

· 药学前沿 ·

抗糖尿病小分子 ABHD6 抑制剂的研究进展

司良辉, 马 惠, 周金培, 张惠斌*

(中国药科大学新药研究中心, 南京 210009)

摘要 2型糖尿病表现为糖脂代谢紊乱并伴随多脏器慢性损害,已成为威胁人类健康的巨大隐患。 α/β 水解酶结构域-6 (α/β hydrolase domain-6, ABHD6)通过水解单酰甘油,负调控胰岛素的释放。小分子 ABHD6 抑制剂因其在增强胰岛素敏感性、改善脂肪功能等方面的重要作用而有望成为新一代治疗2型糖尿病的药物。本文介绍了 ABHD6 的作用机制,根据其结构特点对此类抑制剂的最新研究进展进行综述,并对其构效关系进行分析。

关键词 糖脂代谢; α/β 水解酶结构域-6; ABHD6 抑制剂; 抗糖尿病药; 进展

中图分类号 R914.5 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2017)02-0125-10

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20170201

引用本文 司良辉, 马惠, 周金培, 等. 抗糖尿病小分子 ABHD6 抑制剂的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(2):125-134.

Cite this article as: SI Lianghui, MA Hui, ZHOU Jinpei, et al. Advances in antidiabetic small molecule ABHD6 inhibitors[J]. J China Pharm Univ, 2017, 48(2):125-134.

Advances in antidiabetic small molecule ABHD6 inhibitors

SI Lianghui, MA Hui, ZHOU Jinpei, ZHANG Huibin*

Center of New Drug Research, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Type 2 diabetes, a glucose and lipid metabolism disorder accompanied by chronic multiple organ damage, has become a huge threat to human health. α/β hydrolase domain-6 (ABHD6) regulates the insulin release negatively by hydrolyzing monoacylglycerol. Small molecule ABHD6 inhibitors have been proven to lower blood-glucose and regulates energy homeostasis, which is a potential candidate for the treatment of type 2 diabetes. This paper introduced the ABHD6 signaling pathway and its mechanism, then reviewed the progress of small molecule ABHD6 inhibitors with different structures in recent years, and analyzed the structure activity relationship.

Key words glucose and lipid metabolism; α/β hydrolase domain-6; ABHD6 inhibitors; antidiabetic drugs; advances

2型糖尿病又称非胰岛素依赖性糖尿病,占有糖尿病病例的90%以上,预计2025年患者将突破7亿。其以葡萄糖和脂类的异常代谢为特征,可导致骨骼肌、肝脏以及脂肪组织等部位的胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞胰岛素分泌功能障碍,致使机体能量代谢失衡,已成为威胁人类健康的巨大隐患^[1]。目前治疗2型糖尿病的小分子靶标主要针对糖脂代谢调控、胰岛素分泌调控、胰岛素通路及炎症反应调控因子,其应用于临床的药物主要有二甲双胍、糖苷酶抑制剂(阿卡波糖)、胰岛素增敏剂

(罗格列酮)、胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1)类似物(利拉鲁肽)等^[2];上述药物虽然降糖效果较好,但常伴有诸如低血糖、胃胀气、水肿、体重增加等不良反应^[3]。因此,寻找更为安全有效的治疗靶点尤为重要。

2014年5月,蒙特利尔大学CHUM研究中心发现一种名为 α/β 水解酶结构域-6(ABHD6)的酶可以破坏单酰甘油,从而负调控胰岛素的释放。抑制该酶可以增强 β 细胞对葡萄糖的反应,增加血液中胰岛素表达水平,提高自身组织对胰岛素的敏

感性,以达到降低血糖效果^[4]。因此,ABHD6 有望成为治疗 2 型糖尿病的独特新靶标。

1 ABHD6 的结构特点

1.1 α/β 水解酶折叠域

α/β 水解酶家族包括脂肪酶、乙酰胆碱酯酶、丝氨酸羧肽酶、过氧化物酶和环氧化物水解酶等,是已知最广泛、最重要的蛋白质折叠结构之一。典型的 α/β 水解酶结构由八链平行的 α 螺旋和 β 片层组成,其催化位点是由“亲核氨基酸-组氨酸-酸性氨基酸”构成的催化三联体^[5]。其中,紧密亲核区定位 $\beta 5$ 链后;酸性基团定位于 $\beta 7$ 链后;高度保守的组氨酸残基位于末端 β 链^[6]。该催化区域能够高效作用于不同理化性质的底物,同时也为多种酶的活性位点提供一个稳定的结构支撑(图 1)。

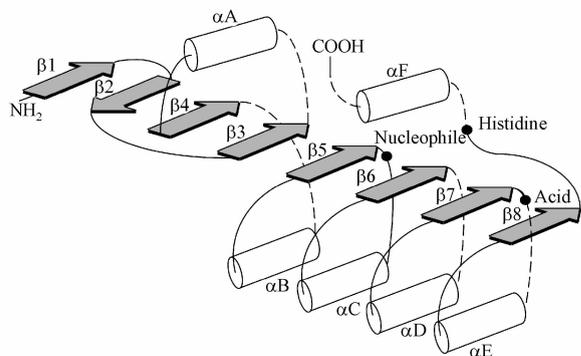


图 1 α/β 水解酶折叠结构二级结构图^[6]

1.2 ABHD6 结构

ABHD6 基因定位于 3 号染色体,cDNA 序列全长 2 364 bp,第 362 至第 1 375 个核苷酸编码开放阅读框区(open reading frame,ORF)。ABHD6 是由 337 个氨基酸组成的蛋白质,相对分子质量为 38 331。其中第 1 到第 8 位氨基酸组成 N 端胞外区;第 9 到第 29 位氨基酸组成螺旋区,为 II 型膜蛋白信号锚;第 30 到第 337 位氨基酸组成胞内区,该区域内 148 位亲核丝氨酸、278 位酸性天冬氨酸和高度保守的 306 位组氨酸形成高度保守的催化三联体,空间结构如图 2 所示^[7]。ABHD6 在人体正常组织广泛分布,其中以大脑、肝脏、褐色脂肪组织等含量较高^[8]。

2 ABHD6 功能及作用机制

ABHD6 作为较新的代谢性疾病和炎症靶点,研

究表明其作用主要有 3 个方面:一是调节脂代谢和胰岛素分泌;二是通过内源性大麻素信号,调控炎症和神经性疾病;三是促进白色脂肪组织(white adipose issue, WAT)褐变,调节褐色脂肪组织(brown adipose issue, BAT)功能,从而调节全身能量稳态。

