

The use of these data in planning the intervention allows a justified choice between standard rigid and combined techniques, strengthening preventive measures in high-risk groups, reducing the incidence of complications, and improving the overall safety of treatment.

Key words: urolithiasis, stones of the upper third of the ureter, contact ureterolithotripsy, ureteroscopy, complications, risk factors, bacteriuria, logistic regression.

ORCID and contributionship / ORCID автора та його внесок до статті:

Boyko A. I.: <http://orcid.org/0000-0003-0423-7470>^{AEF}

Polovynka V. P.: <http://orcid.org/0009-0008-5541-5058>^{BCD}

Conflict of interest/Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest. / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Polovynka Vladyslav Petrovich / Половинка Владислав Петрович
Shupyk National Healthcare University of Ukraine / Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика
Ukraine, 04122, Kyiv, 9 Dorohozhytska str. / Україна, 04122, м. Київ, вул. Дорогожицька 9
Tel.: +380661932423 / Тел.: +380661932423
E-mail: polovynka.uro@gmail.com

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

This article is distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution (CC-BY) License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited © All authors, 2026 / Ця стаття розповсюджується на умовах ліцензії **Creative Commons Attribution (CC-BY)**, яка дозволяє необмежене використання, поширення та відтворення в будь-якому форматі за умови належного цитування оригінальної роботи © Всі автори, 2026

Received 03.10.2025 / Стаття надійшла 03.10.2025 року

Accepted 02.03.2026 / Стаття прийнята до друку 02.03.2026 року

Published 27.03.2026 / Опубліковано 27.03.2026 року

DOI 10.29254/2077-4214-2026-1-180-203-214

UDC 615.212:612.821:616 009.7

Voloshchuk N. I., Orlenko O. B.

STUDY OF CENTRAL AND PERIPHERAL MECHANISMS UNDERLYING THE ANALGESIC EFFECT OF N-(γ -AMINO BUTYRYL)-1-AZA-4,7,10,13-TETRAOXACYCLOPENTADECANE HYDROCHLORIDE IN RATS

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya (Vinnytsya, Ukraine)

voloshchuknatali@gmail.com

The need to develop analgesic drugs with increased efficacy and a safer safety profile remains relevant today. Macrocyclic derivatives of γ -aminobutyric acid (GABA) are considered a promising direction in the search for new agents with central analgesic activity. Previous studies have demonstrated that a new molecule, N-(γ -aminobutyryl)-1-aza-4,7,10,13-tetraoxacyclopentadecane hydrochloride (compound C-3), exhibits pronounced analgesic activity in various models of pain perception. The aim of the study was to investigate the central and peripheral mechanisms of analgesia of compound C-3 in rats, as well as to evaluate the involvement of the opioid and cannabinoid systems in its realization. The contribution of central analgesic mechanisms was assessed using the formalin test; changes in analgesic activity following administration of pharmacological antagonists were evaluated in the tail-flick model, while anti-inflammatory activity was studied in the carrageenan-induced paw edema model. To elucidate the mechanisms of action, opioid receptor antagonists (naloxone, nor-BNI) and a cannabinoid CB₁ receptor antagonist (AM 251) were used. It was established that administration of compound C-3 (1 mg/kg, intraperitoneally) produced a pronounced analgesic effect, predominantly in the first phase of the formalin test, indicating the predominance of central antinociceptive mechanisms. The anti-inflammatory effect was weak – 17.3% compared with 73% for diclofenac sodium. Pre-administration of naloxone and nor-BNI only partially reduced the effect of the compound, whereas AM 251 almost completely abolished it. Thus, the analgesic action of compound C-3 is mediated predominantly through CB₁-dependent pathways, with a lesser contribution of the opioid system. The obtained results indicate that compound C-3 may represent a promising prototype for the development of new non-opioid analgesics with a mechanism of action associated with the endocannabinoid system.

Key words: crown ethers, γ aminobutyric acid, opioid receptors, CB₁-cannabinoid receptors, pain models.

Connection of the publication with planned research work.

The work is part of the research project of the Department of Pharmacology of National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya titled "Study of the pharmacological properties of biologically active compounds of plant and synthetic origin," state registration number 0124U000156.

Introduction.

Despite the availability of a wide range of analgesic agents, the problem of effective and safe analgesia remains one of the most pressing issues in modern medicine. Classical nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and opioids have a number of limitations associated with the development of adverse effects, gastrointestinal complications, cardiotoxicity, as well as the development of tolerance and addiction during prolonged use – which is formed already at the level of μ -opioid receptors and limits the effectiveness of pain therapy of various etiologies (for example, in chronic pain) [1, 2]. This determines the need to search for new pharmacological agents capable of providing pronounced analgesic effects with a better safety profile and minimal addictive potential.

A promising direction is the development of new derivatives of γ -aminobutyric acid (GABA), including compounds based on macrocyclic crown ethers, which can act as carriers of biologically active groups and modifiers of permeability across the blood-brain barrier. Macrocyclic compounds, in particular crown ethers, due to their structure, are capable of forming complexes with ions or ligands, potentially altering the physicochemical properties of molecules and increasing bioavailability during transmembrane transport [3, 4]. Such systems may serve as effective carriers for delivering GABA derivatives or other analgesic agents to the central nervous system, providing selective delivery with minimal systemic adverse effects.

GABA is the principal inhibitory neurotransmitter of the central nervous system and plays an important role in the regulation of neuronal excitability and, accordingly, nociceptive processing of pain signals. Positive allosteric modulators of GABA receptors are capable of enhancing the inhibitory effect of GABA and have demonstrated analgesic potential in preclinical models [5]. This makes GABA-oriented derivatives promising candidates for the development of a new generation of analgesics with potentially lower central and peripheral adverse effects.

Pain perception is formed by a complex interaction of central and peripheral mechanisms, in which both the opioidergic and endocannabinoid systems play important roles. Both systems are widely distributed in structures involved in the transmission and modulation of pain signals, such as the dorsal horns of the spinal cord and supraspinal centers of pain processing [6]. Recent review data emphasize that opioid and cannabinoid receptors not only modulate the primary transduction of pain signals but also interact at the molecular level, forming shared pathways of nociception regulation both under physiological conditions and in pathological pain states [7].

Among macroheterocyclic systems modified with amino acid fragments, a promising compound – N-(γ -aminobutyl)-1-aza-4,7,10,13-tetraoxacyclopentadecane hydrochloride (gabalgine) – was identified at the

O.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine based on an analysis of the "structure-psychotropic activity" relationship. The molecule represents a conjugate of γ -aminobutyric acid (GABA) and a macrocyclic fragment of monoaza-15-crown-5.

Incorporation of GABA into the crown ether structure enhances the permeability of the pharmacophoric group across the blood-brain barrier due to the membrane-active properties of the macrocycle. Covalent conjugation with the macrocyclic system leads not only to quantitative modification of the effects but also to their qualitative transformation with redistribution of the dominant and secondary manifestations of psychotropic activity. Previous studies have shown that compound **C-3** is characterized by pronounced analgesic potential in acute pain syndrome, which may be associated with modulation of inhibitory pathways in the CNS [7]. However, the mechanisms through which this effect is realized remain insufficiently studied, particularly in the context of the contribution of the opioidergic and cannabinoid components to the formation of the overall analgesic response.

Thus, considering the complex neurotransmitter regulation of pain, it is relevant to investigate the contribution of opioidergic, cannabinoid, and GABA-mediated mechanisms to the realization of the analgesic action of new compounds based on GABA and macrocyclic systems, as well as to determine their potential advantages compared with traditional NSAIDs and opioids.

The aim of the study.

To determine the central and peripheral mechanisms of the analgesic action of N-(γ -aminobutyl)-1-aza-4,7,10,13-tetraoxacyclopentadecane hydrochloride in rats, with an assessment of the possible involvement of the opioidergic and cannabinoid systems.

Object and research methods.

The experiments were performed on 147 sexually mature male Wistar rats weighing 250 ± 20 g obtained from the breeding facility of the State Institution "Institute of Pharmacology and Toxicology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine". The use of male animals was determined by the need to minimize biological variability associated with cyclic changes in sex hormone levels in females during the estrous cycle. It is known that estrogens can modulate nociceptive sensitivity, influence the expression and functional activity of opioid and cannabinoid receptors, and alter processes of central sensitization. Considering the receptor-mediated nature of the investigated mechanisms of analgesia, the use of male animals allowed reduction of hormone-related fluctuations in the studied parameters and increased the internal validity of the experimental model.

