

Artigo

Receptores Nicotínicos de Acetilcolina dos Subtipos $\alpha 7$, $\alpha 4\beta 2$ e $\alpha 3\beta 4$: Características, Participação em Processos Patogênicos e Compostos Bioativos

Batista, V. S.; Nascimento-Júnior, N. M.*

Rev. Virtual Quim., 2016, XX (XX), no prelo. Data de publicação na Web: 11 de julho de 2016<http://rvq.sbq.org.br>**The $\alpha 7$, $\alpha 4\beta 2$ and $\alpha 3\beta 4$ Nicotinic Acetylcholine Receptors: Characteristics, Role in Pathogenic Processes and Bioactive Compounds**

Abstract: Neuronal nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) are potential targets for the treatment of several central nervous system disorders, including Alzheimer's disease, Parkinson's disease and schizophrenia. On this review will be discussed the main characteristics of the nAChRs, more specifically of the $\alpha 7$, $\alpha 4\beta 2$ and $\alpha 3\beta 4$ subtypes, examples of bioactive compounds that act on these receptors and structure-activity relationships of some compounds on their respective target receptors.

Keywords: Medicinal chemistry; nicotinic acetylcholine receptors; bioactive compounds; structure-activity relationship.

Resumo

Os receptores nicotínicos de acetilcolina neuronais (nAChRs) são alvos em potencial para o tratamento de diversas desordens do sistema nervoso central (SNC), incluindo doença de Alzheimer, doença de Parkinson e esquizofrenia. Nesta revisão serão abordadas as características principais dos nAChRs, mais especificamente dos subtipos $\alpha 7$, $\alpha 4\beta 2$ e $\alpha 3\beta 4$, exemplos de compostos bioativos que atuam nesses receptores e a relação estrutura-atividade de alguns compostos em seus respectivos receptores alvo.

Palavras-chave: Química medicinal; receptores nicotínicos de acetilcolina; compostos bioativos; relação estrutura-atividade.

* Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, Campus Araraquara, CEP 14800-060, Araraquara-SP, Brasil.

✉ nailtonjr@gmail.com

DOI:

Receptores Nicotínicos de Acetilcolina dos Subtipos $\alpha 7$, $\alpha 4\beta 2$ e $\alpha 3\beta 4$: Características, Participação em Processos Patogênicos e Compostos Bioativos

Victor de Sousa Batista, Nailton M. Nascimento-Júnior*

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, Campus Araraquara, CEP 14800-060, Araraquara-SP, Brasil.

* nailtonjr@gmail.com

Recebido em 23 de março de 2016. Aceito para publicação em 6 de julho de 2016

1. Introdução
2. A relação estrutura-atividade de ligantes de receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) do subtipo $\alpha 7$
3. A relação estrutura-atividade de ligantes de receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) do subtipo $\alpha 4\beta 2$
4. A relação estrutura-atividade de ligantes de receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) do subtipo $\alpha 3\beta 4$
5. Conclusão

1. Introdução

Os receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) são parte do grupo de receptores do neurotransmissor endógeno acetilcolina (ACh) **(1)** (**Figura 1**) que abrange, além dos já mencionados nAChRs, os receptores muscarínicos de acetilcolina (mAChRs), sendo os mAChRs receptores metabotrópicos que possuem alta afinidade pela muscarina **(2)** e baixa afinidade pela nicotina **(3)**, sendo o comportamento inverso observado nos nAChRs. Quanto a fisiologia da neurotransmissão colinérgica, a ativação dos mAChRs pela toxina do cogumelo *Amanita*

muscaria, a muscarina **(2)**, ocorre em um período de tempo relativamente longo, da ordem de milissegundos a segundos, enquanto os nAChRs são receptores ionotrópicos que são ativados em intervalos de tempo da ordem de sub-microsegundos a microssegundos pela molécula de nicotina **(3)**,¹⁻³ comumente proveniente da planta *Nicotiana tabacum*. Os nAChRs podem ser divididos em dois grupos, os receptores nicotínicos musculares e os neuronais,^{4,5} com os nAChRs neuronais majoritariamente expressos pelos subtipos $\alpha 7$, $\alpha 4\beta 2$ e $\alpha 3\beta 4$, podendo exercer funções variadas como regulação de excitabilidade neuronal e liberação de neurotransmissores.⁶⁻⁸

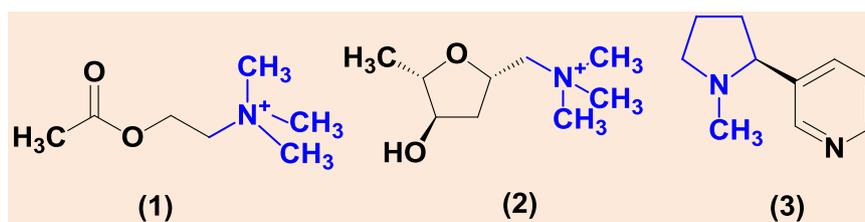


Figura 1. Estruturas das moléculas de acetilcolina (1), muscarina (2) e nicotina (3)

Estruturalmente, os nAChRs neuronais são glicoproteínas grandes (aproximadamente 290 kDa) que apresentam cinco subunidades transmembranares arranjadas em torno de um poro central permeável a cátions^{3,7,9} e fazem parte da família dos canais iônicos cys-

loop, que inclui também os nAChRs musculares, receptores de ácido gama aminobutírico (4) (GABA_A e GABA_C), receptores de glicina (5) e receptores de serotonina (5-HT₃) (6) (Figura 2).^{7,10}

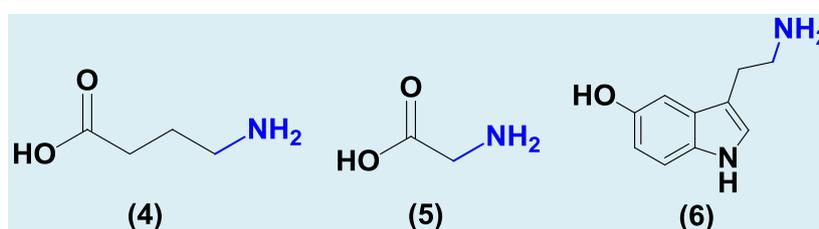


Figura 2. Estruturas das moléculas de ácido gama amino-butírico (4), glicina (5) e serotonina (6)

Cada receptor nicotínico de acetilcolina (nAChR) é dividido em três domínios: um grande domínio extracelular *N*-terminal onde encontram-se os sítios ortostéricos, um poro transmembranar e um pequeno domínio intracelular, tendo esse conjunto um comprimento total de aproximadamente 160 Å.⁹ Os nAChRs neuronais apresentam uma grande variedade de funções biológicas que estão relacionadas com as diversas combinações possíveis entre as subunidades α e β , a saber, α ($\alpha 2$ - $\alpha 10$) e β ($\beta 2$ - $\beta 4$), podendo estas combinações serem homoméricas, como os receptores $\alpha 7$, $\alpha 8$ e $\alpha 9$ ou heteroméricas, como os receptores $\alpha 4\beta 2^*$, $\alpha 7\alpha 8^*$, $\alpha 9\alpha 10^*$, $\alpha 6\beta 2^*$, $\alpha 3\beta 4^*$, entre outros, com a presença obrigatória de uma subunidade α no receptor.^{3,5,7} O asterisco representa a possibilidade de outras subunidades no complexo. Classifica-se as subunidades como α ou não- α baseando-se na presença ou ausência, respectivamente, de cisteínas vicinais ligadas por pontes

dissulfeto no domínio extracelular do receptor.¹¹

Ao interagirem com seu neurotransmissor endógeno **1** ou com um agonista, a estrutura dos nAChRs muda de conformação, de modo que é possível descrever, muito simplificada, o processo de ativação do receptor em três etapas: **(a)** a conformação fechada, onde o receptor está apto a interagir com um agonista e não há a passagem de cátions pelo poro permeável, **(b)** a conformação aberta, onde o receptor já interagiu com um agonista e permite a passagem de cátions em um intervalo de tempo da ordem de milissegundos e **(c)** a conformação dessensibilizada, onde o receptor novamente deixa de permitir a passagem de cátions pelo poro central.¹² O poro central é permeável a cátions monovalentes e bivalentes, principalmente sódio e cálcio.^{13,14,15} Estudos sugerem que ao retornar da conformação dessensibilizada para a conformação fechada não ocorre a

passagem pela conformação aberta, indicando um processo cíclico. Os mesmos estudos mostram também que existem múltiplos estados conformacionais fechado, aberto e dessensibilizado conectados em uma sequência complexa que ainda precisa ser elucidada para a compreensão completa do comportamento macroscópico de alguns nAChRs.¹²

O sítio ortostérico dos nAChRs neuronais encontra-se no domínio extracelular do receptor, nas interfaces entre as subunidades α e as demais subunidades que os constituem, de modo que as subunidades desse tipo são o componente primário do sítio ativo e as subunidades do tipo β são responsáveis pela parte complementar do mesmo, como exemplificado na **Figura 3**, sendo que a permeabilidade a cátions e afinidade por determinado ligante bioativo

variam grandemente em função dos componentes complementares do receptor.^{16,17,18} Além disso, os nAChRs costumam apresentar uma subunidade assessora que não participa ativamente da formação do sítio ortostérico mas influencia nas propriedades farmacológicas e biofísicas do receptor.⁷ Dessa forma, fica clara a abundância de configurações possíveis para os nAChRs, uma vez que as diversas subunidades existentes podem se combinar em inúmeras configurações. Além do sítio ortostérico, os nAChRs apresentam também diversos sítios alostéricos onde moléculas específicas podem interagir com o receptor e potencializar ou inibir a ativação causada por um agonista,¹⁹ sendo esta uma das possíveis abordagens utilizadas no planejamento de novas substâncias bioativas que tem como alvo os nAChRs.

