



تصميم و تحضير مجموعة من المركبات كمثبطات لانزيم Xanthine Oxidase

بلال جاسر محمد سرى سلام عبيد

جامعة الانبار - كلية التربية للبنات

الخلاصة:

تشتمل هذه الدراسة تصميم وتحضير مجموعة من المركبات التي يمكنها ان تعمل كمثبطات لانزيم الزانثين ويتم اختيار افضل المثبطات نظريا MOE وان تصميم المثبطات انجز من خلال البرنامج الحاسوبي XO المؤكسد لتحضر بعدها تم تشخيصها باستخدام اطياف الامتصاص للأشعة تحت الحمراء واطياف الرنين النووي المغناطيسي وتم اختبار فعالية المركبات المحضرة لتثبيط انزيم XO مختبريا والتحليل الدقيق للعناصر ^{13}C NMR و ^1H NMR.

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: ٢٠١٣/٠٠/٠٠
تاريخ القبول: ٢٠١٤/٠٥/٠٦
تاريخ النشر: ٢٠١٧/٠٥/٠٣
DOI:10.37652/juaps.2017.175957

الكلمات المفتاحية:

تصميم ،
تحضير ،
مثبطات لانزيم Xanthine Oxidase.

المقدمة:

يعتبر انزيم الزانثين المؤكسد هو المسؤول عن حاله المرضيه المعروفه باسم النقرس التي يسببها ترسب حامض⁽³⁾. اليوريك في المفاصل مما يؤدي الى التهاب مؤلم ان هذا الانزيم تولى اهتماما كبيرا بسبب دوره المحتمل في اصابة الانسجة والاعوية و كذلك دوره المحتمل في^(4,5). الامراض الالتهابية وفشل القلب المزمن بواسطة انزيم الزانثين المؤكسد (Reactive oxygen species ROS) ان انتاج اصناف الاوكسجين الفعالة وعواقبها الضارة دفعت التحقيقات لمعرفة قدرة بعض المركبات للسيطرة على واو تمنع نشاط الانزيم او لازالة XO هو مركب مماثل للبيورين وكان (1, 5-dihydro-4Hpyrazolo[3, 4-d] pyrimidin-4-one) الوبيريونول وكان حجر 1966 عام في FDA وافقت عليه منظمة الغذاء والدواء (XO) اول مثبط لانزيم الزانثين المؤكسد Hyperuricemia الاساس في الادارة السريرية لمرض النقرس والاضطرابات المرتبطة بفرط حامض اليوريك ولكن نظرا لفقدان فعالية ازالة الجذور الحرة لمكافحة الايونات السالبة لفوق الاكاسيد المنتجة يرتبط⁽⁴⁾. لعدة عقود استخدام الالوبيورينول مع بعض التأثيرات الجانبية التي تشمل الحساسية وتفاعلات فرط التحسس و اضطرابات⁽⁵⁾. الجهاز الهضمي والطفح الجلدي والتهاب كلوي خلالي حاد لذلك هنالك حاجة لتطوير مركبات جديدة يمكن استخدامها كمثبطات للانزيم والتخفيف من التأثيرات الجانبية. يتطلب اكتشاف العلاج الكثير من المال والوقت والجهد

هو بروتين فلافيني فلزي xanthine oxidoreductase (XOR) انزيم الزانثين المؤكسد المختزل شامل و الذي يظهر في شكلين يمكنهما التحول من احدهما الى الاخر داخليا الشكل metalloflavoprotein والذي يتم التعبير عنه بشكل xanthine dehydrogenase XD الاول الزانثين المختزل نازع الهيدروجين والذي يتولد (XO) xanthine oxidase اساسي في جسم الكائن الحي، والثاني الزانثين المؤكسد وان هذا التعديل يحدث عند تركيز منخفض من (XD) بواسطة تعديل بعد ترجمة الزانثين المختزل الاوكسجين⁽¹⁾. في وجود عدة وسطاء موالين للالتهاب يحفران اكسدة البيورينات الى حامض (XO) الزانثين المؤكسد و (XD) من الناحية الوظيفية كلاهما الزانثين المختزل اليوريك حيث يحولان الهايبوزانثين الى الزانثين وبعدئذ الزانثين الى حامض اليوريك. يتطلب الزانثين المختزل في المستقر NADH كمستقبل للإلكترونات لتلك التفاعلات المؤكسدة المختزلة وبالتالي توليد NAD^+ (XD) ويختزل الاوكسجين الجزيئي مولد جذر فوق NAD^+ غير قادر على استخدام (XO) حين ان الزانثين المؤكسد الاوكسيد عالي الفعالية⁽²⁾.

* Corresponding author at: Continuous Education Center, Mustansiriyah University, , Baghdad, Iraq;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5859-6212>. Mobil:777777
E-mail address: dean_coll.science@yahoo.com

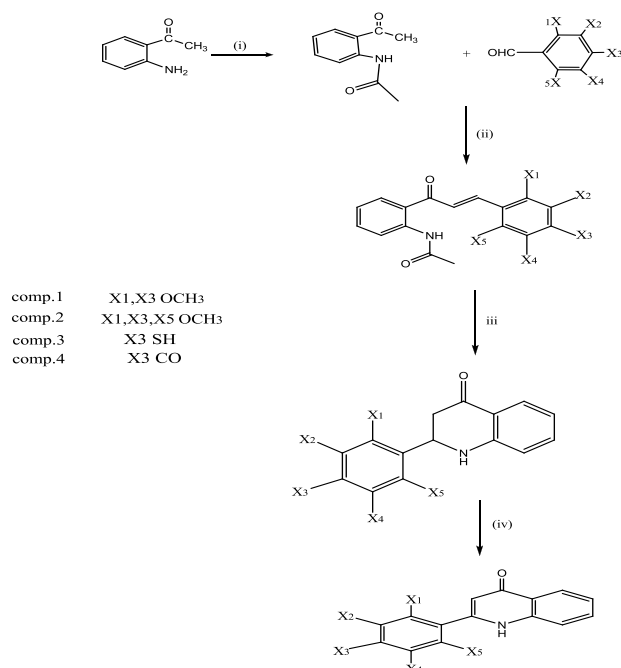
التفاعل على الماء البارد الجليدي و من ثم يرشح و تفصل المادة الصلبة صفراء اللون والتي يعاد بلورتها من الايثانول.

