



УДК 612.822.3

<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-412-419>

Возможный механизм лиганд-рецепторного связывания синтетического трипептида Ac-RRR-NH₂ с мембраной ноцицептивного нейрона

И. В. Рогачевский¹, Д. М. Самосват², А. Д. Калинина¹, Г. Г. Зегря², Б. В. Крылов¹,
С. А. Подзорова¹, В. Б. Плахова¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

² Физико-технический институт им. А. Ф. Иоффе РАН,
194021, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 26

Сведения об авторах

Илья Вячеславович
Рогачевский,
Scopus AuthorID: 7004446284,
ResearcherID: ABB-8967-2020,
e-mail: roggie_spb_ru@yahoo.com

Дмитрий Михайлович
Самосват,
Scopus AuthorID: 17346542800,
ResearcherID: D-7396-2015,
e-mail: samosvat@yandex.ru

Арина Дмитриевна Калинина,
SPIN-код: 3272-4921,
Scopus AuthorID: 57035246500,
ResearcherID: ABB-9264-2020,
ORCID: 0000-0002-7587-9924,
e-mail: arinakalinina95@gmail.com

Георгий Георгиевич Зегря,
Scopus AuthorID: 7007102294,
ResearcherID: C-7339-2014,
e-mail: zegrya@theory.ioffe.ru

Борис Владимирович Крылов,
SPIN-код: 3946-6408,
Scopus AuthorID: 56561605100,
ResearcherID: ABD-5044-2020,
ORCID: 0000-0001-5258-1597,
e-mail: krylov@infran.ru

Светлана Александровна
Подзорова,
SPIN-код: 3974-3430,
Scopus AuthorID: 6602224180,
ResearcherID: ABB-8808-2020,
ORCID: 0000-0003-0003-9338,
e-mail: sveap@yandex.ru

Вера Борисовна Плахова,
SPIN-код: 4184-7669,
Scopus AuthorID: 6603237137,
ResearcherID: ABB-8284-2020,
ORCID: 0000-0002-1983-852X,
e-mail: verapl@mail.ru

Для цитирования:

Рогачевский, И. В.,
Самосват, Д. М.,
Калинина, А. Д., Зегря, Г. Г.,
Крылов, Б. В., Подзорова, С. А.,

Аннотация. В мембране ноцицептивного нейрона нами был обнаружен новый сигнальный каскад опиоидоподобный рецептор → Na,K-АТФаза/Src → канал Na_v1.8. Запуск этого каскада приводит к модуляции его эффекторного звена — активационного воротного устройства канала Na_v1.8, причем функцию трансдуктора сигнала выполняет комплекс Na,K-АТФаза/Src. В данном каскаде имеются три мишени, модуляция которых атакуемыми молекулами может вызывать антиноцицептивный ответ на уровне периферической нервной системы. Первой из них является опиоидоподобный рецептор, активируемый рядом производных гамма-пирона. Второй мишенью служит сигнальный комплекс Na,K-АТФаза/Src, трансдукторная функция которого контролируется убаином в наномолярном (эндогенном) концентрационном диапазоне. Третья мишень представляет собой непосредственно молекулу медленного натриевого канала Na_v1.8, точнее, его активационное воротное устройство, которое модулируется аргининсодержащими короткими пептидами. Исследован возможный механизм лиганд-рецепторного связывания аргининсодержащего трипептида Ac-RRR-NH₂ с каналами Na_v1.8 мембраны первичного сенсорного нейрона. Методом локальной фиксации потенциала установлено, что трипептид, действующий с наружной стороны нейрональной мембраны, снижает потенциалочувствительность исследуемых каналов. Выдвинуто предположение о том, что ключевую роль в образовании лиганд-рецепторного комплекса играют положительно заряженные гуанидиновые группы боковых цепей двух аргинильных остатков. Согласно результатам конформационного анализа, расстояния между гуанидиновыми группами в молекуле трипептида превышают 10 Å. Полученные данные позволяют заключить, что исследованный трипептид способен к связыванию с каналом Na_v1.8 по механизму, предложенному ранее для ряда других аргининсодержащих коротких пептидов. Как следствие, трипептид Ac-RRR-NH₂ может претендовать на роль анальгетической лекарственной субстанции.

