



УДК 577.175.82

АНТАГОНИСТЫ ТАХИКИНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ

© 1997 г. И. Е. Кашеверов[#], Ю. Н. Уткин, В. И. ЦетлинИнститут биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 20.11.96 г. Принята к печати 24.12.96 г.

Приведены антагонисты тахикининовых рецепторов, наиболее часто используемые в научных исследованиях последнего десятилетия (до 1995 г. включительно). Описаны структуры и некоторые характерные свойства пептидных и непептидных соединений этого класса. Рассмотрено применение антагонистов в поиске новых подтипов тахикининовых рецепторов и в их структурно-функциональных исследованиях.

Ключевые слова: антагонисты тахикининовых рецепторов, подтипы тахикининовых рецепторов, участки связывания (локализация) антагонистов.

Тахикинины млекопитающих – вещество Р (SP), нейрокинины А и В (НКА и НКВ) – группа пептидов, выполняющих важные функции в организме и обладающих широким спектром биологического действия. Тахикинины участвуют в передаче болевого сигнала, вызывают сокращение гладкой мускулатуры, приводят к нейрогенному воспалению. Показана роль этих нейропептидов в секреторной деятельности и в качестве посредников между клетками нервной и иммунной систем [1]. Различия первичной структуры тахикининов отражаются на проявляемых ими свойствах, что подтверждено разнообразными фармакологическими тестами [2, 3].

Тахикинины взаимодействуют с тахикининовыми (нейрокининовыми) рецепторами трех типов, называемых НК-1, НК-2 и НК-3 и проявляющих наибольшую специфичность соответственно к веществу Р, нейрокинину А и нейрокинину В. К настоящему времени выявлены некоторые ткани, содержащие тахикининовый рецептор преимущественно одного типа [2–4]. Так, сонная артерия собаки, яремная и полая вены кролика, подвздошная кишка морской свинки содержат в основном рецептор НК-1-типа; легочная артерия

кролика, трахея хомячка, бронхи человека и двенадцатиперстная кишка крысы – НК-2; воротная вена крысы – НК-3-типа. Для рецепторов всех трех типов известны первичные структуры, выведенные из нуклеотидных последовательностей [5–8]. Тахикининовые рецепторы различных типов, а также рецепторы одного типа различных видов животных являются высокомолекулярными белками, принадлежащими к суперсемейству G-белокзависимых рецепторов [7]. Это предполагает общий для всего суперсемейства тип укладки полипептидной цепи, включающей семь гидрофобных трансмембранных фрагментов с N- и C-концевыми доменами аминокислотной последовательности на внешней и цитоплазматической сторонах мембраны соответственно.

Изучение механизма действия тахикининовых рецепторов было бы невозможно без использования различных новых лигандов – как агонистов, так и антагонистов. Последние служат основой для создания терапевтических препаратов, а также используются в структурно-функциональных исследованиях рецепторов и для выявления их новых подтипов.

Единой классификации антагонистов тахикининовых рецепторов не существует. Их обычно разделяют по родству к рецептору соответствующего типа (НК-1-, НК-2- и НК-3-антагонисты). Все известные до недавнего времени (до 1991 г.) антагонисты представляли собой соединения пептидной природы. Сейчас уже можно говорить о новом классе лигандов – непептидных антагонистах.

Сокращения: ТМС – трансмембранные сегменты, АКО – аминокислотные остатки, SP – вещество Р, НКА – нейрокинин А, НКВ – нейрокинин В, Glp – пироглутаминовая кислота, Nic – никотиноил, For – формил, Tfm – трифторметил, Nle – 2-аминогексановая кислота, Tur(Me) – 2-метилтирозин, Sar – саркозин, N-метилглицин, рK_B – отрицательный логарифм константы диссоциации антагониста, рA₂ – отрицательный логарифм концентрации антагониста, уменьшающей эффект двойной дозы агониста до уровня единичной дозы, -ψ(CH₂NH)- означает замену группы -CO-NH- на -CH₂-NH-.

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 330-73-74, факс: (095) 335-57-33, e-mail: vits@ibch.siobc.ras.ru).

ПЕПТИДНЫЕ АНТАГОНИСТЫ ТАХИКИНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ

НК-1-антагонисты

Самыми первыми антагонистами НК-1-рецептора были аналоги вещества Р, такие, как синтезированный в 1984 г. спантид I (табл. 1). Введение в молекулу вещества Р остатков *D*-аминокислот, и в первую очередь объемных остатков *D*-триптофана, очевидно, и обусловило антагонистические свойства спантида [9, 10]. Спантид II [11] оказался более эффективным, чем спантид I, не обладал нейротоксичностью и побочными неврологическими эффектами [11–13]. Оба соединения подавляли болевое действие вещества Р и способствовали мобилизации гистамина из перитонеальных тучных клеток крысы [9, 12], но обладали и рядом индивидуальных физиологических эффектов [14, 15]. Однако ни один из них не был достаточно селективен, проявляя синергизм в отношении как НК-1-, так и НК-2-рецептора [9, 13]. Не были селективными и аналоги спантида II, наиболее эффективный из которых был назван спантидом III [16, 17].

Вслед за спантидами были получены и другие аналоги вещества Р, содержащие замены природных аминокислотных остатков на стереоизомеры [46]. Так, в работе [47] синтезировано более 500 *D*-стереоизомеров вещества Р. Введение *D*-аминокислотных остатков в его С-концевую область (Gln⁶ – Met¹¹) оказалось принципиально важным для проявления антагонистических свойств, в то время как модификация N-концевой части молекулы не привела к созданию ни одного антагониста. Эти исследования позволили получить 2–3 десятка довольно эффективных НК-1-антагонистов; наиболее часто упоминаемые в литературе (соединения (1)–(7)) представлены в табл. 1.

Аналог (1) подобно спантидам I и II оказался регулятором внеклеточного уровня допамина [20], а также влиял на механизм сердечно-сосудистой регуляции у крыс *in vivo* [21]; аналоги (2) и (3) ингибировали высвобождение гормона роста [22]; (4) и (5) блокировали SP-стимулированное нейрогенное воспаление у мышей [18]. Соединения (6) и (7) модулировали процесс высвобождения инсулина из клеток RINm5F, механизм которого пока непонятен [24]. Несомненный практический интерес может представлять действие аналога (2) на различные клеточные опухолевые линии человека и рост нормальных клеток как результат ингибирования этим соединением синтеза ДНК [23].

Активными антагонистами оказались не только ундекапептидные аналоги вещества Р. Некоторые окта- и гексапептиды (соединения (8)–(11), табл. 1) в микромолярных концентрациях проявляли сродство к НК-1-рецептору и обладали рядом характерных для пептидных антагонистов

этого класса физиологических свойств, в частности подавляли SP-индуцированные сокращения мышечных тканей, а также поведенческие эффекты у мышей [18, 25, 26].

Однако все вышеописанные аналоги не являются селективными лигандами НК-1-рецептора, зачастую проявляя антагонистические свойства к тахикининным рецепторам других типов. Есть примеры, когда замена одного аминокислотного остатка другим приводила к изменению селективности соединения или даже превращению его в агонист [48].

Позднее было разработано несколько новых подходов к получению селективных антагонистов на той же пептидной основе. Один из них заключался во введении в аминокислотную последовательность какого-либо аналога аминокислоты, содержащего объемную боковую цепь. Таким способом исследуя замену в [Orn⁶]SP-(6–11) остатка Met¹¹ на модифицированные производные глутаминовой кислоты, удалось получить соединение (14) (табл. 1), оказавшееся эффективным антагонистом для НК-1- и слабым для НК-2- и НК-3-рецепторов в тестах на сократительную активность тканей, представляющих соответствующие рецепторы [45].

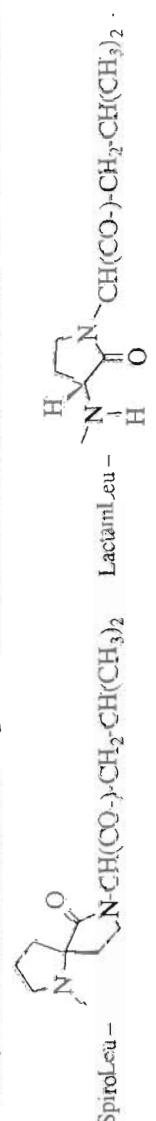
Другая группа лигандов была получена синтезом пептидомиметиков. В работе [27] исследовано взаимодействие серии гепта- и гексапептидов SP-(5/6–11), имеющих вместо одной пептидной связи –CH₂NH-, –CH₂O- или –CH₂CH₂-фрагмент, с НК-1- и НК-2-рецепторами на препаратах подвздошной кишки морской свинки и гладкой мышцы двенадцатиперстной кишки крысы. Аналоги проявляли слабые агонистические или антагонистические свойства. Самым эффективным (но неселективным) антагонистом оказался [*D*-Phe⁶, Leu¹⁰-ψ(CH₂NH)-Leu¹¹]SP-(6–11) (соединение (12), табл. 1). Поиск псевдопептидных антагонистов проведен также в работе [49] на основе гексапептидного фрагмента вещества Р, в котором различные амидные связи заменялись на –CH₂S-связь. Все полученные аналоги обладали высокой протеолитической устойчивостью, а три соединения – и достаточной антагонистической активностью (подавляли вызванные агонистами сокращения мышечных тканей).

В работе [28] в молекулу вещества Р между остатками Phe⁸ и Leu¹⁰ была встроена конформационно-напряженная, очень жесткая бициклическая структура – спиро-γ-лактамы. Полученный аналог – [Phe⁸[спиро-γ-лактамы]Leu¹⁰]SP-(1–11) – обладал высоким сродством и селективностью к НК-1-рецептору. Селективность удалось повысить (эффективность действия на НК-1 стала на три порядка выше, чем на НК-2- и НК-3-рецепторы) при замене Met¹¹ на Trp. Этот антагонист получил

