

DOI: 10.7868/S2658655X26020033
УДК 612

Экспериментальная статья

Бримонидин и циметидин – слабые блокаторы ионного канала NMDA-рецепторов

А.С. Жигулин^{1,*}, В.В. Фурман¹, О.И. Барыгин¹

¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: arseniy.zhigulin@yandex.ru

Аннотация. NMDA (N-метил-D-аспартат)-рецепторы ингибируются многими гуанидин-содержащими соединениями в микромолярных и субмикромолярных концентрациях. К числу природных гуанидин-содержащих ингибиторов NMDA-рецепторов относится метаболит аргинина агматин, а к числу синтетических – лекарство от панкреатита нафамостат, противодиабетический препарат фенформин и противомаларийные соединения прогунил и циклогуанил. В данной работе мы впервые протестировали на активность в отношении NMDA-рецепторов еще два гуанидин-содержащих лекарственных препарата – бримонидин, применяющийся для лечения глаукомы и глазной гипертензии, и циметидин, применяющийся для лечения язвенной болезни. Эксперименты проводились на изолированных пирамидных нейронах зоны CA1 головного мозга крыс линии Вистар. Клетки изолировались из срезов методом вибродиссоциации, токи регистрировались методом фиксации потенциала в конфигурации «целая клетка». Бримонидин и циметидин ингибировали NMDA-рецепторы с ИК₅₀ около 100 мкМ. Их действие было неконкурентным и потенциал-зависимым, свидетельствуя в пользу блокады поры канала как основного молекулярного механизма их действия на NMDA-рецепторы. Достаточно слабая активность бримонидина и циметидина позволяет заключить, что ингибирование NMDA-рецепторов не вносит выраженного вклада в их терапевтическое действие и побочные эффекты. По-видимому, эта слабая активность связана с отсутствием в структуре циметидина и бримонидина достаточно объемных гидрофобных группировок, что отличает их от высокоактивных амидин- или гуанидин-содержащих блокаторов NMDA-рецепторов, таких как нафамостат, пентамидин, фураминидин.

Ключевые слова: глутамат, NMDA-рецепторы, бримонидин, циметидин, пэтч-кламп, механизмы ингибирования

Финансирование. Работа поддержана средствами Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2022-296) о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Павловский центр «Интегративная физиология – медицине, высокотехнологичному

здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости», в рамках национального проекта «Наука и университеты», а также Государственным заданием Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН № 075-00263-25-00.

Соблюдение этических стандартов. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям. Исследования были одобрены биоэтическим комитетом Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (протокол № 4-3/2024 от 25.04.2024 г.).

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

Вклад авторов в публикацию. ЖАС – планирование эксперимента, сбор данных, обработка данных, написание и редактирование манускрипта; ФВВ – сбор данных, обработка данных, написание манускрипта; БОИ – планирование эксперимента, написание и редактирование манускрипта.

Ссылка для цитирования: Жигулин А.С., Фурман В.В. Барыгин О.И. Бримонидин и циметидин – слабые блокаторы ионного канала NMDA рецепторов. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова / Russian Journal of Physiology.* 2026. Т. 112. № 2. С. 447–468. <https://doi.org/10.7868/S2658655X26020033>

DOI: 10.7868/S2658655X26020033

Experimental article

Brimonidine and Cimetidine are Weak NMDA Receptor Ion Channel Blockers

A.S. Zhigulin^{1,*}, V.V. Furman¹, O.I. Barygin¹

¹*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation*

**E-mail: arseniy.zhigulin@yandex.ru*

Abstract. NMDA (N-methyl-D-aspartate) receptors are inhibited by many guanidine-containing compounds in micromolar and submicromolar concentrations. Natural guanidine-containing NMDA receptor inhibitors include the arginine metabolite agmatine, while synthetic ones include the pancreatitis drug nafamostat, the antidiabetic drug phenformin, and the antimalarial compounds proguanil and cycloguanil. In this work, for the first time, we tested two more guanidine-containing drugs for activity against NMDA receptors – brimonidine, used to treat glaucoma and ocular hypertension, and cimetidine, used to treat peptic ulcer disease. The experiments were performed on isolated pyramidal neurons of the CA1 zone of the hippocampus of Wistar rats. The isolation of cells was carried out by vibrodissociation, and the registration of currents was carried out by patch-clamp in the

“whole cell” configuration. Brimonidine and cimetidine inhibited NMDA receptors with an IC_{50} of about 100 μ M. Their action was uncompetitive and voltage-dependent, indicating the blockade of the channel pore as the main molecular mechanism of their action on NMDA receptors. The rather weak activity of brimonidine and cimetidine suggests that the inhibition of NMDA receptors does not significantly contribute to their therapeutic effect and side effects. Apparently, this weak activity is due to the absence of sufficiently bulky hydrophobic groups in the structure of cimetidine and brimonidine, which distinguishes them from highly active amidine or guanidine-containing NMDA receptor blockers such as nafamostat, pentamidine, and furamidine.

Keywords: glutamate, NMDA receptors, brimonidine, cimetidine, patch-clamp, mechanisms of inhibition

Funding. The work was supported by funds from the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (agreement No. 075-15-2022-296) on the provision of a grant in the form of subsidies from the federal budget for state support for the creation and development of a world-class scientific center “Pavlovsky Center for Integrative Physiology – Medicine, High-tech Healthcare and Stress Tolerance Technologies”, within the framework of the national project “Science and Universities”, as well as State Assignment of the I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences No. 075-00263-25-00.

Ethics declarations. All applicable international, national, and/or institutional principles for the care and use of animals were followed. All procedures performed in animal studies were in accordance with the ethical standards approved by the legal acts of the Russian Federation, the principles of the Basel Declaration, and the recommendations. The studies were approved by the Bioethics Committee of the I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences (Minutes No. 4-3/2024 dated April 25, 2024).

Conflict of interests. The authors declare that there are no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Authors contribution. ZhAS – experiment planning, data collection, data processing, writing and editing of the manuscript; FVV – data collection, data processing, writing of the manuscript; BOI – experiment planning, writing and editing of the manuscript.

For Citation. Zhigulin A.S., Furman V.V., Barygin O.I. Brimonidine and cimetidine are weak NMDA receptor ion channel blockers. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova / Russian Journal of Physiology*. 2026;112(2):447–468. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S2658655X26020033>

ВВЕДЕНИЕ

В ЦНС позвоночных животных основным возбуждающим нейромедиатором является глутамат [1]. Он действует, связываясь с глутаматными рецепторами на постсинаптической мембране, что приводит к активации как метаботропных, так и ионотропных рецепторов глутамата. Последние подразделяются

на три класса – NMDA- (N-метил-D-аспартат), AMPA- (α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовая кислота) и каинатные рецепторы [2]. Наиболее интересными для изучения представляются кальций-проницаемые AMPA- и NMDA-рецепторы, так как данные подтипы рецепторов способны пропускать в клетку ионы кальция [3, 4], являющегося одним из главных вторичных мессенджеров. При патологической гиперактивации этих рецепторов чрезмерное проникновение кальция в клетки приводит к эксайтотоксичности и, соответственно, к гибели нейронов, что лежит в патогенезе ряда нейродегенеративных заболеваний [5, 6]. Именно по этой причине ингибиторы NMDA- и AMPA-рецепторов являются потенциальными нейропротекторами. Однако, несмотря на большое количество ингибиторов, найденных за десятилетия исследований [1], в клинической практике применяются лишь единицы. В частности, блокатор NMDA-рецепторов мемантин используется уже больше двадцати лет как препарат от болезни Альцгеймера [7]. Было показано, что относительный успех мемантина был связан с особенностями механизмов его действия на NMDA-рецепторы, а именно с умеренной кинетикой и частичной способностью оставаться в поре закрытого канала (эффект «ловушки») [8]. Поэтому важно не только искать активные соединения, но и подробно исследовать механизмы их действия. Недавно в клиническую практику ввели еще два NMDA-блокатора в качестве антидепрессантов – кетамин и декстрометорфан [9, 10]. Эти соединения были хорошо известны ранее и применялись как анестетик (кетамин [11]) и противокашлевое средство (декстрометорфан [12]). Такое новое применение старых препаратов является удачным примером перепрофилирования, демонстрирующим перспективность поиска новых антагонистов ионотропных глутаматных рецепторов среди уже применяющихся в медицине фармакологических агентов. В предыдущих наших работах мы систематично исследовали действие на нативные NMDA-рецепторы изолированных нейронов крысы амидин-, гуанидин- и бигуанидин-содержащих соединений [13–16], большая часть из которых уже применяется в различных областях медицины [17–21]. Соединения демонстрировали разнообразие как активности (ИК₅₀ от 0,2 мкМ до неактивных), так и механизмов действия (от блокаторов поры канала до аллостерических антагонистов). Анализ взаимовлияния химической структуры, активности и механизма действия позволил выявить ряд закономерностей, полезных для дальнейшей разработки NMDA-антагонистов. Так, например, способность молекулы складываться в структуру компактной формы определяет ее действие по механизму «ловушка» (пентамидин [13], циклогуанил [16]), тогда как каналоблокаторы с жесткой структурой такой способности не демонстрировали (диминазен [13], нафамостат [14]). В данной работе мы решили дополнить имеющиеся данные об активности и механизмах действия соединений, уже применяющихся в медицине, а также включающих в свою структуру азотсодержащие катионные группы, исследовав действие на NMDA-рецепторы циметидина (рис. 1а) и бримонидина (рис. 1б). Циметидин блокирует H₂-гистаминовые рецепторы [22] и назначается при язвенных болезнях желудка. Бримонидин снижает внутриглазное давление у пациентов с открытоугольной глаукомой или глазной гипертензией [23]. В наших экспериментах оба соединения вели себя как каналоблокаторы NMDA-рецепторов, по активности занимающие промежуточное значение между исследованными ранее активными и неактивными соединениями, демонстрируя ИК₅₀ порядка

