

УДК 547.412.2:612.45

## СИНТЕЗ ІНГІБІТОРІВ ГОРМОНОУТВОРЕННЯ В НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗАХ

### *Біосинтез кортикостероїдів в надниркових залозах*

Надниркові залози - парний орган, який складається з правої і дещо меншої за масою і розмірами лівої залоз, розміщений ретроперітонеально над верхніми полюсами нирок на рівні Th12 та L1 хребців. Середні розміри становлять (мм): довжина - 45, ширина - 25-30, товщина - 6-10, а маса досягає 10-12 г. Побудована залоза із двох шарів: кіркового - жовтого кольору і мозкового, який має темне забарвлення. Кожний з цих шарів складається з особливої тканини і має різну внутрішньосекреторну функцію. Мозкова речовина надниркових залоз виробляє гормони катехоламінового ряду (адреналін, норадреналін, дофамін), які утворюються з фенілаланіну. В кірковому шарі відбувається синтез стероїдних гормонів, які за хімічною будовою є похідними циклопентанпергідрофенантрени.

Вихідним продуктом їх синтезу є холестерол (холестерин), з якого під дією ферменту десмолази (в літературі зустрічаються нові назви P450c21, P450c11 та ін.) перетворюється в прегненолон, а з нього під впливом гідрогеназ і дегідрогеназ утворюється ціла низка гормонів. Залежно від кількості карбонових атомів в циклопентанпергідрофенантреновому скелеті розрізняють три основних групи гормонів: ті, що мають 21 карбоний атом, - кортикостероїди (гідрокортизон, кортикостерон, альдостерон та ін.), 19- андрогени, 18- естрогени.

Кортикостероїди за своєю біологічною дією поділяються на глюкокортикоїди (кортизол, кортикостерон), що відіграють важливу роль в регуляції процесів вуглеводного, білкового та інших видів обміну та мінералокортикоїди (альдостерон), що регулюють водно-електролітний обмін.

На сьогодні із надниркових залоз виділено 50 стероїдних сполук, 8 з яких є біологічно активними.

Таким чином, в надниркових залозах синтезуються всі стероїдні гормони, які відіграють винятково важливу роль у регуляції обмінних процесів, підтриманні гомеостазу, рівня артеріального тиску, у забезпеченні захисних властивостей організму та інших важливих функцій. У випадку видалення надниркових залоз життя людини неможливе без замісної гормональної терапії [1,2]

Відомо, що надниркові залози не накопичують гормони, а виділяють їх у кров. Відомі дані [3], що в крові концентрація кортикостероїдів дорівнює кількості синтезованого залозою за 3 хв. Тому будь-яка дія на біосинтез кортикоїдів, в тому числі блокування даного процесу, рівнозначна впливу на їх секрецію.

Існують патологічні стани надниркових залоз, які пов'язані зі зменшенням або припиненням секреції гормонів. В даному огляді гостра недостатність надниркових залоз не розглядається, а основна увага присвячена можливостям лікування гормонально-активних пухлин надниркових залоз, що характеризується гіперпродукцією глюкокортикоїдів за допомогою інгібіторів стероїдогенезу.

### *Шляхи пригнічення функції надниркових залоз*

Інгібіторами (блокаторами) прийнято називати сполуки, які пригнічують ферментативні реакції, незалежно від того чи має місце взаємодія його з ферментом або ж порушуються основні функції клітини за рахунок блокування основних біохімічних процесів. В першому випадку мова іде про інгібітори ферментів, в другому – про інгібітори метаболізму.

Заслуговує на увагу можливість селективного інгібування ферментів стероїдогенезу в надниркових залозах. Інгібітор може реагувати з поверхнею ферменту, маючи спорідненість з субстратом і таким чином порушується утворення комплексу фермент-субстрат. Синтез кортикостероїдів може порушуватись і у випадку, коли інгібітор не впливає на зв'язування субстрату з активною поверхнею ферменту, однак гальмує розпад комплексу фермент-субстрат. Такий тип пригнічення називається неконкурентним.

