

Artigo

Revisitando o Conceito Mensagem-Endereço em Química Medicinal

Tesch, R.; Sant'Anna, C. M. R.; Fraga, C. A. M.*

Rev. Virtual Quim., 2015, 7 (2), 594-608. Data de publicação na Web: 30 de dezembro de 2014

<http://www.uff.br/rvq>

Revisiting the Message-Address Concept in Medicinal Chemistry

Abstract: The message-address concept was postulated in the 70's and since then it has been applied in understanding the selectivity of compounds in receptor subtypes, such as opioid receptors. Even with this application, the interpretation of the concept can be applied to other systems. The aim of this work is to revisit this concept and demonstrate its application in adenosinergic system.

Keywords: Message-Address Concept; Opioid receptors, Adenosine receptors, Muscarinic receptors.

Resumo

O conceito mensagem-endereço foi postulado na década de 70 e desde então vem sendo aplicado no entendimento da seletividade de compostos em subtipos de receptores, sendo o principal exemplo os receptores opioides. A interpretação deste conceito também pode ser aplicada em outros sistemas. O presente trabalho tem como objetivo visitar este conceito e demonstrar sua aplicação no sistema adenosinérgico.

Palavras-chave: Conceito Mensagem-Endereço; Receptores Opioides, Receptores de Adenosina, Receptores Muscarínicos.

* Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Biomédicas, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Química Medicinal, Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio, <http://www.farmacia.ufrj.br/lasbio/>), PO Box 68024, CEP 21944-970, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

✉ cmfraga@ccsdecania.ufrj.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20150026](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150026)

Revisitando o Conceito Mensagem-Endereço em Química Medicinal

Roberta Tesch,^a Carlos Mauricio R. Sant'Anna,^b Carlos Alberto M. Fraga^{a,*}

^a Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Biomédicas, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Química Medicinal, Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio, <http://www.farmacia.ufrj.br/lassbio/>), PO Box 68024, CEP 21944-970, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

^b Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Antiga rodovia Rio-São Paulo, km 47, Instituto de Ciências Exatas, sala 45, Centro, CEP 23851-970, Seropédica-RJ, Brasil.

* cmfraga@ccsdecania.ufrj.br

Recebido em 1 de dezembro de 2014. Aceito para publicação em 2 de dezembro de 2014

1. O Conceito Mensagem-Endereço
2. Aplicações do Conceito
 - 2.1. O Sistema Opióide como Ponto de Partida
 - 2.2. Estendendo o Conceito para Outros Gpcrs
3. Mensagem-Endereço no Sistema Adenosinérgico
4. Considerações Finais

1. O Conceito Mensagem-Endereço

Na década de 70, Robert Schwyzler, ao estudar as características essenciais para atividade do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), postulou que a estrutura deste peptídeo hormonal poderia ser subdividida em dois domínios. O domínio "mensagem" seria responsável pelo desencadeamento da resposta biológica (neste caso, a atividade corticotrófica) e o domínio "endereço" possuiria os requisitos para interação com o receptor relacionado, porém sem ser capaz de desencadear a resposta biológica.¹

Ressalta-se que à época não existia nenhuma elucidação estrutural do hormônio ACTH e nem do receptor com o qual interagiria. Sendo assim, foi ao se sintetizar partes da sequência de aminoácidos do ACTH e avaliar a contribuição de cada sequência para a atividade corticotrófica que o conceito "mensagem-endereço" começou a ser estabelecido (**Tabela 1**).²

Dez anos mais tarde, Philip Portoghese aplicou magistralmente este conceito no desenvolvimento de antagonistas seletivos de receptores opioides (RO), como discutido a seguir.³

Tabela 1. Exemplos de sequência do ACTH sintetizados e suas respectivas atividades corticotrópicas. Adaptado de Schwyzer, R. 1977²

Sequência ACTH	Atividade Corticotrópica (%)	
(1-39)	100	SYSMEHFRWGKPVGKKRRRPVKVYPNGAEDESAAEAFPLEF
(1-24)	50	SYSMEHFRWGKPVGKKRRRPVKVYP
(1-23)	45	SYSMEHFRWGKPVGKKRRRPVKVY
(1-20)	40	SYSMEHFRWGKPVGKKRRRPVKV
(1-19)	20	SYSMEHFRWGKPVGKKRRP
(1-19)Gln	10	SYSMQHFRWGKPVGKKRRP
(1-18)	5	SYSMEHFRWGKPVGKKRR
(1-17)	2	SYSMEHFRWGKPVGKKR
(1-16)	<10 ⁻³	SYSMEHFRWGKPVGKK

As letras representam a sequência de aminoácidos: S,serina; Y,tirosina; M,metionina; E,ácido glutâmico; H,histidina; F,fenilalanina; R,arginina; W,tryptofano; G,glicina; K,lisina; V,valina; P,prolina; N, asparagina; Q/Gln,glutamina.

2. Aplicações do Conceito

2.1. O Sistema Opióide como Ponto de Partida

Os RO fazem parte da grande família de receptores acoplados à proteína G (GPCRs), conhecidos também como receptores metabotrópicos. Por serem GPCRs, os RO apresentam-se como um feixe de sete α -hélices transmembranares, conectadas por três alças extracelulares (região *N*-terminal) e três alças intracelulares (região *C*-terminal) e

que se heterodimerizam com uma proteína G na parte citoplasmática (**Figura 1**), regulando a ligação à guanidina trifosfato (GTP) e levando à sinalização para outras proteínas efetoras como a adenilato ciclase, a fosfolipase C e os canais iônicos de cálcio e potássio.^{4,5}

Os RO são divididos em três subtipos, δ , μ e κ possuindo papel importante no sistema nervoso central, principalmente na regulação da nocicepção.⁶ Estes receptores reconhecem molecularmente peptídeos endógenos como as endorfinas, destacando-se as encefalinas (**1-2**) e o alcaloide natural morfina (**3**).

