

· 前沿与进展 ·

ADVANCES IN
PHARMACEUTICAL SCIENCES

脂肪酸结合蛋白 4/5 双重抑制剂的研究进展

韩立帅, 吴文珍, 袁浩亮, 孙宏斌, 温小安*

(中国药科大学 江苏省代谢性疾病药物重点实验室, 江苏 南京 210009)

[摘要] 脂肪酸结合蛋白 (FABPs) 是一类低相对分子质量的脂质伴侣蛋白, 在调节糖脂代谢和炎症反应中发挥重要作用。研究表明, 同时抑制 FABP4/5 能够显著改善由代谢应激引起的脂质代谢紊乱, 缓解慢性代谢性炎症反应。近年来, FABP4/5 受到广泛关注, 被认为是代谢性疾病 (如 2 型糖尿病、动脉粥样硬化和脂肪肝等) 治疗药物研发的潜在靶标。综述 FABP4/5 双重抑制剂的最新研究进展, 重点介绍 FABP4/5 与相关疾病的关系、抑制剂的构效关系以及蛋白共晶结构等方面内容, 以期设计全新结构的 FABP4/5 双重抑制剂提供参考依据。

[关键词] 脂肪酸结合蛋白; 脂质代谢; 炎症; 代谢性疾病; FABP4/5 双重抑制剂

[中图分类号] R914.4

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2019) 05-0361-10

Research Progress in Dual Inhibitors of Fatty Acid-binding Protein 4 and 5

HAN Lishuai, WU Wenzhen, YUAN Haoliang, SUN Hongbin, WEN Xiaohan

(Jiangsu Key Laboratory of Drug Discovery for Metabolic Disease, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] Fatty acid-binding proteins (FABPs) are a group of intracellular lipid chaperones with low molecular weight that play important roles in regulating the metabolism of glucose and lipid and inflammatory responses. Studies have shown that simultaneous inhibition of both FABP4 and FABP5 can significantly improve metabolic stress-induced disorders of lipid metabolism, and attenuate chronic metabolic inflammation. In recent years, FABP4 and FABP5 have attracted much attention as potential targets for developing drugs for metabolic diseases (such as type 2 diabetes, atherosclerosis and fatty liver, *et al*). This article summarized the latest research progresses in dual inhibitors of FABP 4 and 5 with a focus on the correlation between FABP4/5 and diseases, structure-activity relationship of the inhibitors and the crystal structures of protein-inhibitor complexes, so as to provide reference for the design of novel FABP4/5 dual inhibitors.

[Key words] fatty acid-binding protein; lipid metabolism; inflammation; metabolic diseases; dual inhibitors of FABP4/5

近年来, 肥胖及相关代谢性疾病已严重威胁到人类的身体健康和生活质量, 包括 2 型糖尿病、动脉粥样硬化、非酒精性脂肪肝、高血压和冠心病等^[1]。脂质代谢异常及慢性低度炎症是代谢性疾病发生发展的重要原因^[2]。当人体脂肪过度累积, 其沉积在内脏脂肪组织和非脂肪组织 (如骨骼肌、肝和胰腺等) 中进而引起脂毒性^[3]。在脂质代谢紊乱状态下, 过量的二酰甘油 (diacylglycerol, DAG) 及游离脂肪酸 (free fatty acid, FFA) 能够激活核转录因子 κ B 抑制蛋白激酶 β (nuclear factor- κ B kinases β , IKK- β)、c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 和蛋白激酶

R (protein kinases R, PKR) 等通路而诱发炎症反应, 并导致胰岛素抵抗^[4]。脂肪酸结合蛋白 (fatty acid-binding proteins, FABPs) 作为细胞内脂质伴侣蛋白, 尤其是 FABP4 在调节脂质代谢与炎症通路中发挥重要作用^[5]。小鼠敲除 FABP4 (*FABP4*^{-/-}) 能够保护肥胖引起的胰岛素抵抗^[6], 改善血脂异常, 降低血浆三酰甘油 (triglyceride, TG) 和胆固醇水平^[7]。此外, 载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE) 缺失的 *FABP4*^{-/-} 小鼠也表现出对动脉粥样硬化的保护作用^[8]。随着研究的深入, 人们发现 FABP5 能够在 *FABP4*^{-/-} 的脂肪细胞中代偿性地表达上调^[6], 而 *FABP4/5* 双敲除 (*FABP4/5*^{-/-}) 小鼠对胰岛素抵抗和血管病变的保护作用更加显著^[9-10]。因此, 对 FABP4/5 双重抑制剂的研究逐渐成为热点。本文综述 FABP4/5 双重抑制剂的最新研究进展, 以期设计全新结构的 FABP4/5 双重抑制剂提供参考依据。

接受日期: 2019-03-08

***通讯作者:** 温小安, 研究员;

研究方向: 抗代谢性疾病药物研究;

Tel: 025-83271050; **E-mail:** wxagj@163.com

1 脂肪酸结合蛋白概述

FABPs 是一类低相对分子量 (14 000~15 000) 的脂质伴侣蛋白, 含 126~134 个氨基酸残基, 在细胞内与脂肪酸可逆结合, 促进脂肪酸的转运和利用。FABPs 对花生四烯酸、脂多糖、血红素等疏水性配体也具有很高的亲和力 [油酸: $K_{i(\text{FABP4})} = (185 \pm 35) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $K_{i(\text{FABP5})} = (248 \pm 12) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 棕榈酸: $K_{i(\text{FABP4})} = (336 \pm 164) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $K_{i(\text{FABP5})} = (802 \pm 336) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$] [11-12]。1972 年 Ockner 等 [13] 首次在大鼠空肠中发现了脂肪酸结合蛋白。目前, 在哺乳动物中至少发现 9 种 FABPs 亚型, 根据其首次被发现的组织或其高表达的特定组织分别命名为肝脏型 (FABP1, liver-FABP, L-FABP)、肠型 (FABP2, intestinal-FABP,

