



УДК 577.175.6

ВИДОВЫЕ И ТКАНЕВЫЕ ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ БЕЛКОВ, СВЯЗЫВАЮЩИХ 16 α ,17 α -ЦИКЛОАЛКАНОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ПРОГЕСТЕРОНА

© 2002 г. А. Н. Смирнов**, Е. В. Покровская*, В. П. Шевченко**, И. Ю. Нагаев**, Н. Ф. Мясоедов**, И. С. Левина***, Л. Е. Куликова***, А. В. Камерницкий***

* Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119899, Москва, Воробьевы горы;

** Институт молекулярной генетики РАН, Москва;

*** Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва

Поступила в редакцию 05.07.2001 г. Принята к печати 09.01.2002 г.

Исследовано связывание [^3H]прогестерона и ^3H -меченых 16 α ,17 α -циклоалканопрогестеронов с белками матки и других органов крысы, кролика и человека. Найдено, что сродство к рецептору прогестерона у 16 α ,17 α -циклоалкановых производных прогестерона сопоставимо со сродством природного гормона и что нет существенных видовых различий в способности рецептора прогестерона матки связывать эти производные. В матке кролика не обнаружено белков, отличных от рецептора прогестерона и специфически связывающих [^3H]-16 α ,17 α -циклоалканопрогестероны. В то же время в матке человека выявлен еще один белок, связывающий некоторые из таких производных прогестерона, который оказался сходным с ранее обнаруженным белком из матки крысы. Аналогичный в отношении избирательности и сродства к стероидам белок найден в почках крысы и человека. В сыворотке крови, печени, легких и ряде других тканей обнаружен белок третьего типа, связывающий те же 16 α ,17 α -циклоалканопрогестероны и характеризующийся субмикромольными величинами K_d для этих стероидов и очень низким сродством к прогестерону. Высказано предположение, что введение относительно объемистого заместителя рядом с 17 β -боковой цепью прогестерона может приводить к изменению общей биодинамики производного, включая его транспорт, захват и аккумуляцию в тканях и таким образом обуславливать избирательность его действия.

Ключевые слова: прогестерон, аналоги, специфичность связывания, кинетика связывания; рецептор прогестерона; транспорт стероидов.

ВВЕДЕНИЕ

Для стероидных гормонов и их синтетических аналогов помимо взаимодействия с классическими ядерными рецепторами нередко характерно связывание с другими рецепторными или рецепторными белками с выявленной или потенциальной биологической функцией [1–6]. Ранее мы доказали, что в цитозоле матки крысы имеется белок, который избирательно связывает производные прогестерона с относительно объемистым 16 α ,17 α -циклоалкановым заместителем [7, 8]. В сыворотке крови крысы был выявлен еще один белок, который оказался специфичным в отношении тех же производных прогестерона [9]. Поскольку некоторые из 16 α ,17 α -циклоалканопрогестеронов могут найти клиническое применение в качестве

прогестинов избирательного действия [10–13], было интересно выяснить, характерны ли выявленные белки только для крысы и указанных тканей и насколько близки между собой рецепторы прогестерона у различных видов животных в отношении сродства к исследуемым аналогам прогестерона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение конкурентной активности исследуемых аналогов прогестерона по вытеснению [^3H]прогестерона из комплексов с белком показывает (рис. 1, табл. 1), что различия в избирательности сродства к лигандам у рецепторов прогестерона из цитозоля матки крысы, кролика и человека находятся в пределах естественного разброса данных. Среди 16 α ,17 α -циклоалкановых производных прогестерона наибольшим сродством к рецепторам прогестерона крысы и кролика обладает 16 α ,17 α -циклопропановое производное, а наименьшим – 6 α -метил-16 α ,17 α -цикло-

Сокращения: BSA – бычий сывороточный альбумин; DTT – дитиотреит; R5020 – промегестон от фирмы New England Nuclear (США); ОКА – относительная конкурентная активность; PMSF – фенолметилсульфонилфторид.

Автор для переписки (тел.: (095) 939-36-78; факс: (095) 939-43-09; эл. почта: smirnov_an@mail.ru).

