



## Синтетические аналоги прогестерона в *in vitro* и *in vivo* моделях

О.А. Зейналов<sup>1</sup>, Т.С. Савинова<sup>2</sup>, В.А. Андриюшина<sup>3</sup>, М.А. Петросян<sup>4</sup>

<sup>1</sup> – ООО «Научно-производственная компания «СКИФФ», Москва

<sup>2</sup> – ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

<sup>3</sup> – Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

<sup>4</sup> – ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

Контактная информация: к.х.н. Андриюшина Валентина Александровна, [andryushina@rambler.ru](mailto:andryushina@rambler.ru)

Сравнение величины гестагенной активности у синтетических аналогов прогестерона – эфиров ацетомепрегнола (АМОЛ), определенной в процессе ее изучения различными биологическими тестами, показало отсутствие корреляции между результатами, полученными *in vitro* и *in vivo*. При низком сродстве к рецептору прогестерона эфиры АМОЛа проявили высокую гестагенную активность на животных, что, скорее всего, можно объяснить возникновением рецептор-субстратного взаимодействия после гидролиза эфирной связи под действием эстераз в организме.

Установленное на *in vitro* моделях отсутствие у эфиров АМОЛа нежелательных глюкокортикоидного, андрогенного или антиандрогенного действия наряду с их высокой *in vivo* гестагенной активностью делает их перспективными для использования в медицине и ветеринарии.

**Ключевые слова:** гестагенная активность, эфиры ацетомепрегнола, рецепторы прогестерона, *in vitro*, *in vivo*.

### Введение

Гестагенные препараты широко используются как в медицинской, так и в ветеринарной практике. Они незаменимы для лечения большого количества гинекологических, эндокринных и онкологических заболеваний, а также являются основным компонентом в большинстве гормональных контрацептивных средств. Очевидно, что разработка высокоактивных, безопасных и конкурентоспособных гестагенов представляет большую актуальность.

Отечественная химия и фармакология уделяют особое внимание синтезу и изучению биологических свойств производных прогестерона. После сообщения о синтезе ацетомепрегнола (АМОЛ) и патентовании его фирмой «Merck» (Германия) в 1964 г. широко-масштабные исследования прегнанных гестагенов проводились в лаборатории синтеза гормональных стероидов ЦХЛС-ВНИХФИ. Был модифицирован метод синтеза ацетомепрегнола, а в НИИ по БИХС изучен спектр его био-

логической активности [7]. Результатом этих исследований, продолженных совместно с НИИ АГ им. Д.О. Отта РАМН, ВИЖ и ВАСХНИЛ, стал выпуск препарата ацетомепрегенола, разрешенного к медицинскому применению в России для лечебных целей, широкое использование его и предшественника, в т.ч. в терапии сельскохозяйственных животных. Однако из-за кризиса 90-х гг. выпуск препарата был прекращен. Это направление исследований заслуживает дальнейшего развития, поскольку модифицированные аналоги прогестерона, как правило, имеют высокую гестагенную активность при отсутствии нежелательных андрогенного, анаболического и эстрогенного действия в отличие от гестагенов норстероидного ряда [1, 8, 9].

Известно, что гестагены проявляют свое основное действие опосредованно, через рецепторы прогестерона (PR). Однако особенности биологического действия гестагенных соединений, формирующие индивидуальный профиль фармакологической активности каждого препарата, определяются способностью соединения специфически связываться не только с PR, но и в той или иной мере с другими типами стероидных рецепторов – например, андрогенными, глюкокортикоидными, эстрогенными и др., возможно проявляя при этом нежелательные побочные эффекты. Исключить дополнительные эффекты новой молекулы можно в экспериментах на животных, а также используя *in vitro* модели, которые позволяют за короткое время определить степень связывания лиганда с разными ядерными рецепторами и таким образом выявить молекулу с интересующими фармакологическими свойствами.

**Целью** настоящей работы являлось изучение взаимодействия аналогов прогестерона, а именно – сложных эфиров  $17\alpha$ -ацетокси- $3\beta$ -гидрокси-6-метилпрегна-4,6-диен-20-она (мепрегенола ацетата, АМОЛа) по атому  $C^3$  – бутаноата (БА), гемисукцината (ГА) и фенилпропионата (ФА) – с ядерными рецепторами (прогестероновым, глюкокортикоидным и андрогенным) и оценка корреляции полученных результатов с величиной гестагенной активности этих производных, определенной в тесте МакФейла на кроликах.

