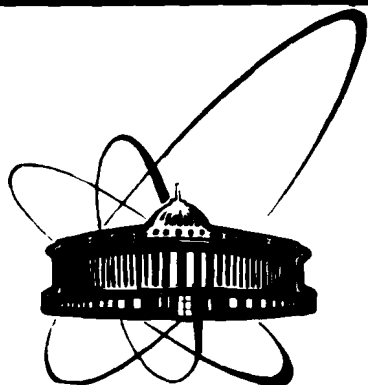


89-617



ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА

P12-89-617

С 98

З.Сюч, Ю.В.Норсеев, Д.Д.Кыюнг, Л.Вашарош*

ИЗОМЕРЫ АСТАТБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ

Направлено в журнал "Радиохимия"

*Центральный институт физических исследований,
Будапешт, ВНР

1989

1. Введение

Интерес к астату в последнее время вновь возрос в связи с потенциальной возможностью использования его в радиационной терапии. В качестве транспортного средства к больному органу рассматриваются различные биомолекулы, меченные астатом [1-3]. При этом астат должен быть прочно связан в биомолекуле, чтобы не происходило его отщепление в организме. Нами было найдено [4,5], что энергия связи углерод-астат в ароматических соединениях, когда астат входит в бензольное кольцо, несколько больше, чем в алифатических (181 ± 9 и $161,5 \pm 10,5$ кДж/моль соответственно). Присутствие заместителя не сказывается на прочности связи углерод-астат в ароматических производных. С этой точки зрения представляет интерес бензойная кислота, производные которой образуют структурные единицы белков. После введения в ее бензольное кольцо астата, где он заведомо будет прочно связан с углеродом, астатбензойная кислота может быть присоединена к биомолекуле. Так астат был введен в протенины реакцией конденсации карбоксильной группы параастатбензойной кислоты и аминной функциональной группы протенинов [6]. Параизомер астатбензойной кислоты в этом случае был синтезирован через диазониевые промежуточные соединения. Этот метод широко используется при синтезе различных ароматических астатпроизводных [7-10]. Однако он не единственный. В своих исследованиях по получению различных органических соединений астата мы применяли реакции межгалогенного обмена (в гомогенной и гетерогенной среде) [11], электрофильного замещения [11] и электрофильного присоединения [12].

Данная работа посвящена синтезу орто-, мета- и параизомеров астатбензойной кислоты различными методами, изучению их свойств и определению констант кислотности полученных соединений.

2. Экспериментальная часть

Реактивы и препараты

Изомеры (орто-, мета- и пара-) хлор-, бром- и иодбензойной кислоты ("Мерк"), гексан, гептан, бензол, диэтиловый эфир, уксусная и хлорная кислоты, гидроксид натрия и метабисульфит натрия (ч.д.а.) использовали без дополнительной очистки. Чистоту изомеров галогенбензойных кислот проверяли методом хромато-масс-спектрометрической идентификации. Изомеры аминокензойной кислоты (ч.) очищали путем их возгонки. Все растворы готовили на дважды перегнанной воде.

Астат получали на фазотроне Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ в реакциях глубокого расщепления при облучении тория протонами с энергией 660 МэВ. Выделение астата из мишени и его очистку проводили путем сорбции его на серебряной фольге из газового потока во время сжигания тория в токе воздуха [13]. Препараты астата готовили с помощью его дистилляции в запаянной ампуле с серебряной фольги в дважды перегнанную воду, в 0,1 моль/л хлорную кислоту или в 0,1 моль/л раствор гидроксида натрия [14].

