

Тиенопиримидины — новый класс низкомолекулярных регуляторов репродуктивной функции женщин

Д.Б.н. А.О. ШПАКОВ

ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург, Россия

Проанализированы данные собственные и литературы о тиенопиримидиновых производных с активностью агонистов рецептора лютеинизирующего гормона (ЛГ). Эти соединения специфически взаимодействуют с аллостерическим сайтом рецептора ЛГ, локализованным в трансмембранном канале, и активируют чувствительную к ЛГ аденилатциклазную сигнальную систему. *In vitro* и *in vivo* тиенопиримидиновые производные стимулируют стероидогенез и овуляцию, причем действуют даже на клетки с мутантными формами рецептора. Получены данные об эффективности тиенопиримидиновых производных как индукторов овуляции у женщин.

Ключевые слова: тиенопиримидин, рецептор лютеинизирующего гормона, низкомолекулярный агонист, гонадотропин, репродуктивная система, овуляция.

Thienopyrimidines — the new class of low molecular weight regulators of the female reproductive system

A.O. SHPAKOV

Federal state budgetary institution of science «I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry», Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

The authors analyse the original and literature data concerning thienopyrimidine derivatives showing the activity of luteinizing hormone (LH) receptor agonists. These compounds are known to specifically interact with the allosteric site of LH receptors localized in the transmembrane channels and activate the LH-sensitive adenylate cyclase signal system. The thienopyrimidine derivatives were shown to stimulate steroidogenesis and ovulation both *in vitro* and *in vivo* by acting on the cells that have not only normal but also mutant receptors. The thienopyrimidine derivatives are believed to be efficacious inducers of ovulation in the women.

Key words: thienopyrimidine, luteinizing hormone receptor, low molecular weight agonist, gonadotropin, reproductive system, ovulation.

Ключевую роль в функционировании гипоталамо-гипофизарно-гонадной (ГГГ) оси играют рецепторы лютеинизирующего гормона (ЛГР), с которыми специфически связываются как ЛГ, так и его структурный и функциональный гомолог — хорионический гонадотропин человека (ХГЧ). Функционально активный ЛГ представляет собой гетеродимер с высококонсервативной α -субъединицей и вариабельной β -субъединицей, определяющей специфичность связывания с ЛГР. Практическое применение ЛГ и ХГЧ ограничено необходимостью их парентерального введения, быстрым снижением чувствительности тканей-мишеней к ним, иммуногенностью, высокой стоимостью. Одной из актуальных задач современной эндокринологии является разработка новых регуляторов ЛГР, в том числе отличающихся от ЛГ по механизму действия на ткани репродуктивной системы.

ЛГР относится к семейству рецепторов серпантинного типа с семью трансмембранными доменами, пронизывающими плазматическую мембрану клетки [1–3]. Эти домены соединены между собой

триема внеклеточными и тремя цитоплазматическими петлями. Первому трансмембранному домену предшествует эктодомен (около 400 аминокислотных остатков), в котором локализуется сайт, отвечающий за связывание с ЛГ или ХГЧ. Это отличает ЛГР и родственные ему рецепторы фолликулостимулирующего (ФСГ) и тиреотропного гормонов (ТТГ) от других рецепторов серпантинного типа, в которых лигандсвязывающий сайт расположен внутри трансмембранного канала. В ЛГР внутри трансмембранного канала также имеется сайт, который вовлечен в аллостерическую регуляцию активности ЛГР, но не участвует в связывании гонадотропинов [2, 4].

Аллостерический сайт рецептора ЛГ оказался в центре внимания фармакологов и эндокринологов в 2002 г., когда в результате скрининга тысяч органических соединений были открыты тиенопиримидиновые производные (ТП) с активностью агонистов ЛГР [5]. Они, минуя эктодомен, проникают внутрь трансмембранного канала и специфически взаимодействуют с расположен-

ным там аллостерическим сайтом, регулируя тем самым активность ЛГР [6–8]. Десять лет назад были начаты исследования по созданию и изучению низкомолекулярных регуляторов ЛГР. Настоящий обзор посвящен достижениям в области разработки ТП, являющихся в настоящее время наиболее активными низкомолекулярными регуляторами ЛГР, и перспективам их использования в клинической эндокринологии.

