

黄嘌呤氧化酶抑制剂非布司他衍生物的研究进展

李文烨, 翟 纳, 巨修练, 刘根炎*

(武汉工程大学化工与制药学院, 绿色化工过程教育部重点实验室, 新型反应器与绿色化学工艺
湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430205)

摘要: 黄嘌呤氧化酶抑制剂非布司他是经典的抗痛风药物, 治疗效果显著且耐受性好。非布司他及其衍生物在结构上可以分为两个主要部分, 分别为取代苯环和羧基取代的五元或六元杂环。本文综述了近10年来非布司他衍生物的研究进展, 针对各类衍生物的结构关系进行了分类概述。探究黄嘌呤氧化酶抑制剂的作用机制和构效关系, 对合理设计和开发抗痛风的新化学实体具有十分重要的意义。

关键词: 黄嘌呤氧化酶; 抑制剂; 非布司他; 痛风; 构效关系

中图分类号: R914 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)12-3401-13

Research progress of febuxostat derivatives as xanthine oxidase inhibitors

LI Wen-ye, ZHAI Na, JU Xiu-lian, LIU Gen-yan*

(Key Laboratory for Green Chemical Process of Ministry of Education, Hubei Key Laboratory of Novel Reactor and Green Chemical Technology, School of Chemical Engineering and Pharmacy, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China)

Abstract: Febuxostat, as a xanthine oxidase inhibitor, is a classic anti-gout drug with significant therapeutic effects and good tolerability. The structures of febuxostat and its derivatives can be divided into two parts: a substituted phenyl ring and a five-membered or six-membered heterocyclic ring with a carboxyl substitution. This paper reviewed the research progress of febuxostat derivatives in recent ten years and classified the structure-activity relationships of various febuxostat derivatives. Exploring the action mechanisms and structure-activity relationships of xanthine oxidase inhibitors might be significant for the rational design and development of new anti-gout chemical entities.

Key words: xanthine oxidase; inhibitor; febuxostat; gout; structure-activity relationship

尿酸是人体内嘌呤分解代谢的最终氧化产物, 体内尿酸水平过高会导致高尿酸血症 (hyperuricemia, HUA)^[1]。HUA引起尿酸盐晶体在关节处的沉积, 进而会导致痛风^[2,3]。目前, 用于治疗HUA和痛风的药物主要分为两类: 一是促进尿酸排泄类药物, 如苯溴马隆和

丙磺舒等; 另一是抑制尿酸形成类药物, 如别嘌呤醇和非布司他等, 属于黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase, XO) 抑制剂 (XO inhibitors, XOIs)^[4,5]。临床上也常用秋水仙碱、非甾体类抗炎药和糖皮质激素等镇痛消炎类药物结合使用^[6]。

XO是一种有效的治疗痛风及HUA相关疾病的重要靶点, 是催化嘌呤在体内分解代谢的关键酶。XO主要催化尿酸生成的最后两个步骤, 即次黄嘌呤氧化分解为黄嘌呤和黄嘌呤氧化分解为尿酸的过程^[2], 同时还能催化电子转移到氧分子上形成过氧化氢或超氧阴离

收稿日期: 2021-07-13; 修回日期: 2021-08-11.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (22177090, 21807082); 湖北省高等学校优秀中青年科技创新团队计划项目 (T201908); 湖北省中央引导地方科技发展专项资金项目 (2020ZYD040).

*通讯作者 Tel: 86-27-87194980, E-mail: liugenyang@wit.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-1032

子^[7],参与炎症、代谢紊乱、动脉粥样硬化和癌症等疾病的形成和发展^[8,9]。XO一般由两个相同的亚基组成,每个亚基包括1个钼蝶呤中心(C端)、1个黄素腺嘌呤二核苷酸中心(中间域)和2个铁硫中心(N端),4个中心呈线性排列^[10,11]。其中,钼蝶呤中心是XO催化生成尿酸的关键位点^[12,13],通过与钼蝶呤中心的相互作用,XOI可干扰次黄嘌呤和黄嘌呤的分解代谢,抑制尿酸的形成,治疗痛风及由活性氧带来的相关疾病^[14,15]。

临床上常用的XOI有别嘌呤醇(allopurinol)、非布司他(febugostat)^[16]和托比司他(topiroxostat)^[17](图1)。别嘌呤醇是一种经典的嘌呤类XOI,1966年被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准上市,在临床上已应用了50多年,但其嘌呤骨架带来了许多危及生命的不良反应^[18,19]。非布司他于2009年被FDA批准上市,托比司他于2013年在日本被批准上市,二者均属于新型的非嘌呤类XOI,比别嘌呤醇药效更好,不良反应更小。然而,研究表明托比司他可能会增加痛风性关节炎的发病率^[20],非布司他也于2019年被FDA发布黑框警告称其会增加心脏死亡相关风险。因此,研究和开发药效更好、不良反应小的新型XOI十分必要。

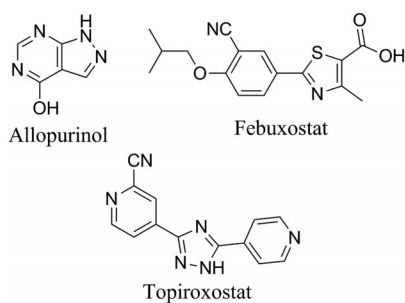


Figure 1 Chemical structures of classical XOIs

在结构上,非布司他及其衍生物可以分为两个主要的部分(图2):A部分一般为取代苯环;B部分为羧基取代的五元或六元杂环。在XO的结合口袋中(图3),非布司他及其衍生物苯环上的氰基可与氨基酸残基Asn768形成氢键;芳香杂环可与氨基酸残基Phe914和Phe1009形成 π - π 相互作用,杂环上非极性的甲基可占据酶的疏水口袋;羧基可与氨基酸残基Arg880和Thr1010形成氢键。通过这些相互作用,非布司他及其衍生物与XO结合,抑制其催化活性^[21,22];非布司他对XO的半数抑制浓度(IC_{50})在低的纳摩尔级水平($3\sim 30\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[23]。目前对非布司他的结构改造和衍生主要基于两种经典的药物设计策略,一是基于电子等排原理替换A或B部分的芳环结构,二是采用骨架迁越方法在A和B部分之间加入连接基团。本文汇总

了近10年报道的非布司他衍生物及其新型骨架,并就其各部分构效关系结合分子对接进行了分类概述,旨在为设计和开发新型XOI提供参考,也可电子等排和骨架迁越的药物设计策略的运用提供案例和参考。

1 非布司他衍生物A部分的构效关系

在农业和医药化工中,咪唑环常用作各种蛋白抑制剂的活性支架^[24-26]。2015年,Song等^[27]将非布司他中的苯环扩大为咪唑环,以二取代的1*H*-咪唑-5-羧酸为原料合成了一系列的三取代2-(咪唑-5-基)噻唑衍生物(图4)。构效关系研究表明,在咪唑环1位引入疏水基团和3位引入吸电子基团及噻唑环4位引入疏水基团有利于增强对XO的抑制活性。其中,化合物1活性最佳,效价与非布司他相当。分子对接结果表明,咪唑环并没有影响化合物与靶标的相互作用(图5)。2016年,Song等^[28]还将咪唑环翻转180°合成了一系列的2-(咪唑-2-基)-噻唑类XOI,但该类化合物的抑制活性总体上不如翻转前咪唑环衍生物。咪唑环衍生物为非布司他苯环的替换和改造提供了新的可能性,可进一步修饰和衍生,设计和合成结构新颖的XOI。

2 非布司他衍生物B部分的构效关系

2.1 五元杂环

2.1.1 吡唑环 吡唑环是许多农药、医药以及光电材料分子的重要结构单元^[29-31]。2001年,Ishibuchi等^[32]对别嘌呤醇进行了结构改造,保留吡唑环,在其吡唑并[3,4-*d*]噻唑N-1位置引入一个苯基,并用羧基取代4-羟基噻唑部分,以二取代的苯肼为原料合成了一系列非嘌呤类的XOI(图6)。其中,化合物2(Y-700)活性最佳,相较于别嘌呤醇($IC_{50} = 260\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)具有更好的抑制活性。构效关系显示,苯环上仅4位单取代无活性,但再在3位引入氰基、溴和硝基等亲电基团后,对XO的抑制活性明显增强,其中氰基取代最佳;吡唑环4位的羧基是药效活性的关键基团。此外,苯环4位引入大体积取代基对活性有利,引入极性基团对活性不利^[33]。