Синтез

Для синтеза изомеров астатбензойной кислоты по межгалогенному обмену 10 микролитров щелочного раствора астата (по радиоактивности это не более 10^6 Бк) помещали в открытую ампулку. При слабом нагреве (или без нагрева) в токе гелия раствор упаривали досуха, и к сухому остатку добавляли примерно 50 микрограмм соответствующего изомера хлор-, бром- или иодбензойной кислоты, растворенного в бензоле, а параизомеры - в этиловом эфире. Вновь проводили высушивание в токе гелия при комнатной температуре. На дне ампулки исходные реагенты образовывали тонкий слой ("налет"). Ампулку запаивали и помещали на 1 час в жидкостный термостат при температуре 200°C. Затем ампулку вскрывали и реакционную смесь обрабатывали раствором уксусной кислоты в гексане.

Синтез изомеров астатбензойной кислоты через диазосоединения проводили следующим образом. Соответствующий изомер аминокензойной кислоты растворяли в 100 микролитрах 1 моль/л соляной кислоты и добавлением водного раствора NaNO_2 при -5°C переводили в соль диазония. Избыток NaNO_2 разрушали мочевиной. Затем к реакционной смеси при температуре -5°C добавляли 30 микролитров раствора астатида в 0,1 моль/л NaOH . Смесь постепенно нагревали до 80°C и потом охлаждали до комнатной температуры. Изомеры астатбензойной кислоты извлекали экстракцией диэтиловым эфиром.

Были проведены эксперименты по синтезу изомеров астатбензойной кислоты с использованием метода взаимодействия "горячих" атомов астата-211, образующихся при распаде радона-211 [15]. Выделение радона из ториевой мишени проводили одновременно с астатом, а очистку - через 10-12 часов после конца облучения мишени по методу, описанному в работе [16]. В гамма-спектре препарата не было обнаружено других линий, кроме линий, принадлежащих радону-211. По активности радона-211 было примерно в 3 раза меньше, чем астата, полученного непосредственно из ториевой мишени. Расфасовку радона-211 по ампулкам, содержащим бензойную кислоту в количестве 100 микрограмм, проводили на вакуумной

системе [17,18]. Распад радона-211 проходил на поверхности кристаллов кислоты при температуре жидкого азота. Через 15-20 часов ампулки вскрывали и проводили анализ образовавшихся продуктов. Субстрат обрабатывали раствором уксусной кислоты в гексане. С целью удаления из раствора неорганических форм астата и полония-207 (последний образуется при альфа-распаде радона-211) в смесь добавляли несколько кристалликов металлического теллура.

Анализ

Разделение и очистку образующихся соединений проводили на жидкостном хроматографе под высоким давлением, используя колонку из нержавеющей стали длиной 200 мм и внутренним диаметром 4 мм, заполненную силикагелем с размером частиц 10 микрон. Элюентом служила смесь гексан + уксусная кислота (в объемном соотношении 100:2), которую подавали в колонку со скоростью 1мл/мин. Колонка имела свободный объем около 3 мл. Сразу же после свободного объема наблюдался выход побочных продуктов реакции. Интересующие нас изомеры вымывались из колонки в следующем объеме элюента (за вычетом свободного объема колонки): изомеры мета- и параастатбензойной кислоты вместе - от 5 до 7 мл, ортоизомер - от 8 до 11 мл. Использование другого элюента - смеси этилацетат + этанол (1:1), рекомендованного в литературе [9], не дало возможности разделить изомеры астатбензойной кислоты. Хроматографируемые соединения астата детектировали по их радиоактивности сцинтилляционным счетчиком, стоящим на выходе колонки, регистрировали самописцем и собирали по фракциям для последующего измерения их активности на другом сцинтилляционном счетчике, имевшем кристалл с колодцем. Измерением в идентичных условиях активности астата в исходной реакционной смеси и во фракции изомера астатбензойной кислоты определяли химический выход последнего [19].

При взаимодействии с бензойной кислотой атомов астата-211, образующихся при электронном захвате из радона-211, продукты анализировали также на газожидкостном хроматографе. В этом случае можно было обнаружить астатбензол - продукт замещения в бензойной кислоте карбоксила на астат. Анализ проводили на стеклянных колонках, заполненных хромосорбом W-AW-DMCS, содержащим 20% SF-96 и 6% бентона-34 [20].