Активность тиенопиримидиновых производных *in vitro*

In vitro изучали связывание ТП с ЛГР, их способность влиять на активность ферментов, генерирующих вторичные посредники (аденилатциклазу (АЦ) и фосфолипазу С (ФЛС), функционально связанные с ЛГР гетеротримерными G_s - и $G_{q/11}$ -белками. АЦ катализирует образование цАМФ и активирует цАМФ-зависимую транскрипцию генов, тогда как активация ФЛС повышает внутриклеточную концентрацию Ca^{2+} и запускает кальцийзависимые сигнальные каскады.

Среди первых ТП с активностью агонистов ЛГР наиболее активным было соединение Org 41841, *N*-трет-бутил-5-амино-4-(3-метоксифенил)-2-(метилтио)тиено[2,3-*D*]пиримидин-6-карбоксамид [5]. Путем его модификации был получен более активный аналог Org 43553, который до сих пор считают «золотым стандартом» низкомолекулярных агонистов ЛГР [9, 10]. Соединение Org 43553 с высокой аффинностью (K_d , 2,4 нМ) связывалось с ЛГР; связывание было специфичным и не выявлялось в отношении рецепторов ФСГ и ТТГ. В наномолярных концентрациях Org 41841, Org 43553 и их активные аналоги стимулировали АЦ в клетках с экспрессированным в них ЛГР. Org 43553 стимулировал активность АЦ и цАМФ-зависимого транскрипционного фактора CREB со значениями EC_{50} , равными 28 и 4,7 нМ, и эффективностью 62 и 80% от таковой ЛГ [11]. В клетках, где были экспрессированы рецепторы ФСГ и ТТГ, стимулирующий эффект Org 43553 на АЦ отсутствовал, что указывает на высокую специфичность его действия. Сайты связывания ЛГ и ТП с ЛГР не перекрываются, на что указывают следующие факты. Во-первых, меченый радиоактивным йодом ХГЧ не вытесняет связанное с ЛГР соединение Org 43553, и, во-вторых, в присутствии ТП стимулирующий эффект ЛГ на АЦ сохраняется [9, 11].

ТП стимулируют и ФЛС, но для этого требуются более высокие их концентрации. Так, Org 43553 влиял на ФЛС только в концентрациях 10^{-6} и 10^{-5} М, но при этом в 20 раз слабее, чем ЛГ [11]. Таким образом, ТП сравнительно слабо и только в микромолярных концентрациях активируют Ca^{2+} -зависимые пути, регулируемые через $G_{q/11}$ -белки и ФЛС и регуляторное влияние ТП на клетку реализуется, в ос-

новном, через цАМФ-зависимые сигнальные каскады.

В пользу этого свидетельствуют данные о влиянии синтезированных нами ТП на активность АЦ и G_s -белков во фракциях плазматических мембран, выделенных из семенников и яичников крыс. 5-амино-*N*-(*mpet*-бутил)-4-(3-(изоникотинамидо)фенил)-2-(метилтио)тиено[2,3-*d*]пиримидин-6-карбоксамид (TP01) и 5-амино-*N*-(*mpet*-бутил)-2-(метилтио)-4-(3-(тиофен-3-карбоксамидо)фенил)тиено[2,3-*d*]пиримидин-6-карбоксамид (TP02) стимулировали базальную активность АЦ со значениями EC_{50} , которые не превышали 1,12 мкМ для TP01 и 365 нМ для TP02 [12, 13]. Оба соединения повышали ГТФ-связывание G_s -белками, сопряженными с АЦ, но слабо влияли на $G_{q/11}$ -белки, через которые активируется ФЛС. TP01 и TP02 не влияли на активность АЦ и G_s -белков в мембранах, выделенных из щитовидной железы крыс, где присутствуют рецепторы ТТГ, структурно близкие ЛГР, а также на стимуляцию АЦ, вызываемую ТТГ. При совместном действии ХГЧ и ТП на аденилатциклазную сигнальную систему в семенниках и яичниках крыс отмечалась либо полная (при низких ненасыщающих концентрациях ХГЧ), либо частичная аддитивность их стимулирующего действия [13]. Таким образом, высокая селективность действия ТП в отношении чувствительной к ЛГ аденилатциклазной сигнальной системы имеет место не только в культурах клеток с экспрессированным в них ЛГР, но и во фракциях плазматических мембран, выделенных из клеток Лейдига семенников и фолликулярных клеток яичников, обогащенных ЛГР. Соединение Org 43553 повышает уровень цАМФ и активность цАМФ-зависимых транскрипционных факторов в первичной культуре клеток Лейдига мыши [14]. При этом возрастает продукция и секреция тестостерона клетками Лейдига, что указывает на способность ТП воспроизводить физиологический эффект гонадотропинов (усиление стероидогенеза).

