

*В. М. Берестовицкая, О. С. Васильева,
Е. С. Остроглядов, Е. Ю. Дубовцева*

ПРОИЗВОДНЫЕ ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ: СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Обобщены и систематизированы методы синтеза производных глутаминовой кислоты (Глу), содержащих преимущественно алкильные и арильные заместители; рассмотрена их биологическая активность.

Глутаминовая кислота (Глу) имеет исключительное значение для жизнедеятельности организма. Она участвует в белковом и углеводном обмене, стимулирует окислительные процессы в печени и почках млекопитающих, способствует обезвреживанию и выведению из организма аммиака, повышает устойчивость организма к гипоксии [1]. Особенно велика центральная медиаторная роль Глу, так как она стимулирует передачу возбуждения в синапсах ЦНС. Нарушение баланса глутаминовой кислоты в нервной системе часто является причиной нейрональных расстройств. Например, избыточная экскреция глутамата рассматривается как основная причина судорожного синдрома [2]. В связи с этим (S)-Глу находит применение в медицине, главным образом, при лечении заболеваний ЦНС: эпилепсии, психозов, депрессии и др. Отмечается перспективность использования (S)-Глу для лечения болезни Альцгейме-

ра и шизофрении [3]. В педиатрии препарат применяют при задержках психического развития различной этиологии, болезни Дауна, полиомиелите и других заболеваниях [1].

Поэтому синтез и изучение фармакологической активности таких соединений целесообразен именно в ряду производных глутаминовой кислоты и является перспективным направлением создания новых лекарственных препаратов.

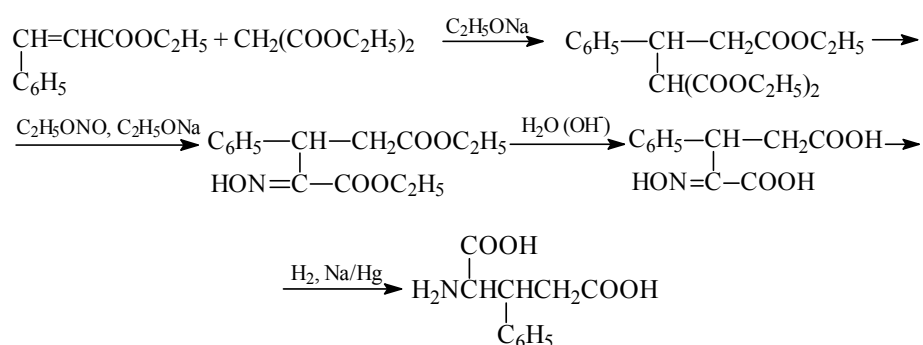
1. Способы получения α -, β -, γ -замещенных глутаминовой кислоты

Анализ литературных данных показал, что для синтеза производных глутаминовой кислоты используются различные способы, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки, связанные как с лабораторным оформлением, стадийностью, выходом конечного продукта, так и со стереоселективностью. Литературные сведения и наши собственные данные по методам получения производных Глу систематизированы на основе используемых исходных реагентов.

Получение производных глутаминовой кислоты на основе активированных эфиров карбоновых кислот

Наиболее часто в качестве исходных реагентов в синтезе производных Глу используются эфиры непредельных кислот (производные акриловой и коричной кислот) или замещенные ацетоуксусной кислоты.

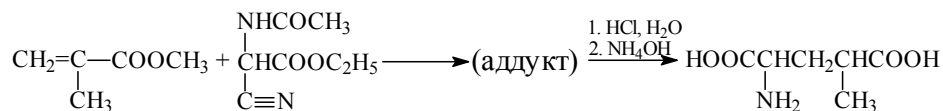
Так, известно, что 3-фенилглутаминовую кислоту впервые синтезировал в 1925 году С. Harington [4] из этилового эфира коричной кислоты. Взаимодействие ее с диэтилмалонатом в присутствии этилата натрия привело к синтезу соответствующего эфира трикарбоновой кислоты. Последовательные стадии его нитрозирования, щелочного гидролиза эфира и подкисления гидролизата раствором соляной кислоты привели к выделению α -изонитрозо- β -фенилглутаровой кислоты. Восстановление последней в присутствии 25% Na-Hg позволило автору работы [4] получить целевой продукт — 3-фенилглутаминовую кислоту с температурой плавления 179°C.



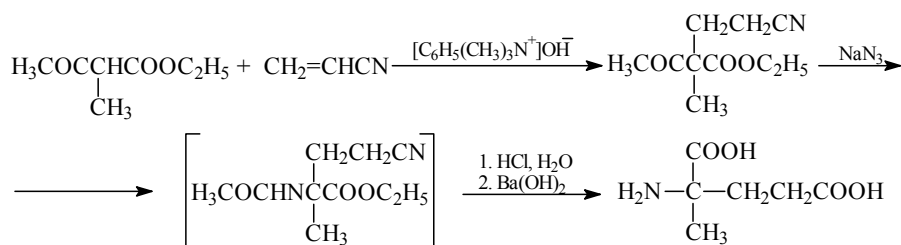
Спектральные характеристики 3-фенилГлу в этой работе не приводятся.

В 1929 году был предложен метод получения 4-фенилглутаминовой кислоты из этилового эфира α -фенил- β -хлорпропионовой кислоты [5]. Синтез включает конденсацию исходного соединения с малоновым эфиром, взаимодействие образовавшегося триэфира с этилнитритом, щелочной гидролиз эфира α -изонитрозоглутаровой кислоты и последующее восстановление оксимной группы. Целевая 4-фенилГлу выделена с выходом 48% и температурой плавления 185 °С.

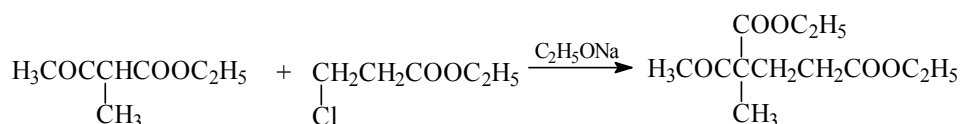
Синтез 4-метилглутаминовой кислоты осуществлен также реакцией метилметакрилата с ацетианоцианоксусным эфиром [9]. Михаэлевский аддукт, описанный авторами как вязкая жидкость (физико-химические характеристики не приводятся), подвергался кислотному гидролизу, в результате чего был получен гидрохлорид 4-метилГлу. Последующая нейтрализация гидролизата раствором аммиака до pH≈3 привела к выделению свободной 4-метилглутаминовой кислоты с выходом 6.5% и температурой плавления 168–169°C (из воды).



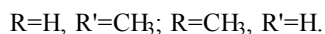
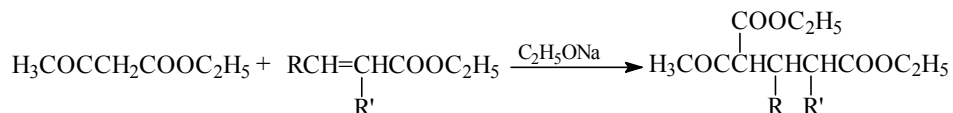
Разрабатывая методы получения C-метилглутаминовых кислот, авторы [10] предложили синтез α-метилГлу, заключающийся во взаимодействии метилацетоуксусного эфира с акрилонитрилом в присутствии катализатора Родионова, в последующей реакции аддукта с азидом натрия и кислотного гидролиза нитрила. Целевая α-метилглутаминовая кислота получена с выходом 52% (в расчете на метилацетоуксусный эфир) и температурой плавления 165–169 °C.