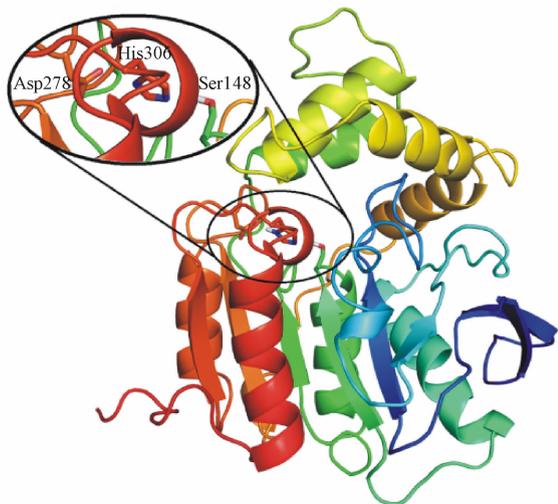


图 2 ABHD6 的空间结构

2.1 调节脂代谢和胰岛素分泌

胰腺 β 细胞分泌胰岛素的过程需要各种细胞因子和定位于细胞膜上的蛋白激酶底物参与^[9],单酰甘油(monoacylglycerol, MAG)(尤其是长链饱和 1-MAG)在该过程中起到了关键作用^[10]。MAG 能够结合 Munc-13 蛋白的 C1 结构域,使 Munc-13 蛋白转移至细胞膜上形成复杂的可溶性 NSF 附着蛋白受体(soluble NSF attachment protein receptor, SNARE)蛋白复合物,促进囊泡成熟,加快细胞对胰岛素颗粒的外排^[11]。ABHD6 能够水解 MAG 生成甘油和游离脂肪酸,从而负调节胰岛素分泌(图 3);同时水解生成的过量甘油和脂肪酸也会导致胰岛素抵抗的发生。

另研究表明,二酰甘油(diacylglycerol, DAG)是人体内花生四烯酸(AA)的重要来源,是前列腺素的主要前体和细胞内重要信号分子^[12]。DAG 在体内能激活蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)等增强胰岛素分泌^[13]。DAG 可被二酰甘油脂肪酶(diacylglycerol lipase, DAGL)水解生成 2-花生四烯甘油(2-AG),进而被 ABHD6 等水解生成甘油和花生四烯酸。抑制 ABHD6 作用,抑制 2-AG 过度水解能够负调节体内 DAG 水平,从而增加胰岛素分泌。

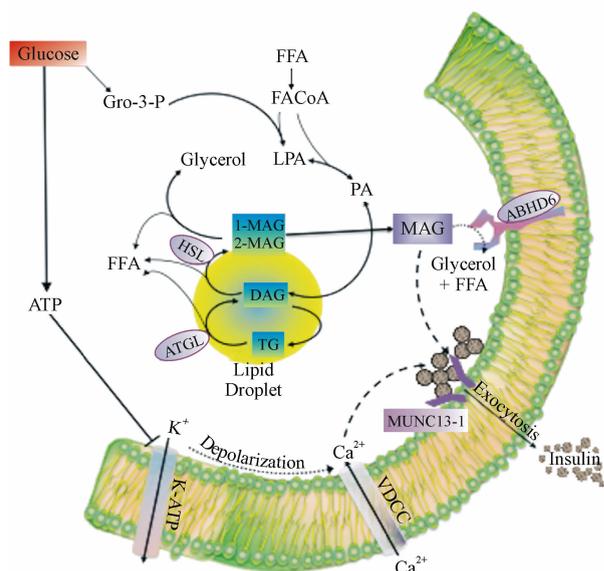


图 3 ABHD6 通过 MAG 调节脂代谢和胰岛素分泌^[13]

2.2 调节内源性大麻素信号通路,发挥抗炎和治疗神经性疾病的作用

内源性大麻系统由大麻受体、内源性大麻素及内源性大麻素降解酶构成,调节人体情绪、痛觉等功能^[14],同时对心血管调节、能量代谢也有重要作用^[15]。内源性大麻素有 *N*-花生四烯酸氨基乙醇(anandamide, AEA) 和 2-AG^[16]。2-AG 在不同组织可分别被单酸甘油酯脂解酶(MAGL)、ABHD6、ABHD12 水解,生成 AA,如图 4。2-AG 能够参与多种炎症因子的代谢途径,如参与环加氧酶(COX)途径产生前列腺素类因子;参与脂氧合酶(LOX)途径,产生白三烯家族细胞因子^[17]。ABHD6 通过调节体内 2-AG 的含量,调控体内抗炎生物活性脂等炎症因子的水平。

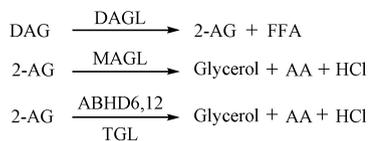


图 4 2-花生四烯酸甘油(2-AG)的代谢途径^[17]

2.3 ABHD6 调控 WAT 褐变,调节 BAT 功能,维持全身能量稳态

脂肪下游信号 MAG 能够激活 PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptors α) 和 PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptors γ) 途径,促进 BAT 形成并增强其作用,通过脂肪酸氧化和

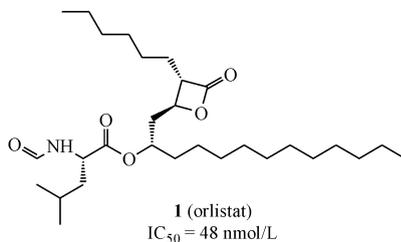
非颤抖性产热增加能量消耗,同时增加葡萄糖耐受和胰岛素敏感性,达到降低脂肪含量维持能量稳态的作用^[18]。抑制 ABHD6 能够增加细胞内 MAG 含量从而调控 BAT 含量及功能,在防治饮食造成肥胖和肥胖引起的糖尿病有着至关重要的作用^[19]。

3 小分子 ABHD6 抑制剂

ABHD6 作为糖尿病的治疗靶标具有多种潜在优势:首先,因其小分子抑制剂可以剂量依赖性地调节胰岛素分泌,故而可以减少或避免低血糖风险;其次,ABHD6 体内分布的集中性和特异性,也极大减小了其抑制剂在降血糖之外的不良反应。鉴于 ABHD6 在降血糖方面发挥的重要作用,研究机构 Scripps Research Institute、蒙特利尔医疗中心等已经开展了广泛的研究。目前已有多个小分子 ABHD6 抑制剂进入临床前研究阶段。现对小分子 ABHD6 抑制剂按结构进行综述。