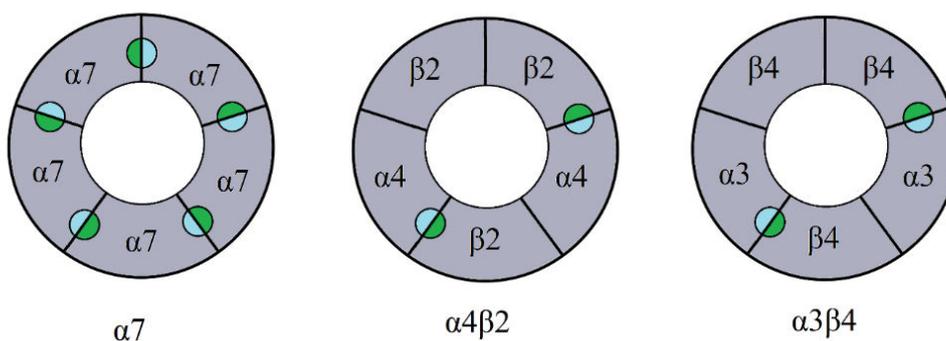


Figura 3. Representação dos nAChRs neuronais abordados nesse artigo e seus sítios ortostéricos, com a face principal em azul e a face complementar em verde. Outros arranjos entre mesmas subunidades apresentadas também são possíveis. Adaptado de Gotti e colaboradores³

Por conta da grande variedade de funções dos nAChRs neuronais, estes são fundamentais no entendimento e tratamento de diversas desordens neuropsiquiátricas, como a síndrome de Tourette, autismo, déficit de atenção, desordem hiperativa, esquizofrenia, epilepsia, depressão, ansiedade, doença de Alzheimer e doença de Parkinson, conforme pode ser observado na **Tabela 1**.^{6,8,10,20-25}

Até o presente momento, ainda não

existem estruturas cristalográficas completas para os nAChRs neuronais dos mamíferos. A maior parte do conhecimento estrutural sobre esses receptores é proveniente do estudo de proteínas ligantes de acetilcolina (AChBP) homólogas obtidas de espécies de peixe como a *Torpedo marmorata* (PDB ID: 1OED), espécies moluscos como a *Lymnaea stagnalis* (PDB ID: 1UW6) e *Aplysia californica* (PDB ID: 2BYN) e das proteínas procarióticas GLIC (canal iônico ligante-dependente da

cianobactéria *Gloeobacter violaceus*, PDB ID: 4NPQ) e ELIC (canal iônico ligante-dependente da bactéria *Erwinia chrysanthemi*, PDB ID: 2VL0), entre outras.^{2,9,18,22,26-28}

Tabela 1. Possíveis receptores alvo no tratamento de algumas desordens neurológicas e região do cérebro afetada pela doença. Dados obtidos de Jensen e colaboradores²⁵

| Desordem | Receptor | Região do cérebro |
|-------------------------|---|---------------------------|
| Epilepsia | $\alpha 4\beta 2^*$, $\alpha 7^*$, $\beta 4^*$, $\alpha 5^*$ | Cortex frontal, Hipocampo |
| Doença de Alzheimer | $\alpha 4\beta 2^*$, $\alpha 7^*$ | Cortex, Hipocampo |
| Esquizofrenia | $\alpha 4\beta 2^*$, $\alpha 7^*$ | Hipocampo |
| Ansiedade | $\alpha 4^*$, $\alpha 7^*$ | Hipocampo |
| Doença de Parkinson | $\alpha 4\beta 2^*$, $\alpha 6\beta 2\beta 3^*$ | Sistema nigroestriatal |
| Dependência da nicotina | $\alpha 4\beta 2^*$, $\alpha 6\beta 2\beta 3^*$, $\beta 4$ | Sistema mesolímbico |

2. A relação estrutura-atividade de ligantes de receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) do subtipo $\alpha 7$

Em geral, a localização dos nAChRs neuronais do tipo $\alpha 7$ no cérebro se conserva entre diferentes espécies de mamíferos, apesar de diferenças significativas terem sido reportadas entre roedores e primatas em regiões associadas a cognição e processamento sensorial. Esses receptores são expressos grandemente nas regiões do hipocampo, córtex, substância negra e cerebelo.²²

Estudos recentes com roedores indicam que agonistas parciais e totais dos nAChRs $\alpha 7$ são eficientes no tratamento de distúrbios neurológicos como a esquizofrenia^{22,29} e o mal de Parkinson e também no controle de desordens motoras provocadas por medicamentos, como as discinesias induzidas por levodopa que surgem no decorrer do tratamento do mal de Parkinson.^{6,24}

Os nAChRs neuronais do tipo $\alpha 7$ são estruturalmente e funcionalmente distintos dos demais nAChRs, apresentando menor afinidade por nicotina e acetilcolina que os demais, dessensibilização rápida e alta

permeabilidade a Ca^{2+} , o que lhes permite regular diversos mecanismos celulares que dependem desse cátion.^{6,19} São constituídos exclusivamente por alças transmembranares do subtipo $\alpha 7$, o que confere a eles uma maior quantidade de sítios ortostéricos do que os demais nAChRs neuronais.^{16,30} A ativação dos nAChRs $\alpha 7$ desencadeia aumento na liberação de glutamato no hipocampo, demonstrando a importância desses receptores para os mecanismos sinápticos glutamatérgicos e modulação dos circuitos neurais do sistema nervoso central (SNC).^{31,32}

Uma das características dos nAChRs $\alpha 7$ é a sua sensibilidade única ao antagonista α -Bungarotoxina (α -Btx) produzido pela cobra *Bungarus multicinctus*, que se liga permanentemente a esse receptor e impede a abertura do canal iônico, sendo que a utilização dessa substância em conjunto com técnicas de autorradiografia foi essencial na determinação inicial da localização desse receptor no SNC.^{3,7,22}

Existem diversos compostos bioativos que atuam nos nAChRs $\alpha 7$ descritos na literatura, como exemplificado na **Figura 4**. O composto **7** faz parte de uma série de derivados contendo a subunidade estrutural dibenzosuberila inicialmente proposta por Ulens e colaboradores³³ como um ligante do sítio ortostérico dos nAChRs $\alpha 7$ que

apresentou alta afinidade ($K_i = 63,09 \text{ nM}$) em estudos *in silico* e que não apresentava interação significativa com os nAChRs $\alpha 4\beta 2$ em estudos de deslocamento utilizando o radioligante [^3H]epibatidina. Entretanto, os dados obtidos *in vitro* em conjunto com análises já mencionadas mostram que **7** atua como um inibidor não competitivo dos nAChRs $\alpha 7$ e $\alpha 4\beta 2$, bem como dos receptores 5-HT_3 , indicando que **7** atua em sítios alostéricos dos receptores dessa família através de um mecanismo comum, provavelmente impedimento estérico do poro iônico central.

A bradaniclina (**8**) é um agonista parcial desenvolvido pela Targacept Inc. que apresenta alta afinidade pelos nAChRs $\alpha 7$ e baixa afinidade pelo receptor de serotonina 5-HT_3 . Testes preliminares utilizando roedores sugeriam que **8** apresentava potencial para o tratamento das três categorias de sintomas da esquizofrenia (positivos, negativos e cognitivos) e também efeitos sinérgicos com outros medicamentos antipsicóticos, como a clozapina (Clozaril®, Fazacol®). A substância também foi considerada um medicamento em potencial para o tratamento de Alzheimer e transtorno de déficit de atenção com hiperatividade, mas apesar dos resultados positivos em roedores o composto não obteve aprovação nos testes clínicos para nenhuma das três desordens.³⁴

O estilbeno substituído (**9**) inicialmente foi proposto por Gotti e colaboradores³⁵ como um potente antagonista competitivo e seletivo dos nAChRs $\alpha 7$ presentes em cérebros de galinhas ($\text{CI}_{50} = 119 \text{ nM}$), mas em estudos posteriores por Angelantonio e colaboradores³⁶ demonstrou-se que **9** também atua nos nAChRs $\alpha 3\beta 4^*$ presentes em células do tipo cromafim de roedores, sendo o enantiômero de configuração *R* mais potente do que seu atípoda ótico nessa

situação ($\text{CI}_{50} = 0,33 \mu\text{M}$ e $1,5 \mu\text{M}$, respectivamente). Em estudos subsequentes, Gotti e colaboradores³⁷ demonstraram que o composto apresenta maior afinidade por nAChRs $\alpha 7$ de mamíferos, expressos em oócitos da espécie *Xenopus*, do que por nAChRs $\alpha 7$ de aves. Esses dados combinados evidenciam que existem diferenças de seletividade e especificidade significativas entre receptores provenientes de espécies distintas.

O composto **10** foi desenvolvido por Zheng e colaboradores³⁸ tendo como alvo os nAChRs do subtipo $\alpha 9\alpha 10$, que se acredita estarem associados dores crônicas nas regiões do sistema nervoso periférico (SNP). A molécula **10** apresentou inibição adequada do receptor alvo ($\text{CI}_{50} = 0,56 \text{ nM}$) e também do subtipo $\alpha 7$ (Figura 4), ambos expressos em oócitos da espécie *Xenopus*, mas devido à natureza altamente polar da subunidade estrutural catiônica espera-se que o composto apresente dificuldades em ultrapassar a barreira hematoencefálica (BHE). Essa característica torna muito mais interessante o estudo da molécula visando os nAChRs $\alpha 9\alpha 10$, que não estão presentes no SNC. O composto **11** é um peptídeo sintético derivado da classe das α -conotoxinas (α -Ctxs) documentado por Whiteaker e colaboradores³⁹ como um antagonista potente e seletivo dos nAChRs $\alpha 7$. As α -Ctxs naturais são peptídeos pequenos, contendo entre 13 e 19 resíduos de aminoácidos, produzidos por gastrópodes do gênero *Conus* e altamente seletivas para alguns tipos de nAChRs. O peptídeo **11** se liga reversivelmente ao receptor, com recuperação total da sensibilidade após 15 minutos, além de inibir tanto receptores de roedores quanto de humanos com potência comparável, o que faz com que esse antagonista seja potencialmente útil no estudo das funções dos nAChRs $\alpha 7$.⁴⁰