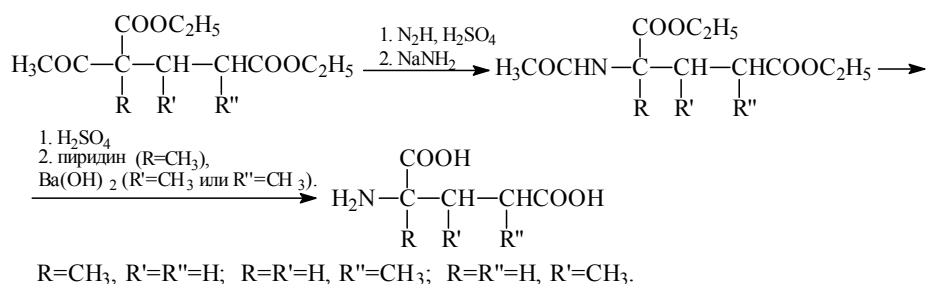
Вместе с тем этими же авторами [10] разработан весьма успешный способ получения α-, β-, и γ-метилГлу, основанный на расщеплении замещенных эфиров β-кетокислот азоимидом по Шмидту. Так, для получения α-метилГлу они конденсировали метилацетоуксусный эфир с этиловым эфиром β-хлорпропионовой кислоты в присутствии этилата натрия. В результате выделен эфир α-ацетил-α-метилглутаровой кислоты — базовый продукт в синтезе C-метилГлу.



Для синтеза β-, и γ-метилглутаминовых кислот исходные β-кетозиферы были получены конденсацией ацетоуксусного эфира с эфирами кротоновой и метакриловой кислот соответственно.

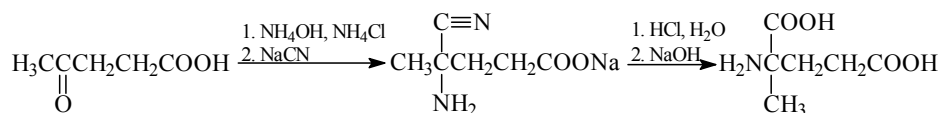


Последующее взаимодействие полученных β-кетозиферов с азоимидом в присутствии концентрированной серной кислоты привело к выделению соответствующих эфиров α-, β-, и γ-метил-N-ацетилглутаминовых кислот, гидролиз которых в кислой среде завершился образованием целевых продуктов [10].



Выход α -метилглутаминовой кислоты составляет 43%; выходы β - и γ -метилГлу значительно ниже: 30% и 8% соответственно (из расчета на α -ацетилметилглутаровоэтиловые эфиры).

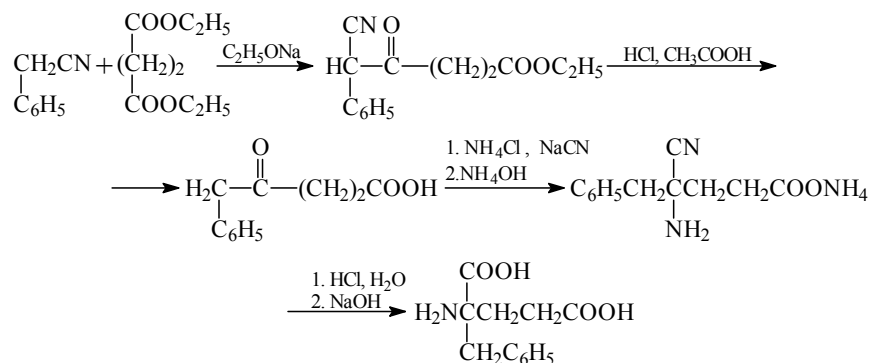
В литературных источниках описан трехстадийный синтез α -метилГлу из леулиновой (4-оксопентановой) кислоты [11]. Взаимодействие ее с цианистым натрием в растворе аммиака привело к получению нитрила α -метилглутаминовой кислоты, который подвергался кислотному гидролизу и последующей нейтрализации гидролизата до $\text{pH} \approx 3$.



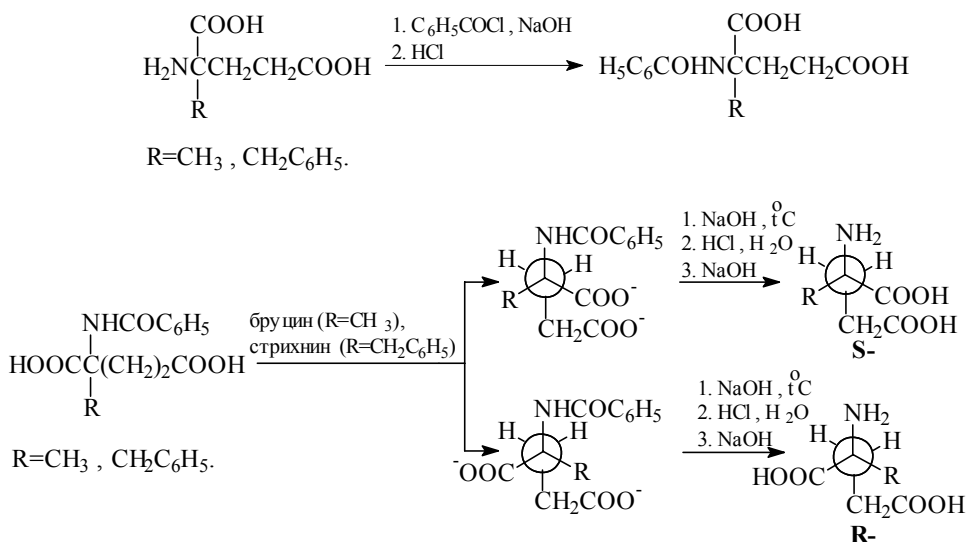
Целевой продукт — α -метилглутаминовая кислота выделена с выходом 70% и температурой плавления 170°C .

Получение замещенных Глу на основе цианистого бензила и его производного

Руководствуясь тем, что среди алкильных производных Глу наибольший интерес как биологически активные соединения представляют α -С-алкилзамещенные Глу, авторы работы [12] осуществили синтез 2-метилГлу по методике [11] и 2-бензилглутаминовой кислоты, путем использования в качестве исходных реагентов цианистый бензил и диэтилсукцинат. Их взаимодействие в присутствии этилата натрия привело к выделению промежуточного 5-фенил-5-цианолеулината, ряд последовательных превращений которого позволил получить целевую 2-бензилглутаминовую кислоту с температурой плавления $214\text{--}215^\circ\text{C}$ и выходом 59% (в расчете на 5-фенил-5-цианолеулинат).

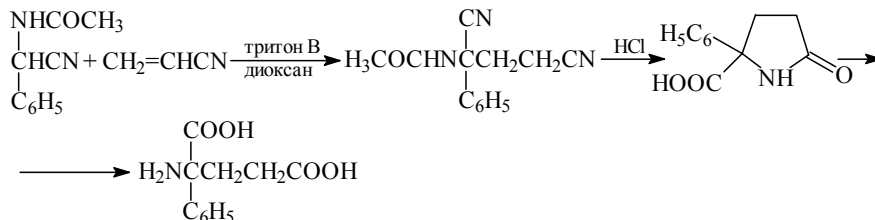


Этими же авторами [12] осуществлено разделение рацематов 2-метил- и 2-бензилГлу на энантиомеры. В связи с этим синтезированные кислоты подвергались бензоилированию хлористым бензоилом в щелочной среде. Затем диастереомерные соли N-бензоил-2-метилГлу с бруцином и N-бензоил-2-бензилГлу со стрихнином легко раскристаллизовывались и обрабатывались двухнормальным раствором гидроксида натрия. В результате авторам [12] удалось выделить оптически чистые N-бензоилГлу, кислотный гидролиз которых привел к синтезу чистых энантиомеров 2-метил- и 2-бензилглутаминовых кислот.



Они охарактеризованы методом поляриметрии. Так, для энантиомеров 2-метилГлу $[\alpha]_D^{20} + 12,1; -12,1$, а для 2-бензилГлу — $[\alpha]_D^{20} + 1,65; -1,65$ (с четырех — в шестинормальную HCl).

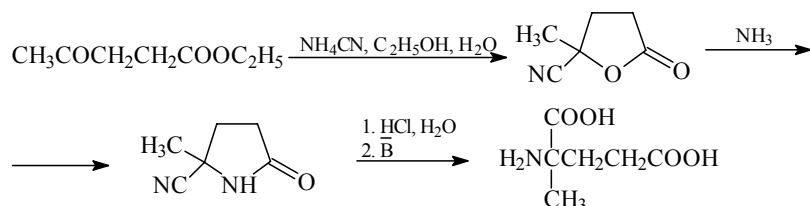
Описан пример использования производного цианистого бензила (α -ацетаминобензилцианида), для получения α -фенилглутаминовой кислоты [13]. Так, реакцией α -ацетаминобензилцианида с акрилонитрилом в присутствии тритона В был получен α -ацетамино- α -фенилглутаронитрил — предшественник α -фенилглутаминовой кислоты. Однако последующий гидролиз динитрила в разбавленной соляной кислоте, по мнению авторов работы [13], привел к получению не α -фенилглутаминовой кислоты, а продукта ее внутримолекулярной циклизации — α -фенилпирроглутаминовой кислоты с температурой плавления 207–208°C.



