

Экзогенные доноры оксида азота и ингибиторы его образования (химический аспект)

В.Г.Граник, С.Ю.Рябова, Н.Б.Григорьев

Центр по химии лекарственных средств – Всероссийский научно-исследовательский
химико-фармацевтический институт
119815 Москва, Zubovskaya ul., 7, факс (095) 246–6633

В настоящем обзоре обобщены литературные данные о биологической роли оксида азота, образующегося в живом организме в результате ферментативного окисления L-аргинина. Особое внимание уделено экзогенным донорам оксида азота — соединениям, способным *in vitro* и *in vivo* высвобождать NO при окислении, восстановлении или гидролитическом расщеплении. Рассмотрены также данные о химической природе ингибиторов NO-синтазы — фермента, ответственного за образование оксида азота из L-аргинина.
Библиография — 158 ссылок.

Оглавление

I. Введение	792
II. Общие вопросы	792
III. Экзогенные доноры оксида азота	794
IV. Ингибиторы NO-синтазы	803
V. Заключение	804

I. Введение

Обнаружение и подтверждение медиаторной роли оксида азота в живом организме стимулировали поиск принципиально новых лекарственных средств. Появились публикации,^{1–10} касающиеся прежде всего биологической роли оксида азота, проблем недостаточного и избыточного его высвобождения *in vivo* и, соответственно, путей увеличения или уменьшения его количества в органах и тканях.

В настоящем обзоре обобщены и рассмотрены данные по высвобождению NO из химических соединений различной структуры, которые можно объединить общим названием — доноры (или генераторы) оксида азота. Кроме того, в обзоре обсуждены результаты исследований, касающиеся ингибиторов изоформ фермента NO-синтазы (NO-C), ответственного за образование оксида азота *in vivo* из L-аргинина.

В.Г.Граник. Доктор химических наук, профессор, заведующий отделом синтеза ЦХЛС–ВНИХФИ. Телефон 246–0749.

Область научных интересов: органическая химия, физическая органическая химия, медицинская химия.

С.Ю.Рябова. Кандидат химических наук, старший научный сотрудник того же отдела. Телефон 246–0840.

Область научных интересов: химия гетероциклических соединений, химия индоксила.

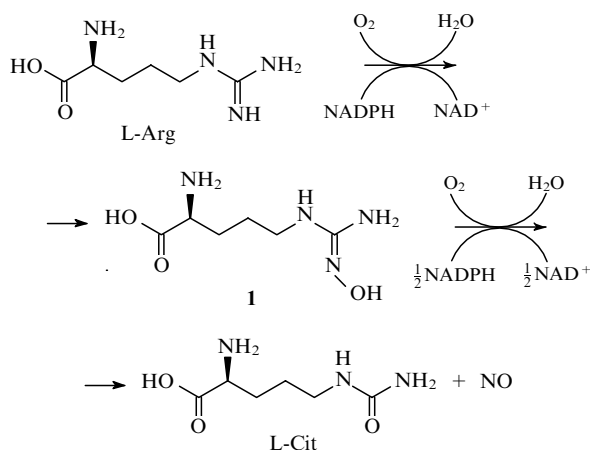
Н.Б.Григорьев. Доктор химических наук, ведущий научный сотрудник аналитического отдела того же института. Телефон 120–8829.
Область научных интересов: электрохимия органических соединений.

Дата поступления 26 ноября 1996 г.

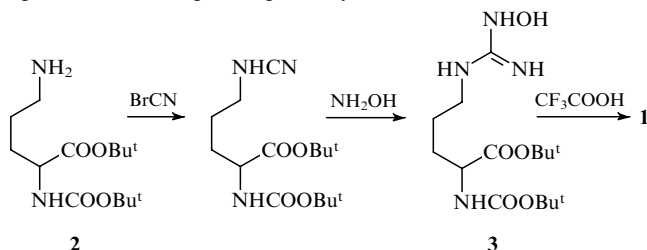
II. Общие вопросы

Оксид азота играет важнейшую роль в функционировании сосудистой системы в качестве эндогенного релаксирующего средства. Высвобождение оксида азота в кровеносных сосудах из эндотелиальных клеток является результатом повышения внутриклеточного уровня ионов кальция (Ca^{2+}), которое инициирует биосинтез NO. Оксид азота, диффундируя в соседние клетки, активирует фермент-растворимую гуанилатциклазу (РГЦ). Последняя способствует трансформации гуанозинтрифосфата (ГТФ) в циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ). Повышение количества цГМФ в клетках вызывает релаксацию сосудов и, в конечном итоге, снижение артериального давления. Другие важнейшие биологические функции оксида азота заключаются в ингибировании агрегации тромбоцитов и воздействии на иммунную систему, центральную и периферическую нервные системы. Таким образом, NO играет ключевую роль в контроле вазкулярного тонуса, нейротрансмиттерных механизмов, является цитотоксическим и цитостатическим агентом. Целый ряд патологических состояний, например, сердечно-сосудистые, инфекционные, воспалительные заболевания, мозговые повреждения при инсультах и т. д., могут быть в значительной степени связаны с повышенным или пониженным содержанием оксида азота.

Биосинтез NO в организме осуществляется окислением L-аргинина, катализируемым ферментом NO-синтазой (об изоформах NO-C см. ниже) с участием восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН), как источника электронов. В качестве кофакторов NO-C содержат по 1 молю (6R)-5,6,7,8-тетрагидрибиоптерина (БН₄), флавина адениндинуклеотида (ФАД), флавиномононуклеотида (ФМН) и гема на мономерную субъединицу. Общая схема окисления L-аргинина представлена ниже.⁶



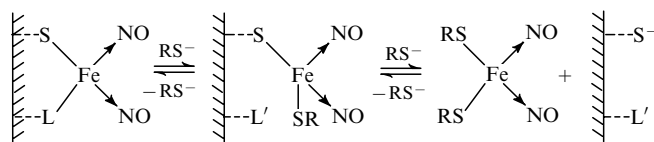
Окисление протекает стереоспецифично и только L-аргинин (но не его D-изомер) является источником оксида азота.¹¹ L-N-Гидроксиаргинин (**1**) является промежуточным продуктом окисления L-аргинина.^{12–20} Авторы работы¹³ синтезировали **1** из производного эфира α,ω -диаминокислоты (**2**) через N-цианопроизводное, которое далее превращали в N-гидроксигуанидиновый интермедиат **3**. Удаление защитных группировок с карбоксильной и α -аминогрупп приводит к N-гидроксиаргнину **1**.



Подобно L-аргнину, соединение **1** вызывает релаксацию сосудов, которая может быть предотвращена ингибиторами NO-синтазы — N^ω-метил- и N^ω-нитроаргининами.¹³ Эти данные хорошо согласуются с тем, что **1** является интермедиатом в синтезе NO и L-цитруллина из L-аргинина.¹³ В специальных экспериментальных работах^{16,17} показано, что окисление L-аргинина NO-синтазой протекает по меньшей мере в две стадии: на первой стадии, которая требует участия НАДФН и кислорода, образуется гидроксиаргинин **1**; на второй, требующей наличия BH₄, кислорода и 0.5 экв. НАДФН, образуются L-цитруллин и оксид азота. Этими же авторами установлено, что гидроксиаргинин **1** является хорошим субстратом индуцибельной NO-синтазы (и-NO-C). Существенно, что при окислении молекулы **1** с меченой ¹⁵NH-группой образуются меченые ¹⁵NO₂⁻ и ¹⁵NO₃⁻-анионы (продукты трансформации NO), а из соединения с меченой ¹⁵NH-группой имидоксимного фрагмента — NO₂⁻ и NO₃⁻-анионы, не содержащие метки. Следовательно, в и-NO-C окисляется только N-гидроксилированный фрагмент. С применением H₂¹⁸O было показано, что полученный при окислении L-цитруллин метки не содержит, т.е. он образуется с участием O₂, а не воды. С представлениями о том, что соединение **1** является интермедиатом в биосинтезе NO *in vivo*, хорошо согласуются исследования фармакологической активности этого соединения в сравнении с активностью аргинина (в том числе и эксперименты, проводимые на фоне ингибиторов NO-C).¹⁸ Приводятся данные²⁰ о способности гидроксиаргинина **1** окисляться в клетках до оксида азота и нитритов и в отсутствие NO-C, возможно, за счет катализа цитохромом P-450. Тем не менее основной путь образования оксида азота в организме — это катализируемое ферментом NO-синтазой окисление L-аргинина. Две главные изоформы NO-C описаны в литературе — это конститутивная NO-синтаза (к-NO-C), которая обнаружена в сосудистом

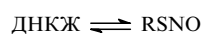
эндотелии и в мозгу, и индуцибельная NO-синтаза (и-NO-C), присутствующая в активированных макрофагах. Конститутивная изоформа требует для активации Ca²⁺/кальмодулин и может быть подразделена на эндотелиальную и нейрональную изоформы. Первая генерирует NO, который оказывает влияние на снижение кровяного давления и ингибирует агрегацию тромбоцитов, вторая (нейрональный фермент) действует как нейротрансмиттер. Основная функция и-NO-C — иммунная защита организма, т.е. синтез NO, цитотоксического агента и противовоспалительного средства. В отличие от к-NO-C, для активации и-NO-C не требуется регуляция ионами Ca²⁺ (см.^{10,21}).

Весьма важна дальнейшая судьба оксида азота в живом организме, а именно его участие в различных биохимических процессах и способ его депонирования в клетках. Хотя во многих работах оксиду азота приписывается функция сосудорасширяющего агента, идентичность NO и так называемого производимого эндотелием релаксирующего фактора (ЭДРФ) вызывает большие сомнения из-за высокой реакционной способности оксида азота и, соответственно, значительной вероятности его быстрой биотрансформации в живом организме. На основании того, что NO, в отличие от ЭДРФ и S-нитрозотиолов, вступает во взаимодействие с гемоглобином (Hb), образуя комплекс HbNO (индикаторный метод — спектроскопия ЭПР), Харрисон и сотр.²² пришли к выводу, что ЭДРФ представляет собой не свободный оксид азота, а S-нитрозомеркаптосоединения, типа S-нитрозоцистеина. S-Нитрозотиолы предложены в качестве кандидатов на роль ЭДРФ еще в целом ряде исследований (см.^{2,23–25}). Однако существует и иная точка зрения,^{26–31} согласно которой ЭДРФ — это динитрозильные комплексы негемового железа (ДНКЖ) с низкомолекулярными тиольными лигандами. Оба типа соединений (нитрозотиолы и ДНКЖ) обнаружены в клетках и тканях, продуцирующих оксид азота из L-аргинина при катализе NO-C.^{29,30} Там же показано, что эти соединения способны к взаимопревращению, т.е. депонирование оксида азота обоими этими способами не является взаимоисключающим. Белковые лиганды, по-видимому, имеют большее сродство к Fe(NO)-группам, но при взаимодействии с тиолами, такими как цистеин и ацетилцистеин, устанавливается следующее равновесие:²⁹



////////// — белок.

По мнению авторов работы²⁹, белковые ДНКЖ являются стабильным депо оксида азота, низкомолекулярные ДНКЖ — переносчиками. В эндотелиальных клетках ЭДРФ представлен в основном ДНКЖ, а в межклеточной среде — S-нитрозоцистеином.³⁰ Исходя из существенно большей стабильности ДНКЖ по сравнению с S-нитрозотиолами, равновесие в организме животных заметно смещено влево, и точка зрения, согласно которой ЭДРФ — это в основном динитрозильные комплексы железа, представляется достаточно убедительной.³¹

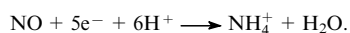


Связывание оксида азота железом определяет, по-видимому, и активацию растворимой гуанилатциклазы (РГЦ), которая ответственна за трансформацию ГТФ в цГМФ и вызванные этим биохимические и биологические эффекты. Найдено,³² что УФ-спектр РГЦ изменяется под воздействием NO. Моделирование этой системы показало, что при добавлении оксида азота протогем-СО-комплексы трансформируются в пятикоординированные комплексы Fe(II)-NO, что,

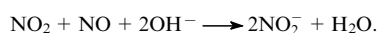
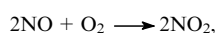
вероятно, имитирует поведение РГЦ. Полагают,³³ что NO нитрозирует гем-РГЦ с образованием нитрозил-гем-комплекса, в котором железо выведено из плоскости порфиринового кольца. Структура комплекса становится подобной структуре протопорфирина IX — активатора РГЦ — и наблюдается активация РГЦ. В связи с тем что обнаружено действие NO на РГЦ, изучена активация этого фермента некоторыми комплексами оксида азота с переходными металлами.³⁴ Исследованы три типа нитрозокомплексов: 1) $\text{Na}_2[\text{FeNO}^+(\text{CN})_5]$ (NO несет положительный заряд, нитрозоний-катион), 2) $\text{K}_3[\text{CrNO}(\text{CN})_5]$ и $[\text{CoNO}(\text{NH}_3)_5]\text{SO}_4$ (NO — нейтральная группа) и 3) $\text{K}_3[\text{CoNO}^-(\text{CN})_5]$ (NO координирован в виде аниона). Наиболее эффективным стимулятором РГЦ является нитропруссид натрия $\text{Na}_2[\text{FeNO}^+(\text{CN})_5]$, активирующее действие которого обусловлено взаимодействием NO^+ с гемом фермента. Нитрозокомплексы кобальта и хрома, в которых NO является нейтральной группой, незначительно активируют РГЦ, а комплексы с анионом NO^- являются ингибиторами фермента. В отличие от нитропруссида, остальные комплексы не обладают гипотензивным эффектом, реализация которого связана с гем-зависимым механизмом.

Прежде чем приступить к обсуждению материала, связанного с рассмотрением различных типов структур, обуславливающих возможность высвобождения экзогенного оксида азота или ингибирующих его образование в живом организме, представляется целесообразным рассмотреть в этом разделе аналитические методы, позволяющие идентифицировать NO.

