

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ЦЕНТРАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ЛИГАНДОВ ORL1 РЕЦЕПТОРОВ

Л. Н. Маслов^{1, 2}, Ю. Б. Лишманов^{1, 2}, Дж. Кало³, Л. Ма⁴

В 1994 г. исследователи одновременно в нескольких лабораториях обнаружили и клонировали ORL1-рецептор (opioid receptor like, опиоид-подобный рецептор), который первоначально назвали орфанным рецептором (от английского “orphan” — сирота) [12, 21, 59, 102, 105]. “Сиротой” его назвали потому, что был неизвестен агонист этого рецептора. В 1995 г. был идентифицирован его эндогенный пептидный [56, 79]. Поскольку этот пептид при интрацеребровентрикулярном введении усиливал реакцию на болевой раздражитель — ноцицепцию, исследователи назвали его “ноцицептин” [56]. Другой коллектив авторов назвал этот пептид орфанином FQ [79]: цепочка этого гептадекапептида (Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asp-Phe или FGGFTGARKSARKLANQ) начинается с фенилаланина, который у биохимиков принято обозначать буквой “F”, а заканчивается глутамином, который обозначают буквой “Q”. Оба термина в настоящее время употребляют как синонимы. ORL1-рецепторы относятся к семейству $G_{i/o}$ -сопряженных рецепторов [12, 21, 59, 102, 105]. По молекулярному строению этот рецептор, состоящий у человека из 370 аминокислотных остатков, наиболее близок к опиоидному κ -рецептору, поэтому его называют опиоид-подобным (opioid receptor like, ORL1) [12, 21, 59, 102, 105]. В настоящее время Комитет по рецепторной номенклатуре и классификации препаратов при Международном Союзе фармакологов (International Union of Pharmacology, IUPHAR) рекомендовал отнести ORL1 рецептор к опиоидным рецепторам и присвоил этому рецептору условное обозначение OP_4 [16]. Однако в отличие от других опиоидных рецепторов он не ингибируется налоксоном и не взаимодействует с опиоидными пептидами [13]. Вместе с тем он проявляет умеренное сродство к налоксону бензоил гидразону (NalBzOH) [8, 31]. Ноцицептин является селективным агонистом ORL1 рецептора, поэтому последний нередко называют ноцицептиновым рецептором (NOR), а вместо термина “ноцицептин” обычно используют аббревиатуру “N/OFQ” [13, 14, 65, 66, 97].

Полиморфизм ORL1 рецепторов. Структура семи трансмембранных доменов OP_4 рецептора на 60% совпадает со структурой аналогичных участков других опиоидных рецепторов, в то время как последовательность аминокислот в интра- и экстрацеллюлярных петлях характерна только для ORL1 рецептора [56]. Исключением является вторая экстрацеллюлярная петля, которая имеет большое сходство с аналогичным доменом OP_2 (κ) рецептора [102]. Внешние петли, как известно, обеспечивают взаимодействие OP_4 рецептора с N/OFQ и гомология одной из этих петель с экстрацеллюлярным доменом OP_2 рецептора позволяет κ -агонисту динорфину в некоторых случаях активировать не только OP_2 рецептор, но и взаимодействовать с ORL1 рецептором [13, 54, 112].

Молекула мРНК, кодирующая структуру ORL1 рецептора, образуется из высокомолекулярного предшественника - промессенджер РНК [56]. Процесс подобного превращения в молекулярной биологии принято называть “сплайсингом” или “процессингом” [1]. Установлено, что в результате такого сплайсинга из одной молекулы промессенджер РНК может образоваться два “сплайс-варианта” ORL1 рецептора [102]. Есть данные о том, что подобный процесс протекает не только *in vitro* при клонировании гена, кодирующего ноцицептиновый рецептор [102], но и *in vivo* в организме животных [14, 27, 106]. Так, например, были получены данные об альтернативном сплайсинге ORL1 рецепторов в лимфоцитах человека и линиях лимфоидных клеток [106]. В ткани головного мозга, кишечника и семенниках крысы идентифицированы 9 сплайс-вариантов OP_4 рецептора [27]. Сплайсинг имеет тканевую и органную специфичность [27]. Если сплайс-варианты OP_4 рецептора существенно различаются по сродству к различным химическим соединениям, то открываются перспективы по созданию новых лекарственных препаратов, являющихся лигандами ORL1 рецептора. Получены данные о существовании различий между центральными и периферическими OP_4 рецепторами [14]. Так, оказалось, что аналог N/OFQ [Phe1 ψ (CH₂-NH)Gly²] nociceptin(1–13)NH₂ ведет себя как антагонист ORL1 рецепторов *in vitro* в опытах на изолированном семявыносящем протоке мыши, но имитирует эффекты ноцицептина при инфузии в боковой желудочек мозга мышей и крыс [14, 76].

Взаимодействие ноцицептинового рецептора с внутриклеточными сигнальными системами. ORL1 рецепторы принадлежат к семейству т. н. “G-протеин сопряженных рецепторов”. В пользу этого

¹ НИИ кардиологии СО РАМН, 634050 Томск, ул. Киевская, 111, E-mail: Maslov@cardio.tsu.ru

² Томский государственный педагогический университет.

³ Отдел экспериментальной и клинической медицины, Университет Феррары, Феррара, Италия.

⁴ Национальная лаборатория медицинской нейробиологии, Медицинский центр, Университет Фудана, Шанхай, Китай.

утверждения свидетельствуют данные о том, что эффект стимуляции этих рецепторов устраняется селективным ингибитором $G_{i/o}$ - и G_{os} -белков коклюшным токсином [19, 26, 45, 111]. Ноцицептин вызывает связывание $GTP\gamma^{35}S$ с биологическими мембранами, имеющими ORL1 рецепторы, что также рассматривается как доказательство сопряженности OP_4 рецепторов с G-белками [6]. Величина ED_{50} для N/OFQ-индуцированного связывания $GTP\gamma^{35}S$ составляет 6,7 нМ [6]. Вместе с тем есть отдельные сведения о том, что некоторые эффекты N/OFQ не зависят от активации G-белков или являются следствием стимуляции нечувствительных к коклюшному токсину $G_{\alpha L1}$ -белков [111].

Эффекты, связанные с активацией ноцицептиновых рецепторов, на клеточном уровне во многом идентичны тем эффектам, которые возникают после активации опиоидных рецепторов (ингибирование аденилатциклазы, открывание K^+ -каналов). Так, после “оккупации” ORL1 рецепторов орфанином FQ зафиксировано угнетение активности аденилатциклазы (АЦ) в рекомбинантных клетках яичников китайских хомячков (Chinese hamster ovary, CHO), экспрессирующих OP_4 рецептор [56, 79]. Способность ингибировать АЦ настолько типична для активации ORL1 рецепторов, что её в свое время использовали для выделения эндогенного агониста этих рецепторов — орфанина FQ из мозга крысы [56] и гипоталамуса свиньи [79]. Снижение активности АЦ в ответ на “оккупацию” OP_4 рецептора было подтверждено в независимых исследованиях, выполненных на культуре эмбриональных клеток почек человека, экспрессирующих ORL1 рецептор [112]. Позднее были получены данные о супрессии форсколин-индуцированного синтеза цАМФ ноцицептином в гомогенате мозга мыши ($ED_{50} < 1$ нМ) [53] и в CHO(ORL1) клетках ($ED_{50} = 0,8$ нМ) [13]. Вместе с тем есть данные о том, что *in vivo* при перфузии головного мозга искусственным ликвором, содержащим ноцицептин, в перфузате, оттекающем от мозговой ткани, в 2 раза увеличивается концентрация цАМФ, что свидетельствует о повышении активности АЦ [4]. Обнаружено N/OFQ-индуцированное увеличение активности АЦ в культуре клеток НЕК 293, трансфицированных сДНК, кодирующей одновременно ORL1 рецептор, аденилатциклазу-2 и G_{os} -белок [111]. Видимо, конечный результат — увеличение или снижение активности АЦ в ответ на оккупацию OP_4 рецептора зависит от того, с каким G-белком и изоэнзимом АЦ в данной клетке сопряжен ORL1 рецептор.