Laboratory animals were housed under standard vivarium conditions at National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya (light cycle 12/12 h, temperature $21 \pm 2^\circ\text{C}$, relative humidity $50 \pm 5\%$) with free access to water and standard food. After a 10-day acclimatization period, the animals were weighed, marked, and randomly assigned to groups according to the study design. Experiments were performed in the morning hours (from 10:00 a.m.), which minimized the influence of circadian variations in reactivity.

Each experimental group included seven animals. The sample size was determined taking into account the 3R principles (Replacement, Reduction, Refinement),

the standard practice of studies using acute nociception models, and the recommendations of the local bioethics committee. To reduce the risk of false-positive and false-negative results, random allocation of animals between groups, body weight matching, standardization of experimental conditions and testing time, the use of validated pain models (formalin test, tail-flick, carrageenan-induced edema), and appropriate statistical analysis using the nonparametric Mann–Whitney U test were ensured. The observed effects were consistent in direction and statistically significant, indicating sufficient sensitivity of the selected experimental design to detect pharmacologically relevant changes.

All procedures were performed in accordance with the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes [8] and were approved by the Bioethics Committee of National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya (Protocol No. 9 dated 10.10.2025).

According to the aim of the study, animals were divided into experimental groups of seven individuals each. Rats of the experimental groups received compound C-3 intraperitoneally at the median effective dose (ED_{50}) determined in previous studies for analgesic activity – 1 mg/kg [9] – as well as the reference drug diclofenac sodium (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) at a dose of 8 mg/kg.

Animals in the control groups received equivalent volumes of 0.9% sodium chloride solution. For pharmacological analysis of the mechanisms of analgesic action, the following agents were used: the full μ -opioid receptor agonist morphine hydrochloride (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA); the partial κ -opioid receptor agonist nalbuphine hydrochloride (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA); the full nonselective opioid receptor antagonist naloxone hydrochloride (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA); the selective κ -opioid receptor antagonist nor-binaltorphimine dihydrochloride (nor-BNI) (Tocris Bioscience, Bristol, UK); and the selective CB_1 cannabinoid receptor antagonist AM-251 (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA). The doses of pharmacological analyzers were selected according to literature data.

The study design was constructed taking into account current concepts of the multilevel organization of nociception and the possibility of differentiating central and peripheral mechanisms of analgesia. The formalin test was chosen as the basic experimental model because it allows simultaneous evaluation of peripheral and central components of the pain response due to its biphasic nature [10]. Considering that the second phase of the formalin test is largely associated with the release of inflammatory mediators (prostaglandins, cytokines, growth factors), the next logical step was the use of the carrageenan-induced rat paw edema model. This model is widely used to assess the influence of pharmacological agents on peripheral inflammatory mechanisms and molecular targets associated with the cyclooxygenase cascade [11].

To clarify the central mechanisms of analgesia, a pharmacological approach using selective receptor antagonists was applied. Sequential blockade of opioid and cannabinoid receptors made it possible to evaluate the contribution of the respective neurotransmitter systems

to the analgesic effect of the studied compound and to determine their hierarchical interaction.

To assess the central and peripheral components of the analgesic action of the studied compound, the *formalin test* was used as a model of chemically induced pain characterized by a biphasic nociceptive response. After subplantar injection of 0.1 ml of a 5% formalin solution into the hind paw, pain behavior was recorded in the form of licking, biting, or lifting of the affected paw. The first (early) phase of the pain response, which develops during the initial period after formalin administration, is associated with direct activation of peripheral nociceptors and mainly reflects the central component of pain. The second (late) phase, which occurs after a short latent period, is caused by the development of an inflammatory process and central sensitization and is considered an indicator of peripheral nociceptive mechanisms. Observation of the animals lasted 60 minutes. Changes in the duration of the latent period of the phase and in the duration of the nociceptive response during this phase indicated the strength of the analgesic action of the studied drugs.

The involvement of the opioidergic and cannabinoid systems in the realization of the analgesic action of the studied compound was determined using selective pharmacological antagonists in the *tail-flick* model of thermal stimulation by directing a focused beam of light to the upper third of the rat tail using an analgesimeter (Ugo Basile, Italy). The latency of tail withdrawal from the heat source was measured in seconds. Baseline values of the latency period and its changes 2 hours after administration of the studied compound and reference drugs were compared.

The anti-inflammatory activity of the compound was evaluated using the *carrageenan-induced rat paw edema* model [12, 13]. Limb volume was measured using a Plethysmometer (Ugo Basile, Italy) before administration of 0.1 ml of 1% carrageenan solution and 180 minutes after its administration (the peak of the inflammatory response). Rats of the experimental groups received the studied compounds intraperitoneally 1 hour after carrageenan administration, while animals of the control group received an equivalent volume of solvent. Based on the obtained data, the increase in paw volume and anti-exudative activity compared with the control were calculated. Anti-exudative activity was determined by the degree of edema reduction in experimental animals compared with control animals and was expressed as a percentage and calculated using the following formula:

$$AEA = \frac{\Delta Vc - \Delta Ve}{\Delta Vc} \times 100$$

where AEA is the anti-exudative activity (%);

ΔVc is the mean difference in volume between the edematous and non-edematous paws in the control group;

ΔVe is the mean difference in volume between the edematous and non-edematous paws in the experimental group.

Statistical analysis of the results was performed using SPSS Statistica 17.0 software. The results were presented as the mean \pm standard error of the mean ($M \pm m$). The significance of differences between indicators was

determined using the nonparametric Mann–Whitney U test. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Research results and their discussion.

According to the results of previous studies, compound C-3 demonstrated pronounced analgesic activity in various models of pain perception, and its median conditionally effective dose for analgesic activity (1 mg/kg, intraperitoneally) was determined. The next stage was to evaluate the central and peripheral components of this activity using the formalin test model. The results are presented in **table 1**.

Table 1 – Analgesic activity of compound C-3 in the formalin test model (M±m)

Experimental conditions	Phase I		Phase II	
	Latent period, min	Duration of pain reaction, min	Latent period, min	Duration of pain reaction, min
Control, n=7	1.79±0.46	5.44±0.58	20.45±3.23	32.12±3.23
C-3, 1 mg/kg, n=7	4.36±0.73*#	3.54±0.29*#	22.73±1.21	30.0±1.09#
Diclofenac sodium, 8 mg/kg, n=7	1.99±0.20	5.59±0.41*	26.38±0.91*	26.27±1.06*

Notes: * – statistically significant differences compared with the control ($p < 0.05$); # – statistically significant differences compared with diclofenac ($p < 0.05$).

Administration of N-(γ -aminobutyryl)-1-aza-4,7,10,13-tetraoxacyclopentadecane hydrochloride (compound C-3) at a dose of 1 mg/kg was accompanied by pronounced analgesic activity in the formalin test. In the first phase of the test, a statistically significant prolongation of the latency period of the pain response was observed, increasing 2.43-fold compared with the control group, while the duration of pain behavior in this phase was 1.53-fold lower than in control animals ($p < 0.05$). The standard NSAID diclofenac sodium, administered at its optimal analgesic dose, had virtually no effect on the parameters of this phase of the formalin test. The effect of compound C-3 on the second phase of the formalin test was less pronounced and did not reach statistical significance, whereas diclofenac significantly increased the latency period and reduced the duration of the pain response in this phase of the test.

The obtained results of the formalin test made it possible to perform a preliminary differentiation of the mechanisms underlying the analgesic action of compound C-3. It is known that the biphasic nature of the pain response in this test reflects the involvement of different pathogenetic components of nociception: the early phase is associated with direct activation of peripheral nociceptors, whereas the late (inflammatory) phase is caused by the release of inflammatory mediators (prostaglandins, bradykinin, cytokines), as well as the development of central sensitization [14-16]. In the

Table 2 – Anti-inflammatory activity of compound C-3 in a carrageenan-induced paw edema model in rats

Compound	Dose	Baseline limb volume (mm ³)	Limb volume after 180 minutes (mm ³)	Volume increase	AEA (%)
C-3	1 mg/kg	218,1±14,2	468,0±36,4	249,9±38,8#	17,31
Diclofenac	8 mg/kg	214,1±11,5	295,6±14,5	81,47±8,67*	73,04
Control	–	210,9±8,77	513,1±21,5	302,2±17,07	0

Notes: * – statistically significant differences compared with the control ($p < 0.05$); # – statistically significant differences compared with diclofenac ($p < 0.05$).

present study, it was established that compound C-3 exerts a pronounced analgesic effect predominantly in the first phase of the formalin test, whereas its influence on the second, inflammatory phase was minor and did not reach statistically significant values. Such a profile of action indicates a limited involvement of peripheral anti-inflammatory mechanisms in the realization of the analgesic effect of the studied compound.