100 мкМ. Анализ структур циметидина и бримонидина показал, что в составе их молекул отсутствуют ярко выраженные гидрофобные элементы, необходимые для прочного связывания блокатора в канале NMDA-рецептора.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Крыс линии Вистар (13–18 дней) декапитировали под уретановым наркозом. Мозг быстро извлекали и охлаждали до 2–4 °С. Затем на вибраторе 7000 smz2 Campden Instruments (Великобритания) приготавливали поперечные срезы гиппокампа и стриатума толщиной 250 мкм, которые сохраняли в растворе следующего состава (мМ): NaCl – 124, KCl – 5, CaCl₂ – 1,3, MgCl₂ – 2,0, NaHCO₃ – 26, NaH₂PO₄ – 1,24, D-глюкоза – 10. Раствор аэрировали карбогеном (95% O₂, 5% CO₂), pH 7,4–7,5 при комнатной температуре. Нейроны изолировали из срезов методом вибродиссоциации [24, 25]. Для работы с NMDA- и кальций-непроницаемыми AMPA-рецепторами использовали пирамидные нейроны зоны CA1 гиппокампа. Для регистрации трансмембранных токов применяли метод фиксации потенциала в конфигурации «целая клетка». Внеклеточный раствор содержал (в мМ): NaCl – 143, KCl – 5, CaCl₂ – 2,5, D-глюкоза – 18, HEPES – 10 (pH подводили до 7,4 добавлением HCl). Микропипетку заполняли раствором (мМ): CsF – 100, CsCl – 40, NaCl – 5, CaCl₂ – 0,5, EGTA – 5, HEPES – 10 (pH подводили до 7,2 добавлением CsOH). Циметидин (Cimetidine, HY-14289) и бримонидин (Brimonidine tartrate, HY-B0659A) были приобретены в фирме MedChemExpress, остальные реактивы – там же или в Tocris Bioscience и Sigma. Для подачи веществ применяли восьмиканальную систему быстрой замены растворов с электромагнитными клапанами RSC-200 BioLogic Science Instruments (Франция). Время смены раствора составляло 50–60 мс. Регистрацию токов проводили с помощью усилителя EPC8 НЕКА Elektronik (Германия). Сигнал фильтровался в полосе частот 0–5 кГц и оцифровывался с частотой дискретизации 1 кГц. Контроль поддерживаемого на мембране потенциала, управление системой аппликации, регистрацию и анализ данных осуществляли с помощью персонального компьютера.

NMDA-рецепторы активировались с помощью NMDA (100 мкМ) и глицина (10 мкМ); AMPA-рецепторы активировались с помощью каината (100 мкМ). Мембранный потенциал устанавливался на уровне –80 мВ, если не указано иное.

Потенциал-зависимость действия соединений на NMDA-рецепторах анализировалась с помощью модели Вудхалл [26]:

$$B(V) = 100\% - \frac{100\%}{1 + \frac{C}{K_{vd} \exp\left(\frac{F}{RT} z \delta V\right)}}, \quad (1)$$

где V – мембранный потенциал, B – ингибирование (%), C – концентрация ингибитора, z – заряд молекулы ингибитора, R , F , T имеют стандартные значения; K_{vd} – аффинность ингибитора по каналному сайту, δ – фракция мембранного поля, которую заряженная молекула блокатора преодолевает на пути к сайту связывания.

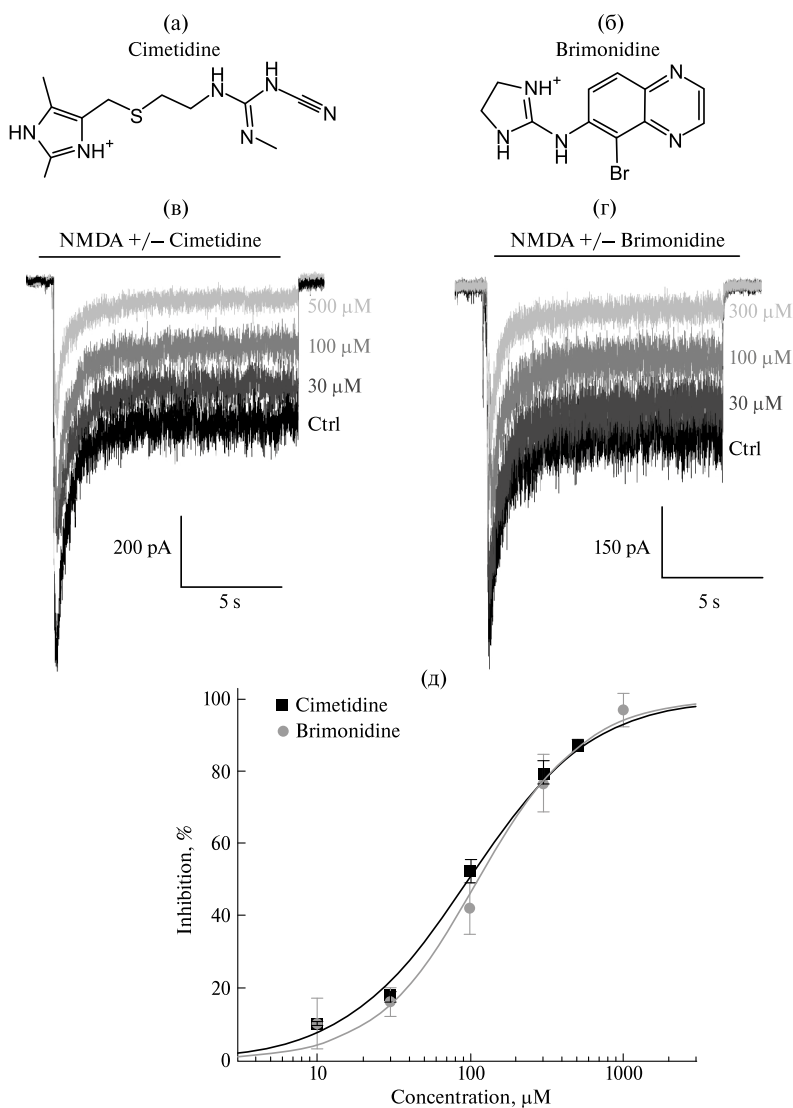


Рис. 1. Структурные формулы и концентрационные зависимости действия на NMDA-рецепторы циметидина и бримонидина: структурные формулы циметидина (а) и бримонидина (б); репрезентативные примеры ингибирования индуцированных 100 мкМ NMDA-токов циметидином (в) и бримонидином (г) в разных концентрациях; кривые концентрационной зависимости действия циметидина и бримонидина для NMDA-рецепторов пирамидных нейронов зоны CA1 гиппокампа (д)

