

УДК 547.466 + 615.014

Д. В. ЛОПАТИК, З. И. КУВАЕВА, М. М. МАРКОВИЧ, О. М. БОНДАРЕВА, В. Э. НАЙДЁНОВ

ПОЛУЧЕНИЕ СОЛЕЙ ОСНОВНЫХ АМИНОКИСЛОТ С АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ И КЕТОГЛУТАРОВОЙ КИСЛОТАМИ

Институт физико-органической химии НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 04.12.2012)

α -Аминокислоты, содержащие в цепи дополнительные аминогруппы, кроме функциональной группы у α -углеродного атома, относятся к группе основных аминокислот. Основными аминокислотами являются аргинин, лизин, орнитин и гистидин. Эти аминокислоты используются в качестве лекарственных средств многоцелевого действия в медицинской практике [1]. Характерной их особенностью является способность участвовать в реакциях взаимодействия с карбоксильными группами различных органических кислот с образованием аминовых солей. Соли основных аминокислот с дикарбоновыми аминокислотами были получены и описаны нами ранее [2].

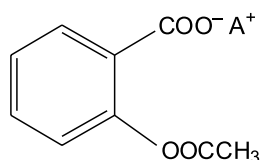
Во второй половине XX века появился целый ряд патентов на получение и применение в качестве лекарственных средств аминовых солей основных аминокислот с ацетилсалициловой и кетоглутаровой кислотами. При этом ацетилсалицилаты, в отличие от исходной ацетилсалициловой кислоты, растворяются в воде и не оказывают ulcerогенного действия на слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта [3–6]. На протяжении многих лет ведутся исследования по получению производных ацетилсалициловой кислоты, которые при сохранении ценных терапевтических свойств не обладали бы указанным раздражающим действием. На практике нашло применение лекарственное средство *Ацелизин* (Аспизоль, Аспежик) на основе DL-лизина ацетилсалицилата, обладающее фармакологическими свойствами ацетилсалициловой кислоты – противовоспалительным, жаропонижающим и антиагрегантным, но без ее основного недостатка – раздражающего действия на слизистые оболочки [7].

Особый интерес представляют аминовые соли кетоглутаровой кислоты. Кетоглутаровая кислота – ключевой продукт в цикле Кребса. Она является одним из важнейших участников обмена веществ в живых организмах. Кетоглутараты могут быть использованы для лечения патологий кишечного тракта, печени, мочевого пузыря, желчных протоков и т.п. [8–10]. За рубежом налажен выпуск лекарственного средства *Орницетил* – соли L-орнитина с α -кетоглутаровой кислотой (Македония – Франция).

Ацетилсалицилаты и кетоглутараты основных аминокислот представляют собой соединения, молекулы которых содержат фрагменты известных биологически активных соединений. Это дает основание для предположения, что они потенциально смогут найти применение в качестве эффективных терапевтических препаратов.

Цель работы – разработка методов получения солей основных аминокислот с ацетилсалициловой и кетоглутаровой кислотами, определение их физико-химических свойств и оценка возможности использования в качестве фармацевтических субстанций для лекарственных средств. Предполагалось также проследить влияние стереоизомерии исходной аминокислоты на физические свойства полученных соединений.

Ацетилсалицилаты основных аминокислот являются кислотно-аддитивными солями, у которых в роли катиона выступает протонированная аминогруппа (для случаев лизина и орнитина) или гуанидиновая группа (в случае аргинина) исходной аминокислоты. Они имеют следующую структурную формулу:



где А = катион основной аминокислоты.

В патентной литературе имеются сообщения о синтезе ряда ацетилсалицилатов основных аминокислот, однако отсутствуют их характеристики. В работе мы использовали L-аргинин, L-лизин и L-орнитин, а также DL-лизин. В табл. 1 приведены результаты определения физико-химических свойств полученных ацетилсалицилатов.

