

**ФОТОХРОМНАЯ МОДУЛЯЦИЯ ЦИС-ПЕТЕЛЬНЫХ  
РЕЦЕПТОР-УПРАВЛЯЕМЫХ КАНАЛОВ**

© 2021 г. П. Д. Брежестовский<sup>1, 2, \*</sup>, Д. Н. Пономарев<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Институт нейронаук, Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

<sup>2</sup>Институт системных нейронаук, Университет Экс-Марсель, Марсель, Франция

\*E-mail: pbreges@gmail.com

Поступила в редакцию 19.01.2021 г.

После доработки 31.01.2021 г.

Принята к публикации 09.02.2021 г.

Благодаря успехам молекулярной и клеточной биологии, развитию химического синтеза и современных технологий, экспериментальная база современных исследований обогатилась новыми направлениями, в которых свет играет ключевую роль как инструмент модуляции функций организмов. Одним из них является фотофармакология – направление, в котором используются химически синтезируемые светуправляемые соединения, способные контролировать функции биологических молекул. При освещении определенными длинами световых волн эти фотохромные модуляторы переключаются между активной и неактивной формой и изменяют активность функционально важных белковых молекул – рецепторов, ионных каналов, ферментов и др. В данном обзоре кратко представлены соединения, модулирующие функции ионотропных Цис-петельных рецепторов ацетилхолина, ГАМК и глицина. Первым рецептор-управляемым каналом, для которого был открыт способ управления с помощью светуправляемых молекул, является никотиновый рецептор ацетилхолина (нАХР). В 1970-х–80-х годах были созданы блокаторы и активаторы нАХР, состоящие из азобензола (светуправляемого переключателя) и агонистов. В нынешнем тысячелетии создано новое поколение соединений, обеспечивающих светуправляемый контроль активности нАХР. Прикрепляющиеся фотохромные лиганды состоят из малеимида для связывания с цистеиновыми группами аминокислот, фотопереключателя азобензола и лиганда для взаимодействия с рецептором. Новые фотохромы избирательно активируют или блокируют мышечные и нейрональные рецепторы и являются перспективными для изучения физиологической роли нАХР в нервной системе. Для светуправляемого контроля активностью ГАМК-рецепторов создана обширная библиотека фотохромных соединений. Некоторые из них модулируют активность, взаимодействуя с активным центром рецептора, другие являются светуправляемыми блокаторами хлор-избирательных ионных каналов. Недавно создано также два первых фотохромных модулятора активности глициновых рецепторов. В целом, фотофармакология является перспективным направлением, открывающим уникальные возможности для дистанционного управления физиологическими функциями, а также исследования процессов торможения и возбуждения в нейронных сетях и моделях нейрональных патологий.

*Ключевые слова:* фотофармакология, светуправляемые молекулярные переключатели, никотиновые рецепторы ацетилхолина, ГАМК-рецепторы, глициновые рецепторы, синаптическая передача

DOI: 10.31857/S0869813921040051

**Принятые сокращения:** нАХР – никотиновый рецептор ацетилхолина, ГАМК – Гамма-аминомасляная кислота, ГАМК<sub>A</sub>Р – рецептор гамма-аминомасляной кислоты, ГлиР – глициновые рецепторы, 5-НТ<sub>3</sub>Р – рецептор серотонина, ТМ домен – трансмембранный домен, Azo-Ch – азохалин, ЦНС – центральная нервная система, НЕК – эмбриональные клетки почек человека, УФ – ультрафиолет.

Направления многолетней и многоплановой деятельности Л.Г. Магазаника посвящены, в огромной степени, исследованию функций рецепторов, активируемых ацетилхолином и глутаматом – нейромедиаторами, осуществляющими быструю синаптическую передачу в нервной системе позвоночных. Многие работы прошлого столетия посвящены исследованию никотиновых рецепторов ацетилхолина: процессов десенситизации [1–3], анализу миниатюрных потенциалов, вызванных спонтанным выбросом квантов нейромедиатора и постсинаптических событий, вызванных стимуляцией нерва [4, 5], а также других функциональных свойств нервно-мышечных холинергических синапсов [6]. Эти работы вошли в классику синаптологии. В исследованиях последних лет много работ посвящено выяснению механизмов процессов, вызываемых действием глутамата – основного возбуждающего нейромедиатора в нервной системе позвоночных, а также изучению молекулярной организации и функциональных свойств ионотропных глутаматных рецепторов [7–12]. Данный обзор посвящен краткому описанию подходов, обеспечивающих с помощью света управление работой рецепторных белков и формируемых ими ионных каналов, осуществляющих быструю синаптическую передачу в нервной системе позвоночных: рецепторов, активируемых ацетилхолином, а также тормозных рецепторов ГАМК и глицина. Информация о фотохромных модуляторах глутаматных рецепторов частично изложена в недавних обзорах [13, 14].

Развитие химического синтеза, успехи молекулярной биологии и современных технологий обеспечили появление трех основных направлений, в которых главным инструментом является свет. Оказалось, что с помощью света можно исследовать функции клеток и клеточных ансамблей [15, 16], модулировать проводимость и кинетику ионных каналов [13, 17], измерять концентрации ионов [18, 19], внутриклеточных концентраций АТФ [20, 21], циклических нуклеотидов [22], активных форм кислорода [23, 24], а также контролировать поведение организмов [25, 26].

Одним из этих перспективных направлений является фотофармакология [27] – направление, в котором используются химически синтезируемые светуправляемые (фотохромные) соединения, способные при действии определенных длин волн света избирательно усиливать или тормозить активность биологических молекул (рецепторов, ионных каналов, ферментов) в клетках организмов.

## СВЕТУПРАВЛЯЕМЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПЕРЕКЛЮЧАТЕЛИ

Основу химических светуправляемых модуляторов биологических процессов составляют молекулярные переключатели – фотохромные молекулы, способные под действием света осуществлять конформационные преобразования, сопровождающиеся изменением спектральных свойств молекул. На рис. 1 представлены наиболее распространенные фотопереклюатели, которые используются, в частности, для фоторегуляции функций биологических молекул: *азобензолы*, *диарилэтенны* и *спиропираны*. При освещении определенными длинами волн, азобензолы подвергаются *цис-транс* изомеризации, в то время как у диарилэтеннов и спиропиранов происходят превращения между открытыми и закрытыми формами.

**Азобензолы** (рис. 1а) были впервые описаны в 1834 г. [28], а столетие спустя, в 1937 г., Hartley опубликовал исследование влияния света на конфигурацию двойных связей N=N [29]. В настоящее время эти молекулы являются наиболее широко используемыми фотопереклюателями в биологических исследованиях. Это связано с тем, что молекула азобензола: (i) удобна для синтеза при создании различных химических конструкций; (ii) имеет высокую стабильность; (iii) проявляет сильное увеличение дипольного момента при переходе из *транс*- в *цис*-конфигурацию ( $m = 2-3$  деб); (iv) способна к быстрым переключениям между конформационными состояниями. Очень важным свойством является изменение длины молекулы при

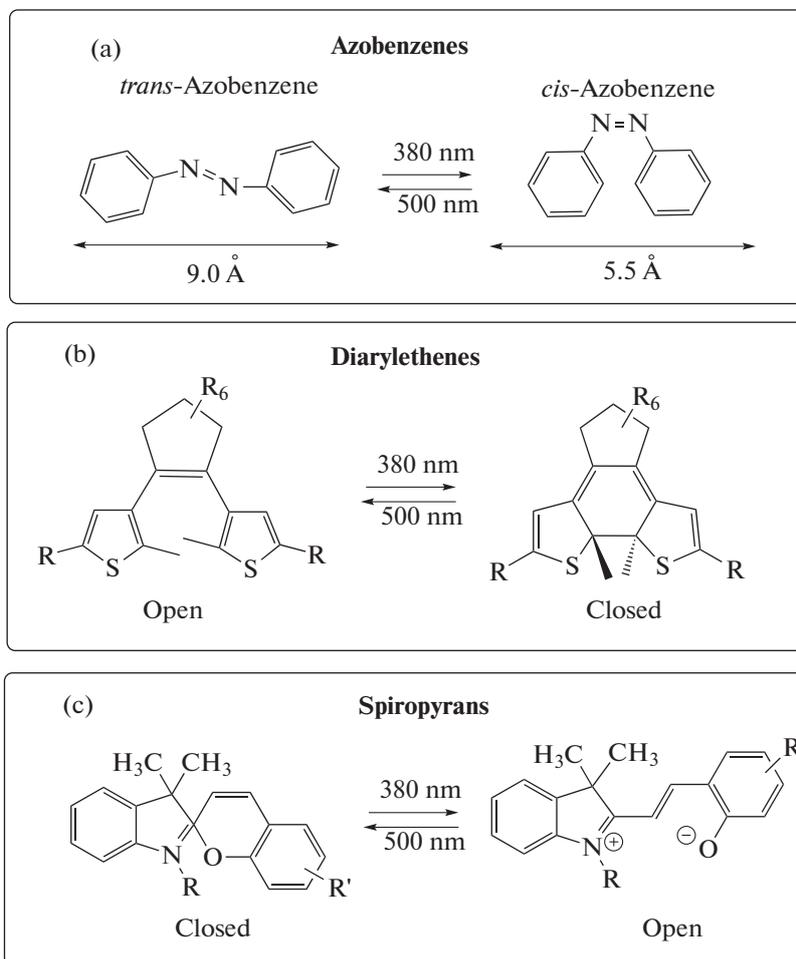


Рис. 1. Часто используемые молекулярные фотопереключатели.

изомеризации. При видимом свете или в темноте молекула находится в *транс*-конфигурации и имеет длину примерно 9.0 Å. Облучение ультрафиолетом с длиной волны 350–380 нм вызывает *цис*-изомеризацию азобензола, приводящую к скручиванию молекулы и укорочению почти в 2 раза: до 5.5 Å [30, 31] (рис. 1а). Многие модуляторы активности рецептор-управляемых каналов построены на базе азобензола. Некоторые из них будут представлены ниже.

**Диарилэтенy** (рис. 1b) – это класс соединений стильбенового типа, в которых орто-атомы водорода замещены для подавления необратимого окисления после фотоциклизации [32]. Наиболее часто используемые диарилэтенy – это триметилтиофенmaleиновые ангидриды и диарилперфторциклопентены [32, 33]. При переключении света из диапазона видимого света к ультрафиолетовому происходит рециклизация от открытой к закрытой форме (рис. 1b) с небольшим изменением длины молекулы и дипольного момента. Важным качеством диарилэтенy является их высокая устойчивость к переключениям: циклы переходов из открытого в закрытое состояние могут повторяться сотни раз. С другой стороны, диарилэтенy не

идеальны для создания специализированных светопереклюателей, поскольку их изомеризация сопровождается относительно небольшими изменениями молекулярной конформации и дипольного заряда.

**Спиропираны** (рис. 1с) – это фотохроматические молекулы, состоящие из двух гетероциклических функциональных групп в ортогональных плоскостях, связанных атомом углерода. Облучение спиропиранов УФ-светом с длиной волны 360–380 нм приводит к разрыву связи CO, в результате структура исходной молекулы изменяется, и образуется планарная мероцианиновая форма (рис. 1с). Открытие кольца вызывает большое изменение дипольного момента ( $m = 7–15$  деб). Из-за того, что две формы спиропиранов имеют сильно различающиеся свойства, эти молекулы нашли широкое применение в различных областях. Спиропираны используются в фотоуправляемом переносе аминокислот через бислоиные мембраны, фотоконтроле ферментативной активности, измерениях трансмембранных потенциалов [34].

