

Экзогенные доноры оксида азота в ряду С-нитросоединений

В.Г.Граник, Н.Б.Григорьев

ОАО «Центр по химии лекарственных средств»

119021 Москва, ул. Зубовская, 7, стр. 1

Обобщены и систематизированы литературные данные по донорам оксида азота(II), относящимся к С-нитросоединениям. Рассмотрены основные классы таких соединений и возможные механизмы их превращений в гидролитических условиях и в живых организмах. Особое внимание уделено С-нитросоединениям как потенциальным лекарственным препаратам для лечения широкого ряда заболеваний (болезней сердечно-сосудистой системы, туберкулеза, онкологических заболеваний и др.).

Библиография — 106 ссылок.

Оглавление

I. Введение	182
II. Нитрооксиды	183
III. Нитро-нитрозосоединения	184
IV. Геминально замещенные нитрозосоединения	184
V. Полинитрометильные производные 1,3,5-триазинов	185
VI. Нитроловые кислоты	185
VII. Образование оксида азота из бронопола	187
VIII. Нитропроизводные пятичленных гетероциклических соединений	187
IX. Новые доноры оксида азота в ряду шестичленных нитрогетероциклов	195
X. Заключение	196

I. Введение

В последние полтора десятилетия в биологии были сделаны открытия, повлекшие за собой фундаментальные изменения наших представлений о функционировании различных биологических систем. Было обнаружено, что такое низкомолекулярное соединение, как оксид азота(II), является одним из универсальных и необходимых регуляторов функций клеточного метаболизма.¹ Неожиданно оказалось, что токсичный газ, молекула которого является к тому же свободным радикалом, соединением короткоживущим и легко подвергающимся разнообразным химическим превращениям, непрерывно ферментативно продуцируется в организме млекопитающих, оказывая ключевое воздействие на физиологические и патофизиологические процессы. Неудивительно, что количество обзорных и оригинальных публикаций, посвященных NO, ежегодно значительно возрастает (см., например,^{2–13}).

В.Г.Граник. Доктор химических наук, профессор, руководитель отдела экспериментальной биохимии и иммунологии Московского научно-практического центра наркологии.
e-mail: vggranik@mail.ru

Н.Б.Григорьев. Доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник того же отдела.
Область научных интересов авторов: органическая химия, химия гетероциклических соединений, физическая органическая химия, медицинская химия.

Дата поступления 13 января 2010 г.

Оксид азота участвует в регуляции тонуса кровеносных сосудов, ингибирует агрегацию тромбоцитов и их адгезию на стенках кровеносных сосудов, функционирует в центральной и вегетативной нервной системе, регулируя деятельность органов дыхания, желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы.¹ Оксид азота важен для нейротрансмиссии, регуляции иммунитета и защиты организма от бактериального поражения; он играет ключевую роль в контроле вазкулярного тонуса, участвует в поддержании гомеостаза живого организма (т.е. относительного динамического постоянства внутренней среды — крови, лимфы, тканевой жидкости) и определяет устойчивость основных физиологических функций организма — кровообращения, дыхания, терморегуляции, обмена веществ и т.д. Регуляция дыхания, иммунитет и нейротрансмиттерные механизмы также зависят от NO, который, кроме того, является цитотоксическим и цитостатическим агентом.

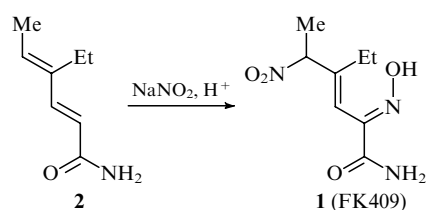
На сегодняшний день обнаружены и в большей или меньшей степени биологически изучены разнообразные доноры оксида азота — нитрозофилы, N- и С-нитрозосоединения, различные мезоионные соединения, NONO-аты, S-нитрозотиолы, нитропруссид натрия, фуросканы, N-нитросоединения, оксиды, гуанидины, нитриты. Кроме того, известны так называемые гибридные доноры NO, которые включают в свой состав структуры известных лекарственных средств или биологически высокоактивных соединений, модифицированных введением NO-донорной группировки. В дополнение к уже указанным ссылкам следует отметить обзорные работы^{14–39}, в которых обобщены химические и биологические данные, касающиеся доноров оксида азота. В настоящее время в литературе имеются сведения о том, что к числу

доноров оксида азота принадлежат и некоторые С-нитропроизводные, однако эти немногочисленные работы не привлекли пока достаточного внимания, и о таких NO-донорах в приведенных выше обзорах, как правило, даже не упоминается. В то же время нитросоединения занимают значительное место в органической химии, и их достаточно интенсивно исследуют в процессе поиска биологически активных веществ. Это, в свою очередь, вызывает необходимость изучения нитросоединений как NO-доноров и, следовательно, как потенциальных и перспективных объектов для биологических исследований.

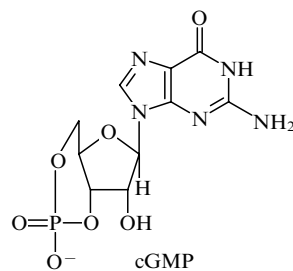
Настоящий обзор посвящен органическим С-нитросоединениям как генераторам оксида азота и модифицированию этих соединений как рациональному подходу к поиску новых потенциальных лекарственных средств. Подчеркнем еще раз, что целый ряд патологических состояний, например сердечно-сосудистые, инфекционные, воспалительные заболевания, тромбозы, злокачественные опухоли, заболевания мочеполовой системы, мозговые повреждения при инсультах и др., могут быть в значительной степени обусловлены недостатком в организме оксида азота. В силу этого понятно, что одно из наиболее активно развивающихся сейчас направлений — поиск соединений, способных служить генераторами оксида азота в организме, т.е. поиск ксенобиотиков, превращения которых (связанные или не связанные с каталитической активностью NO-синтаз⁴⁰) могут приводить к образованию NO.

II. Нитрооксиды

Начнем обзор с работы³³, посвященной изучению соединения **1** (FK409), которое содержит в своей структуре С-нитрогруппу и оксимную группировку, что порождает вопрос о том, какая из этих групп несет ответственность за возникновение оксида азота в организме. Соединение **1** является полусинтетическим: оно получено из предшественника **2**, выделенного из культуральной жидкости почвенного микроорганизма *Streptomyces griseosporus*. При биологическом исследовании было показано, что (3*E*)-2-гидроксиимино-5-нитро-4-этилгекс-3-енамид (**1**) является очень эффективным сосудорасширяющим средством (вазодилататором) с фармакологическим профилем, подобным профилю нитроглицерина.

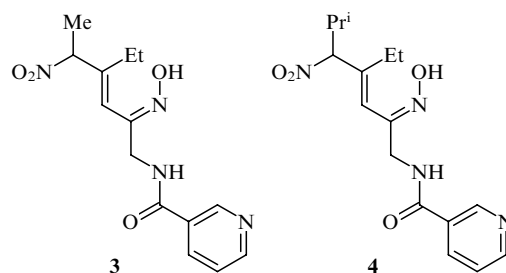


В опытах на собаках установлено, что соединение **1** более эффективно при лечении стенокардии, чем нитроглицерин. Клиническое изучение этого соединения показало, что при дозе 40 мг при стенокардии наблюдается улучшение у 60–70% пациентов. К сожалению, при такой дозе проявился отчетливый побочный эффект — анемия (малокровие), поэтому клинические испытания были прекращены. Однако полученные результаты стимулировали продолжение поисковой работы в этом направлении. Была рассмотрена возможность улучшения фармакокинетического профиля соединения **1**, чтобы увеличить продолжительность его действия и снизить риск побочных эффектов. При изучении механизма действия нитрооксидов было показано, что его фармакологическая активность связана с повышением уровня циклического гуанозинмонофосфата (сGMP). А это, в свою очередь, навело на мысль, что указанные биологические эффекты обусловлены высвобождением в организме (при введении препарата **1**) оксида азота.¹



Физико-химическими методами анализа было подтверждено элиминирование NO при разложении соединения **1** в растворе.

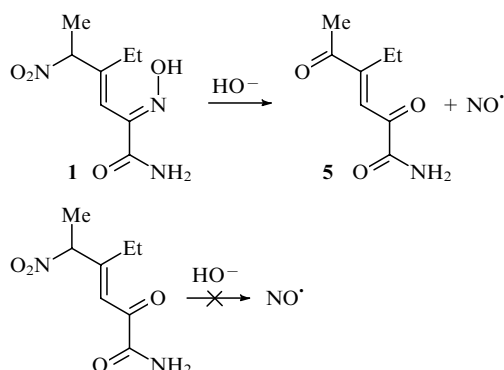
На следующем этапе при попытке получения веществ, близких по структуре к соединению **1**, обладающих сходным биологическим действием и в то же время лишенных указанного побочного эффекта, было сделано предположение, что этот эффект вызывается ускоренным высвобождением NO. При модифицировании структуры **1** авторы исследования остановились на двух родственных нитрооксидных соединениях **3** и **4**.



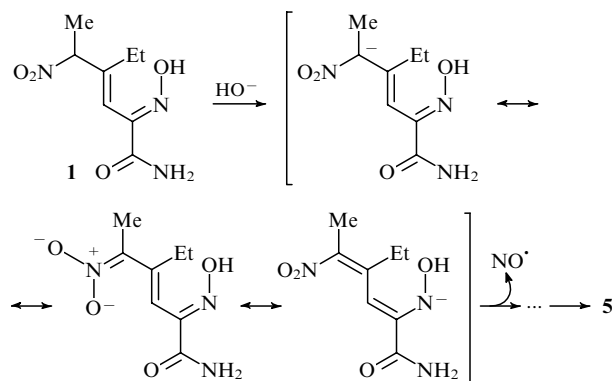
Было установлено, что соединения **3** и **4** соответственно в 3 и 88 раз медленнее высвобождают оксид азота, чем соединение **1**. При этом снижение скорости высвобождения NO уменьшается и уровень биологической активности *in vitro*. Оральная абсорбция обоих соединений (**3**, **4**) происходит с той же скоростью, что и абсорбция соединения **1**, а оральная биодоступность как доноров оксида азота сравнима с таковой для нитрооксидов (определяли по измерениям концентрации NO_x в плазме и моче). Гипотензивное действие препаратов **3** и **4**, применяемых перорально в дозе 10 мг·кг⁻¹ живого веса, тестировано *in vivo* на крысах. По эффективности как гипотензивные агенты рассматриваемые соединения расположились так: **1** > **3** > **4**. Соединение **4** в указанной дозе не вызывает гипотензии, а гипотензия, индуцированная соединением **3**, проявляется с отчетливым запозданием (на 3 ч) по сравнению с таковой при применении препарата **1**. Таким образом, выбранная стратегия, согласно которой снижение скорости высвобождения оксида азота подавляет биологическую активность *in vitro* и улучшает продолжительность действия *in vivo*, оказалась эффективной. Сравнение действия препаратов **1** и **3** показало, что два нежелательных эффекта первого из них — малая продолжительность действия и гипотензия — были преодолены.

Хотя, как указывают исследователи, механизм образования NO еще нуждается в дальнейшем изучении, некоторые данные представляются весьма интересными. Так, в работе⁴¹ отмечено, что основным продуктом разложения нитрооксидов **1** в щелочном буферном растворе является дикетон **5**. В этой работе также показано, что удаление оксимной группы из структуры соединения **1** полностью ингибирует

образование оксида азота; данный факт можно трактовать так, что именно оксимный фрагмент ответственен за образование NO.



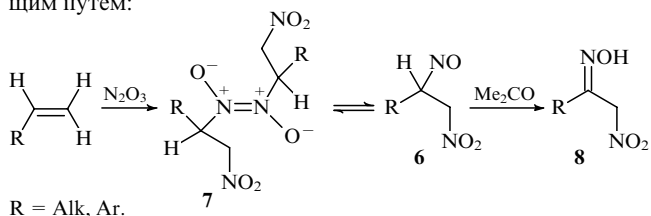
В то же время образование при разложении нитрооксима **1** diketона **5**, не содержащего ни оксимной группы, ни нитрогруппы, заставляет проявлять осторожность при решении вопроса о том, какая из группировок является истинным NO-донором. В работе³³ предложена следующая схема разложения соединения **1**.



В заключение обсуждения нитрооксимов как доноров NO следует отметить, что биологические испытания соединений **1**, **3**, **4** показали отсутствие при их применении явления толерантности (снижения чувствительности), характерного, в частности, для O-нитросоединений (нитратов).

III. Нитро-нитрозосоединения

В данном разделе обсудим нитро-нитрозосоединения (псевдонитрозиты) **6**, для которых в твердом состоянии характерно присутствие соответствующих димеров — азодиоксидов **7**.⁴² Синтез указанных соединений осуществлен следующим путем:



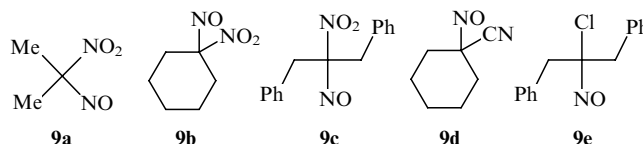
Известно, что ряд псевдонитрозитов обладает антитромботической активностью, что позволяет предположить высвобождение оксида азота. При этом предполагается, что электроноакцепторные группы (например, нитрогруппа), vicinally расположенные по отношению к нитрозогруппе, могут способствовать выбросу NO. Было также установлено, что в ацетоне образуется нитрооксимное производное **8**. При

биологическом исследовании равновесной системы $6 \rightleftharpoons 7$ было показано, что многие такие соединения являются ингибиторами агрегации тромбоцитов. Введенные перорально крысам, они тормозят тромбообразование в брыжеечных артериях и венах, причем разложение этих соединений сопровождается образованием оксида азота. Авторы, однако, указывают, что отсутствие сосудорасширяющего эффекта, т.е. влияния на кровяное давление, свидетельствует о значимости *in vivo* не столько термического, сколько ферментативного разложения.⁴³ Следует отметить, что для NO-доноров обычно характерен сосудорасширяющий эффект, и гемодинамический профиль таких соединений коррелирует с их NO-донорной активностью. Авторы статей^{42,43} предполагают, что перечисленные результаты биологических испытаний позволяют утверждать, что эти эффекты вызваны оксидом азота, хотя не дают схемы, каким образом NO образуется и какие группы ответственны за его появление. Для экспериментов в качестве модели был выбран псевдонитрозит **6** (R = Ph); показано, что при его разложении в этаноле образуется 0.18% NO и 3.8% N₂O. Следует отметить, что N₂O образуется также из нитроксидов (HNO), который димеризуется до HON=NOH, а последний, разлагаясь, превращается в H₂O и N₂O. Известно,¹ что нитроксил сам по себе также является донором NO.