2017年,Li等^[34]用吡唑环直接替代非布司他的噻唑环,分别以5-溴-2-羟基苯甲腈和4-溴-1-氟-2-硝基苯等为原料,合成了两个系列的1-苯基吡唑衍生物(图7)。活性测试结果表明,系列I大部分化合物的活性均低于非布司他, IC_{50} 值大于 $100\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$;系列II大部分化合物的 IC_{50} 值小于 $100\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$,化合物3活性最佳,表现出与非布司他相当的XO抑制活性。同时发现,吡唑环3位 R_1 的分子体积和抑制活性的大小有直接关系, R_1 体积越大,抑制活性越差;但在-NR处引入适当的取代基,可增加活性。

2.1.2 异噻唑环 异噻唑衍生物具有抗炎、抗菌、镇

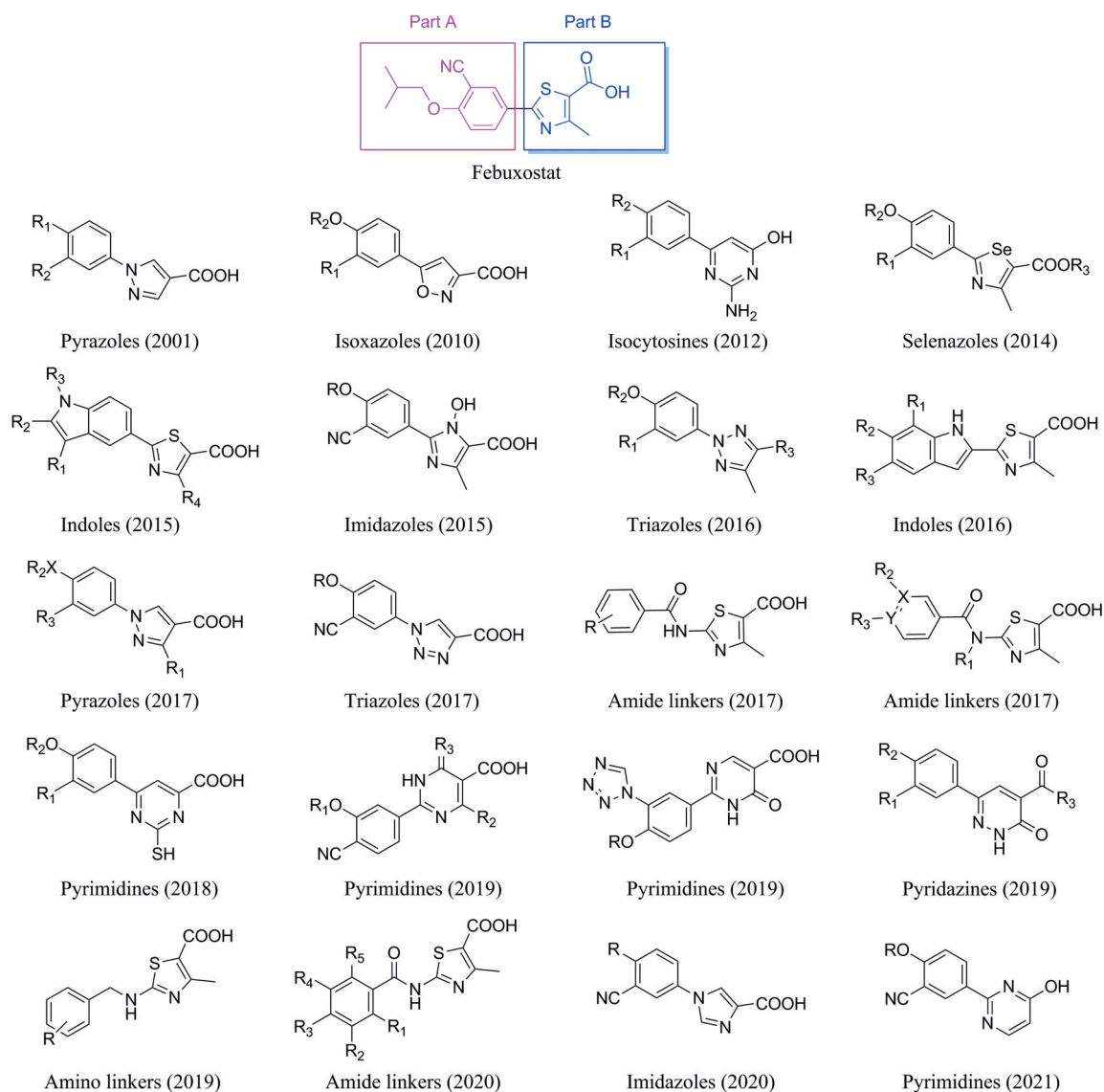


Figure 2 Febuxostat and its derivatives

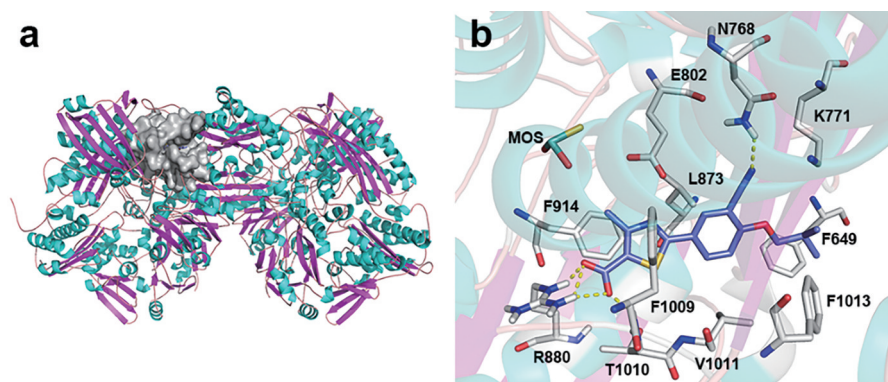


Figure 3 (a) The crystal structure of bovine xanthine oxidase (PDB: 1N5X); (b) The binding mode of febuxostat

痛、抗结核等多种生物活性, 近些年已成为药物设计的研究热点之一^[35,36]。2010年, Wang等^[37]用异噻唑环代替非布司他的噻唑环, 以1-(4-羟基苯基)乙酮为原料合成了一系列的5-苯基异噻唑-3-羧酸衍生物(图8)。

该类化合物大部分表现出微摩尔或亚微摩尔级的XO抑制效力, 化合物4的XO抑制活性最佳。构效关系研究表明, R_1 氧基取代比硝基取代更有利于活性, R_2 基取代以异丁基为最佳。分子对接结果显示(图9a), 除与

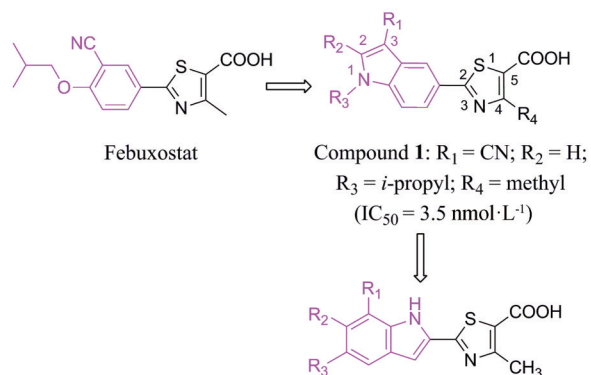


Figure 4 The design strategy of indole derivatives and their structures

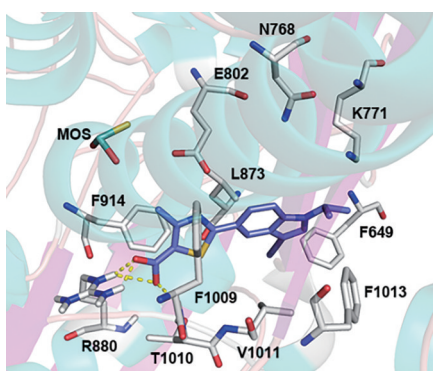


Figure 5 The binding mode of compound 1 in the xanthine oxidase protein

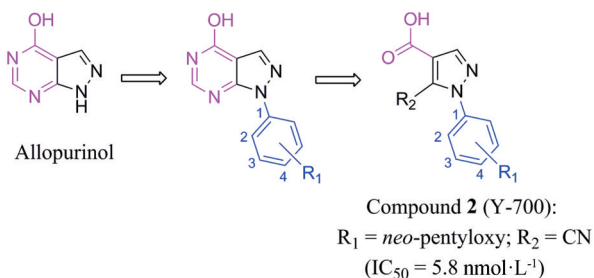


Figure 6 The design strategy I of pyrazole derivatives and their structures

非布司他相同的关键相互作用外, 异噻唑环上的O原子还可与Glu802形成氢键, 但异噻唑环上N原子与苯环的距离较非布司他中噻唑环N原子与苯环的距离更远, 与蛋白相互作用可能较小, 所以该类化合物虽有较好的活性但远不如非布司他。

