



ГОЛОВЕНКО
Микола Якович — академік НАМН України, доктор біологічних наук, професор, головний науковий співробітник Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України, науковий консультант ТДВ «ІНТЕРХІМ»

ПРОПОКСАЗЕПАМ — НОВАТОРСЬКИЙ АНАЛЬГЕТИЧНИЙ ЗАСІБ, ЩО ГАЛЬМУЄ ГОСТРИЙ ТА ХРОНІЧНИЙ БІЛЬ І МАЄ ПОЛІМОДАЛЬНИЙ МЕХАНІЗМ ДІЇ

У статті наведено результати фундаментальних та прикладних досліджень інноваційного анальгетичного засобу пропоксазепам. Сполука взаємодіє з біологічними мішенями, які відповідають за перебіг болю (нейромедіатори ГАМК та гліцину, потенціал-залежні калієві канали, дофамінергічна система, NMDA-рецептори, альфа-1 адренорецептори). Фармакодинамічний профіль пропоксазепаму відрізняється від усіх анальгетиків, оскільки одночасно гальмує і гострий, і хронічний біль, має проти-запальну та антиконвульсантну дію. Біодоступність сполуки становить 80%, виявлено незначну кількість метаболітів (3-гідроксипохідне, ареноксиди). Експериментально доведено відсутність кумуляції, розвитку толерантності, залежності та синдрому відміни в експериментальних тварин, яким тривалий час вводили пропоксазепам. Розроблено технологічний регламент синтезу сполуки та готової лікарської форми (таблетки 1; 2 і 5 мг). Отримано дозвіл МОЗ України на проведення клінічних випробувань. Зважаючи на яскраво виражену міждисциплінарність конструювання анальгетика, показано доцільність та ефективність взаємодії дослідників різних спеціальностей.

Ключові слова: пропоксазепам, анальгезія, механізм дії, фармакокінетика, побічна дія.

Створення нових ефективних лікарських засобів для знеболення є одним з найважливіших завдань сьогодення, оскільки за оцінками ВООЗ 90% усіх захворювань пов'язані з болем. Щодня понад 30 млн людей у світі приймають будь-який анальгетик [1]. Міжнародна асоціація з вивчення болю (IASP) характеризує біль як неприємне відчуття і емоційне переживання, що виникає у зв'язку зі справжньою чи потенційною загрозою пошкодження тканин або описується термінами такого пошкодження [2]. Біль може бути тривалим або коротким, періодичним або одноразовим, може охоплювати значну частину тіла, залежно від особливостей іннервації того чи іншого органу. Різноманіття ознак, характеристик і причин болю є важливим

показником для його точної діагностики і лікування. Больове відчуття може бути гострим або хронічним. Під гострим болем розуміють відчуття, спричинене травмою або гострим захворюванням. Для нього характерна певна тривалість і висока інтенсивність. Як правило, гострий біль проходить з одужанням. Хронічний біль супроводжує патологічний процес або посттравматичний стан, що розвиваються в організмі людини протягом тривалого часу. Він може тривати від кількох місяців до багатьох років і є монотонним, виснажливим, часто дифузним, тобто поширеним на великій ділянці тіла.

Біль не є захворюванням, він лише сигналізує про небезпеку, тому анальгетики здебільшого використовують для знеболення, а не для лікування хвороби. Винятком є біль, який довго триває при хронічних захворюваннях і викликає так званий хронічний больовий синдром (ХБС), що характеризується структурними і функціональними змінами нервової системи і серйозними психологічними проблемами [3]. Тому ХБС було віднесено до категорії самостійного захворювання, що зазначено в декларації IASP.

Для більшості гострих і хронічних захворювань, що супроводжуються болем, необхідне застосування анальгетичних засобів. Основними анальгетиками, які, власне, мають знеболювальний ефект, є нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП), опіоїди і локальні анестетики. На цьому арсеналі знеболювальних засобів по суті вичерпується. В оглядовій статті [4], в якій наведено детальний аналіз світових досліджень, пов'язаних з проблемою болю, за останні пів сторіччя, наголошується, що принципово нових ліків немає вже тривалий час. Фармкомпанії змагаються переважно в розробленні різних модифікацій опіоїдів або НПЗП, підбирають умови сповільненого вивільнення активної форми або варіюють компонентний склад для мінімізації побічних ефектів. Тобто наразі ми спостерігаємо екстенсивний шлях розвитку фармацевтики в секторі анальгетиків. Утім, кількість публікацій з цієї тематики зростає в геометричній прогресії. Морфін та

аспірін, які свого часу було впроваджено в медичну практику для лікування болю, продовжують домінувати в біомедичних виданнях, незважаючи на їх обмежену ефективність, наприклад у разі нейропатичного болю, та наявність серйозних побічних ефектів. Ця оцінка свідчить про відсутність реальних проривів у розробленні знеболювальних препаратів, незважаючи на інтенсивні дослідницькі зусилля. З іншого боку, вчені, які займаються цією проблемою, накопичили значну кількість експериментальних даних, що характеризують механізми виникнення болю та клітинні мішені, на які слід цілеспрямовано впливати для знеболення, опублікували тисячі статей, але так і не запропонували нових анальгетиків з достатньою ефективністю.

У нашій роботі ми поставили собі за мету розробити інноваційний лікарський засіб з полімодальним механізмом дії, що дає можливість одночасного знеболення в умовах гострого та хронічного болю. Ми виходили з того, що майбутній препарат повинен бути ефективним, безпечним, мати достатньо тривалу дію, мінімум побічних ефектів та можливість застосування в пероральній формі. Для досягнення цієї мети потрібно було вирішити такі завдання:

- 1) проаналізувати відомі варіанти знеболення, обґрунтувати медичну необхідність у новому анальгетику, визначити економічну доцільність його розроблення та передбачити місце препарату у спектрі вже наявних лікарських засобів;

- 2) визначити, які нові знання та матеріальні ресурси знадобляться для отримання нового препарату, які є можливості для проведення відповідних наукових і клінічних досліджень;

- 3) сформулювати «науково-виробничий кластер» для вивчення ефективності та безпечності препарату. Значне місце при цьому приділялося питанню належного управління науково-практичними дослідженнями, що забезпечило відповідний організаційний контроль на всіх етапах розвитку кластера та прискорення термінів реалізації інвестиційного проекту. До речі, в його основу покладено принцип: «при

плануванні досліджень не повинно бути нічого зайвого, але необхідне слід виконувати в повному обсязі», що дозволило досягти економії початкових витрат та зменшення інвестиційних ризиків учасників кластера.

Визначення потенціальних лігандів для одночасної анальгезії гострого та хронічного болю. Головним та найскладнішим етапом у створенні лікарського засобу є вибір ліганду (сполуки), терапевтичний ефект якого видається найбільш перспективним. На нашу думку, таким лігандом мала б бути сполука з полімодальною (багатоцільовою) дією, оскільки таким чином досягається урівноваження бажаних дій при одночасному усуненні побічних. Раціональна конструкція лігандів, які селективно діють на певні множинні мішені і навіть на їх субодиноці, в науковій літературі має назву сконструйованих множинних лігандів. Полімодальна анальгезія відрізняється від поліфармацевтичної (одночасне використання кількох медичних препаратів) тим, що зменшує ризик поліпрагмазії [5].