Другим характерным эффектом ноцицептина является усиление K^+ -тока задержанного выпрямления (*inwardly rectifying potassium current*, Kir) [11, 54, 88]. Впервые этот эффект был обнаружен в ооцитах *Xenopus laevis*, экспрессирующих одновременно ORL1 рецептор и G-белок-сопряженный K^+ -канал (G-protein inwardly rectifying K^+ -channel, GIRK канал, он же Kir3.0 канал) [54]. Последний, как известно, обеспечи-

вает рецептор, сопряженный K^+ -ток задержанного выпрямления, что обуславливает гиперполяризацию клеток [4]. Кроме того, ноцицептин усиливал K^+ -ток задержанного выпрямления в срезах мозга крысы из голубого пятна и в некоторых других нейронах [22, 88]. Показано, что в нейронах гиппокампа N/OFQ может стимулировать не только Kir3.0 канал, но и потенциал-зависимый K^+ -ток, который обеспечивает реполяризацию клеток [50]. В этом случае эффект N/OFQ связан с активацией ORL1- и k -рецепторов.

Существуют данные, что *in vivo* ноцицептин активирует АТФ-чувствительные K^+ -каналы (K_{ATP} -каналы) и Ca^{2+} -зависимые K^+ -каналы в пилальных артериях и артериолах, что обеспечивает сосудорасширяющее действие этого гептадекапептида [4]. Однако есть данные о том, что вазодилатирующий эффект орфанина FQ *in vivo* является следствием усиления активности NO-синтазы [47]. Вместе с тем некоторым авторам не удалось обнаружить связь между сосудорасширяющим действием ноцицептина на периферические артерии, с одной стороны, и активацией NO-синтазы или K_{ATP} -каналов — с другой [20], поэтому вопрос о взаимодействии OP_4 рецепторов и K_{ATP} -каналов остается открытым.

В культуре клеток нейробластомы человека SH-SY5Y, экспрессирующих ORL1 рецепторы, ноцицептин ингибирует Ca^{2+} -каналы N-типа (IC_{50} 40 нМ) [26]. Получены данные о том, что в изолированных нейронах гиппокампа крыс орфанин FQ может ингибировать Ca^{2+} -каналы N-, L- и P/Q-типа [45]. Согласно данным [26], в присутствии карбахолина ноцицептин может вызывать мобилизацию внутриклеточного Ca^{2+} .

Возможно, что OP_4 рецепторы помимо АЦ, K^+ - и Ca^{2+} -каналов сопряжены и с другими сигнальными системами клетки. Так, N/OFQ может стимулировать протеинкиназу C в пилальных артериях [5]. Ноцицептин стимулирует JNK подгруппу митоген-активируемых протеинкиназ в трансфицированных клетках COS-7 и клетках линии NG108 – 15 [19]. Сообщают о способности N/OFQ активировать фосфолипазу C [111].

Локализация ноцицептина и ORL1 рецепторов в организме. Ноцицептин, препроноцицептин, транскрипты (так называют молекулы мРНК и промРНК, кодирующие какой-либо белок) ORL1 рецепторов и ноцицептина были идентифицированы в амигдале, гиппокампе, гипоталамусе, таламусе, locus coeruleus, n. raphe dorsalis, n. tractus solitarius, спинномозговых ганглиях, передних и задних рогах спинного мозга, ганглиях симпатического ствола [9, 12, 62]. В то же время не удалось идентифицировать ORL1 рецепторы в мозжечке, n. caudatus, putamen. Иммуногистохимически молекулы ноцицептина обнаружены в афферентных ядрах тройничного нерва, амигдале, гипоталамусе, n. raphe, locus coeruleus, перегородке, околородоводном веществе среднего мозга [93], задних рогах спинного мозга, боковых рогах спинного мозга и уча-

стке, примыкающем к спинномозговому каналу [80]. Установлено, что N/OFQ оказывает тормозное влияние на симпатические преганглионарные нейроны, расположенные в боковых рогах спинного мозга [11]. Таким образом, ноцицептин обнаружен в вегетативных центрах спинного и головного мозга, а также структурах ЦНС, ответственных за восприятие ноцицептивной информации. Распределение N/OFQ в ядрах ствола головного и спинного мозга практически полностью совпадает с распределением опиоидных пептидов, но орфанин FQ и опиоиды почти никогда не удается обнаружить в одних и тех же нейронах [80, 93]. Однако высокая плотность OP_4 рецепторов найдена также в амигдале, гиппокампе и коре большого мозга, где другие опиоидные рецепторы (OP_1 , OP_2 , OP_3), как известно, практически отсутствуют [34, 63]. Эти факты косвенно свидетельствуют о важной роли ноцицептина в регуляции болевой чувствительности, вегетативных функций организма, механизмов обучения, памяти и эмоционального поведения.

Метаболизм ноцицептина. Ноцицептинергическая система представлена не только ORL1 рецепторами, ноцицептином, но и ферментами, которые осуществляют процессинг орфанина FQ из высокомолекулярного предшественника препроноцицептина, а также расщепляют N/OFQ. Установлено, что ключевую роль в превращении проноцицептина в ноцицептин играет процессинг-энзим PC2 [97]. У мышей, лишенных гена, кодирующего этот фермент (PC2-knockout mice), синтез N/OFQ снижается на 90 % [97]. В ходе энзиматического процессинга из препроноцицептина образуются еще два биологически активных пептида: ноцистатин (MPRVRSFLFQEQEPE PGMEEAGEMEQQQLQ) [72] и орфанин FQ2 (ноцицептин II) (FSEFMRQYLVLVLS MQSSQ) [85]. Оба эти пептида не взаимодействуют с OP_4 рецепторами [72, 85]. Полагают, что один из них — ноцистатин — является функциональным антагонистом ноцицептина [72]. Более подробное обсуждение свойств этих пептидов, выходящее за рамки данного обзора, представлено в публикациях [72, 85].

В работе, посвященной метаболизму орфанина FQ, авторы утверждают, что ноцицептин подвергается энзиматической деградации аминопептидазой N и эндопептидазой 24.15, но не эндопептидазой 24.11 (энкефалиназой), которая расщепляет опиоидные пептиды [60]. Согласно данным, представленным в обзорной статье [57], ЭДТА в концентрации 100 μ M практически полностью ингибирует гидролиз ноцицептина в срезах головного мозга. Ингибирующее действие этого соединения объясняется тем, что эндопептидаза является металлопептидазой, а ЭДТА — хелатором [101]. Ингибитор энкефалиназы тиорфан существенно усиливает кардиоваскулярные эффекты орфанина FQ при совместном внутривенном введении обоих препаратов, видимо, за счет снижения активности эндопептидазы 24.15 [51].

Однако исследование [6] свидетельствует о том, что метаболизм ноцицептина существенно отличается от такового для опиоидных пептидов. Оказалось, что время полуэлиминации (half-life) N/OFQ *in vitro* в суспензии мембран головного мозга составляет 10 мин [6]. Аналогичный показатель для мет-энкефалина — 23 с, а для метэнкефалина-Arg6-Phe7-68 с [23]. Наиболее близкий к N/OFQ по структуре динорфин также очень чувствителен к действию протеаз [97]. Среди продуктов деградации орфанина FQ как *in vivo*, так и *in vitro* в культуре клеток преобладают N-терминальные фрагменты N/OFQ (1 – 6), (1 – 9), (1 – 13), (1 – 5), (1 – 7), (1 – 11), а фрагменты (2 – 6) и (2 – 17) присутствуют лишь в незначительном количестве [6, 101]. В то же время, в крови человека N/OFQ расщепляется практически исключительно аминопептидазой [109]. В этом случае преобладают C-терминальные фрагменты ноцицептина: (2 – 17), (3 – 17), (4 – 17), (5 – 17). Этот факт свидетельствует о том, что ноцицептин в отличие от энкефалинов устойчив к действию аминопептидазы в тканях (но не в крови) и метаболизируется, главным образом, под действием эндопептидазы. L. Terenius в обзоре приводит литературные данные о том, что N/OFQ не расщепляется аминопептидазой ни в одной из структур головного и спинного мозга, равно как и в культурах тканей [97]. Возможно, с этим связано более продолжительное, чем у опиоидных пептидов время полуэлиминации, этого гептадекапептида.