Considering that inflammatory mediators play a leading role in the formation of the second phase of the formalin test, the next logical step was to investigate the anti-inflammatory activity of compound C-3 using the carrageenan-induced rat paw edema model. This model is a classical tool for evaluating the influence of substances on the synthesis and action of prostaglandins, cytokines, and other pro-inflammatory molecules [17].

The results are presented in **table 2**. It was established that following administration of the phlogogen, the anti-exudative activity of compound C-3 was 17.3%, which was substantially lower than the effect of diclofenac sodium (73.0%). The results of the carrageenan test demonstrated only weak anti-exudative activity of compound C-3, which is consistent with the data obtained in the formalin test and confirms the absence of a pronounced effect on peripheral inflammatory mechanisms. The overall set of obtained data allows the conclusion that central mechanisms predominate in the structure of the analgesic action of compound C-3.

Further investigation was aimed at identifying the central neurotransmitter systems involved in the realization of the analgesic effect. As is known, opioid receptors play a key role in the regulation of central nociceptive transmission, and their pharmacological blockade makes it possible to evaluate the contribution of endogenous opioid mechanisms to the realization of analgesic effects [18, 19].

In the present study, pre-administration of naloxone resulted in a partial but statistically significant reduction of the analgesic effect of compound C-3, by an average of 60-65%, indicating the involvement of the opioidergic system; however, this does not allow it to be considered the sole or dominant mechanism of action (**fig.**). Under similar conditions, the analgesic effect of morphine (an agonist of opioid μ -, κ -, δ -, and σ -receptors) decreased much more markedly in the presence of naloxone (85-90%), whereas the analgesic action of the opioid receptor agonist-antagonist nalbuphine, following prior blockade of opioid receptors with naloxone, decreased only partially (no more than 50-55%). The antinociceptive activity of the non-opioid analgesic diclofenac sodium remained unchanged following prior blockade of opioid receptors. Administration of the carrier (crown ether) as monotherapy, as well as after prior blockade of opioid receptors with naloxone, was not accompanied by an analgesic effect.

At this stage, analysis of the chemical nature of the studied compound becomes particularly important. It is known that C-3 is a derivative of crown ethers – macrocyclic compounds widely used as carriers and modulators of biologically active substances. In the structure of C-3, γ -aminobutyric acid (GABA) is localized within the macrocyclic “crown,” forming an integral supramolecular system.

According to literature data, crown ethers that do not contain pharmacologically active fragments do not exhibit intrinsic antinociceptive activity and do not significantly affect central mechanisms of pain [20]. At the same time, it is known that exogenous GABA, when administered systemically, has a limited ability to penetrate the blood-brain barrier and is not directly involved in modulation of the opioidergic system [21, 22]. Moreover, GABAergic mechanisms are not associated with direct activation of opioid receptors, and their analgesic effect is mediated indirectly [23].

Taking into account current concepts of the functional interaction between the opioid and cannabinoid systems in the central regulation of pain [24, 25], the next logical step was to investigate the role of cannabinoid receptors. Pre-administration of the CB₁ cannabinoid receptor antagonist AM-251 significantly reduced the analgesic effect of compound C-3 (table 3). In contrast, blockade of κ -opioid receptors with nor-binaltorphimine resulted only in a partial decrease in antinociceptive activity, which did not reach statistical significance.

The observed significant reduction in the analgesic effect of compound C-3 following blockade of CB₁ cannabinoid receptors indicates a substantial contribution of the cannabinoid system to the realization of its central antinociceptive action. In contrast, the partial and statistically non-significant effect of κ -opioid receptor blockade suggests their secondary role in the mechanisms of analgesia.

Thus, a sequential analysis of the results obtained in different experimental models allows the analgesic action of compound C-3 to be considered predominantly central, with partial involvement of the opioidergic and cannabinoid systems, with a dominant contribution of CB₁-mediated mechanisms.

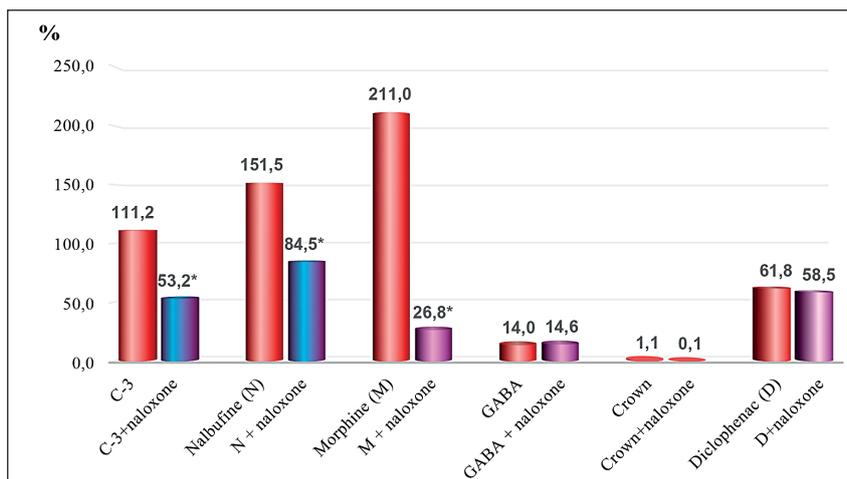


Figure – Changes in the analgesic activity of the tested compounds following naloxone administration in the tail-flick test ($M \pm m$, n=7).

Notes: * – statistically significant differences ($p < 0.05$) compared to baseline.

Table 3 – Changes in the latency period of the pain response in rats (PPR) following administration of opioid and cannabinoid system antagonists in the tail-flick test ($M \pm m$, n=7)

Compound, dose	Baseline level, s	After 2 hours
Control (solvent)	5.51±0.40	5.51±0.39
compound C-3 (1 mg/kg)	4.68±0.34	9.76±0.49*
%		+112.2
compound C-3 (1 mg/kg) + AM-251 1 mg/kg	6.70±0.16	8.59±0.30*/**
%		+28.0
compound C-3 (1 mg/kg) + nor-BNI (5 mg/kg)	7.30±0.09	13.7±1.12*
%		+88.2

Notes: * – statistically significant differences ($p < 0.05$) compared to baseline; ** – statistically significant differences ($p < 0.05$) compared to compound C-3.

Conclusions.

1. N-(γ -aminobutyl)-1-aza-4,7,10,13-tetraoxacyclopentadecane hydrochloride exhibits pronounced analgesic activity in rats.

2. The analgesic action of the compound is realized predominantly through central mechanisms, as evidenced by its dominant effect in the first phase of the formalin test and weak anti-inflammatory activity.

3. Both the opioidergic and cannabinoid systems are involved in the mechanisms of analgesic action, particularly with the participation of CB₁ cannabinoid receptors.

Prospects for further research.

Further investigation of the receptor specificity and intracellular signaling pathways involved in the realization of the analgesic action of the compound, as well as evaluation of its safety profile and addictive potential.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЦЕНТРАЛЬНИХ ТА ПЕРИФЕРИЧНИХ МЕХАНІЗМІВ АНАЛЬГЕТИЧНОЇ ДІЇ N-(γ -АМІНОБУТИРИЛ)-1-АЗА-4,7,10,13- ТЕТРАОКСАЦИКЛОПЕНТАДЕКАНУ ГІДРОХЛОРИДУ У ЩУРІВ

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (м. Вінниця, Україна)

voloshchuknatali@gmail.com

Потреба у створенні знеболюючих лікарських засобів з підвищеною ефективністю та безпечнішим профілем наразі залишається актуальною. Макроциклічні похідні γ -аміномасляної кислоти (ГАМК) розглядаються як перспективний напрям у пошуку нових засобів центральної анальгетичної дії. Попередні дослідження продемонстрували наявність у новій молекули N-(γ -аміномаслярило)-1-аза-4,7,10,13-тетраоксациклопентадекан гідрохлориду (сполуки С-3) виразної анальгетичної дії на різних моделях больової перцепції. Метою дослідження було вивчити центральні та периферичні механізми анальгезії сполуки С-3 у щурів, а також оцінити участь опіоїдної та канабіноїдної систем у її реалізації. Оцінка участі центральних механізмів знеболення визначали за допомогою формалінового тесту зміни анальгетичної активності на тлі введення фармакологічних аналізатів на моделі tail-flick, протизапальну – на моделі карагенанового набряку лапи. Для з'ясування механізмів дії застосовували антагоністи опіоїдних рецепторів (налуксон, пог BNI) та антагоніст канабіноїдних СВ₁-рецепторів (AM 251). Встановлено, що введення сполуки С-3 (1 мг/кг, в/очеревинно) спричинює виражений анальгетичний ефект, переважно у першій фазі формалінового тесту, що свідчить про домінування центральних антинокіцептивних механізмів. Протизапальна дія виявилася слабкою – 17,3% порівняно з 73% для натрію диклофенаку. Попереднє введення налуксону та пог BNI лише частково знижувало ефект сполуки, тоді як AM 251 майже повністю його усував. Таким чином, анальгетична дія сполуки С-3 реалізується переважно через СВ₁-залежні шляхи з меншою участю опіоїдної системи. Отримані результати свідчать, що сполука С-3 може бути перспективним прототипом для розроблення нових не опіоїдних анальгетиків із механізмом дії, пов'язаним з ендоканабіноїдною системою.

