

· 专论与综述 ·

GABA_B 受体变构剂药理学研究进展 *

蒋 明 黄思罗 林 昕 春 雷 皮振钧 孙 兵 张文华 赵 菡 刘剑峰[△]

(华中科技大学生命科学与技术学院, 分子生物物理教育部重点实验室 湖北 武汉 430074)

摘要 γ -氨基丁酸 B 受体(GABA_B receptor, GABA_BR)是最具有药理学意义的药物靶点之一,具有复杂而精细的激活机制。传统的 GABA_BR 靶点药物开发集中于激动剂和拮抗剂,这类药物受到多种因素的制约,包括较强的副作用、药物代谢困难、机体耐药性明显等。变构剂结合于正构位点之外,能够调节 GABA_BR 异源二聚体亚基或结构域间的相互作用。正向变构剂(positive allosteric modulators, PAMs)和负向变构剂(negative allosteric modulators, NAMs)分别可以提高或降低 GABA_BR 的活性,并具有较高的特异性和药物安全性,同时还能够保持 GABA_BR 信号在时间和空间上的可控性。变构剂为 GABA_BR 靶点药物开发提供了新思路。

关键词 GABA_B 受体; 药物靶点; 变构剂; 药物开发; 筛选模型

中图分类号 Q25, Q503, R918 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2011)14-2775-04

The Progress of Pharmacology of GABA_B Receptors Allosteric Modulators*

JIANG Ming, HUANG Si-luo, LIN Xin, CHUN Lei, PI Zhen-jun, SUN Bing, ZHANG Wen-hua, ZHAO-Han, LIU Jian-feng[△]

(Key Laboratory of Molecular Biophysics of Ministry of Education, School of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China)

ABSTRACT: GABA_B receptors are a member of the G protein-coupled family of receptors which are generally considered to be excellent drug targets, with a complex and refined mechanism of activation. Traditional drug development targeted at GABA_B receptors is focused on agonists and antagonists, the use of which is limited by its side effects, poor pharmacokinetics, and the development of tolerance. Allosteric modulators, which interact with binding sites topologically distinct from the orthosteric ligand binding sites, can modulate the interaction between subunits or domains in the GABA_B heterodimer. Positive and negative allosteric modulators can potentiate or decrease the activity of GABA_B receptors respectively, with improved selectivity and safety, along with maintenance of spatial and temporal aspects of GABA_B receptors signaling. Allosteric modulators give the new opportunity on the GABA_B receptors targeted drug development.

Key words: GABA_B receptors; Drug target; Allosteric modulators; Drug development; Screening model

Chinese Library Classification(CLC): Q25, Q503, R918 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)14-2775-04

前言

γ -氨基丁酸(γ -Aminobutyric acid, GABA)是中枢神经系统(central nervous system, CNS)中重要的抑制型神经递质。其受体主要包括 GABA_A 受体(GABA_A receptor, GABA_AR)、GABA_B 受体(GABA_B receptor, GABA_BR)和 GABA_C 受体(GABA_C receptor, GABA_CR),其中 GABA_AR 和 GABA_CR 为离子通道型受体,主要介导快速的抑制信号^[1],GABA_BR 为 G 蛋白偶联受体,主要介导慢速的代谢信号。GABA_BR 被认为是最具有药理学意义的药物靶点之一^[2],广泛存在于中枢神经和周围神经系统中,调控着突触前和突触后的一系列神经信号^[3]。中枢神经系统中的 GABA_BR 与众多神经系统疾病有关,包括疼痛、癫痫、药物成瘾、痉挛以及抑郁和焦虑等,周围神经系统的

GABA_BR 则与肠胃、呼吸及泌尿系统紊乱有关^[4]。然而,GABA_BR 靶点药物的开发现状并不令人满意。目前市售的 GABA_BR 靶点药物只有 baclofen 一种,为 GABA_BR 激动剂,用于治疗痉挛。30 多年的临床应用证明 baclofen 作为治疗药物并不理想,受到了多种因素的制约,包括较强的副作用、药物代谢困难、机体耐药性明显等等。随着现代社会对临床药物效果和安全性要求的提高,baclofen 必将被逐渐淘汰。

