

Рис. 1. Окислительная конденсация 4-окси-3,5-дйодфенилпировиноградной кислоты (IV) и 3,5-дйодфенил-L-тирозина (III).

к этому времени относятся и первые описания его синтеза [19, 20].

Полный и детальный обзор методов синтеза ТГ с использованием подходов классической органической химии, опубликованных до 1990 г., сделан П. М. Кочергиным и др. [21]. Целью данной работы является обобщение результатов исследований в области химического моделирования биосинтеза ТГ, многие из которых были опубликованы в последние 12 лет.

Изучение природных путей синтеза соединений часто помогает разработке рациональных подходов к их химическому синтезу. К настоящему времени механизм образования ТГ в основном выяснен. Этот процесс является частью системы поддержания гомеостаза организма. Нейроэндокринная регуляция синтеза ТГ осуществляется по трехступенчатой схеме: первая ступень обеспечивает нейротрансмиттерный контроль секреции тиротропин-релизинг-гормона (тиролиберина) из гипоталамуса, вторая — гипоталамический контроль секреции тиреотропного гормона (ТТГ) из гипофиза, третья — гипофизарный контроль (посредством ТТГ) функционирования щитовидной железы и синтеза ТГ [22]. Взаимодействие ТТГ с соответствующими рецепторами щитовидной железы приводит в действие механизм собственно биосинтеза ТГ [23].

На начальных этапах этого процесса происходит концентрирование йодидов из плазмы крови в щитовидной железе и их окисление по механизму одноэлектронного переноса под действием тиропероксидазы. Образовавши-

еся активные атомы йода, содержащие неспаренный электрон, йодируют фенольные кольца остатков тирозина в тироглобулине, главном белковом компоненте щитовидной железы [24, 25]. В результате последующей окислительной конденсации, катализируемой также тиропероксидазой, образуется дифениловая эфирная связь Ag-O-Ag' между двумя фенольными остатками. Основные этапы окислительной конденсации 3,3-дйод-L-тирозина (ДИТ, III) следующие: окисление фенолятного аниона до фенокисильного радикала; взаимодействие радикала с фено-

лят-анионом, приводящее к образованию простой эфирной связи; отщепление боковой цепи с "трехуглеродным" остовом. После определения первичной структуры тироглобулина установлено участие в синтезе ТГ отдельных остатков тирозина, в частности, в положениях 5 и 130 [26]. Обнаружено, что 1 моль тироглобулина может содержать до 15 молей Т<sub>4</sub> [26, 27], т.е. этот белок выполняет функцию "депо" тиреоидных гормонов, которые высвобождаются в виде индивидуальных соединений в результате протеолиза.

Параллельно с исследованиями механизма биосинтеза ТГ предпринимались попытки его химического моделирования. История исследований биосинтеза ТГ с использованием таких реакций начинается с 1939 г., когда при инкубации слабощелочного раствора ДИТ в присутствии кислорода и Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> в качестве катализатора при 38 °C были получены небольшие количества Т<sub>4</sub> [28]. Предпосылкой для проведения этой реакции явилась гипотеза о том, что Т<sub>4</sub> синтезируется в щитовидной железе из ДИТ, находящегося в свободном, не связанном с белком состоянии [18]. Несмотря на кажущуюся простоту, метод не имел препаративного значения из-за низкого выхода, рацемизации гормона, длительности протекания процесса.

Лучшие результаты были получены в результате инкубации N-ацетил-L-дйодтирозина при 37 °C и pH 7,25–7,8 в течение 14 дней [29]. N-ацетил-L-тироксин был получен оптически активным, с выходом ~ 5%, но для практического применения и этот процесс оказался неприемлемым.

