

УДК 619:616.995.132.5

ВЛАСТИВОСТІ МАКРОЦИКЛІЧНИХ ЛАКТОНІВ ЯК МОДУЛЯТОРІВ МЕМБРАННИХ СТРУКТУР

С. Мандзинець

Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: manisvit@gmail.com

Авермектини – основні представники шістнадцятичленних макроциклічних лактонів, які широко застосовують для лікування інвазій, викликаних нематодними інфекціями. Розглянуто основні властивості лактонів, різноманітність мішеней, з якими взаємодіють авермектини та найбільш очевидні механізми їхньої взаємодії, а також проаналізовано вплив препаратів як алостеричних модуляторів.

Ключові слова: авермектини, макроциклічні лактони, ГАМК-рецептори, глутаматчутливі рецептори.

На даний час використання нових препаратів, зокрема макроциклічних лактонів, для лікування та профілактики паразитичних інвазій у тваринництві є основним завданням багатьох галузей ветеринарії. Однак введення ефективних ліків у практику потребує детального вивчення дії препарату не тільки на організм паразита, але й на клітини тварин-господарів і біоту навколишнього середовища, у яке відбувається виведення метаболітів. Саме такий комплексний підхід до дослідження впливу нових препаратів стає все більш поширеним у країнах Європи, США та в Україні.

Проблема нематодних епізоотій у скотарстві та ветеринарній практиці завжди була актуальною. З 1960 р. такі антигельмінтні препарати, як бензimidазол, левомізол, змінили стратегії оптимального контролю за нематодними паразитами. З відкриттям авермектинів і їх введенням у широку практику з 1981 р. цей контроль піднявся на вищий рівень. Учені групи компанії Merck & Co. Inc. (1976), досліджуючи культуру *Streptomyces avermectilis* MA-4680 (NRRL8165), відкрили комплекс восьми близькоспоріднених продуктів, які згодом отримали назву авермектини (АВМ). Дана культура була виділена в інституті Кітасато зі зразків ґрунту, зібраних у Кавана, Іто Сіті Префектура Шізуока в Японії [34]. Особливої уваги заслуговує здатність цих ліків попереджати інфекції, викликані серцевими червами у собак при місячному лікуванні [36]. АВМ зарекомендували себе як ефективний засіб лікування онхоцерозу (річкової сліпоти) у людини, спричинюваного збудником *Onchocerca volvulus*, що відкрило перспективу повного контролю над хворобою. Незважаючи на надзвичайну комбінацію активності та спектру дії, навіть на представників нематод та зовнішніх паразитів – бліх, вошей, мух, а також стійкість на ліпофільність і потенційність АВМ (властива потенційність 1 нМ для багатьох видів), у практиці засвідчено незрозумілі летальні випадки, а також наявність різних побічних ефектів, як у людей, так і в інших тварин-господарів. Значний економічний внесок і вплив на продуктивність тваринництва, відкриття нових ринків і засобів контролю паразитних інфекцій викликали надзвичайний інтерес до дослідження механізмів дії препаратів і визначення їх мішеней в організмах як безхребетних, так і хребетних тварин. З часом постала проблема виникнення резистентності до АВМ у тварин-

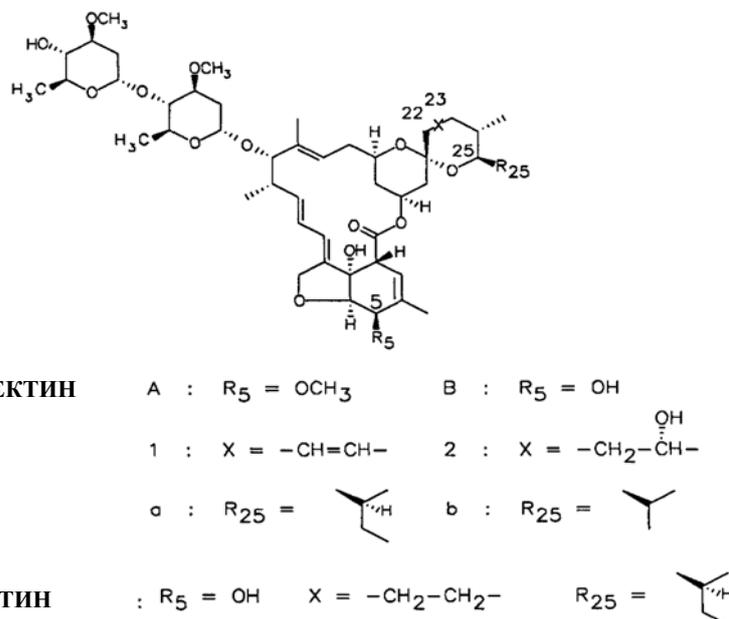


Рис. 1. Структурні особливості авермектинів на прикладі авермектину та івермектину.

мішеней, що зумовило пошуки вирішення цієї проблеми. Отже, виникла проблема виявити всі аспекти дії препаратів на різні організми тварин.

Основні властивості авермектинів. Авермектин (АВМ) – шістнадцятичленний макроциклічний лактон з дисахаридним залишком у С 13 положенні [17]. За хімічною будовою це 5-0-диметил-22,23-дигідроавермектин (A_{1a}) та 5-0-диметил-22,23-дигідроавермектин (A_{1b}). Вони також відомі під назвами 22,23-дигідроавермектин (B_{1a}) і 22,23-дигідроавермектин (B_{1b}), їхні структури показані на рис. 1. У межах родини АВМ виділяють дві групи *A* та *B*, що мають структурні субпопуляції (позначають 1 та 2), кожна з яких складається з гомологів *a* та *b*. Вуглецевий атом *A* групи є метильований у позиції 5, тоді як у компонентів групи *B* містить гідроксильну групу. Складові субпопуляції 1 мають подвійний зв'язок між вуглецевими атомами C_{22} та C_{23} . Ця особливість у конформаційному положенні кільця має значний вплив на функціональність АВМ і визначає зміни біологічної активності [17]. Гомологи груп *A* та *B* відрізняються за різними залишками в положенні вуглецю 25, гомолог *A* має ізопропільне похідне L-валіну, а гомолог *B* – бутильне похідне L-ізолейцину. АВМ типу *B*, зокрема ІВМ, мають більш виражені антипаразитичні властивості, ніж АВМ типу *A*. До складу ІВМ входить понад 80% 22,23-дигідроавермектину B_{1a} та 20% 22,23-дигідроавермектину B_{1b} . ІВМ перший комерційно доступний макролактонний ендектоцид, який застосовують у більш ніж 60 країнах світу [16].

Дослідження АВМ як антипаразитичних препаратів фокусувалося виключно на ефектах викликаних компонентом B_1 і його похідним H_2B_1 (івермектином). Показано, що абамектин (АБМ) та ІВМ є летальними для безхребетних і відносно нетоксичними для ссавців [23, 47, 92]. Однак механізми дії АВМ на організм тварин ще не вивчені остаточно, хоча ІВМ на сьогодні успішно використовується як основні ліки проти онхо-

церозу людини, проти деяких ектопаразитів людини [95]. Дослідженнями *in vitro* показано, що АВМ пригнічують скорочення глоткових м'язів, моторику та плодючість у деяких видів нематод. У *Haemonchus contortus*, найбільш чутливих до дії АВМ, є процес скорочення глоткових м'язів [37, 39]. ІВМ у концентрації $\geq 0,1$ нМ паралізує м'язи глотки дорослої особини *H. contortus*, тоді як для зменшення рухливості, що веде до повного паралічу, необхідна концентрація ≥ 10 нМ. Цікаво, що параліч більше виникає у середній частині тіла черв'яка, а голова та хвостовий відділ при цьому зберігають нормальний рух [37]. АВМ викликають подібні ефекти у зазначених вище концентраціях у личинок *H. contortus* [39] та вільноживучих нематод виду *Caenorhabditis elegans* [8], яких часто використовують як модель дослідження паразитичних червів. У деяких видів, зокрема філярій, найбільш важливою дією препарату є пригнічення процесу розмноження [29], без прямого впливу на уже існуючих потомків. Подібна пригнічуюча дія на плодючість спостерігалась і у видів *H. contortus* та *C. elegans* [42, 58]. Хоча й досі не встановлено, який саме механізм відповідає за реалізацію даного ефекту АВМ *in vivo* у виду *H. contortus* та інших паразитичних нематод, однак припускають, що сам механізм може відрізнятися залежно від виду та стадій розвитку [38].

АВМ здійснює свою антипаразитичну дію через активацію глутамат-чутливих хлорних каналів, а також впливає на рецептори, чутливі до γ -аміномасляної кислоти (ГАМК-чутливі рецептори), наявні у мембранах нейронів безхребетних [24]. У нервових клітинах хребетних відсутні глутамат-чутливі канали, тому мішенню для АВМ є інші мембранні рецептори. Так було встановлено здатність представника групи A_2 зв'язуватись у мозку щурів та інактивувати такі рецептори, як аденозинові (A_1 та A_2), холецистокінінові (ССК_А та ССК_В), адренергічні (α_1 , α_2 , β_1 , β_2), глутамат-чутливі (α -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолепропіонова кислота, МК-801, та кайнатний зв'язуючий центр), дофамінові (D1-5), мускаринові, опіатні (μ -, κ -, та δ -підтипи) та 5-гідрокситриптамінові, а також калієві канали [25].

Взаємодія авермектинів з лігандкерованими каналами різних типів. Дослідження, проведенні протягом останніх років, показали, що АВМ взаємодіють з лігандкерованими хлорними каналами у різних представників паразитів і їх господарів [73]. Існують дані, які підтверджують, що основною мішенню дії АВМ є ГАМК-чутливий рецептор, виявлений у нервово-м'язових контактах нематод, і ефект його блокування проявлявся при високих концентраціях (мкМ) діючої речовини [45].