Базовою біомішенню, з якою має взаємодіяти ліганд, було обрано рецептор ГАМК. Ми виходили з того, що нейрофізіологічні основи ГАМКергічної анальгезії пов'язані з теорією керування болем. Свого часу Р. Мелзак і Д. Уолл [6] запропонували концепцію «воротного контролю болю», відповідно до якої в системі аферентного входу у спинний мозок діє механізм регуляції проходження ноцицептивної імпульсації з периферії в мозок. Такий контроль здійснюється гальмівними нейронами, які активуються імпульсацією з периферії по товстих невольових волокнах. Актуальним аспектом нейропластичних змін при запальних та нейропатичних патологіях є зниження гальмівного ГАМКергічного та гліцинергічного контролю нейронів дорсального рогу спинного мозку, що тягне за собою посилення болю і гіперальгезії. Дійсно, у випадку посилення синаптичного гальмування в експериментальних тварин за допомогою сполук похідних бензодіазепіну (БДЗ) спостерігається зменшення больової чутливості [7]. Селективні за підтипом сполуки, які взаємодіють з $\alpha 2$ та/або

$\alpha 3$ субодиноцями ГАМК-Р, викликають антигіперальгезію у мишей і щурів без седативного ефекту і без індукції толерантності. Зміни ГАМКергічної нейротрансмісії на спинномозковому рівні можуть мати особливе значення для синдромів деаферентаційного болю та гіперальгезії, які розвиваються після хронічних периферичних уражень і запалення. На жаль, на сьогодні практично нічого не відомо про вплив БДЗ, націлених на рецептор ГАМК, на ноцицептивні процеси у людей. Ця інформація важлива для оцінки їх потенційної клінічної користі при лікуванні болю і як керівництво щодо майбутніх досліджень.

Основною мішенню БДЗ є ГАМК_A рецептори (ГАМК-Р), які представлені сукупністю нервових центрів, волокон і синапсів, що синтезують і виділяють гамма-аміномасляну кислоту (ГАМК) як медіатор рецепторів, що у ссавців містять як мінімум 19 субодиноць, згрупованих у сім класів: α , β , γ , δ , ϵ , π і σ [8]. Більшість класичних БДЗ мають спорідненість до $\alpha 1\beta\gamma 2$, $\alpha 2\beta\gamma 2$, $\alpha 3\beta\gamma 2$ або $\alpha 5\beta\gamma 2$ субодиноць ГАМК-Р, здійснюючи таким чином відповідні поведінкові ефекти (анксиолітичні, седативні, снодійні, протисудомні, міорелаксантні та анальгетичні). Співвідношення цих клініко-фармакологічних патернів у спектрі дії окремого препарату визначає особливості його психотропного ефекту, клінічні показання та побічну дію.

З огляду на зазначене вище нами було вибрано БДЗ як основу для перспективних знеболювальних засобів. Ми виходили з того, що Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України має значний досвід виконання наукових робіт із синтезу зазначених речовин та визначення їх нейротропної активності. Ці дослідження було започатковано ще в 1970-х роках під керівництвом О.В. Богатського та С.А. Андронаті, і на основі отриманих результатів сформульовано уявлення про характер фармакофорного фрагмента сполук та вплив конформаційних факторів на їх активність [9]. З урахуванням виявлених закономірностей синтезовано та вивчено низку високоефективних похідних 1,4-бензодіазепіну [10], що до-

звонило нам разом із ТДВ «ІНТЕРХІМ» розробити та впровадити в широку медичну практику низку інноваційних препаратів.

В останні роки у відділі медичної хімії Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України синтезовано та проведено скринінг низки 3-заміщених 1,2-дигідро-3*H*-1,4-бензодіазепін-2-онів (3-ариліден-, 3-алкокси-, 3-ацилокси- та 3-ариламіно-похідних). На різних моделях анальгетичної та протизапальної активності виявлено певні залежності структура–властивість, що дало можливість побудувати наукову базу для створення нового ефективного й безпечного знеболювального засобу. Найбільш перспективною, на нашу думку, виявилася сполука 7-бром-3-пропокси-5-(2-хлорфеніл)-1,3-дигідробензо[е] [1,4]діазепін-2-он, субстанція якої здобула назву «сполука 007», а за хімічною структурою — пропоксазепам. Для проведення доклінічних досліджень ТДВ «ІНТЕРХІМ», згідно з вимогами Державного експертного центру МОЗ України, розробило технологічний регламент синтезу сполуки в кількості, достатній для проведення експериментів, та методи якісного і кількісного контролю.

Міждисциплінарний підхід до розроблення лікарського засобу. Основні витрати часу і ресурсів припадають на медико-біологічні дослідження (фармакодинаміка, фармакокінетика), зокрема на перевірку токсичності, підбір оптимального дозування і режиму лікування, а також відпрацювання промислової технології виробництва, вибір оптимальної лікарської форми. Якість даних на етапі доклінічних досліджень має величезне значення, тому всі центри доклінічних досліджень мають дотримуватися правил належної лабораторної практики (Good Laboratory Practice — GLP), які містять стандарти щодо утримання тварин та процедури проведення дослідів [11].

Якщо доклінічні дослідження — це зона відповідальності наукових лабораторій інститутів або фармацевтичних компаній, то на етапі клінічних досліджень значно зростає роль держави. Зазначимо, що з урахуванням нинішніх обсягів проведення наукових та прикладних

досліджень у ланцюжку зі створення нових ліків жодна організація в Україні не має достатніх людських і фінансових ресурсів. Сучасні фармацевтичні дослідження потребують глобального підходу до формування дослідницького колективу із залученням фахівців різних спеціальностей: медичних хіміків, молекулярних біологів, біостатистиків, клініцистів, фармацевтів, фахівців з управління даними, експертів з економіки охорони здоров'я, фармакоекономістів, маркетингологів тощо. Перед розробниками ліків стоїть спільне завдання щодо посилення ефективності комунікації та кооперації між усіма фахівцями з метою випуску такого препарату, який водночас був би ефективним, безпечним і відповідав би потребам пацієнтів.

Ключовим елементом ефективного впровадження нових лікарських засобів є партнерство державного і приватного секторів. Протягом уже 25 років нашим партнером є ТДВ «ІНТЕРХІМ» (генеральний директор — А.С. Редер), у результаті плідної співпраці з яким нам вдалося спільно розробити та впровадити в широку медичну практику такі інноваційні препарати — похідні БДЗ, як Феназепам ІС, Гідазепам ІС, Левана ІС та генеричні Діазепам ІС, Нітразепам ІС і Клоназепам ІС з різним спектром дії. Значущим кроком у розвитку співробітництва Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського і ТДВ «ІНТЕРХІМ» стало створення Асоціації учасників наукової та інноваційної діяльності в галузі медичної і фармацевтичної хімії «Медфармхім», діяльність якої спрямована на координування науково-технічного розвитку з метою забезпечення споживачів сучасними високоякісними лікарськими препаратами.

На різних етапах доклінічних досліджень активну участь брали Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Запорізький державний медичний університет, харківський Національний фармацевтичний університет, Інститут фармакології та токсикології НАМН

України; НТК «Інститут монокристалів» НАН України, компанії Covance Laboratories LTD, Harrogate (Велика Британія), Charles River Laboratories (США), Інститут прикладної фізики АН Молдови, Університет Руану (Франція).

Фінансове забезпечення процесу розроблення лікарського засобу здійснювалося коштами державного бюджету (пошуковий етап), коштами виробника препарату (ТДВ «ІНТЕРХІМ») та коштами виробника лікарського засобу при виконанні науково-дослідних робіт іншими учасниками кластера на договірних умовах.

Така форма співпраці дала позитивні результати і в інших сферах науково-практичної та педагогічної роботи. У зазначеній тематиці брали участь студенти хімічних і біологічних спеціальностей, аспіранти та докторанти. За цей період було захищено 2 докторські дисертації з хімії (аналітична хімія та біоорганічна хімія) та по одній з біології (фармакологія) і фармацевтичних наук (фармакологія); 6 кандидатських дисертацій за спеціальностями «аналітична хімія», «біоорганічна хімія» та «фармакологія». Доктору фармацевтичних наук Ірині Борисюк було призначено іменну стипендію Верховної Ради України для найталановитіших молодих учених (2016), доктору біологічних наук Віталію Ларіонову присуджено премію Президента України для молодих учених (2018), співробітникам Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України та ТДВ «ІНТЕРХІМ» — Державну премію України в галузі науки і техніки (2017).

