

Катіонні канали – молекулярні мішені для потенційних лікарських засобів з анальгетичним механізмом дії

М.Я. Головенко

Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, Одеса;
e-mail: n.golovenko@gmail.com

Іонні канали забезпечують функціонування нервової системи, оскільки залучені у деполяризацію нейронів, аксонну провідність та вивільнення нейромедіаторів. Вони розташовані в мембранах всіх збудливих тканин та беруть участь у механізмах ноцицепції. Модуляція сигналізації іонних каналів невеликими молекулами, може бути дієвою в гальмуванні перебігу больових синдромів різної етіології. Наразі незначна кількість іонних каналів відіграють роль потенційних мішеней для розробки антиноцицептивних препаратів. Це доведено даними медичної хімії та різноманітними біофізичними і фармакологічними дослідженнями. У цьому огляді наведено приклади селективних модуляторів катіонних каналів як нових терапевтичних засобів для знеболювання та перспективи створення новаторських каналорієнтованих анальгетичних препаратів.

Ключові слова: біль; катіонні канали; iGluR; 5-HT; TRP; Cav; Nav; Kv; ліганди; анальгезія.

Постійне збільшення числа людей, які зазнають явних і тривалих больових відчуттів, є однією з найбільш серйозних, глобальних проблем, що стоять перед сучасним суспільством. Понад 90% гострих і хронічних захворювань, а також травм мирного і воєнного часу супроводжуються різними видами болю, тому для більшості країн світу він стає тихою епідемією [1]. Розповсюдженню болю у світі сприяє епідемія Covid-19. Коронавірус не тільки викликає загострення хронічного болю, а й сам уповільнює процес одужання [2].

Більшість гострих та хронічних захворювань, що супроводжуються болем, лікуються анальгетичними засобами, серед яких чільне місце належить нестероїдним протизапальним препаратам (НПЗП), опіоїдам і місцевим анестетикам. На цьому арсенал знеболювальних засобів по суті вичерпується. В оглядовій статті Kissin [3] наведено детальний аналіз світових досліджень (за останні півсторіччя), пов'яза-

них з проблемою болю, і наголошується, що принципово нових ліків немає вже тривалий час. Тому створення ефективних і безпечних анальгетиків є першочерговим завданням фізіологів, фармакологів, медичних хіміків.

Білки, що утворюють іонні канали, є важливою мішенню для низки існуючих терапевтичних засобів, але вони залишаються недостатньо вивченими як субстрат для створення нових анальгетиків. Водночас накопичилося чимало даних, які свідчать про вирішальну роль іонних каналів у виникненні, хронізації та перебігу болю. Співробітники Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України зробили значний внесок у вивчення трансмембранної іонної сигналізації та показали можливість іонних каналів брати участь у процесах генерації та передачі больового сигналу [4–6]. Саме ці фундаментальні дослідження є підґрунтям для створення лікарських засобів, але у них відсутні пропозиції щодо таких молекул. Тому основна увага цієї статті спрямована

на всебічний аналіз нових синтетичних модулаторів (лігандів) катіонних каналів, які можуть бути прототипами відповідних анальгетичних лікарських засобів, їх фізіологічних та фармакологічних механізмів дії. Розглянуто медико-біологічні чинники, які потрібно враховувати при створенні інноваційних препаратів.

Молекули-маркери болю та механізми взаємодії лігандів з ними.

Шляхи розповсюдження больового стимулу в організмі є складними процесами. Між місцем ушкодження і моментом сприйняття болю знаходиться низка складних електрохімічних явищ, об'єднаних такими термінами [7]: ноцицепція, трансдукція, трансмісія та перцепція. Завдяки генетичним методам вдалося ідентифікувати та охарактеризувати молекули, які причетні до зазначених фізіологічних процесів, і врешті-решт, вважати їх мішенями для знеболення [8]. Найбільш поширеними серед них є: неспецифічні катіонні канали (ASIC3, TRPV1), АТФ (P2X4, P2X7, P2X4, P2X7), глутаматзалежні канали (NMDA-NR2b, mGluR1, mGluR2/3), канабіноїди (CB1, CB2), опіоїдні пептиди (μ , κ , δ), брадикинін (B1, B2), простагландини E2 (EP1, 5HT, 5HT1B/1D, 5HT3), механочутливі канали (TrpV1, TrpV4, P2X3), термочутливі канали (TRPV1, TRPV3, TRPV4, TRPM8, TRPA1), фактор росту нервів (TNF), нейтрофіли (NGF, BDNF, GDNF, IL-6), натрієві канали (NaV1.3, NaV1.8, NaV1.7, NaV1.9, β -3-субодиниці), кальцієві канали (CaV2.1, CaV2.2, CaV2.3, α 2 δ), калієві канали (KV1.4, KCNQ), рецептори ГАМК та гліцину. Серед зазначених структур чільне місце посідають катіонні канали, які здебільшого визначають характер та процеси больового відчуття.

Катіонні канали це спеціалізовані білки, розташовані в клітинній мембрані. Через їх гідрофільні пори може відбуватися обмін Na^+ , K^+ , Ca^{2+} та/або Mg^{2+} . Відкриття каналу регулюється фізичними або хімічними

механізмами. Останні спостерігаються при зв'язуванні активних молекул (лігандів) з активним центром, який розташовується з зовнішнього або з внутрішнього боку каналу [9]. Молекулярна будова каналу має складну просторову конфігурацію, в якій крім пори, зазвичай, є системи, котрі регулюють відкривання, закриття, інактивацію та вибірковість рецепції. Іонні канали можуть вміщувати декілька ділянок (сайтів) для зв'язування з керуючими речовинами [10]. Умовно їх класифікують як ліганд- та потенціалкеровані канали. Перші перетворюють хімічні сигнали, що приходять до клітини, в електричні і вони потрібні, зокрема, для роботи хімічних синапсів, другі – для поширення потенціалу дії.

Взаємодія екзогенного ліганду з іонним каналом є складним процесом [11], який залежить від структурних особливостей сполуки та молекулярної організації білкової молекули і особливо її активної ділянки (домену, сайту) зв'язування. З нею ліганд формує оборотний нековалентний хімічний зв'язок. Така взаємодія дещо відрізняється від аналогічного процесу інших біомішеней (G-білків, ферментів, транспортних білків). Пояснюється це тим, що значну роль у рецепції відіграють білки, які формують пору. Для створення необхідного комплексу «ліганд–рецептор» важливою інформацією є ідентифікація домену зв'язування, а також молекулярної структури α -субодиниць, що утворюють пору, сенсора потенціалу та воріт. У зв'язку з цим значна інформація була отримана завдяки використанню нейротоксинів, а саме: були ідентифіковані центри зв'язування каналів та структури фармакоформних груп лігандів.

Іонні канали, завдяки їх α -субодиницям, які формують пору, мають один або декілька сайтів зв'язування відповідних лігандів. Наприклад, потенціалзалежний натрієвий канал, також названий «NaV-канал» вміщує вісім таких доменів [12] і кожен з них має свою специфіку зв'язування та необхідну

спорідненість до тих чи інших токсинів [13]. Найбільш важливим є сайт, який розташований між селективним фільтром і внутрішньоклітинним воротним механізмом у центральній порожнині пори NaV-каналу і вміщує залишки трансмембранних спіралей S6 доменів DI, DIII і DIV. Він є мішенню для низки препаратів (лідокан, мексилетин, фенітоїн, карбамазепін тощо), що блокують NaV-канал [12]. Для цих молекул важливим є наявність ліпофільного ароматичного кільця та гідрофільних аміногруп, які взаємодіють із залишками Tyr і Phe (S6 DIV)-каналів [14]. Завдяки високій консервативності залишків, ліганди, що зв'язуються з ними, є неселективними, оскільки афінність взаємодії залежить від стану NaV-каналу (закритий < відкритий < інактивований). Інактивований стан каналу перешкоджає доступу ліганду до сайту зв'язування (закритий NaV-канал) або «запирає» невеликі молекули всередині пори каналу (інактивований NaV-канал). Альтернативним шляхом, доступним для ліпофільних сполук, є бічні відгалуження пори, що дають змогу блокувати закриті або інактивовані NaV-канали [13].