Експерименти на модельних об'єктах підтверджують припущення, що у терапевтичних дозах ІВМ активує глутамат-чутливі хлорні канали (GluCl) у нервових та м'язових клітин паразитів, що призводить до гіперполяризації мембран і м'язового паралічу [28]. Таким чином, основна дія ІВМ – викликання руйнування харчової активності паразитів, у результаті чого настає голодна смерть. ІВМ-чутливі глутамат-керовані хлорні канали вперше клоновані у *Caenorhabditis elegans* [24]. Виділені два кДНК клони (GluCl α та GluCl β), що були каналами як у гомомерному, так і в гетеромерному стані. В них зв'язуючий центр для ІВМ є в α -субодиниці, а центр зв'язування глутамату складався з β -субодиниці. У каналах, які містять обидві субодиниці, відбувалася пряма активація ІВМ у високих концентраціях, а у низьких – посилення реакції на глутамат. Таким чином, цей макроциклічний лактон має властивості як агоніста, так і алостеричного модулятора глутамат-керованих хлорних каналів. Згодом субодиниці глутамат-керованих каналів були клоновані у формі гомомерних глутамат- та ІВМ-чутливих каналів [28, 92], три гени *C. elegans*, що кодують субодиниці глутаматкерованих хлорних

каналів, відбирали за оцінкою чутливості нематод до ІВМ [15]. До ліганд-керованих каналів, які активуються або модулюються ІВМ, відносять мультиагоніст-керовані хлорселективні канали лангустів [97], ГАМК_A-рецептори нематод [33], курчат [86], мишей [54], шурів [3] і людини [25]; $\alpha 7$ нікотинацетилхолінові рецептори курчат і людини [53], гліцинові рецептори людини [84] та гістамінові рецептори мух [96], а також P₂X₄-чутливі канали шурів [51]. Вищезазначений перелік рецепторів, чутливих до дії ІВМ, може вказувати на оманливу відсутність специфічності його впливу, однак це не зовсім так. Наприклад, P₂X₂, P₂X₃, та P₂X₇ рецепторні канали, які є гомологічні до P₂X₄, не модулюються ІВМ, що свідчить про специфічність, яка визначається певними структурними особливостями будови каналів-мішеней [76].

У роботах Даусона показано (2000), що мішенню дії АВМ у вищих хребетних є ГАМК- та гліцинові рецептори нервових тканин мозку. Встановлено, що [³H]-івермектин ([³H]-ІВМ) зв'язується з певними ділянками мембран мозку шурів, а саме з ГАМК_A-рецепторами [82]. У ряді досліджень показано, що й інші АВМ також мають місця зв'язування на ГАМК-рецепторах [47, 94], тому цим рецепторам і відводять основну роль в опосередкованому гальмуванні у центральній нервовій системі та в антисудомній дії.

Взаємодія АВМ з ГАМК-, глутаматчутливими рецепторами. Проведені у 80-х роках дослідження показали, що ІВМ проявляє токсичну дію на організми нематод та артропод, діючи на нервові сигнали, що передаються через нейротрансмітер γ -аміномасляну кислоту (ГАМК). Вчені Пони (1980) [74] та Кемпбел зі співробітниками (1983) [16] зробили припущення про можливість реалізації ІВМ-специфічної модуляції одним із трьох шляхів: 1) ІВМ діє як ГАМК-агоніст; 2) ІВМ стимулює пресинаптичне виділення ГАМК або 3) підсилює зв'язування ГАМК із відповідним рецептором. У мозку ссавців ІВМ не конкурує за зв'язування з ГАМК, однак він може стимулювати її пресинаптичне виділення [16]. Функціональні відмінності між безхребетними (зокрема, нематодами й артроподами) та ссавцями полягають у тому, що ГАМК-залежна передача нервового імпульсу здійснюється фактично тільки в центральній нервовій системі, тоді як у більшості безхребетних таким чином регулюються всі периферичні функції [16].

Мартін і Пенінгтон (1989) на м'язах аскариди *Ascaris suum* показали (дослідження path clamp), що ІВМ є антагоністом ГАМК-чутливих рецепторів: він характеризується здатністю зменшувати провідність та частоту відкривання одного каналу [63]. У цих же дослідженнях виявлено, що ІВМ активує як ГАМК-нечутливі хлорні канали, так і «шумові» катіонселективні канали, властивості яких залишаються маловивченими [45].

Електрофізіологічні дослідження препаратів глоткових м'язів *C. elegans* та *A. suum* виявили, що АВМ, діючи безпосередньо на глутаматкеровані хлорні канали, пригнічують скорочення м'язів усього тіла [4, 71]. Хоч Браунлі та співробітники (1997) [13] припускають можливу взаємодію АВМ із ГАМК-залежними рецепторами глоткових м'язів *A. suum*. Встановлено, що до складу АВМ-чутливої субодиниці дрозофіл можуть входити як субодиниці глутаматкерованих хлорних каналів, так і з ГАМК-чутливих рецепторів [61]. Нещодавно ідентифіковано АВМ-чутливі гістамінкеровані хлорні канали комах [96]. Мутації в генах, які кодують одну з субодиниць гістамінкерованого хлорного каналу, змінюють чутливість до дії АВМ [49], що підтверджує припущення, що ці канали є мішенню дії препарату *in vivo*. Ймовірно, що різні сполуки, похідні АВМ, не лише відмінні за спорідненістю до ГАМК-рецепторів,

але й за здатністю на них впливати. У попередніх дослідженнях показано, що АВМ діє на рецептори, які складаються тільки з гомомера $\beta 1$ [9], а це, в свою чергу, підтверджує припущення про те, що мінімальною вимогою для місця зв'язування є β -субодинаця, що робить її ключовою субодинацею для спектру активності АВМ. Спостереження показали, що обидві ділянки зв'язування АВМ складаються з двох β -субодинаць ГАМК-рецептора [87].

Дослідження серії аналогів АВМ на $\alpha 1\beta 1\gamma 2$, $\alpha 1\beta 2\gamma 2$, та $\alpha 1\beta 3\gamma 2$ -рекомбінантних ГАМК-рецепторах, експресованих у ооцитах *Xenopus levis*, виявили їх селективність до β -субодинаці, яка, власне, бере участь у підсиленні дії цих препаратів. Виявлено, що рецептори, які містять $\beta 1$ -субодинацю, характеризуються зростанням їхньої активності на 400%, тоді як для $\beta 2$ - чи $\beta 3$ -вмісних рецепторів – 200%. АВМ практично не активує $\beta 3$ -вмісних рецепторів, але підсилює активність $\beta 1$ - та $\beta 2$ -вмісних рецепторів на 200%. АВМ A_2 має найбільш виражену активуючу дію і характеризується відсутністю селективності до β -субодинаць рецепторів. Відносна відсутність селективності стосовно деяких підтипів субодинаць рецептора вказує на те, що АВМ зв'язуються з певною консервативною ділянкою рецептора. Існує можливість реалізації впливу АВМ на ГАМК-рецептори кількома шляхами, зокрема, показано, що антиконвульсійний ефект АВМ має більшу кореляцію з ефективністю дії на ГАМК-рецептори, а токсичні ефекти найбільше корелюють з їх спорідненістю до рецепторів. Низькі концентрації ІВМ (0,1 мкМ) посилюють потік іонів хлору через ГАМК-чутливі рецептори в нейронах гіпокампу, рецепторах експресованих з мРНК мозку курчат, так і в рекомбінантних $\alpha 1\beta 1\gamma 2$, $\alpha 1\beta 2\gamma 2$, та $\alpha 1\beta 3\gamma 2$ ГАМК-чутливих рецепторах [25]. Врешті, у $\alpha 7$ -гомомерному нікотинацетилхоліновому рецепторі 30 мкМ ІВМ збільшує струм, спричинений ацетилхоліном, не здійснюючи при цьому своєї агоністичної дії [53]. Такі ефекти можна пояснити подвійним механізмом їхньої дії: алостерична стимуляція з наступним пригніченням після тривалої дії, а також висока ліпофільність, яка не дає змоги вимивати АВМ з клітин [25].

Подальші дослідження були спрямовані на виявлення ділянок зв'язування АВМ для пояснення подвійного механізму їхньої дії. У роботах Хуанга та співробітників (1997) [47], проведених на модельному об'єкті культури мозочкових гранулярних нейронів щура, з використанням радіоактивно мічених блокаторів і АВМ, виявлено, що існує два різних місця зв'язування для АВМ, – один із високою спорідненістю, інший – з низькою. Крім цього встановлено, що специфічні місця зв'язування для АВМ V_{1a} широко представлені у цілому мозку щура, однак найбільш збагачений ними мозочок, що узгоджується з даними роботи Понга та Ванга (1982) [73]. З використанням [^3H]-етинілбіциклоортобензоату ([^3H]-ЕБОБ) та $^{36}\text{Cl}_2$ -потіку, як індикаторів, проводили оцінку зв'язуючих властивостей [^3H]-АВМ V_{1a} і прямого впливу АВМ V_{1a} на ГАМК-чутливі хлорні канали культури мозочкових нейронів. Аналіз даних виявив два типи місць зв'язування для АВМ та його аналогів. Зв'язування АВМ V_{1a} у високоафінному центрі призводить до активації хлорного каналу. Це, в свою чергу, можна пояснити тим, що зв'язування з [^3H]-ЕБОБ відбувалося за нерівноважних умов при низьких концентраціях, які є більш характерні для високоафінних сайтів, а $^{36}\text{Cl}_2$ -потік посилювався тільки в діапазоні концентрацій 3÷100 нМ, і повністю інгібувався [^3H]-ЕБОБ та 12-кетоендринном, які є неконкурентними блокаторами ГАМК-чутливих хлорних каналів. Тому вважають, що АВМ може діяти як частковий агоніст, однак із меншою активністю. Вперше виявлений у роботі Хуанга низькоафінний сайт зв'язування, який, як було

показано, безпосередньо залежить від сайту зв'язування неконкурентних блокаторів ГАМК-чутливих хлорних каналів. Оскільки виявлено концентраційно залежне зміщення зв'язування [^3H]-ЕБОБ при високому вмісті АВМ, який може блокувати ГАМК-стимульований $^{36}\text{Cl}_2$ -потік так само, як і неконкурентні блокатори, у концентраціях співвідносних для сайтів з низькою спорідненістю. Отже, наявність двох сайтів пояснює подвійний механізм дії АВМ на ГАМК-чутливі хлорні канали, за яким активація каналу відбувається при зв'язуванні з високоафінним центром, тоді як подальше блокування залежить від зв'язування АВМ з низькоафінним центром [47].