Таблица 1. Сравнение лигандной специфичности рецепторов прогестерона из цитозоля матки крысы, кролика и человека по результатам анализа конкуренции немеченых аналогов прогестерона с [³H]прогестероном*

Конкурент	Аббревиатура	Крыса**		Кролик		Человек	
		K _d , нМ	ОКА	K _d , нМ	ОКА	K _d , нМ	ОКА
Прогестерон	PGN	7.2 ± 1.8(16)	1	13.5(2)	1	7.0 ± 2.3(6)	1
16α,17α-Циклопропано-прогестерон	cPr-PGN	11.1 ± 6.1(7)	0.93 ± 0.14	8.3(2)	1.74	3.3 ± 1.5(4)	1.81 ± 0.54
16α,17α-Циклопентано-прогестерон	cPe-PGN	9.0 ± 1.3(3)	0.69 ± 0.14	17.0(2)	0.80	6.3 ± 3.4(4)	0.95 ± 0.17
16α,17α-Циклогекс-3'-енопрогестерон	cHn-PGN	31.1 ± 26.1(5)	0.40 ± 0.09	24.4(2)	0.55	4.2 ± 1.0(4)	1.34 ± 0.69
16α,17α-Циклогексано-прогестерон	cHx-PGN	11.9 ± 8.3(9)	0.91 ± 0.20	20.8(2)	0.66	5.1 ± 1.9(4)	1.22 ± 0.32
6α-Метил-16α,17α-циклогексано-прогестерон	cHx-MePGN	36.6 ± 13.6(6)	0.25 ± 0.03	56.5(2)	0.24	29.3 ± 9.2(6)	0.24 ± 0.03
Промегестон	R5020	1.67 ± 0.70(5)	4.54 ± 0.80	–	–	5.5 ± 2.1(6)	3.29 ± 1.56

* Представлены средние величины ±SE. В скобках указано количество измерений.

** Объединенные данные из предшествующих работ по матке крысы [7, 19–21], пересчитанные в соответствии с [7].

гексано-прогестерон. Абсолютное и относительное сродство последнего к рецепторам прогестерона человека, крысы и кролика были сходными. Полученные данные позволяют предполагать структурное сходство лигандсвязывающих “карманов” рецепторов прогестерона у трех изученных видов и свидетельствуют о том, что экстра-

поляция результатов такого рода экспериментов с одного вида на другой вполне правомерна.

Таблица 2. Конкуренция прогестерона с [³H]16α,17α-циклоалкановыми производными прогестерона за белки цитозоля матки кролика и матки и почек человека*

[³ H]лиганд	K _d для [³ H]лиганда, нМ	K _d для прогестерона, нМ	ОКА
Матка кролика			
cPr-PGN	6.4**	9.9**	1.37
cPe-PGN	12.7**	11.6**	0.93
cHn-PGN	10.8**	5.2**	0.46
cHx-PGN	9.4**	2.2**	0.45
cHx-MePGN	26.9**	18.3**	0.58
Матка человека			
cPe-PGN	6.2**	1.0 и 99***	0.2 и 10.7
cHx-MePGN	258**	7.5 и 3300***	0.042 и 13.9
Почки человека			
cHx-MePGN	150**	21000**	140

* Представлены средние значения из двух экспериментов. ОКА прогестерона принята за единицу.

** Величины K_d и соответствующие величины ОКА рассчитаны в соответствии с моделью “два лиганда – один белок”.

*** Две величины K_d для прогестерона и соответствующие величины ОКА рассчитаны в соответствии с моделью “два лиганда – два белка”.

Аналогичные результаты были получены в экспериментах по конкуренции стероидов с [³H]-16α,17α-циклоалкановыми производными прогестерона за белки цитозоля матки кролика: измеренные величины K_d и относительной конкурентной активности (ОКА) существенно не отличались от полученных с [³H]прогестероном (рис. 2а и 2в, табл. 2). Во всех случаях экспериментальные данные хорошо описывались моделью “один белок – два лиганда”. Инвариантность результатов относительно используемого [³H]лиганда свидетельствует о том, что в цитозоле матки кролика рецептор прогестерона – это единственный белок, специфически связывающий 16α,17α-циклоалканопрогестероны.

В ткани матки человека и крысы в отличие от соответствующей ткани кролика помимо рецептора прогестерона, по-видимому, содержится еще один белок, специфически взаимодействующий с 16α,17α-циклоалканопрогестеронами. Об этом свидетельствует обращение рассчитанных величин ОКА по сравнению с результатами, полученными с [³H]прогестероном, при изменении формы кривой вытеснения [³H]лиганда немеченым прогестероном (рис. 2б, 2г, табл. 2). Экспериментальные данные хорошо описываются моделью “два белка – два лиганда”, причем первый белок соответствует рецептору прогестерона (высокое сродство к прогестерону), а второй, очевидно, специфичен к 16α,17α-циклоалканопрогестеронам (на два порядка более низкое сродство к прогестерону), при одинаковом сродстве обоих белков к данному 16α,17α-циклоалканопрогестерону.