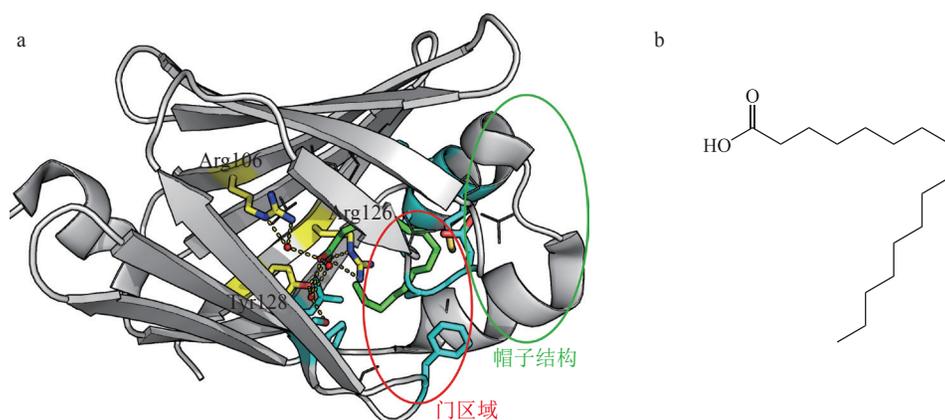
I-FABP)、心脏型 (FABP3, heart-FABP, H-FABP)、脂肪型 (FABP4, adipocyte-FABP, A-FABP)、表皮型 (FABP5, epidermal-FABP, E-FABP)、回肠型 (FABP6, ileal-FABP, II-FABP)、脑型 (FABP7, brain-FABP, B-FABP)、髓磷脂型 (FABP8, myelin-FABP, M-FABP) 和睾丸型 (FABP9, testis-FABP, T-FABP) [14] (见表 1)。这些亚型的一级结构差别很大, 同源性仅在 15%~70% 之间, 但它们均有相似的三维结构, 由 2 个 α 螺旋和 10 个 β 折叠组成, 并以螺旋-卷曲-螺旋的结构域作为帽子结构覆盖顶部, 形成一个配体结合口袋。配体由门区域进入蛋白口袋后, 与口袋底部的一个酪氨酸 (Tyr) 和 2 个精氨酸 (Arg) 残基形成关键的氢键作用 (见图 1) [5]。

表 1 脂肪酸结合蛋白家族

Table 1 The FABP family

FABP亚型	基因	组织分布	参考文献
L-FABP	<i>FABP1</i>	肝、肠、胰腺、肾、肺、胃	[15]
I-FABP	<i>FABP2</i>	肠、肝	[16]
H-FABP/MDGI	<i>FABP3</i>	心脏、骨骼肌、大脑、肾脏、肺、胃、睾丸、主动脉、肾上腺、乳腺、胎盘、卵巢、褐色脂肪组织	[17]
A-FABP/aP2	<i>FABP4</i>	脂肪细胞、巨噬细胞、树突细胞	[18]
E-FABP/K-FABP/PA-FABP/mal1	<i>FABP5</i>	皮肤、舌头、脂肪细胞、巨噬细胞、树突细胞、乳腺、大脑、肠、肾、肝、肺、心脏、骨骼肌、睾丸、视网膜、晶状体、脾	[19]
II-FABP/I-BABP/胃泌素	<i>FABP6</i>	回肠、卵巢、肾上腺、胃	[20]
B-FABP/MRGI	<i>FABP7</i>	大脑、神经胶质细胞、视网膜、乳腺	[21]
M-FABP/PMP2	<i>FABP8</i>	外周神经系统、Schwann细胞	[22]
T-FABP	<i>FABP9</i>	睾丸、唾液腺、乳腺	[23]

MDGI: 乳腺源性生长抑制因子; aP2: 脂肪细胞型蛋白2; K-FABP: 角质细胞型脂肪酸结合蛋白; PA-FABP: 牛皮癣相关脂肪酸结合蛋白; I-BABP: 肠型胆汁酸结合蛋白; PMP2: 外周髓鞘蛋白2



a: FABP4与棕榈酸 (C16:0) 共晶结构; b: 棕榈酸 (C16:0) 结构式; 黄色部分代表关键氨基酸残基; 绿色部分代表配体

图 1 FABP4与棕榈酸 (C16:0) 共晶结构 (PDB: 2HNX)

Figure 1 Co-crystal structure of human FABP4 with palmitic acid (PDB: 2HNX)

FABPs 在细胞中与脂质结合, 增加脂质水溶性并促进其转运而发挥生理功能 (见图 2), 包括将其转运至脂滴贮存能量; 转运至内质网进行信号传导以及膜结

构的形成; 转运至线粒体和过氧化物酶体进行 β -氧化; 转运至胞质中调节酶的活性; 转运至细胞核与核激素受体 (hormone nuclear receptor, NHR) 结合并调节相关

基因转录^[14]。随着研究的深入, 人们发现 FABPs 还可以作为脂肪因子以自分泌或旁分泌的方式影响周围组织和器官的生理功能^[24]。另外, FABPs 在调节糖脂代谢、

介导炎症反应及正常细胞癌变等生理和病理过程中也发挥着重要的作用^[5]。

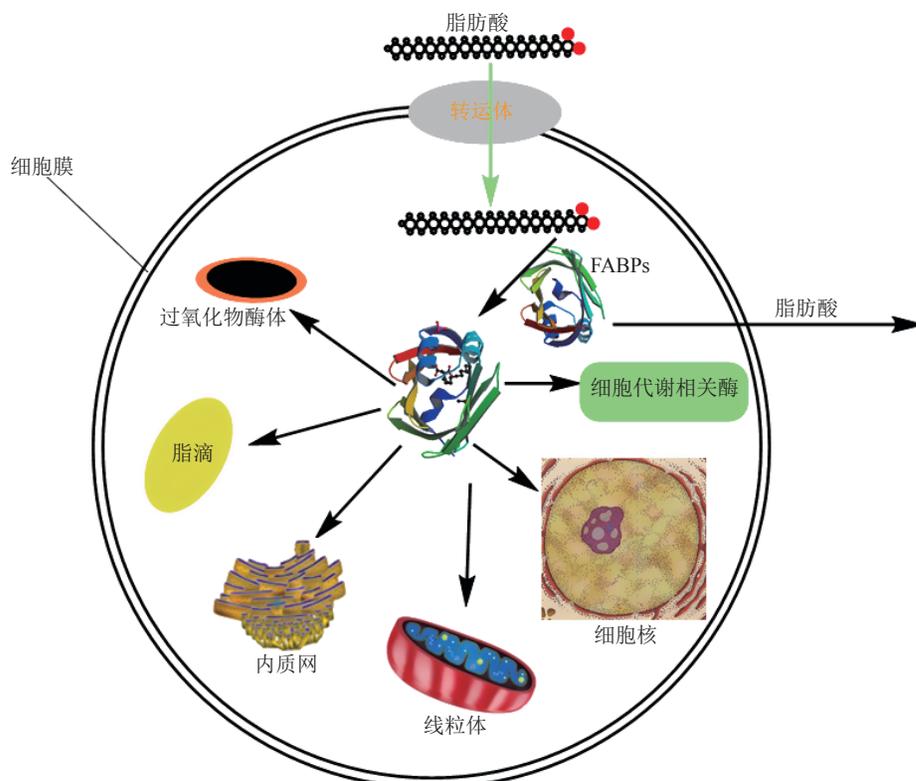


图2 细胞内脂肪酸结合蛋白的功能
Figure 2 Functions of intracellular FABPs

2 脂肪酸结合蛋白4/5与疾病的关系

FABP4 又称 A-FABP 或 aP2, 主要分布在脂肪细胞和巨噬细胞中, 占脂肪组织蛋白总量的 1%。1996 年, Hotamisligil 等^[6]首次报道 *FABP4*^{-/-} 小鼠在正常饮食情况下与野生型小鼠在表型上并无差异, 但在高脂饮食等代谢应激的条件下表现出良好的胰岛素敏感性。与对照组相比, *FABP4*^{-/-} 小鼠的脂肪组织中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 表达显著下调。随着多种 *FABP4*^{-/-} 细胞及动物模型的建立^[7-8, 25-26], 以及大量流行病学研究发现在 2 型糖尿病和动脉粥样硬化患者血浆中 FABP4 高表达^[27-29], 人们逐渐认识到 FABP4 在代谢性疾病中的重要作用。