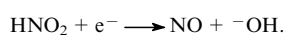
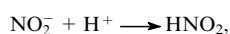
Основные методы определения оксида азота — хемилуминесцентный, электрохимический, ЭПР, спектрофотометрический, хроматографический, электрофоретический и флуориметрический — подробно описаны в недавнем обзоре⁸. Здесь целесообразно указать на некоторые работы, не упомянутые в этом обзоре. Так, NO определяли колориметрически в виде нитрит-аниона и с помощью спектроскопии ЭПР, как нитрозил-феррогемоглобиновый парамагнитный комплекс, полученный разложением тионитритов в присутствии оксигемоглобина.³⁵ Для определения NO использовали спектроскопию ЭПР железомононитрозилди-тиокарбаматного комплекса,^{15, 28, 36} а также хемилуминесцентный метод.^{37, 40} Особо следует остановиться на новом непрямом электрохимическом методе определения оксида азота, разработанном в последние годы.^{41–45} Выяснилось, что NO можно идентифицировать полярографическим методом, так как он восстанавливается на ртутном капельном электроде (РКЭ) в кислых средах с $\text{pH} < 3$, давая необратимую пятиэлектронную волну.⁴¹



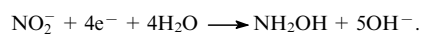
Волна начинается при -0.77 В отн. НКЭ (НКЭ — насыщенный каломельный электрод) и быстро исчезает при продувании азотом, что не дает возможности считать этот метод аналитически приемлемым. Лучше фиксировать NO по току восстановления NO_2 , образующегося при взаимодействии NO с растворенным кислородом воздуха. В этом случае определение ведут при pH раствора, близком к физиологическому.



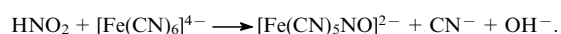
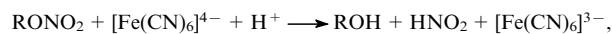
В слабокислых растворах (pH 3–4) образуется недиссоциированная HNO_2 , разряжающаяся на РКЭ по одноэлектронному механизму ($E_{1/2} = -1.0$ В отн. НКЭ).



По появлению этой волны можно косвенно судить о наличии и концентрации NO в растворе. Еще одна возможность определения оксида азота, реализованная в работе⁴¹ — введение в раствор поливалентных катионов (La^{3+} , Ce^{3+} , Nd^{3+}). В этом случае наблюдается волна с $E_{1/2} = -1.2$ В.



В развитие этого метода разработан полярографический метод определения NO,^{42–45} в форме нитропруссид-аниона, получаемого в результате восстановления исследуемого соединения ферроцианидом калия или при его окислении феррицианидом калия. Например, при взаимодействии таких известных генераторов NO как нитрозофилы с ферроцианид-анионом протекают следующие процессы:



В результате образуется полярографически активный нитропруссид-анион. При соответствующем подборе оптимальных условий указанный процесс может служить для надежного количественного определения оксида азота.^{42–44} Другой способ определения NO^{42, 45} основан на зависимом от времени уменьшении анодной волны цистеина в присутствии генератора оксида азота.

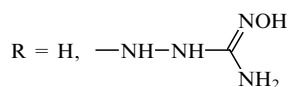
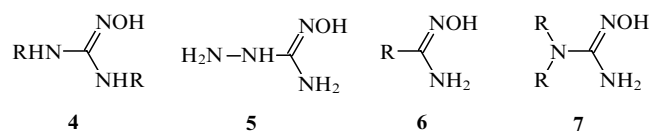
Представленный выше материал указывает на целесообразность поиска соединений, способных увеличивать или уменьшать количество оксида азота в органах и тканях, а наличие надежных аналитических методов определения NO позволяет проводить отбор наиболее перспективных доноров NO *in vitro*. Ниже рассмотрены методы синтеза доноров NO *in vitro*, а также приведены данные по исследованию генераторов оксида азота и ингибиторов его синтеза *in vivo*, катализируемого NO-C, и обсуждены некоторые биологические и токсикологические проблемы, возникающие при воздействии экзогенных соединений на различные биологические системы.

III. Экзогенные доноры оксида азота

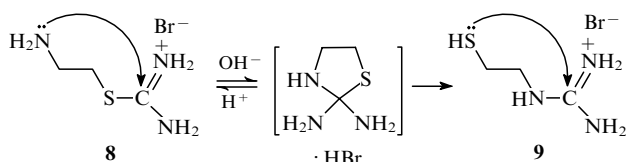
1. Гуанидины и родственные соединения

Как указывалось выше, именно гуанидиновый фрагмент L-аргинина, являясь мишенью для NO-C, подвергается окислению до N-гидроксипроизводного **1** и далее до цитруллина и оксида азота. При этом предполагается, что субстраты связываются с NO-C и по аминокислотной части, но, в первую очередь, за счет гуанидинового фрагмента (с гемом фермента и специальным местом «гуанидинового связывания»)⁶. Поэтому можно было ожидать, что некоторые соединения, имеющие гуанидиновые или гуанидиноподобные группировки, могут являться субстратами NO-C и по окислительному NO-синтазному (включающему катализ NO-C) механизму трансформироваться с выделением NO. В первую очередь это относится к основному эндогенному субстрату — L-аргинуину, так как ферментативные процессы в большинстве случаев весьма специфичны. Из исследований, касающихся самого аргинина, упомянем работу⁴⁶, в которой показано, что эта аминокислота и этиловый эфир N^ω-бензоил-L-аргинина способны при введении *in vivo* снижать внутриглазное давление. Кроме того, L-аргинин и его производные, имеющие липофильные заместители, могут использоваться при лечении ишемии сетчатки глаза.⁴⁷ Авторы работ^{46, 47} предполагают, что эти явления обусловлены способностью L-аргинина и его производных окисляться с высвобождением оксида азота и, соответственно, вызывать расслабление кровеносных сосудов, в результате чего снижается кровяное давление. Сосудорасширяющее действие N-гидроксигуанидина **1** усиливается при взаимодействии с оксидом азота. Показано, что взаимодействие **1** с NO,

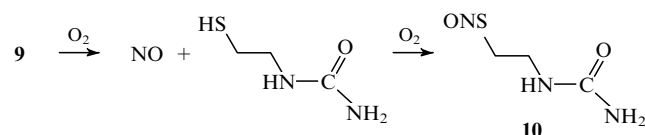
HNO_2 и другими нитрозирующими агентами приводит к аддукту, который способен расслаблять сосуды.¹⁹ Реакцией соответствующих цианамидов, карбодимидов и других подходящих соединений с гидроксиламином был синтезирован ряд *N*-гидроксигуанидинов 4–7.¹⁹ Оказалось, что эти соединения также дают аддукты с нитрозирующими агентами, которые в водных растворах высвобождают оксид азота (хемилюминесцентный анализ).¹⁹



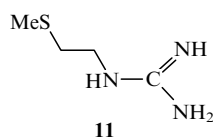
Структура этих аддуктов не установлена, но показано, что они стабильны до растворения. В водных растворах они разлагаются с различной скоростью, причем при низких значениях pH (1–1.5) разложение необратимо. В органических растворителях деградация идет быстро, но выход NO небольшой. С использованием меченых нитрозирующих агентов показано, что ^{15}NO включается в структуру аддукта и именно этот атом азота (^{15}N) теряется при разложении. Фармакологические испытания показали релаксацию сосудов под воздействием этих соединений. При этом более лабильные аддукты дают короткую и резкую релаксацию, а медленно разлагающиеся — более растянутый во времени ответ меньшей интенсивности. Разумеется, выделяется не только NO, образующийся при распаде его аддуктов с гидроксиаргинином 1 и некоторыми другими гидроксигуанидинами, но и NO, образующийся при окислении гуанидинового фрагмента аргинина. Изучена^{48,49} β-аминоизотиоурониевая соль (8), которая при pH 7 легко перегруппировывается в β-меркаптоэтилгуанидин (9).



Количественное определение равновесного соотношения 8 и 9 проведено полярографическим методом.⁴⁹ Найдено, что при pH 7 амин 8 полностью превращается в тиол 9. Из этого авторы предположили вероятность такого же перехода и *in vivo*. Было предположено, что окисление 9 с образованием NO, сопровождается захватом последнего меркаптогруппой с образованием *S*-нитрозотиола 10 и, таким образом, осуществляется депонирование выделяющегося оксида азота.

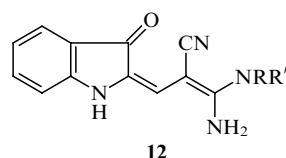


Для проверки этого предположения был синтезирован β-метилтиозилгуанидин 11.



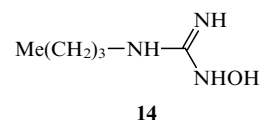
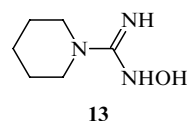
Оказалось, что гуанидин 11 существенно слабее, чем тиол 9 активирует РГЦ и обладает меньшим антигипертензивным эффектом, что, возможно, подтверждает целесообразность поиска таких систем, в структуре которых, наряду с фрагментами, ответственными за высвобождение NO, содержались бы «ловушки», способные удерживать и сохранять некоторое время оксид азота. Этот вопрос будет еще обсуждаться при рассмотрении других генераторов NO. Следует особо отметить, что окисление тиола 9 протекает, по-видимому, по тому же механизму, что и окисление L-аргинина, т. е. с участием NO-C. В пользу такого заключения свидетельствует тот факт, что РГЦ не активизируется, когда тиол 9 используют вместе с ингибитором NO-C — *N*^ω-метиларгинином.

Еще один новый тип NO-доноров — диендиамины индолинового ряда (12).^{50,51}

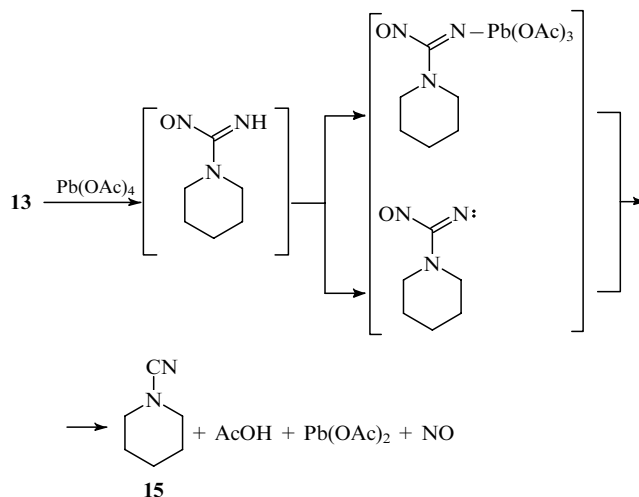


Соединения 12 при окислении образуют оксид азота и, в зависимости от заместителя при атоме азота, проявляют более или менее выраженную способность активировать РГЦ и антигипертензивную активность *in vivo*.

Изучено химическое окисление *N*-гидроксигуанидинов типа 1, 13 и 14, протекающее с высвобождением оксида азота.¹⁵ При этом из всех изученных окислителей только два — тетраацетат свинца и калий феррицианид / пероксид водорода — способны направлять процесс по желаемому пути.



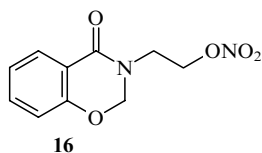
При окислении 13 в качестве одного из продуктов выделен и идентифицирован *N*-цианопиперидин (15). Предлагается¹⁵ схема процесса, коренным образом отличающаяся от энзиматического окисления L-аргинина и *N*-гидроксиаргинина:



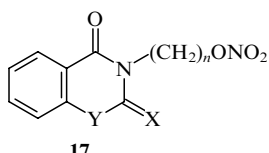
Интересно, что химическое окисление не приводит к мочевинам — продуктам, эквивалентным цитруллину, образующемуся при окислении аргинина. Это еще раз подчеркивает ферментативный путь окисления производных гуанидина *in vivo*. Отметим, что окисление другими реагентами приводит к HNO , которая димеризуется до $\text{HON}=\text{NOH}$. Разложение последнего дает N_2O и H_2O .

2. Нитроэфиры

Для производных, содержащих гуанидиновый или модифицированный гуанидиновый фрагмент, основным направлением генерации NO является окисление. Напротив, для образования оксида азота из нитратных вазодилататоров (препаратов типа нитроглицерина, использующихся в течение многих лет) и аналогичных соединений требуется восстановление. В настоящее время очевидно, что коронарорасширяющее действие нитроэфиров связано с увеличенным выделением оксида азота, донорами которого они являются.^{37, 38, 52–58} Нитраты традиционно используются для лечения стенокардии, но, возможно, показания к их применению могут быть расширены в направлении лечения сахарного диабета, атеросклероза, сосудистого спазма. Наряду с известными нитратами^{37, 38, 52} в ряде работ предложены новые типы соединений, например, нитроксиалкилкумарины.⁵³ Активность некоторых представителей этого ряда соединений в 2–10 раз превышает активность нитроглицерина. Недавно сообщено⁵⁴ о новом препарате — производном бензоксазина **16** с улучшенным действием на коронарные сосуды. Сейчас он находится во второй фазе клинического исследования. Ряд производных оксазина, тиазина и пиримидина (соединения **17**) проявляют антиишемическую активность.⁵⁴



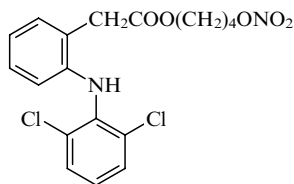
16



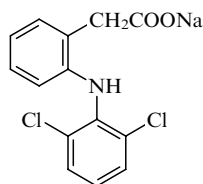
17

Y = O, NH, S; X = O, S; n = 2, 3

Приведены данные⁵⁵ по сосудорасширяющему и антиагрегаторному действию таких доноров NO, как S- и N-нитрозосоединения, в сравнении с нитроглицерином. Если вазорелаксирующее действие нитроглицерина находится на достаточно высоком уровне, то по ингибированию агрегации тромбоцитов этот препарат заметно уступает S- и N-нитрозосоединениям. К числу новых соединений — доноров оксида азота относится нитрофенак — диклофенак δ-нитроксипропиловый эфир (**18**).⁵⁷



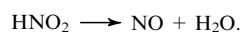
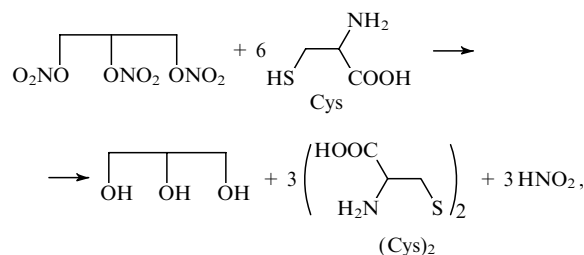
18



Диклофенак натрия
(вольтарен, ортофен)

Нитрофенак близок к диклофенаку натрия (вольтарен, ортофен) по противовоспалительному и жаропонижающему действию, но его антитромботическая активность (свойственная донорам NO) значительно выше. Но главное достоинство **18** (по сравнению с диклофенаком натрия) — значительное снижение гастротоксичности без потери способности ингибировать простагландин синтез. Это важное свойство авторы приписывают наличию в соединении **18** нитроэфирного фрагмента.