Катіонні канали та їх нові ліганди для фармакотерапії больових синдромів.

З 215 іонних каналів, які існують у геномі людини, лише 85 мають відношення до проблеми болю [14]. Ці канали відіграють ключову роль у швидких процесах, таких як сприйняття сигналів, нейронний зв'язок і скорочення м'язів, які зумовлені процесами взаємодії (зв'язування) відповідного каналу з ендogenous або екзогенними лігандами. Найбільш вивченими та перспективними екзогенними лігандами є ті, які взаємодіють з такими катіонними каналами, як iGluR, 5-HT, TRP, CaV, NaV, KV.

Іонотропні рецептори глутамату (iGluR). NMDA-рецептори разом з AMPA-, кайнатними- та δ-рецепторами складають групу іонотропних рецепторів глутамату. NMDA є найбільш вивченим і одним із найважливіших

рецепторних комплексів. Його молекула є гетеротетрамером, що формує неселективний іонний канал і вміщує дві субодиниці, які зв'язують гліцин (NR1) та дві, що зв'язують глутамат (NR2). [15]. До того ж, існує ще й NR3-субодиниця, що активується гліцином, та взаємодіє з NR2-субодиницями, змінюючи при цьому функціональну активність рецептора.

Характерним для невропатичного виду болю є феномен посилення чутливості NMDA-рецепторів, який зумовлений вивільненням великої кількості глутамату. Тому, одним із пріоритетних напрямків є створення препаратів, які селективно блокують NMDA-рецептори [16]. Серед антагоністів NMDA-рецепторів, які зараз використовуються в медичній практиці є кетамін, метадон, мемантин та декстрометорфан. Наразі клінічні випробування продемонстрували можливість кетаміну та метадону гальмувати нейропатичний біль, який є резистентним до дії опіоїдів. Проте побічні ефекти цих препаратів обмежують їх використання.

Певні надії пов'язані з застосуванням препаратів похідних амантадину, що використовуються при лікуванні паркінсонізму та мають знеболюючу дію [16]. Серед сполук, здатних впливати на NMDA-рецепторний комплекс, інтерес викликає також сульфат магнію. Останній є неконкурентним блокатором та впливає на різні потенціалзалежні Ca^{2+} -канали, які задіяні в механізмах ноцицепції [16].

AMPA-рецепторний комплекс відноситься до гетеротетрамерів, що складається із субодиниць GluR1, GluR2, GluR3, GluR4 [17], в якому важливу роль відіграє GluR2, тому що визначає здатність рецептора до проникності Ca^{2+} . Для доклінічних досліджень було розроблено кілька антагоністів рецепторів AMPA, перспективних у лікуванні болю. На жаль, похідні хіноксаліндіону CNQX і NBQX, завдяки неселективній природі та низькій розчинності, не знайшли втілення в медичну практику. Нещодавно було синте-

зовано та вивчено нові похідні 4-ізоксазол-пропіонату (PNQX та YM 872) і навіть розпочато клінічні випробування цих сполук як нейропротекторних та анальгетичних засобів [18].

Сполука GYKI-52466 (2,3-бензодіазепін) використовується тільки у експериментах, оскільки неконкурентно блокує всі без винятку рецептори глутамату, але з різною ефективністю (AMPA > кайнат > NMDA). У дослідженнях на тваринах було виявлено у неї високу протисудомну та нейропротекторну дії при церебральній ішемії [18]. Останнім часом досліджують сполуки подібної структури (GYKI-53655 та GYKI-53405).

Кінуренова кислота є ендogenousним лігандом глутаматних рецепторів, зокрема частковим антагоністом AMPA і має протисудомні та нейропротекторні властивості у дослідних тварин. Експерименти щодо ефективності цього засобу для знеболювання не проводилися. Сполука LY293558 (тезампанел) блокує одночасно AMPA і кайнатні рецептори та має значні анксиолітичні, протисудомні та антигіперальгетичні властивості. У доклінічній моделі мігрени доведено її знеболювальну ефективність та можливість пригнічувати розвиток симптомів відміни опіоїдів [19]. Незважаючи на відсутність клінічних випробувань цей блокатор можна використовувати для зменшення механічної гіперальгезії, але за умови його тривалого введення.

Антагоністи кайнатних рецепторів LY382884, LY293558, NBQS, NS1209 були вивчені на різноманітних моделях гострого та хронічного болю і підтвердило їх ефективність у разі стійкого нейропатичного болю [17]. Водночас сполука LY382884 найбільше ослабляла біль, який виникав після введенні в лапу щурів формаліну (модель запалення). Естерифіковане похідне сполуки та менш селективний декагідроізохінолін LY293558 були менш активними у запальних моделях термічної і механічної гіперальгезії та післяопераційного болю (розріз лапи). Сполука LY293558 також зменшувала механічну гіперальгезію у щурів

при її внутрішньотекальному введенні.

Часткові агоністи (ATPA; MSYIII-19 та SYM2081), які ефективно десенсибілізують рецептори GluK1, також виявляють антиноцицептивну активність. Високоафінний агоніст 2S,4R-4-метилглутамат (SYM2081) потужно активує та десенсибілізує GluK1 та GluK2 і має знеболюючий вплив на таких моделях, як хронічна травма, введення капсаїцину та карагенану [17]. Синтетичне похідне тетрагідрофуропіранового токсину – MSVIII-19, також діє як високоафінний інгібітор рецепторів, що містять GluK1, і має знеболюючий ефект при запальних та хронічних захворюваннях, але не на моделях гострого або вісцерального болю. Рецептори, що містять GluK1, експресуються в нейронах трійчастого нерва, що допускає участь KAR у перебігу мігрени. Дійсно, на тваринних моделях мігрени такі відомі препарати, як топірамат та вілардіїн, а також високоселективний фторований антагоніст LY466195 ефективно зменшують цю патологію.

Проте існують і застереження щодо можливого використання антагоністів та агоністів KAR для знеболення. У цьому разі необхідно, щоб сполуки вибірково взаємодіяли тільки з субодиницею GluK1, уникаючи інших типів KAR або рецепторів AMPA та мали належну біодоступність.

Пуринергічні канали є аденозиновими метаболічними (P1) та іонотропними АТФ-залежними (P2). Антагоністи P2-рецепторів вважаються перспективними препаратами для лікування мігрени, нейропатичного болю та хронічних больових синдромів. Особливо важливу роль відіграють P2X4-рецептори у патогенезі нейропатичного болю, оскільки вони експресуються в клітинах мікроглії, тому інтратекальне введення селективних антагоністів сприяє усуненню у мишей алодинії у разі герпетичного болю. Якщо стимулюється експресія P2X4, то її наслідком є виникнення та перебіг алодинії у здорових щурів. Тому, системне

введення селективних антагоністів P2X7-рецепторів A-438079 та A-740003 викликає дозозалежну антиноцицептивну дію на моделях нейропатичного болю.

Нині особливо пильна увага приділяється фармакологічному вивченню антагоністів P2X4R, оскільки цей рецептор бере участь у серцево-судинних, нейродегенеративних, ендокринних патологіях та ноцицепції [21]. Перші дослідження таких антагоністів, як PPADS (піридоксальфосфат-6-азофеніл-2',4'-дисульфонова кислота) і TNP-ATP (тринітрофеніл-АТФ) показали обнадійливі результати за біофізичними показниками, але не виявили антиноцицептивної дії.

