

Struktur und Funktion β -adrenerger Rezeptoren

Structure and function of β -adrenergic receptors

Cornelia Held, Ralf Kling, Peter Gmeiner

Lehrstuhl für Pharmazeutische Chemie, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

Zusammenfassung

β -Adrenerge Rezeptoren (β -Adrenozeptoren) sind wichtige Target-Proteine zur Behandlung weit verbreiteter Erkrankungen wie Bluthochdruck, Asthma bronchiale oder COPD. Die Erforschung von β -Adrenozeptoren als Modellsysteme für Neurotransmitter- und Hormon-aktivierte G-Protein-gekoppelte Rezeptoren liefert funktionelle und strukturelle Erkenntnisse, die eine effektivere rationale Wirkstoffentwicklung ermöglichen.

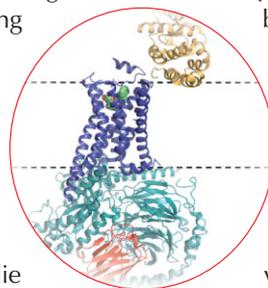
Abstract

β -adrenergic receptors (β -adrenoceptors) are important target proteins for the treatment of widespread diseases like hypertension, asthma or COPD. The elucidation and investigation of β -adrenoceptors serving as prototypes for neurotransmitter- and hormone-activated G protein-coupled receptors has provided both functional and structural insights facilitating a more effective rational drug design.

β -Adrenozeptor-Subtypen, deren Aufgaben und therapeutische Implikationen

Neben ihrer Funktion im Zentralen Nervensystem und auf Immunzellen spielen α - und β -adrenerge Rezeptoren (α -/ β -Adrenozeptoren) für die Kontrolle des Sympathikus eine wichtige Rolle. β -Adrenozeptoren, zu denen die Subtypen β_1 , β_2 und β_3 gehören, regulieren wichtige physiologische Vorgänge wie Herzschlag, Atmung und Fettstoffwechsel. Die Aktivierung von Adrenozeptoren erfolgt über die Katecholamine Adrenalin (Hormon) und Noradrenalin (Neurotransmitter) (Abb. 1). Die beiden Botenstoffe unterscheiden sich hierbei hinsichtlich ihrer Wirkstärke gegenüber den Rezeptor-Subtypen (Abb. 2) [1].

β_1 -adrenerge Rezeptoren beeinflussen die Herzfrequenz, die Kontraktilität sowie die Erregungsleitung des Herzens und führen darüber hinaus in der Niere zu einer Ausschüttung des Enzyms Renin. Im Gegensatz dazu sind **β_2 -Adrenozeptoren** vor allem in der glatten Muskulatur der Bronchien, der Blutgefäße und des Uterus zu finden, wobei ihre Aktivierung zu einer Erschlaffung der glatten Muskulatur im jeweiligen Organ führt. β_2 -Adrenozeptoren werden auch in lymphatischen Organen auf Immunzellen exprimiert und können so die Freisetzung verschiedener Zytokine beeinflussen [2]. **β_3 -adrenerge Rezeptoren** sind vor allem im braunen Fettgewebe lokalisiert und mit Lipolyse und Thermogenese assoziiert.



Insgesamt scheint keine ausschließlich organspezifische Verteilung der Rezeptorsubtypen vorzuliegen, sondern vielmehr eine unterschiedliche Dichte der Rezeptorsubtypen in den Organen. So kommen beispielsweise β_2 -Adrenozeptoren im Herzen etwa halb so häufig vor wie die dort vorherrschenden β_1 -adrenergen Subtypen [3].

β -Blocker werden wegen ihrer antagonistischen bzw. invers agonistischen Eigenschaften als Therapeutika bei Bluthochdruck und bei Herzinsuffizienz eingesetzt (Abb. 2). Die ersten Vertreter wie Propranolol zeigten kaum Subtypeselektivität und führten, vermittelt über eine Blockade von β_2 -Adrenozeptoren, zu Bronchospasmen. Um solche Nebenwirkungen zu vermeiden, wurden Derivate wie Metoprolol oder Bisoprolol (Abb. 1) entwickelt, die als β_1 -selektive Substanzen eingestuft werden. Neuere Untersuchungen zeigen jedoch, dass diese Selektivität relativ schwach ausgeprägt ist [4].

Die β_2 -Adrenozeptor-agonistischen β -Sympathomimetika werden vor allem zur Erweiterung der Bronchien bei Asthma bronchiale, Allergien und COPD eingesetzt (Abb. 2), wobei man zwischen kurz wirksamen (wie Salbutamol) und lang wirksamen Agonisten (wie Formoterol) unterscheidet (Abb. 1). Neu entwickelt werden ultralang wirksame Arzneistoffe wie Olodaterol (Abb. 1) [5], für dessen Zulassung sich der FDA-Ausschuss im Januar 2013 ausgesprochen hat [6]. β_3 -adrenerge Wirkstoffe sind zur Behandlung von Adipositas

geeignet, allerdings sind noch keine Arzneistoffe aus dieser Klasse zugelassen (Abb. 2).

