

**Авторска справка за научните приноси в трудовете  
на**

**Галина Георгиева Генчева-Кисъовска**

за участие в конкурс за професор по

Професионално направление 4.2 *Химически науки*

*(Аналитична химия)*

**Количествени параметри:**

1) Общ брой научни публикации – 52.

В реферирани международни и български издания – 40 (Scopus-38, Web of Science-2)

В сборници с редактор и издателство и нереперирани списания и сборници и – 12

Забелязани цитати по тези публикации (без самоцитирания) в Scopus: 284

Индекс на Хирш (без самоцитирание) - 9

Учебник и Учебни помагало - в колектив

2) В конкурса са включени:

- Публикации , които не повтарят публикациите, включени за придобиване ОНС „доктор“ (Кандидат на науките, 1993 г.) и в конкурс за „доцент“ в ФХФ на СУ (2004 г.). от които Q1 – 6; Q2 – 4; Q3 – 2; Q4 - 4; Q4 (SJR) – 3; (Сборник с редактор – група Ж) – 1; *списание индексирано след 2012* (– група Ж) – 1.

- 17 от публикациите са върху оригинални научни изследвания;

- в 4 публикации – приносът е в приложение на Инструментални методи за охарактеризиране на нови материали и съединения (Раманова и Инфрачервена спектроскопии и монокристална рентгенова дифракция)

В 11 публикации съм автор за кореспонденция, като в 2 от тях съм първи автор.

По статиите в конкурса са забелязани 63 цитата (Scopus)

- Патент, защитен през 2011 г. - в колектив

*Резултатите от научните изследвания са представени на повече от 50 национални и международни научни форуми, симпозиуми и конференции с постерни съобщения и доклади.*

Основните научни приноси в изследването се отнасят до прилагане на *инструменталните методи за анализ* при определяне на молекулна структура и изследване на равновесия в разтвор. Изучени са серия комплексобразователни равновесия и протичащите паралелно с комплексобразуването, редокси процеси. Получени са повече от 20 нови комплексни съединения. Тяхната структура в твърда фаза и разтвор е подробно изследвана и описана. Изучени са физикохимичните им свойства и спектралните характеристики. Извършен е насочен синтез на комплекси на преходни метали с потенциал за приложение като противотуморни препарати. Биологичните изследвания доказаха, че предложените съединения с „некласически структури“ са алтернатива на платиновите лекарства. Доказан е ефектът на проектираните структурни характеристики върху цитотоксичните отнасяния на новите кандидати за конструиране на лекарствена формула, като три комплекса на платина и паладий в междинни и високи степени на окисление са подходящи за специална разработка. За насочване на комплексобразователните взаимодействия, изучени са молекулна, електронна структура и свойствата на целево избрани органични лиганди. Предложен е теоретичен подход за оценка на комплексобразователната способност на органични лиганди. Изведена е връзка между спектралните характеристики на лигандите и комплексобразователните им отнасяния.

Методите на вибрационната спектроскопия и рентгеновата дифракция бяха насочено прилагани за изучаване на физикохимичните свойства и спектрални характеристики на нови материали и природни продукти, както и за изучаване на кристалната структура на нови органични вещества.

### ***Инструментални методи за анализ, прилагани в изследването:***

Ядрено-магнитен резонанс (ЯМР), едномерни и двумерни техники (в диапазони за  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  -ядра). Твърдофазен ЯМР в диапазони на  $^{13}\text{C}$  и  $^{15}\text{N}$ - ядра; Електронен парамагнитен резонанс (ЕПР); Инфрачервена спектроскопия (ИЧ); Раманова спектроскопия; Електронно-абсорбционна спектроскопия (UV/Vis); Рентгенова фотоелектронна спектроскопия (XPS); Монокристална рентгенова дифракция (XRD); Термичен анализ (Термогравиметрия и Диференциална сканираща калориметрия (DSC); Магнитни измервания.

## **I. Приложение на инструменталните методи за анализ при определяне на молекулна структура и при изучаване на комплексобразователни равновесия.**

### ***1. Нови метални комплекси, проектирани за противотуморни препарати – синтез и структура.***

#### **1.1. Комплекси на хематопорфирин IX (Hr).**

*(публикации 1, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 16)*

Лигандът хематопорфирин IX е природен продукт от групата на порфирините. В проектирането на металните комплекси е избран като специфична група за селективно насочване към злокачествените клетки и поради способността да участва в окислително-редукционни взаимодействия, и като следствие да стабилизира междинни степени на окисление на металните йони. За изследването са избрани метални йони с електронна конфигурация и йонен радиус, които са предпоставка, техните комплекси да бъдат тествани като лекарства, включително и в химиотерапията.

#### **1.1.1. Комплекси на Pt(III) с хематопорфирин IX.**

*(публикации 3, 4, 10):*

Изследването е пионерно, а представените комплекси са от първите примери на добре описани стабилни моноядрени комплекси на Pt(III). Структурата на комплексите в твърда фаза и разтвор е изучена с помощта на серия инструментални методи за анализ. Това е първото и според нас единствено до сега съобщение за потенциала на съединения от тази група, при проектиране на противотуморни лекарства на основата на метални комплекси.

- *Моделиране на реакционната система.*

От експерименталните данни е установено, че за насочване на комплексобразователното равновесие към получаване на проектираните комплекси, важните реакционни условия, които трябва да бъдат контролирани са: разтворител, киселинност на средата (pH), изходен комплекс за Pt(II). За реакционна среда бе подбрана водно-основна среда с контролирана стойност на pH, която осигурява добра разтворимост на лиганда чрез депротониране на COOH-групите от страничните заместители в молекулата (в реакциите, лигандът участва като: Hr<sub>2H</sub>). Реакциите протичат при контролирана концентрация на OH<sup>-</sup>, като една от причините е участие в окислително-редукционния процес. Доказано е, че в присъствие на OH<sup>-</sup> - лиганди, междинно в реакционната система се образуват Pt(III)-химични видове. Чрез избор на изходни комплекси за Pt(II) и подходящо молно отношение M:L, комплексобразуването е насочено към различни координации на лиганда. Получаването на

стабилни комплекси на Pt(III) зависи и от подходящия избор на изходни съединения на Pt(II). Установихме, че най-подходящи за експеримента са:  $cis-[Pt(NH_3)_2(H_2O)_n(OH)_m]^{2-m}$  (cis-диамино(аква)платинов(II)-хидроксид, получен от цисплатин след утаяване на  $Cl^-$ -лигандите) и  $K_2PtCl_4$ .

- *Доказване на протичащи окислително-редукционни и комплексообразователни реакции, установяване на равновесието.*

Получени в разтвор са три нови парамагнитни комплекса с различна координация на лиганда Нр. Доказано бе, че реакцията между изходните комплекси на Pt(II) и Нр винаги започва с окислително редукционен процес. Потенциометрично бе регистрирано значително повишаване на концентрацията на  $H_3O^+$  в първите часове на взаимодействието, което е с ~8 пъти по-голямо, от очакваното, при заместване на  $H^+$  от лиганда с метални йони. Еднозначно, данни за наличие на парамагнитни химични видове в разтвор още в началото на реакцията, бе ЕПР сигналът с параметри за радикал (спектрите са на замразени разтвори). Установено бе, че когато реакцията протича с изходен комплекс:  $cis-[Pt(NH_3)_2(H_2O)_n(OH)_m]^{2-m}$  (Pt:Нр=1) последователно в разтвор се появяват сигнали съответстващи на парамагнитни комплексни видове, първо с ромбична и след това с аксиална симетрия. Характерно за двата сигнала е наблюдаваната суперсвърхфина структура (ССФС) от  $^{14}N$  в отделните области на сигнала, което еднозначно доказва координация през N-атоми от порфириновия пръстен. Равновесието в система се установява с получаването на парамагнитен комплексен химичен вид с ЕПР сигнал с аксиална симетрия и параметри:  $g_{II} > g_I > 2.0023$  с несдвоен електрон на  $d_{z^2}$ -орбиталата. Определени са константи на ССФС от 9 линии – в перпендикулярната област  $A_I (^{14}N) = 21.0 \times 10^{-4} \cdot cm^{-1}$  и в успоредната област  $A_{II} (^{14}N) = 24.9 \times 10^{-4} \cdot cm^{-1}$ . Свърхфината структура (СФС) от ядрата на  $^{195}Pt$  ( $I=1/2$ , 33.8%) в успоредната област се припокрива със ССФС ( $A_{II} \sim 50 \times 10^{-4} \cdot cm^{-1}$ ) и е по-добре разрешена в перпендикулярната област ( $A_I \sim 60 \times 10^{-4} \cdot cm^{-1}$ ). Така бе доказано получаването на парамагнитен платинов комплекс с координация към четирите N-атома от порфириновия пръстен. Установено бе, че координацията се насочва към карбоксилните групи от страничните заместители в лигандната структура, ако като изходно съединение на Pt(II) е използван -  $K_2PtCl_4$ . Реакцията протича с поява на сигнал за радикал и няколко часа по-късно – на слаб сигнал за парамагнитен платинов комплекс без на наличие на ССФС от  $^{14}N$ -ядра. Проследените UV/Vis спектрални промени в интензитета и местата на В- и Q-ивичите, характерни за UV/Vis спектрите на порфиринови системи, доказаха получаването на три комплекса с различни координации на Нр. Доказано беше, освен това, че координирането на Нр-лиганда следва получаването на парамагнитните видове в разтвор.