Fig. 1. Structural formulas and concentration-dependent effects of cimetidine and brimonidine effects on NMDA receptors. Structural formulas of cimetidine (a) and brimonidine (б). Representative examples of inhibition of 100 μM NMDA-induced currents by different concentrations of cimetidine (в) and brimonidine (г). Concentration dependence curves of cimetidine and brimonidine effects on NMDA receptors of hippocampal pyramidal neurons (д)

Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение на основании минимум четырех экспериментов (клеток). Значимость эффектов оценивалась с помощью парного *t*-теста. Аппроксимация данных уравнениями Хилла (концентрационная зависимость) и уравнением (1) (потенциал-зависимость) осуществлялись с помощью программы Origin 2021 9.8.0.200 (OriginLab Corp., Нортгемптон, Массачусетс, США). Рассчитанные параметры представлены как результат фиттинга \pm ошибка аппроксимации.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Концентрационные зависимости действия

Апликация внеклеточного раствора, содержащего NMDA (100 мкМ) и глицин (10 мкМ), вызывала входящие десенситизирующие токи через NMDA-рецепторы, экспрессированные в пирамидных клетках зоны CA1 гиппокампа при фиксированном мембранном потенциале -80 мВ. Амплитуды стационарных токов варьировали в диапазоне от 200 до 1000 пА. Для того чтобы определить активности циметидина и бримонидина по отношению к нативным NMDA-рецепторам, мы протестировали влияние различных концентраций этих соединений на NMDA-вызванные стационарные токи. Репрезентативные примеры действия циметидина и бримонидина на NMDA-рецепторы представлены на рис. 1в и 1г соответственно. Оба соединения обратимо ингибировали NMDA-вызванные токи, данные концентрационных зависимостей представлены на рис. 1д. Для определения значений ИК₅₀, отражающих активность соединений в данных экспериментальных условиях, мы аппроксимировали данные концентрационных зависимостей уравнением Хилла. Значения ИК₅₀ составили 95 ± 3 мкМ и 118 ± 9 мкМ для циметидина и бримонидина соответственно ($n = 4-5$ для каждой концентрации). Коэффициенты Хилла в обоих случаях были равны $\sim 1,2$, что говорит об отсутствии значительных кооперативных эффектов.

Агонист-зависимость действия

Ингибиторы NMDA-рецепторов можно разделить на два класса – конкурентные и неконкурентные. Конкурентные антагонисты связываются в сайте связывания глутамата, препятствуя тем самым связыванию агониста и дальнейшей активации рецептора. Примерами таких соединений являются такие широко известные антагонисты, как D-AP5 и D-AP7 [27, 28]. Неконкурентные антагонисты связываются с другими сайтами, находящимися либо во внеклеточной части NMDA-рецептора (аллостерические антагонисты, например, ифенпродил [29]), либо в поре ионного канала (каналоблокаторы, например, ион магния [30, 31] или мемантин [8]). Главным преимуществом неконкурентных антагонистов над конкурентными является их способность сохранять существенную активность даже в условиях избыточной концентрации агониста. Активность конкурентных антагонистов при больших концентрациях агониста, наоборот, катастрофично падает. Для того чтобы установить, связаны ли эффекты циметидина и бримонидина с конкурентным действием, мы проверили, как будет меняться ингибирующий эффект фиксированной концентрации соединения при переходе от низкой концентрации агониста (NMDA 30 мкМ, $\sim 40\%$ от максимального ответа) к высокой (NMDA 1 мМ, $\sim 90\%$ от максимального ответа). Вещества тестировались

в концентрации 300 мкМ. Репрезентативные примеры действия циметидина при различных концентрациях NMDA показаны на рис. 2а, статистика для циметидина и бримонидина изображена на рис. 2б. В наших экспериментах циметидин ингибировал $70 \pm 6\%$ стационарного ответа, вызванного NMDA 30 мкМ, и $70 \pm 3\%$ ответа, вызванного NMDA 1 мМ, что говорит об отсутствии агонист-зависимости действия ($p = 0,9$, $n = 4$, парный t -тест). Бримонидин также не продемонстрировал признаков конкурентного действия, ингибируя $66 \pm 5\%$ и $70 \pm 2\%$ ответа при NMDA 30 мкМ и 1 мМ соответственно ($p = 0,17$, $n = 4$, парный t -тест). Таким образом, циметидин и бримонидин относятся к классу неконкурентных ингибиторов NMDA-рецепторов.

Потенциал-зависимость действия

Как уже было упомянуто выше, неконкурентные антагонисты могут действовать либо аллостерически, связываясь во внеклеточном домене рецептора и препятствуя открытию канала в ответ на связывание агониста, либо связываясь в поре канала и блокируя поток ионов непосредственно. В случае блока поры канала сайт связывания ингибитора находится в области влияния электрического поля мембраны клетки, что для заряженных молекул приводит к зависимости их эффекта от потенциала [32]. Согласно предсказаниям Chemaxon (<https://chemaxon.com/>, дата обращения 01.09.2025 г.), при физиологическом pH большая часть молекул циметидина

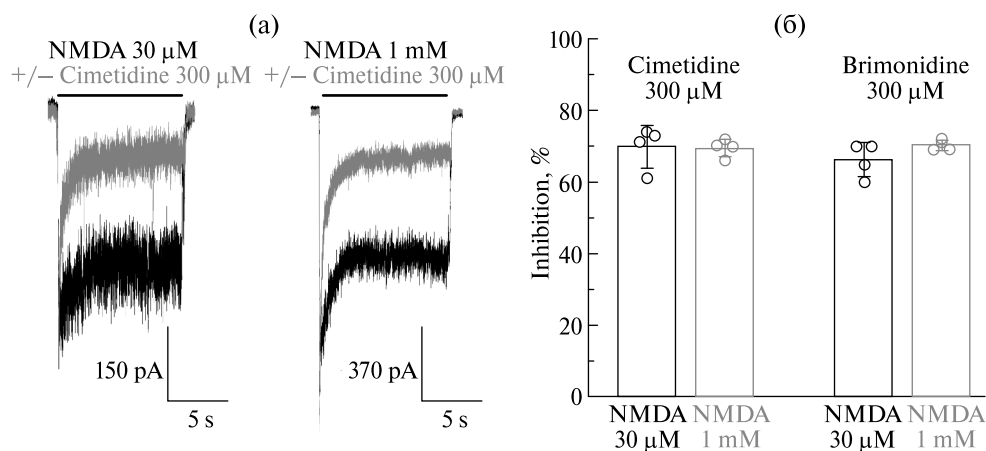


Рис. 2. Неконкурентное ингибирование NMDA-рецепторов циметидином и бримонидином. (а) – репрезентативные примеры ингибирования NMDA-рецепторов фиксированной концентрацией циметидина (300 мкМ) при двух разных концентрациях NMDA (30 мкМ и 1 мМ). (б) – средние значения процента блокады циметидином (300 мкМ) и бримонидином (300 мкМ) при двух разных концентрациях NMDA (30 мкМ и 1 мМ). Для обоих антагонистов нет зависимости действия от концентрации агониста

Fig. 2. Non-competitive NMDA receptor inhibition by cimetidine and brimonidine. (a) – Representative examples of NMDA receptor inhibition by a fixed cimetidine concentration (300 μM) at two different NMDA concentrations (30 μM and 1 mM). (b) – Mean values for percentage of NMDA receptor inhibition by cimetidine (300 μM) and brimonidine (300 μM) at two different NMDA concentrations. The action of both antagonists is agonist independent

несет положительный заряд (+1 – 54,2% молекул; +2 – 0,5% молекул), а в случае бримонидина – 100% молекул несут заряд +1. Наличие заряженных форм молекул позволило нам оценить влияние электрического поля мембраны на действие циметидина и бримонидина. Для этого мы исследовали ингибирующий эффект фиксированной концентрации соединений (300 мкМ) при различных фиксируемых мембранных потенциалах. Репрезентативные примеры действия циметидина на NMDA-рецепторы при различных потенциалах показаны на рис. 3а, данные потенциал-зависимости для циметидина и бримонидина изображены на рис. 3б. Оказалось, что ингибирующий эффект обоих соединений существенно зависит от величины потенциала, увеличиваясь при гиперполяризации и драматично снижаясь при деполяризации.

Такого рода потенциал-зависимость свойственна блокаторам поры канала [33], и их действие можно описать с помощью классической модели Woodhull [26]. Аппроксимация данных с помощью этой модели (кривые на рис. 3б) позволила рассчитать константы связывания для обоих соединений (K_{vd}), а также оценить расположение сайта связывания относительно электрического поля мембраны (δ). Рассчитанные параметры представлены в табл. 1.