Ключевые слова: аргининсодержащий трипептид, каналы Na_v1.8, ноцицептивный нейрон, конформационный анализ, метод локальной фиксации потенциала

Плахова, В. Б.
(2021) Возможный механизм лиганд-рецепторного связывания синтетического трипептида Ac-RRR-NH₂ с мембраной ноцицептивного нейрона. *Интегративная физиология*, т. 2, № 4, с. 412–419.
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-412-419>

Получена 26 сентября 2021; прошла рецензирование 21 октября 2021; принята 24 октября 2021.

Финансирование:

Исследование не имело финансовой поддержки.

Права: © И. В. Рогачевский, Д. М. Самосват, А. Д. Калинина, Г. Г. Зегря, Б. В. Крылов, С. А. Подзорова, В. Б. Плахова (2021). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях [лицензии](#) CC BY-NC 4.0.

Possible mechanism of ligand-receptor binding of the synthetic tripeptide Ac-RRR-NH₂ to the nociceptive neuron membrane

I. V. Rogachevskii¹, D. M. Samosvat², A. D. Kalinina¹, G. G. Zegrya², B. V. Krylov¹, S. A. Podzorova¹, V. B. Plakhova¹✉

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

² Ioffe Institute, Russian Academy of Sciences, 26 Politekhnicheskaya Str., Saint Petersburg 194021, Russia

Authors

Ilya V. Rogachevskii,
Scopus AuthorID: 7004446284,
ResearcherID: ABB-8967-2020,
e-mail: roggie_spb_ru@yahoo.com

Dmitriy M. Samosvat,
Scopus AuthorID: 17346542800,
ResearcherID: D-7396-2015,
e-mail: samosvat@yandex.ru

Arina D. Kalinina,
SPIN: 3272-4921,
Scopus AuthorID: 57035246500,
ResearcherID: ABB-9264-2020,
ORCID: 0000-0002-7587-9924,
e-mail: arinakalinina95@gmail.com

Georgy G. Zegrya,
Scopus AuthorID: 7007102294,
ResearcherID: C-7339-2014,
e-mail: zegrya@theory.ioffe.ru

Boris V. Krylov,
SPIN: 3946-6408,
Scopus AuthorID: 56561605100,
ResearcherID: ABD-5044-2020,
ORCID: 0000-0001-5258-1597,
e-mail: krylov@infran.ru

Svetlana A. Podzorova,
SPIN: 3974-3430,

Abstract. The article reports the discovery of a novel signaling cascade opioid-like receptor → Na,K-ATPase/Src → Na_v1.8 channel in the nociceptive neuron membrane. Triggering this cascade results in the modulation of its effector unit—the Na_v1.8 channel activation gating device, whereas the Na,K-ATPase/Src complex performs the signal transducer function. The cascade has three targets. Their modulation by the attacking molecules may evoke an antinociceptive response at the peripheral level. The first target is the opioid-like receptor activated by a number of gamma-pyrone derivatives. The second target is the Na,K-ATPase/Src complex, with its transducer function controlled by ouabain at nanomolar (endogenous) concentrations. The third target is the Na_v1.8 channel activation gating device modulated by arginine-containing short peptides. The article discusses a possible mechanism of ligand-receptor binding of the arginine-containing tripeptide Ac-RRR-NH₂ to the Na_v1.8 channel in the primary sensory neuron membrane. Extracellular application of the tripeptide is shown by the patch-clamp method to decrease the voltage sensitivity of Na_v1.8 channels. Positively charged guanidinium groups of arginine side chains are supposed to play the key role in the ligand-receptor complex formation. The results of conformational analysis demonstrate that the distances between the guanidinium groups in the tripeptide molecule exceed 10 Å. The obtained data lead us to conclude that the studied tripeptide can bind to the Na_v1.8 channel using the mechanism described earlier for a range of other short arginine-containing peptides. In view of the foregoing, the tripeptide Ac-RRR-NH₂ is a promising analgesic.

