

УДК 612.82: 615.015

<https://doi.org/10.24959/cphj.21.1541>**М. Я. Головенко**

Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України

## СУБОДИНИЧНІ КОМПОЗИЦІЇ ГАМК<sub>A</sub>-ЕРГІЧНИХ РЕЦЕПТОРІВ, ЩО ВИЗНАЧАЮТЬ РІЗНОМАНІТНІ ФІЗІОЛОГІЧНІ ПРОЦЕСИ І НЕЙРОТРОПНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Гамма-аміноасляна кислота (ГАМК) стала відомою потенційно важливою сполукою в мозку 50 років тому, але її значення як нейротрансмітера було повністю встановлено лише через 16 років. Тепер відомо, що щонайменше 40 % гальмівної синаптичної активності в мозку ссавців припадає на ГАМК.

**Мета дослідження.** У цьому огляді проведено аналіз науково-практичних досягнень у вивченні фізіологічної та фармакологічної ролі підтипів рецепторів ГАМК, їх можливого застосування в створенні лікарських засобів та оновленої інформації про клінічні розробки підтип-селективних сполук рецепторів ГАМК.

**Результати.** ГАМК<sub>A</sub>-рецепторний комплекс (ГАМК-РК) представляє собою ліганд-керовані іонні канали з хлоридною провідністю. Ці рецептори містять  $\alpha$ -,  $\beta$ - і  $\gamma$ -субодиниці, але також можуть бути присутніми і  $\delta$ -,  $\epsilon$ -,  $\theta$ - і  $\rho$ -композиції. Сайт зв'язування ГАМК розташований на кордоні між  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиницями, де також знаходиться і низка важливих амінокислот. ГАМК-РК чутливий до широкого спектра лікарських засобів, наприклад, бензодіазепінів (БДЗ), які часто використовуються в медичній практиці як седативні снодійні та анксиолітичні засоби. Класичні БДЗ взаємодіють неселективно з  $\alpha 1,3,5 \beta \gamma 2$  ГАМК-РК на сайті зв'язування, розташованому на  $\alpha+\gamma$ -інтерфейсі.

**Висновки.** Крім потужної і швидкої фармакотерапевтичної дії БДЗ також мають деякий адиктивний потенціал (лікарську залежність), який виникає після взаємодії молекул з  $\alpha 1$ -рецепторами. Використовуючи селективне націлювання на окремі субодиниці, можна не тільки забезпечити основний ефект бензодіазепінів без побічної дії, а й використовувати цей підхід при створенні нових знеболювальних засобів, що було продемонстровано нами на прикладі пропоксазепаму (повного агоніста ГАМК-РК).

**Ключові слова:** ГАМК-рецептор; субодиниці; агоністи; антагоністи; бензодіазепіни; пропоксазепам

**М. Ya. Golovenko***A. V. Bogatskiy Physicochemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine*

### Subunit compositions of GABA<sub>A</sub> receptors determining the diversity of physiological processes and neurotropic properties of medicines

Gamma-aminobutyric acid (GABA) became known as a potentially important chemical in the brain 50 years ago, but its significance as a neurotransmitter was fully found 16 years later. It is now known that at least 40 % of the inhibitory synaptic activity in the mammalian brain is accounted for by GABA.

**Aim.** To analyze achievements in the study of the physiological and pharmacological role of GABA receptor subtypes, their potential applications in drug development and updated information on the clinical development of subtype-selective GABA receptor compounds.

**Results.** The GABA<sub>A</sub>-receptor complex (GABA-RC) is ligand-gated ion channels with chloride conductance. These receptors contain  $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$  subunits, but  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$ , and  $\rho$  can be also present. The GABA binding site is located at the interface between  $\alpha$  and  $\beta$  subunits where a number of important amino acids are also found. GABA-RC is sensitive to a wide range of drugs, e.g. benzodiazepines (BDZ), which are often used for their sedative/hypnotic and anxiolytic effects. Classical BDZ interact non-selectively with  $\alpha 1,3,5 \beta \gamma 2$  GABA-RC in the binding site located at the  $\alpha+\gamma$ - interface.

**Conclusions.** In addition to the potent and rapid pharmacotherapeutic action BDZ also possess some addictive potential (drug dependence), which appears after the interaction of molecules with  $\alpha 1$ -receptors. Using the selective targeting to separate subgroups not only the main effect of BDZ without side effects can be provided, but also one can use this approach in creating new analgesic medicines; we have demonstrated it on the example of propoxazepam (full agonist GABA-R).

**Key words:** GABA<sub>A</sub>-receptors; subunits; agonists; antagonists; benzodiazepines; propoxazepam

**Н. Я. Головенко***Физико-химический институт имени А. В. Богатского НАН Украины*

### Субъединичные композиции ГАМК<sub>A</sub>-эргических рецепторов, определяющие разнообразие физиологических процессов и нейротропных свойств лекарственных средств

Гамма-аминоасляная кислота (ГАМК) стала известной в качестве потенциально важного химического вещества в мозге 50 лет назад, но ее значение в качестве нейротрансмиттера было полностью установлено спустя 16 лет. Теперь известно, что по меньшей мере 40 % ингибирующей синаптической активности в мозге млекопитающих приходится на ГАМК.

**Цель исследования.** В этом обзоре проведен анализ достижений в изучении физиологической и фармакологической роли подтипов рецепторов ГАМК, их возможного применения в создании лекарственных средств и обновленной информации о клинической разработке подтип-селективных соединений рецепторов ГАМК.

**Результаты.** ГАМК<sub>A</sub>-рецепторный комплекс (ГАМК-РК) представляет собой лиганд-управляемые ионные каналы с хлоридной проводимостью. Эти рецепторы содержат субъединицы  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ , но также могут присутствовать  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$  и  $\rho$ . Сайт связывания ГАМК расположен на границе между  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицами, где также находится и ряд важных аминокислот. ГАМК-РК чувствителен к широкому спектру лекарственных средств, например, бензодиазепинов (БДЗ), которые часто используются в медицинской практике из-за их седативного, снотворного и анксиолитического действия. Классические БДЗ взаимодействуют неселективно с  $\alpha 1$ -3,5 $\beta\gamma 2$  ГАМК-РК в сайте связывания, расположенном на интерфейсе  $\alpha+\gamma$ .

**Выводы.** Помимо мощного и быстрого фармакотерапевтического действия БДЗ также обладают некоторым аддиктивным потенциалом (лекарственной зависимостью), который возникает после взаимодействия молекул с  $\alpha 1$ -рецепторами. Используя избирательное нацеливание на отдельные подгруппы, можно не только обеспечить основной эффект БДЗ без побочного действия, но и использовать этот подход при создании новых обезболивающих средств, что продемонстрировано нами на примере пропоксазепам (полного агониста ГАМК-РК).

**Ключевые слова:** ГАМК-рецептор; субъединицы; агонисты; антагонисты; бензодиазепины; пропоксазепам

Гамма-аміномасляна кислота (ГАМК) є найважливішим гальмівним медіатором центральної нервової системи (ЦНС), яка бере участь у її різних дисфункціях та є мішенню для низки лікарських засобів. Механізм дії ГАМК обумовлений її взаємодією з ГАМК-рецепторним комплексом (ГАМК-РК), в якому ділянка зв'язування нейромедіатора та іонний канал складають один макромолекулярний комплекс. Оскільки іонний канал селективно пропускає всередину нейрона аніони хлору, його активація призводить до гіперполяризації цієї клітини і таким чином гальмує запуск потенціалу нейропередачі. ГАМК діє на дві основні групи молекулярних рецепторів – іонотропні (ГАМК<sub>A</sub>/ГАМК<sub>C</sub>) та метаботропні (ГАМК<sub>B</sub>) [1, 2]. ГАМК-ергічні інтернейрони складають основну масу нервових клітин мозку, що виконують функцію гальмування. Цей гальмівний медіатор завжди супроводжує глутамат, припиняючи його збудливу дію. Обидва вони в якості медіаторів використовують приблизно однакову кількість клітин (близько 40 %), що приводить до паритету і тонкої рівноваги збудження і гальмування в мозку. З іншого боку, доведено, що спільне вивільнення гліцину і ГАМК в одному синапсі і одночасна активація гліцинового і ГАМК-РК є механізмом гальмування активності нейронів в різних відділах нервової системи. ГАМК-рецептори дуже поширені в найрізноманітніших відділах ЦНС: неокортексі, таламусі, мозочку, ядрах гіпоталамусу, в сомі та дендритах кортико-кортикальних проекцій пірамідальних нейронів, в області СА1 гіпокампу і в спинному мозку [1]. На теперішній час встановлено важливу роль ГАМК у регуляції різних фізіологічних функцій ЦНС, гормональному гомеостазі та серцево-судинній, дихальній, травній системах тощо.