Вважають, що існує інший механізм модуляції ІВМ ГАМК-чутливих каналів [89], в основі якого лежить здатність ІВМ впливати на інтерналізацію поверхневих рецепторів мембрани, до яких належать ГАМК рецептори. Показано що існує інший механізм, за яким ІВМ модулює також нікотинацетилхоліновий рецептори [53, 54]. В експериментах Тоулмі [89] продемонстровано, що цей механізм аналогічний до механізму впливу ІВМ на функціональність P_2X_4 -рецепторів, тобто ІВМ може впливати на кількість поверхневих ГАМК_A-чутливих рецепторів, які відновлюються у клатринпокритих ямках при взаємодії з дилейцином чи з іншими сигнальними молекулами, та AP2-білками [44]. Припускають, що зв'язування ІВМ до позаклітинних доменів рецепторкероаних каналів веде до погіршення їхньої основної інтерналізації.

Подальші дослідження виявили, що АВМ V_{1a} блокує передачу імпульсу від вставного нейрона до мотонейрона у черевному ланцюзі, включаючи саму передачу імпульсів між нейроном і м'язовим волокном. Припускають, що мішенню дії АВМ є глутаматкероани хлорні канали мотонейронів, які іннервують соматичні м'язи. Такий ефект отримано і при використанні в дослідіах концентрації АВМ у мікромолярному діапазоні, які є значно вищими від необхідних концентрацій для прояву антипаразитарного ефекту *in vivo* чи *in vitro* [26, 50]. Уперше безпосередню взаємодію АВМ з глутаматкероаними хлорними каналами виявлено у м'язових волокнах комах. Показано, що ІВМ взаємодіє з хлорними каналами, які чутливі до глутамату, але не чутливі до ГАМК [83]. У нематод сайти зв'язування ІВМ, виділені з мембранної фракції *C. elegans*, володіють вищою у 100 разів спорідненістю до препарату, ніж місця зв'язування нервових клітин мозку щурів. Показано, що спорідненість ІВМ та його похідних корелює зі здатністю інгібувати рухливість у *C. elegans*, тобто більша спорідненість має значно сильнішу дію на рухливість організму [82]. Висока спорідненість серії аналогів АВМ до зв'язування була виявлена для фракції мембран, виділеної з *H. contortus* [19]. АВМ-чутливі хлорні струми ооцитів *Xenopus*, після введення мРНК *C. elegans*, виявилися нечутливими до ГАМК, однак були чутливими до глутамату [7]. У наступних дослідженнях клонування кДНК, що кодує АВМ-чутливі субодиниці глутаматкероаних хлорних каналів *C. elegans*, паразитичних нематод та комах [19, 23, 24, 28, 35], дозволило зробити припущення, що ці канали є основною мішенню для дії АВМ.

Специфічність дії АВМ на пуринорецепторні канали. Хах та співробітники (1999) досліджували вплив ІВМ на гомомерні P_2X_2 -, P_2X_3 -, P_2X_4 - та P_2X_7 -чутливі канали, що експресувались в ооцитах *Xenopus levis* [51]. Чимало ліганд-кероаних іонних каналів мають здатність до алостеричної модуляції [18], і така алостерична взаємодія може бути початковою точкою для розробки оптимальних ліків. Більш того, деякі з P_2X -чутливих каналів модулюються катіонами: наприклад, P_2X_1 та P_2X_3 канали модулюються іонами Zn^{2+} , Ca^{2+} та H^+ [22, 52, 93]. Було виявлено, що лише P_2X_4 канали чутливі до ІВМ. Останній підвищує максимальний потік іонів, активований насиченими концент-

раціями АТФ, та одночасно сповільнює швидкість деактивації після відмивання АТФ. Додатково ІВМ підвищує АТФ активацію та послаблює агоністичні властивості α , β -метилен-АТФ. Спроби встановити механізм даного процесу представлені у роботі Прієла та Зільберберга (2004) [76]. Виявлено, що ІВМ є специфічним алостеричним модулятором P_2X_4 каналів, та можливо гетерогенних каналів P_2X_4/P_2X_4 , тоді, як на канали типів P_2X_2 , P_2X_3 , P_2X_2/P_2X_3 , чи P_2X_7 впливу не виявлено, хоча ці канали теж проникні для Ca^{2+} . Високоафінні центри зв'язування ІВМ виявлено на зовнішній поверхні мембран клітин. За наявності в середовищі низьких концентрацій ІВМ збільшується максимальна відповідь на зв'язування АТФ, тоді як високі концентрації препарату збільшують спорідненість рецептора до АТФ. Оскільки канали складаються з трьох субодиниць [67], то можна припустити, що існує три місця зв'язування ІВМ. Причому зв'язування однієї молекули зменшувало би спорідненість до ІВМ (негативна кооперативність), однак приєднання інших (одної чи двох) молекул могло би пояснити стабільність відкритого стану каналу при високих концентраціях ІВМ. При дослідженні молекулярного механізму дії ІВМ встановили, що низькі та високі концентрації макроциклічного лактону мають різний вплив на компоненти каналів, що перебувають у відкритому та закритому стані, що в свою чергу вказує на складну взаємодію ІВМ та каналу і не дає змоги розробити відповідну кінетичну модель цієї взаємодії [76].

Встановлено, що новий механізм полегшення активації даних каналів ІВМ може відбуватися двома шляхами. Відомо, що ІВМ призводить до зростання АТФ-індукованих потоків іонів через P_2X_4 -канали у людини та щурів, а також сповільнює їхню деактивацію при трансфекції мезонефрних клітин людини, ооцитів чи нейронів, однак не в усіх підтипах P_2X каналів. У присутності ІВМ показано, що крива АТФ концентрації-відповіді зміщена вліво, тоді як α, β -метилен-АТФ стає потенційним агоністом P_2X_4 каналів [51, 76]. У дослідженні Прієла та співробітників дію ІВМ описували згідно з механізмом позитивного алостеричного модулятора з двома потенціальними місцями зв'язування на P_2X_4 -каналі: центр із високою спорідненістю, зв'язування з яким підвищує максимальний потік іонів, та центр із низькою спорідненістю, зв'язування з яким, у свою чергу, сповільнює деактивацію і підвищує спорідненість до АТФ [76]. Однак ні наявність таких центрів, ні алостеричний механізм не був очевидно доведений. У дослідженнях, проведених Тоулмі (2006) [89], показано підвищення максимуму потоку іонів активованих АТФ втричі для P_2X_4 каналів дикого типу у щурів та людини за присутності у середовищі інкубації ІВМ, тоді як для мутантних каналів (P_2X_4 Y378A чи P_2X_4 Δ 377) такого підвищення не спостерігали. Сповільнення деактивації ІВМ спостерігалось як у каналів дикого типу, так і у мутантних. Такі результати узгоджуються з даними Прієла про зміни в кінетиці деактивації та підвищеної регуляції ІВМ, що можуть досягатися двома різними механізмами [76], підтверджуючи зв'язок між дією ІВМ та інтерналізацією цих рецепторів [89].

Тоулмі та співробітниками продемонстровано (2006) в експериментах з використанням методу біотинилування з наступним імуноблотингом, що застосування ІВМ призводить до 3–4-разового збільшення числа P_2X_4 каналів дикого типу без зміни загальної кількості рецепторів. З іншого боку, ІВМ не змінює поверхневу експресію рецепторів з дефектами інтерналізації. Більш того, порушення клатрин-залежного ендоцитозу при експресії у домінуючого негативного мутанта Eps 15 чи AP-50 білка попереджало посилення потоку АТФ у P_2X_4 -рецепторах дикого типу. Отже, такі результати демонструють, що збільшення амплітуди потоку, спричинене ІВМ, через P_2X_4 дикого типу є

властиве для щойно вбудованих у плазматичну мембрану рецепторів за механізмом внутрішнього ендцитозу. Виходячи з того, що 1) швидка дія IBM (2 хв) є зворотною без зміни ємності мембрани [51], та 2) P_2X_4 канали мають швидкий робочий цикл у мембрані [12], можна припустити, що IBM зменшує поповнення P_2X_4 рецепторів, через дію на покривання AP2 білком облямованих ямок (без пригнічення утворення ендцитозних везикул), що, у свою чергу, призводить до повторного вбудовування у плазматичну мембрану P_2X_4 -рецепторів з внутрішньоклітинних депо. Згідно з цією інтерпретацією, показано, що при застосуванні IBM P_2X_4 -рецептори не взаємодіють з AP2-комплексом, а це свідчить про те, властивості P_2X_4 -рецепторів, які спостерігаються у присутності IBM, подібні до таких, які є у цих рецепторів за відсутності взаємодії з AP2-комплексом [51]. Отже необхідно провести подальші дослідження, які б підтвердили безпосередню взаємодію рецепторів з IBM, що веде до втрати їхньої взаємодії з AP2-білками. Також невизначеним є внутрішній ефектор, який регулює взаємодію між AP2-білком та P_2X_4 -рецептором при застосуванні IBM. Наявність такої регуляції, в свою чергу, може пояснити нечутливість природних P_2X_4 -каналів *in vivo* [51], і той факт, що IBM широко використовують у медицині проти філяриозів [91].