Sequenzunterschiede

β -Adrenozeptoren gehören zur Superfamilie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCR), einer Klasse von Membranproteinen, die für die Wirkung von ca. 30 % der zugelassenen Arzneistoffe verantwortlich ist. Die Sequenzidentitäten der humanen β -Subtypen betragen 43 % zwischen dem β_1 - und dem β_2 -Adrenozeptor, 46 % zwischen β_1 und β_3 sowie 40 % zwischen den Rezeptoren β_2 und β_3 (Abb. 3). Deutlich höhere Homologien sind für die transmembranären Bereiche (68 % für β_1/β_2 , 64 % für β_1/β_3 und 59 % für β_2/β_3) und die Ligand-Bindetaschen (83 % für β_1/β_2 , 76 % für β_1/β_3 und 69 % für β_2/β_3) beschrieben. Dies zeigt die Schwierigkeit bei der Erforschung hochselektiver Wirkstoffe, die zwischen den Subtypen β_1 und β_2 stark differenzieren. Interessanterweise zeigen die extrazellulären Schleifenregionen (EL1-3) größere Variationen in ihren Aminosäuresequenzen. Hier bestehen pharmazeutisch hochrelevante Entwicklungsmöglichkeiten für ein gezieltes Design subtypelektiver, allosterischer Modulatoren oder so genannter bitopischer Liganden, die sowohl die klassische orthosterische als auch eine wenig konservierte allosterische Bindungstasche adressieren [7].

β -Adrenozeptoren sind G-Protein-gekoppelte Rezeptoren

GPCRs sind aus sieben transmembranären α -Helices aufgebaut, die über drei extrazelluläre (EL1-3) und drei intrazelluläre (IL1-3) *Loops* (Schleifen) miteinander verbunden sind. β -adrenerge Rezeptoren spielen bei der Erforschung dieser Membranproteine eine entscheidende Rolle. So diente der β_2 -Adrenozeptor bereits sehr früh als Prototyp Hormon-aktivierter GPCRs, mit dessen Klonierung und Sequenzierung in den 1980er Jahren gezeigt werden konnte, dass GPCRs eine Struktur-analoge Proteinfamilie bilden [8]. Einige der ersten Radioliganden wurden für β -Adrenozeptoren entwickelt, wodurch diese in Zellen und Geweben identifiziert und charakterisiert werden konnten [9, 10]. Mithilfe von spezifischen Radioliganden konnte weiterhin die Affinität zahlreicher β -adrenerger Wirkstoffe untersucht sowie deren Wirkung charakterisiert werden.

Mithilfe der Röntgenstrukturanalyse können Arzneistoff-relevante GPCRs seit wenigen Jahren hochauflö-

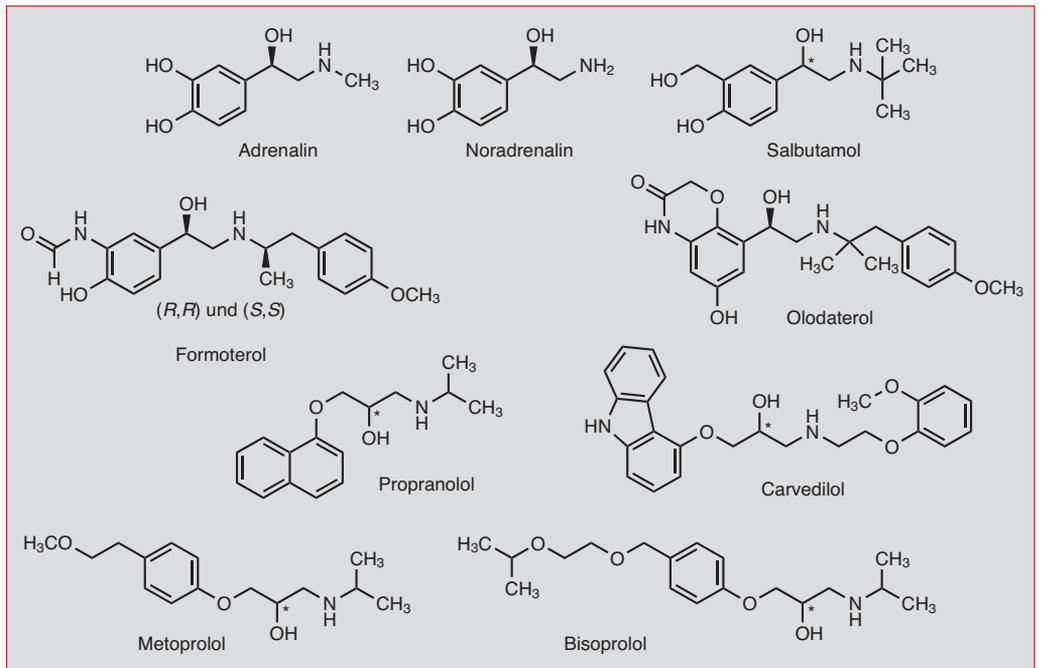


Abb. 1 Ausgewählte β -Adrenozeptor-Agonisten und -Antagonisten.

send dargestellt werden. Auch dieser Fortschritt gelang zuerst mit β -Adrenozeptoren. Maßgeblich dafür sind die brillanten Arbeiten von Brian Kobilka, der dafür 2012 mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichnet wurde. Die erfolgreiche Kristallisation des humanen β_2 -Adrenozeptors im Komplex mit dem Antagonisten Carazolol im Jahre 2007 gilt als Meilenstein bei der Erforschung G-Protein-gekoppelter Rezeptoren [11-13]. 2008 wurde die erste Kristallstruktur des β_1 -adrenergen Rezeptors (aus *Meleagris gallopavo*) publiziert (Abb. 4) [14]. Um die Struktur der instabilen GPCRs im Kristall zu stabilisieren, mussten die hochgradig flexiblen N- und C-terminalen Bereiche der Rezeptoren gekürzt werden. Im Falle des β_1 -Adrenozeptors wurden darüber hinaus thermostabilisierende Mutationen eingebracht, während im Falle des β_2 -Adrenozeptors zunächst Antikörperfrag-

β -adrenerge Rezeptoren		
β_1 -Adrenozeptor	β_2 -Adrenozeptor	β_3 -Adrenozeptor
		
im Herzen / in der Niere	in der glatten Muskulatur	im Fettgewebe
Noradrenalin \geq Adrenalin	Adrenalin > Noradrenalin	Noradrenalin > Adrenalin
Antagonisten als β -Blocker	Agonisten als β -Sympathomimetika	–
bei Bluthochdruck / Herzinsuffizienz	bei Asthma bronchiale / COPD	potenzielle Wirkstoffe gegen Adipositas

Abb. 2 β -adrenerge Rezeptorsubtypen in der Übersicht.