Нейрохімічні та рецепторні антиноцицептивні механізми дії пропоксазепаму. Дослідження первинної фармакодинаміки (*in vivo* та *in vitro*) були спрямовані на виявлення механізму дії речовини відносно її цільової терапевтичної мішені. Результати цих досліджень дають підґрунтя для вибору дози на стадії як доклінічних, так і клінічних досліджень.

У наших радіорецепторних дослідженнях [12] було встановлено, що показник афінітету (K_i), який визначається як концентраційне гальмування пропоксазепамом специфічно-

го зв'язування [^3H]флумазенілу синаптичними мембранами мозку щурів, становить $3,5 \pm 0,3$ нмоль. Важливим критерієм внутрішньої активності сполуки є величина ГАМК-зсуву кривої витіснення нею радіоліганду за відсутності та за наявності ГАМК ($1 \cdot 10^{-4}$ моль). Розрахунки показали, що ГАМК-зсув для пропоксазепаму становить 1,9, що дає підстави віднести його до повних агоністів ГАМК-Р.

Визначення взаємодії пропоксазепаму з окремими субодинаціями ГАМК-Р проводили за схемою РАМ (positive allosteric modulator). Експериментальна система містила людський $\alpha(1-5)\beta 2\text{g}2$ -рецептор, експресований у клітинах НЕК293, ГАМК (5 нМ) та пропоксазепаму у різних концентраціях, що приводило до зміни функціональної відповіді ГАМК-Р. Реєстрованим ефектом була провідність клітин, у яких експресується цей тип рецептора [13], що дозволяє визначити його спрямованість (можливий ефект) та кількісно охарактеризувати афінитет за величиною EC_{50} (обчислюється в точці перегину нормалізованої кривої залежності концентрація–ефект).

Величина максимального ефекту EC_{50} (μM), тобто напівмаксимальна ефективна концентрація ліганду, яка викликає ефект (зв'язування з субодинаціями ГАМК-Р), рівний половині максимально можливої взаємодії пропоксазепаму з субодинаціями ГАМК-Р, становила: $\text{ha}1\beta 3\text{g}2$ (0,018); $\text{ha}2\beta 3\text{g}2$ (0,038); $\text{ha}3\beta 3\text{g}2$ (0,098); $\text{ha}4\beta 3\text{g}2$ ($>0,3$); $\text{ha}5\beta 3\text{g}$ (0,02). Важливим виявився той факт, що пропоксазепам взаємодіє з $\text{ha}2\beta 3\text{g}2$ та $\text{ha}3\beta 3\text{g}2$ субодинаціями ГАМК-Р, оскільки, власне, спінальні $\alpha 2$ і $\alpha 3$ опосередковують протигіперальгезійну дію деяких анальгетиків [14].

З метою уточнення взаємодії пропоксазепаму з ГАМК-Р ми вивчили [15] конформації сполуки та можливу тривимірну будову лігандзв'язувального центру рецептора. Методом молекулярного докінгу показано, що на частині ГАМК-Р є кілька місць зв'язування пропоксазепаму з енергією утворення комплексів від $-78,64$ до $-85,29$ ккал/моль. Найбільший внесок у формування комплексу належить залишкам полярних амінокислот (серин,

аспарагін, метіонін та аргінін), що створюють полярний підцентр зв'язування. Для окремих конформерів зазначену роль відіграють ароматичні амінокислоти, переважно фенілаланін (Phe-31 та Ala-135 — гідрофобний підцентр зв'язування). Заслуговує на увагу і той факт, що пропоксазепам, на відміну від інших препаратів (анксиолітиків) цього класу (діазепам, феназепам, гідазепам, левана), має інше розташування на ГАМК-Р.

Деякі механізми дії пропоксазепаму було визначено в дослідженнях *in vivo* з використанням методів фармакологічного аналізу його нейрохімічних та рецепторних антиноцицептивних властивостей. Виявилось [16], що конкурентний блокатор бензодіазепінової частини ГАМК-Р — флумазеніл у дозі 10 мг/кг практично не впливав на знеболювальну дію пропоксазепаму (тест tail flick). Оскільки флумазеніл має антагоністичну дію з анксиолітичними, седативними та снодійними властивостями БДЗ, він не спроможний гальмувати анальгетичну дію сполук, яка є залежною від інших субодиниць ГАМК-Р. Отримані нами дані [17] свідчать також про те, що в механізмах дії пропоксазепаму присутні антибрадікініновий та антилейкотрієновий (антиліпоксигеназний) компоненти за відсутності антициклооксигеназної (антипростагландинової) складової. В механізмах знеболювального ефекту пропоксазепаму беруть участь дофамінергічна система, NMDA-рецептори та альфа-1 адренорецептори. Натомість вплив на опіоїдергічну систему, а також на інші види адренорецепторів, згідно з нашими результатами, не має суттєвого значення в антиноцицептивному ефекті пропоксазепаму на цій моделі больової перцепції.

Пропоксазепам, як і інші БДЗ, не здатний активувати ГАМК-Р, однак, взаємодіючи зі своїм місцем зв'язування, він спричиняє конформаційні зміни рецептора, які приводять до підвищення його афінності до ГАМК. Цей тип взаємодії є прикладом алостеричної модуляції. Водночас дія пропоксазепаму не обмежується лише цим. З'ясувалося [18], що на моделі ГАМК-дефіцитних судом, виклика-

них тіосемікарбазидом, пропоксазепам продемонстрував досить високу активність і за формою кривої доза–ефект має антагоністичну взаємодію з тіосемікарбазидом. Отримані результати свідчать про можливе посилення дії ключового ферменту синтезу ГАМК-глутаматдекарбоксилази (КФ 4.1.1.15). Дійсно, при больових синдромах відбувається зміна у вмісті ГАМК у ноцицептивній системі, і залежно від характеру болю вона має свої особливості. В умовах ноцицептивного запального болю у піддослідних тварин підвищується вміст ГАМК у I–III пластинах у дорсальних рогах на боці запалення і, навпаки, при виникненні нейропатичного болю, в разі пошкодження спинного мозку і периферичних нервів, зменшується вміст ГАМК у дорсальних рогах спинного мозку [19].

Відомо, що інтеграційна діяльність нейронних популяцій дорсальних рогів перебуває під потужним гальмівним контролем, до якого залучено не лише мережі ГАМК, а й гліцинергічні інтернейрони сірої речовини спинного мозку. Для з'ясування участі рецепторів гліцину в реалізації анальгетичної дії пропоксазепаму ми використали стрихнін — конкурентний блокатор цього рецептора. Його низькі дози сприяють проведенню збудження, а великі викликають генералізовані тонічні судоми з вираженим больовим синдромом, переважно центрального походження.

На моделі стрихнінових судом активність пропоксазепаму була помірною і становила $40,33 \pm 14,91$ мкмоль/кг, що свідчить про участь гліцинергічної системи в реалізації фармакологічної дії пропоксазепаму. Це підтверджується і більш високим значенням кута нахилу кривої доза–ефект [20].

Потенціал-залежні калієві канали (Kv) також мають значення для контролю збудливості нейронів і беруть участь в індукції нейропатичного болю, а тому можуть бути потенційними мішенями для дії анальгетичних засобів [21]. На моделі судом [22], індукованих 4-амінопіридином (блокатор Kv), пропоксазепам проявив помірну активність ($ED_{50} = 91,5 \pm 19,5$ мкмоль/кг). Навіть при високих до-

зах (80 мг/кг) досліджуваної сполуки її фармакологічна дія не досягала 100 %, що вказує на відсутність значної антагоністичної взаємодії з 4-амінопіридином на рівні цих рецепторів.

Пропоксазепаму властива взаємодія з периферичними ГАМК-рецепторами, але не з високою афінністю [23]. Також було показано [24] функціональну активність пропоксазепаму в тензометричних дослідах з пригнічення викликаних брадикініном скорочень гладеньких м'язів шлунка щура ($pK_B = 6,41$), що дозволяє припустити, що зазначена сполука належить до антагоністів брадикінінових рецепторів.

