

# 黄嘌呤氧化还原酶抑制剂研究进展

朱深银<sup>1,2</sup>, 周远大<sup>1</sup>, 杜冠华<sup>2</sup>

<sup>1</sup>重庆医科大学附一院临床药理研究室, 重庆 400016; <sup>2</sup>中国医学科学院药物研究所, 北京 100050

**摘要** 黄嘌呤氧化还原酶为钼蛋白酶家族成员, 被人们所知的生物学功能 是催化嘌呤分解代谢, 生成尿酸并伴随大量活性氧产生, 与痛风发生密切相关。近年研究发现其还参与其他物质代谢, 同时与缺血/再灌注损伤、心血管疾病尤其与心衰密切相关, 而其抑制剂对这些疾病具有较好的治疗作用, 因而针对此靶点的药物研发又受到广泛关注。

**关键词** 黄嘌呤氧化还原酶; 活性氧; 缺血/再灌注; 心衰; 药物开发

中图分类号: R972.5; Q554.9

文献标识码: A

文章编号: 1009-2501(2006)10-1081-06

黄嘌呤氧化还原酶(xanthine oxidoreductase, XOR)为一高度保守的钼蛋白酶家族成员, 从细菌到人体各种生物体内均有分布。虽然该酶一个世纪前在牛奶里就被发现, 并一直进行着研究, 但对其生物学功能仍未完全了解, 对其生化作用了解主要在参与嘌呤代谢形成尿酸<sup>[1]</sup>。针对此作用开发出的黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)抑制剂, 临床上用于治疗高尿酸血症及痛风。过去 20 年里, 由于对其生化特性的更多了解, 发现 XOR 催化过程中产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)参与了缺血/再灌注、内皮及心肌损伤的发病机制, 与氧化应激相关疾病和心血管疾病尤其心衰密切相关, 而一些动物和临床试验发现 XOR 抑制剂对其有保护作用<sup>[2]</sup>。所

以研究者又对 XOR 重新产生了兴趣, 并在此方面进行了大量的实验研究。本文就 XOR 的生化特征、组织分布及转化、病理作用、以及 XOR 抑制剂药理学作用和研发情况作一综述。

## 1 XOR 结构、功能

**1.1 XOR 基因及蛋白结构** XOR 是高度保守的含钼蛋白酶, 在哺乳类动物中以两种可相互转化的形式即黄嘌呤脱氢酶(xanthine dehydrogenase, XDH)及 XO 存在, 正常情况下主要以脱氢酶形式存在<sup>[1]</sup>。二者由同一基因编码, 人 XOR 基因位于 2p23, 长度多达 60000 bp, 编码 1 333 个氨基酸。其氨基酸序列同大鼠、小鼠同源性高达 91%<sup>[3]</sup>。

XOR 由催化活性相互独立的两个相同亚基组成, 每个亚基分子量约为 150 KD, 由三个结构域组成: N-端域为两个铁-硫氧化还原中心(2Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub>); 中间域为黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD); C-端域为钼辅因子(Mo-Co)结合部位。两个亚基相互作用形成一个蝴蝶形的复合体, 硫化基团对维持酶活性是必须的<sup>[1]</sup>。

**1.2 XOR 生化功能** XOR 最为大家熟知的生化作用是其参与嘌呤分解代谢, 催化次黄嘌呤及黄嘌呤生成尿酸, 同时传递电子生成 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 或 NADH (图 1)。两种形式的 XOR 催化相同的底物, 但偏好于不同的电子接受体。XO 仅表现为氧依赖性活性, XDH 可以以 NAD<sup>+</sup> 和 O<sub>2</sub> 为电子接受体, 只不过其对 NAD<sup>+</sup> 具有更大的亲合性, 优先以 NAD<sup>+</sup> 为电子接受体, 这种偏好是由于 FAD 位点的变化所致<sup>[4]</sup>。

