

·综述·

芋螺镇痛多肽研究进展

赵重甲, 戴秋云*

(军事医学科学院生物工程研究所, 北京 100071)

摘要: 芋螺多肽由芋螺毒液管和毒囊内壁的毒腺所分泌, 大多数芋螺多肽由 10~40 个氨基酸残基组成, 且富含二硫键, 能特异性作用于乙酰胆碱受体 (nAChR), 及钙、钠、钾等多种离子通道亚型。目前已发现作用于 N-型钙通道、nAChR 的 $\alpha 9\alpha 10$ 亚基、TTX-R 钠通道、NMDA 受体的芋螺多肽具有很强的镇痛活性, 其中 N-型钙通道抑制剂 ω -MVIIA 已于 2004 年上市。该类镇痛多肽具有相对分子质量小、结构稳定、活性及选择性高等特点。芋螺镇痛多肽不仅会成为镇痛机制等相关神经生物学研究的重要工具, 也会为开发新一代无成瘾镇痛药起到重要作用。本文对芋螺镇痛多肽研究的最新进展予以评述, 着重介绍芋螺镇痛多肽的作用靶位、构效关系及其应用进展。

关键词: 镇痛; 芋螺多肽; N-型钙通道; nAChR; 钠通道; NMDA 受体; 构效关系

中图分类号: R963; R916.2

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 06-0561-05

Recent advances in study of antinociceptive conotoxins

ZHAO Chong-jia, DAI Qiu-yun*

(Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

Abstract: The *Conus* venom is secreted by the duct and theca of venom. Most of conotoxins are composed of 10–40 amino acid residues with several disulfide bridges. They can specifically target neurotransmitter receptors including nAChRs, calcium ion channels, sodium ion channels and potassium ion channels, etc. Some conotoxins, such as that target N-Ca²⁺ channels, nAChR $\alpha 9\alpha 10$ subtype, TTX-R Na⁺ channels or NMDA receptors, have potent antinociceptive activities, ω -MVIIA, an Ca²⁺ channels blocker was approved by FDA in December, 2004 for marketing. Because of lower molecular weight and high specificity, conotoxins are the powerful pharmacology tools and potent analgesics without addiction. This review briefly summarizes the research progress of antinociceptive conotoxins and addresses on their targets and structure-activity relationships.

Key words: antinociceptive; conotoxin; N-Ca²⁺ channel; nAChR; sodium channel; NMDA receptor; structure-activity relationship

芋螺属 (*Conus*) 腹足纲在全世界约有 500 种, 每种芋螺毒液中含 50~200 个活性多肽, 估计芋螺活性多肽的总量超过 5 万个^[1]。芋螺多肽由芋螺毒液管和毒囊内壁的毒腺所分泌, 大多数芋螺多肽由 10~40 个

氨基酸残基组成, 富含二硫键, 能特异性作用于乙酰胆碱受体, 及钙、钠、钾等多种离子通道亚型。与其他天然肽类毒素相比, 芋螺多肽具有相对分子质量小、结构稳定、活性高、特异性强等特点。目前已发现作用于 N-型钙通道、nAChR 的 $\alpha 9\alpha 10$ 亚基、TTX-R 钠通道、NMDA 受体的芋螺多肽具有很强的镇痛活性, 其中 N-型钙通道抑制剂 ω -MVIIA 已于 2004 年上市。本文将就芋螺镇痛多肽与 N-型钙离子通道、乙酰胆碱受体、钠离子通道及 NMDA 受体相互作用的靶点

收稿日期: 2008-12-08.

基金项目: 国家自然科学基金重大计划资助项目 (90713028); 海洋国家高新技术研究发展计划 (863 计划) 海洋技术领域资助项目 (2006AA09Z404).

