

Авторска справка за приносите на научните трудове на

гл.ас. д-р Боян Руменов Тодоров

във връзка с участие в конкурс за заемане на академичната длъжност „Доцент“
(професионално направление 4.2. Химически науки (Аналитична химия –
Радиохимия)), обявен в ДВ, бр. 103 от 10.12.2021 г.

Кандидатът е съавтор на 23 научни публикации в списания реферирани и индексирани в световните бази данни с научна информация (Web of Science и Scopus; 3 публикации – Q1; 7 публикации – Q2; 6 публикация – Q3; 5 публикации – Q4), 1 в списание без квартал и 1 глава от книга на английски език. В конкурса за доцент, кандидатът участва с 19 научни публикации. Към момента на подаване на документите за участие в конкурса са забелязани 67 цитата (реферирани и индексирани в Scopus), h факторът е 5. Научните резултати са представени в общо 10 устни доклади и постерни съобщения на национални и международни форуми.

Научните приноси, в представените за участие в конкурса публикации, са в областта на радиоекологията, нуклеарната медицина и археометрията. Обстойно е изследвано разпространението на радионуклиди в околната среда, приложението им като визуализиращи агенти и тераностични преапрати. Изследваните радионуклиди имат различен произход (естествени и антропогенни) и притежават разнообразни ядрени свойства, като период на полуразпадане (с дълг живот: семейства на ^{238}U - 4.468×10^9 г. и ^{234}Th - 1.4×10^{10} г., ^{241}Am - 450 г.; среден живот: ^{60}Co - 5.3 г. и ^{137}Cs - 30.17 г.; кратък живот: ^{125}I - 60 часа и ^{18}F - 109.77 мин.) и вид йонизиращо лъчение (алфа, бета, гама и позитронно).

Основните приноси могат да бъдат обобщени в следните научни направления:

1. Развитие и приложение на аналитични и радиохимични методи за специационен анализ на проби от околната среда (растения и почви) и храни използвани във високоефективна течна хроматография (HPLC) и ядрени методи за анализ (ICP-MS, Gamma spectrometry) (1a, 2a, 5a, 1b, 3b, 4b, 6b, 7b, 8b, 11b, 13b).
2. Оптимизиране на методи за получаване на потенциални радиофармацевтични препарати с приложение в тераностиката (3a, 4a, 5b, 10b, 12b, 14b).

3. Археомерични изследвания с рентгено-флуоресцентен анализ (2b, 9b).

Номерацията на публикациите, коментирани по-долу следва реда от цялостния списък с научни трудове на кандидата. Авторската справка за приносите на кандидата е базирана само на научните трудове, включени в конкурса за доцент.

1. Развитие и приложение на аналитични и радиохимични методи за специационен анализ на проби от околната среда (растения и почви) и храни използвани във високоефективна течна хроматография (HPLC) и ядрени методи за анализ (ICP-MS, Gamma spectrometry)

Присъствието на радионуклиди в околната среда е неоспорим факт, като през последното столетие освен естествените радионуклиди, в измерими количества се откриват и изкуствено синтезирани от човека. Според съвременните разбирания всеки един радиоактивен източник се третира, като потенциален рисков фактор за околната среда и човека. Голяма част от освободените радионуклиди се отлагат в почвата и седиментите. Тези своеобразни депа са отправната им точка за постъпването им в хранителната верига и достигането им до човека. Разпределението на радионуклидите между почвените фази постепенно достига равновесие и може да се свърже с цикъла на хранителните вещества в растенията. Скоростта, с която се постига равновесие в почвения разтвор зависи от химичната формата на радионуклида и от характеристиките на почвата, като този процес може да отнеме години. Създаването на адекватни радиохимични методи за определянето на радионуклиди в околната среда е приоритетно направление в радиохимията. Анализът на почвени разтвори е подходящ начин за определяне биодостъпното количество на радионуклидите.

Трансурановите елементи се характеризират с това, че са изкуствено създадени от човека (производство на енергия или за военни цели), постъпването им в околната среда е сериозен риск за всяка екосистема поради високата им химична и радио токсичност. Представител на тази група елементи е Америцият, като изотопът му ^{241}Am притежава подходящи ядрени свойства (гама линия) за изследване в проби от околната среда и създаване на радиохимични методи за изучаване поведението на трансуранови елементи в дадена екосистема. В публикация (2a) са приложени последователни схеми за екстракция, където с помощта на екстрагенти с прогресивно нарастващ капацитет на извличане от твърда почвена фаза се обособяват следните

фракции: водоразтворима (свободна или обменна), свързана с карбонати, свързана с Fe-Mn оксиди, свързана с органична материя и остатъчна. Сравнят се четири последователни схеми за извличане, широко използвани или специално разработени за фракциониране на ^{241}Am , в пет типа почви. За да бъдат ефективно сравнени изучаваните схеми бяха извършени промени в екстракционните условия с цел уеднаквяването им, като бе променен начина на извличане (от разклащане към разбъркване) и времето за екстракция (съкратено). Динамиката на фракционирането на ^{241}Am след замърсяване (допълнително внесен) и трансферният му фактор в системата почва-растение бяха изследвани, за да се придобие пълна представа за поведението на ^{241}Am в околната среда. Изследваната динамика на фракциониране на ^{241}Am показва, че първите 25 дни след замърсяването са най-критични за миграцията му между почвените фази, а 100 дни са достатъчни за достигане на равновесието му в почвата. Америцият се концентрира преимуществено в карбонатната фракция, независимо от типа на почвата. Преносът на ^{241}Am в системата почва/растение зависи от концентрацията му във фракцията, съдържаща хуминова и флувинова киселина (лесно окисляема). Схемата за фракциониране на почва на Националния институт за стандарти и технологии (NIST) за последователно извличане ^{241}Am се показва като най-ефективна сред четирите тествани схеми. С помощта на тази процедура е установена зависимост между катионно-обменния капацитет на почвите и общото количество извлечен америций.