对于 GABA_BR 靶点药物,传统开发以配体为主,即激动剂和拮抗剂。从药物作用机理和生物学特性来看,这类药物的不足主要体现在:(i)与 GABA_BR 天然配体存在竞争,用药量较大;(ii)GABA_BR 的配体结合区域保守性较强,造成这类药物位点特异性差;(iii)作为神经递质的受体,GABA_BR 应被神经信号严格调控,其激活过程应具有瞬时性的特点,然而外源配体无

* 基金项目 国家科技部国家重大科学研究计划蛋白质专项子课题(2007CB914202)

作者简介 蒋明(1976-)男,理学博士,主要研究 GABA_B 受体为靶点的药物筛选和信号转导。

Email jiangminghust@126.com, Tel 027-87792024, 13349917908

[△]通讯作者 刘剑峰, Email jfliu@mail.hust.edu.cn, Tel 027-87792031, Fax 87792024

(收稿日期 2011-02-24 接受日期 2011-03-18)

法接受神经信号调控,持续性作用会导致受体失敏进而产生耐药性。随着 GABA_BR 结构和功能研究的深入,人们提出了一些有别于传统配体类药物开发的新思路。

1 GABA_BR 的结构与药物作用位点

GABA_BR 是第一个被发现具有异源二聚体结构的 C 族 GPCR 成员,由 GABA_{B1} 和 GABA_{B2} 两个亚基组成^[5]。虽然这两个亚基存在差异,但它们与其它 C 族 GPCR,如代谢型谷氨酸受体(metabotropic glutamate receptor, mGluR)和钙离子敏感受体(Ca²⁺-sensing receptor, CaSR)等保持着高度的同源性^[6],都包含七次螺旋组成的跨膜区(heptahelical transmembrane domain, HD)和巨大的胞外结构域(venus flytrap domain, VFT)。GABA_{B2} 通过 HD 区和 C 末端的 coiled-coil 相互作用与 GABA_{B1} 紧密结合^[7,8]。亚基间的相互作用使 GABA_{B1} C 末端的一段内质网滞留信号被 GABA_{B2} 所屏蔽,异源二聚体得以转运上膜。这种异源二聚体结构对 GABA_BR 的激活过程非常重要,GABA_{B1} 的 VFT 区负责与配体相结合,而 GABA_{B2} 的胞内区则负责与 G 蛋白相偶联^[9-11]。亚基及各结构域间的相互作用在配体激活信号传递至胞内的过程中具有重要的作用^[12,13]。破坏或改变这些关键位点的作用模式将影响 GABA_BR 的功能。

作为药物靶点,GABA_BR 具有两类作用位点,正构位点(orthosteric binding site)^[14]和变构位点(allosteric binding site)^[15]。其中正构位点为天然配体结合部位,存在于 GABA_{B1} 的 VFT 区。激动剂或拮抗剂等大多数传统药物均作用于正构位点,这类药物能够产生显著的构象变化,激动剂使 GABA_{B1} 的 VFT 区形成关闭构象而拮抗剂使 GABA_{B1} 的 VFT 区形成开启构象,此外还有一部分激动剂(partial agonist)能够使 GABA_{B1} 的 VFT 区形成不完全或不稳定的关闭构象。正构位点以外可被小分子调控的位点均为变构位点,目前已有三类 GABA_BR 可能的变构位点被报道:(i) GABA_{B1} 的 VFT 区中 Ser269,该部位邻近 GABA 结合区,Ca²⁺ 作用于该部位可调节 GABA 结合力^[16];(ii) VFT 表面,该部位被抗体作用后 GABA_BR 功能被抑制^[17];(iii) HD 区,多种有机小分子可作用于该部位并正向调控受体的功能(图 1)。

