

УДК 612.821

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF624859>

Исследование анальгетической активности новых лигандов NMDA-рецепторного комплекса

Е.Е. Яковлева, М.Т. Камалова, М.А. Брусина, Е.Р. Бычков, Л.Б. Пиотровский, П.Д. Шабанов

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Актуальность. Известно, что активация NMDA-рецепторов спинного мозга является ключевым фактором в патогенезе острой и хронической боли. В связи с этим особый интерес представляет использование в схемах обезболивания существующих NMDA-антагонистов, а также разработка новых соединений, действие которых направлено на NMDA-рецепторный комплекс. Новые лиганды глутаматного NMDA-рецепторного комплекса представляют собой производные имидазол-4,5-дикарбоновой кислоты. Конформационная жесткость молекул производных имидазол-4,5-дикарбоновой кислоты позволяет повысить селективность взаимодействия и снизить количество побочных эффектов.

Цель — изучение анальгетического действия новых лигандов глутаматного NMDA-рецепторного комплекса — производных имидазол-4,5-дикарбоновых кислот на крысах с помощью теста tail-flick и теста с введением формалина.

Материалы и методы. Анальгетическую активность соединений изучали в модели острой соматической (термической) боли в тесте отдергивания хвоста (tail-flick) животного и в модели соматической боли, вызванной альгогенами, в формалиновом тесте. Тестируемые соединения (ИЗМ-303 и ИЗМ-2044) вводили внутривенно крысам в дозах 5, 10, 15, 20 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали метамизол натрия.

Результаты. В ходе проведенных экспериментов установлен достоверный дозозависимый анальгетический эффект исследуемых соединений на экспериментальных моделях острой боли в дозах 5–20 мг/кг. В группах, получавших ИЗМ-2044 и ИЗМ-303, латентный период отдергивания хвоста в тесте tail-flick увеличивался в 1,4–1,7 раза, по сравнению с контрольной группой.

Заключение. Анальгетическая активность тестируемых соединений в дозах 10–20 мг/кг сопоставима с анальгетической активностью метамизола натрия, что свидетельствует о перспективности разработки данных агентов и дальнейшего поиска эффективных и безопасных обезболивающих средств среди соединений данного класса.

Ключевые слова: глутамат; антагонисты NMDA-рецепторов; производные имидазол-4,5-дикарбоновых кислот; анальгетическое действие; мыши.

Как цитировать

Яковлева Е.Е., Камалова М.Т., Брусина М.А., Бычков Е.Р., Пиотровский Л.Б., Шабанов П.Д. Исследование анальгетической активности новых лигандов NMDA-рецепторного комплекса // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2024. Т. 22. № 2. С. 171–178. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF624859>

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF624859>

Analgesic activity of new ligands of the NMDA receptor complex

Ekaterina E. Yakovleva, Mekhriniso T. Kamalova, Mariia A. Brusina, Eugeni R. Bychkov, Levon B. Piotrovskiy, Petr D. Shabanov

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: The activation of spinal cord NMDA receptors is a key factor in the pathogenesis of acute and chronic pain. Therefore, the use of existing NMDA antagonists in analgesic schemes and the development of new compounds targeting the NMDA receptor complex are gaining attention. New ligands of the glutamate NMDA receptor complex are derivatives of imidazole-4,5-dicarboxylic acid. The conformational rigidity of the molecules of imidazole-4,5-dicarboxylic acid derivatives allows for increased selectivity of interaction and reduced side effects.

AIM: This study aimed to investigate the analgesic effect of new ligands of the glutamate NMDA receptor complex, which are derivatives of imidazole-4,5-dicarboxylic acid, in rats using the tail-flick test and the formalin test.

MATERIALS AND METHODS: The analgesic activity of the compounds was examined in a model of acute somatic (thermal) pain in the tail-flick test and model of somatic pain induced by algogens in the formalin test. The tested compounds (IEM-303 and IEM-2044) were administered intraperitoneally at doses of 5, 10, 15, and 20 mg/kg. Metamizole was used as the comparison drug.

RESULTS: The experiments demonstrated a significant dose-dependent analgesic effect of the tested compounds on the experimental models of acute pain at doses of 5–20 mg/kg. The tail-flick latency increased by 1.4–1.7 times in the IEM-2044 and IEM-303 groups compared with the value in the control group.

CONCLUSIONS: The analgesic activity of the tested compounds at 10–20 mg/kg doses was comparable to that of metamizole, indicating the prospect of developing these agents and further searching for effective and safe analgesics in this pharmacological class.

Keywords: glutamate; NMDA receptor antagonists; imidazole-4,5-dicarboxylic acid derivatives; analgesic effect; mice.