Важливу роль в синтезі кортикостероїдів відіграють кофактори. Так, на стадії перетворення прегненолону в прогестерон важливу роль відіграє НАД, а при гідроксилюванні – НАДФ-Н2. Виключення даних кофакторів за допомогою блокаторів буде суттєво впливати на секрецію гормонів.

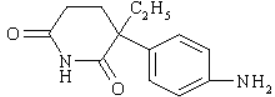
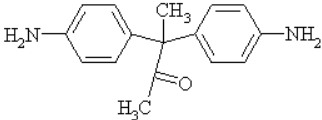

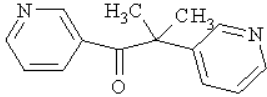
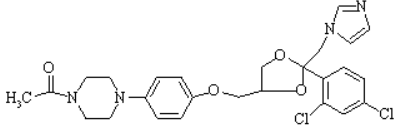
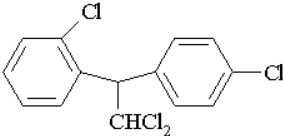
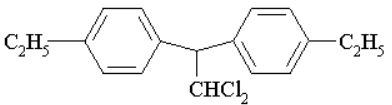
Вихідною речовиною в біосинтезі гормонів, як зазначено вище, є холестерол. Блокада його синтезу на ранніх етапах буде сприяти зниженню біосинтезу гормонів кори наднирників. Серед багатьох сполук, що можуть виступати як інгібітори найбільший інтерес викликають речовини нестероїдної природи. Здатність блокувати функцію надниркових залоз виявлена у багатьох сполук різних за будовою, і кожній з них притаманна своя специфічність впливу на секрецію кортикостероїдів. Зв'язати біологічну активність, відомих на сьогодні інгібіторів, з їх будовою неможливо, оскільки інгібітори виявлені серед різноманітних класів сполук - імідів глютарової кислоти, похідних дифенілетану, піридину, стильбену, індолу, дегідронафталіну, тетралону та ін.

В той же час адренкортикостероїдні властивості споріднених за структурою речовин, як буде показано нижче, мають своєрідну відмінність. Тому класифікація інгібіторів стероїдогенезу за ознаками структурної подібності, з нашої точки зору, буде виглядати дещо хаотичною.

Найбільш вдала, на наш погляд, є класифікація інгібіторів, приведена в монографії [4], в якій вони поділені на дві групи - інгібітори секреції адренкортикокальних гормонів та інгібітори фізіологічної дії кортикоїдів. До першої групи відносять сполуки, які викликають деструктивні зміни в надниркових залозах (хлодитан, пертан (табл. 1), 7,12-диметилбензантрацен), інгібітори синтезу холестерину (1-*n*-(β-діетиламіноетокси)феніл-1-(*n*-толіл)-2-*n*-хлорфенілетанол (трипаранол), 1,4-ди(2-хлорбензиламінометил)циклогексан дигідрохлорид (АУ-9944), інгібітори активності ферментів біосинтезу кортикостероїдів, блокатори ранніх стадій стероїдогенезу – стероїди (ціантриметиландростенолон, естрогени), нестероїдні препарати (аміноглютетимід, амфенон) та інгібітори гідроксилування стероїдів (тетралони, індени, 3-(6-хлор-3-метил-2-інденіл)піридин (Su-8000)).

Таблиця 1

**Найбільш вживані інгібітори гормоноутворення в надниркових залозах**

№ п/п	Структурна формула	Хімічна назва	Фармацевтична назва
1		α-етил-α-4-амінофенілглютаримід	Аміноглютетимід
2		3,3-ді(4-амінофеніл)бутанон-2	Амфенон
3		Діанілінометан	Метилендіанілін
4		1,2-ди(3-піридил)-2-метилпропанон-1	Метопірон
5		1-Ацетил-4-п[2-(2,4-дихлорофеніл-2-(імідазол-1-іл-метил)-1,3-діоксалан-4-іл]метоксифенілпіперазин	Кетоконазол
6		1-( <i>o</i> -хлорофеніл)-1-( <i>p</i> -хлорофеніл)-2,2-дихлоретан	Хлодитан, мітотан
7		1,1-ді( <i>p</i> -етилфеніл)-2,2-дихлоретан	Пертан

До другої групи віднесені інактиватори кортикостероїдів - естрогени, що підвищують зв'язування гормонів з білками плазми, конкурентні антагоністи кортикостероїдів (альдактон), стимулятори метаболізму (хлодитан), інгібітори з політропними та невизначеною дією (зобогенні препарати, інгібітори синтезу білка (пуроміцин, циклогексимід, актиноміцин-Д, гексадиметрин бромід).