Keywords: arginine-containing tripeptide, Na_v1.8 channels, nociceptive neuron, conformational analysis, patch-clamp method

Scopus AuthorID: 6602224180,
ResearcherID: ABB-8808-2020,
ORCID: 0000-0003-0003-9338,
e-mail: sveap@yandex.ru

Vera B. Plakhova,
SPIN: 4184-7669,
Scopus AuthorID: 6603237137,
ResearcherID: ABB-8284-2020,
ORCID: 0000-0002-1983-852X,
e-mail: verapl@mail.ru

For citation:

Rogachevskii, I. V.,
Samosvat, D. M., Kalinina, A. D.,
Zegrya, G. G., Krylov, B. V.,
Podzorova, S. A., Plakhova, V. B.
(2021) Possible mechanism
of ligand-receptor binding of the
synthetic tripeptide Ac-RRR-NH₂
to the nociceptive neuron
membrane. *Integrative Physiology*,
vol. 2, no. 4, pp. 412–419.
<https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-4-412-419>

Received 26 September 2021;
reviewed 21 October 2021;
accepted 24 October 2021.

Funding: The study received no
financial support.

Copyright: © I. V. Rogachevskii,
D. M. Samosvat, A. D. Kalinina,
G. G. Zegrya, B. V. Krylov,
S. A. Podzorova, V. B. Plakhova
(2021). Published by Herzen State
Pedagogical University of Russia.
Open access under [CC BY-NC
License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Введение

Согласно одной из принятых теорий ноцицепции, купирование соматосенсорного болевого синдрома объясняется снижением плотности медленных натриевых каналов Na_v1.8 в мембране ноцицептивного нейрона (Catterall 2017). Нами выдвинуто и подтверждено предположение о том, что высокочастотная компонента импульсной активности первичного сенсорного нейрона, несущая в ЦНС информацию о болевом воздействии, контролируется не только плотностью указанных каналов, но и величиной эффективного заряда (Z_{eff}) их активационного воротного устройства. Уменьшение Z_{eff} приводит к «выключению» ноцицептивной компоненты ответа полимодальных рецепторов, а передаваемые ими сигналы других модальностей остаются физиологически адекватными (Krylov et al. 2017). Как следствие, селективные модуляторы функционирования медленных натриевых каналов Na_v1.8 обладают большим потенциалом терапевтического применения в качестве анальгетических лекарствен-

ных субстанций, негативные побочные эффекты которых могут быть минимальными.

В мембране ноцицептивного нейрона нами был обнаружен новый сигнальный каскад опиоидоподобный рецептор → Na,K-АТФаза/Src → канал Na_v1.8 (Крылов и др. 1999; Krylov et al. 2017; Plakhova et al. 2019). Запуск этого каскада приводит к модуляции его эффекторного звена — активационного воротного устройства канала Na_v1.8, причем функцию трансдуктора сигнала выполняет комплекс Na,K-АТФаза/Src.

В данном каскаде имеются три мишени, модуляция которых атакующими молекулами может вызывать антиноцицептивный ответ на уровне периферической нервной системы. Первой из них является опиоидоподобный рецептор, активируемый рядом производных гамма-пирона, в частности коеновой кислотой, являющейся лекарственной субстанцией нового анальгетика Аноцептина[®], успешно прошедшего первую фазу клинических испытаний (Loratina, Polyakov 2011). Второй мишенью служит сигнальный комплекс Na,K-АТФаза/Src, трансдукторная функция которого контроли-

руется убаином в наномолярном (эндогенном) концентрационном диапазоне. Третья мишень представляет собой непосредственно молекулу медленного натриевого канала $Na_v1.8$, точнее, его активационное воротное устройство. Именно оно модулируется аргининсодержащими короткими пептидами, один из которых исследован в настоящей работе методом локальной фиксации потенциала и с помощью конформационного анализа.