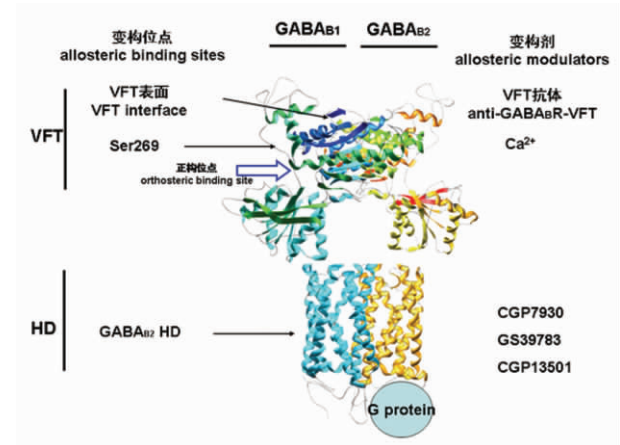


图 1 GABA_BR 结构及变构剂位点^[18]

Fig.1 Structure of GABA_BR receptor and the allosteric binding sites^[18]

2 变构调节剂(allosteric modulators)

作用于变构位点的小分子称为变构调节剂。根据其功能可分为四类:正向变构剂(positive allosteric modulators, PAMs)、反向变构剂(negative allosteric modulators, NAMs)、变构激动剂(allosteric agonists)和沉默变构调节剂(silent allosteric modulators) :

PAMs 是指能够正向调节受体活性的变构剂,其作用主要体现在三个方面:(i) 提高激动剂的量效关系,使激动剂浓度-效果曲线左移。其机理可能为 PAMs 将受体稳定在对激动剂具有高亲和力的构象或是降低受体由非活性构象向活性构象转变的能垒。激动剂量效曲线的左移又对 PAMs 的浓度具有一定的依赖性,当所有变构位点被 PAMs 占据后,曲线的左移程度达到最大。(ii) 有些 PAMs 能够放大激动剂的最大效应,使其浓度-效果曲线上移。在这种机制下,内源激动剂可能只是部分激动剂(partial agonist),而 PAMs 的作用可以提高激动剂的效应。(iii) 有些 PAMs 可以阻断受体失活过程来提高或延长激动剂的效应。

NAMs 是指能够反向调节受体活性的变构剂,能够降低激动剂的量效关系,使其浓度-效果曲线右移或下移。其机理可能为 NAMs 将受体稳定在对激动剂具有低亲和力的构象或是提高受体由非活性构象向活性构象转变的能垒。激动剂量效曲线的右移对 NAMs 的浓度具有一定的依赖性,当所有变构位点被 NAMs 占据后,曲线的右移程度达到最大。NAMs 的这种特性与拮抗剂具有本质的区别,虽然拮抗剂也可以使激动剂的浓度-效果曲线右移,但由于拮抗剂和激动剂通过竞争机制作用,因此曲线的右移程度会随拮抗剂浓度的升高无限提高。此外,在配体结合实验中,NAMs 还能够提高激动剂与受体的解离常数(K_d)而拮抗剂则对此没有影响。

变构激动剂是指可以在缺乏激动剂的情况下单独激活受体的变构剂。但是大多数情况下,这类变构剂的激动剂活性通常比较弱。沉默变构调节剂是一种有效的药物研发工具,可用于研究变构剂的构效关系。由于这种变构剂可以占据变构位点但不产生任何药理学效应,因此可对其他相同位点的变构剂量效曲线产生影响,而对正构位点配体则没有影响。