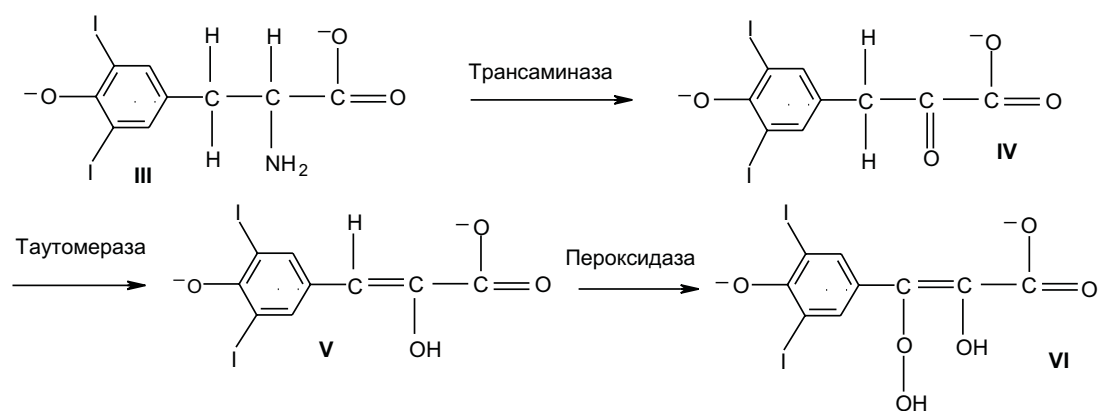


Рис. 2. Возможный механизм образования из ДИТ промежуточного активного соединения в синтезе Т<sub>4</sub>-пероксида VI.

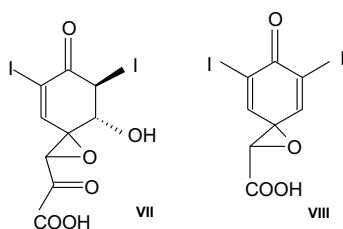
Один из предложенных ранее механизмов биосинтеза  $T_4$  [30] включал стадию окисления ДИТ до соответствующей  $\alpha$ -кетокислоты (4-окси-3,5-дйодфенилпировиноградной, IV) и последующую конденсацию ее с неокисленным ДИТ. Косвенными свидетельствами возможности этого механизма являются распространенность в организме процесса трансаминирования, легкость превращения  $\alpha$ -аминокислот в  $\alpha$ -кетокислоты.

Для доказательства этих гипотез разработаны и изучены модельные реакции с участием производных  $\alpha$ -кетокислот. Мельцнер и Станабак [31] осуществили получение L- $T_4$  из 4-окси-3,5-дйодфенилпировиноградной кислоты и ДИТ при pH 7,4–7,6 в присутствии кислорода (рис. 1).

Эта реакция протекала за короткое время (до полутора часов), отличалась несложным технологическим оформлением, при этом выход  $T_4$  достигал 36%. Она вошла в арсенал препаративных методов получения ТГ и используется, в частности, для синтеза ТГ, меченных йодом-125 [32]. Недавно показано, что при введении в реакционную смесь инициаторов образования свободных радикалов выход реакции повышается до 46% [33]. Детальные исследования окислительной конденсации 4-окси-3,5-дйодфенилпировиноградной кислоты и ДИТ показали, что реакция имеет две стадии — аэробную и анаэробную [34, 35]. Первая представляет собой окисление енольной формы кетокислоты (V) кислородом с образованием гидропероксида (VI) (рис. 2). Вторая стадия — взаимодействие VI с ДИТ — идет без участия кислорода, более того, атмосфера инертного газа благоприятствует ее протеканию. Выход  $T_4$  составляет 0,4 моль на 1 моль кетокислоты. Возможными участниками синтеза  $T_4$  по этой схеме могут быть тирозинтрансаминаза, которая катализирует образование 4-окси-3,5-дйодфенилпировиноградной кислоты из ДИТ, таутомераза, катализирующая превращение 4-окси-3,5-дйодфенилпировиноградной кислоты в енольную форму (рис. 2). Енол V может быть окислен в гидропероксид в присутствии перекиси водорода и тиропероксидазы [36, 37]. Будучи выделенным в виде индивидуального соединения, пероксид VI вступает в реакцию конденсации с ДИТ с количественным выходом [38].