Таблица 1. Физико-химические свойства ацетилсалицилатов основных аминокислот

Номер соединения	Основная аминокислота	Температура плавления, °С	Растворимость в спирте	Выход, %	Элементный состав					
					найдено, %			вычислено, %		
					С	Н	N	С	Н	N
I	L-лизин	–	Хорошая	45,0	54,70	7,17	8,38	55,21	6,84	8,58
II	DL-лизин	138–140	Плохая	80,0	55,71	6,96	8,75	55,21	6,84	8,58
III	L-орнитин	143–144	Плохая	63,5	54,6	7,6	9,0	53,6	6,9	8,9
IV	L-аргинин	139–141	Хорошая	84,0	53,4	7,1	16,1	53,54	5,95	16,6

Полученные ацетилсалицилаты – порошкообразные соединения белого цвета, хорошо растворимы в воде, водные растворы имеют нейтральную реакцию, из водного раствора осаждаются спиртом. Ацетилсалицилаты II–IV являются стабильными веществами и незначительно различаются по температуре плавления в отличие от I, который расплывается на воздухе и разлагается при хранении с выделением уксусной кислоты. По причине низкой стабильности ацетилсалицилат L-лизина не нашел применения в клинической практике, где используется соль его DL-изомера.

Практический интерес для фармацевтических целей может представлять L-орнитина ацетилсалицилат (III). Получение этой соли не вызывает затруднений, не требует осуществления стадии рацемизации исходного L-орнитина, как в случае применения DL-лизина, при этом продукт III стабилен при хранении.

α -Кетоглутаровая (оксоглутаровая) кислота и ее производные наряду с аминокислотами относятся к веществам, представляющим интерес с точки зрения перспективности их использования в медицинской практике. α -Кетоглутаровая (α -оксоглутаровая) кислота содержит две карбоксильные группы, различающиеся по константам диссоциации – $pK_{a1}=2,47$ и $pK_{a2}=4,68$. Наличие двух реакционно способных карбоксильных групп дает возможность получения на ее основе как кислых солей, так и солей с двумя различными катионами.

Кетоглутаровая кислота была использована для получения кислых солей, содержащих положительно заряженные аминокислотные катионы. Этими катионами являлись L-орнитин, L- и DL-лизин и L-аргинин. На их основе были получены монокетоглутараты. Для получения двойных солей нами был использован L-глутамин в качестве второго катиона. Свойства полученных соединений приведены в табл. 2.

При сравнении физических свойств полученных солей установлено, что все они хорошо растворимы в воде и частично в этиловом спирте. Их водные растворы имеют кислую реакцию (значения pH от 3,0 до 4,5). Кетоглутараты плавятся при достаточно высокой температуре за исключением VII, который содержит в качестве катиона L-лизин. Установлено, что кислые кетоглутараты V–VIII являются гигроскопичными соединениями. Особенно высоким сродством к влаге отличается VIII, расплывающийся на воздухе, вследствие чего не удалось определить его температуру плавления. Таким образом, использование L-лизина в качестве катиона приводит к получению низкоплавких аминовых солей как в случае взаимодействия с ацетилсалициловой кислотой, так и с кетоглутаровой.

Полученные кетоглутараты имеют общую формулу: $ROOC-CO-(CH_2)_2-COOR^1$, где R – положительно заряженный катион основной аминокислоты, а R^1 – катион L-глутамин или H^+ .

Таблица 2. Физико-химические свойства γ -кетоглутаратов основных аминокислот

Номер соединения	Катионы		Температура плавления, °С	рН, (1 %, вода)	Элементный состав					
					найдено, %			вычислено, %		
	R	R'			C	H	N	C	H	N
V	L-орнитин	H	174–176	3,45	43,49	6,91	10,03	43,16	6,52	10,07
VI	L-аргинин	H	186–190	3,46	40,60	7,70	16,45	41,12	6,24	17,44
VII	L-лизин	H	–	4,40	44,83	7,91	9,64	45,20	6,90	9,59
VIII	DL-лизин	H	110–112	3,30	45,25	6,98	8,80	45,20	6,90	9,59
IX	L-орнитин	L-глутамин	177–179	3,96	42,67	6,92	13,23	42,45	6,65	13,20
X	L-аргинин	L-глутамин	170–172	4,10	40,76	7,90	17,91	41,20	6,48	18,02
XI	L-лизин	L-глутамин	162–164	4,32	42,52	7,28	13,32	43,82	6,89	12,77
XII	DL-лизин	L-глутамин	172–174	3,07	43,19	6,91	12,12	43,82	6,89	12,77