2.1.3 噻唑环 一些含噻唑杂环化合物被报道有多种生物活性^[38,39], 2014年Guan等^[40]用噻唑环代替非布司他的噻唑环, 以对羟基苯甲腈为原料合成了一系列2-苯基-4-甲基-1,3-噻唑-5-羧酸衍生物(图10)。该类化合物大多数都对XO显示出了较好的抑制活性($\text{IC}_{50} = 5.5 \sim 82.5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 化合物5的活性最佳。构效关系

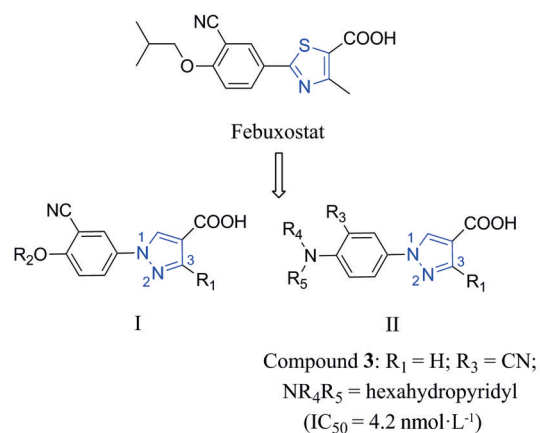


Figure 7 The design strategy II of pyrazole derivatives and their structures

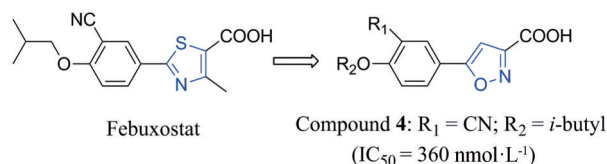


Figure 8 The design strategy of isoxazole derivatives and their structures

研究表明, 苯环3位的氰基比硝基更有利于增加活性; 苯环4位取代基体积越大活性越强, 且支链烷氧基活性大于直链烷氧基; 噻唑环上的羧基是关键药效基团。分子对接结果显示(图9b), 噻唑环上的N原子可与Glu802形成氢键, R_2 位的烯丙基可能与Phe649形成额外的 $\pi\text{-}\pi$ 堆积作用。

2.1.4 三唑环 1,2,3-三唑环是药物和生物活性分子的重要结构片段之一^[41-43]。2016年, Shi等^[44]用三唑环代替非布司他的噻唑环, 以对硝基苯酚为原料合成了一系列2-苯基-5-甲基-2H-1,2,3-三唑-4-羧酸/碳酸酐衍生物(图11)。大部分化合物对XO表现出中等抑制活性, 其中化合物6活性最佳。构效关系研究表明, 苯环3位的氰基比硝基更有利于抑制活性; 苯环4位取代基体积越大活性越强; 三唑环上的羧基是关键药效基团。分子对接表明, 除与非布司他相同的关键相互作用外, 化合物6三唑环上的N原子可与Glu802形成氢键, 三唑环可与Phe1009形成 $\pi\text{-}\pi$ 堆积作用(图9c)。

2017年, Zhang等^[45]提出在非布司他噻唑环4位加入极性N原子可能会增强相互作用, 以2-羟基苯甲腈为原料合成了一系列1-苯基-1H-1,2,3-三唑-4-羧酸衍生物(图12)。其中, 化合物7活性最佳, 但比先导化合物Y-700($\text{IC}_{50} = 16 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)效力低13倍。分子对接未发现3位N原子可形成关键的相互作用(图9d), 相反, N原子对C原子的替换使亲水性和极性增大, 不利

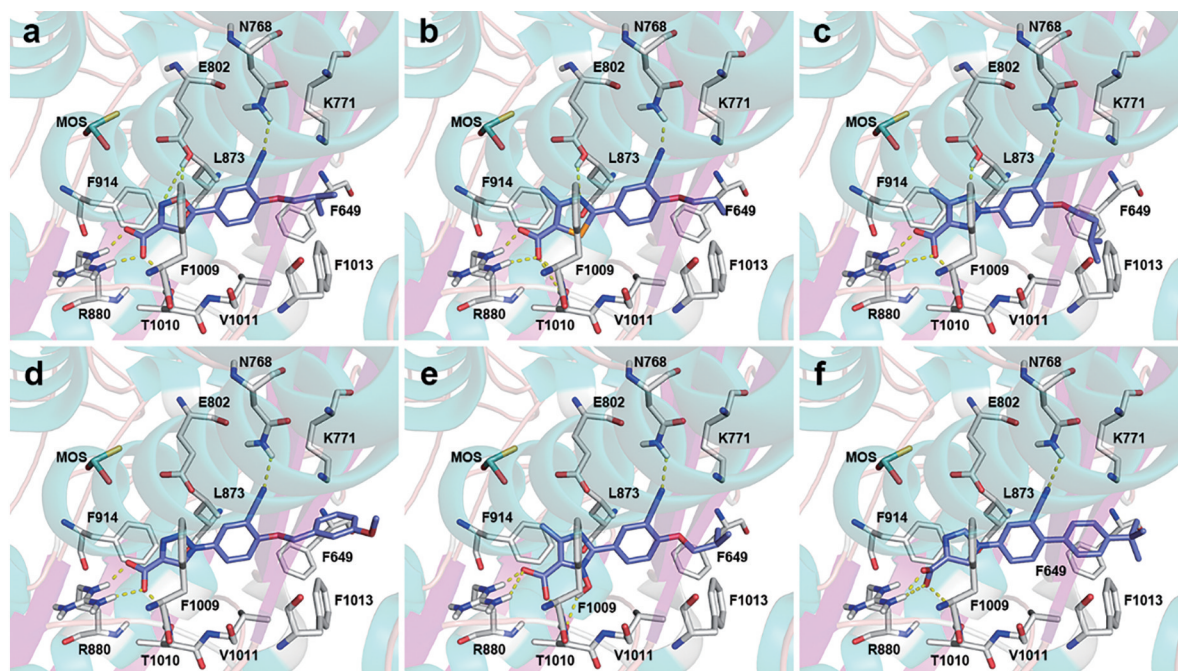


Figure 9 Binding modes of februxostat derivatives with five-membered heterocyclic isosteres in the XO protein. (a) compound 4; (b) compound 5; (c) compound 6; (d) compound 7; (e) compound 10; (f) compound 11

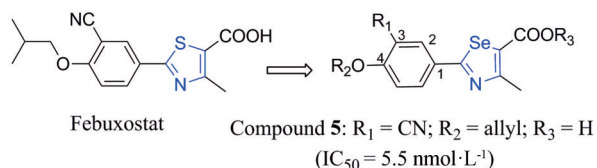


Figure 10 The design strategy of selenazole derivatives and their structures

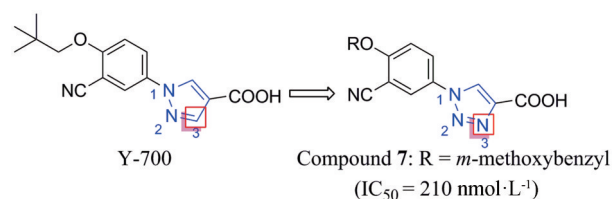


Figure 12 The design strategy II of triazole derivatives and their structures

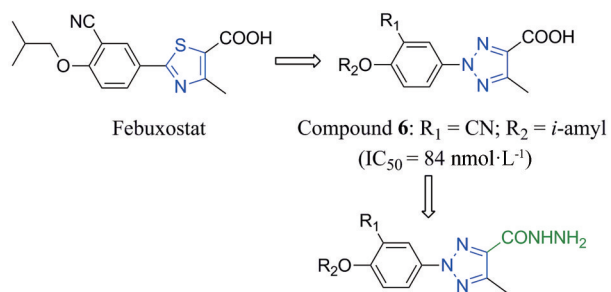


Figure 11 The design strategy I of triazole derivatives and their structures

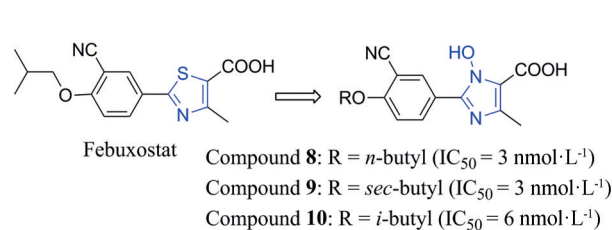


Figure 13 The design strategy I of imidazole derivatives and their structures

于效价。此外, R 基碳链增长可提高分子的亲脂性, 有利于活性。

2.1.5 咪唑环 咪唑环也常用作药物分子尤其是抗菌药物的活性骨架^[46,47]。2015年, Chen等^[48]用咪唑环代替非布司他的噻唑环, 以3-溴-4-羟基苯甲醛为原料合成了一系列的1-羟基/甲氧基-4-甲基-2-苯基-1*H*-咪唑-5-羧酸衍生物(图13)。其中, 1-羟基类化合物表现出极强的XO抑制活性, 化合物8~10的活性优于非布司