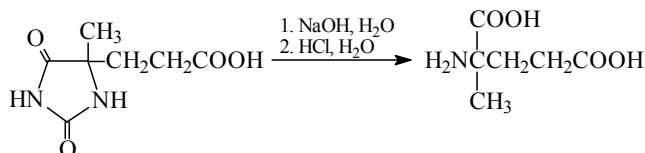
При обработке 5-карбоксо-5-фенил-2-пирролидона смесью конго красного с анилином выделена α -фенилглутаминовая кислота с температурой плавления 170°C. Авторы [13] отмечают, что полученная кислота неустойчива и при хранении линейная форма снова переходит в циклическую, что и является главным недостатком этого метода.

Получение производных глутаминовой кислоты на основе лактамов карбоновых кислот

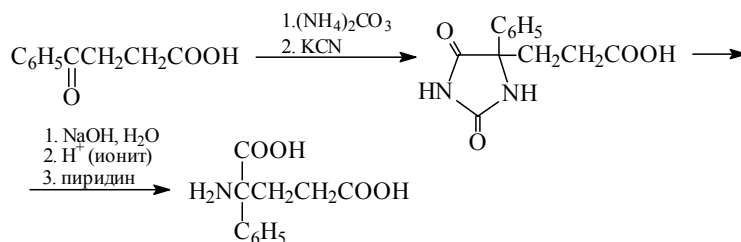
Основываясь на экспериментальных данных Н. Меуер [14], свидетельствовавших о том, что производные лактонов с четвертичной гидроксильной группой при обработке аммиаком образуют лактамы, А. Gal и соавторы [15] разработали метод синтеза α -метилглутаминовой кислоты. Так, при взаимодействии этиллевулината с цианистым аммонием в водно-спиртовом растворе образуется γ -циано- γ -валеролактон, последующая обработка которого аммиаком привела к выделению γ -циано- γ -валеролактама. Гидролиз лактама сопровождался раскрытием цикла и завершался образованием целевого продукта 2-метилглутаминовой кислоты с температурой плавления 168–170°C и выходом 85% [15]:



В литературных источниках приводятся сведения о получении α -метилглутаминовой кислоты из гидантоина. Так, щелочной гидролиз 5-метил-5-(2-карбоксиил)гидантоина [16] и последующее подкисление гидролизата до $\text{pH} \approx 3$ привели к выделению целевого продукта α -метилГлу с выходом 66% и температурой плавления 168–170°C.



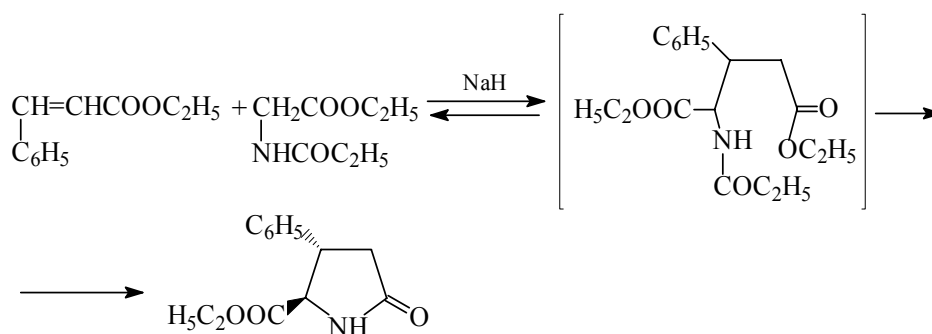
Другие авторы [17] расширили возможности метода синтеза α -производных глутаминовых кислот через гидантоиновые производные, получив 2-фенил-глутаминовую кислоту. Конденсация бензоилпропионовой кислоты с цианистым калием в присутствии карбоната аммония привела к выделению 5-фенил-5-(2-карбоксиил)гидантоина. Затем его кипятили в растворе щелочи, гидролизат пропускали через кислую ионообменную смолу и раствор гидрохлорида титровали пиридином до $\text{pH} \approx 3.1$. Свободная 2-фенилглутаминовая кислота выделена с выходом 48%, температура плавления 166–167°C (этанол) [17].



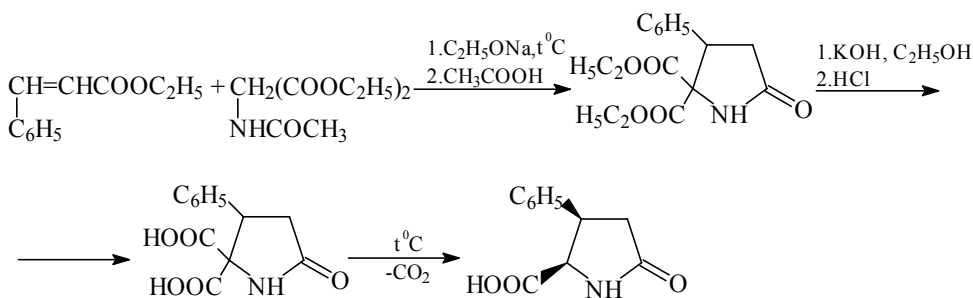
Авторы работы [17] отмечают, что синтезированная таким способом 2-фенилглутаминовая кислота, в отличие от аналога, полученного из α -фенилпироглутаминовой кислоты [11], устойчива и не склонна к спонтанной циклизации при комнатной температуре.

Все полученные аминокислоты [17] идентифицированы методом ИК спектроскопии. Существенным недостатком этих методов является то, что производные глутаминовой кислоты образуются в виде смеси диастереомеров.

Следует отметить, что в 1967 году Zymalkowski F. и Pachaly P. [18] разработали методы селективного синтеза предшественников трео- и эритро-изомеров глутаминовой кислоты, а именно — цис- и транс-пирролидонкарбоновых кислот. Так, взаимодействие коричневого эфира с этиловым эфиром N-оксоэтилглицина при нагревании в присутствии гидрида натрия сопровождается внутримолекулярным ацилированием первоначально образующегося аминоэфира и приводит к эфиру транс-4-фенил-2-пирролидон-5-карбоновой кислоты.

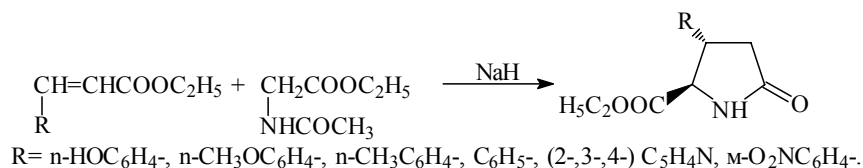


В то же время цис-изомер 4-фенил-2-пирролидон-5-карбоновой кислоты синтезирован авторами [18] в три стадии. Реакция ацетиламино말로нового эфира с коричневым эфиром в присутствии этилата натрия приводит к получению диэтилового эфира 4-фенил-2-пирролидон-5,5-дикарбоновой кислоты. Последующий щелочной гидролиз пирролидонкарбонового эфира и термическое декарбоксилирование (150–160°C) образовавшейся дикарбоновой кислоты привели к выделению цис-изомера [18].

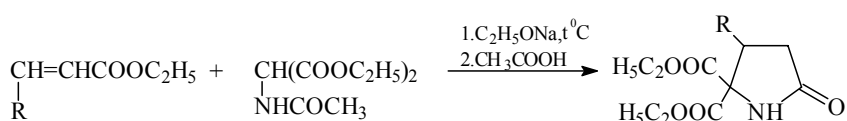


Позднее P. Pachaly и соавторы [19, 20] расширили ряд используемых β -замещенных акриловой кислоты. Например, арильные и пиридиновые замещенные акриловой кислоты введены ими в реакции с этиловым эфиром

N-ацетилглицина, что позволило получить соответствующие эфиры транс-4-арил-2-пирролидон-5-карбоновых кислот [19].