Особый интерес представляют двойные аминовые соли кетоглутаровой кислоты, полученные при использовании L-глутамина (соединения IX–XII). Выбор последнего был предопределен известным благотворным действием L-глутамина на живой организм. Глутамин имеет широкий спектр терапевтического действия – от лечения желудочно-кишечных заболеваний до снятия наркотической зависимости. Он способствует реабилитации организма после хирургического вмешательства, помогает при лечении цирроза печени [1]. Можно предположить, что использование L-глутамина в кетоглутаратах усилит фармакотерапевтическое действие этих соединений.

Введение катиона L-глутамина существенно повлияло на физические свойства кетоглутаратов. Соединения IX–XII устойчивы на воздухе, растворимы в воде, но практически нерастворимы в спирте. Процесс их получения и выделения из реакционной водной смеси не вызывает затруднений. Применение L-лизина в качестве катиона, несмотря на его способность снижать стабильность содержащих его солей, практически не сказалось на температурных характеристиках двойных солей. В водных растворах все полученные соли проявляют кислотность, что связано с наличием свободной карбоксильной группы у α -углеродного атома L-глутамина.

Данные элементного анализа на содержание C, H и N полученных солей основных аминокислот соответствуют расчетным.

Изучение ИК спектров синтезированных ацетилсалицилатов показало отсутствие полос поглощения неионизированной карбоксильной группы в области 1700 см^{-1} . Это является подтверждением участия карбоксильной группы ацетилсалициловой кислоты во взаимодействии с аминогруппами основных аминокислот с образованием аминовых солей. В ИК спектрах кислых кетоглутаратов (соединения V–VII) присутствует полоса поглощения в области $1720\text{--}1705\text{ см}^{-1}$, что свидетельствует о наличии неионизированной второй карбоксильной группы кетоглутарат-аниона. В ИК спектрах двойных кетоглутаратов также присутствует полоса поглощения, смещенная в область $1700\text{--}1688\text{ см}^{-1}$, которую можно отнести к поглощению неионизированной α -карбоксильной группы L-глутамина. Все ИК спектры исследуемых аминовых солей содержат характеристические полосы поглощения в областях $1660\text{--}1600$ и $1550\text{--}1485\text{ см}^{-1}$ – деформационные колебания $\dot{\text{N}}\text{H}_3$ -групп.

Экспериментальная часть. ИК спектры регистрировали на ИК Фурье спектрометре Nicolet Protégé 460 в таблетках с KBr. Спектральное разрешение составляло 4 см^{-1} .

Основные аминокислоты – L-аргинин, L-орнитин, L- и DL-лизин в форме оснований получали путем дегидрохлорирования соответствующих гидрохлоридов аминокислот с использованием колонки с катионообменной смолой КУ-2х8. DL-лизин гидрохлорид предварительно получали рацемизацией L-лизина гидрохлорида по разработанному ранее способу [11]. Степень чистоты полученных аминокислот определяли методом хроматографирования в тонком слое на пластинках фирмы «Merck» в системе *n*-пропанол : концентрированный аммиак = 2:1 (об./об.), реактив для обнаружения – раствор нингидрина в смеси этанола и ледяной уксусной кислоты в соотношении 100:5 (об./об.).

Ацетилсалициловая кислота – фармакопейная субстанция.

α -Кетоглутаровая кислота синтезирована по способу [12].

Получение ацетилсалицилатов. Для получения ацетилсалицилатов L- и DL-лизина 0,1 моль ацетилсалициловой кислоты растворяли в 40–50 мл этилового спирта, в полученный раствор вводили 0,1 моль аминокислоты в минимальном количестве воды, перемешивали в течение 30 мин и упаривали в вакууме досуха. Остаток обрабатывали ацетоном и сушили в вакууме при 40 °С.