Определение константы диссоциации изомеров астатбензойной кислоты

Фракцию очищенного на колонке жидкостного хроматографа изомера астатбензойной кислоты собирали в пробирку, и при слабом подогреве (до -50°C) удаляли элюент током гелия. Сухой остаток растворяли в

гептане и 2 мл этого раствора помещали в бюкс на 10 мл. Добавляли равное по объему количество раствора NaClO_4 в разбавленной (0,1 моль/л) хлорной кислоте. Раствор имел ионную силу, равную 0,1. Добавлением небольших количеств HClO_4 или NaOH доводили pH до заданной величины, варьируемой в диапазоне от 2 до 4. Смесь интенсивно перемешивали с помощью магнитной мешалки в течение 15 минут при температуре 25°C. По окончании экстракции из каждой фазы отбирали по 1 мл и измеряли их активность на сцинтилляционном счетчике, имевшем кристалл с колодцем. Проводили контрольное измерение pH водной фазы. Как известно [9,21], значение коэффициента распределения кислоты между двумя фазами (D) связано с кислотностью водной среды следующим соотношением:

$$1/D = 1/D_0 + 1/D_0 \cdot \frac{K_a}{[H^+]}$$

где D_0 - коэффициент распределения недиссоциированной кислоты, K_a - константа диссоциации кислоты. Из зависимости $1/D$ от $1/[H^+]$ можно определить значение pK_a .

Дополнительную оценку pK_a проводили методом электромиграции в свободном электролите на аппаратуре, описанной в работе [22]. Эта величина была рассчитана на основе зависимости скорости миграции астатбензойной кислоты от pH раствора электролита. Условия эксперимента соответствовали указанным в работе [23]. Для измерения скорости движения изомера астатбензойной кислоты последний, после очистки его на колонке жидкостного хроматографа, упаривали в токе гелия досуха и переводили в раствор хлорной кислоты с определенным pH, равным значению pH электролита в миграционной ячейке. Измерения проводили в растворах с pH в интервале от 2 до 6.

3. Результаты и обсуждение

Реакция обмена галогена на астат наблюдается как для всех иод- и бромизомеров, так и хлорбензойной кислоты (табл. 1). Обычно замещение легкого галогена на более тяжелый при обмене в гомогенной среде проходит с трудом, а для макроколичеств заметный выход наблюдается только в случае вывода одного из продуктов из реакционной среды [24,25]. В нашем случае определяющую роль играют диффузия и поверхностные эффекты.

Определение благоприятных условий синтеза по реакции межгалогенного обмена проводили с ортобромбензойной кислотой, поскольку в предварительных исследованиях было обнаружено, что она дает наиболее высокий выход реакции обмена с астатом (табл. 1).

Таблица 1

Выход изомеров астатбензойной кислоты, образующихся в результате реакции межгалогенного обмена. Температура реакции 200 °С, время 1 час

Заместитель (X) Положение заместителя	Заместитель		
	Cl	Br	I
ОРТО	54 ± 3	68 ± 1	66 ± 2
МЕТА	9,9 ± 0,2	49 ± 3	61 ± 3
ПАРА	41 ± 2	32 ± 4	39 ± 4

Нуклеофильный характер обмена галогена на астат подтверждают результаты, представленные в таблице 2. Присутствие восстановителя, переводящего астат в астатид-ион и стабилизирующего его в этой форме, благоприятно сказывается на реакции. Считается, что щелочная среда уже достаточна для образования иона астатида. Однако, как видно из таблицы 2, выход ортоастатбензойной кислоты в этом случае не достигает максимального значения.

