

УДК 57.052.2

НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЙ ЛИГАНД РЕЦЕПТОРА ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА С АКТИВНОСТЬЮ ЧАСТИЧНОГО АГОНИСТА И НЕГАТИВНОГО АЛЛОСТЕРИЧЕСКОГО МОДУЛЯТОРА

© 2025 г. К. В. Деркач¹, Е. А. Диденко^{1, 2}, В. Н. Сорокоумов^{1, 2},
И. О. Захарова¹, А. О. Шпаков^{1, *}

Представлено академиком РАН Л.Г. Магазаником

Поступило 29.07.2024 г.

После доработки 10.09.2024 г.

Принято к публикации 10.09.2024 г.

Причиной болезни Грейвса является гиперактивация рецептора тиреотропного гормона (ТТГР). Одним из подходов для ее лечения может стать применение негативных аллостерических модуляторов (NAM) ТТГР, нормализующих активность рецептора и не вызывающих дефицита тиреоидных гормонов (ТГ). Целью работы было изучить влияние нового соединения *N*-трет-бутиламида 5-амино-4-(4-бромфенил)-2-(метилтио)тиено[2,3-*d*]пиримидин-6-карбоновой кислоты (ТРУ4) на базовую и ТТГ-стимулированную продукцию ТГ в культуре тироцитов FRTL-5 и на базовый и стимулированный тиролиберин (TRH) уровни ТГ в крови крыс. ТРУ4 стимулировал продукцию ТГ тироцитами и повышал их уровни при внутрибрюшинном и пероральном введении крысам. Он снижал ТТГ-стимулированную продукцию ТГ в тироцитах и TRH-стимулированные уровни ТГ у крыс. Тем самым ТРУ4 является первым известным аллостерическим регулятором ТТГР, сочетающим свойства NAM и частичного агониста, и может рассматриваться как прототип лекарств для лечения болезни Грейвса.

Ключевые слова: рецептор тиреотропного гормона, аллостерический агонист, негативный аллостерический модулятор, тиреоидный гормон, болезнь Грейвса, тироцит

DOI: 10.31857/S2686738925010208, **EDN:** tbhkym

ВВЕДЕНИЕ

Ключевым механизмом развития такого широко распространенного заболевания щитовидной железы (ЩЖ), как болезнь Грейвса (аутоиммунный гипертиреоз), является выработка стимулирующих аутоантител к рецептору тиреотропного гормона (ТТГР) [1]. Одной из причин рака ЩЖ являются конститутивно активные мутантные формы ТТГР, не чувствительные к регуляции ТТГ и вызывающие

гиперстимуляцию ТТГ-зависимых сигнальных каскадов [2]. В настоящее время для лечения болезни Грейвса и опухолей ЩЖ в основном используют хирургические методы и терапию радиоактивным йодом, а для лечения болезни Грейвса также применяют антитиреоидные препараты. Однако эти подходы характеризуются серьезными побочными эффектами и не устраняют основную причину заболеваний – стимулирующее воздействие на ТТГР аутоантител и гиперактивацию рецептора вследствие активирующих мутаций в нем. Так традиционно применяемые для терапии болезни Грейвса антитиреоидные препараты нарушают синтез гормонов ЩЖ, тем самым снижая стимулированную антителами продукцию тиреоидных гормонов (ТГ), но при этом могут приводить к острому дефициту ТГ, что требует необходимости проведения заместительной терапии [3,4]. К тому же антитиреоидная терапия мало эффективна для предотвращения такого грозного осложнения болезни Грейвса, как

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

²Институт химии, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования “Санкт-Петербургский государственный университет”, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: alex_shpakov@list.ru