FABP5 又称 E-FABP、PA-FABP 或 mal1, 其广泛存在于多种组织中, 且在表皮细胞中表达最多, 在脂肪细胞、巨噬细胞、树突状细胞以及乳腺、脑、肾、肝、肺和睾丸等组织中也有表达。由于上述组织中同时有其他 FABP 亚型的表达, 因此, FABP5 的确切功能仍有待进一步阐明^[14]。

为了更好地理解 FABP4 和 FABP5 在脂质代谢中的作用, 研究者用 *FABP4*^{-/-} 小鼠与 *FABP5*^{-/-} 小鼠杂交, 获得了 *FABP4/5*^{-/-} 小鼠^[9]。*FABP4/5*^{-/-} 小鼠相对于 *FABP4* 或 *FABP5* 单敲除小鼠具有更好的代谢表型: 其不仅能够抵抗高脂饮食诱导的肥胖, 增加胰岛素敏感性, 维持葡萄糖稳态, 还能够增加肌肉组织中腺苷活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 的磷酸化水平, 减少肝脏硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1 (stearoyl-CoA desaturase-1, SCD1) 的表达, 改善肝脏的脂质浸润, 对高脂饮食诱导的肝脏脂肪变性具有保护作用。*ApoE*^{-/-}/*FABP4/5*^{-/-} 小鼠与 *ApoE*^{-/-}/*FABP4*^{-/-} 小鼠相比, 其降低血管病变效果更加显著, 并且在高脂饮食喂养下 *FABP4/5*^{-/-} 能提高小鼠存活率^[8,10]。分子机制研究表明, 在 *FABP4*^{-/-} 巨噬细胞中, 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferators-activated receptors γ , PPAR γ) 活性增强, 可能通过 PPAR γ -肝 X 受体 (liver X receptor, LXR)- α -ATP-结合转运体 A1 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1) 通路促进胆固醇外

流, 减少细胞内脂质的沉积, 防止泡沫细胞的形成^[30]。但在 *FABP5*^{-/-} 巨噬细胞中, PPAR γ 活性也会升高^[31]。PPARs 和 FABPs 间的联系在不同情况下产生的效应也不尽相同。FABP4 依赖于脂肪酸与激素敏感性脂肪酶 (hormone-sensitive lipase, HSL) 结合并激活 HSL, 促进脂质分解, 抑制脂肪的生成。在 *FABP4*^{-/-} 小鼠的脂肪组织中发现脂质分解减少^[32-33], 其作用与 PPAR γ 相反。PPAR γ 能增加 FABP4 的表达, 并受到 FABP4 的负反馈调控。此外, FABP4 能够提高 PPAR γ 的泛素化水平, 加速蛋白酶体对 PPAR γ 的降解作用^[34]。因此, 最终表现为 FABP4 能够抑制 PPAR γ 的活性。尤其值得注意的是, FABP4 和 FABP5 能够介导炎症反应。在 *FABP4*^{-/-} 巨噬细胞中, 核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路上游的 IKK- β 激酶的磷酸化被抑制, 环氧合酶-2 (cyclooxygenase 2, COX-2) 的表达降低, 前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2) 分泌显著减少^[30, 35], 降低炎症反应。同时, FABP4 能够与 JNK-AP-1 形成正反馈调节而加强脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的炎症反应^[36]。另外有研究表明, FABP4 和 FABP5 能够与白三烯 A4 结合, 增加其化学稳定性, 从而促进炎症

发生发展^[37-38]。这些均表明 FABP4/5 在脂质代谢和炎症反应中扮演重要的角色。FABP4 和 FABP5 还与多种肿瘤包括乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌等的发生发展以及肿瘤代谢密切相关^[39]。因此, FABP4 和 FABP5 被认为是治疗肥胖及相关代谢性疾病甚至肿瘤的潜在靶标。目前, 已有多种 FABP4 小分子抑制剂被报道。对于 FABP4/5 双重抑制剂的研究报道也越来越多。另一方面, FABP3 亚型主要在心脏中表达。研究表明: *FABP3*^{-/-} 小鼠会出现运动不耐受, 且在老年时发生局部心肌肥厚现象, 也就是说, 抑制 FABP3 可能会导致心脏毒性^[40]。因此, 开发具有选择性的 FABP4/5 双重抑制剂更具优势和应用价值。

3 脂肪酸结合蛋白4/5双重抑制剂

3.1 芳基喹啉类及双环吡啶类

2013 年, Ceccarelli 等^[41] 在专利中公开了一类以喹啉为母核的化合物 (化合物 1~6), 并用时间分辨荧光共振能量转移 (time resolution fluorescence resonance energy transfer, TR-FRET) 方法检测了它们对 FABP4 和 FABP5 蛋白的抑制活性 (见表 2), 其中化合物 1 活性最好, 其对 FABP4 和 FABP5 的 IC₅₀ 分别为 13 和 51 nmol·L⁻¹。