تحضير 2,3-dihydro-2-aryle quinolones

(١٠مل) يترك تحت التصعيد 5% ومحلول حامض الهيدروكلوريك Diaryl propenones (1 mmol) مزيج من العكسي لمدة ١٢ ساعة يحفظ مزيج التفاعل عند درجة حرارة الغرفة وبعدها يعادل بهيدروكسيد الامونيوم ويرشح الراسب الصلب المتكون ويعاد بلورته من الايثانول.

2-aryle -4- quinolones تحضير

عمل من في (1.5mmol) واليود 2,3-dihydro- (1 mmol) 2-aryle quinolones يوضع مزيج من وترفع درجة حرارة المزيج الى ٨٠°م في حمام زيتي لمدة ١٢ ساعة وعند الانتهاء يسكب مزيج التفاعل DMSO على محلول مشبع من ثايوكبريتات الصوديوم ويجمع الراسب المتكون ويتم تنقيته بواسطة كروماتوغرافيا العمود⁽¹⁰⁾. مع زيادة نسبة الاثيل اسيات في الهكسان كسائل الجري (60x20 mesh) السليكا جل.



Reagent and condition (i) (CH₃CO)₂O, C₆H₅N, MeOH, stirring, 70°C, 6h; (ii) MeOH, 5% NaOH, stirring, rt, 6h; (iii) EtOH, 5% HCl, reflux, 12h; (iv) DMSO, I₂, reflux, 12h.

الشكل (1) مخطط تحضير مشتقات aza-flavone

ولكن نتيجة للتطور الحاصل في التقنيات الحاسوبية فان عملية اكتشاف العلاج اصبحت مدمجة مع مساعدة الحاسوب وان عملية اكتشاف العلاج بمساعدة الحاسوب تتضمن^(8,9). التنبؤ بالفعالية البيولوجية للمركبات بواسطة العلاقة الكمية ما بين الهيكل والنشاط والالتحام الجزيئي Molecular المصممة باستخدام البرنامج النظري aza-flavone وتتضمن فرضية البحث بان مشتقات يمكن ان تكون لها فعاليات مؤثرة كمثبطات لانزيم الزانثين المؤكسد وذلك Operating Environment MOE استنادا الى نتائج البرنامج النظري.

المواد و طرائق العمل

الالتحام الجزيئي

بنك بيانات من (1FIQ:PDB) رمز (XO) لقد تم تحميل الهيكل البلوري ثلاثي الابعاد لانزيم الزانثين المؤكسد على ChemBioDraw Ultra11.0 الانترنت وتم بناء هيكل ثنائي الابعاد للمركبات باستخدام برنامج PDB البروتين وتم اضافة ذرات الهيدروجين الى الهيكل البلوري برنامج MOE 2009.10 واجري الالتحام الجزيئي باستخدام برنامج FeS و FAD للانزيم وبعدها تم حذف جزيئات الماء والجزيئات الاخرى الموجودة ضمن تركيب الانزيم وهي جزيئة وجزيئات اخرى للبقاء على الموقع الفعال فقط ثم اجري اعادة الالتحام للانزيم مع المركب الموجود ضمن التركيب البلوري له والذي هو حامض الساليسيك ومن ثم اجري الالتحام الجزيئي للمركبات المصممة من اجل تثبيط الانزيم.

تحضير N-(2-acetyl phenyl acetamide

(٥مل) من انهيدريد حامض الخليك و 15 و (13.5 غرام) 0.1 2-aminoacetophenone يوضع مزيج من مع التحريك المستمر وبعدها يسكب 70°م (مل) من البريديين و (١٥ مل) من الميثانول في حمام زيتي عند خليط التفاعل على الثلج و يجمع الراسب المتكون و يبلور من الايثانول.

Diaryl propenones تحضير

(5%, ٥ مل) ببطء الى ورق مخروطي سعة (١٠٠مل) يحوي محلول يضاف محلول هيدروكسيد الصوديوم المائي (مل) من الميثانول يستمر التحريك لمدة ٦ (20 في) (1mmol) التحريك المكون من الديهايدات الاروماتي الاربعة ساعات بدرجة حرارة الغرفة وعند الانتهاء يسكب مزيج

تنشيط الانزيم

الاصابة بامراض القلب والشرابين والسكري^(١٦-١٩) وان حامض اليوريك يؤدي الى امراض الكلى المزمنة^(٢٠,٢١) وكذلك ينشط انزيم الزانثين المؤكسد المختزل الالتهاب من خلال انتاجه لاصناف الاوكسجين XO الفعالة^(٢٢-٢٦) وان استخدام مثبطات انزيم الزانثين المؤكسد لدى المرضى الذين يعانون من زيادة نشاط انزيم مفيدة جدا لانها تمتلك اثار جانبية اقل بالمقارنة مع مضادات الالتهاب والمدرات التي تعطى اما لتقليل الالتهاب الذي يعاني XO الناجم والتخلص من حامض اليوريك الزائد في الجسم ومن امثلة مثبطات انزيم الالوبيورينول بدوره من اثار جانبية عديدة منها متلازمة فرط الحساسية^(٢٧) وبالتالي هنالك حاجة لتطوير مركبات جديدة تمتلك فعالية تنشيط انزيم الزانثين المؤكسد وتخلو من الاثار الجانبية.

يمكن ان تكون مثبطات انزيم الزانثين المؤكسد بيورينية او غير بيورينية وان المركبات المصممة لتنشيط الانزيم هي غير بيورينية باستخدام اربع الديهايدات اروماتية كما هو مبين في المخطط (١).

ان المركبات المختارة من اجل تنشيط الانزيم صممت باستخدام البرنامج الحاسوبي وكانت نتائج الالتحام الجزيئي مع الموقع الفعال للانزيم ناجحة لبعضها مختبريا. XO وتم تحضيرها و تم قياس مدى فاعليتها لتنشيط انزيم (Operating Environment Molecular MOE).