В общем, в фотохромных молекулах фотоизомеризация основана либо на *цис-транс*-переходах (например, в азобензене) или открытии/циклизации связи (например, в спиропиранах или диарилэтенах). В разных конформационных состояниях фотохромные молекулы имеют разные геометрические формы и полярности, что может быть идеальным для управления активностью биологических молекул.

#### ФОТОХРОМНЫЕ МОДУЛЯТОРЫ ИОННЫХ КАНАЛОВ И РЕЦЕПТОРОВ

Для создания избирательно действующего фотохромного соединения лиганд подсоединяется ковалентно к фотохрому. В результате химического синтеза создается молекула, способная изменять конфигурацию и положение агониста под действием света. Таким образом, фотохромные модуляторы ионных каналов и рецепторных белков представляют собой модульные лиганды, способные переключаться между активной и неактивной формой при освещении определенными длинами световых волн.

Фотохромные модуляторы можно разделить на два основных класса: (i) **растворимые фотохромные лиганды**, состоящие из фотопереклюателя и лиганда, соединенных между собой линкером определенной длины и (ii) **прикрепляющиеся фотохромные лиганды** – соединения, состоящие из фотопереклюателя, лиганда, линкера, а также молекулярного компонента, обеспечивающего ковалентное связывание с белком-мишенью [13, 35].

Каждый класс имеет свои преимущества и ограничения. **Растворимые** фотохромные лиганды удобны и просты для работы с эндогенными рецепторами, поскольку не требуют молекулярной модификации белков-мишеней. **Прикрепляющиеся** фотохромные лиганды позволяют контролировать активность молекул мишеней с очень высокой избирательностью благодаря необратимому ковалентному связыванию молекулы в участке, близко расположенном к сайту действия агонистов. Ковалентное связывание фотохромных лигандов, содержащих малеимид, осуществляется, как правило, с остатками цистеина. В редких случаях, в естественной молекуле белка-мишени, цистеины могут быть расположенными на удобном расстоянии от активной зоны действия агониста. Поэтому, в большинстве случаев, для эффективного действия привязывающихся фотохромных лигандов требуются генетические модификации.

В последние годы были созданы фотоуправляемые химические соединения, обеспечивающие модуляцию нескольких видов потенциал-зависимых ионных каналов [36–38]. Также получены и исследованы растворимые и прикрепляющиеся фотохромные лиганды некоторых нейрональных рецепторов: глутамата [39–41],

допамина [42]; АТФ-активируемых  $PX_2$  рецепторов [43]; никотиновых рецепторов ацетилхолина [44]; рецепторов ГАМК [45–48] и рецепторов глицина [49, 50].

В данном обзоре будут кратко представлены фотохромные соединения, модулирующие функции ионотропных Цис-петельных рецепторов ацетилхолина, ГАМК и глицина.

### ЦИС-ПЕТЕЛЬНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

Рецептор-управляемые Цис-петельные рецепторы (Cys-loop receptors) представляют собой трансмембранные белки, которые отвечают за быструю возбуждающую и тормозную синаптическую передачу в центральной и периферической нервной системе. К членам этого семейства позвоночных относятся никотиновые рецепторы ацетилхолина (нАХР), рецепторы серотонина ( $5\text{-HT}_3\text{P}$ ), глицина (ГлиР) и гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК<sub>A</sub>Р и ГАМК<sub>C</sub>Р) [51].

Название “Цис-петельные рецепторы” это семейство получило из-за наличия во внеклеточном домене петли, формируемой 13 аминокислотами, заключенными между двумя цистеинами, остатки которых формируют дисульфидную связь [52, 53]. Члены этого семейства имеют общую структуру, состоящую из пяти субъединиц, формирующих центральную ионопроводящую пору. В каждой субъединице выделяют большой экстраклеточный N-концевой домен (примерно 200 аминокислот), четыре альфа-спиральных трансмембранных домена (ТМ1–ТМ4, около 20 аминокислот), соединенных петлями разной длины (цитоплазматическая петля, соединяющая ТМ3- и ТМ4-домены в разных субъединицах состоит из 80–270 аминокислотных остатков) и короткого внеклеточного С-домена (примерно 10 аминокислот) [54, 55]. Пять субъединиц, из которых состоит каждый рецептор, сориентированы таким образом, что их ТМ2-домены образуют ион-избирательный канал, а ТМ1, ТМ3 и ТМ4 окружают ТМ2 и взаимодействуют с липидами цитоплазматической мембраны. В нервной системе позвоночных ионные поры, формируемые ТМ2-доменами, являются избирательными либо для катионов (нАХР и  $5\text{-HT}_3\text{P}$ ), либо для анионов (ГАМКР и ГлиР). Эти свойства определяют их функциональную значимость в возбуждающих или тормозных синаптических процессах.

Большинство рецепторов являются гетеромерами, т.е. формируются из нескольких типов субъединиц. Они могут сочетаться в различных комбинациях, давая сложный набор рецепторов с различными физиологическими и фармакологическими свойствами.

### РЕЦЕПТОРЫ АЦЕТИЛХОЛИНА

В нервной системе позвоночных идентифицировано 5 основных типов трансмембранных субъединиц:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$  и  $\epsilon$ . Вместе с подтипами ( $\alpha_1$ –10 и  $\beta_1$ –4) это подсемейство состоит из 17-ти субъединиц [56]. Комбинации этого множества субъединиц обеспечивают формирование большого количества нАХР, различающихся по своим свойствам и функциональным характеристикам, включая чувствительность к агонистам, проницаемость для кальция и кинетику десенситизации [57, 58].

На периферии мышечные нАХР локализируются на постсинаптических мембранах нервно-мышечных соединений, обеспечивая быстрое управление сократимостью мышц [1, 59]. Мышечные пентамерные рецепторы имеют состав  $(\alpha_1)_2\beta_1\gamma\delta$  или  $(\alpha_1)_2\beta_1\epsilon\delta$ . Уровень экспрессии и субъединичный состав нАХР изменяется в процессе развития скелетных мышц. Рецепторы эмбрионального типа состоят из субъединиц  $(\alpha_1)_2\beta_1\gamma\delta$ , а по мере развития организма субъединица  $\gamma$  заменяется на  $\epsilon$ , формируя нАХР взрослого типа,  $(\alpha_1)_2\beta_1\epsilon\delta$  [60, 61].

Нейрональные nAHP могут формировать гетеромерные макромолекулярные блоки, состоящие из  $\alpha$  и  $\beta$  ( $\alpha 2$ – $\alpha 10$  и  $\beta 2$ – $\beta 4$ ) субъединиц, а также могут быть гомопентамерами, формируемыми  $\alpha 7$ – $\alpha 9$ -субъединицами, и  $\alpha 9$  в комбинации с  $\alpha 10$  субъединицей [62, 63].

В головном мозге нейрональные nAHP локализируются преимущественно в пресинаптических участках нервных окончаний, где они регулируют высвобождение нейромедиаторов в возбуждающих и тормозных синапсах [64]. Рецепторы экспрессируются также постсинаптически и участвуют во многих функциях мозга и регуляции поведения организмов, включая обучение и память, возбуждение, вознаграждение, моторный контроль болевую чувствительность, чувство голода и сон [65]. nAHP также являются мишенью для никотина, основного вызывающего привыкание агента, доставляемого сигаретным дымом [66]. Помимо значимой роли в физиопатологии никотиновой зависимости [67], nAHP связан с развитием многих неврологических заболеваний, включая болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, шизофрению, депрессию и эпилепсию [68].

#### *Фотохромная модуляция nAHP рецепторов*

Никотиновый рецептор ацетилхолина является первым каналом, для которого был открыт способ управления с помощью светуправляемых молекул. Более 50 лет тому назад в лаборатории Nachmansohn было показано, что химическое соединение Azo-CCh, состоящее из азобензола и карбахолина, негидролизуемого холинэстеразой агониста nAHP, а также Azo-PTA – соединения, представляющего азобензол и фенилтриметиламмоний (табл. 1), являются светуправляемыми модуляторами активности nAHP рецепторов. Оба соединения оказались обратимыми антагонистами. При этом *транс*-изомер (освещение видимым светом) был сильным блокатором, а при изомеризации в *цис*-конформацию, вызываемую ультрафиолетовым светом, ингибирование значительно ослаблялось [69]. Эксперименты были проведены на клетках электрического угря (*Electrophorus electricus*), содержащего nAHP мышечного типа с субъединичным составом  $\alpha 2\beta\gamma\delta$  [70].

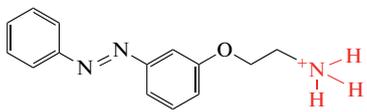
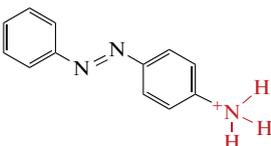
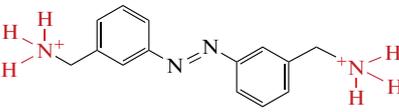
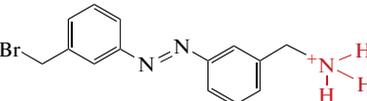
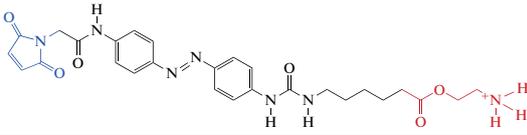
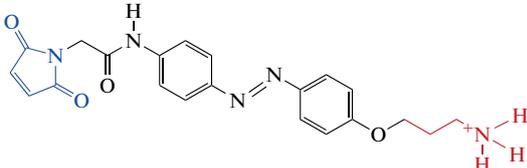
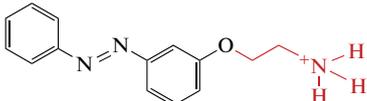
В последующие годы были синтезированы производные азобензола, которые взаимодействовали с nAHP [71]. Оказалось, что соединение Bis-Q (табл. 1) в *транс*-конфигурации является мощным агонистом nAHP, эффективная концентрация которого в 500 раз меньше, чем карбахолина. При этом *цис*-изомер проявлял низкую активность. Намного позднее было показано, что Bis-Q не активирует гомомерный  $\alpha 7$  nAHP, экспрессируемый в клетках HEK293 [72], указывая на избирательность этого фотохрома в отношении мышечного типа nAHP.

Красным выделены молекулярные участки агонистов, а синим – группа малеимида, обеспечивающая “заякоривание”, т.е. связывание фотохрома с цистеиновыми группами аминокислот.

Недавно был синтезирован фотопереключаемый агонист, азохолин (Azo-Ch) (табл. 1), который проявлял свойства противоположные Bis-Q. Этот фотохром в *транс*-конфигурации (*транс*-Azo-Ch) оказался агонистом нейронального  $\alpha 7$  nAHP, но не проявлял активности в отношении мышечного типа nAHP [72]. Таким образом, были созданы фотохромные переключатели, избирательно модулирующие активность мышечных и нейрональных nAHP-рецепторов. Соединение Bis-Q является свето-индуцируемым агонистом гетеромерных nAHP, экспрессируемых в нервно-мышечных синапсах, а Azo-Ch – агонистом нейрональных  $\alpha 7$ -рецепторов nAHP.