Константы связывания в канале для обоих веществ (табл. 1) значительно превышают значения IK_{50} , рассчитанные при потенциале –80 мВ (см. выше), что свойственно для потенциал-зависимых блокаторов NMDA-рецепторов [34]. В случае бримонидина значение δ , отражающее относительную глубину расположения сайта связывания в электрическом поле, оказывается таким же, как рассчитанное значение $\delta\delta$, так как заряд молекул равен +1. Полученное значение

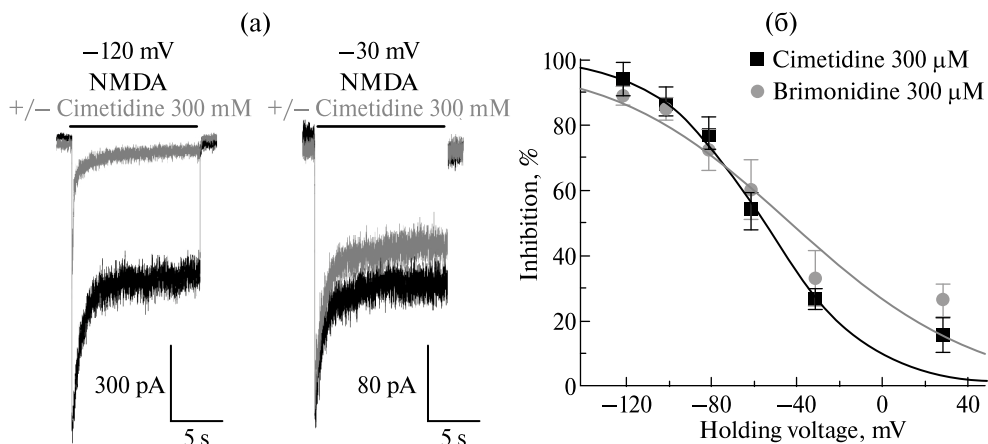


Рис. 3. Зависимость действия циметидина и бримонидина на NMDA-рецепторы от потенциала. (а) – репрезентативные примеры ингибирования NMDA-рецепторов фиксированной концентрацией циметидина (300 мкМ) при двух разных потенциалах (–120 и –30 мВ). (б) – кривые зависимости действия циметидина и бримонидина от потенциала для NMDA-рецепторов пирамидных нейронов зоны CA1 гиппокампа

Fig. 3. Voltage dependence of cimetidine and brimonidine action on NMDA receptors. (a) – Representative examples of NMDA receptor inhibition by a fixed cimetidine concentration (300 μM) at two different holding voltages (–120 mV and –30 mV). (b) – Voltage dependence curves for cimetidine and brimonidine action on NMDA receptors of hippocampal pyramidal neurons

Таблица 1. Параметры потенциал-зависимости действия циметидина и бримонидина на NMDA-рецепторы**Table 1.** Voltage dependence parameters of cimetidine and brimonidine action on NMDA receptors

Соединение (использованная концентрация, мкМ)	Константа связывания в канале (K_{vd}), мкМ	$z\delta$
Циметидин (300)	2500 ± 400 $13 \pm 2^*$	$1,00 \pm 0,07$
Бримонидин (300)	800 ± 130	$0,59 \pm 0,06$

*Константа рассчитана с допущением, что активна только форма циметидина, несущая заряд +2.

*The constant was calculated assuming that only the +2-charged form of cimetidine is active.

$0,59 \pm 0,06$ хорошо соотносится с ранними расчетами для блокаторов NMDA-рецепторов, связывающихся в районе селективного фильтра [15, 33, 34]. В случае циметидина значение δ не может быть определено однозначно, так как распределение заряженных молекул в смеси более сложное (см. выше). Однако полученное значение $z\delta = 1,00 \pm 0,07$ с трудом можно объяснить связыванием +1-формы циметидина, так как значение $\delta = 1$ является максимально возможным. Допуская, что незаряженная и +1-формы циметидина не активны, можно объяснить полученное значение $z\delta$ действием +2-формы. В таком случае сайт связывания расположен также в районе селективного фильтра ($\delta \sim 0,5$). При этом, так как +2-формы циметидина в смеси лишь 0,5%, из использованных в эксперименте 300 мкМ активными оказываются лишь 1,5 мкМ. В таком случае константа связывания циметидина в канале равна 13 ± 2 мкМ, что означает высокую аффинность +2-формы к сайту связывания.

Взаимодействие с воротным механизмом канала

Блокаторы каналов NMDA-рецепторов отличаются по взаимодействию с воротным механизмом. Соединения, способные глубоко проникнуть в канал и остаться в поре после ее закрытия, называют «trapping»-блокаторами, или блокаторами, проявляющими «ловушку» [35]. С другой стороны, блокаторы, не способные поместиться в закрытый канал, обычно препятствуют его закрытию при отсоединении агониста и называются «foot-in-the-door»-блокаторами [34, 36]. Чтобы проверить, к какому из типов блокаторов NMDA-рецепторов относятся циметидин и бримонидин, мы протестировали данные соединения в классических протоколах, использующихся в электрофизиологии для идентификации механизмов «trapping» и «foot-in-the-door» [33, 34]. Главным признаком действия соединения по механизму «foot-in-the-door» является наличие хвостовых токов, возникающих при одновременном удалении из раствора агониста и блокатора и существенно продлевающих ответ [34]. При исследовании действия различных концентраций циметидина и бримонидина на NMDA-вызванные ответы (рис. 1в) мы не зафиксировали хвостовых токов. Еще одним признаком

«foot-in-the-door»-блокаторов является возникновение овершутов при удалении блокатора в присутствии агониста [34]. В наших экспериментах ни циметидин (300 мкМ, рис. 4а), ни бримонидин (1 мМ, рис. 4б) не демонстрировали овершут, что подтверждает неспособность данных соединений препятствовать закрытию NMDA-канала. Для того чтобы проверить, способны ли исследуемые блокаторы оставаться в поре закрытого канала, мы протестировали их в протоколе «двойной аппликации», состоящем из контрольного ответа на агонист, связывания блокатора в присутствии агониста, паузы во внеклеточном растворе и тестирующего ответа на агонист (рис. 4в, г). Время паузы выбиралось чуть большим, чем время,

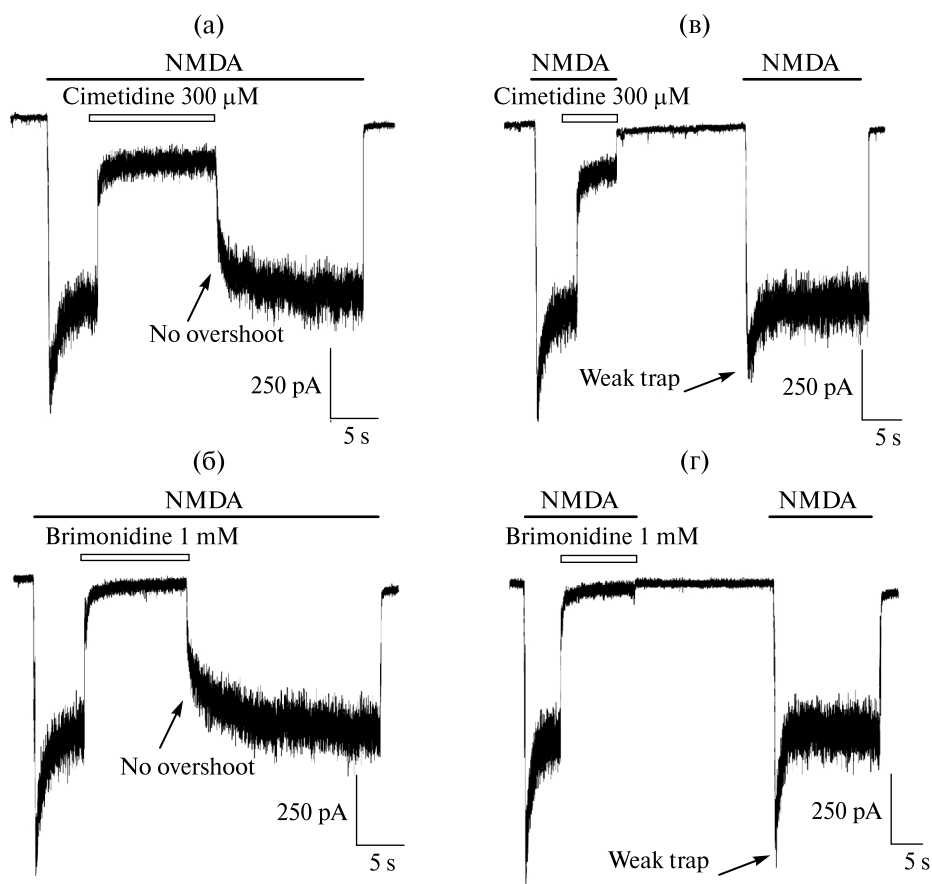


Рис. 4. Взаимодействие циметидина (300 мкМ) и бримонидина (1 мМ) с воротным механизмом NMDA-канала. При отмывании в присутствии агониста ни циметидин (а), ни бримонидин (б) не вызывают овершут. Лишь небольшая доля молекул циметидина (в) и бримонидина (г) проявляет способность оставаться в поре закрытого канала