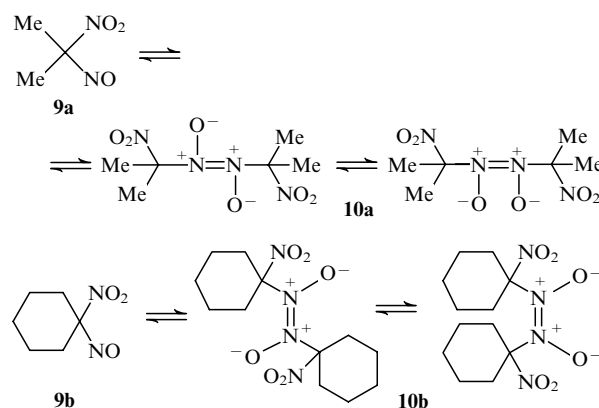
Результаты, подобные тем, которые описаны в статье⁴², получены также на родственных соединениях в исследованиях^{44,45}.

IV. Геминально замещенные нитрозосоединения

Ниже рассмотрены псевдонитролиты **9a–c** и родственные им соединения, содержащие в геминальном по отношению к нитрозогруппе положении вместо группы NO₂ цианогруппу (**9d**) или атом хлора (**9e**).⁴⁶



Соединения **9a–e** активируют растворимую гуанилатциклазу (sGC) в стандартной культуре клеток RFL-6, которая содержит значительные количества растворимой гуанилатциклазы, являющейся специфической мишенью для NO. В твердом состоянии соединения **9a,b** существуют в виде димеров **10a,b**, а соединения **9c–e** — как мономеры.



Для целей цитируемой работы было критически важно определить, способны ли эти соединения быть источниками

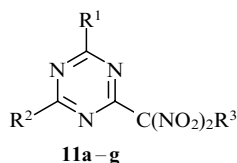
оксида азота (полный эксперимент был проведен с соединением **9a**, наиболее растворимым в серии). Показано, что при выдерживании (1 ч при 37°C) в фосфатном буферном растворе (pH 7.4) для каждого из исследуемых соединений обнаруживается с помощью реакции Грисса⁴⁷ нитрит-анион — общепринятый маркер NO. Определение N₂O — продукта димеризации нитроксила (HNO) — было осуществлено с помощью газовой хроматографии. Как уже указывалось, с помощью радиоиммуноанализа было показано увеличение базального уровня cGMP. По количеству образовавшегося за 1 ч нитрит-иона соединения **9** расположились в следующий ряд: **9a** > **9c** > **9b** > **9d** > **9e**.

Все изученные соединения продемонстрировали сосудорасширяющее действие. Из четырех веществ (**9a–d**), исследованных *in vivo*, псевдонитролы **9a–c** проявили отчетливое влияние на сердечно-сосудистую систему, причем эффективность соединений **9a,b** примерно втрое выше, чем соединения **9c**. Все три псевдонитрола оказывают минимальное влияние на частоту сердечных сокращений. В целом в этой работе сделан вывод, что гемодинамический профиль исследуемых веществ согласуется с их NO-высвобождающим эффектом.

К сожалению, в цитируемых работах не изучался вопрос о том, какие структурные элементы (оксимная, нитрозо- или нитрогруппа) ответственны за высвобождение NO, т.е. механизм отщепления оксида азота пока неясен.

V. Полинитрометильные производные 1,3,5-триазинов

Еще один класс C-нитросоединений, потенциальных NO-доноров, — это полинитрометильные производные 1,3,5-триазинов **11**, содержащие геминальные нитрогруппы.



Соединение 11	R ¹	R ²	R ³
a	NH ₂	NH ₂	CH ₂ OH
b	NEt ₂	C(NO ₂) ₂ CH ₂ OH	CH ₂ OH
c	NHMe	NHMe	CH ₂ OH
d	OMe	NMe ₂	F
e	NMe ₂	NMe ₂	CH ₂ CH ₂ CN
f	NHMe	NHMe	CH ₂ CH ₂ CO ₂ Me
g	NEt ₂	NEt ₂	CH ₂ OH

В работе⁴⁸ исследовано отщепление оксида азота в условиях электрохимического восстановления соединений **11**. В слабокислых небуферных растворах методом полярографии была зафиксирована волна восстановления азотистой кислоты, свидетельствующая об отщеплении нитрогруппы на предшествующих стадиях восстановления. По потенциалам полуоволн можно оценивать склонность к восстановлению нитрогрупп и, соответственно, способность конкретного соединения выступать в роли NO-донора (табл. 1). Наиболее активными оказались соединения **11c,d**, содержащие дополнительные электроноакцепторные группы.

Авторами предложена общая схема высвобождения оксида азота из производных триазина **11**:

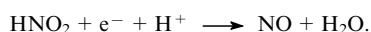
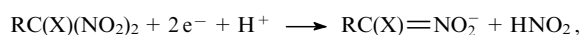


Таблица 1. Потенциалы полуоволн первых ступеней восстановления полинитрометильных производных триазина **11a–g**.⁴⁸

Соединение	<i>E</i> _{1/2} , мВ ^a	
	в буферной системе H ₂ O–ДМФА (10%) (pH 5)	в растворе Bu ₄ NHClO ₄ в ДМФА (безводн.) (0.02 моль·л ⁻¹)
11a	–0.54	–1.10
11b	–0.45	–0.85
11c	+0.21	–0.60
11d	+0.03	–0.70
11e	–0.82 ^b	–1.30
11f	–0.84 ^b	–0.94
11g	–0.42	–1.04

^a Относительно насыщенного каломельного электрода (н.к.э.);

^b в этих случаях 5% ДМФА.

Направление электрохимических процессов восстановления во многих случаях в значительной степени совпадает с процессами химического восстановления. В данном случае восстановление с отщеплением нитрогруппы подтверждено положительной реакцией Грисса. Кроме того, установлена активация растворимой гуанилатциклазы под влиянием полинитросоединений **11**, а это важное типичное свойство доноров оксида азота. Следует отметить, что в литературе имеются данные о восстановлении *гем*-фтординитроэтана в водном органическом растворителе на ртутном электроде. Показано, что в этом случае первой стадией восстановления является двухэлектронный отрыв нитрогруппы.⁴⁹ При химическом восстановлении фтординитрометана также в первую очередь происходит отрыв нитрогруппы.⁵⁰ Наиболее активные соединения **11c,d** восстанавливались с отщеплением нитрогруппы при обработке не только аскорбиновой кислотой, но и ферроцианидом калия, что подтверждается образованием при этом полярографически активного продукта — нитропруссид-аниона.

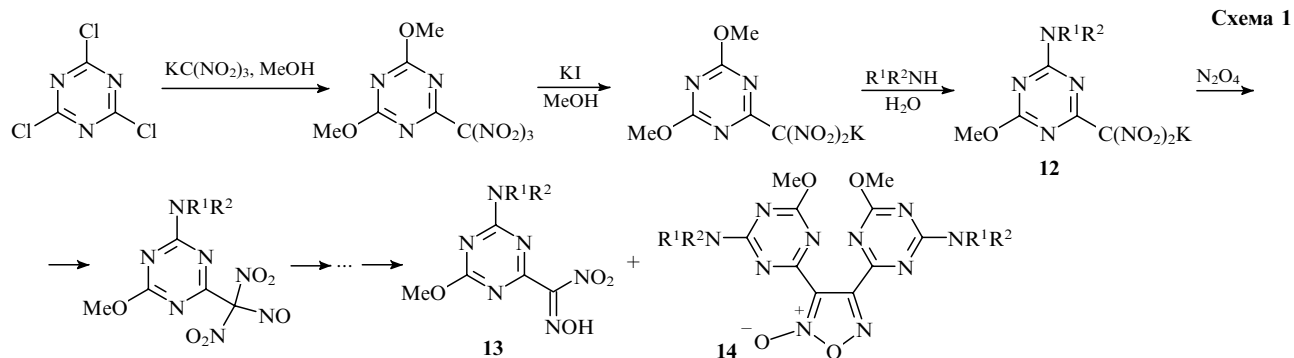
VI. Нитроловые кислоты

Интересным классом потенциальных пролекарств являются нитроловые кислоты RC(=NOH)NO₂, в которых оксимная группа и нитрогруппа расположены у одного атома углерода. Для некоторых нитроловых кислот была установлена антитромботическая и гипотензивная активность.⁵¹ Недавно описано офтальмологическое действие (снижение внутриглазного давления) имидазолнитроловых кислот.^{52, 53} Исходя из структуры нитроловых кислот, логично предположить, что они способны генерировать оксид азота. Обнаружено, что некоторые нитроловые кислоты разлагаются с образованием HNO уже при комнатной температуре.⁵⁴

В работе⁵⁵ исследованы реакции солей **12** с диоксидом азота и показано, что в них в основном образуются 1,3,5-триазиннитроловые кислоты **13** (схема 1). Наряду с нитроловыми кислотами получают фуросаны **14** — хорошо известные генераторы NO.¹

Изучено поведение нитроловых кислот **13** при электровосстановлении на ртутном капельном электроде при различных значениях pH и продемонстрирован эффект ускорения процесса в присутствии кислорода. Показан стимулирующий эффект нитроловых кислот **13** на активность растворимой гуанилатциклазы тромбоцитов человека.

Установлено, что нитроловые кислоты **13** являются активными донорами оксида азота. В идеале одна молекула



$R^1 = R^2 = \text{Me}$; $R^1 - R^2 = (\text{CH}_2)_4, (\text{CH}_2)_5, (\text{CH}_2\text{CH}_2)_2\text{O}$.

нитроловой кислоты могла бы генерировать две молекулы NO (благодаря наличию групп $=\text{NOH}$ и NO_2), однако кислоты **13** в гидролитических условиях претерпевают превращения с образованием только одного нитрит-иона. Наблюдение за этим процессом удобно проводить с помощью полярографии.^{56, 57} Показано, что в щелочных растворах высота первой волны восстановления нитрогруппы соединений **13** уменьшается вплоть до полного исчезновения. При этом процесс зависит от pH раствора: с повышением pH его скорость увеличивается. Это указывает на гидролиз исследуемых соединений с отщеплением нитрогруппы в виде нитрит-аниона. Образование NO_2^- как в фосфатном буфере (pH 8), так и в 0.01 M растворе NaOH подтверждено реакцией Грисса.⁵⁸ Электроноакцепторный характер 1,3,5-триазинового цикла, вероятно, обуславливает поведение нитроловых кислот **13** в средах с различной величиной pH. Так, они быстро разлагаются в щелочных и нейтральных растворах и стабильны лишь в сильноокислых (1 M HClO_4) средах. Следует отметить, что алканнитроловые кислоты относительно стабильны и в слабощелочных растворах. Ранее⁵⁶ для алканнитроловых кислот было показано, что полярографические волны в кислых и щелочных растворах относятся к восстановлению нитрогруппы.

Элиминирование нитрогруппы из соединений **13** в присутствии кислорода (для определения нитрит-аниона использовали реакцию Грисса) происходит быстрее, чем в его отсутствие. В присутствии фосфатного буфера (pH 8) или 0.01 M NaOH в растворах нитроловых кислот **13** в этаноле, только частично освобожденном от кислорода, через 15–20 мин обнаруживается 10–15% нитрит-аниона, а через 24 часа — 20% (считая, что из одной молекулы нитроловой кислоты может выделяться 1 моль NO).

В дезаэрированном 10%-ном этаноле в присутствии AcOH при соприкосновении с воздухом обнаруживается нитрит-анион в количестве 2–6% за 2.5 ч. В 0.1 M растворе HCl в 10%-ном этаноле образования нитрит-аниона не наблюдается. Но в буферном растворе с pH 10, не освобожденном от кислорода, из нитроловых кислот **13** уже через 1 ч выделяется 80–90% нитрит-аниона. Таким образом, наличие в щелочном растворе кислорода важно для увеличения скорости генерирования нитрит-ионов из нитроловых кислот. В целом щелочной гидролиз в присутствии кислорода обуславливает эффективное образование NO из нитроловых кислот **13**.

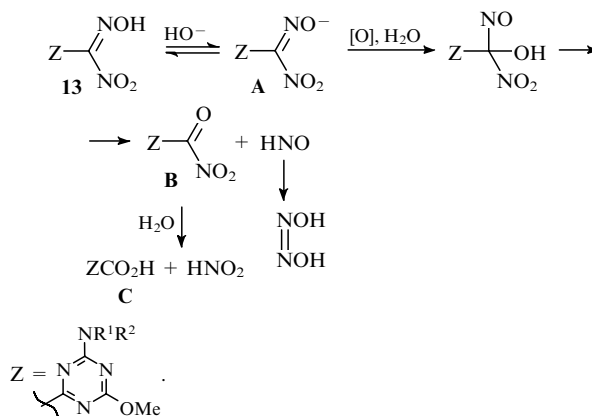
В настоящее время нитрит-анион рассматривается как «депо» для NO-подобной биологической активности и, таким образом, является дополнением к пути синтеза с участием NO-синтаз.⁵⁹ В организме нитрит-анион может превращаться в оксид азота различными путями, включая взаимодействие с гемоглобином, миоглобином, ксантиноксидоредуктазой, аскорбатом, полифенолами, протонами.