**Прикрепляющиеся фотохромные модуляторы активности nAHP.** Другое соединение – QVg (табл. 1) в *транс*-конфигурации вызывало небольшую деполяризацию мембраны клеток *Electrophorus electricus*. После обработки клеток дитиотреитолом, агентом, вызывающим восстановление дисульфидных (S–S) связей и образование

**Таблица 1.** Фотохромные модуляторы никотиновых рецепторов ацетилхолина

Фотохром	Структурная формула	Год	Действие	Ссылка
Azo-CCh		1969	<i>Trans</i> -агонист nAХР	[69]
Azo-PTA		1969	<i>Trans</i> -агонист nAХР	[69]
Bis-Q		1971	<i>Trans</i> -агонист мышечных nAХР	[71]
QBr		1971	Прикрепляющийся <i>trans</i> -агонист nAХР	[71]
MAACh		2012	Прикрепляющийся <i>cis</i> -агонист nAХР	[44]
MAHoCh		2012	Прикрепляющийся <i>trans</i> -агонист nAХР	[44]
Azo-Ch		2015	<i>Trans</i> -агонист $\alpha 7$ nAХР	[72]

свободных сульфгидрильных (SH) групп [73, 74], *trans*-QBr необратимо связывался с ними в участках, близко расположенных к сайту взаимодействия агонистов с рецептором. В *cis*-конфигурации QBr был неактивен, а в *trans*-конфигурации QBr вызывал слабую активацию ионных каналов nAХР и конкурировал с карбахолином, вызывая угнетение ответов на аппликацию этого агониста [71, 75, 76]. QBr и его аналоги, называемые прикрепляющимися агонистами, были успешно использованы для анализа кинетики открытия и закрытия каналов nAХР [76–79].

В нынешнем тысячелетии создано новое поколение соединений для эффективной светоуправляемой модуляции nAХР. Новые прикрепляющиеся фотохромы обычно состоят из малеимида – для связывания с цистеиновыми группами аминокислот, фотопереклещателя азобензола и лиганда для взаимодействия с рецептором (см. MAACh, табл. 1).

На основе рентгеновской структуры АХ-связывающего белка в комплексе с карбахолином [80] и определения расстояний между аминокислотными остатками в

белковых структурах, в  $\beta$ -субъединице нАХР было выявлено несколько положений аминокислот, близко расположенных к сайту связывания лиганда и представляющих потенциальные места для присоединения агонистов и антагонистов. Это позволило осуществить целенаправленную замену на цистеины аминокислот в местах  $\beta$ 2- и  $\beta$ 4-субъединиц нАХР, чтобы к ним могли привязываться светоуправляемые агонисты [44].

Были синтезированы фотохромы малеимид–азобензол–ацетилхолин (МААCh) и малеимид–азобензол–гомохолин (МАНoCh) (табл. 1). Действие фотохромов было исследовано на ооцитах *Xenopus*, экспрессирующих мутантные субъединицы  $\beta$ 4 в составе гетеропентамера  $\alpha$ 3 $\beta$ 4, используя электрофизиологическую регистрацию ионных токов. В *транс*-конфигурации прикрепляющийся фотохром МААCh был неактивен. При освещении УФ светом (380 нм), вызывающим *цис*-изомеризацию МААCh, регистрировали фотоактивируемый ток через нАХР-каналы, который прекращался при облучении светом 500 нм, возвращающим фотохром в *транс*-конфигурацию. Прикрепляющийся МАНoCh обладал противоположным действием, проявляя свойства фотоуправляемого конкурентного антагониста. В *транс*-конфигурации он был неактивен, а при *цис*-изомеризации, вызванной УФ (380 нм), ингибировал амплитуду ацетилхолин-активируемых токов.

Таким образом, было показано, что МААCh является *цис*-агонистом нАХР, а МАНoCh – *цис*-антагонистом нАХР [44]. Создание этих фотопереключателей является перспективным для изучения физиологической и патологической роли гетеромерных нАХР в мозге.

## РЕЦЕПТОРЫ ГАМК

Ионотропные ГАМК-рецепторы являются основными рецепторами, обеспечивающими быструю тормозную синаптическую передачу в ЦНС позвоночных [81]. Выброс ГАМК из пресинаптических окончаний стимулируют открытие анион-избирательных ионных каналов. При низкой концентрации внутриклеточного хлора, наблюдаемой, как правило у взрослых млекопитающих, открытие ионных каналов приводит к гиперполяризации постсинаптической мембраны и снижению нейрональной активности [82].

Из клеток ЦНС млекопитающих было клонировано 19 субъединиц ГАМК-рецепторов ( $\alpha$ 1–6,  $\beta$ 1–3,  $\gamma$ 1–3,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$ ,  $\pi$  и  $\rho$ 1–3) [83]. Комбинаторная сборка пентамеров этих различных субъединиц обеспечивает потенциально огромную молекулярную гетерогенность подтипов рецепторов ГАМК. В ЦНС наиболее распространены рецепторы ГАМК<sub>A</sub>, состоящие из субъединиц  $\alpha$ 1,  $\beta$ 2 и  $\gamma$ 2 с определенной стехиометрией 2 $\alpha$ :2 $\beta$ :1 $\gamma$  (~43% всех ГАМК<sub>A</sub>Р). В зависимости от субъединичного состава, подтипы рецепторов проявляют различные электрофизиологические и фармакологические свойства и модулируются множеством фармакологических препаратов, таких как бензодиазепины, барбитураты, нейроактивные стероиды, анестетики и судорожные средства [81]. Важными фармакологическими модуляторами ГАМК-рецепторов в экспериментальных исследованиях являются такие соединения, как агонист мусцимол, антагонисты – бикикуллин и габазин, блокатор хлорных каналов – пикротоксин, а также соединения из семейства бензодиазепинов и барбитуратов, которые потенцируют активность ГАМК<sub>A</sub>Р, связываясь с различными аллостерическими участками на субъединицах рецепторов.

В головном мозге 17–20% всех нейронов являются ГАМКергическими, которые взаимодействуют с огромным числом различных типов нейронов [84]. Рецепторы ГАМК<sub>A</sub> модулируют тревогу, возбудимость мозга, мышечный тонус, бдительность, циркадные ритмы, обучение и память [81]. Нарушение их функционирования при-

водит к серьезным болезням, включая эпилепсию, депрессию, дисбаланс артериального давления, нарушение сна, шизофрению [83].

В качестве лекарственных средств используются прежде всего бензодиазепины, такие как алпразолам, клоназепам, диазепам и лоразепам, которые усиливают работу ГАМК<sub>A</sub>Р, стимулируя их тормозную активность. Эти соединения являются одними из наиболее часто назначаемых лекарств [85]. Например, диазепам в период с 1968 по 1982 г. был самым продаваемым препаратом в США [86].

Однако действие этих фармакологических соединений из-за неизбирательного действия на многие участки ЦНС имеет ряд побочных эффектов. Использование фотоуправляемых агонистов и антагонистов создает основу для более специфического контроля активности ГАМК-рецепторов.

#### *Фотоуправляемая модуляция ГАМК-рецепторов*

Несколько типов фотоуправляемых модуляторов активности ионотропных ГАМК-рецепторов было создано в последние годы. Одним из первых является соединение МРС088, созданное на основе пропофола и фотоизомеризуемой группы азобензола (табл. 2). Пропофол является липофильным анестетиком, который потенцирует ГАМК-рецепторы, а при высоких концентрациях способен их активировать, взаимодействуя с  $\beta$ -субъединицей [87, 88].

Используя электрофизиологическую регистрацию ионных токов в ооцитах *Xenopus laevis* экспрессирующих ГАМК<sub>A</sub>Р в субъединичной комбинации  $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ , было показано, что *транс*-МРС088 в низких концентрациях (1 мкМ) потенцирует ГАМК-индуцируемые токи. В дополнение к потенциации, *транс*-МРС088 при более высоких концентрациях функционировал как агонист, активируя ГАМК<sub>A</sub> рецепторы. Сравнительный анализ концентрационных зависимостей показал, что *транс*-МРС088 примерно в 25 раз эффективнее, чем пропофол [46]. В *цис*-конформации, вызываемой УФ-освещением (380 нм), МРС088 мало влиял на амплитуду ГАМК-индуцированных токов. Действие фотохрома МРС088 было также протестировано на нейронах Пуркинью в срезах мозжечка, которые экспрессируют преимущественно  $\alpha 1\beta 2/3\gamma 2$  ГАМК-рецепторы [89]. Результаты подтвердили фотоуправляемую модуляцию ионных токов и активности потенциалов действия в клетках Пуркинью [46].

Таким образом, эти исследования показали, что МРС088 является свету управляемым модулятором активности ГАМК<sub>A</sub>Р. Широкое распространение формируемых  $\alpha 1\beta 2\gamma 2$  субъединицами ГАМК<sub>A</sub>Р нейронов головного мозга предполагает, что созданный на основе пропофола МРС088 может быть важным фармакологическим инструментом в исследованиях нервных цепей ЦНС.

На основе пропофола было синтезировано еще одно фотоуправляемое соединение — AP2 (табл. 2), которое в *транс*-конфигурации вызывало потенцирование ГАМК-ергических токов, опосредованных  $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ -ГАМК<sub>A</sub>-рецепторами, экспрессируемыми в ооцитах *Xenopus* и НЕК-клетках, в то время как *цис*-AP2 при облучении УФ предотвращал развитие этого эффекта потенцирования [45].

Пропофол известен как анальгетик, седативное средство, а также лекарство, облегчающее эпилептические приступы, особенно у пациентов с лекарственно устойчивой эпилепсией. Однако пропофол не является высокоизбирательным ГАМК-модулирующим соединением. Он также действует на натриевые и кальциевые каналы и является антагонистом NMDA-рецепторов [91–93]. В силу низкой избирательности он обладает рядом побочных эффектов, таких как артериальная гипотензия, брадикардия, дыхательная недостаточность и в некоторых случаях может стимулировать судороги [90, 94].

