

# 单酰基甘油脂肪酶的共价小分子抑制剂的研究进展

汪君来<sup>1,3</sup>, 刘森<sup>1,2\*</sup>

- 1 湖北工业大学 工业发酵省部共建协同创新中心, 湖北 武汉 430068
- 2 湖北工业大学 发酵工程教育部重点实验室, 湖北 武汉 430068
- 3 湖北微生元生物科技有限公司, 湖北 鄂州 436006

汪君来, 刘森. 单酰基甘油脂肪酶的共价小分子抑制剂的研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(11): 4397-4412.

WANG Junlai, LIU Sen. Advances in the development of covalent small molecule inhibitors of monoacylglycerol lipase[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(11): 4397-4412.

**摘要:** 单酰基甘油脂肪酶(monoacylglycerol lipase, MGL)是一种丝氨酸水解酶, 在降解内源性大麻素 2-花生四烯酸甘油(2-arachidonoylglycerol, 2-AG)中起主要作用。MGL 在部分癌症中的作用已经得到证实, 抑制 MGL 的活性显示出对癌细胞增殖的抑制, 这也使 MGL 成为治疗癌症的一种有前途的新药靶点。目前, MGL 的共价抑制剂研发进展较快, 此类药物的共价结合能力强, 具有高亲和力、持续时间长、剂量低和耐药风险低等特点, 因而备受科研人员的关注。本文介绍了 MGL 的结构功能、共价 MGL 抑制剂的特点、机制及进展, 为新型 MGL 共价小分子抑制剂的开发提供了参考。

**关键词:** 单酰基甘油脂肪酶; 共价抑制剂; 共价结合; 靶向抑制; 癌症治疗

## Advances in the development of covalent small molecule inhibitors of monoacylglycerol lipase

WANG Junlai<sup>1,3</sup>, LIU Sen<sup>1,2\*</sup>

- 1 Cooperative Innovation Center of Industrial Fermentation (Ministry of Education & Hubei Province), Hubei University of Technology, Wuhan 430068, Hubei, China
- 2 Key Laboratory of Fermentation Engineering (Ministry of Education), Hubei University of Technology, Wuhan 430068, Hubei, China
- 3 Hubei WEL-SAFE Biotechnology Co., Ltd., Ezhou 436006, Hubei, China

**Abstract:** Monoacylglycerol lipase (MGL) is a serine hydrolase that plays a major role in the

资助项目: 国家自然科学基金面上项目(31971150); 湖北省杰出青年基金项目(2019CFA069)

This work was supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (31971150) and the Project of Hubei Province Fund for Distinguished Young Scholars (2019CFA069).

\*Corresponding author. E-mail: senliu.ctgu@gmail.com

Received: 2023-02-27; Accepted: 2023-05-08; Published online: 2023-05-15

degradation of endogenous cannabinoid 2-arachidonoylglycerol. The role of MGL in some cancer cells has been confirmed, where inhibition of the MGL activity shows inhibition on cell proliferation. This makes MGL a promising drug target for the treatment of cancer. Recently, the development of covalent inhibitors of MGL has developed rapidly. These drugs have strong covalent binding ability, high affinity, long duration, low dose and low risk of drug resistance, so they have received increasing attention. This article introduces the structure and function of MGL, the characteristics, mechanisms and progress of covalent MGL inhibitors, providing reference for the development of novel covalent small molecule inhibitors of MGL.

**Keywords:** monoacylglycerol lipase; covalent inhibitor; covalent binding; targeting inhibition; treatment of cancer

单酰基甘油脂肪酶(monoacylglycerol lipase, MGL)属于丝氨酸水解酶超家族,广泛分布于质膜、内质网和脂滴等结构中,主要生物学功能是水解大多数组织中的单酰基甘油脂类并影响多不饱和脂肪酸的代谢<sup>[1]</sup>。MGL于20世纪60年代被发现,其酶促表征和催化三联体在后续的研究中被陆续阐明<sup>[2]</sup>。2010年,MGL的三维晶体结构得到解析<sup>[3]</sup>,进一步揭示了酶与膜、底物和抑制剂的相互作用机制<sup>[4-5]</sup>。

MGL在脂质代谢、信号传递以及多种肿瘤的发生中起到重要作用,是各类相关疾病的潜在治疗靶点。其中,MGL最受关注的生物学功能是其能够将2-花生四烯酸甘油(2-arachidonoylglycerol, 2-AG)水解为花生四烯酸和甘油。2-AG是人体内最丰富的内源性大麻素,可抑制相关癌症细胞的生长和增殖<sup>[6-7]</sup>。由于2-AG主要由MGL降解调控<sup>[8]</sup>,使得MGL成为相关研究的焦点。

MGL的小分子抑制剂具有非常广阔的应用前景,抑制MGL的活性能够激活相关大麻素受体,减少相关炎症及病痛。当前,科研人员已开发了多种MGL抑制剂作为抗炎、止痛、治疗癌症的潜在药物,相关药物研究也日益增长。近年来,共价抑制剂由于具有高选择性、强药效和长持久性等优良特性而备受关注,但

是MGL共价抑制剂的研发报道相对较少,且MGL共价抑制剂的抑制效力和特异性还有待进一步优化。此外,MGL抑制剂的研发尚处在早期阶段,缺乏获批上市的药物,因此新型MGL抑制剂的发现非常重要<sup>[9]</sup>。基于此,本文对MGL的结构、功能及其共价抑制剂的研究进展进行了总结阐述,为后续的研究提供一定参考。

## 1 单酰基甘油脂肪酶

### 1.1 MGL的功能

MGL首次在大鼠肠道和脂肪组织中被发现,它通过丝氨酸-天冬氨酸-组氨酸三联体的催化机制催化代谢胞外和胞内的单酰甘油(monoacylglycerol, MG),将其分解为游离脂肪酸(free fatty acid, FA)和甘油<sup>[2,9-10]</sup>。MG和FA都可以作为信号脂质以及前体物质,因此MGL可以调节多种生理过程。在哺乳动物中,胞外的MG来源于肠道和血浆中被水解的膳食脂质,胞内的MG来源于三酰甘油和甘油磷脂降解过程中二酰甘油的水解。MGL还能水解2-花生四烯酸甘油(2-AG)(图1),这是中枢神经系统内大麻素代谢中的一个重要信号分子。内源性大麻素系统调节各种生理过程,如食欲、炎症、痛觉和记忆<sup>[11-12]</sup>。

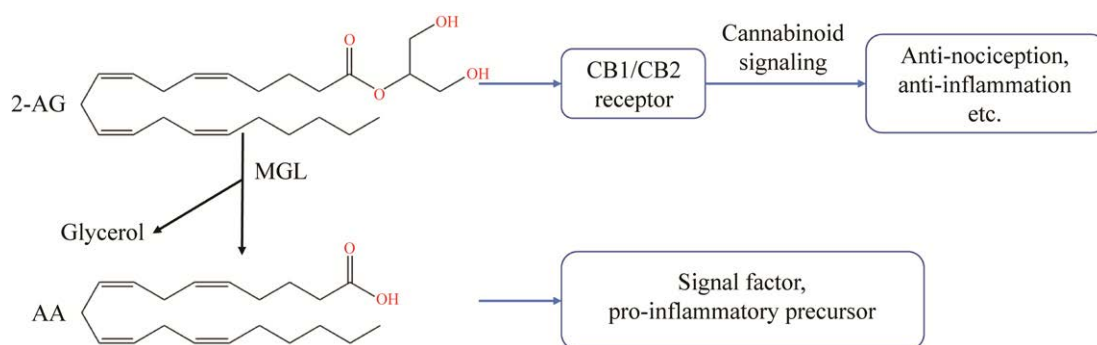


图1 MGL 调节的信号通路及潜在治疗作用

Figure 1 MGL-regulated signaling pathways and potential therapeutic effects. 2-AG: 2-arachidonoylglycerol; AA: Arachidonic acid.