*通讯作者 Tel: 86-10-66948897, Fax: 86-10-63833521,
E-mail: qy_dai@yahoo.com

及机制进行综述。

1 作用于 N-型钙通道的 ω -芋螺多肽的结构与镇痛活性

N-型电压依赖性钙离子通道 (N-type voltage-gated Ca^{2+} channels, N-VGCCs) 由 α_{1B} 、 β 、 α_2 、 δ 和 γ 亚基组成^[2]。 α_{1B} 亚基是目前公认的药物作用靶点, β 亚基作为结合亚基, 可与 G 蛋白和蛋白激酶 C 结合, 引发级联反应。 α_2 亚基和 δ 亚基通过二硫键连接形成复合体, α_2 亚基露于膜外, δ 亚基固定于膜内。 γ 亚基约 36 kD, 功能尚不明确。N-VGCCs 主要分布在背根神经节, 终止于脊髓背角浅层的 I、II 层^[3]。N-VGCCs 调节脊髓内神经递质的释放, 钙通道开放导致 Ca^{2+} 内流, 触发细胞内 Ca^{2+} 依赖的神经元兴奋性调节、神经递质释放、第二信使激活及基因转录等^[4]。外周的钙通道参与伤害性感受器兴奋和神经冲动沿 C 纤维和 A δ 纤维传导, 将外周伤害性信息传入高位中枢, 从而产生痛觉。抑制钙内流可提高感受器兴奋阈值和降低神经冲动的传导, 抑制痛觉。在中枢神经元中, 神经递质和内源性镇痛物质的释放也依赖于细胞内 Ca^{2+} 浓度, N-型钙通道的阻断可抑制感受神经元中 P 物质和降钙素相关基因肽 (calcitonin gene-related peptide) 的释放^[5, 6]。

目前从芋螺中分离的作用于 N-型钙通道的镇痛多肽主要来自于 *Conus geographus* (ω -conotoxin GVIA)、*Conus magnus* (ω -conotoxin MVIIA)、*Conus catus* (ω -conotoxin CVID) 及 *Conus striatus* (SO-3) 等^[7](表 1), 均含有三对二硫键 (C-C-CC-C-C, 连接方式为 C1-C4, C2-C5, C3-C6)。GVIA 及 MVIIA 可抑制触觉异常性疼痛及福尔马林诱导的 I 相和 II 相疼痛, 也能有效缓解炎症和慢性神经性疼痛^[8]。SO-3、MVIIA、CVID 等主要通过脑室和椎管给药, 而不能肌肉注射, 主要因为这些多肽不能通过血脑屏障, 而受体主要分布于中枢神经元。其中 GVIA ($\text{ED}_{50} = 0.039 \text{ nmol} \cdot \text{kg}^{-1}$) 的镇痛活性是 MVIIA ($\text{ED}_{50} = 0.12 \text{ nmol} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 CVID ($\text{ED}_{50} = 0.13 \text{ nmol} \cdot \text{kg}^{-1}$) 活性的 3~4 倍, 比吗啡活性高出 30 多倍 ($\text{ED}_{50} = 11.6 \text{ nmol} \cdot \text{kg}^{-1}$), 但 GVIA 为不可逆抑制剂^[9], 毒副作用大。MVIIA 于 1997 年进入临床实验, 2004 年通过美国 FDA 批准上市 (Ziconotide, 商品名 Prialt), 用于治疗慢性疼痛以及与癌症、AIDS 相关的神经性疼痛, 其副作用为血压过低、幻想、视觉模糊以及运动损伤等。 ω -Conotoxin CVID (成品名为 AM336), 对 N-型钙通道选择性更高, 副作用相对较低, 其 $\text{TD}_{50}/\text{ED}_{50}$ 值为 9.7, 而 GVIA、MVIIA 分别为 5.0 和 2.1。MVIIA 对运动功能的副作用较大, 0.250

$\text{nmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 即可产生运动功能异常。目前 CVID 正在进行 II 期临床试验^[10]。

SO-3 由作者分离得到, 通过小鼠热板法和化学刺激法测得 SO-3 镇痛活性的 ED_{50} 为 $0.29 \text{ nmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (脑室)^[7], 比吗啡强 1 000 倍 (ip), 镇痛有效时间为 7.2 h。在烫尾法和压痛法实验中测定椎管注射 SO-3 对大鼠镇痛活性的 ED_{50} 为 $0.43 \text{ nmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[7]; 给药剂量为 $0.039 \text{ nmol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 24 h 连续给药 28 d, SO-3 对 CCI 大鼠的镇痛作用达 100%^[11], 表明 SO-3 不具有成瘾性。

毒理研究表明^[7], 脑室注射 SO-3 对小鼠的半数致死剂量为 $5.26 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$, 是 ED_{50} 的 18 000 倍, 具有很高的用药安全性; 椎管给予 SO-3 对大鼠的半数致死剂量为 $1.95 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。SO-3 与国际上类似肽 MVIIA (Prialt, 2004 年 12 月上市) 相比, 其活性相同, 但副作用明显低于后者。如 MVIIA 对草金鱼 (4~5 g) 的致死剂量 (LD_{50}) 为 $0.2 \mu\text{g}/\text{只}$; 而 SO-3 的剂量高达 $32 \mu\text{g}/\text{只}$ 时, 金鱼未表现异常。