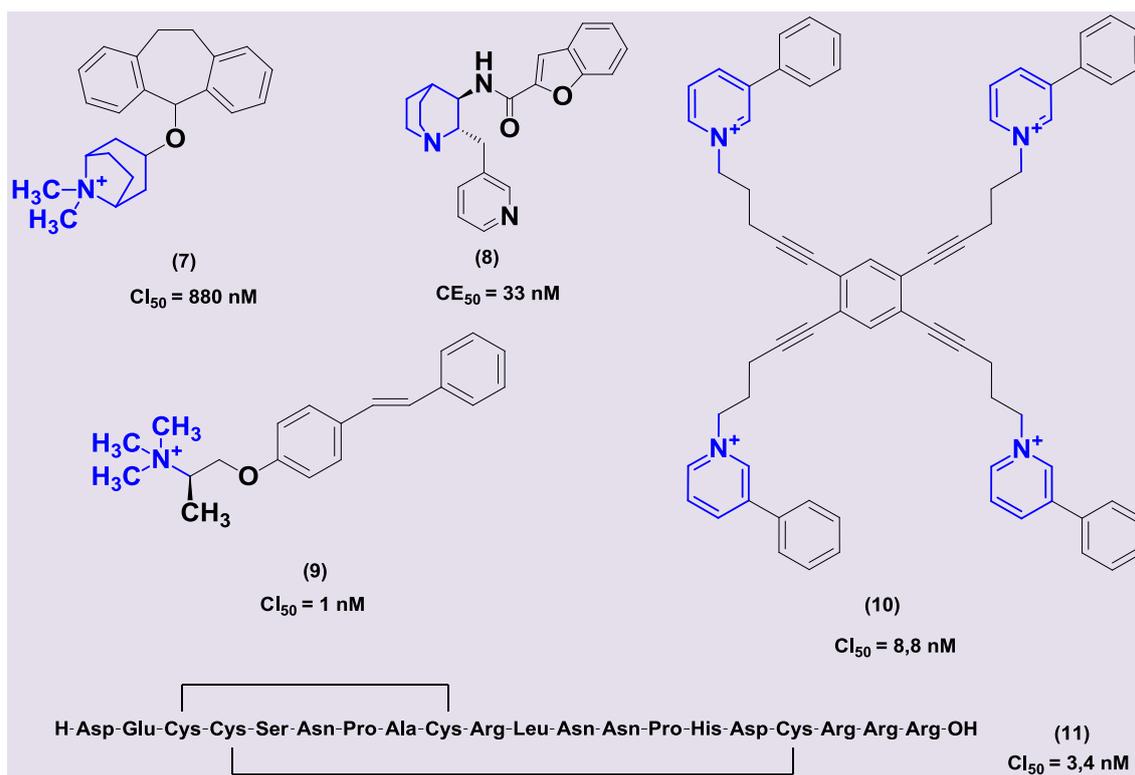


Figura 4. Estrutura química dos compostos **7**³³, **8**⁴¹, **9**³⁷, **10**³⁸, **11**⁴⁰, os quais atuam nos nAChRs do subtipo $\alpha 7$

Na **Figura 5** está representada uma quinuclidina substituída (**12**), análoga da bradaniclina (**8**), e alguns análogos estruturais obtidos por Mazurov e colaboradores⁴² que auxiliam no entendimento de como estes análogos estruturais se relacionam com a afinidade pelo nAChR $\alpha 7$. Substituições realizadas na região do anel piridínico (destacado em vermelho) alteram consideravelmente a afinidade do composto pelo receptor alvo devido a fatores estereoeletrônicos. A troca do substituinte 3-piridina **12** pelos substituintes 2-piridina **13**, 3-quinolina **16**, 2-furano **17** ou benzofuran-2-il **18** resulta em diminuição ou perda de afinidade. Esta perda de afinidade possivelmente se deve a existência de ligações de hidrogênio intramoleculares que conferem uma potencial restrição conformacional aos derivados **13**, **17** e **18** ou fatores estéricos, no caso dos derivados **16** e **18**, dificultando a interação com o sítio ativo.

No caso do composto **15**, a diminuição da afinidade pode estar relacionada à perda da

interação entre a subunidade piridínica e a cadeia lateral de um dos resíduos de aminoácidos do sítio ativo, podendo as interações cátion- π e hidrofóbicas serem as responsáveis pela interação entre a molécula e o biorreceptor alvo. Há pouca diferença de afinidade entre os compostos **12** e **14** devido a semelhança estrutural, visto que não há perda do ponto acceptor de ligação de hidrogênio e a aromaticidade é conservada. A substituição do grupo 4-bromobenzeno (destacado em azul) pelos grupos 4-fluorobenzeno **19** e benzeno **20** não resultou em perda de afinidade significativa, indicando que um halogênio na posição *para* em relação à cadeia principal é dispensável, provavelmente sendo as interações hidrofóbicas ou cátion- π as contribuições mais relevantes para a afinidade pelo receptor. Os compostos **21** e **22** tem menor afinidade por conta do tamanho dos substituintes. A substituição da função carbamato (destacada em verde) pelas funções carbamida **23** e amida **24** não resultou em diminuição significativa da

afinidade pelo receptor devido à semelhança entre esses três grupos, mas a substituição

pela sulfonamida teve como resultado pronunciada redução da afinidade.

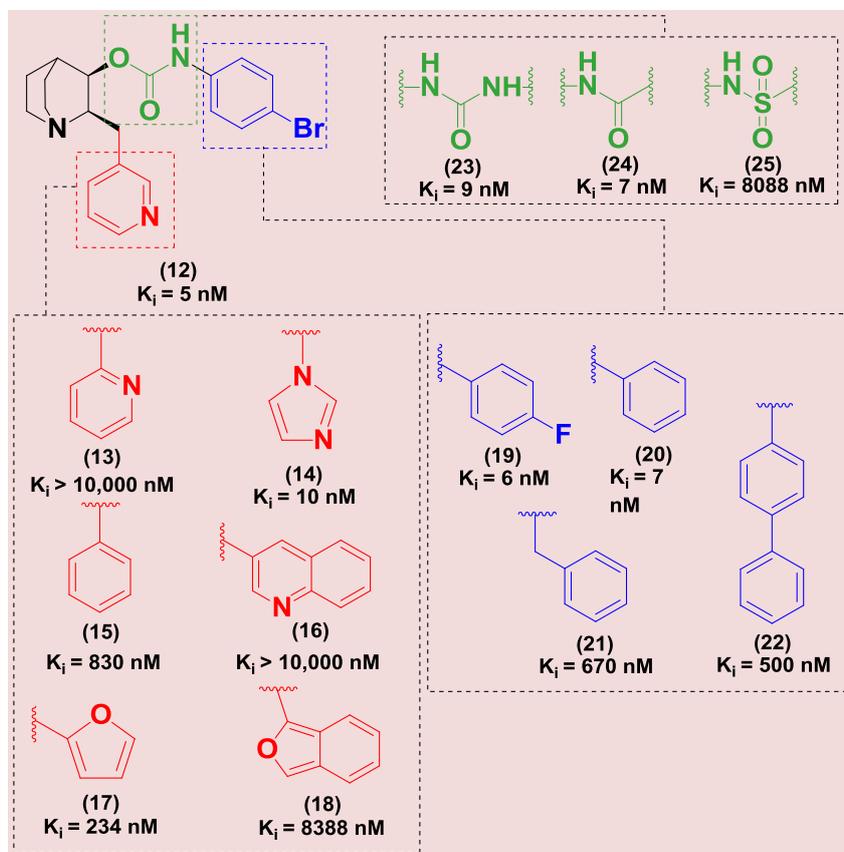


Figura 5. Modificações realizadas por MAZUROV *et al.*, (2005)⁴² na quinuclidina substituída (12) com seus respectivos valores de K_i frente ao nAChR $\alpha 7$

3. A relação estrutura-atividade de ligantes de receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) do subtipo $\alpha 4\beta 2$

Os nAChRs $\alpha 4\beta 2$ são o subtipo predominante no SNC dos mamíferos.^{43,44} Esse tipo de receptor é altamente sensível a acetilcolina (1) e nicotina ($CI_{50} = 1,2 \text{ nM}^{45}$) (3), estando estreitamente relacionado ao processo de desenvolvimento de dependência a esta substância em tabagistas.^{43,44} Quando expostos a nicotina e outros agonistas totais ou parciais por longos períodos de tempo sofrem um processo chamado suprarregulação em resposta a

dessensibilização progressiva provocada, sendo esse efeito muito mais pronunciado nesse receptor do que nos demais nAChRs neuronais.^{7,16,18} A ativação dos nAChRs $\alpha 4\beta 2$ aumenta a liberação de dopamina no sistema mesolímbico, proporcionando a sensação de recompensa característica de diversas drogas de abuso.⁴⁶

Estudos bioquímicos e eletrofisiológicos indicam que os nAChRs $\alpha 4\beta 2$ existem em razões estequiométricas distintas, podendo ser constituídos por duas subunidades α e três unidades β ($(\alpha 4\beta 2)_2\beta 2$), resultando em dois sítios ortostéricos nas interfaces $\alpha 4/\beta 2$, ou por três subunidades α e duas subunidades β ($(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 4$), resultando em três sítios ortostéricos e sendo esse terceiro sítio localizado na interface $\alpha 4/\alpha 4$ e

apresentando baixa afinidade por acetilcolina e outros agonistas.⁴⁴ As duas relações estequiométricas são diferentes no que diz respeito a cinética de dessensibilização, permeabilidade a cálcio, condutância unitária, sensibilidade a exposição crônica de nicotina e sensibilidade a diversos agonistas. As curvas concentração-resposta da acetilcolina são diferentes para cada estequiometria, sendo que o receptor $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 4$ apresenta uma curva bifásica (**Figura 6b**) característica devido a presença de sítios ortostéricos com afinidades distintas pelo neurotransmissor e o receptor $(\alpha 4\beta 2)_2\beta 2$ apresenta uma curva concentração-resposta monofásica (**Figura 6a**). O receptor $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 4$ apresenta menor sensibilidade a agonistas em comparação com a outra estequiometria possível, uma vez que é necessária a presença de agonistas em todos os sítios ortostéricos para que o mesmo seja completamente ativado.^{30,43,47,48}

