

Synthesis Of A Potential Cell Division Cycle Enzymes CDC25 Inhibitor Designed Using Molecular Modeling

Dr. Faten Alchab**
Dina Bashour**

(Received 10 / 1 / 2023. Accepted 1 / 3 / 2023)

□ ABSTRACT □

Cell division enzymes A, B, and C are cell cycle regulators and their overexpression, especially CDC25B, is associated with several cancer types, making it suitable for anticancer drugs.

This study aimed to synthesize a potential inhibitor that could disrupt the interaction between CDC25B and its substrate CDK2/Cyclin A, which was previously designed using docking algorithms on the CDC25B crystal structure and after filtration, from the 4-aminobenzoic acid (PABA) nucleus that was subjected to identity tests. It was proposed to synthesize compound PABA34, which met the standards of binding and energy. The conditions for the amine alkylation were tested with a reductive amination reaction and the esterification of the PABA nucleus in an acidic medium, and it was found that the alkylation is preferable to take place in methanol and under reflux for 3 hours, as for the esterification, the best time was 4 hours in the presence of an acidic medium of H₂SO₄, and thus we accomplished the synthesis of PABA34, one of the candidate compounds.

Key words: CDC25B, anticancer drugs, 4-aminobenzoic acid, reductive amination, esterification.

Copyright



:Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

*PhD, Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria

**Master's student, Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Control, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria

اصطناع أحد المثبطات المحتملة لأنزيمات الانقسام الخلوي CDC25 المصممة باستخدام النمذجة الجزيئية

د. فاتن الشب*

دينا بشور**

(تاريخ الإيداع 10 / 1 / 2023. قبل للنشر في 1 / 3 / 2023)

□ ملخص □

تعتبر أنزيمات الانقسام الخلوي A و B و C منظمات رئيسية للدورة الخلوية ويرتبط فرط التعبير عنها بالعديد من أنواع السرطان وخاصة CDC25B، مما يجعله هدفاً فعالاً للأدوية المضادة للسرطان. هدفت هذه الدراسة إلى اصطناع أحد المثبطات المحتملة التي يمكن أن تعطل التداخل بين CDC25B وركيزته CDK2 / Cyclin A، والتي تم التوصل إليها سابقاً باستخدام خوارزميات الإرساء على البنية البلورية لـ CDC25B وبعد إجراء الفلترة، انطلقاً من نواة حمض 4-أمينوبنزويك (PABA) التي تم التحقق من ذاتيتها، اقترح اصطناع المركب PABA34 الذي حقق معايير الارتباط والطاقة، واختبرت شروط تفاعل ألكلة الأمين بتفاعل أمينة إرجاعية وأسترة نواة الـ PABA بوسط حمضي، ووجد أن الألكلة يفضل أن تتم في وسط من الميثانول ويتسخن مرتد لمدة 3 ساعات، أما بالنسبة للأسترة فالزمن الأفضل لها كان 4 ساعات بوجود وسط حمضي من H_2SO_4 ، وبذلك نكون أنجزنا اصطناع للمركب PABA34 أحد المركبات المرشحة.

الكلمات المفتاحية: CDC25B، مضادات السرطان، حمض 4-أمينو بنزويك، الأمينة الإرجاعية، الأسترة.

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص



CC BY-NC-SA 04

* دكتورة ، قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية، كلية الصيدلة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية
** طالبة ماجستير ، قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية، كلية الصيدلة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية

مقدمة

تشير الأبحاث إلى أن التحكم بأطوار الدورة الخلوية (G1, G2, S, M) يتم عبر تواجد بعض البروتينات في سيتوبلازما الخلية والتي تراقب حالة الخلية وتحرض أو تثبط انقسامها خلال نقاط التحقق [1]. يعد السرطان من أكثر الأمراض خطورة وتهديداً للحياة البشرية وهو أحد الأسباب الرئيسية للوفاة، وبالرغم من تنوع أسباب نشأتها، فإن جميع السرطانات تشترك في نقطة واحدة وهي الانقسام السريع وغير المنضبط للخلايا ودورة الخلية غير المنتظمة. ومنه، برزت أهمية استهداف البروتينات والأنزيمات المنبهة والمثبطة للدورة الخلوية في تطوير العلاجات المضادة للسرطان [2].

ومن أبرز هذه الأهداف هي الكينازات المعتمدة على السيكلن (cyclin-dependent kinases CDKs)، التي يعتمد نشاطها على تشكيل معقدات ضرورية للتقدم بالدورة الخلوية، ويتم تنظيم هذه الكينازات بمجموعة من عمليات الفسفرة ونزع الفسفرة بتوسط أنزيمات البروتين كيناز والبروتين فوسفاتاز وبشكل أساسي أنزيمات الانقسام الخلوي CDC25، ولوحظ أن حدوث أي اضطراب في هذه الأنزيمات المسؤولة عن التقدم في الدورة الخلوية يؤدي إلى خلل في الانقسام الخلوي وتطور السرطانات، مما يجعل منها هدفاً بحثياً هاماً في مجال الأدوية المضادة للسرطان [3]. أنزيمات CDC25 هي عبارة عن فوسفاتاز ثنائية النوعية [4,5]، وتم التعرف على ثلاثة نظائر أنزيمية لعائلة CDC25 وهي (A, B, C) [2].