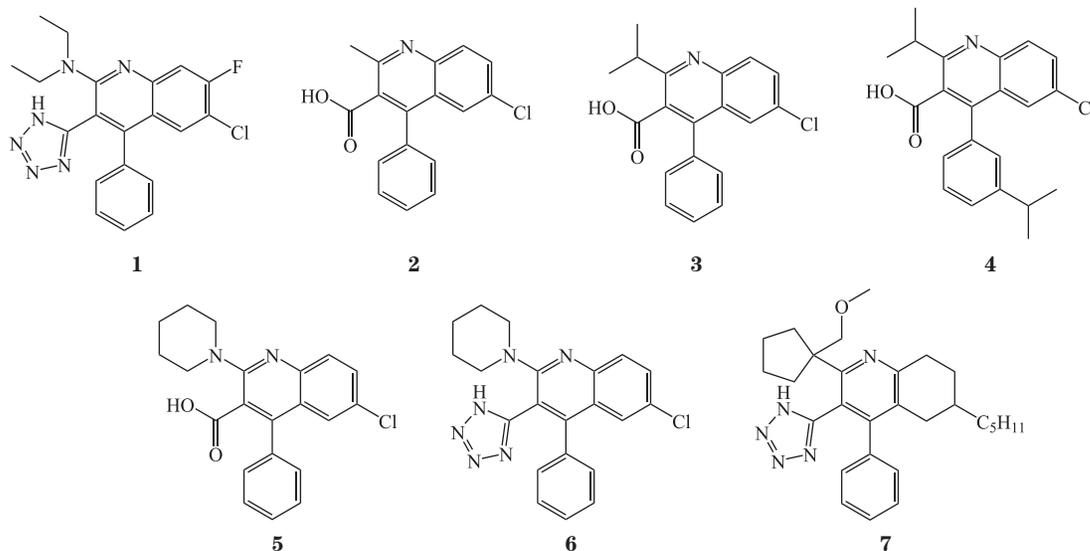


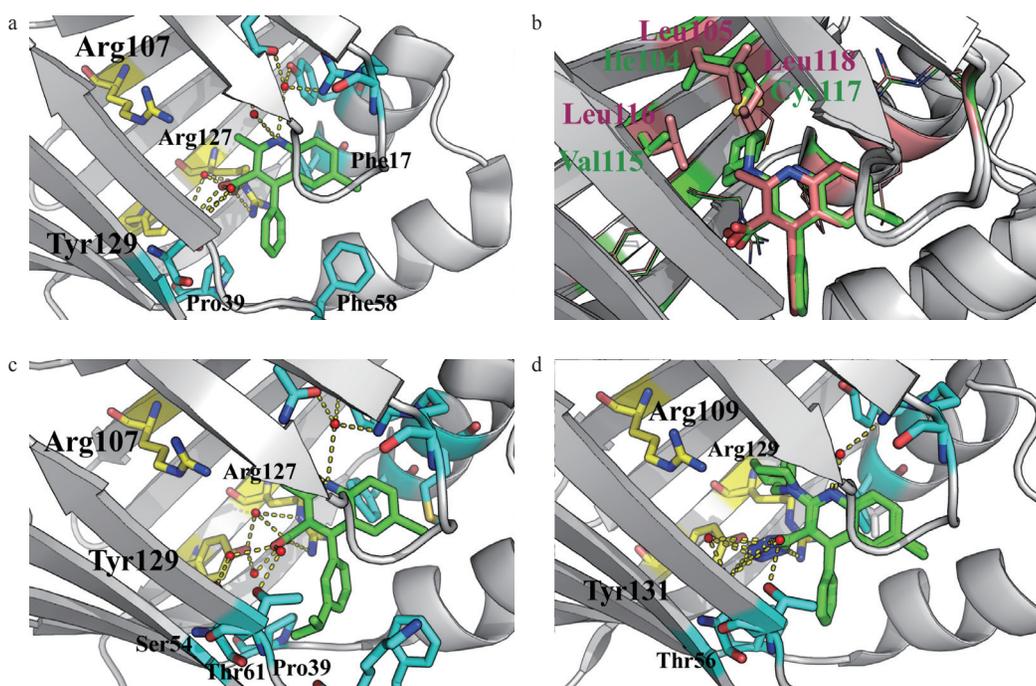
表 2 化合物 2~6 对 FABPs 抑制活性 (K_i 值)

Table 2 The inhibitory activities (K_i value) of compounds 2~6 on FABPs (hFABP3, hFABP4, hFABP5)

化合物	$K_i / (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$		
	hFABP3	hFABP4	hFABP5
2	0.09	0.105	>23.20
3	0.39	0.012	1.20
4	22.40	0.016	4.30
5	10.20	0.022	0.50
6	2.30	0.011	0.09

2016年, Kühne等^[42]报道了上述喹啉类化合物的研究过程。化合物**2**是通过虚拟筛选得到的苗头化合物, 具有较强的FABP3抑制活性, 且没有FABP5抑制活性。但化合物**2**具有较好的水溶性和渗透性, 且在人和鼠源肝微粒体内清除率较低, 具有进一步改造的价值。化合物**2**与FABP4的共晶结构(见图3a)显示, 其占据疏水口袋, 羧酸部分与Arg127形成直接的氢键作用, 并通过两分子水与Tyr129形成间接的氢键作用, 其他部分处于一个由Phe17、Tyr20、Met21、Val26、Thr30、Ala37、Pro39、Phe58、Ala76、Asp77和Ile105等氨基酸残基围成的疏水空腔中, 并与周围氨基酸形成多个 π - π 堆积作用和色散作用。将化合物**2**与FABP4的共晶结构与已知FABP3、FABP4、FABP5的共晶结构(PDB ID: 2HMB、2HNX、1B56)叠合, 比较关键位点氨基酸序列的差异, 基于结构进行分子设计与优化, 得到一系列化合物。将化合物**2**的2位甲基换成异丙基或哌啶分别得到化合物**3**和**5**, 其对FABP3的抑制活性明显降低, 并提高了对FABP5的抑制活性。分析蛋白复合物结构(见图3b)发现, 此位点在FABP4和FABP5蛋白中对应的氨基酸残基为异亮氨酸、缬氨酸和半胱氨酸, 而在FABP3中是3个体积较大的亮氨酸。

推测在FABP3中形成的结合口袋较小, 不利于与大基团的结合。因此, 可以通过在喹啉母核2位引入如异丙基或哌啶等体积较大基团, 以降低对FABP3的抑制活性, 进而实现选择性。在化合物**3**的苯环3位引入异丙基得到化合物**4**, 其对FABP3的抑制活性显著降低, 对FABP5的抑制活性也略有降低, 而对FABP4的抑制活性影响不大。在蛋白晶体结构中, 此位点在FABP4蛋白上对应54位丝氨酸, 而在FABP3和FABP5中则是体积较大的苏氨酸, 因此, 当引入如异丙基等较大基团时, 能够显著降低化合物对FABP3和FABP5的抑制活性, 而对FABP4影响较小; 同时还发现异丙基的引入能够与FABP4氨基酸残基(Pro39、Thr61)产生色散作用, 增强其与FABP4的相互作用(见图3c)。最后, 将化合物**5**的羧酸部分利用生物电子等排替换成四氮唑得到了化合物**6**(RO6806051)。在化合物**6**与FABP5的共晶结构(见图3d)中, 四氮唑不仅能够与关键氨基酸Arg129及Tyr131形成氢键作用, 同时还能与FABP5的Thr56氨基酸残基的C γ 产生色散作用, 增强其对FABP5的抑制活性。化合物**6**目前处于临床前研究阶段, 主要用于治疗动脉粥样硬化, 但其成药性有待进一步探究。



a: 化合物**2**与FABP4共晶结构(PDB: 5EDB); b: FABP4(关键氨基酸残基: 绿色; 配体: 化合物**5**, 绿色; PDB: 5EDC)与FABP3(关键氨基酸残基: 绛红色; 配体: 化合物**2**, 绛红色; PDB: 5HZ9)蛋白叠合; c: 化合物**4**与FABP4共晶结构(PDB: 5HZ6); d: 化合物**6**与FABP5共晶结构(PDB: 5HZ5)

图3 芳基喹啉类化合物与脂肪酸结合蛋白共晶结构

Figure 3 Co-crystal structures of human FABPs in complex with aryl-quinoline derivatives

2014年, Buettelmann等^[43]公开了一类双环吡啶类化合物。该类化合物具有较强的FABP4/5双重抑制活性, 其结构与喹啉类较为相似。利用TR-FRET方法测定吡啶类化合物**7**对FABP4和FABP5的 IC_{50} 均达到 $20\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 但尚未报道此类化合物对FABP3的抑制活性。