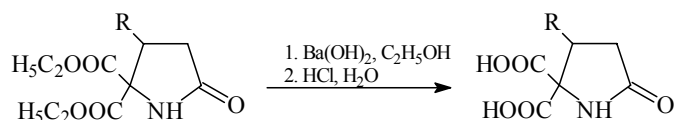


Большой ряд 4-арил-5,5-бис(этоксикарбонил)-2-пирролидонов — предшественников 3-арилГлу — синтезирован авторами работы [21] реакцией соответствующих β-арилзамещенных эфиров акриловой кислоты с диэтилацетиламиноацетатом в присутствии этилата натрия. Однако большинство 4-арил-2-пирролидонов были получены с невысокими выходами.



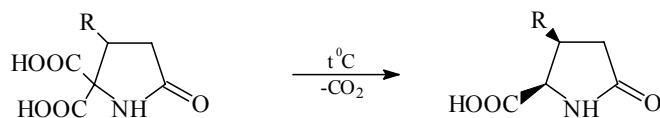
R = n-(CH₃)₂NC₆H₄-, n-CH₃OC₆H₄-, n-CH₃C₆H₄-, C₆H₅-, (2-,3-,4-) C₅H₄N, m-O₂NC₆H₄-, n-O₂NC₆H₄-.

Эти соединения в результате щелочного гидролиза и последующего декарбоксилирования трансформируются в соответствующие цис-4-арил-2-пирролидон-5-карбоновые кислоты [20]. Однако наилучший эффект был достигнут при использовании в процессе гидролиза спиртового раствора гидроксида бария, так как в этом случае неизбежно образующиеся в результате побочных реакций продукты гидролиза лактамного кольца выпадают в осадок в виде труднорастворимой соли бария.



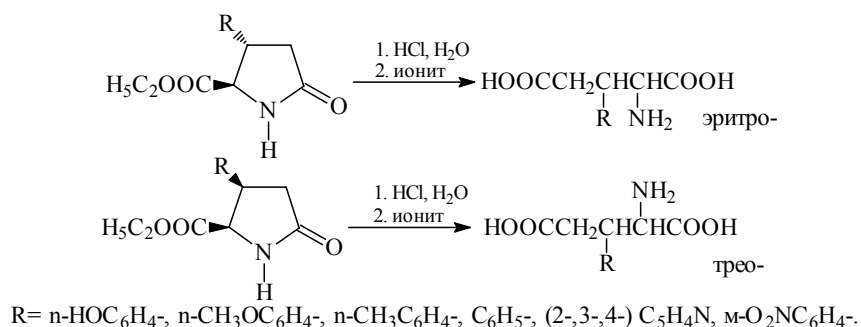
R = n-(CH₃)₂NC₆H₄-, n-CH₃OC₆H₄-, n-CH₃C₆H₄-, C₆H₅-, (2-,3-,4-) C₅H₄N, m-O₂NC₆H₄-, n-O₂NC₆H₄-.

Авторы работы [20] отмечают, что при термическом декарбоксилировании без растворителя вследствие межмолекулярного переноса протона и присоединения его со стороны, противоположной заместителю образуются именно цис-4-арил-2-пирролидон-5-карбоновые кислоты:



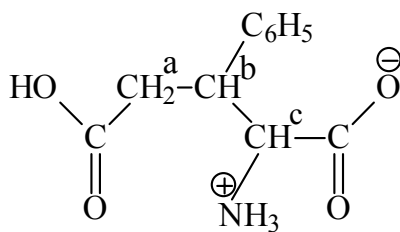
R = n-(CH₃)₂NC₆H₄-, n-CH₃OC₆H₄-, n-CH₃C₆H₄-, C₆H₅-, (2-,3-,4-) C₅H₄N, m-O₂NC₆H₄-, n-O₂NC₆H₄-.

Кипячение эфиров цис- и транс-4-арил-2-пирролидон-5-карбоновых кислот в течение 12 часов в водном растворе соляной кислоты не сопровождается рацемизацией и приводит к выделению соответствующих им трео- и эритрозамещенных глутаминовых кислот [20, 22].



Свободные β-замещенные глутаминовые кислоты были получены при очистке соответствующих гидрохлоридов на ионообменных смолах [20, 22].

Отмечено [22], что температуры плавления трео-изомеров выше, чем эритро-изомеров, а температуры плавления пирролидонкарбоновых кислот, полученных при плавлении эритро- или трео-арилзамещенных Глу, совпадают с температурами плавления ранее полученных соответственно транс- и цис-изомеров пирролидонов. Для доказательства строения полученных производных глутаминовой кислоты авторами статьи [22] использован метод ЯМР¹H спектроскопии. Они указывают, что аналитическим признаком отнесения производных Глу к той или иной изомерной форме является положение сигнала метинового протона Н^c при α-углеродном атоме. Так, в спектре ЯМР¹H (CF₃COOH) трео-3-фенилглутаминовой кислоты мультиплет протона Н^c прописывается в более сильном поле (4,79 м.д.) по сравнению с эритро-изомером (4,92 м.д.) 3-фенилглутаминовой кислоты.

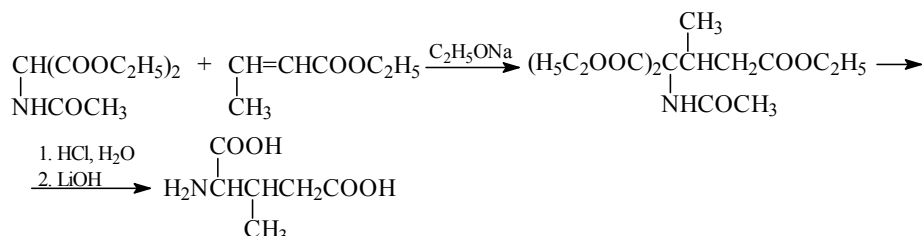


Этот путь синтеза позволяет получать стереооднородные производные глутаминовой кислоты, однако выходы эритро- и трео-изомеров β-замещенных глутаминовых кислот не высоки. Так, выходы 3-фенилглутаминовой кислоты составляют 40% эритро- и 10% трео-изомеров соответственно [22]. Вместе с тем по разработанному методу [18, 22] некоторые авторы получают арилглутаминовые кислоты с целью последующего их использования в качестве исходных продуктов для синтеза перспективных биологически активных веществ [23].

Получение производных глутаминовой кислоты на основе ацетиламиномалонного эфира

Разрабатывая методы синтеза замещенных Глу, D. Morrison [24] в 1955 году показал, что способ получения глутаминовой кислоты [25], включающий конденсацию этилацетиламиномалоната с метилакрилатом, может быть использован и для синтеза β-метилглутаминовой кислоты, если метилакрилат заменить на этилкротонат. Полученный этим методом диэтиловый эфир N-ацетил-α-этоксикарбонил-β-метилглутаминовой кислоты был подвергнут гидролизу в концентрированной соляной кислоте в течение 9 часов. После упаривания гидролизата оставшийся гидрохлорид β-метилглутаминовой кислоты растворили в минимальном количестве воды и титровали гидроксидом лития до pH 2,5–3. Затем к полученному раствору добавили десятикратное количество

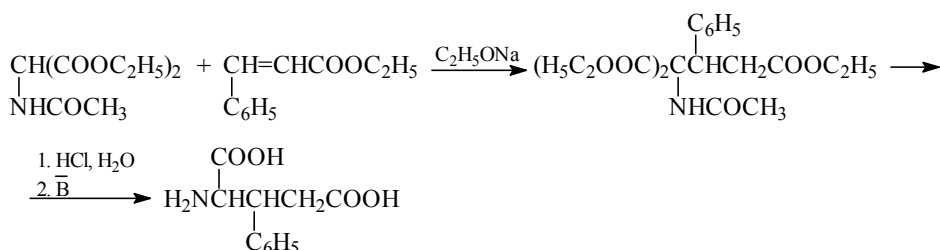
этанола, в котором хлорид лития хорошо растворим, а кислота кристаллизуется при выдержке этого раствора. Выход β-метилглутаминовой кислоты после фильтрования и сушки составил 74%, температура плавления 169,5–170,5°C.



