очаква появата на ФЕТ процес, водещ до гасене на флуоресценцията. При това положение системата се намира в “изключено” състояние. Протонирането на рецепторния фрагмент прекъсва ФЕТ процеса като системата преминава във “включено” състояние.

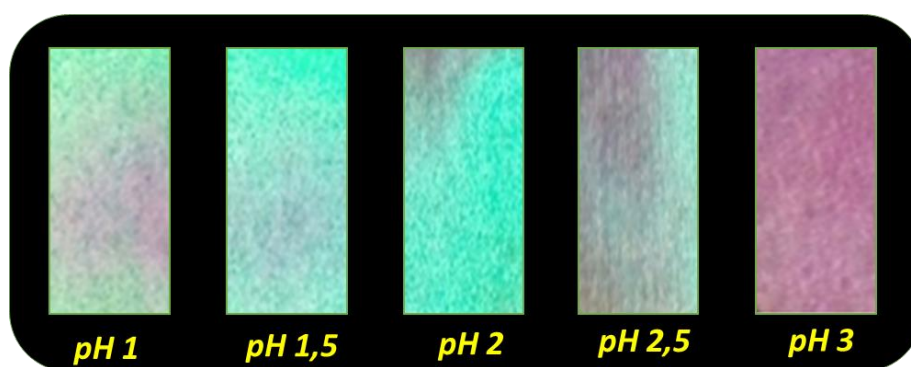
Съединение **10** притежава емисия в твърда фаза вследствие на формирани агрегати. Изготвени са филми с цел да се провери дали съединението може да се използва като индикатор за определяне на кисели и базични газове. Както можеше да се очаква в твърдо състояние съединението показва слаба емисия, като при пропускане на кисел газ (HCl) преминава във „включено“ състояние като се наблюдава значително увеличение на флуоресцентната интензивност (FE=59,5) (**Фигура 71**).



Фигура 71: Влияние на HCl и NH₃ върху флуоресцентните свойства на **10** в твърдо състояние.

Веднъж озовало се във „включено“ състояние съединението може да бъде използвано за откриване на базични газове. След пропускане на базичен газ (NH_3) през съединението то преминава в „изключено“ състояние. Това е показателно за отличните сензорни свойства на нафталимид **10** за откриване на кисели и базични газове.

Беше установено, че флуоресцентния сензор **10** може да бъде използван за определяне на рН във водни разтвори с невъоръжено око. За целите на експеримента бяха изготвени индикаторни ленти от филтърна хартия напоена с разтвор на новосинтезирания нафталимид. На **Фигура 72** е видно, че при потапяне на индикаторните ленти в различни водни разтвори може да се следи рН на средата в интервала 1- 2,5.

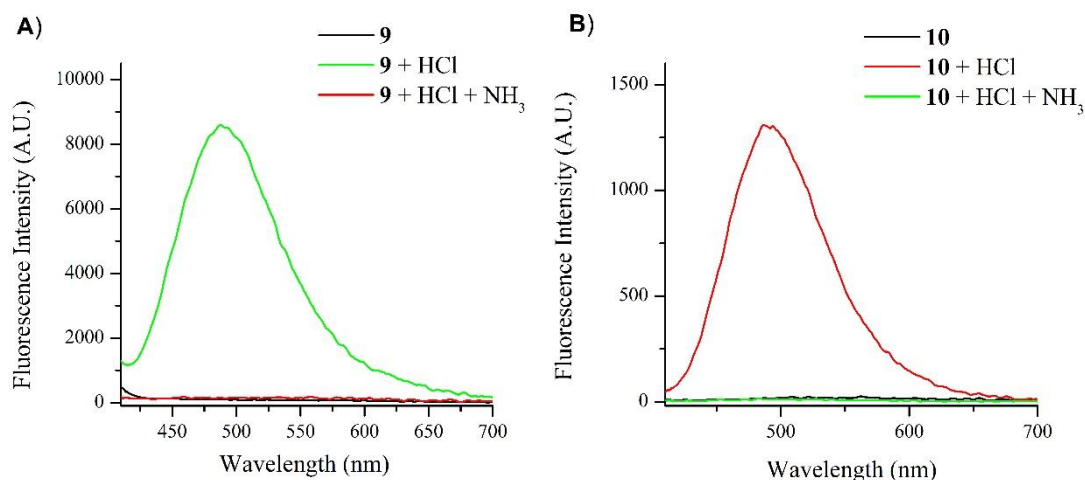


Фигура 72: Флуоресцентна промени на индикаторни хартиени ленти на базата на 1,8-нафталимид **10** при различни рН.

➤ Сравнение между сензорните свойства на съединение **9** и съединение **10**

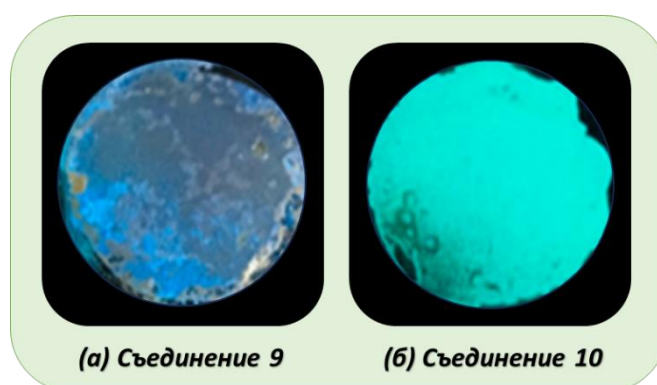
Горните резултати показват големия потенциал на базираните на ФЕТ 1,8-нафталимиди с "горен" рецептор да служат като ефективни сензори за бързо откриване на киселинни и базични пари в твърдо състояние. Въпреки това, въвеждането на амини в N-позиция на 1,8-нафталимидите повишава тяхната разтворимост във вода и може да повлияе на стабилността на тънкия слой в присъствието на водни пари. Ето защо бяха изследвани и сравнени хемосензорните свойства на тънък филм на базата на съединение **9**, което е известно с добра водоразтворимост [115] и тънък филм на базата на съединение **10**, което е с по-висока хидрофобност. И двете съединения имат много сходна флуоресцентна чувствителност в агрегирано състояние. След излагане на HCl , тънките филми на базата на **9** и **10** показват ярка флуоресценция с максимум при 490 nm поради възпрепятствания ФЕТ в молекулите (**Фигура 73**). Освен това, и двата филма показаха възможност за обратимо превключване между „ изключено “ и „ включено “ състояние с помощта на

HCl и NH₃ пари. Флуоресцентното усилване е около 60 пъти (FE = 56,2 за съединение **9** и FE = 59,5 за съединение **10**).



Фигура 73: Флуоресцентни спектри на твърд филм от съединение **9** (A) и съединение **10** (B), изложени първо на HCl -пари и след това на NH₃- пари ($\lambda_{ex} = 370$ nm).

Въпреки това, поради различната разтворимост, двата филма показват различна стабилност след излагане на водни пари. Както може да се види от **Фигура 74**, тънкият филм на базата на съединение **9** показва мономерна синя емисия, дължаща се на разтворените молекули на повърхността (**Фигура 74A**). В същото време тънкият филм на базата на съединение **10** показва постоянна зелена емисия, дължаща се на агрегати (**Фигура 74B**).



Фигура 74: Твърд филм под UV лампа на съединение **9** (a) и съединение **10** (b), изложени на водни пари.

1.1.2. Производни на 1,8-нафталимида с “ долен ” рецептор

1.1.2.1. Дизайн и синтез на производни на 1,8-нафталимида с “ долен ” рецептор

Изследваните 1,8-нафталимиди, съдържащи „долен“ рецептор, са синтезирани по известни в литературата методики и са представени на **Схема 3** [118-119].

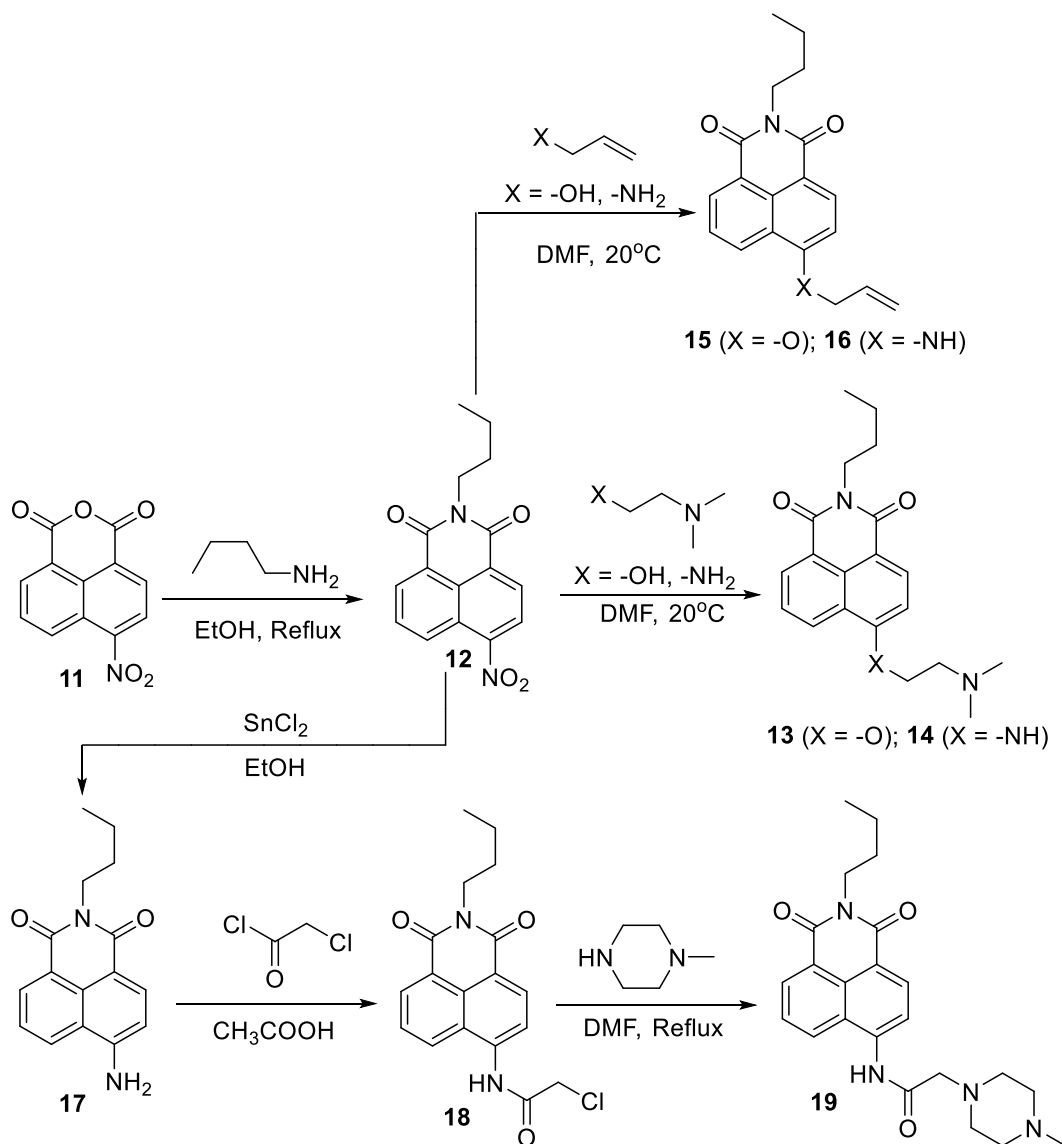


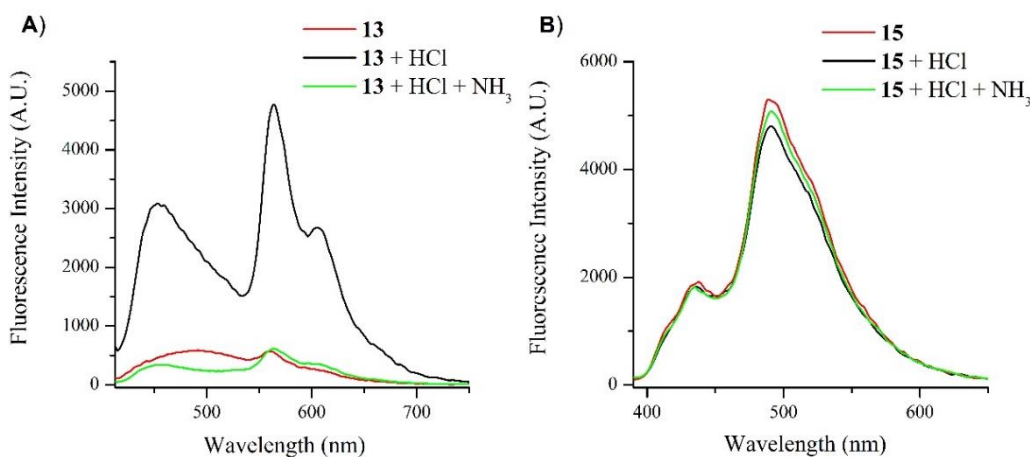
Схема 3: Получаване на производни на 1,8-нафталимида с „долен“ рецептор.

Всички съединения са получени от междинният продукт 4-нитро- N-бутил-1,8-нафталиמיד **12**, който се получава при реакция на 4-нитро-1,8-нафталов анхидрид **11** с n-бутиламин в среда от етанол при кипене. Референтните съединения **15** и **16** са получени след нуклеофилно заместване на нитро групата с алиламин или алилов алкохол в DMF при стайна температура. Съдържащите ФЕТ рецептор съединения **13** и **14** са получени подобно на съединения **15** и **16** при използване на N,N-диметилетилендиамин или N,N-диметилетаноламин вместо алиламин и алилов алкохол. 1,8-нафталиמיד **19** е получен в три стъпки. Първо, 4-нитро- N-бутил-1,8-нафталимида **12** се редуцира селективно с SnCl₂, след което аминогрупата се ацилира с хлорацетил хлорид и накрая, целевият продукт **19** се получава при реакция на междинния продукт с N-метилпиперазин.

1.1.2.2. Сензорни свойства на 1,8-нафталимидни производни с „долен“ рецептор

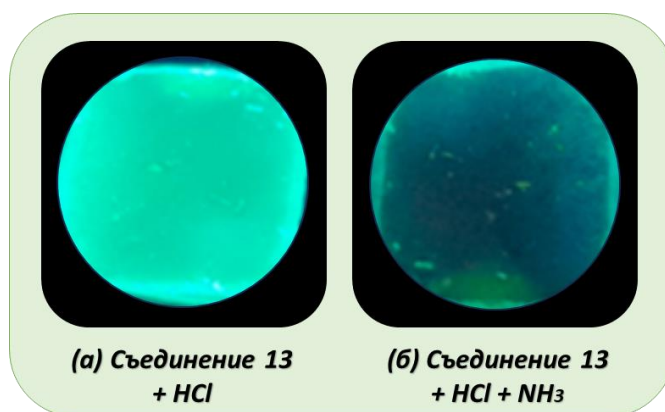
Поради тяхната силна емисия във видимата спектрална област, най-често срещаните ФЕТ чувствителни 1,8-нафталимиди са 4-амино, 4-окси и 4-амидо заместените им производни. Те обаче притежават силна електрон-донорна група в С-4 позиция на флуорофорната система, която генерира силно електрон-отблъскващо поле около имидната група във възбудено състояние и ФЕТ в тези системи обикновено се проявява само в архитектури с "долни" рецепторни фрагменти.

Съединение **13** е типичен 4-окси-заместена ФЕТ-сензор с „долен“ рецептор. Тънкият филм на съединението показва слаба емисия, която се усилва повече от 10 пъти при излагане на HCl-пари, поради протониране на третичния рецепторен азотен атом, което възпрепятства гасящия ФЕТ ефект. Флуоресцентният спектър на съединение **13** в тънък филм се оказва коренно различен от спектъра на гореспоменатите ФЕТ сензорни съединенията с „горен“ рецептор във „включено“ състояние. Както се вижда във **Фигура 75А**, твърдофазната емисия на **13** има два ясно изразени максимум при 452 nm и 562 nm, които се дължат на мономерна емисия и ЕСА [120]. За потвърждаване на това предположение, 1,8-нафталимид **15**, не съдържащ в молекулата си рецепторен фрагмент, също беше изследван в тънък филм върху предметно стъкло. Както се очакваше, флуоресцентният спектър на **15** е подобен на този на **13**, но с максимуми за мономерна емисия при 436 nm и ЕСА при 492 nm и липсващ хемосензорен отговор (**Фигура 75В**).



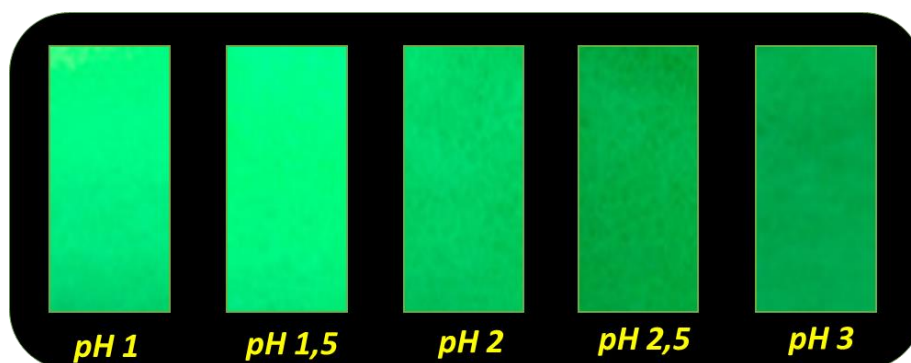
Фигура 75: Флуоресцентни спектри на твърд филм на съединение **13** (А) и съединение **15** (В), изложени първо на HCl-пари и след това на NH₃-пари ($\lambda_{ex} = 370$ nm).

Изготвеният тънък филм на базата на съединение **13** показва обратима флуоресцентна реакция след излагане на изпарения на HCl и NH₃ (**Фигура 76**), като наблюдаваните състояния "изключено" и "включено" показват постоянна и стабилна флуоресценция в продължение на поне две седмици.



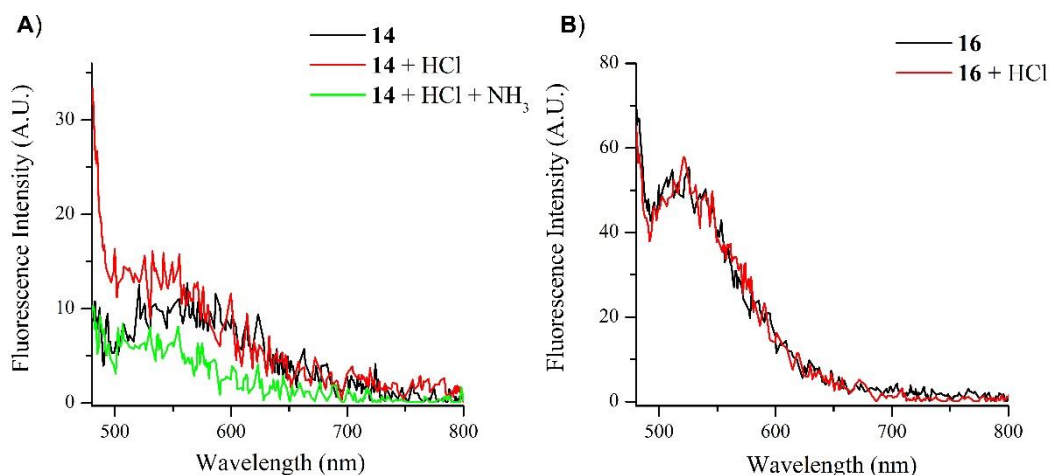
Фигура 76: Твърд филм от сензор **13** под UV лампа, изложен първо на HCl-пари (а) и след това на NH₃-пари (б).

Освен това хартиените ленти, напоени със съединение **13**, показаха същите флуоресцентни рН-зависими сензорни свойства както и гореизследваните съединения, притежаващи "горен", рецептор (**Фигура 77**). Този резултат ясно показва, че различните заместители в молекулата на 1,8-нафталимида не оказват никакво влияние върху ФЕТ свойствата на импрегнираните с тях хартиени индикаторни ленти.



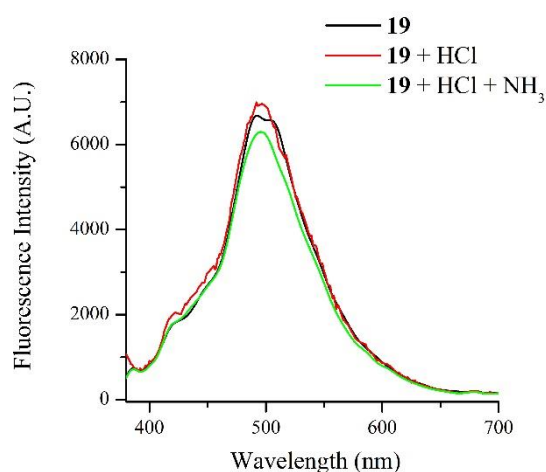
Фигура 77: Флуоресцентна реакция на хартиени ленти на базата на 1,8-нафталиמיד **13** при различни рН.

За разлика от съединение **13**, 4-аминозаместеният ФЕТ сензор **14** в тънък филм показва много ниска флуоресцентна емисия с максимум при 550 nm и незначителни сензорни свойства спрямо парите на HCl и NH₃ (**Фигура 78А**). Получената флуоресценция, разположена около мономерната емисия на 4-амино-1,8-нафталамида в твърдия филм на **14**, може да се обясни с липсата на ЕСА в производните на 4-амино-1,8-нафталамида. За да се потвърди това твърдение, беше изследван и 4-алиламино-1,8-нафталамид **16**, който не притежава ФЕТ-рецептор. Получените резултати ясно показват, че липсва ЕСА при 4-амино-1,8-нафталамидите (**Фигура 78В**). Следователно те не са подходящи за хемосензори в твърда фаза.



Фигура 78: Флуоресцентни спектри на твърд филм ($\lambda_{ex} = 430 \text{ nm}$) на съединение **14** (A), изложена първо на HCl-пари и след това на NH₃-пари, и съединение **16** (B), изложено на HCl-пари.

Освен това установихме, че подобно на сензор **14**, съединение **19** не показва никаква флуоресцентна чувствителност към парите на HCl и NH₃ в тънък филм (**Фигура 79**), но флуоресцентната му реакция при тези условия е твърде различна от тази на съединение **14**.



Фигура 79: Флуоресцентни спектри на твърд филм от сензор **19**, изложен първо на HCl-пари и след това на NH₃-пари ($\lambda_{ex} = 370 \text{ nm}$).

В твърдо състояние съединение **19** показва постоянна ярка емисия преди и след излагане на изпарения на HCl и NH₃ както в тънък филм, така под формата на хартиени ленти. Този ефект може лесно да се обясни с наличието на кисела amidна група и основен метил пиперазинов азотен атом в **19**, чието междумолекулно взаимодействие благоприятства и стабилизира процеса на образуване на агрегати и ECA, при блокиран

ФЕТ процес поради заетия аминов рецептор. В резултат на това съединение **19** показва добре изразена ЕСА, но не е подходящ сензор в твърдо състояние поради липсата на ФЕТ-процес.

1.1.3. Производни на 1,8-нафталимиди с „горен“ тетраметилпиперидинов рецептор

В хода на дисертационния труд беше установено, че 1,8-нафталимидите съдържащи горен тетраметилпиперидинов рецептор представляват особен интерес поради различните си сензорни характеристики.

1.1.3.1. Дизайн и синтез на 1,8-нафталимиди с „горен“ тетраметилпиперидинов рецептор

Производните на 4-амино-1,8-нафталимида **21** и 4-окси-1,8-нафталимида **22** притежаващи 2,2,6,6-тетраметилпиперидин в N-позиция се получават в два етапа съгласно **Схема 4**.

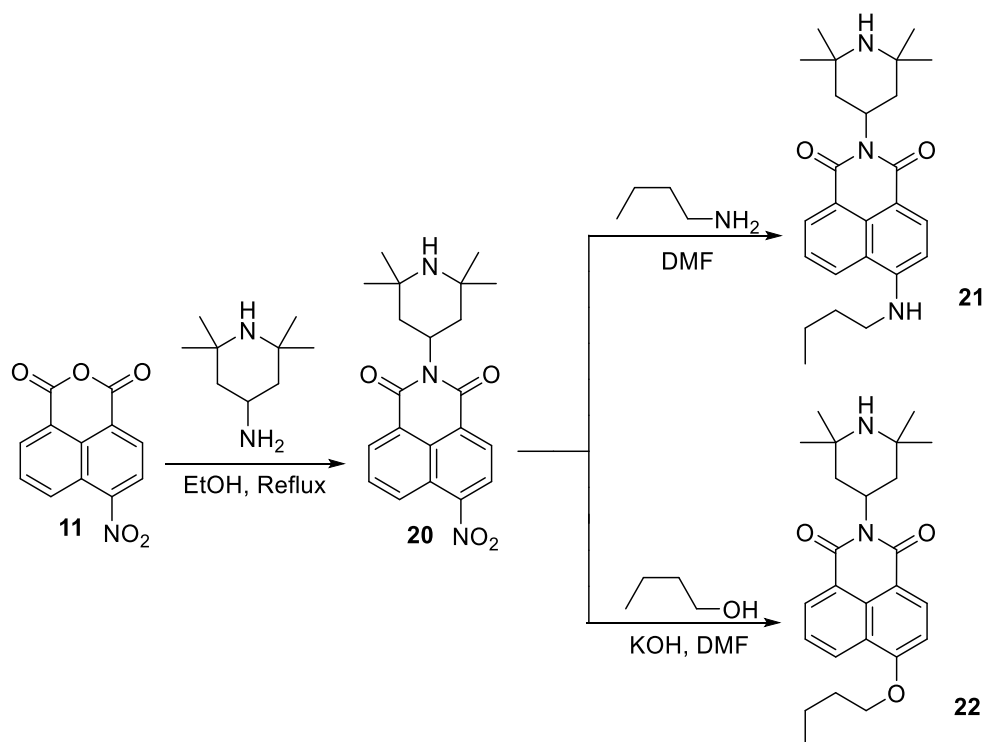


Схема 4: Синтез на 1,8-нафталимиди с „горен“ тетраметилпиперидинов рецептор.