3.2 三唑并嘧啶酮类

2011年, Lan等^[44]报道了一类三唑并嘧啶酮类

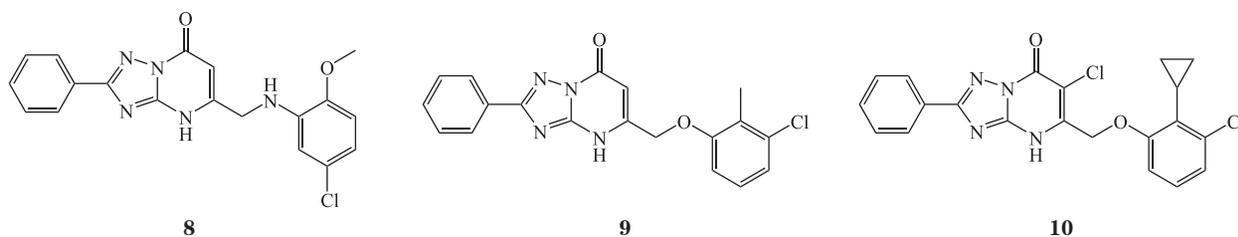


表3 化合物**8**~**10**对脂肪酸结合蛋白抑制活性 (K_d 或 IC_{50})

Table 3 Inhibitory activities (K_d or IC_{50}) of compounds **8**~**10** on FABPs

化合物	$K_d / (\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$		$IC_{50} / (\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	
	FABP4	FABP3	FABP4	FABP5
8	0.86	>25	1.7 ± 1.1	>25
9	0.01	0.52	0.8 ± 1.3	1.4 ± 1.3
10	0.02	0.56	1.3 ± 1.3	4.3 ± 1.3

FABP4能够促进脂质分解, 而化合物**9**和**10**剂量依赖性抑制异丙肾上腺素刺激的鼠源3T3-L1脂肪细胞和人原代脂肪细胞的脂肪分解。化合物**9**和**10**还能抑制THP-1细胞和人原代巨噬细胞释放单核细胞趋化因子-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1), 具有潜在的抗炎作用。动物实验中, 化合物**10**可以降低高脂饮食诱导肥胖小鼠血浆中TG和FFA水平, 改善肥胖小鼠的脂质代谢异常, 但并没有明显提高其糖耐量, 也不能改善胰岛素抵抗^[44]。

3.3 其他类型的FABP4/5双重抑制剂

2003年, 百时美施贵宝公司公开了一类芳基化合物。利用8-苯胺-1-萘磺酸(8-anilino-1-naphthalenesulfonic acid, 1, 8-ANS)荧光位移法测得其代表性化合物**11** (BMS-480404)对FABP4和FABP5的 K_i 分别为2.5和 $33\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[45]。此类化合物主要用于抗血脂异常和糖尿病的活性研究。

2012年, 默克公司和药明康德公司公开了化合物**12**的结构, 其对FABP4和FABP5的 IC_{50} 分别为455和 $850\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[46]。在高脂饮食诱导的肥胖C57小鼠中, 化合物**12**能改善胰岛素抗性和葡萄糖耐受, 并降低循环TG的水平, 用于治疗脂质异常和糖尿病, 目前处于

FABP4/5双重抑制剂(化合物**8**、**9**和**10**)。该类化合物为非羧酸类FABP4/5抑制剂, 具有良好细胞渗透率和药代动力学性质。利用温度依赖性荧光法 (temperature-dependent fluorescence, TdF) 筛出化合物**8**, 经过结构改造得到化合物**9**和**10**。相关化合物蛋白抑制活性见表3。

临床前研究阶段。

Buettelmann等^[47-48]分别在2013年和2014年公开了2类噻吩酰胺类化合物。用TR-FRET法测得其代表性化合物**13**对FABP4和FABP5的 IC_{50} 分别为9和 $34\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 化合物**14**对FABP4和FABP5的 IC_{50} 分别为13和 $16\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。此外, Buettelmann等^[49]还报道了一种脲类化合物, 其具有较强的FABP4/5双重抑制剂活性, 其中活性最好的化合物**15**对FABP4和FABP5的 IC_{50} 分别为 $50\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $3.79\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

4 FABP5小分子抑制剂

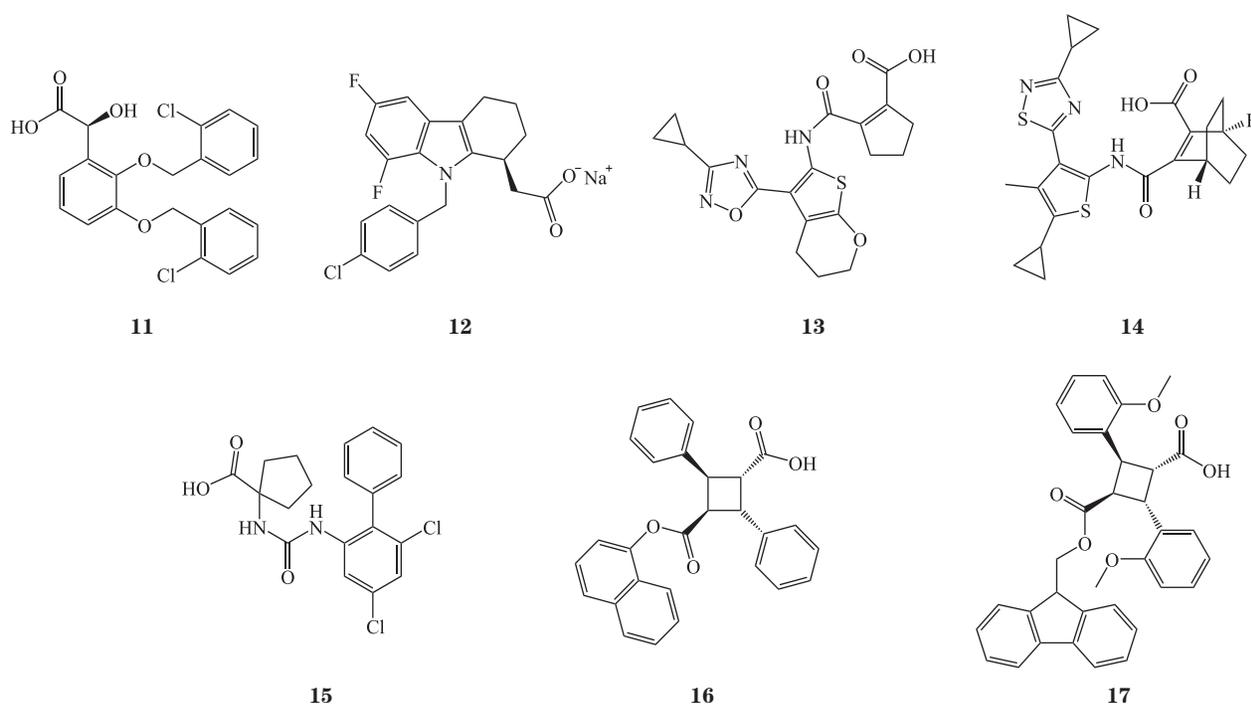
目前, 关于FABP5小分子抑制剂的报道很少。随着对FABP5研究的不断深入, 人们发现FABP5不仅在炎症反应中发挥重要作用^[50-51], 还能够促进包括宫颈癌、乳腺癌、前列腺癌、口腔鳞状细胞癌等多种恶性肿瘤的生长、转移和侵袭^[52-55]。因此, 对FABP5抑制剂的开发也逐渐受到关注。本节主要介绍已报道的FABP5小分子抑制剂, 期望对FABP4/5双重抑制剂的开发有所帮助。