近年来,脂质代谢在癌症中的作用越来越受到人们的关注。特别是,脂肪酸合成或脂肪酸氧化相关基因的异常表达与恶性表型相关,包括转移和耐药等<sup>[13]</sup>。如上所述,MGL是脂解过程中的重要酶,有许多研究发现,MGL在许多侵袭性人类癌细胞和原发性癌症中高度表达,而过表达的MGL能够促进肿瘤的迁移、侵袭和增殖。MGL在黑色素瘤、人类乳腺癌、卵巢癌、结直肠癌和肺腺癌等癌症中的作用已被确认。抑制MGL在这些癌症中的活性显示出对细胞增殖具有显著抑制,使得MGL成为治疗癌症的一种有前途的新药靶点<sup>[14-20]</sup>,因此MGL抑制剂被认为具有很高的药用潜力。

2-花生四烯酸甘油(2-AG)是一种脂质信使,主要通过与大麻素G蛋白偶联受体CB1和CB2结合发挥作用。与传统的神经递质不同,2-AG在释放前不储存在囊泡中,而是由膜脂前体根据需要产生,在发挥作用后,2-AG被细胞迅速摄取并水解<sup>[9]</sup>。MGL负责大脑在内的多数组织上的大约80% 2-AG的水解。除了MGL,其他2-AG水解酶活性已经在药理学水平上有了发现,最近鉴定出2种2-AG水解酶, $\alpha/\beta$ -水解酶结构域蛋白6/12( $\alpha/\beta$ -hydrolase domain 6/12, ABHD6/12)<sup>[10]</sup>。此外,使用脂肪酸酰胺水解酶

(fatty acid amide hydrolase, FAAH)抑制剂的实验表明,在特定情况下,2-AG也可以被FAAH水解。因此,2-AG可以通过几种途径被水解,最主要的途径是MGL<sup>[10]</sup>。50%的脑内花生四烯酸(arachidonic acid, AA)由AG水解产生,AA在炎症反应中起主要作用,既是一个信号分子,也是促炎二十烷类化合物的多个途径的前体。综上所述,MGL在2个方向调节大脑内源性大麻素和花生四烯酸水平,对脑部炎症起到双向控制作用<sup>[21]</sup>。

## 1.2 MGL 的结构

MGL属于丝氨酸水解酶超家族,于1976年首次从大鼠脂肪组织中纯化,1997年从小鼠脂肪细胞中克隆,X-射线晶体结构于2009年被报道<sup>[9]</sup>。MGL结晶为二聚体,属于 $\alpha/\beta$ 水解酶超家族,人源MGL有2种不同的亚型,其活性位点位于Ser122/Ser132(图2),结构包含Ser122-Asp239-His269/Ser132-Asp249-His279催化三联体的保守 $\beta$ 折叠核心,作为细胞膜的锚定界面,它控制底物的进入和产物的释放。MGL是一种膜结合型水解酶,通过一个锚定的 $\alpha$ 螺旋区域连接在细胞内。底物结合位置包括一个大的疏水通道,形成酰链结合区(ACB口袋)<sup>[22]</sup>,MGL的催化三联体位于结合口袋的通道底部<sup>[9,23]</sup>。入

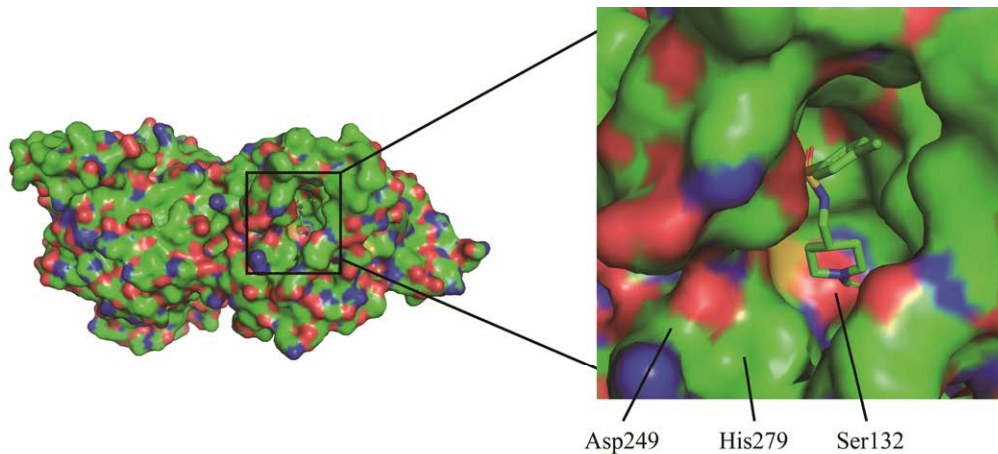


图2 MGL蛋白晶体结构及其与抑制剂 SAR127303 结合口袋(PDB 编号 4UUQ)

Figure 2 Structure of MGL protein and its binding pocket with inhibitor SAR127303 (PDB 4UUQ).

口边缘靠近疏水螺旋,这表明 MGL 可能与膜相互作用并募集亲脂底物。此外,位于催化三联体附近的 3 个半胱氨酸(Cys201、Cys208 和 Cys242)来稳定 MGL 的活性构象,也可针对这些半胱氨酸残基设计选择性抑制剂<sup>[9]</sup>。

人源的 MGL 存在 2 种亚型,分为长型(313 个氨基酸)和短型(303 个氨基酸),区别在于长型在 N 端相比短型多 10 个氨基酸(METGPEDPSS)。在小鼠中,来自脂肪组织、肝脏、心脏、肺、胃、脾脏、肾脏和肾上腺的 MGL 大约有 33 kDa 大小,而在肌肉中,可检测到一个单独且大得多的蛋白质(约 40 kDa)<sup>[24]</sup>。

## 2 单酰基甘油脂肪酶的共价小分子抑制剂

传统药物设计策略通常侧重于开发可逆和非共价结合的小分子抑制剂(或激活剂)。选择性和效力通过互补性和非共价作用实现,例如氢键、盐桥、范德华相互作用等<sup>[25]</sup>。共价抑制剂都特别设计有亲电功能基团,与靶蛋白特定残基结合,形成共价键从而破坏蛋白结构并抑制功能活性。共价药物的使用可以追溯到 19 世纪

后期所开发的阿司匹林药物,其通过和环氧合酶 1/2 共价结合从而产生不可逆的抑制效果<sup>[26-28]</sup>。

由于单酰基甘油脂肪酶(MGL)在 2-AG 的分解中发挥着重要的作用,MGL 的抑制/失活成为了一种用于间接激活大麻素受体 CB1 和 CB2 的方法。此时,2-AG 的代谢酶 MGL 的阻断使得这种内源性大麻素的水平升高,从而导致大麻素信号的增强。MGL 还可以控制癌细胞中的脂质存储和释放,并由此控制脂质信号,促进肿瘤细胞的生长、迁移和侵袭<sup>[15]</sup>,抑制 MGL 可以在小鼠模型中发挥抗伤害的效果。因此 MGL 的抑制是一种有效的抗炎方法。

### 2.1 MGL 共价抑制剂的特点

在药物研发早期,共价药物引起的特异性药物不良反应(idiosyncratic adverse drug reactions, IADRs)是阻碍开发此类药物的主要原因。预测药物的 IADR 是药物开发的重大挑战,潜在的机制和毒性往往不可预料,某些 IADR 表现罕见,有时甚至危及生命且无法解释药理<sup>[29]</sup>,因此这种药物在发展初期不受欢迎<sup>[30-31]</sup>。药物开发发展及理念更新,使人们对共价抑制剂有了重新认识,各种共价药物也已进入市场<sup>[25,32]</sup>,

如奥利司他(肥胖)、贝洛拉尼(肥胖)和利伐斯的明(痴呆)<sup>[27]</sup>。

在过去的 20 多年中,科研人员开发了多种 MGL 的抑制剂,可大致分为 3 种类型:与 MGL 共价不可逆结合的抑制剂、与 MGL 共价可逆结合的抑制剂、与 MGL 非共价结合的抑制剂,其中共价不可逆抑制剂最为广泛<sup>[24]</sup>。这些 MGL 的共价抑制剂大都是与蛋白活性催化残基 Ser132/Ser122 结合,也有少部分与活性位点附近的 Cys252/Cys242 结合。

共价抑制剂有一些独特优势:与特定氨基酸残基进行共价修饰用于提高特异选择性;共价药物限制靶标蛋白与配体的竞争,低药量就可以达到较好效果;共价机制导致靶点失效,活性只能通过重新合成蛋白质来恢复,所需长半衰期药物将减少,并降低了靶外毒性和药物-药物相互作用的可能<sup>[29]</sup>。因此,在需要完全并持续抑制的情况下,共价抑制剂会是候选药物中的首选<sup>[33]</sup>。