D. Morrison [24] отмечает, что, несмотря на высокий выход целевой Глу, существенным недостатком метода является необходимость точного титрования, так как при избытке гидроксида лития часть кислоты превращается в высокоплавкую соль, а при недостатке — большая часть гидрохлорида остается в спиртовом растворе.

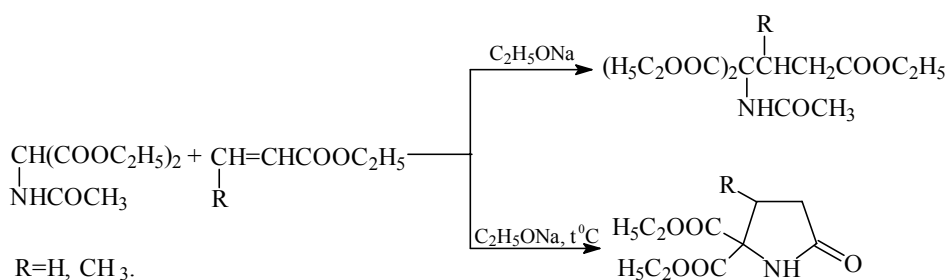
В 1956 году Н. Sasaki и Р. Takahashi [26] предложили способ получения 3-фенилглутаминовой кислоты, заключающийся в конденсации коричневого эфира с ацетаминмалоновым эфиром (ААМЭ).

Исходя из предшествующих исследований [27, 28], авторы работы [26] приписали продукту конденсации структуру диэтилового эфира 2-ацетино-2-этоксикарбонилглутаровой кислоты; его последующий гидролиз приводит к целевой аминокислоте.

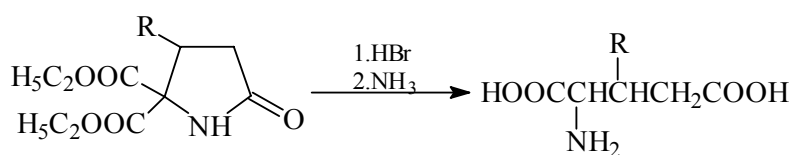


Существенным недостатком этого способа является низкий выход 3-фенилглутаминовой кислоты (17,5%), что связывают с частичным разложением аминоэфира в процессе гидролиза и образованием побочного продукта — фенилпропионовой кислоты.

Позже, на примере конденсации этилакрилата и этилкротоната с ААМЭ, было установлено, что, в зависимости от условий проведения этих реакций, можно получать линейные или циклические продукты [29]. Так, взаимодействие непредельных эфиров с ААМЭ в присутствии этилата натрия при охлаждении (0...10°C) приводит к выделению соответствующих триэфиров. В то же время кипячение этанольного раствора этилакрилата или этилкротоната с ААМЭ в присутствии этилата натрия сопровождается внутримолекулярной циклизацией первоначально образующегося аминоэфира, приводящей к 5,5-диэтоксикарбонил-2-пирролидону.



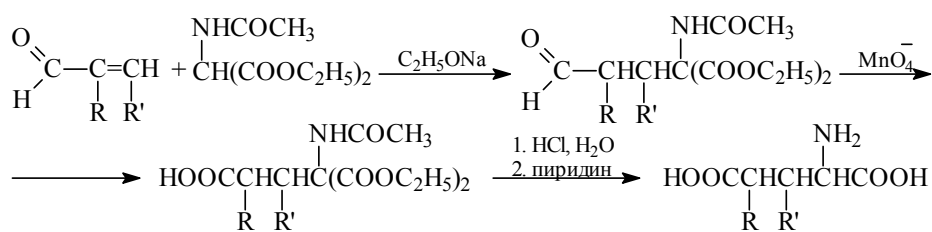
Синтезированные таким методом 4-алкил-5,5-диэтоксикарбонил-2-пирролидоны [29, 30] были использованы в качестве исходных соединений для получения 3-алкилглутаминовых кислот. Соответствующие пирролидоны подвергались гидролизу в кислой среде, гидролизат обрабатывали аммиаком до pH 3,2. В результате был получен ряд алкилзамещенных Глу.



R=CH₃, C₂H₅, CH₃(CH₂)₂, (CH₃)₂CH, CH₃(CH₂)₃, (CH₃)₂CHCH₂, CH₃(CH₂)₄

Надо отметить, что авторы описанных методик [24, 26, 30] получали диастереомерные смеси производных глутаминовых кислот.

Иной метод получения 3-метил-, 4-метил- и 3-фенилглутаминовых кислот предложил Н. Gershon в 1975 году [17]. Им использовалась реакция кротонового, метакрилового или коричневого альдегидов с ацетиламиноmalонатом в присутствии основного катализатора, последующее окисление перманганатом калия альдегидной группы аддукта до карбоксильной и гидролиз продуктов окисления в кислой среде. В результате получены соответствующие гидрохлориды Глу.

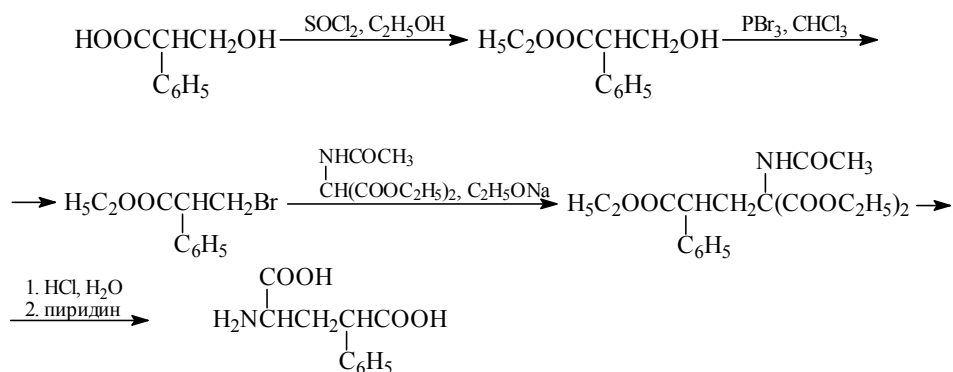


R=H, R'=CH₃; R=CH₃, R'=H; R=H, R'=C₆H₅.

Водные растворы алкил- и арилзамещенных гидрохлоридов глутаминовых кислот обрабатывали пиридином до pH=3,2 и выделяли свободные кислоты [17]. Так, температура плавления β-фенилглутаминовой кислоты, равная 179–180°C, сопоставима с данными в предыдущих работах [4] и указывает на то, что по этому методу образуется диастереомерная смесь β-фенилГлу.

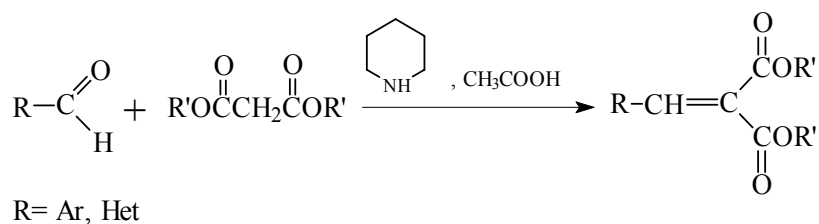
Этими же авторами [17] синтезирована 4-фенилглутаминовая кислота в четыре стадии. Вначале получали этиловый эфир 2-фенил-3-оксипропановой кислоты, из которого действием трибромида фосфора синтезирован этил-3-бром-2-фенилпропаноат. Далее конденсацией бромпропаноата с ацетиламиноmalонатом и последующим кислотным гидролизом аддукта авторы [17] вы-

делили гидрохлорид 4-фенилглутаминовой кислоты. Как и в случае алкил- и арилГлу свободная 4-фенилГлу была выделена титрованием водного раствора гидрохлорида пиридином до pH 3.2. Выход ее составил 81%, t° плавления 177–179°C (из ацетона). Очевидно, что в данном случае также образуется смесь изомеров β -фенилГлу.