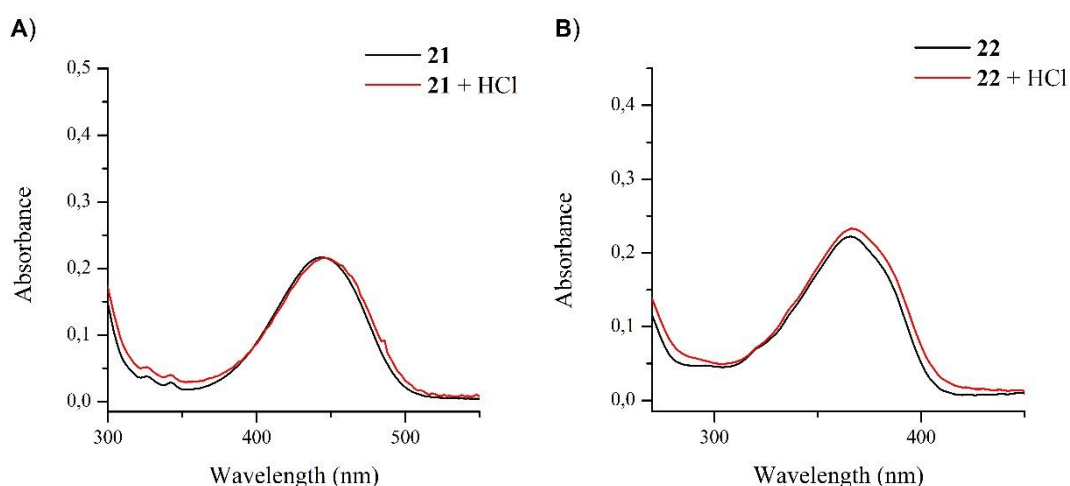
В първия етап изходният 4-нитро-1,8-нафталов анхидрид **11** се кондензира с 4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин при кипене под обратен хладник в среда от етанол, както е описано в литературата [121]. След това ароматната нитро групата в междинният 4-нитро-N-(2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-1,8-нафталиמיד **20** се замества

нуклеофилно с *n*-бутиламин или *n*-бутанол в среда на диметилформамид (DMF) при стайна температура, а в случая на съединение **22** и в присъствие на калиева основа.

Синтезираните съединения са охарактеризирани посредством *R_f* стойности от тънкослойна хроматография (ТСХ), UV/VIS, FT-IR и ¹H ЯМР спектроскопия.

1.1.3.2. Сензорни свойства на 1,8-нафталимиди с „горен“ тетраметилпиперидинов рецептор (**21** и **22**)

В разтвор изследваните сензори **21** и **22** показват типични за 1,8-нафталимидните производни абсорбционни спектри, които са в съответствие с ВПЗ природата на тези флуорофори. Добре известно е, че след абсорбция на светлина 1,8-нафталимидната архитектурата на претърпява ВПЗ-процес във възбудено състояние от електрон-донорната група в С-4 позиция до по-бедния на електрони имид в пери позиция, чиято ефективност определя основните фотофизични свойства на молекулата [111-112]. Както може да се види в разтвора на DMF, проба **21** показва общ за 4-амино-1,8-нафталимидите, жълто-зелен цвят и абсорбционен спектър в диапазона 350-520 nm с максимум при 444 nm (**Фигура 80А**). За разлика от тях, 4-алкокси-заместеният сензор **22** е безцветен и притежава абсорбционен спектър, разположен в интервала 300-420 nm с максимум при 366 nm (**Фигура 80В**), което се дължи на по-ниските електрон-донорни свойства на алкокси групата, които намаляват ефективността на ВПЗ в сравнение с 4-амино производните.

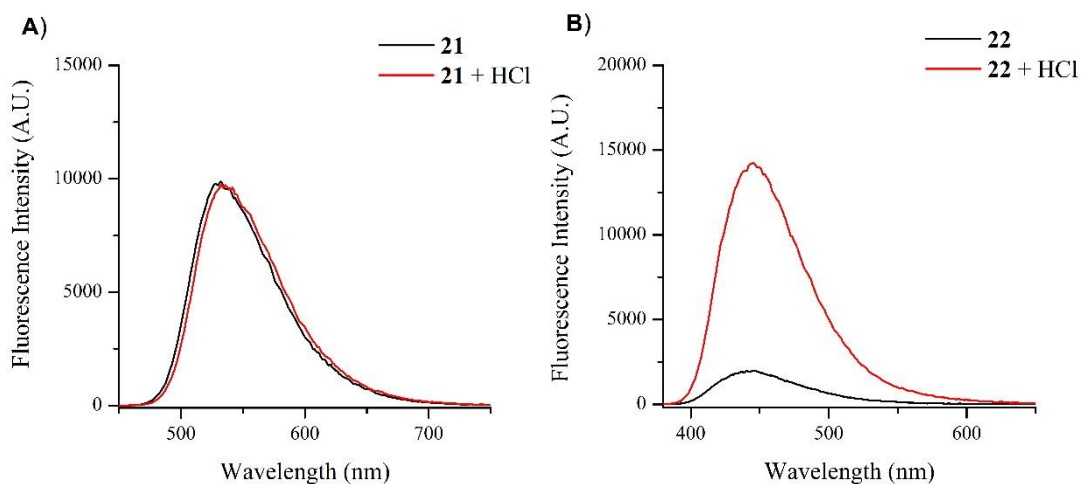


Фигура 80: А) Абсорбционни спектри на съединение **21** и В) съединение **22** в разтвор на DMF и в подкислен с HCl разтвор на DMF.

Наблюдаваните флуоресцентни спектри на съединения **21** и **22** в разтвор също бяха очаквани и не показаха забележителни разлики във формата и енергията на ивицата с вече познати 1,8-нафталимиди от същия клас. Сензор **21** има жълто-зелена емисия с максимум

при 530 nm, докато съединение **22** е със синя емисия с максимален интензитет на флуоресценцията при 442 nm, което е повече от обичайното съответно за 4-амино и 4-алкокси 1,8-нафталамидите (**Фигура 81**).

Изследваните 1,8-нафталимиди **21** и **22** се основават на класически формат „флуорофор-мост-рецептор“ с „горен“ аминокиселинен рецептор, който може да включва ФЕТ във възбудено състояние. Това беше мотив да се изследват флуоресцентните спектри на двете съединения в присъствие и отсъствие на киселина. Беше установено, че добавянето на HCl в разтвор на DMF не променя значително абсорбционните и флуоресцентните спектри на сензор **21**. За разлика от **21**, в присъствието на киселина 1,8-нафталимид **22** показва 7 пъти по-висок интензитет на флуоресценцията, придружен с незначителен изменение на абсорбционния спектър. Това се дължи на наличието на гасящ ФЕТ процес от пиперидиновия азотен атом към флуорофорът в **22**. В присъствието на киселина ФЕТ-процеса се прекъсва поради протонирането на пиперидина и флуоресценцията на **22** се усилва.



Фигура 81: А) Флуоресцентни спектри на сензор **21** ($\lambda_{ex} = 440$ nm) и В) сензор **22** ($\lambda_{ex} = 370$ nm) в разтвор на DMF и в подкислен с HCl разтвор на DMF.

Има два основни фактора, които обясняват липсата на ФЕТ-процес в съединение **21** в сравнение с **22**. Първо, поради по-ниската електрон-донорна способност на C-4 свързания заместител, 4-алкокси-1,8-нафталимидът притежава по-висок електронен дефицит, което благоприятства ФЕТ в сравнение с богатите на електрони 4-амино производни. И второ, високоефективният ВПЗ процес в 4-амино-1,8-нафталимид **21** генерира силно отблъскващо поле (**Схема 5**), което електрон от „горния“ рецептор не може да премине [110, 122], докато генерираното отблъскващо поле в 4-алкокси заместено съединение **22** е по-слабо и електрон от „горния“ рецептор може да прескочи през него.

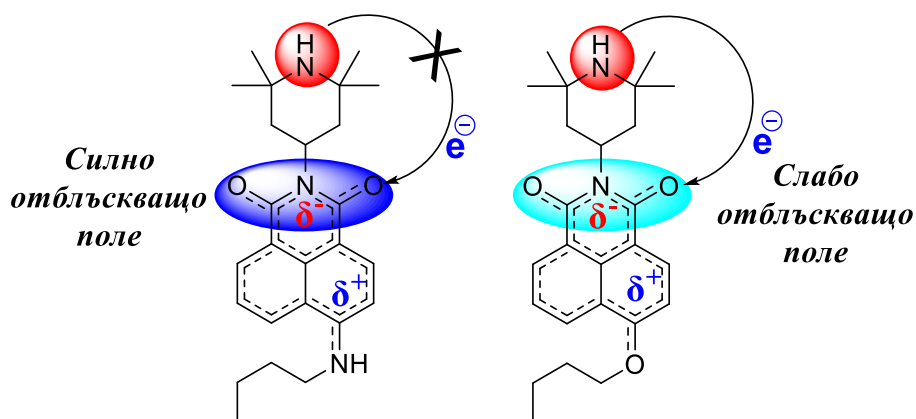
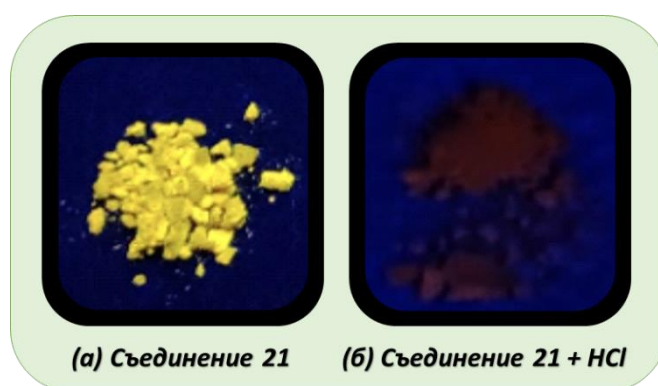
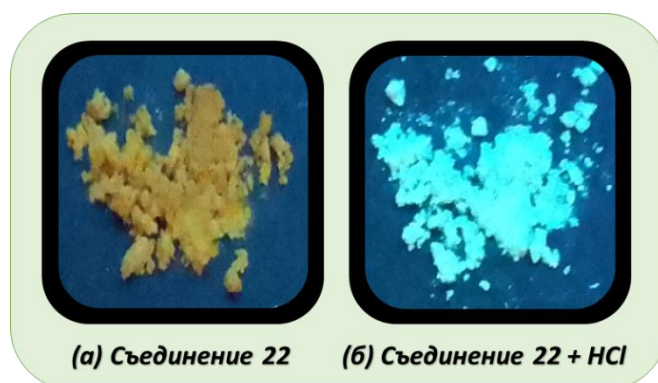


Схема 5: Диполен момент и възможност за ФЕТ-процес в 1,8-НИ сензори **21** и **22**.

Прахът от съединение **21** под UV-лампа показва ярка флуоресцентна емисия, която е необичайна за 4-амино-1,8-нафталимидите (**Фигура 82**). Обикновено флуоресценция в твърдо състояние се наблюдава в незаместени в С-4 позиция или алкокси- и халогенозаместени 1,8-нафталимиди [116,117,123]. За разлика от това, сензор **22** показва незначителна флуоресценция в твърдо състояние, но това наблюдение е свързано със съществуването на ФЕТ в това съединение. След излагане на киселинни пари (HCl), поради предотвратения ФЕТ, прахът от **22** показва ярка флуоресценция (**Фигура 83**), която може да бъде изключена отново след излагане на основни пари като NH₃. В същото време прахът от 4-амино-1,8-нафталиמיד **21** изненадващо показва флуоресцентна чувствителност към киселинни и основни пари, но от противоположната страна. Установено е, че след излагане на киселинни пари като HCl, ярката флуоресценция в твърда фаза на **21** липсва и се включва отново след излагане на основни пари (**Фигура 82**).

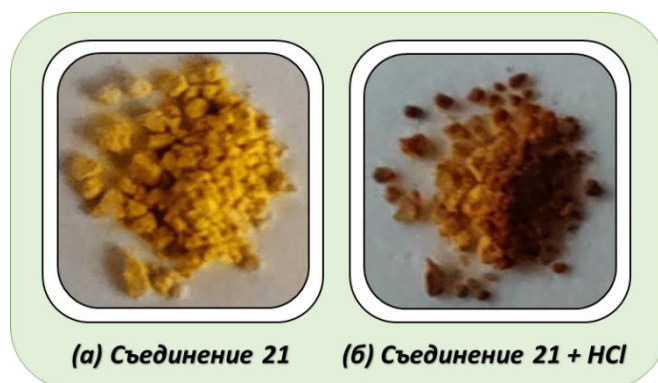


Фигура 82: Прах от сензор **21** под UV-лампа преди (а) и след (б) излагане на HCl-пари.



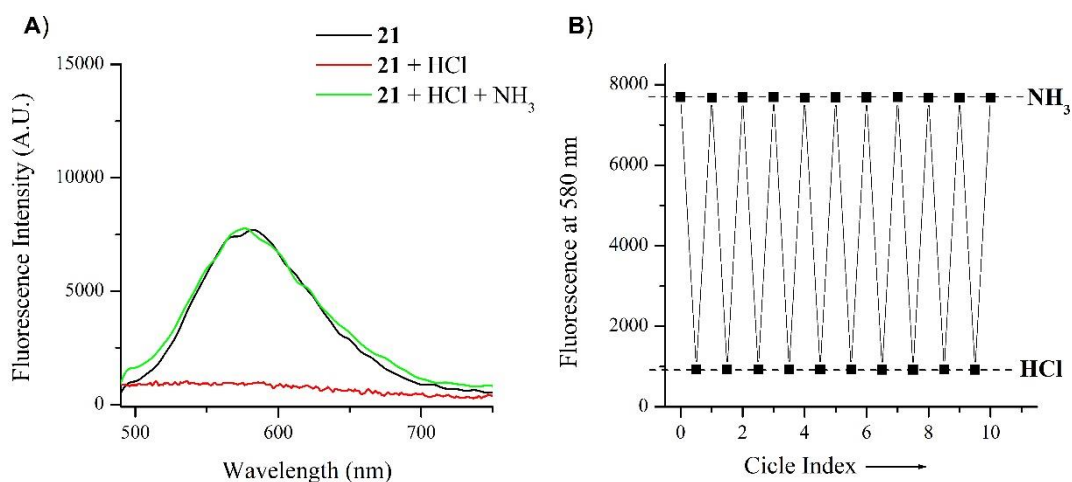
Фигура 83: Прах от сензор 22 под UV-лампа преди (а) и след (б) излагане на HCl-пари.

Наблюдаваният процес на превключване на флуоресценцията не е докладван преди за 1,8-нафталимидите в твърдо състояние. Подобно поведение обаче е описано в разтвори на производни на базата на „флуорофор-мост-рецептор“, съдържащи „горен“ аминокрептор, чийто модел прилича много на архитектурата на съединения **21**. По-рано беше илюстрирано, че 4-амино-1,8-нафталимидите с "горни" аминокрепторни потушават своята флуоресцентна емисия след протониране поради вътрешномолекулната водородна връзка между кватернерната амониева сол и съседната имидна карбонилна група [123]. По-внимателното разглеждане на праха от **21**, изложен на киселинни пари показва, че наличието на протони води до промяна на цвета от жълт в червен (**Фигура 84**). Това наблюдение предполага, че наличието на киселина е повлияло на карбонилните групи на **21** в твърдо състояние и е повишило ефективността на флуорофорния ВПЗ поради повишената способност на имидната група да приема електрони, което е довело до батохромно изместване - промяна от жълт в червен цвят. В същото време гасящият ефект на киселината се наблюдава само в твърдо състояние, но не и в разтвор. Ето защо предположихме, че гасенето на флуоресценцията от парите на киселината е в резултат на междумолекулна водородна връзка между протонирания четвъртичен аминокрептор от една молекула и карбонилната група от друга съседна молекула, което е възможно само в кондензираната материя на **21**.



Фигура 84: Прах от сензор 21 преди (а) и след (б) излагане на HCl-пари.

Посоченото по-горе флуоресцентно превключване на **21** в твърдо състояние е нова обещаваща платформа за конструиране на хемосензорни материали за откриване на киселинни и основни пари. За да се определят хемосензорните свойства на **21** в твърдо състояние, сензор **21** е разтворена в хлороформ. След това приготвеният наситен разтвор (10^{-2} M) се нанася върху стъкло с помощта на четка и разтворителят се изпарява. Полученият филм се излага последователно в продължение на 2 секунди на HCl-пари и NH₃-пари. Флуоресцентните спектри на получените предметни стъкла бяха измерени след всяко излагане (Фигура 85).

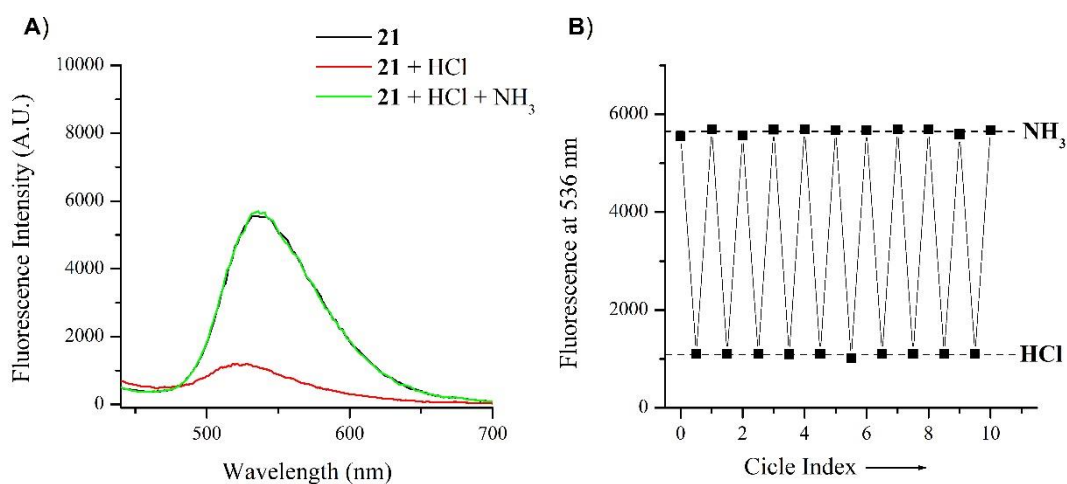


Фигура 85: А) Флуоресцентни спектри на твърд филм от сензор **21**, изложен първо на HCl-пари и след това на NH₃-пари; В) Цикли на депротониране и протониране на твърд филм от съединение **21**.

В тънък филм сензор **21** показва флуоресцентна емисия в интервала от 500 nm до 720 nm с максимум при 580 nm, който е батохромно изместен с 50 nm в сравнение с наблюдавания спектър в разтвора. Наблюдаваното батохромно изместване в твърдо състояние е обичайно и се обяснява с образуването на J -агрегати, в които енергийното ниво е разделено на две чрез взаимодействие на преходни диполи в агрегата [116-117]. След излагане на киселинни пари в продължение на 2 секунди яркочълтата флуоресценция на **21** се загаси напълно. Количественият параметър на гасене на флуоресценцията $FQ = 8,3$ е определен като съотношение I/I_0 , където I е интензитетът на флуоресценцията при 580 nm преди излагане на киселинни пари, а I_0 е интензитетът на флуоресценцията при 580 nm след излагане на киселинни пари. Освен това беше установено, че изгасената флуоресценция на тънък филм на основата на **21** при излагане на киселинни пари може обратимо да се включи след излагане на базични пари, като NH₃, което напълно възстановява първоначалната флуоресценция на **21**. Освен това "включеното" и "изключеното" състояние на **21** показват постоянна и стабилна

флуоресценция при нормални условия в продължение на един месец и могат да се превключват поне 10 пъти, без да настъпват значителни промени между двете състояния. Тези резултати илюстрират големия потенциал на **21** да служи като обратим хемосензорен материал за бързо откриване на киселинни и основни пари с множество приложения.

Обещаващите резултати от сензорните свойства на **21** в тънък филм бяха основание да се изготвят хартиени ленти въз основа на него. Хартиените ленти се приготвят чрез потапяне на филтърна хартия в хлороформен разтвор на проба **21**. Така подготвените хартиени ленти показаха много подобна флуоресцентна реакция спрямо киселинни и основни пари както горната твърдият филм на базата на **21**. Флуоресцентният спектър на изследваните хартиени ленти е в диапазона между 460 nm и 650 nm с максимум при 536 nm (**Фигура 86**). След излагане на киселинни пари за 2 сек. тази флуоресцентна емисия се гаси, тъй като изчисленото флуоресцентно потушаване беше определено на $FQ = 5$. След излагане на киселинни пари за 2 сек. тази флуоресцентна емисия е угасена, като изчисленото флуоресцентно гасене е определено на $FQ = 5$. След това, след излагане на базови пари за 2 s, угасената флуоресценция на използваните хартиени ленти се връща в първоначалното си състояние. Този процес е повторен 10 пъти (**Фигура 86B**), като след всяко излагане се наблюдава постоянна флуоресценция в "изключено" и "включено" състояние. Също така, и двете състояния притежават стабилен флуоресцентен сигнал по време на съхранение в продължение на един месец при нормални условия.



Фигура 86: А) Флуоресцентни спектри на хартиени ленти на базата на сензор **21**, изложени първо на HCl-пари и след това на NH₃-пари ; В) Цикли на депротониране и протониране на хартиени ленти на **21**.

2. Производни на 1,8-нафталимида базирани на вътрешномолекулен пренос на заряд (ВПЗ)

Добре известно е, че фотофизичните свойства на 1,8-нафталиמידните производни са тясно свързани с поляризацията на тяхната хромофорна система във възбудено състояние [7]. Абсорбцията на светлина в тези молекули води до пренос на заряд от заместителя в позиция С-4 към имидните карбонилни групи, чиято ефективност силно зависи от средата на флуорофора. Поради това присъствието на аналити влияе върху силата на вътрешномолекуления пренос на заряд и води до отместване на електронните спектри на нафталимида. Така поради липсата на достатъчно информация в литературата за ЕСА 1,8-нафталиמידни сензорни архитектури опериращи на база на ВПЗ за откриване на газообразни аналити, както и интересните резултати получени по-горе за 4-бутиламино-N-(2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-1,8-нафталиמיד **13** се насочихме към изследване на 1,8-нафталиמידни ЕСА сензорни системи базирани на вътрешномолекулен пренос на заряд.

2.1. Дизайн и синтез на 1,8-нафталиמידни производни базирани на ВПЗ

Сензорните 1,8-нафталимиди **25** и **27** са конструирани като „флуорофор–рецепторни“ архитектури (Схема 6), изградена на базата на ВПЗ. 1,8-нафталиמידната структура е избрана като флуоресцентна сигнална единица, а рецепторите са съответно аминотриазолов фрагмент и трифлуороацет хидразиднен остатък, притежаващи лабилни протони.

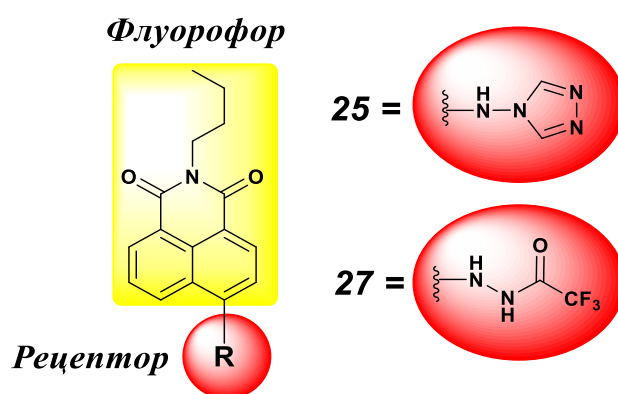


Схема 6: Дизайн на съединения **25** и **27**.

Сензорния 1,8-нафталиמיד **25** е получен в две стъпки (Схема 7). Първоначално е синтезиран 4-хлоро-N-бутил-нафталиמיד **23**, при кипене на 4-хлоро-1,8-нафталов анхидрид **2** и n-бутиламин в среда от етилов алкохол. След това хлорния атом в С-4

позиция на **23** е нуклеофилно заместен с 4-амино-1,2,4-триазол до получаването на нафталимид **25**. Сензорно съединение **27** е синтезирано в три стъпки както е показано на **Схема 7**. В първата стъпка е синтезиран 4-бromo-N-бутил-нафталимид **24**, при кипене на 4-бromo-1,8-нафталов анхидрид **3** и n-бутиламин в среда от етилов алкохол. След това бромният атом в **24** е заменен нуклеофилно с хидразин хидрат, при кипене в среда на диметилформамид до получаване на 4-хидразино-N-бутил-1,8-нафталимид **26**. Крайният сензорен нафталимид **27** е получен при ацилиране на **26** с трифлуороцетна киселина в присъствието на EDC и DMAP.