Восстановление нитрита до оксида азота и NO-модифицированных белков во время физиологической и патологической гипоксии вносит вклад в физиологическую гипоксическую сигнализацию, расширение сосудов, модуляцию клеточного дыхания и клеточные ответы на ишемический стресс.⁵⁹

Способность нитроловых кислот активировать растворимую гуанилатциклазу, по-видимому, обусловлена генерированием экзогенного NO (как это показано при изучении образования нитрит-аниона).¹ Для нитроловых кислот выявлено соответствие между определенным количеством образовавшегося NO и степенью активации гуанилатциклазы.¹ Можно допустить существование нескольких альтернативных путей генерирования NO (точнее, нескольких предшественников NO) из нитроловых кислот.

Так, известно, что при термолитическом действии оснований нитроловые кислоты элиминируют молекулу азотистой кислоты и превращаются в нитрилоксиды, которые димеризуются в фуруксаны **14** (см. схему 1),^{60, 61} или же могут гидролизоваться с образованием соответствующих карбоновых кислот.^{62–67}

С другой стороны, следует еще раз отметить, что в кислой среде нитрит-анион в рассматриваемой системе не определяется, и, следовательно, образования оксида азота не происходит, а в растворе с pH ≥ 8 его образование резко активируется, т. е. для протекания процесса необходимо предварительное превращение нитроловой кислоты в анион. Логично предположить, что далее анион **A** окисляется кислородом воздуха и через ряд стадий получают карбонильное нитросоединение **B** и нитроксил.



Хорошо известно, что нитроксил в организме может окисляться до NO либо димеризоваться.^{1, 68} Однако в химическом эксперименте нитроксил не окисляется до NO, т. е. фиксируются лишь продукты превращения нитрогруппы. Конечным продуктом данного процесса является триазин-

карбоновая кислота С (получена также независимым методом), которая и была обнаружена в реакционной смеси.

Таким образом, основной путь появления нитрит-аниона заключается в превращении нитрогруппы исходной нитроловой кислоты. Несмотря на то что и оксимная группа в биологической системе может выступать в качестве предшественника NO, по результатам химических исследований этот путь представляется второстепенным, так как количество детектируемого нитрит-аниона соответствует превращению одной азотсодержащей группировки.

В общем возможно несколько путей генерирования NO, которые, по всей видимости, определяются как условиями разложения, так и природой фрагмента Z, связанного с нитроловой группировкой.

Все сказанное выше указывает на то, что соединения данного типа представляют несомненный интерес для дальнейших исследований в плане поиска новых эффективных лекарственных средств. Конструирование и изучение новых соединений, включающих фрагмент нитроловой кислоты, может привести к выявлению оригинальных производных, обладающих специфической физиологической активностью.

VII. Образование оксида азота из бронопола

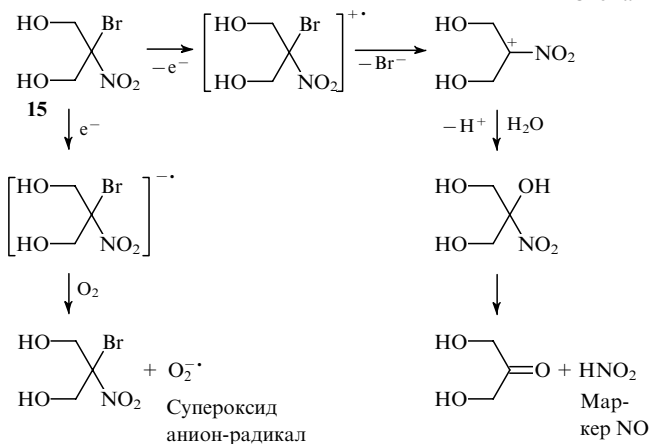
Известное антисептическое средство бронопол (2-бром-2-нитропропан-1,3-диол, **15**) также относится к C-нитросоединениям.⁶⁹

В настоящее время механизм биологического действия этого соединения трактуют как способность (благодаря наличию активированной связи C—Br) «сшивать» тиольные группы дегидрогеназ с образованием дисульфидов. В результате происходит модифицирование клеточных структур микроорганизмов и нарушение их метаболизма. В антимикробное действие этого консерванта свой вклад вносит и отщепление формальдегида,⁷⁰ обусловленное присутствием двух гидроксиметильных групп.

Другой возможный механизм биологического действия бронопола связывают⁶⁹ с высвобождением оксида азота и окислением анион-радикала бронопола, в результате которого возникает анион-радикал супероксид (схема 2).

Дальнейшие процессы, скорее всего, обусловлены образованием NO и пероксинитрита ONOO[−].

Схема 2



Было изучено разложение бронопола в отсутствие кислоты и в присутствии таких окислителей, как пероксид водорода или феррицианид калия. Определение NO проводилось полярографически по выходу нитропруссид-аниона. Для сравнения в табл. 2 приведены данные для другого алифатического нитросоединения — нитроэтана.

Таблица 2. Выходы NO (в виде нитропруссид-иона) при химических превращениях бронопола.⁶⁹

Условия процесса	Выход нитропруссид-аниона, %	
	нитроэтан	бронопол
Водный раствор, воздух, 20°C, 1 сут	—	8.0
Недезаэрированный буферный раствор, pH 5, 80°C, 30 мин	0.6	4.0
Деаэрированный раствор 0.01 M NaOH, 80°C, 30 мин	0.2	14.0
Недезаэрированный фосфатный буферный раствор, 0.04 M H ₂ O ₂ , pH 5, 80°C, 30 мин	1.0	50.0

Как видно из табл. 2, в окислительных условиях бронопол является эффективным донором оксида азота (следует отметить, что нитроэтан, хотя и в меньшей степени, тоже генерирует NO). Для бронопола была изучена характерная для NO-доноров способность активировать растворимую гуанилатциклазу (табл. 3).

Таблица 3. Активация растворимой гуанилатциклазы бронопол.⁶⁹

Концентрация бронопола, моль · л ^{−1}	Удельная активность sGC ^a	Активация ^b sGC, %
0	1.39	100
10 ^{−6}	3.61	260
10 ^{−5}	6.39	460
10 ^{−4}	1.11	80

^a Удельная активность sGC измеряется в пмоль sGMP на 1 мг белка в 1 мин; ^b активация <100% означает торможение.

При повышении концентрации бронопола активация сменяется торможением, возможно, из-за окисления тиольных групп, которые входят в гемовый фрагмент фермента, образовавшимся пероксинитритом или вследствие связывания их за счет алкилирования. Нельзя исключать, что именно образование мощного окислителя — пероксинитрита — приводит к упомянутому выше «повреждению» тиольных фрагментов дегидрогеназных компонентов клеточных стенок микроорганизмов, что и обеспечивает бактерицидный эффект бронопола.

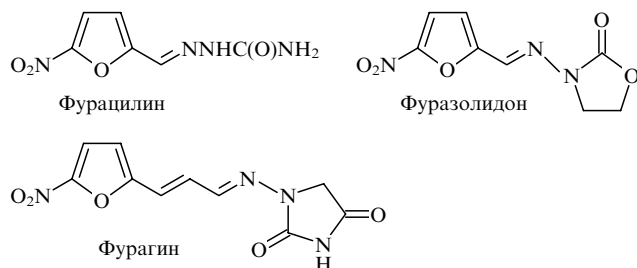
VIII. Нитропроизводные пятичленных гетероциклических соединений

1. Препараты 2-нитрофуранового ряда

Еще одна группа препаратов, которая представляет интерес с точки зрения NO-донорной активности, — известные антимикробные средства нитрофуранового ряда. Эти препараты эффективны по отношению к грамположительным и грамотрицательным бактериям. Поскольку известно, что фурановый цикл может раскрываться при воздействии различных нуклеофильных реагентов, было высказано предположение, что в восстановительных условиях возможна деароматиза-

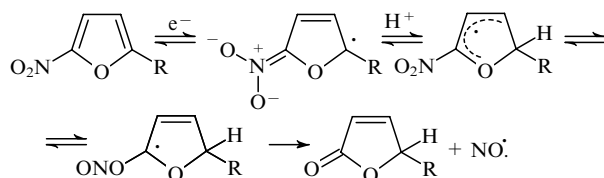
ция производных нитрофурана, которая, хотя бы частично, будет приводить к образованию соединений, способных высвобождать оксид азота.⁷¹

Исследовано поведение в восстановительных условиях ряда лекарственных препаратов 2-нитрофуранового ряда, таких как фурацилин, фурагин, фуразолидон.⁷¹



При нагревании растворов этих соединений (концентрация 10^{-4} или $2 \cdot 10^{-4}$ моль $\cdot$ л $^{-1}$) с ферроцианидом калия (10^{-3} моль $\cdot$ л $^{-1}$) при 60°C и pH 5, по данным полярографии, получается нитропруссид-анион, что указывает на образование в восстановительных условиях оксида азота. Вторым вариантом восстановления производных нитрофурана — действие аскорбиновой кислоты (pH 6.5) с последующим добавлением ферроцианида калия — также приводит к нитропруссиду.

В литературе имеются данные, что анион-радикалы, образующиеся при восстановлении 5-нитрофуранов, способны претерпевать нитро-нитритную перегруппировку.⁷² Исходя из этого предложен⁷¹ следующий механизм образования оксида азота при разложении лекарственных препаратов нитрофуранового ряда.



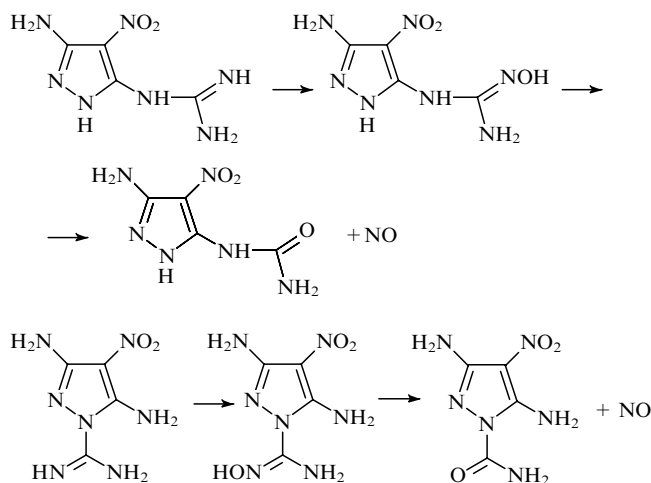
Нужно сказать, что многие эффекты, которые оказывает NO на те или иные системы, связаны с образованием пероксинитрита (ONOO $^-$). Можно полагать, что его антибактериальное действие обусловлено ингибированием цепи электронного переноса в митохондриях, нарушающим процесс клеточного дыхания микроорганизмов. Следовательно, в принципе нельзя исключать, что способность к генерированию оксида азота рассматриваемыми препаратами является одной из причин их высокотерапевтической активности.

Следует также отметить возможное действие антибактериальных препаратов и вообще доноров оксида азота в качестве сигнальных молекул QS-системы[†] у бактерий.⁷³ В работе⁷⁴ исследованы перечисленные выше препараты нитрофуранового ряда и известные доноры оксида азота (нитропруссид натрия и изосорбид-5-мононитрат) и показано, что эти соединения значительно повышают биOLUMИ-несценцию штаммов клеток *Escherichia coli*, используемых для обнаружения *N*-ацилглюкозаминилактонов — сигнальных молекул QS-регуляторной системы — в субингибиторных концентрациях. Однако эта активация оказалась неспецифично ассоциированной с функционированием QS-системы.

[†] QS-Система (от английского Quorum Sensing) — особый тип регуляции экспрессии генов, зависящей от плотности популяции бактерий; основана на действии низкомолекулярных сигнальных молекул различной природы.

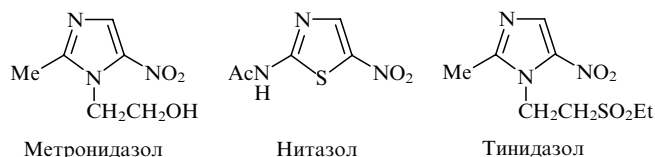
2. Нитропиразолы и нитроимидазолы с гуанидиновыми и амидиновыми заместителями

В недавно опубликованной работе⁷⁵ исследована способность производных нитропиразола с гуанидиновыми или амидиновыми заместителями претерпевать при окислении превращения, связанные с высвобождением молекулы оксида азота. Окисление феррицианидом калия проводили в щелочной среде, образование нитропруссид-аниона устанавливали полярографически; высвобождение NO, вероятно, протекает по обычному механизму через N-гидроксилирование на первой стадии.



3. Производные имидазола и тиазола: метронидазол, нитазол и тинидазол

Далее рассмотрим три известных антипротозойных препарата — метронидазол, нитазол и тинидазол.



Метронидазол обладает широким спектром химиотерапевтического действия по отношению к анаэробным простейшим, а также к анаэробным грамотрицательным и некоторым грамположительным бактериям. С помощью электрохимических методов и метода ЭПР было показано, что метронидазол легко дает продукт одноэлектронного восстановления нитрогруппы (анион-радикал), способный разрушать ДНК, РНК и другие жизненно важные клеточные макромолекулы, и именно этот анион-радикал считают ответственным за биологическую активность препарата.⁷⁶ Вопрос о механизме действия метронидазола, однако, не может считаться решенным окончательно. Например, существует мнение, что действующей активной формой препарата является получаемое при восстановлении соответствующее производное гидроксиламина.⁷⁷ Следует также обратить внимание на возможность отщепления нитрогруппы при восстановлении метронидазола.^{76–79} Так, известно, что при электролизе метронидазола с высоким выходом образуется нитрит-ион,⁷⁹ при восстановлении препарата в растворе в присутствии тиолов и ионов двухвалентного железа получают комплексы, в состав которых входят ионы железа, молекулы тиопроизводных и оксид азота.⁸⁰

Особо отметим, что N-замещенные 5-нитро-2-стирил-имидазолы в щелочной среде ($\text{pH} > 10$) претерпевают деструкцию с раскрытием имидазольного цикла и элиминированием нитрогруппы в форме нитрит-аниона.⁸¹ На основании приведенных выше данных высказано⁸² предположение, что высвобождение оксида азота является вероятным направлением биопревращения метронидазола и, возможно, это обстоятельство играет важную роль в механизме биологического действия препарата.