- *Изолране на комплексите в твърда фаза, изучаване структура и доказване степен на окисление на платината - +3.*

Използването на  $cis-[Pt(NH_3)_2(H_2O)_n(OH)_m]^{2-m}$ , стереоселективно насочи реакцията към получаване на комплекс с координация на платиновите йони към два съседни пиролни атома, над порфириновия пръстен. Този тип порфиринови комплекси са известни като SAT (sitting - ator). SAT-комплексът, със състав  $cis-[Pt(NH_3)_2(Hr_{-3H})(H_2O)_2] \cdot H_2O$  спонтанно бе изолиран като неутрален от реакционна система (Pt:Нр=4). Металопорфиринов комплекс със състав  $[Pt(Hr_{-3H})(H_2O)_2] \cdot H_2O$  е основен продукт от реакционна система (Pt:Нр=2), от която е изолиран с добавяне на киселина ( $HNO_3$  или  $NCIO_4$ ). От реакцията с изходно съединение  $K_2PtCl_4$  (Pt:Нр=4) е получен комплекс с координация на платината извън порфириновия пръстен и състав:  $[Pt((O,O)Hr_{-2H})Cl(H_2O)_3]$ . Комплексът е изолиран с добавяне на киселина. Съдържанието на монодентатните лиганди ( $NH_3$ ,  $Cl^-$ ,  $H_2O$ ) и начина им на свързване в комплексите (вътрешна или външна координационна сфера) беше определено с термичен анализ. Определени бяха температурни интервали на напускане на монодентатните лиганди, изчислена бе енергията и определен термичния ефект на всеки от процесите. Съответствието между комплексите, получени в разтвор и тези, изолирани в твърда фаза, е доказано с анализ на отражателни UV/Vis спектри.

Еднозначно, координацията на Нr и парамагнитната природа на новите комплекси, бе доказана с метода на ЕПР. Наблюдаваните по 9 линии от ССФ взаимодействие с ядрото  $^{14}\text{N}$  в области на анизотропните ЕПР-сигнали на SAT и металопорфириновия комплекс е указание за координация на парамагнитния център към 4 N-атома. От доброто съвпадение на симулирания (с определени параметри от експеримента) и експерименталния ЕПР спектър за металопорфириновия комплекс бе определена структура на деформиран октаедър с несдвоен електрон локализиран на  $(d_{z^2})^1$ -орбиталата. ЕПР- сигналът на SAT-комплекса, съответстващ на ромбична симетрия е интерпретиран с наличие на два вида N-донорни атоми – два пиролни N-атома от Нr и два – от двете незаместени  $\text{NH}_3$ -групи от изходното платиново съединение. Приема се, че металопорфириновият и SAT комплекса се получават в една и съща реакционна система и реакцията се насочва чрез прецизиране молните съотношения M:L. Добавянето на киселина, води до напускане на двете координирани  $\text{NH}_3$ - групи от вътрешната координационна сфера на SAT-комплекса поради протониране и тяхното място се заема от другите два пиролни N-атома на Нr, като основният продукт на реакцията е металопорфиринов комплекс. Счита се, че поради разлика в размерите на порфириновия пръстен и йонния радиус на Pt-йона, предпочетено в разтвор е образуването на SAT-комплекс. Наблюдаваните два ЕПР-сигнала в спектъра на третия комплекс, доказаха едновременно присъствие на радикал и парамагнитен платинов комплекс с аксиална симетрия и слабо разрешена свръфинаструктура (СФС) от  $^{195}\text{Pt}$ -ядрата без наличие на ССФС, поради координация към O-донорни атоми, извън порфириновия пръстен. Парамагнитните свойства еднозначно бяха свързани със степен на окисление + 3 за платиновите йони в комплексите на основа на магнетохимичните измервания. В целия изследван температурен интервал 2- 300 K, магнитната възприемчивост намалява монотонно с температурата. Определените стойности на ефективните магнитни моменти (с молните маси определени от предложените състави за комплексите и оценени диамагнитни поправки с константите Паскал) близки до 1.73 ВМ потвърждават степен на окисление +3 за платиновите йони в трите комплекса. Степента на окисление +3, състава на вътрешната координационна сфера и начина на координация на лигандите бе потвърден и с определените енергии на свързване на електроните N 1s, O 1s и Pt 4f. ИЧ- спектрите на комплексите и на свободния лиганд бяха изучени сравнително и бяха установени специфичните характеристики за всеки от начините на координация на Нr. Анализът на данните, получени с помощта на всички инструментални методи показва, че трите комплекса на Pt(III) са със структура на деформиран октаедър, като донорните атоми от Нr са координирани в координационните равнини, а аксиалните позиции са заети от  $\text{H}_2\text{O}$ -лиганди.

- *Определяне на структура в разтвор (публикации 3 и 10).*

Структурата в разтвор и стабилност на комплексните химични видове, получени след разтваряне на проби от комплексите бяха изучени с методите на ЕПР и UV/Vis спектроскопии. Трите комплекса са сравнително слабо разтворими във вода, като тяхната разтворимост зависи от рН на средата. ЕПР-спектрите на замразени водно-алкални разтвори от комплексите показват съответствие със структурите в твърда фаза в рамките на изследвания период. Малките отклонения от стойностите на определените ЕПР параметри са свързани със заместване на монодентатните лиганди с  $\text{OH}^-$ - лиганди от разтвора, без да се променя координацията на Нr. UV/Vis спектрите, регистрирани на проби от комплексите, разтворени в разтворители като диметилсулфоксид (DMSO), N,N-диметилформаид (DMF),  $\text{CH}_3\text{COOH}$  показват, че координацията на Нr в комплексите се запазва. Затова и приемаме, че активните химични видове в биологичните експерименти са комплекси на Pt(III) със запазена координация на порфириновия лиганд, а процесите на хидролиза не засягат Нr-лиганда и се отнасят само до монодентатните лиганди.

### 1.1.2. Комплекси на Pd(III) с хематопорфирин IX.

(публикации 11 и 16)

В търсенето на метални комплекси за конструиране на противотуморни лекарства сравнително малко внимание се обръща на комплексите на паладий, въпреки че те са изоелектронни на платинови комплекси с еднакви лиганди. Причината е, че процесите на лигандно заместване и хидролиза при паладиевите комплекси протичат  $10^4$ - $10^5$  пъти по-бързо от аналогичните платинови комплекси, което се смята като основна причина за общата токсичност и по-слаба активност. Подходът за моделиране на Pd-комплексите в това изследване се основава на избор лиганд - Нр, който е предпоставка за контрол на кинетиката на реакциите на лигандно заместване за комплексния вид. За подобряване на кинетичните свойства, принос има и по-високата степен на окисление +3 за Pd.

- *Реакционна система, получаване и изолиране на комплексите на паладий с Нр.*

Подходяща реакционна система за насочване на комплексобразуването на Нр и  $\text{PdCl}_4^{2-}$  е конструирана с оптимизиране на молните съотношения  $\text{Нр}:\text{Pd} \leq 2$  to  $\text{Pd}:\text{Нр} \leq 8$  във водно-основна среда. Потенциометрично и с метода на ЕПР е показано, че от първоначално протичащия редокси процес в реакционната система се образуват парамагнитен комплекс и радикал. Промяната в електронно-абсорбционните спектри е наблюдавана след получаването на парамагнитните химични видове. Регистрираните ивици в спектрите в хода на комплексобразуването се отнасят до преходи в молекулата на Нр. Отместването, промяната в интензитетите и броя на Q-ивиците, в хода на комплексобразуването са обяснени с промени в молекулната симетрия на Нр в резултат на координацията. Резултатите са интерпретирани с последователна координация първоначално към два съседни пиролни N-атома (SAT – комплекс). Краен продукт от всички изучавани условия е винаги металпорфиринов комплексен вид с координация в порфириновия пръстен през четирите N-пиролни атома. От реакционните системи са получени два комплекса в твърда фаза. При излишък на  $\text{PdCl}_4^{2-}$  ( $\text{Pd}:\text{Нр}=4$ ) е изолиран комплекс като даните от елементния анализ са в съответствие с молекулна формула  $[\text{Pd}^{\text{III}}_2(\text{Нр}_{-2\text{H}})\text{Cl}_3(\text{H}_2\text{O})_5] \cdot 2\text{PdCl}_2$  (диядрен комплекс). Полученият комплекс, при излишък на изходното съединение на Pd(II), е изолиран чрез добавяне на HCl и данните са в съответствие с молекулна формула:  $[\text{Pd}^{\text{III}}(\text{Нр}_{-2\text{H}})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})] \cdot \text{H}_2\text{O}$  (моноядрен комплекс, металопорфиринов тип). Съдържанието на монодентатните лиганди, в състава на новите комплекси и начинът им на свързване, бе доказано термогравиметрично и с метода на DSC.