To cite this article

Yakovleva EE, Kamalova MT, Brusina MA, Bychkov ER, Piotrovskiy LB, Shabanov PD. Analgesic activity of new ligands of the NMDA receptor complex. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2024;22(2):171–178. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF624859>

Received: 21.12.2023

Accepted: 24.04.2024

Published online: 18.06.2024

АКТУАЛЬНОСТЬ

По данным Российского общества по изучению боли, 90 % пациентов, обращающихся за врачебной помощью, испытывают боль, из них 70 % страдают хронической болью [1, 2]. Следует признать, что возможности традиционных методов анальгезии ограничены, а назначение опиоидов ассоциируется с увеличением числа осложнений, развитием толерантности и лекарственной зависимости, увеличивает стоимость пребывания пациента в стационаре. Таким образом, основные направления повышения качества обезболивания — целесообразное комбинирование анальгетиков с различным механизмом действия и разработка новых эффективных и безопасных лекарственных средств с анальгетической активностью. Известно, что активация NMDA-рецепторов спинного мозга является ключевым фактором в патогенезе острой и хронической боли. В связи с этим особый интерес представляет использование в схемах обезболивания существующих NMDA-антагонистов, а также разработка новых соединений, действие которых направлено на NMDA-рецепторный комплекс. Новые лиганды глутаматного NMDA-рецепторного комплекса представляют собой производные имидазол-4,5-дикарбоновой кислоты (ИДК). Конформационная жесткость молекул производных ИДК позволяет повысить селективность взаимодействия и снизить количество побочных эффектов.

Глутаматные рецепторы присутствуют во всех структурах центральной нервной системы (ЦНС), ответственных за реагирование на болевую стимуляцию. За последние годы накоплено большое количество экспериментальных данных, указывающих на то, что глутамат является одним из основных медиаторов болевой чувствительности на спинальном и супраспинальном уровнях [3]. В многочисленных исследованиях установлено, что глутаматные рецепторы опосредуют ответ на термическую, механическую, ишемическую боль [3, 4]. Так, интратекальное введение большинства агонистов глутаматных рецепторов (например, NMDA) крысам и мышам вызывает снижение болевых порогов с такими характерными поведенческими коррелятами, как вокализация, «самокусание» [5]. Блокада NMDA-рецепторов *in vivo* [6] и *in vitro* [7] подавляет проведение ноцицептивной информации. Результаты исследований указывают на наличие анальгетической активности у антагонистов NMDA-рецепторов при использовании их на моделях острой висцеральной боли [8].

Показано, что антагонисты NMDA-рецепторов реализуют антиноцицептивный эффект различными путями: напрямую за счет блокирования потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов, снижая ток Ca^{2+} в клетку, уменьшая высвобождение глутамата и субстанции P, либо опосредованно — через усиление продукции кинурениновой кислоты, ингибирующей рецепторы, или угнетая ассоциативную зону и подкорковые образования таламуса [9].

Мишенью для действия глутамата на супрасегментарном уровне является центральное околосинаптическое вещество, откуда через большое ядро шва в составе заднелатерального канатика идут нисходящие серотонинергические пути в спинной мозг. В электрофизиологических исследованиях выявлено, что локальная аппликация глутамата в центральное околосинаптическое вещество приводит к повышению активности нейронов большого ядра шва [10]. Инъекции возбуждающих аминокислот в центральное околосинаптическое вещество приводят к выраженной анальгезии. Этот эффект возбуждающих аминокислот опосредован специфическими рецепторами, так как блокируется глутаматными антагонистами [8]. На основании экспериментальных данных предложена схема взаимодействия глутамат- и опиоидергической систем в центральном околосинаптическом веществе (рис. 1).

Показано, что при совместном применении с опиоидными анальгетиками на моделях острой боли канальные блокаторы NMDA-рецепторов уменьшали анальгетическую активность морфина [8]. Внутривенный анестетик — ингибитор NMDA-рецепторов кетамин — используется для вводного наркоза, для самостоятельного обезболивания при кратковременных операциях, обработки ожоговых поверхностей. Кетамин связывается с фенциклидиновыми рецепторами внутренней поверхности NMDA-рецепторов, препятствует формированию возбудимости спинальных нейронов, подавляя прогрессирующее повышение числа ноцицептивных нейрональных ответов (wind-up-эффект), снижая потенциацию и суммацию боли; усиливает анальгетический эффект опиоидов (показано снижение гипералгезии на фоне предварительного его введения перед фентанилом, морфином, налоксоном). Кроме того, кетамин повышает активность антиноцицептивных процессов, воздействуя на моноаминергические механизмы. Таким образом, NMDA-рецепторный комплекс остается одной из ключевых мишеней в поиске новых эффективных и безопасных анальгетических лекарственных средств, перспективных в отношении терапии болевых синдромов как в монотерапии, так и в составе комбинированных схем с целью снижения доз опиоидных анальгетиков и предотвращения формирования таких феноменов как

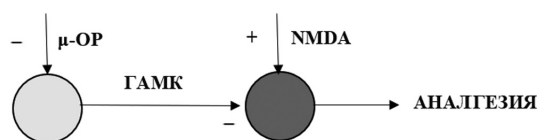


Рис. 1. Схема взаимодействия опиоидной и глутаматергической систем в центральном околосинаптическом веществе [11]. На схеме указаны постсинаптические рецепторы (NMDA, ГАМК, μ -ОР-опиоидные), «-» и «+» — тормозные и возбуждающие влияния

Fig. 1. Scheme of the interaction between the opiate and glutamatergic systems in the central periductal substance [11]. The diagram shows postsynaptic receptors (NMDA, GABA, and μ -OR-opiate). “-” and “+” indicate inhibitory and excitatory influences

толерантность и зависимость на фоне терапии обезболиввающими препаратами из группы опиоидов.