С использованием полярографии было установлено, что при щелочном гидролизе метронидазола образуется нитрит-анион — предшественник оксида азота. Константа скорости гидролиза метронидазола в 0.01 М растворе NaOH при 80°C равна $1.6 \cdot 10^{-3} \text{ мин}^{-1}$; в этих условиях отщепление нитрогруппы метронидазола протекает практически количественно за 30 мин. Подтверждением выделения оксида азота при деградации метронидазола в биологических системах (крови человека) является активация им растворимой гуанилатциклазы. Степень активации зависит, как это характерно для экзогенных доноров NO, от концентрации препарата (табл. 4).

Таблица 4. Влияние метронидазола на активность растворимой гуанилатциклазы.^{82, 83}

Концентрация метронидазола, моль · л ⁻¹	Удельная активность sGC	Активация sGC, %
0	105 ± 12	100
10 ⁻⁷	106 ± 5	100
10 ⁻⁶	242 ± 18	230
10 ⁻⁵	368 ± 24	350

Обнаруженные NO-донорные свойства метронидазола побудили авторов работы⁸² оценить влияние этого препарата на такие гемодинамические параметры, как частота сердечных сокращений (ЧСС) и системное артериальное давление (АД) в экспериментах на животных (крысах) и сравнить полученные результаты с соответствующими характеристиками такого типичного донора NO, как изосорбид-5-монострат. Оказалось, что действие этих соединений весьма сходно (табл. 5).

Таблица 5. Влияние метронидазола и изосорбид-5-монострата на сердечно-сосудистую систему крыс.^{82, 83}

Исследуемые соединения	Доза ^a	АД, мм. рт. ст.	ЧСС, удары · мин ⁻¹
Контроль (раствор NaCl, 0.9%)	0	142 ± 5.0	322 ± 9.0
Метронидазол	0.001	131 ± 5.0	300 ± 9.0
	0.01	120 ± 4.0	282 ± 10.0
	0.1	108 ± 2.0	280 ± 6.0
Изосорбид-5-монострат	0.001	137 ± 4.0	320 ± 9.0
	0.01	125 ± 6.0	280 ± 10.0
	0.1	97 ± 2.0	278 ± 9.0

^a В миллиграммах на 1 кг веса животного внутривенно.

Нельзя, впрочем, исключить, что и в этом случае происходит нитро-нитритная перегруппировка, подобная той, которая обсуждалась выше для производных нитрофурана. Что касается возможности выделения оксида азота в резуль-

тате восстановления, для рассмотрения механизма процесса требуются дополнительные данные.

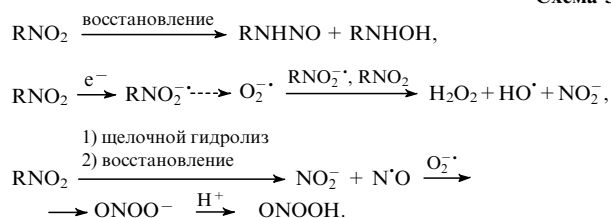
Аналогичные результаты имеются и для препарата тинидазол: он также высвобождает в указанных условиях NO и активирует растворимую гуанилатциклазу.⁸³

Тинидазол по химической структуре и по спектру химиотерапевтического действия является близким аналогом метронидазола; можно предполагать, что эти препараты имеют сходный механизм действия и, следовательно, обладают аналогичными NO-донорными свойствами.⁸⁴

Гидролитические превращения тинидазола прослеживали методом постоянной токовой полярографии, отщепление нитрогруппы контролировали с помощью реакции Грисса.

Возможные механизмы молекулярного действия этих препаратов (RNO_2), исходя из предположений, высказанных ранее в литературе, перечислены на схеме 3. Предполагалось, что N-нитрозоамины и N-гидроксиламины ингибируют дыхательные ферменты микроорганизмов. Однако, с нашей точки зрения, экспериментальным результатам наиболее соответствует последняя реакция на схеме 3.

Схема 3



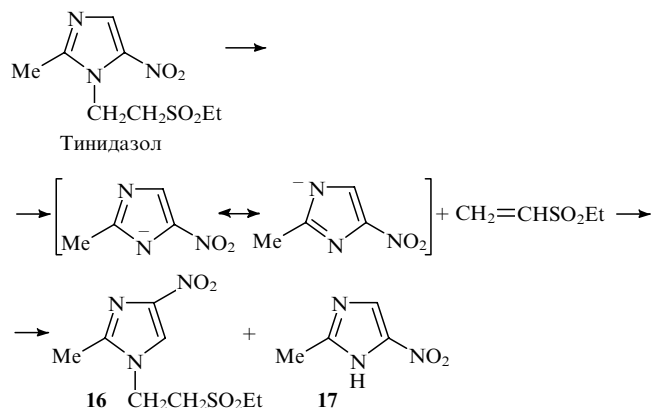
Известно, что нитроимидазолы легко образуют нитро-анион-радикалы — продукты одноэлектронного восстановления, которые, как предполагается в настоящее время, обуславливают механизм их действия.⁸⁵

В отличие от метронидазола, тинидазол в таких же жестких условиях высвобождает не более 8% нитрита. Эти данные находятся в кажущемся противоречии с результатами изучения стабильности указанных препаратов. Так, согласно данным работы⁸⁶, при pH 11 и 80°C константа скорости гидролиза метронидазола в 150 раз ниже, чем тинидазола. Тем не менее полярограммы, полученные в щелочных растворах метронидазола и тинидазола после нагревания при 80°C в течение 30 мин, подтверждают деградацию обоих препаратов. При этом в случае метронидазола в растворе не обнаруживается никаких электрохимически-активных веществ, а в случае тинидазола наблюдается волна с предельным током, несколько превышающим предельный ток полярографической волны в исходном растворе. Потенциал полуволны по сравнению с исходным значительно сдвинут в отрицательную сторону, т.е. образуется новое соединение, по-видимому, также содержащее нитрогруппу.

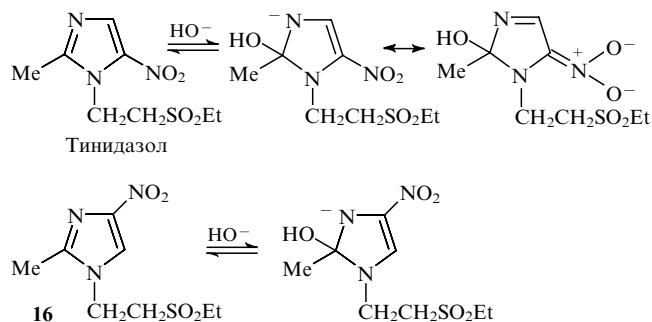
То обстоятельство, что метронидазол действительно более стабилен в щелочных растворах по сравнению с тинидазолом и, в отличие от последнего, при умеренной температуре не подвергается необратимым изменениям, видно при сопоставлении полярограмм, снятых в кислом растворе сразу после растворения навески препарата и в растворе того же состава, но после предварительного двухчасового выдерживания в щелочной среде и последующего подкисления. В случае метронидазола изменения не обнаруживаются, в случае тинидазола образуется упомянутое выше новое соединение.

Обнаруженные различия можно объяснить на основании особенностей химического поведения производных имидазола, у которых в положении 1 находится алкилсульфонил-этильная группировка. Было показано, что такие соединения в щелочных растворах легко превращаются в два продукта —

изомерный 4-нитроимидазол **16** и 2-метил-5-нитроимидазол (**17**), причем последний преобладает в растворе при высокой концентрации щелочи, а при низкой щелочности (например, при $4 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ бикарбоната натрия) почти количественно образуется первый.



Таким образом, представляется очевидным, что 5-нитроимидазолы (метронидазол и сам тинидазол) в сильно щелочной среде способны разлагаться с высвобождением оксида азота, но для их 4-нитроизомеров такое превращение не характерно. Объяснение этого явления может заключаться в следующем: во-первых, в тинидазоле, в отличие от 2-метил-4-нитроимидазола **16**, две объемные группировки (нитрогруппа и алкилсульфоновая) находятся вблизи друг от друга, что стерически дестабилизирует молекулу и облегчает ее деградацию. Во-вторых, если принять, что атака гидроксид-аниона, предшествующая распаду имидазольного цикла тинидазола с высвобождением NO ,⁸² протекает по положению 2 и именно эта стадия лимитирует скорость процесса, то для тинидазола и 2-метил-4-нитроимидазола **16** наблюдаются отчетливые различия:



В случае 5-нитроизомеров образующийся анион эффективно стабилизирован сопряжением, что не имеет места для

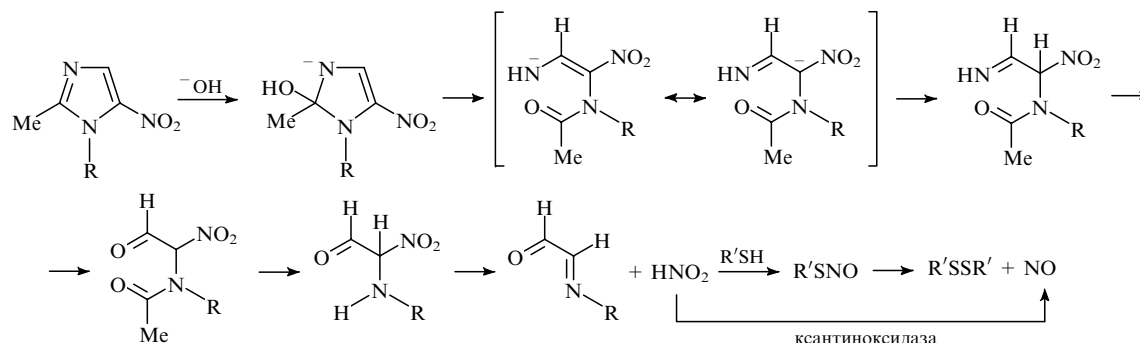
4-нитропроизводных. Соответственно, скорость процесса присоединения гидроксид-аниона для 5-нитропроизводных существенно выше.

Таким образом, в случае тинидазола процессы, ведущие в щелочной среде к отщеплению нитрогруппы (подобные тем, что происходят в растворах метронидазола), конкурируют с процессами, в результате которых образуются 4-нитропроизводные имидазола, не отщепляющие в данных условиях нитрогруппу. Данные, полученные с помощью полярографии и анализа гидролизированных растворов препарата на нитрит-анион, подтверждают это предположение. В случае тинидазола, в отличие от метронидазола, ужесточение условий гидролиза не приводит к повышению выхода нитрит-аниона. Это вполне объяснимо с точки зрения описанной выше схемы.

Согласно литературным данным,⁸⁶ в щелочном растворе отщепление нитрогруппы от имидазольного цикла может происходить в результате атаки нуклеофила. Повышение щелочности хотя и увеличивает концентрацию нуклеофила (HO^-), но, как уже отмечалось, ускоряет образование 4-нитроизомера тинидазола, который термодинамически более стабилен, чем исходный препарат. Таким образом, элиминированию нитрогруппы тинидазола способствуют относительно мягкие условия, когда процессы, ведущие к перегруппировке, протекают медленно. В мягких условиях тинидазол гораздо легче отщепляет нитрит-анион по сравнению с метронидазолом. Последний не вступает в эту реакцию при $\text{pH} < 10$; в буферном растворе при $\text{pH} 10$ при 80°C за 1.5 ч метронидазол образует всего 2–3% нитрит-аниона. В то же время тинидазол дает нитрит-анион в сопоставимых количествах в буферных растворах с более низким pH (8–9) уже при 37°C . В работе⁸² предложены схемы щелочного гидролиза, предполагающие атаку нуклеофила по положению 4 или 2 имидазольного цикла метронидазола и элиминирование нитрогруппы после его раскрытия. Если присоединение гидроксид-аниона протекает по положению 2 (как показано выше; это хорошо согласуется с данными, касающимися различий в деградации метронидазола и тинидазола в щелочной среде), то процесс в целом может протекать так, как показано на схеме 4.

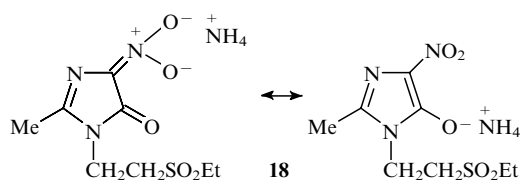
Для метронидазола ($\text{R} = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) при гидролизе по этой схеме легко прогнозировать образование кроме нитрита таких соединений, как ацетамид, этаноламин и гликолевая кислота. Примечательно, что эти продукты обнаружены среди набора соединений, образовавшихся после контакта метронидазола с биологическими системами различной сложности: при анаэробном инкубировании с ксантиноксидазой, с содержащим слепой кишки крысы, с культурой *Clostridium perfringens*, а также в моче нестерильных крысы, котрым вводился метронидазол. Наиболее полные результаты

Схема 4



были получены при инкубировании метронидазола с ксантиноксидазой.⁸²

Для тинидазола параллелизм химических и метаболических превращений можно проиллюстрировать тем, что среди его метаболитов обнаружено производное 4-нитроимидазола — аммониевая соль 4,5-дигидро-2-метил-4-нитро-1-[2-(этилсульфонил)этил]имидазол-5(1*H*)-она (**18**).⁸⁷



Таким образом, придерживаясь концепции о возможности моделирования биопревращения лекарственных препаратов с помощью воздействия химических реагентов, следует сделать вывод, что фрагментация тинидазола в организме может протекать с высвобождением NO, и можно предположить, что действие препарата на анаэробные простейшие и бактерии хотя бы отчасти связано с его NO-донорными свойствами.

Аналогичные данные имеются и о препарате нитазол: он также высвобождает в указанных для метронидазола условиях NO и активирует растворимую гуанилатциклазу (табл. 6).