Изучение сродства полученных соединений к рецепторам стероидных гормонов *in vitro* проведено методом определения относительной конкурентной активности. Гестагенная активность соединений *in vivo* оценивалась в тесте Clauberg-McPhail [4, 10, 14] по степени секреторной трансформации эндометрия инфантильных эстрогенизированных самок кроликов.

### Материалы и методы

Испытания эфиров АМОЛа по конкуренции с [ $^3$ H]-прогестероном за связывание с PR проведены на рецепторах прогестерона крысы и рецепторах прогестерона растворимой фракции матки кролика, а конкурентное с [ $^3$ H]-дексаметазоном связывание с рецептором глюкокортикоидов и конкурентное с  $5\alpha$ -дигидро- $^3$ H]-тестостероном связывание с рецептором андрогенов изучено на рецепторах крысы.

### Реактивы

Все использованные реактивы имели квалификацию химически чистые. [ $1,2,6,7$ - $^3$ H]прогестерон с удельной радиоактивностью 80 Ки/ммоль, [ $1,2(n)$ - $^3$ H]дексаметазон (25 Ки/ммоль),

5 $\alpha$ -дигидро-[1,2,4,5,6,7-<sup>3</sup>H]-тестостерон (148 Ки/ммоль) получены от фирмы «Amersham» (Англия). Немеченые стероиды сравнения, дитиотреитол (DTT), фенолметилсульфонилфторид (PMSF), пропиленгликоль, глицерин и Trisma-основание получены от фирмы «Sigma» (США). Активированный уголь Norit-A получен от фирмы «Serva» (ФРГ), декстран-70 – «Fluka» (Швейцария). Использовали следующие буферные р-ры с рН=7,5 при 20°C: *A* – 10 мМ Tris-HCl, 10 мМ KCl, 0,5 мМ PMSF, 1 мМ DTT и 30% глицерин (по объему); *B* – 10 мМ Tris-HCl, 10 мМ KCl, 1,5 мМ EDTAS; *C* – 10 мМ Tris-HCl, 1,5 мМ EDTAS, 10 мМ Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, 10% глицерин (по объему).

Радиохимическую чистоту меченых соединений контролировали методом колоночной хроматографии на Separon C18 (7 мкм, 3,3x150 мм) с использованием для элюции смеси метанол-вода (95:5, по объему), а также методом тонкослойной хроматографии в системе хлороформ-этиловый эфир (17:3, по объему).

Стероиды растворяли в этаноле в концентрации 0,5 мМ и хранили при 4°C. Учитывая нестабильность ГА в р-рах, его спиртовой р-р готовили непосредственно перед добавлением к тканевому экстракту.

### Кролики

В работе с кроликами использовали девственных самок кролика массой 2-2,5 кг, полученных из питомника «Рапполово» РАМН и содержащихся в виварии ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» в стандартных условиях. Животные получали ежедневно инъекции 17 $\beta$ -эстрадиола (50 мкг в 100 мкл пропиленгликоля) внутримышечно в течение 5-ти дней. Через 1 день после

последней инъекции животных выводили из эксперимента. Матки извлекали, измельчали и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе в 5-ти объемах буфера или хранили при -65°C не более 12-ти дней. Гомогенизацию ткани и все последующие операции проводили при 0-4°C. Гомогенат центрифугировали при 50000g в течение 1 ч. Надосадочную фракцию (цитозоль) использовали немедленно.

### Крысы

В работе с крысами использовали половозрелых беспородных самок и самцов крыс массой 180-220 г. Для анализа взаимодействия стероидов с PR животные получали ежедневно инъекции 1 мкг 17 $\beta$ -эстрадиола в 200 мкл пропиленгликоля внутримышечно в течение 4-х дней. Через 1 день после последней инъекции животных выводили из эксперимента. Матки от 3-х животных извлекали, измельчали и гомогенизировали в 5-ти объемах буфера *A*.

Источником рецептора глюкокортикоидов служила печень интактной самки крысы. Печень извлекали, измельчали и гомогенизировали в 3-х объемах буфера *B* в гомогенизаторе тефлон/стекло.

Источником рецептора андрогенов служила вентральная предстательная железа от 7-ми кастрированных накануне самцов крыс. Ткань измельчали и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе в 3-х объемах буфера.

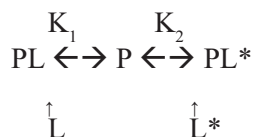
Гомогенизацию ткани и все последующие процедуры проводили при температуре 0-4°C. Гомогенат центрифугировали при 50000g в течение 1 ч. Надосадочную фракцию (цитозоль) использовали немедленно. Цитозоль печени обрабатывали осадком суспензии активированного угля, покрытого декс-

траном (конечные концентрации – 0,67% и 0,13%, вес/объем), в течение 30 мин с последующим центрифугированием при 50000g в течение 5 мин для удаления свободных и непрочно связанных белком стероидов.