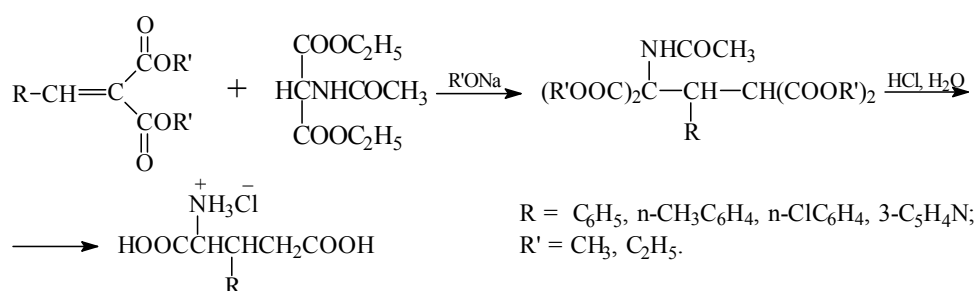
Систематические исследования по синтезу и свойствам аминокислот, проводимые на кафедре органической химии РГПУ им. А.И. Герцена, привели к разработке удобного двухстадийного метода синтеза β -замещенных глутаминовой кислоты [31]. Он заключается во взаимодействии 1,1-диметоксикарбонилэтанов с диэтилацетаминомалоновым эфиром в присутствии этилата натрия и последующем гидролизе образующегося тетраэфира.

Следует отметить, что 1,1-диметоксикарбонилэтаны могут быть получены по доступной и удобной методике конденсацией соответствующих альдегидов с малоновым эфиром в среде бензола в присутствии пиперидина и уксусной кислоты. Выделяются кристаллические или маслообразные продукты с выходами более 70% [31–33].

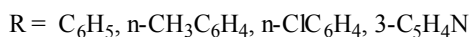
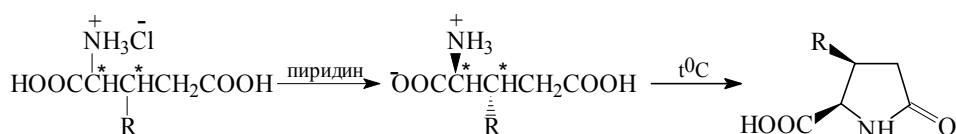


Замещенные 1,1-диметоксикарбонилэтаны вводились в реакцию с диэтиловым эфиром ацетиламинояланиновой кислоты в условиях михаэлевской конденсации: взаимодействие эквимольных количеств реагирующих веществ, присутствие метилата натрия и температура реакции 0–5°C. Процесс сопровождался переэтерификацией сложноэфирных групп и привел к выделению аминотетраэфиров с выходами более 65%.

Последующее кипячение их в разбавленной (1:1) соляной кислоте сопровождается гидролизом ацильной и сложноэфирных групп, декарбоксилированием двух карбоксильных групп и приводит к образованию гидрохлоридов β -замещенных глутаминовых кислот. По этому методу гидрохлориды выделяются с хорошими выходами (70–80%) и высокой степени чистоты.



Гидрохлориды замещенных глутаминовых кислот обрабатывались эквимолярным количеством пиридина в среде кипящего метанола, и в результате были получены свободные арил- и пиридил-глутаминовые кислоты.



Ранее упоминалось, что Р. Pachaly и соавторы из цис- и транс-4-замещенных пирролидон-5-карбоновых кислот получили соответственно трео- и эритро-изомеры β -фенил-, β -толил и β -пиридилглутаминовых кислот [20, 22].

Необходимо отметить, что температуры плавления β -фенил-, β -толил- и β -(пиридил-3)глутаминовых кислот, полученных по разработанной нами методике, полностью совпадают с приведенными в литературе [22] для трео-изомеров; кроме того, температуры плавления продуктов их циклизации соответствуют таковым для цис-изомеров пирролидон-5-карбоновых кислот. Это позволяет с большой долей вероятности приписать полученным нами арил- и пиридил-Глу трео-конфигурацию. Такой вывод подтверждает анализ спектров ЯМР¹N полученных β -замещенных глутаминовых кислот и 4-замещенных 2-пирролидон-5-карбоновых кислот, которые указывают на диастереомерную однородность производных Глу.

Разработанный на нашей кафедре способ синтеза β -арил- и β -гетерилглутаминовых кислот, заключающийся в конденсации диалкоксикарбонилэтанов с ацетиламино말로новым эфиром и последующем кислотном гидролизе аминотетраэфиров, является двухстадийным, прост в аппаратном оформлении, хорошо воспроизводится. Преимуществом этого метода является то, что он позволяет получать как арил-, так и гетерилсодержащие стереооднородные (трео-)глутаминовые кислоты с хорошими выходами.

Как известно, глутаминовая кислота и ее производные проявляют различную активность в зависимости от их пространственного строения. В связи с этим разработка методов получения стереооднородных аналогов глутаминовой кислоты — чрезвычайно важное направление современных исследований [34]. Поэтому в последнее время интенсивно разрабатываются различные методы асимметрического синтеза производных Глу. Несмотря на многостадийность, необходимость использования большого количества дорогостоящих химических реагентов и сложное аппаратное оформление, асимметрический синтез позволяет получать энантиомерные глутаминовые кислоты с вы-

сокой степенью оптической чистоты (более 90%), что делает его незаменимым на данном этапе развития химической науки и достойным более подробного рассмотрения в отдельной публикации.

2. Биологическая активность производных глутаминовой кислоты

В литературе достаточно широко изучается физиологическое действие метил-, фенил-, и п-хлорфенилглутаминовых кислот. Так, рацемическая RS- α -метилГлу ингибирует активность глутаматдекарбоксилазы в культурах *E. coli* и *L. arabinosis* [35]. Позднее было установлено, что α -метил-RS-глутамат ингибирует энзиматическую систему, связанную с синтезом и последующей утилизацией глутамината [15], и является высокоселективным ингибитором глутаминатного транспорта [36]. β -Метилглутамат является антагонистом S-глутамата в клетках сегментарного ганглия медицинской пиявки [37].

(2S, 4R)-4-Метилглутамат на различных объектах показывает высокое сродство с определенными субъединицами каинатных (КА) рецепторов [38–41], являясь их селективным блокатором. Это свойство предложено использовать для изучения структуры этих рецепторов. Интересно, что если (2S, 4R)-4-метилГлу строго селективен по отношению к КА-рецепторам головного мозга крыс, то (2S, 4S)-4-метилГлу проявляет наибольшее сродство с культуральными mGlu_(1 α и 2)-рецепторами [42]. Это доказывает, что пространственное строение ощутимо влияет на фармакологические свойства соединения.

На ооцитах шпорцевой лягушки установлено, что (2S, 4R)-4-метилглутамат блокирует работу переносчиков возбуждающих аминокислот первого типа, в то время как сам становится субстратом для переносчиков возбуждающих аминокислот второго типа, что свидетельствует о перспективности его использования в фармакологии [43].

Авторы работы [44], используя 4-метилГлу, доказали, что состояние нейронов регулируется не только АМРА [2-амино-3-(3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол)пропанатной] рецепцией, но и через КА-рецепторы так как под влиянием 4-метилглутамата наблюдался рост [Ca²⁺] в изолированной культуре нейронов гиппокампа крысы с последующим развитием токсического эффекта [44].

В результате проведенного по оригинальному алгоритму скрининга веществ, способных влиять на глутаминатный транспорт, было обнаружено, что (2S, 4R)-4-метилглутамат отвечает всем требованиям их теста [45]. Это делает его перспективной субстанцией для лечения нервных болезней, связанных с нарушениями метаболизма Глу.

Известно, что β -алкилзамещенные глутаминовые кислоты не влияют на скорость размножения и морфологию ряда микроорганизмов [30], а 2-метил- и 3-метилглутаминовые кислоты не активны по отношению к КА-рецепторам [40]. Кроме того, изучена активность по отношению к глутаминатным рецепторам нейронов субэзофагеального ганглия *N. aspersa* 2-, 3- и 4-замещенных (S)-глутамата. Выявлено, что и в этом случае 2- и 3-замещенные (S)-глутамата менее активны по сравнению с его замещенными по С⁴-углеродному атому [46]. Все это указывает на связь биологической активности С-замещенных S-глутамата с наличием алкильной группы именно в γ -положении.