Попытки получения  $T_3$  при взаимодействии ДИТ и 4-окси-3-монойодфенилпировиноградной кислоты показали, что эта реакция протекает значительно хуже, чем при использовании дйодированной кетокислоты [39, 40]. Возможно, это связано с устойчивостью промежуточных соединений.

Современные исследования механизма реакции взаимодействия ДИТ и 4-окси-3,5-дйодфенилпировиноградной кислоты показали, что промежуточные продукты окисления имеют, скорее всего, структуру спироэпоксихинонов (VII, VIII) [37]:

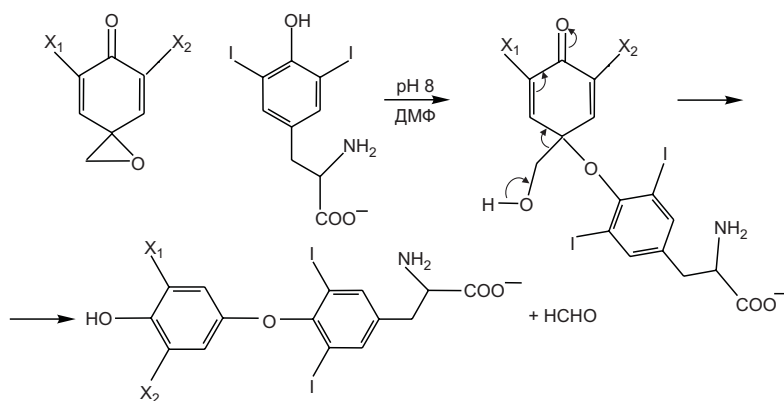


Спироэпоксихиноны менее сложной структуры, без заместителей в эпоксидном цикле (1-оксаспиро[2,5]бициклоокта-5,7-дйод-4,7-диен-6-он IX и 1-оксаспиро[2,5]бициклоокта-5-йод-4,7-диен-6-он X, рис. 3) предложены как удобные арилирующие агенты в синтезе ТГ, позволяющие на стадии их конденсации с ДИТ получать  $T_4$  с выходом 94%, а  $T_3$  — 70% [41]. Следует отметить, однако, что соединения IX и X не относятся к доступным, при получении их окислением йодбензиловых спиртов выходы, по данным [41, 42], составляют 20–38%, а в экспериментах других авторов они были существенно ниже [43]. Для этой реакции арирования ДИТ был предложен механизм  $S_N2$ .

Рассмотренные выше реакции разработаны в рамках так называемого “межмолекулярного” подхода к механизму биосинтеза ТГ, который предполагает, что при образовании диариловой структуры по крайней мере один из остатков, вступающих в конденсацию производных йодтирозина, не входит в последовательность тироглобулина, а является индивидуальной молекулой [44]. Большинство современных исследователей являются сторонниками “внутримолекулярного” подхода и рассматривают процесс образования ТГ как конденсацию двух остатков ДИТ, входящих в состав тироглобулина. Модельные эксперименты по включению ДИТ в синтетические полипептиды показали, что присутствие остатка этой аминокислоты в составе полипептидной цепи благоприятствует синтезу  $T_4$ , как энзиматическому, так и неэнзиматическому [45, 46].

Этот факт подтверждают и более ранние исследования [29, 47]. При инкубации дипептидов N-ацетил-дйодтирозил-глутаминовой кислоты и N-ацетил-дйодтирозил- $N_\epsilon$ -( $N_\alpha$ -ацетил)-лизина при 37 °C и pH 7,4 с выходом ~ 50% были получены пептидные производные тироксил-глутаминовой кислоты и тироксил-лизина. После их кислотного гидролиза был выделен свободный  $T_4$ .