При изучении способности цитозольных белков из ряда тканей крысы связывать 6α -метил- $16\alpha,17\alpha$ -циклогексано[^3H]прогестерон было обнаружено специфическое связывание трех типов. Связывание первого типа, обнаруженное в ткани матки (ОКА для 6α -метил- $16\alpha,17\alpha$ -циклогексано-прогестерона около 0.25), обусловлено рецептором прогестерона. Для связывания второго типа, выявленного в тканях матки и почек, характерно умеренное сродство к 6α -метил- $16\alpha,17\alpha$ -циклогексано-прогестерону (K_d около 20–30 нМ) и приблизительно в 20 раз более низкое сродство к прогестерону (рис. 3а, 3б, табл. 3). Следует обратить внимание на то, что в обеих тканях $16\alpha,17\alpha$ -циклопропано-прогестерон и промегестон (R5020) являются слабыми конкурентами 6α -метил- $16\alpha,17\alpha$ -циклогексано[^3H]прогестерона, что может свидетельствовать об идентичности связывающих $16\alpha,17\alpha$ -циклоалканопрогестероны белков из матки и почек. Третий тип связывания, обнаруженный в сыворотке крови, печени и некоторых других тканях, характеризовался K_d в субмикромольной области и очень низким сродством к прогестерону (рис. 3в, 3г, табл. 3). Наибольшая концентрация связывающих участков этого типа обнаружена в сыворотке крови и печени, и лишь следовые количества – в кишечнике и скелетной мышце. Белки маточно/почечного и сывороточно/печеночного типа различаются не только по сродству к 6α -метил- $16\alpha,17\alpha$ -циклогексано-прогестерону, но и по избирательности по отношению к лигандам: из исследованных аналогов прогестерона наибольшим сродством к белку матки/почек обладает $16\alpha,17\alpha$ -циклопентано-прогестерон, а к белку сыворотки – 6α -метил- $16\alpha,17\alpha$ -циклогексано-прогестерон (рис. 3).

Полученные результаты показывают, что наряду с рецептором прогестерона, лигандсвязывающие свойства которого сходны у разных видов млекопитающих, специфически связывать $16\alpha,17\alpha$ -циклоалкановые производные прогестерона способны и другие белки, наличие и свойства которых носят менее универсальный характер: в матке человека обнаружен белок, специфичный к $16\alpha,17\alpha$ -циклоалканопрогестеронам, но его сродство к 6α -метил- $16\alpha,17\alpha$ -циклогексано-прогестерону приблизительно на порядок ниже сродства белка из матки крысы, а в матке кролика подобный белок и вовсе не обнаружен. Объединяет этот белок крысы и человека общая тканевая локализация: из исследованных тканей он обнаружен только в матке и почках. Специфическое связывание 6α -метил- $16\alpha,17\alpha$ -циклогексано-прогестерона белком сыворотки крови обнаружено у крысы, но не у человека. Характер тканевого распределения лигандсвязывающей активности этого белка и сходство его характеристик с таковыми для сывороточно-го белка (т.е. субмикромольные величины K_d для 6α -метил- $16\alpha,17\alpha$ -циклогексано-прогестеро-