На жаль, ми не досліджували можливу взаємодію пропоксазепаму з такою важливою біомішенню, як потенціал-залежні кальцієві канали, для яких прегабapлін є модулятором їх $\alpha 2\delta$ субодиниць, що знижує поріг збудливості сенсорних нейронів задніх рогів спинного мозку і блокує патологічну циркуляцію ноцицептивних імпульсів у ЦНС та забезпечує його знеболювальну дію в разі нейропатичної патології [25]. Тим не менш, відомо [26], що деякі БДЗ впливають на поглинання $^{45}\text{Ca}^{2+}$ синапсомами експериментальних тварин.

Доклінічна фармакокінетика пропоксазепаму. Визначення фармакокінетичних властивостей препарату дозволяє обґрунтувати вибір методів його введення, можливість накопичуватися в організмі, а також встановити основні шляхи елімінації фармакологічного засобу. Дані випробувань дозволяють також оптимізувати вибір лікарської форми [27], від чого залежить і швидкість настання ефекту, і встановлення максимальної концентрації (у тимчасовому і абсолютному значенні). Нами створено дисперговану форму субстанції пропоксазепаму з розміром частинок, меншим за 30 мкм, що приводить до збільшення площі всмоктування та посилення фармакологічної дії з одночасним збереженням структури молекули [28].

Для проведення фармакокінетичних досліджень було синтезовано [^{14}C]пропоксазепам, визначено його радіохімічну характеристику та проведено валідацію методики кількісного аналізу в біологічному матеріалі

[29]. Евакуація сполуки зі шлунка (інтрагастральне введення, 10 мг/кг) є двофазним процесом (перша фаза з $k_{el} = 0,68 \text{ год}^{-1}$, друга — з $k_{el} = 0,0094 \text{ год}^{-1}$). Загальна кількість дози, що всмокталася впродовж експерименту, становила близько 80 %, а константа абсорбції — $0,371 \pm 0,098 \text{ год}^{-1}$. Близькі значення об'ємів розподілу (743 ± 195 і 1090 ± 421 г/кг для крові та мозку відповідно) відповідають процесам швидкого масообміну [30]. Характер розподілу пропоксазепаму між кров'ю та внутрішніми органами описується однокамерною моделлю [31]. У процесі метаболізму пропоксазепаму утворюються 3-гідроксипохідне, окиснені похідні та ареноксиди [32]. Переважна кількість радіоактивного матеріалу виводиться з калом і становить $46,1 \pm 6,72 \%$ введеної дози. Із сечею виводиться $31,24 \pm 0,47 \%$ загальної радіоактивності, проте константа елімінації для сечі майже втричі більша, ніж константа елімінації з калом ($0,038$ та $0,014 \text{ год}^{-1}$ відповідно).

При вивченні можливої фармакокінетичної взаємодії пропоксазепаму з іншими препаратами не спостерігалось ні значної індукції таких ізоформ цитохрому P450, як CYP1A2, CYP2B6, CYP3A4, ні інгібування CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 та CYP3A4 печінки людини. Оцінка біохімічного стану гемопротеїдів визначалася за зміною швидкостей метаболізму специфічних субстратів та кількості мРНК у клітинах [33].

Проведено необхідний аналіз та визначено механізм взаємодії пропоксазепаму з сироватковим альбуміном людини [34].

Спектр терапевтичної дії пропоксазепаму. Зважаючи на можливість використання пропоксазепаму як засобу одночасного гальмування соматичних та нейропатичних больових синдромів, у роботі використано батарею поведінкових тестів на термічне та хімічне подразнення експериментальних тварин, які відповідають сучасним вимогам до досліджень фармакологічно активних речовин і гуманного поводження з експериментальними тваринами. Згідно з поставленими завданнями, як препарати порівняння взято диклофенак і кеторо-

лак (НПЗП) та габапентин (засіб, що використовується в медичній практиці для усунення нейропатичного болю).

Протизапальні властивості пропоксазепаму. Для успішного лікування болю потрібно чітко розуміти механізм його розвитку як складного та багатофакторного системного процесу. Це абсолютно необхідно для створення системи раціональної та ефективної анальгетичної терапії, де кожен елемент патогенезу болю розглядається як перспективна «мішень» для фармакологічного втручання. Один з головних напрямів знеболювання пов'язаний із застосуванням препаратів, що мають протизапальну дію. Це виправдано тією роллю, яку відіграє запальний процес при виникненні гострого та розвитку хронічного болю.

Найпоширенішою в плані скринінгу протизапальних речовин є модель запального набряку лапки щура, індукованого субплантарним введенням карагану. Сполуки, які виявляють протизапальні та антиексудативні властивості, гальмують розвиток запальних реакцій і знижують розмір набряку та гіперемії тканини. Проведені дослідження [35] показали, що пропоксазепам у дозі 3 мг/кг помірно знижував розмір набряку. Збільшення дози пропоксазепаму до 10 мг/кг приводило до зниження об'єму набряку порівняно з ефектом диклофенак-натрію на другу годину експозиції. Водночас гальмування ексудативної реакції за 4 год було дещо нижчим.

Адекватною хомогенною моделлю гострої запальної реакції є «формаліновий тест» (модель неспецифічного запалення). Механізмом ноцигенної дії формаліну є активація TRPA1-каналів, що в нормі реагують на холод і стимулюють розвиток запалення [36]. Перша фаза реакції розвивається відразу і характеризується впливом на первинні аференти болю, друга фаза відтермінована в часі і є болем, викликаним запальною реакцією. Опіодні анальгетики блокують обидві фази. Нестероїдні протизапальні засоби пригнічують тільки другу фазу, а місцеві анестетики — тільки першу. Експериментальні дані, отримані на основі формалінового тесту, демонструють наявність

у пропоксазепаму високої протизапальної активності. В дозі 0,1 мг/кг пропоксазепам виявився у 1,5 раза активнішим за диклофенак-натрій, введений у дозі 10 мг/кг у першій фазі тесту, і порівнянним до нього — у другій фазі [35].

Брадикінін є важливим медіатором запалення, сприяє посиленню відчуття болю, виробленню гістаміну та збільшенню проникності капілярних судин [29]. Його біологічні дії опосередковані двома відомими рецепторами, названими V1 і V2. Рецептор брадикініну V2 конститутивно експресується в більшості типів клітин і викликає гострі больові реакції після пошкодження тканин, тоді як рецептор брадикініну V1 індукується під час запальних процесів або больових подразників [30].

Отримані дані показують, що пропоксазепам у цьому експерименті знижував гіперальгезію на моделі набряку, викликаного брадикініном. Ін'єкція пропоксазепаму викликала у щурів статистично значуще зниження больової чутливості на 71,7%.

Антиноцицептивна дія пропоксазепаму на моделях гострого болю. Основною стандартною процедурою для вимірювання порогу гострої больової чутливості і потенційного анальгезивного ефекту досліджуваних сполук у відповідь на термічне подразнення є тест «гаряча пластина» (hot plate). У зазначеній моделі спостерігаються дозозалежні властивості дії сполуки. При цьому найбільш ефективною дозою є 7,5 мг/кг відносно доз 2,5 та 5,0 мг/кг [37].

Тест відсмикування хвоста від теплового випромінювання (tail-flick) засновано на принципі спінального флексорного рефлексу, що виникає у відповідь на прогресивне збільшення впливу на шкірну поверхню теплового випромінювання. У цьому тесті послідовно активуються C- і Ad-волокна полімодальних ноцицепторів та високопорогові механорецептори. При введенні пропоксазепаму та кеторолаку в дозах 3 мг/кг перорально ступінь анальгетичного ефекту сполуки у щурів перевищував референс-препарат як за силою дії, так і за тривалістю. За обох шляхів введення найбільш

виразна дія була на 2-й годині і тривала протягом ще 2 год, однак при внутрішньочеревинному введенні на 6-й годині ще зберігалася на достатньо високому рівні, а при введенні в шлунок суттєво зменшувалася. Кеторолак при введенні в еквімолярній дозі (0,5 мг/кг) за перорального введення за ступенем знеболювальної дії був зіставний зі сполукою на 4-й і 6-й годині [38].

