

# Sinteza hormona tiroksina

---

**Tuković, Ivana**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:719228>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-12**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijски odsjek

Ivana Tuković

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

## **Sinteza hormona tiroksina**

### **Završni rad**

Rad je izrađen u Zavodu za Organsku kemiju

Mentor rada: prof. dr. sc. Ines Primožič

Zagreb, 2019.



Datum predaje prve verzije Završnog rada:

13. rujna 2019.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

20. rujna 2019.

Mentor rada: prof. dr. sc Ines Primožič

Potpis:



## Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VII
§ 1. UVOD.....	1
1.1. Štitna žlijezda i tiroksin.....	1
1.2. Aminokiseline .....	4
1.3. Aminokiseline kao kiralni polazni materijali .....	8
§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME .....	10
2.1. Enantioselektivna sinteza .....	10
2.2. Elektrofilne supstitucije na aromatskim spojevima.....	14
2.3. Nukleofilne supstitucije na aromatskim spojevima .....	17
2.4. Sinteza hormona tiroksina .....	20
2.5. Biosinteza tiroksina.....	25
2.6. Zaključak .....	27
§ 3. LITERATURNI IZVORI.....	XXVIII



## § Sažetak

Hormon tiroksin glavni je hormon štitne žlijezde. Utječe na brojne fiziološke procese u organizmu, od regulacije rasta stanica i njihove diferencijacije pa sve do regulacije samog metabolizma.

U uvodu je kratko opisana štitna žlijezda, njezina građa i uloga u organizmu, kao i uloga hormona koje luči. Osnovni spoj potreban za sintezu hormona tiroksina je aminokiselina tirozin te je s obzirom na to u uvodu prikazana opća podjela aminokiselina, njihova specifična svojstva i važnost koju imaju kao prekursori u sintezi ostalih biomolekula.

U obradi glavne teme opisana je sinteza koja se temelji na dobivanju specifičnih enantiomera ili diastereoizomera određene molekule te njena primjena u modernoj kemiji i farmaciji. Jedna od metoda ove sinteze temelji se na korištenju prirodnih i lako dostupnih kiralnih molekula kao početnih spojeva, čiju primjenu možemo vidjeti u industrijskoj sintezi tiroksina. Detaljno su obrađeni mehanizmi i reakcije koje se koriste u industrijskoj sintezi tiroksina, dobivene iz tirozina kao početnog spoja. Mehanizam biosinteze tiroksina nije još u potpunosti objašnjen no navedena su dosadašnja otkrića i opisane pretpostavljene reakcije i mehanizmi. Na kraju rada dan je popis literature.

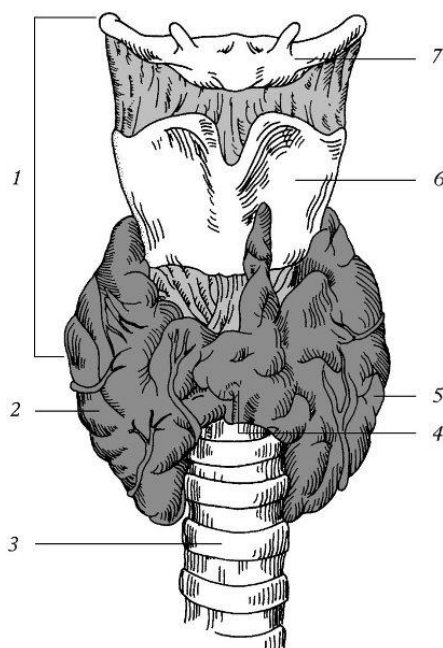


## § 1. UVOD

### 1.1. Štitna žlijezda i tiroksin

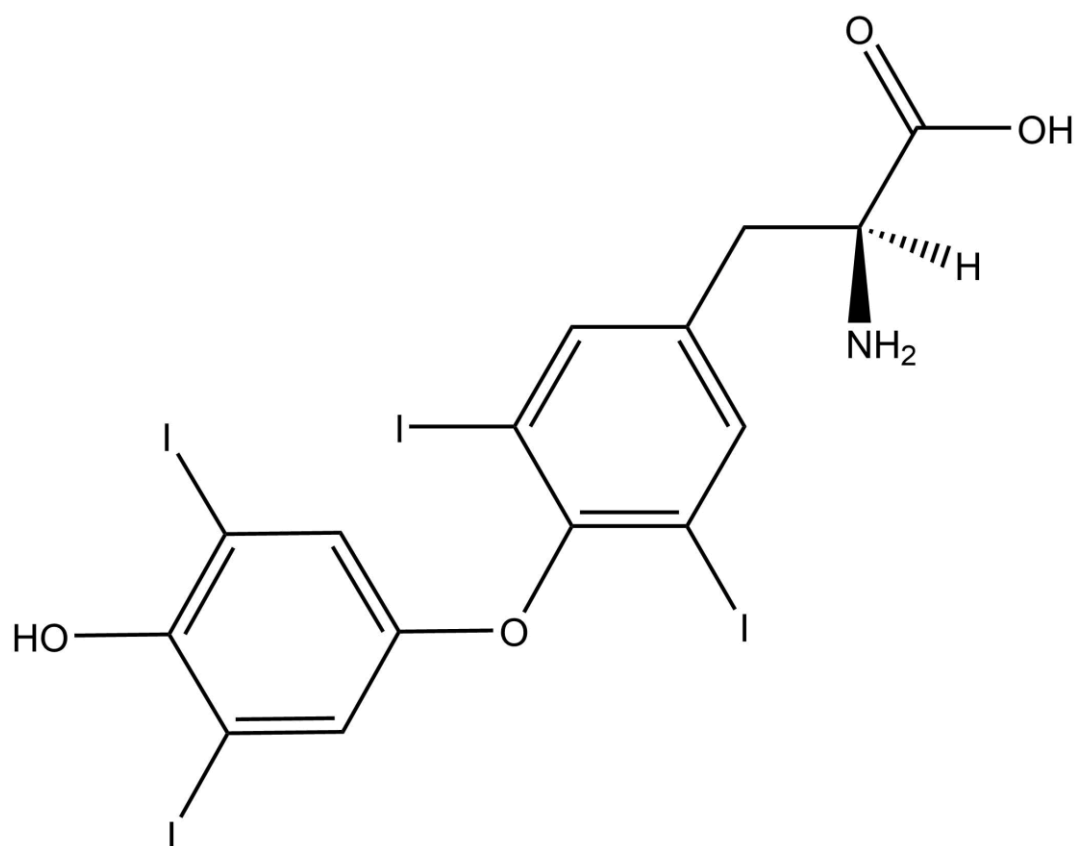
Štitnjača (*glandula thyroidea*) je žlijezda s unutarnjim izlučivanjem, smještena u donjem dijelu vrata, neposredno ispod grkljana i ispred dušnika, slika 1. Građena je od dva režnja, desnog i lijevog, međusobno spojenih prevlakom štitnjače (*isthmus thyroideae*). Anatomiju štitnjače prikazuje slika 1. U tkivu štitnjače nalazi se velik broj mjehurića, folikula, u koje epitelne žljezdane stanice izlučuju molekule tireoglobulina. Sastavni dio tireoglobulina su glavni hormoni štitnjače, tiroksin, T4 (slika 2) i trijodtironin, T3. Njihova najvažnija funkcija je reguliranje intenziteta tjelesnoga metabolizma. Pri manjku tih hormona bazalni metabolizam smanjuje se za približno 40%, a pri njihovu prekomjernom izlučivanju može postati i dvostruko većim.

Za sintezu T4 i T3 potreban je jod, koji se u obliku jodida unosi u organizam hranom (nužna količina joda, približno 50 mg godišnje). Danas se potreban unos joda omogućava jodiranjem kuhinjske soli. Kada se u organizmu ukaže potreba za hormonima štitnjače, oni se iz folikula apsorbiraju i oslobađaju u krv, te tako dolaze do ciljnih tkiva. Štitnjača izlučuje i kalcitonin, hormon koji sudjeluje u regulaciji koncentracije kalcijevih i fosfatnih iona u tjelesnim tekućinama. Radom štitnjače upravljaju adenohipofiza (prednji režanj hipofize) i hipotalamus. Adenohipofiza izlučuje hormon tireotropin (TSH), koji krvlju dolazi do štitnjače i potiče ju na stvaranje i oslobađanje hormona tiroksina i trijodtironina. Izlaganje tijela hladnoći jedan je od važnih poticaja za oslobađanje TRH.<sup>1,2</sup>



Slika 1. Anatomija štitne žlijezde (1. grkljan, 2. desni režanj štitnjače, 3. dušnik, 4. prevlaka, 5. lijevi režanj štitnjače, 6. štitna hrskavica, 7. jezična kost)

Tiroksin, tetrajodtironin (T4), jedan je od glavnih hormona štitnjače. Tiroksin i drugi hormon štitnjače, trijodtironin (T3), jodirani su derivati tirozina (T4 ima četiri atoma joda u molekuli, a T3 ih ima tri). Hormoni oslobođeni iz štitnjače (približno 90% T4 i 10% T3) u krvi se vežu uz prijenosne bjelančevine, s kojima dolaze do ciljnih stanica. Nakon ulaska u stanice, gotovo sav T4 pretvara se u T3, pa je stoga T3 glavni unutarstanični hormon štitnjače. Potičući transkripciju velikoga broja gena u staničnoj jezgri, hormoni štitnjače ubrzavaju metabolizam svih vrsta hranjivih tvari. Zbog toga se u većini tkiva povećava protjecanje krvi. Zbog izravnoga djelovanja hormona štitnjače na srce istodobno se ubrzava i srčana frekvencija. Povećavaju se brzina i dubina disanja, aktivnost probavnoga sustava te aktivnost srednjeg živčanoga sustava. Pri prekomjernom izlučivanju hormona štitnjače (hipertireoza) bazalni se metabolizam može udvostručiti. Hormoni štitnjače vrlo su važni za pravilan rast djece te za razvoj mozga u fetalnom razdoblju.<sup>1,2</sup>