Выбор объекта исследования — трипептида Ас-RRR-NH₂, состоящего исключительно из аргинильных остатков, — обусловлен тем, что тончайший механизм связывания коротких пептидов молекулой канала $Na_v1.8$, согласно нашей рабочей гипотезе, основан на образовании межмолекулярных ион-ионных связей с участием положительно заряженных гуанидиновых групп боковых цепей аргинильных остатков молекул атакующих пептидов. При этом указанные группы должны находиться на строго определенном расстоянии друг от друга. Именно в этот момент конформация исследуемого агента становится продуктивной, что и приводит к лиганд-рецепторному связыванию. Молекула трипептида Ас-RRR-NH₂ не содержит иных аминокислотных остатков, кроме аргинильных, поэтому обнаружение способности данной молекулы модулировать активационное воротное устройство медленного натриевого канала $Na_v1.8$ позволит верифицировать разрабатываемую нами гипотезу.

Настоящая работа посвящена изучению способности трипептида Ас-RRR-NH₂ вызывать снижение величины эффективного заряда, переносимого активационным воротным устройством при открывании канала $Na_v1.8$. Далее на основании результатов полного конформационного анализа будет осуществлен поиск структурного параметра указанной молекулы, который коррелирует с ее способностью модулировать функциональную активность медленного натриевого канала и, соответственно, регулировать ноцицептивную компоненту ответов полимодальных рецепторов.

Методы исследования

Метод локальной фиксации потенциала

Эксперименты проводили с помощью метода локальной фиксации потенциала (patch-clamp method) в конфигурации «регистрация активности целой клетки» (whole-cell) (Hamill et al. 1981). Объектом исследования являлись культивируемые изолированные сенсорные нейроны,

выделенные из областей L₅-S₁ ганглиев спинного мозга новорожденных крысят линии *Wistar*. Культивирование изолированных нейронов в течение двух часов в стандартных питательных средах с использованием CO₂-инкубатора позволило получить интактные клетки. Подробно метод получения этих нейронов описан ранее (Krylov et al. 2017; Penniayunen et al. 2019; Plakhova et al. 2019). В работе использовали стандартные растворы (Penniayunen et al. 2019; Plakhova et al. 2019). Реактивы приобретали в фирме Sigma (США).

Исследуемый трипептид Ас-RRR-NH₂ был синтезирован фирмой ООО «НПФ Верта» методом классического пептидного синтеза, для которого применяли реактивы и производные аминокислот фирм Sigma (США), IrisBiotechGmbH (Германия). Конечный продукт характеризовали с помощью аналитической ВЭЖХ (чистота > 95%) и масс-спектрометрии.

Количественное измерение эффективного заряда (Z_{eff}), переносимого активационным воротным устройством при открывании каналов $Na_v1.8$, осуществляли по методу Алмерса (Almers 1978). Этот подход подробно описан в наших предыдущих работах (Krylov et al. 2017; Penniayunen et al. 2019; Plakhova et al. 2019).

Конформационный анализ

Конформационный анализ молекулы трипептида Ас-RRR-NH₂ проводили в программе TINKER (Rackers et al. 2018). Стартовая конформация была получена в программе AVOGADRO (Hanwell et al. 2012) посредством полной оптимизации геометрических параметров молекулы трипептида в вакууме с применением силового поля MMFF94 (Halgren 1996). Данное силовое поле также использовали для проведения конформационного анализа при значении диэлектрической проницаемости среды $\epsilon = 10.0$ (моделировали свойства среды в момент лиганд-рецепторного связывания атакующей молекулы пептида с молекулой канала $Na_v1.8$). Парциальные заряды на атомах соответствовали параметризации силового поля. Конформационный анализ был выполнен с помощью алгоритма итеративной серии локальных поисков по направлениям нормальных мод (low-mode conformational search) (Kolossváry, Guida 1999). Учет растворителя осуществляли по неявной схеме с использованием подхода сольватной ячейки GBSA (Mongan et al. 2007). Гуанидиновые группы боковых цепей аргинильных остатков (R) рассматривали в заряженном виде, поскольку указанные группы остаются протонированными даже в толще белка (Fitch et al. 2015).