Для определения равновесных параметров связывания стероидов белками и анализа ингибирования этого связывания аликвоты цитозоля (100 мкл) инкубировали при 0-4°C в течение 22 ч с [<sup>3</sup>H]-лигандом (25-30x 10<sup>3</sup> имп/мин, конечная концентрация – 2-6 нМ) в отсутствие или в присутствии немеченого одноименного или конкурирующего лиганда (конечная концентрация 1,4 – 100000 нМ) в суммарном объеме 200 мкл. При работе с кроликами инкубацию проводили в аналогичных условиях с [<sup>3</sup>H]-прогестероном (25-30x10<sup>3</sup> имп/мин, конечная концентрация – 2-3 нМ). В случае анализа взаимодействия лигандов с PR в инкубационную смесь добавляли также по 3 мкМ гидрокортизона.

Несвязанный белками лиганд удаляли обработкой 100 мкл 2% суспензии угля, покрытого декстраном (0,67%), в течение 5 мин с последующим отделением угля центрифугированием при 3000g в течение 5 мин. В аликвотах супернатанта (250 мкл) измеряли содержание радиоактивности с использованием сцинтилляционной жидкости ЖС-8 и спектрометра Rackbeta 1217 («ЛКВ», Швеция). Эффективность счета составляла 50%. Величины равновесной константы диссоциации ( $K_d$ ) и концентрации связывающих мест ( $V_{max}$ ) для высокоаффинного связывания [<sup>3</sup>H]-лигандов и [<sup>3</sup>H]-прогестерона рассчитывали с помощью компьютерной обработки результатов в соответствии с приводимой ниже моделью, используя величины специфически связанного

[<sup>3</sup>H]-лиганда, получаемые вычитанием количества неспецифически связанного [<sup>3</sup>H]-лиганда (измеряемого в присутствии избытка (10 мкМ) немеченого лиганда) из количества суммарно связанного лиганда:



где P – неоккупированная форма белка; L и L\* – несвязанные формы немеченого и меченого лигандов; PL и PL\* – лиганд-белковые комплексы;  $K_1$  и  $K_2$  – равновесные  $K_d$ .

Приведенной схеме соответствует система уравнений:

$$\begin{aligned}
 PL &= P \cdot L / K_1 \\
 PL^* &= P \cdot L^* / K_2 \\
 PL + P + PL^* &= V_{max1}
 \end{aligned}$$

Решение этой системы позволяет получать значения концентраций всех форм лигандов и белков, представленных на схеме. Численное решение производили с помощью программы, использующей метод Fabiato [13]. Подбирали соотношение параметров  $K_d$  и  $V_{max}$  для немеченого лиганда, обеспечивающие наилучшее соответствие расчетных графиков экспериментальным данным для количества специфически связанного [<sup>3</sup>H]-лиганда при варьирующих концентрациях немеченого лиганда. Критерием соответствия служила сумма квадратов отклонений. Величины относительной конкурентной активности рассчитывали как соотношение величин  $K_2$  и  $K_1$ . Данный способ анализа является модификацией широко применяемого метода Korenman (1970) и его вариантов. Все измерения проводили в двух параллельных образцах. Ошибка измерений не превышала 5% от среднего.

### Результаты и их обсуждение

Анализ конкуренции эфиров АМОЛа с  $[^3\text{H}]$ -прогестероном за связывание с PR растворимой фракции матки кролика представлен на рис. 1.

Параметры лиганд-рецепторного взаимодействия эфиров АМОЛа с PR матки кролика приведены в табл. 1.