Таблица 1. Пептидные антагонисты NK-1-рецепторов*

Аналог вещества Р	Arg ¹	Pro ²	Lys ³	Pro ⁴	Gln ⁵	Gln ⁶ -Phe ⁷	Phe ⁸ -Gly ⁹	Leu ¹⁰ -Met ¹¹ -NH ₂	Литература
Спантид I	D-Arg	Pro	Lys	Pro	Gln	Gln-D-Trp	Phe-D-Trp	Leu-Leu-NH ₂	[9, 10, 13, 14, 18]
Спантид II	D-Lys(Nic)	Pro	Ala(Py)	Pro	D-Phe(Cl ₂)	Asn-D-Trp	Phe-D-Trp	Leu-Nle-NH ₂	[9, 11-13, 15, 19]
Спантид III	D-Lys(Nic)	Pro	Ala(Py)	Pro	D-Phe(Cl ₂)	Asn-D-Trp	Phe-D-Ala(Py)	Leu-Nle-NH ₂	[17]
(1)	Arg	D-Pro	Lys	Pro	Gln	Gln-D-Trp	Phe-D-Trp	Leu-Met-NH ₂	[20, 21]
(2)	D-Arg	Pro	Lys	Pro	D-Phe	Gln-D-Trp	Phe-D-Trp	Leu-Leu-NH ₂	[22, 23]
(3)	D-Arg	D-Pro	Lys	Pro	Gln	Gln-D-Trp	Phe-D-Trp	Leu-Leu-NH ₂	[22]
(4)	D-Arg	D-Pro	Lys	D-Pro	Gln	Gln-D-Phe	Phe-D-His	Leu-Leu-NH ₂	[18]
(5)	D-Arg	D-Pro	Lys	D-Pro	Gln	Gln-D-Phe	Phe-D-His	Leu-Met-NH ₂	[18]
(6)	Arg	Pro	Lys	Pro	Gln	Gln-D-Trp	Phe-D-Trp	D-Trp-Met-NH ₂	[24]
(7)	Arg	Pro	Lys	Pro	Gln	Gln-D-Trp	Phe-D-Trp	D-Trp-Nle-NH ₂	[24]
(8)				D-Pro	Gln	Gln-D-Trp	Phe-D-Trp	D-Trp-Phe-NH ₂	[25, 26]
(9)				D-Tyr	Gln	Gln-D-Trp	Phe-D-Trp	Leu-Nle-NH ₂	[25]
(10)								Leu-Leu-NH ₂	[18]
(11)								Leu-Met-NH ₂	[18]
(12)								Leu-ψ(CH ₂ NH)-Leu-NH ₂	[27]
BR 71251	Arg	Pro	Lys	Pro	Gln	Gln-Phe	Phe	SpiroLeu-Trp-NH ₂	[28-30]
GR 82334	Glp	Ala	Asp	Pro	Asn	Lys-Phe	Tyr	SpiroLeu-Trp-NH ₂	[31-35]
Сендид								Leu-Met-NH ₂	[36, 37]
[D-Trp]Сендид								Leu-Met-NH ₂	[36, 37]
L 668169					cyclo[-Gln-D-Trp	MePhe	LactamLeu-Met-]₂	[19, 38]
(13)					Вос-Gln	D-Trp(For)	Phe-OBzl		[39]
FR 113680					Ac-Thr	D-Trp(For)	Phe-N(Me, Bzl)		[19, 40-42]
L-732138						Ac-Trp	OBzl(3,5 Tfm₂)		[43]
WIN 66306			cyclo[-Pro	Gly	Val-Gly	Hyt(Alk)	Gly-Trp-	[44]
WIN 68577			cyclo[-Pro	Gly	Val-Gly	Hyt	Gly-Trp-	[44]
(14)						Orn-Phe	Phe-Gly	Leu-Glu(OBzl)OBzl	[45]

* Ala(Py) – 3-(3-пирридил)аланин; Phe(Cl₂) – 3,4-дихлорфенилаланин; Hyt(Alk) – β-гидроксиг-3-(3,3-диметилпропан-2-ил)тирозин; Hyt – β-гидрокситирозин;



специальное название – GR 71251 (табл. 1) [28]. Наиболее полно изучено его антагонистическое действие на нейрогенные SP- (и отчасти NKA) стимулированные эффекты (медленная деполяризация) на изолированном спинном мозге новорожденной крысы [29]. Показано также ингибирующее действие GR 71251 на сокращения кольцевой мышцы подвздошной кишки морской свинки, вызванные либо электрической стимуляцией, либо введением NK-1-агонистов [30].

Сходной структурой и биологическим действием обладает GR 82334 – аналог выделенного из кожи тропической лягушки тахикинина физалеймина (табл. 1) [31, 32]. Другие его эффекты – ингибирование повышения уровня содержания интерлейкина-6 в астроцитарных клетках U373MG человека, индуцированного воздействием агонистов [33], блокирование электрически стимулированной нейрогенной экстравазации белков плазмы у крыс и морских свинок [34], а также заметно различающаяся степень ингибирования действия разных NK-1-агонистов [35].

Наиболее мощным пептидным антагонистом вещества P является недавно синтезированный японскими исследователями сендид (табл. 1) и его аналог [D-Trp⁷]сендид. Последний ингибировал связывание [³H]SP со спинномозговыми мембранами мышцы с $K_i \sim 0.023$ нМ, что примерно в 140 раз эффективнее ингибирования самим веществом P [36]. Столь же эффективным было и антиболевое действие этих антагонистов *in vivo* [37].

Существенным недостатком пептидных лигандов, используемых в исследованиях *in vivo*, является их быстрый ферментативный гидролиз [50]. Решением этой проблемы могли бы быть пептидные антагонисты, имеющие либо циклическую структуру, либо небольшие размеры, – ди-, трипептиды. До настоящего времени получить эффективный и селективный циклический NK-1-антагонист не удалось. Большинство синтезированных на основе вещества P циклических соединений обладали более высокой аффинностью к NK-2-рецептору [51]. Единственный, отнесенный к NK-1-антагонистам, циклопептид L 668169 (табл. 1) на некоторых тканях проявлял себя как неселективный NK-1/NK-2-лиганд [19, 38].

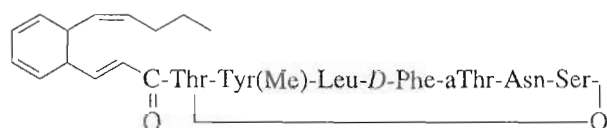
Более успешными были работы по созданию селективных антагонистов трипептидной структуры. Взяв за основу октапептидный SP-антагонист (соединение (8) в табл. 1), японские исследователи получили его различные трипептидные фрагменты, один из которых – Boc-Gln-D-Trp(For)-Phe-OBzl (13) – обладал примерно в 7 раз более мощной ингибирующей способностью, чем исходный октапептид [39]. Дальнейшая его модификация привела к созданию эффективного и достаточно селективного (со сродством к NK-1-рецептору в 50–100 раз большей, чем к NK-2 и

NK-3) антагониста FR 113680 (табл. 1) [40]. FR 113680 блокировал связывание [³H]SP с мембранами легких морской свинки с $IC_{50} \sim 5.8$ нМ [41], также через NK-1-рецептор подавлял индуцированные сокращения подвздошной кишки морской свинки [19]. На его основе было осуществлено конструирование и синтез ряда дипептидов, обладающих высокой антагонистической активностью и представляющих собой новый структурный класс NK-1-антагонистов [42].

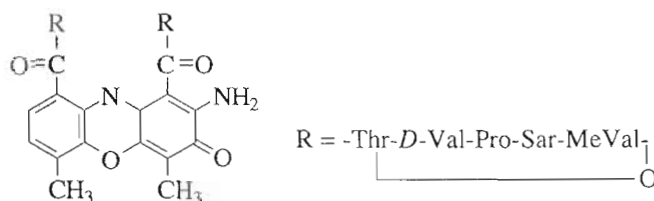
Другая группа авторов охарактеризовала как эффективный NK-1-антагонист производное триптофана – Ac-Trp-OBzl [52]. Полученный фторсодержащий аналог – Ac-Trp-OBzl(3,5 Tfm₂) (или L-732138) также эффективно взаимодействовал с полученным генно-инженерным способом NK-1-рецептором человека (значение $IC_{50} \sim 2.3$ нМ при ингибировании связывания [¹²⁵I]SP) [43]. Примерно в 200 раз меньшее сродство проявлялось им к рецептору вещества P крысы и в 1000 раз меньшее к NK-2- и NK-3-рецепторам человека. В настоящее время продолжается поиск эффективных NK-1-антагонистов на основе триптофана [53].

Стоит упомянуть о небольшой группе соединений, в составе которых кроме пептидных последовательностей присутствуют непептидные структуры. Так, в работе [54] описан синтез и фармакологические свойства новой серии тахикининовых антагонистов на основе довольно необычной молекулы – cyclo[-Abo-Asp¹]-D-Trp(Acyl)-Phe-N(Me, Bzl), где Abo – 2-азабицикло[2.2.2]октан-3(S)-карбоновая кислота, а Acyl – ацильные или алкилокси-карбонильные заместители. Эти вещества демонстрировали антагонистические эффекты в классических тестах на подавление сократительной мышечной активности.

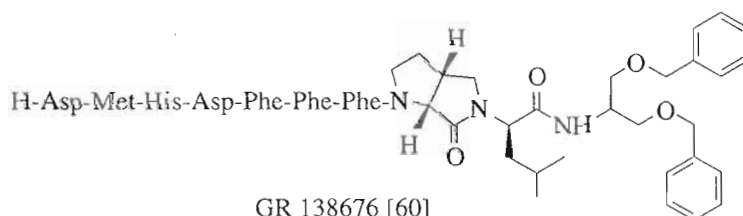
Необычной структурой обладает первое выделенное из природного источника (*Streptomyces violaceoniger* No. 9326) соединение – WS9326A, проявляющее антагонистические свойства (рис. 1) [55]. Оно конкурентно ингибировало связывание [³H]SP с NK-1-рецептором на мембранах легких морской свинки с $IC_{50} \sim 3.6$ мкМ и действовало как тахикининовый антагонист в различных функциональных тестах, в частности блокировало сокращение бронхов, вызванное действием вещества P, нейрокинина А или капсаицина. Его аналог – тетрагидро-WS9326A, получивший название FK224, оказался более мощным, чем WS9326A, в опытах по ингибированию связывания [³H]SP ($IC_{50} \sim 0.1$ мкМ) [55]. FK224 также конкурентно ингибировал связывание [³H]NKA с мембранами гладкой мышцы двенадцатиперстной кишки крысы [56]. Стандартные фармакологические тесты на различных препаратах выявили селективно-дуалистическую природу этого соединения. В большинстве тестов (подавление индуцированных мышечных сокращений, экстра-



WS9326A [55]



Актиномицин D [59]



GR 138676 [60]

Рис. 1. Пептидные антагонисты тахикининовых рецепторов, содержащие объемные непептидные фрагменты.

вазации, выделения слизи) оно проявляло себя как примерно равный по силе антагонист NK-1- и NK-2-рецепторов [38, 56–58].

Из *Aspergillus sp.*, SC230 также были выделены соединения (WIN 66306, WIN 68577), представляющие собой циклические гептапептиды, содержащие остаток β-гидрокситирозина, которые проявляли определенное сродство к NK-1-рецептору (до $K_i \sim 7$ мкМ на астроцитомных клетках человека) и были предложены авторами на роль NK-1-антагонистов [44].

NK-2-антагонисты

Целенаправленный поиск и синтез NK-2-антагонистов проходил примерно по такому же пути, как и для антагонистов NK-1-рецепторов. Получались и исследовались аналоги нейрокинина А и его фрагментов, синтезировались циклопептиды и псевдопептиды. Некоторые из них оказались эффективными антагонистами, достаточно селективными для NK-2-рецепторов. Наиболее детально исследованные антагонисты приведены в табл. 2.

Введение остатков D-триптофана и дополнительные аминокислотные замены в С-концевом фрагменте нейрокинина А позволили получить несколько активных и селективных NK-2-антаго-

нистов [61, 62, 66], из которых MEN 10207 и MEN 10376 наиболее полно изучены в различных биологических тестах [63, 80].

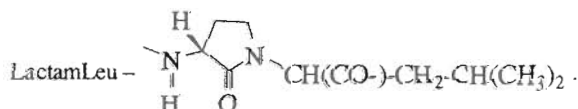
Гексапептид GR 94800 [48] охарактеризован как активный ингибитор нейrogenного возбуждения на различных тканях морской свинки и крысы [69, 70]; получены его аналоги, содержащие флуоресцентные метки и сохраняющие высокое сродство к полученному в результате экспрессии гена NK-2-рецептору ($pK_i \sim 8.8 - 8.9$) [81]. Оптимизацией N-концевого тетрапептидного фрагмента GR 94800 удалось получить новое соединение – GR 100679, сохраняющее высокую аффинность ($pK_B \sim 9.3$ для NK-2-рецептора трахеи морской свинки) и селективность ($pK_B \sim 5.1$ для NK-1-рецептора) исходного антагониста [71]. При этом поиск активного лиганда среди три- и дипептидных фрагментов GR 94800 не дал положительных результатов. Синтезирован тритированный аналог [3H]GR 100679; для этого соединения охарактеризованы участки связывания в мозге новорожденных крыс ($K_d \sim 1.5$ нМ в некоторых областях мозга) [82].

