

Prace poglądowe

Bogdan Szukalski

Zakład Biochemii Instytutu Psychiatrii i Neurologii

RECEPTORY OPIOIDOWE I ICH ENDOGENNE * LIGANDY

W latach 40. i 50. naszego stulecia podejmowano liczne próby otrzymania związków (leków), które, jak morfina, znosiłyby ból, nie wykazując jednocześnie właściwości uzależniających. Choć minęło już pół wieku, planu tego nie udało się urzeczywistnić i coraz powszechniejsze jest przekonanie, że otrzymanie związków wykazujących centralne działanie przeciwbólowe bez właściwości uzależniających jest niemożliwe.

W toku tych badań uzyskano jednak wyniki wskazujące, że opiaty wiążą się w mózgu w miejscach odznaczających się bardzo wysoką specyficznością. I tak, aktywne są tylko lewoskrętne enancjomery opiatów, podczas gdy prawoskrętne albo w ogóle nie wykazują aktywności, albo jest ona znikoma. W roku 1973 Simon i wsp. (31), Terenius (36) oraz Pert i Snyder (23) uzyskali biochemiczne dowody na istnienie w mózgu zwierząt stereospecyficznych miejsc wiążących opiaty czyli receptorów opiatowych.

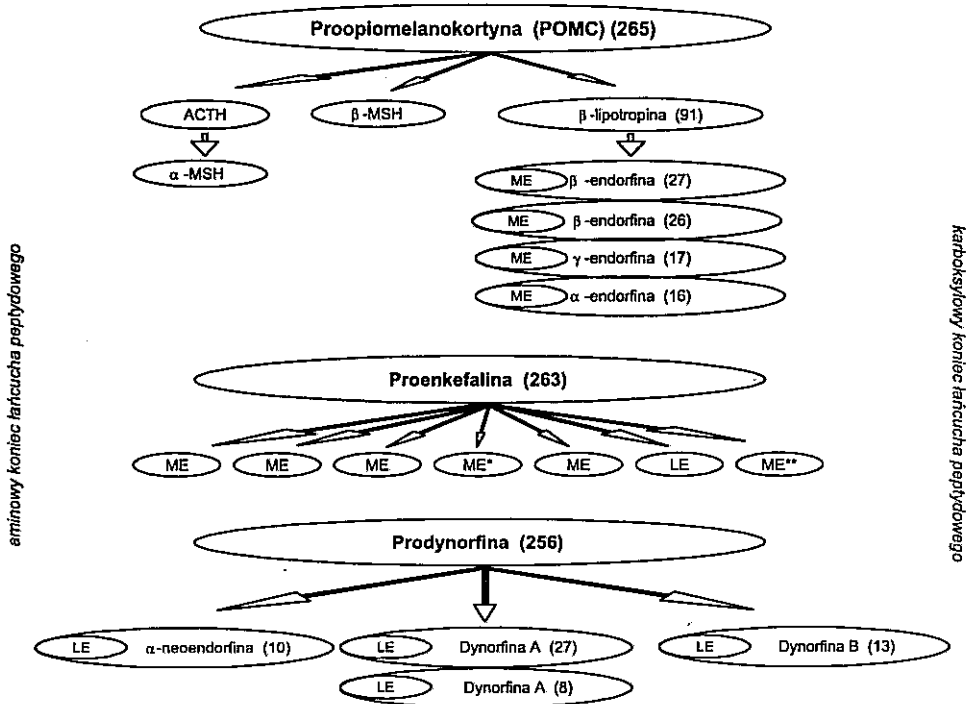
Również w ludzkim mózgu wykryto podobne receptory pośredniczące w wywołanych przez opiaty efektach farmakologicznych (11). Wraz z odkryciem receptorów wiążących egzogenne ligandy (opiaty) wyłonił się problem ich zasadniczej (pierwotnej) funkcji, jaką spełniają w organizmie żywym. Musi to być, oczywiście, funkcja o charakterze endogennym (wewnątrzustrojowym), a w jej wypełnianiu muszą uczestniczyć wytwarzane w organizmie ligandy o równie wysokim, jak opiaty, powinowactwie do receptorów.