Механизм биосинтеза  $T_4$  через окисление фенолят-аниона в составе тироглобулина до свободного радикала, который атакуется другим фенолят-анионом с образованием замещенного хинола, был исследован на примере окислительной конденсации этилового эфира N-ацетил-3,5-дйодтирозина XI [48]. По предложенному механизму реакции (рис. 4) образующийся  $\sigma^*$ -анион-ра-



**Рис. 3.** Получение тиреоидных гормонов с использованием спироэпоксидхинонов: 1-оксаспиро[2,5]бициклоокта-5,7-дйод-4,7-диен-6-она IX ( $X_1 = X_2 = I$ ); и 1-оксаспиро[2,5]бициклоокта-5-йод-4,7-диен-6-она X ( $X_1 = H, X_2 = I$ ).

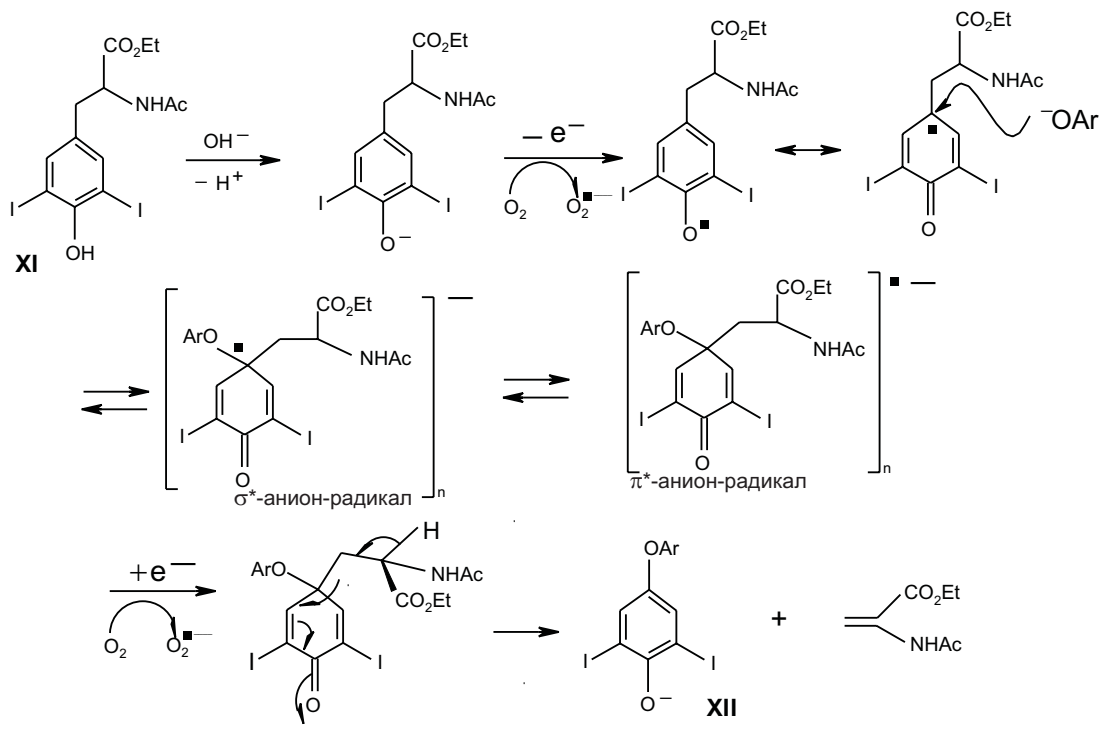


Рис. 4. Возможный механизм окислительной конденсации этилового эфира N-ацетилдигидротирозина XI с образованием этилового эфира N-ацетил-3,5,3',5'-тетрайодтиронина XII.

дикал переходит в более устойчивый  $\pi^*$ -анион-радикал, при окислении которого происходит перестройка структуры арилоксидиенона в структуру диарилового эфира и отщепление бокового остатка в виде замещенного  $\alpha,\beta$ -дегидроаланина.

