

黄嘌呤氧化酶抑制剂研究进展

杨名宇,史晓雨,祁丹辉,展鹏*,刘新泳*

(山东大学药学院药物化学研究所,山东济南 250012)

摘要:尿酸产生于嘌呤核苷酸的代谢过程,当其在体内长期保持高浓度状态时,会引发高尿酸血症及痛风等一系列健康问题。黄嘌呤氧化酶(XO)作为尿酸生成过程中的关键作用酶,一直是治疗高尿酸血症和痛风的研究热点。近年来,多种结构新颖的黄嘌呤氧化酶抑制剂被成功发现,涵盖羧酸/咪唑衍生物、吡唑缩醛衍生物、三唑衍生物、胍/脲衍生物、酰胺衍生物、苯并吡喃酮衍生物、三胺衍生物、噻啉衍生物、巴比妥酸盐、腈类化合物、硫酮衍生物以及天然产物等。此外,越来越多同时靶向 XO 和其他靶点的双靶点抗痛风活性分子也被发现。本文旨在全面梳理近年来黄嘌呤氧化酶抑制剂的最新研究进展,以期新型抗痛风药物的研发提供参考。

关键词:尿酸;高尿酸血症;痛风;黄嘌呤氧化酶;抑制剂

中图分类号:R914

文献标志码:A

高尿酸血症(hyperuricemia, HUA)是一种由嘌呤代谢紊乱引起的代谢性疾病,正常饮食条件下,不论男女,非同日两次空腹血尿酸水平超过 $420 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,即被定义为 HUA。尿酸(uric acid, UA)是人体内嘌呤代谢的终末产物,主要在肝脏生成通过肾脏和肠道排出体外。当体内血尿酸浓度长期维持在较高水平时,会生成单钠尿酸盐(monosodium urate, MSU),这种物质会在关节、软骨及其他组织中沉积,进而引起炎症反复出现,最终导致痛风。研究表明,HUA 不仅是痛风的生理病理基础,更是糖尿病、高血压、高血脂、动脉硬化和冠心病等疾病的诱发风险因素,现已成为影响人类代谢健康的重要因素之一^[1-2]。

痛风主要分为 4 个时期,包括无明显症状的 HUA 时期、MSU 晶体沉积时期、痛风性关节炎急性发作时期和慢性痛风性关节炎时期。目前,对无症状的 HUA 和 MSU 沉积的治疗尚无安全有效的药物,患者一般通过调整膳食结构来控制血尿酸水平,比如采用控制高血压的饮食方式,或是减肥等方法。然而,大多数患者仅凭饮食管理难以将血尿酸控制在治疗目标值。针对痛风性关节炎急性发作时期,一般选用抗炎镇痛药进行治疗,

如非甾体类抗炎药、秋水仙碱和皮质类固醇等^[3]。尽管这些药物在一定程度上可以缓解症状,但无法有效降低血尿酸浓度,所以不能从根本上治愈 HUA 和痛风。因此,通过调整饮食习惯并使用降尿酸药物来控制血尿酸水平,使其低于 MSU 沉积阈值,成为痛风管理的首要目标^[4]。目前临床应用的降尿酸药物主要分为两类。一类是抑制尿酸生成的黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)抑制剂,如别嘌醇(allopurinol)、非布司他(februxostat)和托匹司他(topiroxostat)(图 1)。别嘌醇与底物次黄嘌呤的结构相似,常常引起多种不良反应,包括暴发性肝炎、肾衰竭、超敏反应、皮疹和胃肠道不适等。根据 2019 年美国食品药品监督管理局(FDA)发布的报告显示,非布司他存在引发心脏相关死亡的风险,而托匹司他则有可能增加痛风性关节炎发病的风险^[5]。另一类是促尿酸排泄药物,如尿酸转运蛋白 1(urate transporter 1, URAT1)抑制剂,代表药物有雷西纳德(lesinurad)和苯溴马隆(benzbromarone)(图 1),但该类药物因存在不同程度的毒副作用而渐渐退出市场^[6]。

治疗痛风的过程漫长且复杂,患者往往需要

收稿日期:2024-04-07

基金项目:国家自然科学基金创新群体项目(T2321004)

作者简介:杨名宇(1999-),男(汉族),山东济宁人,硕士研究生,E-mail:19560959523@163.com; *通信作者:展鹏(1982-),男(汉族),山东济南人,博士,教授,博士生导师,主要从事抗病毒和抗痛风创新药物研究,E-mail:zhanpeng1982@sdu.edu.cn;刘新泳(1963-),男(汉族),山东青岛人,博士,教授,博士生导师,主要从事基于靶标的创新药物研究,Tel:(0531)88380270,E-mail:xinyongl@sdu.edu.cn。

长期服药,这意味着不仅要承受药物潜在的毒副作用,还可能面临一系列并发症的困扰,给患者带来沉重的负担。因此,迫切需要研发疗效更好、毒

性更低新型降尿酸药物。本文旨在全面总结近年来 XO 抑制剂的研究进展,以为设计新型高效安全的 XO 抑制剂提供参考。

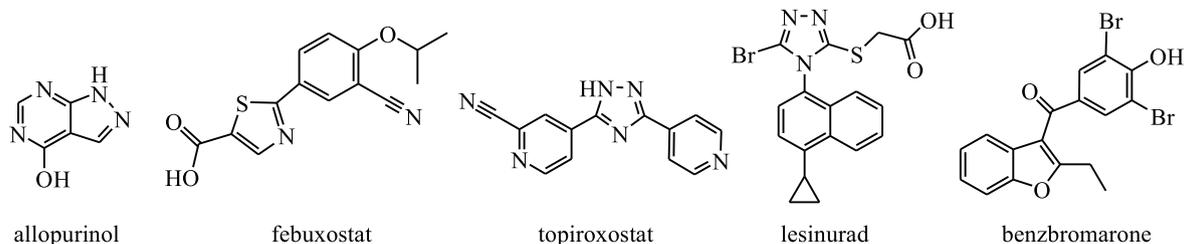


Figure 1 Representative uric acid-lowering drugs

1 尿酸的生成、代谢与功能

UA 结构属于氧杂嘌呤,其嘌呤环的 2、6、8 位上带有 3 个羰基。从生物学角度来看,UA 是一种强效抗氧化剂,能够作为免疫系统的刺激物,并可在缺盐条件下维持血压^[7]。值得一提的是,UA 在预防癌症与抗衰老过程中同样扮演着重要的生理角色。除此之外,多项研究表明 UA 还具备保护神经的潜能,在预防多发性硬化症、阿尔茨海默病和帕金森病等神经性疾病发生方面起到积极作用^[8]。

UA 是嘌呤代谢的产物,而人体内嘌呤、嘌呤碱和嘌呤核苷酸的合成途径主要分为两种,即从头合成途径和补救合成途径^[9]。其中,从头合成途径是人体利用基本物质合成次黄嘌呤核苷酸(inosine monophosphate, IMP),在多种酶的协同作用下,IMP 经过两步生化反应转化为腺嘌呤核

苷酸(adenosine monophosphate, AMP)。此外,在次黄嘌呤核苷酸脱氢酶的作用下,IMP 还可以转化为黄嘌呤核苷酸(xanthosine monophosphate, XMP)。随后,由鸟苷酸合成酶将 XMP 活化并接受氨基,最终生成鸟嘌呤核苷酸(guanosine monophosphate, GMP)^[10]。

当人体内的 IMP 过剩时,它会在核苷酸酶的催化作用下转化为次黄嘌呤核苷。接着,次黄嘌呤核苷在脱氢酶的催化作用下进一步转化为次黄嘌呤(hypoxanthine, HX)。最终,次黄嘌呤经过 XO 的双重氧化生成黄嘌呤(xanthine, XAN)和 UA(图 2)。类似地,人体内的 AMP 和 GMP 也可以通过一系列酶促反应被分解代谢为 UA(图 2),这些过程共同维持着体内嘌呤核苷酸的平衡状态^[11-12]。XO 是 UA 合成过程中的关键酶,其活性直接影响人体内血尿酸水平的稳定性。

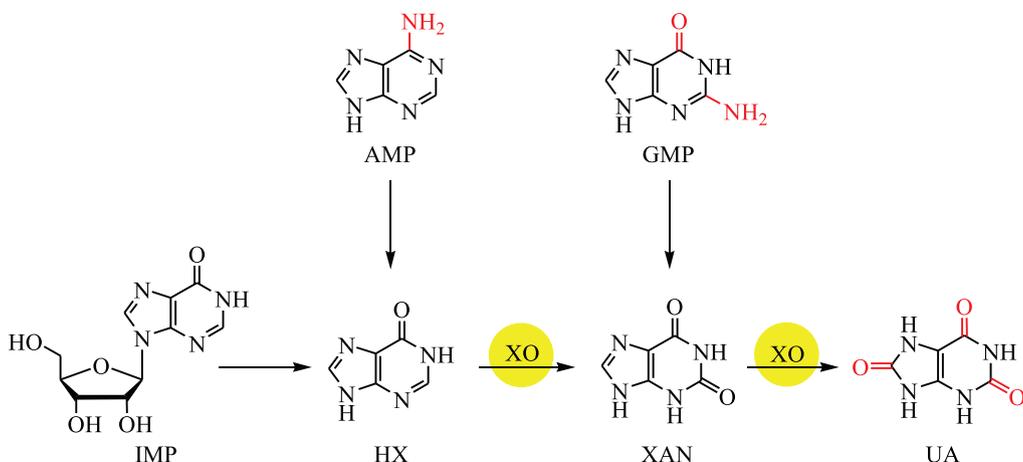


Figure 2 Uric acid synthesis pathway in human body

UA 的排泄主要通过肾脏和肠道这两个途径来完成。其中,肾脏扮演着至关重要的角色,是

UA 排泄的主要器官。通过肾小球和肾小管上的尿酸转运蛋白,在经历滤过和重吸收等一系列复

杂生理过程后,约有6%~10%的UA被排出体外。此外,肠道也是UA排泄的途径之一,但所占比例较少,主要是以粪便的形式排出体外^[8]。人体中UA的产生和排泄处于动态平衡,血尿酸浓度过高或过低均会引起一系列健康问题,过高时可能导致痛风、肾结石等疾病发作,而过低时则可能诱发包括慢性肾病在内的多种肾脏疾病^[13]。因此,维持稳定的血尿酸浓度对于预防和治疗相关疾病至关重要。

2 黄嘌呤氧化酶的结构与功能

XO和黄嘌呤脱氢酶(xanthine dehydrogenase, XDH)是黄嘌呤氧化还原酶(xanthine oxidoreductase, XOR)的两种不同形态,它们之间可相互转变,而XO的活性尤为显著。XO不仅是哺乳动物体内UA生成的关键酶,能够催化次黄

嘌呤和黄嘌呤生成UA,而且其底物范围广泛,可参与体内多种代谢过程^[14]。

XO是一种分布广泛的钼黄素蛋白(图3A),其由1330个氨基酸构成,包含两个完全对称的亚体单元。XO化学中心包括一个钼蝶呤辅因子(Mo-pt)、两个铁-硫中心(Fe/S)和一个核黄素腺嘌呤二核苷酸辅因子(flavin adenine dinucleotide, FAD)。其中,Mo-pt是XO的关键活性中心,而铁原子则是构成铁硫簇(Fe_2S_2)的一部分,扮演着电子传递的重要角色。钼原子与多个原子团紧密连接,包括氧原子、多个硫原子以及一个羟基,这些原子团共同构成了一个高度专一的催化环境^[14-15]。XO的活性位点(图3B)由18个氨基酸组成,其中,Gln767、Glu802、Arg880、Phe914、Phe1009和Glu1261是参与黄嘌呤转化为UA的主要位点^[16]。