Пізніше завдяки дослідженням селективності антагоністів P2X4R було синтезовано похідні карбамазепіну (psb-12054, BX-430, 5-BDBD, psb-12062, та psb-15417) і вони значною мірою пригнічують активність P2X4R та знижують рівень його експресії [22]. Нещодавно відкритий селективний антагоніст NP-1815-PX (1,4-діазепін-2,4(3H,5H)-діон) також здатний зменшувати надмірну експресію P2X4R і внаслідок цього пригнічувати активацію мікроглії та ефективно послабляти гіперальгезію. Алостеричний модулятор P2X4R (івермектин) сприяє регенерації мієліну та зменшує аутоімунне запалення пригніченням активації мікроглії та макрофагів. Тому його вважають потенційним кандидатом лікарського засобу, здатного усувати демієлінізуючі захворювання. Антагоніст CORM-2 (рутеній трихлористий) є інгібітором активації P2X4R людини, знижує рівень його експресії та знімає запальний біль [23].

TRP-канали є потенціалзалежними, не-селективними Ca^{2+} -проникними катіонними каналами, які активуються у відповідь на різноманітні стимули ендогенних та екзогенних молекул. З точки зору анальгезії, найбільш перспективними є TRPV (1–4), TRPM (2, 3, 8) і TRPA1-канали, які беруть участь у генерації і передачі больового сигналу [24]. До ендогенних електрофільних

агоністів TRPA1-каналів відноситься безліч прозапальних агентів, які утворюються в організмі в результаті окисного стресу і запалення: 4-гідрокси-2-нонен (4 HNE), 4-оксононенал (4 ONE), 15-дезоксидігліцера-1,4-простагландин J2, 9 нітроолеїнова кислота (9-OA-NO2), ненасичені жирні кислоти, метилгліоксаль та продукти окисного стресу і перекисного окиснення ліпідів. Неелектрофільні сполуки—іцилін, 2-аміноетил оксидифеніл борат (2-APB) та ментол активують TRPA1, не утворюючи при взаємодії ковалентних зв'язків. Ідентичними агоністами також є нестероїдні протизапальні препарати та загальні анестетики.

Нині фармацевтичні компанії активно ведуть пошук селективних антагоністів TRPA1 серед різних класів хімічних сполук. Такими є похідні оксадіазолу, дигідропіримідини, сульфоніламідів, похідні оксиму (A967079, AP18), піперазінкарбоксамідів, бензамідів, азабензофуранів тощо. Основними обмеженнями синтетичних антагоністів для розробки лікарських препаратів є висока токсичність деяких сполук або їх метаболітів та низька розчинність. З огляду на це тільки розроблена компанією «Glenmark Pharmaceuticals», India сполука GRC 17536, структура якої не розкривається, успішно пройшла другу фазу клінічних досліджень [25]. Вона має не лише високі показники зв'язування ($\text{hTRPA1 IC}_{50} < 10 \text{ нмоль/л}$), але і значну ефективність у моделях запалення і нейропатії та не викликає спостережуваних побічних дій з боку ЦНС або інших органів. Проводяться також клінічні дослідження другої фази сполуки FLX787, яка є активатором рецепторів TRPA1 та TRPV1 і використовується при лікуванні пацієнтів із тяжкими м'язовими судомами і ураженнями периферичних нервів.

TRPV1-рецептор належить до сімейства рецепторів, що активують капсаїцинчутливі аферентні нейрони, функціональна роль яких пов'язана з регулюванням чутливості до болю і запалення [26]. Звідси і виникла зацікавленість у створенні антагоністів цього

рецептора. Так, було синтезовано та вивчено фармакодинамічні властивості таких сполук: Amgen (AMG-517) – зубний біль, Abbott (ABT-102) – хронічний біль, GSK (SB-705498) – запалення, AstraZeneca (AZD1386) – зубний біль, Merck/Neurogen (MK-2295) – остеоартрит, Lilly/Glenmark (GRC-6211) – остеоартрит. На жаль, як виявилось надалі, всі вони значно підвищували температуру тіла у людей. Враховуючи зазначені недоліки, було синтезовано нові антагоністи TRPV1-рецептора, такі як R- та S-ізомери AMG8562, AS1928370 (Astellas), PHE377, PHE57, котрі не мали побічних дій у експериментах на тваринах [27]. Залишається не виясненим головне питання, чи підтвердяться отримані дані у спостереженнях на людях? Пошук і вивчення лігандів TRP-каналів усе ще залишається актуальним завданням оскільки, вони найбільш підходять для дослідження комплементарних взаємодій з рецептором, з'ясування молекулярних механізмів активації, пригнічення і десенситизації.

Кальцієві канали (CaV). Зазначені канали діляться на L (CaV1.1-4), N (CaV2.2), T (CaV3.1-3), P/Q (CaV2.1) та R (CaV2.3) ізоформи і тією чи іншою мірою мають відношення до ноцицепції. Особливості локалізації кальцієвих каналів у різних тканинах та різні комбінації ізоформ визначають їх функціональні призначення.

Кальцієві канали L-типу (CaV1.2) характеризуються високою чутливістю до неорганічних іонів і таких блокаторів, як верапаміл, дилтіазем та деяких дигідропіридинів (ніфедипін, нітрендипін, нізолдипін, німодипін). Фенілалкіламіни, бензотіазепіни та дигідропіридини проявляють помірну антиноцицептивну активність на моделях «перерізки сидничного нерва» та «нейропатичного діабетичного болю». Ніфедипін і верапаміл підсилюють морфінову анальгезію та послаблюють виникнення сприйнятливості, що узгоджується з уявленням про роль іонів кальцію у толерантності до морфіну.

Кальцієві канали N типу (CaV2.2) є стійкими до блокуючої дії дигідропіридинів, регулюють секрецію нейромедіатора в синапсах та у спинного мозку є чутливими до пошкодження периферичного нерва, що позначається на больовому стані [4]. Існують три способи, за допомогою яких клітинні події, опосередковані каналами CaV2.2, можуть бути модифікованими в терапевтичних цілях: пряме блокування каналів короткими пептидами та органічними молекулами з невеликою молекулярною масою, активація рецепторів, спряжених з G-білком (GPCR) та вплив на CRMP-2.

Пептиди невеликої молекулярної маси, які виділені із токсинів конусів, є інгібіторами каналів CaV N-типу та використовуються для вивчення процесів гальмування болю. Відомо п'ять видів конотоксинів і всі вони впливають на різні рецептори, а ω -конотоксин (MVIIA) має знеболюючу дію, яка в 100–1000 разів перевищує анальгезуючий ефект морфіну [29]. Синтетичний його варіант впроваджено в медичну практику як анальгетичний лікарський засіб – зіконотид (торгова назва – Пріалт). Препарат вибірково зв'язується з кальцієвими каналами N-типу, розташованими на ноцицептивних аферентних нервах дорсального рогу спинного мозку, внаслідок чого зменшується вивільнення збудливого нейротрансмітера, а звідси і чутливість до больових подразників.

Встановлення первинної структури ω -конотоксину та синтез його аналогів дало змогу визначити ключові амінокислотні залишки, які відповідають за високу спорідненість токсину до каналу. Ними виявилися Lys2-Ala, Tyr13-Ala або Arg17-Ala. Це дало можливість раціонально модифікувати молекулу і сконструювати пептидний міметик Biomolecular 1, який продемонстрував ефективну спорідненість до N-типу каналів ($IC_{50} = 1,9$ мкмоль/л), із незначною активністю до каналів типу P/Q ($IC_{50} = 42$ мкмоль/л). Синтезовано також циклічний пентапептид Univ. Queensland 1 (цикло [Lys-DLeu-Pro-

DTyr-Lys]), з високою спорідненістю до цих каналів ($IC_{50} = 16$ мкмоль/л), але не до P/Q [38]. На підставі досліджень взаємозв'язку «структура–активність» та тривимірної структури ω -конотоксину MVIIA синтезовано сполуку Parke-Davis 1, яка ефективно гальмувала дію каналу N-типу ($IC_{50} = 2,7$ мкмоль/л) з майже еквіпотентною активністю ($IC_{50} = 3,0$ мкмоль/л) для L-типу каналів.