В недавних исследованиях показано, что большой интерес в отношении глутаматергической передачи представляют моно- и дизамещенные производные ИДК. Новые производные ИДК можно рассматривать в качестве аналогов хинолиновой кислоты, в которых шестичленный гетероцикл заменен пятичленным [4, 12]. Тестируемые соединения относятся к принципиально иному классу антагонистов NMDA-рецепторов: они взаимодействуют с узнающим сайтом рецептора. На изолированных пирамидных нейронах гиппокампа крысы методом patch-clamp в конфигурации «целая клетка» была показана селективность действия алкил-замещенных производных ИДК на NMDA-рецепторный комплекс [13]. Тот факт, что тестируемые соединения не относятся к каналоблокаторам, нашло подтверждение радиолигандным методом. Конформационная жесткость молекул производных ИДК позволяет повысить селективность взаимодействия и снизить количество побочных эффектов потенциальных анальгетиков.

Цель исследования — изучение анальгетического действия новых лигандов глутаматного NMDA-рецепторного комплекса — производных ИДК на крысах с помощью теста tail-flick и теста с введением формалина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выбор животных

Работа проводилась на крысах-самцах породы Вистар. Животных содержали в виварии при температуре 22–24 °C и свободном доступе к воде и пище. Крыс помещали в пластиковые клетки размерами 61 × 44 × 22 см с решетчатой металлической крышкой по 6 особей. Все эксперименты проводили согласно «Принципам надлежащей лабораторной практики» (Good Laboratory Practice, GLP), ГОСТ 33647–2015 и положениям международной конвенции о «Правилах работы с экспериментальными животными» (European Communities Council Directives, November 24, 1986, 86/609/EEC).

Изучение анальгетической активности на модели острой соматической (термической) боли в тесте tail-flick

В исследование включено 6 групп крыс-самцов массой в среднем 300 г, по 6 крыс в каждой группе. Исследуемые соединения ИЭМ-303 и ИЭМ-2044 вводили внутривенно в дозах 10, 15, 20, 25 мг/кг. Контрольная группа животных получала 0,9 % раствор натрия хлорида, группа сравнения — эталонный препарат с выраженной анальгетической активностью — метамизол натрия в дозах 20 и 50 мг/кг. Через 15 мин после инъекции каждой группе крыс с помощью анальгезиметра был проведен тест tail-flick — стандартный тест для оценки анальгетической активности лекарственного вещества (оценка термической соматической боли). Анальгетическую

активность оценивали на основании анализа продолжительности латентного периода реакции отдергивания хвоста при воздействии теплового излучения (в данном случае последовательно активируются терморецепторы, С-волокна и Ad-волокна полимодальных рецепторов, ноцицепторы, механорецепторы). Критерий анальгетического эффекта — достоверное увеличение продолжительности латентного периода реакции после введения исследуемого вещества по сравнению с контрольной группой [11].

Изучение анальгетической активности на модели соматической боли, вызванной альгогенами, в формалиновом тесте

Острую воспалительную реакцию вызывали субплантарным введением крысе 50 мкл 2 % раствора формалина через 20 мин после внутривенного введения соединений ИЭМ-303 и ИЭМ-2044 в дозах 10, 15, 20, 25 мг/кг. Регистрировали число паттернов болевых реакций (постукивание лапой об пол, встряхивание, облизывание и/или грызение лапы) в первые 5–10 мин — I фаза, и с 30-й по 50-ю минуту — II фаза [11]. Критерием анальгетического эффекта считали достоверное уменьшение числа болевых реакций в группах крыс, получавших производные ИДК и препарат сравнения (метамизол натрия), относительно контрольной группы. Тест имитирует реакции, развивающиеся при операционных кожных разрезах. Одним из механизмов ноцигенного действия формалина является активация каналов TRPA1, реагирующих в норме на холод и стимулирующих развитие воспаления [14]. Первая фаза характеризует острую боль, возникающую в ответ на инъекцию химического раздражителя, и связана в основном с прямой активацией тонких немиелиновых С-волокон. Вторая фаза — результат развития воспалительного процесса в периферических тканях и изменений функции нейронов задних рогов серого вещества спинного мозга, где расположены нейроны болевых восходящих путей. Нестероидные противовоспалительные средства подавляют только вторую фазу, а местные анестетики — только первую.