Роль ноцицептиновых рецепторов в регуляции нейротрансмиссии. Действие орфанина FQ на ионную проводимость в нейронах позволяет этому пептиду вызывать гиперполяризацию мембран нейронов за счет усиление K^+ -тока задержанного выпрямления [11, 22] и, тем самым, снижать возбудимость нейронов, а также ингибировать высвобождение медиаторов путем угнетения Ca^{2+} -тока [26, 45]. Действительно, существуют данные о том, что ноцицептин супрессирует освобождение глутамата из нейронов коры большого мозга [92] и спинного мозга [32], а также ацетилхолина и дофамина из клеток стриатума [92], ингибирует глутаматергическую и ГАМК-ергическую передачу в срезах головного мозга [92]. У наркотизированных крыс интрацеребровентрикулярная (icv) инфузия орфанина FQ (15 – 150 нмоль) подавляет освобождение дофамина из n. accumbens [61].

Установлено, что N/OFQ ингибирует освобождение норадреналина из срезов коры большого мозга [69, 91]. В экспериментах *in vivo* микроинъекция ноцицептина в locus coeruleus также приводит к снижению выброса норадреналина из клеток коры мозга крыс [69]. Этот эффект ноцицептина устранялся NOR антагонистами, что говорит в пользу участия ORL1 рецепторов в модуляции освобождения норадреналина [69, 91]. Кроме того, N/OFQ путем активации NOR рецепторов ингибирует освобождение серотонина из срезов коры мозга и кортикальных синапсов, что го-

ворит о важной роли пресинаптических ORL1 рецепторов в регуляции выделения серотонина из терминалей аксонов, расположенных в коре большого мозга [90].

Влияние ноцицептина на процессы нейротрансмиссии во многом повторяет эффекты опиоидов. Локализация ORL1 рецептор в структурах головного и спинного мозга также во многом совпадает с расположением опиоидных рецепторов. Исходя из этого, можно было предположить, что орфанин FQ подобно опиоидам должен оказывать обезболивающее действие и повышать локомоторную активность.

Регуляция болевой чувствительности. Однако уже в одной из первых работ, посвященных орфанину FQ, показано, что *icv* введение этого пептида (0,05 нмоль) мышам вызывает снижение порога болевой чувствительности в тесте горячей пластины [56]. Именно этот эффект агониста OP_4 рецепторов натолкнул исследователей на мысль назвать этот пептид ноцицептином [55]. Инфузия в боковой желудочек мозга мышей олигонуклеотида (антисенса), комплементарного мРНК, кодирующей ORL1 рецептор, напротив, вызывала повышение порога болевой чувствительности в тесте горячей пластины [56]. Этот факт свидетельствует о тонической регуляции ноцицептивных реакций эндогенными агонистами OP_4 рецепторов. Состояние гипералгезии после *icv* инфузии ноцицептина (1 – 10 нмоль) наблюдали и другие исследователи [14, 64, 79, 103]. Этот феномен не удается воспроизвести у гомозиготной линии мышей, лишенных ORL1 рецептора, что лишним раз подтверждает роль OP_4 рецепторов в N/OFQ-индуцированной гипералгезии [64]. Ноцицептин (0,5 – 10 нмоль, *icv*) подобно налоксону устраняет состояние стресс-индуцированной анальгезии у мышей [58], а его инфузия в боковой желудочек мозга мышей устраняет антиноцицептивный эффект морфина [14], μ -агонистов DAMGO и эндоморфина-1, а также δ -агониста DTLET и κ -агониста U-50488 [103]. Блокада OP_4 рецепторов с помощью *icv* инфузии $[Nphe^1]NC(1-13)NH_2$ (30 нмоль), наоборот, усиливает обезболивающее действие морфина у мышей [81]. Эти факты позволили исследователям назвать ноцицептин антиопиоидным пептидом [58, 98]. Однако орфанин FQ не устраняет антиноцицептивное действие морфина при интратекальном введении, что указывает на то, что этот пептид является функциональным антагонистом опиоидов только на супраспинальном, но не спинальном уровне [98]. Более того, интратекальное введение крысам ноцицептина даже усиливает обезболивающее действие морфина [98]. Следует сказать, что ноцицептивный эффект N/OFQ зависит от состояния эндогенной опиоидной системы. Так, установлено, что *icv* инфузия орфанина FQ (30 нмоль) не влияет на порог болевой чувствительности у крыс в тесте горячей пластины [48]. Однако после блокады μ -рецепторов налоксо-

ном или селективным μ -антагонистом СТАР гептадекапептид оказывает ноцицептивный эффект [48]. После селективной блокады δ - и κ -опиоидных рецепторов N/OFQ не влияет на порог болевой чувствительности [48]. Эти факты исследователи также рассматривают как показатель того, что эндогенные агонисты μ - и ORL1 рецепторов выступают в роли функциональных антагонистов при регуляции болевой чувствительности на супраспинальном уровне [48]. Кроме того, эти данные свидетельствуют о том, что реакция организма на применение NOR-агонистов имеет видовые особенности, поскольку у мышей орфанин FQ при введении в боковой желудочек всегда вызывает состояние гипералгезии. Выполняя эксперименты с селективным NOR-антагонистом $[Nphe^1]nociceptin(1-13)NH_2$ обнаружено, что этот пептид в дозе 30 нмоль не только устраняет ноцицептивный эффект орфанина FQ при их совместном введении в боковой желудочек мозга мышей, но и сам (без N/OFQ) оказывает антиноцицептивный эффект [29]. Обезболивающее действие оказалось нечувствительным к налоксону [29]. У мышей, лишенных гена OP_4 рецептора (OP_4 receptor knockout mice), $[Nphe^1]nociceptin(1-13)NH_2$ не влиял на порог болевой чувствительности [29]. У подопытных животных, которым в течение 5 дней вводили в боковой желудочек селективный агонист μ -опиоидных рецепторов DAMGO формируется толерантность к антиноцицептивному действию DAMGO, но не к анальгетическому влиянию $[Nphe^1]nociceptin(1-13)NH_2$ [29]. Эти факты говорят о том, что антиноцицептивный эффект $[Nphe^1]nociceptin(1-13)NH_2$ связан с блокадой OP_4 рецепторов. Кроме того, они свидетельствуют, что эндогенные NOR-агонисты регулируют уровень болевой чувствительности у интактных животных на супраспинальном уровне.

Вместе с тем есть сведения о том, что *icv* инфузия орфанина FQ в дозе 5 нмоль вызывает у мышей первоначально состояние гипералгезии, за которой следует состояние налоксон-чувствительного обезболивания [44]. Возможно, в этих экспериментах гептадекапептид вызывал высвобождение эндогенных опиоидов, которые и обеспечивали состояние анальгезии. Однако, в целом в литературе преобладают публикации о том, что *icv* инфузия орфанина FQ вызывает только состояние гипералгезии.