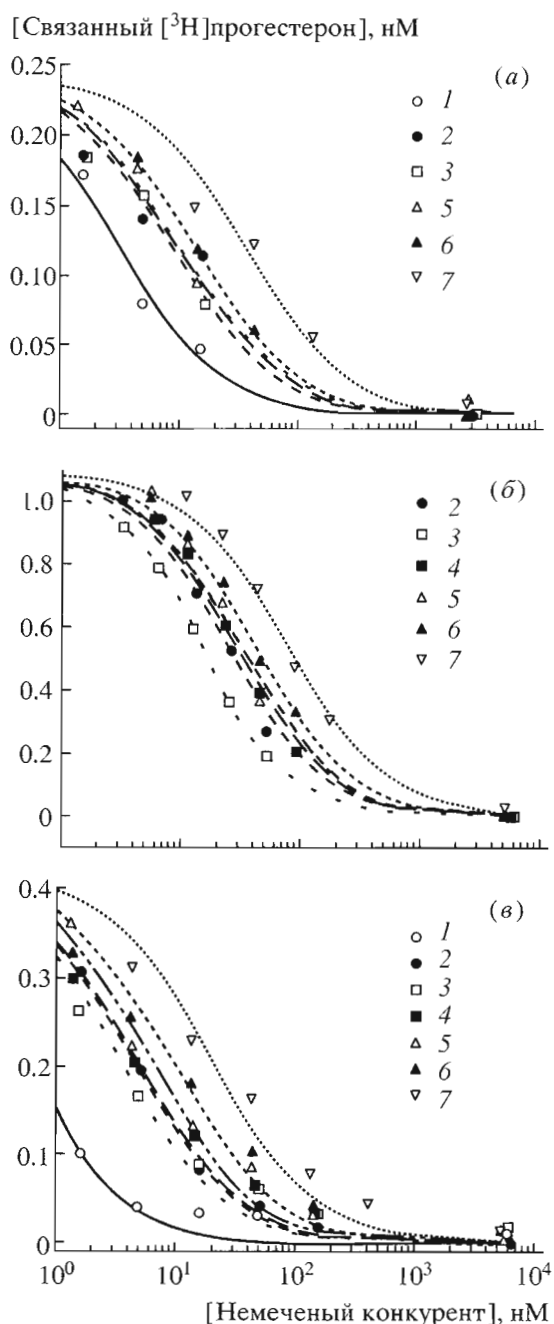


Рис. 1. Конкуренция стероидов с [^3H]прогестероном за рецептор прогестерона из цитозоля матки крысы (а), кролика (б) и человека (в). Конкуренты: R5020 (1), прогестерон (2), cPr-PGN (3), cPe-PGN (4), cHx-PGN (5), cHn-PGN (6) и cHx-MePGN (7); конечная концентрация белка (мг/мл) составляла 2.2 (а), 2.5 (б) и 4.6 (в).

на и очень низкое сродство к прогестерону), позволяет предполагать, что данный белок секретируется в кровь печенью. Обнаружение связывающей активности с указанными характеристиками в других тканях, возможно, обусловлено примесями крови, хотя нельзя исключить и местный синтез белка, близкого или идентичного сывороточному.