**Мета** нашої роботи – провести критичний аналіз основних положень, що стосуються молекулярної організації ГАМК-РК. Окреслити можливі шляхи та тенденції розвитку напряму та його використання в створенні оригінальних препаратів з аналгетичним типом дії.

## Історія досліджень ГАМК як медіатора ЦНС

Незважаючи на те, що ГАМК ідентифікували в біологічних тканинах ще у 1910 році, її присутність у ЦНС було описано 40 років потому, а її повне визнання як важливого гальмівного нейротрансмітера сталося лише порівняно недавно (кінець 1960-х – початок 1970-х років). Тільки після 1950 року, коли вільну амінокислоту було достеменно ідентифіковано в мозку ссавців, виник інтерес до її потенційного нейрохімічного значення. При цьому значна увага була приділена паралельним дослідженням Kuffler [3] і Florey [4], в яких описана наявність механізмів збудження і гальмування у ракоподібних. Тільки завдяки ретельному вивченню кори головного мозку К. Крневічем і С. Шварцем [5] були отримані однозначні докази гальмівної дії ГАМК. Значно пізніше в дослідях з бікукуліном було показано, що він не тільки блокує дію ГАМК, але й процес постсинаптичного гальмування в корі головного мозку. Після цих основних спостережень зросла дослідницька діяльність у цій галузі. Звичайно, віднесення будь-якої речовини до нейротрансмітера вимагає дотримання певних критеріїв [6]:

1. Молекула має бути присутньою та концентруватися в пресинаптичному нейроні, переважно в синаптичних везикулах.

2. Ферменти, що каталізують синтез цієї молекули, мають знаходитись у пресинаптичних терміналах для її генерації.

3. Аксо-аксональна деполаризація повинна тимчасово вивільняти молекули кальцій-залежним механізмом у високій концентрації в синаптичну щілину.

4. Специфічні рецептори, які зв'язують молекулу, повинні бути присутніми на мембрані постсинаптичної клітини, активація якої може відбуватись за допомогою екзогенних молекул.

5. У синапсі повинні існувати ферменти і/або транспортери для швидкого припинення дії молекули.

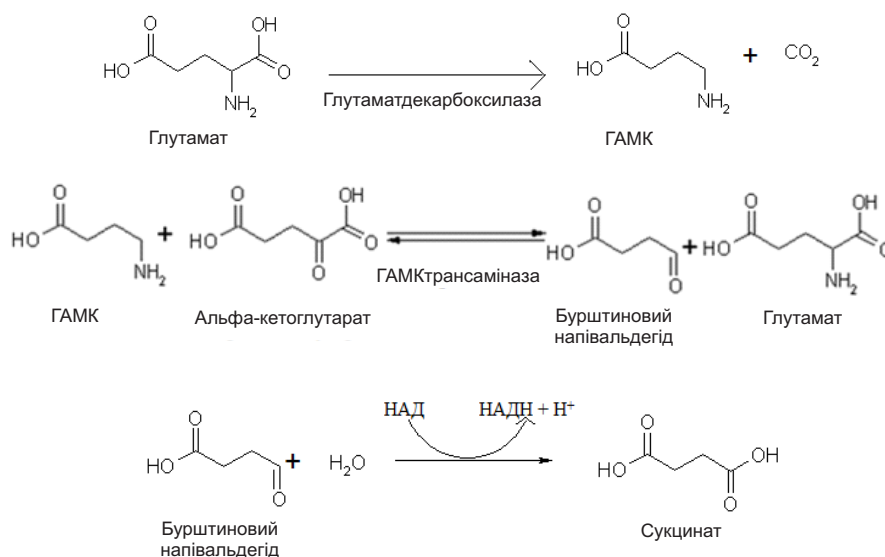


Рис. 1. Послідовність перетворень ГАМК-шунта [9]

У результаті досліджень було підтверджено, що ГАМК відповідає усім зазначеним критеріям, тобто є нейротрансмітером гальмівного механізму дії. У 70-х і 80-х роках значна увага приділялася визначенню природи рецептора, через який діє ГАМК. Це привело до появи в кінці 80-х років концепції «іонотропних рецепторів» [7], які є білковими комплексами, де різні хімічні сполуки не взаємодіють безпосередньо з ГАМК. Було показано, що такі речовини, як загальні анестетики нейростероїди підсилюють ефект ГАМК, але дія найважливішого з них модулятора, похідного 1,4-бензодіазепіну (БДЗ) вперше описана лише в 1975 році [8].

Паралельно з вивченням фізіологічної ролі ГАМК особливу увагу було приділено питанню синтезу і метаболізму молекули в нервовій тканині. Метаболічний шлях, що вміщує синтез ГАМК з глутамату та її катаболізм до сукцинату та гамма-оксимасляної кислоти, отримав назву «ГАМК-шунта» (рис. 1).

Близько 10 % глутамінової кислоти в ЦНС перетворюється на ГАМК, і цей процес каталізується глутаматдекарбоксилазою (ГДК КФ 4.1.1.15). В ГАМК-ергічних нейронах знаходяться дві ізоформи ГДК, які кодуються двома різними генами [10, 11]. Відповідно до їх молекулярних мас (приблизно 65 і 67 kDa), амінокислотних послідовностей, клітинних і субклітинних місць розташування та взаємодії з кофактором їх позначають як ГДК 65 і ГДК 67. Залишається неясною фізіологічна роль цих двох ізоформ ферменту, які виконують одні і ті ж функції.

Ензими катаболізму ГАМК локалізовані окремо від ГДК. Так ГАМК-трансаміназа (ГАМК-Т, КФ 2.6.1.19) знаходиться в сірій речовині мозку, але зустрічається також і в інших тканинах. ГАМК-Т виявлена в мітохондріях, в той час як

ГДК і ГАМК локалізовані в синапсоматах. Кінцевим ензимом шунта є дегідрогеназа бурштинового напівальдегіду, який каталізує перетворення бурштинового напівальдегіду на бурштинову кислоту. Він поширений в ЦНС там же, де і ГАМК-Т. На відміну від синтезу розпад ГАМК здійснюється внутрішньомітохондріальними ензимами гліальних клітин, куди вони транспортуються із синаптичної щілини [12].

### Молекулярна організація структури ГАМК-РК та її розподіл у ЦНС

В кінці 1980-х років завдяки методам молекулярної біології (молекулярне клонування, гетерологічна експресія, сайт-спрямований мутагенез), а також електрофізіологічним і мікроскопічним аналізам було визначено структуру ГАМК-РК. Сприятливим для цього виявився і той факт, що ГАМК-РК є членом суперсімейства Cys-петельних ліганд-керованих каналів, до яких також належать нікотинові, ацетилхолінові, гліцинові і 5HT<sub>3</sub>-рецептори. Уже у той час існувала достеменна інформація щодо їх структури і функції. У межах кожного класу субодиниці мають 60-70 % ступінь гомології, а між класами – тільки 30-40 % [13]. Тому моделі ГАМК-РК ґрунтуються на гомології ектодомену цього рецептора з ацетилхолін-зв'язувальним білком (AChBP), структура якого була визначена методом рентгеноструктурного аналізу [14] і гомології трансмембранних доменів ГАМК-РК і нікотинового холінорецептора [15]. Кожна субодиниця рецептора представлена поліпептидним ланцюгом, що складається з ~ 450 амінокислотних залишків, які мають загальну топологію. Приблизно половина поліпептидного ланцюга кожної субодиниці – це направлений на поверхню гідрофільний N-термінальний домен, що містить

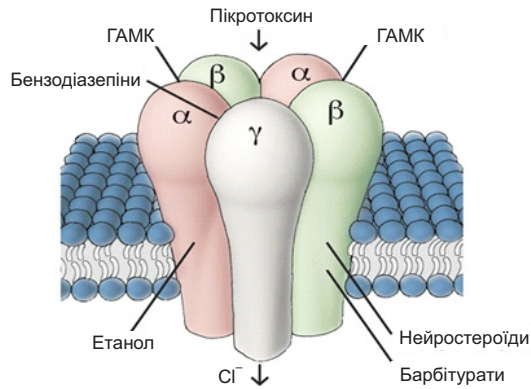


Рис. 2. Схема розташування ГАМК-рецепторного комплексу в біомембрані, де п'ять білкових субодиниць створюють центральну пору та місця зв'язування модуляторів його активності

Сус-петлю, за яким слідує чотири позаклітинні трансмембранні домени M1-M4 (200-250 залишків амінокислот) і ділянки зв'язування агоністів та модуляторів. Між M3 і M4 (85-255 залишків) знаходиться велика внутрішньоклітинна петля, яка бере участь у стабілізації і фіксації рецептора в клітинній мембрані. Карбоксильний кінець поліпептидного ланцюга також є звернутим назовні. Пентамерний комплекс субодиниць (рис. 2) формує нативний ГАМК-РК, причому домени TM2 кожної субодиниці розташовані так, що створюють іонний канал, по якому після активації рецептора проходять аніони  $\text{Cl}^-$  та  $\text{HCO}_3^-$ .