Ambas as formas do receptor estão presentes no SNC dos mamíferos, com estudos indicando que a estequiometria preferencialmente presente no cérebro humano é a de menor sensibilidade e que a proporção entre as duas varia quando ocorre exposição crônica a nicotina, aumentando a quantidade de receptores mais sensíveis com o passar do tempo.^{44,47}

Além de mais suscetível a nicotina, o receptor $(\alpha 4\beta 2)_2\beta 2$ também é mais suscetível a dessensibilização causada por exposição prolongada a baixas concentrações dessa substância, enquanto o receptor $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 4$ apresenta maior permeabilidade a íons Ca^{2+} e cinética de dessensibilização mais rápida.⁴⁹ Além destas duas estequiometrias presentes no SNC, nas regiões do córtex e corpo estriado existe uma subpopulação desse receptor que contém a subunidade $\alpha 5$ na forma $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 5$.¹⁶

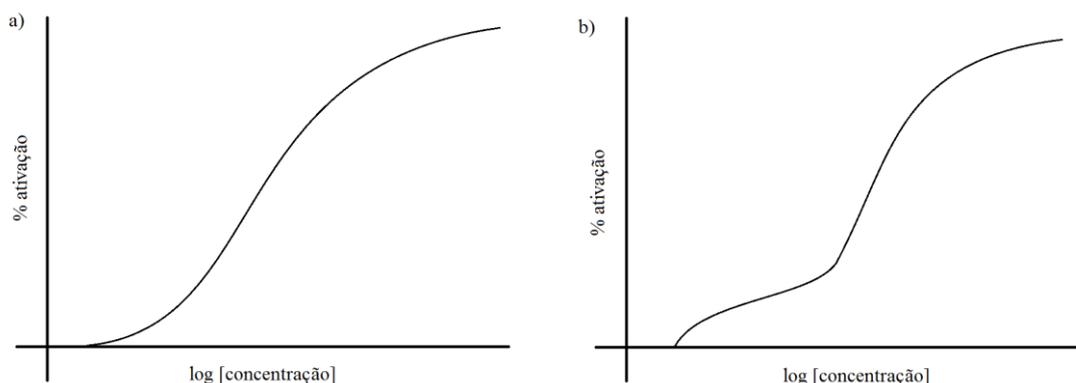


Figura 6. Curvas típicas de resposta monofásica (a) e bifásica (b)

Na **Figura 7** estão representados alguns compostos bioativos que atuam nos nAChRs $\alpha 4\beta 2$. A epibatidina (**26**) é um alcaloide que ocorre naturalmente na pele de sapos da espécie *Epipedobates tricolor* nativos do Equador.⁵⁰ A substância é tóxica, com propriedades analgésicas atribuídas à interação com os nAChRs $\alpha 4\beta 2$ e causando paralisia através da interação com os mAChRs, podendo ser letal. A toxicidade acentuada da epibatidina (**26**) e sua baixa seletividade entre os nAChRs impossibilitou a

sua utilização para fins terapêuticos, mas a substância é largamente utilizada em diversos estudos acadêmicos, como análises de deslocamento de radioligantes, estudos da relação estrutura-atividade de análogos de **26** e avaliação das propriedades farmacológicas desses análogos.^{33,51-53} O fármaco vareniclina (Champix®, Chantix®) (**27**) é um agonista parcial dos nAChRs $\alpha 4\beta 2$ sintetizado por Coe e colaboradores⁵⁴, inspirado no produto natural (-)-citisina, que diminui a liberação de dopamina induzida por

nicotina e induz a baixa liberação deste neurotransmissor no período de abstinência, obtendo aprovação para ser comercializado na Europa e EUA no ano de 2006 pela empresa farmacêutica Pfizer®.⁴⁶ O fármaco **27** é um agonista total dos nAChRs dos subtipos $\alpha 7$ e $\alpha 4\beta 4$ e parcial do subtipo $\alpha 3\beta 4$.^{55,56} Atualmente, a vareniclina (**27**) e a bupropiona (Zyban®) são os únicos fármacos que não contém nicotina (**3**) aprovados pelo FDA para o tratamento da dependência da nicotina (**3**).

O composto TC-8831 (**28**) é um agonista dos nAChRs $\alpha 4\beta 2$ e $\alpha 6/\alpha 3\beta 2\beta 3$ sintetizado por STRACHAN *et al.*, (2014)⁵⁷ que apresenta boa afinidade por ambos os receptores ($K_i = 3$ e 21 nM, respectivamente) (Figura 7). Estudos realizados em primatas indicam que **28** tem efeitos positivos no tratamento das discinesias induzidas por levodopa comumente presentes durante a utilização desse medicamento para o tratamento do

mal de Parkinson.^{58,59} O composto neonicotínico (**29**) foi sintetizado por FAUNDEZ-PARRAGUES *et al.*, (2013)⁴⁵, apresentando boa inibição dos nAChRs $\alpha 4\beta 2$, mas com baixa seletividade entre os subtipos desse receptor. Apresenta também baixa afinidade pelos nAChRs $\alpha 7$ ($Cl_{50} = 2,6 \mu M$). A sazetidina-A (**30**) é um agonista seletivo dos nAChRs $\alpha 4\beta 2$ que possui efeito analgésico e antidepressivo.^{60,61} O composto apresenta atividade agonista total no receptor $(\alpha 4\beta 2)_2\beta 2$ e pouca atividade agonista no receptor $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 4$. Especula-se que a substância converta boa parte dos receptores $(\alpha 4\beta 2)_2\beta 2$ altamente sensíveis para o estado dessensibilizado após uma exposição curta, sendo este o mecanismo responsável por seu longo efeito *in vivo*.⁶² Há evidências de que parte da liberação dopaminérgica provocada pela sazetidina-A (**29**) ocorra devido a ativação de nAChRs $\alpha 6\beta 2^*$.⁶³

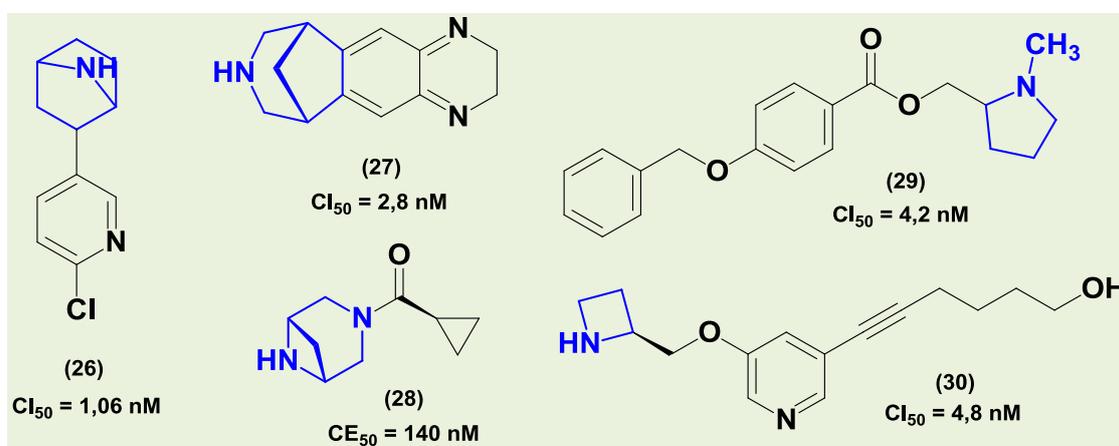


Figura 7. Estrutura química dos compostos bioativos **26**⁶⁴, **27**⁵⁵, **28**⁵⁷, **29**⁴⁵, **30**⁶⁵, os quais atuam nos nAChRs $\alpha 4\beta 2$

Tomando como ponto de partida o éster neonicotínico (**31**), análogo da molécula **29**, tem-se representada na Figura 8 algumas modificações realizadas por Faundez-Parragues e colaboradores⁴⁵ a respeito das quais podem ser feitas algumas considerações sobre a relação estrutural-atividade entre **31** e seus análogos estruturais e o receptor alvo (nAChR $\alpha 4\beta 2$). Primeiramente, os compostos sintetizados

apresentam afinidade e atividade muito maiores no receptor heteromérico $\alpha 4\beta 2$ do que no receptor homomérico $\alpha 7$ (K_i e $Cl_{50} > 1000 \text{ nM}$ para todos os compostos). Isso se deve provavelmente à subunidade N-metilpiperidina (em azul), também presente na nicotina (**3**), que em pH fisiológico se encontra protonada e pode interagir com o receptor nAChR $\alpha 4\beta 2$ através de interações cátion- π . As substituições realizadas sugerem

que a interação entre o receptor e a região destacada da molécula **31** é de caráter hidrofóbico, uma vez que as alterações que introduziram substituintes de maior hidrofiliidade, como a quinolina **37**, piridinas substituídas **36** e **38** e nitrobenzeno **32** levaram a menores afinidades e potência. Substituições do grupo benzeno por subunidades mais hidrofóbicas produziram compostos com afinidade e potência igual ou maior, como pode ser observado para os compostos **29**, **34** e **35**.

O composto **33** em particular apresentou comportamento incompatível com o dos demais compostos dessa série, uma vez que a 3-fenilamina possui maior hidrofiliidade quando comparada ao benzeno. Logo, além de interações hidrofóbicas, a presença de um potencial doador e aceptor de ligações de hidrogênio favorece uma interação entre o composto e o receptor alvo, possibilidade esta que pode ser reforçada ao observarmos que o composto de maior afinidade dessa série, **29**, possui um oxigênio aceptor de ligação de hidrogênio em uma posição próxima à do nitrogênio da molécula **33**.