Косвеното преразпределение и концентриране на естествените радионуклиди, като уран и торий вследствие на рудодобив, производство на енергия или строителни материали причинява сериозни екологични проблеми. Такъв е случаят с обработваеми селскостопански земи в района на мина Бухово. В публикация (36) бе изследвано разпределението на U и Th в и между почвите и растенията, както и сезонните вариации в мобилността на U, чрез прилагане на процедура за последователна екстракция (SEP). Използваната процедура е вече изследваната и оптимизирана схема на NIST за америций. Установените тотални концентрации на Th и U в изследваните почвени проби са над 50 пъти по-високи от фоновата концентрация за страната. Основното количество уран се съдържа в карбонатната и органичната фракция (около 15% от общото количество), като през пролетта това количество е по-ниско (10 %) отколкото през лятото (19 %). Определеният трансферен коефициент е по-нисък от очаквания за този тип почва, но може да бъде обяснено с ниското количество на

обменните форми на уран и торий. Резултатите показват, че концентрациите на U и Th, определени в глухарче, пшеница и трева, събрани в близост до радиоекотично проблемната зона, са по-високи в сравнение с растителни проби от незамърсен район. Концентрацията на U в листата, стъблата и семената на глухарче от Бухово е съответно 5 пъти, 8 пъти и 15 пъти по-висока в сравнение с глухарчето от екологично чист район. Концентрациите на Th са 9 пъти по-високи в семената, 2 пъти по-високи в стъблата и в същия ред в листата на глухарче от Бухово в сравнение с тези в екологично чист район. Растенията, отглеждани в Бухово, имат повишени концентрации на Th и особено U, вариращи в отделните части на растенията. Резултатите от това изследване могат да послужат за подбор на подходящи култури за отглеждане, които да минимизират последващо разпространение на уран и торий в екосистемата.

Разпределението и биодостъпността на радионуклидите в природата са функция от тяхното химическо фракциониране в почвите, което зависи от физикохимичните им форми и от характеристиките на почвата. Установено е, че дългосрочните вариации в условията на околната среда причиняват преразпределение на радионуклидите в различните почвени фракции поради промени в рН, редокс потенциала, разрушаване на органичната материя, излужване и йонообмен. Резките вариации на температурата на околната среда могат да повлияят на количеството и скоростта на адсорбция на радионуклиди в почвените частици. Въпреки това, сложното взаимодействие между радионуклид в определено химично състояние и почва със специфични характеристики е трудно да се предвиди в случаи на резки вариации на климатичните параметри. Изясняването на ефектите от екстремните метеорологични условия, като рязка промяна на температурата, суша и наводнения, върху фракционирането на радионуклидите е особено важно за извършване на адекватна оценка на риска след радиоактивно замърсяване. Влиянието на два от основните климатични параметъра, а именно температурата и влажността на почвата, върху геохимичното фракциониране на радионуклидите в почвата бе проучено в публикации (1а, 6б и 7б). Изследвани са ефектите от рязкото понижаване на температурата на околната среда и почвената суша върху геохимичните форми на ^{241}Am , ^{60}Co и ^{137}Cs в зависимост от характеристиките на почвата (1а и 7б). Конкретно са проследени промените в геохимичното фракциониране на трите радионуклида в неравновесна система (слабо фиксирани към почвата), предизвикана от замръзване и суша, продължаващи от един до пет месеца след навлизането им в два типа почви: черноземна и алувиално-ливадна. Температурните

режими за кондициониране на почвите са подбрани съгласно условията за отглеждане на зърнени култури в умерен климат, а именно едномесечният цикъл, наподобяващ типични зимни условия (ниски 4 °C и много ниски -18 °C температури) и петмесечния цикъл, наподобяващ прехода между пролетта и лятото (20 °C през деня, 14 °C през нощта и 33 °C за сухия период). Геохимичните форми на радионуклидите са определени с помощта на утвърдената процедура за последователно извличане на NIST. От получените резултати могат да се направят следните обобщения: едномесечно съхранение при условия на засушаване значително повишава потенциалната подвижност на америция в почвата тип алувиално-ливадна и предизвиква преразпределение на Am (от карбонатна към оксидна фракция) в почва тип черноземна. Съхранението при замразяване за един месец увеличава имобилизацията на америций в черноземна и има само лек ефект върху фракционирането му във алувиално-ливадна почва. Продължителното съхранение на алувиално-ливадна при условия на суша значително повишава потенциалната бионаличност на Am. Продължителното замразяване също провокира леко повишаване на потенциалната подвижност на америция. Продължителното засушаване и замръзване на почвата тип черноземна водят до значително фиксиране на Am (над 60% от Am се открива в остатъчната фракция) (1а). Резултатите показват висока миграция и потенциална бионаличност на ⁶⁰Со в почвата тип алувиално-ливадна, ако се кондиционира при температури на замръзване или сухи условия за период от 1 до 5 месеца. Спадът на температурата предизвиква преразпределение на ⁶⁰Со между отделните фракции в двете почви и увеличава екстракционните форми на този радионуклид. Двойно повишаване на обменния ¹³⁷Cs се наблюдава и за двата вида почви при замръзване или засушаване, 1 седмица след тяхното замърсяване (7 б). Изясняване влиянието на климатичните условия върху фракционирането на радионуклидите след навлизането им в различни типове почви ще помогне да се идентифицират почвите с потенциално по-висока бионаличност на радиоактивните замърсители, като за придобиване на пълна представа за радиоекOLOGичното състояние на екосистемата е необходимо и определянето на трансферните коефициенти (TF) почва/растение. В публикация (6 б) е проведено изследване, целящо да се получат данни за геохимичните форми на ²⁴¹Am, ⁶⁰Со и ¹³⁷Cs и техните трансферни фактори от почва към трева, когато са предшествани от резки вариации на температурата на околната среда. Изборът на растителен вид е продиктуван от факта че една голяма част изследваните почви се използват за пасища. Данните показват, че симулацията на