لقد ثبت أن التعبير عن CDC25B يزداد في عدد من الأورام، وارتبط في كثير من الأحيان مع أورام الدرجة الأعلى والأورام الأكثر عدوانية وسوء التشخيص. أدت مشاركة هذه الأنزيمات في استجابة نقطة التفتيش G2 / M، وظهورها كمولدات ورمية إلى فكرة اعتبارها أهدافاً محتملة لعلاج السرطان. يتم بذل جهد كبير في هذا الاتجاه حالياً من قبل كل من شركات الأدوية والمختبرات الأكاديمية، والتي تهدف إلى تحديد المركبات المثبطة والتحقق من صحة المفهوم القائل بأن تثبيط CDC25 قد يتحكم في تكاثر الخلايا السرطانية [6].

يتكون أنزيم CDC25B من مجالين رئيسيين. حيث يكون المجال التحفيزي الطرفي C للبروتين، الذي يحتوي الموقع الفعال المسؤول عن نزع الفسفرة، محفوظ بشكل كبير بالمقارنة مع المنطقة التنظيمية N-terminal، والتي تكون أكثر تبايناً [7].

كشفت فحص بنية CDC25B أنه، على عكس فوسفاتازات البروتين الأخرى، فإن موقعه الفعال مسطح بشكل مدهش وقليل العمق للغاية، ولا يوجد ميزات واضحة للتوسط في التعرف على الركازة، مما يشير إلى تداخل بروتيني واسع، بالإضافة إلى وجود السيستئين عالي الفعالية الذي يرتبط بشكل غير عكوس مع المركبات [8]. في الواقع، تم اقتراح أن التعرف على الركازة يعتمد على ثمالات النقاط الساخنة (ARG488 و ARG492 و TYR497) الموجودة على مسافة 20-30 Å من الموقع الفعال [7].

وعند دراسة الجيب المسؤول عن التداخل بروتين-بروتين تبين أنه جيب صغير نسبياً ولكنه محدد جيداً، يقع على بعد حوالي 15 Å من الموقع النشط. يتكون جيب الربط هذا بشكل أساسي من سلاسل جانبية PHE386 و LEU398 و CYS484 و ARG488 و MET505 [9]. لذلك تم التوجه نحو هذا الموقع لتصميم مثبطات جديدة للأنزيم CDC25B.

بناء على أهمية أنزيم الـ CDC25B في تنظيم الدورة الخلوية وفرط التعبير عنه في أنواع عديدة من السرطان، تبرز أهمية إيجاد أدوية جديدة ذات فعالية تثبيطية لهذا الأنزيم، لهذا يهدف هذا البحث إلى تحديد مسار اصطناع أحد المثبطات التي تم التوصل لها بطرق النمذجة الجزيئية والإرساء.

تمتلك نواة حمض بارا أمينو بنزويك (Para-aminobenzoic acid PABA) مجموعتين وظيفيتين هما مجموعة الكربوكسيل ومجموعة الأمين وكل منهما قادرة على القيام بالتفاعلات الخاصة بها بالإضافة إلى التفاعلات التي تتم على الحلقة العطرية.

تدخل مجموعة الكربوكسيل في عدة تفاعلات أهمها الأسترة والأميدة، ويتم تنشيط المجموعة الكربونيلية بعدة طرائق من أهمها استخدام وسط حمضي من H_2SO_4 [10]، بينما تدخل مجموعة الأمين بتفاعلات أميدة أو ألكلة بعدة آليات [11,12]، أما الحلقة العطرية فتدخل في تفاعلات الاستبدال الخاصة بها، بعدة متبادلات [13].

طرائق البحث ومواده

المواد المستخدمة

يظهر الجدول (1) المواد المستخدمة في البحث مع مصادرها.

جدول (1): المواد المستخدمة في البحث

TM-Media, India	حمض بارا أمينو بنزويك
Merck, Germany	بنزالدهيد
Prolabo, Europe	حمض المالك
Prolabo, Europe	ثنائي كلور الإيثان
Sham Lab, Syria	ميتانول
Sari, Syria	إيثانول
Surechem Products, England	ثنائي كلور الميثان
Merck, Germany	هيدروكسيد الصوديوم
Qualikems Fine Chemicals, India	كبريتات الصوديوم اللامائية
Lateral	ماء مقطر
CHEM-LAB, Belgium	حمض الكبريت المركز
Sisco Research Laboratories, India	بورو هيدريد الصوديوم
Titan Biotech, India	سيليكات جل للعمود الكروماتوغرافي
Surechem Products, England	حلقي هكسان
Scharlau, SPAIN	خلات الإيثيل
Merck, Germany	أخضر بروموكريزول
Qualikems Fine Chemicals, India	بيكربونات الصوديوم
Sham Lab	أسيتون

الأجهزة

يظهر الجدول (2) الأجهزة المستخدمة في البحث والطرز الخاص بها.