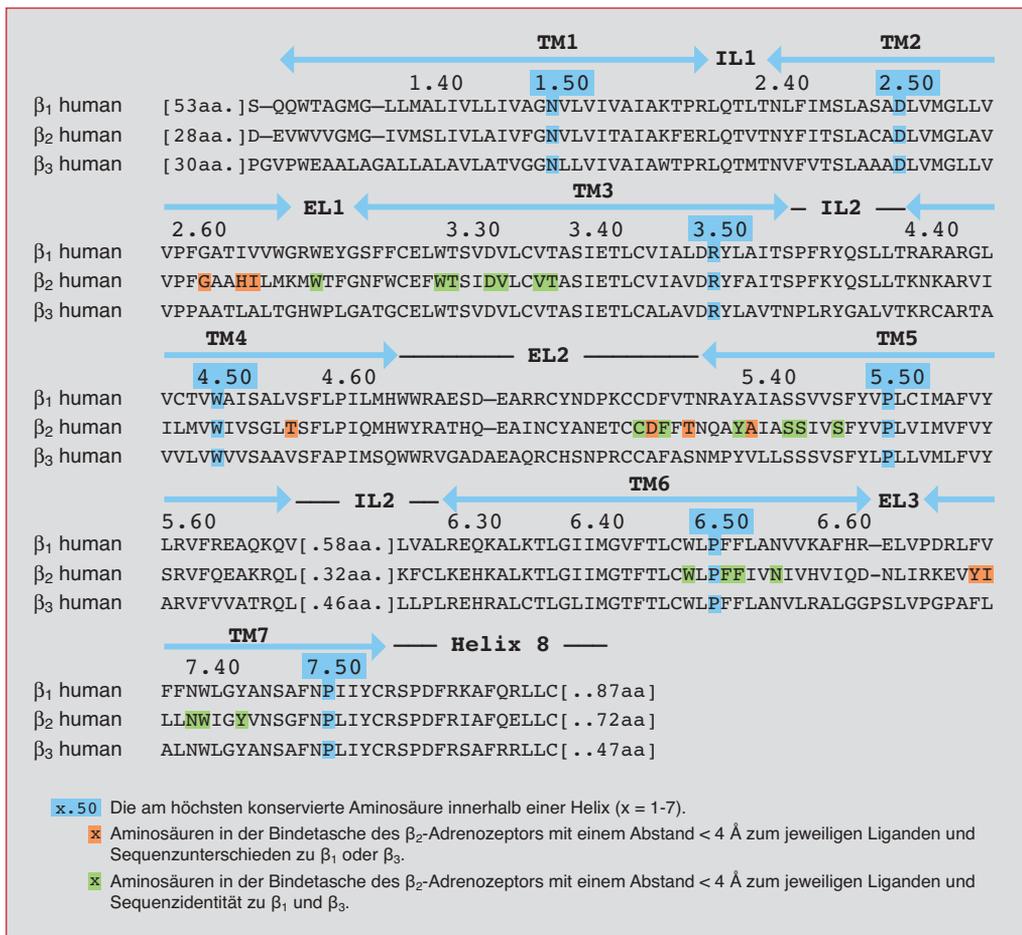


Abb. 3 Sequenzvergleich der β -adrenergen Rezeptorsubtypen. Die Kennzeichnung der Aminosäuren in den helikalen Bereichen erfolgt nach der so genannten Ballersteros-Weinstein-Nomenklatur. Dabei wird die Helix-Nummer mit einem Punkt von der Position in der Helix abgetrennt und relativ zur höchstkonservierten Aminosäure beziffert. Die höchst konservierte Aminosäure erhält die Zahl 50.

mente zur Bindung und Stabilisierung des intrazellulären Loop 3 (IL3) zum Einsatz kamen. Höhere Auflösung gelang durch den Austausch von IL3 gegen das gut kristallisierende Protein T4-Lysozym. Im Laufe der letzten Jahre konnten sowohl für den β_1 -Adrenozeptor [15-17] als auch für den humanen β_2 -Adrenozeptor [18-20] Kristallstrukturen mit Antagonisten/inversen Agonisten, Partialagonisten sowie Agonisten erhalten werden.

Besonders schwierig zeigte sich der Zugang zu einer Agonist-gebundenen Form des Rezeptors. Dies hängt damit zusammen, dass Agonisten geringere Affinitäten zeigen und die konformative Beweglichkeit des Rezeptors weniger einschränken als Antagonisten. Erst durch die Verwendung eines maßgeschneiderten, irreversibel bindenden Agonisten konnte die erste Agonist-gebundene Kristallstruktur aufgelöst werden [20]. Weitere Forschungstätigkeiten von Brian Kobilka und seinem internationalen Team waren der Aufklärung des so genannten ternären Komplexes, bestehend aus Rezeptor, G-Protein und Agonist, gewidmet. Dabei gelang unter Verwendung eines G-Protein-imitierenden *Nanobody*

(Antikörper von Lamas, der nur eine schwere Kette besitzt) im Jahr 2011 die Kristallisation des humanen β_2 -Adrenozeptors in einer aktiven Rezeptorkonformation [21]. Im gleichen Jahr konnte Kobilka die Struktur eines Agonist-gebundenen β_2 -Adrenozeptors im Komplex mit seinem nativen G_s -Protein auflösen [22].