Пептидні токсини є високоселективними та високоафінними блокаторами N-типів каналів, але вони не проникають крізь гематоенцефалічний бар'єр, що позначається на їх активності. Ця проблема долається за допомогою розробки хімічних сполук з невеликою молекулярною масою. Зокрема, синтезовано низку похідних N-метил-N-аралкіл-пептидиламіну, серед яких сполука під шифром PD 173212 мала високу активність ($IC_{50} = 36$ нмоль/л). Високу анальгетичну активність проявили фенілаланін та бензоксианілін та деякі сполуки, які мають бензгідрильний фрагмент та алкільні замісники (третбутиловий або ізопропіловий), амінокислотний (зазвичай Leu). Найбільш вдалою спробою є синтез N-тріазол-оксиндол TROX-1, інгібітора CaV2.2-каналів N-типу, який здатний гальмувати гіперальгезію, спричинену запаленням, та алодинію, яка виникає внаслідок травми нерва, як і сучасні протизапальні та анальгетичні препарати [30].

Кальцієві канали T-типу є менш чутливими до дії дигідропіридинів порівняно з L-каналами. Досить сильними блокаторами цих каналів є амilorид, фенітоїн, флунаризин та деякі складні вуглеводневі спирти [29]. Експерименти на тваринах свідчать про те, що функціональний внесок цих каналів у знеболення залежать від їх ізоформ та анатомічного розташування. Канали T-типу причетні до розвитку хронічних опорно-рухових больових синдромів у мишей з дефіцитом CaV3 [29]. До того ж, миші, у яких відсутні CaV3.2-канали, демонструють гіпоальгезійну реакцію на гострі, соматичні,

вісцеральні та тонічні запальні процеси.

Сполука 5,5'-дитіо-біс-(2-нітробензойна кислота) гальмує струми каналу T-типу в малих дорсальних кореневих гангліях і пом'якшує гіперальгезію в моделях болю. Такі блокатори каналів T-типу, як Z944 ($IC_{50} = 50$ нмоль/л) та АВТ-639 ($IC_{50} = 2$ мкмоль/л) з протизапальними та анальгетичними властивостями дійшли навіть до випробувань на людях, але завдяки токсикологічним характеристикам були зняті з подальшого розгляду [30].

Кальцієві канали CaV2.1 (типу P/Q) сприяють надходженню кальцію в пресинаптичні термінали та постсинаптичні дендрити. Вони опосередковують вивільнення нейромедіаторів та гормонів і беруть участь у певних формах синаптичної пластичності. Фармакологічні активатори для CaV2.1 відсутні, а специфічним блокатором є ω -агатоксин (IVA). Nebe і співавт. [31] припускають, що роль каналів типу P/Q у обробці болю залежить від етіології ноцицепції. Вони беруть активну участь у перебігу болю при мігрені, однак їх участь у аферентній сигналізації болю не доведена. Місцеве застосування блокатора AGA-IVA зменшує запальну реакцію в нейронах, які іннервують колінний суглоб.

Нині особлива увага прикута до $\alpha 2\delta$ -субодиниці кальцієвого каналу, підвищений вміст якого чітко асоціюється з виникненням та перебігом болю. Пік експресії $\alpha 2\delta$ -1 настає через 7 діб після травми і триває кілька місяців, після чого спостерігається стабілізація процесу. Трансгенні миші, які надмірно експресують $\alpha 2\delta$ -1, виявляють симптоми алодинії навіть тоді, коли пошкодження нерва відсутнє. Це свідчить про те, що підвищення вмісту $\alpha 2\delta$ -1 є достатнім чинником для виникнення невропатичного болю [32]. Субодиниці $\alpha 2\delta$ -1 і $\alpha 2\delta$ -2 (але не $\alpha 2\delta$ -3 або $\alpha 2\delta$ -4) у своїй структурі мають місця зв'язування протиепілептичних препаратів габапентину та прегабаліну. Габапентин зв'язується з високою спорідненістю до

підтипу $\alpha 2\delta$ -1, дещо меншою мірою до $\alpha 2\delta$ -2 і зовсім незначною до $\alpha 2\delta$ -3. При цьому зменшується надходження кальцію до збудливих нервових терміналів, що призводить до сповільнення вивільнення глутамату та норадреналіну у деяких регіонах ЦНС (кора, гіпоталамус, гіпокамп, мозочок та спинний ріг). Є припущення про наявність ще інших місць зв'язування габапентину, таких як NMDA-рецептори та натрієві канали, але їх докази обмежені.

Натрієві канали (NaV). Значну роль у формуванні больового відчуття відіграють потенціалзалежні (потенціалкеровані) натрієві канали, які поділяються на три групи: до першої належать NaV1.1, NaV1.2, NaV1.3 та NaV1, які є чутливими до тетродотоксину й локалізуються в нейронах. Друга вміщує ізоформи NaV1.5, NaV1.8 та NaV1.9, які є слабкочутливі або зовсім нечутливі до тетродотоксину. Третя об'єднує тетродоксинчутливі ізоформи NaV1.4 і NaV1.6. Існує, принаймні, дві принципові властивості іонних каналів, розглянутого типу: а) наявність особливої ворітної системи, в результаті функціонування якої канал здатний здійснювати переходи між закритим та відкритим станами провідності, б) селективна проникність для певного виду іонів, яка забезпечується геометричними і електростатичними параметрами іонопровідної пори.

Дані генетичних больових розладів людини показують, що ізоформи натрієвих каналів NaV1.7, NaV1.8 і NaV1.9 є важливими компонентами в периферичній передачі больових сигналів. Особливий інтерес становить NaV1.7, оскільки люди з мутаціями цієї форми каналів нечутливі до гострого і хронічного болю [33]. До того ж, селективні інгібітори експресованих ізоформ NaV1.7, NaV1.8 та NaV1.9 – визнані анальгетики при хронічному болю [34]. Вони відносяться до різних хімічних груп: місцеві анестетики (етидокаїн), антиаритмічні засоби (лідокаїн, мексилетин), антиконвульсанти

(фенітоїн, ламотриджин) та антиішемічні засоби (сипатригін та кробенетин), що і зумовлює особливу терапевтичну дію. Місцем зв'язування їх є внутрішня частина S6 трансмембранних сегментів каналів. На жаль, ці детермінанти зв'язування повністю зберігаються серед різних підтипів каналів, і, навіть, у сусідніх амінокислотах сегменту S6, що свідчить про неможливість створювати препарати із селективною дією.

Для поліпшення селективності лігандів було синтезовано сполуки, для яких місцем зв'язування є домени S2 та S3 VSD IV, котрі контролюють чутливість до напруги та щільність струму і є відокремленими від сегменту S6 та структурно відрізняються у ізоформ каналів. Через те сполука PF-05089771 (арилсульфаніламід) має наномольну спорідненість до NaV1.7 та значно меншу селективність до NaV1.5 [35]. В її клінічних дослідженнях 1-ї фази були отримані позитивні результати лікування остеоартриту, але невдале випробування сполуки у другій фазі не дало змоги зареєструвати її як препарат.

Проблема впливу місцевого анестетика QX-314 (аналог лідокаїну), полягає у тому, що він є надто гідрофільною сполукою для подолання гематоенцефалічного бар'єра, а звідси відсутність належного блокування *in vivo* NaV-каналів. Binshtok та співавт. [36] довели можливість вибіркової доставки сполуки до ноцицепторів завдяки участі у цьому процесі активованих каналів TrpV1. Вони продемонстрували, що QX-314 у DRG-нейронах з допомогою капсаїцину, агоніста TrpV1, здатний блокувати струми NaV та відповідні потенціали дії, і що цей ефект спостерігається лише у нейронах, що експресують TrpV1. Отримані дані свідчать про можливість доставки блокаторів NaV, до ноцицепторів за допомогою каналів TrpV1, що є новою стратегією лікування болю.