目前上述作用于 N-型钙通道的 ω -芋螺多肽的溶液结构已测定, 均含有几个转角连接的三股反平行 β -sheet。高度保守的 Lys2、Gly5、Tyr13、Ser19 和 N-末端的氨基酸 (为 MVIIA 氨基酸序列号) 对活性至关重要^[12]。其中 Tyr13 为钙通道结合的关键氨基酸残基。 ω -Conotoxins 一般带有 4~6 个正电荷, 这些碱性氨基酸对钙通道的阻断非常重要, 用中性氨基酸取代 MVIIA 的 Lys2、Lys7、Arg10, 其活性显著下降^[10]。Pro7 对 SO-3 的折叠及毒性有显著影响 (待发表)。见表 1。

2 作用于神经元型乙酰胆碱受体的芋螺多肽的结构与镇痛活性

神经元型乙酰胆碱受体 (nAChR) 位于突触前、突触后的神经末梢, 它们是调节人类烟碱成瘾、感觉、记忆等功能的重要元件。目前已发现了神经元型 α 亚基 ($\alpha 2$ - $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$) 和神经元型 β 亚基 ($\beta 2$ - $\beta 4$), 神经元型 nAChR 由同源五聚体 (如($\alpha 7$)₅) 或异源五聚体 (如($\alpha 4$)₂($\beta 2$)₃) 组成。其中 $\alpha 9\alpha 10$ 主要分布在耳毛细胞、背根神经节、皮肤角质细胞、淋巴细胞等, 近年来报道其与镇痛相关。

目前研究表明, 对于 $\alpha 9\alpha 10$ 受体的阻断可减轻由于外周神经损伤或炎症引起的慢性疼痛, 亦可加速受损神经的修复。现已分离的 α -conotoxin RgIA、Vc1.1 可以有效阻断 $\alpha 9\alpha 10$, 其 IC_{50} 分别为 5.2 和 $19 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[13], 且选择性较高, 均含有两对二硫键 (CC-C-C, 连接方式为 C1-C3, C2-C4) (表 1)。因其受

表 1 具有镇痛活性的芋螺多肽序列及其作用靶位

多肽名称	来源	作用靶点	序列
ω -GVIA	<i>C. geographus</i>	N-Ca ²⁺ channel	CKSOGSS CSOTSYN CCRS CNOYTKR CY*
ω -MVIIA	<i>C. magnus</i>	N-Ca ²⁺ channel	CKGKGAK CSRLMYD CCTGS CRS GK C*
ω -CVID	<i>C. catus</i>	N-Ca ²⁺ channel	CKSKGAK CSKLMYD CCTGS CSGTVGR C*
SO-3	<i>C. striatus</i>	N-Ca ²⁺ channel	CKAAGKP CSRIAYN CCTGS CRS GK C*
α -PeIA	<i>C. pergrandis</i>	nAChR	GCCSHPA CSVNHPEL C*
α -RgIA	<i>C. regius</i>	nAChR	GCCSDPR CRYR CR
α -Vc1.1	<i>C. victoriae</i>	nAChR	GCCSDPR CNYDHPEI C*
μ -SmIIIA	<i>C. stercusmuscarum</i>	Na ⁺ channel	ZRCCNGRRG CSSRW CRDHSR CC*
μ -SIIIA	<i>C. striatus</i>	Na ⁺ channel	ZNCCNGG CSSKW CRDHAR CC*
μ O-MrVIA	<i>C. marmoreus</i>	Na ⁺ channel	ACRKKWEY CIVPIIGFIY CCPGLI CGPFV CV
μ O-MrVIB	<i>C. marmoreus</i>	Na ⁺ channel	ACSKKWEY CIVPILGFVY CCPGLI CGPFV CV
Conantokin-G	<i>C. geographus</i>	NMDA	GE $\gamma\gamma$ LQ γ NQ γ LIR γ KSN*
Conantokin-T	<i>C. tulipa</i>	NMDA	GE $\gamma\gamma$ YQKML γ NLR γ AEVKKNA*
Conantokin-R	<i>C. radiatus</i>	NMDA	GE $\gamma\gamma$ VAKMAA γ LAR γ NIAGCKKVNCYP