3.1 奥利司他(orlistat, 1)

奥利司他最早于 1998 年作为减肥药以处方药上市,2007 年 FDA 批准其以非处方药(OTC)药销售。化合物 1 能够通过强效抑制胃、小肠内的脂肪酶活性,从而抑制脂肪水解,阻断脂肪被人体吸收,达到减肥目的;同样也表现出对 hABHD6 良好的分子水平抑制活性($IC_{50} = 48 \text{ nmol/L}$)。2012 年针对 2 型糖尿病患者进行了为期 1 年的化合物 1 和安慰剂临床实验,探究其对胰岛素抵抗参数的影响,发现化合物 1 能够很好改善糖化血红蛋白、餐后血糖、空腹胰岛素、抗胰岛素性和抵抗素等指标,且并未发现严重不良反应^[20]。

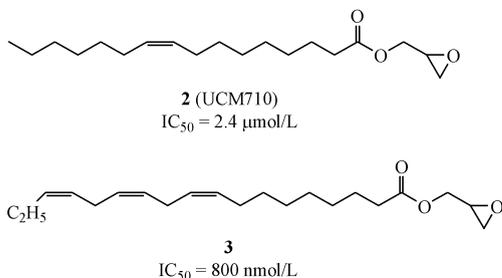


3.2 缩水甘油酯类

2011 年 William 等^[21]合成 12 个十六碳缩水甘油酯类化合物,靶向内源性大麻素水解酶,探索更精确的大麻素受体信号的微调,旨在减少治疗神经性疼痛的不良反应。通过检测化合物在神经元细胞匀浆中抑制 AEA 和 2-AG 水解的水平,得到

12 个 IC_{50} 在 0.2 ~ 32 $\mu\text{mol/L}$ 的化合物。其中化合物 UCM-710 (**2**) 对 ABHD6 的 IC_{50} 为 2.4 $\mu\text{mol/L}$, 对 FAAH 的 IC_{50} 为 4.0 $\mu\text{mol/L}$, 对 MAGL 没有抑制活性, 具有较好抑制活性和优异选择性。同类化合物 **3** 对 ABHD6 有较好抑制活性, $IC_{50} = 0.8 \mu\text{mol/L}$, 但选择性较化合物 **2** 差^[21]。

在神经细胞中, 2-AG 的水解以 MAGL 为主, 而在褐色脂肪组织和胰腺细胞中, ABHD6 起主要作用^[22]。此类化合物主要研究神经细胞中作用, 在代谢性疾病中研究较少。



3.3 氨基甲酸酯类

2012 年, Uniformed Services University 研发了氨基甲酸酯类 ABHD6 抑制剂, 能够显著降低 2-AG 水平, 用于炎症、神经性疾病及 2 型糖尿病的治疗^[17]; 其中化合物 WWL70 (**4**) ($IC_{50} = 70 \text{ nmol/L}$) 对 ABHD6 表现出较好的抑制活性。设定化合物 **4** 浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$, 对照化合物 **1** 浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$, 以及二者合用, 对小鼠脑细胞 2-AG 水解活性 ABPP 竞争性进行分析, 发现二者联合给药时, 2-AG 的水解含量达到 $(15.6 \pm 2.7)\%$ ^[23]。同年, 创伤性脑损伤小鼠模型在梁行走平衡和免疫组织学方面实验证实, 化合物 **4** 能够提高小鼠运动协调和记忆能力, 对神经退行性疾病具有良好的改善作用^[24]。除此之外, 研究人员利用 INS832/13 细胞系和链脲霉素诱导糖尿病模型小鼠进行了胰岛素分泌实验, 发现化合物 **4** 能够促进胰岛素分泌, 降低小鼠体内血糖浓度。

经过适度数据库的虚拟筛选, Boston University 对蛋白三维结构高度预测, 建立了同源模型, 为发展新型、选择性 ABHD6 抑制剂提供有效帮助。如图 5 灰色为 ABHD6 预测结合口袋, 绿色碳原子为结合位点重要的氨基酸残基, 化合物空间重叠性好, 图中 Ser148, Asp278, His306 形成催化三联体, 与化合物 **4** 左侧芳香区在疏水性通道结合; Phe80

和 Met149 形成氧离子空穴, 虚线表示羰基氧离子与之形成氢键作用。

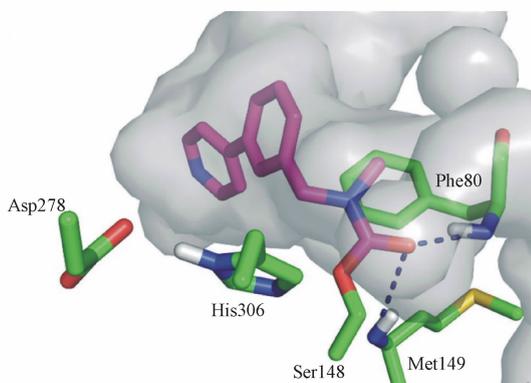
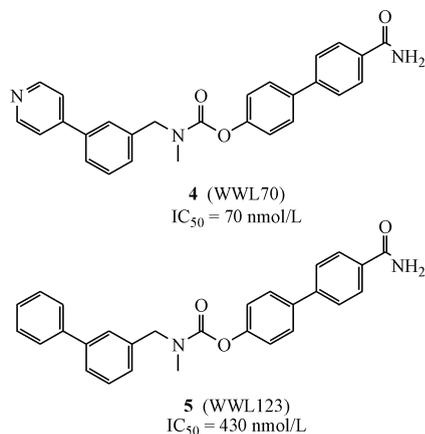


图 5 WWL70 与 ABHD6 结合口袋共价结合模式^[24]

以化合物 **4** 为先导化合物, 2014 年开发出另一个氨基甲酸酯类 ABHD6 抑制剂 WWL-123 (**5**) ($IC_{50} = 0.43 \mu\text{mol/L}$), 主要用于抗炎^[25]。该化合物对 MAGL、ABHD12 及脂肪酸酰胺水解酶 (FAAH) 表现出较于化合物 **4** 更好的选择性。2015 年, 有学者发现氨基甲酸酯类化合物能够促进 BAT 生成并调控其功能, 通过脂肪酸氧化和非颤抖性产热增加能量消耗, 促进胰岛素释放, 以达到降低脂肪含量维持能量稳态的作用^[26]。