الالتحام الجزيئي

استخدم الالتحام الجزيئي لبيان كيفية تداخل المركبات المختارة للتنشيط مع الموقع الفعال لجزيئة انزيم الزانثين وتعيين الاحماض الامينية الحاسمة في عملية الارتباط ما بين المثبط والانزيم بعد ان تم ازالة IFIQ المؤكسد جزيئات الماء والجزيئات الاخرى الموجودة ضمن التركيب البلوري للانزيم تم اجراء اعادة الالتحام لحامض IFIQ السالسيك الموجود ضمن التركيب البلوري ان تحليل نماذج معقدات الانزيم \ الليكاند المتولدة من الالتحام الناجح للمركبات يعتمد على المتغيرات مثل تداخل (الجزر التريبيعي لمتوسط الانحراف) لمخلفات الموقع الفعال وتوجه المركبات RMSD الاصرة الهيدروجينية والملتزمة داخل الموقع الفعال^(٢٨) ودالة التهديد المعتمدة على متغيرات عديدة مثل الانتروبي^(٢٩).^(٣٠) ان عملية الالتحام الجزيئي تكون ناجحة عندما تكون قيمة RMSD اقل من 2.0 Å.

البقري XO قيسست فعالية انزيم الزانثين المؤكسد) طيفيا من خلال قياس تكون حامض اليوريك عند grade1, ammonium sulfate suspension (باستخدام مطياف المرئي-الاشعة فوق البنفسجية. حضر النموذج والدواء القياسي الالوبيورينول 290 nm بحيث لا يتجاوز DMSO (من لتحليل المختبري من خلال اذابة النموذج في حجم صغير 1mg/ml (allopurinol). يحتوي pH 7.5 من الحجم الكلي) اولا ومن ثم يكمل الى الحجم المطلوب بمحلول بفر فوسفات البوتاسيوم (KH₂PO₄) pH 7.5 5% من بفر (2.9 ml) و 0.05-100 µM من محلول الاختبار 1ml مزيج التفاعل على KH₂PO₄ pH 7.5 بفر في (0.1ml من محلول انزيم الزانثين المؤكسد (0.1ml و 1 M KOH عدلت مع مع المركبات المحضرة المذابة في (15 min) لمدة وان المزيج يحضر قبل الاستخدام بقليل ويحضر مسبقا من الزانثين 150 mM من محلول المادة الاساس ((2ml) ان التفاعل يبدأ عند اضافة DMSO (5% v/v) وانهي التفاعل باضافة (10 min) ان مزيج التفاعل حضن لمدة pH 7.5). في بفر فوسفات البوتاسيوم blank مقابل 290 nm. قيسست الامتصاصية عند (0.58M) من حامض الهيدروكلوريك بتركيز (0.5 ml) (محلول بفر) والنسبة المئوية للتنشيط حسب اعتمادا على المعادلة الاتية^(١١-١٤):

$$\% \text{ of inhibition} = [1 - B/A] \times 100$$

عندما تكون:

(a-b) هي الامتصاصية مع النموذج B

XO هي الامتصاصية مع الانزيم a

XO الامتصاصية بدون الانزيم b

(c-d) الامتصاصية بدون النموذج A

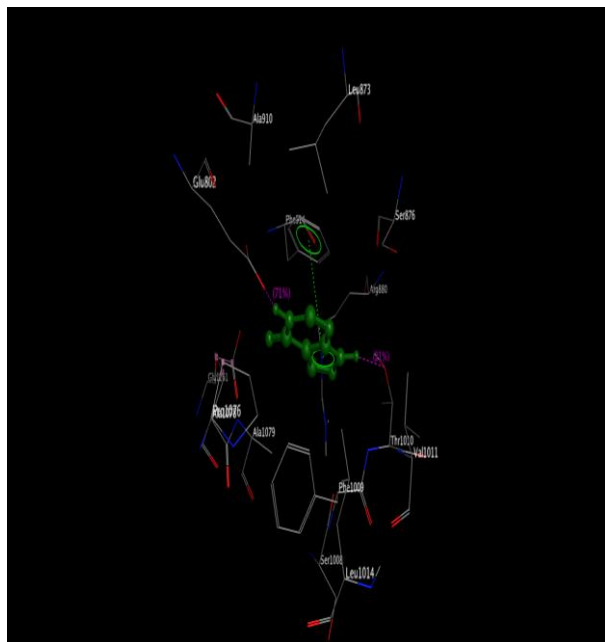
XO الامتصاصية مع الانزيم c

XO الامتصاصية بدون الانزيم d

النتائج و المناقشة

ان زيادة نشاط انزيم الزانثين المؤكسد يؤدي الى زيادة في مستويات حامض اليوريك^(١٥) وبالتالي يؤدي الى النقرس والى زيادة خطر

الاميني $2.19 \text{ \AA}$ يبلغ طولها Thr1010 الحامض الاميني $1.9 \text{ \AA}$ و يبلغ طولها Glu802 .



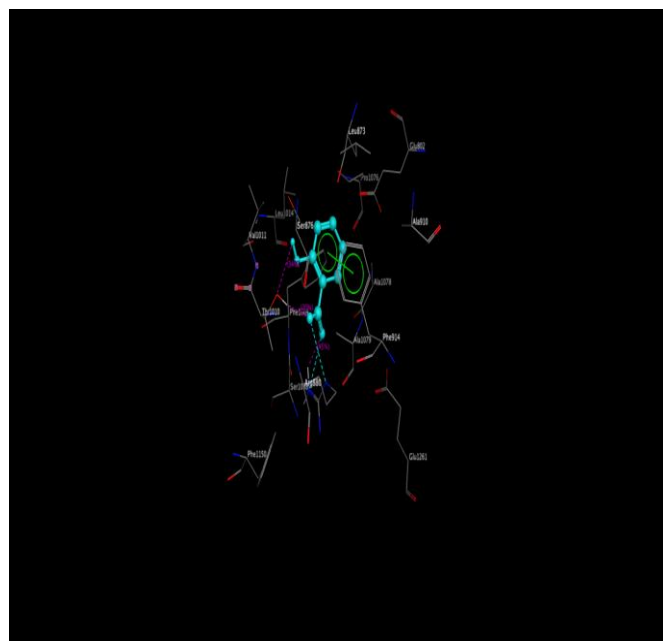
الشكل (3) التحام الالوبيورينول مع الموقع الفعال لانزيم XO