Однако именно 3-арилзамещенные Глу показывают высокую биологическую активность. Так, например, 3-фенил- и 3-толилглутаминовые кислоты являются ингибиторами аминокислотного транспорта в клетках коры голов-

ного мозга крыс [47]. В частности, 3-фенилГлу связывается с глутаматными рецепторами, блокируя доступ к ним S-Глу, т. е. является антагонистом (S)-глутаминовой кислоты [46]. Это свойство 3-фенилГлу используют для изучения поведения глутамата в биологических системах [48]. Так, на примере этой кислоты открыта способность аналогов глутамата вызывать деполяризацию нервномышечного контакта *Euragurus bernhardus* [48]. P. Roberts [49] показал стимулирующее влияние L-глутамата и 3-фенилглутаминовой кислоты на секрецию допамина в стриатуме крыс. Вместе с тем V. James [37] обнаружил, что введение в β -положение молекулы S-Глу фенильного радикала понижает ее активность в отношении нейронов пиявки в 1000 раз. Установлено, что 3-фенилГлу ингибирует нервномышечную передачу и деполяризационные ответы мышечной мембраны тергококсальной мышцы *Locusta migratoria* L. на глутамат в среднем на 15-20% [50]. Интересно, что эфиры фенилглутаминовой кислоты, наоборот, повышают пороги возбуждающих постсинаптических потенциалов [50].

Известно, что 3-(п-хлорфенил)Глу (хлорфег) избирательно ингибирует транспорт аминокислот и этим влияет на синаптическую передачу. Также выявлено, что хлорфег является синергистом L-гомоцистеата и других аминокислот, усиливая вызываемые ими ответы-возбуждения [51, 52]. Исследования роли хлорфегега как возможного блокатора накопления L-гомоцистеата в нервной ткани показали, что селективным блокатором он не является [51, 53].

Хлорфег может выступать в роли ингибитора взаимодействия S-глутамата, который играет отрицательную роль в патогенезе рака, с KA- и NMDA (N-метил-D-аспаратными) рецепторами. Поэтому хлорфег может быть перспективен в плане профилактики онкологических заболеваний [54]. Антагонисты NMDA рецепторов обладают еще и противоэпилептической активностью в экспериментах на животных и оказывают благоприятное действие при судорожном синдроме, связанном с нейрональными нарушениями вследствие значительного высвобождения глутамата [2]. Так, D. Chalmers и соавт. [55] установили, что (2S, 3S)-3-(4-хлорфенил)Глу вызывает более значительную деполяризацию мотонейронов спинного мозга крысиных эмбрионов, чем (2S,3R)-изомер. При этом оба этих изомера показали антагонистическое действие по отношению к N-метил-D-аспартату (NMDA) [55, 56]. Рассмотренные примеры указывают на то, что синтез новых производных глутаминовой кислоты и поиск в их ряду биологически активных веществ является перспективным направлением исследований, которые и проводятся на кафедре органической химии РГПУ им. А. И. Герцена.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

1. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства: В 2 т. Т. 2. 14-е изд. М., 2002. С. 123–124.
2. *Нил М. Дж.* Наглядная фармакология. М., 1999. С. 50–51.
3. *Krogsgaard-Larsen P. et. al.* Design of excitatory amino acid receptor agonists, partial agonists and antagonists: Ibotenic acid as a key lead structure // *Eur. J. Med. Chem.* 1996. Vol. 31. №(7–8). P. 515–537.
4. *Harington C.* Synthesis of 3,4,5-triiodophenyl-pyrrolidone carboxylic acid, a possible isomer of thyroxin // *J. Biol. Chem.* 1925. Vol.64. P.29–39.
5. *Von Beznak A.* Synthesis of γ -phenylglutaminic acid // *Biochem. Z.* 1929. Vol. 205. P.414–419.
6. *Смирнова А. А.* α -Аминокислоты и γ -пирролидоны: Дис. ... канд. хим. наук: 02.00.03. Л., 1967.
7. *Смирнова А. А., Перекалин В. В., Щербаков В. А.* Синтез γ -аминокислот и α -пирролидонов // *ЖОрХ.* 1968. Т. 4. С. 2245–2255.

8. *Done J., Fowden L.* A New Amino-acid amide in the groundnut Plant (*Arachis hypogaea*) Evidence of the occurrence of γ -Methyleneglutamine and γ -Methyleneglutamic Acid // *Biochem. J.* 1952. Vol. 51. № 4. P. 451–458.
9. *Fillman J., Albertson N.* 4-Methylglutamic Acid // *J. Am. Chem. Soc.* 1952. Vol. 74. № 19. P. 4969–4970.
10. *Смрт И., Шорм Ф.* О белках и аминокислотах. XII. Синтез С-метилглутаминовых кислот // *Coll. Czech. Chem. Commun.* 1953. Vol. 18. № 1. P. 131–139.
11. *Takenishi T., Shimamura C.* The Synthesis from Levulinic Acid. A possible Use of Some 2-Methyl-5-oxopyrrolidine-2-carboxylic Esters as Plasticizers // *Bull. Chem. Soc. Japan.* 1954. Vol. 27. № 4. P. 207–210.
12. *Izumi Y., Tatsumi S., Imaida M., Fukuda Y., Acabori S.* The preparation of Optically Active α -C-Substituted Glutamic Acid // *Bull. Soc. Chim. Japan,* 1965. Vol. 38. № 8. P. 1338–1340.
13. *Pfister K. et. al.* α -Methyl- α -amino Acids. I. Homologs of Glutamic Acid, Methionine and Diaminopimelic Acid // *J. Am. Chem. Soc.* 1955. Vol. 77. № 3. P. 697–700.
14. *Meyer H.* Uber die Einwirkung von Ammoniac auf die Lactone // *Monatsh.* 1899. Vol. 20. S. 717–733.
15. *Gal A., Avakian S., Martin G.* A Synthesis of dl- α -Methylglutamic Acid and Some derivatives // *J. Am. Chem. Soc.* 1954. Vol. 76. № 16. P. 4181–4182.
16. *Henze H., Speer R.* Identification of Carbonyl Compounds through Conversion into Hydantoins // *J. Am. Chem. Soc.* 1942. Vol. 64. № 3. P. 522–523.
17. *Gershon H., Parmegiani R., Giannasio V., Krull I.* Amino acid analogs. III. New syntheses of monomethyl- and monophenylglutamic acids // *J. Pharm. Sci.* 1975. Vol. 64. № 11. P. 1855–1858.
18. *Zymalkowski F., Pachaly P.* Stereoselective synthesis of cis- and trans-3-phenyl-2-carboxy-5-pyrrolidone // *Chem. Ber.* 1967. Vol.100. № 4. P. 1137–1147.
19. *Pachaly P.* Michael-Additionen mit β -Aryl-acrylsaureestern: Die stereoselective Synthese von trans-3-Aryl-2-carboxy-pyrrolidonen-(5) // *Chem. Ber.* 1971. Bd.104. № 2. S. 412–420.
20. *Pachaly P.* Die stereoselective Synthese von cis-3-Aryl-2-athoxycarbonylpyrrolidonen-(5) // *Chem. Ber.* 1971. Bd.104. № 2. S.429-439.
21. *Pachaly P.* Michael-Additionen mit β -Aryl-acrylsaureestern: Die Synthese von 3-Aryl-2,2-bis-athoxycarbonyl-pyrrolidonen-(5) // *Chem. Ber.* 1971. Bd. 104. № 2. S. 421–428.
22. *Pachaly P.* Synthesis of threo- and erythro-3-arylglutamic acids // *Arch. Pharm.* 1972. Vol. 305. № 3. P. 176–182.
23. *Sin K., Sung S., Kim K., Lee C., Jun J., Pachaly P.* Synthesis of β -arylmethotrexate analogs // *Arch. Pharm.* 1991. Vol. 324. № 8. P. 501–504.
24. *Morrison D.* Preparation of β -Methylglutamic Acid // *J. Am. Chem. Soc.* 1955. Vol. 77. №22. P.6072–6073.
25. *Snyder H., Shekelton J., Lewis C.* Synthetic Amino Acids. Syntheses from Acetamidomalonic Ester // *J. Am. Chem. Soc.* 1945. Vol. 67. № 2. P. 310–312.
26. *Sasaki H., Takahashi P.* A new synthesis of 3-phenylglutamic acid // *Nippon Kagaku Zasshi.* 1956. Vol. 77. № 3. P. 410–412.
27. *Kato J., Ishihara H., Hiwatashi O.* Amino acids. I. Syntheses of DL-glutamic acid and DL-ornithine // *J. Ayr. Chem. Soc. Japan.* 1953. Vol. 27. P. 498–500 [C.A., 49, 3006 (1955)]
28. *Talbot G., Gaudry R., Berlinguet L.* A convenient synthesis of DL-glutamic acid from β -propiolactone // *Can. J. Chem.* 1956. Vol. 34. №10. P. 1440–1443.
29. *Cocolas G., Hartung W.* Amino acids. XV. Michael Addition Reactions of Diethyl Acetamidomalonic Ester // *J. Am. Chem. Soc.* 1957. Vol. 79. № 19. P. 5203–5205.
30. *Kim Y., Cocolas G.* Glutamic Acid Analogs. The Synthesis of 3-Alkylglutamic Acids and 4-Alkylpyroglutamic Acids // *J. Med. Chem.* 1965. Vol. 8 № 4. P. 509–513.
31. *Кобзарева В. Н., Дейко Л. И., Васильева О. С., Берестовицкая В. М., Беркова Г. А.* Новый метод синтеза 3-фенилглутаминовой кислоты // *ЖОХ.* 1997. Т. 33. Вып. 8. С. 1180–1181.
32. *Кобзарева В. Н., Васильева О. С., Берестовицкая В. М.* Индолсодержащие нитро- и диметоксикарбонилэтены в реакциях с СН-кислотами // *Тезисы докладов первой региональной научной конференции по органической химии.* Липецк. Ноябрь, 1997. С. 67–68.
33. *Берестовицкая В. М., Остроглядов Е. С., Васильева О. С.* Пиридин- и бензимидазолсодержащие 1,1-бис(метоксикарбонил)этены: синтез и реакции с нитрометаном // *ЖОХ.* Т. 39. Вып. 2. 2002. С. 304–305.