他。这表明在苯环和羧基之间引入一个羟基可能有利于提高XOI的抑制活性。分子对接结果表明, 相较于非布司他, 咪唑环上的羟基可与Thr1010形成一个额外的氢键(图9e)。

2020年, Zhou等^[49]以其课题组前期合成的吡啶衍生物WN1703为基础, 将吡啶环替换为咪唑环, 合成了4个系列的1-苯基咪唑-4-羧酸衍生物(图14)。大多数化合物对XO均具有较好的抑制活性, IC_{50} 值在纳摩尔水平。化合物11活性最佳, 与非布司他相当。构效关系研究表明, 烷基胺类化合物对XO抑制活性优于烷

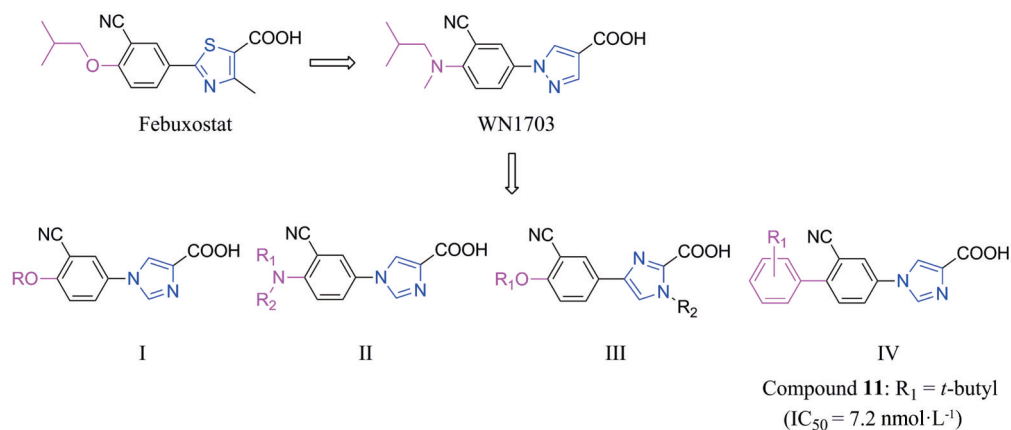


Figure 14 The design strategy II of imidazole derivatives and their structures

氧基类化合物; 当 XR (X = O, N) 相同时, 系列 II 化合物活性优于系列 III, 这表明苯环与咪唑环的连接方式会影响 XO 抑制活性; 系列 III 中, 在 R₂ 位引入甲基导致活性降低, 这证明经咪唑环替换后, 五元环上的甲基对 XO 抑制活性不再是必须的; 系列 IV 中, 苯环的对位取代优于邻位取代。分子对接结果表明 (图 9f), 咪唑环可位于 Phe914 和 Phe1009 之间, 形成 π - π 堆积作用。

2.2 六元杂环

在药物的发现和开发中, 六元杂环化合物作为结构片段在药物分子中有着广泛的应用, 也有许多根据生物电子等排原理将五元杂环替换为六元杂环的成功案例^[50,51], 这种改造策略也被应用于 XO 的研究中。

2.2.1 嘧啶衍生物 嘧啶环是许多天然和合成产物的重要支架^[52-54]。2018 年, Shi 等^[55]通过分子对接, 选择六元巯基嘧啶环代替非布司他五元噻唑环, 以二取代的苯乙酮为原料合成了一系列的 2-巯基-6-苯基嘧啶-4-羧酸衍生物 (图 15), 该类化合物大多对 XO 表现出亚微摩尔水平的抑制活性。化合物 12 活性最佳, 但仍然和非布司他相差一个数量级。构效关系研究表明, R₁ 取代基类型是影响 XO 抑制活性的关键因素, 氰基取代优于硝基或溴取代; R₂ 疏水基团的体积增加会导致活性下降, 且支链烷氧基比直链烷氧基对活性更有利。分子对接结果表明 (图 16a), 与非布司他及其他类似物不同, 该类化合物嘧啶环上的 N 原子以及苯环上的氰基由于和活性位点距离较远, 没有和关键氨基酸残基形成有效的氢键作用, 但该类化合物的巯基可与 Glu802 形成氢键。

2019 年, Mao 等^[56]在其课题组前期合成的咪唑环衍生物的基础上进行扩环, 以邻羟基苯甲醛为原料合成了一系列的 2-(4-烷氧基-3-氰基) 苯基-6-氧代/亚氨基-1,6-二氢嘧啶-5-羧酸衍生物 (图 17)。该类化合物对 XO 表现出明显的抑制活性, 化合物 13 活性最佳, 与

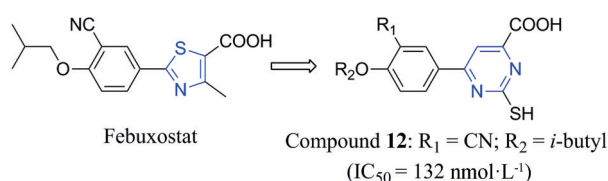


Figure 15 The design strategy of thiol dihydropyrimidine derivatives and their structures

非布司他相当。构效关系研究表明, 缩短 R₁ 碳链长度会使活性降低; 嘧啶环上 4 位甲基位于亲水表面, 不利于活性; 而将羰基改为亚氨基后, 化合物效价基本保持不变。分子对接结果表明 (图 16b), 嘧啶环可通过 π - π 堆积作用处于 Phe914 和 Phe1009 之间, 嘧啶环上的亚氨基可与 Glu802 形成一个额外的氢键, 因此, 从咪唑环到嘧啶环的扩环可能有利于化合物对 XO 抑制活性的提高。

由于四唑环中 4 个 N 原子都可以作为氢键受体与活性氨基酸残基更好地形成氢键^[57], 所以四唑环也常用于药物的改造和开发中^[58,59]。2019 年 Zhang 等^[60]用四唑环代替氰基作为氢键受体, 继续对嘧啶环衍生物进行结构改造, 以对羟基苯甲腈为原料合成了一系列的 2-[4-烷氧基-3-(1H-四唑-1-基) 苯基]-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-5-羧酸衍生物 (图 18)。该类化合物表现出了明显的 XO 抑制活性, 其中化合物 14 活性最佳, 与非布司他相当。构效关系分析表明, R 基疏水基团对 XO 抑制活性较为重要, 增加饱和烷氧基的体积有利于提高活性。分子对接结果表明 (图 16c), 引入的四唑环可能与 Asn768 和 Lys771 形成氢键作用。

2021 年 Sun 等^[61]基于化合物 13 的结构进一步探究了氨基和羟基是否可以作为嘧啶类衍生物的关键药效团 (图 19)。其中 6 位羟基单取代的系列衍生物活性最佳, IC₅₀ 值在 46~282 nmol·L⁻¹ 之间, 较无取代系列化合物效力提高了 23~60 倍, 6 位氨基单取代系列化

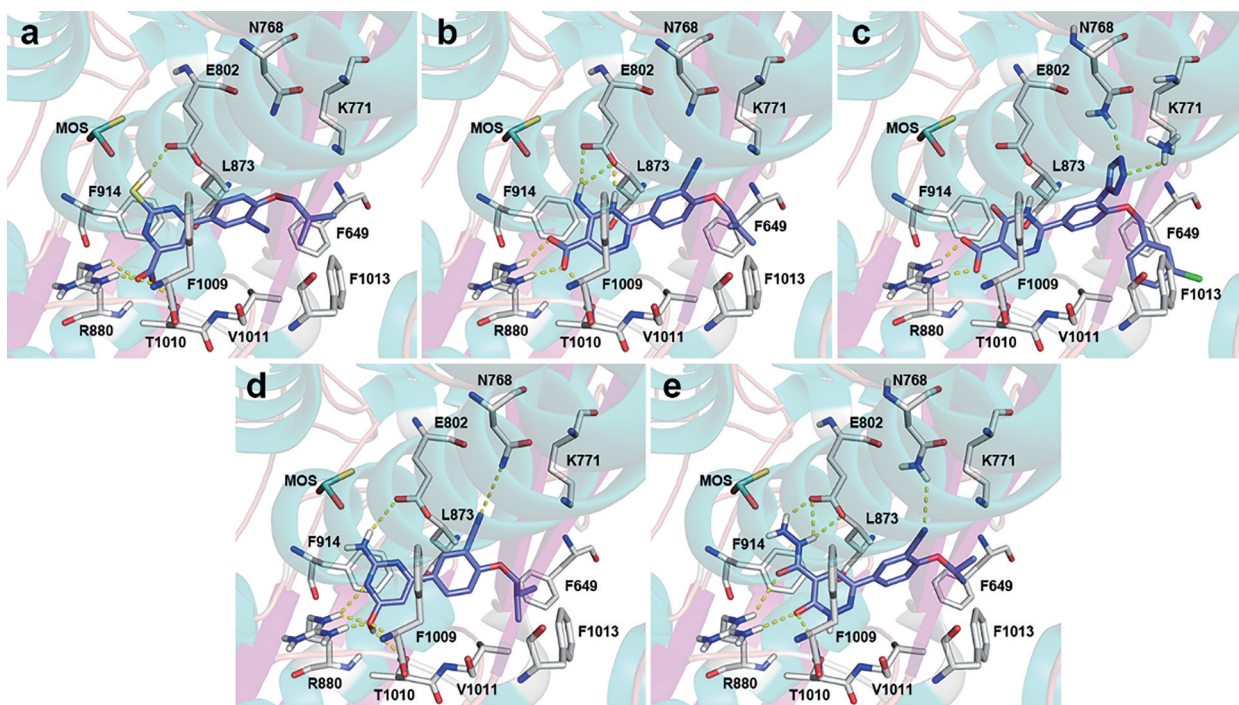


Figure 16 Binding modes of febuxostat derivatives with six-membered heterocyclic isosteres in the xanthine oxidase protein. (a) compound **12**; (b) compound **13**; (c) compound **14**; (d) compound **16**; (e) compound **17**