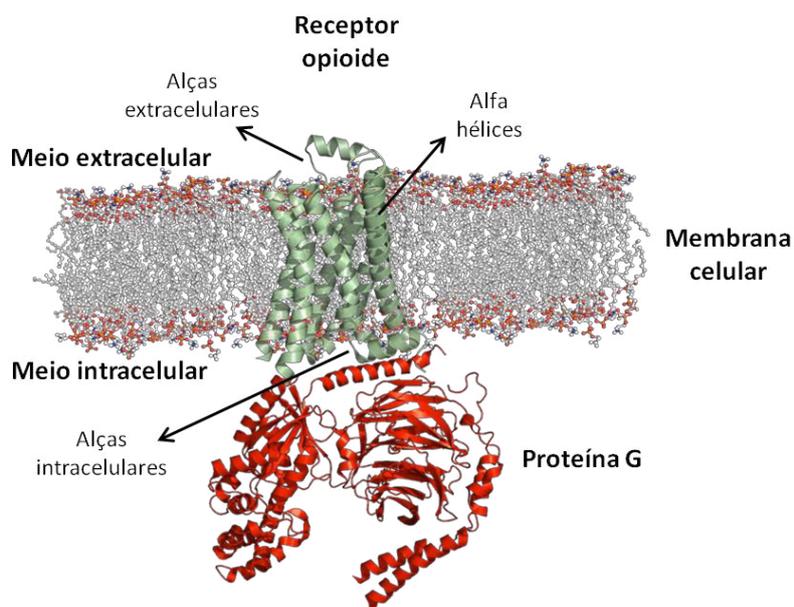


Figura 1. Esquema ilustrativo de um receptor acoplado à proteína G

O conceito mensagem-endereço pode ser muito bem aplicado a este sistema quando se relaciona às estruturas de antagonistas derivados da morfina possuindo seletividade para cada subtipo. Os antagonistas opioides possuem em sua estrutura uma subunidade tiramina, estruturalmente relacionada ao

aminoácido tirosina presente nos ligantes endógenos (**Figura 2**). Desta maneira, esta subunidade, presente nos ligantes endógenos e também nos alcaloides naturais derivados do ópio, é responsável pelo reconhecimento molecular dos receptores opioides.¹

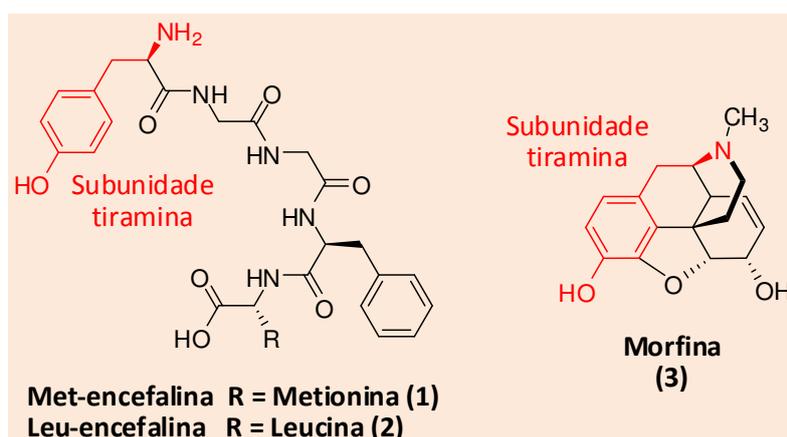


Figura 2. Estruturas das encefalinas e relação com o alcaloide morfina

A subunidade tiramina é considerada a mensagem e está presente, por exemplo, nos antagonistas opioides naltrexona (**4**) (não seletivo), naltrindol (**5**) (seletivo δ), 5-guanidílnatríldol (**6**) (seletivo κ) e β -funaltrexamina (seletivo μ) (**7**). A seletividade

desses compostos é conferida pela substituição no anel C do núcleo morfina (**Figura 3**). A naltrexona, por não ter nenhuma modificação neste anel, age como um antagonista não seletivo.^{6,7}

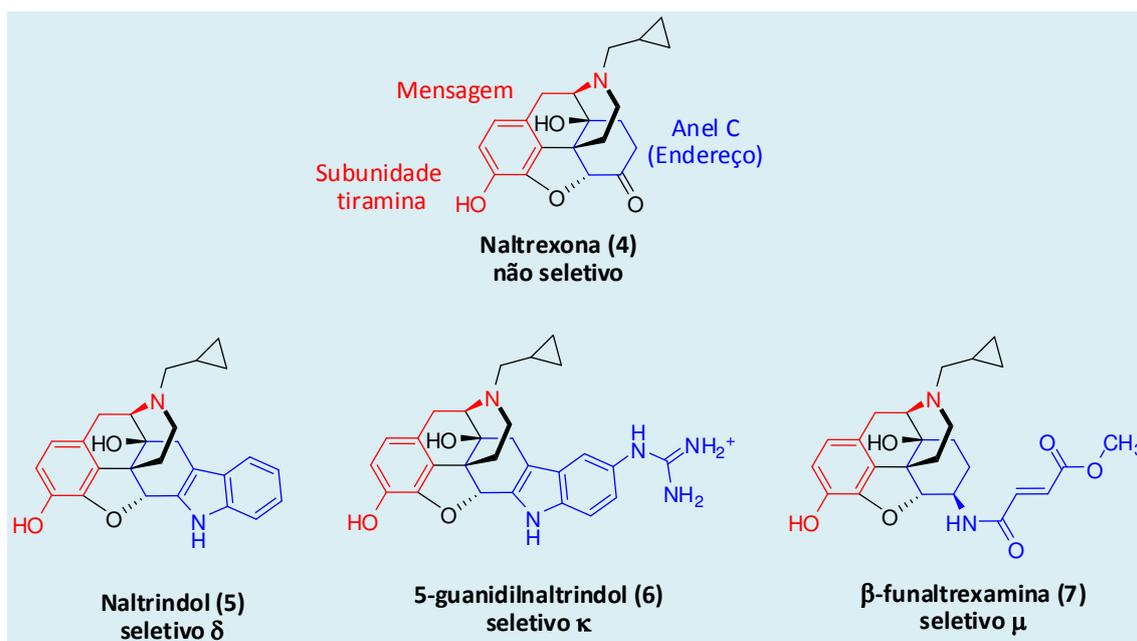


Figura 3. Exemplo do conceito mensagem-endereço aplicado aos antagonistas opioides

Um exemplo bem sucedido da aplicação do conceito mensagem-endereço são os antagonistas seletivos para o subtipo μ como os derivados de naltrexamina *N*-substituídos NAP (8) e NAQ (9) (Figura 4). Estes compostos foram desenvolvidos a partir de estudos de modelagem molecular utilizando modelos por homologia do receptor,

associados a estudos de mutagênese de aminoácidos do sítio ativo do subtipo μ com intuito de validar as evidências *in silico*. Mais uma vez, percebe-se a conservação do grupamento tiramina do núcleo morfina e modificações no anel C para obtenção da seletividade.⁸