Гліцинові рецептори як мішень дії макроциклічних лактонів. IBM також може проявляти подвійний ефект на гліцинові рецептори. Низькі концентрації IBM (0,03 мкМ) посилюють відповідь рецептора до напівнасичених концентрацій гліцину, а високі ($> 0,03$ мкМ) – прямо активують хлорний струм через ці рецептори. Переважно IBM-індукований струм через гліцинчутливі канали відрізняється за фармакокінетичними характеристиками від струмів, викликаних самим гліцином. Досліджено, що IBM здатний активувати мутантні гліцинчутливі канали, які внаслідок мутації не чутливі до активації гліцином, що забезпечило очевидність нового механізму дії IBM [84].

Давсон і співробітники (2000) провели ряд досліджень, які ґрунтувались на припущенні, що IBM-індукований струм через гліцинчутливі рецепторні канали є подібний до IBM-індукованих струмів через глутаматкеровані хлорні канали, і що саме ці струми можуть посилювати відповідь на дію агоніста при низьких концентраціях та незворотно активувати рецептор при високій концентрації [25]. Дослідження дії аналогів АВМ на гліцинові рецептори, експресовані з мРНК спинного мозку в ооцити, підтверджує інгібуючу дію IBM. Показано, що спорідненість для представників ряду АВМ до стрихнінзв'язуючих місць спинного мозку щурів перебувала в діапазоні від $I_{50}=156$ нМ (для IBM) до $I_{50}=3$ мМ (для АВМ В₂). Дослідження електрофізіологічних властивостей гліцинових рецепторів кортикальних нейронів за дії різних похідних АВМ виявили, що всі препарати тією чи іншою мірою проявляють інгібуючий ефект на відповідь гліцинового рецептора, викликаючи значне сповільнення вивільнення гліцину з рецептора. Найбільший ефект характерний для АВМ В_{1а}, який на $99,5\pm 0,5\%$ пригнічував відповідь на дію гліцину, та IBM ($97,4\pm 0,8\%$). Механізм інгібування гліцинових рецепторів залежить від тривалості їхньої дії, оскільки перша відповідь, на відміну від наступних, була меншої інтенсивності. Порівнюючи з дією на ГАМК_A-залежні та стрихнінчутливі рецептори, виявлено, що аналоги, які мали значний вплив на функціонування ГАМК-рецепторів, не проявляли сильної дії на гліцинові рецептори, і навпаки [25].

Результати дослідження Шана (2001) не зовсім узгоджуються з даними, отриманими Даусоном на гліцинових рецепторах культури кортикальних нейронів, що можна пояснити залежністю ефектів, які викликає IBM, від субодиночної структури рецептора [84]. Оскільки субодиночну будову рецептора у дослідях Даусона важко визначити,

неможливо вказати на причину такої неузгодженості. Шан вказує, що струм, активований IBM, є подібним до такого, який виникає при його дії на глутаматчутливі рецептори, і що посилення відповіді на дію агоніста відбувається за низьких концентрацій IBM і викликає пряму активацію каналу при високій концентрації. Відмічено, що IBM- та гліцинзв'язуючі центри є різні [84].

АВМ як модулятори катіонселективних каналів

А) Ацетилхолінові рецептори нервових клітин. IBM здатний модулювати активність рецепторів як хлорних каналів, так і кальцієвих каналів, зокрема ацетилхоліновий рецептор, який контролює роботу йонного каналу, селективного до Na^+ , K^+ та частково для Ca^{2+} . Подібні дослідження проводив Краузе зі співробітниками (1998) [53], отримані результати вказували на здатність IBM підсилювати величину ацетилхолінового струму в $\alpha 7$ гомомерних нейронних нікотинацетилхолінових рецепторів у курчат і людей. Дослідження АВМ-чутливих глутаматкерованих хлорних каналів, ідентифікованих і клонуваних у *C. elegans*, виявили значну структурну гомологію з ацетилхоліновими рецепторами [24]. Такі дослідження стали основою для вивчення дії IBM на ацетилхолінові рецептори. Показано, що застосування IBM у мікромолярних концентраціях, з наступною активацією ацетилхоліном, значно збільшувало струм, це можна пояснити підвищенням спорідненості рецептора до ацетилхоліну (приблизно у 20 разів). Подібну чутливість і підвищення ацетилхолінактивованого струму спостерігали у рецепторів, реконструйованих з $\alpha 7$ -субодиниці нікотинацетилхолінового рецептора як людини, так і курей. Жоден з таких ефектів не можна пояснити непрямою активацією кальційзалежних хлорних каналів. Більш того, дослідження щодо дії водорозчинного IBM (IBM-PO_4) вказують на те, що його дія не може бути результатом порушення двошарової ліпідної структури мембран. Найбільш ймовірним механізмом дії IBM є його дія як позитивного алостеричного ефектора нейронного $\alpha 7$ -нікотинацетилхолінового рецептора. Цю гіпотезу підтвердили дослідженнями модифікації фармакологічного профілю з супроводжуючою підсилюючою здатністю IBM. Так, наприклад, 1,1-диметил-4-фенілпепаразин (DMPP), який діє як частковий агоніст $\alpha 7$ -нікотинацетилхолінового рецептора, при попередній обробці IBM, стає повним агоністом, що є характерним для позитивного алостеричного ефектора [72], який стабілізується у відкритому стані. Такий висновок узгоджується з результатами експериментів мутагенезу при модифікації властивостей $\alpha 7$ -нікотинацетилхолінового рецептора [78]. Відмічено також, що вплив IBM відповідає зсуву конформаційної рівноваги у бік переважання активного стану рецептора. Дія такого позитивного алостеричного ефектора, як IBM, повинна супроводжуватися зменшенням константи рівноваги та вести до виникнення вихідного потоку у присутності ацетилхоліну, підвищувати існуючу спорідненість, викликаючи кооперативний ефект у присутності ацетилхоліну. Якщо IBM зменшує константу рівноваги між основним і активним станами, та цей ефект проявляється лише у високих концентраціях агоніста, що потрібно для стабілізації активного стану, і повинен спостерігатися при концентраціях, що стабілізують десенсибілізований провідний стан. Отже, вчені дійшли висновку, що IBM діє як алостеричний ефектор, зв'язуючись зі специфічним сайтом, який є відмінним від Ca^{2+} /чи стероїд-регуляторних сайтів [53]. Хоча можливо, що такий ефект виникає за іншим механізмом – дія IBM на інтерналізацію поверхневих рецепторів мембран, який описано у роботі Тоулмі (2006). Недавно встановлено, що існує тирозинкіназна регуляція густини поверхневих рецепторів, однак механізм цієї регуляції поверхневих нікотинзалежних $\alpha 7$ -ацетилхолінових рецепторів та сигнали їх-

ньої інтерналізації залишаються невизначеними [20]. Проведені дослідження показують зростання експресії нікотинзалежних $\alpha 7$ -ацетилхолінових рецепторів у домінантно негативного мутанта Eps15 чи AP-50, а це є першою ознакою клатрин-залежного шляху інтерналізації нікотин-залежних $\alpha 7$ -ацетилхолінових рецепторів [89] та остаточних доказів, які б підтвердили остаточно один із можливих механізмів, не виявлено.

Б) Ріанодинчутливі кальцієві канали (Ryр-канали). Ryр-канали, які представлені у саркоплазматичній мембрані скелетних (СПР) м'язів, також можуть бути місцем дії макроциклічних лактонів, як було показано у працях Ахена та співробітників (1999) [5]. Ryр-канали регулюються рапаміцином або макролідом FK506, що здатний зв'язуватися з білком FKBP12 молекулярною масою 12 кДа. Оскільки рапаміцин може активувати Ryр-канали навіть за відсутності FKBP12, дослідники зробили припущення, що компоненти з макроциклічною структурою кільця можуть безпосередньо активувати ці канали. Перевіряючи це припущення, встановили, що наявність IBM зворотно підвищувала провідність поодиноких каналів. Крім того, IBM підвищував частоту і тривалість відкриття Ryр-каналів як у нативній формі, так і без FKBP12, що, в свою чергу, збільшувало ймовірність відкриття каналу та зростання величини струму. Встановлено, що механізм активації цих каналів макроциклічними лактонами є незалежним від наявності білка FKBP12, також IBM не спричиняє виділення FKBP12 з термінальних цистерн СПР. Цікаво, що IBM зумовлював концентраційно-залежне зменшення закачування Ca^{2+} у СПР за дії Ca^{2+} -АТФ-ази, що свідчить про інгібування АТФ-ази [5]. Хоч у дослідженнях на безхребетних IBM, діючи на мішені, проявляє свою дію вже у нано- та пікомолярних концентраціях, однак таких концентрацій замало для виснаження кальцієвих запасів у менш чутливих Ryр-каналів безхребетних, ніж у аналогів хребетних. Токсичні ефекти передозування IBM були відзначені у мишей, щурів, собак, котів і овець; ці ефекти включали мідріаз (розширення зіниці, м'язовий тремор, атаксія та слабкість) [60], випадки гіпертермії у собак [46]. Відомо, що злаякісна гіпертермія у свиней і людини виникає в результаті мутації Ryр-рецепторів, що призводить до підвищеного витoku Ca^{2+} з СПР [68]. Вважають, що такі побічні ефекти можуть бути результатом дії препарату на скелетні Ryр-канали та Ca^{2+} -помпу СПР, що викликає виснаження запасів кальцію та підвищення йонів кальцію у міоплазмі. Змінами витoku та поглинання Ca^{2+} можна пояснити як позитивні, так і негативні сторони дії інших макролактонних препаратів. Наприклад, макролідний імуносупресант FK506 здатний викликати нефро- та нейротоксикози, які не залежать від здатності FK506 утворювати комплекс з FKBP12, який інгібує кальцинейрин. Більш того, нещодавно встановлено, що FK506 та інші імуносупресанти макролідної будови сприяють росту нейронових відростків у культурі клітин і регенерації нервових волокон у моделях зі зруйнованими нервами [40, 88]. Окрім того, макролідні антибіотики мають протективну дію проти глутаматної екзотоксичності, така протекція є структурно залежною, і чим більше кілець у їх структурі, тим більші захисні властивості макроліда [62]. Молекулярні механізми такої дії на нервову клітину добре не з'ясовані, але, можливо, вони частково опосередковані через зміни транспорту Ca^{2+} через ендоплазматичний ретикулум (ЕПР), подібно як у СПР.

