

# GPR40 激动剂和拮抗剂的研究进展

王学堃<sup>1</sup> 籍国霞<sup>2</sup> 柳仁民<sup>1</sup>

(1. 聊城大学 药学院, 山东 聊城 252059; 2. 聊城大学 化学化工学院, 山东 聊城 252059)

**摘要** GPR40 是一种 G 蛋白偶联受体, 主要分布于胰岛  $\beta$  细胞中. GPR40 激活后能够葡萄糖依赖性的促进胰岛素分泌, 降低血糖, 所以引起低血糖副作用的风险特别低. 因此 GPR40 有望成为治疗 2 型糖尿病的新靶点. 目前很多公司和科研机构集中开发 GPR40 激动剂和拮抗剂, 但是还没有 GPR40 激动剂和拮抗剂作为 2 型糖尿病药物上市. 本文通过调研文献和专利总结了 GPR40 激动剂和 GPR40 拮抗剂的最新研究进展, 希望为新型 GPR40 激动剂和 GPR40 拮抗剂的开发提供帮助.

**关键词** GPR40 激动剂; GPR40 拮抗剂; 2 型糖尿病

**中图分类号** R972

**文献标识码** A

## 0 引言

游离脂肪酸受体 (free fatty acid receptor, FFAR) 是近几年去孤儿化的 G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptors, GPCRs). 目前已发现的游离脂肪酸受体有 G 蛋白偶联受体 40 (GPR40) 家族, 包括 GPR40 (又称 FFA1)、GPR41 (又称 FFA3)、GPR43 (又称 FFA2) 以及其它家族的 GPR84、GPR120. FFAR 的内源性配体是游离脂肪酸 (free fatty acids, FFA), 根据其碳链长度可分为短链脂肪酸 ( $C \leq 6$ ), 中链脂肪酸 ( $6 < C \leq 14$ ) 和长链脂肪酸 ( $C > 14$ ). 其中, GPR40 和 GPR120 的内源性配体是中长链的脂肪酸<sup>[1,2]</sup>; GPR84 的内源性配体是中链的脂肪酸<sup>[3]</sup>; 而 GPR43 和 GPR41 的内源性配体是短链的脂肪酸<sup>[4]</sup>. FFA 作为一种信号分子可以通过 FFAR 参与调节机体内胰岛素及肠促胰岛素激素的分泌、脂肪细胞的分化、抗炎、神经激活等重要生理过程. 因此 FFAR 有可能成为调节能量代谢紊乱的新靶点.

GPR40 作为一种游离脂肪酸受体, 其激动剂能有效提高葡萄糖依赖的胰岛素分泌 (glucose stimulated insulin secretion, GSIS), 减少低血糖副作用; 其拮抗剂能有效控制肥胖引起的高胰岛素血症. 这使 GPR40 激动剂和拮抗剂成为抗糖尿病药物研究的重要方向.

## 1 GPR40 概述

### 1.1 GPR40 的基因、结构及分布

G 蛋白偶联受体 40 (GPR40) 最初是在寻找促生长激素神经肽-甘丙肽受体 (GALR) 亚型时发现的孤儿型 GPCR. 人类 GPR40 基因位于染色体 19q13.1, 与 GPR41, GPR43 一起出现在 CD22 的下游. 2007 年, Bartoov 等发现 GPR40 基因由一个长 24-bp 的外显子、一个长 698-bp 的内含子和一个长 4402-bp 的外显子组成, 其中长 4402-bp 的外显子包含了编码蛋白的所有序列. 转录起始位点位于起始密码子 ATG 上游 1044-bp 的位置<sup>[5]</sup>.

GPCR 都具有相似的跨膜结构, 人类 GPR40 基因编码 300 个氨基酸, 其肽链由 N 末端, C 末端, 7 个跨膜  $\alpha$  螺旋, 3 个胞外环及 3-4 个胞内环组成. 其中 N 端和胞外环在细胞外; 7 个跨膜的  $\alpha$  螺旋反复穿过细胞膜的脂质双分子层; C 端和胞内环在细胞内, 与 G 蛋白偶联, 能激活细胞内信号通路<sup>[6]</sup>.

收稿日期: 2018-06-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81803360, 21675071); 聊城大学博士启动资金项目 (318051745) 资助

通讯作者: 柳仁民, 男, 汉族, 博士, 教授, 研究方向: 抗糖尿病, 抗肿瘤药物, E-mail: liurenmin@lcu.edu.cn.

GPR40 主要分布于人的胰腺和胃肠道组织中,另外在肝、脑、骨骼肌、心和胎盘等组织中也有弱的表达。Tomita 等通过组织研究发现 GPR40 在胰岛中的表达量是整个胰腺的 20 倍,而且在胰岛素瘤组织中高表达,而在胰高血糖素瘤组织中表达,说明 GPR40 主要分布于胰岛  $\beta$  细胞中<sup>[7]</sup>。

## 1.2 GPR40 的信号通路

GPR40 在胰岛  $\beta$  细胞中介导葡萄糖依赖性的胰岛素分泌,其信号通路如图 1 所示。血糖升高,细胞外和细胞内葡萄糖的浓度随之升高。细胞内葡萄糖代谢增加,消耗 ATP,生成 ADP。ATP 减少后,ATP 敏感的钾离子通道( $K_{ATP}$ )关闭,引起细胞膜去极化。细胞膜去极化后激活了电压依赖性的 L 型  $Ca^{2+}$  通道(L-type  $Ca^{2+}$  channels,LTCC),使  $Ca^{2+}$  内流,胰岛素释放增加。当中长链脂肪酸与 GPR40 结合后使 Gq 蛋白分离,激活磷脂酶 C(phospholipase C,PLC),生成甘油二酯(diacylglycerol,DAG)和三磷酸肌醇(inositol triphosphate,  $IP_3$ )。其中  $IP_3$  可以和内质网上的  $IP_3$  受体结合,引起内质网上的  $Ca^{2+}$  通道开放,内质网内  $Ca^{2+}$  的释放能促进电压依赖型的 LTCC 开放,使细胞外  $Ca^{2+}$  大量内流,增加胰岛素分泌。另外 DAG 可以促进蛋白激酶 D1(protein kinase D1,PKD1)磷酸化,重塑 F-actin,而促进胰岛素分泌<sup>[8]</sup>。

## 1.3 GPR40 的生理功能

定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)和免疫组化研究表明 GPR40 在胰岛  $\beta$  细胞中高度表达。Itoh 等的研究表明 FFA 可以通过 GPR40 增加 GSIS。利用 GPR40 敲除小鼠或转基因小鼠研究表明,GPR40 敲除小鼠喂养一般饲料后体重、禁食后血糖水平、胰岛素、甘油三酯和葡萄糖耐量与正常小鼠没有差异。但是 GPR40 敲除小鼠和正常小鼠高脂饮食后表现出禁食后高血糖、肥胖、葡萄糖不耐受和胰岛素抵抗等现象,而且 GPR40 敲除小鼠胰岛素分泌量仅为正常小鼠的一半。尽管 GPR40 敲除小鼠对葡萄糖刺激的胰岛素分泌与正常小鼠没差异,但是 FFA 刺激的胰岛素分泌明显减少。Nagasumi 等的研究表明通过小鼠胰岛素 II 启动子过表达 GPR40 对能量代谢没有影响,但是禁食后血糖水平较正常小鼠低,且胰岛素分泌和口服糖耐量得到改善<sup>[9]</sup>。这些研究结果表明,GPR40 能够增强 GSIS 和调节基础能量代谢。