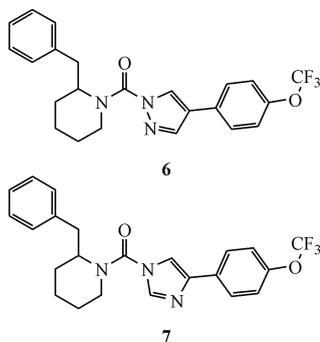


3.4 三唑脲类

2013 年, Scripps Research Institute 研发了一类三唑脲 ABHD6 抑制剂, 其中化合物 KT172 (**12**) 和 KT109 (**15**) 因兼具良好的抑制活性和选择性而备受关注。小分子探针化学蛋白质组学技术-基于活性的蛋白谱学研究方法 (activity-based protein profiling, ABPP) 能够利用活性位点导向的共价探针分子来检测复杂蛋白质组中功能状态的酶, 在高度生物复杂性样品中检测靶标蛋白活性和表达水平。1, 2, 3-三

唑啉类结构(1,2,3-Tus)可以作为多种丝氨酸水解酶不可逆抑制剂的结构支架,在此基础上,研究人员应用 ABPP 指导新型 ABHD6 小分子抑制剂生物化学合成并对其进行结构优化^[27]。

首先,用含氮杂环如吡啶、咪唑等代替三氮唑啉合成化合物 **6**、**7**,测试其对 ABHD6 的抑制活性,化合物在 10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时对 ABHD6 抑制率为 0%,表明其他含氮杂环对 ABHD6 基本没有作用,三氮唑啉环对化合物活性必不可少。



在三氮唑啉环 N1 的位置进行酰化反应生成不同脲素类化合物,将消旋体化合物利用手性 HPLC 分离出异构体,化合物 **a** 比 **b** 抑制 ABHD6 活性高出 100 倍。说明外消旋体 **a** 具有更好的整体选择性,三唑啉类化合物外消旋体可能更适用于生物学研究,有待于更深入的研究^[28]。

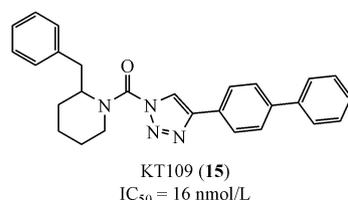
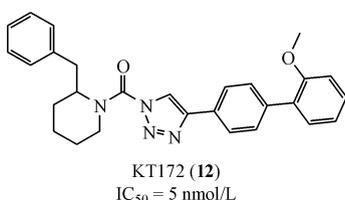
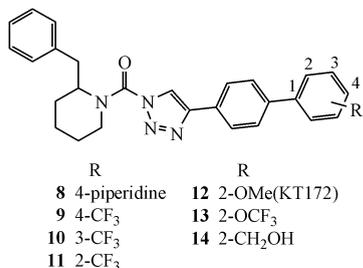
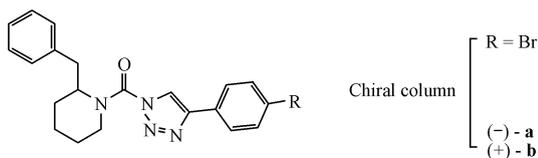
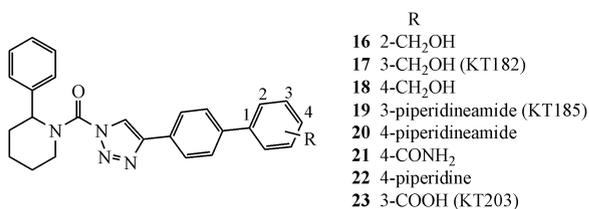


表 1 KT172(**12**)和 KT109(**15**)对多种脂肪酶的抑制活性

Compl.	IC ₅₀ /(nmol/L)				
	ABHD6	MAGL	ABHD12	FAAH	DAGL
KT109	16	NSI		NSI	230 ± 82
KT172	5	5 000	NSI	NSI	140 ± 71

NSI; No significant inhibition



以三唑啉联苯结构为母核进行衍生化,合成化合物 **8** ~ **15**,以 Neuro2A 细胞探究对 ABHD6 抑制活性,得到活性较好的化合物 KT172(**12**)和 KT109(**15**),并且对其他丝氨酸水解酶 FAAH、MAGL 等抑制活性较低,显示出良好的选择性。化合物 **12** 和 **15** 对多种酶抑制活性见表 1。

在化合物 **12** 与 **15** 的基础上,将左侧苄基改为苯基,在联苯三唑基团上引入极性取代基调整化合物的效力、选择性和体内活性,Skaggs Institute 得到衍生物 **16** ~ **23**,发现哌啶-1,2,3-三唑啉类化合物可作为高效的 ABHD6 不可逆抑制剂。设定衍生物浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$,进行 BW5147 杂交小鼠肝脏 T-cell 和 Neuro2A 细胞 ABPP 测定,可知在 2 位和 3 位修饰的 **16**、**17**、**19** 比其他位置取代的化合物抑制活性高;苯环 3 位羧酸取代提高了选择性和抑制活性,其中化合物 KT203(**23**) IC₅₀ = 0.8 nmol/L。分析化合物 **23** 因含有羧酸基团,能够减少中枢神经系统渗透率和不良反应,作为三唑啉类抑制剂进行深度研究。

对抑制活性较优的化合物 **17**、**19** 和 **23** 进行体内活性测试。采用定量质谱 MS 联用 HT-01 和 FP-Rh 探针针对腹腔注射给药小鼠的大脑和肝脏组织进行 ABPP 分析,发现化合物 **17** 和 **23** 在给药剂量为 1 mg/kg 时能够完全抑制 ABHD6,具有良好的活性;并且相比大脑和肝脏的其他丝氨酸水解酶表现出良好的选择性。除此之外,由于化合物 **17** 在大脑和肝脏都有作用,而化合物 **23** 在大脑活性不高,因此二者可作为外周和中枢抑制活性的区分探针^[27]。三唑啉类化合物通过胺甲酰化 ABHD6 酶活性位点不可逆地抑制 ABHD6。另外,部分化合