جدول (2): الأجهزة المستخدمة في البحث

الطرز	الجهاز
RADWAG AS 220C/2, Poland	ميزان حساس
Bibby scientific limited stone Staffordshire, ST15 2V 230 315 Mat	جهاز قياس درجة الانصهار
Buchi, Switzerland	جهاز المبخر الدوار
Vario Mag Electronicruh	سخان
Jasco V-530 UV/VIS spectrophotometer/ Japan	جهاز الأشعة فوق البنفسجية UV
QUARK, FT/IR QC-D031	جهاز الأشعة تحت الحمراء IR
موقع الكتروني	بنك الأشكال البلورية للبروتينات PDB
Chembio Draw 2017	برنامج رسم الصيغ
Accelry Discovery Studio 3.5	برنامج النمذجة الجزيئية

الأدوات

يتم ذكر جميع الأدوات التي تم استخدامها في البحث في الجدول (3).

جدول (3): الأدوات المستخدمة في البحث

أنابيب شعرية	ببشير بأحجام مختلفة (20، 50مل)
عمود فصل كروماتوغرافيا	دورق تفاعل مصنف
أنابيب زجاجية	مكثف مرتد
أوراق PH	محرك مغناطيسي
زجاجة ساعة	ممصات بأحجام مختلفة
بوالين معايرة	اسطوانة مدرجة
صفائح TLC مفلورة	ورق ترشيح
قمع فصل	قمع ترشيح

الطرائق

تم إنجاز البحث في مخابر كلية الصيدلة في جامعة تشرين، وبمساعدة من معمل الذهبية للصناعة الدوائية GOLDEN MEDPHARM، حيث تم اختيار نواة الـ PABA من أجل الاصطناع الكيميائي للمركب PABA34 الذي أثبت سابقاً فعاليته اتجاه الأنزيم CDC25B وكذلك CDC25A، حيث حقق معايير الطاقة والارتباط والألفة الجيدة. أولاً تم التحقق من ذاتية النواة المستخدمة من خلال إجراء قياس لدرجة الانصهار وتحديد طيف امتصاصية الأشعة فوق البنفسجية (ultra violet UV) وطيف الأشعة تحت الحمراء (infrared IR). تم

البحث عن طرق إجراء تفاعل ألكلة للمجموعة الأمينية من أجل إضافة جذر البنزويل من خلال إجراء تفاعل أمينية إرجاعية غير مباشرة بتشكيل إيمين ثم إرجاعه، ومن ثم أسترة المجموعة الكربوكسيلية للمركب الناتج بوجود وسط حمضي.

المرحلة الأولى ألكلة الأمين

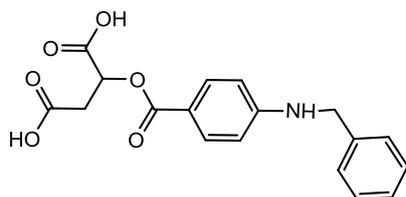
تمت عملية الألكلة بوجود الميثانول كمحل مع البنزالدهيد، بتفاعل أمينية إرجاعية، حيث قمنا بإضافة 1.5 ميلي مول من PABA (0.205غ) في 10مل من ميثانول حتى الانحلال وإضافة 1.1ميلي مول من البنزالدهيد BA (0.11غ=0.15مل) وتسخين المزيج تحت مكثف مع التحريك لمدة 3 ساعات، تم تبريد المزيج، وإضافة 0.78غ من المرجع رباعي بوروهيدريد الصوديوم NaBH_4 المنحل في 25مل إيثانول حتى زوال اللون، ثم يتم إضافة الماء للتخلص من المرجع وإنهاء التفاعل، يلي ذلك ترشيح الراسب الأبيض المتشكل، وتبخير المحل. تم الكشف عن مزيج التفاعل REA بال TLC باستخدام طور متحرك من دي كلوروايثان/ميثانول (1/4)، ثم تمت عملية التنقية بعمود السيليس، وحساب المردود وتحديد طيف IR.

المرحلة الثانية تشكيل الأستر

قمنا بإضافة 1.5 ميلي مول (0.201غ) من حمض الماليك MA المنحل في الأسيتون إلى المركب الناتج من المرحلة السابقة بوجود وسط حمضي من حمض الكبريت المركز (3 ميلي مول=0.16مل)، وتم تسخين التفاعل تحت مكثف عكوس بدرجة حرارة 70 م° والتحريك بفواصل زمنية مختلفة (4، 3، 2 ساعات)، عند انتهاء التفاعل تم تعديل الوسط بمحلول من بيكربونات الصوديوم حتى يصبح الـ pH=8، ومن ثم إضافة 5 مل من خلات الايثيل للحصول على الراسب الأبيض، وبشكل مشابه تم الحصول على المركب بعد تنقيته بعمود السيليكس وتحديد طيف الـ IR له.