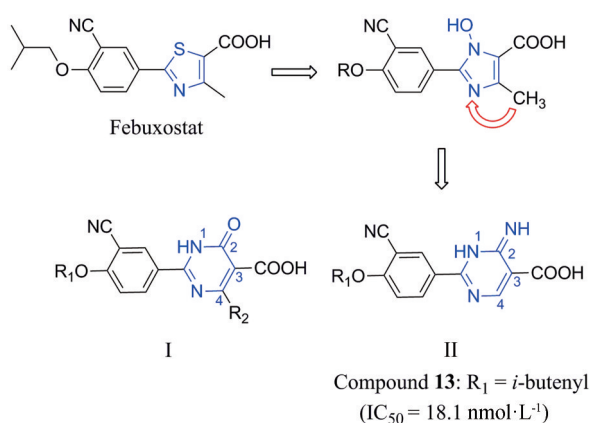


Figure 17 The design strategy of oxy/imino dihydropyrimidine derivatives and their structures

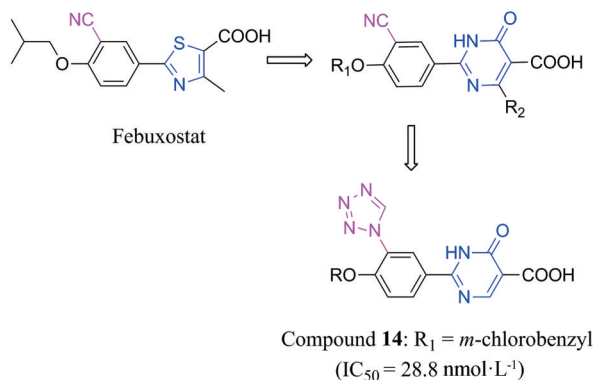


Figure 18 The design strategy of oxydihydropyrimidine derivatives and their structures

合物较无取代活性也提高了6~8倍。化合物**15**活性最佳,在XO中关键相互作用与化合物**13**相似。由于此类化合物的良好抑制作用,氨基和羟基可以作为嘧啶类衍生物的关键药效团。

2.2.2 异胞嘧啶环 2012年, B-Rao等^[62]通过虚拟筛选和分子对接发现异胞嘧啶环可以作为XOI的基本骨架。同年,该课题组的Khanna等^[63]用异胞嘧啶环代替非布司他的噻唑环,以二取代的溴苯为原料合成了一系列的化合物(图20)。该类化合物对XO有显著的抑制活性效力,其中化合物**16**活性最佳,效价与非布司他相当。构效关系研究表明, R₂基为苯环、硫醚或醚会使活性提高。此外,分子对接结果表明,异胞嘧啶中的烯醇结构可与Arg880和Thr1010形成氢键,氨基可与Glu802形成氢键,化合物**16**中R₂位的苯环可能与Phe649和Phe1013产生额外的 π - π 相互作用(图16d)。2018年,同一课题组的Subhajit等^[64]对异胞嘧啶环衍生物和关键氨基酸残基的相互作用进行了进一步的探究和验证。

2013年,为提高此类衍生物的口服生物利用度,同一课题组的Bajaj等^[65]通过增加极性以改善溶解性和提高疏水性以增加渗透性两种方法继续对化合物**16**进行了结构改造,得到了一种新型的含异胞嘧啶的XOI骨架结构。策略一在R₂基引入羧基和酯基以增加极性,所合成化合物IC₅₀值保持在纳摩尔范围内,且

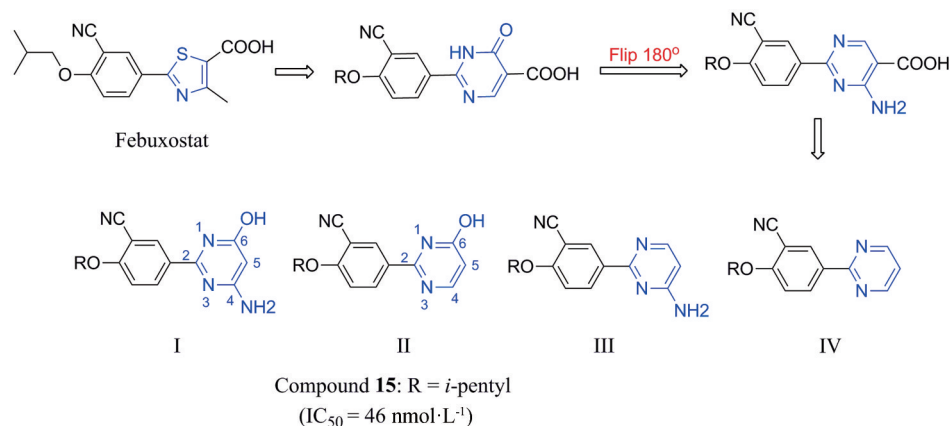


Figure 19 The design strategy of dihydropyrimidine derivatives and their structures

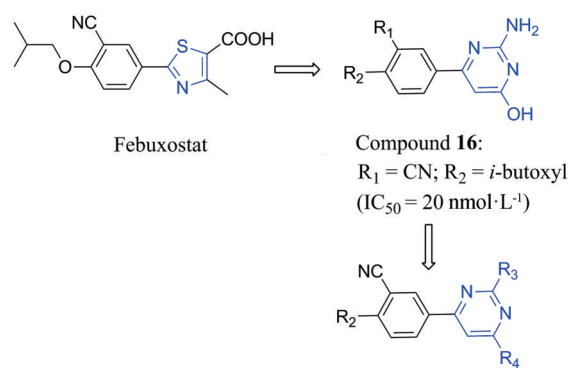


Figure 20 The design strategy of isocytosine derivatives and their structures

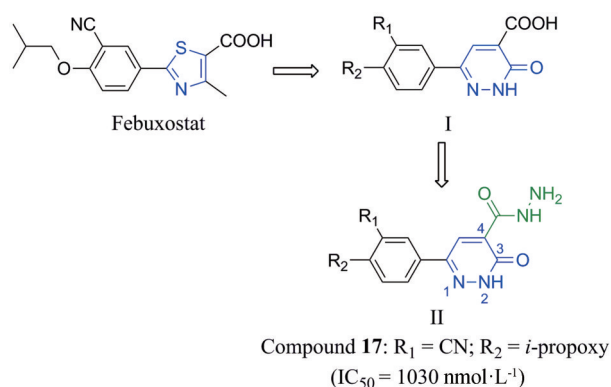


Figure 21 The design strategy of pyridazine derivatives and their structures

口服 10 mg·kg⁻¹ 后的药峰浓度 (C_{\max}) 较化合物 **16** 增加 1~41 倍, 曲线下面积 (AUC) 增加 1~65 倍。策略二去除极性基团羟基或氨基以增强渗透性, 该系列化合物体外生物活性稍有下降但口服利用度明显提高, C_{\max} 增加了 4~17 倍, AUC 增长了 2~10 倍。

2.2.3 哒嗪环 哒嗪类化合物是一类重要的杂环支架材料, 具有多种生物学特性, 广泛应用于医药和农业领域的分子设计中^[66-68]。2019年, Zhang 等^[69]用六元的哒嗪环代替非布司他的噻唑环, 以二取代的苯乙酮为原料分别合成了 3-氧代-6-芳基-2,3-二氢哒嗪-4-碳酰肼/羧酸两个系列的非布司他衍生物 (图 21)。其中, 羧酸类化合物没有明显抑制作用, 而酰肼类化合物对 XO 表现出了微摩尔水平的抑制活性, 化合物 **17** 活性最佳, 但远不及非布司他。构效关系研究表明, R₁ 为氰基比硝基更利于 XO 抑制活性; R₂ 疏水基团是必需的, 支链烷烃比直链烷烃更利于活性, 烷氧基体积增大会降低抑制活性。分子对接结果表明, 酰肼结构可与 Arg880 和 Glu802 形成重要的氢键作用 (图 16e), 因此, 对于此类非布司他衍生物来说, 4 位上的酰肼结构是关键药效结构之一。