Прямое доказательство образования NO из нитратов в присутствии тиолов получено полярографическим методом.⁴⁵ Ход реакции нитроглицерина с тиолами контролировали по уменьшению анодной волны тиола и нитрата. Так, полярографическая волна, отвечающая окислению цистеина, постепенно понижается во времени соответственно уравнению:

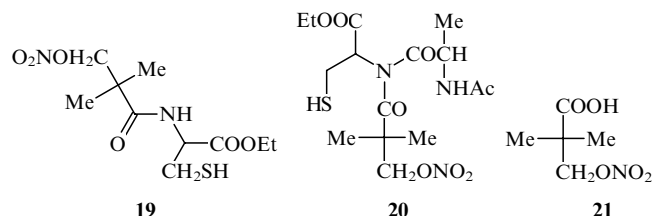


Установлено, что восстановление нитроглицерина цистеином или унитиолом (2,3-димеркаптопропансульфонатом натрия) протекает в две стадии — восстановительный гидролиз нитроэфира тиолом и восстановление образовавшегося NO_2^- до NO. Авторы предполагают также возможное диспропорционирование HNO_2 по уравнению:



Скорость реакции нитроглицерина с тиолами невелика и существенно меньше развития терапевтического эффекта этого препарата, из чего было сделано заключение об энзиматическом образовании оксида азота из нитроглицерина *in vivo*.⁴⁵ Одной из наиболее важных проблем применения нитратов в медицине является развитие эффекта толерантности, который относят к различным механизмам блокады или метаболизма нитроглицерина или/и действию его активного метаболита — оксида азота.⁵⁸ При этом толерантность не прекращается при увеличении дозы нитроглицерина. Выдвинуто предположение,⁵⁹ что толерантность вызвана быстрым истощением внутриклеточных запасов цистеина или, в более общем виде, дефицитом соединений, содержащих меркаптогруппы. В этой связи были разработаны методы синтеза доноров NO, содержащих в молекуле меркаптогруппу. В таких молекулах возможно «внутримолекулярное содействие» (как в случае β-меркаптоэтилгуанидина), заключающееся во внутримолекулярном улавливании выделяющегося NO с образованием относительно малостабильных S-нитрозотиолов, которые являются источниками NO в организме. Синтезированные по этому принципу соединения — весьма эффективные сосудорасширяющие средства, сильные доноры оксида азота и активаторы РГЦ. Наибольшей активностью среди них обладает соединение **19**.⁵⁹

По-видимому, соединение **19** и его аналоги не вызывают эффекта развития толерантности. В работах^{60–63} описан синтез этилового эфира [N-(3-нитроксипропилоил)-N'-(N'-ацетил-DL-аланил)]-L-цистеина (SPM-5185, **20**) — коронарорасширяющего средства, сравнимого по активности с нитроглицерином.



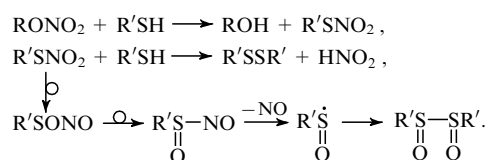
19

20

21

С целью выяснения необходимости наличия меркаптогруппы в молекуле нитроэфира для исключения развития толерантности, сравнили биологическое действие соединений **20** и **21**. Оказалось, что активность соединения **20** намного выше, чем **21**, лишённого меркаптогруппы, однако ни одно из соединений не индуцирует сколько-нибудь значительной толерантности. Это позволило предположить,⁶¹ что цистеиновый фрагмент соединения **20** не является необходимым, а уменьшение содержания тиольных групп вряд ли является причиной толерантности. Отсутствие развития толерантности при применении эфира **20** специально было проверено и подтверждено.⁶⁴ Однако в недавнем исследова-

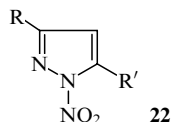
нии⁶⁵ вновь было показано, что именно истощение запасов меркаптогрупп является причиной развития толерантности к нитратам. Авторы этой работы синтезировали соединения, имеющие наряду с ONO_2 -группами тиазолидиновый фрагмент, при гидролизе которого образуются свободные меркаптосоединения. Фармакологическое исследование полученных веществ позволило заключить, что наличие в системе, наряду с высвобождающимся оксидом азота, высвобождающихся меркаптогрупп предотвращает нитратную толерантность. В заключение этого раздела вернемся к взаимодействию нитратов с тиолами, что, как видно из приведенного материала, является важнейшей основой их биологического действия. В работе⁹ было проанализировано взаимодействие тиолов с нитратами и установлено, что структура тиолов имеет принципиальное значение. Все тиолы разлагают нитраты до нитрит-аниона, но только некоторые из них (цистеин, *N*-ацетилцистеин) — до оксида азота. Если образуется NO (даже вместе с NO_2^-), наблюдается активация РГЦ, если только NO_2^- — активации РГЦ нет. Автор объясняет эти различия в поведении тиолов возможностью протекания внутримолекулярной перегруппировки тионитрат $\rightarrow$ сульфенилнитрит.



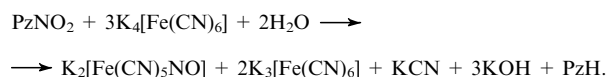
Разумеется, реальность представлений, касающихся метаболизма нитратов, нуждается в дальнейшем анализе и дополнительном подтверждении.

3. Другие нитро-, нитрозо- и родственные соединения

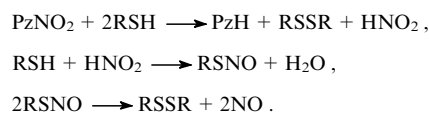
Не только *O*-нитро-, но и *N*-нитропроизводные могут служить генераторами оксида азота. В качестве примера отметим исследование ряда нитропиразолов (PzNO_2 , **22**).⁶⁶



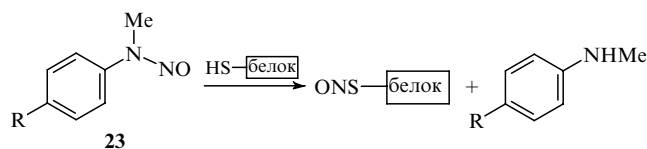
Их электрохимическое и химическое восстановление с помощью ферроцианида калия или цистеина, приводит к оксиду азота. Соединения **22** активируют РГЦ. Предполагаемый механизм этой трансформации на примере взаимодействия с ферроцианидом калия приведен ниже:



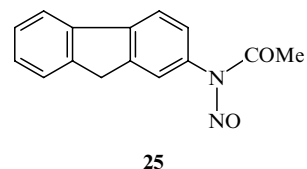
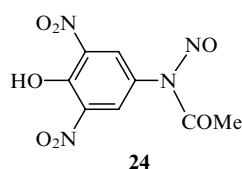
С тиоловыми соединениями (цистеин) пиразолы **22** взаимодействуют по схеме:



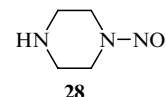
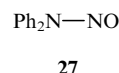
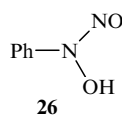
Ряд исследований посвящен изучению соединений, содержащих *N*-нитрозогруппу. Изучена⁶⁷ серия *N*-метил-*N*-нитрозоанилинов (**23**), которые, как оказалось, способны *S*-нитрозировать цистеинсодержащие ферменты, например папаин, и тем самым создавать стабильные NO -депо.



N-Нитрозосоединения **24** и **25**, обладающие выраженным мутагенным действием, способны проявлять сосудорасширяющие свойства, причем васкулярный ответ может быть предотвращен воздействием гемоглобина, связывающего NO , и метиленового синего, ингибирующего гуанилатциклазу.⁶⁸



Интересно, что соединения **24** и **25** способны дезаминировать основания ДНК. Полагают,⁶⁸ что указанные эффекты вызваны высвобождением оксида азота. Изучена группа *N*-нитрозосоединений **26**–**28**, являющихся донорами оксида азота.³⁶



Для *N*-нитрозо-*N*-гидроксианилина (**26**) предполагается реакция окисления с участием оксигемоглобина (**29**).

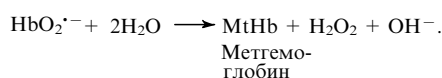
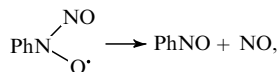
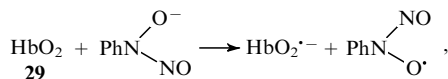
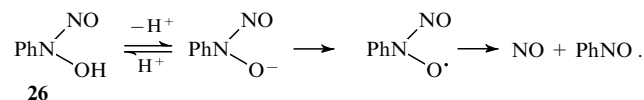
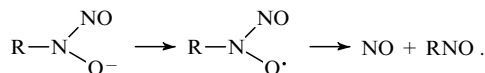


Схема окисления соединения **26** без участия гемоглобина представлена ниже.⁶⁹



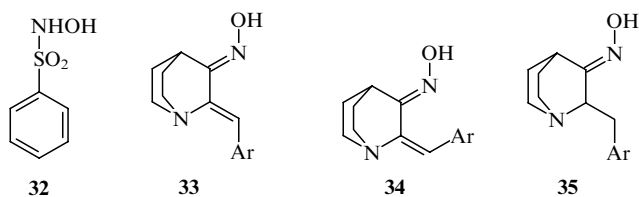
Для соединений типа **26** наблюдается катализируемое пероксидазами ферментативное окисление, которое также может быть смоделировано электрохимически.⁷⁰



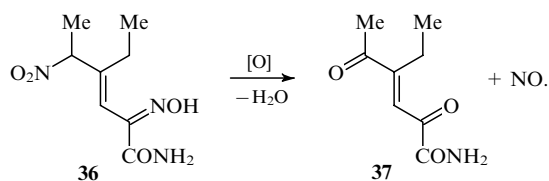
В обоих случаях образуется оксид азота.

Ряд исследований^{69–71} посвящен изучению производных *N*-нитрозо-*N*-алкоксисоединений. Так, соединения $\text{RN}(\text{NO})\text{OR}'$ (**30**: $\text{R} = \text{R}' = \text{Me}$; **31**: $\text{R} = \text{R}' = \text{Et}$) способны эффективно продуцировать оксид азота, что, по мнению авторов работы⁷¹, может вызывать их более значительную канцерогенную активность по сравнению, например, с *N*-нитрозодиметиламином.

К рассмотренным исследованиям близко примыкают работы по изучению окисления соединений, имеющих в своей структуре фрагменты со связью N—O.^{72–76} К таким соединениям относятся нитроны, образующие оксид азота при фотолизе⁷³ и активирующие РГЦ; нитроксил (HNO), проявляющий биологические эффекты, подобные NO;⁷⁴ пероксинитрит (ONOO[–]), который дает NO при взаимодействии с глюкозой и расслабляет сосуды (реакция ингибируется оксигемоглобином),⁷⁵ *N*-гидроксibenзолсульфамид (**32**)⁷⁶ — кислота Пилоти, которая при окислении высвобождает NO (авторы⁷⁶ полагают, что в организме это происходит энзиматически). Интересными объектами для изучения генерации оксида азота оказались оксими (например, оксими **33–35** — производные хинуклидона-3).



С использованием непрямого электрохимического метода ($K_3[Fe(CN)_6]$ и $K_4[Fe(CN)_6]$, см. выше) установлено, что большинство этих соединений генерируют NO при окислении.^{44,77} Интересно, что наибольший выход оксида азота зафиксирован для соединений **34** и **35** (Ar — *o*-гидроксифенил); т. е. сближенность оксимного фрагмента и фенольного гидроксила способствует образованию NO. Важно, что эти соединения окисляются до NO даже атмосферным кислородом. Указанные оксими активируют РГЦ и проявляют антигипертензивное действие. Отсюда сделан вывод⁴⁴ о возможной роли фенольной *o*-гидроксильной группы как переносчика оксида азота, стабилизирующего его например, в виде *O*-нитритов или *O*-нитратов. В литературе имеются данные⁷⁸ о взаимодействии NO с фенольными антиоксидантами и феноксильными радикалами, которые могут рассматриваться как переносчики оксида азота в биологических системах. Изучено⁷⁹ окисление соединения **36**, содержащее одновременно оксимный фрагмент и нитрогруппу.



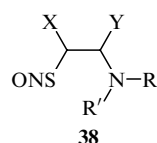
Соединение **36** при pH 7.5 быстро трансформируется в дикетон **37** с выделением NO. Присутствие его доказано с помощью спектроскопии ЭПР, колориметрического титрования, а также взаимодействием с тирозил-радикалом рибонуклеотид-редуктазы. Соединение **36** является сильным сосудорасширяющим средством, активирует РГЦ, увеличивает уровень внутриклеточного цГМФ. Прямых данных, какая из групп — нитрогруппа, оксимная или обе сразу — вносит основной вклад в образование NO, в работе не дано.

Имеются сведения о 5-нитрофуранах и 5-нитроимидазолах, которые, в присутствии аскорбиновой кислоты (как восстановителя) образовывали нитрозильные комплексы с гемоглобином, т. е. высвобождали оксид азота.⁸⁰ В заключение укажем на образование NO при фотолизе 2-метил-2-нитрозопропана.⁸¹ Это соединение способно при облучении вызывать релаксацию сосудов, активировать РГЦ и соответственно повышать уровень цГМФ в биологических растворах.