Таблица 6. Влияние нитазола на активность растворимой гуанилатциклазы.^{82, 83}

Концентрация нитазола, моль · л ⁻¹	Удельная активность sGC	Активация sGC, %
0	105 ± 12	100
10 ⁻⁷	179 ± 14	170
10 ⁻⁶	147 ± 10	140
10 ⁻⁵	148 ± 11	140

4. Другие пятичленные нитрогетероциклы и динитрогетероциклы

Возможен и иной механизм выделения NO из нитрогетероциклов, а именно: раскрытие гетероцикла по иному положению, нежели атом углерода, связанный с нитрогруппой, деароматизация системы и последующее высвобождение NO из негетероциклического предшественника.

По уменьшению степени ароматичности соединения, производные которых рассматриваются в настоящем обзоре, располагаются в следующий ряд:⁸⁸ бензол > 1,2,4-триазол > пиразол > имидазол > изоксазол.

В работе⁸⁹ показано, что при нагревании растворов моонитропроизводных в 0.1 М NaOH, содержащем 10% этилового спирта, при 70°C в течение 3 ч выделение нитрит-аниона слабо зависит от природы гетероцикла: для производных нитропиразола и нитроимидазола оно составило ~2%, для нитротриазола — ~3%. Как и следовало ожидать, выдерживание в этих условиях нитропроизводного изоксазола привело к значительной деградации исходной молекулы, и количество образовавшегося NO₂⁻ составило 26%.

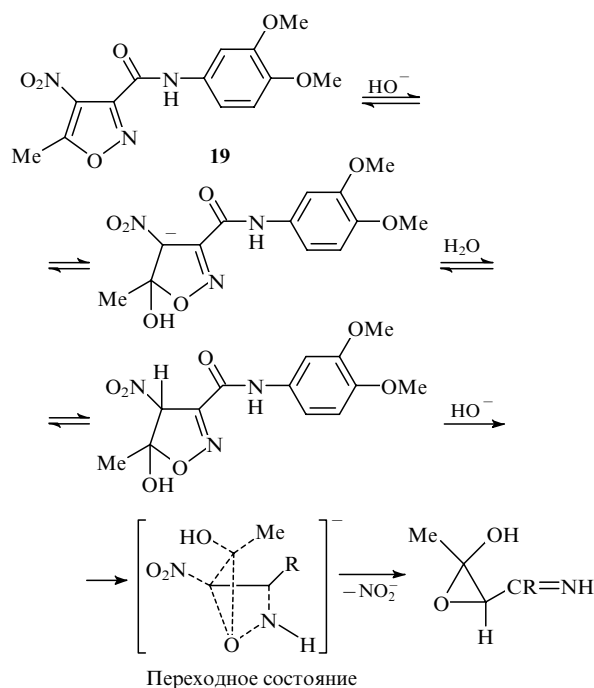
Процесс высвобождения нитрит-аниона изучается при нагревании в щелочи, т.е. в условиях, далеких от физиологических. В обзоре² обсуждается проблема раскрытия гетероциклов в гидролитических условиях и указывается, что эти процессы могут протекать как неферментативно, так и при

ферментативном катализе. Во многих случаях пока неизвестно, как протекает гидролиз гетероциклов в организме, но, например, для производных тиазолидина указывают, что раскрытие цикла катализируется ферментом 5-оксо-L-пролиназой. Гидролитическая трансформация исследуемых нитропроизводных — модельный процесс, который выполнен в нефизиологических условиях; это, однако, не исключает того, что исследуемые соединения и в организме могут быть источниками NO, поскольку скорости процессов и выходы конечных продуктов в условиях ферментативного катализа возрастают многократно.

Сам факт определения значимых количеств нитрит-аниона при деградации пятичленных нитрогетероциклов позволяет обоснованно предполагать, что эти соединения могут быть донорами оксида азота и в живом организме. Косвенно это подтверждают данные по активации ими растворимой гуанилатциклазы.

В работе⁸⁹ исследована кинетика высвобождения оксида азота при гидролизе гетероциклических С-нитросоединений и на основе полученных констант скоростей (*k*_{ср}) этих процессов при разных температурах вычислены термодинамические параметры, с учетом которых сделаны предположения о механизме реакций.

Так, для деградации нитропроизводного изоксазола **19** в 0.1 М растворе NaOH, содержащем 10% этилового спирта, предложена следующая схема процесса.



R = C(O)NHC₆H₃(OMe)₂-3,4.

Необходимо отметить, что, несмотря на относительно высокую степень разложения соединения **19** с отщеплением нитрит-аниона (образуется ~16% NO₂⁻ при нагревании указанного раствора при 70°C в течение 3 ч), реализуются и другие направления разложения этого производного изоксазола. Тем не менее авторы работы⁸⁹ провели кинетическое исследование указанного гидролитического процесса при разных температурах, что дало возможность получить соответствующие термодинамические параметры (табл. 7).

На основании полученных результатов авторы работы⁸⁶ сделали следующие заключения: небольшая величина энтальпии активации связана, вероятно, с относительно малой ароматичностью изоксазольного цикла и небольшой

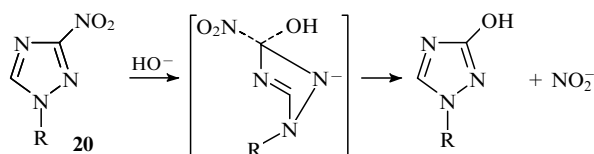
Таблица 7. Константы скорости^a и термодинамические параметры активации реакций деградации некоторых пятичленных гетероциклов.⁸⁹

Соединение	$k_{\text{ср}}, \text{с}^{-1}$			$\Delta G^\ddagger, \text{ккал} \cdot \text{моль}^{-1}$	$\Delta H^\ddagger, \text{ккал} \cdot \text{моль}^{-1}$	$\Delta S^\ddagger, \text{кал} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{К}^{-1}$
	T_1	T_2	T_3			
19	$3.1 \cdot 10^{-5} \pm 4.6 \cdot 10^{-6}$	$9.3 \cdot 10^{-5} \pm 1.1 \cdot 10^{-6}$	$3.9 \cdot 10^{-4} \pm 6.2 \cdot 10^{-5}$	24.4 ± 2.4	11.1 ± 1.7	-41.8 ± 1.2
21	$6.0 \cdot 10^{-5} \pm 7.0 \cdot 10^{-6}$	$6.4 \cdot 10^{-4} \pm 7.0 \cdot 10^{-5}$	$1.2 \cdot 10^{-3} \pm 1.0 \cdot 10^{-4}$	24.1 ± 2.8	26.8 ± 2.7	-8.6 ± 0.3
22	$2.3 \cdot 10^{-3} \pm 3.1 \cdot 10^{-4}$	$5.0 \cdot 10^{-3} \pm 5.0 \cdot 10^{-4}$	$1.22 \cdot 10^{-2} \pm 9.0 \cdot 10^{-4}$	13.2 ± 1.17	12.1 ± 1.2	-30.2 ± 1.5

^a T_1 , T_2 и T_3 составляют 35, 40 и 50°C соответственно для соединений **21** и **22**; 25, 40 и 70°C соответственно для соединения **19**.

затратой энергии, требуемой для разрыва связи N—O в цикле. Особо показательна весьма высокая отрицательная величина энтропии активации, которая указывает на образование высокоупорядоченного переходного состояния, отвечающего за элиминирование из молекулы нитрит-аниона. Согласно изображенному выше предполагаемому переходному состоянию, такого рода структура действительно высокоупорядоченна и ее образование согласуется с результатами термодинамических расчетов.

Весьма высокая отрицательная величина энтропии активации для производного 1,2,4-триазола **20** также свидетельствует о формировании высокоупорядоченного переходного состояния, которое можно представить следующим образом.

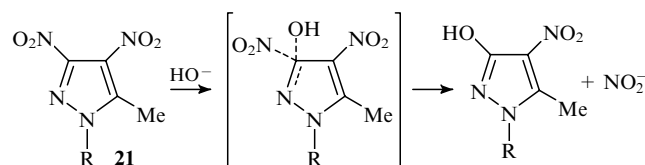


$R = \text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NHC}_6\text{H}_4\text{Et-4}$.

Очевидно, что интенсивность взаимодействия с нуклеофильными реагентами должна возрастать в тех случаях, когда в гетероцикле увеличивается число электроноакцепторных групп. Понятно, что при переходе от моно- к динитропроизводным вероятность отщепления нитрит-иона при нуклеофильной атаке увеличивается. Так, для мононитропроизводных пиразола, триазола, имидазола отщепление нитрит-иона реализуется в среднем на 1–7%, для динитропиразолов — на 7–28%, а для динитроимидазолов даже на 100–130% (превышение над 100% говорит о том, что в принятых условиях происходит количественное отщепление первой нитрогруппы и начинает расходоваться вторая).

Изучение кинетики гидролиза ряда производных 3,4-динитропиразола при различных температурах также позволило оценить термодинамические параметры процессов. Данные для щелочной деградации 3,4-динитро-5-метилпиразола **21** представлены в табл. 7.

Полученные результаты для динитропиразола **21** (и родственных соединений) трактуются следующим образом: достаточно высокая энтальпия активации говорит о том, что разрыв определенной связи в переходном состоянии в большой мере свершился или, во всяком случае, зашел достаточно далеко. А сравнительно небольшая отрицатель-



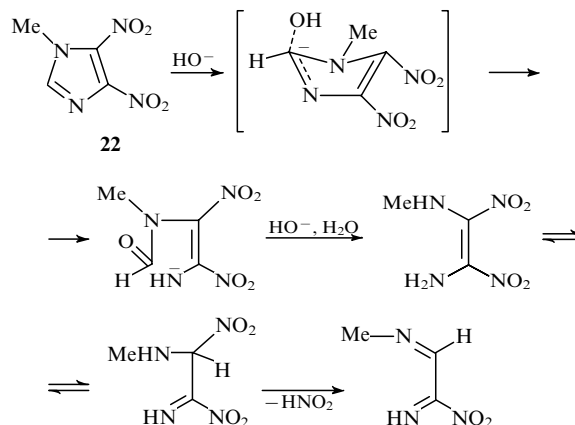
$R = \text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NHC}_6\text{H}_4\text{OMe-4}$.

ная энтропия активации может объясняться теми же структурными соображениями — связь почти разорвана и переходное состояние близко к конечной структуре, т.е. по стерическим параметрам довольно похоже на исходное соединение.

Вследствие этого энтропия переходного состояния близка по величине к энтропии исходного соединения, а $\Delta S^\ddagger$, соответственно, не очень отличается от нуля. Еще одно исследованное в работе⁸⁶ соединение — 1-метил-4,5-динитроимидазол (**22**). Для него наблюдаются драматические отличия в поведении по сравнению с производным пиразола **21**, что никак не может быть обусловлено различием заместителей в положении 1. Во-первых, имидазол **22** быстро (приблизительно за 12 мин) и количественно отщепляет нитрит-аниона. Во-вторых, процесс на этом не заканчивается; далее происходит намного более медленное и не количественное превращение образующегося интермедиата с выбросом другой нитрогруппы в виде второго нитрит-аниона.

По-видимому, механизм процесса в данном случае кардинально отличается от механизма деградации пиразольного производного. В случае имидазола энтальпия активации существенно ниже, в то время как энтропия активации отрицательная и много больше по абсолютной величине, т.е. картина весьма напоминает ту, которая наблюдалась для производного мононитроизоксазола **19** (еще раз напомним, что имидазольный цикл заметно менее ароматичен, чем триазольный и пиразольный).

Интерпретируя полученные результаты, авторы работы⁸⁹ исходили из того, что первая стадия процесса в условиях атаки гидроксид-аниона заключается в раскрытии имидазольного цикла; и именно эта стадия лимитирует скорость всего процесса отщепления нитрит-аниона.



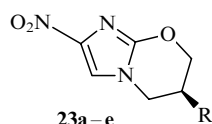
Следует отметить, что величины констант скорости гидролиза исследуемых соединений определены двумя независимыми методами — спектрофотометрически и полярографически. В первом случае о скорости реакции судили по

увеличению концентрации нитрит-аниона (определяли по реакции Грисса) в процессе гидролиза, т.е. по конечному продукту. А во втором случае контроль проводили по уменьшению предельного тока электровосстановления нитрогруппы, т.е. по исходному соединению. Хорошее согласие результатов, полученных разными методами, свидетельствует о достоверности предложенного механизма гидролиза.

Разумеется, приведенные выше механизмы реакций являются в значительной степени умозрительными, хотя и подтверждаются полученными в результате кинетического изучения данными. Главный же результат исследования⁸⁶ состоит в следующем: достоверно установлено, что изученные С-нитропроизводные (и особенно динитропроизводные) азолов способны высвобождать оксид азота и представляют значительный интерес в плане изучения их биологической активности.

5. Бициклические нитроимидазолы

В работе⁹⁰ изучен ряд бициклических нитроимидазолов **23**; некоторые из этих соединений являются потенциальными пролекарствами для лечения туберкулеза (пролекарства требуют внутриклеточной активации для выполнения своих биологических функций).



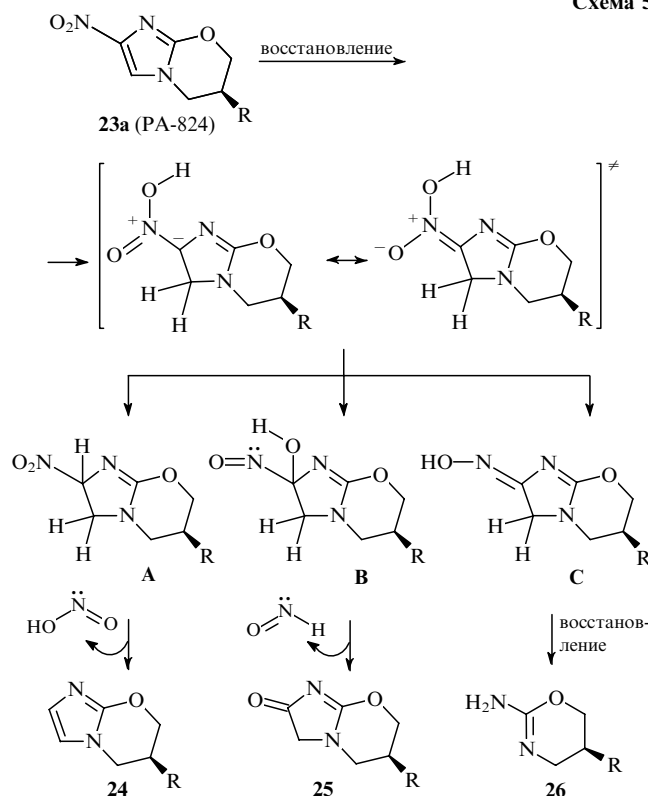
R = OCH₂C₆H₄OCF₃-4 (**a**), NH(CH₂)₃C₆H₄OCF₃-4 (**b**), 4-NHCH₂C₆H₄OCH₂C₆H₄OCF₃-4 (**c**), NH(CH₂)₄C₆H₄OCF₃-4 (**d**), NHCH₂C₆H₄Buⁿ-4 (**e**) и др.