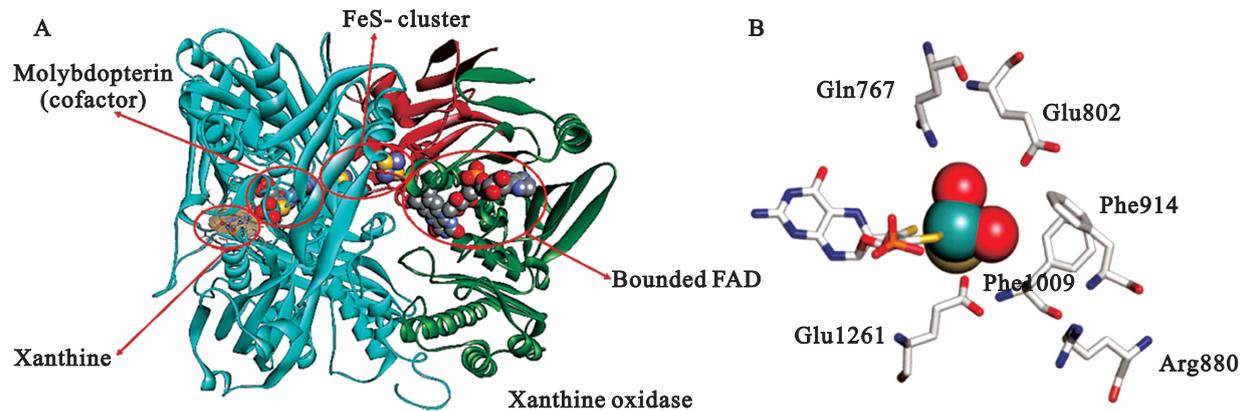


Figure 3 The crystal structure of xanthine oxidase (A)^[7] and its key active site (B)^[16]

在黄嘌呤向UA转化的过程中(图4),与钼原子直接相连的氧原子发挥着关键作用,它首先精准地转移至黄嘌呤分子上。随后,水分子中的氢氧根离子作为亲核试剂,攻击活性中间体上的钼原子,从而使钼蝶呤中心得以再生,并继续参与后续的催化循环^[11]。在XO催化嘌呤及其类似物的反应过程中,除嘌呤衍生物作为电子供体外,醛、喋啶类似物等也能作为电子供体,这些电子最

终传递给分子氧,并通过一系列级联反应产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS),包括超氧阴离子自由基、羟基自由基和过氧化氢等。而活性氧是多种病理过程的潜在诱因,如代谢紊乱、炎症、细胞凋亡、缺血再灌注损伤、肿瘤和动脉粥样硬化等。因此,对XO进行深入研究并将其应用于药物开发具有重要意义^[17]。

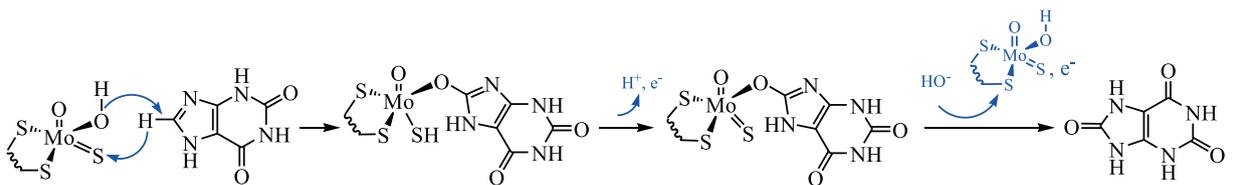


Figure 4 Reaction mechanism of xanthine oxidase

3 黄嘌呤氧化酶抑制剂

XO 抑制剂分为嘌呤类与非嘌呤类两种。临床广泛应用的嘌呤类 XO 抑制剂主要为别嘌醇,其在体内经 XO 氧化为氧别嘌醇,而氧别嘌醇通过与 XO 的钼蝶呤中心形成共价键,可有效阻止 XO 与底物结合,并以时间依赖的方式抑制 XO 活性。因此,嘌呤类抑制剂能够有效地与底物竞争 XO 的结合位点,为竞争性抑制剂^[18]。非嘌呤类 XO 抑制剂包括非布司他和托匹司他等,该类药物主要通过离子键和氢键与 XO 的活性位点紧密结合来发挥疗效,为非竞争性抑制剂^[6]。由于非嘌呤类 XO 抑制剂分子结构多样化,使其具有巨大的改造空间,且与嘌呤类 XO 抑制剂相比表现出更高的降尿酸活性和更低的毒性,所以一直是抑制 UA 生成药物的研究热点。近年来,关于嘌呤类抑制剂的报道非常少,因此本文作者主要归纳了不同骨架结构的非嘌呤类以及在天然产物中发现的 XO 抑制剂。

3.1 非嘌呤类黄嘌呤氧化酶抑制剂

3.1.1 羧酸/咪唑衍生物

Mao 等以课题组前期发现的咪唑环类化合

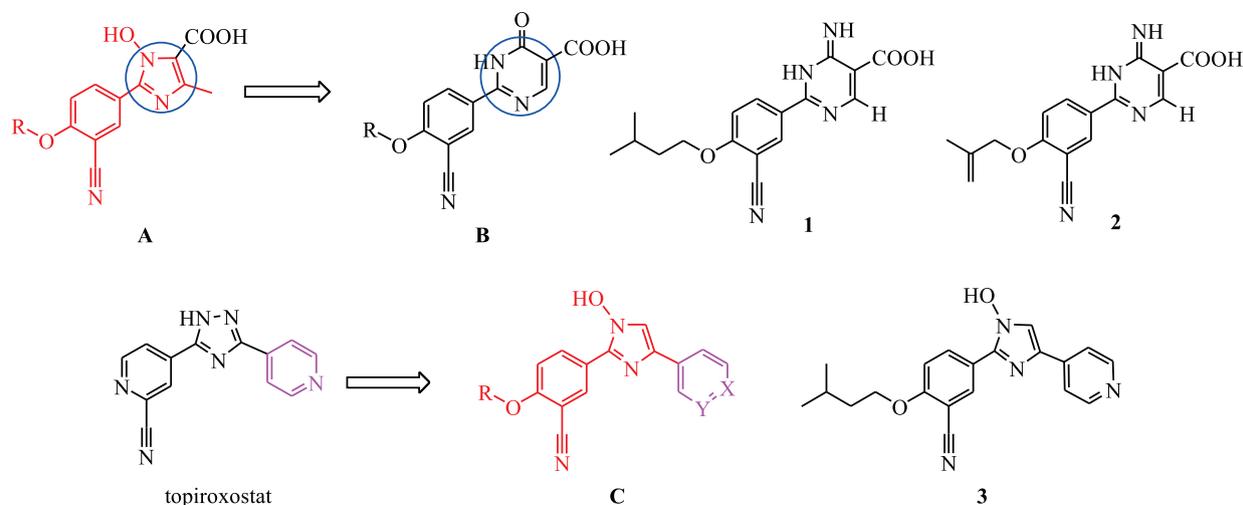


Figure 5 The design strategies of compounds B and C, and the structures of compounds 1–3

Xu 等报道了一类具有 2-苯基噻唑-4-羧酸结构的化合物,其中,抑酶活性最优的是化合物 4 ($IC_{50} = 0.033 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 6)。同时,该课题组将噻唑环中氮原子和硫原子的位置进行互换,得到抑酶活性较好的化合物 5 ($IC_{50} = 0.049 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 6)。通过对该类化合物进行构效分析,研究人员发现噻唑环化合物与噻唑环

物(A,图 5)为先导,通过扩环策略将咪唑环扩大为噻唑环,成功合成了一系列二氢噻唑-5-羧酸衍生物(B,图 5),在体外 XO 抑制活性实验中,所有化合物均表现出良好的抑制活性($IC_{50} = 0.018 \sim 0.57 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。特别是异戊基取代的化合物 1 ($IC_{50} = 0.024 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 5)和异丁烯基取代的化合物 2 ($IC_{50} = 0.018 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 5),它们对 XO 的抑制活性分别是对照药物别嘌醇 ($IC_{50} = 7.58 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 316 倍和 419 倍。分子对接结果显示,噻唑环处在 Phe914 和 Phe1009 之间,且环上的氨基与 Glu802 形成附加作用力,其与 XO 的结合模式与非布司他相似。此外,化合物 1 在 $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给药剂量下可显著降低 HUA 大鼠模型的血尿酸水平^[19]。

除此以外,该团队的 Zhang 等以咪唑环类化合物(A)和托匹司他(topiroxostat,图 5)为先导,通过分子杂合策略,成功将 1-羟基-2-苯基咪唑片段与托匹司他的吡啶片段进行杂合,得到了一系列咪唑衍生物(C,图 5)。体外活性测试结果表明,化合物 3 ($IC_{50} = 0.64 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 5)活性最优。值得一提的是,该系列化合物中吡啶氮原子对 XO 抑制活性起到了关键作用^[20]。

化合物相比,其对 XO 的抑制活性有所降低,这可能是由于噻唑环的亲水性比咪唑环更强,从而降低了化合物与 XO 之间的疏水作用^[21]。

Zhang 等对非布司他和 XO 的共晶结构进行分析,发现 XO 存在一个由 Leu648、Asn768、Lys771、Leu1014 和 Pro1076 形成的亚口袋。随后,针对该亚口袋,研究人员设计并合成了一系列

羧酸衍生物。该系列化合物均对 XO 表现出良好的抑制作用, IC_{50} 值为 $0.029 \sim 0.63 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。其中, 化合物 **6** ($IC_{50} = 0.029 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 6) 的抑酶活性与非布司他 ($IC_{50} = 0.024 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 相当^[22]。

Yagiz 等通过无需溶剂和催化剂的绿色合成

方法发现了一系列具有显著抑酶活性的二甲醇和二羧酸类 XO 抑制剂。值得一提的是, 二羧酸衍生物的活性明显高于二甲醇衍生物, 其中, 活性最好的是化合物 **7** ($IC_{50} = 0.71 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 6) 和 **8** ($IC_{50} = 0.73 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 6)^[23]。