Fig. 4. Interaction of cimetidine (300 μM) and brimonidine (1 mM) with NMDA channel gating mechanism. (a), (б) – Neither cimetidine nor brimonidine induce overshoot during washout in presence of agonists. (в), (г) – Only a small fraction of cimetidine (в) and brimonidine (г) molecules exhibits the ability to remain in the pore of the closed channel

необходимое блоктору, чтобы отмыться в присутствии агониста (рис. 4а, б). Если пик тестирующего ответа ингибирован по сравнению с пиком контрольного ответа, это означает, что молекулы блокатора оставались внутри закрытого канала во время паузы. Циметидин (300 мкМ) и бримонидин (1 мМ) демонстрировали ингибирование $13 \pm 3\%$ ($n = 5$) и $13 \pm 8\%$ ($n = 4$) соответственно пиковой компоненты ответа, это говорит о том, что в поре закрытого канала может оставаться лишь незначительная часть молекул.

Связывание с закрытыми NMDA-рецепторами

Описанные выше эксперименты предполагают, что главным механизмом действия циметидина и бримонидина на NMDA-рецепторы является блокада открытого канала. Чтобы в этом убедиться, мы решили проверить, способны ли эти соединения связываться с закрытыми каналами. Используемые протоколы представлены на рис. 5. В начале мы в течение 10 с подавали 500 мкМ циметидина без предварительной активации каналов (рис. 5а). Далее каналы активировались с помощью 100 мкМ NMDA. Такая активация NMDA-рецепторов не отличалась от активации без предварительной подачи циметидина (контроль); полученное значение для ингибирования пиковой компоненты ответа составило $4 \pm 4\%$ ($n = 4$). Этот результат мы сравнили с ингибированием при одновременной подаче 500 мкМ циметидина и 100 мкМ NMDA. В таком случае ингибирование пиковой компоненты составило $64 \pm 8\%$ ($n = 4$), а стационарной компоненты – $85 \pm 1\%$ ($n = 4$) относительно контрольного ответа, то есть циметидин эффективно ингибировал открытые каналы. Таким образом, можно сделать вывод о том, что циметидин не действует на закрытые NMDA-каналы. Аналогичные эксперименты были поставлены для 1 мМ бримонидина (рис. 5б).

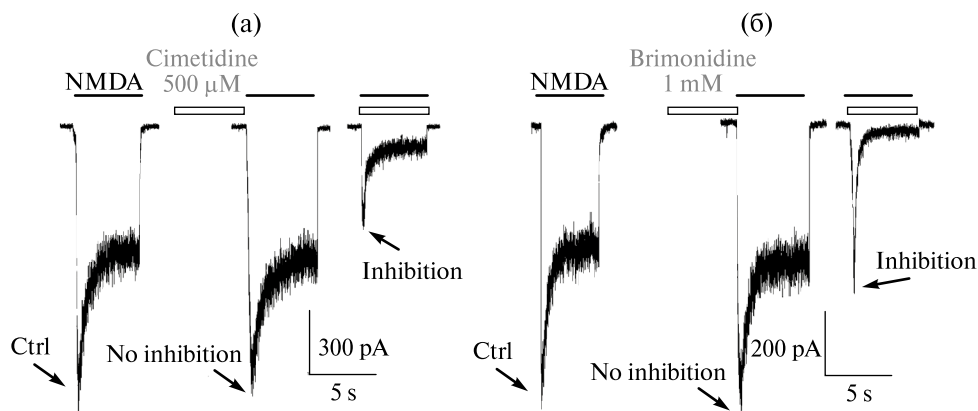


Рис. 5. Действие циметидина и бримонидина на закрытые NMDA-каналы. 500 мкМ циметидина (а) и 1 мМ бримонидина (б) в случае предварительной аппликации не ингибируют активацию NMDA-канала. Для обоих антагонистов эффект наблюдается только при одновременной подаче с агонистом

Fig. 5. Action of cimetidine and brimonidine on closed NMDA channels. (a), (b) – Neither cimetidine (500 μM) (a) nor brimonidine (1 mM) (b) inhibit NMDA channel activation when applied before agonists. For both antagonists, inhibition is observed only during co-application with agonists

Бримонидин также не действует на закрытые каналы: ингибирование пиковой компоненты при предварительной подаче антагониста составило $7 \pm 5\%$ ($n = 5$), при одновременной подаче с агонистом – $60 \pm 12\%$ ($n = 5$) для пиковой компоненты и $96 \pm 2\%$ ($n = 5$) для стационарной компоненты. Таким образом, механизм ингибирования NMDA-рецепторов циметидином и бримонидином – блокада открытого канала.

Скрининг на активность по отношению к AMPA-рецепторам

Эффективное действие циметидина и бримонидина на NMDA-тип глутаматных рецепторов было исследовано на изолированных пирамидных нейронах зоны CA1 гиппокампа. В данном типе нейронов, помимо NMDA-рецепторов, также экспрессируются кальций-непроницаемые AMPA-рецепторы – еще один важный класс ионотропных глутаматных рецепторов [1, 37]. Учитывая активность циметидина и бримонидина по отношению к NMDA-рецепторам, мы решили проверить, будут ли данные соединения блокировать и AMPA-рецепторы в этом типе клеток. Для проверки вещества использовались в концентрации 100 мкМ – близкой к значениям ИК₅₀ на NMDA-рецепторах. Аппликация 100 мкМ каината вызывала активацию кальций-непроницаемых AMPA-рецепторов пирамидных нейронов зоны CA1 гиппокампа. Репрезентативные примеры действия циметидина и бримонидина на AMPA-рецепторы показаны на рис. 6а и 6б соответственно. Циметидин блокировал каинат-индуцированный ток лишь на $5 \pm 1\%$ ($n = 4$). В свою очередь, аналогичное значение для бримонидина составило $8 \pm 1\%$ ($n = 4$). Таким образом, действие исследуемых антагонистов NMDA-рецепторов на кальций-непроницаемые AMPA-рецепторы оказалось незначительным.

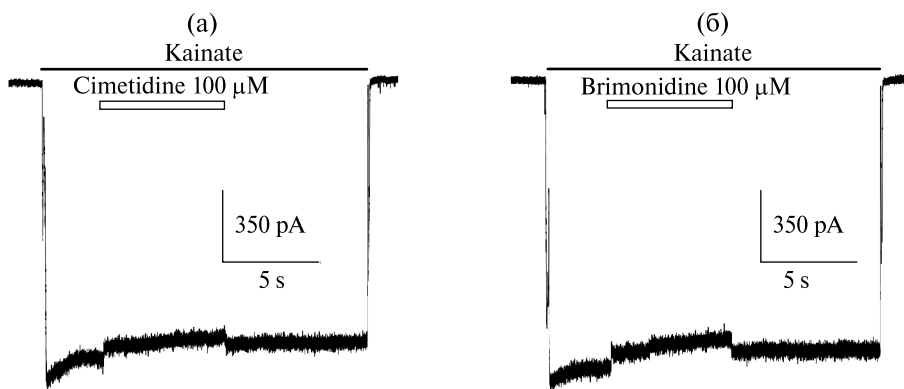


Рис. 6. Отсутствие действия циметидина и бримонидина на кальций-непроницаемые AMPA-рецепторы. (а), (б) – репрезентативные примеры ингибирования каинат-вызванных токов 100 мкМ циметидина (а) и 100 мкМ бримонидина (б) в пирамидных нейронах зоны CA1 гиппокампа

Fig. 6. Cimetidine and brimonidine are not active against calcium-impermeable AMPA receptors. (а), (б) – Representative examples of cimetidine (100 μM) (а) and brimonidine (100 μM) (б) action on kainate-induced currents in hippocampal pyramidal neurons

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе мы впервые протестировали бримонидин и циметидин на активность по отношению к NMDA-рецепторам.