Общий заряд молекулы являлся равным +3. В процессе конформационного анализа были минимизированы энергии 100 000 конформаций. Для последующей статистической обработки были отобраны только те из них, энергии которых не превышали 7 ккал/моль относительно глобального минимума. Конформационный анализ осуществляли с использованием мощностей суперкомпьютерной системы «РСК МикроЦОД» ФТИ РАН, благодаря чему все расчеты были проведены за 14 дней.

Статистическая обработка

Статистическую обработку полученных результатов выполняли в программе STATISTICA 10.0 (StatSoft, США) с использованием *t*-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде среднего значения \pm стандартная ошибка среднего. Различия принимали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Способность молекулы трипептида Ac-RRR-NH₂ модулировать возбудимость мембраны ноцицепторов, а именно, снижать потенциалочувствительность медленных натриевых каналов Na_v1.8, была исследована методом локальной фиксации потенциала. Данные, полученные этим методом, позволяют на молекулярном уровне экспериментально проверить справедливость тех предсказаний, которые основаны на квантовохимических расчетах. Подобный подход был использован нами ранее для выяснения возможных механизмов лиганд-рецепторного связывания атакующих молекул с мембраной ноцицептивного нейрона (Krylov et al. 2017; Plakhova et al. 2021; Rogachevsky et al. 2021). В его основе, как было отмечено выше, лежит метод Алмерса (Almers 1978), модифицированный нами для количественного исследования величины эффективного заряда (Z_{eff}) активационного воротного устройства каналов Na_v1.8 мембраны ноцицептивного нейрона. Именно этот параметр определяет потенциалочувствительность указанных каналов. Его снижение приводит к снижению возбудимости ноцицептивного нейрона, а агенты, вызывающие этот эффект, могут претендовать на роль анальгетиков. В результате проведенного исследования установлено, что трипептид Ac-RRR-NH₂ в концентрации 100 нмоль/л статистически достоверно снижает величину эффективного заряда с контрольного значения $Z_{\text{eff}} = 6,5 \pm 0,4$ ($n = 12$) до $Z_{\text{eff}} = 4,7 \pm 0,3$ ($n = 15$). Для получения более детальных представлений о молекулярном механизме взаимодействия изучаемого трипеп-

тида со своей мембранной мишенью требуется применение конформационного анализа.

В рассматриваемой молекуле отсутствуют фармакофорные группы, за исключением положительно заряженных гуанидиновых групп боковых цепей аргинильных остатков. Следовательно, лиганд-рецепторный комплекс молекулы Ac-RRR-NH₂ должен быть стабилизирован посредством межмолекулярных ион-ионных связей с участием этих групп и нуклеофильных функциональных групп в составе молекулы канала Na_v1.8. Логично предположить, что гуанидиновые группы находятся на определенном расстоянии друг от друга для достижения элементарности атакующей молекулы своему сайту связывания на молекуле канала.

В качестве параметра, описывающего указанное расстояние, было выбрано расстояние между атомами углерода, входящими в состав гуанидиновых групп, поскольку положение данных атомов примерно соответствует геометрическим центрам этих групп, положительный заряд которых делокализован по трем атомам азота. Задачей проведения конформационного анализа являлся анализ величин расстояний между гуанидиновыми группами боковых цепей аргинильных остатков в ансамбле низкоэнергетических конформаций молекулы трипептида.

Пространственное строение наиболее низкой по энергии из полученных конформаций молекулы Ac-RRR-NH₂ приведено на рисунке 1. В ансамбль, в рамках которого производилось определение величин расстояний между гуанидиновыми группами, вошло около 15 200 конформаций. Согласно результатам расчетов, расстояния R¹-R², R¹-R³ и R²-R³ составляют $10,6 \pm 2,6$, $10,9 \pm 2,6$ и $9,6 \pm 3,4$ Å соответственно. Геометрические центры гуанидиновых групп образуют приблизительно равносторонний треугольник вследствие электростатического отталкивания этих положительно заряженных функциональных групп и благодаря значительной конформационной свободе протяженных боковых цепей аргинильных остатков, что позволяет гуанидиновым группам расположиться практически равноудаленно друг от друга.