Aktivierung von β -Adrenozeptoren

GPCRs zeichnen sich durch eine hohe Beweglichkeit aus, wobei im Ligand-freien Zustand ein dynamisches Gleichgewicht vorliegt zwischen inaktiven Konformationen und transient auftretenden Aktiv-Konformationen, die in der Lage sind, G-Proteine zu binden und diese zu stimulieren. Dieses als Basalaktivität bekannte Verhalten ist auch bei β -Adrenozeptoren zu beobachten. Die Bindung eines Agonisten führt dazu, dass die Fähigkeit des Rezeptors, G-Proteine zu binden, erhöht wird. Erst durch die Assoziation des G-Proteins wird der Rezeptor in einem konformativ unterschiedlichen Aktivzustand stabilisiert. Die Bindung des G-Proteins wiederum sorgt dafür, dass die Dissoziation des Agonisten verzögert und dadurch die Ligand-Affinität im

ternären Komplex signifikant erhöht wird (Abb. 4) [22]. Die Kristallstruktur des ternären Komplexes, bestehend aus β_2 -Adrenozeptor, G_s -Protein und hochaffinem Agonisten (BI-167107), zeigt somit den kritischen Moment bei der G-Protein-vermittelten Signaltransduktion.

Ein Vergleich der Rezeptorkonformation im ternären Komplex mit der Struktur des inaktiven β_2 -Adrenozeptors, gebunden an den Antagonisten Carazolol, offenbart strukturelle Veränderungen bei der Aktivierung des Rezeptors (Abb. 5). So führt die Bindung des Agonisten über Interaktionen mit den Aminosäuren Ser5.42 und Ser5.46 zu einer geringfügigen Bewegung der Helix 5 in Richtung Rezeptor-Bindetasche. Diese Bewegung steht über einen hydrophoben Schalter (Ile3.40, Pro5.50, Phe6.44) im Zusammenhang mit ausgeprägten intrazellulären Umlagerungen, die eine Auswärtsbewegung von Helix 6 sowie eine Einwärtsbewegung von Helix 7 umfassen und schließlich eine Bindung unterschiedlicher intrazellulärer Bindungspartner ermöglichen. Die Kontaktfläche zur α -Untereinheit des G-Proteins wird von IL2, den N- und C-terminalen Bereichen

von IL3 sowie den intrazellulären Regionen der Helices 3, 5 und 6 gebildet.

Signaltransduktion bei β -Adrenozeptoren

GPCR-gesteuerte Signaltransduktion kann sowohl über G-Proteine als auch über G-Protein-unabhängige Mechanismen erfolgen (Abb. 6) [23]. So führt die Bindung Agonist-aktivierter GPCRs an heterotrimeren G-Proteine zu einem Austausch von GDP durch GTP, was zur Dissoziation des G-Proteins in die Untereinheiten $G\alpha$ und $G\beta\gamma$ führt. Während $G\beta\gamma$ hauptsächlich die Funktion von Ionenkanälen beeinflusst, interagieren $G\alpha$ -Untereinheiten von G_s -Proteinen mit membranständiger Adenylatzyklase und stimulieren deren Funktion, sodass eine verstärkte Bildung des „Second messenger“ cAMP aus ATP beobachtet wird. Bei einer über die α -Untereinheiten von G_i vermittelten Reaktion wird die Adenylatzyklase inhibiert. Die Hydrolyse von GTP durch $G\alpha$ führt zur Reassoziierung der Untereinheiten zum heterotrimeren G-Protein, das erneut Rezeptoren binden kann. β -adrenerge Rezeptoren sind mit G_s , dem Adenylatzyklase-stimulierenden Protein, gekoppelt. Manche GPCRs sind jedoch in der Lage unterschiedliche G-Proteine zu aktivieren [24]. So spielt bei β -adrenergen Rezeptoren auch eine Kopplung an das Pertussistoxin-sensitive G_i eine Rolle [25-27].

Eine Ligand-induzierte Stimulation von GPCRs kann nicht nur zur Aktivierung heterotrimerer G-Proteine führen, sondern auch zu einer Signalgebung, die über eine Rekrutierung des funktionellen Proteins Arrestin abläuft. Dies trifft auch für β -adrenerge Rezeptoren zu, die mit den Subtypen β -Arrestin 1 und β -Arrestin 2 wechselwirken. Arrestine sind multifunktionale Adapterproteine, die intrazellulär an GPCRs binden, die durch G-Protein-gekoppelte Rezeptorkinasen phosphoryliert vorliegen. Die Bindung von β -Arrestin kann zur Internalisierung des Rezeptors führen. Darüber hinaus fungieren β -Arrestine als multifunktionale zelluläre Mediatoren, da sie eine weitere Anlagerung von G-Proteinen hemmen und Mitogen-aktivierte Proteinkinasen (MAPKs) wie ERK 1/2, JNK3, p38-Kinase, PI3K oder Akt aktivieren können [28].

Funktionelle Selektivität

Die biologische Aktivität von GPCR-Agonisten und -Antagonisten wird durch Selektivitätsprofile bestimmt, die zu den erwünschten und unerwünschten Wirkungen führen. Unter Selektivität ist dabei nicht nur eine präferentielle Bindung und Wirkung an einer Rezeptorspezies