Edfalk 等的研究表明分布在肠道 L 细胞和 K 细胞的 GPR40 参与调节 GLP-1 和 GIP 的分泌<sup>[10]</sup>。GLP-1 和 GIP 都是体内调节能量代谢的重要激素,分布在肠道 I 细胞中的 GPR40 能促进胆囊收缩素(cholecystokinin,CCK)的分泌<sup>[11]</sup>。分布在脑组织中的 GPR40 激活后,能促进神经前体细胞增殖和神经元细胞突触的增长,这一系列调节神经网络形成的活动很可能是调控生物记忆和学习行为的重要途径。另外对人乳腺癌细胞系 MCF-7 增殖过程的研究发现,增殖的起始和终止时间段 GPR40 表达明显增加,说明 GPR40 可能还与细胞增殖有关<sup>[12]</sup>。

## 2 GPR40 激动剂的研究

游离脂肪酸可以增强胰岛  $\beta$  细胞在高血糖情况下的胰岛素分泌。早期认为这是由脂肪酸在细胞内的代谢产物引起的<sup>[13]</sup>。当 GPR40 被证实为中长链脂肪酸的受体后,越来越多的研究表明,脂肪酸是通过 GPR40 途径激活细胞内第二信使通路,从而影响胰岛素分泌。饱和与不饱和和长链自由脂肪酸是 GPR40 的特异性配体,它们的  $pEC_{50}$  分别在 4.0-5.5 和 5.2-5.6 之间。饱和脂肪酸的活性随碳链的增加而增强,不饱和脂肪酸的活性与碳链的长度不相关。为了进一步寻找活性更好的小分子 GPR40 激动剂,研究人员利用生物电子等排和计算机辅助药物设计等手段对内源性配体进行结构改造,得到了许多活性较好的 GPR40 激动剂和 GPR40 拮抗剂。目前 GPR40 激动剂主要分为对(取代氨基)苯丙酸类、对/间(取代氧基)苯丙酸类、非羧酸类

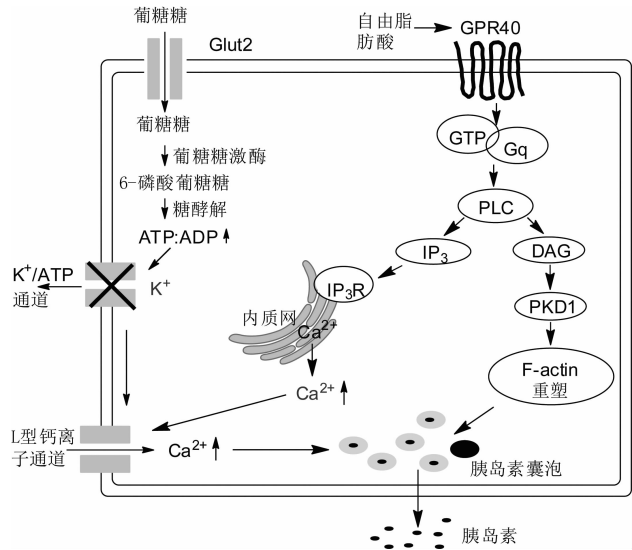


图 1 GPR40 的信号转导通路

和其它类型的 GPR40 激动剂.

## 2.1 对(取代烷氨基)苯丙酸类 GPR40 激动剂

GlaxoSmithKline 公司通过高通量筛选得到化合物 1,其在转染了人 GPR40 的 CHO 细胞上,测得  $pEC_{50} = 6.30$ ,与亚油酸( $pEC_{50} = 5.60$ )相当.但是化合物 1 与中长链脂肪酸相比水溶性好,分子量小.对化合物 1 进行结构改造得到了一系列 GPR40 激动活性更好的化合物,如化合物 2 和化合物 3(GW9508), $pEC_{50}$  分别是 7.19 和 7.17.其中化合物 GW9508 具有较好的理化性质(如  $pH = 7.4$  时的水溶性为  $0.29 \text{ mg/mL}$ ,预测的  $\log D$  为 1.95;分子量为 347)和较好的体内药代动力学性质(对 CYP450 的各亚型均无抑制作用,对 1A1,2C9,2C19,2D6 和 3A4 的  $IC_{50}$  均大于  $33 \mu\text{M}$ ;对大鼠和人的肝微粒体稳定性分别是 2.3 和  $0.74 \text{ mL/min/g}$ ;细胞膜通透性为  $599 \text{ nM/min}$ ;大鼠按  $3.9 \text{ mg/kg}$  给药测得的血浆清除率  $CL = 24 \text{ mL/min/kg}$ ;半衰期  $T_{1/2} = 5.9 \text{ h}$ ;生物利用度  $F = 65\%$ )<sup>[14]</sup>.构效关系研究表明羧基并非是产生 GPR40 激动活性的必须基团,但是羧酸通常比酰胺结构具有更强的激动活性<sup>[15]</sup>.为寻找活性更好的 GPR40 激动剂,以 GW9508 为先导化合物,对末端苯环和丙酸部分进行结构修饰得到化合物 4, $pEC_{50} = 8.50$ <sup>[16]</sup>.结构见图 2.

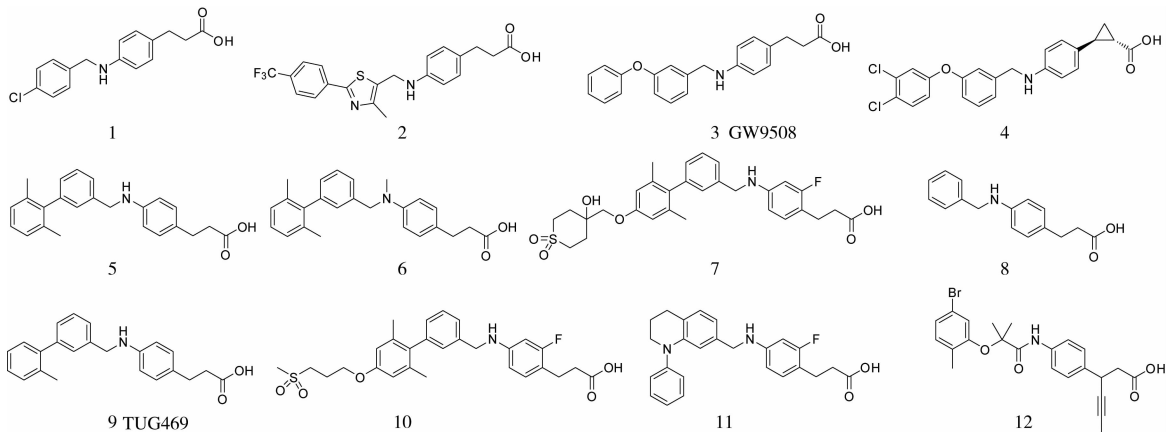


图 2 对(取代烷氨基)苯丙酸类 GPR40 激动剂

Takeda 制药公司在对苯丙酸进行结构修饰时发现化合物 5 具有较好的 GPR40 激动活性, $EC_{50} = 6.3 \text{ nM}$ ,N 上氢被甲基取代后得到化合物 6,活性降低, $EC_{50} = 520 \text{ nM}$ <sup>[17]</sup>.为了提高水溶性,研究人员在化合物 5 的末端苯环引入亲水性基团得到化合物 7( $EC_{50} = 29 \text{ nM}$ ).虽然激动活性有所下降,但化合物 7 在体外具有较好的肝微粒体稳定性( $HLM = 2 \text{ (L/min/mg)}$ ;  $RLM = 0 \text{ (L/min/mg)}$ ),在体内具有较好的药代动力学性质(最大血药浓度  $C_{\max} = 207.7 \text{ ng/mL}$ ;0-8 h 的血药暴露量  $AUC_{0-8h} = 689.0 \text{ ng} \cdot \text{h/mL}$ ;  $F = 109.9\%$ ).且能有效改善 Wistar 肥胖大鼠的口服糖耐量,增加胰岛素分泌<sup>[18]</sup>.结构见图 2.