офтальмопатии [5]. Вследствие этого значительный интерес представляют препараты, которые предотвращают стимуляцию ТТГР ортостерическими агонистами (ТТГ, стимулирующие аутоантитела к ТТГР), но при этом сами, в отсутствие гормонального воздействия, умеренно стимулируют ТТГР [6,7]. Перспективными кандидатами на роль таких препаратов являются низкомолекулярные регуляторы ТТГР, лиганды аллостерических сайтов рецептора [7–9]. Важно отметить, что эти сайты локализованы внутри трансмембранного домена и не перекрываются с внеклеточным ортостерическим сайтом, с которым с высоким сродством связываются ТТГ и стимулирующие антитела. Ранее нами на основе структуры тиено[2,3-d]-пиримидина были разработаны низкомолекулярные регуляторы ТТГР с активностью антагонистов и инверсионных агонистов, включая соединения ТРУ1 и ТРУ5, которые подавляли стимуляцию ТТГР в условиях *in vitro* и *in vivo*, но при этом не были способны стимулировать синтез ТГ, что при длительном использовании может создать риски для развития тиреоидного дефицита [10,11].

Целью работы было исследовать фармакологический профиль нового соединения *N*-трет-бутиламида 5-амино-4-(4-бромфенил)-2-(метилтио)тиено[2,3-d]пиримидин-6-карбоновой кислоты (ТРУ4), структурного аналога ТРУ1, по его влиянию на базовую и ТТГ-стимулированную продукцию ТГ в культуре тироцитов FRTL-5 и на базовую и стимулированную тиролиберин (TRH) продукцией ТГ при внутрибрюшинном (в/б) и пероральном введении самцам крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали половозрелых самцов крыс Wistar, которых содержали в стандартных условиях вивария (режим день/ночь 12/12, температура $+22\pm 3$ °C, свободный доступ к воде и сухому корму).

Соединение ТРУ4 получали амидированием 5-амино-4-(4-бромфенил)-2-(метилтио)тиено[2,3-d]пиримидин-6-карбоновой кислоты в смеси диизопропилэтиламина, гексафторфосфата 1-[бис(диметиламино)метил]-1*H*-1,2,3-триазоло[4,5-*b*]пиримидин-3-оксида (НАТУ) и трет-бутиламина. Для этого 5-амино-4-(4-бромфенил)-2-(метилтио)тиено[2,3-d]пиримидин-6-карбоновую кислоту (12 ммоль) помещали в круглодонную колбу и при интенсивном перемешивании добавляли к ней 70 мл диметилформамида и 3.13 мл диизопропилэтиламина (18 ммоль). После продувания через смесь инертного газа (аргон, 10 мин) добавляли НАТУ (14.4 ммоль) и 1.51 мл трет-бутиламина (14.4 ммоль). Реакцию осуществляли при комнатной температуре,

контролируя получение продукта с помощью ТСХ. Смесь упаривали, к образовавшемуся остатку приливали насыщенный раствор карбоната калия, обрабатывали смесь ультразвуком, отфильтровали выпавший осадок. Целевой продукт трижды экстрагировали из полученного осадка с помощью хлористого метилена, органический слой промывали водой и насыщенным раствором хлорида натрия, высушивали над прокаленным Na_2SO_4 , упаривали хлористый метилен с помощью роторного испарителя. Очистку продукта проводили с помощью колоночной хроматографии на силикагеле, используя смесь этилацетат–гексан 1:6. Полученное соединение (ТРУ4) представляло собой желтый кристаллический порошок, выход продукта составил 40%. Структуру ТРУ4 подтверждали масс-спектрометрией высокого разрешения с помощью спектрометра “Bruker micrOTOF” (Германия). Для ТРУ4 найдено m/z 451.0256 $[\text{M}+\text{H}]^+$, что соответствует вычисленному значению m/z для молекулярного иона $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{BrN}_4\text{OS}_2^+$ – 451.0256. ТРУ1 синтезировали, как описано ранее [10].