Интратекальное введение орфанина FQ вызывает у крыс выраженное и продолжительное состояние анальгезии (более 60 мин в дозе 5 нмоль) [107]. При этом происходит суммация антиноцицептивных эффектов гептадекапептида и морфина [37], N/OFQ и эндоморфина-1 [103]. Этот факт исследователи рассматривают как доказательство того, что опиоиды и ноцицептин действуют на спинальном уровне как синергисты [37, 103]. Антиноцицептивный эффект N/OFQ при интратекальном введении подтвержден во многих рабо-

тах [94, 103]. Этот факт позволяет полагать, что стимуляция спинальных ORL1 рецепторов вызывает состояние пониженной болевой чувствительности. Согласно данным [32], N/OFQ-индуцированная спинальная анальгезия может быть результатом снижения активности глутаматергических нейронов передних рогов спинного мозга. Ингибирующий эффект гептадекапептида показан и в отношении нейронов, расположенных в задних рогах спинного мозга [94]. Вместе с тем есть данные о том, что N/OFQ снижает порог болевой чувствительности у мышей при интратекальном введении [71]. Так, было показано, что интратекальное введение мышам орфанина FQ в дозе, превышающей 0,5 пмоль, вызывает у подопытных животных состояние аллодинии, то есть болевой ответ на неболевой (тактильный) стимул [71]. Почему ноцицептин при интратекальном введении в одном случае оказывает антиноцицептивный эффект [107], а в другом провоцирует появление аллодинии [71]? Возможно, причина кроется в полиморфизме OP_4 рецепторов. Следует обратить внимание на тот факт, что N/OFQ оказывал обезболивающее действие в дозе 5 нмоль [107], а снижал порог болевой чувствительности при введении в 5000 раз меньшей (1 пмоль) дозы [71]. Аналогичную дозо-зависимость действия ноцицептина на спинальном уровне отмечают и другие исследователи [108]. Можно предположить, что в первом случае (5 нмоль) N/OFQ активировал ORL1 рецепторы с низким аффинитетом к орфанину FQ, но с высокой плотностью, а во втором (1 пмоль) — действовал на рецепторы с высоким сродством к ноцицептину, но с низкой плотностью. Действительно, в недавней публикации [43] показано существование двух подобных пулов OP_4 рецепторов на мембранах кардиомиоцитов. Возможно, аналогичная ситуация имеет место в мембранах нейронов спинного мозга.

При системном введении в больших дозах (ED_{50} 16 мкг/мышь) N/OFQ оказывает антиноцицептивный эффект, который связан с активацией опиоидных рецепторов [46].

Следовательно, ноцицептин ведет себя как антиопиоидный пептид главным образом на супраспинальном уровне. Роль орфанина FQ на уровне спинного мозга не столь однозначна. Участвует ли эндогенный N/OFQ в тонической регуляции порога болевой чувствительности? На этот вопрос можно ответить утвердительно. Блокада центральных OP_4 рецепторов с помощью *icv* инфузии $[Nphe^1]nociceptin(-13)NH_2$ (30 нмоль) приводит к увеличению порога болевой чувствительности у мышей [17, 29]. Этот эффект отсутствует у мышей, лишенных ORL1 рецептора (ORL1 knockout mice), и является нечувствительным к налоксону [29]. Интратекальное введение антисыворотки к N/OFQ понижает порог болевой чувствительности, а *icv* инфузия оказывает анальгетический эффект [99]. В экспериментах на мышах, лишенных OP_4 рецептора не удалось обнаружить достоверных отличий

в чувствительности к различным болевым раздражителям между “нокаутированными” и интактными “дикими” мышами [66]. Следовательно, эндогенный ноцицептин участвует в тонической регуляции болевой чувствительности, но только у животных, имеющих OP_4 рецепторы.

Локомоторная активность. Уже в одной из первых работ, посвященных ноцицептину, было обнаружено, что *icv* введение орфанина FQ (10 нмоль) вызывает у мышей уменьшение вертикальной и горизонтальной локомоторной активности, а также индуцирует состояние атаксии [79]. Морфин, как известно, напротив усиливает двигательную активность [82]. Угнетение локомоторной активности под действием ноцицептина наблюдали и другие исследователи, использовавшие наномолярные дозировки N/OFQ [82]. В работе [33] показано, что *icv* инфузия более низких доз (1 – 10 пмоль) орфанина FQ может усиливать исследовательскую активность мышей. Однако эти данные не были подтверждены в более позднем исследовании [82], когда не удалось обнаружить изменения поведения мышей после *icv* инъекции 1 – 10 пмоль ноцицептина. Введение ноцицептина (10 – 100 нмоль) в боковой желудочек мозга крыс вызывало у подопытных животных продолжительное нарушение координации и мышечного тонуса [28]. Микроинъекция орфанина FQ в гиппокамп крыс (10 нмоль) также вызывала снижение исследовательской активности у подопытных животных [87]. Гиполокомоторное действие ноцицептина не было обнаружено при интратекальном введении гептадекапептида [98, 107]. Вместе с тем физиологическая роль эндогенного N/OFQ и OP_4 рецепторов в регуляции локомоторной активности, по-видимому, не столь уж велика, как может показаться на первый взгляд. Так, в работах [64, 66], выполненных на мышах мутантах, лишенных гена ORL1-рецептора, не удалось выявить изменения спонтанной и исследовательской локомоторной активности по сравнению с обычными мышами.

Поскольку снижение локомоторной активности принято считать одним из признаков анксиолитического эффекта, многие авторы полагают, что агонисты NOR рецепторов следует рассматривать, как перспективную группу фармакологических агентов при создании препаратов для лечения тревожных состояний [18, 40, 104]. Эту перспективу подтверждают недавние исследования, выполненные в компании Hoffman La Roche [40, 104]. В ходе этих экспериментов на различных поведенческих моделях, показано, что ноцицептин оказывает анксиолитический эффект при *icv* инфузии [40]. Подобный эффект оказывал и синтетический непептидный агонист ORL1-рецепторов Ro 64 – 6198 в дозах, сопоставимых с дозами бензодиазепинов [40, 104].

Когнитивные процессы. Высокий уровень транскриптов ORL1 рецептора [59] и самих OP_4 рецепторов обнаружен в гиппокампе и коре большого мозга

[34, 100]. Ноцицептин индуцирует гиперполяризацию нейронов из срезов гиппокампа мыши за счет усиления K^+ -тока задержанного выпрямления, ингибирует потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы нейронов CA1 и CA3 гиппокампа [45]. Эти факты косвенно свидетельствуют о том, что ноцицептин играет важную роль в процессах обучения и запоминания информации. Действительно, оказалось, что микроинъекция (10 нмоль) гептадекапептида в эту структуру головного мозга крыс вызывает нарушение процесса обучения [87]. Установлено, что icv инфузия мышам ноцицептина (1 – 10 пмоль) замедляет формирование условных рефлексов и вызывает нарушение долговременной памяти, но кратковременная рабочая память при этом не страдает [65, 66]. Предварительная инъекция NOR-антагониста налоксона бензоилгидразона (1 мг/кг подкожно) полностью предупреждает появление N/OFQ-индуцированных нарушений памяти, что свидетельствует об участии ORL1 рецептора в регуляции когнитивных процессов [65, 66]. Кроме того, у мышей, лишенных OP_4 рецепторов (NOR knockout mice), обнаружено более быстрое формирование условных рефлексов и более длительное сохранение условного рефлекса по сравнению с диким типом (wild-type) мышей [65, 66]. Более того, оказалось, что ни N/OFQ, ни налоксона бензоилгидразон не влияют на обучение и память у “нокаутированных” мышей [65, 66]. В основе N/OFQ-индуцированного нарушения когнитивных процессов, повидимому, лежит способность орфанина FQ ингибировать синаптическую передачу и электрофизиологическую активность нейронов гиппокампа и gyrus dentatus [110].