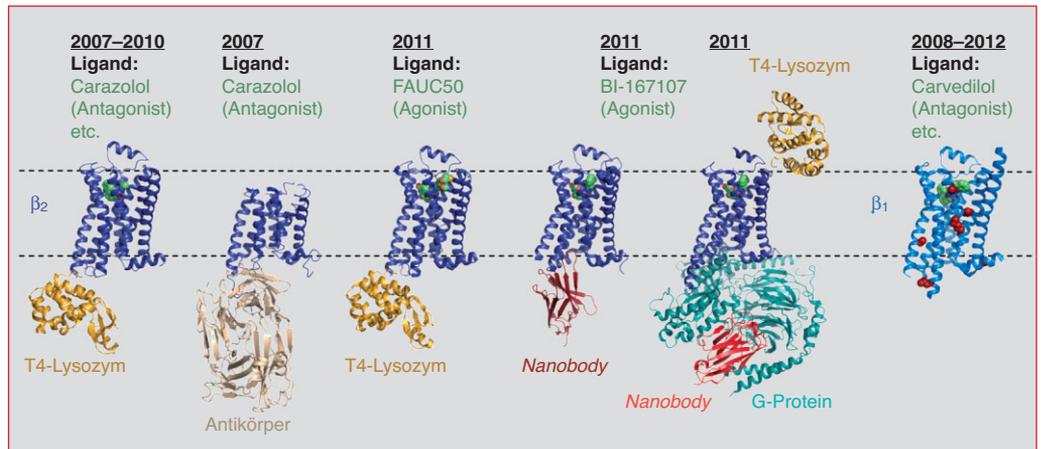


Abb. 4 Kristallstrukturen von β -adrenergen Rezeptoren. Die kristallisierten Liganden sind jeweils in grün angegeben. Im Fall des β_1 -Adrenozeptors sind die Mutationen zur Erhöhung der Thermostabilität in rot gezeit.

(verglichen mit verwandten Rezeptoren) zu verstehen, sondern auch eine bevorzugte Aktivierung bestimmter Rezeptorzustände und Kopplungsvarianten. Diese Eigenschaft wird als funktionelle Selektivität bezeichnet. Während die natürlichen Neurotransmitter bzw. Hormone häufig unterschiedliche Rezeptor/G-Protein- bzw. Rezeptor/ β -Arrestin-Aktivzustände stabilisieren und so ein balanciertes Muster an Signaltransduktion induzieren, aktivieren funktionell selektive Wirkstoffe bevorzugt β -Arrestin oder nur einen Teil der für den jeweiligen Rezeptor beschriebenen G-Proteine [29]. Während die G-Protein-Kopplung mit einer Auswärtsbewegung von Helix 6 assoziiert ist, steht vermutlich die β -Arrestin-Bindung mit Konformationsänderungen von Helix 7 im Zusammenhang (Abb. 5A, Abb. 6) [30]. Die besondere Effizienz von Carvedilol bei der Herzinsuffizienz wird auf dessen funktionelle Selektivität am β_2 -Adrenozeptor zurückgeführt [31]. So zeigt Carvedilol G_s -Protein-antagonistische und β -Arrestin-agonistische Eigenschaften, die zur Rezeptor-Internalisierung und zur Stimulation Mitogen-aktivierter Proteinkinasen führen.

Am Beispiel der β -Adrenozeptor-Agonisten Fenoterol und Methoxyfenoterol konnte gezeigt werden, dass die jeweiligen Stereoisomere individuell unterschiedliche G-Protein-Kopplungsmuster zeigen [32]. Da Arzneistoff-Nebenwirkungen häufig auf unzureichende Selektivitätseigenschaften zurückzuführen sind, ist eine ausgiebige pharmakologische Charakterisierung beider Enantiomere von großer Bedeutung in der Wirkstoffentwicklung. Die Untersuchung der funktionellen Selektivität muss hier in Zukunft stärker berücksichtigt werden.

Polymorphismen

β -Adrenozeptoren existieren in natürlichen, polymorphen Formen [33]. So sind für β_2 -adrenerge Rezeptoren Mutationen der Aminosäuren 16 (von Arginin nach Gly-