- *Доказване на състав и структура на Pd-комплекси. Стабилност на комплексите в разтвор.*

От стехиометрията на молекулната формула, съответно и за двата комплекса, получена с данни от елементен и термичен анализ следва, че паладий е в степен на окисление +3 ( $d^7$ -електронна конфигурация). Еднозначно, парамагнитната природа на получените комплекси бе доказана с анализ на техните ЕПР- спектри.

Интерпретацията на ЕПР спектъра на диядрения комплекс бе направена на основата на наличие на три сигнала: сигнал за радикал и два анизотропни сигнала с параметри  $g_{\text{II}} > g_{\text{I}} > 2.0023$ , съответстващи на октаедрична координация (удължен октаедър) на парамагнитен комплексен вид с електронна конфигурация  $d^7$ . Добре разрешените 5 линии на ССФВ (с интензитети 1:2:3:2:1) в перпендикулярната област на сигнала, разположен в по-слабо поле с константа  $10.6 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ , доказват координация на Pd-йона към два от пиролните N-атома като в SAT-тип комплекс. Отсъствието на линии от ССФС за втория сигнал показва, че вторият Pd-йон е координиран през страничните  $\text{COO}^-$  -групи извън порфириновия цикъл. Освен тези сигнали, наблюдаваният широк сигнал в магнитно поле  $\sim 3130 \text{ G}$  е преписан на обменно взаимодействие между несдвоените електрони от двата Pd-центра. Наличието на този сигнал и това, че двата анизотропни ЕПР сигнала са с приблизително равни интензитети, приехме като указание за образуване на Pd-Нр-Pd система в диядрения комплекс. В молекулата на комплекса, двата  $\text{Pd}^{3+}$ -

йона са разделени от простата връзка между пропионовите заместители и порфириновия цикъл. Обменното взаимодействие между металните центрове се осъществява с участието на порфириновия лиганд.

ЕПР спектъра на моноядрения комплекс се характеризира с интензивен сигнал с двукомпонентна аксиална анизотропия и главни стойности на  $g$ -тензора, определени от експерименталния спектър и съответстващи на отношението  $g_{\perp} > 2.0023 > g_{\parallel}$ . Регистрираният сигнал съответства на метален комплекс с октаедрична координация и несдвоен електрон, разположен на  $d_{(x^2-y^2)}$ -орбиталата. ССФ структура от 9 линии, наблюдавана в успоредната и в перпендикулярната област на доказва образуването на металопорфиринов комплекс.

С помощта на магнитните измервания в температурния интервал 2–320 К бе доказана нискоспинова  $d^7$  конфигурация за Pd-йоните в комплексите. Установено бе, че законът на Кюри-Вайс се следва след сравнително високи температури: 184 К – за диядрения комплекс и 91 К за моноядрения комплекс. Големите отрицателни стойности, определените за параметричните температури (получени от асимптотите на функцията: реципрочна стойност на магнитната възприемчивост от температурата) съответно:  $\theta = -665$  К за диядрения комплекс и  $\theta = -320$  К за моноядрения, показват силно изразено обменно взаимодействие между магнитните моменти. Определените ефективни магнитни моменти (в температурните интервали на парамагнитно поведение), съответно за биядрения комплекс -  $\mu_{\text{eff}} = 2.68$  BM ( $C_m = 0.900$  emu.mol<sup>-1</sup>.K) и за моноядрения -  $\mu_{\text{eff}} = 1.68$  BM ( $C_m = 0.353$  emu.mol<sup>-1</sup>.K) са в интервала стойности за два паралелни несдвоени електрона ( $S=1$ ) за системата Pd<sup>3</sup>-Hr-Pd<sup>3+</sup> и за един несдвоен електрон като в моноядрения комплекс Pd<sup>3</sup>-Hr.

Освен регистрираните магнитни свойства, това изследване е с важен принос по отношение интерпретацията на ИЧ-спектрите на двата комплекса. Прецизното отнасяне на ивиците доказва координацията на лигандите в структурите, предложени с помощта на другите инструментални методи. Получените резултати бяха важни и за извеждане на връзката между специфичните характеристики на ивиците от ИЧ-спектрите и координацията, както на Hr-лиганд, така и на монодентатните лиганди.

Структурата на двата комплекса и стабилността в разтвори на DMSO и DMF, бе доказана с EPR и UV/Vis спектроскопии като съответните спектрите бяха регистрирани в рамките на 5 дни. Задълбоченият анализ, както на парамагнитното поведение на комплексите в разтвор, така и на регистрираните промени в UV/Vis спектралните характеристики показва, че може да се приеме, че активните комплексни видове в разтвор са диядрения и моноядрения комплекси с координация на Hr, съответстваща на структурата на комплексите в твърда фаза.

### 1.1.3. Au(II) комплекс на хематопорфирин IX.

(публикации 1, 6)

- *Получаване, синтез и структура на парамагнитен комплекс на Au(II) с хематопорфирин.*

Съединенията на златото имат древна традиция в употребата за лекарства. Установено бе, че в аналогично моделирана система от взаимодействието на Hr<sub>2</sub>H и HAuCl<sub>4</sub> се получава парамагнитен комплекс, който бе изолиран от системата с добавяне на HCl. Данните от елементния анализ за комплекса са в съответствие с молекулна формула Au(II)Hr<sub>2</sub>H·2H<sub>2</sub>O. Доказано бе, че взаимодействието между AuCl<sub>4</sub><sup>-</sup> и Hr е по-сложен процес. Комплексът, в който златото е в междинната +2 степен на окисление, е получен от съединение на Au(III). Характерно за съединенията, в които Au е в по-висока степен на окисление е, че лесно да се редуцират в разтвор. Затова и комплексът бе изолиран след допълнителни процедури на пречистване (заради пречистване на примеси от комплексни видове на златото). Следенето на реакцията, потенциометрично и с метода на ЕПР доказва, че в разтвор протича окислително-редукционен процес, а промените в UV/Vis спектрите бяха интерпретирани, в съответствие с координация на

златото в порфириновия пръстен. Структурата на комплекса бе доказана с анализа на ЕПР спектър в твърда фаза и данните от магнитните измервания, а начина на координация на хематопорфирина – с интерпретация на ИЧ-спектъра му. Освен сигнал за радикал, в ЕПР спектъра е наблюдаван анизотропен сигнал с параметри:  $g_{\perp} > 2.0023 > g_{\parallel}$ . В двете области се наблюдават фини линии, които бяха интерпретирани като 9 линии от ССФС от взаимодействието с 4  $^{14}\text{N}$ -ядра с припокриване от СФС линии от взаимодействието на несдвоенния електрон с ядрата на  $^{197}\text{Au}$  ( $I=3/2$ , 100%). Приложена е симулационна процедура, основана на допускането, че Au е в степен на окисление +2 (електронна конфигурация  $d^9$ ). Au е координиран е към четирите пиролни N-атома в порфириновия пръстен, като два по два противоположно разположените  $^{14}\text{N}$ -ядра са магнетоеквивалентни по отношение на оста на външното магнитно поле. Симулационната процедура е извършена чрез вариране на принципните стойности на  $g$ -тензора и стойностите на тензорите, отчитащи свръхфино  $A(\text{Au})$  и суперсвръхфино взаимодействие  $A(\text{N})$ . Доброто съвпадение на симулиран и експериментален спектър доказва предложената структура на комплекса. С данни от експерименталния ЕПР-спектър е определена висока степента на ковалентност на връзката Au-N(Hp). В подкрепа на предложената структура са и магнетохимичните измервания (макар и в по-тесен температурен интервал). Парамагнитното поведение за комплекса е наблюдавано след 202 K, а определеният ефективен магнитен момент (2.20 BM) е в подкрепа на електронна конфигурация  $d^9$ . Поведението под парамагнитната температура на Кюри, 202 K, се обяснява с антиферомагнитно взаимодействие между магнитните моменти на несдвоените електрони.

## 1.2. Комплекси на Pt(IV) лиганда 1,3,5-триамино-1,3,5-тридеоки-*cis*-иноситол (*taci*, *all-cis*-2,4,6-triaminocyclohexane-1,3,5-triol) (публикации 20, 21)

Лигандът може да се разглежда като 1,3,5-триамино-аналог на *cis*-иноситол (*taci*), който пък е аналог на биомолекулата *туо*-иноситол. Последното съединение и производните му са обсъждани широко в изследванията за лечение на различни заболявания - от диабет до рак и въпреки, че фармакологията на инозитолите е все още в процес на изследвания, определено може да се приеме, че съединението ще бъде нетоксично за организма.