Тиенопиримидиновые производные стимулируют стероидогенез и овуляцию у грызунов

In vivo ТП усиливают стероидогенез и вызывают овуляцию как при парентеральном, так и при пероральном введении, что обусловлено их устойчивостью к действию пищеварительных ферментов и всасыванием в желудочно-кишечном тракте [14–17]. Сохранение высокой активности при пероральном введении является уникальной особенностью ТП и открывает широкие перспективы для их практического использования в клинике.

Еще в 2009 г. было показано, что пероральное введение Org 43553 вызывает овуляцию у мышей и крыс [14]. В дозе 50 мг/кг Org 43553 вызывал овуляцию у 80 % неполовозрелых BDF1-мышей при среднем числе овулировавших яйцеклеток 9,3 на

животное. Следует, однако, отметить, что по эффективности Org 43553 заметно уступал ХГЧ, который при подкожном введении в дозе 500 МЕ/кг вызывал овуляцию у 100% мышей со средним числом овулировавших яйцеклеток, равным 58. В то же время при использовании физиологически более адекватной модели (половозрелые крысы, получавшие антагонист люлиберина) индукция овуляции (10—15 овулировавших яйцеклеток), вызываемая пероральным введением Org 43553 (25 мг/кг), была сопоставимой с таковой для ХГЧ. Овуляцию наблюдали и при более низких концентрациях Org 43553 (5 и 10 мг/кг), а в концентрации 50 мг/кг эффективность Org 43553 превосходила таковую ХГЧ [14]. Полученные при этом яйцеклетки были хорошего качества, характеризовались высокой фертильностью, при имплантации давали нормальные эмбрионы. В этой связи следует отметить, что при овуляции, вызываемой ХГЧ, яйцеклетки плохо имплантировались и давали очень низкий выход нормальных эмбрионов [14, 18].

Пероральное введение Org 43553 в дозе 10 мг/кг самцам крыс через 4 ч привело к двукратному повышению у них уровня тестостерона. В более высоких дозах, 50 и 250 мг/кг, Org 43553 повышал уровень тестостерона в 5 раз и более в период от 1 до 8 ч после введения [14]. В этих дозах эффект Org 43553 был сопоставимым с эффектом ХГЧ. Динамика уровня тестостерона при длительном (7 сут) пероральном введении Org 43553 в дозе 250 мг/кг была сходной с таковой для эффекта ХГЧ. В первые сутки Org 43553 значительно повышал уровень гормона, через 48 ч следовал сильно выраженный спад (до исходного уровня), затем вновь повышение в 2—3 раза. Высокая эффективность Org 43553 при пероральном введении обусловлена его биодоступностью, которая у крыс составила 79%. Биодоступность препарата у собак также была значительной и достигала 44%, что сопоставимо и даже превосходит биодоступность препарата при парентеральном введении [14].