Тест «оцтовикорчів» спрямований на дослідження гострого вісцерального та соматично глибокого болю. На цій моделі пропоксазепам гальмував больову поведінку тварин у першій больовій та у другій запальній фазах. При зниженні дози сполуки з 3,0 до 0,1 мг/кг відсоток гальмування больової реакції зменшувався з 91,1 і 98,4 до 76,0 і 54,0% для першої і другої фаз відповідно. З часом активність сполуки в дозі 3 мг/кг зменшувалася з 75,4 до 55,0% пригнічення «корчів», що свідчить про достатню тривалість анальгетичної активності пропоксазепаму [39].

Анальгетична дія пропоксазепаму на моделях нейропатичного болю. Нейропатичні больові синдроми викликали перерізуванням сідничного нерву у щурів та на моделі діабетичної нейропатії, що є експериментально вивіреними тестами периферичної нейропатії. У першому випадку пропоксазепам проявляв виразну дозозалежну анальгезивну дію, про що свідчить зростання порогу больової чутливості (ПБЧ) через 2 год після його перорального введення. В дозі 0,5 мг/кг (ED_{50}) антиноцицептивний ефект пропоксазепаму становив у середньому 23,1% відносно неушкодженої кінцівки. За цією активністю пропоксазепам практично не відрізнявся від еквімолярної дози кеторолаку (+24,6%). Збільшення дози пропоксазепаму до 3 мг/кг супроводжувалося значним збільшенням його активності [39]. Зростання ПБЧ через 2 год становило +82,5%, що було більшим, ніж аналогічна дія кеторолаку в такій самій дозі (+70,1%).

На моделі експериментального діабету в усі терміни дослідження пропоксазепам був ефективнішим за референтний препарат габапентин, однак статистичних значень ці від-

мінності набули тільки на 4–6-й тиждень спостереження. Наприкінці експерименту ПБЧ у групі габапентину був нижчим за вихідний рівень лише на 8,03%, а у щурів, які отримували пропоксазепам, він був вищим за вихідне значення на 9,5%. Результати дослідження анальгетичної дії пропоксазепаму на моделі цукрового діабету показали, що сполука має лікувальну дію за умов курсового введення (протягом 5 тижнів), сприяє зменшенню проявів нейропатії (зменшує виразність автототомій), а також спричиняє збільшення ПБЧ значно вище, ніж вихідний рівень, і перевершує аналогічні показники для габапентину. Більш того, обидва препарати зменшували елевацію глікемії за умов стрептозотоцинового діабету та поліпшували за цих умов стан тварин. Пропоксазепам також проявив здатність зменшувати больовий синдром при одноразовому введенні у тварин з експериментальним цукровим діабетом, перевершуючи при цьому референтний препарат втричі [39].

Антиепілептичні (протисудомні) властивості пропоксазепаму як предиктор його анальгетичної дії. Наявність протисудомної дії БДЗ ми відносимо до позитивних властивостей сполук у контексті їх можливої анальгезії. З відомих експериментальних досліджень на тваринах та клінічних випадків доведено, що для більшості нейропатій характерним є спонтанний пароксизмальний біль, який нагадує епілепсію, що відобразилося навіть у терміні «епілептиформна невралгія». Недаремно найефективнішими препаратами для лікування нейропатичного болю є прегабалін та габапентин, які створювалися як антиепілептичні засоби [25].

Для проведення ефекторного аналізу механізму протисудомної дії сполуки на зазначених моделях судом визначено величини середніх вагових ефективних доз (ED_{50}). Представлені результати [40, 41] свідчать про високу захисну активність пропоксазепаму на підставі даних кривих доза–ефект: пікротоксин $1,67 \pm 0,09$, коразол $0,9 \pm 0,04$, стрихнін $14,24 \pm 0,47$, МЕШ $0,57 \pm 0,23$, тіосемікарбазид $0,18 \pm 0,09$, 4-амінопіридин $37,3 \pm 7,9$ мг/кг, та

на моделі коразолового кіндлінгу. Зміна часу настання судом та їх перерозподіл у перебігу епілептичного синдрому свідчать про перспективність пропоксазепаму і в лікуванні деяких форм епілепсії. На підставі отриманих результатів розраховано основні показники (терапевтичний індекс, терапевтична широта, терапевтичний інтервал та фактор надійної безпеки), що характеризують безпечність застосування пропоксазепаму [42, 43].

Зміни поведінкових реакцій у експериментальних тварин при введенні різних доз пропоксазепаму. Для лікарських засобів — похідних 1,4-бензодіазепіну характерною є відповідна взаємодія з субодинамицями ГАМК-Р, що й визначає їх фармакологічну дію. Відомо [44], що седативна, анксиолітична, протисудомна дія та антероградна амнезія зумовлені взаємодією цих сполук з ГАМК-Р, що містить $\alpha 1$ субодинамицю. Анальгезія та міорелаксація залежать від субодинамиць $\alpha 2$ і $\alpha 3$, а $\alpha 4$ відповідає за когнітивні порушення, зловживання алкоголем, адиктивну поведінку. Порушення когнітивних функцій, амнезія, міорелаксація, зловживання алкоголем та адиктивна поведінка перебувають під контролем субодинамиці $\alpha 5$.

Як показали наші дослідження, пропоксазепаму властива гальмівна дія «змішаного» типу болю, тобто коли у структуру хвороби залучено і нейропатичний компонент (біль через пошкодження нервових волокон), і ноцицептивний (біль через подразнення больових рецепторів), які залежать від субодинамиць $\alpha 2$ та $\alpha 3$ ГАМК-Р. Протисудомна дія пропоксазепаму передусім зумовлена зв'язуванням сполуки з підтипом $\alpha 1$.

Оскільки пропоксазепам не взаємодіє з субодинамицею $\alpha 4$, нам необхідно було з'ясувати, які фармакологічні наслідки мають процеси взаємодії сполуки з субодинамицями $\alpha 1$ і $\alpha 5$. Для цього ми вивчили анксиолітичні, снодійні та міорелаксантні властивості пропоксазепаму. Дані спостереження стану ЦНС, проведеного методом «відкритого поля», свідчать про те, що одноразове введення мишам пропоксазепаму в дозах 0,15 і 1,5 мг/кг не викликало вірогідних змін у руховій активності та орієнтовно-до-

слідницькій поведінці тварин порівняно з тваринами контрольної групи. Залежність зазначених показників від тривалості введення (90 діб) пропоксазепаму показала [45] зниження дослідницької активності тільки тих тварин, у яких введена доза перевищувала терапевтичну в 10 разів. Ці тварини мали дещо «загальмований» вигляд, що може бути зумовлене особливостями фармакологічної дії пропоксазепаму за умов передозування.

Показники орієнтовно-дослідницької реакції (кількість стійок і горизонтальна рухова активність), стійкості нервових процесів (кількість реверсивних поворотів та час відвідування освітлених квадратів) та вегетативної і емоційної реакції (час грумінгу) зі збільшенням дози пропоксазепаму поступово знижуються, що свідчить про незначні порушення активності мозкових процесів у разі тривалого введення речовини у високих дозах.

На моделі піднятого хрестоподібного лабіринту отримано [45] майже однакові показники часу перебування контрольних та дослідних тварин у темному рукаві лабіринту, а також недостовірну різницю перебування мишей у світлому рукаві та кількості виходів з темного рукава лабіринту, що свідчить про відсутність анксиолітичної дії пропоксазепаму.