Ключові слова: краун-етери, γ -аміномасляна кислота, опіоїдні рецептори, СВ₁-канабіноїдні рецептори, експериментальні моделі болю.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота є фрагментом НДР кафедри фармакології ВНМУ ім. М.І. Пирогова "Дослідження фармакологічних властивостей біологічно активних сполук рослинного та синтетичного походження", номер державної реєстрації 0124U000156.

Вступ.

Незважаючи на наявність широкого спектра знеболювальних засобів, проблема ефективної та безпечної анальгезії залишається однією з найактуальніших у сучасній медицині. Класичні нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) та опіоїди мають низку обмежень, пов'язаних із розвитком побічних ефектів, гастроінтестинальних ускладнень, кардіотоксичності, а також розвитком толерантності й адикції при тривалому застосуванні – що формується вже на рівні μ -опіоїдних рецепторів і обмежує ефективність терапії болю різної етіології (наприклад, у хронічному болю) [1, 2]. Це обумовлює необхідність пошуку нових фармакологічних агентів, здатних забезпечувати виражену анальгетичну дію при кращому профілі безпечності та мінімальному адиктивному потенціалі.

Перспективним напрямом є створення нових похідних γ -аміномасляної кислоти (ГАМК), включно зі сполуками на основі макроциклічних краун-етерів, які можуть виступати як носії біологічно активних груп та модифікатори проникності через гематоенцефалічний бар'єр. Макроциклічні сполуки, зокрема краун-етери, завдяки своїй структурі здатні форму-

вати комплекси з іонами або лігандами, потенційно змінюючи фізико-хімічні властивості молекул і підвищуючи біодоступність при транс-мембранному перенесенні [3, 4]. Такі системи можуть стати ефективними носіями для перенесення ГАМК-похідних або інших анальгетичних агентів у центральну нервову систему, забезпечуючи селективну доставку при мінімальних системних побічних ефектах.

ГАМК є головним інгібіторним нейромедіатором центральної нервової системи, що відіграє важливу роль у регуляції нейрональної збудливості і, відповідно, ноцицептивної обробки сигналів болю. Позитивні алостеричні модифікатори ГАМК-рецепторів здатні посилювати інгібіторний вплив ГАМК і мають доведений анальгетичний потенціал у преклінічних моделях [5]. Це робить ГАМК-орієнтовані похідні перспективними у створенні нового покоління анальгетиків з потенційно нижчими центральними та периферичними побічними ефектами.

Больова перцепція формується складною взаємодією центральних і периферичних механізмів, де вагому роль відіграють як опіоїддергічна, так і ендоканабіноїдна системи. Обидві системи широко розподілені в структурах, що залучені до передачі й модуляції больових сигналів, наприклад в дорсальних рогах спинного мозку та супраспинальних центрах больового аналізу [6]. Останні оглядові дані підкреслюють, що опіоїдні й канабіноїдні рецептори не лише модулюють первинну трансдукцію больових сигналів, а й взаємодіють на молекулярному рівні, формуючи

спільні шляхи регуляції ноцицепції як у здоровому стані, так і при патологічному болю [7].

Серед макрогетероциклічних систем, модифікованих амінокислотними фрагментами, у Фізико-хімічному інституті ім. О.В. Богатського НАН України на підставі аналізу залежності «структура – психотропна активність» було виокремлено перспективну сполуку N-(γ -амінобутирил)-1-аза-4,7,10,13-тетраоксациклопентадекану гідрохлорид (габальгін). Молекула являє собою кон'югат γ -аміномасляної кислоти (ГАМК) та макроциклічного фрагмента моноаза-15-краун-5.

Інкorporація ГАМК у структуру краун-етеру сприяє підвищенню проникності фармакофорної групи через гематоенцефалічний бар'єр завдяки мембраноактивним властивостям макроциклу. Ковалентне поєднання з макроциклічною системою зумовлює не лише кількісну модифікацію ефектів, але й їх якісну перебудову з перерозподілом домінуючих та другорядних проявів психотропної активності. Попередні дослідження показали, що сполука С-3 характеризується вираженим анальгетичним потенціалом при гострому больовому синдромі, що може бути пов'язано з модуляцією інгібіторних шляхів у ЦНС [7]. Проте механізми, через які реалізується цей ефект, залишаються недостатньо вивченими, зокрема у контексті внеску опіоїдєргічної та канабіноїдної компоненти у формування загальної знеболювальної відповіді.

Таким чином, з урахуванням складної нейромодіаторної регуляції болю, актуальним є дослідження внеску опіоїдєргічних, канабіноїдних і ГАМК-опосередкованих механізмів у реалізацію знеболювальної дії нових сполук на основі ГАМК і макроциклічних систем, а також визначення їх потенційних переваг у порівнянні з традиційними НПЗП та опіоїдами.

Мета дослідження.

Визначення центральних і периферичних механізмів анальгетичної дії N-(γ -амінобутирил)-1-аза-4,7,10,13-тетраоксациклопентадекану гідрохлориду у щурів з оцінкою можливої участі опіоїдєргічної та канабіноїдної систем.

Об'єкт і методи дослідження.

Досліди виконані на 147 статевозрілих білих лабораторних щурах-самцях лінії Wistar масою 250 ± 20 г, отриманих з розплідника ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Використання тварин саме чоловічої статі було зумовлено необхідністю мінімізувати біологічну варіабельність, пов'язану з циклічними змінами рівнів статевих гормонів у самиць під час естрального циклу. Відомо, що естрогени здатні модулювати ноцицептивну чутливість, впливати на експресію та функціональну активність опіоїдних і канабіноїдних рецепторів, а також змінювати процеси центральної сенситизації. З огляду на рецепторно-опосередкований характер досліджуваних механізмів анальгезії, застосування самців дозволило зменшити гормонально обумовлені коливання показників і підвищити внутрішню валідність експериментальної моделі.

Лабораторні тварини утримувалися у стандартних умовах віварію ВНМУ ім. М.І. Пирогова (світловий режим 12/12 год, температура $21 \pm 2^\circ\text{C}$, відносна вологість $50 \pm 5\%$) з вільним доступом до води та стандартного корму. Після 10-денного періоду адаптації тварин зважували, маркували та рандомізовано розподіляли на групи відповідно до дизайну досліджен-

ня. Експерименти проводили у ранковій годині (з 10:00), що дозволяло мінімізувати вплив циркадних коливань реактивності.

У кожній експериментальній групі використовували по 7 тварин. Розмір вибірки визначали з урахуванням принципів 3R (Replacement, Reduction, Refinement), стандартної практики досліджень із використанням моделей гострої ноцицепції та рекомендацій локальної комісії з біоетики. З метою зниження ризику хибнопозитивних і хибнонегативних результатів забезпечували рандомізований розподіл тварин між групами, вирівнювання їх за масою тіла, стандартизацію умов проведення експериментів і часу тестування, використання валідованих моделей болю (formalin test, tail-flick, carrageenan-induced edema), а також застосування адекватних методів статистичного аналізу з використанням непараметричного U-критерію Манна-Уїтні. Отримані ефекти були односпрямованими та статистично вірогідними, що свідчить про достатню чутливість обраного експериментального дизайну для виявлення фармакологічно значущих змін.

Усі процедури виконані відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей [8], та схвалені комісією з біоетики ВНМУ ім. М.І. Пирогова (протокол № 9 від 10.10.2025 р.).

Відповідно до мети дослідження тварини були розподілені на експериментальні групи по 7 особин у кожній. Щурам дослідних груп внутрішньочеревно вводили сполуку С-3 у середній ефективній дозі (ED_{50}) за показниками анальгетичної активності – 1 мг/кг, визначеній у попередніх дослідженнях [9], а також референс-препарат diclofenac sodium (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) у дозі 8 мг/кг.