W latach 1974-1975 Terenius i Wahlström (35) oraz Kosterlitz i wsp. (12,13) donieśli o wykryciu w ekstraktach z tkanki mózgowej substancji wykazujących taką

* Artykuł poświęcony egzogennym ligandom receptorów opioidowych ukazał się niedawno w Alkoholizmie i Narkomanii (34).

właśnie opiatopodobną aktywność. Były to 2 pentapeptydy o identycznej sekwencji aminokwasów różniące się jedynie ostatnim z nich. W jednym z tych peptydów ostatnim aminokwasem jest metionina a w drugim – leucyna: Tyrozyna-Tyrozyna-Glicyna-Fenylalanina-Metionina i Tyrozyna-Tyrozyna-Glicyna-Fenylalanina-Leucyna.

Pierwszy z nich nazwano Met-enkefaliną a drugi Leu-enkefaliną. Wywodzą się one z białkowego prekursora proopiomelanokortyny (POMC). Później wykryto szereg innych peptydów wykazujących aktywność opioidową, które podobnie jak enkefaliny wywodzą się z białkowych prekursorów: proopiomelanokortyny, proenkefaliny i prodynorfiny. Z proopiomelanokortyny, która powstaje w środkowym płacie przysadki mózgowej, oprócz enkefalin, wywodzi się grupa endorfin (α , β i γ) (endogenous morphine), czyli endogennych peptydów opioidowych różniących się liczbą reszt aminoacylowych w łańcuchu peptydowym, których wspólną cechą jest obecność cząsteczki Met-enkefaliny na aminowym końcu łańcucha. (Ryc. 1). Dlatego niektórzy badacze sądzą, że to właśnie enkefaliny są odpowiedzialne za specyficzne efekty peptydów opioidowych, a reszta cząsteczki decyduje jedynie o kierunku optymalnej efektywności.



Ryc. 1. Peptydy opioidowe wywodzące się z trzech białkowych prekursorów (w nawiasach liczba reszt aminoacylowych w cząsteczce peptydu).

Oznaczenia: ME i LE-Met-enkefalina i Leu-enkefalina występujące samodzielnie lub wchodzące w skład innych peptydów

ME* – heptapeptyd zbudowany z Met-enkefaliny, glicyny i fenylalaniny;

ME** – oktapeptyd zbudowany z Met-enkefaliny, argininy, glicyny i leucyny.

Z cząsteczki proenkefaliny, którą po raz pierwszy wykryto w korze nadnerczy wołu, powstają 4 cząsteczki Met-enkefaliny, 1 cząsteczka Leu-enkefaliny, heptapeptyd zbudowany z Met-enkefaliny i dwóch aminokwasów (arginina i fenyloalanina) oraz oktapeptyd, w którym do Met-enkefaliny dołączone są 3 aminokwasy (arginina, glicyna i leucyna) (Ryc. 1).

Z prodynorfiny, którą izolowano m.in. z mózgu, rdzenia kręgowego, przysadki i nadnerczy, wywodzi się α -neoendorfina, dynorfina B i dwie dynorfiny A różniące się liczbą reszt aminoacylowych. Wspólną cechą tych peptydów jest obecność cząsteczki Leu-enkefaliny na ich aminowym końcu (Ryc. 1).

Wszystkie te peptydy podawane dokomorowo wywołują, podobnie jak morfina, analgezę, depresyjny wpływ na ośrodek oddechowy i szereg zmian behawioralnych. I chociaż związki te nie przechodzą łatwo przez barierę krew-mózg, to przy systematycznym podawaniu zanotowano ich wpływ na pamięć i zdolność uczenia się (18).

Działanie enkefalin jest jednak krótkotrwałe, gdyż ulegają one dość szybko rozkładowi pod wpływem peptydaz. Inhibitory tych peptydaz wywołują analgezę (6). Miejscami, w których wiązania peptydowe ulegają hydrolizie przy powstawaniu peptydów opioidowych z cząsteczek prekursorów są na ogół pary aminokwasów zasadowych, takie jak Arg-Arg, Arg-Lys itp.

Enkefaliny i dynorfiny występują i prawdopodobnie są produkowane w wielu regionach mózgu i rdzenia kręgowego, natomiast β -endorfina występuje tylko w jądrze łukowatym, wzgórzu oraz w jądrze pasma samotnego (nucleus of the solitary tract) pnia mózgu.