-
34. *Williams R.* Synthesis of Optically Active α -Amino Acids; Pergamon Press: Oxford, 1989.
35. *Roberts E.* Inhibition of bacterial and brain glutamic acid decarboxylases // *Federation Proc.* 1952. Vol. 11. № 1. Part 1.
36. *Robinson M., et al.* Subtypes of sodium-dependent high-affinity L-[3 H] glutamate transport activity: Pharmacologic specificity and regulation by sodium and potassium // *J. Neurochem.* 1993. Vol. 60. № 1. P. 167–179.
37. *James V., Walker R., Wheal H.* Structure-activity studies an excitatory receptor for glutamate on leech Retzius neurons // *Br. J. Pharmacol.* 1980. Vol. 68. № 4. P. 711–717.
38. *Gu Z.-Q., et al.* Synthesis, resolution, and biological evaluation of the four stereoisomers of 4-methylglutamic acid: Selective probes of kainite receptors // *J. Med. Chem.* 1995. Vol. 38. № 14. P. 2518–2520.
39. *Zhou L.-M. et al.* (2S,4R)-4Methylglutamic Acid (SYM 2081): A Selective, High-Affinity Ligand for Kainate Receptors // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997. Vol. 280. №1. P.422–427.
40. *Donevan S., Beg A., Gunter J., Twyman R.* The methylglutamate, SYM 2081, is a potent and highly selective agonist at kainate receptors // *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1998. Vol. 285. № 2. P. 539–545.
41. *Jones K., et al.* Desensitization of kainite receptors by kainite, glutamate and diastereomers of 4-methylglytamate // *Neuropharmacology.* 1997. Vol. 36. № 6. P. 853–863.
42. *Braeuner-Osborne H. et al.* Molecular pharmacology of 4-sybstituted glutamic acid analogs at ionotropic and metabotropic excitatory amino acid receptors // *Eur. J. Pharmacol.* 1997. Vol. 335. № 2/3. P. 121–123.
43. *Vandenberg R. et al.* Contrasting modes of action of methylglutamate derivatives on the excitatory amino acid transporters, EAAT₁ and EAAT₂ // *Mol. Pharmacol.* 1997. Vol. 51. № 5. P. 809–815.
44. *Silva A. et al.* Role of kainite receptor activation and desensitization on the [Ca²⁺]_i changes in cultured rat hippocampal neurons // *J. Neurosci. Res.* 2001. Vol. 65. № 5. P. 378–386.
45. Патент США. // C.A. 2002. Vol.136. 210595a
46. *Piggott S., Kerkut G., Walker R.* Structure-activity studies on glutamate receptor sites of three identifiable neurones in the subesophageal ganglia of *Helix aspersa* // *Comp. Biochem. Physiol. C.* 1975. Vol. 51. № 1c. P. 91–100.
47. *Balcar V., Jonston G.* Structural specificity of the high-affinity uptake of L-glutamate and L-aspartate by rat brain slices // *J. Neurochem.* 1972. Vol. 19. № 11. P. 2657–2666.
48. *Wheal H., Kerkut G.* Structure activity studies on the excitatory receptor of the crustacean neuromuscular junction // *Comp. Biochem. Physiol.* 1976. Vol. 53. № 1c. P. 51–55.
49. *Roberts P., Anderson S.* Stimulatory effect of L-glutamate and related amino acids on [3 H] dopamine release from rat striatum. An in vitro model for glutamate actions // *J. Neurochem.* 1979. Vol. 32. № 5. P. 1539–1545.
50. *Мандельштам Ю. Е., Анисимова Н. А., Вовк Т. В., Дейко Л. И., Ивлев С. В., Лапушина И. Б., Перекалин В. В.* Влияние фенильных производных глутаминовой и аспарагиновой кислот на нервно-мышечную передачу саранчи *Locusta migratoria* // *Журнал эволюционной биохимии и физиологии.* 1991. Т. 27. № 5. С. 621–625.
51. *Davies J., Francis A., Oukes D., Sheardown M., Watkins J.* Selective potentiating effect of β -p-chlorophenylglutamate on responses induced by certain sulfur-containing excitatory amino acids and quisqualate // *Neuropharmacology.* 1985. Vol. 24. № 2. P. 177–180.
52. *Zeise M., Knopfel T., Zieglgansberger W.* (\pm)- β -Parachlorophenyl-glutamate selectively enhances the depolarizing response to L-homocysteic acid in neocortical neurons of the rat: evidence for a specific uptake system // *Brain. Res.* 1988. Vol. 443. № 1–2. P. 373–376.
53. *Griffiths R., Grieve A., Allen S., Olverman H.* Neuronal and glial plasma membrane carrier-mediated uptake of L-homocysteate is not selectively blocked by β -p-chlorophenylglutamate // *Neurosci. Lett.* 1992. Vol. 147. № 2. P. 175–178.
54. *Ikonomidou H.* New use of glutamate antagonists for the treatment of cancer // *Eur. Pat. Appl. EP 1.002.535 (Cl. A61 k 31/435), 24 May 2000, Appl. 1998/250.380.280ct.* 1998. P. 21.
55. *Chalmers D., Jane D., Sunter D., Thompson G., Udvarhelyi P., Kilpatrick I., Watkins J.* Differential actions of 3-(4-chlorphenyl)glutamic acid stereoisomers and L-transpyrrolidine-2,4-dicarboxylic acid upon L-homocysteic acid- and L-glutamic acid- induced responses from rat spinal motoneurons // *Neuropharmacology.* 1995. Vol. 34. № 12. P. 1589–1595.

56. *Jane D., et. al.* Diastereoselective Synthesis of All Four Isomers of 3-(4-Chlorophenyl)glutamic Acid: Identification of the Isomers Responsible for the Potentiation of L-Homocysteic Acid — Evoked Depolarizations in Neonatal Rat Motoneurons // *J. Med. Chem.* 1996. Vol. 39. №34. P. 4738–4743.

V. Berestovitskaya, O. Vasilyeva, E. Ostroglyadov., E. Dubovtseva

**GLUTAMIC ACID DERIVATIONS: METHODS OF PREPARATION
AND BIOLOGICAL ACTIVITY**

The methods for the synthesis of glutamic acid (Glu) derivatives containing alkyl and aryl substituents are generalized and systematised. The biological activity of the compounds is covered.