Бримонидин — это лекарство, применяющееся в виде глазных капель при глаукоме и глазной гипертензии. Его основной мишенью в организме являются α_2 -адренорецепторы. Известно, что некоторые антагонисты NMDA-рецепторов обладают ретинопротекторным действием и рассматриваются как потенциальные препараты для лечения глаукомы [38]. К числу таких антагонистов с ретинопротекторными свойствами относится мемантин, применяющийся для лечения болезни Альцгеймера [38], а также гуанидин-содержащее лекарство от панкреатита нафамостат [39]. В случае наличия высокой ингибирующей активности по отношению к NMDA-рецепторам у бримонида можно было бы предположить, что эта активность вносит вклад в его терапевтическое действие при лечении глаукомы. Полученные нами данные о слабой активности бримонида ($IK_{50} > 100$ мкМ) в отношении NMDA-рецепторов, позволяют заключить, что его ретинопротекторная активность с ингибированием NMDA-рецепторов не связана.

Циметидин блокирует H_2 -гистаминовые рецепторы [22] и назначается при язвенных болезнях желудка. Известно, что помимо своих основных функций в ЦНС NMDA-рецепторы также принимают участие во множестве физиологических процессов по всему организму [40], в частности, не-нейрональные NMDA-рецепторы задействованы в подавлении гистамин-вызванной секреции кислоты и регуляции моторики желудка [41–43]. При этом в желудке помимо субъединицы GluN1 обнаружена экспрессия GluN2A-, GluN2C-, GluN2D-, а также GluN3A- и GluN3B-субъединиц [40], тогда как в пирамидных клетках зоны CA1 гиппокампа экспрессируются в основном субъединицы GluN2A и GluN2B [44]. В наших экспериментах на нейронах гиппокампа циметидин продемонстрировал слабую активность по отношению к NMDA-рецепторам ($IK_{50} \sim 100$ мкМ), это позволяет заключить, что в желудке его эффект на GluN2A-содержащие рецепторы также будет невелик. Однако мы не можем исключить, что активность циметидина по отношению к GluN2C-, GluN2D-, GluN3A- или GluN3B-содержащим NMDA-рецепторам желудка будет выше. Необходимо дополнительные исследования на рекомбинантных рецепторах, чтобы окончательно установить, вносит ли ингибирование NMDA-рецепторов циметидином вклад в его терапевтическое действие. Учитывая упомянутую физиологическую роль NMDA-рецепторов в желудке, добавочное действие блокаторов H_2 -гистаминовых рецепторов на NMDA-рецепторы может как усиливать, так и снижать эффективность препарата.

Анализ механизмов действия бримонида и циметидина на NMDA-рецепторы позволил установить, что эти соединения действуют как классические блокаторы поры канала, такие как мемантин и кетамин [45]. Для таких соединений характерно падение активности как при деполяризации клеточной мембраны, так и при наличии в окружающей среде ионов магния в физиологической концентрации [46]. Учитывая, что активность бримонида и циметидина на NMDA-рецепторы была относительно низкой ($IK_{50} \sim 100$ мкМ) даже при потенциале покоя (-80 мВ) и в отсутствие ионов магния, можно предположить, что в физиологических условиях их активность окажется еще более низкой.

С точки зрения структурно-функциональных отношений среди амидин- и гуанидин-содержащих соединений (табл. 2), слабая каналоблокирующая активность

бримонидина и циметидина на первый взгляд представляется интригующей. Действительно, обе молекулы имеют в своем составе как положительно заряженную гуанидиновую группу, которая может связаться с аспарагиновыми остатками селективного фильтра канала NMDA-рецепторов, так и объемную группировку, по размерам достаточную для блокады поры канала. Сайт связывания катионных блокаторов в канале NMDA-рецепторов в настоящий момент хорошо охарактеризован с помощью кристаллографических методов [47, 48]. Согласно данным Chou с соавт. [48], катионные каналоблокаторы, такие как мемантин, связываются с сайтом в поре канала выше от селективного фильтра, состоящим из трех компонентов: тренинового кольца, гидрофобного кольца и аспарагинового кольца (схема связывания изображена на рис. 7). И связывающие взаимодействия, в основном, являются гидрофобными взаимодействиями каналоблокаторов с остатками тренинового и гидрофобного кольца [48]. По-видимому, именно этих гидрофобных взаимодействий и не хватает бримонидину и циметидину для устойчивого

Таблица 2. Ингибирование NMDA-рецепторов амидин- и гуанидин-содержащими соединениями

Table 2. NMDA receptor inhibition by amidine- and guanidine-containing compounds

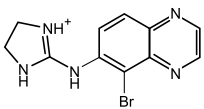
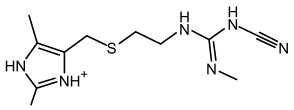
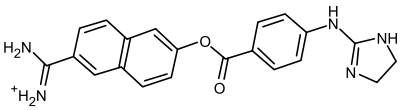
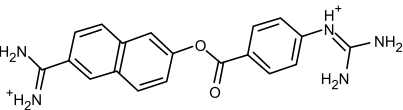
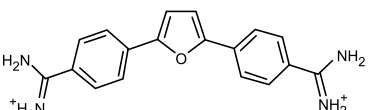
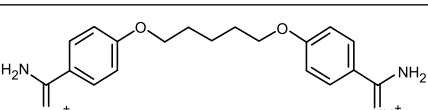
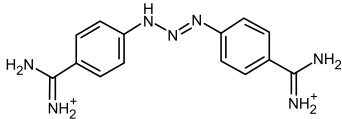
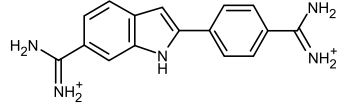
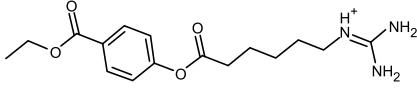
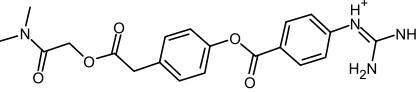
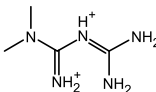
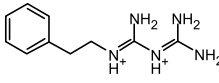
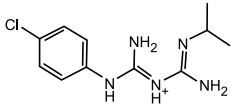
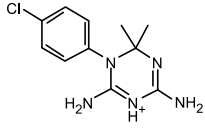
Соединение	Химическая структура	ИК ₅₀ (-80 мВ), мкМ	K _{1/2} , мкМ	zδ
Бримонидин		118 ± 9	2500 ± 400	1,00 ± 0,07
Циметидин		95 ± 3	800 ± 130	0,59 ± 0,06
Сепимостат [15]		3,5 ± 0,3	~130	0,6 ± 0,2
Нафамостат [15]		0,20 ± 0,04	12 ± 3	1,1 ± 0,1
Фураамидин [15]		0,64 ± 0,13	20 ± 5	1,1 ± 0,1
Пентамидин [15]		0,41 ± 0,08	60 ± 25	1,4 ± 0,1

Таблица 2. Окончание

Table 2. End

Соединение	Химическая структура	ИК ₅₀ (-80 мВ), мкМ	K _{vd} , мкМ	zδ
Диминазен [15]		13 ± 3	~600	0,9 ± 0,4
DAPI [15]		3,1 ± 0,6	n.a.	~0,06
Габексат [15]		16 ± 3	~300	0,4 ± 0,2
Камостат [15]		>300	n.a.	n.a.
Метформин [16]		>300	n.a.	n.a.
Фенформин [16]		13 ± 1	>500	n.a.
Прогуанил [16]		9,0 ± 2,2	>500	n.a.
Циклогуанил [16]		3,4 ± 0,6	55 ± 11	0,7 ± 0,1

связывания в поре канала. Действительно, в обеих этих молекулах нет достаточно больших гидрофобных фрагментов, так как циклические группы содержат в своем составе атомы азота. Гидрофобных взаимодействий не хватает и молекуле метформина, что делает ее неактивной в качестве блокатора NMDA-рецепторов.