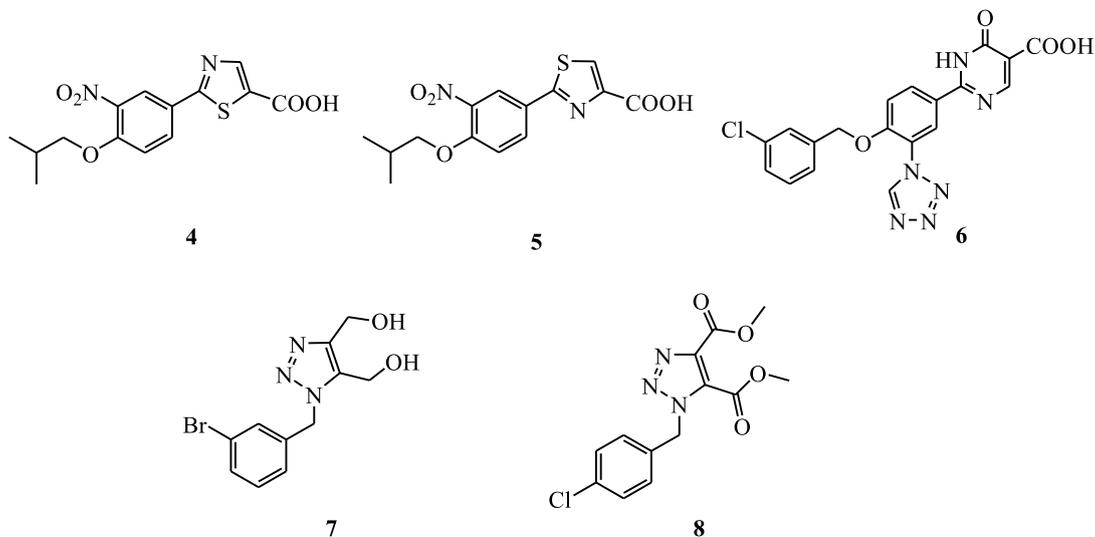


Figure 6 The structures of compounds 4 – 8

Singh 等以非布司他为先导化合物, 通过分子杂合策略将非布司他的三部分均进行替换, 得到了一系列吡啶-3-羧醛类化合物 (**D**, 图 7)。当 A 区替换为异吡啶酮时, 与非布司他相比, 其与 XO 的相互作用得到了显著改善, 尤其是异吡啶酮可以与 Val1011 产生相互作用, 这是非布司他不具备的。用三唑环替换 B 区的芳香结构后, 依然可以保持与 Val1011 之间的氢键作用。此外, 当 C 区被吡

啉-3-羧醛替换后, 化合物不仅与 Leu648 形成另外的碳-氢相互作用, 而且与 Phe649 建立了新的 π - π 堆积作用, 进一步增强了该系列化合物与 XO 之间的结合力 (图 7)。在体外 XO 抑制活性测试中, 化合物 **9** ($IC_{50} = 0.37 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 7) 的抑制活性最优。此外, 通过分析该系列化合物构效关系发现, 吡啶环所在的芳香基团具有较大的修饰空间, 值得进一步探究^[24]。

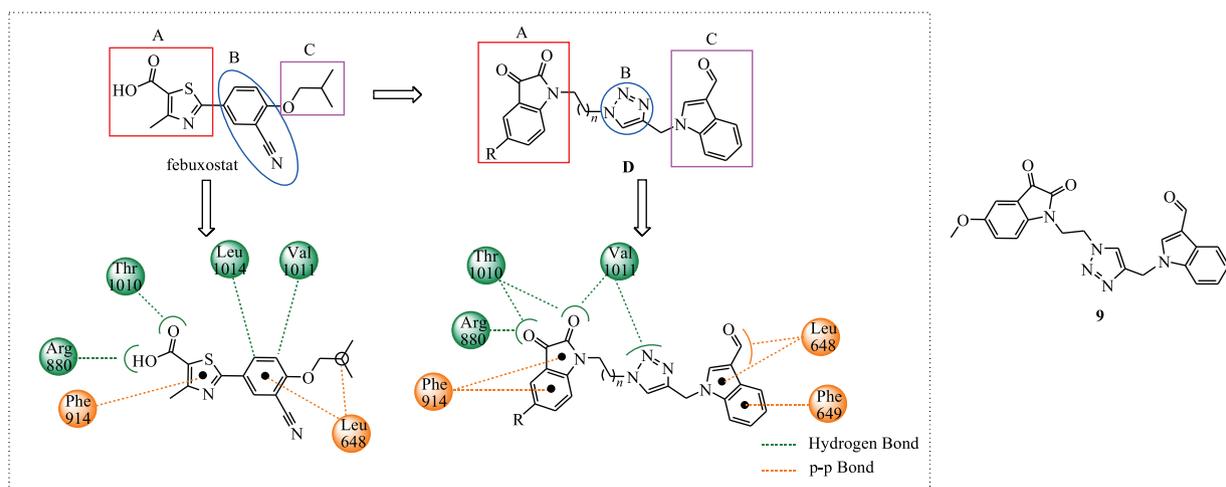


Figure 7 The design strategy of compound D and the interaction with the XO binding site, and the structure of compound 9

3.1.2 吡唑缩醛衍生物

Joshi 等报道了一系列吡唑缩醛类 XO 抑制剂。其中,化合物 **10** ($IC_{50} = 9.32 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 图 8) 和 **11** ($IC_{50} = 10.00 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 图 8) 不仅表现出良好的抑酶活性,而且能诱导细胞凋亡,使细胞

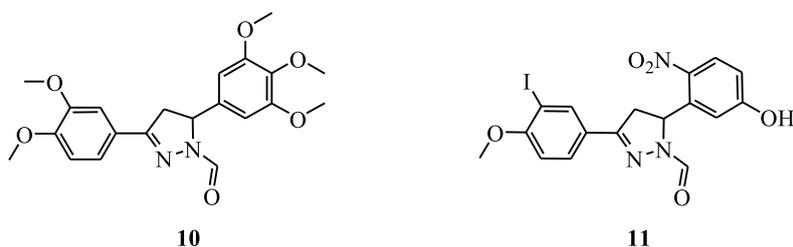


Figure 8 The structures of compounds 10 and 11

3.1.3 三唑衍生物

Li 等基于托匹司他的结构骨架,设计并合成了一系列 1,2,4-三唑衍生物,其中化合物 **12** ($IC_{50} = 0.16 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 图 9) 抑制 XO 的活性最强。分子对接结果显示,化合物 **12** 中的三唑部分可以与 Phe914 和 Phe1009 形成 π - π 堆积作用。此外,吡啶上的氮原子靠近 Glu1261 并与其形成氢键,三唑上的 2 位氮原子通过水桥与 Arg880 和 Thr1010 相连。然而,与托匹司他相比,化合物 **12** 缺少与 Arg768 的关键氢键作用,这可能是导致其效力降低的主要原因^[26]。

Zhang 等报道了另一系列三唑类 XO 抑制剂。其中,化合物 **13** ($IC_{50} = 0.70 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 图 9) 活性最强,约为别嘌醇 ($IC_{50} = 7.58 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 11 倍。经分子对接和分子动力学模拟实验发现 XO 中的 Phe649、Leu873、Ser876、Ala1078、Thr1010、Val1011 和 Phe1013 是与化合物 **13** 紧密结合的关键残基。另外,在 HUA 大鼠模型中,口服剂量为 $20 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,化合物 **13** 表现出强效的降尿酸作用^[27]。

Yang 等基于非布司他和托匹司他的药效团模型发现了一系列新型三唑类 XO 抑制剂。其

周期停滞在 G1 期,并可提高 ROS 水平,改变线粒体膜电位,抑制抗氧化酶活性。总的来说,该系列化合物在治疗与 XO 相关的肿瘤疾病方面具有潜在疗效^[25]。

中,化合物 **14** ($IC_{50} = 0.00020 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 图 9) 活性最佳,显著优于先导化合物非布司他 ($IC_{50} = 0.024 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和托匹司他 ($IC_{50} = 0.013 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。分子对接结果显示,化合物 **14** 通过碳-氧键与钼蝶呤中心发生相互作用,同时三唑环上 4 位氮原子与 Glu802 之间的氢键以及与 Phe914 和 Phe1009 之间的 π - π 堆积作用也是其具有高活性的关键作用力。此外,处于结构尾部的吗啉环可伸入 Leu648 和 Phe649 周围的疏水口袋,并延伸到蛋白质-溶剂界面。与非布司他和托匹司他的作用模式相比,化合物 **14** 保留了这两种抑制剂所具有的大部分关键作用,虽然它缺少了与 Asn768 (非布司他和托匹司他中均存在)、Arg880 和 Thr1010 (仅存在于非布司他中) 之间的氢键,但这些作用的缺失可由额外形成的卤键补偿。动物实验结果表明,小鼠连续 7 天口服远高于有效剂量的单剂量 ($50 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 化合物 **14**, 未观察到明显的毒性或显著的体重减轻。此外,给药后第 7 天进行小鼠解剖也未观察到明显的组织和脏器损伤,这表明化合物 **14** 具有较高的安全性^[28]。

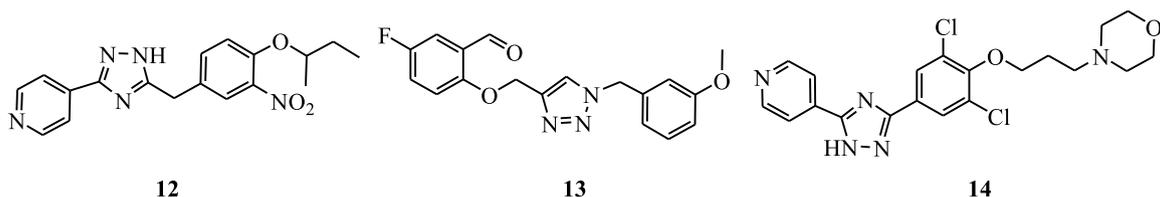


Figure 9 The structures of compounds 12 - 14

3.1.4 胍/脒衍生物

Zhang 等通过分子对接发现了一系列甲酰胍/羧酸类 XO 抑制剂。其中,化合物 **15** ($IC_{50} = 1.03 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 10)活性最强。从对接结果来看,酰胍部分可与 XO 活性口袋中的 Arg880、Glu802 和 Mos3004 形成氢键作用。但意外的是,该系列中的羧酸衍生物对 XO 未表现出抑制活性。因此,在设计新型 XO 抑制剂时,除了羧基外,酰胍也可以作为一个潜在的活性基团^[29]。

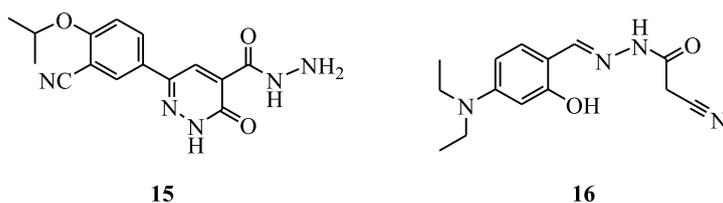


Figure 10 The structures of compounds 15 and 16

3.1.5 酰胺衍生物

Zhang 等在课题组前期研究的基础上,通过先导化合物 **E**(图 11)的苯环上引入一个四唑基团作为氢键受体,以构建小分子与 XO 的 Asn768 之间形成氢键作用,设计并合成了一系列新型异烟酰胺类 XO 抑制剂(**F**,图 11)。其中,化合物 **17** ($IC_{50} = 0.031 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 11)的抑酶活性最佳,略弱于托匹司他 ($IC_{50} = 0.013 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。分子对接和分子动力学模拟结果显示,化合物 **17** 的四唑部分能够与 XO 的 Asn768 残基形成稳定的氢键,从而有效抑制 XO 活性^[31]。

同年,该团队基于分子对接分析,发现因先导化合物 **E** 中氰基与 Asn768 之间的距离过长,导致两者之间的关键氢键缺失,所以在结构优化过程中,为了缩短氰基与活性位点之间的距离,研究人员将先导化合物 **E** 的中心苯环替换为更大的吡啶环,从而设计了一系列吡啶杂环芳香酰胺类 XO 抑制剂(**G**,图 11),其 IC_{50} 值为 $0.018 \sim 24.39 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。通过分析构效关系可知,双环芳香酰胺对 XO 抑制效力较弱,六元芳香酰胺只表现出中等的体外抑制活性,相较而言,五元芳香酰胺是具有研究前景的骨架类型,值得进一步探索。其中,化合物 **18** ($IC_{50} = 0.018 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 11)具有与阳性对照托匹司他 ($IC_{50} = 0.013 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)相当的抑酶活性。分子对接结果表明,化合物**18**结构中的氰基与 Asn768 残基