3 非布司他衍生物中间连接部分的构效关系

采用骨架迁越方法对连接部分进行结构修饰也是一种新的设计策略^[70], 即在非布司他 A 部分噻唑环和 B 部分苯环之间插入连接基替换单键可得到 XOI 新型骨架。虽然此类衍生物分子形状可能发生变动, 但分子的共轭性、关键药效团及与 XO 的关键相互作用有可能继续保持, 同时连接基团中增加的杂原子可能与 XO 中氨基酸残基形成额外氢键 (图 22), 有利于活性的维持。

3.1 亚甲基氨基连接基

2016年, Ali 等^[71]在噻唑环和苯环之间插入一个亚甲基氨基, 以 2-氯乙酰乙酸乙酯和硫脲为原料合成了一系列的 2-取代苄基氨基-4-甲基-1,3-噻唑-5-羧酸衍生物 (图 23)。该类化合物对 XO 表现出一定的抑制活性, 化合物 **18** 活性最佳, 但远低于非布司他。分子对接结果表明 (图 22a), 连接基团中的氨基可与 Ser876 形成氢键。

3.2 甲酰胺基连接基

2017年, Ali 等^[72]尝试以甲酰胺基为连接基以 2-氯乙酰乙酸乙酯为原料合成了一系列的 2-苯甲酰胺基-

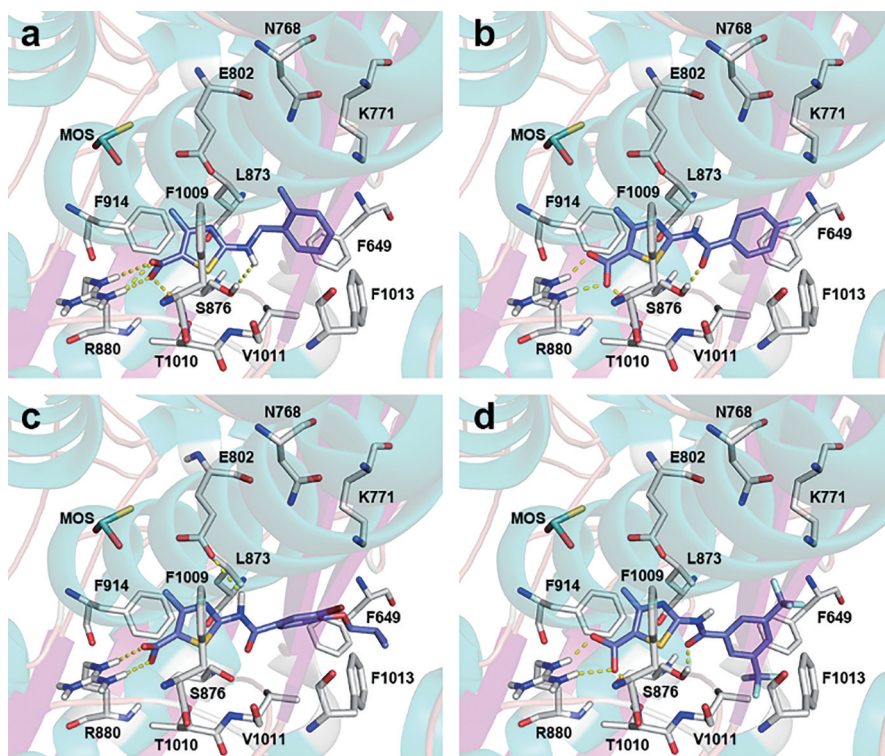


Figure 22 Binding modes of febuxostat derivatives with a linker of methylene amino or formylamino group (a) compound **18**; (b) compound **19**; (c) compound **20**; (d) compound **21**

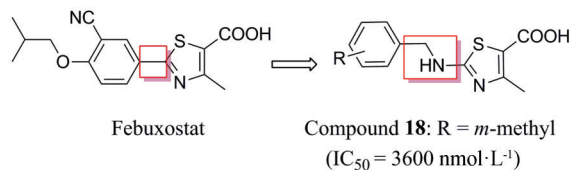


Figure 23 The design strategy of febuxostat derivatives with a linker of methylene amino group

4-甲基噻唑-5-羧酸衍生物 (图24)。该类化合物对 XO 表现出一定的抑制活性, 化合物 **19** 活性最佳。构效关系研究表明, R 基为吸电子基比给电子基更利于抑制活性, 且对位比邻位取代更有利。分子对接结果表明 (图 22b), 甲酰胺基中的 N 原子可与 Ser876 形成氢键。2017 年, Zhang 等^[73]在该系列化合物的基础上继续探究了酰胺类衍生物的构效关系, 以 4-羟基苯甲醛等原料合成了两个系列的化合物, 并测定了 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下对 XO 的抑制活性。部分化合物展现了一定的 XO 抑制活性, 化合物 **20** 活性最佳, 抑制率达到 57.1%。构效关系表明, 酰胺氮甲基化后活性明显下降。分子对接结果表明, 插入连接基后, 噻唑环可能会发生翻转, 缺少了羧基与 Thr1010 的氢键作用 (图 22c)。

2020 年, Kaur 等^[74]对酰胺类衍生物构效关系进行了进一步的探究, 以 2-氯乙酰乙酸酯和硫脲为原料合成了一系列的 2-取代苯甲酰胺基-4-甲基噻唑-5-羧

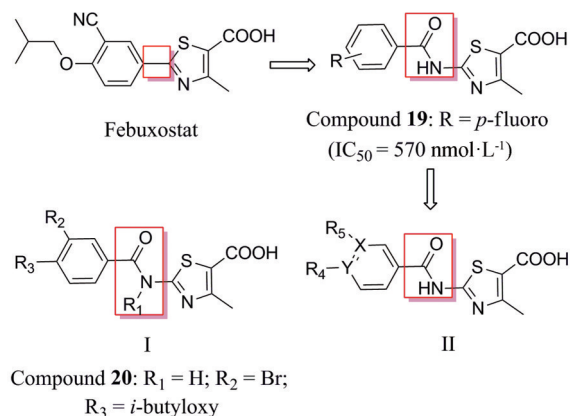


Figure 24 The design strategy I of febuxostat derivatives with a linker of formylamino group

酸衍生物 (图 25)。该类化合物对 XO 的抑制作用低于非布司他, IC_{50} 值在 $450 \sim 44\,450 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间, 其中化合物 **21** 活性最佳。构效关系分析表明, 单取代苯环化合物活性低于双取代苯环化合物。分子对接结果表明 (图 22d), 甲酰胺基上的羰基作为氢键受体可与 Ser876 形成氢键。

4 总结与展望

XO 是治疗 HUA 和痛风的重要作用靶点。近些年来, 对于 XO 的研究越来越广泛, 本文总结了近年来非布司他衍生物的研究进展及其构效关系, 并按其结构

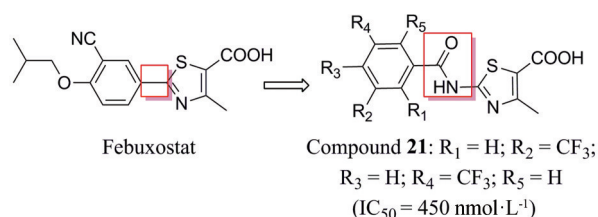


Figure 25 The design strategy II of febusostat derivatives with a linker of formylamino group

改造策略进行了分类概述。研究表明：① 非布司他及其衍生物的A部分(图2)多为3位吸电子基团取代和4位疏水基团取代的苯环，其中3位以氰基为最佳，4位疏水基团中支链烷氧基比直链烷氧基更利于活性。非布司他A部分的苯环替换为其他芳香杂环的报道较少，用咪唑环替换后的衍生物表现了较好的抑制活性，说明了苯环的替代可行性，值得进一步的研究和探索。② B部分为五元或六元的取代杂环；根据生物电子等排体原理，该部分用不同芳环替换和修饰的范围十分广泛，多种类型的芳环或杂环替换均有报道。其中，噻唑环、咪唑环、异吡啶环以及二氢嘧啶环替换的衍生物对XO的抑制活性最佳，与非布司他相当，三唑环类化合物活性次之，吡啶环、异噻唑环和哒嗪环类衍生物也有较好的活性，但低于非布司他。此外，该部分中的羧基被证明是关键的药效基团。③ 应用骨架迁越的策略，将A和B部分之间的连接单键修饰为亚甲基氨基或甲酰胺基等基团，所合成衍生物对XO表现出一定的抑制活性，虽不及非布司他，但为今后的研究提供了一个可行的新思路。同时，采用生物电子等排和骨架迁越策略对非布司他结构的修饰和衍生，也可为其其他药物的研发提供很好的案例和借鉴。

目前已报道的非布司他衍生物中，不乏一些很有潜力已进入临床研究的化合物，它们有望发展成为新型的抗痛风药物。非布司他衍生物构效关系的深入探究和分析，可为新型XOI先导物的设计与筛选提供新思路，相信随着不断的创新研究与筛选，定会研发出有效性、耐受性和安全性更好的新型抗痛风药物。

作者贡献：李文焯负责文献检索及综述撰写；翟纳负责图片修改和内容评估；巨修练负责综述内容评估；刘根炎为综述撰写思路并对稿件进行修改和审校。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

References

[1] Smelcerovic A, Tomovic K, Smelcerovic Z, et al. Xanthine oxidase inhibitors beyond allopurinol and febusostat; an overview and selection of potential leads based on in silico calculated

physico-chemical properties, predicted pharmacokinetics and toxicity [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 135: 419-516.