Стоит отметить, что наличие двух расположенных рядом компонентов сайта связывания блокаторов в NMDA-рецепторах – нуклеофильного и гидрофобного – было доказано в нашей лаборатории ранее при исследовании действия серии производных адамантана [49]. Присутствие в молекуле катионной группы

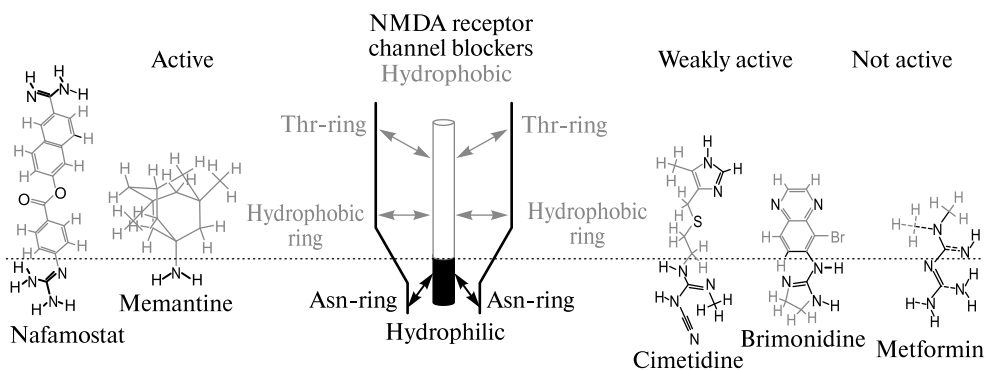


Рис. 7. Активность каналоблокаторов NMDA-рецепторов определяется наличием в их молекуле как гидрофильной, так и гидрофобной частей. На схеме показан ионный канал NMDA-рецептора (по центру) со связанной молекулой блокатора. Черным цветом показана гидрофильная часть молекулы, серым – гидрофобная. Гидрофобная часть взаимодействует с треониновым и гидрофобным кольцами, тогда как гидрофильная – с аспарагиновым кольцом. Слева и справа показаны примеры структурных формул активных (нафамостат, мемантин), слабо активных (циметидин, бримонидин) и неактивных соединений (метформин). Серым цветом показаны гидрофобные элементы молекул, черным – гидрофильные. Активные каналоблокаторы обладают ярко выраженным разделением гидрофильной и гидрофобной частей, тогда как у слабо активных и неактивных соединений отсутствует ярко выраженная гидрофобная часть

Fig. 7. The activity of NMDA receptor channel blockers is determined by the presence of both hydrophilic and hydrophobic moieties. The diagram shows an NMDA receptor ion channel (center) with a bound blocker molecule. The hydrophilic part of the molecule is shown in black, while the hydrophobic one is shown in gray. The hydrophobic part interacts with the threonine and hydrophobic rings, while the hydrophilic part interacts with the asparagine ring. Examples of structural formulas of active (nafamostat, memantine), weakly active (cimetidine, brimonidine), and inactive compounds (metformin) are shown on the left and right. The hydrophobic parts of the molecules are shown in gray, while hydrophilic ones are shown in black. Active channel blockers have a clearly defined hydrophilic and hydrophobic moiety, while weakly active and inactive compounds lack a clearly defined hydrophobic part

и соседствующей гидрофобной группировки необходимо для высокой активности именно антагонистов, действующих по механизму блокады поры канала. Для антагонистов других типов и структурные детерминанты активности будут другими. Такие соединения, как DAPI и габексат, например, являются достаточно активными аллостерическими антагонистами NMDA-рецепторов с низким сродством к сайту связывания в поре канала (табл. 2). Последнее, по-видимому, также можно объяснить недостаточной гидрофобностью молекул в связи с присутствием азота в центральном цикле молекулы DAPI и эфирных групп в молекуле габексата. Полученные в данной работе экспериментальные данные и проведенное сравнение с рядом изученных нами ранее амидиновых и гуанидиновых соединений еще раз подчеркивают важность присутствия гидрофобной группировки в структуре катионных каналоблокаторов NMDA-рецепторов. Отсутствие такой группировки может служить достаточной причиной для того, чтобы воздержаться от трудоемкой экспериментальной проверки на активность. Для выявления структурных детерминант связывания аллостерических антагонистов NMDA-рецепторов необходимы дальнейшие исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Hansen K.B., Wollmuth L.P., Bowie D. et al. Structure, function, and pharmacology of glutamate receptor ion channels. *Pharmacol. Rev.* 2021;**73**:298–487. <https://doi.org/10.1124/pharmrev.120.000131>
2. Watkins J.C., Jane D.E. The glutamate story. *Br. J. Pharmacol.* 2006;**147**(S1):S100–S108. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706444>
3. Buldakova S.L., Vorobjev V.S., Sharonova I.N. et al. Characterization of AMPA receptor populations in rat brain cells by the use of subunit-specific open channel blocking drug, IEM-1460. *Brain Res.* 1999;**846**:52–58. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01970-8](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01970-8)
4. Hansen K.B., Yi F., Perszyk R.E. et al. Structure, function, and allosteric modulation of NMDA receptors. *J. Gen. Physiol.* 2018;**150**:1081–1105. <https://doi.org/10.1085/jgp.201812032>
5. Carles A., Freyssin A., Perin-Dureau F. et al. Targeting N-methyl-D-aspartate receptors in neurodegenerative diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2024;**25**:3733. <https://doi.org/10.3390/ijms25073733>
6. Weiss J.H. Ca permeable AMPA channels in diseases of the nervous system. *Front. Mol. Neurosci.* 2011;**4**:42. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2011.00042>
7. Cosman K.M., Boyle L.L., Porsteinsson A.P. Memantine in the treatment of mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Expert Opin. Pharmacother.* 2007;**8**(2):203–214. <https://doi.org/10.1517/14656566.8.2.203>
8. Lipton S.A. Paradigm shift in neuroprotection by NMDA receptor blockade: memantine and beyond. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2006;**5**(2):160–170. <https://doi.org/10.1038/nrd1958>
9. Chaki S., Watanabe M. Antidepressants in the post-ketamine era: pharmacological approaches targeting the glutamatergic system. *Neuropharmacology.* 2023;**223**:109348. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.109348>
10. Keam S.J. Dextromethorphan/bupropion: first approval. *CNS Drugs.* 2022;**36**:1229–1238. <https://doi.org/10.1007/s40263-022-00968-4>
11. Jelen L.A., Stone J.M. Ketamine for depression. *Int. Rev. Psychiatry.* 2021;**33**(3):207–228. <https://doi.org/10.1080/09540261.2020.1854194>
12. Nguyen L., Thomas K.L., Lucke-Wold B.P. et al. Dextromethorphan: an update on its utility for neurological and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol. Ther.* 2016;**159**:1–22. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.01.016>
13. Dron M.Y., Zhigulin A.S., Barygin O.I. Mechanisms of NMDA receptor inhibition by diarylamidine compounds. *Eur. J. Neurosci.* 2020;**51**:1573–1582. <https://doi.org/10.1111/ejn.14589>
14. Zhigulin A.S., Barygin O.I. Mechanisms of NMDA receptor inhibition by nafamostat, gabexate and furamidine. *Eur. J. Pharmacol.* 2022;**919**:174795. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.174795>