**Таблица 2.** Фотохромные модуляторы ГАМК рецепторов

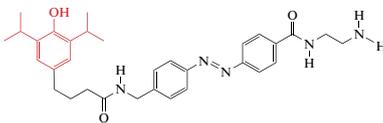
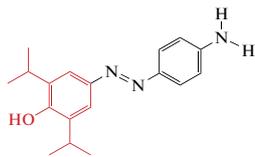
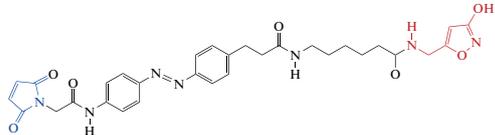
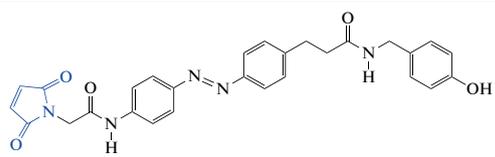
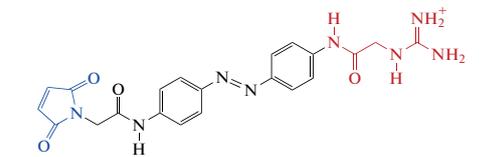
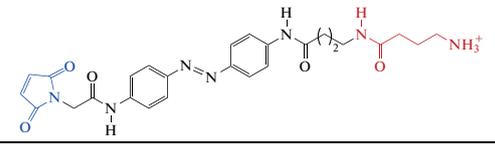
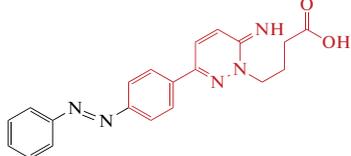
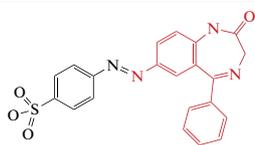
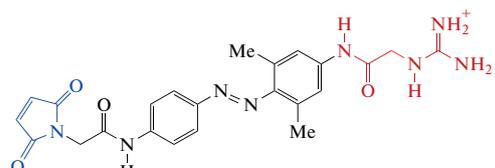
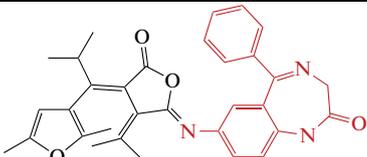
Фотохром	Структурная формула	Год	Действие	Ссылка
MPC088		2012	<i>Trans</i> -агонист $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ -ГАМК <sub>A</sub> рецепторов экспрессирующихся в ооцитах ксенопуса, в клетках Пуркинье и сетчатки	[46]
AP2		2012	<i>Trans</i> -агонист $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ -ГАМК <sub>A</sub> рецепторов экспрессирующихся в ооцитах ксенопуса и в НЕК-клетках	[45]
MAM-6		2014	<i>Trans</i> -антагонист $\alpha 1$ (T125C) $\beta 2\gamma 2$ -GABA <sub>A</sub> рецепторов экспрессирующихся в ооцитах ксенопуса	[95]
MAB-0		2014	<i>Cis</i> -агонист мутантных $\alpha 1$ (T125C) $\beta 2\gamma 2$ рецепторов экспрессирующихся в НЕК-клетках	[95]
PAG-1C		2015	<i>Trans</i> - антагонист мутантных $\alpha 1$ (T125C) $\beta 2\gamma 2$ ГАМК <sub>A</sub> рецепторов экспрессирующихся в НЕК-клетках и нейронах гиппокампа	[96]
PAG-2A		2015	<i>Cis</i> - антагонист мутантных $\alpha 1$ (T125C) $\beta 2\gamma 2$ ГАМК <sub>A</sub> рецепторов экспрессирующихся в НЕК-клетках	[96]
Azo-gabazine		2016	<i>Trans</i> -антагонист $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ -ГАМК <sub>A</sub> рецепторов экспрессирующихся в НЕК-клетках.	[46]
Azo-NZ1		2018	<i>Trans</i> -блокатор каналов $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ -ГАМК <sub>A</sub> и $\rho 2$ ГАМК <sub>C</sub> экспрессирующихся в СНО клетках и нейронах срезов гиппокампа.	[47]
dMPC1		2018	<i>Trans</i> -антагонист $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ -ГАМК <sub>A</sub> -рецепторов экспрессирующихся в НЕК-клетках	[99]

Таблица 2. Окончание

Фотохром	Структурная формула	Год	Действие	Ссылка
Fulgazepam		2020	Алlostерический <i>cis</i> -потенциатор $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ -GABA <sub>A</sub> -рецепторов экспрессирующихся в СНО клетках и в личинках зебра рыбки <i>in vivo</i>	[48]

Фотоперключаемые аналоги пропофола в сочетании с локальной оптической стимуляцией и соответствующим электрическим мониторингом могут создать в будущем способы снижения побочных эффектов при лечении эпилепсии за счет использования пространственно точных оптических средств, регулирующих модуляцию рецепторов. Фокусно направленное освещение может позволить пространственно ограниченное действие фотохромных модуляторов рецепторов в локальных областях эпилептических очагов.

Было сконструировано также несколько прикрепляющихся фотоперключателей, модулирующих активность ГАМК-рецепторов. МАМ-6 (табл. 2) состоит из **малеимида**, который обеспечивает ковалентное связывание фотохрома с SH группами, фотоперключателя **азобензена** и присоединенного к азобензену через углеродный ((CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>) линкер **мусцимола**, последний является мощным селективным агонистом ГАМК<sub>A</sub>Р. Для обеспечения связывания фотохрома с аминокислотным участком, близким к активному центру ГАМК-рецептора, в альфа-субъединице была произведена точечная мутация  $\alpha 1(T125C)$ . Электрофизиологический анализ проводился на ооцитах *Xenopus laevis*, экспрессирующих  $\alpha 1(T125C)\beta 2$  конфигурацию ГАМК<sub>A</sub>Р. Ковалентное связывание фотохрома с  $\alpha 1(T125C)$ -субъединицей не вызывало активации ГАМК-рецепторов. Однако в *транс*-конфигурации (освещение 500 нм), МАМ-6 ингибировал амплитуду ГАМК-активируемых токов, связываясь с активным центром рецептора и блокируя действие нейромедиатора. В *цис*-конфигурации (освещение 380 нм), сайт связывания с агонистом освобождался и наблюдалось повышение амплитуды ГАМК-активируемых токов [95].

Другое соединение, малеимид-азобензол-4-гидроксибензиламин (МAB-0), которое содержит нейтральный аналог мусцимола и не имеет углеродного линкера (табл. 2), было даже более эффективным светочувствительным ингибитором ГАМК<sub>A</sub>Р. После обработки МAB-0 культивируемые нейроны гиппокампа, экспрессирующие  $\alpha 1(T125C)\beta 2$  ГАМК-рецепторы, эффективно модулировались светом [95].

Таким образом, соединения МАМ-6 и МAB-0, созданные на основе мусцимола, проявляли свойства светоуправляемых *транс*-антагонистов ГАМК<sub>A</sub>Р. Однако слабая эффективность и низкая растворимость (<50 мМ) затрудняла их экспериментальное использование, особенно *in vivo*. Для повышения эффективности были созданы новые фотохромные модуляторы ГАМК<sub>A</sub>Р, где в качестве лиганда использовалась ГАМК или ее гуанидиниевые аналоги (серия РАG) (табл. 2) [96].

Соединения были исследованы *in vitro* на рецепторах, формируемых из разных  $\alpha$ -ГАМК-субъединиц, а также *in vivo*. Было показано, что в темноте или при освещении видимым светом (480–560 нм) *транс*-изомеры не активны, а при УФ-освещении (380 нм), в *цис*-конфигурации фотохромы блокируют ГАМК-рецепторы, являясь антагонистами естественного нейромедиатора, выделяющегося из пресинаптических окончаний [96].

Еще один светоуправляемый антагонист ГАМК-рецепторов, азогабазин (табл. 2) [97], был создан путем объединения фотоперключателя азобензола с габазином,

высокоизбирательным конкурентным антагонистом ГАМК<sub>A</sub>Р [98]. Электрофизиологический анализ на культивируемых клетках НЕК293, экспрессирующих  $\alpha 1\beta 2\gamma 2$  ГАМК<sub>A</sub>Р, показал, что азогабазин является одним из наиболее сильных антагонистов с  $IC_{50} = 23$  нМ. Блокирующее действие проявлял *транс*-азогабазин (освещение 470 нм), в то время как *цис*-азогабазин (освещение 365 нм) был не эффективным. Таким образом, этот фотохром является мощным, высокоизбирательным и светоуправляемым антагонистом ГАМК<sub>A</sub>Р, представляющим большой интерес для исследования в различных экспериментальных моделях.

Фотохромные соединения, созданные на основе азобензола, не способны находиться длительное время в метастабильном состоянии при *транс/цис*-изомеризации, что затрудняет их использование в некоторых экспериментальных моделях. Эта проблема была решена в недавней работе из лаборатории Kramer [99]. Было синтезировано соединение dMPC1 (табл. 2), которое позволяет двунаправленное управление рецепторами с помощью света с длиной волны 380 и 500 нм. На НЕК-клетках, экспрессирующих ГАМК<sub>A</sub>Р, было показано, что фотохром dMPC1 может на длительное время заблокировать рецепторы в активном или неактивном состоянии в темноте после короткого импульса света [99]. Таким образом, эта стратегия обеспечивает как быстрое, так и длительное манипулирование тормозной синаптической передачей, позволяя исследовать функции нейрональных сетей в широком диапазоне временных интервалов.

Как уже отмечалось, одним из наиболее используемых фармакологических соединений, усиливающих активность ионотропных ГАМК<sub>A</sub>Р, является диазепам, классическое соединение, вызывающее потенциацию ГАМК-рецепторов через аллостерический сайт и широко используемое для предотвращения эпилептических кризов [85, 86, 100–102]. В предположении получить управляемый светом потенцирующий агент, который будет аллостерически взаимодействовать с бензодиазепиновым сайтом ГАМК<sub>A</sub>Р, было синтезировано соединение азобензол-нитразепам (Азо-NZ1), состоящее из фрагмента нитразепама, слитого с фотоизомеризуемой группой азобензола (табл. 2) [47]. Однако экспериментальный анализ на СНО-клетках, экспрессирующих в условиях культуры ткани рецепторы известного субъединичного состава, показал, что Азо-NZ1 является не потенциатором, а светоуправляемым антагонистом ГАМК-индуцируемых токов. *Транс*-Азо-NZ1 (освещение видимым светом 460–560 нм) блокировал анион-избирательные каналы гетеромерных ГАМК<sub>A</sub>Р ( $\alpha 1/\beta 2/\gamma 2$ ), а также одного из подтипов гомомерных ГАМК<sub>C</sub> ( $\rho 2$ ). Было показано, что *транс*-Азо-NZ1 взаимодействует с 2'-уровнем трансмембранного домена (TM2), формирующего анионную пору. В *цис*-конфигурации Азо-NZ1 освобождал пору, был неактивен и амплитуда ГАМК-активируемых токов восстанавливалась. Было также показано, что Азо-NZ1 модулирует светозависимым образом синаптические ГАМКергические токи в нейронах срезов гиппокампа мышей, вызывая их ингибирование в *транс*-конфигурации [47].

Таким образом, Азо-NZ1 проявляет свойства фотоуправляемого неконкурентного антагониста рецепторов ГАБА<sub>A</sub>, взаимодействуя с аминокислотными остатками, формирующими анионный канал.

Другой фотохром, фульгазепам (Fulgazepam, табл. 2), созданный на базе диазепама и фульгимида (из семейства диарилитенов, рис. 1), оказался потенцирующим соединением. Электрофизиологический *in vitro* анализ на линии культивируемых клеток, гетерологически экспрессирующих  $\alpha 1/\beta 2/\gamma 2$  субъединицы ГАМК<sub>A</sub>Р, показал, что аппликация фульгазепама (10 мкМ) в открытой форме (освещение видимым светом) практически не влияла на амплитуду токов, индуцируемых ГАМК (0.5 мкМ). Однако при УФ-освещении, переводящим фульгазепам в закрытую форму, наблюдалось повышение амплитуды ГАМК-индуцируемых токов в 200–300 раз. Анализ

концентрационных зависимостей показал, что  $EC_{50}$  для фульгазепам в закрытой форме составляет 13 мкМ [48].

Таким образом, создан новый фотоуправляемый потенциатор ГАМК<sub>A</sub>Р, обладающий уникальными свойствами: а) под действием соответствующих длин волн обеспечивается обратимое переключение соединения из открытого в закрытое состояние; б) оба состояния стабильны; в) в открытой форме соединение является нейтральным. Эти свойства указывают на потенциальную важность фульгазепам, как фотоуправляемого аллостерического потенциатора ГАМК-рецепторов.