- [2] Hille R, Massey V. Studies on the oxidative half-reaction of xanthine oxidase [J]. *J Biol Chem*, 1981, 256: 9090-9095.
- [3] Ding ZQ, Dai Y, Wang ZT. Hypouricemic action of scopoletin arising from xanthine oxidase inhibition and uricosuric activity [J]. *Planta Med*, 2005, 71: 183-185.
- [4] Lin JJ, Wang J, Ren YK, et al. Research progress in gout drugs [J]. *Pharm Clin Res (药学与临床研究)*, 2019, 27: 216-220.
- [5] Jiang N, Zhang XL, Tian JY, et al. Recent studies on the natural products with xanthine oxidase inhibitory effect [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2021, 56: 1229-1237.
- [6] Wu J. Design, Synthesis, and Screening of the Anti-gout Compounds Based on the Three-dimensional Structure of Xanthine Oxidase (基于黄嘌呤氧化酶结构的抗痛风药物的设计、合成和筛选) [D]. Beijing: Academy of Military Medical Sciences, 2008.
- [7] Xue HG, Zhong L, Shao L, et al. Study on inhibition of xanthine oxidase by allopurinol [J]. *Acta Phys Chim Sin (物理化学学报)*, 1996, 12: 310-314.
- [8] Li XC, Jiang N, Yang YJ, et al. The anti-hyperuricemic effects of compound CC18022 targeting xanthine oxidase [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2021, 56: 1621-1626.
- [9] Yagiz G, Noma SAA, Altundas A, et al. Synthesis, inhibition studies 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.
- [10] Li LS, Chen XH, Shao YB, et al. The structure and function of xanthine oxidoreductase [J]. *J Cell Biol (细胞生物学杂志)*, 2004, 26: 381-384.
- [11] Dong C, Montes M, Al-Sawai WM. Xanthine oxidoreductase inhibition - a review of computational aspect [J]. *J Theor Comput Chem*, 2020, 19: 2040008.
- [12] Yan DA, Zhang L, Tian JY, et al. Design, synthesis and biological evaluation of oxadiazole derivatives as xanthine oxidase inhibitors [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2016, 51: 954-960.
- [13] Xie Y, Guo F. Progress in the clinical application of febusostat [J]. *Chin J Bioproc Eng (生物加工过程)*, 2019, 17: 184-188.
- [14] Li SY, Zhang TJ, Wu QX, 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: 119-127.
- [15] Zhan P, Liu T, Liu XY. Recent advances in novel non-purine selective inhibitors of xanthine oxidase for the treatment of hyperuricemia and gout [J]. *Chin J Med Chem (中国药物化学杂志)*, 2012, 22: 403-415.
- [16] Okamoto K, Eger BT, Nishino T, et al. An extremely potent inhibitor of xanthine oxidoreductase. Crystal structure of the enzyme-inhibitor complex and mechanism of inhibition [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 1848-1855.

- [17] Sato T, Ashizawa N, Matsumoto K, et al. Discovery of 3-(3-cyano-4-pyridyl)-5-(4-pyridyl)-1,2,4-triazole, FYX-051-a xanthine oxidoreductase inhibitor for the treatment of hyperuricemia [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19: 6225-6229.
- [18] Kumar R, Joshi G, Kler H, et al. Toward an understanding of structural insights of xanthine and aldehyde oxidases: an overview of their inhibitors and role in various diseases [J]. *Med Res Rev*, 2018, 38: 1073-1125.
- [19] Kibriz IE, Sacmaci M, Yildirim I, et al. Xanthine oxidase inhibitory activity of new pyrrole carboxamide derivatives: *in vitro* and *in silico* studies [J]. *Arch Pharm*, 2018, 351: e1800165.
- [20] Hosoya T, Sasaki T, Ohashi T. Clinical efficacy and safety of topiroxostat in Japanese male hyperuricemic patients with or without gout: an exploratory, phase 2a, multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled study [J]. *J Clin Pharm Ther*, 2016, 41: 298-305.
- [21] Wu FP. Design, Synthesis, and Activity Evaluation of Reducing Uric Acid of XOR Inhibitors (黄嘌呤氧化还原酶抑制剂的设计、合成与降尿酸活性评价) [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017.
- [22] Su YL, Jiang JQ, Wang JS, et al. Advances in the researches on structure-activity relationships of xanthine oxidoreductase inhibitors [J]. *Prog Pharm Sci (药学进展)*, 2009, 33: 350-359.
- [23] Luna G, Dolzhenko AV, Mancera RL. Inhibitors of xanthine oxidase: scaffold diversity and structure-based drug design [J]. *ChemMedChem*, 2019, 14: 714-743.
- [24] Zhang MZ, Mulholland N, Beattie D, et al. Synthesis and antifungal activity of 3-(1,3,4-oxadiazol-5-yl)-indoles and 3-(1,3,4-oxadiazol-5-yl) methyl-indoles [J]. *Eur J Med Chem*, 2013, 63: 22-32.
- [25] Bandini M, Eichholzer A. Catalytic functionalization of indoles in a new dimension [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2009, 48: 9608-9644.
- [26] Tang ZH, Liu JM, Fu YH, et al. Progress in antitumor activity of 3-substituted indole derivatives [J]. *Chem Bull (化学通报)*, 2021, 84: 47-52.
- [27] Song JU, Choi SP, Kim TH, et al. Design and synthesis of novel 2-(indol-5-yl) thiazole derivatives as xanthine oxidase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25: 1254-1258.
- [28] Song JU, Jang JW, Kim TH, et al. Structure-based design and biological evaluation of novel 2-(indol-2-yl) thiazole derivatives as xanthine oxidase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26: 950-954.
- [29] Liu Y, Huang QS, Fan BW, et al. Synthesis and characterization of arylpyrazole semicarbazide Schiff base [J]. *J Henan Univ (Nat Sci) (河南大学学报 (自然科学版))*, 2020, 50: 592-596.
- [30] Lange JHM, HKAC Coolen, Van Stuivenberg HH, et al. Synthesis, biological properties, and molecular modeling investigations of novel 3,4-diarylpyrazolines as potent and selective CB (1) cannabinoid receptor antagonists [J]. *J Med Chem*, 2004, 47: 5675-5678.
- [31] Dong XR, Xia J, Wang ZX, et al. Design, synthesis and biological activity of pyrazole-4-carboxamides compounds containing 1,2,4,5-tetrasubstituted phenyl [J]. *Chem J Chin Univ (高等学校化学学报)*, 2020, 41: 2759-2765.
- [32] Ishibuchi S, Morimoto H, Oe T, et al. Synthesis and structure-activity relationships of 1-phenylpyrazoles as xanthine oxidase inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, 11: 879-882.
- [33] Fukunari A, Okamoto K, Nishino T, et al. Y-700 [1-[3-Cyano-4-(2,2-dimethylpropoxy) phenyl]-1*H*-pyrazole-4-carboxylic acid]: a potent xanthine oxidoreductase inhibitor with hepatic excretion [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, 311: 519-528.
- [34] Li J, Wu FP, Liu XG, et al. Synthesis and bioevaluation of 1-phenyl-pyrazole-4-carboxylic acid derivatives as potent xanthine oxidoreductase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 140: 20-30.
- [35] Ponduri R, Kumar P, Vadali LR. PEG-400 promoted a simple, efficient, and recyclable catalyst for the one-pot eco-friendly synthesis of functionalized isoxazole substituted pyrroles in aqueous medium [J]. *Synth Commun*, 2018, 48: 3113-3122.
- [36] Bomfim LFO, Barbosa RS, Burgos AE, et al. New isoxazole (3,5) substituted thiosemicarbazone: synthesis, crystal structure and spectroscopic studies of the binding mode to protein and calf thymus DNA [J]. *J Mol Struct*, 2017, 1150: 44-54.
- [37] Wang SJ, Yan JF, Wang J, et al. Synthesis of some 5-phenyl-isoxazole-3-carboxylic acid derivatives as potent xanthine oxidase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2010, 45: 2663-2670.
- [38] Mugesh G, Du Mont WW, Sies H. Chemistry of biologically important synthetic organoselenium compounds [J]. *Chem Rev*, 2001, 101: 2125-2179.
- [39] Zhang CL, Wang HY, Yu XK, et al. Synthesis of amide thioether bridged 1,3-selenazole and 1,2,4-triazole derivatives and their inhibitory activity against cell division cycle phosphatase B (Cdc25B) [J]. *Chin J Org Chem (有机化学)*, 2020, 40: 432-439.
- [40] Guan Q, Cheng ZJ, Ma XX, et al. Synthesis and bioevaluation of 2-phenyl-4-methyl-1,3-selenazole-5-carboxylic acids as potent xanthine oxidase inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 85: 508-516.
- [41] Giffin MJ, Heaslet H, Brik A, et al. A copper(I)-catalyzed 1,2,3-triazole azide-alkyne click compound is a potent inhibitor of a multidrug-resistant HIV-1 protease variant [J]. *J Med Chem*, 2008, 51: 6263-6270.
- [42] Da Silva FD, De Souza MCBV, Frugulhetti IIP, et al. Synthesis, HIV-RT inhibitory activity and SAR of 1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazole derivatives of carbohydrates [J]. *Eur J Med Chem*, 2009, 44: 373-383.
- [43] Shalini K, Kumar N, Drabu S, et al. Advances in synthetic approach to and antifungal activity of triazoles [J]. *Beilstein J Org Chem*, 2011, 7: 668-677.
- [44] Shi AL, Wang DF, Wang H, et al. Synthesis and bioevaluation of 2-phenyl-5-methyl-2*H*-1,2,3-triazole-4-carboxylic acid/carbohy-