Соединение **23a** (РА-824) уже проходит клинические испытания. Было установлено, что дезафлавинзависимая нитроредуктаза (Ddn) превращает РА-824 в три первичных метаболита, главный из них — соответствующий денитроимидазол **24** (схема 5). При изучении нитроимидазолов **23** оказалось, что количество образующегося метаболита **24** хорошо коррелирует с анаэробным уничтожением *Mycobacterium tuberculosis*. Образование метаболитов сопровождается генерированием активных форм азота, в том числе оксида азота, который является главным эффектором анаэробной активности этих нитроимидазолов. Более того, акцепторы NO защищают бациллы от гибели под действием пролекарств. Таким образом, соединения **23** могут действовать как внутриклеточные доноры NO и усиливать защитный механизм, присущий иммунной системе.

Резистентный по отношению к лекарствам туберкулез является в настоящее время главной угрозой здоровью множества людей. С этой точки зрения определенную надежду подают бициклические имидазолы РА-824 (**23a**) и ОРС-67683 (аналог РА-824, в молекуле которого имидазольный цикл конденсирован не с шести-, а с пятичленным гетероциклом). В настоящее время они проходят клинические испытания. Указанные соединения активны не только против реплицирующихся бактерий, но и против бактерий, не реплицирующихся при гипоксии. Такие бактерии особенно сложно уничтожить, именно они ответственны за длительный (6–8 месяцев) период лечения, необходимый, чтобы избежать рецидива. Кроме того, предполагается, что не реплицирующиеся бактерии ответственны за скрытый (латентный) туберкулез, который характерен для одной трети населения Земли.

Механизм действия пролекарств РА-824 и ОРС-67683 сложен. Использование их, возможно, уменьшает образование миколовых кислот — главных компонентов клеточной

Схема 5



R = OCH₂C₆H₄OCF₃-4.

оболочки *M. tuberculosis*. Однако вряд ли этот эффект может быть основным, т.е. нести ответственность за ликвидацию нереплицирующихся бактериальных клеток, поскольку бациллы не вырабатывают миколовые кислоты в значительных количествах в анаэробных условиях. Кофермент F₄₂₀ и зависящая от него глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Fgd1) существенны для активации бициклических нитроимидазолов и снижают резистентность к ним бактерий. Была изучена химическая структура продуктов восстановления соединения **23a**. Метаболиты, полученные после ферментативного (Ddn) восстановления РА-824, представляют собой соединения **24**, **25**, **26**; они образуются через интермедиаты **A**, **B**, **C** соответственно (см. схему 5).

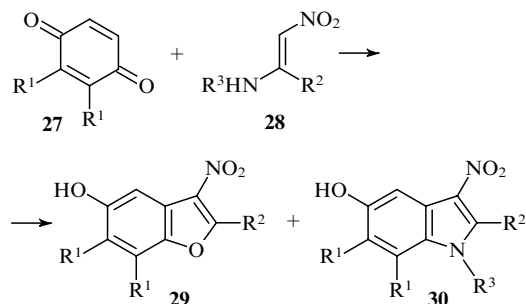
Таким образом, активные формы азота — это преобладающий фактор анаэробной активности соединения **23a**, но в аэробных условиях возникают другие эффекты.

При метаболизме соединения **23a** происходит восстановление нитрогруппы, в результате которого образуется аминопроизводное **26**, оксопроизводное **25** (с выбросом нитроксила) и, как главный процесс, отщепление нитрогруппы с образованием денитропроизводного **24** и нитрита — известного маркера оксида азота(II). Это хорошо согласуется с указанным выше эффектом акцепторов NO, которые защищают бациллы от гибели.

6. 3-Нитропроизводные бензофурана и индола как потенциальные противоопухолевые агенты

Исследования реакции Неницеску (конденсации хинонов с енаминами), приводящей в качестве главных продуктов к замещенным 5-гидроксииндолам и -бензофуранам, показали, что в эту реакцию вступают и нитроениамины.⁹¹ Так, бензохиноны **27** взаимодействуют с замещенными β-нитроениаминами **28** с образованием нитробензофуранов **29** и нитроиндолов **30**, многие из которых относятся к донорам

NO. Заметим, что в данном случае получают 3-нитрофураны, которые прежде не рассматривались как доноры NO (в отличие от 2-нитрофуранов).



Для доказательства NO-донорной активности производных 3-нитробензофурана и 3-нитроиндола исследовалась возможность элиминирования нитрогруппы из этих соединений при щелочном гидролизе и появления в растворе нитрит-аниона, являющегося маркером оксида азота и предшественником NO при биотрансформации препаратов, относящихся к органическим нитратам и С-нитропроизводным. Для фиксации нитрит-иона применялись фотометрическая и полярграфическая методики.^{1,69} Было установлено, что при щелочном гидролизе исследуемых соединений отщепление нитрогруппы происходит значительно легче (в более мягких условиях), чем для известных лекарственных препаратов, производных 2-нитрофурана. Необходимо отметить, что исследованные производные активируют растворимую гуанилатциклазу по NO-зависимому механизму; тем самым подтверждается вывод о том, что эти соединения являются экзогенными донорами оксида азота.¹

Учитывая цитотоксические и цитостатические свойства NO по отношению к опухолевым клеткам, можно ожидать, что в ряду производных нитробензофуранов имеются соединения с противоопухолевым действием, которые могут рассматриваться в качестве перспективных противоопухолевых средств.¹

Несмотря на огромное число исследований, посвященных оксиду азота, представления о его роли в биологии опухолей остаются противоречивыми. Оксид азота участвует во всех этапах развития неоплазий: инициации, промоции, прогрессии, инвазии и метастазировании.^{92–94} Усиленное образование NO и продуктов его превращений в живом организме, например S-нитрозотиолов или динитрозильных комплексов негемового железа с низкомолекулярными тиольными лигандами,¹ приводит к повреждениям структуры ДНК, которые могут наследоваться в форме мутаций и быть причиной трансформации клеток, а также вызывать полиморфизм опухолей. Другими мишенями действия NO в клетке могут быть ферменты, принимающие участие в репарации ДНК и выполняющие регуляторную роль в метаболических процессах. При опухолевых заболеваниях образование NO — продукта индуцибельной NO-синтазы (iNOS) — многократно повышается в ответ на действие образующихся цитокинов: интерлейкина-1 и интерлейкина-2, интерферона-γ или его комбинации с факторами TNF-α, TNF-β, EGF и др. На экспериментальном и клиническом материале получены доказательства наличия у NO ангиогенного и метастатического действия.⁹⁵ По результатам клинических исследований, в опухолях ротовой полости, гортани, легкого, репродуктивных органов, центральной нервной системы и др. определяется положительная зависимость между стадией образования опухоли и содержанием iNOS.^{93,96}

В то же время оксид азота является неотъемлемой частью противоопухолевой защиты с участием иммунокомпетент-

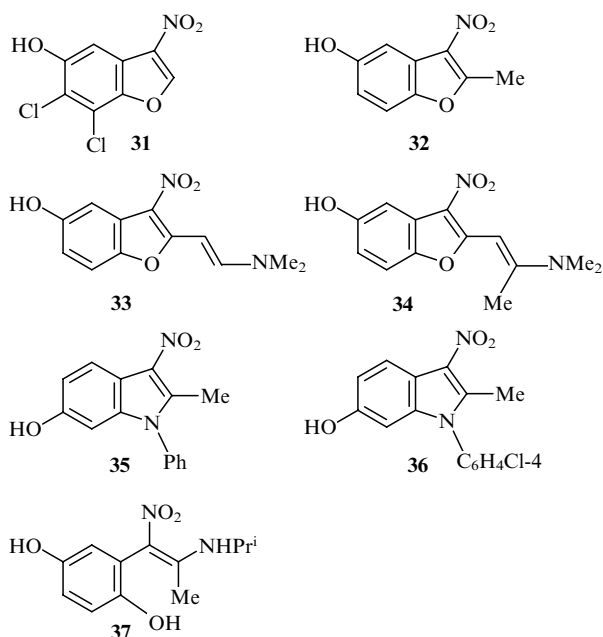
ных клеток. Моноциты, макрофаги и нейтрофилы, продуцируя оксид азота, оказывают цитотоксическое и цитостатическое действие на опухоль. Так, увеличение размера опухолей сопровождается снижением продукции NO иммунными клетками.⁹⁷ Высокая скорость реакции NO со свободными радикалами позволяет представить его в качестве поглотителя радикалов *in vivo*. Разнонаправленный характер влияния NO на рост опухолей объясняют комплексным характером действия этого радикала, зависящим от концентрации, времени экспозиции, гетерогенности химических реакций с ключевыми реагентами (кислородом и активными формами кислорода, углекислым газом и др.) и мишенями (металлами, тиолсодержащими аминокислотами и белками и др.), генотипа опухолевых клеток и др. Полагают, что кратковременные потоки NO, продуцируемые конститутивными NO-синтазами, непосредственно взаимодействуют с биологическими мишенями, вызывая образование нитрозильных комплексов с металлами, стимуляцию циклооксигеназы, активацию растворимой гуанилатциклазы, в то время как более высокие концентрации NO, продуцируемые индуцибельной NO-синтазой в течение длительного периода, приводят к образованию активных форм азота и к превалированию других типов реакций, таких как нитрозирование, окисление, нитрование и гидроксилирование.⁹³

Установлено, что эндогенный NO (а также оксид азота, продуцируемый экзогенными донорами) самоингибирует синтез NO за счет связывания оксида азота с гемсодержащей группой NO-синтазы, а также за счет подавления экспрессии гена NOS путем инактивации фактора транскрипции NFκB и других механизмов.¹ В настоящее время растет число работ, демонстрирующих, что в условиях повышенного образования оксида азота происходит гибель опухолевых клеток путем апоптоза. Более того, восстановление подавленной экспрессии iNOS во время опухолевой прогрессии рассматривается авторами в качестве превентивной меры при опухолевом росте и метастазировании.^{98,99}

Обнаружено, что доноры NO способны повышать эффективность ряда клинически значимых способов лечения онкологических заболеваний.¹⁰⁰ В исследованиях на мышах с перевитой аденокарциномой Эрлиха (АКЭ) подкожное введение нитропруссид натрия (донора NO) в дозе 80 мкг · кг⁻¹ вызывало достоверное торможение роста опухолей, определяемых по объему и/или массе, в то время как более высокая доза (4 мг · кг⁻¹) потенцировала рост АКЭ (28–124%).¹⁰¹ Источником экзогенного оксида азота, как было сказано выше, могут являться пятичленные гетероциклы (нитропроизводные фурана, имидазола, тиазола и др.). Механизм химиотерапевтического действия связан с особенностями их метаболизма, в результате которого отщепляется нитрогруппа в виде нитрит-аниона, последний далее превращается в оксид азота — мощный цитотоксический агент.

С учетом приведенных выше данных представлялось целесообразным изучить противоопухолевое действие синтезированных нами производных 3-нитробензофурана (31–34)^{102,103} и 3-нитроиндола (35,36),¹⁰⁴ а также производного нитровинилгидрохинона 37,¹⁰⁵ полученного из 3-нитробензофурана раскрытием фуранового цикла. Сведения о биологической активности всех тестируемых соединений ограничены, данных о противоопухолевой активности не имелось.

Исследование проводили на мышах с перевитой аденокарциномой Эрлиха. Тестируемые соединения плохо растворимы в воде, поэтому использовались в виде водной суспензии.¹⁰⁶ Ингибирующий эффект испытанных соединений оценивали по торможению роста опухоли (по массе и объему) у животных опытных групп по сравнению с контрольной груп-



пой. Токсичность оценивали по ранней гибели мышей по сравнению с гибелью контрольных животных и состоянию внутренних органов (селезенки, печени и др.).

Результаты исследований показали, что из семи испытанных соединений три (производные 3-нитрофурана **31**, **32**, **34**) достоверно тормозили рост опухолей, в то время как остальные четыре (**33**, **35**–**37**) не влияли на опухолевый процесс. Максимальное ингибирование опухолевого роста отмечали через неделю после начала введения исследуемых веществ. Особенно важно подчеркнуть, что вводимые дозы не вызывали гибели животных и изучаемые соединения проявляли низкую токсичность. Полученные результаты дают основания для расширенных и углубленных исследований с использованием широкого диапазона доз, разных путей и схем введения, а также других моделей опухолей с целью выявления максимальной ингибирующей активности производных нитробензофурана по отношению к опухолям.

В дополнение к этому следует отметить, что проводилось изучение противовирусной активности ряда производных 5-гидрокси-3-нитробензофурана. Для соединений **33** и **34** выявлено ингибирующее действие по отношению к репродукции вируса везикулярного энцефаломиелита лошадей (ВЭЛ) в культуре клеток фибробластов эмбриона курицы (ФЭК). Более активным было соединение **34**, которое в концентрации $5 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ ингибировало репродукцию вируса ВЭЛ. Из всех исследованных соединений только бензофуран **34** ингибировал репродукцию вируса простого герпеса в культуре ФЭК. При этом влияние соединения **34** на репродукцию вируса гриппа FPV было незначительным.^{103, 105}

IX. Новые доноры оксида азота в ряду шестичленных нитрогетероциклов

Как видно из материала раздела VIII, многие нитропроизводные пятичленных N-, O- и S-гетероциклов могут играть роль экзогенных доноров NO. О шестичленных гетероциклах подобной информации крайне мало. В работе⁵⁸ изучены превращения производных 5-нитропиримидина как потенциальных доноров NO в организме млекопитающих.