Снодійну (гіпногенну) активність пропоксазепаму досліджували [46] у тестах «потенціювання снодійного ефекту барбітуратів» та пролонгації їх снодійного ефекту. Результати засвідчили, що починаючи з дози 700 мг/кг введення сполуки спостерігалася загальмованість тварин, вони ставали малорухливими, млявими. За дози 1100 і 1300 мг/кг стан мишей можна охарактеризувати як «заціпеніння». Однак тварини перебували у фізіологічному положенні. Після спроби надати їм бокове положення тварини негайно поверталися до звичайного — на 4 кінцівки. Тварини реагували на зовнішні подразники, однак у разі їх відсутності знову приймали «заціпенілу позу».

Вплив пропоксазепаму на м'язовий тонус вивчали [46] на білих мишах з використанням методики ротород-тесту. Результати показали, що тварини контрольної групи, як і на по-



Препарат пропоксазепам для проведення 1-ї фази клінічних випробувань

чатку дослідження, утримувалися на стрижні не менш як 180 с. Тварини, які отримували пропоксазепам у дозах 1; 2; 3 мг/кг, також не втратили здатність необхідний час утримуватися на обертовому стрижні, тоді як у разі дози 4 і 5 мг/кг жодна миша не змогла пройти ротород-тест більш як за 5 с. Такий результат було зафіксовано в усі терміни після введення тест-зразка. Отже, певна міорелаксанта дія пропоксазепаму починається з 4 мг/кг при пероральному його введенні тваринам.

Відповідно до регламентованих вимог доклінічних досліджень, визначено гостру токсичність та токсичність за повторних (90 днів) введень пропоксазепаму щурам [47], його гастротоксичну дію [48], стан клініко-лабораторних і морфологічних показників внутрішніх органів щурів [49], а також алергізувальну, геннотоксичну та канцерогену дії [50]. Отримані результати свідчать про відсутність значних відхилень показників від контрольних. Експериментальне доклінічне оцінювання потенціалу розвитку залежності та толерантності пропоксазепаму свідчить про мінімальну ймовірність розвитку звикання та лікарської залежності до нього при епізодичному та корот-

котривалому прийомі в еквівалентних дозах при клінічному застосуванні як анальгетика.

Отримана доклінічна оцінка ефективності та безпеки пропоксазепаму використана нами для встановлення стартового (початкового) діапазону доз для клінічних випробувань, а також для визначення параметрів клінічного моніторингу потенційних побічних ефектів. Керуючись міжнародними нормами [51] та рекомендаціями щодо безпечної дози для проведення 1-ї фази клінічних досліджень, ми довели, що вона має становити 1; 2 і 5 мг для визначення переносимості препарату у добровольців.

Отже, представлені доклінічні дослідження свідчать про ефективність та безпечність пропоксазепаму. Основною мішенню для знеболення є $\alpha 2$ та $\alpha 3$ субодиниці ГАМК-Р. Пропоксазепам взаємодіє також з іншими біологічними мішенями, які відповідають за перебіг болю: гліцинові рецептори, потенціал-залежні калієві канали, дофамінергічна система, NMDA-рецептори, альфа-1 адренорецептори. На батареї тестів було доведено, що сполука має фармакодинамічний профіль, відмінний від усіх анальгетиків, оскільки одночасно гальмує і гострий, і хронічний біль з компонентами протизапальної та протисудомної дії. За технологічними й терапевтичними показниками пропоксазепам є інноваційним засобом [52]. Про це свідчить низка патентів України, отриманих учасниками досліджень (номери патентів: 60362; 102273; 103803; 105703; 107433; 108246; 113597; 115205; 118626; 119018; 119735; 134442). Подано заявки в Європейське патентне відомство (ЕРО) та патентне відомство США.

Пропоксазепам має також седативну дію, яка характерна для всіх БДЗ, що взаємодіють з $\alpha 1$ та $\alpha 5$ субодиницями ГАМК-Р. Її наявність не є однозначною для якості сполуки як анальгетичного засобу. Вона може бути позитивною у разі передопераційної премедикації та під час регіонарної і місцевої анестезії в післяопераційному періоді, але водночас седація є небажаною в умовах амбулаторного лікування, що потрібно враховувати лікарям.

Доклінічні дослідження та належно підготовлене досьє на пропоксазепам дало змогу отримати дозвіл МОЗ України (наказ від 23 лютого 2021 р. № 310) на проведення 1-ї фази клінічних випробувань. З цією метою клінічній базі передано необхідну кількість таблеток під шифром 007 у дозах 1; 2 і 5 мг (див. фото). Біоаналітична лабораторія отримала потрібну кількість субстанції та її похідної, що вміщує дейтерій для внутрішнього стандарту в аналітичних дослідженнях фармакокінетики у людей.

На відміну від експериментів, що проводяться на тваринах або *in vitro*, в яких дослідники користуються загальним терміном «нейропатичний біль», у наших майбутніх клінічних дослідженнях основну увагу буде приділено деяким патологіям, таким як постгерпетична невралгія, класична невралгія трійчастого нерва, больова форма діабетичної нейропатії, болі при хронічних корінцевих синдромах та інших патологічних явищах і процесах у хреб-

ті. За сучасними уявленнями, біль — це складний психофізіологічний стан людини, що крім специфічного відчуття має емоційний, вегетативний і поведінковий компоненти. Встановлено, що формування болю є результатом складної взаємодії біологічних, фізіологічних і соціальних механізмів. Ми усвідомлюємо, що наші доклінічні дослідження, незважаючи на використання методів та підходів трансляційної медицини, не враховують один із важливих показників больового синдрому — психофізіологічну складову, яка відсутня у тварин. Однак маємо надію, що подальше отримання та накопичення вітчизняного досвіду застосування пропоксазепаму в клінічній практиці може допомогти істотно оптимізувати наявні стратегії лікування больових синдромів лікарями загальної практики та сімейними лікарями і сприяти підвищенню якості життя цієї категорії хворих, особливо пацієнтів з нейропатичним болем.

REFERENCES

[СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ]

1. Matthias M., Parpart A., Nyland K., Huffman M., Stubbs D., Sargent C., Bair M. The patient-provider relationship in chronic pain care: providers' perspectives. *Pain Med.* 2010. **11**(11): 1688–1697. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1526-4637.2010.00980.x>
2. Merskey H., Bogduk N. *Classification of Chronic Pain*. 2nd edition. IASP Press, Seattle. 1994.
3. Sebastin S.J. Complex regional pain syndrome. *Indian J. Plast. Surg.* 2011. **44**(2): 298–302. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0039-1699507>
4. Kissin I. The development of new analgesics over the past 50 years: a lack of real breakthrough drugs *Anesth. Analg.* 2010. **110**(3): 780–789. DOI: <https://doi.org/10.1213/ANE.0b013e3181cde882>
5. Pasero C., Potenooy R. Neurophysiology of pain and analgesia and the pathophysiology of neuropathic pain. In: Pasero C., McCaffery M. (eds) *Pain Assessment and Pharmacologic Management*. St Louis, MO: Mosby Elsevier Inc., 2011.
6. Melzack R., Wall D. Pain mechanisms: a new theory. *Science.* 1965. **150**(3699): 971–979. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.150.3699.971>
7. Reichl S., Augustin M., Zahn P.K., Pogatzki-Zahn E.M. Peripheral and spinal GABAergic regulation of incisional pain in rats. *Pain.* 2012. **153**(1): 129–141. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2011.09.028>
8. Costa E. From GABA (A) receptor diversity emerges a unified vision of GABAergic inhibition. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1998. **38**: 321–350. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.38.1.321>
9. Bogatskii A.V., Andronati S.A. The Present State of the Chemistry of 1,4-Benzodiazepines. *Russ. Chem. Rev.* 1970. **39**(12): 1064–1081. DOI: <https://doi.org/10.1070/RC1970v039n12ABEH002327>
[Богатский А.В., Андронати С.А. Современное состояние химии 1,4-бенздиазепинов. *Успехи химии*. 1970. Т. 39, № 12. С. 2217–2255.]
10. Bogatskii A.V., Andronati S.A., Golovenko N.Ya. *Tranquilizers. 1,4-benzodiazepines and related structures*. Kiev: Naukova Dumka, 1980. (in Russian).
[Богатский А.В., Андронати С.А., Головенко Н.Я. *Транквилизаторы (1,4-бенздиазепины и родственные структуры)*. Киев: Наук. думка, 1980.]