Используемый нами методологический подход был применен ранее для исследования способности ряда аргининсодержащих коротких пептидов модулировать активационное воротное устройство канала Na_v1.8 (Rogachevsky et al. 2021). В цитируемой работе было высказано предположение, что для проявления пептидами этого физиологического эффекта расстояние между гуанидиновыми группами должно пре-

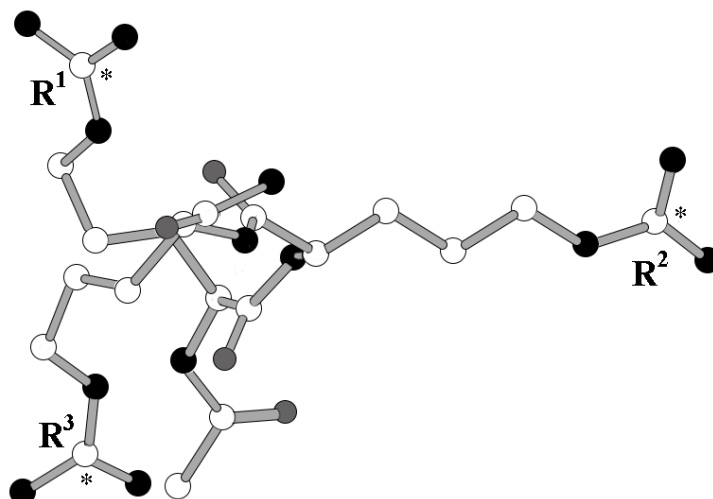


Рис. 1. Пространственное строение наиболее низкоэнергетической конформации молекулы трипептида Ac-RRR-NH₂. Белые шары — атомы углерода, серые шары — атомы кислорода, черные шары — атомы азота. Приведена нумерация аминокислотных остатков. Атомы углерода гуанидиновых групп боковых цепей аргинильных остатков отмечены звездочками. Атомы водорода не показаны

Fig. 1. Spatial structure of the lowest energy conformation of the tripeptide Ac-RRR-NH₂ molecule. White spheres—carbon atoms, gray spheres—oxygen atoms, black spheres—nitrogen atoms. The amino acid residues are enumerated. Carbon atoms of the guanidinium groups of arginine side chains are labeled with asterisks. Hydrogen atoms are not shown

вышать определенное пороговое значение, составляющее примерно 10 Å. Как оказывается, два из трех расстояний в ансамбле низкоэнергетических конформаций молекулы трипептида Ac-RRR-NH₂ соответствуют данному критерию, при этом третье расстояние весьма близко к соответствию.

Обсуждение

В настоящее время в арсенале практической медицины отсутствуют полностью безопасные анальгетические препараты, способные заменить опиаты при лечении болевых синдромов различного генеза. Для решения этой проблемы необходимо, на наш взгляд, найти принципиально новую молекулярную мишень в ноцицептивном нейроне, специфическая модуляция функциональной активности которой могла бы привести к антиноцицептивному эффекту на организменном уровне. В качестве такой мишени сегодня рассматриваются каналы Na_v1.8 (Bagal et al. 2015; Bennett et al. 2019; Jarvis et al. 2007). Однако снижение функциональной активности указанных каналов посредством прямого их блокирования редко оказывается абсолютно безопасным: применяемые атакующие молеку-

лы обычно связываются и с другими жизненно важными клеточными белками, что приводит к негативным побочным эффектам. Можно отметить, что значительным достижением в настоящее время является обнаружение эндоморфинов — эндогенных субстанций пептидной природы, способных с высочайшей эффективностью модулировать опиоидергическую систему (Zadina et al. 1997). Тем не менее оказалось, что эндоморфины не способны эффективно модулировать каналы Na_v1.8: их эффект проявлялся только при воздействии с внутренней стороны мембраны (Katina et al. 2003).

Поиск эффективных и безопасных анальгетиков пока не завершился успехом: косвенным свидетельством этому является отсутствие в мировой литературе данных о проведенных клинических исследованиях субстанций, способных заменить опиаты. Видимо, это связано с тем, что на организменном уровне все исследуемые агенты не оказались полностью безопасными.