Interessantemente, alguns dos compostos sintetizados apresentaram potência inibitória diferenciada em relação às estequiometrias possíveis do receptor alvo. A molécula **31** apresenta maior potência inibitória para a estequiometria $(\alpha 4\beta 2)_2\beta 2$ (2,5 μM) do que para as estequiometrias $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 4$ (313 μM) e $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 5$ (52,3 μM). Substituindo o grupo benzeno pelo grupo 3-fenilamina **33** obtém-se uma pequena diminuição da inibição para o receptor $(\alpha 4\beta 2)_2\beta 2$ (4,3 μM), uma grande redução de atividade para a estequiometria $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 5$ (480 μM) e um aumento significativo para a estequiometria $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 5$ (1,02 μM). O composto **35** apresenta uma baixa afinidade para o receptor $(\alpha 4\beta 2)_2\beta 2$ (3,6 μM) em comparação com **31** e aumento significativo para as estequiometrias $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 5$ (6,0 μM) e $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 4$ (95 μM). Por fim, a molécula **29** apresentou aumento de inibição para as estequiometrias $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 4$ (3,6 μM) e $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 5$ (17,8 μM) e diminuição para o receptor $(\alpha 4\beta 2)_2\beta 2$ (25,8 μM) em comparação com **31**.

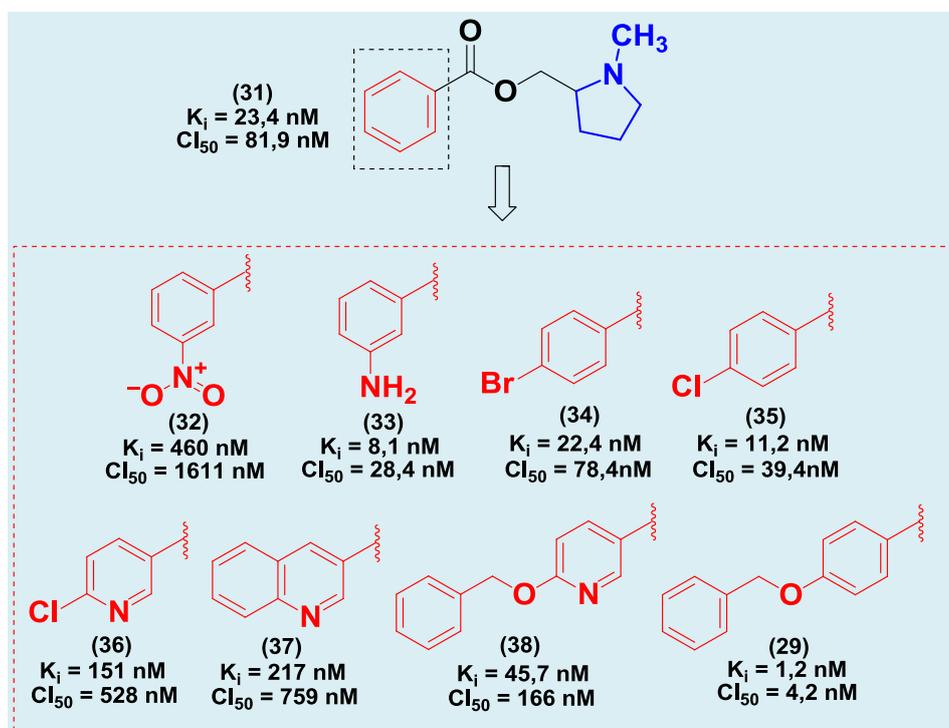


Figura 8. Modificações realizadas por FAUNDEZ-PARRAGUES *et al.*, (2013)⁴⁵ no composto neonicotínico (**31**) e seus respectivos valores de K_i e Cl_{50} para o nAChR $\alpha 4\beta 2$

4. A relação estrutura-atividade de ligantes de receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) do subtipo $\alpha 3\beta 4$

Os nAChRs subtipo $\alpha 3\beta 4$ estão localizados principalmente nas regiões do gânglio sensorial e autônomo, na habênula medial e núcleo interpeduncular.^{56,66,67} Estudos feitos com roedores, envolvendo agonistas e antagonistas parciais, indicam que esse receptor pode estar associado com dependência de diversas drogas de abuso, como nicotina, álcool, cocaína e metanfetamina.^{56,67,68} Também existem evidências de que esse receptor está envolvido no mecanismo que causa diminuição de apetite em tabagistas, sendo este um possível alvo para o planejamento de fármacos de controle de peso e antiobesidade.⁶⁹

As estruturas de alguns compostos bioativos que atuam nos nAChRs $\alpha 3\beta 4$ estão representadas na **Figura 9**. O composto **39**⁷⁰ é um antagonista dos nAChRs $\alpha 3\beta 4$ análogo da bupropiona, um fármaco utilizado no tratamento da dependência de nicotina e como antidepressivo. A substância **39** é um inibidor de recaptção de dopamina e norepinefrina mais potente do que a molécula base, sugerindo possível atividade antidepressiva. Apresenta também Cl_{50} no receptor $\alpha 3\beta 4$ menor (0,62 μ M) do que o bupropiona (1,8 μ M). O composto **40** é uma quinuclidina substituída disponível comercialmente cujas propriedades farmacológicas foram avaliadas por Kombo e colaboradores.⁷⁰ Ademais, **40** é um antagonista não competitivo dos nAChRs $\alpha 3\beta 4$ que também apresenta propriedades

anti-histamínicas semelhantes a antagonistas de histamina com estrutura similar, como a quifenadina (Fenkarol®).

O composto **41** foi sintetizado por Yu e colaboradores⁷¹ como um agonista dos nAChRs $\alpha 4\beta 2$ ($K_i = 4,6$ nM), apresentando maior afinidade e atividade sobre esse receptor do que nos nAChRs $\alpha 3\beta 4$. Estudos com roedores mostraram que o composto apresenta boa atividade antidepressiva e testes farmacocinéticos não fornecem dados relacionados a toxicidade. OAT-1001 (**42**) foi o primeiro composto a apresentar boa afinidade e seletividade pelos nAChRs $\alpha 3\beta 4$ em relação aos demais nAChRs.⁷² A substância **42** é um agonista parcial nos nAChRs $\alpha 3\beta 4$ que causa dessensibilização do receptor em concentrações nas quais provoca uma corrente interna, gerando um efeito global antagonista, o que classifica o composto como um antagonista funcional desse receptor.^{56,73} A substância **42** e seus análogos são candidatos em potencial para o tratamento da dependência em nicotina (**1**). O composto RegIIA (**43**) é uma α -Ctx presente no veneno do gastrópode *Conus regius* que antagoniza os nAChRs $\alpha 3\beta 4$. Essa toxina **43** também afeta o subtipo $\alpha 7$, mas não tem efeito em receptores do subtipo $\alpha 4\beta 2$. Adicionalmente, **43** apresenta uma sequência de aminoácidos praticamente idêntica a sequência da toxina OmIA da espécie *Conus omnia*, diferindo apenas na presença de um resíduo de glicina adicional na região C-terminal da OmIA. Essa pequena diferença confere as toxinas perfis de seletividade distintos. Essa toxina é uma ferramenta em potencial para o estudo das funções do receptor $\alpha 3\beta 4$ nos mecanismos envolvidos no desenvolvimento da dependência da nicotina, uma vez que não interage com os nAChRs do subtipo $\alpha 4\beta 2$.

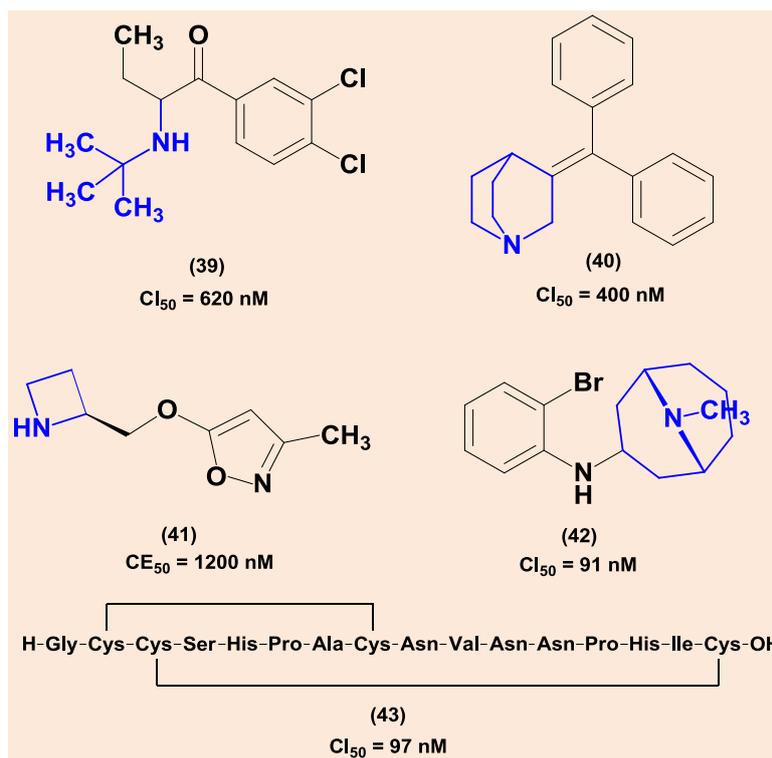


Figura 9. Estrutura química dos compostos bioativos **39**⁷⁴, **40**⁷⁰, **41**⁷¹, **42**⁵⁶, **43**⁷⁵, os quais atuam nos nAChRs $\alpha 3\beta 4$

A **Figura 10** apresenta uma série de compostos **44-54** sintetizados por Zaveri e colaboradores⁶⁶ que auxiliaram no entendimento da relação estrutura-atividade entre ligantes azabicíclicos e o receptor alvo (nAChRs $\alpha 3\beta 4$). A diidroindolinona substituída (**44**) (SR16584) apresenta alta afinidade pelo nAChRs $\alpha 3\beta 4$ e é seletiva para esse subtipo, sendo inativa frente ao subtipo $\alpha 4\beta 2$. A substituição da subunidade nonano aza-bicíclica de **44** por subunidades azepanobicíclicas **45** e **46** resultou em grande redução da afinidade pelo receptor alvo para **45** e em perda da afinidade para **46**, mantendo também a falta de afinidade pelo receptor $\alpha 4\beta 2$ em ambos os compostos ($K_i > 10.000$), provavelmente em decorrência de diferenças estéricas nesse biciclo, uma vez que o nitrogênio protonável dessa região estará localizado abaixo do plano do anel de seis membros, desfavorecendo as interações com o receptor. Além disso, é possível observar que a subunidade nonano aza-bicíclica apresenta interações mais favoráveis com o receptor do que a subunidade octano aza-bicíclica **49**, visto que também houve

uma diminuição considerável da afinidade pelo nAChRs $\alpha 3\beta 4$ em relação ao composto **44** e que a falta de afinidade pelo receptor $\alpha 4\beta 2$ se manteve inalterada. A substituição do grupo destacado em **44** por estruturas piperidínicas substituídas nos compostos **47** e **48** resultou em moléculas sem afinidade em ambos os receptores, indicando incompatibilidade desta subunidade estrutural frente ao receptor alvo.