11. EMA/CPMP/ICH/286/1995 (ICH M3 (R2)). Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals.
12. Golovenko N.Ya., Larionov V.B., Andronati S.A., Valivodz I.P., Yurpalova T.A. Pharmacodynamics of interaction between Propoxazepam and a GABA-benzodiazepine receptor-ionophor complex. *Neurophysiology*. 2018. **50**(1): 2–10. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11062-018-9711-9>
13. Lee W., Windley M.J., Perr M.D., Vandenberg J.I., Hill A. Protocol-dependent differences in IC50 values measured in hERG assays occur in a predictable way and can be used to quantify state preference of drug binding. *Mol. Pharmacol.* 2019. **95**(5): 537–550. DOI: <https://doi.org/10.1101/534867>
14. Rudolph U., Knoflach F. Beyond classical benzodiazepines: Novel therapeutic potential of GABAA receptor subtypes. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2012. **10**(9): 685–697. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd3502>
15. Larionov V.B., Golovenko M.Ya., Reder A.S. Propoxazepam conformation and its orientation in the GABAA-receptor binding site. *Ukrainian biopharmaceutical journal*. 2018. (1): 10–17. DOI: <https://doi.org/10.24959/ubphj.18.150>
16. Golovenko M., Reder A., Andronati S., Larionov V. Evidence for the involvement of the GABA-ergic pathway in the anticonvulsant and antinociception activity of Propoxazepam in mice and rats. *J. Pre-Clin. Clin. Res.* 2019. **13**(3): 99–105. DOI: <https://doi.org/10.26444/jpcrr/110430>
17. Voloshchuk N.I., Reder A.S., Golovenko M.Y., Taran I.V., Pashinska O.S. Pharmacological analysis of neurochemical antinociceptive mechanisms of propoxazepam action. *Pharmacology and Drug Toxicology*. 2017. (1): 3–11. [Волющук Н.І., Редер А.С., Головенко М.Я., Таран І.В., Пашинська О.С. Фармакологічний аналіз нейрохімічних антиноцицептивних механізмів дії пропоксазепаму. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 1. С. 3–11.]
18. Golovenko M.Ya., Reder A.S., Larionov V.B., Valivodz I.P. The effect of propoxazepam on development of thiosemicarbazide-induced GABA deficient seizures in mice. *Clinical pharmacy*. 2017. **21**(2): 34–40. DOI: <https://doi.org/10.24959/cphj.17.1419>
19. Castro-Lopes J.M., Tavares I., Coimbra A. GABA decreases in the spinal cord dorsal horn after peripheral neurectomy. *Brain Res.* 1993. **620**(2): 287–291. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90167-L](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90167-L)
20. Golovenko N.Ya., Larionov V.B., Reder A.S., Valivodz I.P. An effector analysis of the interaction of propoxazepam with antagonists of GABA and glycine receptors. *Neurochemical Journal*. 2017. **11**(4): 302–308. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1819712417040043>
21. Wang W., Gu J., Li Y.Q., Tao Y.X. Are voltage-gated sodium channels on the dorsal root ganglion involved in the development of neuropathic pain? *Mol. Pain*. 2011. **7**(16): 2–9. DOI: <https://doi.org/10.1186/1744-8069-7-16>
22. Golovenko N.Ya., Larionov V.B., Reder A.S., Valivodz I.P. Inhibition of 4-aminopyridine-induced seizures in mice by a novel 3-substituted 1,4-benzodiazepine. *Farmatsevtichnyi zhurnal*. 2018. (4-5): 90–96. DOI: <https://doi.org/10.32352/0367-3057.5-6.18.7>
23. Andronati S., Semenishyna E., Pavlovsky V., Simonov Y., Makan S., Boyko I., Burenkova N., Gdaniec M., Cardinael P., Bouillon J. Synthesis, structure and affinity of novel 3-alkoxy-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones for CNS central and peripheral benzodiazepine receptors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2009. **45**(4): 1346–1351. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.12.027>
24. Virych P.A., Shelyuk O.V., Kabanova T.A., Khalimova O.I., Martynyuk V.S., Pavlovsky V.I., Andronati S.A. Effect of 3-arylamino-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-ones on the bradykinin-induced smooth muscle contraction. *Regul. Mech. Biosyst.* 2017. **8**(1): 30–35. DOI: <https://doi.org/10.15421/021706>
25. Taylor C., Angelotti T., Fauman E. Pharmacology and mechanism of action of pregabalin: The calcium channel $\alpha 2\text{-}\delta$ ($\alpha 2\text{-}\delta$) subunit as a target for antiepileptic drug discovery. *Epilepsy Research*. 2007. **73**(2): 137–150. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2006.09.008>
26. Mendelson W.B., Skolnick P., Martin J.V., Luu M.D., Wagner R., Paul S.M. Diazepam-stimulated increases in the synaptosomal uptake of 45Ca^{2+} : Reversal by dihydropyridine calcium channel antagonists. *Eur. J. Pharmacol.* 1984. **104**: 181–183. DOI: [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(84\)90388-1](https://doi.org/10.1016/0014-2999(84)90388-1)
27. Golovenko N.Ya. *Physico-chemical pharmacology*. Odessa: Astroprint, 2004 (in Russian). [Головенко Н.Я. *Фізико-хімічна фармакологія*. Одеса: Астропринт, 2004.]
28. Reder A., Larionov V., Golovenko N., Andronati S. Influence of particle size on the anticonvulsant activity of propoxazepam. *To Chemistry Journal*. 2019. **2**: 132–141. <http://purkh.com/index.php/tochem>
29. Andronati S., Golovenko M., Reder A., Larionov V., Valivodz I. Synthesis and its extraction efficiency from biological fluids of [^{14}C] Propoxazepam: a potent analgesic with multifunctional mechanism of action. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*. 2019. **9**(4): 323–333. DOI: <https://doi.org/10.24214/jcbps.A.9.4.32333>