اربع تداخلات التداخل الاول هو تداخل اروماتي - اروماتي ما بين XO ان المركب الاول يتداخل مع انزيم والتداخلات الثاني والثالث والرابع هي اواصر Phe914 للحامض الاميني phenyl الحلقة السادسة للمركب و Thr1010 هيدروجينية ما بين مجموعة الكاربونيل للحلقة السادسة للمركب ومجموعة الهيدروكسيل للحامض الاميني والتداخل الثالث ما بين اوكسجين مجموعة الميثوكسي للمركب مع مجموعة $2.72 \text{ \AA}$ و يبلغ طول هذه الاصرة والتداخل الرابع ما بين نتروجين الكونولين للمركب و يبلغ طولها $2.45 \text{ \AA}$ و يبلغ طولها Ser876 الهيدروكسيل للحامض الاميني . و يبلغ طولها Glu802 ومجموعة الكاربونيل الحامض الاميني $1.95 \text{ \AA}$

جدول (١) نتائج الالتحام الجزيئي

Compound	Score of Energy (S)	Root mean square deviation (RMSD)
Salicylic acid	-7.001	0.4587
Allopurinol	-13.7696	0.6909
copm.١	-9.3029	2.3849
copm.٢	45.2722	0.9984
copm.٣	-7.0181	1.1611
copm.٤	- 10.8658	0.6879

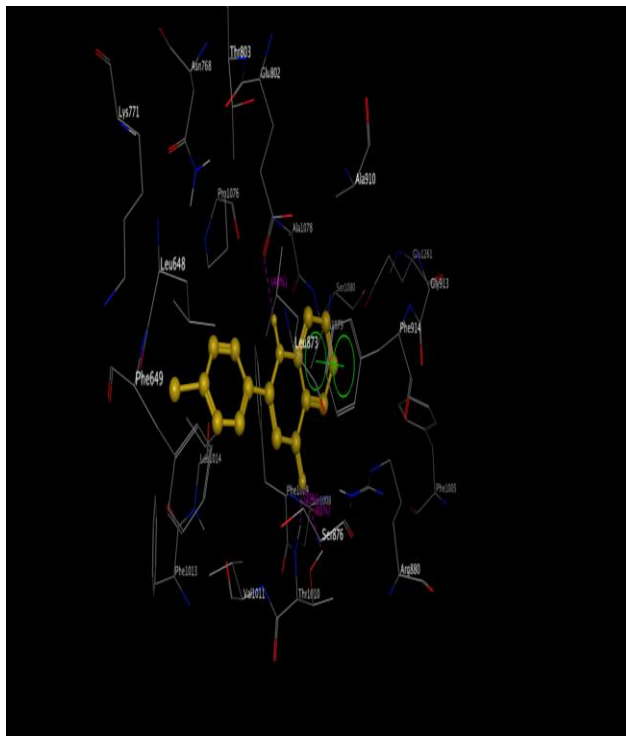
ان حامض السلساليك يتداخل مع الموقع الفعال للانزيم من خلال خمسة تداخلات الاول تداخل اروماتي - اروماتي والتداخل الثاني والثالث هو اصرة Phe914 الاميني للحامض phenyl ما بين حلقة البنزين للسلساليك و $2.8 \text{ \AA}$ والثانية $3.6 \text{ \AA}$ و يبلغ طول الاصرة الاولى Arg 880 هيدروجينية ما بين السلساليك والحامض الاميني يبلغ طولهما Thr1010 اما التداخل الرابع والخامس فهو اصرتين هيدروجينيتين مع الحامض الاميني $2.22 \text{ \AA}$ و $2.88 \text{ \AA}$



الشكل (2) التحام حامض السلساليك مع الموقع الفعال لانزيم XO

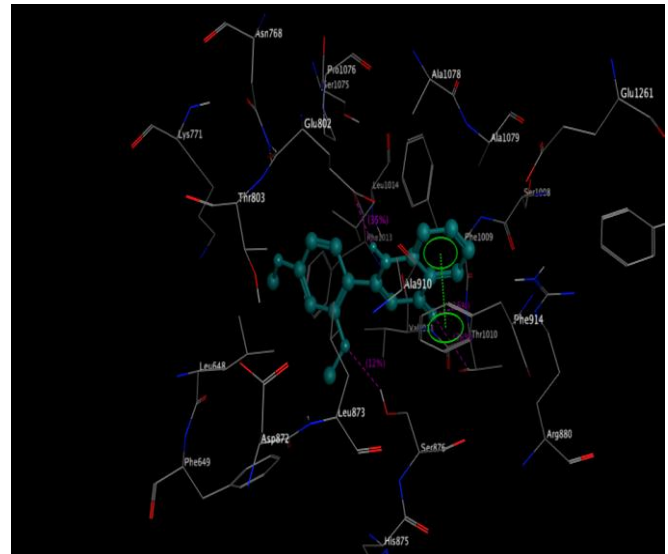
يتداخل مركب الالوبيورينول مع الموقع الفعال للانزيم من خلال ثلاثة تداخلات التداخل الأول هو اروماتي - اروماتي والتداخل الثاني هو اصرة هيدروجينية مع Phe914 للحامض الاميني phenyl ما بين حلقة البيورين الخامسة والتداخل الثالث هو اصرة هيدروجينية مع الحامض

يتداخل المركب الثالث ثلاثة تداخلات مع جزيئة الانزيم الاول هو تداخل اروماتي - اروماتي ما بين مجموعتي و التداخل الثاني هو اصرة هيدروجينية ما بين مجموعة الكاربونيل Phe914 للمركب و للحامض الاميني phenyl وكذلك التداخل الثالث هو $2.47 \text{ \AA}$ و يبلغ طولها Thr1010 للمركب و مجموعة الهيدروكسيل للحامض الاميني و يبلغ طولها Glu802 اصرة هيدروجينية ما بين نتروجين الكوينولين للمركب و مجموعة الكاربونيل للحامض الاميني $1.96 \text{ \AA}$.