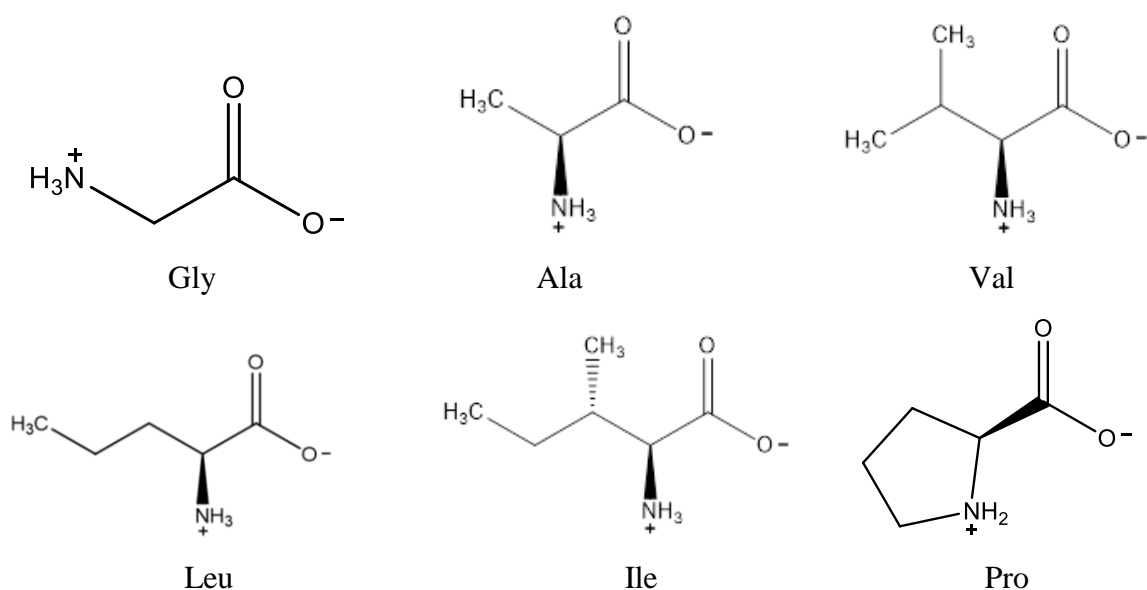
Slika 2. Strukturna formula molekule tiroksina

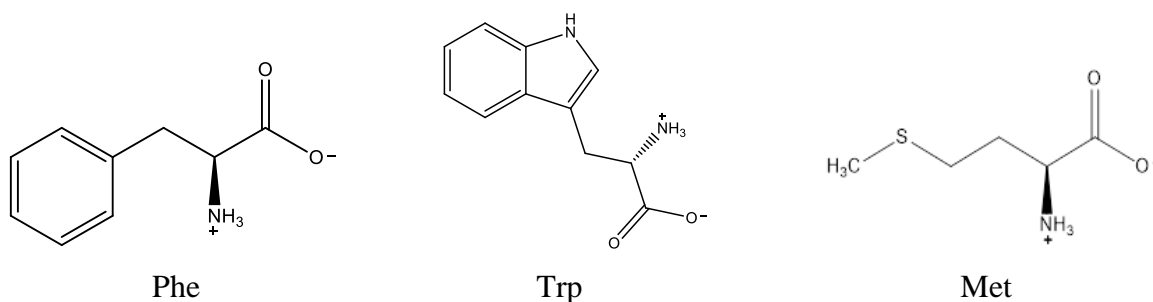
## 1.2. Aminokiseline

Aminokiseline su osnovne gradivne jedinice proteina. Svaka aminokiselina sastoji se od središnjeg ugljikovog atoma ( $\alpha$ - ugljikovog atoma), na kojeg su vezani amino-skupina ( $-\text{NH}_2$ ), karboksilna skupina ( $-\text{COOH}$ ), vodikov atom, te specifična skupina R koja je različita za svaku aminokiselinu i naziva se bočnim ogrankom. Aminokiseline u prirodi rijetko dolaze u slobodnom stanju. Uglavnom su povezane u polipeptidne lance i grade razne makromolekule, a najvažnija uloga im je izgradnja proteina. Postoje i aminokiseline koje ne ulaze u sastav proteina i nazivaju se neproteinske aminokiseline (npr.  $\beta$ -alanin, ornitin i citrulin).

U proteinima nalazimo dvadeset različitih aminokiselina. Svaka ima specifičan bočni ogranak koji se međusobno razlikuju u obliku, naboju, sposobnosti stvaranja vodikovih veza, hidrofobnosti i kemijskoj reaktivnosti. Svi proteini u svim vrstama (bakterijskim, arhejskim, eukariotskim) sastoje se od istih 20 proteinogenih aminokiselina koje su odgovorne za raznolikost funkcija koje ti proteini obavljaju. Bočni ogranak predstavlja osnovu za njihovu podjelu.

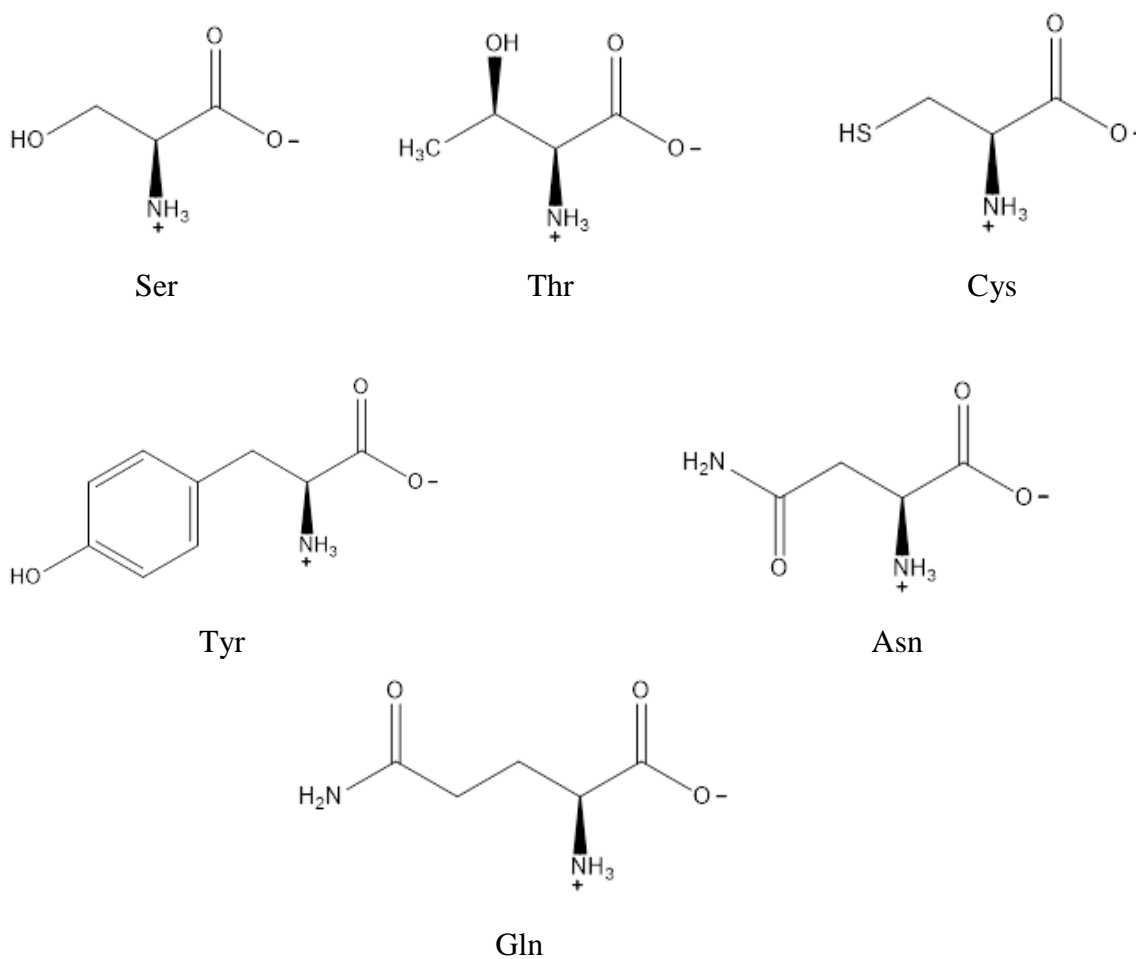
Aminokiseline s nepolarnim bočnim ogrankom su glicin, alanin, valin, leucin, izoleucin, prolin, fenilalanin, triptofan i metionin, slika 3.





Slika 3. Aminokiseline: glicin, alanin, valin, leucin, izoleucin, prolin, fenilalanin, triptofan, metionin.

Aminokiseline s polarnim bočnim ogrankom su serin, treonin, cistein, tirozin, asparagin i glutamin. Ove skupine omogućavaju formiranje vodikovih veza koje su osnova za formiranje viših oblika organizacije aminokiselina u molekulama proteina, slika 4.



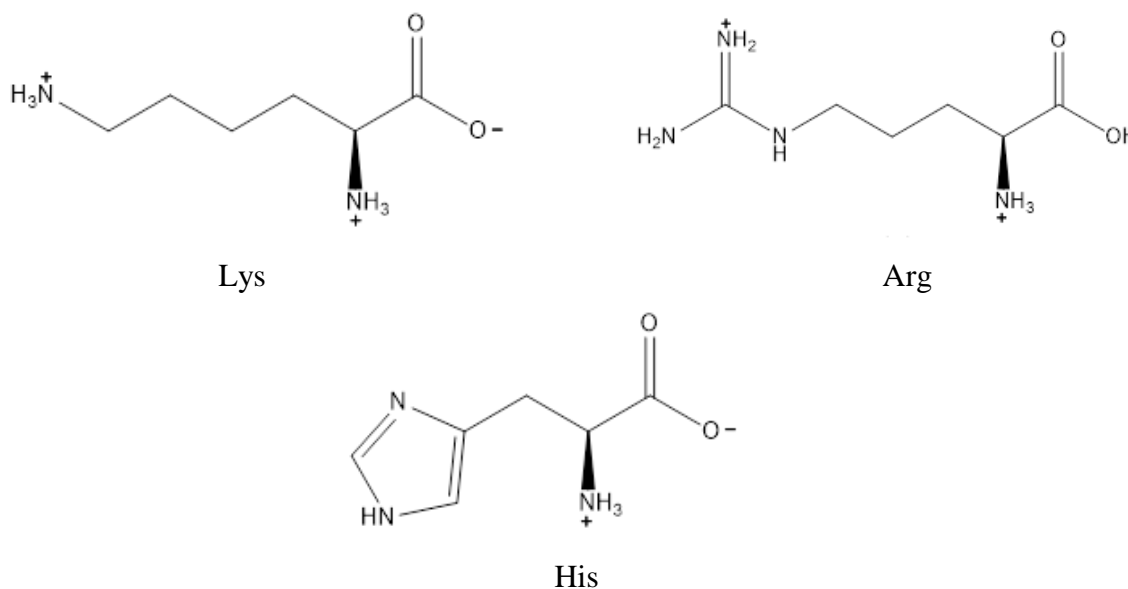
Slika 4. Aminokiseline: serin, treonin, cistein, tirozin, asparagin i glutamin.