Похідне фуран-2-карбоксаміду (A-803467) є першим детально описаним селективним інгібітором NaV1.8, який у 100–1000 разів

сильніше блокує цей канал зі значенням IC_{50} 8 нмоль/л, ніж інші підтипи, що призводить до знеболення у моделях перев'язки спинномозкового нерва або пошкодження сидничного нерва у щурів [37]. На жаль, низька біодоступність сполуки стала на заваді подальшого продовження його клінічних випробувань.

Потужним низькомолекулярним інгібітором NaV1.3 та 1.1 людини є ICA-121431 (бензолацетамід зі значеннями IC_{50} 13 та 23 нмоль/л відповідно). Мішенню взаємодії сполуки стали позаклітинні амінокислоти у сегментах S2 і S3 VSD домену IV. Аналогічну дію виявив арилсульфонамід PF-05089771 – селективний інгібітор NaV1.7 людини, що має IC_{50} близько 11 нмоль/л у разі інактивованих каналів [37]. Сполука була однією із небагатьох селективних блокаторів NaV1.7, яку протестували у рандомізованому клінічному дослідженні болю при діабетичній нейропатії [38]. Анальгетичний ефект сполуки був дещо меншим, ніж той, що спостерігався з референтним препаратом прегабаліном. Оскільки заздалегідь визначені критерії ефективності не були виконані, дослідження не перейшло до наступної фази випробувань. Близька за структурою сполука PF-05153462 забезпечує значну блокаду каналу NaV1.7, яка є повністю оборотною протягом 10 хв, що дає змогу використовувати цей агент тільки як зонд у зручному методі визначення внеску такої ізоформи каналу на різних моделях болю. Ацилсульфаніламідні похідні GX-201 та GX-585 показали більш високу анальгетичну активність на моделях запалення та нейропатичного болю мишей, ніж PF-05089771, що корелює з їх більш повільною дисоціацією в системі ліганд – NaV1.7. Повторне введення цих сполук збільшувало ефективність знеболювання у 10 разів. Це свідчить про тривале гальмування, яке має істотне значення для десенсибілізації. Однак високі показники зв'язування цих сульфаніламідів з білками плазми крові обмежує їх терапевтичну ефективність [39].

Пептиди та білки є більш селективними до підтипів NaV-каналів та мають меншу побічну дію, ніж хімічні речовини. Найпотужнішим описаним інгібітором NaV1.7 (IC_{50} = 300 нмоль/л) є протоксин II (ProTx-II) з отрути тарантула *Thrixopelma pruriens*, який має, принаймні, 100-кратну селективність до NaV1.7 порівняно з NaV1.5 та NaV1.4 [40]. Проте знеболюючі ефекти *in vivo* коливаються від нуля у моделі щурів із гострим запальним болем до високоефективного у формаліновому тесті. Пептид Pn3, який отримано з отрути тарантула *Pamphobeteus nigricolor*, є також потужним інгібітором NaV1.7 (IC_{50} \approx 0,9 нмоль/л) та більш селективним щодо NaV1.4, NaV1.5 та NaV1.6. Найбільш високу анальгетичну активність сполука проявляла на моделі післяопераційного болю, оскільки зменшувала алодинію та механічну гіперчутливість у мишей.

При розробці більш ефективних анальгетиків для лікування болю значний інтерес становлять пептиди не тільки з високою селективністю до підтипів каналів, але також бажано, щоб вони мали незначну молекулярну масу, що сприяє підвищенню біодоступності та ефективності. Базовим пептидом є μ -конотоксин, який блокує пори NaV-каналів, і ключова роль у цьому процесі належить залишку Arg-13, який виконує функцію стеричного і електростатичного бар'єра, що сприяє перекриттю пори каналу [41].

Конотоксин μ -КІІА є особливо привабливим лігандом, оскільки має у своїй молекулі лише один залишок у першій міжцистиїновій петлі порівняно з п'ятьма у більшості μ -конотоксинів. Виявилось, що видалення дисульфідного зв'язку Cys1-Cys9 сполуки суттєво не змінило його біологічну активність відносно будь-якого з підтипів NaV, тоді як відсутність Cys2-Cys15 зменшило активність, а делеція мосту Cys4-Cys16 повністю усувала активність [42]. Зазначається також, що для більшості похідних конотоксину, протестованих *in vivo*, анальгезія спостерігається зазвичай протягом

1-2 год після введення, що відповідає часовим рамкам швидкого ниркового кліренсу пептидів.

K⁺-проникні іонні канали. Відсутність експресії або зниження активності деяких калієвих каналів призводить до нейронального гіперзбудження, що є причиною таких хвороб нервової системи, як епілепсія, біль, нейропатія, поведінкові психози (шизофренія), порушення серцевих ритмів та когнітивних функцій [43]. Тому терапевтичний потенціал мають ліганди, які здатні селективно зв'язуватися з різними типами каналів та запобігати виникненню їх гіперактивності. Залежно від механізму функціонування, всі ліганди є поровими блокаторами або модуляторами функціонування каналів. Перші запобігають потоку іонів рухатись через канал, що зумовлено зв'язуванням з поровою частиною та замиканням її. Другі впливають на фізіологічні властивості каналів внаслідок взаємодії з потенціалчутливими або допоміжними доменами. Основним джерелом лігандів K⁺-каналів є короткі поліпептиди отрути скорпіонів, які відносяться до порових блокаторів.

У виникненні та перебігу болю найбільш задіяними є KV7-канали. Синтетичні сполуки, які безпосередньо зв'язуються з ними викликають конформаційні зміни молекули та призводять до відкриття каналу. Представники таких сполук: акриламід (S)-1 (KV7.2,-7.5); 4,4-діізотіоціанато стильбен-2,20-дисульфокислота (KV7.1); максипост (KV7.2-7.5); диклофенак (KV7.2, 7.3); флуфенамінова кислота (KV7.1); меклофенамінова кислота (KV7.2, 7.3); мефенамінова кислота (KV7.1); ніфлюмова кислота (KV7.1); ретигабін (KV 7.2-7.5); флупіртин (KV7.2); L-364373 (KV7.1); пірітгон цинку (KV7.1, 7.2, 7.4, 7.5) [44]. Доведення механізму дії зазначених сполук сприяло створенню принципово нового класу лікарських засобів SNEPCO (Selective Neuronal Potassium Channel Opener), тобто

селективних нейрональних відкривачів калієвих каналів, які блокують проведення больових сигналів у ЦНС [45]. Відкриття іонних калієвих каналів сприяє стабілізації мембрани аферентних нейронів і, як наслідок, гальмується збудження нейрона у відповідь на больові стимули. Одночасно нормалізується підвищений м'язовий тонус. Таким чином, SNEPCO мають знеболюючу дію, допомагаючи розгальмованим відділам нервової системи повернутися в стан спокою, тобто стираючи болючу пам'ять. Це не тільки зменшує біль при хронічному больовому синдромі, а й запобігає його посиленню та хронізації.

Флупіртин малеату (катадолон) є першим представником цього класу препаратів, міорелаксуючий ефект якого реалізується завдяки блокуванню передачі больового імпульсу на мотонейрони та проміжні нейрони спинного мозку. Знеболююча дія флупіртину зумовлена його непрямым антагонізмом з NMDA-рецепторами. У терапевтичних дозах препарат сприяє відкриванню потенціалзалежних калієвих каналів, що призводить до стабілізації мембранного потенціалу нервової клітини [46].

Експериментальна алодинія також гальмується лінопірдином (індол) та ХЕ-991 (антрацен), які є блокаторами М-струмів і справляють модулюючий вплив на KV-канали у дорсальних та вентральних рогових елементах спинного мозку шурів. Зазначене свідчить про участь цього каналу у регуляції ранньої сенсорної і моторної ноцицептивної інформації [47].