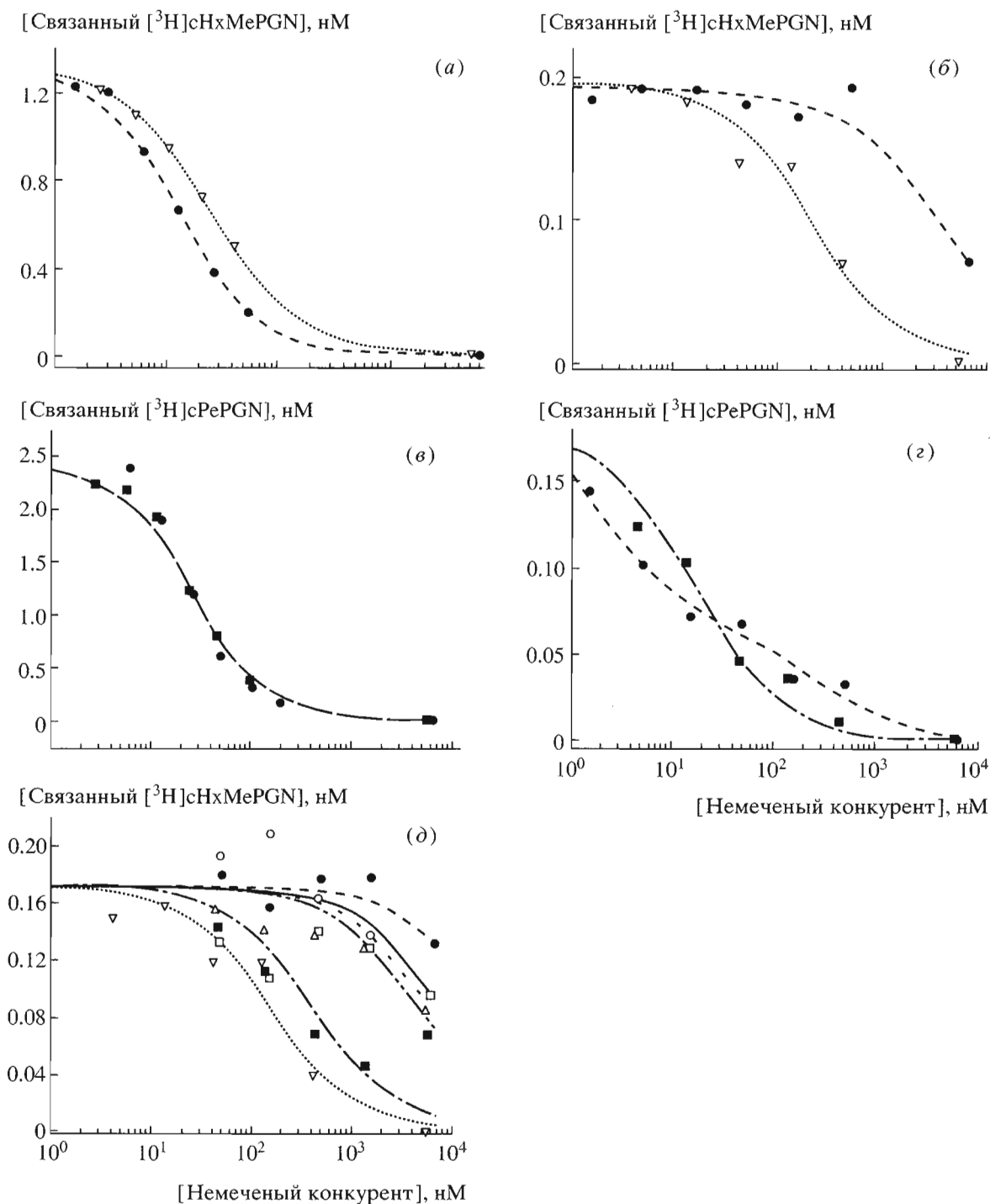


Рис. 2. Конкуренция прогестерона с 6α-метил-16α,17α-циклогексано³H>прогестероном (а и б) и [³H]-16α,17α-циклопентано-прогестероном (в и г) за белки цитозоля матки кролика (а и в) и человека (б и г) и лигандная специфичность связывающего 6α-метил-16α,17α-циклогексано³H>прогестерон белка почек человека (д). Обозначения кривых для конкурентов как на рис. 1. Конечная концентрация белка (мг/мл) равнялась 2.8 (а), 4.6 (б), 2.6 (в), 3.9 (г), 5.8 (д). Расчеты проводились в соответствии с моделью "два лиганда – один белок" (а), (в), (д) и в соответствии с моделью "два лиганда – два белка" (б), (г).

Природа выявленных белков маточно/почечного и сывороточно/печеночного типа, специфичных в отношении 16α,17α-циклоалканопрогестеронов, остается неизвестной. Учитывая высокую

гидрофобность 6α-метил-16α,17α-циклогексано-прогестерона – аналога прогестерона, обладающего наибольшим сродством к белку сыворотки, – можно предположить, что этим белком мог бы