Подводя итог вышесказанному, хотели бы акцентировать внимание на двух фактах: во-первых, чтобы вызвать нарушения долговременной памяти, мышам достаточно ввести icv 10 пмоль ноцицептина [65, 66], а чтобы индуцировать изменения локомоторной активности или порога болевой чувствительности требуются в 1000 раз более высокие дозы орфанина FQ [14, 29, 64, 79, 82]. Во-вторых, у мышей, лишенных OP_4 рецептора, не удастся выявить отличий от “дикого типа” по локомоторной активности и реакции на болевые раздражители, но у “нокаутированных” мышей отмечается усиление долговременной памяти и ускорение формирования условных рефлексов [65 – 67]. На наш взгляд, эти факты говорят о том, что основная роль ноцицептинергической системы — регуляция когнитивных процессов.

Пищевое поведение. Подобно опиоидам, орфанин FQ регулирует потребление пищи. Так, например, icv инфузия ноцицептина (1 – 10 нмоль) вызывает усиление аппетита у крыс [77]. Инъекция налоксона (1 мг/кг) устраняет этот эффект гептадекапептида [77], что говорит об участии опиоидных рецепторов в реализации этого эффекта ноцицептина. Видимо, в данном случае N/OFQ сам не взаимодействует с опиоидными рецепторами, но вызывает мобилизацию эн-

догенных опиоидных пептидов. Исследователи смогли показать, что OP_4 рецепторы, ответственные за регуляцию потребления пищи, находятся в 3-м желудочке головного мозга [76]. Стимуляция пищевого поведения отмечалась и при микроинъекции N/FQ в ядра вентромедиального гипоталамуса и n. accumbens [95]. Показано, что icv инъекция орфанина FQ (0,1 – 1 мкг) полностью устраняет стресс-индуцированную анорексию и анорексию, вызванную icv инфузией кортикотропин-рилизинг фактора [25]. Следовательно, в регуляции пищевого поведения ноцицептин ведет себя подобно опиоидам, которые, как известно, обладают антистрессорной активностью [2] и стимулируют потребление пищи [73]. Ноцицептинергическая система, по всей видимости, осуществляет тоническую регуляцию пищевого поведения. В пользу подобной точки зрения говорят экспериментальные данные о том, что блокада OP_4 рецепторов приводит к снижению потребления пищи экспериментальными животными [75].

Другие поведенческие эффекты NOR-лигандов. Известно, что нарушение освобождения и метаболизма серотонина и норадреналина имеет прямое отношение к патогенезу депрессивных состояний. Между тем, как отмечали выше, N/OFQ способен ингибировать освобождение норадреналина и серотонина [69, 90, 91]. Этот факт позволил некоторым исследователям предположить, что антагонисты ORL1 рецепторов могут обладать антидепрессивной активностью [18, 78]. В качестве теста была выбрана модель плавания мышей, которая является стандартной для скрининга антидепрессантов [10]. Оказалось, что ни ноцицептин (0,01 – 1 нмоль, icv), ни налоксон (1 – 10 мг/кг, интраперитонеально) не влияют на продолжительность плавания мышей [78]. В то же время, icv инфузия NOR-антагониста [Nphe¹]-nociceptin (1 – 13)-NH₂ (25 или 50 нмоль) или внутрибрюшинная инъекция непептидного блокатора ORL1-рецепторов J-113397 (20 мг/кг) значительно усиливает способность мышей “держаться на воде” [78], то есть оказывает эффект аналогичный действию трициклических антидепрессантов и ингибиторов MAO [78]. Авторы полагают, что NOR-антагонисты являются перспективной группой соединений для разработки антидепрессантов нового типа [78]. Кроме того, они расценивают полученные результаты, как доказательство тонической регуляции поведения эндогенными агонистами ORL1-рецепторов [78]. Установлено, что ноцицептинергическая система играет важную роль в формировании зависимости к опиоидом и алкоголю [24, 42, 49], однако обсуждение этого вопроса выходит за рамки данной статьи.

Агонисты ORL1 рецепторов. Селективным агонистом ноцицептиновых рецепторов является орфанин FQ. Величина ED₅₀ для ингибирования этим гептадекапептидом аденилатциклазы составляет около 1 нМ [53, 56, 79]. Однако еще в 1995 г. в экспериментах, вы-

полненных на ооцитах *Xenopus laevis*, трансфицированных с помощью инъекции РНК, кодирующей ORL1 рецептор и G-белок сопряженный K^+ -канал, было показано, что динорфин А и динорфин А-(1 – 13) вызывают появление K^+ -тока с ED_{50} соответственно 45 нМ и 37 нМ [112]. Трансфекцией в молекулярной биологии принято называть процесс переноса короткой кольцевой молекулы ДНК или РНК, кодирующей какой-либо ген и способной к транскрипции и репликации независимо от нуклеиновых кислот “клетки-хозяина” [1]. В аналогичных экспериментах с ооцитами *Xenopus laevis* установлено, что ED_{50} для ноцицептина составляет несколько наномолей, то есть приближается к аналогичному показателю для динорфина [54]. Кроме того, существуют данные о том, что в кардиомиоцитах динорфин и ноцицептин могут взаимодействовать с одним и тем же так называемым “неопиоидным рецептором динорфина” [30]. Вместе с тем показано, что динорфин А не может в полной мере имитировать эффекты орфанина FQ [13]. Оказалось, что динорфин А действительно проявляет определенное сродство к ORL1 рецепторам CHO(ORL1) клеток [13]. Константа ингибирования (K_i), которую авторы определяли, как концентрацию немеченного лиганда, достаточную для 50 % ингибирования связывания [3H]ноцицептина, составляет 110 нМ для динорфина и 0,13 нМ для орфанина FQ [13]. В то же время ED_{50} , необходимая для снижения активности аденилатциклазы, сопряженной в этих клетках с ORL1 рецепторами, составляет для динорфина > 10000 нМ. Для сравнения, ED_{50} для ноцицептина — 0,8 нМ [13]. Следовательно, динорфин А может связываться с ORL1 рецептором, но, по всей видимости, не всегда его активирует.

Следует отметить, что некоторые эффекты ноцицептина *in vivo* могут быть результатом активации опиоидных рецепторов [46, 77]. Так, антиноцицептивный эффект орфанина FQ у мышей может быть следствием стимуляции опиоидных рецепторов [46]. Стимуляция потребления пищи, вызванная *in vivo* инфузией ноцицептина, устраняется налоксоном [77].

Для взаимодействия ноцицептина с ORL1 рецептором необходим фенилаланин в первом положении, так как потеря или замена этой аминокислоты приводит к снижению его аффинитета к OP_4 рецептору [100]. У Дез-Phe¹-ноцицептина аффинитет к ORL1 рецепторам в 2000 раз ниже, чем у гептадекапептида [13], тем не менее, этот пептид, подобно N/OFQ, способен *in vivo* ингибировать освобождение дофамина из п. *assumbens* [61]. Однако по биологической активности Дез-Phe¹-ноцицептин намного уступает ноцицептину(1 – 17) [61]. Снижение сродства к NOR рецепторам отмечается и при потере аминокислот, расположенных у COOH-конца молекулы гептадекапептида. Так, например, N-терминальные фрагменты ноцицептина N(1 – 11), N(1 – 9) и N(1 – 7) не связываются с ORL1 рецептором и не ингибируют аденилатциклазу в CHO(ORL1) клетках [13, 100], поэтому до недавнего

времени полагали, что они не обладают биологической активностью [56].