Оскільки рецептор складається з 5 субодиниць, то на додаток до них приєднуються одна-дві  $\gamma$ - або  $\delta$ -субодиниці [16]. Більшість таких рецепторів містить хоча б одну  $\alpha 1$ -субодиницю спільно з  $\beta 2$ -,  $\beta 3$ - і  $\gamma 2$ -субодиницями. Найбільш загальне поєднання  $\alpha 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\gamma 2$  є у 66 % рецепторів ГАМК, які безпосередньо приєднуються до  $\beta$ -субодиниць рецептора. Бензодіазепінова (БДЗ) ділянка зв'язування розташована на кордоні між  $\alpha$ - і  $\gamma$ -субодиницями, але саме зв'язування цих молекул відбувається на  $\alpha$ -субодиниці, в той час як  $\gamma$ -субодиниця ( $\gamma 2$ ) відповідальна за фармакологічну відповідь. Встановлено, що найбільш міцне зв'язування з БДЗ відбувається тоді, коли в рецепторі є  $\alpha$ - і/або  $\beta$ -субодиниці. Показано [17], що більшість генів субодиниць ГАМК-РК згруповано в кластери людських хромосом 4 ( $\alpha 4$ ,  $\beta 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\gamma 1$ ), 5 ( $\alpha 6$ ,  $\beta 2$ ,  $\alpha 1$ ,  $\gamma 2$ ), 15 ( $\beta 3$ ,  $\alpha 5$ ,  $\gamma 3$ ) і X ( $\theta$ ,  $\alpha 3$ ,  $\epsilon$ ). Незважаючи на майже 2,5 мільйонів можливих перестановок субодиниць, кількість найбільш поширених рецепторів у мозку значно менша ( $\alpha 1\beta\gamma 2$ ,  $\alpha 2\beta\gamma 2$ ,  $\alpha 3\beta\gamma 2$ ,  $\alpha 4\beta\gamma 2$ ,  $\alpha 5\beta\gamma 2$ ,  $\alpha 6\beta\gamma 2$ ,  $\alpha 4\beta\delta$ ,  $\alpha 6\beta\delta$ ). Теоретично ймовірна кількість таких комбінацій рецепторів може складати 26 [18].

Ключем до розуміння розмаїття рецепторів є ідентифікація сигналів збірки молекули, які

визначають тип субодиниць з переважним розташуванням одна з однією. Під час згортання та олігомеризації кожна субодиниця має пізнавати своїх сусідів за допомогою специфічних взаємодій з високою спорідненістю. З'єднання субодиниць в олігомерну молекулу рецептора відбувається за рахунок взаємодії певних контактних ділянок, між якими утворюються відповідні хімічні зв'язки, і такий процес самозборки відрізняється високою специфічністю. Протомери білка «впізнають» один одного і з'єднуються тільки між собою комплементарними поверхнями, а помилкове з'єднання практично неможливе.

Для ГАМК-РК особливого значення набуває також можливий вибір між різними субодиницями для досягнення їх правильного розташування навколо пори. Доведено [19], що п'ять субодиниць ГАМК-РК розташовуються псевдосиметрично навколо центрального іонного каналу, і кожна субодиниця має позаклітинні кінцеві аміно- та карбоксильні домени з внутрішньоклітинною петлею між доменами 3 і 4. Субодиниці одночасно і трансляційно вставляються в мембрани ендоплазматичного ретикулу, після чого вони формуються і олігомеризуються. Правильно складені і олігомеризовані рецептори ГАМК переносяться на поверхню клітини, тоді як дефектні зберігаються в ендоплазматичній сітці і деградують [20].

Не менш важливим аспектом молекулярної організації структури ГАМК-РК є встановлення будови центрів, які забезпечують зв'язування речовин. Виявлення відповідного набору субодиниць стало можливим завдяки рентгеноструктурній кристалографії білка AChBP [14] і ГАМК<sub>A</sub>-рецептора. На основі цих даних змодельовано екстраклітинний домен пентамерного ГАМК-РК, що складається з двох  $\alpha$ -, двох  $\beta$ - і однієї  $\gamma$ -субодиниць, і виявлено їх розташування [21]. Виявилось, що такий домен складається з варіабельного N-кінця і двох  $\beta$ -структур, які утворюють вигнутий «сендвіч» [22]. Кожна субодиниця має «головний» (+) і «додатковий» (-) бік. В екстраклітинному домені виявлено п'ять доступних для розчинених речовин кишень, розташованих між субодиницями. Місця зв'язування ГАМК на рецепторах розташовані в кишнях на двох кордонах між субодиницями  $\beta+\alpha$ -, а БДЗ – в кишні між субодиницями  $\alpha+\gamma$ -.

Надходження ГАМК та інших лігандів здійснюється через щілину, яка розташована із зовнішнього, а не з внутрішнього боку отвору каналу рецептора. Геометрія кишні сприяє більш глибокому проникненню антагоністів у примембранну частину щілини, що призводить до блокування алостеричних змін, в яких бере участь процес пересування петель F на додатковому боці і/або A і C на основному боці [23].

Комбінації субодиноць специфічно розподіляються у різних частинах мозку, що регулює синаптичну передачу та її інтеграцію. Методами гібридизації та імуногістохімічного аналізу було встановлено [24, 25], що деякі субодиноці мають велике поширення в ЦНС, інші – обмежене. Якщо субодиноці  $\alpha 1$ ,  $\beta 1$ -3,  $\gamma 2$  і  $\gamma 3$  локалізуються в усіх зонах мозку, то  $\alpha 2$ -6,  $\gamma 1$  і  $\delta$  виявлені тільки у деяких, де спостерігається комплементарний розподіл субодиноць  $\alpha 2$ ,  $\alpha 4$ ,  $\beta 3$  і  $\delta$  відповідно субодиноць  $\alpha 1$ ,  $\beta 2$  і  $\gamma 2$ . Субодиноця  $\alpha 1$  є найбільш поширеною, так як 70-90 % всіх ГАМК-РК містять її. Субодиноці  $\gamma 2$  і  $\beta 2$  також численні і входять до складу 50-70 % рецепторів. Субодиноці  $\beta 1$  і  $\beta 3$  присутні в складі 20-30 % і 40-55 % усіх рецепторів, відповідно, в той час як  $\gamma 3$ -субодиноці – тільки в 3-4 % [26]. У гіпокампі близько 13 % рецепторів складаються з  $\alpha 4$  субодиноць і 31 % рецепторів із  $\alpha 5$  субодиноць. У таламусі 20 % рецепторів містять субодиноцю  $\alpha 4$  і 16 % – субодиноцю  $\delta$ . Субодиноця  $\alpha 6$  більшою мірою (56 %) локалізується в клітинах-зернах. Субодиноця  $\gamma 1$  є найменш численною, так як присутня приблизно у 3-7 % ГАМК-РК медіальних ядер мигдалини і ретикулярної частини чорної субстанції.

Субодиноця  $\theta$  експресується в гіпоталамусі, мигдалині, гіпокампі, чорній субстанції, дорзальних ядрах шва і блакитній плямі [27]. Вона також демонструє патерн експресії в мозку та значно перекривається з субодиноцею  $\epsilon$ , особливо в септумі, різних гіпоталамічних ядрах, мигдалині і таламусі. Субодиноця  $\rho$  експресується в основному в сітківці.