Эта реакция применима для промышленного получения  $T_4$ , так как отличается несложным технологическим режимом: окислительная конденсация этилового эфира N-ацетил-3,5-дигидротирозина XI протекает при нагревании в водно-этанольном растворе при pH 9,5 в присутствии кислорода и каталитических количеств  $MnSO_4$ . Повышенное давление, создаваемое в реакционном сосуде кислородом, ускоряет реакцию и несколько повышает

выход замещенного тироксина XII (20 ч; 28%), но и при атмосферном давлении и кипячении реакционной смеси в течение 48 ч составляет 22%.

Промежуточное образование феноксильных радикалов и эфиров хинола XIV (арилдиенонов) подтверждено рядом экспериментов по окислительной конденсации 2,4,6-три-*трет*-бутилфенолов и производных тирозина при использовании в качестве окислителей  $MnO_2$ ,  $K_3Fe(CN)_6$  и других соединений [49, 50]. Отщепление *трет*-бутильного радикала в положении 1' и превращение эфира хинола в диарилловый эфир XV (рис. 5) происходит в присутствии кислот Льюиса ( $TiCl_4$ ,  $SnCl_4$  и др.). *Трет*-бутильные производные фенолов находят применение в синтезе аналогов ТГ с объемными боковыми радикалами [51].

Существуют две различные гипотезы, касающиеся биосинтеза  $T_3$ : одни исследователи [52] полагают, что он образуется по тем же механизмам, что и  $T_4$ , при конденсации остатка ДИТ и остатка монойодированного тирозина; в пользу этой точки зрения свидетельствует присутствие заметных количеств монойодированных производных тирозина в щитовидной железе. Согласно другим данным,  $T_3$  образуется при избирательном дейодировании  $T_4$  в щитовидной железе и периферических органах и тканях [3, 14]. Существенно меньшие выходы трийодтиронина при взаимодействии ДИТ с монойодфенилпировиноградной кислотой [39, 40] и монойодспироэпоксикиноном [41] являются, скорее всего, следствием меньшей устойчивости промежуточных свободных радикалов или других структур и свидетельствуют в пользу последней гипотезы. Свободные радикалы с двумя атомами йода, обладающие большей симметрией, отличаются повышенной стабильностью и могут взаимодействовать с

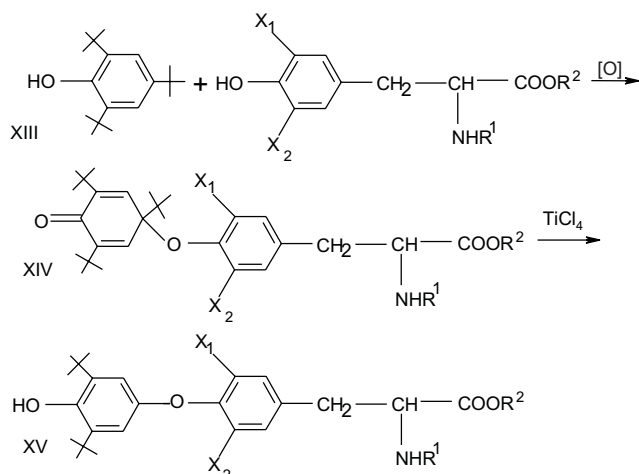


Рис. 5. Получение замещенных тиронинов XV путем окислительной конденсации 2,4,6-три-*трет*-бутилфенола XIII и производных тирозина.



дийодфенолами, что приводит к образованию тирониновой структуры.

В целом, химическое моделирование биосинтеза ТГ оказалось плодотворным направлением и позволило разработать ряд интересных и эффективных синтетических схем, что внесло свой вклад в выяснение многих аспектов синтеза ТГ *in vivo*.