Замена карбоксильной группы на аминогруппу на C-конце пептидной цепочки молекулы N/OFQ не влияет на аффинитет орфанина FQ к рецептору, но приводит к усилению его биологической активности *in vivo*. Это связано, по-видимому, с повышением резистентности пептида к энзиматическому гидролизу, поэтому ноцицептин-(1 – 17)-NH₂ обладает более высокой активностью *in vivo*, чем ноцицептин-(1 – 17) [7, 82]. Наличие аминокислот с положительным зарядом (Arg^{8,12} и Lys^{9,13}) также является обязательным условием для взаимодействия орфанина FQ с ORL1 рецептором [36]. Интересно отметить, что непептидные лиганды OP_4 рецептора также имеют положительный заряд за счет присутствия в их молекулах трех атомов азота [18]. На основании этих фактов, синтезирован аналог орфанина FQ — [Arg¹⁴, Lys¹⁵]-ноцицептин-(1 – 17), который по сродству к ORL1 рецепторам в 3 раза превосходил N/OFQ, а по способности усиливать GTPγ³⁵S связывание был в 17 раз “сильнее” N/OFQ [68]. Установлено, что по биологической активности на препаратах изолированных органов [Arg¹⁴, Lys¹⁵]-ноцицептин в 10 – 17 раз превосходит орфанин FQ [84]. В экспериментах *in vivo* [Arg¹⁴, Lys¹⁵]-ноцицептин имитирует все эффекты ноцицептина, но превосходит последний по биологической активности и продолжительности действия в 10 – 30 раз [84], поэтому есть основания считать этот пептид “препаратом выбора” для изучения OP_4 рецепторов. К сожалению, [Arg¹⁴, Lys¹⁵]-ноцицептин является весьма дорогостоящим фармакологическим агентом, по причине чего не приходится надеяться на его применение в клинической практике. В связи с этим некоторые фармацевтические компании пытаются синтезировать непептидный агонист ORL1 рецепторов. Определенный оптимизм в отношении поиска непептидных агонистов OP_4 рецепторов внушали уже первые работы, посвященные NOR-лигандам. Так, показано, что некоторые опиоиды (эторфин и лофентанил) могут взаимодействовать с ORL1 рецепторами [13]. Особенно высокое сродство к этим рецепторам проявлял лофентанил, K_i в мембранах CHO(ORL1) для этого опиоида составляла 24 нМ, ED_{50} для ингибирования аденилатциклазы — 7 нМ, что сопоставимо с аналогичным показателем для ноцицептина (ED_{50} 0,8 нМ) [13].

Основываясь на этих фактах, сотрудники компании Hoffmann-La Roche попытались создать непептидный NOR-агонист на основе молекулы лофентанила. Уже первая попытка оказалась успешной: был синтезирован аналог лофентанила, который проявлял большую селективность к OP_4 , чем молекула-предшественник [86]. В 2000 г. последовала публикация о создании еще более селективного непептидного агониста OP_4 рецепторов — Ro64 – 6198 (1S,3aS)-8-(2,3,3a,4,5,6-hexahydro-1H-phenalen-1-yl)-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one) [40, 104]. Этот фармакологический агент

проявляет в 100 раз более высокое сродство к ORL1 рецепторам, чем к другим опиоидным рецепторам [40, 104]. В экспериментах *in vivo* на мышях и крысах он имитирует эффекты ноцицептина и проявляет анксиолитические (0,3 – 3 мг/кг внутривенно) свойства [38, 40], но не действует на мышей, у которых отсутствует ген NOR рецептора [38]. Таким образом, существует определенное сходство между бензодиазепиновыми анксиолитиками и Ro64 – 6198. Однако Ro64 – 6198 в отличие от бензодиазепинов не обладает противосудорожной активностью [40]. В экспериментах на изолированных препаратах толстого кишечника морской свинки, семявыносящих протоков крысы и мыши установлено, что только в случае использования препаратов семявыносящего протока крысы Ro64-6198 ведет себя как NOR-агонист [83], хотя центральные эффекты Ro64-6198 у мышей связаны с активацией OP_4 рецепторов [38]. Такой парадоксальный результат может быть следствием существенных различий между центральными и периферическими ORL1 рецепторами.

Антагонисты ORL1 рецепторов. Первым антагонистом OP_4 рецепторов был налоксона бензоилгидразон (NalBzOH) [31]. Этот фармакологический агент способен не только взаимодействовать с μ - и κ -опиоидными рецепторами, но в экспериментах на изолированном семявыносящем протоке крыс в концентрации 1 мкМ ингибировать ORL1 рецепторы [31]. Позднее в опытах на трансфецированных клетках CHO(hORL1) было установлено, что NalBzOH может не только блокировать OP_4 рецепторы, но и стимулировать их, то есть вести себя как парциальный агонист ORL1 рецепторов, который ингибирует аденилатциклазу, сопряженную с этими рецепторами [8]. Тем не менее, несмотря на все недостатки (парциальный агонизм, низкий аффинитет и селективность к NOR рецепторам), NalBzOH продолжают широко использовать [52, 65, 66]. Это связано не только с дешевизной этого “фармакологического инструмента”, но и с тем, что в дозах, достаточных для блокады ORL1 рецепторов *in vivo* (2,2 мг/кг внутривенно), он ведет себя как “чистый” антагонист, чего, к сожалению, нельзя сказать о многих пептидных антагонистах OP_4 рецепторов [52].

В 1998 г. G. Calo' и соавт. на основе молекулы ноцицептина попытались синтезировать энзиморезистентный аналог N/OFG. Неожиданно для самих исследователей оказалось, что один из пептидов — [Phe¹ψ(CH₂-NH)Gly²]nociceptin(1-13)NH₂ ([F/G]NC(1-13)NH₂) является конкурентным селективным NOR-антагонистом в опытах *in vitro* [15, 35]. К сожалению, позднее выяснилось, что этот псевдопептид ведет себя *in vivo* как парциальный NOR агонист, имитирующий эффекты ноцицептина [14, 41, 52]. Данный факт не может не вызывать удивления, потому что в экспериментах *in vitro* по связыванию GTPγ³⁵S с мембранами мозга крысы [F/G]NC(1-13)NH₂ ведет

себя как “чистый” NOR-антагонист, блокирующий эффекты ноцицептина, но не влияющий на связывание GTPγ³⁵S с мембранами [6]. Такое противоречие между результатами опытов *in vivo* и *in vitro* в литературе еще не получило должного объяснения.

Первым высокоселективным NOR антагонистом, который ведет себя *in vitro* и *in vivo*, как “чистый” антагонист ORL1 рецепторов, оказался [Nphe¹]nociceptin(1-13)NH₂ [17, 22]. В настоящее время [Nphe¹]nociceptin(1-13)NH₂ считается “препаратом выбора” для блокады OP_4 рецепторов. Однако, как и большинство пептидных лигандов, [Nphe¹]nociceptin(1-13)NH₂ отличается чрезвычайной дороговизной, поэтому ведутся исследования по синтезу непептидного антагониста ORL1 рецепторов. Наибольшего успеха в этом направлении удалось добиться компании Banyu Pharmaceuticals, которая синтезировала первый селективный непептидный NOR-антагонист 1-[(3R,4R)-1-cyclooctylmethyl-3-hydroxymethyl-4-piperidyl]-3-ethyl-1,3-dihydro-2H-benzimidazole -2-one (J-113397) [70]. Оказалось, что J-113397 связывается с OP_4 рецепторами в наномолярном диапазоне и проявляет к ним в 600 раз более высокое сродство, чем к другим опиоидными рецепторами [70]. Этот фармакологический агент ведет себя *in vitro* и *in vivo*, как “чистый” NOR-антагонист [7, 70, 78]. Наибольшего внимания заслуживает антидепрессант-подобная активность J-113397 [78]. Основным недостатком J-113397 является низкая биологическая активность *in vivo*. Так, для блокады центральных эффектов орфанина FQ в различных тестах требуется его системное введение в дозах от 3 до 20 мг/кг [55, 78].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лиганды OP_4 рецепторов представляют перспективную группу соединений для создания новых препаратов, обладающих анальгетической, анксиолитической, антидепрессивной активностью. Кроме того, эти вещества могут послужить основой для разработки средств для лечения нарушений памяти, анорексии, булимии, алкогольной и опиоидной зависимости.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ, гранта Министерства образования РФ и гранта Регионального общественного фонда содействия отечественной медицине.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Н. Горбунова, *Молекулярные основы медицинской генетики*, Изд. “Интермедика”, СПб (1999).
2. Ю. Б. Лишманов, Л. Н. Маслов, *Опиоидные нейропептиды, стресс и адаптационная защита сердца*, Изд. Томского университета, Томск (1994).
3. M. R. Abraham, A. Jahangir, A. E. Alekseev, and A. Terzic, *FASEB J.*, **13**, 1901 – 1910 (1999).
4. W. M. Armstead, *Brain Res.*, **835**(2), 315 – 323 (1999)
5. W. M. Armstead, *Am. J. Physiol.*, **279**(6), H2678 – 2684 (2000).
6. H. Berger, R. Bigoni, E. Albrecht, et al., *Peptides*, **21**(7), 1131 – 1139 (2000).