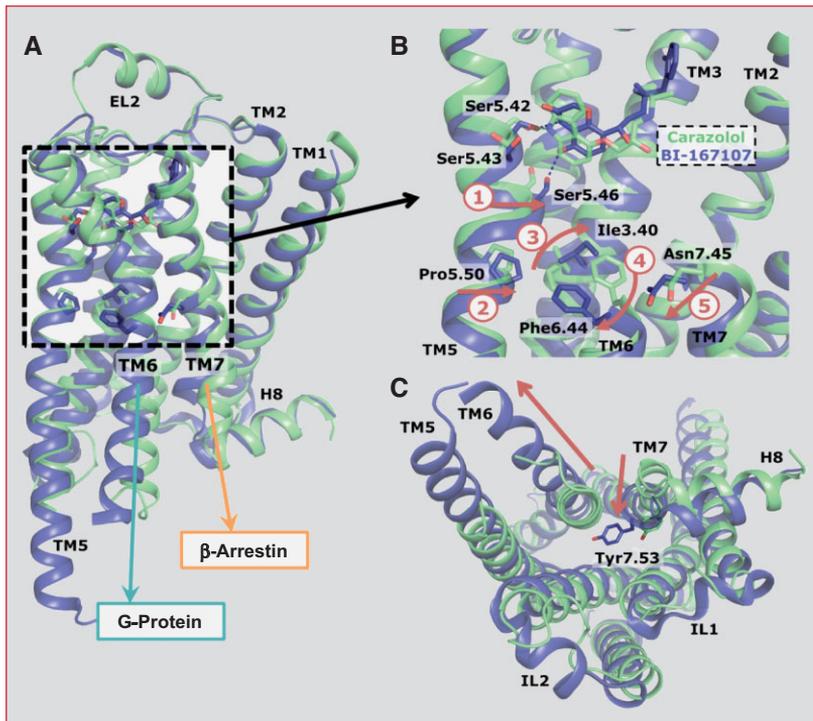


Abb. 5 Aktivierung von β -adrenergen Rezeptoren. Die aktive Rezeptorkonformation ist jeweils in dunkelblau gezeigt, die inaktive in grün. Rote Pfeile deuten die Bewegungen von Aminosäuren (B) bzw. Helices (C) während der Aktivierung an. A. Überlagerung einer aktiven und inaktiven Konformation des β_2 -Adrenozeptors ist in der Seitenansicht. Bewegungen von Helix 6 sind mit der Bindung von G-Proteinen assoziiert, Bewegungen von Helix 7 mit der Anlagerung von β -Arrestin. B. Darstellung der Bindungstasche der aktiven und inaktiven Konformation des β_2 -Adrenozeptors mit dem inversen Agonisten Carazolol und dem Agonisten BI-167107 in der Seitenansicht (die oberen Bereiche von Helix 6 und 7 sind entfernt). Die Wechselwirkung des Agonisten mit den Serinen 5.42 und 5.46 (1) führt zu einer nach innen gerichteten Bewegung von Helix 5, die sich bis hin zu Prolin 5.50 erstreckt (2). Dessen Einwärtsbewegung bedingt eine Rotation der Seitenkette von Isoleucin 3.40 (3), die ihrerseits, ausgehend von Phenylalanin 6.44, zu einer nach außen gerichteten Drehung von Helix 6 führt (4), woraus schließlich eine Einwärtsbewegung von Helix 7 resultiert (5). C. Ein Blick vom Zellinneren auf die aktive und inaktive Konformation des β_2 -Adrenozeptors zeigt die wesentlichen helikalen Veränderungen bei der Aktivierung des Rezeptors, die eine Auswärtsbewegung von Helix 6 sowie eine Einwärtsbewegung von Helix 7, vor allem im Bereich um die Aminosäure Tyrosin 7.53, umfassen.

cin) und 27 (von Glutamin nach Glutaminsäure) im Bereich des extrazellulären N-Terminus beschrieben. Dadurch wird nach Agonist-Bindung eine erheblich stärkere Verminderung der Rezeptordichte als beim Wildtyp bewirkt und somit eine verstärkte Desensibilisierung gegenüber β_2 -Sympathomimetika [34]. Auch beim β_1 -Adrenozeptor sind Polymorphismen bekannt, die zur Agonist-vermittelten Rezeptor-Downregulation und einer Verminderung der intrinsischen Aktivität führen [35]. β -Blocker können vermutlich die Sterblichkeitsrate der betreffenden Patienten reduzieren [36].

Rezeptordimerisierung

Während der letzten Jahre wurde erkannt, dass die Ausbildung dimerer Quartärstrukturen nicht nur für GPCRs

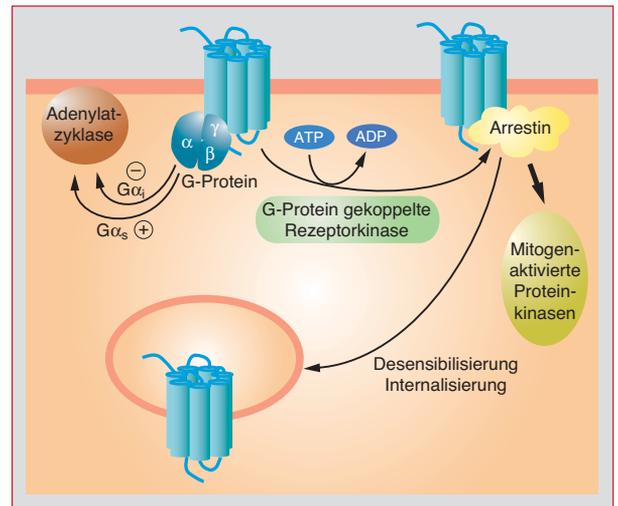


Abb. 6 Mögliche Signaltransduktionswege der β -Adrenozeptoren.

der Klasse C (z.B. GABA-B-Rezeptor), sondern auch für die große Klasse A der Rhodopsin-artigen GPCRs von Bedeutung ist [37]. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen von β -Adrenozeptoren in der Zellmembran zeigten ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Monomeren und Dimeren [38]. Neben Homodimeren können β_2 -adrenerge Rezeptoren auch Heterodimere bilden, zum Beispiel mit Angiotensin-Rezeptoren vom Typ 1 (AT_1). In der Konsequenz vermindern β -Blocker den Angiotensin-II-Effekt auf die Herzfunktion (Mausexperimente), wohingegen AT_1 -Rezeptorblocker die β -agonistische Wirkung von Sympathomimetika hemmen [39]. Auch zwischen dem Prostaglandin- E_2 -Rezeptor (EP_1 -Subtyp) und dem β_2 -Adrenozeptor ist eine Dimerisierung therapeutisch relevant. Prostaglandin-Rezeptor-Agonisten führen dabei zur Entkopplung des β_2 -adrenergen Rezeptors vom G_s -Protein und vermindern so die bronchodilatatorische Wirkung von β -Sympathomimetika [40].

Zusammenfassung

β -Adrenozeptoren sind ein wesentlicher Bestandteil in der Regulation unterschiedlicher physiologischer Vorgänge wie Herzschlag, Atmung und Fettstoffwechsel. Durch die langjährige Erforschung des β_2 -Adrenozeptors als ein Modellsystem Hormon-aktivierter Rezeptoren konnten wichtige Erkenntnisse über die Interaktion verschiedener Liganden mit β -Adrenozeptoren sowie über die Funktionsweise von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren gewonnen werden. Fortschritte auf dem Gebiet der Kristallisation von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, insbesondere des β_2 -Adrenozeptors, werden die Entwicklung selektiver Arzneistoffe unterstützen. Von besonderer Bedeutung für eine gezielte, verbesserte Arzneistofftherapie werden die Erforschung funktioneller Selektivität und die Möglichkeit einer Modulation der Signalweiterleitung über Rezeptor-Dimerisierung sein.