## 2.2 MGL 共价抑制剂的作用方式

MGL 的靶向共价抑制剂实现“蛋白质沉默”需通过 2 步机制起作用。首先,药物进入 MGL 的结合口袋,若亲电配体上的功能性“弹头”靠近特定残基形成可逆的酶-抑制剂非共价复合物(enzyme-inhibitors non-covalent complex, EI);随后,配体上的相关官能团和蛋白质反应产生共价修饰,形成酶-抑制剂共价复合物(enzyme-inhibitor covalent complex, E-I),使蛋白失活<sup>[30,34]</sup>。第二步的共价形成涉及了多种化学反应,可根据其不同的反应类型将共价分为可逆共价和不可逆共价<sup>[33]</sup>。

目前已知的绝大多数 MGL 共价抑制剂所设计的“弹头”能靶向靠近 MGL 蛋白的活性催化残基 Ser132/Ser122,也有少部分设计与丝氨酸催化残基附近的半胱氨酸(如 Cys252/Cys242)

结合。这类激酶药物往往会根据蛋白配体结合位点的特性,选择性地设计抑制剂的“弹头”结构,用于降低脱靶和非特性结合的风险<sup>[35]</sup>。已知的 MGL 共价抑制剂中,常见的“弹头”如硝基苯、多元含氮杂环、氟类基团等,这类极性的结构能够靠近 MGL 的配体结合口袋底部的疏水区域并与亲核残基结合。

虽然共价抑制剂的丰富性现在已经确定,但共价抑制剂的研究时间较短,此类药物的数量仍然较少,非特异性/靶外活性被认为是避免将反应性基团纳入候选药物的主要理由<sup>[36]</sup>。一些已经上市的药物中的共价机制是在上市后的开发中被发现的,在前期的设计和结构研究期间并未发现明显的共价机制,这说明存在更复杂的作用模式<sup>[25]</sup>。

## 2.3 MGL 共价抑制剂的市场

新型药物的研发过程伴随着高风险和高投入。考虑到研发失败的成本、药物价格的上涨等因素,其平均成本从 2003 年的 11 亿美元增加到 2013 年的 28 亿美元<sup>[37]</sup>。针对酶的上市药物中,大约 30%为共价抑制剂<sup>[29,38]</sup>,这说明共价药物已经有了一定的市场。总之,这些已经上市并证明有效的高选择性共价抑制剂以及正在进行临床研究的潜在共价药物证明了共价药物策略的总体成功,打破了对于共价抑制剂药物的历史偏见。

MGL 的共价小分子抑制剂研究历史较短,仅有 20 多年的历史,此类药物的数量较少,对这一领域的研究报道数量正处于快速增加的阶段。目前文献中的绝大多数已知的药物仍处于初级研发阶段,这些药物在细胞以及小型动物体的实验中证明了具有较好的抗炎、止痛、治疗神经疾病及抑制癌症等功效,并且相比于传统非共价抑制剂有着高特异性、强药效等优点<sup>[20]</sup>。最新的研究结果显示,已有少量 MGL 的共价抑

制剂取得了临床试验的结果, 这说明了 MGL 共价抑制剂的药用潜力, 在未来将有可预见的广大应用市场<sup>[20]</sup>。

### 3 单酰基甘油脂肪酶共价抑制剂的探索

最近发现了很多有效的和选择性的 MGL 抑制剂, 这证明了 MGL 抑制剂的高丰富度, 其中包括: 较低效力和低选择性的非竞争性的部分可逆的抑制剂、与 MGL 的活性位点 Ser132 (或 Ser122) 作用形成共价键的“丝氨酸反应剂”和与 Cys252 (或 Cys242) 作用形成共价键的“半胱氨酸反应剂”<sup>[3]</sup>, 本文主要讨论共价抑制剂。

在此列举了几种已知 MGL 共价小分子抑制剂(表 1), 可大致分为以下几类: (1) 早期利用亲脂性和 MGL 活性位点反应的抑制剂, 如 MAFP、NAM; (2) 含有杂环链接的氨基甲酸酯亲电子基团的抑制剂, 如 CAY10499、JZL-184、SAR629、MJN-110、JJKK-048、PF-06795071; (3) 含有六氟异丙基(hexafluoroisopropyl, HFIP) 氨基甲酸酯基团的抑制剂, 如 KML-29、SAR127303、ABX-1431。

#### 3.1 早期亲脂性抑制剂

目前已知最早在 1999 年发现的 MAFP 以浓度依赖的方式抑制胞浆和颗粒组分中的 2-AG 水解, 同时 2-AG 的水解受到时间依赖性抑制, 间接证明了 MAFP 不可逆抑制 2-AG 水解, 其与丝氨酸 132 形成共价键, 抑制 MGL 活性<sup>[39]</sup>。

2005 年, Saario 等<sup>[40]</sup>发现 N-花生四烯基马来酰亚胺(N-arachidonylmaleimide, NAM)及其类似物广泛用于修饰半胱氨酸巯基, 而半胱氨酸巯基通常被认为是蛋白质中最具活性的基团; N-乙基马来酰亚胺(N-ethylmaleimide, NEM) 也被证明与-SH 基团以外的官能团发生反应,

然而, 非-SH 的基团反应只在非常高浓度的 NEM 下有效发生, 半胱氨酸的巯基部分与 NEM 的烯炔双键相互作用形成硫醚, 这个反应属于迈克尔加成; Saario 等还提出了巯基的存在对底物识别至关重要; 利用同源建模, 他们在推定的 2-AG 结合位点附近发现了半胱氨酸 218 和 252, 并分析了一系列 2-AG 的马来酰亚胺类类似物。这些化合物被证明是不可逆的 MGL 抑制剂, 可能与上述 2 个残基的迈克尔加成反应有关。

后来, Labar 等<sup>[41]</sup>在 Saario 研究的基础上, 确定了含二硫的抑制剂, 包括双硫仑, 可能靶向 Cys208 和/或 Cys242; 又有如四乙基硫脲(双硫), 能以纳摩尔强度抑制 MGL, 被证明为不可逆机制。2008 年, Zvonok 等<sup>[40,42]</sup>进一步的计算和质谱研究表明, NAM 的 N-花生四烯基马来酰亚胺基团与 MGL 中的 Cys208 或 Cys242 形成共价迈克尔结合。

#### 3.2 杂环链接氨基甲酸酯亲电子基团的抑制剂

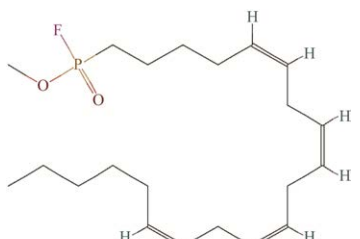
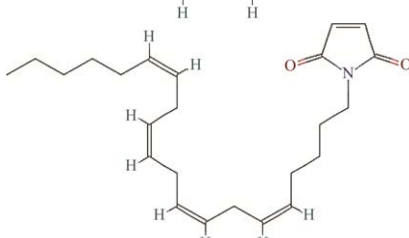
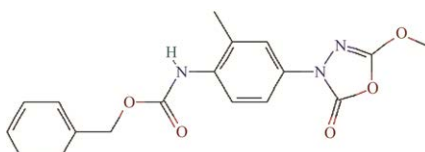
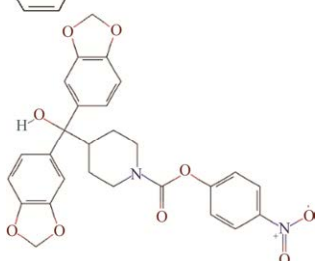
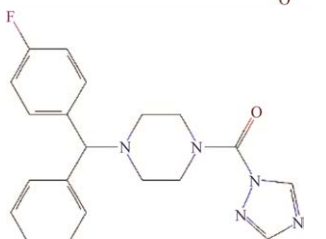
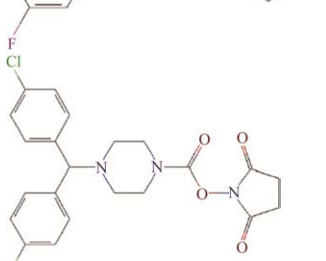
2008 年, Muccioli 等<sup>[43]</sup>开发了一种利用 96 孔板在体外检测 MGL 活性的方法, 同时确定了 CAY10499 是一种新型的 MGL 不可逆的抑制剂。CAY10499 被证明是一种共价抑制剂, 其效力随着时间的增加而增加, 可在体外和小鼠体内抑制 MGL, 其活性部分可能是 5-甲氧基-1,3,4-恶二唑-2(3H)-酮的一部分<sup>[44-45]</sup>。MGL 在乳腺癌和卵巢癌的肿瘤进展中起着关键作用, 进一步的研究发现 CAY10499 对人乳腺癌 MDA-MB-231 和 MCF-7, 以及人卵巢癌细胞 COV318 和 OVCAR-3 增殖有着明显的抑制作用, 可以作为一种有效的不可逆抗癌药物<sup>[46]</sup>。