丹麦南方大学通过高通量筛选发现化合物 8 具有一定的 GPR40 激动活性, $pEC_{50} = 6.12$ ,构效关系研究表明,末端苯环未取代时,亚甲基氧连接臂的活性比亚甲基胺的活性强,末端苯环有较大的取代基时亚甲基胺连接臂的活性比亚甲基氧的强,其中化合物 9(TUG469)的  $pEC_{50} = 7.73$ <sup>[19]</sup>.由于化合物 TUG469 水溶性差,代谢不稳定(小鼠按  $10 \text{ mg/kg}$  口服给药, $C_{\max} = 2369 \text{ ng/mL}$ ;达到最大血药浓度的时间  $T_{\max} = 15 \text{ min}$ ;  $AUC = 2740 \text{ ng} \cdot \text{h/mL}$ ),为了降低化合物 TUG469 的脂溶性,在末端苯环的 4 位引入了磺的结构,为了提高代谢稳定性在苯丙酸的邻位引入 F 得到化合物 10,该化合物的  $pEC_{50} = 8.04$ , $pH = 7.4$  时测得该化合物的  $\log D = 1.87$ ,且稳定性也明显提高(小鼠按  $10 \text{ mg/kg}$  口服给药, $C_{\max} = 8748 \text{ ng/mL}$ ;  $AUC = 5202 \text{ ng} \cdot \text{h/mL}$ )<sup>[20]</sup>.另外专利文献中还报道了一些其它结构类型的对(取代烷氨基)苯丙酸类 GPR40 激动剂,它们也具有很好的活性,如化合物 11 和化合物 12<sup>[21]</sup>.结构见图 2.

## 2.2 对/间(取代烷氧基)苯丙酸类 GPR40 激动剂

Johnson 公司通过高通量筛选化合物库中所有含羧基结构的化合物得到化合物 13,该化合物具有较弱的 GPR40 激动活性( $EC_{50} = 9 \mu\text{M}$ ),通过结构改造发现了一系列微摩尔级活性的化合物,其中代表性化合物 14 的  $EC_{50} = 0.56 \mu\text{M}$ .化合物 14 在大鼠体内具有较好的药代动力学性质( $F = 87\%$ ;  $T_{1/2} = 6.3 \text{ h}$ ;且对 CYP450 无抑制作用,对 1A2,2C9,2C19,2D6 和 3A4 的  $IC_{50}$  均大于  $22 \mu\text{M}$ 可作为先导化合物进行深入的

构效关系研究<sup>[22]</sup>, 结构见图 3。

Merck 公司通过筛选自己公司的化合物库发现具有噻唑烷二酮类结构的化合物 15 具有一定的 GPR40 激动活性( $EC_{50} = 0.474 \mu M$ <sup>[23]</sup>。用羧基取代噻唑烷二酮结构后得到了一系列苯丙酸类的 GPR40 激动剂, 如化合物 16、化合物 17 和化合物 18。但是该类化合物的活性较低, 它们的  $EC_{50}$  分别是  $1.358 \mu M$ 、 $0.686 \mu M$  和  $0.970 \mu M$ 。在苯丙酸类的  $\beta$  位引入取代基得到化合物 19, 其活性明显提高,  $EC_{50} = 71 \text{ nM}$ , 且具有较好的药代动力学性质, 如血浆清除率低( $CL = 0.49 \text{ mL/min/kg}$ ); 半衰长( $T_{1/2} = 7.8 \text{ h}$ ); 生物利用度高( $F = 112\%$ )等<sup>[24]</sup>。最近 Merck 公司用吡啶取代苯环开发了一系列吡啶三环衍生物, 如化合物 20, 活性明显提高( $EC_{50} = 1.2 \text{ nM}$ )<sup>[25]</sup>。结构见图 3。