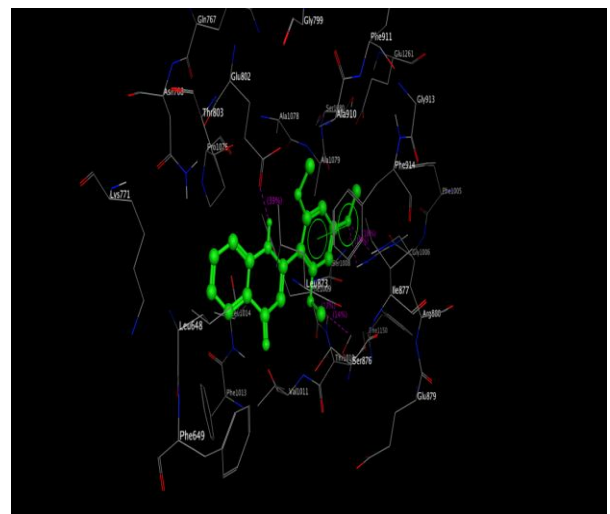
الشكل (٦) التحام المركب الثالث مع الموقع الفعال لانزيم XO

phenyl يتداخل المركب الرابع مع انزيم الزانثين ثلاثة تداخلات الاول هو اروماتي - اروماتي ما بين مجموعتي والارتباط الثاني والثالث هو اصرة هيدروجينية ما بين مجموعة Phe914 للكوينولين للمركب وللحامض الاميني $2.08 \text{ \AA}$ و $2.18 \text{ \AA}$ و يبلغ طولها Arg 880 الكاربونيل للمركب و مجموعة الكواندين للحامض الاميني.



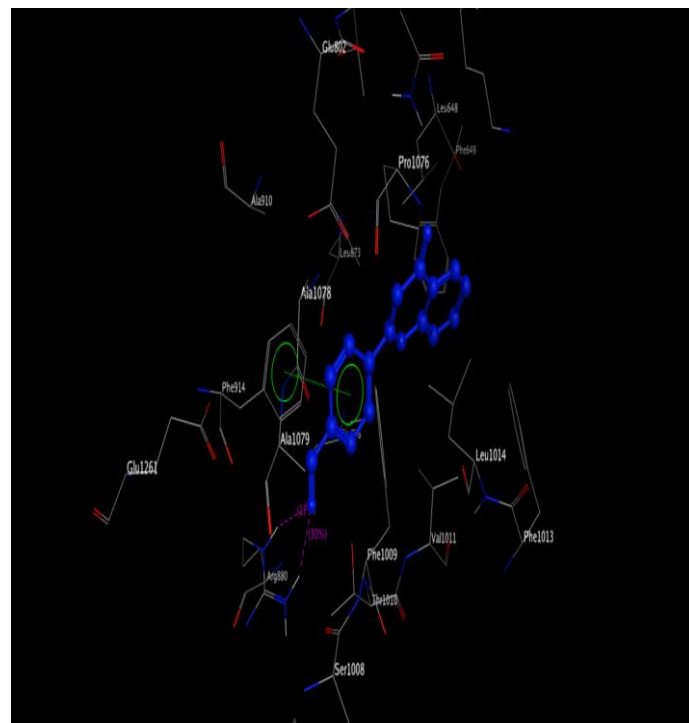
الشكل (4) التحام المركب الاول مع الموقع الفعال لانزيم XO

للمركب والحامض phenyl يتداخل المركب الثاني مع جزيئة الانزيم تداخل اروماتي - اروماتي ما بين مجموعتي و التداخل الثاني هو اصرة هيدروجينية ما بين مجموعة الميثوكسي للمركب و مجموعة Phe914 الاميني والثالث ايضا اصرة هيدروجينية ما بين $3.24 \text{ \AA}$ و يبلغ طول هذه الاصرة Thr1010 الهيدروكسيل للحامض الاميني و اصرة $1.61 \text{ \AA}$ يبلغ طولها Glu802 نتروجين مجموعة الكوينولين و مجموعة الكاربونيل للحامض الاميني يبلغ طولها Arg880 هيدروجينية اخرى ما بين مجموعة الميثوكسي و مجموعة الكواندين للحامض الاميني $2.48 \text{ \AA}$.



الشكل (5) التحام المركب الثاني مع الموقع الفعال لانزيم XO

بواسطة سلسلة من التفاعلات كما موضح بالمخطط ابتداء من ادخال 2-aryl-4- quinolones حضرت لضمان عدم تكون اليمين عندما يتكاثف مع مختلف 2-aminoacetophenone مجموعة الاستيل الى المحفز claisen- Schmidt حضرت من خلال تكاثف Diaryl propenones الالديهيدات المعوضة كل بوجود الحامض 2- aryl tetrahydroquinolones لينتج Diaryl propenones بالقاعدة ويعدها تكون حلقة في كعامل مساعد وفي نفس الوقت تزال الحماية من الامين المضاف اليها مجموعة الاسيتايل و تخضع الى الاضافة 2-aryl aryleTetrahydroquinolones بيتا على نظام الاينون ويعدها تحصل عملية انتزاع الهيدروجين من باستخدام اليود الجزيئي (١٠) . dihydroquinolones لينتج باستخدام طيف الاشعة تحت الحمراء و طيف الرنين النووي المغناطيسي aza-flavon تم تشخيص مشتقات وكانت القيم للمركبات الاربعة كالآتي : C.H.N و $^{13}\text{C-NMR}$ و $^1\text{H-NMR}$