有趣的是, XDH 和 XO 都能以黄嘌呤和分子氧作为底物, 形成 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub><sup>-</sup>, 当 XDH 还原 NAD<sup>+</sup> 变成 NADH, 其就具有了 NADH 氧化酶作用, 还原 O<sub>2</sub> 产生 O<sub>2</sub><sup>-</sup>, 活性为 XDH 对黄嘌呤活性的 40%。别嘌呤醇不能抑制 XDH-NADH 氧化酶活性, 而 diphenyleneiodonium 能有效抑制其活性<sup>[5]</sup>。

2006-02-25 收稿 2006-05-12 修回

国家“863”重大专项资助项目 (No2004AA273782)

朱深银, 男, 在读博士, 讲师, 主要从事新药发现和评价。

Tel: 010-63131571 E-mail: zhushenyin0486@sina.com

杜冠华, 通讯作者, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 新药发现和评价, 神经药理学。

Tel: 010-63165184 E-mail: dugh@imm.ac.cn

近来研究发现 XOR 具有无机和有机硝酸盐和亚硝酸盐还原酶活性, 催化还原硝酸盐和亚硝酸盐产生 NO, 只是有机硝酸盐还原发生在 FAD 位点, 而无机硝酸盐还原发生在 Mo-Co 位点<sup>[9]</sup>。XOR 产生的  $O_2^{\cdot -}$  与 NO 反应形成  $ONOO^-$ , 它是高效的非自由基活性氧, 氧化作用比  $O_2^{\cdot -}$  还强<sup>[7]</sup>。

XOR 催化活性有生物差异。人体内该酶活性相当低, 除了人体内 XOR 基因表达低外, 其本身的活性也很弱, 是因为人 XOR 中钼或硫含量非常少。

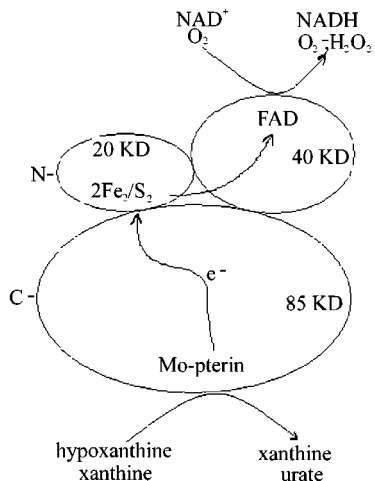


图1 XOR 结构域及其催化反应电子传递示意图

## 2 XOR 分布及转化

**2.1 XOR 分布** XOR 在细菌到人体各种生物体内均有分布, 但分布有种属和组织特异性。在哺乳动物, XOR 活性最高的组织为肝、小肠粘膜、乳腺、心, 而人体组织活性相当低, 主要分布在肝、小肠粘膜、乳腺, 血清中的 XO 主要来自于肝脏, 乳汁中来自乳腺。几个研究报道在人心脏及血管内皮细胞检测到 XOR 蛋白和活性。有研究者用高灵敏的放免法在人体各种组织均检测到 XOR, 但其活性只是肝和乳腺的  $1/10 \sim 1/1000$ <sup>[2,8]</sup>。因此以前有些组织未检测到, 可能是所用方法敏感性较低所致。

XOR 在亚细胞器分布在胞浆和质膜。质膜结合可能通过氨基多糖介导, 如在内皮细胞培养中加入肝素, 增加 XOR 释放, 同样人体内注射肝素, 血浆 XOR 增加 2~3 倍。近年通过电镜发现一些细胞器如过氧化物酶体、内质网、溶酶体、胞内囊泡也有 XOR<sup>[2,8]</sup> 的存在。