JZL-184 是一种含有哌啶氨基甲酸酯的 MGL 抑制剂, 其能高效选择性地抑制 MGL。实验证明 JZL-184 通过催化 MGL 丝氨酸 Ser122, 使其氨基酰化从而不可逆地抑制 MGL



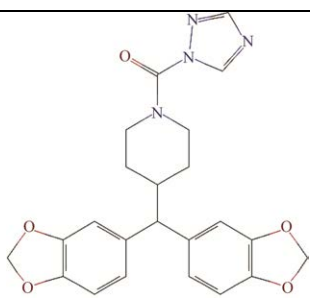
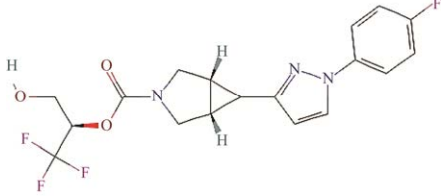
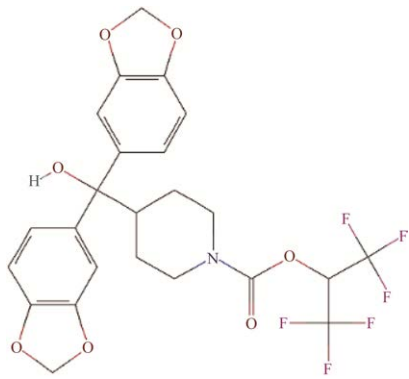
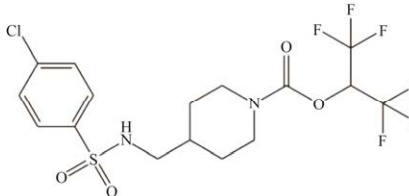
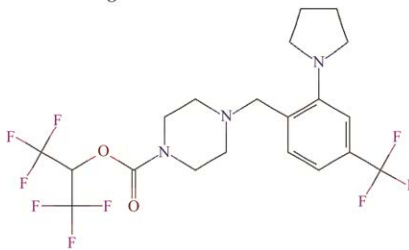
表 1 几种已知的 MGL 共价小分子抑制剂结构及其活性

Table 1 Structure and activity of several known MGL covalent small molecule inhibitors

Drug	Structure	$IC_{50}$ (nmol/L)	Target
Type 1			
MAFP		25–27	S132
NAM		140–2 800	C208/C242
Type 2			
CAY10499		20–26	S122
JZL-184		2.0–8.0	S122
SAR629		0.2–1.1	S122
MJN-110		9	S122

(待续)

(续表 1)

Drug	Structure	IC <sub>50</sub> (nmol/L)	Target
JJKK-048		0.36–0.40	S122
PF-06795071		3	S122
Type 3 KML-29		3.0–5.9	S122
SAR127303		29.0–39.3	S132
ABX1431		2	S122

活性，且共价结合非常稳定<sup>[47]</sup>。在小鼠实验中，研究发现 JZL-184 可以通过腹膜内注射使得小鼠体内的 MGL 有效灭活；在对小鼠大脑的 MGL 活性和脂质检测中发现，JZL-184 在聚乙二醇

(polyethylene glycol, PEG)和盐水乳化剂载体都能对 MGL 产生近乎完全的阻断，并能检测到 2-AG 水平显著升高；在对肝脏的研究中发现，肝脏中的 MGL 迅速失活，只有一小部分的



2-AG 可能被肝脏中的其他酶水解, 并发现药物对 MGL 保持了很好的选择性<sup>[48]</sup>。在对其他器官及组织的抑制实验中均表现出对 MGL 不同程度的抑制, 2-AG 的水平都有着不同程度的提升<sup>[49]</sup>。对用 JZL-184 治疗的小鼠进行功能蛋白质组分析, 发现该抑制剂在广泛的中枢和外周组织中, 即使在长时间高剂量给药的情况下, 也能保持对 MGL 较好的选择性, JZL-184 对人和小鼠 MGL 具有同等作用, 但对大鼠 MGL 活性较低<sup>[47-49]</sup>。JZL-184 拥有亲脂性的双二氧戊环作为催化远端的尾部基团, 由硝基苯基团作为催化和离去基团, 这样的设计不会显著增加清除率<sup>[21]</sup>。

另有研究指出, JZL-184 通过防止有害的神经胶质激活、诱导神经保护和抗炎分子的分泌介导对小鼠神经的保护作用, 可降低乳腺癌和前列腺癌小鼠模型的溶骨性骨转移, 并抑制骨肿瘤的生长、转移和异位骨的形成<sup>[50-52]</sup>。此外, JZL-184 抑制恶病质并延长注射转移性骨肉瘤和嗜骨性癌细胞的小鼠的生存期<sup>[53]</sup>。之后也有研究证实了 JZL-184 对人、小鼠、大鼠 MGL 的抑制效果, 并增加 2-AG 的含量<sup>[12]</sup>。2022 年, Gong 等<sup>[19]</sup>发现使用 MGL 抑制剂 JZL-184 下调 MGL 的表达, 可以有效抑制骨肉瘤细胞(MG-63)的生长转移, 抑制剂 JZL-184 可使 MG-63/R 细胞对顺铂治疗增敏。这些发现支持了 MGL 成为骨肉瘤潜在的治疗靶点, 而 JZL-184 可能成为对顺铂耐药的骨肉瘤患者的一种新的潜在药物。

这类含有氨基甲酸酯亲电子基团的抑制剂的典型特征是具有连接到亲脂性尾部区域的胺核心, 这是结合亲脂性 ACB 口袋所需的。胺核由具有离去基团的氨基甲酸酯或尿素头部基团覆盖, 该部分可能结合在活性部位的细胞质通路上, 或在共价修饰之前离开“基团口袋”<sup>[22]</sup>。当抑制剂与 MGL 活性部位结合后, Ser122 攻

击羰基碳, 引发离去基团分离, 导致与抑制剂分子的核心和尾部形成稳定的加合物, 使 2-AG 不能被进一步降解。

除了氨基甲酸酯, 唑脲代表另一类相关的 MGL 共价改性剂。这种结构在丝氨酸水解酶抑制剂的设计中得到广泛应用, 其抑制活性归因于含有可作为离去基团的叔脲。2010 年, Bertrand 等<sup>[3]</sup>发现 SAR629 能和 MGL 的 Ser122 反应形成稳定的共价结合; SAR629 的化学结构与 JZL-184 相似, 液相色谱-质谱(liquid chromatograph-mass spectrometry, LC-MS)能够检测到催化丝氨酸上的氨基甲酸酯加合物, 说明它的抑制机制和识别方式和 JZL-184 是相似的。SAR629 可以纳摩尔效力抑制啮齿动物脑膜中的 MGL 并提高 2-AG 的水平, 实验发现, SAR629 作为一种哌嗪衍生物的高效力抑制效果是由三唑基团决定的<sup>[54-55]</sup>。

Niphakis 等<sup>[56]</sup>在研究 MGL 抑制剂 JZL-184 和 KML-29 后, 开发了一种有选择性和体内活性的 MGL 抑制剂 MJN-110, 其活性弹头是与 SAR629 弹头相似的氨基甲酸酯连接氮杂环; LC-MS/MS 分析表明, MJN-110 抑制 MGL 的主要模式是对酶活性位点丝氨酸的氨甲酰化, 与其他氨基甲酸酯类的 MGL 抑制剂类似; MJN-110 能够有效抑制 MGL, 在较小程度上抑制类似的水解酶 ABHD6, 而对 FAAH 和其他丝氨酸水解酶尚无抑制; 通过对小鼠口服及腹腔给药, 药物能够有效抑制大脑、肝脏等外周组织中的 2-AG 的水解, 而对 FAAH 底物如 N-酰基乙醇胺(N-acyl ethanolamine, NAE)、N-花生四烯酰乙醇胺(N-arachidonoyl ethanolamine, AEA)的水解尚无影响; 同样, MJN-110 在体内和体外均对大鼠 MGL 有良好的抑制效果; MJN-110 能选择性地抑制人类 MGL, 对 hFAAH、hABHD6 未显示出较好的抑制活性; MJN-110 可以减轻糖尿病神经病变大鼠模型中的机械性