W latach 1975-1976 Martin i wsp. (7, 17) scharakteryzowali trzy rodzaje receptorów opioidowych i oznaczyli je greckimi literami: μ , κ i δ . Z czasem pojawiły się doniesienia o istnieniu znacznie większej liczby typów (lub subtypów) receptorów opioidowych, które oznaczano literami μ_1 , μ_2 , κ_1 , κ_2 , σ_1 , σ_2 , δ , ϵ itp., jednak różnorodność ta wynikała raczej z braku ogólnie akceptowanej definicji receptora opioidowego niż rzeczywistych dowodów ich istnienia. Obecnie eksperymentalnie udokumentowane jest istnienie trzech typów receptorów opioidowych μ (μ), δ (δ) i κ (κ) (27).

Występują one w istocie szarej mózgu, w rdzeniu mózgowym, w układzie limbicznym.

Endogennymi ligandami dla receptorów delta są enkefaliny, dla receptorów κ -dynorfiny, a dla receptorów μ - β -endorfina. Morfina, egzogenna substancja o silnym działaniu analgetycznym, jest agonistą receptorów opioidowych μ , chociaż wykazuje również powinowactwo do receptorów δ .

Oczyszczenia receptorów μ do homogenności dokonano w roku 1985 (8). Materiałem wyjściowym była frakcja błonowa otrzymana z prądkowia wołu. Pierwszym etapem oczyszczenia była chromatografia powinowactwa na kolumnach, w których pochodną naltreksonu połączono z agarozą. Etap ten daje 3000-5000-krotne oczyszczenie. Drugi etap wykorzystywał glikoproteinową naturę receptora (adsorpcja na lektynie kielków pszenicznych i elucja za pomocą N-acetyloglukozaminy). Oczyszczone białko miało ciężar cząsteczkowy 65 KDa (65 000 daltonów). Jego specyficz-

na aktywność wiązania (15000 pmoli/mg białka) jest bliska wartości teoretycznej dla czystego białka o tej wielkości cząsteczki.

δ receptor został oczyszczony przez Klee i wsp. (32). Jest to glikoproteina o ciężarze cząsteczkowym 58 KDa.

Receptory κ izolowano z mózgu żaby (30) i ludzkiego łożyska (1).

Receptory opioidowe należą do rodziny receptorów wiążących się z błonowymi białkami G (od nukleotydu guanylowego). Białka te wiążą zewnątrzkomórkowe receptory z wewnątrzkomórkowym systemem receptorowym, czyli wtórnymi przekazywanikami, kinazami, fosfatazami i fosfoproteinami lub bezpośrednio z kanałami jonowymi.

Białko G składa się z trzech polipeptydowych podjednostek (oznaczonych literami α, β i γ), można je więc nazwać heterotrimerem. Ciężary cząsteczkowe podjednostek wynoszą: α-45 KDa, β-35 KDa i γ-7 KDa.

W warunkach podstawowych podjednostka α zawiera guanozynodifosforan (GDP) i nie wykazuje aktywności. Aktywacja receptora, czyli utworzenie kompleksu receptor-ligand, pobudza białko G wywołując obniżenie powinowactwa GDP do podjednostki α, odłączenie tego nukleotydu i zastąpienie go przez guanozynotrójfosforan (GTP). Nowo utworzona podjednostka α-GTP odłącza się od dimeru βγ i aktywuje system efektorowy komórki, a ściślej cyklazę adenylanową, które katalizuje powstawanie c-AMP.

Na każdą cząsteczkę związanego ligandu przypada wiele powstających cząsteczek α GTP, co odpowiednio wzmacnia odpowiedź. αG posiada wewnętrzną aktywność GTP-azy, która katalizuje przemianę GTP w GDP+P_i i powoduje powstanie nieaktywnego kompleksu α G-GDP. Kompleks ten łączy się z dimerem βγ odtwarzając nieaktywny trimer, który może ulec ponownej aktywacji.

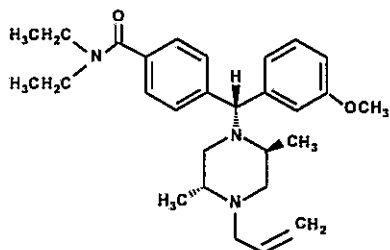
Cyklaza adenylanowa, decydująca o syntezie c-AMP, jest głównym efektem receptora opioidowego, na który działają uaktywnione jednostki białek G.