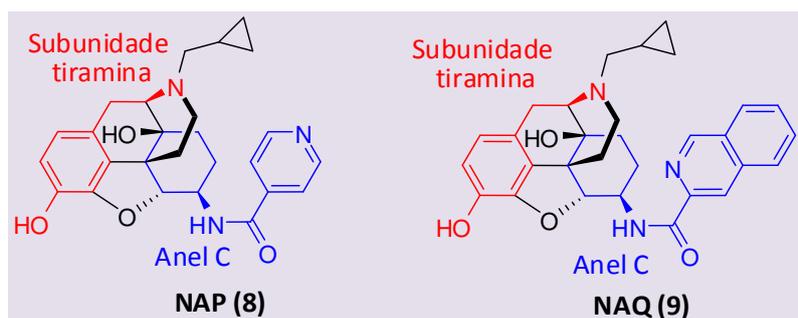


Figura 4. O conceito mensagem-endereço aplicado no desenvolvimento de antagonistas dos receptores opioides do subtipo δ

Até o ano de 2012, nenhuma estrutura cristalográfica dos receptores opioides havia sido publicada e a aplicação do conceito mensagem-endereço para o sistema opioide, apesar de lograr resultados positivos, era ainda especulativa. Alguns estudos utilizavam

modelos comparativos dos RO e estudos de ancoramento molecular para aplicar o conceito.⁹

Foi somente com a recente elucidação estrutural dos três subtipos deste receptor que finalmente pode-se explicar

estruturalmente a seletividade de ligantes opioides e validar o modelo mensagem-endereço para este sistema, criado por Philip Portuguese na década de 80.

A partir da sobreposição das estruturas dos subtipos δ , μ e κ (**Figura 5**) é possível observar que a região mais externa, próxima às alças extracelulares é menos conservada, ou seja, possui maior diversidade de aminoácidos entre os subtipos. A região mais

interna é mais conservada, ou seja, há menor diversidade de aminoácidos entre os subtipos. É exatamente nesta região onde o núcleo fenólico, presente em todos os ligantes opioides cocrystalizados se encontra (**5**, **7**, **10**).^{6,10,11} Desta maneira, relaciona-se então a região extracelular, não conservada, ao “endereço” e, conseqüentemente, à seletividade para cada subtipo.

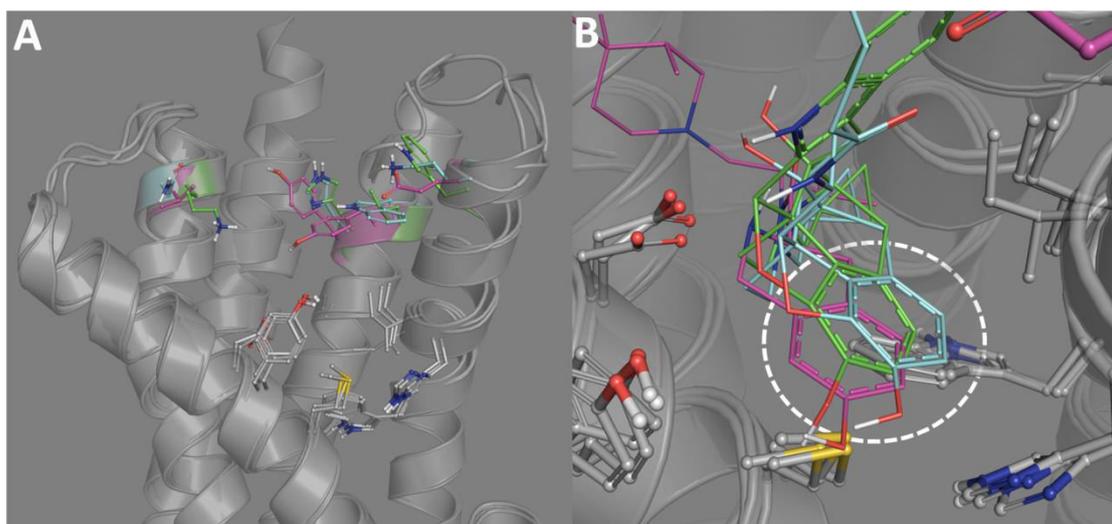
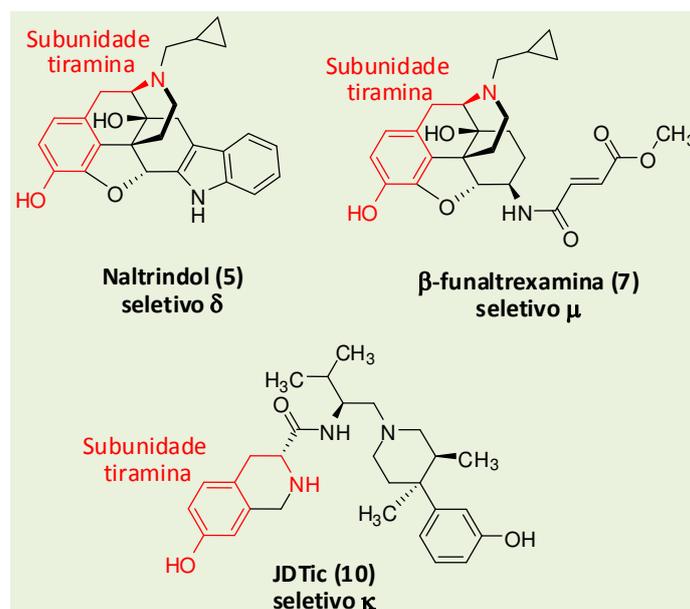


Figura 5. (A) Sobreposição das estruturas cristalográficas dos subtipos δ , μ e κ , regiões não conservadas (verde azul e magenta respectivamente) e conservadas (em cinza); (B) Posicionamento dos anéis fenólicos dos ligantes co-cristalizados (**5**), (**7**) e (**8**) na região conservada (em cinza)^{6,10,11}

2.2. Estendendo o conceito para outros GPCRs

Como os receptores opioides fazem parte da família de GPCRs, propôs-se que outros sistemas da mesma família poderiam ter aplicado o conceito mensagem-endereço, como no caso dos receptores muscarínicos, que possuem uma topologia semelhante.⁶ Nos receptores opioides, as regiões de mensagem e endereço estão relacionadas com o sítio ortostérico (sítio de ligação da

substância endógena). No entanto, nos receptores muscarínicos a região de endereço estaria relacionada ao sítio alostérico (sítio de regulação por outras substâncias que não a endógena), e que possui menor conservação entre os aminoácidos dos subtipos. A **figura 6** mostra a representação dos sítios ortostérico e alostérico dos receptores muscarínicos M2 e M3 cocrystalizados com ligantes que não apresentam seletividade para somente um subtipo (**11-12**).^{12,13}