Мы сравнили активность TP01 и TP02 у самцов крыс *in vivo* при различных способах введения препаратов [15]. При внутрибрюшинном введении TP01 в дозах 15 и 27 мг/кг через 5 ч уровень тестостерона возрастал на 339 и 325%, что составило 45 % от соответствующего эффекта ХГЧ (250 МЕ/крыса). При пероральном введении в дозе 50 мг/кг TP01 через 3 и 5 ч повышал концентрацию тестостерона на 230 и 417%. TP02, активный в экспериментах *in vitro*, в дозах 15 и 45 мг/кг при внутрибрюшинном введении и в дозе 50 мг/кг при пероральном введении, не влиял на уровень тестостерона. В то же время при интратестикулярном введении, которое обеспечивает доставку препарата непосредственно к клеткам Лейдига, TP02 в дозе 8 мг/кг через 1, 3 и 5 ч после инъекции повышал уровень тестостерона на 115, 84

и 37% соответственно [15]. Отсутствие у TP02 влияния на уровень тестостерона при внутрибрюшинном и пероральном введении, как мы полагаем, связано с быстрой его деградацией в кровяном русле. Таким образом, нами разработано новое соединение TP01, которое сопоставимо по активности *in vivo* с гонадотропинами, а также с соединением Org 43553 и его активными аналогами и может быть применено для стимуляции стероидогенеза и контроля других физиологических и биохимических процессов, регулируемых ЛГ.

Важной особенностью ТП является их более высокая в сравнении с гонадотропинами скорость деградации. У крыс период полувыведения Org 43553 составил 3,4—4,5 ч, что в 3 раза меньше, чем для ХГЧ [17]. Уменьшение времени полувыведения ТП снижает риск синдрома гиперстимуляции яичников (ГСЯ), который часто развивается при индукции суперовуляции с помощью ХГЧ или рекомбинантного ЛГ (при проведении экстракорпорального оплодотворения и при других вспомогательных репродуктивных технологиях). Однократная обработка половозрелых крыс ХГЧ или ЛГ значительно увеличивала размеры яичников, повышала проницаемость сосудов, приводила к гиперсекреции зернистыми клетками фактора роста эндотелия сосудов, что является характерными чертами синдрома ГСЯ. При однократном пероральном введении Org 43553 в дозах от 25 до 250 мг/кг не наблюдали заметного увеличения размеров яичников и проницаемости сосудов. Даже многократная обработка ТП не приводила к синдрому ГСЯ. Это связано с отсутствием влияния Org 43553 на продукцию фактора роста эндотелия сосудов, важнейшего регулятора ангиогенеза, который повышает проницаемость сосудов. В то же время при обработке крыс даже сравнительно низкими дозами гонадотропинов концентрация фактора роста эндотелия сосудов достоверно повышалась [17].

Перспективы применения тиенопиримидиновых производных для индукции овуляции и стероидогенеза у человека

Успехи, достигнутые при изучении стимулирующего влияния ТП на овуляцию у грызунов, позволили перейти к их клиническим испытаниям на людях, для чего были выбраны соединения Org 43553 и его аналог Org 43902 [16]. Препараты вводили перорально женщинам-добровольцам репродуктивного возраста в широком диапазоне доз (Org 43553 — от 5 до 2700 мг, Org 43902 — от 10 до 600 мг). Максимальные концентрации Org 43553 достигались через 0,5—1 ч после введения с последующим плавным снижением в течение 2—3 ч. В случае Org 43902 максимальные концентрации достигались в те же сроки, за исключением высокой дозы препарата (600 мг), при которой пик концентрации достигался через

3 ч. Период полувыведения Org 43902 составил 17—22 ч и был заметно короче такового для Org 43553 (30—47 ч) и чХГ (32—33 ч). Частота овуляции при возрастании дозы препаратов повышалась, и в дозе 300 мг ТП вызывали овуляцию у 82—83% женщин. Признаков синдрома ГСЯ при приеме ТП выявлено не было. Отсутствовали изменения в функционировании тиреоидной системы и надпочечников [16]. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения ТП для индукции овуляции в клинике.

Способность ТП повышать уровень тестостерона, выявленная в опытах на животных, может быть использована для компенсации андрогенной недостаточности, а также для увеличения объема и силы мышц у атлетов в качестве анаболических препаратов. Косвенным указанием на это является предложение внести ТП (в первую очередь Org 43553) в список препаратов, которые должны определяться у спортсменов при допинг-контроле [19].