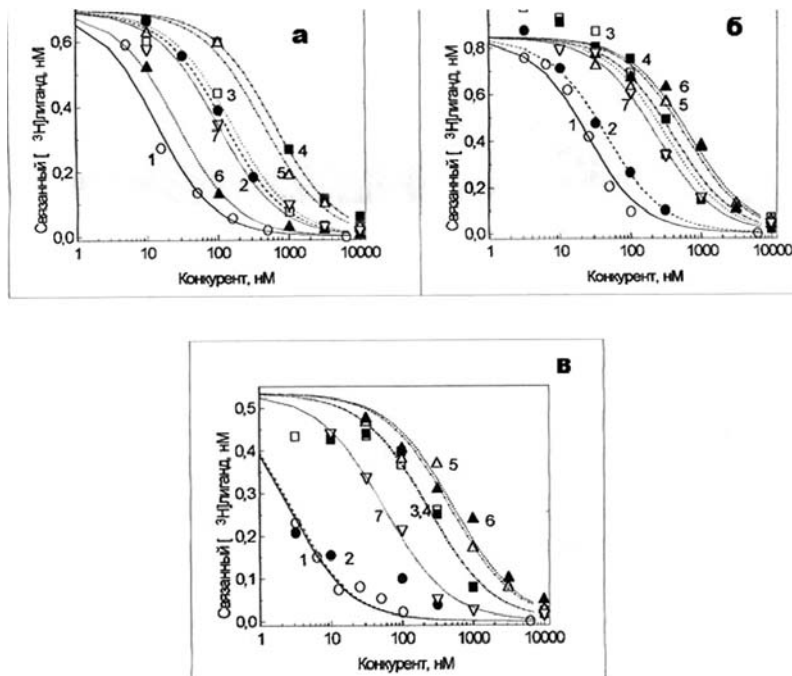


Рис. 1. Зависимость конкуренции эфиров АМОЛа с  $[^3\text{H}]$ -прогестероном за связывание с PR от их структуры.

По оси абсцисс – концентрация конкурента, по оси ординат – количество специфически связанного  $[^3\text{H}]$ лиганда.

а) 1 – прогестерон, 3 – БА, 4 – ГА, 5 – ФА;

б) 1 – прогестерон, 3 – БА, 4 – ГА, 5 – ФА;

в) 1 – прогестерон, 4 – БА, 5 – ГА, 6 – ФА.

Таблица 1

Параметры взаимодействия эфиров АМОЛа с PR матки кролика

№ жив-го	Прогестерон и эфиры АМОЛа							
	Прогестерон		БА		ГА		ФА	
	$K_d$ , нМ	ОКА, %	$K_d$ , нМ	ОКА, %	$K_d$ , нМ	ОКА, %	$K_d$ , нМ	ОКА, %
1	6,7	100	91	7,4	370	1,8	259	2,6
2	12,7	100	242	5,2	365	3,8	418	3,0
3	0,57	100	61	0,93	125	0,46	140	0,41
Среднее	6,6	100	131	4,5	287	2,0	272	2,0

Примечание:  $K_d$  – равновесная константа диссоциации; ОКА – относительная конкурентная активность. За 100% принята активность прогестерона.

Из табл. 1 видно, что все исследованные аналоги прогестерона – сложные эфиры АМОЛа по гидроксильной группе при атоме С<sup>3</sup> – обладают относительно низким сродством к PR кролика. Величины ОКА составляют около 2-6% от активности прогестерона.

По аналогичной методике изучено конкурентное связывание исследуемых стероидных соединений с рецепторами прогестерона, глюкокортикоидов и андрогенов крысы.

На рис. 2 приведены графики, отражающие конкуренцию исследованных соединений с [<sup>3</sup>H] лигандами за связывание с рецепторами стероидных гормо-

нов крысы: рецептор прогестерона (а); рецептор глюкокортикоидов (б); рецептор андрогенов (в).

Параметры лиганд-рецепторного взаимодействия испытуемых производных прогестерона и стероидов сравнения с рецепторами прогестерона, глюкокортикоидов и андрогенов крысы приведены в табл. 2.

Как следует из табл. 2, исследованные аналоги прогестерона – сложные эфиры АМОЛа по гидроксильной группе при атоме С<sup>3</sup> (гемисукцинат, бутаноат и фенилпропионат) – обладают низким сродством к PR. Величины ОКА составляют около 1% от активности прогесте-