повишена температура (летни условия) за един месец преди засаждането води до висока бионаличност. Тази тенденция е ясно изразена и при трите изследвани радионуклида, макар и в различна степен. Най-силен ефект се наблюдава при TF на ^{137}Cs , където се регистрира относително увеличение с повече от 150% в сравнение с TF, получено след симулирано пролетно състояние. Очевидно повишаването на температурата причинява десорбция на ^{137}Cs от глинестите минерали на почвата, като по този начин се увеличават нейните бионалични форми. Това е в съгласие с данните, където относителният процент на обменяемия ^{137}Cs е 1,65 пъти по-висок след съхранение при летни условия в сравнение с пролетни условия. По-малки относителни увеличения на стойностите на TF са определени за ^{241}Am – 30% и ^{60}Co – 20%. Позовавайки се на данните за геохимичното фракциониране на ^{241}Am , а именно, че повишаването на температурата води до почти двукратно относително съдържание на неговите водоразтворими и обменни форми, наблюдаваният ефект върху TF следва регистрираната тенденция. Данните за геохимично фракциониране на ^{60}Co не наподобяват пряко получените стойности на TF. Съгласно резултатите се очаква миграционната способност на този радионуклид да бъде по-ниска при висока температура, оценена от водоразтворимата, обменяема и свързаната с карбонат фракция. Въпреки това, определеното 20% увеличение на биоаккумуляцията след симулирани летни условия съответства на 27% увеличение на органичната материя и сулфидно-свързаната фракция на ^{60}Co . Този вид проучвания върху ефектите от рязката промяна на температурата върху биоаккумуляцията на радионуклиди за различни типове почви допринасят за по-добра оценка на риска от пренасянето на радиотоксични елементи в хранителната верига.

Отлагането на трансуранови елементи в днешно време може да се счита за незначително, но поради високият рисков фактор (продиктуван от дългите им периоди на полуразпадане и корпускулярното им лъчение), поведението им в околната среда заслужава внимание, особено в естествените водни системи. Средните концентрации на Am в световните морски и океански акватории варират от 1 до $12 \mu\text{BqL}^{-1}$. Тези стойности са много ниски, за да предизвикат обществено безпокойство, но проучванията за усвояването и биоаккумуляцията на Am в морските продукти разкриват, че коефициентите на концентрация (радиоактивност на килограм тегло на организма, спрямо радиоактивност на литър вода) варират от 67 до 670. Това е индикация, че биоаккумуляцията на Am може да е много висока и заслужава внимание,

като най-подходящ индикатор за определяне количеството на биологично достъпната му химична форма. Америцият може да съществува в много различни степени на окисление, главно 3^+ , но също така 4^+ , 5^+ , 6^+ . Бионаличната форма е Am^{3+} , която обикновено е доминираща при стойности на рН до 6,5. При тези условия той може да съществува и като други положително заредени йони: $Am(CO_3)_x^{3-2x}$ и $Am(OH)_x^{3-x}$, $AmSO_4^+$, $AmNO_3^{2+}$, $AmCl_2^+$. Поради изключително ниската концентрация, директното определяне на бионаличния америций в естествена вода с познатите радиоаналитични методи е невъзможно. Подходящ подход за решаване на този проблем е използването на специфичен реагент, способен селективно да се свърже с химичната форма на Am^{3+} . В публикация (1 б) изследвахме условията за образуване на комплекс на америций с такъв тип реагент, а именно флуоринирани бета дикетони или по точно трис-[4,4,4-трифлоро-1-(4-пиридил)-1,3-бутандион]. Опитно установени бяха влиянието на рН и наличието на нитратни аниони върху образуването на америциевия комплекс, при оптималното рН между 5 и 7, много близко до това на природните води. От получените резултати става ясно, че изолирането на подобен комплекс ще позволи определянето на биодостъпната форма на америций (Am^{3+}). В публикация (4 б) са създадени няколко нови екстракционни процедури, използващи утвърдените от нас флуорирани β -дикетони, за извличане на Am^{3+} от водни разтвори при киселинност близо до неутрална. Изследвани са експерименталните условия, а именно време на екстракция, повторения и различни фазови съотношения. При създаване на процедурата е обърнато внимание да бъде запазена естествената химична форма на америция във водната проба. Поради тази причина процедурата съдържа два етапа. Етап 1 - лигандът се въвежда директно във водната проба под формата на силно концентриран разтвор в подходящ органичен разтворител (диетилов етер). Този етап се осъществява още по време на пробовземането. Етап 2 - извършва се екстракция на америциев (III) комплекс от водния разтвор с чист органичен разтворител с ниска разтворимост във вода (дихлорометан). По този начин е разработен метод за определяне на бионаличния америций в естествена вода (сладка и солена), включително процедура за вземане на проби, позволяваща дългосрочно запазване на Am в оригиналната му форма.