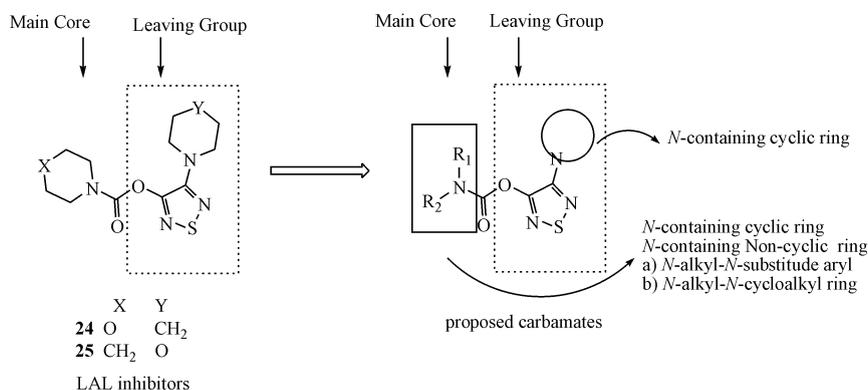
物亦作为 DAGL 和 ABHD6 双重抑制剂处于临床前研究阶段。该类化合物在炎症、代谢疾病和神经性疾病等都有着广阔的研究空间。

3.5 噻二唑氨基甲酸酯类

2014 年, Zydus Cadila 研发了一类噻二唑氨基甲酸酯类 ABHD6 抑制剂, 其中化合物 JZP-430 (**27**) 作为 ABHD6 不可逆抑制剂具有良好的活性 ($IC_{50} = 44 \text{ nmol/L}$), 并且相比 FAAH 和溶酶体酸性脂肪酶 (lysosomal acid lipase, LAL) 表现出较高

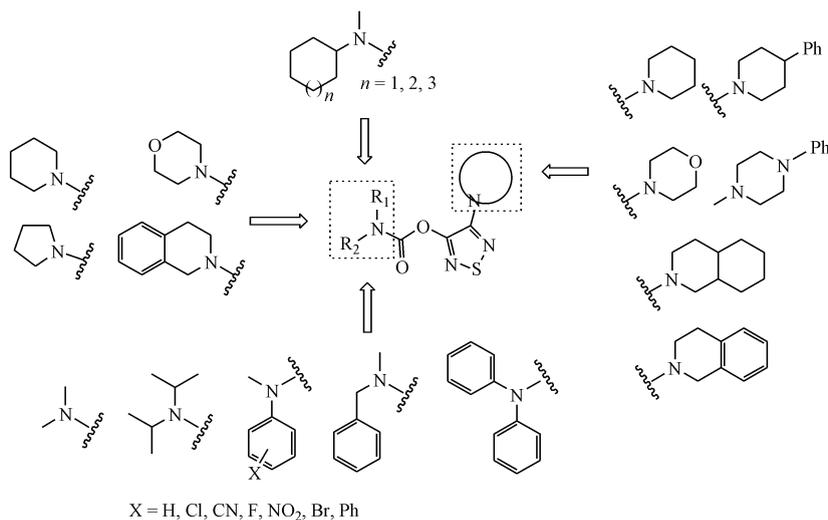
的选择性^[29]。

噻二唑氨基甲酸酯类化合物 **24** ($ABHD6 \text{ IC}_{50} = 52 \text{ nmol/L}$; $FAAH \text{ IC}_{50} = 400 \text{ nmol/L}$) 和 **25** ($ABHD6 \text{ IC}_{50} = 85 \text{ nmol/L}$; $FAAH \text{ IC}_{50} = 300 \text{ nmol/L}$) 具有较好脂肪酶抑制活性, 原因在于该类化合物噻二唑离去基团能够氨甲酰化酶活性位点丝氨酸, 在此基础上, 在 1,2,5-噻二唑甲酸酯关键位点引入不同的环状和非环状胺, 同时对离去基团进行替换来探索针对 ABHD6 具有良好抑制活性的化合物。



以化合物 **24** 为先导化合物, 对母核两侧氨基分别进行衍生化, 合成了一系列化合物如图 6 所示, 并对 ABHD6 和 FAAH 进行了 pIC_{50} 的测定。构效关系研究表明: 保留噻唑哌啶结构, 合成吡咯烷类似物、哌嗪衍生物和 1,2,3,4-四氢异喹啉等衍生物, 活性皆有降低; 在核心区引入非环状胺, 基本无

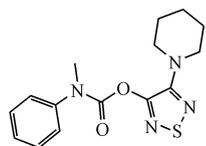
活性; N-哌啶甲酸酯环打开, 将一个 N 上改为苯环取代, 得到具有良好 ABHD6 抑制活性的 **26**, $IC_{50} = 22 \text{ nmol/L}$, 并且选择性提高到 440 倍; 基于化合物 **26**, 对苯环进行吸电子基团 (electron-withdrawing group, EWG) 和供电子基团 (electron-donating group, EDG) 取代, 活性没有提高。



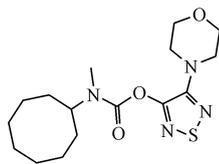
Variations around the 1, 2, 5-thiadiazole scaffold

图 6 1,2,5-噻二唑类化合物结构修饰

在化合物 **26** 的基础上对苯环采用 6~8 个碳的环烷基取代,得到的衍生物对 ABHD6 抑制活性降低 2~4 倍,但相对 FAAH 选择性提高。其中化合物 **27** 对 ABHD6 的抑制活性 $IC_{50} = 44 \text{ nmol/L}$, 是 FAAH 抑制活性的 20 倍,在 $10 \text{ }\mu\text{mol/L}$ 浓度时对 LAL 抑制率低于 20%, 具有良好选择性。



26
ABHD6 $pIC_{50} = 7.66 \pm 0.07$ $IC_{50} = 22 \text{ nmol/L}$
FAAH $pIC_{50} = 5.06 \pm 0.01$ $IC_{50} = 8.91 \text{ }\mu\text{mol/L}$



27 (JZP-430)
ABHD6 $pIC_{50} = 7.36 \pm 0.05$
 $IC_{50} = 44 \text{ nmol/L}$
FAAH inhibition = 18%

对化合物 **27** 高选择性进行对接分析,图 7 表明化合物能够与蛋白空间结构呈 L 形重叠,其中灰色结合口袋较大的核心区域空腔与大环有较好结合;哌啶/吗啉环位于 L 形结构的另一端。由于大环无法与 FAAH 较窄的活性区域结合,因此化合物 **27** 对 ABHD6 的选择性优于 FAAH。总之,ABHD6 抑制活性需要化合物合适的形状和位置互补,目前该类化合物处于生物测试阶段。