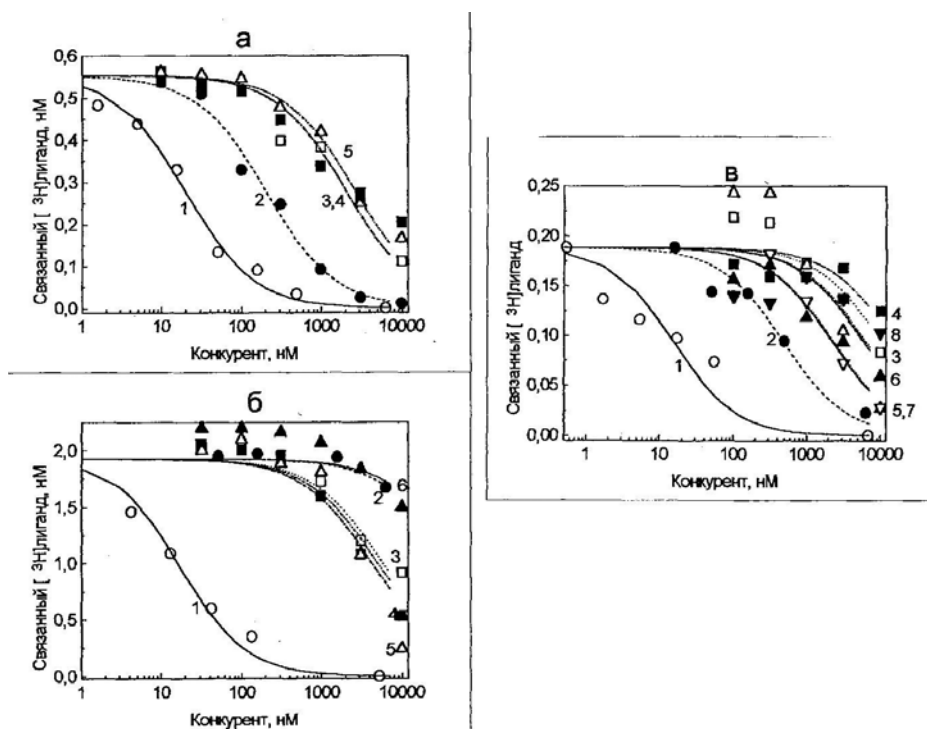


Рис. 2. Зависимость конкуренции эфиров АМОЛа с [<sup>3</sup>H] лигандами за связывание с рецепторами стероидных гормонов крысы от их структуры.

Оси абсцисс и ординат – как на рис. 1.

а) 1 – прогестерон, 3 – БА, 4 – ГА, 5 – ФА;

б) 1 – дексаметазон, 2 – прогестерон, 3 – БА, 4 – ГА, 5 – ФА;

в) 1 – 5 $\alpha$ -дигидротестостерон, 2 – прогестерон, 3 – БА, 4 – ГА, 5 – ФА.



Таблица 2

Параметры взаимодействия эфиров АМОЛа и стероидов сравнения с рецепторами прогестерона и рецепторами глюкокортикоидов и андрогенов крысы

Рецептор	<sup>3</sup> H-лиганд	Немеченый конкурент, K <sub>d</sub> (нМ) и ОКА (%)					
		Декса- метазон	Диги- дроте- стосте- рон	Прогес- терон	БА	ГА	ФА
прогестерона	прогестерон	-	-	12,4 100	1360 0,91	1360 0,91	1770 0,70
глюкокорти- коидов	дексаметазон	6,2 100	-	20500 0,03	2800 0,22	2050 0,30	2400 0,26
андрогенов	дигидротестосте- рон	-	11,4 100	338 3,0	8050 0,14	12000 0,095	4950 0,23

рона. Все изученные эфиры обладают низким сродством к рецептору глюкокортикоидов и, по-видимому, реально не могут оказывать прямых эффектов через эти рецепторы. Сродство эфиров АМОЛа к рецептору андрогенов существенно ниже сродства прогестерона. Это позволяет предположить, что данные соединения не способны оказывать нежелательного побочного андрогенного (или антиандрогенного) действия.

Гестагенные соединения, обладающие способностью взаимодействовать исключительно со специфическими прогестероновыми рецепторами, не активируя др. ядерные рецепторы, проявляют направленное действие и представляют большой интерес для использования в медицине и ветеринарии. Разработка лекарственного препарата с таким свойством позволит создать высокоактивный гестаген, лишенный побочного действия и имеющий большую перспективу практического применения.

Однако само по себе сродство синтетических гестагенов к прогестероновому рецептору не позволяет судить о

характере фармакологического эффекта, т.к. стероид может быть его агонистом или антагонистом, или частичным агонистом или антагонистом [8]. Поэтому, имея данные только о сродстве соединения к рецептору, нельзя говорить о силе гестагенной активности *in vivo*. Об этом можно судить с помощью специальных тестов, из которых для экспериментальных исследований наиболее информативным и достоверным является метод Клауберга-Мак Фейла [10, 14]. Поэтому представляло интерес сравнить полученную нами *in vitro* активность с ранее полученными данными по гестагенной активности этих соединений, определенными указанным методом и приведенными нами в ранее опубликованных статьях [4-6]. Методика определения гестагенной активности представлена в статьях [2, 3]. Относительную прогестагенную активность вычисляли, принимая за единицу активность прогестерона. Относительная гестагенная активность по отношению к прогестерону для БА составляет 11,2, для ГА – 11,7 и для ФА – 10,5.