Статистическая обработка полученного материала

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ MS Excel 2010 и BioStat 2009. Нормальность распределения данных определяли по критерию Шапиро – Уилка. Достоверность различий значений между группами определяли с помощью непараметрических критериев Краскела – Уоллиса и точного критерия Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты изучения анальгетической активности новых NMDA-лигандов на модели острой боли в тесте tail-flick представлены на рис. 2 и 3.

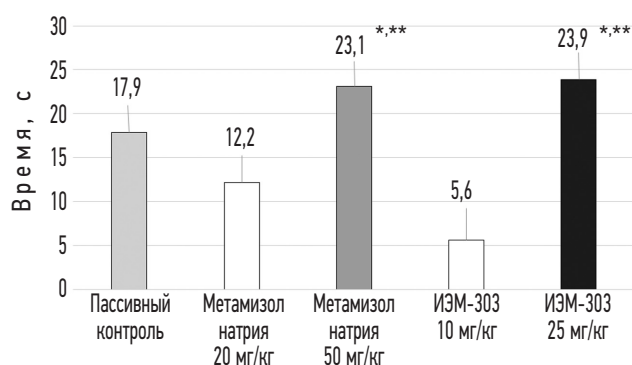


Рис. 2. Продолжительность латентного периода отдергивания хвоста в тесте tail-flick у крыс, получавших соединение ИЭМ-303. *Различия достоверны по сравнению с группой пассивного контроля (0,9 % раствор натрия хлорида) при $p < 0,01$; **различия достоверны по сравнению с группой, получавшей метамизол натрия в дозе 20 мг/кг при $p < 0,01$

Fig. 2. Duration of the latent period of tail withdrawal in the tail-flick test in the IEM-303-treated rats. *The differences are significant compared with the passive control group (physical solution) at $p < 0.01$. **The differences are significant compared with the group receiving metamizole sodium at a dose of 20 mg/kg at $p < 0.01$

В группе пассивного контроля у крыс, которым внутрибрюшинно вводили 0,9 % раствор натрия хлорида, латентный период отдергивания хвоста при болевом (термическом) раздражении составил $17,9 \pm 0,9$ с. В группах активного контроля у крыс, получавших также внутрибрюшинно классический анальгетик, широко применяемый в клинической практике, метамизол натрия в дозах 20 и 50 мг/кг, латентный период отдергивания хвоста равнялся $12,2 \pm 4,1$ и $23 \pm 5,8$ с соответственно. Таким образом, ведение метамизола натрия животным в дозе 50 мг/кг привело к достоверному увеличению продолжительности латентного периода отдергивания хвоста на 5 с, по сравнению с таковой продолжительностью в группе пассивного контроля, не получавшей анальгетик.

В опытных группах, получавших соединение ИЭМ-303 в дозах 10, 15, 20, 25 мг/кг, продолжительность латентного периода отдергивания хвоста составила $5,6 \pm 2,2$, $13,6 \pm 0,8$ и $15,9 \pm 1,2$ с соответственно, что свидетельствует об отсутствии обезболивающего действия у соединения в данных концентрациях. Только на фоне введения производного ИДК в дозе 25 мг/кг латентный период отдергивания хвоста крыс составил $23,9 \pm 4,4$ с, что на 5,9 с больше, чем в группе пассивного контроля. В сравнении с группой активного контроля данный показатель увеличился на 0,9 с, что свидетельствует о сопоставимой анальгетической активности высоких доз нового производного ИДК с широко применяемым в клинической практике метамизолом натрия.

В тестируемых группах, получавших новый NMDA-лиганд — вещество ИЭМ-2044, — в ходе проведенных экспериментов установлен достоверный дозозависимый анальгетический эффект исследуемого соединения в дозах 10–25 мг/кг. Латентный период реакции отдергивания хвоста в группе крыс, получавших исследуемое

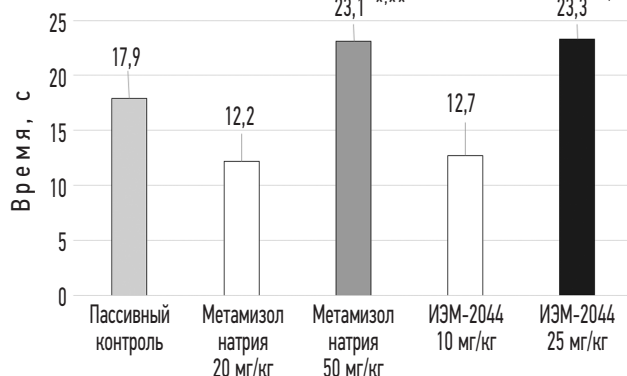


Рис. 3. Продолжительность латентного периода отдергивания хвоста в тесте tail-flick у крыс, получавших соединение ИЭМ-2044. *Различия достоверны по сравнению с группой пассивного контроля (0,9 % раствор натрия хлорида) при $p < 0,01$; **различия достоверны по сравнению с группой, получавшей метамизол натрия в дозе 20 мг/кг при $p < 0,01$

Fig. 3. Duration of the latency of tail withdrawal in the tail-flick test in the IEM-2044-treated rats. *The differences are significant compared with the passive control group (physical solution) at $p < 0.01$. **Differences are significant compared with the group receiving metamizole sodium at a dose of 20 mg/kg at $p < 0.01$

вещество в дозах 10, 15, 20, 25 мг/кг, составил 12,7, 12,8, 13,1, 23,3 с соответственно. Таким образом, анальгетическая активность соединения ИЭМ-2044 в дозе 25 мг/кг сопоставима с анальгетической активностью метамизола натрия в дозе 50 мг/кг.