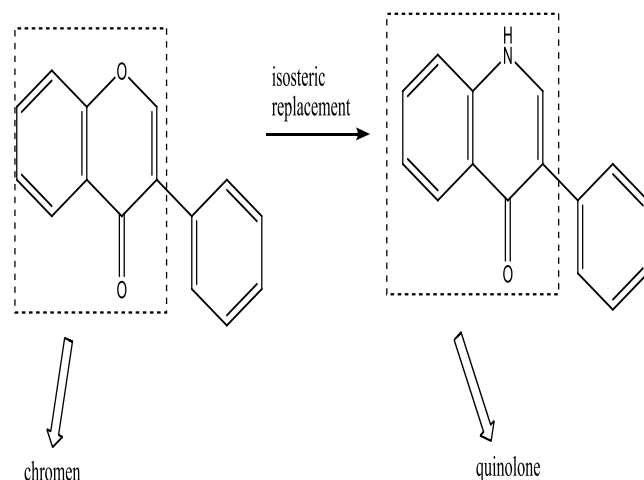


الشكل (٧) التحام المركب الرابع مع الموقع الفعال لانزيم XO

تحضير مشتقات aza-flavone

2-aryl-4- (المعروفة بـ a-flavon) استبدال تتضمن مركبات quinolones

مجموعة الكرومونات في الفلافونات بمجموعة الكوينول و كل منهما نظير للاخر مع الاحتفاظ بالشكل و الملامح التركيبية للفلافونات المسؤلة عن فعالية التثبيط كما هو موضح بالشكل (٨).



الشكل (٨) استبدال نواة الكرومونات بالكوينول

Compound 1

IR: 3322 (N-H str), 1693 (C=O str) , $^1\text{H-NMR}$: 3.8(s,6H,OCH₃),4 (s,1H,N-H),6.4-7.8(aromatic hydrogen,8H), $^{13}\text{C-NMR}$: 182(C=O), 97-158(aromatic carbon), 56(aliphatic carbon, OCH₃),Anal.calcd.for C₁₇H₁₅NO₃:C, 72.58; H,5.37;N,4.98,found: C, 73.25; H,4.77;N,3.45.

Compound 2

IR: 3327 (N-H str), 1687 (C=O str) , $^1\text{H-NMR}$: 3.8(s,9H,OCH₃),4 (s,1H,N-H),6.1-7.8(aromatic hydrogen,8H), $^{13}\text{C-NMR}$: 182(C=O), 97-160(aromatic carbon), 56(aliphatic carbon, OCH₃), Anal.calcd.for C₁₈H₁₇NO₄:C, 69.44; H,5.50;N,4.50,found: C, 70.65; H,4.98;N,4.12.

Compound 3

IR: 3335 (N-H str), 1679 (C=O str) , $^1\text{H-NMR}$: 3.4(s,1H,SH),4 (s,1H,N-H),6.6-7.8(aromatic hydrogen,9H) , $^{13}\text{C-NMR}$: 182(C=O), 97-145(aromatic carbon) Anal.calcd.for C₁₅H₁₁NOS:C, 71.12; H,4.38;N,5.53,found: C, 72.87; H,3.98;N,5.21.

Compound 4

IR: 3339 (N-H str), 1690 (C=O str), $^1\text{H-NMR}$: 4 (s,1H,N-H),6.6-9.9(aromatic hydrogen,9H), $^{13}\text{C-NMR}$: 191, 182(C=O), 97-145(aromatic carbon) Anal. calcd.for C₁₆H₁₁NO₂:C, 77.10; H,4.45;N,5.62,found: C, 78.08; H,4.23;N,4.48.

تنشيط الانزيم مختبريا

نظرا لكون انزيم الزانثين المؤكسد هو المسؤول عن تحول الزانثين الى حلمض اليوريك فقد تم قياس تنشيط الانزيم (grade 1, ammonium sulfate) مختبريا للمركبات المحضرة باستخدام انزيم الزانثين المؤكسد بالطريقة الطيفية من خلال حساب نسبة التنشيط المثوية للمركبات المحضرة و بتركيز مختلفة و (suspension استخدم الالوبيورينول كمثبط قياسي في الدراسة .

aza-flavon وان النتائج مبينة في الشكل من بين مشتقات aza-flavon تم قياس تنشيط الانزيم مختبريا لمشتقات المحضرة كان المشتق الثالث (المركب السابع) (المعوض بمجموعة الثايل على الموقع ٤) هو الاكثر فعالية تنشيطية و كان المركب الخامس (المعوض $IC_{50} = 6.8$ وهي مقارنة للالوبيورينول $IC_{50} = 7.6$ حيث كانت XO لانزيم وهي ايضا $IC_{50} = 8$ حيث كانت XO ايضا له فعالية تنشيطية لانزيم 2,4) ميثوكسي في الموقعين بمجموعتي مقارنة للالوبيورينول .

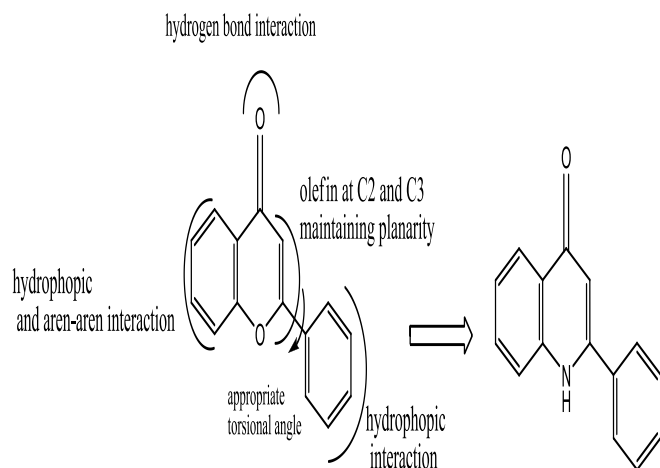
و معوض على حلقة aza-flavon ان هذه النتائج تتفق مع النتائج التي تم التوصل اليها عندما حضرت مشتقات مجموعة الفينيل مجموعة ميثوكسي في مواقع مختلفة من الحلقة حيث بين بان التعويض بمجاميع منشطة مثل اما التعويض بمجاميع تزيل التنشيط مثل الكلور و XO الميثوكسي على مجموعة الفينيل يزيد من فعالية تنشيط انزيم . ان وجود تعويض الميثوكسي و موقعه على مجموعة XO الفلور على مجموعة الفينيل تقلل من فعالية تنشيط انزيم الفينيل يلعب دورا مهما على فعالية التنشيط فاذا كانت مجموعة الميثوكسي معوضة على حلقة الفينيل و في الموقع بارا فانها سوف تؤدي الى تحسين فعالية التنشيط بشكل ملحوظ وذا يمكن ان ينسب الى اندفاع الالكترونات من قبل و التي تحسن من صلابة الجزيئة باتجاه التركيب المستوي quinoid مجموعة الميثوكسي و التي تؤدي الى تكوين ولكن اذا كانت مجموعة الميثوكسي معوضة على حلقة الفينيل في الموقع اورثو فانها لا تظهر اي تحسين في فعالية التنشيط و تشابه تلك الغير معوضة على حلقة الفينيل وان وجود مجموعة ميثوكسي اضافية لا يحسن من فعالية التنشيط^(١٠).