Jednorazowe przyjęcie opiatów powoduje obniżenie aktywności cyklazy adenylanowej i w konsekwencji redukcję poziomu cyklicznego AMP w komórce. Natomiast przewlekłe przyjmowanie opiatów wywołuje wzrost poziomu podjednostki α białka G oraz aktywności cyklazy adenylanowej.

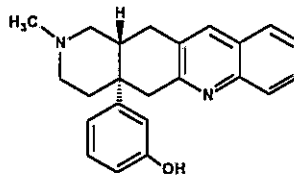
W badaniach związanych z charakterystyką poszczególnych typów i podtypów receptorów opioidowych zastosowano szereg wysoce selektywnych syntetycznych ligandów.

Oprócz kilkunastu agonistów i antagonistów receptorów zsyntetyzowanych w latach 80., które opisał w swej pracy Simon (29), warto wymienić kilka ligandów otrzymanych ostatnio.

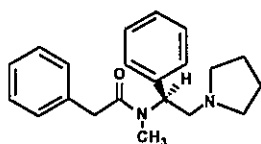
I tak dla receptorów μ otrzymano agonistę D-Ala²-enkefalinę (10) oraz antagonistów: β-funaltreksaminę (β-FNA) (14,25) i Klocinamoks (41), dla receptorów δ-agonistów: SNC-80 (16) i TAN-67 (33) (Ryc. 2.) oraz antagonistów: naltriben (20) i naltrindol (28) a dla receptorów κ agonistów: ICI 204,448 (15) i N-metylo-N-[(1s)-1-fenilo-2-(1-pirolidinylo)-etylo]-fenyloacetamid (37) oraz antagonistów: nor-Binaltorfiminę (24) i związek o kryptonimie DIPPA (3) (Ryc. 3.).



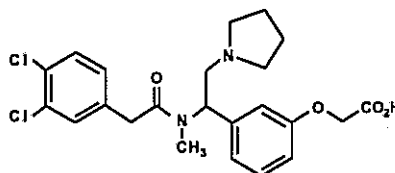
SNC 80
(4-[(αR)-α-((2S,5R)-4-Alilo-2,5-dimetylo-1-piperazylio)-3-meloksybenzyl]-N,N-dietylbenzamid)
Agonista receptorów δ



TAN 67
(3-(1,3,4,5,12,12a-heksahydro-2-metylopyrido[3,4-b]jakarydino-4a(2H)-yl)fenol)
Agonista receptorów β



(N-Metylo-N-((1S)-1-fenyl-2-(1-pirolidynylo)etylo)fenylacetamid)
Agonista receptorów κ

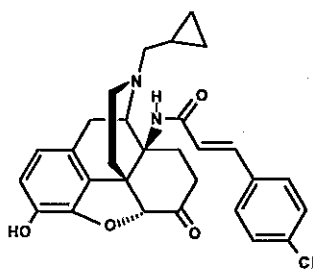


ICI 204,448
(Kwas 3-[1-[[[(3,4-dichlorofenyl)acetylo]metyloamino]-2-(1-pirolidynylo)etylo]fenoksy]octowy)
Agonista receptorów κ

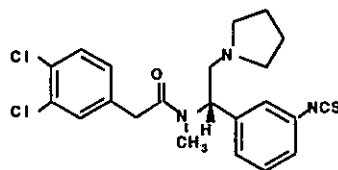
Ryc. 2. Budowa niektórych syntetycznych agonistów receptorów opioidowych

Ostatnio Chao i wsp. (4) stwierdzili, że dwaj agoniści receptorów kappa, których oznaczono symbolami U 50,488 i U69,593, ograniczają wzrost i rozprzestrzenianie się podtypu wirusa HIV-1 w mózgu osób zakażonych tym wirusem. Badacze ci podawali hodowle mikrogleju przez 24 godziny działaniu tych agonistów, a następnie na kolejną dobę wprowadzali do hodowli HIV-1. Zaobserwowali wyraźne zahamowanie rozwoju wirusów.