Aminokiseline s negativno nabijenim bočnim ogrankom su asparaginska i glutaminska kiselina, slika 5.



Slika 5. Asparaginska i glutaminska kiselina.

Aminokiseline s pozitivno nabijenim bočnim ogrankom su lizin, arginin i histidin, slika 6.

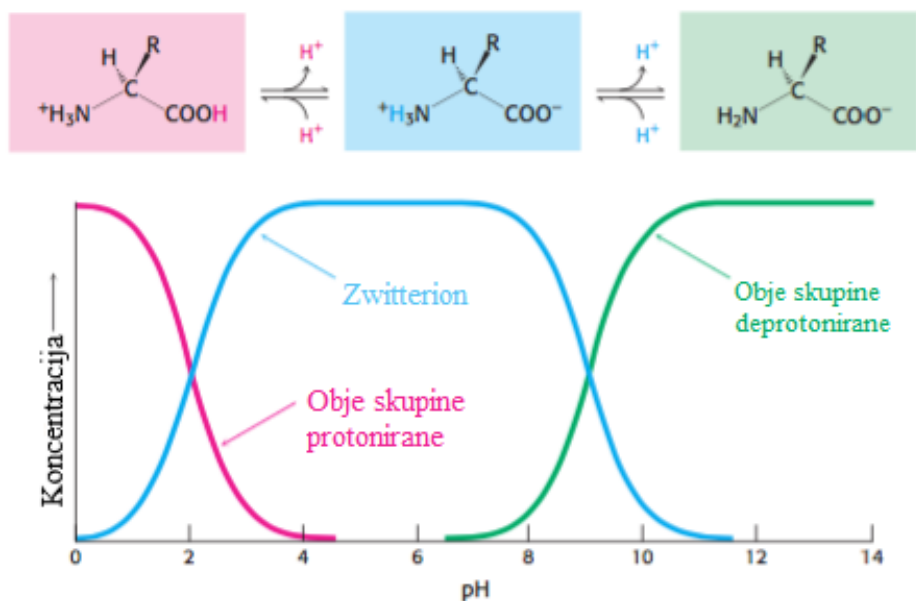


Slika 6. Aminokiseline lizin, arginin i histidin.

Aminokiseline također možemo podijeliti na esencijalne i neesencijalne. Naš organizam nije u stanju sintetizirati svih 20 aminokiselina koje ga izgrađuju, a nužne su za njegovo normalno funkcioniranje. Takve aminokiseline su esencijalne i u organizam se unose hranom. One koje naš organizam može sintetizirati nazivaju se neesencijalne.

Aminokiseline posjeduju funkcionalne skupine koje se mogu u vodenim otopinama ponašati kao baze, odnosno kiseline. Karboksilna i amino skupina svake  $\alpha$ -aminokiseline mogu se ionizirati kao i bočni ogranci koji imaju takve skupine. U otopini neutralne pH-

vrijednosti aminokiseline uglavnom postoje kao dipolarni ioni (*zwitterioni*). To je oblik koji nosi jedan pozitivan i jedan negativan naboj. Amino skupina je protonirana ( $-\text{NH}_3^+$ ), a karboksilna skupina je deprotonirana ( $-\text{COO}^-$ ). Ionizacijsko stanje mijenja se s pH-vrijednošću. U kiseljoj otopini prevladavati će protonirani oblik dok će u otopini veće pH vrijednosti prevladavati deprotonirani oblik, slika 7.

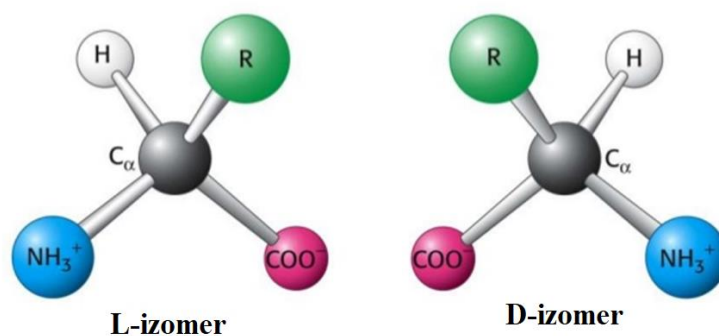


Slika 7. Promjena ionizacijskog stanja aminokiselina s promjenom pH-vrijednosti (Preuzeto iz J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemistry*, W. H. Freeman and Company, New York, 2007, str.27.)

### 1.3. Aminokiseline kao kiralni polazni materijali

Zbog četiri različite skupine vezane na  $\alpha$ -ugljikov atom, aminokiseline su kiralne molekule. Mogu postojati u dvama zrcalno simetričnim oblicima, L-izomeri i D-izomeri. Ta dva oblika nazivaju se enantiomeri.

Stereoizomeri se određuju dodjeljivanjem prioriteta supstituentima na asimetričnom ugljikovom atomu na temelju njihovog atomskog broja. Konfiguracija ugljikova atoma označuje se kao *S* (lat. *sinister*, lijevi) ako je su supstituenti poredani od najvišeg prema najmanjem prioritetu suprotno od kretanja kazaljke na sat. Konfiguracija se označuje kao *R* ako je taj niz u smjeru kretanja kazaljke na sat.<sup>3</sup>



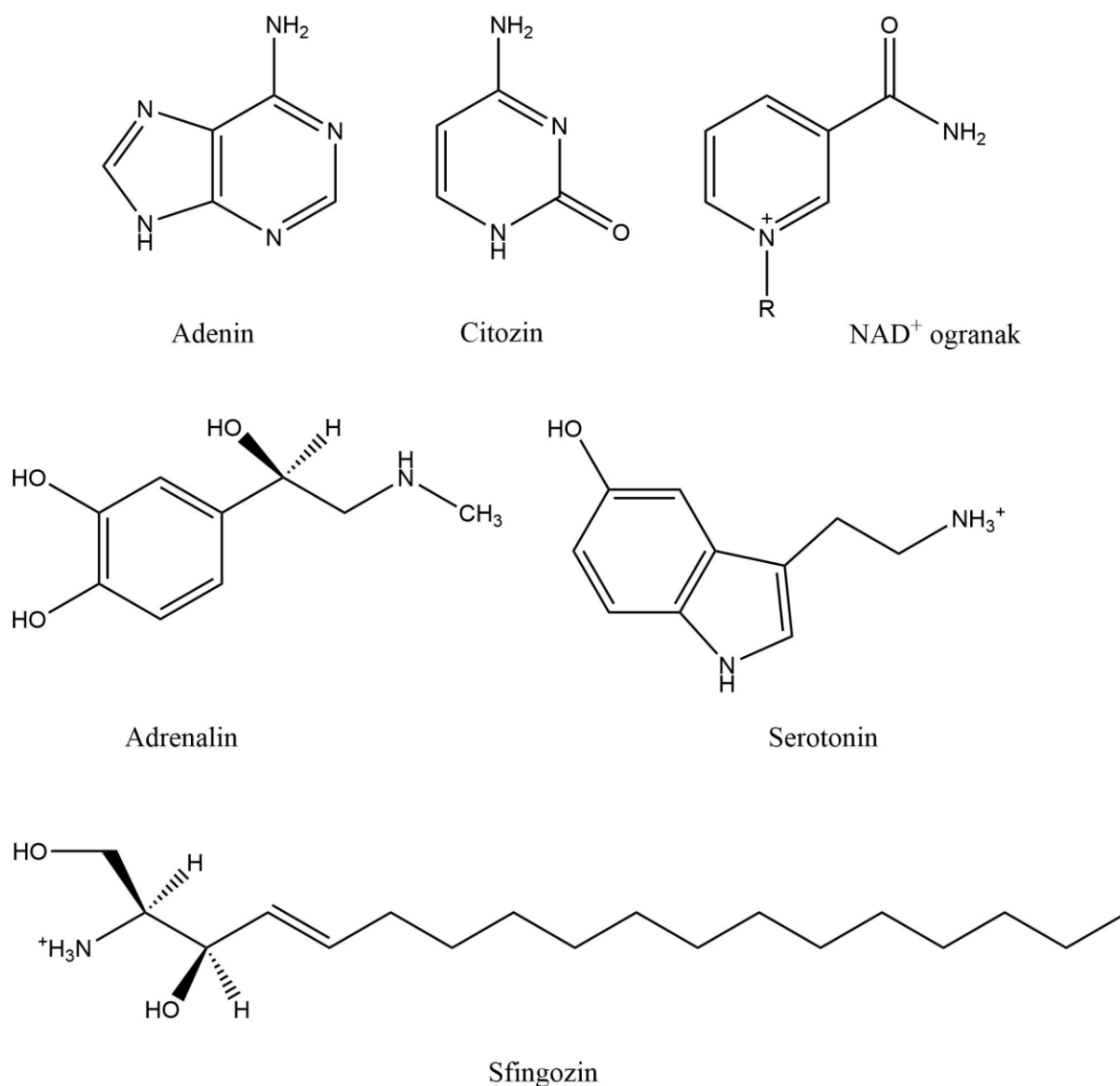
Slika 8. L i D izomeri aminokiselina (Preuzeto iz J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemistry*, W. H. Freeman and Company, New York, 2007, str.27.)

Proteini su građeni samo od L-aminokiselina. Gotovo sve L-aminokiseline imaju konfiguraciju *S*, osim cisteina, koji zbog većeg prioriteta bočnog ogranka ima konfiguraciju *R*. Nema posebnog objašnjenja zašto su u proteinima samo prisutne L-aminokiseline, osim da je u evoluciji napravljen odabir i kao takav je zadržan.

Aminokiseline su preteče mnogih biomolekula, slika 9. Osim što su gradivni elementi proteina i peptida, aminokiseline služe i kao prekursori raznih molekula koje imaju mnogobrojne uloge. Purini i pirimidini pretežno potječu od aminokiselina. Reaktivni kraj



sfingozina (gradivne jedinice sfingolipida) dolazi iz serina, dok biogeni amin histamin nastaje dekarboksilacijom histidina. Neurotransmitter serotonin (5-hidroksitriptamin) i nikotinamidski prsten,  $\text{NAD}^+$ , sintetiziraju se iz triptofana. Već prije spomenuti tirozin je preteča hormona tiroksina (tetrajodtironina) i adrenalina te pigmenta melanina.<sup>3</sup> Detaljnija sinteza tiroksina biti će obrađena u kasnijem poglavlju.