**2.2 XOR 转化** 哺乳动物中 XOR 大部分是以 XDH 形式存在, 其通过两种途径转化为 XO: 一种为酶上半胱氨酸残基被氧化, 在 FAD 周围形成二硫键, 此为可逆性转化。研究发现在哺乳动物 XDH 链

中 535 和 992 位的氨基酸残基都是 Cys, 空间上相互靠近, 容易形成二硫键致使蛋白变构, 若此两个氨基酸发生突变, 则对转换产生耐受<sup>[9]</sup>。如鸡 XDH 中 Cys992 被精氨酸替代, 可能是鸡 XDH 不能向 XO 转变的原因之一。研究发现这两个 Cys 涉及快速转换, 最近发现缓慢转换是由 Cys1316 和 Cys1324 负责。这种可逆性转化在冷冻、加热、暴露于巯基氧化剂和  $H_2O_2$  和缺氧状态下发生, 但能被二巯苏糖醇或其他巯基化合物预防和逆转。如从肝脏或牛奶分离纯化 XOR, 若该过程迅速或有巯基试剂存在, 则得到为 XDH, 若此过程分离得到的酶暴露于巯基氧化剂如 4, 4-二巯嘧啶则可逆性转化为 XO。另一种由蛋白酶如胰酶水解形成的不可逆性转化, 大鼠 XDH 用胰酶处理, 产生三个紧密结合在一起的酶解片段 (20、40、85 KD)。上述两种转化过程都伴有酶蛋白 FAD 结构域的构象改变, 导致酶与 NAD 结合部位丢失。

XDH 与 XO 间转化导致一组氨基酸 (Arg335, Trp336, Arg427, Phe549) 构型变化, 使 Phe549 和 Trp336 相互作用消失, 以致 FAD 活性位点结构明显改变。这种结构变化形成了一个分子氧易于进入而  $NAD^+$  不易进入的通道<sup>[9]</sup>。

## 3 XOR 病理作用

**3.1 XOR 与缺血/再灌注损伤** XOR 介导的再灌注损伤机制最初由 Granger 等提出。该假说认为, 再灌注损伤产生需要有两个事件发生, 一个是大量的 XOR 作用底物产生; 另一个为 XDH 转化为 XO。缺血和/或再灌注事件应同时具备两个条件: 一是能量生成障碍, ATP 耗竭, 缺血组织内次黄嘌呤大量堆积; 二是由于 ATP 减少, 激活钙依赖性蛋白水解酶, 使 XDH 不可逆地转变为 XO。最近还发现缺血时生成的  $ONOO^-$  使 XDH 分子中的 SH 基氧化, 使 XDH 可逆地转化为 XO。当再灌注时, XO 以分子氧为电子接受体, 催化嘌呤代谢为尿酸, 从而产生大量  $O_2^{\cdot -}$  和  $H_2O_2$ 。大量实验也证实缺血和/或再灌注时 XOR 的作用底物含量增加, 组织 XO 活性明显升高<sup>[2,10]</sup>。

尽管大量的研究支持 XOR 在缺血/再灌注损伤中作用, 但有些研究没有得到证实, 如一些缺血再灌注组织没有检测到 XOR, XOR 转化时间变化大, 中性粒细胞能产生大量的活性氧等<sup>[3]</sup>。为了解释这些研究结果不一致, Harrison 等扩展了缺血再灌注损伤假说, 认为 XOR-NADH 氧化酶途径也是  $O_2^{\cdot -}$  产生的

重要途径, NADH 氧化酶优先以 NADH 而不是黄嘌呤为底物, 而且, NADH 氧化酶产生  $O_2^{\cdot -}$  的速度为 XO 的 4 倍, 并且在  $NAD^+$  存在时保持同样速度<sup>[9]</sup>。这提示 XDH 向 XO 转化不是  $O_2^{\cdot -}$  介导缺血/再灌注损伤所必需。

Harrison 假说非常有趣, 其解释了以前 Granger 假说不能很好解释的问题。如 NADH 氧化酶活性在缺钼和硫的 XOR 中仍保持活性, 而这种缺钼和硫的 XOR 正是人体组织 XOR 低活性的原因。NADH 氧化酶活性不能被别嘌呤醇抑制(该酶不依赖 Mo-Co 位点), 这也是别嘌呤醇对人体缺血再灌注损伤防治作用不如预期想像的有效的原因<sup>[9]</sup>。Harrison 假说说明了 XO 和 XDH-NADH 氧化酶在体内共同诱导了缺血再灌注损伤。