Предлагаемый нами подход основан на обнаружении тончайшего механизма модуляции каналов Na_v1.8, который запускается благодаря образованию ион-ионных связей между молекулой канала и двумя гуанидиновыми группами

аргинильных остатков исследованного трипептида. Основным результатом настоящей работы является подтверждение высказанной нами ранее гипотезы о том, что существует минимальное пороговое значение расстояния между гуанидиновыми группами в молекулах аргининсодержащих коротких пептидов, определяющее их способность модулировать активационное воротное устройство канала $\text{Na}_v1.8$ и примерно равное 10 \AA . Можно предположить, что разрабатываемый нами подход окажется перспективным при создании новых анальгетиков пептидной природы, способных заменить опиаты для лечения хронической боли.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального или явного конфликта интересов.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest, either existing or potential.

Вклад авторов

а. Рогачевский Илья Вячеславович — постановка задачи математического моделирования, проведение конформационного анализа, подготовка иллюстративного материала;

б. Самосват Дмитрий Михайлович — проведение квантовохимических расчетов, участие в подготовке статьи;

с. Калинина Арина Дмитриевна — получение и обработка экспериментальных данных;

д. Зегря Георгий Георгиевич — планирование эксперимента, участие в постановке задачи, обсуждение экспериментальных данных;

е. Крылов Борис Владимирович — постановка задачи, осуществление общего руководства исследованием;

ф. Подзорова Светлана Александровна — обработка данных, подготовка иллюстративного материала;

г. Плахова Вера Борисовна — постановка задачи экспериментальной части исследования, получение экспериментальных данных с использованием метода локальной фиксации потенциала.

Author Contributions

a. Ilya V. Rogachevskii developed the computational protocol, conducted conformational analysis, prepared supporting material, contributed to the article writing;

b. Dmitriy M. Samosvat conducted conformational analysis, contributed to the article writing;

c. Arina D. Kalinina processed the experimental data, contributed to the article writing and selection of literature;

d. Georgy G. Zegrya planned the experiment and analysed its results;

e. Boris V. Krylov lead the experiment;

f. Svetlana A. Podzorova processed mathematical data, prepared supporting material;

g. Vera B. Plakhova planned and conducted the patch-clamp experiment, analysed experimental data.

References

- Almers, W. (1978) Gating currents and charge movements in excitable membranes. In: *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*. Vol. 82. Berlin: Springer Publ., pp. 96–190. <https://doi.org/10.1007/BFb0030498> (In English)
- Bagal, S. K., Bungay, P. J., Denton, S. M. et al. (2015) Discovery and optimization of selective Nav1.8 modulator series that demonstrate efficacy in preclinical models of pain. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, vol. 6, no. 6, pp. 650–654. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.5b00059> (In English)
- Bennett, D. L., Clark, A. J., Huang, J. et al. (2019) The role of voltage-gated sodium channels in pain signaling. *Physiological Reviews*, vol. 99, no. 2, pp. 1079–1151. <https://doi.org/10.1152/physrev.00052.2017> (In English)
- Catterall, W. A. (2017) Forty years of sodium channels: Structure, function, pharmacology, and epilepsy. *Neurochemical Research*, vol. 42, pp. 2495–2504. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2314-9> (In English)
- Fitch, C. A., Platzer, G., Okon, M. et al. (2015) Arginine: Its pK_a value revisited. *Protein Science*, vol. 24, no. 5, pp. 752–761. <https://doi.org/10.1002/pro.2647> (In English)
- Halgren, T. A. (1996) Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. *Journal of Computational Chemistry*, vol. 17, no. 5–6, pp. 490–519. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(199604\)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P) (In English)
- Hamill, O. P., Marty, A., Neher, E. et al. (1981) Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Archiv. European Journal of Physiology*, vol. 391, no. 2, pp. 85–100. <https://doi.org/10.1007/BF00656997> (In English)
- Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C. et al. (2012) Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, vol. 4, no. 1, article. 17. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17> (In English)