В общем, “библиотека” фотохромных соединений, способных модулировать активность ГАМК-рецепторов, достаточно обширна и открывает большие возможности для анализа ГАМК-зависимых процессов торможения и возбуждения в нейронных сетях и моделях нейрональных патологий.

### РЕЦЕПТОРЫ ГЛИЦИНА

Глициновые рецепторы (ГлиР), как и ионотропные ГАМКР формируют анион-избирательные ионные каналы и обеспечивают быстрое торможение в нервной системе млекопитающих. ГлиР экспрессируются преимущественно в спинном мозге и стволе мозга, а также во многих других областях нервной системы, включая сетчатку [103], гиппокамп [104–106], зубчатую фасцию [107], кору мозжечка [108], слуховое и вестибулярное ядра [109] и другие части головного мозга [104, 110, 111].

Из мозга млекопитающих выделено и клонировано четыре подтипа  $\alpha$ -субъединиц ГлиР ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ), которые на 90% гомологичны между собой [112, 113] и  $\beta$ -субъединицу, которая имеет 47% гомологии с  $\alpha 1$  [114]. Аналогичный набор субъединиц характерен для нервной системы зебра рыбки *Danio rerio* [115–117]. Субъединицы  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  и  $\alpha 3$  могут формировать функциональные гомомерные ГлиР, а комбинации с  $\beta$ -субъединицей они формируют гетеромерные рецепторы. Однако  $\beta$ -субъединица не обладает способностью формировать функциональные гомомерные рецепторы [118, 119]. Субъединица  $\beta$  является наиболее распространенной по сравнению с другими субъединицами. Ее важным свойством является наличие в цитоплазматическом домене участка связывания с джеферином – арматурным белком, играющим ключевую роль в формировании синаптических кластеров [120–122]. Другими словами, эта субъединица обеспечивает синаптическую локализацию ГлиР.

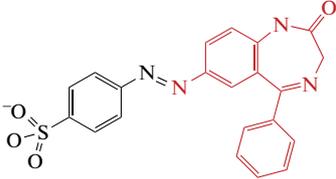
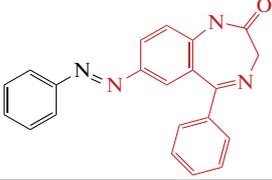
Свойства гомомерных и гетеромерных рецепторов проявляют функциональные и фармакологические различия: проводимость одиночных каналов [119], действие блокаторов [123, 124], синаптическая и экстраинаптическая экспрессия [125]. Субъединичный состав ГлиР меняется в процессе онтогенеза. В период эмбриогенеза и на ранних стадиях постнатального развития наиболее распространенной является  $\alpha 2$ -субъединица, а в ЦНС взрослых млекопитающих преобладает  $\alpha 1$ -субъединица [110, 126].

#### *Фотохромные модуляторы рецепторов глицина*

Недавно создано два первых фотохромных модулятора активности ГлиР [49, 50]. Оба соединения созданы на базе азобензола и диазепам (табл. 3).

Первое соединение – это описанный выше фотохром Azo-NZ1. Поскольку Azo-NZ1 является светоуправляемым блокатором хлор-избирательных каналов рецепторов ГАМК, то необходимо было выяснить, действует ли фотохром на другие типы анион-избирательных каналов, формируемых разными субъединицами ГлиР. В линиях культивируемых клеток, экспрессирующих рецепторы известного субъединичного состава, показано, что фотохром Azo-NZ1 оказывал слабый эффект на

Таблица 3. Фотохромные модуляторы рецепторов глицина

Фотохром	Структурная формула	Год	Действие	Ссылка
Azo-NZ1		2018	<i>Trans</i> -блокатор каналов ГлиР $\alpha 2$ экспрессирующихся в СНО клетках и синаптических ГлиР в срезах неонатального мозга	[46]
Glyght		2020	<i>Trans</i> -блокатор каналов $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ -ГАМК <sub>A</sub> and $\rho 2$ ГАМК <sub>C</sub> рецепторов рецепторов экспрессирующихся в СНО клетках и синаптических ГлиР в срезах гиппокампа	[47]

глицин-активируемые токи в клетках, экспрессирующих гомомерные  $\alpha$ -ГлиР и гетеромерные ГлиР, формируемые  $\alpha 1/\beta$ -субъединицами. С другой стороны, Azo-NZ1 вызывал сильное угнетение амплитуды глицин-активируемых токов в клетках, экспрессирующих гомомерные  $\alpha 2$ -ГлиР и гетеромерные ГлиР, формируемые  $\alpha 2/\beta$ -субъединицами. С помощью целенаправленного мутагенеза трансмембранного домена, формирующего анион-избирательную пору, был определен сайт взаимодействия Azo-NZ1 с ГлиР. В дополнение к анализу на ГАМК<sub>A</sub>Р, было показано, что в ГлиР аминокислота в положении 2' поры ионного канала имеет решающее значение для блокирующего действия Azo-NZ1 [49].

Результаты, полученные при гетерологической экспрессии ГлиР известного субъединичного состава, предполагают, что Azo-NZ1 может быть эффективным светууправляемым модулятором активности глицинергических синапсов на ранних фазах постнатального развития, взаимодействуя с “неонатальными” рецепторами, формируемыми альфа2-субъединицами.

Эту гипотеза была проверена на мотонейронах гипоглоссального ядра срезов ствола мозга мышей, имеющих мощные глицинергические синаптические входы [127, 128]. Известно, что экспрессия подтипов ГлиР регулируется в процессе развития: при рождении и в первые постнатальные дни у грызунов преобладают альфа2-субъединицы ГлиР, но в течение двух недель постнатальной жизни экспрессия альфа1-субъединицы резко увеличивается и на взрослых этапах становится преобладающей [110, 129, 130]. Сравнительный анализ вызванных постсинаптических глицинергических токов был проведен на мотонейронах гипоглоссального ядра срезов мозга мышей на разных стадиях постнатального развития. Было показано, что Azo-NZ1 в *транс*-конфигурации блокирует вызванные постсинаптические токи, опосредованные ГлиР, сформированными “неонатальными” альфа2-субъединицами, и мало влияет на токи, опосредованные рецепторами, сформированными “взрослыми” альфа1-субъединицами. Облучение ультрафиолетом, переводящее фотохром в *цис*-конфигурацию, устраняет действие Azo-NZ1 на “неонатальные” альфа2-ГлиР в срезах мозга. Эти результаты показывают, что Azo-NZ1 является светууправляемым модулятором глицинергических синапсов неонатального мозга.

Второй фотохромный модулятор ГлиР, названный Glyght (табл. 3), синтезирован на основе 7-амино-нитразепама и 2-нитропиридина. Как и другие азобензольные производные бензодиазепама, Glyght при облучении УФ переходит в *цис*-конфигурацию, а при облучении синим или видимым светом — в *транс*-конфигура-

цию [50]. На мотонейронах гипоглоссального ядра срезов мозга неонатальных мышей показано, что в *транс*-конфигурации Glyght является “инертным”, т.е. не оказывает влияния на вызванные глицинергические постсинаптические токи. Освещение УФ (*цис*-Glyght) приводило к снижению амплитуды токов. Анализ *in vivo* показал, что Glyght эффективно влияет на поведение зебра рыбок *Dario rerio* [50].

Таким образом, фотохромные соединения Azo-NZ1 и Glyght являются модуляторами ГлиР, и их использование является перспективным для контроля тормозных процессов в нервной системе млекопитающих.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом, представленные данные показывают, что фотофармакология является чрезвычайно перспективным направлением, открывающим уникальные возможности для дистанционной стимуляции нейронов. При этом, как правило, не требуются генетические манипуляции для создания высокоизбирательных светоуправляемых фармакологических препаратов, воздействующих на определенные участки мозга.

Одним из важных ограничений широкого использования азобензолов так же, как и других фотопереклюателей, является необходимость освещения короткими длинами волн ультрафиолетового диапазона, которые могут вызывать отрицательное воздействие на функции биологических молекул. Однако в последние годы разрабатываются азобензольные переключатели в красном диапазоне световых волн [131].

Использование света в качестве регулятора активности биологических молекул открывает возможности для точного пространственного и временного контроля активностью клеток, органов и целых организмов. Эти особенности являются важными для физиологического анализа функций нервной системы и, возможно, в будущем — обеспечения мощных и избирательных контролируемых светом терапевтических воздействий.

### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта № 18-15-00313.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

### ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы, написание и редактирование статьи (П.Д.Б); работа с литературой, с текстом, создание таблиц, оформление списка литературы (Д.Н.П).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Magazanik L.G.* (1968) Механизм десенситизации постсинаптической мембраны мышечных волокон. *Биофизика*. 13(1): 199–202. [*Magazanik L.G.* (1968) On the mechanism of desensitization of the muscle fiber postsynaptic membrane. *Biofizika*. 13(1): 199–202 (In Russ)].
2. *Magazanik L.G., Nasledov G.A.* (1970) Desensitization to acetylcholine of frog tonic muscle fibres. *Nature*. 226(5243): 370–371.
3. *Magazanik L.G., Vyskocit F.* (1975) The effect of temperature on desensitization kinetics at the post-synaptic membrane of the frog muscle fibre. *J. Physiol.* 249(2): 285–300.