Клеточную линию тироцитов FRTL-5 получали из “European Collection of Authenticated Cell Cultures”. Культивирование FRTL-5-клеток проводили в среде F-12 в присутствии 5% эмбриональной телячьей сыворотки и шести гормональных агентов (F-12+6H): 10 мкг/мл инсулина, 5 мкг/мл печеночного ростового фактора, 10 нМ гидрокортизона (“Sigma”, США), 5 мкг/мл трансферрина (“Биолот”, Россия), 10 нг/мл соматостатина (“Tocris Bioscience”, Великобритания), 1 мМЕ/мл ТТГ (“Elabscience”, США), как описано в работе [12], с нашими изменениями [10]. FRTL-5-клетки сначала пересеивали в среду F-12+6H в конечной концентрации 40 000 клеток/0.25 мл среды/лунку, через двое суток переводили в среду F-12+5H без ТТГ и еще через сутки инкубировали в течение 20 мин с 10, 25 и 50 мкМ ТРУ4, после чего в среду добавляли ТТГ (5 мМЕ/мл) в 20 мМ Tris-HCl буфере (pH 7.4) или тот же буфер без гормона. В контрольные пробы также добавляли ДМСО, растворитель ТРУ4 (конечная концентрация в пробе 0.4%). Клеточную среду отбирали через 6 ч и определяли в ней уровни тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3), для чего использовали ИФА-наборы производства “Алкор-Био” (Россия) для свободного тироксина (fT4) и свободного трийодтиронина (fT3). ТРУ4 растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО), который добавляли в контрольные пробы.

В экспериментах *in vivo* ТРУ4 растворяли в 200 мкл ДМСО и вводили крысам в дозе 15 мг/кг (в/б) или 30 мг/кг (перорально, с помощью зонда). Выбранные дозы соответствовали тем, которые в предварительных экспериментах вызывали 70–80%-ное ингибирование TRH-стимулированной продукции Т4. Контрольным крысам вводили 200 мкл ДМСО. Для стимуляции продукции

ТГ использовали обработку интраназально вводимым TRH (“Sigma”, США) в дозе 100 мкг/крысу. TRH растворяли в физиологическом растворе и вводили интраназально, в объеме 20 мкл, через 30 мин после ТРУ4 или ДМСО. Формировали следующие группы (в каждой по 6 крыс): контроль, которому вводили растворители ТРУ4 и TRH (Con); животные с введением ТРУ4 в/б или перорально (ТРУ4ip, ТРУ4po) и с интраназальным введением TRH (TRH); животные с введением ТРУ4 в/б или перорально с последующей обработкой TRH (ТРУ4ip+TRH, ТРУ4po+TRH). ТРУ4 вводили в 10.00, TRH – в 10.30. Забор крови осуществляли до и через 2 и 3.5 ч после введения ТРУ4 (соответственно до и через 1.5 и 3 ч после введения TRH). Уровень ТТГ оценивали в конце эксперимента, через 3.5 ч после введения ТРУ4. Также исследовали влияние аллостерического антагониста ТРУ1 на стимулирующий продукцию ТГ эффект ТРУ4, для чего крысам сначала вводили ТРУ1 (в/б, 25 мг/кг), вызывающий максимальный ингибирующий эффект на TRH-стимулированную продукцию ТГ, а через 30 мин вводили ТРУ4 (в/б, 15 мг/кг), определяя уровни ТГ через 2 и 3.5 ч после введения ТРУ4. Концентрацию fT4, fT3 и общего T3 (tT3) определяли с помощью ИФА-наборов “Алкор-Био” (Россия), концентрацию ТТГ – набором “Rat TSH ELISA” (“Cusabio Biotech Co., Ltd.”, КНР).

Статистический анализ проводили, используя программу “IBM SPSS Statistics 26” (США), нормальность распределения оценивали критерием Шапиро–Уилка. Данные имели нормальное распределение, вследствие чего их оценивали однофакторным дисперсионным анализом, представляя как $M \pm SEM$ и используя тест Тьюки. Все различия считали значимыми при $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Инкубация FRTL-5-клеток с ТТГ приводила к значимому повышению уровней Т4 и Т3 в культуральной среде (табл. 1). ТРУ4 в концентрациях 25 и 50 мкМ повышал уровень Т3, в концентрации 50 мкМ – также уровень Т4, но в концентрации 10 мкМ был не эффективен (табл. 1). Инкубация с ТРУ4 приводила к ослаблению эффекта ТТГ, причем в присутствии 25 и 50 мкМ ТРУ4 ТТГ-стимулированные уровни ТГ были значимо ниже, чем в клетках, стимулированных ТТГ, но без добавления ТРУ4. При совместном применении ТТГ и 50 мкМ ТРУ4 уровень Т4 не отличался от его значений в контроле (табл. 1). Тем самым ТРУ4 в концентрациях 25–50 мкМ характеризовался способностью умеренно повышать продукцию ТГ FRTL-5-клетками и ингибировать синтез Т4 и Т3, стимулированный ТТГ.