Вплив IBM на АТФ-ази Р-типу. На прикладі SH-SY5Y клітин і на клітинній лінії людської нейробластоми показано, що макроциклічні лактони здатні інгібувати АТФ-залежний Ca^{2+} -потік у клітину [14]. Окрім того відмічено, що IBM інгібує перенесення йонів кальцію через мембрани СПР у скелетних м'язах, а також посилює вивільнення кальцію через Ryр-канали, а не через інозитолтрифосфатчутливі рецептори [5].

Встановлено, що коефіцієнт напівінгібування I_{50} IBM для Ca^{2+} -залежної АТФ-азної активності скелетних м'язів становив $14,9 \pm 0,35$ мкМ, а у високих концентраціях IBM (50 мкМ) інгібував активність на 90%. Для Ca^{2+} -АТФ-ази мікросомальної фракції мозку максимальне інгібування становило 60% при концентрації IBM 30 мкМ, вищі концентрації викликали лише незначні зміни. IBM є також інгібітором SERCA-2b мікросомальної фракції мозку, що може вказувати на ізоформну специфічність дії препарату. IBM, циклоспорин А та рапаміцин є інгібіторами м'язової Ca^{2+} -АТФ-ази СПР, однак це характерно лише для протестованого макроциклічного лактону – IBM. Припускають, що причинами таких відмінних ефектів, викликаних циклоспорином та IBM, є ліпофільна структура препаратів, а також відмінності у ліпідному оточенні Ca^{2+} -АТФ-аз у різних мембранних препаратах [11].

Механізм інгібування IBM SERCA1 Ca^{2+} -помпи досліджений детально. Вихідним положенням була його здатність стабілізувати Ca^{2+} -АТФ-азу у E_1 -конформації, без впливу здатність АТФ-ази зв'язувати йони кальцію. Показано, що IBM не впливає на АТФ-зв'язуючий каталітичний центр [11]. Цікаво, що за відсутності у середовищі йонів кальцію у присутності препарату рівновага фосфорилування фосфором P^{32} була значно зменшена, що свідчить про те, що, зв'язуючись з АТФ-азою у конформації E_1 , препарат веде до зменшення кількості E_2 -форми, що здатна зв'язувати P_i . Ферментативна активність АТФ-ази при різних концентраціях субстрату, як показано, досить точно описується двофазним рівнянням Міхаеліс-Ментен, яке теоретично передбачає наявність двох АТФ-зв'язуючих центрів [21]. Для біологічного обґрунтування такої поведінки АТФ-ази було запропоновано два пояснення 1) наявність у ферменті двох різних центрів зв'язування АТФ з різною спорідненістю до АТФ або 2) наявність одного центру, що здатний змінювати спорідненість до АТФ при фосфорилуванні, що почергово змінюється при обороті ферменту [41]. Дослідження ультраструктури з роздільною здатністю до 2,6 Å, показали що є лише один зв'язуючий центр АТФ, та підтвердили другу гіпотезу [90].

У дослідях з флуорисейн-5'-ізотіоціанату (FITC) та тринітрофенол аденозиндифосфату (TNP-ADP) показано, що місце зв'язування IBM є віддаленим від каталітичного центру. Припускають, що IBM у високих концентраціях пригнічує стимулюючу дію АТФ, оскільки він може частково зворотно діяти на підвищення концентрації АТФ. Стимулюючий вплив АТФ у високих концентраціях на Ca^{2+} -АТФ-азу є залежним від рН, наприклад, при рН=6,0 ефект значно зменшується [65]. IBM ($I_{50}=1-2$ мкМ) інгібує активність АТФ-ази при рН=6,0, але це зменшує активність лише на 60–65%, після чого подальше збільшення концентрації вище 10 мкМ не збільшувало інгібування Ca^{2+} -АТФ-ази. Отже, у низьких концентраціях IBM специфічно змінює процеси, які активуються високими концентраціями АТФ, без впливу на каталітичний цикл [11].

Відомо, що АТФ-залежне фосфорилування Ca^{2+} -АТФ-ази ($E_1\sim\text{ATP}\sim\text{Ca}^{2+}\rightarrow E\sim\text{P}\sim\text{Ca}^{2+}$) також дуже швидкий процес [66]. Той факт, що IBM зв'язується з E_1 -конформацією Ca^{2+} -АТФ-ази, пригнічуючи її у кальційзв'язаній формі та не впливаючи при цьому на зв'язування АТФ у каталітичному центрі, може свідчити про те, що активність ферменту пригнічується у формі або $E_1\sim\text{ATP}\sim\text{Ca}^{2+}$, або у $E\sim\text{P}\sim\text{Ca}^{2+}$. Більман і співробітники (2002) припускають, що IBM пригнічує активність Ca^{2+} -АТФ-ази, сповільнюючи вивільнення кальцію з ферменту у цитоплазму клітини (перехід $E\sim\text{P}\sim\text{Ca}^{2+}\rightarrow E_2\sim\text{P}$), і тому зменшує ефект пришвидшення цього процесу високими концентраціями АТФ [11]. У вищих концентраціях IBM інгібує цей етап навіть і при низь-

ких концентраціях АТФ. Цікаво, що подібний тип інгібування Ca^{2+} -АТФ-ази запропонований для сперміну [48]. Отже, ІВМ проявив себе як найбільш ефективний інгібітор родини Ca^{2+} -АТФ-аз СРР, особливо SERCA1. Зниження активності Ca^{2+} -АТФ-ази може визначати різні побічні ефекти, викликані макроциклічними лактонами, зокрема, негативний вплив ІВМ на м'язову активність тварин при високих дозах лікування паразитичних інвазій [60].

Ряд клінічних випадків вказує на те, що ІВМ може діяти й на інші ферментативні системи мембранного транспорту, наприклад, у тварин на активність Na^+ , K^+ - та Mg^{2+} -АТФ-аз [85]. Показано, що значення питомої активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази нематод значно знижувалися при зростанні концентрації ІВМ у середовищі інкубації як у самок, так і у самців. Тоді як активність Mg^{2+} -АТФ-ази незначно знижувалася у пробі зі змішаними мембранними білками самок і самців. Зниження активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази спостерігали у діапазоні концентрацій 0–100 нг/мл, при концентрації 40 нг/мл активність достовірно знижувалася у два рази, а при концентрації 100 нг/мл – зниження становило 94,87%. Нещодавні дослідження на зародках в'юнів показали, що ІВМ інгібує Na^+ , K^+ -АТФ-азну активність плазматичних мембран зародків [1], а це, у свою чергу, може бути одним із механізмів ембріотоксичності та личинкового токсикозу на ранніх етапах розвитку, виявленого при наявності ІВМ у середовищі у діапазоні концентрацій (0,01–1 мг/л) [2]. Ці результати вказують на існування взаємозв'язку між лікарськими речовинами та мембранними АТФ-азами, однак молекулярний механізм дії перших досі не з'ясовано.

Взаємодія з Р-глікопротеїдами гематоенцефалічного бар'єру у вищих хребетних. Оскільки мозок дорослих ссавців захищений гематоенцефалічним бар'єром, доступ ІВМ до ГАМК-опосередкованої нервової передачі імпульсів у цю тканину є ймовірно обмеженим [6]. Припускають, що гематоенцефалічний бар'єр у деяких тварин (зокрема у колі) більш проникний для ІВМ, ніж у інших видів тварин [77]. У дослідженнях впливу ІВМ на репродуктивність і неонатальний розвиток у щурів було встановлено, що дози препаратів на рівні 400 мкг/кг на день були токсичні для щурів віком до 10 днів [57]. Причиною цього є, можливо, формування гематоенцефалічного бар'єра у щурів, яке завершується після народження, тоді як у інших ссавців, зокрема в людини та великої рогатої худоби формування цього бар'єра здійснюється до народження. Показано, що високі дози преорального застосування ІВМ у собак (e.g., 2 мг/кг) викликають мідріазис, атаксію, тремор, депресію, нудоту та ступор [69, 79]. Клінічні прояви токсикозу були відмічені у коней, великої рогатої худоби, свиней при застосуванні лікарських речовин у дозах 2, 4, та 30 мг/кг відповідно. ЛД₅₀ при оральному введенні для макаки резус, мишей, щурів і собак становила 24, 25, 50, 80 та 24 мг/кг відповідно, хоч отруєння ІВМ має добре виражені клінічні ознаки, але природа їх виникнення остаточно не з'ясована [27]. Показано, що різні побічні ефекти лікування ІВМ у центральній нервовій системі спричинені відсутністю або функціональними дефектами у Р-глікопротеїдах [55]. Зі зростанням чутливості у молодих щурів, які мають погано розвинений гематоенцефалічний бар'єр (у розумінні наявності дефектів Р-глікопротеїдів), показано вищі концентрації лактонів у плазмі мозку, ніж у дорослих щурів [31]. Вперше показано підвищену чутливість на генному рівні до ІВМ-індукованого нейротоксикозу у популяції собак породи колі [70]. Для спричинення токсикозу було достатньо дози препарату у 200 разів меншої, ніж для інших порід собак. У чутливих до ІВМ собак виявлено делеційну мутацію у гені *mdr1*, в результаті якої виникають кілька кодонів, які передчасно детермінують синтез Р-глікопротеїнів [64].