Окремі субодиноці ГАМК-РК мають не однаковий розподіл і в межах одного нейрону. Так, у клітинах-зернах мозочка було виявлено субодиноці  $\alpha 1$ ,  $\alpha 6$ ,  $\beta 2/3$ , а також  $\gamma 2$  у синапсах, утворених клітинами Гольджі і в екстрасинаптичній мембрані. У той же час  $\delta$ -субодиноця у незначній кількості присутня в екстрасинаптичній мембрані дендритів і соми. Не виключена можливість, що спільно з  $\delta$  субодиноцею у цих рецепторах знаходяться також  $\alpha 6$ - і  $\beta$ -субодиноці [28]. Таке поєднання субодиноць ( $\alpha 6\beta\delta$ ) є в 50 разів чутливішим до ГАМК, ніж рецептори, що містять  $\alpha 1\beta\gamma 2$ -ізоформи. Вони володіють також меншою провідністю одиночних каналів і великим часом відкритого стану і довго не десенситизують у присутності ГАМК [29].

Є також дані про наявність двох популяцій ГАМК-РК з різними кінетичними властивостями в пірамідних нейронах поля CA1 гіпокампу. Одні є повільними екстрасинаптичними рецепторами мембран соми, які відповідають на аплікацію екзогенної ГАМК. Інші є синаптичними рецепторами, які генерують швидкі постсинаптичні струми [30].

Останнім часом увага дослідників прикута до ГАМК-РК спинного мозку, так як цей рецептор бере участь в антиноцицептивній дії низки лікарських засобів. У спінальних і супраспінальних ноцицептивних системах ЦНС, де відбувається реалізація, проведення, обробка та контроль нейрональної імпульсації при болю, відзначається високий вміст ГАМК і її рецепторів. Нейромедіатор виявлено на всіх рівнях ноцицептивної системи: рогах спинного мозку, ядрах шва, ретикулярній формації, передній частині інсулярної кори та додатковому ядрі [31]. У спинному мозку, як і в інших структурах ЦНС відзначається гетерогенність композицій субодиноць рецептора: ( $\alpha 3/\beta 2,3/\gamma 2$ ); ( $\alpha 2/\beta 2,3/\gamma 2$ ); ( $\alpha 1/\beta 2,3/\gamma 2$ ); ( $\alpha 5/\beta 2,3/\gamma$ ); ( $\alpha 1/\alpha 5/\beta 2,3/\gamma 2$ ); ( $\alpha 2/\gamma 2$ ); ( $\alpha 2/\alpha 5/\gamma 2$ ). У пластинках дорзальних рогів, пов'язаних з ноцицепцією, переважають субодиноці  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$  та  $\gamma 2$  [32].

#### **Кишені всередині субодиноць і в субодиночних інтерфейсах як можливі місця зв'язування нейроактивних лікарських засобів – модуляторів ГАМК-РК**

Наявність великої кількості порожнин у молекулі ГАМК-РК сприяє розташуванню різних по структурі ендотекзогенних речовин, здатних регулювати його активність [21]. Природними модуляторами рецепторів є нейростероїди [33] та канабіноїди [34]. До числа синтетичних хімічних модуляторів відносяться БДЗ, барбітурати, етанол, а також конкурентні антагоністи бікукулін і каналний блокатор пікротоксин [35]. Найбільш успішними виявилися дослідження сайту ГАМК-РК, що зв'язує БДЗ. Звідси така структура отримала назву «бензодіазепінових рецепторів» (БДЗ-Р). В літературі також часто зустрічаються терміни ГАМК-бензодіазепіно-рецепторно-іонофорний комплекс (ансамбль), ГАМК-бензодіазепіно-іонофор тощо. В цих назвах відображається не тільки складність комплексу, але і тісний контакт його компонентів.

БДЗ відносяться до конденсованих гетероциклічних систем, що містять бензольне та 1,4-бензодіазепінове ядро. Більшість вивчених 1,4-БДЗ має в положенні 5 циклічний замісник (найчастіше арил).

За останні 50 років синтезовано значну кількість похідних БДЗ, і більш ніж 30 з них знаходяться в клінічному використанні. Значний внесок у розробку методів синтезу та вивчення властивостей БДЗ, а відтак і ГАМК-РК зроблено одеськими вченими державного університету імені І. І. Мечникова та Фізико-хімічного інституту НАН України, які почали дослідження у цьому напрямку першими в світі [36, 37], а роботи яких мали не тільки теоретичне, але й практичне

значення. За цей час було розроблено та впроваджено в широку медичну практику такі інноваційні нейротропні лікарські засоби, як феназепам (анксіолітик), гідазепам (денний анксіолітик) та левана (гіпнотик).

Завдяки БДЗ як нейрохімічним аналізаторам було доведено [38], що ці сполуки мають одне місце зв'язування на ГАМК-РК, що містить 2 $\alpha$ -, 2 $\beta$ - і 1 $\gamma$ -субодиниці, в той час як ГАМК має два місця зв'язування. Амінокислотні залишки His-101, Tyr-159, Gly-200, Thr-206 і Tyr-209 на  $\alpha$ 1-й субодиниці і Phe-77, Ala-79, Thr-81 і Met-130 на  $\gamma$ 2-й субодиниці є частиною зв'язувальної кишені для БДЗ. Складчаста ділянка, яка розміщується біля  $\gamma$ 2Phe-77, має  $\beta$ -структуру і піддається конформаційній зміні в процесі активації каналу, що приводить до гіперполяризації клітини і пояснює інгібуючий ефект ГАМК у всій ЦНС.

Залежно від складу субодиниць і фармакологічної дії БДЗ їх рецептори відносяться до трьох типів. До БДЗ-Р 1-го типу, з якими переважно зв'язуються повні агоністи, відносяться  $\alpha$ 1 $\beta$  $\gamma$ 2-субодиниці, які у корі головного мозку складають 60 %, в мозочку – 90 %, в гіпокампі – 40 % від їх загального числа. Субодиниці  $\alpha$ 2,  $\alpha$ 3,  $\alpha$ 5 $\beta$  $\gamma$ 2 класифікуються як рецептори 2-го типу і мають 10-ти кратне зниження спорідненості до БДЗ. У той же час  $\alpha$ 6- і  $\alpha$ 4-рецептори не мають спорідненості до повних агоністів, хоча зберігають високу афінність до часткового агоніста Ro 15-4513 [39]. У субодиниць  $\alpha$ 4 і  $\alpha$ 6 відсутній критично важливий для  $\alpha$ 1 амінокислотний залишок N101, який замінено на аргінін, тому вони діазепам-нечутливі і являють собою третій тип рецептора.

БДЗ не здатні активувати ГАМК-РК, однак, взаємодіючи зі своїм місцем зв'язування, вони викликають конформаційні зміни рецептора, які приводять до підвищення його афінності до ГАМК. Цей тип взаємодії є прикладом алостеричної модуляції. На рівні одиночних каналів БДЗ підвищують середній час відкритого стану каналів [40]. БДЗ, які використовуються в медичній практиці, відносяться до повних агоністів.

Агоністичний вплив лігандів безпосередньо на підтипи БДЗ-Р має клінічні наслідки. Більшість класичних БДЗ володіє спорідненістю до  $\alpha$ 1 $\beta$  $\gamma$ 2-,  $\alpha$ 2 $\beta$  $\gamma$ 2-,  $\alpha$ 3 $\beta$  $\gamma$ 2- або  $\alpha$ 5 $\beta$  $\gamma$ 2-субодиниць ГАМК-РК, здійснюючи таким чином відповідні нейротропні ефекти. Молекулярно-генетичними дослідженнями доведено, що седативний і протисудомний ефекти БДЗ обумовлені їх зв'язуванням з підтипом  $\alpha$ 1, тоді як анксіолітичні властивості залежать від модуляції  $\alpha$ 2- і  $\alpha$ 5-рецепторів [41]. Порушення координації рухів у тварин відбувається у результаті зв'язування ліганду з підтипами рецепторів  $\alpha$ 2 і  $\alpha$ 3, а субодиниця  $\alpha$ 5 додатково бере участь у навчанні і пам'яті [42].

Антигіпералгезивний ефект БДЗ залежить головним чином від  $\alpha$ 2-субодиниці спинного мозку [32].