4. *Magazanik L.G., Snetkov V.A., Giniatullin R.A., Khazipov R.N.* (1990) Changes in the time course of miniature endplate currents induced by bath-applied acetylcholine. *Neurosci. Lett.* 113(3): 281–285.
5. *Giniatullin R.A., Magazanik L.G.* (1998) Desensitization of the post-synaptic membrane of neuromuscular synapses induced by spontaneous quantum secretion of mediator. *Neurosci. Behav. Physiol.* 28(4): 438–442.
6. *Magazanik L.G.* (1976) Functional properties of postjunctional membrane. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 16(1): 161–175.
7. *Magazanik L.G.* (2000) Blockade of ion channels as an approach to studying AMPA receptor subtypes. *Neurosci. Behav. Physiol.* 30(1): 27–35.
8. *Тихонов Д.Б., Магазаник Л.Г.* (2008) Происхождение и молекулярная эволюция ионотропных рецепторов глутамата. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 94(9): 989–1004. [*Tikhonov D.B., Magazanik L.G.* (2008) Origin and molecular evolution of ionotropic glutamate receptors. *Russ. J. Physiol.* 94(9): 989–1004 (In Russ)].
9. *Калемнев С.В., Зубарева О.Е., Лукомская Н.Я., Магазаник Л.Г.* (2012) Нейропротекторное действие неконкурентных блокаторов NMDA-рецепторов ИЭМ-1957 и мемантина на модели фокальной ишемии мозга. *Докл. Акад. наук.* 443 (6): 750–750. [*Kalemenev S.V., Zubareva O.E., Lukomskaya N.Y., Magazanik L.G.* (2012) Neuroprotective effect of noncompetitive NMDA receptor antagonists IEM-1957 and memantine in experimental focal cerebral ischemia. *Dokl. Biol. Sci.* 443(1): 78–80 (In Russ)].
10. *Ватаев С.И., Оганесян Г.А., Лукомская Н.Я., Магазаник Л.Г.* (2013) Влияние блокаторов каналов ионотропных глутаматных рецепторов на эффекты депривации сна у крыс. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 99(5): 575–585. [*Vataev S.I., Oganessian G.A., Lukomskaya N., Magazanik L.G.* (2013) The action of ionotropic glutamate receptor channel blockers on effects of sleep deprivation in rats. *Russ. J. Physiol.* 99(5): 575–585 (In Russ)].
11. *Malkin S.L., Kim K.K., Tikhonov D.B., Magazanik L.G., Zaitsev A.V.* (2015) Statistical models suggest presence of two distinct subpopulations of miniature EPSCs in fast-spiking interneurons of rat prefrontal cortex. *Neuroscience.* 301: 508–519. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.06.034>
12. *Чижов А.В., Амахин Д.В., Зайцев А.В., Магазаник Л.Г.* (2018) AMPAR-опосредованные интериктальные разряды в нейронах энторинальной коры: эксперимент и модель. *Докл. Акад. наук.* 479(1): 103–106 [*Chizhov A.V., Amakhin D.V., Zaitsev A.V., Magazanik L.G.* (2018) AMPAR-mediated interictal discharges in neurons of entorhinal cortex: experiment and model. *Dokl. Biol. Sci.* 479(1): 47–50 (In Russ)]. <https://doi.org/10.1134/S0012496618020011>
13. *Bregestovski P., Maleeva G., Gorostiza P.* (2018) Light-induced regulation of ligand-gated channel activity. *Br. J. Pharmacol.* 175(11): 1892–1902. <https://doi.org/10.1111/bph.14022>
14. *Lin W.C., Tsai M.C., Rajappa R., Kramer R.H.* (2018) Design of a highly bistable photoswitchable tethered ligand for rapid and sustained manipulation of neurotransmission. *J. Am. Chem. Soc.* 140(24): 7445–7448. <https://doi.org/10.1021/jacs.8b03942>
15. *Deisseroth K.* (2011) Optogenetics. *Nat. Methods.* 8(1): 26–29. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.324>
16. *Kim C.K., Adhikari A., Deisseroth K.* (2017) Integration of optogenetics with complementary methodologies in systems neuroscience. *Nat. Rev. Neurosci.* 18(4): 222–235. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.15>
17. *Gorostiza P., Isacoff E.Y.* (2008) Optical switches for remote and noninvasive control of cell signaling. *Science.* 322(5900): 395–399. <https://doi.org/10.1126/science.1166022>
18. *Bregestovski P., Waseem T., Mukhtarov M.* (2009) Genetically encoded optical sensors for monitoring of intracellular chloride and chloride-selective channel activity. *Front. Mol. Neurosci.* 2(15). <https://doi.org/10.3389/neuro.02.015.2009>
19. *Suzuki J., Kanemaru K., Iino M.* (2016) Genetically encoded fluorescent indicators for organellar calcium imaging. *Biophys. J.* 111(6): 1119–1131. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2016.04.054>
20. *Imamura H., Nhat K.P.H., Togawa H., Saito K., Iino R., Kato-Yamada Y., Nagai T., Noji H.* (2009) Visualization of ATP levels inside single living cells with fluorescence resonance energy transfer-based genetically encoded indicators. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 106(37): 15651–15656. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904764106>
21. *Berg J., Hung Y.P., Yellen G.* (2009) A genetically encoded fluorescent reporter of ATP: ADP ratio. *Nat. Methods.* 6(2): 161–166. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1288>
22. *Schumacher C.H., Körschen H.G., Nicol C., Gasser C., Seifert R. Schwärzel M., Möglich A.* (2016) A fluorometric activity assay for light-regulated cyclic-nucleotide-monophosphate ac-

- tuators. *Methods. Mol. Biol.* 1408: 93–105.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3512-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3512-3_7)
23. *Wojtovich A.P., Foster T.H.* (2014) Optogenetic control of ROS production. *Redox. Biol.* 2: 368–376.  
<https://doi.org/10.1016/j.redox.2014.01.019>
  24. *Bilan D.S., Pase L., Joosen L., Gorokhovatsky A.Y., Ermakova Y.G., Gadella T., Grabher C., Schultz C., Lukyanov S., Belousov V.V.* (2013) HyPer-3: a genetically encoded H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> probe with improved performance for ratiometric and fluorescence lifetime imaging. *ACS Chem. Biol.* 8(3): 535–542.  
<https://doi.org/10.1021/cb300625g>
  25. *Covington H.E., Lobo M.K., Maze I., Vialou V., Hyman J.M., Zaman S., LaPlant Q., Mouzou E., Ghose S., Tamminga C.A., Neve R.L., Deisseroth K., Nestler E.J.* (2010) Antidepressant effect of optogenetic stimulation of the medial prefrontal cortex. *J. Neurosci.* 30(48): 16082–16090.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1731-10.2010>
  26. *Haubensak W., Kunwar P.S., Cai H., Cioocchi S., Wall N.R., Ponnusamy R., Biag J., Dong H., Deisseroth K., Callaway E.M., Fanselow M.S., Lüthi A., Anderson D.J.* (2010) Genetic dissection of an amygdala microcircuit that gates conditioned fear. *Nature.* 468(7321): 270–276.  
<https://doi.org/10.1038/nature09553>
  27. *Velema A., Szymanski W., Feringa B.L.* (2014) Photopharmacology: beyond proof of principle. *J. American. Chem. Soc.* 136(6): 2178–2191.  
<https://doi.org/10.1021/ja413063e>
  28. *Mitscherlich E.* (1834) Über das stickstoffbenzid. *Ann. der Physik.* 108(15): 225–227.
  29. *Hartley G.S.* (1937) The cis-form of azobenzene. *Nature.* 140(3537): 281–281.
  30. *Merino E., Ribagorda M.* (2012) Control over molecular motion using the cis–trans photoisomerization of the azo group. *Beilstein. J. Org. Chem.* 8(1): 1071–1090.  
<https://doi.org/10.3762/bjoc.8.119>
  31. *Koshima H., Ojima N., Uchimoto H.* (2009) Mechanical motion of azobenzene crystals upon photoirradiation. *J. Am. Chem. Soc.* 131(20): 6890–6891.  
<https://doi.org/10.1021/ja8098596>
  32. *Irie M.* (2000) Diarylethenes for memories and switches. *Chem. Rev.* 100(5): 1685–1716.  
<https://doi.org/10.1021/cr980069d>
  33. *Lubbe A.S., Szymanski W., Feringa B.L.* (2017) Recent developments in reversible photoregulation of oligonucleotide structure and function. *Chem. Soc. Rev.* 46(4): 1052–1079.  
<https://doi.org/10.1039/c6cs00461j>
  34. *Klajn R.* (2014) Spiropyran-based dynamic materials. *Chem. Soc. Rev.* 43(1): 148–184.  
<https://doi.org/10.1039/c3cs60181a>
  35. *Lin W.C., Kramer R.H.* (2018) Light-Switchable Ion Channels and Receptors for Optogenetic Interrogation of Neuronal Signaling. *Bioconjug. Chem.* 29(4): 861–869.  
<https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.7b00803>
  36. *Fortin D.L., Dunn T.W., Fedorchak A., Allen D., Montpetit R., Banghart M.R., Trauner D., Adelman J.P., Kramer R.H.* (2011) Optogenetic photochemical control of designer K<sup>+</sup> channels in mammalian neurons. *J. Neurophysiol.* 106(1): 488–496.  
<https://doi.org/10.1152/jn.00251.2011>
  37. *Leippe P., Winter N., Sumser M.P., Trauner D.* (2018) Optical control of a delayed rectifier and a two-pore potassium channel with a photoswitchable bupivacaine. *ACS Chem. Neurosci.* 9(12): 2886–2891.  
<https://doi.org/10.1021/acschemneuro.8b00279>
  38. *Trads J.B., Hüll K., Matsuura B.S., Laprell L., Fehrentz T., Görldt N., Kozek K.A., Weaver C.D., Klöcker N., Barber D.M., Trauner D.* (2019) Sign inversion in photopharmacology: Incorporation of cyclic azobenzenes in photoswitchable potassium channel blockers and openers. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 58(43): 15421–15428.  
<https://doi.org/10.1002/anie.201905790>
  39. *Volgraf M., Gorostiza P., Numano R., Kramer R.H., Isacoff E.Y., Trauner D.* (2006) Allosteric control of an ionotropic glutamate receptor with an optical switch. *Nat. Chem. Biol.* 2(1): 47–52.  
<https://doi.org/10.1038/nchembio756>
  40. *Gorostiza P., Volgraf M., Numano R., Szobota S., Trauner D., Isacoff E.Y.* (2007) Mechanisms of photoswitch conjugation and light activation of an ionotropic glutamate receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104(26): 10865–10870.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0701274104>
  41. *Laprell L., Repak E., Franckevicius V., Hartrampf F., Terhag J., Hollmann M., Sumser M., Rebola N., DiGregorio D.A., Trauner D.* (2015) Optical control of NMDA receptors with a diffusible photoswitch. *Nat. Commun.* 6(1): 1–11.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms9076>
  42. *Donthamsetti P.C., Winter N., Schönberger M., Levitz J., Stanley C., Javitch J.A., Isacoff E.Y., Trauner D.* (2017) Optical control of dopamine receptors using a photoswitchable tethered in-