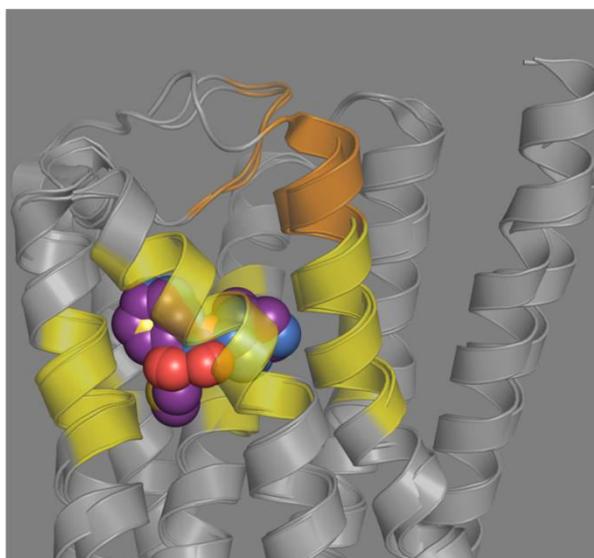
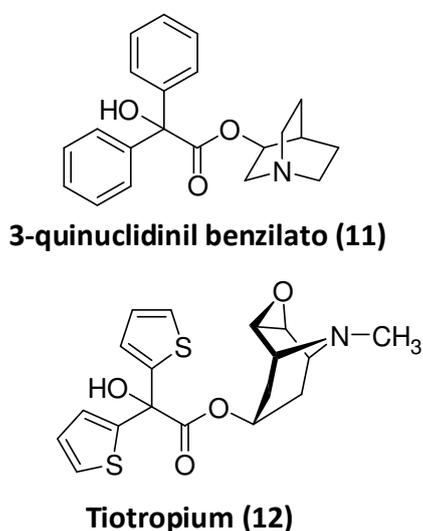


Figura 6. Sobreposição dos receptores muscarínicos M2 (PDB 3UON) e M3 (PDB 4DAJ) cocrystalizados com ligantes que interagem na região ortostérica (**11**) e (**12**) respectivamente. A região em amarelo representa o sítio ortostérico e a região em laranja o sítio alostérico^{12,13}

Desta maneira, a aplicação deste conceito no desenvolvimento de novos compostos bioativos no caso dos receptores muscarínicos se torna menos trivial na tentativa de planejar subunidades de “mensagem” e “endereço” representativas em uma única molécula.

Apesar desta dificuldade, vale ressaltar que o próprio ligante endógeno dos receptores muscarínicos, a acetilcolina (**13**), também é o ligante endógeno dos receptores nicotínicos (receptores ionotrópicos). Nesse exemplo, pode-se atribuir que o “endereço”

do ligante está relacionado a uma mudança conformacional do mesmo. A conformação *antiperiplanar*, relacionada à máxima distância entre os grupos amônio quartenário e acetato (distância de 3,74 Å), está relacionada com a afinidade pelos receptores muscarínicos. A conformação *sinclinal*, que aproxima os grupos (distância de 3,31 Å) está relacionada com a afinidade da acetilcolina (**13**) pelos receptores nicotínicos (**Figura 7**)¹⁴ caracterizando esta molécula como um ligante endógeno com propriedades “mensagem-endereço” intrínsecas.

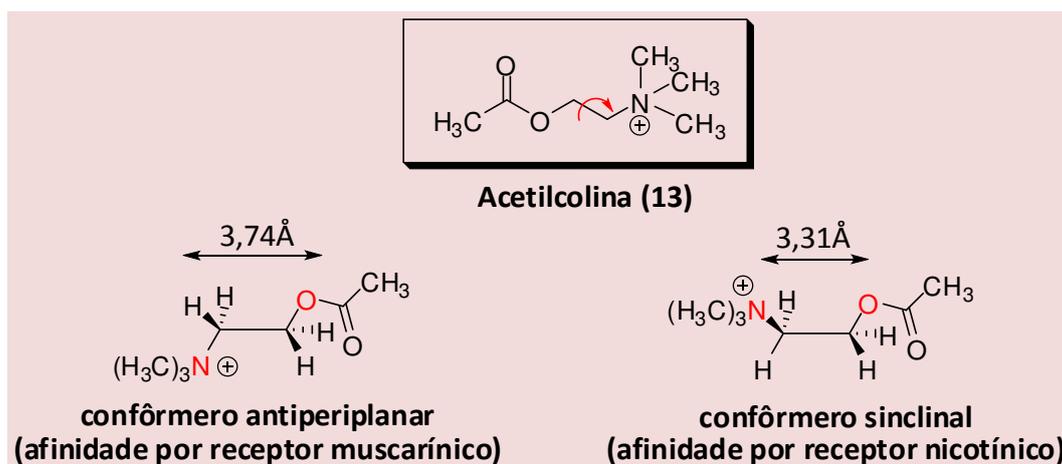


Figura 7. A molécula acetilcolina (13) e suas variações conformacionais que deslocam a sua afinidade entre receptores muscarínicos e nicotínicos¹⁴

3. Mensagem-Endereço no Sistema Adenosinérgico

Os receptores de adenosina também são receptores metabotrópicos, divididos em quatro subtipos conhecidos, denominados A_1 , A_{2A} , A_{2B} e A_3 , com distribuições tissulares e perfis farmacológicos distintos.^{15,16} Devido ao seu amplo perfil de distribuição, os receptores de adenosina vêm sendo considerados alvos terapêuticos atraentes para o tratamento de diversas doenças cardiovasculares, respiratórias, renais,

endócrinas, inflamatórias e do sistema nervoso, estimulando neste contexto o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos que atuem através da sua modulação como agonistas ou antagonistas.¹⁷ Os protótipos clássicos utilizados como agonistas e antagonistas dos receptores de adenosina são, respectivamente, o agonista endógeno adenosina (14) e as alquilxantinas, como a cafeína (15) (Figura 8).¹⁸⁻²⁰ Assim como a adenosina (14), a cafeína (15) também não apresenta seletividade pelos receptores adenosinérgicos.²¹