Зростаюче розуміння ролі рецепторів ГАМК використовується у розробці інноваційних лікарських засобів, які мають селективність до конкретних субодиниць ГАМК-РК, необхідних для терепавтичної дії, але без або з мінімумом побічної дії. Останнім часом синтезовано снодійні небензодіазепінові ліганди рецептора золпідем та залеплон, які здатні диференційно взаємодіяти з  $\alpha$ 1 $\beta$  $\gamma$ 2-субодиницями [43]. Крім того, екстраїнаптичний селективний агоніст ГАМК-РК, габоксадол (ТНІР), який головним чином нацелений на нечутливі до БДЗ субодиниці  $\alpha$ 4 $\beta$ 3 $\delta$ , проходить останні стадії клінічних досліджень для лікування безсоння [44]. Іншими потенційно корисними препаратами можуть бути селективні агоністи  $\alpha$ 2- або  $\alpha$ 3-підтипів рецептора (неседативні анксіолітики) та зворотні агоністи  $\alpha$ 5-підтипів (ноотропи) [45].

Наші знання ролі окремих субодиниць ГАМК-РК у фармакологічній дії нейротропних препаратів можуть відіграти суттєву роль у «реабілітації» БДЗ, так як трагічність долі більшості цих препаратів полягає в тому, що крім потужного і швидкого фармакотерапевтичного ефекту їм притаманний деякий адиктивний потенціал, здатний викликати патологічну пристрасть (лікарську залежність). Враховуючи той факт, що механізм зазначеного явища у більшості випадків залежить від взаємодії БДЗ-препаратів із  $\alpha$ 1-вмісними рецепторами, наша увага була приділена підтипам  $\alpha$ 2 $\beta$  $\gamma$ 2 і  $\alpha$ 3 $\beta$  $\gamma$ 2, які відповідають за деякі антиноцицептивні властивості лігандів [46]. Такими сполуками виявилися 3-заміщені БДЗ (3-ариліден-, 3-алкокси-, 3-ацилокси- та 3-ариламінопохідні), які на традиційних моделях виявили аналгетичну та протизапальну дію, що дозволило побудувати наукову базу для створення нового ефективного і безпечного знеболювального засобу – пропоксазепаму: 7-бром-5-(о-хлорофеніл)-3-пропокси-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону. Сполучі притаманна аналгетична, що дає можливість одночасного знеболення в умовах гострого та хронічного болю [47], та протизапальна дія [48].

На моделі стрихнінових судом нами також показано [49], що пропоксазепам взаємодіє з гліцинергічною системою ЦНС. Дія стрихніну, основного антагоніста гліцину, полягає в постійному порушенні мотонейронів, сенсорних нейронів, а також загального відчуття болю [50]. У дорзальному розі спинного мозку сенсорні нейрони утворюють синапси з первинним центром обробки больової інформації (інтернейронами), де мережа гальмівних нейронів регулює передачу сигналу далі в головний мозок. Так що

стрихнін, блокуючи рецептор гліцину, багато-разово підсилює больові відчуття. Стимуляція цього рецептора може послабити біль [32], що і досягається за рахунок дії пропоксазепаму.

Бензодіазепіни, як правило, не вважаються знеболювальними засобами. Їм бракує чіткої ефективності при системному призначенні людям. Більше того, їх седативна дія (підтип  $\alpha 1$  ГАМК-РК) зводить на нівець корисність БДЗ як знеболювальних засобів [50]. Що стосується пропоксазепаму, то у нашому дослідженні [51] було доведено, що ця сполука має мінімальну седатію (анксіолізис) у дозах, що значно перевищують терапевтичну.

## ВИСНОВКИ

Ці результати свідчать про те, що позитивні алостеричні модулятори (агоністи)  $\alpha 2/\alpha 3$  підтипів ГАМК-РК є новим перспективним класом знеболювальних препаратів, наприклад, при станах, пов'язаних із запальним або нейропатичним болем як окремо, так і в поєднанні з наявними анальгетиками.

Враховуючи ефективність та безпечність пропоксазепаму, відповідно до вимог ДЕЦ МОЗ України підготовлено та передано до Регуляторного органу України досьє на сполуку та протокол першої фази клінічної апробації.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

## Перелік використаних джерел інформації

- Bormann J. The "ABC" of GABA receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2000. Vol. 21, Iss. 1. P. 16–19. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(99\)01413-3](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(99)01413-3).
- Glykys J, Mody I. Activation of GABA<sub>A</sub> Receptors: Views from Outside the Synaptic Cleft. *Neuron*. 2007. Vol. 56, Iss. 5. P. 763–770. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.11.002>.
- Kuffler S. W. Mechanisms of activation and motor control of stretch receptors in lobster and crayfish. *Journal of Neurophysiology*. 1954. Vol. 17, Iss. 6. P. 558–574. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.1954.17.6.558>.
- Florey E. An inhibitory and an excitatory factor of mammalian central nervous system, and their action on a single sensory neuron. *Archives Internationales de Physiologie*. 1954. Vol. 62, Iss. 1. P. 33–53. DOI: <https://doi.org/10.3109/13813455409145367>.
- Krnjevic K., Schwartz S. The action of  $\gamma$ -aminobutyric acid on cortical neurones. *Experimental Brain Research*. 1967. Vol. 3. P. 320–326. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00237558>.
- Smart T. G., Stephenson F. A. A half century of  $\gamma$ -aminobutyric acid. *Brain and Neuroscience Advances*. 2019. Vol. 3. P. 1–9. DOI: <https://doi.org/10.1177/2398212819858249>.
- Olsen R. W., Tobin A. J. Molecular biology of GABA<sub>A</sub> receptors. *The FASEB Journal*. 1990. Vol. 4, Iss. 5. P. 1469–1480. DOI: <https://doi.org/10.1096/fasebj.4.5.2155149>.
- Possible involvement of GABA in the central actions of benzodiazepines / W. Haefely et al. *Advances in Biochemical Psychopharmacology*. 1975. № 14. P. 131–151.
- Yogeeswari P., Sriram D., Vaigundaragavendran J. The GABA Shunt: An Attractive and Potential Therapeutic Target in the treatment of epileptic disorders. *Current Drug Metabolism*. 2005. Vol. 6, Iss. 2. P. 127–139. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389200053586073>.
- Two genes encode distinct glutamate decarboxylases / M. G. Erlander et al. *Neuron*. 1991. Vol. 7, Iss. 1. P. 91–100. DOI: [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(91\)90077-D](https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90077-D).
- Roberts E., Frankel S. Gamma-Aminobutyric Acid in Brain: Its Formation From Glutamic Acid. *Journal of Biological Chemistry*. 1950. Vol. 187, Iss. 1. P. 55–63. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14794689/>.
- Erdo S. L. Non-neuronal GABA systems: an overview. *GABA Outside the CNS* / ed. by S. L. Erdö. Berlin, Heidelberg: Springer, 1992. P. 97–110. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-76915-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-642-76915-3_7).
- Sieghart W. Structure and pharmacology of gamma-aminobutyric acid A receptor subtypes. *Pharmacological Reviews*. 1995. Vol. 47, Iss. 2. P. 181–234.
- Crystal Structure of an ACh-binding Protein Reveals the Ligand-Binding Domain of Nicotinic Receptors / K. Brejc et al. *Nature*. 2001. Vol. 411. P. 269–276. DOI: <https://doi.org/10.1038/35077011>.
- Amygdala and nucleus accumbens in responses to receipt and omission of gains in adults and adolescents / M. Ernst et al. *NeuroImage*. 2005. Vol. 25, Iss. 1. P. 1279–1291. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.12.038>.
- Structure of GABARAP in two conformations: implications for GABA(A) receptor localization and tubulin binding / J. E. Coyle et al. *Neuron*. 2002. Vol. 33, Iss. 1. P. 63–74. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00558-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00558-X).
- McLean P. J., Farb D. H., Russek S. J. Mapping of the  $\alpha 4$  subunit gene (GABRA4) to human chromosome 4 defines an  $\alpha 2$ - $\alpha 4$ - $\beta 1$ - $\gamma 1$  gene cluster: Further evidence that modern GABA<sub>A</sub> receptor gene clusters are derived from an ancestral cluster. *Genomics*. 1995. Vol. 26, Iss. 3. P. 580–586. DOI: [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(95\)80178-0](https://doi.org/10.1016/0888-7543(95)80178-0).
- Olsen R. W., Sieghart W. International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of  $\gamma$ -aminobutyric acid<sub>A</sub> receptors: classification on the basis of subunit composition, pharmacology, and function. Update. *Pharmacological Reviews*. 2008. Vol. 60, Iss. 3. P. 243–260. DOI: <https://doi.org/10.1124/pr.108.00505>.
- Associative learning disrupted by impaired Gs signaling in Drosophila mushroom bodies / J. B. Connolly et al. *Science*. 1996. Vol. 274, Iss. 5295. P. 2104–2107. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.274.5295.2104>.
- Complementary roles of cholecystokinin- and parvalbumin- expressing GABAergic neurons in hippocampal network oscillations / T. Klausberger et al. *Journal of Neuroscience*. 2005. Vol. 25, Iss. 42. P. 9782–9793. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3269-05.2005>.
- Comparative modeling of GABAA receptors: limits, insights, future developments / M. Ernst et al. *Neuroscience*. 2003. Vol. 119, Iss. 4. P. 933–943. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(03\)00288-4](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(03)00288-4).
- Baumann S. W., Baur R., Sigel E. Forced subunit assembly in alpha1beta2gamma2 GABAA receptors. Insight into the absolute arrangement. *The Journal of Biological Chemistry*. 2002. Vol. 277. P. 46020–46025. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M207663200>.