Slika 9. Molekule koje nastaju iz aminokiselina

## § 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

### 2.1. Enantioselektivna sinteza

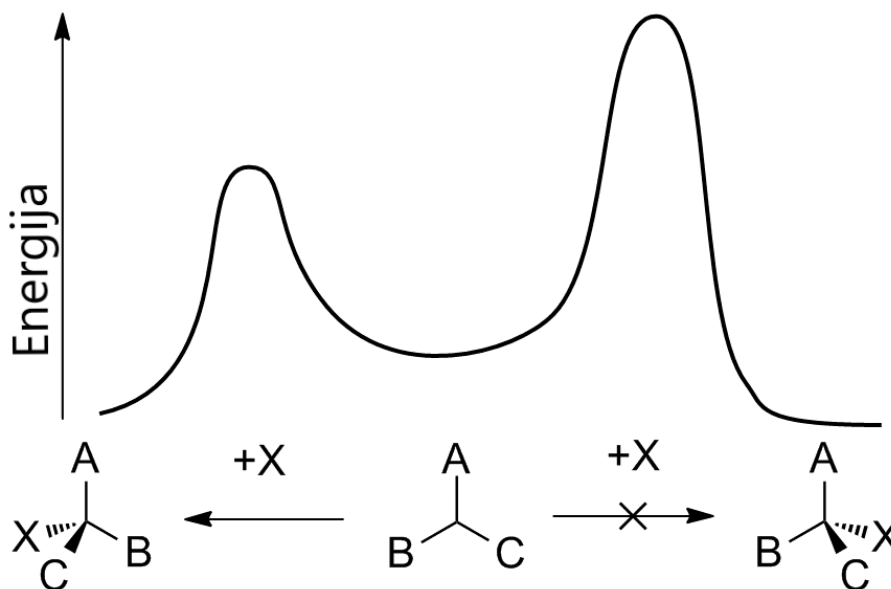
Stereoizomere definiramo kao izomere čiji su atomi vezani istim redoslijedom, ali se razlikuju po tome kako su atomi raspoređeni u prostoru. Enantiomeri su izomeri koji su u zrcalnom odnosu, par spojeva koji su međusobno ne preklopive slike dok su dijastereoizomeri svi ostali stereoizomeri koji nisu u zrcalnom odnosu.<sup>4</sup>

Jedan od oblika kemijske sinteze je enantioselektivna sinteza ili drugim nazivom asimetrična sinteza, slika 10. Definirana je kao kemijska reakcija u kojoj se u molekuli supstrata formira jedan ili više kiralnih centara. Produkti te reakcije su stereoizomeri (enantiomeri ili dijastereoizomeri) koji nastaju u različitim količinama.<sup>5</sup> Odnosno enantioselektivna sinteza je sinteza u kojoj se pogoduje stvaranju specifičnog enantiomera ili dijastereoizomera. Ova sinteza je ključna u modernoj kemiji, a isto tako je važna i na polju farmacije jer različiti stereoizomeri iste molekule često imaju različitu biološku aktivnost. Mnogi sastavni dijelovi bioloških sustava, kao što su šećeri i aminokiseline, proizvedeni su isključivo kao jedan enantiomer. Kao rezultat toga, živi sustavi imaju visok stupanj kemijske kiralnosti i često će različito reagirati s različitim enantiomerima određenog spoja.

Neki od primjera ove selektivnosti su razlike u okusu; umjetni zaslađivač aspartam ima dva enantiomera, L-aspartam je slatkog okusa dok je D-aspartam bez okusa.<sup>6</sup> Mogu se razlikovati u mirisu, npr. R- karvon miriše na mentu dok S-karvon miriše na začim kim. Razlike u učinkovitosti lijekova: antidepresiv Citalopram prodaje se kao racemična smjesa (smjesa u kojoj je koncentracija oba enantiomera jednaka), međutim istraživanja su pokazala da je samo S-enantiomer Citaloprama odgovoran za pozitivne učinke lijeka. Razlike u djelovanju lijekova; D-penicilamin se koristi za liječenje reumatoidnog artritisa dok je L-penicilamin toksičan, jer inhibira djelovanje piridoksina (esencijalnog vitamina B skupine).

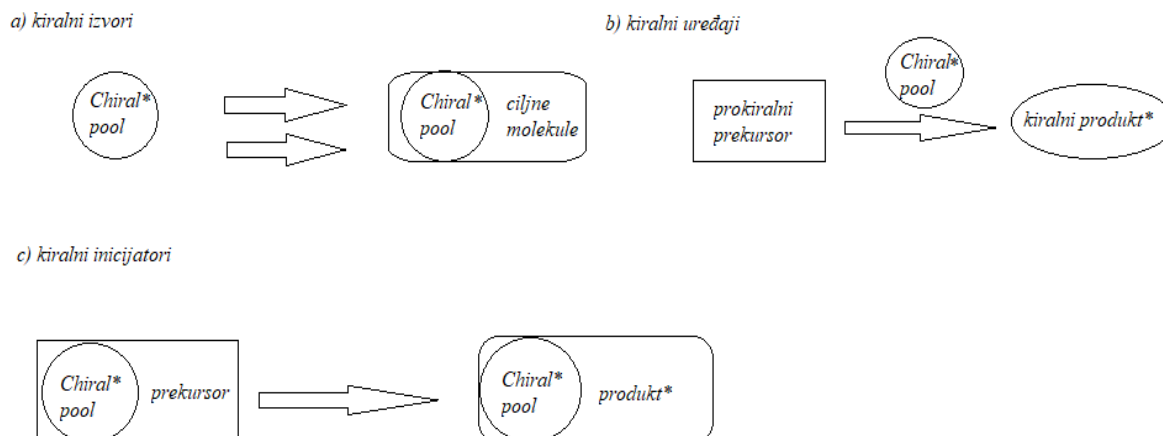
Kao takva, enantioselektivna sinteza je od velike važnosti, ali se teže postiže. Enantiomeri posjeduju identične entalpije i entropije, što dovodi do sinteze racemične smjese. Enantioselektivna sinteza može se postići uporabom određenog kiralnog svojstva koje pogoduje stvaranju jednog enantiomera prije drugog, kroz interakcije u prijelaznom stanju. Ovaj postupak poznat je kao asimetrična indukcija i djeluje tako da snižava energiju aktivacije

za stvaranje određenog enantiomera u odnosu na energiju potrebnu za stvaranje drugog enantiomera.



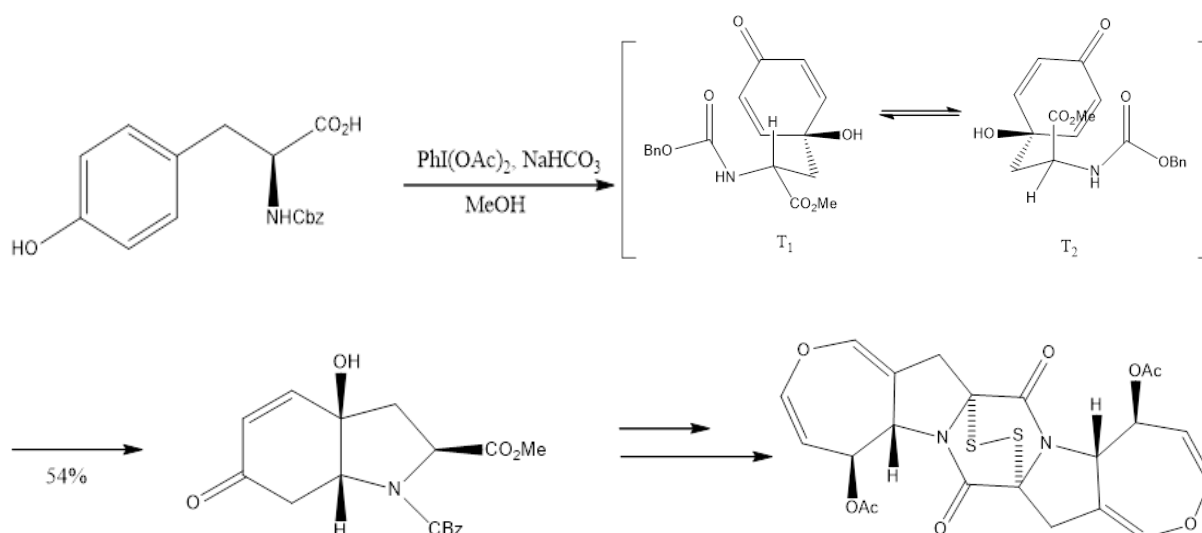
Slika 10. Energetski dijagram enantioselektivne adicijske reakcije

Jedne od najjednostavnijih i najboljih dostupnih metoda enantioselektivne sinteze su one koje koriste *chiral pool*. Korisne su u organskoj sintezi za uspostavljanje glavnih stereo centara u optički aktivnim spojevima, slika 11. *Chiral pool* se sastoji od kiralnih molekula koje se javljaju u prirodi kao što su ugljikohidrati, aminokiseline i alkaloidi. To uključuje molekule s puno enantiomera tj. lako dostupne polazne kiralne spojeve koji se mogu uzastopnim reakcijama transformirati u željene molekule. U sintezi uz *chiral pool* često se koriste akiralni reagensi kako bi se dobila molekula željene kiralnosti. Upotreba *chiral pool*-a u asimetričnoj sintezi može se razvrstati u tri opće kategorije, kao što je prikazano na slici 11. Prva kategorija je njegova upotreba kao kiralnog izvora, u kojoj molekule *chiral pool*-a sadrže ugrađene stereocentre za ciljane molekule, zatim druga kategorija kao kiralnog uređaja, gdje se upotrebljavaju kao enantioselektivni katalizatori i pomoćne tvari te treća gdje se koriste kao kiralni inicijatori, u kojem se molekule *chiral pool*-a koriste za sintezu stereocentara.