За охарактеризиране на синтезираните съединения **23**, **24**, **26** и **27** са използвани Rf стойности от тънкослойна хроматография (ТСХ) и FT-IR спектроскопия, а за новото съединение **25** и ^1H ЯМР спектроскопия.

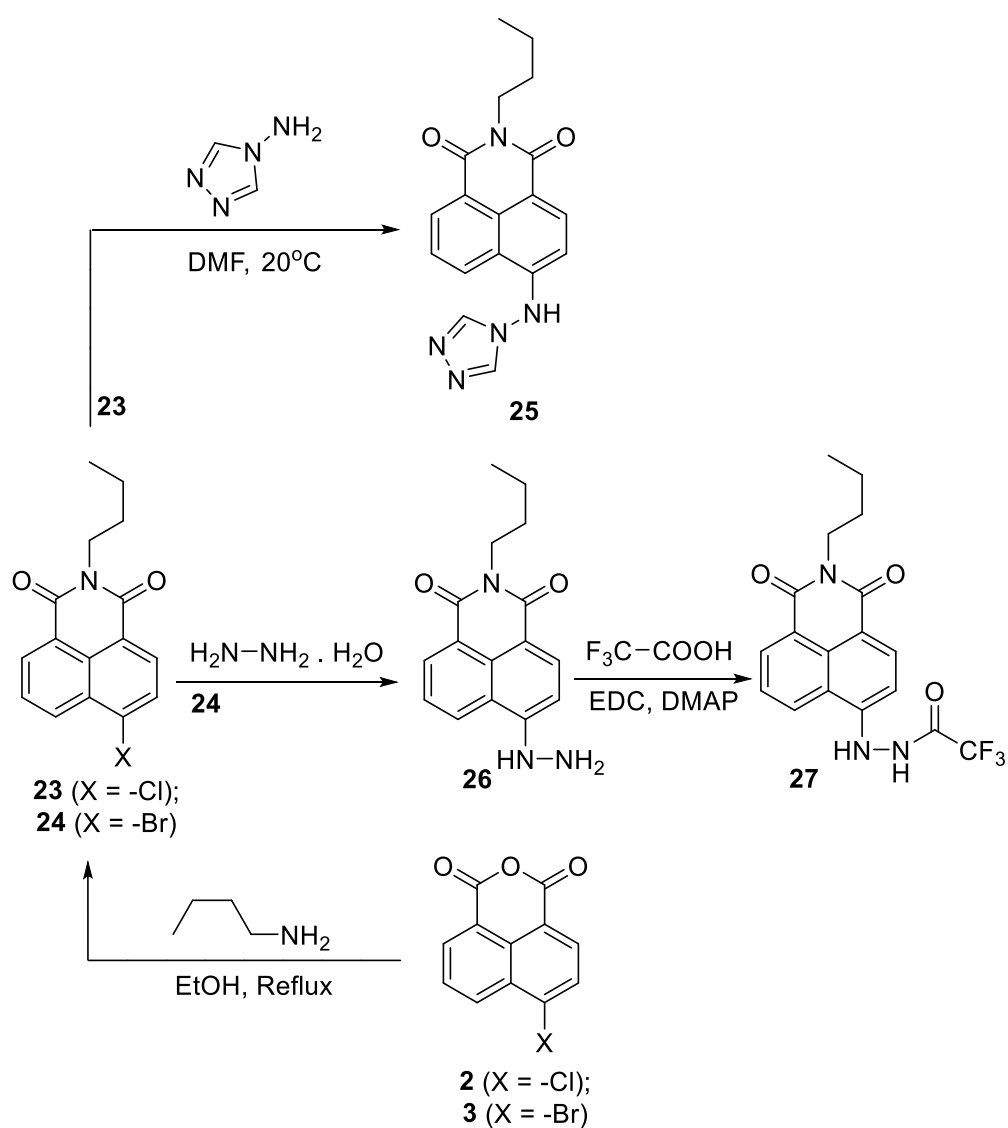


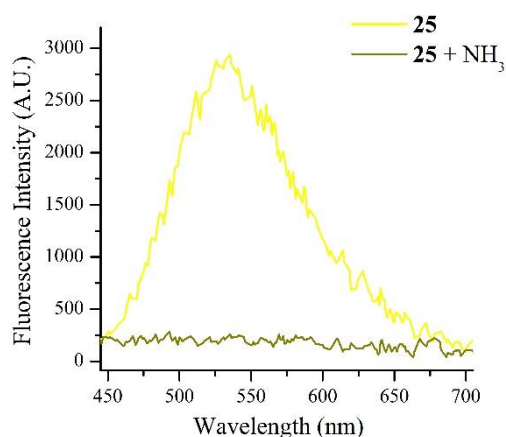
Схема 7: Получаване на 1,8-нафталимиди **25** и **27**.

2.2. Сензорни свойства на 1,8-нафталимидни производни базирани на ВПЗ (25 и 27)

➤ Сензорни свойства на съединение 25

Като рецепторен фрагмент в сензор **25** е използван 4-амино-1,2,4-триазол, притежаващ лабилен водороден атом, поради широката употреба на подобни фрагменти при разпознаването на силни бази и аниони чрез образуване на водородни връзки или депротониране [124]. Когато база или анион взаимодейства с аминотриазоловия рецептор, неговата електрондонорна способност се увеличава поради депротониране. Това от своя страна генерира силна електронна плътност около С-4 позицията на 1,8-нафталимида, която повишава ефективността на вътрешния пренос на заряд във флуорофора и измества батохромно абсорбционните му спектри.

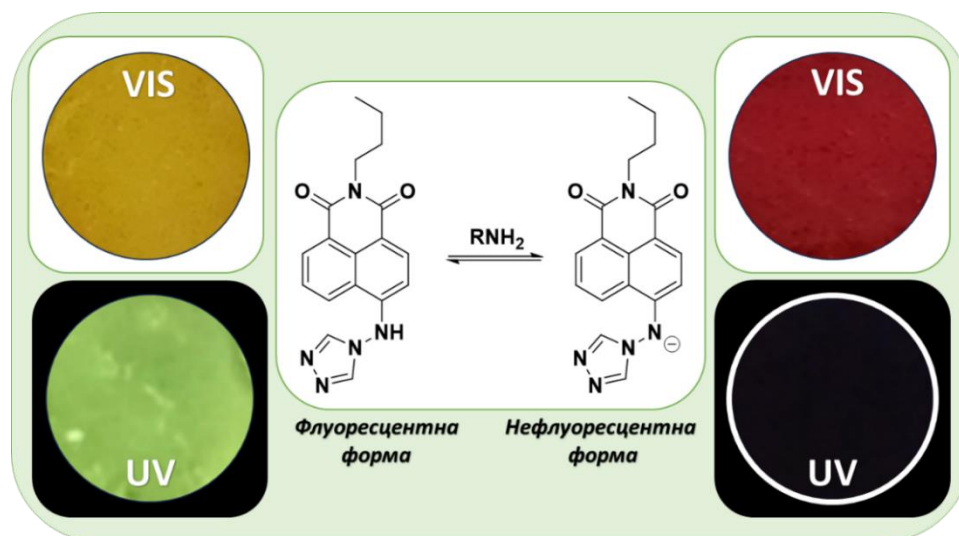
С оглед установяване на сензорната ефективност на нафталимид **25** спрямо пари на летливи амини, са изготвени тънки филми от нафталимид **25** върху предметно стъкло. За целта нафталимид **25** се разтваря в смес от етанол и хлороформ (1:1). След това така приготвения наситен разтвор (10^{-2} М) се нанася върху предметно стъкло и разтворителят се изпарява. Получените след изпарение на разтворителя твърди филми от съединение **25**, притежават жълт цвят и флуоресцентна емисия с максимум при 533 nm (**Фигура 87**).



Фигура 87: Емисионен спектър на тънък филм от съединение **25** преди и след излагане над амонячни пари.

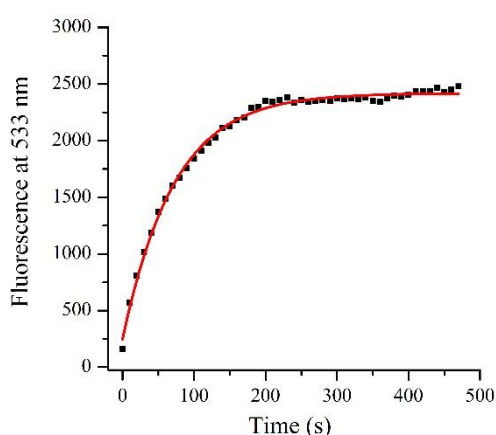
При излагане на така полученият тънък филм от съединение **25** над пари на амоняк, метиламин, диетиламин, триметиламин и бутиламин беше установена промяна на цвета и от жълт в червен, както и флуоресцентно гасене на емисията при 533 nm. Причината за това е, че благодарение на силно базичната си природа амините депротонират

аминотриазоловия рецептор в 1,8-нафталимид **25**, в резултат на което се получава нефлуоресцентен анионен продукт с червен цвят (**Фигура 88**).



Фигура 88: Колориметрични и флуоресцентни промени в съединение **25** при излагане на амонячни пари.

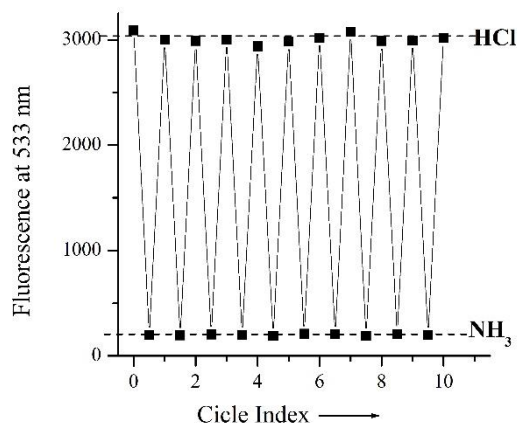
От практическа гледна точка способността на сензорите да се регенерират след взаимодействие с анализа е изключително важно. Във връзка с това е проведено изследване за възможността на сензорния нафталимид **25** да се възстановява след излагане на базични пари. Както може да се види, от представените на **Фигура 89** резултати, флуоресцентните характеристики на съединение **25** се възстановяват до първоначалното си състояние за около 2,5 минути.



Фигура 89: Флуоресцентна емисия на съединение **25** при 533 nm след излагане на амонячни пари.

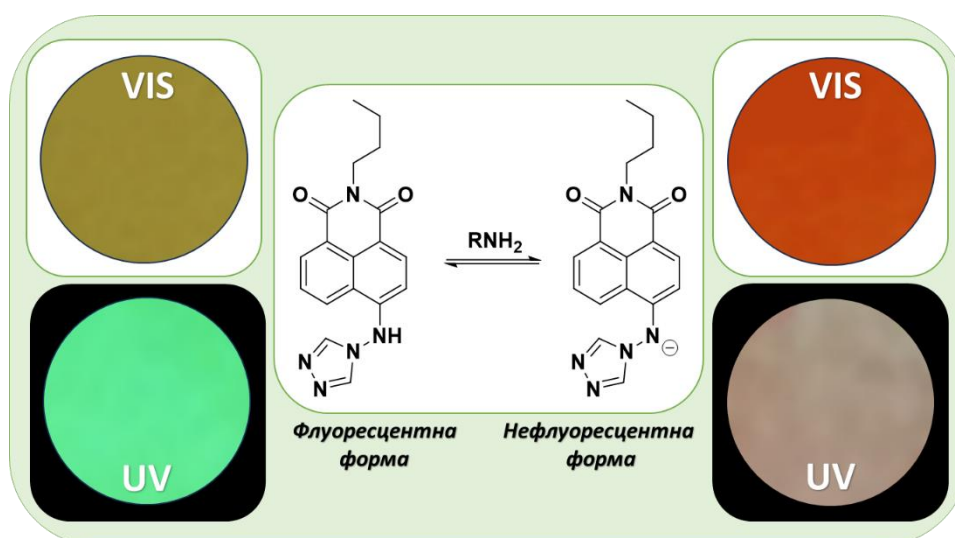
За да се провери възможността за многократна употреба на сензорните свойства на съединение **25**, няколко последователни пъти тънкия филм изготвен от съединение **25** е

изложен на аминови пари и регенериране, при което е снеман флуоресцентният спектър. От представените на **Фигура 90** промени в емисионната интензивност при 533 nm на сензора ясно се вижда, че сензорните свойства на съединение **25** след регенерация се запазват напълно и то е подходящо за многократна употреба.



Фигура 90: Цикли на депротониране и протониране на съединение **25**.

Бяха изготвени и ленти индикаторна филтърна хартия от съединение **25**, като филтърна хартия беше потопена в етанолен разтвор на **25**, с концентрация 1 mg/ml. Получената след изсушаване сензорна хартия, притежава жълт цвят и ярка флуоресцентна емисия. При излагане на така получената индикаторна хартия над пари на амоняк, метиламин, диетиламин, триметиламин и бутиламин беше установена промяна на цвета и от жълт в червен, както и флуоресцентно гасене на емисията (**Фигура 91**). Тези резултати напълно кореспондират с поведението на нафталимид **25** в тънък филм.

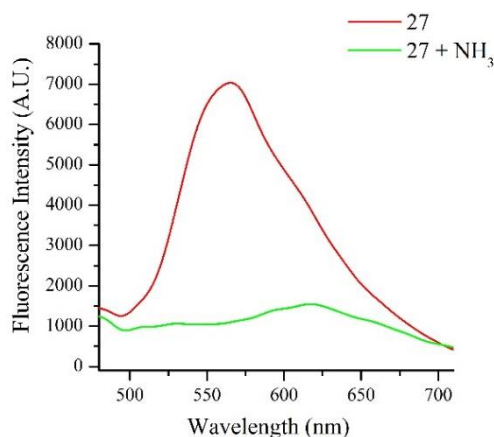


Фигура 91: Колориметрични и флуоресцентни промени на филтърни хартии от съединение **25** при излагане на амонячни и HCl-пари.

➤ Сензорни свойства на съединение 27

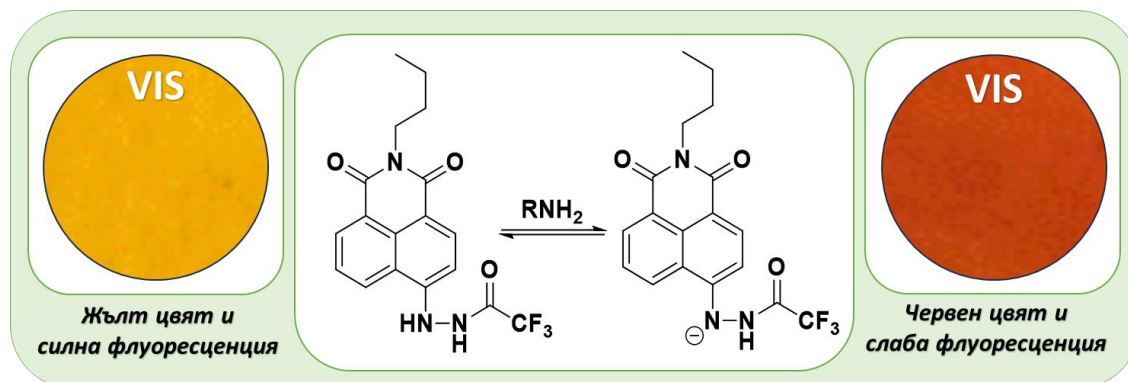
В сензорен нафталимид **27** като рецепторен фрагмент е използван трифлуороацет хидразид, който подобно на съединение **25** притежава лабилни водородни атоми.

За да се установи сензорната ефективност на нафталимид **27** спрямо пари на летливи амини, са изготвени ленти индикаторна хартия върху която е нанесен нафталимид **27**. За целта, филтърна хартия беше потопена в етанолен разтвор на **27**, с концентрация 1 mg/ml. Получената след изсушаване сензорна хартия, притежава жълто-зелен цвят и ярка флуоресцентна емисия с максимум при 565 nm (Фигура 92).



Фигура 92: Емисионен спектър на филтърна хартия напоена със съединение **27** преди и след излагане над амонячни пари.

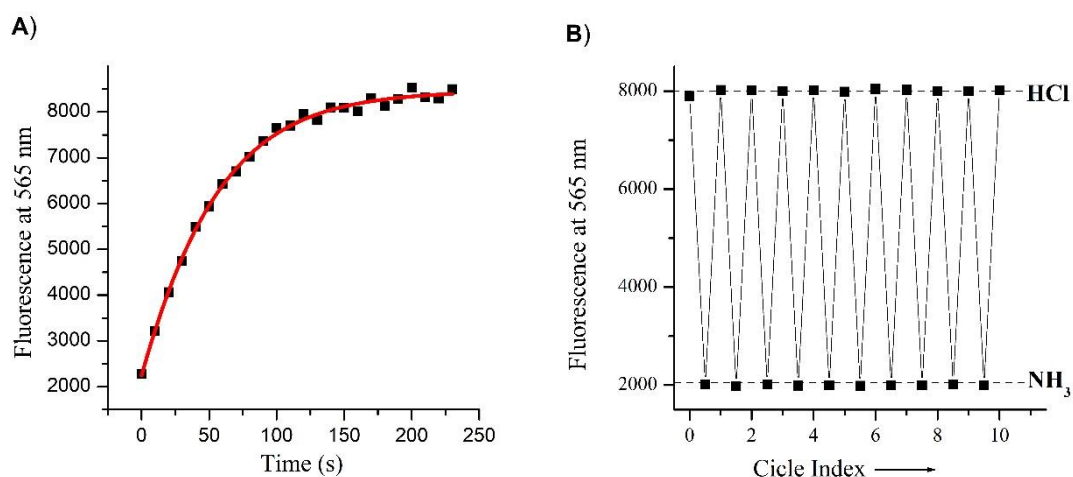
При излагане на така получената индикаторна хартия над пари на амоняк беше установена промяна на цвета и от жълт в червен, както и флуоресцентно гасене на емисията при 565 nm. Причината за това е, че благодарение на силно базичната си природа амините депротонират хидразидния рецептор в 1,8-нафталимид **27**, в резултат на което се получава нефлуоресцентен анионен продукт с червен цвят (Фигура 93).



Фигура 93: Колориметрични промени на индикаторна хартия от съединение **27** при излагане на амонячни пари.

Трябва да се отбележи, че при провеждането на аналогичен опит с филтърна хартия напоена със съединение **26**, непритежаващо трифлуороацет хидразиден остатък не се отчита колориметрична промяна. Това предполага, че трифлуороацет хидразидният рецептор играе ключова роля при разпознаването на парите на летливи амини от сензор **27**. Очевидно той притежава силно кисели свойства, благодарение на които **27** лесно взаимодейства с базични газове, каквито са амините.

Аналогично на съединение **25** и тук бяха проведени експерименти за възможността на сензорен нафталимид **27** да се регенерира и използва многократно (**Фигура 94**). От изследването за способността на сензор **27** да се регенерира установихме, че флуоресцентните характеристики на съединение **27** се възстановяват до първоначалното си състояние за около 2 минути. От представените на **Фигура 94В** промени в емисионната интензивност при 565 nm на сензора ясно се вижда, че сензорните свойства на съединение **27** след регенерация се запазват напълно и то е подходящо за неколнократна употреба.



Фигура 94: Флуоресцентна емисия на съединение **27** при 565 nm след излагане на амонячни пари (A) и Цикли на депротониране и протониране на съединение **27**(B).

3. Водоразтворими производни на 1,8-нафталимида

Добре известно е от литературата, че органичните флуоресцентни хемосензори са добре разтворими в органични разтворители и на практика са неразтворими във вода. В същото време химичният анализ в разтвор се извършва предимно във вода. Това значително ограничава приложението на органичните флуоресцентни системи в редица области като аналитичната химия, биологията и медицината. Освен това водоразтворимите флуоресцентни сензори са предпочитани за наблюдение в реално време на живи обекти поради тяхната по-ниска токсичност и по-висока биосъвместимост. Ето защо през последните години се обръща все повече внимание на дизайна и синтеза на флуоресцентни хемосензори с по-висока водоразтворимост [125-129]. Въвеждането на NH₂-група в N-позиция на нафталиמידното ядро води до повишаване на водоразтворимостта, както е известно от литературата [128] и предходни съединения синтезирани в групата на Геориев и Божинов. Това е и причината да съсредоточим част от усилията в настоящия дисертационен труд и към синтеза и изследването на съединения с 2-хидроксиетилетилендиаминов, метилпиперазин ацетамиден и N,N-диметилендиаминов фрагменти съдържащи в себе си NH₂-група.

3.1. Дизайн и синтез на водоразтворими производни на 1,8-нафталимида

Общата реакционна схема за получаване на водоразтворимите 1,8-нафталимиди е представена на **Схема 8**. Съединение **28** е получено при кондензация на 4-хлоро-1,8-нафталов анхидрид **2** с N-2-хидроксиетилетилендиамин в етанол при кипене. Синтезът на 1,8-нафталиמידен сензор **31** протича в три етапа. На първия етап еквимоларни количества хидразин монохидрат и 1,8-нафталов анхидрид **1** взаимодействат в среда от метанол до получаване на N-амино-1,8-нафталиמיד **29**, който реагира с хлорацетил хлорид в среда от диоксан, до получаване на N-хлороацетамид-1,8-нафталиמיד **30**. На последния етап в среда от ДМФ нуклеофилно се замества хлорния атом в N-хлороацетамид-1,8-нафталимида **30** с N-метилпиперазинов остатък до получаване на съединение **31**. Нафталиמיד **32** е получен чрез реакция на 4-хлоро-1,8-нафталов анхидрид **2** с N,N-диметилендиамин и последващо заместване на хлорния атом в C-4 позиция с 4-амино-1,2,4-триазол.

Синтезираните съединения са охарактеризирани посредством R_f стойности от тънкослойна хроматография (ТСХ), FT-IR спектроскопия, а новите съединения **28**, **30** и **31** с ¹H ЯМР спектроскопия.

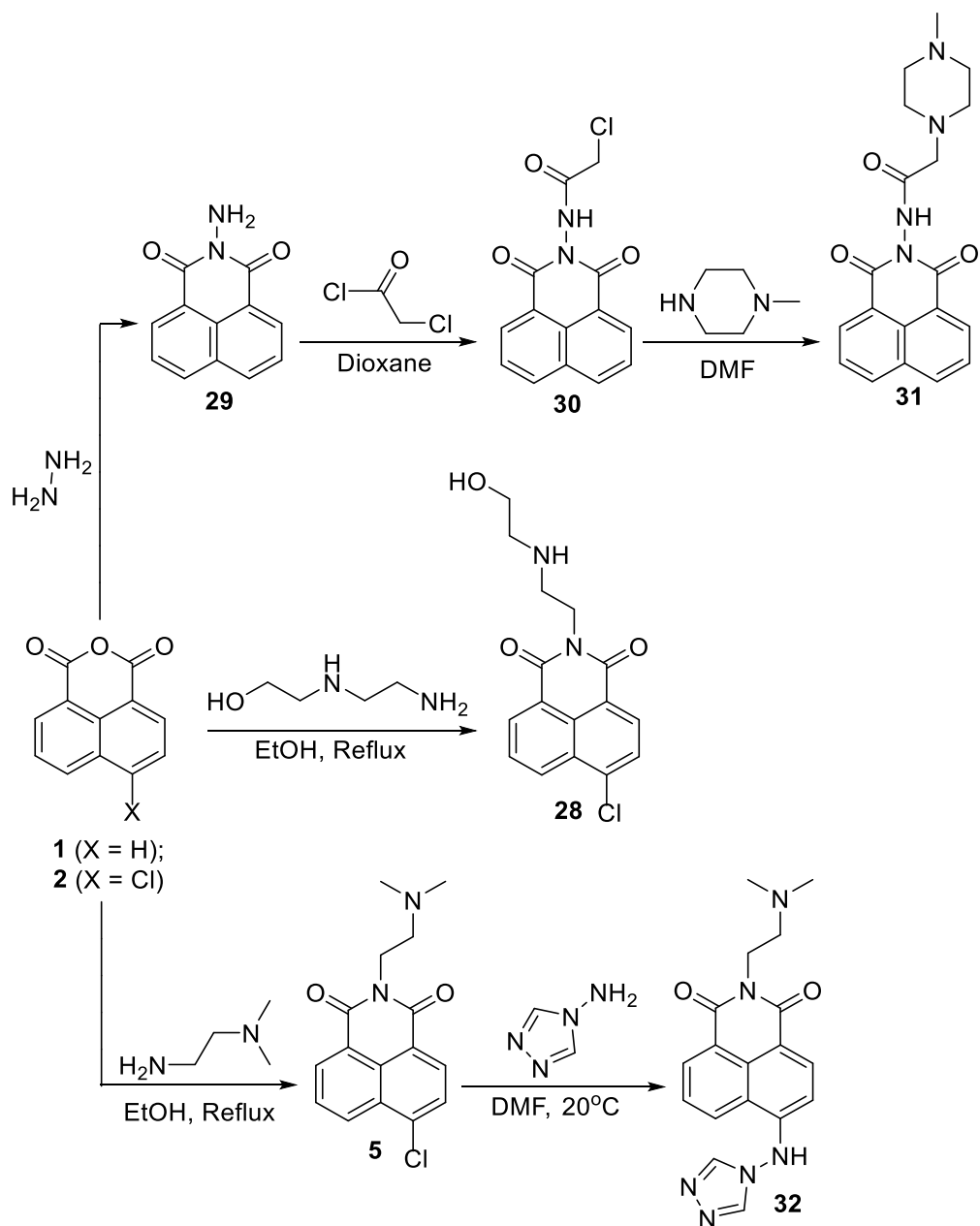


Схема 8: Получаване на водоразтворими 1,8-нафталиמידни производни.