L-орнитина ацетилсалицилат получали при использовании раствора 0,1 моль исходной аминокислоты в смеси 40 мл метилового и 80 мл изопропилового спирта, к которому добавляли спиртовой раствор 0,1 моль ацетилсалициловой кислоты. При перемешивании реакционной смеси выпадает осадок, который отфильтровывали, промывали спиртом и сушили в вакууме при 40 °С.

L-аргинина ацетилсалицилат получали путем добавления небольшими порциями 0,1 моль исходного L-аргинина в спиртовой раствор, содержащий 0,1 моль ацетилсалициловой кислоты, при перемешивании в течение часа. Раствор упаривали досуха и сушили в вакууме при температуре не выше 50 °С.

Получение кетоглутаратов. В водный раствор, содержащий 0,2 моль кетоглутаровой кислоты, добавляли при комнатной температуре и перемешивании водный раствор 0,2 моль исходной основной аминокислоты или 0,2 моль исходной аминокислоты и 0,2 моль L-глутамин. Реакционную смесь выдерживали в течение 0,5–1,0 ч и образовавшуюся соль осаждали прибавлением 96%-ного этилового спирта. Полученный осадок отфильтровывали, промывали спиртом и сушили в вакууме при температуре 40–45 °С.

Таким образом, получены ацетилсалицилаты и кетоглутараты основных аминокислот: L-аргинина, L- и DL-лизина и L-орнитина, а также двойные соли α -кетоглутаровой кислоты, содержащие в качестве второго катиона L-глутамин. Определены характеристики полученных соединений. Строение солей подтверждено данными ИК спектроскопии и результатами элементного анализа. Полученные соли основных аминокислот – потенциально значимые терапевтически активные соединения. Показано, что применение L-лизина приводит к получению низкоплавких и сильно гигроскопичных соединений по сравнению с их аналогами на основе DL-стереоизомера. Особый интерес для использования в качестве терапевтических средств могут представлять соединения III и IX–XII, отличающиеся стабильными физико-химическими характеристиками. Кроме того, от двойных солей (IX–XI) можно ожидать дополнительного положительного терапевтического эффекта, так как в их молекулы входят фрагменты соединений, известных своей фармакологической активностью.

Литература

1. *Аткинс Р.* Биодобавки доктора Аткинса. М, 2000. С. 183–193.
2. *Лопатик Д. В., Михалевская С. В., Винокурова Л. Г.* и др. // *Весті НАН Беларусі. Сер. хім. навук.* 2010. №2. С. 91–94.
3. Патент Великобритании 1350309. МКИ С07 С 101/08. Оpubл. 1974.
4. Заявка Румынии 62586. МКИ С07 С 65/10. Оpubл. 1977.
5. Заявка ФРГ 2454106. МКИ С07 С 101/24. Оpubл. 1975.
6. Заявка ФРГ 10034802. МПК С07 С 69/157. Оpubл. 2002.
7. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства. Изд. 13-е. Харьков: Торгсин, 1998. Т. 2. С. 167–168.
8. Заявка Франции 2775901. МПК А61 К 31/205. Оpubл. 1998.
9. Патент США 4228099. МПК С07 С 101/08. Оpubл. 1980.
10. Патент США 6429229. МПК А61 К 31/198. Оpubл. 2002.
11. Патент РФ 3050. МПК С07 С 227/36; С07 С 227/42. Оpubл. 1999.
12. Синтезы органических препаратов. М.: ИЛ, 1949–1964. Сб. 4. С. 284–286.

D. V. LOPATIK, Z. I. KUVAEVA, M. M. MARKOVICH, O. M. BONDAREVA, V. E. NAIDENOV

PREPARATION OF ACETYLSALICYLIC AND KETOGLUTARIC ACID SALTS WITH BASIC AMINO ACIDS

Summary

Methods of preparation, physical and chemical characteristics for amine salts of basic amino acids (L-arginine, L and DL-lysine, L-ornithine) with acetylsalicylic and ketoglutaric acids, as well as ketoglutaric acid double salts containing L-glutamine as the second cation, have been described. The obtained salts of amino acids are potentially therapeutically important compounds.