- verse agonist. *J. Am. Chem. Soc.* 139(51): 18522–18535.  
<https://doi.org/10.1021/jacs.7b07659>
43. Lemoine D., Habermacher C., Martz A., Méry P.F., Bouquier N., Diverchy F., Taly A., Rassen-dren F., Specht A., Grutter T. (2013) Optical control of an ion channel gate. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 110(51): 20813–20818.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1318715110>
  44. Tochitsky I., Banghart M.R., Mourot A., Yao J.Z., Gaub B., Kramer R.H., Trauner D. (2012) Op-tochemical control of genetically engineered neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Nat. Chem.* 4(2): 105–111.  
<https://doi.org/10.1038/nchem.1234>
  45. Stein M., Middendorp S.J., Carta V., Pejo E., Raines D.E., Forman S.A., Sigel E., Trauner D. (2012) Azo-propofols: photochromic potentiators of GABAA receptors. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 51(42): 10500–10504.  
<https://doi.org/10.1002/anie.201205475>
  46. Yue L., Pawlowski M., Dellal S.S., Xie A., Feng F., Otis T.S., Bruzik K.S., Qian H., Pepperberg D.R. (2012) Robust photoregulation of GABA A receptors by allosteric modulation with a propofol analogue. *Nat. Commun.* 3(1): 1–12.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms2094>
  47. Maleeva G., Wutz D., Rustler K., Nin-Hill A., Rovira C., Petukhova E., Bautista-Barrufet A., Gomila-Juaneda A., Scholze P., Peiretti F., Alfonso-Prieto M., König B., Gorostiza P., Bregestovs-ki P. (2019) A photoswitchable GABA receptor channel blocker. *Br. J. Pharmacol.* 176(15): 2661–267.  
<https://doi.org/10.1111/bph.14689>
  48. Rustler K., Maleeva G., Gomila A.M., Gorostiza P., Bregestovski P., König B. (2020) Optical Control of GABAA Receptors with a Fulgimide-Based Potentiator. *Chemistry.* 26(56): 12722–12727.  
<https://doi.org/10.1002/chem.202000710>
  49. Maleeva G., Nin-Hill A., Rustler K., Petukhova E., Ponomareva D., Mukhametova E., Gomila-Jua-neda A., Wutz D., Alfonso-Prieto M., König B., Gorostiza P., Bregestovski P. (2021) Subunit-specific photocontrol of glycine receptors by azobenzene-nitrazepam photoswitcher. *eNeuro.* 8(1).  
<https://doi.org/10.1523/ENEURO.0294-20.2020>
  50. Gomila A.M., Rustler K., Maleeva G., Nin-Hill A., Wutz D., Bautista-Barrufet A., Rovira X., Bosch M., Mukhametova E., Petukhiva E., Ponomareva D., Mukhamedyarov M., Peiretti F., Al-fonso-Prieto M., Rovira C., König B., Bregestovski P., Gorostiza P. (2020) Photocontrol of en-dogenous glycine receptors in vivo. *Cell. Chem. Biol.* 27(11): 1425–1433.  
<https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2020.08.005>
  51. Thompson A.J., Lester H.A., Lummis S.C. (2010) The structural basis of function in Cys-loop receptors. *Q Rev. Biophys.* 43(4): 449–499.  
<https://doi.org/10.1017/S0033583510000168>
  52. Ortells M.O., Lunt G.G. (1995) Evolutionary history of the ligand-gated ion-channel superfam-ily of receptors. *Trends Neurosci.* 18(3): 121–127.  
[https://doi.org/10.1016/0166-2236\(95\)93887-4](https://doi.org/10.1016/0166-2236(95)93887-4)
  53. Karlin A., Akabas M.H. (1995) Toward a structural basis for the function of nicotinic acetyl-choline receptors and their cousins. *Neuron.* 15(6): 1231–1244.
  54. Вульфийус Е.А. (2006)  $\alpha 7$ -Подтип нейрональных никотиновых рецепторов ацетилхоли-на: структура, свойства, распространение, функции. *Биол. Мембр.* 23(2): 111–118 [Vulfius C.A. (2006)  $\alpha 7$ -subtype of neuronal nicotinic acetylcholine receptors: structure, properties, distribution, functions. *Biol. Membr.* 23(2): 111–118 (In Russ)].
  55. Малеева Г.В., Брежестовский П.Д. (2014) Молекулярная физиология рецепторов гли-цина в нервной системе позвоночных. *Рос. физиол. журн. им И.М. Сеченова* 100(3): 274–300 [Maleeva G.V., Bregestovski P.D. (2014) Molecular physiology of glycine receptors in nervous system of vertebrates. *Russ. J. Physiol.* 100(3): 274–300 (In Russ)].
  56. Millar N.S., Gotti C. (2009) Diversity of vertebrate nicotinic acetylcholine receptors. *Neuro-pharmacology* 56(1): 237–246.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.07.041>
  57. Karlin A. (2002) Emerging structure of the nicotinic acetylcholine receptors. *Nat. Rev. Neu-rosci.* 3(2): 102–114.  
<https://doi.org/10.1038/nrn731>
  58. Changeux J.P. (2012) The nicotinic acetylcholine receptor: the founding father of the pentam-eric ligand-gated ion channel superfamily. *J. Biol. Chem.* 287(48): 40207–40215.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.R112.407668>
  59. Miledi R. (1960) Junctional and extrajunctional acetylcholine receptors in skeletal muscle fi-bres. *J. Physiol.* 151(1): 24–30.
  60. Mishina M., Takai T., Imoto K., Noda M., Takahashi T., Numa S., Methfessel C., Sakmann B. (1986) Molecular distinction between fetal and adult forms of muscle acetylcholine receptor. *Nature.* 321(6068): 406–411.

61. *Hall Z.W., Sanes J.R.* (1993) Synaptic structure and development: the neuromuscular junction. *Cell.* 72: 99–121.
62. *McGehee D.S., Role L.W.* (1995) Physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by vertebrate neurons. *Annu. Rev. Physiol.* 57(1): 521–546.
63. *Kalamida D., Poulas K., Avramopoulou V., Fostieri E., Lagoumintzis G., Lazaridis K., Sideri A., Zouridakis M., Tzartos S.J.* (2007) Muscle and neuronal nicotinic acetylcholine receptors. Structure, function and pathogenicity. *FEBS J.* 274(15): 3799–3845. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.05935.x>
64. *Gotti C., Zoli M., Clementi F.* (2006) Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance. *Trends. Pharmacol. Sci.* 27(9): 482–491. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2006.07.004>
65. *Hogg R.C., Raggenbass M., Bertrand D.* (2003) Nicotinic acetylcholine receptors: from structure to brain function. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 147: 1–46. <https://doi.org/10.1007/s10254-003-0005-1>
66. *Benowitz N.L.* (2009) Pharmacology of nicotine: addiction, smoking-induced disease, and therapeutics. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 49: 57–71. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094742>
67. *Dani J.A., De Biasi M.* (2013) Mesolimbic dopamine and habenulo-interpeduncular pathways in nicotine withdrawal. *Cold. Spring. Harb. Perspect. Med.* 3(6): a012138. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012138>
68. *Posadas I., López-Hernández B., Ceña V.* (2013) Nicotinic receptors in neurodegeneration. *Curr. Neuropharmacol.* 11(3): 298–314. <https://doi.org/10.2174/1570159X11311030005>
69. *Deal W.J., Erlanger B.F., Nachmansohn D.* (1969) Photoregulation of biological activity by photochromic reagents, III. Photoregulation of bioelectricity by acetylcholine receptor inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 64(4): 1230–1234. <https://doi.org/10.1073/pnas.64.4.1230>
70. *Conti-Tronconi B.M., Hunkapiller M.W., Lindstrom J.M., Raftery M.A.* (1982) Subunit structure of the acetylcholine receptor from *Electrophorus electricus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 79(21): 6489–6493.
71. *Bartels E., Wassermann N.H., Erlanger B.F.* (1971) Photochromic activators of the acetylcholine receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 68(8): 1820–1823.
72. *Damijonaitis A., Broichhagen J., Urushima T., Hüll K., Nagpal J., Laprell L., Schönberger M., Woodmansee D.H., Rafiq A., Sumser M.P., Kummer W., Gottschalk A., Kummer W.* (2015) Azocholine enables optical control of alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors in neural networks. *ACS Chem. Neurosci.* 6(5): 701–707. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.5b00030>
73. *Karlin A.* (1969) Chemical modification of the active site of the acetylcholine receptor. *J. Gen. Physiol.* 54(1): 245–264.
74. *Bregestovski P.D., Iljin V.I., Jurchenko O.P., Veprintsev B.N., Vulfius C.A.* (1977) Acetylcholine receptor conformational transition on excitation masks disulphide bonds against reduction. *Nature.* 270(5632): 71–73.
75. *Sheridan R.E., Lester H.A.* (1982) Functional stoichiometry at the nicotinic receptor. The photon cross section for phase 1 corresponds to two bis-Q molecules per channel. *J. Gen. Physiol.* 80(4): 499–515.
76. *Lester H.A., Krouse M.E., Nass M.M., Wassermann N.H., Erlanger B.F.* (1980) A covalently bound photoisomerisable agonist. Comparison with reversibly bound agonists at *Electrophorus* electroplaques. *J. Gen. Physiol.* 75(2): 207–232.
77. *Lester H.A., Krouse M.E., Nass M.M., Wassermann N.H., Erlanger B.F.* (1979) Light-activated drug confirms a mechanism of ion channel blockade. *Nature.* 280(5722): 509–510.
78. *Krouse M.E., Lester H.A., Wassermann N.H., Erlanger B.F.* (1985) Rates and equilibria for a photoisomerizable antagonist at the acetylcholine receptor of *Electrophorus* electroplaques. *J. Gen. Physiol.* 86(2): 235–256.
79. *Chabala L.D., Gurney A.M., Lester H.A.* (1986) Dose-response of acetylcholine receptor channels opened by a flash-activated agonist in voltage-clamped rat myoballs. *J. Physiol.* 371(1): 407–433.
80. *Celie P.H., van Rossum-Fikkert S.E., van Dijk W.J., Brejc K., Smit A.B., Sixma T.K.* (2004) Nicotine and carbamylcholine binding to nicotinic acetylcholine receptors as studied in AChBP crystal structures. *Neuron.* 41(6): 907–914. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(04\)00115-1](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(04)00115-1)
81. *Sieghart W.* (1995) Structure and pharmacology of g-aminobutyric acid A receptor subtypes. *Pharmacol. Rev.* 47: 181–234.
82. *Knoflach F., Hernandez M.C., Bertrand D.* (2016) GABAA receptor-mediated neurotransmission: Not so simple after all. *Biochem. Pharmacol.* 115: 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.03.014>