Таблица 1. Влияние различных концентраций ТРУ4 на базальные и стимулированные ТТГ уровни тироксина и трийодтиронина в среде культивирования тироцитов FRTL-5

	Т4, пмоль/л	Т3, пмоль/л
Контроль	19.0 ± 0.7	3.17 ± 0.11
ТТГ, 5 мкМЕ/мл	28.1 ± 0.6 ^a	5.58 ± 0.20 ^a
ТРУ4, 10 мкМ	20.5 ± 0.9	3.67 ± 0.20
ТРУ4, 25 мкМ	21.4 ± 0.9	4.01 ± 0.15 ^a
ТРУ4, 50 мкМ	22.5 ± 0.5 ^a	4.21 ± 0.19 ^a
ТРУ4, 10 мкМ + ТТГ	25.8 ± 1.0 ^a	4.98 ± 0.23 ^a
ТРУ4, 25 мкМ + ТТГ	23.2 ± 0.9 ^{a,б}	4.36 ± 0.24 ^{a,б}
ТРУ4, 50 мкМ + ТТГ	22.0 ± 1.2 ^б	4.27 ± 0.27 ^{a,б}

Примечание. Различия с контролем (^a), а также между группами, обработанными только ТТГ или последовательно ТРУ4 и ТТГ (^б) статистически значимы при $P < 0.05$. $M \pm SEM$, $n = 8$.

При обоих способах введения ТРУ4 через 3.5 ч значимо повышал уровни ТГ в крови крыс, а при в/б введении уровень fT4 повышался уже через 2 ч после обработки (рис. 1). Предварительное введение ТРУ4 заметно ослабляло стимулирующий продукцию ТГ эффект TRH, причем в наибольшей степени снижался уровень fT4 (рис. 1). Мы полагаем, что это обусловлено не только ослаблением TRH-стимулированного синтеза тироксина ЩЖ, но и высокой интенсивностью его конверсии в Т3, осуществляемой D2-дейодиназой. Важно, что уровень ТТГ во всех обработанных TRH группах крыс был значимо повышен, что указывает на отсутствие влияния ТРУ4 на секреторную активность тиреотрофов гипофиза, стимулированных TRH (рис. 1). Полученные данные указывают на то, что основной мишенью ТРУ4 является ТТГР, на который он действует как частичный агонист, при этом негативно модулируя его стимуляцию ТТГ.

Для выяснения возможной локализации сайта, мишени ТРУ4, изучали его действие на синтез ТГ в присутствии аллостерического ТТГР-антагониста ТРУ1, другого производного тиено[2,3-d]-пиримидина, взаимодействующего с аллостерическим сайтом рецептора, локализованным в его трансмембранном домене [10, 11]. ТРУ1 не влиял на уровни ТГ при введении крысам, но ингибировал стимулирующий эффект ТРУ4 на продукцию ТГ (табл. 2). Способность ТРУ1 ингибировать стимулирующие эффекты ТРУ4 может свидетельствовать о совпадении или перекрывании сайтов рецептора, с которыми они связываются. Данные молекулярного докинга в отношении низкомолекулярных лигандов ТТГР, в том числе тиено[2,3-d]-пиримидиновой природы, демонстрируют, что сайты их связывания располагаются внутри тоннеля, образуемого трансмембранным доменом ТТГР [13–16]. Учитывая структурное сходство