作为 GABA_BR 靶点药物,变构剂相对于传统的配体类药物具有很大的优势。而这种优势主要来自变构剂能够消除药物副作用和提高药物安全性。首先,变构剂比配体具有更高的特异性。由于 C 族 GPCR 的正构位点普遍具有较高的保守性,而变构位点则差异性较大。因此有些作用于正构位点的药物难以识别不同亚型的受体。如代谢型谷氨酸受体(mGluR)具有 8 种不同的亚型,但均可被相同的配体激活。因此,目前发现的能够特异性激活 mGluR1-8 的工具药物基本都为变构剂^[19]。其次,虽然体外 PAM 的检测通常在外加激动剂的条件下进行,然而,在体内 PAM 通常会被单独使用,其药效只有在内源激动剂存在时才能表现出来。因此,神经递质可对 PAM 进行严密的调控^[19],从而保证 PAM 的药效具有时效性(temporal regulation),即在神经递质释放时 PAM 可正向调节受体的活性,而当神经递质失活时 PAM 的效应随即消失。这种效应对防止受体脱敏和产生耐药性具有十分重要的意义。此外,在其它组织中,PAM 的

这种特性还能保证其功能具有组织特异性。再次,无论胞外区是否结合配体,变构作用都可使 NAM 有效阻断受体对胞外信号的传递。相对于拮抗剂的竞争机制,变构机制需要 NAM 的剂量较少,因此 NAM 的副作用随着剂量的减少必将降低。

3 以 GABA_BR 为靶点的变构剂

目前人们已经发现了多种有效的 GABA_BR 正向变构调节剂,包括 CGP7930、CGP13501^[4]和 GS39783^[20](图 1)。其中 CGP7930 是发现最早,研究得最清楚的正向变构剂。CGP7930 除具有 PAM 活性外还具有变构激动剂的活性。结合 CGP7930 的 GABABR 能提高对激动剂的亲和力,从而在 GABA 和 baclofen 作用下表现出较高活性。目前,CGP7930 已被证实作用在 GABAB2 的 HD 区,其作用模式与配体有较大的差异。不管 GABAB1 的 VFT 结合了激动剂还是拮抗剂或者没有结合配体,CGP7930 均能正向调节 GABA_BR 的活性^[21]。在一些人工构建的模型细胞中,单独表达的 GABA_{B2} 或是 VFT 缺失 GABA_BR 均可以被 CGP7930 激活^[22]。因此,可以推测 CGP7930 能够直接通过改变 GABA_{B2} 的 HD 区构象来调控受体的活性。CGP13501 是 CGP7930 的类似物,也具有提高 GABA 对受体的结合和激活的能力^[21]。GS39783 是另一种研究的较多的 GABA_BR 正向变构剂。在中国仓鼠卵巢细胞 (Chinese hamster ovary cell, CHO)和大鼠脑膜(rat brain membranes)中,GS39783 能够大大提高 GABA 诱导的(35S)GTPγ S 与细胞膜的结合,但 GS39783 本身却不能单独引起该效应。GS39783 可以使 GABA 的最大激活效应提高,降低 GABA 与受体的解离常数,提高激动剂和受体的亲和力^[23]。相对于正向变构剂, GABA_BR 的负向变构剂的研究还不成熟,目前还没有有效的 GABA_BR 负向变构剂被报道。

目前部分 GABA_BR 正向变构剂已进入临床前研究,其中 CGP7930 和 GS39783 被广泛用于多种疾病的药效和药理学研究,包括失眠、忧郁、焦虑症和药物及酒精成瘾等。在 GABA_{B1} 敲除的小鼠中,GS39783 能够有效的减弱由于 GABA_{B1} 缺失带来的焦虑行为^[24]。CGP7930 和 GS39783 还对可卡因成瘾有效。可卡因使 GABA_BR 的功能下调^[25,26],CGP7930 和 GS39783 在可卡因自主给药的小鼠模型中还是能够激活受体,这说明受体功能的下调是一种后受体(postreceptor)机制,这种机制可以被正向变构分子阻断^[27]。在撒丁嗜酒大鼠 (sardinian alcohol preferring rats) 中,CGP7930 能够有效的减少日酒精摄入量^[28]。CGP7930 和 GS39783 在药物安全性方面也有所改善,用于治疗焦虑症时不会产生行为、认知和体温失调等传统药物常见的副作用^[29]。这些变构剂在成为潜在的备选药物之前,还需要针对他们的药物特性进行鉴定和优化,从而增加它们的药物效能,作用的持续性以及穿过血脑屏障的能力。