Из анализа полученных в *in vivo* эксперименте данных по гестагенной активности исследуемых эфиров АМОЛа следует, что все три эфира при пероральном использовании обладают высокой гестагенной активностью, более чем в 10 раз превышающей активность прогестерона, что совершенно не согласуется с данными, полученными нами при изучении *in vitro*. Это расхождение, вероятно, можно объяснить тем, что изученные стероиды проявляют биологическое действие после гидролиза эфирной связи под действием эстераз в организме, а активность определяется, главным образом, структурой базового спиртового фрагмента (АМОЛа) или его 3-кето-производного (мегестрола ацетата). Гидролитическое отщепление эфирной группы с высвобождением активного начала занимает значительное время, за которое большое количество молекул гестагена достигает клетки-мишени и оккупирует рецепторы прогестерона, провоцируя гестагенный эффект в ткани, снижая таким образом связь эфира с PR и увеличивая его активность *in vivo*. Низкая степень связывания некоторых эфиров АМОЛа с PR уже отмечалась ранее в работе [8].

Колебания значения активности у различных представителей гомологического ряда эфиров АМОЛа определяются, вероятно, скоростью гидролиза сложноэфирной группировки, устойчивость которой к гидролизу определяется структурой заместителя. Это уже отмечалось нами ранее при сравнительном изучении гестагенной активности *in vivo* гомологического ряда эфиров АМОЛа по гидроксильной группе при атоме C<sup>3</sup> [3]. Поскольку основной интерес для нас представляла оценка специфического фармакологического действия, а именно – гестагенного,

то изучение связи с прогестероновыми рецепторами было приоритетным. Однако, в связи с несовпадением результатов, полученных при изучении гестагенной активности на разных экспериментальных моделях, целесообразно в дальнейшем изучить андрогенную и глюкокортикоидную активности этих эфиров также в моделях *in vivo*.

### Заключение

Таким образом, при изучении эфиров АМОЛа – синтетических аналогов прогестерона – на *in vitro* моделях нами установлено отсутствие у этого ряда соединений сопутствующих нежелательных глюкокортикоидного, андрогенного или антиандрогенного действий, что делает их чрезвычайно перспективными для использования в медицине и ветеринарии при наличии у них высокого гестагенного эффекта, выявленного при изучении на *in vivo* моделях. Отсутствие корреляции между значениями гестагенной активности, полученными в исследованиях *in vitro* и *in vivo*, можно объяснить проявлением гестагенного действия после гидролиза эфирной связи под влиянием эстераз в организме и возможного последующего окисления гидроксильной группы АМОЛа с образованием 3-кето-производного (мегестрола ацетата). Как известно [11, 12], для связывания с рецепторами прогестерона необходимо наличие в молекуле прогестина 3-кето-группы, которая в изученных соединениях защищена эфирной связью.

Несмотря на то, что современные технологии позволяют проводить широкомасштабные исследования биологической активности, включая гормональную, *in vitro* путем использования больших наборов клеточных культур,



заключительным этапом создания гормональных аналогов направленного действия должно быть тестирование активности *in vivo*. Кроме выявления истинной гормональной активности, оно позволяет определить возможные побочные эффекты аналогов, а также установить дозировку и совместимость с другими препаратами.

### Благодарности

Авторы выражают благодарность д.м.н., проф. Всеволоду Всеволодовичу Корхову за консультативную помощь при выполнении исследований *in vivo* и д.б.н., проф. Александру Николаевичу Смирнову за помощь в изучении эфиров АМОЛа на *in vitro* моделях.

### Список литературы

1. *Гилман А.Г.* Клиническая фармакология по Гудману и Гилману. Книга четвертая. Пер. с англ. / Под общ. ред. А.Г. Гилмана. – М.: Практика. 2006. 450 с. ISBN 5-89816-069-8.
2. *Зейналов О.А., Андриюшина В.А., Авданина Д.А.* Новые гестагенные препараты для ветеринарии // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. 2005. № 1. С. 16-20.
3. *Зейналов О.А., Андриюшина В.А., Савинова Т.С., Попова Е.В., Егоров И.М., Скрябин К.Г.* Эфиры АМОЛа: синтез и оценка биологического действия // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2004. Т. 2. № 2. С. 8-11.
4. *Зейналов О.А., Андриюшина В.А., Савинова Т.С., Попова Е.В., Золотарева В.А., Кокорина Л.М., Скрябин К.Г.* Изучение спектра биологической активности нового стероидного эфира - 17 $\alpha$ -ацетокси-3 $\beta$ -(1-карбокситпропокси)-6-метилпрегна-4,6-диен-20-она (гемисукцината амола) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2005. Т. 3. № 1. С. 32-36.
5. *Зейналов О.А., Андриюшина В.А., Скрябин К.Г.* Новые высокоактивные гестагены прегнанового ряда // Российский журнал общей химии. 2005. Т. XLIX. № 1. С. 118-124.
6. *Зейналов О.А., Ядерец В.В., Стыценко Т.С., Петросян М.А., Андриюшина В.А.* Синтез и биологическая активность синтетических производных 17 $\alpha$ -гидроксипрогестерона // Хим.-фарм. журнал. 2012. Т. 46. № 4. С. 90-94.