Тиенопиримидиновые производные эффективны при действии на мутантные рецепторы

Одной из причин снижения или потери чувствительности клеток Лейдига и фолликулярных клеток яичников к ЛГ являются мутации в ЛГР. Мутантные рецепторы не способны к транслокации в плазматическую мембрану, несмотря на сохранение способности связываться с ЛГ. Вследствие мутаций нарушается конформация ЛГР, необходимая для его правильного процессинга и транслокации, что в конечном итоге приводит к его деградации в протеосомах. Мутантные ЛГР выявлены у пациентов с нарушениями репродуктивной функции, вызванными гипоплазией клеток Лейдига [20, 21]. Выраженность таких нарушений зависит от того, насколько мутация меняет функциональную активность ЛГР и его способность встраиваться в плазматическую мембрану. Как правило, заместительная терапия гонадотропинами пациентов с мутациями в ЛГР не дает эффекта.

Ситуация казалась безвыходной, пока не было обнаружено, что ТП, достаточно липофильные молекулы, легко проникают в клетку через мембрану и там связываются с еще не зрелыми формами мутантных ЛГР. Это приводит к стабилизации биологически активной конформации ЛГР, нормализует их процессинг в клетке, позволяет мутантному рецептору в комплексе с низкомолекулярным агонистом достичь плазматической мембраны [22]. Поскольку во многих случаях способность активироваться гонадотропином у мутантного ЛГР сохранена, чувствительность клетки к ЛГ или ХГЧ в этом случае восстанавливается. Важно и то, что сам низкомолекулярный агонист переводит ЛГР в активированное состояние. Способность ТП восстанавли-

вать чувствительность репродуктивных тканей к гонадотропинам является одной из самых важных их фармакологических характеристик.

Установлено, что соединение Org 42599, трифторацетатная соль Org 43553, восстанавливает активность мутантных ЛГР с аминокислотными заменами A⁵⁹³R и S⁶¹⁶Y [22]. Инкубация клеток, в которых экспрессированы мутантные рецепторы, с Org 42599 приводила к повышению их экспрессии, увеличивала долю мутантных ЛГР с правильной укладкой и топологией в мембране и повышала число рецепторов на поверхности клетки. Переход ЛГР в функционально активное состояние при связывании с Org 42599 препятствовал деградации мутантного рецептора в протеосомах. В основе этого лежит неспособность мутантного ЛГР в связанном с Org 42599 состоянии взаимодействовать с 94 кДа глюкоза-регулируемым и Ig-связывающим белками, которые осуществляют транспорт неправильно свернутых форм белков к протеосоме. Инкубация имеющих низкую чувствительность к ЛГ НЕК-клеток с экспрессированным в них мутантным ЛГР с заменой S⁶¹⁶Y с Org 42599 (в достаточно низкой концентрации 0,1 мкМ) приводила к двукратному усилению стимулирующего эффекта ЛГ на АЦ. При этом эффект самого ТП был выражен сильнее, чем в клетках, где был экспрессирован нормальный ЛГР [22].