异常性疼痛,从而初步表明 MGL 抑制剂可能具有治疗糖尿病引起的慢性疼痛的治疗潜力<sup>[56]</sup>。

与 SAR629 类似的、同样具有三唑基团的哌嗪衍生物 JJKK-048, 也能以纳摩尔效力抑制人、大鼠和小鼠的 MGL, 且效力超过了 KML-29, 相比之前报道的高效抑制剂具有明显优势, 其能够靶向催化 MGL Ser122 残基, 与 SAR629 相似机制, 形成了氨基甲酸酯加合物, JJKK-048 对 MGL 的选择性超过其他类似的水解酶, 如 FAAH、ABHD6、ABHD12。细胞实验中, JJKK-048 在黑色素瘤细胞中也能具有明显的 MGL 选择性, 抑制了 2-AG 的水解<sup>[55]</sup>。

McAllister 总结了之前发现的 MGL 抑制剂后, 合成了一系列以吡唑为核心的潜在 MGL 抑制剂, 并从中发现了一种新的 MGL 共价抑制剂 PF-06795071。它具有三氟甲基乙二醇离去基团, 与含有更亲酯和不稳定的 HFIP 离去基团的化合物相当的效力和选择性。X 射线共价晶体结构证实 PF-06795071 对 MGL 活性位点 Ser122 共价修饰, 并互补了 MGL 的亲脂性酰基(ACB) 结合口袋。该药物对 MGL 完全抑制, 对其他丝氨酸水解酶尚无明显的抑制效果。与先前发现的化合物相比, 该化合物的溶解度显著提高, 具有较低的体内清除率, 提高了静脉给药的可行性。此外, 对大鼠、狗、非人灵长类动物进行静脉给药后, 表现出中高血浆清除率和中等分布量的特性。在小鼠实验中发现, 药物可明显增加脑内 2-AG 的水平, 并持续了 8 h 之久, 同时能够降低大脑炎症, 这代表着治疗急性神经炎症的抑制剂出现了重大进展<sup>[22]</sup>。

### 3.3 六氟异丙基(HFIP)氨基甲酸酯基团的抑制剂

2012 年, Chang 报道了一类独特的 O-六氟异丙基(O-hexafluoroisopropyl, HFIP)氨基甲酸酯结构, 将先前发现的不可逆 MGL 抑制剂

JZL-184 的硝基苯基团更换为六氟异丙基, 得到 KML-29, 它可在体内外抑制 MGL, 且效力和选择性相比 JZL-184 更强。MGL 的催化性丝氨酸(Ser122)攻击 KML-29 的氨基甲酸酯, 释放六氟异丙醇, 形成稳定的氨基甲酰化 KML-29-MGL 共价加合物, 质谱确定了 KML-29 是一种共价抑制剂<sup>[57]</sup>。后续的研究发现 KML-29 在小鼠体内能抑制 MGL 的活性, 只有极小的类似大麻的副作用, 这类发现证明了抑制 MGL 是治疗炎症和神经性疼痛的一种很有前景的策略<sup>[58]</sup>。

Butler 等<sup>[21]</sup>在分析 JZL-184 和 KML-29 这 2 种成功的 MGL 共价抑制剂后, 通过平行药物化学的方法, 取代优化多种尾部亲酯的杂环, 减少极性, 从而增加这些化合物的效力, 设计并鉴定了一些高效的 MGL 抑制剂。通过对小鼠给药, 能够检测出 2-AG 水平的升高。实验结果突出了哌啶和氮杂环丁烷衍生的氨基甲酸酯作用效率的提高。

同样具有 HFIP 氨基甲酸酯结构的 SAR127303 是一种有效的 MGL 共价抑制剂, 其对小鼠和人类的 MGL 具有高度选择性。除 ABHD6 外, 该药物不会影响其他人丝氨酸水解酶如 FAAH、二肽基肽酶 7 (dipeptidyl Peptidase 7, DPP7)、酰基氨基酸释放酶(acylamino-acid-releasing enzyme, APEH)的活性, 也不会与各种潜在靶点相互作用, 如多种激酶、离子通道、神经递质转运蛋白和受体, 包括 CB1 和 CB2。LC-MS 证明其能够共价结合 Ser132, 结合抑制体现出浓度依赖。SAR127303 可长时间抑制小鼠大脑中的 MGL, 显著增加 2-AG 水平, 而其他类似底物(如 AEA 等)的水平则尚无明显变化, 并且在高剂量下不会影响小鼠的运动活性, 具有抗疼痛、抗炎的作用, 并在一定程度干扰癫痫发生、降低癫痫发作程度。后续实验证明 SAR127303 在内脏疼痛模型中的镇痛作用是

CB1 依赖性的, 而不是 CB2 依赖性的<sup>[59-60]</sup>。

通过对 HFIP 氨基甲酸酯的优化, Cisar 等<sup>[61]</sup>开发了 ABX-1431 这一种有效的选择性 MGL 共价抑制剂, 具有高选择性、口服活性、神经系统渗透性和适合临床使用等特点。ABX-1431 能与 Ser122 结合形成氨基甲酰化抑制剂-酶加合物, 并能在较长时间内表现出维持稳定的抑制性和不可水解性。药物动力学分析发现其能有较高的口服利用度, 药物在人和狗的血浆中能保持稳定, 表现出对 MGL 的高选择抑制效果, 抑制导致小鼠大脑 2-AG 浓度呈现剂量依赖性增加。通过大鼠疼痛实验表明, ABX-1431 使大鼠产生了抗伤效果, 表征了 MGL 抑制以及 2-AG 的升高与抗伤之间的关系<sup>[61-62]</sup>。后续研究中, 通过多种实验证明, ABX-1431 能够抑制 MGL 的过表达从而抑制子宫内膜腺癌(endometrioid adenocarcinoma, EAC)的增殖, 并逆转孕激素耐药性。在体内, ABX-1431 能够增强子宫内膜腺癌(EAC)对孕酮的敏感性, 抑制肿瘤生长, 有望通过联合用药实现治疗子宫内膜腺癌<sup>[63]</sup>。目前 ABX-1431 已完成临床试验, 结果表明该化合物具有良好的耐受性和安全性, 进一步的相关研究正在进行中<sup>[64]</sup>。

## 4 总结与展望

上述列举的这些已知 MGL 共价抑制剂绝大多数都停留在实验室的研发阶段, 实验研究的对象大多为各类癌症细胞、小鼠和大鼠。在细胞层面的研究中, 这些小分子抑制剂分别体现出对乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、骨肉瘤和黑色素瘤等恶性肿瘤细胞的抑制。在对诸如小鼠的动物实验中, 主要研究了对相关代谢通路的影响以及对神经疾病的治疗。MGL 共价抑制剂可显著升高各类器官组织中的 2-AG 水平, 有效抑制了相应癌细胞的生长, 对一些神经性

疾病如各类炎症、疼痛、癫痫等, 体现出治疗效果。目前, 仅有 ABX-1431 已进入针对神经系统等疾病的二期临床研究, 取得了初步结果。可以认为此类药物对相应癌症、神经疾病等具有一定的治疗效果, 有较大的市场应用的潜力。

近 20 多年来, 科研人员对 MGL 的作用机理进行了深入的研究, 认识到其在信号传导、脂类代谢方面的作用, 进而发掘了 MGL 抑制剂的可能的用途, 如治疗各类炎症、疼痛、代谢疾病、神经疾病和各类癌症等。各类 MGL 抑制剂相继被研发, 其中, 共价抑制剂由于其高特异性和强效性被科研人员所关注<sup>[25,29-30,33,65]</sup>。