Xue 等发现了一系列脒类 XO 抑制剂。其中,体外活性测试结果最优的是化合物 **16** ($IC_{50} = 15.80 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 10)。从分子对接结果来看,化合物 **16** 能与 XO 活性口袋中的 Ser876、Ala1011 和 Thr1010 形成稳定的氢键作用,从而确保其与酶活性位点紧密结合。此外,化合物 **16** 与酶活性位点之间还存在疏水作用,这些多重作用共同增强了该化合物与 XO 的结合稳定性及抑制活性^[30]。

之间可形成稳定的氢键。在动物实验中,因吸收不佳,化合物 **18** 的体内效力相较于托匹司他有所下降。然而,在口服剂量为 $11.8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,其仍能有效降低急性 HUA 大鼠模型中的血尿酸水平。此外,化合物 **18** 在大鼠肝微粒体中具有良好的代谢稳定性,并未显示出明显的细胞毒性^[32]。

除此以外,研究者推测在酰胺的一侧或两侧引入更大的芳香基团可能会增强与 XO 的亲力和抑酶效力。吡啶作为一种内源性生物活性物质和常用的药物结构片段,已被广泛用于抗肿瘤、抗病毒、抗炎以及抗 HUA 药物的设计中。因此,该团队以托匹司他(图 11)为先导化合物,基于生物等排替换策略,首先设计合成了一系列吡啶异烟酰胺类 XO 抑制剂(**H**,图 11),其中活性最好的是化合物 **19** ($IC_{50} = 0.73 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 11)。值得一提的是,虽然异烟酰胺作为酰胺骨架对 XO 结合的亲和力做出了重要贡献,但它并非不可替代。因此,研究人员采用苯并咪唑基团对化合物 **H** 结构中的单环异烟酰胺部分进行替换,设计了一系列酰胺类 XO 抑制剂(**I**,图 11),最终发现化合物 **20** ($IC_{50} = 0.62 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 11)对 XO 抑制活性最佳,是别嘌醇 ($IC_{50} = 7.58 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 13 倍。此外,体内活性实验结果显示,化合物 **20** 对 HUA 大鼠模型具有明显的降尿酸作用,且细胞毒性低,值得进一步研究^[33]。

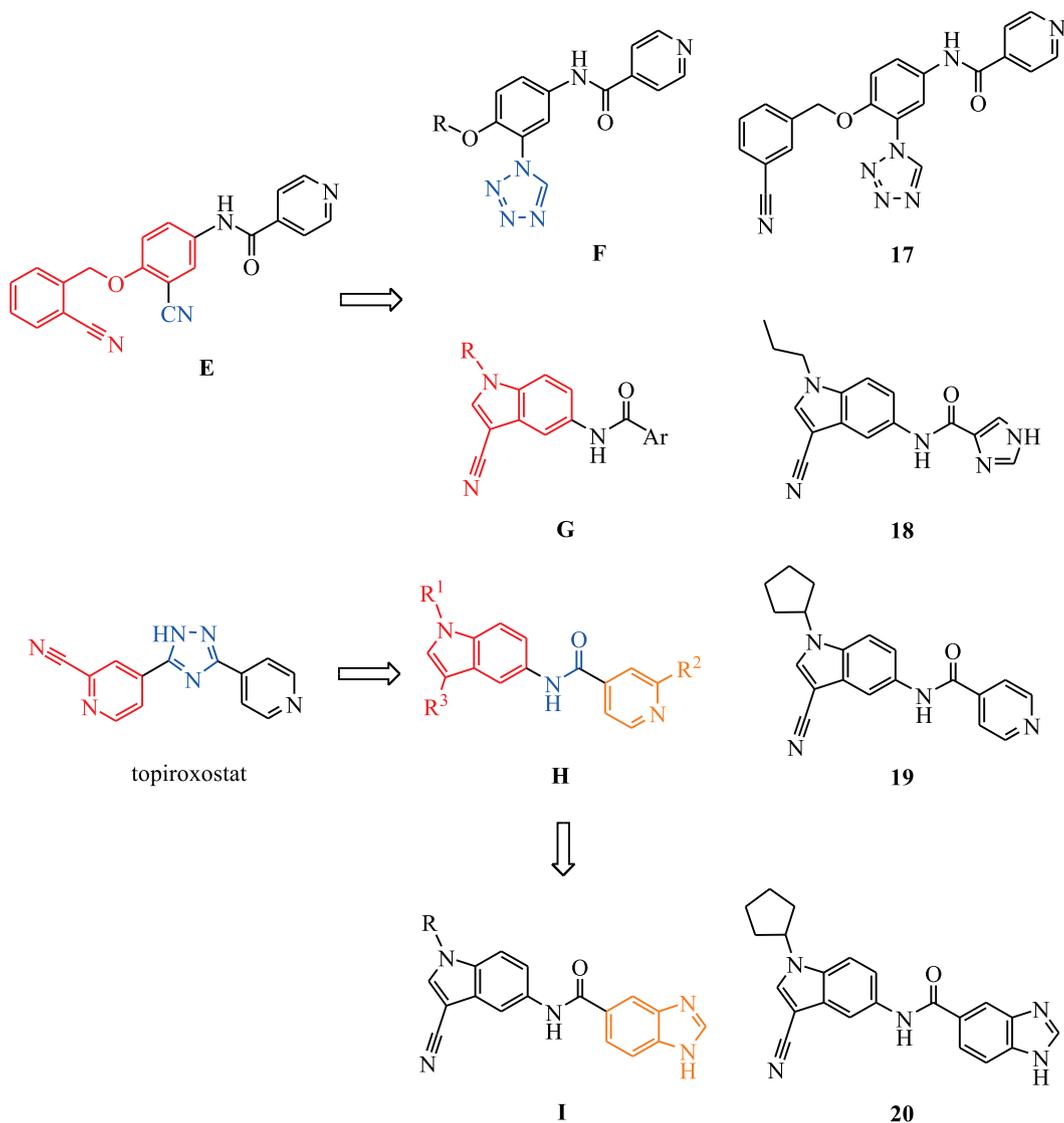


Figure 11 The design strategies of compounds F – I and the structures of compounds 17 – 20

Zhang 等通过调研发现已报道的 XO 抑制剂中的嘧啶酮和 3-氰基咪唑药效团与 XO 活性口袋具有潜在的相互作用。于是采用基于片段的药物设计策略,首先通过酰胺键将两个片段连接起来,合成了一系列酰胺类 XO 抑制剂,其中化合物 **21** ($IC_{50} = 0.16 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 12)具有明显的 XO 抑制活性,优于别嘌醇($IC_{50} = 7.58 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。随后,直接将两个片段相连得到一系列含有 3-氰基咪唑基团的嘧啶酮类 XO 抑制剂。结果表明,在第二个系列中发现的化合物 **22** ($IC_{50} = 0.085 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 12)抑酶活性更强,比别嘌醇($IC_{50} = 7.58 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)高 89 倍。分子对接结果显示,化合物 **21** 和 **22** 中嘧啶酮结构上的氧原子与 Arg880 和 Thr1010 形成 3 个氢键,氮原子与 Glu802 也形成氢键。此外,化合物 **21** 和 **22** 分别

与 Phe914 和 Phe1009 形成 π - π 堆积作用,这与别嘌醇中的嘧啶酮与 XO 的结合模式相同。动物实验结果表明,化合物 **21** 和 **22** 在口服剂量为 $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,可有效降低小鼠血尿酸水平。综合以上实验结果,通过酰胺键或单键将嘧啶酮和 3-氰基咪唑连接起来,均可获得具有较高活性的非嘌呤类 XO 抑制剂^[34]。

Ho 等基于分子对接虚拟筛选发现了一系列苯酰胺衍生物。其中,化合物 **23** ($IC_{50} = 13.60 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、**24** ($IC_{50} = 13.10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、**25** ($IC_{50} = 12.50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) (图 12)对 XO 抑制活性较好,体外测定结果与分子对接得分之间存在良好的相关性。因此,*N*-芳烷基-2-苯酰胺被认为具有进一步开发成 XO 抑制剂的潜力^[35]。

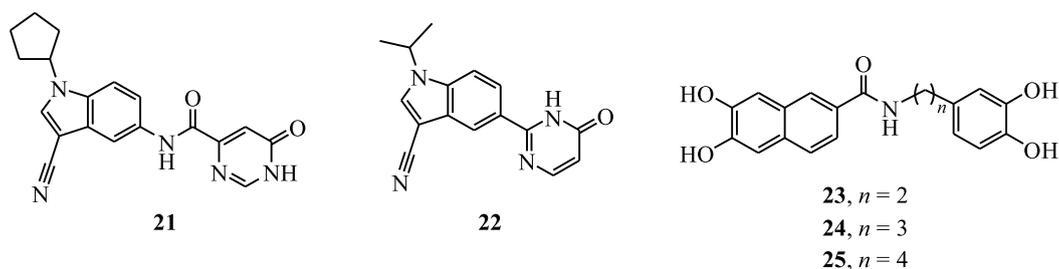


Figure 12 The structures of compounds 21 – 25

3.1.6 苯并吡喃酮衍生物

Era 等发现了一系列苯并吡喃酮类 XO 抑制剂,其中化合物 **26** ($IC_{50} = 8.40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 13) 的抑酶活性最优,且在 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下无细胞毒性^[36]。

3.1.7 三胺衍生物

Sanchez 等报道了一系列三胺类和二氢嘧啶

酮类 XO 抑制剂,其中三胺衍生物 **27** ($IC_{50} = 1.56 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 13) 和 **28** ($IC_{50} = 5.56 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 13) 以及二氢嘧啶酮衍生物 **29** ($IC_{50} = 3.77 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 13) 对 XO 抑制活性均略优于别嘌醇 ($IC_{50} = 7.58 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。此外,3 种化合物并未呈现出诱导基因毒性的趋势,故有望被开发成为更安全的新型 XO 抑制剂^[37]。