Тваринам контрольних груп вводили еквіоб'ємні кількості 0,9% розчину натрію хлориду. З метою фармакологічного аналізу механізмів анальгетичної дії застосовували: повний агоніст μ -опіоїдних рецепторів – morphine hydrochloride (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA); частковий агоніст κ -опіоїдних рецепторів – nalbuphine hydrochloride (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA); повний неселективний антагоніст опіоїдних рецепторів – naloxone hydrochloride (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA); селективний антагоніст κ -опіоїдних рецепторів – nor-binaltorphimine dihydrochloride (nor-BNI) (Tocris Bioscience, Bristol, UK); селективний антагоніст 5β -канабіноїдних рецепторів – AM-251 (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA). Дози фармакологічних аналізаторів були обрані відповідно до даних літератури.

Дизайн дослідження було побудовано з урахуванням сучасних уявлень про багаторівневу організацію ноцицепції та можливість диференціації центральних і периферичних механізмів анальгезії. Формаліновий тест було обрано як базову експериментальну модель, оскільки він дозволяє одночасно оцінити периферичний та центральний компоненти больової реакції завдяки її двофазному характеру [10]. Зважаючи на те, що друга фаза формалінового тесту значною мірою обумовлена вивільненням медіаторів запалення (простагландинів, цитокінів, факторів росту), наступним логічним етапом стало застосування моделі карагенінового набряку лапи щура. Дана

модель широко використовується для оцінки впливу фармакологічних агентів на периферичні запальні механізми та молекулярні мішені, пов'язані з цикло-оксигеназним каскадом [11].

Для уточнення центральних механізмів анальгезії було використано фармакологічний підхід із застосуванням селективних антагоністів рецепторів. Послідовне блокування опіоїдних та канабіноїдних рецепторів дозволило оцінити внесок відповідних нейромедіаторних систем у реалізацію анальгетичного ефекту досліджуваної сполуки та встановити їх ієрархічну взаємодію.

Для оцінки центрального та периферичного компонентів анальгетичної дії досліджуваної сполуки використовували *формаліновий тест* – модель хімічно індукованого болю, що характеризується двофазною ноцицептивною реакцією. Після субплантарного введення 0,1 мл 5% розчину формаліну в задню лапу тварини реєстрували больову поведінку, яка проявлялася у вигляді лизання, кусання або підняття ураженої лапи. Перша (рання) фаза больової реакції, що розвивається протягом початкового періоду після введення формаліну, пов'язана з прямою активацією периферичних ноцицепторів і відображає переважно центральний компонент болю. Друга (пізня) фаза, яка виникає після короткого латентного періоду, обумовлена розвитком запального процесу та центральною сенситизацією і розглядається як показник периферичних механізмів ноцицепції. Спостереження за тваринами тривало 60 хвилин. Зміни тривалості латентного періоду фази та тривалості ноцицептивної реакції в цій фазі свідчили про силу знеболюючої дії вивчаємих препаратів.

Участь опіоїдергічної та канабіноїдної систем у реалізації анальгетичної дії досліджуваної сполуки визначали за допомогою селективних фармакологічних антагоністів на моделі *термічного подразнення (tail-flick)* шляхом спрямування сфокусованого променя світла верхньої третини хвоста щура за допомогою анальгезиметра (Ugo Basile, Italy). Оцінювали латентний час відсмикування хвоста від джерела променя, виражений в секундах. Порівнювали вихідні показники тривалості латентного періоду та зміни його через 2 години після введення досліджуваної сполуки та референс-препаратів.

Протизапальну активність сполуки оцінювали на моделі *карагенінового набряку лапи щура* [12, 13]. Об'єм кінцівки вимірювали за допомогою плетизмометра Plethysmometer (Ugo Basile, Italy) до введення 0,1 мл 1% розчину карагеніну та через 180 хв після його введення (пік запальної реакції). Щурам дослідних груп через 1 год після введення карагеніну внутрішньочеревно (в/оч) вводили сполуки, що досліджували, тварини контрольної групи отримували еквіоб'ємну кількість розчинника. За отриманими даними розраховували приріст об'єму та антиексудативну активність порівняно з контролем. Антиексудативну активність визначали за ступенем зменшення набряку у дослідних тварин у порівнянні з тваринами групи контролю та виражали у відсотках і розраховували за формулою:

$$AEA = \frac{\Delta V_k - \Delta V_d}{\Delta V_k} \times 100$$

де АЕА – антиексудативна активність у %;

ΔV_k – середня різниця в об'ємі між набряклою та ненабряклою лапами в групі контролю;

ΔV_d – середня різниця в об'ємі між набряклою та ненабряклою лапами в дослідній групі.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми SPSS Statistica 17.0. Результати представляли у вигляді середньої арифметичної та середньої помилки середньої ($M \pm m$). Достовірність різниці між показниками визначали за непараметричним U-критерієм Манна-Уїтні. Вірогідними вважали відмінності за $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

Згідно результатів попередніх досліджень у сполуки С-3 було встановлено наявність виразної знеболюючої активності на різних моделях больової перцепції та встановлено середню умовно ефективну дозу її за анальгетичною активністю (1 мг/кг в/оч). Наступним етапом стало оцінка центрального та периферичного компонента цієї активності на моделі формалінового тесту. Результати наведені в **таблиці 1**.

Введення N-(γ -амінобутирил)-1-аза-4,7,10,13-тетраоксациклопентадекану гідрохлориду (сполука С-3) у дозі 1 мг/кг супроводжувалося виразною анальгетичною активністю у формаліновому тесті. У першій фазі тесту спостерігалось статистично вірогідне подовження латентного періоду больової реакції у 2,43 рази порівняно з показником групи контролю, а тривалість больової поведінки в цій фазі була в 1,53 рази меншою, ніж у контрольних тварин ($p < 0,05$). Стандартний НПЗЗ диклофенак натрію, взятий в його оптимальній анальгетичній дозі, практично не впливав на показники цієї фази формалінового тесту. Вплив сполуки С-3 на другу фазу формалінового тесту був менш вираженим і не досягав статистичної значущості, тоді як диклофенак вірогідно збільшував латентний період та зменшував тривалість больової реакції в цій фазі тесту.

Отримані результати формалінового тесту дозволили провести первинну диференціацію механізмів анальгетичної дії сполуки С-3. Відомо, що двофазний характер больової реакції в цьому тесті відображає залучення різних патогенетичних ланок ноцицепції: рання фаза пов'язана з безпосередньою активацією периферичних ноцицепторів, тоді як пізня (запальна) фаза обумовлена вивільненням медіаторів запалення (простагландинів, брадикініну, цитокінів), а також розвитком центральної сенситизації [14-16]. У проведеному дослідженні встановлено, що сполука С-3 чинить виразний анальгетичний ефект переважно у

Таблиця 1 – Знеболююча активність сполуки С-3 на моделі формалінового тесту ($M \pm m$)

Умови експерименту	I фаза		II фаза	
	Латентний період, хв	Тривалість больової реакції, хв	Латентний період, хв	Тривалість больової реакції, хв
Контроль, n=7	1.79±0.46	5.44±0.58	20.45±3.23	32.12±3.23
С-3, 1 мг/кг, n=7	4.36±0.73*#	3.54±0.29*#	22.73±1.21	30.0±1.09#
Диклофенак натрій, 8 мг/кг, n=7	1.99±0.20	5.59±0.41*	26.38±0.91*	26.27±1.06*

Примітки: * – статистично вірогідні відмінності відносно контролю ($p < 0,05$); # – статистично вірогідні відмінності відносно диклофенаку ($p < 0,05$).

першій фазі формалінового тесту, тоді як її вплив на другу, запальну фазу був незначним і не досягав статистично вірогідних значень. Такий профіль дії свідчить про обмежену участь периферичних протизапальних механізмів у реалізації анальгетичного ефекту досліджуваної сполуки.

З огляду на те, що у формуванні другої фази формалінового тесту провідну роль відіграють саме запальні медіатори, логічним наступним кроком стало дослідження протизапальної активності сполуки С-3 на моделі карагенінового набряку лапи щура. Дана модель є класичним інструментом для оцінки впливу речовин на синтез і дію простагландинів, цитокінів та інших прозапальних молекул [17].

Результати представлені в таблиці 2. Встановлено, що на тлі введення флогогену антиексудативна активність сполуки С-3 становила 17,3%, що суттєво поступалося ефекту диклофенаку натрію (73,0%). Результати карагенінового тесту продемонстрували лише слабку антиексудативну активність сполуки С-3, що узгоджується з даними формалінового тесту та підтверджує відсутність вираженого впливу на периферичні запальні механізми. Сукупність отриманих даних дозволяє зробити висновок про переважання саме центральних механізмів у структурі анальгетичної дії сполуки С-3.