本篇综述总结了目前 MGL 共价抑制剂的研究进展。在发展过程中, 对于 MGL 共价小分子抑制剂的主要优化方向在于调整结构, 提高“弹头”的亲合力, 使得其靶向 MGL 的特异性更强, 提高药效以及持久性。文中列举了几种典型的已知 MGL 共价小分子抑制剂, 介绍其机理及药用效果。这些小分子抑制剂大多数存在着相似的结构, 特别是由氨基甲酸酯连接的哌啶、哌嗪环、含氮杂环等构成其活性弹头用于与 MGL 上的活性残基位点结合, 而在另一端, 存在着各类大小的芳香族或杂芳族基团。这种结构与 2-AG 的结构及功能有一定相似, 即与 2-AG 的甘油部分相互作用的残基位于酶的极性区域, 而能够容纳 2-AG 的花生四烯酸长链则位于酶更加亲酯的部分, 对应这些抑制剂的芳香基团<sup>[20]</sup>。

MGL 共价抑制剂的研发处于初级阶段, 仍然有一些领域需要探索和完善。在 20 多年的研发历史中, 已出现各类具有较好性能的 MGL 共价抑制剂, 近年来得到了一定的重视。但目前 MGL 共价抑制剂的总体数量仍然较少, 基于不同结构的设计和优化仍然有较大的开发空间。具体来说, 以氨基甲酸酯作为中间连接体,

在弹头端尝试各类极性基团以利于与 MGL 的活性残基相结合,在尾部则选择各类亲酯基团,由此结合各类计算机软件进行辅助药物设计和筛选,有望获得新的 MGL 共价抑制剂先导化合物。进一步,可通过实验手段筛选得到高特异性和高效力的新型 MGL 共价抑制剂。此外,除文中提到的 MGL 不可逆共价抑制剂以外,MGL 可逆共价抑制剂的研究还未见报道,值得在未来继续探索<sup>[25]</sup>。在应用推进方面,MGL 共价抑制剂大都还处实验室研究阶段,虽然少数进入了临床试验阶段,但目前尚无任何一个成功获批上市。例如文中提到的 ABX-1431,已经通过了二期评价,但还有待更进一步的临床研究<sup>[63]</sup>。总的来说,MGL 共价抑制剂针对相关癌症和神经疾病的应用效果已得到初步验证,但还有待在数量和临床应用上取得更进一步的进展。今后进一步开展 MGL 共价抑制剂的更深层次研究将有望为相关疾病的治疗提供新的选择<sup>[64]</sup>。

共价药物的筛选和验证是本课题组的一大研究方向,本课题组提出的缓解碰撞受体底座(steric-clashes alleviating receptor dock, SCARdock)共价抑制剂虚拟筛选方法,能够实现对于靶蛋白共价抑制剂的高通量筛选,并已在多个蛋白上成功运用<sup>[66-71]</sup>。本课题组将 SCARdock 应用于 MGL 共价抑制剂的研究,并取得了初步的进展,未来有望继续发现更多新型 MGL 共价抑制剂,为相关疾病的治疗带来新的希望。

## REFERENCES

- [1] BLANKMAN JL, SIMON GM, CRAVATT BF. A comprehensive profile of brain enzymes that hydrolyze the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol[J]. *Chemistry & Biology*, 2007, 14(12): 1347-1356.
- [2] GRABNER GF, ZIMMERMANN R, SCHICHO R, TASCHLER U. Monoglyceride lipase as a drug target: at the crossroads of arachidonic acid metabolism and endocannabinoid signaling[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2017, 175: 35-46.
- [3] BERTRAND T, AUGÉ F, HOUTMANN J, RAK A, VALLÉE F, MIKOL V, BERNE PF, MICHOT N, CHEURET D, HOORNAERT C, MATHIEU M. Structural basis for human monoglyceride lipase inhibition[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2010, 396(3): 663-673.
- [4] SCHALK-HIHI C, SCHUBERT C, ALEXANDER R, BAYOUMY S, CLEMENTE JC, DECKMAN I, DESJARLAIS RL, DZORDZORME KC, FLORES CM, GRASBERGER B, KRANZ JK, LEWANDOWSKI F, LIU L, MA HC, MAGUIRE D, MACIELAG MJ, MCDONNELL ME, MEZZASALMA HAARLANDER T, MILLER R, MILLIGAN C, et al. Crystal structure of a soluble form of human monoglyceride lipase in complex with an inhibitor at 1.35 Å resolution[J]. *Protein Science*, 2011, 20(4): 670-683.
- [5] LABAR G, BAUVOIS C, BOREL F, FERRER JL, WOUTERS J, LAMBERT DM. Crystal structure of the human monoacylglycerol lipase, a key actor in endocannabinoid signaling[J]. *ChemBioChem*, 2010, 11(2): 218-227.
- [6] GUZMÁN M, SÁNCHEZ C, GALVE-ROPERH I. Control of the cell survival/death decision by cannabinoids[J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2001, 78(11): 613-625.
- [7] QIU CY, YANG L, WANG BT, CUI LH, LI CX, ZHUO YZ, ZHANG LQ, ZHANG SK, ZHANG Q, WANG XM. The role of 2-arachidonoylglycerol in the regulation of the tumor-immune microenvironment in murine models of pancreatic cancer[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 115: 108952.
- [8] DINH TP, CARPENTER D, LESLIE FM, FREUND TF, KATONA I, SENSI SL, KATHURIA S, PIOMELLI D. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(16): 10819-10824.
- [9] DENG H, LI WM. Monoacylglycerol lipase inhibitors: modulators for lipid metabolism in cancer malignancy, neurological and metabolic disorders[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2020, 10(4): 582-602.
- [10] KING AR, LODOLA A, CARMÍ C, FU J, MOR M, PIOMELLI D. A critical cysteine residue in monoacylglycerol lipase is targeted by a new class of isothiazolinone-based enzyme inhibitors[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2009, 157(6): 974-983.