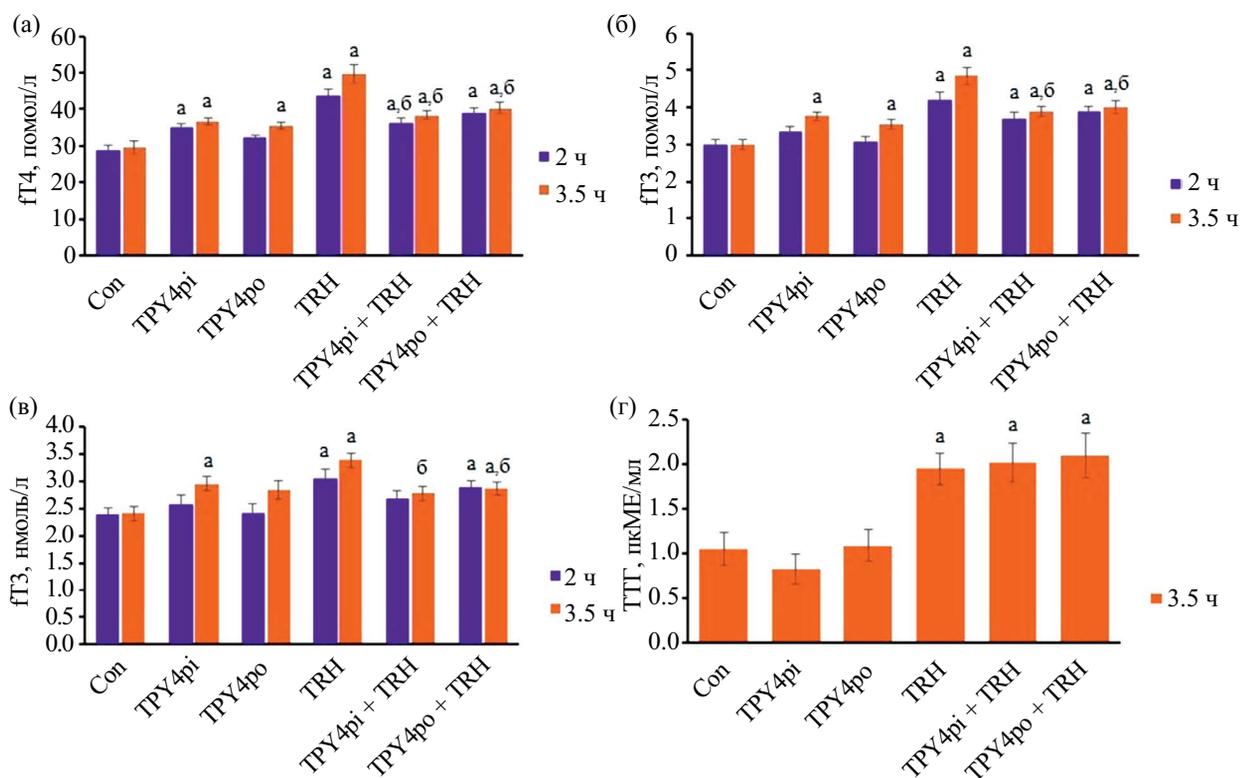


Рис. 1. Уровни тиреоидных гормонов и ТТГ в крови крыс, обработанных в/б и перорально вводимым TPY4 и тиролиберином по отдельности и совместно.

Примечание. Различия с контролем (^a), а также между группами, обработанными только TRH или последовательно TPY4 и TRH (^б) статистически значимы при $P < 0.05$. $M \pm SEM$, $n = 6$.

TPY4 с этими лигандами, имеются основания полагать, что и сайт связывания для TPY4 также локализован внутри трансмембранного тоннеля ТТГР.

Связывание ТТГ и стимулирующих антител с ортостерическим сайтом, расположенным в эктодомене ТТГР, приводит к конформационным изменениям в трансмембранном домене рецептора, индуцируя активацию внутриклеточных ТТГР-зависимых каскадов. В свою очередь, связывание лиганда с аллостерическими сайтами, локализованными в трансмембранном домене, влияет как на конформационные изменения, вызванные агонист-опосредуемой