Несомненный интерес представляет химическое и биологическое исследование нитропроизводных пиримидина, содержащих в *орто*-положении к нитрогруппе дитиокарб-

амонийный остаток. Следует отметить, что в ряду диалкилдитиокарбаматов обнаружена большая группа соединений, обладающих заметной биологической активностью — фунгицидной, инсектицидной, гербицидной, антихолестериновой, гипотензивной, противомикробной, антигельминтной, противогрибковой, но механизмы их реализации пока изучены недостаточно. Это делает актуальным поиск биологически активных веществ в ряду нитрогетарилпроизводных дитиокарбаматов.

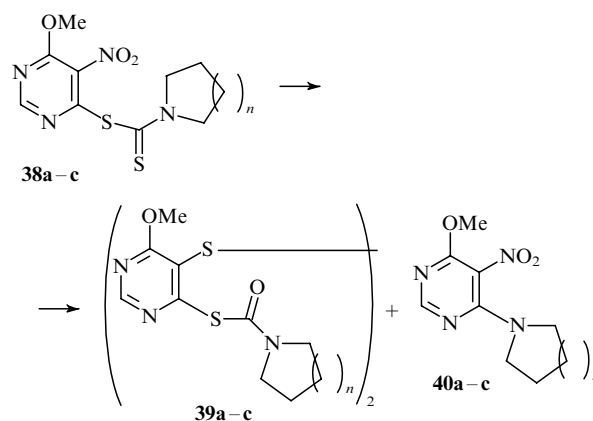
При термической обработке соединений такого типа происходят процессы, связанные с удалением нитрогруппы, причем этому высвобождению отчетливое содействие оказывает находящийся рядом дитиокарбамоильный фрагмент.⁵⁸

В работе⁵⁸ изучена денитрация дитиокарбамоилпроизводных нитропиримидинов в гидролитических условиях, при этом выявлены некоторые закономерности, обуславливающие способность указанных соединений выступать в роли доноров оксида азота. При нагревании в буферном растворе с близким к физиологическому значению pH (фосфатный буферный раствор, pH 6.86) большинство изученных соединений подвергалось деградации с образованием нитрит-аниона.

Количество выделяющегося NO_2^- зависит от природы заместителя в положении 6 пиримидинового цикла. При этом наибольшее количество NO_2^- наблюдается, когда в положении 6 находятся группы PhO или MeO, замена их на более сильные доноры электронов — аминогруппы — сильно снижает его высвобождение.

Показано,⁵⁸ что расщепление 5-нитро-4-дитиокарбамоилпиримидинов протекает по двум основным направлениям: с образованием дисульфидов и производных 4-диалкиламино-5-нитропиримидинов. Очевидно, что только в первом случае происходит отщепление нитрогруппы и, соответственно, образование нитрит-аниона. Следовательно, высвобождению оксида азота в живом организме, по-видимому, должно сопутствовать появление дисульфидов.

На примере соединений **38a–c**, различающихся величиной цикла в дитиокарбамоильном фрагменте, было проведено исследование реакционных смесей методом спектроскопии ЯМР ^1H . Оказалось, что с увеличением размера указанного цикла в смеси продуктов **39** и **40** растет доля дисульфидов **39**.



$n = 1$ (a), 2 (b), 3 (c).

Соединение 38	Соотношение 39 : 40
a	3 : 2
b	9 : 1
c	Основной продукт : следы

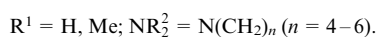
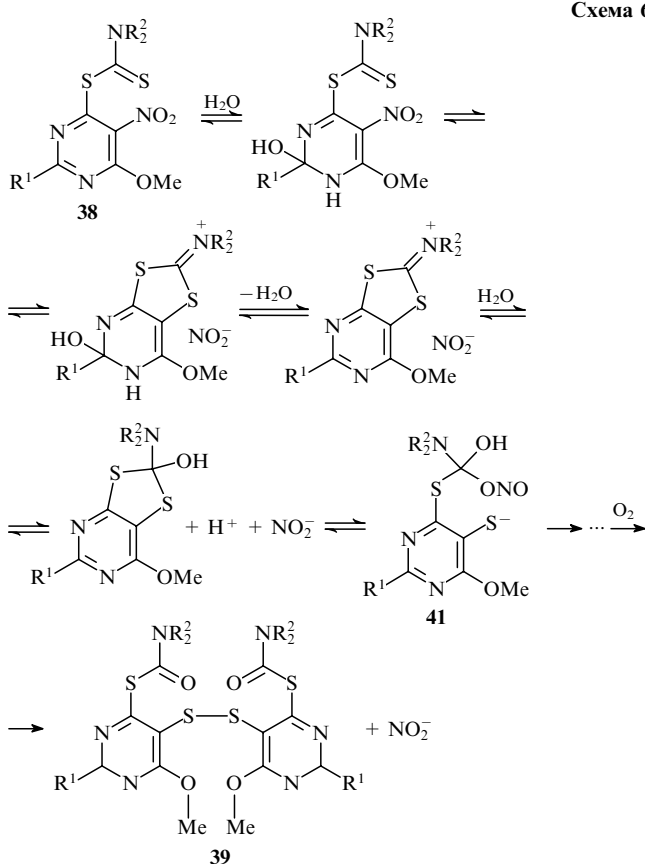
При изучении указанного процесса был обнаружен ряд закономерностей, требующих специальной интерпретации.

1. При переходе от соединения **38a** к **38b** и далее к **38c** количество выделяющегося оксида азота достоверно увеличивалось.

2. При деградации аналогичных соединений, в которых вместо атома водорода в положении 2 пиримидинового цикла находится метильный заместитель, высвобождение оксида азота при резко снижалось.

3. Высвобождение нитрит-аниона при гидролизе наблюдалось только в аэробных условиях. При проведении процесса в токе аргона количество нитрит-аниона не выходило за пределы точности его определения.

На основании всей совокупности экспериментальных данных авторы исследования предложили следующую общую схему протекающих процессов (схема 6).

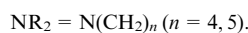
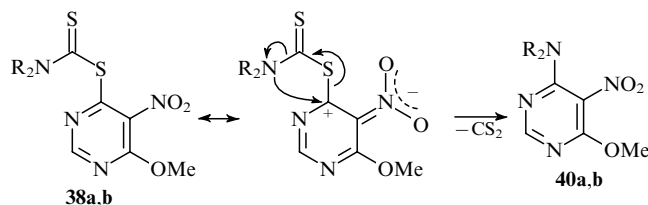


В принципе, образование нитритов **41** может (вероятно, после стадии окисления) приводить к отщеплению NO^+ , что, в свою очередь, может обуславливать нитрозирование тиолятного фрагмента с образованием *S*-нитрозотиолов, которые, как известно,⁷ являются эффективными донорами оксида азота.

Указанные процессы обратимы, и в конечном итоге система стабилизируется в результате последующего необратимого окисления с образованием дисульфида. Последний процесс требует наличия в системе кислорода, что, как уже отмечалось, является необходимым условием образования нитрит-аниона в данной реакции.

Второй процесс — образование производных 4-аминопиримидина **40** — протекает с выделением сероуглерода. Последний был обнаружен в реакционной смеси методом

газо-жидкостной хроматографии. В основе механизма этой реакции лежит нуклеофильная атака атома углерода в положении 4 пиримидинового цикла неподеленной парой электронов атома азота дитиокарбаматного фрагмента.



В соответствии с предлагаемыми механизмами авторам удалось объяснить и другие особенности процесса. Так, наибольшая стерическая нагруженность гексагидроазепинового производного **38c** приводит к некоторой дестабилизации, и этот дитиолон легче окисляется до дисульфида, чем соединения **38a,b**.

Резкое снижение количества образующегося нитрит-аниона при наличии заместителя в положении 2 пиримидинового цикла, возможно, обусловлено тем, что выброс NO_2^- протекает только после деароматизации пиримидинового цикла, которая происходит путем присоединения гидроксид-аниона по положению 2. Такое присоединение затруднено при наличии алкильного (в частности, метильного) заместителя в положении 2, что снижает эффективность дальнейших превращений.

Таким образом, установлено, что нитропроизводные пиримидилдитиокарбаматов в гидролитических условиях высвобождают нитрит-анион, что указывает на способность этих соединений выступать в качестве генераторов оксида азота в живом организме.

Х. Заключение

Представленный в обзоре материал наглядно демонстрирует важную роль доноров оксида азота(II), в частности *S*-нитро-соединений, как уже применяющихся и потенциальных лекарств для лечения широкого ряда заболеваний. В то же время следует еще раз подчеркнуть, что роль NO в организме млекопитающих, в том числе человека, чрезвычайно сложна, многообразна и изучена далеко не полностью. Более того, действие, оказываемое оксидом азота на организм, в каком-то смысле противоречиво и критически зависит от его концентрации. Так, по последним данным, оксид азота, супероксидный анион-радикал и образующийся при их взаимодействии пероксинитрит могут (при их «перепроизводстве» в организме) выступать в качестве медиаторов воспаления и факторов, вызывающих модифицирование белков и повреждение нуклеиновых кислот. Эти эффекты могут приводить к инициированию канцерогенеза.

Предполагается, что свободнорадикальная гипотеза канцерогенеза способна объединить различные предлагавшиеся механизмы, исходя из того, что именно свободные радикалы, такие как супероксид, гидроксил, оксид азота, а также пероксинитрит, ответственны за повреждение белков, мембран, ДНК и РНК. Оксид азота — относительно стабильный свободный радикал, он легко диффундирует в клетки и клеточные мембраны, где реагирует с такими молекулярными мишенями, как гем, тиольные группы белков и амины. Реакции с белками могут приводить к снижению клеточной пролиферации и биосинтеза нуклеиновых кислот, равно как и к изменению активности ферментов, цитотоксичности и апоптозу. В то же время произведенный макрофа-

гами оксид азота включен в деструкцию различных внутри-молекулярных патогенов и опухолевых клеток, а также обладает цитостатическим действием. Оксид азота быстро реагирует с супероксид-анионом с образованием довольно долгоживущего цитотоксического окислителя — пероксинитрита-аниона, участвующего в клеточном повреждении. Пероксинитрит инициирует липидное пероксидирование и непосредственно реагирует с тиольными группами в клеточных мембранах, а также с компонентами ДНК.¹⁰⁶

Интерес к С-нитросоединениям как донорам оксида азота оправдан тем, что многие такие соединения демонстрируют различные виды биологической активности. В то же время структурное разнообразие самих С-нитросоединений позволяет варьировать их NO-донорные характеристики для решения той или иной конкретной задачи. Более того, круг изучаемых соединений постоянно расширяется, внимание исследователей привлекают новые потенциальные доноры NO. Так, объектами тестирования относительно недавно стали нитропроизводные шестичленных гетероциклов, в то время как прежде изучались самые разнообразные нитропроизводные лишь пятичленных гетероциклов.

Безусловно, в дальнейшем будут предложены новые С-нитросоединения как экзогенные доноры NO; расширение круга потенциальных лекарств-доноров NO будет происходить параллельно с углублением наших представлений о функциях NO и механизмах его действия.