Slika 11. Tri vrste upotrebe *chiral pool* metode u asimetričnoj sintezi

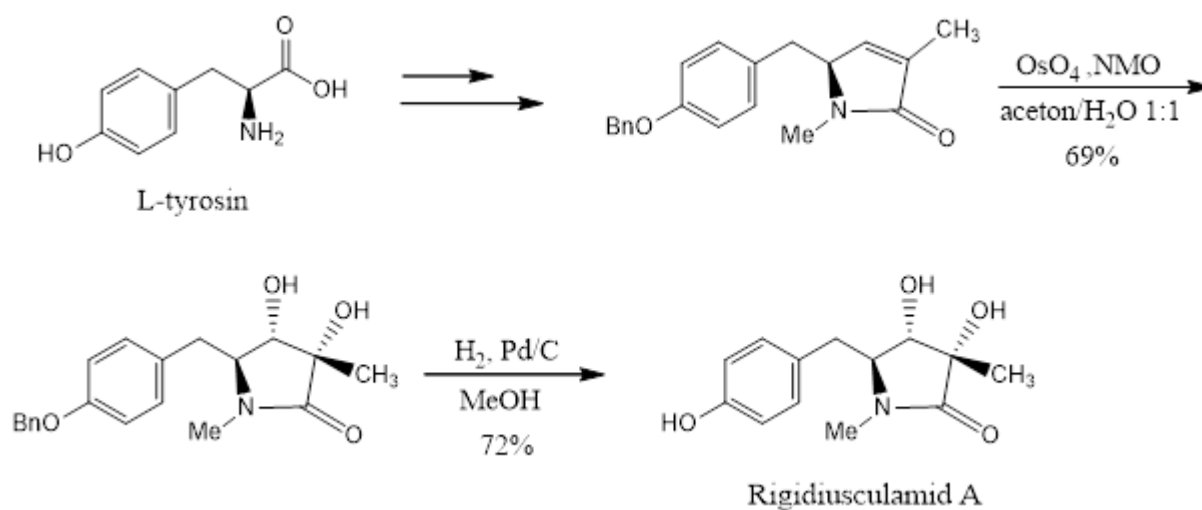
Do sada su  $\alpha$ -aminokiseline korištene za upotrebu ne samo kao kiralni izvori i uređaji, već i kao kiralni induktori u sintezi složenih ciljnih molekula. Ovom metodom moguće je pokazati korisnu primjenu  $\alpha$ -aminokiselina kao kiralnih induktora u sintezi prirodnih spojeva. Kiralne  $\alpha$ -aminokiseline su vrlo korisni materijali u procesu sinteze zbog njihove raznolikosti funkcionalnih skupina. Kiralnost  $\alpha$ -aminokiselina primijenjena je na velikom broju reakcija, kao što su preuređivanje, ciklizacija, cikloadicija, adicija i hidrogenacija.

Primjer ove metode je sinteza dimernog alkaloida acetilaranotina iz L-tirozina kao *chiral pool* spoja. Sintezu prikazuje slika 12. Zbog razlike u stabilnosti između dva prijelazna stanja, reakcija je usmjerena prema sintezi samo jednog enantiomera. U ovoj sintezi vidljivo je kako odabirom *chiral pool* aminokiseline pogodne kiralnosti možemo sintetizirati ciljani molekulu.<sup>7</sup>



Slika 12. Sinteza acetilaranotina iz L-tirozina

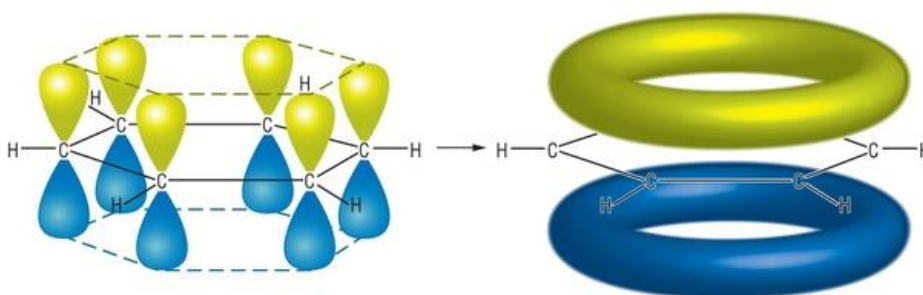
Asimetrična dihidroksilacija alkena još je jedan primjer sinteze iz tirozina kao kiralnog početnog spoja.



Slika 13. Stereoselektivna sinteza rigidiuskulamida A iz L-tirozina

## 2.2. Elektrofилne supstitucije na aromatskim spojevima

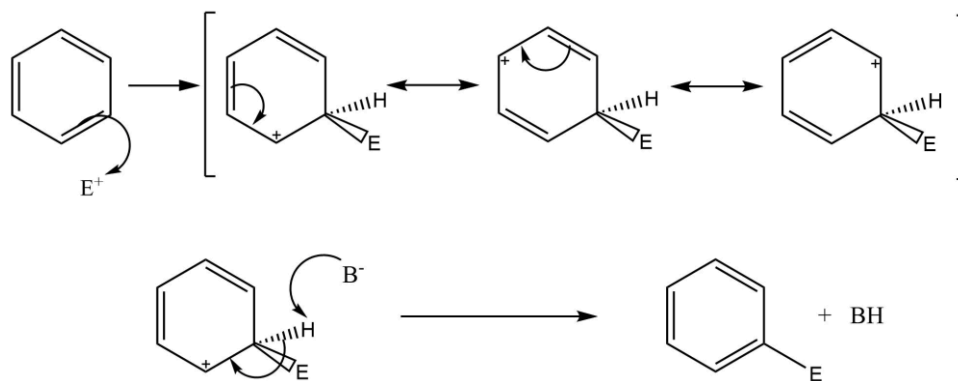
Aromatski spojevi najčešće podliježu reakcijama supstitucije, a rijetko reakcijama koje mijenjaju same veze unutar aromatskog prstena. Aromatski sustavi poput benzena stabilizirani su oblakom delokaliziranih  $\pi$ -elektrona ispod i iznad svojih  $\sigma$ -veza, slika 14. Iako  $\pi$ -elektroni stabiliziraju sustav ponašaju se kao nukleofili i podložni su napadu na jak elektofil kojim nastaje karbokation koji se još naziva  $\sigma$ -kompleksom (elektofil je vezan na benzensku jezgru novom  $\sigma$ -vezom).



Slika 14. Stabilizacijski sustav molekule benzena

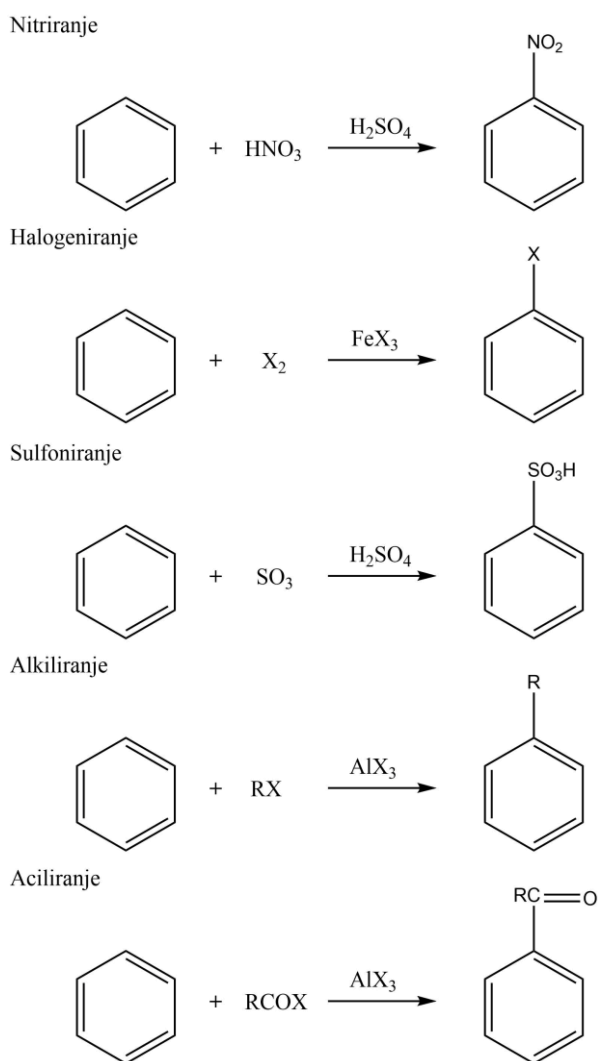
Ukupna reakcija je supstitucija vodika s elektofilom ( $E^+$ ) te se naziva elektrofилna supstitucija na aromatskome spoju. Ova skupina reakcija je iznimno važna jer omogućuje uvođenje funkcionalnih skupina izravno na aromatski prsten te je jedna od najvažnijih metoda supstituiranih aromatskih spojeva.<sup>4</sup>

U mehanizmu elektrofилne aromatske supstitucije prvo dolazi do napada delokaliziranih elektrona benzenskog prstena na elektofil pri čemu se formira već spomenuti  $\sigma$ -kompleks. Nakon toga dolazi do deprotonacije kompleksa pomoću baze kako bi se povratila aromatičnost i formirao produkt. Shemu mehanizma elektrofилne aromatske supstitucije prikazuje slika 15.



Slika 15. Shema mehanizma elektrofilne aromatske supstitucije

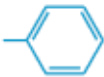
Reakcije koje se odvijaju mehanizmom elektrofilne aromatske supstitucije su halogeniranje, nitiranje, sulfoniranje, Friedel-Crafts-ovo aciliranje i alkiliranje. Shematski ih prikazuje slika 16.



Slika 16. Elektrofilne aromatske supstitucije

U sintezi složenijih aromatskih spojeva polazni spoj neće uvijek biti benzen te će različiti supstituenti imati različite efekte na ishod supstitucije. Tvorba  $\sigma$ -kompleksa (prvi stupanj) je stupanj u kojem se elektrofil veže na aromatski prsten i u kojem je određeno mjesto supstitucije na temelju razmatranja strukture  $\sigma$ -kompleksa. Ovisno o rezonantnim strukturama i njihovoj stabilnosti elektrofil se smješta u *ortho*, *meta*, ili *para* položaj. Osim što usmjeravaju elektrofil u određeni položaj, supstituenti mogu ubrzavati reakciju supstitucije te ih tada nazivamo aktivirajućim supstituentima. Oni koji usporavaju reakciju su deaktivirajući supstituenti. U tablici 1. prikazana je podjela supstituenata prema njihovim efektima.

Tablica 1. Podjela supstituenata prema usmjeravajućem, aktivirajućem odnosno deaktivirajućem efektu.