Среди циклических гексапептидов самыми активными NK-2-антагонистами оказались L-659877 и L-659837, содержащий лактамную структуру [51, 75]. Линейные варианты этих пептидов – L-659874 и R-396 – также являлись селективными

Таблица 2. Пептидные антагонисты NK-2-рецепторов*

Аналог ней-рокинина А	His ¹	Lys ²	Thr ³	Asp ⁴	Ser ⁵	Phe ⁶	Val ⁷	Gly ⁸	Leu ⁹	Met ¹⁰ -NH ₂	Литература
MEN 10207				Asp	Tyr	D-Trp	Val	D-Trp	D-Trp	Arg-NH ₂	[61–64]
MEN 10208			Thr	Asp	Tyr	D-Trp	Val	D-Trp	D-Trp	Arg-NH ₂	[61]
MEN 10282				Asp	Tyr	D-Trp	Val	D-Trp	Trp	Arg-NH ₂	[65]
MEN 10376				Asp	Tyr	D-Trp	Val	D-Trp	D-Trp	Lys-NH ₂	[63, 66–68]
MEN 10449				Asp	Tyr(I ₂)	D-Trp	Val	D-Trp	D-Trp	Arg-NH ₂	[65]
GR 94800			PhCO-	Ala	Ala	D-Trp	Phe	D-Pro	Pro	Nle-NH ₂	[48, 69, 70]
GR 100679			cHxCO-	Gly	Ala	D-Trp	Phe	NMe ₂			[71]
R-396			Ac-Leu	Asp	Gln	Trp	Phe	Gly-NH ₂			[61, 63, 72–74]
L-659874			Ac-Leu	Met	Gln	Trp	Phe	Gly-NH ₂			[51, 69]
L-659877		cyclo[-Leu-	Met	Gln	Trp	Phe	Gly-]			[51, 65, 75, 76]
L-659837		cyclo[-Met-	Gln	Trp	Phe			LactamLeu-]		[51, 75, 77]
MDL 28564				Asp	Ser	Phe	Val	Gly-Leu	Ψ(CH ₂ NH)-	Leu-NH ₂	[65, 69, 72, 78]
MDL 29913				cyclo[-	Gln	Trp	Phe	Gly-Leu	Ψ(CH ₂ NMe)-	Leu-]	[64, 76]
MEN 10573				cyclo[-	Gln	Trp	Phe	βAla-Leu-	Ψ(CH ₂ NH)-	Asp(OBzl)-]	[76]
MEN 10612				cyclo[-	Gln	Trp	Phe	βAla-Leu-	Ψ(CH ₂ NH)-	Ala(cHx)-]	[76]
MEN 10627		cyclo[-Met-	Asp	Trp	Phe	Dpr-	Leu-]			[79]

* Tyr(I₂) – 3,5-диодтирозин; cHxCO – циклогексилкарбонил; Ψ(CH₂NMe) означает замену -CONH-группы на -CH₂NMe-группу; Ala(cHx) – 3-циклогексилаланин; Dpr – 2,3-диаминопропионовая кислота;



NK-2-антагонистами, котая и более слабыми. При изучении аналогов с заменами в цикле одной амидной связи на -CH₂NH- или -CH₂NMe- [76, 83] удалось выявить соединения, обладающие мощными антагонистическими свойствами (MEN 10573, MEN 10612).

Весьма необычные циклические гексапептиды, содержащие на остатке глутамина различные углеводные цепи и обладающие достаточно высоким сродством к рецептору (IC₅₀ до ~10 нМ при ингибировании связывания [³H]NKA с препаратами мочевого пузыря хомяка), синтезированы в работе [84].

Наиболее эффективным и селективным пептидным NK-2-антагонистом является полициклическое соединение MEN 10627. При значениях рK_B от ~8.1 (легочная артерия кролика) до ~10.1 (трахея хомяка) сродство антагониста к NK-1 и NK-3-рецепторам меньше в 100 и 10000 раз соответственно [79].

Свойства пептидных антагонистов NK-2-рецепторов изучены на большом количестве тканей и органов млекопитающих. Основными эффектами этих лигандов являются: подавление мышечных сокращений, вызванных различными

внешними раздражителями, – для MEN 10282, MEN 10376, MEN 10449, MEN 10573, MEN 10612, MEN 10627, GR 94800, L-659837, L-659877 [65, 67, 69, 75, 76, 79, 83]; торможение различных проявлений нейрогенного воспаления – для MEN 10207, MEN 10208, MEN 10376, MEN 10573, GR 94800, L-659877 [63, 69, 70, 85], в том числе снижение отежности дыхательных путей (антиастматическое действие) – для MEN 10207, MDL 29913 [64]; ингибирование агонистиндуцированной секреторной деятельности – для L-659837 [77]; активация синаптической передачи – для MEN 10376 [68].

В физиологических тестах практически никогда не наблюдается ответ, опосредованный рецептором только одного типа: как правило, в большей или меньшей степени участвуют рецепторы и NK-1, и NK-2 (реже NK-3) [64, 67–69, 77, 83, 85]. Другая особенность заключается в сильной зависимости мощности конкретных антагонистов от вида ткани или органа, а также от вида животного. Последнее обстоятельство явилось поводом к утверждению о существовании подтипов NK-2-рецепторов (подробнее об этом в специальном разделе обзора).

В заключение следует упомянуть об известном противоопухолевом агенте – актиномицине *D* (дактиномицине) (рис. 1). Это соединение не взаимодействовало в биологических тестах с NK-1- и NK-3-рецепторами на семенном протоке морской свинки и воротной вене крысы, но конкурировало с [¹²⁵I]НКА за связывание на мембранах толстой кишки крысы ($K_i \sim 10$ мкМ) и подавляло сократительную активность, вызванную действием NK-2-агониста [59]. Сходным эффектом обладали и некоторые аналоги дактиномицина [86].

NK-3-антагонисты

На сегодняшний день существует весьма большое число сколько-нибудь активных или селективных антагонистов NK-3-рецептора. Синтезированные на основе НКА-(4–10) и НКВ-(4–10) производные [Хаа⁷, βAla⁸]НКА-(4–10) и [Хаа⁷, βAla⁸]НКВ-(4–10), где Хаа = Туг, Тгр или МеPhe, обладали в основном слабой агонистической активностью. Наиболее сильными антагонистами явились аналоги [MePhe⁷, βAla⁸]НКВ-(4–10) и [Тгр⁷, βAla⁸]НКА-(4–10) ($pA_2 \sim 7.3$ и 7.5 на воротной вене крысы) [87]. Последний ингибировал сердечно-сосудистые и поведенческие эффекты у крысы, вызванные действием NK-3-агониста [88].

Введением во фрагмент нейрокина В жесткой фиксирующей химической структуры удалось получить высокоактивный, но неселективный NK-3-антагонист GR 138676 (рис. 1). Он эффективно блокировал вызванные NK-3-агонистом сокращения на препаратах воротной вены крысы ($pK_B \sim 8.2$) и с не меньшей эффективностью ($pK_B \sim 8.3$, астроцитарная клеточная линия U373MG человека) подавлял функциональный ответ на действие NK-1-агониста [60].

На основе дипептида Вос-Phe-Phe-NH₂ – весьма слабого и неселективного NK-3-антагониста ($IC_{50} \sim 1.6$ мкМ при ингибировании связывания NK-3-агониста с полученным в результате экспрессии гена рецептором человека) – была синтезирована целая серия самых мощных на сегодняшний день соединений с наибольшей ингибирующей активностью у PD 154740 – Вос-Phe-D-MePhe-NH(CH₂)₈OH и PD 157672 – Вос-Phe-D-MePhe-NH(CH₂)₇NHCONH₂ ($IC_{50} \sim 40$ и 16 нМ) [89]. В функциональных тестах *in vitro* они подавляли мышечные сокращения и повышение внутриклеточного уровня Ca²⁺, индуцированные NK-3-агонистом. При этом оба обладали селективностью по отношению к NK-3-рецептору, на три порядка большей, чем к NK-1 и NK-2.

НЕПЕПТИДНЫЕ АНТАГОНИСТЫ ТАХИКИНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Непептидные NK-1-антагонисты

Началом нового этапа в исследовании тахикининовой рецепторной системы стало открытие первого непептидного мощного и селективного антагониста NK-1-рецептора – CP-96.345 (рис. 2). Он был получен эмпирическим выбором и оптимизацией независимых структурных моделей на основе хинуклидинового ядра по максимальной антагонистической способности [90]. CP-96.345 обладает высокой селективностью для NK-1-рецепторов ($pA_2 \sim 9.5$ при подавлении сокращений на полый вене кролика; сродство к NK-2- и NK-3-рецепторам ниже на 3–4 порядка) [101]. Другая особенность антагониста – существенное различие в сродстве к NK-1-рецепторам разных видов животных (видовая селективность). Так, сродство в 30–120 раз выше для NK-1-рецепторов человека, быка и морской свинки, чем крысы или мыши [102, 103]. Наконец, CP-96.344, являющийся 2*R*,3*R*-энантиомером CP-96.345, практически неактивен по сравнению с 2*S*,3*S*-соединением [102].

Многочисленными тестами *in vitro* и *in vivo* на различных препаратах и тканях для CP-96.345 показано блокирование болевых сигналов при раздражении нейронов [104, 105], а также противовоспалительное действие, например ингибирование стимулированных агонистами экстравазации (транссудации) белка плазмы [90, 106, 107] или вазодилатации (расширения сосудов) [106, 108]. Показано также ингибирование CP-96.345 нервной передачи, вызываемой действием ряда соединений, включая тахикинины (неспецифический эффект антагониста) [109].

Химическим синтезом получен тритированный аналог CP-96.345 с удельной активностью 48 Ки/ммоль [110], который специфически и с насыщением связывался с мембранами стриатума мозга морской свинки ($K_d \sim 0.22$ нМ; $B_{max} \sim 166$ фмоль/мг) [102]. Методом твердофазного высокотемпературного изотопного обмена удалось получить тритированный антагонист с удельной активностью 84.2 Ки/ммоль [111]. Был синтезирован также иодированный аналог CP-96.345, в котором на йод была замещена метокси-группа (соединение L-703606). Введением в такую молекулу изотопа йода ¹²⁵I получили радиоактивный антагонист (с удельной радиоактивностью ~1100 Ки/ммоль), который селективно связывался с NK-1-рецептором человека с $K_d \sim 0.3$ нМ [91].

Следует, однако, отметить, что обнаружено высокоаффинное взаимодействие CP-96.345 не только с NK-1-рецептором, но и с Ca²⁺-каналами L-типа [112].

Ряд работ посвящен функциональным исследованиям различных структурных аналогов CP-96.345 [113–115].