Количествата на ^{241}Am и други антропогенни радионуклиди в повърхностните води са с един до два порядъка по-ниски от тези на естествените радионуклиди, следователно методите за тяхното определяне изискват етап на концентриране, което може да бъде постигнато чрез използване на техники като: изпаряване на вода,

съвместно утаяване, екстракция с разтворител и други. Тези конвенционални методи притежават някои недостатъци: те са многоетапни, енергоемки и времеемки, изискват агресивни реагенти, вредни органични разтворители или специфични екстрагенти. За преодоляване на тези проблеми е въведено използването на йонни течности (IL), както като добавки, така и като хидрофобна фаза за извличане на радионуклиди от водни източници. Прието е, че IL могат да преодолеят негативните ефекти, свързани с често използваните опасни помощни средства. IL са атрактивни при извличане при системи течност-течност, поради тяхното незначително парно налягане, добра термична и химическа стабилност, а също и регулируема плътност, вискозитет, полярност и други. Приложението на IL в радиохимичните анализи е фокусирано основно около извличането на различни радионуклиди от високо активни радиоактивни отпадъци. Липсват данни за определяне на ^{241}Am в проби от околната среда. Поради тази причина в публикация (5 а) бе изследвана способността на йонната течност 1-метил-3-октилимидазолиев захаринат $\{[\text{C8C1im}]\text{Sac}\}$ за концентриране на ^{241}Am от водни разтвори. За по-добро разбиране на ефекта на други елементи, присъстващи в пробите от околната среда, върху извличането на ^{241}Am бяха изследвани и два допълнителни изотопа, представители на s- и d-елементите – ^{137}Cs и ^{60}Co . В това изследване бе извършен теоретичен анализ за определяне на химичните форми на анализиранияте радионуклиди, чрез софтуер на база данни за хидро-химическо равновесие (HYDRA), предоставен от Кралския технологичен институт (КТН), Стокхолм, Швеция. Получените теоритични резултати потвърдиха, че трите радионуклида имат различно поведение при едни и същи експериментални условия, което подкрепя идеята, че съществуването на различни химични форми може да доведе до различни видове взаимодействия с фазата на IL. Изчерпателно беше изследвано влиянието на фактори като съотношение IL/водна проба, рН и наличие на комплексообразуващи агенти, върху разпределението на тези радионуклиди. Получените резултати показаха възможността за контролируем и селективен трансфер между IL и водната фаза и доведоха до разработването на проста процедура за екстракция и концентриране на ^{241}Am , като той е успешно извлечен от водната фаза с добив от $89,35 \pm 3,42 \%$ и са постигнати коефициенти на разделяне 297.83 ± 0.51 и 446.75 ± 0.38 , за съответните двойки $^{241}\text{Am}/^{137}\text{Cs}$ и $^{241}\text{Am}/^{60}\text{Co}$. Разработеният метод се оказва успешен при мониторинга на този радионуклид в проби от питейна вода, като позволява многократно използване на йонната течност (регенериране).

Имайки в предвид различната биологична активност и функционалност на различните физикохимични форми на метали, техните общи концентрации не са достатъчни, за да осигурят надеждна информация за прогнозиране на тяхната наличност, достъпност и токсичност. За да се оцени потенциалният риск от интоксикация с металите, включени в храната е от съществено значение да се идентифицира и определи фракцията, която е несвързана и подвижна, следователно биодостъпна. Спецификационният анализ на металите в храните в днешно време е фундаментално важен въпрос, който може да бъде решен, чрез прилагане на различни техники за екстракция. В публикация (11-б) е разработена обобщена екстракционна процедура за анализ на фракционирането на Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb и Zn с органични разтворители в годни за консумация плодове с помощта на ICP-MS, с цел, да се разбере тяхното отлагане в различни растителни фракции и тяхната бионаличност. Приложената процедура за последователна екстракция включва следните фракции: водоразтворима (дейонизирана вода), полифенолна (75% етанол), лигнинова (75 % ацетон), абсорбираща се съответно в стомаха и червата (0.1M HCl и пепсин), мастно разтворима (октанол). Резултатите от екстракционните процедури, приложени към два сорта ябълки, показват, че изследваните елементи присъстват основно във водоразтворимата фракция. Концентрациите на Cu и Cr са по-високи във фракциите на полифенола и лигнина в сравнение с останалите елементи. Според резултатите от тестовете за биодостъпност, над 65% от Pb и Ni не се абсорбират в стомашно-чревния тракт. Zn и Cu се абсорбират главно в стомаха, а Cr и Cd – в червата. Най-висока биодостъпност (около 70%) е установена за Cu, Zn и Cd, като последният, поради силната си токсичност заслужава специално внимание, особено в замърсени райони.

Елементният анализ на почвата е една от ключовите аналитични задачи в екологичните, селскостопанските, геоложките, археологическите и криминалистичните изследвания. Количественото определяне на метали в почвите често се извършва след киселинно разграждане, например със смес от HF и HClO₄, което отнема много време с риск от замърсяване на пробата и загуба на летливи елементи. Приложението на лазерна аблация с индуктивно свързана плазма (LA-ICP-MS) позволява извършването на елементен анализ в почви без да е необходимо разтваряне на изследваната проба. Въпреки това, когато LA-ICP-MS се използва за количествен анализ на почви, много фактори могат да повлияят на точността на резултатите. Най-сериозното ограничение е

липсата на твърд референтен материал с подходяща геометрия, необходим за количествено калибриране и контрол на качеството. В публикация (8 б) са представени три различни процедури за подготовка на почвени пелети от прахообразни CRM (IAEA-SOIL-5, IAEA-SOIL-7, IAEA-SL-1, IAEA-SL-3 и STSD-3). Пелетите бяха използвани за калибриране на инструмента и анализирани чрез LA-ICP-MS. За да се направят пелетите здрави, често се използва свързващ материал. Поради това е много трудно да се осигури хомогенност на пробата за анализ, както и на съответстващите стандарти. За преодоляване на това затруднение бе разработена процедура за приготвяне на пелети с последователно са използване на два органични разтворителя (хексан и дихлорметан). Те значително подобряват хомогенността на пробата. Добрата точност и прецизност, получени при анализа на получените пелети, са индикатор за хомогенността, гладкостта и еднаквата им плътност. Органичните разтворители спомагат за получаването на хомогенна суспензия, която дори след изпаряване позволява лесно сцепление на почвените частици. Друго предимство на този подход е стабилността и твърдостта на пелетите, без използване на свързващо вещество, което може да замърси и разрежда пробата. Резултатите демонстрират пригодността на LA-ICP-MS за елементарен анализ в почвени проби, чрез прилагане на ново създадения подход за пробоподготовка.