23. Holden J. H., Czajkowski C. Different residues in the GABA<sub>A</sub> receptor alpha 1T60-alpha 1K70 region mediate GABA and SR-95531 actions. *The Journal of Biological Chemistry*. 2002. Vol. 277, Iss. 21. P. 18785–18792. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M111778200>.
24. The distribution of GABA<sub>A</sub> receptor subunit mRNAs in the rat brain. I. Telencephalon, diencephalon, mesencephalon / W. Wisden et al. *Journal of Neuroscience*. 1992. Vol. 12, Iss. 3. P. 1040–1062. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-03-01040>.
25. Unified model of the GABA<sub>A</sub> receptor comprising agonist and benzodiazepine binding sites / R. Bergmann et al. *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8, Iss. 1. P. e52323. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052323>.
26. Subcellular localization and endocytosis of homomeric gamma2 subunit splice variants of gamma-aminobutyric acid type A receptors / C. N. Connolly et al. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 1999. Vol. 13, Iss. 4. P. 259–271. DOI: <https://doi.org/10.1006/mcne.1999.0746>.
27. Localisation of GABA<sub>A</sub> receptor  $\epsilon$ -subunit in cholinergic and aminergic neurons and evidence for co-distribution with the  $\theta$ -subunit in rat brain / N. Moragues et al. *Neuroscience*. 2002. Vol. 111, Iss. 3. P. 657–669. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(02\)00033-7](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00033-7).
28. Nusser Z. AMPA and NMDA receptors: similarities and differences in their synaptic distribution. *Current Opinion in Neurobiology*. 2000. Vol. 10, Iss. 3. P. 337–341. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(00\)00086-6](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(00)00086-6).
29. Saxena N. C., Macdonald R. L. Assembly of GABA<sub>A</sub> receptor subunits: role of the  $\gamma$  subunit. *Journal of Neuroscience*. 1994. Vol. 14, Iss. 11. P. 7077–7086. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-11-07077.1994>.
30. Farrant M., Nusser Z. Variations on an Inhibitory Theme: Phasic and Tonic Activation of GABA(A) Receptors. *Nature Reviews Neuroscience*. 2005. Vol. 6, Iss. 3. P. 215–229. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn1625>.
31. Enna S. J., McCarron K. E. The role of GABA in the mediation and perception of pain. *Advances in Pharmacology*. 2006. Vol. 54. P. 1–27. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1054-3589\(06\)54001-3](https://doi.org/10.1016/S1054-3589(06)54001-3).
32. Laminar Compartmentalization of GABA<sub>A</sub>-receptor subtypes in the spinal cord: an Immunohistochemical study / S. Bohlhalter et al. *Journal of Neuroscience*. 1996. Vol. 16, Iss. 1. P. 283–297. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-01-00283.1996>.
33. Belelli D., Lambert J. J. Neurosteroids: endogenous regulators of the GABA(A) receptor. *Nature Reviews Neuroscience*. 2005. Vol. 6. P. 565–575. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn1703>.
34. Sigel E., Lüscher B. P. A closer look at the high affinity benzodiazepine binding site on GABA<sub>A</sub> receptors. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2011. Vol. 11, Iss. 2. P. 241–246. DOI: <https://doi.org/10.2174/156802611794863562>.
35. Sieghart W. Structure, pharmacology, and function of GABA<sub>A</sub> receptor subtypes. *Advances in Pharmacology*. 2006. Vol. 54. P. 231–263. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1054-3589\(06\)54010-4](https://doi.org/10.1016/S1054-3589(06)54010-4).
36. Богатский А. В., Андронати С. А. Современное состояние химии 1,4-бенздиазепинов. *Успехи химии*. 1970. Т. 39, вып. 12. P. 2217–2255. DOI: <https://doi.org/10.1070/RC1970v039n12ABEH002327>.
37. Богатский А. В., Андронати С. А., Головенко Н. Я. Транквилизаторы (1,4-бенздиазепины и родственные структуры). Киев: Наук. думка, 1980. 280 с.
38. Role of the histidine residue at position 105 in the human alpha 5 containing GABA(A) receptor on the affinity and efficacy of benzodiazepine site ligands / M. D. Kelly et al. *British Journal of Pharmacology*. 2002. Vol. 135, Iss. 1. P. 248–256. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704459>.
39. Receptors via a Flunitrazepam-binding site flunitrazepam has an inverse agonistic effect on recombinant alpha6beta2gamma2-GABA<sub>A</sub> receptors via a flunitrazepam-binding site / C. A. Hauser et al. *Journal of Biological Chemistry*. 1997. Vol. 272, Iss. 18. P. 11723–11727. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.272.18.11723>.
40. Benzodiazepine receptor binding of benzodiazepine hypnotics: receptor and ligand specificity / L. G. Miller et al. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1992. Vol. 43, Iss. 2. P. 413–416. DOI: [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(92\)90170-k](https://doi.org/10.1016/0091-3057(92)90170-k).
41. Molecular and neuronal substrate for the selective attenuation of anxiety / K. Löw et al. *Science*. 2000. Vol. 290, Iss. 5489. P. 131–134. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.290.5489.131>.
42. Rudolph U., Möhler H. GABA<sub>A</sub> receptor subtypes: therapeutic potential in Down syndrome, affective disorders, schizophrenia, and autism. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 2014. Vol. 54. P. 483–507. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-011613-135947>.
43. Selective, orally active  $\gamma$ -aminobutyric acid A  $\alpha 5$  receptor inverse agonists as cognition enhancers / F. Sternfeld et al. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2004. Vol. 47, Iss. 9. P. 2176–2179. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm031076j>.
44. GABA(A) agonists and partial agonists: THIP (Gaboxadol) as a non-opioid analgesic and a novel type of hypnotic / P. Krosggaard-Larsen et al. *Biochemical Pharmacology*. 2004. Vol. 68, Iss. 8. P. 1573–1580. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.06.040>.
45. An orally bioavailable, functionally selective inverse agonist at the benzodiazepine site of GABA<sub>A</sub> alpha5 receptors with cognition enhancing properties / M. S. Chambers et al. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2004. Vol. 47, Iss. 24. P. 5829–5832. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm040863t>.
46. Reversal of pathological pain through specific spinal GABA<sub>A</sub> receptor subtypes / J. Knabl et al. *Nature*. 2008. Vol. 451. P. 330–334. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature06493>.
47. Antinociception induced by a novel benzodiazepine receptor agonist and bradykinin receptor antagonist in rodent acute and chronic pain models / N. Ya Golovenko et al. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical sciences*. 2018. Vol. 5, Iss. 12. P. 79–88. URL: [https://www.ejbps.com/ejbps/abstract\\_id/5227](https://www.ejbps.com/ejbps/abstract_id/5227).
48. Anti-inflammatory effects of propoxazepam on different models of inflammation / N. Ya. Golovenko et al. *International Journal of Medicine and Medical Research*. 2019. Vol. 5, Iss. 2. P. 105–112. DOI: <https://doi.org/10.11603/ijmrr.2413-6077.2019.2.10900>.
49. An effector analysis of the interaction of propoxazepam with antagonists of GABA and glycine receptors / N. Ya. Golovenko et al. *Neurochemical Journal*. 2017. Vol. 11. P. 302–308. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1819712417040043>.
50. Enna S. J., McCarron K. E. The role of GABA in the mediation and perception of pain. *Advances in Pharmacology*. 2006. Vol. 54. P. 1–27. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1054-3589\(06\)54001-3](https://doi.org/10.1016/S1054-3589(06)54001-3).
51. Physiological aspects of rat activity, their anxiety and memory after administration of full gaba<sub>a</sub>-receptor complex agonist propoxazepam / M. Golovenko et al. *ScienceRise: Biological Science*. 2020. Vol. 2, Iss. 23. P. 42–48. DOI: <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2020.207368>.