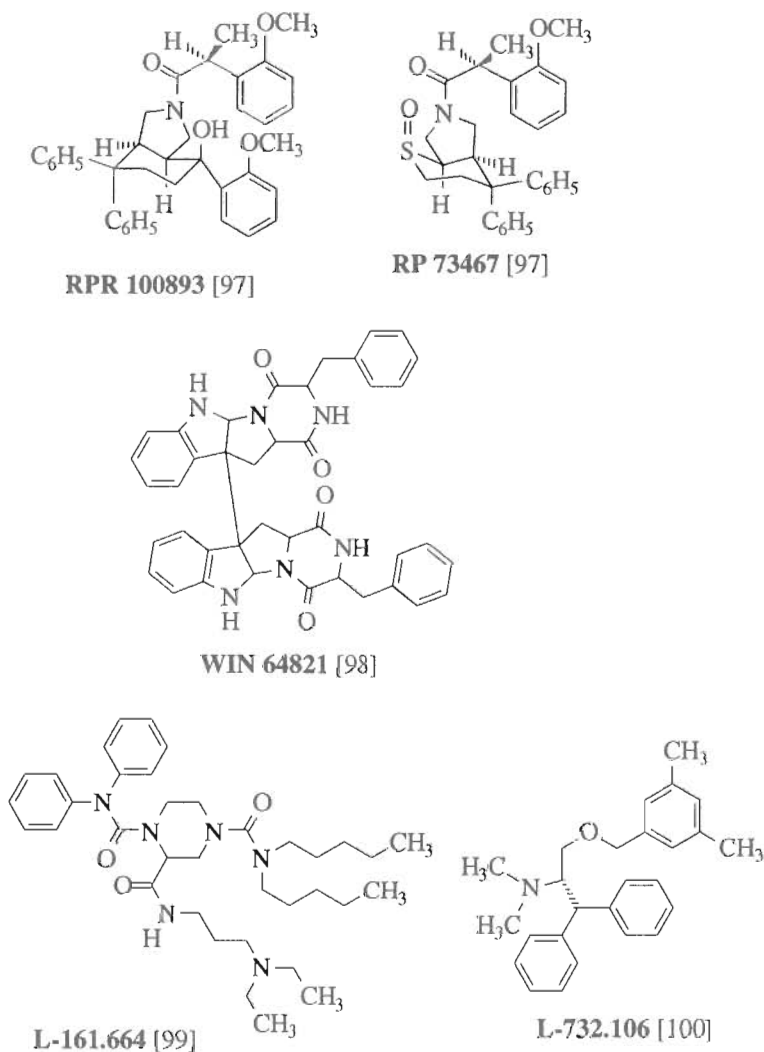


Рис. 2. (Окончание).

или CP-96.345, но не нейрокинины А и В или SR 48968 (NK-2-антагонист) [121].

В группу непептидных NK-1-антагонистов входит и CP-99.994 [94] (рис. 2). Его сродство к NK-1-рецепторам на 4 порядка выше, чем к NK-2 или NK-3, и существенно зависит от вида животного (заметно уменьшено у крыс и мышей по сравнению с человеком). Практически неактивен 2*R*,3*R*-энантиомер CP-99.994 (CP-100.263). CP-99.994 в отличие от CP-96.345 в 100 раз менее активен при взаимодействии с Ca²⁺-каналами L-типа [122]. Фармакологические свойства CP-99.994 во многом сходны с характеристиками CP-96.345 и подробно рассмотрены в работах [105, 122, 123]. Получены радиоактивные производные антагониста [124, 125]. На основе CP-99.994 синтезирован (2β, 3β, 3αβ, 6αβ)-(±)-октагидро-N-[(2-метоксифенил)метил]-2-фенилциклопента[b]пиррол-3-амин, являющийся столь же эффективным антагонис-

том, что и исходное соединение ($K_i \sim 2.4$ нМ против 1.5 нМ для CP-99.994 при ингибировании связывания [³H]SP с рецептором клеточной лимфоцитарной линии IM-9 человека) [126].

Еще один синтезированный NK-1-антагонист получил название – SR140.333 (рис. 2). Он эффективно и селективно ингибировал связывание меченого вещества P с NK-1-рецептором из различных источников, в том числе из мозга крысы ($K_i \sim 0.03$ нМ) и человека ($K_i \sim 0.02$ нМ на клеточной линии IM9 и $K_i \sim 0.74$ нМ на астроцитарной линии U373MG) [95, 127]. SR140.333 проявлял характерную NK-1-антагонистическую активность в биологических тестах *in vitro* – блокирование агонистиндуцированных сокращений подвздошной кишки морской свинки [95], ингибирование образования инозитмонофосфата и повышения внутриклеточного уровня Ca²⁺ [127], а также в ряде других тестов [95, 128, 129]. SR140.333 в отличие

от CP-96.345 или RP 67580 не проявляет явной чувствительности к видовой принадлежности рецептора вещества Р, а SR 140.603, представляющий собой *R*-энантиомер SR140.333, всего лишь на порядок менее эффективен в ингибировании связывания [125 I]SP на клетках U373MG ($K_i \sim 7.4$ нМ) и в некоторых биологических тестах [127].

Совершенно иную химическую структуру имеет другой синтезированный NK-1-антагонист - WIN 51708 (рис. 2), эффективно подавляющий *in vivo* SP-индуцированную экстравазацию белков плазмы и слюноотделение у крысы [96]. Особенностью этого лиганда является видовая селективность, противоположная таковой для CP-96.345 [130]: значения IC_{50} при ингибировании WIN 51708 связывания [125 I]SP с полученными в результате экспрессии гена NK-1-рецепторами крысы и человека равны ~ 25 и >10000 нМ соответственно [131].

Химическим синтезом недавно получены новые мощные и селективные NK-1-антагонисты RP 73467 и RPR 100893 [97] (рис. 2), причем последний - оптимизацией химической структуры RP 67580. Сродство RP 73467 к NK-1-рецепторам крысы, морской свинки и человека (IC_{50} в радиолигандных тестах 10, 70 и 23 нМ) аналогично сродству RP 67580 (7, 84 и 49 нМ соответственно).

RPR 100893 имеет высокое сродство к рецептору вещества Р человека ($IC_{50} \sim 13$ нМ) и на два порядка более слабое к NK-1-рецепторам крысы и мыши [97]. Это соединение *in vivo* эффективно блокирует нейрогенное воспаление у морских свинок [132, 133].

Следует упомянуть и о соединениях с заметной антагонистической активностью, выделенных из культуры почвенных грибов *Aspergillus sp.*, SC319. Наиболее мощный из них - WIN 64821, имеющий необычную димерную структуру (рис. 2), - конкурировал с радиоактивным веществом Р за связывание с NK-1-рецепторами астроцитарной клеточной линии человека и мембран подчелюстных желез крысы с $K_i \sim 0.24$ и 7.89 мкМ [98]. В то же время с $K_i \sim 0.26$ и 0.6 мкМ он ингибировал связывание [125 I]NKA с NK-2-рецептором препаратов двенадцатиперстной кишки крысы и мочевого пузыря человека и поэтому не может рассматриваться как селективный NK-1-лиганд. Такую же антагонистическую двойственность проявляет WIN 64821 и в функциональных тестах, блокируя эффекты, вызванные как веществом Р, так и элledoизином [98]. Изучение структурных аналогов WIN 64821 проведено в работе [134]. При этом обнаружено, что симметричность структуры не является необходимым условием биологической активности этого соединения, однако наличие более половины симметричного димера строго необходимо.

В литературе постоянно появляются описания синтезов новых классов соединений непептидной природы, обладающих NK-1-антагонистической активностью: 4,4-дизамещенных пиперидинов [135]; 1,4-диацилпиперазин-2-карбоксамидов, из которых L-161.664 (рис. 2) наиболее мощный и изученный антагонист ($IC_{50} \sim 43$ нМ в радиолигандном анализе на полученном в результате экспрессии NK-1-рецепторе человека) [99, 136]; а также производных 2-бензгидрил-2-аминоэтанола (наиболее активен L-732.106 (рис. 2)) [100].

Непептидные NK-2-антагонисты

До недавнего времени был известен лишь один непептидный антагонист NK-2-рецептора - SR 48968 (рис. 3) [137, 138]. Он эффективно и конкурентно ингибировал связывание [125 I]NKA, например, с NK-2-рецептором из мембран двенадцатиперстной кишки крысы с $K_i \sim 0.51$ нМ, в то время как ингибирование связывания [125 I]SP или [125 I]элledoизина с NK-1- или NK-3-рецепторами определялось $K_i > 5000$ нМ [138]. Тритированный аналог (~ 23 Ки/ммоль) связывался с содержащими преимущественно NK-2-рецептор тканями крысы, хомяка и морской свинки с K_d в диапазоне от 0.58 до 2.9 нМ в зависимости от вида животного [141]. В фармакологических тестах *in vitro* под-

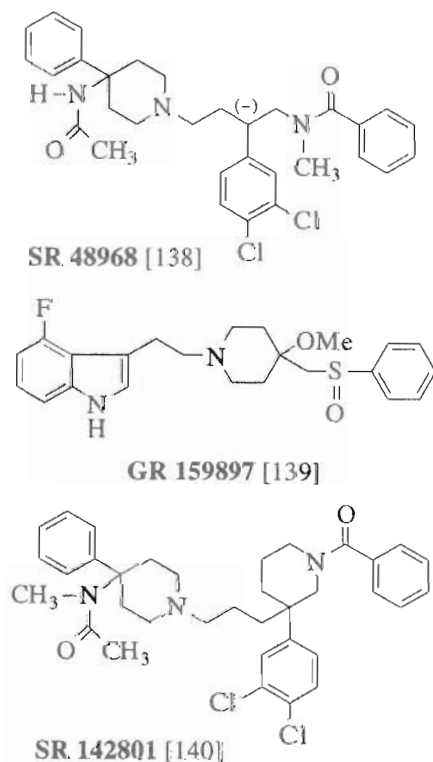


Рис. 3. Непептидные антагонисты тахикининовых рецепторов NK-2- и NK-3-типов.

тверждена NK-2-антагонистическая активность SR 48968 прежде всего в подавлении индуцированных сокращений на различных препаратах (бронхи, кишечник, подвздошная кишка, мочевого пузыря) [69, 138, 142–144]. В экспериментах *in vivo* кроме подобных эффектов антагониста на дыхательной и пищеварительной системах [64, 145] показано также влияние на различные поведенческие эффекты [88, 146].

Недавно синтезировано новое соединение – GR 159897 (рис. 3) [139], проявляющее свойства сильного антагониста (в радиолигандном анализе для NK-2-рецептора из мембран толстой кишки крысы и полученного в результате экспрессии NK-2-рецептора человека $pK_i \sim 9.5$ и 10.0) и обладающее высокой селективностью (значения $pK_i \leq 5$ для NK-1 и NK-3-рецепторов). Эти же свойства подтверждены *in vitro* и *in vivo* в опытах по блокированию агонистиндуцированных мышечных сокращений у морской свинки [139]. Продолжается поиск соединений различных классов, которые могут послужить базовыми моделями для синтеза новых непептидных антагонистов NK-2-рецептора [147].

Непептидные NK-3-антагонисты

Первым непептидным соединением, у которого были обнаружены антагонистические свойства к NK-3-рецепторам морской свинки и человека (но не крысы), оказался NK-2-антагонист – SR 48968. В радиолигандных тестах значения IC_{50} для него как ингибитора составили 320 и 350 нМ соответственно (для крысы >10000 нМ) [148, 149].

Единственным мощным и селективным NK-3-антагонистом на сегодняшний день является SR 142801 (рис. 3). Его сродство к рецептору при конкурентовании с меченым агонистом варьирует в зависимости от вида от $K_i \sim 0.4$ (человек) до 11.0 нМ (крыса). SR 142801 – также эффективный NK-3-антагонист в ингибировании агонистиндуцированных сокращений подвздошной кишки морской свинки *in vitro* и поведенческих эффектов у песчанки *in vivo* [140].

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТАГОНИСТОВ В ПОИСКЕ НОВЫХ ПОДТИПОВ ТАХИКИНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Появление уже первых эффективных лигандов тахикининовых рецепторов выявило существенное различие в силе их действия на определенный тип рецептора. Осуществленный в 1986 г. синтез селективного агониста рецептора вещества P – септида $[Glr^6, Pro^9]SP-(6-11)$, – позволил говорить о новом подтипе NK-1-рецепторов. Этот лиганд, как и вещество P, вызывал сильные сокращения гладкой мускулатуры подвздошной кишки морской свинки, но практически не инги-

биривал связывания меченого вещества P [150]. Вопрос о существовании особого септидчувствительного нейрокининового рецептора до сих пор дискутируется. В ряде исследований считают, что септид и вещество P действуют на разные участки одного рецептора [151], тогда как в других работах предполагается существование на некоторых тканях самостоятельных подтипов, например двух разных NK-1-рецепторов [150, 152].