Остатъците от пестициди достигат до водното тяло, чрез директен отток, излужване, измиване на оборудване и т.н. Здравето на водните организми и хората може да бъде застрашено от остатъци от пестициди в повърхностните води над определени граници. Няколко фактора като: характеристики на почвата, топография, време, земеделски практики, химични и екологични свойства, могат да повлияят на трансфера на пестициди от земеделски полета до повърхностни води. Поради тази причина е необходимо присъствието им във природните води да бъде следено постоянно. В публикация (13 б) е разработен бърз и надежден метод за определяне на имидаклоприд, циперметрин и хлорифос етил във водни проби посредством високо ефективна течна хроматография (HPLC), като е включена допълнителна стъпка за прекоцентрирането им посредством екстракция с дихлорометан. Методът е точен в широк динамичен диапазон с добив $98,6 \pm 1,4$ %. Подвижната фаза, състояща се от метанол и вода, осигурява кратко време за анализ с добро разделяне на анализите.

Изследванията в това направление доведоха до следните обобщения:

- *Утвърдена и адаптирана е най-подходящата процедура (NIST) за фракциониране на радионуклиди (естествени и антропогенни) в почвени типове характерни за територията на България.*
- *Установен е периода за преразпределение на Am, Cs и Co между почвените фази.*
- *Изследвано е влиянието на климатични промени, чрез симулацията им върху фракционирането на Am, Cs, Co, Th и U за различни почвени видове.*
- *Определена е доминантната почвена фаза за Am, Cs, Co, Th и U и връзката и с установените трансферни фактори за изучаваните радионуклиди.*
- *Разработени са радиохимични процедури с иновативни методи за прбподготовка (β -дикетони и йонни течности), които гарантират извличането на най-подвижната (биодостъпна) фракция на Am в природни води.*

Използвана литература:

1a. “Effects of freezing and soil drought on the geochemical fractionation of americium in Fluvisol and Cambisol soils from Bulgaria” Kovacheva P, Yovkova D, **Todorov B**, Djingova R. Central European Geology. **2013** Mar 1;56(1):1-2. DOI: <https://doi.org/10.1556/ceugeol.56.2013.1.1>

2a. “Fractionation and soil-plant transfer of ^{241}Am in different soil types” **Todorov B**, Djingova R. Pedosphere. **2015** Apr 1;25(2):212-9. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)60006-6](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)60006-6)

5a. “Recovery of radionuclides with ionic liquids. I. Selective extraction of ^{241}Am ” Belovezhdova I, **Todorov B**, Bogdanov MG. Separation and Purification Technology. **2021** May 1;262:118303. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118303>

1b. “A method for extraction of bioavailable americium based on new complex of americium-241 with a fluorinated tris- β -diketone” **Todorov B**, Vasilev A, Deligeorgiev T, Djingova R, Asian Chem. Letters, **2010** 14,(3):25-32.

3b. “Determination of uranium and thorium in soils and plants by ICP-MS. Case study of Buhovo region” Mihaylova V, **Todorov B**, Djingova R. Comptes rendus de l’Académie bulgare des Sciences. **2013** Jan 1;66(4).

4b. “On the determination of Am³⁺ in natural water based on extraction of ²⁴¹Am complexes with fluorinated tris-β diketone”**Todorov B**, Vasilev A, Tosheva Z, Deligeorgiev T, Djingova R. Comptes rendus de l’Académie bulgare des Sciences. **2013** Jan 1;66(5).

6b. “Geochemical fractionation and bioavailability of ²⁴¹Am, ⁶⁰Co and ¹³⁷Cs in Fluvisol soil after sharp temperature variation before the growing season”Kovacheva P, Todorov B, Djingova R. Central European Geology. 2014 Jun 1;57(2):153-63. DOI: <https://doi.org/10.1556/ceugeol.57.2014.2.3>

7b. “Influence of temperature decrease and soil drought on the geochemical fractionation of ⁶⁰Co and ¹³⁷Cs in fluvisol and cambisol soils”Kovacheva P, Slaveikova M, **Todorov B**, Djingova R. Applied geochemistry. **2014** Nov 1; 50:74-81. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2014.08.010>

8b. “Application of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry for soil analysis: a novel procedure for sample preparation” Lyubomirova V, **Todorov B**, Djingova R. Comptes rendus de l’Académie bulgare des Sciences. **2016** Jan 1;69(3)

11b. “Fractionation analysis of potentially toxic elements in apples for evaluation of their availability to humans” Mihaylova V, Lyubomirova V, **Todorov B**, Djingova R. Bulgarian Journal of Agricultural Science. **2020**;26(4):853-62.