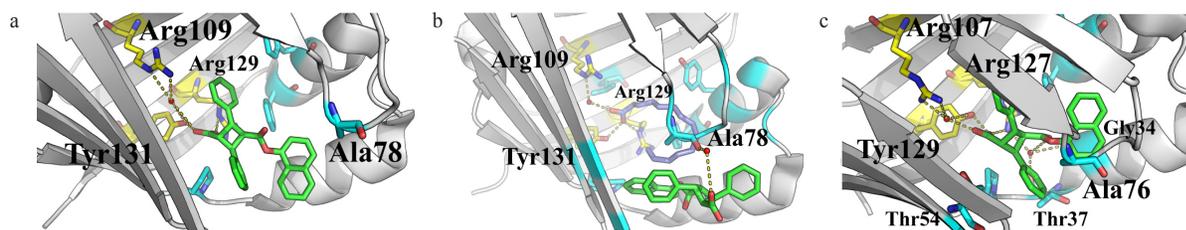
2012年, Berger等^[56]报道了一类古柯间酸单酯类化合物(化合物**16**和**17**), 其中化合物**16** (SB-FI-26)

对 FABP5 的 K_i 值为 $(0.9 \pm 0.1) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 同时对 FABP3 和 FABP7 也具有一定的抑制活性, K_i 值分别为 (3.9 ± 0.7) 和 $(0.4 \pm 0.0) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在人脑中, 内源性大麻素 (endocannabinoid anandamide, AEA) 有利于缓解应激、疼痛和炎症; 而 FABPs 能够与其结合并转运到内质网, 在脂肪酰胺水解酶 (fatty acid amide hydrolase, FAHH) 作用下水解失活^[56]。因此, 抑制 FABPs 能够降低细胞对 AEA 的摄取, 减少 AEA 降解, 升高脑中 AEA 水平, 产生镇痛抗炎作用^[56]。在体内外实验中, 化合物 **16** 也具有类似作用, 可抑制海拉细胞摄取 AEA, 并且能够升高疼痛模型小鼠脑中 AEA 水平, 具有镇痛抗炎效果^[56]。2018 年, Bogdan 等^[50] 发现 FABP5 能够激活微粒体前列腺素 E 合酶-1 (microsomal prostaglandin E synthase-1, mPGES-1), 促进 PGE2 的生物合成, 在炎症反应中发挥重要作用。化合物 **16** 能够抑制 FABP5, 降低 mPGES-1 和 PGE2 的表达, 达到镇痛抗炎的效果。除了镇痛抗炎作用外, 2017 年, Al-Jameel 等^[57] 报道化合物 **16** 能够通过 FABP5-PPAR γ -VEGF 通路治疗去势抵抗性前列腺癌。化合物 **16** 通过抑制 FABP5, 减少细胞对胞外脂肪酸的摄取以及胞内脂质降解生成的脂肪酸, 逆转过多的脂肪酸引起的 PPAR γ 激活和 VEGF 产生, 来抑制肿瘤的发展。

为了提高活性、水溶性、选择性以及体内稳定性, 研究人员对化合物 **16** 进行进一步的结构改造与构效关

系研究^[58]。化合物 **16** 与 FABP5 的共晶复合物显示, 化合物 **16** 的羧基与 FABP5 的 2 个关键氨基酸残基 Arg129 和 Tyr131 形成直接的氢键作用, 并通过 1 个水分子与 Arg109 形成 4 个间接的氢键作用 (见图 4a)。研究人员还发现化合物 **16** 除了上述与 FABP5 经典配体结合模式外, 还能与蛋白的底物入口门区域结合 (见图 4b)。化合物 **16** 对 FABP7 也具有较好的抑制活性。在化合物 **16** 与 FABP7 的复合晶体结构中, 其羧基不仅能够与相应的 Arg127 形成盐桥, 还通过 1 个水分子与 Arg127、Tyr129、Arg107 及 Thr54 等关键氨基酸形成氢键作用, 从而增强其抑制活性。与脂肪酸和 FABP7 的共晶结构不同, 化合物 **16** 的羧基部分还能够通过 1 个水分子与 FABP7 的 Gly34 和 Thr37 的羰基氧及 Arg127 的 NH 基团形成 4 个氢键, 而这在以脂肪酸为配体的共晶结构中并不存在。化合物 **16** 的 2 个苯环位于 FABP7 的疏水氨基酸 Phe17、Met21、Leu24、Val26、Thr30、Pro39、Phe58、Ala76、Phe105、Met116 和 Leu118 形成的疏水空腔中 (见图 4c)^[59]。通过一系列构效关系研究, Yan 等^[58] 获得了 FABP5 选择性抑制剂化合物 **17** (对 FABP5 的 K_i 为 $1.72 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 对 FABP3 和 FABP7 的 K_i 均大于 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。在弗氏完全佐剂诱导大鼠炎性痛模型中, 化合物 **17** 表现出强效的镇痛作用。





a: 化合物16与FABP5经典结合模式 (PDB: 5UR9); b: 化合物16与FABP5在门区结合模式 (PDB: 5UR9); c: 化合物16与FABP7经典结合模式 (PDB: 5URA)

图4 化合物16与脂肪酸结合蛋白共晶结构

Figure 4 Co-crystal structures of human FABPs in complex with compound 16

5 结语

FABPs 在脂质代谢调节中发挥重要作用, 与代谢性炎症疾病密切相关。过度的能量摄取及长期的能量过剩等多种不良生活方式促进了糖尿病、高血脂症、动脉粥样硬化等代谢性炎症疾病的发生发展。*FABP4/5^{-/-}* 小鼠模型及大量流行病学的研究均表明, FABP4/5 双重抑制剂在治疗代谢性炎症疾病方面可能更具优势, 有可能成为代谢性疾病药物研发的一个重要方向。目前, 一方面,

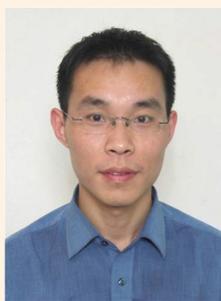
针对 FABP4/5 双重抑制剂的研究报道较少, 且尚未有化合物进入临床研究, FABPs 的生物学功能及作用机制也有待进一步阐明。另一方面, FABPs 各亚型之间在三级结构上相似性较高, 这给研制特异性的 FABP4/5 双重抑制剂带来一定的挑战。总之, 研制高活性和高特异性的 FABP4/5 双重抑制剂具有重要的理论意义和临床转化价值。

[参考文献]