- Проектиране на структура на „некласически“ цитостатик, реакционни условия за получаване на комплексите на Pt(IV), структура в твърда фаза.

Проектирането на молекулната структура на двата комплекса с „некласическа“ структура се основава на следните предпоставки: 1) степен на окисление на Pt+ 4; 2) октаедрична координация; 3) лиганд, който спонтанно се координира като тридентатен и заема едновременно три координационни места (противно на класическите представи за наличие на три двойки лиганди).

Комплексобразуването е изучено във водна среда. Киселинността на средата е прецизирана предвид, че при  $\text{pH} \leq 3$  протонирането на  $\text{NH}_2$  конкурира комплексобразователните взаимодействия. Така в кисела среда ( $\text{pH} \sim 1$ ) от взаимодействието на *taci* с  $\text{PtCl}_6^{2-}$  е получена комплексната сол:  $[(\text{H}_3\text{taci})_4][\text{PtCl}_6]\text{Cl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Публикация 22- общ списък). Ако  $\text{pH}$  е  $\sim 3$ , в присъствие на изходно платиново съединение, процесът на протониране на лиганда е предпочетен в сравнение с участие в комплексобразователен процес. От водно кисела среда ( $\text{pH} \sim 3$ , HCl) е изолирана трипротонираната форма на лиганда с противойони  $\text{SO}_4^{2-}$  и  $\text{Cl}^-$  като  $(\text{H}_3\text{taci})\text{SO}_4\text{Cl}$ . Съединението кристализира в тригонална кристална система с *P31c* пространствена група и параметри на кристалографската клетка:  $a = 8.3990(14) \text{ \AA}$ ,  $b = 8.3990(14) \text{ \AA}$ ,  $c = 9.6208(17) \text{ \AA}$ ,  $V = 587.76(17) \text{ \AA}^3$ . В асиметричната единица на структурата се съдържат 1/3 от  $[\text{H}_3\text{taci}]^{3+}$  и 1/3 от всеки от противойоните. Катионите  $[\text{H}_3\text{taci}]^{3+}$  заемат конформация „стол“ с три хидрокси групи ( $\text{O}-\text{C} - 1,398 \text{ \AA}$ ) в аксиална позиция и три amino групи ( $\text{N}-\text{C} - 1,486 \text{ \AA}$ ) в екваториална позиция.

Затова и взаимодействието на  $K_2PtI_6$  с лиганда *taci* бе изучавано при  $pH > 4$ . Изборът на изходното съединение за Pt(IV) и прецизирането на реакционните условия за неговото получаване е принос на изследването. Получени и изолирани в твърда фаза са два октаедрични комплекса на Pt(IV) със състав: *fac*-[Pt(*taci*) $_3$ ]I и *bis*-[Pt(*taci*) $_2$ ](CO $_3$ ) $_2$ . Комплексът [Pt(IV)I $_3$ (H $_2$ O) $_3$ ] $^+$  се получава в слабо кисела среда ( $pH \sim 4.5-6.0$ ) и спонтанно се отделя като червени кристали (*fac*-[Pt(*taci*) $_3$ ]I), а зарядът на комплексния катион е неутрализиран с един от напусналите I аниони (съединението кристализира в моноклинна кристална система, с пространствена група *P21/c*). Приема се, че координацията на втората молекула *taci* при тези условия не протича поради здравината и ниската реактивоспособност на връзката Pt-I. Комплексът с две координирани молекули *taci* се получава след добавяне на NaOH до  $pH = 9.0 - 9.5$ . Приема се, че високата концентрация на OH $^-$  благоприятства базичната хидролиза и I лигандите се заместват от OH $^-$ . При тези условия координирането на втората молекула *taci* се благоприятства от *trans*-ефекта на връзките Pt-N, който води до удължаване на връзкатаиите Pt-OH и в резултат се е получил комплекса [Pt(*taci*) $_2$ ] $^{4+}$ . Особеност на реакцията е, че комплексът се утаява с присъстващи CO $_3^{2-}$  йони като жълти кристали. Като цикличен триамин, *taci* взаимодейства с CO $_2$  от въздуха ( $pH > 6$ ). С повишаване на pH се установяват равновесия с получаване на карбаминови киселини, карбамати, бикарбонати и при  $pH \sim 9.5$  – карбонати, (CO $_3^{2-}$ ), които служат като утаител за комплекса *bis*-[Pt(*taci*) $_2$ ](CO $_3$ ) $_2$  (съединението кристализира в моноклинна кристална система с пространствена група, *C2/c*). В комплексите, лигандът *taci* е координиран като тридентатен през трите NH $_2$ - групи. С помощта на XRD метода структурите на монокристални образци от двата комплекса са подробно описани. Определени са параметрите на кристалографските решетки, подробно описани са координационните полиедри с дължини на връзки и големини на валентни ъгли. Определена е координацията и конфигурацията на лиганда *taci* в комплексите. Съответствието на структурата на монокристален образец от комплексите със структурата на прахови проби бе доказано с помощта на ИЧ- спектроскопия и твърдофазен ЯМР.

ИЧ-спектърът на некоординиран лиганд *taci* бе интерпретиран, отчитайки природата му на първичен алкохол и вторичен амин. Понижаване на *C3v* симетрията на молекулата на съединението в твърда фаза, поради образуване на H-връзки с участието на NH $_2$  и OH- групите и включените молекули H $_2$ O, е причина за наблюдаването на група от ивици за всеки фундаментален мод. Отнасянето на ивиците бе направено и в съответствие с данни от квантово-химични изчисления. Анализът на ИЧ- спектрите на комплексите показва, че всички ивици са повлияни от координацията. Намерени бяха специфичните особености, доказващи координация през NH $_2$ -групите и типа на комплекса. Установено бе, че валентните трептения на NH $_2$ -групите и деформационните „усукващи“ трептения са отместени към по-ниски честоти, а тези отнесени към деформационните „ножични“ и извън-равнинните „ветрилни“ трептения – към по-високи честоти. Фасиалната координация на трите amino групи в първия комплекса бе доказана и от три ивици отнесени към валентните Pt-N трептения. Координацията от шест NH $_2$  от двата лиганда се доказва от наблюдаваната само една ивица за Pt-N валентното трептене в спектъра на комплекса *bis*-[Pt(*taci*) $_2$ ](CO $_3$ ) $_2$  .

Надеждно доказателство за структура в твърда фаза бе получено и с анализ на спектрите на свободния лиганд и на комплексите, получени с твърдофазен ЯМР. Наблюдаваните по един във всеки  $^{15}N$  CP-MAS спектър, съответно при -4.50 ppm за комплекса *fac*-[Pt(*taci*) $_3$ ]I и при -14.50 ppm – за комплекса *bis*-[Pt(*taci*) $_2$ ](CO $_3$ ) $_2$  доказва, че в координацията на *taci*-лиганда участват и трите N-атома. Сигналите са в сравнително силно поле (по отношение на стандарта) заради високата електронна плътност около Pt(IV) и  $\sigma$ -връзката Pt(IV)-N в координационните съединения на Pt(IV). Отместването на сигнала към по-слабо поле в спектъра на първия комплекс по отношение сигнала в спектъра на втория комплекс се обяснява с ефекта на деекраниране на координираните във вътрешната координационна сфера I -лиганди. Спин-спиново взаимодействие от  $^{195}Pt$ -ядрата е наблюдавано за  $^{15}N$ -сигнала в спектъра на втория



комплекс с константа  $^1J_{\text{PtN}}=179$  Hz. Анализът и на  $^{13}\text{C}$ -CP-MAS спектрите еднозначно доказва съответствие на структурата в твърда фаза с тази на монокристални образци.

- *Определяне на структура в разтвор и стабилност на комплексните видове Pt(IV)-tacI.*

За доказване на структурата в разтвор бяха използвани методите на ЯМР и масспектрометрия (HR-ESI-MS). Данните от  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР изследването бяха информативни по отношение на молекулна симетрия и начин на координация на tacI, а масспектрометричното изследване помогна да бъдат идентифицирани химичните видове в разтвор.  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ - ЯМР-спектрите на лиганда бяха интерпретирани предвид най-високата  $S3v$  молекулна симетрия на tacI в разтвор. Сигналите за шестте протона в  $^1\text{H}$ -ЯМР спектъра се представят с два триплета – единият съответства на  $^1\text{H}$ -ядра, свързани към С-атом от цикъла от С-N група, а другият триплет – за  $^1\text{H}$ -ядра, свързани към С-атом от цикъла от С-O - група. Мястото на сигналите в ЯМР спектъра зависи от рН на средата. Сигналите се местят към по-високи честоти с повишаване на киселинността на средата поради процеси на протониране. Към по-високи честоти се местят сигналите и в резултат на комплексобразуване. ЯМР-спектрите на пресни водни разтвори от комплексите бяха интерпретирани с отчитане на молекулна симетрия  $S3v$  за комплекса tacI:Pt=1 и  $D3d$  – за комплекса tacI:Pt=1. Характерна особеност на  $^1\text{H}$ -ЯМР спектрите на комплексите е наблюдаваните дублети от триплети върху основния триплет за сигнала в по-силно поле, принадлежащ на  $H(C-N)$ . Дублета от триплети е с интензитет 1:2 по отношение интензитета на основния триплет. Присъствието на този дублет от триплети се дължи на спин-спиново взаимодействие на  $^{195}\text{Pt}$ -ядрата (33.8 %) с  $^1\text{H}$ -ядрата, свързани с С-атом към N-донорен атом, през който се осъществява координацията. Определени са константите на спин-спиново взаимодействие, съответно: 47.0 Hz за първия и 42.3 Hz. Тези стойности показват близко разположение на взаимодействащите си ядра в молекулите и доказват еднозначно координация на лиганда през  $\text{NH}_2$  – групите и в структурата на комплексните видове в разтвор. Сигналите в  $^{13}\text{C}$  ЯМР- спектъра за  $^{13}\text{C}$ -ядрата също показаха наличие на купелуване с  $^{195}\text{Pt}$ -ядрата.