在缺血再灌注时, 不但 XOR 被激活产生大量活性氧诱导损伤, 而且活性氧可以激活炎症细胞, 导致缺血再灌注损伤。因此寻求抑制 XOR 活性以消除或减少活性氧及炎症细胞的损害, 将对缺血再灌注损伤防治措施提供新的思路。

**3.2 XOR 与高尿酸血症及痛风** 嘌呤分解代谢的产物为尿酸。由于人体内无尿酸酶, 不能将其转化分解, 因此当体内 XO 活性异常增高, 生成大量尿酸。但尿酸在体液中溶解度有限, 当体液中浓度超过其饱和浓度时, 易在组织中析出结晶, 就形成高尿酸血症及痛风。流行病学资料发现, 10% 左右的原发性高尿酸血症和痛风主要由于嘌呤代谢酶缺乏或活性改变所致, 而 XO 活性增加为其主要因素<sup>[11]</sup>。针对 XO 活性增加开发的 XO 抑制剂在高尿酸血症及痛风防治方面具有良好的作用便是最好的证明。

**3.3 XOR 与心血管疾病** 氧化应激导致血管内皮功能障碍<sup>[12]</sup>。XOR 产生的  $O_2^{\cdot -}$  不但对内皮产生作用, 而且  $O_2^{\cdot -}$  与 NO 反应生成 ONOO<sup>-</sup> 使 NO 灭活, 同时 ONOO<sup>-</sup> 具有更强氧化作用<sup>[7]</sup>。Houston 等证实 XOR 造成的血管舒张功能受损是由于 XOR 抑制血管平滑肌 NO 依赖的 cGMP 生成<sup>[13]</sup>。

XOR 造成内皮功能障碍在冠状动脉粥样硬化中也被证实, 在病变血管中, 内皮结合的 XOR 活性升高两倍以上, 与内皮介导的血管舒张呈负相关, 粥样斑块中检测到 XOR, 斑块中尿酸浓度升高 5~6 倍<sup>[14]</sup>, 说明粥样硬化中血管 XOR 活性上调。

XOR 也参与了高血压的形成。用富含钨的饲料(灭活 XOR)喂饲盐敏感和盐抵抗大鼠, 盐敏感大鼠血压明显降低, 而对盐抵抗大鼠血压没有影响, 提示 XOR 产生的 ROS 在盐诱导高血压中潜在作

用<sup>[15]</sup>。有证据表明尿酸与血压相关, 用氧嗪酸(尿酸酶抑制剂)诱导大鼠轻度高尿酸血症形成了高血压, 用别嘌呤醇或促尿酸排泄剂可以防止高血压形成和降低血压<sup>[16]</sup>。

心衰是心脏和血管病变的最后表现, XOR 与血管内皮功能障碍及高血压关系的阐明, 有利于明确 XOR 在心衰中作用。大量资料表明氧化应激及内皮功能障碍参与了慢性心衰的形成和发展, 慢性心衰常伴有尿酸升高, 而高尿酸血症又诱导内皮损伤<sup>[17]</sup>。实验发现心衰心肌 XO mRNA 和蛋白上调四倍<sup>[18]</sup>, 心衰病人内皮结合的 XOR 活性升高两倍以上, 而且 XOR 损害心肌功能, 增加心肌耗氧量<sup>[19]</sup>。其可能原因: 一是产生的活性氧及活性氮对心肌直接损伤; 二是产生的活性氧及活性氮损伤巯基蛋白, 如 ryanodine 受体和  $Ca^{2+}$ -ATPase 干扰钙信号转导、损伤 NOS 而减少 NO 生成, 导致心肌机械-能量脱耦联<sup>[20]</sup>。

#### 4 XOR 抑制剂的药理学及治疗学作用

XOR 抑制剂通过抑制 XOR 活性, 减少 UA 生成, 于上世纪 60 年代用于高尿酸血症及痛风治疗, 对尿酸生成过多的高尿酸血症及痛风具有良好防治作用, 别嘌呤醇是此类唯一上市药物。