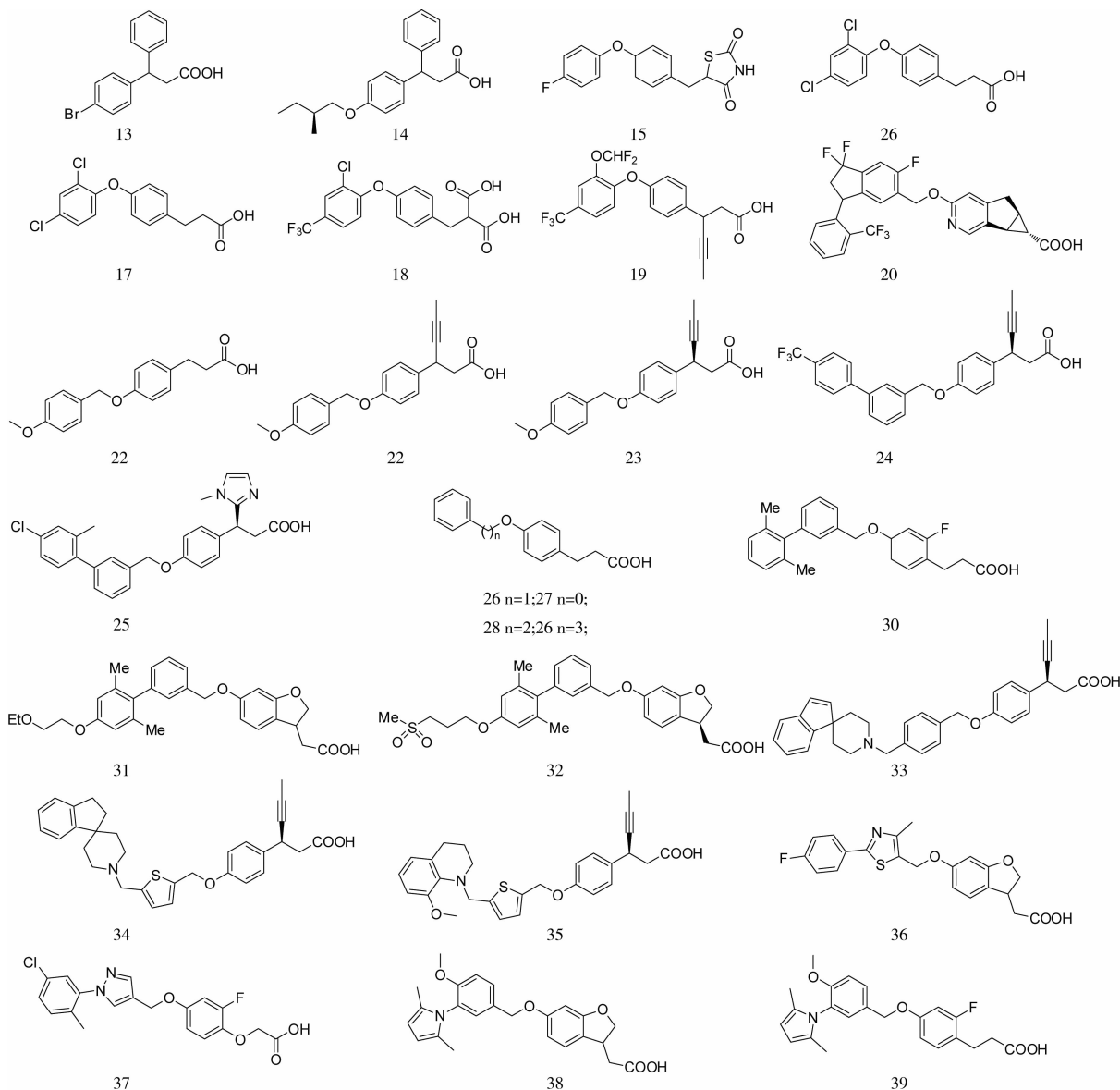


图 3 对(取代烷氧基)苯丙酸类 GPR40 激动剂

Amgen 公司通过高通量筛选得到化合物 21,  $EC_{50} = 1.1 \mu M$ 。由于该化合物的  $\beta$  位在体内易被氧化, 研究人员在  $\beta$  位引入取代基, 通过增加空间位阻提高其稳定性, 结果发现, 引入饱和烷基链时活性降低, 引入不饱和碳链时活性有所增加。其中引入丙炔基得到的化合物 22,  $EC_{50} = 0.26 \mu M$ 。将化合物 22 进一步拆分得到的对映体, 活性相差近 100 倍。S 构型的化合物 23,  $EC_{50} = 0.064 \mu M$ , 而 R 构型的化合物  $EC_{50} = 6.7 \mu M$ 。以化合物 23 为母核骨架对末端苯环进行修饰得到化合物 24 (AMG837),  $EC_{50} = 13 \text{ nM}$ , 且具有较好的药代动力学性质(大鼠按  $5 \text{ mg/kg}$  口服给药测得  $C_{max} = 17 \mu M$ ;  $AUC_{0-8h} = 47500 \text{ (g} \cdot \text{h/L)}$ ;  $F = 67\%$ ), 该化合物已经进入临床研究。为了降低该类型化合物可能引起的神经毒性, 研究人员用极性杂环取代不饱和碳链得到化

合物 25,  $EC_{50} = 33$  nM, 活性有所降低, 但不易透过血脑屏障引起神经毒性<sup>[26]</sup>. 结构见图 3.

2003 年 Takeda 制药公司分析饱和与不饱和长链脂肪酸的 GPR40 激动活性时发现二十二碳六烯酸(DHA)的 GPR40 激动活性最好( $EC_{50} = 1.1$   $\mu$ M), 而亚油酸甲酯的活性基本消失( $EC_{50} > 300$   $\mu$ M)<sup>[1]</sup>. 因此研究人员分析羧基的氢键作用和  $\pi$ - $\pi$  共轭效应影响受体和配体的相互作用. 通过筛选发现苯丙酸在 100  $\mu$ M 时具有一定的 GPR40 激动活性, 以增加苯丙酸的  $\pi$ - $\pi$  共轭效应为目的进行了结构改造, 发现化合物 26 的  $EC_{50} = 510$  nM, 当两个苯环之间只有氧或碳原子数目大于 1 时, 激动活性基本消失, 如化合物 1-27、化合物 28 和化合物 29 的  $EC_{50}$  分别是 3.2  $\mu$ M、3.5  $\mu$ M 和 3.5  $\mu$ M. 对化合物 26 进一步结构优化得到化合物 30, 活性明显提高, 其  $EC_{50} = 5.7$  nM<sup>[17]</sup>. 结构见图 3.

化合物 30 虽然具有很好的 GPR40 激动活性, 但是体内清除率高, 生物利用度低, 主要是因为苯丙酸的  $\beta$  位在体内易发生  $\beta$ -氧化而代谢失活. 为了提高该类结构的代谢稳定性, 在易代谢位点引入稠环得到了具有较好药代动力学性质的化合物 31,  $EC_{50} = 28$  nM, 生物利用度  $F$  达到 59.5%<sup>[27]</sup>. 但是化合物 31 的水溶性不好, 成药性较差, 为了提高水溶性, 在末端苯环引入极性取代基得到化合物 32(TAK-875), 具有较好的药代动力学性质(大鼠按 1 mg/kg 口服给药测得  $C_{max} = 1883.5$  ng/mL;  $T_{max} = 2.00$  h;  $AUC_{0-8h} = 11840.4$  ng  $\cdot$  h/mL)<sup>[28]</sup>. 临床前研究表明, TAK-875 能够增强 GSIS 且不引起低血糖和脂毒性. I-III 期临床试验表明 TAK-875 具有较好的药代动力学性质和有效性<sup>[29]</sup>, 但是由于肝毒性临床研究终止. 结构见图 3.

Eli Lilly 通过高通量筛选得到了哌啶螺环类 GPR40 激动剂, 如化合物 33(LY2881835,  $EC_{50} = 9$  nM), 化合物 34(LY2922083,  $EC_{50} = 8$  nM) 和化合物 35(LY2922470,  $EC_{50} = 7$  nM), 其中化合物 35 具有较好的活性和药代动力学性质, 目前已经进入临床研究<sup>[30]</sup>. 结构见图 3.

中国药科大学的研究人员为了降低 TAK-875 的脂溶性和毒性, 用杂环或极性连接臂取代 TAK-875 的苯环开发了一系列新型的 GPR40 激动剂, 如化合物 36、化合物 37、化合物 38 和化合物 39,  $EC_{50}$  分别是 48.7、100、34.7 nM 和 15.6 nM, 可作为候选药物进行深入的活性和成药性研究<sup>[31]</sup>. 结构见图 3.

AMG837 作为 GPR40 的部分激动剂具有很好的降血糖作用, 因此研究人员设想 GPR40 完全激动剂会产生更好的降血糖作用, 所以对 AMG 837 进行了结构改造, 期望可以得到 GPR40 的完全激动剂. 其中化合物 40(AM-1638)的  $EC_{50} = 160$  nM,  $E_{max} = 100\%$ ,  $CL = 0.18-0.91$  L/h/kg,  $T_{1/2} = 1.8-2.1$  h. 为了提高活性降低脂溶性, 对 AM-1638 进行结构修饰得到了化合物 41(AM-5262,  $EC_{50} = 81$  nM,  $E_{max} = 101\%$ ,  $CL = 0.25-0.84$  L/h/kg,  $T_{1/2} = 2.2$  h)<sup>[32]</sup> 和化合物 42( $EC_{50} = 162$  nM,  $E_{max} = 94\%$ ,  $CL = 0.061$  L/h/kg,  $T_{1/2} = 8.1$  h), 活性和稳定性有所提高<sup>[33]</sup>. 另外 Merck, Takeda 和 Janssen 也报道了一系列间位取代的 GPR40 完全激动剂如化合物 43, 化合物 44<sup>[34]</sup> 和化合物 45<sup>[35]</sup>, 它们都具有较好的体外活性,  $EC_{50}$  分别是 0.6、1.0 和 1 nM. 结构见图 4.