- Jarvis, M. F., Honore, P., Shieh, C.-C. et al. (2007) A-803467, a potent and selective Nav1.8 sodium channel blocker, attenuates neuropathic and inflammatory pain in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, vol. 104, no. 20, pp. 8520–8525. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611364104> (In English)
- Katina, I. E., Shchegolev, B. F., Zadina, D. E. et al. (2003) Ingibiruyushchee dejstvie endomorfina na potentsialozavisimye natrievye toki senzornykh neyronov [Endomorphins inhibit currents through voltage-dependent sodium channels]. *Sensornye Sistemy — Sensory Systems*, vol. 17, no. 1, pp. 7–23. (In Russian)
- Kolossváry, I., Guida, W. C. (1999) Low mode conformational search elucidated: application to C₃₉H₈₀ and flexible docking of 9-deazaguanine inhibitors into PNP. *Journal of Computational Chemistry*, vol. 20, no. 15, pp. 1671–1684. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(19991130\)20:15<1671::AID-JCC7>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19991130)20:15<1671::AID-JCC7>3.0.CO;2-Y) (In English)
- Krylov, B. V., Derbenev, A. V., Podzorova, S. A. et al. (1999) Morfin umen'shaet chuvstvitel'nost' k potentsialu medlennykh natrievykh kanalov [Morphine decreases the voltage sensitivity of the slow sodium channels]. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 85, no. 2, pp. 225–236. (In Russian)
- Krylov, B. V., Rogachevskii, I. V., Shelykh, T. N., Plakhova, V. B. (2017) *Frontiers in pain science. Vol. 1. New non-opioid analgesics: Understanding molecular mechanisms on the basis of patch-clamp and chemical studies*. Sharjah: Bentham Science Publ., 203 p. <https://doi.org/10.2174/97816080593001170101> (In English)
- Lopatina, E. V., Polyakov, Yu. I. (2011) Sinteticheskij anal'getik anoceptin: rezul'taty doklinicheskikh i klinicheskikh issledovanij [Synthetic analgesic Anoceptin: Results of preclinical and clinical studies]. *Efferentnaya terapiya*, vol. 17, no. 3, pp. 79–81. (In Russian)
- Mongan, J., Simmerling, C., McCammon, J. A. et al. (2007) Generalized Born model with a simple, robust molecular volume correction. *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 3, no. 1, pp. 156–169. <https://doi.org/10.1021/ct600085e> (In English)
- Penniyaynen, V. A., Plakhova, V. B., Rogachevsky, I. V. et al. (2019) Molecular mechanisms and signaling by comenic acid in nociceptive neurons influence the pathophysiology of neuropathic pain. *Pathophysiology*, vol. 26, no. 3–4, pp. 245–252. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2019.06.003> (In English)
- Plakhova, V. B., Penniyaynen, V. A., Yachnev, I. L. et al. (2019) Src kinase controls signaling pathways in sensory neuron triggered by low-power infrared radiation. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 97, no. 5, pp. 400–406. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2018-0602> (In English)
- Plakhova, V. B., Rogachevskii, I. V., Penniyaynen, V. A. et al. (2021) Modulation of voltage sensitivity of slow sodium channels by a synthetic cyclic peptide. *Human Physiology*, vol. 47, no. 5, pp. 575–581. (In English)
- Rackers, J. A., Wang, Z., Lu, C. et al. (2018). Tinker 8: Software tools for molecular design. *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 14, no. 10, pp. 5273–5289. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.8b00529> (In English)
- Rogachevsky, I. V., Kalinina, A. D., Penniyaynen, V. A. et al. (2021) A possible mechanism of modulation of slow sodium channels in the sensory neuron membrane by short peptides. *Biophysics*, vol. 66, no. 4, pp. 579–588. <https://doi.org/10.1134/S0006350921040205> (In English)
- Zadina, J. E., Hackler, L., Ge, L. J., Kastin, A. J. (1997) A potent and selective endogenous agonist for the μ -opiate receptor. *Nature*, vol. 386, no. 6624, pp. 499–502. <https://doi.org/10.1038/386499a0> (In English)