15. Zhigulin A.S., Barygin O.I. Mechanisms of NMDA receptor inhibition by sepimostat—comparison with nafamostat and diarylamidine compounds. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;**24**:15685. <https://doi.org/10.3390/ijms242115685>
16. Zhigulin A.S., Novikova A.O., Barygin O.I. Mechanisms of NMDA receptor inhibition by biguanide compounds. *Pharmaceuticals*. 2024;**17**:1234. <https://doi.org/10.3390/ph17091234>
17. Akizawa T., Koshikawa S., Ota K. et al. Nafamostat mesilate: a regional anticoagulant for hemodialysis in patients at high risk for bleeding. *Nephron*. 1993;**64**:376–381. <https://doi.org/10.1159/000187357>
18. Hernandez-Velazquez E.D., Alba-Betancourt C., Alonso-Castro A.J. et al. Metformin, a biological and synthetic overview. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2023;**86**:129241. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2023.129241>
19. Iwaki M., Ino Y., Motoyoshi A. et al. Pharmacological studies of FUT-175, nafamostat mesilate. V. Effects on the pancreatic enzymes and experimental acute pancreatitis in rats. *Japan. J. Pharmacol.* 1986;**41**:155–162. <https://doi.org/10.1254/jjp.41.155>
20. Jarak I., Marjanovic M., Piantanida I. et al. Novel pentamidine derivatives: synthesis, anti-tumor properties and polynucleotide-binding activities. *Eur. J. Med. Chem.* 2011;**46**:2807–2815. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.04.001>
21. Kathuria D., Raul A.D., Wanjari P. et al. Biguanides: species with versatile therapeutic applications. *Eur. J. Med. Chem.* 2021;**219**:113378. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113378>
22. Panula P. Histamine receptors, agonists, and antagonists in health and disease. In: D.F. Swaab, F. Kreier, P.J. Lucassen et al. (eds.) *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier; 2021, Pp. 377–387. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820107-7.00023-9>
23. Oh D.J., Chen J.L., Vajaranant T.S. et al. Brimonidine tartrate for the treatment of glaucoma. *Expert Opin. Pharmacother.* 2019;**20**(2):115–122. <https://doi.org/10.1080/14656566.2018.1544241>
24. Vorobjev V.S. Vibrodissociation of sliced mammalian nervous tissue. *J. Neurosci. Methods*. 1991;**38**:145–150. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(91\)90164-U](https://doi.org/10.1016/0165-0270(91)90164-U)
25. Jun S.B., Cuzon Carlson V., Ikeda S. et al. Vibrodissociation of neurons from rodent brain slices to study synaptic transmission and image presynaptic terminals. *J. Vis. Exp.* 2011;**51**:2752. <https://doi.org/10.3791/2752>
26. Woodhull A.M. Ionic blockage of sodium channels in nerve. *J. Gen. Physiol.* 1973;**61**:687–708. <https://doi.org/10.1085/jgp.61.6.687>
27. Davies J., Francis A.A., Jones A.W. et al. 2-Amino-5-phosphonovalerate (2APV), a potent and selective antagonist of amino acid-induced and synaptic excitation. *Neurosci. Lett.* 1981;**21**:77–81. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(81\)90061-6](https://doi.org/10.1016/0304-3940(81)90061-6)
28. Perkins M.N., Stone T.W., Collins J.F. et al. Phosphonate analogues of carboxylic acids as amino acid antagonists on rat cortical neurones. *Neurosci. Lett.* 1981;**23**:333–336. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(81\)90021-5](https://doi.org/10.1016/0304-3940(81)90021-5)

29. Williams K. Ifenprodil discriminates subtypes of the N-methyl-D-aspartate receptor: selectivity and mechanisms at recombinant heteromeric receptors. *Mol. Pharmacol.* 1993;**44**:851–859. [https://doi.org/10.1016/S0026-895X\(25\)13275-6](https://doi.org/10.1016/S0026-895X(25)13275-6)
30. Mayer M.L., Westbrook G.L., Guthrie P.B. Voltage-dependent block by Mg^{2+} of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature.* 1984;**309**:261–263. <https://doi.org/10.1038/309261a0>
31. Nowak L., Bregestovski P., Ascher P. et al. Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature.* 1984;**307**:462–465. <https://doi.org/10.1038/307462a0>
32. Tikhonov D.B., Magazanik L.G. Voltage dependence of open channel blockade: onset and offset rates. *J. Membr. Biol.* 1998;**161**:1–8. <https://doi.org/10.1007/s002329900309>
33. Bolshakov K.V., Gmiro V.E., Tikhonov D.B. et al. Determinants of trapping block of N-methyl-D-aspartate receptor channels. *J. Neurochem.* 2003;**87**:56–65. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01956.x>
34. Sobolevsky A.I., Koshelev S.G., Khodorov B.I. Probing of NMDA channels with fast blockers. *J. Neurosci.* 1999;**19**:10611–10626. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-24-10611.1999>
35. Blanpied T.A., Boeckman F.A., Aizenman E. et al. Trapping channel block of NMDA-activated responses by amantadine and memantine. *J. Neurophysiol.* 1997;**77**:309–323. <https://doi.org/10.1152/jn.1997.77.1.309>
36. Barygin O.I., Gmiro V.E., Kim K. et al. Blockade of NMDA receptor channels by 9-aminoacridine and its derivatives. *Neurosci. Lett.* 2009;**451**:29–33. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.12.036>
37. Dron M.Y., Zhigulin A.S., Tikhonov D.B. et al. Screening for activity against AMPA receptors among anticonvulsants—focus on phenytoin. *Front. Pharmacol.* 2021;**12**:775040. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.775040>
38. Seki M., Lipton S.A. Targeting excitotoxic/free radical signaling pathways for therapeutic intervention in glaucoma. *Prog. Brain Res.* 2008;**173**:495–510. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)01134-5](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)01134-5)
39. Fuwa M., Kageyama M., Ohashi K. et al. Nafamostat and sepimostat identified as novel neuroprotective agents via NR2B N-methyl-D-aspartate receptor antagonism using a rat retinal excitotoxicity model. *Sci. Rep.* 2019;**9**:20409. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56905-x>
40. Hogan-Cann A.D., Anderson C.M. Physiological roles of non-neuronal NMDA receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 2016;**37**:750–767. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.05.012>
41. Broussard D.L., Li X., Pritchett D.B. et al. The expression of a NMDA receptor gene in guinea-pig myenteric plexus. *Neuroreport.* 1994;**5**:973–976. <https://doi.org/10.1097/00001756-199404000-00030>
42. Gonzalez M.P., Herrero M.T., Vicente S. et al. Effect of glutamate receptor agonists on catecholamine secretion in bovine chromaffin cells. *Neuroendocrinology.* 1998;**67**:181–189. <https://doi.org/10.1159/000054313>

43. Franconi F., Miceli M., Alberti L. et al. Further insights into the anti-aggregating activity of NMDA in human platelets. *Br. J. Pharmacol.* 1998;**124**:35–40. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701790>
44. Foster K.A., McLaughlin N., Edbauer D. et al. Distinct roles of NR2A and NR2B cytoplasmic tails in long-term potentiation. *J. Neurosci.* 2010;**30**:2676–2685. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4022-09.2010>
45. Johnson J.W., Kotermanski S.E. Mechanism of action of memantine. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2006;**6**:61–67. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2005.09.007>
46. Nikolaev M.V., Magazanik L.G., Tikhonov D.B. Influence of external magnesium ions on the NMDA receptor channel block by different types of organic cations. *Neuropharmacology.* 2012;**62**:2078–2085. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.12.029>
47. Song X., Jensen M.O., Jogini V. et al. Mechanism of NMDA receptor channel block by MK-801 and memantine. *Nature.* 2018;**556**:515–519. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0039-9>
48. Chou T.H., Epstein M., Michalski K. et al. Structural insights into binding of therapeutic channel blockers in NMDA receptors. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2022;**29**:507–518. <https://doi.org/10.1038/s41594-022-00772-0>
49. Bolshakov K.V., Tikhonov D.B., Gmiro V.E. et al. Different arrangement of hydrophobic and nucleophilic components of channel binding sites in N-methyl-D-aspartate and AMPA receptors of rat brain is revealed by channel blockade. *Neurosci. Lett.* 2000;**291**(2):101–104. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(00\)01386-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(00)01386-0)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Жигулин Арсений Сергеевич – аспирант; мл. науч. сотр.,
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: arseniy.zhigulin@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3354-0076>

Фурман Виталина Витальевна – старший лаборант-исследователь,
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: furmanvivi@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0002-8206-8262>

Барыгин Олег Игоревич – канд. биол. наук; вед. науч. сотр.,
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Российская Федерация
E-mail: oleg_barygin@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4197-3277>

Поступила в редакцию 10.10.2025
После доработки 19.10.2025
Принята к публикации 19.10.2025

ABOUT THE AUTHORS

Zhigulin, Arseniy S. – Postgraduate; Research Assistant,
I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry,
Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation
E-mail: arseniy.zhigulin@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3354-0076>

Furman, Vitalina V. – Senior Research Assistant,
I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry,
Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation;
E-mail: furmanvivi@gmail.com
<https://orcid.org/0009-0002-8206-8262>

Barygin, Oleg I. – Cand. Sc. (Biology); Head Scientist Researcher,
I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry,
Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation;
E-mail: oleg_barygin@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4197-3277>

Received October 10, 2025

Revised October 19, 2025

Accepted October 19, 2025