3.2. Сензорни свойства на водоразтворими производни на 1,8-нафталимида

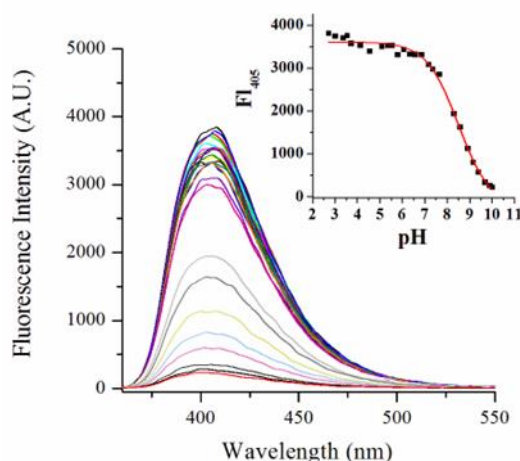
3.2.1. Сензорни свойства на съединение 28

3.2.1.1. рН сензорни свойства във водна среда

За ново синтезираният хемосензор **28** избрахме 4-хлоро-1,8-нафталиמידната архитектурата като основен флуорофор, позволяващ добре изразен ФЕТ процес. Способността на флуоресцентните сензорни молекули да работят във водна среда е голямо предимство, което за съжаление не е обичайно за повечето органични съединения. Ето защо основните фотофизични свойства и хемосензорното поведение на съединение **28**

в разтвор бяха изследвани във вода. Съединение **28** образува стабилни водни разтвори с концентрация под 1.10^{-4} mol/l. Тези концентрации обаче са много подходящи за хемосензорни цели.

В алкална среда (pH 10) съединение **28** е в неутрална форма и ФЕТ от свободната амино електронна двойка до флуорофора е възможно. В резултат на това емисията на 1,8-нафталимид **28** е блокирана, като по този начин той показва ниска флуоресценция с квантов добив $\Phi = 0,02$. В неутрална и кисела среда съединение **28** съществува като четвъртичен амониев катион, в който липсва богат на електрони център и ФЕТ не е възможен. По този начин емисията преминава във „включено“ състояние и квантовият добив при pH 6,8 се увеличава до $\Phi=0,52$. Установено е, че превключването на ФЕТ се усъществува в pH интервал между 7 и 10. Флуоресцентното усилване (FE=22) е определено като съотношение на интензитета на флуоресценция при pH 6,8 (включено състояние) и pH 10 (изключено състояние) (Фигура 95).



Фигура 95: Флуоресцентни спектри на 1,8-нафталимид **28** във воден разтвор ($c = 10^{-5}$ mol/l) при различно pH ($\lambda_{ex} = 360$ nm).

Дисоциационната константа (pKa) за съединение **28** се получава след анализ на неговите флуоресцентни спектри в pH интервал от 10 до 6,8 и се изчислява съгласно уравнението на Hendersen-Hasselbalch (4), където I_{max} и I_{min} са съответно максималния и минималния интензитет на флуоресценция, а I е интензитетът на флуоресценция при съответната стойност на pH.

$$pH = pKa + \log \frac{IF_{max} - IF}{IF - IF_{min}} \quad (4)$$

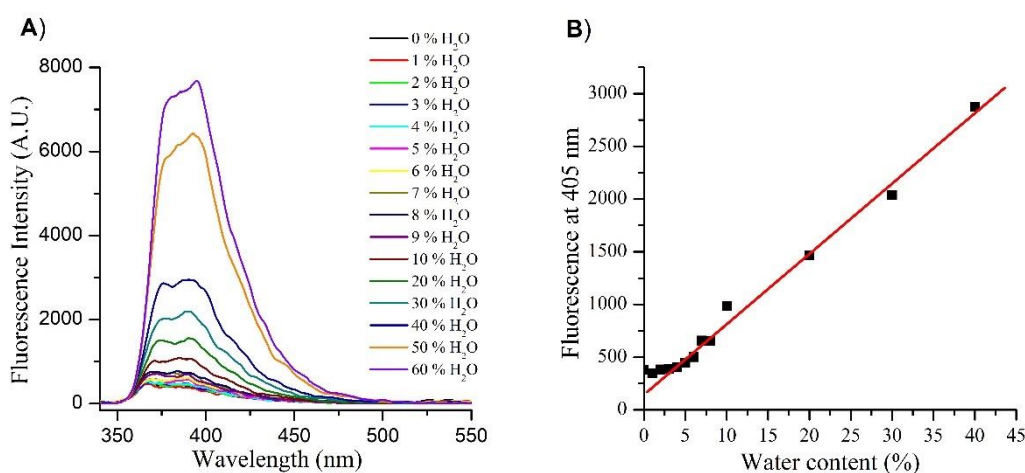
Изчислената по уравнението дисоциационна константа pKa = 8,50 .

Освен това беше установено, че рН чувствителността е селективна като присъствието на метални катиони и аниони не я повлиява.

3.2.1.2. Откриване на водно съдържание в органични разтворители

Стойностите на рКа на третичните алкил амини обикновено са около рКа 9 [34, 130, 131]. В същото време, при нормални условия, рН на водата е в диапазона между 6 и 8, което позволява протониране на класическите ФЕТ алкиламинови рецептори. Това твърдение прави ФЕТ съединенията обещаваща платформа за проектиране на флуоресцентни сензори за откриване на водно съдържание в органични разтворители.

За да се провери възможността на ново синтезираният нафталимиден сензор **28** да бъде използван като индикатор за откриване на влага в органични разтворители беше проведен експеримент, в който към разтвор на съединението в абсолютен етанол се добавя вода до съотношение 1:1 (Фигура 96).



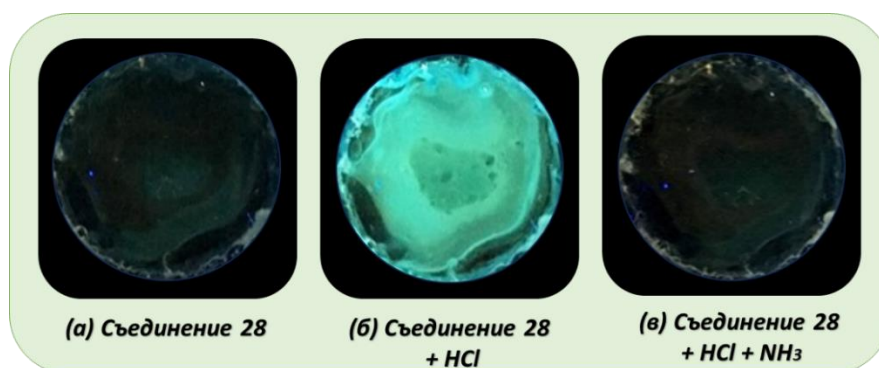
Фигура 96: Влияние на водата върху сензор **28** - флуоресцентни спектри (A);

Линейна зависимост от концентрацията на водата (B)

Фигурата показва промените в емисиите на съединение **28** като функция от концентрацията на вода. Забелязва се, че с увеличаване концентрацията на вода, интензивността на излъчване при 405 nm се увеличава поради протониране на третичния азотен атом и възпрепятстване на ФЕТ. Въз основа на изследванията можем да заключим, че сензор **28** може да бъде използван за откриване на вода. От зависимостта на Фигура 96B се вижда, че линейният диапазон за определяне на вода е от 6 до 40%.

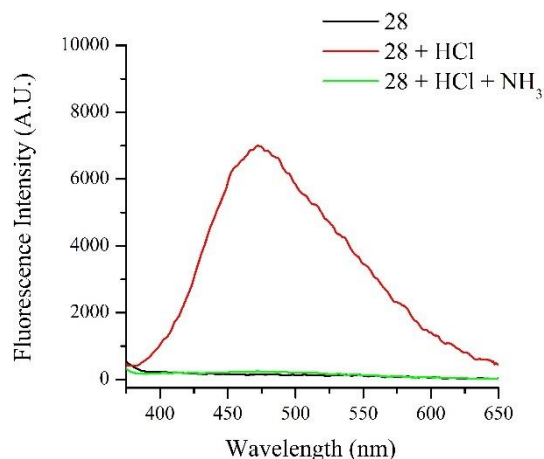
3.2.1.3. Откриване на киселинни и базични пари в твърдо състояние

Под UV-лампа синтезираното съединение **28** в твърда фаза показва много ниска флуоресцентна емисия (**Фигура 97А**). Вероятно по-ниската флуоресценция на **28** е резултат от гасящия ФЕТ процес. Това предположение, заедно с горепосоченото рН включване на флуоресценцията на **28** във вода, ни насърчи да изследваме неговите хемосензорни свойства в твърдо състояние. За тази цел разтвор на 1,8-нафталимид **28** в ацетонитрил се нанася върху предметно стъкло и разтворителят се изпарява на въздух (**Фигура 97**).



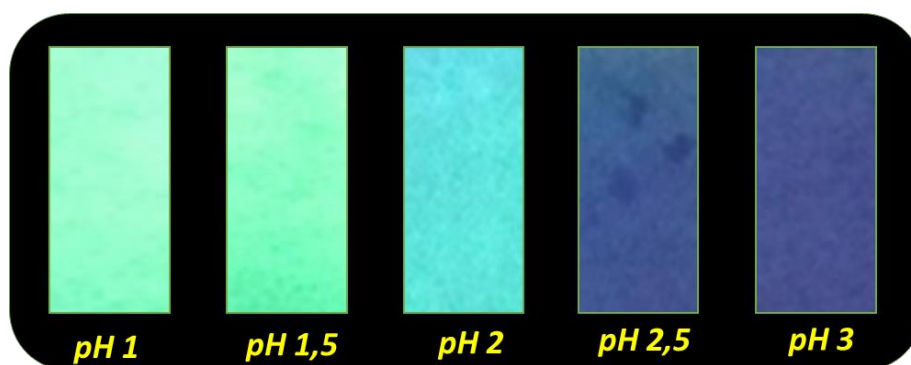
Фигура 97: Филм от 1,8-нафталимид **28** върху стъкло (А), след излагане на HCl (В), и след излагане на NH₃ изпарения (С) .

Полученият филм се излага последователно в продължение на 1 секунда на HCl и NH₃-пари. Както очаквахме, флуоресцентния сигнал на изследвания филм беше напълно загасен поради ФЕТ процеса в съединение **28**. Въпреки това, след излагането на HCl-пари, ФЕТ процеса се блокира и се появява ярка флуоресценция, която се вижда дори с просто око (**Фигура 97В**). Веднъж озовало се във „включено“ състояние съединение **28** може да се използва за откриване на базични газове. Така при пропускане за 2 секунди на NH₃-пари съединението отново преминава в „изключено“ състояние вследствие на депротониране на рецептора (**Фигура 98**). Това може да бъде обяснено с наличието в съединение **28** на латентна ЕСА поради ФЕТ, която може да се приложи за бързо откриване на киселинно-алкални пари. В твърдо състояние съединение **28** показва широк флуоресцентен спектър (с максимум при 472 nm) поради обединяването на мономерното излъчване и ЕСА, което е обичайно за емитиращите в твърдо състояние 1,8-нафталимиди. Получената значителна промяна в интензитета на флуоресценция на съединение **2** в присъствието на киселинни пари се изчислява на FE = 44. Добре изразената ЕСА емисия в съединение **28** може да бъде обяснена със способността за образуване на Н-връзки с неговите ОН и NH фрагменти, което стимулира ЕСА.



Фигура 98: Флуоресцентни спектри на твърд филм от 1,8-нафталимид **28**, изложени първо на HCl, а след това на NH₃-пари ($\lambda_{ex} = 360 \text{ nm}$).

Хартията е обещаващ материал за производство на интелигентни устройства, като хемосензори, тъй като позволява по-лесна работа и преносимост при много ниска цена. Беше установено, че флуоресцентните свойства на сензор **28** в твърдо състояние могат да бъдат използвани за детекция на киселинно-базични газове и за определяне на рН във водни разтвори с невъоръжено око. За целите филтърна хартия се потапя в разтвор на съединение **28** в ацетонитрил и разтворителят се изпарява, за да се получат индикаторни ленти с хемосензорни свойства. Пригответените хартиени ленти показват много подобна флуоресцентна реакция към киселинно-базични пари, както при предметното стъкло. Също така беше установено, че хартиените ленти на базата на 1,8-нафталимид **28** (Фигура 99) са подходящ индикатор за рН във вода. Може да се следи рН на средата в интервала 1- 2,5.

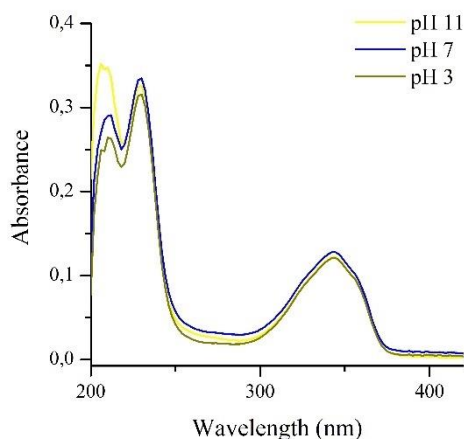


Фигура 99: Флуоресцентна реакция на индикаторни ленти на базата на 1,8-нафталимид **28** при различни стойности на рН.

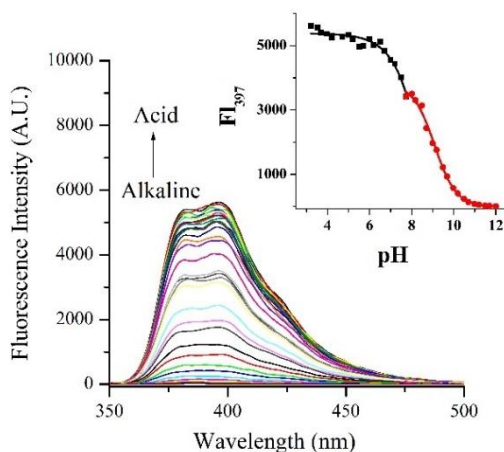
3.2.2. Сензорни свойства на съединение 31

3.2.2.1. рН сензорни свойства във водна среда

Синтезираната проба **31** показва необичайно висока разтворимост във вода за производните на 1,8-нафталимид. Установено е, че бистри и стабилни разтвори на сензора се образуват дори при концентрация от 5×10^{-2} mol/l. Това ни насърчи да изследваме фотофизичното поведение на сондата в разтвор на чиста вода. Поради ВПЗ естеството на 1,8-нафталимидната единица, съединение **31** показва абсорбционен спектър с дължина на вълната от 290 nm до 380 nm с максимален интензитет при 344 nm (**Фигура 100**) и флуоресцентен спектър в диапазона между 350 nm и 480 nm с максимум при 397 nm (**Фигура 101**) [109, 132]. Наблюдаваните абсорбционни спектри на сензор **31** снети при рН 3, рН 7 и рН 11 не показват промяна, което показва, е съединение **31** няма абсорбционна зависимост при промяна на рН на средата. За разлика от абсорбционните спектри, в съответните флуоресцентни спектри се наблюдава висока рН-зависимост на флуоресцентната интензивност. Това поведение се очаква и се дължи на налието на ФЕТ-процес, който се появява само във възбудено състояние и не засяга основното състояние на флуорофора, съответно, неговите абсорбционни спектри.



Фигура 100: Абсорбционни спектри на сензор **31** във воден разтвор при различни рН.



Фигура 101: Флуоресцентни спектри на сензор **31** в 100% воден разтвор в рН-интервал 2–12 ($\lambda_{ex} = 340 \text{ nm}$) и Титрувална крива на сензор **31** при 397 nm.

Поради протичането на ФЕТ-процеса от богатите на електрони пиперазинови amino групи към 1,8-нафталимидния флуорофор, флуоресцентната емисия на съединение **31** беше напълно загасена в алкална среда. При протониране на пиперазиновите amino групи в кисела среда, протичането на ФЕТ-процеса е невъзможно и съединение **31** показва ярка флуоресценция. Благодарение на поетапното протониране на двете пиперазинови amino групи, наблюдаваната титрувална крива на съединение **31** се състои от две S-образни криви (горния десен ъгъл на **Фигура 101**).

Съгласно титрувалната крива на **Фигура 101**, протонирането на първата пиперазинова amino група настъпва в рН интервала 12–7,7, което логично може да се обясни с кватернизацията на метиламиновата групата, притежаваща електрон-донорен метилов фрагмент (**Схема 9**).

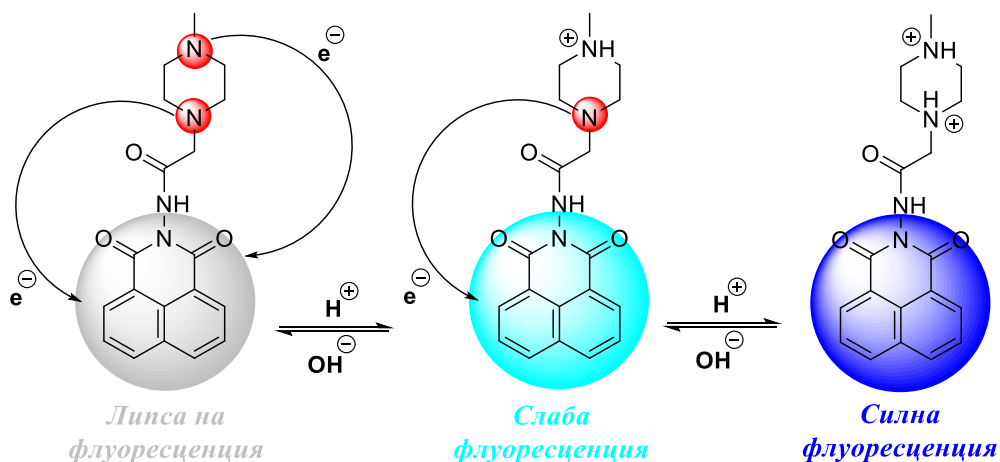


Схема 9: Фотофизично поведение на сензор **31** при преход от алкална ($pH = 12$) към неутрална ($pH = 7,7$) среда и от неутрална ($pH = 7,7$) към силно кисела среда ($pH = 3$).

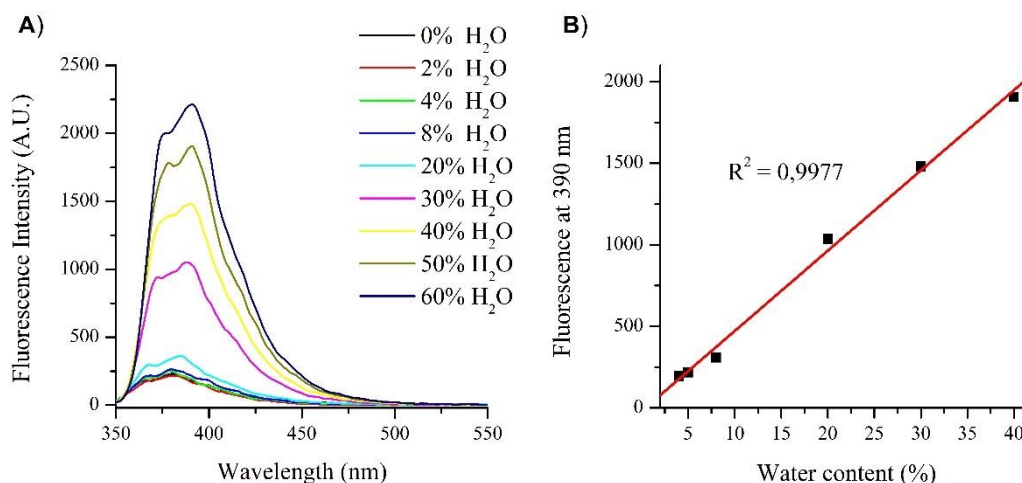
От получената крива с помощта на уравнението на Hendersen-Hasselbalch (4) е изчислена рКа стойност от 9.09 за протонирането на първата пиперазинова амино група на съединение **31**.

Освен това **Фигура 101** показва втори процес на кватернизация в пиперазиновата част на съединение **31**, протичащ в рН интервала 7,7–3. Анализът на кривата съгласно **Уравнение 4** дава стойност рКа = 7,33. Тази рКа стойност е малко по-ниска от обичайните стойности за третични алкиламини и може да се обясни с протонирането на метилен-свързаната пиперазинова амино група в сензор **31**. Метилен аминът в **31** е свързан с амида, изтеглящ електрони, който намалява електронната плътност около съседните групи и повишава тяхната киселинност.

Като потенциални аналити беше изследвано и влиянието на най-често срещаните катиони (Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} и Hg^{2+}) и аниони (Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , HSO_4^- , CO_3^{2-} , CH_3COO^- , Br^- , NO_2^- , SO_3^{2-} , PO_4^{3-} и F^-). Изследването е извършено при рН 4.5, рН 7.3, рН 8 и рН 10. Въпреки това, във всички случаи тестваните йони (10^{-4} mol/l) причиняват само незначително гасене на интензитета на флуоресценцията на съединение **31**. Това наблюдение показва, че изследваното съединение **31** може да се използва като селективен сензор за определяне на рН във водни разтвори.

3.2.2.2. Откриване на водно съдържание в органични разтворители

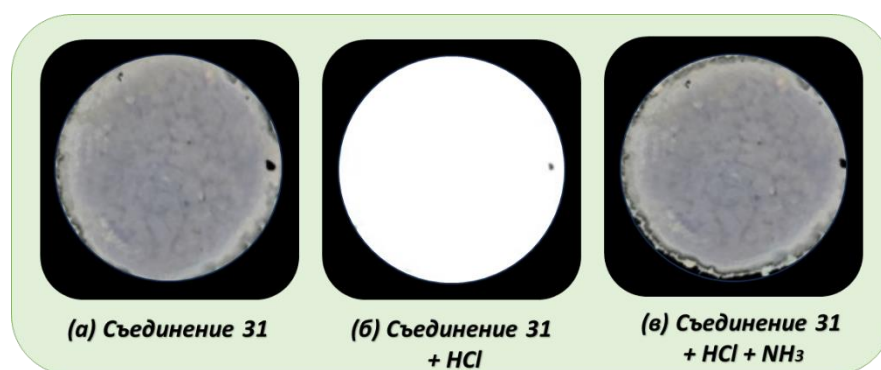
Новосинтезираното съединение **31** е силно водоразтворимо и притежава ФЕТ-рецептор, съдържащ както аминогрупа, така и киселинен фрагмент (киселинен амид). Това ни насърчи да проучим способността на сензор **31** да открива водно съдържание в органични разтворители. За тази цел флуоресцентните спектри на **31** бяха снети в абсолютен етанол и смеси от етанол/вода (**Фигура 102А**). Както може да се види от **Фигура 102**, флуоресцентният интензитет на сензор **31** нараства постепенно с увеличаването на водното съдържание в изследваните разтвори. Това се дължи както на промените в рН, така и на микросредата около флуорофора. Тъй като основният ефект е рН, което е добре определено само в чиста вода, стойността на рН на разтвора е силно зависима от съдържанието на вода в органичния разтворител. От флуоресцентните промени при 390 nm беше построена калибрационна крива, която показва линеен диапазон от 4% до 40% съдържание на вода (**Фигура 102В**). Въз основа на калибрационната крива, беше изсилен прага на откриване $\text{LOD} = 3\%$ с помощта на уравнението $\text{LOD} = 3 \sigma/b$, където b е наклонът, а σ е стандартното отклонение на 10 измервания в сух разтворител [133].



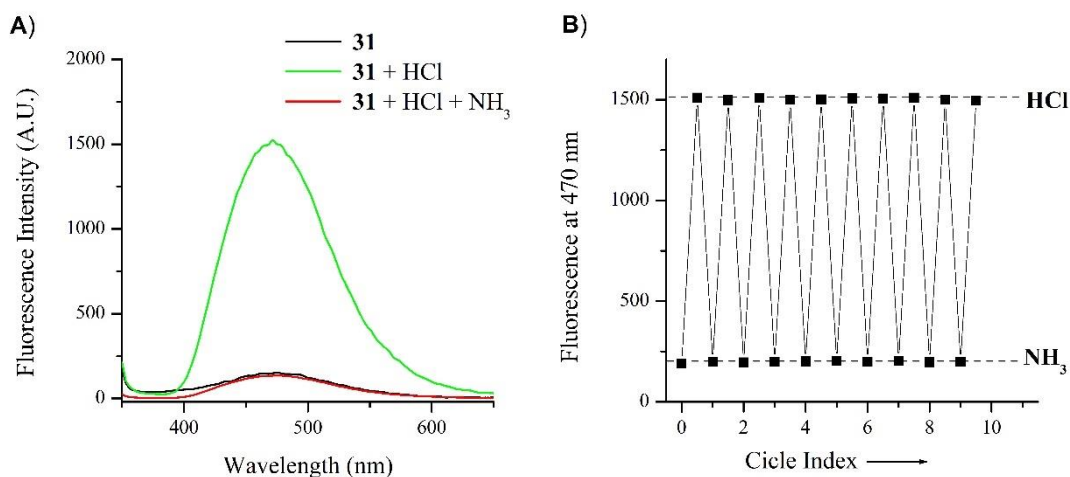
Фигура 102: (A) Флуоресцентни спектри на сензор **31** като функция на съдържанието на вода в етанол ($\lambda_{ex} = 340 \text{ nm}$); (B) Калибрационна крива на флуоресцентните промени на сензор **31** при 390 nm .