- [11] HOHMANN AG, SUPLITA RL, BOLTON NM, NEELY MH, FEGLEY D, MANGIERI R, KREY JF, MICHAEL WALKER J, HOLMES PV, CRYSTAL JD, DURANTI A, TONTINI A, MOR M, TARZIA G, PIOMELLI D. An endocannabinoid mechanism for stress-induced analgesia[J]. *Nature*, 2005, 435(7045): 1108-1112.
- [12] WYATT RM, FRASER I, WELTY N, LORD B, WENNERHOLM M, SUTTON S, AMERIKS MK, DUGOVIC C, YUN SJ, WHITE A, NGUYEN L, KOUDRIAKOVA T, TIAN GC, SUAREZ J, SZEWCZUK L, BONNETTE W, AHN K, GHOSH B, FLORES CM, CONNOLLY PJ, et al. Pharmacologic characterization of JNJ-42226314, [1-(4-fluorophenyl)indol-5-yl]-[3-[4-(thiazole-2-carbonyl)piperazin-1-yl]azetid-1-yl]methanone, a reversible, selective, and potent monoacylglycerol lipase inhibitor[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2020, 372(3): 339-353.
- [13] VISWESWARAN M, ARFUSO F, WARRIER S, DHARMARAJAN A. Aberrant lipid metabolism as an emerging therapeutic strategy to target cancer stem cells[J]. *Stem Cells*, 2020, 38(1): 6-14.
- [14] YE L, ZHANG B, SEVIOUR EG, TAO KX, LIU XH, LING Y, CHEN JY, WANG GB. Monoacylglycerol lipase (MAGL) knockdown inhibits tumor cells growth in colorectal cancer[J]. *Cancer Letters*, 2011, 307(1): 6-17.
- [15] NOMURA DK, LONG JZ, NIESSEN S, HOOVER HS, NG SW, CRAVATT BF. Monoacylglycerol lipase regulates a fatty acid network that promotes cancer pathogenesis[J]. *Cell*, 2010, 140(1): 49-61.
- [16] ZHANG JY, LIU ZJ, LIAN ZR, LIAO R, CHEN Y, QIN Y, WANG JL, JIANG Q, WANG XB, GONG JP. Monoacylglycerol lipase: a novel potential therapeutic target and prognostic indicator for hepatocellular carcinoma[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 35784.
- [17] SCHWARZ R, RAMER R, HINZ B. Targeting the endocannabinoid system as a potential anticancer approach[J]. *Drug Metabolism Reviews*, 2018, 50(1): 26-53.
- [18] ZHANG H, GUO W, ZHANG F, LI RD, ZHOU Y, SHAO F, FENG XL, TAN FW, WANG J, GAO SG, GAO YB, HE J. Monoacylglycerol lipase knockdown inhibits cell proliferation and metastasis in lung adenocarcinoma[J]. *Frontiers in Oncology*, 2020, 10: 559568.
- [19] GONG XK, ZHENG X, HUANG Y, SONG WH, CHEN G, CHEN T. Monoacylglycerol lipase (MAGL) inhibition impedes the osteosarcoma progression by regulating epithelial mesenchymal transition[J]. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 2022, 256(1): 19-26.
- [20] GRANCHI C, CALIGIURI I, MINUTOLO F, RIZZOLIO F, TUCCINARDI T. A patent review of monoacylglycerol lipase (MAGL) inhibitors (2013–2017)[J]. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2017, 27(12): 1341-1351.
- [21] BUTLER CR, BECK EM, HARRIS A, HUANG Z, MCALLISTER LA, AM ENDE CW, FENNELL K, FOLEY TL, FONSECA K, HAWRYLIK SJ, JOHNSON DS, KNAFELS JD, MENTE S, STEPHEN NOELL G, PANDIT J, PHILLIPS TB, PIRO JR, ROGERS BN, SAMAD TA, WANG J, et al. Azetidine and piperidine carbamates as efficient, covalent inhibitors of monoacylglycerol lipase[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 60(23): 9860-9873.
- [22] MCALLISTER LA, BUTLER CR, MENTE S, O'NEIL SV, FONSECA KR, PIRO JR, CIANFROGNA JA, FOLEY TL, GILBERT AM, HARRIS AR, HELAL CJ, JOHNSON DS, MONTGOMERY JI, NASON DM, NOELL S, PANDIT J, ROGERS BN, SAMAD TA, SHAFFER CL, DA SILVA RG, et al. Discovery of trifluoromethyl glycol carbamates as potent and selective covalent monoacylglycerol lipase (MAGL) inhibitors for treatment of neuroinflammation[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, 61(7): 3008-3026.
- [23] GALVANI F, SCALVINI L, RIVARA S, LODOLA A, MOR M. Mechanistic modeling of monoglyceride lipase covalent modification elucidates the role of leaving group expulsion and discriminates inhibitors with high and low potency[J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2022, 62(11): 2771-2787.
- [24] LABAR G, WOUTERS J, LAMBERT DM. A review on the monoacylglycerol lipase: at the interface between fat and endocannabinoid signalling[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2010, 17(24): 2588-2607.
- [25] de CESCO S, KURIAN J, DUFRESNE C, MITTERMAIER AK, MOITESSIER N. Covalent inhibitors design and discovery[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 138: 96-114.
- [26] RAY S, MURKIN AS. New electrophiles and strategies for mechanism-based and targeted covalent inhibitor design[J]. *Biochemistry*, 2019, 58(52): 5234-5244.

- [27] BAUER RA. Covalent inhibitors in drug discovery: from accidental discoveries to avoided liabilities and designed therapies[J]. *Drug Discovery Today*, 2015, 20(9): 1061-1073.
- [28] BOIKE L, HENNING NJ, NOMURA DK. Advances in covalent drug discovery[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2022, 21(12): 881-898.
- [29] KALGUTKAR AS, DALVIE DK. Drug discovery for a new generation of covalent drugs[J]. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2012, 7(7): 561-581.
- [30] PETTINGER J, JONES K, CHEESEMAN MD. Lysine-targeting covalent inhibitors[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2017, 56(48): 15200-15209.
- [31] CHAN WC, SHARIFZADEH S, BUHRLAGE SJ, MARTO JA. Chemoproteomic methods for covalent drug discovery[J]. *Chemical Society Reviews*, 2021, 50(15): 8361-8381.
- [32] LONSDALE R, WARD RA. Structure-based design of targeted covalent inhibitors[J]. *Chemical Society Reviews*, 2018, 47(11): 3816-3830.
- [33] BAILLIE TA. Targeted covalent inhibitors for drug design[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2016, 55(43): 13408-13421.
- [34] STRELOW JM. A perspective on the kinetics of covalent and irreversible inhibition[J]. *SLAS Discovery*, 2017, 22(1): 3-20.
- [35] JÖST C, NITSCHKE C, SCHOLZ T, ROUX L, KLEIN CD. Promiscuity and selectivity in covalent enzyme inhibition: a systematic study of electrophilic fragments[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 57(18): 7590-7599.
- [36] LIPINSKI C, HOPKINS A. Navigating chemical space for biology and medicine[J]. *Nature*, 2004, 432(7019): 855-861.
- [37] WOUTERS OJ, MCKEE M, LUYTEN J. Estimated research and development investment needed to bring a new medicine to market, 2009–2018[J]. *JAMA*, 2020, 323(9): 844.
- [38] ROBERTSON JG. Mechanistic basis of enzyme-targeted drugs[J]. *Biochemistry*, 2005, 44(15): 5561-5571.
- [39] GOPARAJU S, UEDA N, TANIGUCHI K, YAMAMOTO S. Enzymes of porcine brain hydrolyzing 2-arachidonoylglycerol, an endogenous ligand of cannabinoid receptors[J]. *Biochemical Pharmacology*, 1999, 57(4): 417-423.
- [40] SAARIO SM, SALO OMH, NEVALAINEN T, POSO A, LAITINEN JT, JÄRVINEN T, NIEMI RK. Characterization of the sulfhydryl-sensitive site in the enzyme responsible for hydrolysis of 2-arachidonoylglycerol in rat cerebellar membranes[J]. *Chemistry & Biology*, 2005, 12(6): 649-656.
- [41] LABAR G, BAUVOIS C, MUCCIOLI GG, WOUTERS J, LAMBERT DM. Disulfiram is an inhibitor of human purified monoacylglycerol lipase, the enzyme regulating 2-arachidonoylglycerol signaling[J]. *ChemBioChem*, 2007, 8(11): 1293-1297.
- [42] ZVONOK N, PANDARINATHAN L, WILLIAMS J, JOHNSTON M, KARAGEORGOS I, JANERO DR, KRISHNAN SC, MAKRIYANNIS A. Covalent inhibitors of human monoacylglycerol lipase: ligand-assisted characterization of the catalytic site by mass spectrometry and mutational analysis[J]. *Chemistry & Biology*, 2008, 15(8): 854-862.
- [43] MUCCIOLI GG, LABAR G, LAMBERT DM. CAY10499, a novel monoglyceride lipase inhibitor evidenced by an expeditious MGL assay[J]. *ChemBioChem*, 2008, 9(16): 2704-2710.
- [44] HOLTFRERICH A, MAKHARADZE T, LEHR M. High-performance liquid chromatography assay with fluorescence detection for the evaluation of inhibitors against human recombinant monoacylglycerol lipase[J]. *Analytical Biochemistry*, 2010, 399(2): 218-224.
- [45] GRANCHI C, RIZZOLIO F, BORDONI V, CALIGIURI I, MANERA C, MACCHIA M, MINUTOLO F, MARTINELLI A, GIORDANO A, TUCCINARDI T. 4-arylidene-2-methylxazol-5(4H)-one as a new scaffold for selective reversible MAGL inhibitors[J]. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2016, 31(1): 137-146.
- [46] TUCCINARDI T, GRANCHI C, RIZZOLIO F, CALIGIURI I, BATTISTELLO V, TOFFOLI G, MINUTOLO F, MACCHIA M, MARTINELLI A. Identification and characterization of a new reversible MAGL inhibitor[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2014, 22(13): 3285-3291.
- [47] LONG JZ, MOMURA DK, CRAVATT BF. Characterization of monoacylglycerol lipase inhibition reveals differences in central and peripheral endocannabinoid metabolism[J]. *Chemistry & Biology*, 2009, 16(7): 744-753.
- [48] LONG JZ, LI WW, BOOKER L, BURSTON JJ, KINSEY SG, SCHLOSBERG JE, PAVÓN FJ, SERRANO AM, SELLEY DE, PARSONS LH, LICHTMAN AH, CRAVATT BF. Selective blockade