اما المركب السادس و الثامن فقد كانت الفعالية التنشيطية لهما ضعيفة بالمقارنة مع المركبين الخامس و السابع .

هنالك اعتبارات ضرورية من اجل فعالية aza-flavon او 2-aryl-4-quinolone نظرا للهيكل التركيبي لمركبات مثل XO الفلافونات لتنشيط انزيم

aren-aren.

١. النواة ثنائية الحلقة من اجل التداخل الهيدروفوبي و تداخل محتقطة بالاستوائية للجزيئات المصممة. 2,3.
٢. مركز اوليفيني عند ذرتي الكربون.
٣. مجموعة كاربونيل وظيفية موقعها مناسب لتكون تداخل الاصرة الهيدروجينية.
٤. زاوية التواء مناسبة torsional angle.
٥. موقع مجموعة الاريل مناسب للتداخل الهيدروفوبي يخفض من الفة الارتباط للفلافونات (٣١-٣٣)
٦. التعويض الحر على مركز الكربون.



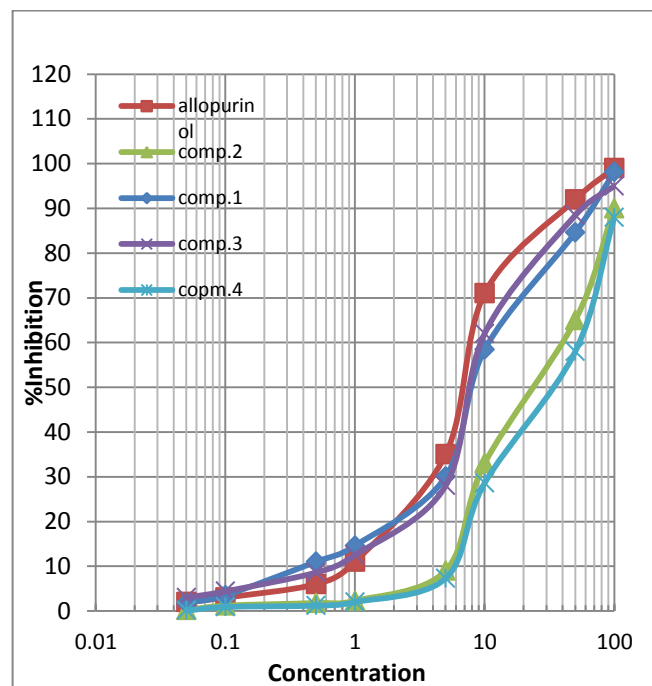
الشكل (٩) التداخلات الرئيسية و الملامح التركيبية لمشتقات aza-flavon

جدول (٢) قيم IC_{50} المحسوبة مختبريا لمشتقات aza-flavon

Compound	$IC_{50} \mu M$
Comp. 1	8
Comp. 2	25.5
Comp. 3	7.6
Comp. 4	36.4

1. Comp. 1 : 2,4-Dimethoxy benzaldehyde.
2. Comp. 2 : 2,4,6- Trimethoxy benzaldehyde.
3. Comp. 3 : 4-Mercaptobenzaldehyde.
4. Comp. 4 : 4-Formylbenzaldehyde.

- scavenging activity, Structural studies and cytotoxicity evaluation. J Inorg Biochem. 2007;101:849-858.
8. Congreve M, Marshall F et al. The impact of GPCR structures on pharmacology and structure-based drug design. Br. J. Pharmacol. 2010; 159:986–996.
 9. Vilar S, Cozza G, Moro S., et al. Medicinal Chemistry and the Molecular Operating Environment (MOE): Application of QSAR and Molecular Docking to Drug Discovery. Curr. Top. Med. Chem. 2008;8:1555.
 ١٠. Dhiman R. , Sharma S.,et al . Design and synthesis of aza – flavones as new class of xanthine oxidase inhibitors . Arch . Pharma. Chem. Life Sci.2013,346,7-16.
 11. Vogel, H.G Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assay,2003; 2nd edition, Springer-Verlag, 1043.
 12. M. U Maheshwari, K. Kumar, Xanthine oxidase inhibitory activity of some Indian medical plants. Journal of Ethnopharmacology. 2007; 109:547.
 13. Kong, L.D., Y. Cai, et al. Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout. J. Ethnopharmacol. 73: 199–207, 2000.
 14. Nagamatsu T., Yamasaki H., et al. Novel xanthine oxidase inhibitor studies. Part 2. Synthesis and xanthine oxidase inhibitory activities of 2-substituted 6-alkylidenhydrazino- or 6-arylmethylidenhydrazino-7H-purines and 3- and/or 5-substituted 9H-1,2,4-triazolo[3,4-i] purines. Journal of Chemical Society,1999; 1: 3117.
 15. Umamaheswari M. , Madeswaran A., et al .In Silico Docking Studies and In Vitro Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Commercially Available Flavonoids and Polyphenolic Compounds.Journal of Pharmacy Research 2011,4(10),3460-3462.
 ١٦. Amat N. , Umar A., et al. Traditional Uighur Medicine Karapxa decoction,inhibits liver xanthine oxidase and reduces serum uric acid concentrations in hyperuricemic miceand scavenges free radicals in vitro. Amat et al. BMC Complementary and Alternative Medicine (2015) 15:131.
 ١٧. El-Bassossy H. M., and Watson M. L. Xanthine oxidase inhibition alleviates the cardiac complications of insulin resistance: effect on low grade inflammation and the angiotensin system. El-