A substituição da subunidade diidroindolinona (em vermelho) pela 3-piridina, juntamente com a incorporação de uma subunidade éster resultam em perda de afinidade pelo subtipo $\alpha 3\beta 4$, como pode ser observado no composto **50**. O composto **51** apresenta boa afinidade pelos subtipos $\alpha 3\beta 4$ e $\alpha 4\beta 2$ ($K_i = 10,4 \text{ nM}$), mas a substituição do grupo 3-piridina pelo grupo 3-quinolina **52** resulta em diminuição de afinidade por ambos os receptores ($K_i = 423 \text{ nM}$ para o subtipo $\alpha 4\beta 2$) devido a fatores estéricos. Nos compostos **53** e **54**, a substituição da 3-piridina **53** pela 3-quinolina **54**, simultaneamente com a troca da posição da

ligação dupla no anel azabíclico resultam em diminuição da afinidade para ambos os receptores, novamente por fatores estéricos, apesar da diminuição ser muito menos pronunciada para o subtipo $\alpha 4\beta 2$, pelo qual as moléculas apresentam elevada afinidade

($K_i = 1,95$ nM para **53** e $K_i = 29,3$ nM para **54**). Esses resultados, em conjunto com o par **51** e **52** sugerem que o sítio ortostérico do subtipo $\alpha 4\beta 2$ é capaz de acomodar ligantes um pouco mais volumosos do que o sítio do receptor $\alpha 3\beta 4$.

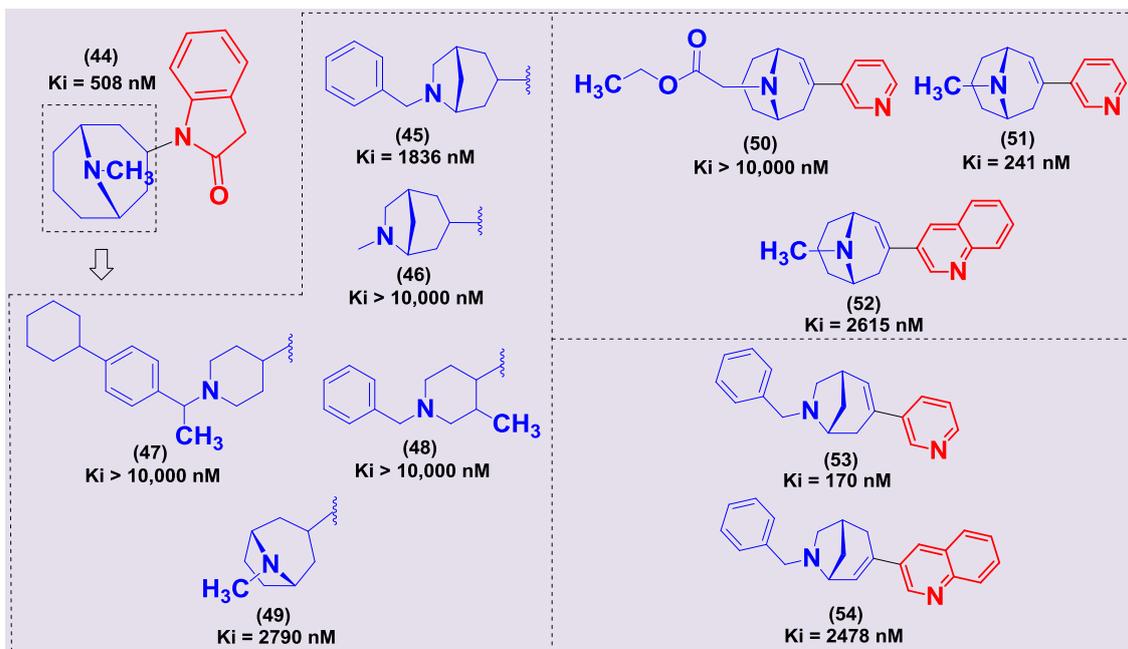


Figura 10. Modificações realizadas por ZAVERI et al., (2010)⁶⁶ no composto azabíclico (**41**) e seus respectivos valores de K_i

5. Conclusão

Os nAChRs neuronais dos subtipos $\alpha 7, \alpha 4\beta 2$ e $\alpha 3\beta 4$ são alvos promissores para o tratamento de diversas desordens do SNC, apresentando ampla quimiodiversidade de ligantes, variados resultados de bioatividade (K_i , Cl_{50} , EC_{50} , etc.), informações referentes a atividade intrínseca (agonista plena, agonista parcial e antagonista) e toxicidade, assim como sobre atuação nos sítios ortostéricos e alostéricos dos nAChRs. Estas informações podem ser utilizadas na obtenção de novos candidatos a fármacos mais promissores. Neste contexto, um dos desafios mais pertinentes envolvendo o estudo desses receptores é o desenvolvimento de compostos bioativos que sejam mais eficazes, seletivos e com problemas de toxicidades

reduzidos ou eliminados. No aspecto estrutural, a avaliação adequada da contribuição de cada subunidade do receptor ($\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 7$, $\beta 2$ e $\beta 4$) para a atividade de diferentes ligantes bioativos também merece destaque, visando a melhor compreensão da interação ligante-biorreceptor alvo de forma mais detalhada (nAChRs $\alpha 7, \alpha 4\beta 2$ e $\alpha 3\beta 4$).

Referências Bibliográficas

- Dani, J. A.; Bertrand, D. Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system. *Annual Reviews Pharmacology Toxicology* **2007**, *47*, 699. [CrossRef] [PubMed]

- ² Albuquerque, E. X.; Pereira, E. F. R.; Alkondon, M.; Rogers, S. W. Mammalian Nicotinic Acetylcholine Receptors: From Structure to Function. *Physiological Reviews* **2009**, *89*, 73. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³ Gotti, C.; Zoli, M.; Clementi, F. Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance. *Trends in Pharmacological Sciences* **2006**, *27*, 482. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴ Högger, P.; Sadée, W.; Laméh, J. The muscarinic acetylcholine receptors. *Biomembranes* **1996**, *2B*, 301. [[CrossRef](#)]
- ⁵ Hogg, R. C.; Raggenbass, M.; Bertrand, D. Nicotinic acetylcholine receptors: from structure to brain function. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* **2003**, *147*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶ Quik, M.; Zhang, D.; McGregor, M.; Bordia, T. Alpha7 nicotinic receptors as therapeutic targets for Parkinson's disease. *Biochemical Pharmacology* **2015**, *97*, 399. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷ Gotti, C.; Clementi, F.; Fornari, A.; Gaimarri, A.; Guiducci, S.; Manfredi, I.; Moretti, M.; Pedrazzi, P.; Pucci, L.; Zoli, M. Structural and functional diversity of native brain neuronal nicotinic receptors. *Biochemical Pharmacology* **2009**, *78*, 703. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸ Dineley, K. T.; Pandya, A. A.; Yakel, J. L. Nicotinic ACh receptors as therapeutic targets in CNS disorders. *Trends in Pharmacological Sciences* **2015**, *36*, 96. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹ Unwin, N. Refined structure of the nicotinic acetylcholine receptor at a 4 Å resolution. *Journal of Molecular Biology* **2005**, *346*, 967. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁰ Gotti, C.; Clementi, F. Neuronal nicotinic receptors: from structure to pathology. *Progress in Neurobiology* **2004**, *74*, 363. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹ Stokes, C.; Treinin, M.; Papke, R. L. Looking below the surface of nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences* **2015**, *36*, 514. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹² Auerbach, A. Activation of endplate acetylcholine receptors by agonists. *Biochemical Pharmacology* **2015**, *97*, 601. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³ Dajas-Bailador, F.; Wonnacott, S. Nicotinic acetylcholine receptors and the regulation of neuronal signaling. *Trends in Pharmacological Sciences* **2004**, *25*, 317. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴ Lax, P.; Fucile, S.; Eusebi, F. Ca²⁺ Permeability of human heteromeric nAChRs expressed by transfection in human cells. *Cell Calcium* **2002**, *32*, 53. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵ Nutter, T. J.; Adams, D. J. Monovalent and divalent cation permeability and block of neuronal nicotinic receptor channels in rat parasympathetic ganglia. *The Journal of General Physiology* **1995**, *105*, 701. [[PubMed](#)]
- ¹⁶ Gotti, C.; Moretti, M.; Gaimarri, A.; Zanardi, A.; Clementi, F.; Zoli, M. Heterogeneity and complexity of native brain nicotinic receptors. *Biochemical Pharmacology* **2007**, *74*, 1102. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁷ Hurst, R.; Rollema, H.; Bertrand, D. Nicotinic acetylcholine receptors: From basic science to therapeutics. *Pharmacology and Therapeutics* **2013**, *137*, 22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁸ Papke, R. L. Merging old and new perspectives on nicotinic acetylcholine receptors. *Biochemical Pharmacology* **2014**, *89*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁹ Chatzidaki, A.; Millar, N. S. Allosteric modulation of nicotinic acetylcholine receptors. *Biochemical Pharmacology* **2015**, *97*, 408. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁰ Deutsch, S. I.; Burket, J. A.; Urbano, R. M.; Benson, A. D. The α7 nicotinic acetylcholine receptor: A mediator of pathogenesis and therapeutic target in autism spectrum disorders and Down syndrome. *Biochemical Pharmacology* **2015**, *97*, 363. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²¹ Lombardo, S.; Maskos, U. Role of the nicotinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease pathology and treatment. *Neuropharmacology* **2015**, *96*, 255. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²² Wallace, T. L.; Bertrand, D. Neuronal α7 Nicotinic Receptors as a Target for the Treatment of Schizophrenia. *International Review of Neurobiology* **2015**, *124*, 79. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²³ Kutlu M. G.; Parikh V.; Gould, T. J. Nicotine Addiction and Psychiatric Disorders.