В ходе изучения анальгетической активности новых производных ИДК в тесте с введением альгогена — 2 % раствора формалина — установлено, что на фоне предварительной анальгезии метамизолом натрия (в дозе 50 мг/кг внутрибрюшинно) у крыс достоверно уменьшалось количество болевых паттернов, по сравнению с животными, получавшими только раствор формалина субплантарно. Показано достоверное уменьшение: числа актов поднятия поврежденной лапы и «выключения» опоры на нее — в 1,9 раза; количества встряхивания лапой и постукивания ею об пол клетки — в 3,6 раза; количества облизывания и покусывания больной конечности — в 2,8 раза. На фоне предварительного внутрибрюшинного введения соединения ИЭМ-303 достоверные различия с контрольной группой, получавшей раствор формалина, были получены в группах, получавших 20 и 25 мг/кг нового производного ИДК; достоверные различия с группой сравнения (метамизол натрия) — в группе, получавшей соединение ИЭМ-303 в дозе 25 мг/кг (рис. 4).

Как видно из рис. 4 введение соединения ИЭМ-2044 не привело к регистрации анальгетической активности при моделировании острой соматической боли в тесте с введением альгогена. Более того, через 20 мин после внутрибрюшинной инъекции 2 % раствора формалина в больших дозах (20 и 25 мг/кг) у животных выявлены поведенческие паттерны агрессии к особям того же пола при нахождении крыс в одной клетке: вставание на задние лапы, писк, нападение, кусание. Данное поведение установлено

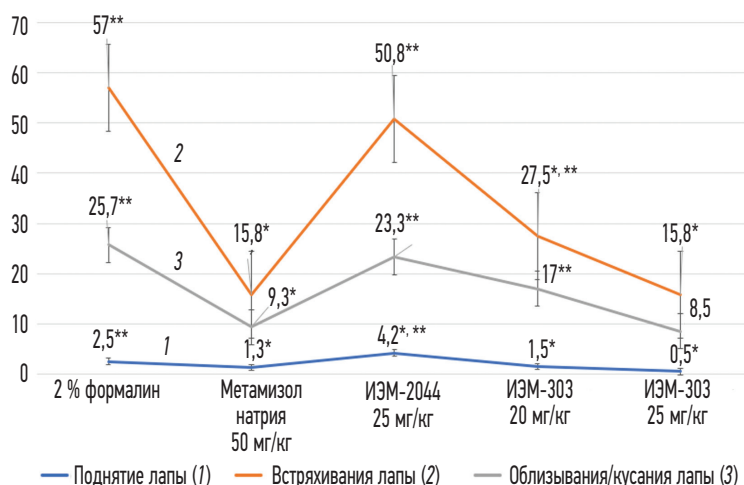


Рис. 4. Количество паттернов боли в формалиновом тесте у крыс, получавших соединения ИЭМ-303 и ИЭМ-2044. *Различия достоверны по сравнению с группой контроля (2 % раствор формалина) при $p < 0,01$; **различия достоверны по сравнению с группой, получавшей метамизол натрия в дозе 50 мг/кг при $p < 0,01$

Fig. 4. Number of pain patterns in the formaldehyde test in rats treated with IEM-303 and IEM-2044. *The differences are significant compared with the control group (2% formalin solution) at $p < 0.01$. **The differences are significant compared with the group receiving metamizole sodium at a dose of 50 mg/kg at $p < 0.01$

у подавляющего большинства животных, получивших вещество в дозах 20–25 мг/кг, но не у крыс, которым вводили меньшие дозы соединения (10–15 мг/кг), что свидетельствует о возможном развитии синдрома гиперактивации глутаматной передачи на фоне применения данного NMDA-лиганда при повышении его концентрации в комбинации со снижением порога болевой чувствительности на фоне введения болевого агента — формалина. Через 20–30 мин после введения формалина крысам проявления агрессии уменьшались вплоть до полного исчезновения, животные, так же как и крысы других тестируемых групп, засыпали.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анальгетические средства, применяемые в клинической практике, на разных уровнях оказывают влияние на ноцицептивную систему. К ним относятся экзогенные опиоиды, агонисты $\alpha 2$ -адренорецепторов, блокаторы обратного захвата серотонина, модуляторы активности капсаициновых рецепторов, препараты, воздействующие на ГАМКергические структуры ЦНС, на глутаматергическую передачу и другие лекарственные средства. Современные фармакологические подходы к обезболиванию требуют усовершенствования, а наиболее эффективный класс анальгетиков — опиоидные болеутоляющие средства способны вызывать патологическое пристрастие, что ограничивает их клиническое применение.