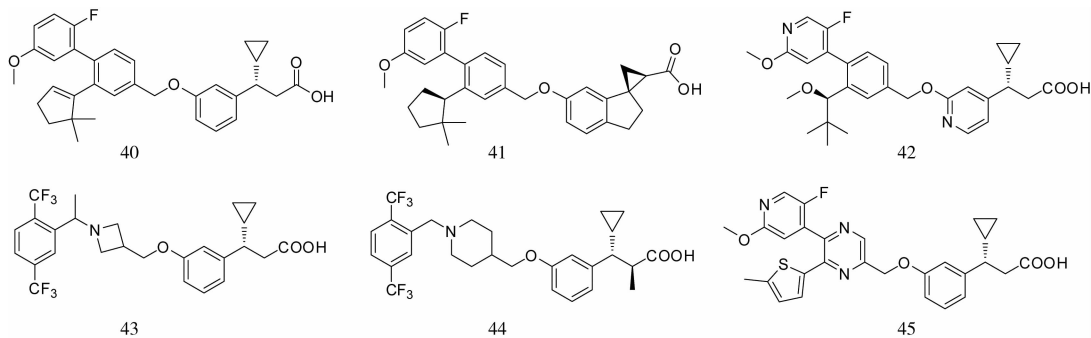


图 4 间(取代烷氧基)苯丙酸类 GPR40 激动剂

### 2.3 非羧酸类 GPR40 激动剂

Milligan 报道噻唑烷二酮类药物罗格列酮和曲格列酮具有一定的 GPR40 激动活性. 基于 Milligan 的发现, Merck 公司筛选了化合物库中 2000 个包含有噻唑烷二酮结构的化合物, 发现化合物 46 具有部分 GPR40 激动活性( $pEC_{50} = 5.79$ )<sup>[36]</sup>, 且该化合物在 10  $\mu$ M 时对 PPAR $\alpha$ 、PPAR $\beta$  和 PPAR $\gamma$  均无亲和力, 对化合物 46 进行结构优化得到化合物 47, 活性明显提高,  $EC_{50} = 10$  nM, 且具有较好的药代动力学性质(小鼠

按 2 mg/kg 给药测得  $F = 100\%$ ;  $AUC_{0-8h} = 18$  ( $g \cdot h \cdot kg/mg$ );  $CL = 1.9$  ( $mL/min/kg$ );  $T_{1/2} = 5.1$  h;  $T_{max} = 3$  h;  $C_{max} = 1.4$   $\mu M$ <sup>[23]</sup>. 另外 Merck 公司还报道了化合物 48、化合物 49 和化合物 50<sup>[37]</sup> 等非羧酸类 GPR40 激动剂. 结构见图 5.

酰基间苯三酚类化合物广泛存在于桃金娘科植物中,具有广泛的生理作用,如抗菌、抗疟疾和抗癌等,且能通过抑制醛糖还原酶的活性控制糖尿病的并发症. Bharate 通过虚拟筛选确定该类化合物具有 GPR40 激动活性,如化合物 51,  $EC_{50} = 6.0$   $\mu M$ . 在研究脂肪链长度对活性发现增加亲脂性可以增强 GPR40 激动活性,如化合物 52 和化合物 53 的  $EC_{50}$  分别是 70 nM 和 970 nM<sup>[38]</sup>. 结构见图 5.

羧酸是药物结构中的常见基团,很多其它环状结构都可以看作是羧酸的电子等排体,该策略广泛用于先导化合物的结构改造<sup>[39]</sup>. 利用电子等排体的原理,专利中还报道了一些非羧酸类的 GPR40 激动剂,代表性化合物如化合物 54-58. 结构见图 5.

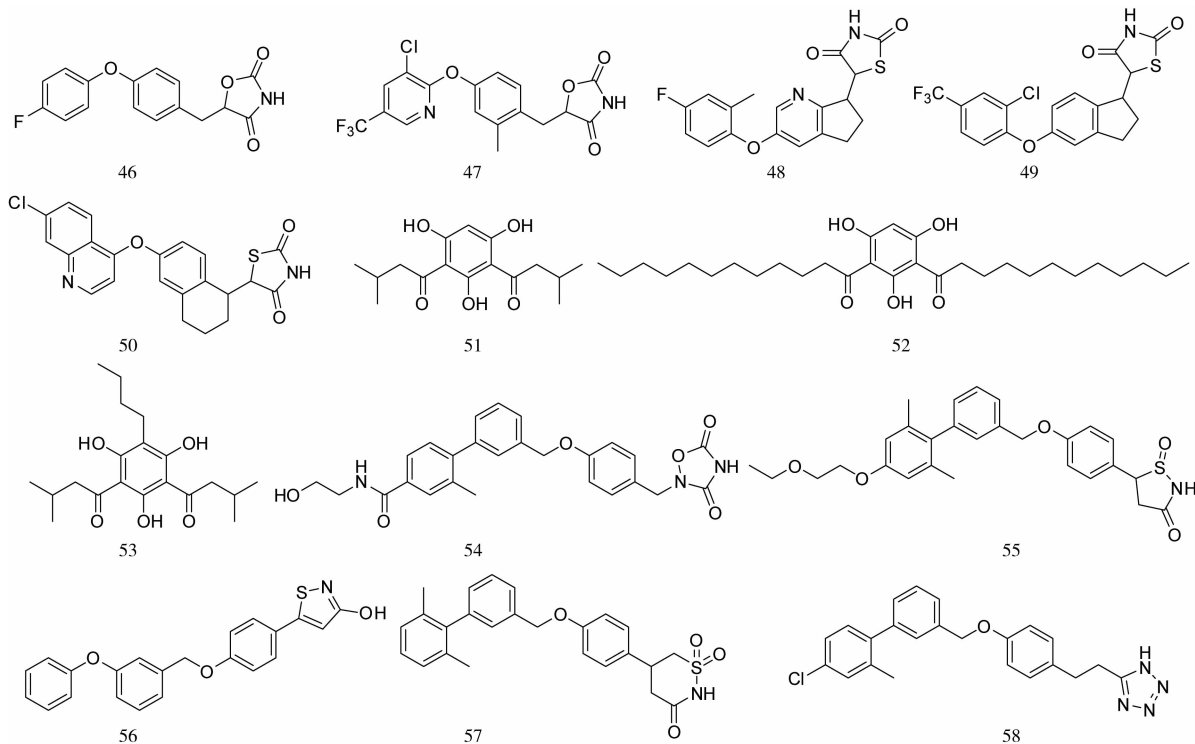


图 5 非羧酸类 GPR40 激动剂

#### 2.4 其它类型的 GPR40 激动剂

长链饱和与不饱和脂肪酸是 GPR40 的内源性配体,说明 GPR40 的识别范围较大. Trond Ulven 由此认为细长的亲脂性羧酸都可能具有 GPR40 激动活性. 通过筛选具有构象限制的脂肪酸化合物发现含炔类化合物 59 的激动活性是油酸的十倍. 以化合物 59 为先导化合物进行构效关系研究发现,苯丙酸  $\beta$  位碳原子被氧原子取代后活性降低,苯环上亲脂性基团取代时的活性优于亲水性基团取代,最终得到化合物 60 (TUG-424),  $EC_{50} = 32$  nM<sup>[40]</sup>. 化合物 TUG-424 虽然就有很好的活性,但是其水溶性较差,体内动力学性质不好,为了提高化合物的水溶性,用含氮杂环取代末端苯环得到化合物 61,  $EC_{50} = 41$  nM, pH = 7.4 时测定的水溶性为 199  $\mu M$ . 进一步优化 TUG-424 得到了活性更好的化合物 62,  $EC_{50} = 20$  nM. 为了提高代谢稳定性,研究人员研究了苯丙酸邻位取代基对活性的影响,邻位氟取代时活性优于未取代,其中代表性化合物 63 (TUG-770),  $EC_{50} = 6$  nM, 且具有较好的药代动力学性质(大鼠按 10 mg/kg 口服给药测得  $C_{max} = 12340$  ng/mL;  $T_{max} = 15$  min;  $T_{1/2} = 5.9$  h;  $AUC_{0-8} = 4388$  ( $g/mL \cdot min$ );  $F = 136\%$ )<sup>[41]</sup>. 结构见图 6.