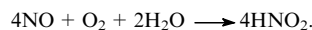
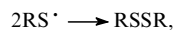
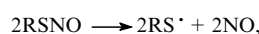
4. S-Нитрозотиолы

Так как S-нитрозотиолы являются, пожалуй, самой обширной и наиболее подробно изученной группой экзогенных генераторов оксида азота, их целесообразно выделить в отдельный класс NO-доноров. В работе³⁵ выдвинуты основные требования к генераторам оксида азота, подтверждающие целесообразность поиска новых лекарственных средств именно в ряду S-нитрозотиолов. Это обусловлено, во-первых, простотой синтеза S-нитрозотиолов и получением их в чистом виде и стабильном (преимущественно в твердом) состоянии, во-вторых, их способностью к относительно быстрой деградации в водных растворах при физиологических значениях pH с выделением NO без необходимости редокс-активации. При таком разложении происходит количественное образование NO без образования токсичных побочных веществ.

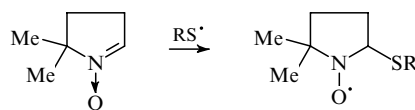
В работе³⁵ описан синтез большой группы S-нитрозосоединений общей формулы **38**.



Исследована стабильность соединений **38** в растворах, и рядом известных методов доказана их способность генерировать оксид азота. Определены времена полураспада S-нитрозотиолов **38** в фосфатном буферном растворе при pH 7.0, которые варьируют от нескольких минут до десятков часов в зависимости от структуры. Полагают, что образование NO основано на гомолитическом разрыве связи S—N.



Образованию NO сопутствует возникновение радикала $RS^{\cdot}$, который настолько нестабилен, что не может быть детектирован с помощью спектроскопии ЭПР. В качестве ловушки использован 5,5-диметилпириролин-N-оксид, который взаимодействует с тиил-радикалами, образуя стабильную парамагнитную частицу, которую уже можно зафиксировать с помощью спектроскопии ЭПР.³⁵

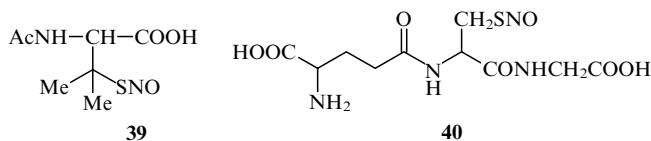


Влияние структуры на стабильность нитрозотиолов авторы связывают с вкладом резонансной структуры **A**, стабилизирующей молекулу по отношению к гомолитическому разрыву связи S—N. Увеличение вклада этой структуры повышается с повышением электронодонорных свойств радикала R (в этих случаях устойчивость S-нитрозотиолов увеличивается).

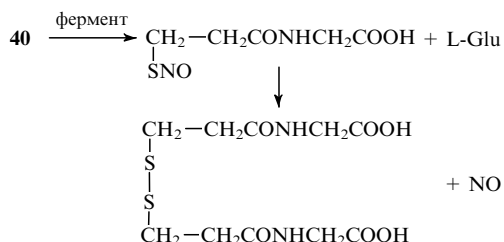


Тиил-радикалам посвящена также работа⁹. В ней указывается на потенциальную опасность этих высокореакционных соединений, способных вступать не только в димеризацию, но и другие процессы, давая вещества с неизвестным биологическим действием. Другая потенциальная опасность применения S-нитрозотиолов — реакция транснаитрозилирования меркаптогрупп белков. Она может привести к необратимой модификации групп SH ферментов и как результат — к образованию смешанных дисульфидов с полной или частичной потерей энзиматической активности.

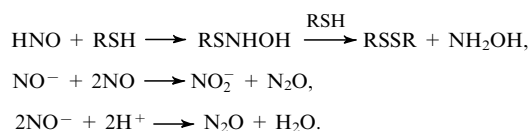
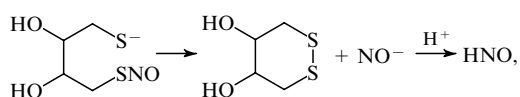
Проблема транснаитрозиования подробно обсуждена в работе⁸², в которой рассмотрены свойства *S*-нитрозо-*N*-ацетилпенициллина (**39**) и *S*-нитрозоглутатиона (**40**).



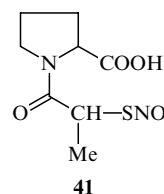
Соединения **39** и **40** заметно различаются по химическим свойствам. Первое соединение малостабильно, его разложение до соответствующего дисульфида и NO катализируется Cu^{2+} . Растворы **40** стабильны в течение многих часов и индифферентны к действию катионов меди. В работе⁸³ указывается не на полную стабильность соединения **40** в этих условиях, а на большой индукционный период, предшествующий его разложению. Тем не менее *S*-нитрозоглутатион **40** столь же активен, как и соединение **39**, в отношении релаксации сосудов и более активен в качестве ингибитора агрегации тромбоцитов. Соединение **40** весьма быстро взаимодействует с цистеином, образуя *S*-нитрозоцистеин — нестабильное соединение, быстро генерирующее оксид азота.⁸² Таким образом, вполне стабильный в растворах *S*-нитрозоглутатион **40** в присутствии цистеина образует NO с высокой скоростью. Альтернативный (и, вероятно, быстрый) путь высвобождения NO из соединения **40** — энзиматический, протекающий под действием γ -глутамил-транспептидазы.



По мнению автора работы⁸⁴, транснаитрозиование — преимущественный механизм гипотензивного эффекта *S*-нитрозотиолов. Обоснованием этой точки зрения является значительно меньшая скорость гидролиза этих соединений по сравнению с развитием фармакологического эффекта. Что касается транснаитрозиования, то это весьма быстрый процесс. Тот же вывод сделан и в работе⁸⁵. Нейропротекторные эффекты *S*-нитрозотиолов обусловлены транснаитрозиованием, и в исследовании⁸⁶ местом протекания этих процессов обозначены НМДА-рецепторы (НМДА — *N*-метил-*D*-аспарагин). В то же время нейродеструктивные эффекты NO, возможно, связаны с его взаимодействием с супероксид-анионом (O_2^-) с образованием пероксинитрита. Утверждается,⁸⁶ что сосудорасширяющий, антиагрегационный и противомикробный эффекты *S*-нитрозотиолов не зависят от скорости высвобождения NO. Авторы⁸⁶ рассмотрели возможность образования таких частиц, как NO, NO^+ и NO^- . Количество оксида азота, высвобождающегося из *S*-нитрозотиолов, определено по скорости окисления гемоглобина до метгемоглобина. Высокую скорость транснаитрозиования авторы объясняют способностью нитрозотиолов действовать в качестве NO^+ -доноров. Причем скорость образования NO^+ выше, чем скорость высвобождения NO. Для изучения высвобождения NO^- использована следующая модельная система:



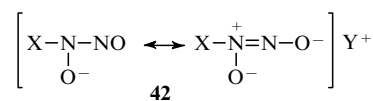
Быстрое образование дисульфидов сопровождается выделением гидросиламина и N_2O , что указывает на высвобождение NO^- . На основании полученных результатов сделан вывод, что *S*-нитрозотиолы способны действовать как доноры NO^+ , NO и NO^- при физиологических условиях. Авторы обоснованно утверждают, что активность этих соединений обусловлена не только гомолитическим, но и гетеролитическим разрывом связи S—N. Количество работ, посвященных получению новых и исследованию известных *S*-нитрозотиолов, весьма велико.^{55, 87–92} Особо следует отметить работу⁸⁸, в которой описан синтез *S*-нитрозокаптоприла (**41**). Это соединение по своей структуре является гибридной молекулой, способной воздействовать на обе важнейшие системы, поддерживающие артериальное давление в живом организме, и вызывать вазодилатацию как путем активирования РГЦ, так и путем ингибирования ангиотензинпревращающего фермента (АПФ).⁹³



Действительно, эксперименты показали, что соединение **41** обладает сосудорасширяющими свойствами, ингибирует АПФ и агрегацию тромбоцитов. По мнению авторов, соединение **41** может использоваться при лечении гипертензии и различных сердечно-сосудистых заболеваний, однако, по нашему мнению, применение этого соединения в лечебной практике вряд ли возможно из-за его нестабильности.

5. Комплексы NO с нуклеофилами

Рассмотрим еще одну группу соединений, способных выступать в качестве доноров оксида азота. Это так называемые нонаты **42** (от английского NONO-ate) — соединения, в которых димер ON—NO формально связан с нуклеофилом через атом азота.^{94, 95}



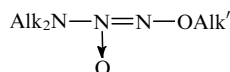
X = Et₃N, PrⁱNH;
Y = Na, NH₄, RR'NH₂.

Изучение устойчивости этих весьма стабильных в нативном состоянии соединений в растворах при pH 7.4 показало, что они легко гидролизуются с образованием оксида азота. При этом, так же как нитрозотиолы, они не требуют для гидролиза ни восстановительных, ни окислительных агентов. Скорость деградации определяется структурой соединений и варьирует в широких пределах. Биологическое изучение соединений этого типа показало, что они являются активными сосудорасширяющими соединениями, ингибируют агрегацию тромбоцитов, участвуют в регуляции активности цитохрома P-450.^{39, 96, 97}

С целью локализации высвобождения NO в определенных органах и тканях, данная система была внедрена в полимерную матрицу. Были синтезированы полимеры различных типов, например, путем введения $\text{Et}_2\text{N}[\text{N}(\text{O})\text{NO}]^-\text{Na}^+$ в полиэтиленгликоль, $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}[(\text{N}(\text{O})\text{NO})^-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+]$ в поликапролактамы, $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{N}[(\text{N}(\text{O})\text{NO})^-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_3^+]$ в декстран.³⁹ Уста-

новлено, что полимеры, имеющие фрагмент $[N(O)NO]^-$ и хранящиеся *in vivo* как локализованные источники оксида азота, способны медленно высвобождать NO при pH 7 и 30°C. Эти полимеры препятствуют агрегации тромбоцитов и ингибируют *in vitro* пролиферацию клеток.

Другой путь высвобождения NO вблизи биологической мишени — создание пролекарств, не способных выделять оксид азота без метаболической регенерации исходного нитрата ферментами, специфичными для выбранной клеточной мишени. С этой целью синтезированы следующие алкилпроизводные:

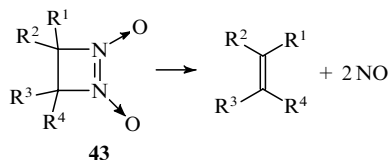


Они высвобождают оксид азота в растворах и проявляют антигипертензивную активность *in vivo*.⁹⁸

6. Гетероциклические производные

а. 1,2-Диазет-1,2-диоксиды

Этот класс соединений изучен недавно.^{41, 99, 100} Известно, что соединения типа **43** при умеренном нагревании разлагаются в водных растворах при физиологических значениях pH с образованием оксида азота. Это установлено с помощью полярографии⁴¹ и спектроскопии ЭПР.¹⁰⁰

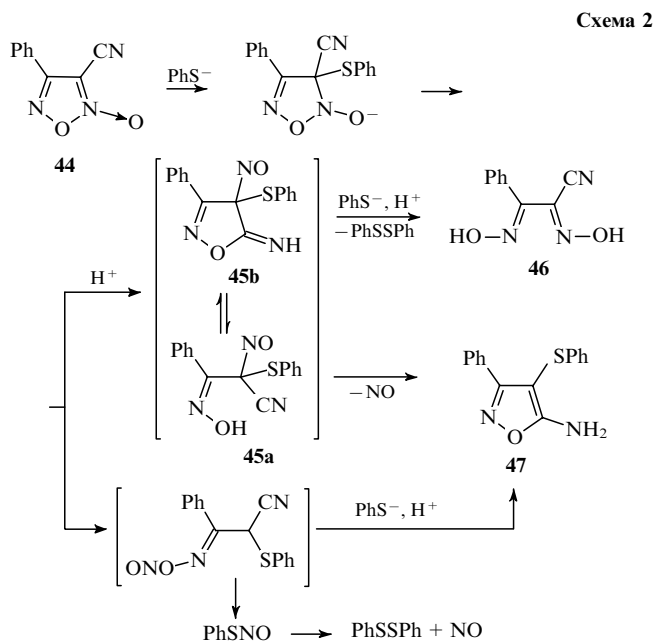
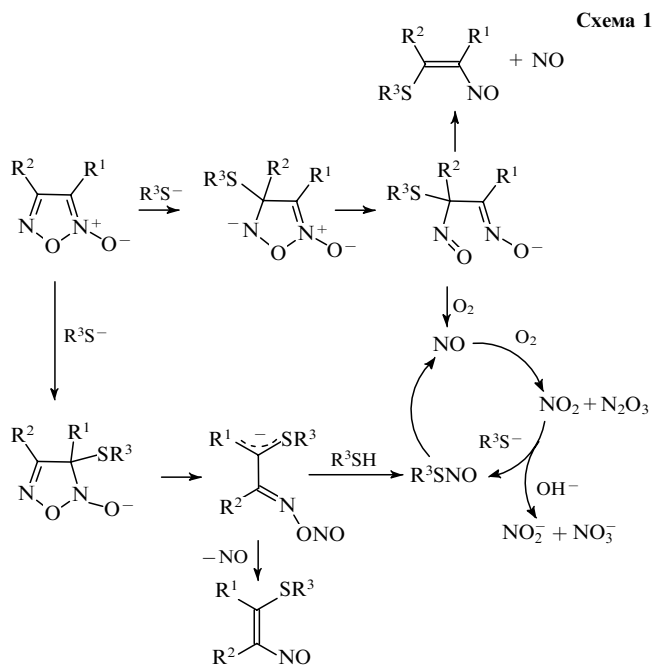


Электрохимически был изучен ряд 1,2-дiazет-1,2-диоксидов (**43**) и показано, что в зависимости от строения радикалов скорость высвобождения NO варьирует в достаточно широких пределах. Соединения **43** являются сильными активаторами РГЦ, проявляют отчетливый спазмолитический эффект *in vitro* и эффективно снижают артериальное давление *in vivo*. Во всех случаях (скорость генерации NO, активация РГЦ, спазмолитическое и антигипертензивное действие) между полученными рядами активности имеется достаточно убедительная корреляция. Скорость образования NO является определяющей для проявления указанных видов биологического действия. Найдено, что наибольшую активность проявляет соединение **43** с $R^1 = \text{Br}$, $R^2 - R^3 = (\text{CH}_2)_4$, $R^4 = \text{Me}$, а наименьшую — производное **43** с $R^1 = R^4 = \text{H}$ и $R^2 - R^3 = (\text{CH}_2)_5$.