Соединение Org 41841, которое было открыто первым среди низкомолекулярных агонистов ЛГР, характеризовалось сравнительно невысокой селективностью по отношению к ЛГР и активировало рецептор ФСГ, хотя и с низкой эффективностью [5]. Это послужило основанием для поиска высокоселективных его аналогов, не действующих на рецептор ФСГ, что в конечном итоге привело к открытию Org 43553 и других высокоселективных ТП. Казалось, что Org 41841 стал достоянием истории. Однако при изучении его влияния на рецептор ФСГ было показано, что он усиливает экспрессию и транслокацию рецептора с заменой A¹⁸⁹V в эктодомене [23]. Это связано с тем, что Org 41841, как и Org 42599, стабилизирует биологически активную конформацию мутантного рецептора и препятствует его деградации в протеосомах, т.е. ведет себя как фармакологический шаперон. Поскольку ТП при связывании с мутантными рецепторами ЛГ и ФСГ нормализуют их активность, эти препараты можно использовать для стимуляции стероидогенеза, сперматогенеза, оогенеза и других зависимых от гонадотропинов процессов в репродуктивных тканях с дефектными формами рецепторов, что является наиболее перспективным подходом для терапии заболеваний репродуктивной системы, связанных с мутациями генов, кодирующих рецепторы гонадотропинов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шпаков А.О. Структурно-функциональная организация рецепторов полипептидных гормонов, содержащих LRR-повторы, и их взаимодействие с гетеротримерными G-белками. *Цитология* 2009;51:637–649. [Shpakov A.O. Strukturno-funkcional'naya organizatsiya receptorov polipeptidnykh gormonov, soderzhashchih LRR-povtory, i ih vzaimodejstvie s geterotrimernymi G-belkami. *Citologiya* 2009;51:637–649].
2. Puett D, Angelova K, da Costa MR, et al. The luteinizing hormone receptor: Insights into structure–function relationships and hormone-receptor-mediated changes in gene expression in ovarian cancer cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2010;329(1-2):47–55. doi: 10.1016/j.mce.2010.04.025.
3. Puett D, Li Y, DeMars G, et al. A functional transmembrane complex: The luteinizing hormone receptor with bound ligand and G protein. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2007;260-262:126–136. doi: 10.1016/j.mce.2006.05.009.
4. Heitman LH, Kleinau G, Brussee J, et al. Determination of different putative allosteric binding pockets at the lutropin receptor by using diverse drug-like low molecular weight ligands. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2012;351(2):326–336. doi: 10.1016/j.mce.2012.01.010.
5. van Straten NCR, Schoonus-Gerritsma GG, van Someren RG, et al. The First Orally Active Low Molecular Weight Agonists for the LH Receptor: Thienopyr(im)idines with Therapeutic Potential for Ovulation Induction. *Chem Bio Chem*. 2002;3(10):1023–1026. doi: 10.1002/1439-7633(20021004)3:10<1023::aid-cbic1023>3.0.co;2-9.
6. Шпаков А.О., Шпакова Е.А. Низкомолекулярные регуляторы рецепторов полипептидных гормонов, содержащих LGR-повторы. *Биомед химия* 2010;56:303–318. [Shpakov A.O., Shpakova E.A. Nizkomolekulyarnye regulatory receptorov polipeptidnykh gormonov, soderzhashchih LGR-povtory. *Biomed hi-miya* 2010;56:303–318].
7. Heitman LH, Ijzerman AP. G protein-coupled receptors of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: A case for gnrh, LH, FSH, and GPR54 receptor ligands. *Medicinal Research Reviews*. 2008;28(6):975–1011. doi: 10.1002/med.20129.
8. Lane JR, Ijzerman AP. Allosteric approaches to GPCR drug discovery. *Drug Discovery Today: Technologies*. 2013;10(2):e219–e221. doi: 10.1016/j.ddtec.2013.01.006.
9. Heitman LH, Oosterom J, Bongers KM, et al. ³H]Org 43553, the First Low-Molecular-Weight Agonistic and Allosteric Radioligand for the Human Luteinizing Hormone Receptor. *Molecular Pharmacology*. 2007;73(2):518–524. doi: 10.1124/mol.107.039875.
10. Moore S, Jaeschke H, Kleinau G, et al. Evaluation of Small-Molecule Modulators of the Luteinizing Hormone/Choriogonadotropin and Thyroid Stimulating Hormone Receptors: Structure — Activity Relationships and Selective Binding Patterns. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2006;49(13):3888–3896. doi: 10.1021/jm060247s.