Chociaż badania dotyczyły hodowli komórkowych, uzyskane wyniki stwarzają nadzieje na opracowanie metody zapobiegania rozwojowi AIDS, a zwłaszcza szczególnie niebezpiecznej postaci tej choroby, w której dominuje utrata zdolności intelektualnych.



Klocinamoks
(14β-(p-Chlorocinamoliloamino)-7,8-dihydro-N-cyklopropylometylomorfinon)
Antagonista receptorów μ



DIPPA
(2-(3,4-Dichlorofenyl)-N-metylo-N-((1S)-1-(3-izotiocyanatofenyl)-2-(1-pirolidynylo)etylo)acetamid)
Antagonista receptorów κ

Ryc. 3. Budowa niektórych syntetycznych antagonistów receptorów opioidowych

Ciekawe, że morfina, w przeciwieństwie do tych agonistów, stymuluje rozwój HIV w zakażonych nim hodowlach mikrogleju.

Uzyskano również wyniki wskazujące na możliwą różnicę czynnościową między typami receptorów opioidowych w odniesieniu do modulacji uwalniania neuroprzebieżników (26). Stwierdzono, że aktywacja receptorów μ w skrawkach kory mózgu szczura powoduje hamowanie uwalniania noradrenaliny, aktywacja delta-receptorów w skrawkach prążkowiec hamuje uwalnianie acetylocholino, a aktywacja receptorów kappa – uwalnianie dopaminy w prążkowiec.

Endogenny układ opioidowy uczestniczy w modulacji bólu i zniesieniu jego odczuwania. Świadczy o tym fakt, że dokomorowe podanie peptydów opioidowych wywołuje analgezę. Znieczulające działanie akupunktury i elektroakupunktury ulega osłabieniu lub zniesieniu po podaniu antagonistów opiatów.

Postuluje się, że próg bólu wiąże się ze stopniem wysycenia receptorów przez endorfiny. Jeśli tak, to podawanie antagonistów opiatów powinno obniżać próg bólu. Rzeczywiście, stwierdzono obniżenie progu bólowego u szczurów w starannie kontrolowanych eksperymentach z użyciem rozgrzanej płytki jako źródła bólu.

Obserwowano również znaczny wzrost uwalniania enkefalin podczas stymulacji bólowej.

Ostatnio doniesiono, że peptydy opioidowe powodują usuwanie zaktywowanych przez siebie receptorów opioidowych z powierzchni komórek mózgowych i przechodzenie ich do wnętrza komórek, gdzie pozostają niedostępne dla neuroprzebieżników. Natomiast receptory opioidowe aktywowane przez morfinę pozostają na powierzchni komórek. Różnica ta może mieć duże znaczenie dla zrozumienia biologii działania opiatów i zjawiska uzależnienia (21).

Goldstein i wsp. (9) donieśli o wykryciu w tkankach zwierzęcych endogennej morfiny i kodeiny, jednak spostrzeżenie to spotkało się z bardzo sceptyczną reakcją środowiska naukowego. Nawet potwierdzenie tych wyników przez inne laboratorium (5) nie zmniejszyło tego sceptycyzmu.

Oponenty tezy o występowaniu endogennych alkaloidów opiatowych w tkankach ssaków twierdzili, że jej przyjęcie nie jest możliwe bez poznania szlaków biosyntezy morfiny i kodeiny w organizmie zwierzęcym, a obecność alkaloidów w homogenatach tkankowych tłumaczyli zanieczyszczeniami szkła i odczynników używanych w postępowaniu analitycznym.

Zarzut ten został podważony przez eksperymenty z odczynnikami, aparaturą i szkłem specjalnej czystości z użyciem i bez użycia homogenatu (39). W eksperymencie z użyciem homogenatu wykryto nie tylko kodeinę i morfinę, ale również 6-acetylmorfinę. Nie stwierdzono natomiast obecności alkaloidów opiatowych w eksperymencie bez użycia homogenatu. Poziom kodeiny w ośrodkowym układzie nerwowym był wyższy niż morfiny i zbliżony do poziomu Met-enkefaliny i β -endorfiny (40).