## ЛИТЕРАТУРА

1. L. E. B. Utiger and R. V. Utiger, *The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text*, Lippincott, Philadelphia (1991).
2. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Т. 2, Торсинг, Харьков (1998), Т. 2, с. 11.
3. J. H. Oppenheimer, J. W. Apriletti, and H. H. Samuels, *Molecular Basis of Thyroid hormone action*, Academic, New York (1983).
4. S. F. Engelken and R. P. Eaton, *Atherosclerosis*, **38**, 177 – 188 (1981).
5. P. Hansson, S. Valdemarsson, and P. Nilsson-Ehlehle, *Horm. Metab. Res.*, **15**, 449 – 452 (1983).
6. B. Blank, F. R. Pfeiffer, C. M. Greenberg, and J. F. Kerwin, *J. Med. Chem.*, **6**, 554 – 560 (1963).
7. A. H. Unterwood, G. C. Emmlett, D. Ellis, et.al., *Nature*, **324**, 425 – 429 (1986).
8. N. Yokoyama, G. N. Walker, A. J. Main, et.al., *J. Med. Chem.*, **38**, 695 – 707 (1995).
9. P. D. Leeson, J. C. Emmlett, V. D. Shah, et.al., *J. Med. Chem.*, **32**, 320 – 336 (1989).
10. D. M. B. Hickley, P. D. Leeson, R. Novelli, et.al., *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 3103 – 3111 (1988).
11. P. D. Leeson, G. M. Benson, J. C. Emmlett, et.al., *J. Med. Chem.*, **31**, 37 – 54 (1988).
12. H. A. I. Yoshihara, G. Chiellini, T. J. Mitchison, and T. S. Scanlan, *Bioorg. Med. Chem.*, **6**, 1179 – 1183 (1998).
13. J. D. Baxter, W. H. Dillmann, B. L. West, et.al., *J. Steroid. Chem. Mol. Biol.*, **76**, 31 – 39 (2001).
14. M. A. Lasar, *Endokrine Rev.*, **14**, 184 – 197 (1993).
15. G. Chiellini, N.-H. Nguyen, J. W. Apriletti, et.al., *Bioorg. Med. Chemistry*, **10**, 333 – 346 (2002).
16. A. H. Taylor, Z. F. Stefan, R. E. Steele, et. al., *Mol. Pharmacol.*, **52**, 542 – 548 (1997).
17. R. E. Steele, J. M. Wasvary, B. N. Dardik, et.al., *Atherosclerosis*, **109**, 89 – 90 (1994).
18. C. R. Harington, and G. Barger, *Biochem. J.*, **21**, 169 – 181 (1927).
19. J. Gross, and R. Pitt-Rivers, *Biochem. J.*, **53**, 645 – 650 (1953).
20. J. Roshe, R. Michel, and W. Wolf, *C. R. Acad. Sci (Paris)*, **240**, 251 – 253 (1955).
21. П. М. Кочергин, П. М. Палей, А. Н. Кравченко, Е. В. Попова, *Хим.-фарм. журн.*, **24**(1) 43 – 49 (1990).
22. М. В. Угрюмов, *Механизмы нейроэндокринной регуляции*, Наука, Москва (1999), сс. 167 – 170.
23. J. E. Morley, *Endocrinol. Rev.*, **2**, 312 – 320 (1981).
24. M. Nakamura, I. Yamazaki, and S. Ohtaki, *Thyroperoxidase and thyroid autoimmunity*, P. Carayon, J. Ruf. (eds), Colloque INSERM / John Libbey eurotext, **207**, Paris (1990), pp. 77 – 83.
25. B. Corvilain, C. Gerard, E. Raspe, et.al., *Thyroperoxidase and thyroid autoimmunity*, P. Carayon, J. Ruf. (eds), Colloque INSERM / John Libbey eurotext, **207**, Paris (1990), pp. 33 – 41.
26. S. G. Venkatech and V. Despande, *Endocrinology*, **122**, 5 – 17 (1999).
27. J. Nunez and J. Pommier, *Vitam. Horm.*, **39**, 175 – 183 (1982).
28. P. Mutcebeher, *J. Physiol. Chem.*, **261**, 253 – 257 (1939).
29. R. Pitt-Rivers, *Biochem J.*, **43**, 223 – 231 (1948).
30. G. Hillman, B. Keil B, and P. Tashimi, *Z. Naturforsch.*, **16**, 28 – 32 (1961).