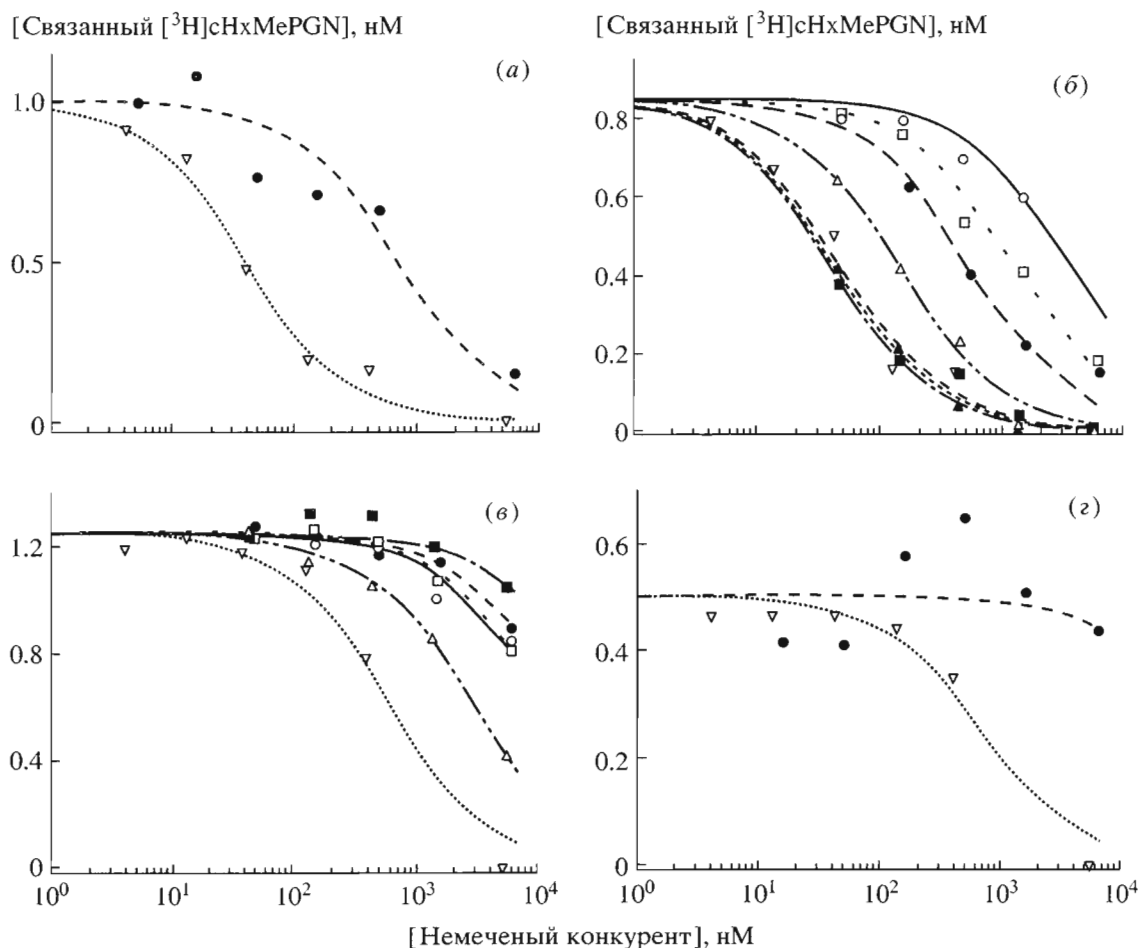


Рис. 3. Скрининг тканей крысы на специфическое связывание $[^3\text{H}]$ -6 α -метил-16 α ,17 α -циклогексанопрогестерона. (а) – матка; (б) – почки; (в) – сыворотка; (з) – печень. Обозначения кривых для конкурентов как на рис. 1. Конечная концентрация белка (мг/мл) равнялась 4.0 (а), 5.8 (б), 7.0 (в) и 13.8 (з).

быть один из липопротеинов. Прецеденты достаточно сильного связывания липофильных производных стероидов с липопротеинами известны [14]. Поскольку почки, наряду с печенью, играют важную роль в метаболизме стероидов, обнаружение в почках белка, сходного с белком матки и специ-

фичного к 16 α ,17 α -циклоалканопрогестеронам, позволяет предполагать, что этот белок может представлять собой один из ферментов метаболизма прогестиннов. В предварительных экспериментах по инкубации $[^3\text{H}]$ прогестерона с цитозолем почек крысы нами обнаружено торможение

Таблица 3. Скрининг тканей крысы на специфическую связывающую активность в отношении 6 α -метил-16 α ,17 α -циклогексано $[^3\text{H}]$ прогестерона*

Ткань	K_d , нМ	ОКА	B_{\max} , пмоль/мг белка	Ткань	K_d , нМ	ОКА	B_{\max} , пмоль/мг белка
Печень	566	66.8	11.7	Мышца	250	1600	0.16
Сыворотка	285	27.4	10.1	Тонкий кишечник	–	–	следы
Легкие	290	138	3.4	Прямая кишка	–	–	следы
Сердце	1100	9.0	1.7	Почки	24	21	1.2
Желудок	415	205	1.5	Матка	26	20	1.8
Мозг	148	216	1.2				

* Представлены средние величины двух–четырёх экспериментов. ОКА для прогестерона принята за единицу.

6 α -метил-16 α ,17 α -циклогексанопрогестероном образования меченого метаболита с меньшей, чем у прогестерона, подвижностью при ТСХ. Не исключено, что это ингибирование осуществляется посредством взаимодействия стероида с выявленным белком.

В совокупности полученные результаты показывают, что введение гидрофобного циклического заместителя в молекулу прогестерона по соседству с 17 β -боковой цепью может вести не только к изменениям в связывании полученного производного с рецептором прогестерона, но и к значительным изменениям в общей его биодинамике. Эти изменения включают повышение сродства а) к сывороточному транспортному белку, что может увеличивать время пребывания производного в циркуляторном русле и тем самым повышать его биологическую активность, и б) к белку, обнаруженному в матке и почках, который, возможно, участвует в местном метаболизме стероидов. Сами 16 α ,17 α -циклогексанопрогестероны, как было показано в работе [15], являются плохими субстратами ферментов, метаболизирующих прогестерон.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Все реактивы имели квалификацию химически чистые. Использовали [1,2,6,7-³H]прогестерон с удельной радиоактивностью 86 Ки/ммоль (Санкт-Петербург) и следующие радиоактивные производные (синтезированные нами с помощью каталитического гидрирования газообразным тритием предшественников): 16 α ,17 α -циклопропано[1,2-³H]прогестерон (47 Ки/ммоль), 16 α ,17 α -[3',4'-³H]циклопентанопрогестерон (41 Ки/ммоль), 16 α ,17 α -[3',4'-³H]циклогексанопрогестерон (34 Ки/ммоль), 16 α ,17 α -циклогекс-3'-ено[1,2-³H]прогестерон (41 Ки/ммоль) и 6 α -метил-16 α ,17 α -циклогексано[1,2-³H]прогестерон (46 Ки/ммоль) [16, 17]. Радиохимическую чистоту препаратов периодически контролировали с помощью ВЭЖХ или ТСХ. Немеченые 16 α ,17 α -циклогексанопрогестероны были синтезированы как описано ранее [10]. Промегестон (R5020) получен от фирмы "New England Nuclear" (США). Другие стероиды, фенилметилсульфонилфторид (PMSF), дитиотреит (DTT), пропиленгликоль, глицерин и Trisma-основание получены от фирмы Sigma (США). Активированный уголь Norit-A получен от Serva (ФРГ), декстран-70 – от Fluka (Швейцария), BSA – от Диа-М (Москва). Буферный раствор с рН 7.5 при 20°C имел следующий состав: 10 мМ Трис-НСI, 10 мМ КСI, 0.5 мМ PMSF, 1 мМ DTT, 30% (по объему) глицерина.