Согласно литературным данным, многие антагонисты NMDA-рецепторов, синтезированные в прошлом столетии, не проявляли анальгетическую активность на основных экспериментальных моделях острой боли, таких как тесты «горячая пластина», «отдергивание хвоста», сдавливание лапы, клипсирование хвоста. Необходимо отметить, что большинство отрицательных результатов получено

в отношении канальных блокаторов [13, 15]. При использовании блокаторов канала NMDA-рецептора у животных снижение реагирования на болевые стимулы термической и механической природы показано только при введении этих веществ в дозах, значительно нарушающих моторную координацию и/или мышечный тонус. Однако единичные сообщения прошлых лет указывают на наличие анальгетической активности у антагонистов NMDA-рецепторов (вероятно, не относящихся к классу глутаматных каналоблокаторов) при использовании их на моделях острой боли [11]. Кроме того, существуют данные о том, что комплексный характер функционирования NMDA-рецептора указывает на возможность комбинированного применения двух и более лигандов этого рецепторного комплекса [16, 17]. В проведенных исследованиях показано, что новые производные ИДК в дозах 20–25 мг/кг проявляют анальгетическую активность на моделях острой соматической боли. Многолетние исследования по клиническому использованию антагонистов NMDA рецепторов показали, что функции данных рецепторов должны модулироваться, а не блокироваться. NMDA-рецептор является ионотропным рецептором, селективно связывающим NMDA. Важен тот факт, что в структуре рецептора выделяют несколько селективных сайтов связывания с различными молекулами. Разработка лекарственных средств, избирательно связывающихся с отдельным сайтом (в отличие, от полной блокады канала рецептора), — перспективное направление современной фармакологии. В неактивной форме канал рецептора закрыт ионом магния, который удаляется при деполяризации. Одновременно с этим в синаптическую щель должен поступить глутамат. Такая активация способствует открытию ионного канала, неселективного к катионам, что приводит к изменению потенциала синаптической мембраны. При этом активация

глутаматных рецепторов может опосредовать процессы нейротоксичности, но одновременно с этим играет значимую роль и в реализации механизмов нейропластичности, поэтому вещества, мягко и управляемо модулирующие функцию глутаматных рецепторов, будут иметь более значимый потенциал в отношении эффективности и безопасности их применения. Таким образом, полученные данные позволяют рассматривать новые производные ИДК как перспективные для дальнейшего изучения на моделях висцеральной и нейропатической боли, а также для применения в комбинациях с наркотическими анальгетиками с целью исследования возможного потенцирования анальгетического эффекта последних.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Личный вклад каждого автора: Е.Е. Яковлева, М.Т. Камалова, М.А. Брусина, Е.Р. Бычков — проведение экспериментов, анализ данных, написание статьи; Л.Б. Пиотровский, П.Д. Шабанов — разработка общей концепции.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России FGWG-2022-0004

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Song X.-J., Zhao Z.-Q. Cooperative interaction among the various regulatory sites within the NMDA receptor-channel complex in modulating the evoked responses to noxious thermal stimuli of spinal dorsal horn neurons in the cat // *Exp Brain Res.* 1998. Vol. 120. P. 257–262. doi: 10.1007/s002210050399
2. Wolkerstorfer A., Handler N., Buschmann H. Hand-book of pain assessment / D. Turk, R. Melzack, editors. 3rd ed. New York: Guilford Press, 2011. 542 p.
3. Behbehani M.M., Fields H.L. Evidence that an excitatory connection between the periaqueductal gray and nucleus raphe magnus mediates stimulation produced analgesia // *Brain Res.* 1979. Vol. 170, N 1. P. 85–93. doi: 10.1016/0006-8993(79)90942-9
4. Dickenson A.H., Chapman V., Green G.M. The pharmacology of excitatory and inhibitory amino acid-mediated events in the transmission and modulation of pain in the spinal cord // *Gen Pharmacol: Vascular Syst.* 1997. Vol. 28, N 5. P. 633–638. doi: 10.1016/S0306-3623(96)00359-X
5. Wolkerstorfer A., Handler N., Buschmann H. New approaches to treating pain // *Bioorg Med Chem Lett.* 2016. Vol. 26, N 4. P. 1103–1119. doi: 10.1016/j.bmcl.2015.12.103
6. Piotrovsky L.B., Lishko P.V., Maksimjuk A.P. A new class of NMDA receptor agonists and antagonists are imidazole-4,5- and pyrazole-3,4-dicarboxylic acid derivatives // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 1999. Т. 85, № 4. С. 523–530.
7. Dougherty P.M., Willis W.D. Enhancement of spinothalamic neuron responses to chemical and mechanical stimuli following combined micro-iontophoretic application of N-methyl-D-aspartic acid and substance P // *Pain.* 1991. Vol. 47, N 1. P. 85–93. doi: 10.1016/0304-3959(91)90015-P
8. Давыдова О.Н., Болдырев А.А. Глутаматные рецепторы в клетках нервной и иммунной систем // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2007. Т. 1, № 4. С. 28–34. EDN: MTCWGX
9. Аляутдин Р.Н. Фармакология. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2019. 352 с.
10. Yakovleva EE, Bychkov ER, Brusina MM, Piotrovsky LB, Shabanov PD. Pharmacological activity of new imidazole-4,5-dicarboxylic acid derivatives in dopaminergic transmission suppression tests in mice and rats // *Res Results in Pharmacol.* 2020. Vol. 6, N 4. P. 51–57. doi: 10.3897/rpharmacology.6.57883
11. Беспалов А.Ю., Звартау Э.Э. Нейропсихофармакология антагонистов NMDA-рецепторов. Санкт-Петербург: Невский диалект, 2000. 297 с.
12. Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова. Москва: Гриф и К, 2013.
13. Olivar T., Laird J.M. Differential effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade on nociceptive somatic and visceral reflexes // *Pain.* 1999. Vol. 79, N 1. P. 67–73. doi: 10.1016/S0304-3959(98)00152-3
14. Lutfy K., Cai S.X., Woodward R.M., et al. Antinociceptive effects of NMDA and non-NMDA receptor antagonists in the tail flick test in mice // *Pain.* 1997. Vol. 70, N 1. P. 31–40. doi: 10.1016/S0304-3959(96)03290-3
15. Jęftinija S. Excitatory transmission in the dorsal horn is in part mediated through APV-sensitive NMDA receptors // *Neurosci Lett.* 1989. Vol. 96, N 2. P. 191–196. doi: 10.1016/0304-3940(89)90056-6
16. Raigorodsky G., Urca G. Spinal antinociceptive effects of excitatory amino acid antagonists: quisqualate modulates the action of N-methyl-D-aspartate // *Eur J Pharmacol.* 1990. Vol. 182, N 1. P. 37–47. doi: 10.1016/0014-2999(90)90491-N