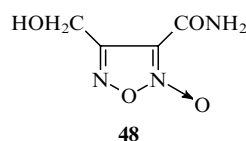
б. Фуруксаны

Ряд работ посвящен изучению NO-донорных свойств фуруксанов. Показано,¹⁰¹ что высвобождение оксида азота осуществляется при взаимодействии фуруксанов с тиолами (схема 1).

Фуруксаны активируют РГЦ, усиливают коронарный кровоток. По мнению авторов работы¹⁰¹, фуруксаны можно рассматривать как пролекарства, осуществляющие свое действие через NO/цГМФ путь. Тиолзависимое высвобождение оксида азота из фуруксанов подробно изучено на примере взаимодействия 4-фенил-3-фуруксанкарбонитрила (**44**) с цистеином и тиофенолом.¹⁰² Соединение **44** активирует РГЦ, проявляет сильное сосудорасширяющее действие и высокую антиагрегационную активность. Выход NO_2^- , образующегося при окислении NO в присутствии 5 ммоль цистеина, составляет $14 \pm 2\%$ (через 1 мин), $29 \pm 1\%$ (через 5 мин) и $40 \pm 2\%$ (через 1 ч), а в присутствии 0.5 ммоль тиофенола — $64 \pm 2\%$ за 1 ч. В работе¹⁰² изучено взаимодействие **44** с тиофенолом (схема 2).

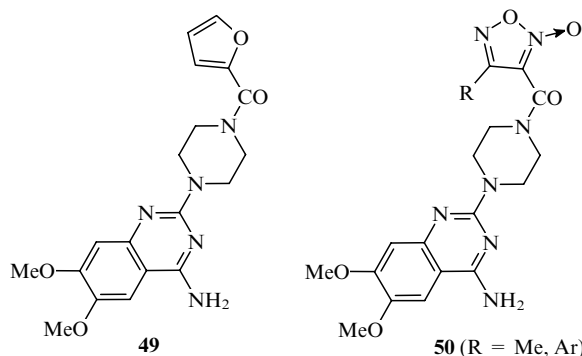


Соединение **46** выделено с выходом 20%, а изоксазол **47**, образующийся из интермедиатов **45a** $\rightleftharpoons$ **45b** — с выходом 60%. Полученные сведения дают возможность представить себе достоверную схему трансформации фуруксанов с образованием NO. Большой ряд биологически активных фуруксанов синтезирован в работах^{103–105}. При этом указано¹⁰⁴ на отсутствие развития толерантности к 4-гидроксиметил-фуруксан-3-карбоксамиду (**48**).

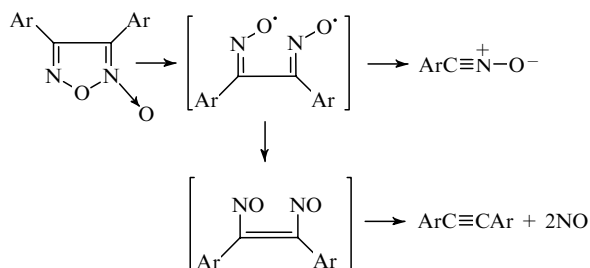


Напротив, в статье¹⁰⁵ указывается, что высвобождение оксида азота при использовании фуруксанов не является тиолзависимым. Отсутствие толерантности позволяет рассчитывать на применение производных фуруксана в лечении сердечно-сосудистых заболеваний.¹⁰⁵ Еще одно исследование¹⁰⁶ посвящено синтезу гибридных молекул — фуруксано-вых аналогов известного лекарственного препарата —

празозина (**49**), в котором фурильный фрагмент заменен на фуроксанильный (соединение **50**).

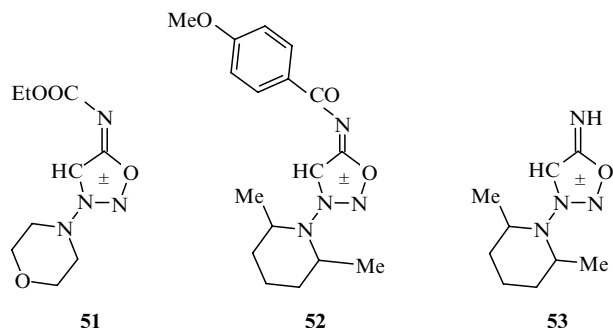


Соединения **50** в основном действуют как антагонисты α_1 -адренорецепторов, хотя и слабее, чем празозин. Однако при повышенных концентрациях вклад в вазодилаторное действие вносит и способность этих соединений высвобождать NO. Наконец, отметим работу¹⁰⁷, в которой изучено расщепление фуроксанового кольца под действием электронного удара в условиях масс-спектрометрии. Предполагаемая фрагментация объясняет образование оксида азота:



в. Сиднонимины

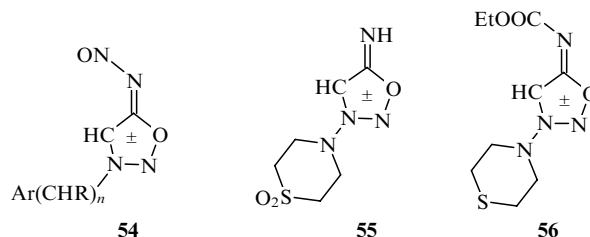
Другой важный класс гетероциклов, для которого свойственно в определенных условиях высвобождение оксида азота, — сиднонимины. К соединениям этого ряда принадлежит один из весьма активных антигипертензивных лекарственных препаратов — молсидомин (**51**).¹⁰⁸ Сведения о высокой активности этого мезоионного гетероцикла регулярно появляются в литературе (см., например,^{55, 92, 109–113}). Среди соединений этого класса следует обратить внимание на новый высокоактивный донор оксида азота — пирсидомин (**52**), биологическое действие которого сходно с изосорбидмонитратом и главным метаболитом пирсидомина (**53**).¹⁰⁹



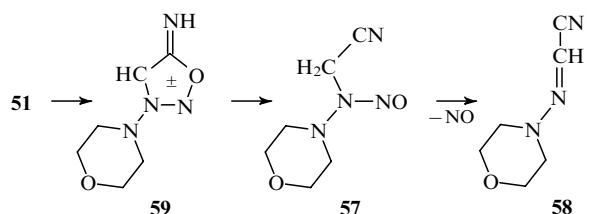
Соединения **52** и **53** не вызывают толерантности, в отличие от изосорбидмонитрата, что согласуется с гипотезой о различных механизмах действия сиднонимин и нитратов. В отличие от нитратов и, по-видимому, фуроксанов, генерация NO сиднониминами не требует присутствия тиолов.¹⁰⁹

Высокая антитромботическая активность отмечена для различно замещенных сиднонимин — *N*-экзо-нитрозопро-

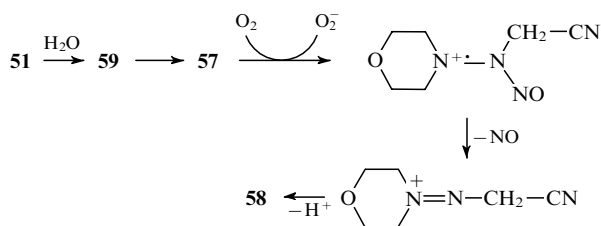
изводных **54**¹¹⁰ и соединений, имеющих тиазиновые остатки в положении 3 (соединения **55**, **56**).^{111, 113} Отметим, что активность соединения **56** несколько меньше, чем его морфолинового аналога — препарата молсидомин (**51**).¹¹³



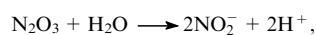
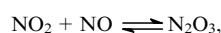
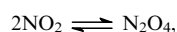
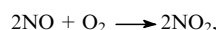
Утверждается,¹¹² что сиднонимины являются пролекарствами и их антиангинальные эффекты вызваны высвобождением оксида азота — первая стадия образования метаболитов типа **57** (из молсидомина) протекает быстро в нейтральной среде. Образование соединения **58** и NO сопровождается поглощением кислорода.



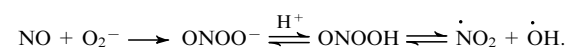
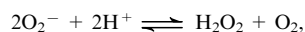
В целом механизм действия сиднонимин непосредственно связан с двумя процессами — гидролизом и окислением — и может быть представлен следующим образом (на примере молсидомина **51**).⁹



Итак, главными терапевтическими эффектами сиднонимин являются вазодилаторное и антиагрегационное действие, вызванное высвобождением оксида азота. Сиднонимины вызывают активацию РГЦ, что характерно для всех NO-доноров, но их метаболизация не требует присутствия тиолов. Существенно, что проявлению биологической активности сиднонимин сопутствует потребление кислорода. Наблюдается тесная корреляция между потреблением O_2 и выделением NO (коэффициент корреляции $r = 0.913$).¹¹⁴ В процессе разложения сиднонимин образуется супероксид-анион (O_2^-). Относительные скорости потребления кислорода и образования O_2^- коррелируют между собой. Непременным результатом разложения сиднонимин является образование нитритов и нитратов.¹¹⁴



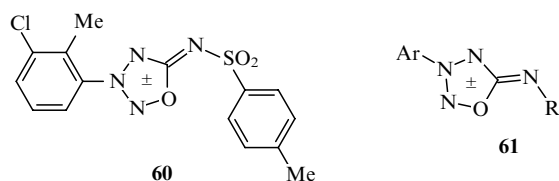
Кроме того, наличие в среде супероксид-аниона может вызывать протекание побочных процессов.



Считают,¹¹⁴ что образование не только NO, но и O₂⁻ существенно для терапевтического эффекта сиднониминов, так как супероксид-анион весьма активен и даже рассматривался ранее как эндотелием производимый сократительный фактор (ЭПСФ, сравни с ЭДРФ, см. выше). Проведено⁹² сравнение 3-морфолиносиднонимина (**59**) с некоторыми другими NO-донорами. Так, названные прямыми донорами оксида азота соединения **59** и *S*-нитрозо-*N*-ацетилцистеин, высвобождают NO, который активно поглощается тиолами в ряду: *N*-ацетилцистеин > цистеин > глутатион. Согласно этой классификации не прямые доноры NO (нитраты, молсидомин) не вызывают снижения количества групп SH без предварительной обработки их системой ксантин/ксантиноксидаза. Интересно, что в работе⁹² нитропруссид натрия также относят к непрямым донорам NO, так как в низких концентрациях он почти не уменьшает количества групп SH в растворах, и его поведение ближе к поведению нитроглицерина, чем сиднонимина **59** или нитрозотиолов.

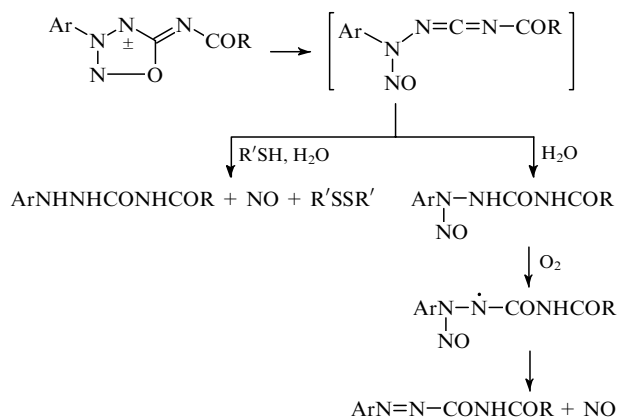
г. Другие гетероциклические соединения

По типу сиднониминов действует, по-видимому, и ряд других производных мезоионных гетероциклов. Так, показано,¹¹⁵ что донор оксида азота — производное оксатриазола **60** — обладает высокой сосудорасширяющей активностью и, более того, усиливает действие некоторых других генераторов NO, например, нитропруссид натрия.

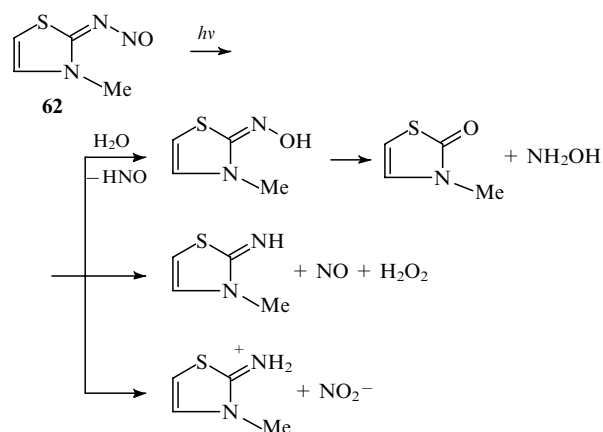


Подобного типа соединения общей формулы **61** проявили высокую цитотоксическую и цитостатическую активность. Учитывая сосудистое действие указанных соединений, можно предположить, что они окажутся перспективными для лечения опухолей в комбинации с лучевой и химиотерапией.¹¹⁵

Ряд других производных оксатриазола также проявляют антиагрегационные свойства.¹¹⁶ Предполагается, что их NO-генерирующие свойства связаны с раскрытием цикла. Был синтезирован ряд *N*-нитрозогидразидов, -гидразидов и -гидразонов, которые *in vitro* также являются ингибиторами агрегации тромбоцитов.¹¹⁶ По мнению авторов работы¹¹⁷, эти мезоионные системы выделяют NO по следующим предположительным путем:



Не только мезоионные гетероциклы, но и *N*-нитрозопроизводные аминогетероциклов, такие как тиазол-2-нитрозоимины (**62**) могут быть источниками NO.¹¹⁸

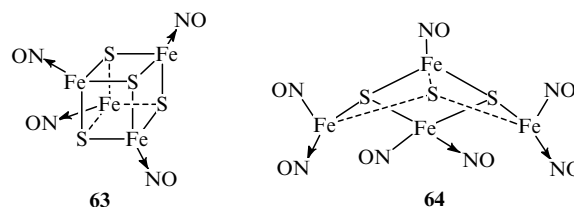


В присутствии глутатиона образуется соответствующее *S*-нитрозопроизводное. При облучении соединение **62** активирует *in vitro* РГЦ. Необходимым условием такой активации является присутствие тиолов.¹¹⁸

Из других производных гетероциклов, способных высвобождать оксид азота, отметим пиридил-1,2,5-оксадиазолкарбоксамид-2-оксиды,¹¹⁹ производные *N*-оксидов оксадиазолопиримидинов¹²⁰ и бензо-1,2,3-триазина,¹²¹ использующихся в качестве кардиоваскулярных агентов.