النتائج والمناقشة

انتهت مرحلة النمذجة الجزيئية بالتوصل إلى عدد من المركبات التي تم ترشيحها للاصطناع الكيميائي التي كانت الأفضل من حيث الألفة والارتباط بالجيب الفعال، وتم اختيار المركب PABA34 ليتم اصطناعه، الشكل (1)، حيث تم التفاعل بدءاً من نواة الـ PABA وذلك بعملية ألكلة وأسترة على مجموعة الأمين والكربوكسيل على التوالي، وذلك بإدخال جذري البنزويل والماليك، ثم تم فصل النواتج وتنقيتها وتحديد طيف الـ IR الخاص بها.

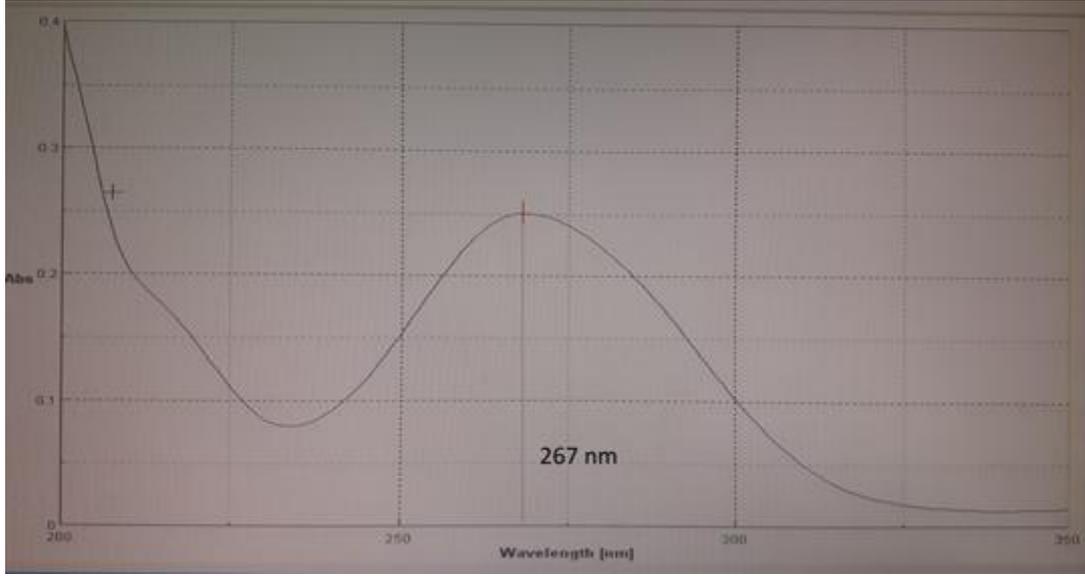


الشكل (1): صيغة المركب المصطنع PABA34

فحوص الذاتية لنواة حمض بارا أمينو بنزويك PABA

تتواجد نواة الـ PABA بشكل مسحوق أبيض، قمنا بقياس درجة الانصهار ورسم طيف الأشعة فوق البنفسجية وطيف الأشعة تحت الحمراء، فكانت جميع النتائج مطابقة للقيم العيارية [15, 16, 17]، حيث كانت درجة الانصهار تتراوح بين 191-193م.

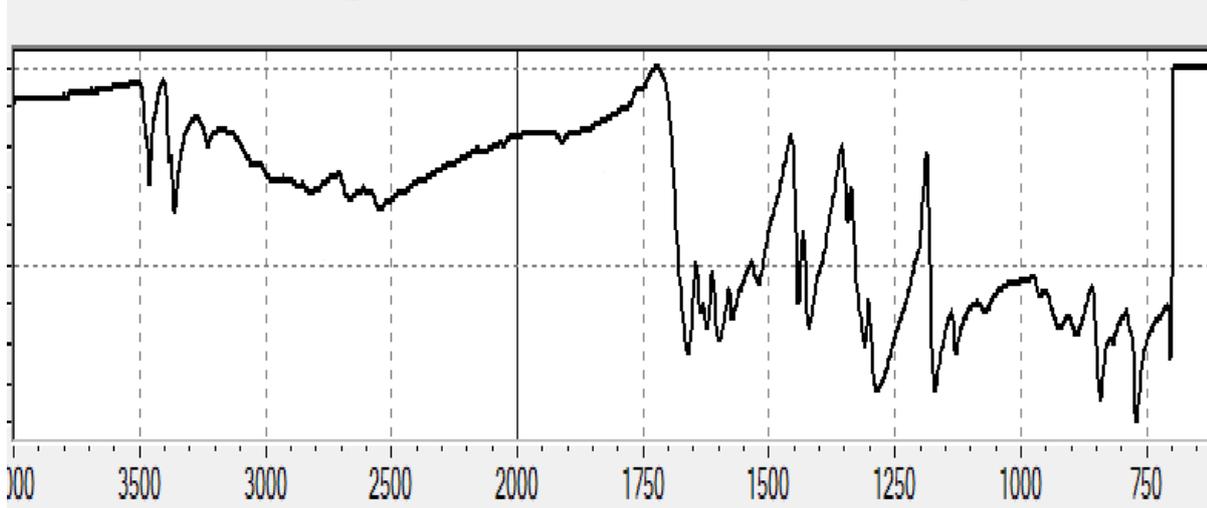
بهدف إيجاد قمم الامتصاص الأعظمي قمنا بتحضير محلول من نواة الـ PABA في الماء بتركيز 0.0123 غ/100مل، وإجراء مسح لامتصاصية المركب في المجال 400-200nm باستخدام جهاز spectrophotometer. وكانت قمة الامتصاص الأعظمي 267nm.