7. *Кадатский Г.М., Гриненко Г.С., Терехина А.И., Лисица Л.И., Ганина И.В., Горенбургова Е.И.* Синтез и биологическая активность синтетических производных 17-ацетата и диацетата 6-метилпрегна-4,6-диен-3,17-диол-20-она // Хим.-фарм. журнал. 1979. № 6. С. 63-68.
8. *Карева Е.Н., Гриненко Г.С., Гаспарян Н.Д., Овчинникова Е.В., Горенкова О.С.* Влияние структуры синтетических гестагенов на их связывающие свойства с рецепторами прогестерона эндометрия // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2006. Т. 69. № 4. С. 36-38.
9. *Люльман Х., Мор К., Хайн Л.* Наглядная фармакология. 5-е изд. Пер. с нем. – М.: Мир. 2008. С. 68-69. ISBN 978-5-03-003820-9.
10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. Миронова А.Н. – М.: Гриф и К. 2012. 944 с. ISBN: 978-5-8125-1466-3.
11. *Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., Петров В.И.* Рецепторы физиологически активных веществ. 2-е изд., перераб. и доп. – Волгоград: Семь ветров. 1999. 640 с. ISBN 5-88928-001-1.
12. *Сергеев П.В., Шимановский Н.Л.* Фармакологические свойства гестагенов // Фарматека. 2003. № 8(71). С. 6.
13. *Fabiato A.* Computer programs for calculating total from specified free or free from specified total ionic concentrations in aqueous solutions containing multiple metals and ligands // Methods Enzimol. 1988. V. 157. Pp. 378-417. doi: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(88\)57093-3](https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)57093-3).
14. *McPhail M.K.* The assay of progestin // J. Physiol. 1935. No. 83(2). Pp. 145-156. doi: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1934.sp003217>.

### References

1. *Gilman A.G.* Klinicheskaja farmakologija po Gudmanu i Gilmanu. Kniga chetvertaja. Per. s angl. [Clinical pharmacology according to Goodman and Gilman. The fourth book. Trans. from English]. General edition by A.G. Gilman. Moscow: Praktika. 2006. 450 p. ISBN 5-89816-069-8. (In Russian).
2. *Zeynalov O.A., Andryushina V.A., Avdaniina D.A.* Novye gestagennye preparaty dlya veterinarii [New gestagenic preparations for veterinary use]. Rossiyskiy veterinarniy zhurnal. Melkiye domashniye i dikiye zhivotnye [Russian Veterinary J. Small domestic and wild animals]. 2005. No. 1. Pp. 16-20. (In Russian).
3. *Zeynalov O.A., Andryushina V.A., Savinova T.S., Popova E.V., Egorov I.M., Skryabin K.G.* Efiry AMOLA: sintez i otsenka biologicheskogo deystviya [Ethers of acetomepregenol: synthesis and evaluation of biological effects]. Voprosy biologicheskoy, meditsinskoj i farmatsevticheskoy khimii [Questions of biological, medical and