Интересно отметить, что ряд противоопухолевых препаратов, таких как алкалоиды винкристин, винбластин, колхицин, а также флавоноксусная кислота, 5,6-диметилксантенон-4-уксусная кислота являются сильными активаторами NO-C (механизм этой активации в настоящее время не известен) и тем самым проявляют «непрямые» NO-донорные свойства.¹²²

И, наконец, рассмотрим новый класс генераторов NO, обладающих вазодилаторными свойствами — железосеранитрозо-кластеры **63** и **64**.¹²³



Как и следовало ожидать, в присутствии оксигемоглобина («поглотителя» NO) или метиленового синего (ингибитора РГЦ) биологическая активность кластеров **63** и **64** резко снижается.

Основную массу приведенных данных по экзогенным донорам оксида азота можно суммировать в виде схемы 3.

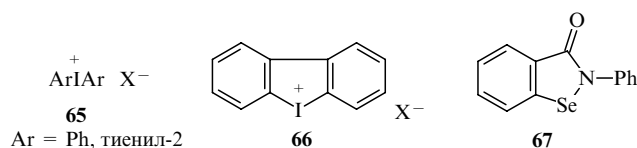
Схема 3



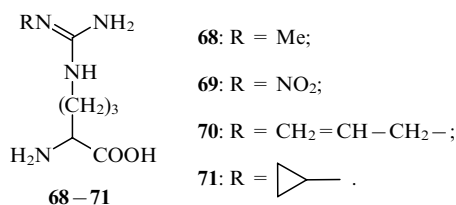
Эта схема дает представление о возможностях изменения количества оксида азота в организме за счет введения генераторов NO того или иного типа действия. Другое направление регуляции уровня оксида азота в органах и тканях заключается в ингибировании фермента NO-C, отвечающего за образование NO.

IV. Ингибиторы NO-синтазы

Выше речь шла о том, каким образом можно увеличить количество оксида азота в органах и тканях в условиях его недостаточного продуцирования в живом организме. Однако целый ряд патологических состояний, в том числе сердечно-сосудистые заболевания, инфекции, повреждения мозга и др., сопровождаются избыточным высвобождением NO. Нежелательными токсикологическими эффектами перепроизводства оксида азота являются экстремальная гипотензия и/или кардиососудистый коллапс, клеточные повреждения и септический шок.¹⁰ Поэтому в ряде случаев возникает необходимость ингибирования NO-C. Как уже упоминалось, синтез оксида азота осуществляется изоформами NO-C.¹²⁴ Как к-NO-C, так и и-NO-C производят оксид азота окислением гуанидинового фрагмента L-аргинина, утилизируя молекулярный кислород и НАДФН (в качестве ко-субстрата). Все изоформы содержат ФАД, ФМН и гемовое железо в качестве простетических групп и требуют кофактора БН₄. Соответственно ингибиторы флавопротеинов способны ингибировать активность NO-C. Так, иодониевые соли **65**, **66** и селеновый аналог изотиазола — эбселен (**67**) — сильные ингибиторы NO-C.¹⁰

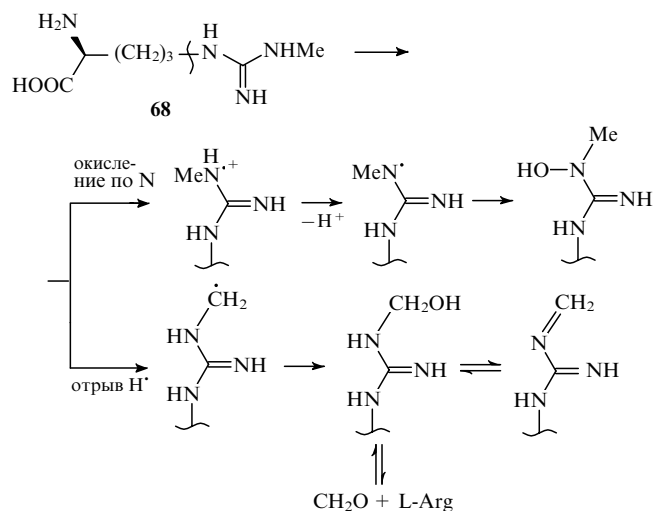


В качестве ингибиторов NO-C чаще всего используют производные аргинина и родственные им соединения. Поскольку недавно был опубликован ряд обзоров по подходам к синтезу ингибиторов NO-C,^{4,6,10} остановимся только на некоторых наиболее важных и новейших работах в данной области. Отметим лишь, что среди ингибиторов NO-C и сейчас наиболее важны N^ω-метил- (**68**) и N^ω-нитро-L-аргинины (**69**),¹⁰ свойства которых продолжают интенсивно исследоваться.^{125–129}

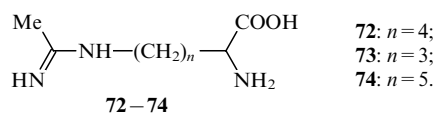


Так, показано, что соединение **68**, являющееся ингибитором макрофажовой и-NO-C, проявляет свое действие, в частности за счет алкилирования фермента.¹²⁵ Установлено, что метиларгинин **68**, как и аминоксидин, ингибируя NO-C, препятствует развитию диабетических сосудистых дисфункций.¹²⁶ Интересно, что метиловые эфиры аминокислот **68** и **69** проявляют анальгетический эффект, что вызвано, по мнению авторов работы¹²⁷, их воздействием на центральную нервную систему. Ингибиторы **68** и **69** потенцируют гипертензивное действие адреналина.¹²⁸ Существенно, что нитроаргинин **69** вызывает значительную артериальную гипертензию, которая частично может быть предотвращена введением L-аргинина, но не D-аргинина.¹²⁹ Было высказано предположение,¹³⁰ что соединение **68**, являющееся необрати-

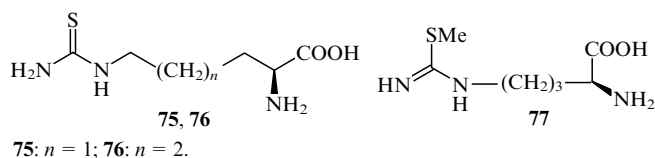
мым ингибитором макрофажовой и-NO-C, может подвергаться воздействию NO-C по следующим двум схемам:



В работах^{131,132} синтезированы новые ингибиторы и-NO-C — N^ω-аллил- (**70**) и N^ω-циклопропил-L-аргинины (**71**). Интересно, что если первый из них является необратимым ингибитором, то второй — обратимым, т.е. действие соединения **70** подобно действию нитроаргинина **69**. Причины такого различия в действии соединений **70** и **71** не ясны. Целый ряд структурных аналогов аргинина (ингибиторов NO-C) описан в работах^{21,133–135}. Так, замещенные аргинины и гомоаргинины — ингибиторы и-NO-C — использованы для лечения системной гипотензии, вызванной патологической «перепроизводкой» оксида азота.¹³⁴ В качестве ингибиторов и-NO-C изучены также N⁶-(1-иминоэтил)-L-лизин (**72**), N⁵-(1-иминоэтил)-L-орнитин (**73**) и N⁶-(1-иминоэтил)-D,L-гомолизин (**74**). Установлено,²¹ что соединение **72** является сильным селективным ингибитором и-NO-C, а орнитин **73**, будучи также активным ингибитором и-NO-C, селективностью не обладает и столь же сильно действует на к-NO-C.

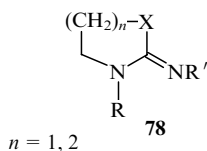


Осуществлен синтез L-тиоцитруллина (**75**), L-гомотиоцитруллина (**76**) и S-метиотиоцитруллина (**77**).¹³⁶ Эти аналоги и производные L-цитруллина — продукта окисления L-аргинина в живом организме — являются сильными ингибиторами нейрональной к-NO-C и и-NO-C. При этом соединение **77** значительно активнее метиларгинина **68**. В работе¹³⁶ вновь подчеркивается стереоселективность взаимодействия с ферментом и отмечается активность только L-энантиомеров. D-Изомеры полностью лишены ингибирующей активности.



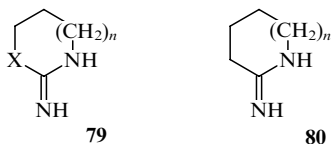
Соединения **75** и **77** являются сильными прессорными агентами *in vivo*. Поводом для синтеза этого нового класса ингибиторов послужило наличие в их молекулах атома серы, что должно привести к их прочному связыванию с активным центром фермента вблизи гемового железа, т.е. усилить взаимодействие ингибитора с ферментом. Полученные данные, по-видимому, согласуются с этим предположением.¹³⁶ Одним из фрагментов молекулы аргинина и

родственных соединений, ответственных за связывание с NO-C, безусловно, является гуанидиновая часть молекулы. Естественно, что в качестве ингибиторов NO-C были изучены и простые производные гуанидина, и различные амидины.^{137–142} Было показано, что аминогуанидин является ингибитором NO-C,^{126,137} равно как *N*-арилгуанидины¹³⁸ и циклические гуанидины или амидины строения **78**,¹³⁹



а также их С-замещенные производные.

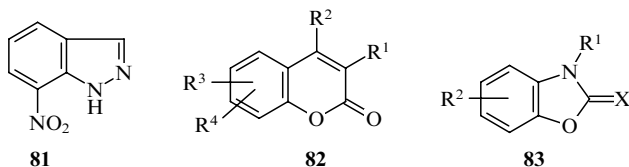
Соединения **78** предпочтительно ингибируют и-NO-C.¹³⁹ Изотиомочевины и циклические гуанидины типа **79**, циклические амидины **80** и подобные им соединения^{140–142} являются активными ингибиторами NO-C.



X = O, S, NH; $n = 0–4$.

Некоторые из указанных соединений способны ингибировать и-NO-C *in vivo*. Несмотря на большое число новых ингибиторов NO-C, имеющих гуанидиновые и амидиновые группировки, и по сей день наиболее часто используются аминокислотные ингибиторы **68**, **69** и **73**.^{143–146}

Новые ингибиторы обнаружены в ряду различных гетероциклов. Это — 7-нитроиндазол (**81**),^{147–149} производные кумарина **82**,¹⁵⁰ производные бензоксазола **83**.¹⁵¹ Соединение **81**, обладающее высокой анальгетической активностью, может быть использовано как «исходная точка» в разработке селективных, действующих на ЦНС, ингибиторов NO-C без кардиоваскулярного эффекта.

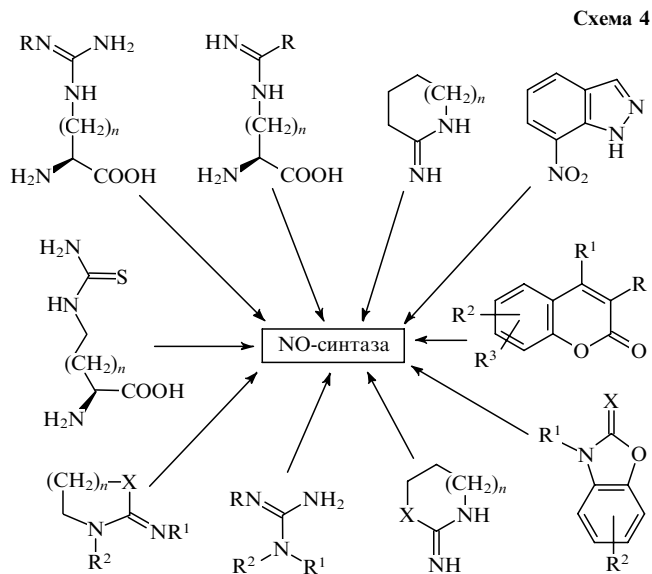


Рассмотренные нами материалы по ингибированию NO-C различными типами соединений суммированы на схеме 4.

Для большей полноты картины необходимо повторить, что железо-гем-содержащие белки и соответственно гем-связывающие агенты, являются ингибиторами NO-C. Так, оксид углерода является хорошим лигандом для Fe²⁺ и сильным ингибитором NO-C; другие гем-лиганды типа цианидов, и даже сам оксид азота, способны выступать в роли ингибиторов.^{10,152}

В. Заключение

Несмотря на то что ферментативное образование оксида азота в сосудах эндотелиальных клетках было открыто только в 1987 г., из рассмотренного материала видно, что этот биологический медиатор вызывает значительный интерес исследователей и число публикаций в этой области химии, биологии и медицины постоянно растет. Следует еще раз подчеркнуть, что настоящий обзор посвящен в большей мере химическим, структурным проблемам, связанным с возможностью создания новых типов соединений,



способных генерировать, или наоборот, уменьшать продукцию NO в организме. Вследствие этого, за рамками представленного обобщения оказался целый ряд чисто медицинских и биологических вопросов, не являвшихся предметом нашего обсуждения. В обзоре приведено относительно мало сведений по таким важнейшим проблемам как нитратотерапия, мало внимания уделено известному лекарственному препарату нитропруссиду натрия. Менее, чем они того заслуживают, освещены вопросы применения в биологии и лечебной практике препарата — молсидомина. Ограниченно затронуты проблемы канцерогенности и мутагенности *N*-нитрозосоединений, в частности, *N*-метил-*N*-нитрозомочевины и родственных соединений, таких как *N*-метил-*N*-нитрозо-*N'*-нитрогуанидин. Эти проблемы рассмотрены в целом ряде упомянутых выше и других обзорных публикациях^{1,153–155} и в рассмотренных в них оригинальных статьях.