11. van Koppen CJ, Zaman GJR, Timmers CM, et al. A signaling-selective, nanomolar potent allosteric low molecular weight agonist for the human luteinizing hormone receptor. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2008;378(5):503–514. doi: 10.1007/s00210-008-0318-3.
12. Шпаков А.О., Дарьин Д.В., Деркач К.В., Лобанов П.С. Стимулирующее влияние тиенопиримидиновых производных на аденилатциклазную сигнальную систему в семенниках крыс. *Доклады Академии наук*. 2014;456(4):494–498. doi: 10.7868/s0869565214160300. [Shpakov AO, Dar'in DV, Derkach KV, Lobanov PS. Stimuliruyushchee vliyaniye tienopirimidinovykh proizvodnykh na adenilatciklaznyuyu signal'nyuyu sistemu v semen-nikah krys. *Doklady Akademii nauk* 2014;456:494–498].
13. Шпаков А.О., Деркач К.В., Дарьин Д.В., Лобанов П.С. Активация аденилатциклазы тиенопиримидиновыми производными в семенниках и яичниках крыс. *Цитология*. 2014; 56: 346–352. [Shpakov AO, Derkach KV, Dar'in DV, Lobanov PS. Aktivatsiya adenilatciklazy tienopirimidinovyimi proizvodnymi v semennikah i yaichnikah krys. *Citologiya*. 2014; 56: 346–352].
14. van de Lagemaat R, Timmers CM, Kelder J, et al. Induction of ovulation by a potent, orally active, low molecular weight agonist (Org 43553) of the luteinizing hormone receptor. *Human Reproduction*. 2008;24(3):640–648. doi: 10.1093/humrep/den412.
15. Деркач К.В., Дарьин Д.В., Лобанов П.С., Шпаков А.О. Тиенопиримидиновые производные повышают уровень тестостерона при их интратестикулярном, внутривнутрибрюшинном и пероральном введении самцам крыс. *Доклады Академии наук*. 2014;459(3):382–385. doi: 10.7868/s0869565214330275 [Derkach KV, Dar'in DV, Lobanov PS, Shpakov AO. Tienopirimidinovyie proizvodnyie povyshayut uroven' testosterona pri ih intratestikulyarnom, vnutribryushinnom i peroral'nom vvedenii samcam krys. *Doklady Akademii nauk*. 2014;459(3):382–385].
16. Gerrits M, Mannaerts B, Kramer H, et al. First Evidence of Ovulation Induced by Oral LH Agonists in Healthy Female Volunteers of Reproductive Age. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2013;98(4):1558–1566. doi: 10.1210/jc.2012-3404.
17. van de Lagemaat R, Raafs BC, van Koppen C, et al. Prevention of the Onset of Ovarian Hyperstimulation Syndrome (OHSS) in the Rat After Ovulation Induction with a Low Molecular Weight Agonist of the LH Receptor Compared with hCG and rec-LH. *Endocrinology*. 2011;152(11):4350–4357. doi: 10.1210/en.2011-1077.
18. de Boer P, van der Hoeven FA, Wolters EMTJ, Mattheij JAM. Embryo Loss, Blastomere Development and Chromosome Constitution after Human Chorionic Gonadotropin-Induced Ovulation in Mice and Rats with Regular Cycles. *Gynecologic and Obstetric Investigation*. 1991;32(4):200–205. doi: 10.1159/000293031.
19. Goebel C. Stimulating luteinizing hormone. *Drug Testing and Analysis*. 2011;3(11-12):868–872. doi: 10.1002/dta.393.
20. Latronico AC, Anasti J, Arnold IJP, et al. Testicular and Ovarian Resistance to Luteinizing Hormone Caused by Inactivating Mutations of the Luteinizing Hormone–Receptor Gene. *New England Journal of Medicine*. 1996;334(8):507–512. doi: 10.1056/nejm199602223340805.
21. Mizrahi D, Segaloff DL. Intracellularly Located Misfolded Glycoprotein Hormone Receptors Associate with Different Chaperone Proteins than Their Cognate Wild-Type Receptors. *Molecular Endocrinology*. 2004;18(7):1768–1777. doi: 10.1210/me.2003-0406.
22. Newton CL, Whay AM, McArdle CA, et al. Rescue of expression and signaling of human luteinizing hormone G protein-coupled receptor mutants with an allosterically binding small-molecule agonist. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108(17):7172–7176. doi: 10.1073/pnas.1015723108.
23. Janovick JA, Maya-Núñez G, Ulloa-Aguirre A, et al. Increased plasma membrane expression of human follicle-stimulating hormone receptor by a small molecule thienopyr(im)idine. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2009;298(1-2):84–88. doi: 10.1016/j.mce.2008.09.015.