Подальше дослідження було спрямоване на ідентифікацію центральних нейромедіаторних систем, залучених до реалізації анальгетичного ефекту. Як відомо, опіоїдні рецептори відіграють ключову роль у регуляції центральної ноцицептивної передачі, а їх фармакологічна блокада дозволяє оцінити внесок ендогенних опіоїдних механізмів у реалізацію анальгетичного ефекту [18, 19].

У даному дослідженні попереднє введення налоксону призводило до часткового, але статистично вірогідного зниження анальгетичної дії сполуки С-3 в середньому на 60-65%, що свідчить про залучення опіоїддергічної системи, проте не дозволяє розглядати її як єдиний або домінуючий механізм дії (рис.). За аналогічних умов знеболюючий ефект морфіну (агоніста опіоїдних μ -, κ -, δ -, σ -рецепторів) на тлі налоксону знижувався значно виразніше (85-90%), а знеболююча дія агоніста-антагоніста опіоїдних рецепторів налбуфіну, на тлі попередньої блокади опіоїдних рецепторів налоксonom, знижувалася частково (не більше як на 50-55%). Антиноцицептивна активність неопіоїдного анальгетику диклофенаку натрію на тлі попередньої блокади опіоїдних рецепторів не змінювалася. Введення носія (краун-етеру) в якості монотерапії та на

Таблиця 2 – Протизапальна активність сполуки С-3 на моделі карагенінового набряку лапи щура

Сполука	Доза	Вихідний об'єм кінцівки, (мм ³)	Об'єм кінцівки через 180 хв, (мм ³)	Приріст об'єму	АЕА (%)
С-3	1 мг/кг	218,1±14,2	468,0±36,4	249,9±38,8#	17,31
Диклофенак	8 мг/кг	214,1±11,5	295,6±14,5	81,47±8,67*	73,04
Контроль	–	210,9±8,77	513,1±21,5	302,2±17,07	0

Примітки: * – статистично вірогідні відмінності (p<0,05) відносно контролю; # – статистично вірогідні відмінності (p<0,05) відносно диклофенаку.

тлі попередньої блокади опіоїдних рецепторів налоксonom не супроводжувалось знеболюючим ефектом.

На цьому етапі особливого значення набуває аналіз хімічної природи досліджуваної сполуки. Відомо, що С-3 є похідним краун-етерів – макроциклічних сполук, які широко застосовуються як носії та модулятори біологічно активних речовин. У структурі С-3 γ -аміномасляна кислота (ГАМК) локалізована всередині макроциклічної «корони», утворюючи цілісну супрамолекулярну систему.

Згідно з літературними даними, самі краун-етери, які не містять фармакологічно активних фрагментів, не проявляють власної антиноцицептивної активності та не впливають суттєво на центральні механізми

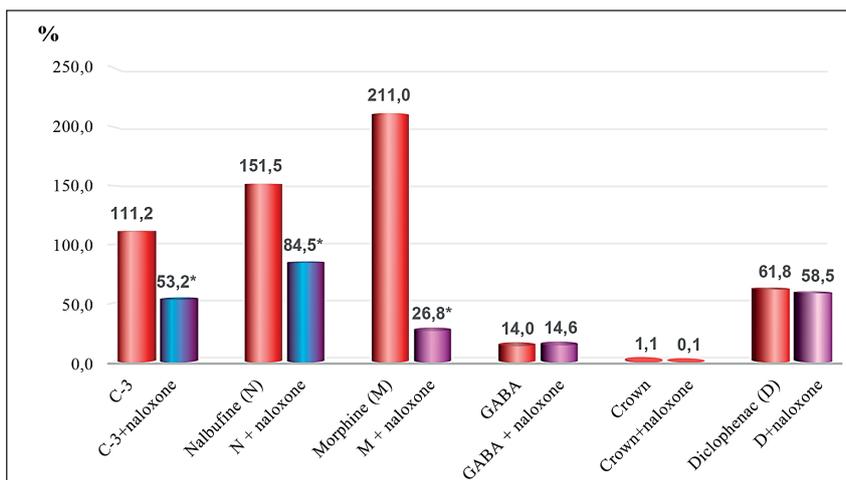


Рисунок – Зміни анальгетичної активності досліджуваних сполук після введення налоксону в тесті tail-flick (M±m, n=7).

Примітки: * – статистично вірогідні відмінності (p<0,05) відносно вихідного значення.

Таблиця 3 – Зміни латентного періоду больової реакції щурів (ПБЧ) після введення антагоністів опіоїдної та каннабіноїдної систем в тесті tail-flick (M±m, n=7) and cannabinoid system antagonists in the tail-flick test (M±m, n=7)

Сполука, доза	Вихідний рівень, с	Через 2 год
Контроль (розчинник)	5.51±0.40	5.51±0.39
сполука С-3 (1 мг/кг)	4.68±0.34	9.76±0.49*
%		+112.2
сполука С-3 (1 мг/кг) + AM-251 1 мг/кг	6.70±0.16	8.59±0.30**/**
%		+28.0
сполука С-3 (1 мг/кг) + nor-BNI (5 мг/кг)	7.30±0.09	13.7±1.12*
%		+88.2

Примітки: * – статистично вірогідні відмінності (p<0,05) відносно вихідного значення; ** – статистично вірогідні відмінності (p<0,05) відносно сполуки С-3.

болю [20]. Водночас відомо, що екзогенна ГАМК при системному введенні має обмежену здатність проникати через гематоенцефалічний бар'єр і не залучається безпосередньо до модуляції опіоїдєргічної системи [21, 22]. Крім того, ГАМК-єргічні механізми не асоційовані з прямою активацією опіоїдних рецепторів, а їх анальгетичний ефект реалізується опосередковано [23].

З урахуванням сучасних уявлень про функціональну взаємодію опіоїдної та канабіноїдної систем у центральній регуляції болю [24, 25], подальшим логічним кроком стало дослідження ролі канабіноїдних рецепторів. Попереднє введення антагоніста СВ₁-канабіноїдних рецепторів (сполуки AM-251) суттєво зменшувало анальгетичний ефект сполуки С-3 (табл. 3). Водночас блокада к-опіоїдних рецепторів нор-біналторфіміном призводила лише до часткового зниження антиноцицептивної дії, яке не досягало статистично вірогідних значень.

Встановлене суттєве зниження анальгетичного ефекту сполуки С-3 після блокади СВ₁-канабіноїдних рецепторів свідчить про значущий внесок канабіноїдної системи у реалізацію її центральної антиноцицептивної дії. Натомість частковий і статистично

невірогідний вплив блокади к-опіоїдних рецепторів вказує на їх другорядну роль у механізмах анальгезії.

Таким чином, послідовний аналіз результатів, отриманих у різних експериментальних моделях, дозволяє розглядати анальгетичну дію сполуки С-3 як переважно центральну, з частковим залученням опіоїдєргічної та канабіноїдної систем, з домінуючим внеском СВ₁-опосередкованих механізмів.

Висновки.

1. N-(γ-амінобутирил)-1-аза-4,7,10,13-тетраоксациклопентадекану гідрохлорид проявляє виразну анальгетичну активність у щурів.

2. Анальгетична дія сполуки реалізується переважно за рахунок центральних механізмів, про що свідчить домінуючий вплив у першій фазі формалінового тесту та слабка протизапальна активність.

3. У механізмах анальгетичної дії беруть участь опіоїдєргічна та канабіноїдна системи, зокрема за участю СВ₁-канабіноїдних рецепторів.

Перспективи подальших досліджень.

Подальше вивчення рецепторної специфічності та внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, залучених до реалізації анальгетичної дії сполуки, а також оцінка ступеню її безпечності та адиктивного потенціалу.