Таблица 2

Зависимость выхода о-Ат-бензойной кислоты от состава раствора препарата астата. Температура реакции 200 °С, время 1 час

Состав раствора, содержащего Ат	Наиболее вероятная форма астата	Выход (%)
0.01 моль/л $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 0.1 моль/л NaOH в воде	At^-	68 ± 1
0.1 моль/л NaOH в воде	At^-	47 ± 3
H_2O	AtOH	2.7 ± 0.5
0.01 моль/л $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ в воде	AtOH_2^+	0

Характерный ход кривой выхода продукта обмена в зависимости от температуры реакции представлен на рисунке 1. Максимум выхода приходится на температурный район 150-200 °С, близкий к температуре плавления изомера бромбензойной кислоты. При температуре реакции выше 200 °С образующийся изомер астатбензойной кислоты, вероятно, неустойчив, что отражается на его химическом выходе.

Оказалось, что предварительная обработка препарата астата сказывается на выходе продукта. Если высушивать раствор астата в восстановительной среде током гелия при комнатной температуре без дополнительного подогрева, то зависимость выхода астатбензойной кислоты от температуры, при которой проводится последующая реакция обмена, несколько ниже, чем при высушивании препарата астата также током гелия, но с подогревом до 150 °С. Вероятно, дополнительный подогрев стимулирует форму астата, более склонную к активному обмену. В этом случае обмен наблюдается даже при комнатной температуре (рис. 1).

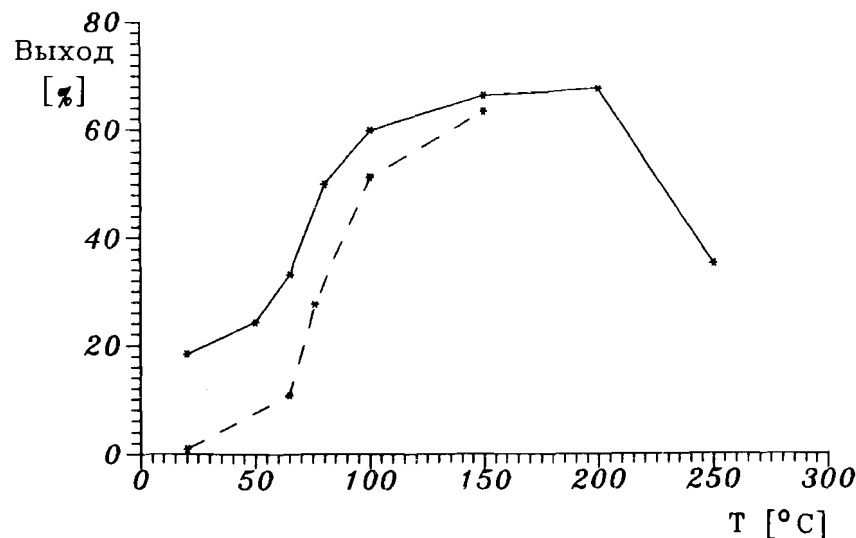


Рис. 1. Зависимость выхода о-Ат-бензойной кислоты от температуры реакции (--- -высушивание препарата астата с дополнительным нагреванием, - - - -высушивание без нагревания). Погрешность в определении выхода не превышает 1,5%.

Может быть, при такой подготовке препарата происходит более полное удаление воды, что способствует гомогенизации реакционной среды обмена. Однако факт образования продукта при температуре много ниже температуры плавления ортобромбензойной кислоты вызывает удивление и трудно объяснить. В этой работе мы не ставили перед собой задачу изучения механизма реакции обмена в выбранных условиях. Для этого требуются дополнительные исследования.

Изучение кинетики процесса показало, что реакция обмена галогена на астат достаточно быстрый процесс. Так, при 150°C выход ортоизомера астатбензойной кислоты достигает максимума через 1 минуту. Выдержка до 130 минут не приводит к увеличению выхода продукта.