При анализе приведенных выше данных бросается в глаза, что в рассматриваемой области остается еще немало проблем, и даже экспериментальные исследования зачастую противоречат друг другу. Это относится к различиям в направлении химического и ферментативного окисления гуанидиновых фрагментов; к вопросам, связанным с толерантностью нитроэфиров, которая является по разным данным тиолзависимой или тиолнезависимой от запасов меркапто-соединений; к необходимости присутствия тиолов при высвобождении NO из фуросанов (см. одну из самых недавних работ¹⁵⁶, в которой показано, что некоторые фуросаны способны высвобождать NO в отсутствие тиолов, в то время как для структурно близких производных фуросанов тиолы необходимы); к одновременному выделению оксида азота и супероксид-аниона; к «непрямому» NO-генерирующему эффекту натрия нитропруссида и т. д.

Несомненно важно знать, хотя в настоящее время это трудно оценить, в какой мере высокая реакционная способность оксида азота может влиять на те или иные биохимические процессы. Например, установлено, что NO окисляет дигидропиридин до пиридина.¹⁵⁷ Если учесть роль таких дигидропиридиновых систем в организме, как НАДН и НАДФН, понятно, что существует необходимость специального изучения этого явления.

Уже после того как данный обзор был подготовлен к печати, в литературе появилось сообщение¹⁵⁸, которое может оказать значительное влияние на исследование проблем, связанных с образованием NO из аргинина и NO-доноров, — открыт первый прямой ингибитор NO-индуцируемой активации РГЦ — 1*H*-[1,2,4]-оксадиазоло[4,3-*a*]хин-оксалин-1. Использование этого соединения представляет

несомненный интерес, хотя в данный момент не ясно, какие перспективы для понимания роли NO могут быть открыты в связи с этим исследованием.

Все эти проблемы еще ждут своего решения. Тем не менее уже сейчас можно с уверенностью утверждать, что создание новых генераторов оксида азота и специфических ингибиторов изоформ NO-C является перспективным и целесообразным направлением поиска новых эффективных лекарственных средств, которое уже оказалось весьма продуктивным в теоретическом отношении и от развития которого можно ожидать дальнейших результатов, в том числе и практических.

Литература

1. S.Moncada, R.M.J.Palmer, E.A.Higgs. *Pharmacol. Rev.*, **43**, 109 (1991)
2. J.S.Stamler, D.J.Singel, J.Loscalzo. *Science*, **258**, 1898 (1992)
3. M.A.Marletta. *J. Biol. Chem.*, **268**, 12231 (1993)
4. M.A.Marletta. *J. Med. Chem.*, **37**, 1899 (1994)
5. J.F.Kerwin, M.Heller. *Med. Res. Rev.*, **14**, 23 (1994)
6. J.F.Kerwin, J.R.Lancaster, P.L.Feldman. *J. Med. Chem.*, **38**, 4343 (1995)
7. A.M.Lefler, D.J.Lefler. *Drug Future*, **19**, 665 (1994)
8. P.Kostka. *Anal. Chem.*, **67** (12), 411R (1995)
9. M.Felish. *J. Cardiovasc. Pharmacol. (Suppl 3)*, **17**, 525 (1991)
10. J.N.Fukuto, C.Chaudhuri. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **35**, 165 (1995)
11. R.M.Palmer, D.S.Ashton, S.Moncada. *Nature (London)*, **333**, 664 (1988)
12. E.G.De Master, L.Raij, S.L.Archer, E.K.Weir. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **163** (1), 527 (1989)
13. J. P.Burkhart, N.P.Pee, C.L.Wright, J.O.N.Johnston. *J. Med. Chem.*, **34**, 1746 (1991)
14. M.A.Marletta, P.S.Yoon, R.Iyengar, C.D.Leaf, J.S.Wighnok. *Biochemistry*, **27**, 8706 (1988)
15. J.M.Fukuto, G.C.Wallage, R.Hsieh, G.Chaudhuri. *Biochem. Pharmacol.*, **43**, 607 (1992)
16. D.L.Suehr, N.S.Kwon, C.F.Nathan, O.W.Griffith, P.L.Feldman, J.Wiseman. *J. Biol. Chem.*, **266**, 6259 (1991)
17. J.L.Cooper. *Chemtracts: Bioch., Mol. Biol.*, **2**, 214 (1991)
18. C.E.Walder, C.Thiemermann, J.R.Vane. *Br. J. Pharmacol.*, **107**, 476 (1992)
19. G.J.Southan, S.S.Gross, H.Hecker, A.I.Marlet, H.G.Parkers, E.E.Anggard, J.R.Vane. *Postland Press Proc.*, **8**, 255 (1994)
20. C.A.Schott, C.M.Bogen, P.Vetrovsky, C.C.Berton, J.C.Stoclet. *FEBS Lett.*, **341**, 203 (1994)
21. W.M.Moore, R.K.Weblar, G.M.Jerome, F.S.Tjoeg, T.P.Misko, M.G.Curriel. *J. Med. Chem.*, **37**, 3886 (1994)
22. G.M.Rubanyi, A.Johns, D.Wilcox, F.N.Bates, D.Harrison. *J. Cardiovasc. Pharmacol. (Suppl 3)*, **17**, 41 (1991)
23. L.J.Ignarro. *FASEB J.*, (3), 31 (1989)
24. J.S.Stamler, D.I.Simon, J.A.Osborne, M.E.Mullins, O.Jaraki, D.Singel, J.Loscalzo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 444 (1992)
25. P.R.Myers, R.L.Minor, R.Guerra, J.N.Bates, D.G.Harrison. *Nature (London)*, **345**, 161 (1990)
26. A.F.Vanin. *FEBS Lett.*, **289**, 1 (1991)
27. A. Mulsch, P.Mordvintcev, A.F.Vanin, R.Busse. *FEBS Lett.*, **294**, 252 (1991)
28. A. Mulsch, A.Vanin, P.Mordvintcev, S.Hauschildt, R.Busse. *Biochem. J.*, **288**, 597 (1992)
29. А.Ф.Ванин, И.В.Маленкова, П.И.Мордвинцев, А.Мюльш. *Биохимия*, **58**, 1094 (1993)
30. А.Ф.Ванин. *Биофизика*, **38**, 751 (1993)
31. Н.В.Храпова, И.В.Маленкова, А.Ф.Ванин. *Биофизика*, **40**, 117 (1995)
32. T.G.Traylor, A.F.Duprat, V.S.Sharma. *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 810 (1993)
33. L.J.Ignarro, K.S.Wood, M.S.Wolin. *Adv. Cycl. Nucl. Protein Phosphor Res.*, **17**, 267 (1984)
34. I.S.Severina, O.G.Bussygina, N.B.Grigoriev. *Biochem. Int.*, **26**, 695 (1992)
35. B.Roy, A.M.d'Hardemare, M.Fontecave. *J. Org. Chem.*, **59**, 7019 (1994)
36. Л.Н.Кубрина, Л.М.Якубович, А.Ф.Ванин. *Изв. АН СССР. Сер. биол.*, 844 (1988)
37. G.S.Marks, B.E.McLaughlin, K.Nakatsu, J.F.Brien. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **70**, 308 (1992)
38. G.S.Marks, B.E.McLaughlin, L.B.Brown, D.E.Beaton, B.P.Booth, K.Nakatsu, J.F.Brien. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **69**, 889 (1991)
39. D.J.Smith, D.Chakravathy, S.Pulfer, M.L.Simmons, J.A.Hrable, M.L.Citro, J.E.Saavedra, K.M.Davies, T.C.Hutsell, D.L.Mooradian, S.R.Hanson, L.K.Keefer. *J. Med. Chem.*, **39**, 1148 (1996)
40. H.J.Duchstein, S.Riederer. *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **328**, 317 (1995)
41. Г.Я.Шварц, Н.Б.Григорьев, И.С.Северина, И.К.Ряпоносова, А.С.Лапицкая, Л.Б.Володарский, А.Я.Тихонов, И.Ф.Кербникова, Д.Г.Мажукин, В.Г.Граник. *Хим.-фармацевт. журн.*, **28** (4), 38 (1994)
42. N.B.Grigoriev, V.I.Levina. In *The 6-th International Frumkin Symposium. (Abstracts of Reports)*. Moscow, 1995. P.176
43. В.И.Левина, Д.А.Григорьев, Н.Б.Григорьев. *Хим.-фармацевт. журн.*, **29** (8), 56 (1995)
44. L.N.Koikov, N.V.Alekseeva, N.B.Grigoriev, V.I.Levina, K.F.Turchin, T.Ya.Filipenko, I.S.Severina, I.K.Ryaponosova, V.G.Granik. *Mendeleev Commun.*, 94 (1996)
45. Н.Б.Григорьев, Г.Я.Шварц, Д.А.Григорьев. *Хим.-фармацевт. журн.*, **25**(5), 12 (1991)
46. C.C.Y.Chiou, S.X.L.Liu, N.P.Li, C.H.Chiang, R.S.Varma. *J. Ocular Pharmacol. Therap.*, **11**, 1 (1995)
47. S.X.L.Liu, G.C.Y.Chiou, R.S.Varma. *J. Ocular Pharmacol. Therap.*, **11**, 261 (1995)
48. V.G.Granik, N.B.Grigoriev. In *The XIVth International Symposium on Medicinal Chemistry. (Abstracts of Reports)*. Maastricht, 1996. P-7.05
49. V.G.Granik, N.B.Grigoriev, L.H.Vinograd, I.S.Severina, M.D.Mashkovskiy, V.B.Nikitin, G.N.Engalycheva, M.A.Kalinkina, O.G.Busigina. *Mendeleev Commun.*, 161 (1996)
50. С.Ю.Рябова, Ю.И.Трофимкин, Л.М.Алексеева, И.Ф.Кербникова, Г.Я.Шварц, В.Г.Граник. *Хим.-фармацевт. журн.*, **29**(9), 22 (1995)
51. S.Yu.Ryabova, V.G.Granik. In *The XIVth International Symposium on Medicinal Chemistry. (Abstracts of Reports)*. Maastricht, 1996. P-7.22
52. D.Salvemini, A.Pistelli, V.Mollage, E.Anggard, J.Vane. *Biochem. Pharmacol.*, **44** (1), 17 (1992)
53. J.Bron, G.J.Sterk, J.F.Werf, M.E.J.Veerman, H.Timmerman. In *The XIIIth International Symposium on Medicinal Chemistry. (Abstracts of Reports)*. Paris, 1994. P.166
54. F.Benedini, G.Bertolini, L.Marchetti, G.Marcheroni, J.Mizzahi, A.Sala. In *The XIIIth International Symposium on Medicinal Chemistry. (Abstracts of Reports)*. Paris, 1994. P.168
55. A.Zembowicz, E.D.Dudek, W.Radziszewski, T.A.Swierkosz, M.Trybules, R.J.Gryglewski. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.*, **42**, 275 (1990)
56. M.Felish, E.Noak, H.Schroeder. *Eur. Heart J. (Suppl A)*, **9**, 57 (1988)
57. J.L.Wallace, Q.J.Pittman, G.Cirino. *Agent Actions (Suppl)*, **46**, 121 (1995)
58. G.Milicevic. *Acta Pharm. (Zagreb)*, **42**, 1 (1992)
59. E.A.Noack, K.Sandrock, J.Hutter. In *The 2-nd International Meeting on Biology of Nitric Oxide Processes. (Abstracts of Reports)*. London, 1991. P.135
60. M.R.Siegfried, C.Carey, X.-L.Ma, A.M.Lefler. *Am. J. Physiol., Pt.2*, **263**, 771 (1992)
61. J.Zanzinger, M.Felisch, E.Bassenge. *Portland Press Proc.*, **8**, 275 (1994)
62. J.P.Guo, K.A.Milhoan, R.S.Tuan, A.M.Lefler. *Circ. Res.*, **75** (1), 77 (1994)
63. G.Kojda, K.Brixius, K.Kottenberg, P.Nix, K.-D.Schlueter, H.M.Piper, E.Noack. *Eur. J. Pharmacol.*, **284**, 315 (1995)
64. G.R.Y.DeMeyer, H.Bult, L.Ustunes, M.M.Kockx, R.Van Den Bossche, L.L.Zonnekeyn, M.Felisch, A.G.Herman. *Portland Press Proc.*, **8**, 284 (1994)