然而随着器官移植、心脏冠脉搭桥、血管溶栓再通等技术的开展(可能休克治疗也有此现象), 缺血/再灌注损伤问题变得越来越突出。基础研究发现活性氧大量生成是导致缺血/再灌注损伤的重要原因, 而 XOR 途径是体内氧自由基产生的主要来源之一。因此 XOR 抑制剂在缺血/再灌注损伤方面的作用受到广泛关注, 并进行了大量研究。文献报道别嘌呤醇能阻断心、肾、肠、肝再灌注损伤, 提高移植后器官功能和存活率, 增加对循环性休克的耐受, 减少心脏再灌注性心率失常发生。Kinugasa 等发现别嘌呤醇能显著提高离体灌注大鼠心脏左室功能, 减少乳酸脱氢酶的漏出, 明显抑制心肌 XO 活性, 降低氧化应激产物和羟自由基的形成, 而对心肌嘌呤核苷酸含量没有影响, 说明别嘌呤醇减少心肌缺血再灌注损伤是通过抑制氧化应激而不是改善 ATP 生成和利用实现的<sup>[21]</sup>。心肌梗塞病人冠脉搭桥或冠脉腔内成形术之前给予别嘌呤醇, 发现在早期再灌注期左室做功指数和左室射血分数比对照组高, 而心率失常发生率减少<sup>[22]</sup>, 说明别嘌呤醇对人早期灌注缺血心肌具有保护作用。这些研究结果有可能导致一个新的心肌缺血再灌注损伤治疗策略的形成。

XOR 抑制剂因能抑制 ROS 生成减少氧化应激,而被认为对心衰具有治疗潜力。在动物和人体实验中发现 XOR 抑制剂能减轻心衰的机械—能量及心室—血管脱耦联而改善心功能<sup>[20, 23]</sup>。如别嘌呤醇减少起搏器诱导的心衰狗心肌氧耗、增加心肌收缩和心输出量,降低射血阻抗,改善静息状态心衰狗左室功能、增强运动和多巴酚丁胺刺激下心肌收缩<sup>[24]</sup>。不但急性治疗有效,而且发现别嘌呤醇 10 周长期给药,能改善冠脉结扎心衰大鼠左室血流动力学特性和功能,防止心室重构发生<sup>[19]</sup>。给肌钙蛋白 I 基因敲除心衰小鼠口服别嘌呤醇 2 月,模型组小鼠心肌 XO 活性是非基因敲除小鼠的 3 倍,肌丝蛋白明显氧化受损,而别嘌呤醇处理组小鼠 XO 活性和肌丝蛋白氧化得到抑制,心室扩张减轻,收缩纤维得到保护,而且心肌牵拉张力达到非转基因小鼠心肌的 70%,比模型明显改善<sup>[25]</sup>。心衰病人冠脉给予别嘌呤醇,能改善心脏功能和内皮功能障碍,降低氧耗<sup>[26]</sup>。虽然 XOR 在心衰中病理生理作用和机制尚需进一步明确,但心衰中 XOR 活性上调, XO 抑制剂减轻内皮功能障碍、改善心肌收缩和能量代谢这些实验证据表明,基于 XOR 的治疗对心衰病人具有希望,可能形成一个新的治疗策略<sup>[27]</sup>。现正在对充血性心衰病人进行一项随机双盲对照的奥昔嘌醇 (oxypurinol) 加标准治疗有效性和安全性试验,若结果阳性, XOR 抑制剂有可能开创一个新的心衰治疗途径<sup>[28]</sup>。

## 5 XOR 抑制剂的研发状况、应用前景和展望

XOR 抑制剂早在上世纪 60 年代就用于高尿酸血症及痛风慢性期治疗,到目前仍只有一个上市药/别嘌呤醇。究其原因可能是 XOR 抑制剂适应症有限,高尿酸血症及痛风发病率不高,加之别嘌呤醇具有较好的治疗作用,使得药物研发机构对 XO 抑制剂开发缺乏兴趣。近来由于高尿酸血症及痛风发病率增加、XOR 在缺血再灌注损伤及心血管系统疾病尤其心衰的作用逐步阐明、高尿酸血症与代谢综合症关系的揭示以及别嘌呤醇的毒副作用及临床用药的限制,一些药物研发机构又开始对开发 XOR 抑制剂产生了兴趣。