В случае синтеза изомеров астатбензойной кислоты через диазосоединения выход продукта оказался почти одинаковым как для ортоаминобензойной кислоты - (54 ± 3)%, так и парааминобензойной кислоты - (57 ± 8)%. Выход изомеров, полученных через диазотацию, почти не отличается от их выходов при реакции межгалогенного обмена, что нельзя сказать о синтезе с "горячими" атомами астата. При распаде радона-211 в бензойной кислоте суммарный выход мета- и параизомеров астатбензойной кислоты не превышал 7%, а орто - 3%. Замещение карбоксильной группы астатом еще меньше - не более 0,5%. Низкий выход продуктов замещения водорода в бензойной кислоте "горячими" атомами астата, а главное - его изомерное распределение подобны результатам, полученным при распаде радона-211 в бензоле, галогенбензолах и анилине [18]. Это еще раз подтверждает наше предположение [18] о том, что реакция замещения водорода в ароматических соединениях энергетическими атомами астата-211 - гомолитический процесс.

Пространственное расположение заместителя в бензойной кислоте в большей степени сказывается на смещении π-электронного облака бензольного кольца, влияя на физико-химические характеристики изомеров кислоты. Известно, что величина константы диссоциации галогенбензойных кислот зависит от местоположения галогена [26]. Не являются исключением и изомеры астатбензойной кислоты, величины pK_a которых представлены в таблице 3.

Найденные нами значения констант диссоциации изомеров астатбензойной кислоты соответствуют литературным [9], и, как видно из данных, местоположение астата также влияет на кислотность изомеров. Природа галогена в одном и том же изомере галогенбензойной кислоты оказывает малое влияние на величину pK_a - она остается почти постоянной в ряду хлор - астат.

Таблица 3
Значение pK_a изомеров галогенбензойных кислот (XC_6H_4COOH)
при $t = 25 (1) ^\circ C$

X	ОРТО	МЕТА	ПАРА	Ссылки
Cl	2,89	3,82	4,03	[27]
Br	2,82	3,85	4,18	[27]
I	2,85	3,80	3,98	[27]
	2,70 ± 0,02	3,70 ± 0,02	3,94 ± 0,03	[9]
At	2,71 ± 0,02	3,77 ± 0,02	4,03 ± 0,02	[9]
	3,05 ± 0,02	3,89 ± 0,01	4,04 ± 0,01	НАШИ ДАННЫЕ ЭКСТРАКЦИЯ ЭЛЕКТРОМИГРАЦИЯ
	3,2 ± 0,2			

Исходя из идентичности свойств галогенбензойных кислот, можно шире использовать методы присоединения астатбензойной кислоты к биомолекулам (в частности, к моноклональным антителам), строя их по аналогии с разработанными для радиоиода.

Авторы приносят благодарность Милесу Ш. за участие в определении величин констант диссоциации изомеров астатбензойной кислоты методом электромиграции.

Литература

- Zalutsky M.R., Narula A.S. Appl. Radiat. Isotops, 1988, 39, N3, p.227-232.
- Harrison A., Royle L. NCI monogr., 1987, N3, p.157-158.
- Нунан J.L. Int. J. Radiat. Oncol., Biol. Phys., 1987, 13 N11, p.1767-1773.
- Вашаров Л., Норсеев Ю.В., Халкин В.А. Докл. АН СССР, 1982, 263, с.119-123.
- Vasaros L., Norseyev Yu.V., Nhan D.D., Khalkin V.A., Huan N.G. J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters, 1984, 87, p.31-40.
- Friedman A.M., Zalutsky M.R., Wung W., Buckingham F., Harper Jr., P.V., Scherr G.H., Wainer B., Hunter R.L., Appelman E.H., Rothberg R.M., Fitch F.W., Stuart F.P., Simonian S.J. Int. J. Nucl. Med. and Biol., 1977, 4, N3/4, p.219-224.