Jednak istotny przełom w tej dziedzinie stanowiło odkrycie w tkankach ssaków szlaku biosyntezy szkieletu cząsteczki morfiny. W badaniach *in vitro* i *in vivo* prowadzonych na szczurach, którym podawano [^3H]-retikulinę, wykryto w wątrobie zwierząt obecność [^3H]-salutarydiny. Dowodzi to, że szlak biosyntezy morfiny u ssaków jest taki sam jak w

roślinie maku* (38). Retikulina tworzy się w roślinie makowej z tetrahydropapaveroliny (THP), która w organizmie ssaków może powstawać z dopaminy (2).

Podawanie szczurom salutorydiny wywołuje wyraźny wzrost stężenia kodeiny i morfiny zarówno w mózgu, jak i w ich tkankach obwodowych (5). Taki sam efekt wywołuje podawanie tebainy – bezpośredniego prekursora morfiny. Ponadto stężenie morfiny w OUN wzrasta wyraźnie w wyniku podawania kodeiny. U szczurów odczuwających przewlekły ból wskutek eksperymentalnie wywołanego zapalenia stawów stężenie endogennej kodeiny i morfiny w rdzeniu kręgowym wzrastało 2-3 krotnie (5).

W moczu pochodzącym od ludzi zdrowych i pacjentów z chorobą Parkinsona, leczonych L-DOPA wykryto tetrahydropapaverolinę, kodeinę i morfinę, przy czym u chorych otrzymujących L-DOPA stężenie tych związków było wyraźnie wyższe niż u osób zdrowych (19).

Według Donnerera i wsp., (5) endogenna morfina występuje w mózgu w postaci sprzężonej z kwasem siarkowym, tj. jako 3-siarczan morfiny. Związek ten wykazuje wysoką selektywność i niskie powinowactwo do receptorów μ i działa 3 razy silniej od morfiny w testach analgetycznych.

Kodeina i morfina występują głównie we frakcji synaptosomalnej, ale wykrywano je również we frakcji jądrowej i mikrosomalnej (22). Przeciwciała przeciwmorfino- we wykazują wysoką reaktywność krzyżową z kodeiną, nie można więc określić precyzyjnie mapy rozmieszczenia obu tych alkaloidów w mózgu.

Obecność morfiny i kodeiny w regionach mózgu bogatych w receptory μ może wskazywać na ich rolę jako neurotransmiterów lub neuromodulatorów.

Odkrycie receptorów opioidowych, wytwarzania przez organizm własnych reagujących z receptorami oligopeptydów a ostatnio również endogennej morfiny i kodeiny zostały uznane za przełom w neurobiologii i ważny krok w kierunku wyjaśnienia biochemicznych mechanizmów analgezji i procesu uzależnienia. Rzeczywiście, odkrycia te stanowią znaczny postęp, jednak jest on ciągle zbyt skromny, by doprowadzić do pełnego wyjaśnienia tych zjawisk. Stopień trudności badań w tej dziedzinie jest bowiem bardzo duży z uwagi na lokalizację procesów biochemicznych warunkujących zjawisko uzależnienia (mózg) oraz niewyobrażalnie małe ilości substancji (neuroprekaźników, receptorów endogennych i egzogennych agonistów) uczestniczące w tych procesach. Jednak kontynuowanie badań jest właściwie jedyną realną szansą znalezienia skutecznej metody leczenia uzależnień.

PIŚMIENNICTWO

1. Ahmed M.A., Zhon D.H., Cavinato A.G., Maulik D., *Opioid binding properties of the purified kappa receptor from human placenta*, Life Sci., 1989, 44, 861-871.
2. Battersby A.R., Binks R., Francis R.J., McCaldin D.J., Ramuz H., *Alkaloid biosynthesis. I.- Benzylisoquinolines as precursors of thebaine, codeine and morphine*. J. Chem. Soc., Part IV., 1964, 3600-3610.

* W *Papaver somniferum* retikulina jest prekursorem salutorydiny, która przekształca się w tebainę a następnie w morfinę.