Антагонистические свойства практически любого из рассмотренных выше соединений пептидной или непептидной природы в значительной степени зависят от принадлежности рецептора к определенной ткани конкретного вида животных. Примером может служить MDL 28564 (табл. 2), являющийся конкурентным NK-2-антагонистом на трахее хомяка и некоторых тканях крысы [65, 78] и полным NK-2-агонистом на легочной артерии кролика и подвздошной кишке морской свинки [65, 69]. При сравнении активности некоторых пептидных NK-2-антагонистов (MEN 10376, L-659877, R-396) на препаратах с одинаковым сродством к NK-2-агонистам: легочной артерии кролика (MEN 10376 $>$ L-659877 $>$ R-396) и трахее хомяка (L-659877 $>$ R-396 $>$ MEN 10376) – был сделан вывод о возможности существования двух различных NK-2-типов тахикининового рецептора, так называемых NK-2A- и NK-2B-рецепторов [61]. Такое условное разделение NK-2-рецепторов по эффективности взаимодействия с ними антагонистов (как в радиолигандных, так и в фармакологических тестах) получило довольно широкое распространение в качестве дополнительной характеристики тахикининовых рецепторов этого класса. Полученные данные по представленности рецепторов этих подтипов в разных тканях позволяют предположить, что гетерогенность NK-2-рецепторов обусловлена главным образом (если не полностью) видовыми различиями в их структуре: в тканях кролика, морской свинки, быка, человека – NK-2A-подтип рецептора; хомяка и крысы – NK-2B [61, 67, 72–74, 76, 142, 153]. На различных препаратах крысы показана также тканевая специфичность NK-2-рецепторов [63, 143, 154]. Есть сведения о существовании двух разных подтипов NK-2-рецептора на легочных мембранах кролика [155].

Подобным же образом с помощью сравнения аффинности различных агонистов и антагонистов в радиолигандных и фармакологических тестах показана широкая видовая и тканевая специфичность рецепторов NK-1 [18, 35, 40, 130, 156–160] и NK-3 [161]. Дальнейшее выявление и изучение подтипов тахикининовых рецепторов было вызвано появлением эффективных видоспецифичных непептидных антагонистов [58, 116–118, 130, 140].

Причины различий антагонистических эффектов во многом зависят от конкретных структурных особенностей лиганд-рецепторного взаимодействия. До недавнего времени не было надежных данных о локализации участков рецептора, важных для узнавания как антагонистов, так и природных агонистов. Заметный прогресс был достигнут лишь после успешного конструирования методами генной инженерии химерных тахикининовых рецепторов, содержащих либо целые фрагменты, либо одиночные аминокислотные остатки рецептора другого типа, и их получения в клетках млекопитающих в активной форме.

АНТАГОНИСТЫ В СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ТАХИКИНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Стандартный подход в подобного рода исследованиях включает в себя получение химерного белка (составленного из фрагментов либо тахикининовых рецепторов разных подтипов, либо одного подтипа разных видов животных), изучение его способности взаимодействовать с меченым лигандом или генерировать ответ на действие лиганда, исследование влияния различных антагонистов и агонистов на полученный в результате экспрессии рецептор и анализ структуры лигандсвязывающих доменов.

Одна из первых работ, в которой удалось успешно получить в COS-клетках набор химерных NK-1/NK-2-рецепторов крысы, была опубликована в 1992 г. [162]. Было показано, что для связывания вещества Р существенны N-концевая экстрацеллюлярная часть, а также II, III и IV ТМС NK-1-рецептора. При замене же С-концевой половины на соответствующую часть NK-2-рецептора сродство вещества Р к такому химерному белку практически не изменялось. Для связывания нейрокина А не удалось обнаружить такого же функционально важного участка на NK-2-рецепторе.

В работе [163] получена и исследована серия химерных NK-1/NK-3-рецепторов крысы с последовательной заменой ТМС одного подтипа рецептора на другой. При этом сродство вещества Р и нейрокина В к этим химерным белкам постепенно уменьшалось (по сравнению с нативными рецепторами) по мере увеличения в молекуле количества "чужих" ТМС. Наиболее резкое снижение сродства к веществу Р наблюдалось при замене первого сегмента NK-1-рецептора на сегмент рецептора NK-3, а к нейрокину В – последнего, VII сегмента NK-3 на сегмент NK-1-рецептора. Таким образом, природные пептидные лиганды взаимодействуют с участками всех ТМС, причем наиболее важные детерминанты для вещества Р и нейрокина В различны. Исследование непри-

родных пептидных агонистов ($[Sar^9, Met(O_2)^{11}]SP$ и сенктида), проведенное в этой же работе [163], подтвердило тот факт, что для каждого пептидного лиганда существует свой набор важных связывающих детерминант на рецепторе. Этими же авторами впервые был установлен участок NK-1-рецептора, важный для узнавания непептидного антагониста CP-96.345: экстрацеллюлярная часть V и VI ТМС. Исследования химерных NK-1-рецепторов с небольшими вставками из NK-3-рецептора в этой области выявили существенную роль фрагментов 183–196, 197–207 и 271–276 NK-1-рецептора для связывания CP-96.345, в то же время замена этих фрагментов не влияла на сродство самого вещества Р к рецептору. Проведением обратной операции по замене этими последовательностями NK-1-рецептора соответствующих участков в NK-3-рецепторе удалось добиться почти полного переноса сродства CP-96.345 к этому химерному белку. Полученные данные позволили авторам предложить модель структурной организации лигандсвязывающих центров тахикининовых рецепторов, согласно которой карман, образованный семью ТМС, взаимодействует с С-концевой консервативной последовательностью тахикининов, а дивергентные N-концевые участки пептидов узнают соответствующие сайты экстрацеллюлярных петель. При этом CP-96.345 связывается между V и VI ТМС.

Этой же группой ученых были сконструированы химерные NK-1/NK-2-рецепторы крысы [164]. При замене С-концевой половины рецептора вещества Р на соответствующий домен NK-2 существенно не менялось сродство к этому химерному белку ни вещества Р, ни нейрокина А. Замена же части VI и VII ТМС (участок 251–293) приводила к снижению более чем в 30 раз сродства к нему NK-1-антагониста CP-96.345 (значение $K_i \sim 270$ нМ по сравнению с ~ 8 нМ для нативного рецептора) и полному переносу на него чувствительности к NK-2-антагонисту SR 48968 (значение K_i при ингибировании SR 48968 связывания $[^{125}I]SP$ менялось от >10000 нМ для нативного NK-1-рецептора до ~ 0.97 нМ для химерной молекулы). Практически не различались и параметры связывания $[^3H]SR 48968$: $K_d \sim 1.5$ нМ с исходным NK-2 и ~ 1.0 нМ с химерным белком. Таким образом, два значительно различающихся по химическому строению непептидных антагониста действуют через сайты, локализованные примерно в одной области, вокруг VI ТМС соответствующих рецепторов.

Было проведено исследование способности серии непептидных антагонистов (CP-96.345, RP 67580, FK888, SR 140.333) NK-1-рецепторов ингибировать связывание меченых агонистов с NK-1/NK-3-химерными рецепторами крысы [165]. Для всех этих соединений критически важной оказалось область V и VI ТМС, а для RP 67580 –

отчасти и VII ТМС. Значения K_i при замене этих участков на соответствующие фрагменты NK-3-рецептора вырастали на 3–4 порядка. И наоборот, рецептор NK-3, содержащий этот же участок последовательности (183–276) из рецептора вещества P, обладал такой же чувствительностью ко всем антагонистам (к RP 67580 несколько меньшей), как и природный NK-1-рецептор. Для более детальной характеристики этого домена были получены рецепторы вещества P, содержащие фрагменты NK-3-рецептора в участках 183–196, 197–207, 262–270 и 271–276 аминокислотной последовательности. Оказалось, что для каждого антагониста существуют свои наиболее важные участки связывания: 183–196 и 271–276 для CP-96.345; 262–270 – для RP 67580 и FK888; 271–276 – для SR 140.333. При введении в NK-3-рецептор сегментов 183–196 и 271–276 NK-1-рецептора достигалась полная NK-1-подобная чувствительность к CP-96.345 и SR 140.333.

Полученные результаты, однако, не дают основания для утверждения о прямом взаимодействии указанных участков рецептора с антагонистами. Более того, в работе [166] был проведен сравнительный анализ действия природных лигандов и непептидного антагониста L-703606 (аналога CP-96.345) на NK-1-рецепторы человека с NK-3-заменами либо небольших сегментов (170–173, 176–183, 187–195, 271–280), либо единичных аминокислотных остатков (АКО) из тех же сегментов. Поскольку изменения сродства лигандов к сегментзамещенным химерам во многих случаях никак не достигались различными вариантами последовательных точечных замен всех АКО этих же участков, авторы пришли к выводу, что часто наблюдаемое на химерных рецепторах уменьшение сродства не является результатом прямых взаимодействий. Здесь, вероятно, существенную роль играют другие факторы (например, конформационные эффекты), которые могут усложнять интерпретацию данных, получаемых на химерных белках.

Использование точечного мутагенеза во многом существенно облегчает изучение структурно-функциональных характеристик лиганд-рецепторного взаимодействия. В работах [166, 167] на NK-1-рецепторе человека выявлены аминокислотные остатки, принципиально важные для узнавания пептидных агонистов (вещество P, нейрокинина А и В, септид) и антагониста L-703606. Замены расположенных на N-концевом сегменте и первой экстрацеллюлярной петле рецептора остатков Asn²³, Gln²⁴, Phe²⁵, Asn⁹⁶ и His¹⁰⁹ приводили к существенному уменьшению сродства ко всем пептидным лигандам, но не к L-703606. Возможно, эти аминокислотные остатки отвечают за взаимодействие с константным С-концевым участком тахикининов или заметно влияют на локальную конформацию участков связывания ре-

цептора. Остаток Glu¹⁷² NK-1-рецептора оказался важным для связывания нейрокина В, но не вещества P, а наибольшее снижение сродства к антагонисту (в 40 раз) наблюдалось при замене остатка Tyr²⁷² на Ala.

С помощью точечных мутаций на NK-2-рецепторе человека удалось выявить аминокислотные остатки, важные для связывания нейрокина А (Gln¹⁰⁹, His¹⁹⁸, Ile²⁰², Gly²⁷³) и SR 48968 (His¹⁹⁸). Показано также, что замена Leu²⁹² на Ser приводит к заметному увеличению аффинности рецептора к веществу P и нейрокину В, но не влияет на связывание нейрокина А. Возможно, что именно остаток Leu²⁹² отвечает за наличие у NK-2-рецептора сродства к неродственным тахикининам [168].

Более детальное изучение точечных мутаций в участках узнавания (183–195 и 271–276) CP-96.345 и его аналогов выполнено для NK-1-рецептора крысы [169]. Так, делеция Glu¹⁹³ и Lys¹⁹⁴ (которых нет у NK-3) или замена их на Leu (как у NK-2) уменьшали K_i для антагониста в 10 и 22 раза, а замена остатка Tyr²⁷² на Thr (NK-2) или Ala (NK-3) вызывала аналогичное снижение в 7 и 24 раза.