83. Sieghart W., Sperk G. (2002) Subunit composition, distribution and function of GABAA receptor subtypes. *Curr. Top. Med. Chem.* 2(8): 795–816.  
<https://doi.org/10.2174/1568026023393507>
84. Somogyi P., Tamas G., Lujan R., Buhl E.H. (1998) Salient features of synaptic organisation in the cerebral cortex. *Brain. Res. Brain. Res. Rev.* 26(2–3): 113–135.
85. Salzman C. (1998) Addiction to benzodiazepines. *Psy. Quart.* 69: 251–261.
86. Calcaterra N.E., Barrow J.C. (2014) Classics in chemical neuroscience: diazepam (valium). *ACS Chem. Neurosci.* 5(4): 253–260.  
<https://doi.org/10.1021/cn5000056>
87. Chang-Sheng S.C., Olcese R., Olsen R.W. (2003) A single M1 residue in the  $\beta 2$  subunit alters channel gating of GABAA receptor in anesthetic modulation and direct activation. *J. Biol. Chem.* 278(44): 42821–42828.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M306978200>
88. Bali M., Akabas M.H. (2004) Defining the propofol binding site location on the GABAA receptor. *Mol. Pharmacol.* 65(1): 68–76.  
<https://doi.org/10.1124/mol.65.1.68>
89. Wisden W., Korpi E.R., Bahn S. (1996) The cerebellum: a model system for studying GABAA receptor diversity. *Neuropharmacology.* 35(9–10): 1139–1160.
90. Mäkelä J., Iivanainen M., Pieninkeroinen I.P., Waltimo O., Lahdensuu M. (1993) Seizures associated with propofol anesthesia. *Epilepsia.* 34(5): 832–835.
91. Yamakura T., Sakimura K., Shimoji K., Mishina M. (1995) Effects of propofol on various AMPA-, kainate- and NMDA-selective glutamate receptor channels expressed in *Xenopus* oocytes. *Neurosci. Lett.* 188(3): 187–190.
92. Vasileiou I., Xanthos T., Koudouna E., Perrea D., Klonaris C., Katsargyris A., Papadimitriou L. (2009) Propofol: a review of its non-anaesthetic effects. *Eur. J. Pharmacol.* 605(1–3): 1–8.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.01.007>
93. Wu Q., Zhao Y., Chen X., Zhu M., Miao C. (2018) Propofol attenuates BV2 microglia inflammation via NMDA receptor inhibition. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 96(3): 241–248.  
<https://doi.org/10.1139/cjpp-2017-0243>
94. Walder B., Tramèr M.R., Seeck M. (2002) Seizure-like phenomena and propofol: a systematic review. *Neurology.* 58(9): 1327–1332.  
<https://doi.org/10.1212/wnl.58.9.1327>
95. Lin W.C., Davenport C.M., Mourot A., Vytla D., Smith C.M., Medeiros K.A., Chambers J.J., Kramer R.H. (2014) Engineering a light-regulated GABAA receptor for optical control of neural inhibition. *ACS Chem. Biol.* 9(7): 1414–1419.  
<https://doi.org/10.1021/cb500167u>
96. Lin W.C., Tsai M.C., Davenport C.M., Smith C.M., Veit J., Wilson N.M., Adesnik H., Kramer R.H. (2015) A comprehensive optogenetic pharmacology toolkit for in vivo control of GABAA receptors and synaptic inhibition. *Neuron.* 88(5): 879–891.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.10.026>
97. Huckvale R., Mortensen M., Pryde D., Smart T.G., Baker J.R. (2016) Azogabazine: a photochromic antagonist of the GABA A receptor. *Org. Biomol. Chem.* 14(28): 6676–6678.  
<https://doi.org/10.1039/c6ob01101b>
98. Chambon J.P., Feltz P., Heaulme M., Restle S., Schlichter R., Biziere K., Wermuth C.G. (1985) An arylaminopyridazine derivative of gamma-aminobutyric acid (GABA) is a selective and competitive antagonist at the GABAA receptor site. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 82(6): 1832–1836.
99. Lin W.C., Tsai M.C., Rajappa R., Kramer R.H. (2018) Design of a highly bistable photoswitchable tethered ligand for rapid and sustained manipulation of neurotransmission. *J. Am. Chem. Soc.* 140(24): 7445–7448.  
<https://doi.org/10.1021/jacs.8b03942>
100. Gastaut H., Naquet R., Poire R., Tassinari C.A. (1965) Treatment of status epilepticus with diazepam (Valium). *Epilepsia.* 6(2): 167–182.
101. Tan K.R., Rudolph U., Lüscher C. (2011) Hooked on benzodiazepines: GABAA receptor subtypes and addiction. *Trends. Neurosci.* 34(4): 188–197.  
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.01.004>
102. Rogawski M.A., Heller A.H. (2019) Diazepam buccal film for the treatment of acute seizures. *Epilepsy Behav.* 101(Pt B): 106537.  
<https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.106537>
103. Vitanova L., Haverkamp S., Wässle H. (2014) Immunocytochemical localization of glycine and glycine receptors in the retina of the frog *Rana ridibunda*. *Cell Tissue. Res.* 317(3): 227–235.  
<https://doi.org/10.1007/s00441-004-0914-6>
104. Danglot L., Rostaing P., Triller A., Bessis A. (2004) Morphologically identified glycinergic synapses in the hippocampus. *Mol. Cell Neurosci.* 27(4): 394–403.  
<https://doi.org/10.1016/j.mcn.2004.05.007>

105. *Brackmann M., Zhao C., Schmieden V., Braunewell K.H.* (2004) Cellular and subcellular localization of the inhibitory glycine receptor in hippocampal neurons. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 324(3): 1137–1142.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.09.172>
106. *Xu T.-L., Gong N.* (2010) Glycine and glycine receptor signaling in hippocampal neurons: diversity, function and regulation. *Prog. Neurobiol.* 91(4): 349–361.  
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.04.008>
107. *Chattipakorn S.C., McMahon L.L.* (2003) Strychnine-sensitive glycine receptors depress hyperexcitability in rat dentate gyrus. *J. Neurophysiol.* 89(3): 1339–1342.  
<https://doi.org/10.1152/jn.00908.2002>
108. *Leite J.F., Cascio M.* (2001) Structure of ligand-gated ion channels: critical assessment of biochemical data supports novel topology. *Mol. Cell. Neurosci.* 17(5): 777–792.  
<https://doi.org/10.1006/mcne.2001.0984>
109. *Friauf E., Hammerschmidt B., Kirsch J.* (1997) Development of adult-type inhibitory glycine receptors in the central auditory system of rats. *J. Comp. Neurol.* 385(1): 117–134.
110. *Malosio M., Marqueze B., Pouey A., Kuhse J., Betz H.* (1991) Widespread expression of glycine receptor subunit mRNAs in the adult and developing rat brain. *EMBO J.* 10(9): 2401–2409.
111. *Baer K., Waldvogel H.J., Faull R.L.M., Rees M.I.* (2009) Localization of glycine receptors in the human forebrain, brainstem, and cervical spinal cord: an immunohistochemical review. *Front. Mol. Neurosci.* 4(2): 25.  
<https://doi.org/10.3389/neuro.02.025.2009>
112. *Grenningloh G., Rienitz A., Schmitt B., Methfessel C., Zensen M., Beyreuther K., Gundelfinger E.D., Betz H.* (1988) Molecular cloning of the antagonist-binding subunit of the glycine receptor. *J. Recept. Res.* 8(1–4): 183–193.
113. *Becker C.M., Hoch W., Betz H.* (1988) Glycine receptor heterogeneity in rat spinal cord during postnatal development. *EMBO J.* 7(12): 3717–3726.
114. *Grenningloh G., Schmieden V., Schofield P.R., Seeburg P.H., Siddique T., Mohandas T.K., Becker C.M., Betz H.* (1990) Alpha subunit variants of the human glycine receptor: primary structures, functional expression and chromosomal localization of the corresponding genes. *EMBO J.* 9(3): 771–776.
115. *David-Watine B., Goblet C., De Saint Jan D., Fucile S., Devignot V., Bregestovski P., Korn H.* (1999) Cloning, expression and electrophysiological characterization of glycine receptor alpha subunit from zebrafish. *Neuroscience.* 90(1): 303–317.
116. *Imboden M., De Saint Jan D., Leulier F., Korn H., Goblet C., Bregestovski P.* (2001) Isolation and characterization of an alpha 2-type zebrafish glycine receptor subunit. *Neuroscience.* 103(3): 799–810.  
[https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(00\)00575-3](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(00)00575-3)
117. *Devignot V., Prado de Carvalho L., Bregestovski P., Goblet C.* (2003) A novel glycine receptor  $\alpha$ Z1 subunit variant in the zebrafish brain. *Neuroscience.* 122(2): 449–457.  
[https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(03\)00171-4](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(03)00171-4)
118. *Grenningloh G., Pribilla I., Prior P., Multhaup G., Beyreuther K., Taleb O., Betz H.* (1990) Cloning and expression of the 58 kd beta subunit of the inhibitory glycine receptor. *Neuron.* 4(6): 963–970.
119. *Bormann J., Rundström N., Betz H., Langosch D.* (1994) Residues within transmembrane segment M2 determine chloride conductance of glycine receptor homo- and hetero-oligomers. *EMBO J.* 12(10): 3729–3737.
120. *Meyer G., Kirsch J., Betz H., Langosch D.* (1995) Identification of a Gephyrin Binding Motif on the Glycine Receptor  $\beta$  Subunit. *Neuron.* 15(3): 563–572.
121. *Kirsch J., Betz H.* (1995) The Postsynaptic Protein Gephyrin Localization Is Regulated of the Glycine Receptor-Associated by the Cytoskeleton. *J. Neurosci.* 15(6): 4148–4156.
122. *Kneussel M., Betz H.* (2000) Clustering of inhibitory neurotransmitter receptors at developing postsynaptic sites: the membrane activation model. *Trends. Neurosci.* 23(9): 429–435.  
[https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(00\)01627-1](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(00)01627-1)
123. *Pribilla I., Takagi T., Langosch D., Bormann J., Betz H., Pribilla I.* (1992) The atypical M2 segment of the subunit confers picrotoxinin resistance to inhibitory glycine receptor channels. *EMBO J.* 11(12): 4305–4311.
124. *Zhorov B.S., Bregestovski P.D.* (2000) Chloride channels of glycine and GABA receptors with blockers: Monte Carlo minimization and structure-activity relationships. *Biophys. J.* 78(4): 1786–1803.  
[https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(00\)76729-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(00)76729-4)
125. *Kirsch J., Meyer G., Betz H.* (1996) Synaptic Targeting of Ionotropic Neurotransmitter Receptors. *Mol. Cell. Neurosci.* 8(2–3): 93–98.
126. *Singer J.H., Berger A.J.* (2000) Development of inhibitory synaptic transmission to motoneurons. *Brain. Res. Bull.* 53(5): 553–560.  
[https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(00\)00389-0](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(00)00389-0)

127. Singer J.H., Talley E.M., Bayliss D.A., Berger A.J. (1998) Development of glycinergic synaptic transmission to rat brain stem motoneurons. *J. Neurophysiol.* 80(5): 2608–2620.
128. Mukhtarov M., Ragozzino D., Bregestovski P. (2005) Dual Ca<sup>2+</sup> modulation of glycinergic synaptic currents in rodent hypoglossal motoneurons. *J. Physiol.* 569(3): 817–831. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.094862>
129. Akagi H., Miledi R. (1988) Heterogeneity of glycine receptors and their messenger RNAs in rat brain and spinal cord. *Science.* 242(4876): 270–273.
130. Becker C.M., Hoch W., Betz H. (1988) Glycine receptor heterogeneity in rat spinal cord during postnatal development. *EMBO J.* 7(12): 3717–3726.
131. Samanta S., Beharry A.A., Sadovski O., McCormick T.M., Babalhavaeji A., Tropepe V., Woolley G.A. (2013) Photoswitching azo compounds in vivo with red light. *J. Am. Chem. Soc.* 135(26): 9777–9784. <https://doi.org/10.1021/ja402220t>

### Photochromic Modulation of Cys-Loop Ligand-Gated Ion Channels

P. D. Bregestovski<sup>a, b, \*</sup> and D. N. Ponomareva<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Neurosciences, Kazan State Medical University, Kazan, Russia*

<sup>b</sup>*INSERM, INS, Institut de Neurosciences des Systèmes, Aix-Marseille University, Marseille, France*

\**e-mail: pbreges@gmail.com*

Advances in molecular and cellular biology, the development of chemical synthesis and modern technologies, enriched the modern experimental research with new directions, where the light plays a key role as a tool for modulating biological functions. One of them is photopharmacology, a field that uses chemically synthesized light-controlled compounds that can modulate the functions of proteins. When illuminated at specific wavelengths, these photochromic modules switch between active and inactive states and change functions of receptors, ion channels and enzymes. This review briefly describes compounds that modulate the functions of ionotropic Cys-loop receptors for acetylcholine, GABA, and glycine. The nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) is the first receptor-operated channel for which a way of modulation using light-dependent molecules has been discovered. In the 1970s–80s, blockers and activators of nAChR were created, consisting of azobenzene (light-controlled switch) and agonists. In the current millennium, new compounds have been created to provide light-controlled modulation of nAChR activity. These new photochromes are selective to muscle and neuronal nAChR, and are promising to study the physiological role of nAChRs in the nervous system. An extensive library of photochromic compounds is available for light-controlling of GABA receptor function. Some of them modulate the activity via interaction with the agonist site, the others are light-regulated blockers of chloride-selective ion channels. Recently, the first two photochromic modulators of glycine receptor activity have also been developed. These achievements demonstrate that photopharmacology opens up unique possibilities for remote control of physiological functions, as well as for studying the processes of inhibition and excitation in neural networks and models of neuronal pathologies.

**Keywords:** Photopharmacology, light-controlled molecular switches, nicotinic acetylcholine receptors, GABA receptors, glycine receptors, synaptic transmission