*C 末端酰胺化

体主要分布于外周神经, 均为肌内注射。肌内注射 RgIA (0.2 nmol/鼠) 后, 大鼠的痛阈 (PWTs, paw withdrawal thresholds) 提高了 (40 ± 15) % (CCI 模型, chronic constriction injury)^[13]。同样方式注射 Vc1.1 (0.018 nmol/鼠及 0.18 nmol/鼠), PWTs 分别提高 (34 ± 18) % 和 (89 ± 20) %^[13], 并且注射 Vc1.1 一周后仍具有较高镇痛活性, 无耐药性^[14]。在神经伤害的免疫反应研究中发现, 乙酰胆碱生成细胞在身体同侧的结扎坐骨神经周围显著增加, 明显高于对侧^[14]。RgIA 和 Vc1.1 则减少乙酰胆碱生成细胞、巨噬细胞及淋巴细胞在神经伤害处的堆积。巨噬细胞的减少可以减轻热痛觉过敏, 缺失成熟 T 细胞可显著减轻由 CCI 引起的机械和热超敏性, 产生镇痛效果。

Nevin 等^[15]在近期研究中发现, Vc1.1、vc1a 及突变体[P⁶O]Vc1.1、[E¹⁴ γ]Vc1.1 均作用于 $\alpha 9\alpha 10$ 亚型, 但 vc1a、[P⁶O]Vc1.1 对大鼠压痛 (坐骨神经结扎模型, PNL) 无显著镇痛作用。作用于 $\alpha 9\alpha 10$ 亚型的 Vc1.1 在多种神经疼痛模型中具有很好的镇痛作用, 而其类似物具有结合活性却无镇痛活性, 使得“ $\alpha 9\alpha 10$ 亚型为 Vc1.1 治疗神经性疼痛靶点”的观点受到质疑。最新研究认为 Vc1.1 和 RgIA 借助于 G 蛋白受体通路作用于 N-型钙通道, 而转录后修饰的 vc1a 及其他突变体不能抑制背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 神经元上表达的钙通道电流^[16]。RgIA (Arg⁹、Tyr¹⁰) 与 ImI 的第 9、10 位氨基酸不同, 且 RgIA 的 C 末端具有一个 Arg 残基, 使得两者对于 $\alpha 9\alpha 10$ 亚型及 $\alpha 3\beta 2$ 亚型具有不同选择性^[17]。Tyr¹⁰ 为 Vc1.1 选择性的关键氨基酸, 由于其疏水性和苯环结构使得 Vc1.1 对 $\alpha 9\alpha 10$ 的选择性显著高于 $\alpha 7$ 。且 Vc1.1 的 Ile¹⁵ 降低

了其对于 $\alpha 7$ 的选择性^[18]。

最近发现 nAChR 亚型 $\alpha 3\beta 2$ 也与镇痛相关^[19], 鞘内注射 MII 可降低大鼠痛阈 (PWTs), 通过抑制谷氨酸从 C 纤维的释放, 阻断疼痛机械刺激的传递。

3 作用于钠通道的芋螺多肽的结构与镇痛活性

钠通道对细胞膜兴奋起着重要作用, 分为电压门控型钠离子通道 (voltage-gated sodium channels, VGSCs) 和非电压门控型钠离子通道两类。电压门控型钠离子通道根据其对河豚毒素 (tetrodotoxin, TTX) 的敏感性可以分为 TTX-S 型 (主要包括 Nav1.1、Nav1.2、Nav1.3、Nav1.4、Nav1.6 和 Nav1.7 等通道亚型) 及 TTX-R 型 (包括 Nav1.5、Nav1.8 和 Nav1.9 等通道亚型)^[20]。由于 α 亚基的不同, 共分为 10 个亚型, 即上述 Nav1.1–1.9 和 Nax, 其功能分布也有所不同 (中枢神经: Nav1.1–Nav1.3, Nav1.6; 外周神经: Nav1.6–Nav1.9; 骨骼肌: Nav1.4; 心肌: Nav1.5)。近期研究表明, 河豚毒素不敏感型钠通道 (TTX-R VGSCs) 与痛觉相关^[21], 组织的炎症和神经损伤可上调外周无髓神经中 TTX-R 的表达^[22], 受损神经的异位放电持续激活 TTX-R VGSCs。由于 TTX-R 钠离子通道仅在小直径的 DRG 神经元中表达, 而 TTX-S 型钠离子通道在大、小直径 DRG 神经元中均有表达, 因此 TTX-R 钠离子通道特异抑制剂的副作用较低。