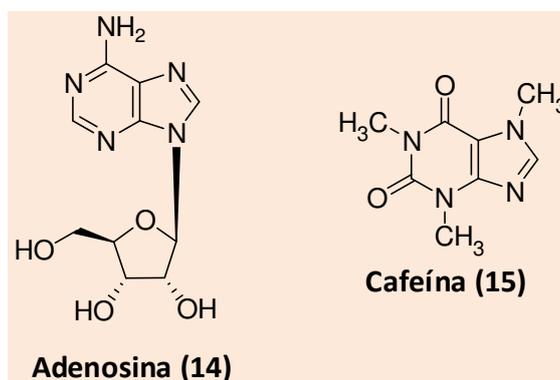


Figura 8. Estruturas do agonista endógeno adenosina (14) e do antagonista natural (15) dos receptores de adenosina

É bastante conhecido na literatura que determinados padrões de substituição destes

ligantes clássicos, principalmente no núcleo adenosina (16-19)²², podem conferir

seletividade pelos diferentes subtipos de receptores. Apesar de existirem antagonistas seletivos dos receptores de adenosina (e.g. subtipo A_1), os antagonistas desses receptores possuem uma maior diversidade estrutural (**20-23**) (**Figura 9**).^{16,22}

Após a elucidação da estrutura cristalográfica do receptor de adenosina do subtipo A_{2A} cocristalizado tanto com a adenosina (**14**) (PDB 3EML)²³ quanto com a cafeína (**15**) (PDB 2YDO)²⁴, foi possível entender melhor a razões moleculares da ação agonista e antagonista nesses receptores.

A partir da análise comparativa do padrão de reconhecimento molecular de antagonista *versus* agonista com o receptor A_{2A} foi possível reconhecer as interações com resíduos de aminoácidos que são apontados como responsáveis pelas mudanças

conformacionais que ativam este receptor (**Figura 10**)^{23,24}.

As principais interações que diferem entre o agonista natural adenosina (**14**) e a cafeína (**15**) são interações por ligação de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos Ser277 e His278, que ficam mais próximos à região das alças intracelulares, e que possuem participação direta na ativação do receptor.²⁴ Estes aminoácidos realizam interação com a subunidade ribose da adenosina.

Observam-se também interações por ligação de hidrogênio em comum com o resíduo Asn253 e interações por empilhamento π com o resíduo Phe168, próximos à região central do receptor, caracterizando estes resíduos como importantes para afinidade de agonistas e antagonistas (**Figura 10**).^{23,24}

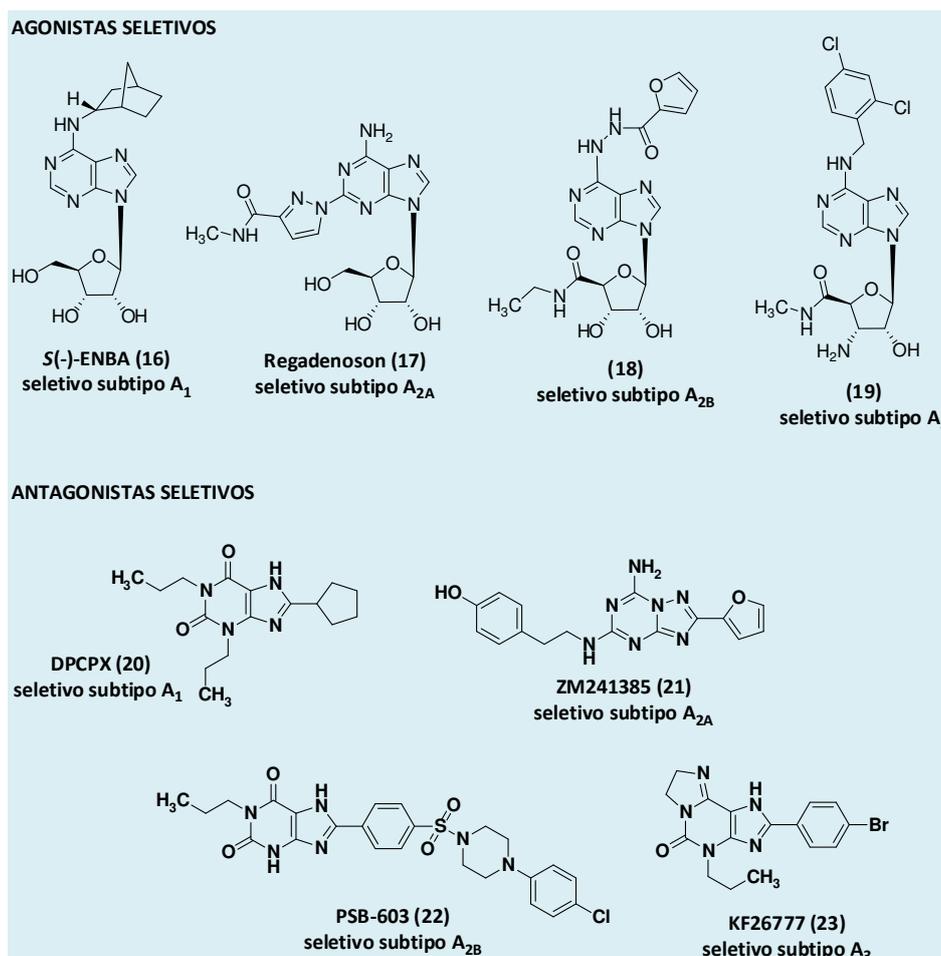


Figura 9. Exemplos de agonistas e antagonistas seletivos para os subtipos A_1 , A_{2A} , A_{2B} e A_3 dos receptores de adenosina (**16-23**)²²

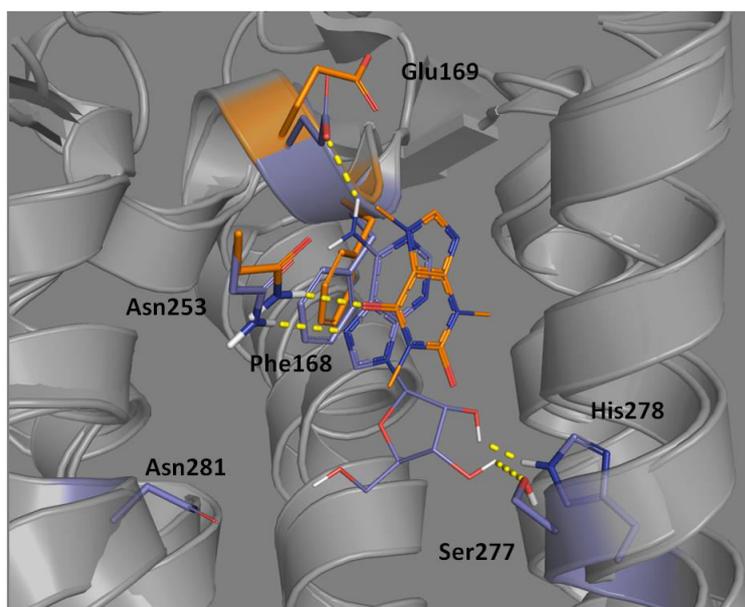


Figura 10. Sobreposição entre as estruturas dos receptores de adenosina A_{2A} cocristalizado à cafeína (laranja) (PDB 2YDO) e adenosina (roxo) (PDB 3EML)^{23,24}