Активність K_{АТФ}-каналів залежить від внутрішньоклітинної концентрації АТФ і збільшення її вмісту призводить до закриття каналу. Ці канали вміщують дві білкові пороутворюючі субодиниці (Kir6.1 і Kir6.2) та АТФ-зв'язуючу регуляторну субодиницю, яка є рецептором сульфонілсечовини (SUR). Експресія Kir6.1 та Kir6.2 визначає біофізичні характеристики, тоді як SUR відповідає за надання каналу фармакологічних властивостей [48].

Синтетичні молекули, які змінюють фізіологічні процеси за допомогою відкриття K_{ATP} -каналів, мають гетерогенну фармакологічну дію, що свідчить про їх різноманітні сайти зв'язування. Вони також відносяться до відкривачів калієвих каналів і позначаються як $K_{ATP}CO$. Такими лікарськими засобами є: левкромакалім (бензопіран), пінацидил (ціаногунідин), априкіпим (тіоформамід), міпоксидил (піримідин), диспоксид (бензотіадіазин), які впливають, в основному, на серцево-судинну систему.

Незважаючи на наявність гліальних та мітохондріальних K_{ATP} -каналів у ЦНС, які регулюють різні функції головного і спинного мозку, даних щодо синтезу SUR-селективних $K_{ATP}CO$ з антиноцицептивними властивостями не виявлено. Однак сполука іптакалім (2,3-діметил-N-пропан-2іл бутан-амін) є перспективною у лікуванні деяких нейродегенеративних станів, у тому числі і болю [49].

Двопородоменні калієві канали (K_{2P}) є важливими структурами, які беруть участь у перебігу запального болю. Молекулярно біологічними та фармакологічними методами було доведено, що у цьому процесі найбільш активно задіяні ізоформи K_{2P3} , K_{2P9} , K_{2P12} , K_{2P16} та K_{2P18} [50]. Генетичний аналіз гена, який кодує канал K_{2P18} , виявив мутації C110R, S178T, S231P і F372L, які негативно впливають на функцію каналів та сприяють патогенезу мігрени. При надмірній експресії K_{2P18} у DRG-волокнах малого діаметра гальмується генерація потенціалу дії, що призводить до зменшення стійкості до алодинії [51].

Синтез лігандів K_{2P} -каналів та вивчення їх біофізичних і фармакологічних властивостей стали успішно розвиватися після встановлення механізму дії місцевих анестетиків. Виявилось, що вони є блокаторами цих каналів у результаті чого виникає деполаризація клітин, котра сприяє інактивації Na^+ -каналу, з яким переважно зв'язуються місцеві анестетики та посилює блокаду потенціалу дії. У цьому напрямку відбувається

і розробка агентів, які вибірково націлені на K^+ -струми в ноцицептивних шляхах. Такі сполуки, як ML335 (арилсульфонамід) і ML402 (тіофен-карбоксамід) активують канали через їх специфічну взаємодію із залишками амінокислот, що розташовані за фільтром селективності K_{2P2} . Нещодавно повідомлялось [52], що низка сполук, похідних акрилової кислоти, які селективно активують канали K_{2P2} , демонструють значне зменшення болю *in vivo*. Селективний активатор GI-530159 (діанілін) каналів K_{2P2} та K_{2P10} є ефективним у гіперполяризації нейронів DRG внаслідок збільшення активності каналу.

У нервовій системі канали КСа беруть участь у формуванні потенціалів дії і регулюють збудливість нейронів і вивільнення нейромедіатора. Отже, відкривання цих каналів може відігравати важливу роль у гальмуванні гіперзбудливості сенсорних нейронів у фізіологічних і патологічних станах, таких, як біль. Існує низка різних структурних класів розкривачів каналів КСа [53], які мають певні загальні структурні особливості і вміщують, як правило, сполучені кільця бензолу та імідазолу, тобто – бензімідазолами. Одними з перших таких молекул є NS-1608 та NS-1619, але у них відсутня селективність, що змусило хіміків замінити бензімідазольне кільце на гетероцикл 2-індолу або хінолінону. Вони здатні долати ГЕБ та проявляють нейропротекторні або нейромодуючі властивості [54]. У разі похідних 4-арил 3-гідроксихіноліну спостерігається посилена проникність ГЕБ та зберігається активність відкриття каналів КСа, що пов'язано з наявністю електронно-акцепторного замісника у хіноліновому ядрі та фенольної гідроксильної групи. Одним із прикладів розкривача каналів КСа, який проходить розширені доклінічні дослідження, є MaxiPost (BMS-204352) [55].

Перспективи створення новаторських каналорієнтованих анальгетичних засобів.

Високе соціально-економічне значення,

яке пов'язане з больовим синдромом, є стимулом для проведення великої кількості наукових досліджень, спрямованих на визначення механізмів його виникнення та хронізації, а також на створення нових анальгетиків

Умовно, механізм дії лікарського засобу складається з таких взаємопов'язаних стадій: проникнення з місця введення до ділянки розташування молекулярної мішені та її розпізнавання, хімічної взаємодії за принципом спорідненості (афінності), з наступною активацією. Звідси, основним інструментом створення нових препаратів є так званий мішеньорієнтований хімічний синтез сполук із спрямованою біологічною активністю. Мішень – це молекула, яка є рецептором, іонним каналом, переносником, ферментом або нуклеїною кислотою. Нині особлива увага приділяється сполукам, які модулюють активність іонних каналів, що сприяє лікуванню різноманітних захворювань, у тому числі і болю. Пояснюється це тим, що іонні канали є другою за величиною мішенню для існуючих ліків після рецепторів, пов'язаних з G-білком [56]. Більше того, існує близько 60 різних спадкових захворювань, пов'язаних з патологією іонних каналів, відомих як «каналопатії», котрі були ідентифіковані в серцево-судинній, нейрональній, нервово-м'язовій, скелетно-м'язовій, метаболічній та дихальній системах, і ця кількість буде збільшуватись зі зростанням даних про функції іонних каналів. Є в наявності і низка зареєстрованих лікарських засобів, для яких іонні канали є мішенями дії, але їх оптимізацію було проведено методами скринінгу на тваринних моделях, коли природа молекулярної мішені ще була неясною. Проте поява нових, швидших методів скринінгу сполук, що діють на іонні канали [57], є багатообіцяючими для розробки нових терапевтичних засобів у найближчому майбутньому. Тим не менш прогрес щодо розробки принципово нових

лікарських засобів для усунення больового синдрому в останні роки ще залишається досить повільним.

Що заважає активніше використовувати катіонні канали як біологічну мішень при створенні антиноцицептивних засобів? Біологічно активні речовини є складними органічними сполуками, активність яких залежить від структури молекули та розташування функціональних груп. Головна складність спрямованого конструювання препаратів із заданими властивостями полягає в тому, що біофізичні, молекулярно біологічні та дослідження *in silico*, на відміну від фармако-токсикологічних, є неоднозначним оскільки вони спрямовані на отриманні сполук тільки з високою активністю, тобто визначення фармакоформної частини молекули. Цього недостатньо для досягнення головної мети, бо не менш важливими показниками є токсичність пропонованих сполук, оптимальні фармакокінетичні параметри, напрямки їх метаболізму, можлива побічна дія. На жаль, до цього часу найскладнішим аспектом все ще залишається можливість синтезу високоселективної сполуки до відповідного каналу.

Хімічна структура лігандів катіонних каналів то, як було проілюстровано в огляді, може бути різноманітною. Наведу відому цитату лауреата Нобелівської премії з фізіології і медицини Джеймса Вайт Блека: «Найплідніша основа для відкриття нових ліків – це почати зі старих» [58]. Автор, мабуть, мав на увазі те, що відомі лікарські засоби є добре вивченими і для їх впровадження в медичну практику вимагається незначна кількість досліджень, а звідси вони є менш затратними. Такі препарати будуть віднесені до «Of label use drugs» тобто «Ліки поза інструкцією».