Серед факторів, які контролюють розподіл макроциклічних лактонів у клітинах, ліпофільність є основним фактором у модуляції рівня обміну між тканинами та кровообігом [10]. Р-глікопротеїни є АВС-транспортерами, які відіграють велику роль у транспорті ІВМ [75] та його локалізації у тканинах організму. Більшість лактонів локалізується в гематоенцефалічному бар'єрі, тому Р-глікопротеїни захищають ссавців від проникнення ІВМ у тканини мозку та нейротоксикозу, що супроводжує процес проникнення [55, 80]. Наявність Р-глікопротеїнів на поверхні кишкового епітелію та жовчних протоків зумовлює високу елімінацію макроциклічних лактонів з фекаліями [56], модуляцію біодоступності ІВМ та модексину (МОХ) у клітинах та в цілому організмі [30, 55]. Однак надвисока експресія генів даних білків у паразитів веде до розвитку резистентності до препаратів на основі макроциклічних лактонів [81]. У роботі Леспрін і співробітників (2006) було проведено дослідження спрямовані на виявлення структурних взаємодій між Р-глікопротеїном та різними АВМ, наприклад, ІВМ, епріномектин (ЕПМ), АБМ, дорамектин (ДОР) та селамектин (СЕЛ) [59]. Використовуючи подвійний підхід, досліджено вплив АВМ на транспортні функції та АТФ-азну активність Р-глікопротеїнів у модельних культурах з надвисокою експресією мишачих генів та у системі мембранних везикул з різним навантаженням. Показано, що, окрім ІВМ, інші структурно спорідненні сполуки також взаємодіють з Р-глікопротеїнами. Також встановлено, що на спорідненість до Р-глікопротеїнів впливає хімічна будова цих сполук. Підтверджено, що ІВМ є сильним інгібітором потоку Rho123, опосередкованого Р-глікопротеїнами. Подібну дію на Р-глікопротеїни відмічено і для циклоспорину А [32], тоді як інші сполуки родини АВМ володіють здатністю інгібувати транспортну функцію Р-глікопротеїнів. Лише МОХ вирізняється здатністю викликати акумуляцію Rho123 та низькою потенційністю, потребуючи у 10 разів вищих концентрацій для досягнення половини максимального впливу порівняно з іншими сполуками.

Вперше показано, що всі з дослідних сполук проявляють пригнічення базальної АТФ-азної активності Р-глікопротеїнів, з відповідними коефіцієнтами на рівні від 0,2 до 2 мкМ, лише МОХ потребує $I_{50}=10$ мкМ. Стверджують [59], що відповідно до енергетичного спряження між АТФ-гідролізом і транспортною функцією, яка здійснюється Р-глікопротеїном, встановлено, що ІВМ належить до субстратів Р-глікопротеїнів, які повільно транспортуються [43, 75]. Додатково виявлено, що він інгібує АТФ-азну активність, індуковану верапамілом, який є основним активатором Р-глікопротеїдної АТФ-азної активності. Показано, що ЕПМ, АБА та МОХ здатні конкурувати з верапамілом у стимулюванні так само ефективно, як і ІВМ. Комерційний варіант ІВМ – Івомек, володіє також здатністю впливати на базальну та верапамілативовану АТФ-азну активність. МОХ також конкурує з верапамілом, але у більшій концентрації, яка необхідна для досягнення 50% ефекту. МОХ як представник мілбецинів відрізняється відсутністю дисахаридного залишку в C_{13} положенні, що проявляється у характері його дії. Для МОХ, порівняно з іншими дисахаридвмісними АВМ, необхідна в 10 разів вища концентрація, щоб досягнути 50% ефекту при дії як на транспортну функцію, так і на АТФ-азну активність Р-глікопротеїнів. СЕЛ вирізняється проміжною будовою і відповідно займає проміжне положення при взаємодії з Р-глікопротеїнами. Вважають, що наявність дисахаридного залишку визначає рівень спорідненості до Р-глікопротеїнів, оскільки такий залишок впливає на рівень гідрофобності молекули. Гідрофобні частини молекули визначають розміщення лактонів у ліпідному бішарі та є

першим кроком для взаємодії субстрату з Р-глікопротеїдом. Зворотний зв'язок між рівнем гідрофобності та параметрами взаємодії з Р-глікопротеїнами показали очевидну пряму дію ліків, а не через опосередковану взаємодію макроциклічних лактонів з мембраною. На основі різного рівня конкурування ДОР і СЕЛ з верапамілом у зв'язаному стані з молекулою Р-глікопротеїну припустили, що друга дисахаридна одиниця має важливе значення у взаємодії власне з Р-глікопротеїном. Глутамат- та ГАМК-агоністична активність АВМ є основним механізмом, який веде до паралічу та загибелі паразитів. ГАМК-подібна дія також є одним із механізмів нейротоксикозів, які виникають у ссавців. ІВМ та МОХ незворотно зв'язуються та мають високу спорідненість до субодиниці глутаматчутливих хлорних каналів ($K_d=0,11$ та $0,18$ нМ відповідно) [35]. При значно вищих концентраціях АВМ є ГАМК-антагоністами. Співвідносність K_d у дії на глутамат-чутливі субодиниці вказує на те, що цукровий залишок не відіграє значної ролі у силі їхньої взаємодії з цим типом рецепторів. Дана відмінність відносно Р-глікопротеїнових рецепторів може бути використана як основа для селективності між двома мішенями, для подальшої розробки оптимізованої стратегії зміни стійкості до ліків, змінюючи спорідненість до Р-глікопротеїнів з метою запобігання нейротоксичних побічних ефектів шляхом зменшення спорідненості до ГАМК-рецепторів. Крім цього є дані, які підтверджують припущення, що АВМ з дисахаридним залишком є кращими кандидатами на зміну резистентності до ліків, ніж МОХ та СЕЛ, однак необхідно враховувати рівень їх нейротоксичності для мозку.

Отже, АВМ – це лікарські речовини, які володіють широким спектром дії на різні мембранні структури. Дослідження показали, що існує ряд мішеней для дії АВМ, однак немає чітко встановлених молекулярних механізмів. Показано, що важливу роль у реалізації впливу препаратів можуть відігравати іонтранспортні системи клітин, однак молекулярні механізми якого не встановлені, що викликає подальший науковий інтерес до дослідження цих речовин і є важливим для отримання повної картини їх взаємодії з клітинами-мішенями різних організмів-господарів.

1. Мандзинець С. М., Целевич М. В., Янович Д. В., Санагурський Д. І. Зміна ферментативної активності Na^+ , K^+ -помпи зародків риб за умов впливу івермектину // Біологія тварин. 2007. Т. 9. № 1–2. С. 217–221.
2. Мандзинець С. М., Целевич М. В., Санагурський Д. І. та ін. Зміни морфологічного розвитку зародків та личинок в'юна *Misgurnus fossilis* L. за умов впливу івермектину // Наук. вісн. ЛНА вет. мед. ім. С.З. Гжицького. 2006. Т. 8. № 2 (29). С. 91–95.
3. Adelsberger H., Lepier A., Dudel J. Activation of rat recombinant $\alpha_1\beta_2\gamma_2s$ GABA_A receptor by the insecticide ivermectin // Eur. J. Pharmacol. 2000. Vol. 394. P. 163–170.
4. Adelsberger H., Scheur T., Dudel J. A patch clamp study of a glutamate chloride channel on pharyngeal muscle of the nematode *Ascaris suum* // Neurosci. Lett. 1997. Vol. 230. P. 183–186.
5. Ahern G. P., Junankar P. R., Pace S. M. et al. Effects of ivermectin and midcamycin on ryanodine receptors and the Ca^{2+} -ATPase in sarcoplasmic reticulum of rabbit and rat skeletal muscle // J. Physiol. 1999. Vol. 514 (2). P. 313–326.
6. Anderson R. R. The use of ivermectin in the horse-research and clinical observations // Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 1984. Vol. 6. P. 516.