الشكل (2): طيف الـ UV لنواة الـ PABA

أظهر طيف الـ IR لنواة الـ PABA الشكل (3)، وجود مجموعة من العصابات المميزة، أهمها:

IR (cm⁻¹): 3450-3400 (NH₂ Stretching), 3300-2500 (carboxylic OH Stretching), 3100 (aromatic C-H Stretching), 2000-1700 (overtone), 1650 (C=O Stretching).



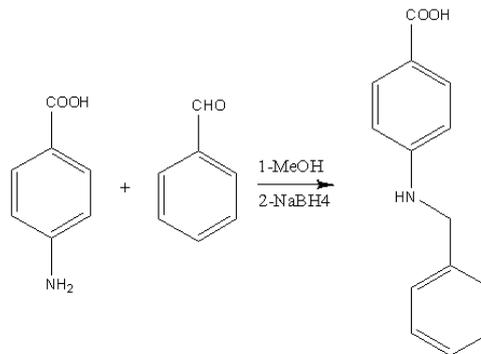
الشكل (3): طيف الـ IR لنواة الـ PABA

الاصطناع الكيميائي للمركب PABA34

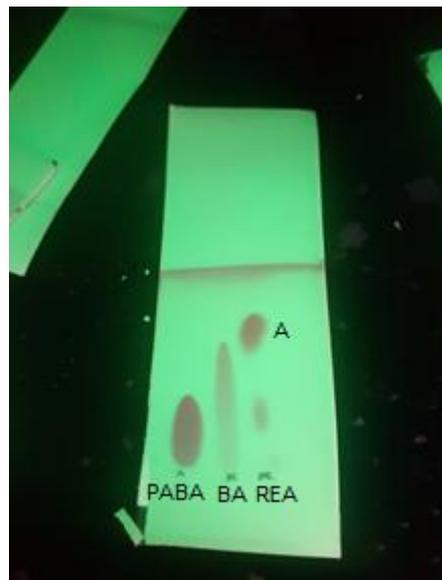
المرحلة الأولى أكلة الأمين

تمت الاستفادة من العمل السابق لـ ABDEL-MAGID و Krátký, M وزملائهم في تحديد شروط تفاعل الأمينية الإرجاعية [11,14]، حيث تم إجراء التفاعل مع البنزالدهيد في وسط من الميثانول وتحت تسخين مرتد حتى تشكل الإيمين وظهور اللون البرتقالي، تمت إضافة المرجع رباعي هيدريد الصوديوم NaBH_4 حتى زوال اللون والحصول على الأمين الثانوي، الشكل (4)، الذي تمت تنقيته باستخدام عمود من السيليكا وحساب مردوده ثم تحديد طيف IR الخاص به.

وتمت مراقبة التفاعل باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) باستخدام طور متحرك لا قطبي من دي كلورو ميثان/ميثانول (1/4)، وظهرت بقعة جديدة $R_f=0.812$ ، الشكل (5). استخدمنا كمية إضافية من PABA لأن NaBH_4 يمكنه التفاعل مع الألدheid وإرجاعه إلى الكحول الموافق في حال تبقيه في التفاعل وبالتالي يقل المردود، بالإضافة إلى قرب بقعه البنزالدهيد في الـ TLC من بقعة الناتج.