30. Golovenko N.Ya., Larionov V.B., Valivodz I.P. Absorption and distribution of 14c-propoxazepam after its intragastral administration. *Fiziologichnyi Zhurnal*. 2017. **3**(63): 40–48. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz63.03.040>
31. Valivodz I., Larionov V., Golovenko M., Reder A., Andronati S. Preclinical pharmacokinetic studies of [¹⁴C]-propoxazepam innovative analgesic with multimodal mechanism of action. *Sciences of Europe*. 2020. **2**(49): 13–24.
32. Valivodz I.P., Golovenko M.Ya., Larionov V.B. ADME properties and tentative identification of metabolites of propoxazepam in mice by radioactive carbon and UPLC-MS/MS methods. In: *Modern approaches to the introduction of science into practice*. Abstracts of X International Scientific and Practical Conference. San Francisco, USA 2020. P. 335–338.
33. In Vitro Drug Interaction Studies – Cytochrome P450 Enzyme – and Transporter-Mediated Drug Interactions. Guidance for Industry. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). January 2020. Clinical Pharmacology. <https://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/>
34. Yegorova A.V., Maltsev G.V., Scrypynets Y.V., Kashutskyy S.N., Antonovich V.P. Study of Interaction of some Benzodiazepines with Human Serum Albumin by Fluorescent Method. *Methods and Objects of Chemical Analysis*. 2018. **13**(1): 18–28. DOI: <https://doi.org/10.17721/moca.2018.18-28>
35. Golovenko N.Y., Kabanova T.A., Andronati S.A., Halimova O.I., Larionov V.B., Reder A.S. Anti-inflammatory effects of propoxazepam on different models of inflammation. *International Journal of Medicine and Medical Research*. 2019. **5**(2): 105–112. DOI: <https://doi.org/10.11603/ijmmr.2413-6077.2019.2.10900>
36. Hunskaar S., Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*. 1997. **30**: 103–114. DOI: [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(87\)90088-1](https://doi.org/10.1016/0304-3959(87)90088-1)
37. Golovenko N., Voloshchuk N., Larionov V., Reder A., Andronati S. Pharmacological profile of novel analgesic 1,4-benzodiazepine: a review. In: *Scientific basis of modern medicine*. Boston: Primedia eLaunch, 2020. P. 126–143. DOI: <https://doi.org/10.46299/isg.2020.MONO.MED.I>
38. Golovenko M., Larionov V., Reder A., Andronati S. The discovery and development of propoxazepam, a novel analgesic and anticonvulsant with multimodal mechanism of action: review of own preclinical data. *EAS Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2020. **23**(3): 57–64. DOI: <https://doi.org/10.36349/easjpp.2020.v02i03.13>
39. Golovenko N.Ya., Voloshchuk N.I., Andronati S.A., Taran I.V., Reder A.S., Pashynska O.S., Larionov V.B. Antinociception induced by a novel benzodiazepine receptor agonist and bradykinin receptor antagonist in rodent acute and chronic pain models. *EJBPS*. 2018. **5**(12): 79–88.
40. Golovenko M.Ya. Subunit compositions of GABAA receptors determining the diversity of physiological processes and neurotropic properties of medicines. *Clinical pharmacy*. 2021. **25**(1): 13–23. DOI: <https://doi.org/10.24959/cphj.21.1541>
[Головенко М.Я. Субодиничні композиції ГАМК_а-ергічних рецепторів, що визначають різноманітні фізіологічні процеси і нейротропні властивості лікарських засобів. *Клінічна фармація*. 2021. Т. 25, № 1. С. 13–23.]
41. Golovenko N.Ya., Larionov V.B. The use of propoxazepam for treatment a specific epileptic syndrome (paroxysmal manifestations), which is achieved by polymodal mechanism of anticonvulsant action. Literature review of own preclinical research. *Conceptual options for the development of medical science and education*. Riga: Baltija Publ., 2020. P. 123–144. DOI: <https://doi.org/10.30525/978-9934-588-44-0/07>
42. Golovenko N.Ya., Larionov V.B., Reder A.S., Andronati S.A., Valivodz I.P. Evaluation of anticonvulsant action of propoxazepam on pentylenetetrazole-kindling model of seizure in mice. *American Scientific Journal*. 2018. **21**(2): 23–31.
43. Golovenko N.Ya., Andronati S.A., Larionov V.B., Reder A.S. A pharmacological profile of propoxazepam – a new antiepileptic substance. *Dopov. Nac. Akad. Nauk Ukr.* 2018. (12): 93–100. DOI: <https://doi.org/10.15407/dopovidi.2018.12.093>
44. Sieghart W., Ramerstorfer J., Sarto-Jackson I., Varagic Z., Ernst M. A novel GABA(A) receptor pharmacology: drugs interacting with the $\alpha(+)$ $\beta(-)$ interface. *Br. J. Pharmacol.* 2012. **166**(2): 476–485. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01779.x>
45. Golovenko M., Belenichev I., Larionov V., Reder A., Andronati S. Physiological aspects of rat activity, their anxiety and memory after administration of full GABAA-receptor complex agonist propoxazepam. *ScienceRise: Biological Science*. 2020. **2**(23): 42–48. DOI: <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2020.207368>
46. Golovenko M., Larionov V., Reder A., Valivodz I., Tsapenko Z. Sedative-hypnotic and muscle relaxant activities of propoxazepam in animal models and investigation on possible mechanisms. *Drug Discovery*. 2020. **14**(33): 155–162.
47. Golovenko N.Ya., Kovalenko V.N., Larionov V.B., Reder A.S. Dose and time-dependent acute and sub-chronic oral toxicity study of propoxazepam in mice and rats. *International Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2020. **8**(1): 1–7. DOI: <https://doi.org/10.14419/ijpt.v8i1.29531>

48. Voloshchuk N.I., Taran I.V., Reder A.S., Golovenko M.Ya. Experimental study of ulcerogenic action of propoxazepam. *Reports of Vinnytsia National Medical University*. 2018. **22**(1): 2–11. DOI: [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2018-22\(1\)-01](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2018-22(1)-01)
[Волощук Н.І., Таран І.В., Редер А.С., Головенко М.Я. Експериментальне дослідження ульцерогенної дії пропоксазепаму. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2018. Т. 22, № 1. С. 2–11.]
49. Golovenko M.Ya., Kovalenko V.M., Larionov V.B., Shayakhmetova G.M., Reder A.S., Karatsuba T.A. Propoxazepam, a new analgesic: a review of a preclinical study of acute and subchronic oral toxicity in mice and rats. In: *Vesnyani naukovi chytannya: Proc. IV Int. Conf. (30.04.2019, Kyiv, Ukraine)*. (in Ukrainian).
[Головенко М.Я., Коваленко В.М., Ларіонов В.Б., Шаяхметова Г.М., Редер А.С., Карацуба Т.А. Пропоксазепам, новий анальгетик: огляд доклінічного дослідження гострої та субхронічної оральної токсичності на мишах і щурах. У кн.: *Весняні наукові читання: зб. матер. IV Міжнар. конф. (30 квітня 2019 р., Київ)*. С. 41–51.]
50. Golovenko M.Ya., Larionov V.B., Reder A.S. Investigation of safety profile of propoxazepam by salmonella/microsome test. In: *Information, Its Impact on Social and Technical Processes: Proc. VIII Int. Sci. Conf. (Haifa, Israel, 2020)*. P. 162–165. <https://isg-konf.com/wp-content/uploads/2020/03/VIII-Conference-16-17-Haifa-Israel.pdf>
51. US Food and Drug Administration. Guidance for industry: estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. 2005. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm078932.pdf>
52. Golovenko M.Ya. «Philosophy» of Pharmaceutical Innovations. *Visn. Nac. Akad. Nauk Ukr.* 2012. (3): 59–66. DOI: <https://doi.org/10.15407/visn2012.03.059>
[Головенко М.Я. «Філософія» фармацевтичних інновацій. *Вісн. НАН України*. 2012. № 3. С. 59–66.]

Mykola Ya. Golovenko

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1485-128X>

Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine, Odesa, Ukraine

PROPOXAZEPAM IS AN INNOVATIVE ANALGESIC THAT INHIBITS ACUTE AND CHRONIC PAIN AND HAS A POLYMODAL MECHANISM OF ACTION

The article presents the results of basic and applied research of the innovative analgesic propoxazepam-7-bromo-5-(o-chlorophenyl)-3-propoxy-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-one. In the models of nociceptive and neuropathic pain it showed significant analgesic activity and also has an anticonvulsant effect, which is due to the analgesic component of the pharmacological spectrum. Mechanism of propoxazepam analgesic properties includes GABAergic and glycinergic systems, antibradykinin and antileukotriene action, dopaminergic system, NMDA, and alpha-1 adrenergic receptors, except the prostaglandin component. LD50 of propoxazepam is greater than 5000 mg/kg and, therefore, it belongs to the category V of relatively non-toxic substances according to the GHS. Previous pharmacokinetic studies in mice have shown that [214C]Propoxazepam evacuation from stomach is described as two-phase process (first phase with $k_{el} = 0,68$ h⁻¹, the second with $k_{el} = 0,0094$ h⁻¹). Total dose quantity, absorbed during experiment, was ~80 %, with absorption constant of $0,371 \pm 0,098$ h⁻¹. The absence of accumulation, development of tolerance, dependence and withdrawal syndrome in experimental animals, which were administered an analgesic for a long time, was experimentally proved. Permission was obtained from the Ministry of Health of Ukraine to conduct clinical trials of the compound.

Keywords: Propoxazepam, nociceptive and neuropathic pain, anticonvulsant effect, mechanism of action, pharmacokinetics, toxicological studies.