- of 2-arachidonoylglycerol hydrolysis produces cannabinoid behavioral effects[J]. *Nature Chemical Biology*, 2009, 5(1): 37-44.
- [49] BJÖRKLUND E, NORÉN E, NILSSON J, FOWLER CJ. Inhibition of monoacylglycerol lipase by troglitazone, N-arachidonoyl dopamine and the irreversible inhibitor JZL184: comparison of two different assays[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2010, 161(7): 1512-1526.
- [50] FERNÁNDEZ-SUÁREZ D, CELORRIO M, RIEZU-BOJ JI, UGARTE A, PACHECO R, GONZÁLEZ H, OYARZABAL J, HILLARD CJ, FRANCO R, AYMERICH MS. The monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 is neuroprotective and alters glial cell phenotype in the chronic MPTP mouse model[J]. *Neurobiology of Aging*, 2014, 35(11): 2603-2616.
- [51] BERNAL-CHICO A, CANEDO M, MANTEROLA A, VICTORIA SÁNCHEZ-GÓMEZ M, PÉREZ-SAMARTÍN A, RODRÍGUEZ-PUERTAS R, MATUTE C, MATO S. Blockade of monoacylglycerol lipase inhibits oligodendrocyte excitotoxicity and prevents demyelination *in vivo*[J]. *Glia*, 2015, 63(1): 163-176.
- [52] SEILLIER A, DOMINGUEZ AGUILAR D, GIUFFRIDA A. The dual FAAH/MAGL inhibitor JZL195 has enhanced effects on endocannabinoid transmission and motor behavior in rats as compared to those of the MAGL inhibitor JZL184[J]. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2014, 124: 153-159.
- [53] MARINO S, de RIDDER D, BISHOP RT, RENEMA N, PONZETTI M, SOPHOCLEOUS A, CAPULLI M, ALJEFFERY A, CARRASCO G, DALGHI GENS M, KHOGEER A, RALSTON SH, GERTSCH J, LAMOUREUX F, HEYMANN D, RUCCI N, IDRIS AI. Paradoxical effects of JZL184, an inhibitor of monoacylglycerol lipase, on bone remodelling in healthy and cancer-bearing mice[J]. *EBioMedicine*, 2019, 44: 452-466.
- [54] KORHONEN J, KUUSISTO A, van BRUCHEM J, PATEL JZ, LAITINEN T, NAVIA-PALDANIUS D, LAITINEN JT, SAVINAINEN JR, PARKKARI T, NEVALAINEN TJ. Piperazine and piperidine carboxamides and carbamates as inhibitors of fatty acid amide hydrolase (FAAH) and monoacylglycerol lipase (MAGL)[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2014, 22(23): 6694-6705.
- [55] AALTONEN N, SAVINAINEN JR, RIBAS CR, RÖNKKÖ J, KUUSISTO A, KORHONEN J, NAVIA-PALDANIUS D, HÄYRINEN J, TAKABE P, KÄSNÄNEN H, PANTSAR T, LAITINEN T, LEHTONEN M, PASONEN-SEPPÄNEN S, POSO A, NEVALAINEN T, LAITINEN JT. Piperazine and piperidine triazole ureas as ultrapotent and highly selective inhibitors of monoacylglycerol lipase[J]. *Chemistry & Biology*, 2013, 20(3): 379-390.
- [56] NIPHAKIS MJ, COGNETTA AB III, CHANG JW, BUCZYNSKI MW, PARSONS LH, BYRNE F, BURSTON JJ, CHAPMAN V, CRAVATT BF. Evaluation of NHS carbamates as a potent and selective class of endocannabinoid hydrolase inhibitors[J]. *ACS Chemical Neuroscience*, 2013, 4(9): 1322-1332.
- [57] CHANG JW, NIPHAKIS MJ, LUM KM, COGNETTA AB III, WANG C, MATTHEWS ML, NIESSEN S, BUCZYNSKI MW, PARSONS LH, CRAVATT BF. Highly selective inhibitors of monoacylglycerol lipase bearing a reactive group that is bioisosteric with endocannabinoid substrates[J]. *Chemistry & Biology*, 2012, 19(5): 579-588.
- [58] IGNATOWSKA-JANKOWSKA BM, GHOSH S, CROWE MS, KINSEY SG, NIPHAKIS MJ, ABDULLAH RA, TAO Q, O' NEAL ST, WALENTINY DM, WILEY JL, CRAVATT BF, LICHTMAN AH. *In vivo* characterization of the highly selective monoacylglycerol lipase inhibitor KML29: antinociceptive activity without cannabimimetic side effects[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2014, 171(6): 1392-1407.
- [59] GRIEBEL G, PICHAT P, BEESKÉ S, LEROY T, REDON N, JACQUET A, FRANÇON D, BERT L, EVEN L, LOPEZ-GRANCHA M, TOLSTYKH T, SUN FX, YU QY, BRITAIN S, ARLT H, HE T, ZHANG BL, WIEDERSCHAIN D, BERTRAND T, HOUTMANN J, et al. Selective blockade of the hydrolysis of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol impairs learning and memory performance while producing antinociceptive activity in rodents[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 7642.
- [60] WANG L, MORI W, CHENG R, YUI J, HATORI A, MA L, ZHANG Y, ROTSTEIN BH, FUJINAGA M, SHIMODA Y, YAMASAKI T, XIE L, NAGAI Y, MINAMIMOTO T, HIGUCHI M, VASDEV N, ZHANG MR, LIANG SH. Synthesis and preclinical evaluation of sulfonamido-based [(11)C-carbonyl]-carbamates and ureas for imaging monoacylglycerol



- lipase[J]. *Theranostics*, 2016, 6(8): 1145-1159.
- [61] CISAR JS, WEBER OD, CLAPPER JR, BLANKMAN JL, HENRY CL, SIMON GM, ALEXANDER JP, JONES TK, ALAN B EZEKOWITZ R, O'NEILL GP, GRICE CA. Identification of ABX-1431, a selective inhibitor of monoacylglycerol lipase and clinical candidate for treatment of neurological disorders[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, 61(20): 9062-9084.
- [62] CLAPPER JR, HENRY CL, NIPHAKIS MJ, KNIZE AM, COPPOLA AR, SIMON GM, NGO N, HERBST RA, HERBST DM, REED AW, CISAR JS, WEBER OD, VIADER A, ALEXANDER JP, CUNNINGHAM ML, JONES TK, FRASER IP, GRICE CA, ALAN B EZEKOWITZ R, O'NEILL GP, et al. Monoacylglycerol lipase inhibition in human and rodent systems supports clinical evaluation of endocannabinoid modulators[J]. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2018, 367(3): 494-508.
- [63] MA XH, XIA M, WEI LN, GUO K, SUN R, LIU Y, QIU CP, JIANG J. ABX-1431 inhibits the development of endometrial adenocarcinoma and reverses progesterone resistance by targeting MGLL[J]. *Cell Death & Disease*, 2022, 13(12): 1067.
- [64] JIANG M, van der STELT M. Activity-based protein profiling delivers selective drug candidate ABX-1431, a monoacylglycerol lipase inhibitor, to control lipid metabolism in neurological disorders[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, 61(20): 9059-9061.
- [65] LI BB, RONG DQ, WANG YX. Targeting protein-protein interaction with covalent small-molecule inhibitors[J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2019, 19(21): 1872-1876.
- [66] LI QZ, WANG ZY, ZHENG Q, LIU S. Potential clinical drugs as covalent inhibitors of the priming proteases of the spike protein of SARS-CoV-2[J]. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2020, 18: 2200-2208.
- [67] SONG Q, WANG ZY, LIU S. Discovery of Covalent Drugs Targeting the Key Enzymes of SARS-CoV-2 using SCARdock[M]//*Methods in Pharmacology and Toxicology*. New York, NY: Springer US, 2021: 291-306.
- [68] ZHANG Y, ZHENG Q, ZHOU Y, LIU S. Repurposing clinical drugs as AdoMetDC inhibitors using the SCAR strategy[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 248.
- [69] AI YB, YU LL, TAN X, CHAI XY, LIU S. Discovery of covalent ligands *via* noncovalent docking by dissecting covalent docking based on a "steric-clashes alleviating receptor (SCAR)" strategy[J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2016, 56(8): 1563-1575.
- [70] LIU S, ZHENG Q, WANG ZY. Potential covalent drugs targeting the main protease of the SARS-CoV-2 coronavirus[J]. *Bioinformatics*, 2020, 36(11): 3295-3298.
- [71] SONG Q, ZENG LY, ZHENG Q, LIU S. SCARdock: a web server and manually curated resource for discovering covalent ligands[J]. *ACS Omega*, 2023, 8(11): 10397-10402.

(本文责编 陈宏宇)