Литература

- В.Г.Граник, Н.Б.Григорьев. *Оксид азота*. Вузовская книга, Москва, 2004
- S.Moncada, R.M.Palmer, E.A.Higgs. *Pharmacol. Rev.*, **43**, 109 (1991)
- M.A.Marletta. *J. Med. Chem.*, **37**, 1899 (1994)
- O.W.Griffith, D.J.Stuehr. *Annu. Rev. Physiol.*, **57**, 707 (1995)
- В.Г.Граник, С.Ю.Рябова, Н.Б.Григорьев. *Успехи химии*, **66**, 792 (1997) [*Russ. Chem. Rev.*, **66**, 717 (1997)]
- А.Ф.Ванин. *Биохимия*, **63**, 924 (1998)
- И.С.Северина. *Биохимия*, **63**, 939 (1998)
- Е.Б.Меньшикова, Н.К.Зенков, В.П.Реутов. *Биохимия*, **65**, 485 (2000)
- Nitric Oxide. Basic Research and Clinical Application*. (Eds R.J.Gryglewski, P.Minuz). IOS Press, Amsterdam; Berlin; Oxford; Tokyo; Washington, DC, 2001
- D.Voet, J.G.Voet. *Biochemistry*. (2nd Ed.). Wiley, New York; Chichester; Bricbane; Toronto; Singapore, 1995. P. 1290
- F.Murad. *Neurotransmissions*, **10** (2), 1 (1994)
- H.Al-Sa'doni, A.Ferro. *Clin. Sci.*, **98**, 507 (2000)
- M.Feelish. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **17** (Suppl. 3), 25 (1991)
- И.В.Серков, В.В.Безуглов. *Успехи химии*, **78**, 442 (2009) [*Russ. Chem. Rev.*, **78**, 407 (2009)]
- М.О.Лозинский, А.М.Борисевич, В.М.Брицун. *Укр. хим. журн*, **75**, 3 (2009)
- M.Kirsch, H.de Groot. *J. Pineal Res.*, **46**, 121 (2009)
- S.Huerta, S.Chilka, B.Bonavida. *Int. J. Oncol.*, **33**, 909 (2008)
- L.Fang, J.Lehmann. *Expert Opin. Therap. Pathol.*, **18**, 1111 (2008)
- A.Gasco, D.Boschi, K.Chegaev, C.Cena, A.Di Stilo, R.Fruttero, L.Lazzarato, B.Rolando, P.Tosco. *Pure Appl. Chem.*, **80**, 1693 (2008)
- J.A.Coulter, H.O.McCarthy, J.Xiang, W.Roedl, E.Wagner, T.Robson, D.G.Hirst. *Nitric Oxide*, **19**, 192 (2008)
- B.Bonavida, S.Baritaki, S.Huerta-Yopez, M.I.Vega, D.Chatterjee, K.Yeung. *Nitric Oxide*, **19**, 152 (2008)
- S.Fiorucci, L.Santucci, E.Distrutti. *Digest. Liver Disease*, **39**, 1043 (2007)
- B.E.Laursen, E.Stankevicius, H.Pilegaard, M.Mulvany, U.Simonsen. *Cardiovasc. Drug Rev.*, **24**, 247 (2006)
- E.A.Romero-Sandoval, M.M.Curros-Criado, G.Gaitan, C.Molina, J.F.Herrero. *CNS Drug Rev.*, **13**, 279 (2007)
- H.Katsumi, M.Nishikawa, M.Hashida. *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem.*, **5**, 204 (2007)
- M.R.Miller, I.L.Megson. *Br. J. Pharmacol.*, **151**, 305 (2007)
- D.McGrowder, D.Ragoobirsingh, P.Brown. *Int. J. Pharmacol.*, **2**, 366 (2006)
- P.F.Mannaioni, V.Fabbron, R.Mastroianni, E.Masini. *Anti-Inflam. Anti-Allergy Agents Med. Chem.*, **5**, 335 (2006)
- M.N.Muscara, J.L.Wallace. *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem.*, **4**, 155 (2006)
- C.Cena, M.Bertinaria, D.Boschi, M.Giorgis, A.Gasco. *ARKIVOC*, (vii), 301 (2006)
- M.Villarroya, M.G.Lopez, R.de Pascual, A.G.Garcia. *Cardiovasc. Drug Rev.*, **23**, 149 (2005)
- D.M.Gooden, H.Chakrapani, E.J.Toone. *Curr. Top. Med. Chem.*, **5**, 687 (2005)
- K.Yoshida, Y.Kita. *Curr. Top. Med. Chem.*, **5**, 675 (2005)
- L.K.Keefer. *Curr. Top. Med. Chem.*, **5**, 625 (2005)
- R.Scaterna, P.Bottoni, G.E.Martorana, B.Giardina. *Expert Opin. Invest. Drugs*, **14**, 835 (2005)
- S.A.Doggrell. *Expert Opin. Invest. Drugs*, **14**, 823 (2005)
- H. Al-Sa'doni, A.Ferro. *Mini-Rev. Med. Chem.*, **5**, 247 (2005)
- A.Gasco, R.Fruttero, B.Rolando. *Mini-Rev. Med. Chem.*, **5**, 217 (2005)
- J.Liu, M.P.Waalkes. *Toxicology*, **208**, 289 (2005)
- A.R.Seminara, J.S.Krumenasker, F.Murad. In *Nitric Oxide. Basic Research and Clinical Applications*. (Eds R.J.Gryglewski, P.Minuz). IOS Press, Amsterdam; Berlin; Oxford; Tokyo; Washington, DC, 2000. P. 5
- J.L.Decout, B.Roy, M.Fontecave, J.C.Miller, P.H.Williams, D.Louaux. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **5**, 973 (1995)
- K.Rehse, M.Herpel. *Arch. Pharm.*, **331**, 111 (1998)
- K.Rehse, M.Herpel. *Arch. Pharm.*, **331**, 79 (1998)
- K.Rehse, M.Herpel. *Arch. Pharm.*, **331**, 104 (1998)
- K.Rehse, S.Bade, A.Harsdorf, B.Clement. *Arch. Pharm.*, **330**, 392 (1997)
- A.Di Stilo, C.Medana, B.Ferrarotti, A.L.Gasco, D.Ghigo, A.Bosia, P.A.Martorana, A.Gasco. *Pharmacol. Res.*, **41**, 469 (2000)
- C.Medana, A.Di Stilo, S.Visentin, R.Fruttero, A.Gasco, D.Ghigo, A.Bosia. *Pharm. Res.*, **16**, 956 (1999)
- А.А.Гидаспов, В.В.Бахарев, Е.В.Качановская, Ю.Н.Бульчев, В.И.Левина, О.В.Азизов, А.П.Арзамасцев, Н.Б.Григорьев, В.Г.Граник. *Хим.-фарм. журн.*, (9), 12 (2003)
- В.А.Петросян, С.Г.Майрановский, Л.В.Охлобыстина, В.И.Словенский, А.А.Файнзильберг. *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 1690 (1971)
- В.И.Словецкий, М.Ш.Львова, А.А.Файнзильберг, Г.И.Чаева. *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 2690 (1970)
- K.Rehse, M.Herpel, D.Piechocki. *Arch. Pharm.*, **329**, 83 (1996)
- L.Oresmaa, H.Kotikoski, M.Haukka, J.Salminen, O.Oksala, E.Pohjala, E.Moilanen, H.Vapaatalo, P.Vainiotalo, P.Aulaskari. *J. Med. Chem.*, **48**, 4231 (2005)
- L.Oresmaa, H.Kotikoski, M.Haukka, O.Oksala, E.Pohjala, H.Vapaatalo, P.Vainiotalo, P.Aulaskari. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 2144 (2006)
- A.R.Butler, R.Nicholson. *Life, Death and Nitric Oxide*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2003
- В.В.Бахарев, А.А.Гидаспов, Е.В.Переседова, В.Г.Граник, Н.Б.Григорьев, В.И.Левина, И.С.Северина, А.Ю.Щеголев, Д.Е.Дмитриев, А.Б.Шереметев. *Изв. АН. Сер. хим.*, 1900 (2009)
- В.В.Парамонов, В.А.Петросян, В.И.Словецкий. *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, 786 (1978)
- Я.П.Страдынь. *Полярграфия органических нитросоединений*. Изд-во АН Латв. ССР, Рига, 1961
- О.Б.Рябова, Е.Ю.Хмельницкая, В.А.Макаров, Л.М.Алексеева, Н.Б.Григорьев, В.Г.Граник. *Изв. АН. Сер. хим.*, 2777 (2005)

59. J.O.Lundberg, E.Weitzberg, M.T.Gladwin. *Nat. Rev. Drug Discov.*, **7**, 156 (2008)
60. Л.И.Хмельницкий, С.С.Новиков, Т.И.Годовикова. *Химия фуросанов. Структура и синтез*. Наука, Москва, 1996
61. A.B.Sheremetev, N.N.Makhova, W.Friedrichsen. *Adv. Heterocycl. Chem.*, **78**, 65 (2001)
62. С.В.Васильев, О.Т.Бурбелев. *Журн. орг. химии*, **2**, 1965 (1966)
63. О.А.Ракитин, В.А.Огурцов, Е.А.Хайбуллина, Т.И.Годовикова, Л.И.Хмельницкий. *Химия гетероцикл. соединений*, 1283 (1993)
64. Т.Р.Pillai, J.H.Boyer. *Org. Prep. Proced. Int.*, **14**, 365 (1982)
65. З.С.Смолян, И.Я.Лубяницкий, К.Н.Коротаевский, В.К.Фукин, Г.Н.Матвеева, Н.К.Петрова, Е.П.Зильберман. *Журн. орг. химии*, **12**, 2099 (1976)
66. К.Н.Коротаевский, Е.П.Зильберман, Н.К.Петрова, И.Я.Лубяницкий, В.К.Фукин, Г.Н.Матвеева. *Журн. орг. химии*, **13**, 1814 (1977)
67. К.Н.Коротаевский, Е.П.Зильберман, И.Я.Лубяницкий. *Журн. физ. химии*, **51**, 2958 (1977)
68. *Nitric Oxide and the Cardiovascular System*. Humana Press, Totowa, NJ, 2000
69. В.И.Левина, О.В.Азизов, Н.В.Пятакова, О.Г.Бусыгина, И.С.Северина, А.П.Арзамасцев, Н.Б.Григорьев, В.Г.Граник. *Вопр. биол. мед. фарм. химии*, (2), 54 (2001)
70. Г.Я.Легин. *Хим.-фарм. журн.*, (4), 54 (1996)
71. Н.Б.Григорьев, Г.В.Чечекин, А.П.Арзамасцев, В.И.Левина, В.Г.Граник. *Химия гетероцикл. соединений*, 902 (1999)
72. P.Cogolli, L.Testaferri, M.Tiecco, M.Tingoli. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 800 (1979)
73. И.А.Хмель, А.З.Метлицкая. *Мол. биол.*, **40**, 195 (2006)
74. Yu.V.Zaiseva, V.G.Granik, A.S.Belik, O.A.Koksharova, I.A.Khmel. *Mol. Gen. Microbiol. Virol.*, **25**, 71 (2010)
75. А.Макаров, А.В.Данилов, В.И.Левина, Н.Б.Григорьев, М.Шмидке, А.Штельцнер, В.Г.Граник. *Вопр. биол. мед. фарм. химии*, (6), 45 (2002)
76. N.F.Russo, M.Tomasz, M.Muller, R.Lipman. *Mol. Pharmacol.*, **13**, 872 (1977)
77. P.Kubes, J.L.Wallace. *Mediat. Inflamm.*, **4**, 397 (1995)
78. R.J.Knox, R.C.Knight, D.I.Edwards. *Biochem. Pharmacol.*, **32**, 2149 (1983)
79. J.-J.Jeong, D.E.Berg. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **44**, 3127 (2000)
80. R.P.Mason, P.D.Josephy. *J. Inorg. Biochem.*, **24**, 161 (1985)
81. A.F.Cockerill, R.C.Harden, D.N.B.Mallen. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1428 (1972)
82. Н.Б.Григорьев, В.И.Левина, О.В.Азизов, Н.В.Пятакова, А.П.Арзамасцев, И.С.Северина, В.А.Паршин, В.Г.Граник. *Вопр. биол. мед. фарм. химии*, (4), 10 (2002)
83. В.И.Левина, О.В.Азизов, Н.В.Пятакова, А.П.Арзамасцев, И.С.Северина, Н.Б.Григорьев, В.Г.Граник. *Вопр. биол. мед. фарм. химии*, (4), 6 (2002)
84. М.Д.Машковский. *Лекарственные средства. Т. 1, 2*. Торгсин, Харьков, 1997
85. C.Viode, N.Bettache, N.Cenas. *Biochem. Pharm.*, **57**, 549 (1999)
86. J.P.Salo, H.Salomies. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **14**, 1267 (1996)
87. L.F.Chasseaud, K.Henrick, R.W.Matthews, P.W.Scott, S.G.Wood. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 491 (1984)
88. А.Ф.Пожарский. *Теоретические основы химии гетероциклов*. Химия, Москва, 1985
89. Л.А.Трухачева, Н.Б.Григорьев, А.П.Арзамасцев, И.Л.Далингер, И.А.Вацадзе, Г.П.Попова, С.А.Шевелев, В.Г.Граник. *Изв. АН. Сер. хим.*, 2719 (2005)
90. A.R.Chopra, J.-F.Louet, P.Saha, J.An, F.De Mayo, J.Xu, B.York, S.Karpen, M.Finegold, D.Moore, L.Chan, C.B.Newgard, B.W.O'Malley. *Science*, **322**, 1392 (2008)
91. В.Г.Граник. *Органическая химия*. Вузовская книга, Москва, 2004
92. J.R.Lancaster, X.Keping. *Cancer Res.*, **66**, 6459 (2006)
93. P.Laudansky, T.Anchim, S.Wolczynski. *Ginek. Pol.*, **72**, 251 (2001)
94. S.Tamir, S.R.Tanenbaum. *Biochim. Biophys. Acta*, **1288**, F31 (1996)
95. L.L.Thomsen, D.W.Miles. *Cancer Metast. Rev.*, **17**, 107 (1998)
96. C.V.Rao. *Mutat. Res.*, **555**, 107 (2004)
97. Н.К.Зенков, Е.Б.Меньшикова, В.П.Реутов. *Вестн. РАМН*, (4), 30 (2004)
98. N.Ouyang, J.L.Williams, G.J.Tsioulis, J.J.Gao, M.J.Iatropoulos, L.Kopelovich, K.Kashfi, B.Rigas. *Cancer Res.*, **66**, 4503 (2006)
99. K.Xie, S.Huang. *Free Radical. Biol. Med.*, **34**, 969 (2003)
100. D.A.Wink, J.A.Cook, D.Christodoulou, M.C.Krishna, R.Pacelli, S.Kim, W.De Graff, J.Gamson, Y.Vodovotz, A.Russo, J.B.Mitcell. *Nitric Oxide*, **1**, 88 (1997)
101. В.П.Дерягина, Н.И.Рыжова. *Вестн. РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН*, **18**, 32 (2007)
102. В.М.Любчанская, В.Г.Граник. *Химия гетероцикл. соединений*, 597 (1990)
103. В.М.Любчанская, Г.А.Богданова, И.С.Николаева, М.Г.Ильина, А.Н.Фомина, В.Г.Граник. *Хим.-фарм. журн.*, (3), 34 (1990)
104. В.М.Любчанская, Л.М.Алексеева, В.Г.Граник. *Химия гетероцикл. соединений*, 40 (1992)
105. В.М.Любчанская, Л.М.Алексеева, И.С.Николаева, М.Г.Ильина, А.Н.Фомина, В.Г.Граник. *Хим.-фарм. журн.*, (4), 35 (1991)
106. www.medportal.ru/mednovosti/news/2007/05/28/breastcancer

EXOGENOUS NITRIC OXIDE DONORS IN THE SERIES OF C-NITRO COMPOUNDS

V.G.Granik, N.B.Grigoriev

*Centre for Medicinal Chemistry, All-Russian Research Chemical-Pharmaceutical Institute
7/1, Ul. Zubovskaya, 119021 Moscow, Russian Federation*

The published data on nitrogen(II) oxide donors related to C-nitro compounds are generalized and described systematically. The key classes of these compounds and the possible mechanisms of their transformations under hydrolytic conditions and in living organisms are considered. The attention is focused on C-nitro compounds as potential medicinal agents for treating a broad range of diseases (cardiovascular diseases, tuberculosis, cancer, etc.).

Bibliography — 106 references.

Received 13th January 2010