Sanofi-Aventis 公司发现二苯嘧啶羧酸类化合物也具有一定的 GPR40 激动活性,如化合物 64、化合物 65 和化合物 66<sup>[42]</sup>. 另外 Bristol-Myers Squibb 公司报道四氢吡唑烷羧酸结构也具有一定的 GPR40 激动活性,如化合物 67<sup>[43]</sup>. 2008 年 Tikhonova 等利用计算机虚拟筛选得到了一系列结构新颖的 GPR40 激动剂,如化合物 68-71,可作为先导化合物开发新型 GPR40 激动剂<sup>[44]</sup>. 结构见图 6.

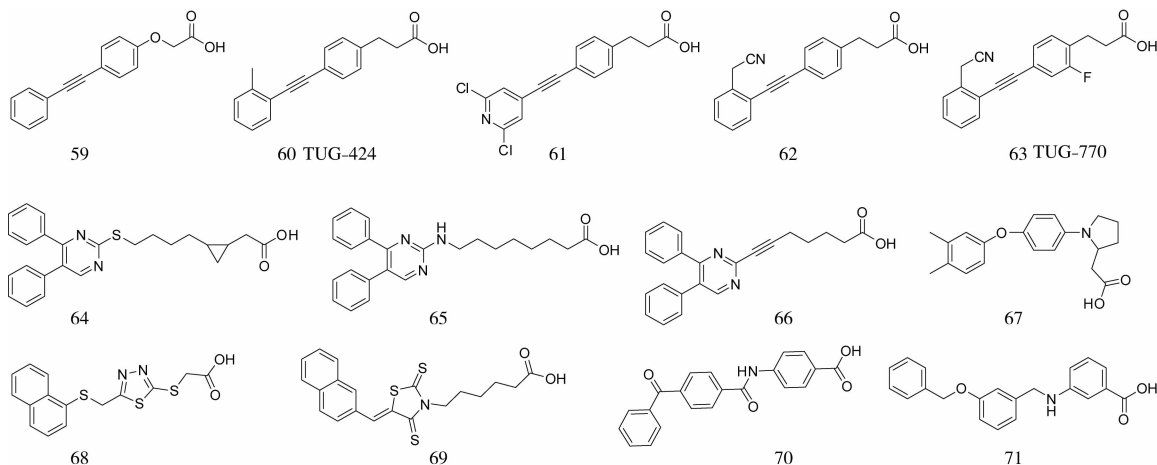


图6 其它类型的 GPR40 激动剂

### 3 GPR40 拮抗剂的研究

2005年 Steneberg<sup>[45]</sup> 研究表明 GPR40 缺陷的胰岛  $\beta$  细胞在脂肪酸作用下胰岛素分泌量减少, GPR40 缺陷的小鼠能有效减少肥胖诱导的高胰岛素血症、肝葡萄糖生成、高血糖和糖耐量受损. 相反, GPR40 在小鼠胰岛  $\beta$  细胞上过度表达能导致  $\beta$  细胞功能受损、低胰岛素分泌和糖尿病. 因此, GPR40 拮抗剂在调节肥胖和 2 型糖尿病之间也起到重要作用. 目前关于 GPR40 拮抗剂的报道还比较少, GlaxoSmithKline 公司通过筛选发现化合物 72(GW1100)为 GPR40 拮抗剂, 它能剂量依赖性的抑制 GW9508 激动 GPR40 引起的  $\text{Ca}^{2+}$  内流. 也能抑制亚油酸、棕榈酸和顺-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸引起的  $\text{Ca}^{2+}$  内流. 但是 GW1100 在 1 mM 时可以完全抑制 GW9508 引起的胰岛素分泌, 而只能部分抑制亚油酸引起的胰岛素分泌, 说明 GW9508 完全是通过 GPR40 调节胰岛素分泌并非通过 GPR120, 而亚油酸除通过 GPR40 外, 还通过其它途径调节 MIN6 细胞分泌胰岛素<sup>[46,47]</sup>. 结构见图 7.

Pfizer 公司通过高通量筛选公司内部的化合物库, 发现四氢异喹啉类化合物 77 和化合物 78 具有很好的 GPR40 拮抗活性,  $\text{IC}_{50}$  分别为 10 nM 和 12 nM, 且它们的人肝微粒体清除率很低, 分别小于 12 (L/min/mg) 和 9 (L/min/mg), 这引起了研究人员的极大兴趣. 以化合物 78 为先导对四氢异喹啉 3 位取代和氮上取代进行结构改造得到化合物 79, 活性基本保持 ( $\text{IC}_{50} = 20$  nM), 但在体外具有较好的膜通透性和较低的微粒体清除率, 在体内具有较好的药代动力学性质(大鼠静脉给药时  $\text{CL} = 4.3$  (L/min/mg);  $T_{1/2} = 5.4$  h)<sup>[48]</sup>. 结构见图 7.

中国科学院上海本草天然植物研究所利用虚拟筛选发现磺胺类化合物具有 GPR40 拮抗活性, 如化合物 80、化合物 81 和化合物 82(DC260126), 其中化合物 DC260126 能够剂量依赖性的抑制亚油酸、油酸、棕榈酸和月桂酸通过激活 GPR40 引起的  $\text{Ca}^{2+}$  内流 ( $\text{IC}_{50}$  分别是 6.28、5.96、7.07 和 4.58  $\mu\text{M}$ ); 减少亚油酸引起的 GTP 量增加和 ERK1/2 磷酸化; 抑制棕榈酸引起的 MIN6 细胞胰岛素释放和负调控油酸诱导 MIN6 细胞 GPR40 mRNA 的表达. 进一步研究表明 DC260126 对肥胖大鼠的糖耐量没影响, 但能改善胰岛素耐受, 且能防止 *db/db* 小鼠胰岛  $\beta$  细胞功能障碍<sup>[49,50]</sup>. 结构见图 7.