на 2022–2025 гг. «Поиск молекулярных мишеней для фармакологического воздействия при аддиктивных и нейроэндокринных нарушениях и создание новых фармакологически активных веществ, действующих на рецепторы ЦНС».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' contributions. All authors made significant contributions to the conception, conduct of the study and preparation of the article, and read and approved the final version before publication. Personal contribution of each author: E.E. Yakovleva, M.T. Kamalova, M.A. Brusina, E.R. Bychkov — conducting experiments, analyzing data, writing the article; L.B. Piotrovsky, P.D. Shabanov — developing the general concept.

Funding source. The work was carried out within the framework of the state assignment of the Russian Ministry of Education and Science FGWG-2022-0004 for 2022–2025 “Search for molecular targets for pharmacological action in addictive and neuroendocrine disorders and the creation of new pharmacologically active substances acting on CNS receptors”.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

17. Yaksh T.L., Hua X.-Y., Kalcheva I., et al. The spinal biology in humans and animals of pain states generated by persistent small afferent input // PNAS. 1999. Vol. 96, N 14. P. 7680–7686. doi: 10.1073/pnas.96.14.7680

18. McNamara C.R., Mandel-Brehm J., Bautista D.M., et al. TRPA1 mediates formalin-induced pain // PNAS USA. 2007. Vol. 104, N 33. P. 13525–13530. doi: 10.1073/pnas.0705924104

REFERENCES

1. Song X-J, Zhao Z-Q. Cooperative interaction among the various regulatory sites within the NMDA receptor-channel complex in modulating the evoked responses to noxious thermal stimuli of spinal dorsal horn neurons in the cat. *Exp Brain Res*. 1998;120:257–262. doi: 10.1007/s002210050399
2. Wolkerstorfer A, Handler N, Buschmann H. *Hand-book of pain assessment*. Turk D, Melzack R, editors. 3rd ed. New York: Guilford Press; 2011. 542 p.
3. Behbehani MM, Fields HL. Evidence that an excitatory connection between the periaqueductal gray and nucleus raphe magnus mediates stimulation produced analgesia. *Brain Res*. 1979;170(1):85–93. doi: 10.1016/0006-8993(79)90942-9
4. Dickenson AH, Chapman V, Green GM. The pharmacology of excitatory and inhibitory amino acid-mediated events in the transmission and modulation of pain in the spinal cord. *Gen Pharmacol: Vascular Syst*. 1997;28(5):633–638. doi: 10.1016/S0306-3623(96)00359-X
5. Wolkerstorfer A, Handler N, Buschmann H. New approaches to treating pain. *Bioorg Med Chem Lett*. 2016;26(4):1103–1119. doi: 10.1016/j.bmcl.2015.12.103
6. Piotrovsky LB, Lishko PV, Maksymyuk AP, et al. A new class of agonists and antagonists of N-methyl-D-aspartic acid receptors — derivatives of imidazole-4,5- and pyrazole-3,4-dicarboxylic acids. *Russian journal of physiology*. 1999;85(4):523–530. (In Russ.)
7. Dougherty PM, Willis WD. Enhancement of spinothalamic neuron responses to chemical and mechanical stimuli following combined micro-iontophoretic application of N-methyl-D-aspartic acid and substance P. *Pain*. 1991;47(1):85–93. doi: 10.1016/0304-3959(91)90015-P
8. Davydova ON, Boldyre AA. Glutamate receptors in neuronal and immune system cells. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2007;1(4):28–34. EDN: MTCWGX