За да се докаже структура в разтвор, процесите на хидролиза бяха изучени подробно с метода на ЯМР. Комплексът със симетрична координация от две tacI- молекули, в рамките на изследвания период от 5 дни не променя спектъра си. Процесите на хидролиза с  $fac\text{-}[\text{Pt}(\text{tacI})_3]^+$  комплексът протичат след разтварянето на съединението, като последователно във времето  $\Gamma$ -лиганди се заместват с  $\text{H}_2\text{O}/\text{OH}^-$ . Заместването на един и два лиганда  $\Gamma$  в съответните хидролизни продукти с  $\text{OH}^-$  във вътрешната координационна сфера на tacI понижава молекулната симетрия до Cs. Това води до поява на два отделни сигнала и за N-ядрата към С-N и за N-ядрата – при С-O. Причината е разликата в електронната плътност и електронни ефекти на двата лиганда:  $\Gamma$  и  $\text{OH}^-$ . Молекулната симетрия  $S3v$  се запазва в тризаместения хидролизен продукт, но сигналите се отместват. Прецизното изследване на хидролизните процеси във времето показва ефекта на различни фактори: киселинността на средата, концентрацията на  $\text{OH}^-$ , нагряване върху съотношението на хидролизните продукти в системите. Установено беше, че във физиологично моделирана среда, основен продукт е комплексният вид с два  $\text{OH}^-$  и един  $\Gamma$ -лиганд.

За изследванията по т.1.1. и т. 1.2. (публикации 1, 3, 4 - 6, 11, 12, 16, 20, 21) Галина Генчева е определила концепцията, моделирала реакционните системи, участвала в експеримента, определила е подхода за прилагане на инструменталните методи при изучаване на комплексобразователни реакции и структурата на комплексите, участвала е в дискусиите и интерпретациите на резултатите от инструменталните методи, съставила е крайния модел и е подготвила съответните ръкописи.

### 1.3. Ефект на молекулната структура върху механизмите на цитотоксичност.

(публикации 3, 6, 10, 11, 12, 16, 21)

В биологичните изследвания за цитотоксичност бяха включени всички комплекси на хематопорфирин IX с металните йони в междинни степени на окисление: Pt(III), Pd(III) и Au(II) и двата комплекса на 1,3,5-триамино-1,3,5-тридеокси-*cis*-инозитол с Pt(IV). Комплексите, подготвени за биологични тестове бяха с определена разтворимост и охарактеризирана структура в разтвор. Биологичните тестове включваха: оценка на антипролиферативна активност, ефект на програмирана клетъчна смърт и изследвания върху механизми на противотуморно действие по отношение на ДНК-платиниране, възстановяване на повредите в ДНК-молекулите, оценка на обща токсичност, ефект върху резистентни клетъчни линии и др., както и сравнителна оценка с механизмите на референтното лекарство цисплатин.

Цитотоксичната активност на включените в експериментите, комплекси е оценена по отношение на серия туморни клетъчни линии с човешки произход (левкемичен, лимфомен произход, остиосаркома и солидни тумори) и произведени резистентни клетъчни линии. Антипролиферативните ефекти са оценени с класическия ММТ-тест (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) и резултатите в публикациите са представени като функция на % живи клетки от концентрацията на тествания комплекс. Всички комплекси включени в изследванията показаха концентрационно-зависима антипролиферативна активност, като концентрациите, при които се наблюдават 50% останали живи клетки след третирането е сравнена с тази на референтното лекарство цисплатин.

- *Изследвания върху цитотоксичните отбасания на комплекси на хематопорфирин IX.*

Получените резултати еднозначно доказаха, че ефектите на новите комплекси при избрани клетъчни линии са съизмерими с тези на цисплатин и дори при злокачествени клетки от определени клетъчни линии, те го надвишават. Металопорфириновият комплекс на Pt(III) показва по-изразен антипролиферативен ефект при клетъчна линия SAOS (остиосаркома), и клетки от линиите LAMA-84, BV-173 (произход хронична миелоидна левкемия) и за да надмине ефекта на цисплатин при клетки от клетъчна линия K-562 е необходимо периодът на третиране да бъде удължен. Установено бе, че клетките от T-клетъчна левкемия, SKW-3 са по-чувствителни към комплекса Au(II)-Hr в сравнение с цисплатин, а ефектът на диядреният комплекс на Pd(III)-Hr се проявява при около 4.5 пъти по-ниска концентрация в сравнение с цисплатин при клетъчна линия K-562. Сравнителният преглед върху антипролиферативните ефекти на хематопорфириновите комплекси показва, че най-слабо активни са тези на Pd(III). В същото време, задълбочени механизтични изследвания показват, че паладиевите комплекси се характеризират с цисплатин-различен механизъм. Общо за всички хематопорфиринови комплекси е характерно много по-ниско изразена токсичност към здрави клетки (HEK-293T) и ефективно натрупване в злокачествените клетки. Оценката на механизмите на действие показва, че ДНК-платиниране, с образуване на GG-адукти, както и индуциране на проапоптотични пътища на клетъчна смърт са етапи от механизмите на цитотоксични отнасяния. Разпознаването на ДНК-адуктите от HMG-протеини и възстановяването на увредената ДНК от нуклеотидна ензимната система (NER) показва, че има предпоставки, да се приеме, че металопорфириновият комплекс на Pt(III) и диядреният комплекс на Pd(III) се характеризират с различен от цисплатин механизъм на действие. За повечето тествани комплекси, тези механизми корелират с цитотоксичността.

- *Биологични свойства на комплексите на 1,3,5-триамино-1,3,5-тридеокси-*cis*-инозитол.*

Комплексите на Pt(IV) *taci* проявяват своята специфика в цитотоксичните отнасяния, като комплексът  $[Pt((taci)_3)]^+$  проявява антипролиферативна активност, която е по-изразена в сравнение с комплекса  $[Pt(taci)_2]^{2+}$ . Данните за първия комплекс показват, че при повечето тествани клетъчни линии, цитотоксичните отнасяния са сравними с тези на референтното лекарство. При туморните модели SAOS-2 (саркома), HL-60/DOX, HL-60/CDDP  $[Pt((taci)_3)]^+$  новото съединение показва дори по-изразено инхибиране на клетъчната жизненост и

пролиферация в сравнение с клинично прилагания цитостатик. Най-значимият резултат от проведеното изследване е по отношение на туморни клетъчни линии с индуцирана множествена лекарствена резистентност (HL-60/DOX) и такава с резистентност към цисплатин (HL-60/CDDP), към които изследваните комплекси проявяват значима активност. Определените индекси на резистентност (IP), представени като отношение на IC<sub>50</sub>-стойностите, определени за резистентните клетъчни линии HL-60/CDDP или HL-60/DOX към съответната IC<sub>50</sub>-стойност, определена за родителската HL-60 показваха, че изследваните комплекси се характеризират с фундаментално различен профил на хемочувствителност и спектър на цитотоксична активност, в сравнение с цисплатин. Това еднозначно доказва, че новите Pt(IV) комплекси са способно да преодолеят механизмите на инактивиране на цисплатин. Този резултат дава основание да се смята и, че изследваните комплекси се характеризират с алтернативни фармакологични свойства.

Резултатите от биологичните тестове върху цитотоксичните отнасяния заслужават специално внимание. Предложените 8 нови съединения, с напълно нови по дизайн „некласически“ структури, се характеризират с фармакологични свойства, които са предпоставка за конструиране на нови лекарствени формули. В групите изследвани комплекси, един от представителите е с най-изявени фармакологични свойства: това са металопорфириновия комплекс на Pt(III) с Нр, диядреният комплекс на Pd(III) с Нр и комплекса на  $\text{tac}:Pt(IV)=1$ . Получените резултати еднозначно показваха, че от химическа гледна точка има много фактори, които трябва да се оптимизират до достигане на правилната лекарствена формула и сред тях са не само подходящ избор на метален йон и лиганд, но и подходящо изграден координационен полиедър и насочване към подходяща координация на избрания лиганд. Най-важният резултат от това изследване е, че комплексите са специфично ефективни към определени клетъчни линии, което определя потенциала им за специфични терапии.