13b. “Determination of imidacloprid, cypermethrin and chlorpyrifos ethyl in water samples using high-performance liquid chromatography” Mihaylova VV, **Todorov BR**, Lyubomirova VV, Djingova RG. Bulgarian Chemical Communications.**2021**;14:55. DOI: 10.34049/bcc.53.1.5297

2. Оптимизиране на методи за получаване на потенциални радиофармацевтични препарати с приложение в тераностиката

Разработването на съвременните фармацевтични препарати е сложен комплексен процес изискващ задълбочено познаване на заболяването (молекулно ниво), което гарантира най-ефективно забавяне или спране на нежеланият процес. Най-адекватните резултати за подобен тип изследвания се получават в реални (ин-виво) условия, като използването на радионуклиди за проследяване на разпределението на радиомаркирани молекули с поща на позитронно-емисионна томография (PET) и компютърна

томография с единична фотонна емисия (SPECT) е широко прилагана радиохимична методология за предклинични приложения. В публикация (5 б) са използвани възможностите на радионуклидното визуализиране за ин-виво изследване на поли-олигопептаза (POP), като тази ендопептидаза хидролизира L-пролиновите пептидни връзки от страната на карбоксилната киселина на L-пролиновия остатък в пептиди, състоящи се от максимум 30 аминокиселини. За целта бяха създадени две нови бифункционални съединения, които се свързват специфично с POP и изотопите на йод (^{123}I -радиомакирани 4-фенилбутаноил-L-пролил-пирролидини). Използваната стратегия за радиовизуализиране включва предварителен радиохимичен синтез на бифункционалното съединение и последващо маркиране на POP. Радиохимичния синтез сам по себе си е предизвикателство, изискващо адаптирането на вече разработен органичен синтез към радиохимичните условия, а именно провеждане на реакцията в микро концентрации и обеми, ограничено време (кратък период на полуразпадане), допълнителна стъпка за пречистване (постигане на висока специфична активност) и извършване на реакцията в автоматизиран модул (висока активност). В това проучване ние успешно синтезирахме два SPECT радиоиндикатора (бифункционални съединения) с високи радиохимични добиви и чистота и направихме първата биологична оценка на радиобелязан POP инхибитор. Потвърдихме потенциалът на POP ензима като възможен биомаркер за фармацевтични цели.

Броят на клиниките в България, разполагащи с циклотрони и скенери за позитронно емисионна томография (PET), нарастна значително през последните няколко години. Радиофармацевтика с най-голяма клинична употреба (90-95%) в PET диагностиката е ^{18}F -флуордезоксиглюкоза (^{18}F -FDG), която е аналог на глюкозата и следва частично метаболитния път на естествената глюкоза, като по този начин се задържа в клетките и се натрупва предимно в раковите клетки заради ускорения им метаболизъм в сравнение с нормалните (здрави) клетки. ^{18}F -FDG обикновено се синтезира чрез нуклеофилно заместване с ^{18}F флуорид, получен чрез протонно облъчване на обогатена с ^{18}O вода по следната ядрена реакция $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$, като споменатата реакция протича едва с няколко процента от използваната вода. След приключване на синтеза, водата обогатена на ^{18}O , се третира като отпаден продукт, поради отделилите се в нея различни активационни продукти и органични съединения. Ниското естествено съдържание на изотоп ^{18}O (0,2%) в природна вода, енергийно екстензивните процеси на дестилация и трудните производствени процеси правят този изходен материал скъп,

като общоприета практика е тази вода да се рециклира и използва отново. В публикация (4 а) е разработена радиохимична процедура за рециклиране на обогатена с ^{18}O вода, която е комбинация от прости химични техники, комерсиално достъпно лабораторно оборудване и реагенти, минимално дозово натоварване на персонала с приложение в болнични радиохимични лаборатории, производствени и научно изследователски циклотронни. Пречистването на обогатената вода получена от синтезния модул след извличането на ^{18}F , се извършва в три етапа: 1) съутаяване – за концентриране и изолиране на радиоактивните елементи се използва комбинация от железни хидроксида (Fe^{2+} и Fe^{3+}); 2) кристализация – включване на обогатената вода в кристалната решетка на Na_2SO_4 , където се фиксират неорганичните примеси а летливите органични разтворители се изпаряват с вакуум; 3) дестилация – освобождаване на рециклираната обогатената на ^{18}O вода от кристалната решетка.

Предизвикателство пред съвременната медицина е създаването на лекарствени препарати за пациентно профилирано комбинирано лечение: лечение и ранна диагностика на ракови заболявания (тераностика). Радиотераностици са препарати, съчетаващи в себе си свойствата на диагностичен и терапевтичен препарат. Съединенията от този тип съдържат в себе си различни функционално активни части: биоактивна част (вектор), фармакокинетична част (метаболизъм), фармакологична част (терапевтик), визуализираща част (радиоизотопи). Изборът на подходящ радионуклид за радиотераностика е критичен и изисква следните свойства: подходящ полуживот (близък до времето на пребиваване на радиофармацевтика в организма); съществуване на различни схеми на разпад или изотопни двойки, които са подходящи както за изображения, така и за терапия; липса на високоенергийни гама емисии (за ограничаване дозовото натоварване на персонала); подходяща радиохимия, позволяваща меки химични условия на радиомаркирането и висока стабилност *in vivo*; и наличие на изотопи (подходящи за производство и приемлива разходната ефективност). Всички тези изисквания правят металните радиоизотопи все по-популярни за тераностични приложения сред наличните радионуклиди. Това е причината за създаването на обзорната публикация (3 а), в която е направена научна справка върху свойствата и начина на приложение на пет от радиоизотопите на медта с медицинско приложение. Обстойно внимание е обърнато на производството и ядрените свойства на медните изотопи ^{60}Cu , ^{61}Cu , ^{62}Cu , ^{64}Cu и ^{67}Cu , синтеза, биологичните изследвания на радиофармацевтични препарати, дизайна и развитието на

различни хетероциклени хелатори и наноматериали с потенциално приложение в диагностиката и лечението на ракови заболявания. Създаването и използването на такива мултифункционални съединения е ключът за ранното диагностициране (превенция) и ефективно повлияване (лечение) на голям брой онкологични заболявания и стъпка към персонализиране на лечението (молекулярно ниво), като събраната информация подчертава ролята на ^{64}Cu за тераностични радиофармацевтични препарати.