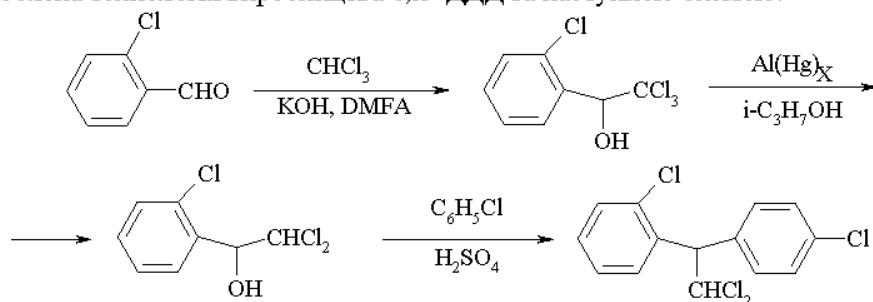
Дана класифікація відповідає загальним принципам блокування аденокортикальної функції, але і вона теж має ряд недоліків. Так, хлодитан, естрогени входять до обох груп. На наш погляд, необхідно в першу чергу розглядати, який з механізмів антикортикальної дії є головним. Хлодитан, в основному, викликає деструкцію надниркових залоз і тим самим блокує секрецію кортикостероїдів (перша група), а стимуляція метаболізму (друга група) у нього виражена слабо. Подібна ситуація також і з естрогенами, які підвищують зв'язування кортикостероїдів з білками плазми (друга група) і в меншій мірі проявляють гальмівний вплив на біосинтез кортикостероїдів.

Ряд з вище наведених інгібіторів мають лише теоретичне значення, оскільки поряд з блокуванням функції надниркових залоз вони чинять важкий інтоксикаційний вплив на організм. За останні десятиліття значно зріс інтерес до аденокортикальних інгібіторів, що зумовлено відкриттям інгібіторів стероїдогенезу, як зазначено вище, в першу чергу серед сполук нестероїдної будови.

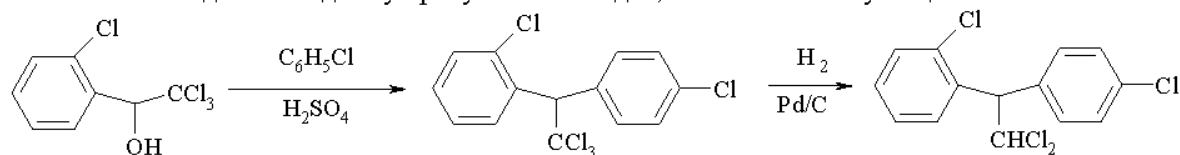
#### **Найбільш досліджені інгібітори стероїдогенезу в надниркових залозах**

Нельсон і Вудард [5], вивчаючи вплив різних інсектицидів на організм тварин, помітили, що технічний 1,1-ди(*n*-хлорофеніл)-2,2-дихлоретан (ДДД) викликає різку атрофію надниркових залоз. Ці дослідження дали поштовх для більш детального вивчення як самого препарату, так і його аналогів. Серед останніх нами були синтезовані біля 60 препаратів такого роду. Найбільш активним виявився 1-(*o*-хлорофеніл)-1-(*n*-хлорофеніл)-2,2-дихлоретан (о,п'-ДДД, хлодитан). Виявлено, що перенос атома хлору з *орто*- в *мета*- або *пара*-положення бензенового ядра приводить до послаблення аденокортикалітичної дії. Заміна атому хлору в молекулі ДДД метильними радикалами суттєво не впливає на секрецію кортикостероїдів, а при введенні двох етильних груп (пертан) - значно її знижує. Інші заміни одного або двох атомів хлору на самі різноманітні угруповання не дали позитивного результату [6,7].