## References

1. Bormann, J. (2000). The "ABC" of GABA receptors. *Trends Pharmacol. Sci*, 21 (1), 16-19. doi: [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(99\)01413-3](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(99)01413-3).
2. Glykys, J., Mody, I. (2007). Activation of GABA<sub>A</sub> Receptors: Views from Outside the Synaptic Cleft. *Neuron*, 56 (6), 763-770. doi: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.11.002>.
3. Kuffler, S. W. (1954). Mechanisms of activation and motor control of stretch receptors in lobster and crayfish. *J. Neurophysiol*, 17, 558-574. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13212426/>.
4. Florey, E. (1954). An inhibitory and an excitatory factor of mammalian central nervous system, and their action on a single-sensory neuron. *Arch. Int. Physiol*, 62, 33-53. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13149232/>.
5. Krnjevic, K., Schwartz, S. (1967). The action of  $\gamma$ -aminobutyric acid on cortical neurones. *Exp. Brain Res*, 3 (4), 320-326. doi: 10.1007/BF00237558.
6. Smart, T. G., Stephenson, F. A. (2019). A half century of  $\gamma$ -aminobutyric acid. *Brain and Neuroscience Advances*, 3, 1-9. doi: <https://doi.org/10.1177/2398212819858249>.
7. Olsen, R. W., Tobin, A. J. (1990). Molecular biology of GABA<sub>A</sub> receptors. *FASEB J*, 4, 1469-1480. <https://doi.org/310.1096/fasebj.4.5.2155149>.
8. Haefely, W., Kulcsar, A., Mohler, H., Pieri, L., Polc, P., Schaffner, R. (1975). Possible involvement of GABA in the central actions of benzodiazepines. *Adv. Biochem. Psychopharmacol*, 14, 131-151.
9. Yogeeswari, P., Sriram, D., Vaigundaragavendran, J. (2005). The GABA Shunt: An Attractive and Potential Therapeutic Target in the treatment of epileptic disorders. *Current Drug Metabolism*, 6, 127-139. doi: <https://doi.org/10.2174/1389200053586073>.
10. Erlander, M. G., Tillakaratne, N. J. K., Feldblum, S., Patel, N., Tobin, A. J. (1991). Two genes encode distinct glutamate decarboxylases *Neuron*, 7, 91-100. doi: [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(91\)90077-d](https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90077-d).
11. Roberts, E., Frankel, S. (1950). gamma-Aminobutyric Acid in Brain: Its Formation From Glutamic Acid. *J. Biol. Chem.*, 187 (1), 55-63. doi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14794689/>.
12. Erdö, S. L. (1992). Non-Neuronal GABA Systems: An Overview. *GABA Outside the CNS*. S. L. Erdö (Ed.). Berlin, Heidelberg: Springer, 97-110. doi: [https://doi.org/10.1007/978-3-642-76915-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-642-76915-3_7).
13. Sieghart, W. (1995). Structure and pharmacology of gamma-aminobutyric acid A receptor subtypes. *Pharmacol. Rev.*, 47 (2), 181-234.
14. Brejc, K., van Dijk W. J., Klaassen, R. V., Schuurmans, M. J., van der Oost, J., Smit, A. B., Sixma, T. K. (2001). Crystal Structure of an ACh-binding Protein Reveals the Ligand-Binding Domain of Nicotinic Receptors, *Nature.*, 411, 269-276. doi: <https://doi.org/10.1038/35077011>.
15. Ernst, M., Nelson, E. E., Jazbec, S., Monk, E. B., Leibenluft, C. S., Blair, J., Pine, D. S. (2005). Amygdala and nucleus accumbens in responses to receipt and omission of gains in adults and adolescents. *NeuroImage*, 25, 1279-1291. doi: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.12.038>.
16. Coyle, J., Qamar, S., Rajashankar, R., Nikolov, B. (2002). Structure of GABARAP in two conformations: implications for GABA(A) receptor localization and tubulin binding. *Neuron.*, 33 (1), 63-74. doi: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00558-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00558-X).
17. McLean, P. J., Farb, D. H., Russek, S. J. (1995). Mapping of the  $\alpha 4$  subunit gene (GABRA4) to human chromosome 4 defines an  $\alpha 2$ - $\alpha 4$ - $\beta 1$ - $\gamma 1$  gene cluster: Further evidence that modern GABA<sub>A</sub> receptor gene clusters are derived from an ancestral cluster. *Genomics*, 26 (3), 580-586. doi: 10.1016/0888-7543(95)80178-o.
18. Olsen, R. W., Sieghart, W. (2008). International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of  $\gamma$ -aminobutyric acid<sub>A</sub> receptors: classification on the basis of subunit composition, pharmacology, and function. *Pharmacol Rev*, 60 (3), 243-260. <https://doi.org/10.1124/pr.108.00505>.
19. Connolly, J. B., Roberts, I. J., Armstrong, J. D., Kaiser, K., Forte, M., Tully, T., O'Kane, C. J. (1996). Associative learning disrupted by impaired Gs signaling in Drosophila mushroom bodies. *Science*, 274, 2104-2107. <https://doi.org/10.1126/science.274.5295.2104>.
20. Klausberger, T., Marton, L. F., O'Neill, J., Huck, J. H. J., Dalezios, Y., Fuentealba, P. et al. (2005). Complementary roles of cholecystokinin- and parvalbumin- expressing GABAergic neurons in hippocampal network oscillations. *J. Neurosci.*, 25, 9782-9793. doi: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3269-05.2005>.
21. Ernst, M., Brauchart, D., Borech, S., Sieghart, W. (2003). Comparative modeling of GABA<sub>A</sub> receptors: limits, insights, future developments. *Neuroscience*, 119 (4), 933-943. doi: [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(03\)00288-4](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(03)00288-4).
22. Baumann, S. W., Baur, R., Sigel, E. (2002). Forced subunit assembly in alpha1beta2gamma2 GABA<sub>A</sub> receptors. Insight into the absolute arrangement. *J. Biol. Chem.*, 277, 46020-46025. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M207663200>.
23. Holden, J. H., Czajkowski, C. (2002). Different residues in the GABA<sub>A</sub> receptor alpha 1T60-alpha 1K70 region mediate GABA and SR-95531 actions. *J. Biol. Chem.*, 277 (21), 18785-18792. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M111778200>.
24. Wisden, W., Laurie, D. J., Monyer, H., Seeburg, P. H. (1992). The distribution of GABA<sub>A</sub> receptor subunit mRNAs in the rat brain. I. Telencephalon, diencephalon, mesencephalon. *J. Neurosci.*, 12, 1040-1062. doi: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-03-01040>.
25. Bergmann, R., Kongsbak, K., Sorensen, P. L., Sander, T., Balle, T. A. (2013). Unified model of the GABA<sub>A</sub> receptor comprising agonist and benzodiazepine binding sites. *PLoS ONE*, 8 (1), e52323. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052323>.
26. Connolly, C. N., Uren, J. M., Thomas, P., Gorrie, G. H., Gibson, A., Smart, T. G., Moss, S. J. (1999). Subcellular localization and endocytosis of homomeric gamma2 subunit splice variants of gamma-aminobutyric acid type A receptors. *Mol Cell Neurosci*, 13 (4), 259-271. doi: <https://doi.org/10.1006/mcne.1999.0746>.
27. Moragues, N., Ciofi, P., Tramu, G., Garret, M. (2002). Localisation of GABAA receptor  $\epsilon$ -subunit in cholinergic and aminergic neurons and evidence for co-distribution with the  $\theta$ -subunit in rat brain. *Neuroscience*, 111 (3), 657-669. doi: [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(02\)00033-7](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00033-7).
28. Nusser, Z. (2000). AMPA and NMDA receptors: similarities and differences in their synaptic distribution. *Curr. Opin. Neurobiol*, 10 (3), 337-541. doi: [https://doi.org/10.1016/s0959-4388\(00\)00086-6](https://doi.org/10.1016/s0959-4388(00)00086-6).