В работе использовали половозрелых беспородных самок крыс массой 180–220 г и самок кроликов массой 2.5–3.0 кг. Животные получали ежедневные инъекции эстрадиола-17 β (1 мкг крысы

или 50 мкг кролики) в 200 мкл пропиленгликоля внутримышечно в течение 4 сут. Через 1 сут после последней инъекции животных забивали декапитацией. Ткани крысы извлекали и использовали немедленно. Матки кролика хранили при –50°C до 4 недель. Образцы матки и почек (мужских) чело- века были получены при хирургических операциях во Всероссийском онкологическом научном центре и хранились при –50°C до 3 недель. Гомогенизацию ткани и все последующие процедуры проводили при 0–4°C. Ткани, за исключением печени, гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе в течение 3–5 мин при соотношении ткань/буфер от 1 : 3 до 1 : 6 (вес/об). Для ткани печени использовали гомогенизатор тефлон/стекло. Гомогенат центрифугировали при 50000 g в течение 1 ч. Надосадочную фракцию (цитозоль) с концентрацией белка 4–24 мг/мл использовали немедленно. Образцы сыворотки крови разводили 1 : 3 (об/об) буфером для гомогенизации.

Анализ лиганд-белкового взаимодействия проводили как описано ранее [7, 8] в присутствии 3 мкМ гидрокортизона. Аликвоты (100 мкл) цитозоля или сыворотки инкубировали с [³H]лигандом (2.6–9 нМ) в присутствии различных количеств (0–6.4 мкМ) немеченого конкурента в суммарном объеме 200 мкл при 0–4°C в течение 20–22 ч. Связанный и несвязанный лиганды разделяли обработкой активированным углем, покрытым декстраном, в течение 5 мин и измеряли содержание связанной радиоактивности в надосадочной фракции. Рассчитывали величины K_d и B_{max} для [³H]лиганда и немеченого конкурента. Относительную конкурентную активность (ОКА) вычисляли как отношение величин K_d для прогестерона и анализируемого соединения, т.е. ОКА для прогестерона принимали за единицу.

Концентрацию белка измеряли окраской ку- массы [18]. Все измерения проводили в двух параллельных образцах. Ошибка измерений не превышала 5% от среднего. Все эксперименты воспроизводили не менее двух раз при получении сходных результатов.

Авторы выражают признательность Е.С. Гернштейн (Всероссийский онкологический научный центр) за обеспечение образцами тканей человека.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 99-03-33033).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kedjouar B., Daunes S., Vilner B.J., Bowen W.D., Klæbe A., Faye J.C., Poirot M. // Biochem. Pharmacol. 1999. V. 58. P. 1927–1939.
2. LaBella F.S., Queen G.M., Brandes L.J. // J. Cell. Biochem. 2000. V. 76. P. 686–694.