4 GABA_BR 变构剂筛选模型

目前, GABA_BR 变构剂的开发正不断深入,但仍以 PAMs 为主而且其结合位点也较为单一。究其原因,可能与目前变构剂的筛选模型较为单一有关。早期筛选 GABA_BR 变构剂通常需加入配体来占据正构位点以消除干扰。较高的离子强度和较低的信噪比使该方法的筛选效率和准确度均不理想。工具药 CGP7930 的出现推动了人们对 GABA_BR 变构作用机制的认识,进而促使一些新的 PAM 筛选方法的建立。在细胞中单独表

达 GABA_{B2} 或 VFT 缺失的融合蛋白即可用作筛选模型。这类模型不仅消除了由 VFT 激活构象/静息构象动态平衡带了的 GABA_BR 本底活性的干扰,而且消除了 VFT-VFT 相互作用对 PAM 单独作用活性的抑制。可见,建立 GABA_BR 变构剂筛选模型需要对受体的结构与功能具有深刻的认识,并且能够借助分子生物学手段构建某些功能部位失活,但仍然可保证被变构剂激活的突变体。如何筛选 GABA_BR 负向变构剂是目前科研工作者和药物研发人员共同关注的问题。我们基于 GABA_BR 的 VFT 区在激活和静息状态下构象学的研究,通过人工引进共价键将 VFT 锁定在激活构象^[30]。利用该突变体转染的细胞模型,在无外加激动剂的条件下我们筛选得到了第一个 GABA_BR 的 NAM(数据尚未发表)。ABPP (Activity-based protein profiling)技术的出现为野生体系中筛选变构剂提供了新思路。ABPP 探针是一类基于活性的分子探针,通过光亲和技术可与靶蛋白形成共价键。在 GABA_BR 形成的体系中,我们开发了一种以特异性配体衍生而来的 ABPP 探针 probe1^[31]。通过光亲和使之与正构位点形成共价键,从而使 VFT 被锁定在静息状态。利用该体系可筛选 PAM,同时由于共价键的形成避免了过多配体的使用,从而避免传统筛选模式的不足。

变构剂的开发核心问题依然是对 GABA_BR 激活精细过程的研究和变构位点的发现。随着 C 族 GPCR 结构功能的深入研究,一些潜在的 GABA_BR 变构位点被发现。如何筛选作用于这些位点的变构剂成为人们进一步思考的问题。除 HD 区以外 C 族 GPCR 的变构位点主要集中在 VFT 内部的正构位点周围、VFT-VFT 结合界面以及 VFT-HD 链接处或 CRD 区。这些部位通常与配体的结合或分子内信号传递有关。(i)胞外变构调节剂(extracellular domain allosteric modulators, EDAM)是目前人们发现的一类可以作用与 VFT 区正构位点周围的变构剂。如 Inosine-/guanine-monophosphate molecules(IMP, GMP)可以增强 L-谷氨酸对鲜味受体(umami taste receptors)的活性^[32]。在 T1R1 中,IMP 被证明可以结合在 VFT 两个 lobe 的交联处,并可以稳定 VFT 的关闭构象^[33]。(ii)二聚体中 VFT-VFT 的结合界面中的相互作用以及两个结构域的相对位置对受体的活性具有重要的影响。有些阳离子可以屏蔽 VFT-VFT 中的部分静电排斥作用,从而使 VFT 保持较为紧密活性构象,实现正向变构的作用^[34]。(iii)VFT-HD 的结合面以及 CRD 的构象均对胞外信号传递至胞内具有至关重要的作用。目前这方面的研究正在展开,brazzein 和 monellin 两种蛋白被证明可以作用于 T1R3 的 CRD 区。可见,VFT-HD 的铰链区域也可作为变构位点。