7. *Arena J. P., Liu K. K., Paress P. S.* et al. Expression of a glutamate-activated chloride current in *Xenopus* oocytes injected with *Caenorhabditis elegans* RNA: evidence for modulation by avermectin // *Mol. Brain Res.* 1992. Vol. 15. P. 339–348.
8. *Arena J. P., Liu K. K., Paress P. S.* et al. The mechanism of action of avermectins in *Caenorhabditis elegans* – correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane-binding and biological activity // *J. Parasitol.* 1995. Vol. 81. P. 286–294.
9. *Arena J. P., Whiting P. J., Liu K. K.* et al. Avermectins potentiate GABA-sensitive currents in *Xenopus* oocytes expressing cloned GABA_A receptors // *Biophys. J.* 1993. Vol. 64. P. 325.
10. *Bassissi M. F., Alvinerie M., Lespine A.* Macrocyclic lactones: distribution in plasma lipoproteins of several animal species including humans // *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 2004. Vol. 138. P. 437–444.
11. *Bilmen J. G., Wootton L. L., Michelangeli F.* The inhibition of the sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase by macrocyclic lactones and cyclosporin A // *Biochem. J.* 2002. Vol. 366 (1). P. 255–263.
12. *Bobanovic L. K., Royle S. J., Murrell-Lagnado R. D.* P2X receptor trafficking in neurons is subunit specific // *J. Neurosci.* 2002. Vol. 22. P. 4814–4824.
13. *Brownlee D. A., Holden-Dye L., Walker R. J.* Actions of the anthelmintic ivermectin on the pharyngeal muscle of the parasitic nematode *Ascaris suum* // *Parasitology.* 1997. Vol. 115. P. 553–561.
14. *Bultynck G., De Smet P., Weidema A. F.* et al. Effects of the immunosuppressant FK506 on intracellular Ca²⁺ release and Ca²⁺ accumulation mechanisms // *J. Physiol.* 2000. Vol. 525 (3). P. 681–693.
15. *Burkhardt C. N.* Ivermectin: an assessment of its pharmacology, microbiology and safety // *Vet. Hum. Toxicol.* 2000. Vol. 42. P. 30–35.
16. *Campbell W. C., Fisher M. H., Stapley E. O.* et al. Ivermectin: A potent new antiparasitic agent // *Science (Washington, DC).* 1983. Vol. 221 (4613). P. 823–828.
17. *Chabala J. C., Mrozik H., Tolman R. L.* Ivermectin, a new broad-spectrum antiparasitic agent // *J. Med. Chem.* 1980. Vol. 23. P. 1934–1136.
18. *Changeux J. P., Edelstein S. J.* Allosteric receptors after 30 years // *Neuron.* 1998. Vol. 21. P. 959–980.
19. *Cheeseman C. L., Delany N. S., Woods D.* et al. High-affinity ivermectin binding to recombinant subunits of the *Haemonchus contortus* glutamate-gated chloride channel // *Mol. Biochem. Parasitol.* 2001. Vol. 114. P. 161–168.
20. *Cho C. H., Song W., Leitzell K.* et al. Rapid up-regulation of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors by tyrosine dephosphorylation // *J. Neurosci.* 2005. Vol. 25. P. 3712–3723.
21. *Coll R. J., Murphy A. J.* Kinetic evidence for two nucleotide binding sites on the CaATPase of sarcoplasmic reticulum // *Biochem.* 1991 Vol. 30. P. 1456–1461.
22. *Cook S. P., Rodland K. D., McCleskey E. W.* A memory for extracellular Ca²⁺ by speeding recovery of P2X receptors from desensitization // *J. Neurosci.* 1998. Vol. 18. P. 9238–9244.
23. *Cully D. F., Paress P. S., Liu K. K.* et al. Identification of a *Drosophila melanogaster* glutamate gated chloride channel sensitive to the antiparasite agent avermectin // *J. Biol. Chem.* 1996. Vol. 271. P. 20187–20191.

24. Cully D. F., Vassilatis D. K., Liu K. K. et al. Cloning of an avermectin-sensitive glutamate-gated chloride channel from *Caenorhabditis elegans* // *Nature*. 1994. Vol. 371. P. 707–711.
25. Dawson G. R., Wafford K. A., Smith A. et al. Anticonvulsant and adverse effects of avermectin analogs in mice are mediated through the γ -aminobutyric acid_A receptor // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2000. Vol. 295. N 3. P. 1051–1060.
26. Delany N. S., Laughton D. L., Wolstenholme A. J. Cloning and localisation of an avermectin receptor-related subunit from *Haemonchus contortus* // *Mol. Biochem. Parasitol.* 1998. Vol. 97. N 1–2. P. 177–87.
27. DeMarco J. H., Heard D. J., Fleming G. J. et al. Ivermectin Toxicosis After Topical Administration Dog-Faced Fruit Bats (*Cynopterus Brachyotis*) // *J. Zoo Wildlife Med.* 2002. Vol. 33 (2). P. 147–150.
28. Dent J. A., Davis M. W., Avery L. Avr-15 encodes a chloride channel subunit that mediates inhibitory glutamatergic neurotransmission and ivermectin sensitivity in *Caenorhabditis elegans* // *EMBO J.* 1997. Vol. 16. P. 5867–5879.
29. Duke B. O. L., Zeaflores G., Munoz B. The embryogenesis of *Onchocerca volvulus* over the 1st year after a single dose of ivermectin // *Trop. Med. Parasitol.* 1991. Vol. 42. P. 175–180.
30. Dupuy J., Larrieu G., Sutra J. F. et al. Enhancement of moxidectin bioavailability in lamb by a natural flavonoid: quercetin // *Vet. Parasitol.* 2003. Vol. 112. P. 337–347.
31. Edwards G. Ivermectin: does P-glycoprotein play a role in neurotoxicity? // *J. Filaria.* 2003. Vol. 2. Suppl 1: S8.
32. Eneroth A., Astrom E., Hoogstraate J. et al. Evaluation of a vincristine resistant Caco-2 cell line for use in a calcein AM extrusion screening assay for P-glycoprotein interaction // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2001. Vol. 12. P. 205–214.
33. Feng X. P., Hayashi J., Beech R. N. et al. Study of the nematode putative GABA type-A receptor subunits: evidence for modulation by ivermectin // *J. Neurochem.* 2002. Vol. 83. P. 870–878.
34. Fisher M. H. Recent advances in avermectin research // *Pure App. Chern.* 1990. Vol. 62. N 7. P. 1231–1240.
35. Forrester S. G., Prichard R. K., Beech R. N. A glutamate-gated chloride channel subunit from *Haemonchus contortus*: expression in a mammalian cell line, ligand binding, and modulation of anthelmintic binding by glutamate // *Biochem. Pharmacol.* 2002. Vol. 63. P. 1061–1068.
36. Geary T. G. Ivermectin 20 years on: maturation of a wonder drug // *Trends in Parasitology.* 2005. Vol. 21. N 11. P. 530–532.
37. Geary T. G., Sims S. M., Thomas E. M. et al. *Haemonchus contortus*: ivermectin-induced paralysis of the pharynx // *Exp. Parasitol.* 1993. Vol. 77. P. 88–96.
38. Gill J. H., Lacey E. Avermectin/milbemycin resistance in trichostrongyloid nematodes // *Int. J. Parasitol.* 1998. Vol. 28. P. 863–878.
39. Gill J. H., Redwin J. M., Van Wyk J. A. et al. Avermectin inhibition of larval development in *Haemonchus contortus* – effects of ivermectin resistance // *Int. J. Parasitol.* 1995. Vol. 25. P. 463–470.
40. Gold B. G., Zeleny-Pooley M., Wang M. S. et al. A nonimmunosuppressant FKBP-12 ligand increases nerve regeneration // *Exp. Neurology.* 1997. 147. P. 269–278.

41. Gould G. W., East J. M., Froud R. J. et al. A kinetic model for the Ca^{2+} Mg^{2+} -activated ATPase of sarcoplasmic reticulum // *Biochem. J.* 1986. Vol. 237. P. 217–227.
42. Grant W. What is the real target for ivermectin resistance selection in *Onchocerca volvulus*? // *Parasitol. Today.* 2000. Vol. 16. P. 458–459.
43. Griffin J., Fletcher N., Clemence R. et al. Selamectin is a potent substrate and inhibitor of human and canine P-glycoprotein // *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2005. Vol. 28. P. 257–265.
44. Herring D., Huang R., Singh M. et al. Constitutive GABAA receptor endocytosis is dynamin-mediated and dependent on a dileucine AP2 adaptin-binding motif within the $\beta 2$ subunit of the receptor // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. P. 24046–24052.
45. Holden-Dye L., Walker R. J. Avermectin and avermectin derivatives are antagonists at the 4-aminobutyric acid (GABA) receptor on the somatic muscle cells of *Ascaris*—is this the site of anthelmintic action? // *Parasitology.* 1990. Vol. 101. P. 265–271.
46. Hopkins K. D., Marcella K. L., Strecker A. E. Ivermectin toxicosis in a dog // *Am. Vet. Med. Assoc. J.* 1990. Vol. 197. P. 93–94.
47. Huang J., Casida J. E. Avermectin B1a Binds to High- and Low-Affinity Sites with Dual Effects on the g -Aminobutyric Acid-Gated Chloride Channel of Cultured Cerebellar Granule Neurons // *J. Pharmac. Exp. Therap.* 1997. Vol. 281. N 1. P. 261–266.
48. Hughes G., Starling A. P., East J. M. et al. Mechanism of inhibition of the $\text{Ca}^{(2+)}$ -ATPase by spermine and other polycationic compounds // *Biochemistry.* 1994. Vol. 33. P. 4745–4754.
49. Iovchev M. I., Kodrov P., Wolstenholme A. J. et al. Altered drug resistance and recovery from paralysis in *Drosophila melanogaster* with a deficient histamine-gated chloride channel // *J. Neurogenet.* Vol. 2002. 16. P. 249–261.
50. Kass I. S., Stretton A. O. W., Wang C. C. The effects of avermectin and drugs related to acetylcholine and 4-aminobutyric acid on neurotransmitters in *Ascaris suum* // *Mol. Biochem. Parasitol.* 1984. Vol. 13. P. 213–225.
51. Khakh, B. S., Proctor W. R., Dunwiddie T. V. et al. Allosteric control of gating and kinetics at P_2X_4 receptor channels // *J. Neurosci.* 1999. Vol. 19. P. 7289–7299.
52. King B. F., Wildman S. S., Ziganshina L. E. et al. Effects of extracellular pH on agonism and antagonism at a recombinant P_2X_2 receptor // *Br. J. Pharmacol.* 1997. Vol. 121. P. 1445–1453.
53. Krause R. M., Buisson B., Bertrand S. et al. Ivermectin: a positive allosteric effector of the $\alpha 7$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor // *Mol. Pharmacol.* 1998. Vol. 53. P. 283–294.
54. Krusek J., Zemková H. Effect of ivermectin on γ -aminobutyric acid-induced chloride currents in mouse hippocampal embryonic neurons // *Eur. J. Pharmacol.* 1994. Vol. 259. P. 121–128.
55. Kwei G. Y., Alvaro R. F., Chen Q. et al. Disposition of ivermectin and cyclosporin A in CF-1 mice deficient in MDR1A p-glycoprotein // *Drug Metab. Dispos.* 1999. Vol. 27. P. 581–587.
56. Laffont C. M., Toutain P. L., Alvinerie M. et al. Intestinal secretion is a major route for parent ivermectin elimination in the rat // *Drug Metab. Dispos.* 2002. Vol. 30. P. 626–630.
57. Lankas G. R., Minsker D. H., Robertson R. T. Effects of ivermectin on reproduction and neonatal toxicity in rats // *Food Chem. Toxicol.* 1989. Vol. 27. N 8. P. 523–529.