3. *Moebius F.F., Reiter R.J., Bermoser K., Glossmann H., Cho S.Y., Paik Y.K.* // *Mol. Pharmacol.* 1998. V. 54. P. 591–598.
4. *Compagnone N.A., Mellon S.H.* // *Front Neuroendocrinol.* 2000. V. 21. P. 1–56.
5. *Kliwer S.A., Lehmann J.M., Milburn M.V., Willson T.M.* // *Recent Prog. Horm. Res.* 1999. V. 54. P. 345–367.
6. *Smirnov A.N.* // *Steroid Biochem. (Life Sci. Adv.)* 1992. V. 11. P. 29–35.
7. *Смирнов А.Н., Покровская Е.В., Шевченко В.П., Левина И.С., Камерницкий А.В.* // *Биоорг. химия.* 1999. Т. 25. С. 774–781.
8. *Smirnov A.N., Pokrovskaya E.V., Kogteva G.S., Shevchenko V.P., Levina I.S., Kulikova L.E., Kamernitzky A.V.* // *Steroids.* 2000. V. 65. P. 163–170.
9. *Смирнов А.Н., Покровская Е.В., Шевченко В.П., Левина И.С., Куликова Л.Е., Камерницкий А.В.* // *Биохимия.* 2001. Т. 66. С. 846–852.
10. *Левина И.С., Камерницкий А.В.* // *Хим.-фарм. журн.* 1990. Т. 24. С. 31–39.
11. *Levina I.S., Kamernitzky A.V., Fanchenko N.D., Simonov V.I.* // *Endokrinologie.* 1982. V. 80. P. 266–274.
12. *Kamernitzky A.V., Levina I.S., Kulikova L.E., Ignatov V.N., Korkhov V.V., Nikitina G.V., Terekhina A.L.* // *J. Steroid Biochem.* 1982. V. 16. P. 61–67.
13. *Камерницкий А.В., Левина И.С.* // *Хим.-фарм. журн.* 1991. Т. 25. С. 4–16.
14. *Fernandez-Real J.M., Sanchis D., Ricart W., Casamitjana R., Balada F., Remesar X., Alemany M.* // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 1999. V. 50. P. 253–260.
15. *Смирнов А.Н., Яковенко А.Р., Левина И.С., Камерницкий А.В.* // *Биохимия.* 1996. Т. 61. С. 1460–1470.
16. *Камерницкий А.В., Левина И.С., Куликова Л.Е., Галахова Т.Н., Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф., Смирнов А.Н., Покровская Е.В., Шелкунова Т.А.* // *Изв. Акад. наук. Сер. хим.* 1997. № 8. P. 1532–1535.
17. *Schevchenko V.P., Nagaev J.Yu., Myasoedov N.F., Kamernitzky A.V., Levina I.S., Kulikova L.E., Pokrovskaya E.V., Shchelkunova T.A., Smirnov A.N.* // *Bioorg. Chem.* 1999. V. 27. P. 207–213.
18. *Bradford M.M.* // *Anal. Biochem.* 1976. V. 72. P. 248–254.
19. *Смирнов А.Н., Покровская Е.В., Шевченко В.П., Левина И.С., Камерницкий А.В.* // *Биохимия.* 1998. Т. 63. С. 1279–1287.
20. *Смирнов А.Н., Покровская Е.В., Шевченко В.П., Левина И.С., Камерницкий А.В.* // *Пробл. эндокринологии.* 1998. Т. 44. С. 37–40.
21. *Смирнов А.Н., Покровская Е.В., Шевченко В.П., Левина И.С., Камерницкий А.В.* // *Бюлл. эксп. биол. мед.* 1998. Т. 125. С. 532–534.

Species and Tissue Distribution of Proteins Binding 16 α ,17 α -Cycloalkanoprogesterone Derivatives

A. N. Smirnov[#], E. V. Pokrovskaya*, V. P. Shevchenko, I. Yu. Nagaev**,
N. F. Myasoedov**, I. S. Levina***, L. E. Kulikova***, and A. V. Kamernitsky*****

[#] Phone: +7 (095) 939-3678; fax: +7 (095) 939-4309; e-mail: smirnov_an@mail.ru

*Biological Faculty, Moscow State University, Vorob'evy gory, Moscow, 119899 Russia

**Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences, pl. Akademika Kurchatova 46, Moscow, 123182 Russia

***Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 47, Moscow, 117913 Russia

The binding of [³H]progesterone and [³H]16 α ,17 α -cycloalkanoprogesterones to proteins from rat, rabbit, and human uteri and other organs was studied. We found that 16 α ,17 α -cycloalkanoprogesterone derivatives display affinities for the uterine progesterone receptors comparable with that of the natural hormone and no substantial species differences in the affinity. Rabbit uterus was found to have no proteins distinct from the progesterone receptor that specifically bind [³H]16 α ,17 α -cycloalkanoprogesterones. At the same time, in the human uterus, we found another protein that binds some of these progesterone derivatives; it turned out to be similar to the protein from rat uterus. A similar protein with the same selectivity and affinity for steroids was also found in rat and human kidneys. Blood serum, liver, lung, and a number of other tissues were found to contain a protein of the third type that binds the same 16 α ,17 α -cycloalkanoprogesterones and exhibits submicromolar K_d values for these steroids and a very low affinity for progesterone. We speculated that the introduction of a bulky substituent adjacently to the 17 β -side chain of progesterone could result in a change in the general biodynamics of the derivative including its transport, uptake, and accumulation in tissues, which may determine the selectivity of its effect. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2002, vol. 28, no. 3; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: progesterone analogues, binding specificity, binding kinetics; progesterone receptor; steroid transport