- [1] Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2019, 15(5): 288-298.
- [2] Żelechowska P, Agier J, Kozłowska E, et al. Mast cells participate in chronic low-grade inflammation within adipose tissue[J]. *Obes Rev*, 2018, 19(5): 686-697.
- [3] da Silva I V, Rodrigues J S, Rebelo I, et al. Revisiting the metabolic syndrome: the emerging role of aquaglyceroporins[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(11): 1973-1988.
- [4] Yang Q, Vijayakumar A, Kahn B B. Metabolites as regulators of insulin sensitivity and metabolism[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(10): 654-672.
- [5] Hotamisligil G S, Bernlohr D A. Metabolic functions of FABPs—mechanisms and therapeutic implications[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2015, 11(10): 592-605.
- [6] Hotamisligil G S, Johnson R S, Distel R J, et al. Uncoupling of obesity from insulin resistance through a targeted mutation in aP2, the adipocyte fatty acid binding protein[J]. *Science*, 1996, 274(5291): 1377-1379.
- [7] Uysal K T, Schejda L, Wiesbrock S M, et al. Improved glucose and lipid metabolism in genetically obese mice lacking aP2[J]. *Endocrinology*, 2000, 141(9): 3388-3396.
- [8] Makowski L, Boord J B, Maeda K, et al. Lack of macrophage fatty-acid-binding protein aP2 protects mice deficient in apolipoprotein E against atherosclerosis[J]. *Nat Med*, 2001, 7(6): 699-705.
- [9] Maeda K, Cao H, Kono K, et al. Adipocyte/macrophage fatty acid binding proteins control integrated metabolic responses in obesity and diabetes[J]. *Cell Metab*, 2005, 1(2): 107-119.
- [10] Boord J B, Maeda K, Makowski L, et al. Combined adipocyte-macrophage fatty acid-binding protein deficiency improves metabolism, atherosclerosis, and survival in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Circulation*, 2004, 110(11): 1492-1498.
- [11] Zimmerman A W, Veerkamp J H. New insights into the structure and function of fatty acid-binding proteins[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2002, 59(7): 1096-1116.
- [12] Sulsky R, Magnin D R, Huang Y, et al. Potent and selective biphenylazole inhibitors of adipocyte fatty acid binding protein (aFABP)[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(12): 3511-3515.
- [13] Ockner R K, Manning J A, Poppenhausen R B, et al. A binding protein for fatty acids in cytosol of intestinal mucosa, liver, myocardium, and other tissues[J]. *Science*, 1972, 177(4043): 56-58.
- [14] Furuhashi M, Hotamisligil G S. Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7(6): 489-503.
- [15] Huang H, McIntosh A L, Martin G G, et al. FABP1: a novel hepatic endocannabinoid and cannabinoid binding protein[J]. *Biochemistry*,

- 2016, 55(37): 5243-5255.
- [16] Alpers D H, Strauss A W, Ockner R K, *et al.* Cloning of a cDNA encoding rat intestinal fatty acid binding protein[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1984, 81(2): 313-317.
- [17] Heuckeroth R O, Birkenmeier E H, Levin M S, *et al.* Analysis of the tissue-specific expression, developmental regulation, and linkage relationships of a rodent gene encoding heart fatty acid binding protein[J]. *J Biol Chem*, 1987, 262(20): 9709-9717.
- [18] Xu Z H, Buelt M K, Banaszak L J, *et al.* Expression, purification, and crystallization of the adipocyte lipid binding protein[J]. *J Biol Chem*, 1991, 266(22): 14367-14370.
- [19] Kane C D, Coe N R, Vanlandingham B, *et al.* Expression, purification, and ligand-binding analysis of recombinant keratinocyte lipid-binding protein (MAL-1), an intracellular lipid-binding protein found overexpressed in neoplastic skin cells[J]. *Biochemistry*, 1996, 35(9): 2894-2900.
- [20] Birkenmeier E H, Rowe L B, Crossman M W, *et al.* Ileal lipid-binding protein (Illbp) gene maps to mouse chromosome 11[J]. *Mamm Genome*, 1994, 5(12): 805-806.
- [21] Kurtz A, Zimmer A, Schnutgen F, *et al.* The expression pattern of a novel gene encoding brain-fatty acid binding protein correlates with neuronal and glial cell development[J]. *Development*, 1994, 120(9): 2637-2649.
- [22] Hayasaka K, Himoro M, Takada G, *et al.* Structure and localization of the gene encoding human peripheral myelin protein 2 (PMP2)[J]. *Genomics*, 1993, 18(2): 244-248.
- [23] Oko R, Morales C R. A novel testicular protein, with sequence similarities to a family of lipid binding proteins, is a major component of the rat sperm perinuclear theca[J]. *Dev Biol*, 1994, 166(1): 235-245.
- [24] Prentice K J, Saksi J, Hotamisligil G S. Adipokine FABP4 integrates energy stores and counter regulatory metabolic responses[J]. *J Lipid Res*, 2019, 60(4):734-740.
- [25] Boord J B, Maeda K, Makowski L, *et al.* Adipocyte fatty acid-binding protein, aP2, alters late atherosclerotic lesion formation in severe hypercholesterolemia[J]. *Arterioscl Thromb Vas Biol*, 2002, 22(10): 1686-1691.
- [26] Nieman K M, Kenny H A, Penicka C V, *et al.* Adipocytes promote ovarian cancer metastasis and provide energy for rapid tumor growth[J]. *Nat Med*, 2011, 17(11): 1498-1503.
- [27] Suh J B, Kim S M, Cho G J, *et al.* Serum AFBP levels are elevated in patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2014, 49(8): 979-985.
- [28] Holm S, Ueland T, Dahl T B, *et al.* Fatty acid binding protein4 is associated with carotid atherosclerosis and outcome in patients with acute ischemic stroke[J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e28785. Doi: 10.1371/journal.pone.0028785.
- [29] Toruner F, Altinova A E, Akturk M, *et al.* The relationship between adipocyte fatty acid binding protein-4, retinol binding protein-4 levels and early diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 91(2): 203-207.
- [30] Makowski L, Brittingham K C, Reynolds J M, *et al.* The fatty acid-binding protein, aP2, coordinates macrophage cholesterol trafficking and inflammatory activity. Macrophage expression of aP2 impacts peroxisome proliferator-activated receptor gamma and IkappaB kinase activities[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(13): 12888-12895.
- [31] Babaev V R, Runner R P, Fan D, *et al.* Macrophage mal1 deficiency suppresses atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-null mice by activating peroxisome proliferator-activated receptor- γ -regulated genes[J]. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(6): 1283-1290.
- [32] Jenkins-Kruchten A E, Bennaars-Eiden A, Ross J R, *et al.* Fatty acid-binding protein-hormone-sensitive lipase interaction fatty acid dependence on binding[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(48): 47636-47643.
- [33] Smith A J, Sanders M A, Thompson B R, *et al.* Physical association between the adipocyte fatty acid-binding protein and hormone-sensitive lipase: a fluorescence resonance energy transfer analysis[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(50): 52399-52405.
- [34] Garin-Shkolnik T, Rudich A, Hotamisligil G S, *et al.* FABP4 attenuates PPAR γ and adipogenesis and is inversely correlated with PPAR γ in adipose tissues[J]. *Diabetes*, 2014, 63(3): 900-911.
- [35] Makowski L, Hotamisligil G S. Fatty acid binding proteins—the evolutionary crossroads of inflammatory and metabolic responses[J]. *J Nutr*, 2004, 134(9): 2464S-2468S.
- [36] Hui X, Li H, Zhou Z, *et al.* Adipocyte fatty acid-binding protein modulates inflammatory responses in macrophages through a positive feedback loop involving c-Jun NH₂-terminal kinases and activator protein-1[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(14): 10273-10280.
- [37] Zimmer J S, Dyckes D F, Bernlohr D A, *et al.* Fatty acid binding proteins stabilize leukotriene A₄: competition with arachidonic acid but not other lipoxygenase products[J]. *J Lipid Res*, 2004, 45(11): 2138-2144.
- [38] Zimmer J S, Voelker D R, Bernlohr D A, *et al.* Stabilization of leukotriene A₄ by epithelial fatty acid-binding protein in the rat basophilic leukemia cell[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(9): 7420-7426.