芋螺多肽中有 μ -、 μ O-、 δ -conotoxins 等 3 个家族可作用于 TTX-S 及 TTX-R 钠通道, 其中 μ -conotoxins 的 μ -SmIIIA、 μ -SIIIA 作用于 TTX-R VGSCs (其二硫键骨架为 CC-C-C-CC, 连接方式也为 C1-C4, C2-C5, C3-C6) (表 1), 具有很高的镇痛活性, 鞘内注射 SIIIA (10 nmol·L⁻¹/只) 可抑制大鼠福尔马林实验中 II 相镇

痛^[23]。SmIIIA 与 SIIIA 在序列上高度同源, 其中的 Trp 及 Arg 残基是重要功能氨基酸^[24]。

μ O-conotoxins 有两个成员, MrVIA 和 MrVIB。 μ O-conotoxins 具有 μ -conotoxins 的功能特点又具有 O 家族的结构特征, 均含有三对二硫键 (C-C-CC-C-C, 连接方式为 C1-C4, C2-C5, C3-C6) (表 1), 但其作用位点还不十分明确。MrVIB 特异性作用于 Nav1.8, TTX-R 的 Nav1.8 主要分布在伤害感受的主要传入神经中, 它对顽固性疼痛的发生和持续起着重要的调节作用。MrVIB 可有效阻断 *Xenopus oocyte* 中人源 Nav1.8 的钠电流^[25], 其选择特异性比其他亚型高出 10 倍。在神经性疼痛和慢性炎症疼痛模型中, MrVIB 可以减少异常性疼痛和痛觉过敏 (0.03~3 nmol/只), 即使高出有效浓度 30 倍时仍未出现运动活性损伤, 也不曾出现共济失调等其他芋螺毒素 (如 ω -conotoxins 等) 常出现的副作用^[25]。

4 作用于 N-甲基-D-天门冬氨酸受体的芋螺多肽的结构与镇痛活性

N-甲基-D-天门冬氨酸 (NMDA) 受体是中枢神经系统中主要兴奋性递质谷氨酸的受体的一个类型, 是突触可塑性及皮质和海马神经元长时程增强效应的重要调控者。NMDA 受体由基本亚基 NR1 及一种或多种 NR2 (NR2A–NR2D) 或 NR3 亚基所组成。不同亚基组成的 NMDA 受体的电生理和药理作用不同, 在大脑中的分布也不同。NR1 和 NR2A 广泛分布在成年哺乳动物的大脑中, NR2B 主要分布在前脑及脊髓中^[26], 而 NR2C 则分布于小脑, NR2D 分布在中脑。NMDA 受体成为目前开发非阿片类中枢神经镇痛类药物的研究热点和主要方向, 也是化学合成药物的设计研发重点^[27]。

Conantokins (con-) 是目前唯一已知的抑制 NMDA 受体的天然多肽, 并对 NMDA 受体选择性很高, 其含有多个 γ -羧基谷氨酸 (Gla), 大多数 C 端酰胺化, N 端为 Gly, 部分 Gla 是重要的功能基团^[28–31]。Conantokins 能够抑制福尔马林、坐骨神经结扎疼痛模型中外周神经损伤引起的神经性疼痛^[32]。鞘内注射 con-G、con-T 能缓解福尔马林引起的疼痛反应 (ED_{50} 分别为 11 pmol/只、19 pmol/只), 比引起运动神经损伤的剂量分别小 27 倍、17 倍。与上市 (2004 年 12 月) 的镇痛药物 MVIIA (ω -conotoxin) 比较^[32], con-G、con-T 导致的运动障碍副作用远低于 MVIIA (ED_{50} 仅为引起运动活性损伤剂量的 2.5 倍)。

最近作者对 con-G、con-T 及 con-R 的类似物进行了镇痛活性测定^[33], 结果表明脑内注射 con-G、

con-G [γ^7 K]、con-G [S^{16} Y]、con-R 能显著提高小鼠在热板和热辐射实验中的痛阈值, 痛阈提高程度为 con-G [S^{16} Y] > con-G [γ^7 K] > con-G > con-R; 同等剂量的 con-G、con-G [S^{16} Y] 能明显改善小鼠足底注射完全氟氏佐剂 (CFA) 引发的痛觉过敏现象, 对足胀程度也有一定的改善, 镇痛效果为 con-G [S^{16} Y] > con-G > con-R; 低剂量的 con-G、con-G [S^{16} Y] 即能明显减少福尔马林 II 相反应中小鼠舔、咬、抖被注射足的时间, 镇痛百分率分别为 32% 和 65%。通过详细的镇痛活性与结构关系研究表明, 选择性作用于 NMDA 受体 NR2B 的 conantokin 肽的镇痛活性显著高于非选择性抑制剂。