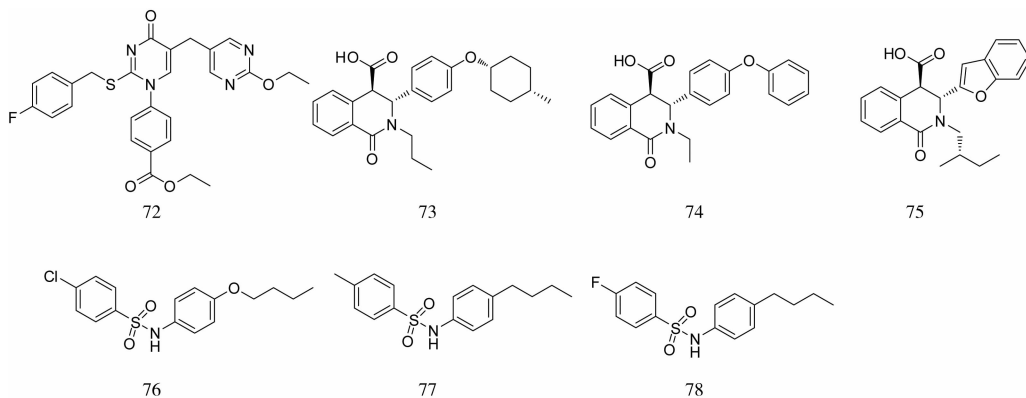


图7 GPR40 拮抗剂

## 4 结语

GPR40 作为中长链自由脂肪酸的受体,激活后能葡萄糖依赖性的增加胰岛素分泌,这是通过脂质代谢调节血糖的新机制。但是自由脂肪酸对 GSIS 具有双重作用,即短时间作用有利于 GSIS,长期作用会损伤 GSIS,产生脂毒性。最新研究发现 GPR40 受体不是自由脂肪酸产生脂毒性的原因。另外分布于胃肠道内分泌细胞中的 GPR40 激活后能够促进肠促胰岛素激素 GLP-1 和 GIP 的分泌,降低血糖。因此选择性的 GPR40 受体激动剂有望成为治疗 2 型糖尿病的新策略。对 GPR40 拮抗剂的研究表明,GPR40 拮抗剂能够避免小鼠高脂饮食引起的葡萄糖不耐症、高血糖和脂肪肝且能减少肝葡萄糖的产生。这些发现说明 GPR40 拮抗剂也具有一定的血糖调节作用。

GPR40 作为治疗 2 型糖尿病的新靶点,其主要优点有:(1) GPR40 介导的胰岛素分泌是葡萄糖依赖性的,不引起低血糖副作用;(2) GPR40 受体主要分布于胰岛  $\beta$  细胞和胃肠道内分泌细胞,引起全身副作用的可能性比较小;(3) GPR40 受体介导的 GLP-1 的分泌能避免体重增加和胰岛  $\beta$  细胞损伤。但是 GPR40 作为治疗糖尿病的新靶点,目前仍处于药物开发的初期阶段。随着 TAK-875 临床研究的终止,很多进入临床研究阶段的 GPR40 激动剂(如 LY2881835)也没有最新的研究进展,GPR40 激动剂的安全性成为了该类药物研究的关键点。初步研究表明 GPR40 激动剂的高亲脂性可能是其产生毒性的原因之一,因此新型 GPR40 激动剂的研究应更加关注化合物的脂水分配系数,在保留化合物活性的前提下尽量提高化合物的亲水性,以降低产生毒性的风险。

## 参 考 文 献

- [1] Itoh Y, Kawamata Y, Harada M. Free fatty acids regulate insulin secretion from pancreatic  $\beta$  cells through GPR40[J]. *Nature*, 2003, 1600 (2000): 2001-2004.
- [2] Fukunaga S, Setoguchi S, Hirasawa A, et al. Monitoring ligand-mediated internalization of G protein-coupled receptor as a novel pharmacological approach[J]. *Life Sci*, 2006, 80(1): 17-23.
- [3] Wang J, Wu X, Simonavicius N, et al. Medium-chain fatty acids as ligands for orphan G protein-coupled receptor GPR84[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(45): 34457-34464.
- [4] Brown A J, Goldsworthy S M, Barnes A A, et al. The Orphan G protein-coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(13): 11312-11319.
- [5] Bartoov-Shifman R, Ridner G, Bahar K, et al. Regulation of the gene encoding GPR40, a fatty acid receptor expressed selectively in pancreatic  $\beta$  cells[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(32): 23561-23571.
- [6] Ji T H, Grossmann M, Ji L G protein-coupled receptors I Diversity of receptor-ligand interactions[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(28): 17299-17302.
- [7] Tomita T, Masuzaki H, Iwakura H, et al. Expression of the gene for a membrane-bound fatty acid receptor in the pancreas and islet cell tumours in humans: evidence for GPR40 expression in pancreatic beta cells and implications for insulin secretion[J]. *Diabetologia*, 2006, 49 (5): 962-968.
- [8] Ferdaoussi M, Bergeron V, Zarrouki B, et al. G protein-coupled receptor (GPR)40-dependent potentiation of insulin secretion in mouse islets is mediated by protein kinase D1[J]. *Diabetologia*, 2012, 55(10): 2682-2692.
- [9] Nagasumi K, Esaki R, Iwachidow K, et al. Overexpression of GPR40 in pancreatic  $\beta$ -cells augments glucose-stimulated insulin secretion and improves glucose tolerance in normal and diabetic mice[J]. *Diabetes*, 2009, 58(5): 1067-1076.
- [10] Edfalk S, Steneberg P, and Edlund H. Gpr40 is expressed in enteroendocrine cells and mediates free fatty acid stimulation of incretin secretion[J]. *Diabetes*, 2008, 57(9): 2280-2287.
- [11] Liou A P, Lu X, Sei Y, et al. The G-protein-coupled receptor GPR40 directly mediates long-chain fatty acid induced secretion of cholecystokinin[J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(3): 903-912.
- [12] Yonezawa T, Katoh K, and Obara Y. Existence of GPR40 functioning in a human breast cancer cell line MCF-7[J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2004, 314(3): 805-809.
- [13] Swaminath G. Fatty acid binding receptors and their physiological role in type 2 diabetes[J]. *Archiv der Pharmazie*, 2008, 341(12): 753-761.