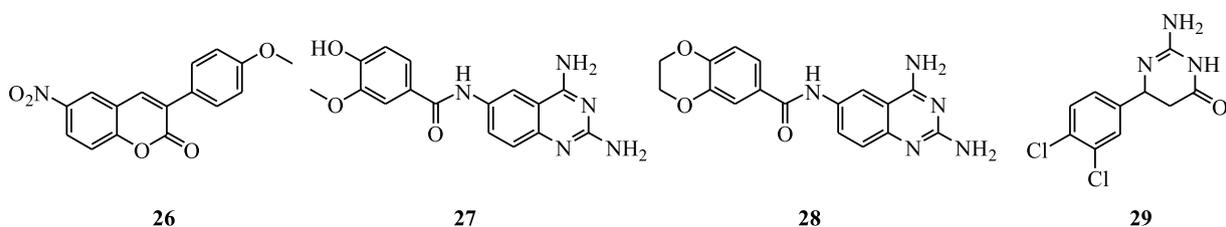


Figure 13 The structures of compounds 26 – 29

3.1.8 嘧啶衍生物

Sun 等在课题组前期研究的基础上,将氨基或羟基作为药效基团引入 2-苯基嘧啶结构,得到了一系列嘧啶类 XO 抑制剂。其中,化合物 **30** ($IC_{50} = 0.046 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 14) 对 XO 抑制活性最强,约为别嘌醇 ($IC_{50} = 7.58 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 165 倍。分子对接结果显示,嘧啶环通过 π - π 堆积作用,被夹在 Phe914 和 Phe1009 之间,环上的氮原子与 Glu802 形成氢键,苯环上的氰基与 Asn768 也形成氢键。有趣的是,羰基可作为氢键受体与 Thr1010 产生相互作用,若用氨基取代羰基,则会导致嘧啶环翻转 180° ,使得氨基与关键残基 Glu802 之间形成额外的氢键作用(图 14),从而使化合物与 XO 的结合更稳定。除此之外,化合物 **30** (口服剂量为 $30 \sim 90 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 可显著降低血尿酸水平。综合以上实验结果,氨基或羟基可能会为 XO 抑制剂的设计构建一个新的潜在的活性药效团^[38]。

3.1.9 巴比妥酸盐

Serrano 等报道了一系列双硫巴比妥酸盐类 XO 抑制剂,该系列所有化合物均表现出良好的抗氧化作用和显著的 XO 抑制活性。其中,有 8 种化合物对 XO 的抑制效果优于别嘌醇,略弱于非布司他。代表化合物 **31** ($IC_{50} = 1.79 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 15) 对 XO 抑制活性最优,且同时具有较高的抗氧化能力和较低的细胞毒性^[39]。

3.1.10 脲类化合物

Gao 等通过生物电子等排策略设计了一系列脲类 XO 抑制剂,其中化合物 **32** ($IC_{50} = 0.36 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,图 15) 活性最优,是别嘌醇 ($IC_{50} = 7.58 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 22 倍。分子对接结果显示,该化合物中的噁二唑部分可通过氢键与活性口袋最内部的 Arg880 和 Thr1010 结合。同时,氰基与 Asn768 和 Lys771 形成氢键作用。在氧嗪酸钾诱导的 HUA 大鼠模型中,化合物 **32** 在口服剂量为 $10 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时表现出显著的降尿酸作用^[40]。

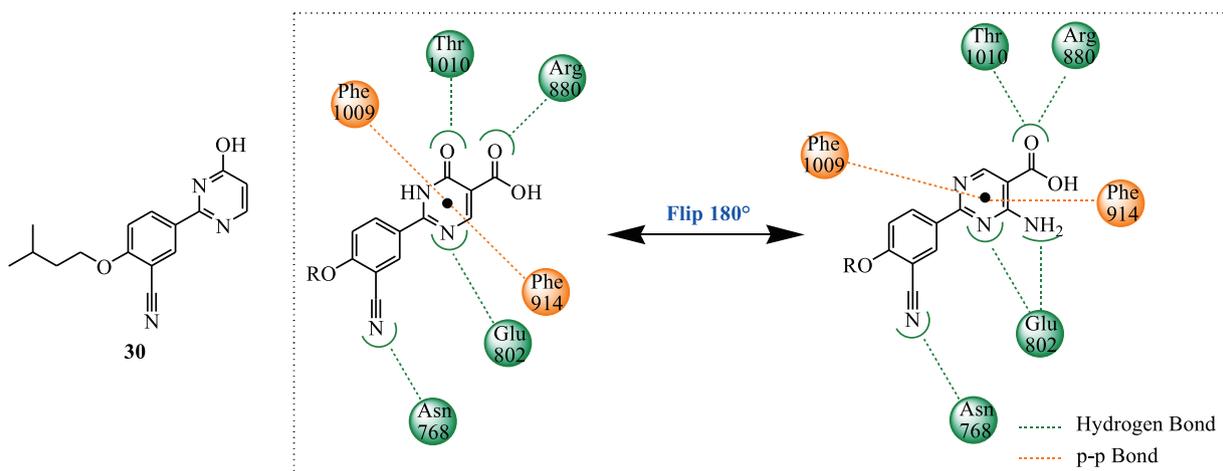


Figure 14 The structures of compound 30 and the binding mode of pyrimidine derivatives with XO

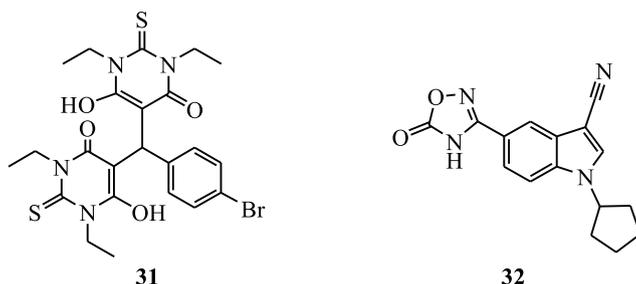


Figure 15 The structures of compounds 31 and 32

3.1.11 硫酮衍生物

Kolla 等报道了一系列新型噻唑烷-2-硫酮类 XO 抑制剂。其中化合物 **33** ($IC_{50} = 3.56 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 16) 对 XO 的抑制活性相较于别嘌醇 ($IC_{50} = 7.58 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 提升了约 2.1 倍。对其构效关系进行研究,发现结构中的苯磺酰胺基团对于该系列化合物产生 XO 抑制活性是必不可少的。进一步的分子对接结果显示,4-氟苯磺酰基部分可以与 XO 活性口袋中的 Gly260 和 Ile264 形成两个氢键,噻唑烷硫酮部分则可以与疏水口袋中的 Glu263 和 Ser347 形成氢键作用^[41]。

Gao 等基于生物电子等排和杂合策略设计了

一系列 1,2,4-噁二唑-5-酮类化合物,经体外酶活性测试发现化合物 **34** ($IC_{50} = 0.12 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 16) 抑酶活性最优。构效关系表明,4'位疏水基团对抑制活性至关重要。此外,对分子对接结果进行分析,发现 1,2,4-噁二唑-5-酮环通过 π - π 堆积作用被夹在 Phe914 和 Phe1009 之间,且羰基与 Arg880、4 位氮原子与 Thr1010 可形成多重氢键作用。值得一提的是,苯环上的四唑基团可与 XO 活性口袋中的 Asn768 和 Lys771 形成两个氢键,使得该化合物与 XO 的结合更加紧密。化合物 **34** 在口服剂量为 $15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时能有效降低血尿酸水平^[42]。

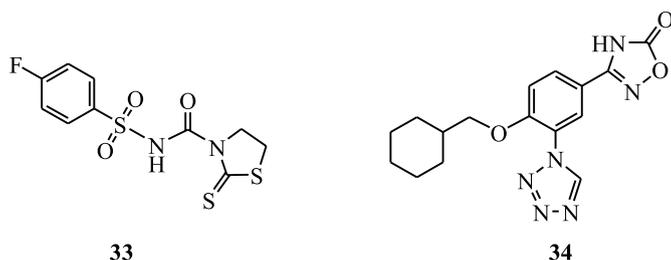


Figure 16 The structures of compounds 33 and 34

3.2 天然产物来源的黄嘌呤氧化酶抑制剂

天然产物是新药创制的重要来源^[43]。目前,已发现多个具有 XO 抑制活性的天然产物,包括黄酮类化合物、多酚类化合物以及生物碱等。

Malik 等以一种天然黄酮类化合物——橙皮素为出发点,报道了一系列与天然酚酸结合成酯的橙皮素类 XO 抑制剂。该系列化合物对 XO 具有竞争性抑制作用,其 IC_{50} 值为 $9.09 \sim 23.15 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。其中,化合物 **35** ($IC_{50} = 9.09 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 17) 的抑酶活性最优^[44]。

该团队通过对椭圆叶紫金牛和巴西棕榈中存在的天然丁香酸进行分析研究,报道了一系列与丁香酸结合生成的酯和酰胺类 XO 抑制剂,其中抑制活性最好的是化合物 **36** ($IC_{50} = 7.18 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 17)。分子对接结果表明,新型的丁香酸衍生物和先前研究中发现的橙皮素衍生物与 XO 中的活性位点具有相同的结合特性,这意味着它们可能通过相似的机制来发挥抑制作用^[45]。

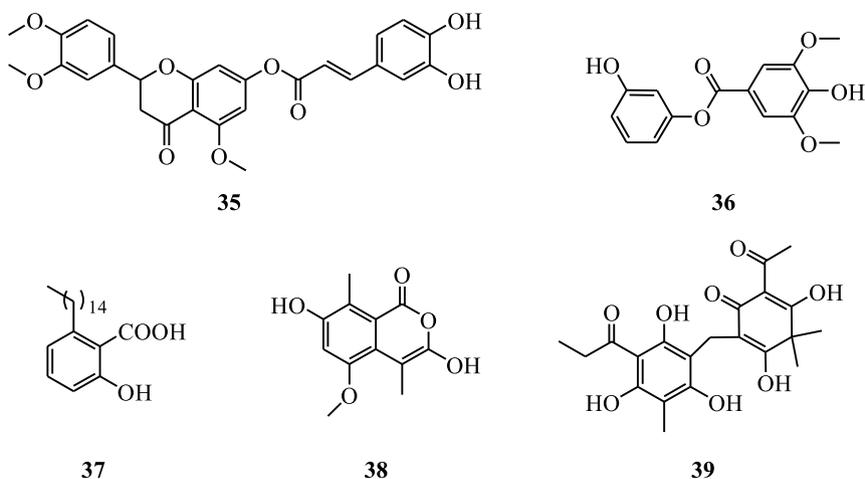


Figure 17 The structures of compounds 35 – 39

Deshpande 等在长叶单籽暗罗种子中提取出 5 种克罗烷二萜类化合物,其中化合物 **40** ($IC_{50} = 15.63 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 18) 和 **41** ($IC_{50} = 22.36 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 18) 对 XO 抑制作用较好。分子对接结果显示,别嘌呤和化合物 **40**、**41** 均与 Glu802 和 Thr1010 形成氢键,这表明它们的作用机制具有一定的相似性^[49]。

Kumar 等从紫草素中成功分离鉴定出两种活性成分,并在体外评估了它们对 XO 的抑制潜力。结果表明,紫草素类化合物 **42** ($IC_{50} = 7.47 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 18) 和 **43** ($IC_{50} = 4.48 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 18) 均展现出良好的 XO 抑制

Mitomo 等在一种无毒的真菌子实体的提取物中发现了具有 XO 抑制活性的成分,随后成功分离出 8 种具有活性的化合物。值得关注的是,化合物 **37** (图 17) 显示出最高的 XO 抑制活性,其在 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时抑制率为 $(58.90 \pm 2.20)\%$ ^[46]。

Aladdin 等对 3 种报春花科植物的变种进行研究,从矮紫草变种叶子的二氯甲烷提取物中鉴定出一种新的异香豆素化合物 **38** ($IC_{50} = 0.66 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 17),其对 XO 的抑制活性较好^[47]。

Yuk 等在粗茎鳞毛蕨根茎的提取物中发现了具有显著 XO 抑制活性的成分。其中,间苯三酚类化合物 **39** ($IC_{50} = 6.30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 17) 表现出最强的抑制活性。此外,通过质谱分析发现,具有 XO 强效抑制作用的成分主要分布在该类植物的根茎中。因此,粗茎鳞毛蕨的根茎有望被开发为治疗痛风的营养保健品和药物^[48]。