5 结论与展望

多年来 GABABR 变构剂的研究取得了很大的进展,但仍具有局限性。首先变构剂类型较为单一,基本以 PAM 为主而 NAM 则没有报导;其次,PAM 的结合位点和作用机制较为单一,均集中在 HD 区,虽然 Ca²⁺ 和一些抗体可作用于胞外区,但并非小分子化合物,因此药物开发前景较差。另一方面, GABA_BR 变构剂筛选模型建立方面也取得了一定的进展。根据对 GABA_BR 结构和功能的研究积累目前已经建立了多种较为合理的筛选模型,并获得了成功的应用。而对变构剂的进一步开发,仍然依赖于对变构剂 GABA_BR 精细激活机制的深刻了解,以及分子生物学手段的完善。

参考文献(References)

- [1] Möhler H, Benke D, Fritschy JM. GABA(B)-receptor isoforms molecular architecture and distribution [J]. *Life Sci*, 2001, 68 (19-20): 2297-2300
- [2] Hopkins AL, Groom CR. The druggable genome [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1(9):727-730
- [3] Bowery NG, Bettler B, Froestl W, et al. International Union of Pharmacology. XXXIII. Mammalian gamma-aminobutyric acid(B) receptors: structure and function[J]. *Pharmacol Rev*, 2002, 54(2):247-264
- [4] Vacher CM, Bettler B. GABA (B) receptors as potential therapeutic targets[J]. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*, 2003, 2(4):248-259
- [5] Marshall FH, Jones KA, Kaupmann K, et al. GABAB receptors - the first 7TM heterodimers [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 1999, 20 (10): 396-399
- [6] Pin JP, Galvez T, Pré zeau L. Evolution, structure, and activation mechanism of family 3/C G-protein-coupled receptors [J]. *Pharmacol Ther*, 2003, 98(3):325-354
- [7] Margeta-Mitrovic M, Jan YN, Jan LY. A trafficking checkpoint controls GABA(B) receptor heterodimerization[J]. *Neuron*, 2000, 27(1): 97-106
- [8] Pagano A, Rovelli G, Mosbacher J, et al. C-terminal interaction is essential for surface trafficking but not for hetero-meric assembly of GABA(b) receptors[J]. *J Neurosci*, 2001, 21(4):1189-1202
- [9] Margeta-Mitrovic M, Jan YN, Jan LY. Function of GB1 and GB2 subunits in G protein coupling of GABA(B) receptors[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(25):14649-14654
- [10] Havlickova M, Prezeau L, Duthey B, The intracellular loops of the GB2 subunit are crucial for G-protein coupling of the heteromeric gamma-aminobutyrate B receptor [J]. *Mol Pharmacol*, 2002, 62(2): 343-350
- [11] Kniazeff J, Galvez T, Labesse G, et al. No ligand binding in the GB2 subunit of the GABA (B) receptor is required for activation and allosteric interaction between the subunits [J]. *J Neurosci*, 2002, 22 (17):7352-7361
- [12] Galvez T, Duthey B, Kniazeff J, et al. Allosteric interactions between GB1 and GB2 subunits are required for optimal GABA (B) receptor function[J]. *EMBO J*, 2001, 20(9):2152-2159
- [13] Liu J, Maurel D, Etzol S, et al. Molecular determinants involved in the allosteric control of agonist affinity in the GABAB receptor by the GABAB2 subunit[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(16):15824-15830
- [14] Bräuner-Osborne H, Wellendorph P, Jensen AA. Structure, pharmacology and therapeutic prospects of family C G-protein coupled receptors[J]. *Curr Drug Targets*, 2007, 8(1):169-184
- [15] Changeux JP. Allosteric receptors: from electric organ to cognition [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2010, 50:1-38
- [16] Galvez T, Urwyler S, Pré zeau L, et al. Ca (2+) requirement for high-affinity gamma-aminobutyric acid (GABA) binding at GABA (B) receptors: involvement of serine 269 of the GABA(B)R1 subunit. [J]. *Mol Pharmacol*, 2000, 57(3):419-426
- [17] Lancaster E, Lai M, Peng X, et al. Antibodies to the GABA(B) receptor in limbic encephalitis with seizures: case series and characterisation of the antigen[J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9(1):67-76