С помощью точечных мутаций показана также важная роль внутримембранных АКО для высокоэффективного взаимодействия с пептидными и непептидными лигандами. Так, при замене расположенных во II ТМС NK-1-рецептора человека остатков Glu⁷⁸, Asp⁸⁵, Asp⁸⁹, Tyr⁹² и Asp⁹⁶ на Ala наблюдалась потеря веществом P способности конкурировать за рецептор с меченым непептидным антагонистом, но вытеснение им [¹²⁵I]SP происходило практически с такой же активностью, как на нативном рецепторе [170]. Внутримембранные аминокислотные остатки Glu⁷⁸ и Tyr²⁰⁵, по-видимому, вовлечены также в процесс функциональной активации рецептора [171].

Для проверки гипотезы об участии инвариантных аминокислотных остатков в формировании участка связывания антагонистов Фонг (Fong) с сотр. [172–174] исследовали роль всех подобных АКО в участках NK-1-рецептора человека, примыкающих к области узнавания непептидных антагонистов. Показано, что остаток His¹⁹⁷ специфически взаимодействует с CP-96.345, но не с RP 67580; в то же время His²⁶⁵, пространственно сближенный с His¹⁹⁷, необходим для связывания RP 67580, но не CP-96.345, и оба эти остатка никак не влияют на чувствительность к веществу P. Такие же различия к разным антагонистам проявляют остатки Gln¹⁶⁵ (высокое сродство к CP-96.345, но не к SR 140.333) и Ser¹⁶⁹ (высокое сродство к RP 67580).

Интересно, что замена инвариантного His²⁶⁵ по-разному влияет на сохранение сродства к различным антагонистам (CP-96.345, RP 67580,

SR 140.333, FK888), при этом существенную роль играет и природа заменяющего аминокислотного остатка [175]. Недавно опубликована работа, в которой при введении остатков His в область узнавания CP-96.345 (фрагменты аминокислотной последовательности 193–201 и 265–272) NK-1-рецептором человека участок связывания антагониста приобретает способность связывания ионов металла, что не влияет на сродство рецептора к веществу P [176].

Точечные мутации выявили некоторые причины видовых различий чувствительности одного типа рецептора (и прежде всего NK-1-рецепторов человека и крысы) к непептидным антагонистам. Известно, что эти различия могут достигать двух порядков значений K_i , а первичные структуры рецепторов вещества P человека и крысы отличаются друг от друга всего лишь 22 АКО (97% гомологии). В литературе описаны последовательные замены всех различающихся и некоторых инвариантных АКО из рецептора человека на остатки крысиного белка и наоборот [167, 177]. Удивительно, но ни последовательная, ни одновременная замена всех четырех дивергентных АКО, расположенных в участке узнавания CP-96.345 и FK888 (позиции 190, 191, 195, 266), не влияла на ингибирующую активность этих антагонистов. Однако при замене остатка Ser²⁹⁰ в VII ТМС NK-1-рецептора крысы на Ile, находящийся в этом положении в рецепторе вещества P человека, сродство к FK888 увеличивалось в 20 раз, а к CP-96.345 – в 6 раз. Полная чувствительность рецептора человека при этом достигалась комбинированной заменой Ser²⁹⁰ на Ile и Leu¹¹⁶ на Val [178]. Остаток в положении 290 оказался критически важным также для NK-2-антагониста SR 48968 и новых видоспецифичных NK-1-антагонистов CP-99.994, RPR 100893 и WIN 51708 [131, 179]. Для последнего заметную роль в видовой чувствительности к рецептору играл также остаток Val⁹⁷.

Поиск аминокислотных остатков NK-3-рецептора, отвечающих за его видоспецифичность, был проведен в работах [149, 180]. Интересно, что для различных NK-3-антагонистов (SR 48968, PD 154740, PD 157672, SR 142801) принципиально важными оказались одни и те же АКО – Met¹³⁴ и Ala¹⁴⁶.

Природа этих замен и вызываемые ими эффекты предполагают, во-первых, не прямое взаимодействие данных АКО с антагонистами, а происходящее при таких заменах изменение конформации молекулы белка и, во-вторых, существование различающихся (по крайней мере, частично) участков узнавания для каждого конкретного антагониста.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Появление за последние годы мощных и селективных лигандов (в том числе и антагонистов) дает в руки исследователям эффективный метод изучения тахикининовых рецепторов. Использование антагонистов в научных работах с применением различных современных методов (генетической инженерии, иммунологии и т.д.) позволит добиться существенного прогресса в понимании структурно-функциональной организации тахикининовой рецепторной системы млекопитающих. Вовлеченность последней в процессы регуляции жизненно важных функций организма определяет также высокую практическую значимость таких исследований. Финансируемые крупнейшими фармацевтическими компаниями разработки на основе синтезированных антагонистов эффективных лекарственных препаратов становятся сегодня приоритетными.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Maggio J. // Annu. Rev. Neurosci. 1988. V. 11. P. 13–28.
2. Regoli D., Drapeau G., Dion S., D'Orleans-Juste P. // Life Sci. 1987. V. 40. P. 109–117.
3. Regoli D., Nantel F. // Biopolymers. 1991. V. 31. P. 777–783.
4. Regoli D., Drapeau G., Dion S., Couture R. // Trends Pharmacol. Sci. 1988. V. 9. P. 290–295.
5. Masu Y., Nakayama K., Tamaki H., Harada T., Kuno M., Nakanishi S. // Nature. 1987. V. 329. P. 836–838.
6. Yokota Y., Sasai Y., Tanaka K., Fujiwara T., Tsuchida K., Shigemoto R., Kakizuka A., Ohkubo H., Nakanishi S. // J. Biol. Chem. 1989. V. 264. P. 17649–17652.
7. Shigemoto R., Yokota Y., Tsuchida K., Nakanishi S. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. P. 623–628.
8. Graham A., Hopkins B., Powell S., Danks P., Briggs I. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1991. V. 177. P. 8–16.
9. Hakanson R., Leander S., Asano N., Feng D., Folkers K. // Regul. Peptides. 1990. V. 31. P. 75–82.
10. Di Bello C., Scatturin A., D'Auria G., Gargiulo M., Paolillo L., Trivellone E., De Castiglione R. // Biopolymers. 1991. V. 31. P. 643–652.
11. Folkers K., Feng D., Asano N., Hakanson R., Wiesenfeld-Hallin Z., Leander S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1990. V. 87. P. 4833–4835.
12. Wiesenfeld-Hallin Z., Xu X., Kristensson K., Hakanson R., Feng D., Folkers K. // Regul. Peptides. 1990. V. 29. P. 1–11.
13. Maggi C., Patacchini R., Feng D., Folkers K. // Eur. J. Pharmacol. 1991. V. 199. P. 127–129.
14. Hoover D. // Peptides. 1991. V. 12. P. 983–988.
15. Xu X., Hao J., Wiesenfeld-Hallin Z., Hakanson R., Folkers K., Hokfelt T. // Neuroscience. 1991. V. 42. P. 731–737.
16. Wang Z., Feng D., Wang Y., Tung S., Wong K., Strichartz G., Folkers K., Hakanson R. // Eur. J. Pharmacol. 1994. V. 260. P. 121–128.

17. Folkers K., Hakanson R., Feng D., Xu X., Janecka A., Wang Z. // *Amino Acids*. 1993. V. 5. P. 233–238.
18. Sakurada T., Yamada T., Tan-No K., Manome Y., Sakurada S., Kisara K., Ohba M. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1991. V. 259. P. 205–210.
19. Patacchini R., Santicioli P., Astolfi M., Rovero P., Viti G., Maggi C. // *Eur. J. Pharmacol.* 1992. V. 215. P. 93–98.
20. Reid M., Herrera-Marschitz M., Hokfelt T., Ohlin M., Valentino K., Ungerstedt U. // *Neuroscience*. 1990. V. 36. P. 643–658.
21. Feldman P. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1995. V. 273. P. 617–623.
22. Bitar K., Bowers C., Coy D. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991. V. 180. P. 156–161.
23. Everard M., Macaulay V., Miller J., Smith I. // *Br. J. Cancer*. 1992. V. 65. P. 388–392.
24. Hillairebuys D., Mousli M., Landry Y., Bockaert J., Fehrentsz J., Carrette J., Rouot B. // *Mol. Cell. Biochem.* 1992. V. 109. P. 133–138.
25. Regoli D., Drapeau G., Dion S., D'Orleans-Juste P. // *Substance P and Neurokinins* / Eds J. Henry et al. N.Y.: Springer, 1987. P. 99–107.
26. Morbidelli L., Maggi C., Ziche M. // *Neuropeptides*. 1993. V. 24. P. 335–341.
27. Zacharia S., Rossowski W., Jiang N., Hrbas P., Ertan A., Coy D. // *Eur. J. Pharmacol.* 1991. V. 203. P. 353–357.
28. Ward P., Ewan G., Jordan C., Ireland S., Hagan R., Brown J. // *J. Med. Chem.* 1990. V. 33. P. 1848–1851.
29. Guo J., Yoshioka K., Yanagisawa M., Hosoki R., Hagan R., Otsuka M. // *Br. J. Pharmacol.* 1993. V. 110. P. 1142–1148.
30. Bartho L., Santicioli P., Patacchini R., Maggi C. // *Br. J. Pharmacol.* 1992. V. 105. P. 805–810.
31. Hagan R., Ireland S., Bailey F., McBride C., Jordan C., Ward R. // *Br. J. Pharmacol.* 1991. V. 102. P. 168.
32. Maggi C., Zagorodnyuk V., Giuliani S. // *Neuroscience*. 1994. V. 63. P. 1137–1152.
33. Palma C., Goso C., Manzini S. // *Neurosci. Lett.* 1994. V. 171. P. 221–224.
34. O'Shaughnessy C., Conner H. // *Eur. J. Pharmacol.* 1994. V. 263. P. 193–198.
35. Hall J., Mitchell D., Morton I. // *Br. J. Pharmacol.* 1994. V. 112. P. 985–991.
36. Sakurada T., Yogo H., Manome Y., Tan-No K., Sakurada S., Yamada A., Kisara K., Ohba M. // *Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol.* 1994. V. 350. P. 387–392.
37. Sakurada T., Katsumata K., Yogo H., Tan-No K., Sakurada S., Ohba M., Kisara K. // *Pain*. 1995. V. 60. P. 175–180.
38. Ramnarine S., Hirayama Y., Barnes P., Rogers D. // *Br. J. Pharmacol.* 1994. V. 113. P. 1183–1190.
39. Hagiwara D., Miyake K., Morimoto H., Murai M., Fujii T., Matsuo M. // *J. Med. Chem.* 1992. V. 35. P. 2015–2025.
40. Morimoto H., Murai M., Maeda Y., Hagiwara D., Miyake H., Matsuo M., Fujii T. // *Br. J. Pharmacol.* 1992. V. 106. P. 123–126.
41. Hagiwara D., Miyake H., Morimoto J., Murai M., Fujii T., Matsuo M. // *J. Med. Chem.* 1992. V. 35. P. 3184–3191.
42. Hagiwara D., Miyake H., Murano K., Morimoto H., Murai M., Fujii T., Nakanishi I., Matsuo M. // *J. Med. Chem.* 1993. V. 36. P. 2266–2278.
43. Cascieri M., McLeod A., Underwood D., Shiao L., Ber E., Sadowski S., Yu H., Merchant K., Swain C., Strader C., Fong T. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 6587–6591.
44. Barrow C., Sedlock D., Sun H., Cooper R., Gillum A. // *J. Antibiot.* 1994. V. 47. P. 1182–1187.
45. Manolopoulou A., Karagiannis K., Stavropoulos G., Poulos C., Jordan C., Hagan R. // *Int. J. Pept. Protein Res.* 1993. V. 41. P. 411–414.
46. Duplaa H., Chassaing G., Lavielle S., Beaujouan J., Torrens Y., Saffroy M., Glowinski J., D'Orleans-Juste P., Regoli D., Carruette A., Garret C. // *Neuropeptides*. 1991. V. 19. P. 251–257.
47. Wang J., Dipasquale A., Bray A., Maeji N., Spellmeyer D., Geysen H. // *Int. J. Pept. Protein Res.* 1993. V. 42. P. 392–399.
48. McElroy A., Clegg S., Deal M., Ewan G., Hagan R., Ireland S., Jordan C., Porter B., Ross B., Ward P., Whittington A. // *J. Med. Chem.* 1992. V. 35. P. 2582–2591.
49. Paladino J., Thurieau C., Morris A., Kucharczyk N., Rouissi N., Regoli D., Fauchere J. // *Int. J. Pept. Protein Res.* 1993. V. 42. P. 284–293.
50. Suzuki H., Yoshioka K., Yanagisawa M., Urayama O., Kurihara T., Hosoki R., Saito K., Otsuka M. // *Br. J. Pharmacol.* 1994. V. 113. P. 310–316.
51. Williams B., Curtis N., McKnight A., Maguire J., Young S., Veber D., Baker R. // *J. Med. Chem.* 1993. V. 36. P. 2–10.
52. McLeod A., Merchant K., Cascieri M., Sadowski S., Ber E., Swain C., Baker R. // *J. Med. Chem.* 1993. V. 36. P. 2044–2045.
53. Lewis R., McLeod A., Merchant K., Kelleher F., Sanderson I., Herbert R., Cascieri M., Sadowski S., Ball R., Hoogsteen K. // *J. Med. Chem.* 1995. V. 38. P. 923–941.
54. Kucharczyk N., Thurieau C., Paladino J., Morris A., Bonnet J., Canet E., Krause J., Regoli D., Couture R., Fauchere J. // *J. Med. Chem.* 1993. V. 36. P. 1654–1661.
55. Hayashi K., Hashimoto M., Shigematsu N., Nishikawa M., Ezaki M., Yamashita M., Kiyoto S., Okuhara M., Kohsaka M., Imanaka H. // *J. Antibiot.* 1992. V. 45. P. 1055–1070.
56. Morimoto H., Murai M., Maeda Y., Yamaoka M., Nishikawa M., Kiyoto K., Fujii T. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1992. V. 262. P. 398–408.
57. Hirayama Y., Lei Y., Barnes P., Rogers D. // *Br. J. Pharmacol.* 1993. V. 108. P. 844–851.
58. Aramori I., Morikawa N., Zenkoh Z., O'Donnell N., Iwami M., Kojo H., Notsu Y., Okuhara M., Ono S., Nakanishi S. // *Eur. J. Pharmacol.* 1994. V. 269. P. 277–281.
59. Delay-Goyet P., Lundberg J. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991. V. 180. P. 1342–1349.
60. Stables J., Beresford I., Arkinstall S., Ireland S., Walsh D., Seale P., Ward P., Hagan R. // *Neuropeptides*. 1994. V. 27. P. 333–341.