Zitierte Literatur

- [1] Mutschler, E., Geisslinger, G., Krömer, H.K., Schäfer-Korting, M.: Mutschler Arzneimittelwirkungen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart (2001).
- [2] Elenkov, I.J., Wilder, R.L., Chrousos, G.P., Vizi, E.S.: The sympathetic nerve – an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol. Rev.* 52 (2000), 595–638.
- [3] Wallukat, G.: The beta-adrenergic receptors. *Herz* 27 (2002), 683–690.
- [4] Baker, J.G.: The selectivity of beta-adrenoceptor antagonists at the human beta1, beta2 and beta3 adrenoceptors. *Br. J. Pharmacol.* 144 (2005), 317–322.
- [5] Lamers, C., Schubert-Zsilavecz, M.: Medizinische Chemie der β 2-Sympathomimetika. *Pharm. Unserer Zeit* 40 (2011), 423–428.
- [6] FDA Panel Votes in Favor of Olodaterol for COPD. *Medscape*. Jan 30, 2013.
- [7] Mohr, K., Schmitz, J., Schrage, R., Trankle, C., Holzgrabe, U.: Molecular alliance-from orthosteric and allosteric ligands to dualsteric/bitopic agonists at G protein coupled receptors. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 52 (2013), 508–516.
- [8] Dixon, R.A., Kobilka, B.K., Strader, D.J., Benovic, J.L., Dohman, H. G., et al.: Cloning of the gene and cDNA for mammalian beta-adrenergic receptor and homology with rhodopsin. *Nature* 321 (1986), 75–79.
- [9] Levitzki, A., Atlas, D., Steer, M.L.: The binding characteristics and number of beta-adrenergic receptors on the turkey erythrocyte. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71 (1974), 2773–2776.
- [10] Lefkowitz, R.J., Mukherjee, C., Coverstone, M., Caron, M.G.: Stereospecific (3H)(minus)-alprenolol binding sites, beta-adrenergic receptors and adenylate cyclase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 60 (1974), 703–709.
- [11] Cherezov, V., Rosenbaum, D.M., Hanson, M.A., Rasmussen, S.G., Thian, F.S., et al.: High-resolution crystal structure of an engineered human beta2-adrenergic G protein-coupled receptor. *Science* 318 (2007), 1258–1265.
- [12] Rasmussen, S.G., Choi, H.J., Rosenbaum, D.M., Kobilka, T.S., Thian, F.S., et al.: Crystal structure of the human beta2 adrenergic G-protein-coupled receptor. *Nature* 450 (2007), 383–387.
- [13] Rosenbaum, D.M., Cherezov, V., Hanson, M.A., Rasmussen, S.G., Thian, F.S., et al.: GPCR engineering yields high-resolution structural insights into beta2-adrenergic receptor function. *Science* 318 (2007), 1266–1273.
- [14] Warne, T., Serrano-Vega, M.J., Baker, J.G., Moukhametzianov, R., Edwards, P.C., et al.: Structure of a beta1-adrenergic G-protein-coupled receptor. *Nature* 454 (2008), 486–491.
- [15] Warne, T., Moukhametzianov, R., Baker, J.G., Nehme, R., Edwards, P.C., et al.: The structural basis for agonist and partial agonist action on a beta(1)-adrenergic receptor. *Nature* 469 (2011), 241–244.
- [16] Moukhametzianov, R., Warne, T., Edwards, P.C., Serrano-Vega, M.J., Leslie, A.G., et al.: Two distinct conformations of helix 6 observed in antagonist-bound structures of a beta1-adrenergic receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108 (2011), 8228–8232.
- [17] Warne, T., Edwards, P.C., Leslie, A.G., Tate, C.G.: Crystal structures of a stabilized beta1-adrenoceptor bound to the biased agonists bucindolol and carvedilol. *Structure* 20 (2012), 841–849.
- [18] Hanson, M.A., Cherezov, V., Griffith, M.T., Roth, C.B., Jaakola, V. P., et al.: A specific cholesterol binding site is established by the 2.8 Å structure of the human beta2-adrenergic receptor. *Structure* 16 (2008), 897–905.
- [19] Wacker, D., Fenalti, G., Brown, M.A., Katritch, V., Abagyan, R., et al.: Conserved binding mode of human beta2 adrenergic receptor inverse agonists and antagonist revealed by X-ray crystallography. *J. Am. Chem. Soc.* 132 (2010), 11443–11445.
- [20] Rosenbaum, D.M., Zhang, C., Lyons, J.A., Holl, R., Aragao, D., et al.: Structure and function of an irreversible agonist-beta(2) adrenoceptor complex. *Nature* 469 (2011), 236–240.
- [21] Rasmussen, S.G., Choi, H.J., Fung, J.J., Pardon, E., Casarosa, P., et al.: Structure of a nanobody-stabilized active state of the beta(2) adrenoceptor. *Nature* 469 (2011), 175–180.
- [22] Rasmussen, S.G., DeVree, B.T., Zou, Y., Kruse, A.C., Chung, K. Y., et al.: Crystal structure of the beta2 adrenergic receptor-Gs protein complex. *Nature* 477 (2011), 549–555.
- [23] Shenoy, S.K., Lefkowitz, R.J.: beta-Arrestin-mediated receptor trafficking and signal transduction. *Trends Pharmacol. Sci.* 32 (2011), 521–533.
- [24] Pedersen, S.E., Ross, E.M.: Functional reconstitution of beta-adrenergic receptors and the stimulatory GTP-binding protein of adenylate cyclase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79 (1982), 7228–7232.
- [25] Li, F., De Godoy, M., Rattan, S.: Role of adenylate and guanylate cyclases in beta1-, beta2-, and beta3-adrenoceptor-mediated relaxation of internal anal sphincter smooth muscle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 308 (2004), 1111–1120.
- [26] Varghese, P., Harrison, R.W., Lofthouse, R.A., Georgakopoulos, D., Berkowitz, D.E., et al.: beta(3)-adrenoceptor deficiency blocks nitric oxide-dependent inhibition of myocardial contractility. *J. Clin. Invest.* 106 (2000), 697–703.
- [27] Trochu, J.N., Leblais, V., Rautureau, Y., Beverelli, F., Le Marec, H., et al.: Beta 3-adrenoceptor stimulation induces vasorelaxation mediated essentially by endothelium-derived nitric oxide in rat thoracic aorta. *Br. J. Pharmacol.* 128 (1999), 69–76.
- [28] Lefkowitz, R.J., Shenoy, S. K.: Transduction of receptor signals by beta-arrestins. *Science* 308 (2005), 512–517.
- [29] Seifert, R., Dove, S.: Functional selectivity of GPCR ligand stereoisomers: new pharmacological opportunities. *Mol. Pharmacol.* 75 (2009), 13–18.
- [30] Liu, J.J., Horst, R., Katritch, V., Stevens, R.C., Wuthrich, K.: Biased Signaling Pathways in beta2-Adrenergic Receptor Characterized by 19F-NMR. *Science* 335, (2012), 1106–1110.
- [31] Wisler, J.W., DeWire, S.M., Whalen, E.J., Violin, J.D., Drake, M.T., et al.: A unique mechanism of beta-blocker action: carvedilol stimulates beta-arrestin signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104 (2007), 16657–16662.
- [32] Woo, A.Y., Wang, T.B., Zeng, X., Zhu, W., Abernethy, D.R., et al.: Stereochemistry of an agonist determines coupling preference of beta2-adrenoceptor to different G proteins in cardiomyocytes. *Mol. Pharmacol.* 75 (2009), 158–165.
- [33] Reihnsaus, E., Innis, M., MacIntyre, N., Liggett, S. B.: Mutations in the gene encoding for the beta 2-adrenergic receptor in normal and asthmatic subjects. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 8 (1993), 334–339.
- [34] Green, S.A., Turki, J., Innis, M., Liggett, S.B.: Amino-terminal polymorphisms of the human beta 2-adrenergic receptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. *Biochemistry* 33 (1994), 9414–9419.
- [35] Sandilands, A., Yeo, G., Brown, M.J., O’Shaughnessy, K.M.: Functional responses of human beta1 adrenoceptors with defined haplotypes for the common 389R>G and 49S>G polymorphisms. *Pharmacogenetics* 14 (2004), 343–349.
- [36] Pacanowski, M.A., Gong, Y., Cooper-Dehoff, R.M., Schork, N.J., Shriver, M.D., et al.: beta-adrenergic receptor gene polymorphisms and beta-blocker treatment outcomes in hypertension. *Clin. Pharmacol. Ther.* 84 (2008), 715–721.
- [37] George, S.R., O’Dowd, B.F., Lee, S.P.: G-protein-coupled receptor oligomerization and its potential for drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* 1 (2002), 808–820.
- [38] Calebiro, D., Rieken, F., Wagner, J., Sungkaworn, T., Zabel, U., et al.: Single-molecule analysis of fluorescently labeled G-protein-coupled receptors reveals complexes with distinct dynamics and organization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110 (2013), 743–748.