References / Література

1. Secondulfo C, Mazzeo F, Pastorino GMG, Vicidomini A, Meccariello R, Operto FF. Opioid and Cannabinoid Systems in Pain: Emerging Molecular Mechanisms and Use in Clinical Practice, Health, and Fitness. *Int J Mol Sci.* 2024;25(17):9407. DOI: [10.3390/ijms25179407](https://doi.org/10.3390/ijms25179407).
2. Ge T, Wu Z, Sha S, Yang X, Liu H, Song L, et al. Directions for analgesic development. *J Anesth Transl Med.* 2024;3(3):87-95. DOI: [10.1016/j.jatmed.2024.08.003](https://doi.org/10.1016/j.jatmed.2024.08.003).
3. Yang Y, Li P, Feng H, Zeng R, Li S, Zhang Q. Macrocyclic-Based Supramolecular Drug Delivery Systems: A Concise Review. *Molecules.* 2024;29(16):3828. DOI: [10.3390/molecules29163828](https://doi.org/10.3390/molecules29163828).
4. Ullah F, Khan TA, Iltaf J, Anwar S, Khan MFA, Khan MR, et al. Heterocyclic Crown Ethers with Potential Biological and Pharmacological Properties: From Synthesis to Applications. *Appl Sci.* 2022;12(3):1102. DOI: [10.3390/app12031102](https://doi.org/10.3390/app12031102).
5. Murai N, Kondo Y, Akuzawa S, Mihara T, Shiraishi N, Kakimoto S, et al. A novel GABAB receptor positive allosteric modulator, ASP8062, exerts analgesic effects in a rat model of fibromyalgia. *Eur J Pharmacol.* 2019;865:172750. DOI: [10.1016/j.ejphar.2019.172750](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172750).
6. Karcz M, Abd-Elsayed A, Chakravarthy K, Aman MM, Strand N, Malinowski MN, et al. Pathophysiology of Pain and Mechanisms of Neuromodulation: A Narrative Review (A Neuron Project). *J Pain Res.* 2024;17:3757-3790. DOI: [10.2147/JPR.S475351](https://doi.org/10.2147/JPR.S475351).
7. Voloshchuk NI, Orlenko OB, Petrusenko VV, Basok SS, Larionov VB, Golovenko MYa. Experimental study of N-(γ-aminobutyl)-1-aza-4,7,10,13-tetraoxacyclopentadecane hydrochloride analgesic activity in pain syndromes of different etiology. *Word Biol Med.* 2024;1(87):187-191. DOI: [10.26724/2079-8334-2024-1-87-187-191](https://doi.org/10.26724/2079-8334-2024-1-87-187-191).
8. Council of Europe. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg: Council of Europe; 1986. 52 p.
9. Voloshchuk NI, Orlenko OB, Slyeptsova IV. Investigation of the acute toxicity and analgesic activity of a novel derivative of N-(γ-aminobutyl)-1-aza-4,7,10,13-tetraoxacyclopentadecane hydrochloride. *Perspektyvy ta innovatsii nauky (Ser. Pedagogika, Psykholohiia, Medytsyna).* 2025;11(57):2775-2786. DOI: [10.52058/2786-4952-2025-11\(57\)-2775-2786](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2025-11(57)-2775-2786).
10. Oliver VL, Pang DSJ. Pain Recognition in Rodents. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2023;26(1):121-149. DOI: [10.1016/j.cvex.2022.07.010](https://doi.org/10.1016/j.cvex.2022.07.010).
11. Molodan YuO, Larionov VB, Borysiuk IYu, Makarenko OA. Tvarynni modeli in vivo dlya skryninhu potentsiinykh protyzapalnykh ta zneboluyvalnykh zasobiv (ohlyad literatury). *Visnyk ONU. Biolohiia.* 2023;28(2(53)):113-127. DOI: [10.18524/2077-1746.2023.2\(53\).293327](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).293327).
12. Gregory NS, Harris AL, Robinson CR, Dougherty PM, Fuchs PN, Sluka KA. An overview of animal models of pain: disease models and outcome measures. *J Pain.* 2013;14(11):1255-1269.
13. Vogel HG. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays.* Berlin: Springer; 2008. 2068 p.
14. Curatolo M. Central Sensitization and Pain: Pathophysiologic and Clinical Insights. *Curr Neuropharmacol.* 2024;22(1):15-22. DOI: [10.2174/1570159.X20666221012112725](https://doi.org/10.2174/1570159.X20666221012112725).
15. Modi AD, Parekh A, Pancholi YN. Evaluating pain behaviours: Widely used mechanical and thermal methods in rodents. *Behav Brain Res.* 2023;446:114417. DOI: [10.1016/j.bbr.2023.114417](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2023.114417).
16. Raup-Konsavage WM, Sepulveda DE, Wang J, Dokholyan NV, Vrana KE, Graziane NM. Antinociceptive Effects of Cannabichromene (CBC) in Mice: Insights from von Frey, Tail-Flick, Formalin, and Acetone Tests. *Biomedicines.* 2023;12(1):83. DOI: [10.3390/biomedicines12010083](https://doi.org/10.3390/biomedicines12010083).
17. Xiang L, Huang Q, Chen T, He Q, Yao H, Gao Y. Ethanol extract of *Paridis rhizoma* attenuates carrageenan-induced paw swelling in rats by inhibiting the production of inflammatory factors. *BMC Complement Med Ther.* 2023;23(1):437. DOI: [10.1186/s12906-023-04264-6](https://doi.org/10.1186/s12906-023-04264-6).
18. Pande LJ, Arnet RE, Piper BJ. An Examination of the Complex Pharmacological Properties of the Non-Selective Opioid Modulator Buprenorphine. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023;16(10):1397. DOI: [10.3390/ph16101397](https://doi.org/10.3390/ph16101397).
19. Che T, Roth BL. Molecular basis of opioid receptor signaling. *Cell.* 2023;186(24):5203-5219. DOI: [10.1016/j.cell.2023.10.029](https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.10.029).
20. Ullah F, Ullah S, Khan MFA, Mustaqeem M, Paracha RN, Rehman MFU, et al. Fluorescent and Phosphorescent Nitrogen-Containing Heterocycles and Crown Ethers: Biological and Pharmaceutical Applications. *Molecules.* 2022;27(19):6631. DOI: [10.3390/molecules27196631](https://doi.org/10.3390/molecules27196631).
21. Sieghart W, Chiou LC, Ernst M, Fabjan J, Savić MM, Lee MT. α6-Containing GABAA Receptors: Functional Roles and Therapeutic Potentials. *Pharmacol Rev.* 2022;74(1):238-270. DOI: [10.1124/pharmrev.121.000293](https://doi.org/10.1124/pharmrev.121.000293).
22. Nieto A, Bailey T, Kaczanowska K, McDonald P. GABAB Receptor Chemistry and Pharmacology: Agonists, Antagonists, and Allosteric Modulators. *Curr Top Behav Neurosci.* 2022;52:81-118. DOI: [10.1007/7854_2021_232](https://doi.org/10.1007/7854_2021_232).
23. Pinto M, Sousa M, Lima D, Tavares I. Participation of mu-opioid, GABAB, and NK1 receptors of major pain control medullary areas in pathways targeting the rat spinal cord: implications for descending modulation of nociceptive transmission. *J Comp Neurol.* 2008;510(2):175-187. DOI: [10.1002/cne.21793](https://doi.org/10.1002/cne.21793).

24. Lowe H, Toyang N, Steele B, Bryant J, Ngwa W. The Endocannabinoid System: A Potential Target for the Treatment of Various Diseases. *Int J Mol Sci.* 2021;22(17):9472. DOI: [10.3390/ijms22179472](https://doi.org/10.3390/ijms22179472).
25. Leo LM, Abood ME. CB1 Cannabinoid Receptor Signaling and Biased Signaling. *Molecules.* 2021;26(17):5413. DOI: [10.3390/molecules26175413](https://doi.org/10.3390/molecules26175413).

ДОСЛІДЖЕННЯ ЦЕНТРАЛЬНИХ ТА ПЕРИФЕРИЧНИХ МЕХАНІЗМІВ АНАЛЬГЕТИЧНОЇ ДІЇ N-(γ -АМІНОБУТИРИЛ)-1-АЗА-4,7,10,13-ТЕТРАОКСАЦИКЛОПЕНТАДЕКАНУ ГІДРОХЛОРИДУ У ЩУРІВ

Волощук Н. І., Орленко О. Б.