3.2.2.3. Откриване на киселинни и основни пари в твърдо състояние

Както вече стана ясно тънки филми от някои класически ФЕТ-базирани 1,8-нафталимиди могат да се използват ефективно за откриване на киселинни или базични изпарения поради превключването между ФЕТ-процес и излъчване в твърдо състояние в сигнализиращия флуорофор след излагане на киселинни или основни пари [134]. Това е причината за приготвянето на тънък филм от съединение **31** върху предметно стъкло след нанасяне на етанолов разтвор на **31** върху предметното стъкло и изпаряване на разтворителя. Полученият филм беше изложен за 2 s на HCl и след това на NH₃-пари. Тънките филми върху стъкло бяха заснети под UV-лампа (Фигура 103) и техните флуоресцентни спектри бяха снети след всяко излагане (Фигура 104A).



Фигура 103: Твърд филм от съединение **31** под UV лампа, изложен на HCl-пари и на NH₃-пари.



Фигура 104: (А) Флуоресцентни спектри на твърд филм от сензор **31**, изложен първо на HCl и след това на пари на NH_3 ($\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$); (В) Цикли на депротониране и протониране на твърд филм от съединение **31**.

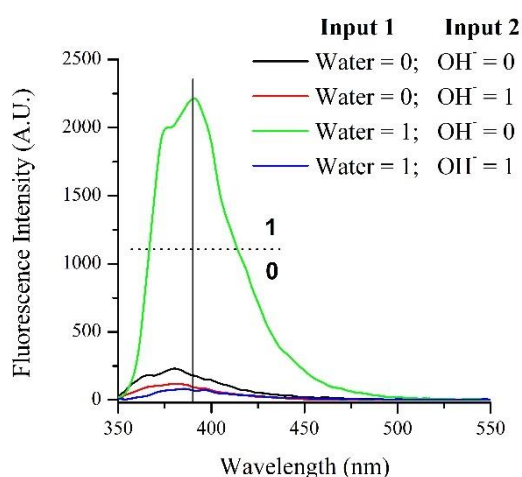
Преди излагането на HCl -пари флуоресцентната емисия на изследвания филм е ниска поради ФЕТ-процеса в сензор **31**. След излагането на HCl -пари, ФЕТ-процесът е прекъснат и се наблюдаваше усилване на флуоресценцията, което се виждаше дори с просто око (**Фигура 103**). Освен това, силната флуоресцентна емисия на **31** беше „изключена“ отново след излагане на NH_3 -пари за 2 s (**Фигура 104А**). Това може да се обясни с депротонирането на флуоресцентната кватернерна амониева сол на съединение **31**.

Наблюдаваното усилване на флуоресценцията беше изчислено на $\text{FE} = 10$. Също така е установено, че изследваният тънък филм от сензор **31** може да бъде обратимо превключен между „изключено“ и „включено“ състояние най-малко седем пъти без промени във флуоресцентната интензитет и в двете състояния (**Фигура 104В**). Тези резултати ясно показват, че съединение **31** може да се използва като ефективна платформа за бързо откриване на киселинни и базични пари в твърдо състояние.

3.2.2.4. Логическо поведение на сензор **31**

За да потвърдим предположението, че наблюдаваното увеличение на флуоресценцията на съединение **31** в присъствието на вода се дължи на блокиран ФЕТ процес след протониране на третичните алкилни amino групи в рецепторния фрагмент, изследвахме флуоресцентните спектри на съединение **31** в смеси от етанол и вода, съдържащи 10^{-6} mol/l NaOH или NH_3 . Както се очакваше, не наблюдавахме увеличение на флуоресценцията, тъй като водата при тези условия не предотвратява ФЕТ процеса в

съединение **31**, поради намалената ѝ киселинност. Реакцията на съединение **31** беше използвана за създаването на молекулна логическа портичка INH (**Фигура 105**). Като химични входове в тази логическа портичка използвахме NaOH (10^{-6} mol/l) и вода (като 50 % съдържание в етанолов разтвор на съединение **31** с концентрация 10^{-5} mol/l). Полученият сигнален изход на логическата портичка е изобразен на **Фигура 105**. Както се вижда, по-високата емисия на **31**, кодирана бинарно като 1, се наблюдава само в присъствието на вода като вход, докато присъствието на NaOH блокира ефекта на водата и системата показва ниска флуоресценция, кодирана бинарно като 0, във всички други комбинации на входове. Този поведенчески модел наподобява INH логическа портичка, където водата служи като активатор, а NaOH като деактиватор [135-137].



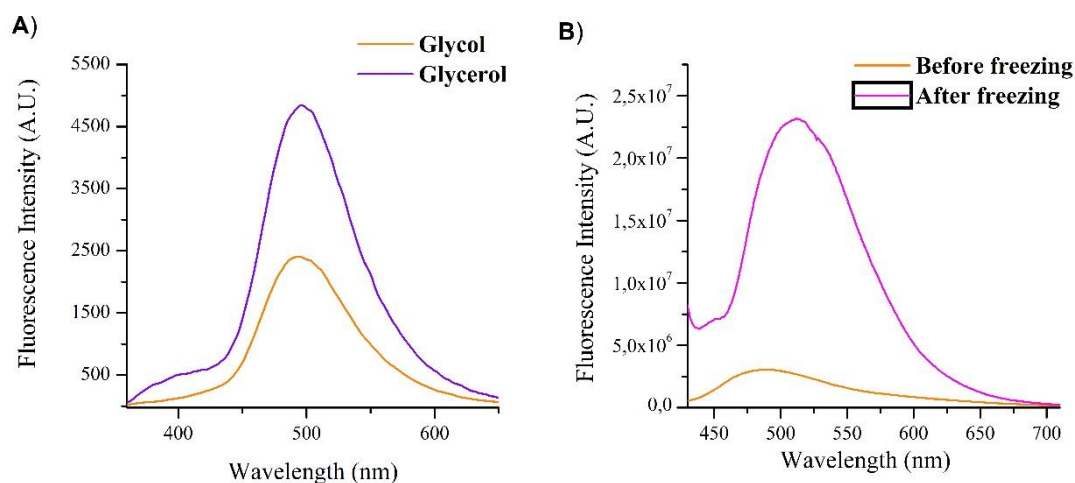
Фигура 105: Промените във флуоресцентната интензивност на съединение **31** ($\lambda_{ex} = 340$ nm) ($C = 10^{-5}$ mol/l) в етанол, с вода и основа като химични входове.

3.2.3. Сензорни свойства на съединение **32**

3.2.3.1. рН сензорни свойства във водна среда и влияние на вискозитета

Новосинтезираният продукт **32** притежаващ amino група в N,N-диметилетилендиаминовия фрагмент както очаквахме показва значително по-висока водоразтворимост в сравнение със съединение **25**, затова фотофизините свойства на съединение **32** бяха изследвани във вода. Прави впечатление, че във воден разтвор сензорното съединение **32** показва нисък квантов добив ($\Phi = 0,03$) необичаен за подобни триазол заместени 1,8-нафталимиди описани в литературата в органични разтворители [138-140]. Ниският квантов добив на 1,8-нафталимидите във вода е индикация за протичане на ВПЗ с усукване [141].

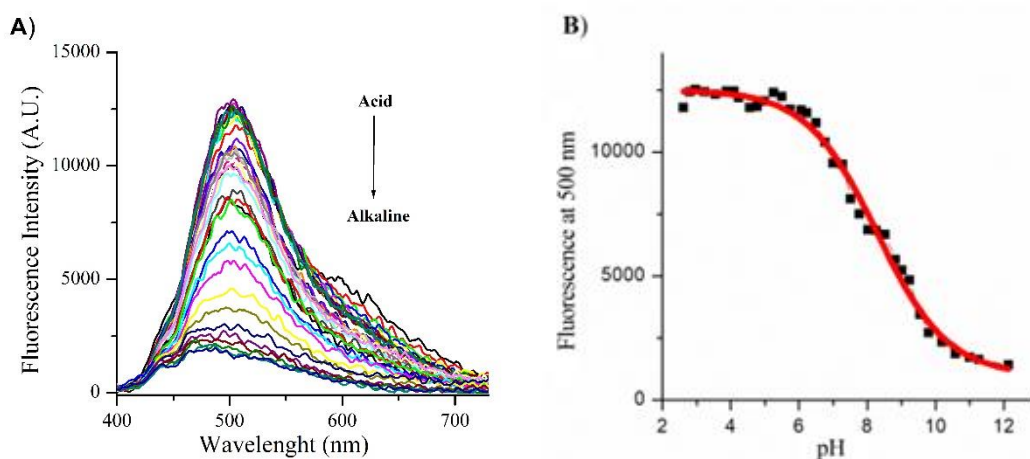
С оглед установяване на протичането на вътрешномолекулен пренос на заряд с усукване беше проведено фотофизично изследване на флуоресцентните свойства на съединение **32** в разтвори с различен вискозитет (етиленгликол и глицерин). Както може да се види от **Фигура 106А**, поради възпрепятстване на ротациите около връзките на 1,8-нафталимид **32** флуоресцентната му интензивност нараства над 2 пъти в по-вискозния глицеринов разтвор в сравнение с този на етиленгликол. Освен това бяха снети емисионни спектри на сензорното съединение **32** преди и след замразяване на пробата с течен азот (**Фигура 106В**). При замразяване поради възпрепятстване на ротациите около връзките на 1,8-нафталимид **32** флуоресцентната му интензивност нараства около 7 пъти. Получените резултати напълно съответстват с предходните доклади за 1,8-нафталимидните производни показващи явлението вътрешномолекулен пренос на заряд с усукване [141].



Фигура 106: Флуоресцентни спектри на 1,8-нафталимид **32** в разтвори на глицерин и етиленгликол (А) и при замразяване(В).

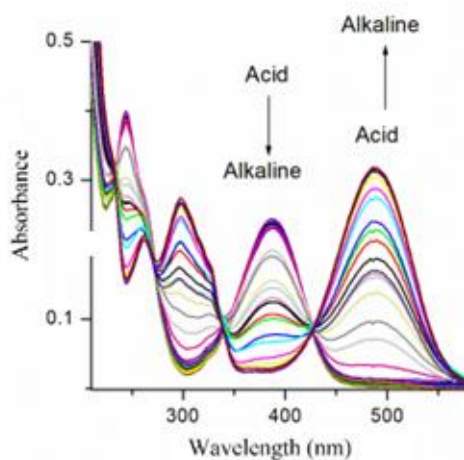
Разположената в С-4 позиция на 1,8-нафталимид **32** amino група притежава лабилни N-H протони. Това е вследствие от едновременното изтегляне на електронната плътност от азотния атом от amino групата към ароматните ядра на 1,8-нафталимида и триазола. Структурата на съединението лесно може да бъде депротонирана и да премине в нефлуоресцентната си аниона форма дори и в неутрална среда, което прави структурата изключително чувствителна към рН на средата.

След внимателно титруване на съединение **32** във воден разтвор от рН 2 до рН 12 беше установено, че вследствие на депротониране флуоресцентната му емисия премина между “включено” и “изключено” в рН интервала 6,0-9,0.(**Фигура 107**)



Фигура 107: Флуоресцентни спектри на 1,8-нафталимид **32** при различни стойности на рН на средата във воден разтвор.

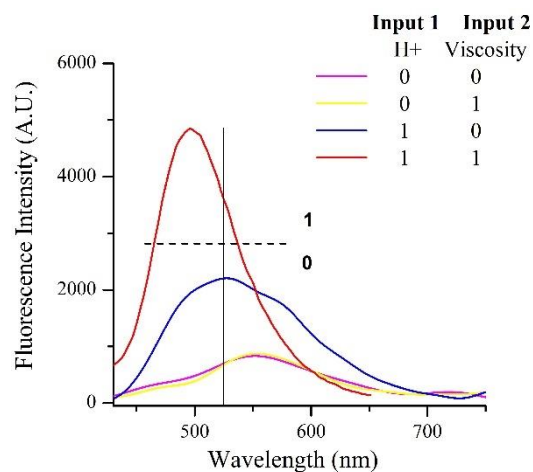
Както може да се види от **Фигура 108**, от сметите абсорбционни спектри на 1,8-нафталимид **32**, в слабо алкална и неутрална среда триазоловия фрагмент е депротониран и има червен цвят (абсорбира при 500 nm) и слаба емисия. Докато при кисели условия се наблюдават силна емисия и зелен цвят (абсорбция при 400 nm).



Фигура 108: Абсорбционни спектри на 1,8-нафталимид **32** при кисела и алкална среда.

3.2.3.2. Логическо поведение на сензор **32**

На база на съединение **32** е конструирана логическа портичка AND (**Фигура 109**), която оперира по следния начин: стартирайки от неутрално рН и нисък вискозитет съединението показва ниска флуоресценция като изходящ сигнал, което се кодира като 0 в бинарен вид.



Фигура 109: Флуоресцентни промени в съединение **32** в присъствие на протони и вискозна течност като входящи сигнали, стартирайки от неутрална среда.

При добавяне на киселина като химичен вход (до рН 6) съединение **32** преминава във флуоресцентната си форма, което се кодира като 1, но изходният флуоресцентен сигнал остава слаб поради усукването във възбудено състояние (**Схема 10**).

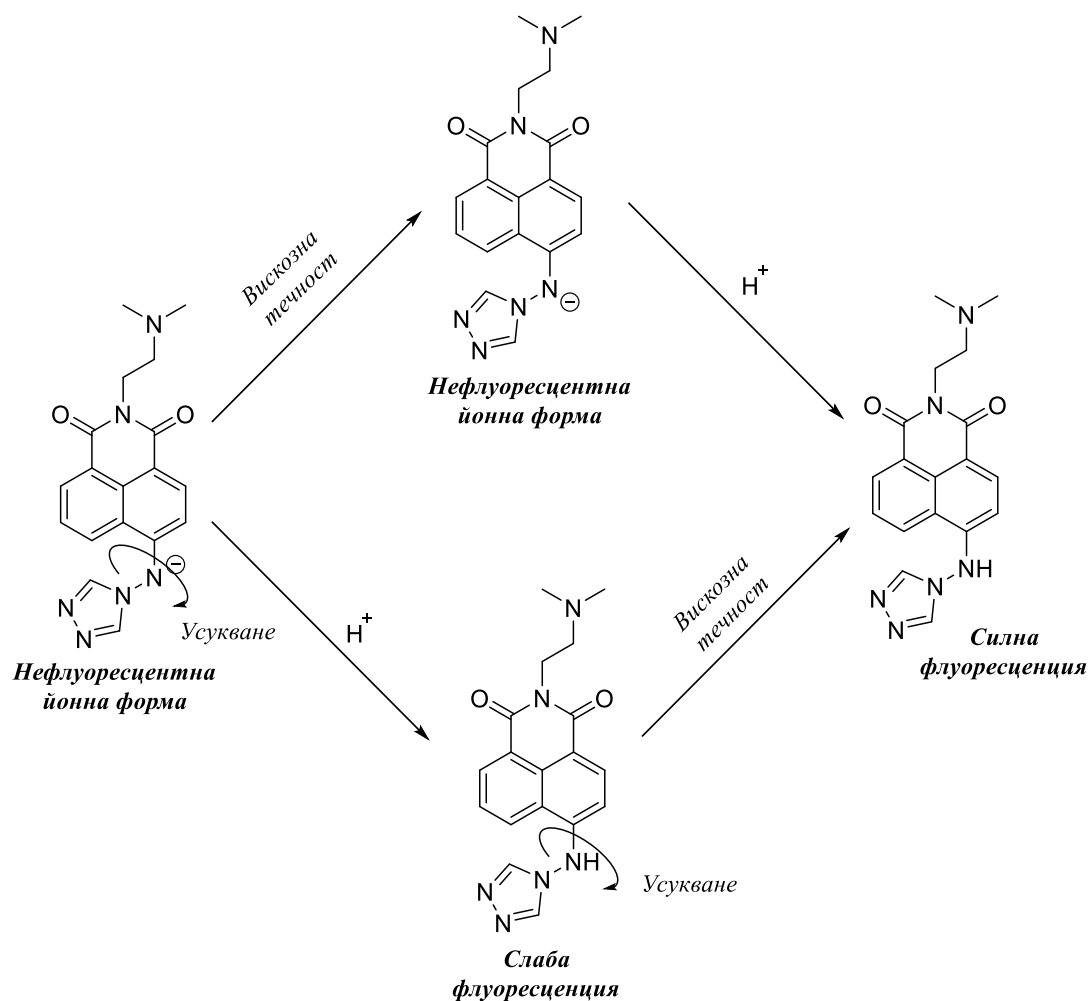
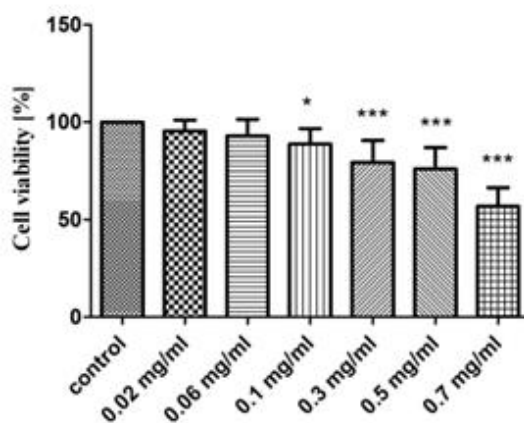


Схема 10: Фотофизично поведение на съединение **32**.

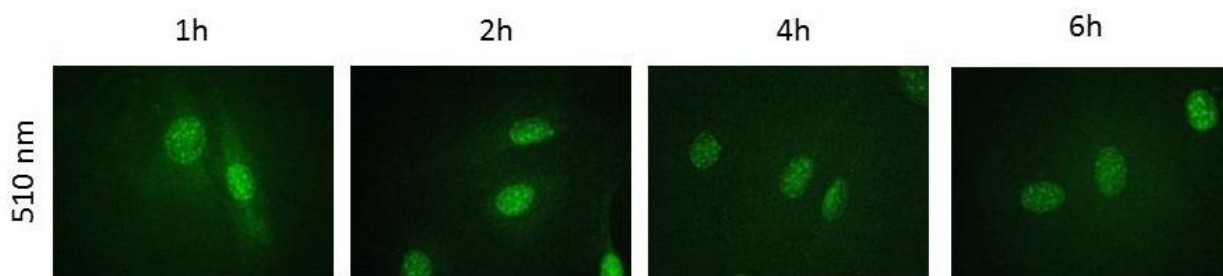
При повишаване само на вискозитета като вход се възпрепятства усукването, но флуоресцентния изход отново е нисък, тъй като съединение **32** се намира в изходната си нефлуоресцентна форма. При едновременно присъствие и на двата входа обаче изходният флуоресцентен сигнал на молекулата става силен, което се кодира като 1, тъй като при подкисляване **32** преминава във флуоресцентната си форма и същевременно се възпрепятства емисионното гасене чрез усукване в по-вискозната среда. Това поведение се корелира отлично с логическа портичка AND, която притежава сигнал 1 само когато и единия и другият входящи сигнали са 1.

3.2.3.3. Флуоресцентна визуализация и цитотоксичност

Тъй като новосинтезираното съединение **32** притежава силна емисия при стойности на рН във физиологичния диапазон, това ни насърчи да го изследваме като потенциален маркер за вътреклетъчни изследвания. За да може едно съединение да се използва в живи обекти, но не трябва да е не е токсично към тях, т.е. да има ниска цитотоксичност. Цитотоксичността на синтезираното съединение **32** е установена чрез МТТ тест, използвайки клетъчна култура А549. Клетките се инкубират за 24h с различни концентрации на продукт **32**. Резултатите показаха добра жизнеността на клетките (тоест ниска токсичност на **32**) при концентрации под 0,1 mg/ml (**Фигура 110**). За да се провери способността за визуализация и локализация на флуоресцентното съединение **32** беше извършено и изследване чрез флуоресцентен микроскоп на А549 инкубирани за различен период от време. Резултатите показват преминаване на сензорното съединение в клетките, което е доказателство за високия му потенциал да служи като флуоресцентен маркер за вътреклетъчни изследвания (**Фигура 111**).



Фигура 110: Клетъчна жизнеспособност на А549 клетки, инкубирани със съединение **32** за 24 h.



Фигура 111: Визуализация и локализация на съединение 32 в живи клетки A549 за различно инкубационно време.

V. Изводи и научни приноси

В изпълнение на поставените цели в настоящият дисертационен труд бяха синтезирани и изследвани общо 28 съединения, 5 от които нови, неописани в литературата (съединения **10**, **25**, **28**, **31** и **32**). Въз основа на получените резултати могат да бъдат направени следните по-важни изводи:

- ✓ Синтезирани и изследвани са 12 1,8-нафталимидни производни опериращи едновременно чрез фотоиндуциран електронен трансфер (ФЕТ) емисия вследствие на агрегация (ЕСА) за детекция на киселинни и базични пари в твърда фаза. Всички изследвани съединения са проектирани база на класическия модел "флуорофор-мост-рецептор". От синтезираните съединения са изготвени тънки филми и индикаторни хартии. Проведеното изследване и получените резултати показват, че 1,8-нафталимидни производни с "горен" рецептор, които са незаместени в С-4 позиция на нафталимидното ядро може да се използват като ефективна платформа за бързо откриване на киселинни и базични пари в твърдо състояние.
- ✓ За разлика от съединенията с "горен" рецептор, тези с "долен" рецептор, като 4-амино и 4-амидо 1,8-нафталимидите, се оказват неподходящи индикатори за киселинно-основни пари в твърдо състояние.
- ✓ Установено е, че 4-бутиламино-N-(2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-1,8-нафталимид **21** притежава необичайно висока флуоресцентна емисия в твърдо състояние, която обратимо може да бъде „изключена“ и „включена“ след излагане на киселинни и основни пари. Представените резултати илюстрират за първи път, че емисионните 4-амино-1,8-нафталимиди в твърдо състояние могат да се използват като хемосензорен материал поради потушения ВПЗ-характер на 1,8-нафталимидния флуорофор в присъствието на киселинни пари.
- ✓ Синтезирани са две ЕСА 1,8-нафталимидни сензорни архитектури (**25** и **27**) опериращи на база на ВПЗ за откриване на киселинни и базични пари. И двете сензорни съединения са използване за детекция на кисели и базични газове, като спектрофотометрично, така и колориметрично. Установено е, че и двете съединения са способни на регенерация и позволяват многократна употреба.
- ✓ Синтезирани са три нови водоразтворими 1,8-нафталимида съответно с 2-хидроксиетилетилендиаминов, метилпиперазин ацетамиден и N,N-диметилендиаминов фрагменти в N-позиция на нафталимидното ядро.

- ✓ Изследвани са рН сензорните свойства във водна среда на съединения **28**, **31** и **32**. Изследвана е възможността на съединения 28 и 31 за откриване на водно съдържание в органични разтворители, както и възможността за откриване на киселинни и основни пари в твърдо състояние.
- ✓ И при трите новосинтезирани сензорни съединения (**28**, **31** и **32**) беше установено, че вследствие на депротониране флуоресцентната им емисия премина между “включено” и “изключено” състояние след промяна на рН от кисело към алкално.
- ✓ Съединения **28** и **31** показват линеен диапазон за откриване на водно съдържани е съответно от 6 до 40% за **28** и 4 до 40% за съединение **31**.
- ✓ На база на съединения **31** и **32** са конструирани съответно INH и AND логически портички. При INH логическата портичка химични входове са вода и NaOH, а при AND логическата портичка химични входове са промените в рН и вискозитета на средата.
- ✓ Новосинтезираното съединение **32** притежава силна емисия при стойности на рН във физиологичния диапазон и то е изследвано като потенциален маркер за вътреклетъчни изследвания.

Научни приноси

- ✓ Синтезирани са шестнадесет 1,8-нафталимидни сензора опериращи на базата на фотоиндуциран електронен трансфер (ФЕТ) и техните хемосензорни свойства за първи път са изследвани в твърдо състояние.
- ✓ Синтезирани са два 1,8-нафталимидни сензора опериращи на базата на вътрешномолекулен пренос на заряд (ВПЗ) и са изследвани за първи път техните хемосензорни свойства и приложение в твърда фаза.
- ✓ Синтезирани са три нови водоразтворими 1,8-нафталимидни сензора опериращи едновременно на базата на емисия в твърдо състояние и ВПЗ. Изследвани са техните хемосензорни свойства и приложение както в разтвор, така и твърдо състояние.