- drazide derivatives as potent xanthine oxidase inhibitors [J]. RSC Adv, 2016, 6: 114879-114888.
- [45] Zhang TJ, Wu QX, Li SY, et al. Synthesis and evaluation of 1-phenyl-1*H*-1,2,3-triazole-4-carboxylic acid derivatives as xanthine oxidase inhibitors [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2017, 27: 3812-3816.
- [46] Douche D, Sert Y, Brandan SA, et al. 5-((1*H*-Imidazol-1-yl) methyl) quinolin-8-ol as potential antiviral SARS-CoV-2 candidate: synthesis, crystal structure, Hirshfeld surface analysis, DFT and molecular docking studies [J]. J Mol Struct, 2021, 1232: 130005.
- [47] Daraji DG, Rajani DP, Rajani SD, et al. Structure based design, synthesis, and biological evaluation of imidazole derivatives targeting dihydropteroate synthase enzyme [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2021, 36: 127819.
- [48] Chen SL, Zhang TJ, Wang J, et al. Synthesis and evaluation of 1-hydroxy/methoxy-4-methyl-2-phenyl-1*H*-imidazole-5-carboxylic acid derivatives as non-purine xanthine oxidase inhibitors [J]. Eur J Med Chem, 2015, 103: 343-353.
- [49] Zhou HY, Li XL, Zhu XY, et al. Synthesis and bioevaluation of 1-phenylimidazole-4-carboxylic acid derivatives as novel xanthine oxidoreductase inhibitors [J]. Eur J Med Chem, 2020, 186: 111883.
- [50] Damle B, Varma MV, Wood N. Pharmacokinetics of voriconazole administered concomitantly with fluconazole and population-based simulation for sequential use [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55: 5172-5177.
- [51] Schachter M. Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update [J]. Fund Clin Pharmacol, 2005, 19: 117-125.
- [52] Sandmann G. Bleaching activities of substituted pyrimidines and structure-activity comparison to related heterocyclic derivatives [J]. Pest Biochem Physiol, 2001, 70: 86-91.
- [53] Haque J, Ansari KR, Srivastava V, et al. Pyrimidine derivatives as novel acidizing corrosion inhibitors for N80 steel useful for petroleum industry: a combined experimental and theoretical approach [J]. J Ind Eng Chem, 2017, 49: 176-188.
- [54] Peng YJ, Guo ZB, Lin SY, et al. Synthesis and anti-tumor activities of novel aminopyrimidincyclopenta[b]oxindole derivatives [J]. Chin J Synth Chem (合成化学), 2020, 28: 569-576.
- [55] Shi AL, Zhang LC, Wang H, et al. Design, synthesis and bioevaluation of 2-mercapto-6-phenylpyrimidine-4-carboxylic acid derivatives as potent xanthine oxidase inhibitors [J]. Eur J Med Chem, 2018, 155: 590-595.
- [56] Mao Q, Dai XW, Xu GY, 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.
- [57] Zhang TJ, 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.
- [58] Labib MB, Fayeze AM, El-Nahass E, et al. Novel tetrazole-based selective COX-2 inhibitors: design, synthesis, anti-inflammatory activity, evaluation of PGE2, TNF- α , IL-6 and histopathological study [J]. Bioorg Chem, 2020, 104: 104308.
- [59] Shekouhy M, Karimian S, Moaddeli A, et al. The synthesis and biological evaluation of nucleobases/tetrazole hybrid compounds: a new class of phosphodiesterase type 3 (PDE3) inhibitors [J]. Bioorg Med Chem, 2020, 28: 115540.
- [60] Zhang B, Dai X, Bao ZY, et al. Targeting the subpocket 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.
- [61] Sun M, Zhao JX, 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.
- [62] B-Rao C, Kulkarni-Almeida A, Katkar KV, et al. Identification of novel isocytosine derivatives as xanthine oxidase inhibitors from a set of virtual screening hits [J]. Bioorg Med Chem, 2012, 20: 2930-2939.
- [63] Khanna S, Burudkar S, Bajaj K, et al. Isocytosine-based inhibitors of xanthine oxidase: design, synthesis, SAR, PK and *in vivo* efficacy in rat model of hyperuricemia [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2012, 22: 7543-7546.
- [64] Subhajt R, Bawneet KN, Manish KG, et al. Molecular docking studies on isocytosine analogues as xanthine oxidase inhibitors [J]. Drug Res, 2018, 68: 395-402.
- [65] Bajaj K, Burudkar S, Shah P, et al. Lead optimization of isocytosine-derived xanthine oxidase inhibitors [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2013, 23: 834-838.
- [66] Fan LL, Luo ZF, Li Y, et al. Synthesis and antifungal activity of imidazo[1,2-*b*] pyridazine derivatives against phytopathogenic fungi [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2020, 30: 127139.
- [67] Imran M, ASIF M. Study of various pyridazine and phthalazine drugs with diverse therapeutical and agrochemical activities [J]. Russ J Bioorg Chem, 2020, 46: 745-767.
- [68] Hu WN, Zhu M, Qi YY, et al. Synthesis and biological activity of novel 1,3,4-thiadiazole thioether pyridazinone derivatives [J]. Chin J Synth Chem (合成化学), 2021, 29: 7-13.
- [69] Zhang LC, Wang SB, Yang MZ, 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: 1818-1823.
- [70] Yonezawa S, Yamakawa H, Muto C, et al. Conformational restriction approach to BACE1 inhibitors II: SAR study of the isocytosine derivatives fixed with a *cis*-cyclopropane ring [J].

- Bioorg Med Chem Lett, 2013, 23: 2912-2915.
- [71] Ali MR, Kumar S, Afzal O, et al. Development of 2-(substituted benzylamino)-4-methyl-1,3-thiazole-5-carboxylic acid derivatives as xanthine oxidase inhibitors and free radical scavengers [J]. Chem Biol Drug Des, 2016, 87: 508-516.
- [72] Ali MR, Kumar S, Afzal O, et al. 2-Benzamido-4-methylthiazole-5-carboxylic acid derivatives as potential xanthine oxidase inhibitors and free radical scavengers [J]. Arch Pharm, 2017, 350: e1600313.
- [73] Zhang L, Yan DA, Tian JY, et al. Design, synthesis and biological evaluation of amide derivatives as xanthine oxidase inhibitors [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2017, 52: 952-958.
- [74] Kaur G, Singh JV, Gupta MK, et al. Thiazole-5-carboxylic acid derivatives as potent xanthine oxidase inhibitors: design, synthesis, *in vitro* evaluation, and molecular modeling studies [J]. Med Chem Res, 2020, 29: 83-93.