Резюме. Попри наявність широкого спектра сучасних анальгетиків, потреба у створенні сполук з підвищеною ефективністю та безпечнішим профілем залишається актуальною. Макроциклічні похідні γ -аміномасляної кислоти (ГАМК) розглядаються як перспективний напрям у пошуку нових засобів центральної анальгетичної дії. Попередні дослідження продемонстрували наявність у сполуки C-3 – N-(γ -аміномаслярило)-1-аза-4,7,10,13-тетраоксациклопентадекан гідрохлориду – похідного краун-етерів, які широко застосовуються як носії та модулятори біологічно активних речовин, де γ -аміномасляна кислота (ГАМК) локалізована всередині макроциклічної «корони», утворюючи цілісну супрамолекулярну систему, виразної анальгетичної дії на різних моделях больової перцепції. Метою дослідження було вивчити центральні та периферичні механізми анальгезії сполуки C-3 у щурів, а також оцінити участь опіоїдної та канабіноїдної систем у її реалізації. Анальгетичну активність визначали за допомогою формалінового тесту та методу відсмикування хвоста від сфокусованого променя світла (tail flick), протизапальну – на моделі карагенанового набряку лапи щура. Для з'ясування механізмів дії застосовували антагоністи опіоїдних рецепторів (налуксон, nor BNI) та антагоніст канабіноїдних CB₁-рецепторів (AM 251). Встановлено, що введення сполуки C 3 (1 мг/кг, в/очеревино) спричинює виражений анальгетичний ефект, переважно у першій фазі формалінового тесту, що свідчить про домінування центральних антиноціцептивних механізмів. Протизапальна дія виявилася слабкою – 17,3% порівняно з 73% для натрію диклофенаку. Попереднє введення налуксону призводило до часткового, але статистично вірогідного зниження анальгетичної дії сполуки C-3 в середньому на 60-65%, що свідчить про залучення опіоїдної системи, проте не дозволяє розглядати її як єдиний або домінуючий механізм дії. За аналогічних умов знеболюючий ефект морфіну (агоніста опіоїдних μ -, κ -, δ -, σ -рецепторів) на тлі налуксону знижувався значно виразніше (85-90%). Попереднє введення антагоніста CB₁-канабіноїдних рецепторів (сполуки AM-251) суттєво зменшувало анальгетичний ефект сполуки C-3. Водночас блокада κ -опіоїдних рецепторів нор-біналторфіміном призводила лише до часткового зниження антиноціцептивної дії, яке не досягало статистично вірогідних значень. Таким чином, анальгетична дія сполуки C 3 реалізується переважно через CB₁-залежні шляхи та меншою мірою за рахунок деяких опіоїдних рецепторів. Отримані результати свідчать, що сполука C 3 може бути перспективним прототипом для розроблення нових неопіоїдних анальгетиків із механізмом дії, пов'язаним з ендоканабіноїдною системою.

Ключові слова: краун-етери, γ -аміномасляна кислота, опіоїдні рецептори, CB₁-канабіноїдні рецептори, експериментальні моделі болю.

STUDY OF CENTRAL AND PERIPHERAL MECHANISMS UNDERLYING THE ANALGESIC EFFECT OF N-(γ -AMINOBUITYRYL)-1-AZA-4,7,10,13-TETRAOXYCYCLOPENTADECANE HYDROCHLORIDE IN RATS

Voloshchuk N. I., Orlenko O. B.

Abstract. Despite the availability of a wide range of modern analgesics, the need to develop compounds with increased efficacy and a safer profile remains relevant. Macrocyclic derivatives of γ -aminobutyric acid (GABA) are considered a promising direction for designing new centrally acting analgesics. Previous studies have demonstrated that compound C-3 – N-(γ -aminobutyryl)-1-aza-4,7,10,13-tetraoxacyclopentadecane hydrochloride, a crown ether derivative widely used as a carrier and modulator of biologically active substances – in which the γ -aminobutyric acid moiety is localized inside the macrocyclic “crown” forming an integrated supramolecular system, exhibits marked analgesic activity in various models of pain perception. The aim of this study was to investigate the central and peripheral mechanisms underlying the analgesic action of compound C-3 in rats and to evaluate the contribution of opioid and cannabinoid systems to its effects. Analgesic activity was assessed using the formalin test and the tail-flick method (response to a focused light beam), whereas anti-inflammatory activity was studied in the carrageenan-induced paw edema model. Selective antagonists of opioid receptors (naloxone, nor-BNI) and the CB₁ cannabinoid receptor antagonist (AM 251) were used to characterize the mechanisms involved. Administration of compound C-3 (1 mg/kg, i.p.) produced a pronounced analgesic effect, predominantly in the first phase of the formalin test, indicating a predominance of central antinociceptive mechanisms. The anti-inflammatory effect was weak (17.3%) compared with diclofenac sodium (73%). Pretreatment with naloxone partially, yet significantly, reduced the analgesic action of compound C-3 by 60-65%, suggesting the involvement of the opioidergic system but excluding it as a major mechanism. Under similar conditions, the analgesic effect of morphine (μ -, κ -, δ -, and σ -opioid receptor agonist) decreased by 85-90% in the presence of naloxone. Pretreatment with the CB₁ receptor antagonist AM 251 markedly diminished the analgesic effect of compound C-3, while blockade of κ -opioid receptors by nor-binaltorphimine produced only partial, statistically insignificant attenuation. Thus, the analgesic effect of compound C-3 is mediated predominantly through CB₁-dependent pathways with a minor contribution of certain opioid receptors. The results indicate that compound C-3 may serve as a promising prototype for the development of new non-opioid analgesics acting via the endocannabinoid system.

Key words: crown ethers, γ -aminobutyric acid, opioid receptors, CB₁-cannabinoid receptors, pain models.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та його внесок до статті:

Voloshchuk N. I.: <https://orcid.org/0000-0002-0166-9676>^{ABCDEF}Orlenko O. B.: <https://orcid.org/0000-0001-8653-5206>^{ABCD}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors confirm that there is no conflict of interest in this article. / Автори підтверджують, що в даній статті відсутній конфлікт інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Voloshchuk Nataliia Ivanivna / Волощук Наталія Іванівна

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia / Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Ukraine, 21018, Vinnytsia, Pirogov str. 56 / Адреса: Україна, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова 56

Tel.: +380673077134/ Тел.: +380673077134

E-mail: voloshchuknatali@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

This article is distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution (CC-BY) License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited © All authors, 2026 / Ця стаття розповсюджується на умовах ліцензії **Creative Commons Attribution (CC-BY)**, яка дозволяє необмежене використання, поширення та відтворення в будь-якому форматі за умови належного цитування оригінальної роботи © Всі автори, 2026

Received 04.11.2025 / Стаття надійшла 04.11.2025 року
Accepted 04.03.2026 / Стаття прийнята до друку 04.03.2026 року
Published 27.03.2026 / Опубліковано 27.03.2026 року

DOI 10.29254/2077-4214-2026-1-180-214-221

UDC 616.24-007.272+616.248]:616.333-008.6

Derbak M. A., Motylchak E. M., Khramtsova I. O., Zhovanyk N. B.

CLINICAL DIFFERENCES OF GASTROINTESTINAL DISORDERS IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE AND BRONCHIAL ASTHMA

State Higher Educational Institution "Uzhhorod National University" (Uzhhorod, Ukraine)

morika1415@gmail.com

The article presents a comparison of the frequency, structure, and clinical differences of gastrointestinal (GI) disorders caused by gastroesophageal reflux disease (GERD) in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and bronchial asthma (BA), and analyzes their impact on the course of the primary disease.

It was found that GI disorders occur significantly more frequently in patients with BA compared to those with COPD (60% vs. 45%, $p < 0.05$) and are typical for esophageal reflux: classic heartburn and acid regurgitation. In patients with COPD, atypical gastrointestinal symptoms were more commonly recorded: chronic cough without heartburn, a feeling of gastric fullness, belching, and hoarseness.

It was established that the presence of GI symptoms in both patient groups is associated with a worsening of the primary disease's course; however, this association is more pronounced in patients with COPD. In the COPD group, the presence of GI symptoms was associated with a significant increase in the risk of exacerbations (OR 2.1-5.3; $p < 0.01$). In the BA group, a moderately increased risk of nocturnal attacks was observed (OR 1.3-1.5; $p < 0.05$). The results obtained underscore the importance of screening for gastrointestinal symptoms in patients of both groups to optimize treatment and prevent exacerbations.

Key words: COPD, bronchial asthma, FEV1, exacerbation, GERD, gastrointestinal symptoms.

Connection of the publication with planned research work.

The scientific study was conducted as part of the general departmental research topic: "Mechanisms of the development of comorbid pathology in diseases of the digestive system in conditions of social challenges, possibilities of innovative diagnostic methods and personalized treatment", state registration number 0125U003977.

Introduction.

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and bronchial asthma (BA) are among the most common

non-communicable chronic diseases in the world, accompanied by chronic inflammation, hypoxia, and oxidative stress, and are significant causes of disability and premature death among the population. For instance, mortality from COPD ranks third in the overall mortality structure [1, 2]. Impairment of extrapulmonary mechanisms, specifically gastroduodenal protection, is increasingly regarded as a systemic component of COPD and bronchospasm in BA [3]. Despite modern achievements in the diagnosis and treatment of COPD, in many cases, treatment is insufficiently effective, particularly in the presence of comorbid pathology [4, 5].