3.6 噁二唑酮类

2015 年, Jayendra 等^[30] 研发了 1,3,4-噁二唑-2-酮类小分子 ABHD6 抑制剂,并探索不同取代基以期获得良好的选择性,减少对大麻素受体 CB1 和 CB2 的其他脂肪酶的抑制活性。通过 AB-PP 筛选,得到 ABHD6 不可逆抑制剂 JZP-169 (**28**) ($IC_{50} = 216 \text{ nmol/L}$), 且化合物浓度为 $10 \text{ }\mu\text{mol/L}$

时,对其他水解酶 FAAH, MAGL 和 ABHD12 没有抑制作用^[30]。

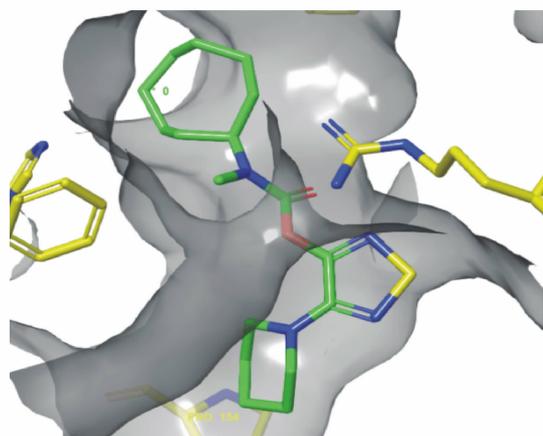
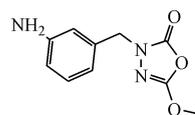
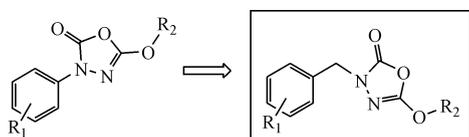


图 7 化合物 **27** 与 ABHD6 的相互作用^[29]



28 (JZP-169)
 $IC_{50} = 216 \text{ nmol/L}$

研究人员对 R_1 进行不同取代合成化合物 **29** ~ **50**, 分析其构效关系表明: 萘环并环取代, 吸电子基团硝基取代使化合物对 ABHD6 抑制活性降低, 供电子基团氨基取代时较吸电子基团会有所提高; 1,3,4-噁二唑酮的 3 位苯基部分的取代基对 FAAH 和 MAGL 的抑制活性基本无影响; 5 位甲氧基替换为苯氧基时, 化合物能够有效抑制 ABHD6, 得到化合物 **28**, $IC_{50} = 216 \text{ nmol/L}$ 。设定化合物浓度为 $10 \text{ }\mu\text{mol/L}$ 进行选择测试, 发现化合物 **28** 能够有效抑制 ABHD6, 对其他丝氨酸水解酶没有明显抑制作用; 设定化合物浓度为 $20 \text{ }\mu\text{mol/L}$ 时, 化合物 **28** 显示出对 FAAH 和 MAGL 的脱靶效应, 对 ABHD6 仍有 90 倍的选择性。该化合物目前处于生物活性测试阶段。



advancement in 1,3,4-oxadiazol-2-ones

	R_1	R_2		R_1	R_2
29	H	Me	40	<i>m</i> -CN	Me
30	<i>o</i> -Ph	Me	41	<i>p</i> -CN	Me
31	<i>o</i> -NO ₂	Me	42	<i>m</i> -COOMe	Me
32	<i>m</i> -NO ₂	Me	43	<i>p</i> -COOMe	Me
33	<i>p</i> -NO ₂	Me	44	<i>m</i> -CF ₃	Me
34	<i>o</i> -NH ₂	Me	45	<i>m</i> -Cl	Me
35	<i>m</i> -NH ₂	Me	46	<i>m</i> -OMe	Me
36	<i>p</i> -NH ₂	Me	47	<i>m</i> -NO ₂	Et
37	<i>o</i> -NHCOMe	Me	48	<i>m</i> -NH ₂	Et
38	<i>m</i> -NHCOMe	Me	49	<i>m</i> -NO ₂	Ph
39	<i>p</i> -NHCOMe	Me	50	<i>m</i> -NH ₂	Ph

图 8 为化合物 **28** 与 ABHD6 活性位点对接的同源模型。其中羰基碳亲核进攻 Ser148; Met149 和 Phe80 形成氧离子空穴, 虚线表示其与羰基形成关键氢键作用; 间位氨基与 Glu190 和 Glu253 的侧链形成氢键作用, 通过稳定共价键增强其抑制活性。分子模型同时证明化合物 **28** 为 ABHD6 不可逆抑制剂, 原因可能是化合物氨基甲酰化 Ser148, 而氨基甲酰-丝氨酸结构在体内可被捕捉而不可逆。

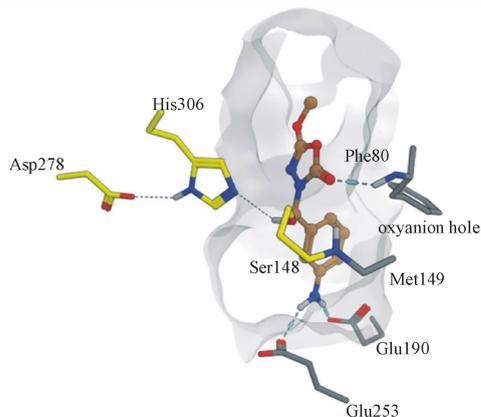
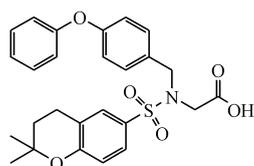
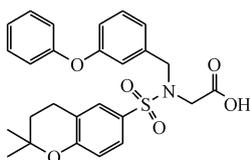


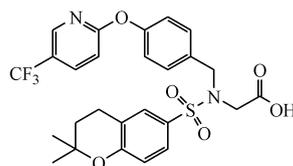
图 8 化合物 **28** 与 ABHD6 活性位点对接的同源模型^[30]



51 (LEI-106)
ABHD6 $K_i = (0.8 \pm 0.1) \mu\text{mol/L}$
DAGL $\text{IC}_{50} = (124 \pm 13) \text{nmol/L}$



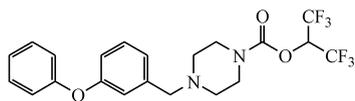
52
ABHD6 $K_i = (18.3 \pm 1.8) \mu\text{mol/L}$
DAGL $\text{IC}_{50} = (355 \pm 54) \text{nmol/L}$