31. R. I. Meltzer and R. J. Stanaback, *J. Org. Chem.*, **26**, 1977 – 1979 (1961).
32. K. Sorimashi and H. J. Cahnmann, *Endocrinology*, **101**, 1276 – 1280 (1977).
33. В. П. Мартинович, Н. А. Фильченков, О. В. Свиридов, *Вестці НАН Беларусі. Сер. хім. Навук*, № 1, 56 – 63 (2003).
34. A. Nishigawa, H. Kon, J. H. Cahnmann, and T. Matsuura, *J. Org. Chem.*, **33**, 157 – 162 (1968).
35. A. Nishigawa, J. N. Cahnmann, H. Kon, and T. Matsuura, *Biochemistry*, **7**, 388 – 397 (1968).
36. F. Blasi, F. Fragomele, and I. Corelli, *Endocrinology*, **85**, 542 – 551 (1969).
37. V. B. Oza, G. M. Salamonchuk, Z. Guo, and J. C. Shi, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 11315 – 11316 (1997).
38. H. Ogawara, and J. H. Cahnmann, *Biochim. Biophys. Acta*, **257**, 328 – 338 (1972).
39. T. Shiba, and J. H. Cahnmann, *J. Org. Chem.*, **29**, 1652 – 1658 (1964).
40. J. H. Cahnmann, and K. Funakoshi, *Biochemistry*, **9**, 90 – 98 (1970).
41. G. M. Salamonchuk, V. B. Oza, and C. J. Sih, *Tetrahedron Lett.*, **38**, 6965 – 6968 (1997).
42. E. Alder, K. Holmberg and L.-O. Ryrfors, *Acta Chem. Scand.*, **B 28**, 883 – 887 (1974).
43. В. П. Мартинович, Я. М. Каток, Н. А. Фильченков, О. В. Свиридов, *Вестці НАН Беларусі. Сер. хім. Навук*, № 1, 85 – 92 (2004).
44. A. Taurog, M. Dorris, and D. R. Doerge, *Arch. Biochem. Biophys.*, **315**, 82 – 89 (1994).
45. J. H. Cahnmann, J. Pommier, and Nunez, *Proc. Nat. Acad. Sci USA*, **74**, 5333 – 5335 (1977).
46. Y. Ma and C. J. Sih, *Tetrahedron Lett.*, **40**, 9211 – 9214 (1999).
47. R. Pitt-Rivers and A. T. James, *Biochem. J.*, **70**, 173 – 176 (1958).
48. N. V. Bell, W. R. Bowman, P. F. Coe, et.al., *Can. J. Chem.*, **75**, 873 – 883 (1997).
49. T. Matsuura and A. Nishigawa, *J. Org. Chem.*, **27**, 3072 – 3075 (1962).
50. A. Hutinec, A. Ziogas, and A. Rieker, *Amino Acids*, **11**, 345 – 366 (1996).
51. D. M. B. Hickley, P. M. Leeson, S. D. Carter, et.al., *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 3097 – 3102 (1988).
52. L. J. Degroot and H. Niepomniszcze, *Metabolism*, **26**, 665 – 718 (1977).

Поступила 07.04.03

## OBTAINING THYREOID HORMONES BY CHEMICAL METHODS BASED ON BIOSYNTHESIS MODELING (A REVIEW)

V. P. Martinovich and O. V. Sviridov

Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

This review addresses the methods of synthesis of thyroxine and triiodothyronine, which were developed on the basis of hypothetical models of their biosynthesis in the organism. Most of such methods are based on the use of highly active derivatives of phenols or quinones (4-hydroxy-3,5-diiodophenylpyruvic acid, iodine-containing derivatives of spiro-4-epoxycyclohexadienone, 2,4,6-tri-*tert*-butylphenol etc.) as arylating agents. Condensation of these compounds with 3,5-derivatives of tyrosine results in the formation of substituted diaryl ethers, which are thyroid hormones or their analogs. Some of the proposed methods are highly efficient and provide high yields of thyroid hormones as pharmaceutical substances.