الشكل (4): تفاعل أمينية إرجاعية لنواة الـ PABA مع البنزالدهيد



الشكل (5): TLC الأمين الثانوي المتشكل

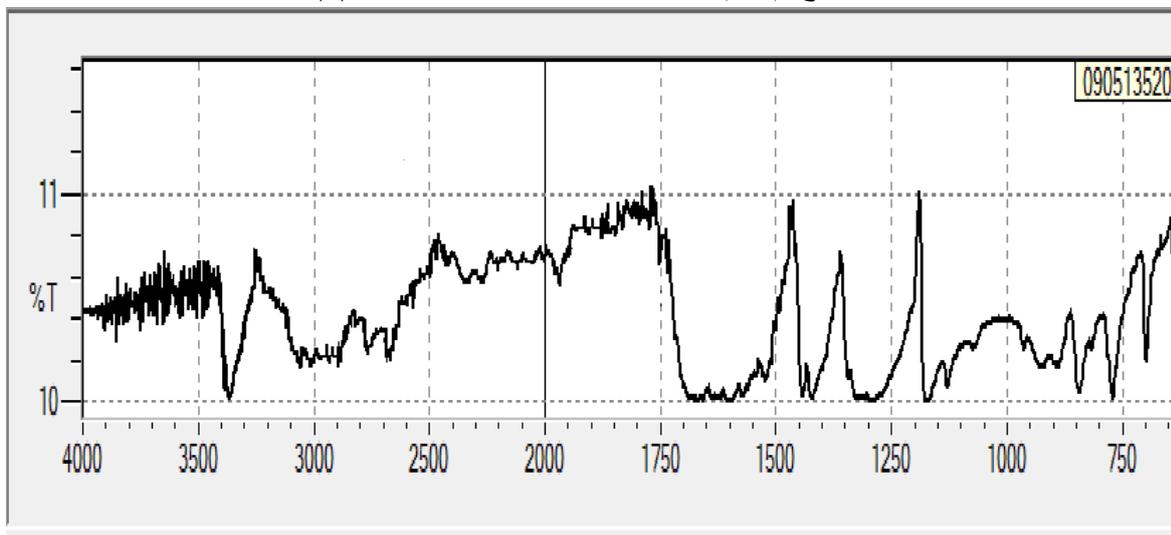
نلاحظ ظهور بقعة جديدة (A) بعد تمام التفاعل هي الأمين الثانوي بعد الإرجاع ووجود آثار من المادة الأولية PABA، (لم يتم إجراء TLC للأمين لأنه يتحلل عند وضعه على طبقة السيليكا). بعد ذلك تمت تنقية المركب الناتج باستخدام عمود الكروماتوغرافيا وطور ثابت من السيليس، وطور متحرك من حلقي الهكسان وخلات الإيثيل بنسب مختلفة كما في الجدول (4).

جدول (4): نسب الطور المتحرك المستخدم في عملية التنقية

الأنابيب	الطور المتحرك حلقي هكسان: خلالات إيثيل
1-15	2:8
16-20	3:7
21-25	4:6
26-30	5:5
31-35	7:3
36-39	8:2
40-50	10:0

تم إجراء TLC بشكل متزامن مع التنقية للأنابيب، ولاحظنا وجود المادة النقية في الأنابيب 14-34، فتم جمع هذه الأنابيب وتبخير المحل، وحساب المردود (57%).

من أجل التأكد من ذاتية المركب الناتج تم رسم طيف ال IR له، حيث يظهر الشكل (6) العصابات المميزة.

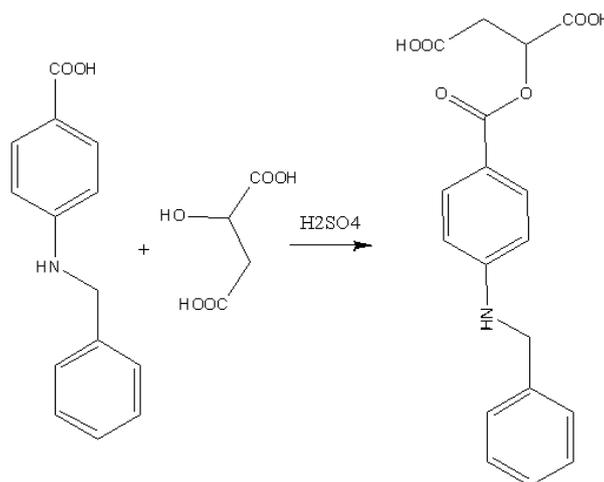


الشكل (6): طيف ال IR للأمين الثانوي المتشكل

نلاحظ من الطيف غياب عصابة الأمين الأولي وظهور عصابة الأمين الثانوي وظهور عصابة الميثيلين، دليل على تحول الأمين الأولي إلى ثانوي، ودخول جذر البنزول إلى مجموعة الأمين الأولي في نواة ال PABA. IR (cm-1): 3430 (NH Stretching), 3300-2500 (carboxylic OH Stretching), 3100 (aromatic C-H Stretching), 2950-2850 (CH2 Stretching), 2000-1700 (overtone), 1690 (C=O Stretching).

المرحلة الثانية تشكيل الأستر

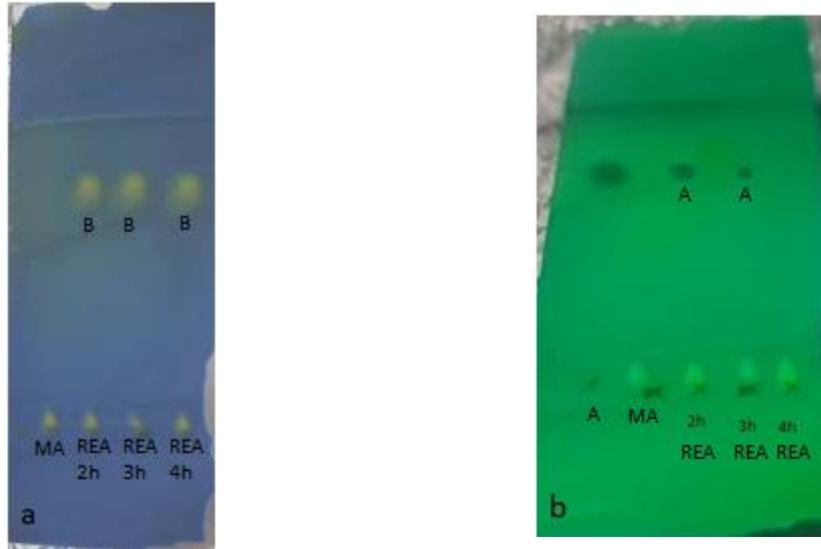
بعد الحصول على ناتج تفاعل الأكلية بشكل نقي تم إجراء تفاعل الأسترة للمجموعة الكربوكسيلية في نواة الـ PABA بناءً على نموذج تفاعل اصطناع البنزوكائين بوجود وسط حمضي من حمض الكبريت [10]، حيث تم استخدام حمض المالك و تمت دراسة التفاعل بفواصل زمنية مختلفة (4, 3, 2 ساعات) بهدف اختيار الزمن الأفضل للأسترة، والحصول على المركب بعد تنقيته بعمود السيليكا وتحديد طيف الـ IR له.