За изследванията по т.1.3. Галина Генчева е проектирала структурите на комплексите, участвала в охарактеризиране на структура в разтвор, както и в подготовка на пробите за биологични тестове, активно е участвала в анализа на данни и подготвяне на ръкописите.

## **2. Изследване на структура и свойства на целево избрани лиганди**

(публикации 2, 8, 15).

Изборът на подходящ лиганд за насочен комплексобразователен процес е важна задача. За решаването на тази задача е необходимо да се обсъдят подходящите условия за специфична координация на лиганда, когато той притежава повече от една донорна група.

### **2.1.Третични фосфиноксиди, функционализирани с първична amino група.**

(публикация 2)

Координационна способност на серия (аминоалкилоксиметил)диметилфосфин оксиди бе изучена на основата на анализ на комплексобразователните отнасяния на лигандите към Pd(II). В молекулата си тези лиганди съдържат две донорни групи – първична amino група и третична фосфиноксидна група. В изследването са включени 4 лиганда. Те се различават по размера и природата на алифатния фрагмент, който разделя двете функционални групи. Титриметрично определените протолизните константи (като  $pK_a$ ) са в интервала 9-10 и са предпоставка за очаквани добри комплексобразователни свойства. Сравнението с протолизните свойства на лиганди с близка структура, но без третична фосфиноксидна група, доказва ефектът на третичните фосфиноксидни групи в молекулата на лиганда при моделиране на протолизните и комплексобразователните свойства. Монокристали, подходящи за анализ с рентгенова дифракция бяха получени за комплекс на Pd(II) с един от лигандите от групата, а именно: диметилфосфиноилметокси-1,1-диметилетиламин (admo). Комплексът е със състав: *trans*-

$\text{PdCl}_2(\text{admo})_2$ , като съединението кристализира в моноклинна кристална решетка, с пространствена група  $P21/n$ . ИЧ-спектърът му бе подробно изучен и описан в съответствие с данните от рентгеновата дифракция. Отнесени бяха ивиците, принадлежащи на  $\text{NH}_2$ - и  $(\text{CH}_3)_2\text{P}=\text{O}$ -групите в областите на характеристичните честоти и дактилоскопическия отпечатък. Отбелязани бяха характерните специфики на ИЧ-спектрите в далечната инфрачервена област, характерни за плоскоквadratни комплекси на  $\text{Pd}(\text{II})$  (или  $\text{Pt}(\text{II})$ ), когато едноименните лиганди са в *trans*-положение). В представените в публикацията ИЧ-спектри, е наблюдаван класически пример за „Ферми-дублет“, характерен за взаимодействието на валентното симетрично трептене на  $\text{NH}_2$ - групата и 2 пъти честотата на деформационното трептене  $\delta(\text{NH}_2)$ , когато двата Н-атома участват в различни Н-връзки в структурата. Структурата в твърда фаза на останалите комплекси на  $\text{Pd}(\text{II})$  с другите три лиганда от групата бе изучена на основата на сравнение с ИЧ-спектъра на *trans*- $\text{PdCl}_2(\text{admo})_2$ , а структурата на всички комплекси в разтвор бе описана с помощта на  $^1\text{H}$  и  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -ЯМР – спектри.

За изследването по т.2.1., Галина Генчева е анализирала резултатите, описала ИЧ- спектрите и подготвила ръкописа.

## **2.2. Третични фосфиноксиди функционализирани с вторична amino група**

(публикация 15)

В научно-изследователската работа, включването на лиганди от групата на фосфиноксидите бе с цел, намиране на подходящи органични съединения за конструиране на координационни полимери. В тази връзка бяха изучени комплексообразователните свойства на лиганда bis((dimethylphosphinyl)methyl)amine ( $\text{AmPO}$ ). В молекулата си, съединението съдържа три донорни групи – една вторична amino-група и две третични фосфиноксидни групи, разположени симетрично през  $-\text{CH}_2-$  мостове. Координационната способност на лиганда експериментално бе изпитвана по отношение на комплексообразователните отнасяния към  $\text{Cu}^{2+}$ . В среда на абсолютен алкохол, при различни условия бяха получени и изолирани в твърда фаза 4 комплекса. Структурата на комплекса  $[\text{Cu}(\text{AmPO}\text{-H})_2]$  бе определена с метода на рентгеновата дифракция. Съединението кристализира в орторомбична кристална система, с пространствена група  $Fdd2$ . В молекулата на комплекса са координирани два  $\text{AmPO}$  лиганда, като в координацията и двата лиганда участват с трите донорни групи.  $\text{Cu}^{2+}$  в комплекса е с октаедрична координация, като към  $\text{NH}$ -групата се свързва чрез заместване аминния Н-атом и по донорно-акцепторен механизъм - към фосфиноксидните групи. Подробно интерпретиран бе ИЧ-спектъра на комплекса в съответствие с резултатите от XRD метода за структурата на монокристалния образец. Структурата на другите три комплекса бе предложена на основата на техните спектрални характеристики и данни от елементарен анализ. Намерени бяха условия, при които бе изолиран и комплекс от групата на координационните полимери, като мостовата връзка се осъществява с през двете странични фосфиноксидни групи. Установено бе, че във всички изучавани комплекси, в координацията участват фосфиноксидните донорни групи, въпреки, че  $\text{Cu}^{2+}$  по природа предпочита координация към N-донорни атоми. Считаме, че намалената електронна плътност около N-атом в молекулата на лиганда е следствие от електрон-акцепторните свойства на фосфиноксидната група. В резултат, двата вида донорни групи се характеризират с еднакво предпочитание към  $\text{Cu}(\text{II})$ -йоните. Структурата на комплексите допълнително се стабилизира за сметка на образуваните хелатни пръстени в моноядрени и полиядрени съединения.

### **2.3. Теоретично и експериментално изследване върху координационната способност на третични фосфиноксиди**

(публикация 8)

Теоретичен подход към изучаване на координационна способност бе приложен към 1,4-бис-(диметилфосфинилметиленокси)бензен. Първоначално структурата на съединението бе изучена с XRD метода. Молекулата му е съставена от бензеново ядро към което са свързани два еднакви фосфиноксидни заместителя в *para*-положение, през етерни мостове. Установено бе, че съединението кристализира в триклинна кристална система с пространствена група P-1. В кристалографската клетка са включени две симетрично нееквивалентни молекули, А и В. Двата етерни О-атома, разположени в *para*-положение са в равнината на бензеновото ядро. Молекулите А и В са разположени така, че да се сведе до минимум стеричното пречене на метиловите групи. В молекулата си, съединението притежава два вида донорни функционални групи – това са етерните О-атоми и фосфиноксидните О-атоми. Макар че предпочетената координация е през Р=О-групите, дължините на връзките на Р=О във фосфиноксидния фрагмент показват, че двойната връзка е сравнително локализирана и може да се очаква, че Р=О-групите ще проявяват сравнително слаба координационна способност. За оценка на разпределението на електронната плътност и координационната способност на съединението бе приложен теоретичен подход. След геометрична оптимизация и конформационен анализ (в газова фаза и с използване на координатите от Z-матрицата от XRD-анализа) бе определен и най-стабилният и най-реактивоспособният конформер. В тази работа, за първи път е предложен теоретичен подход за оценката на координационна способност. Подходът се основава на анализ на локализацията на неподделените електронни двойки от LP орбиталите на етерните и фосфиноксидните О-атоми. Разглеждат се нековалентните вътрешно молекулни донорно-акцепторни взаимодействия с участие на тези LP орбитали и подходящи по енергия и пространствено разположение антисвързващи орбитали. Величината, която характеризира това взаимодействие е енергията на стабилизация ( $E_2$ ). Стойността на енергията на стабилизация се определя от извън-диагоналните елементи на матрицата на Фок, заселеността на донорната LP орбиталата за съответния донорен атом и зависи обратнопропорционално от разликата в енергиите на съответните акцепторна и донорна орбитали, участващи във взаимодействието. За всяка двойка донорна и акцепторна орбитали енергията на стабилизация е свързана със степента на вътрешно молекулната делокализация. Голяма стойност на  $E_2$  е указание за преразпределение на електронна плътност. Анализът на данните за изучаваната молекула показва, че електронната двойка при етерните О-атоми е делокализирана, докато електронната двойка при О-атом от Р=О е локализирана. Следователно, О-атом от Р=О е по-подходящ за координация. Оказа се, освен това, че двата О-атома от двете Р=О-групи, разположени в *p*-положение са различно реактивоспособни, което е предпоставка за последователно координиране към два отделни метални центрове при конструирането на координационни полимери.