5 小结

目前临床应用的强镇痛药物的主要缺点是成瘾性, 长期应用易出现耐药性, 作用于新靶标的芋螺镇痛多肽的发现与应用为无成瘾性镇痛药的研制带来希望。但一些芋螺镇痛多肽仍存在一些缺点: ① 给药途径不方便, 如钙通道抑制剂 MVIIA 需要鞘内注射给药, 临床应用不便; ② 副作用较高; ③ 选择性仍需提高。今后通过结构-活性关系 (structure-activity relationship) 研究, 改造其给药途径, 可获得选择性更高、副作用更低的镇痛多肽。目前发现的作用于 nAChR $\alpha 9\alpha 10$ 亚基的 Vc1.1 就可直接作用于镇痛部位, 但活性仍需提高。此外, 通过对未知的天然芋螺毒素的分离、鉴定, 也可发现高活性镇痛多肽提供新的先导多肽。

References

- [1] Gray WR, Luque A, Olivera BM. Peptide toxins from *Conus Geographus* Venom [J]. J Biol Chem, 1981, 256: 4734–4740.
- [2] Guy HR, Conti F. Pursuing the structure and function of voltage-gated channels [J]. Trends Neurosci, 1990, 13: 201–206.
- [3] Gohil K, Bell JR, Ramachandran J, et al. Neuroanatomical distribution of receptors for a novel voltage-sensitive calcium channel antagonist, SNX-230 (ω -conopeptide MVIIC) [J]. Brain Res, 1994, 653: 258–266.
- [4] Miller RJ. Rocking and rolling with Ca^{2+} channels [J]. Trends Neurosci, 2001, 24: 445–449.
- [5] Santicioli P, Del Bianco E, Tramontana M, et al. Release of calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity induced by electrical field stimulation from rat spinal afferents is mediated by conotoxin sensitive calcium channels [J]. Neurosci Lett, 1992, 136: 161–164.
- [6] Evans AR, Nicol GD, Vasko MR. Differential regulation of evoked peptide release by voltage-sensitive calcium channels in rat sensory neurons [J]. Brain Res, 1996, 712: 265–273.