29. Saxena, N. C., Macdonald, R. L. (1994). Assembly of GABA<sub>A</sub> receptor subunits: role of the  $\gamma$  subunit. *J. Neurosci*, 14 (11), 7077-7086. doi: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-11-07077.1994>.
30. Farrant, M., Nusser, Z. (2005). Variations on an Inhibitory Theme: Phasic and Tonic Activation of GABA(A) Receptors. *Nat Rev Neurosci*, 6 (3), 215-29. doi: <https://doi.org/10.1038/nrn1625>.
31. Enna, S. J., McCarson, K. E. (2006). The role of GABA in the mediation and perception of pain. *Adv Pharmacol*, 54, 1-27. doi: [https://doi.org/10.1016/s1054-3589\(06\)54001-3](https://doi.org/10.1016/s1054-3589(06)54001-3).
32. Bohlhalter, S., Weinmann, O., Mohler, H., Fritschy, J. M. (1996). Laminar compartmentalization of GABAA-receptor subtypes in the spinal cord: an immunohistochemical study. *Neuroscience*, 16 (1), 283-297. doi: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-01-00283.1996>.
33. Belelli, D., Lambert, J. J. (2005). Neurosteroids: endogenous regulators of the GABA(A) receptor. *Nat Rev Neurosci*, 6, 565-575. <https://doi.org/10.1038/nrn1703>.
34. Sigel, E., Lüscher, B. P. (2011). A closer look at the high affinity benzodiazepine binding site on GABAA receptors. *Curr. Top Med. Chem.*, 1, 241-246. doi: <https://doi.org/10.2174/156802611794863562>.
35. Sieghart, W. (2006). Structure, pharmacology, and function of GABAA receptor subtypes. *Adv. Pharmacol*, 54, 231-263. doi: [https://doi.org/10.1016/s1054-3589\(06\)540104](https://doi.org/10.1016/s1054-3589(06)540104).
36. Bohatskii, A. V., Andronati, S. A. (1970). The Present State of the Chemistry of 1,4-Benzodiazepines. *Uspekhi khimii*. 39 (12), 2217-2255. doi: <https://doi.org/10.1070/RC1970v039n12ABEH002327>.
37. Bohatskii, A. V. Andronati, S. A., Golovenko, N. Ya. (1980). *Trankvilizatory (1,4-benzodiazepiny i rodstvennye struktury*. Kiev: Nauk. dumka, 280.
38. Kelly, M. D., Smith, A., Banks, G. (2002). Role of the histidine residue at position 105 in the human alpha 5 containing GABA(A) receptor on the affinity and efficacy of benzodiazepine site ligands. *Br J Pharmacol*, 135 (1), 248-256. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704459>.
39. Charlotte, A. E., Christian, H. R. (1997). Receptors via a flunitrazepam-binding site flunitrazepam has an inverse agonistic effect on recombinant alpha6beta2gamma2-GABAA receptors via a flunitrazepam-binding site. *J. Biol. Chem.*, 272 (18), 11723-11727. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.272.18.11723>.
40. Miller, L. G., Galpern, W. R., Byrnes, J. J., Greenblatt, D. J. (1992). Benzodiazepine receptor binding of benzodiazepine hypnotics: receptor and ligand specificity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 43 (2), 413-416. doi: [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(92\)90170-k](https://doi.org/10.1016/0091-3057(92)90170-k).
41. Löw, K., Crestani, F., Keist, R. (2000). Molecular and neuronal substrate for the selective attenuation of anxiety. *Science*, 290 (5489), 131-134. doi: <https://doi.org/10.1126/science.290.5489.131>.
42. Rudolph, U., Möhler, H. (2014). GABAA receptor subtypes: therapeutic potential in Down syndrome, affective disorders, schizophrenia, and autism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 54, 483-507. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-011613-135947>.
43. Sternfeld, F., Carling, R.W., Jelley, R. A. (2004). Selective, orally active  $\gamma$ -aminobutyric acidA  $\alpha 5$  receptor inverse agonists as cognition enhancers. *J. Med. Chem*, 47 (9), 2176-2179. doi: <https://doi.org/10.1021/jm031076j>.
44. Krogsgaard-Larsen, P., Frolund, B., Liljefors, T., Ebert, B. (2004). GABA(A) agonists and partial agonists: THIP (Gaboxadol) as a non-opioid analgesic and a novel type of hypnotic. *Biochem Pharmacol*, 68 (8), 1573-80. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.06.040>.
45. Chambers, M. S., Atack, J. R., Carling, R. W. (2004). An orally bioavailable, functionally selective inverse agonist at the benzodiazepine site of GABAA alpha5 receptors with cognition enhancing properties. *J Med Chem*, 47 (24), 5829-5832. doi: <https://doi.org/10.1021/jm040863t>.
46. Knabl, J., Witschi, R., Hösl, K. (2008). Reversal of pathological pain through specific spinal GABAA receptor subtypes. *Nature*, 451, 330-334. doi: <https://doi.org/10.1038/nature06493>.
47. Golovenko, N. Ya., Voloshchuk, N. I., Andronati, S. A., Taran, I. V., Reder, A. S., Pashynska, O. S., Larionov, V. B. (2018). Antinociception induced by a novel benzodiazepine receptor agonist and bradykinin receptor antagonist in rodent acute and chronic pain models. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical sciences*, 5 (12), 79-88. Available at: [https://www.ejbps.com/ejbps/abstract\\_id/5227](https://www.ejbps.com/ejbps/abstract_id/5227).
48. Golovenko, N. Ya., Kabanova, T. A., Andronati, S. A., Khalimova, O. I. Larionov, V. B., Reder, A. S. (2020). Antiinflammatory effects of propoxazepam on different models of inflammation. *International Journal of Medicine and Medical Research*, 5 (2), 105-112. doi: <https://doi.org/10.11603/ijmmr.2413-6077.2019.2.10900>.
49. Golovenko, N. Ya., Larionov, V. B., Reder, A. S., Valivod, I. P. (2017). An effector analysis of the interaction of propoxazepam with antagonists of GABA and glycine receptors. *Neurochemical Journal*, 11 (4), 302-30. doi: <https://doi.org/10.1134/S1819712417040043>.
50. Enna, S. J., McCarson, K. E. (2006). The role of GABA in the mediation and perception of pain. *Adv Pharmacol*, 54, 1-27. doi: [https://doi.org/10.1016/s1054-3589\(06\)54001-3](https://doi.org/10.1016/s1054-3589(06)54001-3).
51. Golovenko, M. Ya., Belenichev, I., Larionov, V., Reder, A. S., Andronati S. A. (2020). Physiological aspects of rat activity, their anxiety and memory after administration of full gabaa-receptor complex agonist propoxazepam. *ScienceRise:Biological Science*, 2 (23), 42-48. doi: <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2020.207368>.

---

*Відомості про автора / Information about author / Інформація об авторе*

**Головенко М. Я.**, доктор біологічних наук, професор, академік НАМН України, головний науковий співробітник, Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України (<http://orcid.org/0000-0003-1485-128X>)

**Golovenko M. Ya.**, Doctor of Biology (Dr. habil.), professor, academician of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, leading researcher, A. V. Bogatskiy Physicochemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine (<http://orcid.org/0000-0003-1485-128X>)

**Головенко Н. Я.**, доктор биологических наук, профессор, академик НАМН Украины, главный научный сотрудник, Физико-химический институт имени А. В. Богатского НАН Украины (<http://orcid.org/0000-0003-1485-128X>)

*Адреса для листування:* 65080, м. Одеса, вул. Люстдорфська дорога, 86, ФХІ НАН України. Тел. 38 0504154091.

E-mail: [n.golovenko@gmail.com](mailto:n.golovenko@gmail.com)

*Mailing address:* 86, Lyustdorfska doroga, Odessa, 65080, A. V. Bogatsky Physicochemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine. +38 0504154091. E-mail: [n.golovenko@gmail.com](mailto:n.golovenko@gmail.com)

*Адрес для переписки:* 65080, г. Одесса, ул. Люстдорфская дорога, 86, ФХИ НАН Украины. Тел. +38 0504154091.

E-mail: [n.golovenko@gmail.com](mailto:n.golovenko@gmail.com)

---

Надійшла до редакції 17.08.2020 р.