- pharmaceutical chemistry]. 2004. V. 2. No. 2. Pp. 8-11. (In Russian).
4. Zeynalov O.A., Andryushina V.A., Savinova T.S., Popova E.V., Zolotareva V.A., Kokorina L.M., Skryabin K.G. Izucheniye spektra biologicheskoy aktivnosti novogo steroidnogo efira - 17 $\alpha$ -atsetoksi-3 $\beta$ -(1-karboksi-propoksi)-6-metilpregna-4,6-diyen-20-ona (gemisuktsinata amola) [The study of the spectrum of biological activity of the new steroid ester-17 $\alpha$ -acetoxy-3 $\beta$ -(1-carboxy-propoxy)-6-methylpregna-4,6-dien-20-one (hemisuccinate amole)]. Voprosy biologicheskoy, meditsinskoj i farmatsevticheskoy khimii [Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry]. 2005. V. 3. No. 1. Pp. 32-36. (In Russian).
  5. Zeynalov O.A., Andryushina V.A., Skryabin K.G. Novye vysokoaktivnye gestageny pregnanovogo ryada [New highly active gestagens of pregnane series]. Rossijskij zhurnal obshchej himii [Russian J. of General chemistry]. 2005. V. XLIX. No. 1. Pp. 118-124. (In Russian).
  6. Zeynalov O.A., Yaderets V.V., Stytsenko T.S., Petrosyan M.A., Andryushina V.A. Sintez i biologicheskaja aktivnost' sinteticheskikh proizvodnyh 17 $\alpha$ -gidroksiprogesterona [Synthesis and biological activity of synthetic 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone derivatives]. Khim.-farm. zhurnal [Pharm. and chem. J.]. 2012. V. 46. No. 4. Pp. 90-94. (In Russian).
  7. Kadatskiy G.M., Grinenko G.S., Terekhina A.I., Lisitsa L.I., Ganina I.V., Gorenburgova E.I. Sintez i biologicheskaja aktivnost' sinteticheskikh proizvodnyh 17-acetata i diacetata 6-metilpregna-4,6-dien-3,17-diol-20-ona [Synthesis and biological activity of 17-acetate and diacetate 6-methylpregna-4,6-diene-3,17-diol-20-one derivatives]. Khim.-farm. zhurnal. [Pharm. and chem. J.]. 1979. No. 6. Pp. 63-68. (In Russian).
  8. Kareva E.N., Grinenko G.S., Gasparyan N.D., Ovchinnikova E.V., Gorenkova O.S. Vliyanie struktury sinteticheskikh gestagenov na ih svyazuyajushchie svojstva s receptorami progesterona jendometrija [Influence of the structure of synthetic gestagens on their binding to progesteron receptors in endometrium]. Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija [Experimental and clinical pharmacology]. 2006. V. 69. No. 4. Pp. 36-38. (In Russian).
  9. Lulman Kh., Mor K., Khain L. Nagljadnaja farmakologija. 5-e izd. Per. s nem. [Visual pharmacology. 5<sup>th</sup> ed. Trans. from German]. Moscow: Mir. 2008. Pp. 68-69. ISBN 978-5-03-003820-9. (In Russian).
  10. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv [A guide to preclinical drug research]. Ed. by Mironov A.N. Moscow: Grif i K. 2012. 944 p. ISBN: 978-5-8125-1466-3. (In Russian).
  11. Sergejev P.V., Shimanovskiy N.L., Petrov V.I. Retseptory fiziologicheskii aktivnykh veshchestv [Receptors of physiologically active substances]. 2nd edition, revised and enlarged. Volgograd: Sem' vetrov. 1999. 640 p. ISBN 5-88928-001-1. (In Russian).
  12. Sergejev P.V., Shimanovskiy N.L. Farmakologicheskie svojstva gestagenov [Pharmacological properties of gestagens]. Pharmatec. 2003. No. 8(71). P. 6. (In Russian).
  13. Fabiato A. Computer programs for calculating total from specified free or free from specified total ionic concentrations in aqueous solutions containing multiple metals and ligands. Methods Enzimol. 1988. V. 157. Pp. 378-417. doi: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(88\)57093-3](https://doi.org/10.1016/0076-6879(88)57093-3).
  14. McPhail M.K. The assay of progestin. J. Physiol. 1935. No. 83(2). Pp. 145-156. doi: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1934.sp003217>.

## Synthetic analogues of progesterone in *in vitro* and *in vivo* models

O.A. Zeynalov, T.S. Savinova, V.A. Andryushina, M.A. Petrosyan

Comparison of the gestagenic activity of synthetic analogues of progesterone – ethers of acetomepregenol (AMOL) determined in the process of studying by the various biological tests, showed the absence of correlation between the results obtained *in vitro* and *in vivo*. At the low affinity to the progesterone receptor AMOL ethers exhibited the high progestational activity in animals that are likely to be explained by the occurrence of receptor-substrate interaction after hydrolysis of the ester bond by the action of esterases in organism.

Established *in vitro* models, the absence in the AMOL ethers of undesirable glucocorticoid, androgenic or antiandrogenic effects, along with their high *in vivo* gestagenic activity, makes them promising for use in medicine and veterinary medicine.

**Key words:** gestagenic activity, acetomepregenol ethers, progesterone receptors, *in vitro*, *in vivo*.