Нами розроблена технологія виробництва о,п'-ДДД за наступною схемою:



Недоліком цього виробництва є застосування амальгам алюмінію, оскільки в процесі відновлення утворюється металічна ртуть, що забруднює стічні води. Проводяться дослідження щодо заміни даного відновника на газоподібний водень у присутності паладію, нанесеного на вуглець за схемою:



Молекула хлодитану містить асиметричний атом карбону; нам вдалося розділити препарат на оптичні енантіомери. Виявилось, що лівообертаючий ізомер о,п'-ДДД вже в дозі 10мг/кг знижував рівень гідрокортизону у собак до невизначених величин, а реакція надниркових залоз на стимуляцію АКТГ була відсутньою. Рацемат о,п'-ДДД викликав таку саму дію лише в дозі 25мг/кг. Пошук оптимальних умов розділення хлодитану на оптичні антиподи триває. На даний час хлодитан є основним засобом лікування хвороби Іценко-Кушинга, гормонально-активних пухлин надниркових залоз та їх метастазів [8-10].

Хлодитанотерапія – найбільш прийнятний метод медикаментозного впливу на аденокортикальний рак, яка при радикальному лікуванні хворих повинна комбінуватися з хірургічним втручанням (адреналектомія з лімфодисекцією). Його також доцільно застосовувати для симптоматичного лікування неоперабельних хворих з метою полегшення їх страждань та подовження тривалості життя. [11].

Нами висловлені деякі міркування щодо механізму дії хлодитану. В табл. 2 приведена розчинність деяких похідних 1,1-дифенілетану в кукурудзяній олії при 37°С. Найбільша розчинність виявлена у

хлодитану (6). Препарат відзначається високою ліпофільністю і легко накопичується в фосфоліпідній частині мембран, порушуючи їх архітектоніку. Змінюється проникливість мембран, утруднюється рух холестерину у внутрішнє середовище мітохондрій, що призводить до зниження активності цілого ряду ферментів (малік-ферменту, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, глутатіон редуктази). Ці порушення ведуть до пригнічення ключової реакції стероїдогенезу – відщеплення бокового ланцюга холестерину. Крім цього, збільшується утворення токсичних супероксидних радикалів, які призводять до уражень клітин залози. Хлодитан також може взаємодіяти з фосфоліпідами мембран, що може зумовлювати порушення функціональної активності адренкортикоцитів. Значною розчинністю характеризується сполука (5) (перган), що обумовлює її адренкортиколітичну активність (див. табл. 2).

Таблиця 2

Розчинність 1,1-дигалогено-2,2-діарилетанів в кукурудзяній олії  $Ag(Ag')CH_2CHNa_2$

№ п/п	Ag	Ag'	Hal	Розчинність, мг/мл
1	$C_6H_5$	2- $ClC_6H_4$	Cl	26,3
2	$C_6H_5$	4- $ClC_6H_4$	Cl	19,2
3	4- $CH_3C_6H_4$	4- $CH_3C_6H_4$	Cl	33,3
4	4- $CH_3C_6H_4$	4- $ClC_6H_4$	Cl	20,8
5	4- $C_2H_5C_6H_4$	4- $C_2H_5C_6H_4$	Cl	71,4
6	2- $ClC_6H_4$	4- $ClC_6H_4$	Cl	83,3
7	2- $ClC_6H_4$	4- $IC_6H_4$	Cl	41,6
8	2- $ClC_6H_4$	4- $BrC_6H_4$	Cl	49,5
9	4- $BrC_6H_4$	4- $BrC_6H_4$	Br	38,6
10	4- $ClC_6H_4$	4- $ClC_6H_4$	Br	43,8

Ряд авторів дотримується думки, що адренкортиколітичний ефект о,п'-ДДД пов'язаний з дією в організмі його метаболітів [12]. Проте це припущення не підтвердилось: жоден з можливих метаболітів не проявляє властивої хлодитану адренкортиколітичної дії [13]. Серед інгібіторів ферментів стероїдогенезу в надниркових залозах найбільш дослідженим є 3,3-ді(4-амінофеніл)бутанон-2 (амфенон) (табл. 1). Він добре розчиняється у воді і його можна вводити не тільки *per os*, але і у вигляді підшкірних та внутрішньовенних ін'єкцій. За властивостям він близький до хлодитану, викликає гіперплазію кори надниркових залоз і блокує біосинтез кортикостероїдів, причому він менш токсичний.