活性。此外,二者还具有良好的抗氧化特性,为其在药物研发领域的应用提供了更广阔的前景^[50]。

Liu 等在腌萝卜中分离出活性物质并进行了虚拟筛选,成功筛选出 3 种酚类化合物,其中活性最好的是化合物 **44** ($IC_{50} = 2.67 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 18)。在通过调整饮食改善高尿酸血症一直备受关注的今天,该团队探讨了腌萝卜中酚类化合物对 XO 的抑制作用,为进一步开发 XO 抑制剂提供了理论依据^[51]。

Chen 等系统地研究了鞣花酸对 XO 的抑制作用,最终发现体外活性最优的化合物 **45** ($IC_{50} = 22.97 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 18)。动物实验结果显示,化

合物 **45** 在小鼠体内的降尿酸作用弱于别嘌醇,这可能与其较差的体内吸收有关,但其良好的药物安全性表明有继续开发的潜力。此外,该研究为开发富含鞣花酸的功能性食品提供了线索^[52]。

此外,该团队对来自天然和合成途径的肉桂酸及其衍生物的 XO 抑制活性进行分析。其中,化合物 **46** ($IC_{50} = 23.02 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 18) 作为竞争性抑制剂,显示出最有效的 XO 抑制作用。构效关系表明,硝基对增强肉桂酸衍生物的 XO 抑制作用至关重要。此外,动物实验结果也证明了

化合物 **46** 在体内具有降尿酸作用^[53]。

Yang 等报道了一系列基于天然产物查耳酮设计的 XO 抑制剂,在体外实验中发现 9 个衍生物具有显著的 XO 抑制活性,其 IC_{50} 值为 $0.12 \sim 7.08 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 其中化合物 **47** ($IC_{50} = 0.12 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 图 18) 抑制作用最强。此外,化合物 **47** 在 $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给药剂量下可有效降低小鼠血尿酸水平。研究者还对该系列化合物进行了构效关系分析和多光谱方法实验等,结果均显示化合物 **47** 具有用于治疗 HUA 和痛风的潜力^[54]。

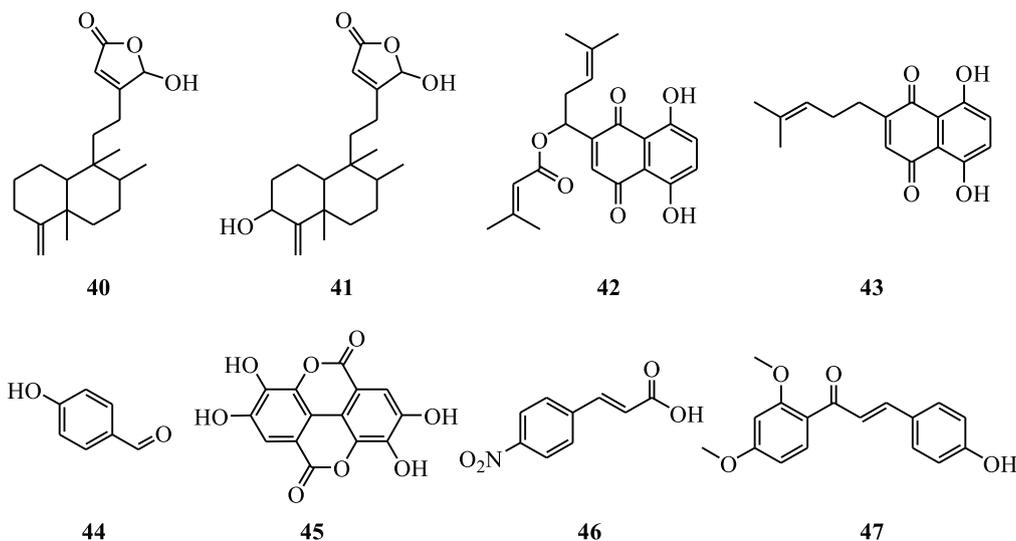


Figure 18 The structures of compounds 40 – 47

3.3 靶向 XO 和其他靶点的双靶点抑制剂

3.3.1 XO 和 URAT1 双靶点抑制剂

单靶点药物在治疗涉及多个因素的疾病时,不仅难以取得理想的疗效,还可能带来显著的毒性问题。相比之下,多靶点药物因其能够同时作用于多个靶点,具有提高治疗效果、减少不良反应和降低耐药性的优势,从而应用前景广阔。XO 和 URAT1 双靶点抑制剂在降低痛风患者尿酸水平方面表现出良好的疗效,并已广泛应用于临床实践中^[55]。

Li 报道了一系列基于氧取代苯基咪唑的 XO 和 URAT1 双靶点抑制剂。化合物 **48** (图 19) 对 XO 和 URAT1 的抑制活性略低于 XO 抑制剂非布司他 ($IC_{50} = 0.024 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 URAT1 抑制剂苯溴马隆 ($IC_{50} = 0.15 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[56]。随后,该团队还发现了一系列氮取代的苯并噻唑啉酮类化合物可作为 XO 和 URAT1 双靶点抑制剂,其中,化合物 **49** 和 **50** (图 19) 对 XO 和 URAT1 均显

示出良好的抑制效果^[57]。

Piwnski 开发了一系列高效的 XO 和 URAT1 双靶点抑制剂。其中,邻羟基苯甲酸类化合物 **51** (图 19) 和羟基嘧啶类化合物 **52** (图 19) 对 XO 和 URAT1 的抑制活性相较于别嘌醇 ($IC_{50} = 7.58 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 URAT1 抑制剂雷西纳德 ($IC_{50} = 52.50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 均有显著提高^[58]。

Yang 通过分子杂交策略发现了一种 XO 和 URAT1 的双靶点抑制剂 **53** (图 19), 其不仅显示出高活性,还具有良好的药物代谢动力学特性,目前已进入 I 期临床试验阶段^[59]。

3.3.2 XO 和 DPP-4 双靶点抑制剂

二肽基肽酶-4 (dipeptidyl peptidase-4, DPP-4) 是一种丝氨酸蛋白酶,在多种细胞中广泛表达,可作用于多种底物。DPP-4 抑制剂能够影响胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 的活性,因此被广泛用于治疗 2 型糖尿病,且具有良好的疗效。

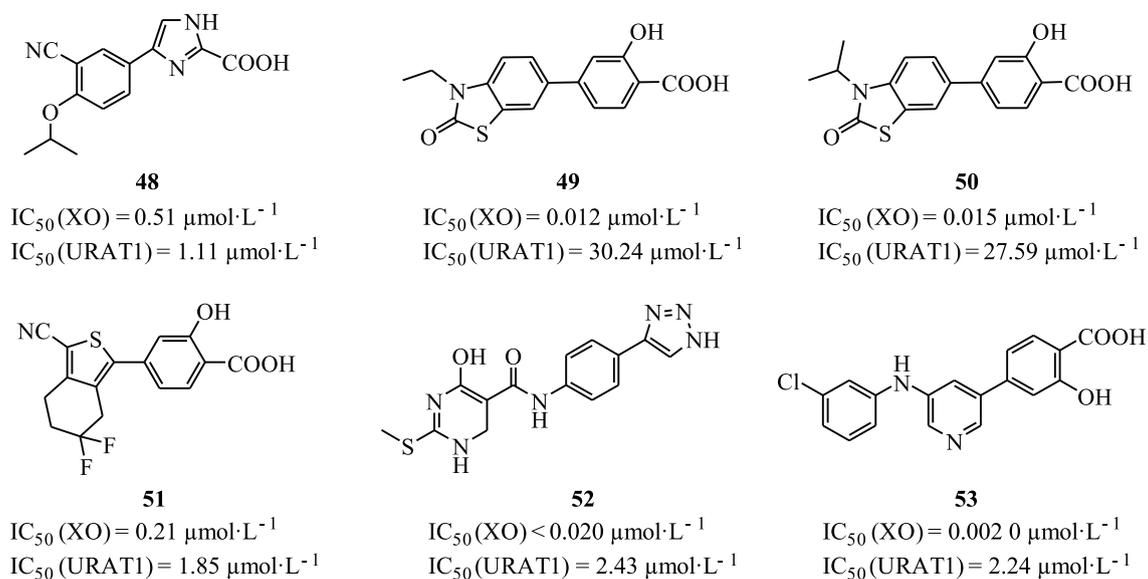


Figure 19 The structures and target inhibitory activities of compounds 48 – 53

Tomovic 等报道了一系列具有 XO 和 DPP-4 双重抑制作用的苯并咪唑类抑制剂。其中,化合物 **54** 和 **55**(图 20) 均表现出良好的双靶点抑制活性。此外,化合物 **54** 和 **55** 也未显示出明显的细

胞毒性^[60]。该类抑制剂可能同时具备调节尿酸水平和血糖水平的能力,为饱受高血糖和痛风折磨的患者带来了希望。

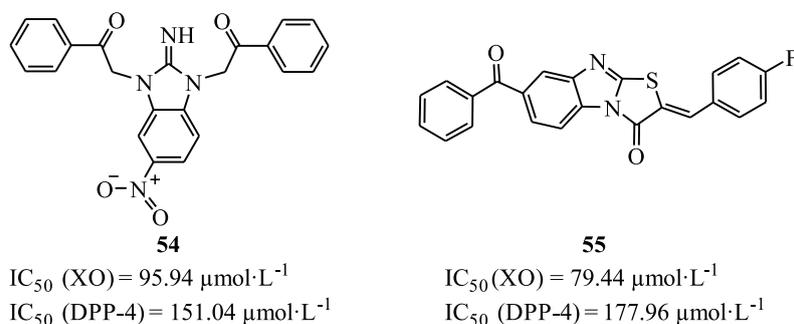


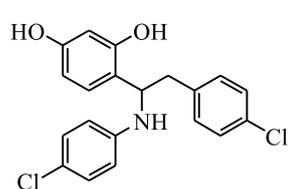
Figure 20 The structures and target inhibitory activities of compounds 54 and 55

3.3.3 XO 和 NLRP3 双靶点抑制剂

NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 具有重要的免疫调节作用,能够感应到外界的病菌感染以及内部的危险信号,从而触发免疫反应,并通过形成炎症小体复合物来调节炎症反应,帮助身体对抗感染和组织损伤。然而,NLRP3 的失调可能导致过度炎症反应并引发多种疾病,包括自身炎症性疾病、自身免疫性疾病、代谢性疾病以及神经退行性疾病等^[61]。若能同步调控 XO 和 NLRP3 两个靶点的

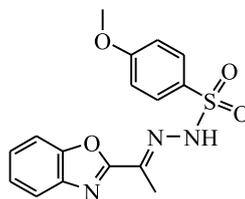
活性,可以有效地减少尿酸的生成,并抑制炎症反应,这对于痛风的治疗来说是一种全新的策略。

Zhou 等报道了一种脱氧苯偶姻衍生物 **56**(图 21),其能够以剂量依赖的方式降低 HUA 小鼠模型的血尿酸水平。此外,化合物 **56** 可显著改善 MSU 诱导的踝关节肿胀和组织病理损伤^[62]。Wang 等基于脱氧安息香骨架设计合成了一系列新型的苯并咪唑和苯并咪唑衍生物,其中化合物 **57**(图 21) 表现出了对 XO 和 NLRP3 的双重抑制作用^[63]。