61. Maggi C., Patacchini R., Giuliani S., Rovero P., Dion S., Regoli D., Giachetti A., Meli A. // *Br. J. Pharmacol.* 1990. V. 100. P. 588–592.
62. Rovero P., Quartara L., Astolfi M., Patacchini R., Giachetti A., Maggi C. // *Peptides*. 1992. V. 13. P. 207–208.
63. Wiesenfeld-Hallin Z., Luo L., Xu X., Maggi C. // *Eur. J. Pharmacol.* 1994. V. 251. P. 99–102.
64. Kudlacz E., Logan D., Shatzer S., Farrell A., Baugh L. // *Eur. J. Pharmacol.* 1993. V. 241. P. 17–25.
65. Patacchini R., Astolfi M., Quartara L., Rovero P., Giachetti A., Maggi C. // *Br. J. Pharmacol.* 1991. V. 104. P. 91–96.
66. Patacchini R., Quartara L., Rovero P., Goso C., Maggi C. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1993. V. 264. P. 17–21.
67. Smits G., Lefebvre R. // *J. Auton. Pharmacol.* 1994. V. 14. P. 383–392.
68. Nagy I., Maggi C., Dray A., Woolf C., Urban L. // *Neuroscience*. 1993. V. 52. P. 1029–1037.
69. Maggi C., Patacchini R., Meini S., Quartara L., Sisto A., Potier E., Giuliani S., Giachetti A. // *Br. J. Pharmacol.* 1994. V. 112. P. 150–168.
70. Lepre M., Olpe H., Evans R., Brugger F. // *Eur. J. Pharmacol.* 1994. V. 258. P. 23–31.
71. Smith P., McElroy A., Pritchard J., Deal M., Ewan G., Hagan R., Ireland S., Ball D., Beresford I., Sheldrick R., Jordan C., Ward P. // *BioMed. Chem. Lett.* 1993. V. 3. P. 931–936.
72. Maggi C., Eglezos A., Quartara L., Patacchini R., Giachetti A. // *Regul. Peptides*. 1992. V. 37. P. 85–93.
73. Guard S., Pain D., Franks R., Watling K. // *Eur. J. Pharmacol.* 1993. V. 232. P. 287–290.
74. Maggi C., Patacchini R., Astolfi M., Rovero P., Giachetti A., Van Giersbergen P. // *Neuropeptides*. 1992. V. 22. P. 93–98.
75. McKnight A., Maguire J., Elliott N., Fletcher A., Foster R., Tridgett R., Williams B., Longmore J., Iversen L. // *Br. J. Pharmacol.* 1991. V. 104. P. 355–360.
76. Maggi C., Quartara L., Patacchini R., Giuliani S., Barbanti G., Turini D., Giachetti A. // *Regul. Pept.* 1993. V. 47. P. 151–158.
77. Krumins S., Broomfield C. // *Neuropeptides*. 1992. V. 21. P. 65–72.
78. Astolfi M., Manzini S., Maggi C., Giachetti A. // *J. Auton. Pharmacol.* 1993. V. 13. P. 381–386.
79. Maggi C., Astolfi M., Giuliani S., Goso C., Manzini S., Meini S., Patacchini R., Pavone V., Pedone C., Quartara L., Renzetti A., Giachetti A. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1994. V. 271. P. 1489–1500.
80. Quartara L., Rovero P., Maggi C. // *Med. Res. Rev.* 1995. V. 15. P. 139–155.
81. Turcatti G., Vogel H., Chollet A. // *Biochemistry*. 1995. V. 34. P. 3972–3980.
82. Beresford I., Dupere J., Stables J., Chollet A., Hagan R. // *Neuropeptides*. 1993. V. 24. P. 236–237.
83. Patacchini R., Quartara L., Astolfi M., Goso C., Giachetti A., Maggi C. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1995. V. 272. P. 1082–1087.
84. Holzemann G., Low A., Harting J., Greiner H. // *Int. J. Pept. Protein Res.* 1994. V. 44. P. 105–111.
85. Itoi K., Tschope C., Jost N., Culman J., Lebrun C., Stauss B., Unger T. // *Eur. J. Pharmacol.* 1992. V. 219. P. 435–444.
86. Auberson S., Mauger A., Lundberg J. // *Pharmacol. Toxicol.* 1993. V. 73. P. 311–314.
87. Drapeau G., Rouissi N., Nantel F., Rhaleb N., Tousignant C., Regoli D. // *Regul. Peptides*. 1990. V. 31. P. 125–135.
88. Picard P., Regoli D., Couture R. // *Br. J. Pharmacol.* 1994. V. 112. P. 240–249.
89. Boden P., Eden J., Hodgson J., Horwell D., Howson W., Hughes J., McKnight A., Meecham K., Pritchard M., Raphy J., Ratcliffe G., Suman-Chauhan N., Woodruff G. // *BioMed. Chem. Lett.* 1994. V. 4. P. 1679–1684.
90. Lowe III J., Drozda S., Snider R., Longo K., Zorn S., Morrone J., Jackson E., McLean S., Bryce D., Bordner J., Nagahisa A., Kanai Y., Suga O., Tsuchiya M. // *J. Med. Chem.* 1992. V. 35. P. 2591–2600.
91. Cascieri M., Ber E., Tung M., Sadowski S., Bansal A., Swain C., Seward E., Francis B., Burns D., Strader C. // *Mol. Pharmacol.* 1992. V. 42. P. 458–463.
92. Garret C., Carruette A., Fardin V., Moussaoui S., Peyronel J., Blanchard J., Laduron P. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991. V. 88. P. 10208–10212.
93. Hagiwara D., Miyake H., Igari N., Murano K., Morimoto H., Murai M., Fujii T., Matsuo M. // *Regul. Peptides*. 1993. V. 46. P. 332–337.
94. Desai M., Thadeio P., Lefkowitz S. // *Tetrahedron Lett.* 1993. V. 34. P. 5831–5834.
95. Emonds-Alt X., Douremepuich J., Heaulme M., Neliat G., Santucci V., Steinberg R., Vilain P., Bichon D., Ducoux J., Proietto V., Van Broeck D., Soubrie P., Le Fur G., Brelriere J. // *Eur. J. Pharmacol.* 1993. V. 250. P. 403–413.
96. Venepalli B., Aimone L., Appell K., Bell M., Dority J., Goswami R., Hall P., Kumar V., Lawrence K., Logan M., Scensny P., Seelye J., Tomczuk B., Yanni J. // *J. Med. Chem.* 1992. V. 35. P. 374–378.
97. Achard D., Truchon A., Peyronel J. // *BioMed. Chem. Lett.* 1994. V. 4. P. 669–676.
98. Sedlock D., Barrow C., Brownell J., Hong A., Gillum A., Houck D. // *J. Antibiot.* 1994. V. 47. P. 391–419.
99. Mills S., Wu M., MacCoss M., Budhu R., Dorn C., Cascieri M., Sadowski S., Strader C., Greenlee W. // *BioMed. Chem. Lett.* 1993. V. 3. P. 2707–2712.
100. Williams B., Teall M., McKenna J., Harrison T., Swain C., Cascieri M., Sadowski S., Strader C., Baker R. // *BioMed. Chem. Lett.* 1994. V. 4. P. 1903–1908.
101. Rouissi N., Gitter B., Waters D., Howbert J., Nixon J., Regoli D. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991. V. 176. P. 894–901.
102. Snider R., Constantine J., Lowe III J., Longo K., Lebel W., Woody H., Drozda S., Desai M., Vinick F., Spencer R., Hess H. // *Science*. 1991. V. 251. P. 435–439.
103. Beresford I., Birch P., Hagan R., Ireland S. // *Br. J. Pharmacol.* 1991. V. 104. P. 292–293.
104. Sakurada T., Katsumata K., Hiromichi Y., Tan-No K., Sakurada S., Kisara K. // *Neurosci. Lett.* 1993. V. 151. P. 142–145.
105. Radhakrishnan V., Henry J. // *Neuroscience*. 1995. V. 64. P. 943–958.