$\pi$ Donori	$\sigma$ Donori	Halogenidi	Karbonilni	Ostali
$-\ddot{\text{N}}\text{H}_2$ $-\ddot{\text{O}}\text{H}$ $-\ddot{\text{O}}\text{R}$ $-\ddot{\text{N}}\text{HCOCH}_3$	$-\text{R}$ 	$-\text{F}$ $-\text{Cl}$ $-\text{Br}$ $-\text{I}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{R} \end{array}$ $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{OH} \end{array}$ $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{OR} \end{array}$	$-\text{SO}_3\text{H}$ $-\text{C}\equiv\text{N}$ $-\text{NO}_2$ $-\overset{+}{\text{N}}\text{R}_3$
<i>ortho, para</i> -usmjeravajući		<i>meta</i> -usmjeravajući		
← AKTIVIRAJUĆI		DEAKTIVIRAJUĆI →		

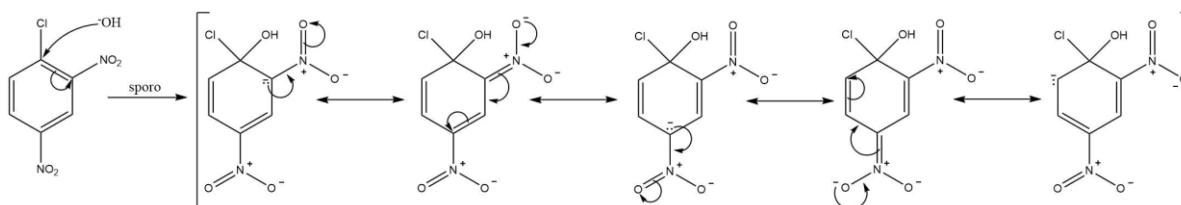


### 2.3. Nukleofilne supstitucije na aromatskim spojevima

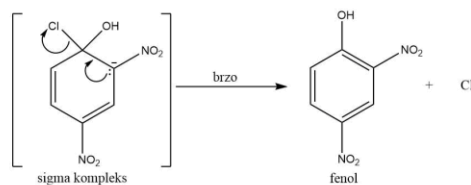
U nukleofilnoj supstituciji jaki nukleofil zamjenjuje izlaznu skupinu na aromatskom prstenu. Ovoj reakciji pogoduje prisutnost jake elektron odvlačeće skupine u *ortho* ili *para* položaju prema izlaznoj skupini. Efekt supstituenta obrnut je za elektrofilnu supstituciju u kojoj elektron-odvlačeće skupine usporavaju ili onemogućuju reakciju. Elektron-odvlačeći supstituenti (poput nitro-skupine) aktiviraju prsten prema nukleofilnoj supstituciji, generiranjem negativnog naboja na prstenu u prijelaznom stanju. Nukleofilna supstitucija na aromatskim spojevima odvija se prema jednom od dvaju mehanizama.

Nukleofilna aromatska supstitucija adicijsko-eliminacijskim mehanizmom započinje napadom nukleofila i nastajanjem rezonancijski stabiliziranog  $\sigma$ -kompleksa. Za reakcije koje se odvijaju ovim mehanizmom potrebna je snažna elektron-odvlačeća skupina da stabilizira  $\sigma$ -kompleks. U drugom stupnju dolazi do gubitka izlazne skupine i nastaje produkt. Nastali produkt (fenol) je kiseo te ga baza deprotonira. Nakon završetka reakcije dodaje se kiselina kako bi se produkt protonirao.<sup>4</sup> Mehanizam je prikazan na slici 17.

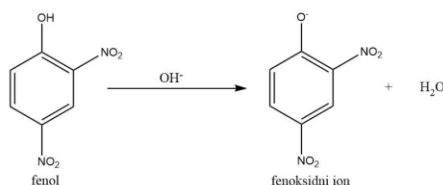
#### 1. korak: nukleofilni napad



#### 2. korak: gubitak izlazne skupine daje produkt



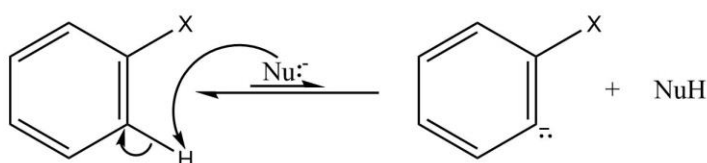
#### 3. korak: baza deprotonira produkt (fenol)



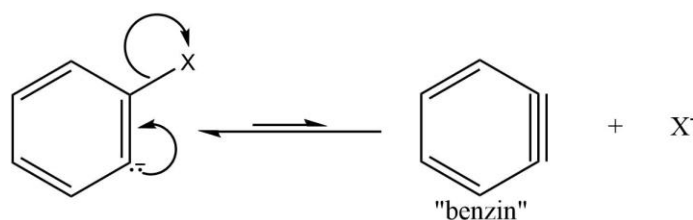
Slika 17. Mehanizam nukleofilne aromatske supstitucije (adicija-eliminacija)

Nukleofilna aromatska supstitucija odvija se benzinskim mehanizmom kada na prstenu nema jakih elektron odvlačećih skupina, slika 18. U prvom stupnju reakcije dolazi do deprotonacije ugljikovog atoma u susjedstvu izlazne skupine te nastaje karbanion. Za ovaj korak potrebna je jaka baza ili visoka temperatura. Reakcija se nastavlja eliminacijom izlazne skupine i nastaje *benzin* kao međuprodukt. U trećem stupnju reakcije odvija se nukleofilni napad na trostruku vezu benzina te na kraju ponovnim protoniranjem nastaje konačni produkt. Mehanizam je prikazan na slici 18.

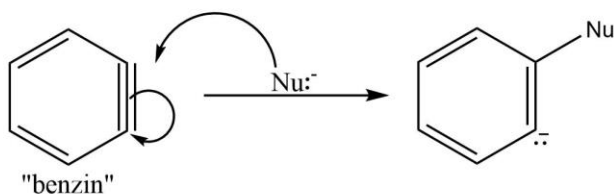
**1. korak:** nukleofilni napad na vodik



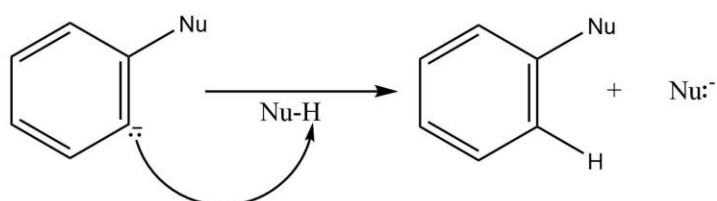
**2. korak:** formiranje benzinskog međuprodukta



**3. korak:** adicija nukleofila na benzin

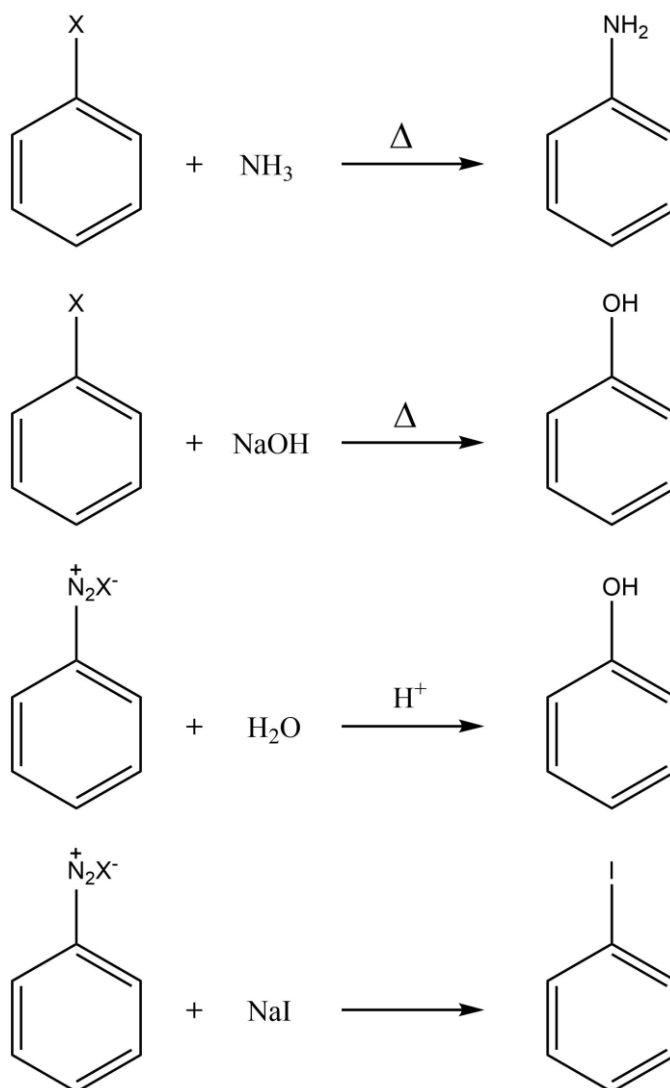


**4. korak:** protoniranje produkta



Slika 18. Nukleofilna aromatska supstitucija (benzinski mehanizam)

Neke od reakcija koje se odvijaju mehanizmima nukleofilne supstitucije su zamjena halogenida jakim nukleofilima poput  $\text{NH}_3$  i  $\text{OH}^-$  te supstitucija diazonijeve skupine nukleofilom. Ove reakcije biti će važne u obradi sinteze hormona tiroksina. Prikazuje ih slika 19.

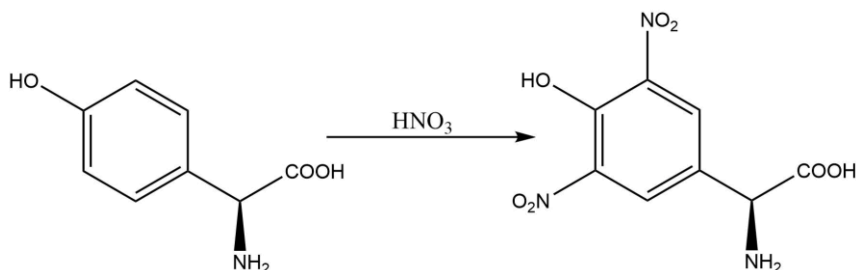


Slika 19. Primjeri nekih reakcija nukleofilne aromatske supstitucije

## 2.4. Sinteza hormona tiroksina

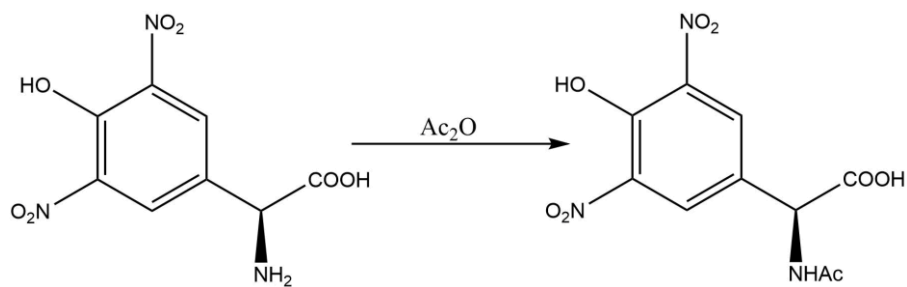
Tiroksin prirodnim putem u organizmu sintetizira štitna žlijezda dok se sintetički tiroksin može prirediti industrijski. Tiroksin ima dva aromatska prstena od kojih jedan potječe iz amniokiseline tirozina. Kako bi se sinteza učinila što jeftinijom, a polazni materijali što pristupačniji, osmišljena je metoda u kojoj aminokiseline (u ovom slučaju tirozin) mogu biti početni spojevi u sintezi. Ova metoda koristi već prije spomenuti *chiral pool* koji je detaljnije objašnjen u enantioselektivnoj sintezi.