Получаването на многофункционални молекули с приложение в нуклеарната медицина е предизвикателство пред химичните изследвания, допълнително усложнено от факта, че те се внасят в човешкия организъм. Това изисква свързването на отделните функционални групи да бъде бързо, селективно и при меки химични условия (физиологична среда, неутрално рН), а крайният продукт да е метаболитно стабилен и нетоксичен. Съвременните тенденции за създаването на подобни молекули е използването на стерео специфични химични реакции, така наречените „клик“ реакции. Клик реакциите представляват взаимодействие между двойки функционални групи, които бързо и селективно реагират една с друга във водна среда, при стайна температура и при изключително ниски концентрации на реагентите. Най-обещаващата клик реакция до момента е между тетразин-съдържаща молекула (Tz) и транс циклооктен-съдържаща молекула (TCO), продуктът на реакцията е стабилно дихидропиразиново съединение. Посредством тази реакция се осъществява нетоксично и селективно маркиране на биомолекули с безпрецедентна скорост. Установено е, че използването на TCO като прекурсор дава огромна разлика в скоростта в сравнение с цис-циклооктена, но за съжаление, синтезът на транс изомера на производните на циклооктена не е лесен и обикновено протича с ниски добиви. В публикация (12 б) е разработена процедура за фотохимично превръщане на цис производни на TCO в транс изомерите им. За целта предварително е разработен теоретичен модел основан на различната стабилност на сребърните комплекси на цис и транс TCO производни в двуфазна система. Получените данни са използвани за оптимизиране условията на използваната двуфазна екстакционна система (циклохексан/вода). Благодарение на опростената експериментална установка и познаването на термодинамичните свойства на конкретното съединение, по-добри добиви от сенсibiliзирана фотоизомеризация са постигнати чрез прецизен контрол на концентрацията на субстрата в облъчения разтвор, извършен чрез промяна на обемното съотношение на органичната и водната

фаза. Беше постигнато петкратно увеличение на добивите при фотоизомеризацията, чрез използване на много проста експериментална остановка, състояща се само от кварцова колба и магнитна бъркалка.

Приложението на наночастиците в медицината за диагностиката или пренос на лекарства е широко застъпено днешно време. Те се използват като контрастно вещество за ядрено-магнитен резонанс, за туморна терапия или терапия на сърдечно-съдови заболявания. Поради уникалните си свойства, все по-голямо внимание предизвикват суперпарамагнитните наночастици от железен оксид (SPIONs). Наноматериалите от железен оксид се отличават с добра потенциална терапевтична ефикасност и диагностични приложения при лечение и диагностика на рак. В монографията (14 б) е направен обстоен преглед на литературата, като е коментирана съответно, ролята на физико-химичните и повърхностните свойства на магнитните наночастици, важни фактори за клинично значимите им приложения обхващащи от ЯМР, доставяне на лекарства, магнитна хипертермия, до *in vitro* диагностика. Представено е обобщението на добре познатите конвенционални синтетични процедури и тяхното широко приложение, както и последните постижения в синтетичните методи. Опитаме да насочим вниманието на читателя, към иновативните открития на новите поколения наночастици от железен оксид, които притежават специфична повърхностна химия, подходяща за други биомедицински приложения с допълнителни възможности за проектиране на нови наноматериали за тераностични приложения и лечение на рак.

Радиофармацевтиците (RP) се прилагат рутинно с терапевтични и диагностични цели в центровете по нуклеарна медицина по целия свят. След въвеждането на RP в тялото на пациента и провеждането на диагностиката или терапията един от основните пътищата за елиминирането им от организма на пациента е чрез урината. Този вид радиокативни отпадъци обикновено се задържат определено време в канализационната система на болничното заведение до достигане на активност под регулаторните нива. След освобождаването им тези отпадъчни води могат да достигнат до пречиствателни станции за отпадъчни води (ПСОВ). След попадането на радионуклидите в ПСОВ, някои от тях могат да се асоциират и да се свържат с органични частици, утаени по време на процеса на пречистване на водата. Създадени са прогностични модели за предвиждане концентрациите на радионуклиди в отпадни води, където химичната

форма на радиоизотопите е основен фактор, а се пренебрегва нерадиоактивната (органична) част на RP. Съвременните RP са съставени от три основни компонента: насочваща биомолекула (биовектор), бифункционален агент (конюгация, фармакокинетика) и радиоизотоп (терапевтичен или диагностичен), като тази органична част от RP може да се приеме за радиофармацевтичен остатък (RPR). Той ще предизвикат по-дълговременен ефект върху природата от използваните радиоизотопи (кратък полуживот от минути до дни). В публикация (10 б) ние предложихме подход, базиран на хемометрични методи за избор на подходящи физикохимични параметри на остатъци от радиофармацевтични продукти за прогнозиране на разделянето и биоразграждането на такива съединения в околната среда или в пречиствателната станция за отпадъчни води. Бяха изследвани 23 бифункционални съединения (11 тетразинови производни и 12 циклооктенови производни), като бяха предсказани 24 физикохимични параметри. Променливите бяха групирани с анализ на главните компоненти и клъстерен анализ, за да се оцени и идентифицира от кои стойности на свойствата може да се предвиди въздействието върху околната среда. Резултатите показват, че стойностите на физикохимичните параметри като молекулна маса, температура на кипене и топене, за набора от изследвани съединения могат да бъдат предвидени въз основа на QSPR свойствата на молекулите. По този начин тези оценки ще позволят идентифицирането на екологичния ефект на радиофармацевтичния остатък, за който все още не са налични експериментални стойности.