VI. Експериментална част

6.1. Използвани материали и разтворители

При разработване на дисертационния труд са използвани без допълнително пречистване търговските продукти 1,8-нафталов анхидрид, 4-хлоро-1,8-нафталов анхидрид, 4-бромо-1,8-нафталов анхидрид, 4-нитро-1,8-нафталов анхидрид, *n*-бутиламин, етилендиамин, *N,N*-диметилендиамин, *N*-(2-хидроксиетил) етилендиамин, *N*-метилпиперазин, алил амин, алил алкохол, хлороацетил хлорид, метил акрилат, 4-амино-2,2,6,6-тетраметилпиперидин, 4-амино-1,2,4-триазол, хидразин монохидрат и трифлуороцетна киселина.

Кумарин 6 ($\Phi_F = 0.78$) и Родамин 6 G ($\Phi_F = 0.95$) са използвани като стандарти, при определяне на квантовите добиви на новите съединения.

Всички използвани разтворители са чисти за синтез или анализ (Sigma-Aldrich, Fisher Scientific).

6.2. Методи и апаратура

Температури на топене: Температурите на топене са определени на микроскоп с нагревна маса “Boetius PNMK 5” (Kofler) при скорост на повишаване на температурата 4°C за минута.

ИЧ спектри: ИЧ спектрите са снети на спектрометри Varian Scimitar 1000 и Thermo Scientific Nicolet iS20 FTIR.

UV абсорбционни спектри: UV-vis спектрите са снети на спектрофотометър Hewlett Packard 8452A с разделителна способност 2 nm

Флуоресцентни спектри: Флуоресцентните спектри са снети на флуориметри Scinco FS-2 и HORIBA Scientific Fluorolog TCSPC (за тези спектри снети при замразяване на пробата).

ЯМР спектри: ^1H ЯМР спектри са снети на спектрометър Bruker DRX-250, с работна честота съответно 250.13 MHz и 62.90 MHz, както и на Bruker Avance II+ 600 с работна честота 600.13 MHz

Елементен анализ: Елементните анализи за въглерод, водород и азот са направени на автоматичен елементен анализатор EuroEA3000 CHNS-O.

Тънкослойна хроматография (ТСХ): Реакциите са следени с ТСХ върху алуминиеви плаки със силикагел ALUGRAM®SIL G/UV254, 40 × 80 mm, 0,2 mm.

Препаративна хроматография: Препаративната хроматография е извършена със стъклени плаки Macherey-Nagel, 20x20 cm, с 2000µm силикагел.

Флуоресцентната и абсорбционна интензивност са измервани в относителни единици.

Измерване на рН: За следене на промените на рН беше използван настолен рН-метър HANNA HI-2211.

6.3. Синтези

6.3.1. Синтез на N-[2-(диметиламино) етил]-1,8-нафталимид (4)

В облодънна колба, снабдена с обратен хладник и бъркалка се смесват 2,5 g (0,0126 mol) 1,8-нафталов анхидрид **1** и 50 ml абсолютен етилов алкохол. Така получената суспензия се нагрива до температура на кипене, след което се прибавят на малки порции 1,52 ml (0,0139 mol) N,N-диметилетилен-1,2-диамин. След прибавяне на цялото количество амин, реакционната смес се кипи до получаването на бистър разтвор (6 часа). След охлаждане до стайна температура и не във 40 ml вода, изпадналата утайка от N-[2-(диметиламино) етил]-1,8-нафталимид **4** се филтрува и суши (добив 2,23 g, 66%, Rf=0.71 (n-хептан : ацетон = 1: 1)).

IR cm^{-1} : 1677 (ν^{as} N-C=O), 1639 (ν^{s} N-C=O).

6.3.2. Синтез на 4-хлоро-N-[2-(диметиламино) етил]-1,8-нафталимид (5)

N,N-диметилетилендиамин (1,45 ml; 2,6 mmol) се добавя към суспензия от 4-хлоро-1,8-нафталов анхидрид **2** (2,5 g; 2,15 mmol) в 25 ml етанол и сместа се нагрива под обратен хладник в продължение на 6 часа. Суспендираният 4-хлоро-1,8-нафталов анхидрид **2** се разтваря бавно с напредването на реакцията. Реакционната смес се оставя да се охлади до стайна температура след завършване на реакцията. След охлаждане изпадналата кристална утайка от 4-хлоро-N-[2-(диметиламино) етил]-1,8-нафталимид **5** се филтрува и суши. Продукта се прекристализира из етанол (добив 2,44 g, 75 %, Rf=0.66 (n-хептан : ацетон = 1: 1)).

6.3.3. Синтез на 4-бромо-N-[2-(диметиламино) етил]-1,8-нафталимид (6)

Смес от 2,0 g 4-бромо-1,8-нафталов анхидрид **3** (7,22 mmol) и 0,82 ml N,N-диметилетилендиамин (7,58 mmol) в 20 ml етанол се разбърква при температура на кипене в продължение на 2,5 часа. Разтворът бавно се охлажда до стайна температура при което изпада жълта утайка. Утайката се филтрува, промива се с етанол и се суши (добив 1,96 g, 78%, Rf=0.59 (n-хептан : ацетон= 1: 1)).

6.3.4. Синтез на N-(2-аминоетил)-1,8-нафталимид (7)

Суспензия от 5 g 1,8-нафталов анхидрид **1** (25 mmol) в 25 ml вода се добавя бавно към 60 ml воден разтвор на 11.1 ml етилендиамин (0.17 mol), който се разбърква и загрява при 70°C. Получената суспензия се нагрива при 80°C в продължение на 10 минути, след което горещият разтвор се филтрира. При охлаждане на филтратата в ледена баня се образува утайка и след филтриране и промиване със студена вода, продуктът се суши 12 часа при 60 °C (добив 4,65 g, 77,5%, Т.т. 143-145 °C, R_f=0.62 (n-хептан : ацетон= 1: 1)).

6.3.5. Синтез на диестер на N-(2-аминоетил)-1,8-нафталимид (8)

В облодънна колба се суспендират 0,48 g (2 mmol) N-(2-аминоетил)-1,8-нафталимид **7** в разтвор на 1,8 ml (20 mmol) метил акрилат и 20 ml метанол. Разбърква се в продължение на 72 часа при стайна температура, при което реакцията протича с количествено превръщане на изходния продукт в хетерогенна среда. Диестерът **8** се изолира под формата на бежови кристали чрез филтруване, обилно промиване на утайката с вода и сушене. (добив 0,71 g, 86%, Т.т. 90-92 °C, R_f=0.59 (n-хексан : ацетон= 3: 1))

FT-IR (KBr) cm⁻¹:: 2968 и 2829 (ν_{CH} и ν_{CH₃}); 1735 (ν_{C=O}); 1698 (ν^{as}N-C=O); 1664 (ν^sN-C=O).

¹H NMR (CDCl₃-d, 250.13 MHz) ppm: 8.62 (dd, 2H, J = 7.3 Hz, J = 1.1 Hz, naphthalimide H-5 and H-4); 8.23 (dd, 2H, J = 8.3 Hz, J = 1.1 Hz, naphthalimide H-7 and H-2); 7.78 (dd, 2H, J = 7.3 Hz, J = 8.3 Hz, naphthalimide H-6 and H-3); 4.30 (t, 2H, J = 7.1 Hz, (CO)₂NCH₂); 3.55 (s, 6H, 2 x OCH₃); 2.92 (t, 4H, J = 7.0 Hz, 2 x CH₂CH₂CO); 2.82 (t, 2H, J = 7.0 Hz, (CO)₂NCH₂CH₂); 2.50 (t, 4H, J = 7.0 Hz, 2 x NCH₂CH₂).

6.3.6. N-(2-((2-хидроксиетил)амино)етил)-1,8- нафталимид (9)

В облодънна колба, снабдена с магнитна бъркалка и обратен хладник се разтварят 1,0g (5 mmol) 1,8-нафталов анхидрид **1** в 50ml етанол и 0,5ml N-(2-хидроксиетил)етилендиамин (5 mmol). Реакционната смес се разбърква при кипене в продължение на два часа. Целевият продукт **9** е изолиран чрез прекристализация из метанол. (добив 1,15 g, 80%, Т.т. 116-116 °C, R_f= 0.31 (n-хексан : ацетон= 3: 1))

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.49 (d, 2H, J = 7.2 Hz, naphthalimide H-7 and H-2), 8.11 (d, 2H, J = 8.2 Hz, naphthalimide H-5 and H-4), 7.65 (t, 2H, J = 7.7 Hz, naphthalimide H-6 and H-3),

4.26 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz, $\underline{\text{CH}_2\text{-N}(\text{CO})_2}$), 3.57 – 3.47 (m, 2H, naphthalimide $\text{HN}\underline{\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{OH}}$), 2.96 (t, 2H, $J = 6.0$ Hz, naphthalimide $\underline{\text{CH}_2\text{-NH}}$), 2.81 – 2.71 (m, 2H, $\text{HN}\underline{\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{OH}}$).

6.3.7. Синтез на естерно производно на N-[2-(2-хидроксиетиламино)-етил]-1,8-нафталимида (10)

Към разтвор на метил акрилат (6,3 ml, 20 mmol) в 10 ml метанол се прибавя на капки разтвор на N-[2-(2-хидроксиетиламино)-етил]-1,8-нафталимид **9** (1 g, 3,5 mmol) в 10 ml метанол за период от 30 минути. Реакционната смес се разбърква в продължение на 72 часа при стайна температура и излишъкът от метил акрилат се отстранява под вакуум, при което естерното производно **10** се получава като жълто-кафяво масло. (добив 1,27 g, 98%, Т.т.-вискозна течност, $R_f=0,65$ (n-хексан : ацетон= 3: 1))

FT-IR (KBr) cm^{-1} : 1732 (ν MeO-C=O); 1701 (ν^{as} N-C=O); 1648(ν^{s} N-C=O).

^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) δ 8.63 (dd, 2H, $J = 7.3, 1.1$ Hz, naphthalimide H-7 and H-2), 8.25 (dd, 2H, $J = 8.2, 1.1$ Hz, naphthalimide H-5 and H-4), 7.78 (dd, 2H, $J = 12.4, 6.2$ Hz, naphthalimide H-6 and H-3), 4.31 (t, 2H, $J = 6.7$ Hz, $(\text{CO})_2\text{N}\underline{\text{CH}_2}$), 3.65 (dd, 2H, $J = 6.4, 3.7$ Hz, $\text{CH}_2\underline{\text{CH}_2\text{CO}}$), 3.49 (s, 3H, OCH_3), 2.90 (m, 4H. 2x $\text{N}\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}}$), 2.80 (dd, 2H, $J = 6.4, 3.7$ Hz, $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}}$), 2.46 (t, 2H, $J = 6.7$ Hz, $(\text{CO})_2\text{N}\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2}$).

Елементен анализ: изчислен за $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$ (MW 370.40) C 64.85, H 5.99, N 7.56 % ; намерен C 65.02, H 6.05, N 7.47%.

Позитивен йон ESI-MS m/z : 371,0122 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

6.3.8. Синтез на 4-нитро-N-бутил-1,8-нафталимид (12)

В облодънна колба се суспендират 6g (24,7 mmol) 4-нитро-нафталов анхидрид **11** в 100 ml етанол. Прибавя се 2,68 ml n-бутиламин (27 mmol) и се кипи на обратен хладник в продължение на 6 часа (до получаване на бистър разтвор). Реакционната смес се охлажда до стайна температура. Изпадналата след охлаждане утайка се филтрува и суши . (добив 5,08 g, 69%, Т.т. 105-106 °C, $R_f=0.75$ (n-хептан : ацетон= 1: 1)).

FT-IR (KBr) cm^{-1} : 2900 и 2800 (ν CH); 1700 (ν^{as} N-C=O); 1760 (ν^{s} N-C=O), (νNO_2).

6.3.9. Синтез на 4-(2-(диметиламино)етокси)-N-бутил-1,8-нафталамид (13)

Към разтвор на 0,5 g (1,6 mmol) 4-нитро-N-бутил-1,8-нафталамид **12** в 5 ml DMF се добавя 5 ml разтвор на 0,095 g KOH и 0,20 ml (1,6 mmol) N,N-диметилетаноламин. Реакционната смес се разбърква при стайна температура в продължение на 3 часа и след

това се излива във вода. Утаеният 1,8-нафталамид **13** се филтрува, промива се с вода и се суши (добив 0,46 g, 81%, Т.т. 118-120 °С, $R_f=0.49$ (n-хептан : ацетон = 1: 1)).

6.3.10. Синтез на 4-(N-диметиламиноетиламино)-N-бутил-1,8-нафталимид (14)

Към разтвор на 0,5 g (1,6 mmol) 4-нитро-N-бутил-1,8-нафталимид **12** в 5 ml DMF се прибавят 0,19 ml (1,6 mmol) N-диметилетилендиамин. Разтворът се разбърква интензивно при стайна температура в продължение на 48 часа, след което се излива във вода. Изпадналата утайка от жълти кристали се филтрува и суши (добив 0,41 g, 75 %, Т.т. 129-131 °С, $R_f=0.71$ (n-хептан : ацетон= 1: 1)).

FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3180 (ν_{NH}); 2900 (ν_{CH}); 1660 ($\nu^{\text{as}} \text{N-C=O}$); 1620 ($\nu^{\text{s}} \text{N-C=O}$).

6.3.11. Синтез на 4-алилокси-N-бутил-1,8-нафталимид (15)

Към разтвор на 0,095 g (1,7 mmol) калиева основа и 0,5 ml алилов алкохол в 10 ml DMF се прибавят 0,5 g (1,7 mmol) от междинния 1,8-нафталимид **12**. Разтворът се разбърква интензивно при стайна температура в продължение на 50 часа, след което се излива във вода. Изпадналата утайка от 1,8-нафталимид **15** се филтрува и суши (добив 0,41 g, 78%, Т.т. 82-84 °С $R_f=0.68$ (n-хептан : ацетон = 1: 1)).

6.3.12. Синтез на 4-алиламино-N-бутил-1,8-нафталимид (16)

Към разтвор на 0,095 g (1,7 mmol) калиева основа и 0,5 ml алил амин в 10 ml DMF се прибавят 0,5 g (1,7 mmol) от междинния 1,8-нафталимид **12**. Разтворът се разбърква интензивно при стайна температура в продължение на 50 часа, след което се излива във вода. Изпадналата утайка от 1,8-нафталимид **16** се филтрува и суши (добив 0,37 g, 71%, Т.т. 89-91 °С $R_f=0.64$ (n-хептан : ацетон = 1: 1)).

6.3.13. Синтез на 4-амино-N-бутил-1,8-нафталимид (17)

В двугърлена облодънна колба, снабдена с обратен хладник, бъркалка и термометър се смесват 1g (3,35 mmol) 4-нитро-N-бутил-1,8-нафталимид **12** и 30 ml етилов алкохол. Така получената суспензия се нагрива до температура на кипене, при което в продължение на 1 час се прикапва на малки порции 3,2g (20 mmol) $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, разтворен в 6 ml концентрирана солна киселина. След прибавяне на цялото количество редутор, реакционната смес се кипи в продължение на 4 часа. Получената суспензия се охлажда и филтрува, утайката се промива с вода и се суши при 100-110°C. Филтратът се излива във вода и се неутрализира с 10% воден разтвор на натриев карбонат, като при това се

получава утайка, която се филтрува, промива с вода и суши при 100-110°C (добив 0,46 g, 52%, Т.т. 163-165 °C, $R_f=0.55$ (n-хептан : ацетон = 1 : 1)).

6.3.14. Синтез на 4-хлороацетамидо-N-бутил-1,8-нафталимид (18)

В облодънна колба се разтварят 0,32g (1,23 mmol) от получения 4-амино-N-бутил-1,8-нафталимид **17** в 13 ml ледена оцетна киселина, след което температурата се повишава до 40 градуса и се прибавят 0,2 ml (2,46 mmol) хлорацетилхлорид. Температурата се повишава до 60 градуса при непрекъснато разбъркване в продължение на 3 часа. След охлаждане реакционната смес се излива в 10 ml вода, при което изпада утайка. Получената утайка се филтрува, промива с вода до неутрално рН и суши при стайна температура (добив 0,34 g, 80%, Т.т. 212-214 °C, $R_f=0.49$ (n-хептан : ацетон = 1 : 1)).

6.3.15. Синтез на 1,8-нафталимид (19)

В облодънна колба се разтварят 0,34 g (1 mmol) от 4-хлороацетамидо-N-бутил-1,8-нафталимид **18** в 7 ml DMF като към получения разтвор се прибавят 0,22 ml (2 mmol) метилпиперизин. Реакционната смес се кипи на обратен хладник при разбъркване в продължение на 5 часа. След охлаждане сместа се излива във вода, а получената утайка се филтрува, промива с вода и суши. Полученият 1,8-нафталимид **19** се прекристализира из метанол (добив 0,20 g, 50%, Т.т. 113-115 °C, $R_f=0.61$ (n-хептан : ацетон= 1 : 1)).

$^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CD_2Cl_2): δ 10.40 (s, 1H, $\underline{\text{NHCO}}$) δ 8.58 (d, 1H, $J = 8.2$, Hz, naphthalimide H-2), 8.52 (dd, 1H, $J = 7.3, 1.0$ Hz, naphthalimide H-5), 8.45 (d, 1H, $J = 8.2$ Hz, naphthalimide H-3), 8.13 (dd, 1H, $J = 8.6, 1.0$ Hz, naphthalimide H-7), 7.74 (dd, 1H, $J = 8.5, 7.3$ Hz, naphthalimide H-6), 4.05 (t, 2H, $J = 7.5$ Hz, $\underline{\text{CH}_2\text{N}(\text{CO})_2}$), 3.21 (s, 2H, $\text{NHCO}\underline{\text{CH}_2}$), 2.69 (m, 4H, 2x piperazine- CH_2), 2.50 (m, 4H, 2x piperazine- CH_2), 2.26 (s, 3H, piperazine CH_3), 1.60 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 1.35 (m, 2H, $\text{CH}_2\underline{\text{CH}_2\text{CH}_3}$), 0.89 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H).

6.3.16. Синтез на 4-нитро-N-(2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-1,8-нафталимид (20)

Суспензия от 2g 4-нитро-1,8-нафталов анхидрид **11** (8 mmol) и 1,4 ml 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-иламин (8 mmol) в 20 ml етанол се нагрива под обратен хладник с разбъркване в продължение на 8 часа. Суровият продукт, който се утаява при охлаждане, се филтрува и се третира с 25 ml 5% воден разтвор на натриев карбонат. Твърдата фаза се филтрува, промива се с вода и се суши. Получават се жълто-кафяви кристали 4-нитро-N-(2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-1,8-нафталимид **20** (добив 2,59 g, 83%, Т.т. 199–201 °C, $R_f=0.47$ (n-хексан : ацетон = 3 : 1)).

6.3.17. Синтез на 4-бутиламино-N-(2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-1,8-нафталимид (21)

Разтвор на 1,0 g 4-нитро-N-(2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-1,8-нафталимид **20** (2,6 mmol) в 10 ml DMF се добавя към разтвор на 1 ml n-бутиламин (10,4 mmol) в 5 ml DMF. Получената реакционна смес се разбърква при стайна температура в продължение на 48 часа и след това се излива в 100 ml вода. Получената утайка се филтрува, промива се с вода и се суши. Суровият продукт се прекристализира от смес етанол/вода (7:3) за да се получат жълти кристали от 4-бутиламино-N-(2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-1,8-нафталимид **21** (добив 0,92 g, 87%, Т.т. 140-142 °C, $R_f=0.58$ (n-хексан : ацетон = 3 : 1)).

IR (KBr) cm^{-1} : 3360 (ν NH); 2920 и 2860 (ν CH); 1690 (ν^{as} N-C=O); 1654 (ν^{s} N-C=O).

^1H NMR (DMSO- d_6 , 250.13 MHz) ppm: 8.68 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, naphthalimide H-7); 8.38 (d, 1H, $J = 7.1$ Hz, naphthalimide H-5); 8.23 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz, naphthalimide H-2); 7.72 (m, 1H, NH); 7.65 (dd, 1H, $J = 8.3$ Hz, $J = 7.3$ Hz, naphthalimide H-6); 6.76 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz, naphthalimide H-3); 5.54 (m, 1H, CH-piperidine); 3.40 (m, 2H, ArNHCH₂CH₂CH₂CH₃); 2.38 (m, 2H, CH₂-piperidine); 1.68 (m, 2H, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.44 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₃ and CH₂-piperidine); 1.23 (s, 6H, 2x CCH₃); 1.08 (s, 6H, 2x CCH₃); 0.94 (t, 3H, $J = 7.3$ Hz, CH₂CH₂CH₂CH₃).

Елементен анализ: изчислен за C₂₅H₃₃N₃O₂ (MW 407.55) C 73.68, H 8.16, N 14.20 %; намерен C 73.84, H 7.99, N 14.42 %.

Позитивен йон ESI-MS m/z : 408.2018 [M+H]⁺.

6.3.18. Синтез на 4-бутилокси-N-(2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-1,8-нафталимид (22)

Към разтвор на 1 g 4-нитро-N-(2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-1,8-нафталимид **20** (2,6 mmol) в 10 ml DMF се добавя на капки при разбъркване разтвор на 0,20 g KOH в 2 ml n-бутанол. Получената смес се разбърква при стайна температура в продължение на 4 часа, след което се излива в 10 ml вода. След филтруване на утайката, промиване с 20 ml вода и сушене се получава 1,8-нафталимид **22** (добив 0,97 g, 91%, Т.т. 178-180 °C, $R_f=0.56$ (n-хексан : ацетон = 3 : 1)).

IR (KBr) cm^{-1} : 3400 (ν NH); 2967 и 2930 (ν CH); 1696 (ν^{as} N-C=O); 1656 (ν^{s} N-C=O).

^1H NMR (CDCl₃- d , 250.13 MHz) ppm: 8.60–8.52 (m, 3H, naphthalimide H-7, H-5 and H-2); 7.71 (dd, 1H, $J = 8.3$ Hz, $J = 7.4$ Hz, naphthalimide H-6); 7.06 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz, naphthalimide

H-3); 5.70 (t, 1H, J = 12.7 Hz, CH- piperidine); 3.45 (m, 2H, ArOCH₂CH₂ CH₂CH₃); 2.87 (m, 2H, CH₂-piperidine); 1.84 (m, 2H, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.59 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₃ and CH₂-piperidine); 1.25 (s, 12H, 4x CCH₃); 1.06 (t, 3H, J = 7.2 Hz, CH₂CH₂CH₂CH₃).

Елементен анализ: изчислен за C₂₅H₃₂N₂O₃ (MW 408.53) C 73.50, H 7.90, N 6.86 %; намерен C 73.29, H 8.02, N 6.74 %.

Позитивен йон ESI-MS at m/z: 409.1086 [M+H]⁺.

6.3.19. Синтез на 4-хлоро-N-бутил-1,8-нафталимид (23)

В облодънна колба се суспендират 1,5g (6,4 mmol) 4-хлоро-1,8-нафталов анхидрид **2** в 60 ml етанол. Прибавя се 0,7ml (9,5 mmol) n-бутиламин и се кипи на обратен хладник в продължение на 6 часа (до получаване на бистър разтвор). Реакционната смес се охлажда до стайна температура, след което изпадналата утайка от 4-хлоро-N-бутил-нафталимид **23** се филтрува и суши (добив 1,13 g, 72,3%, Т.т. 88-90 °C, R_f=0,49 (n-хексан : ацетон= 1 : 3)).

IR (KBr) cm⁻¹: 1658 (ν^{as} N-C=O); 1647(ν^s N-C=O).

6.3.20. Синтез на 4-бромо-N-бутил-нафталимид (24)

В облодънна колба, снабдена с обратен хладник и бъркалка се смесват 2,5 g (0,009 mol) 4-бромо-1,8-нафталов анхидрид **3** и 45 ml абсолютен етилов алкохол. Така получената суспензия се нагрява до температура на кипене, след което се прибавят на малки порции 0,95 ml n-бутиламин. След прибавяне на цялото количество амин, реакционната смес се кипи до получаването на бистър разтвор (15 часа). След охлаждане до стайна температура, изпадналата утайка от 4-бромо-N-бутил-1,8-нафталимид **24** се филтрува и суши (добив 1,85 g, 62%, Т.т. 92-93 °C, R_f=0,61 (n-хептан : ацетон = 3 : 1)).

IR cm⁻¹: 1697 (ν^{as} N-C=O), 1656 (ν^s N-C=O).

6.3.21. Синтез на 4-(4H-1,2,4-триазол-4-ил)амино)-N-бутил1,8-нафталимид (25)

Към разтвор на 0,5 g (1,8 mmol) 4-хлоро-N-бутил-1,8-нафталимид **23** в 10 ml DMF се прикапва разтвор на 0,12 g (2,2 mmol) калиева основа и 0,16 g (1,9mmol) 4-амино-1,2,4-триазол в 5 ml DMF. Получената смес се разбърква интензивно при стайна температура в продължение на 4 часа, след което се излива във вода и неутрализира до pH 4. Изпадналата

жълта утайка от 1,8-нафталимид **25** се филтрува и суши (добив 0,14 g, 23%, Т.т. 219-221 °C $R_f=0,28$ (n-хексан : ацетон = 3 : 1)).