7. Samson G., Aten Jr., A.H.W. *Radiochim. Acta*, 1970, 13, p.220-221.
8. Meyer G-J., Rossler K., Stocklin G. *Radiochem. Radioanal. Letters*, 1975, 21, p.247-259.
9. Visser G.W.M., Diemer E.L., Kaspersen F.M. *Recl. Trav. Chim., J. Royal Netherlands Chem. Soc.*, 1980, 99, p.93-96.
10. Vaughan A.T.M. *Int. J. Appl. Radiat. Isotopes*, 1979, 30, p.576-577.
11. Норсеев Ю.В. ОИЯИ, 12-83-387, Дубна, 1983.
12. Норсеев Ю.В., Вашаров Л., Нян Д.Д., Хуан Н.К. *Радиохимия*, 1987, 29, №4, с.474-477.
13. Вашаров Л., Норсеев Ю.В., Халкин В.А. *Докл. АН СССР*, 1982, 266, №1, с.120-122.
14. Doberenz V., Dang Duc Nhan, Dreyer R., Milanov M., Norsejev Yu.V., Khalkin V.A. *Radiochem. Radioanal. Letters*, 1982, 52, №2, p.119-128.
15. Нефедов В.Д., Горопова М.А., Халкин В.А., Норсеев Ю.В., Кузин В.И. *Радиохимия*, 1970, 12, №1, с.194-195.
16. Колачковски А., Норсеев Ю.В. ОИЯИ, Р6-6923, Дубна, 1973.
17. Berei K., Vasaros L., Norsejev Yu.V., Khalkin V.A. *Radiochem. Radioanal. Letters*, 1976, 26, №3, p.177-184.
18. Vasaros L., Norsejev Yu.V., Meyer G-J., Berei K., Khalkin V.A. *Radiochim. Acta*, 1976, 26, p.171-176.
19. Сяч З., Иллеш З., Молнар И. ОИЯИ, Р10-89-223, Дубна, 1989.
20. Vasaros L., Berei K., Norsejev Yu.V., Khalkin V.A. *Radiochem. Radioanal. Letters*, 1976, 27, №5-6, p.329-340.
21. Samson G., Aten Jr., A.H.W. *Radiochim. Acta*, 1968, 9, p.53-54.
22. Миламов М., Чан Ким Хунг, Шонинский Д., Реш Ф., Халкин В.А. *Радиохимия*, 1987, 29, с.650.
23. Milanov M., Doberenz V., Khalkin V.A., Marinov A. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 1984, 83, №2, p.291-299.
24. Hughes E.D., Ingold C.K., Mackie J.D.H. *J. Chem. Soc.*, 1955, p.3177-3179.
25. De la Mare P.V.D. *J. Chem. Soc.*, 1955, p.3180-3187.
26. Днепровский А.С., Темникова Т.И. *Теоретические основы органической химии*. -Л., Химия, 1979.
27. *Handbook of Chemistry and Physics*, 57th Edition, Editor: R.C.Weast, CRC Press, 1976.

Рукопись поступила в издательский отдел 23 августа 1989 года.

Сяч З. и др.

P12-89-617

Изомеры астатбензойной кислоты

Изомеры астатбензойной кислоты получены как методом обмена хлора, брома или иода в соответствующих изомерах галогенбензойной кислоты на астат, так и путем разложения диазосоединений. Проведен анализ полученных соединений на жидкостном хроматографе под высоким давлением. Найдены их химические выходы. Изучено взаимодействие "горячих" атомов астата-211 с бензойной кислотой. Определены константы диссоциации изомеров астатбензойной кислоты.

Работа выполнена в Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1989

Перевод авторов

Szucz Z. et al.

P12-89-617

Isomers of the Astatobenzoic Acid

The isomers of the astatobenzoic acid are obtained both by the chlorine, bromine or iodine exchange method in the corresponding isomers of the halogenobenzoic acid on astatine and by the desintegration of diazonium salts. The analysis of the obtained compounds is carried out on the high pressure liquid chromatograph. Their chemical yields are found. The interaction of "hot" astatine-211 atoms with the benzoic acid is studied. Dissociation constants of the isomers of the astatobenzoic acid are determined.

The investigation has been performed at the Laboratory of Nuclear Problems, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1989