- [14] McKeown S C, Corbett D F, Goetz A S, et al. Solid phase synthesis and SAR of small molecule agonists for the GPR40 receptor[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(6): 1584-1589.
- [15] Garrido D M, Corbett D F, Dwornik K A, et al. Synthesis and activity of small molecule GPR40 agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16(7): 1840-1845.
- [16] Corbett D, Dwornik K, Garrido D, et al. Aminophenylcyclopropyl carboxylic acids and derivatives as agonists to GPR40[P]. World: WO 2005051890. 2005-09-06.
- [17] Sasaki S, Kitamura S, Negoro N, et al. Design, Synthesis and Biological Activity of Potent and Orally Available G Protein-Coupled Receptor 40 Agonists[J]. *J Med Chem*, 2011, 54(5): 1365-1378.
- [18] Mikami S, Kitamura S, Negoro N, et al. Discovery of phenylpropanoic acid derivatives containing polar functionalities as potent and orally bioavailable G protein-coupled receptor 40 agonists for the treatment of type 2 diabetes[J]. *J Med Chem*, 2012, 55(8): 3756-3776.
- [19] Christiansen E, Due-Hansen M E, Urban C, et al. Structure activity study of dihydrocinnamic acids and discovery of the potent FFA1 (GPR40) agonist TUG-469[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2010, 1(7): 345-349.
- [20] Christiansen E, Due-hansen M E, Urban C, et al. Free fatty acid receptor 1 (FFA1/GPR40) agonists; mesylpropoxy appendage lowers lipophilicity and improves ADME properties[J]. *J Med Chem*, 2012, 55(14): 6624-6628.
- [21] Negoro K, Ohnuki K, Kurosaki T, et al. Carboxylic acid derivative[P]. World: WO 2008066097. 2008-06-05.
- [22] Song F, Lu S, Gunnet J, et al. Synthesis and Biological Evaluation of 3-Aryl-3-(4-phenoxy)-propionic Acid as a Novel Series of G Protein-Coupled Receptor 40 Agonists[J]. *J Med Chem*, 2007, 50(12): 2807-2817.
- [23] Zhou C, Tang C, Chang E, et al. Discovery of 5-aryloxy-2,4-thiazolidinediones as potent GPR40 agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(3): 1298-1301.
- [24] Walsh S P, Severino A, Zhou C, et al. 3-Substituted 3-(4-aryloxyaryl)-propanoic acids as GPR40 agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21(11): 3390-3394.
- [25] Bifu T, Biju P, Blizzard T A, et al. Antidiabetic tricyclic compounds[P]. World: WO 2015176640. 2015-11-26.
- [26] Ma Z, Lin D C, Sharma R, et al. Discovery of the imidazole-derived GPR40 agonist AM-3189[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(1): 15-20.
- [27] Negoro N, Sasaki S, Ito M, et al. Identification of fused-ring alkanolic acids with improved pharmacokinetic profiles that act as G protein-coupled receptor 40/free fatty acid receptor 1 agonists[J]. *J Med Chem*, 2012, 55(4): 1538-1552.
- [28] Negoro N, Sasaki S, Mikami S, et al. Optimization of (2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)acetic acids; discovery of a non-free fatty acid-like, highly bioavailable G protein-coupled receptor 40/free fatty acid receptor 1 agonist as a glucose-dependent insulinotropic agent[J]. *J Med Chem*, 2012, 55(8): 3960-3974.
- [29] Kaku K, Enya K, Nakaya R, et al. Efficacy and safety of fasiglifam (TAK-875), a G protein-coupled receptor 40 agonist, in Japanese patients with type 2 diabetes inadequately controlled by diet and exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2015, 17(7): 675-681.
- [30] Hamdouchi C, Kahl S D, Patel Lewis A, et al. The discovery, preclinical, and early clinical development of potent and selective GPR40 agonists for the treatment of type 2 diabetes mellitus (LY2881835, LY2922083 and LY2922470)[J]. *J Med Chem*, 2016, 59(24): 10891-10916.
- [31] Li Z, Xu X, Huang W, et al. Free fatty acid receptor 1 (FFAR1) as an emerging therapeutic target for type 2 diabetes mellitus: recent progress and prevailing challenges[J]. *Med Res Rev*, 2018, 38(2): 381-425.
- [32] Wang Y, Liu J, Dransfield P J, et al. Discovery and optimization of potent GPR40 full agonists containing tricyclic spirocycles[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2013, 4(6): 551-555.
- [33] Du X, Dransfield P J, Lin D C, et al. Improving the pharmacokinetics of GPR40/FFA1 full agonists[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2014, 5(4): 384-389.
- [34] Chobanian H, Demong D, Guo Y, et al. Antidiabetic compounds[P]. US: US 2015014153. 2015-02-03.
- [35] Player M, R, Huang H, Meegalla S. Pyrazine gpr40 agonists for the treatment of type II diabetes[P]. US: US 2015039692. 2016-01-14.
- [36] Tan C P, Feng Y, Zhou Y P, et al. Selective small-molecule agonists of G protein-coupled receptor 40 promote glucose-dependent insulin secretion and reduce blood glucose in mice[J]. *Diabetes*, 2008, 57(8): 2211-2219.
- [37] Ge M, Lin S, Yang L, et al. Antidiabetic bicyclic compounds[P]. World: WO 2008054674. 2008-05-08.
- [38] Bharate S B, Rodge A, Joshi R K, et al. Discovery of diacylphloroglucinols as a new class of GPR40 (FFAR1) agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(24): 6357-6361.
- [39] Meanwell N A. Synopsis of some recent tactical application of bioisosteres in drug design[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 54(8):

2529-2591.

- [40] Christiansen E,Urban C,Merten N,et al. Discovery of potent and selective agonists for the free fatty acid receptor 1 ( FFA 1/GPR40 ), a potential target for the treatment of type II diabetes[J]. *Diabetologia*,2008,1(8): 7061-7064.
- [41] Christiansen E,Hansen S V F,Urban C,et al. Discovery of TUG-770: a highly potent free fatty acid receptor 1 ( FFA1/GPR40) agonist for treatment of type 2 diabetes[J]. *ACS Med Chem Lett*,2013,4(5): 441-445.
- [42] Defossa E,Goerlitzer J,Klabunde T,et al. 4,5-diphenyl-pyrimidinyl substituted carboxylic acids,method for the production and use thereof as medicaments[P]. World: WO 2007131621. 2007-11-22.
- [43] Ellsworth B A,Ewing W,Jurica E. Pyrrolidine gpr40 modulators[P]. World: WO 2011044073. 2011-04-14.
- [44] Tikhonova I G,Sum C S,Neumann S,et al. Discovery of novel agonists and antagonists of the free fatty acid receptor 1 ( FFAR1) using virtual screening[J]. *J Med Chem*,2008,51(3): 625-633.
- [45] Steneberg P,Rubins N,Bartoov-Shifman R,et al. The FFA receptor GPR40 links hyperinsulinemia,hepatic steatosis,and impaired glucose homeostasis in mouse[J]. *Cell Metab*,2005,1(4): 245-258.
- [46] Briscoe C P,Peat A J,McKeown S C,et al. Pharmacological regulation of insulin secretion in MIN6 cells through the fatty acid receptor GPR40: identification of agonist and antagonist small molecules[J]. *Brit J Pharmacol*,2006,148(5): 619-628.
- [47] Moodaley R,Smith D M,Tough I R,et al. Agonism of free fatty acid receptors 1 and 4 generates peptide YY-mediated inhibitory responses in mouse colon[J]. *Br J Pharmacol*,2017,174(23): 4508-4522.
- [48] Sharma N,Bhagat S,Chundawat T S. Recent advances in development of GPR40 modulators ( FFA1/FFAR1 ):an emerging target for type 2 diabetes[J]. *Mini Rev Med Chem*,2017,17(11): 947-958.
- [49] Sun P,Wang T,Zhou Y,et al. DC260126: a small-molecule antagonist of GPR40 that protects against pancreatic  $\beta$ -cells dysfunction in db/db mice[J]. *Plos One*,2013,8(6): e66744-e66744.
- [50] Syed I, Lee J, Moraes-Vieira P M, et al. Palmitic acid hydroxystearic acids activate GPR40, which is involved in their beneficial effects on glucose homeostasis[J]. *Cell Metab*,2018,27(2): 419-427.

## Recent Progress in Research of GPR40 Agonists and Antagonists

WANG Xue-kun<sup>1</sup> JI Guo-xia<sup>2</sup> LIU Ren-min<sup>1</sup>

(1. School of Pharmacy, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China; 2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

**Abstract** GPR40 is a G protein-coupled receptor predominantly expressed on pancreatic  $\beta$  cells. It amplifies glucose-dependent insulin secretion and GPR40 agonists achieve the initially therapeutic endpoint for the treatment of type 2 diabetes mellitus (T2DM) without the hypoglycemic risk; therefore, it has attracted widespread attention as a promising antidiabetic target. Herein, we review the latest research progress of GPR40 agonists and GPR40 inhibitors and hope to help the development of novel GPR40 agonists and GPR40 inhibitors.

**Key words** GPR40 agonist; GPR40 inhibitor; diabetes