Até o momento há somente estruturas cristalográficas do receptor de adenosina do subtipo A_{2A} e com intuito de contribuir para o entendimento da seletividade de compostos agonistas e antagonistas dos receptores de adenosina, o grupo de modelagem molecular do LASSBio criou modelos tridimensionais de todos os subtipos dos receptores de adenosina e estudou através de ancoramento molecular as interações destes compostos.²⁵

Em um primeiro momento, o objetivo era criar modelos tridimensionais por modelagem comparativa utilizando como molde as estruturas cristalográficas do receptor A_{2A} cocristalizadas com um agonista e um antagonista. Desta forma seria possível

verificar se a mudança conformacional da estrutura cristalográfica induzida por um agonista ou antagonista seria transferida para os modelos e se estes se tornariam capazes de discernir entre agonistas e antagonistas, dependendo do molde utilizado para sua construção.

Durante o estudo que foi desenvolvido, observou-se que a região do sítio de interação da subunidade ribose faz parte da região transmembranar próxima às alças intracelulares dos receptores, enquanto a região de interação do núcleo adenina faz parte da região transmembranar central (**Figura 11**).

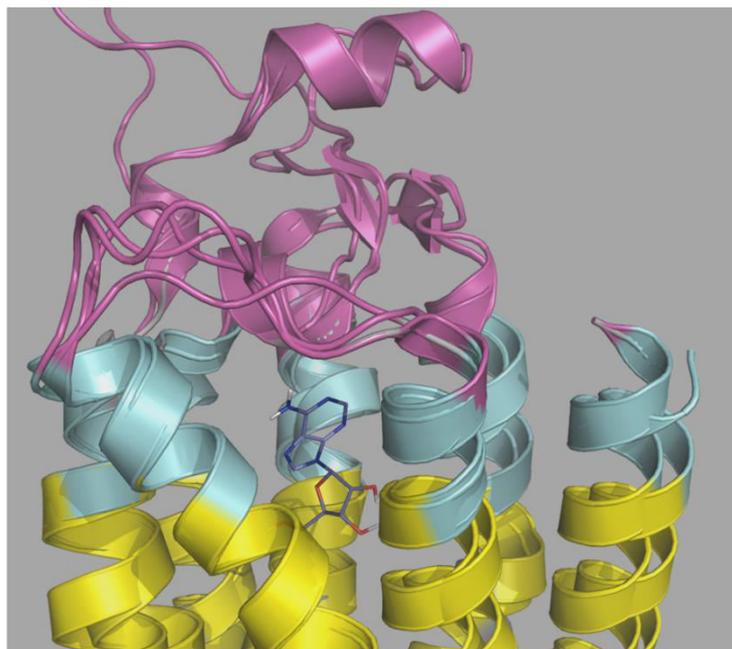


Figura 11. Estrutura dos modelos dos receptores de adenosina criados. Em magenta a região menos conservada (extracelular), em azul a região transmembranar e em amarelo a região mais conservada (intracelular) do sítio ativo no qual a subunidade ribose da adenosina (**14**) (roxo) interage

Foi observado que tanto agonistas como antagonistas interagem na região transmembranar central, enquanto somente os agonistas realizam interações por ligação de hidrogênio na região próxima às alças intracelulares do biorreceptor. Na região próxima às alças extracelulares, tanto os agonistas quanto os antagonistas realizam interações, porém com resíduos de aminoácidos que são menos conservados entre os subtipos de receptores de adenosina (**Figura 12**).²⁵

Com essas observações, pode-se inferir que a seletividade dos compostos em cada subtipo está relacionada com esta região. Isso porque nela há maiores variações dos resíduos de aminoácidos que participam do reconhecimento molecular de cada subtipo. Por outro lado, a região mais conservada nos

subtipos de receptores de adenosina, próxima às alças intracelulares, mostra-se importante para o direcionamento do tipo de atividade, agonista ou antagonista dos compostos.²⁵

Assim, a partir do conhecimento das interações dos agonistas e antagonistas dos receptores de adenosina, pode-se aplicar diretamente a relação de mensagem-endereço para este sistema (**Figura 13**).

A parte estrutural dos compostos que interagem na região próxima às alças extracelulares do receptor de adenosina leva o *endereço*, ou seja, de acordo com as interações com os resíduos de aminoácidos, não conservados, haverá um subtipo de receptor pelo qual esse ligante será seletivo. Isso é mostrado pelas substituições do núcleo adenina da molécula de adenosina.²⁵