别嘌呤醇为嘌呤类似物,与 XO 钼活性位点形成紧密结合复合体而使 XO 活性抑制。由 Cardiome 公司研制的奥昔嘌醇是别嘌呤醇的活性代谢物,适用于别嘌呤醇无效的患者,已完成 II 期临床试验<sup>[28]</sup>。另一种新的非嘌呤类选择性 XO 抑制剂 fe-

buxostat 对治疗高尿酸血症及痛风安全有效,正在进行 II 期临床试验<sup>[29]</sup>。研究发现从一些植物提取分离的黄酮,如槲皮素、紫槲皮甙<sup>[30]</sup>、桑黄素<sup>[31]</sup>、原花青素<sup>[32]</sup>,从蜂胶提取的咖啡酸苯酯<sup>[33]</sup>,一些治疗痛风的中草药提取物均有一定的 XO 抑制活性,对氧嘌呤酸钾盐诱导的高尿酸血症模型有明显的降尿酸作用<sup>[34]</sup>。这说明从天然产物和中药中挖掘具有 XOR 抑制作用的新结构活性化合物也是一种较好选择。

随着尿酸及氧化应激在代谢和心血管疾病作用逐步明确, XOR 的生物学活性、病理作用以及 XOR 抑制剂在这些疾病中治疗效果将得到更多研究。一旦经典的 XOR 抑制剂在这些疾病中治疗作用得到肯定,一些疾病将形成新的治疗策略,并将极大促进新 XOR 抑制剂的开发。传统的 XOR 抑制剂通过与 XOR 上钼结合位点结合而对酶活性产生抑制,但对 XDH-NADH 氧化酶活性并不能产生抑制,因此不能完全阻断 XOR 的活性氧生成,若能发现一些能同时干扰 XOR 的钼及 FAD 结合位点的新结构化合物,将具有更好的疗效,同时将进一步确立 XOR 抑制剂在这些疾病中的治疗地位。

## 参考文献

- Harrison R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now[ J ]. *Free Radic Biol Med*, 2002; 33: 774—97
- Berry CE, Hare JM. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications[ J ]. *J Physiol*, 2004; 555: 589—606
- Xu P, Huecksteadt TP, Hoidal JR. Molecular cloning and characterization of the human xanthine dehydrogenase gene (XDH) [ J ]. *Genomics*, 1996; 34: 173—80
- McManaman JL, Bain DL. Structural and conformational analysis of the oxidase to dehydrogenase conversion of xanthine oxidoreductase[ J ]. *J Biol Chem*, 2002; 277: 21261—8
- Maia L, Vala A, Mira L. NADH oxidase activity of rat liver xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase: contribution for damage mechanisms[ J ]. *Free Radic Res*, 2005; 39: 979—86
- Li H, Samouilov A, Liu X, Zweier JL. Characterization of the magnitude and kinetics of xanthine oxidase-catalyzed nitrate reduction: evaluation of its role in nitrite and nitric oxide generation in anoxic tissues[ J ]. *Biochemistry*, 2003; 42: 1150—9
- Millar TM. Peroxynitrite formation from the simultaneous reduction of nitrite and oxygen by xanthine oxidase[ J ]. *FEBS Lett*, 2004; 562: 129—33
- Pritsos CA. Cellular distribution, metabolism and regulation of the xanthine oxidoreductase enzyme system[ J ]. *Chem Biol Interact*, 2000; 129: 195—208
- Nishino T, Okamoto K, Kawaguchi Y, Hori H, Matsumura T, Eger BT, *et al.* Mechanism of the conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase: identification of the two cysteine disulfide bonds and crystal structure of a non convertible