активацией ортостерического сайта, так и на конформационные характеристики несвязанного с гормоном ТТГР. Это и приводит к тому, что аллостерический лиганд может демонстрировать активность модулятора гормонального сигнала, одновременно с этим проявляя собственную агонистическую активность, что и наблюдается для TPY4. Это соединение функционирует, как частичный агонист ТТГР, на что указывает вызываемая им умеренно выраженная стимуляция продукции ТГ в культуре FRTL-5-клеток и повышение уровня ТГ в крови при различных способах введения крысам. Наряду с этим

Таблица 2. Ингибирующее влияние предварительно введенного крысам ТТГР-антагониста TPY1 на способность TPY4 повышать уровень тиреоидных гормонов в крови животных

Группа крыс	Через 2 ч		Через 3.5 ч	
	fT4, пМ	fT3, пМ	fT4, пМ	fT3, пМ
Контроль	31.0 ± 1.4	2.95 ± 0.14	31.5 ± 1.2	2.91 ± 0.14
TPY1, в/б, 25 мг/кг	29.8 ± 1.1	2.84 ± 0.09	29.6 ± 0.9	2.91 ± 0.10
TPY4, в/б, 15 мг/кг	36.4 ± 1.2 ^a	3.32 ± 0.10	38.0 ± 1.4 ^a	3.66 ± 0.16 ^a
TPY1+TPY4	32.5 ± 1.4	3.15 ± 0.14	30.5 ± 1.0 ^б	3.21 ± 0.15

Примечание. Различия с контролем (^a), а также между группами, обработанными только TPY4 или последовательно TPY1 и TPY4 (^б) статистически значимы при $P < 0.05$. $M \pm SEM$, $n = 6$.

он проявляет свойства негативного аллостерического модулятора (NAM), снижая стимулирующий эффект ТТГ на уровни Т4 и Т3 в тироцитах и подавляя эффекты TRH на синтез ТГ при введении крысам. Соединения с фармакологическим профилем агониста NAM могут быть востребованы для коррекции аутоиммунного гипертиреоза, офтальмопатии Грейвса и при лечении ТТГ-зависимых опухолей, поскольку подавляют активацию ТТГР ортостерическими агонистами, но, в отличие от антитиреоидных препаратов, при длительном применении не приводят к дефициту ТГ, поддерживая нормальные уровни ТГ в крови. Важно отметить, что ТРУ4 сохраняет активность при пероральном способе введения, что свидетельствует о его устойчивости и эффективном всасывании в желудочно-кишечном тракте.

БЛАГОДАРНОСТИ

ЯМР и масс-спектрометрические исследования проведены с использованием оборудования ресурсных центров СПбГУ “Магнитно-резонансные методы исследования” и “Методы анализа состава вещества”.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (№ 19-75-20122).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ И СТАНДАРТОВ