Більшість дослідників сходяться на думці, що незважаючи на різницю в локальних змінах функцій або пошкодження первинних та вторинних ноцицептивних нейронів, больові синдроми, зазвичай подібні, як це

спостерігається на тваринних моделях. Тому вважається, що ці множинні та загальні механізми повинні бути у разі хронічного болю будь-якої етіології. Насправді це не так. Існує кілька десятків підстав больового синдрому, тому в кожному конкретному випадку спостерігається локальний механізм його виникнення та стратегії лікування. Зазначене потребує ще на етапах доклінічних досліджень враховувати майбутнє використання препарату, з визначенням етіології больового синдрому. Зробити це складно, оскільки не існує експериментальних моделей, які відтворювали б ту чи іншу етіологію у людини. Відсутні також в арсеналі дослідників відповідні біомаркери, за допомогою яких є можливість визначити чи є негативний результат від ефективності препарату, чи від невдалого клінічного дослідження.

Взагалі больові синдроми у людей є найбільш складними патологічними процесами, тому в клінічних випробуваннях нових анальгетиків успішними виявляються навіть ті, які демонструють 25% ефективності серед загальної кількості пацієнтів. Виходячи з того, що в процесі хронізації болю та його перебігу одночасно бере участь не одна мішень, а декілька, актуальним є створення нових анальгетиків з полімодальним механізмом дії. Раціональна конструкція лігандів, які селективно діють на певні множинні мішені і навіть на їх субодиниці в науковій літературі мають назву сконструйованими множинними лігандами. Полімодальна анальгезія відрізняється від поліфармацевтичної (одночасне використання декількох медичних препаратів) оскільки обмежує ризик поліпрагмазії. На прикладі інноваційної сполуки пропоксазепам нами доведено, що такий підхід є доволі дієвим [59]. Препарат одночасно гальмує гострий і хронічний біль з компонентами протизапальної дії і основною мішенню для нього є $\alpha 2$ - та $\alpha 3$ -субодиниці рецептора ГАМК. Пропоксазепам взаємодіє також і з іншими біологічними мішенями, які відповідають за перебіг болю: гліцинові

рецептори, потенціалзалежні калієві канали, NMDA-рецептори, дофамінергічна система та $\alpha 1$ -адренорецептори. Сполука успішно пройшла першу фазу клінічних досліджень та наразі йдуть етапи другої фази.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

M.Ya. Golovenko

CATION CHANNELS - MOLECULAR TARGETS FOR POTENTIAL DRUGS WITH AN ANALGESIC MECHANISM OF ACTION

A.V. Bogatsky Physical-Chemical Institute of NAS of Ukraine, Odesa; e-mail: n.golovenko@gmail.com

Ion channels ensure the functioning of the nervous system because they are involved in the depolarization of neurons, axonal conduction and the release of neurotransmitters. They are located in the membranes of all excitable tissues and are involved in the mechanisms of nociception. Modulation of ion channel signaling by small molecules can be effective in inhibiting the course of pain syndromes of various etiologies. A small number of ion channels are currently identified as potential targets for the development of antinociceptive drugs, as evidenced by medicinal chemistry data and various biophysical and pharmacological studies. This review provides examples of selective cation channel modulators as novel therapeutic agents for analgesia and prospects for the creation of innovative channel-targeted analgesic drugs.

Key words: pain; cation channels; iGluR; 5-HT; TRP; CaV; Na; KV; ligands; analgesia.

REFERENCES

1. Middleton KR, Hing E. National Hospital Ambulatory Medical Care Survey: 2004 outpatient department summary. Advance data from vital and health statistics; No. 373. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics. 2006.
2. Lin-Man Weng, Xuan Su, Xue-Qiang Wang. Pain symptoms in patients with Coronavirus disease (COVID-19): A literature review. J Pain Res. 2021;14:147-59.
3. Kissin I. The development of new analgesics over the past 50 years: a lack of real breakthrough drugs. Anesth Analg. 2010;110(3):780-9.
4. Romanenko SV, Kostyuk PG, Kostyuk EP. Transmem-

- rane calcium signaling: role in nociception. *J Acad Med Sci Ukr.* 2008;14(1):3-25.
5. Duzhy DE, Voitenko NV, Belan PV. Peripheral inflammation results in increased excitability of capsaicin-insensitive nociceptive DRG neurons mediated by upregulation of ASICs and voltage-gated ion channels. *Front Cell Neurosci.* 2021 Oct 18;15:723295.
6. Kostuk OP, Kostuk PG. Peculiarities of ion channels and modulation of their functions in neurons belonging to the nociceptive system. *Neurophysiology.* 2009;41(3): 241-50.
7. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell.* 2009;139:267-84.
8. Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature.* 2001 Sep 13;413(6852):203-10.
9. Katalin Tóth. Diversity of ion channels. *J Physiol.* 2021;1599(10):2603-4.
10. Shuba YM. Fundamentals of molecular physiology of ion channels. Kyiv: Naukova dumka, 2010.
11. Li S, Wong AHC, Liu F. Ligand-gated ion channel interacting proteins and their role in neuroprotection. *Front Cell Neurosci.* 2014;8:125-32.
12. Xu L, Ding X, Wang T. Voltage-gated sodium channels: structures, functions, and molecular modeling. *Drug Discov Today.* 2019;24(7):1389-97.
13. Stevens M, Peigneur S, Tytgat J. Neurotoxins and their binding areas on voltage-gated sodium channels. *Front Pharmacol.* 2011;2:71-9.
14. Skerratt S, West C. Ion channel therapeutics for pain channels (Austin). 2015;9(6):344-51.
15. Musazzi L, Treccan Gi, Mallei A, Popol M. The action of antidepressants on the glutamate system: regulation of glutamate release and glutamate receptors. *Biol Psychiatr.* 2013;73(12):1180-8.
16. Yaksh N, Weber E. Effects of intrathecal NMDA and non-NMDA antagonists on acute thermal nociception and their interaction with morphine. *Anesthesiology.* 1998;89(3):715-22.
17. Wang J, Goffe Y. AMPA receptors and pain-A future therapeutic intervention? *Techniques in Regional Anesthesia and Pain Management.* 2010; 14: 59-64.
18. Sean D, Donevan M, Rogawski A. GYKI 52466, a 2,3-benzodiazepine, is a highly selective, noncompetitive antagonist of AMPA/kainate receptor responses. *Neuron.* 1993; 10(1):51-9.
19. Weiss A, Ogden A, Li X, Gleason S, Calligaro D, Bleakman D, Witkin J. In vitro and in vivo studies in rats with LY293558 suggest AMPA/kainate receptor blockade as a novel potential mechanism for the therapeutic treatment of anxiety disorders. *Psychopharmacology.* 2006;185:240-7.
20. Burnstock G, Sawynok J. ATP and adenosine receptors and pain. In P. Beaulieu, D. Lussier, F. Porreca, Dickenson A H (Eds.). *Pharmacol Pain.* 2010:303-26. Seattle: IASP Press.
21. Wen-jun Zhang, Hong-liang Luo, Zheng-ming Zhu. The role of P2X4 receptors in chronic pain: A potential pharmacological target. *Biomed Pharmacother.* 2020;129:1-9.
22. Schneider M, Prudic K, Pippel A. Interaction of purinergic P2X4 and P2X7 receptor subunits. *Front Pharmacol.* 2017;8:860-9.
23. Wilkinson WJ, Kemp PJ. The carbon monoxide donor, CORM-2, is an antagonist of ATP-gated, human P2X4 receptors. *Purinergic Sign.* 2011;7:57-64.
24. Kinga Salat, Barbara Filipek. Antinociceptive activity of transient receptor potential channel TRPV1, TRPA1, and TRPM8 antagonists in neurogenic and neuropathic pain models in mice. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2015 Mar; 16(3):167-78.
25. Mukhopadhyay I, Kulkarni A, Aranake S, Karnik P, Shetty M, Thorat S, et al. NTransient receptor potential ankyrin 1 receptor activation in vitro and in vivo by protussive agents: GRC 17536 as a promising anti_tussive therapeutic, *PLoS One.* 2014;9: e97005.
26. Petrushenko MA, Petrushenko EA, Lukyanetz EA. Structure, properties and physiological role of TRPA1 receptors. *Physiol J.* 2021;67(1):44-56.
27. Kort M, Kym P. 2 TRPV1 Antagonists: Clinical setbacks and prospects for future development. *Prog Med Chem.* 2012; 51:57-70.
28. Iegorova O, Maximyuk O, Fisyunov A, Krishtal O. Voltage-gated calcium channels: classification and pharmacological properties (Part 1). *Physiol J.* 2016;62(4):84-94.
29. Yamamoto T, Takahara A. Recent updates of N-type calcium channel blockers with therapeutic potential for neuropathic pain and stroke. *Curr Top Med Chem.* 2009;9:377-95.
30. Lee M. Z944: A first in class T-type calcium channel modulator for the treatment of pain. *J Peripheral Nerv Syst.* 2014;19 Suppl 2(S2):S11-2.
31. Nebe J, Vanegas H, Neugebauer V, Schaible HG. Omega-agatoxin IVA, a P-type calcium channel antagonist, reduces nociceptive processing in spinal cord neurons with input from the inflamed but not from the normal knee joint—an electrophysiological study in the rat in vivo. *Eur J Neurosci.* 1997;9:2193-201.
32. Dolphin AC. The $\alpha_2\delta$ subunits of voltage-gated calcium channels. *BBA.* 2013;1828(7):1541-9.
33. Cox JJ, Reimann F, Nicholas AK, Thornton G, Roberts E, Springell K, et al. An SCN9A channelopathy causes congenital inability to experience pain. *Nature.* 2006; 444(7121):894-8.
34. Theile JW, Cummins TR. Recent developments regarding voltage-gated sodium channel blockers for the treatment of inherited and acquired neuropathic pain syndromes. *Front Pharmacol.* 2011;2:1-14.
35. Alexandrou AJ, Brown AR, Chapman ML, Estacion M, Turner J, Wilbrey A, Payne EC, Gutteridge A, Cox PJ. Subtype selective small molecule inhibitors reveal a fundamental role for Nav1.7 in nociceptor electrogenesis, axonal conduction and presynaptic release. 2016; *PLoS One* 11:e0152405.
36. Binshok AM, Bean BP, Woolf CJ. Inhibition of nociceptors by TRPV1-mediated entry of impermeant sodium channel blockers. *Nature.* 2007;449(7162): 607-10.