56

$IC_{50}(XO) = 3.87 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
effectively inhibited MSU-induced
NLRP3 inflammasome activation



57

$IC_{50}(XO) = 4.20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
 $IC_{50}(NLRP3) = 7.50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

Figure 21 The structures and target inhibitory activities of compounds 56 and 57

4 总结及展望

痛风和 HUA 属于慢性代谢性疾病,其治疗通常需要长期用药,然而,临床长期使用的抗痛风药物普遍具有活性差以及毒副作用大等劣势,且长期用药会出现不同程度的耐药性。XO 作为体内尿酸生成的关键酶,一直以来都是抗痛风药物研究的重要靶点。遗憾的是,尽管研究人员积极致力于研发新型的 XO 小分子抑制剂,但自 2013 年托匹司他在日本上市以来,尚未有新的药物获得上市批准。因此,继续深入研究和开发高效安全的 XO 抑制剂显得尤为重要^[64]。

新型 XO 抑制剂应具有独特的分子骨架,以避免与现有药物结构相似,从而减少潜在的耐药性和不良反应。可通过引入新的杂环结构或调整现有骨架中的取代基来改变分子的空间构型和电子特性,从而增强与 XO 的结合能力。例如,化合物 12 和 14 通过引入三唑环和吗啉环,显著提高了与 XO 的结合能力。此外,药效团是药物与靶点结合的关键部分,优化药效团可以提高药物的活性和选择性。引入氢键供体或受体、芳香环等药效团,可以增强与 XO 活性位点的相互作用,提高抑制效果。例如,化合物 17 通过引入四唑基团,可与 XO 的 Asn768 残基形成稳定的氢键,显著提高了其对 XO 的抑制活性。另外,良好的口服生物利用度和代谢稳定性同样至关重要,可通过计算机辅助药物设计来预测药物的代谢途径,从而选择合适的代谢稳定基团进行结构修饰。

天然产物中包含了大量具有潜在药用价值的化合物,也是发现新型 XO 抑制剂的重要途径。除了本文介绍的在天然产物中提取到的 XO 抑制剂,其他具有抗炎镇痛和降尿酸作用的中草药也有大量报道^[65-68],如从黄芩、芹菜籽、蜂蜜、栀子

花和东革阿里等提取出的活性成分,值得进一步深入研究。

单靶点药物难以全面应对疾病的复杂机制且毒性较大,若过度抑制关键酶如 XO 还会干扰其他生理过程。相比之下,可适度调控多个相关靶点的多靶点抑制剂具有更多优势,如同时调控尿酸生成和尿酸排泄的 XO 和 URAT1 双重抑制剂,或同时作用于降尿酸和抗炎通路的 XO 和 NLRP3 双重抑制剂等,可能会提高疗效并减少不良反应的发生,这或许是未来抗痛风药物研发的重要方向。

参考文献:

- [1] DALBETH N, CHOI H K, JOOSTEN L A B, et al. Gout[J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5(1): 69.
- [2] DALBETH N, GOSLING A L, GAFFO A, et al. Gout[J]. Lancet, 2021, 397(10287): 1843-1855.
- [3] Van DURME C M P G, WECHALEKAR M D, LANDEWÉ R B M, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs for acute gout[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2021, 2021(12): 010120.
- [4] RAGAB G, ELSHAHALY M, BARDIN T. Gout: an old disease in new perspective-a review[J]. J Adv Res, 2017, 8(5): 495-511.
- [5] AGRAWAL N, ARYA M, KUSHWAH P. Therapeutic voyage of synthetic and natural xanthine oxidase inhibitors[J]. Chem Biol Drug Des, 2023, 102(5): 1293-1307.
- [6] SHI C, ZHOU Z, CHI X, et al. Recent advances in gout drugs[J]. Eur J Med Chem, 2023, 245: 114890.
- [7] KUMAR N, KAUR K, KAUR N, et al. Pathology, target discovery, and the evolution of XO inhibitors from the first discovery to recent advances (2020-2023)[J]. Bioorg Chem, 2024, 143: 107042.
- [8] WEN S, ARAKAWA H, TAMAI I. Uric acid in

- health and disease: from physiological functions to pathogenic mechanisms [J]. *Pharmacol Ther*, 2024, 256:108615.
- [9] KRENTITSKY T A, KRENITSKY G W, TUTTLE J V. Purine nucleoside synthesis, an efficient method employing nucleoside phosphorylases [J]. *Biochemistry*, 2021, 20:3615–3621.
- [10] PAREEK V, PEDLEY A M, BENKOVIC S J. Human de novo purine biosynthesis [J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2021, 56(1):1–16.
- [11] ZHAO H, CHIARO C R, ZHANG L, et al. Quantitative analysis of purine nucleotides indicates that purinosomes increase de novo purine biosynthesis [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(11):6705–6713.
- [12] PEDLEY A M, BENKOVIC S J. A new view into the regulation of purine metabolism: the purinosome [J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(2):141–154.
- [13] OTANI N, OUCHI M, MISAWA K, et al. Hypouricemia and urate transporters [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(3):652.
- [14] STEIN B W, KIRK M L. Electronic structure contributions to reactivity in xanthine oxidase family enzymes [J]. *J Biol Inorg Chem*, 2015, 20(2):183–194.
- [15] MEHMOOD A, ISHAQ M, ZHAO L, et al. Natural compounds with xanthine oxidase inhibitory activity: a review [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2019, 93(4):387–418.
- [16] CAO H, PAUFF J, HILLE R. Substrate orientation and the origin of catalytic power in xanthine oxidoreductase [J]. *Indian Journal of Chemistry*, 2011, 50:355–362.
- [17] LI H, ZHANG W, FU Y, et al. A novel method for simultaneously screening superoxide anion scavengers and xanthine oxidase inhibitors using hydroethidine as a fluorescent probe coupled with high-performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Analytical Methods*, 2020, 12(3):255–263.
- [18] KAUR G, SINGH A, ARORA G, et al. Synthetic heterocyclic derivatives as promising xanthine oxidase inhibitors: an overview [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2022, 100(3):443–468.
- [19] MAO Q, DAI X, XU G, et al. Design, synthesis and biological evaluation of 2-(4-alkoxy-3-cyano)phenyl-6-oxo-1, 6-dihydropyrimidine-5-carboxylic acid derivatives as novel xanthine oxidase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 181:111558.
- [20] ZHANG T, LÜ Y, LEI Y, et al. Design, synthesis and biological evaluation of 1-hydroxy-2-phenyl-4-pyridyl-1*H*-imidazole derivatives as xanthine oxidase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 146:668–677.
- [21] XU X, DENG L, NIE L, et al. Discovery of 2-phenylthiazole-4-carboxylic acid, a novel and potent scaffold as xanthine oxidase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, 29(4):525–528.
- [22] ZHANG B, DAI X, BAO Z, et al. Targeting the sub-pocket in xanthine oxidase: design, synthesis, and biological evaluation of 2-[4-alkoxy-3-(1*H*-tetrazol-1-yl)phenyl]-6-oxo-1, 6-dihydropyrimidine-5-carboxylic acid derivatives [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 181:111559.
- [23] YAGIZ G, NOMA S A A, ALTUNDAS A, et al. Synthesis, inhibition properties against xanthine oxidase and molecular docking studies of dimethyl *N*-benzyl-1*H*-1, 2, 3-triazole-4, 5-dicarboxylate and (*N*-benzyl-1*H*-1, 2, 3-triazole-4, 5-diyl) dimethanol derivatives [J]. *Bioorg Chem*, 2021, 108:104654.
- [24] SINGH A, HEER S, KAUR K, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of isatin indole 3 carboxaldehyde hybrids as a new class of xanthine oxidase inhibitors [J]. *Arch Pharm*, 2022, 355(6):315–323.
- [25] JOSHI G, SHARMA M, KALRA S, et al. Design, synthesis, biological evaluation of 3, 5-diaryl-4, 5-dihydro-1*H*-pyrazole carbaldehydes as non-purine xanthine oxidase inhibitors: tracing the anticancer mechanism *via* xanthine oxidase inhibition [J]. *Bioorg Chem*, 2021, 107:104620.
- [26] LI S Y, ZHANG T J, WU Q X, et al. Synthesis and biological evaluation of 5-benzyl-3-pyridyl-1*H*-1, 2, 4-triazole derivatives as xanthine oxidase inhibitors [J]. *Med Chem*, 2020, 16(1):119–127.
- [27] ZHANG T J, ZHANG Y, ZHANG Z H, et al. Discovery of 4-(phenoxyethyl)-1*H*-1, 2, 3-triazole derivatives as novel xanthine oxidase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2022, 60:128582.
- [28] YANG Y, YAN D, CHENG H, et al. Discovery of novel 1, 2, 4-triazole derivatives as xanthine oxidoreductase inhibitors with hypouricemic effects [J]. *Bioorg Chem*, 2022, 129:1008–1020.
- [29] ZHANG L, WANG S, YANG M, et al. Design, synthesis and bioevaluation of 3-oxo-6-aryl-2, 3-dihydropyridazine-4-carbohydrazide derivatives as novel xanthine oxidase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2019, 27(9):1818–1823.