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 8.97 (s, 2H), 8.54 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 8.47 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 8.24 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.84 (m, 1H), 6.18 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 3.96 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.55 (m, 2H), 1.30 (m, 2H), 0.89 (t, 3H)

6.3.22. Синтез на 4-хидразино-N-бутил-нафталимид (26)

В облодънна колба, снабдена с обратен хладник и бъркалка се смесват 1 g (0,003 mol) 4-бromo-N-бутил-1,8-нафталимид **24**, 6 ml DMF и 4 ml хидразин монохидрат. Реакционната смес се кипи и разбърква в продължение на 12 часа. След охлаждане до стайна температура, образувалата се утайка от 4-хидразино-N-бутил-1,8-нафталимид **26** се филтрува и суши (добив 0.77 g, 91%, $R_f=0,37$ (n-хептан : ацетон = 3 : 1)).

IR cm^{-1} : 3378 и 3318 (νNH_2), 1669 ($\nu^{\text{as}} \text{N-C=O}$), 1632 ($\nu^{\text{s}} \text{N-C=O}$).

6.3.23. Синтез на 4-трифлуороацетилхидразино-N-бутил-1,8-нафталимид (27)

В облодънна колба 0,5 g (2 mmol) 4-хидразино-N-бутил-1,8-нафталимид **26**, 0,59 g 1-етил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид хидрохлорид (EDC) (0,78 mmol) и 100 mg 4-диметиламинопиридин (DMAP) се разтварят в 50 ml дихлорометан при разбъркване с магнитна бъркалка. След това се прибавят 0,4 ml трифлуороцетна киселина. Реакционната смес се разбърква при стайна температура в продължение на 12 часа. Органичният слой се промива с наситен воден разтвор на лимонена киселина, изсушава се над Na_2SO_4 и се концентрира под вакуум до получаването на 4-трифлуороацетилхидразино-N-бутил-1,8-нафталимид **27** (добив 0,6 g, 89%, $R_f=0,15$ (n-хептан : ацетон= 3 : 1)).

IR cm^{-1} : 3319 (νNH) и 3283 (νNH), 1682 ($\nu^{\text{as}} \text{N-C=O}$), 1637 ($\nu^{\text{s}} \text{N-C=O}$), 1629 ($\nu \text{NH-C=O}$).

6.3.24. Синтез на 4-хлоро-N-(2-((2-хидроксиетил)амино)етил)-1,8-нафталимид (28)

Суспензия от 1g 4-хлоро-1,8-нафталов анхидрид **2** (0,004 mol) в етанол и еквимолно количество N-(2-хидроксиетил) етилендиамин (0,43 ml) се нагрява под обратен хладник в продължение на 2 часа. След охлаждане полученият бистър разтвор се изпарява под

вакуум. При прекристализация от метанол се получава 1,8-нафталимид **28** като бледожълти кристали (добив 1,11 g, 88%, Т.т. 127-128 °C $R_f=0,75$ (n-хексан : ацетон= 3 : 1)).

FT-IR cm^{-1} : 3331 (νNH); 1696 ($\nu^{\text{as}}\text{N-C=O}$); 1655 ($\nu^{\text{s}}\text{N-C=O}$).

^1H NMR (CDCl_3-d , 600 MHz) ppm: 8.64 (dd, 1H, $J = 7.3$ Hz, $J = 1.0$ Hz, naphthalimide H-7), 8.57 (dd, 1H, $J = 8.5$ Hz, $J = 1.0$ Hz, naphthalimide H-5), 8.47 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, naphthalimide H-2), 7.84 (dd, 1H, $J = 8.4$ Hz, $J = 7.3$ Hz, naphthalimide H-6), 7.80 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, naphthalimide H-3), 4.34 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz, $(\text{CO})_2\text{NCH}_2$), 3.65 - 3.61 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.05 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz, $(\text{CO})_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}$), 2.89 - 2.84 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 2.36 - 2.30 (m, 1H, NH).

^{13}C NMR (CDCl_3-d , 151 MHz) ppm: 164.05, 163.79, 139.19, 132.14, 131.25, 130.75, 129.26, 129.04, 127.86, 127.39, 122.88, 121.37, 60.95, 50.91, 47.35, 40.11.

Позитивен йон ESI-MS m/z : 319,0846 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

6.3.25. Синтез на N-амино-1,8-нафталимид (29)

В облодънна колба, снабдена с магнитна бъркалка и обратен хладник се разтварят 2,0g (0,01 mol) 1,8-нафталов анхидрид **1** в 30ml метанол и 0,5ml хидразин монохидрат (0,01mol). Реакционната смес се разбърква пир кипене в продължение на 2 часа. След охлаждане, изпадналата утайката се филтрира, промива се с метанол и се изсушава, за да се получат бледожълти кристали на N-амино-1,8-нафталимид **29** (добив 1,5 g, 71%, Т.т. 250-251 °C, $R_f=0,75$ (n-хексан : ацетон= 1 : 1)).

FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3310 и 3233 (νNH_2); 1704 ($\nu^{\text{as}}\text{NC=O}$); 1648 ($\nu^{\text{s}}\text{NC=O}$).

6.3.26. Синтез на N-хлороацетамид-1,8-нафталимид (30)

1.5g (0.007 mol) N-амино-1,8-нафталимид **29** се суспендират в 7ml диоксан в облодънна колба от 50 ml, снабдена с магнитна бъркалка и обратен хладник. Получената суспензия се нагрива до 70°C, след което се прибавят на капки 2.8ml (0,035mol) хлорацетилхлорид. Реакцията смес се бърка при същата температура в продължение на 3 часа. След охлаждане изпада бяла утайка, която се филтрува, промива и суши (добив 0,88 g, 45%, Т.т. 248-249 °C, $R_f=0,72$ (n-хексан : ацетон= 1 : 1)).

FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3462 (νNH); 1728 ($\nu^{\text{as}}\text{N-C=O}$); 1697 ($\nu^{\text{s}}\text{N-C=O}$).

^1H NMR ($\text{CHCl}_3\text{-d}$, 600.13 MHz) δ ppm: 9.00 (s, 1H, NHCO); 8.58 (d, 2H, $J = 7.3$ Hz, naphthalimide H-2 and H-7); 8.22 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz, naphthalimide H-4 and H-5); 7.73 (t, 2H, $J = 7.7$ Hz, naphthalimide H-3 and H-6); 4.28 (s, 2H, COCH_2Cl).

6.3.27. Синтез на 1,8-нафталимид (31)

В облодънна колба от 25 ml, снабдена с магнитна бъркалка и обратен хладник се разтварят 0,88g (0,003 mol) N -хлороацетамид-1,8-нафталимид **30** в 5 ml DMF. Към получения разтвор се прибавят 1,4ml (0,012mol) метилпиперазин. Реакционната смес се бърка при кипене в продължение на 2,5 часа. След охлаждане изпада бяла утайка, която се филтрува, промива с диоксан и суши . (добив 0,27 g, 30%, Т.т. >250 °C, $R_f=0,75$ (хлороформ : метанол = 1 : 9)).

FT-IR (KBr) cm^{-1} : 3357 (ν NH); 1725 (ν N-C=O); 1698 (ν^{as} N-C=O); 1662 (ν^{s} N-C=O).

^1H NMR (D_2O , 600.13 MHz) ppm: 8.29 (d, 2H, $J = 7.3$ Hz, naphthalimide H-2 and H-7), 8.13 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, naphthalimide H-4 and H-5), 7.61 (t, 2H, $J = 7.7$ Hz, naphthalimide H-3 and H-6), 3.67 (s, 2H, $-\text{COCH}_2-$), 3.63 (m, 2H, CH_2 piperazine), 3.36 (m, 2H, CH_2 piperazine), 3.31 (m, 2H, CH_2 piperazine), 2.98 (s, 3H, CH_3), 2.84 (m, 2H, CH_2 piperazine).

Елементен анализ: Изчислено за $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_3$ (MW 352.39) C 64.76, H 5.72, N 15.90 % ; Намерено C 64.83, H 5.68, N 16.05%.

ESI-MS с положителни йони при m/z : 353.0176 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

6.3.28. Синтез на 4-(4H-1,2,4-триазол-4-ил)амино)-N-[2-(диметиламино)етил]-1,8нафталимид (32)

Към разтвор на 1 g (3,3 mmol) 4-хлоро-N-[2-(диметиламино) етил]-1,8-нафталимид **6** в 10 ml DMF се прикапва разтвор на 0,24 g (2,2 mmol) калиева основа и 0,31 g (3,6 mmol) 4-амино-1,2,4-триазол в 5 ml DMF. Получената смес се разбърква интензивно при стайна температура в продължение на 3,5 часа, след което се излива във вода и неутрализира до рН 4. Изпадналата утайка от 1,8-нафталимид **32** се филтрува и суши (добив 0,91 g, 79%, Т.т. 228-230 °C $R_f=0.36$ (n-хексан : ацетон= 3 : 1)).

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 11.55 (s, 1H), 10.24 (s, 1H), 8.98 (s, 2H), 8.86 (dd, $J = 8.6, 0.9$ Hz, 1H), 8.55 (dd, $J = 7.3, 0.9$ Hz, 1H), 8.32 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.90 (dd, $J = 8.5, 7.4$ Hz, 1H), 6.23 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 4.37 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3.51 – 3.38 (m, 3H), 3.37 (s, 6H), 2.87 (d, $J = 3.9$ Hz, 6H).

VII. Литературни източници

- [1] Константинова, Т. Н. Цветни и флуоресцентни органични продукти. *ХТМУ София*, **2003**.
- [2] Valeur, B. Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition. *Coord. Chem. Rev.* **2000**, 205, 1, 3–40.
- [3] Lakowicz, J. R. Principles of fluorescence spectroscopy. *Springer*, **2006**.
- [4] Valeur, B. Molecular Fluorescence - Principles and Applications. *John Wiley & Sons*, **2001**.
- [5] Brown, B. Excited states and photochemistry of organic molecules, vol. 53, no. 10. **1997**.
- [6] Георгиев, Н. И. Органични продукти във високите технологии. *ХТМУ София*, **2014**.
- [7] Bojinov V.; Georgiev, N. Molecular sensors and molecular logic gates. *J. Univ. Chem. Technol. Metall.* **2011**, 46, 1, 3–26.
- [8] Chen, K.; Shu, Q.; Schmittel, M. Design strategies for lab-on-a-molecule probes and orthogonal sensing. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44, 1, 136–160.
- [9] Zhou, Y.; Yoon, J. Recent progress in fluorescent and colorimetric chemosensors for detection of amino acids. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 1, 52.
- [10] De Silva, A. P. Fluorescent sensors: Bright ideas. *Nat. Chem.* **2012**, 4, 6, 440–441.
- [11] De Silva, A. P.; Gunaratne, H. Q. N.; Gunnlaugsson, T.; Huxley, A. J. M.; McCoy, C. P.; Rademacher, J. T.; Rice, T. E. Signaling Recognition Events with Fluorescent Sensors and Switches. *Chem. Rev.* **1997**, 97, 5, 1515–1566.
- [12] Misra, R.; Bhattacharyya, S. P. Intramolecular Charge Transfer: Theory and Applications. *Wiley*, **2018**.
- [13] Weber G, F. F. Synthesis and spectral properties of a hydrophobic fluorescent probe: 6-propionyl-2-(dimethylamino)naphthalene. *Biochemistry* **1979**, 18, 3075–3078.
- [14] Sareen, D.; Kaur, P.; Singh, K. Strategies in detection of metal ions using dyes. *Coord. Chem. Rev.* **2014**, 265, 1, 125–154.
- [15] Xu, J.-F.; Chen, H.-H.; Chen, Y.-Z.; Li, Z.-J.; Wu, L.-Z.; Tung, C.-H.; Yang, Q.-Z. A colorimetric and fluorometric dual-modal chemosensor for cyanide in water. *Sensors Actuators, B Chem.* **2012**, 168, 14–19.
- [16] Chen, X.; Pradhan, T.; Wang, F.; Kim, J. S.; Yoon, J. Fluorescent chemosensors based on spiroring-opening of xanthenes and related derivatives. *Chem. Rev.* **2012**, 112, 3, 1910–1956.

- [17] Correa, A. C.; Schultz, C. Small molecule-based FRET probes, 1st ed. *Elsevier*, **2009**.
- [18] Jiao, Y.; Zhang, L.; Zhou, P. A rhodamine B-based fluorescent sensor toward highly selective mercury (II) ions detection. *Talanta* **2016**, 150, 14–19.
- [19] Li, M.; Sun, Y.; Dong, L.; Feng, Q.-C.; Xu, H.; Zang, S.-Q.; Mak, T. C. W. Colorimetric recognition of Cu²⁺ and fluorescent detection of Hg²⁺ in aqueous media by a dual chemosensor derived from rhodamine B dye with a NS2 receptor. *Sensors Actuators, B Chem.* **2016**, 226, 332–341.
- [20] Sasaki, S.; Drummen, G. P. C.; Konishi, G. Recent advances in twisted intramolecular charge transfer (TICT) fluorescence and related phenomena in materials chemistry. *Journal of Materials Chemistry C* **2016**, 4(14), 2731–2743.
- [21] Prigogine, I.; Rice, S. A. Advances in Chemical Physics, vol. 68. *John Wiley & Sons*, **1987**.
- [22] Demchenko, A. P. Introduction to Fluorescence Sensing. *Springer*, **2008**.
- [23] Vogel, M.; Rettig, W.; Sens, R.; Drexhage, K. H. Structural relaxation of rhodamine dyes with different N-substitution patterns: A study of fluorescence decay times and quantum yields. *Chem. Phys. Lett.* **1988**, 147, 5, 452–460.
- [24] Sunahara, H.; Urano, Y.; Kojima, H.; Nagano, T. Design and Synthesis of a Library of BODIPY-Based Environmental Polarity Sensors Utilizing Photoinduced Electron-Transfer-Controlled Fluorescence ON/OFF Switching. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, 129(17), 5597–5604.
- [25] Drummen, G. P.; van Liebergen, L. C.; Op den Kamp, J. A.; Post, J. A. C11-BODIPY581/591, an oxidation-sensitive fluorescent lipid peroxidation probe: (micro)spectroscopic characterization and validation of methodology. *Free Radical Biol. Med.* **2002**, 33, 473–490.
- [26] Sasaki, S.; Niko, Y.; Klymchenko, A. S.; Konishi, G. Design of donor–acceptor geometry for tuning excited-state polarization: fluorescence solvatochromism of push–pull biphenyls with various torsional restrictions on their aryl–aryl bonds. *Tetrahedron* **2014**, 70(41), 7551–7559.
- [27] Haidekker, M. A.; Theodorakis, E. A. Molecular rotors—fluorescent biosensors for viscosity and flow. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5(11), 1669–1678.
- [28] Amdursky, N.; Erez, Y.; Huppert, D. Molecular Rotors: What Lies Behind the High Sensitivity of the Thioflavin-T Fluorescent Marker. *Accounts of Chemical Research* **2012**, 45(9), 1548–1557.
- [29] Zhu, L.; Zhao, Y. Cyanostilbene-based intelligent organic optoelectronic materials. *J.*

- Mater. Chem. C* **2013**, 1(6), 1059–1065.
- [30] De Silva, A. P.; Uchiyama, S. Molecular Logic Gates and Luminescent Sensors Based on Photoinduced Electron Transfer in Luminescence Applied in Sensor Science. *Springer*, **2011**, 1–28.
- [31] Callan, J. F.; De Silva, A. P.; Magri, D. C. Luminescent sensors and switches in the early 21st century. *Tetrahedron* **2005**, 61, 36, 8551–8588.
- [32] De Silva, A. P.; Sandanayake, K. R. A. S. Fluorescent PET (photo-induced electron transfer) sensors for alkali metal ions with improved selectivity against protons and with predictable binding constants. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 16, 1183.
- [33] Panchenko, P. A.; Fedorova, O. A.; Fedorov, Y. V. Fluorescent and colorimetric chemosensors for cations based on 1,8-naphthalimide derivatives: design principles and optical signalling mechanisms. *Russ. Chem. Rev.* **2014**, 83, 2, 155–182.
- [34] De Silva, S. A.; Zavaleta, A.; Baron, D. E.; Allam, O.; Isidor, E. V.; Kashimura, N.; Percarpio, J. M. A fluorescent photoinduced electron transfer sensor for cations with an off-on-off proton switch. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 13, 2237–2240.
- [35] Daffy, L.; de Silva, A.P.; Gunaratne, H.; Huber, C.; Lynch, P.; Werner, T.; Wolfbeis, O. Arenedicarboximide building blocks for fluorescent photoinduced electron transfer pH sensors applicable with different media and communication wavelengths. *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 1810–1815.
- [36] Coskun, A.; Baytekin, B. T.; Akkaya, E. U. Novel fluorescent chemosensor for anions via modulation of oxidative PET: a remarkable 25-fold enhancement of emission. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 30, 5649–5651.
- [37] Hussain, S. A. An Introduction to Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET). *Energy* **2009**, 132, 6, 4.
- [38] Jares-Erijman, E. A.; Jovin, T. M. FRET imaging. *Nat. Biotechnol.* **2003**, 21, 11, 1387–1395.
- [39] Yuan, L.; Lin, W.; Zheng, K.; Zhu, S. FRET-Based Small-Molecule Fluorescent Probes: Rational Design and Bioimaging Applications. *Acc. Chem. Res.* **2013**, 18, 18.
- [40] Hardt, N.; Hacker, S. M.; Marx, A. Synthesis and fluorescence characteristics of ATP-based FRET probes. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, 11, 48, 8298–8305.
- [41] Long, L.; Lin, W.; Chen, B.; Gao, W.; Yuan, L. Construction of a FRET-based ratiometric fluorescent thiol probe. *Chem. Commun. (Camb)*. **2011**, 47, 3, 893–895.
- [42] Kim, J.; Morozumi, T.; Kurumatani, N.; Nakamura, H. Novel chemosensor for alkaline earth metal ion based on 9-anthryl aromatic amide using a naphthalene as a

- TICT control site and intramolecular energy transfer donor. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 12, 1984–1987.
- [43] Chaudhuri, K. D. Concentration quenching of fluorescence in solution. *Z. Phys.* **1959**, 154, 34–42.
- [44] Chen, S.; Wang, H.; Hong, Y.; Tang, B. Z. Fabrication of fluorescent nanoparticles based on AIE luminogens (AIE dots) and their applications in bioimaging. *Mater. Horiz.* **2016**, 3(4), 283–293.
- [45] Chen, R. F.; Knutson, J. R. Mechanism of fluorescence concentration quenching of carboxyfluorescein in liposomes: Energy transfer to nonfluorescent dimers. *Anal. Biochem.* **1988**, 172(1), 61–77.
- [46] Chen, J.; Law, C. C. W.; Lam, J. W. Y.; Dong, Y.; Lo, S. M. F.; Williams, I. D.; Tang, B. Z. Synthesis, light emission, nanoaggregation, and restricted intramolecular rotation of 1,1-substituted 2,3,4,5-tetraphenylsiloles. *Chem. Mater.* **2003**, 15, 1535–1546.
- [47] Hong, Y. Aggregation-induced emission—fluorophores and applications. *Methods Appl. Fluoresc.* **2016**, 4, 022003.
- [48] Hong, Y.; Lam, J. W. Y.; Tang, B. Z. Aggregation-induced emission. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 11, 5361.
- [49] Kikuchi, K.; Takakusa, H.; Nagano, T. Recent advances in the design of small molecule-based FRET sensors for cell biology. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2004**, 23, 6, 407–415.
- [50] Liu, Y.; Lv, X.; Zhao, Y.; Chen, M.; Liu, J.; Wang, P.; Guo, W. A naphthalimide-rhodamine ratiometric fluorescent probe for Hg^{2+} based on fluorescence resonance energy transfer. *Dye. Pigment.* **2012**, 92, 3, 909–915.
- [51] Demchenko, A. P. Practical aspects of wavelength ratiometry in the studies of intermolecular interactions. *J. Mol. Struct.* **2014**, 1077, 51–67.
- [52] Lee, M. H.; Kim, J. S.; Sessler, J. L. Small molecule-based ratiometric fluorescence probes for cations, anions, and biomolecules. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44, 13, 4185–4191.
- [53] Sinha, S.; Gaur, P.; Mukherjee, T.; Mukhopadhyay, S.; Ghosh, S. Exploring 1,4-dihydroxyanthraquinone as long-range emissive ratiometric fluorescent probe for signaling $\text{Zn}^{2+}/\text{PO}_4^{3-}$: Ensemble utilization for live cell imaging. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **2015**, 148, 181–187.
- [54] Myochin, T.; Kiyose, K.; Hanaoka, K.; Kojima, H.; Terai, T.; Nagano, T. Rational design of ratiometric near-infrared fluorescent pH probes with various pKa values,

- based on aminocyanine. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 10, 3401–3409.
- [55] Wu, J.; Liu, W.; Ge, J.; Zhang, H.; Wang, P. New sensing mechanisms for design of fluorescent chemosensors emerging in recent years. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 7, 3483–3495.
- [56] Singh, A.; Singh, R.; Shellaiah, M.; Prakash, E. C.; Chang, H.-C.; Raghunath, P.; Lin, H.-C. A new pyrene-based aggregation induced ratiometric emission probe for selective detections of trivalent metal ions and its living cell application. *Sensors Actuators, B Chem.* **2015**, 207, 338–345.
- [57] Ma, X.; Cheng, J.; Liu, J.; Zhou, X.; Xiang, H. Ratiometric fluorescent pH probes based on aggregation-induced emission-active salicylaldehyde azines. *New J. Chem.* **2015**, 39, 1, 492–500.
- [58] Li, G.; Zhu, D.; Liu, Q.; Xue, L.; Jiang, H. Rapid detection of hydrogen peroxide based on aggregation induced ratiometric fluorescence change. *Org. Lett.* **2013**, 15, 924–927.
- [59] Song, G.-J.; Bai, S.-Y.; Luo, J.; Cao, X.-Q.; Zhao, B.-X. A Novel Water-soluble Ratiometric Fluorescent Probe Based on FRET for Sensing Lysosomal pH. *J. Fluoresc.* **2016**, 26, 6, 2079–2086.
- [60] Li, S.; Zhang, D.; Wang, M.; Ma, S.; Liu, J.; Zhao, Y.; Ye, Y. Synthesis and Properties of a Novel FRET-Based Ratiometric Fluorescent Sensor for Cu²⁺. *J. Fluoresc.* **2016**, 26, 3, 769–774.
- [61] Das, S.; Aich, K.; Goswami, S.; Quah, C. K.; Fun, H.-K. FRET-based fluorescence ratiometric and colorimetric sensor to discriminate Fe³⁺ from Fe²⁺. *New J. Chem.* **2016**, 40, 7, 6414–6420.
- [62] Alamry, K. A.; Georgiev, N. I.; El-Daly, S. A.; Taib, L. A.; Bojinov, V. B. A highly selective ratiometric fluorescent pH probe based on a PAMAM wavelength-shifting bichromophoric system. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2015**, 135, 792–800.
- [63] Hu, Y.; Wang, J.; Long, L.; Xiao, X. A ratiometric fluorescence sensor for Fe³⁺ based on FRET and PET processes. *Luminescence* **2016**, 31, 1, 16–21.
- [64] Takakusa, H.; Kikuchi, K.; Urano, Y.; Kojima, H.; Nagano, T. A novel design method of ratiometric fluorescent probes based on fluorescence resonance energy transfer switching by spectral overlap integral. *Chem. Eur. J.* **2003**, 9, 7, 1479–1485.
- [65] De Silva, A. P. Molecular Logic-based Computation, no. 12. *RSC Publishing*, **2012**.
- [66] Ozlem, S.; Akkaya, E. U. Thinking Outside the Silicon Box: Molecular AND Logic As an Additional Layer of Selectivity in Singlet Oxygen Generation for Photodynamic

- Therapy. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, 131(1), 48–49.
- [67] Farrugia, T. J.; Magri, D. C. “Pourbaix sensors”: a new class of fluorescent pE–pH molecular AND logic gates based on photoinduced electron transfer. *New J. Chem.* **2013**, 37(1), 148–151.
- [68] Alexiou, M. S.; Tychopoulos, V.; Ghorbanian, S.; Tyman, J. H. P.; Brown, R. G.; Brittain, P. I. The UV–visible absorption and fluorescence of some substituted 1,8-naphthalimides and naphthalic anhydrides. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1990**, (5), 837–842.
- [69] Greiner, R.; Schlücker, T.; Zgela, D.; Langhals, H. Fluorescent aryl naphthalene dicarboximides with large Stokes shifts and strong solvatochromism controlled by dynamics and molecular geometry. *J. Mater. Chem. C* **2016**, 4(47), 11244–11252.
- [70] Gopikrishna, P.; Raman Adil, L.; Iyer, P. K. (2017). Bridge-driven aggregation control in dibenzofulvene–naphthalimide based donor–bridge–acceptor systems: enabling fluorescence enhancement, blue to red emission and solvatochromism. *Mater. Chem. Front.* **2017**, 1(12), 2590–2598.
- [71] Luo, Y.; Wang, Y.; Chen, S.; Wang, N.; Qi, Y.; Zhang, X.; Lu, Z. Facile Access to Twisted Intramolecular Charge-Transfer Fluorogens Bearing Highly Pretwisted Donor-Acceptor Systems Together with Readily Fine-Tuned Charge-Transfer Characters. *Small* **2017**, 13(20), 1604113.
- [72] Do, T. T.; Pham, H. D.; Manzhos, S.; Bell, J. M.; Sonar, P. (2017). Molecular Engineering Strategy for High Efficiency Fullerene-Free Organic Solar Cells Using Conjugated 1,8-Naphthalimide and Fluorenone Building Blocks. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, 9(20), 16967–16976.
- [73] Banerjee, S.; Veale, E. B.; Phelan, C. M.; Murphy, S. A.; Tocci, G. M.; Gillespie, L. J.; Frimannsson, D.O.; Kelly, J. M.; Gunnlaugsson, T. Recent advances in the development of 1,8-naphthalimide based DNA targeting binders, anticancer and fluorescent cellular imaging agents. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 4, 1601–1618.
- [74] Pardo, A.; Martin, E.; Poyato, J. M. L.; Camacho, J. J.; Guerra, J. M.; Weigand, R.; Braña, M. F.; Castellano, J. M. N-substituted 1,8-naphthalimide derivatives as high efficiency laser dyes. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **1989**, 48, 2–3, 259–263.
- [75] Martin, E.; Weigand, R.; Pardo, A. Solvent dependence of the inhibition of intramolecular charge-transfer in N-substituted 1,8-naphthalimide derivatives as dye lasers. *J. Lumin.* **1996**, 68, 2–4, 157–164.
- [76] Grabchev I.; Chovelon, J.-M. Synthesis and functional properties of green fluorescent