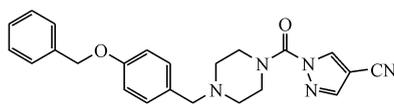
53
ABHD6 $K_i = (2.7 \pm 0.4) \mu\text{mol/L}$
DAGL $\text{IC}_{50} = (734 \pm 72) \text{nmol/L}$

3.8 其他类

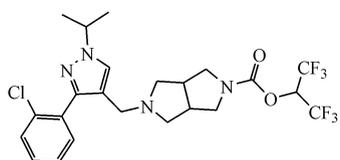
2015 年, Abide Therapeutics 等发现了唑酮类、哌嗪甲酸酯类和吡咯甲酸酯类小分子 ABHD6 抑制剂, 用于治疗炎症、肥胖症、阿尔茨海默病、肿瘤、疼痛等疾病, 代表化合物如 **54** ($\text{IC}_{50} < 100 \text{nmol/L}$), **55** ($\text{IC}_{50} < 100 \text{nmol/L}$), **56** ($\text{IC}_{50} = 100 \sim 1\,000 \text{nmol/L}$)



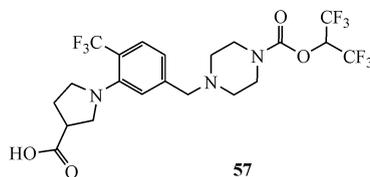
54
ABHD6 $\text{IC}_{50} < 100 \text{nmol/L}$



55
ABHD6 $\text{IC}_{50} < 100 \text{nmol/L}$



56
ABHD6 $\text{IC}_{50} = 100\text{-}1\,000 \text{nmol/L}$



57
ABHD6 $\text{IC}_{50} < 100 \text{nmol/L}$

3.7 甘氨酸磺胺类

2014 年, Janssen 等通过高通量筛选发现氨基乙酸类 DAGL α /ABHD6 双重抑制剂, 通过 ABPP 筛选得到化合物 LEI-106 (**51**) 用于肥胖和代谢性疾病的治疗^[31]。研究人员应用转染 hABHD6 的 HEK293 细胞测试得到活性较好的化合物如 **51**, **52** 和 **53**; 分析其构效关系可知: ①酶空腔区可结合各种芳基取代基; ②磺酰胺基影响 2,2-二甲基苯并二氢吡喃取代基的特定取向; ③右侧羧酸基团是化合物活性必不可少的结构。以化合物 **51** 为配体通过 DAGL α 同源模型得出羧酸基团能够与催化位点的 Ser472 和 His650 结合, 两个疏水性基团能够伸进疏水性口袋。

研究表明, 抑制 DAGL α 能够抑制内源性大麻素受体 CB1 激活, 从而抵抗高脂饮食诱导的肥胖。甘氨酸磺胺类化合物 **51** 作为 ABHD6 和 DAGL α 的双重抑制剂在改善代谢性疾病和饮食诱导的肥胖方面产生非常重要的作用。

L)^[32]。2016 年, 又扩展研发哌嗪甲酸酯类 MAGL/ABHD6 双重抑制剂, 用于治疗神经性疼痛。并且研究发现 MAGL 代谢产生的游离脂肪酸能够促进肿瘤细胞增殖和肿瘤细胞生长, 选择性 MAGL 抑制剂可能对抑制肿瘤有重要作用^[33]。

4 结 语

ABHD6 通过水解单酰甘油、负调控胰岛素的释放,其抑制剂能够增强 β 细胞对葡萄糖的反应,促进胰岛素分泌;同时促进白色脂肪组织褐变,增强褐色脂肪组织功能,调节脂代谢和全身能量平衡。因此,ABHD6 有望成为治疗 2 型糖尿病的独特新靶标,其抑制剂的开发也具有潜在应用价值。但是,将 ABHD6 抑制剂转化为药物仍面临一些挑战,比如其在自身免疫脑脊髓炎症的作用尚不清晰^[34],中枢神经系统的不良反应不可忽视^[35];从分子角度能否深层次解析其作用机制;如何选择最佳的联合治疗方法等。相信随着对 ABHD6 作用机制和通路更深层次的理解和探索,能够逐步解决 ABHD6 抑制剂开发中所面临的问题。