- [30] XUE L W, LI S T, HAN Y J, et al. Synthesis, biological evaluation, and molecular docking studies of hydrazones as novel xanthine oxidase inhibitors [J]. *Acta Chim Slov*, 2022, 69(2): 385–392.
- [31] ZHANG T J, ZHANG Y, TU S, et al. Design, synthesis and biological evaluation of *N*-(3-(1*H*-tetrazol-1-yl)phenyl)isonicotinamide derivatives as novel xanthine oxidase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 183: 111717.
- [32] TU S, ZHANG T J, ZHANG Y, et al. *N*-(3-cyano-1*H*-indol-5-yl)isonicotinamide and *N*-(3-cyano-1*H*-indol-5-yl)-1*H*-benzo [*d*]imidazole-5-carboxamide derivatives; novel amide-based xanthine oxidase inhibitors [J]. *Bioorg Chem*, 2021, 115: 105181.
- [33] ZHANG T J, TU S, ZHANG X, et al. Amide-based xanthine oxidase inhibitors bearing an *N*-(1-alkyl-3-cyano-1*H*-indol-5-yl) moiety: design, synthesis and structure-activity relationship investigation [J]. *Bioorg Chem*, 2021, 117: 105417.
- [34] ZHANG B, DUAN Y, YANG Y, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of *N*-(3-cyano-1*H*-indol-5/6-yl)-6-oxo-1, 6-dihydropyrimidine-4-carboxamides and 5-(6-oxo-1, 6-dihydropyrimidin-2-yl)-1*H*-indole-3-carbonitriles as novel xanthine oxidase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 227: 108873.
- [35] HO S L, LIN C T, LEE S S. In silico design and synthesis of *N*-arylalkanyl 2-naphthamides as a new class of non-purine xanthine oxidase inhibitors [J]. *Drug Development Research*, 2021, 82(6): 789–801.
- [36] ERA B, DELOGU G L, PINTUS F, et al. Looking for new xanthine oxidase inhibitors: 3-phenylcoumarins versus 2-phenylbenzofurans [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 162: 774–780.
- [37] SANCHEZ M A, Del CARMEN G R M, AGUAYO-ORTIZ R, et al. Synthesis of quinazolin-2, 4, 6-triamine derivatives as non-purine xanthine oxidase inhibitors and exploration of their toxicological potential [J]. *ChemMedChem*, 2023, 18(20): e202300184.
- [38] SUN M, ZHAO J, MAO Q, et al. Synthesis and biological evaluation of 2-(4-alkoxy-3-cyano) phenylpyrimidine derivatives with 4-amino or 4-hydroxy as a pharmacophore element binding with xanthine oxidase active site [J]. *Bioorg Med Chem*, 2021, 38: 116117.
- [39] SERRANO J L, LOPES D, REIS M J A, et al. Bis-thiobarbiturates as promising xanthine oxidase inhibitors: synthesis and biological evaluation [J]. *Bio-medicines*, 2021, 9(10): 1443.
- [40] GAO J, LIU X, ZHANG B, et al. Design, synthesis and biological evaluation of 1-alkyl-5/6-(5-oxo-4, 5-dihydro-1, 2, 4-oxadiazol-3-yl)-1*H*-indole-3-carbonitriles as novel xanthine oxidase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 190: 112077.
- [41] KOLLA J N, WANG M X, QIN H W, et al. Synthesis and biological evaluation of thiazolidine-2-thione derivatives as novel xanthine oxidase inhibitors [J]. *PLoS One*, 2022, 17(5): e0268531.
- [42] GAO J, ZHANG Z, ZHANG B, et al. Novel 3-[4-alkoxy-3-(1*H*-tetrazol-1-yl) phenyl]-1, 2, 4-oxadiazol-5(4*H*)-ones as promising xanthine oxidase inhibitors; design, synthesis and biological evaluation [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 95: 103564.
- [43] 张志姣, 梁瑞鹏, 赵彤, 等. 具有降尿酸或抗痛风活性的天然产物研究进展 [J]. *药学报*, 2022, 57(6): 1679–1688.
- ZHANG Z J, LIANG R P, ZHAO T, et al. Research progress of natural products for the treatment of hyperuricemia and gout [J]. *Acta Pharm Sin*, 2022, 57(6): 1679–1688.
- [44] MALIK N, DHIMAN P, KHATKAR A. In silico design and synthesis of hesperitin derivatives as new xanthine oxidase inhibitors [J]. *BMC Chemistry*, 2019, 13(1): 643–653.
- [45] MALIK N, KHATKAR A, DHIMAN P. Computational analysis and synthesis of syringic acid derivatives as xanthine oxidase inhibitors [J]. *Med Chem*, 2020, 16(5): 643–653.
- [46] MITOMO S, HIROTA M, FUJITA T. New xanthine oxidase inhibitors from the fruiting bodies of *tyromyces fissilis* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2019, 83(5): 813–823.
- [47] ALADDIN N A, HUSAIN K, JALIL J, et al. Xanthine oxidase inhibitory activity of a new isocoumarin obtained from *Marantodes pumilum* var. *pumila* leaves [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20(1): 324.
- [48] YUK H J, KIM J Y, SUNG Y Y, et al. Phloroglucinol derivatives from *dryopteris crassirhizoma* as potent xanthine oxidase inhibitors [J]. *Molecules*, 2020, 26(1): 122.
- [49] DESHPANDE P A, NGUYEN H T, VU T Y, et al. Cleroda-4(18), 13-dien-15, 16-olide as novel xanthine oxidase inhibitors; an integrated in silico and *in*

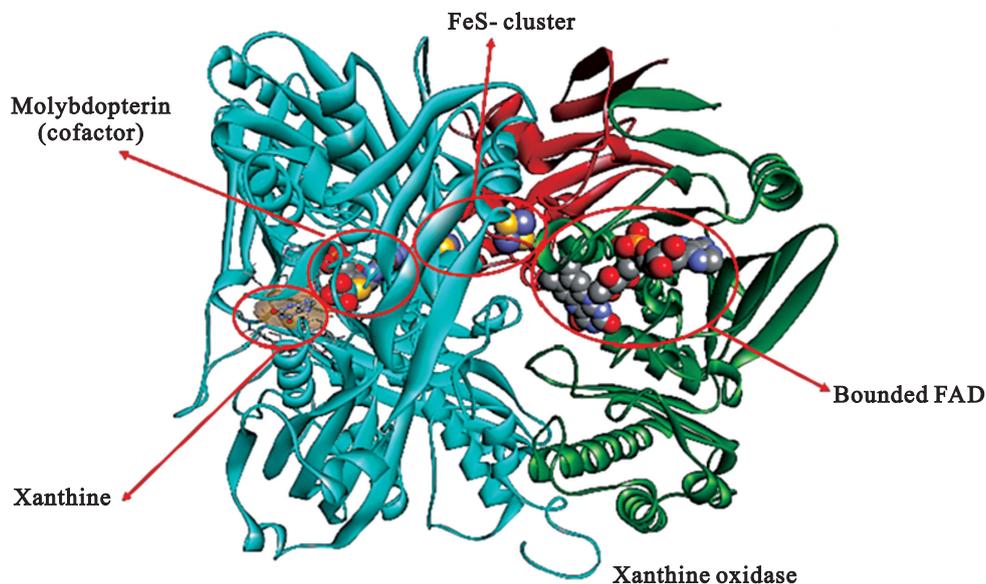
- vitro* study[J]. PLoS One,2021,16(6):e0253572.
- [50] KUMAR N, RAJPUT A, KAUR H, et al. Shikonin derivatives as potent xanthine oxidase inhibitors; *in vitro* study[J]. Nat Prod Res,2022,37(16):2795 – 2800.
- [51] LIU X, WU D, LIU J, et al. Characterization of xanthine oxidase inhibitory activities of phenols from pickled radish with molecular simulation [J]. Food Chem,2022,14:100343.
- [52] CHEN J, HE Z, YU S, et al. Xanthine oxidase inhibitory kinetics and mechanism of ellagic acid; *in vitro*, *in silico* and *in vivo* studies[J]. IET Nanobiotechnology,2023,17(4):368 – 375.
- [53] CHEN J, YU S, HE Z, et al. Inhibition of xanthine oxidase by 4-nitrocinnamic acid; *in vitro* and *in vivo* investigations and docking simulations [J]. Curr Pharm Biotechnol,2024,25(4):477 – 487.
- [54] YANG C, LIU Y, TU Y, et al. Chalcone derivatives as xanthine oxidase inhibitors: synthesis, binding mode investigation, biological evaluation, and ADMET prediction [J]. Bioorg Chem, 2023, 131: 106320.
- [55] SHI X, ZHAO T, Da SILVA-JÚNIOR E F, et al. Novel urate transporter 1 (URAT1) inhibitors: a review of recent patent literature (2020-present) [J]. Expert Opin Ther Pat,2023,32(12):1175 – 1184.
- [56] 李晶. 氧取代苯基咪唑类 XOR/URAT1 双重抑制剂及制备与应用; 中国, 110204494A [P]. 2019 – 09 – 06.
LI J. Preparation method of oxygen-substituted phenyl imidazole XOR/URAT1 dual inhibitor and its application for treating hyperuricemia or gout; CN, 110204494A [P]. 2019 – 09 – 06.
- [57] 李晶. 氮取代苯并噻唑啉酮类 XOR/URAT1 双重抑制剂及其制备方法与应用; 中国, 113087683B [P]. 2021 – 07 – 09.
LI J. Preparation of nitrogen-substituted benzothiazolinone as XOR/URAT1 dual inhibitor for prevention and treatment of diseases related to XOR/URAT1; CN, 113087683B [P]. 2021 – 07 – 09.
- [58] PIWINSKI J J. Compounds and their use for reducing uric acid levels; US, 20220024900A1 [P]. 2022 – 01 – 27.
- [59] YANG Z. Thiophene derivatives as xanthine oxidase inhibitors and application thereof; WO, 2021083319A1 [P]. 2021 – 05 – 06.
- [60] TOMOVIC K, ILIC B S, SMELCEROVIC Z, et al. Benzimidazole-based dual dipeptidyl peptidase-4 and xanthine oxidase inhibitors [J]. Chem Biol Interact, 2020, 315: 108873.
- [61] AKTHER M, HAQUE M E, PARK J, et al. NLRP3 ubiquitination-a new approach to target NLRP3 inflammasome activation [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(16):8780.
- [62] ZHOU M, LI S, SONG L, et al. 4-(2-(4-Chlorophenyl)-1-((4-chlorophenyl) amino) ethyl) benzene-1, 3-diol is a potential agent for gout therapy as a dual inhibitor of XOD and NLRP3 [J]. Phytomedicine, 2018, 42: 9 – 17.
- [63] WANG W, PANG J, HA E H, et al. Development of novel NLRP3-XOD dual inhibitors for the treatment of gout [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2020, 30(4): 126944.
- [64] 展鹏, 刘涛, 刘新泳. 以黄嘌呤氧化酶为靶点的新型非嘌呤类痛风及高尿酸血症药物研究进展 [J]. 中国药物化学杂志, 2012, 22(5): 403 – 415.
ZHAN P, LIU T, LIU X Y. Recent advances in novel non-purine selective inhibitors of xanthine oxidase for the treatment of hyperuricemia and gout [J]. Chin J Med Chem, 2012, 22(5): 403 – 415.
- [65] BAO R, CHEN Q, LI Z, et al. Eurycomanol alleviates hyperuricemia by promoting uric acid excretion and reducing purine synthesis [J]. Phytomedicine, 2022, 96: 153850.
- [66] CHEN Y, ZHAO Z, LI Y, et al. Baicalein alleviates hyperuricemia by promoting uric acid excretion and inhibiting xanthine oxidase [J]. Phytomedicine, 2021, 80: 153374.
- [67] CHANG Y H, CHIANG Y F, CHEN H Y, et al. Anti-inflammatory and anti-hyperuricemic effects of chrysin on a high fructose corn syrup-induced hyperuricemia rat model *via* the amelioration of urate transporters and inhibition of NLRP3 inflammasome signaling pathway [J]. Antioxidants, 2021, 10(4): 564.
- [68] LIU C, ZHOU H N, ZHANG R R, et al. Anti-hyperuricemic and nephroprotective effect of geniposide in chronic hyperuricemia mice [J]. J Funct Foods, 2019, 61: 103355.

Research progress of xanthine oxidase inhibitors

YANG Mingyu, SHI Xiaoyu, QI Danhui, ZHAN Peng*, LIU Xinyong*

(Department of Medical Chemistry, School of Pharmaceutical Sciences,
Shandong University, Ji'nan 250012, China)

Abstract: Uric acid, a metabolic byproduct of purine nucleotides, can lead to hyperuricemia and gout when its concentration remains chronically elevated in the body. Xanthine oxidase (XO), a pivotal enzyme in uric acid biosynthesis, has long been a key therapeutic target for treating hyperuricemia and gout. Recent advancements have unveiled structurally diverse XO inhibitors, including carboxylic acid/imidazole derivatives, pyrazole acetal derivatives, triazole derivatives, hydrazine/hydrazone derivatives, amide derivatives, benzopyrone derivatives, triamine derivatives, pyrimidine derivatives, barbiturates, nitrile compounds, thione derivatives, and natural products. Moreover, increasing attention has been paid to dual-target inhibitors that simultaneously modulate XO and other relevant targets for enhancing antigout efficacy. This review summarizes the latest advancements in XO inhibitors over the past few years, aiming to provide valuable insights for the development of next-generation antihyperuricemic and antigout therapeutics.



Key words: uric acid; hyperuricemia; gout; xanthine oxidase; inhibitor