- [18] Rondard P, Goudet C, Kniazeff J, et al. The complexity of their activation mechanism opens new possibilities for the modulation of mGlu and GABAB class C G protein-coupled receptors [J]. *Neuropharmacology*, 2011, 60(1):82-92
- [19] Conn PJ, Christopoulos A, Lindsley CW. Allosteric modulators of GPCRs: a novel approach for the treatment of CNS disorders [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8(1):41- 54
- [20] Marescaux C, Vergnes M, Bernasconi R. GABAB receptor antagonists: potential new antiepileptic drugs [J]. *J Neural Transm Suppl*, 1992, 35:179-188
- [21] Binet V, Goudet C, Brajon C, et al. Molecular mechanisms of GABAB receptor activation: New insights from the mechanism of action of CGP7930, a positive allosteric modulator [J]. *Biochem Soc Trans*, 2004, 32(Pt 5):871-872
- [22] Adams CL, Lawrence AJ. CGP7930: A Positive Allosteric Modulator of the GABAB Receptor[J]. *CNS Drug Rev*, 2007, 13(3):308-316
- [23] Urwyler S, Pozza MF, Lingenhoebl K, et al. N'-Dicyclo-pentyl-2-methylsulfanyl-5-nitro-pyrimidine-4,6-diamine(GS39783) and structurally related compounds: novel allosteric enhancers of gamma-aminobutyric acidB receptor function [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 307(1):322-330
- [24] Mombereau C, Kaupmann K, Froestl W, et al. Genetic and Pharmacological Evidence of a Role for GABAB Receptors in the Modulation of Anxiety- and Antidepressant-Like Behavior [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2004, 29(6):1050-1062
- [25] Febo M, Segarra AC. Cocaine alters GABA (B)-mediated G-protein activation in the ventral tegmental area of female rats: modulation by estrogen[J]. *Synapse*, 2004, 54(1):30-36
- [26] Jayaram P, Stekete JD. Effects of repeated cocaine on medial pre-frontal cortical GABA receptor modulation of neurotransmission in the mesocorticolimbic dopamine system [J]. *J Neurochem*, 2004, 90 (4):839-847
- [27] Smith MA, Yancey DL, Morgan D, et al. Effects of positive allosteric modulators of the GABAB receptor on cocaine self-administration in rats[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2004, 173(1-2):105-111
- [28] Orrù A, Lai P, Lobina C, et al. Reducing effect of the positive allosteric modulators of the GABA (B) receptor, CGP7930 and GS39783, on alcohol intake in alcohol-preferring rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2005, 525(1-3):105-111
- [29] Cryan JF, Kelly PH, Chaperon F, et al. Behavioral characterization of the novel GABAB receptor-positive modulator GS39783 (N,N'-dicyclo-pentyl-2-methylsulfanyl-5-nitro-pyrimidine-4,6-diamine): anxiolytic-like activity without side effects associated with baclofen or benzodiazepines[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, 310(3):952-963
- [30] Kniazeff J, Saintot P, Goudet C, et al. Locking the dimeric GABAB G-protein coupled receptor in its active state[J]. *J. Neurosci*, 2004, 24 (2): 370-377
- [31] Li X, Cao JH, Li Y, et al. Activity-based Probe for Specific Photo-affinity Labelling of GABAB Receptors in Living Cells: Design, Synthesis and Biological Evaluation [J]. *J Med Chem*, 2008, 51(11): 3057-3060
- [32] Yamaguchi S, Ninomiya K. Umami and food palatability [J]. *J Nutr*, 2000, 130(4S Suppl):921S-926S
- [33] Zhang F, Klebansky B, Fine RM, et al. Molecular mechanism for the umami taste synergism [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(52): 20930-20934
- [34] Tsuchiya D, Kunishima N, Kamiya N, et al. Structural views of the ligand-binding cores of a metabotropic glutamate receptor complexed with an antagonist and both glutamate and Gd3+ [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 9(5):2660-2665