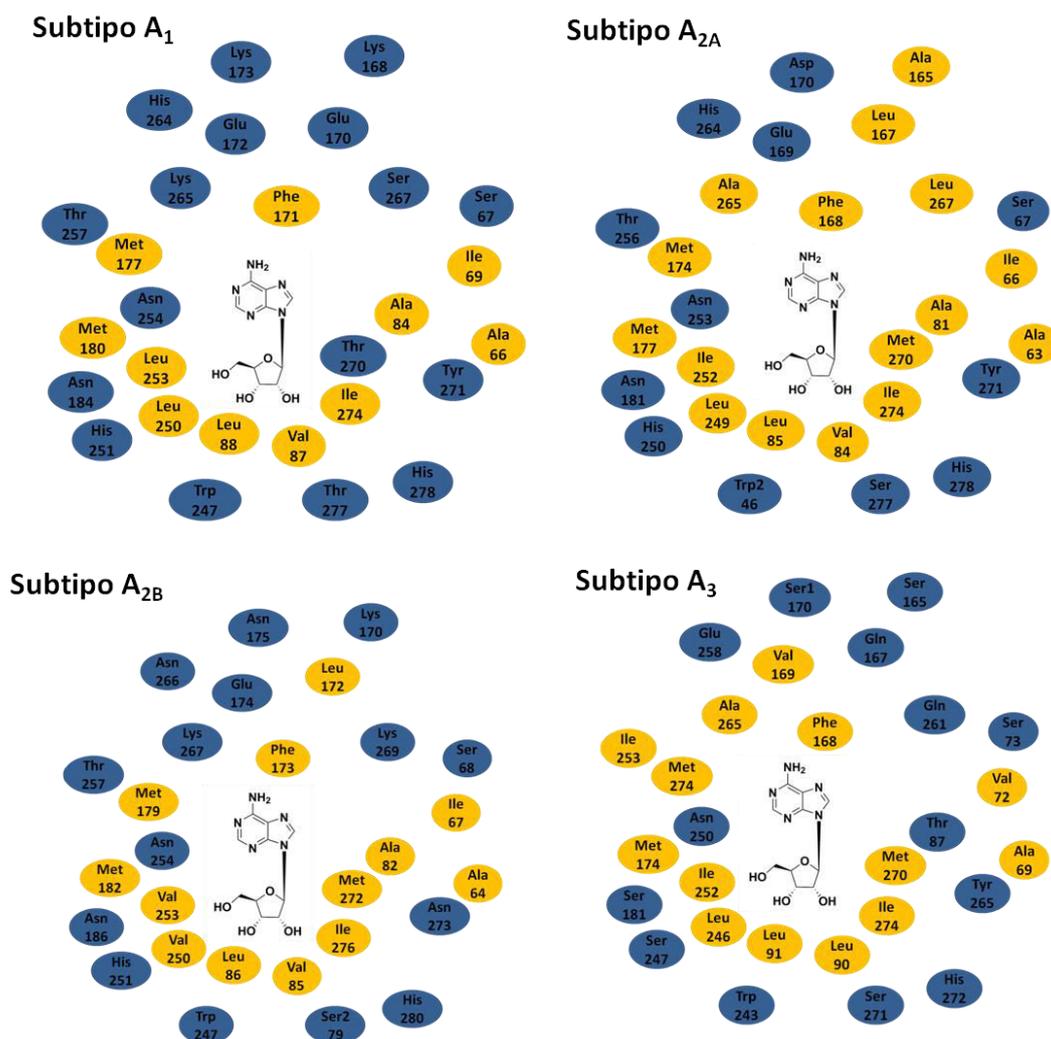


Figura 12. Perfil do caráter hidrofílico/hidrofóbico dos aminoácidos nos sítios de cada subtipo de receptor de adenosina. A cor azul representa aminoácidos de caráter hidrofílico e a cor amarela representa os aminoácidos de caráter hidrofóbico²⁵

Os resultados sugerem que a parte estrutural dos compostos que interage na região próxima às alças intracelulares, representada, principalmente, pelas interações por ligação de hidrogênio que a subunidade ribose realiza, é responsável pela *mensagem* de agonismo. No caso do sistema

adenosinérgico, o antagonismo é refletido pela ausência da *mensagem* de agonismo, já que os ligantes não tem a capacidade de ativar o receptor através das interações específicas com os aminoácidos da região intracelular.²⁵

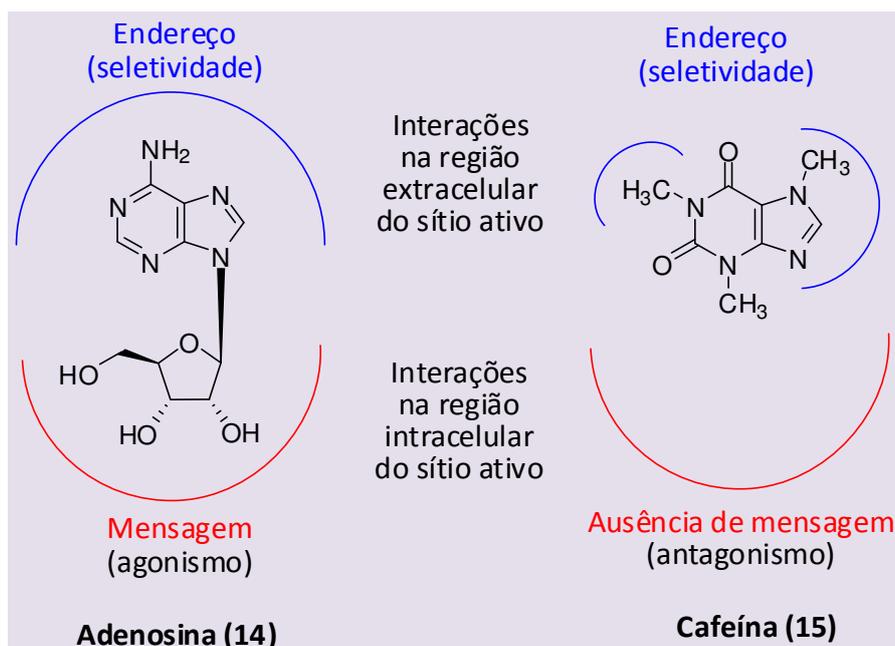


Figura 13. Conceito mensagem-endereço aplicada aos receptores de adenosina

4. Considerações Finais

Há mais de 30 anos o conceito mensagem-endereço foi postulado e ainda se pode observar sua aplicação nos dias de hoje. Apesar de sua contribuição no entendimento e desenvolvimento de ligantes seletivos para os receptores opioides, outras tentativas foram realizadas para aplicar o conceito no desenvolvimento de novos ligantes seletivos de outros GPCRs. No entanto, apesar da topologia da família de GPCRs ser bastante similar, nem sempre é possível aplicar o conceito para todos os tipos de receptores dessa classe.

Um dos receptores em que o conceito pode ser usado são os receptores de adenosina, principalmente porque, assim como acontece com os receptores opioides, o sítio ortostérico dos quatro subtipos é muito bem subdividido em regiões conservadas e não conservadas. Cabe destacar que a mensagem agonista da molécula de adenosina também é conferida por uma característica conformacional que a subunidade ribose adota e que permite a interação dos grupamentos hidroxila com os resíduos de aminoácidos chaves para

ativação do receptor. Desta maneira, mesmo conhecendo regiões de mensagem e endereço dos subtipos de receptores de adenosina, a aplicação do conceito mensagem-endereço no desenvolvimento de compostos agonistas destes receptores ainda representa um desafio.

Agradecimentos

Os autores desse trabalho agradecem ao INCT-INOVAR, a CAPES, a FAPERJ e ao CNPq pelas bolsas e apoio financeiro.