37. McGaraughty S, Chu KL, Scanio MJ. A selective Nav1.8 sodium channel blocker, A-803467 [5-(4-chlorophenyl)-N-(3,5-dimethoxyphenyl) furan-2-carboxamide], attenuates spinal neuronal activity in neuropathic rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008; 324(3):1204-11.
38. Theile JW, Fuller MD, Chapman M. The Selective Nav1.7 inhibitor, PF-05089771, interacts equivalently with fast and slow inactivated Nav1.7 channels. *Mol Pharmacol*. 2016;90:540-8.
39. Focken T, Liu S, Chahal N, Dauphinais M, Grimwood ME, Chowdhury S, Hemeon I, Bichler P. Discovery of aryl sulfonamides as isoform-selective inhibitors of Na_v1.7 with efficacy in rodent pain models. *ACS Med Chem Lett*. 2016;7(3): 277-82.
40. Schmalhofer WA, Calhoun J, Burrows R, Bailey T, Kohler MG, Weinglass AB, et al. ProTx-II, a selective inhibitor of NaV1.7 sodium channels, blocks action potential propagation in nociceptors. *Mol Pharmacol*. 2008;74(5):1476-84.
41. Hui K, McIntyre D, French RJ. Conotoxins as sensors of local pH and electrostatic potential in the outer vestibule of the sodium channel. *J Gen Physiol*. 2003;122 (1): 6379-85.
42. Han TS, Zhang MM, Walewska A, Gruszczynski P, Robertson CR, Cheatham TE, et al. Structurally-minimized μ -conotoxin analogs as sodium channel blockers: implications for designing conopeptide-based therapeutics. *Chem Med Chem*. 2009;4(3):406-14.
43. Markman JD, Dworkin RH. Ion channel targets and treatment efficacy in neuropathic pain. *J Pain*. 2006;7(1S) Suppl 1:538-47.
44. Alaa Abd-Elseyed, Markus Jackson, Steven L Gu, Kenneth Fiala, Jianguo Gu. Neuropathic pain and Kv7 voltage-gated potassium channels: The potential role of Kv7 activators in the treatment of neuropathic pain. *Mol Pain*. 2019;15:1-8.
45. J Kornhuber M, Maler J, Wiltfang S, Degner D, Rütke E. Neuronal potassium channel opening with flupirtine. *Fortschr Neurol Psychiatr*. 1999;67(10):466-75.
46. Raffa RB, Pergolizzi JV. The evolving understanding of the analgesic mechanism of action of flupirtine. *J Clin Pharmac Ther*. 2012;37:4-6.
47. Lawson K. potassium channels as targets for the management of pain. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*. 2006; 6:119-28.
48. Vadzyuk O B. ATP-sensitive K⁽⁺⁾-channels in muscle cells: features and physiological role. *Ukr Biochem J*. 2014;86(3):5-22.
49. Pan Z, Huang J, Cui W, Long C, Zhang Y, Wang H. J. Targeting hypertension with a new adenosine triphosphate-sensitive potassium channel opener iptakalim. *Cardiovascul Pharmacol*. 2010;56(3):215-28.
50. Marsh B, Acosta C, Djouhri L, Lawson SN. Leak K⁽⁺⁾ channel mRNAs in dorsal root ganglia: relation to inflammation and spontaneous pain behavior. *Mol Cell Neurosci*. 2012;49:375-86.
51. Guo Z, Cao Y-Q. Over-expression of TRESK K⁺ channels reduces the excitability of trigeminal ganglion nociceptors. *PLoS ONE*. 2014;9:e87029.
52. Vivier D, Soussia IB, Rodrigues N, Lolignier S, Devilliers M, Chatelain FC. Development of the first two-pore domain potassium channel twik-related K⁺ channel 1-selective agonist possessing in vivo antinociceptive activity. *J Med Chem*. 2017;60:1076-88.
53. Calderone V. Large-conductance, Ca⁽²⁺⁾-activated K⁽⁺⁾ channels: function, pharmacology and drugs. *Curr Med Chem*. 2002;9(14):1385-95.
54. Hewawasam P, Fan W, Knipe J, Moon SL, Boissard CG, Gribkoff VK, Starrett JE. The synthesis and structure-activity relationships of 4-aryl-3-aminoquinolin-2-ones: a new class of calcium-dependent, large conductance, potassium (maxi-K) channel openers targeted for post-stroke neuroprotection. *Bioorg Med Chem Lett*. 2002;12(13):1779-83.
55. Al-Karagholi MA, Ghanizada H, Nielsen CA, Hansen JM, Ashina M. Opening of BKCa channels causes migraine attacks: a new downstream target for the treatment of migraine. *Pain*. 2021;162(10): 2512-20.
56. Overington J, Al-Lazikani B, Hopkins A. How many drug targets are there? *Drug Discov*. 2006;5:993-6.
57. Dunlop J. Turning up the pace of ion channel screening in drug discovery. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34:253-64.
58. Raju TN. The nobel chronicles. *Lancet*. 2000; 355:1022.
59. Golovenko MYa. Propoxazepam is an innovative analgesic that inhibits acute and chronic pain and has a polymodal mechanism of action. *Visn NAN Ukr*. 2021;4:76-90.

*Матеріал надійшов
до редакції 17.05.2022*