- [39] Amiri M, Yousefnia S, Forootan F S, *et al.* Diverse roles of fatty acid binding proteins (FABPs) in development and pathogenesis of cancers[J]. *Gene*, 2018, 676: 171-183.
- [40] Binas B, Danneberg H, McWhir J, *et al.* Requirement for the heart-type fatty acid binding protein in cardiac fatty acid utilization[J]. *FASEB J*, 1999, 13(8): 805-812.
- [41] Ceccarelli S M, Conte A, Kuehne H, *et al.* New aryl-quinoline derivatives: WO, 2013/064465[P]. 2013-10-05.
- [42] Kühne H, Obst-Sander U, Kuhn B, *et al.* Design and synthesis of selective, dual fatty acid binding protein 4 and 5 inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(20): 5092-5097.
- [43] Buettelmann B, Conte A, Kuehne H, *et al.* New bicyclic pyridine derivatives: WO, 2014/029723[P]. 2014-02-27.
- [44] Lan H, Cheng C C, Kowalski T J, *et al.* Small molecule inhibitors of FABP4/5 ameliorate dyslipidemia but not insulin resistance in mice with diet-induced obesity[J]. *J Lipid Res*, 2011, 52(4): 646-656.
- [45] Magnin D R, Sulsky R B, Robl J A, *et al.* Dual inhibitors of adipocyte fatty acid binding protein and keratinocyte fatty acid binding protein: WO, 2003/043624[P]. 2003-05-30.
- [46] Lin S, Deng Q, Yang L, *et al.* Discovery of 1, 2, 3, 4-tetrahydrocarbazolyl-acetic acids as fatty acid binding protein 4/5 (FABP4/5) inhibitors [C]. Washington DC: *Amer Chemical Soc*, 2012.
- [47] Buettelmann B, Ceccarelli S M, Kuehne H, *et al.* New bicyclic thiophenylamide compounds: WO, 2013/189841[P]. 2013-12-27.
- [48] Buettelmann B, Ceccarelli S M, Kuehne H, *et al.* Non-annulated thienyl amides as inhibitors of fatty acid binding protein (FABP) 4 and/or 5: WO, 2014/040938[P]. 2014-03-20.
- [49] Buettelmann B, Ceccarelli S M, Conte A, *et al.* Urea derivatives as fatty-acid binding protein (FABP) inhibitors: WO, 2014/146995[P]. 2014-09-25.
- [50] Bogdan D, Falcone J, Kanjiya M P, *et al.* Fatty acid-binding protein 5 controls microsomal prostaglandin E synthase 1 (mPGES-1) induction during inflammation[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(14): 5295-5306.
- [51] Chamcheu J C, Chaves-Rodriguez M I, Adhami V M, *et al.* Upregulation of PI3K/AKT/mTOR, FABP5 and PPAR β / δ in human psoriasis and imiquimod-induced murine psoriasiform dermatitis model[J]. *Acta Dermato Venereologica*, 2016, 96(6): 854-856.
- [52] Wang W, Chu H J, Liang Y C, *et al.* FABP5 correlates with poor prognosis and promotes tumor cell growth and metastasis in cervical cancer[J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(11): 14873-14883.
- [53] Powell C A, Nasser M W, Zhao H, *et al.* Fatty acid binding protein 5 promotes metastatic potential of triple negative breast cancer cells through enhancing epidermal growth factor receptor stability[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(8): 6373-6385.
- [54] Senga S, Kawaguchi K, Kobayashi N, *et al.* A novel fatty acid-binding protein 5-estrogen-related receptor α signaling pathway promotes cell growth and energy metabolism in prostate cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(60): 31753-31770.
- [55] Fang L Y, Wong T Y, Chiang W F, *et al.* Fatty acid binding protein 5 promotes cell proliferation and invasion in oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Pathol Med*, 2010, 39(4): 342-348.
- [56] Berger W T, Ralph B P, Kaczocha M, *et al.* Targeting fatty acid binding protein (FABP) anandamide transporters-a novel strategy for development of anti-inflammatory and anti-nociceptive drugs[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e50968. Doi: 10.1371/journal.pone.0050968.
- [57] Al-Jameel W, Gou X, Forootan S S, *et al.* Inhibitor SBFI26 suppresses the malignant progression of castration-resistant PC3-M cells by competitively binding to oncogenic FABP5[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(19): 31041-31056.
- [58] Yan S, Elmes M W, Tong S, *et al.* SAR studies on truxillic acid mono esters as a new class of antinociceptive agents targeting fatty acid binding proteins[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 154: 233-252.
- [59] Hsu H C, Tong S, Zhou Y, *et al.* The antinociceptive agent SBFI-26 binds to anandamide transporters FABP5 and FABP7 at two different sites[J]. *Biochemistry*, 2017, 56(27): 3454-3462.



【专家介绍】 温小安：博士，副研究员，现任职于中国药科大学药物科学研究院新药研究中心（江苏省代谢性疾病药物重点实验室），主要从事代谢性疾病药物和抗肿瘤药物分子设计与合成相关研究。1998年、2007年分别获中国药科大学化学制药专业工学学士学位、药物化学专业理学博士学位。2010—2012年获法中科学及应用基金会（FFCSA）和国家留学基金委联合资助，在法国里尔第二大学生物结构与药物发现研究中心（INSERM U761）从事博士后研究工作。1998—2002年曾在江苏豪森药业股份有限公司从事新药研发工作，2007年进入中国药科大学新药研究中心工作至今。主持国家自然科学基金（面上项目：No.81473080，青年项目：No.21002125）、江苏省自然科学基金（面上项目：BK20141355）、教育部高等学校博士点专项基金（No.20090096120009）等资助课题，参与国家科技重大专项、高等学校科技创新工程重大项目培育资金等资助项目的研究工作。