106. Lembeck F., Donnerer J., Tsuchiya M., Nagahisa A. // Br. J. Pharmacol. 1992. V. 105. P. 527-530.
107. Ricciardolo F., Nedel J., Bertrand C., Yamawaki I., Chan B., Geppetti P. // Eur. J. Pharmacol. 1994. V. 261. P. 127-132.
108. Stjarne P., Rinder J., Delay-Goyet P. // Acta Physiol. Scand. 1994. V. 152. P. 153-161.
109. Wang Z., Tung S., Strichartz G., Hakanson R. // Br. J. Pharmacol. 1994. V. 111. P. 179-184.
110. Lowe III J., Drozda S., Snider R., Longo K., Bordenier J. // BioMed. Chem. Lett. 1991. V. 1. P. 129-132.
111. Кашиверов И., Зайцев Д., Уткин Ю., Цетлин В. // Биоорган. химия. 1994. Т. 20. С. 1162-1168.
112. Guard S., Boyle S., Tang K., Watling K., McKnight A., Woodruff G. // Br. J. Pharmacol. 1993. V. 110. P. 385-391.
113. Lowe III J., Drozda S., Snider R., Longo K., Rizzi J. // BioMed. Chem. Lett. 1993. V. 3. P. 921-927.
114. Seward E., Swain C., Merchant K., Owen S., Sabin V., Cascieri M., Sadowski S., Strader C., Baker R. // BioMed. Chem. Lett. 1993. V. 3. P. 1361-1366.
115. Swain C., Cascieri M., Owens A., Saari W., Sadowski S., Sttader C., Teall M., Van Niel M., Williams B. // BioMed. Chem. Lett. 1994. V. 4. P. 2161-2164.
116. Barr A., Watson S. // Br. J. Pharmacol. 1993. V. 108. P. 223-227.
117. Beaujouan J., Heuillet E., Petitet F., Saffroy M., Torrens Y., Glowinski J. // Br. J. Pharmacol. 1993. V. 108. P. 793-800.
118. Rouissi N., Claing A., Nicolau M., Jukic D., D'Orleans-Juste P., Regoli D. // Life Sci. 1993. V. 52. P. 1141-1147.
119. Moussaoui S., Montier F., Carruette A., Blanchard J., Laduron P., Garret C. // Br. J. Pharmacol. 1993. V. 109. P. 259-264.
120. Chapman V., Dickenson A. // Neurosci. Lett. 1993. V. 157. P. 149-152.
121. Miyayasu K., Mak J., Nishikawa M., Barnes P. // Mol. Pharmacol. 1993. V. 44. P. 539-544.
122. McLean S., Ganong A., Seymour P., Snider R., Desai M., Rosen T., Bryce D., Longo K., Reynolds L., Robinson G., Schmidt A., Siok C., Heym J. // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1993. V. 267. P. 472-479.
123. Smith G., Harrison S., Bowers J., Wiseman J., Birch P. // Eur. J. Pharmacol. 1994. V. 271. P. 481-487.
124. Rosen T., Seeger T., McLean S., Desai M., Guarino K., Bryce S., Pratt K., Heym J., Chalabi P., Windels J., Roth R. // J. Med. Chem. 1993. V. 36. P. 3197-3201.
125. Livni E., Babich J., Desai M., Godek D., Wilkinson R., Rubin R., Fischman A. // Nucl. Med. Biol. 1995. V. 22. P. 31-36.
126. Desai M., Lefkowitz S., Bryce D., McLean S. // BioMed. Chem. Lett. 1994. V. 4. P. 1865-1868.
127. Oury-Donat F., Lefevre I., Thurneyssen O., Gauthier T., Bordey A., Feltz P., Emonds-Alt X., Le Fur G., Soubrie P. // J. Neurochem. 1994. V. 62. P. 1399-1407.
128. Jung M., Calassi R., Maruani J., Barnouin M., Souilhac J., Poncelet M., Gueudet C., Emonds-Alt X., Soubrie P., Breliere J., Le Fur G. // Neuropharmacology. 1994. V. 33. P. 167-179.
129. Hall J., Brain S. // Br. J. Pharmacol. 1994. V. 113. P. 522-526.
130. Appell K., Fragale B., Loscig J., Singh S., Tomczuk B. // Mol. Pharmacol. 1992. V. 41. P. 772-778.
131. Sachais B., Krause J. // Mol. Pharmacol. 1994. V. 46. P. 122-128.
132. Lee W., Moussaoui S., Moskowitz M. // Br. J. Pharmacol. 1994. V. 112. P. 920-924.
133. Cutrer F., Moussaoui S., Garret C., Moskowitz M. // Neuroscience. 1995. V. 64. P. 741-750.
134. Barrow C., Mucza L., Cooper R. // BioMed. Chem. Lett. 1995. V. 5. P. 377-380.
135. Stevenson G., MacLeod A., Huscroft I., Cascieri M., Sadowski S., Baker R. // J. Med. Chem. 1995. V. 38. P. 1264-1266.
136. Cascieri M., Shiao L., Mills S., MacCoss M., Swain C., Yu H., Ber E., Sadowski S., Wu M., Strader C., Fong T. // Mol. Pharmacol. 1995. V. 47. P. 660-665.
137. Emonds-Alt X., Proietto V., Van Broeck D., Vilain P., Advenier C., Neliat G., Le Fur G., Breliere J. // BioMed. Chem. Lett. 1993. V. 3. P. 925-930.
138. Emonds-Alt X., Vilain P., Goulaouic P., Proietto V., Van Broeck D., Advenier C., Naline E., Neliat G., Le Fur G., Breliere J. // Life Sci. 1992. V. 50. P. PL101-PL106.
139. Beresford I., Sheldrick R., Ball D., Turpin M., Walsh D., Hawcock A., Coleman R., Hagan R., Tyers M. // Eur. J. Pharmacol. 1995. V. 272. P. 241-248.
140. Emonds-Alt X., Bichon D., Ducoux J., Heaulme M., Miloux B., Poncelet M., Proietto V., Van Broeck D., Vilain P., Neliat G., Soubrie P., Le Fur G., Breliere J. // Life Sci. 1995. V. 56. P. PL27-PL32.
141. Emonds-Alt X., Golliot F., Pointeau P., Le Fur G., Breliere J. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1993. V. 191. P. 1172-1177.
142. Ellis J., Udem B., Kays J., Ghanekar S., Barthlow H., Buckner C. // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1993. V. 267. P. 95-101.
143. Zeng X., Moore K., Burcher E. // J. Urol. 1995. V. 153. P. 1688-1692.
144. Croci T., Emonds-Alt X., Le Fur G., Manara L. // Life Sci. 1994. V. 56. P. 267-275.
145. Boichot E., Germain N., Lagente V., Advenier C. // Br. J. Pharmacol. 1995. V. 114. P. 259-261.
146. Poncelet M., Gueudet C., Emonds-Alt X., Breliere J., Le Fur G., Soubrie P. // Neurosci. Lett. 1993. V. 149. P. 40-42.
147. Hanessian S., Ronan B. // BioMed. Chem. Lett. 1994. V. 4. P. 1397-1400.
148. Petitet F., Beaujouan J., Saffroy M., Torrens Y., Glowinski J. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1993. V. 191. P. 180-187.
149. Wu L., Vartanian M., Oxender D., Chung F. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1994. V. 198. P. 961-972.
150. Petitet F., Saffroy M., Torrens M., Lavielle S., Chassaign G., Loeuillet D., Glowinski J., Beaujouan J. // Peptides. 1992. V. 13. P. 383-388.
151. Pradier L., Menager J., Guern J., Bock M., Heuillet E., Fardin V., Garret C., Doble A., Mayaux J. // Mol. Pharmacol. 1994. V. 45. P. 287-293.

152. Meini S., Patacchini R., Lecci A., Poulos C., Rovero P., Maggi C. // *Peptides*. 1995. V. 28. P. 99–106.
153. Watling K., Guard S., Krause J., Takeda Y., Quirion R., Zarnegar R., Pain D., Franks R. // *Regul. Peptides*. 1993. V. 46. P. 311–313.
154. Takeda Y., Krause J. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1991. V. 632. P. 479–482.
155. Millard S., Yamamura H., Bloom J. // *Regul. Peptides*. 1993. V. 46. P. 217–219.
156. Tousignant C., Chretien L., Guillemette G., Regoli D. // *Brain Res.* 1992. V. 596. P. 243–250.
157. Walsh D., Salmon M., Featherstone R., Wharton J., Church M., Polak J. // *Br. J. Pharmacol.* 1994. V. 113. P. 1407–1415.
158. Seabrook G., Main M., Razzaque Z., Longmore J. // *Eur. J. Pharmacol.* 1993. V. 250. P. 125–131.
159. Meini S., Patacchini R., Maggi C. // *Br. J. Pharmacol.* 1994. V. 111. P. 739–746.
160. Zeng X., Burcher E. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1994. V. 270. P. 1295–1300.
161. Nguyen Q., Yukic D., Chretien L., Gobeil F., Bousougou M., Regoli D. // *Neuropeptides*. 1994. V. 27. P. 157–161.
162. Yokota Y., Akazawa C., Ohkubo H., Nakanishi S. // *EMBO J.* 1992. V. 11. P. 3585–3591.
163. Gether U., Johansen T., Snider R., Lowe III J., Nakanishi S., Schwartz T. // *Nature*. 1993. V. 362. P. 345–348.
164. Gether U., Yokota Y., Emonds-Alt X., Breliere J., Lowe III J., Snider R., Nakanishi S., Schwartz T. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993. V. 90. P. 6194–6198.
165. Gether U., Emonds-Alt X., Breliere J., Fujii T., Hagiwara D., Pradier L., Garret C., Johansen T., Schwartz T. // *Mol. Pharmacol.* 1994. V. 45. P. 500–508.
166. Huang R., Yu H., Strader C., Fong T. // *Mol. Pharmacol.* 1994. V. 45. P. 690–695.
167. Fong T., Huang R., Strader C. // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. P. 25664–25671.
168. Bhogal N., Donnelly D., Findlay J. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 27269–27274.
169. Gether U., Nilsson L., Lowe III J., Schwartz T. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 23959–23964.
170. Rosenkilde M., Cahir M., Gether U., Hjorth S., Schwartz T. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 28160–28164.
171. Huang R., Yu H., Strader C., Fong T. // *Biochemistry*. 1994. V. 33. P. 3007–3013.
172. Fong T., Cascieri M., Yu H., Bansal A., Swain C., Strader C. // *Nature*. 1993. V. 362. P. 350–353.
173. Fong T., Yu H., Cascieri M., Underwood D., Swain C., Strader C. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 2728–2732.
174. Fong T., Yu H., Cascieri M., Underwood D., Swain C., Strader C. // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269. P. 14957–14961.
175. Zoffmann S., Gether U., Schwartz T. // *FEBS Lett.* 1993. V. 336. P. 506–510.
176. Elling C., Nielsen S., Schwartz T. // *Nature*. 1995. V. 374. P. 74–77.
177. Sachais B., Snider R., Lowe III J., Krause J. // *J. Biol. Chem.* 1993. V. 268. P. 2319–2323.
178. Jensen C., Gerard N., Schwartz T., Gether U. // *Mol. Pharmacol.* 1994. V. 45. P. 294–299.
179. Pradier L., Habert-Ortoli E., Emile L., Le Guern J., Loquet I., Bock M., Clot J., Mercken L., Fardin V., Garret C., Mayaux J. // *Mol. Pharmacol.* 1995. V. 47. P. 314–321.
180. Chung F., Wu L., Tian Y., Vartanian M., Lee H., Bikerker J., Humblet C., Pritchard M., Raphy J., Suman-Chauhan N., Horwell D., Lalwani N., Oxender D. // *Mol. Pharmacol.* 1995. V. 48. P. 711–716.

Antagonists of the Tachykinin Receptors

I. E. Kasheverov, Yu. N. Utkin, and V. I. Tsetlin

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia*

Received November 20, 1996; in final form, December 24, 1996

Abstract—Antagonists of the tachykinin receptors, which have been most widely used in scientific investigations during the past decade (up to 1995 inclusive), are reviewed. The structures and peculiar characteristics of peptide and nonpeptide compounds of this class are described. Applications of these antagonists in the search for new subtypes of tachykinin receptors and for structure–function studies are discussed.

Key words: antagonists of tachykinin receptors, subtypes of tachykinin receptors, binding sites (localization) of tachykinin receptor antagonists.