Sinteza započinje nitriranjem tirozina mehanizmom elektrofilne supstitucije, slika 20. Hidroksilna skupina (-OH) aktivirajuća je skupina koja pogoduje reakciji supstitucije i usmjerava dvije nitro skupine (-NO<sub>2</sub>) u *ortho* položaj u odnosu na nju.



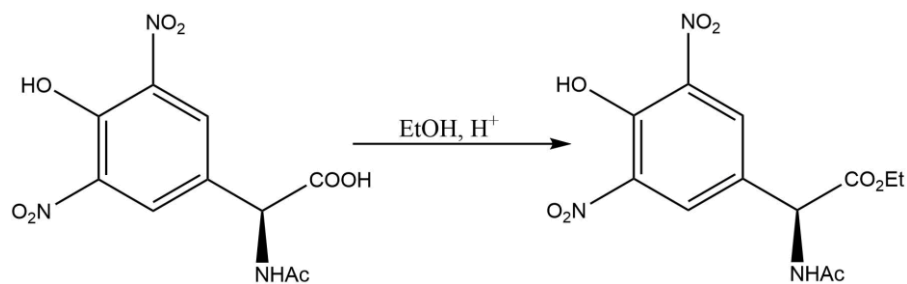
Slika 20. Nitritanje tirozina

Nitro skupine su izrazito elektron-odvlačeći supstituenti te čine aromatski prsten siromašan elektronima i pogodan za nukleofilni napad. Za nukleofilnu supstituciju potrebna je dobra izlazna skupina. U spoju je prisutna -OH skupina koja je iznimno loša izlazna skupina te ju treba pretvoriti u tosilat, kako bi postala boljom izlaznom skupinom. Problem je u slobodnoj amino skupini koja može lako reagirati sa TsCl-om. Kako bi se spriječila neželjena reakcija potrebno je amino skupinu, koja je izrazito dobar nukleofil, učiniti manje nukleofilnom uvodeći tzv. zaštitne skupine. Reakcijom amino skupine s acilirajućim sredstvom nastaje amid koji je manje nukleofilan, jer elektronički par na dušiku više nije slobodan, već stvara vezu s karbonilnom skupinom, slika 21.



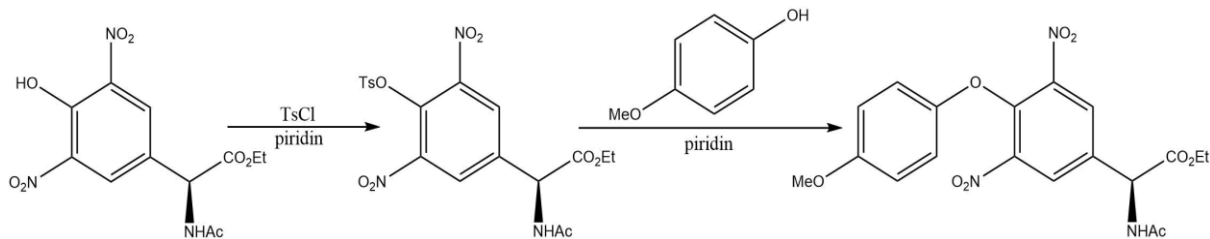
Slika 21. Zaštita amino skupine pretvaranjem u amid pomoću acetanhidrida ( $\text{Ac}_2\text{O}$ ).

Karboksilna kiselina također treba zaštitu te u reakciji s etanolom prelazi u etilni ester, jer su esteri manje reaktivni od karboksilnih kiselina.



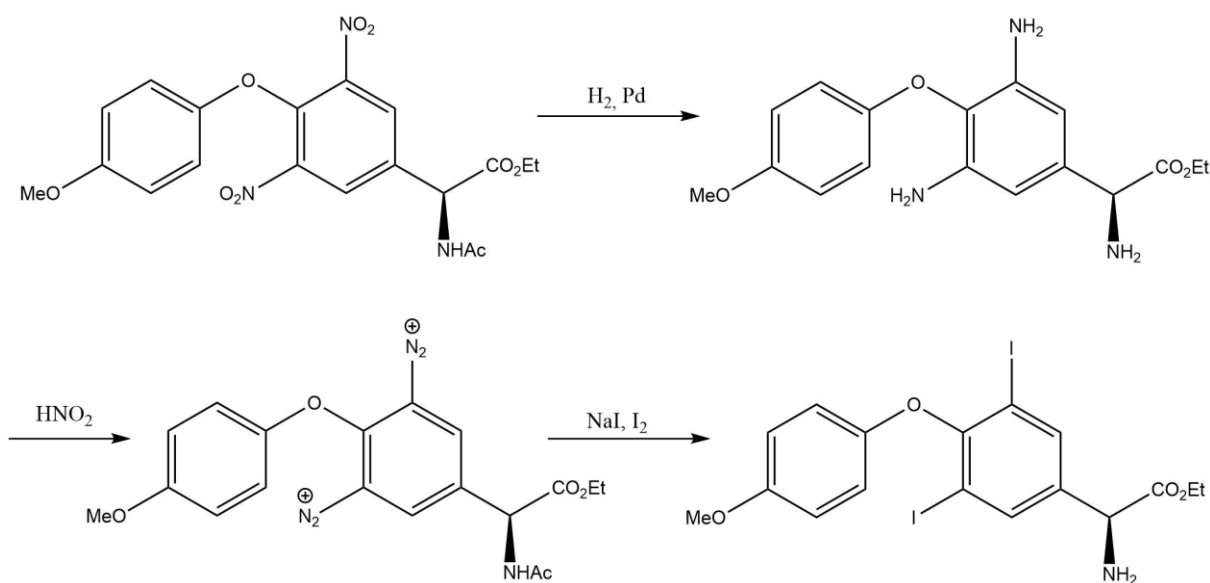
Slika 22. Zaštita karboksilne kiseline pretvaranjem u ester pomoću etanola

Kada su reaktivne skupine zaštićene slijedi tosilacija koju prati nukleofilna supstitucija. Izlazna skupina se nalazi u *ortho* položaju prema dvije elektron odvlačeće skupine što čini spoj pogodan za nukleofilnu supstituciju. Nukleofil je 4-metoksifenol, u piridinu, kako bi došlo do deprotonacije hidrosilne skupine, što ju čini nukleofilnijom. Potom slijedi nukleofilni napad pri čemu tosilna skupina izlazi van, slika 23.



Slika 23. Tosilacija i nukleofilna supstitucija

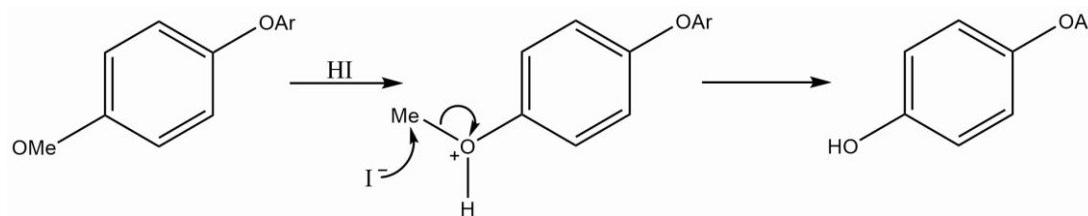
Nadalje, nitro-skupine potrebno je zamijeniti jodom. Prvo dolazi do hidrogeniranja nitro-skupina u reakciji s paladijem kao katalizatorom pri čemu se nitro skupina reducira u amino skupinu. Zatim se novonastala amino skupina prevede u diazonijevu skupinu ( $N_2^+$ ), koja se zamjenjuje jodom, slika 24.



Slika 24. Redukcija nitro skupina u amino skupinu, potom pretvorba u diazonijevu skupinu te zamjena jodom

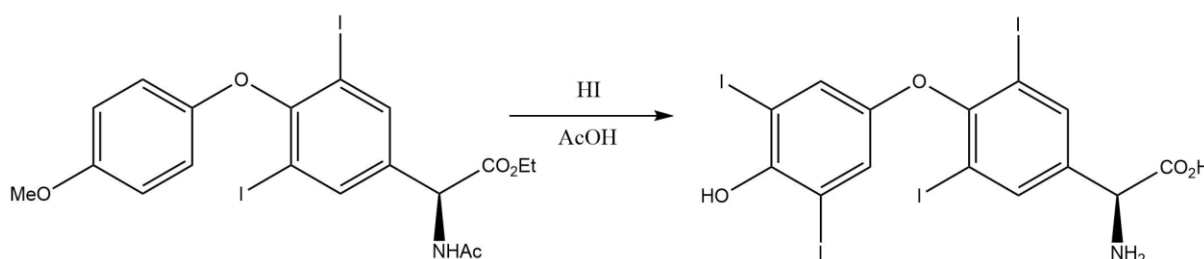
Metilni eter je zaštitna skupina fenolnog -OH kojeg sadržava tiroksin. Većinu etera je dosta teško pocijepati, ali fenilni eteri su nešto reaktivniji jer su fenoli dobre izlazne skupine. Kako bi se dobila slobodna -OH skupina, molekula jodovodika (HI) protonira atom kisika u

metoksi skupini i jod (I<sup>-</sup>) kao dobar nukleofil napada elektrofilni metilni centar. Fenol odlazi kao izlazna skupina, slika 25.