- rat liver xanthine dehydrogenase mutant[ J ]. *J Biol Chem*, 2005; 280: 24888—94
- 10 Angelos MG, Kutala VK, Torres CA, He G, Stoner JD, Mohammad M, *et al.* Hypoxic reperfusion of the ischemic heart and oxygen radical generation[ J ]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006; 290: H341—7
  - 11 Choi HK, Mount DB, Reginato AM. Pathogenesis of gout[ J ]. *Ann Intern Med*, 2005; 143: 499—516
  - 12 Zalba G, Beaumont J, San Jose G, Fortuno A, Fortuno MA, Diez J. Vascular oxidant stress: molecular mechanisms and pathophysiological implications[ J ]. *J Physiol Biochem*, 2000; 56: 57—64
  - 13 Houston M, Estevez A, Chumley P, Aslan M, Marklund S, Parks DA, *et al.* Binding of xanthine oxidase to vascular endothelium. Kinetic characterization and oxidative impairment of nitric oxide-dependent signaling[ J ]. *J Biol Chem*, 1999; 274: 4985—94
  - 14 Patetsios P, Song M, Shutze WP, Pappas C, Rodino W, Ramirez JA, *et al.* Identification of uric acid and xanthine oxidase in atherosclerotic plaque[ J ]. *Am J Cardiol*, 2001; 88: 188—91
  - 15 Laakso J, Mervaala E, Himberg JJ, Teravainen TL, Kappanen H, Vapaatalo H, *et al.* Increased kidney xanthine oxidoreductase activity in salt-induced experimental hypertension[ J ]. *Hypertension*, 1998; 32: 902—6
  - 16 Khosla UM, Zharikov S, Finch JL, Nakagawa T, Roncal C, Mu W, *et al.* Hyperuricemia induces endothelial dysfunction[ J ]. *Kidney Int*, 2005; 67: 1739—42
  - 17 Landmesser U, Spiekemann S, Dikalov S, Tatge H, Wilke R, Kohler C, *et al.* Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: role of xanthine oxidase and extracellular superoxide dismutase[ J ]. *Circulation*, 2002; 106: 3073—8
  - 18 de Jong JW, Schoemaker RG, de Jonge R, Bemocchi P, Keizer E, Harrison R, *et al.* Enhanced expression and activity of xanthine oxidoreductase in the failing heart[ J ]. *J Mol Cell Cardiol*, 2000; 32: 2083—9
  - 19 Mellin V, Isabelle M, Oudot A, Vergely-Vandriessse C, Montel C, Di Meglio B, *et al.* Transient reduction in myocardial free oxygen radical levels is involved in the improved cardiac function and structure after long-term allopurinol treatment initiated in established chronic heart failure[ J ]. *Eur Heart J*, 2005; 26: 1544—50
  - 20 Saavedra WF, Paolucci N, St John ME, Skaf MW, Stewart GC, Xie JS, *et al.* Imbalance between xanthine oxidase and nitric oxide synthase signaling pathways underlies mechanoenergetic uncoupling in the failing heart[ J ]. *Circ Res*, 2002; 90: 297—304
  - 21 Kinugasa Y, Ogino K, Furuse Y, Shioni T, Tsutsui H, Yamamoto T, *et al.* Allopurinol improves cardiac dysfunction after ischemia-reperfusion via reduction of oxidative stress in isolated perfused rat hearts[ J ]. *Circ J*, 2003; 67: 781—7
  - 22 Guan W, Osanai T, Kamada T, Hanada H, Ishizaka H, Omodera H, *et al.* Effect of allopurinol pretreatment on free radical generation after primary coronary angioplasty for acute myocardial infarction[ J ]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2003; 41: 699—705
  - 23 Kogler H, Fraser H, McCune S, Altschuld R, Marban E. Disproportionate enhancement of myocardial contractility by the xanthine oxidase inhibitor oxypurinol in failing rat myocardium[ J ]. *Cardiovasc Res*, 2003; 59: 582—92
  - 24 Amado LC, Saliaris AP, Raju SV, Lehrke S, St John M, Xie J, *et al.* Xanthine oxidase inhibition ameliorates cardiovascular dysfunction in dogs with pacing-induced heart failure[ J ]. *J Mol Cell Cardiol*, 2005; 39: 531—6
  - 25 Duncan JG, Ravi R, Stull LB, Murphy AM. Chronic xanthine oxidase inhibition prevents myofibrillar protein oxidation and preserves cardiac function in a transgenic mouse model of cardiomyopathy[ J ]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005; 289: H1512—8