(١٠) النسبة المئوية لتثبيط الانزيم بالنسبة لمشتقات aza- flaone
الشكل

المصادر

1. Meneshian A, Bulkley GB et al. The physiology of endothelial xanthine oxidase: from urate catabolism to reperfusion injury to inflammatory signal transduction. Microcirculation (2002): 9: 161-75.
2. Harrison R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: Where are we now? Free Rad Biol Med. 2002;33:774-797.
3. Zhong-Lu You, Da-Hua Shi, Chen Xu, et al. Schiff base transition metal complexes as novel inhibitors of xanthine oxidase. Eur. J. Med. Chem. 2008;43:862-871.
- 4 . Doehner W, Anker SD et al . Xanthine oxidase inhibition for chronic heart failure:is allopurinol the next therapeutic advance in heart failure. Heart. 2005;91:707-709.
5. Berry CE, Hare JM et al. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications .J Physiol. 2004;555:589-606.
- 6 . Lee C, Liu Xk, Zweier JL., et al. Regulation of xanthine oxidase by nitric oxide and Peroxynitrite. J Biol Chem. 2000;275:9369-937.
- 7 . Fernandes AS, Gaspar J, Cabral MF,et al. Macrocyclic copper (II) Complexes: superoxide

- NADPH Oxidase Stimulation by Xanthine Oxidase. PLoS ONE 10(3) , 12 pages.
٢٦. Yamaguchi M, Okamoto K., et al . (2015) The Effects of Xanthine Oxidoreductase Inhibitors on Oxidative Stress Markers following Global Brain Ischemia Reperfusion Injury in C57BL/6 Mice. PLoS ONE 10(7), 14 pages.
 ٢٧. Rajan T. , and Muthukrishnan S.. Molecular docking studies of xanthine oxidase inhibitors identified from PSEUDARTHRIA VISCIDA. Thinagaran Rajan and Suriyavathana Muthukrishnan. / European Journal of Molecular Biology and Biochemistry. 2014;1(1):1-6.
 ٢٨. Azam F., Prasad M.V.V. , et al . Molecular docking studies of 1-(substituted phenyl)-3-(naphtha [1, 2-d] thiazol-2-yl) urea/thiourea derivatives with human adenosine A2A receptor. Bioinformation. 2011, 6, 330.
 ٢٩. Krovat E. M., Steindl T., et al. Recent Advances in Docking and Scoring . Current Computer-Aided Drug Design, 2005, 1, 93-102.
 ٣٠. Boström J , Greenwood J.R., et al . Assessing the performance of OMEGA with respect to retrieving bioactive conformations. J Mol Graph Model. 2003;21:449.
 ٣١. Cos P., Ying L.,et al. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and super oxide scavengers. J Nat Prod, 61 (1998), pp. 71–76.
 ٣٢. da Silva S.L., da Silva A.,et al. The influence of electronic, steric and hydrophobic properties of flavonoid compounds in the inhibition of the xanthine oxidase. Journal of Molecular Structure (Theochem) 684 (2004) 1–7.
 ٣٣. Lin C.M., Chen C.S., et al. Molecular modeling of flavonoids that inhibits xanthine oxidase. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2002;294:167- 172.
 - Bassossy and Watson Journal of Translational Medicine (2015) 13:82.
 1٨. Sagor Md., Tabassum N., et al . Xanthine Oxidase Inhibitor, Allopurinol, Prevented Oxidative Stress, Fibrosis, and Myocardial Damage in Isoproterenol Induced Aged Rats. Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume 2015, Article ID 478039, 9 pages.
 1٩. Kim Bo S., Serebreni L., et al . Cyclin-Dependent Kinase Five Mediates Activation of Lung Xanthine Oxidoreductase in Response to Hypoxia. PLoS ONE 10(4) , 2015, 1-18 .
 - ٢٠ . Giordano C., Karasik O., et al. Uric Acid as a Marker of Kidney Disease: Review of the Current Literature. Hindawi Publishing Corporation Disease Markers Volume 2015, Article ID 382918, 6 pages.
 ٢١. Susic D. and Frohlich E. D. . Hyperuricemia: A Biomarker of Renal Hemodynamic Impairment. Cardiorenal Med 2015;5:175–182.
 ٢٢. Ives A., Nomura J., et al. Xanthine oxidoreductase regulates macrophage IL1 β secretion upon NLRP3 Activation. NATURE COMMUNICATIONS , 2015, 6:6555, 1-11.
 ٢٣. Cecerska-Hery T., Jesionowska A., et al. Xanthine Oxidoreductase Reference Values in Platelet-Poor Plasma and Platelets in Healthy Volunteers. Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume 2015, Article ID 341926, 6 pages.
 ٢٤. Weidert E.R., Schoenborn S.O., et al. Inhibition of xanthine oxidase by the aldehyde oxidase inhibitor raloxifene: Implications for identifying molybdopterin nitrite reductases. Nitric Oxide. 2014 February 15; 37: 41–45.
 ٢٥. Nanduri J., Vaddi D. R., et al. (2015) HIF-1 α Activation by Intermittent Hypoxia Requires

DESIGN AND PREPARATION SET OF COMPOUNDS AS INHIBITOR OF XANTHINE OXIDASE

BILAL JASIR MOHAMMED SUR A SALAM UBAID

E.mail : dean_coll.science@uoanbar.edu.iq

ABSTRACT

The aim of this study is to design and prepare set of compounds can work as patent inhibitors of xanthine oxidase .The designing of inhibitors was carried out via MOE software and then after choosing the best theoretical inhibitor we prepared, identified and characterize them by FT-IR, ¹HNMR and ¹³CNMR spectroscopy, and C.H.N elements data and the effectiveness of the prepared compounds to inhibit the enzyme XO in vitro.