За изследванията по т.2.2. и т. 2.3. Галина Генчева е определила концепцията, предложила подходи при решаване на задачите, активно участвала при интерпретиране на данните и е подготвила ръкописите.

### **3. Структура и свойства на нови метални комплекси, насочени към моделни системи на биологични процеси.**

(публикации 4, 5, 9)

Киселинно-основните свойства на хематопорфирин IX, определени от двете карбоксилни групи на заместителите и пиролните пръстени в макроцикълата, както и природата на металопорфириновите му комплекси са основа за изучаване на взаимодействията с липидни мембрани. Като аналог на важни биологични молекули, интерес представляват комплексобразователните му взаимодействия с есенциални елементи, като мед, желязо и др.

Сложността на биологичните системи прави детайлното изучаване на механизмите на действие трудна задача. Добър подход е като модел на биологичния процес да се изучават структури и механизми на основата на обикновени комплексни съединения. В тази връзка бяха изучени и взаимодействията на Cu(II), Fe(II) и Fe(III) с хематоперфирин IX.

Комплексообразуването на Cu(II) с H<sub>r</sub> във водно основна среда е сложен процес, придружен с редокси взаимодействия. Освен потенциометрично, реакцията е следена и с UV-Vis спектроскопия. Установено беше, че в първия етап на реакцията се получава диамагнитен комплекс. Спектралните промени в UV/Vis спектрите, които са характерни за ивиците от спектъра на H<sub>r</sub> бяха интерпретирани като указание за координация през два съседни пиролни N-атома. Така бе доказано, че в разтвор комплексообразуването протича с редукция на Cu(II) и получаване SAT-тип комплекс. Наблюдаваните спектрални промени във втория етап на реакцията (намаление на броя на Q-ивиците от 4 на 2 и батохромно отместване на всички ивици) показваха, че крайният продукт е металопорфиринов комплекс, който е ЕПР неактивен. Затова и приехме, че в разтвор се е получил металопорфиринов комплекс на Cu(I) (аналогично на комплексообразователната реакция Au(III) с H<sub>r</sub>). Комплексът бе изолиран от реакционната система чрез утаяване с HNO<sub>3</sub> като парамагнитен комплекс на Cu(II), със състав [Cu(II)(H<sub>r</sub>-<sub>2H</sub>)]·2H<sub>2</sub>O. ЕПР спектърът на съединението еднозначно доказва, че в твърда фаза е изолиран металопорфиринов комплекс на Cu(II). Принципните стойности на g-тензора, определени от експерименталния спектър са g<sub>I</sub>=2.155 и g<sub>II</sub>=2.325. СФС от ядрата на <sup>63,65</sup>Cu (I=3/2) съответства на тензор с аксиална симетрия и принципни стойности: A<sub>I</sub>(Cu)=30.2x10<sup>-4</sup>.cm<sup>-1</sup> и A<sub>II</sub>(Cu)=213.8x10<sup>-4</sup>.cm<sup>-1</sup>. В перпендикулярната и в успоредната компонента на сигнала бе наблюдавана и ССФС от <sup>14</sup>N със стойности на константите A<sub>I</sub>(N)=15.1x10<sup>-4</sup>.cm<sup>-1</sup> и A<sub>II</sub>(N)=16.3x10<sup>-4</sup>.cm<sup>-1</sup>. Моделът на симулация бе изграден на допускането, че Cu(II) (d<sup>9</sup>-електронна конфигурация) с координация на деформиран октаедър (удължен по z-оста) е свързан към 4 N-ядра в порфириновия макроцикъл. Симулационната процедура бе изпълнена с вариране на параметрите, определени от експерименталния спектър. Отличното съвпадение на експериментален и симулиран спектър доказва предложената структура на комплекса. Трябва да се подчертае, че вече изолиран комплекса [Cu(II)(H<sub>r</sub>-<sub>2H</sub>)]·2H<sub>2</sub>O в твърда фаза, при разтваряне отново във водно-основна среда запазва структурата и парамагнитния характер на съединение на Cu(II). За характеризиране на структурата в твърда фаза и разтвор бяха приложени методите от ИЧ- и UV/Vis спектроскопии.

Важни резултати бяха получени и от изследване на комплексообразователните взаимодействия на Fe(II) и Fe(III) с хематоперфирин IX, предвид подобие то му с протопорфирин. Взаимодействията бяха изучавани, освен във водно-основна среда, и среда на оцетна киселина-вода и ледена оцетна киселина. Във всички изучавани системи, процесите на комплексообразуване бяха конкурирани с процеси на хидролиза, характерни за водните разтвори на Fe(II) и Fe(III). Комплексите, които се получават са от SAT-тип. Комплекси с координация към четирите пиролни N-атома се получават само ако реакцията протича в ледена оцетна киселина или ако комплексите са изолирани с добавяне на ледена оцетна киселина. В присъствие на следи от вода симетричната металопорфиринов-тип координация преминава в SAT-тип. Особено значими са резултатите от това изследване, заради характеризиране поведението на комплексите в разтвор (трифлуороцетна киселина) с метода на <sup>1</sup>ЯМР. Сигналите в <sup>1</sup>H-ЯМР спектър на свободния лиганд бяха отнесени с помощта на двумерна <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY диаграма. Комплекси на Fe(III) и високоспиновите комплекси на Fe(II) се характеризират с магнитно поведение и това ги прави трудни за изучаване с метода на ЯМР. Включването на запълнените d-орбитали от металните центрове в общата молекулна диаграма на порфириновата система води до преразпределение на σ- и π-електронната плътност и заедно с нарастване на спин-орбиталното взаимодействие, намалява ефективните магнитни свойства. Това даде възможност да бъде характеризирана структурата на новите комплекси в разтвор с метода на <sup>1</sup>H-ЯМР.

Събраната информация за спектралните характеристики, получени с методите на ИЧ-, ЕПР- UV/Vis спектроскопии за твърда фаза и разтвор на сериите от стабилни комплекси на Нр с метални йони на преходните метали Pt, Pd, Au и Cu бе анализирана и обобщена. Изведени са основни закономерности във връзка с координацията на Нр-лиганд и структурата на комплексите. Описани са характерните специфики в ИЧ-, UV/Vis и ЕПР спектрите при различните координации на лиганда.

В изследванията по т. 3., Галина Генчева е определила концепцията, предложила подходи при решаване на задачите, активно участвала при интерпретиране на данните и е подготвила ръкописите.

## **II. Приложение методите на вибрационната спектроскопия и рентгеновата дифракция в изучаване на физикохимичните свойства на нови материали и природни продукти, и определяне на кристална структура**

### ***1. Възможности и приложения на методите на вибрационната спектроскопия при изучаване на графенови материали.*** *(Публикации 19, 18).*

В анализа на графеновите материали, важно място заемат методите на вибрационната спектроскопия. Рамановата спектроскопия е много удобен метод за характеризиране на графеновите структури, по отношение на подреденост, брой слоеве, дефекти в слоевете, а ИЧ-спектроскопията е подходящ метод за характеризиране на включвания и замествания в графеновата структура, като например материали като графенов оксид (GO).

През последните години в областта на търсене на по-добри подходи за лечение на рак, особено място в изследванията се обръща на наноматериалите. В изследванията в тези публикации са представени резултатите за ефекта на наночастици (nGO), моделирани на основата на ПЕГилиран (РЕГилиран) нанографенов оксид (nGO-PEG) при третиране на различни ракови клетки. За охарактеризиране на физикохимичните свойства на графеновите материали са използвани различни инструментални методи. Редукцията и функционализирането на nGO с метоксиполи(етиленгликол)амин (mPEG-NH<sub>2</sub>) бяха изследвани с помощта на Инфрачервена (FTIR) и Раманова спектроскопии. FTIR спектроскопията даде надеждни резултати и за двата вида GO- материали. ИЧ-спектралният анализ е подходящ за характеризиране на кислород-съдържащите функционални групи, които се намират на повърхността на nGO. Освен това, получените спектрални данни могат да бъдат използвани и за потвърждаване на процеса на ПЕГилиране в суспензията от наночастици - nGO. FTIR спектрите бяха интерпретирани, отчитайки присъствието О-съдържащите функционални групи, като хидроксидни, етерни/епоксидни групи при които С-атом е в sp<sup>3</sup> хибридизация и карбонилни и карбоксилни функционални групи с С-атом в sp<sup>2</sup> хибридизация. С данните от FTIR спектъра на nGO-PEG бе доказано и понижено C=C спрежение в структурата на nGO-PEG-NH<sub>2</sub>. Освен това, сравнителния анализ на ИЧ- спектрите на nGO, PEG и nGO-PEG, показва ковалентно свързване на PEG-NH<sub>2</sub> молекулите на повърхността на nGO с ивици от спектъра, които бяха отнесени към образуване на amidна връзка (-CO-NH-). Отнесени бяха и ивици, свързани с NH<sub>2</sub>-функционални групи, което допълнително доказа повишаването на съдържанието на азот-съдържащите групи в nGO-PEG пробите.