参 考 文 献

- [1] Zhao SG, Mugabo Y, Ballentine G, et al. alpha/beta-Hydrolase domain 6 deletion Induces adipose browning and prevents obesity and type 2 diabetes[J]. *Cell Rep*, 2016, **14**(12):2872–2888.
- [2] Wang XN, Xu B, Zhou JP, et al. Advances of anti-diabetic drugs based on new targets[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2015, **46**(2): 141–152.
- [3] Wei QQ, Zhou JP, Zhang HB, et al. Recent research progress in small molecule AMPK direct activators[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2015, **46**(4): 406–415.
- [4] Thomas G, Betters JL, Lord CC, et al. The serine hydrolase ABHD6 is a critical regulator of the metabolic syndrome[J]. *Cell Rep*, 2013, **5**(2):508–520.
- [5] Lord CC, Thomas G, Brown JM. Mammalian (ABHD) proteins: lipid metabolizing enzymes at the interface of cell signaling and energy metabolism[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, **1831**(4): 792–802.
- [6] Marco N, Bauke WD. α/β Hydrolase fold enzymes: the family keeps growing[J]. *Curr Opin Struct Biol*, 1999, **9**:732–737.
- [7] Thomas G, Brown AL, Brown JM. *In vivo* metabolite profiling as a means to identify uncharacterized lipase function: recent success stories within the alpha beta hydrolase domain (ABHD) enzyme family [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, **1841**(8): 1097–1101.
- [8] Dina NP, Savinainen JR, Jarmo TL. Biochemical and pharmacological characterization of human alpha/beta-hydrolase domain containing 6 (ABHD6) and 12 (ABHD12) [J]. *J Lipid Res*, 2012, **53**(11):2413–2424.
- [9] Prentki M, Matschinsky FM, Madiraju SR. Metabolic signaling in fuel-induced insulin secretion [J]. *Cell Metab*, 2013, **18**(2): 162–185.
- [10] Labar G, Wouters J, Lambert DM. A review on the monoacylglycerol lipase: at the interface between fat and endocannabinoid signalling [J]. *Curr Med Chem*, 2010, **17**: 2588–2607.
- [11] Kang L, He Z, Xu P, et al. Munc13-1 is required for the sustained release of insulin from pancreatic beta cells [J]. *Cell Metab*, 2006, **3**(6):463–468.
- [12] Prentki M, Madiraju SR. Glycerolipid/free fatty acid cycle and islet beta-cell function in health, obesity and diabetes [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, **353**(1/2):88–100.
- [13] Henquin JC. The dual control of insulin secretion by glucose involves triggering and amplifying pathways in β -cells [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, **93**:S27–S31.
- [14] Wen J, Ribeiro R, Tanaka M, et al. Activation of CB2 receptor is required for the therapeutic effect of ABHD6 inhibition in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Neuropharmacology*, 2015, **99**:196–209.
- [15] Ueda N, Tsuboi K. Discrimination between two endocannabinoids [J]. *Chem Biol*, 2012, **19**(5):545–547.
- [16] Hu J, Zhu C, Huang M. The endocannabinoid system: a new pharmacological target for obesity treatment [J]? *Neurosci Bull*, 2009, **25**(3):153–160.
- [17] Alhouayek M, Masquelier J, Muccioli GG. Controlling 2-arachidonylglycerol metabolism as an anti-inflammatory strategy [J]. *Drug Discov Today*, 2014, **19**(3):295–304.
- [18] Mulvihill MM, Nomura DK. Therapeutic potential of monoacylglycerol lipase inhibitors [J]. *Life Sci*, 2013, **92**(8/9):492–497.
- [19] Townsend KL, Tseng YH. Brown fat fuel utilization and thermogenesis [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2014, **25**(4):168–177.
- [20] Derosa G, Cicero AF, Angelo DA, et al. Effects of 1-year orlistat treatment compared to placebo on insulin resistance parameters in patients with type 2 diabetes [J]. *J Clin Pharm Ther*, 2012, **37**(2):187–195.
- [21] Marrs WR, Horne EA, Ortega GS, et al. Dual inhibition of alpha/beta-hydrolase domain 6 and fatty acid amide hydrolase increases endocannabinoid levels in neurons [J]. *J Biol Chem*, 2011, **286**(33):28723–28728.
- [22] Blankman JL, Simon GM, Cravatt BF. A comprehensive profile of brain enzymes that hydrolyze the endocannabinoid 2-arachidonylglycerol [J]. *Chem Biol*, 2007, **14**(12):1347–1356.
- [23] Chang JW, Cognetta AB, Niphakis MJ, et al. Proteome-wide reactivity profiling identifies diverse carbamate chemotypes tuned for serine hydrolase inhibition [J]. *ACS Chem Biol*, 2013, **8**(7): 1590–1599.
- [24] Bowman AL, Makriyannis A. Highly predictive ligand-based pharmacophore and homology models of ABHD6 [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2013, **81**(3):382–388.
- [25] Tchanchou F, Zhang YM. Selective inhibition of alpha/beta-hydrolase domain 6 attenuates neurodegeneration, alleviates blood brain barrier breakdown, and improves functional recovery

- in a mouse model of traumatic brain injury [J]. *J Neurotrauma*, 2013, **30**(7): 565 - 579.
- [26] Christian P, Sacco J, Adeli K. Autophagy: emerging roles in lipid homeostasis and metabolic control [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, **1831**(4): 819 - 824.
- [27] Hsu KL, Tsuboi K, Whitby LR, *et al.* Development and optimization of piperidyl 1, 2, 3-triazole ureas as selective chemical probes of endocannabinoid biosynthesis [J]. *J Med Chem*, 2013, **56**(21): 8257 - 8269.
- [28] Hsu KL, Tsuboi K, Adibekian A, *et al.* DAGLbeta inhibition perturbs a lipid network involved in macrophage inflammatory responses [J]. *Nat Chem Biol*, 2012, **8**(12): 999 - 1007.
- [29] Patel JZ, Nevalainen TJ, Savinainen JR, *et al.* Optimization of 1, 2, 5-thiadiazole carbamates as potent and selective ABHD6 inhibitors [J]. *ChemMedChem*, 2015, **10**(2): 253 - 265.
- [30] Patel JZ, Bruchem JV, Laitinen T, *et al.* Revisiting 1,3,4-oxadiazol-2-ones: utilization in the development of ABHD6 inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, **23**(19): 6335 - 6345.
- [31] Janssen FJ, Deng H, Baggelaar MP, *et al.* Discovery of glycine sulfonamides as dual inhibitors of sn-1-diacylglycerol lipase alpha and alpha/beta-hydrolase domain 6 [J]. *J Med Chem*, 2014, **57**(15): 6610 - 6622.
- [32] Murthy MS, Marc P, Erik J, *et al.* ABHD6 antagonists for promoting browning of white adipose tissue functionality: WO, 2015127559A1 [P]. 2015-09-03 [2016-12-30].
- [33] Cisar JS, Grice CA, Jones TK, *et al.* Carbamate compounds and of making and using same: US, 20150018335A1 [P]. 2015-01-15 [2016-12-30].
- [34] Pribasnig MA, Mrak I, Grabner GF, *et al.* alpha/beta Hydrolase domain-containing 6 (ABHD6) degrades the late endosomal/lysosomal lipid bis (monoacylglycerol)- phosphate [J]. *J Biol Chem*, 2015, **290**(50): 29869 - 29881.
- [35] Zhao SG, Poursharifi P, Mugabo Y, *et al.* alpha/beta-Hydrolase domain-6 and saturated long chain monoacylglycerol regulate insulin secretion promoted by both fuel and non-fuel stimuli [J]. *Mol Metab*, 2015, **4**(12): 940 - 950.

· 本刊讯 ·

《中国药科大学学报》读者网络下载率 位居全国药学期刊第 3 位

据中国学术期刊影响因子年报(自然科学与工程技术)2016 的统计,《中国药科大学学报》Web 即年下载率位居中国药学期刊第 3 位。Web 即年下载率是指期刊在统计当年出版上网并被全文下载的篇次总和与该期刊当年出版并上网的文献总数之比,是评价科技期刊学术质量和影响力的重要指标之一。《中国药科大学学报》自 1956 年创刊以来,在主编彭司勋院士、全体编委以及编辑部全体成员的共同努力下,始终坚持办精品刊物,严把学术质量关,编辑出版水平不断提升,发表出一批读者关注的优秀论文,Web 即年下载率反映了《中国药科大学学报》在我国医药研究领域的学术影响力和学术地位。

(本刊编辑部)