65. J.Bron, G.J.Sterk, J.F.Van der Werf, M.E.Veerma, H.Timmerman. In *The XIIIth International Symposium on Medicinal Chemistry. (Abstracts of Reports)*. Paris, 1994. P.165
66. N.B.Grigoriev, V.I.Levina, S.A.Shevelev, I.L.Darlinger, V.G.Granik. *Mendeleev Commun.*, **11** (1996)
67. Z.-M.Guo, A.McGill, Yu.J.Li, J.Ramirez, P.G.Wang. In *The 212-th ACS Natl. Meeting. (Abstracts of Reports of Division of Medicinal Chemistry)*. Orlando, 1996. P.001
68. J.M.Wang, S.-Y. Lin-Shiau, J.-K.Lin. *Biochem. Pharmacol.*, **45**, 819 (1993)
69. T.A.Alston, D.J.T.Porter, H.J.Bright. *J. Biol. Chem.*, **260**, 4069 (1985)
70. A.McGill, Y.Yang, J.Li, L.Yu, S.Cabrera, L.Echegoyen, P.G.Wang. In *The 212th ACS Natl. Meeting. (Abstracts of Reports of Division of Medicinal Chemistry)*. Orlando, 1996. P.145
71. А.Ф.Ванин, Ю.П.Ведерников, М.Е.Галаган, С.М.Игнатов, Л.Н.Кубрина, И.В.Маленкова, П.И.Мордвинцев, Р.Г.Костяновский. *Изв. АН СССР. Сер. биол.*, 136 (1991)
72. S.A.Lipton, Y.-B.Chol, Z.-H.Pan, S.Z.Lel, H.-S.V.Chen, N.J.Sucher, J.Loscalzo, D.J.Singel, J.S.Stamler. *Nature (London)*, **364**, 626 (1993)
73. W.Chamulitrat, R.J.Jordan, R.P.Mason, K.Saito, R.G.Culter. *J. Biol. Chem.*, **268**, 11520 (1993)
74. J.M.Fukuto, A.J.Hobbs, L.J.Ignarro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **196**, 707 (1993)
75. M.A.Moro, V.M.Darley-Usmar, J.Lizasoain, Y.Su, R.G.Kowles, M.W. Radomski, S.Moncada. *Br. J.Pharmacol.*, **116**, 2001 (1995)
76. A.Gzzesiok, H.Weber, R.Z.Pino, M.Feelisch. *Portland Press Proc.*, **8**, 238 (1994)
77. L.N.Koikov, N.V.Alekseeva, N.B.Grigoriev, I.S.Severina, V.G.Granik. In *The XIVth International Symposium on Medicinal Chemistry. (Abstracts of Reports)*. Maastricht, 1996. P-7.08
78. E.G.Janzen, A.L.Wilcox, V.Manocharan. *J. Org. Chem.*, **58**, 3597 (1993)
79. J.C.Muller, P.H.Williams, D.Loyaux, M.Fontecave, J.L.Ducout, R.Roy. In *The XIIIth International Symposium on Medicinal Chemistry. (Abstracts of Reports)*. Paris, 1994. P.167
80. V.E.Shubin, Z.V.Kuropteva. *Stud. Biophys.*, **97**, 157 (1983)
81. S.Pou, D.E.Anderson, W.Surichamorn, L.L.Keaton, M.L.Tod. *Mol. Pharmacol.*, **46**, 709 (1994)
82. A.R.Butler, S.C.Askew, F.W.Flitney, I.Megson. *Portland Press Proc.*, **8**, 259 (1994)
83. A.P.Dicks, H.R.Swift, L.H.Williams, A.R.Butler, H.H.Al-Sa'doni, B.G.Cox. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 481 (1995)
84. J.W.Park. *Korean Biochem. J.*, **26** (5), 391 (1993); *Chem. Abstr.*, **120**, 45544t (1994)
85. W.R.Mathews, S.W.Kerr. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **267**, 1529 (1993)
86. D.R.Arnel, J.H.Stamler. *Arch. Biochem. Biophys.*, **318**, 279 (1995)
87. M.J.Nuwer, J.Osteryoung. *Anal. Chem.*, **61**, 1954 (1989)
88. J.Loscalzo, D.Smick, N.Andon, J.Cooke. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **249**, 726 (1989)
89. P.G.Wang, L.Yu.J.Li, J.Ramirez. In *The 212th ACS Natl. Meeting. (Abstracts of Reports of Division of Medicinal Chemistry)*. Orlando, 1996. P.002
90. P.A.Symington, X.Ma, A.M.Lefter. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.*, **14**, 789 (1992)
91. E.Salas, M.A.Moro, S.Askew, H.F.Hodson, M.W.Radomski, S.Moncada. *Br. J. Pharmacol.*, **112**, 1071 (1994)
92. J.Robak, R.J.Gryglewski. *Pol. J. Pharmacol.*, **47**, 63 (1995)
93. Г.Я.Шварц, В.Г.Граник. *Хим.-фармацевт. журн.*, **18**, 271 (1984)
94. C.M.Maragos, D.Morley, D.A.Wink, T.M.Dunams, J.E.Saavedra, A.Hoffman, A.A.Bove, L.Isaac, J.A.Hrabie, L.K.Keefer. *J. Med. Chem.*, **34**, 3242 (1991)
95. J.A.Hrabie, J.R.Klose, D.A.Wink, L.K.Keefer. *J. Org.Chem.*, **58**, 1472 (1993)
96. P.A.Vanderford, J.Wong, R.Chang, L.K.Keefer, S.J.Scott, J.Fineman. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **23**, 113 (1994)
97. D.A.Wink, Y.Osawa, J.F.Darbyshire, C.R.Collins, S.C.Eshenaur, F.Nims. *Arch. Biochem. Biophys.*, **300**, 115 (1993)
98. J.E.Saavedra, T.M.Dunams, J.L.Flippen-Anderson, L.K.Keefer. *J. Org. Chem.*, **57**, 6134 (1992)
99. I.S.Severina, I.K.Ryaponosova, L.B.Volodarsky, D.C.Mazhukin, A.Yu.Tikhonov, G.Ya.Shvarts, V.G.Granik, D.A.Grigoriev, N.B.Grigoriev. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **30**, 357 (1993)
100. D.I.Uterbergerov, V.V.Khrantsov, L.P.Vlasenko, A.L.Markel, D.G.Mazhukin, A.Ya.Tikhonov, L.B.Volodarsky. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **214**, 1023 (1995)
101. M.Feelisch, K.Schonafinger, E.Noack. *Biochem. Pharmacol.*, **44**, 1149 (1992)
102. C.Medana, G.Ermondi, R.Fruttero, A.Di Stilo, C.Ferretti, A.Gasco. *J. Med. Chem.*, **37**, 4412 (1994)
103. R.Ferrioli, G.C.Falco, C.Ferretti, A.M.Gasco, C.Medana, R.Fruttero, M.Civelli, A.Gasco. *Br. J. Pharmacol.*, **114**, 816 (1995)
104. H.Bohn, J.Brendel, P.A.Martorana, K.Schoenafinger. *Br. J. Pharmacol.*, **114**, 1605 (1995)
105. M.Hecker, W.Vorhoff, A.T.Bora, P.I.Mordvintcev, R.Busse. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **351** (4), 426 (1995)
106. A.Di Stilo, R.Fruttero, D.Boschi, A.M.Gasco, G.Sorba, A.Gasco, M.Orsetti. *Med. Chem. Res.*, **3**, 554 (1993)
107. K.-J.Hwang, I.Jo, Y.A.Shin, S.Yoo, J.H.Lee. *Tetrahedron Lett.*, **36**, 3337 (1995)
108. J.Scholtholt. *Handb. Exp. Pharmacol. (Clin. Pharmacol. Antianginal Drugs)*, **76**, 365 (1985)
109. H.Bohn, P.A.Mortorana, K.Schoenafinger. *Eur. J. Pharmacol.*, **220**, 71 (1992)
110. K.Rehse, M.Kampfe, K.J.Schleiter. *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **B326**, 483 (1993)
111. M.Just, K.Schoenafinger. *J. Cardiovasc. Pharmacol. (Suppl 3)*, **17**, 121 (1991)
112. H.Bohn, K.Schoenafinger. *J. Cardiovasc. Pharmacol. (Suppl 11)*, **14**, 6 (1989)
113. E.Noack, M.Feelish. *J. Cardiovasc. Pharmacol. (Suppl 11)*, **14**, 1 (1989)
114. M.Feelisch, J.Ostrowski, E.Noack. *J. Cardiovasc. Pharmacol. (Suppl 11)*, **14**, 13 (1989)
115. I.Paakkari, E.Mervaala, T.Teravainen, R.Nevada, X.Wu, I.Porsti, H.Karppanen, H.Vapnatalo. *Portland Press Proc.*, **8**, 266 (1994)
116. K.Rehse, P.Konig. *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **B328**, 137 (1995)
117. G.Karup, H.Preikshar, E.S.Wilhelmsen, S.B.Pedersen, E.Marcinkiewicz, K.Geslik, R.Gryglowski. *Pol. J. Pharmacol.*, **46**, 541 (1994)
118. K.Rehse, K.-J.Schleifer, E.Ludtke, E.Bohme. *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **B327**, 359 (1994)
119. Пат. 4218582 Германия; *Chem. Abstr.*, **120**, 217692h (1994)
120. Пат. 573829 Европа; *Chem. Abstr.*, **120**, 217724v (1994)
121. Пат. 4321109A1 Германия; *Chem. Abstr.*, **123**, 132871c (1995)
122. B.C.Bagley, L.L.Thomsen, L.M.Ching. In *Proceedings of the 2nd International Meeting on Biology of Nitric Oxide. Vol. 2*. London, 1992. P.222
123. F.W.Flitney, I.L.Megson, D.E.Flitney, A.R.Butler. *Br. J. Pharmacol.*, **107**, 842 (1992)
124. U.Forstermann, H.Kleinert. *Pharmacol.*, **B352**, 351 (1995)
125. N.M.Olken, M.A.Marletta. In *Proceedings of the 2nd International Meeting on Biology of Nitric Oxide. Vol. 2*. London, 1992. P.24
126. J.A.Corbett, R.G.Tilton, K.Chang, K.S.Hasan, Y.Jdo, J.L.Wang, M.A.Sweetland, J.R.Lancaster, J.R.Williamson, M.L.McDaniel. *Diabetes*, **41**, 552 (1992)
127. R.C.Babbedge, S.L.Hart, P.K.Moore. *J. Pharm. Pharmacol.*, **45** (1), 77 (1993)
128. WO PCT 9300893; *Chem. Abstr.*, **118**, 161061r (1993)
129. M.O.Ribeiro, E.Antunes, G.De Nucci, S.M.Lovisolio, R.Zatz. *Hypertension (Dallas)*, **20** (3), 298 (1992)
130. N.M.Olken, K.M.Rusche, M.K.Richards, M.A.Marletta. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **177**, 828 (1991)
131. N.M.Olken, M.A.Marletta. *J. Med. Chem.*, **35**, 1137 (1992)
132. P.L.Feldman. *Chemtracts. Org. Chem.*, **52** (4), 217 (1992)
133. P.L.Durette, W.K.Hagmann, T.J.Lanza, B.G.Green, J.L.Humes, S.G.Pacholok, S.K.Grant, M.Mac Coss. In *The 212th ACS Natl. Meeting. (Abstracts of Reports of Division on Medicinal Chemistry)*. Orlando, 1996. P.144
134. WO PCT 9324126; *Chem. Abstr.*, **120**, 153718 m (1994)
135. WO PCT 9313055; *Chem. Abstr.*, **119**, 181232w (1993)
136. K.Narayanan, O.W.Griffith. *J. Med. Chem.*, **37**, 885 (1994)

137. T.P.Misko, W.M.Moore, T.P.Kasten, G.A.Nickols, J.A.Corbett, R.G.Tilton, M.L. McDaniel, J.R.Williamson, M.G.Currie. *Eur. J. Pharmacol.*, **233**, 119 (1993)
138. WO PCT 9421621; *Chem. Abstr.*, **123**, 19812a (1995)
139. WO PCT 9511231; *Chem. Abstr.*, **118**, 111865p (1993)
140. E.P.Garvey, J.A.Oplinger, G.J.Tonoury, P.A.Sherman, M.Fowler, S.Marshall, M.F.Harmon, J.E.Paith, E.S.Furfine. *J. Biol. Chem.*, **269**, 26669 (1994)
141. M.Nakane, V.Klinghofer, J.Kuk, J.Donnelly, G.Budzik, J.Pollock, F.Basha, G.Carter. *Mol. Pharmacol.*, **47**, 831 (1995)
142. W.M.Moore, R.K.Webber, K.F.Fok, G.M.Jerome, J.R.Conner, P.T.Manning, P.S.Wyatt, T.P.Misko, F.S.Tjoeng, A.G.Currie. *J. Med. Chem.*, **39**, 669 (1996)
143. N.M.Olken, M.A.Marletta. *Biochemistry*, **32**, 9677 (1993)
144. P.L.Feldman, O.W.Griffith, H.Hong, D.J.Stuehr. *J. Med. Chem.*, **36**, 491 (1993)
145. E.S.Furfine, M.F.Harmon, J.E.Paith, E.P.Garvey. *Biochemistry*, **32**, 8512 (1993)
146. D.D.Rioes, P.M.J.Palmer, R.Shulz, H.F.Hodson, S.Moncada. *Br. J. Pharmacol.*, **101**, 746 (1990)
147. P.A.Bland-Ward, P.K.Moore. *Life Science*, **57** (11), 131 (1995)
148. P.K.Moore, P.Wallace, Z.Gaffen, R.C.Babbedge. *Br. J. Pharmacol.*, **110**, 219 (1993)
149. R.C.Babbedge, P.A.Bland-Ward, S.L.Hart, P.K.Moore, *Br. J. Pharmacol.*, **110**, 225 (1993)
150. Пат. 4337906 Германия; *Chem. Abstr.*, **123**, 25677x (1995)
151. K.Shankaran, K.L.Furman, S.K.Shah, S.K.Grant, J.L.Humes, S.G.Packlok, M.MacCoss. In *The 212th ACS Natl. Meeting. (Abstracts of Reports of Division of Medicinal Chemistry)*. Orlando, 1996. P.183
152. J.Wang, D.L.Rousseau, H.M.Abu-Soud, D.J.Stuehr. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 10512 (1994)
153. P.Kleist. *EDRF and its Significance in Coronary Heart Disease*, Schwarz Pharmacy, Mannheim, 1989
154. F.Bottomley. *React. Coord. Ligands*, **2**, 115 (1989)
155. *Химия нитро- и нитрозогрупп. Т.2* (Под ред. Г.Фойера). Мир, Москва, 1972, С.187
156. G.Sorba, C.Medana, R.Fruttero, C.Cena, A.LiStilo, U.Galli, A.Gasco. *J. Med. Chem.*, **40**, 463 (1997)
157. T.Jtoh, K.Nagata, M.Okada, A.Ohsawa. *Tetrahedron Lett.*, **36**, 2269 (1995)
158. M.A.Moro, R.J.Russell, S.Cellek, J.Lizasoain, Y.Su, V.M.Darley-Usmar, M.V.Radomski, S.Moncada. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**, 1480 (1996)

EXOGENIC NITRIC OXIDE DONORS AND INHIBITORS OF ITS FORMATION (THE CHEMICAL ASPECTS)

V.G.Granik, S.Yu.Ryabova, N.B.Grigoriev

*Centre for Drug Chemistry – All-Russian Chemical Pharmaceutical Institute Research
7, Zubovskaya ul., 7, 119815 Moscow, Russian Federation, Fax +7(095)246–6633*

In present review the literature data about biological role of nitric oxide, forming *in vivo* by enzyme oxidation of L-arginine, are generalised. The special attention is devoted to the exogenic nitric oxide donors — the compounds which are able to release NO *in vitro* and *in vivo* under oxidation, reduction or hydrolytic decomposition. The data about the chemical nature of the inhibitors of enzyme NO-synthase which is responsible for the nitric oxide formation from L-arginine, are also considered.

Bibliography — 158 references.

Received 26th November 1996