الشكل (7): تفاعل الأسترة للمركب الوسيط الناتج مع حمض المالك في وسط حمضي

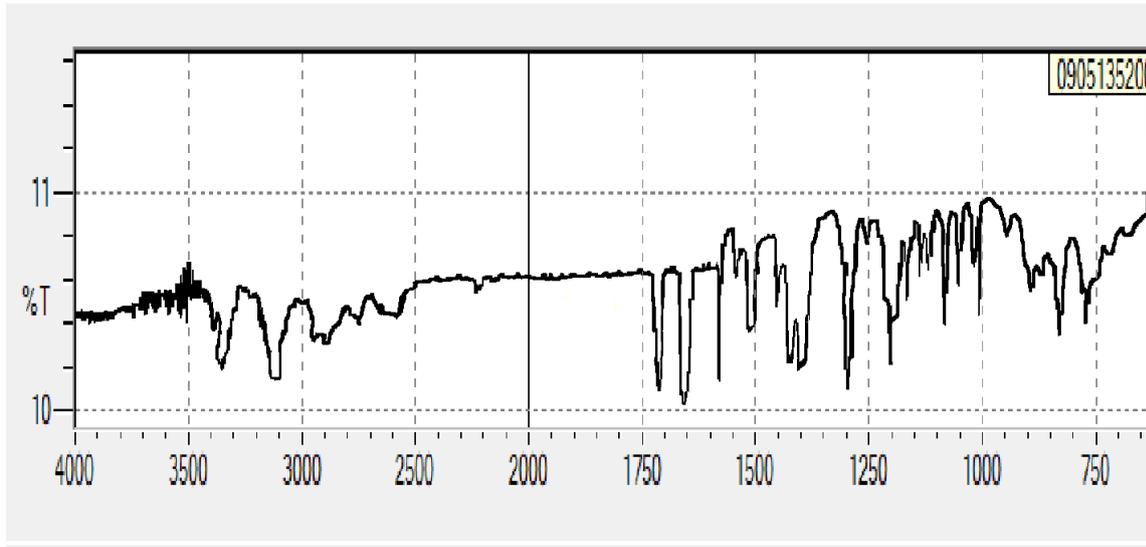
تمت مراقبة مزيج التفاعل REA بطبقة TLC وباستخدام طور متحرك من دي كلوروايثان/الميتانول (2/3) وملاحظة بقعة جديدة $R_f=0.752$ ، الشكل (8-أ).

تم تلوين ورقة الـ TLC باستخدام أخضر بروموكريزول (50مغ في 0.72مل من هيدروكسيد الصوديوم 0.1مولارية و 20 مل إيثانول 95%)، والتمام بالماء حتى (100مل) من أجل إظهار حمض المالك لأنه لا يظهر تحت أشعة الـ UV، حيث ظهرت بقعة حمض المالك بلون أصفر وكذلك المادة الناتجة ويمكن تفسير ذلك بأن كليهما يملك مجموعتي COOH وبهذا استطعنا تمييزه عن المركب الوسيط المتشكل في المرحلة السابقة بالرغم من امتلاكهم R_f متقارب حيث أن الأخير لم يتلون بالملون المستخدم، الشكل (8-ب). ونلاحظ عدم هجرة حمض المالك على ورقة الـ TLC ويمكن أن يكون ذلك بسبب قطبيته العالية، ولكن المركب الناتج لم يظهر بشكل واضح تحت لمبة الـ UV حيث لم يظهر اللون الأصفر إلا تحت الضوء العادي.



الشكل (8): TLC تفاعل الأستر مع حمض المالك a- في الضوء العادي، b- تحت لمبة UV

تمت عملية التنقية بعمود السيليس، وحساب المرود بالأزمنة المذكورة 41%، 48%، 59% على التوالي أي الزمن الأفضل للتفاعل كان 4 ساعات، وتم رسم طيف ال IR، الشكل (9).



الشكل (9): طيف ال IR لأستر حمض المالك المتشكل

IR (cm-1): 3350 (NH Stretching), 3300-2500 (carboxylic OH Stretching), 3100 (aromatic C-H Stretching), 2950-2850 (CH₂ Stretching), 2000-1700 (overtone), 1710 (carboxylic C=O stretching), 16500 (ester C=O Stretching).