- poly(methylmethacrylate) for use in liquid crystal systems. *Polym. Adv. Technol.* **2003**, 14, 9, 601–608.
- [77] Triboni, E. R.; Fernandes, M. R.; Garcia, J. R.; Carreira, M. C.; Berlinck, R. G. S.; Filho, P. B.; Cremona, M. Naphthalimide-derivative with blue electroluminescence for OLED applications. *J. Taibah Univ. Sci.* **2015**, 9(4), 579–585.
- [78] Arunchai, R.; Sudyoasuk, T.; Prachumrak, N.; Namuangruk, S.; Promarak, V.; Sukwattanasinitt, M.; Rashatasakhon, P. Synthesis and characterization of new triphenylamino-1,8-naphthalimides for organic light-emitting diode applications. *New J. Chem.* **2015**, 39(4), 2807–2814.
- [79] Luo, S.; Lin, J.; Zhou, J.; Wang, Y.; Liu, X.; Huang, Y.; Hu, C. Novel 1,8-naphthalimide derivatives for standard-red organic light-emitting device applications. *J. Mater. Chem. C* **2015**, 3(20), 5259–5267.
- [80] Kang, L.; Xing, Z.-Y.; Ma, X.-Y.; Liu, Y.-T.; Zhang, Y. A highly selective colorimetric and fluorescent turn-on chemosensor for Al³⁺ based on naphthalimide derivative. *Spectrochim. Acta, Part A* **2016**, 167, 59–65.
- [81] Czarnik, A. W. Fiber Optic Medical and Fluorescent Sensors and Applications. *Proc. SPIE* **1992**, 1648, 164–180.
- [82] Gunnlaugsson, T.; Kruger, P. E.; Lee, T. C.; Parkesh, R.; Pfeffer, F. M.; Hussey, G. M. Dual responsive chemosensors for anions: the combination of fluorescent PET (Photoinduced Electron Transfer) and colorimetric chemosensors in a single molecule. *Tetrahedron Letters* **2003**, 44(35), 6575–6578.
- [83] Chen, J.-W.; Chen, C.-M.; Chang, C.-C. A fluorescent pH probe for acidic organelles in living cells. *Org. Biomol. Chem.* **2017**, 15(37), 7936–7943.
- [84] Qu, Y.; Wang, L.; Wu, J.; Rui, Y.; Cao, J.; Xu, J. 4-Phenyl-1,8-naphthalimides: Brightness and tuning emission over widely visible gamut in different aggregated states. *Dyes and Pigments* **2018**, 148, 99–107.
- [85] Ke, Y.; Cao, J.; Gong, J.; Fu, N. A near-infrared naphthalimide fluorescent probe for targeting the lysosomes of liver cancer cells and specifically selecting HSA. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2022**, 352, 1, 131015.
- [86] Duan, H.; Ding, Y.; Huang, C.; Zhu, W.; Wang, R.; Xu, Y. A lysosomal targeting fluorescent probe and its zinc imaging in SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *Chin. Chem. Lett.* **2019**, 30, 55–57.
- [87] Panchenko, P. A.; Ignatov, P. A.; Zakharko, M. A.; Fedorov, Y. V.; Fedorova, O. A. A fluorescent PET chemosensor for Zn²⁺ cations based on 4-methoxy-1,8-naphthalimide

- derivative containing salicylideneamino receptor group. *Mendeleev Commun.* **2020**, 30, 55–58.
- [88] Kim, S. Y.; Hong, J.-I. Naphthalimide-based fluorescent Zn^{2+} chemosensors showing PET effect according to their linker length in water. *Tetrahedron Letters* **2009**, 50(23), 2822–2824.
- [89] Janakipriya, S.; Chereddy, N. R.; Korrapati, P.; Thennarasu, S.; Mandal, A. B. Selective interactions of trivalent cations Fe^{3+} , Al^{3+} and Cr^{3+} turn on fluorescence in a naphthalimide based single molecular probe. *Spectrochim. Acta A* **2016**, 153, 465–470.
- [90] Tian, Y.; Su, F.; Weber, W.; Nandakumar, V.; Shumway, B. R.; Jin, Y.; Meldrum, D. R. A series of naphthalimide derivatives as intra and extracellular pH sensors. *Biomaterials* **2010**, 31(29), 7411–7422.
- [91] He, Y.; Li, Z.; Jia, Q.; Shi, B.; Zhang, H.; Wei, L.; Yu, M. Ratiometric fluorescent detection of acidic pH in lysosome with carbon nanodots. *Chin. Chem. Lett.* **2017**, 28, 1969–1974.
- [92] Fu, Y.; Zhang, J.; Wang, H.; Chen, J.-L.; Zhao, P.; Chen, G.-R.; He, X.-P. Intracellular pH sensing and targeted imaging of lysosome by a galactosyl naphthalimide-piperazine probe. *Dyes Pigm.* **2016**, 133, 372–379.
- [93] Lee, M. H.; Park, N.; Yi, C.; Han, J. H.; Hong, J. H.; Kim, K. P.; Kim, J. S. Mitochondria-Immobilized pH-Sensitive Off–On Fluorescent Probe. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 14136–14142.
- [94] Pavlova, M.; Panchenko, P. Optical Chemosensors for Cations Based on 1,8-Naphthalimide Derivatives. *INEOS OPEN* **2021**, 4, 1-16.
- [95] Panchenko, P. A.; Fedorov, Y. V.; Fedorova, O. A.; Jonusauskas, G. FRET versus PET: ratiometric chemosensors assembled from naphthalimide dyes and crown ethers. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2015**, 17(35), 22749–22757.
- [96] Li, L.-K.; Hou, Y.-M.; Liu, X.-C.; Tian, M.-J.; Ma, Q.-J.; Zhua N.-N.; Liua, S.-Z. An ICT-FRET-based fluorescent probe for the ratiometric sensing of hypochlorous acid based on a coumarin–naphthalimide derivative, *New J. Chem.* **2022**, 46, 6596-6602
- [97] Gopikrishna, P.; Meher, N.; Iyer, P. K. Functional 1,8-Naphthalimide AIE/AIEEgens: Recent Advances and Prospects. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2018**, 10(15), 12081–12111.
- [98] Sun, Y.; Liang, X. H.; Zhao, Y. Y.; Fan, J. A Water-Soluble, 1,8- Naphthalimide Based Aggregation Induced Synchronous Emission System for Selective and Sensitive

- Recognition of Casein. *Anal. Methods* **2012**, 4, 4284–4288
- [99] Sun, Y.; Liu, Z.; Liang, X. H.; Fan, J.; Han, Q. Study on Photophysical and Aggregation Induced Emission Recognition of 1,8- Naphthalimide Probe for Casein by Spectroscopic Method. *Spectrochim. Acta, Part A* **2013**, 108, 8–13.
- [100] Sun, Y.; Liang, X. H.; Fan, J.; Han, Q. Studies on the Photophysical Properties of 1,8- Naphthalimide Derivative and Aggregation Induced Emission Recognition for Casein. *J. Lumin.* **2013**, 141, 93–98.
- [101] Sun, Y.; Liang, X. H.; Fan, J.; Yang, X. H. A Highly Selective 1,8- Naphthalimide Probe for Recognition of Casein Based on Aggregation Induced Emission Enhancement Characteristics. *J. Photochem. Photobiol., A* **2013**, 253, 81–87.
- [102] Sun, Y.; Liang, X. H.; Wei, S.; Fan, J.; Yang, X. H. Fluorescent turn-on Detection and Assay of Water Based on 4-(2-Dimethylaminoethoxy)-N-Octadecyl-1,8- Naphthalimide with Aggregation-Induced Emission Enhancement. *Spectrochim. Acta, Part A* **2012**, 97, 352–358.
- [103] Cho, D. W.; Cho, D. W. Excimer and Exciplex Emissions of 1,8- Naphthalimides Caused by Aggregation in Extremely Polar or Nonpolar Solvents. *New J. Chem.* **2014**, 38, 2233–2236.
- [104] Bao, Y. Y.; De Keersmaecker, H.; Corneillie, S.; Yu, F.; Mizuno, H.; Zhang, G. F.; Hofkens, J.; Mendrek, B.; Kowalczyk, A.; Smet, M. Tunable Ratiometric Fluorescence Sensing of Intracellular pH by Aggregation-Induced Emission-Active Hyperbranched Polymer Nanoparticles. *Chem. Mater.* **2015**, 27, 3450–3455.
- [105] Srivastava, A. K.; Singh, A.; Mishra, L. Tuning of Aggregation Enhanced Emission and Solid State Emission from 1,8-Naphthalimide Derivatives: Nanoaggregates, Spectra, and DFT Calculations. *J. Phys.Chem. A* **2016**, 120, 4490–4504.
- [105] Meher, N.; Iyer, P. K. Pendant Chain Engineering to Fine-Tune the Nanomorphologies and Solid State Luminescence of Naphthalimide Aiegens: Application to Phenolic Nitro-Explosive Detection in Water. *Nanoscale* **2017**, 9, 7674–7685.
- [106] Lin, H. H.; Chan, Y. C.; Chen, J. W.; Chang, C. C. AggregationInduced Emission Enhancement Characteristics of Naphthalimide Derivatives and Their Applications in Cell Imaging. *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 3170–3177.
- [107] Xie, Z.; Zhou, Y.; Fu, M.; Ni, L.; Tong, Y.; Yu, Y.; Wang, J. A 1,8-naphthalimide-based lysosome-targeting dual-analyte fluorescent probe for the detection of pH and palladium in biological samples. *Talanta* **2021**, 231, 122365.
- [108] Gunnlaugsson, T.; McCoy, C.; Morrow, R.; Phelan, C.; Stomeo, F. Towards the

- development of controllable and reversible ‘on-off’ luminescence switching in soft-matter; synthesis and spectroscopic investigation of 1,8-naphthalimide-based PET (photoinduced electron transfer) chemosensors for pH in water-permeable hydrogels. *ARKIVOC* **2003**, 7, 216–228.
- [109] Georgiev, N.I.; Dimov, S.; Asiri, A.; Alamry, K.; Obaid, A.; Bojinov, V.B. Synthesis, selective pH-sensing activity and logic behavior of highly water-soluble 1,8-naphthalimide and dihydroimidazonaphthalimide derivatives. *J. Lumin.* **2014**, *149*, 325–332.
- [110] de Silva, A.P.; Gunaratne, H.; Habib-Jiwan, J.-L.; McCoy, C.; Rice, T.; Soumillion, J.-P. New fluorescent model compounds for the study of photoinduced electron transfer: The influence of molecular electric field in the excited state. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1728–1731.
- [111] Wang, L.; Wang, G.; Shang, C.; Kang, R.; Fang, Y. Naphthalimide-based fluorophore for soft anionic interface monitoring. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 35419–35426.
- [112] Georgiev, N.I.; Marinova, N.V.; Bojinov, V.B. Design and synthesis of light-harvesting rotor based on 1,8-naphthalimide units. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2020**, *401*, 112733.
- [113] Ramachandram, B.; Sankaran, N.; Karmakar, R.; Saha, S.; Samanta, A. Fluorescence signalling of transition metal ions by multi-component systems comprising 4-chloro-1,8-naphthalimide as fluorophore. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 7041–7044.
- [114] Ramachandram, B.; Saroja, G.; Sankaran, N.; Samanta, A. Unusually high fluorescence enhancement of some 1,8-naphthalimide derivatives induced by transition metal salts. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 11824–11832.
- [115] Chen, J.; Tang, R.; Luo, Z.; Yang, C. Solvatofluorochromism of *N*-[2-(2-hydroxyethylamino)-ethyl]-1,8-naphthalimide in protic solvent. *J. Mol. Struct.* **2009**, *917*, 170–175.
- [116] Mati, S.; Chall, S.; Bhattacharya, S. Aggregation-induced fabrication of fluorescent organic nanorings: Selective biosensing of cysteine and application to molecular logic gate. *Langmuir* **2015**, *31*, 5025–5032.
- [117] Soni, M.; Das, S.; Sahu, P.; Kar, U.; Rahaman, A.; Sarkar, M. Synthesis, photophysics, live cell imaging, and aggregation behavior of some structurally similar alkyl chain containing bromonaphthalimide systems: Influence of alkyl chain length on the aggregation behavior. *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117*, 14338–14347.

- [118] Georgiev, N.I.; Bryaskova, R.G.; Ismail, S.R.; Philipova, N.D.; Uzunova, V.P.; Bakov, V.V.; Tzoneva, R.D.; Bojinov, V.B. Aggregation induced emission in 1,8-naphthalimide embedded nanomicellar architecture as a platform for fluorescent ratiometric pH-probe with biomedical applications. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2021**, *418*, 113380.
- [119] Georgiev, N.; Krasteva, P.; Bojinov, V. A ratiometric 4-amido-1,8-naphthalimide fluorescent probe based on excimer-monomer emission for determination of pH and water content in organic solvents. *J. Lumin.* **2019**, *212*, 271–278.
- [120] Mukherjee, S.; Thilagar, P. Fine-tuning solid-state luminescence in NPIs (1,8-naphthalimides): Impact of the molecular environment and cumulative interactions. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, *16*, 20866–20877.
- [121] Georgiev, N.; Bojinov, V. Design, Synthesis and Photostability of Novel 1,8-naphthalimide PAMAM Light-harvesting Dendrons. *J. Fluoresc.* **2010**, *21*, 51–63.
- [122] N.I.; Bojinov V.B.; Nikolov P.S. The design, synthesis and photophysical properties of two novel 1,8-naphthalimide fluorescent pH sensors based on PET and ICT. *Dyes Pigments* **2011**, *88*, 350-357.
- [123] Cui D.; Qian X.; Liu F.; Zhang R. Novel Fluorescent pH Sensors Based on Intramolecular Hydrogen Bonding Ability of Naphthalimide. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2757-2760.
- [124] Gunnlaugsson, T.; Glynn, M.; Tocci, G.; Kruger, P.; Pfeffer F. Anion recognition and sensing in organic and aqueous media using luminescent and colorimetric sensors= *Coord. Chem. Rev.* **2006**, *250*, 3094-3117.
- [125] Johnson, A.D.; Zammit, R.; Vella, J.; Valentino, M.; Buhagiar, J.A.; Magri, D.C. Aminonaphthalimide hybrids of mitoxantrone and amonafide as anticancer and fluorescent cellular imaging agents. *Bioorg. Chem.* **2019**, *93*, 103287.
- [126] Jung, J.M.; Kang, J.H.; Han, J.; Lee, H.; Lim, M.H.; Kim, K.-T.; Kim, C. A novel “off-on” type fluorescent chemosensor for detection of Zn²⁺ and its zinc complex for “on-off” fluorescent sensing of sulfide in aqueous solution, in vitro and in vivo. *Sens. Actuators B Chem.* **2018**, *267*, 58–69.
- [127] Zhang, Y.; Zhao, Y.; Song, B.; Huang, C. Spectroscopic behavior and intracellular application of a highly sensitive UV-fluorescence double ratio probe based on water-soluble indole for detection acid pH. *Dye. Pigment.* **2021**, *188*, 109205.
- [128] Georgiev, N.I.; Said, A.I.; Toshkova, R.A.; Tzoneva, R.D.; Bojinov, V.B. A novel water-soluble perylenetetracarboxylic diimide as a fluorescent pH probe:

- Chemosensing, biocompatibility and cell imaging. *Dye. Pigment.* **2019**, *160*, 28–36.
- [129] Li, X.; Gao, X.; Shi, W.; Ma, H. Design strategies for water-soluble small molecular chromogenic and fluorogenic probes. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 590–659.
- [130] Georgiev, N.I.; Lyulev, M.P.; Alamry, K.A.; El-Daly, S.A.; Taib, L.A.; Bojinov, V.B. Synthesis, sensor activity, and logic behavior of a highly water-soluble 9,10-dihydro-7H-imidazo[1,2-b]benz[d,e]isoquinolin-7-one dicarboxylic acid. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **2014**, *297*, 31–38.
- [131] Zheng, S.; Lynch, P.L.; Rice, T.E.; Moody, T.S.; Gunaratne, H.Q.; de Silva, A.P. Structural effects on the pH-dependent fluorescence of naphthalenic derivatives and consequences for sensing/switching. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11*, 1675–1681.
- [132] Georgiev, N.I.; Dimitrova, M.D.; Mavrova, A.T.; Bojinov, V.B. Synthesis, fluorescence-sensing and molecular logic of two water-soluble 1,8-naphthalimides. *Spectrochim. Acta Part A* **2017**, *183*, 7–16.
- [133] Tang, J.; Li, C.; Li, Y.; Lu, X.; Qi, H. A highly sensitive and selective fluorescent probe for trivalent aluminum ion based on rhodamine derivative in living cells. *Anal. Chim. Acta* **2015**, *888*, 155–161.
- [134] Georgiev, N.I.; Bakov, V.V.; Bojinov, V.B. A Solid-State-Emissive 1,8-Naphthalimide Probe Based on Photoinduced Electron Transfer and Aggregation-Induced Emission. *ChemistrySelect* **2019**, *4*, 4163–4167.
- [135] Marinova, N.V.; Georgiev, N.I.; Bojinov, V.B. Facile synthesis, sensor activity and logic behaviour of 4-aryloxy substituted 1,8-naphthalimide. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **2013**, *254*, 54–61.
- [136] Balzani, V.; Credi, A.; Venturi, M. Molecular Logic Circuits. *ChemPhysChem* **2003**, *3*, 49–59.
- [137] Qian, J.; Qian, X.; Xu, Y.; Zhang, S. Multiple molecular logic functions and molecular calculations facilitated by surfactant's versatility. *Chem. Commun.* **2008**, 4141–4143.
- [138] Chu, Y.; Xie, Z.; Yue, Y.; Yue, Y.; Kong, X.; Shi, W.; Feng, S.. New Fast, Highly Selective Probe with Both Aggregation-Induced Emission Enhancement and Intramolecular Charge-Transfer Characteristics for Homocysteine Detection. *ACS Omega* **2019**, *4*(3), 5367–5373.
- [139] Wei, T.-B.; Dong, H.-Q.; Ma, X.-Q.; Yang, Q.-Y.; Zhang, Y.-F.; Sun, Y.-J.; Lin, Q. 1,8-Naphthalimide-Based Fluorescent Chemosensors: recent advances and perspectives. *Journal of Materials Chemistry C.* **2020**, *8*, 13501-13529
- [140] Calatrava-Pérez, E.; Bright, S. A.; Achermann, S.; Moylan, C.; Senge, M. O.; Veale, E.

B.; Scanlan, E. M. Glycosidase activated release of fluorescent 1,8-naphthalimide probes for tumor cell imaging from glycosylated “pro-probes. *Chemical Communications* **2016**, 52(89), 13086–13089.

- [141] Wu, Y.; Shu, W.; Zeng, C.; Guo, B.; Shi, J; Jing, J.; Zhang, X. (2019). A mitochondria targetable and viscosity sensitive fluorescent probe and its applications for distinguishing cancerous cells. *Dyes and Pigments* **2019**, 168, 134-139.

СПИСЪК

на научните публикации на инж. Венцислав Баков включени в
дисертационния труд

1. Georgiev, N.I.; Bakov, V.V.; Vojinov, V.B. **Photoinduced Electron Transfer and Aggregation-Induced Emission in 1,8-Naphthalimide Probes as a Platform for Detection of Acid/Base Vapors.** *Photonics* **2022**, 9, 994.
2. Баков, В. В.; Георгиев. Н. И. **Синтез и изследване на 4-окси-1,8-нафталимидна сензорна молекула за определяне на киселинни и базични газове в твърда фаза.** *Сборник с доклади XIX Национална младежка научно-практическа конференция 2022 – София 17-18 ноември 2022г.*, ISSN: 1314-8931, стр. 121-126.
3. Georgiev, N. I.; Bakov, V. V.; Vojinov, V. B. **A Solid-State-Emissive 1,8-Naphthalimide Probe Based on Photoinduced Electron Transfer and Aggregation-Induced Emission.** *ChemistrySelect* **2019**, 4(14), 4163–4167.

Част от резултатите са докладвани на:

1. В. Баков, Н. Георгиев. **„Синтез и изследване на 1,8-нафталимидна сензорна система, оперираща посредством ФЕТ и емисия в твърдо състояние“**, XVIII Национална младежка научно-практическа конференция 2021 – София 11-12 ноември 2021г.
2. Н. Донкова, В. Баков, Н. Георгиев, В. Божинов. **„Нова AND молекулна логическа портичка за бърза диагностика на рак“**, XVIII Научна постерна сесия за млади учени, докторанти и студенти – София, 25 юни 2021г.
3. М. Маркова, В. Баков, Н. Георгиев, В. Божинов. **„Синтез и изследване на сензорен 1,8-нафталимид за откриване на летливи биогенни амини“**, XVII Научна постерна сесия за млади учени, докторанти и студенти - София, 26 юни 2020г.
4. В. Баков, Н. Георгиев, В. Божинов. **„1,8-нафталимиден индикатор за откриване на киселинно-основни пари“**, XVI Научна постерна сесия за млади учени, докторанти и студенти – София, 23 май 2019г.

СПРАВКА

на забелязаните цитати върху публикациите, включени в
дисертационния труд

1. Georgiev, N.I.; Bakov, V.V.; Bojinov, V.B. **Photoinduced Electron Transfer and Aggregation-Induced Emission in 1,8-Naphthalimide Probes as a Platform for Detection of Acid/Base Vapors.** *Photonics*, **2022**, 9, 994.

1.1.) Ngigi, M. S. Fluorescent Chemo sensor nano-materials for Cancer bio-markers signalling: Towards development of non-invasive early detection strategies. *Dyes and Pigments* **2023**, 219, 111603.

1.2.) Korzec, M.; Kotowicz, S.; Malarz, K.; Mrozek-Wilczkiewicz, A. Spectroscopic and Biological Properties of the 3-Imino-1,8-naphthalimide Derivatives as Fluorophores for Cellular Imaging. *Molecules* **2023**, 28, 6255.

3. Georgiev, N. I.; Bakov, V. V.; Bojinov, V. B. **A Solid-State-Emissive 1,8-Naphthalimide Probe Based on Photoinduced Electron Transfer and Aggregation-Induced Emission.** *Chemistry Select* **2019**, 4(14), 4163–4167.

3.1.) Li, Y.; Hou, L.; Shan, F.; Zhang, Z.; Li, Y.; Liu, Y.; Li, K. A Novel Aggregation-Induced Emission Luminogen Based Molecularly Imprinted Fluorescence Sensor for Ratiometric Determination of Rhodamine B in Food Samples. *ChemistrySelect* **2019**, 4(38), 11256–11261.

3.2.) Zhang, H.; Tao, F.; Cui, Y.; Xu, Z. The aggregation induced fluorescence effect enhanced by a reasonable length of carbon chain. *Journal of Molecular Liquids* **2020**, 302, 112550.

3.3.) Guo, Z.; Niu, Q.; Yang, Q.; Li, T.; Wei, T.; Yang, L.; Qin, X. New “naked-eye” colorimetric/fluorimetric “turn-on” chemosensor: Ultrafast and ultrasensitive detection of hydrazine in ~100% aqueous solution and its bio-imaging in living cells. *Analytica Chimica Acta* **2020**, 1123, 64-72.

3.4.) Seraj, S.; Rouhani, S.; Ranjbar, Z.; Esfahani, S. L. Fructose recognition using novel solid-state electro-optical nanosensor based on boronate-tagged fluorophore modified graphene oxide. *Materials Chemistry and Physics* **2021**, 270, 124842.

- 3.5.)** Seraj, S.; Rouhani, S. Synthesis and fluorescence quenching mechanism of novel naphthalimide derivative by nanographene oxide. *Chemical Physics Letters* **2021**, 780, 138895.
- 3.6.)** Zhang, H.; Xu, Z.; Tao, F.; Yu, W. W.; Cui, Y. Enhanced photostability of aggregation induced emission by hydrophobic groups. *Analytica Chimica Acta* **2021**, 1186, 339076.
- 3.7.)** Johnson, A. D.; Zammit, R.; Vella, J.; Valentino, M.; Buhagiar, J. A.; Magri, D. C. Aminonaphthalimide Hybrids of Mitoxantrone and Amonafide as Anticancer and Fluorescent Cellular Imaging Agents. *Bioorganic Chemistry*, **2019**, 93, 103287.