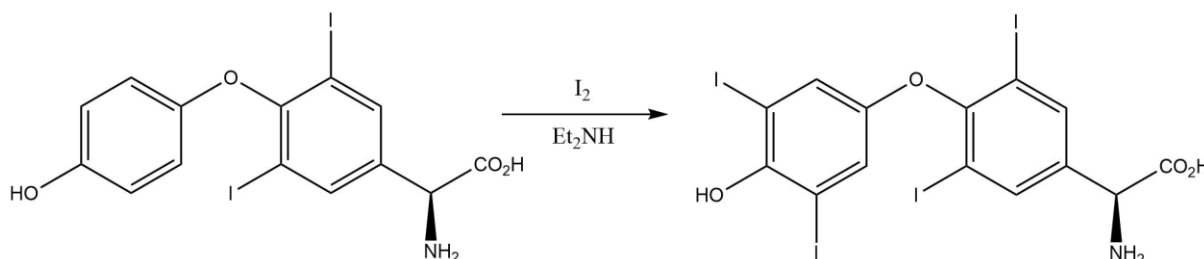
Slika 25. Mehanizam nukleofilnog napada joda na eter, pri čemu izlazi fenol

Navedeni, isti uvjeti hidroliziraju i amidne i esterske zaštitne skupine zakiseljavanjem što je vrlo korisno u industrijskim procesima, slika 26.



Slika 26. Uklanjanje zaštitnih skupina jodovodikom i zakiseljavanjem

Konačno, odvija se elektrofilna supstitucija tj. reakcija halogeniranja lijevog aromatskog prstena. Već prije spomenuta aktivirajuća -OH skupina smješta oba joda u *ortho* položaj u molekuli tiroksina, slika 27.



Slika 27. Elektrofilna aromatska supstitucija jodom u *ortho* položaj

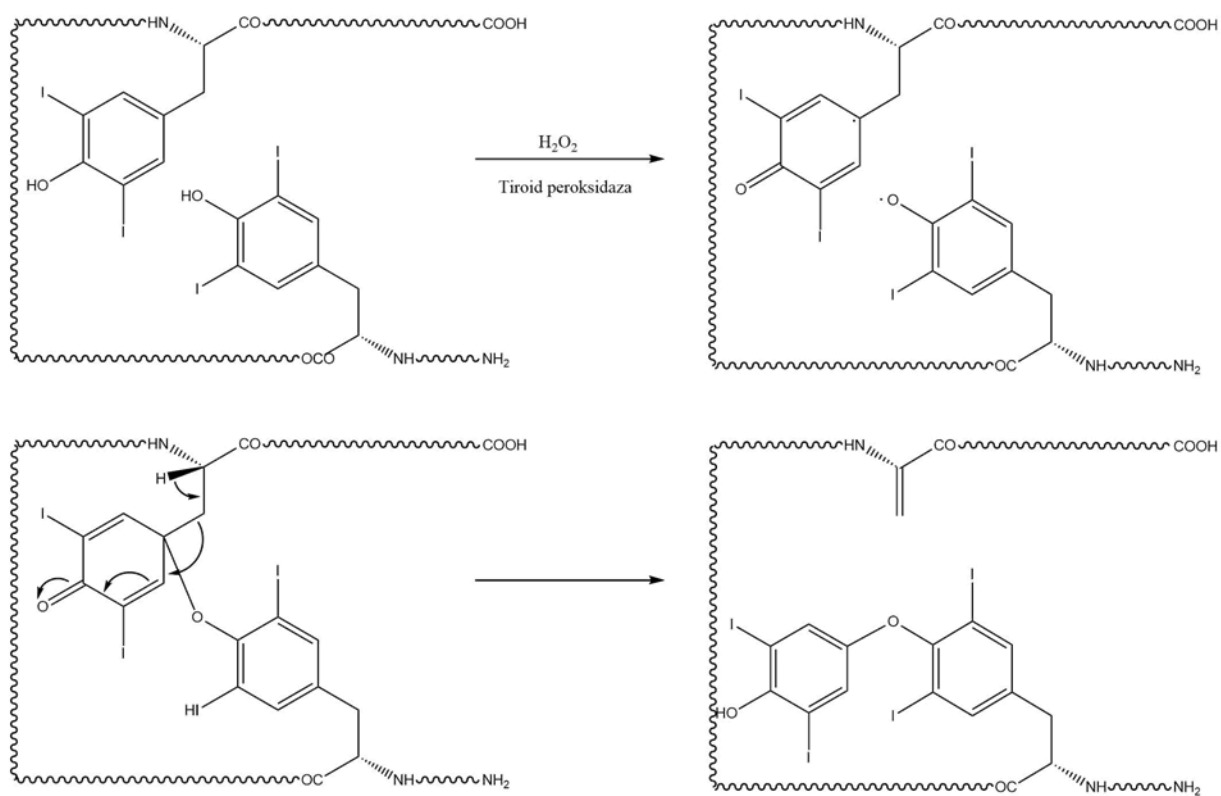
Ova sinteza pokazuje važnost elektrofilne supstitucije na aromatskim spojevima u industrijskim procesima. Sinteza tiroksina uključuje četiri reakcije elektrofilne supstitucije te tri reakcije nukleofilne supstitucije na aromatskim spojevima.<sup>8</sup>



## 2.5. Biosinteza tiroksina

Biosinteza tiroksina odvija se u organizmu, a sintetizira ga štitna žlijezda koja za sintezu koristi jod, a njega unosimo u organizam hranom. U normalnom organizmu sinteza tiroksina je regulirana te je samim time i razina tiroksina u krvi očuvana. Međutim, ako štitnjača pojačano krene lučiti hormon tiroksin tada dolazi do stanja koje se naziva hipertireoza. Neki od simptoma hipertireoze su netolerancija na toplinu, pojačano znojenje, ubrzan rad srca i gubitak kilograma. Suprotno tome, stanje u kojem je smanjeno lučenje tiroksina naziva se hipotireoza, a simptomi toga stanja su: umor, osjećaj prekomjerne hladooće i debljanje.

Mehanizam biosinteze tiroksina nije još u potpunosti objašnjen. Međutim sigurno je da dolazi do sprezanja dvije molekule 3,5-dijodotirozina (DIT), jer je 1939. godine dokazano da u bazičnoj otopini DIT-a nastaje mala količina tiroksina.<sup>9,10</sup> Predložena su dva mehanizma (intra- i intermolekulski) katalizirana pomoću enzima tiroid peroksidaze (TPO).<sup>11,12</sup> Istraživanja su također pokazala kako DIT nije slobodan nego je povezan peptidnom vezom s tiroglobulinom (TGB).<sup>13</sup> Intramolekulski mehanizam kaže da do formacije tiroksina dolazi sprezanjem fenolnih ostataka vezanih DIT-a u polipeptidnom “džepu” tioglobulina.<sup>14</sup> Intermolekulski mehanizam tvrdi da do formacije tiroksina dolazi sprezanjem slobodnog DIT-a i DIHPPA (4-hidroksi-3,5-dijodofenilpiruvatne kiseline) povezanog na tioglobulin, nastalog transaminacijom DIT-a.<sup>15</sup> Općenito se smatra da do formacije tiroksina dolazi putem oksidativnog sprezanja preko slobodnih radikala fenolnih grupa DIT-a, uz gubitak C3 fragmenta za kojeg se prvo mislilo da je piruvat. Daljnjim istraživanjem ustanovljeno je da se zapravo radi o aminomelonskoj kiselinu semialdehidu te da su oba predložena mehanizma moguća u biosintezi tiroksina.<sup>16</sup> Mehanizam sprezanja slobodnih radikala prikazuje slika 28.



Slika 28. Predloženi mehanizam biosinteze tiroksina

## 2.6. Zaključak

Obrađena sinteza hormona tiroksina daje nam uvid u industrijsku primjenu i važnost metoda enantioselektivne sinteze. Korištenje aminokiselina kao početnih spojeva u sintezi pokazalo se jeftinijim i jednostavnijim načinom. Kiralne  $\alpha$ -aminokiseline su vrlo korisni materijali zbog raznolikosti funkcionalnih skupina i lake dostupnosti. Osim što su glavni gradivni elementi proteina i peptida te preteče mnogih biomolekula, njihova primjena u industriji i enantioselektivnim metodama koje koriste *chiral pool* sve je veća. Sintaza tiroksina ujedno prikazuje i primjenu elektrofilne supstitucije na aromatskim spojevima u industrijskim procesima. Ova reakcija omogućuje uvođenje funkcionalnih skupina izravno na aromatski prsten što ju čini jednom od najvažnijih metoda supstituiranih aromatskih spojeva.

Iako je postojanje štitne žlijezde poznato već stotinama godina, postojanje hormona koji sadrži jod u svojoj strukturi, njegova iznimna važnost i povezanost s određenim poremećajima u organizmu, otkrivena je tek kasnije. Mehanizam same biosinteze kao i predložene mehanizme treba još istražiti.

### § 3. LITERATURNI IZVORI

1. Ž. Bukovec-Megla, Lj. Posavec, *Bolesti štitnjače–racionalna dijagnostika*, Zagreb, Medicinska naklada, 2010.
2. D. Čvorišćec, I. Čelepak, *Štrausova medicinska biokemija*, Zagreb, Medicinska naklada, 2009.
3. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemistry*, W. H. Freeman and Company, New York, 2007, str.27.
4. L. G. Wade, J. W. Simek, *Organic Chemistry*, 9<sup>th</sup> edition, Pearson, California, 2016, str.751–786.
5. G. P. Moss, *Pure Appl. Chem.* **68** (1996) 2193–2222.
6. J. Gal, *Chirality* **24** (2012) 959–976.
7. S. M. Paek, M. Jeong, J. Jo, Y. M. Heo, Y. T. Han, *Molecules* **21** (2016) 1–13.
8. J. Clayden, N. Greevs, S. Warren, *Organic chemistry*, Oxford University Press Inc, New York, 2001, str.646–648.
9. S. R. Chumburkar, K. C. Deming, R. E. Reddy, *Tetraheadon* **66** (2010) 1955–1962.
10. P. Mutzenbecher, *Z. Physiol. Chem.* **261** (1939) 253–256.
11. F. Blasi, F. Fragomele, I. Covelli, *Endocrinology* **85** (1969) 542–551.
12. T. B. Johnson, L. B. Tewkesbury, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **28** (1942) 73–77.
13. C. R. Harington, S. S. Randall, *Biochem. J.* **23** (1929) 373–383.
14. A. Taurog, M. Dorris, D. R. Doerge, *Arch. Biochem. Biophys.* **315** (1994) 82–89.
15. V. B. Oza, G. M. Salamonczyk, Z. W. Guo, C. J. Sih, *J. Am. Chem. Soc.* **119** (1997) 11315–11316.
16. Y.-A. Ma, C. J. Sih, A. Harms, *J. Am. Chem. Soc.* **121** (1999) 8967–8968.