7. R. Bigoni, G. Calo', A. Rizzi, et al., *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **361**(5), 565 – 568 (2000).
8. R. Bigoni, G. Calo', H. Rizzi, et al., *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **80**, 407 – 412 (2002).
9. A. Boom, C. Mollereau, J.-C. Meunier, et al., *Neuroscience*, **91**(3), 991 – 1007 (1999).
10. F. Borsini and A. Meli, *Psychopharmacology*, **94**, 147 – 160 (1988).
11. G. C. Brailoiu, C. C. Lai, C. T. Chen, et al., *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **29**, 233 – 237 (2002).
12. J. R. Bunzow, C. Saez, M. Mortrud, et al., *FEBS Lett.*, **347**, 284 – 288 (1994).
13. J.-L. Butour, C. Mousand, H. Mazarguil, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **321**, 97 – 103 (1997).
14. G. Calo', A. Rizzi, G. Marzola, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **125**, 373 – 378 (1998).
15. G. Calo', R. Guerrini, R. Bigoni, et al., *J. Med. Chem.*, **41**, 3360 – 3366 (1998).
16. G. Calo', R. Guerrini, A. Rizzi, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **129**, 1261 – 1283 (2000).
17. G. Calo', R. Guerrini, R. Bigoni, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **129**, 1183 – 1193 (2000).
18. G. Calo', A. Rizzi, R. Bigoni, et al., *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **29**, 223 – 228 (2002).
19. A. S. Chan and Y. H. Wong, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **295**(3), 1094 – 1000 (2000).
20. H. C. Champion, T. J. Bivalacqua, J. E. Zadina, et al., *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **29**, 229 – 232 (2002).
21. Y. Chen, Y. Fan, J. Liu, et al., *FEBS Lett.*, **347**, 279 – 283 (1994).
22. L.-C. Chiou, S.-H. Fan, R. Guerrini, and G. Calo', *Neuropharmacology*, **42**, 246 – 252 (2002).
23. J. Chou, J. Tang, and E. Costa, *Life Sci.*, **32**(22), 2589 – 2595 (1983).
24. R. Ciccocioppo, S. Angeletti, I. Panocka, and M. Massi, *Peptides*, **21**(7), 1071 – 1080 (2000).
25. R. Ciccocioppo, S. Angeletti, I. Panocka I., et al., *Neuroreport*, **12**(6) 1145 – 1149 (2001).
26. M. Connor, A. Yei, and G. Henderson, *Br. J. Pharmacol.*, **118**, 205 – 207 (1996).
27. D. Curro, J. H. Yoo, M. Anderson, et al., *Gene*, **266**(1 – 2), 139 – 145 (2001).
28. D. P. Devine, L. Taylor, R. Reinscheid, et al., *Neurochem. Res.*, **21**, 1387 – 1396 (1996).
29. A. Di Giannuario, A. Rizzi, S. Pieretti, et al., *Neurosci. Lett.*, **316**, 25 – 28 (2001).
30. M. Dumont and S. L. Lemaire, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **30**(12), 2751 – 2760 (1998).
31. R. J. Dunnill, K. Kakizawa, A. T. McKnight, and G. Henderson, *Br. J. Pharmacol.*, 119 Suppl. S: Abstract 275. (1996).
32. E. S. L. Faber, J. P. Chambers, R. H. Evans, and G. Henderson, *Br. J. Pharmacol.*, **119**, 189 – 190 (1996).
33. S. Florin, C. Suaudeau, J.-C. Meunier, and J. Costentin, *Eur. J. Pharmacol.*, **317**, 9 – 13 (1996).
34. S. Florin, J.-C. Meunier, and J. Costentin, *Brain Res.*, **880**(1 – 2), 11 – 16 (2000).
35. R. Guerrini, G. Calo', A. Rizzi, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **123**, 163 – 165 (1998).
36. R. Guerrini, G. Calo', A. Rizzi, et al., *Peptides*, **21**(7), 923 – 933 (2000).
37. J.-X. Hao, Z. Wiesenfeld-Hallin, and X.-J. Xu, *Neurosci. Lett.*, **223**, 49 – 52 (1997).
38. G. A. Higgins, A. J. Grottick, T. M. Ballard, et al., *Neuropharmacology*, **41**, 97 – 107 (2001).
39. J. H. Jaffe and W. R. Martin, *Opioid analgesics and antagonists. Chapter 21. The Pharmacological Basis of Therapeutics. Eighth Edition. Eds. Goodman and Gilman. Pergamon Press, New York*, 485 – 498 (1992).
40. F. Jenck, J. Wichmann, F. M. Dautzenberg, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 4938 – 4943 (2000).
41. D. R. Kapusta, J. K. Chang, and V. A. Kenigs, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **289**(1), 173 – 180 (1999).
42. B. Kest, E. Hopkins, C. A. Palmese, et al., *Neuroscience*, **104**(1), 217 – 222 (2001).
43. K. W. Kim, Y. J. Chung, J. H. Han, et al., *Life Sci.*, **70**, 1065 – 1074 (2002).
44. M. A. King, G. C. Rossi, A. H. Chang, et al., *Neurosci. Lett.*, **223**, 113 – 116 (1997).
45. F. Knoflach, R. Reinscheid, O. Civilli, and J. A. Kemp, *J. Neurosci.*, **16**, 6657 – 6664 (1996).
46. Y. A. Kolesnikov and G. W. Pasternak, *Life Sci.*, **64**(22), 2021 – 2028 (1999).
47. B. Lin, R. Waterman, and H. Lippton, *Life Sci.*, **66**(6), PL99 – 104 (2000).
48. K. Lutfy and N. T. Maidment, *Br. J. Pharmacol.*, **131**(8), 1684 – 1688 (2000).
49. K. Lutfy, S. M. Hossain, I. Khaliq, and N. T. Maidment, *Br. J. Pharmacol.*, **134**, 529 – 534 (2001).
50. S. G. Madamba, P. Schweitzer, and G. R. Siggins, *J. Neurophysiol.*, **82**(4), 1776 – 1185 (1999).
51. P. Madeddu, M. B. Salis, A. F. Milia, et al., *Hypertension*, **33**(5), 914 – 915 (1999).
52. B. Malinowska, H. Kozłowska, H. Berger, and E. Schlicker, *Peptides*, **21**(12), 1875 – 1880 (2000).
53. J. P. Mathis, J. Ryan-Moro, A. Chang, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **230**, 462 – 465 (1997).
54. H. Matthes, E. P. Seward, B. Kieffer, and R. A. North, *Mol. Pharmacol.*, **50**, 447 – 450 (1996).
55. R. L. McLeod, L. E. Parra, J. C. Mutter, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **132**(6), 1175 – 1178 (2001).
56. J.-C. Meunier, C. Mollereau, L. Toll, C. Suaudeau, et al., *Nature*, **377**, 532 – 535 (1995).
57. J.-C. Meunier, *Eur. J. Pharmacol.*, **340**, 1 – 15 (1997).
58. J. S. Mogil, J. E. Grisel, R. Reinscheid, et al., *Neuroscience*, **75**, 333 – 337 (1996).
59. C. Mollereau, M. Parmeutier, P. Mailleaux, et al., *FEBS Lett.*, **341**, 33 – 38 (1994).
60. J.-L. Montiel, F. Cornille, B. P. Roques, and F. Noble, *J. Neurochem.*, **68**, 354 – 361 (1997).
61. N. P. Murphy and N. T. Maidment, *J. Neurochem.*, **73**(1), 179 – 186 (1999).
62. C. R. Neal, A. Mansour, R. Reinscheid, et al., *J. Comp. Neurol.*, **406**, 503 – 547 (1999).
63. C. R. Neal, A. Mansour, R. Reinscheid, et al., *J. Comp. Neurol.*, **412**(4), 563 – 605 (1999).
64. M. Nishi, T. Houtani, Y. Noda, et al., *EMBO J.*, **16**, 1858 – 1864 (1997).
65. T. Nabeshima, Y. Noda, and T. Mamiya, *Brain Res.*, **848**, 167 – 173 (1999).
66. Y. Noda, T. Mamiya, T. Manabe, et al., *Peptides*, **21**(7), 1063 – 1069 (2000).
67. Y. Noda, T. Mamiya, and T. Nabeshima, *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*, **19**(2), 73 – 78 (1999).
68. K. Okada, T. Sujaku, Y. Chuman, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **278**(2), 493 – 498 (2000).
69. H. Okawa, M. Kudo, T. Kudo, et al., *Neurosci. Lett.*, **303**(3), 173 – 176 (2001).
70. S. Ozaki, H. Kawamoto, Y. Itoh, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **387**, R17 – R18 (2000).
71. E. Okuda-Ashitaka, S. Tashibana, T. Houtani, et al., *Mol. Brain Res.*, **43**, 96 – 104 (1996).
72. E. Okuda-Ashitaka, T. Minami, S. Tashibana, et al., *Nature*, **392**, 286 – 289 (1998).