3. Chang A.C., Takemori A.E., Ojala W.H., Gleason W.B., Portoghese P.S., *Kappa opioid receptor selective affinity labels: electrophilic benzeneacetamides as kappa-selective opioid antagonists*. J. Med. Chem., 1994, 37, 4490-4498.
4. Chao C.C., Gekker G., Hu S., Sheng W.S., Shark K.B., Bu D.F., Archer S., Bidlack J.M., Peterson P.K., *Kappa opioid receptor in microglia downregulate human immunodeficiency virus-1 expression*. Proc. Natl. Acad. Sci., 1996, 93, 8051-8056.
5. Donnerer J., Cardinale G., Coffey J., Lisek C.A., Jardine I., Spector S., *Chemical characterization and regulation of endogenous morphine and codeine in the rat*. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1987, 242, 583-587.
6. Fournie Zaluski M.C., Chaillet P., Boubouton R., *Analgesic effects of ketorphan a new highly potent inhibitor of multiple enkephalin degrading enzymes*. Eur. J. Pharmacol., 1984, 102, 525-528.
7. Gilbert P.E., Martin W.R., *The effects of morphine – and nalorphine – like drugs in the nondependent morphine – dependent and cyclazocine-dependent chronic spinal dog*, J. Pharmacol. Exp. Ther., 1976, 198, 66-82.
8. Gioannini T.L., Howard A.D., Hiller J.M., Simon E.J., *Purification of an active opioid binding protein from bovine striatum*, J. Biol. Chem., 1985, 260, 15117-15121.
9. Goldstein A., Barrett R.W., James J.F. *Morphine and other opiates from beef brain and adrenal*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1985, 82, 5203-5207.
10. Handa B.K., Lane A.C., Lord J.A., Morgan B.A., Rance M.J., Smith C.F., *Analogues of beta-LPH 61-64 possessing selective agonist activity at mu opiate receptors*, Eur. J. Pharmacol., 1981, 70, 531-540.
11. Hiller J.M., Person J., Simon E.J., *Distribution of stereospecific binding of the potent narcotic analgesic etorphine in the human brain: predominance in the limbic system*. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 1973, 6, 1052-1062.
12. Hughes J., *Isolation of an endogenous compound from the brain with properties similar to morphine*, Brain Res., 1975, 88, 295-308.
13. Hughes J., Smith T.W., Kosterlitz H.W., Forthergill L.A., Morgan B.A., Morris H.R., *Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity*, Nature, 1975, 258, 577-579.
14. Jiang Q., Heyman J.S., Porreca F., *Mu antagonist and kappa agonist properties of beta-funaltrexamine (beta-FNA): long lasting spinal antinociception*. NIDA Res. Monogr., 1989, 95, 199-205.
15. Keita H., Kayser V., Guilbaud G., *Antinociceptive effect of a kappa-opioid receptor agonist that minimally crosses the blood-brain barrier (ICI 204,448) in a rat model of mononeuropathy*. Eur. J. Pharmacol., 1995, 277, 275-280.
16. Knapp R.J., Santoro G., De-Leon I.A., Lee K.B., Edsall S.A., Waite S., Malatynska E., Varga E., Calderon S.N., Rice K.C., Rothman R.B., Porreca F., Roeske W.R., Yamamura H.I., *Structure-activity relationships for SNC80 and related compounds at cloned human delta and mu opioid receptors*. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 1284-91.
17. Martin W.R., Eades C.G., Thompson J.A., Huppler R.E., Gilbert P.E., *The effects of morphine and nalorphine-like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog*, J. Pharmacol. Exp. Ther., 1976, 197, 517-532.