Встановлено, що застосування амфенону в дозах, близьких до терапевтичних, окрім вище згаданих властивостей, викликає атрофію щитовидної залози, впливає на стан печінки, нирок, центральної нервової системи. Побічна токсична дія препарату гальмує його застосування в клінічній практиці [14]. Однак, дослідження дії амфенону відіграло важливу роль в синтезі нових структурних аналогів, серед яких пройшли апробацію метилендіанілін, 1,1-ді(*n*-амінофеніл)етан, 2,2-ді(*n*-амінофеніл)пропан і 2,2-ді(*n*-амінофеніл)бутан. Однак, через побічну зобогнену активність, дані препарати не знайшли практичного застосування [15]. Інтенсивні пошуки інгібіторів стероїдогенезу серед похідних амфенону привели до відкриття малотоксичного препарату метапірону (табл. 1). Внутрішньовенне застосування препарату вже через 20 хв. приводить до різкого зниження рівня 17-оксикортикостероїдів, а в дозі 300 мг/кг повністю блокує секрецію гормонів [16].

При більш детальному дослідженні було виявлено, що лікування терапевтичними дозами метапірону сприяє утворенню 17-окси-11-дезоксикортикостерону, який має помітну глюкокортикоїдну активність. При довготривалому застосуванні метапірону неможливо досягти стійкої блокади синтезу кортикостероїдів, тому препарат не знайшов широкого практичного застосування.

Серед інших інгібіторів стероїдогенезу заслуговує на увагу аміноглотетимід (табл. 1). Препарат в дозі 0.75-1г/день нормалізує підвищену секрецію кортикостероїдів у людини, але негативно впливає на функцію щитовидної та статевих залоз, підвищує продукцію тропних гормонів гіпофізу, що приводить до гіпертрофії статевих та щитовидної залози [17]. Все це знижує терапевтичну цінність препарату, хоч він і випускається за кордоном у таблетованій формі по 0.25 г.

Нещодавно з'явилися дані [18-20], що пртигрибковий препарат кетоконазол (табл. 1) успішно був застосований для лікування хвороби Іценко-Кушинга та гормонально-активних пухлин надниркових залоз. Препарат випускається за кордоном.

Таким чином, вказані адренокортикальні інгібітори мають лише потенційну клінічну цінність, більшість з них представляють інтерес у теоретичному плані. Перші з них надто токсичні, другі – недостатньо активні, а треті – не проявляють селективної дії на надниркові залози. На сьогодні із приведених інгібіторів найбільшої уваги заслуговує о,п'-ДДД (хлодитан), як один з найбільш активних, а в окремих випадках незамінний інгібітор стероїдогенезу надниркових залоз. Ведуться широкопланові дослідження в напрямку створення ін'єкційних форм препарату.

## РЕЗЮМЕ

Розглянуто і узагальнено дані щодо синтезу інгібіторів гормоноутворення в надниркових залозах. Розкрито стан та перспективи застосування їх в медичній практиці для лікування патологічних станів, викликаних гіперфункцією глюкокортикоїдів в надниркових залозах.

## РЕЗЮМЕ

Рассмотрены и обобщены данные о синтезе ингибиторов гормонообразования в коре надпочечных желез. Раскрыто состояние и перспектива применения их в медицинской практике для лечения патологических состояний, вызванных гиперфункцией глюкокортикоидов в надпочечных железах.