Анализът на Рамановите спектрите на nGO и nGO-PEG потвърди възстановяването на ароматната структура на РЕГилиран nGO. Местата, формата и интензитетите на линиите в Рамановите спектрите дават информация за структурите и електронните свойства на графеновите материали. В Рамановите спектрите на изучаваните материали nGO и nGO-PEG, се появиха пиковете D, D' и D + G. Пиковете D и D + G принадлежат на забранените преходи и

доказват наличието на дефекти, които са характерни за материалите на базата на графенов оксид. Модът G се дължи на вибрационно трептене в равнината на хибриднизирания C-sp<sup>2</sup> и показва не само наличието на въглерод в ароматните пръстени на графеновата структура, но и наличие на C-атом в sp<sup>2</sup> - хибридизация, като >C=O групата. В спектрите на nGO, пикът 2D не беше добре разрешен. Неговото допълнително уширяване показва, че GO е доминиран от висока степен на неподреденост в структурата. Интензивната и сравнително широка D ивица и съотношението в интензитетите I(D)/I(G) потвърждава нарушаването на графеновата решетката, както и наличието на голямото количество C-атоми в sp<sup>3</sup> хибридизация. Въпреки това, наличието на интензивен G пик както в спектъра на nGO, така и на nGO-PEG показва, че хексагоналните ароматни пръстени на графеновите нанолитове не са разрушени. Съотношението в интензитетите I(D)/I(G) (0.927) в спектъра на nGO-PEG в сравнение със спектъра на nGO (0.947) предполага, че по време на синтез на nGO-PEG, ароматните графенови структури са възстановени чрез поправка на дефектите. В спектъра на nGO-PEG бе наблюдавано хипсохромно отместване на 2D ивицата и батохромно отместване на D-ивицата. Този резултат заедно с появата на D' ивицата, доказва увеличаването съдържание на заместени с N, въглеродни атоми в пробата.

В публикации 18, 19, Приносът на Галина Генчева е в интерпретация на ИЧ- и Рамановите спектри, обобщаване и описване на данните за тях и регистриране на ИЧ-спектрите.

### **2. Изследвания върху физикохимични свойства на билки**

Изследването е насочено към изясняване на способността два биоматериала *Mentha spicata* L. (MS) и *Ruta graveolens* L. (RG) от групата на етерично-маслените растения да задържат Cu<sup>2+</sup> йони от водни разтвори. Пробите от биоматериалите преди и след обработка с разтвори, съдържащи Cu<sup>2+</sup> са характеризирани с помощта на FTIR спектроскопия. Растителните материали най-общо се състоят от целулоза, хемицелулоза и лигнин. Следователно, те съдържат различни функционални групи като хидроксилна, карбонилна, карбоксилна, аминокиселинна и др. FTIR спектроскопията в диапазона 4000–400 cm<sup>-1</sup> е подходящ метод за качествена оценка на функцията на групи от повърхността на изследваните лечебни растения преди и след третиране. FTIR спектрите и на двата материала бяха слабо повлияни след третиране с воден разтвор на Cu<sup>2+</sup>. Следователно може да се заключи, че процесът на комплексообразуване на Cu<sup>2+</sup>- йоните с повърхностните функционални групи не е определящ за задържането на Cu<sup>2+</sup>-йоните на повърхността.

В публикация 17. Галина Генчева е направила и интерпретирала ИЧ- спектрите.

### **3. Структурна характеристика на монокристални образци от вещества.**

(Публикации 7, 13, 14)

Изучавайки реакциите на лигандно заместване в разтвор на горещ диметилсулфоксид (DMSO) на комплекса на Ru(IV) с лиганда 3-мино-2-хлоропиридин (аср), със състав *trans*-[Ru(IV)Cl<sub>4</sub>(аср)<sub>2</sub>]·H<sub>2</sub>O, от реакционната система беше получен нов полиморф на *cis, fac*-RuCl<sub>2</sub>(DMSO-S)<sub>3</sub>(DMSO-O). Съединението кристализира като жълто-оранжеви кристали в моноклинна система, с *P21/c* пространствена група. Координационният полиедър на Ru е деформиран октаедър с координирани два Cl<sup>-</sup> лиганда, разположени в *cis*-положение и четири диметилсулфоксидни лиганда. Три от ДМСО-лиганди са координирани през S-донорен атом във *fac*-конфигурация и четвъртият е координиран през O-атом. Съединението е нов, четвърти полиморф на комплекса.

Публикация 7 е част от научните изследвания на докторант Г. Георгиева. Приносът на Галина Генчева е във формулиране на концепцията и дискусия по данните и изготвяне на ръкописите.



Кристалната структура на 3-метилпиридазиниевия хидрогенкварат бе определена с метода на монокристална рентгенова дифракция. Съединението кристализира в  $P21/c$  моноклинна решетка. Структурата е изградена от слоеве от хидрогенквадратни аниони и 3-метилпиридазиниеви катиони, свързани със здрави водородни  $O-H \cdots O$  и  $N-H \cdots O$  връзки. Новото производно на квадратната киселина е характеризирано в разтвор с UV/Vis-спектроскопия и в твърдо състояние с помощта на FTIR-спектроскопия

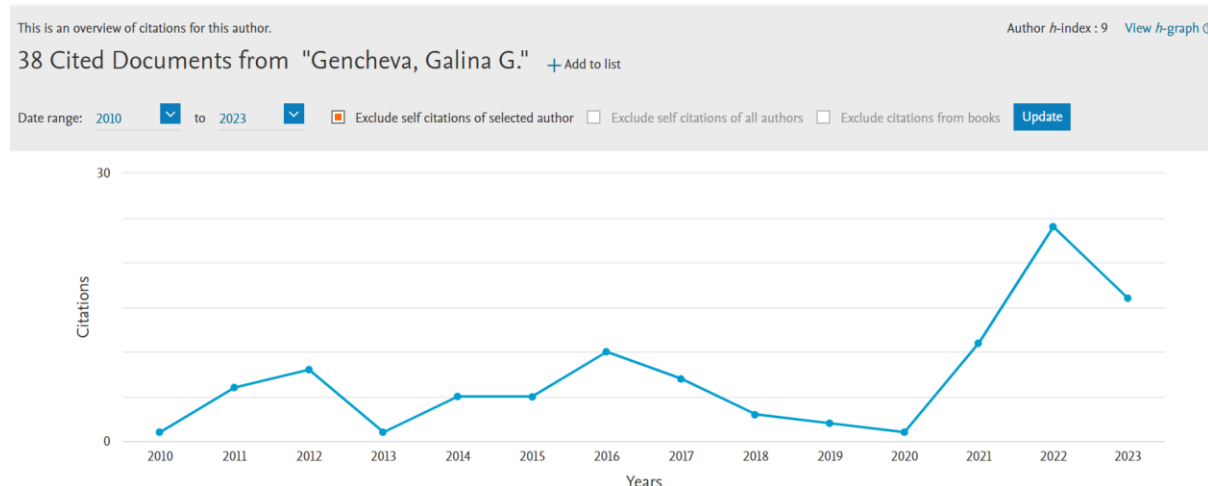
*Публикация 14*, Приносът на Г. Генчева е в определяне на структурни параметри от XRD анализа, участвала в интерпретация на структурни и спектроскопски характеристики.

Съединението 3-(2-(дифенилфосфоротиоил)фенил)-4-оксо-1-фенил-3,4-дихидро-хиназолин-1-иев перхлорат кристализира в центросиметричната триклинна  $P-1$  пространствена група. Кристалната структура се състои от 3-(2-(дифенилфосфоротиоил)-4-дихидро-хиназолин-1-иум) катион, неутрализиран с перхлоратен анион.

В *публикация 13*, Приносът на Галина Генчева е в разшифроване на дифракционната картина, получена с XRD метода, определяне на параметрите на кристалографска решетка и пространствена група на симетрия

III. Patent-Lalia-Kantouri, M., Dodoff, N.I., Gencheva, G., Karadjova, I., Hellenic Patent No 1007317 (2011), Reg. No 20100100327 (2010); Int. Cl: C01G 55/00: Cyclic Method for Preparation of Potassium Tetrachloroplatinate ( $K_2PtCl_4$ ),  
[http://www.obl.gr/obi/Portals/0/ImagesAndFiles/Files/EDBI/2011/A/EDBI\\_A\\_2011\\_06.pdf](http://www.obl.gr/obi/Portals/0/ImagesAndFiles/Files/EDBI/2011/A/EDBI_A_2011_06.pdf)

Патентът описва цикличен метод за получаване на  $K_2PtCl_4$  чрез редукция при меки условия на разтвори на  $K_2PtCl_6$  с  $K_2C_2O_4$ . Отпадните разтвори, след прекристализация на  $K_2PtCl_4$  се окисляват до  $K_2PtCl_6$  ( $HCl$  и  $H_2O_2$ ) и се включват в процеса на редукция.



Справката е подготвена от Галина Генчева:.....