18. Martinez J.L., Weinberger S.B., Schulteis G., *Enkephalins and learning and memory: a review of evidence for a site of action outside the blood-brain barrier*, Behav. Neurol. Biol., 1988, 49, 192-221.
19. Matsubara K., Fukushima S., Akane A., Kobayashi S., Shiono H. *Increased urinary morphine, codeine and tetrahydropapaveroline in parkinsonian patients undergoing 1-3,3-dihydroxyphenylalanine therapy: a possible biosynthetic pathway of morphine from 1-3,4-dihydroxyphenylalanine in humans*. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1992, 260, 974-978.
20. Miyamoto Y., Portoghese P.S., Takemori A.E., *Involvement of delta 2 opioid receptors in the development of morphine dependence in mice*. J. Pharmacol., Exp. Ther., 1993, 264, 1141-1145.
21. Mueller M.D., *NIDA fosters next generation of neuroscience researchers with mentored awards*, NIDA Notes, 1997, 12, 13-15.
22. Mukder G.J., *Pharmacological effects of drug conjugated: is morphine 6-glucuronide an exception?* TIPS, 1992, 13, 302-304.
23. Pert C.B., Snyder S.H., *Opiate receptor demonstration in nervous tissue*, Science, 1973, 179, 1011-1014.
24. Portoghese P.S., Lin C.E., Farouz-Grant F., Takemori A.E., *Structure-activity relationship of N17 substituted norbinaltorphimine congeners. Role of the N17 basic group in the interaction with a putative address substitute on the kappa opioid receptor*. J. Med. Chem., 1994, 37, 1495-1500.
25. Qi J.A., Heyman J.S., Sheldon R.J., Koslo R.J., Porreca F., *Mu antagonist and kappa agonist properties of beta-funaltrexamine (beta-FNA) in vivo: long-lasting spinal analgesia in mice*. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1990, 252, 1006- 1011.
26. Schoffelmeier A.N., Rice K.C., Jacobson A.E., *Mu, delta and kappa receptor-mediated inhibition of neurotransmitter release and adenylate-cyclase activity in rat brain slices: studies with fentanyl isothiocyanate*. Eur. J. Pharmacol., 1988, 154, 169-178.
27. Schulz R., Faase E., Wuster M., Hertz A., *Selective receptors for beta-endorphin on the rat vas deferens*, Life Sci., 1979, 24, 843-850.
28. Shippenberg T.S., Heidbreder C., *The delta-opioid receptor antagonist naltrindole prevents sensitization to the conditioned rewarding effects of cocaine*. Eur. J. Pharmacol., 1995, 280, 55-61.
29. Simon E.J., *Opioid Receptors and Endogenous Opioid Peptides*, Med. Res. Rev., 1991, 11, 357-374.
30. Simon J., Benye S., Hepp J., *Purification of a kappa - opioid receptor subtype from frog brain*, Neuropeptides, 1987, 101, 19-28.
31. Simon E.J., Hiller J.M., Edelman I. *Stereospecific binding of the potent narcotic analgesic ³H-etorphine to rat brain homogenate*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1973, 70, 1947-1949.
32. Simonds W.F., Koski G., Streaty R.A., Hjelmeland L.M., Klee W.A., *Solubilization of active opiate receptors*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1980, 77, 4623-4627.
33. Suzuki T., Tsuji M., Mori T., Misawa M., Endoh T., Nagase H., *Effect of the highly selective and nonpeptide delta opioid receptor agonist TAN-67 on the morphine-induced place preference in mice*. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 279, 177-185.
34. Szukalski B., *Opiaty naturalne i syntetyczne*. Alkoholizm i Narkomania, 1997, 29, 525-548.

35. Terenius L., Wahlström A., *Inhibitor(s) of narcotic receptor binding in brain extracts and cerebrospinal fluid*, Acta Pharmacol. Toxicol., 1974, 35 (suppl. 1), 55.
36. Terenius L., *Stereospecific interaction between narcotic analgesics and a synaptic plasma membrane fraction of rat brain cortex*, Acta Pharmacol. Toxicol., 1973, 32, 317-320.
37. Weerawarna S.A., Davis R.D., Nelson W.L., *Isothiocyanate – substituted kappa-selective opioid receptor ligands derived from N-methyl-N-[(1S) -1-phenyl-2- (1-pyrrolidinyl) ethyl] phenylacetamide*. J. Med. Chem., 1994, 37, 2856-2864.
38. Weitz C.J., Faull K.F., Goldstein A., *Synthesis of the skeleton of the morphine molecule by mammalian liver*, Nature, 1987, 330, 674-677.
39. Yaksh T.L., Harty G.J., *Pharmacology of the allodynia in rats evoked by high dose intrathecal morphine*. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1988, 244, 501-507.
40. Von Zastrow M., Keith D.E., Evans C.J., *Agonist-induced state of the δ -opioid receptor that discriminates between opioid peptides and opiate alkaloids*. Brain Res., 1993, 44, 166-172.
41. Zernig G., Burke T., Lewis J.W., Woods J.H., *Mechanism of cloccinamox blockade of opioid receptors: evidence from in vitro and ex vivo binding and behavioral assays*. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 279, 23-31.