В работе использовали половозрелых самцов крыс Wistar, эксперименты с которыми проводили, руководствуясь требованиями Этического комитета ИЭФБ РАН (протокол #3-2/2023, 23.03.2023 г.) и European Communities Council Directive 1986 (86/609/ЕЕС).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gao Y., Qiu L., Yu S., et al. Thyroid stimulating receptor autoantibodies // *Clin. Chim. Acta*. 2024. V. 559. P. 119700.
2. Kleinau G., Biebertmann H. Constitutive activities in the thyrotropin receptor: regulation and significance // *Adv. Pharmacol.* 2014. V. 70. P. 81–119.
3. Corvilain B., Hamy A., Brunaud L., et al. Treatment of adult Graves' disease // *Ann. Endocrinol. (Paris)*. 2018. V. 79(6). P. 618–635.
4. Ruslan A., Okosieme O.E. Non-thionamide anti-thyroid drug options in Graves' hyperthyroidism // *Expert Rev. Endocrinol. Metab.* 2023. V. 18(1). P. 67–79.
5. Eckstein A., Stöhr M., Görtz G.E., et al. Current Therapeutic Approaches for Graves' Orbitopathy – are Targeted Therapies the Future? // *Klin. Monbl. Augenheilkd.* 2024. V. 241(1). P. 48–68. English, German.
6. Galofré J.C., Chacón A.M., Latif R. Targeting thyroid diseases with TSH receptor analogs // *Endocrinol. Nutr.* 2013. V. 60(10). P. 590–598.
7. Kahaly G.J., Steiner L., van der Lee M.M.C., et al. Thyrotropin Receptor Antagonism by a Novel Small Molecule: Preclinical In Vitro Observations // *Thyroid*. 2023. V. 33(6). P. 732–742.
8. Marcinkowski P., Hoyer I., Specker E., et al. A New Highly Thyrotropin Receptor-Selective Small-Molecule Antagonist with Potential for the Treatment of Graves' Orbitopathy // *Thyroid*. 2019. V. 29(1). P. 111–123.
9. Shpakov A.O. Allosteric Regulation of G-Protein-Coupled Receptors: From Diversity of Molecular Mechanisms to Multiple Allosteric Sites and Their Ligands // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24(7). P. 6187.
10. Derkach K.V., Fokina E.A., Bakhtyukov A.A., et al. The Study of Biological Activity of a New Thieno[2,3-D]-Pyrimidine-Based Neutral Antagonist of Thyrotropin Receptor // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2022. V. 172(6). P. 713–716.
11. Derkach K.V., Bakhtyukov A.A., Sorokoumov V.N., et al. Low Molecular Weight Thyrotropin Receptor Inverse Agonist is Active upon both Intraperitoneal and Oral Administration // *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2024. V. 60(1). P. 295–305.
12. Albi E., Perrella G., Lazzarini A., et al., Critical role for the protons in FRTL-5 thyroid cells: nuclear sphingomyelinase induced-damage // *Int. J. Mol. Sci.* 2014. V. 15(7). P. 11555–11565.
13. Gershengorn M.C., Neumann S. Update in TSH receptor agonists and antagonists // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012. V. 97(12). P. 4287–4292. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-3080>
14. Latif R., Realubit R.B., Karan C., et al. TSH Receptor Signaling Abrogation by a Novel Small Molecule // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 2016. V. 7. P. 130.
15. Latif R., Morshed S.A., Ma R., et al. A Gq Biased Small Molecule Active at the TSH Receptor // *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2020. V. 11. P. 372. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00372>
16. Nagayama Y., Nishihara E. Thyrotropin receptor antagonists and inverse agonists, and their potential application to thyroid diseases // *Endocr. J.* 2022. V. 69(11). P. 1285–1293.

**LOW-MOLECULAR-WEIGHT LIGAND
OF THE THYROID-STIMULATING HORMONE RECEPTOR WITH
THE ACTIVITY OF A PARTIAL AGONIST
AND A NEGATIVE ALLOSTERIC MODULATOR**

K. V. Derkach¹, E. A. Didenko^{1, 2}, V. N. Sorokoumov^{1, 2}, I. O. Zakharova¹, A. O. Shpakov^{1, *}

*¹I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences,
St. Petersburg, Russian Federation*

²Institute of Chemistry, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

**e-mail: alex_shpakov@list.ru*

Presented by Academician of the RAS L.G. Magazanikov

Graves' disease is caused by overactivation of the thyroid-stimulating hormone receptor (TSHR). One approach for its treatment may be the use of negative allosteric modulators (NAM) of TSHR, which normalize TSHR activity and do not cause thyroid hormone (TH) deficiency. The aim of the work was to study the effect of a new compound 5-amino-4-(4-bromophenyl)-2-(methylthio)thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylic acid *N-tert*-butylamide (TPY4) on the basal and TSH-stimulated TH production in cultured FRTL-5 thyrocytes and on basal and thyrotropin-releasing hormone (TRH)-stimulated TH levels in the blood of rats. TPY4 stimulated TH production by thyrocytes and increased TH levels when administered intraperitoneally and orally in rats. It also decreased the TSH-stimulated TH production in thyrocytes and the TRH-stimulated TH levels in rats. Thus, TPY4 is the first known allosteric regulator of TSHR, combining the properties of NAM and a partial agonist, and can be considered as a prototype of drugs for the treatment of Graves' disease.

Keywords: thyroid-stimulating hormone receptor, allosteric agonist, negative allosteric modulator, thyroid hormone, Graves' disease, thyrocyte