نلاحظ استمرار العصابات المتشكلة سابقاً بالإضافة إلى انقسام في عصابة ال C=O ويمكن أن يفسر ذلك بوجود مجموعتي استر وحمض كربوكسيلي معاً في نفس المركب، حيث ظهرت عصابة الحمض الكربوكسيلي قبل الاستر وذلك بسبب الطنين الذي يضعف الرابطة C=O في الاستر العطري. لا تكفي النتائج السابقة لإثبات نقاوة المركبات بشكل كامل.

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

- ✓ تم اختيار المركب PABA34 الذي تم التوصل إليه بالنمذجة الجزيئية من أجل الاصطناع الكيميائي.
- ✓ قمنا بتحديد ذاتية نواة الـ PABA المستخدمة في اصطناع المركب PABA34.
- ✓ قمنا باختبار شروط تفاعل ألكلة وأسترة لنواة PABA.
- ✓ أظهرت النتائج أن الشروط الأفضل لتفاعل الألكلة هي في وسط من الميثانول مع التسخين التحريك لمدة 3 ساعات، والزمن الأفضل لإجراء تفاعل الأسترة هو 4 ساعات بدرجة حرارة 70م.

التوصيات والمقترحات

- ✓ استكمال اصطناع مركبات أخرى مرشحة كمثبطات لأنزيمات CDC25s.
- ✓ اختبار شروط أخرى لاصطناع المركب PABA34.
- ✓ ضبط نقاوة المواد والمحاليل المستخدمة في تفاعلات الاصطناع والنتيجة عنها.
- ✓ إجراء اختبار حيوي على المركبات المصنعة.

Reference

- 1-Murray A. *Cell cycle checkpoints*. Current Opinion in Cell Biology. 1994;6(6):872–6.
- 2-Rudolph J. *Cdc25 phosphatases: structure, specificity, and mechanism*. Biochemistry. 2007;46(12):3595–604.
- 3- Hoffmann I, Karsenti E. *The role of cdc25 in checkpoints and feedback controls in the eukaryotic cell cycle*. Journal of Cell Science. 1994;1994(Supplement_18):75–9.
- 4- Lazo J, Wipf P. *Is cdc25 a druggable target?* Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry. 2008;8(8):837–42.
- 5- Russell P, Nurse P. *Cdc25+ functions as an inducer in the mitotic control of fission yeast*. Cell. 1986;45(1):145–53.
- 6- Boutros R, Dozier C, Ducommun B. *The when and wheres of cdc25 phosphatases*. Current Opinion in Cell Biology. 2006;18(2):185–91.
- 7- Lavecchia A, Di Giovanni C, Novellino E. *Cdc25 phosphatase inhibitors: An update*. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry. 2012;12(1):62–73.
- 8- Lavecchia A, Di Giovanni C, Novellino E. *Inhibitors of cdc25 phosphatases as anticancer agents: A patent review*. Expert Opinion on Therapeutic Patents. 2010;20(3):405–25.
- 9- Lund G, Dudkin S, Borkin D, Ni W, Grembecka J, Cierpicki T. *Inhibition of CDC25B phosphatase through disruption of protein–protein interaction*. ACS Chemical Biology. 2014;10(2):390–4.
- 10- Ltd AA. *Synthesising benzocaine via reflux with a condenser [Internet]*. UK Essays. UK Essays; 2022 [cited 2023Jan3]. Available from: <https://www.ukessays.com/essays/chemistry/synthesising-benzocaine-via-reflux-1494.php>.
- 11-Krátký M, Konečná K, Janoušek J, Brablíková M, Jand'ourek O, Trejtnar F, et al. *4-Aminobenzoic Acid Derivatives: Converting Folate Precursor to Antimicrobial and Cytotoxic Agents*. Biomolecules. 2019 Dec 19;10(1):9.

- 12- Russell P, Nurse P. *Cdc25+ functions as an inducer in the mitotic control of fission yeast*. Cell. 1986;45(1):145–53.
- 13- Kluczyk A, Popek T, Kiyota T, de Macedo P, Stefanowicz P, Lazar C, et al. *Drug evolution: P-aminobenzoic acid as a building block*. Current Medicinal Chemistry. 2002;9(21):1871–92.
- 14- ABDEL-MAGID AF, CARSON KG, HARRIS BD, MARYANOFF CA, SHAH RD. *Cheminform abstract: Reductive amination of aldehydes and ketones with sodium Triacetoxyborohydride. studies on direct and indirect reductive amination procedures*. ChemInform. 2010;27(39).
- 15-Ko YG, Ma PX. *Growth of oriented P-aminobenzoic acid crystals by directional freezing*. CrystEngComm. 2012;14(23):7891.
- 16- Lynch KA, Robert Pergolizzi R. *In vitro Method to Quantify UV mediated DNA Damage*. The Journal of Young Investigators. 2010Aug;20(2). 17-1152 [Internet]. SDBS. [cited 2023Jan9]. Available from: <https://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/landingpage?sdbno=1152>