Referências Bibliográficas

- Salvadori, S.; Temussi, P. A. Antagonism in opioid peptides: The role of conformation. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2004**, *4*, 147. [CrossRef] [PubMed]
- Schwyzler, R. ACTH: A short introductory review. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1977**, *297*, 3. [CrossRef] [PubMed]
- Portoghese, P. S.; Sultana, M.; Nagase, H.; Takemori, A. E. Application of the message-address concept in the design of highly

- potent and selective non-peptide δ -opioid receptor antagonists. *Journal of Medicinal Chemistry* **1988**, *31*, 281. [[CrossRef](#)]
- ⁴ Costanzi, S.; Ivanov, A. A.; Tikhonova, I. G.; Jacobson, K. A. Em *Frontiers In Drug Design & Discovery*; Caldwell, G. W.; Rahman, A-u.; Player, M. R.; Choudhary, M. I., eds.; Bentham Science Publishers: [Sharjah](#), 2007, p. 63. [[CrossRef](#)]
- ⁵ Elliott, M. R.; Terry, P. K. Em *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*; Bruton, L. L., Eds.; McGraw-Hill: Rio de Janeiro, 2003, cap. 3.
- ⁶ Granier, S.; Manglik, A.; Kruse, A. C.; Kobilka, T. S.; Thian, F. S.; Weis, W. I.; Kobilka, B. K. Structure of the δ -opioid receptor bound to naltrindole. *Nature* **2012**, *485*, 400. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷ Kane, B. E.; Svensson, B.; Ferguson, D. M. Molecular recognition of opioid receptor ligands. *The AAPS Journal* **2006**, *8*, E126. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸ Zaidi, S. A.; Arnatt, C. K.; He, H.; Selley, D. E.; Mosier, P. D.; Kellog, G. E.; Zhang, Y. Binding mode characterization of 6α - and 6β -*N*-heterocyclic substituted naltrexamine derivatives via docking in opioid receptor crystal structures and site-directed mutagenesis studies: Application of the 'message-address' concept in development of mu opioid receptor selective antagonists. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2013**, *21*, 6405. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹ Metzger, T.G.; Paterlini, M. G.; Portoghese, P. S.; Ferguson, D.M. Application of the message-address concept to the docking of naltrexone and selective naltrexone-derived opioid antagonists into opioid receptor models. *Neurochemical Research* **1996**, *21*, 1287. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰ Wu, H.; Wacker, D.; Mileni, M.; Katrich, V.; Han, G. W.; Vardy, E.; Liu, W.; Thompson, A. A.; Huang, X. P.; Carroll, F. I.; Mascarella, S. W.; Westkaemper, R. B.; Mosier, P.D.; Roth, B. L.; Chrezov, V.; Stevens, R. C. Structure of the human κ -opioid receptor in complex with JDTic. *Nature* **2012**, *485*, 327. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹ Manglik, A.; Kruse, A. C.; Kobilka, T. S.; Thian, F. S.; Mathiesen, J. M.; Sunahara, R. K.; Pardo, L.; Weis, W. I.; Kobilka, B. K.; Granier, S. Crystal structure of the μ -opioid receptor bound to a morphinan antagonist. *Nature*, **2012**, *485*, 321. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹² Haga, K.; Kruse, A. C.; Asada, H.; Yurugi-Kabayashi, T.; Shiroishi, M.; Zhang, C.; Weis, W. I.; Okada, T.; Kobilka, B. K.; Haga, T.; Kobayashi, T. Structure of the human M2 muscarinic acetylcholine receptor bound to an antagonist. *Nature* **2012**, *482*, 547. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³ Kruse, A. C.; Hu, J.; Pan, A. C.; Arlow, D. H.; Rosenbaum, D. M.; Rosemond, E.; Green, H. F.; Liu, T.; Chae, P. S.; Dror, R. O.; Shaw, D. E.; Weis, W. I.; Wess, J.; Kobilka, B. K. Structure and dynamics of the M3 muscarinic acetylcholine receptor. *Nature* **2012**, *482*, 552. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴ Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M.; *Química Medicinal As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos*, 3a. ed., Artmed: Porto Alegre, 2015.
- ¹⁵ Ralevic, V.; Burnstock, G. Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacological Reviews* **1998**, *50*, 413. [[PubMed](#)]
- ¹⁶ Baraldi, P. G.; Tabrizi, M. A.; Gessi, S.; Borea, P. A. Adenosine receptor antagonists: translating medicinal chemistry and pharmacology into clinical utility. *Chemical Reviews* **2008**, *108*, 238. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁷ Jacobson, K. A.; Gao, Z. G. Adenosine receptors as therapeutic targets. *Nature Reviews in Drug Discovery* **2006**, *5*, 247. [[PubMed](#)]
- ¹⁸ Degubareff, T.; Sleator, W. Effects of caffeine on mammalian atrial muscle, and its interaction with adenosine and calcium. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **1965**, *148*, 202. [[PubMed](#)]
- ¹⁹ Moro, S.; Gao, Z. G.; Jacobson, K. A.; Spalluto, G. Progress in the pursuit of therapeutic adenosine receptor antagonists. *Medicinal Research Reviews* **2006**, *26*, 131. [[PubMed](#)]
- ²⁰ Yan, L.; Burbiel, J. C.; Maass, A.; Müller, C. E. Adenosine receptor agonists: from basic medicinal chemistry to clinical development.

Expert Opinion on Emerging Drugs **2003**, *8*, 537. [PubMed]

²¹ Fredholm, B. B.; Irenius, E.; Kull, B.; Schulte, G. Comparison of the potency of adenosine as an agonist at human adenosine receptors expressed in Chinese hamster ovary cells. *Biochemical Pharmacology* **2001**, *61*, 443. [PubMed]

²² Müller, C. E.; Jacobson, K. A. Recent developments in adenosine receptor ligands and their potential as novel drugs. *Biochimica et Biophysica Acta* **2011**, *1808*, 1290. [CrossRef] [PubMed]

²³ Jaakola, V. P.; Griffith, M. T.; Hanson, M. A.; Cherezov, V.; Chien, E. Y.; Lane, J. R.;

Ijzerman, A. P.; Stevens, R. C. The 2.6 angstrom crystal structure of a human A2A adenosine receptor bound to an antagonist. *Science*, **2008**, *322*, 1211. [CrossRef] [PubMed]

²⁴ Lebon, G.; Warne, T.; Edwards, P. C.; Bennett, K.; Langmead, C. J.; Leslie, A. G.; Tate, C. G. Agonist-bound adenosine A2A receptor structures reveal common features of GPCR activation. *Nature* **2011**, *474*, 521. [CrossRef] [PubMed]

²⁵ Tesch, R.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013.