- [39] Barki-Harrington, L., Luttrell, L.M., Rockman, H.A.: Dual inhibition of beta-adrenergic and angiotensin II receptors by a single antagonist: a functional role for receptor-receptor interaction in vivo. *Circulation* 108 (2003), 1611–1618.
- [40] Barnes, P.J.: Receptor heterodimerization: a new level of cross-talk. *J. Clin. Invest.* 116 (2006), 1210–1212.

Die Autoren:



Dr. Cornelia Held (geb. 1983) 2003–2007 Studium der Pharmazie an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (FAU); 2007–2008 Praktisches Jahr; 2008 Approbation zur Apothekerin; 2009–2012 Promotion in Pharmazeutischer Chemie im Arbeitskreis von Prof. Dr. Peter Gmeiner an der FAU. Seit März 2013 wissenschaftliche Mitarbeiterin am Klinikum rechts der Isar, München.



Ralf Kling (geb. 1985); 2005–2009 Studium der Pharmazie an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (FAU); 2009–2010 Praktisches Jahr; 2010 Approbation zum Apotheker; seit 2011 wissenschaftlicher Mitarbeiter im Arbeitskreis von Prof. Dr. Peter Gmeiner an der FAU.



Prof. Dr. Peter Gmeiner (geb. 1959); 1986 Promotion an der LMU München, 1987–1988 PostDoc an der University of California, Berkeley, USA, 1988–1992 Habilitation an der LMU München, Johann-Wolfgang-Döbereiner Preis der DPhC, 1994–1996 Professor der Pharmazeutischen Chemie an der Universität Bonn, seit 1996 Lehrstuhlinhaber für Pharmazeutische Chemie an der Universität Erlangen-Nürnberg; 2000–2002 Senator der FAU, 2003–2010 Vorstandsmitglied der GDCh Fachgruppe Medizinische Chemie; seit 2008 Vorsitzender der Fachgruppe Pharmazeutische/Medizinische Chemie der DPhC; 2008–2012 Sprecher der Emil Fischer Graduiertenschule; seit 2013 Sprecher des Graduiertenkollegs 1910 „Medizinische Chemie selektiver GPCR Liganden“ (gemeinsam mit Prof. A. Buschauer, Universität Regensburg).

Anschrift:

*Prof. Dr. Peter Gmeiner
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
Lehrstuhl für Pharmazeutische Chemie
Schuhstraße 19
91052 Erlangen
peter.gmeiner@fau.de*