



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Chemical tools to modulate endocannabinoid biosynthesis

Deng, H.

Citation

Deng, H. (2017, April 11). *Chemical tools to modulate endocannabinoid biosynthesis*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/47846>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/47846>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/47846> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Deng, Hui

Title: Chemical tools to modulate endocannabinoid biosynthesis

Issue Date: 2017-04-11

化学小分子探针调控内源性大麻素的生物合成

本书主要讨论了如何设计，合成以及发现能够调控内源性大麻素 (endocannabinoids) 合成的化学小分子探针。基于活性的蛋白质组学分析 (activity-based protein profiling, ABPP) 作为一种新型的，非常有效的化学生物学手段是成功发现这些化学小分子探针的关键。

第一章简述了内源性大麻素系统的生物学功能。内源性大麻素作为一种脂类信号分子能够激活大麻素受体 (CB1 和 CB2)，CB1 和 CB2 均属于 G-蛋白偶联受体。内源性大麻素在人类健康和疾病中具有非常重要的作用，其中包括免疫调控，能量平衡，神经传递，食欲等。曾上市的 CB1 受体的拮抗剂 Rimonabant 对于肥胖病患者具有很好的疗效，然而由于其严重的副作用（比如产生抑郁，焦虑，甚至自杀）被迫退市。因此，适度调控内源性大麻素的产生在医药领域仍然是一个亟待解决的问题。目前有两种主要的内源性大麻素，AEA (anandamide) 和 2-AG (2-arachidonoylglycerol)。2-AG 和 AEA 体内的表达水平因不同的物种、组织、病理状况等具有一定差异。近年来，虽然已有特异性的抑制剂能够控制 2-AG 和 AEA 的代谢水平，然而究竟是哪个内源性大麻素负责激活相应的 CB1 或 CB2 受体以调控相应的（病）生理效应仍属于未知。因此，如果能发现特异性的抑制剂来分别调控 2-AG 和 AEA 的生成将非常有助于研究大麻素受体调节的生理学效应。

据报道，内源性大麻素是根据不同的生物学刺激而“按需”生成的。2-AG 的生成主要依靠于二酰基甘油酯酶 (DAGL α 和 DAGL β)。遗传学研究表明，DAGL α 主要负责中枢神经系统中 2-AG 的生成，而 DAGL β 则主要负责免疫系统中 2-AG 的生成。特异性的 DAGL α 抑制剂被认为是 Rimonabant 的替代品，而特异性的 DAGL β 抑制剂则被认为具有降低神经炎症的作用。

第二章主要简述了对映选择性合成 1,2,3-三氮唑尿素类化合物，并采用了相应的生物化学测试和活性蛋白质组学的分析方法对 DAGL α 的抑制作用进行了评估。测试结果显示 (*R*)-苄基哌啶取代的三氮唑尿素对 DAGL α 的抑制作用优于相应的 (*S*) 型异构体。通过相关的 SAR 研究最终发现了具有高活性、选择性、以及细胞活性的 DAGL 抑制剂——DH376。

第三章主要利用了三氮唑尿素类 DAGL 的抑制剂 DH376 和 DO34, 以及结构类似的对照化合物 DO53, 化学蛋白质组学和脂质学的分析方法通过体内急性抑制 DAGL 来研究了其对小鼠大脑内活性脂质的影响。结果显示，两个小时的体内抑制 DAGL 诱导了小鼠大脑内活性脂质的迅速重组，其中包括二酰基甘油 (DAGs) 的升高，内源性大麻素和类花生酸的降低。另外，结果显示 DAGL α 是一个具有较短半寿期 (2-4 h) 的蛋白。此外，DAGL 的抑制也中断了大麻素受体调节的相关电生理作用，并减弱了相应的神经炎症作用，其中包括脂多糖在小鼠体内诱导的炎症。这些发现表明，

小鼠大脑内这些脂质类信号分子通路具有高度的互联性以及动态性，并表明 DAGL 对这些活性脂类具有重要作用。

第四章主要研究了 DAGL 抑制剂作为一种潜在减肥药的治疗功效。DAGL 抑制剂 DH376 能够暂时降低小鼠空腹后的摄食量，这一效应与大麻素受体 CB1 的拮抗剂 Rimonabant 具有相似性。注射了小分子探针 DH376 的小鼠，其摄食量降低，同时伴随着体内脂质氧化水平的升高和碳水化合物代谢水平的降低。重要的是，DH376 并没有影响到小鼠的正常运动。DO34 作为 DAGL 的抑制剂具有类似的效应，然而 DO53 做为阴性对照化合物（不抑制 DAGL）也产生了相似的效应。这表明，三氮唑尿素类化合物能够通过抑制多个分子靶点来影响小鼠的能量平衡。本章进一步评估了 DAGL 的抑制剂 DH376 在小鼠其他组织（非中枢神经系统）中的特异性。

第五章主要描述了正电子发射断层扫描（PET）的标记物 [^{18}F]-DH439 的设计，合成和应用。活性蛋白质组学分析和放射性配体置换的生物测试表明，DH439 对于 DAGL 保留了很好的抑制作用和特异性，但对 CB2 受体具有一定的结合作用。对于 [^{18}F]-DH439 静脉注射的小鼠进行相关的生物分布测试和 PET-成像实验，结果显示 ^{18}F 的标记物在非大脑组织中具有很好的吸收，而在大脑里仅发现少量的 ^{18}F 的标记物。

第六章是关于对映选择性合成含有手型双取代基的哌啶三氮唑尿素类化合物作为 DAGL α 和 ABHD6 的双重抑制剂，以及对该类化合物的相关结构优化。通过生物学活性测试发现，哌啶环上 C2 位置取代基的手型类型和哌啶环上羟基的取代位置（C3 取代活性降低，C5 取代活性不变）对 DAGL α 和 ABHD6 的抑制有很重要的作用。据报道，抑制丝氨酸水解酶 ABHD6 具有一定的减肥、抗炎以及神经保护等作用。因此，同时抑制 DAGLs 和 ABHD6 的化合物对治疗代谢以及神经降解类疾病有一定的作用。

第七章介绍了设计、合成以及发现对单酰基甘油酯酶 (MAGL) 具有特异选择性的荧光小分子探针。MAGL 的活性在生理和病理中具有很重要的作用。据报道，MAGL 高度表达于癌细胞中，可控制一系列的促肿瘤信号的产生。研究 MAGL 在活细胞或体内的脂质信号中所扮演的重要作用，设计合成一种能够特异性结合 MAGL 的化学探针将有重要作用。本章设计合成了对 MAGL 具有高度选择性的化学荧光探针 LEI463。并利用激光共聚焦技术 (confocal microscopy) 和 correlative light electron microscopy (CLEM) 技术发现，MAGL 的活性主要表达在癌细胞 (MCF7) 的线粒体里。该探针 LEI463 将会成为一种非常有用的生物标记物，可用来研究具有活性的 MAGL 在生理和病理过程中的分布情况，对新药的研发具有很重要的作用。

第八章对本论文的的实验工作进行了归纳和总结，并对未来的研究方向进行了展望。