9. Alyautdin RN. *Pharmacology*. Moscow: GEOTAR-Media, 2019. 352 p. (In Russ.)
10. Yakovleva EE, Bychkov ER, Brusina MM, Piotrovsky LB, Shabanov PD. Pharmacological activity of new imidazole-4,5-dicarboxylic acid derivatives in dopaminergic transmission suppression tests in mice and rats. *Res Results in Pharmacol*. 2020;6(4):51–57. doi: 10.3897/rpharmacology.6.57883
11. Bepalov AY, Zvartau EE. *Neuropsychopharmacology of NMDA-receptor antagonists*. Saint Petersburg: Nevsky Dialect; 2000. 297 p. (In Russ.)
12. Mironov AN, Bunatyan ND. *Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part one*. Mironov NA, editor. Moscow: Grif and K; 2013. (In Russ.)
13. Olivar T, Laird JM. Differential effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade on nociceptive somatic and visceral reflexes. *Pain*. 1999;79(1):67–73. doi: 10.1016/S0304-3959(98)00152-3
14. Lutfy K, Cai SX, Woodward RM, et al. Antinociceptive effects of NMDA and non-NMDA receptor antagonists in the tail flick test in mice. *Pain*. 1997;70(1):31–40. doi: 10.1016/S0304-3959(96)03290-3
15. Jęftinija S. Excitatory transmission in the dorsal horn is in part mediated through APV-sensitive NMDA receptors. *Neurosci Lett*. 1989;96(2):191–196. doi: 10.1016/0304-3940(89)90056-6
16. Raigorodsky G, Urca G. Spinal antinociceptive effects of excitatory amino acid antagonists: quisqualate modulates the action of N-methyl-D-aspartate. *Eur J Pharmacol*. 1990;182(1):37–47. doi: 10.1016/0014-2999(90)90491-N
17. Yaksh TL, Hua X.-Y., Kalcheva I, et al. The spinal biology in humans and animals of pain states generated by persistent small afferent input. *PNAS*. 1999;96(14):7680–7686. doi: 10.1073/pnas.96.14.7680
18. McNamara CR, Mandel-Brehm J, Bautista DM, et al. TRPA1 mediates formalin-induced pain. *PNAS USA*. 2007;104(33):13525–13530. doi: 10.1073/pnas.0705924104

ОБ АВТОРАХ

***Екатерина Евгеньевна Яковлева**, канд. мед. наук;
адрес: Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова,
д. 12; ORCID: 0000-0002-0270-0217, eLibrary SPIN: 6728-7340;
e-mail: sampuria@yandex.ru

Мехринисо Камалова; e-mail: tkamalova@mail.ru

Мария Александровна Бруси́на, канд. хим. наук;
ORCID: 0000-0001-8433-120X; eLibrary SPIN: 8953-8772;
e-mail: mashasemen@gmail.com

Евгений Рудольфович Бычков, д-р мед. наук;
ORCID: 0000-0002-8911-6805; eLibrary SPIN: 9408-0799;
e-mail: bychkov@mail.ru

Левон Борисович Пиотровский, д-р биол. наук, профессор;
ORCID: 0000-0001-8679-1365; eLibrary SPIN: 2927-6178;
e-mail: levon-piotrovsky@yandex.ru

Петр Дмитриевич Шабанов, д-р мед. наук, профессор;
ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477;
e-mail: pdshabanov@mail.ru

AUTHORS' INFO

***Ekaterina E. Yakovleva**, Cand. Sci. (Medicine);
address: 12 Akademika Pavlova st., Saint Petersburg, 197022, Russia;
ORCID: 0000-0002-0270-0217; eLibrary SPIN: 6728-7340;
e-mail: sampuria@yandex.ru

Mekhriniso T. Kamalova; e-mail: tkamalova@mail.ru

Mariia A. Brusina, Cand. Sci. (Chemistry);
ORCID: 0000-0001-8433-120X; eLibrary SPIN: 8953-8772;
e-mail: mashasemen@gmail.com

Evgenii R. Bychkov, Dr. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0002-8911-6805; eLibrary SPIN: 9408-0799;
e-mail: bychkov@mail.ru

Levon B. Piotrovskiy, Dr. Sci. (Biology), Professor;
ORCID: 0000-0001-8679-1365; eLibrary SPIN: 2927-6178;
e-mail: levon-piotrovsky@yandex.ru

Petr D. Shabanov, Dr. Sci. (Medicine), Professor;
ORCID: 0000-0003-1464-1127; eLibrary SPIN: 8974-7477;
e-mail: pdshabanov@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author