73. G. A. Olson, R. D. Olson, and A. J. Kastin, *Peptides*, **7**(5), 907 – 933 (1986).
74. C. B. Pert and S. H. Snyder, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **70**, 2243 – 2247 (1973).
75. C. Polidori, G. de Caro, and M. Massi, *Peptides*, **21**(7), 1051 – 1062 (2000).
76. C. Polidori, G. Calo', R. Ciccocioppo, et al., *Psychopharmacology*, **148**(4), 430 – 437 (2000).
77. J. D. Pomonis, C. J. Billington, and A. S. Levine, *NeuroReport*, **8**, 369 – 371 (1996).
78. J. P. Redrobe, G. Calo', D. Regoli, and R. Quirion, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **365**, 164 – 167 (2002).
79. R. K. Reinscheid, H.-P. Nothacker, A. Bourson, et al., *Science*, **270**, 792 – 794 (1995).
80. M. Riedl, S. Shuster, L. Vulchanova, et al., *NeuroReport*, **7**, 1369 – 1372 (1996).
81. A. Rizzi, R. Bigoni, G. Marzola, et al., *Neuroreport*, **11**(11), 2369 – 2372 (2000).
82. A. Rizzi, R. Bigoni, G. Marzola, et al., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **363**, 161 – 165 (2001).
83. D. Rizzi, R. Bigoni, A. Rizzi, et al., *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **363**(5), 551 – 555 (2001).
84. D. Rizzi, A. Rizzi, R. Bigoni, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **300**, 57 – 63 (2002).
85. G. C. Rossi, J. P. Mathis, and G. W. Pasternak, *NeuroReport*, **9**, 1165 – 1168 (1998).
86. S. Rover, G. Adam, A. M. Cesura, et al., *J. Med. Chem.*, **43**, 1329 – 1338 (2000).
87. J. Sandin, J. Georgieva, P. A. Schott, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **9**, 194 – 197 (1997).
88. R. M. Slugg, O. K. Ronnekleiv, D. K. Grandy, and M. J. Kelly, *Neuroendocrinology*, **69**(5), 385 – 396 (1999).
89. E. J. Simon, J. M. Hiller, and I. Edelman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **70**, 1947 – 1949 (1973).
90. S. Sbrenna, M. Marti, M. Morari, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **130**, 425 – 433 (2000).
91. E. Schlicker, S. Werthein, M. Kathamann, and U. Bauer, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **358**, 418 – 422 (1998).
92. E. Schlicker and M. Morari, *Peptides*, **21**(7), 1023 – 1029 (2000).
93. S. Schulz, M. Schreff, D. Nuss, et al., *NeuroReport*, **7**, 3021 – 3025 (1996).
94. L. C. Stanfa, V. Chapman, N. Kerr, and A. H. Dickenson, *Br. J. Pharmacol.*, **118**, 1875 – 1877 (1996).
95. T. R. Stratford, M. R. Holahan, and A. E. Kelley, *NeuroReport*, **8**, 423 – 426 (1997).
96. L. Terenius, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **33**, 377 – 384 (1973).
97. L. Terenius, J. Sandin, and T. Sakurada, *Peptides*, **21**(7), 919 – 922 (2000).
98. J.-H. Tian, W. Xu, J. S. Mogil, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **120**, 676 – 680 (1997).
99. J.-H. Tian and J. S. Han, *Peptides*, **21**(7), 1047 – 1050 (2000).
100. K. Varani, G. Calo', A. Rizzi, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **125**, 1485 – 1490 (1998).
101. M. Vlaskovska, L. Kasakov, P. Suder, et al., *Brain Res.*, **818**(2), 212 – 220 (1999).
102. J. B. Wang, P. S. Johnson, Y. Imai, et al., *FEBS Lett.*, **348**, 75 – 79 (1994).
103. Y. Q. Wang, C. B. Zhu, G. C. Wu, et al., *Brain Res.*, **835**(2), 241 – 246 (1999).
104. J. Wichmann, G. Adam, S. Rover, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **35**(9), 839 – 851 (2000).
105. M. J. Wick, S. R. Minnerath, X. Lin, et al., *Mol. Brain Res.*, **27**, 37 – 44 (1994).
106. M. J. Wick, S. R. Minnerath, S. Roy, et al., *Mol. Brain Res.*, **32**, 342 – 347 (1995).
107. X.-J. Xu, J.-X. Hao, and Z. Wiesenfeld-Hallin, *NeuroReport*, **7**, 2092 – 2094 (1996).
108. T. Yamamoto, N. Nozaki-Taguchi, Y. Sakashita, and S. Kimura, *Prog. Neurobiol.*, **57**(5), 527 – 535 (1999).
109. J. Yu, B. T. Chait, L. Toll, and M. J. Kreek, *Peptides*, **17**, 873 – 876 (1996).
110. T. P. Yu and C. W. J. Xie, *J. Neurophysiol.*, **80**, 1277 – 1284 (1998).
111. L. Y. Yung, S. A. Joshi, R. Y. Chan, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **288**(1), 232 – 238 (1999).
112. S. Zang, L. Yu, *J. Biol. Chem.*, **270**, 22772 – 22776 (1995).

Поступила 04.11.02

CENTRAL EFFECTS OF ORL1 RECEPTOR LIGANDS

L. N. Maslov^{1, 2}, Yu. B. Lishmanov^{1, 2}, G. Calo³, and L. Ma⁴

¹ Institute of Cardiology, Siberian Branch of RAMS, 634050 Tomsk, Kyevsкая 111, E-mail: Maslov@cardio.tsu.ru;

² Tomsk State Pedagogical University;

³ Department of Experimental and Clinical Medicine, Section of Pharmacology, University of Ferrara, Ferrara, Italy;

⁴ National Laboratory of Medical Neurobiology & Department Neurobiology Fudan University Medical Center, Shanghai, China

It has been discussed literature data on molecular structure of ORL1 receptor and its interaction with intracellular signal systems and neurotransmitters. Data on chemical structure of ORL1 receptor ligands and their central effects (nociception, locomotion, feeding, cognition) are presented.