- International Review of Neurobiology* **2015**, *124*, 171. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁴ Quik, M.; Bordia, T.; Zhang D.; Perez, X. A. Nicotine and Nicotinic Receptor Drugs: Potential for Parkinson's Disease and Drug-Induced Movement Disorders. *International Review of Neurobiology* **2015**, *124*, 247. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁵ Jensen, A. A.; Frølund, B.; Liljefors, T.; Krosgaard-Larsen, P. Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors: Structural Revelations, Target Identifications and Therapeutic Inspirations. *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, *48*, 4705. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁶ Billen, B.; Spurny, R.; Brams, M.; van Elk, R.; Valera-Kummer, S.; Yakel, J. L.; Voets, T.; Bertrand, D.; Smit, A. B.; Ulens, C. Molecular actions of smoking cessation drugs at $\alpha 4\beta 2$ nicotinic receptors defined in crystal structures of a homologous binding protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2012**, *109*, 9173. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁷ Bourne, Y.; Sulzenbacher, G.; Radic, Z.; Aráoz, R.; Reynaud, M.; Benoit, E.; Zakarian, A.; Servent, D.; Molgó, J.; Taylor, P.; Marchot, P. Marine macrocyclic imines, pinnatoxins A and G: structural determinants and functional properties to distinguish neuronal $\alpha 7$ from muscle $\alpha 1_2\beta\gamma\delta n$ AChRs. *Structure* **2015**, *23*, 1106. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁸ Spurny, R.; Debaveye, S.; Farinha, A.; Veys, K.; Vos, A. M.; Gossas, T.; Atack, J.; Bertrand, S.; Bertrand, D.; Danielson, U. H.; Tresadern, G.; Ulens, C. Molecular blueprint of allosteric binding sites in a homologue of the agonist-binding domain of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2015**, *112*, E2543. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁹ Kohlhaas, K. L.; Robb, H. M.; Roderwald, V. A.; Rueter, L. E. Nicotinic modulation of auditory evoked potential electroencephalography in a rodent neurodevelopmental model of schizophrenia. *Biochemical Pharmacology* **2015**, *97*, 482. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁰ Wang, J.; Kuryatov, A.; Sriram, A.; Jin, Z.; Kamenecka, T. M.; Kenny, P. J.; Lindstrom, J. An Accessory Agonist Binding Site Promotes Activation of $\alpha 4\beta 2$ *Nicotinic Acetylcholine Receptors. *The Journal of Biological Chemistry* **2015**, *290*, 13907. [CrossRef] [PubMed]
- ³¹ Cheng, Q.; Yakel, A. L. The effect of $\alpha 7$ nicotinic receptor activation on glutamatergic transmission in the hippocampus. *Biochemical Pharmacology* **2015**, *97*, 439. [CrossRef] [PubMed]
- ³² Koukouli, F.; Maskos, U. The multiple roles of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor in modulating glutamatergic systems in the normal and diseased nervous system. *Biochemical Pharmacology* **2015**, *97*, 378. [CrossRef] [PubMed]
- ³³ Ulens, C.; Akdemir, A.; Jongejan, A.; van Elk, R.; Bertrand, S.; Perrakis, A.; Leurs, R.; Smit, A. B.; Sixma, T. K.; Bertrand, D.; de Esch, J. P. Use Of Acetylcholine Binding Protein In The Search For Novel $\alpha 7$ Nicotinic Receptor Ligands. In Silico Docking, Pharmacological Screening, And X-Ray Analysis. *Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *52*, 2372. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁴ Sítio Adis Insight. Disponível em <<http://adisinsight.springer.com/drugs/800026693>>. Acesso em: 20 janeiro 2016.
- ³⁵ Gotti, C.; Balestra, B.; Moretti, M.; Rovati, G. E.; Maggi, L.; Rossoni, G.; Berti, F.; Villa, L.; Pallavicini, M.; Clementi, F. 4-oxystilbene compounds are selective ligands for neuronal nicotinic acetylcholine α Bungarotoxin receptors. *British Journal of Pharmacology* **1998**, *124*, 1197. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁶ Di Angelantonio, S.; Nistri, A.; Moretti, M.; Clementi, F.; Gotti, C. Antagonism of nicotinic receptors of rat chromaffin cells by *N,N,N*-trimethyl-1-(4-trans-stilbenoxy)-2-propylammonium iodide: a patch clamp and ligand binding study. *British Journal of Pharmacology* **2000**, *129*, 1771. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁷ Gotti, C.; Carbonnelle, E.; Moretti, M.; Zwart, R.; Clementi, F. Drugs selective for nicotinic receptor subtypes: a real possibility or a dream? *Behavioural Brain Research* **2000**, *113*, 183. [CrossRef] [PubMed]

- ³⁸ Zheng, G.; Zhang, Z.; Dowell, C.; Wala, E.; Dwoskin, L. P.; Holtman, J. R.; McIntosh, J. M.; Crooks, P. A. Discovery of non-peptide, small molecule antagonists of $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptors as novel analgesics for the treatment of neuropathic and tonic inflammatory pain. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2011**, *21*, 2476. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁹ Whiteaker, P.; Christensen, S.; Yoshikami, D.; Dowell, C.; Watkins, M.; Gulyas, J.; River, J.; Olivera, B. M.; McIntosh, J. M. Discovery, Synthesis, And Structure Activity of a Highly Selective $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Antagonist. *Biochemistry* **2007**, *46*, 6628. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁰ Innocent, N.; Livingstone, P. D.; Hone, A.; Kimura, A.; Young, T.; Whiteaker, P.; McIntosh, J. M.; Wonnacott, S. α Conotoxin ArlB[V11L, V16D] is a potent and selective antagonist at rat and human native $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2008**, *327*, 529. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴¹ Mazurov, A. A.; Speake, A. D.; Yohannes, D. Discovery and Development of $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Modulators. *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *54*, 7943. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴² Mazurov, A.; Klucik, J.; Miao, L.; Phillips, T. Y.; Seamans, A.; Schmitt, J. D.; Hauser, T. A.; Johnson, R. T.; Miller, C. 2-(Arylmethyl)-3-substituted quinuclidines as selective $\alpha 7$ nicotinic receptor ligands. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2005**, *15*, 2073. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴³ Mazzaferro, S.; Benallegue, N.; Carbone, A.; Gasparri, F.; Vijayan, R.; Biggin, P. C.; Moroni, M.; Bermudez, I. Additional Acetylcholine (ACh) Binding Site at $\alpha 4/\alpha 4$ Interface of $(\alpha 4\beta 2)_2\alpha 4$ Nicotinic Receptor Influences Agonist Sensitivity. *The Journal of Biological Chemistry* **2011**, *286*, 31043. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁴ Nelson, M. E.; Kuryatov, A.; Choi, C. H.; Zhou, Y.; Lindstrom J. Alternate Stoichiometries of $\alpha 4\beta 2$ Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Molecular Pharmacology* **2003**, *63*, 332. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁵ Faundez-Parraguez, M.; Farias-Rabelo, N.; Gonzalez-Gutierrez, J. P.; Etcheverry-Berrios, A.; Alzate-Morales, J.; Adasme-Carreño, F.; Varas, R.; Bermudez, S.; Iturriaga-Vasquez, P. Neonicotinic analogues: Selective antagonists for $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors. *Bioorganic Medicinal Chemistry* **2013**, *21*, 2687. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁶ Niaura, R.; Jones, C. J.; Kirkpatrick, P. Varenicline. *Nature Reviews Drug Discovery* **2006**, *5*, 537. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁷ Son, C. D.; Moss, F. J.; Cohen, B. N.; Lester, H. A. Nicotine Normalizes Intracellular Subunit Stoichiometry of Nicotinic Receptors Carrying Mutations Linked to Autosomal Dominant Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy. *Molecular Pharmacology* **2009**, *75*, 1137. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁸ Harpsøe, K.; Ahring, P. K.; Christensen, J. K.; Jensen, M. L.; Peters, D.; Balle, T. Unraveling the High-and Low-Sensitivity Agonist Responses of Nicotinic Acetylcholine Receptors. *The Journal of Neuroscience* **2011**, *31*, 10759. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁹ Grupe, M.; Grunnet, M.; Bastlund, J. F.; Jensen, A. A. Targeting $\alpha 4\beta 2$ Nicotinic Acetylcholine Receptors in Central Nervous System Disorders: Perspectives on Positive Allosteric Modulation as a Therapeutic Approach. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* **2015**, *116*, 187. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁰ Gerzanich, V.; Peng, X.; Wang, F.; Wells, G.; Anand, T.; Fletcher, S.; Lindstrom J. Comparative Pharmacology of Epibatine: A Potent Agonist for Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Molecular Pharmacology* **1995**, *48*, 774. [[PubMed](#)]
- ⁵¹ Dallanoce, C.; Matera, C.; Pucci, L.; Gotti, C.; Clementi, F.; De Amici, M.; De Micheli, C. Synthesis and binding affinity at $\alpha 4\beta 2$ and $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors of new analogs of epibatidine and epiboxidine containing the 7-azabicyclo[2.2.1]hept-2-ene ring system. *Bioorganic & Medicinal Letters* **2012**, *22*, 829. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵² Mu, L.; Drandarov, K.; Bisson, W. H.; Schibig, A.; Wirz, C.; Schubiger, P. A.; Westera, G. Synthesis and binding studies of epibatidine analogues as ligands for the nicotinic acetylcholine receptors. *European*

- Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, *41*, 640. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵³ Caroll, F. I. Epibatine structure-activity relationships. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, *14*, 1889. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁴ Coe, J. W.; Brooks, P. R.; Vetelino, M. G.; Wirtz, M. C.; Arnold, E. P.; Huang, J.; Sands, S. B.; Davis, T. I.; Lebel, L. A.; Fox, V. B.; Shrikhande, A.; Heym, J. H.; Shaeffer, E.; Rollema, H.; Lu, Y.; Mansbach, R. S.; Chambers, L. K.; Rovetti, C. C.; Shulz, D. W.; Tingley, F. D.; O'Neill, B. T. Varenicline: An $\alpha 4\beta 2$ Nicotinic Receptor Partial Agonist for Smoking Cessation. *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, *48*, 3474. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁵ Arias, H. R.; Feuerbach, D.; Targowska-Duda, K.; Kackzor, A. A.; Poso, A.; Jozwiak, K. Pharmacological and molecular studies on the interaction of varenicline with different nicotinic acetylcholine receptor subtypes. Potential mechanism underlying partial agonism at human $\alpha 4\beta 2$ and $\alpha 3\beta 4$ subtypes. *Biochemica et Biophysica Acta - Biomembranes* **2015**, *1848*, 731. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁶ Cippitelli, A.; Wu, J.; Gaiolini, K. A.; Mercatelli, D.; Schoch, J.; Gorman, M.; Ramirez, A.; Ciccocioppo, R.; Khroyan, T. V.; Yasuda, D.; Zaveri, N. T.; Pascual, C.; Xie, X.; Toll, L. AT-1001: A High-Affinity $\alpha 3\beta 4$ nAChR Ligand With Novel Nicotine-Suppressive Pharmacology. *British Journal of Pharmacology* **2015**, *172*, 1834. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁷ Strachan, J. P.; Kombo, D. C.; Mazurov, A.; Heemstra, R.; Bhatti, B. S.; Akiredt, R.; Murthy, S.; Miao, L.; Jett, J. E.; Speake, J.; Bencherif, M. Identification and pharmacological characterization of 3,6-diazabicyclo[3.1.1]heptane-3-carboxamides as novel ligands for the $\alpha 4\beta 2$ and $\alpha 6/\alpha 3\beta 2\beta 3$ nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs). *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *86*, 60. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁸ Johnston, T. H.; Hout, P.; Fox, S. H.; Koprach, J. B.; Szeliga, K. T.; Jamed, J. W.; Graef, J. D.; Letchworth, S. R.; Jordan, K. G.; Hill, M. P.; Brotchiem J. M. TC-8831, a nicotinic acetylcholine receptor agonist, reduces L-DOPA-induced dyskinesia in the MPTP macaque. *Neuropharmacology* **2013**, *73*, 337. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁹ Zhang, D.; Mallela, A.; Sohn, D.; Carrol, F. I.; Bencherif, M.; Letchworth, S.; Quik, M. Nicotinic Receptor Agonist Reduce L-DOPA-Induced Dyskinesias in a Monkey Model of Parkinson's Disease. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2013**, *347*, 225. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁰ Cucchiaro, G.; Xiao, Y.; Gonzales-Sulser, A.; Kellar, K. J. Analgesic Effects of Sazetidine-A, a New Nicotinic Cholinergic Drug. *Anesthesiology* **2008**, *109*, 512. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶¹ Kozikowski, A. P.; Eaton, J. B.; Bajjuri, K. M.; Chellapan, A. K.; Chen, Y.; Karadi, S.; He, R.; Caldarone, B.; Manzano, M.; Yuen, P. W.; Lukas, R. J. Chemistry and Pharmacology of Nicotinic Ligands Based on 6-[5-(Azetidino-2-ylmethoxy)pyridine-3-yl]hex-5-yn-1-ol (AMOP-H-OH) for Possible Use in Depression. *ChemMedChem* **2009**, *4*, 1279. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶² Xiao, Y.; Tuan, E.; Yasuda, R. P.; Sahibzada, N.; Wolfe, B. B.; Horton, L.; Tran, T.; Al-Muhtasib, N.; Iwueze, A. F.; Dipietro, J. R.; Xie, T.; Paige, M.; Brown, M. L.; Kellar, K. J. Pharmacological properties of sazetidine-A, a selective ligand of $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors. *Biochemical Pharmacology* **2011**, *82*, 1029. [[CrossRef](#)]
- ⁶³ Zwart, R.; Carbone, A. L.; Moroni, M.; Bermudez, S.; Mogg, A. J.; Folly, E. A.; Broad, L. M.; Williams, A. C.; Zhang, D.; Ding, C.; Heinz, B. A.; Sher, E. Sazetidine-A Is a Potent and Selective Agonist at Native and Recombinant $\alpha 4\beta 2$ Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Molecular Pharmacology* **2008**, *73*, 1838. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁴ Sun, Q.; Yue, C. Q.; Ye, J.; Li, C. L.; Cheng, T. M.; Li, R. T. Unique spirocyclopiperazinium salt III: Further investigation of monospirocyclopiperazinium (MSPZ) salts as potential analgesics. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2007**, *17*, 6245. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁵ Zhang, H.; Tückmantel, W.; Eaton, A. B.; Yuen, P. W.; Yu, L. F.; Bajjuri, K. M.; Fedolak,

- A.; Wang, D.; Ghavami, A.; Caldarone, B.; Paterson, N. E.; Lowe, D. A.; Brunner, D.; Lukas, R. J.; Kozikowski, A. P. Chemistry and Behavioral Studies Identify Chiral Cyclopropanes as Selective $\alpha 4\beta 2$ -Nicotinic Acetylcholine Receptor Partial Agonist Exhibiting an Antidepressant Profile. *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *55*, 717. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁶ Zaveri, N.; Jiang, F.; Olsen, C.; Polgar, W.; Toll, L. Novel $\alpha 3\beta 4$ Nicotinic Acetylcholine Receptor-Selective Ligands. Discovery, Structure-Activity Studies, and Pharmacological Evaluation. *Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *53*, 8187. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁷ Cippitelli, A.; Brunori, G.; Gaiolini, K. A.; Zaveri, N. T.; Toll, L. Pharmacological Stress Is Required For The Anti-Alcohol Effect Of The $\alpha 3\beta 4$ * Nachr Partial Agonist AT-1001. *Neuropharmacology* **2015**, *93*, 229. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁸ Glick, S. D.; Maisonneuve, I. M.; Kitchen, B. A.; Fleck, M. W. Antagonism of $\alpha 3\beta 4$ nicotinic receptors as a strategy to reduce opioid and stimulant self-administration. *European Journal of Pharmacology* **2002**, *438*, 99-105. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁹ Mineur, Y. S.; Abizaid, A.; Rao, Y.; Salas, R.; DiLeone, R. J.; Gündisch, D.; Diano, S.; De Biasi, M.; Horvath, T. L.; Gao, X. B.; Picciotto, M. R. Nicotine Decreases Food Intake Through Activation of POMC Neurons. *Science* **2011**, *332*, 1330 [CrossRef] [PubMed]
- ⁷⁰ Kombo, D. C.; Hauser, T. A.; Grinevich, V. P.; Melvin, M. S.; Strachan, J. P.; Sidach, S. S.; Chewing, J.; Fedorov, N.; Tallapragada, K.; Breining, S. R.; Mileer, C. H. Pharmacological properties and predicted binding mode of arylmethylequinuclidine-like derivatives at the $\alpha 3\beta 4$ nicotinic acetylcholine receptor (nAChR). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23*, 1450. [CrossRef] [PubMed]
- ⁷¹ Yu, L. F.; Tückmantel, W.; Eaton, J. B.; Caldarone, B.; Fedolak, A.; Hanania, T.; Brunner, D.; Lukas, R. J.; Kozikowski, A. P. Identification of Novel $\alpha 4\beta 2$ -Nicotinic Acetylcholine Receptor (nAChRs) Agonists Based on an Isoxazole Ether Scaffold that Demonstrate Antidepressant-like Activity. *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *55*, 812. [CrossRef] [PubMed]
- ⁷² Toll, L.; Zaveri, N. T.; Polgar, W. E.; Jiang, F.; Khroyan, T. V.; Zhou, W.; Xie, X.; Stauber, G. B.; Costello, M. R.; Leslie, F. M. AT-1001: A High Affinity and Selective $\alpha 3\beta 4$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Antagonist Blocks Nicotine Self-Administration in Rats. *Neuropsychopharmacology* **2012**, *37*, 1367. [CrossRef] [PubMed]
- ⁷³ Zaveri, N. T.; Bertrand, S.; Yasuda, D.; Bertrand, D. Functional Characterization of AT-1001, an $\alpha 3\beta 4$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Ligand. At Human $\alpha 3\beta 4$ and $\alpha 4\beta 2$ nAChR. *Nicotine and Tobacco Research* **2015**, *17*, 361 [CrossRef] [PubMed]
- ⁷⁴ Carroll, F. I.; Blough, B. E.; Mascarella, S. W.; Navarro, H. A.; Eaton, J. B.; Lukas, R. J.; Damaj, M. I. Synthesis and Biological Evaluation of Bupropion Analogues as Potential Pharmacotherapies for Smoking Cessation. *Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *53*, 2204. [CrossRef] [PubMed]
- ⁷⁵ Franco, A.; Kompella, S. N.; Akondi, K. B.; Melaun, C.; Daly, N. L.; Luetje, C. W.; Alewood, P. F.; Craik, D. J.; Adams, D. J.; Marí, F. RegIIA: An $\alpha 4/7$ -conotoxin from the venom of *Conus regius* that potently blocks $\alpha 3\beta 4$ nAChRs. *Biochemical Pharmacology* **2012**, *83*, 419. [CrossRef] [PubMed]