- [7] Dai QY, Liu FY, Zhou YR, et al. The synthesis of SO-3, a conopeptide with high analgesic activity derived from *Conus striatus* [J]. J Nat Prod, 2003, 66: 1276–1279.
- [8] Scott DA, Wright CE, Angus JA. Actions of intrathecal ω -conotoxins CVID, GVIA, MVIIA, and morphine in acute and neuropathic pain in the rat [J]. Eur J Pharmacol, 2002, 451: 279–286.
- [9] Pin JP, Bockaert J. Omega-conotoxin GVIA and dihydropyridines discriminate two types of Ca^{2+} channels involved in GABA release from striatal neurons in culture [J]. Eur J Pharmacol, 1990, 188: 81–84.
- [10] Adams DJ, Smith AB, Schroeder CI, et al. Omega-conotoxin CVID inhibits a pharmacologically distinct voltage-sensitive calcium channel associated with transmitter release from preganglionic nerve terminals [J]. J Biol Chem, 2003, 278: 4057–4062.
- [11] Feng ZG, Wang H, Zhou XW, et al. The analgesic effect of continuous intrathecal administration of omega-conotoxin SO3 on a model of neuropathic pain and the down-regulation of serum concentration of IL-6 in rats [J]. Pharm J Chin PLA (解放军药理学学报), 2006, 22: 261–264.
- [12] Lew MJ, Flinn JP, Pallaghy PK, et al. Structure-function relationships of ω -conotoxin GVIA. Synthesis, structure, calcium channel binding, and functional assay of alanine-substituted analogs [J]. J Biol Chem, 1997, 272: 12014–12023.
- [13] Vincler M, Wittenauer S, Parker R, et al. Molecular mechanism for analgesia involving specific antagonism of $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptors [J]. Proc Natl Acad Sci, 2006, 103: 17880–17884.
- [14] Satkunanathan N, Livett B, Gayler K, et al. Alpha-conotoxin Vc1.1 alleviates neuropathic pain and accelerates functional recovery of injured neurons [J]. Brain Res, 2005, 1059: 149–158.
- [15] Nevin ST, Clark RJ, Klimis H, et al. Are $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptors a pain target for α -conotoxins? [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2007, 72: 1406–1410.
- [16] Callaghan B, Haythornthwaite A, Berechi G, et al. Analgesic α -conotoxins Vc1.1 and RgIA inhibit N-type calcium channels in rat sensory neurons via GABAB receptor activation [J]. J Neurosci, 2008, 28: 10943–10951.
- [17] Ellison M, Haberlandt C, Gomez-Casati ME, et al. α -RgIA: a novel conotoxin that specifically and potently blocks the $\alpha 9\alpha 10$ nAChR [J]. Biochemistry, 2006, 45: 1511–1517.
- [18] Clark RJ, Fischer H, Nevin ST, et al. The synthesis, structural characterization and receptor specificity of the α -conotoxins Vc1.1 [J]. J Biol Chem, 2006, 281: 23254–23263.
- [19] Young T, Wittenauer S, McIntosh JM, et al. Spinal $\alpha 3\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors tonically inhibit the transmission of nociceptive mechanical stimuli [J]. Brain Res, 2008, 1229: 118–124.
- [20] Wood JN, Baker M. Voltage-gated sodium channels [J]. Curr Opin Pharmacol, 2001, 1: 17–21.
- [21] Wood JN, Boorman JP, Okuse K, et al. Voltage-gated sodium channels and pain pathways [J]. J Neurobiol, 2004, 61: 55–71.
- [22] Lai J, Porreca F, Hunter JC, et al. Voltage-gated sodium channels and hyperalgesia [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2004, 44: 371–397.
- [23] Green BR, Catlin P, Zhang MM, et al. Conotoxins containing nonnatural backbone spacers: cladistic-based design, chemical synthesis, and improved analgesic activity [J]. J Biol Chem, 2007, 14: 399–407.
- [24] Feng GX, Luo FF, Dai QY. Progress in research on sodium channel conotoxins [J]. Bull Acad Mil Med Sci (军事医学科学院院刊), 2007, 31: 564–568.
- [25] Ekberg J, Jayamanne A, Vaughan CW, et al. μ O-Conotoxin MrVIB selectively blocks Nav1.8 sensory neuron specific sodium channels and chronic pain behavior without motor deficits [J]. Proc Natl Acad Sci, 2006, 45: 17031–17035.
- [26] Chizh BA, Headley PM, Tzschentke TM. NMDA receptor antagonists as analgesics: focus on the NR2B subtype [J]. Trends Pharm Sci, 2001, 22: 636–641.
- [27] Li JQ, Huang LY, Chen XJ, et al. Synthesis and central non-opioid analgesic activity of SIP15047 [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2008, 43: 611–618.
- [28] Dai QY, Sheng ZY, Geiger JH, et al. Helix-helix interactions between homo- and heterodimeric γ -carboxyglutamate-containing conantokin peptides and their derivatives [J]. J Biol Chem, 2007, 282: 12641–12649.
- [29] Dai QY, Prorok M, Castellino FJ. A new mechanism for metal ion-assisted interchain helix assembly in a naturally occurring peptide mediated by optimally spaced γ -carboxyglutamic acid [J]. J Mol Biol, 2004, 336: 731–744.
- [30] Blandl T, Warder SE, Prorok M, et al. Structure-function relationships of the NMDA receptor antagonist peptide, conantokin-R [J]. FEBS Lett, 2000, 470: 139–146.
- [31] Layer RT, Wagstaff JD, White HS. Conantokins: peptide antagonists of NMDA receptors [J]. Curr Med Chem, 2004, 11: 3073–3084.
- [32] Malmberg AB, Gilbert H, McCabe RT, et al. Powerful antinociceptive effects of the cone snail venom-derived subtype-selective NMDA receptor antagonists conantokins G and T [J]. Pain, 2003, 101: 109–116.
- [33] Xiao C, Huang YY, Dong MX, et al. NR2B-selective conantokin peptide inhibitors of the NMDA receptor display enhanced antinociceptive properties compared to non-selective conantokins NMDA receptor [J]. Neuropeptides, 2008, 42: 601–609.