Изследванията в това направление доведоха до следните обобщения:

- *Извършен е радиохимичен синтез на нови радиоiodиниращи бифункционални съединения, които са използвани успешно за маркиране на полилигопептаза.*
- *Създадена е специфична радиохимична процедура за рециклиране на обогатена на ^{18}O вода с приложение в производствени, изследователски и болнични циклотронни комплекси.*
- *Проведено е обстойно проучване целящо разкриване възможностите на изотопите на медта и суперпарамагнитните наночастици от железен оксид, като тераностични агенти.*

- *Разработена е ефективна процедура за изомеризиране на целеви транс циклооктенови прозводни, които да послужат за създаване на нов клас радиойодиниращи бифункционални съединения.*
- *Подбрани са физикохимични параметри необходими за адекватна оценка на поведението на бифункционални съединения, като замърсители на околната среда базирани на хемометрични методи.*

Използвана литература:

3a. “Copper radiopharmaceuticals for theranostic applications” Ahmedova A, **Todorov B**, Burdzhiev N, Goze C. European journal of medicinal chemistry. **2018** Sep 5;157:1406-25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.08.051>

4a. “Recycling of ¹⁸O enriched water used in 18F cyclotron production” **Todorov B**, Belovezhdova I, Alanen O, Airaksinen AJ, Djingova R. Applied Radiation and Isotopes. **2019** Mar 1; 145:109-15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2018.12.013>

5b. “Synthesis and biological evaluation of novel ¹²³I-labeled 4-(4-iodophenyl) butanoyl-l-prolyl-(2S)-pyrrolidines for imaging prolyl oligopeptidase in vivo” Kallinen A, **Todorov B**, Kallionpää R, Bäck S, Sarparanta M, Raki M, García-Horsman JA, Bergström KA, Wallén EA, Männistö PT, Airaksinen AJ. European journal of medicinal chemistry. **2014** May 22;79:436-45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.04.014>

10b. “Environmental effect of potential radiopharmaceuticals residuals” **Todorov B**, Nedyalkova M, Simeonov V. Ecological Chemistry and Engineering. **2020** Oct 1;27(4):603-14. DOI: 10.2478/eces-2020-0038

12b. “Simplified synthetic procedure for (Z) to (E)-cyclooct-4-enol photoisomerization” Stanimirov SS, **Todorov BR**. Bulgarian Chemical Communications. 2021;53(2): 228 – 233. DOI: 10.34049/bcc.53.2.5346

14b. “Iron oxide Nanoparticles in Anticancer Drug Delivery and Imaging Diagnostics. Magnetic Nanoparticles in Human Health and Medicine” Nedyalkova M, **Todorov B**, Barazorda-Ccahuanac HL, Madurga S. Magnetic Nanoparticles in Human Health and Medicine: Current Medical Applications and Alternative Therapy of Cancer, **ISBN: 978-1-119-75467-1 (2021)**

3. Археометрични изследвания с рентгено-флуоресцентен анализ

Археологическите обекти са безценно историческо наследство, което налага използването на недеструктивни аналитични методи. Археометричните изследвания най-често целят определяне на място на производство, източници на използвани суровини, технология на производство. Един от най-подходящите методи за анализ на археологическите находки е рентгено-флуоресцентния анализ (XRF). Съвременните преносими апарати за XRF имат един недостатък, свързан с количественото определянето на метали в археологически метални артефакти, който е липсата на подходящи калибровъчни материали, тъй като те използват вътрешни калибровки базирани на фундаментални параметри и проби от съвременни метални слави. В публикация (9 б) са анализирани златните находки (3000 броя) от Варненския халколитен некропол, датиран в края на V - началото на IV хил. пр. Хр., като предварително са изработени стандарти със състав наподобяващ самородно злато за калибриране на използвания преносим XRF апарат. Получените концентрации са в границите, характерни за естествено присъстващи Ag и Cu в злато, въз основа на което е направено заключение, че основната част от находките са изработени от природно (алувиално) злато. Малка част от пробите 77 са изработени от електрум (концентрация на Ag над 20%), а три от тях показват високо съдържание на Cu (средни стойности: Cu: 35%, Ag: 14% и Au: 51%) и вероятно са изработени от най-старата сплав, произведена от древните майстори.

В публикация (2 б) възможностите на XRF бяха използвани за да се определи химичният състав на открития през 1972 г. на морското дъно край нос Калиакра слитък със съобщаван състав от анализ извършен през 1973 година: 32 % злато, 18 % сребро и 43 % мед. Тази находка е датирана към 16^{-ти} – 14^{-ти} век пр. Хр. Проведения анализ на артефакта намиращ се в Националния Археологически Институт с Музей при БАН, не потвърди предишните резултати, като не бяха открити злато и сребро в изследвания обект, а мед (70.6 ± 0.7 %), калай ($8,2 \pm 0,3$ %), цинк (18.6 ± 0.8 %) и други. Като се има предвид времето, когато се появява месинг, съдържащ относително високи концентрации от калай и неговото разпространение, се установи, че датировката на находката, е погрешна. Най-вероятно слитъкът от нос Калиакра е произведен между 1300 и 1450 г. сл. Хр., а може би и по-късно.

Изследванията в това направление са доведоха до следните обобщения:

- *Изработени са серия от златни стандарти за калибровка на преносим рентгено-флуоресцентен анализатор.*
- *Образците от златни находки от Варна са произведени от много добре рафинирано алувиално злато, произхождащо от различни златоносни реки в района.*
- *Установен е точния елементен състав и предполагаемо датиране на артефакт (слитък) от нос Клиакра.*

Използвана литература:

2b. “On the chemical composition of the ingot from cape Kaliakra (Bulgaria)”
Todorov B, Kuleff I, *Archaeologia Bulgarica* **2011;** XV (1)77-81.

9b. “The Results of XRF Analysis of the Early Hellenistic Gold Treasure from the Royal Necropolis of Dausdava/Helis (NE Bulgaria)” Todorov B, Mihaylova V, Gergova D, Kuleff I. *Archaeologia Bulgarica* **2016;** XX (3)1-15.

София

25.02.2022 г.