## SUMMARY

Data on the synthesis of hormonogenesis inhibitors in adrenal cortex have been analyzed and generalized. The authors have determined the level and prospects of their use in medical practice for treatment of pathological states due to glucocorticoid hyperfunction in adrenals.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Ендокринологія / За ред. П.М.Боднара. К.: Здоров'я, 2003. - 512 с.
2. Ендокринологія / За ред. А.С.Сфімова. К.: Вища школа, 2004. - 494 с.
3. Кэттайл В.М., Арпи Р.А. Патофизиология эндокринной системы. М.: И.Бином, 2001. - 336 с.
4. Комиссаренко В.П., Резников А.Г. Ингибиторы функции коры надпочечных желез. К.: Здоров'я, 1972. - 374 с.
5. Nelson A.A., Woodard G. Severe adrenal cortical atrophy (cytotoxic) and hepatic damage produced in dogs by feeding 2,2-bis(parachlorophenyl)-1,1-dichlorethane (DDD or TDE) // Arch. Pathol. (Chicago). - 1949. - V.48. - P.387-394.
6. Бальон Я.Г., Олейник Б.В., Резников А.Г. Изучение адренокортиколитической активности некоторых производных 1,1-дифенилэтана // Физиологически активные вещества. К.: Наукова думка, 1975. - вып. 7. - С. 37-39.
7. Бальон Я.Г., Шульман М.Д. Синтез 1,1-диарил-2,2-дихлорэтанов // Укр. Хим. журн. - 1979. - Т. 45, № 2. - С. 179-184.
8. Бальон Я.Г., Корпачев В.В. Деякі досягнення у створенні лікарських засобів для лікування ендокринної патології // Ендокринологія. - 1996. - Т.1, № 1. - С.25-31.
9. Кваченюк А.М. Фармакотерапія адренокортикального раку // Ендокринологія. - 2004. - Т.9, № 2. - С. 207-214.
10. Кваченюк А.М. Выбор схемы применения хлодитана для терапии адренокортикального рака // Ліки України. -2005. № 11. - С. 114-116.
11. Кваченюк А.М. Хлодитанотерапія адренокортикального раку // Лікарська справа. - 2004. - № 8. - С. 64-67.
12. Rief V.D., Sinsheimer J.E. Metabolism of 1-(o-chlorophenyl)-1-(p-chlorophenyl)-2,2-dichlorethane (o,p'-DDD) in rats //Drug. Metal. Disposit. - 1975. - V.3, №1. - P.15-25.
13. Бальон Я.Г., Шульман М.Д., Корпачев В.В. Синтез метаболитов хлодитана и их адренокортиколитическая активность // Хим. фарм. журн. - 1981. - №2. - С.163-166.
14. Hertz R. Inhibition of corticosteroid secretion by amphenone // Endocrinology. - 1956. - V. 62. - P. 326-333.
15. Allen M.J., Corwin A.H. The electrolytic reduction of p-aminoacophenone // J. Am. Chem. Soc. - 1950. - V. 72. - P. 114-117.
16. Bencze W.L., Allen M.J. Amphenone analogs. III Pinacol-pinacone type rearrangement in the pyridine series // J. Am. Chem. Soc. - 1959. - V. 81. - P. 4015-4018.
17. Wirloy R.S., Camacho A.M., Trouy R.L., Hagen A.A. Inhibition of adrenal cortical secretion by aminoglutethimide in dogs // Endocrinology. - 1968. - V. 83. - P. 56-60.
18. Castinetti F., Morange J.,Jagnet P. Et al Ketoconazole revisited: a preoperative or postoperative treatment in Cushing's disease // Eur. J. Endocrinolog. - 2008. - V.158, № 1. - P. 91-99.
19. Diez J., Iglesias P. Pharmacological therapy of Cushing's syndrome: drugs and indications // Mini Rev. Med. Chem. - 2007. - V. 7, № 5. - P. 467-480.
20. Chou S.C., Lin J.D. Long-term effects of ketoconazole in the treatment of residuary or recurrent Cushing's disease // Endocr. J. - 2000. - V. 47, № 4.- P. 401-406.

*Поступило до редакції 15.10.2008 р.*