  - 26 Farquharson CA, Butler R, Hill A, Belch JJ, Snithers AD. Allopurinol improves endothelial dysfunction in chronic heart failure[ J ]. *Circulation*, 2002; 106: 221—6
  - 27 Kittleson MM, Hare JM. Xanthine oxidase inhibitors: an emerging class of drugs for heart failure[ J ]. *Eur Heart J*, 2005; 26: 1458—60
  - 28 Freudenberger RS, Schwarz RP Jr, Brown J, Moore A, Mann D, Givertz MM, *et al.* Rationale, design and organisation of an efficacy and safety study of oxypurinol added to standard therapy in patients with NYHA class III-IV congestive heart failure[ J ]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2004; 13: 1509—16
  - 29 Becker MA, Schumacher HR, Wortmann RL, MacDonald PA, Palo WA, Eustace D, *et al.* Febuxostat, a novel nonpurine selective inhibitor of xanthine oxidase: a twenty-eight-day, multicenter, phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-response clinical trial examining safety and efficacy in patients with gout[ J ]. *Arthritis Rheum*, 2005; 52: 916—23
  - 30 Zhu JX, Wang Y, Kong LD, Yang C, Zhang X. Effects of *Biota orientalis* extract and its flavonoid constituents quercetin and rutin on serum uric acid levels in oxonate-induced mice and xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activities in mouse liver[ J ]. *J Ethnopharmacol*, 2004; 93: 133—40
  - 31 Yu Z, Fong WP, Cheng CH. The dual actions of morin (3, 5, 7, 2', 4'-pentahydroxyflavone) as a hypouricemic agent: uricosuric effect and xanthine oxidase inhibitory activity[ J ]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006; 316: 169—75
  - 32 Wang Y, Zhu JX, Kong LD, Yang C, Cheng CH, Zhang X. Administration of procyanidins from grape seeds reduces serum uric acid levels and decreases hepatic xanthine dehydrogenase/oxidase activities in oxonate-treated mice[ J ]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2004; 94: 232—7
  - 33 Yoshizumi K, Nishioka N, Tsuji T. Xanthine oxidase inhibitory activity and hypouricemic effect of propolis in rats[ J ]. *Yakugaku Zasshi*, 2005; 125: 315—21
  - 34 Kong LD, Cai Y, Huang WW, Cheng CH, Tan RX. Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout[ J ]. *J Ethnopharmacol*, 2000; 73: 199—207

# Research progress of xanthine oxidoreductase in biological functions and its inhibitor development

ZHU Shen-yin<sup>1,2</sup>, ZHOU Yuan-da<sup>1</sup>, DU Guan-hua<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Clinical Pharmacology, the First Affiliated Hospital of Chongqing University of Medical Science, Chongqing 400016, China;* <sup>2</sup>*Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100050, China*

**ABSTRACT** xanthine oxidoreductase (XOR) is a member of the molybdoenzyme family and best known for its catalytic role in purine degradation, metabolizing hypoxanthine and xanthine to uric acid with concomitant generation of superoxide and hydrogen peroxide. In addition to its role in the pathophysiology of hyperuricaemia and gout, the role for XOR beyond purine metabolism was first suggested in ischaemia-reperfusion injury, there is growing evidence that it also participates in endothelial dys-

function, hypertension and heart failure. Importantly, the XOR inhibitor attenuates dysfunction especially in heart failure caused by XOR in these disease states. Attention to the broader range of XOR bioactivity in the cardiovascular system has prompted strong interest based XOR drug development by pharmaceuticals company.

**KEY WORDS** xanthine oxidoreductase; reactive oxygen species; ischaemia-reperfusion injury; heart failure; drug development