58. *Le Jambre L. F., Gill J. H., Lenane I. J.* et al. Characterisation of an avermectin resistant strain of Australian *Haemonchus contortus* // *Int. J. Parasitol.* 1995. Vol. 25. P. 691–698.
59. *Lespine A., Dupuy J., Orłowski S.* et al. Interaction of ivermectin with multidrug resistance proteins (MRP1, 2 and 3) // *Chem. Biol. Interact.* 2006. Vol. 159. P. 169–179.
60. *Lovell R. A.* Ivermectin and piperazine toxicoses in dogs and cats // *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.* 1990. Vol. 20. P. 453–468.
61. *Ludmerer S. W., Warren V. A., Williams B. S.* et al. Ivermectin and nodulosporic acid receptors in *Drosophila melanogaster* contain both g-aminobutyric acid-gated Rdl and glutamate-gated GluCl α chloride channel subunits // *Biochemistry.* 2002. Vol. 41. P. 6548–6560.
62. *Manev H., Favaron M., Candeo P.* et al. Macrolide antibiotics protect neurons in culture against the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor-mediated toxicity of glutamate // *Brain Res.* 1993. Vol. 624. P. 331–335.
63. *Martin R. J., Pennington A. J.* A patch clamp study of effects of dihydroavermectin on *Ascaris muscle* // *Br. J. Pharmacol.* 1989. Vol. 98. P. 747–756.
64. *Mealey K. L., Bentjen S. A., Gay J. M.* et al. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *mdr1* gene // *Pharmacogenetics.* 2001. Vol. 11. P. 727–733.
65. *Michelangeli F., Colyer J., East J. M.* et al. Effect of pH on the activity of the Ca²⁺ Mg²⁺-activated ATPase of sarcoplasmic reticulum // *Biochem. J.* 1990. Vol. 267. P. 423–429.
66. *Myung J., Jencks W. P.* There is only one phosphoenzyme intermediate with bound calcium on the reaction pathway of the sarcoplasmic reticulum calcium ATPase // *Biochem.* 1995. Vol. 34. P. 3077–3083.
67. *Nicke A., Bäumert H. G., Rettinger J.* et al. P2X₁ and P2X₃ receptors form stable trimers: a novel structural motif of ligand-gated ion channels // *EMBO J.* 1998. Vol. 17. P. 3016–3028.
68. *Ohta T., Endo M., Nakano T.* et al. Ca-induced Ca release in malignant hyperthermia susceptible pig skeletal muscle // *Am. J. of Physiol.* 1989. Vol. 256. P. 358–367.
69. *Paradis M.* Ivermectin in small animal dermatology. Part I. Pharmacology and toxicology // *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 1998. Vol. 20. P. 193–200.
70. *Paul A. J., Tranquilli W. J., Seward R. L.* et al. Clinical observations in collies given ivermectin orally // *Am. J. Vet. Res.* 1987. Vol. 48. P. 684–685.
71. *Pemberton D. J., Franks C. J., Walker R. J.* et al. Characterization of glutamate-gated chloride channels in the pharynx of wild-type and mutant *Caenorhabditis elegans* delineates the role of the subunit GluCl- α 2 in the function of the native receptor // *Mol. Pharmacol.* 2001. Vol. 59. P. 1037–1043.
72. *Peng X., Katz M., Gerzanich V.* et al. Human α 7 acetylcholine receptor: cloning of the α 7 subunit from the SH-SY5Y cell line and determination of pharmacological properties of native receptors and functional α 7 homomers expressed in *Xenopus* oocytes // *Mol. Pharmacol.* 1994. Vol. 45. P. 546–554.
73. *Pong S. S., Wang C. C.* Avermectin-B1a modulation of gammaaminobutyric acid receptors in rat brain membranes // *J. Neurochem.* 1982. Vol. 38. P. 375–379.
74. *Pony S. S., Wang C. C., Fritz L. C.* Studies on the mechanisms of action of avermectin B1: Stimulation of release of gamma amino butyric acid from brain synaptosomes // *J. Neurochem.* 1980. Vol. 34. N 2. P. 351–358.

75. Pouliot J. F., L'Heureux F., Liu Z. et al. Reversal of P-glycoprotein-associated multidrug resistance by ivermectin // *Biochem. Pharmacol.* 1997. Vol. 53. P. 17–25.
76. Priel A., Silberberg Sh. D. Mechanism of Ivermectin Facilitation of Human P₂X₄ Receptor Channels // *J. Gen. Physiol.* 2004. Vol. 123. N 3. P. 281–293.
77. Pulliam J. D., Seward R. L., Henry R. T. et al. Investigating ivermectin toxicity in colliers // *Vet. Med.* 1985. Vol. 80. P. 33–40.
78. Revah F., Bertrand D., Galzi J. L. et al. Mutations in the channel domain alter desensitization of a neuronal nicotinic receptor // *Nature (Lond)*. 1991. Vol. 353. P. 846–849.
79. Roder J., Stair E. An overview of ivermectin toxicosis // *Vet. Hum. Toxicol.* 1998. Vol. 40. P. 369–370.
80. Roulet A., Puel O., Gesta S. et al. MDR1-deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin // *Eur. J. Pharmacol.* 2003. Vol. 460. P. 85–91.
81. Sangster N. C., Bannan S. C., Weiss A. S. et al. *Haemonchus contortus*: sequence heterogeneity of internucleotide binding domains from P-glycoproteins // *Exp. Parasitol.* 1999. Vol. 91. N 3. P. 250–257.
82. Schaeffer J. M., Haines M. W. Avermectin binding in *Caenorhabditis elegans*. A two-state model for the avermectin binding site // *Biochem. Pharmacol.* 1989. Vol. 38. P. 2329–2338.
83. Scott R. H., Duce I. R. Effects of 22,23-dihydroavermectin B1a on locust (*Schistocerca gregaria*) muscles may involve several sites of action // *Pestic. Sci.* 1985. Vol. 16. P. 599–604.
84. Shan Q., Haddrill J. L., Lynch J. W. Ivermectin, an unconventional agonist of the glycine receptor chloride channel // *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276. P. 12556–12564.
85. Shu E. N., Okonkwo P. O., Batey W. O. et al. Ivermectin: concentration-dependent effects on adenosine triphosphatases in adult worms of *Onchocerca volvulus* // *Acta Tropica.* 2000. Vol. 74. P. 7–11.
86. Sigel E., Baur R. Effect of avermectin B1a on chick neuronal γ -aminobutyrate receptor channels expressed in *Xenopus oocytes* // *Mol. Pharmacol.* 1987. Vol. 32. P. 749–752.
87. Sigel E., Buhr A. The benzodiazepine binding site of GABA-A receptors // *Trends. Pharmacol. Sci.* 1997. Vol. 18. P. 425–429.
88. Steiner J. P., Hamilton G. S., Ross D. T. et al. Neurotrophic immunophilin ligands stimulate structural and functional recovery in neurodegenerative animal models // *Proc. of Nat. Acad. Scien. the USA* 1997. Vol. 94. P. 2019–2024.
89. Toulme E., Soto F., Garret M. et al. Functional Properties of Internalization-Deficient P2X₄ Receptors Reveal a Novel Mechanism of Ligand-Gated Channel Facilitation by Ivermectin // *Mol. Pharmacol.* 2006. Vol. 69. P. 576–587.
90. Toyoshima C., Nakasako M., Nomura H. et al. Crystal structure of the calcium pump of sarcoplasmic reticulum at 2.6 Å resolution // *Nature*. 2000. Vol. 405. P. 647–655
91. Twum-Danso N. A. Serious adverse events following treatment with ivermectin for onchocerciasis control: a review of reported cases // *J. Filaria.* 2003. Vol. 2 (Suppl. 1). S3.
92. Vassilatis D. K., Elliston K., Paress P. S. et al. Evolutionary relationship of the ligand-gated ion channels and the avermectin-sensitive, glutamate-gated chloride channels // *J. Mol. Evol.* 1997. Vol. 44. P. 501–508.

93. *Wildman S. S., King B. F., Burnstock G.* Zn²⁺ modulation of ATP responses at recombinant P2X2 receptors and its dependence on extracellular pH // *Br. J. Pharmacol.* 1998. Vol. 123. P. 1214–1220.
94. *Williams M., Risley E. A.* Interaction of avermectins with [3H]beta-carboline-3-carboxylate ethyl ester and [3H]diazepam binding sites in rat brain cortical membranes // *Eur. J. Pharmacol.* 1982. Vol. 77. N 4. P. 307–312.
95. *Youssef M. Y., Sadaka H. A., Eissa M. M.* et al. Topical application of ivermectin for human ectoparasites // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1995. Vol. 53. N 6. P. 652–663.
96. *Zheng Y., Hirschberg B., Yuan J.* et al. Identification of two novel *Drosophila melanogaster* histamine-gated chloride channel subunits expressed in the eye // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 2000–2005.
97. *Zufall F., Franke C., Hatt H.* The insecticide avermectin B1a activates a chloride channel in crayfish muscle membrane // *J. Exp. Biol.* 1989. Vol. 142. P. 191–205.

PROPERTIES OF THE MACROCYCLIC LACTONES AS MODULATORS

S. Mandzynets

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: manisvit@gmail.com*

Avermectins were described as representative the sixteenmembered macrocyclic lactones with a spiroketal system containing two six-membered rings, extensively used in veterinary medicine. The varied targets and their modulation by avermectins were reviewed. It was discussed the mechanisms of effect of avermectins on the targets.

Key words: avermectins, macrocyclic lactones, GABA-receptors, glutamate receptors.

Стаття надійшла до редколегії 07.12.07
Прийнята до друку 14.01.08